

NEDERLANDS TIJDSCHRIFT VOOR  
**MEDISCHE MICROBIOLOGIE**



Humane parechovirussen: niet te missen

•

Diagnostiek naar gastro-enteritisverwekkers

•

Profylaxe en therapie van influenzavirusinfecties

•

De aantoonbaarheid van *Giardia lamblia* in feces

## 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

#### Hoofredactie

Dr. C.W. Ang en dr. M. van Rijn

#### Redactie

Mw. dr. I.A.J.M. Bakker-Woudenberg,  
dr. A. Fleer, dr. J.G. den Hollander,  
J.A. Kaan, dr. 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, dr. H.F.L. Wertheim

#### Redactiesecretariaat

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

#### Advertentie-exploitatie

Van Zuiden Communications B.V.  
Dhr. P. Bakker  
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: € 36,- per jaar  
Buiten Nederland, in Europa: € 42,50 per jaar  
Losse nummers: € 10,20  
Opgave abonnementen:  
Tel. (0172) 47 61 91



**VAN ZUIDEN**  
COMMUNICATIONS B.V.

© 2008, Van Zuiden Communications B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden vervaardigd, 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

Crisis? What crisis? 5

## Groeten uit Vietnam

'Power cut' 6

*H.F.L. Wertheim*

## 'Transmissieroute'

'Infectious disease service-line': be good and show it 7

*L.J. Bakker*

## Artikelen

Humane parechovirussen: niet te missen 8

*K.S.M. Benschop, K.C. Wolthers*

Diagnostiek naar gastro-enteritisverwekkers in ziekenhuizen en huisartspraktijken 12

*I.H.M. Friesema, Y.T.H.P. van Duijnhoven, L.M. Kortbeek, M.P.G. Koopmans, J. Mulwijk, D.W. Notermans*

Profylaxe en therapie van influenzavirusinfecties: waakzaamheid is geboden 19

*C.A.B. Boucher, M. Jonges, A. Meijer, E. van der Vries*

De aantoonbaarheid van *Giardia lamblia* in feces 24

*F. Vlasplolder, P. Singer*

## Ingezonden

Microbiologie *that never sleeps* 30

*J. Kalpoe*

## Rubrieken

CBG 34

Samenvatting proefschrift 35

Aankondiging 36

Personalia 38

Oratie 39

Promoties 38

Agenda 39

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

Vaxigrip® Influenzavaccin 2008/2009, Sanofi pasteur MSD

## Crisis? What crisis?

Na de ontwikkelingen in de afgelopen maanden in de financiële sector, inclusief de bevroren spaartegoeden op rekeningen van ijsskoude banken, is het goed te weten dat de Nederlandse microbiologie vooralsnog geen nadelige effecten ondervindt van de daling van het consumentenvertrouwen. Ik heb ook geen idee of de hoeveelheid aanvragen voor microbiologisch onderzoek omhoog gaat, net zoals Britse **vrouwen** meer geld besteden aan hun buitenechtelijke minnaar, of juist omlaag, zoals de Britse **mannen**, die de hand op de knip houden voor hun *secret lover*. Hoe het ook zij, over enkele maanden zal dat duidelijk zijn.

De volle omvang en glorie van de medische microbiologie wordt weer eens gedemonstreerd door de onderwerpen van de artikelen in dit nummer van het NTMM. Collega Bakker breekt een lans voor de *Infectious Disease Service Line*, het kunnen raadplegen van onze adviezen via elektronische weg. IDSL via ADSL dus. Heiman Wertheim trakteert ons weer op een kleinschalige kilowattcrisis die hij gelukkig snel weer te boven is. Benschop geeft een overzicht van humane parechovirusinfecties en de mogelijkheden voor diagnostiek van de groep virussen. Met het naderende influenzaseizoen in gedachten is het artikel

over profylaxe en therapie van influenzavirusinfecties een welkome informatiebron.

Behalve dit virale geweld komen ook bacteriële en parasitologische onderwerpen aan bod in de artikelen van Friesema, die met behulp van de ISIS-database een beeld probeert te schetsen van de fecesdiagnostiek in onze laboratoria.

Een zeer interessant onderzoek wordt beschreven door collega Vlaspolder, die maar liefst 35.815 fecesmonsters hebben onderworpen aan onderzoek naar *Giardia lamblia*, met de verrassende uitkomst dat ook feces indien alleen wordt gevraagd naar enteritisverwekkers frequent *Giardia lamblia* bevat.

Tot slot een bijdrage van Jayant Kalpoe, vanuit de stad die misschien wel het meest zichtbaar te lijden heeft gehad van de crisis.

In deze barre tijden biedt het NTMM met de artikelen in dit nummer hopelijk weer een aantal lichtpunten in de duisternis.

Ik wens u veel lees- en kijkplezier bij dit nummer van het NTMM.

Wim Ang, hoofdredacteur

## ‘Power cut’

H.F.L. Wertheim

Ik woon nu bijna twee jaar in Hanoi. Wat vliegt de tijd en er is nog zoveel te doen en te beleven! Het ziekenhuis waar ik werkzaam ben, heeft inmiddels een nieuwe directeur. De vorige had de pensioengerechtigde leeftijd bereikt. Een nieuwe directeur betekent voor ons dat er opnieuw een aantal wielen moet worden uitgevonden. Ik probeer bijvoorbeeld nu al geruime tijd een onderzoek naar ziekenhuisinfectie door het systeem te krijgen. Iedereen ondersteunt een dergelijk onderzoek, maar een ondertekend papertje met het uiteindelijke oké ligt nog steeds niet op mijn bureau. Geduld...

Verder hadden we de unieke ervaring dat onze drie -80°C-vriezers tegelijkertijd kapot gingen. Reparaties duren hier ontzettend lang. Het waren trouwens vriezers van een bekend Hollands merk, maar deze zijn mogelijk niet bestand tegen de soms extreme omgevingstemperaturen en de sterke elektriciteitsschommelingen. Vooral dat laatste heeft waarschijnlijk een gespeeld.

Electriciteit wordt hier opgewekt door onder meer waterkrachtcentrales. Vietnam is echter een land dat economisch

sterk groeit en waarin nu veel meer mensen geld hebben om een airconditioning te kopen. Daardoor is er regelmatig een tekort aan elektriciteit tijdens de warmere maanden. Om energie te besparen wordt gerouleerd met de voor ons beruchte en gevreesde *power cuts*. Ook ons ziekenhuis wordt niet gespaard. Gelukkig is er wel een generator voor de intensive care, maar de overige apparatuur gaat gewoon uit en zonder vooraankondiging. Er is één elektriciteitsbedrijf in Vietnam, *Electricity of Vietnam* (EVN), en deze monopoliepositie draag er niet toe bij dat de situatie zal verbeteren.

We waren ons bewust van de penibele elektriciteitsvoorzieningen van Hanoi. Daarom hadden wij grote batterijen en voltagestabilisatoren voor ons laboratorium aangeschaft. Deze kunnen echter ook kapot gaan, bij voorkeur vlak voor een *power cut* en in het weekend. Dat gebeurde dus bij ons. Wanneer de stroom weer terugkomt, gaat dit met een zeer grote kracht gepaard. Indien de stabilisator ook niet operationeel is, om welke reden dan ook, bestaat het risico dat aangesloten apparaten het begeven. Een enkele keer moet dan een computer worden vervangen of een kostbaar onderdeel van laboratoriumapparatuur of een vriezer. Er is bij ons dus altijd wat te doen en er moet soms snel worden gehandeld om kostbare monsters veilig te stellen. Na veel telefoontjes zijn de twee -80°C-vriezers nu gerepareerd. Nummer drie volgt. Eind goed al goed...

Elektriciteitskabels in Hanoi.



Dr. H.F.L. Wertheim, arts-microbioloog, Oxford University Clinical Research Unit, National Institute of Infectious and Tropical Diseases, Bach Mai Hospital, 78 Giai Phong Street, Hanoi, Vietnam, e-mail: hwertheim@oucru.org.

# 'Infectious disease servicelines'

L.J. Bakker

Op feestjes komt vroeg of laat de vraag "En wat doe jij?". Dat zijn momenten waarop ik wel eens wens chirurg of internist te zijn; immers na mijn antwoord "arts-microbioloog" ben ik meestal wel even aan het woord om uit te leggen wat dat nu allemaal inhoudt. Van die uitleg heb ik een korte versie voor de minder interessante ontmoetingen, waar het me niet uitmaakt wat ze van mijn dagelijkse bezigheden zullen begrijpen en een lange versie voor, nu ja, vult u maar in. Als ik dan de moeite neem uitgebreid voor de leek uit de doeken te doen waar ik me zo dagelijks allemaal mee bezighoud, volgt wel altijd de beloning: "Gôh, da's wel heel interessant!"

Dat de leek moeite heeft ons vak in de volle breedte te vatten, is wel een beetje te verwachten, maar ook in de ziekenhuisorganisatie overkomt ons dat met regelmaat. We moeten steeds opnieuw aan managers en ambitieuze plannemakers uitleggen dat ons vak meer is dan in het lab met bacteriën stoeien en zo kosten veroorzaken in de DBC's.

Ook bij collega's van andere disciplines bestaat weinig inzicht in het dagelijkse werk van de arts-microbioloog en onze bijdrage aan de patiëntenzorg. Natuurlijk worden we alom gewaardeerd vanwege onze servicegerichtheid en deskundigheid, maar onze kritische bijdrage aan het hele proces van diagnostiek en behandeling van de patiënt met een (mogelijke) infectieziekte, door sommigen ook wel aangeduid als de 'Infectious disease service line' (IDSL), is die wel voldoende zichtbaar? Ons laboratorium produceert veel uitslagen, maar daarnaast doen we dagelijks ook veel, meest telefonische, consulten. Echter, hoe frequent spreekt u gemiddeld de individuele collega-specialist in uw ziekenhuis of huisarts in uw regio? Uitgezonderd de minderheid waarmee we structureel overleggen en natuurlijk uitgezonderd de arts-assistenten, voor wie wij veelal letterlijk de 7x24-IDSL zijn, is dat zeker niet dagelijks.

Het elektronisch vastleggen van onze consulten wordt al enige tijd als norm gehanteerd bij de kwaliteitsvisitaties.

Primaire reden is dat het elektronisch vastleggen van consulten vrijwel onmisbaar wordt geacht voor een goede overdracht binnen de vakgroep, maar dat is niet het enige. Eerdere consulten zijn op deze wijze laagdrempelig te raadplegen, waardoor continuïteit en consistentie in de advisering vanuit de vakgroep worden ondersteund. Meer en minder frequent voorkomende ziektebeelden, hun verwekkers en de bijbehorende adviezen zijn eenvoudiger terug te vinden, wat consensusvorming en standaardisatie zal faciliteren. Statistiek wordt mogelijk en zal leiden tot meer inzicht. Kortom, meer kwaliteit.

Een stap die helaas meestal nog ontbreekt, is dat onze consulten ook direct elektronisch zichtbaar zijn voor de betrokken aanvragers en behandelaars. Deze consulten zijn, bijna nog meer dan het produceren van uitslagen, onze *core-business*. Wij zijn goed in het snel, laagdrempelig, deskundig en adequaat adviseren. Het ook naar buiten elektronisch zichtbaar maken van die kwaliteit is goed voor de patiëntenzorg, verdiept onze interactie met de aanvragers en vergroot de zichtbaarheid van ons vak. Span u als arts-microbioloog daarom maximaal in uw consulten ook elektronisch direct inzichtelijk te krijgen voor aanvragers en behandelaars. Dan doen we waar we goed in zijn, maar maken we bovendien onze 'Infectious disease service line' veel meer zichtbaar!

De 'Transmissieroute' leidt naar dr. J.G. Kusters, moleculair (micro)bioloog, Tergooiziekenhuizen Hilversum, ex-bestuurslid NVMM.

Correspondentieadres: dr. L.J. Bakker, arts-microbioloog, Centraal Bacteriologisch en Serologisch Laboratorium te Hilversum, e-mail: lbakker@tergooziekenhuizen.nl

# Humane parechovirussen: niet te missen

K.S.M. Benschop, K.C. Wolthers

## Samenvatting

Humane parechovirussen (HPeV's) 1 en 2, voorheen bekend als echovirus 22 en 23, werden voornamelijk geassocieerd met milde symptomen en gezien als klinisch niet relevant. De ontdekking van een nieuw HPeV-type (HPeV3) en de associatie met neonatale sepsis veranderde dit beeld. Op dit moment zijn er zes HPeV-typen bekend. Van HPeV1 is uit onderzoeken gebleken dat deze wereldwijd veel voorkomt bij kinderen, maar van de andere typen is voornamelijk weinig bekend. Klinisch lopen de symptomen uiteen van milde gastro-intestinale en respiratoire klachten, tot ernstige ziektebeelden als paralyse, encefalitis, meningitis en neonatale sepsis. HPeV's veroorzaken dus dezelfde ziektebeelden als humane enterovirussen (EV's), maar opvallend is dat HPeV's vrijwel alleen bij kinderen voorkomen.

HPeV's kunnen worden aangetoond door middel van viruskweek. HPeV's geven een vrijwel identiek CPE in viruskweek als enterovirussen, maar zijn moeilijker kweekbaar dan de meeste enterovirussen. Tegenwoordig zijn moleculaire testen onmisbaar voor een snelle en gevoelige diagnostiek van verschillende pathogenen. Bij gebruik van een EV-specifieke PCR zullen HPeV's echter worden gemist. Bij kinderen met klinische ziektebeelden passend bij een EV-infectie, zal dus ook HPeV in de differentiaaldiagnose horen te staan. Daarom is het van belang naast een EV-specifieke PCR ook een HPeV-specifieke PCR in de diagnostiek te hebben.

**Trefwoorden:** humane parechovirussen, humane enterovirussen, neonatale sepsis, diagnostiek

## Inleiding

Humane parechovirussen (HPeV's), familie van de enterovirussen, zijn niet erg bekend onder klinici en microbiologen. HPeV's werden tot voor kort voornamelijk geassocieerd met milde gastro-intestinale en respiratoire symptomen en werden klinisch niet erg relevant geacht. Recent is deze virusgroep weer in de belangstelling gekomen, voornamelijk door de associatie met neonatale sepsis. In dit artikel zullen we ingaan op de toegenomen relevantie van deze kleine groep RNA-virussen en het belang van een optimale virusdiagnostiek.

## Virologie en historie

HPeV's behoren tot de grote *Picornaviridae*-familie en waren voorheen geassocieerd als humane enterovirussen (EV's). Picornavirussen bevatten een enkelstrengs RNA-genoom van 7000 tot 8000 baseparen. Het HPeV-genoom is 7300 nucleotiden en codeert voor een enkel *open reading frame* (ORF) dat wordt geflankeerd door twee niet-coderende regio's aan het 5'uiteinde (5'UTR) en het 3'uiteinde (3'UTR). Het ORF codeert voor drie capsid-eiwitten (VP0-VP3-VP1) en zeven non-structurele eiwitten, waaronder virale proteasen en RNA-polymerasen.

Traditioneel werden EV's geassocieerd en getypeerd op basis van hun vermogen te repliceren in humane en primate cellijnen en op hun antigeendiversiteit. Er zijn meer dan 100 EV-typen, die primair werden onderverdeeld in serotypen; poliovirussen (PV) 1-3; echovirussen 1-7, 9, 11-21, 24-27 en 29-33; Coxsackie-A-virussen 1-22 en 24; Coxsackie-B-virussen 1-6; en de nieuwere EV's 69-102. Moleculaire typering op basis van het VP1-gen kan goed worden gebruikt om EV's te classificeren volgens de oude indeling. Het voordeel hiervan is dat ook niet-kweekbare typen (sommige Coxsackie A's), varianten op bestaande typen die niet goed neutraliseren met de verouderde antistof-pools (echovirus 18), en ook nieuwe typen kunnen worden getypeerd. De opkomst van het moleculair typeren heeft vervolgens ook geleid tot reclassificatie van de EV-groep in vier specifieke clusters; EV-A, EV-B, EV-C, waartoe PV behoort, en EV-D.

HPeV1 en 2 werden voor het eerst geïsoleerd in 1956 door Wigand en Sabin als echovirussen 22 en 23 en vertoonden hetzelfde cytopathologische effect (CPE) op apenniercellijnen als andere echovirussen.<sup>1</sup> Infectie met echovirus 22 werd beschreven als wereldwijd vrij frequent voorkomend bij jonge kinderen en was voornamelijk geassocieerd met milde gastro-intestinale symptomen.<sup>2,3</sup> Ernstige symptomen zoals encefalitis, paralyse en myocarditis werden incidenteel

K.C. Wolthers (MD PhD), Laboratorium Klinische Virologie, K1-121, afdeling Medische Microbiologie, Academisch Medisch Centrum. Correspondentieadres: K.S.M. Benschop, Laboratorium Klinische Virologie, K1-121, afdeling Medische Microbiologie, Academisch Medisch Centrum/Universiteit van Amsterdam, Meibergdreef 15, 1105 AZ, Amsterdam, e-mail: k.s.benschop@amc.uva.nl.

beschreven (tabel 1).<sup>4-6</sup> Infectie met echovirus 23 werd zelden gerapporteerd en was voornamelijk geassocieerd met milde gastro-intestinale of respiratoire symptomen bij kinderen.<sup>7</sup> Dit in tegenstelling tot de andere echovirussen die vaker worden geassocieerd met meningitis. Verdere onderzoeken toonden aan dat echovirus 22 en 23 ook biologisch en genetisch verschilden van de EV's.<sup>8,9</sup> In 2000 werden ze daarom gereclassificeerd als humane parechovirussen HPeV1 en 2 binnen het genus *Parechovirus* behorende tot de *Picornaviridae*. In 1998 waren er echter tegelijkertijd twee echovirus-23-varianten genetisch gekarakteriseerd.<sup>10,11</sup> In de nieuwe classificatie bleken de twee varianten genetisch verschillend te zijn, waarbij het type gekarakteriseerd in de Verenigde Staten als HPeV2b-CT86-6760 (*Connecticut*-stam) werd geïdentificeerd.<sup>10</sup>

### Nieuwe typen, nieuwe inzichten

Pas een halve eeuw na de eerste isolatie van HPeV1 en 2 werd een nieuw HPeV-type geïdentificeerd in Japan.<sup>12</sup> Het nieuwe type, HPeV3, werd geïsoleerd uit feces van een

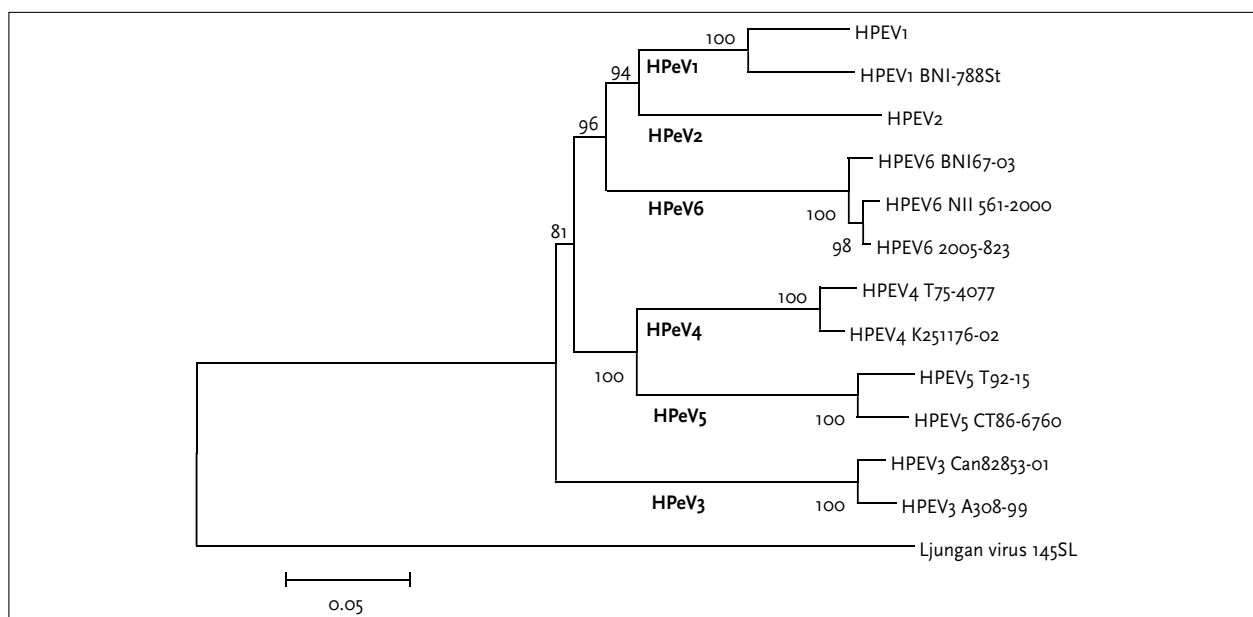
éénjarig meisje met een paralytisch beeld. Snel daarna werd de associatie tussen HPeV3-infectie en neonatale sepsis gelegd.<sup>13,14</sup> (tabel 1). In vergelijking met HPeV1 leek dit nieuwe type vaker te zijn geassocieerd met ziektebeelden als sepsis en meningitis bij jongere kinderen.<sup>13</sup> HPeV kwam hierdoor in beeld als een mogelijke veroorzaker van ernstige ziektebeelden bij hele jonge kinderen.

