

Analyse

Vakblad voor
biomedisch laboratoriummedewerkers



Ontwikkeling van een LC-MS/MS methode voor de bepaling van folypolyglutamaat synthetase

Remmen van sialzuur inbouw door de *Haemophilus influenzae* bacterie als nieuw soort antibioticum

Tuberculose, een ziektebeeld dat niet gemist mag worden!

Verslagen
Internationale congressen in Nederland

Casus
Klinische chemie-hematologie

ePlex® Syndroom gerichte snelle moleculaire diagnostiek

- ✓ Ontwikkeld voor de patiënt:
Snelle, accurate, klinisch relevante resultaten. Voor kostenbesparende zorg.
- ✓ Geoptimaliseerd voor het lab:
Lean workflow voor 24/7 efficiency.
Verminderde hands-on time, administratie tijd en geautomatiseerde rapportage.



Respiratory Pathogen (RP) Panel
25 relevante targets

Blood Culture Identification Panels (BCIP)
59 relevante targets
4-6 resistentie markers

In ontwikkeling: GI panel



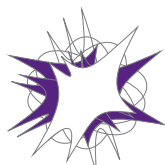
Lyme diagnostiek volgens de CBO richtlijn

Screening ELISA

- ✓ Lysaat + Vlse recombinant geeft hoge sensitiviteit
- ✓ 4-PL methode: betrouwbare kwantificering en reproduceerbare resultaten
- ✓ Optimale specificiteit door pre-absorptie van kruis reagerende antistoffen
- ✓ Betrouwbare detectie van intrathecale antistoffen in liquor (Reiber methode)



Immunomat™
De betrouwbare 4 plaat automaat van Virion \ Serion voor optimale automatisering van uw ELISA's.



virion \ serion

Confirmatie line-blot

Zeer specifiek en sensitief op basis van immunodominante Borrelia recombinant-antigenen.

- ✓ Detecteert de klinisch belangrijkste genotypes:
B. burgdorferi sensu stricto, B. garinii, B. spielmanii en B. bavariensis.
VlsE van verschillende genotypes
OspC van alle genotypes
P18 (Decorin binding protein A = DbpA) van alle genotypes

Breed pakket line-blots beschikbaar:

- Borrelia
- HIV
- Treponema
- HCV
- EBV + aviditeit
- CMV + aviditeit
- Toxoplasma + aviditeit
- Chlamydia (3 species)
- Hanta
- Yersinia
- Herpes
- Hepatitis E
- Parvo B19



Carl L
Volledig automatische strip processor met interpretatie software en volledige LIS-connectiviteit.

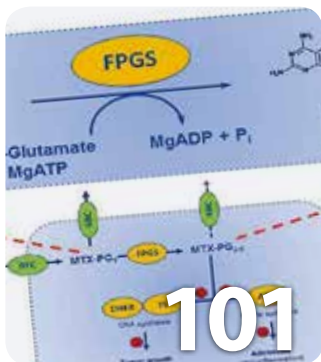
MIKROGEN
DIAGNOSTIK

Kwaliteit en service voor in-vitro diagnostica



Mediphos Medical Supplies BV
Industrieweg 12B +31(0)317 351 838
6871 KA Renkum info@mediphos.com
www.mediphos.com

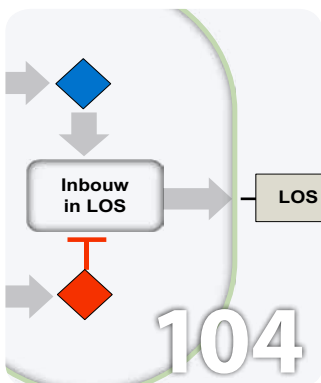




101 Ontwikkeling van een LC-MS/MS methode voor de bepaling van folypolyglutamaat synthetase (FPGS)

I. Muller, M. Lin, E. Struys, W. Lems, J. Cloos, G. Jansen, R. de Jonge

Folypolyglutamaat synthetase (FPGS) is een enzym betrokken bij de metabolisering en activering van methotrexaat. Methotrexaat (MTX) is een van de meest gebruikte geneesmiddelen voor de behandeling van o.a. reumatoïde arthritis (RA) en (kinder) leukemieën. In lage dosis MTX therapie zoals bij RA worden geen stabiele plasma MTX spiegels bereikt, waardoor therapeutische drug monitoring niet mogelijk is. In de cellen accumuleert MTX wel. Intracellulaire accumulatie en retentie van MTX is essentieel voor een efficiënte farmacologische respons en wordt gemedieerd door een proces van polyglutamylering via het enzym folypolyglutamaat synthetase (FPGS). Verminderde FPGS activiteit speelt een rol bij resistentie tegen MTX, en daarom zijn analysemethoden om FPGS activiteit gevoelig te meten van groot belang.



104 Remmen van sialzuur inbouw door de Haemophilus influenzae bacterie als nieuw soort antibioticum

J.D. Langereis

Haemophilus influenzae is een bacterie die zonder problemen in onze keel en neusholte leeft, maar bij jonge kinderen en ouderen wordt deze bacterie vaak gevonden als ziekteverwekker. Bacteriën zoals *H. influenzae* hebben mechanismen ontwikkeld om niet herkend te worden door het immuun systeem welke de bacterie in staat stellen om infecties te veroorzaken. Een van deze mechanismen is het inbouwen van sialzuur aan de buitenzijde van de bacterie. In een recente publicatie in Cell Chemical Biology laten onderzoekers van het Radboudumc en Radboud Universiteit zien dat het voorkomen van sialzuur inbouw met een nieuw type antibioticum het ziekmakende vermogen van de *H. influenzae* bacterie remt.

106 Internationale congressen in Nederland

107 Casus klinische chemie-hematologie

109 Tuberculose, een ziektebeeld dat niet gemist mag worden!

112 Op weg naar gentherapie voor het Crigler-Najjar syndroom

115 Van het bestuur

117 Cao nieuws

117 Commissie internationale contacten

118 Nascholing 'longinfecties'

119 Arbeidsvitamine

121 Vaste prik

122 Meedenken

124 Het zomercryptogram was geen makkie!

124 Cursussen

125 Opleidingen

126 Wat is het?

126 Agenda

Uitgave

Nederlandse vereniging van
bioMedisch laboratoriummedewerkers
NVML-leden ontvangen Analyse gratis.

Voor vragen over contributie, adreswijzigingen
of andere administratieve zaken rond Analyse
kunt u contact opnemen met het bureau van
de NVML.

Redactiecoördinatie en eindredactie

Simone Priester-Vink
E-mail: nvml.redactie@nvml.nl

Redactie

mw. R. Blom, bureaumedewerker NVML
mw. L. Lauppe, Nova College, Beverwijk
mw. A. Edel, Pathologie, Haaglanden Medisch
Centrum, Den Haag
mw. W. Kloezen, Medische Microbiologie en
Infectieziekten, ErasmusMC, Rotterdam
dhr. I.C. Schut, Sanquin Plasmaproducts,
Amsterdam

Vormgeving en opmaak

Interface Communicatie, Ede
www.ifcommunicatie.nl

Coverfoto

www.shutterstock.com

Druk

Vellendrukkerij BDU Barneveld

Advertentie-exploitatie

Business Service Centre
Mw. M. van der Vegt
Tel.: 0572 - 820995
e-mail: info@mi-communicatie.nl

Oplage

2500 exemplaren

Advertenties & kopij

Geldend advertentietarief: Tarievenlijst 2018

Sluitingsdatum advertenties

Voor nummer 6: 30 november 2018

Inleverdata kopij

De redactie ziet korte berichten (bijvoorbeeld
over opleidingen) voor Analyse 6 graag uiterlijk
9 november 2018 tegemoet. Analyse 6 verschijnt
op 11 december.

Copyright

Het overnemen van artikelen is alleen toegestaan
na toestemming van de redactiecoördinator.

De NVML aanvaardt geen enkele
aansprakelijkheid voor de gepubliceerde
advertenties; evenmin houdt het opnemen
van advertenties en industriële informatie een
aanbeveling van de NVML in.

ISSN 0166-7688

Ortho Clinical Diagnostics



Reimagining What's Possible.

Our purpose is to improve and save lives with diagnostics.

It's what has defined us for more than 75 years.

It's what drives us forward. It's the Ortho difference.

Discover what's possible at orthoclinicaldiagnostics.com.



Ontwikkeling van een LC-MS/MS methode voor de bepaling van folylpolyglutamaat synthetase (FPGS)

Ittai Muller¹, Marry Lin¹, Eduard Struys¹, Willem Lems², Jacqueline Cloos³, Gerrit Jansen², Robert de Jonge¹.

¹ Klinische Chemie, Amsterdam UMC locatie VUmc, Amsterdam

² Reumatologie, Amsterdam UMC locatie VUmc, Amsterdam

³ Hematologie, Amsterdam UMC locatie VUmc, Amsterdam

Folylpolyglutamaat synthetase (FPGS) is een enzym betrokken bij de metabolisering en activering van methotrexaat. Methotrexaat (MTX) is een van de meest gebruikte geneesmiddelen voor de behandeling van o.a. reumatoïde artritis (RA) en (kinder) leukemieën. In lage dosis MTX therapie zoals bij RA worden geen stabiele plasma MTX spiegels bereikt, waardoor therapeutische drug monitoring niet mogelijk is. In de cellen accumuleert MTX wel. Intracellulaire accumulatie en retentie van MTX is essentieel voor een efficiënte farmacologische respons en wordt gemedieerd door een proces van polyglutamylering via het enzym folylpolyglutamaat synthetase (FPGS). Verminderde FPGS activiteit speelt een rol bij resistentie tegen MTX, en daarom zijn analysemethoden om FPGS activiteit gevoelig te meten van groot belang.

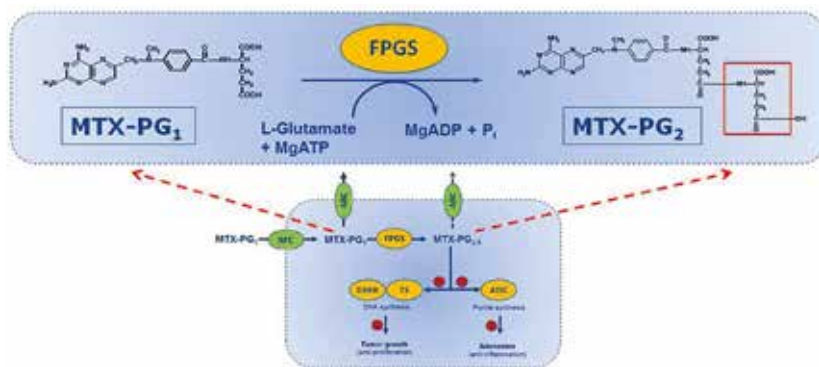
Tot nu toe gebruikte analysemethoden zijn arbeidsintensief, maken vaak gebruik van radioactieve substraten, en vereisen veel cellen. Analyse van FPGS enzymactiviteit in voor RA relevante celtypen (immuncellen) is uitdagend door de huidige detectielimieten. Hier presenteren wij een nieuwe LC-MS/MS-gebaseerde methode voor het meten van FPGS enzymactiviteit in witte bloedcellen en leukemiecellen die ingezet kan worden voor het monitoren van de MTX respons in respectievelijk RA en leukemiepatiënten.

Methotrexaat

Methotrexaat is een foliumzuur antagonist, initieel gebruikt voor de behandeling van (kinder) leukemieën, waarbij MTX in hoge dosering ($>500 \text{ mg/m}^2$) wordt toegediend [1]. Later werd MTX ook ontdekt als een efficiënt anti-inflammatoir middel in de behandeling van RA, zij het in veel lagere doseringen (max. 25-30 mg/week) [2]. Behandeling van RA met MTX kan zowel oraal als subcutaan. Oraal toegediend MTX wordt in de dunne darm opgenomen via de zogenaamde proton-coupled folate transporter (PCFT, SLC46A1), terwijl opname van MTX door immuncellen of leukemiecellen wordt gefaciliteerd door de reduced folate carrier (RFC, SLC19A1) (Figuur 1). Na opname in de cel, kataly-

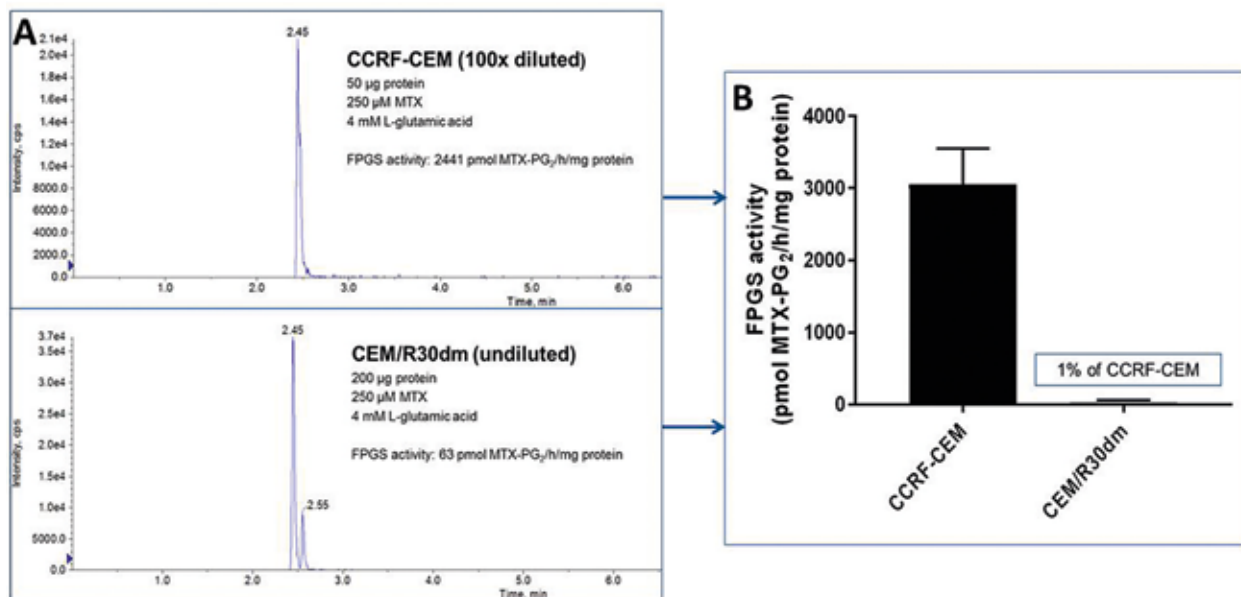
seert een ATP-afhankelijke enzym, genaamd folylpolyglutamaat synthetase (FPGS), de additie van meerdere glutamaat eenheden aan de γ -carboxylgroep van de glutamaatzijketen van MTX [3] (Figuur 1). Deze reactie competeert met het enzym γ -glutamylhydrolase (GGH), gelokaliseerd in lysosomen, wat als functie heeft het deconjugeren van de polyglutamaateenheden. Zodra gepolyglutameerd MTX (MTX-PG_n) meer dan 3 glutamaateenheden bevat, is het

molecuul te poly-anionisch om als substraat herkend te worden door een van de efflux transporters (ABCC1-ABCC5, ABCG2), wat resulteert in accumulatie van MTX-PG_n . Deze geaccumuleerde MTX-PG_n kunnen vervolgens verschillende target enzymen in het foliumzuurmetabolisme remmen, zoals dihydrofolate reductase (DHFR), thymidylate synthase (TYMS), glycinamide ribonucleotide transformylase (GART) and 5-aminoimidazole-4-carboxamide



Figuur 1. Eenvoudige weergave van het foliumzuur metabolisme, werkingsmechanisme van methotrexaat (MTX) en MTX-polyglutamyleringsreactie door het enzym folylpolyglutamaat synthetase (FPGS).

