

NEDERLANDS TIJDSCHRIFT VOOR
MEDISCHE MICROBIOLOGIE



Kinetiek B19-virus-DNA bij een hiv-patiënt

Pneumocystis jiroveci: van microscopie tot PCR

Moleculaire mechanismen van antibioticumresistentie bij *H. pylori*

Onze SWAB

Richtlijn IVD (*in-vitro*-diagnostiek)

Verslag NVAMM-symposium

15^e Jaargang • Juni 2007 • Nummer 2

Advertentie

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. W. Ang, dr. M. van Rijn en
dr. H.F.L. Wertheim

Redactie
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: ntmm@zuidencomm.nl

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

Oplage 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



© 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

Van de redactie	58
Artikelen	
Kinetiek van B19-virus-DNA gemeten met <i>real-time</i> PCR tijdens een periode van ernstige anemie bij een hiv-patiënt <i>J.G. den Hollander, A. Vossen, J.L. Nouwen</i>	59
Laboratoriumdiagnostiek van <i>Pneumocystis jiroveci</i> : van microscopie tot PCR <i>C.F.M. Linssen, C. Vink, E.I. Cornelissen, J.A. Jacobs</i>	62
Klinische implicatie en moleculaire mechanismen van antibioticumresistentie bij <i>Helicobacter pylori</i> <i>M.M. Gerrits, A.H.M. van Vliet, E.J. Kuipers, J.G. Kusters</i>	66
Onze SWAB <i>J.E. Degener, H.A. Verbrugh</i>	73
De Richtlijn IVD (<i>in-vitro</i> -diagnostiek): vragen en antwoorden <i>M.H.M. Thelen, A.G.M. Buiting</i>	77
Casuïstiek	
Pneumonie na bezoek aan een geitenboerderij <i>A. Weevers, R. Quax, M. van Rijn, A.A.A. Verheij, A. Dees</i>	80
Verslag	
Verslag van het NVMM-symposium in februari 2007 <i>Nederlandse Vereniging voor Arts-assistenten Medische Microbiologie</i>	82
Persbericht	
Merial Award voor Parasitologie voor baanbrekend onderzoek naar slaapziekte	87
Rubrieken	
Personalia	89
Promoties	89
Oraties	91
Agenda	91

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

Nocardia farcinica / ATCC 3318 - bloedagar - na 11 dgn

Voor u ligt het tweede nummer van het Nederlands Tijdschrift voor Medische Microbiologie 2007, met een divers aanbod van artikelen.

Deze uitgave besteedt vooral aandacht aan enkele 'niet alledaagse' toepassingen van de moleculaire diagnostiek binnen de medische microbiologie. Dit nummer bevat onder meer een leerzame illustratie hoe de B19-viruskinetiek bij een hiv-patiënt kan verlopen. Onze Maastrichtse collega's hebben een overzicht geschreven van de laboratoriumdiagnostiek van *Pneumocystis jiroveci*-pneumonie. Ook hier komt de kwantitatieve PCR (*polymerase chain reaction*) aan bod, met enkele adviezen over de wijze waarop dragerschap van *P. jiroveci* kan worden onderscheiden van klinisch relevante infectie. Collega's uit Rotterdam informeren ons over de rol van moleculaire detectie van antibioticumresistentie van *Helicobacter pylori* en de klinische implicaties daarvan.

Omdat de Stichting Werkgroep Antibioticum Beleid (SWAB) inmiddels tien jaar bestaat, zetten prof. dr. J.E. Degener en prof. dr. H.A. Verbrugh voor u de activiteiten van deze stichting op een rij. Onder meer de lancering van het online Nationale antibioticaboekje door de SWAB is zeer waardevol.

Sinds eind 2005 is de Richtlijn IVD (*in-vitro*-diagnostiek) van kracht. Collega's Thelen en Buiting beantwoorden de vragen die er zijn over consequenties van deze richtlijn voor de laboratoriumdiagnostiek.

Op donderdag 8 februari 2007 werd het 14^e symposium gehouden van de Nederlandse Vereniging voor Arts-assistenten Medische Microbiologie (NVAMM): *Changing world, changing pathogens*. Elk jaar weten de arts-assistenten weer een kwalitatief hoogwaardig programma in elkaar te zetten. In deze uitgave leest u hun verslag van deze bijeenkomst. Op naar het 15^e symposium!

En niet in de laatste plaats gaan uiteraard onze felicitaties uit naar collega's Kluytmans (arts-microbioloog) en Brinkman (internist-infectioloog) die beiden in maart 2007 hun oratie hebben gehouden. In Nederland krijgen infectieziekten steeds meer aandacht, en dat is voor ons vakgebied een aangename ontwikkeling.

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.

Kinetiek van B19-virus-DNA gemeten met *real-time* PCR tijdens een periode van ernstige anemie bij een hiv-patiënt

J.G. den Hollander, A. Vossen, J.L. Nouwen

Samenvatting

Bij patiënten met hiv/aids kunnen infectieziekten dikwijls anders verlopen. De reguliere diagnostiek laat ons dan in steek. We beschrijven een hiv-positieve patiënt (met een laag CD4-getal) met een ernstig verlopende B19-virusinfectie. De ingezette behandeling, de differentiaal diagnose en de meest geschikte diagnostiek worden besproken. B19-virus is zeker bij mensen met verlaagde afweer alleen goed aantoonbaar via PCR. Via een kwantitatieve PCR kan de kinetiek van infectie goed worden gevolgd.

Trefwoorden: *real-time* PCR, parvovirus B19

Inleiding

Bij hiv-geïnfecteerde patiënten kunnen bepaalde infectieziekten anders verlopen. Door de verlaagde afweer bij lage CD4-getallen kunnen infectieziekten een ander klinisch beeld geven (denk aan tuberculose) of veel fulminanter om zich heen grijpen. De huidige casus beschrijft een hiv-geïnfecteerde patiënt tijdens een B19-virusinfectie.

Casus

Een 47-jarige hiv-positieve man uit Burkina Faso was sinds een jaar op onze polikliniek bekend. Hij presenteerde zich indertijd met een actieve hepatitis-B-infectie (HBV), waarvoor hij elders een behandeling met interferon en lamivudine had ondergaan. In verband met een *rebound*-viremie van HBV werd hij verwezen naar ons ziekenhuis. Bij zijn eerste bezoek werd een hiv-test verricht, die positief bleek te zijn. Hij had geen specifieke klachten of symptomen, zijn lichamelijk onderzoek vertoonde geen afwijkingen en het laboratoriumonderzoek toonde een absoluut CD4-getal van $40 \times 10^6/l$, een plasma-hiv-RNA $> 10^5$ kopieën/ml, een positief HBsAg, met HBV-DNA 4×10^7 kopieën/ml, en de hepatitis-C- en -D-serologie was negatief. Een behandeling met lamivudine/abacavir/zidovudine/tenofovir werd gestart. De initiële respons liet een mooie daling in hiv-RNA zien naar < 50 kopieën/ml, een daling van HBV-DNA naar 6×10^3 kopieën/ml, normalisering van serumtransaminases en een stijging in absoluut CD4-

getal naar $130 \times 10^6/l$. Na zeven maanden behandeling bezocht hij de polikliniek met een extreem progressieve vermoeidheid. Bloedonderzoek liet een anemie (Hb 4,5 mmol/l) zien. IJzer- en vitaminetekort werd uitgesloten. Vanwege zijn azidothymidinegebruik (AZT) en de daarbij bekende anemie werd AZT gestaakt en zijn HAART-schema (*Highly Active Anti-Retroviral Therapy*) gewijzigd in lamivudine/tenofovir/lopinavir/ritonavir. Ondanks dit beleid verslechterde zijn anemie met een Hb-daling naar 2,4 mmol/l met een afwezigheid van reticulocyten. Hierop kreeg hij transfusie. Aanvullend bloedonderzoek liet een positieve PCR voor parvovirus B19 zien ($1,60 \times 10^{10}$ kopieën/ml, *figuur 1*), met een overigens negatieve serologie (IgG en IgM). De B19-virusgeïnduceerde anemie werd behandeld met immuunglobuline *i.v.* (1 g/kg). Kort voor de eerste infusie met immuunglobuline, die zes weken na de eerste bloedtransfusie werd gegeven, was de eerste immuunrespons aantoonbaar: IgM (2,48 ratio, cutoff 1,1); ook een borderline was detecteerbaar: IgG (0,95 ratio, grijze gebied: 0,9-1,1) (*figuur 1*). Na slechts één gift immuunglobuline herstelde hij volledig. De immuunglobuline-infusie kan gedeeltelijk zijn herstel hebben versneld, maar zijn eigen wat laat op gang gekomen immuunrespons is waarschijnlijk de belangrijkste reden voor zijn verbetering geweest. De *viral load* van parvovirus B19 werd vastgesteld met *real-time* PCR.¹

Dr. J.G. den Hollander, afdeling Interne geneeskunde, polikliniek Infectieziekten, Medisch Centrum Rijnmond Zuid en Erasmus MC, Rotterdam, A. Vossen, afdeling Virologie, Erasmus MC, Rotterdam, J.L. Nouwen, afdeling Medische Microbiologie & Infectieziekten en afdeling Inwendige Geneeskunde – sectie Infectieziekten, Erasmus MC, Rotterdam.
Correspondentieadres: Dr. J.G. den Hollander, internist-infectioloog, afdeling Interne geneeskunde, polikliniek Infectieziekten, Medisch Centrum Rijnmond Zuid, Olympiaweg 350, 3078 HT Rotterdam, e-mail: HollanderJ@MCRZ.nl.

Deze daalde dramatisch van $6,5 \times 10^{10}$ kopieën/ml naar 7×10^3 kopieën/ml na slechts één gift met immuunglobuline, resulterend in een stijging van zijn Hb (figuur 1) en het CD4-getal. Zijn HAART-schema werd gewijzigd in het originele regime. Vanwege zijn frequente bezoeken aan Afrika was een regime nodig dat tegen hoge temperaturen bestand is. Retrospectief herinnerde hij zich een griepachtige periode enkele weken voor zijn eerste bezoek aan de polikliniek, hetgeen waarschijnlijk de primaire infectie met parvovirus B19 is geweest.

Anemie kan velerlei oorzaken hebben. Ruwweg kunnen de oorzaken worden verdeeld in problemen met de aanmaak van rode bloedcellen, toegenomen bloedverlies of hemolyse. Bij hiv-positieve patiënten heeft anemie nog een aantal andere oorzaken. Recent is een *evidence-based* strategie gepubliceerd voor het management van anemie bij hiv-patiënten.² Als een patiënt wordt behandeld met antiretrovirale therapie en goed reageert op deze medicatie, wordt anemie vaker veroorzaakt door medicatie (zoals zidovudine, AZT).

Bij de meeste mensen is B19-virusinfectie een *self-limiting* ziekte, vaak zonder symptomen. Soms presenteert deze zich echter met een *rash*, artropathie, myalgie of griepachtige klachten. Een acute B19-virusinfectie veroorzaakt een abrupte remming van de aanmaak van rode bloedcellen.³ Bij experimenten met gezonde vrijwilligers die werden geïnfecteerd met parvovirus B19 daalde het aantal reticulocyten naar nul, maar de Hb-waarden bleven stabiel vanwege de lange halfwaardetijd van erythrocyten.⁴

Bij aidspatiënten kan een B19-virusinfectie langer duren door de verminderde immuniteit, hetgeen wel een ernstige anemie tot gevolg kan hebben. Ook andere casussen laten een goede respons zien op immuunglobuline-infusie tijdens B19-virusanemie.^{5,7} Bij onze patiënt werd immuunglobuline zes weken na de eerste ernstige anemieperiode gegeven, toen de patiënt – naar wat later bleek – al een eigen beginnende immuunrespons liet zien. Het blijft dus speculatief wat de rol van de immuunglobuline is geweest in de daling van de *viral load*.

De gegevens van de *real-time* PCR van parvovirus B19 geven meer inzicht in de kinetiek van dit virus bij hiv-geïnfecteerde patiënten met een laag CD4-getal. Persisterende hoge *viral loads* kunnen erop wijzen dat immuunglobuline-infusie nodig is. Hier bestaat echter nog geen consensus over. Het dient daarom nader te worden onderzocht in hoeverre het bepalen van de *viral load* van een B19-virus sturend kan zijn voor het geven en stopzetten van immuunglobuline-infusie.

Conclusie

Deze casus laat de ernst zien van een B19-virusinfectie bij hiv-patiënten met een laag CD4-getal en een hoge *viral load* van parvovirus B19, zonder detecteerbare antistoffen tegen parvovirus B19. Het onopgemerkt blijven van parvovirus B19 bij deze patiënten kan resulteren in een letale afloop. Een PCR van parvovirus B19 is niet alleen de beste manier om een recente infectie aan te tonen, de DNA-load van parvovirus B19 zoals gemeten met de Taqman-technologie, kan ook helpen om therapeutische beslissingen te nemen.

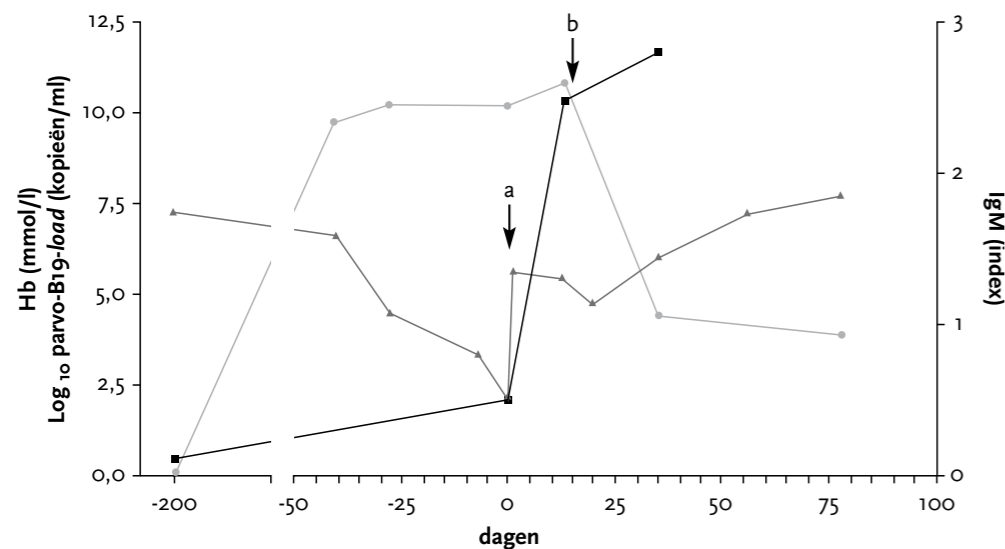
Summary

In patients with HIV/AIDS infectious diseases may have different clinical presentations. The normally used laboratory diagnostics cannot always be used. We describe an HIV patient (with low CD4 count) who developed a serious Parvovirus B19 infection. The treatment, differential diagnosis, and the most sensitive diagnostic test are described. In patients with an impaired immunity Parvovirus B19 PCR technique is the only way to detect it. By using quantitative PCR the viral kinetics can easily be followed.

Literatuur

1. Aberham C, Pendl C, Gross P, Zerlauth G, Gessner M. A quantitative, internally controlled real-time PCR assay for the detection of parvo B19 DNA. *J Virol Methods* 2001;92:183-91.
2. Volberding PA, Levine AM, Dieterich D, Mildvan D, Mitsuyasu R, Saag M. Anemia in HIV infection: Clinical impact and evidence-based management strategies. *Clin Infect Dis* 2004;38:1454-63.
3. Young NS, Brown KE. Parvovirus B19. *N Engl J Med* 2004;350:586-97.
4. Anderson MJ, Higgins PG, Davis LR, Willman JS, Jones SE, Kidd IM, et al. Experimental parvoviral infection in humans. *J Infect Dis* 1985;152:257-65.
5. Koduri PR, Kumapley R, Khokha ND, Patel AR. Red cell aplasia caused by parvo B19 in AIDS: use of i.v. immunoglobulin. *Ann Hematol* 1997;75:67-68.
6. Koduri PR, Kumapley R, Valladares J, Teter C. Chronic pure red cell aplasia caused by parvovirus B19 in AIDS: use of intravenous immunoglobulin – a report of eight patients. *Am J Hematol* 1999;61:16-20.
7. Arribas JR, Pena JM, Echevarria JE. Parvo B19-related anemia in an HIV-infected patient: rapid control after production of neutralizing antibodies during Highly Active Antiretroviral Therapy. *Ann Intern Med* 2000;132:1011.

Figuur 1. Curve van hemoglobineconcentratie (donkergrijze lijn), IgM-concentratie tegen parvovirus B19 (zwarte lijn) en B19-virus-DNA (*viral load*) (lichtgrijze lijn). Het tijdstip van de eerste bloedtransfusie (a) en van de immuunglobulinegift *i.v.* (b) is aangegeven.



Bijsluiter

Laboratoriumdiagnostiek van *Pneumocystis jiroveci*: van microscopie tot PCR

C.F.M. Linssen, C. Vink, E.I. Cornelissen, J.A. Jacobs

Samenvatting

Dit artikel beschrijft de diagnostiek van *Pneumocystis jiroveci*. Zowel conventionele, microscopische methoden als de *real-time polymerase chain reaction* (PCR) kunnen worden gebruikt in de diagnostiek van pneumocystis-pneumonie (PCP). Aangezien het grootste risico van PCP de laatste jaren is verschoven van de hiv-positieve patiënten (met een hoge concentratie *P. jiroveci* in hun respiratoire monsters) naar de hiv-negatieve patiënten (met een lage concentratie *P. jiroveci*) zal de toepassing van de PCR een steeds grotere rol gaan spelen.

Trefwoorden: *Pneumocystis jiroveci*, diagnostiek, bronchoalveolaire lavage, PCR

Inleiding

Pneumocystis carinii is een opportunistisch pathogeen dat sinds 1988 wordt geclassificeerd als een fungus.¹ Hoewel de menselijke variant van *Pneumocystis carinii* (*P. carinii f.sp. hominis*) recent een naamswijziging heeft ondergaan en sindsdien wordt aangeduid als *Pneumocystis jiroveci*, blijft de afkorting PCP (pneumocystis-pneumonie) bestaan.² Patiënten die het risico lopen van *P. jiroveci*-pneumonie behoren grofweg tot twee categorieën: hiv-positieve of -negatieve patiënten. Een aantal risicofactoren is inmiddels beschreven voor de hiv-negatieve groep, waaronder immuunsuppressieve medicijnen en erfelijke of aangeboren immuundeficiënties.³ Aangezien onbehandelde PCP wordt geassocieerd met een hoge morbiditeit en mortaliteit,^{4,5} vooral bij hiv-negatieve patiënten, is een snelle en betrouwbare diagnose essentieel.

Microscopie

De diagnose PCP wordt momenteel vaak gesteld door middel van kleuringen/immunofluorescentie van geïnduceerd sputum of BAL-vloeistof (bronchoalveolaire lavage).^{6,7} Met behulp van deze methoden kan een sensitiviteit en specificiteit worden bereikt tot boven de 95 procent.^{8,9} Grote nadelen van microscopie zijn de arbeidsintensiviteit en de noodzaak van ervaren microscopisten. Vooral het laatste maakt het essentieel dat er regelmatig positieve monsters worden gezien om de microscopische

expertise te kunnen behouden. De laatste jaren is de incidentie van PCP significant gedaald, met name bij hiv-positieve patiënten. Door de introductie van *highly active anti-retroviral therapy* (HAART), PCP-chemoprophylaxe en een toename van patiënten die chemotherapie krijgen, zullen in de toekomst voornamelijk monsters met een relatief lage hoeveelheid *P. jiroveci* worden aangeboden, hetgeen de diagnose PCP nog moeilijker maakt.^{10,11}

Geïnduceerd sputum versus BAL-vloeistof

Zowel geïnduceerd sputum als BAL-vloeistof kunnen worden gebruikt om de diagnose PCP te stellen. De sensitiviteit van geïnduceerd sputum voor de microscopische diagnose PCP varieert tussen 50 en 90 procent, afhankelijk van de ervaring met afname en verwerking van het materiaal door het betreffende instituut.^{8,12} De sensitiviteit van BAL-vloeistof ligt boven 90 procent. Bijkomende voordelen van BAL zijn onder andere de verlaagde kans op verspreiding van micro-organismen tijdens de afname in vergelijking met geïnduceerd sputum, waarbij een (infectieuze) patiënt wordt geprikkeld om te hoesten. Een tweede voordeel is dat door middel van BAL andere, infectieuze en niet-infectieuze oorzaken voor pulmonale klachten kunnen worden achterhaald.¹³

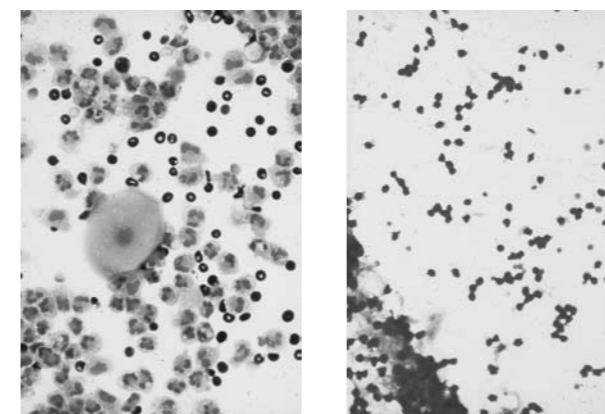
Cytospinpreparaten

In vergelijking met gecentrifugeerde preparaten kan men door cytotrifugatie een 100 keer lagere detectiegrens bereiken.¹⁴ Een goed protocol voor het gebruik van cytotrifugatie, met behulp van de *Thermo-Shandon Cytospin 3* (*Thermo Electron's Anatomical Pathology Group, Astmoor, England*) wordt beschreven door De Brauwier et al.¹⁵

Drs. C.F.M. Linssen, mw. E.I. Cornelissen, afdeling Medische Microbiologie, academisch ziekenhuis Maastricht, Maastricht, dr. C. Vink, afdeling Kindergeneeskunde, Erasmus MC, Rotterdam, dr. J.A. Jacobs, afdeling Klinische Wetenschappen, Prins Leopold Instituut voor Tropische Geneeskunde, Antwerpen.
Correspondentieadres: Drs. C.F.M. Linssen, afdeling Medische Microbiologie, academisch ziekenhuis Maastricht, Postbus 5800, 6202 AZ Maastricht, e-mail: klin@lmib.azm.nl.