Zowel in Nederland als in het Verenigd Koninkrijk werd in 2006 een vierde HPeV-type ontdekt.<sup>15,16</sup> Het ontbreken van criteria voor classificatie van HPeV-typen werd een probleem. Fylogenetische analyse van de HPeV-typen toonde niet vier maar vijf typespecifieke clusters, waarbij de HPeV2b, de *Connecticut*-stam, samen met vier andere als HPeV1-geclassificeerde isolaten, het vijfde cluster vormden.<sup>10,15,17</sup> Voorgesteld werd om HPeV's te classificeren aan de hand van bestaande criteria voor EV's, waarbij een nucleotide identiteit van 70 procent of minder binnen het VP1-gen duidt op een nieuw genotype.<sup>16,18</sup> De HPeV2b *Connecticut*-stam en de isolaten die hiermee clusterden, werden gereclassificeerd als HPeV5 (figuur 1).<sup>15</sup> In 2007 werd een zesde HPeV-type ontdekt in Japan op basis van fylogenetische clustering (figuur 1) bij een kind dat was gediagnosticeerd met Syndroom van Reye.<sup>19</sup> In hetzelfde onderzoek werd HPeV6 ook geassocieerd met gastro-enteritis en paralyse (tabel 1).<sup>19</sup> Kort daarop werd HPeV6 ook beschreven in Nederland en Duitsland.<sup>20,21</sup> HPeV4, 5 en 6 zijn nog weinig beschreven en de klinische associatie van deze nieuw beschreven typen is vooralsnog niet duidelijk. Wellicht komen HPeV4, 5 en 6 minder vaak voor dan HPeV1 en 3.<sup>19,22</sup> Het is ook mogelijk dat bepaalde typen minder goed aantoonbaar zijn met viruskweek, of alleen op bepaalde cellijnen<sup>19</sup> waardoor ze minder vaak lijken voor te komen. Dat HPeV1 en HPeV3 frequent voorkomen blijkt uit verscheidene seroprevalentieonderzoeken, waarbij de seropre-

Tabel 1. Samenvatting van de klinische symptomen die zijn geassocieerd met HPeV-typen, naast gastro-intestinale en respiratoire symptomen.

HPEV-TYPE	VOORNAAMSTE SYMPTOMEN
HPeV1	Encefalitis, <sup>5</sup> paralyse, <sup>4</sup> myocarditis, <sup>6</sup> bronchitis <sup>22</sup>
HPeV2	-
HPeV3	Paralyse, <sup>12</sup> neonatale sepsis, <sup>13,14,22</sup> meningitis <sup>13,19</sup>
HPeV4	Koorts, <sup>16</sup> hydrocefalus <sup>17</sup>
HPeV5	Koorts, <sup>10,17</sup> Syndroom van Reye, <sup>17</sup> neonatale sepsis <sup>17</sup>
HPeV6	Syndroom van Reye, <sup>19</sup> paralyse <sup>19</sup>

Figuur 1. Classificatie van de typen humane parechovirussen



valentie onder volwassenen zeer hoog is.<sup>12,23,24</sup> Antistoffen tegen HPeV1 en 3 waren aantoonbaar bij respectievelijk 95 en 87 procent van de volwassenen.<sup>12,24</sup> Voor de nieuwere typen zijn nog geen data beschikbaar. Hoewel de exacte prevalentie van de verschillende typen HPeV-infecties nog onbekend is, is wel duidelijk dat HPeV-infecties steeds vaker worden beschreven bij jonge kinderen met ernstige symptomen en veel vaker lijken voor te komen dan tot nu toe werd gedacht.<sup>13,14,19,22</sup> In liquor van kinderen jonger dan vijf jaar, dat was afgenomen in de periode 2004-2006 en was opgestuurd voor virologisch onderzoek naar ons laboratorium, werd in 5 procent van de gevallen een HPeV-infectie aangetoond. Ter vergelijking: in dezelfde periode was 14 procent van deze monsters EV-positief. Dit toont aan dat de groep HPeV's, die veel kleiner is dan de groep EV's, gezien kan worden als een belangrijke virale verwekker van sepsis en meningitis bij zeer jonge kinderen.<sup>25</sup> Opmerkelijk genoeg vonden wij in fecesmonsters uit dezelfde periode ook afkomstig van kinderen jonger dan vijf jaar, evenveel HPeV-positieve als EV-positieve monsters (circa 17 procent).<sup>26</sup> In een Duits onderzoek werd maar 2 procent van de gescreende fecesmonsters HPeV-positief bevonden. In dit onderzoek werden zowel fecesmonsters onderzocht die waren opgestuurd voor virologisch onderzoek, als monsters van patiënten die voor enteritis werden onderzocht bij de huisarts, en monsters van een non-enteritis-controlegroep. Als alleen werd gekeken naar het percentage HPeV-positieve feces bij kinderen jonger dan twee jaar, dan lag dit percentage op 12 procent, vergelijkbaar met ons onderzoek. In de volwassen populatie werd geen HPeV gevonden.<sup>20</sup> In vergelijking tot EV's is het opmerkelijk dat HPeV's vrijwel uitsluitend bij kinderen lijken voor te komen.

### Klassieke diagnostiek

Detectie van HPeV's en EV's uit feces, keelwatten en bloed wordt traditioneel gedaan met behulp van celkweek op ten minste drie cellijnen, waaronder een apenniercellijn en humane fibroblasten. Een monster wordt positief bevonden als binnen twee tot drie weken duidelijk CPE is te zien. Omdat HPeV's en EV's hetzelfde CPE vertonen in celkweek is verdere confirmatie noodzakelijk door middel van immunofluorescentie of een neutralisatietest.

In vergelijking met EV's zijn HPeV's moeilijker te kweken. Dit bleek al bij hun eerste isolatie in 1956, waar toenmalige echovirussen 22 en 23 isolaten moeizaam CPE vertoonden in apenniercellijnen. Abed et al. toonden aan dat juist de HT-29-celijn (coloncarcinoomcellijn) een goede cellijn is met een efficiënte CPE-ontwikkeling van HPeV1- en -2-isolaten.<sup>22</sup> Deze cellijn blijkt ook in onze handen een ideale cellijn te zijn voor isolatie van zowel HPeV1 en 2 als de nieuwere HPeV-typen, met uitzondering van HPeV3. Voor HPeV3-isolatie bleken juist Vero- en LLC-MK2-cellijnen te voldoen, hoewel CPE moeizaam was waar te nemen.<sup>19,22</sup> Het gebruik van de juiste cellijnen is dus essentieel voor een optimale isolatie van de verschillende HPeV-typen.

Bij een positieve celkweek kunnen HPeV1 en HPeV2 worden gekarakteriseerd door middel van een antistof-pool (*Lim Benyesh-Melnick pools* of *RIVM-pools*). Antistoffen tegen HPeV3-6 zijn echter niet standaard beschikbaar, waardoor serotypering van HPeV's is gelimiteerd. Eventueel kan door middel van een specifieke HPeV en een specifieke EV-PCR worden geconfirmeerd of er sprake is van isolatie van een HPeV dan wel van een EV.

### Moleculaire diagnostiek

Met de opkomst van de moleculaire technieken zijn wij in een tijd beland waarin snelheid en gevoeligheid een steeds grotere rol spelen in de diagnostiek. Detectie met behulp van celkweek wordt gezien als tijdrovend en arbeidsintensief. Verder zijn niet alle patiëntenmaterialen geschikt om te kweken. Voor de detectie van EV's in liquor wordt PCR standaard toegepast, waarbij de 5'UTR wordt geamplificeerd.<sup>27</sup> Deze regio is goed geconserveerd binnen de EV-serotypen en dus geschikt voor de detectie van alle EV's. Hoewel HPeV's voorheen bekend waren als enterovirussen, zullen EV-specifieke RT-PCR's deze niet oppikken aangezien HPeV's genetisch te veel verschillen van EV's. Voor de detectie van HPeV's is daarom een aparte PCR nodig.<sup>27,28</sup> Tegenwoordig is binnen de diagnostiek real-time (RT) PCR's gebruikelijk. Recentelijk hebben wij een HPeV-specifieke real-time RT-PCR opgezet.<sup>29</sup> De test is geëvalueerd voor gevoeligheid en specificiteit voor alle zes HPeV-typen en wordt standaard verricht naast de EV-PCR op liquor bij kinderen jonger dan vijf jaar, bij wie verdenking bestaat op virale neonatale sepsis of virale meningitis of bij wie een ander ziektebeeld aanwezig is met verdenking op een EV-infectie. De test kan ook worden uitgevoerd op respiratoire materialen, bloedmonsters (EDTA) en feces. Diverse laboratoria hebben inmiddels een PCR voor HPeV ontwikkeld.<sup>20,30</sup> Met behulp van moleculaire typeringstesten kunnen de positieve materialen worden gekarakteriseerd. Op basis van het VP1-gen kunnen alle bekende HPeV-typen worden getypeerd aan de hand van fylogenetische analyses (*figuur 1*).<sup>13</sup>

### Conclusie

HPeV's werden voorheen als niet-klinisch relevant beschouwd, wegens voornamelijk milde symptomen. De ontdekking van nieuwere HPeV-typen en hun associaties met neonatale sepsis en meningitis, met name bij HPeV3, zorgde voor hernieuwde belangstelling naar deze kleine groep RNA-virussen. HPeV's zullen vaak zijn gemist omdat ze niet altijd goed kweekbaar zijn en er geen HPeV-PCR in de routinediagnostiek was geïmplementeerd. Bij verdenking op virale neonatale sepsis, meningitis,

\* Syndroom van Reye is een zeldzame aandoening die wordt gekenmerkt door een encefalopathie met leverfalen en aantasting van andere organen. Het syndroom lijkt typisch op te treden tijdens herstel van een virusinfectie, zoals influenza of waterpokken. Het Syndroom van Reye is in verband gebracht met aspirinegebruik bij kinderen.



of andere ziektebeelden die passen bij een EV-infectie bij kinderen, verdient het aanbeveling om moleculaire diagnostiek naar HPeV te verrichten. Snelle en gevoelige diagnostiek zou kunnen leiden tot het staken van antibioticatherapie en een kortere opnameduur.

### Dankbetuiging

Wij bedanken Dr. Richard Molenkamp voor het kritisch nalezen van het manuscript.

Het onderzoek wordt ondersteund door de afdeling Medische Microbiologie, Academisch Medisch Centrum, Universiteit van Amsterdam.

### Summary

Human parechoviruses (HPeVs) 1 and 2, previously known as echovirus 22 and 23, were predominantly associated with mild symptoms and therefore considered as clinically irrelevant. This image changed with the identification of a new HPeV-type (HPeV3). Up to now there are 6 HPeV types known. HPeV1 is known to be a widespread pathogen in children; however prevalence of the other HPeV types is less clear.

HPeVs have been associated with symptoms ranging from gastro-intestinal and respiratory symptoms to more severe illnesses such as paralysis, encephalitis, meningitis and neonatal sepsis. Therefore, the clinical picture resembles that caused by human enteroviruses (EVs), however HPeV infections occur almost exclusively in children.

HPeVs can be cultured and have been shown to produce a similar CPE as other enteroviruses. However in comparison to most enteroviruses they might be more difficult to culture.

Nowadays, molecular assays have become indispensable with regards to a fast and sensitive diagnosis of different pathogens. Yet with the use of an EV specific PCR, HPeVs will be missed. When children present with symptoms suspected for an EV infection, HPeV should also be considered. Next to an EV specific PCR, it is recommended to have an HPeV specific PCR.

### Literatuur

1. Wigand R, Sabin AB. Properties of ECHO types 22, 23 and 24 viruses. *Arch Gesamte Virusforsch.* 1961;11:224-47.
2. Ehrnst A, Eriksson M. Epidemiological features of type 22 echovirus infection. *Scand J Infect Dis.* 1993;25(3):275-81.
3. Crist NR, Bell EJ, Assaad F. Enteroviruses in human disease. *Prog Med Virol.* 1978;24:114-57.
4. Figueroa JP, Ashley D, King D, Hull B. An outbreak of acute flaccid paralysis in Jamaica associated with echovirus type 22. *J Med Virol.* 1989;29(4):315-9.
5. Koskiniemi M, Paetau R, Linnavuori K. Severe encephalitis associated with disseminated echovirus 22 infection. *Scand J Infect Dis.* 1989;21(4):463-6.
6. Maller HM, Powars DF, Horowitz RE, Portnoy B. Fatal myocarditis associated with ECHO virus, type 22, infection in a child with apparent immunological deficiency. *J Pediatr.* 1967;71(2):204-10.
7. Ehrnst A, Eriksson M. Echovirus type 23 observed as a nosocomial infection in infants. *Scand J Infect Dis.* 1996;28(2):205-6.

8. Joki-Korpela P, Hyypia T. Parechoviruses, a novel group of human picornaviruses. *Ann Med.* 2001;33(7):466-71.
9. Stanway G, Joki-Korpela P, Hyypia T. Human parechoviruses – biology and clinical significance. *Rev Med Virol.* 2000;10(1):57-69.
10. Oberste MS, Maher K, Pallansch M. Complete sequence of echovirus 23 and its relationship to echovirus 22 and other human enteroviruses. *Virus Res.* 1998;56(2):217-23.
11. Ghazi F, Hughes PJ, Hyypia T, Stanway G. Molecular analysis of human parechovirus type 2 (formerly echovirus 23). *J Gen Virol.* 1998;79(Pt 11):2641-50.
12. Ito M, Yamashita T, Tsuzuki H, Takeda N, Sakae K. Isolation and identification of a novel human parechovirus. *J Gen Virol.* 2004;85(Pt 2):391-8.
13. Benschop KS, Schinkel J, Minnaar RP, Pakrjt D, Spanjerberg L, Kraakman HC, et al. Human parechovirus infections in Dutch children and the association between serotype and disease severity. *Clin Infect Dis.* 2006;42(2):204-10.
14. Boivin G, Abed Y, Boucher FD. Human parechovirus 3 and neonatal infections. *Emerg Infect Dis.* 2005;11(1):103-5.
15. Al-Sunaidi M, Williams CH, Hughes PJ, Schnurr DP, Stanway G. Analysis of a new human parechovirus allows the definition of parechovirus types and the identification of RNA structural domains. *J Virol.* 2007;81(2):1013-21.
16. Benschop KSM, Schinkel J, Luken ME, van den Broek PJM, Beersma MFC, Menelik N, et al. Fourth Human Parechovirus Serotype. *Emerg Infect Dis.* 2006;12(10):1572-5.
17. Schnurr D, Dondero M, Holland D, Connor J. Characterization of echovirus 22 variants. *Arch Virol.* 1996;141(9):1749-58.
18. Oberste MS, Michele SM, Maher K, Schnurr D, Cisterna D, Junttila N, et al. Molecular identification and characterization of two proposed new enterovirus serotypes, EV74 and EV75. *J Gen Virol.* 2004;85(Pt 11):3205-12.
19. Watanabe K, Oie M, Higuchi M, Nishikawa M, Fujii M. Isolation and characterization of novel human parechovirus from clinical samples. *Emerg Infect Dis.* 2007;13(6):889-95.
20. Baumgartner S, de Souza Luna LK, Grywna K, Panning M, Drexler JF, Karsten C, et al. Prevalence, types, and RNA concentrations of human parechoviruses, including a sixth parechovirus type, in stool samples from patients with acute enteritis. *J Clin Microbiol.* 2008;46(1):242-8.
21. de Vries M, Pyrc K, Berkhout R, Vermeulen-Oost W, Dijkman R, Jebbink MF, et al. Human parechovirus type 1, 3, 4, 5, and 6 detection in picornavirus cultures. *J Clin Microbiol.* 2008;46(2):759-62.
22. Abed Y, Boivin G. Human parechovirus infections in Canada. *Emerg Infect Dis.* 2006;12(6):969-75.
23. Abed Y, Wolf D, Dagan R, Boivin G. Development of a serological assay based on a synthetic peptide selected from the VP0 capsid protein for detection of human parechoviruses. *J Clin Microbiol.* 2007;45(6):2037-9.
24. Joki-Korpela P, Hyypia T. Diagnosis and epidemiology of echovirus 22 infections. *Clin Infect Dis.* 1998;27(1):129-36.
25. Wolthers KC, Benschop KS, Schinkel J, Molenkamp R, Bergevoet RM, Spijkerman IJ, et al. Human parechoviruses as an important viral cause of sepsislike illness and meningitis in young children. *Clin Infect Dis.* 2008;1:47(3):358-63.
26. Benschop K, Thomas X, Serpenti R, Molenkamp R, Wolthers K. High prevalence of human parechovirus genotypes in the Amsterdam region and the identification of specific HPeV variants by direct genotyping of stool samples. *J Clin Microbiol.* In press 2008
27. Beld M, Minnaar R, Weel J, Sol C, Damen M, van der Avoort H, et al. Highly sensitive assay for detection of enterovirus in clinical specimens by reverse transcription-PCR with an armored RNA internal control. *J Clin Microbiol.* 2004;42(7):3059-64.
28. Oberste MS, Maher K, Pallansch MA. Specific detection of echoviruses 22 and 23 in cell culture supernatants by RT-PCR. *J Med Virol.* 1999;58(2):178-81.
29. Benschop K, Molenkamp R, van der Ham A, Wolthers K, Beld M. Rapid detection of human parechoviruses in clinical samples by real-time PCR. *J Clin Virol.* 2008;41(2):69-74.
30. Noordhoek GT, Weel JFL, Poelstra E, Hooghiemstra M, Brandenburg AH. Clinical validation of a new real-time PCR assay for detection of enteroviruses and parechoviruses, and implications for diagnostic procedures. *J Clin Virol.* 2008;41(2):75-80.

# Diagnostiek naar gastro-enteritisverwekkers vanuit ziekenhuizen en huisartspraktijken

## Data van ISIS-laboratoria uit 1994-2006

I.H.M. Friesema, Y.T.H.P. van Duijnhoven, M.P.G. Koopmans, L.M. Kortbeek, J. Muilwijk, D.W. Notermans

### Samenvatting

In dit artikel wordt een overzicht gegeven van diagnostiek-aanvragen en -uitslagen vanuit ziekenhuizen voor aan gastro-enteritis gerelateerde pathogenen. Er is daarbij gebruikgemaakt van de ISIS-database (Infectieziekten Surveillance Informatie Systeem) die gegevens bevat over humane diagnostiek binnen een aantal medisch-microbiologische laboratoria. Uit deze database zijn de ziekenhuis- en huisartsaanvragen geselecteerd die betrekking hadden op 18 aan gastro-enteritis gerelateerde pathogenen. De opgevraagde gegevens omvatten de periode 1994-2006. De ziekenhuisaanvragen betroffen 65.426 personen die gemiddeld op 3,2 pathogenen werden getest, met minimaal één positieve uitslag voor 22,6 procent van deze personen. De huisartsaanvragen betroffen 57.337 personen met testen voor gemiddeld 3,0 pathogenen en een positieve uitslag voor 27,3 procent. Bij driekwart van de personen voor wie diagnostiek werd uitgevoerd, werd getest op twee of meer pathogenen. De testen op fecesmonsters uit ziekenhuizen en huisartsen leken op hoofdlijnen op elkaar; testen voor *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella* en *Yersinia* werden het meest uitgevoerd. *Shigella* en *Yersinia* werden zelden gevonden. Virale diagnostiek werd vooral bij jonge kinderen uitgevoerd met een piek aan het begin van het jaar. Met het stijgen van de leeftijd daalde het percentage positieve uitslagen voor vrijwel alle onderzochte pathogenen.

**Trefwoorden:** fecesdiagnostiek, gastro-enteritis, ISIS-MML, ziekenhuizen, huisartsen

### Inleiding

Elk jaar zijn er ongeveer 4,5 miljoen episodes van gastro-enteritis in Nederland.<sup>1</sup> Hierbij wordt in ongeveer 5 procent van de gevallen de huisarts geconsulteerd.<sup>2</sup> Voor een deel van deze patiënten wordt feces ingestuurd voor onderzoek naar mogelijke verwekkers. De meest genoemde redenen voor het aanvragen van laboratoriumonderzoek is duur en ernst van de klachten en bezoek aan een hoogrisi-

coland.<sup>3</sup> Het Nederlands Huisartsen Genootschap heeft voor een groot aantal aandoeningen richtlijnen opgesteld, waaronder voor acute diarree (NHG-Standaard Acute Diarree M34<sup>4</sup>) die recentelijk is herzien.<sup>5</sup> Daarin wordt gesteld dat aanvullend onderzoek, oftewel fecesdiagnostiek, zelden nodig zal zijn. Er wordt geadviseerd bij aanvullend onderzoek de feceskweek met name te richten op *Campylobacter* en *Salmonella*. Voor ziekenhuizen bestaat geen dergelijke algemene standaard, al heeft de Stichting Werkgroep Antibioticabeleid (SWAB) wel in 2006 een SWAB-richtlijn opgesteld voor antimicrobiële therapie bij acute infectieuze diarree.<sup>6</sup> In 1994 werd het surveillancesysteem ISIS (Infectieziekten Surveillance Informatie Systeem) opgezet. Tot eind 2007 heeft een toenemend aantal medisch-microbiologische laboratoria (MML) gegevens over de uitgevoerde patiëntgebonden diagnostiek naar ISIS verzonden. ISIS is in opdracht van het ministerie van VWS opgezet, waarbij de gegevens van de MML's werden gebruikt voor surveillance van infectieziekten en specifieke ziekteverwekkers. Aan de hand van deze database is het mogelijk de uitgevoerde diagnostiek met uitslagen van aan gastro-enteritis gerelateerde pathogenen te bekijken. Zo kan een vergelijking worden gemaakt tussen aanvragen vanuit ziekenhuizen en huisartspraktijken met aandacht voor combinaties van uitgevoerde diagnostiek, seizoen van aanvraag en aanvragen voor verschillende leeftijdsgroepen.

