

VAP VISIE Analyse

APRIL 2016

Gezamenlijke uitgave VAP NVML

Van flirt naar een serieuze relatie?

Poep als medicijn

"Meer is een optelsom van het goede van beide verenigingen"



Kwaliteit en service voor in-vitro diagnostiek



Ook voor het
technisch onder-
houd en service
aan uw Elisa
automaat kunt u
op ons rekenen



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



DS2® DSX®

De bekende 2 en 4 plaat ELISA automaten van Dynex



Revolutionaire PCR gastro diagnostiek

- ✓ Resultaat in 3 uur
- ✓ Geen DNA extractie
- ✓ Geen manuele pipetteer stap
- ✓ Diverse panels

Salmonella – Shigella – Campylobacter
VTEC – Yersinia - Vibrio
Giardia - Cryptosporidium – Entamoeba histolytica
Verschillende combinaties mogelijk

Single testen
Clostridium difficile
Norovirus I/II

In ontwikkeling:
Viraal panel (Rota-Adeno-Noro-Sapo-Astro)

EntericBio realtime

Nieuw: Volautomaat voor confirmatie blots



Meer dan 25
parameters
beschikbaar o.a.:

- ✓ Borrellia
- ✓ HIV
- ✓ HCV
- ✓ Treponema

MIKROGEN
DIAGNOSTIK

Realtime PCR kits Fungal diagnostics

- ✓ **Aspergillus fumigatus**
+ resistentie mutaties TR34/L98H
(in één test)

- ✓ **Pneumocystis jirovecii**

kwantitatief: < 1 copy



ademtech

Hepatitis E – ELISA verder geoptimaliseerd

- ✓ Sensitiviteit verhoogd
- ✓ Behoud van hoge specificiteit
- ✓ Gebruik van recombinante anti-
genen
- ✓ Uitstekende vergelijking met
WHO standaard
- ✓ Infecties met alle HEV genotypes
aantoonbaar



MIKROGEN
DIAGNOSTIK

Distributie in Nederland:

MEDIPHOS
MEDICAL SUPPLIES

Mediphos Medical Supplies BV • Industrieweg 12B 6871 KA Renkum
• tel.: 0317-351838 • e-mail: info@mediphos.com

www.mediphos.com

Colofon VAPvisie

Redactie

Reddy Schreuder (voorzitter
mediagroep)
Erik Bleuel
Anke van Bruggen
Patrick Coolen
Liselore Moenis
Thea Tadema
Anke Tiggelman
Fred Vlugt
Feija Stuart Vogelsang

Hoofredacteur

Reddy Schreuder
rschreuder@diakhuis.nl

Webmasters www.vapweb.nl

Kevin van der Ven
Patricia Bergfeld

Standbeheer VAPcongressen

Sjef van Gaalen
svgaalen@diakhuis.nl

Aanleveren kopij

Tekst in Word zonder illustraties
Foto's en illustraties apart in JPG
(groot formaat)

Advertentie sturen naar

Ita Verweij
advertenties@vapweb.nl

Correspondentieadres en Adreswijziging

Ita Verweij
Postbus 387, 3830 AK Leusden
06-30795900
secretariaat-vap@vapweb.nl

IBAN nummer VAP

NL83 INGB 0004335784

Oplage

4100 ex.

Vormgeving en druk

GrafiServices

Lidmaatschap 2016

Gewoon Lidmaatschap: € 33
Gezinslidmaatschap: € 33 per gezin
Lidmaatschap in Europa: € 44
Lidmaatschap buiten Europa: € 56
Lidmaatschap Studenten: gratis na
insturen van kopie studentenkaart
Lidmaatschap wordt betaald per
kalenderjaar

Geplande verschijningsdata 2016

VAPvisie 01 25 februari
VAPvisie 02* 14 april
VAPvisie 03 23 juni
VAPvisie 04 25 augustus
VAPvisie 05 27 oktober
VAPvisie 06 22 december

* Combinatie met de Analyse

Zie deadline inzendingen pag. 63

INHOUD

5

Van flirt naar
een serieuze
relatie?



55

Poep als
medicijn



58

"Meer is een
optelsom van het
goede van beide
verenigingen"



Van flirt naar een serieuze relatie?	5
Congres Kwaliteit: Op het juiste spoor	7
Samen hebben we er iets moois van gemaakt	9
Worst Crime Scene Investigation	11
Prevalentie van ESBL-producerende Enterobacteriaceae in rauwe groenten	17
De Lever	21
Feces onderzoek bij een patiënte met Cystic Fibrosis	25
Galwegbrush Cytologie	26
Punctie bij een patiënt met een laesie in de pancreas en de bijnier	29
Auto-immuun pancreatitis	32
Malabsorptie – een aandoening die moeilijk te verteren is	35
Geautomatiseerde calprotectine analyses	41
Patiënt-controle gastroenteritis onderzoek; een leegloop van pathogenen?	45
Het microbiome van de darm: een rol bij het ontstaan van dikkedarmkanker?	51
Poep als medicijn	55
"Meer is een optelsom van het goede van beide verenigingen"	58
Cursussen en opleidingen NVML	60
Agenda	62

Op de voorpagina:

De coverfoto laat een art impressie zien van het spijsverteringskanaal. Dit gezamenlijke blad van de NVML en de VAP heeft als leidraad, artikelen die bijna allemaal direct of indirect te maken hebben met het spijsverteringskanaal.

excellence in tissue processing

High quality tissue processing is something you should take for granted, and now you can. Introducing the new **Thermo Scientific™ Excelsior™ AS** Tissue Processor. It's safer, more flexible, and easier to use than ever before. Our patented safety features protect your staff and our unique reagent rotation watches over your bottom line. Most of all, Excelsior AS looks after your crucial tissue samples. Thousands of laboratories already put their trust in the Excelsior product range. Find out why and revolutionize your tissue processing results with the Excelsior AS.

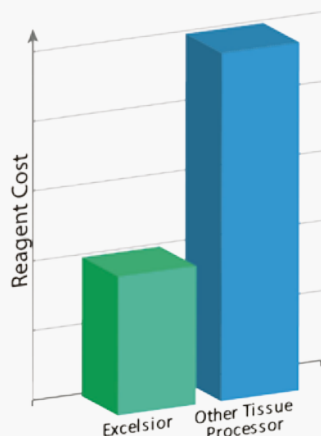
just got even better

• thermoscientific.com/pathology



Excelsior AS Tissue Processor

- High quality processing
- Unmatched user safety
- Reduced operating costs



Thermo
S C I E N T I F I C



Disposable waste wax trays

Enjoy quick, simple and safe wax replacement with the new and exclusive disposable waste wax trays.

Takkebijsters 1
4817 BL Breda
Phone: +31(0)76 587 98 88
apd.benelux.sales@thermofisher.com

Ninovesteenweg 198
B 9320 Erembodegem
Phone: +32(0)53 73 42 41

Van flirt naar een serieuze relatie?

Sjef van Gaalen, hoofdanalist pathologie Diakonessenhuis Utrecht, sinds 2012 voorzitter van de VAP en Marianne Egbers, sinds 2009 voorzitter van de NVML, coördinerend leidinggevende bij het LMML, Isala vertellen over de (toekomstige) samenwerking tussen de NVML en de VAP.

Sjef trapt af: "In het verleden is er toenadering geweest tussen besturen van beide verenigingen. Dat heeft niet geleid tot een structurele samenwerking. In 2014 zijn de besturen weer samengekomen en is besloten dat er een onderzoek komt naar de mogelijkheden van samenwerking, variërend van naast elkaar bestaan en elkaar op de hoogte houden tot een echte warme fusie."

Marianne: De NVML bestaat voor een groot deel uit klinisch chemisch analisten en een kleiner deel uit medisch microbiologisch analisten. Er zijn ook enkele analisten uit de pathologie lid van de NVML. De NVML is een vereniging voor iedere biomedische laboratoriummedewerker. Het is historisch gegroeid dat de pathologie een eigen vereniging heeft waarvan bijna iedereen lid is en waarvoor alle nascholing wordt verzorgd. Binnen de NVML is de WHAPA (Werkgroep Hoofd Analisten Pathologie) opgericht. "Er is behoefte aan netwerken tussen leidinggevendenden binnen de medische laboratoria en zo ook bij de pathologie. De besturen van de NVML en VAP willen ook graag ervaringen uitwisselen."

Marianne vult aan: "Met het uitbrengen van een gezamenlijke editie Analyse-VAPvisie willen we de leden laten zien dat we geïnteresseerd zijn in elkaar en hoe het is om samen te werken."

Sjef vertelt over de te nemen stappen: "Allereerst gaan we een SWOT-analyse maken van beide verenigingen en van diverse vormen van samenwerking. De sterke en zwakke kanten, kansen en bedreigingen van diverse scenario's

worden vergeleken. Aan de hand daarvan kunnen leden een keuze maken over het te volgen beleid." Marianne vult aan: "Er is een stuurgroep in het leven geroepen. We zijn het projectplan aan het opstellen. Belangrijk is de doelstelling niet uit het oog te verliezen: zo'n vorm van samenwerking bereiken, dat een vertegenwoordiging van een grotere groep analisten (leden) beter kan optreden als serieuze gesprekspartner bij ontwikkelingen (onderwijs, cao enz.) rondom de doelgroep. Daarbij zal de samenwerking efficiencyvoordelen op het gebied van materiaal, middelen en mensen moeten opleveren. Ook op bestuurlijk, organisatorisch en financieel gebied."

Voor dit project zal op termijn een externe adviseur gevraagd worden. Sjef meldt: We laten de toekomst niet ergens 'hangen' maar willen binnen twee jaar duidelijkheid over de gewenste koers om in 2020 de gewenste samenwerking geëffectueerd te hebben. "Het projectplan moet besproken worden in de stuurgroep", vervolgt Marianne. "De organogrammen van beide verenigingen worden naast elkaar gelegd en de financiële structuur in kaart gebracht. Het idee om een gezamenlijk blad uit te brengen is nu gerealiseerd. Deze eerste samenwerking zal geëvalueerd worden binnen beide verenigingen en in de stuurgroep." Volgens Sjef is de tijd nu rijp voor nauwere samenwerking. "Samen staan we sterker. We hebben sterke overeenkomsten op het gebied van het organiseren van nascholing. Onze verenigingen zijn bijna gelijk qua ledenaantal. Er zijn natuurlijk ook verschillen. De NVML bedient een breder spectrum dan



Sjef van Gaalen en Marianne Egbers.

de VAP, behartigt beroepsbelangen en is CAO-partner."

Marianne: "De huidige ontwikkelingen zorgen voor een synergie van laboratoria in een groot deel van de gezondheidszorginstellingen. De inhoudelijke raakvlakken worden steeds groter. Wij hopen elkaar te kunnen versterken zonder dat de specialisatie van de verschillende vakgebieden verloren gaat."

Sjef: "De kracht van de VAP is het vakspecialistisch karakter. Binnen de VAP worden subspecialisaties tot in detail behandeld door werkgroepen die de ruggengraat van de vereniging vormen. Door veel met vrijwilligers te werken houdt de VAP de kosten laag van zowel de contributie als de inschrijfgelden voor congressen en cursussen."

"Het lidmaatschap voor NVML leden is duurder omdat we naast het organiseren van veel cursussen en nascholingen ook de belangen behartigen. De NVML schuift aan bij diverse onderhandelingen op gebied van cao, FWG en onderwijs. Dit wordt onder-

One vial. Multiple options.

Your benefits from the ThinPrep® vial and Hologic's complete solution:

- **Improve laboratory efficiency**
 - Reduce hands-on and turn-around time to better leverage your human resources
 - Perform all tests from a single sample
 - Increase productivity within given space
- **Increase safety**
 - Ensure full chain of custody
 - Trust in proven clinical performance
 - Perform all tests from a single sample
 - Minimize potential for human error



Please contact us to learn more about our complete solution for Cervical Health Screening:

Diagnostic Solutions | Hologic.com | benelux@hologic.com

steund door een professioneel bureau" vervolgt Marianne. Volgens Sjef is de kracht van de NVML dat zij de medische laboratoriumdiagnostiek over de volle breedte bedient. De VAP zet daar vakspecialisatie tegenover maar alle specialismen hebben ook gezamenlijke doelen. Kwaliteitszorg (ISO15189), functiewaardering, belangenbehartiging, beroepsonderwijs en moleculaire diagnostiek zijn voorbeelden van onderwerpen die breder aangepakt kunnen en moeten worden dan alleen binnen je vakgebied. De NVML loopt met haar studiepunten (ECU) ook al enige tijd voorop als het gaat om aantoonbaarheid van kennis en competenties. Ook e-learning vindt hij een sterk punt van de NVML

Sjef: "De gevolgen van samenwerking, in welke vorm dan ook, zullen niet alleen positief zijn. Er zullen compromissen gesloten

worden. We moeten focussen op de grote gemene delers. Toch denk ik dat samenwerking het vakgebied pathologie een prominente rol gaat opleveren binnen de medisch laboratoriumdiagnostiek. Ook verwacht ik dat het vakspecialistisch karakter van bijeenkomsten behouden kan blijven. Binnen de NVML zijn daar al voorbeelden van."

Marianne: "Alle veranderingen en gevolgen zullen nauwkeurig in kaart worden gebracht en beslissingen zullen door de leden goedgekeurd moeten worden op de algemene ledenvergadering. Het allerbelangrijkste is dat ieder lid zich moet kunnen herkennen in de vereniging, zowel de klinisch chemisch, de pathologisch als de microbiologisch analist. De techniek binnen de diagnostiek heeft steeds meer raakvlakken maar de achtergrond en kennis van de specifieke vakgebieden blijft een belangrijk verschil."

Sjef ziet een meerwaarde in samenwerking en zijn verwachting is dat de overeenkomsten tussen de NVML en de VAP meer en grotere kansen bieden dan de bedreigingen die de verschillen oproepen.

Marianne hoopt op één grote vereniging, veel leden, meer draagvlak in onderhandelingen, meer vrijwilligers en een efficiëncyslag op diverse gebieden.

Marianne: "Of er een nieuwe naam komt? Hier heb ik nog geen enkel idee over. Ik zou daarvoor graag te zijner tijd een prijsvraag willen uitroepen onder de leden."

Sjef sluit af: "Voorlopig zullen beide verenigingen met en naast elkaar blijven bestaan. Maar ik hoop dat zij, al inventariserend en analyserend steeds meer naar elkaar toe groeien om het verhaal te laten eindigen in een duurzame en liefdevolle relatie."

Congres Kwaliteit: Op het juiste spoor

Op dinsdag 24 mei 2016 organiseert de NVML het congres 'Kwaliteit: Op het juiste spoor' in evenementenlocatie Veerensmederij in Amersfoort. Dagvoorzitter: Dr. W.W. de Leng, Klinisch moleculair bioloog in de Pathologie

Programma

9:30 – 10:00 u	Ontvangst met koffie en thee
10:00 – 10:05 u	Opening door de dagvoorzitter Mw. Dr. W.W. de Leng, klinisch moleculair bioloog in de Pathologie, UMC Utrecht
10:00 – 10:50	Registratie en analyse van incidenten in de patiëntenzorg Mw. S. van Gils, adviseur /auditor, Radboudumc Nijmegen
10:50 - 11:20	Koffie, thee
11:20 – 12:10	Transport van lichaamsmateriaal Dr. E.C.H.J. Michielsen, klinisch chemicus, st. Jans Gasthuis Weert
12:10- 12:30	Uitreiking Zilveren Vlam Voorzitter jury
12:30 - 13:15	Lunch
13:15 - 14:05	Pepperflow als spoorboekje voor de reis van strategie naar resultaat Mw. M.A.M. Verdaasdonk, stafadviseur Pathologie, UMC Utrecht
14:05 – 14:35	Koffie/ thee
14:35 – 15:25	Transitiebeoordelingen, de stand van zaken tot nu toe Ine Greven, manager unit Zorg RvA
15:25 – 16:00	Sluiting en drankje
16:30	Algemene Leden Vergadering Bestuur NVML



Aanmelden uitsluitend via de website www.nvml.nl

LabAdvance Consultancy

Efficiëntere werkprocessen en verhoogde kwaliteit in uw laboratorium

Een veranderende zorgvraag en stijgende kosten-druk maken het noodzakelijk te bouwen aan een toekomstbestendige laboratoriumorganisatie. Met een LabScan en Rapid Improvement Event helpen gecertificeerde Roche-consultants uw dienstverlening naar een volgend niveau.

LabScan

Tijdens een observatie van 1 à 2 dagen (en korte gesprekken met medewerkers) brengen onze consultants concrete aandachtspunten en aanbevelingen voor uw laboratorium in kaart.

Het resultaat

- Bevestiging van aandachtspunten in uw werkprocessen
- Nieuwe inzichten met concrete aanbevelingen
- Heldere (productie)cijfers in een schriftelijke rapportage

Rapid Improvement Event

In één week uw laboratoriumorganisatie efficiënter laten werken én de kwaliteit van de dienstverlening

verhogen. Een team van medewerkers focust op één specifiek proces en komt met oplossingen. Direct wordt gestart met de implementatie ervan.

Wat maakt dit concept uniek?

- Binnen 1 week eerste set verbeteringen doorgevoerd
- Startpunt voor cultuurverandering naar 'continu verbeteren'
- Gegarandeerde return on investment en concrete resultaten
- Team doet actief kennis op van Lean, vastgelegd in een deelnemerscertificaat

Meer informatie neem contact op met Roche Diagnostics via +31 (0)36 539 4847.

www.roche-diagnostics.nl

Roche Diagnostics Nederland BV

Transistorstraat 41
1322 CK ALMERE
almere.info@roche.com

Samen hebben we er iets moois van gemaakt

Hier is hij dan, de gezamenlijke uitgave van de Analyse en de VAPvisie. De besturen van de NVML en de VAP hebben bedacht dat het leuk zou zijn om in de aanloop naar een mogelijke fusie een gezamenlijk blad te maken. Daar hebben de redactieleden van de VAPvisie eens even rustig over nagedacht en, mede getriggerd door de uitdaging, besloten dit te gaan doen.

De redactie van de Analyse was direct enthousiast. Zij zagen het als een mooie uitdaging om met een 'dubbele' redactie van maar liefst twaalf man een speciale gecombineerde editie in elkaar te zetten. Dubbele bezetting betekent immers dubbel zoveel leuke ideeën voor artikelen en rubrieken. Daarnaast was dit natuurlijk een prachtige kans om eens een kijkje in de keuken van een ander blad te nemen.

Enkele maanden geleden zijn de redacties van de Analyse en de VAPvisie bij elkaar gekomen om aan elkaar te snuffelen en dat beviel goed. Het is leuk om te zien hoe een andere redactie te werk gaat. Er is natuurlijk een verschil in werkwijze, maar zelfs de manier van eten tijdens de vergadering verschilt (het thema is immers spijsvertering). Zo vergadert de redactie van VAPvisie regelmatig onder het genot van een hapje bij hun 'stamrestaurant' op station Amersfoort. Bij de redactie van Analyse zijn daarentegen afhaalpizza's op het kantoor van de NVML altijd vaste prik.

We hebben productieve en gezellige redactievergaderingen gehad waarbij leuke ideeën werden bedacht en goede oplossingen voor opkomende problemen. Daarnaast hebben ondergetekenden (vooral vlak voor de deadline) regelmatig contact gehad voor het aan elkaar knopen van de laatste eindjes. Achteraf kunnen we nu al zeggen dat deze samenwerking voor beide redacties weer voor vele nieuwe ideeën en verfrissende impulsen heeft gezorgd.

De keuze voor het onderwerp van dit themanummer was snel gemaakt. Spijsvertering geeft beide



Annerieke Nieuwenhuijse

verenigingen de mogelijkheid om wat van hun vak en kennis te laten zien. De vakgebieden van beide verenigingen (dus zowel pathologie, als onder andere microbiologie en klinische chemie) worden in de artikelen vertegenwoordigd. Met de lay-out van deze uitgave is geprobeerd om de herkenbaarheid van beide bladen te behouden.

Beide redacties hebben hard gewerkt om leuke informatieve artikelen te krijgen en wij kunnen wel zeggen dat dat goed gelukt is. Het is in de artikelen te lezen dat er overlappen zijn van de diverse vakgebieden die beide verenigingen vertegenwoordigen. Zo is in de casussen van de patiënten met een auto-immuun pancreatitis en malabsorptie te zien dat diverse disciplines nodig zijn voor het stellen van de juiste diagnose bij de patiënt. Het microbiologisch onderzoek, de biochemische analyses, de beeldvorming en het histologische onderzoek zijn allemaal noodzakelijk voor het stellen van de diagnose.

Naast de overlap tussen beide vakgebieden, zijn er ook veel activiteiten die beide vakgebieden gemeenschappelijk hebben zoals



Reddy Schreuder

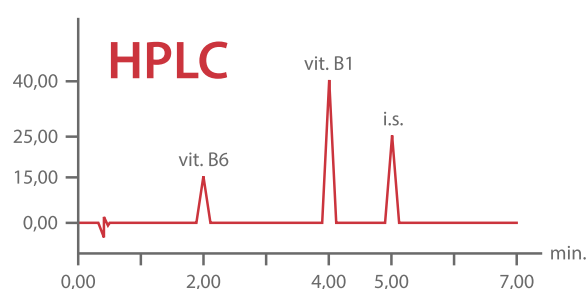
bijvoorbeeld het valideren van analyses. Dit wordt op ieder laboratorium van de verschillende vakgebieden gedaan. De validatiemethode van de calprotectine analyses zal dan ook voor iedereen herkenbaar zijn. Ook hebben beide vakgebieden hun streven naar kwaliteit als overeenkomst. In beide vakgebieden moeten de laboratoria immers voldoen aan de ISO 15189.

Wij hebben in dit nummer Janny Baars als 'insider' geïnterviewd over de verschillen en overeenkomsten tussen beide verenigingen. Zij is namelijk al heel lang lid van beide verenigingen en ook altijd actief geweest voor beide verenigingen. Daaruit blijkt vooral dat beiden verenigingen toch hun eigen karakter, maar vooral hun eigen sterkten hebben. Dit hebben wij in dit gezamenlijke nummer proberen naar voren te brengen. Hopelijk is deze gezamenlijke uitgave van onze vakbladen een aanzet voor de leden om net zoals wij als redactie (en Janny Baars al jaren geleden) bij elkaar in de keuken te kijken. Wij wensen jullie veel plezier met deze gezamenlijke uitgave!

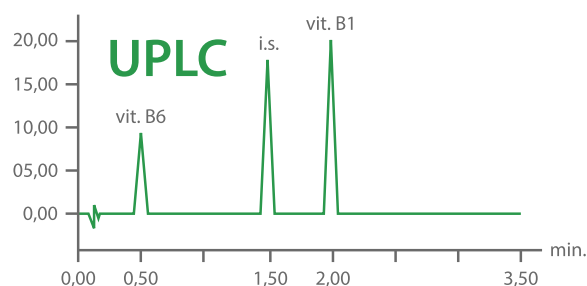
Annerieke Nieuwenhuijse
Reddy Schreuder

Vitamine B1 & B6 test

- HPLC & UPLC methode
- 3 levels calibrator set
- geen incubatietijd bij 60 °C
- prima scores SKML rondzendingen
- uiterst gunstige prijs per test



Retentietijden: vit. B6 (PLP) - 2 min.
vit. B1 (TDP) - 4 min.
interne standaard - 5 min.



Retentietijden: vit. B6 (PLP) - 0,5 min.
interne standaard - 1,5 min.
vit. B1 (TDP) - 2,0 min.

instruchemie.nl

INstru

chemie BV
+31 (0) 596 634 831
info@instru

Zwet 26
9923 AB Delfzijl
The Netherlands



Worst Crime Scene Investigation

In dit gezamenlijke magazine van NVML en de VAP niet een tong- en neusstrelende, maar tot het visuele zintuig beperkte proeverij van darminhoud. Uiteraard met speciale aandacht voor de aanwezige bacteriële flora en de mogelijke pathologie. Fijngemalen vlees in een darm levert in aanwezigheid van enzymen en bacteriën heerlijke worst op. De duurste variant bestaat uit fijngemalen Mangaliza varken, vergezeld van Stilton kaas, Vintage Port uit het jaar 1947, truffels en porcini. Maar in feite is dit overheerlijke koude kak. Deze exquise charcuterie is namelijk ontstaan uit de verwerking van minderwaardig restvlees. De inhoud is bovendien een mogelijke schuilplaats van levensbedreigende sluipmoordenaars, zowel voor de slager als de consument.

“Inventieve voorouders **NO GUTS, NO GLORY?**

Worst bestaat uit gemalen vlees dat verpakt is in een velletje. Niet gehinderd door enige kennis van bacteriële besmetting hebben onze verre, maar inventieve voorouders bedacht dat zij de holle organen van dieren konden gebruiken als onderkleding (darmen van zeeleeuwen door de Yup'ik Indianen, West Alaska), als veldfles (Aboriginals, Australië) en als voorraadpot (Soshoni Indianen, Midden Amerika). Ook waren magen en darmen in het pre-koelkast tijdperk eeuwenlang een buitengewoon elegante manier om vlees in te bewaren. Met smetvrees als gevolg van de huidige kennis van rotting, bacteriën en ziekten zouden we niet eens meer aan zo'n recept durven denken. Het is maar goed dat deze manier van vleesverwerking waarschijnlijk al duizenden jaren bestaat.

Natuurdarm

Van de darm is vreemd genoeg onder de microscoop weinig te rug te zien. In 'Het Handboek voor de Slager' uit 1955 is te lezen dat darmen klaarmaken voor worstgebruik een speciale tak van sport is. Bij het slachten vallen de darmen als een pakket uit het karkas. De

slachter strijkt de inhoud eruit en spoelt de darmen met water. Het aanhangend vet geeft een ranzige smaak als het oxideert en hydrolyseert. Dus dat vet moet eraf. Daarbij verwijdt de slachter ook de twee dikke spierlagen zodat de toekomstige inhoud goed kan drogen. Dan keert hij de darm binnenstebuiten. Door het afstrijken met een zogenaamd slijmhoutje moet ook de mucosa (het slijmvlies) eraan geloven. Alleen de submucosa (het bindweefsel tussen slijmlaag en spieren) is nog over. Tegenwoordig gaat dit velletje ook nog heen en weer naar China, waar vingervlugge Aziaten ze sorteren op diameter. Het natuurlingelietje kost zo'n 50 eurocent per meter.

“Twee landen met een hoge **worstdichtheid**, Duitsland en Amerika

Kunstdarm

De goedkopere worsten moeten het dan ook doen met een jas van collageen. Het zal vast geen toeval zijn dat dit product is ontwikkeld in twee landen met een hoge worstdichtheid, Duitsland en Amerika. Door de dermis (de lederhuid) van slachtdieren tot een papje te vermalen en aan te zuren tot pH 3 komen de collageene

vezels los van elkaar te liggen. De kunstdarmenfabrikant perst het tot een buisvorm nadat het papje is gemengd met cross linkers die de collageene vezels weer aan elkaar laten plakken. Voor extra stevigheid kan de producent cellulose toevoegen. Bij microscopisch onderzoek is duidelijk te zien dat dit velletje van collageen dikker en compacter is dan het omhulsel van echte darmen. Dit kan goed verklaren waarom worstmakers zweren bij het traditionele omhulsel, omdat de inhoud dan veel beter droogt.

Worst nightmare

Ziekteverwekkende bacteriën krijgen door het zouten van de bewerkte natuurdarm geen kans om te overleven en uit te groeien.

Fig 1
Het leegstrijken van de kransdarm, de dunne darm. Uit het Handboek voor de Slager, 1955.



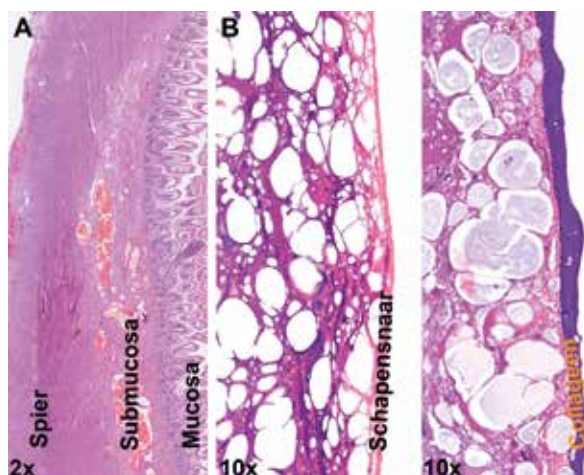


Fig 2

A. Een dunne darm. Alleen de submucosa blijft over voor het worstomhulsel, een beetje bindweefsel en vaten bestaande uit collageen en elastine.
B. De submucosa van de dunne darm van een schaap in functie als knakworstkorset. Als je goed luistert kan het ook een knak geluidje produceren.
C. De campingsmoking van een goedkope knakworst bestaat uit rundercollageen met wat rookaroma. Een hap hiervan geeft op z'n best een zompige plop.

