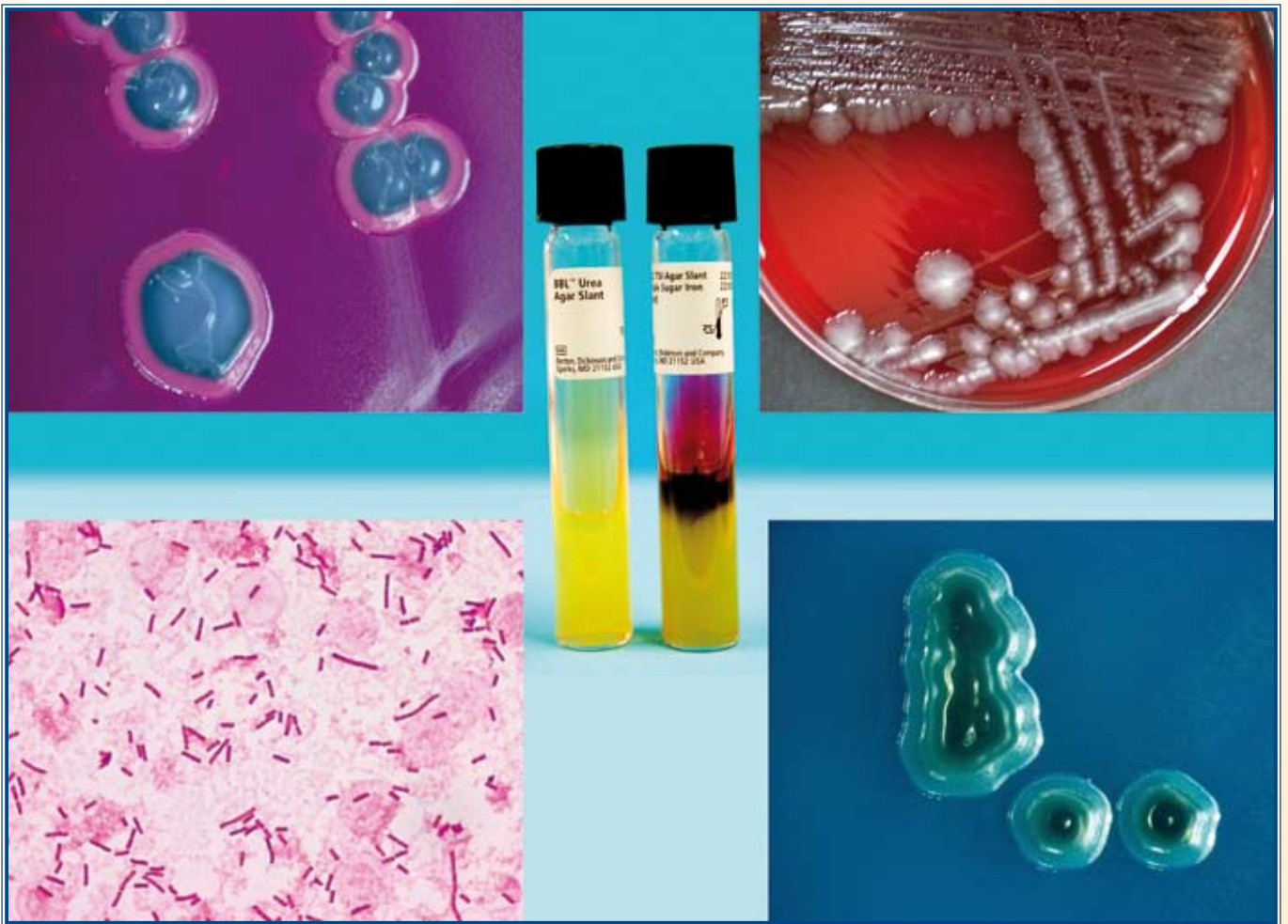


NEDERLANDS TIJDSCHRIFT VOOR  
**MEDISCHE MICROBIOLOGIE**



Transmissieroute 'Overvloed en welbehagen'

•  
HIV-valkuilen in de diagnostiek

•  
HIV-resistentietesten: theorie en praktijk

•  
HIV-vaccin: stand van zaken

•  
SKML-lessen over HBV-serologie

•  
Toekomstscenario's achter de schermen

•  
Toekomstige infectieziekten

Advertentie Tygacil

## Colofon

### Nederlands Tijdschrift voor Medische Microbiologie

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

### NVMM-secretariaat

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

### Hoofdredactie

Dr. M. van Rijn en Dr. H.F.L. Wertheim

### Redactie

Dr. W. Ang, mw. dr. I.A.J.M. Bakker-Woudenberg, dr. A. Fleer, dr. J.G. den Hollander, J.A. Kaan, J.S. Kalpoe, mw. L.M. Kortbeek, dr. J.F.G.M. Meis, dr. G.J.H.M. Ruijs, mw. dr. A. van 't Veen, dr. C. Vink

### Redactiesecretariaat

Mw. G. Brouwer  
Van Zuiden Communications B.V.  
Postbus 2122,  
2400 CC Alphen aan den Rijn  
Tel. (0172) 47 61 91  
Fax. (0172) 47 18 82  
E-mail: ntm@zuidencomm.nl

### Advertentie-exploitatie

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

### Opplage en frequentie

900 exemplaren, 4x per jaar

### Abonnementen

Gratis voor leden van de Nederlandse Vereniging voor Medische Microbiologie (NVMM) en leden van de Vereniging voor Infectieziekten (VIZ). Niet-leden NVMM of VIZ in Nederland: € 35,- per jaar  
Buiten Nederland, in Europa: € 42,50 per jaar  
Losse nummers: € 10,20  
Opgave abonnementen:  
Tel. (0172) 47 61 91



**VAN ZUIDEN**  
COMMUNICATIONS B.V.

© 2007, Van Zuiden Communications B.V.

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

### Algemene voorwaarden

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

ISSN 0929-0176

# Inhoud

<b>Van de redactie</b>	<b>1</b>
<b>'Transmissieroute'</b>	
Overvloed en welbehagen	2
<i>M. Bonten</i>	
<b>Artikelen</b>	
Valkuilen in de diagnostiek van het HIV-virus	3
<i>K.C. Wolthers en S. Jurriaans</i>	
Antiretrovirale resistentietesten: theorie en praktijk vanuit het klinisch virologisch laboratorium	8
<i>M. Schutten</i>	
Een HIV-vaccin. Waar staan we?	15
<i>J.N. Vermeulen, J.M.A. Lange</i>	
Hepatitis-B-serologie – lessen uit SKML-kwaliteitsrondzendingen	19
<i>A.C.T.M. Vossen</i>	
Toekomstscenario's: een kijkje achter de schermen	22
<i>M.B.A. van Asselt, S.A. van 't Klooster</i>	
Toekomstige infectieziekten, een scenarioverkenning	28
<i>P. Bol en A.E.G. de Hollander</i>	
<b>Casuïstiek</b>	
Neonatale sepsis veroorzaakt door een infectie met een <i>Streptococcus bovis</i>	36
<i>I.F.A. Tjeertes, A.M. Robinson, A.M. Dingemans-Dumas</i>	
<b>Rubrieken</b>	
Abstracts Najaarsvergadering NVMM / VIZ 2006	38
Verenigingsnieuws	44
Samenvatting proefschrift	47
Personalia	51
Promoties	52
Agenda	55
Index 2006 op auteur en op trefwoord	57

Foto omslag: © Loes van Damme, Roel Verkooijen, Erasmus MC, afdeling Medische Microbiologie & Infectieziekten, Rotterdam.

1. Salmonella typhimurium - XLD-agar (xylose lysine desoxycholaat) - na 48 uur
2. Salmonella typhimurium - bloedagar - na 48 uur
3. Salmonella typhi - Grampreparaat bloedkweek - na 24 uur
4. Salmonella typhimurium - Hectoen-agar - na 48 uur
5. Salmonella typhi - ureum & TSI - na 24 uur

# Advertentie Viramune

# CHUC MUNG NAM MOI!

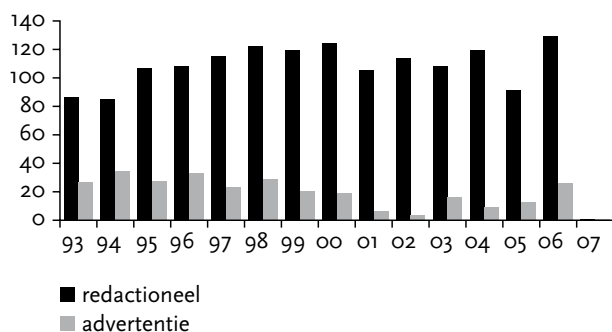
Of te wel 'gelukkig nieuwjaar' in Vietnamees. Het Nederlands Tijdschrift voor Medische Microbiologie heeft namelijk sinds 2007 een buitenlandredactie, gevestigd te Hanoi, Vietnam. Op zaterdag 17 februari was het Nieuwjaarsdag in Vietnam, goed voor twee weken lang Tet-feesten. Daarbij steken twee dagen kerstmis schraal af. Helemaal als men nagaat dat hier rond Tet vanaf half elf 's ochtends bier, wijn en whisky wordt geschonken op het laboratorium.

Voor u ligt het eerste nummer van Nederlands Tijdschrift voor Medische Microbiologie in 2007.

Collega Kaan heeft het aantal redactionele pagina's van het NTMM van de afgelopen jaren op een rijtje gezet (figuur 1). In 2006 is een record aantal redactionele pagina's afgedrukt, waarvoor dank aan alle auteurs (zie Index 2006 verderop in dit nummer). Ook het aantal advertenties begint flink aan te trekken. Hopelijk kunnen we daar op korte termijn ook een record vestigen.

Dit eerste nummer van 2007 staat ook nu weer vol met interessante artikelen van collega's. Wij menen dan ook op het juiste redactionele spoor te zitten.

Overzicht aantal redactionele pagina's en advertentiepagina's.



In dit eerste nummer van 2007 is het passend om vooruit te blikken. Prof. Van Asselt en Drs. Van 't Klooster geven u daarom een blik achter de schermen van 'the making of' toekomstscenario's. Dr. Bol en Dr. G. de Hollander van het RIVM/CIB hebben een dergelijke oefening gedaan door een toekomstscenario te maken voor infectieziekten. In dit nummer brengen zij daarover verslag uit. In 2006 heeft dit tijdschrift ook al aandacht geschonken aan toekomstscenario's. De artikelen in dit nummer maken de serie compleet.

Ook in dit nummer veel aandacht voor twee virussen: hiv en hepatitis-B. Na jarenlang hepatitis-B-rondelingen te hebben georganiseerd, deelt Dr. Vossen haar opgedane kennis met u. Verder hebben collega's uit het AMC, Dr. Wolthers en Jurriaans, de valkuilen in de hiv-diagnostiek voor u uiteengezet. Dr. Schutten uit Rotterdam gaat nog een stapje verder in de hiv-diagnostiek: hoe te testen voor antiretrovirale middelen? Maar voorkomen is altijd beter dan genezen: waar staan we met een hiv-vaccin? Prof. Lange en Dr. Vermeulen melden u de laatste stand van zaken.

En wat is de laatste stand van zaken in Vietnam? De Vietnamese maatschappij is zeer dynamisch, ondernemend en inventief. Men kan het zo gek niet verzinnen of het is mogelijk. Er is echter ook veel niet mogelijk: snel ontvangen van reagentia bijvoorbeeld. Ze wachten soms maanden op de nodige reagentia voor diagnostiek. In komende nummers zal ik u uitgebreider informeren over infectieziekten in Vietnam.

Dr. H.F.L. Wertheim, Oxford University Clinical Research Unit,  
National Institute of Infectious and Tropical Diseases, Bach Mai  
Hospital, 78 Giai Phong Street, Hanoi, Vietnam.

# Overvloed en welbehagen

M.J.M. Bonten

Het waren weer heerlijke dagen, zo tussen de kerstdagen en Nieuwjaar. Ik laat me dan graag in mijn geliefde Maastricht verwennen. De sterren waren net verdeeld, dus er viel weer het nodige te ontdekken in culinair luilekkerland en de winkels waren rijk gevuld, althans tot wij langs waren geweest. Het gaat goed met mij en het gaat goed met Nederland, en net na kerst ging het nog beter met mij.

Mijn gelukzaligheid was te wijten aan drie transmissieroutes: die van ziekte (een niet bestaand virus), angst (de media) en (de wetenschap); *'the bad, the ugly and the good'*. Het niet-bestaande virus betreft het gevreesde pandemische griepvirus. Drie jaar geleden begon ik mijn oratie met het eerste feit dat ik in mijn 20 jaar eerder begonnen studie geneeskunde had geleerd: 'De volgende griepdemie kan niet lang meer uitblijven'. Inmiddels zijn er al 23 jaar gepasseerd, dus de dreiging is inmiddels enorm. De voorbode van het echte gevaar, aviaire H<sub>5</sub>N<sub>1</sub>, waart rond en sluipt als een dief in de nacht naar de westerse wereld.

De 'H<sub>5</sub>N<sub>1</sub>-angst' verspreidt zich sneller dan het virus. *Pandemic preparedness* is in en de regering hamstert neuraminidaseremmers voor het uur U. Vliegtuigen zullen het virus razendsnel tot ons brengen; ziekenhuizen worden overspoeld met beademingsbehoefte slachtoffers; burgers zullen de door het leger beschermde opslagruimtes met virusremmers bestormen, totdat de jonge wapendragers (gemiddeld 25 jaar, high-risk!) voor zichzelf kiezen en de pakhuizen plunderen. Met dit scenario voor ogen zou Maastricht tussen kerst en Nieuwjaar eerder de sfeer van het laatste avondmaal dan van een zorgeloze toekomst moeten uitademen. Het tegendeel was waar.

De troost werd gebracht door de *Lancet* op 23 december 2006. "*Estimation of potential global pandemic influenza mortality on the basis of vital registry data from the 1918–1920 pandemic: a quantitative analysis*". Op intrigerende wijze hebben een stel Amerikanen de catastrofe van de Spaanse griep geanalyseerd en hun bevindingen vertaald in een even erge griepdemie, maar dan in 2004. Negentig jaar geleden stierf ruim 1 procent van de wereldbevolking aan de Spaanse griep of de directe gevolgen daarvan. In Nederland was dat 0,7 procent en in India 4,4 procent. Armoede, leeftijd en ondervoeding waren de beste voorspellers van sterfte. In 2004 zou een

zelfde pandemie, wereldwijd, 61 miljoen dodelijke slachtoffers hebben. En nu komt het goede nieuws: 96 procent van de slachtoffers zal in ontwikkelingslanden vallen. De auteurs geven ruitertlijk toe dat het heel gevaarlijk is om dit soort voorspellingen te doen; temeer daar een aantal belangrijke aspecten nu wel, maar toen niet, voorhanden was. Zoals een beter georganiseerd gezondheidszorgsysteem, intensievecare-afdelingen, antivirale middelen en antibiotica, en u begrijpt het: die bevinden zich, schat ik, voor meer dan 96 procent in de ontwikkelde landen. HIV daarentegen zou de slagkracht van een pandemisch griepvirus weleens kunnen doen toenemen, en dat zal vooral de ontwikkelingslanden treffen. Het werkelijke aandeel van sterfte in de rijke ontwikkelde landen zal dus waarschijnlijk eerder 2 procent dan 4 procent zijn, denk ik.

Ik neem aan dat u mijn welbehagen nu begrijpt. Met mijn 42 jaar verdwijn ik langzaam uit de leeftijdscategorie die een verhoogd risico heeft om aan pandemische griep te sneven (mijn huidige leeftijd is de gemiddelde levensverwachting in Malawi; het voorspelde aantal doden bij een griepdemie aldaar bedraagt 370.000 (3 procent van de populatie)). Ik word niet gauw voor ondervoed aangezien (voorspelde aantal doden in Ethiopië 3,4 miljoen (4,5 procent van de populatie)). Ik zou zelfs statines kunnen gaan slikken om nog wat extra bescherming tegen de griepdood op te bouwen (zie Van der Garde, *et al*, Thorax november 2006). In Nigeria worden weinig statines voorgeschreven; het voorspelde aantal doden bedraagt daar 2,8 miljoen (2,2 procent van de populatie). En armoede? Ik ben in opleiding tot medisch-microbioloog en de kans om te overlijden neemt met 10 procent af als het inkomen met 10 procent stijgt.

Of ik dan helemaal geen zorgen meer heb? Jawel, varkens-MRSA, want ook ik heb naar Zembla gekeken.

De transmissieroute leidt naar Dr. M.G.R. Hendrix, Medisch Spectrum Twente.

Prof. dr. M.J.M. Bonten, Eijkman-Winkler Instituut, Julius Centrum Gezondheidswetenschappen en eerstelijnsgezondheidszorg, Universitair Medisch Centrum Utrecht, Heidelberglaan 100, 3584 CX Utrecht, e-mail: mbonten@umcutrecht.nl

# Valkuilen in de diagnostiek van het humaan immunodeficiëntievirus (HIV)

K.C. Wolthers, S. Jurriaans

## Samenvatting

Over de afgelopen twee decennia is de kwaliteit en gevoeligheid van HIV-testen enorm verbeterd. De enzym-immuunassay (EIA) en de Western blot zijn de aangewezen testen voor het aantonen en confirmeren van een infectie met HIV. Daarnaast wordt gebruikgemaakt van antigeen- of nucleïnezuurdetectie. Ondanks de hoge betrouwbaarheid van de testen voor HIV, komen valspositieve en valsnegatieve uitslagen voor. Ook kunnen interpretatiefouten of monsterverwisseling leiden tot een foute diagnose. Bekende valkuilen zijn het testen in de windowfase, de valspositieve EIA met een dubieuze Western blot, en valsnegatieve testen bij patiënten met klinische verschijnselen van aids. Voorzichtigheid in het stellen van een diagnose is geboden wanneer testresultaten niet met elkaar of met de klinische gegevens in overeenstemming zijn.

**Trefwoorden:** HIV, diagnostiek, valkuilen, valspositief, valsnegatief

## Inleiding

De technieken die worden gebruikt voor diagnostiek naar infectie met het humaan immunodeficiëntievirus (HIV) behoren tot de meest betrouwbare in het virologisch laboratorium. Zelfs de meest betrouwbare testen geven echter geen 100 procent foutloze uitslagen. Een juiste interpretatie van een testuitslag kan het beste worden gegeven in het licht van de klinische gegevens van een patiënt.

In dit artikel zullen we ingaan op de manier waarop in de Nederlandse microbiologische laboratoria de diagnostiek naar HIV-infecties verloopt en wat daarbij de valkuilen kunnen zijn.

## Beloop van HIV-infectie

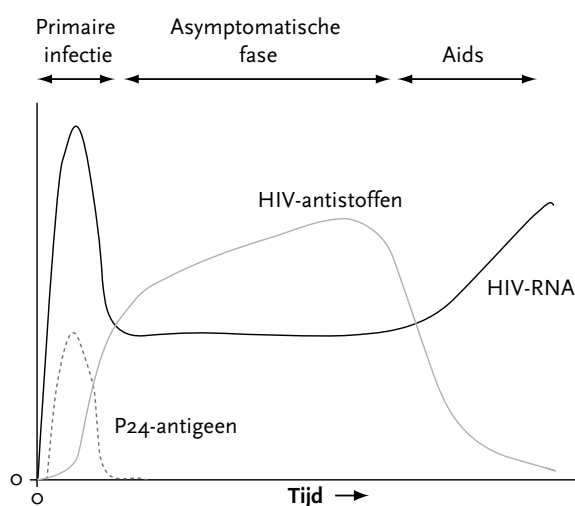
HIV-1 en HIV-2 zijn lentivirussen behorende tot de familie van Retroviridae. De wereldwijde epidemie wordt veroorzaakt door HIV-1, dat weer kan worden opgedeeld in drie groepen, M (*main*), O (*outlier*) en N (*non-M non-O*).

Groep M, wereldwijd de meest voorkomende, wordt onderverdeeld in negen verschillende subtypes of clades (A-D, F-H, J en K) op basis van sequentieanalyse van het enveloppen. Deze veelheid aan varianten wordt veroorzaakt door de hoge mutatiesnelheid en recombinatie van het virus. Ook

binnen één patiënt is er sprake van virusevolutie waardoor er varianten ontstaan; er is geen sprake van infectie met één virus maar met een 'quasispecies' van virusvarianten, die echter wel tot dezelfde clade behoren.

Na infectie replicateert het virus eerst plaatselijk, in lymfoïdweefsel en mucosa. Dit duurt ongeveer één tot vier weken en de patiënt is in deze fase niet besmettelijk. Vervolgens ontstaat er viremie waarbij eerst HIV-RNA kan worden aangetoond en vervolgens ook HIV-p24-antigeen (figuur 1). Er is een hoge virale load aantoonbaar en er zijn nog geen antistoffen aanwezig. De infectiviteit is hoog in deze fase. Dit is het moment waarop de patiënt symptomen kan krijgen. Deze symptomen van acute of primaire HIV-infectie beginnen dus ongeveer twee tot zes weken na besmetting en kunnen één tot enkele weken aanhouden. Nu komt ook de immuunrespons op gang, antistoffen worden aantoonbaar (seroconversie) en de virale load gaat

Figuur 1. Het natuurlijk beloop van een HIV-infectie.



K.C. Wolthers, S. Jurriaans, Laboratorium Klinische Virologie  
K1-121, afdeling Medische Microbiologie, AMC, Meibergdreef 15  
1105 AZ Amsterdam, e-mail: k.c.wolthers@amc.uva.nl

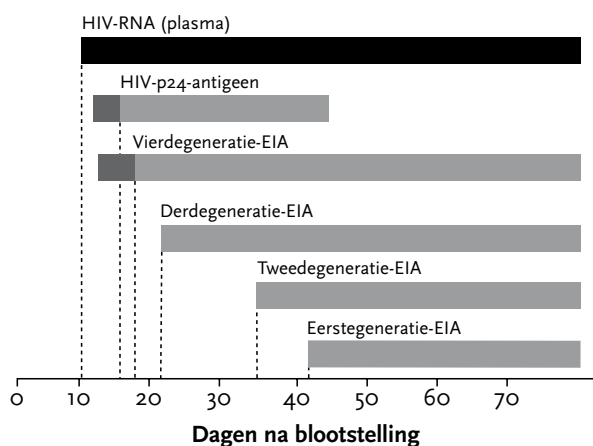
dalen tot een bepaalde set-point. De hoogte van deze set-point is gecorreleerd met de snelheid waarmee ziekteprogressie verloopt en er uiteindelijk aids optreedt.

### HIV-diagnostiek: *state-of-the-art*

Ruim 20 jaar geleden werden de eerste enzym-immuunassays (EIA's) voor het aantonen van een HIV-infectie ontwikkeld. Sindsdien is de kwaliteit en gevoeligheid van de HIV-testen enorm verbeterd door het gebruik van recombinante antigenen en synthetische peptides (tweedegeneratietests), sandwich EIA's waarbij ook IgM werd opgepikt (derdegeneratie) en het toevoegen van HIV-O-specifieke antigenen. Met de komst van de vierdegeneratie EIA, waarbij naast antistoffen ook HIV-p24-antigeen wordt aangetoond, is de *windowfase*, de korte periode na besmetting waarin wel virus in het bloed aanwezig is maar nog geen antistoffen, nog verder gereduceerd (figuur 2).<sup>1,2,3</sup>

Figuur 2. Verkorting van de windowfase met de ontwikkeling van nieuwe HIV-testen. Het donkergrijs aan het begin van de balken van de vierdegeneratie HIV-test en de p24-antigeentest representeren de verkorting van de windowfase die kan worden bereikt met de meest gevoelige testen. EIA = enzymimmuunassay.

With permission of Future Drugs Ltd reproduced from Expert Rev Mol Diagn 2006;6(3): 399-411.<sup>1</sup>



### Antistoftesten en gecombineerde antistof-antigeentesten

In Nederland wordt gebruikgemaakt van derdegeneratie (alleen antistoffen) en vierdegeneratie (antistoffen + antigeen) HIV-testen. Daarnaast gebruiken sommige laboratoria een HIV-sneltest voor screening buiten kantooruren of bij citoprocedures. Ook deze sneltesten detecteren alleen antistoffen tegen HIV.

De bevestiging van een positieve uitslag is afhankelijk van de gebruikte test. Wanneer de screening wordt uitgevoerd met een HIV-antistoftest hoeft deze (bij een positieve

uitslag) in principe alleen te worden geconfirmeerd met een Western blot of immunoblot. Op deze manier wordt aangetoond of de gevonden antistofreactiviteit inderdaad specifiek tegen HIV-eiwitten is gericht. Bij gebruik van een gecombineerde antistof-antigeentest moet zowel een confirmatie op antistoffen als op HIV-antigeen worden gedaan, omdat bij de meeste gecombineerde testen geen onderscheid in reactiviteit kan worden gemaakt.<sup>1</sup> Antistofreactiviteit kan worden geconfirmeerd met een Western blot of immunoblot, de aanwezigheid van HIV-antigeen kan worden bevestigd met een p24-antigeen-EIA of door een HIV-1-RNA PCR.

Overigens is het verstandig om altijd om een tweede bloedafname te vragen nadat een patiënt HIV-positief is bevonden en hierop de screeningstest te herhalen. Hierdoor kan verwisseling van bloedmonsters worden uitgesloten.

### Western blot

Wanneer een positief gescreend bloedmonster wordt getest in de Western blot zijn drie uitslagen mogelijk: HIV-1- en/of -2-positief, HIV-1- en -2-negatief of HIV-dubieus. Een sample is HIV-1- of HIV-2-positief wanneer reactiviteit aantoonbaar is tegen gag-eiwit(ten) en pol-eiwit(ten) en beide env-eiwitten. Een sample is HIV-1- en -2-negatief wanneer tegen geen enkel HIV-eiwit antistoffen aantoonbaar zijn. Dit is mogelijk wanneer de reactiviteit in de screeningstest aspecifiek is (meestal is de uitslag van de screeningstest dan laagpositief) of wanneer de reactiviteit wordt veroorzaakt door het aantonen van p24-antigeen (bij de gecombineerde test). De Western blot is dubieus wanneer wel reactiviteit wordt gevonden maar niet tegen alle categorieën (gag, pol en env) HIV-eiwitten. Ook dit wordt gezien bij laagpositieve screeningstesten en hiermee is er dus geen bewijs voor een HIV-infectie. Wanneer op de Western blot echter alleen antistofreactiviteit tegen p24 en gp120 wordt gevonden, is dit een patroon dat specifiek is voor een acute of primaire HIV-infectie.

### HIV-RNA PCR

Wanneer de uitslag van de Western blot HIV-1- of -2-positief is of specifiek is voor een acute HIV-infectie, is de HIV-status van de patiënt duidelijk. Een HIV-RNA-test wordt dan gedaan voor het bepalen van de virale load. Hiervoor kan worden gebruikgemaakt van een target-amplificatietechniek (PCR of NASBA) of van een signaal-amplificatietechniek (bDNA).

Wanneer de uitslag van de Western blot negatief of dubieus is, kan uitsluitel over de HIV-status van de patiënt worden verkregen met een HIV-RNA-test of een p24-antigeen-EIA. Wanneer op HIV-RNA wordt getest is het belangrijk hiervoor een targetamplificatietechniek te gebruiken (PCR of NASBA). Bij gebruik van een signaal-amplificatietechniek (bDNA) is de kans op een laag-(vals-)



positieve uitslag namelijk groter, waardoor nog steeds geen uitsluitsel wordt verkregen of de patiënt ten onrechte als HIV-positief wordt beschouwd.

### HIV-1 vs HIV-2

Met de derde- en vierdegeneratie HIV-screeningstesten, als ook met de HIV-sneltesten, kunnen antistoffen tegen zowel HIV-1 (inclusief subtype O) als HIV-2 worden aangetoond. Bij een reactieve screening kan geen onderscheid worden gemaakt tussen HIV-1 en/of HIV-2. Tegen welk virus de antistoffen zijn gericht wordt duidelijk op de Western of immunoblot. Op de immunoblot (Innogenetics) zijn de envelop-eiwitten van HIV-1 (gp 120 en gp 41) en van HIV-2 (gp 125 en gp 36) aangebracht en daarnaast nog gag-eiwitten (p17 en p24) en pol-eiwitten (p31) van HIV-1. Als reactiviteit tegen de beide envelop-eiwitten van één of beide virussen wordt gevonden, is infectie met het betreffende virus bevestigd. De Western blot (Genelabs) kent aparte uitvoeringen van de test voor HIV-1 en HIV-2. Na een reactieve screening wordt standaard een HIV-1-Western blot ingezet, omdat het merendeel van de HIV-positieve personen is geïnfecteerd met HIV-1. De strips bevatten, naast alle gag-, pol- en envelop-eiwitten, een HIV-2-specifieke controle. Wanneer reactiviteit wordt gevonden tegen de HIV-2-controle moet de HIV-2-Western blot worden ingezet om vast te stellen of de reactiviteit berust op een echte HIV-2-infectie of op kruisreactiviteit van antistoffen gericht tegen HIV-1.

Bevestiging van een (acute) HIV-2-infectie met PCR kan niet met een commerciële test omdat deze alleen zijn gevalideerd voor en gericht tegen HIV-1. In het Erasmus MC (Rotterdam) is een PCR ontwikkeld voor specifieke detectie en kwantificering van HIV-2. Laboratoria uit heel Nederland sturen hun aanvragen voor HIV-2-PCR door naar Rotterdam.

### Valkuilen

#### De valspositieve HIV-test

Door de hoge sensitiviteit van de huidige screeningstesten komt het met enige regelmaat voor dat een laagpositieve uitslag wordt verkregen bij een patiënt bij wie niet wordt gedacht aan een HIV-infectie, maar die routinematig wordt gescreend voor een fertiliteitsprocedure, een nierdialyse of een keuring. Dit wordt met name gezien bij patiënten die hormoonbehandelingen krijgen of zwanger zijn, een auto-immuunstoornis of een leveraandoening hebben of een andere (acute) infectie doormaken. Valspositieve screeningstesten zijn daarnaast ook beschreven bij patiënten met nierfalen, bij hemodialyse of na recente vaccinatie tegen hepatitis-B, rabies en influenza.<sup>4,5</sup> Zoals hierboven beschreven geeft de Western blot vaak al uitsluitsel over de HIV-status van de betrokkene, maar zeker bij gebruik van een gecombineerde screeningstest is het noodzakelijk dat

reactiviteit tegen p24-antigeen wordt uitgesloten dan wel bevestigd en dat dit met de juiste test gebeurt.

Casus 1 beschrijft een *case report* van een positieve screeningstest bij een patiënte die niet behoort tot een hoogrisicogroep.<sup>6</sup> Deze casus illustreert dat de interpretatie van testuitslagen niet los kan worden gezien van de klinische context. Valspositieve EIA's hebben vrijwel altijd een lage waarde. En hoewel een EIA in principe niet kwantitatief is, hangt de positief-voorspellende waarde (PPV) van de test onder meer af van de hoogte van de testwaarde. De PPV van een laagreactieve EIA in een populatie met een laag risico op HIV-infectie is slechts twee procent, terwijl de PPV van een hoogreactieve testwaarde in een populatie met een hoog risico voor HIV 99 procent is.<sup>7</sup> Tot 20 procent van sera die positief zijn getest in de EIA geven een dubieuze Western blot.<sup>3,5</sup> In laagrisicopopulaties is de kans dat een dubieuze blot toch duidt op een HIV-infectie minder dan één procent, terwijl er in hoogrisicopopulaties een kans van 74 procent is gerapporteerd op seroconversie na een dubieuze blot.<sup>8</sup>

Op basis van deze gegevens moet een dubieuze blot bij een positieve EIA worden geïnterpreteerd als hoogstwaarschijnlijk *niet* passend bij een HIV-infectie bij een patiënt uit een laagrisicogroep, maar bij een patiënt uit een hoogrisicogroep als mogelijk *wel* passend bij een HIV-infectie. Aanvullende testen en/of follow-up zullen de diagnose verder uitsluiten of bevestigen.

Een dubieuze blot kan worden veroorzaakt door testen in de windowfase, en dat risico is groter bij patiënten uit hoogrisicogroepen. Een RNA-test kan mogelijk uitkomst bieden. HIV-virale-load-testen zijn echter bedoeld voor het monitoren van ziekteprogressie en respons op therapie. Wanneer een HIV-RNA-test wordt gebruikt voor het aantonen of uitsluiten van een HIV-infectie moet men bedacht zijn op vals-positiviteit, vooral bij de lagere virale loads (tot 1500 copieën/ml)<sup>9</sup> en indien wordt gebruikgemaakt van signaalamplificatie (bdNA-tests).

Valspositieve HIV-testen in zowel de EIA als de Western blot komen voor, maar zijn buitengewoon zeldzaam. Twee gevallen worden in de literatuur beschreven (casus 2 en 3), waarbij bij beide patiënten sprake was van herhaald positieve antistofstesten, maar de diagnose niet kon worden bevestigd door aanvullende testen.<sup>4,10</sup> Het niet matchen van resultaten met de patiënt (casus 2, onverwacht positieve antistofstesten bij een laagrisicopatiënt) of het niet in overeenstemming zijn van de testen met elkaar (casus 3, negatieve HIV-RNA-tests bij een hoogrisicopatiënt met EIA en blot passend bij seroconversie) waren redenen om verder te testen.

Met enige regelmaat komt het voor dat een valspositief resultaat is verkregen door een monsterverwisseling. Daarom is het van belang altijd een follow-upmonster te testen. Zorgvuldigheid met betrekking tot confirmatie en interpretatie van testresultaten kan foute diagnoses voorkomen.

### De valsnegatieve HIV-test

Bij routinematige screeningen zijn de meeste HIV-testen negatief. In principe kan de HIV-diagnostiek dan zonder verdere testen worden afgerond, maar het is wel van belang goed op aanvullende klinische informatie te letten. Wanneer alleen op HIV-antistoffen wordt gescreend (derdegeneratie-EIA of HIV-sneltest) is er een risico om acute HIV-infecties te missen als deze zich nog in de windowfase bevinden. Wanneer een patiënt symptomen heeft die kunnen passen bij een primaire HIV-infectie is het nodig om een HIV-PCR of een p24-antigeentest te doen. Als dit niet mogelijk is kan ook worden besloten de patiënt na korte tijd (één of enkele weken) opnieuw op HIV-antistoffen te testen.

Valsnegatieve uitslagen kunnen ook voorkomen bij patiënten die al een vergevorderde HIV-infectie hebben (*end-stage disease*). Het immuunsysteem is bij deze patiënten soms dusdanig verzwakt dat er nauwelijks nog antistoffen worden gemaakt, of de hoeveelheid virus in het bloed is zo hoog dat alle aanwezige antistoffen in het bloed worden gecompliceerd en daardoor niet kunnen worden aangetoond. Ook hierbij is het belangrijk op de klinische aanwijzingen en andere laboratoriumuitslagen te letten zoals HIV-specifieke opportunistische infecties of zeer lage CD4-aantallen en op geleide hiervan aanvullende HIV-diagnostiek in te zetten.

Een voorbeeld van een vals-negatieve antistoftest wordt beschreven in casus 4, bij een ernstig ziek kind van 11 maanden oud.<sup>11</sup> Een dergelijke snelle ziekteprogressie zonder antistofvorming is in de literatuur vaker beschreven bij volwassen patiënten,<sup>12,13</sup> en daarnaast kunnen antistoffen ook verdwijnen in het late stadium van aids. In beide gevallen is er waarschijnlijk sprake van een B-celdefect veroorzaakt door de HIV-infectie zodanig dat er geen antistoffen (meer) kunnen worden gevormd. Dit kan door een direct B-celdefect of door een disfunctie van T-cellen in de interactie met B-cellen worden veroorzaakt.<sup>11</sup> Wederom geldt dat de aanvullende informatie met betrekking tot de patiënt leidt tot verder testen en uiteindelijk tot de juiste diagnose.

Een recent geval uit de literatuur beschrijft een onverwachte bevinding bij het routinematig opnieuw screenen van een bekende positieve patiënt.<sup>14</sup> Het betreft een vierjarig kind met een (gedocumenteerde) perinatale HIV-infectie waarvoor het wordt behandeld en dat verwezen wordt naar een tertiair centrum, waar de HIV-screening routinematig opnieuw wordt verricht en negatief werd bevonden. Het betreft hier een zeer zeldzaam geval van een patiëntje dat seronegatief is geworden tijdens therapie, waarbij uit aanvullende tests bleek dat het kind wel degelijk was geïnfecteerd met HIV.

In het AMC is het beleid om een patiënt die niet bij ons bekend is, opnieuw te screenen, ook als de patiënt als 'HIV-positief' binnenkomt. Incidenteel blijkt dan toch

dat patiënten niet HIV-positief zijn. Meestal is er dan ook geen sprake van een gedocumenteerde HIV-infectie elders.

### Conclusie

Men moet oppassen voor al te grote stelligheid bij het stellen van de diagnose HIV-infectie, als nog niet aan alle voorwaarden is voldaan. Dit betekent dat een positieve EIA dient te zijn geconfirméerd en monsterverwisseling is uitgesloten; dit moet gebeuren met het testen van een tweede monster. Wanneer testuitslagen niet met elkaar in overeenstemming zijn of er worden onverwachte bevindingen gedaan, dienen er aanvullende testen te worden verricht net zolang totdat zekerheid wordt verkregen over de diagnose.

### Casus 1. Een ontorechte HIV-diagnose<sup>6</sup>

Een jonge gezonde Afro-Amerikaanse vrouw ondergaat een HIV-test vanwege persisterende koorts na een griepvaccinatie. De HIV-test blijkt positief. De patiënte is hierover zeer verbaasd en vraagt om herhaling. Weer wordt de test als positief afgegeven. De patiënte wordt, met de diagnose HIV-infectie, verwezen naar een aidsbehandelaar. Het blijkt te gaan om een positieve EIA (waardes worden niet vermeld), maar de Western blot is dubieus. De aidsbehandelaar bespreekt risicofactoren als drugsgebruik en seksueel gedrag met de patiënte en concludeert dat de patiënte niet tot de hoogrisicogroepen behoort. Volgens protocol worden de testen herhaald, en de eerdere bevindingen worden bevestigd. De aidsbehandelaar stelt de patiënte gerust: er is naar alle waarschijnlijkheid geen sprake van een HIV-infectie. Voor de zekerheid wordt afgesproken de HIV-test te herhalen na drie en zes maanden.

### Casus 2 en 3. Valspositieve antistoftesten, geen HIV-diagnose<sup>10,4</sup>

In een *case report* uit 1992 wordt melding gemaakt van een jongeman van 25 jaar, niet behorende tot een hoogrisicogroep, met vier positieve EIA's waarvan er twee worden bevestigd met een positieve Western blot en twee een dubieuze blot geven. PCR, p24-antigeentest en viruskweek blijven negatief en infectie met HIV kan niet worden aangetoond.