Bijkomende voordelen van deze zogenaamde cytospinpreparaten zijn onder meer dat preparaten meteen droog zijn en direct kunnen worden gefixeerd en gekleurd, de kleuring een mooi egaal resultaat geeft, de inhoud van de cellen en de celkernen goed zichtbaar wordt (*figuur 1*) en dat een (relatief) klein en overzichtelijk preparaat moet worden beoordeeld.

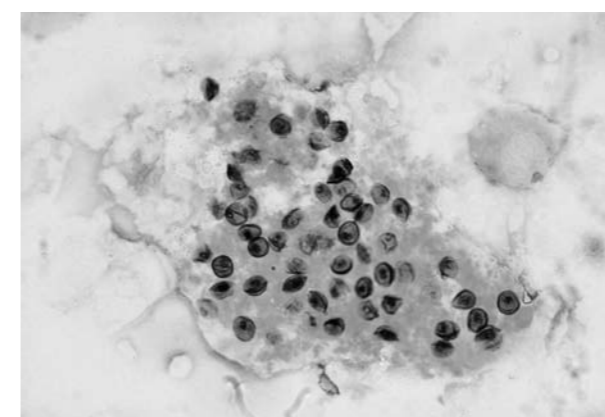
Figuur 1. Een uitstrijkje (rechterkant) en een cytospinpreparaat (linkerkant) gemaakt van hetzelfde BAL-vloeistofmonster, Gramkleuring; vergroting 1000 x.



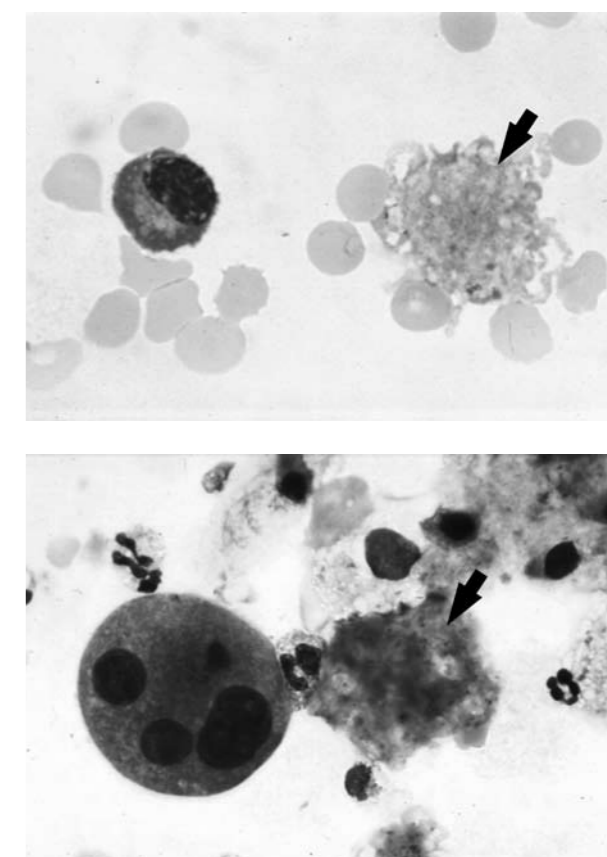
Gebruikte kleuringen

Voor de detectie van *P. jiroveci* kunnen verschillende kleuringen worden gebruikt, die zijn onder te verdelen in drie groepen: i) kleuringen die alleen de cystewand aankleuren, zoals toluidineblauw-O, Calcofluor white (Uvitex 2B) en methenaminezilver (Grocott, *figuur 2*), ii) kleuringen die de trofozoïetvormen aankleuren, zoals May-Grünwald Giemsa (*figuren 3 en 3a*) en Diff-Quik, en iii) immunofluorescente kleuring door monoklonale antilichamen; deze kleuring toont zowel cysten als trofozoïeten aan. Met name bij gebruik van geïnduceerd sputum

Figuur 2. Een groepje cysten van *P. jiroveci*, aangekleurd met Grocott. Chitine in de celwand van fungi wordt aangekleurd bij de Grocott-kleuring (methenaminezilver); vergroting 1000 x.



Figuren 3 en 3a. Preparaten van een *foamy alveolar cast* van *P. jiroveci* (pijl). Deze met May-Grünwald Giemsa gekleurde preparaten tonen de trofozoïeten aan; vergroting 1000 x.



heeft de immunofluorescente kleuring de voorkeur boven de andere kleuringen aangezien de sensitiviteit hierbij toeneemt van 28 tot 80 procent naar 62 tot 92 procent. De specificiteit ligt voor alle gebruikte kleuringen boven 95 procent. Indien BAL-vloeistof wordt gebruikt is er geen verschil tussen de immunofluorescente kleuringen in vergelijking met de andere kleuringen.^{8,16} Geadviseerd wordt om altijd twee kleuringen te gebruiken, één voor de cysten en één voor de trofozoïeten, omdat de trofozoïeten vaak moeilijker zijn te herkennen maar wel in veel grotere aantallen aanwezig zijn.

Polymerase chain reaction

Doordat de trend de laatste jaren voornamelijk richting lage hoeveelheden pneumocyten per monster gaat, wordt microscopie te arbeidsintensief en de kans op missen groter. Hierdoor is de vraag ontstaan naar een snelle diagnostische techniek die de aanwezigheid van een lage hoeveelheid pneumocyten snel en betrouwbaar kan aantonen.

Nucleïnezuuramplificatiemethoden, zoals de *polymerase chain reaction* (PCR), spelen een toenemende rol bij de detectie van *P. jiroveci*.^{17,18} Met name de *real-time* PCR is erg geschikt voor de diagnostiek van PCP, aangezien deze

techniek kwantitatieve resultaten kan genereren. Deze kwantificering is essentieel aangezien *P. jiroveci* in lage hoeveelheden aanwezig kan zijn bij asymptomatische individuen,^{19,20} waardoor het noodzakelijk is te differentiëren tussen asymptomatisch dragerschap en een klinisch relevante infectie.

De laatste jaren zijn moleculaire testen voor de detectie van *P. jiroveci* vanuit het onderzoek verschoven naar diagnostische toepassingen.^{21,22} Vanuit de literatuur zijn verschillende doelen bekend die kunnen worden gebruikt; de meest voorkomende zijn het dihydroperooxysynthase-gen (DHPS) en het *major-surface-glycoprotein*-gen (MSG). Kwaliteitscontroles voor validatie en standaardisering van deze moleculaire testen zijn momenteel niet beschikbaar. Er kunnen grote verschillen bestaan tussen PCR's uit verschillende ziekenhuizen.²³ Uit een vergelijkende studie tussen PCR-assays van drie academisch-medische centra in Nederland (Leiden, Nijmegen en Maastricht) bleek er een goede overeenkomst (94 tot 97 procent) te zijn tussen de uitslagen gegenereerd in de verschillende centra.²⁴ Bovendien kwam de gevonden kwantiteit, bepaald door middel van *real-time* PCR, goed overeen met de kwantiteit bepaald met behulp van microscopie.

Voor- en nadelen van PCR

Het gebruik van moleculaire technieken voor de diagnose PCP heeft een aantal voordelen. De PCR is een gevoeliger techniek dan microscopie, waardoor een lagere hoeveelheid pneumocyten nog kan worden aangetoond. Het tweede voordeel is dat PCR een universele techniek is. Hoewel voor het aantonen van verschillende micro-organismen een specifieke *primer-probe* set wordt gebruikt, is de gebruikte methodiek dezelfde. Hierdoor kan een monster tegelijkertijd op meerdere micro-organismen worden getest zonder dat er veel extra werk en tijd aan moet worden besteed (multiplex PCR of simultaan inzetten van meerdere PCR's). Bovendien hoeft een micro-organisme niet regelmatig te worden gezien om te kunnen worden herkend, zoals bij microscopie wel noodzakelijk is. Natuurlijk heeft het gebruik van moleculaire technieken ook nadelen. Het eerste nadeel is dat alleen micro-organismen die worden aangevraagd, worden getest. Met andere woorden, alleen *primer-probe* sets voor de specifiek aangevraagde micro-organismen worden in de PCR gebruikt. Bij gebruik van de conventionele methode worden er vaak standaard meerdere kleuringen gedaan. Voor onderzoek naar pneumocystis geldt dat er naast een kleuring voor de cystewand, vaak ook een kleuring voor de trofozoieten (bijvoorbeeld May-Grunwald Giemsa) wordt toegevoegd. Dit laatste heeft als voordeel dat, behalve het aantonen van pneumocyten, ook een differentiële celtelling voorhanden is. Deze kan vaak al een aanwijzing geven in welke richting dient te worden gezocht. Veel segmentkernige leukocyten met gefagocyteerde bacteriën duiden

bijvoorbeeld op een pneumonie. Het tweede nadeel is de gevoeligheid van de PCR, waardoor niet alleen *P. jiroveci*-infectie maar ook dragerschap kan worden aangetoond.

P. jiroveci-dragerschap versus klinisch relevante infectie

Een belangrijk onderdeel van de diagnose PCP is het onderscheid tussen duidelijk asymptomatisch dragerschap en patiënten met klinisch duidelijk PCP. In de meeste onderzoeken worden dragers gedefinieerd als patiënten bij wie *P. jiroveci*-DNA kan worden aangetoond in de afwezigheid van klinische symptomen passend bij *P. jiroveci*-infectie, en bij wie geen *P. jiroveci*-cysten in de BAL worden gezien. In eerdere onderzoeken werd dragerschap alleen aangetoond bij immuungecompromiteerde patiënten.^{25,26} Recentere onderzoeken laten echter zien dat ook mensen met een adequaat immuunsysteem drager kunnen zijn.^{27,28}

In de meeste onderzoeken wordt een overlap gevonden tussen de hoeveelheid *P. jiroveci* per monster van mogelijke dragers en van patiënten met microscopisch bewezen PCP.^{21,24} Het is echter mogelijk om een individueel behandeladvies voor een patiënt op te stellen naar aanleiding van de combinatie tussen kliniek, microscopie en de PCR-uitslag.

De in Maastricht gebruikte PCR leverde bij validatie de volgende gegevens op. Bij patiënten met klinische symptomen, suggestief voor PCP en een positieve microscopie (n=50) leverde de PCR in alle gevallen een positief resultaat op. Bovendien lagen alle Ct-waarden in deze monsters onder de Ct-34. In deze validatie bevindt zich ook een aantal (n=150) monsters van patiënten zonder klinische verdenking op PCP. Bij deze patiënten werd een BAL afgenomen in het kader van diagnostiek naar *ventilator-associated pneumonia* (n=119) of van verdenking van sarcoïdose (n=31). Bij al deze patiënten was de microscopie negatief, in enkele gevallen (n=3) was de PCR echter positief, maar met een hoge Ct-waarde (Ct > 38). Het betreft hier asymptomatische dragers die derhalve geen therapie nodig hebben. De derde groep die werd meegenomen bestond uit immuungecompromiteerde patiënten met een negatieve microscopie en al dan niet verdenking op PCP (n=254). Bij hen werden in totaal 24 positieve PCR-resultaten gevonden, met Ct-waarden variërend tussen 33 en 38. Uit een eerder onderzoek²¹ is gebleken dat er in een bepaald bereik overlap is tussen asymptomatische dragers en patiënten met klinische PCP. Dit zogenaamde grijze gebied ligt, in het geval van de in Maastricht gebruikte PCR, tussen Ct-34 en Ct-38. Met name bij de laatste groep zal de klinische verdenking de doorslag geven in de discussie over wel of niet behandelen. Hierin zullen de risico's van behandeling (aplastische anemie, nierfunctiestoornissen) niet opwegen tegen de risico's van een onderbehandelde PCP (hoge mortaliteit en morbiditeit).

Conclusie

De frequentie van PCP verschuift de laatste jaren van hiv-positieve naar hiv-negatieve patiënten. Dit resulteert in een toename van het aantal monsters met een lage hoeveelheid *P. jiroveci*. Hoewel microscopie nog steeds de gouden standaard is, blijkt in deze gevallen microscopie vaak te arbeidsintensief en te weinig sensitief. Een PCR levert bovendien aanvullende informatie op aangezien het een universele techniek is met een hoge gevoeligheid. Er dient echter rekening mee te worden gehouden dat een van de grote voordelen van de PCR, de relatief hoge gevoeligheid, ook een nadeel met zich meebrengt, doordat deze techniek ook dragerschap met relatief lage hoeveelheden *P. jiroveci* kan aantonen. Op dit moment is er nog geen absoluut afkappunt te geven voor de differentiatie tussen enerzijds ziekte veroorzaakt door *P. jiroveci* en anderzijds asymptomatisch dragerschap. Het is dan ook niet mogelijk om in alle gevallen onderscheid te maken tussen dragerschap en klinische PCP op basis van uitsluitend PCR-uitslagen. Bij de differentiatie tussen dragerschap en klinische PCP geeft, indien de PCR-uitslag binnen het grijze gebied valt, op dit moment de aanwezigheid van klinische verschijnselen passend bij PCP, de definitieve doorslag.

Summary

This article describes the different methods used in the diagnosis of *Pneumocystis jiroveci*. Both conventional, microscopic methods, as the real time polymerase chain reaction (PCR) can be used in the diagnostic work-up for *Pneumocystis pneumonia* (PCP). In recent years, the risk for the development of PCP has shifted from hiv-positive patients (with a high *P. jiroveci* burden in their respiratory samples), towards hiv negative patients (with a low *P. jiroveci* burden), leading to an increasingly important role for PCR in the diagnosis PCP.

Literatuur

1. Edman JC, Kovacs JA, Masur H, Santi DV, Elwood HJ, Sogin ML. Ribosomal RNA sequence shows *Pneumocystis carinii* to be a member of the fungi. *Nature* 1988;334:519-22.
2. Stringer JR, Cushion MT, Wakefield AE. New nomenclature for the genus *Pneumocystis*. *J Eukaryot Microbiol* 2001;Suppl:184S-9S.
3. Kovacs JA, Gill VJ, Meshnick S, Masur H. New insights into transmission, diagnosis, and drug treatment of *Pneumocystis carinii* pneumonia. *JAMA* 2001;286:2450-60.
4. Sepkowitz KA. Opportunistic infections in patients with and patients without Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Clin Infect Dis* 2002;34:1098-107. Epub 2002 Mar 21.
5. Yale SH, Limper AH. *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients without acquired immunodeficiency syndrome: associated illness and prior corticosteroid therapy. *Mayo Clin Proc* 1996;71:5-13.
6. Djamin RS, Drent M, Schreurs AJ, Groen EA, Wagenaar SS. Diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia in HIV-positive patients. Bronchoalveolar lavage vs. bronchial brushing. *Acta Cytol* 1998;42:933-8.
7. Thomas CF, Jr., Limper AH. *Pneumocystis pneumonia*. *N Engl J Med* 2004;350:2487-98.

8. Kovacs JA, Ng VL, Masur H, et al. Diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia: improved detection in sputum with use of monoclonal antibodies. *N Engl J Med* 1988;318:589-93.
9. Chandra P, Delaney MD, Tuazon CU. Role of special stains in the diagnosis of *Pneumocystis carinii* infection from bronchial washing specimens in patients with the acquired immune deficiency syndrome. *Acta Cytol* 1988;32:105-8.
10. Miller RF. *Pneumocystis carinii* infection in non-AIDS patients. *Curr Opin Infect Dis* 1999;12:371-7.
11. Limper AH, Offord KP, Smith TF, Martin WJ, 2nd. *Pneumocystis carinii* pneumonia. Differences in lung parasite number and inflammation in patients with and without AIDS. *Am Rev Respir Dis* 1989;140:1204-9.
12. Bigby TD, Margolskee D, Curtis JL, et al. The usefulness of induced sputum in the diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1986;133:515-8.
13. Jacobs JA, De Brauwier EI, Ramsay G, et al. Detection of non-infectious conditions mimicking pneumonia in the intensive care setting: usefulness of bronchoalveolar fluid cytology. *Respir Med* 1999;93:571-8.
14. Perry JL. Utility of cytocentrifugation for direct examination of clinical specimens. *Clin Microbiol Newsletter* 1995;17 (suppl. 4):29-32.
15. De Brauwier EI, Jacobs JA, Nieman F, Bruggeman CA, Wagenaar SS, Drent M. Cytocentrifugation conditions affecting the differential cell count in bronchoalveolar lavage fluid. *Anal Quant Cytol Histol* 2000;22:416-22.
16. Armbruster C, Pokieser L, Hassl A. Diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia by bronchoalveolar lavage in AIDS patients. Comparison of Diff-Quik, fungifluor stain, direct immunofluorescence test and polymerase chain reaction. *Acta Cytol* 1995;39:1089-93.
17. Wakefield AE, Pixley FJ, Banerji S, et al. Detection of *Pneumocystis carinii* with DNA amplification. *Lancet* 1990;336:451-3.
18. Larsen HH, Masur H, Kovacs JA, et al. Development and evaluation of a quantitative, touch-down, real-time PCR assay for diagnosing *Pneumocystis carinii* pneumonia. *J Clin Microbiol* 2002;40:490-4.
19. Maskell NA, Waite DJ, Lindley A, et al. Asymptomatic carriage of *Pneumocystis jiroveci* in subjects undergoing bronchoscopy: a prospective study. *Thorax* 2003;58:594-7.
20. Nevez G, Guyot K, Totet A, Raccurt C, Dei-Cas E. Pulmonary colonisation with *Pneumocystis carinii* in an immunosuppressed HIV-negative patient: detection and typing of the fungus by PCR. *J Med Microbiol* 2001;50:198-200.
21. Flori P, Belleste B, Durand F, et al. Comparison between real-time PCR, conventional PCR and different staining techniques for diagnosing *Pneumocystis jiroveci* pneumonia from bronchoalveolar lavage specimens. *J Med Microbiol* 2004;53:603-7.
22. Larsen HH, Huang L, Kovacs JA, et al. A prospective, blinded study of quantitative touch-down polymerase chain reaction using oral-wash samples for diagnosis of *Pneumocystis pneumonia* in HIV-infected patients. *J Infect Dis* 2004;189:1679-83. Epub 2004 Apr 16.
23. Noordhoek GT, Mulder S, Wallace P, van Loon AM. Multicentre quality control study for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical samples by nucleic amplification methods. *Clin Microbiol Infect* 2004;10:295-301.
24. Linssen CFM, Jacobs JA, Beckers P, et al. Inter-laboratory comparison of three different real-time PCR assays for the detection of *Pneumocystis jiroveci* in bronchoalveolar lavage fluid samples. *J Med Microbiol* 2006;55:1229-35.
25. Weig M, Klinker H, Wilhelm M, Lemmer K, Gross U. Correlation of *Pneumocystis carinii* PCR with clinical diagnosis in immunocompromised patients. *Lancet* 1996;347(9010):1266.
26. Weig M, Klinker H, Bogner BH, Meier A, Gross U. Usefulness of PCR for diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia in different patient groups. *J Clin Microbiol* 1997;35:1445-9.
27. Visconti E, Marinaci S, Zolfo M, et al. Very low frequency of *Pneumocystis carinii* DNA detection by PCR in specimens from patients with lung damage. *J Clin Microbiol* 2000;38:1307-8.
28. Miller RF, Ambrose HE, Wakefield AE. *Pneumocystis carinii* f. sp. *hominis* DNA in immunocompetent health care workers in contact with patients with *P. carinii* pneumonia. *J Clin Microbiol* 2001;39(11):3877-82.