Maar zout helpt niet tegen prion-eiwitten. Deze eiwitten kunnen de gekke koeienziekte (BSE) veroorzaken en bij de mens waarschijnlijk de variant Jacob-Creutzfeldt. De meeste prionen bevinden zich in de Peyerse plaques, het afweersysteem in de darm. Na de hierboven beschreven bewerking van de darm is er meestal toch nog 0,7% van dit lymfoid weefsel over. Door het laatste stuk van het ileum en het coecum niet te gebruiken vermindert dat het risico

“Deze **eiwitten** kunnen de **gekke koeienziekte (BSE)** veroorzaken

op restanten lymfoid weefsel wel met 90% volgens de European Food Safety Authority. Maar het is niet helemaal uit te sluiten dat het prion eiwit zich als een salamsniper schuil houdt in het natuurlijke worstvelletje. Daarom zijn darmen uit BSE vrije landen of van varkens en schapen een veiliger alternatief.

Nanoworst technologie

Genoeg over de buitenkant, het gaat om de inhoud. Er schuilt een verrassend staaltje nanotechnologie in de vulling van een worst. Tijdens het leven zorgen de spiervezels de eiwitten actine en myosine voor de beweging van de spieren. Doordat deze eiwitten in elkaar kunnen schuiven verkort de spier. Maar binnen in het worstenvelletje werken deze twee componenten als superglue. Het plakt fijngemalen en gezouten spiervezels en het vetweefsel aan elkaar tot een compacte massa. Het eiwit actine lijkt op een dubbel kralensnoer en zit vast aan de Z-lijn. Myosine is een langgerekte spiraal en heeft een compacte kop. Het zout lost een deel van het myosine op. De opgeloste myosine moleculen steken hun hydrofobe kop in het vet. De staarten blijven in verbinding met het actine en vormen zo het actine-myosinecomplex. Het actine is hydrofiel en kan op zijn beurt aan andere hydrofiel ingrediënten binden.

Door de lijm ontstaat er een elastische massa van vlees en vet dat makkelijk in de bewerkte darm te persen is. Maar deze actine-myosine lijm plakt alleen onder de 16°C. Al vanaf de 20°C ontstaan

er verbindingen tussen eiwitten en vanaf 50°C stollen de eiwitten. Het actine-myosine complex kan dan geen water meer binden. Doordat de lijm niet meer werkt neemt de elasticiteit af. Eiwit-eiwit interacties zorgen hierna voor stevigheid in het vlees- en vetmengsel. Het fibrine uit vers bloed is ook een prima plakmiddel. Kookworsten zoals knakworst en rookworst of gekookte worsten, zoals leverworst en bloedworst, zijn de resultaten.

Veldonderzoek in de supermarkt

Bij een pilot-onderzoek naar worst specialiteiten in de supermarkten ontdekte we bij de kookworsten een nieuwe variant van de bekende eenheidsworst. De oorspronkelijk term eenheidsworst stamt uit de periode van de eerste wereldoorlog. Vlees was toen schaars en de regeringen bedachten manieren om de beschikbare bronnen van eiwitten efficiënt en eerlijk onder de bevolking te verdelen. Een oplossing was de eenheidsworst die voor een relatief gering bedrag te koop was. Hierin moesten slagers vlees tot worst verwerken in een verhouding van 90% rundvlees en 10% varkensvlees. Helaas was indertijd de inkoopprijs van de ingrediënten hoger dan de door de regering vastgestelde verkoopprijs van de worst. Een financiële wurgworst voor de slagers. Voor een aantal zat er niets anders op dan het slagersbijltje erbij neer te gooien.

Om te overleven vervingen slimme slagers gewoon een

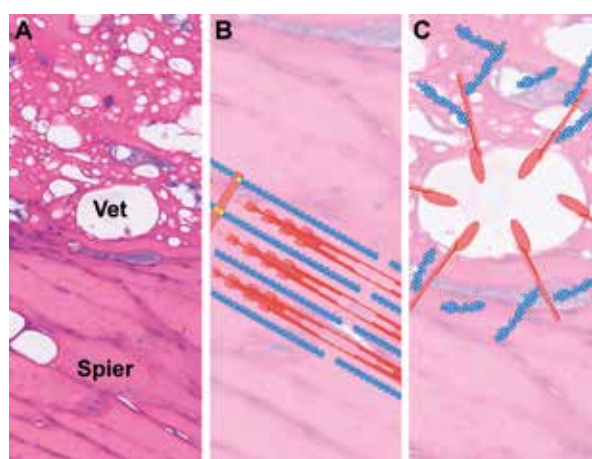


Fig 3

A. Een gefermenteerde worst waarbij stukjes gemalen spier met vet een elastische massa vormen.
B. In dwarsgestreepte spiervezels zitten strengen actine (de blauwe kralensnoeren die vast zitten aan de Z-lijn) en myosine (de rode staven met een bolletje aan het eind). Deze schematische weergave is afkomstig uit "Medical Gallery of David Richfield 2014". Wikiversity Journal of Medicine
C. Een schematische weergave van het actine-myosine complex in worst. Zout weekt myosine los. Het vrije myosine steekt zijn hydrofobe (houdt niet van water) koppetje graag in het vet. De staart steekt eruit, dit laagje is zo'n 130 nm dik. Hieraan plakken actine-myosine complexen, die op hun beurt weer water kunnen binden (hydrofiel).

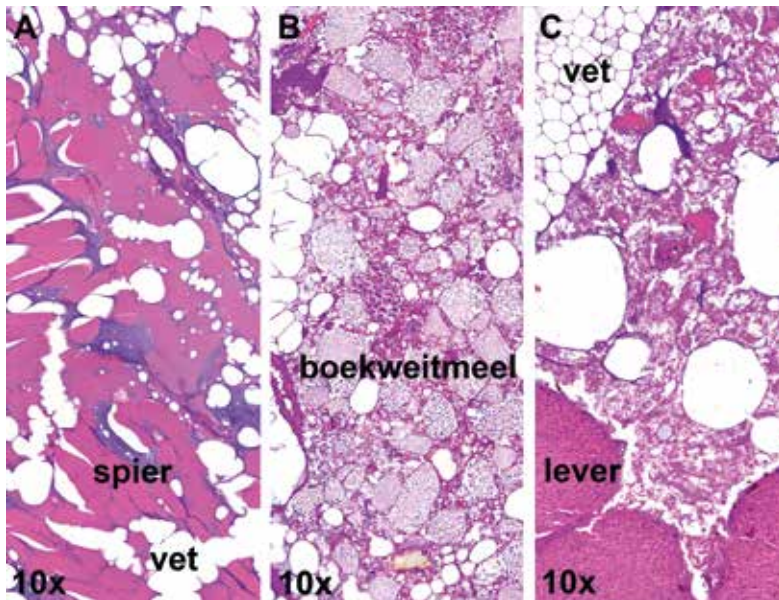


Fig 4

A. Rookworst, een welbekende vorm van emulsieworst. Initieel is de matrix van eiwitten vloeibaar en dit stolt na de eerste verhitte in de fabriek. Kenners maken zelfs nog onderscheid tussen gekookte worsten en kookworsten. De eerste zijn gemaakt van gekookt vlees dat de slager daarna in de darm perst. De kookworsten zijn gevuld met rauwe ingrediënten. Om ze veilig te kunnen consumeren moeten de consument dit product eerst koken, bakken of grillen. B. Bloedworst, een grote hoeveelheid boekweitmeel en fibrine uit het bloed zorgen voor de samenhang. Boekweitmeel bindt water zodat het mengsel sappig blijft. C. Leverworst, in het stukje lever zijn duidelijk de leverlobjes herkenbaar. De verkaveling komt doordat er smalle bindweefselsepta om de lobuli zitten bij varkens. Bij de mens is dat alleen het geval bij leverfibrose (alcohol!).

deel van de dierlijke inhoud door goedkopere vulmiddelen. Door het mengen met grote hoeveelheden meel en soms zelfs met kalk waren veel eenheidsworsten van slechte kwaliteit. Toen was het fraude, maar tijdens het veldonderzoek bleek dat deze eenheidsworsten ook nu weer zijn opgedoken in de supermarkt. De huidige worstfabrikanten hebben dit oude recept herontdekt en er hun voordeel mee gedaan. Zij vervangen namelijk vlees en vet in de worst door rijst, soja, tarwemeel, aardappelzetmeel of maïsmeel. Dit levert een lagere calorische samenstelling op. Daardoor mag dit worstsurrogaat het inmiddels in de voedingsmiddelen industrie zeer populaire predicaat 'light' voeren. Dat is dus de oude eenheidsworst van de 21ste eeuw.

Is er leven in de worst?

Rauw vlees heeft een licht hartige

smaak. De gebalanceerde stevige smaak met een licht zuurtje in charcuterie komt niet alleen door het toegevoegde zout en het concentreren van de smaak door het indrogen. Deze complexe umami smaken zijn mede te danken aan de diverse levensvormen in de worst. De benodigde bacteriën die het rauwe vlees gaan bevolken zijn overal in onze omgeving aanwezig. Maar voor de zekerheid voegen vleesverwerkers ze in overmaat toe. Goedkope bierworstjes moeten het met één soort melkzuurbacterie doen. Complexere cervelaat en salami krijgen een gebalanceerde melange van bacteriën toegestopt voor de bijzondere extra smaak.

Bacteriën zijn smaakmakers doordat ze flauw smakende eiwitten en vetten afbreken tot kleine hartige biogene aminen, nootachtig smakend aldehyde en naar fruit sma-

kende esters. Pediococci maken bijvoorbeeld diacetyl, een stofje met een butterscotch smaak. Of Carnobacter maltaromaticum, waarbij de naam al verradt dat het een mout aroma produceert, een perfecte match met bier. En dat alles ontwikkelt zich in een periode van slechts drie uur tot drie dagen. Per onderzochte worst is in de giemsa kleuring de variatie echter beperkt. Dat is te verklaren doordat verschillende soorten bacteriën hun werk doen in de loop van de rijping van de worst en dat proces uiteindelijk niet overleven. Na een facultatieve rookpauze hangt de slager de worsten te drogen. Hierdoor stijgt de zoutgraad nog verder en legt het restant levende organismen in de worst uiteindelijk het loodje.

Het schimmeljasje

Veel gefermenteerde worsten zijn bedekt met een onduidelijk

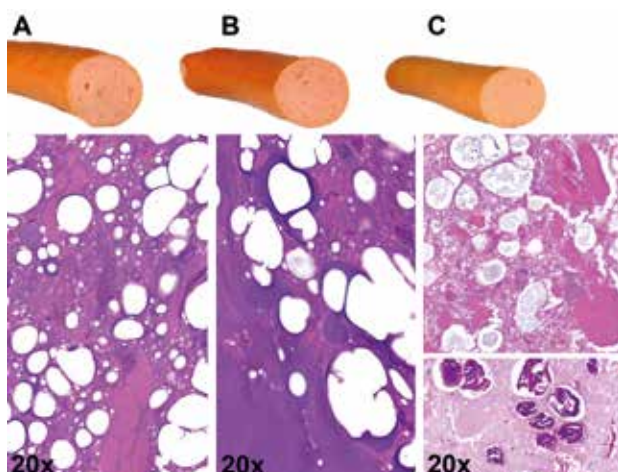


Fig 5

A. Knakworst, de gebruikelijke variant van een bekende Nederlandse knakworstproducent uit de supermarkt. Ook dit is een homogene massa. Met moeite zijn er kleine spiervezeltjes te herkennen. B. De ambachtelijke knakworst maakt vooral duidelijk dat het woordje ambachtelijk uitsluitend de traditionele ambachtelijke bedriegerij behelst. De kwaliteit van de ingrediënten is beduidend slechter dan die van de reguliere knakworst. C. Nog bedroevender is de 'light' knakworst. Alle smakeloze zetmeelproducten binden water zodat het toch een malse worst blijft.

wit poederig laagje. Geen poeder om op te opsnuiven, want dan komt de geur van een vochtige, niet geventileerde kelder in de reukorgaan! De geur van schimmels waarvoor het worstenvelletje en het vocht uit de inhoud een goede voedingsbodem is. Zelfworsters kunnen deze specifieke schimmelcultuur stelen van de gewone witte schimmelkazen uit de kaaswinkel. Maar het bestellen van een zakje sporen van *Penicillium nalgiovense* of *P. candida* via internet is een stuk eerlijker. Pas recent is de *Penicillium salami* ontdekt, een schimmelcultuur die een licht groen dekentje over de worst legt.

De schimmels die op de worsten groeien maken lipasen en proteasen. Deze enzymen zijn verantwoordelijk voor het vrijkomen van vetzuren en verschillende aroma's. Penicilline kreeg vooral bekendheid door de productie van antibiotica. Van Argentijnse worsten is bewezen dat een aantal van deze schimmels op de worst een antibacteriële werking hebben. Omgekeerd kennen we schimmels ook als veroorzakers van ziekten en bederf. Pathogene schimmels mogen natuurlijk niet op de worst zitten, dus het is ongevaarlijk voor de consument. Maar ook de schimmelsporen van onschuldige types kunnen een overgevoeligheidsreactie in longen van worstmakers veroorzaken. Overigens zijn de goedkopere worsten niet met deze exquisite schimmelculturen bedekt. Deze typen moeten het doen met een volstrekt smakeloze 'imitatie schimmel' die bestaat uit meel en soms zelfs uit wit plastic.

Het rauwe vlees in het velletje bederft niet

Onttrekken aan ontbinding

Naast de smaakexplosie, waarvoor de bacteriën en schimmels verantwoordelijk zijn, is er toch nog een ander worstwonderdij dat hier genoemd moet worden:

het rauwe vlees in het velletje bederft niet. Waarom is het niet aan de normale ontbindingsprocessen onderhevig? Het spiervlees onttrekt zich aan ontbinding door een optimale samenwerking van zout en de juiste, zout tolererende bacteriën. Een 2-3% keukenzoutoplossing is geen probleem voor goedwillende melkzuurbacteriën. Maar ziekmakende micro-organismen gedijen niet in deze zoute omgeving.

Met de suikermoleculen die in de vorm van glycogeen in de spiervezels zijn opgeslagen, produceren de lactobacillen melkzuur en azijnzuur. De pH daalt in de worst van 6 naar 4,5. Hierdoor kunnen pathogene bacteriën nog minder goed groeien. Verder voorkomt overgroei van een coalitie leger bacteriële grondtroepen dat de gevaarlijke ontbindingsbacteriën terrein winnen. Toegevoegde kruiden zoals oregano en rozemarijn en specerijen waarvan peper en nootmuskaat verlengen de houdbaarheid van het bewerkte vlees eveneens. Deze smaakmakers bevatten namelijk ook antimicrobiële stoffen en antioxidanten.

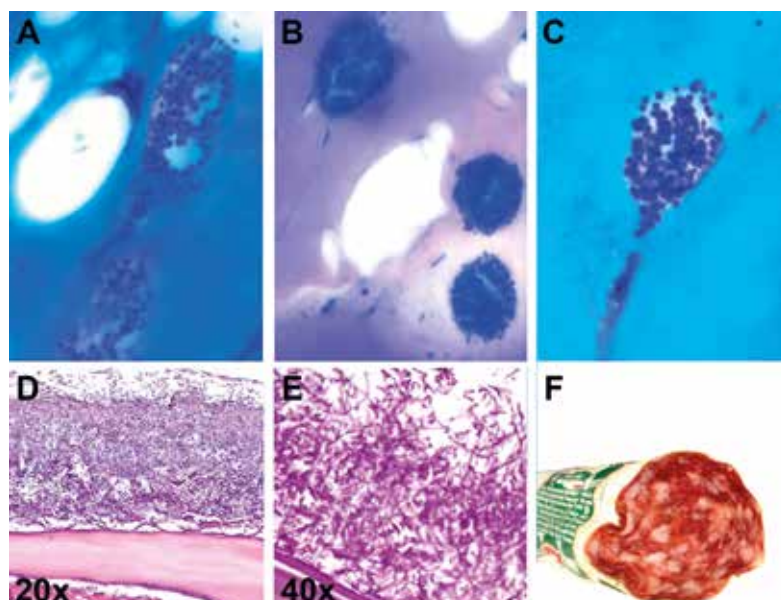
Het label 'kankerverwekkend'

Fatale fermentatie

Tot zover is de worst een hartige lekkernij, die wel voor 25% uit dierlijke vetten bestaat. Dat maakt de inhoud smeug omdat het als een coating om de stukjes vlees heen zit. Maar na consumptie komt dit vet ook aan de binnenkant van onze bloedvaten te zitten. Transvetten zijn als hoofdschuldige aan te wijzen. Recenter, en veel verontrustender, is het label 'kankerverwekkend' van de Wereld Gezondheidsorganisatie (WHO). Verleden jaar, vlak voordat wereldwijd de abundante, met bewerkt- en roodvlees overladen, kerstdiners genuttigd zouden worden, waarschuwden zij voor de stijging van het risico op darmkanker met 18% bij een consumptie van dagelijks 50 gram bewerkt vlees (in casu worst).

Met een overall kans van 4% op het krijgen van darmkanker, moest het begrip 'relatief risico'

Fig 6
Het pure leven van, in en op worsten. Een mooie verzameling van cocciforme en staafvormige typetjes in de Giemsa kleuring (100x obj).
A. Salami Galbani galbanetto
B. Boerenmetworst met staafjes en cocciforme organismen
C. Baton pour pork
D. Schimmeldonsje in HE kleuring (20x)
E. PAS kleuring (40x) van het schimmellaagje op de worst
F. De Galbani galbanetto waar het allemaal mee begon.



door de wetenschapsjournalisten opnieuw uitgelegd worden. In Nederland eten we gemiddeld 20 gram bewerkt vlees per dag. Dat is niet eens genoeg voor een half procent stijging van de kans op darmkanker. Dat klinkt al weer heel anders dan een stijging van het risico van bijna 20%. De meest originele interpretatie van het 'relatieve risico' op darmkanker staat op kennislink.nl als volgt verwoord: "Je kunt een behoorlijke val maken door op een rondslingerend speelgoedautootje te gaan staan. Een speelgoedautootje kan dus een ongeluk veroorzaken, net als een gewone auto... Maar de kans dat dit gebeurt is niet heel groot."

Fatale interne fermentatie

En ach, de gevolgen van vet en bewerkt vlees treden niet direct op, zelfs niet na enkele jaren. De liefhebber zal er zijn hartige snack niet voor laten staan. Meer indruk maakte een plotse dood. Tot aan het eind van de 19e eeuw kon na het eten van gefermenteerde vleeswaren een acute verstikkingsdood optreden. Niet doordat het plakje worst in het verkeerde keelgat terechtkwam, maar als gevolg van verlamming van de ademhalingsspieren. Een indertijd geheel onverwachte, onbedoelde en onverklaarbare complicatie. Deze gebeurtenissen moeten zijn voorgevallen sinds het bewaren van vlees. Maar pas eind 19e eeuw beschreef men voor het eerst nauwkeurig uitbraken van verstikkingslachtoffers na het eten van Duitse gefermenteerde worst.

Een Belgische onderzoeker heeft het mysterie opgehelderd. Aanleiding was de lunch van een fanfare die na het spelen op een begrafenis in een café brood met bewerkt vlees kregen. Voor een aantal muzikanten was dit hun laatste maaltijd. Zo eindigde een aantal spelers, na een periode van heftige diarree, op de lokale obductietafel. Uit zowel de milt van de gesneuvelde fanfareleden als uit de in het café gegeten worst kweekte de obductant dezelfde anaerobe bacterie. De worst, botulus in het Latijn, kreeg vervolgens de

twijfelachtige eer om zijn naam voor eeuwig en wereldwijd aan dit micro-organisme te verbinden: *Clostridium botulinum*.

Nieuwe ontwikkelingen in de home-made worst sector

In 2016 zal de nieuwe rage om zelf zoveel mogelijk voedsel te produceren doorzetten, veel foodies nemen ook het fermenteren van de worst in eigen beheer. Meneer Wateetons, vinex jager en bekend van de boeken 'Over worst', 'Over rook' en 'Over rot', ging ze reeds voor. Mogelijk heeft de *Clostridium botulinum* rustig zijn kans afgewacht en steekt dan de kop weer op. Maar gelukkig kan nieuwe kennis omtrent de fermentatieprocessen salamislachtoffers voorkomen. Aangeraden wordt om bij het fermenteren nitriet pekelzout (NPZ) 0,6% te gebruiken. Nitriet is hierin gemengd met pekelzout. Maar nitriet is ook voor mensen een toxische stof. Door het met zout te mengen wordt een overdosis voorkomen. De dosis maakt immers het vergif.

Commerciële droge worsten zijn dan ook veilig, geen *Clostridium* meer in te vinden. Biologische vleesverwerkers willen liever geen nitriet pekelzout gebruiken. Een alternatief is nitraat uit selderij sap, gemaakt van uitgeperst selderijgroen. Maar omdat de omzetting van het nitraat uit het sap in nitriet niet goed gedoseerd kan worden, lijkt dit alleen maar op het eerste gezicht een bio-verantwoorde maar op den duur niet erg logische, mogelijk zelfs dodelijke fermentatie methode.

Alles heeft een einde, een worst heeft er zelfs twee

Het zal de worst uiteindelijk allemaal worst wezen. Het ergste wat de worst kan overkomen is dat hij Fermento in zijn darm gesplitst krijgt. Finito zou een betere benaming zijn. Want met dit slow release melkzuurproduct komt er geen levende bacterie meer aan de conservering van de worst te pas. De vleesverwerkende industrie vermengt dan alleen Fermento met vet en gemalen restvlees. Dit restproduct van magere melk en



Fig 7

De oorspronkelijke eenheidsworst is een nep(spook) worst. Omdat vroeger de inkoop prijs van het restvlees hoger was dan de vastgestelde verkoopprijs van de worst, ging er illegaal een goedkoop vulmiddel (meel) in de worst. Tegenwoordig wordt dit vulmiddel door de vleesverwerkende industrie opnieuw in plaats van duurdere dierlijke producten aan de worst toegevoegd. Om voor het label lichtproduct in aanmerking te komen moet er 30% minder vet in zitten. Opnieuw nepworst dus, maar duur betaald.

wei-eiwitten afkomstig uit de kaasmakerij, is een modern substituuut geworden voor de eeuwenoude traditie van het worst maken. Met een snuffje siliciumdioxide voorkomt de producent klontjes, zodat het poedertje zich makkelijk laat vermengen met het vlees. Het gehele fermentatieproces kan hierdoor achterwege blijven. Onverwachte, originele, spannende en vooral smakelijke worsten kunnen hierdoor verdwijnen.

Tot slot

Tijdens deze worst-CSI blijken eeuwenoude killers onschadelijk gemaakt te zijn. Maar zijn nieuwe bedreigingen voor worst, slager en consument opgedoken. Eenheidsworst 2.0, nepdarm en Fermento op het worstkaasplankje is het nieuwe worst case scenario. Iets wat er zielloos onder de microscoop uit ziet kan niet lekker smaken. De specialiteit waarbij in een darm het restvlees een tweede leven krijgt dankzij alle bacteriën en schimmels, dat willen we proeven!



GPM Medical is dé professional voor het inrichten van uw laboratorium.

Voor standaard situaties - voor maatwerk en specifieke vragen - voor de beste oplossing - voor uitstekende service

Uw vraag is onze uitdaging, wij denken met u mee, afspraak is afspraak en wij zijn pas tevreden als u dat ook bent.

Assortiment

- Uitsnijtafels
- Tapsystemen
- Afzuigsystemen
- Meubilair

GPM Medical heeft een nieuw Micro Chemisch Tapsysteem (MCT) ontwikkelt.

- Volledig drukloos Micro Chemisch Tapsysteem
- Volumes en percentages vloeistofverhouding volledig regelbaar
- Anti drup stop
- Gebruiksinterface doormiddel van touchscreen
- Onderhoudsvriendelijk
- Uniek design (Compact & Stand Alone)

GPM Medical Nederland

T: +31 (0)73 644 45 50

F: +31 (0)73 644 45 54

I: www.gpmmedical.nl

W: info@gpmmedical.nl



Ga direct naar de website, scan QR



MCT 2300

Voor de technische specificaties kijk op www.gpmmedical.nl

Prevalentie van ESBL-producerende Enterobacteriaceae in rauwe groenten

E.A. Reuland¹, N. al Naiemi^{1,2,3}, S.A. Raadsen¹, P.H.M. Savelkoul¹, J.A.J.W. Kluytmans^{1,4}, C.M.J.E. Vandenbroucke-Grauls¹

1. Medische Microbiologie en Infectiepreventie, VU Medisch Centrum, Amsterdam,
2. Laboratorium Microbiologie Twente Achterhoek, Hengelo,
3. Medische Microbiologie en Infectiepreventie, Ziekenhuisgroep Twente, Almelo,
4. Medische Microbiologie en Infectiepreventie, Amphia Ziekenhuis, Breda

Extended-spectrum beta-lactamases (ESBL's) zijn een belangrijke vorm van resistentie tegen antibiotica. ESBL's zijn enzymen die in staat zijn beta-lactam antibiotica af te breken: een groep antibiotica die veel gebruikt wordt bij infecties, zowel in als buiten het ziekenhuis. De verspreiding van deze vorm van resistentie neemt zeer snel toe, het is daarom belangrijk de mechanismen en bronnen hiervan te achterhalen. Een mogelijke bron zou de voedselketen kunnen zijn. Om dit te onderzoeken hebben we een studie opgezet om te kijken naar het voorkomen van ESBL's op rauwe groenten.



Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producerende Enterobacteriaceae (ESBL-E) nemen wereldwijd zeer snel toe. ESBL-E zijn ook gevonden in patiënten die niet eerder contact met de gezondheidszorg hebben gehad, zelfs in landen waar maar weinig antibiotica wordt gebruikt (ESAC-Net; <http://www.ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/esac-net/pages/index.aspx>). Verschillende bronnen van ESBL's in de open bevolking kunnen worden aangemerkt: resistente stammen die overgedragen worden via reservoirs met een hoge ESBL-prevalentie (zoals ziekenhuizen en zorginstellingen voor langdurige zorg) of resistente stammen die aanwezig zijn in de voedselketen, omgeving of waterbronnen.

De complexe dynamiek en verspreiding van antibioticaresistentie met betrekking tot deze verschillende reservoirs is in kaart gebracht door Davies en Davies en door Wellington et al. Vooral de voedselketen trok de aandacht omdat veel resistentiegenen werden gevonden in de veehouderij zoals pluimvee; dit houdt verband met het hoge antibioticagebruik in de veehouderij. Daarnaast zijn resistentiegenen wijdverspreid in de landbouwsector. Ruimy et al. hadden geconstateerd dat groenten in Frankrijk vaak gecontamineerd waren met resistentiegenen. In 2011 heeft zich zelfs een Shiga toxine-producerende *Escherichia coli* (STEC) uitbraak in Duitsland voorgedaan, die veroorzaakt werd door ESBL-producerende *E. coli* gevonden in taugé. Met als doel om te kijken in hoeverre rauwe groenten, verkregen in de regio Amsterdam, ESBL's bevatten is deze studie opgezet.

Methoden

Studie opzet

In oktober 2010 en maart 2011 zijn 119 monsters van 15 verschillende typen groenten verkregen uit verschillende bronnen: een biologische winkel, de markt, een winkel behorende tot een grote

Nederlandse supermarktketen en een lokale supermarkt. Van elk type groente en van elke verschillende bron werden twee monsters genomen. We spitsten ons toe op groenten die op en in de grond groeien, en op taugé. De 15 verschillende soorten groenten waren: bieten, spruiten, wortelen, bloemkool, selderij, witlof, komkommer, sla, champignons, pastinaak, aardappelen, radijs, spinazie, bosui en taugé. Van elk ongewassen monster werd 1 gram vermalen en geënt in 10 ml TSB (trypticase soy broth, Becton Dickinson, Breda, Nederland) waaraan ceftazidim 0.5 mg/L was toegevoegd (overnacht incubatie bij 37 °C). Hierna werd de bouillon verder gekweekt op een selectieve screenings agar (EbSA, Cepheid Benelux, Apeldoorn, Nederland) (overnacht incubatie bij 37 °C). Alleen de Enterobacteriaceae werden geanalyseerd.