De andere casus betreft een 43-jarige man uit een hoogrisicogroep met initieel een positieve EIA met een dubieuze Western blot. Vervolgtesten laten een positieve EIA met een positieve blot zien, passend bij een hoog risico op seroconversie van een dubieuze blot bij een patiënt behorende tot een hoogrisicogroep. Echter, HIV-RNA is niet aantoonbaar. Bij hertesten blijkt de EIA zwak-positief en de Western blot laat alleen banden zien op gp160 en gp41 (beide envelopeiwitten). Bij follow-up blijven HIV-RNA en p24-antigeen ondetecteerbaar, en het aantal CD4-

T-cellen blijft normaal: de patiënt wordt gediagnosticeerd als niet met HIV geïnfecteerd.

#### Casus 4. Geen antistoffen aantoonbaar bij *full-blown aids*<sup>11</sup>

Een kind van 11 maanden wordt verwezen naar een academisch centrum met een klinisch beeld wijzend op een ernstige immuunstoornis met een sepsis door *Salmonella typhimurium*, een orale candidiasis, en verder anemie en *failure to thrive*. Een HIV-test was herhaald gedaan door het verwijzende centrum en negatief bevonden.

Inderdaad kunnen er met een derdegeneratie-EIA en aanvullend een Western blot geen antistoffen worden aangetoond. Omdat de verdenking hoog is gezien het klinisch beeld worden ook HIV-RNA en p24-antigeen bepaald en beide zijn aangetoond. Theoretisch zou het kind pas recent besmet kunnen zijn en dus nog in de windowfase kunnen verkeren, maar dat past niet bij het klinisch beeld. Behalve borstvoeding in de eerste zes weken waren er na geboorte geen andere risicofactoren voor een postnatale besmetting. Het kind is dus hoogstwaarschijnlijk geïnfecteerd geraakt door de moeder, bij de geboorte of ten hoogste tot zes weken daarna. De maternale antistoffen kunnen zijn verdwenen na elf maanden, maar het kind zou allang zelf antistoffen moeten hebben. Pas zes maanden na de start van antiretrovirale therapie zijn er voor het eerst antistoffen tegen HIV aantoonbaar bij dit patiëntje.

#### Summary

Over the past two decades, assays for HIV diagnosis have been improved. The enzyme immunoassay (EIA) and the Western blot are the primary tests for diagnosis and confirmation of HIV infection. Antigen detection and nucleic acid amplification are essential for diagnosis of primary HIV infection and therapy monitoring. In diagnosing HIV infection, false-positive or false-negative results are rare but do occur. In addition, misinterpretation of results or sample errors can lead to misdiagnosis of HIV infection. Pitfalls in HIV diagnostics are testing in the diagnostic window, a false-positive EIA in combination with an indeterminate Western blot, and false-negative test-results

in patients with clinical symptoms of AIDS. Test results that are inconsistent with each other or with the clinical picture should be interpreted with caution.

#### Literatuur

1. Weber B. Screening of HIV infection: role of molecular and immunological assays. *Expert Rev Mol Diagn* 2006;6(3):399-411.
2. Constantine NT, Zink H. HIV testing technologies after two decades of evolution. *Indian J Med Res* 2005;121(4):519-38.
3. Mylonakis E, Paliou M, Lally M, Flanigan TP, Rich JD. Laboratory testing for infection with the human immunodeficiency virus: established and novel approaches. *Review. Am J Med* 2000;109(7):568-76.
4. Mylonakis E, Paliou M, Greenbough TC, Flanigan TP, Letvin NL, Rich JD. Report of a false-positive HIV test result and the potential use of additional tests in establishing HIV serostatus. *Arch Intern Med* 2000;160(15):2386-8.
5. Silverstein DM, Aviles DH, Vehaskari VM. False-positive human immunodeficiency virus antibody test in a dialysis patient. *Pediatr Nephrol* 2004;19(5):547-9.
6. Ball SC. Understanding HIV test results. *AIDS Read* 2000;10(5):265-7.
7. Doran TI, Parra E. False-positive and indeterminate human immunodeficiency virus test results in pregnant women. *Arch Fam Med* 2000;9(9):924-9.
8. Rich JD, Dickinson BP, Spaulding A, Lafazia L, Flanigan TP. Interpretation of indeterminate HIV serology results in an incarcerated population. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1998;17(4):376-9.
9. Rich JD, Merriman NA, Mylonakis E, Greenough TC, Flanigan TP, Mady BJ, et al. Misdiagnosis of HIV infection by HIV-1 plasma viral load testing: a case series. *Ann Intern Med* 1999;130(1):37-9.
10. Louria DB, Denny T, Palumbo P, Rios M, Bianco C. An unusual case of false-positive serology for the human immunodeficiency virus: report from the heterosexual HIV transmission study. *Clin Infect Dis* 1992;15(4):707-9.
11. Fraaij PL, Van Rossum AM, Wolthers KC, Vossen AC, Jeucken YM, Kuijpers JH, et al. Initiation of highly active antiretroviral therapy leads to an HIV-specific immune response in a seronegative infant. *AIDS* 2003;17(1):138-40.
12. Martin-Rico P, Pedersen C, Skinhoj P, Nielsen C, Lindhardt BO. Rapid development of AIDS in an HIV-1-antibody-negative homosexual man. *AIDS* 1995;9(1):95-6.
13. Michael NL, Brown AE, Voigt RF, Frankel SS, Mascola JR, Brothers KS, et al. Rapid disease progression without seroconversion following primary human immunodeficiency virus type 1 infection--evidence for highly susceptible human hosts. *J Infect Dis* 1997;175(6):1352-9.
14. Desai N, Mathur M, Abu-Lawi K. HIV-1 seronegativity in a child with proved perinatal HIV infection on HAART. *Sex Transm Infect* 2005;81(5):377-9.

# Antiretrovirale resistentietesten: theorie en praktijk vanuit het klinisch virologisch laboratorium

M. Schutten

## Samenvatting

Er is inmiddels al tien jaar ervaring met *highly active antiretroviral therapy* (HAART), tegenwoordig ook wel gewoon antiretrovirale therapie (ART) genoemd. In die jaren is er ook een enorme hoeveelheid kennis opgedaan over hoe om te gaan met antiretrovirale resistentie. Het bepalen van antiretrovirale resistentie is verworden tot een vrij simpele (maar nog wel dure en tijdrovende) bepaling dat ieder diagnostisch-virologisch laboratorium in principe kan uitvoeren. Kennis van een aantal zaken zoals onder andere mechanismen en epidemiologie van resistentie, wanneer en bij welke patiënten toepassen, hoe moet de aanwezige resistentie worden vertaald in een werkzaam salvage-therapie, bepalen echter uiteindelijk de juiste implementatie van resistentieanalyse in de management van een patiënt. Dit review-artikel zal een aantal van deze zaken behandelen vanuit het perspectief van het klinisch-virologisch laboratorium.

**Trefwoorden:** Antiretrovirale resistentie, resistentietest

## Basisprincipes van resistentieontwikkeling

Sinds de introductie van het eerste geregistreerde antiretrovirale middel met bewezen activiteit tegen HIV-1 (AZT, Retrovir®) in 1987, is er enorme vooruitgang geboekt op het gebied van behandeling van HIV-1. Inmiddels is er een ruime keuze aan geregistreerde antiretrovirale middelen die in staat zijn om de hoeveelheid HIV-1 in het perifere bloed van geïnfecteerde patiënten te reduceren. De huidige geregistreerde middelen kunnen worden onderverdeeld in vier klassen: de nucleoside analogooreverse transcriptaseremmers (NRTI's), niet-nucleoside analogooreverse transcriptaseremmers (NNRTI's), proteaseremmers (PI's) en fusieremmers. Daarnaast zijn co-receptorremmers en één integraseremmer vrij ver in het ontwikkelingsproces. Met behulp van een juiste combinatie van antiretrovirale middelen kan de replicatie dermate efficiënt worden gereduceerd dat er geen virus meer aantoonbaar is in het plasma van geïnfecteerde patiënten. Door de onder-

drukking van virusrelicatie is het immuunsysteem weer in staat kwantitatief en kwalitatief te verbeteren.<sup>1</sup> Helaas is volledige eradicatie van het virus uit het lichaam van een geïnfecteerde patiënt niet mogelijk waardoor levenslange behandeling waarschijnlijk noodzakelijk is. Wellicht de belangrijkste vereiste voor het succes van antiretrovirale behandeling is compliance.<sup>2</sup> Indien niet alle middelen uit de voorgeschreven cocktail op tijd en/of met de juiste dieetrestricties worden genomen, kunnen de plasmaspiegels van de antiretrovirale middelen te laag worden om de replicatie van het virus te remmen. Als het virus replicateert in de aanwezigheid van een (te) lage hoeveelheid antiretroviraal middel kan HIV-resistentie zich ontwikkelen. Gezien de hoge productie ( $10^{10}$  virale partikels per dag), korte generatietijd (tijd van infectie van een cel tot infectie van een cel door *progeny*-virus, 2,6 dagen), korte halfwaardetijd van geïnfecteerde cellen (1,6 dagen) en het hoge aantal misincorporaties door HIV-1-reverse transcriptase (één foute base per generatie per genoom) is het waarschijnlijk dat iedere mogelijke mutatie in het HIV-1-genoom dagelijks plaatsvindt.<sup>3</sup> Een bijkomende complicatie voor succesvolle langdurige antiretrovirale behandeling is de archivering van mutantvirussen. Een variant die jarenlang succesvol is onderdrukt en zelfs met de gevoeligste technieken niet aantoonbaar is, kan binnen enkele weken uitgroeien tot de dominante stam bij verandering van omstandigheden zoals starten of stoppen van een antiretroviraal middel.<sup>4</sup> Of een mutant binnen het enorme aantal aanwezige varianten aanwezig bij een geïnfecteerd individu (de zogenaamde quasi-speciesdistributie) uitgroeit tot een dominante stam is afhankelijk van de fitheid van de mutant onder de dan geldende omstandigheden. Door de jarenlange adaptatie van het virus in de afwezigheid van antiretrovirale behandeling gedurende de asymptomatische fase is het

Dr. M. Schutten, Erasmus MC, afdeling Virologie, kamer L355,  
's-Gravendijkwal 230, 3015 CE Rotterdam,  
e-mail: m.schutten@erasmusmc.nl

zogenaamde wild-typevirus (de dominante stam in een individu zonder antiretrovirale behandeling) vrijwel altijd fitter in de afwezigheid van antiretrovirale therapie dan mutanten die kunnen ontstaan als gevolg van inadequate antiretrovirale behandeling.<sup>4</sup> Het is daarom ook van belang dat antiretrovirale resistentie bij een patiënt die faalt op therapie wordt bepaald op een monster dat is afgenomen op het moment dat de patiënt de antiretrovirale middelen nog slikt. De kans dat alleen wild-typevirus wordt aangetoond ondanks de aanwezigheid van significante resistentie is anders te groot. Bij langdurig falen van een bepaald regime kunnen additionele mutaties in het virale genoom worden geselecteerd waardoor de fitheid van de resistente stammen weer grotendeels wordt hersteld. Deze mutaties worden ook wel secundaire resistentiemutaties genoemd.<sup>5</sup>

Afhankelijk van de onderzoekspopulatie is een significant percentage van de nieuw in de kliniek presenterende patiënten die geen antiretrovirale therapie hebben gehad, geïnfecteerd met een resistente stam doordat zij geïnfecteerd zijn door een patiënt die faalt op therapie (vijf tot procent in Nederland tegen meer dan 20 procent in sommige Amerikaanse onderzoeken).<sup>1,6,7</sup> Aangezien per accident slechts enkele infectieuze viruspartikels worden overgedragen is er bij een dergelijke patiënt zelden naast de resistente stam ook een wild-typevirus aanwezig vanaf het moment van infectie. Hierdoor kan een resistente mutant waarbij meerdere mutaties aanwezig zijn die leiden tot resistentie, heel lang aantoonbaar zijn.<sup>8</sup> Met name resistente stammen waarbij intermediaire mutanten tot het ontstaan van wild-typevirus een verlaagde fitness hebben, kunnen lang aantoonbaar blijven. Volledig resistente stammen daarentegen waarbij slechts één of enkele resistentiegeassocieerde mutaties aanwezig zijn kunnen vrij snel terug muteren tot wild-type.<sup>9</sup> Dergelijke mutaties worden in toenemende mate gezien door steeds frequenter gebruik van middelen die deze mutaties induceren (respectievelijk Tenofovir® (K65R), lamivudine/emtricitabine (M184V/I en efavirenz/Nevirapine® (o.a. K103N)). Hiermee dient rekening te worden gehouden bij het interpreteren en het aanvragen van primaire resistentieanalyses.

#### **Redenen om resistentie te bepalen bij een HIV-1-geïnfecteerd individu**

De belangrijkste reden om het resistentieprofiel van een patiënt bij wie therapie faalt te bepalen is, dat het niet op voorhand te voorspellen is of een resistente virusstam wordt geselecteerd en welke mutaties zich hebben ontwikkeld. De belangrijkste reden van falen van antiretrovirale therapie is namelijk volledig niet slikken van de medicijnen uit het regime.<sup>10</sup> Dit wordt door de patiënt vaak niet gemeld aan het behandelteam. Doordat deze patiënten te lage medicijnspiegels hebben om het wild-typevirus te onderdrukken zal geen resistente stam worden geselecteerd en gemeten. Het bepalen van resistentie zal bij deze patiënten dus ook

niet bijdragen aan het samenstellen van een nieuw nog wel werkzaam regime. Een bijkomend probleem bij het samenstellen van een zogenaamd 'salvage-regime' (nota bene een combinatie van antiretrovirale middelen die bij juist gebruik in staat moet zijn om na antiretroviraal therapiefalen het virus weer efficiënt te onderdrukken) is kruisresistentie. Met name in de klasse van de NNRTI's kan één mutatie ontstaan door falen op één van de NNRTI's volledige resistentie geven tegen de andere middelen uit dezelfde klasse. Door deze extensieve kruisresistentie wordt in de praktijk zelden na virologisch falen op één NNRTI een andere NNRTI gebruikt in het salvage-regime. Op dit moment zijn er NNRTI's in ontwikkeling die nog wel actief zijn tegen de meest voorkomende NNRTI-resistente mutanten. Het klinisch nut van deze NNRTI's dient echter nog te worden bepaald.<sup>11,12</sup>

In de klasse van PI's is het probleem van kruisresistentie minder groot maar wel aanwezig. Reden hiervoor is dat voor significante resistentie tegen de huidige generatie PI's veel meer dan één of twee mutaties noodzakelijk zijn. Daarnaast vindt bij het falen van een PI-bevattend regime vaak geen resistentieselectie plaats.<sup>13</sup> Er zijn diverse verklaringen voor dit fenomeen. Wellicht de meest waarschijnlijke verklaring is het feit dat voor een significante toename in resistentie tegen deze PI's meerdere mutaties noodzakelijk zijn. De kans dat één mutatie reeds als gearriveerd virus aanwezig is, is vrij groot. De kans echter dat een mutant met meer dan vijf mutaties die noodzakelijk zijn voor significante resistentie reeds aanwezig is, is zeer gering. Recent is een volledig nieuw mechanisme voor resistentie tegen PI's beschreven waarbij één mutatie in de knipplaats voor protease, resistentie kan geven tegen zowel eerste- als tweedegeneratie PI's. In hoeverre dit mechanisme van resistentie veel voorkomt en of dergelijke mutaties klinische significante resistentie geven, dient nog verder te worden onderzocht.<sup>14</sup>

In de klasse van de NRTI's zijn twee resistentiemechanismen beschreven.<sup>15</sup> Ten eerste kan een mutatie zorgen voor een preferentiële inbouw van de natuurlijke nucleotide in plaats van de NRTI. Dit mechanisme van resistentie is voornamelijk gebaseerd op verschillen in de structuur van de nucleosideanaloog ten opzichte van de nucleotide waardoor discriminatie op basis van de vorm van de nucleotide plaatsvindt. Dit mechanisme is daardoor vaak specifiek voor een aantal NRTI's met vergelijkbare structuur en geeft dus relatief weinig kruisresistentie. De M184V-mutatie is hiervan een goed voorbeeld, hoewel deze mutatie wel significante invloed heeft op het functioneren van reverse transcriptase (RT) omdat deze mutatie in de actieve site van het enzym is. Ten tweede kan een set aan mutaties zorgen voor een verhoogde excisie van de blokkerende NRTI aan de 3' terminus van de primer. Dit mechanisme heet ook wel *primer unblocking*. De thymidineanalogen AZT en D4T selecteren voor mutaties

die via dit mechanisme resistentie veroorzaken. Deze set van mutaties heet dan ook wel thymidineanaloogmutaties oftewel TAM's. Deze mutaties geven in meer of mindere mate resistentie tegen alle andere NRTI's behalve 3TC.

Gezien deze overwegingen is genotypering na falen van therapie geïndiceerd.<sup>16</sup> Klinische trials, uitgevoerd in de periode dat genotypering in opkomst kwam, hebben aangetoond dat de kennis van het resistentiepatroon van het virus van een patiënt bij wie therapie faalt, nauwelijks iets bijdraagt aan het succes van een salvage-regime bij eerstelijnsfalen.<sup>17-20</sup> Pas bij falen van het tweede regime droeg genotypering bij aan het succes van het volgende regime. Gezien het toegenomen aantal antiretrovirale middelen en de toegenomen kennis op het gebied van resistentieontwikkeling is het waarschijnlijk dat tegenwoordig pas bij derde- of zelfs vierdelijnsfalen, genotyperen een significante bijdrage levert aan het succes van een salvage-regime. Aangezien tegenwoordig behandeling wordt geïnitieerd voor de rest van het leven van een patiënt en plasmasamples in de meeste microbiologische laboratoria maar een beperkt aantal jaar worden bewaard, is het echter wel verstandig om bij eerstelijnsfalen te genotyperen zodat de gegevens kunnen worden gearchiveerd. Zoals reeds vermeld zijn tegenwoordig een significant percentage van de nieuwe patiënten (in Nederland ongeveer zes tot 7,5 procent)<sup>21</sup> reeds geïnfecteerd met een resistente stam. De Nederlandse richtlijnen voor antiretrovirale behandeling adviseren om patiënten die zijn geïnfecteerd in Europa of in de Verenigde Staten voor starttherapie te genotyperen, omdat in deze regio's de transmissie van resistente stammen relatief hoog is. In hoeverre dit kosteneffectief is, is onduidelijk. Of Amerikaanse onderzoeken naar de kosteneffectiviteit van genotyperen voor starttherapie direct toepasbaar zijn op de Nederlandse situatie is niet onderzocht.<sup>22</sup> Daarnaast is er bij de berekening van de kosteneffectiviteit in dergelijke onderzoeken vanuit gegaan dat kennis van ieder resistentieprofiel direct bijdraagt aan betere behandeling. Een hoog percentage van de op dit moment gevonden resistentieprofielen zijn echter enkele mutaties waarbij veel artsen geen noodzaak zien om af te wijken van het standaardregime.<sup>23</sup> Van de overgebleven resistente patiënten is een significant aantal resistent tegen drie klassen antiretrovirale middelen.<sup>21</sup> De extra schade die falen van een eerstelijnsregime teweegbrengt is bij deze patiënten daarom vaak minimaal. Tevens is het al dan niet nemen van een beslissing ten aanzien van het resistentieprofiel sterk afhankelijk van de behandelend arts.

Deze overwegingen geven aan dat voor start het genotyperen in overleg met de behandelend arts dient te worden uitgevoerd. Gezien de toenemende mate waarin de K103N-mutatie (NNRTI-resistentiemutatie) wordt gezien (mondelijke correspondentie Dr. A. Wensing), het toenemend gebruik van NNRTI's in Afrika en het feit dat NNRTI-mutaties snel niet meer aantoonbaar kunnen zijn na primaire infectie, is het wellicht zinniger om in de nabije

toekomst een eerstelijnsregime met een hoge barrière voor resistentieontwikkeling te kiezen dan uitgebreid te blijven 'sequenzen' voor start van de therapie.

#### Methoden voor het bepalen van antiretrovirale resistentie

Er zijn twee manieren om antiretrovirale resistentie te bepalen:

ten eerste de klassieke fenotyperingsmethoden waarbij het virus van een patiënt in een oplopende concentratie van het antiretrovirale middel wordt gekweekt. De concentratie waarbij het virus voor 50 of 90 procent wordt geremd (respectievelijk de IC<sub>50</sub> en IC<sub>90</sub>) neemt men dan als maat voor de activiteit van het middel tegen het virus, en ten tweede kan de nucleotidesequentie en daarmee de voorspelde aminozuursequentie van het virus worden bepaald. Op basis van deze voorspelde aminozuursequentie kan dan met behulp van regelgebaseerde algoritmes het fenotype van het virus worden voorspeld. Dit zijn de zogenaamde genotyperingstesten.

#### Fenotyperingstesten

Het is in principe mogelijk om virus van geïnfecteerde patiënten te kweken uit perifere bloedmononucleaire cellen (PBMC). Hierbij worden patiënt-PBMC *in-vitro*-gestimuleerd in kweek gebracht samen met gestimuleerde PBMC van HIV-negatieve donoren als *feeder*-cellen. Hierdoor wordt HIV-1-replicatie geïnduceerd vanuit het proviraal DNA aanwezig in de CD4<sup>+</sup> cellen van de patiënt. Nadeel van deze techniek is dat het zeer arbeidsintensief en tijdrovend is. Daarnaast is aangetoond dat veranderingen in proviraal DNA-sequenties enige maanden achterloopt bij celvrij viraal RNA-sequenties.<sup>24,25</sup> Om dus informatie te verkrijgen over het op dat moment aanwezige replicerende virus dient dus het celvrij plasmavirus te worden gekweekt. Dit is echter niet altijd mogelijk en indien succesvol zo mogelijk nog tijdrovender dan het in kweek brengen van virus aanwezig als provirus. Daarom wordt tegenwoordig een zogenaamde recombinant virustest (RVA) uitgevoerd.<sup>26</sup> Hierbij wordt gebruikgemaakt van een volledig replicatiecompetente moleculaire kloon van HIV-1 waaruit het protease en RT is gehaald, waardoor de kloon niet meer replicatiecompetent is. Deze moleculaire kloon wordt vervolgens samen met een protease+RT RT-PCR-product van de patiënt in kwestie geïntroduceerd in HIV-1-permissieve cellen. Door homologe recombinatie tussen de moleculaire kloon en het protease+RT RT-PCR-product zal een replicatiecompetent virus ontstaan met het protease- en RT-gen van de patiënt. Met behulp van dit virus kan de IC<sub>50</sub> en/of de IC<sub>90</sub> ten opzichte van protease- en RT-remmers worden bepaald. Voor het bepalen van de mate van resistentie wordt de FC oftewel de *Fold Change* berekend. Dit is in feite niets anders dan de IC<sub>50</sub> van de patiënt gedeeld door de IC<sub>50</sub> van wildtype/niet-resistent virus. Als het virus van de patiënt dus resistent is, is de FC significant hoger dan één, gevoelig gelijk aan één en gevoeliger dan normaal is kleiner dan één.

De meest recente interpretatiealgoritmes van bedrijven die deze testen op commerciële basis aanbieden (zoals Virco en Monogram Biosciences) hebben tevens een biologische en klinische cut-off.<sup>27,28</sup> Hierbij is de biologische cut-off de FC-waarde waarbij een virus *in vitro* resistent kan worden genoemd. Per antiretrovirale drug is dit dus afhankelijk van de grenzen waarbinnen de normaal (lees niet-resistente) waarden liggen. De klinische cut-off is de FC-waarde waarbij een verminderde remming van HIV-1-replicatie *in vivo* mag worden verwacht. Hoewel deze cut-offs niet alle problemen van fenotyperingstesten oplossen, zijn ze toch een significante verbetering in de vertaling van de verkregen IC<sub>50</sub> naar bruikbaarheid van antiretrovirale middelen in de kliniek.

#### Nadelen en voordelen van fenotyperingstesten

Een min of meer theoretisch nadeel van fenotyperingstesten is dat tijdens het opgroeien van het recombinant-virus mogelijk aanwezige resistente stammen worden overgroeid door niet-resistente stammen, omdat deze vaak meer fit zijn in de afwezigheid van antiretrovirale middelen.<sup>5</sup> De huidige versies fenotyperingstesten maken echter gebruik van recombinantvirussen waar *green fluorescent protein* in is gekloneerd, waardoor maar één infectieronde nodig is voor de test. Dit heeft als voordeel dat de test niet alleen sneller is uit te voeren, maar ook dat overgroeiing door niet-resistente stammen geen probleem meer is. Hoewel een fenotyperingstest bij de commerciële aanbieders nog steeds meer tijd vergt dan een genotyperingstest is de tijdsduur van aanvraag tot uitslag in de praktijk zelden een onoverkomelijk probleem. Een serieus nadeel van fenotyperingstesten is dat potentieel aanwezige resistentie niet wordt gemeten. Voorbeelden hiervan zijn terug-mutaties en compensatoire mutaties. Als een resistent virus terugmuteert naar wild-type, ontstaan soms intermediaire mutaties – ook wel terug-mutaties genoemd – die zelf geen resistentie geven maar wel een aanwijzing zijn dat de patiënt geïnfecteerd is geweest met een resistente stam. Een voorbeeld van een dergelijke mutatie is het terugmuteren op positie 215 van een resistente AZT-resistente stam (TTC (fenylalanine) of TAC (tyrosine)) via een niet-AZT-resistente intermediair (TCC (serine)) naar wild-type (ACC (threonine)). Een voorbeeld van een compensatoire mutatie is de 3TC/FTC-geïnduceerde mutatie M184V. Resistentie veroorzaakt door TAM's wordt gedeeltelijk opgeheven als deze mutatie aanwezig is. Hierdoor wordt in een fenotypische resistentietest TAM-resistentie in aanwezigheid van M184V sterk verminderd. In sommige gevallen is het wel wenselijk om te weten dat de TAM-geïnduceerde resistentie in potentie aanwezig is. Een serieus nadeel is de prijs die over het algemeen twee à drie keer hoger is dan voor de meeste genotyperingstesten. Het belangrijkste voordeel van fenotyperingstesten is dat ze bij zeer uitgebreide resistentiepatronen interacties tussen mutaties kunnen meten die moeilijk

zijn te voorspellen op basis van de voorspelde aminozuursequentie. Fenotyperingstesten worden dan ook door de meeste behandelteams pas overwogen bij patiënten die door meerdere keren virologisch falen zeer uitgebreide genotypische resistentieprofielen hebben.

#### Genotyperingstesten

Door de enorme hoeveelheid kennis op het gebied van mutaties die resistentie induceren, kan op basis van de voorspelde aminozuursamenstelling van het virus van een patiënt een redelijk goede inschatting worden gemaakt van het vermogen van antiretrovirale middelen om virusreproductie te remmen. Er zijn in principe twee manieren om de voorspelde aminozuursamenstelling van het virus van een patiënt te bepalen. De meestgebruikte methode is het bepalen van de volledige voorspelde aminozuursamenstelling van de eiwitten waartegen de antiretrovirale middelen die de patiënt neemt, zijn gericht. Met deze methode wordt echter veel klinisch grotendeels overbodige informatie verzameld aangezien kennis van de aminozuursamenstelling op een beperkt aantal plaatsen voldoende is. Er zijn dan ook een aantal methodes ontwikkeld die de voorspelde aminozuursamenstelling op een beperkt aantal plaatsen meet.

#### Genotyperen door nucleotidesequenties

De nucleotidesequentie van de HIV-1-protease en reverse transcriptase-genen kan worden bepaald met behulp van *in house*-ontwikkelde testen of commercieel verkrijgbare testen. Voor de meeste laboratoria is de keuze tussen deze twee opties vrij simpel aangezien *in house*-ontwikkelde testen heel veel expertise vragen om uit te voeren. Daarnaast kost het invoeren en draaiendhouden van dergelijke testen dermate veel inspanning dat eigenlijk alleen laboratoria met een redelijk hoog aantal genotyperingsaanvragen dit overwegen. Gezien het CTG-tarief en de aanschafkosten van de commercieel verkrijgbare testen zijn *in house*-ontwikkelde testen echter wel aantrekkelijk vanuit kosten/batenperspectief. Daarnaast scoren *in house*-ontwikkelde testen over het algemeen redelijk goed in kwaliteitsrondzendingen. Er zijn twee door de *US Food and Drug Administration* (FDA) en *Conformité Européenne* (CE) goedgekeurde testen voor het bepalen van genotypische resistentie bij HIV-1. Dit zijn de Trugene-test ontwikkeld door *Visible Genetics Inc* en tegenwoordig op de markt gebracht door Bayer Diagnostics en de Viroseq-test ontwikkeld door *Applied Biosystems* en nu verkocht door Abbott Diagnostics. De belangrijkste eigenschappen van beide systemen zijn in *tabel 1* weergegeven. Beide systemen sequencen de belangrijkste delen van de protease- en RT-genen, hoewel de Trugene-test a.a. 1-4 van protease en 1-38 en 248-334 ten opzichte van de Viroseq-test mist. Hier liggen echter geen primaire resistentiegeassocieerde mutaties (RAM's). Een belangrijk verschil tussen beide systemen is de apparatuur die is benodigd om de test volgens protocol uit te voeren. Hierbij moet echter wel

Tabel 1.

	VIROSEQ-PROCEDURE	TRUGENE-PROCEDURE
RNA-isolatie	Ultracentrifugatie van 500 µl plasma + isopropanol-isolatie	Qiagen-kolomisolatie van 140 µl plasma
RT-PCR	Twee enzymen in 2-staps reactie met UNG contaminatie controle	Twee enzymen in eenstapsreactie
Sequentiereactie	Opzuiveren PCR-product Schatten concentratie op agarose-gel <i>Big dye terminator</i> -sequentiereactie 6 primers = 6 reacties per patiënt Protease a.a. 1-99, RT 1-334 (vanaf a.a. 315 enkelstrengs)	Geen PCR-producthandelingen voor sequentiereactie  <i>CLIP dye primer</i> -sequentiereactie 3 primer sets + 4 terminators = 12 reacties per patiënt Protease a.a. 4-99, RT a.a. 38-247
Sequentiebepaling + analyse	In principe elk sequentieapparaat met MacIntosh OS/ Windows NT <i>operatings</i> stelsysteem In praktijk meestal capillaire sequencer	In principe elk sequentieapparaat met MacIntosh OS <i>operatings</i> stelsysteem In praktijk meestal het Opengene slabgel-systeem
Doorlooptijd	Theoretisch: 17,5 uur voor 2 patiënten met 16 capillair sequencer In praktijk: 2 dagen voor 2 patiënten tot 3 dagen voor 12 patiënten	Theoretisch: 12 uur voor 2 patiënten op Opengene systeem In praktijk: 1,5 dag voor 2 patiënten tot 2 dagen voor 8 patiënten

worden aangetekend dat bij voldoende validatie in het lab hiervan afgeweken kan worden als apparatuur een onoverkomelijk probleem mocht zijn. Voor nucleïnezuurextractie is een ultracentrifugatiestap (60 min. 25.000xg) noodzakelijk bij de Viroseq-test, terwijl de Trugene isoleert met een systeem gebaseerd op Qiagen's *QIAamp Viral RNA kit*. De Viroseq-test is echter over het algemeen iets sensitiever hetgeen kan worden opgelost door, zoals beschreven in de bijsluiters van de Trugene-test, een ultracentrifugatiestap (60 minuten 25.000xg) voor de extractie in te bouwen. In principe kunnen voor beide systemen met isolatie van grotere volumina, ultrasensitieve protocollen worden gecreëerd die geschikt zijn voor amplificatie van enkele genoomequivalenten per milliliter plasma. In de klinische praktijk zijn dergelijke testen echter zelden tot nooit noodzakelijk. Een belangrijk verschil tussen beide systemen is de UNG contaminatiecontrole ingebouwd in de Viroseq-test. Met name voor laboratoria met hoge *throughput* aan (RT-)PCR-testen kan dit van doorslaggevend belang zijn bij de keuze van een systeem. Voor de sequentiereactie wordt bij de Trugene-test gebruikgemaakt van *CLIP Dye Primer*-chemie en bij de Viroseq van de *ABI Big Dye Terminator*-chemie. Hoewel de *Big Dye Terminator*-chemie in theorie robuuster is dan de *CLIP Dye Primer*-chemie zijn in de praktijk de verschillen verwaarloosbaar bij uitgebreide vergelijkingen tussen beide systemen.<sup>29-33</sup> Een belangrijk nadeel van de Trugene-test is dat de voor het sequencen benodigde programmatuur alleen verkrijgbaar is voor Macintosh-OS-systemen. In de praktijk zou het er dus op neer komen dat als een laboratorium kiest voor de Trugene-test de leverancier Bayer Diagnostics ook het *Opengene Slabgel Sequence*-systeem bijlevert.

Bij beide systemen wordt interpretatiesoftware bijgeleverd om de fenotypische resistentie te voorspellen op basis van de gevonden mutaties. Deze software wordt regelmatig geüpdated door expertpanels. Daarnaast is het mogelijk om via gratis en via betaalde internetsites additionele interpretatie te verkrijgen. Veel gebruikte op regels gebaseerde algoritmes zijn ANRS, Rega en Stanford, alle in het Engels te bereiken via de *Stanford homepage* (<http://hivdb6.stanford.edu/index.html>). Tevens kan op commerciële basis een virtuele fenotypering worden aangevraagd bij Virco BVBA ([www.vircolab.com](http://www.vircolab.com)) en op niet commerciële basis een geno-2-fenoclassificatie of regressie ([www.geno2pheno.org](http://www.geno2pheno.org)). Een uitgebreide uitleg over de voor- en nadelen van de hiergenoemde interpretatiealgoritmes valt buiten dit reviewartikel. Voor verdere informatie kan men elders terecht.<sup>34</sup>

#### Genotypering door middel van puntmutatieanalyse

Er zijn meerdere testen ontwikkeld die de voorspelde aminozuursamenstelling op posities die geassocieerd zijn met antiretrovirale resistentie, bepalen en niet op de andere posities in het virale genoom. Dit zijn onder andere de Lineprobe-test (Lipa), ontwikkeld door Innogenetics, en Genechip-test ontwikkeld door Affymetrix. Tevens zijn er voor specifieke mutaties ook mogelijkheden om met behulp van zogenaamde real-time RT-PCR-technologie mutatie-analysetesten te ontwikkelen, zoals de LigAmp ontwikkeld voor de K103N-mutatie. Vrijwel al deze systemen werken met oligonucleotiden die al dan niet hybridiseren met een RT-PCR-product afhankelijk van de nucleotidesequentie. Hybridisatie kan dan vervolgens worden aangetoond met een chemische reactie (Lipa) of fluoriserende probes (Genechip en real-time RT-PCR's). Hybridisatie kan echter ook worden



beïnvloed door mutaties rond de positie van interesse. Dit is gezien de hoge variabiliteit van HIV-1 de belangrijkste reden dat deze testen niet worden gebruikt in klinisch-diagnostische setting.<sup>23,35</sup> Door de hoge variatie van HIV-1 zijn deze testen over het algemeen heel onbetrouwbaar, met name voor niet-subtype-B HIV-1-varianten. Een belangrijk voordeel is echter de zeer hoge gevoeligheid.<sup>36,37</sup> Gewone sequentietechnologie kan een variant die minder dan 20 procent uitmaakt van de totale viruspopulatie, niet meer aantonen. De LIPA en Genechip kunnen varianten die één tot tien procent en Ligamp tot 0,1 procent van de quasi-speciespopulatie uitmaken, nog aantonen.

#### *Nadelen en voordelen van genotyperingstesten*

Genotyperingstesten hebben een aantal nadelen ten opzichte van fenotyperingstesten. Ten eerste, naarmate het aantal resistentiemutaties toeneemt wordt het fenotype van een resistente stam door mogelijke interacties tussen mutaties steeds moeilijker te voorspellen. Daarom wordt door veel experts pas fenotyperingstesten overwogen als een patiënt uitgebreid is voorbehandeld en gegenotypeerd. Ten tweede kunnen er in principe resistentiemutaties in het virale genoom aanwezig zijn die niet eerder bewezen geassocieerd zijn met resistentie. Gezien de enorme hoeveelheid aanwezige gegevens over resistentiegeassocieerde mutaties is de kans hierop echter bijzonder klein. Voor relatief nieuwe antiretrovirale middelen is dit echter nog wel mogelijk. Ten derde is er vrij dure apparatuur nodig die slechts door hooggekwalificeerd personeel is te bedienen. Een belangrijk voordeel van genotyperingstesten is dat deze testen makkelijk, snel en relatief goedkoop (ten opzichte van fenotyperingstesten) zijn uit te voeren. Dit brengt mogelijk echter ook een serieus probleem met zich mee. Meerdere onderzoeken hebben namelijk aangetoond dat genotypering van antiretrovirale resistentie alleen bijdraagt aan een betere response op het salvage-regime indien de uitslag van de test wordt begeleid door advies van een expert.<sup>17</sup> Verkrijgen van deze expertise – hetzij door de HIV-behandelaar, hetzij bij het virologisch/microbiologisch laboratorium – vergt heel veel tijd en geld. Als echter in een centrum wordt geïnvesteerd in het uitvoeren van de test en niet in het verkrijgen van de expertise, benodigd voor het juist interpreteren van het resistentieprofiel, bestaat de mogelijkheid dat het nut van genotypering bij patiënten bij wie antiretrovirale therapie faalt, beperkt is.

#### **Aanbevelingen voor de praktijk**

- Bij de implementatie in een behandelcentrum van genotypering van antiretrovirale resistentie voor therapie advies dient serieus aandacht besteed te worden aan het verkrijgen van de nodige expertise voor de interpretatie en vertaling van een resistentie profiel naar een bruikbaar salvage-regime.

- Gezien de Nederlandse richtlijnen waarbij geadviseerd wordt om voor start therapie bij homo-/biseksuele mannen te genotyperen en het toenemend gebruik van antiretrovirale middelen in derde wereld landen is het wellicht verstandig om in studie verband pre-therapie resistentie bij andere groepen HIV-1 positieve te bestuderen.
- Genotypering van antiretrovirale resistentie voor start therapie en bij virologisch falen van therapie, kan kosteneffectief zijn afhankelijk van de lokaal geldende omstandigheden.
- Bij patiënten met een uitgebreide behandel voorgeschiedenis en genotypisch resistentie profiel kan fenotypering van antiretrovirale resistentie een bijdrage leveren aan de effectiviteit van het salvage-regime.
- Bij therapie falen dient genotypering/fenotypering plaats te vinden op een monster afgenomen van de patiënt die op dat moment antiretrovirale middelen neemt.
- Bij het samenstellen van een salvage-regime is genotypering/fenotypering een (soms zeer beperkt) onderdeel en dient ook onder andere ook therapeutisch drug monitoring, behandel voorgeschiedenis, bijwerking profiel en sociale omstandigheden van de patiënt in het behandel advies meegenomen te worden.