Mw. dr. Y.T.H.P. van Duijnhoven, Laboratorium voor Zoönosen en Omgevingsmicrobiologie, Cib/RIVM; mw. prof. dr. M.P.G. Koopmans, mw. drs. L.M. Kortbeek, dr. D.W. Notermans, Laboratorium voor Infectieziekten en Screening, Cib/RIVM; drs. J. Muilwijk, Epidemiologie en Surveillance, Cib/RIVM; Correspondentieadres: mw. dr. I.H.M. Friesema, Epidemiologie en Surveillance, Centrum Infectieziektebestrijding (Cib/ RIVM), Postbus 1, 3720 BA, Bilthoven, e-mail: ingrid.friesema@rivm.nl.

## Methoden

Voor deze rapportage is alle fecesdiagnostiek uit de ISIS-database opgevraagd over de jaren 1994-2006. Vervolgens zijn 18 (mogelijk) aan gastro-enteritis gerelateerde pathogenen geselecteerd: *Aeromonas* spp, *Bacillus cereus*, *Campylobacter* spp, *Clostridium difficile*, *Escherichia coli* spp, *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Staphylococcus* spp, *Yersinia* spp, adenovirus, calicivirus, rotavirus, *Blastocystis hominis*, *Cryptosporidium* spp, *Cyclospora* spp, *Dientamoeba fragilis*, *Entamoeba* spp en *Giardia lamblia*. De ruwe data werden opgeschoond, waarbij dubbele invoer is verwijderd. In een aantal gevallen waren *Salmonella* en *Shigella* in één code samengevoegd en was het niet mogelijk onderscheid te maken. Als de testuitslag bij deze categorie negatief was, is deze zowel meegenomen bij *Salmonella* als bij *Shigella*. De positieve uitslagen van deze gecombineerde code (119 personen vanuit het ziekenhuis en 276 vanuit de huisartspraktijk) zijn niet meegenomen. In de analyses is onderscheid gemaakt naar aanvragen vanuit het ziekenhuis en door huisartsen.

Het opgeschoonde bestand bevatte de volgende gegevens over de patiënt: patiëntnummer, geslacht en leeftijd, laboratoriumcode, aanvrager, afname- en aanvraagdatum, aangevraagd pathogeen en testuitslag. Met behulp van afname- en aanvraagdatum kon onderscheid worden gemaakt naar eerste en vervolgaanvragen. Per pathogeen werd een episodeperiode gedefinieerd om dubbelstellingen van patiënten te voorkomen. Daarbij werd ervan uitgegaan dat gedurende deze periode een tweede infectie met eenzelfde pathogeen onwaarschijnlijk is. Hierbij is gebruikgemaakt van door ISIS gehanteerde episodeperiodes: drie maanden voor *Bacillus cereus*, calicivirus, rotavirus en *Staphylococcus*; zes maanden voor adenovirus, *Aeromonas*, *Campylobacter*, *Clostridium difficile*, *E. coli*, *Shigella* en *Yersinia*; 12 maanden voor *Cryptosporidium*, *Cyclospora* en *Salmonella*; 36 maanden voor *Blastocystis hominis*, *Dientamoeba fragilis*, *Entamoeba* en *Giardia lamblia*. De analyse van combinatie en volgorde van aanvragen van verschillende pathogenen is beperkt tot alle aanvragen in een tijdsbestek van zes maanden vanaf de eerste aanvraag.

De beschikbare data waren afkomstig van 14 laboratoria, die echter in verschillende jaren data gingen aanleveren. Voor de drie meest recente volledige jaren waren data beschikbaar van 11 (2003-2004) en 14 (2005) laboratoria. Binnen deze drie jaren zijn de aanvragen bekeken per kwartaal en per leeftijdsgroep (0-4 jaar, 5-18 jaar, 19-65 jaar en 66 jaar en ouder).

## Resultaten

Alle aanvragen voor de 18 gekozen pathogenen vanuit het ziekenhuis en huisartsen samen omvatten 118.156 onderzochte personen. Gemiddeld werd elke persoon getest op 3,1 pathogenen. Vanuit het ziekenhuis werden

65.426 personen getest met een gemiddeld aantal van 3,2 pathogenen per persoon. Vanuit de huisartsen waren 57.337 personen onderzocht met gemiddeld 3,0 pathogenen per persoon. Het percentage personen met minimaal één positieve uitslag was voor aanvragen vanuit het ziekenhuis (22,6 procent) iets lager dan voor aanvragen vanuit de huisartsen (27,3 procent).

Onderzoek op *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella* en *Yersinia* wordt het meest frequent uitgevoerd (tabel 1). Onder de positieve uitslagen komen bij de ziekenhuisaanvragen *Blastocystis hominis*, rotavirus, *Salmonella* en *E.coli* het meest voor. Vanuit de huisartspraktijk zijn dit *Blastocystis hominis*, *Campylobacter*, *Giardia lamblia* en *Salmonella*. Onderzoek naar *Shigella* en *Yersinia* is zelden positief.

De onderzochte personen kunnen op basis van het aantal uitgevoerde onderzoeken en het aantal aanvraagmomenten in een periode van zes maanden in drie groepen worden onderverdeeld (tabel 2). Bij ongeveer driekwart van de personen werden op basis van één aanvraagmoment twee of meer testen uitgevoerd. Het percentage personen met minimaal één positieve uitslag was in deze groep het laagst (14,0-21,4 procent). Voor ongeveer 17 procent van de personen werd op één pathogeen getest. Bijna de helft van deze aanvragen was positief, met een iets hoger percentage bij de ziekenhuizen (48,2 procent) dan bij de huisartsen (42,0 procent). De kleinste groep werd gevormd door personen voor wie op verschillende momenten testen werden aangevraagd. Deze groep was groter binnen het ziekenhuis (9,9 procent) dan bij de huisartsen (4,6 procent), maar het percentage personen met minimaal één positieve uitslag was groter bij de huisartsaanvragen (64,4 versus 34,4 procent). Als er meer pathogenen werden onderzocht, was dit vrijwel altijd inclusief minimaal één van de volgende bacteriën: *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella* of *Yersinia*. Daarnaast werden testen op adenovirus en rotavirus meestal samen uitgevoerd, doorgaans vooral op fecesmonsters vanuit het ziekenhuis. Onderzoek naar parasieten werd weinig gedaan als er op meer pathogenen tegelijkertijd werd getest. Onderzoek naar parasieten in combinatie met *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella* en *Yersinia* werden vaker gedaan bij fecesmonsters vanuit de huisartsenpraktijk.

Met het stijgen van de leeftijd lijkt het percentage positieve uitslagen te dalen (tabel 3). Dit is vooral te zien bij *Giardia lamblia*, *E.coli* en *Cryptosporidium*. Alleen bij *Clostridium difficile* is een omgekeerde trend te zien. Testen voor adenovirus, *E.coli* en rotavirus waren het vaakst positief bij kinderen tot en met vier jaar. *Campylobacter* lijkt vooral bij 5- tot 65-jarigen voor te komen. Vanuit de huisartsenpraktijk lijkt *Shigella* ook vaker in deze leeftijdsgroepen voor te komen. Binnen de groep 5-18-jarigen werd het minst getest op *Salmonella* en *Yersinia*, maar waren deze

Tabel 1. Per pathogeen het aantal onderzochte en positieve personen (1994-2006).

Pathogeen	ZIEKENHUIS EN/OF HUISARTS			VANUIT ZIEKENHUIS			VANUIT HUISARTSEN		
	Getest	Positief	% Positief	Getest	Positief	% Positief	Getest	Positief	% Positief
Adenovirus	14.527	703	4,8	10.838	572	5,3	4035	135	3,4
<i>Aeromonas</i> spp	280	151	53,9	111	70	63,1	171	82	48,0
<i>Bacillus cereus</i>	87	19	21,8	41	13	31,7	46	6	13,0
Calicivirus	28	1	3,6	28	1	3,6	0	-	-
<i>Campylobacter</i> spp	81.096	6226	7,7	42.720	1733	4,1	41.321	4530	11,0
<i>Clostridium difficile</i>	10.401	791	7,6	9142	682	7,5	1390	121	8,7
<i>E.coli</i> spp	12.918	2264	17,5	7685	2161	28,1	5404	113	2,1
Rotavirus	15.012	2972	19,8	11.112	2620	23,6	4266	357	8,4
<i>Salmonella</i> spp	87.290	4045	4,6	47.460	2223	4,7	42.757	1904	4,5
<i>Shigella</i> spp	74.917	252	0,3	41.525	51	0,1	35.903	201	0,6
<i>Staphylococcus</i> spp	911	429	47,1	807	417	51,7	104	12	11,5
<i>Yersinia</i> spp	41.646	232	0,6	22.395	145	0,7	20.467	90	0,4
<i>Blastocystis hominis</i> *	7532	7421	98,5	2773	2732	98,5	4906	4836	98,6
<i>Cryptosporidium</i> spp*	7570	141	1,9	4632	47	1,0	3188	94	3,0
<i>Cyclospora</i> spp*	52	10	19,2	19	1	5,3	33	9	27,3
<i>Dientamoeba fragilis</i> *	2491	2415	97,0	817	765	93,6	1698	1674	98,6
<i>Entamoeba</i> spp*	2416	2071	85,7	1138	837	73,6	1307	1263	96,6
<i>Giardia lamblia</i> *	10.792	3154	29,2	4920	1047	21,3	6136	2122	34,6
Totaal	118.156	29.974	25,4	65.426	14.797	22,6	57.337	15.637	27,3

\* De aanvraag voor parasieten is meestal niet pathogeenspecifiek. Het geregistreerde aantal geteste personen per pathogeen zal daardoor een onderschatting en het percentage positieve uitslagen een overschatting zijn.

testen het vaakst positief. Pathogenen met lage aantallen en zonder duidelijk leeftijdseffecten zijn uit de tabel weggelaten.

Analyse van seizoenstrends laat zien dat de meeste testen voor *Campylobacter* en *Salmonella* in het derde kwartaal werden gedaan en in die periode was ook het percentage positieven het hoogst (tabel 4). Voor *Cryptosporidium* en *Giardia lamblia* is een tweedeling te zien, met de meeste positieven in de tweede helft van het jaar. Er werd vooral in het eerste kwartaal getest op rotavirus met een uitloop naar het tweede kwartaal en het percentage was in die periode ook het meest frequent positief. Bij de overige pathogenen werd geen seizoenstrend gezien.

### Beschouwing

In dit artikel is een overzicht gegeven van de diagnostiek naar 18 (mogelijke) gastro-enteritispathogenen. De uitgevoerde diagnostiek bij fecesmonsters vanuit ziekenhuizen en huisartsen lijkt op hoofdlijnen op elkaar. Testen op bacteriële pathogenen worden het meest uitgevoerd. Het merendeel van de uitgevoerde diagnostiek bestaat

uit testen voor *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella* en/of *Yersinia*. *Campylobacter* werd vooral in de huisartspraktijk gevonden, terwijl *Salmonella* zowel in de huisartspraktijk als in het ziekenhuis een belangrijke rol lijkt te spelen. Op *Shigella* en *Yersinia* werd vaak getest, maar beide ziekteverwekkers werden zelden gevonden, wat in overeenstemming is met onderzoek in de algemene bevolking en de huisartspraktijk.<sup>1,7</sup> In een onderzoek naar aanvraaggedrag van Nederlandse huisartsen is eenzelfde volgorde te zien in deze vier bacteriën.<sup>3</sup> In dit onderzoek werd iets vaker *Campylobacter* (15,6 versus 11,0 procent in ISIS-data) en *Shigella* (2,1 versus 0,6 procent in ISIS-data) gevonden. Het percentage gevonden *Salmonella* was vergelijkbaar (4,4 versus 4,5 procent in ISIS-data). *Yersinia* werd in het betreffende onderzoek niet gevonden en in 0,4 procent binnen de ISIS-data. Het lijkt erop dat laboratoria een standaard kweekcombinatie inclusief *Yersinia* hanteren, die in veel gevallen zal zijn gebaseerd op leeftijd van de patiënt, wel/niet opgenomen in het ziekenhuis en aspect van de feces: bloederig en/of waterdun of brijachtig. Ook op *Shigella* wordt relatief vaak getest, vooral gezien het lage percentage positieven. Dit kan grotendeels worden

Tabel 2. Aanvragen in een periode van zes maanden vanaf eerste aanvraag (1994-2006).

	ZIEKENHUIS EN/OF HUISARTS	VANUIT ZIEKENHUIS	VANUIT HUISARTSEN
<b>Eén aanvraag</b>			
n (% van totaal)	20.177 (17,1)	11.015 (16,8)	10.211 (17,8)
% positief	45,6	48,2	42,0
% van de aanvragen bevatte:			
• <i>Campylobacter, Salmonella, Shigella</i> of <i>Yersinia</i>	48,3	38,0	59,8
• adenovirus of rotavirus	4,7	8,2	0,7
• één van de zes parasieten	29,8	23,4	37,2
<b>Diverse aanvragen, één aanvraagmoment</b>			
mediaan aantal aanvragen (25%-75%)	3 (3-4)	3 (2-4)	3 (3-4)
n (% van totaal)	88.239 (74,7)	47.963 (73,3)	44.508 (77,6)
% positief	17,8	14,0	21,4
% van de aanvragen bevatte:			
• <i>Campylobacter, Salmonella, Shigella</i> en/of <i>Yersinia</i>	92,9	89,6	96,5
- één van de vier	3,8	4,0	3,7
- <i>Campylobacter</i> en <i>Salmonella</i> en <i>Shigella</i>	27,4	28,2	26,2
- <i>Campylobacter</i> en <i>Salmonella</i> en <i>Shigella</i> en <i>Yersinia</i>	29,3	30,1	28,8
• adenovirus en/of rotavirus	12,8	18,1	7,2
- adenovirus en rotavirus	12,0	17,1	6,6
• één of meer van de zes parasieten	13,2	10,3	16,3
<b>Diverse aanvragen, diverse aanvraagmomenten</b>			
mediaan aantal aanvragen (25%-75%)	4 (3-5)	4 (4-5)	4 (3-5)
n (% van totaal)	9.737 (8,2)	6.446 (9,9)	2.617 (4,6)
% positief	43,1	34,4	64,4
% van de aanvragen bevatte:			
• <i>Campylobacter, Salmonella, Shigella</i> en/of <i>Yersinia</i>	95,8	95,1	96,9
- één van de vier	19,4	15,3	34,9
- <i>Campylobacter</i> en <i>Salmonella</i> en <i>Shigella</i>	19,6	21,9	16,1
- <i>Campylobacter</i> en <i>Salmonella</i> en <i>Shigella</i> en <i>Yersinia</i>	35,0	37,9	21,1
• adenovirus en/of rotavirus	31,1	30,5	36,6
- adenovirus en rotavirus	29,3	28,6	35,6
• één of meer van de zes parasieten	36,1	29,0	52,4

Tabel 3. Aantal personen (% positief) per leeftijdsgroep op het moment van aanvragen van de test (2003-2005).

	VANUIT ZIEKENHUIS				VANUIT HUISARTS			
	0-4 jaar	5-18 jaar	19-65 jaar	66+ jaar	0-4 jaar	5-18 jaar	19-65 jaar	66+ jaar
Adenovirus	3.078 (7,0)	464 (2,8)	106 (0,9)	389 (0,5)	788 (4,2)	91 (4,4)	171 (1,2)	196 (0,5)
Campylobacter	3.147 (2,6)	2.128 (4,7)	10.157 (4,3)	6.556 (2,1)	2.652 (5,6)	2.231 (11,2)	11.619 (11,2)	2.257 (5,4)
Clostridium difficile	126 (11,1)	143 (4,2)	2.341 (4,8)	2.662 (7,2)	91 (2,2)	60 (5,0)	544 (7,9)	219 (11,0)
E.coli	1.039 (50,0)	445 (24,9)	1.869 (24,5)	1.137 (18,8)	383 (3,7)	292 (2,4)	1.831 (1,8)	345 (2,9)
Rotavirus	3.225 (30,4)	467 (8,8)	106 (4,7)	388 (1,3)	809 (11,6)	90 (3,3)	175 (4,6)	198 (2,0)
Salmonella	3.665 (6,2)	2.582 (8,3)	11.072 (3,5)	7.030 (2,0)	2.908 (5,5)	2.530 (7,1)	12.532 (2,9)	2.335 (1,8)
Shigella	2.976 (0,1)	2.086 (0,1)	9.001 (0,1)	5.554 (0)	1.986 (0,1)	1.835 (0,3)	9.146 (0,7)	1.585 (0)
Yersinia	1.726 (0,2)	1.331 (1,0)	5.957 (0,6)	3.629 (0,1)	1.817 (0,2)	1.470 (0,6)	6.765 (0,3)	1.371 (0,2)
<i>Cryptosporidium</i> *	350 (2,0)	324 (3,1)	1.531 (0,9)	542 (0)	225 (9,3)	263 (3,8)	1.285 (1,6)	178 (1,1)
<i>Giardia lamblia</i> *	642 (27,7)	503 (25,5)	1.182 (11,7)	441 (6,1)	384 (49,5)	423 (46,6)	1.591 (33,4)	172 (19,2)

\* De aanvraag voor parasieten is meestal niet pathogeenspecifiek. Het geregistreerde aantal geteste personen per pathogeen zal daardoor een onderschatting en het percentage positieve uitslagen een overschatting zijn.

Tabel 4. Aantal personen (% positief) naar moment van aanvragen over het jaar (2003-2005).

	VANUIT ZIEKENHUIS				VANUIT HUISARTS			
	jan-mrt	apr-juni	juli-sep	okt-dec	jan-mrt	apr-juni	juli-sep	okt-dec
<i>Campylobacter</i>	5672 (2,5)	4923 (3,6)	5853 (4,5)	5542 (3,1)	3907 (7,1)	3548 (11,3)	6407 (11,4)	4898 (8,3)
<i>Salmonella</i>	6587 (2,8)	5417 (4,2)	6357 (5,6)	5989 (3,3)	4477 (2,3)	3893 (3,2)	6719 (4,9)	5217 (3,6)
Rotavirus	1681 (39,0)	1027 (31,7)	638 (2,2)	840 (4,2)	366 (17,5)	267 (15,4)	334 (0,6)	305 (0,7)
<i>Cryptosporidium</i> *	725 (0,7)	644 (0,6)	733 (1,8)	645 (1,2)	451 (1,6)	402 (0,8)	609 (3,5)	490 (4,7)
<i>Giardia lamblia</i> *	787 (15,4)	627 (15,0)	694 (18,3)	660 (19,6)	582 (32,0)	507 (32,2)	804 (39,7)	677 (42,0)

\* De aanvraag voor parasieten is meestal niet pathogeenspecifiek. Het geregistreerde aantal geteste personen per pathogeen zal daardoor een onderschatting en het percentage positieve uitslagen een overschatting zijn.

verklaard door het gebruik van agarplaten waar *Salmonella* en *Shigella* beide op kunnen groeien. Hierdoor kan een aanvraag voor één van beide, resultaat op beide opleveren.

*Clostridium difficile* wordt voornamelijk gezien als nosocomiale infectie en/of als gevolg van gebruik van antibiotica. Vooral ouderen lijken hiervoor gevoelig, zoals ook in de ISIS-data is te zien. Voor een klein deel (3 procent) was *Clostridium* echter niet verder gespecificeerd of betrof het *C. perfringens*. De diagnostiek werd vooral gedaan bij fecesmonsters uit de ziekenhuizen. De SWAB-richtlijn adviseert onderzoek naar *C. difficile*-toxinen in het geval van nosocomiale diarree of diarree ontstaan na antibiotica-gebruik.<sup>6</sup> De ISIS-database bevatte geen gegevens waarmee kan worden bekeken welke redenen ten grondslag liggen aan een aanvraag. Binnen de ISIS-data is tevens gekeken naar *E. coli*, maar door gebrek aan specificatie van de *E. coli* is onduidelijk of deze gegevens betrekking hebben op commensale en/of pathogene *E. coli*'s. Vanuit recent landelijk onderzoek naar shiga-toxineproducerende *E. coli* (STEC) blijkt deze groep echter na *Campylobacter* en *Salmonella* de derde bacterie in rangorde te zijn.<sup>8</sup> Vooral bij patiënten met bloederige diarree of hemolytisch-uremisch syndroom (HUS) is onderzoek naar STEC aan te bevelen.

#### Virusdiagnostiek

Virusdiagnostiek vormt slechts een klein deel van de diagnostiek binnen de ISIS-dataset en lijkt meer specifiek te worden uitgevoerd. Rotavirus werd bij monsters uit het ziekenhuis relatief vaak gevonden. Rotavirus komt vooral bij kinderen en in de eerste maanden van het jaar voor. Adenovirus wordt meestal tegelijk met rotavirus uitgevoerd, maar leidt minder vaak tot een positieve uitslag. Norovirus komt amper voor in ISIS, voornamelijk omdat het aantal laboratoria dat in de onderzochte periode testte op norovirus zeer beperkt was. Bovendien wordt vooral op norovirus getest in het geval van een uitbraak, waarbij maar van een deel van de zieken een fecesmonster voor onderzoek wordt opgestuurd. De NHG-Standaard vermeldt dat testen op virussen niet zinvol is<sup>4,5</sup> en in de

SWAB-richtlijn staat dat bij gezonde volwassenen virale diagnostiek niet is geïndiceerd.<sup>6</sup> Beide richtlijnen zijn vooral gebaseerd op behandeling, op grond waarvan deze terughoudendheid bij gebrek aan therapieën is te rechtvaardigen. Maar virussen zijn bij contact tussen personen vele malen besmettelijker dan bacteriën. Kennis over het virus als de veroorzaker van de infectie zou dan ook vanuit het oogpunt van preventie van verspreiding van infecties, vooral in ziekenhuizen, verpleeghuizen en kinderdagverblijven, verdedigbaar zijn.