De belangrijkste influx transporter, de zgn. reduced folate carrier (RFC), zorgt ervoor dat MTX in zijn monoglutamaat vorm (MTX-PG_1) de cel binnenkomt. MTX-PG_1 kan nog uit de cel worden getransporteerd door ATP-binding cassette (ABC) drug efflux transporters. Folylpolyglutamaat synthetase (FPGS) metaboliseert, in een ATP-afhankelijke reactie, MTX-PG_1 naar MTX-PG_2 , door meerdere glutamaat-groepen te koppelen aan de γ -carboxylgroep van de glutamaatzijketen van MTX. Enkele belangrijke enzymen in het foliumzuurmetabolisme die door MTX-PG_n geremd worden, zijn dihydrofolate reductase (DHFR), thymidylate synthase (TS), 5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotideformyltransferase (AICARTF/ATIC). Remming van DHFR en TS resulteert in blokkade van de celproliferatie. Remming van ATIC resulteert in adenosine accumulatie en ontstekingsremming.



Figuur 2. Meting van MTX-PG₂ als maat van FPGS activiteit in CCRF-CEM versus CEM/R30dm cellen.

(A) LC-MS/MS chromatogrammen van MTX-PG₂ uit celextracten van CCRF-CEM en FPGS-deficiënte subkloon CEM/R30dm. CCRF-CEM eiwit extract is 100 keer verdund om in de range van interne standaard concentratie te blijven. (B) Gemiddelde activiteit van FPGS (n=9 experimenten) in CCRF-CEM en CEM/R30dm cellen. Afkortingen: MTX, methotrexaat; FPGS, folylpolyglutamaat synthetase, MTX-PG₂, methotrexaat-diglutamaat.

ribonucleotide formyltransferase (AICARTF/ATIC). Remming van DHFR en TS grijpt in op de DNA en RNA synthese en is daarmee verantwoordelijk voor het anti-leukemische effect van MTX, remming van ATIC door MTX-PG_n, en downstream effecten op adenosine productie, zijn verantwoordelijk voor het anti-RA effect van MTX.

Metten MTX-polyglutamaten

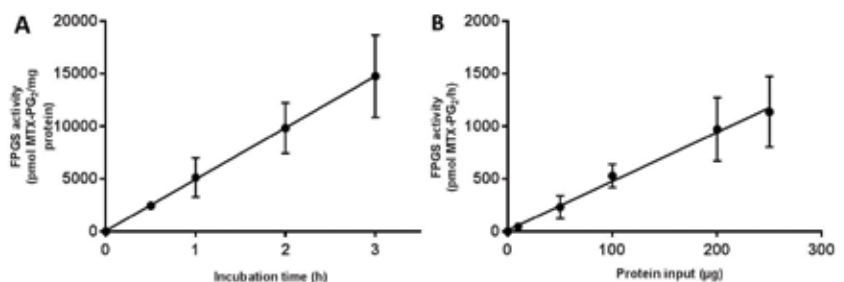
Het meten van MTX spiegels in plasma van RA patiënten op lage doseringen MTX heeft geen voorspellende waarde op therapierespons. Dus, voor het meten van klinisch actieve spiegels van MTX is het relevanter om MTX-PG_n concentraties in bloedcellen te meten dan MTX concentraties in plasma. Voor dit doel zijn er LC-MS/MS methodes ontwikkeld om MTX-PG_n concentraties in rode bloedcellen (RBC) van RA patiënten te meten [4, 5] en gebruikt als marker voor therapierespons in de aanname dat MTX-PG_n concentraties in RBCs een surrogaat marker zijn voor MTX-PG_n levels in immuun cellen. In cross-sectionele studies [6, 7] is een grote inter-patiënt variabiliteit aangetoond van RBC MTX-PG_n accumulatie, die na 3 maanden MTX-behandeling een steady-state bereikte. Patiënten met hogere MTX-PG_n concentraties in RBCs bleken een sterkere reductie van de ziekteactiviteit te vertonen dan patiënten die lagere MTX-PG_n accumulatie in

RBCs hadden. Ook bij leukemiepatiënten werd een grote variatie in MTX-PG_n accumulatie in leukemische blasten aangetoond, waarbij hoge MTX-PG_n concentraties een maat waren voor een betere therapierespons [8].

FPGS

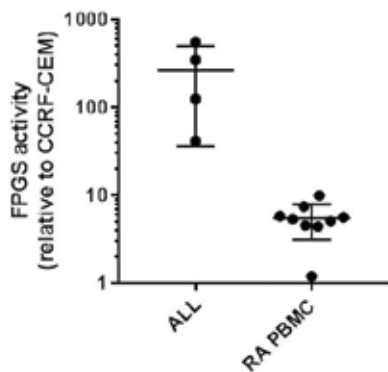
De rol van FPGS activiteit bij MTX-polyglutameren in voor RA relevante immuuncellen is niet duidelijk. In leukemie is aangetoond dat het verlies van FPGS katalytische activiteit gepaard met verminderd MTX-PG_n accumulatie in leukemische blastcellen en geassocieerd is met een slechte respons en slechtere overall survival in leukemiepatiënten die behandeld werden met hoge dosis MTX [8]. Met

betrekking tot RA, is het meten van FPGS activiteit in RBCs niet relevant, aangezien rijpe RBCs slechts marginale FPGS activiteit hebben. Het meten van FPGS activiteit in perifeer bloed mononucleaire cellen (PBMCs) zou daarom veel informatiever zijn, maar dit is tot op heden nog niet mogelijk gebleken door het gebrek aan een gevoelige niet-radioactieve assay en de grote hoeveelheid cellen die in radioactieve assays nodig bleken [9]. Om deze tekortkomingen aan te pakken, hebben we de LC-MS/MS methode voor het meten van MTX-PG_n in RBCs [5] aangepast voor het meten van het FPGS reactieproduct MTX-PG₂ in extracten van slechts 5 x 10⁶ PBMCs van RA patiënten.



Figuur 3. FPGS activiteit als functie van incubatietijd (A) en eiwitinput (B)

(A) FPGS activiteit in extracten van CCRF-CEM cellen weergegeven als pmol gevormd product (MTX-PG₂) per mg eiwitinput als functie van incubatietijd (30 min – 3 uur) met 250 M MTX en 4 mM L-glutaminezuur als substraatconcentraties. (B) FPGS activiteit is weergegeven als pmol gevormd product (MTX-PG₂) per uur als functie van 10-250 mg eiwitinput met 250 mM MTX en 4 M L-glutaminezuur als substraatconcentraties. In zowel experiment A als B was de lineaire correlatie R² > 0.99.



Figuur 4. FPGS activiteit in klinische samples van ALL en RA patiënten.
FPGS activiteit van celextracten van leukemische blasten van acute lymfatische leukemie (ALL) patiënten (n=4) en PBMCs van RA patiënten (n=9) startend met MTX therapie. Elk symbool representeert 1 patiënt. De FPGS activiteit in de klinische samples is weergegeven ten opzichte van de gemiddelde FPGS activiteit van CCRF-CEM cellen. De middelste horizontale lijn geeft het gemiddelde aan, de bovenste en onderste horizontale lijn de standaarddeviatie ten opzichte van het gemiddelde.

FPGS activiteit meten

De FPGS enzym assay werd uitgevoerd zoals oorspronkelijk beschreven door Jansen et al. [9] met als modificatie dat in plaats van radioactief (^3H) gelabeld glutamaat nu ongelabeld glutamaat als substraat in het reactiemengsel werd gebruikt. De validatie werd uitgevoerd met eiwitextracten van humane leukemische cellijnen CCRF-CEM en de FPGS-deficiënte subkloon CEM-R30dm [8]. Na het stoppen van de reactie werd het extract bewerkt voor LC-MS/MS analyse waarvan in Figuur 2A de resultaten te zien zijn. De LC-MS/MS piek voor het FPGS reactie product MTX-PG₂ was voor een 100-voudig verdund extract van CCRF-CEM vergelijkbaar met de MTX-Glu₂ piek in extracten van CEM/R30dm. Kwantificering van de pieken (Figuur 2B) toonde aan dat de gemiddelde FPGS activiteit (n=9) van CEM/R30dm 1% van CCRF-CEM was, wat overeenkomt met eerdere publicaties [8]. Verdere validatie werd uitgevoerd door de eiwitinput en incubatietijd van de FPGS assay te variëren (Figuur 3). De lineaire relatie tussen FPGS activiteit en incubatietijd (Figuur 3B) impliceert dat er gevarieerd kan worden met incubatietijden afhankelijk van te verwachten hogere of lagere enzymactiviteit in bepaalde celtypen of prolifererende versus niet-prolifererende cellen. De sterk lineaire relatie tussen FPGS activiteit en eiwitinput (Figuur 3B) geeft aan dat onze methode zeer efficiënt is en gebruikt kan worden over een brede

range van lage en hoge eiwitconcentraties. Tenslotte kon met deze assay ook de affiniteit (Km waarde) van FPGS voor de substraten L-glutaminezuur (Km: 2.2 ± 0.8 mM) en MTX (Km: 65 ± 25 μM) worden bepaald. Deze waarden komen overeen met gepubliceerde waarden verkregen met radiochemische FPGS assays [3, 9].

Vervolgens werd het assay toegepast voor het meten van FPGS activiteit in klinische samples, te weten leukemische blasten (n=4) van kinderen met acute lymfatische leukemie (ALL) en PBMCs van RA patiënten startend met MTX therapie (n=9). De FPGS activiteit in celextracten van ALL samples liet een grote variatie zien, maar de gemiddelde FPGS activiteit in de ALL samples was ongeveer 2.5 maal hoger ten opzichte van de referentie cellijn CCRF-CEM (Figuur 4). In PBMCs van RA patiënten was de variatie in FPGS activiteit veel kleiner, de absolute FPGS activiteit was gemiddeld 20-voudig lager dan de FPGS activiteit in de referentie cellijn CCRF-CEM (Figuur 4). Vervolgexperimenten met PBMCs van gezonde leeftijd-gematchte donoren zou verder inzicht kunnen geven in eventuele veranderingen van FPGS activiteit in RA patiënten ten opzichte van gezonde personen.

Discussie

De beschreven nieuwe en gevoelige LC-MS/MS methode om FPGS enzymactiviteit te meten in klinische samples kan worden ingezet bij het monitoren van respons op MTX therapie. Een lage FPGS enzymactiviteit in leukemische cellen van ALL patiënten of in PBMCs van RA patiënten kan wijzen op een verminderde omzetting tot MTX-PG_n en daarmee mogelijke therapieresistentie voorspellen. Het meten van FPGS activiteit zal bij voorkeur gecombineerd moeten worden met directe MTX-PG_n analyses in leukemische cellen of PBMCs van RA patiënten. Voor het meten van MTX-PG_n in PBMCs hebben wij recent ook een gevoelige LC-MS/MS methode opgezet [10]. De verwachting is dat we met deze gecombineerde assays patiënten beter kunnen monitoren op de MTX respons en daarmee de therapie bij kunnen sturen waar nodig. Veel RA patiënten op MTX therapie blijken vaak onder-gedoseerd te zijn en snelle en gevoelige MTX-PG_n analyses, aangevuld met FPGS activiteitsmetingen, kunnen dan relevante informatie geven over

hoe individuele patiënten MTX metaboliseren en artsen helpen de therapie te individualiseren.

In conclusie, door het ontwikkelen van klinisch chemische methoden voor het monitoren van MTX respons, zoals het meten van FPGS activiteit, hebben artsen meer middelen tot hun beschikking om de effectiviteit van MTX te sturen. Het therapeutisch monitoren van een veel gebruikt medicijn als MTX levert daarmee ook voordeel op voor de patiënt.

Literatuur

1. Bertino, J.R., Karmofsky memorial lecture. Ode to methotrexate. *J Clin Oncol*, 1993. 11(1): p. 5-14.
2. Brown, P.M., A.G. Pratt, and J.D. Isaacs, Mechanism of action of methotrexate in rheumatoid arthritis, and the search for biomarkers. *Nat Rev Rheumatol*, 2016. 12(12): p. 731-742.
3. Raz, S., M. Stark, and Y.G. Assaraf, Folypolygamma-glutamate synthetase: A key determinant of folate homeostasis and antifolate resistance in cancer. *Drug Resist Updat*, 2016. 28: p. 43-64.
4. Dervieux, T., et al., Polyglutamation of methotrexate with common polymorphisms in reduced folate carrier, aminoimidazole carboxamide ribonucleotide transformylase, and thymidylate synthase are associated with methotrexate effects in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 2004. 50(9): p. 2766-74.
5. den Boer, E., et al., Measuring methotrexate polyglutamates in red blood cells: a new LC-MS/MS-based method. *Anal Bioanal Chem*, 2013. 405(5): p. 1673-81.
6. de Rotte, M.C., et al., Methotrexate polyglutamates in erythrocytes are associated with lower disease activity in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 2015. 74(2): p. 408-14.
7. Calasan, M.B., et al., Methotrexate polyglutamates in erythrocytes are associated with lower disease activity in juvenile idiopathic arthritis patients. *Ann Rheum Dis*, 2015. 74(2): p. 402-7.
8. Rots, M.G., et al., Role of folypolyglutamate synthetase and folypolyglutamate hydrolase in methotrexate accumulation and polyglutamylation in childhood leukemia. *Blood*, 1999. 93(5): p. 1677-83.
9. Jansen, G., et al., Measurement of folypolyglutamate synthetase activity in head and neck squamous carcinoma cell lines and clinical samples using a new rapid separation procedure. *Oncol Res*, 1992. 4(7): p. 299-305.
10. Muller, I.B., et al., Development and validation of a sensitive LC-MS/MS-based method for analysis of enzymatic activity of folypolyglutamate synthetase and methotrexate polyglutamates in peripheral blood mononuclear cells of rheumatoid arthritis patients. *EULAR Annual European Congress of Rheumatology*, 2018. Suppl. 2: p. 1300.

Remmen van siaalzuur inbouw door de *Haemophilus influenzae* bacterie als nieuw soort antibioticum

Jeroen D. Langereis, Sectie Kinderinfectieziekten, Laboratorium Medische Immunologie, Radboudumc, Nijmegen

Haemophilus influenzae is een bacterie die zonder problemen in onze keel en neusholte leeft, maar bij jonge kinderen en ouderen wordt deze bacterie vaak gevonden als ziekteverwekker. Bacteriën zoals *H. influenzae* hebben mechanismen ontwikkeld om niet herkend te worden door het immuun systeem welke de bacterie in staat stellen om infecties te veroorzaken. Een van deze mechanismen is het inbouwen van siaalzuur aan de buitenzijde van de bacterie. In een recente publicatie in Cell Chemical Biology laten onderzoekers van het Radboudumc en Radboud Universiteit zien dat het voorkomen van siaalzuur inbouw met een nieuw type antibioticum het ziekmakende vermogen van de *H. influenzae* bacterie remt (1).

De *Haemophilus influenzae* bacterie

Haemophilus influenzae is een bacterie die normaal gesproken in onze keel en neusholte aanwezig kan zijn zonder dat je hier symptomen van ziekte laat zien. Deze bacterie wordt makkelijk van mens op mens overgebracht door middel van hoesten en niezen. Er zijn grofweg twee typen *H. influenzae* bacteriën, bacteriën met een beschermend kapsel welke met kapsel specifiek serum zijn te typeren (typeerbare *H. influenzae*) en bacteriën zonder beschermend kapsel welke niet te typeren zijn (niet typeerbare *H. influenzae* (NTHi)). De gekapselde *H. influenzae* zijn onder te verdelen in 6 typen, a t/m f. Van deze gekapselde *H. Influenzae* bacteriën is type b het type dat het meest wordt gevonden bij ernstige infecties zoals bloedvergiftigingen en hersenvlies ontsteking. Vanwege de ernst van deze *H. Influenzae* type b infecties is er in Nederland, en in veel andere landen, in de jaren 90 het *H. influenzae* type b vaccin geïntroduceerd. Dit vaccin is zeer effectief en heeft voor een 90-95% daling in ziektegevallen geleid (2).