Klinische implicatie en moleculaire mechanismen van antibioticumresistentie bij *Helicobacter pylori*

M.M. Gerrits, A.H.M. van Vliet, E.J. Kuipers, J.G. Kusters

Samenvatting

Helicobacter pylori is een belangrijk Gram-negatief pathogeen dat de maag van de mens koloniseert. In de geïndustrialiseerde landen is ongeveer 20 tot 30 procent van de mensen besmet met deze bacterie, maar wereldwijd ligt de infectiegraad hoger (50 tot 95 procent). Kolonisatie met *H. pylori* leidt meestal tot een asymptomatische oppervlakkige gastritis. Bij een klein percentage van de patiënten geeft een *H. pylori*-infectie echter aanleiding tot ontwikkeling van zweren van de maag en twaalfvingerige darm en maagkanker. Behandeling van *H. pylori*-infecties resulteert in wondgenezing en verkleint de kans op neoplastische progressie in de maag. *In vitro* is *H. pylori* gevoelig voor een groot scala aan antibiotica, maar *in vivo* blijkt echter slechts een beperkt aantal middelen effectief. De frequente indicatie van anti-*H. pylori*-therapieën en de beperkte keuze van geschikte antibiotica hebben bijgedragen aan het ontstaan van antibioticumresistentie van *H. pylori*, met therapiefalen als gevolg. Antibioticumresistentie van *H. pylori* is een wereldomvattend probleem waarvan de omvang sterk toeneemt. Deze toename in prevalentie van antibioticumresistente *H. pylori*-isolaten, samen met het gebrek aan nieuw te verwachten behandelingsopties, kunnen in de nabije toekomst leiden tot serieuze problemen bij de behandeling van *H. pylori*-geassocieerde aandoeningen. In dit artikel bespreken wij de behandeling van *H. pylori*-infecties en de klinische relevantie, het mechanisme en de diagnose van antibioticumresistentie bij *H. pylori*.

Trefwoorden: Antibioticumresistentie, *Helicobacter pylori*, klinische implicatie, prevalentie, detectie, resistentiemechanismen

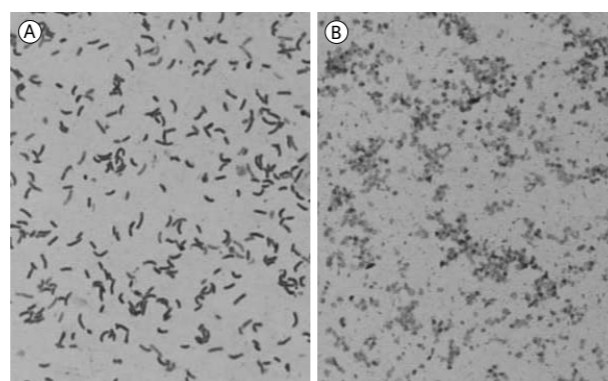
Inleiding

Al aan het einde van de negentiende eeuw verschenen er rapporten over het voorkomen van spiraalvormige bacteriën in histologische preparaten van de maag van mensen en dieren. De gedachte dat deze bacteriën het

agens waren voor maagzweren en maagkanker, werd vrijwel direct verworpen aangezien de bacteriën ook aanwezig waren bij patiënten zonder maagklachten. De opkomst van de flexibele endoscoop zorgde ervoor dat medio zeventiger jaren deze maagbacteriën opnieuw werden geassocieerd met maagafwijkingen. Niet lang daarna voerde de Australische wetenschappers Robin Warren en Barry Marshall hun Nobelprijs-winnende experimenten uit waarbij zij niet alleen *H. pylori* (figuur 1) van een patiënte met maagklachten kweekten, maar waarbij zij ook met een zelfinfectie-experiment (het opdrinken van een *H. pylori*-cultuur) aantoonde dat infectie met *H. pylori* daadwerkelijk aanleiding gaf tot maagklachten (zie <http://nobelprize.org>, Nobelprijs voor Fysiologie en Geneeskunde 2005).¹ Als gevolg hiervan

Figuur 1. Morfologische verschijning van levende en dode *H. pylori*, Gram-kleuring.

A) Een cultuur met hoofdzakelijk levende, spiraalvormige *H. pylori*.
B) Een cultuur met hoofdzakelijk dode, coccoïde *H. pylori*



Mw. dr. M.M. Gerrits, dr. A.H.M. van Vliet, prof. dr. E.J. Kuipers en dr. J.G. Kusters, afdeling Maag-, Darm- en Leverziekten, Erasmus MC, Rotterdam.
Correspondentieadres: Mw. dr. M.M. Gerrits, afdeling Maag-, Darm- en Leverziekten, Erasmus MC, 's-Gravendijkwal 230, kamer L-459, 3015 CE Rotterdam, e-mail: m.m.gerrits@erasmusmc.nl.

veranderde een aantal tot dan toe onbehandelbare maagdarmafwijkingen in met antibiotica behandelbare bacteriële infectieziekten. Ondanks dat de incidentie van een infectie met *H. pylori* in geïndustrialiseerde landen de afgelopen jaren sterk is gedaald, wordt *H. pylori* wereldwijd nog steeds gezien als de belangrijkste oorzaak van zweren van maag en twaalfvingerige darm en maagkanker.²

Epidemiologie

H. pylori-infecties komen wereldwijd voor. Er zijn echter wel significante verschillen in de prevalentie van deze bacteriële infectie. In Nederland ligt de infectiegraad met *H. pylori* rond de 30 procent, terwijl in ontwikkelingslanden meestal meer dan 70 procent van de bevolking is geïnfecteerd.³ In het autochtone deel van de Nederlandse bevolking is slechts 10 procent van de jongeren tegen 60 procent van de ouderen besmet met *H. pylori*, terwijl onder het allochtone deel van de Nederlandse bevolking de infectiegraad van *H. pylori* voor adolescenten beduidend hoger ligt (60 procent).⁴

Diagnose van *H. pylori*-infectie

H. pylori-infectie kan worden gediagnosticeerd met verscheidene invasieve en niet-invasieve testen. Voor kweek, histologie en de snelle ureasetest dient een maagbiopt te worden afgenomen, terwijl een alternatief klinisch monster (bloed, adem, feces, urine en speeksel) volstaat voor serologie, de *H. pylori*-ademtest en de antigeenfecestest.⁵ De keuze voor een specifieke test hangt sterk af van de klachten en leeftijd van de patiënt, de beschikbaarheid en kosten van de test en de gewenste klinische informatie. Endoscopisch onderzoek is altijd gewenst bij patiënten met maagbloedingen, onverklaarbaar gewichtverlies of anemie, alsmede bij patiënten boven 50 jaar met een recent ontwikkelde dyspepsie. Bij deze patiënten kan een maagbiopt voor kweek meestal gemakkelijk worden verkregen. Alhoewel de snelle ureasetest de voorkeur geniet bij gastro-enterologen is histologie met name bij patiënten met een maagbloeding een betrouwbaardere detectiemethode gebleken.⁶ Het kweken van *H. pylori*, gevolgd door het testen voor antibioticumgevoeligheid wordt vrijwel nooit routinematig toegepast voor de initiële diagnose van *H. pylori*, maar wordt primair gebruikt voor een rationeel therapiedesign na het falen van de eerste (vaak empirische) antibioticumbehandeling. Indien de hierbovengenoemde alarmsignalen afwezig zijn wordt patiënt meestal niet endoscopisch onderzocht,⁷ waardoor de diagnose van *H. pylori*-infectie gelimiteerd is tot niet-invasieve methoden. De *H. pylori*-ademtest kan zowel voor de diagnose als voor het vervolgen van de anti-*H. pylori*-therapie worden gebruikt. Serologie daarentegen is eigenlijk alleen bruikbaar voor de initiële diagnose en is ook dan zeker niet de meest betrouwbare methode. Therapiefollow-up met serologie is zeer bedenkelijk omdat anti-*H. pylori*-antilichamen enkele maanden tot jaren

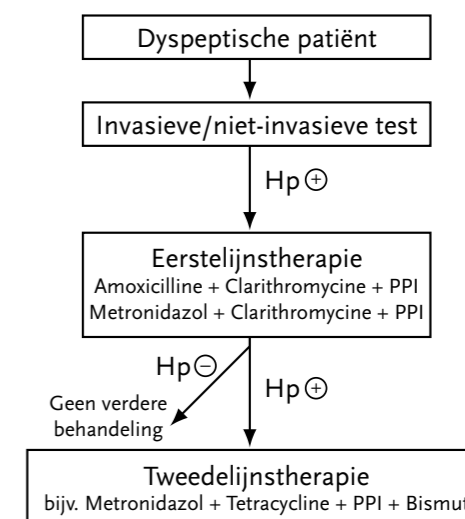
aanwezig blijven in het bloed van succesvol behandelde patiënten. Bij kinderen jonger dan zes jaar zijn de ademtest en serologie niet altijd goed uitvoerbaar. In dit geval biedt de antigeenfecestest voor *H. pylori* een alternatief.⁵

Behandeling van *H. pylori*-infectie

Indien een *H. pylori*-infectie niet adequaat wordt behandeld, blijft de bacterie meestal levenslang bij de patiënt aanwezig. *H. pylori* is *in vitro* gevoelig voor een breed scala aan antimicrobiële middelen,⁸ maar voor een effectieve behandeling bij de patiënt is er slechts een beperkt aantal middelen geschikt.⁹ Het gebrek aan activiteit *in vivo* wordt met name veroorzaakt door inactivatie van het antibioticum door de lage pH in de maag, de lage groeisnelheid van *H. pylori* en het onvermogen van het antibioticum om de bacterieremmende concentratie in de maagmucosa te bereiken.

Metronidazol, clarithromycine, amoxicilline en tetracycline zijn de meest frequent gebruikte antibiotica voor de behandeling van *H. pylori*. Daar therapieën op basis van één antibioticum in het verleden vaak leidden tot therapiefalen, worden *H. pylori*-positieve patiënten momenteel uitsluitend behandeld met een zogenaamde combinatie-therapie. Deze therapie bestaat meestal uit twee antibiotica samen met een zuurremmer (verhoogd de lokale pH en de effectiviteit van de antibiotica) en/of een bismutcomponent. In Nederland geniet thans een combinatie-therapie van amoxicilline, clarithromycine en/of metronidazol, samen met een zuurremmer de voorkeur.¹⁰ Therapieën op basis van tetracycline, ciprofloxacine, furazolidone, rifabutine en/of bismut worden alleen incidenteel voorgeschreven, bijvoorbeeld na het falen van de eerstelijns-therapie (figuur 2).

Figuur 2. Behandelingschema van een *H. pylori*-infectie. Hp = *H. pylori*, + = positief, - = negatief, PPI = protonpompremmer (zuurremmer).



Prevalentie van antibioticumresistentie

De beperkte keuze, het frequente gebruik en de complexiteit en bijwerkingen (diarree, misselijkheid, braken, allergie) van bovengenoemde therapieën hebben bijgedragen aan het ontstaan van antibioticumresistentie van *H. pylori*. Dit is zorgwekkend daar antibioticumresistentie, zelfs bij combinatietherapieën, de belangrijkste oorzaak is van therapiefalen. Ondanks de hoge besmettingsgraad en de ernst van de complicaties van *H. pylori*-infecties kent Nederland geen nationaal surveillanceprogramma voor de detectie van antibioticumresistentie van *H. pylori*. Hierdoor ontbreken recente landelijke data over de prevalentie van antibioticumresistentie onder *H. pylori*-isolaten. Gegevens uit het laatste Nederlandse prevalentieonderzoek (uitgevoerd 1997/1998 in enkele grotere centra), toonde destijds aan dat ruim 20 procent van de *H. pylori*-isolaten metronidazolresistent is. Clarithromycineresistentie bedroeg twee procent en amoxicilline- en tetracyclineresistentie werd niet geconstateerd.¹¹ In omliggende landen zoals bijvoorbeeld Duitsland, waar antibioticumresistentie van *H. pylori* reeds enkele jaren landelijk wordt vervolgd, ziet men een stijging van antibioticumresistentie. Thans bedraagt in Duitsland de resistentie tegen metronidazol 27 procent, clarithromycine zeven procent, ciprofloxacine twee procent en rifampicine twee procent. Bovendien is één procent van de Duitse *H. pylori*-isolaten resistent tegen zowel metronidazol als clarithromycine.¹² Op basis enkele regionale onderzoeken is het aannemelijk dat een vergelijkbare stijging ook in Nederland heeft plaatsgevonden.^{13,14}

Klinische impact van antibioticumresistentie

Antibioticumresistentie heeft een negatief effect op de effectiviteit van de therapie, maar de mate waarin ze het effect beïnvloedt is sterk afhankelijk van het antimicrobiële middel, de dosis en de duur van de therapie. Verschillende onderzoeken hebben laten zien dat het slagingspercentage van een metronidazolbevattende combinatietherapie daalt van 90 procent naar 73 procent in het geval er een metronidazolresistente *H. pylori*-stam aanwezig is. Wanneer er echter een bismutcomponent wordt toegevoegd aan de combinatietherapie of de therapieduur wordt verlengd, leidt dit meestal tot herstel van het effect van de therapie.¹⁰

Voor een op clarithromycine gebaseerde therapie is het effect van antibioticumresistentie veel groter; het slagingspercentage van zo'n therapie daalt van 60 procent naar 25 procent in het geval er een clarithromycine-resistente *H. pylori*-stam aanwezig is.¹⁰ Uitbreiding van de therapieduur dan wel toevoeging van extra antimicrobiële componenten leiden niet tot een significant herstel van het slagingspercentage van de therapie. Hoewel ook amoxicilline-, tetracycline-, ciprofloxacine-, furazolidone- en rifabutineresistentie zijn gecorreleerd met therapiefalen,

zijn er nog onvoldoende onderzoeken uitgevoerd om een gefundeerde inschatting te maken van de exacte impact van deze vormen van resistentie op therapie succes.

Mechanismen van antibioticumresistentie

Gezien de grote groep patiënten met *H. pylori* en bijbehorende behandelingsproblemen is er veel onderzoek verricht naar de verschillende antibioticumresistentiemechanismen. In tegenstelling tot de meeste andere bacteriën, waar antibioticumresistentie voornamelijk wordt veroorzaakt via mobiele genetische elementen zoals plasmiden, transposons en integronen, wordt antibioticumresistentie van *H. pylori* grotendeels veroorzaakt door puntmutaties in bestaande genen die gelegen zijn op het bacteriële chromosoom.¹⁵⁻²⁰ Het ontstaan van deze mutaties vindt meestal *de novo* plaats, alhoewel horizontale gentransfer via natuurlijke transformatie tussen een gevoelige en resistente stam niet kan worden uitgesloten.²¹ In de hieronder volgende paragrafen wordt het resistentiemechanisme van de vier meestgebruikte antibiotica in de anti-*H. pylori*-therapie nader besproken. Resistentiedata voor de overige antimicrobiële middelen (fluoroquinolonen, rifamycinen en nitrofuranen) zijn weergegeven in tabel 1.

Amoxicillineresistentie

Bij de meeste Gram-negatieve bacteriën wordt amoxicillineresistentie veroorzaakt door β -lactamaseactiviteit, een enzym dat de β -lactamring van het antibioticum openbreekt, terwijl in Gram-positieve bacteriën de resistentie meestal wordt veroorzaakt door mutaties in één of meer penicillinebindende eiwitten (PBP's). Ondanks dat het genoom van *H. pylori* β -lactamase-achtige genen bevat, is er geen β -lactamaseactiviteit gemeten in amoxicillineresistente *H. pylori*-isolaten. Stabiele amoxicillineresistentie blijkt hier het gevolg te zijn van genetische veranderingen in PBP-1A, terwijl instabiele amoxicillineresistentie (resistentie gaat verloren na invriezen of langdurig kweken in afwezig van het antibioticum) wordt veroorzaakt door veranderingen in PBP-D.^{15,22} Daarnaast zijn er indicaties dat de resistentie wordt verhoogd door een verlaging van de membraanpermeabiliteit (figuur 3, tabel 1).²³

Clarithromycineresistentie

Bij de meeste Gram-negatieve bacteriën wordt clarithromycineresistentie veroorzaakt door puntmutaties of modificaties in het 23S-rRNA-molecuul, of overexpressie van effluxeiwitten.²⁴ Alleen het eerste resistentiemechanisme is beschreven bij *H. pylori*, want clarithromycineresistentie van *H. pylori* wordt daar meestal veroorzaakt door twee puntmutaties in 23S-rRNA-molecuul ($A_{2142} \rightarrow G/C$ of $A_{2143} \rightarrow G$).^{16,17} Soms worden er andere genetische veranderingen gerapporteerd, maar deze zijn alle gelegen in het 23S-rRNA-molecuul (figuur 3, tabel 1).¹⁰

Tabel 1. Werkingsmechanisme en prevalentie en mechanisme van antibioticumresistentie voor de meestgebruikte antimicrobiële middelen van de anti-*H. pylori*-therapie.

ANTIBIOTICUM-GROEP	FREQUENT-GEBRUIKTE COMPONENT	PREVALENTIE ^a	WERKINGSMECHANISME	RESISTENTIEMECHANISME
Penicillines	Amoxicilline	< 1%	Remt de synthese van de bacteriële celwand door binding aan penicillinebindende eiwitten (PBP)	Puntmutaties in het <i>pbp1A</i> -gen en verlaagde membraanpermeabiliteit
Macroliden	Clarithromycine, erythromycine	2%	Remt de synthese van bacteriële eiwitten door binding aan 23S ribosomaal RNA (rRNA)	Puntmutaties in het 23S-rRNA
Nitro-imidazolen	Metronidazol, tinidazol	20%	Veroorzaakt DNA-schade door vorming van de nitro-anion radicalen en midazolen componenten	Verminderde of afwezige reductie door puntmutaties in het <i>rdxA</i> - en <i>frxA</i> -gen
Tetracyclines	Tetracycline	< 1%	Remt de synthese van bacteriële eiwitten door binding aan 16S-rRNA	Puntmutaties in het 16S-rRNA en verlaagde membraanpermeabiliteit
Fluoroquinolonen	Ciprofloxacine, moxifloxacine, levofloxacine	Onbekend	Remt DNA-replicatie door binding aan DNA-gyrase en topoisomerasen	Puntmutaties in het DNA-gyrasegen, <i>gyrA</i>
Rifamycinen	Rifabutine	Onbekend	Remt transcriptie door binding aan RNA-polymerase	Puntmutaties in het RNA-polymerasegen, <i>rpoB</i>
Nitrofuranen	Furazolidone	Onbekend	Veroorzaakt DNA-schade door vorming van de nitro-anion radicalen	Onbekend

^a Percentages van antibioticumresistentie in Nederland.^{11,13,14,20,22}

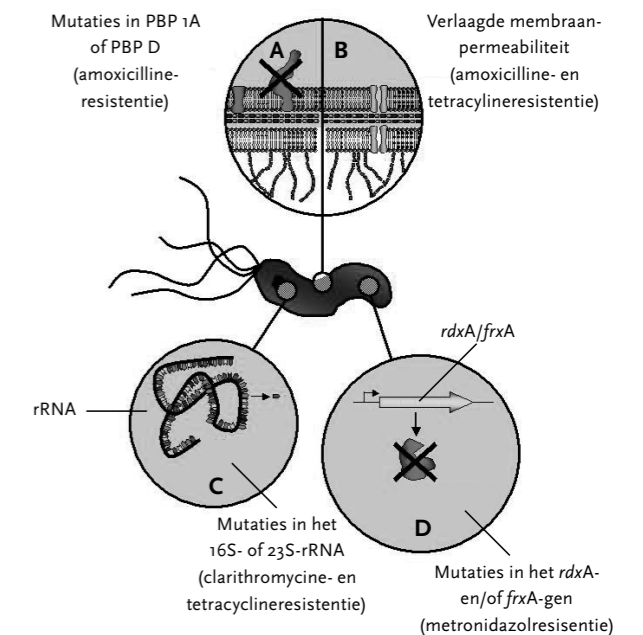
Metronidazolresistentie

Metronidazol is een pro-drug die in de bacterie wordt geactiveerd door een redoxreactie. Na de reductie van metronidazol ontstaan er actieve componenten die leiden tot DNA-schade. In anaerobe bacteriën wordt metronidazolresistentie veroorzaakt door een verminderde of afwezige enzymatische reductie van metronidazol. Ook bij *H. pylori* is dit het geval; metronidazolresistentie wordt veroorzaakt door mutaties in of rondom de activatiegenen, *rdxA* (zuurstofongevoelige NADPH-nitroreductase) en *frxA* (NADPH-flavine-nitroreductase). Deze mutaties leiden tot een verlaagde expressie dan wel een inactief enzym (figuur 3, tabel 1).^{18,19}

Tetracyclineresistentie

Bij de meeste bacteriën wordt tetracyclineresistentie veroorzaakt door een overexpressie van effluxeiwitten of veranderingen in ribosomale beschermings-eiwitten. Bij *H. pylori* blijkt tetracyclineresistentie echter gebaseerd op puntmutaties ($AGA_{926-928} \rightarrow UUC$) in de primaire bindingsplaats van tetracycline in het 16S-rRNA-molecuul.²⁰ Hierdoor kan tetracycline niet meer binden aan het 16S-rRNA-molecuul, waardoor de werking van het antibioticum verloren gaat. Daarnaast zijn er indicaties dat de resistentie wordt verhoogd door een verlaging van de membraanpermeabiliteit, net als is beschreven voor amoxicilline (figuur 3, tabel 1).²⁵

Figuur 3. Schematische weergave van de moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan antibioticumresistentie van *H. pylori*, (A+B) amoxicillineresistentie, (B+C) tetracyclineresistentie, (C) clarithromycineresistentie en (D) metronidazolresistentie.