#### Parasitaire diagnostiek

Onderzoek naar *Cryptosporidium* en *Giardia lamblia* werd vooral in de tweede helft van het jaar gedaan en was voornamelijk bij kinderen positief. Bij monsters uit de huisartspraktijk lijkt vaker naar parasieten te worden gekeken dan bij monsters vanuit ziekenhuizen. In hoeverre *Blastocystis hominis* als een pathogeen moet worden beschouwd, is nog steeds onduidelijk.<sup>9-12</sup> *Blastocystis hominis* wordt vaker in huisartsaanvragen gevonden dan onder de aanvragen vanuit het ziekenhuis. Ook over *Dientamoeba fragilis* bestaat nog onenigheid over de virulentie. Publicaties over patiënten met *Dientamoeba fragilis* bij wie de klachten pas afnamen na eliminatie van de parasiet, lijken echter indirect te wijzen op pathogeniciteit van *Dientamoeba fragilis*.<sup>13</sup> In de praktijk zal bij microscopisch onderzoek naar alle mogelijke parasieten, wormeieren en cysten worden gekeken. Welke parasieten kunnen worden gezien is afhankelijk van de gebruikte afname- en detectiemethode. In de ISIS-database staan grotendeels alleen positieve uitslagen; negatieve uitslagen zijn meestal niet herkenbaar voor specifieke parasieten. Hierdoor ontstaat een onderschatting van het aantal testen voor de verschillende parasieten en tegelijkertijd een overschatting van het percentage positieve uitslagen. De code voor gebruikte methode binnen de ISIS-dataset was te aspecifiek om alsnog een schatting te kunnen maken van de totale aantallen negatieve uitslagen van de verschillende parasieten. Vergelijking van de percentages positieve uitslagen voor *Giardia lamblia* tussen de ISIS-database met

betrekking tot de fecesmonsters uit de huisartspraktijk (34,6 procent positief) en een onderzoek in de huisartsenpraktijk (5,4 procent positief)<sup>7</sup> geeft een beeld van de overschatting binnen ISIS. Voor *Dientamoeba fragilis* en *Blastocystis hominis* zijn de verschillen nog groter met voor beide 98,6 procent positief in de ISIS-database versus respectievelijk 10,3 procent en 21,7 procent in het andere onderzoek. Alleen voor *Cryptosporidium* was het verschil relatief klein (3,0 versus 2,1 procent).

### Interpretatie

Met behulp van de ISIS-data kon een beeld worden geschetst van de praktijksituatie van de uitgevoerde diagnostiek op fecesmonsters vanuit ziekenhuizen en huisartsenpraktijken, met uitsplitsingen naar leeftijd en seizoen. Er is wel een aantal beperkingen waarmee rekening moet worden gehouden bij de interpretatie van de resultaten. De belangrijkste is het ontbreken van gegevens in de ISIS-dataset over ziektegeschiedenis, symptomen en reden van de testaanvraag. Het is dus onduidelijk of alle geteste personen ook daadwerkelijk gastro-enteritis hadden. Zowel de rangorde van de onderzochte pathogenen als het percentage gevonden positieven worden door diverse factoren beïnvloed. Het overzicht geeft vooral een indicatie van de door de laboratoria uitgevoerde diagnostiek voor de betreffende pathogenen en hoeft niet het daadwerkelijke relatieve belang van de verschillende pathogenen in de ziekenhuispopulatie dan wel huisartspopulatie weer te geven. Ook geeft het geen compleet beeld van het aanvraaggedrag vanuit ziekenhuizen en huisartspraktijken door gebruik van schema's en verwerkingsalgoritmen in de laboratoria. De analyse op de ISIS-dataset zoals in dit artikel is uitgevoerd, is niet meer mogelijk met de data vanaf 1 januari 2008. De dataverzameling richt zich nu specifiek op antibioticaresistentie van een gespecificeerd aantal pathogenen.<sup>14</sup>

### Conclusie

Geconcludeerd kan worden dat fecesmonsters vanuit ziekenhuizen en huisartsenpraktijken vooral worden getest op *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella* en *Yersinia*. *Campylobacter* wordt daarbij vaker gevonden in fecesmonsters uit huisartsenpraktijken en vaker in het derde kwartaal en in de leeftijdsgroep 5-65 jaar dan bij kleine kinderen en ouderen. Rotavirus wordt vaker in fecesmonsters vanuit ziekenhuizen gevonden en daarnaast vooral bij kleine kinderen en in de eerste helft van het jaar. Virale diagnostiek lijkt specifiek te worden uitgevoerd, maar zou bij risicopopulaties, zoals verpleeghuisbewoners en ziekenhuispatiënten, meer kunnen worden gedaan als aangrijpingspunt ter voorkoming van verdere verspreiding. Overschatting van het percentage positieve uitslagen voor een aantal parasieten bemoeilijkte de conclusies over de parasitaire diagnostiek.

### Summary

This paper gives an overview of diagnostic requests and results of gastroenteritis related pathogens from hospitals and general practitioners. The ISIS database (*Infectieziekten Surveillance Informatie Systeem*) contains data about human diagnostics as done by several medical microbiologic laboratories. This database was used to select diagnostic requests from hospitals and general practitioners regarding 18 pathogens related to gastroenteritis. The asked data include the period 1994-2006. The hospital requests included 65,426 persons with a mean number of 3.2 pathogens tested per person, and with minimal one positive result in 22.6% of these persons. For 57,337 persons, the general practitioner submitted a diagnostic request with a mean of 3.0 pathogens per person, and minimal one positive result in 27.3% of the persons. The feces were tested on two or more pathogens in three-quarter of the persons. The diagnostic requests from hospitals and general practitioners were fairly similar; *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella* and *Yersinia* were tested most. Positive results for *Shigella* and *Yersinia* were rarely found. Viral diagnostics were mostly done in young children and in the first months of the year. The percentage of positive results decreased with an increase of age in almost all examined pathogens.

### Dankbetuiging

Wij danken de ISIS-laboratoria Jeroen Bosch Medisch Centrum te 's-Hertogenbosch, Laboratorium Microbiologie Twente Achterhoek te Enschede, Laurentius Ziekenhuis te Roermond, Gelre ziekenhuizen te Apeldoorn, Streeklaboratorium Zeeland te Goes en Terneuzen, Laboratorium voor Infectieziekten te Groningen, St. Antonius Ziekenhuis te Nieuwegein, St. Elisabeth Ziekenhuis te Tilburg, Canisius-Wilhelmina Ziekenhuis te Nijmegen, Erasmus MC te Rotterdam, Ruwaard van Putten Ziekenhuis te Spijkenisse, St. Jans Gasthuis te Weert voor het gebruik van de laboratoriumgegevens. Daarnaast danken wij dr. A.M. Horrevorts, mw. dr. B.J. van Dijke, mw. drs. J.M. van Duin, dr. W.H.F. Goessens, mw. dr. B.G.A. Hendrickx, dr. B.M. de Jongh, dr. P.J. Kabel, mw. dr. S. Kuipers, dr. B. Mulder, dr. L.J.M. Sabbe, dr. J.F.P. Schellekens, dr. P.M. Schneeberger en dr. F.S. Stals voor het doorlezen en becommentariëren van het manuscript.

### Literatuur

1. Wit MA de, Koopmans MP, Kortbeek LM, Wannet WJ, Vinjé J, van Leusden F, et al. Sensor, a population-based cohort study on gastroenteritis in the Netherlands: incidence and etiology. *Am J Epidemiol*. 2001;154:666-74.
2. Wit MA de, Kortbeek LM, Koopmans MP, Jager CJ de, Wannet WJ, Bartelds AI, et al. A comparison of gastroenteritis in a general practice-based study and a community-based study. *Epidemiol Infect*. 2001;127:389-97.
3. Brandhof WE van den, Bartelds AI, Koopmans MP, Duynhoven YT van. General practitioner practices in requesting laboratory tests for patients with gastroenteritis in the Netherlands, 2001-2002. *BMC Fam Pract*. 2006;7:56-63.

4. Lamers HJ, Dongen AM van, Jamin R, Brühl PC, Dijkstra RH, Geijer RMM. NHG-Standaard Acute diarree. In: NHG-standaarden voor de huisarts II. Utrecht: Wetenschappelijke Uitgever Bunge; 1996.
5. Brühl PC, Lamers HJ, Dongen AM van, Lemmen WH, Graafmans D, Jamin RH, et al. NHG-Standaard Acute diarree. Huisarts Wet. 2007;50:103-13.
6. Bos JC, Schultsz C, Vandenbroucke Grauls CM, Speelman P, Prins JM. Optimaliseren van het antibioticabeleid in Nederland. IX. SWAB-richtlijn voor antimicrobiële therapie bij acute infectieuze diarree. Ned Tijdschr Geneeskd. 2006;150:1116-22.
7. Wit MA de, Koopmans MP, Kortbeek LM, Leeuwen NJ van, Bartelds AI, Duynhoven YT gedaan. Gastroenteritis in sentinel general practices, The Netherlands. Emerg Infect Dis. 2001;7:82-91.
8. Duynhoven YTHP van, Friesema IHM, Schuurman T, Roovers A, Zwet AA van, Sabbe LJM, et al. Prevalence, characterization and clinical profiles of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in the Netherlands. Clin Microbiol Infect. 2008;14:437-45.
9. Chen TL, Chan CC, Chen HP, Fung CP, Lin CP, Chan WL, et al. Clinical characteristics and endoscopic findings associated with *Blastocystis hominis* in healthy adults. Am J Trop Med Hyg. 2003;69:213-6.
10. Leder K, Hellard ME, Sinclair MI, Fairley CK, Wolfe R. No correlation between clinical symptoms and *Blastocystis hominis* in immunocompetent individuals. J Gastroenterol Hepatol. 2005;20:1390-4.
11. Rossignol JF, Kabil SM, Said M, Samir H, Younis AM. Effect of nitazoxanide in persistent diarrhea and enteritis associated with *Blastocystis hominis*. Clin Gastroenterol Hepatol. 2005;3:987-91.
12. Tan TC, Suresh KG. Predominance of amoeboid forms of *Blastocystis hominis* in isolates from symptomatic patients. Parasitol Res. 2006;98:189-93.
13. Johnson EH, Windsor JJ, Clark CG. Emerging from obscurity: biological, clinical, and diagnostic aspects of *Dientamoeba fragilis*. Clin Microbiol Rev. 2004;17:553-70.
14. Leverstein-van Hall MA, Sande-Bruinsma N van de. ISIS-AR: een nieuw systeem voor surveillance van antimicrobiële resistentie. Ned Tijdschr Med Microbiol. 2008;3:10-19.



# Profylaxe en therapie van influenzavirusinfecties: waakzaamheid is geboden

E. van der Vries en M. Jonges, A. Meijer, C.A.B. Boucher

## Introductie

Influenza is een infectie van luchtwegen, die veroorzaakt wordt door influenzavirussen (familie *Orthomyxoviridae*). Naar schatting raakt 7 tot 20 procent van de wereldbevolking jaarlijks met het deze virussen geïnfecteerd. Hiervoor zijn hoofdzakelijk de influenza-A-virus subtypes H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> en H<sub>1</sub>N<sub>1</sub> en het influenza-B-virus verantwoordelijk. Momenteel is er veel aandacht voor het aviaire influenza-A-virus subtype H<sub>5</sub>N<sub>1</sub> vanwege de pandemische potentie van dit virus.

Hoewel influenza voornamelijk een infectie is van de hogere luchtwegen, kan het influenzavirus ook ernstige infecties veroorzaken in de lagere luchtwegen. In Nederland overlijden in een gemiddelde winterperiode tussen de 1000 en 2000 mensen direct of indirect aan de gevolgen van een influenza-infectie. Van deze gevallen is 90 procent ouder dan 65 jaar, maar ook zeer jonge kinderen en mensen met een verminderde weerstand hebben een verhoogd risico op een influenza-infectie met fatale gevolgen. Bij voorkeur wordt een influenza-virusinfectie bij deze risicogroepen voorkomen door middel van een vaccinatie, maar antivirale middelen worden gezien als een waardevolle aanvulling op het gebruik van griepvaccins. In het huidige Nederlandse beleid worden antivirale middelen gebruikt wanneer een influenzavaccin verminderd actief blijkt, bij influenza-uitbraken in verpleeg- en verzorgingshuizen en bij patiënten met een zeer hoog risico op complicaties van een influenza-infectie, zoals bij immunocompromitteerde ziekenhuispatiënten. Daarnaast is in Nederland een grote hoeveelheid oseltamivir en een kleinere voorraad zanamivir opgeslagen, die tijdens een eventuele influenzapandemie kunnen worden ingezet. In het winterseizoen 2007/2008 werden we verrast door een onverwachte opkomst en verspreiding van oseltamivirresistente A(H<sub>1</sub>N<sub>1</sub>)-influenzavirussen. In de Nederlandse peilstations-surveillance detecteerden we in augustus 2008 opnieuw een oseltamivirresistent A(H<sub>1</sub>N<sub>1</sub>)-influenzavirus bij een patiënt. Alertheid is daarom geboden voor het influenzaseizoen 2008/2009.

**Trefwoorden:** oseltamivirresistentie, A(H<sub>1</sub>N<sub>1</sub>)-influenzavirus, influenzavirusinfecties

## Antivirale middelen

### Neuraminidaseremmers

De beschikbare antivirale middelen worden onderverdeeld in twee klassen. Onderzoek naar het geconserveerde en actieve deel van het influenza-neuraminidase-enzym (NA), leidde aan het eind van de jaren 90 tot de ontwikkeling van de neuraminidaseremmers (NR's). De beschikbare NR's zijn oseltamivirfosfaat (Tamiflu<sup>®</sup>) en zanamivir (Relenza<sup>®</sup>). Beide NR's zijn effectief tegen infecties met zowel influenza-A- als -B-virussen en hebben zelden bijwerkingen. Er zijn verschillen tussen beide NR's, die bij het voorschrijven van deze middelen van belang zijn. Oseltamivirfosfaat wordt als *prodrug* oraal toegediend en na hydrolyse in de lever, biedt oseltamivir systemische bescherming tegen influenzavirusinfecties. Zanamivir wordt met een inhalator toegediend. Voor ouderen, zeer jonge kinderen en geïntubeerde ziekenhuispatiënten kan het gebruik van deze inhalator lastig zijn.

### Adamantanen

De tweede groep zijn de adamantanen amantadine (Symmetrel<sup>®</sup>) en rimantadine (Flumadine<sup>®</sup>). Beide middelen binden het M<sub>2</sub>-ionkanaal van influenza-A-virussen en blokkeren deze, zodat het virus wordt gestoord in het replicatieproces. In Nederland worden adamantanen wegens bijwerkingen (concentratieproblemen, duizeligheid, huiduitslag, maagklachten nervositeit en sufheid), de snelle resistentievorming tijdens de behandeling en de afwezigheid van effectiviteit tegen influenzavirussen type B nog zelden voorgeschreven.

### Behandeling van patiënten met een influenzavirusinfectie

Bij gezonde mensen is een ongecompliceerde influenzavirusinfectie in het algemeen een onschuldige aandoening. Behandeling met een antiviraal middel is niet geïndiceerd.

Drs. E. van der Vries, afdeling virologie, Erasmus MC, Rotterdam, drs. M. Jonges, dr. A. Meijer, Centrum voor Infectieziektenbestrijding (Cib), Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM), Bilthoven. Correspondentieadres: Prof. dr. C.A.B. Boucher, afdeling Virologie, Erasmus MC, Rotterdam en afdeling Medische Microbiologie, Universitair Medisch Centrum Utrecht, Utrecht, e-mail: c.boucher@erasmusmc.nl.

Het gebruik van antivirale middelen wordt alleen aangeraden bij risicopatiënten en als postexpositieprofylaxe tijdens een influenza-uitbraak in een verpleeg- of verzorgingshuis. De hiervoor opgestelde NVVA-richtlijn (die door de landelijke coördinatiestructuur infectieziektebestrijding (LCI) wordt gevolgd) en de Standaard *Influenza en influenzavaccinatie* van het Nederlands Huisartsen Genootschap (NHG), staan samengevat in *tabel 1*. Voor details over de behandeling van influenzapatiënten wordt verwezen naar de NVVA-richtlijn of de NHG-Standaard Influenza en influenzavaccinatie.

### Resistentiemutaties tegen neuraminidaseremmers en adamantanen

Tot aan het winterseizoen 2007/2008 kwamen mutaties geassocieerd met oseltamivir en zanamivirresistentie zelden voor. Resistente influenzavirussen werden in enkele gevallen

Tabel 1a. NVVA-richtlijn Influenzapreventie in verpleeg- en verzorgingshuizen.

<p>Na de virologische bevestiging van een influenza-uitbraak worden de volgende maatregelen aanbevolen:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• curatieve oseltamivirbehandeling van influenzapatiënten;</li> <li>• advies spoedvaccinatie aan niet-gevaccineerde patiënten;</li> <li>• medicamenteuze profylaxe bij patiënten en zorgverleners;</li> <li>• cohortverpleging;</li> <li>• beperking nieuwe opnames in de zorgeenheid waar de influenza-uitbraak heerst.</li> </ul>
--

Tabel 1b. NHG-Standaard Behandeling en profylaxe met neuraminidaseremmers.

MIDDEL	DOSERING LEEFTIJD	BEHANDELING	PROFYLAXE
Oseltamivir	>13 jaar	2 dd 75 mg gedurende 5 dagen	1 dd 75 mg tot 7 dagen na het laatste onbeschermd contact
Zanamivir	>13 jaar	2 dd 2 inhalaties van 5 mg gedurende 5 dagen	1 dd inhalaties van 5 mg tot 7 dagen na het laatste onbeschermd contact

Bron: NHG-Standaard Influenza en influenzavaccinatie 2008.

Tabel 2. Neuraminidaseresistentiemutaties en kruisresistentie tegen neuraminidaseremmers.

AMINOZUURSUBSTITUTIE	TYPE (HA- EN NA-SUBTYPE)	NR-GEVOELIGHEID		REFERENTIES
		OSELTAMIVIR	ZANAMIVIR	
E119V	A(H <sub>3</sub> N <sub>2</sub> )	R	G	(Ison, Gubareva et al. 2006)
H274Y	A(H <sub>1</sub> N <sub>1</sub> )	R	G	(Gubareva, Kaiser et al. 2001)
R292K	A(H <sub>3</sub> N <sub>2</sub> )	R	G	(Carr, Ives et al. 2002)
N294S	A(H <sub>3</sub> N <sub>2</sub> )	R	G	(Kiso, Mitamura et al. 2004)
R152K	B	R	R	(Gubareva, Webster et al. 2002)

HA: hemagglutinine, NA: neuraminidase-enzym, NR: neuraminidaseremmer, R: resistent, G: gevoelig.

beschreven bij patiënten onder behandeling met een NR. In de meeste gevallen was een enkele aminozuursubstitutie op een van de posities 119, 152, 274, 292 en 294 in het NA verantwoordelijk voor de resistentie. Daarnaast worden met fenotypische gevoeligheidstesten regelmatig resistente virussen aangetroffen met nieuwe resistentiemutaties. Bij een onderzoek in Japan naar de ontwikkeling van NR-resistentie bij kinderen die oseltamivirtherapie kregen, werden veel hogere percentages gerapporteerd. In 18 procent A(H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>) en 16 procent A(H<sub>1</sub>N<sub>1</sub>) van de behandelde infecties werd een resistente mutant aangetroffen.

In-vitro-onderzoeken en proefdierexperimenten lieten echter zien dat deze mutanten minder goed repliceren. Daarom werd van deze mutanten verondersteld dat ze minder fit zouden zijn en nauwelijks zouden kunnen worden overgedragen. Bij onbehandelde patiënten of patiënten die profylaxe ontvingen werd slechts sporadisch NR-resistent virus gevonden. De drempel voor spontane ontwikkeling van resistentie tegen NR's werd hoog geacht en wereldwijde surveillance-onderzoeken naar resistentie onder circulerende virussen bij onbehandelde patiënten rapporteerden inderdaad tot aan het influenzaseizoen 2007/2008 percentages resistente influenzavirussen van minder dan 1 procent, zelfs in landen met een relatief hoog gebruik van NR's, zoals Japan.

Adamantaanresistentie wordt de laatste jaren in sterk toenemende mate gesignaleerd bij zowel influenza-A(H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>)- als -A(H<sub>1</sub>N<sub>1</sub>)-virussen. Het merendeel van deze resistente virussen hebben een enkele aminozuursubstitutie in het virale M2-kanaal op positie 31 (serine (S) naar asparagine (N)), waardoor het eiwit functioneel en het virus infectieus blijft, ondanks binding van een adamantaan.