#### **Interessante literatuur**

- Antiretroviral resistance in clinical practice. Editor: Geretti A-M., Mediscript Ltd, 2006, ISBN 0-9551669-0-X. Handig zakboekje met o.a. praktische uitleg en *case studies*.
- Antiviral Therapy, Volume 6, Supplement 3, International Medical Press, 2001. Handige reviewartikelen over onder andere resistentiemechanismen.
- Journal of Infectious Disease Volume 194, supplement 1, University of Chicago Press, 2006: Enkele leuke reviewartikelen, onder andere één van de *principal investigator* van de Stanford HIV Drug Resistance Database.

#### **Abstract**

There is now ten years of experience with highly active antiretroviral therapy (HAART) currently also simply known as antiretroviral therapy (ART). During these years an enormous amount of knowledge has been gathered on how to handle antiretroviral resistance. Determining antiretroviral resistance has become a relatively simple (but still time-consuming and expensive) assay that each diagnostic virology lab should be able to perform. Knowledge of a couple of related matters such as, mechanisms and epidemiology of resistance, when and with which patient to perform, how to translate existing resistance into a salvage therapy, eventually determine whether resistance analysis is correctly implemented into the management of HIV-1 infected individuals. The current review will deal with several of these matters from the perspective of the clinical diagnostic laboratory.

## Literatuur

1. Saag MS. The impact of highly active antiretroviral therapy on HIV-specific immune function. *AIDS* 2001;15(Suppl 2):S4-10.
2. Gross R, Yip B, Re VL III, Wood E, Alexander CS, Harrigan PR, et al. A simple, dynamic measure of antiretroviral therapy adherence predicts failure to maintain HIV-1 suppression. *J Infect Dis* 2006;194:1108-14.
3. Perelson AS, Neumann AU, Markowitz M, Leonard JM, Ho DD. HIV-1 dynamics in vivo: virion clearance rate, infected cell life-span, and viral generation time. *Science* 1996;271:1582-6.
4. Deeks SG, Grant RM, Wrin T, Paxinos EE, Liegler T, Hoh R, et al. Persistence of drug-resistant HIV-1 after a structured treatment interruption and its impact on treatment response. *AIDS* 2003;17:361-70.
5. Nijhuis M, Deeks S, Boucher C. Implications of antiretroviral resistance on viral fitness. *Curr Opin Infect Dis* 2001;14:23-8.
6. Wensing AM, Ven van de ..., Angarano G, Asjo B, Balotta C, Boeri E, et al. Prevalence of drug-resistant HIV-1 variants in untreated individuals in Europe: implications for clinical management. *J Infect Dis* 2005;192:958-66.
7. Shet A, Berry L, Mohri H, Mehandru S, Chung C, Kim A, et al. Tracking the prevalence of transmitted antiretroviral drug-resistant HIV-1: a decade of experience. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006;41:439-46.
8. Ghosn J, Pellegrin I, Goujard C, Deveau C, Viard JP, Galimand J, et al. HIV-1 resistant strains acquired at the time of primary infection massively fuel the cellular reservoir and persist for lengthy periods of time. *AIDS* 2006;20:159-70.
9. Eshleman SH, Mracna M, Guay LA, Deseyve M, Cunningham S, Mirochnick M, et al. Selection and fading of resistance mutations in women and infants receiving nevirapine to prevent HIV-1 vertical transmission (HIVNET 012). *AIDS* 2001;15:1951-7.
10. Gross R, Bilker WB, Friedman HM, Strom BL. Effect of adherence to newly initiated antiretroviral therapy on plasma viral load. *AIDS* 2001;15:2109-17.
11. Andries K, Azijn H, Thielemans T, Ludovici D, Kukla M, Heeres J, et al. TMC125, a novel next-generation non nucleoside reverse transcriptase inhibitor active against non nucleoside reverse transcriptase inhibitor-resistant human immunodeficiency virus type 1. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48:4680-6.
12. Boone LR. Next-generation HIV-1 non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Curr Opin Investig Drugs* 2006;7:128-35.
13. King MS, Brun SC, Kempf DJ. Relationship between adherence and the development of resistance in antiretroviral-naive, HIV-1-infected patients receiving lopinavir/ritonavir or nelfinavir. *J Infect Dis* 2005;191:2046-52.
14. Nijhuis M, Maarseveen NM van, Jong D de, Schipper P, Goedegebuure IW, Boucher CAB. Substitutions within Gag but outside the cleavage sites can cause protease inhibitor resistance. *Antivir Ther* 2006;11:S149.
15. Miller V, Larder BA. Mutational patterns in the HIV genome and cross-resistance following nucleoside and nucleotide analogue drug exposure. *Antivir Ther* 2001;6(Suppl 3):25-44.
16. Simcock M, Sendi P, Ledergerber B, Keller T, Schupbach J, Battegay M, et al. A longitudinal analysis of healthcare costs after treatment optimization following genotypic antiretroviral resistance testing: does resistance testing pay off? *Antivir Ther* 2006;11:305-14.
17. Tural C, Ruiz L, Holtzer C, Schapiro J, Viciano P, Gonzalez J, et al. Clinical utility of HIV-1 genotyping and expert advice: the Havana trial. *AIDS* 2002;16:209-18.
18. Cingolani A, Antinori A, Rizzo MG, Murri R, Ammassari A, Baldini F, et al. Usefulness of monitoring HIV drug resistance and adherence in individuals failing highly active antiretroviral therapy: a randomized study (ARGENTA). *AIDS* 2002;16:369-79.
19. Baxter JD, Mayers DL, Wentworth DN, Neaton JD, Hoover ML, Winters MA, et al. A randomized study of antiretroviral management based on plasma genotypic antiretroviral resistance testing in patients failing therapy. CPCRA 046 Study Team for the Terry Bein Community Programs for Clinical Research on AIDS. *AIDS* 2000;14:F83-F93.
20. Clevenbergh P, Durant J, Halfon P, Mondain V, Montagne N, et al. Persisting long-term benefit of genotype-guided treatment for HIV-infected patients failing HAART. The Viradapt Study: week 48 follow-up. *Antivir Ther* 2000;5:65-70.
21. Gras L, Sighem A van, Smit C, Zaheri S, Wolf F de. Monitoring of human immunodeficiency virus (HIV) infection in the Netherlands. (Stichting HIV Monitoring, Amsterdam, 2006).
22. Sax PE, Islam R, Walensky RP, Losina E, Weinstein MC, Goldie SJ, et al. Should resistance testing be performed for treatment-naive HIV-infected patients? A cost-effectiveness analysis. *Clin Infect Dis* 2005;41:1316-23.
23. Wensing AMJ, Vercauteren J, Vijver DA van de, Albert J, Poggensee G, Schmit JC, et al. Transmission of drug-resistance in Europe is characterized by single mutations and revertants. *Antivir Ther* 2006;11:S111.
24. Kroodsmas KL, Kozal MJ, Hamed KA, Winters MA, Merigan TC. Detection of drug resistance mutations in the human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) pol gene: differences in semen and blood HIV-1 RNA and proviral DNA. *J Infect Dis* 1994;170:1292-5.
25. Simmonds P, Zhang LQ, McOmish F, Balfe P, Ludlam CA, Brown AJ. Discontinuous sequence change of human immunodeficiency virus (HIV) type 1 env sequences in plasma viral and lymphocyte-associated proviral populations in vivo: implications for models of HIV pathogenesis. *J Virol* 1991;65:6266-76.
26. Hertogs K, Bethune MP de, Miller V, Ivens T, Schel P, Cauwenberge A van, et al. A rapid method for simultaneous detection of phenotypic resistance to inhibitors of protease and reverse transcriptase in recombinant human immunodeficiency virus type 1 isolates from patients treated with antiretroviral drugs. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:269-76.
27. Harrigan PR, Montaner JS, Wegner SA, Verbiest W, Miller V, Wood R, et al. World-wide variation in HIV-1 phenotypic susceptibility in untreated individuals: biologically relevant values for resistance testing. *AIDS* 2001;15:1671-7.
28. Swanstrom R, Bosch RJ, Katzenstein D, Cheng H, Jiang H, Hellmann N, et al. Weighted phenotypic susceptibility scores are predictive of the HIV-1 RNA response in protease inhibitor-experienced HIV-1-infected subjects. *J Infect Dis* 2004;190:886-93.
29. Bile EC, Dje-Toure C, Borget MY, Kalou M, Diomande F, Chorba T, et al. Performance of drug-resistance genotypic assays among HIV-1 infected patients with predominantly CRF02\_AG strains of HIV-1 in Abidjan, Cote d'Ivoire. *J Clin Virol* 2005;32:60-6.
30. Beddows S, Galpin S, Kazmi SH, Ashraf A, Johargy A, Frater AJ, et al. Performance of two commercially available sequence-based HIV-1 genotyping systems for the detection of drug resistance against HIV type 1 group M subtypes. *J Med Virol* 2003;70:337-42.
31. Jagodzinski LL, Cooley JD, Weber M, Michael NL. Performance characteristics of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) genotyping systems in sequence-based analysis of subtypes other than HIV-1 subtype B. *J Clin Microbiol* 2003;41:998-1003.
32. Fontaine E, Riva C, Peeters M, Schmit JC, Delaporte E, Van LK, et al. Evaluation of two commercial kits for the detection of genotypic drug resistance on a panel of HIV type 1 subtypes A through J. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2001;28:254-8.
33. Koch N, Tamalet C, Tivoli N, Fantini J, Yahi N. Comparison of two commercial assays for the detection of insertion mutations of HIV-1 reverse transcriptase. *J Clin Virol* 2001;21:153-62.
34. Antiretroviral resistance in clinical practice. Editor Geretti AM. 2006, Mediscript Ltd.
35. Derdelinckx I, Van Laethem K, Maes B, Schrooten Y, De Schouwer K, De WS, et al. Performance of the VERSANT HIV-1 resistance assays (LiPA) for detecting drug resistance in therapy-naive patients infected with different HIV-1 subtypes. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2003;39:119-24.
36. Van Laethem K, Van Vaerenbergh K, Schmit JC, Sprecher S, Hermans P, De V, et al. Phenotypic assays and sequencing are less sensitive than point mutation assays for detection of resistance in mixed HIV-1 genotypic populations. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1999;22:107-18.
37. Pas SD, Man RA de, Fries E, Osterhaus AD, Niesters HG. The dynamics of mutations in the YMDD motif of the hepatitis B virus polymerase gene during and after lamivudine treatment as determined by reverse hybridisation. *J Clin Virol* 2002;25:63-71.

# Een HIV-vaccin. Waar staan we?

J.N. Vermeulen, J.M.A. Lange

## Samenvatting

De voornaamste uitdaging bij het vinden van een effectief preventief HIV-vaccin is het opwekken van een brede neutraliserende antistofrespons. Tot op heden is dat niet gelukt. Toch is er nieuw optimisme in het HIV-vaccinveld, door bemoedigende resultaten met *prime/boost* strategieën van DNA en virale vectorvaccins. In wetenschappelijk onderzoek met makaken leidden deze T-celvaccins weliswaar niet tot bescherming tegen infectie, maar wel tot een verminderde afbraak van het immuunsysteem, een vermindering van de viremie kort na infectie en een vermindering van de viremie op de langere termijn. Bij mensen werden met dergelijke vaccins in immunologische vooronderzoeken bemoedigende resultaten behaald. Fase-II-onderzoek is nu gaande. Indien de resultaten zo goed zijn als in de makaakonderzoeken, zullen dergelijke vaccins het individu een zekere mate van bescherming tegen ziekteprogressie kunnen geven en op populatieniveau het aantal nieuwe infecties kunnen verminderen.

**Trefwoorden:** *human immunodeficiency virus*, *simian immunodeficiency virus*, neutraliserende antistoffen, cytotoxische T-lymfocyten, vaccinatie

## Inleiding

Na de ontdekking van het *human immunodeficiency virus type 1* (HIV-1) als de oorzaak van aids begin jaren tachtig,<sup>1,2</sup> was de verwachting dat een vaccin binnen handbereik zou zijn. Dat optimisme is niet gerechtvaardigd gebleken: HIV-1 bleek belangrijke verschillen te vertonen met de 'klassieke' virusziekten als pokken, mazelen en influenza.

Er is een aantal mechanismen bekend die ertoe bijdragen dat er geen adequate HIV-1-specifieke immunrespons wordt ontwikkeld tijdens HIV-1-infectie. Zo wordt de functie van essentiële delen van het immuunsysteem aangetast, zoals de CD4-helperrespons en de dendritische cellen.<sup>3</sup> Daarnaast wordt HIV gekarakteriseerd door een grote genetische variabiliteit, hetgeen het gevolg is van een hoge virusproductie gecombineerd met de relatief hoge mutatiefrequentie van RNA-virussen.<sup>3,4</sup> Voorts zijn de meest immunogene delen van het virus niet of nauwelijks

bereikbaar voor het immuunsysteem, omdat ze worden afgeschermd door een suikerlaag.<sup>5,6</sup>

De laatste jaren is duidelijk geworden dat een fundamenteel probleem wordt gevormd door de moeilijkheid om neutraliserende antistoffen op te wekken gericht tegen een breed spectrum aan virussen. Neutraliserende antistoffen worden noodzakelijk geacht voor een effectief preventief vaccin. Alle HIV-1-vaccins die momenteel in de pijplijn zitten, zijn dan ook gericht op het opwekken van cellulaire immuniteit. Aangenomen wordt dat hiermee infecties op individueel niveau niet of nauwelijks kunnen worden voorkomen, maar dat deze mogelijk wel een gunstige rol zouden kunnen spelen bij het remmen van de HIV-1-replicatie en het vertragen van ziekteprogressie. Naar aanleiding van recente data in diermodellen (met het aan HIV verwante *simian immunodeficiency virus*, SIV) en vroege klinische onderzoeken, is er sprake van enig optimisme met betrekking tot de potentie van deze 'cellulaire' vaccins.

Een belangrijk probleem bij het vaccinonderzoek is dat niet precies bekend is welk type immunrespons is gecorreleerd met bescherming. Onderzoeken waarin (enige) effectiviteit kan worden gecorreleerd aan een bepaalde immunologische respons zijn daarom van groot belang. In een klein onderzoek<sup>7</sup> kregen 18 HIV-1-geïnfecteerde personen autologe dendritische cellen toegediend (opgekweekt uit monocyten gewonnen met leukaferese) die met autoloog geïnactiveerd HIV-1 waren bewerkt. Bij alle deelnemers was een daling in plasma-HIV-1-RNA (pVL) te zien. Deze daling was gecorreleerd aan de toename in interleukine-2 of interferon-gamma producerende

Drs. J.N. Vermeulen, Prof. dr. J.M.A. Lange, Center for Poverty-related Communicable Diseases (CPCD), Center for Infection and Immunity Amsterdam (CINIMA), Academisch Medisch Centrum (AMC), Universiteit van Amsterdam, International Antiviral Therapy Evaluation Center (IATEC), Amsterdam, correspondentieadres: Prof. dr. J.M.A. Lange, Center for Poverty-related Communicable Diseases (CPCD), T-125, Academisch Medisch Centrum, Meibergdreef 9, 1105 AZ Amsterdam, e-mail: j.lange@amc.uva.nl.

HIV-1-specifieke CD4<sup>+</sup> T-cellen en van HIV-1gag-specifieke perforine-producerende CD8<sup>+</sup> effectorcellen. Dit suggereert dat een HIV-1-specifieke CD4<sup>+</sup> T-helper type-1-respons belangrijk is om een effectieve CTL-respons op te kunnen bouwen die in staat is om HIV-1-infectie te onderdrukken. Dit is een belangrijke aanwijzing dat naar een gecombineerde CD4- en CD8-respons moet worden gezocht in de fase-I- en -II-onderzoeken met de vaccins in de pijplijn.

### De pijplijn van HIV-1-vaccins

Ruim 25 potentiële HIV-1-vaccins worden op dit moment toegepast in klinisch onderzoek. Grofweg zijn die vaccins in te delen in drie groepen: DNA-vaccins, vaccins gebaseerd op virale (of bacteriële) vectoren en eiwit- of peptide-vaccins. DNA-vaccins worden met name toegepast als *priming* in een *prime-boost*-strategie, waarbij een of meer vaccinaties met DNA worden gevolgd door een *boosting* met een virale vector.

Losse eiwitten en peptiden blijken niet effectief indien ze als enige vaccin worden gegeven. Na immunisatie met het recombinant HIV-1-envelopeiwit gp120 (rgp120) in een placebogecontroleerd fase-III-onderzoek<sup>8</sup> bij meer dan 5000 HIV-negatieve vrijwilligers werd een positieve antistofrespons gevonden bij alle vrijwilligers bij wie dit werd onderzocht. Het aantal HIV-1-infecties in de rgp120- en de placebo-groep bleek echter gelijk (6,7% vs. 7,0%). Ook was het plasma-HIV-1-RNA bij de vrijwilligers die ondanks vaccinatie toch met HIV-1 werden geïnfecteerd, even hoog bij de rgp120- en placebo-ontvangers. Wel waren er subgroepen (vrouwen en niet-Kaukasiërs) bij wie een iets hogere antistofrespons was te zien en bij wie de infectie-incidentie lager was, maar deze verschillen waren niet significant. Het wachten is nu op de resultaten van het enige fase-III-onderzoek dat op dit moment wordt uitgevoerd met een HIV-1-vaccin. In dit onderzoek wordt *boosting* met rgp120 voorafgegaan door *priming* met een kanariepokken-vaccin (ALVAC) dat naast gp120 ook gag en pol bevat. Deze *prime-boost*-benadering heeft in een fase-2-onderzoek<sup>9</sup> laten zien een sterke antistofrespons te geven en ook een CTL-respons tegen *env* of *gag/pol* in 24% van de gevaccineerde personen op te wekken. Alle meer dan zestienduizend vrijwilligers hadden eind juli 2006 alle vaccinaties gehad. Het wachten is nu op de resultaten van de drie jaar durende observatieperiode, maar de verwachtingen zijn niet hoog gespannen.

Een aantal virussen en bacteriën wordt toegepast als vaccinvector. Adenovirus levert een stabiel construct op, en heeft in onderzoeken laten zien een zeer goede SIV/HIV-specifieke T-celrespons op te roepen.<sup>10</sup> Een probleem is daarbij dat er al veel immuniteit bestaat tegen het overwegend gebruikte adenovirus serotype 5,<sup>11</sup> waardoor dat serotype minder geschikt is als vector. Vectoren

gebaseerd op pokkenvirussen (onder andere kanariepokken en de verzwakte vaccinia-varianten MVA en NYVAC) lijken het wat dat betreft beter te doen, waarschijnlijk ook bij HIV-1-geïnfecteerde personen die nog voor 1978 tegen pokken zijn gevaccineerd,<sup>12</sup> maar zijn mogelijk minder stabiel dan de adenovirusvaccins. Andere vectoren zijn in ontwikkeling: VSV (vesiculair stomatitisvirus,<sup>13</sup> mazelenvirus,<sup>14</sup> herpes simplexvirus,<sup>15</sup> listeria,<sup>16</sup> mycobacteriën,<sup>17</sup> en cytomegalovirus<sup>18</sup>

### Vaccins gericht op het opwekken van neutraliserende antistoffen

Het blijkt zeer complex een vaccin te ontwerpen met HIV-1-envelop(*env*)-immunogenen dat in staat is een effectieve brede neutraliserende antistofrespons op te roepen.<sup>19</sup> Het HIV-1-envelopeiwit bestaat uit zes subunits (3x gp120 en 3x gp41). De losse subunits, zoals gp120 in het eerdergenoemde fase-III-onderzoek, blijken onvoldoende immunogeen, omdat ze onvoldoende lijken op het functionele *env*-complex. Veel onderzoekers richten zich daarom op modificatie van *env*, bijvoorbeeld door kristalstructuren van een aantal bekende neutraliserende antistoffen als 'negatief' te gebruiken,<sup>20</sup> de conformatie van gp120 te stabiliseren door het te binden aan CD4 en een monoclonale antistof,<sup>21</sup> gp120 als trimeer te gebruiken (zoals het ook *in vivo* voorkomt), trimereën van verschillende virusstammen te combineren,<sup>22</sup> of door de conformatie van gp120 te veranderen door de V1/V2-loop uit gp120 te verwijderen.<sup>23</sup>

### Vaccins gericht op het opwekken van cellulaire immuniteit

Vanwege de moeilijkheden met vaccins die bedoeld zijn om een neutraliserende antistofrespons op te roepen, noodzakelijk voor een preventief HIV-1-vaccin, richt het onderzoeksveld zich steeds meer op verbetering van T-celvacines om deze als therapeutisch vaccin te kunnen inzetten.<sup>24</sup> Een effectief therapeutisch vaccin zou ziekteprogressie kunnen vertragen of ertoe kunnen leiden dat behandeling met antiretrovirale therapie kan worden gestaakt of uitgesteld.

Amerikaanse onderzoekers vaccineerden acht makaken met achtereenvolgens DNA (*prime*) en een recombinant adenovirus-type-5-vaccin (*boost*) van de firma Merck met de SIV-genen *gag*, *tat*, *rev* en *nef*, waarna de apen werden geïnfecteerd met SIV.<sup>20</sup> De piek van de viremie en het niveau waarop deze zich stabiliseerde, bleek significant lager vergeleken met apen die met alleen een *gag*-bevattend vaccin werden geïmmuniseerd. Ook de daling van het aantal CD4<sup>+</sup> T-cellen was lager. Bemoedigend was dat het gevonden effect optrad ondanks dat slechts één van de apen een neutraliserende antistofrespons liet zien, zodat het effect moet worden toegeschreven aan de duidelijke cellulaire respons die wel werd gemeten.

Indien de resultaten bij makaken ook voor de mens opgaan, zouden ook HIV-1-negatieve personen baat kunnen hebben bij een dergelijk vaccin. Vaccinatie zou bij degenen die desondanks toch een HIV-1-besmetting zouden oplopen, kunnen leiden tot verlaging van de viremie en vertraging van de ziekteprogressie. Ook op populatieniveau zou een dergelijk vaccin gunstige effecten kunnen hebben. Alleen al door het verlagen van de piek-viremie die kort na besmetting optreedt, zou het aantal nieuwe infecties kunnen worden teruggebracht. Tijdens de viremiepiek kort na het oplopen van een de infectie is de besmettelijkheid van iemand met HIV namelijk zeer hoog.

Ook onderzoekers van het Amerikaanse *Vaccine Research Center* van de *National Institutes of Health* (NIH) lieten een gunstig effect zien van een *prime/boost* DNA/adenovirus-strategie op viremie en CD4<sup>+</sup> T-celaantal bij makaken.<sup>25</sup> Belangrijk was dat ze zagen dat het massale verlies aan geheugen-CD4<sup>+</sup> T-cellen in het darm-geassocieerd lymfoïde weefsel tijdens de acute fase van de infectie<sup>26,27</sup> grotendeels werd voorkomen. Ook zagen zij dat na vaccinatie de centrale geheugen-CD4<sup>+</sup> T-cellen relatief gespaard bleven. Dit zijn de cellen die tijdens acute infectie *en masse* verdwijnen.<sup>28,29</sup> In een ander onderzoek<sup>30</sup> werd het beschermende effect van de DNA/adenovirus-*prime/boost*-strategie op de centrale geheugen-CD4<sup>+</sup> T-cellen bevestigd, en bleek dit effect te zijn gecorreleerd aan de grootte van de cellulaire immunorespons die door het vaccin werd opgeroepen. Een aanwijzing dat naar dit soort effecten van vaccins moet worden gezocht.

Ook met MVA-vaccins werden SIV-specifieke effector- en effector-geheugen-CD8<sup>+</sup> T-cellen aangetoond bij makaken in gelijke mate in bloed, lymfklieren, broncho-alveolair lavagemateriaal en rectaal weefsel,<sup>31</sup> en ook bij menselijke proefpersonen is het gelukt om polyfunctionele HIV-1-specifieke CD8<sup>+</sup> T-cellen in rectumbiopsies aan te tonen met dezelfde karakteristieken als in het perifere bloed.<sup>32</sup>

### Vaccinonderzoek in Nederland

Naast fundamenteel onderzoek naar een preventief HIV-1-vaccin, vindt in Nederland ook klinisch onderzoek plaats naar het effect van therapeutische vaccinatie. In samenwerking met onderzoekers uit Parijs en Lausanne wordt de veiligheid en effectiviteit van twee levende verzwakte vacciniavaccins specifiek voor HIV-1-subtype B onderzocht in HIV-1-geïnfecteerde patiënten die al langdurig succesvol worden behandeld met antiretrovirale therapie. Op het recente AIDS-vaccincongres in Amsterdam werden de eerste resultaten van het fase-I-onderzoek met NYVAC-B gepresenteerd, het eerste van de twee vaccins. Het vaccin is veilig, en de cellulaire respons gemeten met *Elispot* nam toe bij alle patiënten: ten minste één nieuwe respons bij alle deelnemers en een verdubbeling van ten minste één

bestaande respons bij acht van de 10 deelnemers.<sup>33</sup> Begin 2007 is gestart met een fase-I-onderzoek in Amsterdam met het tweede TheraVac-vaccin, MVA-B. Later zullen fase-II-onderzoeken volgen waarin beide vaccins worden vergeleken met een placebo-vaccin in een onderzoek waarbij de antiretrovirale therapie na vaccinatie (gecontroleerd) wordt gestaakt.

### Beschouwing

Zolang het niet lukt een brede neutraliserende antistof-respons op te wekken, is het niet te verwachten dat er op korte termijn een echt preventief HIV-1-vaccin zal zijn. De inspanning om een dergelijk vaccin te vinden heeft echter een enorme stimulans gekregen door de recente oprichting van de *Global HIV Vaccine Enterprise*. Naast de zeer aanzienlijke nieuwe fondsen die hiermee beschikbaar zijn gekomen, brengt dit ook meer coördinatie en een meer systematische aanpak met zich mee, door middel van het oprichten van consortia die zich op bepaalde onderwerpen richten, zoals neutraliserende antistoffen of standaardisering van laboratoriumtechnieken.

Tezelfdertijd is er, op grond van de resultaten bij makaken en immunologische data in vroege klinische onderzoeken, nieuwe hoop dat de nieuwere T-cel-vaccins (virale vector-vaccins al dan niet in combinatie met DNA-vaccinatie in *prime/boost* strategieën) door het individu een zekere mate van bescherming tegen ziekteprogressie zullen kunnen geven en op populatieniveau het aantal nieuwe infecties zal kunnen verminderen. De komende jaren zal duidelijk worden of deze hoop is gerechtvaardigd. Dan wordt het een uitdaging een dergelijk vaccin in te voeren in de gebieden met een hoge HIV-1-incidentie en onderwijl de zoektocht naar een echt preventief vaccin niet op te geven.

### Summary

The greatest obstacle to finding an effective preventive HIV-1 vaccine is the difficulty to elicit broadly neutralizing antibodies to the virus. Yet, recent data with *prime/boost* strategies of DNA and viral vector vaccines have brought a new optimism to the field. Although these T cell vaccines are not expected to convey sterilizing immunity, in macaque studies they protected against the devastating effects of the simian immunodeficiency virus (SIV) on the immune system, and led to a blunting of the viremia peak following infection and subsequently to a lower viremia setpoint. Similar vaccines have yielded promising virus-specific T cell responses in human studies. Phase II studies are ongoing. If the results of these studies resemble those of the macaque studies, such vaccines might protect the individual against disease progression and decrease the number of new infections at the population level.

## Literatuur

1. Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* 1983;220(4599):868-71.
2. Gallo RC, Sarin PS, Gelmann EP, et al. Isolation of human T-cell leukemia virus in acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* 1983;220(4599):865-7.
3. Stevenson M. HIV-1 pathogenesis. *Nat Med* 2003;9(7):853-60.
4. Coffin JM. HIV population dynamics in vivo: implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy. *Science* 1995;267(5197):483-9.
5. Wyatt R, Kwong PD, Desjardins E, et al. The antigenic structure of the HIV gp120 envelope glycoprotein. *Nature* 1998;393(6686):705-11.
6. Wei X, Decker JM, Wang S, et al. Antibody neutralization and escape by HIV-1. *Nature* 2003;422(6929):307-12.
7. Lu W, Arraes LC, Ferreira WT, Andrieu JM. Therapeutic dendritic-cell vaccine for chronic HIV-1 infection. *Nat Med* 2004;10(12):1359-65.
8. Flynn NM, Forthal DN, Harro CD, Judson FN, Mayer KH, Para MF. Placebo-controlled phase 3 trial of a recombinant glycoprotein 120 vaccine to prevent HIV-1 infection. *J Infect Dis* 2005;191(5):654-65.
9. Nitayaphan S, Pitisuttithum P, Karnasuta C, et al. Safety and immunogenicity of an HIV subtype B and E prime-boost vaccine combination in HIV-negative Thai adults. *J Infect Dis* 2004;190(4):702-6.
10. Santra S, Seaman MS, Xu L, et al. Replication-defective adenovirus serotype 5 vectors elicit durable cellular and humoral immune responses in nonhuman primates. *J Virol* 2005;79(10):6516-22.
11. Kostense S, Raaphorst FM, Joling J, et al. T cell expansions in lymph nodes and peripheral blood in HIV-1-infected individuals: effect of antiretroviral therapy. *AIDS* 2001;15(9):1097-1107.
12. Puissant B, Verrier B, Wincker N, et al. Maintenance of antigen-specific TEM and TCM according to antigen exposure in HIV-infected patients: comparison of vaccinia-, PPD- and HIV specific immune responses. *Antivir Ther* 2006;11(Suppl 2): P05-18.
13. Ramsburg E, Rose NF, Marx PA, et al. Highly effective control of an AIDS virus challenge in macaques by using vesicular stomatitis virus and modified vaccinia virus Ankara vaccine vectors in a single-boost protocol. *J Virol* 2004;78(8):3930-40.
14. Lorin C, Mollet L, Delebecque F, et al. A Single Injection of Recombinant Measles Virus Vaccines Expressing Human Immunodeficiency Virus (HIV) Type 1 Clade B Envelope Glycoproteins Induces Neutralizing Antibodies and Cellular Immune Responses to HIV. *J Virol* 2004;78(1):146-57.
15. Kaur A, Sanford HB, Garry D, et al. Ability of herpes simplex virus vectors to boost immune responses to DNA vectors and to protect against challenge by simian immunodeficiency virus. *Virology* 2006; .....  
.....
16. Lieberman J, Frankel FR. Engineered *Listeria monocytogenes* as an AIDS vaccine. *Vaccine* 2002;20(15):2007-10.
17. Cayabyab MJ, Hovav AH, Hsu T, et al. Generation of CD8+ T-cell responses by a recombinant nonpathogenic *Mycobacterium smegmatis* vaccine vector expressing human immunodeficiency virus type 1 Env. *J Virol* 2006;80(4):1645-52.
18. Picker LJ. Development of CMV vectors for an HIV vaccine. *Antivir Ther* 2006;11(Suppl 2):S02-04.
19. Burton DR, Desrosiers RC, Doms RW, et al. HIV vaccine design and the neutralizing antibody problem. *Nat Immunol* 2004;5(3):233-6.
20. Wilson NA, Reed J, Napoe GS, et al. Vaccine-induced cellular immune responses reduce plasma viral concentrations after repeated low-dose challenge with pathogenic simian immunodeficiency virus SIVmac239. *J Virol* 2006;80(12):5875-85.
21. Douek DC, Kwong PD, Nabel GJ. The rational design of an AIDS vaccine. *Cell* 2006;124(4):677-81.
22. Haynes BF, Montefiori DC. Aiming to induce broadly reactive neutralizing antibody responses with HIV-1 vaccine candidates. *Expert Rev Vaccines* 2006;5(4):579-95.
23. Sanders RW, Bontjer I, Pollakis G, et al. Improvement of V1/V2-deleted HIV-1 envelope glycoprotein trimers through forced virus evolution. *Antivir Ther* 2006;11(Suppl 2): OA02-05.
24. Autran B, Carcelain G, Combadiere B, Debre P. Therapeutic Vaccines for Chronic Infections. *Science* 2004;305(5681):205-8.
25. Mattapallil JJ, Douek DC, Buckler-White A, et al. Vaccination preserves CD4 memory T cells during acute simian immunodeficiency virus challenge. *J Exp Med* 2006;203(6):1533-41.
26. Brenchley JM, Schacker TW, Ruff LE, et al. CD4+ T Cell Depletion during all Stages of HIV Disease Occurs Predominantly in the Gastrointestinal Tract. *J Exp Med* 2004;200(6):749-59.
27. Mehandru S, Poles MA, Tenner-Racz K, et al. Primary HIV-1 Infection Is Associated with Preferential Depletion of CD4+ T Lymphocytes from Effector Sites in the Gastrointestinal Tract. *J Exp Med* 2004;200(6):761-70.
28. Veazey RS, Tham IC, Mansfield KG, et al. Identifying the Target Cell in Primary Simian Immunodeficiency Virus (SIV) Infection: Highly Activated Memory CD4+ T Cells Are Rapidly Eliminated in Early SIV Infection In Vivo. *J Virol* 2000;74(1):57-64.
29. Mattapallil JJ, Douek DC, Hill B, Nishimura Y, Martin M, Roederer M. Massive infection and loss of memory CD4+ T cells in multiple tissues during acute SIV infection. *Nature* 2005;434(7037):1093-7.
30. Letvin NL, Mascola JR, Sun Y, et al. Preserved CD4+ central memory T cells and survival in vaccinated SIV-challenged monkeys. *Science* 2006;312(5779):1530-3.
31. Silvestri G, Sumpter BS, McQuoid M, et al. High levels of SIV-specific CD8+ T-cells in the mucosal tissues of macaques immunized with MVA based vaccines expressing SIVmac239 gag and tat. *Antivir Ther* 2006;11(Suppl 2): OA01-07.
32. Shacklett BL, Critchfield JW, Lemongello D, et al. Robust multifunctional HIVgag specific CD8+ T-cell responses in rectal mucosa and PBMC during chronic infection. *Antivir Ther* 2006;11(Suppl 2):OA01-06.
33. Bart PA, Vermeulen JN, Harari A, et al. TheraVac-01: an open-label phase I study to evaluate the safety of the HIV-1 vaccine NYVAC-B in chronic HIV-1 infected patients successfully treated with HAART. *Antivir Ther* 2006;11(Suppl 2): S10-01.

# Hepatitis-B-serologie: lessen uit SKML-kwaliteitsrondzendingen

A.C.T.M. Vossen

Al lange tijd worden vanuit de afdeling Virologie van het Erasmus MC te Rotterdam elk jaar twee hepatitis-ABC-rondzendingen voor de Stichting Kwaliteitsbewaking Medische Microbiologie en Stichting Kwaliteitsbewaking Medische Laboratoriumdiagnostiek (SKMM/SKML) verzorgd. De eerste jaren gingen deze rondzending gepaard met een klinische enquête. Uit de verzameling van testresultaten en de bijbehorende klinische interpretaties valt veel op te maken over de werk- en denkwijze van deelnemers aan deze rondzendingen. En er zijn nog lessen te leren.

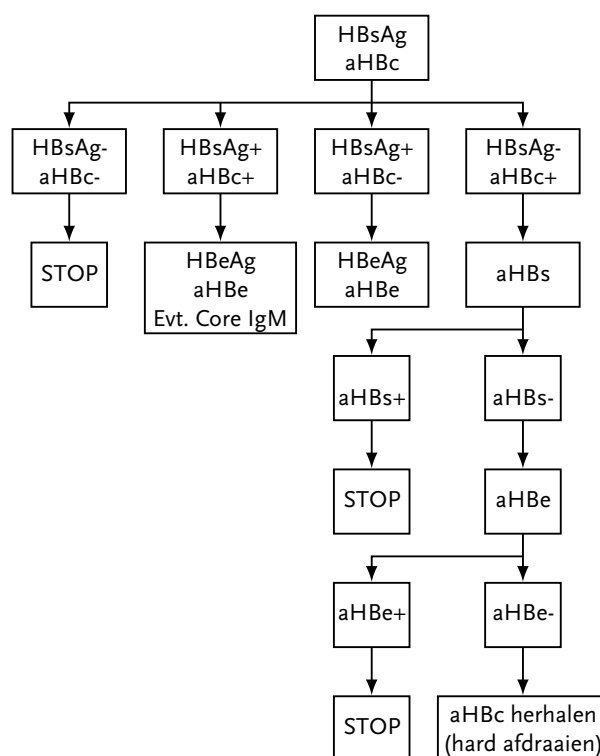
**Trefwoorden:** Hepatitis-B, serologie, externe kwaliteitscontrole

## Werken volgens flowschema

De klinische interpretatie van hepatitis-B-serologie is afhankelijk van de gevonden combinatie van testresultaten. Hierbij kan worden gebruikgemaakt van twee antigeentesten (HBsAg en HBeAg) en vier antistoffen (anti-HBcore, IgM-anti-HBcore, anti-HBs en anti-HBe). Bij het evalueren van de eerste rondzendingen viel op dat door een redelijk aantal deelnemers (bijna) alle HBV-parameters waren getest, onafhankelijk van de klinische vraagstelling. Dit zou uiteraard te maken kunnen hebben met het feit dat het om een kwaliteitsrondzending ging, hoewel aangegeven was dat testen die volgens de deelnemers niet relevant werden geacht, niet dienden te worden uitgevoerd. Het werken volgens een flowschema (figuur 1) levert in enkele stappen de klinisch relevante resultaten, zonder verspilling van testen.

Het toevoegen van een IgM-anti-HBcore aan het flowschema staat toe dat op basis van één monster al een indicatie kan worden verkregen of er sprake is van een acute dan wel een chronische hepatitis-B-infectie. Hoewel ook in geval van een reactivatie van een chronische infectie een IgM-anti-HBcore aantoonbaar kan zijn, zal de sterkte van het signaal in het algemeen zwakker zijn dan bij een acute hepatitis-B.<sup>1,2</sup> Uiteindelijk blijft de definitie van een chronische hepatitis-B-infectie uiteraard het aantoonbaar zijn van HBsAg voor een periode van minimaal zes maanden.

Figuur 1. Voorbeeld flow-schema voor het uitvoeren van hepatitis B serologie



## Acuut leverfalen door hepatitis-B

In een uitzonderlijk geval kan bij een fulminante hepatitis-B een serologisch patroon worden gevonden dat doet denken aan een doorgemaakte hepatitis-B-infectie (negatieve HBsAg, positieve anti-HBcore, (vaak laag) positieve anti-HBs). In dit geval kan het uitvoeren van een IgM-anti-HBcoretest de juiste diagnose ondersteunen. Een IgM-anti-HBcorebepaling hoort in het screeningspakket van acuut leverfalen. Hepatitis-B-DNA zal ook aantoonbaar zijn.