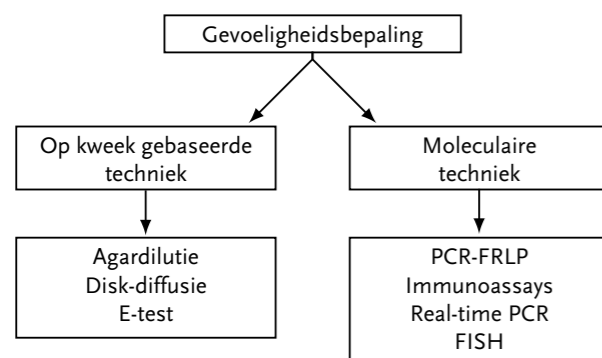


Detectie van antibioticumresistentie

Antibioticumresistentie bij *H. pylori* kan worden aangetoond met kweek- of moleculaire technieken (figuur 4). In Nederland maakt men met name gebruik van technieken behorend tot de eerste categorie, namelijk de agardilutie-, diskdiffusie- en E-test. Wereldwijd wordt de agardilutietest gezien als de gouden standaard. Bij deze methode wordt een bacteriesuspensie (*H. pylori*, ~ 10⁵ levende bacteriën) geënt op agarplaten die elk een verschillende concentratie aan antibioticum bevatten. Na incubatie van 72 uur onder micro-aerofiele condities worden de platen beoordeeld op groei. *H. pylori* is resistent wanneer de MIC voor amoxicilline, clarithromyine, metronidazol en tetracycline $\geq 0,5$, $\geq 2,0$, $\geq 8,0$ en $\geq 4,0$ mg/l, respectievelijk.¹⁰ Een andere gemakkelijke op kweek gebaseerde techniek voor de detectie van antibioticumresistentie is de diskdiffusietest. Hierbij worden antibioticumdisks geplaatst op een met bacteriën beënte agarplaat. Na incubatie wordt de antibioticumgevoeligheid bepaald door het meten van de remmingszone. *H. pylori* is resistent wanneer de remmingszone voor clarithromyine en metronidazol ≥ 20 mm en ≥ 24 mm, respectievelijk (referentiewaarden voor remmingszone voor amoxicilline- en tetracyclineresistentie zijn er thans nog niet).²⁶ De E-test is een commerciële kwantitatieve variant van de diskdiffusietest.

Een groot nadeel van de hierboven beschreven technieken is dat standaardisatie van de technieken ontbreekt. Hierdoor kunnen de verkregen waarden moeilijk met elkaar worden vergeleken.^{27,28} Bovendien falen deze op kweek gebaseerde technieken voor *H. pylori* met grote regelmaat. Dit komt niet alleen door contaminatie van het biopt, maar ook doordat *H. pylori* zéér gevoelig is

Figuur 4. Schematische weergave van de opties die thans bestaan voor het bepalen van antibioticumresistentie van *H. pylori*. Antibioticumresistentie kan worden bepaald op klassieke wijze, met een agardilutietest of diskdiffusietest. Dit eist echter beschikbaarheid van levende bacteriën. Moleculaire technieken daarentegen hebben deze niet. PCR-RFLP = PCR-restrictiefragmentlengtepolymorfisme, FISH = fluorescentie-*in situ*-hybridisatie.



voor omgevingsveranderingen. Groei > 72 uur, verhoging van de atmosferische zuurstofconcentratie, temperatuurwisselingen en nutriëntentekort leiden alle tot de dood van de bacterie, wat zich uit in een morfologische conversie van de bacterie (figuur 1B). Daar moleculaire detectie-technieken onafhankelijk zijn van levende en groeiende bacteriën en gemakkelijk kunnen worden gestandaardiseerd, bieden zij een aantrekkelijk alternatief.

Momenteel zijn er verscheidene (niet-)invasieve moleculaire testen beschikbaar voor de bepaling van antibioticumresistentie van *H. pylori*.¹⁰ Vooral nog zijn deze testen alleen beschikbaar voor clarithromycine, tetracycline en ciprofloxacine. PCR-RFLP (restrictiefragmentlengtepolymorfisme) is een PCR-gebaseerde techniek die met name wordt gebruikt voor de detectie van puntmutaties in het bacteriële chromosoom. Deze methode is relatief eenvoudig en gebaseerd op de aan- of afwezigheid van een restrictie-enzymknipplaats in het geamplificeerde DNA-fragment. Andere technieken, zoals de PCR-DNA-enzymimmuunassay, PCR-oligonucleotide-ligatieassay en PCR-line-probeassay (LipA), maken na de PCR-gebruik van een hybridisatiestap met mutatiespecifieke probes, antilichamen en/of alkalinefosfatase. *Real-time* PCR is een techniek waarbij het fragment van interesse wordt geamplificeerd in aanwezigheid van één of twee fluorochrome-gelabelde probes. Na amplificatie wordt de temperatuur in het reactievatje verhoogd om de smelttemperatuur van de probe(s) te bepalen. Wanneer er een mutatie aanwezig is zal deze namelijk lager uitvallen.²⁹ FISH (fluorescentie-*in situ*-hybridisatie) is een op RNA of DNA gebaseerde techniek waarbij antibioticumresistentie kan worden aangetoond zonder PCR. In deze methode binden fluorochrome-gelabelde specifieke *H. pylori*-probes, eventueel met mutatie, aan het RNA c.q. DNA van intacte *H. pylori*-isolaten. Het resultaat kan zichtbaar worden gemaakt onder een fluoresceentiemicroscop.³⁰

Behandelingsalternatieven

Gezien de gestage toename van de incidentie van antibioticumresistentie van *H. pylori* wordt er momenteel veel tijd en geld geïnvesteerd in de ontwikkeling van alternatieve anti-*H. pylori*-therapieën. Vaccinontwikkeling vormt daarbij een belangrijk aandachtspunt. Alhoewel er al een aantal fase-I en -II klinische trials zijn uitgevoerd is een commercieel vaccin nog steeds niet beschikbaar. Andere potentiële ontwikkelingen ter verbetering van de huidige anti-*H. pylori*-therapieën zijn gebaseerd op gebruik van (1) antimicrobiële peptiden (magaininen, LL-37/hCAP18 en defensinen) (2) probiotica en (3) essentiële oliën.¹⁰ De antimicrobiële activiteit van deze componenten kan worden gebruikt voor monotherapieën of in combinatie met de bestaande middelen om zo de huidige therapeutische opties te vergroten.

Conclusies

H. pylori speelt een belangrijke rol bij de ontwikkeling van maagontsteking, zweren van de maag en twaalfvingerige darm en maagkanker. Momenteel berust de enige geschikte behandeling van deze symptomen op de eradicatie van de bacterie met antibiotica. De beperkte keuze, het intensieve gebruik, alsmede de complexiteit en bijwerkingen van anti-*H. pylori*-therapieën hebben alle bijgedragen aan de ontwikkeling van antibioticumresistentie. Daar in Nederland ongeveer 35 procent van alle anti-*H. pylori*-therapieën faalt door antibioticumresistentie, en de prevalentie van de resistentie niet alleen verschilt tussen diverse geografische regio's maar ook binnen bevolkingsgroepen in bepaalde regio's, is het aan te bevelen om een landelijke controle van antibioticumresistentie van *H. pylori* op te zetten. De data verkregen uit zo'n prevalentieonderzoek kunnen worden gebruikt om ideale behandelingsstrategieën te ontwikkelen zonder dat elke patiënt individueel moet worden getest. Daarnaast dienen (1) vervolgonderzoek ter preventie van *H. pylori*-infecties met behulp van vaccins en (2) alternatieve therapieën op basis van nieuwe antimicrobiële middelen extra te worden gestimuleerd, omdat antibioticumresistentie van *H. pylori* blijft toenemen en de productie van nieuwe antimicrobiële middelen traag verloopt.

Summary

Helicobacter pylori is an important human pathogen that colonizes the stomach. In the industrialized world, approximately 20-30% of the individuals are infected with this bacteria, but worldwide the infection grade ranges from 50-95%. Colonization with *H. pylori* results in superficial gastritis without clinical symptoms, which can ultimately progress into gastric and duodenal ulcers, and occasionally even in gastric cancer. Cure of *H. pylori* infection results in ulcer healing and reduces the risk of gastric cancer development. *In vitro*, *H. pylori* is susceptible to many antibiotics, but *in vivo* only a few antibiotics can be used to cure the infection. The frequent indication for anti-*H. pylori* therapy, and the limited choice of antibiotics has resulted in the development of antibiotic resistance in *H. pylori*, which significantly impairs the treatment of *H. pylori*-associated disorders. Antibiotic resistance in *H. pylori* is widespread and keeps increasing. The continuous increase in the prevalence of antibiotic resistance in *H. pylori*, together with the lack of rapidly forthcoming novel treatment options, will lead to serious problems for treatment of *H. pylori*-associated disorders in the near future. Here, we focus on the treatment of *H. pylori*, and on the clinical relevance, mechanisms, and diagnosis of antibiotic resistance.

Literatuur

1. Warren JRM, B.J. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983;321:1273-5.
2. Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med* 2002;347:1175-86.
3. Rothenbacher D, Brenner H. Burden of *Helicobacter pylori* and *H. pylori*-related diseases in developed countries: recent developments and future implications. *Microbes Infect* 2003;5:693-703.
4. Vuuren AJ van, Man RA de, Driel HF van, et al. *Helicobacter pylori* in two asymptomatic Dutch populations. *Gastroenterol* 2006;130(Suppl 2):A569.
5. Versalovic J. *Helicobacter pylori*. Pathology and diagnostic strategies. *Am J Clin Pathol* 2003;119:403-12.
6. Moayyedi P, Dixon MF. Any role left for invasive tests? Histology in clinical practice. *Gut* 1998;43(Suppl 1):S51-5.
7. Ford AC, Qume M, Moayyedi P, et al. *Helicobacter pylori* 'test and treat' or endoscopy for managing dyspepsia: an individual patient data meta-analysis. *Gastroenterol* 2005;128:1838-44.
8. McNulty CA, Dent J, Wise R. Susceptibility of clinical isolates of *Campylobacter pyloridis* to 11 antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 1985;28:837-8.
9. Graham DY. Antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*: implications for therapy. *Gastroenterol* 1998;115:1272-7.
10. Gerrits MM, Vliet AH van, Kuipers EJ, Kusters JG. *Helicobacter pylori* and antimicrobial resistance: molecular mechanisms and clinical implications. *Lancet Infect Dis* 2006;6:699-709.
11. Debets-Ossenkopp YJ, Herscheid AJ, Pot RG, et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* resistance to metronidazole, clarithromycin, amoxicillin, tetracycline and trovafloxacin in The Netherlands. *J Antimicrob Chemother* 1999;43:511-5.
12. Kist M, Glocker E. ResiNet - a nationwide German sentinel study for surveillance and analysis of antimicrobial resistance in *Helicobacter pylori*. *Eurosurveillance* 2004;9:44-6.
13. Janssen MJ, Hendrikse L, de Boer SY, et al. *Helicobacter pylori* antibiotic resistance in a Dutch region: trends over time. *Neth J Med* 2006;64:191-5.
14. Loffeld RJ, Fijen CA. Antibiotic resistance of *Helicobacter pylori*: a cross-sectional study in consecutive patients, and relation to ethnicity. *Clin Microbiol Infect* 2003;9:600-4.
15. Gerrits MM, Schuijffel D, Zwet AA van, et al. Alterations in penicillin-binding protein 1A confer resistance to beta-lactam antibiotics in *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:2229-33.
16. Versalovic J, Shortridge D, Kibler K, et al. Mutations in 23S rRNA are associated with clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:477-80.
17. Stone GG, Shortridge D, Versalovic J, et al. A PCR-oligonucleotide ligation assay to determine the prevalence of 23S rRNA gene mutations in clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41:712-4.
18. Goodwin A, Kersulyte D, Sisson G, et al. Metronidazole resistance in *Helicobacter pylori* is due to null mutations in a gene (*rdxA*) that encodes an oxygen-insensitive NADPH nitroreductase. *Mol Microbiol* 1998;28:383-93.
19. Jeong JY, Mukhopadhyay AK, Dailidienė D, et al. Sequential inactivation of *rdxA* (HP0954) and *frxA* (HP0642) nitroreductase genes causes moderate and high-level metronidazole resistance in *Helicobacter pylori*. *J Bacteriol* 2000;182:5082-90.
20. Gerrits MM, Zoete MR de, Arents NL, et al. 16S rRNA mutation-mediated tetracycline resistance in *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:2996-3000.
21. Smeets LC, Arents NL, Zwet AA van, et al. Molecular patchwork: Chromosomal recombination between two *Helicobacter pylori* strains during natural colonization. *Infect Immun* 2003;71:2907-10.
22. Gerrits MM, Godoy AP, Kuipers EJ, et al. Multiple mutations in or adjacent to the conserved penicillin-binding protein motifs of the penicillin-binding

- protein 1A confer amoxicillin resistance to *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 2006;11:181-7.
23. DeLoney CR, Schiller NL. Characterization of an *In vitro*-selected amoxicillin-resistant strain of *Helicobacter pylori*. *Antimicrob. Agents Chemother* 2000;44:3368-73.
24. Vester B, Douthwaite S. Macrolide resistance conferred by base substitutions in 23S rRNA. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:1-12.
25. Wu JY, Kim JJ, Reddy R, et al. Tetracycline-resistant clinical *Helicobacter pylori* isolates with and without mutations in 16S rRNA-encoding genes. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:578-83.
26. Zwet AA van, Thijs JC, Roosendaal R, et al. Practical diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1996;8:501-7.
27. Megraud F, Lehn N, Lind T, et al. Antimicrobial susceptibility testing of *Helicobacter pylori* in a large multicenter trial: the MACH 2 study. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:2747-52.
28. Wouden EJ van der, Jong A de, Thijs JC, et al. Subpopulations of *Helicobacter pylori* are responsible for discrepancies in the outcome of nitroimidazole susceptibility testing. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:1484-6.
29. Glocker E, Berning M, Gerrits MM, et al. Real-time PCR screening for 16S rRNA mutations associated with resistance to tetracycline in *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:3166-70.
30. Trebesius K, Panthel K, Strobel S, et al. Rapid and specific detection of *Helicobacter pylori* macrolide resistance in gastric tissue by fluorescent in situ hybridisation. *Gut* 2000;46:608-14.

Bijsluiter

Bijsluiter

Onze SWAB

J.E. Degener, H.A. Verbrugh

Samenvatting

De SWAB is een stichting die tot doel heeft het probleem van de steeds verder oprukkende resistentie tegen antibiotica te beperken. De SWAB denkt dit te kunnen bereiken door een actief beleid te propageren bij de toepassing van antimicrobiële geneesmiddelen. Ter ondersteuning van het antibioticumbeleid heeft de SWAB een nationaal surveillanceprogramma voor het verzamelen van resistentie- en gebruikgegevens.

Daarnaast organiseert de SWAB trainingsprogramma's en kan men via de SWAB gebruikmaken van een elektronisch antibioticumboekje.

De SWAB is een gezamenlijke activiteit van de Nederlandse Vereniging voor Medische Microbiologie, de Vereniging voor Infectieziekten en de Nederlandse Vereniging van Ziekenhuisapothekers.

Trefwoorden: Stichting Werkgroep AntibioticaBeleid (SWAB), surveillance, antibioticumresistentie, antibioticumgebruik, antibioticumbeleid, *Intersectoral Coordinating Mechanism* (ICM), deskundigheidsbevordering

Inleiding

In 1996, inmiddels ruim tien jaar geleden, werd op initiatief van de Vereniging voor Infectieziekten, de Nederlandse Vereniging voor Medische Microbiologie en de Nederlandse Vereniging van Ziekenhuisapothekers, de Stichting Werkgroep AntibioticaBeleid (SWAB) opgericht. Dit initiatief werd genomen vanwege de zorg over de toenemende resistentieproblematiek in de wereld die ook voor Nederland een bedreiging vormt. De doelstelling, verwoord in de missie van de SWAB, is om de kwaliteit van het antibioticumgebruik in Nederland te optimaliseren teneinde een bijdrage te leveren aan de beheersing van resistentieontwikkeling en aan de kosten van antibioticagebruik. De middelen die de SWAB hiertoe heeft, zijn de kennis van antimicrobiële therapie en de gegevens uit surveillanceprojecten die het veld geheel vrijwillig of tegen geringe onkostenvergoeding ter beschikking stelt.

Deze missie wordt ondersteund door de eerdergenoemde wetenschappelijke verenigingen die zijn vertegenwoordigd in het bestuur van de SWAB. Bestuursleden worden op voordracht benoemd, zoals dat ook gebeurt voor de bestuursleden van de Werkgroep Infectie Preventie (WIP).

Voorts nemen deskundigen uit andere beroepsgroepen, maar met een specifieke kennis of belangstelling voor het onderwerp, zitting in het bestuur. Onder hen zijn een huisarts, een kinderarts-infectioloog en een dierenarts-microbioloog. Een vergelijkbaar initiatief in de veterinaire wereld is de *Veterinary Antibiotic Usage and Resistance Surveillance Working Group* (VANTURES) (www.rivm.nl/infectieziektenbulletin).

De SWAB kent een aantal kernactiviteiten, die in dit artikel achtereenvolgens aan de orde komen. Initiatieven die zijn genomen door derden en verwant zijn aan de missie van de SWAB, kunnen aansluiten als SWAB-geaffilieerde projecten en meeprofiteren van faciliteiten die de SWAB als forum kan aanbieden.

Een deel van de werkzaamheden wordt mogelijk gemaakt door een structurele subsidie die de overheid beschikbaar stelt via het Centrum Infectieziektenbestrijding (CIb) van het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM).

Wat misschien vanzelfsprekend lijkt voor degenen die vanaf het begin betrokken zijn geweest, is dat misschien niet voor veel anderen binnen en buiten de beroepsgroep die dit tijdschrift lezen. Daarom lijkt een update van de werkzaamheden van de SWAB hier op zijn plaats.

Onderwerpen die hierna achtereenvolgens aan de orde komen, behoren tot de activiteiten van de subwerkgroep Surveillance van Antibioticaresistentie, de subwerkgroep Surveillance van Antibioticagebruik, de Commissie Richtlijnen, het Nationale antibioticaboekje en de subwerkgroep Computer Ondersteund Onderwijs en Deskundigheidsbevordering. Ook volgt een korte toelichting van het wetenschappelijk onderzoek en de SWAB-geaffilieerde projecten.

Prof. dr. J.E. Degener, afdeling Medische Microbiologie, Universitair Medisch Centrum Groningen, prof. dr. H.A. Verbrugh, afdeling Medische Microbiologie & Infectieziekten, Erasmus MC, Rotterdam.
Correspondentieadres: Prof. dr. J.E. Degener, afdeling Medische Microbiologie, Universitair Medisch Centrum Groningen, Postbus 30.001, 9700 RB Groningen, e-mail: j.e.degener@mmb.umcg.nl.