### Kruisresistentie

Omdat adamantanen en neuraminidaseremmers verschillende virale eiwitten binden, treedt geen kruisresistentie op tussen beide klassen middelen. Volledige kruisresistentie binnen een klasse is het geval bij de adamantanen amantadine en rimantadine. Binnen de klasse van de neuraminidaseremmers geldt dat voor de meest voorkomende aminozuursubstituties slechts een substitutie R152K bij influenza-B resulteert in kruisresistentie tegen beide geregistreerde middelen (*tabel 2*).

### De influenza-epidemie van 2007/2008

Het griepseizoen 2007/2008 werd gekenmerkt door influenzavirusinfecties van typen A(H1N1) en B (figuur 1 en legenda). Onverwacht werden in januari 2008 eerst in Noorwegen hoge percentages oseltamivirresistente influenzavirussen gedetecteerd, waarna deze kort daarna in andere Europese landen werden gevonden (WHO 2008). In Nederland was dit percentage 27 procent voor het totale seizoen. Al deze virussen hadden de H274Y-aminozuurverandering (N2-nummering) in het NA. Deze verandering leidt tot sterk verminderde oseltamivirgevoeligheid, maar voor zanamivir en amantadine bleven deze virussen wel gevoelig.

### Klinische implicaties

Uit voorlopige gegevens van onderzoeken naar de klinische impact van oseltamivirresistente A(H1N1) virussen blijkt het ziektebeeld niet te verschillen van infecties met oseltamivirgevoelige A(H1N1)-virussen. De aanwezigheid van oseltamivirgevoelige virussen beperkt wel het arsenaal van mogelijkheden tot therapie bij een ernstige influenzavirusinfectie of couperen van een uitbraak in een verpleeg- of verzorgingshuis.

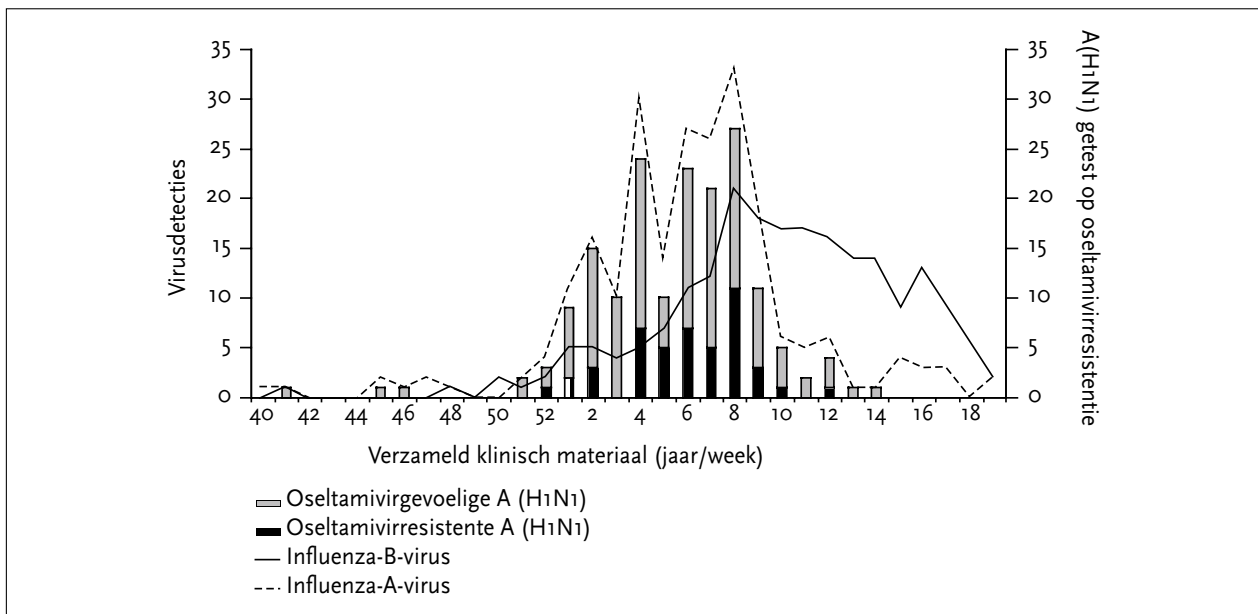
In de piek van het influenzaseizoen 2007-2008 werd in het Erasmus MC een immuungecompromiteerde patiënt opgenomen met een luchtweginfectie. De patiënt had kort daarvoor een chemokuur ontvangen voor de behandeling tegen een chronische lymfatische leukemie (CLL). Nadat was vastgesteld dat de patiënt een influenza-virusinfectie had opgelopen, is gestart met het toedienen

van oseltamivir. Na zes dagen behandeling met oseltamivir werd de therapie gestaakt, omdat de toestand van de patiënt verslechterde, de virusconcentraties in de longen niet daalden en werd vastgesteld dat het een infectie met een *de novo* oseltamivirresistente (H274Y) variant van het A(H1N1)-virus betrof. Na het staken van de oseltamivirtherapie is overgegaan op het toedienen van amantadine en zanamivir. Klaring van het virus trad op na herstel van het immuunsysteem. De patiënt overleed echter na 37 dagen aan de complicaties van de infectie.

### Diagnostiek

Bij de behandeling van patiënten met een verhoogd risico op een fatale influenzavirusinfectie is het belangrijk snel en juiste antivirale therapie voor te schrijven. Onder bepaalde omstandigheden kan de uitslag van een snelle resistentiebepaling voor een behandelend arts waardevolle informatie zijn. Inmiddels zijn snelle bepalingen ontwikkeld, gebaseerd op moleculair-biologische technieken (*pyrosequencing*). Deze technieken maken het mogelijk binnen twee dagen een uitslag te generen omtrent de aanwezigheid van de beschreven resistentiemutaties en daarmee een inschatting te maken van de gevoeligheid van een specifiek influenzavirus voor een NR- of M2-ionkanaalremmer. Omdat met behulp van deze techniek alleen bekende met NR-resistentie geassocieerde mutaties kunnen worden aangetoond zal, indien deze mutaties niet worden aangetroffen, een fenotypische test noodzakelijk blijven om resistentie veroorzaakt door een eventuele nieuwe mutatie te kunnen uitsluiten.

Figuur 1. Incidentie per week van influenza-A- en -B-virusinfecties tijdens de griepidemie van 2007/2008.



Gemiddeld was 27% van de influenzavirussen resistent tegen oseltamivir. Tot week 14 van 2008 was 91% van de influenza-A-virussen van het subtype H1N1. Sporadisch werden influenza-A(H3N2)-virussen gedetecteerd.

### Combinatietherapie met verschillende antivirale middelen

Het effect van combinatietherapie is nog onvoldoende onderzocht. Een aantal in-vitro-onderzoeken laten zien dat het gebruik van combinaties van antivirale middelen kan leiden tot een additief/synergistisch antiviraal effect. Nog niet bekend is welke combinatietherapieën veilig zijn en of ze effect zullen hebben op de snelheid van het ontstaan en het patroon van resistentiemutaties.

### Aanbevelingen

Met de toegenomen kans op resistente influenzavirus-infecties is het moeilijker geworden de juiste therapie of profylaxe voor te schrijven. Bovendien is het door de onvoorspelbaarheid van het (sub)type influenzavirus dat komende seizoensepidemieën zal domineren, onmogelijk betrouwbare voorspellingen te doen over resistentie in komende griepseizoenen. Uitgebreide surveillance in het begin en tijdens een griep epidemie zijn daarom belangrijk om hier inzicht in te krijgen. De recente spontane verhoging van het percentage oseltamivirresistente A(H1N1)-influenzavirussen ondersteunt het belang van de surveillance van influenza en in het bijzonder van gevoeligheid van influenzavirussen voor antivirale middelen. Dit wordt in Nederland gedaan door het Nederlands Influenza Centrum (Erasmus MC te Rotterdam en RIVM te Bilthoven) in samenwerking met het Nederlands instituut voor onderzoek van de gezondheidszorg (NIVEL) en wereldwijd door het *Neuraminidase Inhibitor Susceptibility Network* (NISN).

Omdat de kans op resistentie bij aanvang van behandeling met antivirale therapie bestaat, heeft het Nederlands Influenza Centrum (NIC) de volgende aanbevelingen gedaan:

- Voor de behandeling van influenzageïnfecteerde patiënten met een gecompromitteerd immuunsysteem: direct virologische diagnostiek inzetten om zowel de aanwezigheid en ontwikkeling van resistentie als het effect van de antivirale therapie te kunnen volgen.
- Verpleeg- en verzorgingshuizen: indien een uitbraak is vastgesteld, dan volgens de NVVA-richtlijn starten met oseltamivir voor therapie en profylaxe. Wel wordt geadviseerd snel materiaal in te sturen voor typering en bepaling van de antivirale gevoeligheid, om het effect van de therapie en de mate van resistentie bij circulerende virussen te kunnen vaststellen.
- Het beleid in de huisartsenpraktijk blijft ongewijzigd voor patiënten met een influenza-achtig ziektebeeld zonder verhoogd risico op complicaties (NHG-Standaard). Voor patiënten met een verhoogd risico op ernstige complicaties is de NHG-Standaard onlangs gewijzigd. Bij dergelijke patiënten wordt geadviseerd oseltamivir voor te schrijven (in plaats van amantadine). Als bij deze uitzonderlijke situaties de patiënt niet snel herstelt, kan

in overleg met de arts microbioloog materiaal van de patiënt worden afgenomen om het effect van de therapie te kunnen volgen.

In het bijzondere geval dat de aanwezigheid van neuraminidaseresistentie klinische consequenties kan hebben, kan snelle antivirale resistentiebepaling (genotypisch en fenotypisch) worden aangevraagd bij de afdeling Virologie in het Erasmus MC te Rotterdam.

Informatie over de ernst van de griep en de karakteristieken van de circulerende virussen tijdens griep epidemieën is te vinden in de Nieuwsbrief Influenzasurveillance die te downloaden is via <http://www.influenza-centrum.nl/>.

### Literatuur

- Aoki FY, Boivin G, Roberts N, et al. Influenza virus susceptibility and resistance to oseltamivir. *Antiviral Ther.* 2007;12(4):603-16.
- Carr J, Ives J, Kelly L, et al. Influenza virus carrying neuraminidase with reduced sensitivity to oseltamivir carboxylate has altered properties in vitro and is compromised for infectivity and replicative ability in vivo. *Antiviral Res.* 2002;54(2):79-88.
- CBS. (2007a). Overledenen naar belangrijke primaire doodsoorzaken. Retrieved 10 januari 2008, from <http://statline.cbs.nl>.
- Deyde VM, Garten R, et al. Increased incidence of adamantane-resistant influenza A(H1N1) and A(H3N2) viruses during the 2006-2007 influenza season in Japan – Reply. *J Infect Dis.* 2008;197(4):632-3.
- Duwe S, Schweiger B. A new and rapid genotypic assay for the detection of neuraminidase inhibitor resistant influenza A viruses of subtype H1N1, H3N2, and H5N1. *J Virol Methods.* 2008;153(2):134-41.
- Essen GA van, Bueving HJ, Voordouw ACG, et al. NHG-Standaard 2008. Influenza en influenzavaccinaties. Eerste herziening. *Huisarts Wet* 2008;51:1-12
- Ferraris O, Lina B. Mutations of neuraminidase implicated in neuraminidase inhibitors resistance. *J Clin Virol.* 2008;41(1):13-9.
- Fleming DM. Managing influenza: Amantadine, rimantadine and beyond. *Int J Clin Pract.* 2001;55(3):189-95.
- Fouchier RAM, Munster V, Wallensten A, et al. Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. *J Vir.* 2005;79(5):2814-22.
- Gezondheidsraad (2007). Griepvaccinatie:herziening van de indicatiestelling. Publicatienr 2007/9. Den Haag:Gezondheidsraad, 2007.
- Govorkova EA, Fang HB, Tan M. et al. Neuraminidase inhibitor- rimantadine combinations exert additive and synergistic anti-influenza virus effects in MDCK cells. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48(12):4855-63.
- Gubareva LV. Molecular mechanisms of influenza virus resistance to neuraminidase inhibitors. *Virus Res.* 2004;103(1-2):199-203.
- Gubareva LV, Kaiser L, Matrosovich MN, et al. Selection of influenza virus mutants in experimentally infected volunteers treated with oseltamivir. *J Infect Dis.* 2001;183(4):523-31.
- Gubareva LV, Webster RG, Hayden FG. Detection of influenza virus resistance to neuraminidase inhibitors by an enzyme inhibition assay. *Antivir Res.* 2002;53(1):47-61.
- Herlocher ML, Carr J, Yves J, et al. Influenza virus carrying an R292K mutation in the neuraminidase gene is transmitted in ferrets. *Antivir Res.* 2002;54(2):99-111.
- Ilyushina NA, Bovin NV, Webster RG, et al. Combination chemotherapy, a potential strategy for reducing the emergence of drug-resistant influenza A variants. *Antivir Res.* 2006;70(3):121-31.
- Ison MG, Gubareva LV, Atmar RL, et al. Recovery of drug-resistant influenza virus from immunocompromised patients: A case series. *J Infect Dis.* 2006;(15)196:751-3.

- Ives JAL, Carr JA, Mendel DB, et al. The H274Y mutation in the influenza A/H1N1 neuraminidase active site following oseltamivir phosphate treatment leave virus severely compromised both in vitro and in vivo. *Antiviral Res.* 2002;55(2):307-17.
- Kiso MK, Mitamura K, Saka-Tagawa Y, et al. Resistant influenza A viruses in children treated with oseltamivir: descriptive study. *Lancet.* 2004;364(9436):759-65.
- Lackenby A, Democratis J, Siqueira MM, et al. Rapid quantitation of neuraminidase inhibitor drug resistance in influenza virus quasispecies. *Antivir Ther.* 2008;13(6):809-20.
- Lackenby A, Hungnes O, Dudman SG, et al. Emergence of resistance to oseltamivir among influenza A(H1N1) viruses in Europe. *Euro Surveill.* 2008;13(5):pii:8026.
- LCI (2008). LCI-richtlijnen infectieziektenbestrijding, Utrecht: Landelijke Coördinatiestructuur Infectieziektebestrijding. Ed. 2008.
- Molinari NAM, Ortega-Sanchez IR, Messonnier ML, et al. The annual impact of seasonal influenza in the US: Measuring disease burden and costs. *Vaccine.* 2007;25(27):5086-96.
- Monto AS, McKimm-Breschkin JL, Macken C, et al. Detection of influenza viruses resistant to neuraminidase inhibitors in global surveillance during the first 3 years of their use. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50(7):2395-2402.
- Morrison D, Roy S, Rayner C, et al. A randomized, crossover study to evaluate the pharmacokinetics of amantadine and oseltamivir administered alone and in combination. *PLoS ONE* 2007;12(2):E1305.
- Rameix-Welti MA, Cuvelier F, Jeannin P, et al. Enzymatic properties of the neuraminidase of seasonal H1N1 influenza viruses provide insights for the emergence of natural resistance to oseltamivir. *PLoS Pathog.* 2008;4(7):e1000103.
- Schnell JR, Chou JJ. Structure and mechanism of the M2 proton channel of influenza A virus. *Nature.* 2008;451(7178):591-U12.
- Sheu TG, Deyde VM, Okomo-Adhiambo M, et al. Surveillance for neuraminidase inhibitor resistance among human influenza A and B viruses circulating worldwide from 2004 to 2008. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52(9):3284-92.
- Vries E van der, Berg B van den, Schutten M. Fatal oseltamivir-resistant influenza virus infection. *N Engl J Med.* 2008;359(10):1074-6.
- World Health Organisation (WHO). Epidemic and Pandemic Alert and Response (EPR): influenza A(H1N1) virus resistance to oseltamivir-last quarter 2007 to May 2008. Retrieved September 1, 2008, from <http://www.hpa.org.uk/hpr/archives/2008/news4308.htm#ah1n1>.
- Zambon M, Hayden FG. Position statement: global neuraminidase inhibitor susceptibility network. *Antivir Res.* 2001;49(3):147-56.

# De aantoonbaarheid van *Giardia lamblia* in feces

F. Vlaspolder, P. Singer

## Samenvatting

Het verrichten van de Giardia-antigeen-enzymimmunoassays (EIA) bij bacteriologisch fecesonderzoek is na twee pilotonderzoeken sinds 2001 in ons laboratorium een feit. Het aantal aanvragen voor bacteriologisch fecesonderzoek in bovengenoemde perioden gerelateerd aan het aantal patiënten was beduidend meer dan de parasitologische aanvragen (754 versus 544). In beide aanvraaggroepen werden respectievelijk 75 versus 68 patiënten met positieve Giardia EIA gevonden. Verdere resultaten van 2001 tot met 2007 laten weliswaar een verschuiving in het aanvraagpatroon zien ten gunste van de parasitologische aanvragen, maar er worden nog steeds veel positieve Giardia-EIA-resultaten in de bacteriologische fecesaanvragen gezien. Uit een recente enquête is gebleken dat 17 (53%) van de 32 responderende maatschappen medische microbiologie een Giardia-antigeen-/amplificatietest gebruiken en slechts vier maatschappen (24%) hiervan deze test inzetten op feces aangevraagd voor bacteriologisch onderzoek. Zesenvijftig patiënten met een positieve Giardia EIA werden in 94,6 procent van de gevallen EIA-negatief bevonden, zeven dagen na het beëindigen van de therapie. Drie patiënten persisterden in eerste instantie in EIA-positiviteit.

**Trefwoorden:** *Giardia lamblia*, enzymimmunoassays (EIA), tripelfecetest, *test of cure*

## Inleiding

Elf jaar na het verschijnen van het proefschrift van Mank,<sup>1</sup> waarin onder meer is beschreven dat er onderschatting bestaat van darmprotozoa als oorzaak van diarree, is er nog niet veel veranderd. *Giardia lamblia* is de meest voorkomende vertegenwoordiger uit de groep van humane pathogene darmprotozoa. Het klinische beeld dat wordt veroorzaakt na infestatie van dit micro-organisme kan bestaan uit een acute, fulminant verlopende diarree, een chronische diarree met malabsorptie, slechts wat vage buikklachten, of kan totaal symptomeloos verlopen. In Nederland bedraagt de prevalentie van *Giardia lamblia* bij patiënten die hun huisarts raadplegen in verband met diarreeklachten 8-12 procent.<sup>2</sup>

Koopmans et al.<sup>3</sup> hebben uit gegevens van de periode 1999-2007 afgeleid dat de 4,5 miljoen gevallen van

gastro-enteritis per jaar circa 220.000 huisartsconsulten en 20.000 ziekenhuisopnames per jaar opleveren. De hoeveelheid patiënten met bewezen giardiasis bedroeg 2 tot 14 procent. Andere onderzoeken bevestigen deze percentages.<sup>1,4</sup>

De diagnose wordt in de meeste laboratoria microscopisch gesteld. In toenemende mate worden er enzymimmunoassays (EIA) gebruikt voor detectie van Giardia antigeen, in mindere mate worden moleculaire methode geïntroduceerd.<sup>5,6</sup> Op basis van de NHG-Standaard<sup>7</sup> wordt een onderscheid gemaakt in de aanvraag van fecesdiagnostiek naar aanleiding van de duur van de diarree. Indien de diarree korter dan een week bestaat, wordt bacteriologisch/virologisch onderzoek aangevraagd. Bij een langer dan tien dagen bestaande klacht van diarree wordt over het algemeen parasitologisch onderzoek aangevraagd.<sup>7</sup> Uit goed gedocumenteerd onderzoek is gebleken dat de duur van de diarree wel degelijk een verschil laat zien in bacteriële/virale en parasitaire verwekkers.<sup>2</sup> De praktijk is echter anders. Het antwoord op de vraag aan de patiënt over de duur van de diarree zal in veel gevallen niet overeenkomen met de werkelijkheid. Bij een negatief antwoord op de vraag naar een verblijf in de tropen wordt ten onrechte de fecesaanvraag op parasieten niet altijd overwogen. Voorafgaand aan de intentie om deze resultaten te publiceren is een kleine enquête verricht onder de artsen-microbioloog om duidelijk te krijgen of *Giardia-lambli*a-diagnostiek wordt gedaan op de niet-parasitologische fecesaanvraag en in welke mate een andere detectiemethode wordt gebruikt naast microscopie.

Doel van dit onderzoek is aan te tonen of de detectie van *Giardia lamblia* op alle ingezonden fecesmonsters, onafhankelijk van de vraagstelling of het om bacteriologisch dan wel parasitologisch onderzoek dient te gaan, een belangrijke bijdrage levert aan een verklaring van de klachten van de patiënt.

P. Singer, coördinerend hoofdanalist Laboratorium voor Medische Microbiologie, Medisch Centrum Alkmaar.  
Correspondentieadres: dr. F. Vlaspolder, Laboratorium voor Medische Microbiologie, Medisch Centrum Alkmaar, Wilhelminalaan 12, 1815 JD Alkmaar, e-mail: f.vlaspolder@mca.nl.

## Materiaal en methoden

### Fecesmonsters

Het overgrote deel van de fecesdiagnostiek is afkomstig van de huisartsen uit ons adherentiegebied (populatie van 400.000). Bij aanvraag van bacteriologisch onderzoek wordt onderzoek verricht naar *Salmonella*-, *Shigella*-, *Campylobacter*-species en eventueel op verzoek naar *Yersinia enterocolitica*. Bij de aanvraag parasitologisch onderzoek is de diagnostiek gebaseerd op microscopie. Feces werd aanvankelijk ingestuurd als een ongefixeerd monster variërend van een tot drie monsters per klachtenperiode. Na de introductie van de tripelfecetest (TFT) door Mank is in ons adherentiegebied langzamerhand in toenemende mate gebruikgemaakt van deze inzendmethode.