Fenotypische en genotypische testen

De determinatie en gevoeligheidsbepaling werd uitgevoerd met behulp van het Vitek 2 systeem (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Frankrijk). De minimale inhibitoire concentratie (MIC) breekpunten zijn gebruikt volgens de Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Fenotypische ESBL-productie is geconfirmeerd met de combinatie disk diffusie test met clavulaanzuur (Rosco, Taastrup, Denmark). Na DNA-isolatie (QIAamp DNA mini kit, Qiagen, Venlo, Nederland), werden de isolaten gescreend op ESBL resistentiegenen door middel van een microarray, welke in staat is onderscheid te maken tussen de meest prevalentie ESBL's, inclusief CTX-M-1 en CTX-M-15 (Check-MDR CT103, Check-Points, Wageningen, Nederland). De aanwezigheid van carbapenemase genen en plasmidaal AmpC was ook getest met de microarray. Plasmiden zijn geïdentificeerd met polymerase chain reaction (PCR)-based replicon typing. De stammen zijn getest met 22 primer sets voor de Inc groepen

(ColE, FIA, ColEtp, HI1, HI2, T, Inc I1, FrepB, R, FII, FIB, P, B/O, A/C, K, U, L/M, W, N, X, FIC, Y).

Resultaten

Zeven van de 119 monsters (6 %) bevatten ESBL-E (tabel 1). Het type gecontamineerde groente, de ESBL-producerende stammen, genen en plasmiden die gevonden waren, zijn beschreven in Tabel 1. De gecontamineerde monsters werden gevonden in vier van de 15 soorten groenten (27 %). Het merendeel van de ESBL-positieve monsters (5/7) was verkregen uit een biologische winkel, de prevalentie van ESBL-E in biologisch geteelde groenten was 15.6 % (5/32) [95 % betrouwbaarheidsinterval (BI): 6.4–32.2] en in conventioneel geteelde groenten was het 2.3 % (2/87) (95 % BI: 0.14–8.5). Het risicoverschil (RV) tussen de twee soorten groenten was significant (RV 13.3 %, 95 % CI: 0.35–26.31). De variatie in plasmiden en genen die gevonden werd, komt overeen met de bevindingen van Caratoli et al. Een hoog percentage co-resistentie werd waargenomen tegen gentamicine, co-trimoxazol en nitrofurantoin. Twee van deze zeven ESBL-producerende stammen waren multi-resistent, maar allen waren gevoelig voor meropenem en imipenem.

Discussie

Onze resultaten tonen de aanwezigheid aan van ESBL-E in rauwe groenten, verkregen in de regio van Amsterdam, hetgeen impliceert dat rauwe groenten een bron kunnen zijn van resistentiegenen. Deze resultaten komen overeen met andere studies en zouden een indicatie kunnen zijn dat groenten als een mogelijke route dienen voor de verspreiding van resistentiegenen in de open bevolking.

Verschillende routes zijn mogelijk relevant om te verklaren waarom deze resistentiegenen gevonden worden op rauwe groenten. Knapp et al. lieten zien dat het gehalte aan resistentiege-

nen voor antibiotica in de grond zienderogen is toegenomen in de afgelopen 70 jaar in Nederland. Andere bronnen van resistentiegenen kunnen onder andere (riool)water zijn, hetgeen veroorzaakt wordt door antibiotica gebruik en afvalverwerking. Verse gewassen/producten kunnen ook gecontamineerd worden gedurende het verwerkingsproces. De groenten werden gekocht op de markt of in de winkel zelf, maar dat veronderstelt ook dat de contaminatie kan zijn opgetreden tijdens verwerking van de groenten door mensen.

Een bijzondere bevinding van deze studie is dat biologische groenten vaker besmet waren met ESBL-E dan conventioneel geteelde groenten. Verscheidene studies hebben de mogelijke verschillen tussen biologische en conventionele producten onderzocht. Het is gebleken dat andere micro-organismen en contaminanten gevonden zijn op biologische producten vergeleken met conventioneel geteelde groenten als gevolg van het gebruik van mest, het niet gebruiken van pesticiden en de verschillende manier van verwerking.

De resistentiegenen die aanwezig waren in onze samples behoorden voornamelijk tot de CTX-M familie, waarbij vooral CTX-M-15 gevonden werd. CTX-M-15 is het meest voorkomende type ESBL in Europa en wordt in toenemende mate beschreven in isolaten uit de open bevolking. Ook in een andere studie in Amsterdam, uitgevoerd onder patiënten die

zich meldden bij hun huisarts met gastro-intestinale klachten, liet zien dat de meest prevalentie ESBL-E CTX-M-15-producerende *E. coli* waren. Daarnaast werd dit ook gevonden in een studie naar bacteriëmiën veroorzaakt door ESBL's uitgevoerd in de regio van Rotterdam.

Hieruit kunnen we concluderen dat alhoewel de species die deze genen bevatten geen *E. coli* waren maar andere Enterobacteriaceae, deze als reservoir kunnen dienen voor mobiele resistentiegenen en overdracht van deze genen naar *E. coli* in de darm mogelijk is. Daarbij kan het hoge percentage co-resistentie dat we gevonden hebben bijdragen aan het verwerven van multiresistentie in de voedselketen. Taugé bleek het vaakst besmet te zijn, maar met andere ESBL-producerende species dan *E. coli*. Dit soort groenten is reeds vaker betrokken geweest in STEC uitbraken.

In een eerdere studie hebben we waargenomen dat ESBL-E verschillende plasmiden kunnen bevatten, waarvan een aantal nu ook in Enterobacteriaceae op groenten in deze studie gevonden zijn. De meest voorkomende plasmiden in mensen waren ColE en FrepB, maar ColEtp en HI2 werden ook gevonden in een substantieel aantal stammen. Kortom, overdracht van plasmiden tussen Enterobacteriaceae gevonden op groenten en die in het menselijke darmstelsel lijkt mogelijk. Echter, in deze studie is het niet mogelijk om af te leiden hoe vaak dit optreedt.

Concluderend kunnen we zeggen dat klassieke ESBL-genen zijn gevonden op rauwe groenten, namelijk CTX-M-1 en CTX-M-15, en dat diverse plasmiden vaak geassocieerd zijn met deze genen. De mogelijke impact van deze bevindingen op de gezondheid van de mens benadrukt de noodzaak om de aanwezigheid van ESBL-E in rauwe groenten verder te onderzoeken en de noodzaak om na te gaan of de uitwisseling van resistentiegenen tussen ESBL-E en andere Enterobacteriaceae in de menselijke darm zich daadwerkelijk voordoet.

Acknowledgements

Een deel van de resultaten van deze studie zijn gepresenteerd op het 21e European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Milaan, Italië, Mei 2011, presentatie O102.

Fondsen

ZonMw, the Netherlands Organisation for Health Research and Development (125020011).

Belangenconflicten

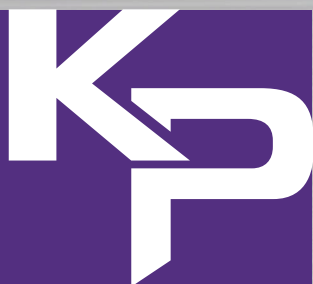
Geen gemeld.

LITERATUUR

Oorspronkelijke bron: Prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in raw vegetables. Reuland EA, Al Naiemi N, Raadsen SA, Savelkoul PH, Kluytmans JA, Vandenbroucke-Grauls CM. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2014 Oct;33(10):1843-6. doi: 10.1007/s10096-014-2142-7. Epub 2014 May 22.

Tabel 1 Overzicht van soorten groenten in relatie tot extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-coderende genen en plasmiden

Bron	Groente	Species	ESBL gen	Plasmiden
Biologische winkel	Taugé	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	blaSHV-12	ColEtp, T
	Taugé	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	blaCTX-M-14	ColE, FIA
	Radijs	<i>Enterobacter cloacae</i>	blaCTX-M-15	ColEtp, HI2
	Bosui	<i>Enterobacter amnigenus</i>	blaCTX-M-15	HI2
	Pastinaak	<i>Citrobacter braakii</i>	blaCTX-M-1	HI1
Markt	Taugé	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	blaCTX-M-14	ColEtp, FIA, T
Supermarkt (lokaal)	Taugé	<i>Enterobacter cloacae</i>	blaCTX-M-15	ColEtp, HI2



PRIMERA SLIDEPRINTER

INNOVATIE OP ELKE WERKPLEK



PRIMERA
TECHNOLOGY EUROPE™

'S WERELDS EERSTE EN ENIGE KLEUREN SLIDEPRINTER

Met de Signature® SlidePrinter van Primera biedt Klinipath de mogelijkheid om de efficiëntie van uw lab significant te verhogen en het risico op misidentificatie te minimaliseren. De Signature® SlidePrinter print direct op de objectglazen en elimineert handgeschreven objectglazen en dure, moeilijk te hanteren xyleen-resistente etiketten. Met een indrukwekkende 300 dpi printresolutie, kunt u tekst, afbeeldingen en logo's met hoge resolutie lineair en 2D barcode printen op elk objectglas, op elke werkplek.



KLINIPATH
GOOD(S) IN PATHOLOGY

Klinipath BV T +31(0)316 26 64 66 E info@klinipath.nl
Nederland F +31(0)316 26 67 77 I www.klinipath.nl

De Lever

Marius van den Heuvel

In tegenstelling tot bijvoorbeeld de nier is de lever op macroscopisch en microscopisch niveau een vrij simpel ogend orgaan. Onder de microscoop lijkt de lever een zee van levercellen (hepatocyten) waarin vele capillaire vaatstructuren. Deze zee van hepatocyten is op gezette afstanden onderbroken door bindweefselstructuren (portale velden waarin vaatstructuren en galwegen), afgewisseld door in grootte wisselende veneuze vaatstructuren (vena hepatica takken) die het veneuze bloed afvoeren naar de vena cava inferior. De hepatocyten zelf vormen een gigantische fabriek van opbouw en afbraak van bouwstoffen enzovoort, essentieel voor het functioneren van het menselijk lichaam.

De vrij simpele architectuur van de lever is er voor een groot deel debet aan dat leverpathologie een forse uitdaging is, ook voor leverpathologen. Immers schade kan optreden aan hepatocyten of galwegen, waarbij patronen van schade beperkt zijn. Dit betekent dat er forse overlap kan optreden tussen verschillende ziektebeelden, dat alleen maar toeneemt naarmate de ziekte in een verder gevorderd stadium (met ontwikkeling van fibrose en uiteindelijk cirrose) komt. Bovendien komt het steeds vaker voor dat er sprake is van meer dan één ziekte bij één patiënt, hierdoor gaan histologische ziektebeelden zich als het ware mengen.

De rol van beoordelen van architectuur speelt, bij het ontbreken van atypie, veel meer een rol in de diagnostiek van leverceltumoren dan tumordiagnostiek in andere organen. Typerend voorbeeld hiervan is het leverceladenoom dat zich helemaal niet kenmerkt door atypische/dysplastische veranderingen van hepatocyten maar uitsluitend door verstoorde architectuur ten opzichte van de normale opbouw van leverparenchym.

Dit artikel probeert een overzicht te geven van de architectuur/opbouw van de lever.

Vervolgens zal worden ingegaan op mechanismen van levercel-schade. Hierbij zal een overzicht worden gegeven hoe de extra (vaak standaard) kleuringen kun-

nen helpen bij het beoordelen van de architectuur van de lever en de beoordeling van leverpathologie.

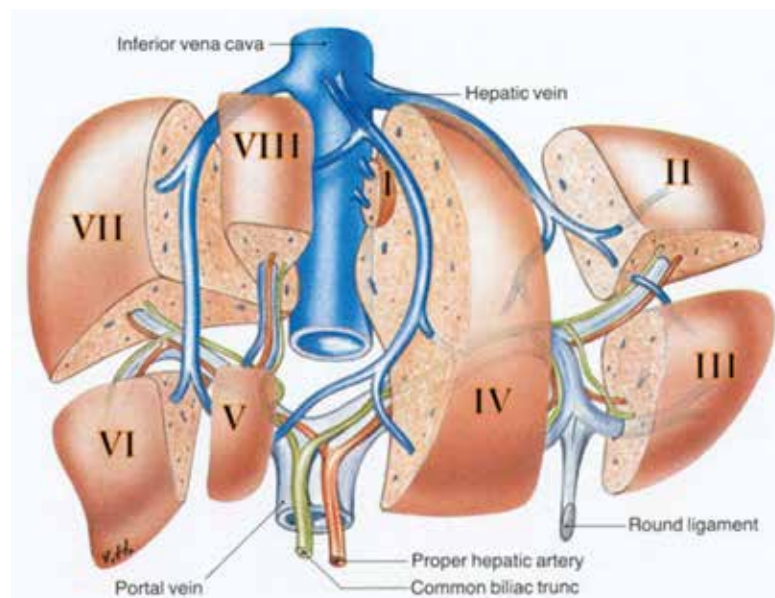
Macroanatomie van de lever

De lever bevindt zich in de rechter bovenbuik en deze positie is niet toevallig. In deze positie bevindt de lever zich tussen het darmstelsel en het hart. Hierdoor kan de lever functioneren als filter tussen de veneuze portale systeem en het systemische bloedvatstelsel. Het veneuze bloed in de vena portae bevat het veneuze bloed uit het maagdarmstelsel. Dit bloed bevat veel bouwstoffen dat door het darmkanaal uit voedsel is onttrokken. Naast vele bouwstoffen bevat dit bloed ook veel toxische stoffen. De lever functioneert als een filter dat de bouwstoffen uit

“Een forse uitdaging, ook voor leverpathologen

het portale bloed filtert en verder verwerkt tot bouwstoffen (eiwitten) die het lichaam nodig heeft. De lever zet toxische stoffen om in niet toxische stoffen. Het door de lever gefilterde bloed wordt door takken van de vena hepatica afgevoerd naar de vena cava inferior waar het in de systeem-circulatie van het lichaam wordt opgenomen.

In de rechter bovenbuik is de lever bovendien goed gepositioneerd ten opzichte van de maag en kan er via een relatief fysiek korte weg naar behoefte gal in het



Figuur 1: indeling van de lever in segmenten.

duodenum aan de voedselbrij van uit de maag worden toegevoegd met als doel afbraak en opname van vetten te vergemakkelijken. Naast de aanvoer van veneus bloed uit het portale systeem heeft de lever ook zuurstofrijk bloed nodig om te functioneren. Deze zuurstofrijke arteriële bloedaanvoer gaat via de arteria hepatica.

Het gewicht van de lever bedraagt, afhankelijk van het geslacht circa 1300 tot 1500 gram. De vorm van de lever wordt sterk bepaald door de omliggende organen en structuren. Aan de bovenzijde wordt de lever begrensd door het middenrif (diafragma), aan de rechter (laterale) zijde door de ribben, aan de onderkant door de galblaas, rechternier en dikke darm en aan de linker (mediale) zijde door de maag. Wanneer een lever aan de buitenkant geïnspecteerd wordt kun je de impressies van deze organen en structuren in de lever zien. Ter rechterzijde in de bovenbuik is meer ruimte voor de lever dan aan de linkerzijde, wat maakt dat de rechter zijde van de lever (rechter leverkwab) groter is dan de linker zijde van de lever. De lever heeft een dun vliezig kapsel. De lever wordt onderverdeeld in acht segmenten. Deze segmenten zijn met de klok mee genummerd in de segmenten 1 t/m 8 (zie figuur 1). Deze segmenten hebben hun eigen bloedtoevoer en eigen afvoer van bloed en gal. Vanuit dit perspectief kun je deze segmenten beschouwen als op zich zelf functionerende delen van de lever. De onderverdeling van de lever in verschillende segmenten maakt leverchirurgie

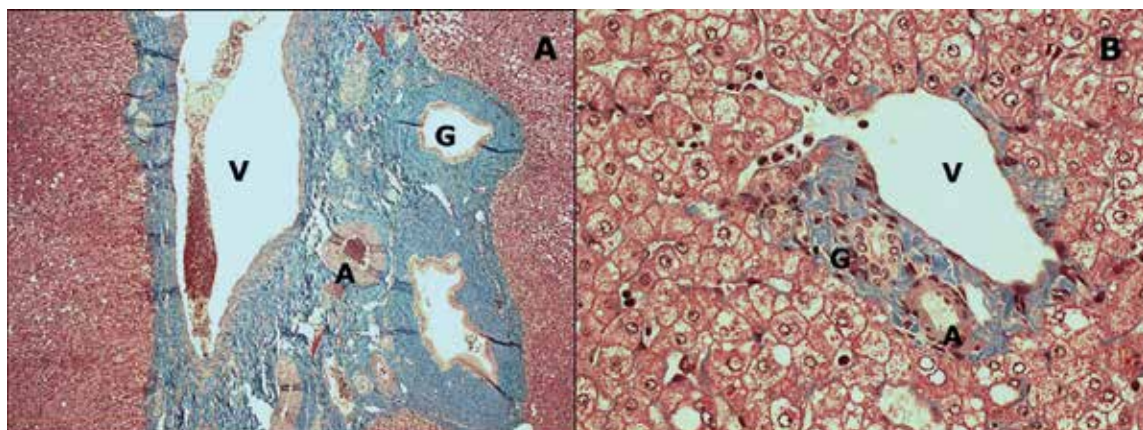
beter mogelijk. Als een deel van de lever verwijderd moet worden vanwege de aanwezigheid van een tumor dan opereert de chirurg met de grenzen van de verschillende segmenten als leidraad. Aangezien de segmenten en eigen bloed toevoer en afvoer hebben zal opereren langs de grenzen van de leversegmenten leiden tot zo weinig mogelijk bloedverlies omdat langs de grenzen van de segmenten de kleinste vaatstructuren van het segment aanwezig zullen zijn. Verwijdering van een kleine tumor zal in de praktijk neerkomen op verwijdering van het aangedane segment. Als een tumor aanwezig is, zullen alle aangedane segmenten verwijderd moeten worden. Zo zal een grote tumor in de rechter zijde van de lever leiden tot verwijdering van de segmenten 5 t/m 8. Bij deze chirurgie moet wel rekening worden gehouden met het volume aan leverweefsel en de kwaliteit van het leverweefsel dat in de patiënt achter blijft. Bij onvoldoende kwantiteit en kwaliteit van resterend leverweefsel zal de lever niet meer in staat zijn om te regenereren en zal niet meer in staat zijn om het verlies aan functie van het verwijderde leverweefsel over te nemen. Over regeneratie van de lever zal later in deze tekst worden ingegaan.

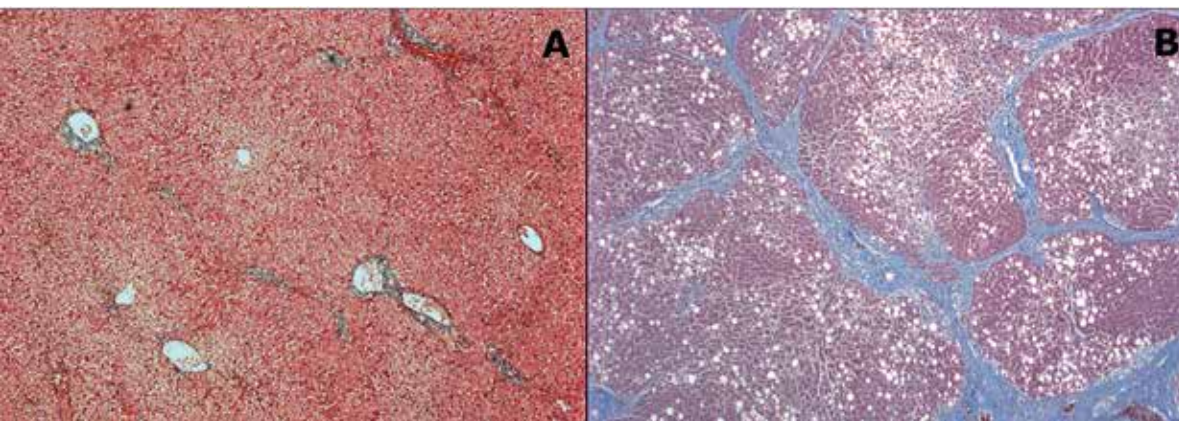
Microanatomie van de lever

De vena portae, de arteria hepatica en de afvoerende galweg (ductus hepaticus) komen de lever binnen via de leverhilus. Vanuit deze leverhilus vertakken deze systemen zich steeds verder naarmate ze dieper in de lever

komen. De takken van de arteria hepatica, vena portae en het galwegsysteem zijn ingebed in een geringe hoeveelheid bindweefsel die je zou kunnen beschouwen als een insnoering van het bindweefsel van de leverhilus. Op deze manier is er dus sprake van een boomstructuur van steeds kleiner worden bindweefselgebieden waarin een tak van de arteria hepatica, een tak van de vena portae en een tak van het galwegsysteem. Deze bindweefselgebiedjes heten portale velden en kunnen, afhankelijk van de lokalisatie in de lever (segment), sterk variëren in grootte (figuur 2). In het overgrote merendeel van de portale velden bevindt zich een galgang een venetak en een arterietak. In een klein deel van de portale velden kan een van deze structuren door anatomische variatie ontbreken. In de portale velden zijn de arterietak en de galgang van ongeveer dezelfde diameter en zijn ze vaak naast elkaar en centraal in het portale veld gelegen. De gal ductuli zijn meer perifeer, op de overgang van portaal veld naar hepatocyten gelegen. Per portaal veld kun je over het algemeen drie à vier ductuli (vaak schampschotten) aantreffen. Rond de portale velden liggen de hepatocyten; de daadwerkelijke functionele cellen van de lever. Deze hepatocyten zijn gerangschikt in een tot twee cellagen dikke levercelplaten. De levercelplaten hebben een een op een relatie met omliggende gespecialiseerde kleine capillaire vaatstructuren die sinusoiden worden genoemd. Deze sinusoiden worden gevoed met bloed

Figuur 2: leverweefsel in de Masson trichroom kleuring (bindweefsel = blauw). Figuur A toont een deel van een groot hilair gelegen portaal veld. Figuur B toont een klein portaal veld. In de beide figuren: V= vena portae tak; G=galgang, A=arteria hepatica tak.





Figuur 3: lever met normale architectuur (A) versus lever met cirrose (B). Masson trichroom kleuring (bindweefsel = blauw). In de figuur A een afwisseling van portale velden en takken van de vena hepatica. In figuur B vormen van blauwe bindweefselsepta en nodulaire omvorming van het leverparenchym

uit de vena portae takjes en bloed uit takjes van de arteria hepatica. Deze sinusoiden worden bekleed met gefenestreerd endotheel: endotheelcellen met gaten in het cytoplasma waardoor het serum van het bloed optimaal in contact kan komen met de hepatocyten. Hierdoor zijn hepatocyten in staat om zoveel mogelijk stoffen uit het bloed op te nemen voor verdere verwerking. Het bloed wordt afgevoerd via steeds groter wordende takjes van de vena hepatica, waarbij de hoofdtak van de vena hepatica uitmondt in de vena cava inferior.

De gal wordt geproduceerd door de hepatocyten en wordt buiten de hepatocyt opgevangen in de galcanaliculi. Dit zijn insnoeringen van het celmembraan van twee aangrenzende hepatocyten. Deze galcanaliculi hebben verbinding met tussen de hepatocyten gelegen kanaaltjes van Hering die deels worden bekleed door hepatocyten en deels door galgangepitheelcellen (cholangiocyten). De kanaaltjes van Hering gaan over in galductuli die de portale velden binnengaan en uitmonden in de kleinste galgangen.

Fysiologie en pathofysiologie van de lever

Leverziekten zijn onder te verdelen in een beperkt aantal hoofdgroepen: ontstekingsbeelden primair gericht op de hepatocyten, ontstekingsbeelden primair gericht tegen het biliaire (galweg) systeem, stapelingsziekten, ziekten als gevolg van verandering in de bloed aanvoer en afvoer en tenslotte de tumoren van de lever. Vooral de verschillende ontstekingen (van verschillende origine)

tonen nogal eens overlap in het histologische beeld waardoor het vaststellen van de primaire leverziekte op histologische gronden lastig is. Daarnaast komt het steeds meer voor dat er sprake is van meerdere leverziekten in de lever. Een voorbeeld hiervan is het aanwezig zijn van een primaire biliaire cirrose (als auto-immuunziekte) en een steatohepatitis (als manifestatie van overgewicht). Het aanleveren van de juiste klinische gegevens en toegang tot een ziekenhuis informatie systeem voor het verkrijgen van verschillende relevante labwaarden is bij de beoordeling van het leverweefsel onontbeerlijk. Gebrek aan klinische informatie zal vaak leiden tot een beschrijvende diagnose en differentiaal diagnostische overwegingen maar niet tot één diagnose.

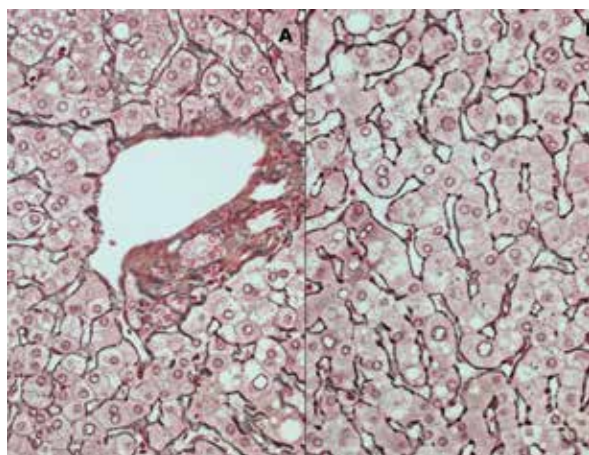
Als het optreden van schade aan de lever door ontsteking, stapeling van (toxische stoffen) of een andere oorzaak een chronisch karakter krijgt zal verbindweefseling (fibrose) in de lever optreden. Naarmate deze verbindweefseling vordert zal de architectuur van de lever veranderen. In de lever worden bindweefselsepta gevormd, die op den duur met elkaar gaan verbinden en uiteindelijk noduli van hepatocyten zal omgeven (figuur 3). Dit is het eindstadium van de leverziekte, cirrose.

De fibrose en de chronische schade leidt tot verminderde functie van de lever. De lever zal dit proberen tegen te gaan door regeneratie. In welke mate de lever kan regenereren hangt sterk af van het behoud van oorspronkelijke anatomie van de lever en de vitaliteit van de aanwezige hepato-

cyten. Van een gezonde, anatomisch normale lever kan een deel verwijderd worden zonder dat dit op langere termijn gevolgen heeft voor de lever. Het resterende leverweefsel zal regenereren met behoud van architectuur tot het oorspronkelijke volume van de lever. De aanwezigheid van fibrose en/of ziekte van hepatocyten zal leiden tot verminderde regeneratie.

“ Het komt steeds vaker voor dat er sprake is van **meerdere leverziekten** in lever

Fibrose van de lever zal ook leiden tot een hogere weerstand van de lever voor bloed. Het bloed kan hierdoor moeilijker door de lever stromen en dit leidt tot hogere druk in het portale lage druk (veneuze) systeem. Het bloed gaat op den duur niet meer door de lever maar langs de lever via kleine bloedvaatjes die niet bestand zijn tegen het steeds groter wordende volume aan bloed. Hierdoor ontstaan spataderen (varices) in bijvoorbeeld slokdarm of huid die gemakkelijk kunnen gaan bloeden. Vooral het gaan bloeden van varices in de slokdarm is een potentieel levensbedreigende complicatie van verbindweefseling van de lever. Shunting van bloed om de lever betekent ook dat bloed uit het portale bloedvatsysteem direct in de systemische circulatie komt. Hierdoor kunnen toxische stoffen uit dit portale systeem in overige organen beschadigend werken (bijvoorbeeld hepatische encefalopathie).



Figuur 4: leverparenchym rond portaal veld (A) en leverparenchym nabij v. hepatica tak (B) in de reticuline kleuring.

De hepatocyten zijn gelegen in levercelplaten omgeven door reticuline. De ligging in B is meer ordentelijke levercelplaten dan in A; dit is een gebruikelijk patroon. Tussen de levercelplaten de sinusoiden.