Surveillance van antibioticumresistentie

De ontwikkeling van resistentie wordt in Nederland gevolgd door het samenvoegen van een aantal surveillanceprojecten. Deze projecten worden gecoördineerd door de bovengenoemde subwerkgroep Surveillance van Antibioticumresistentie in Nederland, die bestaat uit medisch-microbiologen, een epidemioloog van het RIVM, de projectleider van het EARSS (*European Antimicrobial Resistance Surveillance System*), een veterinaire microbioloog en een coördinator. Nadat eerst een nationale standaard (*zie Surveillance Standaard: www.swab.nl*) was overeengekomen, zijn sinds 1997 resistentiegegevens verzameld voor een groot aantal combinaties van bacteriesoorten en relevante antibiotica. Die gegevens worden jaarlijks gepubliceerd in het surveillancerapport *NethMap*, dat de SWAB sinds 2003 uitbrengt in samenwerking met het RIVM. Vaste onderdelen van de antibioticumresistentiesurveillance zijn:

- surveillance en analyse van extramurale resistentie in Nederland (coördinatie academisch ziekenhuis Maastricht);
- surveillance en analyse van intramurale resistentie bij bepaalde afdelingen van ziekenhuizen (idem Maastricht);
- resistentiegegevens van instellingen die van oudsher zijn aangesloten bij het Streeklaboratoriumproject van het RIVM en die zijn aangesloten bij het Infectieziekten Surveillance Informatie Systeem (ISIS) van het RIVM;
- *Mycobacterium tuberculosis*-resistentiesurveillance (RIVM);
- *Neisseria meningitidis*-resistentie (Universiteit van Amsterdam, Academisch Medisch Centrum);
- *Neisseria gonorrhoeae*-resistentie (RIVM);
- breed spectrum- β -lactamasesurveillance (Universitair Medisch Centrum Utrecht en het RIVM).

Er bestaat samenwerking met veterinaire werkgroepen om de invloed van het dierlijk reservoir in kaart te brengen. Samen met de SWAB-subwerkgroep Surveillance van Antibioticagebruik wordt gezocht naar methoden om de koppeling te kunnen maken tussen resistentieontwikkeling en antibioticagebruik.

Surveillance van antibioticagebruik

Deze activiteit van de SWAB heeft tot doel het antibioticagebruik in de intra- en extramurale sector in kaart te brengen. De intramurale gegevens komen beschikbaar door de gezamenlijke inspanning van ziekenhuisapothekers in de SWAB-subwerkgroep Surveillance van Antibioticumresistentie. De extramurale gegevens worden verkregen door een samenwerkingsverband van de SWAB met de Stichting Farmaceutische Kengetallen (SFK). De gegevens worden gebruikt voor:

- het analyseren van veranderingspatronen in het gebruik;
- het terugkoppelen van individuele intramurale resultaten naar ziekenhuizen;
- het leggen van relaties tussen gebruik en resistentie in ziekenhuizen die bijdragen aan beide vormen van surveillance;
- het ontwikkelen van een relevante set casemixcriteria voor de vergelijking van ziekenhuizen;
- het valideren van gebruikscijfers;
- de deelname aan het project *European Surveillance of Antibiotic Consumption* (ESAC II).

In het eerdergenoemd *NethMap*-rapport publiceert de SWAB jaarlijks de geaggregeerde, gestandaardiseerde en geanalyseerde gegevens van het antibioticagebruik in Nederland, samen met de resistentiegegevens.

Wetenschappelijk onderzoek

De SWAB stelt vast op welke terreinen niet voldoende kennis aanwezig is of waarop activiteiten moeten worden ontwikkeld. Zo stelt de SWAB dat onderzoek noodzakelijk is om de determinanten te kunnen identificeren die verantwoordelijk zijn voor de verspreiding van resistente micro-organismen. Voorts is niet duidelijk wat de impact is van het voeren van een antibioticumbeleid op de omvang van het resistentieprobleem. Dit laatste nog afgezien van de vraag wat onder een goed antibioticabeleid wordt verstaan. Begin 2006 heeft de SWAB over deze vraagstukken een notitie opgesteld getiteld: 'Beleid Wetenschappelijk Onderzoek Antibiotica Gebruik en Resistentie'. Dit stuk is ter beschikking gesteld aan de verenigingen die in de SWAB deelnemen, aan de ministeries van Volksgezondheid, Welzijn en Sport (VWS) en van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit (LNV), alsmede aan de Nederlandse organisatie voor gezondheids-onderzoek en zorginnovatie (NWO-ZonMw). Vanzelfsprekend komen in onderzoekscentra binnen en buiten zorginstellingen of op individueel initiatief activiteiten tot stand die affiniteit hebben met de doelstellingen van de SWAB. Betrokken onderzoekers kunnen zich desgewenst affiliëren met de SWAB. Het voordeel hiervan is dat zij gebruik kunnen maken van het netwerk – dat de SWAB is – voor de toetsing en acquisitie van fondsen voor die activiteiten. Bovendien biedt de SWAB mogelijkheden om in een jaarlijks symposium de wetenschappelijke vorderingen van geaffilieerde onderzoekers te presenteren. Voorbeelden van geaffilieerde projecten zijn:

- het door de Europese Unie/Directoraat-Generaal voor Gezondheids- en Consumentenbescherming (DG Sanco) gefinancierde project '*Self-medication with antibiotics and resistance*' (Universitair Medisch Centrum Groningen);
- het door ZonMw gesteunde onderzoek '*The use of selective antibiotic decontamination of the digestive tract compared to the use of live lactobacilli to prevent hospital*

acquired infections in intensive care patients' (academisch ziekenhuis Maastricht);

- het door ZonMw gesteunde onderzoek '*Non-antibiotic versus antibiotic prophylaxis for recurrent urinary tract infections*' (Academisch Medisch Centrum, Amsterdam, academisch ziekenhuis Maastricht);
- de open, gerandomiseerde multicentrumstudie '*Selectieve darmcontaminatie (SDD) en selectieve oropharyngeale decontaminatie (SOD) als infectiepreventie methode op de intensive care: effect op mortaliteit en ontwikkeling van antibioticumresistentie*' (Universitair Medisch Centrum Utrecht e.a.);
- het onderzoek '*What association exists between the use of antibiotics in hospitals and Clostridium difficile associated diarrhoea (CDAD), caused by PCR ribotype O27, toxinotype III?*' (RIVM, Erasmus MC Rotterdam, Leids Universitair Medisch Centrum).

Doordat de SWAB binnen haar professionele netwerk een beroep kan doen op de specifieke expertise van participanten, kan op verzoek van derden een belangrijke bijdrage worden geleverd aan het beantwoorden van vragen en het oplossen van problemen op het gebied van onderzoek en beleid. Zo wordt expertise geleverd aan het Maatschappelijk Transformatie (MATRA)-programma van het ministerie van Buitenlandse zaken. Sinds 1994 beogen MATRA-projecten de versterking van instituties en de opbouw van capaciteit op het niveau van het maatschappelijk middenveld. In 2006/2007 wordt in Kroatië in MATRA-verband gewerkt aan een project '*Antimicrobial resistance surveillance in human medicine*'. De bedoeling is het ministerie van Volksgezondheid in Kroatië te ondersteunen bij het uitvoeren van EU-richtlijnen op het gebied van antibioticumresistentie, onder meer door het institutionaliseren van een *Intersectoral Coordinating Mechanism* (ICM).

Voor Nederland is de SWAB het door de EU erkende ICM. Op grond daarvan neemt de SWAB deel aan het Europese overleg en aan werkgroepen die zich bezighouden met de bestrijding van antibioticumresistentie op Europees niveau. In 2006 heeft het *European Center for Disease Control* (ECDC) deze taak overgenomen van DG Sanco en is de SWAB toegetreden tot de groep van adviserende organen van het ECDC.

Richtlijnen voor antimicrobiële therapie

De SWAB publiceert landelijke richtlijnen voor antibioticagebruik, die dienen als basis voor het opstellen van lokale en regionale antibioticiformularia. De SWAB heeft de volgende *evidence-based* richtlijnen gepubliceerd in het Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde:

- Antimicrobiële therapie bij gecompliceerde urineweginfecties (2006);
- Acute infectieuze diarree (2005);

- *Community-acquired* pneumonie (2005);
- Endocarditis (2003);
- Selectieve decontaminatie (2001);
- Perioperatieve antibiotische profylaxe (2000);
- Sepsis (1999);
- Bronchitis (1998).

De richtlijn 'MRSA, de behandeling van dragers en patiënten' is in voorbereiding. Deze richtlijn sluit aan op bestaande richtlijnen van de Werkgroep Infectie Preventie (WIP) en de Landelijke Coördinatiestructuur Infectie ziektenbestrijding (LCI). Daarnaast wordt gewerkt aan richtlijnen voor de behandeling van schimmelinfecties en infecties van het centrale zenuwstelsel, terwijl oudere, reeds bestaande, richtlijnen zullen worden vervangen.

De *evidence-based* conceptrichtlijnen worden via de website ter commentaar voorgelegd aan alle leden van de betrokken beroepsverenigingen. Hierdoor bestaat de mogelijkheid van het geven van individueel commentaar en suggesties voor verbetering.

Nationale antibioticaboekje

Uit een in 2003 gehouden enquête is gebleken dat er behoefte bestond aan een nationaal antibioticabeleid voor volwassenen, gebaseerd op de Nederlandse *evidence-based* richtlijnen van de SWAB. Deze zouden moeten worden aangevuld met behandeladviezen voor infectieuze ziekten, waarvoor dergelijke richtlijnen niet beschikbaar zijn. Nadat in een landelijke workshop voor antibioticacommissies een voorstel was gedaan voor de eisen waaraan een nationaal boekje zou moeten voldoen, heeft het ministerie van VWS een startsubsidie toegekend voor het ontwikkelen van een landelijk goed toegankelijk boekje.

Sinds juni 2006 is het Nationale antibioticaboekje SWAB-ID beschikbaar via de website (www.swab.nl, doorklikken via '*bent u professional*' naar '*SWAB antibioticaboekje*'). Het boekje kan kosteloos worden gedownload op PDA-/pocketPC-formaat. Een belangrijke eis van de antibioticacommissies was dat de inhoud is aan te passen aan de lokale situatie. Tegen een geringe vergoeding van de licentierechten kan elke instelling het boekje inrichten naar lokale wensen. Op dit moment loopt in enkele ziekenhuizen een door de SWAB ondersteunde proef om te leren omgaan met lokaal aangepaste versies.

Deskundigheidsbevordering

De SWAB-subwerkgroep Computer Ondersteund Onderwijs heeft in het kader van deskundigheidsbevordering een onderwijs- en toetsingsprogramma voor specialisten ontwikkeld. Het betreft computergestuurd onderwijs, dat via het internet kan worden gevolgd en dat is gericht op specifieke specialistische beroepsgroepen. De eerste nascholingsprogramma's zijn in 2005 getest onder kleine groepen orthopeden en longartsen.

De Richtlijn IVD (*in-vitro*-diagnostiek): vragen en antwoorden

M.H.M. Thelen, A.G.M. Buiting

Omdat is gebleken dat onder klinische begeleiders en studenten geneeskunde lacunes bestaan in de praktische kennis die nodig is bij het rationeel voorschrijven van antibiotica, wil de SWAB starten met een project om dit probleem aan te pakken. Met de ervaring die is opgedaan met het computergestuurd onderwijs voor het deskundigheidsbevorderingsproject voor specialisten wil de SWAB een module ontwikkelen die geschikt is voor studenten geneeskunde vóór aanvang van de coassistentenschappen. Zij kunnen zich daarmee trainen in het rationeel voorschrijven van antibiotica, met nadruk op aspecten van resistentieontwikkeling en doelmatig gebruik.

Ten slotte

Jaarlijks organiseert de SWAB in het voorjaar een symposium, waarmee wordt beoogd de herkenbaarheid van de organisatie te vergroten en een forum te bieden voor een ieder die zich door directe deelname, via de geaffilieerde projecten of indirect verbonden voelt met de doelstellingen en missie van de SWAB. De SWAB slaagt er elk jaar weer in om enkele gerenommeerde sprekers uit binnen- en buitenland aan te trekken om een *keynote lecture* te presenteren. Ook worden presentaties gegeven van resultaten van onderzoeksactiviteiten in SWAB-verband. Alle leden van de aangesloten verenigingen ontvangen een uitnodiging voor dit terugkerend symposium.

Het is goed hier nog eens te benadrukken dat de SWAB de voortgang van een aantal van bovengenoemde activiteiten kan financieren met een van overheidswege verstrekte subsidie. Dit geld gaat echter op aan analytische, secretariale en boekhoudkundige ondersteuning en aan verbruiksgoederen. Onzichtbaar is de vrijwillige bijdrage van alle enthousiaste deskundigen uit het veld, die de resistentieproblematiek en het antibioticagebruik zo transparant mogelijk trachten te maken en die zich inzetten om de kennis op dit gebied onder medici te vergroten.

Uniek is het interdisciplinaire samenwerkingsverband dat door de SWAB is ontstaan en waardoor tijdens de werkzaamheden de grenzen tussen beroepsgroepen vervagen. Hierdoor is een efficiënt professioneel netwerk ontstaan. De SWAB kan dan ook worden beschouwd als het Nederlandse ICM. Van Europese lidstaten wordt verwacht dat zij over een interdisciplinair ICM-team beschikken. De SWAB heeft hier een voortrekkersfunctie. Zo hebben SWAB-bestuursleden onlangs op verzoek van het ministerie van VWS bijgedragen aan de voorlichting van een afvaardiging van het Duits ministerie van Volksgezondheid over het opzetten van een integrale aanpak van het resistentieprobleem bij onze oosterburen. Het is een goede zaak dat de activiteiten van de SWAB maatschappelijk draagvlak hebben en dat het ministerie van VWS, via het Clb, hiervoor middelen ter beschikking stelt. Het is de verantwoordelijkheid van de beroepsgroep om met raad en daad optimaal gebruik te maken van de geboden ondersteuning. De surveillancedata in *NethMap*, het Nationale antibioticaboekje, de ontwikkelde richtlijnen, het programma voor deskundigheidsbevordering en de website van de SWAB, waarop alles nog eens na te lezen valt, zijn hier de vruchten van.

Summary

The main goal of the Dutch Working Party on Antibiotic Policy (the Dutch acronym is SWAB) is to control the increasing problem of antibiotic resistance.

SWAB aims at accomplishing this goal by an active policy on the appropriate use of antimicrobial drugs. To support this policy SWAB has established a national surveillance programme to obtain representative data on resistance and antibiotic use.

Furthermore SWAB organizes teaching programmes and enables the use of an electronic guide to antibiotic therapy. SWAB is a joined initiative of the Dutch Society for Medical Microbiology, the Society for Infectious Diseases and the Dutch Association for Hospital Pharmacists.

Inleiding

Op 7 december 2005 werd de Richtlijn IVD (98/79/EG) definitief van kracht. Daarom vond vlak daarvoor een informatiemiddag over *in-vitro*-diagnostiek (IVD) plaats. De middag werd georganiseerd door de NEN-normcommissie *In-vitro*-diagnostica. Hierin hebben de auteurs zitting namens respectievelijk de Nederlandse Vereniging voor Klinische Chemie en Laboratoriumgeneeskunde (NVKC) en de Nederlandse Vereniging voor Medische Microbiologie (NVMM). Doel van de middag was het vergroten van kennis over de richtlijn en de uitleg van de richtlijn door de aanwezige vertegenwoordigers van de Inspectie voor de Gezondheidszorg (IGZ) en het ministerie van Volksgezondheid, Welzijn en Sport (VWS). Doelgroep waren aanbieders (fabrikanten en leveranciers), maar vooral ook gebruikers (laboratoriumspecialisten). Na een aantal introducties over de norm en de techniek voor het verkrijgen van CE-markering, was er vooral veel tijd voor het voornaamste deel van de bijeenkomst: de discussie. Aan deze discussie werd deelgenomen door de heer Kraus (inspecteur voor de IGZ) en mevrouw Hoekstra (beleidsmedewerker bij het ministerie van VWS). Doel van deze discussie was vooral het wegnemen van misverstanden en het in beeld brengen van de gevolgen van bepaalde handelwijzen die in diagnostische laboratoria gebruikelijk zijn. Met name deze discussie met de wetgevende en handhavende instanties was interessant, omdat zo echt duidelijk werd wat de overheid van de regelgeving verwacht. De discussie werd door de aanwezigen als zeer positief ervaren. Dit verslag geeft een indruk van deze discussie, met name aan de hand van de uitgewerkte vragen. De publicatie van het artikel heeft langer geduurd dan gebruikelijk. Dit heeft onder andere te maken met de verschillende partijen die bij het traject zijn betrokken. Omdat de regelgeving ondertussen niet is veranderd heeft het aan nieuwswaarde echter niets ingeboet. Onderstaande vragen hadden ook op uw laboratorium kunnen worden gesteld. U kunt nu nagaan of u voldoende voorbereid bent op de consequenties van de antwoorden van VWS en de IGZ.

Onderstaande vragen werden op informatiemiddag gesteld door ofwel de leveranciers ofwel de laboratoriumspecialisten. De antwoorden zijn door IGZ en het ministerie van VWS bevestigd.

Vragen over consequenties van de richtlijn IVD

1. *Is het toegestaan om een (aangepaste) 'for research use only' (RUO)-kit als diagnosticum te gebruiken onder verantwoordelijkheid van de laboratoriumspecialist?* Het mag, maar dan alleen voor eigen gebruik. Er is in dit geval sprake van een zogenaamd 'home-made'-product dat wordt gebruikt voor onderzoek in het eigen lab.

2. *Mag de laboratoriumspecialist ook aanvragen voor deze aangepaste RUO van andere zorginstellingen honoreren?*

Hier is sprake van een grijs gebied. Als het geen commerciële activiteit betreft mag het wel, anders niet. In geval van een commerciële uitwisseling moet er worden voldaan aan de Richtlijn IVD en moet CE-markering op het product worden aangebracht.

3. *Mag de laboratoriumspecialist onder eigen verantwoordelijkheid afwijken van de gebruikersinstructie van een IVD?*

De Richtlijn IVD gaat over het op de markt brengen van een product. Als een laboratoriumspecialist afwijkt van de gebruikersinstructie is hij daarvoor zelf verantwoordelijk. De fabrikant is op dat moment niet verantwoordelijk. Deze heeft immers het product met een andere doelstelling op de markt gebracht.

Dr. M.H.M. Thelen, klinisch chemicus, St. Annaziekenhuis, Geldrop, dr. A.G.M. Buiting, arts-microbioloog, St. Elisabeth Ziekenhuis, Tilburg,
Correspondentieadres: Dr. M.H.M. Thelen, Postbus 90, 5660 AB Geldrop, e-mail: m.thelen@st-anna.nl.

4. Kan een IVD-fabrikant worden gehouden aan claims in de bijsluiter die niet interfereren met aanpassingen door een laboratoriumspecialist?

Toelichting: hier moet bijvoorbeeld worden gedacht aan het aanpassen van een kalibratiewaarde. Omdat de precisie van de test onafhankelijk is van de kalibratiewaarde, lijkt het onredelijk als de fabrikant door de gewijzigde kalibratie ook de aansprakelijkheid voor de precisie verwerpt.

In principe wel. De vraag is hier of het product nog functioneert zoals het zou moeten functioneren. Het zal echter niet altijd te bewijzen zijn of een eventueel disfunctioneren ligt aan het product zelf of aan de wijziging. Men moet er rekening mee houden dat een fabrikant geen aansprakelijkheid meer wil accepteren als het product niet volgens de handleiding is gebruikt. Een beargumenteerde afwijking zou natuurlijk wel vooraf aan de fabrikant kunnen worden voorgelegd.

5. Kan een 'home-made'-test in CE-opzicht?

Een test voor eigen gebruik hoeft niet te worden voorzien van CE-markering. Het is echter niet zo dat deze testen niet aan eisen zijn gebonden. Zo moeten ze voldoen aan de Kwaliteitswet Zorginstellingen en aan eisen die gebruikelijk zijn in de beroepsgroep. Dat houdt onder andere in dat de laboratoriumspecialist de test moet valideren.

6. Hoeft een CE-gemarkeerde test dan niet te worden gevalideerd?

De IVD-wet is een wet voor leveranciers. Voor de laboratoriumspecialist blijft de Kwaliteitswet Zorginstellingen gelden. Het gebruik van uitsluitend CE-gemarkeerde IVD's maakt validatie in het eigen laboratorium niet overbodig. In een dergelijk geval kan de validatie wel eenvoudiger van karakter zijn dan bij 'home-made'-testen.

7. Mag de 'home-made'-test ook aan andere organisaties worden aangeboden?

Op het moment dat een test wordt geleverd aan een externe organisatie, is er sprake van het in de handel brengen van de test. Hier is dan geen sprake meer van eigen gebruik binnen de eigen instelling. Zelfs als de uitwisseling kosteloos gebeurt, is er volgens de wet sprake van het in de handel brengen. Kosteloos receptuur en protocollen uitwisselen is echter geen handel.