NTHi wordt met name gevonden als ziekteverwekker bij jonge kinderen en bij ouderen. Bij jonge kinderen is NTHi de grootste veroorzaker van middenoorontsteking, een aandoening waar

65 tot 300 miljoen mensen wereldwijd last van hebben (3). Ondanks dat een middenoorontsteking over het algemeen onschuldig is, kan een simpele middenoorontsteking in een deel van deze kinderen over gaan in een chronische middenoorontsteking, met soms gehoorschade als gevolg. Bij ouderen is NTHi met name een veroorzaker van longontstekingen, vooral bij patiënten met chronische longziekten zoals COPD en astma. In meer uitzonderlijke gevallen kan NTHi ook bloedvergiftiging veroorzaken (4). De behandeling van NTHi infecties is afhankelijk van gebruik van antibiotica en middenoorontstekingen zijn de voornaamste reden om voor kinderen antibiotica voor de schrijven. Sinds de ontdekking van antibiotica door Alexander Fleming in 1928 passen bacteriën zich aan om te overleven in de aanwezigheid van antibiotica, ook wel antibiotica resistentie genoemd. Ondanks dat antibiotica resistentie nog niet veel voor komt bij de *H. Influenzae* bacterie is het veelvuldig gebruik van antibiotica in jonge kinderen en ouderen met chronische luchtwegklachten wel een mogelijke oorzaak van resistentie ontwikkeling bij andere soorten bacteriën.

Siaalzuur als onzichtbaarheids-mantel

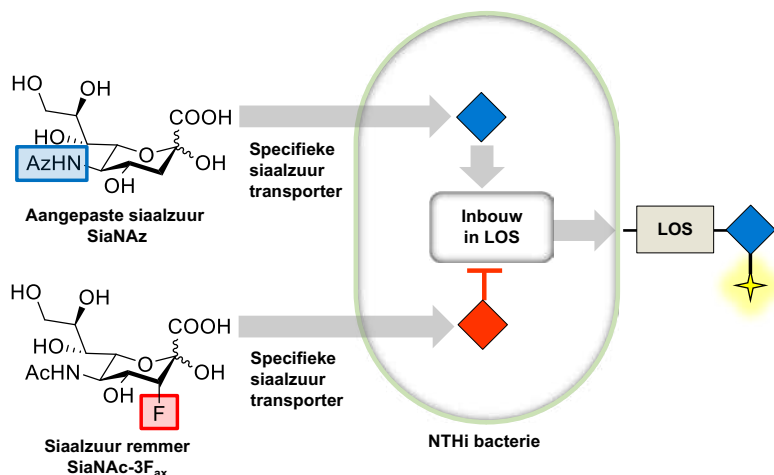
Bacteriën die de mens ziek maken hebben vaak mechanismen om niet

herkend te worden door het immuun-systeem. De buitenkant van de NTHi bacterie bestaat uit lipooligosacchariden (LOS) waarin siaalzuur ingebouwd kan worden. Siaalzuur is een suiker dat we volop in ons lichaam hebben. De NTHi bacterie heeft deze suikers niet en steelt ze van ons. Om dit siaalzuur op te nemen uit zijn omgeving heeft NTHi een speciaal siaalzuur transporter systeem. Door het inbouwen van siaalzuur kan ons immuunsysteem de bacterie slechter herkennen, de bacterie trekt als het ware een soort onzichtbaarheids-mantel over zich heen.

In eerdere proeven door andere onderzoekers was al gebleken dat het inbouwen van siaalzuur essentieel was voor de bacterie om ziekmakend te zijn. Als de inbouw van siaalzuur wordt voorkomen door gen mutaties was gebleken dat de bacterie minder goed kon overleven in serum en ook geen middenoorontsteking meer kon veroorzaken in diermodellen (5).

Remmen van siaalzuur inbouw met een nieuw soort antibioticum

Omdat siaalzuur zo belangrijk is voor NTHi om ziekmakend te zijn hebben we in samenwerking met de Thomas Boltje en Torben Heise van de Radboud Universiteit een remmer gemaakt welke de siaalzuur inbouw door NTHi voorkomt (1). Om dit



Figuur 1. Schematische weergave van sialzuur transport en inbouw in LOS door NTHi. In blauw de aangepaste sialzuur SiaNAz en in rood de sialzuur remmer SiaNAc-3F_{ax}.

nieuwe antibioticum in *in vitro* proeven te testen hebben we eerst een nieuwe manier ontwikkeld om sialzuur inbouw door NTHi te meten. Met behulp van aangepast sialzuur (SiaNAz) konden we de inbouw visualiseren op een flowcytometer, een apparaat dat fluorescentie kan meten op het oppervlak van bacteriën en cellen. De bacteriën werden gegroeid met de aangepaste sialzuur SiaNAz waardoor het specifieke transporter systeem het aangepaste sialzuur kon opnemen en inbouwen in het LOS (zie SiaNAz in blauw aangegeven in figuur 1). Wanneer de bacterie sialzuur inbouwt wordt deze fluorescent waar- door we het effect van de sialzuur remmer SiaNAc-3F_{ax} konden testen (SiaNAc-3F_{ax} in rood aangegeven in figuur 1).

Wanneer de sialzuur remmer inbouw voorkomt dan neemt de fluorescentie van de bacteriën af. Een concentratie van 700 nanomolair (700 nM) sialzuur remmer was in staat om de inbouw met 50% te verminderen, wat ook wel de IC₅₀ wordt genoemd (Zie figuur 2A). De vermindering van sialzuur inbouw zorgde ervoor dat de bacteriën minder goed konden over- leven in serum (Zie figuur 2B), dit betekent dat de bacterie minder ziek- makend is.

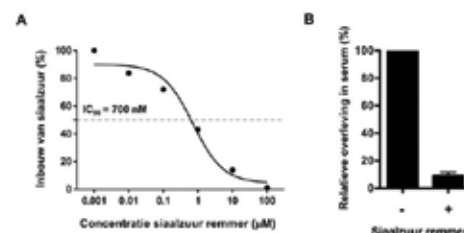
Remmen van sialzuur inbouw is specifiek

De huidige antibiotica zijn erop gericht om bijvoorbeeld DNA of eiwit synthese

te blokkeren waardoor een grote groep van verschillende bacteriën worden geremd, ook wel breed spec- trum antibiotica genoemd. Om juist te richten op de inbouw van sialzuur hebben we een specifiek antibioti- cum ontwikkeld, een smal spectrum antibioticum, waardoor antibiotica resistentie ontwikkeling in andere bacterie soorten verminderd wordt. De sialzuur remmer is specifiek voor bacteriën met een sialzuur trans- porter systeem omdat de remmer niet in staat is om bacteriën of cellen binnen te dringen zonder een dergelijk transporter systeem.

De toekomst

Voordat een sialzuur remmer als antibioticum kan worden voorge- schreven zijn er nog vele jaren van onderzoek nodig. Ten eerste zullen we dit nieuwe antibioticum testen in dier- modellen. Na deze eerste effectiviteit studies zullen we moeten laten zien dat het nieuwe antibioticum veilig is voor gebruik in mensen (Fase 1), gevolgd door het vinden van een effectieve dosis (fase 2) en effectiviteit ten opzichte van de huidige antibiotica (fase 3).



Figuur 2. A) Vermindering van sialzuur door sialzuur remmer SiaNAc-3Fax. B) Relatieve overleving in serum van NTHi opgegroeid zonder (-) of met (+) sialzuur remmer SiaNAc-3F_{ax}.

Over de auteur

Jeroen Langereis (1979) volgde de middelbare laboratorium opleiding (MLO) klinische chemie aan het OverGelder College Deventer, gevolgd door de hogere laboratorium opleiding (HLO) life sciences in Utrecht en een master biomolecular sciences aan de Universiteit Utrecht. Hij promoveerde in 2010 op het proefschrift 'Function and phenotype of peripheral neutrophils in the characterization of COPD patients' bij de longziekten van het Universitair Medisch Centrum Utrecht. Eind 2009 startte hij als postdoctorale onderzoeker bij de kinderinfectieziekten aan de Radboudumc waar hij zich met name richtte op onderzoek met de *Haemophilus influenzae* bacterie. In 2013-2014 werkte hij een jaar in het laboratorium van Prof. Jeffrey Weiser aan de University of Pennsylvania in Philadelphia waarna hij weer terugkeerde naar de Radboudumc. Zijn huidige onderzoek richt zich op drie onderwerpen: 1) Nieuwe specifieke antibiotica, 2) NTHi vaccin ontwikkeling en 3) Host-pathogeen interactie met een focus op de rol van het complement systeem.

Literatuur

1. Heise T, Langereis JD, Rossing E, de Jonge MI, Adema GJ, Bull C, Boltje TJ. 2018. Selective Inhibition of Sialic Acid-Based Molecular Mimicry in *Haemophilus influenzae* Abrogates Serum Resistance. *Cell Chem Biol* doi:10.1016/j.chembiol.2018.05.018.
2. Langereis JD, de Jonge MI. 2015. Invasive Disease Caused by Nontypeable *Haemophilus influenzae*. *Emerg Infect Dis* 21:1711-1718.
3. Acuin J. 2004. Chronic suppurative otitis media. *Clin Evid*:710-729.
4. Van Eldere J, Slack MP, Ladhani S, Cripps AW. 2014. Non-typeable *Haemophilus influenzae*, an under-recognised pathogen. *Lancet Infect Dis* 14:1281-1292.
5. Jenkins GA, Figueira M, Kumar GA, Sweetman WA, Makepeace K, Pelton SI, Moxon R, Hood DW. 2010. Sialic acid mediated transcriptional modulation of a highly conserved sialometabolism gene cluster in *Haemophilus influenzae* and its effect on virulence. *BMC Microbiol* 10:48.

Internationale congressen in Nederland

Deze zomer zijn er een aantal internationale congressen in Nederland geweest, waardoor er verschillende analisten in staat gesteld werden ook eens een internationaal congres te mogen bezoeken. Hieronder worden een aantal van deze congressen besproken:

30 juni- 4 juli: 20th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM), Amsterdam, Nederland

Van 30 juni tot 4 juli vond het 20ste congres van de International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM) plaats in de RAI in Amsterdam. Dit congres wordt eens in de drie jaar gehouden. Het programma van dit congres was volledig gewijd aan de verschillende aspecten van schimmelinfecties en was erg divers. Het bestond uit zowel fundamenteel onderzoek als translationeel en klinisch gerelateerd onderzoek. Tijdens de eerste dag werden met name de jonge onderzoekers in staat gesteld hun bevindingen te presenteren. Dit werd gedaan tijdens het Young ISHAM symposium waar in 8 minuten de belangrijkste bevindingen gepresenteerd werden. Na dit symposium

volgde de officiële openingsceremonie. Tijdens de ISHAM kwamen vele onderwerpen aan bod. Zo werd er dieper ingegaan op vernieuwende diagnostiek. Er waren sessies over het gebruik van MALDI-TOF voor de identificatie van filamenteuze schimmels en gisten, over moleculaire identificatie methodes en het gebruik van Next generation Sequencing voor identificatie. Ook werd er gesproken over de verschillende commerciële PCR technieken die simultaan de species identificeren en bepalen of die soort resistent is tegen azolen. Op het gebied van therapie werd dieper ingegaan op de verschillen tussen *in vitro* gevoeligheidstesten van de CLSI en van de EUCAST. Ook het ontstaan van resistentie werd natuur-

lijk uitgebreid besproken. Verschillende resistentiemechanismen van verschillende fungale pathogenen kwamen aan bod, maar ook de laatste updates over de recente *Candida auris* problematiek werden besproken. Daarnaast kregen individuele working groups het toneel. Zo was er een sessie over fungale keratitis, over aids-gerelateerde mycoses, pneumocystis, tropische implantatie mycosis, chromoblastomycosis en over mycetoma. Er was voor ieder wat wils en zo kon men in korte tijd bijgepraat worden over de recente ontwikkelingen op schimmelgebied.

Wendy van de Sande

23 juli- 27 juli: 22nd International AIDS Conference (AIDS 2018), Amsterdam, Nederland

Van 23 tot 27 juli vond het grootste internationale AIDS congres plaats in Amsterdam. Meer dan 20.000 mensen werden verwacht. Dat het een grote en belangrijke conferentie was bleek wel uit de sprekers; Prinses Mabel, Duke of Sussex Prins Harry, Bill Clinton, minister Sigrid Kaag, Conchita Wurst, Elton John en Charlize Theron. Allen hadden ze wel een voorbeeld van een groep individuen die disproportioneel geraakt wordt door de HIV-epidemie. Activisme was een belangrijk onderdeel van de conferentie en activisten kregen ook de ruimte om zich hoorbaar te maken. Om de confe-

rentie toegankelijk te maken voor iedereen die geïnteresseerd is, is er altijd de "Global village", dit was vrij toegankelijk voor iedereen. Daarom zeggen sommigen dat de echte conferentie plaatsvindt in de Global village. Diverse organisaties hadden daar een stand en er werden diverse activiteiten georganiseerd, van dans en kunst tot discussies. Hoewel een belangrijk aspect van deze conferentie activisme is, werden er natuurlijk ook wetenschappelijke studies gepresenteerd. Er werd een studie gepresenteerd over een nieuw vaccin waarbij er een combinatie van Ad26/Ad26mosaic en

gp140 werd toegediend. In een simian model bleek dit vaccin effectief in het induceren van antilichamen en te beschermen tegen SIV. In een studie naar het toedienen van anti- $\alpha 4\beta 7$ voor virologische controle na onderbreken van behandeling bleek dit effectief in non-human primaten maar niet bij mensen. Een aantal studies naar compounds voor het aanpakken van viral-latency lieten zien dat de histon-deacetylase-inhibitor Chidamide, de CCR5-inhibitor maraviroc en een gemodificeerde proteïnase K-agonist GSK445A veelbelovende activiteit vertoonden bij het reactiveren van HIV

bij testen *in vivo* bij mensen en/of non-human primaten zonder toxiciteit. Een onderzoek toonde aan dat in Saskatchewan, Canada de circulerende HIV-stammen sterk zijn aangepast aan de HLA-allelen van inheemse volkeren. De waargenomen HIV HLA-aanpassing was ook geassocieerd met hoge incidentiecijfers in deze gebieden en snellere ziekteprogressie. De inheemse volken lijken door dit fenomeen ook een groter risico te hebben op het oplopen van HIV in vergelijking tot de algemene Canadese bevolking. Broadly neutralizing antibodies (bNABs) blijven een belangrijk onderwerp op gebied van het bestrijden en voorkomen van HIV-infecties. Zo blijken mensen met een Afrikaanse achtergrond krachtigere IgG1-bNAB's aan te maken dan anderen. Dit suggereert dat een onbekende host factor mogelijk de ontwikkeling van bNABs promoot. Maar niet alleen de host lijkt van invloed op het ontwikkelen van bNABs, ook het virus zelf lijkt een rol te spelen in het al dan niet ontwikkelen van een sterke bNAB-respons, dit bleek uit de sterke bNAB-respons van een genetisch zeer divers koppel. Op gebied van HIV bestrijden met bNABs liet een studie in apen zien dat een enkele dosis van een krachtige bNAB de infectiegraad kon verminderen. Ook liet een studie zien dat een Fc-modificatie de halfwaardetijd en de beschermende werking van bNABs kan verlengen. Ook het gebruik van bNABs om HIV infectie te voorkomen wordt momenteel in een aantal clinical trials getest. Uiteraard is er nog veel meer interessant werk gepresenteerd

tijdens de conferentie, de rapporteur sessies hiervan zijn terug te kijken op aids2018.org.