In 1997 zijn er twee perioden gekozen in laag- en hoogprevalentieperiode (april-mei respectievelijk augustus-september) vanwege de betere sensitiviteit ten opzichte van de microscopie. Vanaf 2001 worden alle fecesmonsters waarvoor zowel bacteriologisch als parasitologisch onderzoek is aangevraagd, onderworpen aan de ProSpecT/Giardia-EIA-test.

### Microscopie

Na de formaline-etherconcentratiemethode volgens Ridley en Hawgood werd van het sediment een negatief preparaat gekleurd met lugoljodium.<sup>8,9</sup> In geval van een gefixeerd fecesmonster werd gekleurd met chlorazolzwart.<sup>10,11</sup>

### Enzymimmunoassay (EIA)

Voorafgaand aan het uitvoeren van de EIA werd het fecesmonster 1:4 (vol:vol) verdund in buffer voor het verkrijgen van een eluaat. De feces suspensie werd vijf minuten gecentrifugeerd bij 2000 rpm (remkracht 1). De Giardia EIA werd verder uitgevoerd volgens de instructies van producent (ProSpecT/Giardia GSA-65-testkit, Alexon Inc., Mountain View, California, USA).

### Tripelfecetest (TFT)

Een TFT-set bestaat uit drie receptacula voor fecesmonsters. Twee met SAF-fixatief voor dag 1 en 3 en een leeg receptaculum voor dag 2.

### Test of cure

Om het effect van de behandeling op de patiënten met positieve Giardia-diagnostiek te meten, vroegen we via de huisarts een tweede fecesmonster in te sturen een week na het beëindigen van de therapie. Van de patiënten die reageerden met een tweede fecesmonster werd de huisarts benaderd en gevraagd naar het verdere beloop van de klachten.

### Enquête

Er is een mini-enquête opgezet over het gebruik en inzetbaarheid van een antigeen/amplificatietest voor het aantonen van *Giardia lamblia* in feces. Deze bestond uit slechts vier vragen en is door het secretariaat van de NVMM per e-mail verstuurd aan artsen-microbioloog.

### Resultaten

In een groep van 821 patiënten verdeeld over twee perioden in 1997 (tabel 1 en 2) werden 1078 fecesmonsters met de vraagstelling parasitologisch en /of bacteriologisch onderzoek microscopisch voor dan wel achteraf bekeken en op alle monsters een EIA uitgevoerd. Het aantal fecesmonsters per patiënt dat werd aangevraagd op parasieten bedroeg gemiddeld 1,55 (545/352). Het gemiddeld aantal monsters bij de bacteriologische aanvraag bedroeg 1,14 (533/469). Het aantal positieve patiënten in beide groepen was nagenoeg gelijk. In de parasitologische groep vonden we 45 patiënten positief in de Giardia EIA en 48 patiënten met als aanvraag alleen bacteriologisch onderzoek. De microscopie in vergelijking met de Giardia EIA, indien we beide perioden in 1997 in ogenschouw nemen, zag er als volgt uit: in de parasitologische aanvragen bleken van 57 EIA-positieve uitkomsten er 39 na microscopisch onderzoek positief te zijn. In de bacteriologische aanvragen betrof het 51 EIA-positieve uitkomsten met 32 microscopisch positieve uitslagen (tabel 1 en 2).

Na introductie van de Giardia EIA voor uitsluitend parasitologische aanvragen werd vanaf 16 augustus tot en met 20 oktober 2000 nagegaan of het aanvraagpatroon was gewijzigd en werd de Giardia EIA wederom toegepast op de fecesmonsters met een bacteriologische vraagstelling.

Tabel 3 geeft de resultaten weer van positieve Giardia EIA voor beide patiëntengroepen op basis van de aanvraag. In 256 parasitologische aanvragen (192 patiënten) bleken

Tabel 1. Resultaten van de periode april 1997-mei 1997, waarin alle fecesmonsters werden onderworpen aan Giardia-EIA en microscopie.

AANVRAGEN	FECESMONSTERS (PATIËNTEN)	POSITIEVE EIA (PATIËNTEN)	POSITIEVE MICROSCOPIE DIRECT	POSITIEVE MICROSCOPIE NADIEN*
Parasitologie	247 (202)	18 (11)	13	13+2
Bacteriologie	262 (215)	13 (11)	NV	8
Totaal	509 (417)	31 (22)		23

\*Indien EIA-positief /directe microscopie negatief was, volgde herbeoordeling preparaat.

Tabel 2. Resultaten van de periode augustus 1997-september 1997, waarin alle fecesmonsters werden onderworpen aan Giardia-EIA en microscopie.

AANVRAGEN	FECESMONSTERS (PATIËNTEN)	POSITIEVE EIA (PATIËNTEN)	POSITIEVE MICROSCOPIE DIRECT	POSITIEVE MICROSCOPIE NADIEN*
Parasitologie	298 (150)	39 (34)	21	21+3
Bacteriologie	271 (254)	38 (37)	NV	24
Totaal	569 (404)	77 (71)		48

\* Indien EIA-positief /directe microscopie negatief volgde herbeoordeling preparaat.

NV = niet verricht.

Tabel 3. Resultaten van de periode 16 augustus 2000-20 oktober 2000, waarin alle fecesmonsters werden onderworpen aan Giardia-EIA en gedeeltelijk microscopie.

AANVRAGEN	FECESMONSTERS (PATIËNTEN)	POSITIEVE EIA (PATIËNTEN)	POSITIEVE MICROSCOPIE DIRECT	POSITIEVE MICROSCOPIE NADIEN*
Parasitologie	256 (192)	31 (23)	21	NV
Bacteriologie	307 (285)	30 (27)	NV	NV
Totaal	563 (457)	61 (50)		

\*Indien EIA-positief /directe microscopie negatief volgde herbeoordeling preparaat.

NV = niet verricht.

23 patiënten en EIA-positief (12%) en bij de 307 bacteriologische aanvragen (285 patiënten) bleken 27 patiënten EIA-positief (9,4%) te zijn. Vanaf 2001 is de Giardia EIA routinematig ingevoerd onafhankelijk van de aanvraag. In tabel 4 zijn de resultaten van de Giardia EIA-uitkomsten

vanaf 2001 tot en met 2007 weergegeven. *Figuur 1* geeft de aantallen aanvragen weer die in de aangegeven periode werden ingestuurd naar ons laboratorium vanaf 2001 tot en met 2007 *Figuur 2* geeft het aantal positieve EIA-resultaten per jaar (2001-2007) in beide groepen weer met de ratio

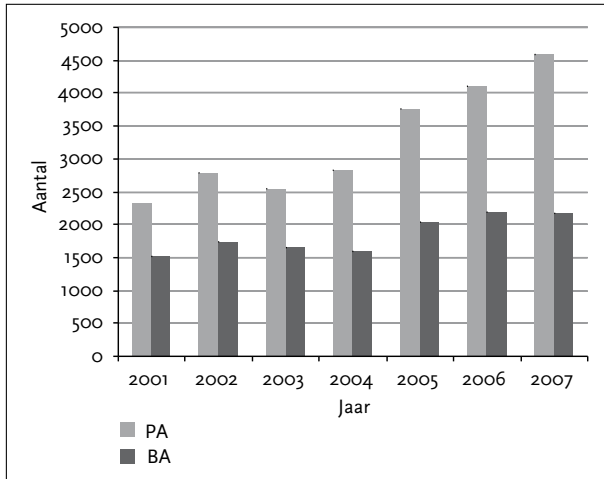
Tabel 4. Resultaten van de periode 2001 tot en met 2007, waarin alle fecesmonsters werden onderworpen aan Giardia-EIA.

	AANVRAAG	AANTAL FECESMONSTERS (AANTAL PATIËNTEN)	POSITIEVE EIA (%)	POSITIEVE PATIËNTEN (%)
2001	1	2326 (1726)	160 (6,9)	132 (7,6)
	2	1508 (1331)	77 (5,1)	72 (5,4)
2002	1	2784 (1964)	189 (6,8)	159 (8,1)
	2	1738 (1489)	86 (4,9)	80 (5,4)
2003	1	2539 (2003)	175 (6,9)	156 (7,8)
	2	1650 (1450)	89 (5,4)	85 (5,9)
2004	1	2829 (2341)	178 (6,3)	162 (6,9)
	2	1601 (1427)	78 (4,9)	76 (5,3)
2005	1	3768 (2391)	203 (5,4)	140 (5,9)
	2	2032 (1764)	70 (3,4)	65 (3,7)
2006	1	4093 (2558)	225 (5,5)	157 (6,1)
	2	2192 (1966)	84 (3,8)	78 (4,0)
2007	1	4584 (2693)	207 (4,5)	137 (5,1)
	2	2171 (1896)	69 (3,2)	57 (3,0)
Totaal	1	22.923 (15.676)	1337 (5,8)	1043 (6,6)
	2	12.892 (11.323)	553 (4,3)	513 (4,5)

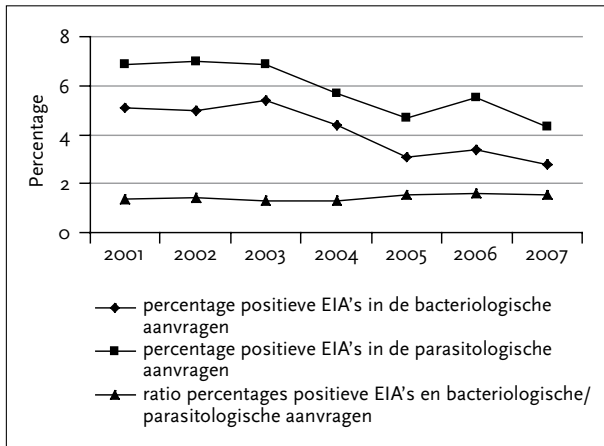
1 = parasitologie, 2 = bacteriologie.



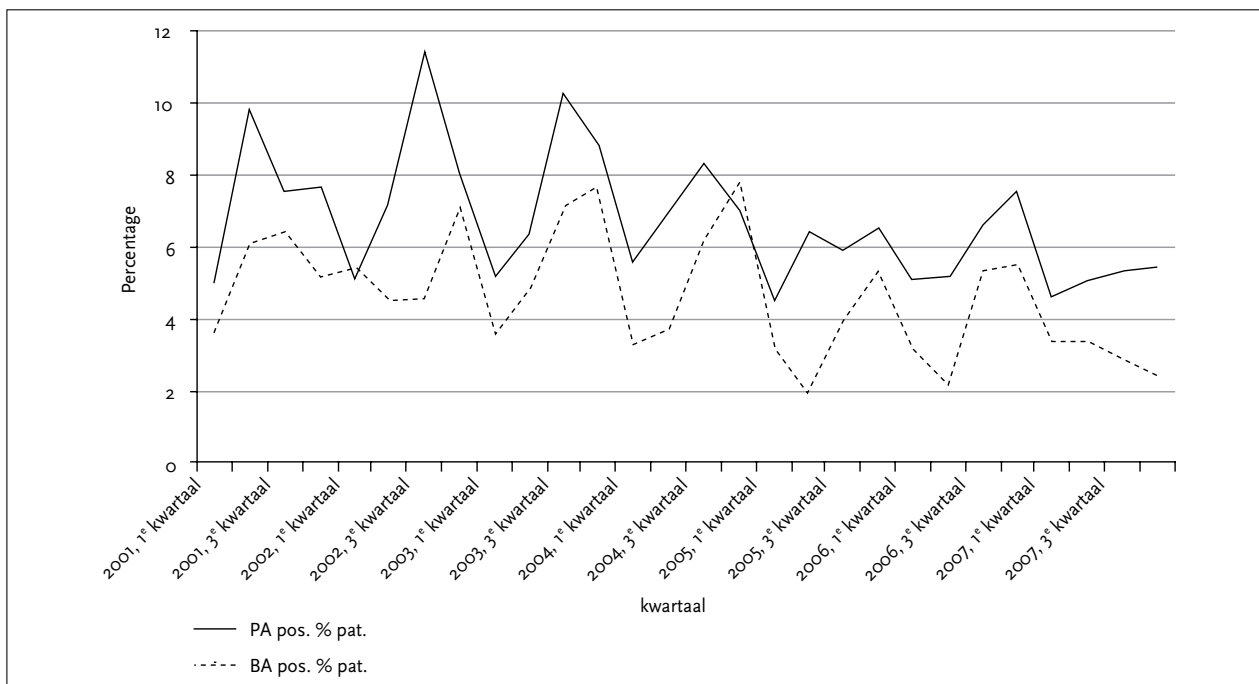
Figuur 1. Parasitologische (PA) en bacteriologische (BA) aanvragen in de periode van 2001 tot en met 2007.



Figuur 2. Percentage positieve *Giardia lamblia*-EIA in bacteriologische en parasitologische aanvragen.



Figuur 3. Percentage *Giardia*-positieve patiënten in parasitologische en bacteriologische aanvragen, per kwartaal van 2001 tot en met 2007.



tussen de positieve EIA-percentages. *Figuur 3* geeft een overzicht van het percentage positieve patiënten per kwartaal vanaf 2001 tot een met 2007.

### Giardia EIA als test of cure

Uit de twee perioden (*tabel 1 en 2*) in 1997 hebben we 93 (22+71) *Giardia*-positieve patiënten verzocht een tweede fecesmonster in te sturen één week na het beëindigen van de therapie met metronidazol. Zesenvijftig (60%) patiënten voldeden aan het verzoek. Drieënvijftig (94,6%) patiënten bleken klachtenvrij en EIA-negatief te zijn. Drie patiënten waren nog steeds *Giardia*-EIA-positief:

Patiënt 1: een vrouw van 40 jaar, die na de behandeling nog dezelfde klachten bleek te hebben, kreeg nogmaals dezelfde behandeling. De klachten bleken nadien verdwenen te zijn en de *Giardia* EIA werd negatief.

Patiënt 2: een vrouw van 34 jaar, had haar feces te snel ingestuurd. Een nieuw monster een week na beëindigen van de behandeling gaf een negatief *Giardia* EIA-resultaat te zien.

Patiënt 3: een jongeman van 17 jaar, had geen medicatie genomen, omdat zijn klachten spontaan waren verdwenen, maar had wel zijn tweede feces ingezonden en was nog positief in de *Giardia* EIA en bij microscopie. Een derde fecesmonster nogmaals twee weken later bleek echter nog steeds positief in de *Giardia* EIA te zijn. De patiënt bleef klachtenvrij.

### Enquête

Van de benaderde maatschappen medische microbiologie hebben er 32 gereageerd op de mini-enquête. Deze

bedienen 52 ziekenhuislaboratoria. De enquête bestond uit de volgende vragen:

1. *Verricht u parasitologie diagnostiek binnen uw laboratorium?*

Tweeëndertig responderende maatschappen bleken dat te doen.

2. *Maakt u gebruik van een antigeen/amplificatietest om Giardia lamblia aan te tonen?*

Zeventien maatschappen antwoordden bevestigend.

3. *Gebruikt u deze antigeen/amplificatietest op alle fecesonderzoeksvragen of alleen indien parasitologisch onderzoek is aangevraagd?*

Van de 17 maatschappen bleken er 13 alleen een test te doen bij een parasitologische aanvraag. Binnen drie maatschappen werden op alle feces aanvragen een antigeen/amplificatietest verricht en bij één maatschap alleen indien er sprake was van klachten langer dan zeven dagen.

4. *Welke antigeen/amplificatietest hebt U in gebruik?*

Deze gegevens staan vermeld in tabel 5.

Tabel 5. Gebruikte methoden van de 32 responderende maatschappen medische microbiologie waar parasitologische diagnostiek plaatsvindt voor het aantonen van *Giardia lamblia*.

GEBRUIKTE METHODE	AANTAL MAATSCHAPPEN MEDISCHE MICROBIOLOGIE
EIA	9
IFT	2
Merifluor	1
PCR	3
Strips (niet nader omschreven)	1
RidaQuick	1
Uitsluitend microscopie	15
Totaal	32

## Discussie

Met name in de huisartsenpraktijk is *Giardia lamblia* een redelijk vaak gevonden pathogeen als veroorzaker van intestinale klachten. Gezien het feit het lastig is om op basis van de duur van diarree een scheiding te maken tussen het verrichten van diagnostiek naar een bacteriologische dan wel een parasitologische verwekker, heeft ons doen besluiten de *Giardia lamblia*-diagnostiek uit te breiden naar bacteriologische aanvragen. Al uit de pilot die werd verricht werd een laag- en een hoogprevalente periode in 1997, bleek dat veel patiënten met intestinale problemen op basis van *Giardia lamblia*-infestatie werden gemist. Het geven van presentaties over dit onderwerp en een patiëntenonderzoek bij huisartsen in het kader van Giardia EIA als *test of cure* zou kunnen hebben geleid tot een ander aanvraagpatroon. Het doen van de *test of cure*

gaf slechts een indruk van het niet meer kunnen aantonen van Giardia antigeen een week na het beëindigen van de metronidazolbehandeling. Hernieuwde gastro-intestinale klachten met een negatieve Giardia EIA na behandeling voor een giardiase sluit een herinfestatie met *Giardia lamblia* dus vrijwel zeker uit. De vraag blijft of bij deze patiëntengroep antigeen bijvoorbeeld na vier weken wel aantoonbaar zou zijn geweest vanwege mogelijke *recovery* van *Giardia lamblia* zonder dat de patiënt klachten had.

Alvorens de Giardia EIA ook als routinebepaling mee te nemen in het bacteriologische fecesonderzoek, wilden we door middel van een klein onderzoek vaststellen of er inderdaad een verschuiving zou zijn opgetreden in het aanvraagpatroon richting de parasitologie. Niets bleek minder waar. Ook uit het onderzoek in 2000 (tabel 3) bleek dat het aanvraagpatroon niet echt was gewijzigd. Als de periodes van augustus-september 1997 met half augustus-half oktober 2000 worden vergeleken, dan vallen de hoge percentages van positieve patiënten op. De positiviteit van patiënten bij parasitologische aanvragen bedroeg 22,7 procent (tabel 2) in augustus-september 1997 en 12,0 procent (tabel 3) in augustus-oktober 2000. De positiviteit in dezelfde perioden bij bacteriologische aanvragen was respectievelijk 14,6 en 9,4 procent. Het aantal patiënten in de drie pilotonderzoeken waarvoor slechts een bacteriologische aanvraag was gedaan op basis van het klachtenpatroon zou in eerste instantie in 75 gevallen geen diagnose hebben opgeleverd. Bij deze 75 patiënten werden geen andere darmpathogenen gevonden uit het bacteriologisch onderzoek. In dezelfde periode werden in de parasitologische aanvraaggroep slechts 68 patiënten met een positieve Giardia EIA gevonden. Of er klimatologische omstandigheden waren, zoals extreem goed zwemweer, waarmee de hoge percentages waren te verklaren, is niet verder onderzocht. Of een regelmatig signaal de ruchtbaarheid zo af en toe naar de huisartsen toe tot alertheid voor *Giardia lamblia* heeft geleid, is niet bekend. Na het bekend worden van deze bovenstaande cijfers vonden wij het gerechtvaardigd de Giardia EIA routinematig in te zetten voor de bacteriologische aanvragen.

Van 2001 tot en met 2007 zien we een gelijke tred in positieve bevindingen in beide groepen. De ratio tussen de positieve Giardia EIA in parasitologische aanvragen en de positieve Giardia EIA in de bacteriologische aanvragen is gemiddeld 1,43 en varieert van 1,28 in 2003 tot 1,62 in 2006 (figuur 2)

Het aantal aanvragen gedurende de periode 2001-2007 is ten aanzien van de parasitologische aanvragen toegenomen, hetgeen deels te verklaren valt met de geleidelijke introductie van de TFT-set. Het aanvraagpatroon tussen 2004 tot en met 2006 lijkt zich wat te verschuiven naar in verhouding meer bacteriologische aanvragen ten opzichte van het aantal parasitologische aanvragen op basis van het aantal patiënten (tabel 4). Een verklaring zou

kunnen zijn dat, indien men bacteriologisch onderzoek aanvraagt daar standaard een *Giardia* EIA-uitslag bij krijgt. Dit laatste hebben wij niet onderzocht.

Het aantal aanvragen voor fecesdiagnostiek houdt gelijke tred met het aantal patiënten (ratio 1,34). Opmerkelijk is, zoals eerder genoemd, een verschuiving in aanvraagpatroon, maar gelet op de jaren 2006 en 2007 is er een toename van parasitologische aanvragen. Ook in deze periode blijft het aantal positieve *Giardia* EIA-bevindingen bij de bacteriologische aanvragen hoog, namelijk 135 patiënten versus 394 patiënten bij parasitologische aanvragen.

### Conclusie

Indien de huisarts bij zijn/haar aanvraag de NHG-Standaard heeft gevolgd voor de indicatie om bacteriologisch fecesonderzoek te laten verrichten, kan worden geconcludeerd dat onderzoek naar *Giardia lamblia* bij verdenking van een klinisch-bacteriologische infectie zinvol is. Het verrichten van diagnostiek naar *Giardia lamblia* op een fecesmonster met aanvraag voor bacteriologisch onderzoek lijkt ons dan ook zeer aangewezen.