Belangrijk is het verschil met het antwoord op vraag 2. Het aanbieden van een test in eigen laboratorium zonder commercieel doel verschilt dus wezenlijk van het aanbieden van de test voor toepassing in het laboratorium van de aanvrager.

8. Bestaat er een duidelijk overzicht van alle relevante regelgeving waarin ontwikkeling en gebruik van IVD's zijn opgenomen?

Er zijn verschillende websites waarop informatie is te vinden over de onderwerpen, onder andere op de websites van de Europese Commissie, de Inspectie, VWS en NEN. De links naar de verschillende websites zijn:

www.europa.eu.int/comm/enterprise/medical_devices/index_en.htm

www.igz.nl

www.wetten.overheid.nl/

www.minvws.nl/dossiers/wetgeving/default.asp

www.minvws.nl/dossiers/hulpmiddelen/kwaliteit-en-veiligheid-van-medische-hulpmiddelen/www2.nen.nl/nen/servlet/dispatcher.Dispatcher?id=083906

9. Gaan er producten verdwijnen of veranderen?

Ja, waarschijnlijk zullen sommige producten niet op de markt komen of daarvan verdwijnen vanwege de kosten die met CE-markering zijn gemoeid. Een voorbeeld hiervan is het bijleveren van een gebruiksaanwijzing in de taal van het betreffende land waar het product op de markt wordt gebracht. Volgens artikel 6 van de Richtlijn IVD kunnen gebruiksaanwijzingen voor Nederland ook in het Engels worden geleverd, mits de IVD is bestemd voor gebruik in de professionele omgeving van instellingen.

10. Welke sancties zijn er bij delicten/overtredingen?

Er zijn twee soorten delicten, te weten:

a. economische delicten;

b. overtredingen in het kader van de Kwaliteitswet Zorginstellingen.

De inspectie komt niet achter alle delicten die in de praktijk voorkomen. Niet alles wordt gemeld en het toezicht is (nog) niet volledig. In het geval van het IVD-besluit is er bij overtredingen vaak sprake van een economisch delict. Dan is de sanctie vaak een boete.

11. Zelfcertificatie: maakt elke fabrikant een dossier aan?

Ja, elke fabrikant is verplicht een technisch dossier over veiligheid en functionaliteit op te stellen, zoals beschreven in de bijlagen bij het IVD-besluit. Over hoe het dossier er precies uit moet zien, zijn naast de beschrijving in de bijlagen bij het besluit op dit moment nog geen duidelijke eisen. Deze moeten er wel komen, vooral in het geval er iets misgaat. De inspectie is bezig met een onderzoek naar technische dossiers van een bepaald type product.

12. Wat komt er kijken bij het aanbrengen van CE-markering, als een laboratorium dit voor eigen testen wil?

In dit geval wordt het laboratorium de fabrikant van de eigen testen. Dat betekent dat CE-markering moet worden aangebracht volgens de eisen die het IVD-besluit stelt aan de fabrikant. Toetsing vindt plaats door één van de *Notified Bodies* in één van de lidstaten. In Nederlands zijn dat TNO en KEMA. Voor CE-markering in de gehele EU is toetsing

door de *Notified Body* van één lidstaat voldoende. In de praktijk blijkt dat het aanvragen van CE-markering door een zorginstelling (nog) niet veel voorkomt.

13. Bestaat er een relatie tussen CE-gemarkeerde testen en vergoedingen conform CTG-tarief?

Nee, er is geen relatie.

14. Zijn de validatierapporten en de oordelen van *Notified Bodies* over goedgekeurde testen beschikbaar?

De rapporten worden door de *Notified Body* vertrouwelijk behandeld. Op het moment dat deze rapporten openbaar worden, kan het immers zijn dat er concurrentiegevoelige informatie naar buiten komt. Wat wel openbaar is, zijn certificaten die worden afgegeven en verklaringen van overeenstemming met de wetgeving. Deze zijn opvraagbaar bij de fabrikant.

Conclusie en samenvatting

Belangrijkste conclusie is dat de Richtlijn IVD een leverancierswet is. Voor de laboratoriumspecialist is de Kwaliteitswet Zorginstellingen en de vigerende praktijk in de beroepsgroep belangrijker omdat daar eisen aan het omgaan met de test worden gesteld. Indien u zich dus niet als leverancier gedraagt, heeft u meer plezier dan last van het IVD-besluit. Leverancier wordt u niet als u uw laboratoriumfaciliteit aan anderen aanbiedt zonder commercieel doel. Leverancier wordt u wel als u een test(systeem) aan anderen aanbiedt ook al is het niet commercieel; gratis het protocol opsturen mag weer wel. CE-markering is geen alternatief voor validatie. Als laboratoriumspecialist blijft u verantwoordelijk voor uw eigen laboratoriumresultaten en de wijze waarop u die genereert.

Voor meer informatie over IVD, de richtlijn en daaraan verwante onderwerpen zoals normen en CE-markering, kunt u contact opnemen met mevrouw S. Lalout (tel.: 015 269 04 31, e-mail: saliha.lalout@nen.nl).

Pneumonie na bezoek aan een geitenboerderij

A. Weevers, R. Quax, M. van Rijn, A.A.A. Verheij, A. Dees

Samenvatting

Een 74-jarige vrouw werd opgenomen met een pneumonie. De anamnese vermeldde een recent bezoek aan een boerderij waar vroeggeboorte en doodgeboorte van lammeren veel voorkwam. Serologisch werd bij de patiënte een recente infectie met *Coxiella burnetii* (Q-koorts) vastgesteld.

Trefwoorden: Pneumonie, *Coxiella burnetii*, Q-koorts

Ziektegeschiedenis

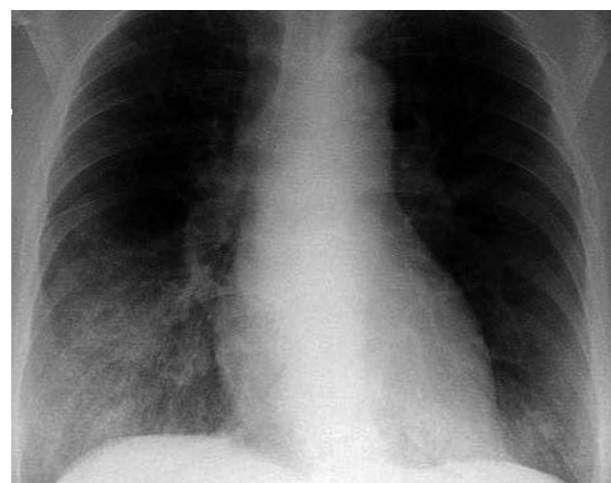
Patiënte A, een 74-jarige vrouw, werd verwezen in verband met klachten van algehele malaise en sinds een week koorts. Bij de beoordeling op de Spoedeisende Hulp maakte ze een zieke indruk. Zij had een temperatuur van 39 °C, koude rillingen en was toenemend kortademig geworden. Bij het hoesten werd wit sputum opgegeven. De mictie was niet pijnlijk; wel was de urine donker van kleur geweest. Enkele dagen tevoren had urineonderzoek thuis erythrocyturie laten zien. Onder verdenking van een urineweginfectie was gestart met amoxicilline-clavulaanzuur per os. Deze antibioticakuur was na vier dagen gestaakt. Er waren geen gastro-intestinale klachten. De voorgeschiedenis van de patiënte vermeldde een staaroperatie en een gynaecologische operatie in verband met cervixcarcinoom. Ze was niet bekend met allergieën. Ze gebruikte één tot twee eenheden alcohol per dag en rookte sinds vele jaren. Ze kon thuis alles nog goed aan en voelde zich goed tot de week voor de opname.

Bij lichamenlijk onderzoek werd een zieke, matig dyspnoïsche vrouw gezien. De bloeddruk bedroeg 106/62 bij een reguliere polsfrequentie van 97 slagen per minuut. De perifere zuurstofsaturatie bedroeg 100 procent. Over het hart werd een systolische soufflé gehoord, graad II/VI. Onderzoek van longen en abdomen leverde geen bijzonderheden op. Op de thoraxfoto werd geen duidelijk infiltraat herkend; de erythrocyturie werd niet meer waargenomen. Het laboratoriumonderzoek liet een bse van 76 mm/uur zien, het C-reactief proteïne (CRP) was 208 en in de leukocytdifferentiatie was sprake van een linksverschuiving met negen procent staven. Gezien eerdere klachten na amoxicilline-clavulaanzuur werd gestart met Co-Trimoxazol 2 dd 960 mg, na afname van bloed- en urinekweken. Nadat de patiënte aanvankelijk leek op te knappen, kreeg ze tijdens het gebruik van de antibiotica opnieuw koorts. Ze klaagde over kortademigheid en hoesten, overigens zonder

sputumproductie. Bij herhaald lichamenlijk onderzoek werd een matig zieke vrouw gezien. Er was geen gebruik van hulpademhalingspijpen. De bloeddruk bedroeg 110/70 met een polsfrequentie van 96 slagen per minuut. De saturatie was 96 procent. Over de longen werden nu rhonchi rechts basaal gehoord. Herhaald radiologisch onderzoek liet een bronchopneumonisch infiltraat zien in de rechteronderkwab (zie figuur 1).

Bij navraag bleek dat de patiënte, samen met haar man en zoon, twee weken eerder de geitenmelkhouderij van haar dochter en schoonzoon had bezocht. Daarna waren griepachtige klachten met spierpijnen en hoofdpijn ontstaan. Op de boerderij – met circa 500 geiten – waren recent problemen geweest. Er waren tien lammeren doodgeboren en een aantal lammeren was te vroeg geboren. De dienstdoende dierenarts had aan de geitenhouder gemeld dat hij aan Q-koorts dacht.

Figuur 1. De thoraxfoto van patiënt één dag na opname laat een versterkte longtekening zien die past bij een infiltratieve afwijking in de rechteronderkwab.



A. Weevers, R. Quax, dr. A. Dees, afdeling Inwendige Geneeskunde, Ikazia Ziekenhuis Rotterdam, A.A.A. Verheij, Huisartsenpraktijk De Rietvelden, J. de Baanlaan 86, 3201 KR Spijkenisse. Correspondentieadres: Dr. M. van Rijn, Laboratorium voor Medische Microbiologie en Infectieziekten, Ikazia Ziekenhuis Rotterdam, Postbus 5009, 3008 AA Rotterdam.

Serologisch onderzoek bevestigde een recente infectie met *C. burnetii*. De antibiotische therapie werd gewijzigd in doxycycline 200 mg dd per os en augmentin 4 dd 1,2 gram intraveneus. Daarna knapte de patiënte op en kon ze in goede conditie het ziekenhuis verlaten.

Naar aanleiding van de casus verrichtte de GGD contactonderzoek. De 44-jarige zoon van de patiënte, die de boerderij ook had bezocht, bleek vermoedingsklachten en spierpijn te hebben. Serologisch werd bij hem eveneens een recente infectie met *C. burnetii* vastgesteld. Hij werd eveneens behandeld met doxycycline. Ook bij de 74-jarige echtgenoot van de patiënte werd serologisch een infectie met *C. burnetii* aangetoond. Vanwege het ontbreken van klachten werd bij hem een expectatief beleid gevoerd.

Beschouwing

De patiënte maakte een pneumonie door als gevolg van besmetting met *C. burnetii*, een intracellulair groeiend pleiomorf Gram-negatief staafje. De incubatieperiode van Q-koorts is gemiddeld twee tot drie weken maar kan variëren van vier dagen tot zes weken. De naam Q-koorts is afkomstig van een ziekte-uitbraak in 1935 onder werknemers van een abattoir in Query, een plaatsje in Queensland (Australië).¹ Q-koorts is een zoönose. Verschillende dieren, waaronder runderen, schapen, geiten, maar ook huisdieren en vogels kunnen als reservoir fungeren als ze zijn geïnfecteerd met *C. burnetii*. Aangenomen wordt dat teken belangrijke vectoren zijn, omdat bij vele soorten *C. burnetii* is geïsoleerd.² Bij zwangere dieren treedt reactivatie van de bacterie op. De transmissie vindt met name plaats tijdens de partus van een geïnfecteerd dier. Placenta, vruchtwater, melk, feces en vaginaal secreet kunnen *C. burnetii* bevatten.

De humane infectie wordt meestal opgelopen door het inademen van gecontamineerde aerosolen; besmetting via het maag-darmstelsel of een huiddefect komt veel minder voor. De infectie wordt voornamelijk serologisch aangetoond. De ziekte moet worden gemeld; per jaar vinden ongeveer twintig meldingen plaats bij de GGD.⁴

De kliniek is meestal mild en aspecifiek van karakter. Bij een uitbraak in Zwitserland bleek de helft van 415 mensen die een seroconversie doormaakten, klachten te ontwikkelen en werd slechts twee procent van hen gehospitaliseerd.⁵ Hoewel de klachten vaak algemeen of griepachtig van aard zijn, kan acute Q-koorts ieder orgaansysteem aantasten. Dat laatste treedt opvallend genoeg vooral op bij patiënten met lichaamsvreemd materiaal als grafts en endoprothesen, maar ook bij patiënten met verminderde weerstand, klepafwijkingen en bij zwangeren. Hoewel de meest uiteenlopende beelden zijn beschreven, variërend van meningitis tot artralgieën, zijn pneumonie en hepatitis de meest voorkomende acute presentaties.^{1,2,6-9}

Soms treedt een chronische vorm van Q-koorts op, soms jaren na een acute ziekte of zonder voorafgaande ziekteverschijnselen. Bij de chronische presentatie is in 60 tot 70 procent van de gevallen sprake van endocarditis. De patiënt heeft meestal geen koorts en vegetaties zijn klein of afwezig. Zonder antibiotische therapie is Q-koorts endocarditis meestal letaal.

De relatie met de zwangerschap is belangrijk. Seropositiviteit zonder verschijnselen geeft in de graviditeit een driemaal hogere kans op doodgeboorte. Tijdens een zwangerschap kan Q-koorts bovendien recidiveren, waarbij het risico op vroeggeboorte, abortus of neonatale sterfte ook toeneemt.

Bij acute ziekte wordt doxycycline 2 dd 100 mg gedurende 10 tot 14 dagen aanbevolen.^{7,8} Antibiotische therapie verkort de duur van de koorts en versnelt het herstel van de pneumonie. Als sprake is van Q-koorts endocarditis wordt zeer langdurig behandeld. De mogelijke middelen zijn dan doxycycline en hydroxychloroquine 3 dd 200 mg. Het laatste middel verhoogt de pH-waarde in de fagolysosoom en daarmee de effectiviteit van doxycycline. Tijdens de zwangerschap is Co-Trimoxazol de aanbevolen behandeling. Bij eventuele volgende zwangerschappen is serologisch onderzoek geïndiceerd om een recidief aan te tonen. Na de bevalling wordt nog een jaar doxycycline en hydroxychloroquine gebruikt om recidief te voorkomen. *C. burnetii* en doxycycline worden beide uitgescheiden in moedermelk.⁹

Conclusie

Bij de diagnostiek van (onbegrepen) luchtweginfectie dient nadrukkelijk rekening te worden gehouden met de mogelijkheid van Q-koorts als anamnestic sprake is van recent bezoek aan een 'risicogebied', zoals een abattoir of een boerderij. Dit geldt zeker als de patiënt (mogelijk) zwanger of immuungecompromiteerd is.

Literatuur

- Maurin M, Raoult D. Q fever. Clin Microbiol Rev 1999 12(4):518-53.
- Fournier PE, Marrie TJ, Raoult D. Diagnosis of Q-fever. J Clin Microbiol 1998 Jul; 36(7):1823-34.
- Madariaga MG, Rezai K, Trenholme GM, et al. Q fever: a biological weapon in your backyard. Lancet Infect Dis 2003 Nov;3(11):709-21. Review.
- Gageldonk A, Koopmans M, Bosman A. Het vóórkomen van Q-koorts in Nederland. Infectieziekten Bulletin mei 2003:173-80.
- Dupuis G, Petite J, Peter O, Vouilloz M. An important outbreak of human Q fever in a Swiss Alpine valley. Int J Epidemiol 1987;16(2):282-7.
- Bernit E, Pouget J, Janbon F, et al. Neurological involvement in acute Q Fever: a report of 29 cases and review of the literature. Arch Intern Med 2002 Mar 25;162(6):693-700.
- Raoult D, Marrie TJ, Mege JL. Natural history and pathophysiology of Q fever. Lancet Infect Dis 2005 Apr;5(4):219-26. Review.
- Marrie TJ. Q fever pneumonia. Curr Opin Infect Dis 2004 Apr;17(2):137-42. Review.
- Parker NR, Berralet JH, Bell AM. Q fever. Lancet 2006 Feb 25; 367(9511):679-88.

NVAMM-symposium in februari 2007

Changing world, changing pathogens

Op donderdag 8 februari 2007 werd het 14^e symposium gehouden van de Nederlandse Vereniging voor Arts-Assistenten Medische Microbiologie (NVAMM). Het symposium, georganiseerd door de symposiumcommissie van deze vereniging, vond plaats in het gebouw van de Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen (KNAW) te Amsterdam.

Het thema van dit jaar was 'de veranderende pathogenen'. Door sterk toegenomen reisverkeer verspreiden ziekten zich sneller dan ooit; door een globale trend van temperatuurstijging kunnen tropische ziekten zich steeds verder uitbreiden en door de gigantische, wereldwijde antibioticaconsumptie worden bekende pathogenen steeds resistenter. Daarnaast zien we door de toename van immuungecompromiteerden, door hiv of door medicatie, de grenzen tussen pathogeen en niet-pathogeen steeds verder vervagen. Ook maken van oudsher dierlijke pathogenen door de intensieve veeteelt steeds vaker de overstap naar de mens. Dit artikel geeft een samenvatting van de voordrachten.

Trefwoorden: arts-assistenten, NVAMM, infectiologie

Dr. L.G. Visser (internist-infectioloog, Leids Universitair Medisch Centrum) opende het symposium met een boeiend verhaal over grenzeloze infecties. Door het groeiende internationale verkeer van mensen, dieren, voedsel en goederen neemt de kans op introductie en verspreiding van (nieuwe) micro-organismen en vectoren toe. Waar het in de 14^e eeuw meerdere jaren duurde voordat de builenpest zich van Zuid-Italië naar Engeland had verspreid, bestaat er tegenwoordig – door de omvang en snelheid van de commerciële luchtvaart – een voortdurende dreiging dat nieuw opduikende infectieziekten zich razendsnel over de wereld verspreiden. Het SARS-associated coronavirus is hiervan het eerste voorbeeld uit de 21ste eeuw. Socio-economische en culturele factoren kunnen de verspreiding van infectieziekten door reizigers versterken. Zo werd *Neisseria meningitidis* W135 in het land van herkomst geïntroduceerd door terugkerende pelgrims van de menselijke smeltkroes in Mekka, hetgeen talrijke gevallen van secundaire en soms blijvende transmissie opleverde. Uitgeroeide pathogenen, zoals het poliovirus in Canada en het mazelenvirus op het Amerikaanse continent,

worden door het internationale reisverkeer regelmatig gereïntroduceerd. Met de luchtvaart kunnen ook vectoren, zoals *Anopheles*- of *Aedes*-muggen, naar nieuwe permissieve gebieden worden vervoerd, met 'airport malaria of 'airport dengue' als gevolg. Recent werd ook in Nederland de *Aedes albopictus* gesignaleerd. Deze tijgermug, vector van onder andere het dengue- en chikungunyavirus, is als versteking meegereisd met *lucky bamboo*-scheuten uit Azië. Of de *Aedes albopictus* zich in de kwekerijen in Nederland blijvend kan vestigen, is niet bekend. De moderne reizende mens speelt een ecologische Russische roulette met nieuwe infectieziekten en een ongewisse toekomst als gevolg.

Dr. B. Cazelles (Centre National de la Recherche Scientifique, Ecole Normale Supérieure, Paris) vertelde hoe complexe en dynamische relaties tussen mensen, pathogenen en omgeving kunnen leiden tot het voorkomen van zowel oude als nieuwe ziekten. Gezien de maatschappelijke aandacht voor het broeikaseffect en de veranderingen in het klimaat hebben recente onderzoeken zich voornamelijk gericht op het voorkomen van infecties in relatie tot veranderingen in het klimaat, dat onder andere een belangrijke determinant kan zijn voor het voorkomen van *vector-borne diseases*. Geografische en seizoensgebonden infectieziekten worden vaak gedreven door klimatologische veranderingen. De identificatie en de relatieve bijdrage van klimatologische factoren blijven echter controverseel. Met behulp van *wavelet*-analyse is het mogelijk om niet-stationaire oscillaties in biologische systemen te onderzoeken. Deze computergestuurde biomedische analyse maakt het mogelijk om de invloed van veranderingen in biologische systemen op het voorkomen van onder andere infectieziekten objectief te interpreteren.