Microscopische beoordeling van leverweefsel

Het beoordelen van leverweefsel bestaat uit determineren en graderen van de ernst van het soort ziekte en stadiëren in welk stadium van ontwikkeling de ziekte zich bevindt. Bij het graderen speelt de mate van ontsteking of mate van aanwezigheid van stapeling van toxische stoffen in de lever de belangrijkste rol. Bij het stadiëren van de ziekte speelt

“ Wel is van **belang** dat je er **ervaring** mee hebt

het bepalen van de mate van verbindweefseling (fibrose) van het leverweefsel de belangrijkste rol. Bij histologisch onderzoek zijn naast de conventionele HE kleuring ook aanvullende kleuringen van groot belang bij de beoordeling van het biopt. Onderstaand een opsomming van de verschillende aanvullende kleuringen die gebruikt kunnen worden bij de beoordeling van leverweefsel. Bij de beoordeling van de mate van fibrose en de architectuur kunnen verschillende histochemische kleuringen gebruikt worden.

Bindweefselkleuringen. De meest gangbare zijn de Masson trichoom, de AZAN en de Sirius red kleuring. Welke kleuring ge-

bruikt wordt is meer een kwestie van smaak dan van kwaliteit. Wel is van belang (en dat geldt voor alle kleuringen) dat je er ervaring mee hebt en dat je weet wat de mogelijkheden en onmogelijkheden van de kleuringen zijn. De Masson trichoom kleuring is een goede kleuring omdat deze een morfologische beoordeling en de beoordeling van bindweefsel in één kleuring combineert. Bovendien is in een goede Masson trichoom kleuring het biliaire systeem veel makkelijker te onderscheiden en te beoordelen dan de HE kleuring.

De **reticuline kleuring** kleurt collageen type 3 langs de sinusoiden en is van belang bij het beoordelen van de architectuur van ligging van de hepatocyten (figuur 4). Met de reticuline kleuring kunnen atrofie en tekenen van regeneratie snel worden opgepikt. Atrofie kenmerkt zich door dunnere levercelplaten met toename van reticulinevezels langs de levercelplaten. Regeneratie kenmerkt zich door toename van de dikte van de levercelplaten, dus 3-4 cellagen dikke levercelplaten in plaats van 1-2 cellagen dikke levercelplaten. De reticulinekleuring is bijna onontbeerlijk bij het stellen van de diagnose nodulaire regeneratieve hyperplasie. Bij dit ziektebeeld is sprake van wisselende atrofie en hypertrofie van levercelplaten, waardoor het leverweefsel een nodulair aspect krijgt zonder dat dit gepaard hoeft te gaan met septale fibrose.

De **pas na diastase kleuring** (pas D) geeft informatie over de aanwezigheid van pas D positieve globuli in hepatocyten bij alpha-1-antitrypsine deficiëntie. In de pas D kleuring kun je ook gemakkelijk macrofagen/Kupffercellen zien waarin gefagocyteerd materiaal aanwezig is. De aanwezigheid van deze macrofagen/Kupffercellen duidt op aanwezigheid van schade aan hepatocyten of biliaire systeem. In de pas D kun je ook de aanwezigheid van galwegschade beoordelen. Hierbij maak je gebruik van het feit dat de pas D de basaalmembraan aankleurt.

Aanwezigheid van ontstekingscellen binnen deze basaalmembraan wordt zo snel zichtbaar. Tenslotte is koperpigment in de pas na diastase kleuring zichtbaar als paarse kleine intracytoplasmatische korreltjes in hepatocyten.

In de **ijzerkleuring** wordt ijzerpigment en de lokalisatie hiervan eenvoudig zichtbaar. Aangezien de tegenkleuring van de ijzerkleuring vrij contrastarm is, leent de ijzerkleuring zich goed voor het aantonen van (subtile) cholestase.

De **koperkleuring** toont koperpigment aan in het kader van de ziekte van Wilson (koperstapelingsziekte). Bovendien is koperpigment aanwezig in levers waarin sprake is van een chronische cholestatische situatie bv bij ziekten die het biliaire systeem beschadigen en/of in lever die verder gevorderde verbindweefseling tonen.

De **orceine kleuring** kleurt ook koper. In deze kleuring worden ook de elastinevezels in de portale velden zichtbaar. Elastinevezels ontbreken in nieuw gevormd bindweefsel.

Met de bovengenoemde kleuringen kan zoveel mogelijk informatie over het leverweefsel worden verzameld en het stellen van de juiste (histologische) diagnose vergemakkelijkt wordt.

Samenvattend is de lever het orgaan dat een cruciale rol speelt bij het opnemen van bouwstoffen en toxische stoffen uit het portale systeem. Hierbij is de architectuur van de lever vrij simpel. Deze vrij simpele architectuur met vrij weinig aangrijpingspunten voor ontsteking en stapeling van toxische stoffen (hepatocyten, biliaire systeem, vaten) maakt dat overlap tussen verschillende ziektebeelden in de lever de beoordeling van leverweefsel een bijzondere uitdaging vormt. Aanvullende kleuringen, het aanleveren van relevante klinische gegevens en toegang tot ziekenhuisinformatiesysteem zijn onontbeerlijk voor de histologische beoordeling van leverweefsel.

Feces onderzoek bij een patiënte met Cystic Fibrosis

Dr. E.G.W.M. Lentjes, E.C. Liesting. UMC Utrecht, Laboratorium Klinische Chemie en Haematologie.

Patiënte: Ellen is een vrouw van 19 jaar, waarbij op 3-jarige leeftijd Cystic Fibrosis (CF) is vastgesteld. Zij heeft gezonde ouders. Zij is kapster. Ze heeft een vriend. Zij vindt het jammer dat ze naast het werk niet meer kan sporten.

Korte voorgeschiedenis

Ellen groeide na de geboorte maar matig. De moeder vertelde dat ze als baby zout smaakte. Ze had op de peuter leeftijd frequent last van dunne en brijige ontlasting, circa 6 keer per dag, met onverteerde stukjes voedsel. De ontlasting rook zuur. Op driejarige leeftijd is de diagnose CF gesteld. Ze had de meest voorkomende mutatie deletie F508, homozygoot. Ze was regelmatig verkouden, ziek en of had koorts. Ze was een regelmatige bezoeker van het ziekenhuis in verband met longinfecties of darmproblemen (obstipatie, krampen). Haar longfunctie gaat in de loop der jaren geleidelijk achteruit. Ze heeft moeite om zich te houden aan de adem oefeningen en het innemen van de medicatie.

Laboratorium gegevens

Op 3-jarige leeftijd wordt een zweetest uitgevoerd: Chloride 115 mmol/L. Dit is een sterk verhoogde chloride waarde (bij CF: > 60 en borderline CF: 30-60 mmol/L). Onderzoek in feces (3j): (FP is feces portie en FV is verzamel feces). Na 9-3-1999 start met Creon (enzymsuppletie) en vitamine A en E.

De omgekeerd evenredige relatie tussen vet en chymotrypsine uitscheiding van de pancreas is duidelijk zichtbaar. Hogere chymotrypsine waarden betekent meer pancreasenzym suppletie, waardoor het vet in de feces lager wordt en dus betere opname. De alfa1-antitrypsine en stikstof wordt

gebruikt voor onderzoek naar eiwitverlies via de darm (protein losing enteropathie), ook vaak te zien bij CF. Ook na strikte instructie om de medicatie te gebruiken is Ellen daar niet altijd consequent in, gezien de wisselende vetuitscheidingen (tabel 1).

Achtergrond

Cystic fibrosis (CF), ook wel pancreasfibrose, mucoviscidosis of taaislijmziekte genoemd, is één van de meest voorkomende erfelijke stofwisselingsziekten onder het blanke ras. CF is een autosomaal recessief erfelijke ziekte veroorzaakt door twee ziekteveroorzakende mutaties op zowel het vaderlijk als het moederlijk allel. Er zijn meer dan 1500 mutaties gevonden die CF kunnen geven. Het probleem bij deze patiënten is

dat het chloridetransport in meer of mindere mate verstoord is. Het slijm is hierdoor uitzonderlijk taai. In de longen, pancreas, galwegen, vasa deferentia en darmen vormt het taaie mucus pluggen en leidt het tot progressieve schade aan de betrokken organen. Het verloop van CF is grillig. Door veelvuldige infecties in de longen ontstaat een voortschrijdend functieverlies van de longen. De gemiddelde levensverwachting ligt momenteel rond de 40 jaar. Als maat voor de pancreas functie wordt niet meer de chymotrypsine gebruikt maar de stabielere elastase. Deze heeft een hogere sensitiviteit (93%) en specificiteit (93%) tegen chymotrypsine 64% en 89% respectievelijk. Elastase kan ook uit een fecesportie (verzameling is niet nodig).

Tabel 1

	26-1-1999 10:44 FP	9-3-1999 8:00 FV	29-10-1999 8:00 FV	23-10-2000 8:00 FV	12-10-2001 8:00 FV	26-10-2001 8:00 FV	9-11-2002 8:00 FV	Referentiewaarden
GEWICHT		714	214	254	200	493	127	
VET		21,6	9,2	13,7	8,7	21,4	7,8	<5 g/24 uur
STIKSTOF		16	60			133	52	<70 mmol/24 uur
A1-ANTITRYPSINE	<0,3							<1,1 mg/g
A1-ANTITRYPSINE						0,7		<1,1 mg/g
CHYMOTRYPSINE		<1,0	15,3	55,2	80,0	18,3	25,7	>13,2 U/g

Tabel 2 Vetmeting in faeces na 7 dagen dieet met 50-100 g vet/dag inname. De opname van vet is maar matig en bedraagt 80%

	31-10-2005 8:00	19-1-2007 8:00	24-1-2008 15:10	2-2-2009 16:00	9-2-2010 8:00	31-1-2011 0:00
Verzamelperiode		72	72	72	72	72
GEWICHT	119	244	426	564	316	466
VET	6,1	10,9	18,1	28,5	12,3	19,0

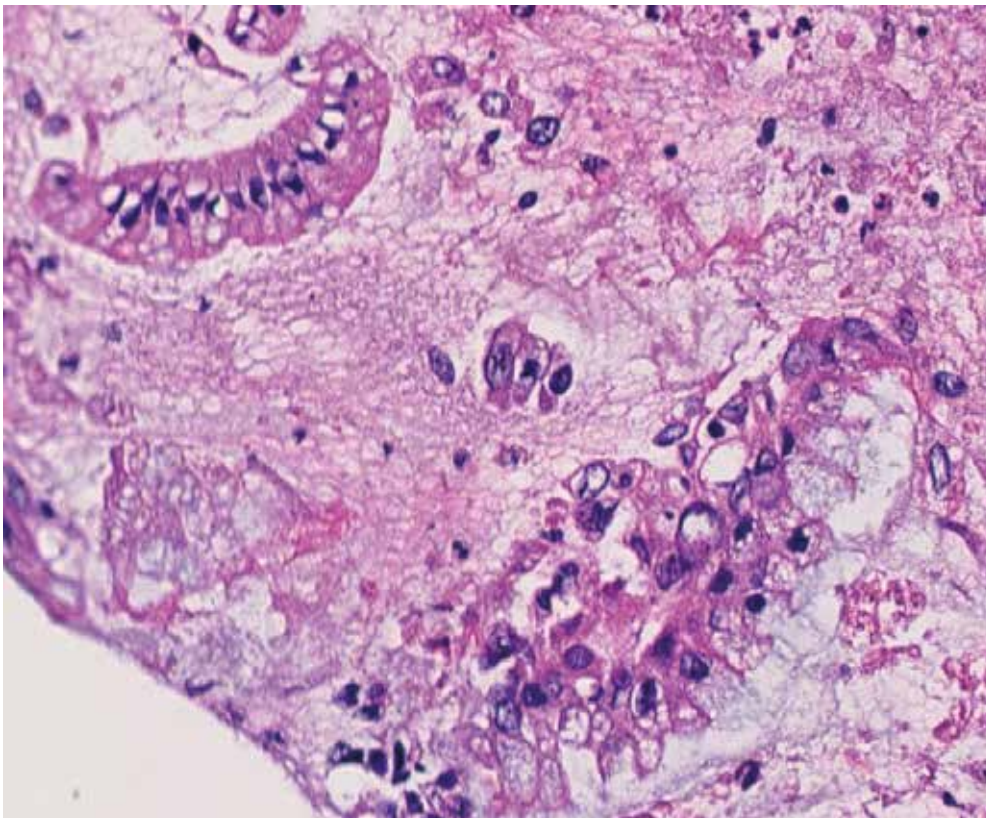
Galwegbrush Cytologie

T. Ruitenbeek, B. van Hemel, A. Gouw, Afdeling Pathologie UMC Groningen.

Onderstaande opmerkingen in Oncoline geven aan dat de galwegbrush cytologie (GBC) een belangrijke diagnostische rol speelt met belangrijke klinische consequenties. Bij de cytologische diagnose 'verdacht voor maligniteit' of 'maligne cellen' kan men besluiten om over te gaan tot chirurgische ingrepen waaronder de PPPD (Pylorus Preserving Pancreatico Duodenectomy). Dit is een risicovolle ingreep waarbij lekkage een complicatie kan zijn met kans op buikvliesontsteking. De Galweg brush cytologie is met name van belang omdat het pancreatobiliaire gebied technisch niet makkelijk toegankelijk is voor een histologisch biopt. Daarnaast is het nemen van biopt in dit gebied vrij risicovol. Dat de GBC in toenemende mate een belangrijk diagnostisch middel wordt, is duidelijk te zien in het toenemende aantal inzendingen. Wij ontvingen 73 GBC in 2011, 119 in 2012, 106 in 2013, 128 in 2014 en maar liefst 166 in 2015.

- De werkgroep richtlijnen oncologische zorg "Oncoline" is van mening dat indien een ERCP verricht wordt, er altijd een cytologische brush van de galwegen gedaan moet worden om een eventuele maligniteit te kunnen vaststellen.
 - Meting van serum tumormarkers en ERCP-controle met brush cytologie zouden regelmatig moeten worden verricht om te controleren op cholangiocarcinoom (bij PSC).
- Bron: www.oncoline.nl

Figuur 1 Ingeblokt (Cellient) restmateriaal met adenocarcinoom (rechts onder) en normale cilindercellen (links boven) (HE-kleuring).

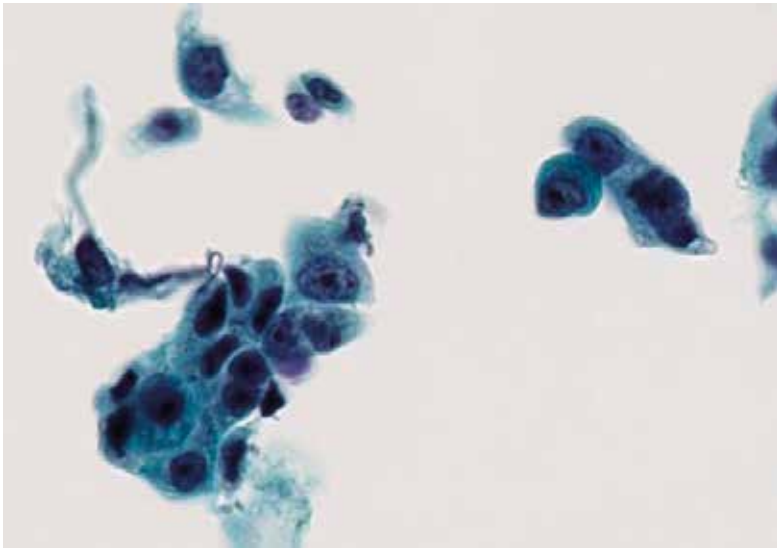


Technische verwerking

De galwegbrush wordt in 20 ml Cytolyt ingezonden en wordt 10 minuten op de ('verf')-schudder geplaatst om de cellen van de borstel te schudden. Het sedimenteren gaat met behulp van een Rotorcentrifuge (5 min 2400 rpm). Hierna suspenderen in 20 ml PreservCyt en 20 minuten laten na-fixeren. Na bewerking in de T5000 processor, worden de preparaten Papanicolaou gekleurd volgens het Imagerprotocol met aangepaste kernkleuring (Nuclear Stain) (1 minuut). De preparaten worden eerst beoordeeld op cel rijkdom en dan inhoudelijk op afwijkend cilinder. Eventueel restmateriaal kan worden bewaard als suspensie of verwerkt als een celblok. Voor dit laatste gebruiken we een Cellient processor. Standaard wordt er een HE gekleurd en bij voldoende materiaal nog vier blanco coupes gesneden.

Cytologische beoordeling

Galweg brush cytologie blijft een tak van cytologie waarbij vergroten essentieel is. Bij een kleine vergroting valt de enkele maligne celgroep niet op en wordt deze gemist omdat deze cellen tussen overwegend normaal cilinder-epitheel en galpigment kunnen liggen. De verbeterde dunne



Figuur 2 Adenocarcinoom. (Papkleuring/ Thinprep)

laag techniek draagt bij aan een chromatinepatroon dat beter te beoordelen is en maakt een afwijkende structuur beter herkenbaar. Daarnaast dragen vorm en grootte van de nucleoli ook bij aan maligniteits-kenmerken. Een bekend maligniteitscriterium zoals de n/c ratio is ook van belang, zeker in de differentiatie met repair. De aanwezigheid van losgelegen sterk atypische- of maligne cellen helpen ook om tot een zekere diagnose maligniteit te komen.

De meest interessante maar tegelijk meest problematische groep is natuurlijk die van de 'atypie'. Deze groep is problematisch omdat de diagnose de grootste onzekerheid bevat. Dit geldt voor cytologen maar zeker ook voor de kliniek, omdat op basis van deze diagnose geen duidelijk beleid uitgestippeld kan worden. Het klinisch dilemma bij 'atypie' bestaat uit slechts een 'afwachtend' beleid, met in de follow-up het herhalen van de brush cytologie.

Vanwege deze problematiek kwam de vraag uit de kliniek: "Is het mogelijk om een stap verder te gaan in de uitspraak atypie omtrent de cytologie?" Anders geformuleerd: kunnen we de 'atypie' groep verkleinen door specifieker te worden in onze galwegbrush cytodiagnostische uitspraken. Dit maakt het cytologisch onderzoek belangrijker maar ook lastiger, en aanvullend onderzoek een noodzaak.

Het restmateriaal inblokken geeft een andere morfologie door het met HE te kleuren. Dit kan soms helpen omdat de wat dicht gestapelde groepen doorgesneden worden, en de atypie daardoor beter te beoordelen is. Eventuele aanvullende immunocytochemische kleuringen zijn mogelijk op het ingeblokke materiaal. Maar meer studies zijn nodig om bijvoorbeeld de hooggradige dysplasie of maligne cellen van reactief epitheel te kunnen onderscheiden.

Recent zijn de mogelijkheden van moleculaire technieken op galwegbrush cytologie bekend geworden. Een moleculair profiel van adenocarcinoom in het pancreatobiliair gebied kan worden

aangetoond met behulp van een selecte groep van probes door middel van de FISH (fluorescentie in situ hybridisatie) techniek (Barr Fritscher et al.). Deze techniek opent nieuwe mogelijkheden om het onderscheid te kunnen maken tussen 'maligne' en 'niet- maligne' in de groep die we op grond van de morfologie zouden classificeren als 'atypie' en/of 'verdacht'.

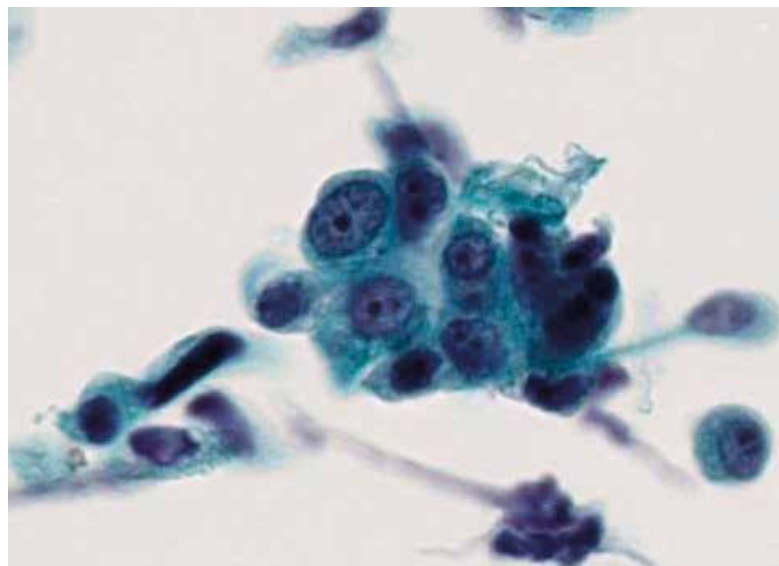
Conclusie

Galwegbrush cytologie wordt steeds belangrijker als diagnostisch middel en het verder differentiëren van de cytologisch diagnose 'atypie' met behulp van nieuwe aanvullende technieken, is van groot klinisch - therapeutisch belang.

LITERATUUR

1. An Optimized Set of Fluorescence In Situ Hybridization Probes for Detection of Pancreatobiliary Tract Cancer Q1 in Cytology Brush Samples. Barr Fritscher EG et al, Gastroenterology 2015 in press.
2. Analytical review of diagnosis and treatment strategies for dominant bile duct strictures in patients with primary sclerosing cholangitis. Murad A et al, 2011 International Hepato-Pancreato-Biliary Association
3. www.oncoline.nl

Figuur 3 Adenocarcinoom. (Papkleuring/ Thinprep)





// ADVANCED SOLUTIONS FOR ADVANCED PATHOLOGY DIGITAL MICROSCOPE

// TAKE CONTROL, WHEREVER YOU ARE

- Guarantees remote slide viewing, in "live" mode
- Allows control over the digital microscope from remote workstations
- Assures remote data management protected by a password

// DIGITAL PATHOLOGY, IS YOUR INSPIRATION ...

- Share information, by granting access to telepathology services such as second opinions and on-line meetings
- View digitalised slides from a remote workstation using a WEB interface
- Undertake refresher training through on-line courses

// ...THE WORLD, IS YOUR LABORATORY

- Track and get instant, unlimited access to acquired images
- Enjoy password-protected access to individual files and working environments
- Retrieve workflows from remote workstations or computers



A.MENARINI
diagnostics



The human touch of technology

Punctie bij een patiënt met een laesie in de pancreas en de bijnier

Jur ter Borg, AMC afdeling pathologie/cytodiagnostiek

Naar aanleiding van een casusbespreking tijdens de Veldhuizencursus van 5-6 november 2015 is mij gevraagd de door mij gepresenteerde casus ook in te zenden voor de VAPvisie. Daaraan geef ik graag gehoor.

Klinische gegevens

Man, 54 jaar, enkele maanden last van galstenen, aanvalsgewijze pijn epigastrio en verdenking op een stille icterus. Bij beeldvorming wordt een laesie in de pancreaskop en een laesie in de bijnier links gevonden.

Verwijzing van elders voor evaluatie van beide laesies, met behulp van cytologische punctie onder endoscopische echografie. Vraagstelling bij Rapid On Site Evaluation (ROSE): maligniteit van de pancreas- en bijnierlaesie.

Beeldvorming

CT elders: cysteuze laesie van de pancreaskop met hierin verdenking op een weke delen component. Linker bijnier vergroot.

MRI van de pancreas: de pancreaslaesie betreft een dunwandige cyste met diameter 2,4 centimeter, met aankleurende septaties. Er worden geen solide tumornodi gezien, de pancreas duct is slank. Het beeld zou kunnen passen bij een pseudocyste, er zijn geen duidelijke aanwijzingen voor een Intracystic Papillary Mucinous Neoplasia (IPMN). DD: Mucinous Cystic Neoplasia (MCN) of neuroendocriene tumor (NET) van de pancreas.

MRI van de bijnier links: het betreft een solide laesie van 3,5 centimeter, het is niet zeker of dit een

adenoom betreft.

EUS (Endoscopic Ultrasound): steen in distale Common Bile Duct (CBD), deels cysteuze, deels solide laesie in de pancreaskop met diameter 2,5 cm en een pathologisch vergrote linker bijnier van 4 centimeter.

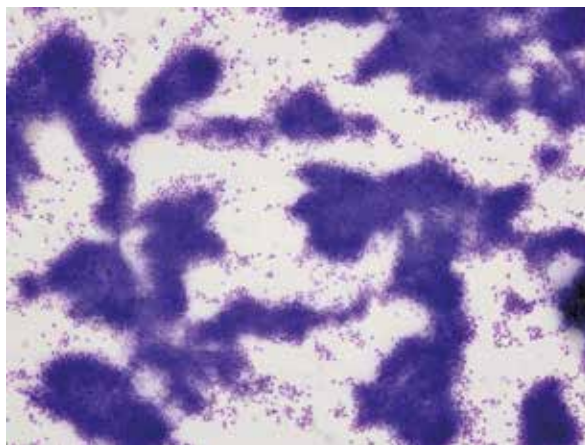
EUS-FNA (Fine Needle Aspiration) van de pancreaskop laesie en de linker bijnier.

Cytologie pancreas

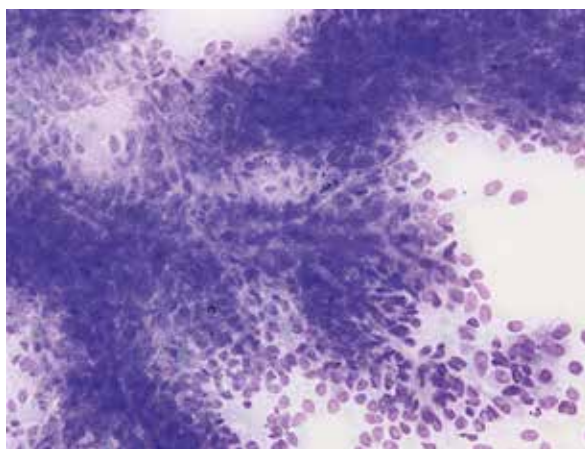
Celrijke, goed beoordeelbare preparaten waarin verspreid multipelle, microbiopten. In de microbiopten is een vertakkend patroon waarneembaar, welk georiënteerd lijkt te zijn op vaatstructuren. De cellen hebben een ovaal kernbeeld met weinig slecht afgrensbare cytoplasma en ze tonen rondom de groepen een uitwaaiend en afdruppelend aspect. Tussen de cellen in de microbiopten wordt enige eosinofiele tussenstof gezien. Verspreid worden veel naakte kernen en ook losse plasmacytoïde, soms spoelvormige, cellen gezien.

Cytologie bijnier links

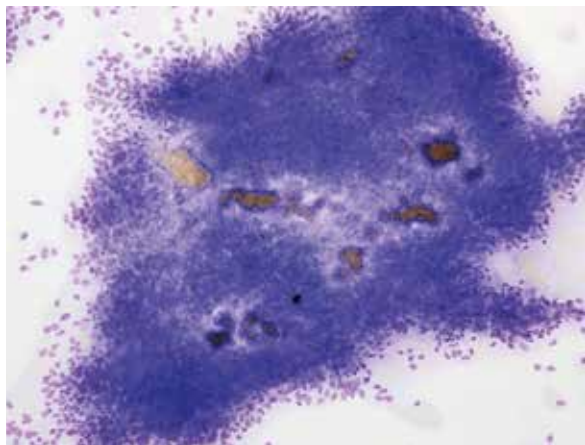
Celrijk, door contaminatie van bloed matig goed beoordeelbare preparaten, met verspreid een meer epitheloid celtype met een



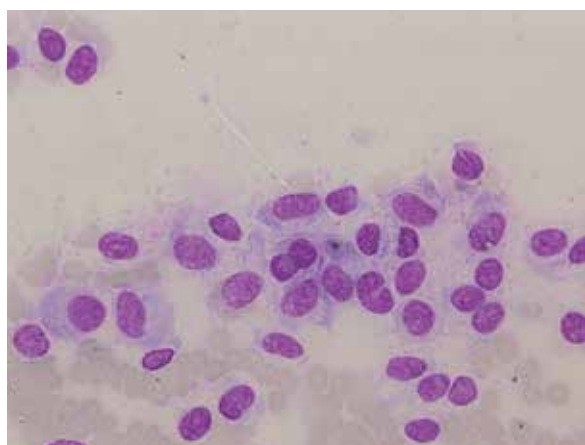
Overzicht (4x) met vertakkende microbiopten



Vertakkende groepen met stromakernen, dissociatie van losse plasmacytoïde cellen (20x)



Vaatrijke microbiopten (10x)



Gedissocieerde plasmacytoide cellen (40x)

duidelijk in grootte variërend kernbeeld, een open chromatine en een nucleolus. Soms worden sterk vergrote kernen gezien en de hoeveelheid cytoplasma is steeds ruim, soms unilateraal uitlopend. Het cytoplasma is deels helder deels eosinofiel gekorrelt. In de extra bijgekleurde prepara-

ten wordt een overeenkomstig beeld gezien. Hiernaast moeilijk beoordeelbare celrijke dicht opeen gelegen celgroepen. De cellen hebben een rondovaal kernbeeld met open chromatine en kleine nucleolus. Soms enig intracytoplasmatisch pigment, mogelijk betreft dit macrofagen. Het beeld komt niet overeen met dat van de pancreas laesie. Beeld zou kunnen passen bij pheochromocytoom van de bijnier. Dit wordt later histologisch op het excisiepreparaat van de linker bijnier bevestigd.