Dr. A.C.T.M. Vossen, arts-microbioloog, afdeling Medische Microbiologie, E4-P, LUMC, Postbus 9600, 2300 RC Leiden, e-mail: a.vossen@lumc.nl

In 2004 is een dergelijk monster gebruikt. Door 15 van de 53 deelnemers is toen een IgM- anti-HBcore uitgevoerd, die bij alle deelnemers hoog-positief was.

### Positieve HBsAg (waarde van confirmatie)

In elke test kan een vals-positieve HBsAg worden gevonden, maar de AxSYM staat bekend om de iets hogere frequentie aan specifieke reactiviteit. Deze vals-positieve HBsAg kan variëren van een net-positieve waarde (S/N-ratio's tussen 1 en 5) tot zeer hoge waarden (S/N-ratio's boven de 100). Monsters met lage S/N-ratio's kunnen bij herhaling (na centrifugatie) een negatief HBsAg-resultaat laten zien. Een verklaring voor deze test-eigenschap is er niet, maar het fenomeen is reproduceerbaar (SKMM 2002-II-11) en te vinden bij verschillende Abbott-testen (IMx, AxSYM) waarbij testen van andere fabrikanten (bijv. bioMérieux) een negatief HBsAg-resultaat laten zien. Dit laatste heeft tot gevolg dat laboratoria een Vidas-HBsAg-test gebruiken als confirmatie van de Abbott-HBsAg-test. Het moet worden gezegd dat de confirmatie-(neutralisatie-)test van Abbott altijd uitsluitend geeft over de specificiteit van de gevonden reactiviteit in de HBsAg-test. Er dient bij een positieve HBsAg-test (in welke test dan ook) een confirmatietest te worden uitgevoerd. Dit kan een andere EIA zijn. Het is niet juist uitsluitend te varen op de andere hepatitis-B-parameters, bijvoorbeeld een positieve anti-HBcore of een positieve HBeAg (bij een vals-positieve HBsAg wordt regelmatig ook een vals-positieve HBeAg gevonden). Ook het ontbreken van anti-HBcore sluit een hepatitis-B-virusinfectie niet uit. In 2002 (2002-II-4) is een monster verstuurd waarbij uitsluitend HBsAg (te confirmeren) en HBeAg aantoonbaar waren. Hoewel zeldzaam kan dit patroon (meestal als toevalsbevinding) worden aangetroffen bij screening van risicogroepen, bijv. bezoekers van de soa-polikliniek. Indien het een immuuncompetente persoon betreft, is er meest waarschijnlijk sprake van een acute hepatitis-B-infectie. Deze conclusie werd ook getrokken door 73 procent van de deelnemers. Van de 33 deelnemers die dit antwoord geven, zijn er echter slechts 21 met een positieve HBsAg-confirmatie, hetgeen mijns inziens noodzakelijk is voor het trekken van deze conclusie.

### Passieve antistoffen

Met de rondzending 2001-II-11 is een monster verzonden van een patiënt (man, 45 jaar) die recent veel bloedtransfusies heeft gehad en nu leverfunctiestoornissen heeft. Dit monster vertoont een negatieve HBsAg, een positieve anti-HBcore en een laagpositieve anti-HBs (gem. 30 IU/l). In de klinische enquête wordt gevraagd welke mogelijke verklaringen voor dit serologische patroon kunnen worden gegeven, waarbij meerdere antwoorden mogelijk zijn. Van de deelnemers is 95 procent van mening dat dit patroon kan wijzen op een in het verleden doorgemaakte hepatitis-B-infectie. Ook worden er vele andere verklaringen gegeven ('anders') die veelal te maken hebben met de ook geteste hepatitis-A- en -C-serologie.

Opvallend is dat geen van de deelnemers aandraagt dat dit serologische patroon kan passen bij 'passieve' anti-HBc en anti-HBs. Bij patiëntpopulaties die veel bloedproducten ontvangen, zoals hemato(onco)logische patiënten, moet men zich realiseren dat met de bloedproducten ook plasma (en dus immuunglobulines) wordt toegediend.<sup>3</sup> Aangezien de Nederlandse bloeddonoren uitsluitend worden getest op HBsAg, kan er anti-HBc en anti-HBs aanwezig zijn in de bloedproducten. Bij herhaling van de serologie zullen de titers dalen en later verdwijnen. In een uitzonderlijk geval kan de misinterpretatie (beschermende anti-HBstiter, doorgemaakte hepatitis-B) van deze 'passieve' antistoffen wel degelijk klinische consequenties hebben, zoals eerder beschreven.<sup>4</sup>

### Solitaire anti-HBcore

In de afgelopen jaren zijn verschillende malen monsters rondgestuurd met het serologische patroon dat ook bekend staat als 'solitaire anti-HBcore'. Dit serologische patroon (HBsAg-negatief, anti-HBcore-positief, anti-HBs-negatief) kan ook in de routinediagnostiek met enige regelmaat worden gevonden. Er zijn diverse artikelen waarin de mogelijke interpretaties (tabel 1) van dit patroon worden belicht.<sup>5,6</sup> Welke van de interpretaties het meest voor de hand ligt, hangt mede af van de klinische en epidemiologische gegevens van de patiënt. De hepatitis-B-diagnostiek kan nog verder worden uitgebreid met anti-HBe, IgM-anti-HBcore en Hepatitis-B-DNA-PCR. Klinische consequenties van dit gevonden patroon hangen af van de vraagstelling. Individuen met dit patroon zijn potentieel infectieus. Met name een levertransplantaat afkomstig van een donor met dit patroon, zal bij de immuungecompromiteerde ontvanger in vele gevallen tot chronische hepatitis-B leiden.<sup>7</sup> Dat een potentiële orgaandonor met een solitaire anti-HBcore tot veel discussie leidt bleek uit één van de vragen van de klinische enquête behorende bij rondzending 2001-II-4. Inmiddels is er vanuit de Nederlandse Werkgroep Klinische Virologie (NWKV) een richtlijn opgesteld betreffende hepatitis-B-serologie en orgaandonatie ([www.nvmm.nl/](http://www.nvmm.nl/) overige richtlijnen).

Het vinden van een solitaire anti-HBcore binnen een risicogroep voor hepatitis-B-infectie kan discussie geven over het nut van hepatitis-B-vaccinatie aan dit individu.

Tabel 1. Mogelijke interpretaties van een solitaire anti-HBcore

- specifieke reactiviteit anti-HBcore test
- doorgemaakte hepatitis B <ul style="list-style-type: none"><li>• in window-fase</li><li>• langer geleden ( met verlies anti-HBs of onvoldoende anti-HBs productie bijv. bij immuungecompromiteerde patiënten)</li></ul>
- chronische "low grade" hepatitis B, zonder HBsAg (te lage concentratie of HBsAg mutanten)
- suppressie van HBV replicatie, HBsAg productie door HCV coïnfectie



Indien er sprake is van een doorgemaakte hepatitis-B-infectie wordt ervan uitgegaan dat er bescherming is tegen reïnfectie door cellulaire en *memory* immuunrespons. Aangezien bij een aanzienlijk deel van deze groep echter ook sprake kan zijn van een specifieke anti-HBcore, dient het aanbieden van een vaccin te worden overwogen, zeker gezien de verwachting dat een redelijk deel een goede (primaire of boost) anti-HBs-respons zal hebben.<sup>8</sup>

Hoewel een 'occulte' hepatitis-B-infectie bij solitaire anti-HBcore veelal geen gevolgen heeft, moet men beducht zijn op virale reactivatie ten tijde van immuunsuppressie. In combinatie met chronische hepatitis-C kan laaggradige hepatitis-B-replicatie leiden tot leverschade, levercirrose en hepatocellulair carcinoom.

### Variatie in anti-HBs-resultaten

Het resultaten van SKML- of Neqas-monsters voor anti-HBs-titerbepaling onderstrepen de bevinding van Ruud Heijntink *et al.*<sup>9</sup> dat de anti-HBs-resultaten zowel afhangen van de gebruikte test als het gebruikte vaccin. Zoals te zien is in *figuur 2* (SKML 2004.2) zijn de anti-HBs-titers in de Axsym hierbij systematisch hoger dan in de Vidas. Deze bevinding zal vooral van belang zijn indien de 'significante' grenzen van 10 IU/l en 100 IU/l worden benaderd. Bij titers die ver boven de 100 IU/l liggen, zullen de verschillen geen consequenties hebben. Dit wetende moet men met deze potentiële variatie rekening houden bij introductie van een nieuwe anti-HBs-test op het laboratorium.

### Conclusie

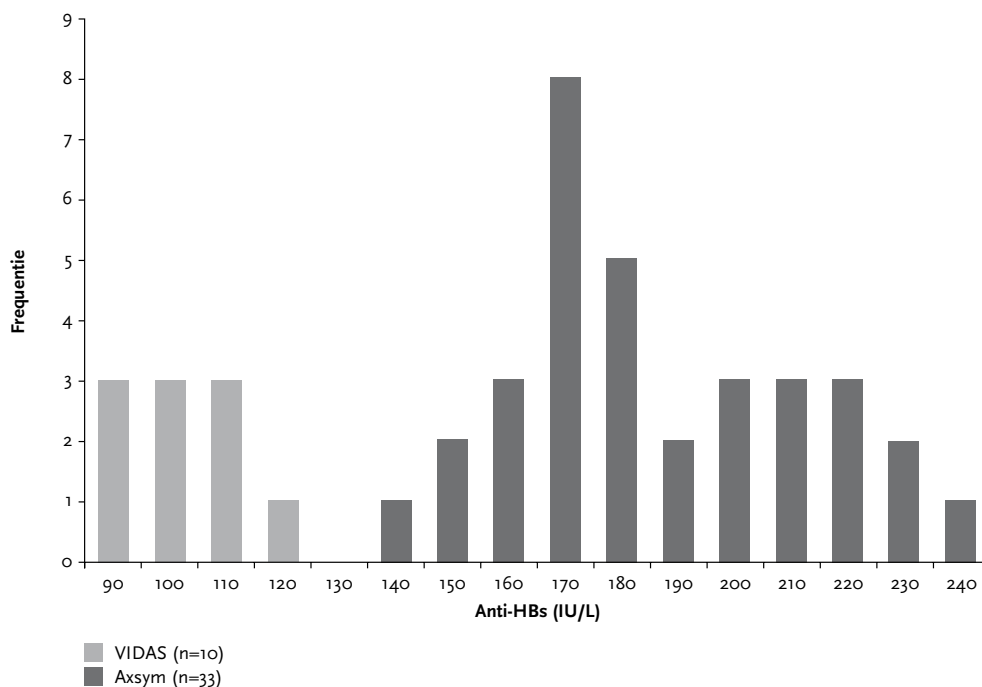
Het bestuderen van de antwoorden op een klinische vraagstelling in relatie tot een laboratoriumbevinding geeft een

indruk van het gedachtegoed van de deelnemers aan de hepatitis-B-SKML-rondzendingen. Praktische adviezen komen in de bijbehorende evaluaties uitgebreid aan de orde, en kunnen zo zowel een technische als een interpretatieve les zijn.

### Literatuur

1. Brunetto MR, Cerenzia MT, Oliveri F, et al. Monitoring the natural course and response to therapy of chronic hepatitis-B with an automated semi-quantitative assay for IgM anti-HBc. *J Hepatol* 1993;19(3):431-6.
2. Hadziyannis SJ, Hadziyannis AS, Dourakis S, Alexopoulou A, Horsch A, Hess G. Clinical significance of quantitative anti-HBc IgM assay in acute and chronic HBV infection. *Hepatogastroenterol* 1993;40(6):588-92.
3. Lim YA, Hyun BH, Kim DY. Effect of transfusion of fresh-frozen plasma on recipients' antibodies to hepatitis-B surface antigen and hepatitis-B surface antigen status in countries where hepatitis-B virus is endemic. *Vox Sang* 2002;83(3):209-13.
4. Devine P, Taswell HF, Moore SB, Gilchrist GS, Jacobson TM. Passively acquired antibody to hepatitis-B surface antigen. Pitfall in evaluating immunity to hepatitis-B viral infections. *Arch Pathol Lab Med* 1989;113(5):529-31.
5. Grob P, Jilg W, Bornhak H, et al. Serological pattern "anti-HBc alone": Report on a workshop. *J Med Virol* 2000;62(4):450-5.
6. Knoll A, Hartmann A, Hamoshi H, Weislaier K, Jilg W. Serological pattern "anti-HBc alone": characterization of 552 individuals and clinical significance. *World J Gastroenterol* 2006;12(8):1255-60.
7. Dickson RC, Everhart JE, Lake JR, et al. Transmission of hepatitis-B by transplantation of livers from donors positive for antibody to hepatitis-B core antigen. The National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases Liver Transplantation Database. *Gastroenterology* 1997;113(5):1668-74.
8. Ural O, Findik D. The response of isolated anti-HBc positive subjects to recombinant hepatitis-B vaccine. *J Infect* 2001;43(3):187-90.
9. Heijntink RA, Schneeberger PM, Postma B, Crombach W. Anti-HBs levels after hepatitis-B immunisation depend on test reagents: routinely determined 10 and 100 IU/l seroprotection levels unreliable. *Vaccine* 2002;20(23-24):2899-905.

Figuur 2. Gemeten anti-HBs titers in monster D van SKML-2004.2 met behulp van de Vidas en de Axsym.



# Toekomstscenario's: een kijkje achter de schermen

M.B.A. van Asselt, S.A. van 't Klooster

## Samenvatting

De ambitie van toekomstverkenner is om uitspraken over de wereld te doen in de toekomstige tijd. Er zijn twee types uitspraken over de toekomst: prognoses die zijn gebaseerd op extrapolatie van trends uit het verleden en scenario's waarin verschillende mogelijke toekomsten worden verkend. Toekomstverkenning is ook relevant in de context van infectieziekten. Daarom wordt in dit artikel een indruk gegeven van de praktijk van beleidsgerichte toekomstverkenningen met het doel onderzoekers en beleidsmakers op het terrein van infectieziekten te informeren en mogelijk te inspireren.

Er is geen standaardaanpak om scenario's te ontwikkelen. Methodologische verscheidenheid en constante vernieuwing zijn karakteristieke kwaliteiten van de praktijk van toekomstverkenning. In dit artikel wordt een drietal typische toekomstverkenningactiviteiten besproken, te weten brainstormen, structureren en aankleden.

**Trefwoorden:** toekomstverkenning, methodologie, scenario's

## Inleiding

Gezien nieuwe wereldwijde infectieziekten, zoals SARS en vogelgriep, en de maatschappelijke behoefte om daarop te anticiperen met voorzorgs- en beschermingsmaatregelen, heeft de relevantie van toekomstverkenning in de context van infectieziekten nauwelijks betoog. Dit is niet het enige terrein waarop beleidsgerichte toekomstverkenning plaatsvindt. Volgens een rapport van het Ministerie van Binnenlandse Zaken en Koninkrijksrelaties in 2005 is toekomstverkenning 'cruciaal voor een beleidsorganisatie die van strategische betekenis wil zijn'.<sup>1</sup> Schooneboom vindt dat het erop lijkt dat 'een beleidssector die wil meetellen' aan toekomstverkenning moet doen.<sup>2</sup> In Nederland is beleidsgerichte toekomstverkenning in hoge mate geïnstitutionaliseerd: er is een groot aantal instituten en organisaties met de rol, taak, opdracht en/of ambitie om toekomstverkenning te doen, waaronder de planbureaus (CPB, RIVM/MNP, RPB en SCP) en planbureau-achtige instituten, zoals

WRR, ECN, STT en Rijkswaterstaat alsook een aantal gespecialiseerde adviesbureaus en universitaire groepen ([www.toekomstverkenning.nl](http://www.toekomstverkenning.nl)).

In dit artikel proberen we een indruk te geven van die praktijk van beleidsgerichte toekomstverkenning met het doel onderzoekers en beleidsmakers op het terrein van infectieziekten te informeren en mogelijk te inspireren.

De ambitie van toekomstverkenner is om uitspraken over (een deel van) de wereld te doen in de toekomstige tijd, bij voorkeur op basis van wetenschappelijke kennis over heden en verleden. Toekomstverkenner, door Van Lente<sup>3</sup> getypeerd als *experts of promises*, proberen op een systematische manier waarschijnlijke, mogelijke en/of (on)gewenste toekomsten te bedenken en te doordenken. Klassieke wetenschappelijke methoden schieten daartoe tekort, omdat de toekomst niet in empirische zin kan worden onderzocht. Toekomstverkenner houden zich bezig met de nog niet bestaande werkelijkheid die, zodra die bestaat, geen object van onderzoek meer is. 'Hoe verkennen toekomstverkenner de toekomst?', de vraag die centraal staat in dit artikel, is dus minder triviaal dan deze op het eerste gezicht wellicht lijkt.

## Prognoses en toekomstscenario's

Grondweg zijn er twee verschillende soorten uitspraken over de toekomst: 1) prognoses en 2) scenario's. Een prognose, ook wel aangeduid als een voorspelling, is een puntschatting (eventueel met een bandbreedte) die meestal is gebaseerd op extrapolatie van trends zoals die zich in het verleden hebben voorgedaan. Bij prognose-toekomstverkenning gaat het om het schetsen van één toekomstbeeld, dat meestal wordt gepresenteerd als 'meest waarschijnlijk'. Deze manier van toekomstverkenning

Prof. dr. ir. M.B.A. van Asselt, Universiteit Maastricht, Faculteit der Cultuur- en Maatschappijwetenschappen, Postbus 616, 6200 MD Maastricht, e-mail: [marjolein.vanasselt@tss.unimaas.nl](mailto:marjolein.vanasselt@tss.unimaas.nl), drs. S.A. van 't Klooster, Instituut voor Milieuvraagstukken, VU, Amsterdam.

maakt veelal gebruik van statistiek en/of mathematische modellen als basis om uitspraken te doen over de toekomst. De onderliggende aanname is dat er geen wezenlijk andere processen een rol zullen spelen, dat belangrijke mechanismen voldoende zijn begrepen en dat zich geen discontinuïteiten (zoals trendbreuken en structurele omwentelingen) zullen voordoen.<sup>4</sup>

In veel situaties wil men echter de toekomst verkennen om rekening te kunnen houden met andere omstandigheden, nieuwe ontwikkelingen, onbekende mechanismen en ongewone samenlopen van omstandigheden. In dit soort situaties wordt het ontwikkelen van toekomstscenario's ingezet als manier van toekomstverkenning. De term 'scenario' is ontleend aan het theater. De keuze voor een theaterterm is veelzeggend: bij deze vorm van toekomstverkenning speelt creativiteit, naast vakmanschap en expertise, een belangrijke rol. Het uitgangspunt van het werken met scenario's is dat de toekomst niet kan worden voorspeld. Bij dit type toekomstverkenning staat daarom het ontwikkelen van meerdere mogelijke toekomstbeelden (dat wil zeggen scenario's) centraal.<sup>4-6</sup> Een toekomstverkenning met één scenario is dus eigenlijk een vermomd prognoseonderzoek, ook als het geschetste toekomstbeeld een kwalitatief karakter heeft.

Vaak wordt de vraag gesteld wanneer in toekomstverkenning moet worden gebruikgemaakt van prognoses en wanneer van scenario's. De vuistregel is dat met prognoses kan worden gewerkt als er (voldoende) zekerheid is dat de toekomst wordt gedetermineerd door dynamiek en ontwikkelingen die we kennen uit het verleden. Zo niet, dan ligt het voor de hand gebruik te maken van scenario's. Vaak wordt de inschatting afhankelijk gemaakt van de tijdshorizon van de toekomstverkenning: voor een periode van een aantal jaren in domeinen waarin veranderingen traag plaatsvinden, zou een prognose kunnen worden gemaakt. Voor langere tijdshorizonten zijn scenario's de gewenste manier van toekomstverkenning. Het probleem is echter dat de geschiedenis leert dat de wereld vaak veranderlijker is

dan gedacht (denk aan New York op 9/11, SARS, vogelgriep en de tsunami). In toekomstverkenningen dient de tijd te worden genomen om serieus over de vraag na te denken of het voor de gegeven vraagstelling mogelijk lijkt om een prognose op te stellen of om met scenario's te werken.

Bij het maken van een prognose staan de zekerheden uit het verleden centraal, terwijl bij het ontwikkelen van scenario's de onzekerheid over de toekomst het uitgangspunt is. Voor een prognose kunnen toekomstverkenners terugvallen op trendextrapolatie, statistiek en/of het gebruik van mathematische modellen. Het ontwikkelen van toekomstscenario's vraagt echter ook om andere aanpakken, die fundamenteel verschillen van klassieke wetenschappelijke methoden.

### Methodologische verscheidenheid

Toekomstscenario's zijn de resultante van een gedachten-experiment: "wat zou er kunnen gebeuren als...?" De antwoorden op die vraag kunnen de vorm krijgen van een 'eindbeeld', dat wil zeggen een beschrijving van de toekomst op een bepaald moment (bijvoorbeeld 2030), of van een 'scenarioplot', dat wil zeggen een beschrijving van een aaneenschakeling van gebeurtenissen en ontwikkelingen in een bepaalde tijdsperiode. Een eindbeeld is dus te vergelijken met een foto en een scenarioplot met een film (tabel 1).

Ondanks dat er vaak wordt gesproken over de 'scenario-methode'<sup>2</sup> bestaat die niet. Dat blijkt ook uit pogingen om

<sup>a</sup> Met 'de scenariomethode' wordt dan vaak verwezen naar een aanpak die in de context van het bedrijfsleven (waarbij Shell normaliter wordt opgevoerd) is ontwikkeld.<sup>6,10,16</sup> Zie Van der Duin<sup>3</sup> voor een empirische analyse van scenarioprojecten in het bedrijfsleven. Daaruit blijkt dat ook binnen het bedrijfsleven de methodologische variatie groot is. Een tweede vraag waarop in beleidsgerichte toekomstverkenning nauwelijks wordt gereflecteerd, is wat het betekent om een bedrijfsleven-insteek toe te passen in beleidsgerichte toekomstverkenning, een context die wezenlijk anders is. Het valt buiten het bestek van dit artikel om die vraag te adresseren.

Tabel 1. Voorbeelden van eindbeeld en scenarioplot.

VOORBEELD VAN EINDBEELD	VOORBEELD VAN SCENARIOPLOT
<i>Fragment uit scenario 'Oud laat ons koud.'</i> (Futureconsult, 2006)	<i>Fragment uit scenario 'Strong Europe'</i> (De Mooi & Tang, 2003)
5 december 2016, Goedemorgen dagboek, Ik zie zo op tegen de verhuizing. Volgende week moet ik naar verzorgingstehuis De Styx in Valkenburg. Weg, na 65 jaar hier in Wittevrouwend. De buurt is leeg en verloederd, maar het is wel mijn Maastrichtse buurtje. (..) Het ergste lijkt me de 'senior wash' in De Styx. Een menselijke wasstraat. Eén druk op de knop en 10 oudjes tegelijk gewassen (..) Privacy heb je niet. (..) Alles automatisch, behalve het aankleden. Dat moet je zelf doen, want personeel is er niet (..) Ik begrijp dat wel. Wie wil er nou voor zo'n hongerloontje werken met al die zeurderige oudjes? (..) Daarom werken alleen 55-plussers nog in de zorg. Alles draait tegenwoordig om geld. En dat is nou net wat ik niet heb!	<i>An institutional crisis is looming after EU enlargement in 2004. In this scenario, European member states are willing to sacrifice their national sovereignty in order to obtain a solution to this crisis. (..) Countries that initially remain outside the core group step in at a later date (..) Turkey becomes a member of the European Union and, although Ukraine and Russia do not become full members, they become more integrated with Europe (..) The outward orientation of Europe, the deepening of the internal market, and rapid growth in Central and Eastern Europe contribute to productivity growth in the European Union (..) Population growth does not change much during the coming decades. In light of ageing, however, employment growth falls, especially after 2020. Annual GDP growth will be (..) 1.8 percent between 2000 and 2020, and (..) 1.3 percent between 2020 and 2040.</i>

overzichten van toekomstverkenningmethoden te maken.<sup>4</sup> Iedere scenariotoekomstverkenning heeft unieke methodologische kenmerken. In de praktijk van toekomstverkenning wordt ervaring ingezet om beproefde recepten aan te passen, verschillende benaderingen te combineren en met nieuwe manieren te experimenteren. Onze indruk is dat ervaren toekomstverkenners ervan overtuigd zijn dat ten behoeve van inhoudelijke creativiteit ook methodologische creativiteit nodig is. Waar in veel praktijken convergentie en standaardisering de ambitie is, lijkt in de praktijk van toekomstverkenning diversiteit en vernieuwing de norm te zijn. En dat is volgens ons geen zwakte, maar juist een kracht. Er zijn wel pogingen tot handboeken,<sup>6-11</sup> maar dat zijn per definitie momentopnames en vaak geworteld in hele specifieke en nauwelijks generaliseerbare ervaringen. Vanwege methodologische verscheidenheid en vernieuwing is het dus onmogelijk om in algemene zin te beschrijven hoe toekomstscenario's worden ontwikkeld. Een ander probleem is dat er in de praktijk vaak weinig tijd wordt uitgetrokken voor een verslaglegging van de gebruikte methodologie. Het beschrijven en verantwoorden van de methodologie wordt vaak vooruitgeschoven. In de rapportages beperkt men zich vaak tot korte gestileerde beschrijvingen of een eenvoudig schema. Er zijn wel praktiserende toekomstverkenners die de moeite nemen de gebruikte aanpak degelijk te beschrijven<sup>b</sup>, maar dan is de neiging helaas vaak groot de gebruikte aanpak te adverteren en te verabsoluteren, in plaats van dat een constructieve kritische bespreking van de werkwijze wordt geboden. Het is dus voor een buitenstaander moeilijk een idee te krijgen hoe bepaalde, specifieke scenario's, zijn tot stand gekomen<sup>c</sup>.

Het is een klassiek idee te gaan kijken naar wat mensen in die praktijk dagelijks doen, als je wilt begrijpen hoe bepaalde kennis totstandkomt.<sup>12,13</sup> Ester *et al.*<sup>14</sup> pleiten ook voor zo'n 'etnografische'<sup>d</sup> bestudering van de *logics in use* in de praktijk van toekomstverkenning. Desalniettemin is voor zover ons bekend Dobbinga<sup>15</sup> de eerste die dergelijk

onderzoek in een Nederlands<sup>e</sup> toekomstverkenningproject heeft gedaan. Zij heeft zich meer geconcentreerd op de organisatiedynamiek dan op beschrijving van, en na reflectie op, een manier waarop de scenario's werden ontwikkeld. Het doel van ons etnografische onderzoek (2001 – 2005; bij het Ruimtelijk Planbureau (RPB) en het Energieonderzoek Centrum Nederland (ECN)) is juist inzicht te krijgen in methodologie van toekomstverkenning. We kijken onder andere naar het gebruik van specifieke technieken (Van 't Klooster en Van Asselt 2006), naar samenwerking tussen verschillende disciplines (Van 't Klooster, 2007)<sup>f</sup>, naar manieren waarop toekomstverkenners grip proberen te krijgen op de onzekerheid van de toekomst (Van Asselt *et al.* 2006) en naar manieren waarop wetenschappelijke kennis over heden en verleden wordt ingezet (Van 't Klooster, 2007)<sup>f</sup>. Op basis van deze ervaringen zullen we een indruk geven van het type activiteiten dat in veel toekomstverkenningen voorkomt<sup>g</sup>.

### Activiteiten in toekomstverkenning

Grofweg onderscheiden wij drie typische toekomstverkenningactiviteiten: brainstormen, structureren en aankleden.

### Brainstormen

Het ontwikkelen van scenario's is een bezigheid waarin wordt gebruikgemaakt van creativiteit. In de ene toekomstverkenning is creativiteit een centrale waarde, in de andere is het slechts een middel om tot interessante scenario's te komen. Brainstormen is altijd een belangrijk onderdeel in het maken van scenario's. De uitdaging van brainstormen is om manieren te bedenken de mensen te prikkelen. Brainstormen is typisch zo'n toekomstverkenningactiviteit waarbij in de praktijk elke keer andere aanpakken of variaties worden uitgeprobeerd.

Brainstormen kan een groepsproces zijn of een meer individuele aangelegenheid. Collectieve brainstorm kan de vorm krijgen van een zogenaamde Delphi.<sup>23,24</sup> Aan de hand

<sup>b</sup> In elk nummer van het *peer-reviewed* tijdschrift *Futures* ([www.elsevier.com/locate/futures](http://www.elsevier.com/locate/futures)) staan dergelijke artikelen.

<sup>c</sup> Juist in een praktijk die is gekarakteriseerd door methodologische verscheidenheid en continue vernieuwing zou het delen van ervaringen welkom zijn. Anderzijds, juist omdat er geen sprake is van standaardisering, creativiteit (*art*) een essentiële component is, en de buitenwereld vaak toch al argwanend tegen toekomstverkenning aankijkt, is het ook wel begrijpelijk dat toekomstverkenners het moeilijk vinden om de door hen al doende ontwikkelde methodologie te verantwoorden.

<sup>d</sup> Etnografie is letterlijk het beschrijven van volken. Deze manier van onderzoek doen heeft zijn wortels in de antropologie. Het idee is dat de onderzoeker gedurende langere tijd participeert in het dagelijks leven (participerende observatie), om op die manier als buitenstaander een cultuur van binnenuit te kunnen beschrijven en begrijpen.

<sup>e</sup> Het is mogelijk dat er in het buitenland wel dergelijke etnografische onderzoeken zijn uitgevoerd. Ons is alleen het afgeronde promotieonderzoek van Brooks<sup>17</sup> en startend promotieonderzoek van Ju Min Wong (University of Oxford) bekend. Ook op basis van reacties op internationale conferenties en uit internationale *reviews* van artikelen over ons etnografische onderzoek in de praktijk van toekomstverkenning maken wij op dat participerend observatie als manier om inzicht te krijgen in activiteiten van toekomstverkenning origineel onderzoek is.

<sup>f</sup> Klooster SA van 't. Toekomstverkenning: Ambities en de praktijk. Proefschrift. Eburon, Delft 2007. (verschijningsdatum 22-06-2007).

<sup>g</sup> Mede gevoed door diverse inventarisaties en evaluaties,<sup>1,4,18</sup> (zie ook [www.toekomstverkenning.nl](http://www.toekomstverkenning.nl)), onze eigen ervaring met het ontwikkelen van scenario's,<sup>19,20</sup> en diverse interviews en sessies met toekomstverkenners.<sup>4,21,22</sup>

van open vragen leveren verschillende deelnemers input. In de volgende ronde worden ze geconfronteerd met de collectieve input en wordt gevraagd om daarop te reageren, enzovoorts. In de klassieke vorm werd gewerkt met schriftelijke vragenlijsten. Tegenwoordig zijn veel Delphi's *web-based* (bijvoorbeeld de *Global Energy Delphi*).<sup>25</sup> Een andere veel gebruikte vorm is een collectieve brainstorm waarbij de deelnemers elkaar wel ontmoeten en met hun ideeën wederzijds creativiteit stimuleren teneinde nog meer originele ideeën te genereren. Er kan ook worden gebruikgemaakt van brainstormrondes met het doel ook niet voor de hand liggende associaties en gedachtekransels te stimuleren.

In brainstormen wordt ook gebruikgemaakt van interviews of wordt aan individuen gevraagd een essay te schrijven of een ontwerp van de toekomst te schetsen. In dat geval is brainstormen een individuele activiteit. Soms worden die essays gebundeld en is die bundel de uiteindelijke toekomstverkenning.<sup>26,27</sup> In andere gevallen wordt die individuele output gebruikt als input voor het ontwikkelen van scenario's. Hoewel in Nederland de meeste toekomstverkenningen het resultaat zijn van teamwork, zijn er ook toekomstscenario's die door één persoon worden gemaakt.<sup>28</sup> In dat geval is brainstormen geen afzonderlijke activiteit, maar waarschijnlijk een rode draad in het gehele proces.

### Structureren

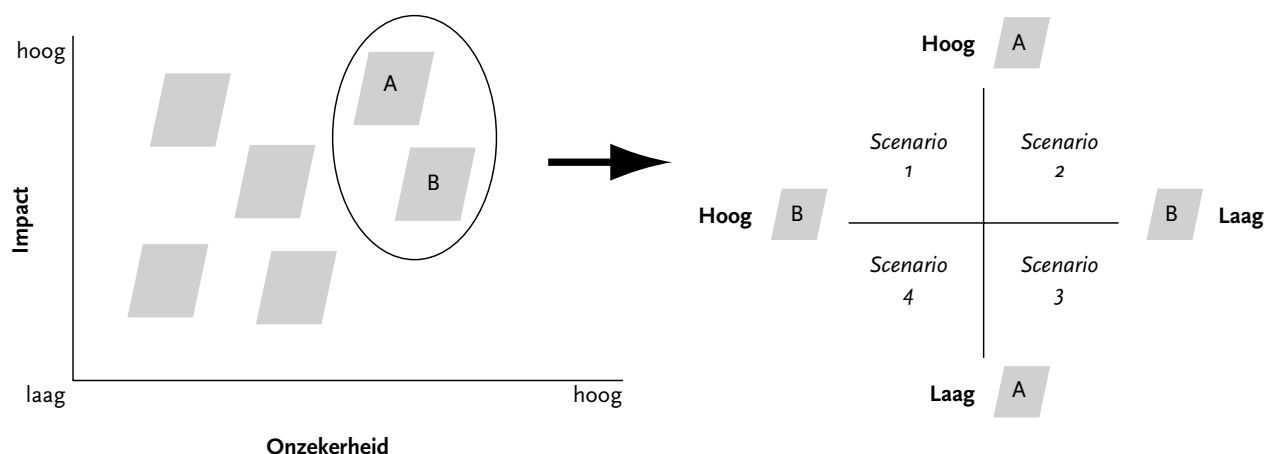
De grote kunst van toekomstverkenning is een manier te vinden ideeën en gedachten over de toekomst ontleend aan brainstormen, te ordenen. Dit onderdeel van toekomstverkenning is een zeer veeleisende zoektocht, ondanks dat veel toekomstverkenners wel een plan hebben of gaandeweg een plan ontwikkelen. Het structureren is de cruciale fase, omdat bij deze activiteit het gebruiken van wetenschappelijke kennis over heden en verleden meestal centraal staat. In deze fase wordt bijvoorbeeld geprobeerd

om 'wilde ideeën' verder te verkennen met behulp van simulatiemodellen. Of er wordt gekeken in hoeverre een gesuggereerde ontwikkeling te staven is met ervaringen in het verleden of elders in de wereld. In de fase van structurering wordt geprobeerd toekomstbeelden aannemelijk te maken door het numeriek, theoretisch of met voorbeelden te onderbouwen, of ten minste te duiden.

Er wordt vaak verondersteld dat het zogenaamde 'assenstelsel' (figuur 1) het standaardgereedschap is in de structureringsfase.<sup>29-31</sup> Van der Heijden, een van de grondleggers van het scenario-assenstel, benadrukte echter in zijn klassieke *Scenarios: The Art of Strategic Conversation* dat die aanpak alleen maar zin heeft als er slechts twee cruciale drijvende krachten (dat wil zeggen de meest onzekere ontwikkelingen met de meeste impact) kunnen worden geïdentificeerd.<sup>6</sup> In beleidsgerichte toekomstverkenning is dat vanwege het aantal factoren en domeinen dat wordt beschouwd, vaak heel moeilijk tot onmogelijk. In de retoriek over het assenstelsel wordt dit vaak neergezet als de ruggengraat van scenario-onderzoek: het assenstelsel functioneert als een 2x2-matrix die vier toekomstscenario's voortbrengt. Uit onze observaties in de praktijk van toekomstverkenning blijkt dat toekomstverkenners een assenstelsel op verschillende manieren gebruiken,<sup>32</sup> bijvoorbeeld als:

- *fundering*: hierbij is draagvlak een belangrijk criterium in het kiezen van de assen en functioneert het assenstelsel als een tweedimensionale ruimte waarin in principe oneindig veel toekomstbeelden denkbaar zijn, maar er meestal per kwadrant maar één wordt uitgewerkt.
- *bouwstelling*: het assenstelsel is een hulpmiddel om een begin te maken met het ontwikkelen van scenario's, maar er zijn uiteindelijk veel meer variabelen (dan de twee factoren op de assen) waarop de toekomstscenario's fundamenteel verschillend zijn. In deze toepassing is het assenstelsel in de uiteindelijke toekomstverkenning

Figuur 1. Klassieke opvatting (*ruggengraat*) van het assenstelsel.



niet meer zichtbaar, omdat het net als een bouwstelling wordt afgebroken als die niet meer nodig is.

- *vitrine*: er is op verschillende manieren een aantal verschillende toekomstscenario's ontwikkeld. Een assenstelsel of verschillende assenstelsels worden gebruikt om de scenario's ten opzichte van elkaar te positioneren om op die manier een gevoel te krijgen voor overeenkomsten en verschillen. Deze reflectie kan worden gebruikt in de verdere ontwikkeling van de scenario's (om verschillen te vergroten en overeenkomsten te verkleinen of om nieuwe scenario's te ontwikkelen voor de 'blinde vlekken' in de assenstelsels) of de assenstelselrepresentatie wordt gebruikt om over de scenario's te communiceren.

In plaats van uitputtend verschillende manieren te beschrijven waarop toekomstverkenneren structureren, geven wij er de voorkeur aan te laten zien dat juist in deze fase vaak problemen optreden. Bij het ontwikkelen van toekomstscenario's is de onzekerheid over de toekomst het vertrekpunt. Uit onze observaties blijkt dat in de fase van het structureren de zekerheden uit het heden en verleden een steeds centralere positie gaan innemen. Onze ervaring is dat in beleidsgerichte toekomstverkenning de zogenaamde feiten uit het verleden en daarin gewortelde waarschijnlijkheden belangrijker worden dan mogelijkheden. Niet alle toekomstverkenneren zijn zich hiervan bewust, maar het betekent wel dat het basisprincipe van toekomstscenario's wordt ondermijnd. Het lijkt erop dat toekomstverkenneren bang zijn dat hun werk wordt gediskwalificeerd als science-fiction en dat het daarom zo verleidelijk is, of zelfs door de opdrachtgever erop wordt aangestuurd, de zekerheden uit het verleden te projecteren op de onzekere toekomst. Het gevolg hiervan is dat veel toekomstscenario's een zeer hoog prognosegehalte hebben.