S. Paltansing, arts-assistent medische microbiologie, Leids Universitair Medisch Centrum, Leiden, E.M. Kraan, A.E. Budding, arts-assistenten medische microbiologie, VU medisch centrum te Amsterdam, J.J.C. de Vries, G. Mithoe, arts-assistenten medische microbiologie, Universitair Medisch Centrum Groningen. Correspondentieadres: mw. drs. S. Paltansing, arts-assistent medische microbiologie, Leids Universitair Medisch Centrum, afdeling Medische Microbiologie, Postzone E4-P, Postbus 9600, 2300 RC Leiden, e-mail: s.paltansing@lumc.nl.

Dr. F.P. Kroon (internist-infectioloog, Leids Universitair Medisch Centrum) hield een betoog over de veranderingen in de inzichten in pathogenen sinds de ontdekking van hiv. Door de hiv-epidemie zijn enkele micro-organismen meer in de belangstelling gekomen. De hiv-epidemie heeft grote invloed op de epidemie door tuberculose en het ontstaan van MDR-tuberculose. De meeste 'nieuwe' micro-organismen waren wel bekend bij andere immuungecompromiteerden maar worden door de omvang van de HIV-epidemie nu veel vaker gezien. De meest bekende voorbeelden van dit soort infecties zijn de *Pneumocystis jirovecii* en *Mycobacterium avium*. Ernstige infecties met *Rhodococcus*, *Microsporidia* en gedissemineerde infecties met *Bartonella* waren vóór de hiv-epidemie zeer zeldzaam. De ontdekking van HHV-8 komt door de grote belangstelling voor het door hiv epidemisch voorkomen van het kaposi-sarcoom. De hiv-epidemie heeft geleid tot een toegenomen inzicht in deze micro-organismen en de ziekten die zij veroorzaken. Ook patiënten met andere immuundeficiënties profiteren hier nu van. De hiv-epidemie heeft ook geleid tot veel wetenschappelijk onderzoek, deels direct gericht op hiv zelf maar met een belangrijke spin-off op het terrein van de immunologie, moleculaire biologie, resistentiemechanismen van virussen en de wijze van ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen.

Dr. M.A. van Agtmael (internist-infectioloog, VU medisch centrum, Amsterdam) hield een voordacht over infecties door het blokkeren van het cytokine TNF-alfa. Antitumornecrosefactor (TNF)-therapie blijkt een zeer effectieve therapie bij inflammatoire aandoeningen zoals reumatoïde artritis, de ziekte van Crohn en de ziekte van Bechterew. Met de groeiende lijst indicaties is er ook een toename van het aantal TNF-blokkers. Op dit moment zijn er al drie *biologicals* geregistreerd. Deze nieuwe immuunsuppressieve therapie veroorzaakt verhoogde gevoeligheid voor microbiële infecties. Er zijn weinig *evidence-based* richtlijnen over hoe daar in de dagelijkse praktijk mee om te gaan: in de literatuur zijn tot op heden onvoldoende gegevens aanwezig. Deels naar analogie van maatregelen bij andere situaties met immuundeficiëntie en deels op grond van hypothetische en theoretische overwegingen, kunnen er wel adviezen worden gegeven. Deze betreffen vooral de richtlijn met betrekking tot screening op tuberculose en op verhoogde infectiegevoeligheid voor de start van anti-TNF-therapie, aandacht voor verhoogde frequentie en ernstiger beloop van infecties in het algemeen, ongewone manifestaties van veel voorkomende infecties en het voorkomen van ongebruikelijke infecties tijdens deze therapie en adviezen ten aanzien van operaties en vaccinaties.

Prof. dr. J.E. Degener (arts-microbioloog, Universitair Medisch Centrum Groningen) Het *European Antimicrobial*

Resistance Surveillance System (EARSS) is een internationaal initiatief, dat financieel wordt ondersteund door het Directoraat Generaal voor Gezondheids- en Consumentenbescherming (DG Sanco) van de Europese Commissie en door het Nederlandse ministerie voor Volksgezondheid, Welzijn en Sport (VWS). Het doel van EARSS is 'een surveillance- en informatiesysteem in stand te houden voor het monitoren van de prevalentie en de verspreiding van belangrijke invasieve bacteriesoorten en de daaraan verbonden klinische en epidemiologisch relevante resistentieproblematiek in Europa'. EARSS kan dit bereiken door nationale informatienetwerken van bacteriologische laboratoria met elkaar te verbinden. Het coördinerende team van EARSS opereert vanuit het Centrum voor Infectieziekten Epidemiologie/Centrum Infectieziektebestrijding (CIE/Cib) van het RIVM. Van hieruit worden middelen beschikbaar gesteld om EU-lidstaten te kunnen laten meedoen aan het EARSS-programma en worden trainingen verzorgd voor nationale datamanagers. EARSS verzamelt routinematig verkregen gegevens van uit bloedcultures en liquor verkregen isolaten van de indicator pathogene species *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* en *Pseudomonas aeruginosa*. Van elke soort worden de resistentiegegevens verzameld. Voor bijzondere bepalingen is de laboratoriumwerkwijze volgens protocol afgesproken en regelmatig wordt een extern programma voor kwaliteitscontrole aangeboden. Op dit moment nemen ruim 900 laboratoria deel, verbonden aan 1400 ziekenhuizen in 32 Europese landen, waarvan enkele vrijwillige niet-lidstaten. De adherente populatie bestrijkt nu meer dan 100 miljoen Europeanen. Naast de tellergegevens van de bacteriestammen wordt een beperkt aantal noemergegevens verzameld die betrekking hebben op de patiënt, zoals leeftijd, geslacht, aard van het ziekenhuis en het soort afdeling waar de patiënt is opgenomen. Het enorme EARSS-databestand met gegevens vanaf 1999 geeft inzicht in de verspreiding van resistentie over geheel Europa. Behalve dat er zeer grote verschillen kunnen worden waargenomen tussen landen, zoals onder andere te zien is voor *S. aureus*, zijn ook veranderende trends zichtbaar. Verontrustend is de snelheid waarmee fluorochinolonongevoeligheid zich ontwikkelt bij *E. coli*. Vaak wordt gecombineerde resistentie gezien tegen vier verschillende antibioticaklassen, waaronder derdegeneratiecefalosporinen. Invasieve multiresistente *Klebsiella* is inmiddels een zeer ernstig probleem geworden in Oost- en Zuidoost-Europa. De EARSS-data laten zien dat dezelfde geografische gradiënt bestaat voor alle Gram-negatieve en Gram-positieve pathogenen en dat een lagere prevalentie van resistentie wordt gevonden in het noordwesten van Europa ten opzichte van een hogere ontwikkeling van resistentie richting Zuidoost-Europa.

Dr. H.R. van Doorn (AIOS Medische microbiologie, Academisch Medisch Centrum, Amsterdam) hield een voordracht over de opkomst en bestrijding van resistentie bij *Mycobacterium tuberculosis*. De euforie rondom de ontwikkeling van het eerste werkzame tuberculostatium lukte snel door het vrijwel gelijktijdige ontstaan van therapiefalen en resistentie. Wat de praktijk in de eerste jaren al liet zien blijkt decennia later ook uit de theorie, wanneer de resistentiemechanismen ontrafeld worden. De combinatie van een hoge bacteriële *load* bij tuberculose en het feit dat resistentie tegen de meeste middelen door een enkele puntmutatie kan worden veroorzaakt, leidt via een eenvoudig rekensommetje tot de conclusie dat mono- of zelfs duotherapie voor tuberculose sterk is af te raden.

Tuberculose dient dan ook te worden behandeld met minimaal drie werkzame middelen voor twee maanden, gevolgd door de twee sterkste middelen voor nog vier maanden. Het niet goed volgen van dit regime door niet goed voorschrijven, *non-compliance*, het niet voldoende beschikbaar zijn van de medicijnen of door al aanwezige resistentie, kan tot de vorming van (nog meer) resistentie leiden. Met deze strategie is tuberculose in de jaren '60-'70 in de westerse landen al goed onder controle gebracht. In ontwikkelingslanden, waar tuberculose mede door de hoge hiv-prevalentie een veel groter probleem is, ondervangt de *World Health Organization* (WHO) een aantal van deze risicofactoren door *Directly Observed Therapy* (DOTS)-programma's toe te passen, waarbij patiënten dagelijks onder toezicht hun medicijnen innemen. Deze programma's zijn bijzonder succesvol.

Ondanks deze successen zijn er landen waar de resistentiepercentages schrikbarend hoog zijn en is multiresistente tuberculose (MDR-TB) een toenemend probleem waar de westerse wereld ook af en toe mee te maken krijgt. Uit voormalige Sovjetrepublieken en Zuid-Afrika komen berichten over vrijwel onbehandelbare, extreem resistente tuberculose (XDR-TB). Aan de andere kant zijn de afgelopen jaren sinds lange tijd ook weer een aantal veelbelovende nieuwe middelen tegen tuberculose ontdekt, die momenteel worden getest.

Prof. dr. M.J.M. Bonten (internist-infectioloog, Universitair Medisch Centrum Utrecht) was gevraagd een overzicht te geven van de laatste ontwikkelingen omtrent CC-17, een nieuwe subspecies van *Enterococcus faecium*. Deze bacterie is jarenlang beschouwd als een relatief avirulente bacterie. De mondiale epidemiologie van *E. faecium* veranderde in de jaren '90 van de vorige eeuw met een snelle toename van vancomycineresistente *E. faecium* (VREfm) in Amerikaanse ziekenhuizen. Op hetzelfde moment bleek er in Europa wijdverspreid intestinaal dragerschap van VRE bij gezonde mensen, echter zonder noemenswaardige VRE-problemen in ziekenhuizen. Dragerschap bij gezonde mensen werd in de Verenigde Staten niet aangetroffen. Er was dus

sprake van een opvallende epidemiologische paradox. Moleculair epidemiologisch onderzoek heeft aangetoond dat de mondiale epidemie van VREfm de verspreiding is van een specifieke clonaal complex (CC), benoemd als CC-17. Inmiddels is verspreiding van CC-17 (als VREfm) in ziekenhuizen in vijf continenten aangetoond. We weten nu dat CC-17 in Europa niet bij gezonde mensen en dieren voorkomt en krijgen een idee van de karakteristieken van deze nieuw ontdekte subspecies. In Nederlandse ziekenhuizen is er sprake van een explosieve toename van CC-17 *E. faecium* (vancomycinegevoelig, maar ampicilline-resistent). Endemiciteit met deze CC-17 in Nederlandse ziekenhuizen vergroot de kans op endemiciteit met VREfm in de toekomst.

Dr. H.L. Zaaijer (arts-microbioloog, Academisch Medisch Centrum, Amsterdam) hield een voordracht over de herkomst van nieuwe virussen. De hiv-pandemie, de uitbraak van SARS en de dreiging van influenza-H5N1 suggereren dat het opduiken van nieuwe virusinfecties bij de mens geen zeldzame gebeurtenis is. Moeten wij continu voorbereid zijn op nieuwe verrassingen?

SARS-CoV, hiv en pandemische influenza zijn van dierlijke herkomst; inzicht in het samenspel tussen dieren, virussen en mensen is nuttig. Relevant is het onderscheid tussen infecties waarbij het virus van mens op mens gaat en de zoönosen, waarbij de mens een dierlijk virus oploopt. Muggen, teken en knaagdieren zijn de bron van endemische zoönosen (Dengue, West Nile virus (WNV), TBE, enzovoort). Het gaat hierbij om verwaalde infecties door enkele honderden verschillende RNA-virussen, waarbij de mens meestal geen rol speelt bij verdere transmissie van het virus. Sporadische zoönosen zijn vaak 'oud nieuws'; onlangs stierf bijvoorbeeld voor het eerst sinds 1902 een Brit aan inheemse hondsdolheid. Regelmatig duiken echter nieuwe zoönosen op (hiv, H5N1, SARS-CoV, Hendra en Nipah virus). Hiv en SARS-CoV leidden tot een calamiteit, omdat na sporadische transmissie (vanuit chimpansee respectievelijk vleermuis?) wel efficiënte transmissie van mens op mens optrad.

Verreweg de meeste humane DNA-virusinfecties zijn geen zoönosen. Humane DNA-virussen zijn wellicht met ons meegeëvolueerd: "Lucy (*Australopithecus afarensis*) had al herpes labialis". Mee-evoluerende virussen zijn zo afhankelijk van hun specifieke gastheer dat een nieuwe virusziekte vanuit deze hoek onwaarschijnlijk is. Niet alle DNA-virussen zijn sterk soortgebonden. Parvovirussen lijken onafhankelijk van hun gastheren te evolueren; 'sprongen' naar een nieuwe gastheer traden waarschijnlijk op. De handvol zoönotische DNA-virusinfecties loopt de mens op via nauw verwante diersoorten, niet via muggen en teken.

De humane virusinfecties lijken van tweeërlei herkomst: co-evolutie van oude DNA-virussen en jonge zoönotische

RNA-virussen. Het feit dat juist RNA-virussen betrokken zijn bij het ontstaan van nieuwe humane virusinfecties is geen toeval, namelijk:

- in vergelijking met DNA-virussen vermenigvuldigen RNA-virussen hun genoom op slordige wijze, wat snelle aanpassing aan de mens als nieuwe gastheer mogelijk maakt;
- verschillende RNA-virussoorten bezitten een gesegmenteerd genoom, wat *reassortment* mogelijk maakt;
- veel RNA-virussen gebruiken muggen en teken als vector, waardoor zij efficiënt bij nieuwe potentiële gastheren, zoals de mens, kunnen belanden.

De flexibiliteit van RNA-virussen en het onvermijdelijke contact tussen mensen en dieren maken het opduiken van nieuwe virusziekten bij de mens tot een normaal verschijnsel. De beste voorbereiding op nieuwe virusziekten is het organiseren van een goede volksgezondheidszorg op mondiale schaal.

Prof. dr. J.A.J.W. Kluytmans (arts-microbioloog, Amphia Ziekenhuis, Breda en VU medisch centrum, Amsterdam) Methicillineresistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) dook op binnen een jaar na de introductie van methicilline in 1960. Deze bacterie is in de laatste decennia endemisch geworden in ziekenhuizen over de gehele wereld. Tot dusver werd deze traditioneel beschouwd als een nosocomiaal pathogeen. De laatste jaren wordt in de literatuur echter steeds meer geschreven over MRSA bij patiënten die geen contact hebben (gehad) met gezondheidsinstellingen.

Ook het aantal artikelen over het voorkomen van de zogenaamde community-onset MRSA (CO-MRSA) neemt snel toe. CO-MRSA is meestal geassocieerd met de aanwezigheid van het Pantone-Valentine Leucocidine (PVL)-toxine en de SCCmec-typen IV en V.

De prevalentie van MRSA in Nederland is de laagste van Europa. Om dit te kunnen handhaven is in heel Nederland een actieve 'screening- en isolatiestrategie' geïmplementeerd.

In 2004 en 2005 werd onverwacht MRSA ontdekt bij patiënten die niet hadden gereisd of opgenomen waren geweest in een buitenlands ziekenhuis. Twee van de drie patiënten woonden op een varkensboerderij en de derde patiënt was de zoon van een dierenarts, die frequent met varkens in aanraking kwam. Genotypering, die werd uitgevoerd door het RIVM, toonde aan dat de MRSA-isolaten niet getypeerd konden worden met *Pulsed Field Gel Electrophoresis* (PFGE) en dat er geen PVL-genen aanwezig waren. Spa-typering toonde aan dat de isolaten behoorden tot het type (t108). Een klein prevalentieonderzoek onder boeren wees uit dat 6 van de 26 boeren (23 procent) neusdragers van MRSA waren. Ook deze isolaten waren alle niet typeerbaar en behoorden tot de drie gerelateerde spa-typen (t108, t567 en t943). Vervolgens werd bij een

onderzoek onder varkens een groot aantal dragers van NT-MRSA (circa 40 procent) gevonden. De epidemiologie van NT-MRSA in Nederland werd verder geanalyseerd, gebaseerd op de nationale database; er werd ook een casecontrolonderzoek uitgevoerd. De eerste NT-MRSA-isolaten werden gevonden in 2003 en in 2006; meer dan vijf procent van alle nieuwe MRSA-gevallen was niet typeerbaar. Het voorkomen van NT-MRSA is geografisch geclusterd onder varkensboerderijen, terwijl typeerbare MRSA meer voorkomt in een humane, dichtbevolkte populatie. In het casecontrolonderzoek waren cases en controlegroepen (controles) gedefinieerd, waarbij cases werden beschouwd als dragers van NT-MRSA en controlegroepen als dragers van typeerbare MRSA. Cases leefden vaker op het platteland en waren vaker varkenshouder, in vergelijking met controles. Moleculaire typering liet zien dat alle cases (op één na) behoorden tot het clonale complex 398. Geen van de controles behoorde tot deze groep. Hetzelfde clonale complex werd gevonden bij de MRSA die bij varkens was geïsoleerd. Voor het eerst is een dierlijk reservoir van MRSA beschreven dat de overstap heeft gemaakt naar de mens.

Prof. dr. A.D.M.E. Osterhaus (viroloog, Erasmus MC, Rotterdam) hield als laatste spreker van het symposium een voordracht over aviaire influenza. Tijdens de uitbraken van vogelpest in China en Hongkong in 1997 werden voor het eerst gevallen gerapporteerd van infecties bij mensen met aviaire influenza-A-virussen van het H5N1-subtype. Van de 18 bekende gevallen overleden destijds zes patiënten. Na de uitbraken van 1997 waren er nieuwe uitbraken in 2001 en 2002/2003, en waren er twee nieuwe slachtoffers te betreuren. Het ruimen van geïnfecteerde dieren in Hongkong heeft uiteindelijk geleid tot stopzetting van verdere verspreiding en optreden van nieuwe humane gevallen. Sinds december 2003 hebben influenzavirussen van het H5N1-subtype echter opnieuw uitbraken veroorzaakt van vogelpest in een groot aantal Aziatische buurlanden en werden opnieuw vogel-menstransmissies waargenomen. Vanuit Vietnam, Thailand, Cambodja en Indonesië werden in totaal 121 bevestigde humane gevallen van infecties met influenza-A/H5N1-virussen gerapporteerd. Van deze 121 geïnfecteerde individuen zijn er 62 overleden. Deze gebeurtenissen en de verdere verspreiding van hoogpathogene influenza-A-virussen is zorgwekkend met het oog op de dreiging van nieuwe uitbraken van vogelpest onder pluimvee en het risico op het ontstaan van nieuwe pandemische influenzavirussen.

Aanvankelijk leek de verspreiding van hoogpathogene influenza-A-virussen van het H5N1-subtype zich te beperken tot landen in Zuidoost-Azië. Vanaf mei 2005 werd het verspreidingsgebied echter uitgebreid en werden ook geïnfecteerde trekvogels, zoals ganzen, waargenomen in het Qinghai Hu-meer in China. In augustus 2005 werden

H5N1-uitbraken gerapporteerd in Mongolië, Kazachstan en in het gebied van Rusland ten oosten van de Oeral. Meer recentelijk werden influenza-A/H5N1-uitbraken gemeld onder kalkoenen in Turkije, eenden in Roemenië en wilde zwanen in Kroatië. Het is zeer waarschijnlijk dat wilde vogels verantwoordelijk zijn voor de recente verspreiding van influenza-H5N1-virussen. De mogelijkheid bestaat dat het verspreidingsgebied van H5N1-virussen verder zal toenemen. Wilde trekvogels, met verschillende trekroutes, kunnen in de wintermaanden met elkaar in contact komen in Afrikaanse landen en het Midden-Oosten of tijdens de zomermaanden in meer noordelijke gelegen regio's en zo het virus aan elkaar overdragen. Er bestaat dus een kans dat de vogels die in het voorjaar vanuit het zuiden op Nederland aanvliegen, in contact zijn geweest met geïnfecteerde vogels die een meer oostelijke route volgen. Het ophokken van pluimvee lijkt dan ook een zinvolle maatregel om het contact tussen pluimvee en wilde watervogels zoveel mogelijk te beperken.

Naast de overdracht van influenzavirussen van pluimvee naar de mens, werden ook infecties gerapporteerd bij verschillende soorten katten, waaronder tijgers. In de meeste gevallen was bekend dat de dieren werden gevoerd met kadavers van kippen die geïnfecteerd waren met influenza-A/H5N1-virus. Tevens werd vastgesteld dat er horizontale transmissie plaatsvond van kat naar kat. Dit werd met name duidelijk in een tijgeropvangcentrum in Thailand waar 147 van de 441 tijgers overleden of moesten worden geëuthanaseerd als gevolg van het voeren van geïnfecteerde kippenkadavers.