Voorgeschiedenis

In de voorgeschiedenis blijkt deze patiënt volgens PALGA elders bekend te zijn in 2005 met een meningeaal haemangiopericytoom, de preparaten worden opgevraagd ter vergelijking.

Histologie pancreaspreparaat

Er wordt besloten tot een Whipple resectie, welke drie maanden later wordt verricht.

Doorsneden door een in de pancreas gelegen tumorhaard: het betreft een tamelijk circumscripte, celrijke tumor, waarin holten worden gevormd. Op sommige plaatsen wordt bloeding gezien met fibrose, wat ontsteking, ijzerpigment en cholesterolpleten. De tumorcellen tonen een tamelijk diffuse rangschikking. De tumorcellen hebben middelgrote, licht

onregelmatige, rondovale kernen met fijn verdeeld chromatine en soms een kleine nucleolus. De cellen hebben weinig cytoplasma. Verspreid worden mitosefiguren gezien. De tumor is tamelijk vaatrijk en toont met name vrij veel kleine, dunwandige vaatjes (CD34 kleuring), echter geen opvallend vertakkend vaatpatroon. Het beeld wordt vergeleken met de oorspronkelijke meningeale laesie van elders. Het beeld is plaatselijk overeenkomstig.

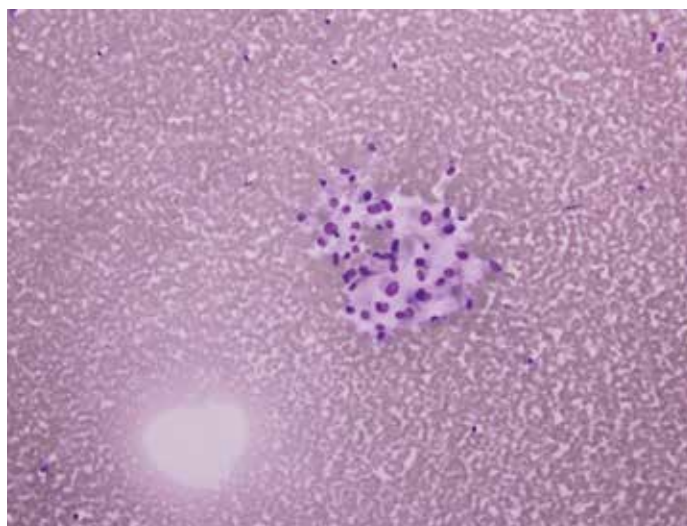
Conclusie: Pylorus Preserving Pancreatico Duodenectomy (PPPD) met metastase van het oorspronkelijke meningeale haemangiopericytoom.

Haemangiopericytoom

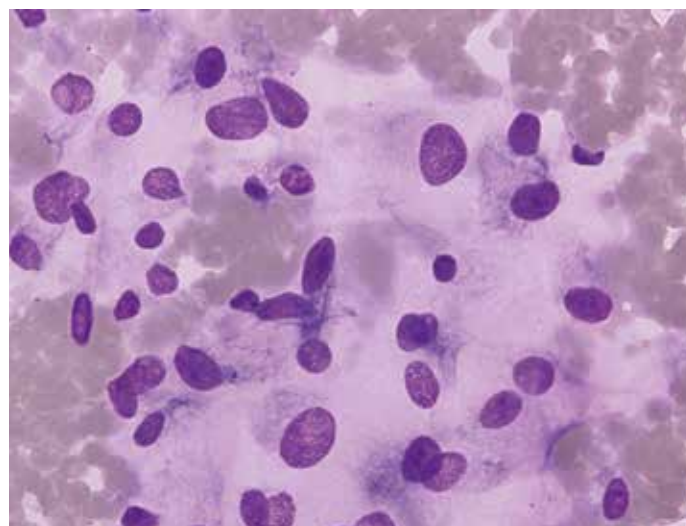
Dit betreft een neoplasma van het perivasculaire weefsel, dus niet van het endotheel. Het is een tumor van meestal intermediaire maligniteitsgraad, welke zelden metastaseert. Doorgaans komen ze voor in de onderste extremiteiten, pelvic fossa en het retroperitoneum.

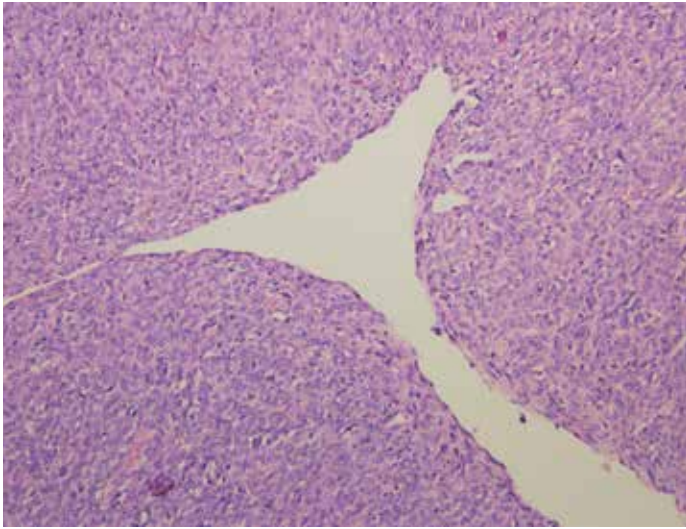
Histologisch kenmerkt de tumor zich meestal door dicht opeen gelegen vrij uniforme spoelvormige of ovale cellen rond dunwandige, complex vertakkende vaatstructuren, de zogenaamde Staghorn appearance. Verder worden ook verwijde sinusoidale met bloed gevulde ruimtes gezien. Het cytologische beeld laat

Bijnier. Cytoplasmarijke cellen met in grootte wisselend kernen (10x)

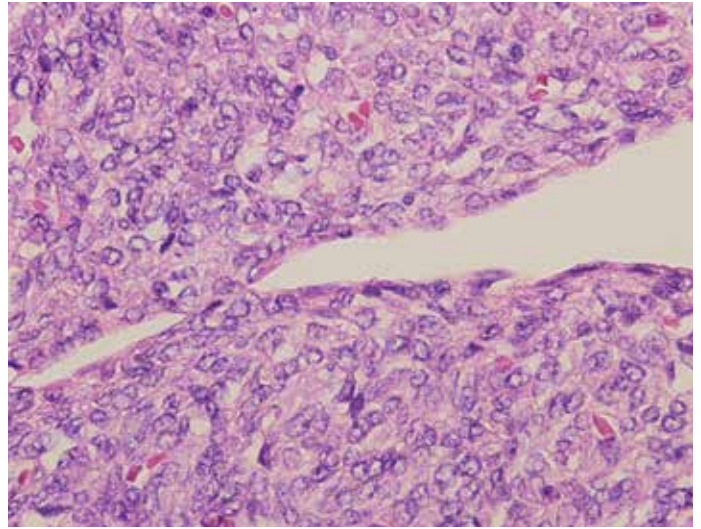


Bijnier. Cytoplasmarijke cellen met rode korreling. Beeld past bij pheochromocytoom (40x).

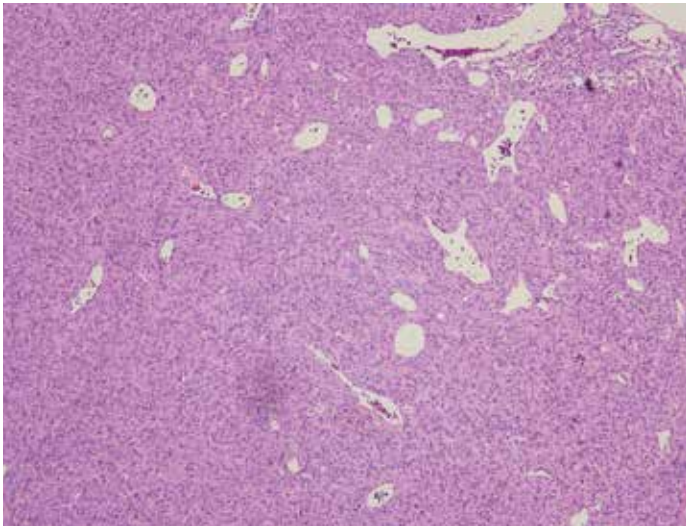




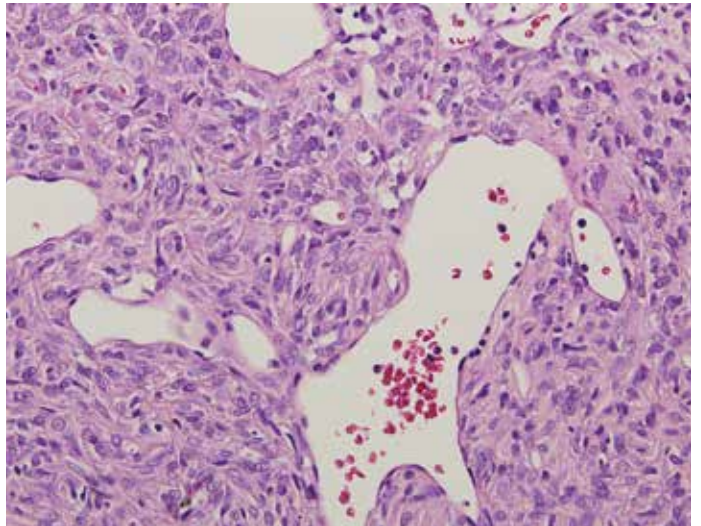
Pancreastumor (2012), dunwandig vaatje (25x).



Pancreastumor (2012), dunwandig vaatje, niet opvallend spoelvormige cellen (40x).



Oorspronkelijke meningeaal haemangiopericytoom (2005), meerdere dunwandige vaatjes (4x)



Oorspronkelijke meningeaal haemangiopericytoom (2005), dunwandige vaatjes (25x)

zowel losse cellen als vertakkende cohesieve clusters zien, met de cellen gerangschikt rond capillaire bloedvaten (Layfield, 2002). Bovenstaande kenmerken zijn goed terug te zien in de cytologische en histologische preparaten van deze patiënt.

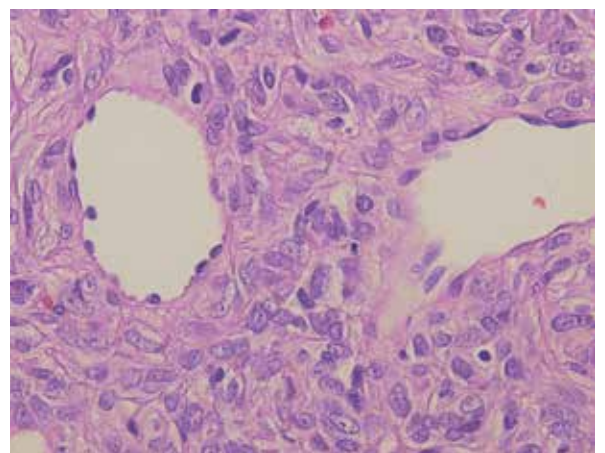
Bij deze patiënt bevond de primaire laesie zich, iets minder gebruikelijk, meningeaal en de laesie metastaseerde naar de pancreas. Een metastase naar de pancreas is vaker beschreven (Lack, 2003). In ons eigen archief vonden we een vrouw van 58 jaar met eveneens een meningeaal haemangiopericytoom, met na elf jaar een metastase daarvan in de pancreas (met in de tussenliggende periode metastasen in de nek en de lever).

Conclusie

Een van een primair pancreasproces verdachte laesie met een mogelijke metastase in de linker bijnier bleek te berusten op een metastase in de pancreas van een zeven jaar eerder gevonden meningeaal haemangiopericytoom, en een phaeochromocytoom van de bijnier

LITERATUUR

Lack, E. E., 2003. Pathology of the Pancreas, Gallbladder, Extrahepatic Biliary Tract, and Ampullary Region. Oxford University Press, Oxford.
Layfield, L. J., 2002. Cytopathology of Bone and Soft Tissue Tumors. Oxford University Press, Oxford.



Oorspronkelijke meningeaal haemangiopericytoom (2005), cellen deels spoelvormig (40x)

Auto-immuun pancreatitis

D.S.J. Wintjens¹, S.A.A. van den Berg², J. van Gulick³

1. Arts-assistent (ANIOS), Afd. Interne Geneeskunde/Maag-, darm-, leverziekten, Amphia Ziekenhuis, Breda.
2. Klinisch chemicus in opleiding, Klinisch Chemisch en Hematologisch Laboratorium, Amphia Ziekenhuis, Breda.
3. MDL-arts, Afd. Maag-, darm-, leverziekten, Amphia Ziekenhuis, Breda.

Geelzucht kan duiden op een obstructie van de galwegen. Bij het ontbreken van typische galsteenkolieken, wordt dit beeld geduid als stille icterus wat verdacht is voor een zwelling van de alvleesklierkop, papil van Vater of galwegen zelf. Hoewel deze zwelling vaak kwaadaardig is, komt in een klein percentage van de patiënten uiteindelijk een goedaardige tumor aan het licht. In deze casus bespreken wij een patiënt met een auto-immuun pancreatitis.

Casus

Een 77-jarige man kwam naar de polikliniek maag-, darm-, leverziekten in verband met geelzucht en daarmee gepaard gaande jeukklachten, ontkleurde ontlasting en donkere urine. Bij navraag was er ook sprake van een zeurende pijn in de buik en 10 kilogram gewichtsverlies in de afgelopen twee jaar. Lichamelijk onderzoek leverde, behoudens het beeld van icterus, geen bijzonderheden op. Het laboratoriumonderzoek liet zien dat er sprake was van een geconjugeerde bilirubinemie, passend bij cholestase (tabel 1). Omdat er bij dit verhaal gedacht werd aan een obstruerend proces ter hoogte van de galafvoergang (ductus choledochus), was door de huisarts al een echo van de buik gemaakt, die een verdachte zwelling van de alvleesklierkop liet zien. Er werd verdere beeldvorming middels CT-abdomen en endoscopische retrograde cholangiopancreatografie (ERCP) verricht, welke een duidelijk vergrote alvleesklierkop lieten zien met daarbij een goedaardig ogende vernauwing van de ductus choledochus (Afbeelding 1). Een kwaadaardige tumor was op dat moment echter zeker niet uit te sluiten. Middels het plaatsen van een stent werd de galafvoer

weer hersteld en verdwenen de klachten van de patiënt. Om de afwijking in de alvleesklierkop verder te analyseren en onderscheid te maken tussen een kwaadaardige of goedaardige afwijking, werd materiaal vanuit de ERCP opgestuurd voor weefselonderzoek en werd ook nog een endoscopische echografie met punctie verricht. Tevens werd het lab gevraagd om immunologische analyse in te zetten naar IgG. Het weefselonderzoek liet bij herhaling geen kwaadaardige cellen zien en er bleek sprake van een verhoogd IgG4, waarop een proefbehandeling met prednisolon werd gestart (tabel 1). Omdat bij follow-up meerdere malen op CT een duidelijke afname van de tumor werd gezien, werd de diagnose auto-immuun-

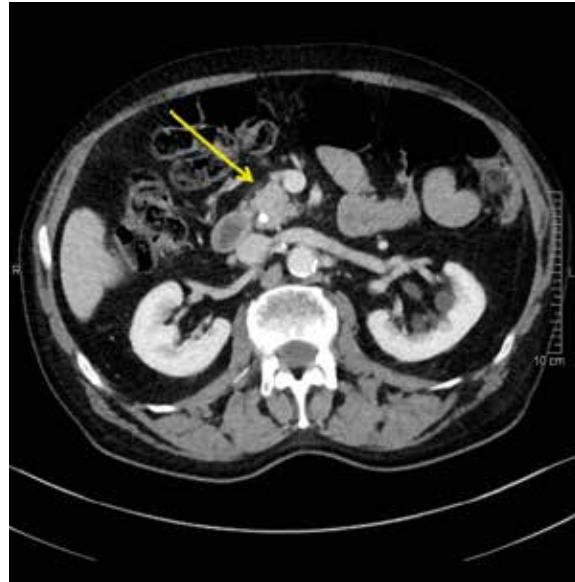
pancreatitis gesteld (afbeelding 2). De prednisolon werd afgebouwd en patiënt kreeg azathioprine, een ander immuunsuppressivum, daarvoor in de plaats. Met deze therapie is patiënt nu al bijna een heel jaar in remissie en klachtenvrij.

Beschouwing

Auto-immuun pancreatitis (AIP) is een zeldzaam ziektebeeld waarbij het stellen van de diagnose gepaard gaat met enkele valkuilen. De prevalentie van AIP blijft tot op heden onduidelijk, maar wordt geschat op 0.82 per 100.000 inwoners. Ook wordt verondersteld dat de ziekte met name voorkomt bij mannen van 45 jaar of ouder (1). Voornamelijk het onderscheid tussen AIP en alvleesklierkanker verloopt zeer moeizaam. Net zoals bij alvleesklierkanker presenteert de patiënt zich veelal met een beeld van 'stille' icterus (ongeveer 60-70%), wat inhoudt dat men een evident beeld van geelzucht aantreft zonder daarbij aanwijzingen te vinden voor galsteenziekten. Daarnaast komen milde abdominale pijnklachten (60-75%) en gewichtsverlies (5-42%) vaak voor (1-4).

Tabel 1 Labresultaten ten tijde van presentatie, inclusief IgG4-bepaling.

Bepaling	Uitslag	Referentiewaarde
Bilirubine totaal	193 umol/L	<20 umol/L
ASAT	105 U/L	<35 U/L
ALAT	173 U/L	<45 U/L
Alkalisch fosfatase	234 U/L	<115 U/L
Gamma-GT	829 U/L	<55 U/L
Lipase	100 U/L	13 - 60 U/L
IgG totaal	14.9 g/L	7 - 16 g/L
IgG4	2.81 g/L	0.03 - 2.1 g/L



Figuur 1 CT-pancreas ten tijde van presentatie met duidelijke zwelling (3,7 cm) van de alvleesklierkop net ventraal van de grote vaten.

Figuur 2 CT-pancreas na behandeling met prednison met duidelijke afname van zwelling van de alvleesklierkop.

Diagnostiek

Wanneer gedacht wordt aan AIP is verdere diagnostiek geïndiceerd. De diagnose wordt gesteld aan de hand van serologisch, beeldvormend en histologisch onderzoek welke in deze beschouwing allen zullen worden toegelicht.

Biochemie

Een verhoogde concentratie IgG4 is de belangrijkste marker voor AIP en wordt verhoogd gevonden in meer dan 90% van de patiënten (5). IgG4 lijkt ook gerelateerd te zijn aan de ernst van ziekte en het klinisch beloop (6). Echter, de bruikbaarheid van IgG4 in de diagnose AIP kent ook zijn beperkingen, gezien de gelimiteerde en variabele sensitiviteit en specificiteit (respectievelijk 67–94% en 89–100%) (7). Belangrijk om te realiseren is dat 5% van de gezonde populatie en 10% van de patiënten met alvleesklierkanker een verhoogde concentratie IgG4 hebben (8). Het anti-plasminogen-binding protein heeft een hogere sensitiviteit voor AIP (93–95%) en wordt ook gevonden in het serum van IgG4-negatieve patiënten (9). Echter, ook voor anti-PBP geldt dat ongeveer 5% van de patiënten met alvleesklierkanker positief wordt bevonden, waardoor het onderscheidend vermogen beperkt is (8). Naast anti-PBP-antistoffen zijn

nog andere antistoffen geassocieerd met AIP, maar ook die kennen een beperkte sensitiviteit/specificiteit (bijvoorbeeld antistoffen tegen carbonic anhydrase II, lactoferrine, reumafactor, ANA en glad spierweefsel).

Beeldvorming

Middels beeldvorming (CT of MRI) kan worden getracht verder te differentiëren tussen AIP en alvleesklierkanker. Een diffuus vergrote, worstvormige alvleesklier met verstreken randen en late aankleuring in de arteriële fase van de CT-scan is suggestief voor een AIP, waar lage dichtheid van het weefsel, een onderbroken ductus pancreaticus en weefselatrofie juist wordt gezien bij alvleesklierkanker (1,4). Toch kan ook een AIP zich tonen als een focaal vergrote alvleesklier, wat de differentiatie ernstig bemoeilijkt. Endoscopische echografie is wel meer richtinggevend, zeker aangezien men dan ook echografische puncties kan verrichten om de ziekte histologisch te bewijzen (1).

Histologie

Een definitieve diagnose wordt pas gesteld op het moment dat er sprake is van een histologisch bewezen ziekte. Weefsel wordt veelal verkregen middels endoscopische echografie, echter in sommige gevallen wordt de

diagnose AIP pas gesteld nadat een operatie wegens grote verdenking op alvleesklierkanker al heeft plaatsgevonden. In het biopsie of het resectiepreparaat kan onderscheid gemaakt worden in twee typen AIP. Bij type 1 AIP ziet men een dicht periductaal lymfoplasmacytair infiltraat met meer dan 10 IgG4-positieve cellen, obliteratieve flebitis en fibrose. Bij een type 2 AIP wordt, naast de lymfoplasmacytaire infiltraten, een pathognomonisch beeld gezien van granulocytair epitheliale laesies in de ductus pancreaticus (1).

Behandeling

Behandeling van AIP bestaat uit het geven van corticosteroïden voor 12 weken. Zowel de kliniek, IgG4-spiegels, leverbiochemie en beeldvorming dienen als maat voor effectiviteit (1). Het onderscheid tussen type 1 en type 2 AIP is daarbij zeker van belang, daar in een groot cohort werd gezien dat enkel type 1 AIP gepaard gaat met recidiverende activiteit (10). Bij een recidief AIP wordt vaak onderhoudsbehandeling gestart met het immunosuppressivum azathioprine dat dan tenminste twee jaar lang dient te worden gebruikt (1).

Conclusie

Hoewel een auto-immuun pancreatitis een zeldzaam ziektebeeld is, kan een tijdig onderscheid

met alvleesklierkanker een grote operatie voorkomen. De diagnostiek moge complex zijn, maar met een combinatie van klinische parameters, biochemische analyses, beeldvorming en histologisch onderzoek kan vrijwel altijd de juiste diagnose worden gesteld.

LITERATUUR

1. Sugumar A. Diagnosis and management of autoimmune pancreatitis. *Gastroenterology clinics of North America*. 2012;41(1):9-22.
2. Rasch S, Phillip V, Schmid RM, Algul H. Epidemiology, clinical presentation, diagnosis and treatment of autoimmune pancreatitis: A retrospective analysis of 53 patients. *Pancreatology: official journal of the International Association of Pancreatology*. 2015.
3. Raina A, Yadav D, Krasinskas AM, McGrath KM, Khalid A, Sanders M, et al. Evaluation and

management of autoimmune pancreatitis: experience at a large US-center. *The American journal of gastroenterology*. 2009;104(9):2295-306.

4. Chari ST, Takahashi N, Levy MJ, Smyrk TC, Clain JE, Pearson RK, et al. A diagnostic strategy to distinguish autoimmune pancreatitis from pancreatic cancer. *Clinical gastroenterology and hepatology: the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. 2009;7(10):1097-103.
5. Hamano H, Kawa S, Horiuchi A, Unno H, Furuya N, Akamatsu T, et al. High serum IgG4 concentrations in patients with sclerosing pancreatitis. *The New England journal of medicine*. 2001;344(10):732-8.
6. Matsubayashi H, Sawai H, Kimura H, Yamaguchi Y, Tanaka M, Kakushima N, et al. Characteristics of autoimmune pancreatitis based on serum IgG4 level. *Digestive and liver disease: official*

journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver. 2011;43(9):731-5.

7. Morselli-Labate AM, Pezzilli R. Usefulness of serum IgG4 in the diagnosis and follow up of autoimmune pancreatitis: A systematic literature review and meta-analysis. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2009;24(1):15-36.
8. Sah RP, Chari ST. Serologic issues in IgG4-related systemic disease and autoimmune pancreatitis. *Current opinion in rheumatology*. 2011;23(1):108-13.
9. Ketwaroo GA, Sheth S. Autoimmune pancreatitis. *Gastroenterology Report*. 2013;1(1):27-32.
10. Sah RP, Chari ST, Pannala R, Sugumar A, Clain JE, Levy MJ, et al. Differences in clinical profile and relapse rate of type 1 versus type 2 autoimmune pancreatitis. *Gastroenterology*. 2010;139(1):140-8; quiz e12-3.



6 tips om te starten met documentmanagement

Starten met documentmanagement vraagt om een gedegen voorbereiding. Om wildgroei en dubblures van documenten te voorkomen moet er vooraf nagedacht worden over praktische vraagstukken zoals; wie schrijft welke documenten en wanneer, wie houdt de regie en hoe gaan we documenten op een toegankelijke manier aanbieden aan de eindgebruiker.

Op onze website vindt u een white paper met 6 praktische tips die antwoord geven op bovenstaande vraagstukken. Kijk voor meer informatie op: www.infoland.nl/documentmanagement-laboratoria

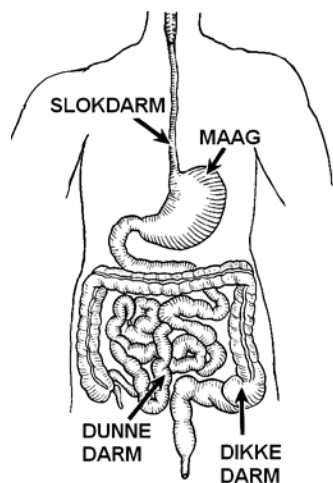
infoland 
altijd een stap verder

Malabsorptie – een aandoening die moeilijk te verteren is

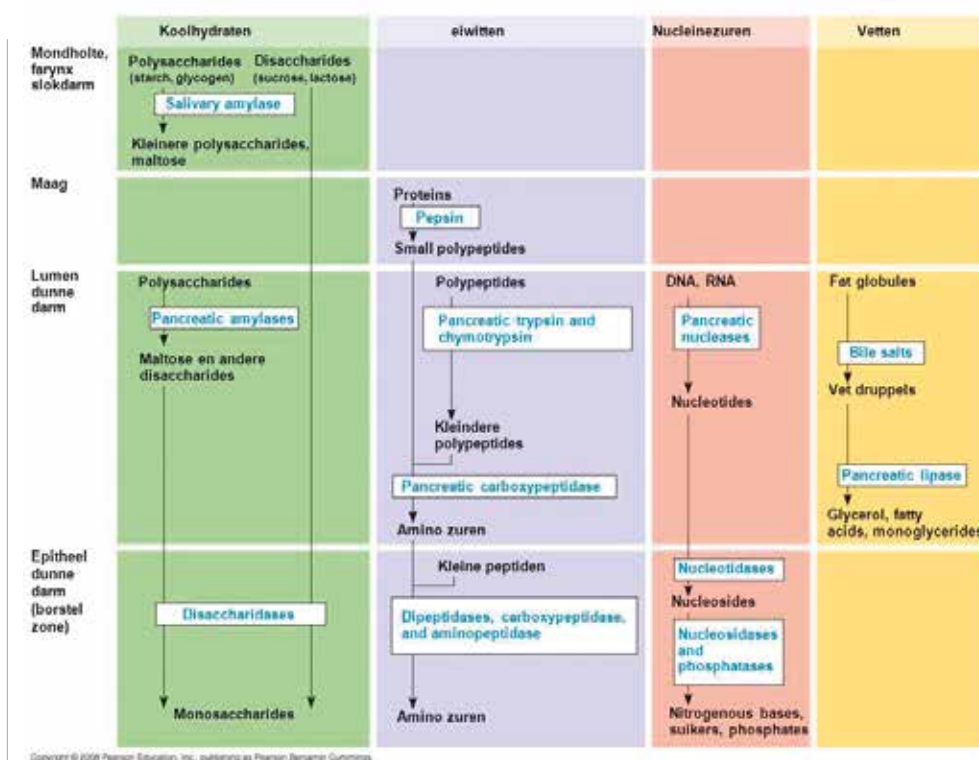
Patrick Kromhout, Klinische Chemie, St. Antonius Ziekenhuis, locatie Utrecht

Malabsorptie is een verzamelnaam voor verschillende aandoeningen die uiteindelijk leiden tot hetzelfde resultaat: een tekort aan een of meer bouwstoffen die het lichaam niet voldoende uit het voedsel kan halen. Veel van deze aandoeningen hebben klachten als misselijkheid, een opgeblazen gevoel, diarree en algehele malaise of verzwakking. Het is aan de arts om aan de hand van een anamnese, lichamelijk onderzoek en laboratoriumonderzoek tot een diagnose te komen, waarna doelgericht tot een behandeling kan worden overgegaan. In de casus wordt weergegeven hoe een arts met behulp van bovengenoemde zaken tot een behandeling komt.