Stefanie Kroeze

Deze congressen gemist?

In oktober vindt de 49^e UNION World Conference on Lung Health plaats in Den Haag. In april 2019 vindt de 29^e ECCMID (European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases) plaats in Amsterdam.

Casus klinische chemie-hematologie

Een 59-jarige man wordt door de huisarts naar de internist verwezen met de volgende gegevens in de verwijsbrief. De heer J. is bekend met recidiverende verkoudheden. Afgelopen jaar heeft hij een longontsteking (gram-negatieve pneumokokken) doorgemaakt, die goed reageerde op de gegeven antibioticumkuur. Vorige week bezocht mijnheer mij op het spreekuur en gaf aan dat hij de laatste tijd zo moe is en last heeft van lage rugpijn, die momenteel ondraaglijk is.

Op navraag mijnerzijds meldt hij tevens dat hij nog veel last heeft van hoesten en dat het plassen ook minder wordt. Hierop is laboratoriumonderzoek gedaan dat de volgende uitslagen geeft:

Leukocyten	3,2 x 10 ⁹ /l
Hb	4,8 mmol/l
Trombocyten	78 x 10 ⁹ /l
BSE	68 mm/l ^{ste} uur
Kreatinine	320 µmol/l

Vraag 1: Welke bepalingen geven een uitslag die buiten de referentiewaarden vallen? Waarop kan deze combinatie van uitslagen wijzen?

De huisarts legt de patiënt voor aan de internist met de vraagstelling "maligne aandoening?" De internist ziet op zijn spreekuur een bleke vermoeide man, die momenteel veel last heeft van lage rugpijn. Hij vraagt röntgenfoto's van ribben, ruggenwervel, schedel en bekken

aan. Daarnaast vraagt hij laboratoriumonderzoek aan. Aanvullend hematologisch en klinisch chemisch bloedonderzoek geeft de volgende uitslagen:

ureum	23,6 mmol/l
calcium	2,78 mmol/l
fosfaat	1,72 mmol/l
totaal eiwit	98 g/l
albumine	36 g/l
PSA	2,5 µg/l
Diff	lichte linksverschuiving; extreme rouleauvorming van de erythrocyten.

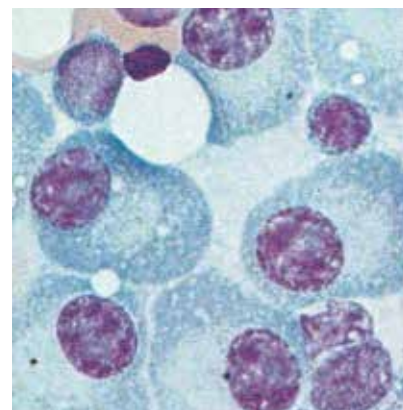
De internist vroeg ook een PSA aan.

Vraag 2:

- Welk eiwit wordt hier bedoeld?
- Bij welke klinische verdenking wordt de PSA aangevraagd?

De internist stuurt de patiënt door

naar de radiologie voor röntgenfoto's. Deze laten enkele zwakke plekken in het skelet zien, vooral gelokaliseerd rond het bekken.



Figuur 1: fragment beenmergpreparaat

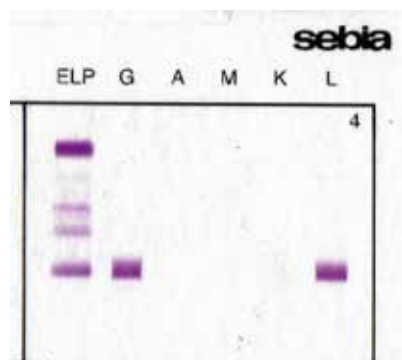
Vraag 3: Waarop wijst deze röntgenuitslag mogelijk?

Vervolgens wordt een sternumpunctie uitgevoerd. Ook wordt serum eiwit-elektroforese aangevraagd.

Vraag 4: Wat valt er op in het beenmergpreparaat?

De eiwitelektroforese van de patiënt toont een duidelijke extra fractie in het γ -gebied. De eiwitelektroforese wordt ook met behulp van een densitometer gescand.

Vanwege de extra fractie in de eiwitelektroforese wordt een immunofixatie van het serum uitgevoerd.



Figuur 2: immunofixatie patiënt J.

Vraag 5: Wat zegt de uitslag van de elektroforese en immunofixatie?

Vraag 6: Wat zou het ziektebeeld van deze patiënt kunnen zijn?

Vraag 7: Wat verklaart de hoge calciumconcentratie van deze patiënt?

Vraag 8: Wat verklaart de slechte nierfunctie van deze patiënt?

De antwoorden op de vragen staan op pagina 114.

Nieuws

Medicijn ustekinumab veelbelovend tegen ziekte SLE

Het medicijn ustekinumab laat goede resultaten zien bij patiënten met de auto-immuunziekte SLE. Dat blijkt uit onderzoek van professor Ronald van Vollenhoven, hoofd van de afdeling Reumatologie en Klinische Immunologie van Amsterdam UMC. In het gerenommeerde Britse medische tijdschrift *The Lancet* verschenen de resultaten van zijn onderzoek naar de werkzaamheid en veiligheid van ustekinumab bij SLE.

De ziekte SLE (Systemische Lupus Erythematosus), ook wel Lupus genoemd, is een chronische ontstekingsziekte en een auto-immuunziekte. Het lichaam produceert antistoffen tegen onderdelen van het eigen lichaam. Zodoende beschermt het afweersysteem het lichaam niet meer zoals bij gezonde mensen. Bij mensen met SLE valt het afweersysteem het eigen lichaam aan. Door de antistoffen die worden aangemaakt, kunnen er ontstekingen ontstaan in alle organen van het lichaam. Er kunnen zelfs ernstige beschadigingen van de inwendige organen optreden.

Naar schatting zijn er tussen de vijf- en tienduizend mensen met deze ziekte in Nederland. De ziekte heeft veel verschillende symptomen. Bij deze studie ging het vooral om mensen met gewrichtsontstekingen en of ontstekingsreactie in de huid, en verschillende afwijkingen in het bloedbeeld. De ontstekingen gaan vaak gepaard met flinke pijnklachten. Zo hebben patiënten last van pijn en stijfheid van de spieren, pijn in de borst, en irritatie als gevolg van huiduitslag. eel patiënten worden nu behandeld met prednison. Dit helpt tijdelijk, maar veroorzaakt op de langere duur helaas bijwerkingen. "Laboratoriumonderzoek heeft aangetoond dat de eiwitten IL-12 en IL-23 een belangrijke rol spelen bij de ziekte SLE. En van het middel ustekinumab is bekend dat het deze eiwitten blokkeert. Vandaar dat het een logische stap was te onderzoeken of dit middel bij de patiënten een positief effect kon hebben", aldus Van Vollenhoven.

Dit onderzoek is gedaan volgens het principe van een dubbel-blinde, placebo-gecontroleerde studie. Van de 100 patiënten kregen 60 personen het geneesmiddel ustekinumab, de andere 40 kregen een placebo. De deelnemers wisten zelf niet of ze het medicijn kregen of een placebo. De toediening gebeurde de

eerste keer met behulp van een infuus, daarna met injecties. De placebo zag er hetzelfde uit en werd op dezelfde wijze toegediend. Per patiënt werd gekeken of er na zes maanden behandeling verbetering te zien was. Dat gebeurde aan de hand van een exact vastgestelde meetmethode. Na een half jaar werd bij 62 procent van de met ustekinumab behandelde patiënten een duidelijke verbetering waar te nemen, terwijl dat bij de controlegroep die een placebo kreeg slechts bij 33 procent het geval was. Bij een aantal mensen waren de gewrichtsontstekingen verdwenen en de huid was weer geheeld. Berekening wijst uit dat het verschil in hoge mate statistisch betrouwbaar is. Ook andere verbeteringen duiden op de effectiviteit van het middel, zoals minder opvlammingen van de ziekte tijdens deze studie en een algemeen verminderd ziektegevoel bij de behandelde patiënten. De veiligheid van dit geneesmiddel was ook in deze studie goed. Het middel ustekinumab zou volgens Van Vollenhoven een zeer welkome aanvulling zijn bij de behandeling van SLE. "Dat geldt vooral voor de patiënten met een ernstige vorm van SLE. Dan gaat het in Nederland om zo'n duizend tot tweeduizend patiënten. Het middel is echter nog niet goedgekeurd voor deze indicatie. Daarvoor is een tweede, grotere studie nodig. Die grotere studie is nu gaande. Als de resultaten het beeld van de eerste studie bevestigen, dan dient de maker van het middel een aanvraag in bij de EMA, de European Medicines Authority en die kunnen dan goedkeuren dat ustekinumab ook voor dit doel gebruikt mag worden. Pas na die goedkeuring zullen verzekeraars bereid zijn het middel ook te vergoeden."

Bron: Amsterdam UMC, Locatie AMC

Tuberculose, een ziektebeeld dat niet gemist mag worden!

Dr. F. Vlassembler, arts microbioloog

Verblijvend in het Holmenkollen hotel uitkijkend over Oslo kreeg ik een berichtje van de redactie van dit blad met de vraag om een stukje te schrijven over tuberculose. Hoe toepasselijk kan het zijn: het hotel was ooit een sanatorium voor tuberculoselidrs met als directeur/ geneesheer dr. Ingebrigt Christian Holm. Helaas was toen veelal het enige perspectief zo lang als mogelijk van het "adembenemende" uitzicht over het Oslofjord te genieten. Tuberculostatica bestonden toen nog niet. Enige therapie bestond uit: Rust, reinheid en regelmaat.

Dat goede voeding en rust de algemene toestand van de patiënt en daarmee de weerstand verbeterde, was de belangrijkste bijdrage tot genezing. In een verder gevorderd stadium van de ziekte maakte men vanaf de jaren 20-30 van de vorige eeuw gebruik van het veroorzaken van een pneumothorax (stilleggen van de long) of het operatief verwijderen van een zieke long of een deel daarvan. Mocht dat curatief zijn geweest, hield de patiënt er een uitermate scheve houding door het gemis van een aantal ribben aan over. Het was Robert Koch, een Duitse huisarts, die in 1882 het verband legde tussen de ziekte en de veroorzakende bacterie.

Ondanks alle kennis over het ziektebeeld, de veroorzakende bacterie en de medicamenteuze behandelingsmogelijkheden is nog steeds ongeveer één derde van de wereldbevolking besmet met de *Mycobacterium tuberculosis*. In Nederland streven we er naar om elk geval van tuberculose vast te stellen en te behandelen, opdat ons land tuberculose "vrij" (lees: veilig) wordt (1). Import van tbc gevallen bij asielzoekers gedurende de massale migratie in 2015 heeft geleid tot een enorme uitbreiding van screeningsprogramma op tuberculose met behulp van een röntgenfoto in de reguliere opvangcentra plus daartoe ingerichte noodopvanglocaties. Er was zelfs even een periode waarin 2000 personen per week moesten worden opgevangen en dus ook worden gescreend (300/dag).

Sinds 1993 kennen we het screeningsbeleid bij asielzoekers. Inmiddels is het proces zo ingericht dat de ontvangst en binnenkomstscreening van asielzoekers op te schorten en prioriteit te geven aan de screening van asielzoekers uit hoog-endemische landen. Onder de Eritrese asielzoekers komt veel tuberculose voor. Tussen 2013 en 2015 ontvingen we 14.220 Eritrese asielzoekers, waaronder 41 personen met tuberculose (288/100.000). Deze bevinding wijkt flink af van de door de WHO geschatte incidentie van 78 per 100.000 inwoners in Eritrea (2). Reeds bestaande besmettingen worden niet alleen met een röntgen-screening opgespoord. In het eerste jaar na binnenkomst ontwikkelden zich bij 116- en in het tweede jaar na binnenkomst 38- actieve tuberculose gevallen onder de Eritrese asielzoekers. Het gevolg was dat na een jarenlange daling het aantal tbc gevallen in Nederland steeg van 814 (2014) naar 867 (2015). Naast röntgenologische screening bij binnenkomst zijn andere interventies,

zoals screening op een latente tbc-infectie, nodig om tuberculose bij asielzoekers uit hoog-endemische gebieden zoals Eritrea te voorkomen. Deze andere aanpak is de kern van het Nationaal Plan Tuberculosebestrijding 2016-2020 om tuberculose in Nederland verder terug te dringen (1).

Laboratoriumdiagnostiek

Elk medisch microbiologisch laboratorium zou in principe de *Mycobacterium tuberculosis* moeten kunnen kweken. Thans geeft de NVMM-richtlijn aan dat het kweken dient plaats te vinden in een zogenaamd Bio-Safety Level-3 (BSL-3)(3). Niet elk laboratorium beschikt over een BSL-3 lab en is het daarom verstandig als de jaarlijkse aantallen laag zijn om het kweken uit te besteden aan een meer ervaren laboratorium wel in het bezit van een BSL-3 faciliteit. De werkgroep NVMM-richtlijn heeft zich ingezet om meest optimale wijze van laboratorium diagnostiek aan te geven aan de hand van de meest relevante literatuur en daar waar nodig expert-opinions. Voorafgaand aan de richtlijn ontwikkeling is een enquête over het jaar 2001



Bron: KNCV tuberculosefonds

uitgezet om inzicht te krijgen hoe de microbiologische laboratoria in Nederland de mycobacteriële diagnostiek verrichtten. Van de 78 medisch microbiologische laboratoria deden er 45 laboratoria mycobacteriële diagnostiek. Tweeëndertig laboratoria respondeerden (71%) (4). Na de totstandkoming van de NVMM-richtlijn in 2006 is er over 2008 wederom een enquête naar alle laboratoria gestuurd om vast te stellen in hoeverre de richtlijn geïmplementeerd was (5). Alle laboratoria die toen mycobacteriële diagnostiek uitoefenden, respondeerden. Er was veel meer uniformiteit ontstaan in de wijze van decontamineren van het patiëntenmateriaal en gebruik van vloeibare als vaste kweekmedia. De moleculaire diagnostiek was in veel laboratoria ingevoerd als uitbreiding op de conventionele methoden. Het besef om veilig te werken heeft veel laboratoria doen besluiten een BSL-3 faciliteit te bouwen. De inspectie voor de volksgezondheid heeft daar direct een thema van gemaakt en dat heeft geleid tot snelle realisatie van BSL-3 faciliteiten. Wat betreft de herziene NVMM-richtlijn van 2015 zijn er op de aantal punten veranderingen doorgevoerd (2). Een positief auramine-preparaat dient bevestigd te worden met een moleculaire techniek en niet meer als vanouds met een ZN-kleuring. Ten aanzien van de kweek is het zowal met vaste – als met vloeibare media losgelaten, ondanks de gewogen meerwaarde van 6,9 % (vast+vloeibaar versus vloeibaar alleen) weegt dat niet op tegen het meerwerk en de extra kosten. De werkgroep was van mening dat het kweken met vloeibare media alleen volgens de literatuur voldoende is gebleken, maar dit geldt alleen voor respiratoire materialen.

Steeds belangrijker is de snelheid van laboratoriumdiagnostiek geworden. Met slechts minder dan 1000 tuberculose gevallen per jaar in Nederland is de expertise om klinisch de ziekte aan te tonen flink afgenomen. Hierdoor wordt er vaak niet aan gedacht. Toevalsbevindingen met een positieve kweek, omdat de kweek protocollair is ingezet, wekt niet alleen verbazing op, maar heeft op dat moment tevens tot vertraging geleid. Moleculaire sneldi-

agnostiek is juist van groot belang niet alleen bij de bevestiging van een verdacht klinisch beeld en afwijkende beeldvormende diagnostiek, maar ook ter uitsluiting van tuberculose als het niet hoog in de differentiaal diagnose staat. Hiermede voorkomt men onnodige langdurige behandeling met tuberculostatica en eventuele strikte isolatie. Beide zijn uitermate vervelend voor de patiënt en levert veel extra onnodig werk op voor de verpleegafdeling.