De *Giardia* EIA kan dienst doen als een *test of cure*. Uit de laboratoriumenquête blijkt dat, hoewel een antigeendetectie op zijn minst bij 17 medisch-microbiologische maatschappen voorhanden is, deze slechts in vier laboratoria worden uitgevoerd op alle fecesaanvragen

### Literatuur

1. Mank TG. Intestinal protozoa and diarrhoea in general practice: Thesis 1997.
2. Mank TG, Zaat JOM, Polderman AM. Onderschatting van darmprotozoa als oorzaak van diarree in de huisartsenpraktijk. Ned Tijdschr Geneesk. 1995;139:324-7.
3. Koopmans MPG, Kortbeek LM, Duynhoven YTHP van. Acute gastro-enteritis: inzicht in incidentie, oorzaken en diagnostiek door populatieonderzoek. Tijdschrift voor Infectieziekten 2008;1:8-16.
4. Wit MAS de, Koopmans MPG, Kortbeek LM, Leeuwen NJ van, Bartels AIM, Duijnhoven YTHP van. Gastro-enteritis in sentinel general practices, The Netherlands. Emerging Infect Dis. 2001;8:2-91.
5. Rosoff JD, Sanders CA, Sonned SS, Delay PR, Hadley WK, Vincenzi FF, et al. Diagnosis of giardiasis using a commercially available enzyme immunoassay to detect *Giardia*-specific antigen 65 (GSA 65). J Clin Microbiol. 1989;27:1997-2002.
6. Addis DG, Mathews HM, Stewart JM, Wahlquist SP, Williams RM, Finton RJ, et al. Evaluation of a commercially available enzyme-linked immunosorbent assay for *Giardia lamblia* Antigen in Stool. J Clin Microbiol. 1991;29:1137-42.
7. Br hl PhC, Lamers HJ, Dongen AM van, Lemmen WH, Graafmans D, Jamin RH, et al. NHG-Standaard acute diarree M34. Huisarts Wet. 2007;50(3):103-13.
8. Ridley DS, Hawgood BC. The value of formal-ether concentration of fecal cysts and ova. J Clin Pathol. 1956;9:74-6.
9. Polderman AM, Rijpstra AC. Medische parasitologie, handleiding bij de laboratoriumdiagnostiek. Bohn Stafleu Van Loghum, Houten/Zaventem 1993, pp. 122-196.
10. Gool T, Mank TG. Fixatives and permanent stains in the laboratory diagnosis of intestinal protozoal infections (1<sup>e</sup> editie) 1999 Jos Mathot b.v., Haarlem.
11. Gool T, Weijts R, Lommerse E, Mank T. Triple faeces test: an effective tool for detection of intestinal parasites in routine clinical practice. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2003;22:284-90.

# Microbiologie *that never sleeps*

J.S. Kalpoe

## Inleiding

Na zes jaar Leidse microbiologie, een proefschrift verder en bijna aan het einde van de opleiding tot arts-microbioloog, voelde ik een sterke drang om even een andere uitdaging aan te gaan. Een bijzondere samenloop van omstandigheden stelde mij in de gelegenheid om enige tijd op de afdeling *Transplant Infectious Diseases* van het *Mount Sinai Hospital* in New York door te brengen. Als onderdeel van een nog op te zetten samenwerkingsverband met Leiden zou ik mij in New York bezighouden met klinisch onderzoek op het gebied van infecties bij transplantatiepatiënten. Daarnaast kon ik mij verdiepen in de kliniek en de microbiologie van infecties bij transplantatiepatiënten. Hieronder een impressie van een dag uit het leven van een microbioloog in de Verenigde Staten.

## Mount Sinai Hospital

Woensdag om 06:30 uur begint de dagelijkse reis vanuit de 14<sup>e</sup> verdieping boven de M&M-store op *TimesSquare*,

naar het diagnostieklaboratorium voor microbiologie van het *Mount Sinai Hospital* in Manhattan. Normaal gesproken zou ik op woensdag een uur later in de metro stappen om net op tijd te zijn voor de wekelijkse labronde van 08.00-09.00 uur, een interactieve onderwijssessie verzorgd door de microbioloog van het *Mount Sinai* voor de arts-assistenten Infectieziekten en Pathologie. Maar als onderdeel van mijn labstage ben ik vandaag ingedeeld bij de analist van de bloedkweken en hij begint al om 7.00 uur, zodat alle uitslagen vier uur later, als de eerste visites op de patiëntenafdelingen beginnen, al zijn verwerkt.

J.S. Kalpoe, afdeling Medische Microbiologie, E4-P, Leids  
Universitair Medisch Centrum (LUMC), Postbus 9600, 2300 RC  
Leiden, e-mail: JSKalpoe@gmail.com.



Figuur 1. Mount Sinai Hospital, ten noordoosten van *Central Park* (rechtsboven op de achtergrond).

Figuur 2. Decoratie in de lift.

Het *Mount Sinai Hospital*, opgericht in 1852 door de filantroop Sampson Simson, is een van de oudste en grootste opleidingsziekenhuizen in de Verenigde Staten. Dit non-profit academisch ziekenhuis met een capaciteit van 1171 bedden is gelegen tussen de 9<sup>th</sup> en 102<sup>nd</sup> Street en Madison- en Fifth Avenue in Manhattan's Upper East Side, aan de oostelijke rand van Central Park.

Een team van meer dan 3000 artsen behandelt meer dan 47.000 opgenomen patiënten en meer dan 427.000 polipatiënten per jaar. In 2007 werd het ziekenhuis door de *U.S. News & World Report* beoordeeld als een van de beste ziekenhuizen in de Verenigde Staten (behorende tot de top 3). In datzelfde jaar kwamen 240 artsen uit het *Mount Sinai Hospital* voor op de lijst van *Best Doctors* van de *New York Magazine*. Op de lijst van *Mounts Sinai's first described diseases* komen onder meer de ziekte van Crohn (1932), Churg-Strauss en Libman-Sacks voor. Andere primeurs uit dit ziekenhuis zijn onder meer de beschrijving van het concept achter de tuberculosehuidtest (Schwartzmanfenomeen) en de ontwikkeling van het eerste *genetically engineered* vaccin (namelijk dat voor influenza in 1969). Op de lijst van bekende personen staat onder meer de ontdekker van het poliovaccin, Jonas Salk, stafarts van het *Mount Sinai Hospital*. Op een vergelijkbare lijst, maar dan voor bekende patiënten, komt men onder meer Liv Tyler tegen, die op 1 juli 1977 in dit ziekenhuis werd geboren. Gwyneth Paltrow beviel hier in 2006 van haar tweede kind.

Het ziekenhuis is verbonden aan het *Mount Sinai School of Medicine* (MSSM), die werd opgericht in 1968. De officiële naam van dit instituut is *Mount Sinai School of Medicine of New York University*, vanwege de academische affiliatie met *New York University* (NYU). In het medisch curriculum van het MSSM ligt de nadruk in de eerste twee jaren op de basale medische wetenschap en in de laatste twee jaren op

de klinische wetenschap. De eerste twee jaren zijn strikte *pass-or-fail*-jaren. Het derde en vierde jaar betreffen de klinische *rotations* (coschappen), zowel in het *Mount Sinai Hospital* en als in geaffilieerde ziekenhuizen zoals het *Elmhurst Hospital Center* in Queens, gelegen in een wijk met de grootste etnische diversiteit in de Verenigde Staten. Het MSSM staat op nummer 23 van de *Best Medical School*-lijst van het *U.S. News & World Report* (2008) en op de 20<sup>e</sup> plaats op de lijst van de *National Institute of Health* (NIH). Het PhD-programma van het MSSM was in 2007 de derde beste in de Verenigde Staten volgens analytici.

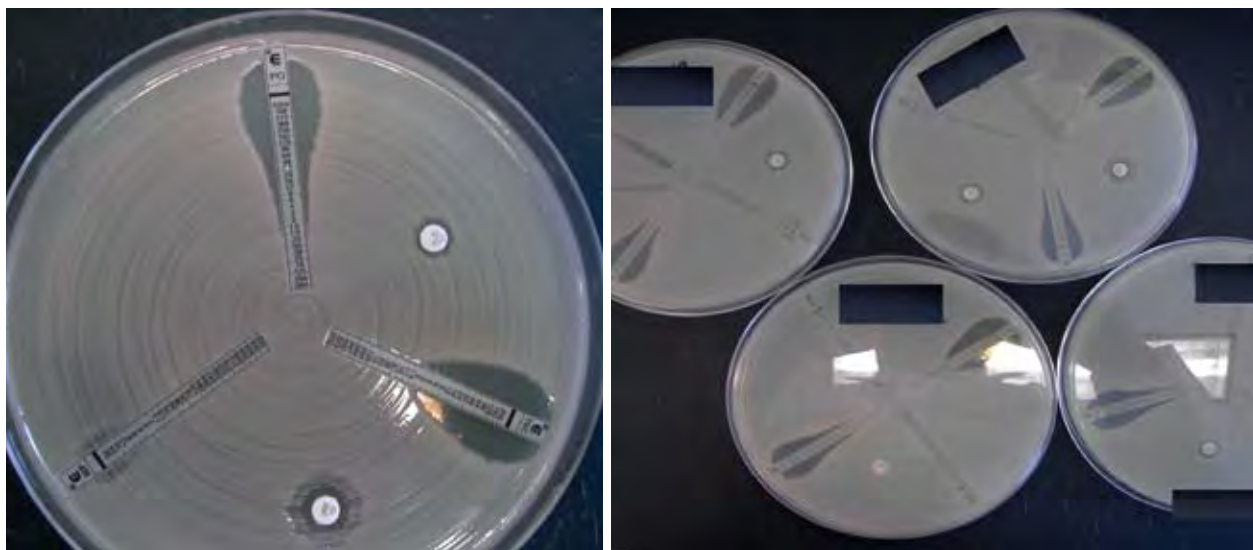
### Lab rotation

Met deze feiten en cijfers in mijn achterhoofd stap ik om 6:50 uur in de lift van het Annenberggebouw om te worden gelanceerd naar mijn werkkamer op de 23<sup>e</sup> verdieping. Als ik tien minuten later op het laboratorium kom, is de analist al met de bloedkweken begonnen. De VRE's, ESBL's, KPC-Klebsiella's en MRSA's zijn weer gegroeid. De analist en zijn collega's moeten lachen als ik gefascineerd naar de gevoeligheidsplaten blijf staren (*figuur 3*).

Tussendoor pak ik nog even de *plate rounds* van deze woensdag mee, waar zes assistenten en de microbioloog om een multioculaire microscoop zitten. De eerste twee patiënten die worden besproken, komen uit Long Island, dat ten zuidoosten van Manhattan ligt en onder meer bekend is van een cocktail, en bij infectiologen/microbiologen ook vanwege de *tick-borne diseases*.

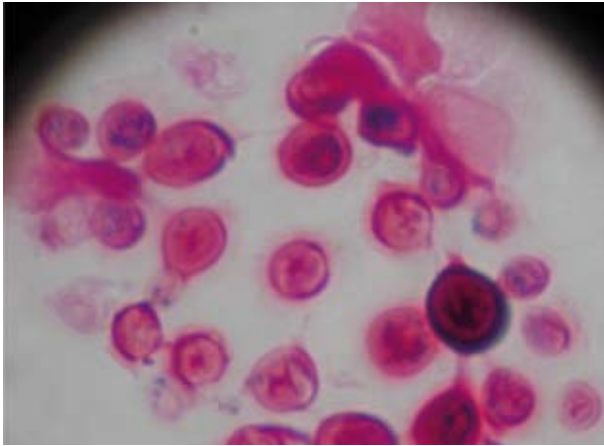
De ene patiënt had babesiose (met een hoge parasitemie waarvoor plasmaferese nodig was) en de andere anaplasmose; de microscoop kwam dus goed van pas. De derde patiënt, een jonge man met hiv-infectie en weinig gevoel voor therapietrouw, had neurologische klachten. In zijn liquor waren de cryptokokken niet te missen (*figuur 4*).

Figuur 3. Fascinerende e-testen





Figuur 4. Cryptokokken in liquor van een hiv-positieve patiënt.



Oom 11.00 uur waren alle nieuwe en oude bloedkweken afgerond. Ik kon me weer verdiepen in laboratorium-procedures zoals de Indoltest voor E-coli direct op een wattenstaaf waarmee een kolonie is opgepikt, de staphaurex-agglutinatietest voor *S. aureus*, de P-slide en P-disk voor pneumokokken en de *rapid-strep*-test voor vergroeners. Ik kon ook de verleiding niet weerstaan de kant en klare 0,5 McFarland-suspensiekit uit te proberen en het semigeautomatiseerde systeem voor e-testen. Over robots gesproken, bij een positieve bloedkweekfles genereert een Bactec een opdringerige piep, maar als je wilt weten hoe een jamsessie met deze instrumenten kan klinken, moet je acht van dergelijke apparaten gevuld met bloedkweekflessen, in één ruimte neerzetten en wachten op de positieve kweken.

Tijdens de *microbiology lab rotation* krijg ik de gelegenheid langs alle subafdelingen te gaan: administratie, bacteriologie, parasitologie, mycologie, virologie en moleculaire diagnostiek. Bij de bloedkweken ben ik vier dagen blijven hangen en op de administratie was een halve dag genoeg. De meeste aanvragen komen hier elektronisch binnen vanuit de afdelingen in het ziekenhuis en de materialen worden vooral via de buizenpost bezorgd. De administratie wordt door één analist bemand en af en toe krijgt zij hulp van één of twee andere analisten. De analist ontvangt de materialen, controleert en sorteert ze voor de verschillende deellaboratoria. Voor de bacteriologie maakt zij de grammen en ent zij de platen. Op het bacteriologielaboratorium kan de analist op een bepaalde groep via de computer zien dat er een grampreparaat op de administratie klaarstaat om te worden bekeken en de analist rapporteert dan de uitslag in het ziekenhuisinformatiesysteem.

De analisten werken in drie diensten, van 08:00-16:00 uur, 16:00-0:00 uur en van 0:00-08:00 uur (alleen bij de bloedkweken begint men om 07:00 uur); het laboratorium is dus 24 uur per dag bemand: *the microlab that never sleeps*. Er zijn voor het hele laboratorium twee ervaren superviserende analisten die zich vooral bezighouden met *troubleshooting*. Als deze analisten er niet uitkomen, wordt de

microbioloog erbij gehaald. De microbioloog is in New York een arts-patholoog, gespecialiseerd in de microbiologie, of een *microbiologist-PhD*, zoals in dit ziekenhuis. Hij houdt zich bezig met onderwijs aan studenten, analisten en arts-assistenten (Pathologie en Infectieziekten), superviseert het laboratorium, onderhoudt contact met de clinici en leidt basaal en klinisch-wetenschappelijk microbiologisch onderzoek. Aan het einde van de dag worden alle uitslagen van die dag door de microbioloog gecontroleerd en zo nodig worden aanpassingen aangebracht of aanvullende testen gedaan.

### Transplant Infectious Diseases

Na vier weken aaneengesloten op het laboratorium had ik weer zin in de infectieziektenconsulten. De afdeling *Transplant Infectious Diseases* (TID) is onderdeel van de afdeling Infectieziekten en bestaat uit drie stafartsen (infectiologen) en een of twee roulerende *fellows* (arts-assistenten). Deze beginnen om ongeveer 08.30 uur met hun dagelijkse ronde langs nieuwe en lopende TID-consulten. De superviserende infectioloog houdt zich op de achtergrond bezig met logistieke zaken zoals de uitslagen van verschillende onderzoeken bij patiënten en springt in als het voor de arts-assistent druk wordt met de consulten. De arts-assistent heeft namelijk tot 13.00 uur de tijd om gemiddeld 20 consulten per dag in kaart te brengen. Vanaf 13.00 uur lopen de assistenten en de supervisor alle TID-consulten af. Beginnend op de IC wordt eerst aan de balie bij de computer de betreffende casus besproken. De arts-assistenten presenteren hun consulten aan elkaar en de stafarts stuurt de discussie richting differentiaaldiagnose, etiologie, beleid en *evidence-/experience-based medicine* en geeft zelfs feedback op de wijze waarop de assistent de casus presenteert. Deze vorm van onderwijs zet zich vervolgens voort aan het bed van de patiënt waarna assistent en stafarts meteen het beleid afspreken en afstemmen met de behandelende artsen. De dag eindigt als de laatste patiënt is gezien, dat kan om 20.00 uur zijn of – als het meezit – al om 17.00 uur. Deze lesronde herhaalt zich iedere dag en is ‘heilig’. Er is zelfs een stafarts die als achterwacht de spoedconsulten doet in de middag zodat de arts-assistenten niet worden gestoord door hun pieper. Ik ben gekoppeld aan een van de TID-infectiologen en loop met zijn dagelijkse visite mee. Antibioticatherapie met tygecyciline, linezolide en daptomycine beginnen al te wennen. Dat is niet het geval met het telkens omkleden volgens de isolatievoorschriften vanwege resistente pathogenen (BRMO's) als we een patiëntenkamer binnenlopen. Iedere patiënt met verdenking op BRMO's, en dat zijn er dus vrij veel, gaan in strikte isolatie totdat ze negatief zijn getest. Het komt bijna ongeloofwaardig over als er op de dossier van een TID-patiënt staat: geen MRSA, VRE, ESBL of KPC. Bij het binnentreden en het verlaten van een patiëntenkamer

wordt, soms zelfs subtiel, aangedrongen op handdesinfectie. En als je dat toevallig vergeet is er altijd wel iemand, collega-arts, verpleging, schoonmaakster, patiënt of diens bezoek, die je daar op een of andere manier op wijst. De eerste keer moest ik er nog om lachen, maar het werd mij al gauw duidelijk dat het niet echt grappig was bedoeld.

Een voordeel van vroeg beginnen, zoals op de bloedkweken, is dat ik al om 18.00 uur thuis ben. Dat kwam deze keer goed uit aangezien we kaartjes hadden voor het *New York Philharmonic* in *Carnegie Hall*. Eenmaal terug op TimesSquare, in de *city that never sleeps*, waar zelfs de microbiologie 24 uur per dag doorgaat, is het voor mij dan weer hoog tijd om te gaan slapen.

# Wat heeft het CBG voor ú in huis?

H. Brandt-Domenicus, T. van Rossum, N. Breekveldt-Postma, B. Voordouw

Op deze plek in het blad zult u vanaf nu regelmatig een bijdrage vinden van het College ter Beoordeling van Geneesmiddelen (CBG). In deze eerste bijdrage schetsen we graag een beeld van onze organisatie. Een aantal van u zal het College kennen als instantie die een geneesmiddel goedkeurt, zodat het op de markt mag komen in Nederland. Maar dit is slechts één moment in het hele proces dat loopt van wetenschappelijk advies tot beoordeling en bewaking van elk geneesmiddel dat op de Nederlandse markt komt en (soms tijdelijk) blijft – met alle veranderingen en problemen die zich voordoen.

Binnen het CBG is een specifieke groep mensen vooral verantwoordelijk voor alle zaken rondom infectieziekten. Deze groep heeft onder meer specialistische kennis op het gebied van antibiotica, antivirale middelen, hiv/aids en vaccins. Toxicologen, farmaceuten en artsen spelen een rol bij de beoordeling van alle aspecten van een nieuw geneesmiddel. Waar mogelijk zoeken we overleg met de experts 'in het veld'.

## Commissies

Ons werk houdt niet op in Nederland. In Europees verband werken we als lidstaat binnen de Europese registratie-autoriteit, de *European Medicines Agency* (EMA). Het CBG is hierin vertegenwoordigd in wetenschappelijke commissies, zoals de commissie voor geneesmiddelen voor humaan gebruik – de *Committee of human medicinal products* (CHMP) – en de commissie voor stimulering van onderzoek en registratie van geneesmiddelen voor zeldzame ziekten – de *Committee for Orphan Medicinal Products* (COMP). Diverse infectieziekten worden in Europa als zeldzaam geclassificeerd, zoals malaria, tuberculose en verschillende parasitaire ziekten.



Het CBG is ook vertegenwoordigd in commissies voor diergeneesmiddelen en kruidengeneesmiddelen en in een aantal werkgroepen die zich bezighouden met wetenschappelijke vragen, richtlijnontwikkelingen, de Europese harmonisatie, geneesmiddelenbewaking, anti-hiv-middelen, vaccins, antibiotica, enzovoort.

U komt het CBG ook tegen in verschillende nationale commissies (bijvoorbeeld Gezondheidsraad), de WHO en op bijeenkomsten, congressen en workshops, waar we regelmatig presentaties geven. Soms verschijnt het CBG in actualiteitenprogramma's.

## Informatie

Op onze website [www.cbg-meb.nl](http://www.cbg-meb.nl) kunt u altijd actuele informatie vinden over het CBG, over humane geneesmiddelen, over diergeneesmiddelen en ook over nieuwe voedingsmiddelen.

Waar willen we in dit tijdschrift over schrijven? Wij willen schrijven over (nieuwe) vaccins en over de criteria waarop hun werkzaamheid wordt beoordeeld (denk aan de recente discussie rondom HPV-vaccins), over antibiotica en resistentie, over bijwerkingen, *risk management* en nog veel meer. Wij willen u bijpraten over wat er allemaal komt kijken bij het proces van idee tot product en welke rol registratie-autoriteiten daarin spelen. Deze rol begint al vóórdat de eerste klinische onderzoeken worden verricht. Dan kan een farmaceutische firma al wetenschappelijk advies inwinnen over het productieproces, de toedieningsvorm, de werking, de veiligheid. Andere columnonderwerpen zijn mogelijk nieuwe ontwikkelingen, nieuwe inzichten in veilig gebruik, andere indicaties, belangrijke wijzigingen in de voorwaarden van het gebruik, nieuwe richtlijnen en hoe ons nationale beleid zich met de Europese ontwikkelingen verhoudt.