Malabsorptie is het onvermogen van het lichaam om bepaalde voedingsstoffen te absorberen uit de voeding (1,2). Bepaalde voedingsstoffen worden hierbij vanuit het maagdarmkanaal niet opgenomen in het bloed. Malabsorptie is een algemene verzamelnaam voor een aantal verschillende aandoeningen die allemaal hun eigen oorzaak en gevolg hebben. Het eindresultaat is echter bij elke aandoening gelijk: een uiteindelijk tekort aan een bepaalde bouwstof. We beginnen met een normaal werkend spijsverteringsstelsel (figuur 1). Voedsel komt via de mond binnen en het enzym amylase in het speeksel begint met de eerste vertering (figuur



Figuur 1 Het spijsverteringsstelsel van mond tot kont waar op elk niveau een oorzaak van malabsorptie kan ontstaan.



Figuur 2 Een overzicht van de verschillende organen die een rol spelen in de vertering van bepaalde voedingsstoffen.

2). Amylase splitst polysacchariden tot oligosacchariden, zoals maltose en glucose. Het voedsel gaat dan verder naar de maag, waar het zure milieu ervoor zorgt dat bacteriën worden gedood en het inactieve pepsinogeen wordt omgezet in het actieve pepsine. Pepsine helpt bij de vertering van eiwitten splitst deze tot aminozuren. Tenslotte kneedt de maag de brij, zodat de vertering verder op gang wordt gebracht.

De reis vervolgt zich naar de twaalfvingerige darm (duodenum). In dit gedeelte wordt gal vanuit de galblaas aan de voedselbrij toegevoegd. Gal emulgeert vetten, zodat deze beter door het lichaam worden opgenomen. Daarnaast zorgt de alvleesklier ervoor dat een aantal spijsverteringsenzymen via de papil van Vater in de twaalfvingerige darm aan de voedselbrij worden toegevoegd. De alvleesklier is een belangrijke stap in de



Figuur 3 *Giardia lamblia* kan de veroorzaker zijn van een gestoorde vertering.

vertering. In het spijsverterings-sap die de alvleesklier afgeeft, zit naast het pancreas amylase, ook het enzym lipase dat zorgt voor de vetafbraak. Het aanwezige bicarbonaat zorgt ervoor dat de zuurgraad van de voedselbrij in de twaalfvingerige darm neutraliseert. In het alkalische milieu van het bicarbonaat zijn de spijsverteringsenzymen inactief waardoor de alvleesklier wordt beschermd tegen afbraak. Na neutralisatie worden de enzymen actief, waardoor zij hun werk kunnen gaan doen in het resterende darmgedeelte. De dunne darm is het gebied waar de voedingsstoffen worden opgenomen in het bloed. Bij de dikke darm wordt het vocht onttrokken uit de voedselbrij om daarna als ontlasting via de anus het lichaam te verlaten. In de hele route van mond naar de anus kunnen defecten, ontstekingen of erfelijke deficiënties ervoor zorgen

Figuur 4 Endoscopische foto van de dikke darm met een chronische zweer passend bij de ziekte van Crohn.



dat de opname niet goed werkt, met een tekort aan (bepaalde) voedingsstoffen als gevolg.

Oorzaken van malabsorptie

Het wordt te uitgebreid om alle oorzaken van malabsorptie op te noemen. Laten we een paar hoofdgroepen noemen met wat voorbeelden om een idee te geven hoe divers malabsorptie kan zijn:

1. Infecties
 - *Giardia lamblia* (figuur 3)
 - Cysten
 - Wormen
 - Andere parasieten
2. Afwijkingen en beschadigingen
 - Ziekte van Crohn (figuur 4)
 - Fistels/vernauwingen
 - Tumoren
3. Beschadiging slijmvlies
 - Coeliakie (figuur 5 en 6)
 - Koemelkallergie
4. Tekort aan of niet werkende afbraak enzymen
 - Lactose-intolerantie
 - Sucrose intolerantie
 - Niet goed werkende alvleesklier
5. Stoornissen van het zout- en watertransport.

Symptomen

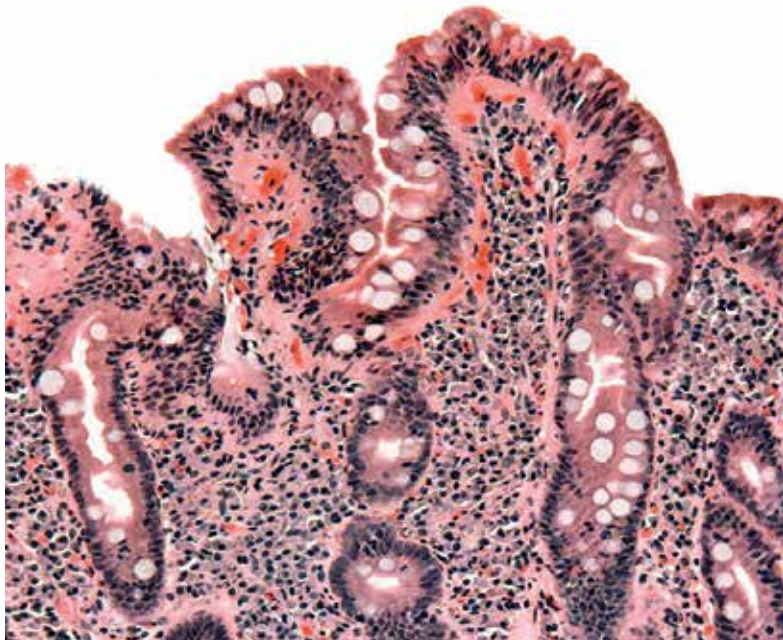
Malabsorptie kan gepaard gaan met verschillende symptomen. De patiënt heeft last van buikpijn, een opgeblazen gevoel of krampen. Sommige mensen hebben veel last van (aanhoudende) diarree, alhoewel er soms ook sprake kan zijn van verstopping (figuur 7). De ontlasting is vaak anders van kleur en ruikt ook meestal sterk. Als de aandoening chronisch is, zullen er ook symptomen te zien zijn zoals gewichtsverlies, vermoeidheid, verzwakking en anemie. Uiteindelijk ontstaan er tekorten aan vitamines, elektrolyten of andere bouwstoffen, waardoor andere klachten ontstaan.

Anamnese en laboratoriumdiagnostiek

De arts zal aan de hand van de klachten en anamnese een differentiaaldiagnose stellen en dit aan de hand van laboratoriumdiagnostiek bevestigen of uitsluiten. De anamnese geeft al een idee welke oorzaak de onderliggende

factor is. De arts zal proberen de volgende vragen duidelijk te krijgen: Wat is het aspect van de ontlasting en wat is de frequentie? Heeft de patiënt koorts, buikpijn/krampen, gewichtsverlies? Is de patiënt onlangs in het buitenland geweest? Wat voor werk doet de patiënt (zorg, kinderdagverblijf)? Wat is het medicijngebruik? Komen de klachten ook in de rest van het gezin voor? Zijn er aanwijzingen voor systemische ziekten? Komen aandoeningen zoals de ziekte van Crohn, coeliakie of colitis ulcerosa voor in de familie? Naast de anamnese, geeft ook het lichamelijk onderzoek extra informatie. Lichamelijk onderzoek omvat het inspecteren van slijmvlies, turgor en tekenen van koorts. Verder zal de buik geïnspecteerd worden en eventueel een rectaal toucher. Als alle gegevens zijn verzameld, kan er bepaald worden welk aanvullend onderzoek nodig is.

Bij verdenking van een infectieuze verwekker zal de arts een feceskweek en onderzoek op parasieten (cysten, wormeieren en *Giardia lamblia*) aanvragen. Als er sprake is van chronische diarree en infectie onwaarschijnlijk is, kan men kijken of er iets met de vertering aan de hand is. Men kan de patiënt 3 dagen de ontlasting laten sparen bij een vetinname van 80-100 gram per dag en dan bepalen hoeveel vet er in de ontlasting komt. Daarnaast kan men een elastase bepaling doen om de werking van de pancreas te monitoren. Deze test wordt steeds populairder en vervangt steeds vaker de PABA test (Para Amino Benzoic Acid) die hiervoor veel werd gebruikt. Bij deze test moet de patiënt NT-PABA (N-benzoyl-L-tyrosyl-p-aminobenzoëzuur) slikken. Pankreasenzymen splitsen het NT-PABA in PABA. Dit PABA wordt vervolgens in de urine uitgescheiden en kan worden gemeten. Het is dus een indirecte enzym-activiteitsmeting. Bij de elastase test wordt het elastase direct gemeten uit de ontlasting. Het is een eiwitplitsend enzym dat, net als trypsine en chymotrypsine, in de pancreas voorkomt. Voordeel van de elasta-



Figuur 5 Biopsie van de dunne darm met coeliakie in Marsh-fase 3 met partiële of volledige villusatrofie wat zich uit in aftopping van de darmvlokken, crypt-hyperplasie en lymfocyt-infiltratie van de crypten. (Een crypt is een darmsapklier.)

se test is de directe meting en de stabiliteit van dit enzym. Ook als het elastase via de ontlasting het lichaam heeft verlaten, is het nog steeds functioneel, waardoor het nog heel goed in een waarde kan worden aangetoond. Hierdoor is de gevoeligheid veel beter dan de PABA test. Voor elastase ligt de gevoeligheid tussen de 65 en 99%, afhankelijk van de mate van pancreasinsufficiëntie (licht tot ernstig). De PABA test heeft een gevoeligheid van enkele tientallen procenten lager.

Een screenende bepaling bij het vermoeden van coeliakie is het bepalen van anti-endomysium antistoffen en anti-weefsel transglutaminase antistoffen. Coeliakie moet wel worden bevestigd met een biopsie van het distale duode-

Figuur 6 Endoscopie van het duodenum bij een patiënt met coeliakie.



is diarree gedurende korte of langere tijd. De meeste episoden van diarree gaan vanzelf over of worden met antibiotica behandeld, zeker als deze gepaard gaan met koorts. Toch komt het geregeld voor dat patiënten zich melden met chronische diarree. De relatie met hun reis naar de tropen is dan minder evident, maar in de differentiaaldiagnose moeten enkele tropische oorzaken overwogen worden, zoals giardiasis, een frequente oorzaak, en tropische spruw, een weinig voorkomende oorzaak, die tot fors gewichtsverlies leidt. Er zijn weinig gegevens bekend over de epidemiologie van tropische spruw. Een eenvoudige definitie van 'tropische spruw' luidt: een in de tropen verkregen chronische aandoening van onbekende

BRISTOL STOOL CHART

	Type 1	Separate hard lumps	Very constipated
	Type 2	Lumpy and sausage like	Slightly constipated
	Type 3	A sausage shape with cracks in the surface	Normal
	Type 4	Like a smooth, soft sausage or snake	Normal
	Type 5	Soft blobs with clear-cut edges	Lacking fibre
	Type 6	Mushy consistency with ragged edges	Inflammation
	Type 7	Liquid consistency with no solid pieces	Inflammation

num. Hiervoor is een coloscopie nodig (figuur 8). Deze zal ook worden verricht bij de verdenking van colitis ulcerosa of de ziekte van Crohn. Een aanwijzing om een coloscopie te verrichten is als er bloedbijmenging of pus bij de ontlasting aanwezig is. In de volgende casus zien we een voorbeeld van een man die verschillende kenmerken heeft van malabsorptie. De arts probeert door middel van een anamnese, lichamelijk onderzoek en laboratoriumonderzoek, tot een diagnose te komen. Er is wat achtergrondinformatie gegeven bij de aandoening, omdat deze aandoening niet algemeen bekend is.

Casus (3)

Het frequentste medisch probleem bij reizigers naar de tropen

oorzaak die gekenmerkt wordt door malabsorptie en mucosa-afwijkingen van de dunne darm met als gevolg meerdere deficiënties. De diagnose wordt vaak pas gesteld als andere (infectieuze) oorzaken zijn uitgesloten.

Patiënt A, een 57-jarige man van Nederlandse afkomst, was sinds 6 jaar woonachtig in Australië. Hij meldde zich op de polikliniek Tropische Ziekten in verband met gewichtsverlies en algehele malaise. Hij had een blanco voorgeschiedenis. Tijdens een reis naar West-Papoea een halfjaar eerder kreeg hij klachten van brijige diarree, buikpijn en misselijkheid. Dit ging spontaan over. 3 maanden later was hij opnieuw 1 week in West-Papoea, waar hij weer gastro-intestinale klachten

Figuur 7 De Bristol stool chart is een classificatie van de feces hoe die in 7 stadia eruit ziet van obstipatie, via een normale feces, naar diarree.

	dag 0	dag 15*	dag 17	dag 22	dag 26	referentiewaarde
BSE	38	-	-	-	7	0-6 mm/1e uur
Hb	6,8	7,0	5,9	6,5	8,4	8,0-10,0 mmol/l
reticulocyten	-	0,6	-	5,3	0,9	0,5-2,5%
MCV	112	110	-	113	-	80-100fl
vitamine B ₁₂	64	68	-	1476	-	150-700 pmol/l
foliumzuur ⁺	45,4	43,5	-	-	-	7,0-36 nmol/l
CRP	20	-	-	3	-	0-5 mg/l

MCV = 'mean corpuscular volume' CRP = C-reactieve proteïne.

* Begin van de behandeling met vitamine B₁₂.

⁺ Patiënt gebruikte foliumzuurbevattend vitaminepreparaat.

kreeg. Overigens ging hij 3 keer per jaar naar West-Papoea. Sinds de eerste episode met diarree was hij in totaal 18 kg afgevallen. Hij gebruikte geen medicijnen, wel een vitaminepreparaat.

Bij lichamelijk onderzoek werd er een niet-acuut zieke man gezien. Het was een magere man met een grauwe kleur, een lichaamsgewicht van 80 kg bij een lengte van 1,90 m, een pols van 120/min en een bloeddruk van 110/70 mmHg. Hij had geen koorts. De huidturgor was verlaagd en de buik ingevallen. Over hart en longen en in het abdomen werden geen afwijkingen gevonden. Laboratoriumonderzoek toonde onder andere: Hb: 6,8 mmol/l; 'mean corpuscular volume' (MCV): 112 fl; vitamine B₁₂: 64 pmol/l; foliumzuur: 45,4 nmol/l (Tabel 1). De uitslagen van calcium, ijzer en albumine waren niet-afwijkend. Differentiaal diagnostisch werd er op dat moment gedacht aan een maligniteit van de tractus digestivus, coeliakie (niet-tropische of inheemse spruw), hyperthyreoïdie of tropische spruw (ook wel: 'uitheemse spruw'). In afwachting van de uitslagen van verder bloedonderzoek werd een vervolgspraak gemaakt.

Na een week werd patiënt met spoed teruggezien, omdat hij fors braakte en ernstig was verzwakt. Hij werd opgenomen en behandeling werd ingesteld met intraveneuze rehydratie en suppletie van de sterk verlaagde vitamine B₁₂-hoeveelheid. Hiermee knapte

hij klinisch goed op. De schildklierfunctie bleek niet-afwijkend. Differentiaal diagnostisch werd nu vooral aan coeliakie of tropische spruw gedacht. Als aanvullend onderzoek volgde daarom gastro-duodenoscopie. Daarbij werden macroscopisch geen afwijkingen gevonden, maar in de duodenumbiopsieën werd microscopisch partiële vlokatrofie gezien, waarbij nog slechts enkele korte, plompe vlokken aanwezig waren (figuur 9). Tevens was er een geringe verlenging van de crypten, met een crypte-vlokratio van 1:1 in plaats van 1:3. De lamina propria mucosae was geïnfiltréerd met lymfocyten, plasmacellen, eosinofiele granulocyten en focaal neutrofiele granulocyten. Daarnaast was er een duidelijke intra-epitheliale lymfocytose aanwezig. *Giardia lamblia* werd niet gezien.

Antistoffen tegen endomysium en weefseltransglutaminase werden niet aangetoond. Daar deze vrijwel altijd positief zijn bij coeliakie, was deze aandoening erg onwaarschijnlijk. Antistoffen tegen gliadine waren wel aanwezig, maar dit kan ook zo zijn bij andere gastro-intestinale aandoeningen en zelfs bij gezonde personen. Fecesonderzoek op parasieten en de banale fecesweek toonden geen parasitaire of bacteriële infecties aan.

Bij poliklinische controle had patiënt vrijwel geen klachten meer, behoudens af en toe nog misselijkheid en een wisselende frequentie van de defecatie. Zijn grauwe kleur was verdwenen. De tropische spruw werd behandeld met foliumzuur 5 mg 1 dd en doxycycline 100 mg 1 dd gedurende 1 maand. Nadien was patiënt klachtenvrij en was hij inmiddels 5 kg in gewicht aangekomen. Na 6 maanden kwam er nog een kaart van hem vanuit Australië waarin hij meldde nog steeds klachtenvrij te zijn.

De eerste gedetailleerde beschrijving van het ziektebeeld van chronische diarree en algemene malaise in de tropen dat we nu kennen als tropische spruw werd gegeven door Ketelaer in 1669 in Nederlands Oost-Indië, maar de Engelsman William Hillary die dit beeld in 1759 beschreef bij

Figuur 8 Een colonscopie die gedaan wordt om aandoeningen als coeliakie of de ziekte van Crohn te bevestigen of uit te sluiten.



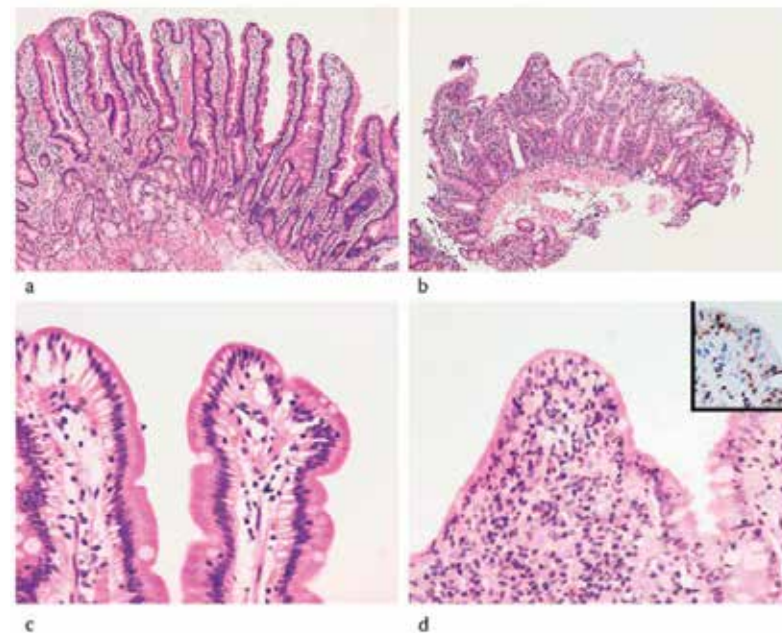
mensen op Barbados, is met de eer van de eerste beschrijving gaan strijken. Het heeft meer dan 100 jaar geduurd voor het ziektebeeld weer aandacht kreeg. In 1880 beschreef Patrick Manson de ziekte als 'diarrhoea alba' bij Britse soldaten in India; hij vertaalde de Nederlandse term 'Indische spruw' in 'tropical sprue'.

Mede gezien de positieve effecten van antibiotica wordt door velen een infectieuze oorzaak voor tropische spruw geopperd, maar er is nooit een duidelijke verwekker gevonden. In tegenstelling tot infectieuze oorzaken van diarree is tropische spruw beperkt tot Zuid- en Zuidoost-Azië, de Caribische eilanden en in mindere mate in Centraal- en Zuid-Amerika. In Afrika komt de aandoening vrijwel niet voor, alhoewel er wel enkele rapportages zijn uit Zuid-Afrika, Zimbabwe, Nigeria en Tanzania. Met name in India zijn er epidemieën beschreven. De gangbaarste etiologische theorie is dat een acute infectie van de tractus digestivus leidt tot beschadiging van de mucosa, waarna een verstoring van de gastro-intestinale hormoonbalans leidt tot vertraging van de motiliteit en bacteriële overgroei.

In de gebieden waar tropische spruw voorkomt, bestaan ook andere oorzaken van chronische diarree, die verward kunnen worden met die van tropische spruw. Een recent onderzoek in India toonde bij 99 patiënten met klachten van malabsorptie bij 39 tropische spruw, bij 9 de ziekte van Crohn, bij 9 coeliakie en bij 8 giardiasis. Bij de overige 35 werd een scala van andere oorzaken vastgesteld.

Kliniek

Vaak hebben patiënten eerst een acuut ziektebeeld gehad met buikkrampen en waterige diarree, al dan niet met koorts en malaise, dat na enkele weken overgaat in intermitterende of continue vette diarree, die tot deficiënties leidt. Naast lactose-intolerantie en een vitamine B12- en foliumzuurdeficiëntie, zijn er soms ook hypocalciëmie en



Figuur 9 De duodenumbiopsies van patiënt A (b en d) tonen ten opzichte van respectieve referentiebeelden (a en c) een sterke verkorting en verbreding van de vlokken. In (d) is een toename van ontstekingscellen in de lamina propria zichtbaar met een duidelijke toename van lymfocyten tussen de bekledende epitheelcellen (inzet) (HE-kleuring, 40 maal vergroot (a, b) en 200 maal vergroot (c, d); inzet: CD3-kleuring waarin T-lymfocyten donkerbruin aankleuren).

hypomagnesiëmie. Na ongeveer 3 maanden resulteert dit behalve in gewichtsverlies ook in een breed scala van symptomen ten gevolge van de deficiënties, zoals glossitis en stomatitis aphthosa, megaloblastaire anemie en anorexie. De klachten en symptomen van de foliumzuurdeficiëntie worden als eerste manifest, gevolgd na circa 6 maanden door die van het vitamine-B12-tekort. De patiënt van de casus gebruikte al langere tijd een vitaminepreparaat. Dit is waarschijnlijk de verklaring voor de niet-verlaagde foliumzuurspiegels. Microscopisch onderzoek van duodenum en jejunum toont bijna altijd partiële vlokatrofie aan.

Therapie

Het blijkt dat een dieet alleen niet effectief is voor de behandeling van tropische spruw. Indien er dehydratie of elektrolytstoornissen zijn, moet dit natuurlijk gecorrigeerd worden. Verder dienen, indien nodig, vitamine B12, foliumzuur en ijzer gesuppleerd te worden. Hoewel dit vaak al tot een klinische verbetering leidt, is een behandeling met antibiotica nodig voor definitief herstel, zoals ook bleek bij de patiënt uit de casus. Er is discussie over hoe lang er behandeld moet worden. Patiën-

ten die slechts een paar maanden klachten hebben, zouden genoeg hebben aan 1 maand antibiotische behandeling.

Tropische spruw wordt nog steeds als oorzaak van chronische diarree uit de tropen, en met name uit Azië, gezien. Als ze eenmaal is overwogen, is de diagnose niet moeilijk te stellen. Na het uitsluiten van giardiasis moet bij iedere reiziger met malabsorptie of steatorroe, tropische spruw in de differentiaaldiagnose staan. Het onderscheid met inheemse spruw, coeliakie, kan lastig zijn, maar door de typische histopathologische afwijkingen in de duodenumbiopsies en door serologisch onderzoek kunt u met grote zekerheid het definitieve onderscheid tussen deze 2 aandoeningen maken. Verder reageert coeliakie niet op een behandeling met tetracyclinen, maar wel bij een glutenvrij dieet.

Literatuurlijst

1. Klinische probleemstellingen; CJE Kaandorp et al; tweede herziene druk 2012; Prelum uitgever; Houten.
2. Interne geneeskunde; J van der Meer, CDA Stehouwer; 12e herziene druk, 2001; Houten/Diegem; Bohn Stafleu Van Loghum
3. Inheemse of uitheemse spruw?; SUC Sankatsing, RJ Leguit, FJW ten Kate et al; Ned Tijdschr Geneesk. 2005; 149:2317-20; 21-10-2005



Making the highest quality blocks for you

Building on the success and key principles of SMART Automation, Sakura Finetek launches the second generation fully automated embedder: The Tissue-Tek® AutoTEC® a120.

Fully automation of the embedding process provides the highest consistency in block quality as it eliminates need for labor intensive manual handling and retains locked orientation throughout the process from grossing to microtomy.

Only the proven AutoTEC® technology combined with the Paraform® Sectionable Cassette System, and new a120 features for integrated track & trace of specimen blocks, ensure ultimate patient safety as millions of patients worldwide have experienced until today.

AutoTEC® a120 & Paraform® sets the standard in automated embedding

- Locked orientation throughout the process
- Predictable workflow and turnaround time
- Facilitating track & trace of specimen blocks
- Enhanced ergonomics



Sakura Finetek Holland B.V.
autotec.sakura.eu
smartautomation@sakura.eu



Geautomatiseerde calprotectine analyses

J. Krabben, M. de Graaf, J. Hartskeerl, M.P. Schuijt, Medische Laboratoria, Slingeland Ziekenhuis

Calprotectine in feces is een veelbelovende marker om onderscheid te maken tussen chronische darmontsteking en prikkelbaar darm syndroom. Met behulp van deze marker kunnen invasieve testen zoals colonoscopie (inwendig darmonderzoek) voorkomen worden (1). Omdat het aantal calprotectine analyses toeneemt, is de vraag naar een geautomatiseerde analyse groot. Verschillende diagnostische bedrijven zoals Orgentec/Siemens en Thermo Fisher bieden deze geautomatiseerde analyse aan. Omdat de analyses echter niet gestandaardiseerd zijn, kunnen de prestaties verschillen. In het Slingeland Ziekenhuis zijn de geautomatiseerde analyzers Alegria van Orgentec/Siemens en de ImmunoCAP250 van Thermofisher vergeleken. De analyzers werden beoordeeld op prestatie en gebruiksgemak. De prestaties van deze testen zijn tevens vergeleken met de calprotectine ELISA van Bühlmann van een extern laboratorium.

Wat is calprotectine?

Calprotectine is een eiwit dat aanwezig is in het cytoplasma van witte bloedcellen (neutrofiële granulocyten). Bij ontstekingen in de darm komt het eiwit vrij in de feces (ontlasting). De concentratie van calprotectine in de feces correleert goed met de ontstekingsactiviteit in de darmen. Daarom kan deze marker gebruikt worden bij onderzoek naar darmaandoeningen en bij het monitoren van ziekteactiviteit bij inflammatoire darmziekten (IBD) zoals de ziekte van Crohn of colitis ulcerosa.

Hoe wordt calprotectine in de feces bepaald?

De ontlasting (feces) wordt verzameld in een potje met een schepje in de deksel. Na extractie van calprotectine uit de ontlasting wordt deze gemeten door middel van een sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). De aanwezige calprotectine bindt aan een gelabeld antilichaam. De activiteit van het gebonden label wordt gebruikt als een maat voor de aanwezige calprotectine.

Volgens de firma's hebben beide analyzers een goede capaciteit. De Alegria kan 30 testen per run van ongeveer 90 minuten verwerken. Bij de ImmunoCAP250 zijn dit 50 testen per run in ongeveer dezelfde tijd. De ImmunoCAP250 is een automatische analyzer voor allergietesten en auto-immuun diagnostiek. De monsters worden aangeboden in een rek, waarna het apparaat de barcode leest en het monster pipetteert. Controles worden los aangeboden. De Alegria is een (semi-) automatische analyzer voor auto-immuundiagnostiek en infectie serologie. De Alegria maakt gebruik van teststrips waarin alle reagentia aanwezig is. Het te analyseren monster moet handmatig in een teststrip gepipetteerd worden. Het monster wordt vervolgens door middel van

een barcodescanner aan de teststrip gekoppeld. In elke teststrip is een interne controle aanwezig. Het reactieprincipe van de calprotectine analyse op zowel de Alegria als de ImmunoCAP250 is gebaseerd op het principe van een sandwich ELISA. Calprotectine in het monster vormt een antilichaam-antigeen complex met het antilichaam dat gecoat is aan de stationaire fase. Vervolgens bindt een enzym-gelabeld anticalprotectine antilichaam aan dit complex. Het daarna toegevoegde substraat wordt door het enzym omgezet. Bij de Alegria ontstaat bij deze omzetting een chromogeen product en bij de ImmunoCAP250 ontstaat een fluorescerend product. Beide producten zijn recht evenredig met de hoeveelheid calprotectine in het monster.