Is de laboratoriumdiagnose éénmaal gesteld naast het verdachte klinische beeld van tuberculose zal er anti-mycobacteriële therapie gestart moeten worden. De therapie bestaat uit het starten van vier middelen: Isoniazide (INH), rifampicine (RIF), ethambutol (ETH) en pyrazinamide (PYR) gedurende 2 maanden en daarna gaat men nog 4 maanden door met INH en RIF, indien het gevoeligheidspatroon het gewenste resultaat geeft.

Typering

De huidige wereldwijde typing van *M. tuberculosis* complex is 24-loci VNTR.

In het Variable Number of Tandem Repeat (VNTR) typing worden 24 genomische sites met tandem repeats geamplificeerd in een multiplex PCR. Middels een DNA sequencer wordt de lengte van de PCR fragmenten vastgesteld waaruit het aantal tandem repeats, dat per locus aanwezig is, wordt afgeleid. Deze analyse resulteert in een 24-cijferige code, die fungeert als een DNA fingerprint. Naast de epidemiologie kan het vroege typeringsresultaat nuttig zijn waarbij in een cluster van tbc gevallen het resistentiepatroon alreeds bekend is om bij de patiënt in kwestie direct adequaat te kunnen behandelen met de tuberculostatica.

Resistentie

Zoals bij elk behandelbare infectieziekte krijgt men ook bij tuberculose met resistentie te maken. Zowel de fenotypische als de genotypische gevoeligheidsbepalingen voor *M. tuberculosis* complex bacteriën zijn zinvol, omdat *in vitro* resistentie voor veel gangbare tuberculostatica direct gecorreleerd is aan het falen van therapie *in vivo* (6). Deze relatie is



Robert Koch

vooral sterk voor rifampicine, maar zeker ook voor isoniazide. Resistentie-onderzoek is van groot belang voor de therapiebegeleiding en tevens voor (inter)nationale surveillance.

In vogelvlucht zien we de eerste publicaties in de jaren 60 van de vorige eeuw, waarbij Lowenstein-Jensen media met concentraties van de toen gangbare tuberculostatica verschijnen. Daarna Middlebrook 7H10 medium, omdat de *M. tuberculosis* hierop sneller groeit. Vervolgens worden de eerste semiautomatische vloeibare kweeksystemen ontworpen. De drie voor ons bekende commerciële systemen (MB/Bact{bioMérieux}, MGIT {Becton and Dickinson} en VersaTrek {Trek diagnostics}) maken dankbaar gebruik van deze methodiek. Probleem in deze is de discussie over de breekpunten. Er zijn veel studies verricht hoe of de huidige breekpuntsbepalingen zich tot elkaar verhouden als het gaat om bepalingen verricht in vloeibare, vaste media dan wel met moleculaire testen. Er wordt uit gegaan van de gouden standaard: "De proportie methode op de vaste media (Lowenstein-Jensen of Middlebrook 7H10/7H11)". In de NVMM-Richtlijn 2015 vindt men een uitgebreid overzicht in tabel 8.1 over onderzoeken met de MGIT gevoeligheidsbepalingen t.o.v. de gouden standaard. De NVMM-richtlijn-werkgroep komt tot de conclusie dat de commercieel beschikbare breekpuntbepalingen voor geautomatiseerde vloeibare kweeksystemen (MGIT, MB/Bact) een accurate



Een ziekenzaal in een sanatorium

en snelle indicatie van de gevoeligheid geven, met name voor INH en Rifampicine (3).

De prestaties van beschikbare commerciële methoden voor moleculaire detectie van resistentie is afhankelijk of waar deze testen worden ingezet. Gebieden met hoge of lage incidentie voor TB en de mate van resistentie percentages. Steingard e.a. laat in een theoretisch model zien hoe of dat werkt (7). Voor de sneldiagnostiek beveelt de WHO alleen de reverse line blot (RIF en INH) en de GeneXpert voor rifampicine aan (6). Voor nog meer informatie over dit onderwerp geeft de NVMM-richtlijn een goede samenvatting van de literatuur hier omtrent (3)

Non tuberculose mycobacteriën

Een steeds belangrijker onderdeel van de diagnostiek zijn de non tuberculose mycobacteriën (NTM). De vraag hierbij is wat de klinische betekenis van deze isolaten. Temeer we weten dat door het frequent voorkomen van NTM in het milieu men bij een positieve kweek uit niet-steriele materialen altijd contaminatie van het monster dient te overwegen, met name bij longmaterialen. Wanneer NTM worden gekweekt uit lichaamsmaterialen die normaal steriel zijn, en zeker bij een passende granulomateuze ontsteking, staat de diagnose 'NTM-infectie' vrijwel vast. Helaas biedt medicamenteuze therapie niet altijd uitkomst. Voor patiënten met een pulmonale infectie die niet voldoende reageren op

optimale medicamenteuze therapie voor pulmonale NTM-infecties kan een operatieve behandeling worden overwogen. Bij extra pulmonale infecties, met in het bijzonder de lymfadenitis, is chirurgie een belangrijk onderdeel van de therapie. De behandeling van een NTM-pneumonie verschilt sterk van die van longtuberculose, zowel in duur als in middelenkeuze.

Tot slot

Zoals eerder geschetst is tuberculose een wereldwijd probleem. De kennis opgedaan in een tijd dat tuberculose een volksziekte was in Nederland en de bestrijding daarvan is grotendeels te danken aan de in 1903 opgerichte Koninklijke Nederlandsche Centrale Vereniging ter bestrijding van tuberculose, kortweg KNCV-tuberculosefonds genaamd. Met deze kennis doet het KNCV veel werk wereldwijd daar waar tbc een probleem vormt voor de volksgezondheid. Ieder jaar krijgen naar schatting ruim 10 miljoen mensen tbc, maar ruim vier miljoen van hen worden nooit gevonden of geregistreerd. Het KNCV tuberculosefonds vindt dat onacceptabel.

Daarom strijden zij dagelijks voor de opsporing, behandeling en genezing van alle mensen met tuberculose, ongeacht sociale status, geslacht, religie en leeftijd. Zij ontwikkelen preventieprogramma's op maat en spannen zich in voor een verantwoorde opschaling van veelbelovende diagnostische technieken en medicijnen.

Literatuur

1. De Vries G, Riesmeijer R, van Dissel J. Nationaal plan tuberculosebestrijding 2016-2020. *Tegen de Tuberculose*. 2016;112(1): 3-5
2. World Health Organization. *Global tuberculosis control: WHO report 2015*. Geneva: World Health Organization; 2015.
3. NVMM-Richtlijnen Mycobacteriële Laboratoriumdiagnostiek 2015. www.nvmm.nl/zorg/richtlijnen.
4. F. Vlaspolde, R.A.B. van Gageldonk-Lafeber, E.J. Kuiper, A.G.M. van der Zanden en D. van Soolingen. Laboratoriumdiagnostiek van tuberculose in Nederland; inventarisatie van de situatie in 2001 getoetst aan de richtlijn Mycobacteriële laboratoriumdiagnostiek. *Infectieziektenbulletin* 2007; 18:45-54.
5. Vlaspolde, F, *Laboratoriumdiagnostiek van tuberculose in Nederland (Laboratory diagnosis of tuberculosis in the Netherlands)*. *Ned Tijdschr Med Microbiol*, 2010. 18(2): p. 12-17.
6. World Health Organization. *Companion handbook to the WHO guidelines for programmatic management of drug-resistant tuberculosis*. Geneva, WHO, 2014b http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/130918/1/9789241548809_eng.pdf
7. Steigard KR, Schiller I, Horne DJ, Pai M, Boehme CC, Dendukuri N. *Xpert MTB/RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults*. *Cochrane Database Syst Rev* 2014; 1: CD009593.

Op weg naar gentherapie voor het Crigler-Najjar syndroom

Drs. Robert S. Bakker en Dr. Piter J. Bosma

Erfelijke leveraandoeningen zijn zeldzame ziekten met meestal een grote impact op de kwaliteit van leven. Veel van deze ziekten komen al tot uiting vanaf de geboorte en zijn zonder behandeling lethaal. De oorzaak van de ziekten is te vinden in het DNA, waar een mutatie in één specifiek gen zorgt voor een deficiëntie van een functioneel eiwit. Het vervangen of aanpassen van een gemuteerd gen behoort tegenwoordig tot de mogelijkheden en noemen we gentherapie. Onderzoek laat zien hoe verschillende genetische aandoeningen tegenwoordig behandeld kunnen worden door gebruik te maken van genetisch aangepaste virussen als "gen-leverancier" in het lichaam.

Erfelijke leverziekten

De lever vervult een essentiële functie voor het onschadelijk maken en afvoeren van afvalstoffen en voor de productie van allerlei bloedcomponenten, zoals stollingsfactoren. Mutaties in genen betrokken bij deze processen kunnen leiden tot erfelijke leverziekten. De lever produceert bijvoorbeeld factor IX, een essentiële bloedstollingsfactor. Wanneer deze stollingsfactor niet gemaakt wordt door een mutatie in het gen dat codeert voor factor IX, leidt dit tot bloed dat niet meer vanzelf stolt (hemofilie).

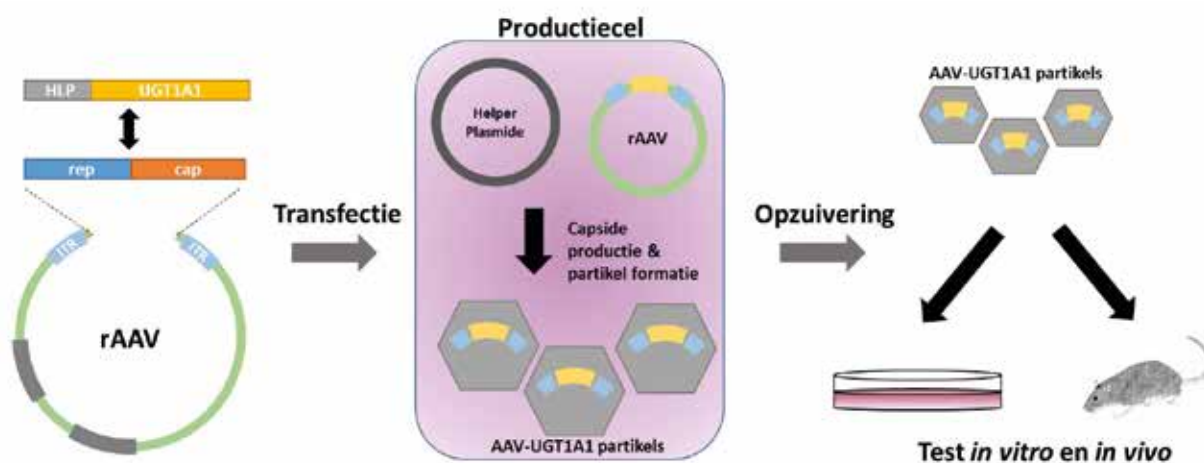
Afvalstoffen worden vaak afgebroken in ketens van enzymreacties. Wanneer

één enzym uit de keten niet functioneert door een gen-mutatie, onderbreekt vaak de gehele afvoerroute. De afvalstof hoopt dan op in het bloed, wat kan leiden tot orgaanschade. Een voorbeeld van zo een stofwisselingsziekte is het Crigler-Najjar Syndroom (CNS), een ziekte waarbij de afvalstof bilirubine niet afgevoerd kan worden, wat uiteindelijk leidt tot hersenschade. De erfelijke ziekten zijn recessief en monogenetisch. Dit betekent dat de ziekte ontstaat wanneer beide allelen van één specifiek gen gemuteerd zijn. Met andere woorden, de ziekte uit zich alleen wanneer een complete deficiëntie ontstaat. De beide ouders zijn dragers, zij hebben ieder één werkend

gen en zijn niet ziek. De kans dat een kind 2 gemuteerde genen erft is 25%. Voor genen die op het X chromosoom liggen, zoals factor IX, is alleen de moeder drager en is de kans dat haar zoon hemofilie heeft 50%.

Gentherapie

De basis van traditionele behandelingen van erfelijke leverziekten is uiteenlopend. Bij hemofilie wordt bijvoorbeeld de ontbrekende stollingsfactor extern geproduceerd en toegediend aan de patiënt. Bij stofwisselingsziekten wordt bijvoorbeeld de vorming of ophoping van de toxische metabolieten voorkomen of de afbraak hiervan via andere wegen geactiveerd,



Figuur 1: Productie van AAV-UGT1A1. (HLP: humane lever promotor, UGT; uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferase, rep/cap, replicatie/capside genen van AAV, ITR; Inverted terminal repeats)

maar bij veel van deze ziekten is een levertransplantatie niet te voorkomen. Deze behandelingen zijn meestal levenslang nodig, hebben een negatief effect op de kwaliteit van leven en gaan gepaard met (zeer) hoge kosten. Tegenwoordig wordt voor de behandeling van monogenetische recessieve leverziekten gewerkt aan gentherapie. Hierbij wordt een correcte gen-kopie in de levercellen naar binnen gebracht waardoor ze het ontbrekende enzym weer kunnen maken. Een groot voordeel van effectieve gentherapie is dat één enkele behandeling levenslange correctie kan geven. Dit leidt tot een enorme verbetering van de kwaliteit van leven en een verlaging van de behandelingskosten.

Voor een effectieve gentherapiebehandeling is het essentieel dat we de capaciteit van de lever in voldoende mate herstellen. Oftewel, het therapeutische gen moet in een voldoende groot percentage van de levercellen naar binnen gebracht worden. Dit is een van de lastigste stappen van gentherapie. Virussen zijn afhankelijk van het naar binnen brengen van genetisch materiaal in cellen voor hun replicatie en zijn hier heel efficiënt in geworden. Bij gentherapie wordt derhalve veel gebruik gemaakt van virale vectoren waarbij het therapeutische gen verpakt is in een viraal partikel.

In ons lab wordt gentherapie ontwikkeld voor het Crigler-Najjar syndroom. Patiënten met CNS missen het enzym uridine 5 γ -diphospho-glucuronosyl-transferase 1A1 (UGT1A1). Dit enzym katalyseert de omzetting van het in water onoplosbare bilirubine in wateroplosbare bilirubine-glucuroniden, die het lichaam via de gal en de darm kunnen verlaten.

De huidige behandeling van CNS patiënten bestaat uit lichttherapie. Hierbij liggen de patiënten iedere dag tot wel 12 uur onder een speciale lamp waardoor het bilirubine afbreekt en de ophoping tot schadelijke concentraties vermeden kan worden. De lichttherapie is vanwege de sociale beperkingen een erg belastende behandeling. Bij kinderen is deze behandeling nog afdoende, bij volwassenen wordt deze behandeling steeds minder effectief. Het grootste deel van de patiënten met de ernstigste vorm van

deze ziekte zal uiteindelijk een levertransplantatie ondergaan, een zware en riskante ingreep. Voor deze groep patiënten lijkt lever-gentherapie, waarbij een intacte kopie van het UGT1A1 gen in de lever gebracht wordt, een geschikt alternatief.