De uitdaging in het structureren is om wel de kennis over heden en verleden te gebruiken om gebrainstormde ideeën te doordenken en nader te verkennen, echter zonder door die kennis te worden vastgenageld of beperkt. De kunst is vanuit onzekerheid te blijven denken. Enerzijds lijkt het werk van toekomstverkenneren in deze fase op wetenschappelijk onderzoek, tegelijkertijd is het structureren van kennis ten behoeve van scenario's wezenlijk anders. Juist in deze fase lijkt methodologische variëteit, in de zin van anders dan gebruikelijke onderzoeksmethoden, noodzakelijk om echte toekomstscenario's te kunnen maken.

#### Aankleden

Scenario's zijn nadrukkelijk bedoeld om mensen over verschillende toekomstten te laten nadenken. Dat betekent dat de toekomstbeelden moeten prikkelen. In de praktijk van toekomstverkenning wordt veel aandacht besteed aan de namen van de scenario's. De ambitie is dat het

namen zijn die blijven hangen en waarin de essentie van het toekomstbeeld wordt samengevat. Naast een meer klassieke beschrijving van de toekomst – eventueel vergezeld van tabellen en grafieken –<sup>33</sup> wordt in de meeste scenario-onderzoeken actief geëxperimenteerd met allerlei presentatievormen om de toekomst zo rijk mogelijk te verbeelden.<sup>20,34,35</sup> Voorbeelden daarvan zijn tekeningen, foto's, collages, filmpjes of andere vormen van *artist impressions*, maar ook toekomstige krantenberichten, een beschrijving vanuit het perspectief van een bepaalde actor (zie het dagboekvoorbeeld in *tabel 1*) en zogenaamde *mind maps* en beïnvloedingsdiagrammen.

#### Conclusie

Wetenschappelijk verantwoord toekomst verkennen heeft de kenmerken van een *mission impossible*. Tegelijkertijd is er wel grote maatschappelijke behoefte aan beleidsgerichte toekomstscenario's. De vraag die dit opwerpt is hoe toekomstverkenneren die schier onmogelijke opdracht proberen uit te voeren. Er is geen succesrecept. Methodologische verscheidenheid en constante vernieuwing zijn karakteristieke kenmerken van de praktijk van toekomstverkenning. Om te voorkomen dat gebrek aan standaardisering tot een onnodig en onproductief heruitvinden van wielen leidt, is het beschrijven en verantwoorden van (gaandeweg ontwikkelde) methodologie en kritische reflectie daarop noodzakelijk. Dat is enerzijds een verantwoordelijkheid van toekomstverkenneren zelf. Anderzijds kan etnografisch onderzoek door (relatieve) buitenstaanders ook helpen meer zicht te krijgen op hoe toekomstverkenneren kennis over de toekomst produceren.

In dit artikel hebben we een drietal typische toekomstverkenningactiviteiten besproken. Wij hebben gepoogd een indruk te geven van deze activiteiten als ook van problemen en uitdagingen die hierbij op de loer liggen, met de bedoeling geïnteresseerde lezers een kijkje achter de schermen van 'de toekomstindustrie'<sup>36</sup> te gunnen.

#### Summary

*Futurists aim to produce statements about the world in future times. There are two types of statements about the future: prognoses based on extrapolation of past and current trends and scenarios which explore various possible futures. Foresight is also relevant in the context of infectious diseases. Therefore, this paper aims to provide some insight into the practice of policy-oriented futures studies, with the aim to inform, and possibly to inspire, researchers and policy-makers in the field of infectious diseases. There is no standard approach for the development of scenarios. Methodological variety and constant innovation are characteristic qualities of the scenario practice. In this article three kinds of activities typical for scenario development, e.g. brainstorming, structuring and styling are discussed.*

## Dankwoord

Dit artikel is geworteld in het onderzoeksproject *Perspectives on uncertainty and risk: An interdisciplinary methodology program on 'toekomstverkenning'*, dat werd gefinancierd met een NWO Vernieuwingsimpuls (2001-2006).

## Literatuur

1. Ministerie van Binnenlandse Zaken en Koninkrijksrelaties. Houdbaarheid verstrekken: Toekomstverkenning en beleid. Ministerie van Binnenlandse Zaken en Koninkrijksrelaties, Den Haag, 2005.
2. Schooneboom J. Toekomstscenario's en beleid. *Beleid en Maatschappij* 2003;30(4):212-8.
3. Lente H van. Forceful futures: From promise to requirement. *Contested futures: A sociology of prospective techno-science*. Brown N, Rappert B, Webster A (editors). Ashgate, Aldershot, UK, 2000.
4. Notten PWF van. *Writing on the Wall: Scenario development in times of discontinuity*. Thela Thesis & Dissertation.com, Amsterdam, 2005.
5. Duin PA van der. *Qualitative futures research for innovation*. Eburon, Delft, 2006.
6. Heijden K van der. *Scenarios: the Art of Strategic Conversation*. Wiley, England, 1996.
7. Bell W. *Foundations of Futures Studies: Human science for a new era*. Transaction Publishers, New Brunswick, 2000.
8. Ringland G. *Scenario Planning: Managing for the future*, Wiley & Sons, Chichester, 1998.
9. Sardar, Z. (1999). *Rescuing all our futures: The future of futures studies*. Praeger, Westport, 1999.
10. Schwartz P. *The Art of the Long View: Planning for the Future in an Uncertain World*, Currency Doubleday, New York, 1991.
11. Slaughter RA, Inayatullah S. *The knowledge base of futures studies*. Foresight International, Brisbane, 2000.
12. Latour B, Woolgar S. *Laboratory Life: The construction of scientific facts*, Princeton University Press, Oxford, UK, 1986.
13. Schön DA. *The reflective practitioner: How professionals think in action*, Basic Books, USA, 1983.
14. Ester P, Geurts J, Vermeulen M. *De makers van de toekomst: Over nut en noodzaak van toekomstverkenningen voor beleidsonderzoek*. Tilburg University Press, Tilburg, 1997.
15. Dobbinga E. *Weerbarstigheid van organisatiecultuur: Een organisatie-antropologische studie naar betekenisgeving aan moderne management-instrumenten*. Eburon, Delft, 2001.
16. Bradfield R, Wright G, Burt G, Cairns G, Heijden K van der. *The origins and evolution of scenario techniques in long range business planning*. *Futures* 2005;37(8):795-812.
17. Brooks LJ. *Working in the future tense: Materializing stories of emerging technologies and cyberculture at the Institute of the Future*. University of California, San Diego, USA, 2004.
18. Greeuw, SCH, Asselt MBA van, Gosskurth J, Storms CAMH, Rijkens-Klomp N, Rothman DS, Rotmans J. *Cloudy crystal balls: An assessment of recent European and global scenario studies and models*. Copenhagen, Denmark: European Environmental Agency (EEA) Experts' corner report no. 4: Prospects and scenarios, 2000.
19. Rotmans J, Asselt MBA van. *Perspectives on a sustainable future*. *Intern J Sustainable Developm* 1999;2(2):201-30.
20. Asselt MBA, Rotmans J, Rothman DS. *Scenario innovation: Experiences from a European experimental garden*. Taylor & Francis, 2005.
21. Asselt MBA van, Mesman J, Klooster SA van 't. *Dealing with prognostic uncertainty*. *Futures* 2007, in press.
22. Asselt MBA van, Langendonck R, Asten F van, Giessen A van der, Janssen P, Heuberger P, et al. *Uncertainty and RIVM's Environmental Outlooks. Documenting a learning process*. ICIS/RIVM, Maastricht/Bilthoven, 2001.
23. Linstone HA, Turoff M. *The Delphi-method: Techniques and applications*. Addison-Wesley, London, UK. 1975.
24. Rowe G, Wright G. *Expert opinion in forecasting: The role of the Delphi technique*. *Principles of forecasting: A handbook for researchers and practitioners*. J. Scott Armstrong J (editor). Kluwer Academic Publishers, Boston/Dordrecht/London, 2001.
25. Glenn JC, Gordon TJ. 2006 *State of the Future*. UNU Millennium project ([www.acunu.org/millennium](http://www.acunu.org/millennium)), 2006.
26. Rademaker P. *Met het oog op 2010: De toekomst van het sociale domein, verbeeld in elf essays*. De Balie, Amsterdam, 2001.
27. Heijden GMA van der, Schrijver JF. *Representatief en participatief*. Eburon, Delft, 2002.
28. Bruggink JJC. *The next 50 years: Four European energy futures*. ECN, Petten, the Netherlands, 2005.
29. Berkhout F, Hertin J. *Foresight futures scenarios: Developing and applying a participative strategic planning tool*. *Futures* 2002;37:37-52.
30. Ministerie van Binnenlandse Zaken en Koninkrijksrelaties. *Scenario's enzo: een handreiking voor scenarioplanning*. Dutch Ministry of the Interior Affairs and Kingdom Relations, Den Haag, 2003.
31. Ringland G. *Scenarios in public policy*. John Wiley and Sons Ltd., USA, 2002.
32. Klooster SA van 't, Asselt MBA van. *Practicing the scenario-axes technique*. *Futures* 2006;38(1):15-30.
33. Mooij R de, Tang P. *Four futures of Europe*. CPB, The Hague, 2003.
34. Essent N.V. *Beleef 2030: 4 toekomstscenario's voor de energiewereld*, Essent NV, 2003.
35. Futureconsult. *Van seniorwash to sixties revival & van rollator tot rolls roys: Scenarios voor vergrijzend Nederland 2016*. Futureconsult BV, Amsterdam, 2006.
36. Wilde R de. *De voorspellers: een kritiek op de toekomstindustrie*, Uitgeverij De Balie, Amsterdam, 2000.

# Toekomstige infectieziekten, een scenarioverkenning

P. Bol en A.E.M. de Hollander

## Verkennen is niet hetzelfde als voorspellen

‘Voorspellen is moeilijk, zeker als het om de toekomst gaat’, zei Mark Twain al meer dan een eeuw geleden. Met het gemak van de terugblik blijken voorspellingen over toekomstige ontwikkelingen er meestal flink naast te hebben gezeten, ook al zijn ze gedaan door de beste experts uit de meest relevante disciplines met de meest geavanceerde methoden.<sup>1</sup> Bovendien zet af en toe één onvoorspelbare gebeurtenis de wereld op zijn kop. Zo dreunt de klap van ‘nine eleven’, de aanslag op het WTC-gebouw in 2001, nog immer wereldwijd na. Niemand heeft in de jaren ’70 de aids-epidemie voorspeld en in 2000 dacht men wel aan een nieuwe Spaanse griep maar niet aan SARS.

Daarom wagen wij ons hier niet aan voorspellingen over volksgezondheid in de toekomst, maar proberen wel relevante stukjes ervan te verkennen. Van Asselt en medewerkers definiëren verkennen als ‘het op samenhangende wijze ‘verbeelden’ van de onzekere en ongekende toekomst’.<sup>2</sup> Daarbij zullen we eerst systematisch naar het verleden en heden van infectieziekten kijken en die lessen gebruiken om in de toekomst te kijken.<sup>3-8</sup> Daarbij maken we voorzichtig gebruik van twee contrasterende scenario’s uit de Volksgezondheid Toekomst Verkenning 2006 om de dilemma’s, kansen en bedreigingen scherp te krijgen.<sup>9</sup>

## Het verleden: leren van eerdere epidemieën

### Vijfduizend jaar epidemieën

Geschreven geschiedenisbronnen bestaan al zo’n vijfduizend jaar. In die vijf millennia blijken er steeds epidemieën te zijn opgetreden. Redelijk gedocumenteerd zijn de zwarte dood (pest) in de zesde en 14<sup>e</sup> eeuw, lepra in de 10<sup>e</sup> en 11<sup>e</sup> eeuw, of de decimering van de oorspronkelijke Amerikanen in de 16e en 17e eeuw door ‘relatiegeschenken’ die Columbus en volgers meebrachten, vooral pokken. Het lijkt er overigens op dat de zoveelste ‘ontdekker’ van Amerika als tegenprestatie syfilis meenam naar Europa.<sup>10</sup> Verschillende cholera-epidemieën teisterden 19<sup>e</sup> eeuwse Europa; de Spaanse griep sloeg aan het begin van de 20<sup>e</sup> eeuw wereldwijd toe en aids is de pandemie van onze tijd.

Die pandemieën behoren zeker nog niet tot het verleden, of ze nu verwekt worden door oude of door nieuwe ziektekiemen. Recentelijk is er een pandemie van *Severe Acute Respiratory Syndrome* (SARS) geweest en de huidige pandemie van vogelgriep doet vrezen voor een humane griep-pandemie van een omvang als die van de Spaanse griep in 1917-1919. Ook de HIV-pandemie is pas een kwart eeuw oud en heeft mondiaal al een ingrijpende invloed uitgeoefend op maatschappij, economie en demografie. Nieuw-geïntroduceerde ziekteverwekkers, bijvoorbeeld in voorheen geïsoleerde populaties of na gastheerwisseling zijn vaak zeer dodelijk. Na verloop van tijd stelt zich een evenwicht in, waarbij juist de tijd die met de ziekte wordt doorgebracht (ziektelast) kan toenemen.<sup>11</sup> Toch zullen we nog moeten afwachten of HIV ooit milder zal worden, zoals in het laatste millennium gebeurde met de pest-, syfilis- en roodvonkbacterie en met het pokvirus. Wel is er al een milde vorm van HIV, HIV-2, vooral aan de Westkust van Afrika.

## Nieuw de kop opstekende infectieziekten

De Amerikaanse instellingen *Board on Global Health* en *Institute of Medicine* hebben in 2003 een lijst van 13 factoren opgesteld die de belangrijkste oorzaken van emergent infectious disease in de nabije toekomst zouden kunnen zijn. Deze handzame indeling wordt ook hier gevolgd.<sup>4,5,12</sup>

### 1. Microbiële aanpassing en verandering

Micro-organismen veranderen voortdurend en zijn daardoor in staat om de afweer van mens en dier te omzeilen, resistentie te ontwikkelen en vaccinontwikkeling te frustreren. Een oude bekende – de malariaverwekker *Plasmodium* – en onze nieuwe gesel – het HIV – muteren

Dr. P. Bol, sectie Gezondheidstechniek, Faculteit Civiele Techniek, TU Delft, Postbus 5048, 2600 GA Delft, e-mail: pbol@xs4all.nl,  
Dr. A.E.M. de Hollander, Centrum voor Volksgezondheid Toekomst Verkenningen, RIVM, Postbus 1, 3720 BA Bilthoven, e-mail: aem.de.hollander@rivm.nl



voortdurend en tevens kunnen ze steeds weer andere delen van hun genoom aan- en uitschakelen, waardoor ons immuunsysteem voortdurend andere antigenen krijgt voorgeschoteld. Maar ook de kinkhoestbacterie is in de loop van de tijd weggedreven van het antigene profiel waarop ons vaccin was gebaseerd.

Het influenza-A-virus veroorzaakt een aantal malen per eeuw een grote pandemie. Het kent 15 subtypen; de krachtig gesmoorde uitbraak van vogelgriep waaraan zes van de 18 menselijke patiënten overleden in Hong Kong in 1997 was van subtype H5N1. Dat subtype is de laatste jaren steeds weer opgedoken, bij pluimvee, bij trekvogels en af en toe ook bij zoogdieren en de mens. Tot nu zijn er zo'n 200 menselijke slachtoffers geweest van wie ruim de helft overleed. De Spaanse griep van 1917-19 was waarschijnlijk H1N1 (één tot twee procent van de wereldbevolking stierf, 20 tot 40 procent van alle mensen had de ziekte). Deze combinatie zou heel goed binnen afzienbare tijd nog eens kunnen ontstaan. Met dezelfde mortaliteit komt dat nu neer op 70 tot 140 miljoen doden!

## 2. Menselijke gevoeligheid voor infectie

Er is vooral in westerse landen een toenemende populatie met afgenomen weerstand door de vergrijzing en door bijvoorbeeld afweeronderdrukkende medicijnen en bestraling. Dit zal zich onder andere uiten in steeds meer opportunistische infecties. In ontwikkelingslanden zijn onder- en wanvoeding (afnemend probleem) en HIV-infecties belangrijke oorzaken. Doordat de (ziekenhuis)populatie steeds kwetsbaarder wordt, zal in ons land het percentage ziekenhuisinfecties hardnekkig op zeker vijf procent van de opnames blijven liggen.

## 3. Klimaat en weer

De gemiddelde temperatuur zal in 2100 hoger zijn (+1,4 tot 5,8 °C). Veel ziekten kennen een seizoensvariatie in voorkomen. Wanneer het klimaat verandert, krijgen bijvoorbeeld vectoren (zoals muggen) een kans om te gedijen en ziekteverwekkers over te dragen. Opwarming kan de periode van blootstelling verlengen, maar ook gebieden ontsluiten die voorheen een te koud deel van het jaar hadden voor overleving van vectoren. Zo ruikt malaria in Afrika zuidwaarts op en zijn er al veel gevallen in het noorden van Zuid-Afrika. In Nederland (dat pas in 1970 malariavrij werd verklaard) lijkt terugkeer door diverse factoren uiterst onwaarschijnlijk, onder andere door de extreem lage prevalentie van mensen met Plasmodium in hun bloed (importmalaria), de onder andere door ontzilting geringe aantallen malariamuggen en hun ongeschiktheid voor de meeste tropische plasmodia.<sup>13,14</sup>

Colwell heeft gewezen op verandering van oceaanstromen door klimaatwijziging en de kansen die dit de cholera-bacterie biedt. Ook duwt opwarming en uitzetting van het water in de Indische Oceaan de ziltong veel dieper

de estuaria van de grote rivieren in, waardoor tientallen miljoenen mensen extra worden blootgesteld aan cholera-besmetting (de bacterie is brakwaterminnend).<sup>15</sup>

## 4. Veranderende ecosystemen

Ecologische veranderingen zijn misschien wel de belangrijkste oorzaak van het opduiken van nieuwe infectieziekten, omdat veel ziekten een reservoir hebben in de dierenwereld. Ontsluiting van niches in equatoriaal Afrika – onderdeel van de globale compartimentering – hebben misschien het al veel langer bestaande HIV voor de wereld 'ontsloten'.<sup>16</sup> We zien momenteel overal hantavirusinfecties opduiken vanuit knaagdierpopulaties en het nipah-virus verspreidt zich. Het West-Nile-virus zal zich verder over onder andere Noord-Amerika verspreiden. De letaliteit bedraagt ruim zes procent. Het Denguevirus (knokkelkoorts) verovert Zuid-Amerika en het door de mug overgebrachte chikungunyavirus (CHIKV) teistert al een paar jaar de eilanden in de Indische Oceaan zoals de Seychellen en Mauritius.

## 5. Economische ontwikkeling en landgebruik

Door toenemende ontsluiting van onontgonnen gebieden neemt de kans op contact met voor ons nieuwe ziekteverwekkers toe. Zo hopen we dat het Amazone-gebied veel geneeskrachtige planten zal bieden, maar wat te denken van alle pathogenen die daar nog kunnen vrijkomen? Het areaal aan stuwmeren zal sterk worden uitgebreid en dat biedt kansen aan muggen (malaria etc.) en slakken (bilharzia).

## 6. Menselijke demografie en gedrag

Bevolkingstoename, vergrijzing en urbanisatie zijn wereldwijd trends waardoor het aantal vatbare personen toeneemt. Risicogedrag op het gebied van druggebruik en seks versterken dit effect.

De bevolkingsgroei is in de westerse landen vrijwel gestopt. In ontwikkelingslanden vindt de aanwas vooral onder de armere en onontwikkelde groepen plaats, hand in hand met (super)urbanisatie. Nu zijn er al 23 megasteden met meer dan vijf miljoen inwoners en dit verschijnsel versnelt, bijvoorbeeld in China. Infectieziektenbestrijding zal zo een grote uitdaging worden. De ruim 50 procent van de wereldbevolking die in urbane gebieden woont, zal deze eeuw doorgroeien tot circa 80 procent.

Over de hele planeet zien we een ouderwordende bevolking. De globale levensverwachting ligt nu al boven 60 jaar. In de westerse wereld gaat de stijging al meer dan 150 jaar lineair door (met een kwart jaar per jaar). Er is geen teken dat er een plateau fase ontstaat. Lang is gepostuleerd dat de asymptoot op 88 tot 90 jaar ligt, maar dit blijkt niet uit de cijfers tot nu toe. Veroudering gaat gepaard met toenemende kans op infectieziekten, waaronder opportunistische infecties. Dit heeft te maken

met verworven orgaanschade, met DNA-schade en replicatiefouten in het DNA, en een minder effectieve immunologische afweer.

### 7. Technologie en industrie

Medische technologie (bloedtransfusie, orgaantransplantatie, immuunsuppressiva) en grootschalige voedselproductie creëren nieuwe risico's op infectieziekten. Aquaculturen van vis en schelpdieren met hun anti-infectiemiddelen zijn kweekvijvers van resistentie.

### 8. Internationale reizen en handel

Toename in volume en snelheid van reizen en handel maken dat infectieziekten en micro-organismen even snel meereizen, zodat op microbiel gebied al kan worden gesproken van een *global village*. Dit is onderdeel van de steeds versnellende 'biologische globalisering'. Vergeleken met 1800 legt een gemiddelde wereldbewoner nu duizendmaal zoveel reiskilometers af in zijn leven (dat overigens wel aanmerkelijk langer duurt). In 2010 zullen de dan zeven miljard mensen in totaal één miljard luchtreizen maken vanaf 5000 luchthavens. Een deel van de reizigers (sekstoeristen) is uit op intiem contact ver weg van huis, met kans op verstreking en verwerving van soa's zoals HIV-infectie.

Het West-Nilevirus kwam in de jaren '90 van de vorige eeuw waarschijnlijk met vliegtuigen (of trekvogels?) naar de VS en zal zich verder over onder andere Noord-Amerika verspreiden. De letaliteit bedraagt ruim zes procent. Het Blue-Tonguevirus dat epidemieën onder schapen geeft, rukt op vanuit Zuid-Europa en heeft inmiddels Nederland bereikt. De toekomst achterhaalt ons. Het Denguevirus (knokkelkoorts) veroverd Zuid-Amerika; het kwam er waarschijnlijk per schip aan met muggenlarven in het water in aangevoerde oude autobanden. De meest gevreesde vector, *Aedes albopictus* (de tijgermug), is al in Nederland gesignaleerd. Belangrijke bron blijken *lucky-bambooplantjes* uit China.

### 9. Afbraak van volksgezondheidsvoorzieningen

Het ineenstorten van de Sovjet Unie leidde na 1989 tot een duizelingwekkende toename van difterie door de afbraak van het vaccinatieprogramma. In de VS kwam de tbc-bestrijding onder druk in de jaren '70; een ziekte die steeds minder voorkomt verdient toch immers niet zoveel aandacht. Geslaagde preventie gaat af en toe aan haar succes ten onder. Toen in de jaren '80 aids toesloeg, in de VS nogal eens geassocieerd met tbc, kostte het veel geld om de bestrijding weer op te tuigen, maar vooral om de expertise terug te krijgen.

Momenteel zien we in China een reuzengroei, met kostbare medische voorzieningen voor de rijken, en een ineenstorting van de eenvoudige (blote-voeten-achtige) medische voorzieningen voor de armen en plattelanders. De mondiaal groeiende cynische 'ieder-voor-zich'-cultuur kan in de 21<sup>e</sup>

eeuw voor een boemerang zorgen. Want medische ellende onder de meerderheid deelt zich mee aan het geheel, zoals de welgestelden in Nederland goed begrepen in de 19<sup>e</sup> eeuw, waardoor pokkenvaccinatie en de aanleg van waterleiding en riolering (cholera!) werden begunstigd.

### 10. Armoede en sociale ongelijkheid

Armoede was en is de belangrijkste oorzaak van overlijden aan infectieziekten in de wereld. Armoede bevordert infectieziekten en omgekeerd. Dit omdat armoede betekent: slechte voeding en huisvesting, onwetendheid en laag onderwijspeil, weinig gezondheidszorg en meestal een lage positie van meisjes en vrouwen.

Hogere welvaart is in ons land gepaard gegaan met sprongen voorwaarts in volksgezondheid, lang voor enige significante medische inbreng. Dit is in nog kortere tijd te verwachten in ontwikkelingslanden, waar economische ontwikkeling hand in hand gaat met voorlichting, vaccinaties en orale rehydratietherapie, om maar wat te noemen. Kindersterfte door diarreeziekten is daar in de laatste 25 jaar gehalveerd (tot nu ca. twee miljoen). De komende decennia kan deze doodsoorzaak vrijwel verdwijnen. Maar voorlopig sterven wereldwijd nog elke minuut 1500 mensen aan infectieziekten (bijna een kwart van alle doden), van wie de helft kinderen van 0-5 jaar zijn. HIV, tuberculose en malaria leveren een morbiditeit van 500 miljoen en jaarlijks zes miljoen doden; beide getallen nemen de komende jaren toe.

### 11. Oorlog en hongersnoden

Lang dachten we dat oorlog zou afnemen, maar helaas kan deze eeuw gaan uitpakken als die gruwelijke voorgangers, de zestiende en de twintigste. Regionale conflicten woekeren voort als veenbranden en op termijn kunnen ze schadelijker zijn dan wereldoorlogen. Bijbehorend zijn de infectieziektenrisico's. Vluchtelingen, immer 10-20 miljoen, zijn extra kwetsbaar voor infectieziekten door het ontbreken van een goede infrastructuur in een situatie van ondervoeding en opeenhoping van mensenmassa's.

Honger daarentegen lijkt binnen afzienbare tijd te kunnen worden bedwongen. Dat zal de druk door infectieziekten flink doen afnemen. Zoals we zagen in ons land toen in de tweede helft van de 19e eeuw de hoeveelheid en samenstelling van het voedsel verbeterden.

### 12. Gebrek aan politieke wil

Een veelgehoorde uitspraak is: 'ziektes als malaria, tuberculose en aids zouden wereldwijd veel minder slachtoffers maken als meer geld zou worden gestoken in de bestrijding'. Daarbij hoort een kanttekening. Niet alleen geld maar ook tijd is van belang. Het pompen van een tienvoudig bedrag in bijvoorbeeld HIV-vaccinontwikkeling stuit op het logistieke probleem van onvoldoende geschikte onderzoekers voor zo'n taak, maar er is ook tijd nodig.

Het kostte een paar generaties om in de industriële revolutie zaken te standaardiseren, en eveneens een paar generaties om na het ontstaan van bacteriologie (ca. 1880) en virologie (ca. 1930) antibacteriële respectievelijk antivirale middelen te ontwikkelen. We moeten niet verbaasd zijn als het vinden van een goed anti-HIV-vaccin ook twee generaties duurt.

### 13. Opzettelijk schade toebrengen

Bioterrorisme wordt steeds meer gezien als een reële dreiging na de anthrax-poederbrieven in de VS in het najaar van 2001. Niet alleen islam-fundamentalisten zijn geneigd tot zulke acties. In 1995 werden 12 mensen gedood door een aanval met het zenuwgas Sarin in de Tokyo metro door de beweging Aum Shinrikyo, die ook al experimenteerde met botulinegif en anthrax en op zoek was naar ebolavirus. En de *UNA-bomber* in de VS laat ons beseffen dat dreigingen ook van binnenuit kunnen komen.

Een paar kandidaten voor terreurgebruik zijn (long)pest, pokken en anthraxsporen. De laatste zijn door hun statische lading nog moeilijk te verstuiven, maar ooit vinden terroristen daar wel wat op (bijvoorbeeld *coating*). Verder tularemie en virale hemorrhagische koortsverwekkers als ebola en lassa-virus. En let wel: ook doelbewuste ziekten van planten en dieren kunnen leiden tot grote economische schade en ontwrichting.

### Twee toekomstscenario's

Het werken met scenario's is een andere manier van in de toekomst kijken. In plaats van het rechtstreeks doortrekken van huidige ontwikkelingen wordt in scenario's juist naar contrasten gezocht tussen mogelijke werelden. Het gaat hierbij om zo veel mogelijk intern consistente toekomstperspectieven en dit vereist een zekere discipline. Men kan niet naar believen een eigen 'wens'- of juist een pessimistische 'doemwereld' creëren. Het werken met sterk contrasterende scenario's kan verhelderende beelden verschaffen van dilemma's, *trade-off's* en gevolgen van politieke en beleidskeuzen. Werken met scenario's is dus niet hetzelfde als het doen van voorspellingen; de 'werkelijke' toekomst over tien, twintig of dertig jaar zal dan ook niet één scenario volgen, maar waarschijnlijk ergens tussen de scenariotoekomst in liggen.

Recent zijn door onder meer het Centraal Planbureau (CPB), het Milieu- en Natuurplanbureau (MNP) en de UNEP toekomstscenario's uitgewerkt.<sup>17,18</sup> Die scenario-studies zijn geordend rond twee sleutelonzekerheden. Enerzijds is dat de mate waarin landen bereid en in staat zijn om internationaal samen te werken, anderzijds betreft dat de verdeling tussen publieke en private verantwoordelijkheden, en dan in het bijzonder de vraag of en hoe wordt gekozen voor meer of minder sturing door de collectieve sector. Deze twee assen zorgen voor een 'waarschijnlijkheidsruimte' van vier kwadranten met

verschillende combinaties van posities op de assen (vier scenario's), waarbinnen de toekomst zich zou kunnen gaan afspelen.

### Competitieve wereld en zorgzame regio

In ons scenario 'Competitieve wereld' ligt de nadruk op markt en globalisering, in het scenario 'Zorgzame regio' heeft de overheid een belangrijke rol en is de blik wat meer naar binnen gekeerd (we kiezen hier de twee meest contrasterende van de vier scenario's van CPB en MNP). Het tekstblok geeft de contrasten tussen de scenario's weer via een blik door de ogen van burgers op hun leven in

#### Schets van de competitieve wereld

"Zolang het met onze economie goed gaat, gaat het goed met ons en andere (ook arme) delen van de wereld. We moeten zorgen dat we blijven groeien, presteren, sneller en vooruit gaan en mooier en beter zijn. Concurrentie tussen landen, mensen en bedrijven is alleen maar goed; het verhoogt de kwaliteit en de efficiëntie en houdt de prijzen scherp. Ook biedt het meer mogelijkheid tot zelfontplooiing. Presteren en geld verdienen is belangrijk. We willen een luxe, comfortabel en vooral ook stimulerend leven leiden zowel zakelijk als privé. Een omgeving hebben die veel kansen en uitdagingen biedt. Te veel bemoeienis en betutteling van de overheid stellen we niet op prijs. Meer efficiency betekent ook een kleinere overheid, dus meer privatiseren en minder uitkeringen. Iedereen moet voor zichzelf zorgen en voor zichzelf opkomen. We regelen onze zaakjes zelf wel, je moet het zelf doen!" (scenario 'Mondiale Markt', in RIVM-MNP, 2004).<sup>19</sup>

In dit scenario wordt een hoge economische groei verondersteld. Deze welvaartstijging zal zich voordoen onder alle lagen van de bevolking, van hoge tot lage sociaaleconomische status. De verschillen tussen hoog en laag blijven echter bestaan of groeien. Stijging op de sociaaleconomische ladder gaat gepaard met een gezondere leefstijl. Wie echter minder inkomen heeft, schaft minder snel gezonde voeding aan die relatief duur is. In dit scenario zijn er snelle technologische ontwikkelingen, hetgeen ook tot uitdrukking komt in doorbraken in medische technieken. Ondanks de hoge kosten van de gezondheidszorg zal deze door de hoge economische groei betaalbaar zijn: *health for sale*, maar vooral voor degenen die materieel beter af zijn. Er treden verbeteringen op in de gezondheidszorg. Dit wordt mede ingegeven door de wens van de overheid ouderen langer in de arbeidsmarkt te houden (op basis van scenario 'Global Economy' in de Jong 2004).<sup>18</sup>

deze werelden, en vervolgens door een meer op de volksgezondheid gerichte beschrijving.

Als we vanuit het perspectief van deze twee werelden kijken naar de in de vorige paragraaf behandelde 13 factoren, is duidelijk dat een aantal clusters er vooral toe doet. In de eerste plaats 'klimaat, ecosystemen en landgebruik', dan 'demografie en menselijk gedrag', inclusief reisgedrag, vervolgens 'armoede, sociale ongelijkheid' en – daaruit voortvloeiend – meer kans op oorlog, hongersnood, vluchtelingen, terrorisme en dergelijke. Ten slotte zullen technologische ontwikkelingen een belangrijke rol gaan spelen.

#### Schets van de Zorgzame regio

"We willen de 'menselijke maat' weer in ons leven terugbrengen. We kunnen ons zorgen maken om de hele wereld en Europa, maar daar hebben we als individu toch niet veel invloed op. Dat staat veel te ver van ons af. Veel belangrijker is dat het met onszelf en onze eigen directe sociale leefomgeving goed gaat. Er is meer aandacht voor elkaar. De overheid staat dicht bij de mensen: de lokale overheid speelt een grote rol. Het hoeft allemaal niet verder, uitdagender, hoger, meer en sneller. We zijn meer op elkaar ingesteld en vrijwilligerswerk is ook belangrijk in de voorziening van allerlei behoeften op het gebied van zorg. Elkaar aanspreken op elkaars gedrag; meer sociale controle. We hebben behoefte aan gemeenschapszin; met eigen initiatieven komen om anderen te verzorgen en om de kwaliteit van onze eigen woon- en leefomgeving te verbeteren. We moeten niet meer zo langs elkaar heen leven; we moeten iets voor een ander over hebben zonder dat je daar iets voor terugvraagt. Het vertrouwen in elkaar moet weer terugkomen." (RIVM-MNP, 2004).<sup>19</sup>

In het scenario 'Zorgzame regio' is de economische groei gering. Er is er sprake van solidariteit van de meer- met de minderbedeelde groepen in de samenleving. Dit betekent onder meer inkomensoverheveling tussen de jongere en oudere generatie en tussen werkenden en niet-werkenden. Hierdoor treedt er toch nog verbetering van de welvaart op in groepen met een lage sociaaleconomische status. Het negatieve effect van lagere economische groei op de levensverwachting in dit scenario wordt gecompenseerd door de grotere gelijkheid en gezondere leefstijl. Door de slechtere economische situatie is er minder geld beschikbaar om te investeren in de medische technologie. De sterke overheid is op het terrein van preventie erg actief. De gezondheidszorg is voor iedereen toegankelijk maar deze zal door de minder gunstige economische situatie vooral gericht zijn op basisvoorzieningen ('niet alles moet wat kan'; op basis van scenario *Regional Communities* in De Jong et al., 2004).<sup>18</sup>

## Verkenningen in twee werelden

### Klimaat en ecosystemen

Los van de vraag hoe groot de invloed van menselijke activiteit is, lijkt het weinig twijfel dat ons klimaat verandert. Onomstotelijk is aangetoond dat de poolkappen en de gletsjers als sneeuw onder de zon aan het verdwijnen zijn. Ook de grote ecosystemen van deze wereld, zoals het tropische regenwoud, verdwijnen in rap tempo als gevolg van steeds toenemend agrarisch landgebruik. Per persoon wordt steeds meer woonruimte opgeëist en een uitdijend areaal aan wegen en bedrijfsterrainen verdringt natuur- en cultuurlandschap.

In de door de vrije markt en concurrentie gedomineerde competitieve wereld zullen deze ontwikkelingen nauwelijks worden afgeremd. Beschikbare hulpbronnen worden zoveel mogelijk ingezet voor maximale economische groei en maatschappelijke vooruitgang. Duurzame alternatieven komen pas in beeld als ze marktwaarde hebben gekregen. Deze wereld vertrouwt eerst en vooral op technologie. Zodra natuurlijke systeemgrenzen in zicht komen, zoals bij klimaatverandering, moet de markt met nieuwe technologische deeloplossingen komen. Uiteindelijk kan het wereldsysteem kwetsbaar worden als technologische oplossingen niet tijdig worden gevonden.

In een zorgzame regio hebben internationale afspraken, zoals Kyoto, meer kans. Milieu en natuur staan hoger op de politieke agenda, en burgers vinden milieu en gezondheid minstens even belangrijk als welvaart. In deze wereld moeten oplossingen voor duurzaamheidsproblemen vooral komen van vrijwillige gedragsveranderingen, zoals een matig, duurzaam consumptiepatroon. Deze strategie werkt echter alleen als de rest van de wereld ook meedoet (sociaal dilemma). Bovendien ontbreekt in deze enigszins naar binnen gekeerde wereld de ambitie om door middel van 'wereldpolitiek' de grote mondiale verschillen in economische ontwikkeling en moderniteit aan te pakken.

### Demografie en gedrag

In een competitief scenario neemt de wereldbevolking het snelst toe. Steeds meer mensen wonen in (mega)steden. Deze *crowding* vooral in ontwikkelingslanden, doet de kansen voor (nieuwe) infectieziekten sterk toenemen. Ook het internationaal reizen neemt exponentieel toe. Nederland is een open samenleving waar uitheemse infectieziekten gemakkelijk binnenkomen en tot uitbraken kunnen leiden.

In de zorgzame regio bereikt de groei van de wereldbevolking een plateau fase, ergens tussen acht en tien miljard. De overheid heeft een stevige greep op sectoren als volkshuisvesting, ruimtelijke ordening, volksgezondheid en openbare hygiëne. Deze wereld heeft zodoende de urbanisatie en immigratie beter in de hand. Het internationale reizen neemt weliswaar toe, maar er is volop aandacht om dit beheerst en met besef te laten gebeuren.

### Armoede, sociale ongelijkheid

De competitieve wereld is bij uitstek op economische vooruitgang en verlichting gericht. Een van de grote gevaren is dat niet alle delen van de wereld meegaan in die vaart der volkeren, denk vooral aan Afrika. Competitie kent per definitie verliezers. De verschillen tussen rijk en arm, zowel binnen als tussen staten, nemen dan eerder toe dan af. Grote verschillen in welvaart, een al dan niet religieus geïnspireerde afkeer van de westerse verlichting kunnen leiden tot radicalisering. Daarmee neemt de kans op oorlog en terrorisme toe. Armoedegerelateerde ziekten, zoals malaria, aids en tbc spinnen er garen bij.

Een grote nadruk op de markt kan lokaal leiden tot privatisering, steeds minder aandacht voor collectieve voorzieningen en uiteindelijk afbraak van 'horizontale' gezondheidsvoorzieningen, vooral voor de minder geprievilegieerde groepen.

In de zorgzame geregionaliseerde wereld is de economische ontwikkeling weliswaar veel minder groot, ook de verschillen zijn kleiner. In deze wat rechtvaardiger, minder gesecculariseerde wereld is de terrorismedreiging kleiner. De nationale en lokale overheden zien het in stand houden en verbeteren van openbare gezondheidszorg als een basistaak. Hierdoor blijft het risico op uitheemse ziektebeelden, en de verspreiding daarvan, beperkt.