Methode

Verzameling materiaal

Voor dit onderzoek werden, gedurende 5 maanden, fecesmonsters van mannelijke en vrouwelijke patiënten in het Slingeland Ziekenhuis verzameld. Deze patiënten bezochten het ziekenhuis in het kader van darmproblematiek waar bij de internist of kinderarts een calprotectine analyse aanvraag. De aangeleverde fecesmonsters werden vervolgens gesplitst: een deel werd gestuurd naar een extern laboratorium voor de analyse van calprotectine met Bühlmann ELISA op de DS2 ELISA analyzer van Clindia. Het andere deel werd ingevroren bij -20°C. Calprotectine is goed stabiel in feces en is bevroren minimaal enkele maanden houdbaar (2).



Figuur 1: De Faecal Sample Preparation Kit van Roche Diagnostics die werd gebruikt voor de extractie van calprotectine uit feces.

Opwerken materiaal

In tegenstelling tot het (algemeen) gebruik van bloed/plasma, moet fecesmateriaal eerst opgewerkt worden voordat het geanalyseerd kan worden. Deze extractiestap kan grote invloed hebben op zowel de imprecisie als de juistheid van de daaropvolgende analyse. Bij calprotectine zijn er verschillende mogelijke collectie- en extractiemethoden en elke firma gebruikt hierbij haar eigen extractiemedium. Om de opwerking zoveel mogelijk te standaardiseren is voor de extractie van calprotectine uit feces de Faecal Sample Preparation Kit van Roche Diagnostics gebruikt. Deze kit wordt gezien als één van de betere extractiemethodes (3).

Deze kit bestaat uit een reageerbuis met een metalen spiraaltje en een bodem met een doseerkamer (figuur 1). Nadat de fecesmonsters waren gehomogeniseerd, werd de doseerkamer gevuld met feces en onder het reageerbuisje bevestigd. De doseerkamer bevat een vast volume met een massa van ongeveer 90-100 mg feces. Vervolgens werd de extractiebuffer toegevoegd en twee keer 30 seconden lang gemengd op de vortex, zodat de inhoud van de doseerkamer werd gesuspenderd in de extractiebuffer. Na centrifugatie werd het supernatant afgepipetteerd. Dit supernatant werd gebruikt voor de analyse. Omdat de verschillende extractiemedia niet uitgewisseld kunnen worden, zijn de media van zowel

Orgentec/Siemens als Thermo-Fisher gebruikt en werd er dus tweemaal een volledige opwerking per monster uitgevoerd.

Beoordeling imprecisie en juistheid

Om een indruk te krijgen van de juistheid werden 25 fecesmonsters op dezelfde dag opgewerkt en geanalyseerd met zowel de Alegria als de ImmunoCAP250. Dit werd uitgevoerd conform de Alternate Method Comparison, een methode gebaseerd op het NCCLS EP9 protocol. De resultaten hiervan werden vergeleken met de resultaten gevonden met de Bühlmann ELISA. De analyses met de Bühlmann ELISA waren op een eerder tijdstip uitgevoerd. De range van de calprotectine concentratie in de monsters lag tussen de 0 en 560 mg/kg (gemeten met de Bühlmann ELISA). Zowel de Alegria als de ImmunoCAP250 hebben een cutoff van 50 mg/kg, voor de Bühlmann ELISA wordt door het externe laboratorium een cutoff van 60 mg/kg met een dubieus gebied tot 200 mg/kg aangehouden.

Tabel 1: De kwantitatieve en kwalitatieve resultaten en de klinische diagnose van 25 monsters gemeten met de Alegria, ImmunoCAP250 en de Bühlmann ELISA.

Alegria	ImmunoCAP	Bühlman	Klinische diagnose
0,9 (neg)	4,6 (neg)	<40 (neg)	Verdenking voedselallergie
3,0 (neg)	2,5 (neg)	<40 (neg)	IJzerdeficiëntie
1,6 (neg)	6,3 (neg)	<40 (neg)	Aambeien
9,7 (neg)	5,0 (neg)	<40 (neg)	Onbekend
11 (neg)	13 (neg)	<40 (neg)	Onbekend
34 (neg)	48 (neg)	55 (neg)	Gegeneraliseerde infectie
61 (pos)	87 (pos)	125 (dub)	Chronische inflammatie
72 (pos)	82 (pos)	140 (dub)	Algemene buikproblemen
398 (pos)	258 (pos)	265 (pos)	Coeliakie
4,2 (neg)	4,6 (neg)	<40 (neg)	PDS
40 (neg)	20 (neg)	<40 (neg)	PDS
42 (neg)	22 (neg)	<40 (neg)	PDS
52 (pos)	35 (neg)	74 (dub)	PDS
67 (pos)	24 (neg)	44 (neg)	PDS
31 (neg)	32 (neg)	47 (neg)	CU (remissie)
38 (neg)	23 (neg)	53 (neg)	CU(remissie)
342 (pos)	325 (pos)	180 (dub)	CU (rem.; mogelijk Crohn)
620 (pos)	69 (pos)	71 (dub)	CU (remissie)
142 (pos)	202 (pos)	125 (dub)	Crohn
239 (pos)	104 (pos)	195 (dub)	Crohn
278 (pos)	213 (pos)	235 (pos)	Crohn
253 (pos)	139 (pos)	330 (pos)	Crohn
391 (pos)	229 (pos)	510 (pos)	Crohn
784 (pos)	725 (pos)	450 (pos)	Crohn
>1000 (pos)	447 (pos)	560 (pos)	Crohn

De imprecisie van de verschillende analyses werd onderzocht volgens het NCCLS EP-10 protocol, met als enig verschil dat het gemiddelde niveau niet door middel van gepoold materiaal gemaakt werd. De drie niveaus die gebruikt werden, hadden een calprotectine concentratie van ± 60 , 150 en 300 mg/kg feces (vastgesteld tijdens de Alternate Method Comparison). Het protocol bestaat uit 5 runs met 9 meetmomenten. De 9 meetmomenten bestaan uit de 3 concentraties die volgens een vaste volgorde gemeten worden. De runs werden elk op een aparte dag uitgevoerd. Voor elke run werden de extractiemonsters die in aliquots ingevroren waren, ontdooid. Bevroren extractiemonsters zijn volgens de literatuur minimaal 5 dagen stabiel (2). Het statistische programma EP-Evaluator 10.3 werd gebruikt voor de berekening van de variatie. De logistieke prestaties van de verschillende analyzers werden beoordeeld door de medewerkers die deze apparaten valideerden.

	Alegria		
Concentratie	Laag	Medium	Hoog
Intra-run SD	14.0	33.1	40.9
Totale SD (CV%)	16.0 (23.5%)	33.1 (16.5%)	40.9 (12.6%)
	ImmunoCAP250		
Intra-run SD	1.4	5.1	15.1
Total SD (CV%)	4.5 (11.9%)	9.8 (13.2%)	21.3 (7.1%)

Tabel 2: De berekende standaarddeviatie (SD) per run en de totale standaard deviatie (beide in mg/kg) en de variatie coëfficiënt (CV).

Resultaten

Op drie monsters na kwamen de uitslagen van zowel de Alegria, de ImmunoCAP250 als de Bühlmann ELISA goed overeen (zie tabel 2). Bij alle patiënten met de ziekte van Crohn waren zowel de Alegria als de ImmunoCAP250 positief. Met de Bühlmann ELISA werd er tweemaal een dubieus resultaat gevonden. Ook kwamen de resultaten bij de meeste patiënten met colitis ulcerosa (CU) goed overeen. Eén monster gaf echter een hoge calprotectine uitslag met de Alegria (620 mg/kg) die niet teruggevonden werd bij ImmunoCAP250 en de Bühlmann ELISA (respectievelijk 69 en 71 mg/kg). Bij twee patiënten met prikkelbaar darm syndroom (PDS) gaf de Alegria een positief resultaat (respectievelijk 52 en 67 mg/kg) waar met de ImmunoCAP250 beide keren een negatief resultaat gevonden werd. De Bühlmann gaf een negatief en een dubieus resultaat.

De uitslagen van de Alternate Method Comparison werden gebruikt om geëxtraheerde monster te selecteren voor de EP-10 protocol. De gebruikte monsters voor de Alegria hadden een concentratie (in mg/kg) van 67 (laag), 142 (midden) en 278 (hoog) en voor de ImmunoCAP250 van 48 (laag), 139 (midden) en 325 (hoog). Vreemd genoeg bleek bij de ImmunoCAP250 de waarde van het midden monster na 7 dagen bewaren bij -20°C te zijn gedaald naar ± 80 mg/kg. Dit werd niet bij andere waarden of bij de Alegria waargenomen.

Bij de Alegria moesten er 3 extra runs uitgevoerd worden om de Alternate Method Comparison compleet te maken. Eenmaal werd een run afgekeurd wegens een

uitschieter bij de hoge concentratie en tweemaal omdat de interne controle op een teststrip buiten de referentiewaarden viel. De variatie was bij de analyses met de Alegria duidelijk groter dan bij de ImmunoCAP250 (zie figuur 2 en tabel 2). Hoewel suggestief, er was geen statische verschil tussen meetdag 1 en meetdag 5 bij de analyses op de ImmunoCAP250.

Gebruiksgemak

De opwerking van de fecesmonsters werd in het algemeen als bewerkelijk ervaren. Het is tijdrovend en door de variatie in de consistentie van de fecesmonsters, is het per monster verschillend hoe gemakkelijk het opwerken is. Het opstarten van de ImmunoCAP250 kost enige tijd. Een nadeel van de ImmunoCAP250 is dat er geen reagens tijdens een run bijgeladen kan worden, met uitzondering van de reactie wells. Hierdoor dient van te voren ingeschat te worden hoeveel reagens er nodig is voor een run. Calprotectine kan op de ImmunoCAP250 tegelijk met andere (EliA) bepalingen geanalyseerd worden. Nadat de monsters gepipetteerd zijn, kunnen de monsterrekken opnieuw geladen worden met nieuwe monsters. Een run duurt 90 minuten + 1 minuut voor elke aangeboden test. De capaciteit van de ImmunoCAP250 is ongeveer 250 analyses per werkdag.

De Alegria is een overzichtelijk apparaat waar makkelijk mee te werken is en weinig onderhoud behoeft. Het opstarten kost weinig tijd. De monsters worden handmatig in een teststrip gepipetteerd, en de teststrip wordt gekoppeld aan het monster via een barcode scanner. Door deze handmatige handeling is er wel een risico op

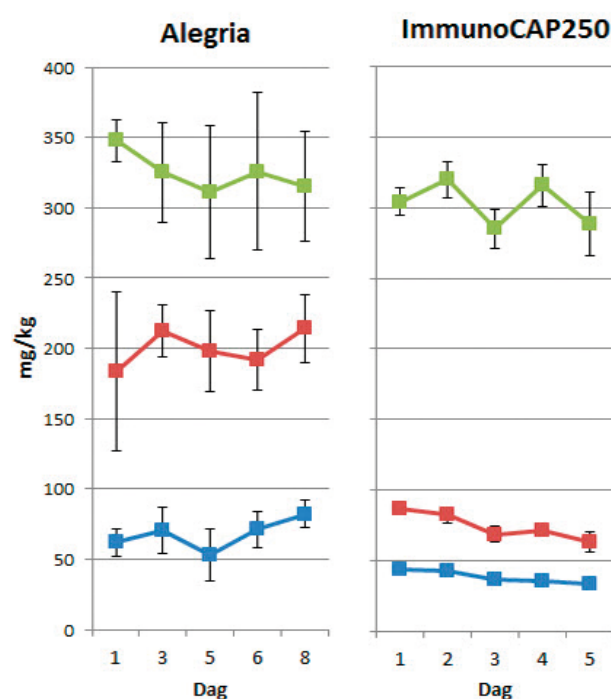
een patiënten verwisseling. De teststrips bevatten de reagentia en controles voor de analyse. Op het apparaat is alleen wasvloeistof aanwezig. Deze moet vooraf aan de run geplaatst worden. Zodra de monsters zijn aangeboden, is het eerste resultaat binnen 70 minuten en het laatste binnen 90 minuten bekend. Er kunnen maximaal 30 analyses per run uitgevoerd worden, waarbij de calprotectine gelijktijdig met auto-immuundiagnostiek of infectieserologie geanalyseerd kan worden. De capaciteit op een werkdag van 8 uur is voor de Alegria rond de 120 analyses.

Conclusie

De analyses van calprotectine op de Alegria, de ImmunoCAP250 en de Bühlmann ELISA komen over het algemeen goed overeen. Als de resultaten worden vergeleken met de klinische diagnose, lijkt de ImmunoCAP250 het dichtst bij de juiste meetwaarde uit te komen. Hierbij moet echter wel worden opgemerkt dat dit maar een geringe studie is en er geen gouden standaard bestaat voor de calprotectine analyse.

Bij de Alegria is de variatie in de analyse groter dan die van de

Figuur 2: Resultaten ($\pm$ SD) van het EP10 protocol uitgevoerd op de Alegria en op de ImmunoCAP250.



ImmunoCAP250. Een mogelijke verklaring hiervoor is dat bij de Alegria meer handmatige stappen vereist zijn dan bij de ImmunoCAP250. De variatie in de collectie en de extractie van de fecesmonsters is in deze apparaatvergelijking zoveel mogelijk gelijk gehouden. In de praktijk moet men echter rekening houden met een grote bijdrage van de pre-analyse op de totale variatie van de analyse, waarbij onduidelijk is hoeveel analytische variatie acceptabel is.

Tot slot moet men bij de analyse van calprotectine bedacht zijn op de beperkte houdbaarheid van calprotectine in het extractiemedium, wat bij ons het geval leek te zijn bij de analyse op de ImmunoCAP250. De uiteindelijke voorkeur voor een analyzer hangt erg af van de hoeveelheid calprotectine monsters die op

een laboratorium geanalyseerd dient te worden en hoe dit past in de logistiek van een specifiek laboratorium. De Alegria is vooral geschikt voor een wat lager aantal monsters en/of dagelijkse analyse. De ImmunoCAP250 kan gemakkelijk een groter aantal monsters aan en is met name geschikt voor een batchgewijs aanbod.

Met dank aan Siemens voor het uitlenen van de Alegria en het beschikbaar stellen van de reagentia.

Literatuur

1. Kok MB & Van Pelt J Calprotectine in de praktijk, Analyse 2013;(8):239-41
2. Joosen AMCP, KOK MB, Van der Linden IJM, et al. Analytische en klinische evaluatie van de bepaling van calprotectine in feces, NTKC 2013;(38):196-201

3. Oyaert M, Trouvé C, Baert F., et al. Comparison of two immunoassays for measurement of fecal calprotectin in detection of inflammatory bowel disease: (pre)analytical and diagnostic performance characteristics, Clin Chem Lab Med. 2014;(52): 391-7

OVER AUTEUR

Correspondentie adres:

M.P. Schuijt

Medische Laboratoria

Slingeland Ziekenhuis

Kruisbergseweg 25

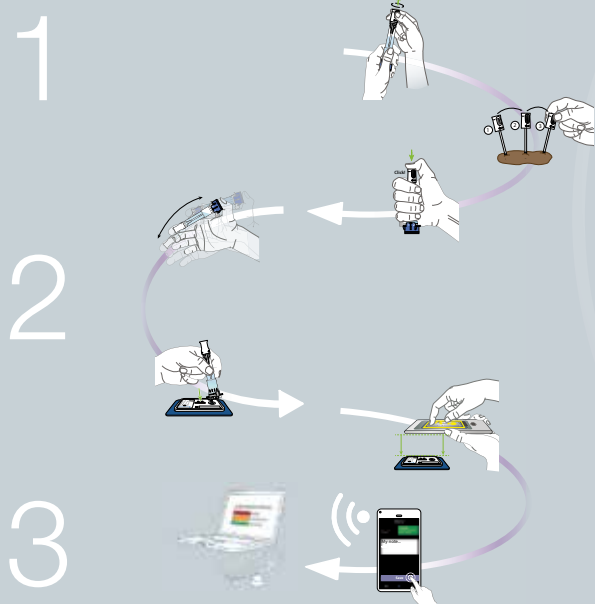
7009 BL Doetinchem

tel. 0314-329409

e-mail: m.schuijt@slingeland.nl

IBDoc® Calprotectin Home Test

A Step Forward towards Patient Empowerment



Alere Health BV Charles Stulemeijerweg 15 | NL-5026 RS Tilburg

T +31 (0)13 467 27 00 | F +31 (0)13 467 80 16 | infoNL@alere.com | www.alere.com

Alere Health BVBA/SPRL Gaston Crommenlaan 4 | B501 B-9050 Gent

T. +32 (0)9 333 30 00 | F. +32 (0)9 388 89 33 | infoBE@alere.com | www.alere.com



Patiënt-controle gastro-enteritis onderzoek; een leegloop van pathogenen?

M. Dullaert-de Boer, J. Wallinga, A. Stellingwerff, M. Janssen, O. Lindeboom, T. Schuurs

Iedereen heeft er weleens last van: diarree. Dit wordt samen met ernstige buikklachten ook wel gastro-enteritis genoemd. Hoewel gastro-enteritis bij gezonde volwassenen vaak niet ernstig maar wel heel ongemakkelijk is, kan het bij zieke, jonge kinderen en zeer oude mensen levensbedreigende situaties teweegbrengen.

Gastro-enteritis bestaat meestal uit acute diarree en kan gepaard gaan met verlies van eetlust, misselijkheid en buikkrampen. Vaak duren de klachten minder dan 14 dagen. Duren deze klachten langer dan is er sprake van chronische diarree. (1) De micro-organismen die gastro-enteritis veroorzaken, kunnen van mens op mens worden overgedragen, maar ook door middel van besmet voedsel of besmet water. Dit heeft te maken met hygiëne: Wassen we onze handen na het wc-bezoek, zijn de groenten goed gewassen en is ons stukje vlees goed verhit geweest?

Bij patiënten met gastro-enteritis klachten, kan met een fecesonderzoek worden bepaald of de klachten veroorzaakt worden door een infectie. Het tijdrovende en minder sensitieve fecesonderzoek bestond voorheen uit kweek en microscopie. Door de introductie van met name multiplex real-time PCR, is het onderzoek veel sneller en sensitiever geworden. Indirect heeft dit ook effect gehad op de kweek. Indien de analist wist dat er DNA van *Campylobacter* en *Shigella spp* in de feces aangetoond was, werd de bacterie vaker in de kweek gedetecteerd dan bij collega analisten die niet op de hoogte waren van dit positieve

PCR-resultaat (3). De laatste jaren is er door verschillende laboratoria gewerkt aan de verhoging van de efficiëntie van dit onderzoek (2).

Niet iedereen zal klachten krijgen van de micro-organismen die gastro-enteritis kunnen veroorzaken. Er zijn mensen die deze micro-organismen bij zich dragen zonder ziek te worden. Geringe hoeveelheden bacteriën of parasieten kunnen vaak niet met kweekmethoden en/of microscopie worden aangetoond, maar wel gedetecteerd worden door middel van PCR.

Om de waarde van moleculaire diagnostiek te kunnen beoordelen, is het van belang deze techniek te testen op een gezonde populatie zonder gastro-intestinale klachten. Daarom is door een aantal laboratoria in 2010 besloten een gastro-enteritis case-control studie op te starten. In deze studie is onderzocht welke potentiële bacteriologische en/of parasitaire verwekkers van gastro-enteritis, voorkomen (en bovendien in welke mate) in de feces van personen zonder gastro-enteritis klachten (controles) in vergelijking met de aanwezigheid van deze verwekkers in een populatie die wel gastro-enteritis klachten hebben (cases). De studie is een



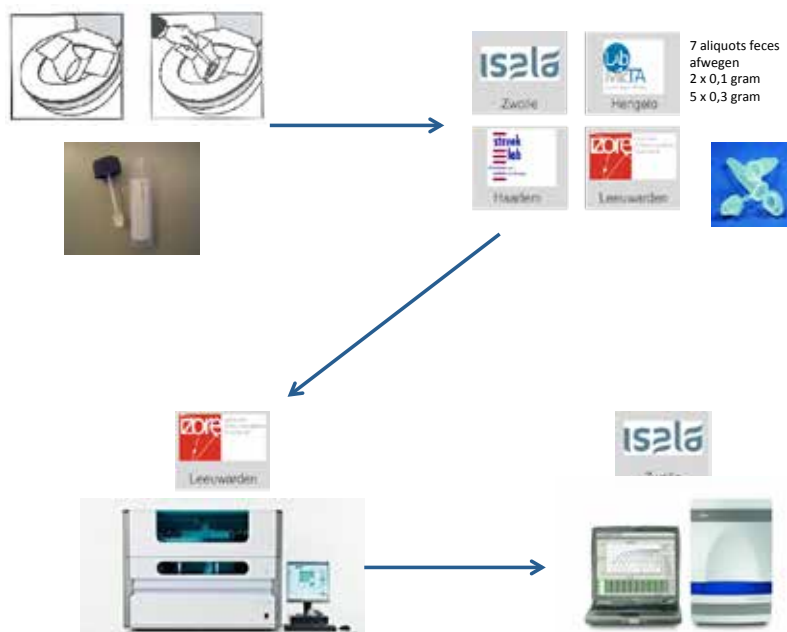
Figuur 1 De vier medisch microbiologische laboratoria: Isala (Zwolle), LabMicTA (Hengelo), Streeklaboratorium Kennemerland (Haarlem) en Izore (Leeuwarden).

samenwerking van vier medisch microbiologische laboratoria: Isala (Zwolle), LabMicTA (Hengelo), Streeklaboratorium Kennemerland (Haarlem) en Izore (Leeuwarden).

Studie opzet

Huisartspraktijken uit de verschillende regio's die de vier laboratoria bedienen, zijn aangeschreven en persoonlijk benaderd om mee te werken aan deze case-control studie. Er werd gevraagd om feces in te sturen van de patiënt met gastro-enteritis klachten en bijpassende controles (op basis van leeftijdsgroep, geslacht en maand van monsterafname) van een huisartspatiënt zonder gastro-enteritis klachten. Het includeren van controles door de huisartspraktijken was lastig. Daarom zijn per regio gezonde vrijwilligers, die aan hierboven genoemde voorwaarden voldeden, uitgenodigd om feces in te sturen voor deze studie.

Alle deelnemers hebben een vragenformulier ingevuld. Hierin is gevraagd naar geboortedatum (leeftijd), geslacht en postcode, buitenlandse reizen, of er in het gezin/familie gastro-enteritis klachten voorkomen, gebruik van antibiotica



Figuur 2
Workflow
schema

en gebruik van maagzuurremmers. Aan de cases werden nog een aantal extra vragen gesteld over de gastro-enteritis klachten zoals: aard en duur klachten (diarree, braken, buikkrampen) en, slijm of bloed in de ontlasting.

Voordat deze studie van start kon gaan, moest het diagnostisch proces van de vier laboratoria in kaart worden gebracht. De verschillende primers en probes die per target gebruikt worden per laboratorium, zijn vergeleken. Wat wordt er precies gedetecteerd? Dit kan zorgen voor discrepanties tussen de lokale en de centrale bevindingen. Er is besloten alleen de kweekmethode aan te passen, voor *Campylobacter* is gedurende de studie hetzelfde protocol gehanteerd.

De volgende targets werden getest: *Campylobacter* spp, *Salmonella* spp, alleen pathogene *Yersinia enterocolitica*, alleen toxigene *Clostridium difficile*, *Shigella* spp/enteroinvasieve *E. coli* (EIEC), enteroheemorrhagische *E. coli* (EHEC), enterotoxigene *E. coli* (ETEC), enteroaggregatieve *E. coli* (EAEC), atypische en typische enteropathogene *E. coli* (aEPEC en tEPEC), shiga like toxigene *E. coli* (STEC), *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum/hominis*, en *Dientamoeba fragilis*.

De feces van elke case en controle werd gesplitst in zeven gelijke delen en opgeslagen bij -80 graden. Hiervoor werd de logistiek van registreren tot aan het bijhouden van de lokale database binnen ieder laboratorium aangepast.

Elk laboratorium voerde zijn eigen diagnostiek uit voor deze case-control samples. De resultaten beschreven in dit artikel werden echter verkregen door alle monsters centraal te verwerken en te isoleren. Hiermee werd voorkomen dat laboratorium-specifieke protocollen van invloed zouden kunnen zijn op de uiteindelijke uitkomsten. Hiervoor zijn alle samples na het beëindigen van de studie nogmaals volledig opgewerkt door één laboratorium.

Van elk monster werd 100mg feces voorbehandeld met S.T.A.R-buffer en gehomogeniseerd met de MagNaLyser. Na centrifugeren bij 13.000 rpm werd van 100µl supernatant, het DNA en RNA geïsoleerd met behulp van de MagNaPure 96 extractierobot (Roche, Zwitserland). Aan het feceslysaat werd een vaste hoeveelheid interne controle (zeehond herpesvirus) toegevoegd. Extracties werden centraal verricht door Izore (figuur 2). De extracten werden vervolgens door Isala (fig.2) geanalyseerd met de

verschillende multiplex PCR's. Opwerking en analyse vond gecodeerd plaats zonder dat men op de hoogte was of het een case of controle betrof. Bij verschillen tussen de lokale en de centrale database werd een van de 7 aliquots van het monster opnieuw opgewerkt en door beide laboratoria opnieuw onderzocht. Indien de discrepantie bleef bestaan werd het resultaat geëxcludeerd. De resultaten van de centrale database worden gepresenteerd en uitvoerig behandeld in het artikel van Bruijnestein et al (4).

Resultaten

In totaal zijn er 1515 cases en 1195 controles geïncludeerd in deze studie (figuur 3). Van de 1195 controles zijn er 644 door de huisartspraktijk ingestuurd. 558 controles zijn onder laboratoriumpersoneel (79) of familie en vrienden van het laboratoriumpersoneel geworven. Een of meerdere micro-organismen werden gevonden bij 818 (54%) feces monster van de 1515 cases. In de controlegroep betrof dit 584 (49%) van de 1195 feces monsters.

De meeste van de onderzochte bacteriën en parasieten, worden significant vaker gevonden in cases dan in controles. Dit zijn: *Campylobacter* spp, *Salmonella* spp, *C. difficile*, *EIEC/Shigella* spp, ETEC, EAEC, atypische EPEC, *C. parvum/hominis* en *G. lamblia*. Typische EPEC werd even vaak in cases als in controles gevonden. Enkele van de onderzochte parasieten en bacteriën werden in het tijdsbestek van deze studie niet of slechts enkele keren gedetecteerd. Dit zijn *Entamoeba histolytica* (niet gedetecteerd), *Y. enterocolitica* (2x gedetecteerd) en EHEC (4x gedetecteerd).

D. fragilis en STEC worden minder vaak aangetoond in cases dan in de controles. Voor de *D. fragilis* is dit verschil significant. Bij de STEC is deze trend duidelijk waarneembaar maar net niet significant ($p=0.07$).