Om de pathogenese en de potentiële kat-naar-kattransmissie beter te begrijpen en te bevestigen zijn katten experimenteel geïnfecteerd met een influenzavirus van het H5N1-subtype. Het bleek dat katten zeer gevoelig waren voor infectie en dat niet-geïnfecteerde katten (sentinel) die in dezelfde ruimte werden geplaatst als de katten die twee dagen eerder experimenteel waren geïnfecteerd, ook geïnfecteerd raakten. De infecties veroorzaakten een ernstige necrotiserende pneumonie en koorts. Bovendien kon virusreproductie worden vastgesteld met behulp van virusisolaties en immunohistochemie in verschillende organen, zoals de lever, de nieren, het hart, de hersenen en de plexi van de dunne darm. Virusreproductie in de respectievelijke organen was geassocieerd met het optreden van lokale ontstekingsreacties en laesies. Verder werd het virus niet alleen uitgescheiden vanuit de luchtwegen, maar werd het ook in de feces van geïnfecteerde dieren aangetroffen, wat een nog niet erkende bron voor nieuwe infecties zou betekenen. De constatering dat de influenza-A/H5N1-virussen die momenteel in Azië circuleren, kunnen repliceren in katten heeft een aantal implicaties. In de eerste plaats lopen katten tijdens H5N1-virusuitbraken het risico ziek te worden en te sterven. Verder zouden katten een rol kunnen spelen bij de verspreiding van het virus tussen boerderijen en mogelijk van pluimvee naar de mens. Tot slot zou de infectie van katten het virus de gelegenheid kunnen bieden om zich aan zoogdieren aan te passen en op die manier het risico op een humane influenzapandemie verhogen.

Merial Award voor Parasitologie voor baanbrekend onderzoek naar slaapziekte

Op 16 april 2007 ontving dr. Stefan Magez (rechts) van de Vrije Universiteit Brussel de Merial Award 2007 uit handen van prof. dr. Robert Sauerwein (midden), voorzitter van de Nederlandse Vereniging voor Parasitologie en drs. Erik Pieke (links) van Merial. Hij ontving deze prijs voor zijn baanbrekend onderzoek naar slaapziekte, trypanosomiasis. De Merial Award, die bestaat uit een oorkonde en een bedrag van € 2.500,- is een competitieve prijs voor jonge onderzoekers in de medische of veterinaire parasitologie, die werkzaam zijn in de Benelux.

Het onderzoek van Stefan Magez betreft de belangrijke rol van tumornecrosefactor-alfa (TNF-alfa) in de pathogenese van trypanosomiasis, een ernstige infectieziekte voor vee en mensen in Afrika. Zijn onderzoek heeft aan het licht gebracht dat overproductie van TNF-alfa in het lichaam wordt gestimuleerd door de parasiet, en ernstige bloedarmoede en gewichtsverlies veroorzaakt. Gerichte interventies op overproductie van TNF-alfa leveren bij muizen veelbelovende onderzoeksresultaten op, en daarmee nieuwe mogelijkheden om deze infectie te bestrijden.

Prijsuitreiking op 16 april 2007. Stefan Magez (rechts) ontvangt de prijs uit handen van Robert Sauerwein (midden), voorzitter van de Nederlandse Vereniging voor Parasitologie, en Erik Pieke van Merial (links).



Slaapziekte

Slaapziekte komt vooral voor in sub-Sahara Afrika, zowel bij mensen als bij vee. Jaarlijks sterven duizenden mensen aan deze ziekte. Het overlijden van landbouwdieren leidt in de getroffen landen tot een economisch verlies van meer dan één miljard euro. Vaccinatie tegen trypanosoma, de parasiet die slaapziekte veroorzaakt, is helemaal niet efficiënt. Het enige geneesmiddel dat op dit moment in alle infectiestadia werkt, is gebaseerd op arsenicum, dat ernstige bijwerkingen heeft en op zich dodelijk kan zijn. Daarom zochten Stefan Magez en zijn collega's naar een mogelijk alternatief geneesmiddel.

Een belangrijke rol voor TNF

Al sinds 1992 richt deze Vlaamse onderzoeker zijn aandacht op de rol van TNF (tumornecrosefactor) bij slaapziekte. Ons lichaam maakt TNF aan als bescherming tegen tal van micro-organismen. Ongeveer twintig jaar geleden ontdekte men dat dieren die waren besmet met Afrikaanse trypanosomen, veel te veel TNF aanmaakten. Stefan Magez toonde met zijn onderzoek aan dat een trypanosoma-infectie het immuunsysteem aanzet tot de productie van TNF om de parasiet uit het lichaam te verwijderen, maar dat dit blijktbaar in te grote mate gebeurt. De overproductie van TNF leidt tot symptomen zoals bloedarmoede en extreem gewichtsverlies, die de dood tot gevolg kunnen hebben.

Op zoek naar een vaccin

Deze resultaten brachten Stefan Magez en zijn collega's op het idee de overdreven TNF-productie te verhinderen. Hiervoor ontwierpen ze vaccins die zich richten tegen de componenten van trypanosoma die de TNF-productie induceren. De eerste resultaten bij muizen zijn zeer beloftevol en de Brusselse onderzoekers zullen het middel dit jaar nog uittesten in Kenia, waar de ziekte vooral bij vee voorkomt.

Innovatief onderzoek in de Benelux belonen

De Merial Award, die naar een medisch of veterinair parasitoloog gaat, wordt jaarlijks toegekend aan een gepromoveerd onderzoeker uit de Benelux die belangwekkend en innovatief werk heeft verricht. De prijs is dit jaar voor de tiende maal uitgereikt. Merial, de Nederlandse Vereniging voor Parasitologie en de Belgische Parasitologievereniging reiken deze prijs uit.

Financiering

Om te komen tot de huidige resultaten was veel internationale samenwerking nodig, met de financiële steun van verschillende instanties en organisaties. Stefan Magez was de afgelopen negen jaar een postdoctoraal onderzoeker van het Fonds voor Wetenschappelijk Onderzoek Vlaanderen (FWO). Het laboratorium voor Cellulaire en Moleculaire Immunologie van de Vrije Universiteit Brussel (VUB), waar het grootste deel van het bekroonde onderzoek werd uitgevoerd, maakt deel uit van het Vlaams Instituut voor Biotechnologie (VIB). Een deel van het werk werd uitgevoerd aan de Universiteit van Kaapstad, in de vorm van een bilateraal samenwerkingsakkoord tussen Vlaanderen en Zuid-Afrika. Momenteel wordt het vaccinatieprogramma gefinancierd door de Europese Unie (FP6).

Meer informatie

Voor meer informatie kunt u contact opnemen met de communicatiedienst van VIB, met de betrokken wetenschapper of met de voorzitter van de Nederlandse Vereniging voor de Parasitologie:
VIB, Communicatie: tel.: +32 9 244 66 11
Stefan Magez: tel.: +32 2 629 19 76
Robert Sauerwein: tel.: +31 24 361 05 77

Stefan Magez is hoofd van de afdeling Immunoparasitologie in het VIB-departement Moleculaire en Cellulaire Interacties, Vrije Universiteit Brussel, onder de directie van Lode Wyns

Website www.vib.be/Research/EN/Research+Departments/Department+of+Molecular+and+Cellular+Interactions/Stefan+Magez

PERSONALIA

Nieuwe leden

- Mw. A.A. Argilagos Alvarez, Deken Maeslaan 3, 4841 VR Prinsenbeek.
- J.W.T. Cohen, Churchilllaan 135, 1078 DR Amsterdam.
- Dr. R.H.C.A. Deurenberg, academisch ziekenhuis Maastricht, afdeling Medische Microbiologie, Postbus 5800, 6202 AZ Maastricht.
- Mw. S.D. Diepstraten-Pas, Erasmus MC, afdeling Virologie, Postbus 2040, 3000 CA Rotterdam.
- J.M. van Dijk, St. Helenahof 24, 9617 EJ Harkstede.
- Mw. dr. M.M. Gerrits, Solingenstraat 4, 2804 XT Gouda.
- Mw. A.M.D. Kooistra-Smid, Laboratorium voor Infectieziekten, afdeling Research & Development, Van Ketwich Verschuurlaan 92, 9721 SW Groningen.
- Mw. R. van Mansfeld, Ferdinand Bolstraat 166-1, 1072 LT Amsterdam.

- R. Molenkamp, AMC, afdeling Medische Microbiologie, sectie Klinische Virologie, Meibergdreef 15, 1105 AZ Amsterdam.
- J.L.A.N. Murk, VUmc, afdeling Medische Microbiologie en Infectiepreventie, Postbus 7057, 1007 MB Amsterdam.
- Mw. M.A. Schreijer, Bio-Rad Laboratories BV, Fokkerstraat 2-8, 3905 KV Veenendaal.
- Mw. E.W.A. Spoelder, Compagnon Science, Newtonlaan 115, 3584 BH Utrecht.
- J. Stoof, Lt. Maltbystraat 71, 3621 KP Breukelen.
- Mw. S.J.C. Verhaegh, Erasmus MC, afdeling Medische Microbiologie & Infectieziekten, 's-Gravendijkwal 230, 3015 CE Rotterdam.

Adreswijziging

- Dr. C.W. Ang, AMC, afdeling Medische Microbiologie, Meibergdreef 9, 1105 AZ Amsterdam (voorheen Erasmus MC te Rotterdam)

PROMOTIES

10 november 2006 – M. Kwaijtaal

Proefschrift: Inflammation, exhaustion and coronary artery disease. Modifiable psychological pathways.
Promotores: prof. dr. A.P.W.M. Appels, prof. dr. C.A. Bruggeman. Co-promotores: dr. R. van Diest, dr. A.J. van der Ven. Universiteit Maastricht, afdeling Neuropsychologie, afdeling Medische Microbiologie.

14 december 2006 – drs. E. Wessels

Proefschrift: Inhibition to ER-to-Golgi transport by the coxsackievirus 3A protein; Biological significance, underlying mechanism and structure-function relationship of 3A.
Promotor: prof. dr. J.M.D. Galama. Co-promotores: dr. F.J.M. van Kuppeveld, dr. W.J.G. Melchers. UMC St Radboud Nijmegen, afdeling Medische Microbiologie.

22 december 2006 – V.J. Munster

Proefschrift: Ecology, evolution and pathogenesis of avian influenza viruses.
Promotor: prof. dr. A.D.M.E. Osterhaus. Co-promotor: prof. dr. R.A.M. Fouchier, Erasmus MC, afdeling Virologie.

22 december 2006 – E. de Wit

Proefschrift: Molecular determinants of influenza A virus replication and pathogenesis.
Promotor: prof. dr. A.D.M.E. Osterhaus. Co-promotor: prof. dr. R.A.M. Fouchier. Erasmus MC, afdeling Virologie.

11 januari 2007 – M. Weisfelt

Proefschrift: Pneumococcal meningitis in adults.
Promotor: prof. dr. M. Vermeulen. Co-promotor: dr. J. de Gans. Universiteit van Amsterdam, AMC, afdeling Neurologie.

12 januari 2007 – G. Sonder

Proefschrift: Public Health programs for the prevention of infectious diseases, do they work?
Promotor: prof. dr. R.A. Coutinho. Co-promotor: dr. J.A.R. van den Hoek. Universiteit van Amsterdam, AMC.

19 januari 2007 – A. van der Bij

Proefschrift: Epidemiology of re-emerging sexually transmitted infections.
Promotor: prof. dr. R.A. Coutinho. Co-promotor: dr. N.H.T.M. Dukers. Universiteit van Amsterdam, AMC.

23 januari 2007 – X. Zhou

Proefschrift: Optimization of the conditional-live HIV-1 vaccine strain.
Promotor: prof. dr. B. Berkhout. Co-promotor: dr. A.T. Das. Universiteit van Amsterdam, AMC, afdeling Virologie.

25 januari 2007 – M. Casula

Proefschrift: Mitochondrial toxicity of HIV-1 infection and its treatment.
Promotores: prof. dr. P. Reiss, prof. dr. J.M.A. Lange. Co-promotores: dr. A. de Ronde, dr. F.W.N.M. Wit. Universiteit van Amsterdam, AMC, afdeling Inwendige Geneeskunde.

1 februari 2007 – S. Zeerleder

Proefschrift: Studies on inflammatory and coagulation pathways in humans with sepsis.
Promotores: prof. dr. C.E. Hack, prof. dr. W.A. Willemin. Universiteit van Amsterdam, AMC, Sanquin Research, University Bern, Central Laboratory of Hematology, Switzerland.

22 februari 2007 – Nashwan al Naiemi

Proefschrift: Extended-spectrum beta-lactamases. Detection and epidemiology.
Promotor: prof. dr. C.M. Vandenbroucke-Grauls. Co-promotores: dr. A. Bart, dr. B. Duim. VUmc, afdeling Medische Microbiologie.

28 februari 2007 – E.G.M. Berkhoff

Proefschrift: Evasion of influenza A viruses from human T-cell immunity.
Promotor: prof. dr. A.D.M.E. Osterhaus. Co-promotor: dr. G.F. Rimmelzwaan, Erasmus MC, afdeling Virologie.

2 maart 2007 – K.W.R. van Cleef

Proefschrift: Molecular biology of rat cytomegalovirus: genome-wide transcriptional program and molecular mimicry.
Promotor: prof. dr. C.A. Bruggeman. Co-promotor: dr. C. Vink. Universiteit Maastricht, capaciteitsgroep Medische Microbiologie.

9 maart 2007 – M. Naarding

Proefschrift: Inhibition of mother to child transmission of HIV-1 during breastfeeding.
Promotor: prof. dr. B. Berkhout. Co-promotor: dr. W.A. Paxton, Universiteit van Amsterdam, AMC, afdeling Virologie.

15 maart 2007 – J.G. Arts

Proefschrift: Assembly of the *Pseudomonas aeruginosa* type II secretion system.
Promotor: prof. dr. J.P.M. Tommassen. Co-promotor: dr. M.C. Koster. Universitair Medisch Centrum Utrecht, Faculteit Bètawetenschappen, departement Biologie, afdeling Microbiologie.

15 maart 2007 – A. Levin

Proefschrift: Differentiation in colonies of *Aspergillus niger*.
Promotor: prof. dr. H.A.B. Wösten. Co-promotor: dr. R.P. de Vries. Universitair Medisch Centrum Utrecht, Faculteit Bètawetenschappen, departement Biologie, afdeling Microbiologie.

22 maart 2007 – E. Heddem

Proefschrift: Molecular tools for detection and typing of *Chlamydomonas psittaci*.
Promotor: prof. dr. C.M.J.E. Vandenbroucke-Grauls. Co-promotores: dr. Y. Pannekoek, dr. C.E. Visser. Universiteit van Amsterdam, AMC, afdeling Medische Microbiologie.

23 maart 2007 – O. ten Brake

Proefschrift: Development of an RNAi based gene therapy against HIV-1.
Promotor: prof. dr. B. Berkhout. Universiteit van Amsterdam, AMC, afdeling Virologie.

23 maart 2007 – E.D. Quakkelaar

Proefschrift: Antibody neutralization of HIV-1.
Promotor: prof. dr. H. Schuitemaker. Universiteit van Amsterdam, AMC, afdeling Klinische Viro-immunologie, Sanquin.

28 maart 2007 – P.C.R. Godschalk

Proefschrift: *Campylobacter jejuni* and the Guillain-Barré Syndrome: the role of bacterial genetic polymorphisms.
Promotor: prof. dr. A. van Belkum. Co-promotor: dr. H.Ph. Endtz. Erasmus MC, afdeling Medische Microbiologie & Infectieziekten.

30 maart 2007 – M. van der Kolk

Proefschrift: Laboratory assays for the detection of malaria transmission reducing activity.
Promotor: prof. dr. R.W. Sauerwein. Co-promotor: dr. S.J. de Vlas. UMC St Radboud Nijmegen, afdeling Medische Microbiologie.

3 april 2007 – D. Flierman

Proefschrift: Cytomegalovirus-induced destruction of MHC class I molecules provides insight into ER-associated protein degradation.
Promotor: prof. dr. J.P.M. Rottier. Co-promotores: dr. T.A. Rapoport, prof. dr. V. Chau. Universiteit van Utrecht, Faculteit Diergeneeskunde, departement Infectieziekten en Immunologie, afdeling Virologie.

10 april 2007 – C. Smit

Proefschrift: 25 years of HIV: trends in mortality, HIV coinfections, and HIV-related risk behaviour.
Promotor: prof. dr. R.A. Coutinho. Co-promotor: dr. M. Prins. Universiteit van Amsterdam, AMC.

19 april 2007 – J.J.G. Geurtsen

Proefschrift: Improving pertussis vaccines by lipopolysaccharide engineering.
Promotor: prof. dr. J.P.M. Tommassen. Co-promotor: dr. P.A. van der Ley, Universiteit van Utrecht, Faculteit Bètawetenschappen, departement Biologie, afdeling Microbiologie.

19 juni 2007 – F.G. Terpstra

Proefschrift: Viral safety of blood and plasma products.
Promotor: prof. dr. H. Schuitemaker. Co-promotores: A.B. van 't Wout, J. Over, Universiteit van Amsterdam, Faculteit Geneeskunde, Sanquin Research, Landsteiner Laboratorium van het AMC.

ORATIES

15 maart 2007 – Prof. dr. J.A.J.W. Kluytmans

Ziekenhuisinfecties: Je gaat het pas zien als je het door hebt.
Hoogleraar Medische Microbiologie en Infectiepreventie, i.h.b. epidemiologie van ziekenhuisinfecties.
VUmc, Amsterdam.

30 maart 2007 – Prof. dr. K. Brinkman

Levenslang HIV: een leven lang.
Hoogleraar Inwendige Geneeskunde, i.h.b. 'de kwaliteit van de HIV-zorg'.
Universiteit van Amsterdam, Amsterdam.

AGENDA

2 – 5 SEPTEMBER 2007

14th 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

3rd European Congress of Virology
Neurenberg, Duitsland.
Informatie: J. Schirm, Streeklaboratorium Volksgezondheid, Postbus 30039, 9700 RM Groningen, tel.: 050 521 51 60, <http://www.escv.org/>

10 SEPTEMBER 2007

4^e Gezamenlijke Bijeenkomst van de Werkgroepen Oost-West
St. Antonius Ziekenhuis, Nieuwegein. Aanvang 14.00 uur.
Informatie: J.A. Kaan, tel.: 030 256 67 48, L.C. Smeets, tel.: 015 260 45 84.

17 – 20 SEPTEMBER 2007

47th 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

5th European Meeting on Molecular Diagnostics
Kurhaus, Scheveningen.
Informatie: tel.: 035 542 93 33, e-mail: info@molecularmeeting.com, www.molecularmeeting.com

28 – 31 OKTOBER 2007

3rd Trends in Medical Mycology
Turijn, Italië.
Informatie: Congress Care, Secretariaat TIMM 2007, Postbus 440, 5201 AK Den Bosch, info@congresscare.com, <http://www.timm2007.org>

8 – 9 NOVEMBER 2007

NVIC Infectiecongres
Reehorst, Ede.
Informatie: Organisatie- en congresbureau InterActie, Ede. E-mail: info@interactie.org, <http://www.interactie.org>

15 – 18 NOVEMBER 2007

5th World Congress of the World Society for Pediatric Infectious Diseases – WSPID
Bangkok, Thailand.
Informatie: tel.: +41 22 908 0488, e-mail: Wspid@kenes.com, m.hoogkamp@xs4all.nl. www.kenes.com/wspid, www.wspid.com

3 DECEMBER 2007

318^e Bijeenkomst van de Werkgroep Oost, medische microbiologie
Huize Heyendaal, Nijmegen. Aanvang 14.30 uur.
Informatie: J.A. Kaan, 030-256 67 48.

RICHTLIJNEN VOOR AUTEURS

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

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

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

Door het inzenden van kopij verklaart de auteur:

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

Het manuscript is als volgt ingedeeld:

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

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

Oorspronkelijk onderzoeks- en overzichtsartikel

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

Casuïstiek

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

Van de voorzitter

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

Ingezonden

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

Samenvatting proefschrift

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

Literatuur

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

Voorbeeld:

1. Huysmans FThM, Wetzels JFM. Strikte behandeling van de bloeddruk bij patiënten met een nierziekte en proteïnurie. Ned Tijdschr Geneeskd 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). 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 aaneengeschraven met een verbindingstreepje: '*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

Advertentie

Advertentie