### Technologische ontwikkelingen

Juist de technologische ontwikkeling stuwt in de competitieve wereld de welvaart op. Maar ze leidt ook tot nieuwe microbiologische risico's. Men zoekt de grenzen van het systeem op, met alle risico's van dien. Echter, ook de mogelijkheden verbeteren om met innoverende technologie epidemieën te lijf te gaan. Infectieziekten worden gezien als een technisch probleem en niet als te voorkomen en te beheersen door niet-technische zaken als gedragsverandering en beleidsmaatregelen.

In de zorgzame regio pakt men duurzaamheidsproblemen aan door matig en duurzaam te consumeren, ecologisch te produceren, kringlopen te sluiten, natuur en milieu zoveel mogelijk te sparen. Technologie wordt niet zozeer ingezet voor een immer uitdijende economie maar meer voor oplossingen van allerlei praktische problemen, op gebied van energie, maar ook inzake preventie, diagnostiek en bestrijding van infectieziekten. Bestaande risico's worden door krachtige interventies van de overheid bestreden. Belangrijkste risico in deze wereld is een mogelijke onvoldoende stimulans voor innovatie en technologieontwikkeling. Technologie wordt met meer dan gezond wantrouwen bekeken.

### Perspectieven

Het ontstaan van epidemieën is een biologisch fenomeen dat dusdanig complex is dat de invloed van het gekozen toekomstscenario niet goed is in te schatten. In ieder geval

is niet goed te voorspellen in welk scenario welk type en in welke mate epidemieën zullen optreden. Krachtig optreden zal wellicht eenvoudiger zijn bij een sterke overheid in de 'zorgzame regio', maar innoverende oplossingen zullen eerder tot stand komen in een 'competitieve wereld'.<sup>20</sup>

Los van de verrassingen die ons ongetwijfeld te wachten staan, zullen de reeds bekende met armoede en ongelijkheid samenhangende problemen voorlopig blijven bestaan. Hier zou de competitieve wereld wat slechter kunnen scoren. De ziekte-entiteiten HIV-infectie, hand in hand met tuberculose, en malaria zullen de drie grootste doodsoorzaken blijven gedurende lange tijd, samen goed voor zo'n tien miljoen sterfgevallen in 2010 (van de dan 60 miljoen doden) maar doorgroeiend naar gelang vooral de HIV-epidemie niet te beteugelen zal zijn. De HIV-epidemie slaat vooral toe in zwakke economieën, waar vooral de middengroepen bezwijken, qua leeftijd en qua economische inbreng. Resultaat: ouderen die niet worden verzorgd en die moeten zorgen voor de jongsten. Wellicht zullen de lagere prijzen van antiretrovirale middelen in onder andere Zuid-Afrika het plaatje minder somber maken, maar daartegenover staat een aanwas van HIV-geïnfecteerden met vele miljoenen per jaar over de hele wereld. Als het gaat lukken om een patiënt 100 procent virusvrij te krijgen, zal een groot nadeel van het langer overleven met HIV-infectie kunnen verdwijnen, namelijk meer besmettingsgevaar.

De komende jaren zullen we waarschijnlijk het definitief verdwijnen van het poliovirus en medinaworminfecties zien (beide ooit beloofd voor 2000). Andere mogelijk uit te roeien aandoeningen zijn hepatitis-A en -B en de (kinder)ziekten bof en rode hond. Essentieel daarvoor is wereldwijde samenwerking van goed georganiseerde nationale en continentale infectieziektenbestrijding. Uiteindelijk zou een globaal surveillancesysteem het sluitstuk zijn. Bemoedigend voor snelle en adequate internationale samenwerking zijn recente voorbeelden als het op tijd onderkennen en stoppen van de H5N1-vogelgriep-epidemie in Hong Kong in 1997, van SARS in 2002 en van BSE in de jaren '90.

Het evenwicht tussen virulentie van micro-organismen enerzijds en vatbaarheid van de gastheer anderzijds is beslissend voor het al of niet toeslaan van een ziektekiem. Bij meer infectieziekten is inmiddels gebleken dat subtiele foutjes in het brede en machtige orgel van het immuunsysteem de oorzaak kunnen zijn van *at random* voorkomen onder de bevolking. Een voorbeeld daarvan zijn vormen van bacteriële meningitis. Het betreft dan vaak stoornissen in het complementsysteem, een deel van ons afweersysteem. Hoe verder dit gegeven wordt uitgeplozen, des te meer zijn er mogelijkheden om sommige vaccinaties te maken tot 'maatwerk' (vergelijkbaar met *genomics*, individuele geneesmiddelen). Als maar een paar procent van de bevolking vatbaar is voor de meningokok serogroep C of *Haemophilus*

*influenzae* type b (ook een meningitisverwekker), dan zou via *genetic mapping* kunnen worden bepaald welke individuen de vaccinatie daartegen nodig hebben. In de toekomst zullen de kosten van die *mapping* waarschijnlijk sterk dalen, door technische vorderingen en door massificatie van de bepalingen. Bedenk dat pas in 1969 het eerste gen, van een *Escherichia coli* kon worden bepaald en 30 jaar later het Humane genomeproject' was voltooid. Dit soort ontwikkelingen gaat onvoorstelbaar snel.

Op vaccinatiegebied zijn veel ontwikkelingen te verwachten. De ambachtelijke vaccins zullen geleidelijk worden vervangen door 'high-tech'-vaccins. Meerdere vaccins zullen als neusspray kunnen worden ingebracht. Wenselijk is een vaccin tegen waterpokken, dat tevens preventief is voor gordelroos op oudere leeftijd. Er zijn reeds vaccins tegen het genitale humane papillomavirus dat cervixcarcinoom veroorzaakt (vooral de typen 16 en 18). En misschien komen er vaccins tegen bacteriën die chronische tandvleesontsteking onderhouden.

### De balans opgemaakt

Microben horen tot de oudste bewoners van deze planeet, ze bestaan al veel langer dan de meercellige organismen; ze vormen de grootste biomassa op aarde en ze zijn overal, van de polen tot in hete kratermeren. Wij bestaan voor een flink deel uit micro-organismen, vooral bacteriën. Zij hebben ons mogelijkheden geschapen en limieten gesteld. Misschien mogen we niet stellen dat we zijn overgeleverd aan hun genade, maar de waarheid ligt daar niet ver vanaf. Ze zijn voorwaardelijk geweest voor het ontstaan en de ontwikkeling van planten en dieren en ze vormen het levende tapijt waarop de andere organismen gedijen. Anders gezegd: zij zijn de matrijs waarnaar de volgende levensvormen werden gemodelleerd en die bestaan met door hen gestelde vrijheidsgraden. En ons immuunsysteem werd 'opgevoed' door pathogenen, zoals Plasmodium en de tuberculosebacterie.

De (pre)hominiden en mensen zijn tamelijk nieuwe aardbewoners. Een toekomst van honderden miljoenen jaren (zoals de bacteriën achter de rug hebben), kunnen zij zich niet toerekenen. Wat voor tijdspanne ze tegemoet gaan, zal mede afhangen van een evenwichtig masterplan voor de omgang met de rest van de levende wezens. Niet alleen voor de macro-ecologie maar ook voor de micro-ecologie. Er zal altijd een interactie blijven met de myriaden van andere aardlingen. En abrupte en eenzijdige verstoringen van het evenwicht kunnen leiden tot kortetermijnwinst maar op den duur tot vergroting van de ellende.

Dit moeten we voor ogen houden wanneer we de wereld naar onze hand willen zetten, niet in de laatste plaats met ons arsenaal aan middelen gericht tegen de microwereld. Er zijn de nodige voorbeelden van het mislukken of contra-productief werken van onze strijd met de kleine wezens, zoals resistentievorming en het creëren van niches die door andere (micro)organismen worden opgevuld.

De mens is intelligent en kan gestructureerd naar oplossingen zoeken voor wat hij ziet als levensbelemmeringen, infectieziekten niet op de laatste plaats. Maar de microben zijn 'getest' gedurende honderden miljoenen jaren, er zijn triljoenen myriaden van hen en hun generatieduur kan wel 500 duizend maal zo kort zijn als de onze. Dat biedt kansen op een razendsnelle aanpassing en het pareren van onze wapens. Het lijkt op de schaakpartij van de mens tegen een krachtige schaakcomputer: het is list tegen *brute force*. Inmiddels weten we dat wij zo'n partij lang niet altijd winnen...

Deze tekst is voor een belangrijk deel gebaseerd op de bijdrage van Bol en De Hollander aan de LCI-jubileumuitgave 'Waar zouden we zijn zonder infecties?'<sup>21</sup> en aangevuld met onderdelen van de 4<sup>e</sup> Volksgezondheid Toekomstverkenning uit 2006 'Zorg voor gezondheid'.<sup>22</sup>

### Literatuur

1. OECD, Organisation for Economic Co-operation and Development. Looking back at looking forward. OECD International Futures Programme. OECD, Paris, 2001.
2. Asselt MBA van, Rotmans J, Rothman DS (eds). Scenario innovation. Experiences from a European experimental garden. Taylor & Francis Group plc, London UK, 2005.
3. Morens DM, Folkers GK, Fauci AS. The challenge of emerging and re-emerging infectious diseases. *Nature* 2004;430:242-9.
4. Smolinski MS, Hamburg MA, Lederberg J, editors. Microbial threats to health. Emergence, detection, and response. Washington: National Academies Press, 2003.
5. Racaniello VR. Emerging infectious diseases. *J Clin Invest* 2004; 113(6):796-8.
6. Reingold AL. Infectious disease epidemiology in the 21st century: will it be eradicated or will it re-emerge? *Epidemiol Rev* 2000;22:57-63.
7. Waldvogel FA. Infectious diseases in the 21st century: old challenges and new opportunities. *Intern J Infect Dis* 2004;8:5-12.
8. Treurniet HF, Berg Jeths A van den, Hollander AEM de. Vooruitzien in de volksgezondheid. *Tijdschr Gezondheidswetensch* 2005;7:441-5.
9. Hollander AEM de, Bol P. Friend and foe: health and the environment from a historical-epidemiological perspective. In: AEM de Hollander. Assessing and evaluating the health impact of environmental exposures. Bithoven: RIVM, 2004 (thesis). Pag. 9-29.
10. Weijden, W van der, Leewis R, Bol P. Biological Globalisation. Bio-invasions and their impact on nature, the economy and public health. KNNV Publishing, Utrecht, 2007.
11. Wills Ch. Plagues, their origin, history and future. London: Harper Collins Publishers, 1996.
12. Cohen ML. Changing patterns of infectious disease. *Nature* 2000;406:762-7.
13. Takken W, Kager PA, van der Kaay HJ. Terugkeer van endemische malaria in Nederland is zeer onwaarschijnlijk. *Ned Tijdschr Geneesk* 1999;143:2544-5.
14. Spielman, A. & M. D'Antonio. Mosquito. A natural history of our persistent and most deadly foe. Faber and Faber, London, 2001.
15. Colwell R. Les in Cholera. De Anatomische Les 2001. Amsterdam: Volkskrant Boekenfonds, 2001.
16. Bol P, Hollander AEM de, Melse J. Onbeheersbare risico's van micro-organismen. In: Bouwstenen voor NMP4. Aanvulling op de nationale milieuverkenning 5. Bithoven: RIVM, 2001 (ISBN 90 6960 094 3). Pag. 93-103 en 115-116.

17. Mooij R de, Tang P. Four Futures of Europe. CPB Bijzondere publicatie nummer 49, 2003.
  18. Jong AH de, Hilderink HBM. Langetermijnbevolkingsscenario's voor Nederland. CBS/RIVM, Voorburg/Bilthoven, 2004.
  19. RIVM: Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Milieu- en Natuurplanbureau. Kwaliteit en toekomst. Verkenning van duurzaamheid. RIVM, Bilthoven, 2004.
  20. Wilson JF. Risk from microbes on the rise: reasons why and ways to prevent future epidemics. *Ann Intern Med* 2004;140(6):497-500.
  21. Steenbergen J van, Everdingen JJE van. Waar zouden we zijn zonder infecties? Jubileumboek 10 jaar LCI. Van Zuiden Communications, 2005.
  22. Hollander AEM de, Hoeymans N, Melse JM, Oers JAM van, Polder JJ (eds). *Zorg voor gezondheid. Volksgezondheid Toekomst Verkenning 2006*. Bohn, Stafleu, Van Loghum, 2006.
- Mooij A. *Geen Paniek! AIDS in Nederland 1982-2004*. Amsterdam: Bert Bakker, 2004.
  - Weijden, W van der, Leewis R, Bol P. *Biologische globalisering. Omvang, oorzaken, gevolgen, handelingsperspectieven*. Culemborg: Centrum voor Landbouw en Milieu, 2005.
  - De Jong JC, Rimmelzwaan GF, Fouchier RAM, Osterhaus ADME. Influenzapandemieën: verleden en toekomst. *Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde* 1999;143(40):1988-1991.

Bijsluiter  
07\_B\_023

Bijsluiter  
07\_B\_024

# Neonatale sepsis veroorzaakt door een infectie met een *Streptococcus bovis*

I.F.A. Tjeertes, A.M. Robinson, A.M. Dingemans-Dumas

## Samenvatting

Een prematuur geboren neonaat die een sepsis doormaakte op basis van een *Streptococcus bovis*-infectie wordt gepresenteerd. De patiënt presenteerde zich met geïrriteerdheid en had milde koorts. Dit *Streptococcus*-subtype (biotype II/2) staat alleen bekend als veroorzaker van een foudroyant verlopende sepsis bij neonaten, waarbij vaak het centrale zenuwstelsel (CZS) is betrokken. Er wordt een klinische presentatie en het beloop beschreven.

**Trefwoorden:** case report, sepsis, neonataal, *Streptococcus bovis*

## Casus

Een neonaat van 10 dagen is opgenomen op de afdeling neonatologie in verband met pre- en dismaturiteit. Het meisje werd geboren met behulp van een sectio caesaria op maternale indicatie (hypertensie) na 34 weken zwangerschap. Apgarscores waren 9 en 10 na respectievelijk één en vijf minuten. Het geboortegewicht bedroeg 1470 gram (vijfde percentiel voor het aantal weken zwangerschap). Er volgde opname in een couveuse en er werd enterale voeding gestart, die probleemloos kon worden uitgebreid. De daaropvolgende dagen deden zich geen problemen voor.

In de nacht van de negende op tiende levensdag was het patiëntje plotseling huilerig en geïrriteerd. Tegen de ochtend was er naast spugen ook sprake van een gemarmerde huid, duidend op een afgenomen perifere circulatie. De temperatuur steeg tot 38,2 °C. Kort gezegd was er klinisch sprake van een sepsis. Er waren geen aanwijzingen voor meningeale prikkeling. De patiënt had op het moment van ziek worden al vier dagen geen perifere infuus *in situ*, er waren geen tekenen van een flebitis (geweest) en er was geen centrale lijn *in situ* (geweest).

Er werd naast een volledig bloedbeeld, bloedgas en elektrolyten ook een perifere bloedkweek afgenomen. Ook werd een liquorpunctie en een suprapubische blaaspunctie gedaan.

Het volledig bloedbeeld toonde een leukocytose met een links verschoven differentiatie van de leukocyten. Het CRP was gestegen van minder dan drie tot 89 mg/l. De bloed-

glucosewaarde was 9 mmol/l, er was geen glucosurie. Er was geen trombopenie.

Uit de bloedkweek werd binnen 24 uur een *Streptococcus* gekweekt, later gedetermineerd als een *S. bovis*. Deze bepalingen vonden plaats in het ziekenhuislaboratorium. De liquor was helder en de kweek bleef steriel. Het Grampreparaat toonde geen bacteriën.

De urinekweek bleef steriel, het sediment toonde geen aanwijzingen voor een urineweginfectie.

Er werd direct na afname van de kweken gestart met antibiotica, amoxicilline (Clamoxyl® 200 mg/kg/d) *i.v.* en cefotaxim (Claforan® 200 mg/kg/d) *i.v.* Het patiëntje knapte met deze antibiotica goed op. Circulatoir was de patiënt niet bedreigd. Na het bekend worden van het resistentiepatroon werd de antibiotische therapie niet gewijzigd. De inmiddels volledige enterale voeding werd gewoon doorgegeven in de vorm van sondevoeding. Er waren geen voedingsretenties en het braken stopte al de eerste ziektedag.

Na vijf dagen was de patiënt klinisch niet meer ziek en was het CRP gedaald naar 10 mg/l. Na zeven dagen werd de antibiotische therapie gestaakt.

## Discussie

Het betreft hier een laaggradige sepsis met een ongewone bacterie. Buiten pre- en dismaturiteit waren er geen risicofactoren voor het ontwikkelen van een sepsis, zoals een centraalveneuze katheter of infusen. Het patiëntje werd niet beademd.

Drs. I.F.A. Tjeertes, Máxima Medisch Centrum, locatie Veldhoven,  
Drs. A.M. Robinson, Cape Town, South Africa, Dr. A.M. Dingemans-  
Dumas, Lage Zwaluwe.  
Correspondentieadres: I.F.A. Tjeertes, Máxima Medisch Centrum,  
locatie Veldhoven  
Secretariaat Kindergeneeskunde, De Run 4600, 5504 DB Veldhoven.  
e-mail: i.tjeertes@mmc.nl



De *S. bovis* is een beruchte verwekker van endocarditis bij volwassenen.<sup>1</sup> Daarnaast is het verband tussen bacteriëmie en infectieuze endocarditis veroorzaakt door deze streptokok en het ontstaan van neoplasmata in de darm, uitgebreid onderzocht.<sup>2,3</sup> Dit geldt ook voor (chronisch) leverlijden na een *S. bovis*-bacteriëmie.<sup>2</sup>

Recent zijn enkele gevallen van neonatale sepsis met een *S. bovis* beschreven.<sup>4</sup>

In de beschreven gevallen ging het om een foudroyant verlopende sepsis met meer dan eens betrokkenheid van het centrale zenuwstelsel (CZS).<sup>4-6</sup>

Gavin *et al.* beschreven al dat er verschillende biotypes van de *S. bovis* bestaan, die waarschijnlijk ook verschillende klinisch beelden veroorzaken.<sup>4</sup> De *S. bovis* is een Gram-positieve kok die deel uitmaakt van de groep D-( $\beta$ -hemolytische)streptokokken.<sup>7</sup> *S. bovis* kan fenotypisch worden onderverdeeld in *S. bovis* biotype I en II. Ook met behulp van genotypering kunnen deze twee types worden onderscheiden met een DNA-overeenkomstquotiënt van 38 procent.<sup>7,8</sup> Onderscheid in genotype is de meest accurate typering. Deze kan worden gedaan met behulp van bijvoorbeeld *pulsed-field gel electroforese* (PFGE) of met behulp van r6S ribosomaal DNA-sequencing.<sup>7,9</sup>

In groep II wordt biochemisch of genotypisch onderscheid gemaakt in II/1 en II/2. Ter verduidelijking is redelijk recent de *S. bovis* I omgedoopt tot *Streptococcus gallolyticus*, *S. bovis* II/1 tot *Streptococcus lutetiensis* en *S. bovis* II/2 tot *Streptococcus pasteurianus*.<sup>8</sup> Op basis van moleculair biologische profielen kan volgens het API-20-Strep-systeem zowel in groep I als in groep II nog onderscheid worden gemaakt in biotype.<sup>7</sup> In groep I komt men dan tot *S. bovis* I, biotype A, B en C en in groep II tot *S. bovis*, biotype D, E, F en G.

Het advies van Gavin *et al.* luidde de *bovis* verder te typeren om zo meer inzicht te verkrijgen in de klinische uitingsvormen van een infectie met deze bacterie.

Bij onze patiënt bleek het na verdere typering, uitgevoerd door het RIVM in Bilthoven, te gaan om biotype II/2, de *Streptococcus bovis* ssp. *pasteurianus*. Onze patiënt ontwikkelde echter een ander, milder ziektebeeld dan het in eerder verschenen artikelen beschreven klinische beeld.

## Conclusie

In het hierboven beschreven geval is een prematuur geboren neonat mild septisch geworden op basis van een *S. bovis*-infectie. Het klinisch beeld gaat niet door als kenmerkend voor deze bacterie evenals voor dit subtype. Er blijkt sprake te zijn van verschillende uitingsvormen van een bacteriëmie en/of sepsis met de uit de bloedkweek van neonaten gekweekte bacterie.

## Summary

A prematurely born neonate that suffered from sepsis caused by a *Streptococcus bovis* infection is presented, with irritability and mild fever. This *Streptococcus* subtype (*biotype II/2*) is known only for causing fulminant sepsis in neonates, often involving the central nervous system (CNS). A different clinical presentation and course is described.

## Dankwoord

Dank gaat uit naar dr. C.M. Verduin, arts-microbioloog in het MMC Veldhoven voor de verhelderende uitleg.

## Literatuur

1. Ruoff KL, Miller SI, Garner CV, et al. Bacteremia with *Streptococcus bovis* and *Streptococcus salivarius*: Clinical correlates of more accurate identification of isolates. *J Clin Microbiol* 1989;27:305.
2. Zarkin BA, Lillemoe KD, Cameron JL, et al. The triad of *Streptococcus bovis* bacteremia, colonic pathology and liver disease. *Ann Surg* 1990;211:786.
3. Klein RS, Recco RA, Catalano MT, et al. Association of *Streptococcus bovis* with carcinoma of the colon. *N Engl J Med* 1977;297:800.
4. Gavin PJ, Thomson RB, Horng S, et al. Neonatal Sepsis Caused by *Streptococcus bovis* Variant (Biotype II/2). Report of a Case and Review. *J Clin Microbiol* 2003;41:3433-5.
5. Cohen LF, Dunbar SA, Sirnasku DM, et al. *Streptococcus bovis* infection of the central nervous system : report of two cases and review. *Clin Infect Dis* 1997;25:819.
6. Cheung M, Pelot M, Nadarajah R, Kohl S. Neonate with late onset *Streptococcus bovis* meningitis: case report and review of the literature. *Pediatr Infect Dis J* 2000;19:891.
7. Tripodi MF, Fortunato R, Utili R, Triassi M, Zarrilli R. Molecular epidemiology of *Streptococcus bovis* causing endocarditis and bacteraemia in Italian patients. *Clin Microbiol Infect* 2005;11:814-9.
8. Reuter G. Culture media for enterococci and group D-streptococci. *Intern J Food Microbiology* 1992;17:101-11.
9. Clarridge JE, Attorri S, Zhang Q, Bartell J. 16S Ribosomal DNA Sequence Analysis Distinguishes Biotypes of *Streptococcus bovis*: *Streptococcus bovis* Biotype II/2 Is a Separate Genospecies and the Predominant Clinical Isolate in Adult Males. *J Clin Microbiol* 2001;39:1549-52.

# Abstracts Najaarsvergadering NVMM / VIZ 2006

## 1.1. A new murine model to study the pathogenesis of tuberculous meningitis

Gijs Th.J. van Well<sup>1,2</sup>, Catharina W. Wieland<sup>2,3</sup>, Sandrine Florquin<sup>4</sup>, John J. Roord<sup>1</sup>, Tom van der Poll<sup>2,3</sup>, A. Marceline van Furth<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Pediatrics and Infectious Diseases, VU University Medical Center, Amsterdam; <sup>2</sup>Center for Experimental and Molecular Medicine; <sup>3</sup>Center for Infection and Immunity Amsterdam (CINIMA); <sup>4</sup>Department of Pathology, Academic Medical Center, Amsterdam; E-mail: g.vanwell@vumc.nl

Tuberculous meningitis (TM) is a severe complication of tuberculosis, mainly occurring in childhood. No murine models are available to study this disease. The purpose of this study was to develop a murine model to study the pathogenesis of TM.

Mice were intracerebrally injected with *Mycobacterium tuberculosis*. Bacilli could be cultured from brain homogenates and on histopathologic examination all mice had meningeal cellular infiltration. We found elevated levels of chemoattractants for mononuclear phagocytes and neutrophilic granulocytes.

This is the first murine model for TM which can be used for research on the host response to TM, particularly the innate immune response.

Results of this study were also presented at the Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC), December 2005, Washington DC (abstract number B 696) and at the annual conference of the Dutch Pediatric Society, November 2005, Veldhoven.

## 1.2. Pharmacokinetics and tolerability of high versus standard dose rifampicin in pulmonary tuberculosis patients

R. Ruslami<sup>1</sup>, H. Nijland<sup>2</sup>, B. Alisjahbana<sup>3</sup>, I. Parwati<sup>4</sup>, R. Aarnoutse<sup>2</sup>, R. van Crevel<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmacology, Medical Faculty, University of Padjadjaran, Bandung, Indonesia; <sup>2</sup>Department of Clinical Pharmacy, Radboud University Nijmegen Medical Centre, Nijmegen, The Netherlands; <sup>3</sup>Department of Internal Medicine, Medical Faculty, University of Padjadjaran, Hasan Sadikin Hospital, Bandung, Indonesia; <sup>4</sup>Department of Clinical Pathology, Medical Faculty, University of Padjadjaran, Hasan Sadikin Hospital, Bandung, Indonesia; <sup>5</sup>Department of Internal Medicine, Radboud University Nijmegen Medical Centre, Nijmegen The Netherlands; E-mail: r.vancrevel@aig.umcn.nl

A long-term goal for tuberculosis (TB) control has been to shorten the duration of treatment. The currently applied 10 mg/kg dose of rifampicin may be too low and available data suggest that increasing the dose of this pivotal TB drug may allow a reduction of treatment duration.

A double-blind randomized clinical trial was performed to investigate the effect of a higher dose of rifampicin in terms of pharmacokinetics and tolerability.

Fifty newly diagnosed adult Indonesian TB patients were randomized to receive a standard (450 mg; corresponding to 10 mg/kg in Indonesian patients) or high (600 mg) dose of rifampicin besides other antituberculosis drugs. A full pharmacokinetic curve for rifampicin, pyrazinamide and ethambutol was recorded after 6 weeks of daily TB treatment and tolerability was assessed during the 6-month treatment period.

Geometric means (95% CI) of exposure to rifampicin ( $AUC_{0-24h}$ ) were 79.7 mg.h/L<sup>69.6-91.4</sup> in the high-dose group vs. 48.5 mg.h/L<sup>43.2-54.3</sup> in the standard dose group (65% increase,  $p < 0.001$ ). Maximum rifampicin concentrations ( $C_{max}$ ) were 15.6 mg/L<sup>13.3-18.4</sup> vs. 10.5 mg/L<sup>9.3-11.9</sup> (49% increase,  $p < 0.001$ ). The percentage of patients with rifampicin  $C_{max} \geq 8$  mg/L was 96% vs. 79%,  $p = 0.094$ . The pharmacokinetics of pyrazinamide and ethambutol were similar in the two study arms. No relevant differences in tolerability were observed.

Increasing the dose of rifampicin is associated with a more than dose-proportional increase in the mean  $AUC_{0-24h}$  and  $C_{max}$  of rifampicin without affecting the incidence of serious adverse effects. Follow-up studies are warranted to assess if tuberculosis treatment can be shortened with a higher dose of rifampicin.

## 1.3. Strong association between ciprofloxacin use and ciprofloxacin resistance within individual hospital units

I. Willemsen<sup>1</sup>, A. Heijnen<sup>1</sup>, D. Bogaers-Hofman<sup>1</sup>, J. Kluytmans<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratory for Microbiology and Infection control, Amphia hospital, Breda, The Netherlands; <sup>2</sup>VU Medical Center, Amsterdam, The Netherlands; E-mail: iwillemsen@amphia.nl

In the last years, the use of ciprofloxacin in our hospital has increased significantly. The objective of this study was to determine the increase of resistance over time and to determine if the density of antibiotic use correlates with the resistance in *E. coli* within individual hospital units. The density of the use of ciprofloxacin (cip), amoxicilline+clavulanic-acid (amcl), 1<sup>st</sup> and 2<sup>th</sup> generation cephalosporines (cef) and Trimethopim-Sulfamethoxazol (sxt) was measured in 6 consecutive one-day prevalence-surveys between 2001 and 2004. The susceptibility patterns from *E. coli* were obtained from the Laboratory Information System between 2003 and 2006. The percentage of resistance to cip, amcl, cef and sxt in *E. coli* isolates was calculated per unit and over time.

A total of 4105 patients were included in the prevalence-surveys. 23% (938) of the patients were on antibiotics of which 12.8% (120) were treated with cip, 39.1% (367) with amcl, 13.2% (124) with cef and 5.7% (53) with sxt. 4790 *E. coli* susceptibility patterns were obtained from hospitalized patients. There was a significant increase of resistance over time for all antibiotics, except for SXT and a significant correlation between the prevalence of use and the percentage of resistance for cip ( $R=0.795, p=0.006$ ), amcl ( $R=0.860, p=0.001$ ) and cef ( $R=0.828, p=0.003$ ). For cip the unit urology rose above the other units with a use of 9.9% and a resistance-rate of 19.8%. Also cip resistance showed the strongest increase over time.

*This study shows that cip resistance is associated with the density of its use even on the micro-level of a hospital unit, and its use has the strongest association with resistance of all frequently used groups of antimicrobial-agents in the hospital.*

#### 1.4. Toetsing van antibioticabeleid door middel van consultvoering

A.K. Alzubaidy<sup>1</sup>, M. Bohlander<sup>1</sup>, W. Bronsveld<sup>2</sup>, P. Kloeg<sup>3</sup>, F. Vlasolder<sup>1</sup>, J.H. Sloos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium voor Medische Microbiologie; <sup>2</sup>Afdeling Interne Geneeskunde; <sup>3</sup>Ziekenhuisapotheek, Medisch Centrum Alkmaar (MCA), Alkmaar; E-mail: a.k.alzubaidy@mca.nl

**Inleiding.** Restrictief antibioticagebruik wordt beschouwd als een belangrijke factor in het voorkomen van resistentie tegen antibiotica in ziekenhuizen. Dit onderzoek beschrijft de toetsing van een antibioticabeleid door middel van consultvoering.

**Methode.** In het MCA toetst een arts het individuele antibioticagebruik van alle opgenomen patiënten op de afdelingen interne geneeskunde, geriatrie en cardiologie aan het antibioticabeleid. Na patiëntenonderzoek wordt onder supervisie van een arts-microbioloog schriftelijk advies aan de behandelend arts uitgebracht. In geval van discrepantie tussen advies en uiteindelijk behandeling vindt overleg plaats tussen supervisor en hoofdbehandelaar.

**Resultaten.** In de periode maart-juli van 2005 en 2006 werden 469 consulten verricht (318 interne geneeskunde, 97 geriatrie, 48 cardiologie en 6 overige afdelingen). Voor 360 (76,8%) van de vermeende onderliggende infecties waren richtlijnen aanwezig, terwijl er voor 28 (6,0%) geen indicatie voor antibiotica was. 389 (82,9%) adviezen werden opgevolgd, hetgeen met 24 (5,1%) kon worden verhoogd na een tweede overleg. In 25 (5,3%) gevallen bleek terecht te zijn afgeweken van de richtlijnen. In 216 (46,1%) gevallen werd geadviseerd de gegeven antibiotica te continueren, bij 160 (34,1%) een andere antibioticum te geven en in 82 (17,5%) gevallen de antibiotica te staken.

**Conclusie.** Toetsing van het individuele antibioticagebruik van opgenomen patiënten aan richtlijnen door middel van consultvoering leidt tot een meer uniform gebruik en veelal tot beperking hiervan.

#### 1.5. Meldpunt prikaccidenten; een 3-jarige prospectieve studie

P.T.L. van Wijk<sup>1,2,3</sup>, M. Pelk-Jongen<sup>1</sup>, C. Wijkmans<sup>2</sup>, A. Voss<sup>4</sup>, P. Schneeberger<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Medische Microbiologie en Infectiepreventie, Jeroen Bosch Ziekenhuis, 's-Hertogenbosch; <sup>2</sup>Bureau Infectieziekten, GGD Hart voor Brabant, 's-Hertogenbosch; <sup>3</sup>Nationaal Hepatitis Centrum, Amersfoort; <sup>4</sup>Medische Microbiologie en Infectiepreventie, Canisius-Wilhelminaziekenhuis, Nijmegen; E-mail: p.v.wijk@jbz.nl

Het afhandelen van prikaccidenten is gecompliceerd. Naast prik-, snij-, bijt- en spataccidenten gaat het ook om seksuele accidenten. Ze vormen een risico voor de overdracht van hepatitis-B (HBV), hepatitis-C (HCV) en hiv, afhankelijk van het soort verwonding en het risico van de bron. Vaak veroorzaken ze onrust en angst bij de verwonde.

In 2003 is het meldpunt prikaccidenten Noordoost-Brabant (500.000 inwoners) gestart. Prikaccidenten worden 24 uur per dag, telefonisch, afgehandeld. Ziekenhuishygiënist, met ondersteuning van artsen-microbioloog, maken een risico-inschatting en regelen de logistieke afwikkeling. Nazorg wordt verleend door het inschakelen van bedrijfsarts of huisarts. In een periode van drie jaar werden alle meldingen geanalyseerd. Beoordeeld werd op vóórkomen, vaccinatiegraad van de verwonden, bronopsporing, snelheid van afhandelen bij risico op overdracht van hiv en afwijkingen in het volgen van het protocol.

Er werden gemiddeld 465 meldingen per jaar geregistreerd, waarvan 33% buiten kantoor tijd werd gemeld. Bronopsporing was 85%. De HBV-vaccinatiegraad in zorginstellingen steeg in drie jaar van 34% tot 70%. Accidenten met risico op hiv werden significant sneller afgehandeld. Bij de kwaliteitsbeoordeling werd er in 2003 in 37% van de meldingen een afwijking in het protocol geconstateerd, in 2005 was dit 8%.

De logistiek van afhandeling moet ook buiten kantoor tijd optimaal zijn. Hogere HBV-vaccinatiegraad maakt afwikkeling eenvoudiger. Sneller melden zorgt ervoor dat er meer tijd is voor laboratoriumbepalingen en voor toedienen van medicatie. Snellere uitvoering van de hiv-test zorgt ervoor dat medicatie niet onnodig hoeft te worden gegeven. Minder afwijken van het protocol voorkomt onnodige interventies en is kosteneffectief.

#### 1.6. Persistence of transmitted drug-resistant HIV

M.C.D.G. Huigen<sup>1</sup>, N.M. van Maarseveen<sup>1</sup>, J. Albert<sup>2,3</sup>, A. Lindström<sup>2,3</sup>, A. Ohlis<sup>4</sup>, G. Bratt<sup>4</sup>, L. de Graaf<sup>4</sup>, M. Nijhuis<sup>1</sup>, C.A.B. Boucher<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Virology, University Medical Center Utrecht, Utrecht, the Netherlands; <sup>2</sup>Department of Virology, Immunology and Vaccinology, Swedish Institute for Infectious Disease Control, Solna, Sweden; <sup>3</sup>Microbiology and Tumorbiology Center, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden; <sup>4</sup>Venhälsan, Söder Hospital, Stockholm, Sweden; E-mail: c.d.g.huigen@umcutrecht.nl

Transmission of HIV harbouring at least one drug-resistance associated mutation occurs in 9-10% of newly infected patients in Europe and is of major concern in the treatment of HIV patients. Especially, since several studies have indicated that in the absence of wild type HIV drug resistance mutations may persist after transmission. We have performed two studies in which we investigated the reason for persistence of drug-resistance mutations in the reverse transcriptase or protease enzyme of HIV in the absence of wild type virus. First, we have identified a large transmission cluster consisting of an HIV strain harbouring only one drug-resistance associated mutation. Although this mutation results in a decrease in replication capacity, this amino acid change was conserved in all viruses in the absence of treatment for up to seven years. We have demonstrated that novel mutations in these viruses could compensate for the negative effect of the drug-resistance mutation on replication capacity. This phenomenon which we refer to as 'compensatory fixation' was also observed for mutations in the protease enzyme. Multiple major protease mutations persisted during partial (protease inhibitor) treatment interruption, whereas the replication capacity of these viruses was severely hampered. We demonstrated that these drug-resistance mutations in protease did not revert back to wild type in the absence of protease inhibitors, because deletion of either one of the substitutions resulted in an even further decrease in replication capacity. In conclusion, we have shown that 'compensatory fixation' can explain the persistence of drug-resistance mutations in HIV.

*Een deel van de gepresenteerde data is eerder gepresenteerd op de Internationale HIV Drug Resistance Workshop 2005/2006 en de HIV Transmission Workshop 2006.*

### **1.7. Stijgende hepatitis-C-virusincidentie bij homoseksuele mannen in Amsterdam: bewijs voor seksuele transmissie van HCV**

T.J.W. van de Laar<sup>1</sup>, A.K. van der Bij<sup>1</sup>, M. Prins<sup>1,2</sup>, S.M. Bruisten<sup>1,3</sup>, K. Brinkman<sup>4</sup>, T.A. Ruys<sup>5</sup>, J.T.M. van der Meer<sup>2</sup>, H.J.C. de Vries<sup>1,6</sup>, J.W. Mulder<sup>7</sup>, M. van Agtmael<sup>8</sup>, S. Jurriaans<sup>9</sup>, K.C. Wolthers<sup>9</sup> en R.A. Coutinho<sup>1,3,10</sup>

<sup>1</sup>Cluster Infectieziekten, GGD, Amsterdam; <sup>2</sup>Interne Geneeskunde, AMC, Amsterdam; <sup>3</sup>Humane Retrovirologie, AMC, Amsterdam; <sup>4</sup>Interne Geneeskunde, OLVG, Amsterdam; <sup>5</sup>IATEC, AMC, Amsterdam; <sup>6</sup>Dermatologie, AMC, Amsterdam; <sup>7</sup>Interne Geneeskunde, Slotervaart Ziekenhuis, Amsterdam; <sup>8</sup>Interne Geneeskunde, VUMC, Amsterdam; <sup>9</sup>Medische Microbiologie, AMC, Amsterdam; <sup>10</sup>Centrum Infectieziektebestrijding, RIVM, Bilthoven; E-mail: tvdlaar@ggd.amsterdam.nl

Transmissie van het hepatitis-C-virus (HCV) vereist bloed-bloedcontact, seksuele overdracht vindt nauwelijks plaats. Sinds 2000 echter lijkt HCV in toenemende mate voor te

komen onder hiv-positieve mannen die seks hebben met mannen (MSM).

In totaal werden 1836 MSM uit de Amsterdamse cohort-studies (1985-2003) longitudinaal getest op de aanwezigheid van HCV-antistoffen. De HCV-incidentie binnen het cohort was 0,18/100 persoonsjaren (PJ) bij hiv-positieve MSM, maar 0/100 PJ bij MSM zonder HIV. Na 2000 bleek de HCV-incidentie onder hiv-positieve MSM tienmaal hoger dan in de 15 jaar ervoor (0,87 vs. 0,08 100/PJ, p=0,001).