Wij geven u graag een kijkje in onze keuken en hopen u nu – na al die jaren dat wij úw bijdragen in dit tijdschrift lezen – te laten delen in ónze expertise.

H. Brandt-Domenicus, T. van Rossum, N. Breekveldt-Postma, B. Voordouw, namens de beoordelingsgroep Infectieziekten College ter Beoordeling van Geneesmiddelen  
Correspondentieadres: College ter Beoordeling van Geneesmiddelen, Postbus 16229, 2500 BE, Den Haag, e-mail: [ac.voordouw@cbg-meb.nl](mailto:ac.voordouw@cbg-meb.nl).



# Polymorfismen in immuunresponsgenen bij infecties en auto-immuunziekten

M. Emonts

Op 8 oktober 2008 is mw. M. Emonts cum laude gepromoveerd aan het Erasmus MC te Rotterdam. Promotoren waren prof. dr. R. de Groot, prof. dr. P.W.M. Hermans (beiden afdeling Kindergeneeskunde, UMC St Radboud, Nijmegen) en prof. dr. J.D. Laman (afdeling Immunologie, Erasmus MC, Rotterdam). Hieronder volgt een samenvatting van haar proefschrift.

**Trefwoorden:** genetische polymorfismen, immuunresponsgenen

## Korte samenvatting

Uit de klinische praktijk blijkt dat individuen een verschillende gevoeligheid hebben voor infecties en auto-immuunziekten. Daarnaast is gebleken dat het klinische ziektebeeld kan verschillen. De presentatie van meningokokkeninfecties bijvoorbeeld varieert van meningitis tot sepsis en zelfs een zeer ernstig verlopende sepsische shock met een zekere mortaliteit.

De hypothese van het onderzoek was dat genetische polymorfismen in immuunresponsgenen zijn geassocieerd met de gevoeligheid voor, ernst van en uitkomst van infectie- en auto-immuunziekten.

Genetische polymorfismen werden geanalyseerd bij acht patiëntcohorten met inflammatoire ziekten: meningokokkeninfecties, chronische hepatitis-C-virusinfectie (HCV) en recidiverende acute middenoorontsteking (AOM) als infectieziekten; reumatoïde artritis (RA) uit de groep van auto-immuunziekten; en Guillain-Barrésyndroom (GBS) en Barrett-oesofagus als intermediair tussen infecties en auto-immuunziekten. Daarnaast werden nasale dragerschap van *Staphylococcus aureus* als risicofactor voor infectie, en sepsis na ernstig multitrauma als een inflammatoire aandoening bestudeerd.

Dit proefschrift is het resultaat van een samenwerking tussen diverse klinische en preklinische afdelingen van het Erasmus MC en enkele Nederlandse en buitenlandse centra. Van de gekozen inflammatoire ziektebeelden werd verwacht dat er ten minste een gedeeltelijke overlap was in de pathogenese.

## Polymorfismen

Polymorfismen in *IL4*, *PAI1*, *TNFA*, *IL6*, *IL10* en *C1INH* waren geassocieerd met meer dan een van de

bestudeerde ziektebeelden. Ter illustratie: transmissie van het *IL4* -524-C-allel aan patiënten met meningokokkeninfectie werd vaker geobserveerd dan verwacht onder Mendeliaanse overerving. Bij oudere individuen met het *IL4* -524-C/C-genotype werd vaker persisterend *S. aureus*-dragerschap gevonden. Mogelijk speelt een verminderde mucusproductie bij lagere IL-4-concentraties bij individuen met het *IL4* 524-C/C-genotype een rol.

PAI-1 inhibeert migratie en invasie van cellen, processen die essentieel zijn voor weefselherstel bij inflammatoire ziekten. Hogere PAI-1-concentraties zouden kunnen resulteren in persisterende weefselinflammatie of abnormaal gerepareerd weefsel, dat gevoeliger is voor bacteriële kolonisatie en nieuwe infecties. Het -675-4G/4G-promotergenotype is geassocieerd met hoge PAI-1-expressie. Kinderen met het *PAI1* 4G/4G-genotype hadden een verhoogd risico op meer frequente AOM-episodes. Daarnaast was het *PAI1* 4G/4G-genotype bij patiënten met HCV-infectie geassocieerd met een niet-permanente respons na therapie.

## MIF

Naast de rol van genetische polymorfismen in diverse inflammatoire ziektebeelden werd de rol van onder meer MIF bij meningokokkensepsis bestudeerd. In ontstekingsreacties wordt tijdelijk het pro-inflammatoire systeem meer geactiveerd dan het anti-inflammatoire systeem. Bij herstel van infectie zal ook de balans tussen deze twee systemen zich herstellen. Bij meningokokkensepsis slaat de balans echter door naar een te geactiveerd pro-inflammatoir systeem, waardoor juist weefselschade ontstaat. MIF, een pro-inflammatoire factor, was sterk verhoogd bij patiënten die de infectie niet overleefden, in vergelijking met overlevenden. Daarbij was er een negatieve correlatie tussen MIF en de cortisol: ACTH-ratio, hetgeen suggereert dat er een inadequate adrenerge respons is op sepsis. Deze discrepantie was het sterkst bij patiënten die niet overleefden.

Correspondentieadres: mw. dr. M. Emonts, afdeling Kindergeneeskunde, Erasmus MC-Sophia, Sh-2015, Postbus 2060, 3000 CB Rotterdam, e-mail: m.emonts@erasmusmc.nl

Deze bevindingen ondersteunen de rol van polymorfismen in immuunresponsogenen bij deze ziektebeelden. Behalve bovengenoemde onderzoeken werden in het proefschrift ook de stand van zaken, de discussiepunten en

toekomstperspectieven in het genetisch-epidemiologisch onderzoek beschreven. Het project is uitgevoerd met behulp van financiering door het Erasmus MC *Revolving Fund Foundation* (grant RF 2001/24).

#### AANKONDIGING

## Leergangen NSPOH

In de komende periode starten de volgende leergangen bij de NSPOH:

### Visie op public health en actuele ontwikkelingen – kernmodule MPH VERNIEUWD

U krijgt inzicht in de definities, paradigma's en perspectieven op public health. Vanuit een historisch perspectief ontwikkelt u een visie op de toekomst en kijkt u daarbij kritisch naar de financiering en organisatie van de public health. U focust op belangrijke gezondheidsproblemen, determinanten en aanknopingspunten voor beleid. U verbindt de belangrijkste ontwikkelingen, inzichten en initiatieven binnen verschillende public-health-disciplines met uw eigen werkcontext om te komen tot oplossingsrichtingen voor complexe, multi- en interdisciplinaire vraagstukken.

**Doelgroep:** de arts, leidinggevende, beleidsmedewerker, epidemioloog, gezondheidswetenschapper, projectmanager, professional of een projectcoördinator werkzaam bij een GGD, GGZ, zorgverzekeraar, thuiszorgorganisatie, nationaal instituut, koepelorganisatie, in de verslavingszorg of bij een relevante overheidsinstantie

**Data:** donderdag en vrijdag 15, 16, 22, 29 januari, 5 en 12 februari 2009

**Kosten:** € 2290

**Locatie:** NSPOH te Amsterdam

**Informatie:** [www.nspoh.nl](http://www.nspoh.nl), tel. 020-5664949, e-mail [info@nspoh.nl](mailto:info@nspoh.nl)

### Timemanagement voor professionals in de public & occupational health

Hoge betrokkenheid, verantwoordelijkheidsgevoel en een vaak commerciële omgeving vragen een specifieke aanpak en beïnvloeding van uw tijdgebruik. De workshop is hier specifiek voor ingericht.

**Doelgroep:** professionals in de public & occupational health

**Data:** donderdag 29 januari 2009

**Kosten:** € 410

**Locatie:** Den Bosch

**Informatie:** [www.nspoh.nl](http://www.nspoh.nl), tel. 020-5664949, e-mail [info@nspoh.nl](mailto:info@nspoh.nl)

### Tropische infectieziekten in Suriname – NIEUW

Leer meer over belangrijke tropische infectieziekten in Suriname. U krijgt inzicht in de kliniek, de diagnostische methoden, de behandeling en de preventieve mogelijkheden. Naast het onderwijs kunt u deelnemen aan een excursie om het land Suriname beter te leren kennen.

**Doelgroep:** artsen werkzaam in de reizigersadviesing en de infectieziektebestrijding.

**Data:** maandag 9 februari t/m vrijdag 13 februari 2009

**Prijs:** € 2950, exclusief vlucht Amsterdam-Paramaribo v.v.

**Informatie:** [www.nspoh.nl](http://www.nspoh.nl), tel. 020-5664949, e-mail [info@nspoh.nl](mailto:info@nspoh.nl)

### 1<sup>st</sup> Conference on Immunocompromised Traveller

#### Do's and don'ts

Op 26 en 27 maart 2009 organiseert het *Maastricht Infection Center* het eerste symposium over het risico op infecties bij reizigers. In het bijzonder wordt aandacht besteed aan infecties bij reizigers die onderliggende klachten hebben (zoals verminderde weerstand na een orgaantransplantatie) of immuunsuppressiva krijgen. Ook aan reizigers met diabetes, hartklachten en de hoogbejaarde reizigers wordt aandacht besteed.

Belangrijke onderwerpen van het symposium zijn:

- nieuwe infecties;
- vaccinatie, in het bijzonder vaccinatie van de immuungecompromitteerde reiziger;
- hiv/aids.

Internationaal gerenommeerde wetenschappers zullen hun visie geven op deze onderwerpen en recente onderzoeksgegevens presenteren.

Het symposium vindt plaats in de *Maastricht School of Management*. Voor meer informatie kunt u terecht op [www.ICT2009.eu](http://www.ICT2009.eu). De organisatie ziet ernaar uit u op 26 en 27 maart 2009 te verwelkomen in Maastricht.

## PERSONALIA

### **Nieuwe leden**

- Dr. A.M.J. Beerens, Laboratorium voor Infectieziekten, Van Ketwich Verschuurlaan 92, 9721 SW Groningen
- Mw. J. Bestebroer, Universitair Medisch Centrum Utrecht, Eijkman Winkler Instituut, GO4.614, Heidelberglaan 100, 3584 CX Utrecht
- Dr. M.N. Mulders, RIVM, afdeling Cib/EPI, Postbus 1, 3720 BA Bilthoven
- Mw. dr. L. M'Rabat, Roche Diagnostics, Afdeling AS/MD, Transistorstraat 41,1322 CK Almere
- Mw. J.S. Kovaleva, UMCG, afdeling Medische Microbiologie, Postbus 30001, 9700 RB Groningen
- Mw. I.T.M.A. Overdeest, Holstraat 245, 5654 BP Eindhoven
- Mw. J.C. Rahamat-Langendoen, Natalie Barneykade 9, 9746 AT Groningen
- Dr. J.H. Roelfsema, Akeleituin 9, 2317 NC Leiden
- Prof. dr. M.D. de Jong, Academisch Medisch Centrum, afdeling Medische Microbiologie, Meibergdreef 9, 1105 AZ Amsterdam (voorheen Oxford University Clinical Research Unit, Hospital for Tropical Diseases, Ho Chi Minh City, Vietnam)
- J.J. Kerremans, afdeling Medische Microbiologie Diaconessenhuis Leiden, Houtlaan 55, 2334 CK Leiden
- G.D. Mithoe, Laboratorium voor Infectieziekten, Van Ketwich Verschuurlaan 92, 9721 SW Groningen (voorheen UMC Groningen)
- B.G. Moffie, Vlietland Ziekenhuis, Medisch Microbiologisch Laboratorium, Burgermeester Knappertlaan 25, 3116 BB Schiedam (voorheen Maastad Ziekenhuis Rotterdam)
- Mw. dr. C. Schultsz, Academisch Medisch Centrum, CPCD, Universiteit van Amsterdam, Meibergdreef 9, 1105 AZ Amsterdam, (voorheen Oxford University Clinical Research Unit, Hospital for Tropical Diseases, Ho Chi Minh City, Vietnam)
- Mw. dr. M.C.A. Wegdam-Blaas, Stichting PAMM, afdeling Medische Microbiologie, Postbus 2, 5500 AA Veldhoven (voorheen Streeklaboratorium, Enschede)

### **Adreswijzigingen**

- Prof. dr. C.A.B. Boucher, Erasmus Medisch Centrum, afdeling Virologie Ee17-26, Postbus 2040, 3000 CA Rotterdam (voorheen UMC Utrecht)

## PROMOTIES

### **21 mei 2008 – G.A. Versteeg**

Proefschrift: Regulation of coronavirus-induced host responses.

Promotor: prof. dr. W.J.M. Spaan. LUMC Leiden, afdeling Medische Microbiologie.

### **18 juni 2008 – T. Schuurman**

Proefschrift: Developments and clinical applications in diagnostic molecular microbiology.

Promotor: prof. dr. A. van Belkum. Copromotor: dr. T. van Zwet. Erasmus MC Rotterdam, afdeling Medische Microbiologie & Infectieziekten.

### **25 juni 2008 – mw. A.J.A. Lambeck**

Proefschrift: Noven immunotherapeutic modalities for gynaecologic malignancies.

Promotor: prof. dr. H.W. Nijman. Copromotoren: prof. dr. J.C. Wilschut en prof. dr. A.G.J. van der Zee. Universitair Medisch Centrum Groningen, afdeling Obstetrie en Gynaecologie en afdeling Medische Microbiologie.

### **4 september 2008 – D. Gamboa Vilela**

Proefschrift: Analysis of gene expression in the Leishmania life cycle: Leishmania (Viannia) braziliensis and Leishmania (Viannia) peruviana model.

Promotor: prof. dr. C.A. Bruggeman. Copromotoren: prof. dr. J.C. Dujardin en dr. G.J.J.M. van Eys. Maastrichts Universitair Medisch Centrum, afdeling Medische Microbiologie.

### **2 oktober 2008 – S. Chen**

Proefschrift: Early diagnosis of leprosy and the care of persons affected by the disease in a low endemic area.

Promotor: prof. dr. M.W. Borgdorff. Copromotor: dr. J.A.R. van den Hoek. AMC Amsterdam, afdeling Inwendige Geneeskunde.

### **8 oktober 2008 – M. Emonts**

Proefschrift: Polymorphisms in immune response genes in infectious diseases and autoimmune diseases.

Promotoren: prof. dr. R. de Groot, prof. dr. P.W.M. Hermans en prof. dr. J.D. Laman. Erasmus MC Rotterdam, afdeling Immunologie.

**22 oktober 2008 – C.J. Schinkel**

Proefschrift: Genetic variability of hepatitis C virus: relevance to treatment outcome and course of infection.  
Promotoren: prof. dr. A.C.M. Kroes en prof. dr. W.J.M. Spaan.  
LUMC Leiden, afdeling Medische Microbiologie.

**22 oktober 2008 – A.T. van Aken**

Proefschrift: Arterivirus replicase processing: regulatory cascade or Gordian knot.  
Promotoren: prof. dr. E.J. Snijder en prof. dr. A.E. Gorbalenya.  
LUMC Leiden, afdeling Medische Microbiologie.

**25 november 2008 – J.A. de Valk-van Haren**

Proefschrift: Exact molecular typing of *Aspergillus fumigatus*, methods and application.  
Promotor: prof. dr. A. Vos. Copromotoren: dr. C.H.W. Klaassen en dr. J.F.G.M. Meis. UMCN Nijmegen, afdeling Medische Microbiologie.

**7 januari 2009 – Th. R.H.M. Kouwen**

Proefschrift: Protection secretion and disulfide bond handling in *Bacillus subtilis*.  
Promotor: prof. dr. J.M. van Dijk. Copromotor: dr. J.Y. F. Dubois. UMCG Groningen, afdeling Medische Microbiologie.

**21 januari 2009 – E.P.F. IJzerman**

Proefschrift: Progress in diagnostics and prevention of Legionnaires' diseases.  
Promotor: prof. dr. J.E. Degener. UMCG Groningen, afdeling Medische Microbiologie.

**6 maart 2009 – M. Navis**

Proefschrift: Cellular immunity driving HIV-1 evolution.  
Promotor: prof. dr. H. Schuitemaker. Copromotor: dr. N.A. Kootstra. AMC/UVA, afdeling Experimentele Immunologie, en Sanquin Research.

**ORATIE**

**11 november 2008 – prof. dr. H.G.M. Niesters**, hoogleraar Medische Microbiologie in het bijzonder de Moleculaire Virologische Diagnostiek, Rijksuniversiteit Groningen.  
Uitdagingen in de moleculaire virusdiagnostiek: mag het een beetje meer zijn?

**AGENDA**

**2009**

**7-10 januari 2009**

**Wintermeeting European Society for Clinical Virology (ESCV)**

Vrije Universiteit, Amsterdam  
Informatie: Sylvia Bruisten (sbruisten@gggd.amsterdam.nl) en Harriet Oudakker-van Nieuwenhuijzen, PAOG, VU, tel. 020-4441741, e-mail: paog@vumc.nl, <http://www.escv2009.nl>

**27 januari 2009**

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

St. Antonius Ziekenhuis, Nieuwegein, aanvang 14.00 uur  
Informatie: T. Schulín, tel. 024-3614356; R.W. Vreede, tel. 015-2604305

**12 februari 2009**

**16<sup>e</sup> Symposium van de van de NVAMM: "Paniek onder controle?"**

KNAW-gebouw, Amsterdam  
Informatie: Glen Milthoe, tel. 050-3610458, e-mail: Symposium.nvmm@gmail.com

**2 maart 2009**

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

Huize Heyendaal, Nijmegen, aanvang 14.30 uur  
Informatie: T. Schulín, tel. 024-3614356

**26-27 maart 2009**

**1<sup>st</sup> Conference on Immunocompromised Traveller: Do's and don'ts**

Maastricht  
Informatie: [www.ICT2009.eu](http://www.ICT2009.eu)

21-22 april 2009

**Voorjaarsvergadering Nederlandse Vereniging voor Microbiologie**

Papendal

Informatie: C.H.E. Boel, Stichting PAMM, Laboratorium voor Medische Microbiologie, Postbus 2,5500 AA Veldhoven, tel. 040-2588100, fax 040-2588112, e-mail: E.Boel@pamm.nl

16-19 mei 2009

**19<sup>th</sup> European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**

Helsinki, Finland

Informatie: <http://www.akm.ch/eccmid2009/>, e-mail: [info@escmid.org](mailto:info@escmid.org), [info@akm.ch](mailto:info@akm.ch), <http://www.eccmid-icc.org>

25-29 mei 2009

**17<sup>th</sup> Congress of the International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM), Tokyo, Japan**

Informatie: ASM, 1752 N Street, NW Washington, DC 20036-2804, USA, e-mail: [malcolm.richardson@helsinki.fi](mailto:malcolm.richardson@helsinki.fi), <http://www.isham.org/ISHAM2009FIRSTANNOUNCEMENT.pdf>

8 juni 2009

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

Huize Heyendaal, Nijmegen, aanvang 14.30 uur

Informatie: T. Schulin, tel. 024 3614356

10 juni 2009

**Bijeenkomst van de Werkgroep West, medische microbiologie**

Aanvang 14.00 uur

Informatie: R.W. Vreede, tel. 015-2604305

18-21 juni 2009

**26<sup>th</sup> International Congress of Chemotherapy and Infection ICC**

Toronto, Canada

Informatie: e-mail: [icco9@congresscan.com](mailto:icco9@congresscan.com), <http://www.icc-09.com>, <http://www.ischemo.org>

6-10 september 2009

**6<sup>th</sup> European Congress on Tropical Medicine and International Health**

Verona, Italië

Informatie: e-mail: [ectmih2009@kit-group.or](mailto:ectmih2009@kit-group.or), <http://www.festmih.org/verona2009>

7 september 2009

**8e Gezamenlijke Bijeenkomst van de Werkgroepen Oost-West,**

St. Antonius Ziekenhuis, Nieuwegein, aanvang 14.00 uur

Informatie: T. Schulin, 024-3614356; R.W. Vreede, 015-2604305

17 oktober 2009

**4<sup>th</sup> Trends in Medical Mycology**

Athene, Griekenland, aanvang 14.00 uur.

Informatie: T. Schulin, tel. 024-3614356; R.W. Vreede,

tel. 015-2604305

e-mail: [info@congresscare.com](mailto:info@congresscare.com), <http://www.TIMM2009.org>

25 november 2009

**Bijeenkomst van de Werkgroep West, medische microbiologie**

Aanvang 14.00 uur

Informatie: R.W. Vreede, tel. 015-2604305

7 december 2009

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

Huize Heyendaal, Nijmegen, aanvang 14.30 uur

Informatie: T. Schulin, tel. 024 3614356

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

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

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

Door het inzenden van kopij verklaart de auteur:

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

Het manuscript is als volgt ingedeeld:

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

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

### Oorspronkelijk onderzoeks- en overzichtsartikel

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

### Casuïstiek

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

### Van de voorzitter

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

### Ingezonden

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

### Samenvatting proefschrift

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

### Literatuur

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

### Voorbeeld:

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

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

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

### Tabellen en figuren

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

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

Op foto's van microscopische preparaten moet een lijnstuk met schaalverdeling zijn aangebracht waaruit de vergrotingsfactor kan worden afgelezen. Pijlen, letters en dergelijke moeten helder (in zwart of wit) tegen de achtergrond afsteken.

### Inzenden manuscript

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

### Redactiesecretariaat

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