Gentherapie ontwikkelen

Voor de behandeling van het Crigler-Najjar syndroom is gekozen voor vectoren gebaseerd op het Adeno Associated Virus (AAV). AAV vectoren hebben zich bewezen als veilig en effectief in talloze dierexperimenten en recent ook in patiënten in klinische trials [1, 2]. Gemodificeerd AAV is o.a. geschikt omdat de vector wel de kern bereikt, maar het vector genoom niet willekeurig integreert in het genoom van de patiënt. Hierdoor bestaat er geen risico op ongewenste effecten (mutaties) door insertie van het vectorgenoom in bijvoorbeeld oncogenen in het gastheergenoom. Een ander voordeel van AAV is de verscheidenheid aan typen met hun eigen voorkeur voor specifieke weefsels, waardoor de vectoren niet alleen geschikt zijn voor erfelijke leverziekten maar ook voor erfelijke ziekten in andere organen en weefsels.

De productie van AAV-UGT1A1 vectoren verloopt met behulp van speciale recombinant AAV (rAAV) plasmiden. Deze plasmiden bevatten specifieke DNA sequenties, de ITRs (Inverted Terminal Repeats), die nodig zijn voor de replicatie van het vector genoom en het inpakken in de virus mantel, het capside. In het natuurlijke wildtype AAV zitten het virale replicatie-gen en capside-gen tussen deze ITRs. Door deze twee te verwijderen en te vervangen voor een promotor en de coderende sequentie van UGT1A1, worden genomen gemaakt met het therapeutische gen tussen de ITRs, zodat dit stuk gerepliceerd wordt en ingepakt wordt in de AAV capsiden. Deze genomen missen de genen die nodig zijn voor de replicatie van AAV en zijn daardoor erg veilig. Voor de productie van de therapeutische AAV vectoren in humane cellen is replicatie nodig en zijn die AAV genen onmisbaar. Door het rAAV plasmide samen met een tweede helper-plasmide dat alle virale genen bevat in een humane cel te brengen is alle informatie voor AAV replicatie aanwezig. De cel gaat



Figuur 2: Effect van AAV-UGT1A1 gentherapie in jonge Gunn ratten. De linker ontkleurde rat is geïnjecteerd met AAV-UGT1A1, de rechter is een controle dier.

het AAV vectorgenoom repliceren en de AAV capsiden produceren. Het inpaksignaal aan beide kanten van het therapeutische gen zorgt er voor dat de geproduceerde vectorgenomen in de viruscapsiden terecht komen. De therapeutische AAV vectoren worden vervolgens uit de cellen geïsoleerd en verder opgezuiverd.

De kwaliteit van de opgezuiverde AAV-UGT1A1 vectorbatches is eerst *in vitro* getest op concentratie, inhoud en functionaliteit. De batches die goed bevonden werden zijn daarna geïnjecteerd in een rattenmodel voor Crigler-Najjar, de Gunn rat. In deze ratten bleek 1 enkele injectie voldoende voor een levenslange correctie. Het bilirubine niveau in serum ging sterk naar beneden en bleef de rest van het leven laag [3]. In jonge ratten die nog geen haar hebben is het effect van de behandeling al direct duidelijk. De behandelde dieren zijn namelijk niet meer geel (figuur 2). Naast bilirubinemetingen in gal en bloedserum is uitvoerig onderzocht waar en hoeveel het UGT1A1 tot expressie komt. Nadat deze proeven het principe bewezen hebben, zijn er aanvullende studies in deze ratten gedaan om de therapeutische doses te bepalen [3, 4].

Klinische trial

Vandaag de dag, bijna 15 jaar na het begin van het onderzoek, staan we op het punt om deze AAV vector in de patiënten te testen. Omdat het een erg zeldzame ziekte is werken we samen met medische centra in Italië, Frankrijk en Duitsland zodat er een voldoende aantal patiënten geïncludeerd kan worden om dit onderzoek op korte termijn te kunnen afronden. Het testen van het effect van deze behandeling in een kleine groep patiënten is lastig omdat er geen controle groep is. Daarom zijn de patiënten hun eigen controle. Het bilirubineniveau wordt in iedere patiënt gedurende tenminste 3 maanden gemonitord tijdens de huidige licht therapiebehandeling. Na deze basis meting wordt de vector gegeven en wordt het effect op het bilirubineniveau in het bloed gevolgd. Na verloop van tijd wordt de lichttherapie onder intensieve monitoring geleidelijk afgebouwd. Uit deze trial zal blijken of we in staat zijn deze ernstige ziekte met deze

nieuwe aanpak in mensen te genezen. Indien een enkele injectie afdoende blijkt voor een jarenlange correctie, zal in een vervolg traject gewerkt worden aan registratie van deze behandeling voor heel Europa bij de EMA. Dat is nodig om in de toekomst alle patiënten met Crigler-Najjar syndroom met gentherapie te kunnen behandelen.

Over de auteurs

Robert Bakker werkt sinds zijn opleiding bio-moleculaire wetenschappen in het veld van AAV gentherapie. Momenteel werkt hij als analist in de groep van Piter Bosma mee aan verschillende gentherapieprojecten en is daarnaast binnen het Tytgat instituut betrokken bij de kwaliteitscontrole en verwerking van in de kliniek verkregen materialen.

Piter Bosma heeft meegewerkt aan het identificeren van de genetische achtergrond van het CN syndroom en werkt als P.I. op het Tytgat instituut nu aan gentherapie voor verschillende erfelijke ernstige leverziekten. Dit project is gefinancierd uit een ZonMw TGO subsidie 43300003 en een EU H2020 research and innovation Grant agreement No 755225, beide aan PJB.

Literatuur

1. Nathwani AC¹, Reiss UM, Tuddenham EG, Rosales C, Chowdary P, McIntosh J, Della Peruta M, Lheriteau E, Patel N, Raj D, Riddell A, Pie J, Rangarajan S, Bevan D, Recht M, Shen YM, Halka KG, Basner-Tschakarjan E, Mingozzi F, High KA, Allay J, Kay MA, Ng CY, Zhou J, Cancio M, Morton CL, Gray JT, Srivastava D, Nienhuis AW, Davidoff AM. Long-term safety and efficacy of factor IX gene therapy in hemophilia B. *N Engl J Med*. 2014 Nov 20;371(21):1994-2004.
2. Mingozzi F¹, High KA. Therapeutic in vivo gene transfer for genetic disease using AAV: progress and challenges. *Nat Rev Genet*. 2011 May;12(5):341-55.
3. Seppen J, Bakker C, de Jong B, Kunne C, van den Oever K, Vandenberghe K, de Waart R, Twisk J, Bosma P. Adeno-associated virus vector serotypes mediate sustained correction of bilirubin UDP glucuronosyltransferase deficiency in rats. *Mol Ther*. 2006 Jun;13(6):1085-92.
4. Sem J, Aronson, Ulrich Beuers & Piter J. Bosma: Progress and challenges in gene therapy for Crigler-Najjar syndrome. *Expert Opinion on Orphan Drugs*. 2015.

Antwoorden casus

Vraag 1: welke bepalingen geven een uitslag die buiten de referentiewaarden vallen? Waarop kan deze combinatie van uitslagen wijzen?

Afwijkend zijn:

leuko ↓, Hb ↓, trombo ↑, BSE, kreatinine ↑.

Alle bloedcellen verlaagd, kan wijzen op beenmergproblemen. Verdringing?

Vraag 2: a. Welk eiwit wordt hier bedoeld?

b. Bij welke klinische verdenking wordt de PSA aangevraagd?

- a. Prostaatspecifiek antigeen
- b. prostaatcarcinoom

Vraag 3: waarop wijst deze röntgenuitslag mogelijk? Primaire tumoren of metastasen in de botten.

Vraag 4: wat valt er op in het beenmergpreparaat? Veel plasmacellen

Vraag 5: wat zegt de uitslag van de elektroforese en immunofixatie?

M-proteïne, type IgG, lambda

Vraag 6: wat zou het ziektebeeld van deze patiënt kunnen zijn?

Multipel myeloom of ziekte van Kahler

Vraag 7: wat verklaart de hoge calciumconcentratie van deze patiënt?

Laesies in de botten. Hieruit komt calcium vrij.

Vraag 8: wat verklaart de slechte nierfunctie van deze patiënt?

Lichte ketens slaan neer in de niertubuli en verstoppen de nieren.

Mogelijkheden zien!

Sinds april zijn er in het bestuur van onze NVML wat wisselingen geweest. We hebben een nieuwe voorzitter; Els Wester, die Marianne Egbers heeft opgevolgd. We hebben afscheid genomen van Hester Duijn en Eline Liesting. Zelf ben ik nieuw aangetreden als bestuurslid.

Tijdens mijn studie ben ik, halverwege de jaren '90 van de vorige eeuw, lid geworden van de analistenvereniging VvMA, de voorloper van de NVML. Dat was op dat moment niet ongebruikelijk. Veel studenten van de medische studierichting van de laboratoriumschool waren lid. Dat was interessant omdat in Analyse niet alleen theoretische achtergronden en inhoudelijke verdieping over het vak stond, maar vaak stonden er ook allerhande vacatures in. Het lid zijn van de VvMA bood dus zowel de kans om bij te blijven op het vakgebied, als zicht houden op de arbeidsmarkt. Dat was op dat moment erg handig, omdat de banen niet voor het oprapen lagen.

In januari 2000 ben ik aan de slag gegaan als klinisch chemisch analist. In de eerste jaren van mijn carrière was de salariëring op ons lab, in de vorm van het FWG systeem in de cao Algemene Ziekenhuizen, een belangrijk item. De NVML vervulde een belangrijke rol in het geven van informatie over het FWG systeem. Men deelde voorbeeldteksten voor functiebeschrijvingen en maakte inzichtelijk hoe de inhoud van een functiebeschrijving opgesteld zou worden. Ogenscheinlijk minieme veranderingen in de gekozen termen konden duidelijk invloed hebben op de uiteindelijke functiewaardering.

In de bijna 19 jaar die ik nu aan de slag ben in het medisch laboratorium, heb ik behoorlijk veel na- en bijscholingen gevolgd. Een groot deel daarvan is aangeboden door de NVML. In ons vakgebied staan de opleidingen van de NVML goed bekend; de kwaliteit is hoog, de organisatie is professioneel en de inhoud is altijd erg vakgericht. Of het nu gaat om nascholingsmiddagen of complete cursussen (zoals "Meewerkend leidinggevende" en "Theorie en praktijk van immunoassays"), het NVML logo garandeert dat het snor zit. Ook wanneer een nascholingsactiviteit niet door NVML georganiseerd wordt, kun je niet om onze beroepsvereniging heen. Men rijkt Universele Euro Credits (UEC) uit, die objectief gebruikt kunnen worden om aan te tonen dat je je vak kennis op peil houdt. Dit waarderingssysteem wordt niet alleen in Nederland gebruikt; ook de zusterverenigingen van de NVML in de ons omringende landen gebruiken dit systeem. Ik raad elk lid dan ook aan om de UEC punten keurig bij te houden en te noteren.

Voor mij is er veel veranderd in de afgelopen 19 jaar. Van jonge analist in Ziekenhuis de Baronie in Breda werd ik achtereenvolgens groepshoofd, meewerkend teamleidinggevende (Amphia Ziekenhuis Breda), hoofdanalist en tenslotte organisatorisch manager (LUMC Leiden). Wat niet veranderd is, is wat de NVML voor mij betekent in de uitvoering van mijn vak. Het is voor mij dan ook een dankbare taak om aan te schuiven aan de bestuurstafel van de NVML. Ik hoop dat onze beroepsvereniging ook de komende decennia nog een waardevolle aanvulling mag zijn voor alle biomedisch laboratoriummedewerkers die ons land rijk is.

Pascal Schippers

Wilhelminapark 52, 3581 NM Utrecht. Telefoon: 030-2523792.
Telefonisch bereikbaar: maandag tot en met donderdag van
9:00 tot 14:00. E-mail: nvml@nvml.nl. Website: www.nvml.nl

Bereikbaarheid bureau medewerkers

- Ria Blom (organisatie nascholing): maandag, dinsdag en donderdag.
- Marja Pospiech (beroepsinhoudelijke belangenbehartiging en algemene zaken): maandag tot en met donderdag.
- Alice Gosselt-Imming (organisatie nascholing): maandag, dinsdag en donderdag.
- Jenny Schoemaker (voorlichting en sociale belangenbehartiging): dinsdag t/m donderdag.

Lidmaatschap

Voor informatie en ledenadministratie kunt u contact opnemen met het bureau van de NVML.

Contributie

Lees het aanmeldingsformulier op de website: www.nvml.nl.

Opzegging

Schriftelijk vóór 1 november van het lopende jaar per post of e-mail. U ontvangt hiervan een bevestiging binnen 10 werkdagen. Omdat niet al het communicatieverkeer probleemloos verloopt, adviseren wij u bij het uitblijven van de bevestiging telefonisch contact op te nemen met het bureau van de NVML.

Bestuur

Voorzitter

Mw. E.M. Wester, opleidingsadviseur, afdeling Personeel & Organisatie Atalmedial Amsterdam

Penningmeester

dhr. H.P.C. Schippers, afdeling Klinische Chemie en Laboratoriumgeneeskunde, LUMC Leiden.

Secretaris/vicevoorzitter

vacant

Leden

dhr. B. klein Brink, Manager Histopathologie, Gelre Ziekenhuizen, locatie Apeldoorn
Aspirant lid: mw. M. van Straten, afdeling bacteriologie, Streeklab voor de Volksgezondheid, Haarlem

Adviseurs

- Prof. dr. R. de Jonge, Amsterdam, klinisch chemicus
- dr. J.G. Kusters, Utrecht, medisch moleculair microbioloog

NVML-Commissies en werkgroepen

Commissie Internationale Contacten

Contactpersoon: Marja Pospiech, bureau NVML.

Commissie Kwaliteit / Landelijk kwaliteitsnetwerk (LKN)

Contactpersoon: Petra Melsen

Commissie Nascholing

Contactpersoon: Alice Gosselt-Imming en Ria Blom, bureau NVML.

Commissie/Platform Onderwijs

Contactpersoon: Marja Pospiech, bureau NVML.

Commissie Preactanalyse

Contactpersoon: Kor Kooi.

Commissie Sociale Belangen

Contactpersonen: Marja Pospiech en Jenny Schoemaker, bureau NVML.

Landelijk fertiliteitsnetwerk (LFN)

Contactpersoon: Wendy Hogervorst

POCT werkgroep

Contactpersoon: Gerdie Weijers

Redactiecommissie

Contactpersoon: Simone Priester-Vink

Werkgroep e-learning

Contactpersoon: Nelly IJzerman

Werkgroep Hoofdanalisten Klinische Chemie (WHAKC)

Contactpersoon: Eline Liesting

Werkgroep Hoofdanalisten Medische Microbiologie (WHAMM)

Contactpersoon: Marianne Egbers

Werkgroep Hoofdanalisten Pathologie (WHAPA)

Contactpersoon: Paul Rombout

Werkgroep Registratie

Contactpersoon: Marja Pospiech, bureau NVML

1^e POCT-congres

Point of Care Testing

- **Kwaliteitscontrole**
- **QC bij huisartsen**
- **Scholing en toetsing**
- **INR en NOAC's op de spoedeisende hulp**
- **POCT in de Medische Microbiologie**
- **Werkervaringsverhaal**

CONGRESCENTRUM DE EENHOORN AMERSFOORT
DINSDAG 11/12/2018



Cao Umc's

Bij het ter perse gaan van dit blad is er nog geen overeenkomst over een nieuwe cao. In alle umc's zullen inmiddels acties zijn geweest of nog bezig zijn. Kijk voor het laatste nieuws hierover op de nieuwspagina van www.nvml.nl.

Cao Ziekenhuizen

Eén van de afspraken, gemaakt bij het afsluiten van de cao (die nog doorloopt tot 1 april 2019) is dat alle ziekenhuis-medewerkers per 1 september 2018 een éénmalige uitkering ontvangen van € 200,- (bij een voltijds dienstverband). Dit bedrag had u dus bij het salaris van september moeten ontvangen. In februari ontvangt u dan nog een éénmalige uitkering van € 125,- (bij voltijds dienstverband).