In tegenstelling tot MSM die voor 2000 al HCV-seropositief testten, blijken MSM met een recente HCV-infectie hoofdzakelijk geïnfecteerd met moeilijk te behandelen HCV-varianten 1 (51%) en 4 (40%). We identificeerden twee monofyletische clusters en vier paren van vrijwel identieke HCV-stammen met behulp van fylogenetische analyse. Deze MSM-specifieke HCV-stammen waren significant verschillend van HCV-stammen die circuleren onder overige risicogroepen in Amsterdam. Kenmerken van MSM met een recente HCV-infectie: hiv-coïnfectie (97%), ulceratieve seksueel overdraagbare aandoeningen zoals Lymphogranuloma venereum, syfilis of herpes (57%) en 'ruige' seksuele technieken als fisting (52%). Bloed-bloedcontact (4%) of injecterend drugsgebruik (0%) kwam vrijwel niet voor.

Concluderend, een stijgende HCV-incidentie onder hiv-positieve MSM en de hoge mate van fylogenetische clustering wijzen op de aanwezigheid van een MSM-netwerk waarbinnen seksuele overdracht van HCV plaatsvindt. Gerichte preventie en routinematige HCV-screening zijn nodig om verdere verspreiding van HCV binnen deze 'core' groep, maar ook daarbuiten, tegen te gaan.

*Resultaten zijn deels eerder gepresenteerd op de 13<sup>th</sup> Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, 5-8 februari 2006 te Denver*

### **1.8. Rapid diagnosis of pneumococcal pneumonia in adults using the Binax NOW *Streptococcus pneumoniae* urinary antigen test**

B.M.W. Diederer, M.F. Peeters

*Laboratory of Medical Microbiology and Immunology, St. Elisabeth Hospital, P.O. Box 747, 5000 AS Tilburg, The Netherlands; E-mail: b.diederer@elisabeth.nl*

We performed a retrospective study to compare the performance of the Binax NOW *Streptococcus pneumoniae* urinary antigen test (ICT test) by use of selected urine samples from adult community-acquired pneumonia (CAP) patients. The cases were adult patients (> 16 years) from who blood cultures *S. pneumoniae* were grown (n=52), or patients from who pneumococcal pneumonia was confirmed with positive sputum culture results (n=6). Controls (n=136) were selected from adult patients presenting lower respiratory tract infection. A large proportion of urine samples were obtained from patients with proven legionnaires' disease (n=98).

Fifty-eight cases were included (median age 55 years [range: 16-85 years]) and 136 controls (median age 56 years [range: 12-84 years]). Pneumococcal urinary antigen was positive, in 40 of 58 pneumococcal cases and in 3 of 136 controls, giving a test sensitivity of 69% (95% CI, 58 to 78%) and a test specificity of 98% (95% CI, 93 to 99%) overall. The frequency of antigen detection was greater for bacteremic pneumococcal pneumonia (38 of 52 [73%]) than for non-bacteremic pneumococcal pneumonia (2 of 6 [33%]) ( $P=0.07$ ).

Although selection bias may have affected our sensitivity and specificity results, our findings indicate that the sensitivity of the test is about 75% when positive blood cultures are used as the golden standard. Given its high specificity, this test can be considered an important tool for detecting *S. pneumoniae* in supplement to blood and sputum culturing for the etiology in adult CAP.

### 1.9. Evaluation of a rapid diagnostic test for serological diagnosis of syphilis

L. van Dommelen<sup>1</sup>, A. Smismans<sup>1</sup>, V.J. Goossens<sup>1</sup>, C.A. Bruggeman<sup>1</sup>, C.J.P.A. Hoebe<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Medische Microbiologie; Academisch Ziekenhuis Maastricht;

<sup>2</sup>Infectieziektenbestrijding; GGD Zuid Limburg; E-mail: lvdo@lmib.azm.nl

**Objective:** Evaluation of the performance of a one step-immunochromatographic test (Biorapid, Biokit, SA) for the detection of specific *Treponema pallidum* antibodies.

**Materials and Methods:** The sample collection consisted of 145 serum samples from patients with a positive *Treponema pallidum* particle agglutination (Serodia-TPPA, Fujirebio Inc.) confirmed with a fluorescent Treponemal antibody absorption (Biomerieux SA) and/or a rapid plasma reagin test (Murex Syfacard-R, Abbott), together with 41 serum samples of healthy controls and 155 serum samples of controls with underlying conditions that may interfere in syphilis testing (pregnancy (21), high antistreptodornase titer (10), anti-cardiolipin antibodies (10), systemic lupus erythematosus (10), diabetes mellitus (7), rheumafactor (10), leptospirosis (10), borreliosis (10) or recent EBV (10), CMV (10), HBV (8), HCV (9) or HIV (19) infection). All controls were TPPA negative.

**Results:** Overall, the sensitivity of the Biorapid test was 92%. Sensitivity correlated with the TPPA titer, at a titer > 1280 (cut-off of the assay: 40) sensitivity reached 100%, but attenuated to 83% at a titer < 640. Overall the specificity was 79%; excluding controls with underlying viral infection(s) (EBV, CMV, HBV, HCV and HIV) upgrades specificity to 88%.

**Conclusion:** Sensitivity and specificity of the Biorapid test is considered inadequate to be implemented as a screening tool for the diagnosis of syphilis.

### 1.10. Levendbloedanalyse als nieuw diagnosticum voor Lyme-borreliose

P.C. Wever<sup>1</sup>, A. Moujahid<sup>2</sup>, P.M. Schneeberger<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Regionaal Laboratorium voor Medische Microbiologie en Infectiepreventie, Jeroen Bosch Ziekenhuis, 's-Hertogenbosch; <sup>2</sup>Afdeling Medische Microbiologie en Infectiepreventie, VU Medisch Centrum, Amsterdam; E-mail: p.wever@jzbz.nl

“Levendbloedanalyse is een diagnostische onderzoeksmethode waarbij gekeken wordt naar de kwaliteit van verschillende elementen van het bloed. Met enkele druppels bloed worden afwijkingen of defecten aan bloedcellen opgemerkt. Zo wordt bijvoorbeeld gekeken naar de vorm van de rode bloedcellen, wat kan aangeven hoe het gesteld is met de werking van organen zoals de lever en de milt. Ook de mate van activiteit van de witte bloedcellen (en dus de activiteit van het immuunsysteem) is te zien in dezelfde druppel bloed. Tevens wordt er vastgesteld of er in het bloed elementen aanwezig zijn die daarin niet thuis horen, zoals gistcellen en bacteriën. Dit onderzoek is uitermate geschikt voor de detectie van het candidasyndroom, postviraalsyndroom, afwijkingen aan het immuunsysteem en vele andere pathologische condities.” (<http://www.natuurgeneeskundigencentrum.nl>).

Wij werden geconfronteerd met een patiënt die levendbloedanalyse had laten verrichten wegens vermeende Lyme-borreliose bij vermoeidheidsklachten. De patiënt presenteerde een CD-rom met foto's en bewegende beelden van structuren die waren benoemd als *Borrelia*-bacteriën. De patiënt werd geadviseerd diverse plantaardige voedings-supplementen te nemen. Voor levendbloedanalyse en voedingssupplementen werd in totaal circa 150 Euro betaald. Korte tijd later werd de patiënt gediagnosticeerd met een ernstige coronairstenose. De CDC heeft in februari 2005 in *MMWR Weekly* gewaarschuwd voor niet-gevalideerde *Borrelia*-diagnostiek door commerciële laboratoria. Een Google-internetsearch met de termen [“levend bloed analyse” Lyme] leverde 1190 hits op. Infectiologen en artsen-microbioloog worden in toenemende mate geconfronteerd met patiënten die diagnostiek naar Lyme-borreliose laten verrichten door commerciële laboratoria met misleidende onderzoeksmethoden.

### 2.1. Differences in biofilm formation and interactions with human cells between *baumannii* and non-*baumannii* *Acinetobacters*

A. de Breij<sup>1</sup>, M.T. van den Barselaar<sup>1</sup>, G.V. Bloemberg<sup>2</sup>, P.J. van den Broek<sup>1</sup>, L. Dijkshoorn<sup>1</sup>, P.H. Nibbering<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Infectious Diseases, Leiden University Medical Centre, Leiden, the Netherlands; <sup>2</sup>Institute of Biology, Leiden University, Leiden, the Netherlands; E-mail: a.de.breij@umail.leidenuniv.nl

*Acinetobacter baumannii* and the closely related unnamed species 3 and 13TU are clinically important bacteria. Other *Acinetobacter* species, such as *A. junii*, *A. calcoaceticus* and *A. baylyi*, are seldom associated with infections. To gain insight into this difference in clinical relevance, we compared *baumannii* with non-*baumannii* *Acinetobacters*

with respect to biofilm formation and their interactions with human cells. Adherence of the bacteria to human cells was quantitated lightmicroscopically. Bacterial biofilm formation was quantitated using a standard microtiter plate assay. The presence/transcription of the *csuE* gene, which may be associated with biofilm formation, in bacteria was detected by (RT-)PCR. Cytokine production by human cells in response to the different *Acinetobacter* species was quantitated by immunological assays. Both *baumannii* and non-*baumannii* *Acinetobacters* adhered to cultured human bronchial epithelial cells. A wide variation in the amount of biofilm formation among strains of all species was observed. *CsuE* was detected in 44 out of 45 *A. baumannii* strains, but in none of the 13 non-*baumannii* strains. Compared to *A. baumannii*, *A. calcoaceticus* and *A. junii* induced a significantly stronger pro-inflammatory cytokine response in bronchial epithelial cells, but not in blood cells. Together, our results do not clarify the differences in clinical relevance between *baumannii* and non-*baumannii* *Acinetobacter* species.

### **2.2. Highly epidemic multidrug resistant *Enterobacter cloacae* clone detected in multiple Dutch hospitals and healthcare facilities; failure to contain despite implementation of the internationally accepted guidelines on control of multiresistant *Enterobacteriaceae***

A. Paauw, A.C. Fluit, H.E.M. Blok, T.E.M. Hopmans, J. Verhoef, M.A. Leverstein-van Hall  
*Department of Clinical Microbiology, Eijkman-Winkler Centre, University Medical Centre Utrecht, Utrecht; E-mail: A.Paauw@umcutrecht.nl*

A large outbreak with an aminoglycoside resistant *Enterobacter cloacae* (AREC) occurred in the UMCU from 2001 until today. This clone contains a conjugative R-plasmid carrying the resistance genes, *qnrA1*, *bla*<sub>CTX-M-9</sub>, *aadB*, and *sulI*, encoding resistance to quinolones, extended-spectrum beta-lactams, aminoglycosides and sulphamethoxazole, respectively. The aim of this study was to determine whether the difficulty to control the outbreak results from insufficient guidelines for ARECs in general or from insufficient guidelines for this specific outbreak strain. 191 ARECs and 324 aminoglycoside-susceptible *E. cloacae* isolates (ASECs) (2001-2005) were genotyped. The degree of dissemination of the outbreak strain, other ARECs, and ASECs for which no control measures were taken, were determined. Additionally, 213 ARECs from 14 other hospitals throughout the country were genotyped. Cluster analysis divided the ARECs into 44 different genotypes of which 3(7%) involved more than 2 patients. Next to the outbreak (133 patients) only two other small outbreaks occurred showing that the international measures were successful for all strains but one. In contrast among ASECs for which no specific control measures were taken,

30/167(18%) genotypes were identified in at least 3 patients. The outbreak strain was also detected in 12 other Dutch healthcare facilities causing outbreaks in 5 of them.

In conclusion, some MRE are more epidemic than others and these strains may not be controlled by the current infection control guidelines. Strategies to identify such strains in an early phase as well as adapted guidelines for such "super bugs" are needed to prevent these clones to become endemic.

*Deze data zijn tevens gepresenteerd tijdens de Hospital Infection Society (HIS) Conference, 15-18 oktober 2006 te Amsterdam.*

### **2.3. *Staphylococcus aureus*-bacteriëmie veroorzaakt geen *Staphylococcus aureus*-bacteriurie**

M.B. Ekkelenkamp, J. Verhoef, M.J.M. Bonten  
*Medische Microbiologie, Universitair Medisch Centrum Utrecht, Utrecht; E-mail: m.ekkelenkamp@umcutrecht.nl*

Een gangbare theorie is dat *Staphylococcus aureus*-bacteriëmie (SAB) aanleiding geeft tot *S. aureus*-bacteriurie, in het bijzonder wanneer er sprake is van endocarditis. Het bewijs in de literatuur voor deze stelling is echter marginaal en dubieus. Wij trachtten deze relatie te kwantificeren door te zoeken naar patiënten wier *S. aureus*-bacteriurie slechts verklaard kon worden als gevolg van aangetoonde SAB, met andere woorden: die geen risicofactoren hadden voor *S. aureus*-bacteriurie (oligurie of urinekatheters) en bij wie de bacteriurie niet te verklaren was door een urineweginfectie.

In de database van de afdeling medische microbiologie vonden wij 164 patiënten die in de afgelopen vijf jaar een SAB hadden doorgemaakt en bij wie op een dag dat SAB werd aangetoond, tevens urine werd afgenomen voor kweek. Bij 23 patiënten werd *S. aureus* geïsoleerd uit de urine. Negentien van deze patiënten hadden een urinekatheter, bij twaalf was er sprake van een urineweginfectie en één patiënt was oliguur ten tijde van de afname. Bij geen van de patiënten kon de *S. aureus*-bacteriurie uitsluitend verklaard worden als gevolg van de SAB. Kortom, indien SAB daadwerkelijk *S. aureus*-bacteriurie veroorzaakt was dit in onze studie een bijzonder zeldzaam fenomeen dat wij niet hebben kunnen aantonen.

### **2.4. Simpsons diversiteits-index stijgt als een grote MRSA-epidemie onder controle wordt gebracht**

P. Gruteke<sup>1</sup>, A.J. de Neeling<sup>2</sup>, M. Heck<sup>2</sup>, W. Wannet<sup>2</sup>, H.A. Verbrugh<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Streeklaboratorium voor de Volksgezondheid, GGD Amsterdam, Amsterdam; <sup>2</sup>LIS, RIVM, Bilthoven; <sup>3</sup>Erasmus Universitair Medisch Centrum, Rotterdam; E-mail: pgruteke@ggd.amsterdam.nl

Er is behoefte aan parameters die de mate waarin MRSA onder controle is, kunnen weergeven. In het Verenigd

Koninkrijk worden incidentiecijfers van MRSA-bacteriemieën gebruikt om regio's te vergelijken, ondanks de bezwaren die daartegen bestaan. In Nederland typeert het RIVM MRSA-isolaten met PFGE, en met die gegevens is het mogelijk echte epidemieën van valse signalen te onderscheiden. Omdat tijdens epidemieën de diversiteit minder is, lijkt Simpsons diversiteits-index (DI) een additionele maat te kunnen vormen voor MRSA-controle. 4155 PFGE-patternen (een per laboratorium per patiënt) werden in de berekening meegenomen. De periode van drie jaar vanaf 1 april 2002 werd in zeven tijdslots verdeeld (slot 1 en 7: 3 maanden, slot 2-6: 6 maanden). In dezelfde periode deed zich in Rijnmond-Zuid (Zuid-Holland) een grote MRSA-epidemie voor. Daarom zijn vergelijkingen gemaakt tussen Zuid-Holland en de rest van Nederland. Met *Minimum Spanning Trees* (Bionumerics) is de diversiteit per tijdslot grafisch weergegeven. Aan het begin van de onderzoeksperiode lagen de DI's in Zuid-Holland significant lager dan in de rest van Nederland. Toen de epidemie onder controle werd gebracht, stegen de DI's naar het niveau van de rest van Nederland. Daar waar MRSA-typering-gegevens bekend zijn en de strategieën voor bemonsteren vergelijkbaar, kan Simpsons DI extra inzicht geven in de MRSA-epidemiologie.

*Deze data zijn tevens gepresenteerd op de 12<sup>th</sup> International Symposium on Staphylococci and Staphylococcal Infections, 5 september 2006.*

## 2.5. Toename van varkensgerelateerde MRSA in een endemisch gebied

M.M.L. van Rijen<sup>1</sup>, J.A.J.W. Kluytmans<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium voor Microbiologie en Infectiepreventie, Amphia Ziekenhuis, Breda, <sup>2</sup>Medische Microbiologie en Infectiepreventie, VU medisch centrum, Amsterdam; E-mail: mvrijen@amphia.nl

In toenemende mate wordt melding gemaakt van MRSA-verspreiding buiten ziekenhuizen en in 2006 werd verspreiding binnen de Nederlandse varkensstapel vastgesteld. Het doel van deze studie was het in kaart brengen van de bron van elke nieuw geïntroduceerde MRSA in het Amphia vanaf 2002 tot oktober 2006. Tijdens deze periode zijn er 45 nieuwe stammen geïntroduceerd. 44% was gerelateerd aan een buitenlandse opname, 13% aan een Nederlands ziekenhuis, 7% was *community-associated*, bij 13% was de bron onbekend en in 22% bestond verband met de veehouderij. Laatstgenoemde groep werd in het Amphia voor het eerst gesignaleerd in 2005. In 2006 was 56% van alle nieuwe MRSA gerelateerd aan veehouderijen. Sinds de melding van deze risicogroep in het voorjaar van 2006 werden 11 patiënten gescreeend die beroepsmatig contact hebben met levende varkens of vleeskalveren of op een varkens- of kalverhouderij wonen. Negen van hen waren MRSA-positief (82%). Vier varkenshouders, 1 echtgenote

van een varkenshouder, 1 kalverhouder, 1 dierenarts en 1 kunstmatig inseminator waren gekoloniseerd, terwijl 1 kalverhouder leed aan een MRSA-gerelateerde osteomyelitis. Uit deze studie blijkt dat in een gebied waar veel varkens- en kalverhouderijen zijn, een sterke toename is van het aantal MRSA-stammen waarvan de bron bij varkens of vleeskalveren ligt. Het gegeven dat negen van de 11 gescreeende patiënten ook daadwerkelijk MRSA bij zich droegen, is zorgwekkend. Het is de vraag of deze MRSA zich verder in de bevolking zal verspreiden. Deze ontwikkeling is een bedreiging voor het tot nu toe succesvolle *Search and Destroy*-beleid in Nederland.

## 2.6. Unexplained circulation of hepatitis E virus in the Netherlands

Katrine Borgen<sup>1,2</sup>, M.M.P.T. Herremans<sup>1</sup>, E. Duizer<sup>1</sup>, A.M. de Roda Husman<sup>1</sup>, A. Bosman<sup>1</sup>, M.P.G. Koopmans<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centre for Infectious Disease Control, National Institute for Public Health and the Environment (RIVM), Bilthoven,

<sup>2</sup>European Programme for Intervention Epidemiology Training (EPIET); E-mail: katrine.borgen@rivm.nl

Hepatitis E virus (HEV) infections have been associated with travel to high-endemic countries. Non-travel related HEV of genotype 3 has been diagnosed occasionally since 2000. The 97% homology of HEV from humans and pigs suggests zoonotic transmission. We conducted a descriptive case study to generate hypotheses about possible risk factors for non-travel-related HEV infections and to map the genetic diversity of HEV. A case was defined as a person with HEV infection laboratory confirmed (positive HEV RT-PCR and/or HEV IgM) after 1 January 2004, without travel to high-endemic country three months before onset of illness. Virus identification: 148 bp of ORF2 was sequenced and compared with HEV from humans and pigs. We interviewed cases about clinical and medical history, food preferences, animal and surface water contact by using a standardized questionnaire. We interviewed 19 cases; 17 were male, median age 50 years (25-84y), 12 lived in the North-East and 11 had preexisting disease. Most common symptom: dark urine (n=16). Sixteen ate pork  $\geq$  once/week and 14 had contact with dogs. Two cases had received blood transfusions. For 17/19 the PCR was positive; HEV genotype 3. Two cases, from 2005 and 2006, had isolates with identical HEV sequence. The results suggest endemic circulation of genotype 3 HEV. Males with preexisting disease form a possible risk group, consumption of pork and contact with dogs are possible exposures to be further investigated. We recommend HEV diagnostics in patients with non-A, -B, -C hepatitis, including non-travelers, to better estimate the prevalence of HEV infections.

*This study is also presented at the EPIET Scientific Seminar, Mahón, Menorca, October 12-14 2006.*

# Commissie Nascholing

## Geaccrediteerde deskundigheidsbevordering

Net als voor huisartsen, verpleeghuisartsen, artsen voor verstandelijk gehandicapten en sociaal-geneeskundigen is met de inwerkingtreding van het Kaderbesluit CCMS het deelnemen aan geaccrediteerde deskundigheidsbevordering ook voor medisch-specialisten een voorwaarde voor herregistratie. Onder meer in *Medisch Contact* nummer 37 bent u hierover in algemene zin geïnformeerd. De Medisch Specialisten Registratie Commissie (MSRC) heeft beleidsregels vastgesteld, die aangeven hoe zij omgaat met deze voorwaarden.

Om in aanmerking te komen voor herregistratie dienen medisch-specialisten per 1 januari 2006 onder meer aan te tonen dat zij gemiddeld over vijf jaar ten minste 40 uur per jaar hebben deelgenomen aan geaccrediteerde deskundigheidsbevordering, ook wel bij- en nascholing genoemd. Omdat gemiddeld over vijf jaar een omvang van ten minste 40 uur per jaar wordt vereist, is het mogelijk dat medisch-specialisten het ene jaar veel bij- en nascholing volgen en het andere jaar weinig.

### 1 januari 2006 - 1 januari 2011

Of wordt voldaan aan de eisen voor herregistratie wordt bezien aan de hand van de vijf jaar voorafgaand aan de expiratedatum van de registratie. Dat geldt niet voor de deskundigheidsbevordering. Immers, deze eis geldt pas per 1 januari 2006. Het Kaderbesluit CCMS voorziet niet in een regeling voor de eerste vijf jaar. De MSRC heeft daarom voor deze periode (1 januari 2006 tot 1 januari 2011) de volgende beleidsregels vastgesteld.

A	Expiratedatum tussen 1 januari en 31 december 2006:	Minimaal 27 uur
B	Expiratedatum tussen 1 januari en 31 december 2007:	Gemiddeld minimaal 67 uur
C	Expiratedatum tussen 1 januari en 31 december 2008:	Gemiddeld minimaal 107 uur
D	Expiratedatum tussen 1 januari en 31 december 2009:	Gemiddeld minimaal 147 uur
E	Expiratedatum tussen 1 januari en 31 december 2010:	Gemiddeld minimaal 187 uur

### Hoeveel uren heb ik nodig voor herregistratie?

Afhankelijk van het moment waarop uw registratie als medisch-specialist eindigt, is een minimum aantal

uren geaccrediteerde deskundigheidsbevordering vereist. Minimaal 27 uur over 2006 en gemiddeld minimaal 187 uur over de periode tot en met 31 december 2010. Bij de bepaling van deze uren is rekening gehouden met het feit dat medisch-specialisten vier maanden voor de expiratedatum in de gelegenheid worden gesteld een verzoek tot herregistratie in te dienen. Per periode is het minimum aantal uren daarom verlaagd met 13 uur. Is de expiratedatum van uw registratie gelegen tussen 1 januari en 31 december, dan wordt het minimum aantal uren berekend naar rato van de verstreken tijd sinds 1 januari van het betreffende jaar.

Blijkt dat u vanaf 1 januari 2006 tot de expiratedatum van uw registratie in onvoldoende mate heeft deelgenomen aan geaccrediteerde bij- en nascholing, dan heeft dat gevolgen voor uw herregistratie. U wordt ofwel niet geherregistreerd, ofwel voor een kortere duur dan vijf jaar.

Waar de aanbieders van geaccrediteerde bij- en nascholing veelal een waardering in punten vermelden, wordt deze voor de herregistratie uitgedrukt in uren. De MSRC wijst u er op dat 1 (één) accreditatiepunt gelijk staat aan 1 (één) uur.

Om het bijhouden van de gevolgde bij- en nascholing te vergemakkelijken is er door de KNMG en alle beroepsverenigingen een computerprogramma ontwikkeld (GAIA = Gemeenschappelijke Accreditatie Internet Applicatie).

In een persoonlijk bestand (BOX) - toegankelijk met een persoonlijke code en alleen in te zien door betrokken specialist - gelinkt aan de website van de vereniging, wordt de gevolgde bij- en nascholing opgeslagen. Voor de NVMM geldt dit vanaf voorjaar 2007. Dit betekent dat vanaf 1 januari 2006 tot de invoering van het systeem iedereen zelf de aanwezigheidsformulieren van de gevolgde, geaccrediteerde bij- en nascholing moet bewaren. Er zal geen administratieve slag worden gemaakt om terug te administreren tot 1 januari 2006. Als de KNMG de gegevens nodig heeft in het kader van herregistratie dan vraagt de KNMG via een eenmalige machtiging aan betrokkene te mogen inkijken in diens BOX.



Er wordt naar de mogelijkheid gekeken of niet registerleden (MBWO-ers) ook van het systeem gebruik kunnen maken.

*In deze bijdrage is gebruikgemaakt van teksten van de KNMG. De beleidsregels en informatie over GAIA kunt u inzien op of downloaden van [www.knmg.nl](http://www.knmg.nl). Ga naar Opleiding & Registratie en klik vervolgens op registratiecommissie, de MSRC,*

*Herregistratie. Voor vragen over deze herregistratie-eisen of wanneer u de integrale tekst van de beleidsregels wilt opvragen, kunt u contact opnemen met de MSRC, e-mail: [msrc@fed.knmg.nl](mailto:msrc@fed.knmg.nl) of tel. (030) 2823244.*

Dr. J.H. van Zeijl, arts-microbioloog, secretaris Commissie Nascholing NVMM, Streeklaboratorium Volksgezondheid Friesland, Jelsumerstraat 6, 8917 EN Leeuwarden.

## Wijzigingen in de systematiek van registreren van bij- en nascholing

### Inleiding

Om als arts actief te mogen blijven, moet u zich elke vijf jaar laten herregistreren bij de Registratiecommissie (MSRC). Vanaf 1 januari 2006 moet u daarbij kunnen aantonen dat u voldoende relevante opleidingen gevolgd heeft. De norm die daarbij wordt gehanteerd is dat u over een periode van 5 jaar gemiddeld tenminste 40 uur per jaar heeft deelgenomen aan geaccrediteerde deskundigheidsbevordering, ook wel bij- en nascholing genoemd. Het is daarbij mogelijk dat u het ene jaar veel bij- en nascholing volgt en het andere jaar minder, zolang dat in 5 jaar maar tenminste 200 uur bedraagt (zie ook hierboven).

In april 2005 is door de beroepsverenigingen, verzameld in het Accreditatie Overleg (AO), besloten te kiezen voor een gezamenlijk geautomatiseerd systeem ten behoeve van het proces van accrediteren en registreren van bij- en nascholing. Een en ander is uitgewerkt in het project GAIA, wat staat voor: Gemeenschappelijke Accreditatie Internet Applicatie.



### Wat is GAIA?

GAIA is een computerprogramma dat is ontwikkeld door de KNMG in samenwerking met softwareleverancier Xaurum. Belangrijkste uitgangspunt bij de ontwikkeling is 'Keep it simple'! Het programma ondersteunt het proces rondom registreren en accrediteren van bij- en nascholing. GAIA is toegankelijk voor een groot aantal gebruikers, zoals artsen, beroepsverenigingen, registratiecommissies en aanbieders van bij- en nascholing.

Ook de NVMM heeft destijds besloten om aan GAIA mee te doen, en inmiddels zijn wij als vereniging zo ver dat het product operationeel wordt. U kunt GAIA straks activeren via een link op de website van de NVMM.

### Persoonlijk dossier arts/bij-schrijven van accreditatiepunten

Met de introductie van GAIA krijgt u de mogelijkheid om accreditatieuren automatisch te laten administreren en te

beheren in een persoonlijk dossier. Het is dan niet meer nodig om certificaten bij te houden. U heeft hiermee meer overzicht, loopt minder risico certificaten kwijt te raken en u kunt de uren automatisch aanbieden bij uw aanvraag voor herregistratie.

Allereerst vervult GAIA de functie van verzamelplaats van de door u gevolgde nascholing. Uren toegekend aan deze nascholing worden automatisch bijgeschreven in uw persoonlijk dossier (BOX) wanneer u de nascholing heeft gevolgd. Behaalde nascholingsuren kunnen door de arts zelf, de Wetenschappelijke Vereniging en/of de aanbieder van nascholing (zo mogelijk via een elektronische pas) via internet aan dit persoonlijk dossier worden toegevoegd. U bent met behulp van een persoonlijke code als enige in staat het bestand in te zien.

Daarnaast hebt u als arts de mogelijkheid binnen GAIA te zoeken naar geaccrediteerde nascholing. De geaccrediteerde nascholing wordt per Wetenschappelijke Vereniging overzichtelijk in een agenda geplaatst, waarin artsen eenvoudig kunnen zien waar en wanneer voor hen relevante nascholingsactiviteiten gaan plaatsvinden.

GAIA ondersteunt slechts de registratie van gevolgde bij- en nascholing. U blijft altijd zelf verantwoordelijk voor het beheer van uw eigen BOX.

Zoals eerder gemeld zal de NVMM dit jaar met deze service starten. Er zal geen administratieve inhaalslag plaatsvinden om eerdere nascholing alsnog aan uw BOX toe te voegen. De gegevens van uw nascholing tussen 1 januari 2006 en het moment dat GAIA ook uw BOX kan vullen, zult u zelf goed moeten verzamelen en bewaren tot het moment van uw eerstvolgende herregistratie.

### Hoe gaat het in zijn werk?

De accreditatieuren die zijn behaald door de arts door middel van nascholing dienen in het persoonlijk dossier van de arts te worden bijgeschreven. Dit kan, na toestemming van de arts, geschieden door de aanbieder van bij- en nascholing of door de arts zelf. Getekende presentielijsten (handtekening van de arts) van de aanbieder kunnen door de aanbieder worden ingescand en worden toegevoegd

aan GAIA. Het is noodzakelijk dat op de presentielijst het BIG-nummer (unieke identificatie) van de arts staat vermeld ten behoeve van de invoer in het dossier.

Voor de vijfjaarlijkse herregistratie kan de specialist het dossier digitaal aan de Registratiecommissie (MSRC) zenden. Het systeem is getoetst aan alle mogelijke veiligheids- en privacy-vereisten. Op termijn zal de UZI-pas een rol spelen bij de registratie van deelname van (in ieder geval) grootschalige bijeenkomsten.

#### **Voordelen**

- Altijd bereikbaar via internet (via inloggegevens);
- U bepaalt wie toegang krijgt;- Minder administratief gedoe rond de herregistratie;

- Direct inzicht in relevant aanbod op basis van uw eigen profiel;
- Actueel zicht op uw opleidingsactiviteiten;
- (Op termijn) extra ondersteuning door bijvoorbeeld rappelmailtjes of SMS-jes), voorkeursprofielen instellen.

#### **Meer informatie**

Op de website van KNMG ([link](#)) kunt u meer informatie over dit onderwerp vinden. Voor vragen kunt u ook terecht bij het secretariaat van de NVMM (tel: 058-2939249) of bij de secretaris van de Commissie Nascholing (058-2939245).  
J.H. van Zeijl, secretaris Commissie Nascholing

# Typhoid fever. Aspects of environment, host and pathogen interaction

S. Ali

## Samenvatting

Dit proefschrift beschrijft de wisselwerking tussen drie determinanten van de uitkomst van een buiktyfus- en paratyfusinfectie: de bijdrage van omgevingsfactoren en van genetische factoren van de menselijke gastheer in combinatie met eigenschappen van de bacterie. *Salmonella typhi* en *Salmonella paratyphi* veroorzaken een ernstig ziektebeeld (aangeduid met respectievelijk buiktyfus en paratyfus,) met koorts die meerdere weken kan aanhouden en, indien de patiënt niet wordt behandeld, een mortaliteit van circa 15 procent. Naast koorts, malaiseklachten en gewichtsverlies wordt de infectie gekenmerkt door zweren van de dunne darm waaruit een darmbloeding of zelfs darmperforatie kan ontstaan. Bij circa één op de tien patiënten treedt na schijnbaar herstel een *relapse*, een tweede koortsepisode, op. Hierin onderscheiden *S. typhi* en *S. paratyphi* zich van de vele andere *Salmonella*-bacteriën die meestal een *self-limiting* gastro-enteritis veroorzaken, of hooguit een ernstige ziekte veroorzaken bij patiënten met gestoorde afweer.

*S. typhi* heeft nog een unieke eigenschap. Deze bacterie kan alleen bij de mens een infectie veroorzaken. Een klein deel van deze patiënten, rond vier procent, wordt na infectie een chronische drager (*carrier*). Dit betekent dat ze vele jaren in de ontlasting *S. typhi* uitscheiden en daarmee een bron van besmetting kunnen zijn voor andere mensen, vooral als ze betrokken zijn bij voedselbereiding (*Typhoid Mary*). Omdat buiktyfus alleen mensen infecteert is het in principe mogelijk de infectieziekte uit te roeien, zoals eerder met pokken is gelukt, mits er voldoende bekend is over de wijze van overdracht. Al ruim 100 jaar weet men dat *S. typhi*- en *S. paratyphi*-bacteriën in de ontlasting van patiënten en dragers, worden uitgescheiden en dat daardoor transmissie in de bevolking in stand wordt gehouden. De overdracht treedt op zo lang patiënten persoonlijke hygiëne veronachtzamen en/of ontlasting in drinkwater of voedsel terecht kan komen door een defect waterleidingssysteem. In de ontwikkelde westerse landen werd bij de aanleg de riolering gescheiden van de drinkwatervoorziening. Daarmee werd de zorg voor persoonlijke hygiëne bevorderd en de opsporing van dragers voor feco-orale transmissie

van mens-tot-mens doorbroken, en zijn buiktyfus en paratyfus tot importinfectieziekten geworden. In de rest van de wereld komt nog veel buiktyfus en paratyfus voor. Jaarlijks treden naar schatting ruim 21 miljoen gevallen van buiktyfus en vijf miljoen gevallen van paratyfus op.

Ondanks het feit dat de omgevingsfactoren en aspecten van het menselijke gedrag, die bijdragen aan de transmissie van beide infectieziekten, bekend zijn, althans in theorie, is in een ontwikkelingsland zoals Indonesië niet duidelijk welke van die factoren en aspecten de belangrijkste bijdrage leveren aan het vóórkomen van de ziekten. Dergelijke kennis is echter onontbeerlijk om kosteneffectieve interventies op te stellen en uit te voeren, vooral in landen waar het budget voor gezondheidszorg nu eenmaal beperkt is. Om die zwaksteschakel in de overdracht van *S. typhi* en *S. paratyphi* in kaart te brengen is in Jakarta een bevolkingsonderzoek verricht.

Jakarta is een megastad met ruim 12 miljoen inwoners. In een oostelijk district van deze stad, Jatinegara, een gebied van 10,6 km<sup>2</sup> met circa 260.000 inwoners, werd gedurende anderhalf jaar bij patiënten die zich melden bij een van de lokale gezondheidscentra (*puskemas*) en drie of meer dagen koorts hadden, een bloedkweek afgenomen. Hierbij bleek dat één op elke tien van deze patiënten een buiktyfus- of paratyfusinfectie had. Karakteristieken van deze patiënten werden vergeleken met die van personen met koorts ontwikkeld door een andere oorzaak dan een buiktyfus- of paratyfusinfectie, en die van bijna 400 willekeurige, gezonde controlepersonen die in hetzelfde gebied woonden. Op die manier werd nagegaan welke risicofactoren in gedrag of omgeving van invloed waren op buiktyfus en paratyfus. Ook konden deze groepen op immunologische en genetische eigenschappen worden vergeleken, om daarmee na te gaan of er naast omgevingsfactoren ook andere verklaringen zijn aan te wijzen voor verschillen in gevoeligheid voor infectie of ernst van ziekte. Ten slotte werd onderzoek verricht naar eigenschappen van de bacteriën zelf: welke typeringsmethoden kunnen worden toegepast om te helpen bij de epidemiologische analyse van overdracht en verspreiding?

### Omgevingsfactoren en buiktyfus en paratyfus in Jakarta

In het onderzoeksgebied Jatinegara werden 1.019 patiënten geïncludeerd tijdens een surveillancperiode van anderhalf jaar: 88 gevallen van buiktyfus, 26 van paratyfus en 905 patiënten met koorts door andere redenen, de zgn. *fever controls*. Deze patiënten én de gezonde controlepersonen werden thuis bezocht. Bij dit bezoek werd een vragenlijst ingevuld en werden monsters van bloed, feces en drinkwater verkregen. Uit de analyse bleek dat buiktyfus voornamelijk binnen huishoudens (eet- en hygiëne-unit) werd overgedragen door personen in dat huishouden die recent een buiktyfusinfectie hadden doorgemaakt, hun handen niet wisten en met wie de overige leden het eten deelden van één en hetzelfde bord. In Indonesië eten veel mensen met hun handen. In het huishouden van veel buiktyfuspatiënten ontbrak bovendien een toilet.

Het krijgen van een paratyfusinfectie bleek geassocieerd met eten buitenshuis, en met overstroming van het huis. Veel Indonesiërs eten buiten de deur, omdat daar een gevarieerd en goedkope maaltijd wordt aangeboden. Veelal goedkoper dan wanneer zelf wordt gekookt. Drinkwater, zelfs drinkwater uit de waterleiding, is in Jakarta vaak fecaal verontreinigd. Omdat mensen gewend zijn hun drinkwater voor consumptie te koken, was de mate van verontreiniging van drinkwater niet geassocieerd met buiktyfus of paratyfus. Deze gewoonte is een wenselijk en noodzakelijk gedragselement, en het gunstige effect daarvan zou moeten worden benadrukt, naast maatregelen gericht op persoonlijke hygiëne, zoals het wassen van handen met zeep. Door middel van zulke relatief simpele gedragsinterventies zou de transmissie belangrijk kunnen worden gereduceerd, zeker zolang de kostbare aanleg van riolering en een centrale drinkwaterinfrastructuur in de sloppenwijken nog op zich laat wachten.

Er werden in de huishoudens geen chronische dragers (*carriers*) geïdentificeerd onder de individuen die het voedsel bereiden. De bijdrage aan de overdracht van buiktyfus door chronische dragers bleek dus geringer dan die als gevolg van transiënte, tijdelijke fecale uitscheiding door personen die herstelden van een doorgemaakte infectie.