Heeft u nog ideeën voor de volgende cao? Die kunt u via nvml.csb@nvml.nl bij ons aanmelden. De NVML brengt deze dan in ter bespreking bij FNV Zorg en Welzijn.

*Wist je dat we
nog steeds nieuwe
redactieleden
zoeken?*

Anna Listje

We willen graag een nieuwe rubriek starten, genaamd: "Wist je dat?". Heb jij een leuk biomedisch of lab-gerelateerd weetje of feitje? Stuur een email naar de redactie via nvml.redactie@nvml.nl

EPBS - CIC

BioMedical Scientists, who are we?

De commissie internationale contacten (CIC) is de vertegenwoordiging van de NVML in de European Association for Professions in Biomedical Science (EPBS). Om het grote lange termijn doel; 'registratie van het analisten vak' te bewerkstelligen, moet er een flink aantal deelstappen worden genomen.

Eén daarvan is het beschrijven van het vak. Daarbij wordt nadrukkelijk uitgegaan van de Europese politicus als lezer, wat een behoorlijke uitdaging is. Maar alsof dat nog niet voldoende uitdaging is; er moet ook nog Europese overeenstemming worden bereikt tussen de leden van de EPBS. Daarom is er door de EPBS een subcommissie opgericht die de tekst gaat voorbereiden voor de EPBS vergadering. Vijf landen, waaronder Nederland, hebben zich aangemeld voor deze taak.

Vrijdag 7 september om 21:30 was de eerste SKYPE-vergadering. Samen met Italië, Kroatië, Ierland en Portugal zijn de procedure en hoofdstukken vastgesteld, schrijvers en redacteurs benoemd en is de opleverdatum vastge-

legd. Het is de verwachting dat er voor de EPBS vergadering van 2019 een mooi beschrijvend stuk ligt onder de titel: "BioMedical scientists, who are we?". Na vaststelling van dit stuk kan een andere commissie hiermee aan de slag om een Common Training Framework (CTF) op te stellen, wat moet leiden tot erkenning en registratie van ons vak. Dit zijn de eerste stapjes op een lange weg, maar zoals eerder beschreven de enige mogelijkheid tot erkenning en registratie voor de Nederlandse analisten en daarmee echt vrij beroepen verkeer tussen de Europese medische laboratoria.

Eric Hazenberg

Nascholing 'Longinfecties'

Luchtwegen zijn nooit "schoon"

Iedereen kan een longontsteking oplopen maar dit zal voor een 20 jarige vaak veel milder verlopen dan voor een 85 jarige. Ook hier gaat het er met name om wat de patiënt al in zijn of haar leven heeft meegemaakt, wat voor reserves de patiënt heeft maar ook wat voor bacterie of virus de verwekker is.

Zodra mensen een onderliggende longziekte hebben zoals COPD of bronchiëctasiën (littekens van de longen) kan men ook nog vatbaarder zijn voor (bepaalde) pulmonale infecties. Het gaat dan niet alleen om de "normale" verwekkers maar ook om specifieke bacteriën die soms zeer moeizaam te behandelen zijn. Wij zullen in deze lezing ingaan op de anatomie, en de varianten hierop, van de long en ook op de luchtweginfecties die, zowel bij een incidenteel maar ook bij een recidiverend karakter invaliderend kunnen zijn voor een patiënt.

Drs. M.L. van Schaik, AIOS longgeneeskunde, ISALA, Zwolle (6 november)

Drs. C. van Arkel, AIOS longgeneeskunde, Catharina ziekenhuis Eindhoven (13 november)

Infecties van de longen: een divers geheel!

Diverse pathogenen kunnen aanleiding geven tot infecties van de luchtwegen. Als de onderste luchtwegen zijn betrokken is er vaak sprake van een longontsteking. Naast klassieke pathogenen zoals *S.pneumoniae* en *H.influenzae* is er een breed scala aan verwekkers die, in zeldzamere gevallen, aanleiding kunnen geven tot ziekte. Met name bij immuungecompromiteerde patiënten kunnen opportunistische infecties zoals bijvoorbeeld nocardiose of een invasieve aspergillose op de loer liggen. Kennis over de klinische presentatie (hoesten, sputumproductie, koorts?), (reis-)anamnese, beeldvorming (infiltraat, massa, noduli, cavitatie?) en host (onderliggende ziekten of gebruikt immunosuppressiva?) zijn van groot belang voor een goede preanalyse van materialen en nadien de interpretatie van uitslagen. Middels casuïstiek zullen deze zaken aan bod komen.

Dr. G.H.J. Wagenvoort, arts-microbioloog, ISALA, Zwolle

Dinsdag 6 november 2018

Data en locatie

Zwolle ISALA, avondnascholing

Programma 6 november

17.00	Ontvangst met lichte maaltijd
17.30	Opening NVML
17.35	Drs. M. van Schaik
18.20	Pauze
18.40	Dr. G.H.J. Wagenvoort
19.45	Afsluiting door NVML

Niveau

Post-HBO

UEC

Voor deze nascholingsmiddag ontvangt u 3 UEC.

Kosten

NVML-lid € 55,-
Niet-NVML-lid € 85,-
(NVML-leden kunnen persoonlijk 30 euro via de geld-terug-bon aanvragen)

Dinsdag 13 november 2018

Data en locatie

Tilburg ETZ, locatie Elisabeth, middagnascholing

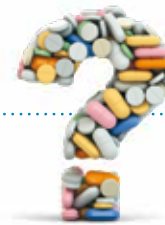
Programma 13 november

13.30	Ontvangst met koffie/thee
14.00	Opening NVML
14.05	Drs. C. van Arkel
14.50	Pauze
15.15	Dr. G.H.J. Wagenvoort
16.15	Afsluiting door NVML

Aanmelden

Sluitingsdatum is 22 oktober 2018

U kunt zich uitsluitend aanmelden via de website www.nvml.nl.



Hoeveel privacy heb je nog bij ziekmelding?

Heeft u een vraag over de arbeidsomstandigheden op uw werk? Er kan wel eens wat mis gaan. Niet alle werkgevers kennen de cao van A tot Z. Hiervoor bestaat de Commissie Sociale Belangen van de NVML. Leden van de NVML kunnen hier kosteloos advies over hun kwestie of vraag krijgen. Een aantal vragen die we behandeld hebben, worden in deze rubriek besproken.

Vraag: toen ik me laatst ziek meldde, vroeg mijn leidinggevende me het hemd van het lijf: of ik echt niet kon komen werken, wanneer ik verwachtte beter te zijn, welke klachten ik dan wel niet had. Mag dat zomaar allemaal, en wat zijn mijn rechten?

Meestal is het de direct leidinggevende die ofwel een telefonische ziekmelding ontvangt, ofwel later op de dag zelf de zieke medewerker belt. Tijdens zo'n gesprek mag die leidinggevende alleen vragen stellen die nodig zijn om te kunnen bepalen hoe het verder moet met het werk. Bijvoorbeeld: Wanneer verwacht je weer terug te zijn? Of: Wat zijn de lopende afspraken en werkzaamheden? Maar de leidinggevende mag niet vragen wat de medewerker mankeert, wat de oorzaak daarvan is of wat de beperkingen en mogelijkheden zijn. Natuurlijk mag een werknemer vrijwillig gegevens over de ziekte verstrekken, maar men mag die dan niet registreren. Een werkgever mag ook niet verzoeken om een lijst in te vullen waarin medische informatie wordt gevraagd, zoals over de ziektegeschiedenis of medicijngebruik.

Al deze beperkingen gelden ook voor een medewerker of casemanager van een commercieel verzuimbureau. Alleen een bedrijfsarts, of een professional die onder verantwoordelijkheid van de bedrijfsarts werkt, mag dergelijke vragen stellen.

Thuis blijven?

Een werkgever mag in een verzuimreglement vaste momenten opnemen voor een zieke medewerker om thuis te zijn en controle mogelijk te maken. Maar die controlevoorschriften moeten wel redelijk zijn. Het kan niet zo zijn dat een zieke werknemer door de werkgever verplicht wordt hele dagen thuis te blijven; een bepaling die nog vaak voorkomt in reglementen. Zo'n voorschrift is onredelijk. Het grijpt te diep in op de persoonlijke levenssfeer en zeker bij psychosociale oorzaken van arbeidsongeschiktheid kan zo'n verplichting de genezing vertragen.

Een bepaling dat iemand bijvoorbeeld tussen 10.00 en 12.00 uur en tussen 14.00 en 16.00 uur thuis moet zijn, kan wel. Uiteraard kan in onderling overleg tussen medewerker en leidinggevende besloten worden om positief van deze tijden af te wijken. Ook staat het vrij om in een ziekteverzuimreglement alleen afspraken over telefonische bereikbaarheid op te nemen.

Bedrijfsarts

Een bedrijfsarts is gebonden aan het medisch beroepsgeheim en mag daarom zonder toestemming van de betrokken medewerker geen medische gegevens delen met derden. Ook niet met een werkgever of de leidinggevende. Dat geldt ook tijdens de bijdrage van de bedrijfsarts aan het sociaal medisch team, zoals dat in vele organisaties is ingesteld. Daar wordt in een overleg tussen bijvoorbeeld Hoofd P&O, een hogere leidinggevende en de bedrijfsarts de voortgang van de re-integratie van individuele zieke medewerkers besproken. Ook hier mag de bedrijfsarts alleen medische informatie doorgeven met nadrukkelijke toestemming van de betrokken medewerker.

Is die toestemming er niet, dan dient de arts zich te beperken tot het verstrekken van informatie van algemene aard: wanneer is terugkeer te verwachten, welke begeleiding is passend etc. Maar de ziektegeschiedenis of problemen in de thuissituatie mogen niet door de bedrijfsarts worden ingebracht. Overigens is het, met al deze beperkingen, het mooist al alles in goede harmonie wordt opgelost: voor het geval dat dit niet lukt is het prettig om duidelijke regels te hebben.

(Met dank voor overname van dit artikel uit OR magazine nr.6, november 2017, auteur: Koen Langenhuysen. OR magazine is een uitgave van uitgeverij Vakmedianet).

Heeft u ook een vraag of zit u iets dwars? Neem contact op met de Commissie Sociale Belangen via nvml.csb@nvml.nl. Uw post wordt vertrouwelijk behandeld.

STRIJD JIJ MEE TEGEN KINDERUITBUITING?



Wereldwijd worden miljoenen kinderen uitgebuit. Denk aan seksuele uitbuiting van kinderen, kindermisbruik of kinderarbeid. Terre des Hommes pakt deze extreme, mensonterende vormen van kinderuitbuiting aan.

Help mee via tdh.nl

terre des hommes
stopt kinderuitbuiting



'Wij zoeken een nieuwe collega!'



Vakspecialist/Stafconsulent Hematologie
Beenmergmorfologie en Flowcytometrie
werkenbijdiakonessenhuis.nl

Diakonessenhuis ✨ Dicht bij je patiënten



Redactieleden gezocht

Analyse is nog steeds op zoek naar nieuwe redactieleden. Heb je leuke ideeën voor artikelen en rubrieken in Analyse? Wil je graag 3 keer per jaar brainstormen over de inhoud van Analyse? Zou je zelf iets willen schrijven (niet verplicht), zoals een artikel of boekrecensie?

Wil je meer informatie of een keertje kijken of dit iets voor jou is? Neem dan contact op met de NVML via nvml.redactie@nvml.nl of 030 2523792.

Preanalyse een prachtig vak!

Het Laboratorium voor medische microbiologie en infectieziekten (LMMI) verricht laboratoriumdiagnostiek naar oorzaken van infectieziekten op o.a. bacteriologisch, virologisch, sero-immunologisch en moleculair microbiologisch gebied. De onderzoeken worden verricht op aanvraag van o.a. de huisarts, medisch specialist en keuringsarts in de regio Zwolle en Meppel. Voor de juiste afhandeling van de ingestuurde aanvraag is het van belang dat het LMMI het onderzoeksmateriaal op de juiste wijze ontvangt en dat het juiste en voldoende patiëntenmateriaal ingestuurd wordt. Voor een klinisch relevant antwoord op de onderzoeksvraag is het tevens van belang dat het aanvraagformulier volledig wordt ingevuld.

De APS (Afdeling Preanalyse en Secretariaat) op het LMMI verricht een hoop voorwerk voordat van het patiënten materiaal het gewenste onderzoek verricht kan worden. Een voorbeeld uit de praktijk: liquor met vraagstelling encefalitis, meningitis en neuro Lyme. Ten eerste wordt er gekeken naar:

- Is de aanvraag volledig ingevuld met o.a. aanvrager, patiëntgegevens en klinische gegevens?
- Kloppen de gegevens op het materiaal met de gegevens op het aanvraagformulier?
- Is er voldoende materiaal voor alle gewenste onderzoeken?

Indien er gegevens missen of er is te weinig materiaal, dan neemt de APS contact op met de aanvrager, eventueel met een andere afdeling die mogelijk ook liquor ontvangen heeft of overlegt met de arts-microbioloog. Daarna vindt plaats: invoering van het materiaal in GLIMS, verdeling van de juiste hoeveelheid liquor voor alle betreffende afdelingen, materiaal verzendklaar maken incl. aanvraagformulier voor het externe laboratorium.

Zoals uit dit voorbeeld blijkt is de preanalyse zeer complex. Het is een uitdaging om voor deze afdeling nieuwe medewerkers in te werken. De bestaande groep is klein en het werk werd meer, daarom is er in 2016 op het LMMI voor gekozen om analisten mee te laten werken op de APS. Helma en Hester werken beide op de APS en ik heb hen bereid gevonden om enkele vragen te beantwoorden:

Gerda: Willen jullie jezelf voorstellen?

Helma: *Ik ben 27 jaar. Ik ben getrouwd en werk vanaf 2014 als analist op de afdeling Bacteriologie bij het LMMI in Zwolle.*

Hester: *Ik ben 44 jaar. Ik ben getrouwd en heb 2 zonen. Ik werk vanaf 1993 op de APS.*

Gerda: Hoe zijn jullie in de preanalyse terecht gekomen?

Helma: *Vanuit de preanalyse kwam de vraag of er analisten waren die 1 dag per week op de APS wilden werken. Dit leek mij een leuke afwisseling met mijn huidige werkzaamheden.*

Hester: *Nadat ik mijn opleiding tot medisch secretaresse had afgerond op de MEAO, ben ik via het uitzendbureau op het LMMI in Zwolle terecht gekomen.*

Gerda: Wat vinden jullie leuk aan het werken in de preanalyse?

Helma: *Dit is echt het begin van de keten. Hier komen alle materialen binnen, wordt het uitgepakt en ingevoerd. Als*

het op de APS niet goed loopt, dan stagneert het werk op het laboratorium ook. Op de APS zorg je er voor dat het materiaal zo vlot mogelijk doorstroomt naar het laboratorium, dit is best een uitdaging.

Hester: *In de loop der jaren is er het nodige veranderd in de preanalyse. Wij zijn o.a. geautomatiseerd en wij verrichten veel meer handelingen zelf. Ik vind het pre-analytisch werk afwisselend en geen dag is hetzelfde. De materiaalverwerking, het overleggen met de artsen-microbioloog, de telefoonafhandeling, eigenlijk vind ik alles leuk.*

Gerda: Wat vinden jullie niet leuk aan de preanalyse?

Helma: *Aanvraagformulieren welke niet goed of onvolledig zijn ingevuld. Hiervoor moet je vaak bellen of overleggen, wat veel onnodige tijd kost.*

Hester: *Vaak doen wij veel dingen tegelijk en als je dan ook nog gestoord wordt door bv. een telefoontje dan is dat soms wel lastig. Ook als aanvraagformulieren niet goed worden ingevuld kan het veel tijd kosten om er achter te*



komen wie de aanvrager is.

Gerda: Wat kan er nog verbeterd worden en hoe zien jullie de toekomst van de preanalyse?

Helma: *Binnenkort wordt er in het ziekenhuis digitaal aangevraagd. Dit scheelt veel typewerk van alle klinische gegevens. Mogelijk worden de aanvragen ook beter ingevuld, waardoor we minder vaak hoeven te bellen over welke onderzoeken de aanvrager wil van het binnen-gekomen materiaal.*

Hester: *Vanaf november gaat Isala over op een nieuw systeem (EPD). Dit betekent dat onze werkzaamheden op de APS ook zullen veranderen. Hoe het er precies uit gaat zien, dat weet ik nog niet. Maar ik heb er wel zin in en ik laat het allemaal over mij heen komen.*

Gerda: Hoe ervaar je de samenwerking met de analisten op de APS?

Helma: *Ik denk echt dat het een goede oplossing is. De lijntjes tussen de afdelingen zijn hierdoor korter. Als de APS medewerker een vraag heeft, dan kan deze gesteld worden aan de analist die invoert en dat scheelt een loopje naar het laboratorium. Daarnaast denk ik dat er meer begrip is gekomen bij de analisten over alle werkzaamheden die verricht worden op de APS. Er wordt nu ook sneller door een analist bijgesprongen bij het uitpakken van materialen. Wij moeten het toch met elkaar doen.*

Hester: *Dat wat Helma zegt, daar kan ik alleen maar mee instemmen. Het begrip voor elkaar is alleen maar beter*

geworden, wat ook prettiger werkt.

Gerda: Hester en Helma bedankt voor jullie medewerking.

Uit de antwoorden van Hester en Helma blijkt wel dat je vanuit verschillende disciplines in de preanalyse terecht kunt komen. Ook blijkt hoe omvattend het werk op de APS is. Geen dag is hetzelfde en samen staan we elke dag weer voor de uitdaging om alle materialen zo snel en adequaat mogelijk op de plek van bestemming te krijgen om zo een goede en snelle analyse te kunnen starten. Het is vaak hectisch op de APS door de diverse werkzaamheden, maar ook door telefoontjes en vragen en opdrachten van artsen-microbioloog en analisten. Je moet dus goed kunnen multitasken en zeer stressbestendig zijn op de APS.

Sinds ik in de commissie preanalyse zit, hoor ik natuurlijk hoe het er aan toe gaat in de preanalyse op andere laboratoria. Als ik dan vertel dat op het LMMI analisten er zelf voor kiezen 1 dag in de week op de preanalyse te werken, zie ik soms verbaasde gezichten. Op het LMMI is deze oplossing uit nood geboren, maar deze oplossing heeft wat mij betreft alleen maar voordelen opgeleverd. Wij hebben het zeer getroffen met 'onze' analisten. Er zijn op de APS al veel verbeteringen doorgevoerd de laatste jaren en er komen er zeker nog een paar aan. De APS is nog steeds in beweging! De preanalyse is een prachtig vak en wordt gelukkig steeds meer serieus genomen.

Gerda Smit

Meedenken

Gezocht: Analist met 'Digitaal jong brein'

De NVML zoekt naar nieuwe wijzen om de leden laagdrempelig, eenvoudig en realtime te voorzien van actuele en relevante informatie. Moderne communicatiemiddelen (mobiele website, NVML app, etc.) zouden wellicht een oplossing kunnen vormen.

We zijn daarom op zoek naar leden met een 'digitaal jong brein', die mee willen denken over de volgende vragen:

- Hoe kan de NVML het beste digitaal communiceren?
- Hoe kan ervoor gezorgd worden dat alle informatie realtime beschikbaar is?
- Hoe gaat de NVML mee met het digitale tijdperk?
- Welke communicatiemiddelen gebruiken leden om informatie op te zoeken
- Welke informatie wil je 'in de broekzak' kunnen hebben?
- Wat wil ik met een NVML-app doen?
- Wat verwacht ik van een NVML-app?
- Vormt een NVML app meerwaarde op symposia als het 'Spring event'?

Om deze vragen te beantwoorden willen we graag om de tafel met analisten die veel ervaring hebben met de mogelijkheden van apps op hun mobiele telefoon en het leuk vinden om mee te denken in de ontwikkeling van een app. De gevraagde tijdsinzet is vooralsnog beperkt. Communicatie zal zo veel mogelijk plaatsvinden via een discussie forum (e-mail).

Voel jij je aangesproken en wil je meedenken? Stuur dan een mailtje naar nvml@nvml.nl met als onderwerp 'Digitaal jong'. Vermeld daarbij: jouw naam, vakgebied, instelling, en telefoonnummer.

Word lid!



Een persoonlijk lidmaatschap van de NVML betekent:

- Verdieping en verbreding van kennis
- Verbinden via netwerken
- Aantrekkelijk en informatief vakblad
- Korting op de contributie bij deelname aan nascholing, cursus of congres
- Voorrang op cursussen
- Belangenbehartiging en advies

“Het grote voordeel van het NVML-lidmaatschap is: korting op de contributie als je nascholing volgt!”



“Naast het inhoudelijke deel van een nascholing vind ik de onderlinge contacten in de wandelgang- en altijd erg leuk: je kunt eens uitwisselen hoe het op andere laboratoria georganiseerd is.”

Interesse gewekt?

Ga naar www.nvml.nl pagina ‘lid worden?’



Het zomercryptogram was geen makkie!

Ondanks (of dankzij?) de tropisch temperaturen in Nederland waren er toch een paar ijverige analisten die de codes van dit moeilijke cryptogram wisten te kraken. **Winnaar van de bioscoopbon t.w.v. € 30 is Miranda Bettman. Zij had als enige de volledig juiste oplossing van de puzzel.**

Voor de andere 'ploetersaars' die de puzzel bijna goed hadden: de meeste fouten werden gemaakt in 25 horizontaal: 'priegelaar' werd genoemd i.p.v. 'ploeteraar' en in 10 horizontaal/11 verticaal leken meerdere oplossingen mogelijk.

Cursussen NVML

Aanmelding NVML cursussen. Er is nog plaats bij:

Moleculair biologische technieken

Sluiting inschrijving

23 oktober

Cursusdata

Woensdag 28 en donderdag 29 november

Stagebegeleiding, het vervolg

30 oktober

Donderdag 6 en 20 december

Alle informatie hierover kunt u vinden op de website van de NVML.

Hogeschool van Arnhem en Nijmegen*Cursussen, post-hbo en maatwerkopleidingen Life Sciences*

Titel: **Basiskennis Chemie**
 Datum: **e-learning (vrije keus startdatum)**
 Omvang: **2,5 maand**
 Kosten: **€ 750,-**
 Locatie: **n.v.t.**

Titel: **Statistiek voor Laboratoriummedewerkers Basis**
 Start: **Start 30 oktober 2018 (6 dagen 18.00-21.00 uur)**
 Kosten: **€ 1.088,00**
 Locatie: **Amsterdam**

Titel: **Studiedag Malaria diagnostiek**
 Datum: **30 oktober 2018 (9.30 – 17.00 uur)**
 Kosten: **€ 492,00**
 Locatie: **Nijmegen**

Titel: **Studiedag Diagnostiek van Intestinale Protozoa en Helminthen**
 Datum: **6 november 2018 (13.00 – 17.00 uur)**
 Kosten: **€ 283,00**
 Locatie: **Nijmegen**

Titel: **Kwaliteitszorg in het laboratorium**
 Start: **Start 13 november 2018 (4 dagen 14.00-17.00 uur)**
 Kosten: **€ 1.015,00**
 Locatie: **Nijmegen**

Titel: **Morfologie van het Urinesediment**
 Datum: **15 november 2018 (9.30 – 17.00 uur)**
 Kosten: **€ 464,00**
 Locatie: **Nijmegen**

Titel: **Fermentatietechnologie**
 Datum: **Start 15 november 2018 (6 dagen 13.30-17.30 uur)**
 Kosten: **€ 1.667,00**
 Locatie: **Nijmegen**

Titel: **Basispracticum Laboratoriumvaardigheden**
 Start: **Start 11 december 2018 (6 dagen 10.00-18.00 uur)**
 Kosten: **€ 1.276,00**
 Locatie: **Nijmegen**

Voor aanmelding en aanvullende informatie over onze opleidingen kunt u terecht op onze website www.hanlifesciences.nl of stuur een mail naar info.lifesciences@han.nl.

Hogeschool Leiden*Centrum Bioscience en Diagnostiek*

Cursus: **Workshop Malaria**
 Data: **5 en 6 november 2018 (09.00-17.00 uur)**
 Inschrijven: **vóór: 22 oktober 2018**
 Kosten: **€ 1.015,-**

Cursus: **Introductie Genome Editing: CRISPR design**
 Datum: **12 november 2018 (09.30-16.00 uur)**
 Inschrijven: **vóór: 15 oktober 2018**
 Kosten: **€ 460,-**

Cursus: **Diagnostiek van veel voorkomende schimmelinfecties**
 Data: **19, 21, 26 en 28 november, 3 en 12 december 2018 (16.30-20.45 uur)**
 Inschrijven: **vóór: 15 oktober 2018**
 Kosten: **€ 1.640,-**

Cursus: **Nieuwe moleculaire diagnostische technieken**
 Datum: **26 november 2018 (09.30-15.15 uur)**
 Inschrijven: **vóór: 15 oktober 2018**
 Kosten: **€ 385,-**

Cursus: **Antibiotica resistentie: nu en in de toekomst**
 Datum: **25 januari 2019 (09.00-17.00 uur)**
 Inschrijven: **vóór: 14 december 2018**
 Kosten: **€ 540,- (bij inschrijving voor 15 november € 490,-)**

Cursus: **Introductie tot de real-time PCR**
 Data: **4, 5 en 12 februari 2019 (09.30-16.30 uur)**
 Inschrijven: **vóór: 21 december 2018**
 Kosten: **€ 1.615,- (bij inschrijving voor 26 november 2018 € 1.470,-)**

Raadpleeg onze website voor meer informatie en inschrijfformulieren. U kunt hier tevens informatie over onze maatwerktrajecten vinden. Website: <http://cbd.hsleiden.nl>, tel: 071-518 87 53, fax: 071-518 84 15, e-mail: cbd@hsleiden.nl.

Hogeschool Utrecht*Institute for Life Sciences & Chemistry, Heidelberglaan 7, Utrecht*

Cursus: **Antibiotica en resistentie - vernieuwd programma**
 Data: **18 oktober, 1 en 8 november 2018**
 Omvang: **3 bijeenkomsten van 9.30 tot 16.30 uur**
 Kosten: **€ 1350,- (vrij van BTW)**

Cursus: **Moleculaire Biologie**
 Data: **13, 20, 27 november, 4, 11, 18 december 2018**
 Omvang: **6 bijeenkomsten van 14.00 tot 17.30 uur**
 Kosten: **€ 1250,- (vrij van BTW)**

Cursus: **Using R for Data Analysis**
 Data: **Donderdagen 10, 17, 24, 31 januari en 7 februari 2019**
 Omvang: **5 bijeenkomsten van 14.00 - 19.30 uur**
 Kosten: **€ 1750,- (vrij van BTW)**

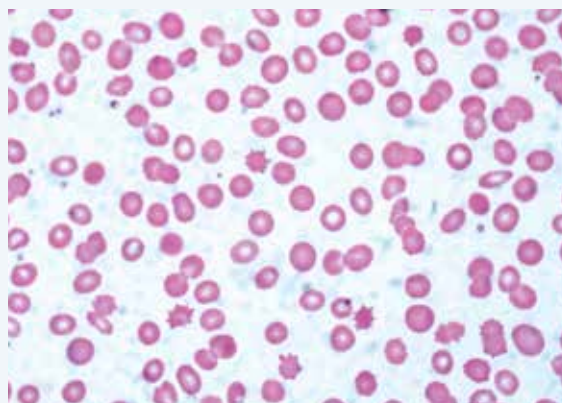
Kijk op onze website www.ilc.hu.nl en u vindt onder Leven Lang Leren het volledige cursusaanbod of kies voor keuzemodules uit het bacheloronderwijs.

Wilt u de opleidingsbehoefte binnen uw organisatie in huis en op maat invullen, dan kunt u contact opnemen met onze adviseur Barbara Jerusalem via barbara.jerusalem@hu.nl.

Wat is het?



Eindelijk is de 'Wat is het?' geraden. De oplossing was: beenmerg. De gelukkige winnaar is Denise Groenewoud. Zij krijgt binnenkort een leuke prijs thuisgestuurd.



Dit keer hebben we weer een nieuw raadsel. Wat staat hierboven op de foto? Het antwoord kun je sturen naar nvml@nvml.nl onder vermelding van 'Wat is het?'. Oplossingen kunnen ingestuurd worden tot 9 november 2018. De winnaar ontvangt een prijs. De winnaar en de oplossing worden bekend gemaakt in Analyse nummer 6 van 2018.

Agenda

Oktober	9	Start cursus Meewerkend Leidinggevende plus (C)	Utrecht
	10	Whamm besloten ISO bijeenkomst over lastige normelementen.	Info bureau NVML
	11	Congres Transport van biologische materialen	Amersfoort
	30	Cursus Incidentanalyse	Utrecht
November	1	Congres Focus op de schildklierhormonen	Amersfoort
	6	NVML(avond) nascholing Longinfecties	Zwolle
	6-7	WIHC Themacongres lymfoomdiagnostiek. (VAP)	Den Dolder
	8	Start cursus Theorie en kliniek van Immuno-assays (blok 1)	Utrecht
	9	Tweede congres van het UMCG Transplantatiecentrum	Groningen
	13	NVML(middag) nascholing Longinfecties	Tilburg
	13	Cursus Beenmergdiagnostiek in de dagelijkse praktijk	Utrecht
	14	Cursus SAFER in het laboratorium	Utrecht
	20	Bijeenkomst Landelijk KwaliteitsNetwerk (besloten)	Amersfoort
December	27	Bijeenkomst WHAMM (besloten)	Amersfoort
	28	Start cursus Moleculair biologische technieken	Utrecht
2019	6	start cursus Stagebegeleiding, het vervolg	Utrecht
	11	Congres POCT	Amersfoort
Mei	21	NVML Spring Event	Zwolle
	21	ALV	Zwolle



*De lettertoevoeging geeft aan dat de cursus meerdere keren wordt gegeven; de inhoud is echter identiek.
Voor meer informatie over de NVML-nascholingen kunt u terecht bij het bureau van de NVML, tel: 030-252 37 92;
e-mail: nvml@nvml.nl. Ga via uw mobiel naar de agendapagina op de website middels de QR-code hiernaast.



Save time and consolidate

Space for controls on your analyzer is at a premium.

MAS Omni Controls offer solutions for the next generation of integrated instrument systems, streamlining lab QC testing, decreasing costs and improving overall lab efficiency.



MAS
Omni•CARDIO



MAS
Omni•IMMUNE Pro



MAS
Omni•IMMUNE



MAS
Omni•CORE

Contact us at + 31 76 579 5555 or
email at info.benelux.cdd@thermofisher.com

Find out more at thermofisher.com/QC

ThermoFisher
SCIENTIFIC



Labquality – EQAS

Externe Kwaliteitsrondzendingen voor uw Laboratorium

**Meer dan 5000 deelnemers uit 45 landen
aan Externe Kwaliteitsrondzendingen voor:**

Klinische Chemie

Haematologie

Point-of-Care

Immunologie

Microbiologie

Moleculaire Diagnostiek

Pathologie

Pre-analyse

Veterinair

Bestel uw catalogus via: labquality@r-biopharm.nl

LABQUALITY

www.labquality.com