Met gegevens van ziektesurveillance gekoppeld aan optimale individuele diagnostiek door bloedkweken, werd inzicht verkregen over het vóórkomen van buiktyfus en paratyfus: slechts 10 procent van de personen met langdurige koorts bleek buiktyfus of paratyfus te hebben. Omdat de dokters in het onderzoeksgebied (en elders in Jakarta) zelden bloedkweken verrichten beschouwen zij – ten minste buiten het Dengueseizoen – de meeste van deze personen als buiktyfuspatiënten en stellen een behandeling in met antibiotica. Opmerkelijk was dat paratyfus een kwart van de systemische *Salmonella*-infecties veroorzaakte en klaarblijkelijk met een opmars

bezig is, iets dat ook in andere Aziatische landen is gesignaleerd. Praktisch gezien betekent dit dat dure massavaccinatiecampagnes tegen buiktyfus niet langer een gewenste strategie vormen, omdat buiktyfusvaccins specifiek gericht zijn tegen buiktyfus en gevallen van paratyfus niet voorkómen.

Paratyfus, en in mindere mate ook buiktyfus, bleek geassocieerd met straatvoedsel. Om dit nader te duiden werd een cross-sectioneel onderzoek verricht onder 74 verkopers uit restaurants en 128 personen met voedselstalletjes of -karren. Veel van de geteste personen bleek geïnfecteerd met darmparasieten, en bij een belangrijk aantal werd *Salmonella* uit de feces gekweekt. Ook bij deze groep zouden relatief eenvoudige interventies de overdracht van bacteriën door straatvoedsel kunnen inperken, omdat handwashygiëne en het gebruik van zeep in afwaswater in gebreke bleven bij de straatverkopers. Ook moet meer aandacht worden geschonken aan veilige (gekoelde) opslag van voedsel.

### Genetische gastheerfactoren en buiktyfus en paratyfus in Jakarta

Een tweede aspect van het onderzoek betrof de gastheerreactie op een infectie, een complex gebeuren waarin verschillende types afweercellen nauw moeten samenwerken. *Salmonella*-bacteriën overleven in macrofagen van lever, milt en beenmerg, de eerste lijn van afweer tegen de bacteriën die erin zijn geslaagd de darmwand te passeren. In ons onderzoek hebben we enkele facetten van dit eerste contact nader onderzocht.

Allereerst is het waarschijnlijk dat *S. typhi* het chloridekanaal van darmcellen, de zogenaamde *Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator* (CFTR), gebruikt om aan te hechten aan de darmwand, een eerste essentiële stap bij het binnendringen. Een kleine verandering in het genetische materiaal (een genmutatie) dat codeert voor het CFTR, kan zeer schadelijk zijn en tot de ernstige longziekte cystic fibrosis (CF) leiden. In het laatste geval heeft de patiënt van beide ouders een afwijkend gen geërfd, en heeft de genetische verandering tot gevolg dat er in het geheel geen CFTR op de membraan van cellen in longen, darm, etc, aanwezig is. Hierdoor kunnen darmcellen geen chloride (en daarmee water) uitscheiden en ontstaat taaislijmziekte. Omdat CF een ernstige ziekte is en zeker vroeger altijd resulteerde in de dood van een patiënt op jeugdige leeftijd, is het opmerkelijk dat het afwijkende gen zo vaak bij de bevolking vóórkomt (tot bij drie tot vijf procent). Zou het zo kunnen zijn dat de afwezigheid van CFTR (of verlaging van de hoeveelheid CFTR bij dragers van een afwijkend gen) enige bescherming biedt tegen een ernstige infectieziekte als buiktyfus?

Uit ons onderzoek blijkt dat de in het westen karakteristieke CF-mutatie in Jakarta niet voorkomt. Wel bleken enkele specifieke genetische variaties in het CFTR-gen

geassocieerd met buiktyfus. Ofschoon de oorspronkelijke hypothese niet kon worden getest door het ontbreken van de karakteristieke CF-mutatie in Indonesië, kon wel worden aangetoond dat kleine veranderingen in CFTR geassocieerd waren met buiktyfus. Blijkbaar speelt het CFTR-eiwit dus een essentiële rol in de pathogenese van buiktyfus, ofwel door te fungeren als aanlegsteiger van de bacterie in de darm, ofwel als essentiële cofactor bij het doordringen van de darmwandcellen.

Naast het CFTR werd de rol onderzocht van genen die coderen voor pro-inflammatoire cytokinen en hun receptoren, zoals TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1  $\alpha$ , IL-1  $\beta$ , IL-12, IL-18, TNFR1, IFN- $\gamma$ R1, IL-1R, CASP1 en CRP. Deze cytokinen en hun receptoren spelen een belangrijke rol bij de samenwerking tussen macrofagen, T-lymfocyten en *Natural Killer*-cellen in de immuunreactie tijdens buiktyfus en paratyfus. De interpretatie van de uitkomsten maakt duidelijk dat genetische verschillen in aanmaak van deze cytokinen geen rol spelen bij het feit of iemand vatbaar is voor ziekte of niet. Hooguit spelen eventuele verschillen hierin een rol bij de consequenties daarna: de ernst van de ziekte, die bijv. bepaalt of iemand moet worden opgenomen of niet.

Eveneens werd nagegaan of *single-nucleotide polymorfismen* (SNPs; veranderingen van enkele basenparen in het erfelijke materiaal DNA) in het PARK2/PACRG-gen is geassocieerd met buiktyfus of paratyfus. Eerder was vastgesteld dat mutaties in deze genen individuen verhoogd vatbaar maken voor lepra, net als *Salmonella* een intracelulair pathogeen micro-organisme is. De eiwitten die door het PARK2/PACRG-gensysteem worden gecodeerd zijn van belang voor poly-ubiquitinatie van eiwitten in het cytoplasma van de afweercellen. Het gaat hier om het van een ubiquitinlabel voorzien van eiwitten, waarna deze kunnen worden geïdentificeerd en afgebroken door het proteasoom (*stofzuiger*) in het cytoplasma. Dergelijke mechanismen zijn van groot belang bij de gerichte afbraak van bacteriële eiwitten (toxines) die het functioneren van de cellen beïnvloeden. Van verschillende SNPs in het PARK2/PACRG-gen was PARK2-e01(-2599) geassocieerd met buiktyfus, net als bij lepra, terwijl andere SNPs, PARK2-e01(-697), rs1333955 en rs1040079 dat niet waren. Verder onderzoek moet verhelderen hoe de *proteasome-ubiquitination pathway* *S. typhi* en *S. paratyphi* helpt te overleven in de macrofagen.

#### **Bacteriële factoren en buiktyfus en paratyfus in Jakarta**

*S. typhi* en *S. paratyphi* hebben veel overeenkomsten in hun voorkeur voor de mens en in hun ziekmakende eigenschappen, maar zijn toch twee verschillende micro-organismen, met in Jakarta verschillende transmissieroutes. Binnen de twee bacteriën zelf zijn ook weer diverse varianten, subtypes, te onderscheiden, mits er analyses worden gedaan die een voldoende discriminerend

vermogen hebben. Dergelijke analyses kunnen helpen verschillende gevallen aan een bron te koppelen en zijn essentieel bij de epidemiologische analyse van onderzoeksgegevens. Zo zijn er verschillen in gevoeligheid voor antibiotica te onderscheiden, al zijn in Jakarta slechts zeer weinig bacteriën *multidrug-resistant* (MDR). Deze methode helpt niet bij het verder onderverdelen in subtypes, al is het natuurlijk gunstig te kunnen constateren dat buiktyfus en paratyfus in Jakarta met relatief simpele antibiotica nog steeds adequaat kunnen worden behandeld. De meeste van deze antibiotica zijn goedkoop en voldoende voorradig in de meeste gezondheidscentra.

Ook onze andere methoden, zoals biochemische tests en AFLP, bleken de subtypes niet te kunnen onderscheiden. De in Jakarta circulerende buiktyfus en paratyfus stammen zijn dus bijzonder homogeen, wat wellicht weerspiegelt dat kleine veranderingen in genetisch profiel, zoals gedetecteerd door AFLP, de bacteriële fitness zodanig verminderen dat er niet langer een infectie optreedt. Andere mogelijke verklaringen zijn dat er een centrale gemeenschappelijke bron voor infectie aanwezig is (minder waarschijnlijk vanwege de spreiding van infecties in plaats en tijd), of dat de gekozen analysemethoden onvoldoende sensitief zijn als discriminatoire test. Nieuwe testen moeten dus worden ontwikkeld en gevalideerd om wel de lokale verspreiding van specifieke subtypes te kunnen ophelderen, om daarmee specifieke overdrachtskenmerken in kaart te brengen die kunnen helpen bestrijdingsplannen te verfijnen.

#### **Conclusie**

Infecties met *S. typhi* en *S. paratyphi* hebben in de ontwikkelde landen geen voet meer aan de grond dankzij de verbeteringen in riolering, drinkwatervoorziening, hygiëne en voedselveiligheid. De afname van incidentie werd bereikt vóór de introductie van antibiotica of vaccinaties. Ook in Jakarta is heden ten dage de grootste gezondheidswinst niet zozeer te bereiken door het uitbreiden van de gezondheidszorg, maar door verbeteringen in de eerstgenoemde omgevings- en gedragsfactoren.

Ons onderzoek maakt duidelijk dat adequate surveillance en risicofactoronderzoek noodzakelijk zijn om effectieve interventieprogramma's te ontwerpen. Veranderingen in incidentie van de ziekten als gevolg van grote, dure infrastructurele projecten kunnen worden voorafgegaan door een belangrijke afname als gevolg van aandacht voor persoonlijk (handwas)hygiëne, zowel in huishoudens als bij de commerciële voedselbereiding. Er bestaat een grote behoefte aan nieuwe diagnostische testen (of introductie van bestaande bloedkweektechnologie) omdat een empirische behandeling met antibiotica van alle koortspatiënten ('verdenking buiktyfus') een grove overbehandeling inhoudt, en op termijn *multi-drug*-resistentie induceert. Eventuele massavaccinatiecampagnes zullen de toename van paratyfus niet afremmen.

Op individueel niveau maakt niet zozeer de cytokinereactie op infectie uit of iemand vatbaar is voor buiktyfus of paratyfus, maar blijkt de entree een bepalende factor te zijn met een belangrijke rol van CFTR hierin. Pas daarna komen cytokinen in het spel, evenals mutaties in het *PARK2/PACRG*-gen die een tolerant klimaat in de afweercellen creëren dat bacteriële overleving mogelijk maakt. Over omgeving en gastheer moge meer duidelijk zijn geworden; de eigenschappen van de bacterie blijven nog onderbelicht, vooral omdat de juiste analysemethode

ontbreekt om subtypes te differentiëren en daarna die kennis te kunnen koppelen aan specifieke risicofactoren. Wel is bekend dat de behandelingsopties (nog) ruim voorhanden zijn, omdat *multi-drug*-resistentie in Jakarta, in tegenstelling tot veel andere Aziatische landen, praktisch afwezig is. Mijn hoop is dat dit proefschrift een bijdrage levert aan het inzicht in buiktyfus en paratyfus, zowel wat de bestrijding ervan in Jakarta aangaat, als wat betreft de complexe communicatie over en weer tussen bacterie, omgeving en mens.

Bijsluiter

Bijsluiter

## PERSONALIA

### Nieuwe leden

- Mw. N.D. van Burgel, Leids Universitair Medisch Centrum, afdeling Medische Microbiologie, Postbus 9600, 2300 RC Leiden.
- Mw. A.C. Dijkmans, Leids Universitair Medisch Centrum, afdeling Medische Microbiologie, Postbus 9600, 2300 RC Leiden.
- Dr. S. Dinant, Windmolen 51, 3642 DA Mijdrecht.
- Mw. Dr. C.C. Buter-van Leer, UMC St Radboud, afdeling Medische Microbiologie, 574, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen.
- Mw. A.K. van der Bij, Erasmus Medisch Centrum, afdeling Medische Microbiologie en Infectieziekten, Postbus 2040, 3000 CA Rotterdam.
- H.C. Gelderblom, Nieuwezijds Voorburgwal 266 II voor, 1012 RS Amsterdam.
- A.M. Rolloos, Goereessestraat 132 A, 3083 DN Rotterdam.
- Mw. N.J.P. Smits, Meliskerkestraat 32, 6845 AW Arnhem.
- Mw. L.E.S. Bruijnesteijn van Coppenraet, Isala Klinieken, afdeling Medische Microbiologie, Rhijnvis Feithlaan 62, 8021 AM Zwolle.
- Mw. Dr. M.M.S.M. Wösten, Universiteit Utrecht, afdeling Bacteriologie, Yalelaan 1, 3508 TD Utrecht.
- Dr. H.J. Boot, RIVM, LIS, Postbak 22, Postbus 1, 3720 BA Bilthoven.
- P.R. Goswami, Esdoornlaan 15, 6584 BD Molenhoek.
- Dr. H.E. van Beurden, AMDS-Benelux, Promenade 23, 6581 BW Malden.
- Dr. P.W.J. de Groot, Mass Spectrometry of Biomacromolecules, SILS, Universiteit van Amsterdam, Nieuwe Achtergracht 166, 1098 SM Amsterdam.
- Prof. Dr. M.J.M. Bonten, UMC Utrecht, Eijkman-Winkler Instituut, G04.614, Heidelberglaan 100, 3584 CX Utrecht.
- M.J. Schijffelen, Bladmos 11, 3994 KW Houten.
- J.L.H. van Zanten, Oude Groenewoudseweg 145, 6524 VE Nijmegen.
- Mw. S.P.M. Lutgens, Academisch Ziekenhuis Maastricht, afdeling Medische Microbiologie, Postbus 5800, 6202 AZ Maastricht.
- N.J. Verkaik, Louis Pregerkade 46, 3071 AZ Rotterdam.
- Mw. dr. M.H. Nabuurs-Franssen, Siep 1, 6561 KK Groesbeek.

- Mw. Dr. S.A. Schoondermark-Stolk, Diakonessenhuis, afdeling Medische Microbiologie, Postbus 80250, 3508 TG Utrecht.
- P. Zevenbergen, Medeco, Alexander Flemingstraat 2, 3260 BB Oud-Beijerland.
- Mw. A. Vos, Jerome Kernplantsoen 54, 3543 DK Utrecht.
- B.U. Ridwan, Panamakade 196, 1019 TT Amsterdam.
- G.J.A.P.M. Oudhuis, Academisch Ziekenhuis Maastricht, afdeling Medische Microbiologie, Postbus 5800, 6202 AZ Maastricht.
- Dr. G. Buist, Noordbroeksterstraat 88, 9611 BJ Sappemeer.

### Adreswijzigingen

- Dr. H.G.M. Niesters, UMC Groningen, Afdeling Medische Microbiologie, sectie virologie, De Brug, kamer 2.040, Postbus 30001, 9700 RB Groningen (voorheen Erasmus MC te Rotterdam).
- Mw. Dr. I.H.M. van Loo, Academisch Ziekenhuis Maastricht, afdeling Medische Microbiologie, Postbus 5800, 6202 AZ Maastricht, (voorheen Streeklaboratorium Volksgezondheid te Tilburg).
- Dr. M.F.C. Beersma, Erasmus Medisch Centrum, afdeling Medische Microbiologie en Infectieziekten, Postbus 2040, 3000 CA Rotterdam (voorheen Groene Hart Ziekenhuis, Gouda).
- Dr. A. Ott, Laboratorium voor Infectieziekten, Van Ketwich Verschuurlaan 92, 9721 SW Groningen (voorheen Erasmus Medisch Centrum, Rotterdam).
- Dr. H.F.L. Wertheim, Oxford University Clinical Research Unit, National Institute of Infectious and Tropical Diseases, Bach Mai Hospital, 78 Giai Phong Street, Hanoi, Vietnam (voorheen Erasmus MC Rotterdam).
- A.V.M. Möller, Martini Ziekenhuis, afdeling Medische Microbiologie, Van Swietenlaan 4, 9728 NZ Groningen (voorheen Wilhelmina Ziekenhuis te Assen).
- P. Gruteke, Onze Lieve Vrouwe Gasthuis, afdeling Medische Microbiologie, 1e Oosterparkstraat 179, 1091 HA Amsterdam (voorheen GGD Amsterdam).
- Dr. B.M.W. Diederens, Streeklaboratorium voor de Volksgezondheid Kennemerland, Boerhavelaan 26, 2035 RC Haarlem (voorheen St. Elisabeth Ziekenhuis, Tilburg).
- Mw. M. Wulf, Stichting Pamm, Postbus 2, 5500 AA Veldhoven (voorheen Vossenbergh 6 te Beesel).

**18 januari 2006 – I.E.A. Kivihya-Ndugga, M.R.A. van Cleeff**

Proefschrift: Diagnosis of Tuberculosis in high endemic areas. Performance of sputum microscopy, chest x-ray and polymerase chain reaction.

Promotores: prof. dr. P.A. Krager, prof. dr. M.W. Borgdorff. Co-promotor: dr. P.R. Klatser. Universiteit van Amsterdam, AMC, afdeling Infectieziekten, Tropische Geneeskunde & AIDS.

**27 januari 2006 – T.J. Aufenacker**

Proefschrift: The Lichtenstein inguinal hernia repair. Applicability, antibiotic prophylaxis and complications.

Promotor: prof. dr. D.J. Gouma. Co-promotor: dr. M.P. Simons. Universiteit van Amsterdam, AMC, afdeling Heelkunde.

**1 februari 2006 – E. van der Born**

Proefschrift: RNA Structures Regulating Nidovirus RNA Synthesis.

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

**28 februari 2006 – C.W. Wieland**

Proefschrift: Host-pathogen interactions during (myco) bacterial respiratory tract infections.

Promotor: prof. dr. T. van der Poll. Universiteit van Amsterdam, AMC, afdeling Inwendige Geneeskunde.

**7 maart 2006 – C.F. Hekkink**

Proefschrift: Quality of HIV care from the patients' perspective.

Promotores: prof. dr. P.J.E. Bindels, prof. dr. S.A. Danner. Co-promotor: dr. G. ter Riet. Universiteit van Amsterdam, AMC, afdeling Huisartsgeneeskunde.

**7 maart 2006 – A.C.J.M. de Pont**

Proefschrift: Anticoagulation in severe sepsis and the multiple organ dysfunction syndrome.

Promotores: prof. dr. M.B. Vroom, prof. dr. H.R. Büller. Co-promotores: prof. dr. M.M. Levi, dr. E. de Jonge. Universiteit van Amsterdam, AMC, afdeling Inwendige Geneeskunde.

**27 maart 2006 – Ir. P. Schneider**

Proefschrift: Submicroscopic *Plasmodium falciparum* gametocytaemia and the contribution to malaria transmission.

Promotor: prof. dr. R.W. Sauerwein, Co-promotor: dr. H.D.F.H. Schallig. UMC St Radboud, Nijmegen, Medische Microbiologie, afdeling Medische Parasitologie

**21 april 2006 – H. van Deutekom**

Proefschrift: Conventional and molecular epidemiological studies on tuberculosis.

Promotor: prof. dr. R.A. Coutinho. Co-promotor: dr. D. van Soolingen. Universiteit van Amsterdam, AMC.

**12 mei 2006 – P.J.A. Haas**

Proefschrift: Staphylococcal Drug Discovery.

Promotor: prof. dr. J. Verhoef. Co-promotores: dr. C.J.C. de Haas, dr. K.P.M. van Kessel, dr. J.A.G. van Strijp, Universitair Medisch Centrum Utrecht, Eijkman-Winkler Instituut voor Microbiologie, Infectieziekten & Ontsteking.

**17 mei 2006 – J. Friedman**

Proefschrift: *S. japonicum* associated morbidity.

Promotor: prof. dr. B.J. Brabin, Universiteit van Amsterdam, AMC, afdeling Kindergeneeskunde.

**22 mei 2006 – G.C. Hassink**

Proefschrift: The role of the ubiquitin system in human cytomegalovirus-mediated degradation of MHC class I heavy chains.

Promotor: Prof. dr. E.J.H.J. Wiertz. Leids Universitair Medisch Centrum, afdeling Medische Microbiologie.

**30 mei 2006 – B. Postma**

Proefschrift: Chemotaxis Inhibitory Protein of *Staphylococcus aureus* targets and mechanisms.

Promotor: prof. dr. J. Verhoef. Co-promotores: dr. C.J.C. de Haas, dr. J.A.G. van Strijp, dr. K.P.M. van Kessel, Universitair Medisch Centrum Utrecht, Eijkman-Winkler Instituut voor Microbiologie, Infectieziekten & Ontsteking.

**2 juni 2006 – R. Meiland**

Proefschrift: Urinary tract infections in women with Diabetes mellitus.

Promotores: prof. dr. I.M. Hoepelman, prof. dr. R.P. Stolk. Co-promotor: dr. S.E. Geerlings. Universitair Medisch Centrum Utrecht, afdeling Interne Geneeskunde.

**20 juni 2006 – M. Kuiper**

Proefschrift: Occurrence of *Legionella pneumophila* and *Hartmannella vermiformis* in fresh water environments and their interactions in biofilms.

Promotor: prof. dr. ir. D. v.d. Kooij. Co-promotores: dr. R.R. Beumer, dr. H. Smidt. Wageningen Universiteit, afdeling Levensmiddelen microbiologie.



**21 juni 2006 – V. Bekker**

Proefschrift: Pediatric HIV-1 infection: perspectives on vaccination strategies and immune reconstitution during long-term antiretroviral therapy.

Promotor: prof. dr. T.W. Kuijpers. Universiteit van Amsterdam, AMC, afdeling Immunologie.

**27 juni 2006 – E. F. Schippers**

Proefschrift: Cytokine responses to lipopolysaccharide in vivo and ex vivo: genetic polymorphisms and inter-individual variation.

Promotor: prof. dr. J.T. van Dissel, Leids Universitair Medisch Centrum, Leiden, afdeling Infectieziekten.

**6 juli 2006 – T. van Opijnen**

Proefschrift: Virus and environment. How HIV-1 replication and evolution is driven by the host environment.

Promotores: prof.dr. B. Berkhout, prof.dr. M.W. Sabelis. Co-promotor: dr. M.C. Boerlijst. Universiteit van Amsterdam, AMC, Vakgr. Humane Retrovirologie, Universiteit van Amsterdam, Fac. der Natuurwetenschappen, Wiskunde en Informatica.

**1 september 2006 – S. Nijssen**

Proefschrift: Kolonisatiedynamiek van antibioticaresistente bacteriën op intensive care afdelingen.

Promotores: prof. dr. M.J.M. Bonten, prof. dr. I.M. Hoepelman. Universitair Medisch Centrum Utrecht, afdeling Interne Geneeskunde.

**5 september 2006 – M.J. Geels**

Proefschrift: Sequence analysis as a tool to determine viral evolution and escape from host immune responses in HIV-1-infected individuals.

Promotor: prof. dr. J. Goudsmit. Co-promotor: dr. W.A. Paxton. Universiteit van Amsterdam, AMC, afdeling Inwendige Geneeskunde.

**6 september 2006 – R.S. Autar**

Proefschrift: Pharmacological studies on the use of antiretroviral medication for the treatment of HIV-1 infection in Thailand.

Promotores: prof. dr. J.M.A. Lange, prof. dr. P. Phanuphak. Co-promotores: dr. F. Wit, dr. D. Burger. Universiteit van Amsterdam, AMC, afdeling Inwendige Geneeskunde. Chulalongkorn University, Bangkok.

**19 september 2006 – K. Boutaga**

Proefschrift: Pathogens in Periodontal Disease. A molecular approach.

Promotores: prof. dr. A.J. van Winkelhoff, prof. dr. P.H.M. Savelkoul. Vrije Universiteit, Fac. Tandheelkunde, (ACTA), afdeling Orale Microbiologie.

**4 oktober 2006 – J.Z. Benogle**

Proefschrift: Towards control of human oesophagostomiasis.

Promotor: prof. Dr. A.M. Deelder. Co-promotores: dr. P. Magnussen, dr. A.M. Polderman. Leids Universitair Medisch Centrum, afdeling Parasitologie.

**2 november 2006 – S. Ali**

Proefschrift: Typhoid fever. Aspects of environmental host and pathogen interaction.

Promotor: prof. dr. J.T. van Dissel. Co-promotores: prof. dr. C. Surjadi, dr. E. v.d. Vosse, prof. dr. S. Widjaja. Leids Universitair Medisch Centrum, afdeling Infectieziekten.

**9 november 2006 – R. Bwire**

Proefschrift: Interactions of HIV with leprosy and tuberculosis.

Promotor: prof.dr. M.W. Borgdorff. Co-promotor: prof.dr. W.R. Faber. Universiteit van Amsterdam, AMC, afdeling Epidemiologie.

**22 november 2006 – S. Wahyuni**

Proefschrift: Helminth infections, allergic disorders and immune responses: studies in Indonesia.

Promotores: prof. dr. A.M. Deelder, prof. dr. M. Yazdanbakhsh. Co-promotor: dr. J.J. Houwing-Duistermaat. Leids Universitair Medisch Centrum, afdeling Parasitologie.

**24 november 2006 – S. Knapp**

Inflammatory response to severe bacterial infections.

Promotor: prof. dr. T. v.d. Poll. Universiteit van Amsterdam, AMC, afdeling Inwendige Geneeskunde.

**3 december 2006 – T. Keller**

Proefschrift: Acute respiratory tract infections and (athero-) thrombotic disease.

Promotores: prof. dr. H.R. Büller, prof. dr. M.M. Levi. Co-promotores: dr. D.P.M. Brandjes, dr. V.E.A. Gerdes. Universiteit van Amsterdam, AMC, afdeling Inwendige Geneeskunde.

**6 december 2006 – R.P. Rietveld**

Proefschrift: Acute infectious conjunctivitis in a new perspective, diagnosis and treatment in general practice.

Promotor: prof. dr. P.J.E.M. Bindels. Co-promotor: dr. H.C.P.M. van Weert. Universiteit van Amsterdam, AMC, afdeling Huisartsgeneeskunde.

**7 december 2006 – S. van Veen**

Proefschrift: Clinical and experimental interventions in intra-abdominal infections.

Promotor: prof. dr. T.M. van Gulik. Co-promotores: dr. M.A. Boermeester, dr. A.K. van Vliet. Universiteit van Amsterdam, AMC, afdeling Heelkunde.

**12 december 2006 – J. Spaargaren**

Proefschrift: A multidisciplinary approach to the study of *Chlamydia trachomatis* infections. Female urogenital and male anorectal infections.

Promotores: prof. dr. R.A. Coutinho, prof. dr. A.S. Peña. Co-promotor: dr. S.A. Morré. Universiteit van Amsterdam, AMC.

**31 januari 2007 – J. Ciapaite**

Proefschrift: Obesity and type 2 Diabetes.

A Systems Biology Perspective of a Molecular Mechanism.

Promotores: prof. dr. R.J. Heine, H.V. Westerhoff

Copromotores: S.J.I. Bakker en K. Krab

Vrije Universiteit Amsterdam, Faculteit der Aard- en Levenswetenschappen, afdeling Moleculaire Celfysiologie.

**10 november 2006 – M. Kwijtaal**

Proefschrift: Inflammation, exhaustion and coronary artery disease. Modifiable psychobiological pathways.

Promotores: prof. dr. A.P.W.M. Appels en prof. dr. C.A. Bruggeman.

Co-promotores: dr. R. van Diest en dr. A.J. van der Ven  
Universiteit Maastricht.

---

ORATIE

**20 juni 2006 – Prof. dr. P. Reiss**

Sleutel tot succes.

Hoogleraar Inwendige Geneeskunde, i.h.b. de complicaties van de behandeling van HIV-infecties.

Universiteit van Amsterdam.

# 2007

## 20 MAART 2007

### **17<sup>e</sup> Transmissiedag Infectieziekten: Infecties en zwangerschap**

Regardz Meeting Center De Eenhoorn, Amersfoort.

Inf: Centrum voor Infectieziekten Epidemiologie;

tel.: 030-274 30 09, e-mail: marion.bouwer@rivm.nl

## 26 – 29 MAART 2007

### **Course on Travel and Tropical Medicine**

Havana, Cuba.

Workshop mede georganiseerd door IPK Tropical Institute.

Informatie: J.Meis (j.meis@cwz.nl); e-mail: mstropics@planet.nl

<http://www.travelclinic.eu>

## 30 MAART 2007

### **Ziekten van adenoïd en tonsillen in de tweedelij**

Jaarbeurs, Beatrixgebouw te Utrecht.

Informatie: <http://www.cbo.nl/algemeen/agenda/event2007>

0110152607/view

## 31 MAART – 3 APRIL 2007

### **25<sup>th</sup> International Congress of Chemotherapy en de 17<sup>th</sup> European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**

Munchen, Duitsland.

Informatie: 25<sup>th</sup> ICC 2007, c/o AKM Congress Service,

P.O. Box, CH-4005 Basel, Zwitserland,

e-mail: info@escmid.org, info@akm.ch.

<http://www.eccmid-icc.org>

[http://www.ischemo.org/o8\\_Meetings.htm](http://www.ischemo.org/o8_Meetings.htm)

## 2 – 4 MEI 2007

### **25<sup>th</sup> Annual Meeting European Society for Paediatric Infectious Diseases, ESPID**

Porto, Portugal.

Informatie: tel.: +41 22 908 0488, e-mail: Espid@kenes.com.

[www.kenes.com/espido](http://www.kenes.com/espido)

## 9-12 MEI 2007

### **5<sup>th</sup> International Symposium on The Diabetic Foot**

Noordwijkerhout.

Informatie: MCCM Meeting Management, Postbus 77,

3480 DB Harmelen. E-mail: info@diabeticfoot.nl

## 24 MEI 2007

### **Zorg om zoönosen, 2<sup>e</sup> Nederlandse Zoönosedag**

Utrecht, Faculteit Diergeneeskunde

Informatie: [www.nspoh.nl](http://www.nspoh.nl), tel.: 020 566 49 49,

e-mail: info@nspoh.nl

## 24 MEI, 31 MEI en 7 JUNI 2007

### **Tuberculosis control**

NSPOH, Amsterdam.

Informatie: [www.nspoh.nl](http://www.nspoh.nl), tel.: 020 566 9494,

e-mail: info@nspoh.nl

## 4 JUNI 2007

### **31<sup>e</sup> Bijeenkomst van de Werkgroep Oost, medische microbiologie**

Huize Heyendaal, Nijmegen. Aanvang 14.30 uur.

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

## 5 JUNI 2007

### **Nederlandse Werkgroep Klinische Virologie**

Medisch Centrum Rijnmond, Rotterdam-Zuid (Pontesilli, Buitenwerf).

Informatie: Secretariaat Nederlandse Werkgroep Klinische Virologie p/a S.M. Bruisten. tel.: 020-555 53 76.

## 14-17 JUNI 2007

### **9<sup>th</sup> International Symposium on Modern Concepts in Endocarditis and Cardiovascular Infections**

Heidelberg, Duitsland.

Informatie: ASM, 1752 N Street, NW Washington, DC 20036-2804, USA. E-mail: christoph.naber@uni-essen.de;

<http://www.cardiocore.de>

## 2 – 5 SEPTEMBER 2007

### **14<sup>th</sup> International Workshop on Campylobacter, Helicobacter and Related Organisms**

Rotterdam, Beurs World Trade Center.

Informatie: Congress Care, Postbus 440, 5201 AK

Den Bosch, tel.: 073-690 14 15, <http://www.chro2007.nl>

## 2 – 5 SEPTEMBER 2007

### **3<sup>rd</sup> European Congress of Virology**

Neurenberg, Duistland.

Informatie: J. Schirm, Streeklaboratorium Volksgezondheid, Postbus 30039, 9700 RM Groningen. tel.: 050-521 51 60.

<http://www.escv.org/>

**10 SEPTEMBER 2007**

**4<sup>e</sup> Gezamenlijke Bijeenkomst van de Werkgroepen Oost-West**

St. Antonius Ziekenhuis, Nieuwegein. Aanvang 14.00 uur.  
Informatie: J.A. Kaan, 030-256 67 48; L.C. Smeets,  
015-260 45 84.

**17-20 SEPTEMBER 2007**

**47<sup>th</sup> Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC) Chicago, USA.**

Informatie: ASM, 1752 N Street, NW Washington, DC 20036-2804, USA. E-mail: ICAAC@asmusa.org.  
ICAAC@itsmeetings.com; <http://www.icaac.org>

**9 OKTOBER 2007**

**Nederlandse Werkgroep Klinische Virologie**

Universitair Medisch Centrum Utrecht (van 't Veen).  
Informatie: Secretariaat Nederlandse Werkgroep Klinische Virologie p/a S.M. Bruisten. tel.: 020-555 53 76.

**18 – 19 OKTOBER 2007**

**5<sup>th</sup> European Meeting on Molecular Diagnostics**

Kurhaus, Scheveningen.  
Informatie: tel.: 035-542 93 33,  
e-mail: [info@molecularmeeting.com](mailto:info@molecularmeeting.com),  
[www.molecularmeeting.com](http://www.molecularmeeting.com)

**28 – 31 OKTOBER 2007**

**3<sup>rd</sup> Trends in Medical Mycology**

Turijn, Italië.  
Informatie: Congress Care, Secretariaat TIMM 2007,  
Postbus 440. 5201 AK Den Bosch, [info@congresscare.com](mailto:info@congresscare.com).  
<http://www.timm2007.org>

**8 – 9 NOVEMBER 2007**

**NVIC Infectiecongres**

Reehorst, Ede. Congres en Organisatiebureau InterActie,  
Ede. [info@interactie.org](mailto:info@interactie.org), <http://www.interactie.org>

**15 – 18 NOVEMBER 2007**

**5<sup>th</sup> World Congress of the World Society for Pediatric Infectious Diseases – WSPID**

Bangkok, Thailand.  
Informatie: tel.: +41 22 908 0488, e-mail: [Wspid@kenes.com](mailto:Wspid@kenes.com),  
[m.hoogkamp@xs4all.nl](mailto:m.hoogkamp@xs4all.nl). [www.kenes.com/wspid](http://www.kenes.com/wspid),  
[www.wspid.com](http://www.wspid.com)

**3 DECEMBER 2007**

**318<sup>e</sup> Bijeenkomst van de Werkgroep Oost, medische microbiologie**

Huize Heyendaal, Nijmegen. Aanvang 14.30 uur.  
Informatie: J.A. Kaan, 030-256 67 48.

**INDEX VEERTIENDE JAARGANG**

<b>Auteur</b>	<b>Pagina</b>	<b>Auteur</b>	<b>Pagina</b>	<b>Trefwoord NTMM</b>	<b>Pagina</b>
Arents NLA	60	Verhoef J	107	noma	82
Barton R	93	Verkooijen RP	11	NVAMM	60
Beek MWH van	126	Vermeulen JN	130	ondernemen	24
Bergen MAP van	29	Vlaminckx BJM	60	opleiding	24
Blok H	16	Vreede RW	91	opportunistische infectie	82
Blok HEM	78	Vries JJC de	60	outsourcing	24
Degener JE	138	Wertheim HFL	5,54,91	parasieten	78
Diepen A van	49	Wertheim J	24	patentaanvraag	43
Dissel JT van	49	Wezenbeek B van	43	pathogeen-gastheer-interactie	49
Dorsthorst DTA	65	Woodall JP	86	PCR	71
Ende A van der	114			personeelsbeleid	24
Graaf-Miltenburg LAM de	78			Polymerase chain reaction	93
Greeff S de	108	<b>Trefwoord NTMM</b>	<b>Pagina</b>	postherpetische neuralgie	130
Hahné S	108	adoptiekinderen	78	preventie	121,126
Harmsel WA ter	121	angst	72	PRSP	16
Hartwig N	134	arbovirus	86	Rijksvaccinatieprogramma	108
Helmerhorst ThJM	121	ARGNS	16	rotavirus	134
Hermans MHA	43	arts-assistenten	60	<i>Salmonella typhimurium</i>	49
Hopmans T	16	aspergillose	46	screening resistente	
Janssen R	49	Aspergillus fumigatus	93	micro-organismen	16
Klont R	60	bacteriële meningitis	114	stomatitis gangraenosa	82
Kocken M	121	cancrem oris	82	surveillance	108
Kraan EM	60	Candida	93	top down-management	24
Kroes ACM	130	cervixcarcinoom	121	vaccinatie	114,121, 126,130
Lange JMA	130	emerging infectious diseases	86	Varicella zoster	126
Louwers JA	121	filovirus	86	varicellazostervirus	130
Maas N van der	108	financieel beheer	24	voriconazol	46
Marck KW	82	fungus	93	VRE	16
Meijer CJLM	121	future	86	ziekteverwensing	20
Meis J	39	galactomannan	93	zorgpadmanagementsysteem	11
Melker H de	108	gele worm	91		
Pauw B de	46	Herpes zoster	130		
Quint WGV	121	humaanpapillomavirus	121		
Rijn M van	5	hygiëne	72		
Ruijs GJHM	8,42, 82,138	infectieziekten	72		
		infectiologie	60		
Rümke HC	126	influenza	86		
Sanders E	20	intensive care	60		
Schnabel P	72	isolatiebeleid	16		
Schneeberger PM	43	klinisch onderzoek	46		
Schulpen TWJ	78	laboratoriummanagement-			
Severin J	9	informatiesysteem	11		
Snijders PJF	121	LIMS	11		
Spanjaard L	114	managen	24		
Stolte G	29	MRSA	78		
Templeton KE	28	multiresistente			
Troelstra A	16,78	micro-organismen	78		
Vandenbroucke-Grauls	71	Nederlandse taal	20		
Verheijen RHM	121	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> -test	43		

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

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

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

Door het inzenden van kopij verklaart de auteur:

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

Het manuscript is als volgt ingedeeld:

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

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

### Oorspronkelijk onderzoeks- en overzichtsartikel

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

### Casuïstiek

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

### Van de voorzitter

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

### Ingezonden

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

### Samenvatting proefschrift

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

### Literatuur

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

#### Voorbeeld:

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

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

### Medicamenten of farmaca

Medicamenten of farmaca worden alleen met generische naam vermeld.

### Nomenclatuur

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

### Tabellen en figuren

Geïllustreerde manuscripten vergroten de leesbaarheid. Tabellen en/of figuren dienen op een apart vel te worden aangeleverd, of digitaal in de vorm van een .jpg-, .jpeg-, .tif- of .bmp-bestand van een hoge resolutie. Figuren dienen vakkundig te zijn vervaardigd. De afbeeldingen moeten zo veel mogelijk contrasterend zijn. Lever bij de figuren en foto's gaarne de onderschriften aan het eind van het document.

Foto's dienen als glanzende zwart/wit-foto's 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, het liefst digitaal per e-mail.

### Redactiesecretariaat

Nederlands Tijdschrift voor Medische Microbiologie  
Postbus 2122, 2400 CC Alphen aan den Rijn, tel. 0172-476 191,  
fax. 0172-471 882, e-mail: [ntmm@zuidencomm.nl](mailto:ntmm@zuidencomm.nl)

Advertentie

Advertentie