De mate (relatieve load) waarin de micro-organismen werden

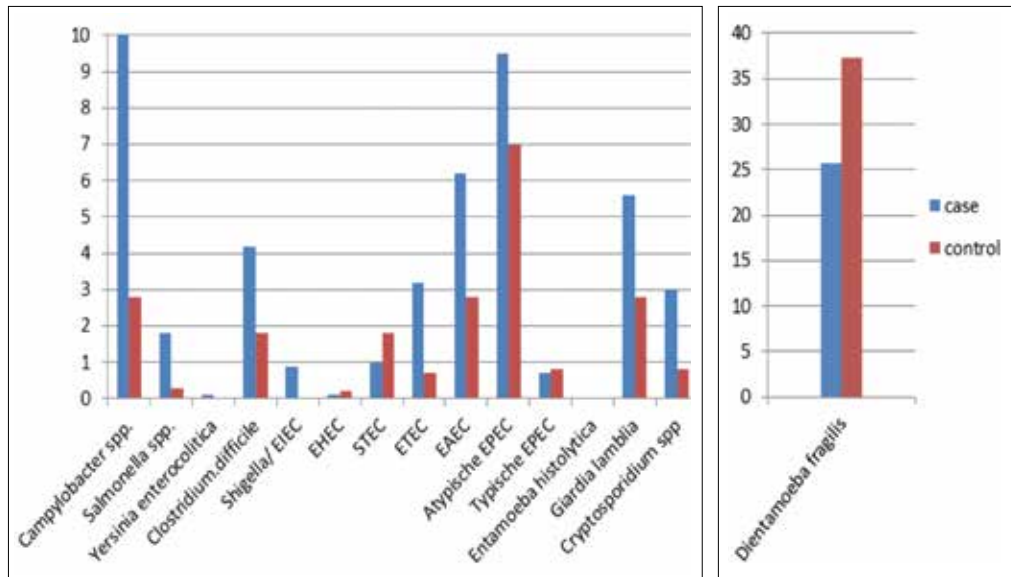
aangetroffen kan aan de hand van Ct-waarden worden bekeken: Een lage Ct-waarde correspondeert met een hoge relatieve load (veel micro-organismen aanwezig), en visa versa. Significant hogere loads, in cases, werden aangetroffen voor *Campylobacter spp.*, *Salmonella spp.*, ETEC, typische EPEC, *C. parvum/hominis* en *G. lamblia*. Voor *C. difficile*, EAEC en atypische EPEC geldt dit alleen voor specifieke leeftijdscategorieën. Voor *D. fragilis* en STEC, wordt er een relatief lagere load aangetroffen in cases. In figuur 5 zijn een aantal voorbeelden weergegeven van de mate van aanwezigheid van bepaalde micro-organismen in cases en controls, totaal en per leeftijdscategorie.

Discussie

Case-controle studies voor gastro-enteritis zijn vaker uitgevoerd. Twee voorbeelden hiervan zijn een studie in Groot-Brittannië door Amar et al (9) en een Nederlandse NIVEL-studie door de Wit et al (5).

In de studie van de Wit werden, door middel van kweek en microscopie, *Salmonella spp*, *Campylobacter spp*, *Cryptosporidium* significant vaker in feces van cases dan in controls gedetecteerd. Het percentage positieve feces monsters met uitzondering van *Shigella/EIEC*, *Cryptosporidium parvum/hominis* en *D. fragilis* was vergelijkbaar met deze recente CCGE-studie. Blijkbaar kwam er ruim 15 jaar geleden veel meer *Salmonella spp* en *Campylobacter spp* voor. Dus hoewel de PCR de detectie veel gevoeliger heeft gemaakt (3) komt er, mogelijk als gevolg van een betere hygiëne en alertheid bij voedselbereiding, minder salmonellose en campylobacteriose voor. Verschillende publicaties waaronder een recent EFSA (European Food and Safety Authority) rapport bevestigen deze ontwikkeling (11).

Bij STEC denkt men aan de uitbraak in Duitsland in 2012 met de STEC serotype O104 H4 waarbij meer dan 50 mensen overleden. STEC is een aangifteplicht-



Figuur 3 De onderzochte parasieten en bacteriën gedetecteerd in deze CCGE-studie

tige pathogeen en wordt aan de GGD gemeld. De GGD probeert vervolgens de mogelijke bron van de infectie te achterhalen. In onze studie werd STEC, net niet significant, minder vaak aangetroffen in feces van cases dan in die van controles. Deze bevindingen dat het aantreffen van stx genen alleen (dit zijn de genen die worden gedetecteerd in de STEC PCR) onvoldoende is om te kunnen zeggen dat deze STEC-bacterie de veroorzaker is van de gastro-

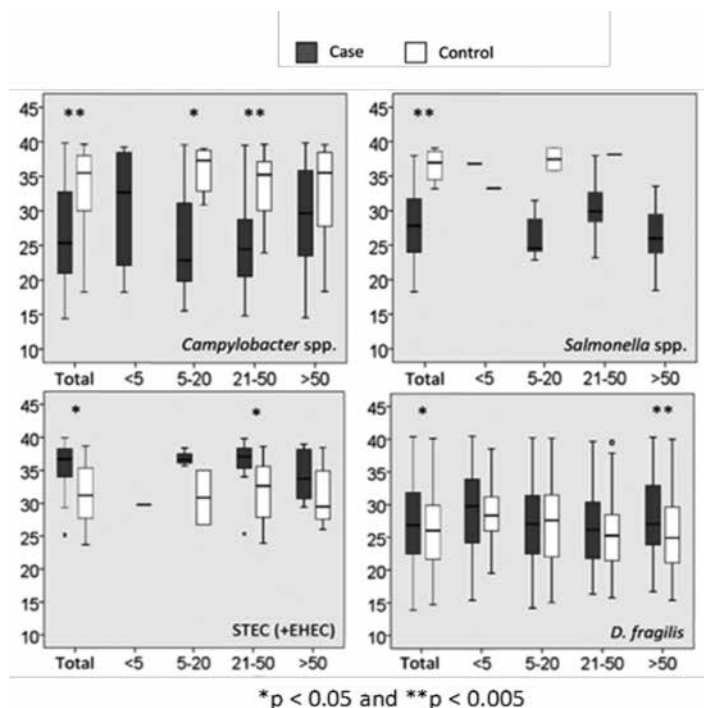
intestinale klachten. De European Food and Safety Authority doet daarom aanbevelingen om naast de stx genen ook te kijken naar de aanwezigheid van additionele virulentiefactoren (10).

Sinds invoering van de moleculaire PCR van *Dientamoeba fragilis* is deze veel gedetecteerd in de ontlasting van kinderen met buikpijn. In onze studie wordt *D. fragilis*, significant minder gedetecteerd in de ontlasting van cases dan in

	Case (n=1515)	Control (n=1195)
leeftijd		
<5 jaar	152	104
5-20 jaar	313	208
21-50 jaar	557	445
>50	493	428
geslacht		
man	651	518
vrouw	864	678
verblijf buitenland	226	72
gezinsleden met gastro-enteritis klachten	221	43
Maagzuurremmers	221	100
Antibiotica	99	29
Diarree	1137	NVT
geen diarree	84	NVT
<1 week diarree	188	NVT
1-2 weken diarree	313	NVT
> 2 weken diarree	636	NVT
buikkrampen/pijn	944	NVT
koorts	185	NVT
braken	175	NVT
bloed in feces	115	NVT
slijm in feces	302	NVT

Tabel 1 Klinische informatie afgeleid van het ingevulde enquêteformulier per controle en case (5).

Figuur 4 De Ct-waardeverdeling in cases en controles voor *Campylobacter* spp, *Salmonella* spp, *STEC* en *D. fragilis*, totaal en per leeftijdscategorie.



die van controls. In een eerdere Nederlandse NIVEL-studie, was al aangetoond dat *Dientamoeba fragilis* vaker voorkomt bij de controlegroep. Deze uitkomsten waren door middel van kweek en microscopie tot stand gekomen en verschilden niet significant (5). De gevonden percentages positieven waren in de CCGE-studie in beide groepen hoger dan in de studie van de Wit. Daarnaast werd in deze studie geen verschil in prevalentie gezien qua leeftijd, iets wat statistisch wel kan worden onderbouwt in de CCGE-studie. Er wordt geen significant verschil gevonden in de leeftijdsgroep <5 jaar bij cases en controles. In de andere leeftijdsgroepen is dit wel significant verschillend. Bij de vraag of *D. fragilis* een darm pathogeen is, worden vraagtekens gezet. Ook ander recent gepubliceerd Nederlands onderzoek en een placebogecontroleerde interventiestudie (Röser) steunen een rol van *D. fragilis* bij chronische buikpijn niet (6-7-8). Naar aanleiding van deze resultaten hebben 3 van de 4 deelnemende centra aan deze studie besloten om niet meer standaard te screenen op aanwezigheid van *D. fragilis* in de feces van patiënten met gastro-intestinale klachten.

Conclusie

Onze case control studie bevestigt dat voor een juiste interpretatie van een laboratoriumuitslag

(ook een moleculaire uitslag), de kennis van diagnostiek en de klinische informatie van de patiënt moeten worden samengebracht. De meeste micro-organismen komen significant vaker en bovendien met een hogere relatieve load voor in de cases dan de controls. Dit geldt voor *Campylobacter* spp, *Salmonella* spp, ETEC, *Cryptosporidium parvum/hominis* en in bepaalde leeftijdscategorieën *C. difficile*, *G. lamblia*, EAEC en atypische EPEC. Deze data bevestigen een causaal verband tussen het aantreffen van een van deze micro-organismen en het hebben van klachten. Van *Dientamoeba fragilis* en de STEC, die vaker gedetecteerd worden in controls, kan dit op basis van deze studie niet gezegd worden.

Een Ct waarde is een getal waarbij semi-kwantitatief een hoeveelheid micro-organismen wordt weergegeven van een target. Vanwege de grote overlap in Ct waarden tussen case en control groepen is deze een onbetrouwbare waarde om voor de individuele patiënt te kunnen gebruiken als causaal voorspellende waarde. Alleen bij *Salmonella* spp. En ETEC werden Ct waarden lager dan 33 alleen in de casegroep aangetroffen. Een andere belangrijke bevinding is dat bij kinderen veel asymptomatisch dragerschap wordt gezien.

(4) Voor deze groep geldt nog meer dat klinische informatie van essentieel belang is bij het beoordelen van de diagnostiek resultaten.

Afsluitend kunnen we zeggen dat de voordelen van moleculaire diagnostiek, in termen van snelheid en gevoeligheid, het onderzoek naar microbiologische verwekkers van gastroenteritis enorm heeft verbeterd, maar dat klinische informatie belangrijk is bij een goede interpretatie van een positief PCR-resultaat.

Auteur

Een studie, zoals de CCGE studie, vergt de inzet van velen. Van de huisartsen, die gezamenlijk meer dan 2800 materialen hebben ingestuurd. Tot de analisten die op allerlei fronten hebben meegewerkt aan de coördinatie en administratie van materialen, voorbehandeling en DNA-extractie, PCR-analyses et cetera. De volgende analisten worden genoemd vanwege hun extra bijdrage aan de studie:

- Maria de Boer <m.deboer@labmicta.nl>, senior analist moleculaire microbiologie LabMicta, Hengelo
- Janny Wallinga <j.g.wallinga@isala.nl>, senior analist moleculaire microbiologie Isala, Zwolle
- Age Jan Stellingwerff <A.Stellingwerff@izore.nl>, senior analist moleculaire microbiologie Izore, Leeuwarden
- Mirjam Janssen <m.janssen@isala.nl>, microbiologisch analist en kwaliteitsdienstfunctionaris Isala, Zwolle
- Oege Jan Lindeboom <O.Lindeboom@izore.nl>, senior analist moleculaire microbiologie Izore, Leeuwarden

Verder betrof het een goede mix van artsen microbioloog: Gijs Ruijs (Isala), Bert Mulder (LabMicta) en Jan Weel (Izore), een parasitoloog: Theo Mank (streek-lab Haarlem), en moleculair biologen: Lesla Bruijnesteijn (Isala), Adri van der Zanden (LabMicta), Ruud Jansen, Wil van der Reijden (beide streeklab Haarlem) en Theo Schuurs (Izore)

Literatuur

1. NHG-Standaard Acute diarree (derde herziening) J. Belo, M.L. Bos, P.C. Brühl, W.H. Lemmen, M.A.M. Pijpers, M. van den Donk, J. Burgers, M. Bouma, M. Loogman. Huisarts en Wet 2014; vol 47. No 9: 462-471
2. Parasitological diagnosis combining an internally controlled real-time PCR assay for the detection of four protozoa in stool samples with a testing algorithm for microscopy. Bruijnesteijn van Coppenraet L.E., Wallinga J.A, Ruijs G.J., Bruins M. J., Verweij J.J., Clin Microbiol Infect 2009; vol15: 869-74.
3. Detection of Campylobacter species and Arcobacter butzleri in stool samples by use of real-time multiplex PCR. De Boer R.F., Ott A, G üren P, van Zanten E, van Belkum A, Kooistra-Smid A.M. J. Clin. Microbiol 2013; vol 51. No1: 253-259.
4. Case-control comparison of bacterial and protozoan microorganisms associated with gastroenteritis: application of molecular detection. Bruijnesteijn van Coppenraet L.E, Dullaert-de Boer M, Ruijs G.J, van der Reijden W.A, van der Zander A.G, Weel J.F, Schuurs T.A. Clin microbiol Infection 2015; available online: feb 18: in press
5. Gastroenteritis in sentinel general practices, The Netherlands. De Wit MA, Koopmans MP, Kortbeek LM, van Leeuwen NJ, Bartelds AI, van Duynhoven YT. Emerg Infect Dis 2001; vol 7: 82-91.
6. Dientamoeba fragilis and chronic abdominal pain in children: a case-control study. De Jong M.J. Korterink J.J, Benninga M.A, Hilbink M, Widdershoven J, Deckers-Kocken J.M. Arch. Dis. Child. 2014; vol 99:1109-1113.
7. Metronidazole therapy for treating dientamoebiasis in children is no associated with better clinical outcomes: a randomized, double blinded and placebo controlled clinical trial. Röser D, Simonsen J, Stensvold C.R. et al. Clin. Infect. Dis 2014; vol 58, No12:1692-1699.
8. Are human intestinal Eukaryotes Beneficial or Commensals? Julius Lukas, Christen Rune Stensvold, Katerina Jirku-Pomajbikova, Laura Wegener Parfrey. Plos Pathog 11(8) 1005039, august 13,2015
9. Detection by PCR of eight groups of enteric pathogens in 4,627 faecal samples: re-examination of the English case-control Infectious Intestinal Disease Study (1993-1996). Amar C.F., East C.L., Gray J, Iturriza-Gomara M, Maclure E.A., McLauchlin J. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2007; vol 26: 311-23.
10. Scientific opinion on VTEC-seropathotype and scientific criteria regarding pathogenicity assessment. EFSA Journal 2013; 11No 4: 3138
11. EFSA and ECDC (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control), 2015. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2013. EFSA Journal 2015;13(1):3991, 162 pp.



Vacancy Analyst B: Medical Microbiology Technologist

St. Maarten Laboratory Services NV (SLS) is a young and rapidly growing organization within the health care sector in St. Maarten. SLS provides services to in-patients, outpatients, patients referred by General Practitioners and specialists, other laboratories, government and the private sector. Our mission is to provide quality and a reliable service to our clients.

The purpose of this position is to conduct laboratory tests using protocols and guidelines according to ISO15189. In addition, the Medical Technologist works alongside the Medical Microbiologist to modify or develop new methods, techniques or conduct investigation.

Key Responsibilities

- Coordinates the work activities and gives guidance to the department
- Is the point of contact for the department
- Carries out routine and complex analyses on patient materials
- Advices on selection of analytical methods and / or purchase of new equipment
- Develops, maintain and verify SOP's
- Maintaining and repairing equipments

Requirements and skills needed

- Completed Bachelor's degree in Medical Microbiology with minimum 5 years' experience in a medical laboratory environment
- Demonstrate coaching and training skills to train and coach staff
- Knowledge and experience with laboratory quality systems ISO 15189 or CCKL
- Knowledge and experience with laboratory (automated) information systems
- Experience with document management systems
- Strong analytical and communication skills
- Time management
- Good command of the English and Dutch language

If you meet the above criteria and interested in this position, email your resume and cover letter to Adelena Schaap at aschaap@sls.sx.

Need a challenge? Exceed your potential... come join us!

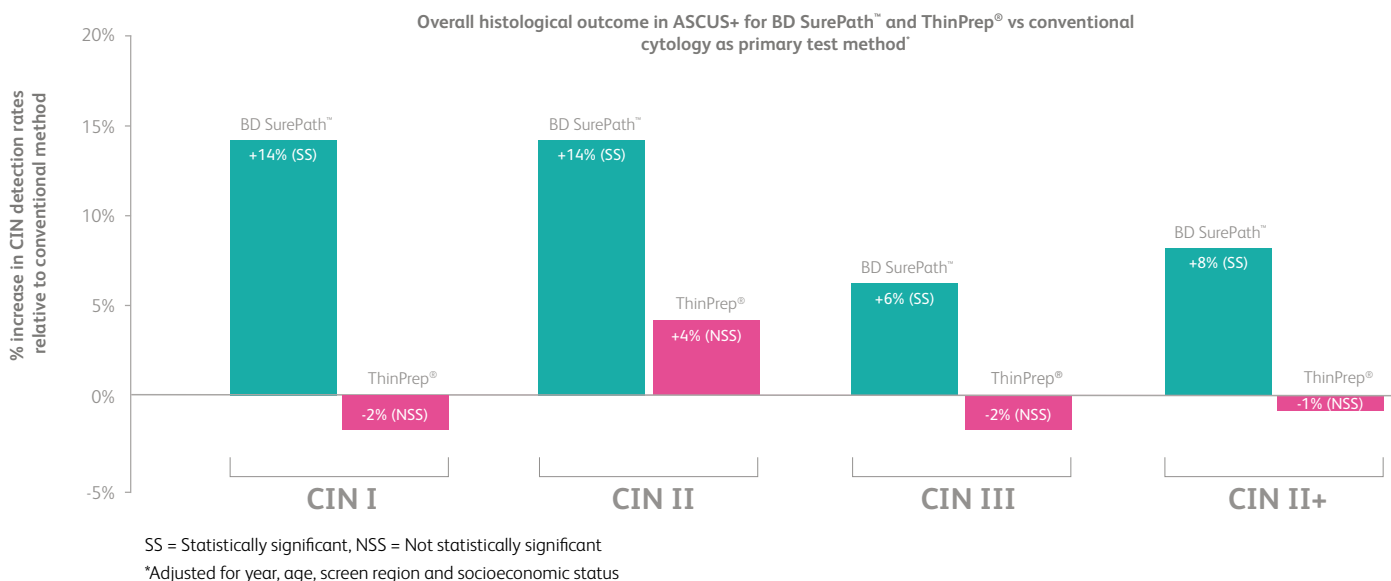
Have you seen the Dutch data?

BD SurePath™ Liquid-based Pap Test

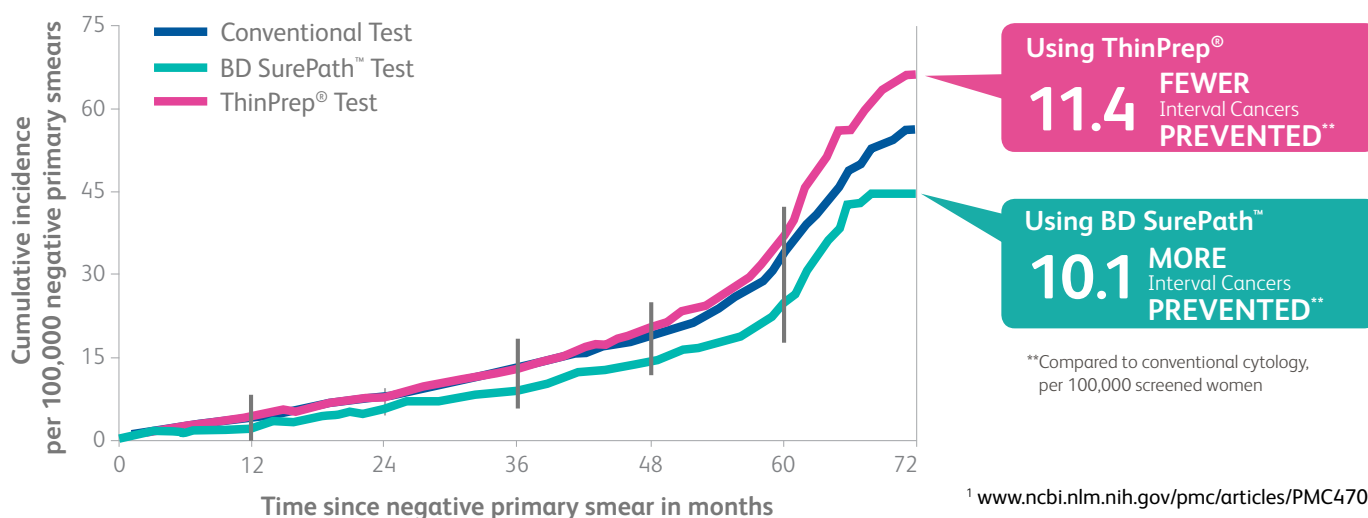
It's confirmed — BD SurePath™ is the right choice

Independent analysis shows BD SurePath™ Liquid-based Pap Test finds more disease, earlier

BD SurePath™ was associated with a statistically significant increase in the detection of CIN2+¹



BD SurePath™ was associated with lower interval cervical cancer rates²



¹ www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4703623/

The unadjusted cumulative incidence of cervical cancer is significantly lower 1, 3, 4 and 5 years after a negative primary BD SurePath™ smear than after a conventional smear.

¹ Rozemeijer K, Penning C, Siebers AG, et al. Comparing SurePath, ThinPrep, and conventional cytology as primary test method: SurePath is associated with increased CIN II+ detection rates. *Cancer Causes Control*. 2015 Oct 12. [Epub ahead of print]

² Rozemeijer K. Cervical cancer incidence after a negative smear: comparing SurePath and ThinPrep with conventional cytology. Poster presented at the 15th World Congress of the International Federation of Cervical Pathology and Colposcopy; May 26-30, 2014; London.

© 2016 BD. BD, BD Logo and BD SuperPath are trademarks of Becton, Dickinson and Company.



BD

BD Lifesciences
Netherlands
Tel : 31.20.654.52.25
bd.com/ds

Het microbiome van de darm: een rol bij het ontstaan van dikkedarmkanker?

Dr. Annemarie Boleij, wetenschappelijk onderzoeker, Pathologie, Radboudumc, Nijmegen

De laatste jaren zijn onze microben steeds meer onder de aandacht. In 2015 is Micropia in Artis geopend. 's Werelds eerste museum waar de onzichtbare wereld van micro-organismen zichtbaar wordt gemaakt. Het doel van Micropia is om het algemene publiek kennis te laten maken met de microbiologie en de kloof tussen wetenschap en het publiek te verkleinen. Micropia wil laten zien dat microben niet alleen maar negatief zijn, maar juist belangrijk zijn voor onze gezondheid en in vele toepassingen gebruikt kunnen worden (<http://www.micropia.nl>). Ook binnen de medische wetenschap is inmiddels veel meer aandacht voor microben, en niet alleen binnen het veld van de medische microbiologie. Steeds meer andere disciplines verkennen de relatie tussen ziekte, gezondheid en microben. Mijn onderzoek richt zich specifiek op de microben in ons maag-darmstelsel in relatie tot het ontstaan van dikkedarmkanker.

Belang voor gezonde darmfunctie

Microben in de darm bestaan voor het overgrote deel uit bacteriën. Tijdens de eerste twee jaar van ons leven worden onze darmen gekoloniseerd met bacteriën. Meer dan 1000 verschillende soorten leven er in onze darm en de concentratie van bacteriën neemt gradueel toe van de maag ($<10^4$) naar het colon (10^{11} - 10^{12}).

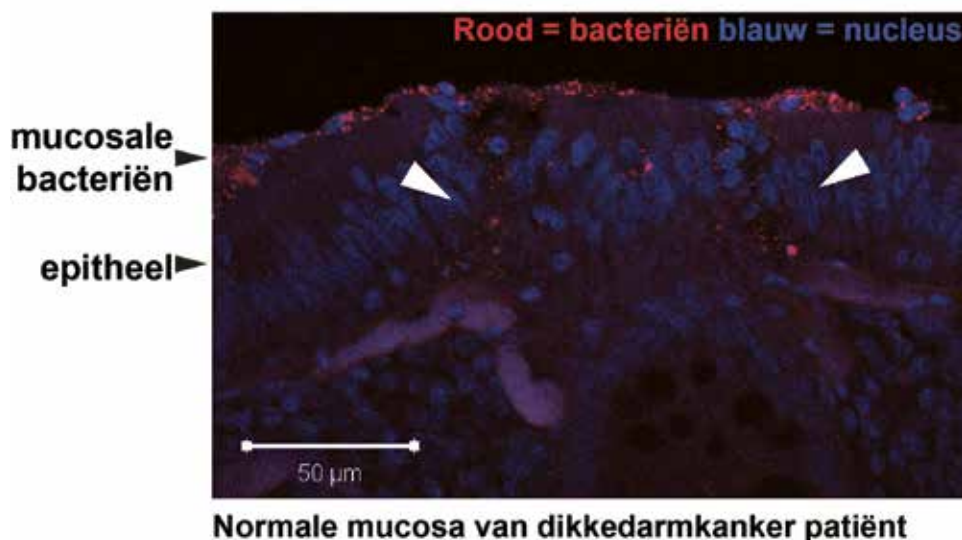
“Meer dan **1000** verschillende soorten bacteriën leven in onze darm

Bacteriën leven met name van verteerde voedingspartikels zoals cellulose en resistent zetmeel, maar ook van endogene producten zoals mucus (de slijmlaag van de darm). Het metabolisme van bacteriën zorgt voor een hogere energie opbrengst uit het

dieet, reguleert de vetopslag en genereert essentiële vitaminen en korte keten vetzuren (2). Dit zijn belangrijke voedingsstoffen voor onze darm en ons lichaam. Naast gunstige effecten kunnen sommige bacteriën ook producten genereren die toxisch kunnen zijn voor de gastheer. Sommige bacteriën produceren toxines die schade kunnen veroorzaken. Bij Johns Hopkins Medical Institutions heb ik onderzoek gedaan naar het toxine fragilysin (*Bacteroides fragilis* toxine) in de onderzoeksgroep van Prof. dr. Cynthia Sears. Dit toxine is bij mensen in verband gebracht met inflammatoire darmziekte en veroorzaakt ernstige darmontsteking in muizen. Blootstelling aan het toxine en de resulterende inflammatie leidt in muizen met een genetische mutatie in het APC-gen tot tumorvorming in de dikke darm (3). In onze studie hebben we aangetoond dat patiënten met dikkedarmkanker veel vaker drager zijn van dit toxine in de darm dan gezonde personen (4).

Dit impliceert dat er mogelijk ook een relatie is tussen het toxine en kankervorming in mensen.

De samenstelling van darmbacteriën verschilt nogal van persoon tot persoon. Dit wordt met name bepaald door omgevingsfactoren zoals dieet, maar ook door onze genetische achtergrond. Tweelingen hebben bijvoorbeeld een meer op elkaar lijkende populatie aan darmbacteriën dan twee onafhankelijke personen (5). Er is dus een complexe relatie tussen bacterie, dieet en gastheer. Daarnaast zijn bacteriën ook weer afhankelijk van elkaar; ze leven van elkaars afbraakproducten (metabool cross-feeding). Verder is de samenstelling van bacteriën die in het lumen van de darm leven anders dan die van de darmwand (6). In onze studie hebben we bijvoorbeeld gevonden dat het fragilysin isotype 2 toxine vaker voorkomt op de darmwand dan isotype 1, terwijl dit in het lumen van de darm juist omgekeerd is



Bacteriën infiltreren de mucosa

(4, 7). Hierbij zouden factoren zoals mucus, de pH en zuurstof-tensie een belangrijke rol kunnen spelen. Het is daarom goed om in ogenschouw te nemen dat de samenstelling van feces dus niet altijd representatief is voor wat er in het weefsel huist.

Darmbarrière

Ondanks dat er duizenden microben in onze darm leven, zijn we toch goed beschermd tegen invasie van pathogenen door een effectieve darmbarrière. Deze barrière is opgebouwd uit epitheelcellen en immuuncellen die pathogenen bestrijden door productie van onder andere immunoglobuline A en defensines, en mucus producerende cellen (goblet cells) (8). Goblet cellen generen glycoproteïnen en scheiden deze uit in het lumen van de darm om een viskeuze, elastische mucuslaag te vormen. De mucuslaag bestaat uit twee delen, een buitenste losse mucuslaag, waar bacteriën in koloniseren, en een onderste vaste mucuslaag die steriel is (9). Een gebrek aan mucus in het colon resulteert in een ineffektieve barrière en dus een verhoogde kans op ontstekingen en infecties. Dit speelt een belangrijke rol bij ontstekingsziekten van de darm, zoals colitis ulcerosa, maar ook bij dikkedarmkanker is de mucuslaag vaak veranderd of afwezig.

Ook de bacteriële community draagt bij aan de darmbarrière. De gezonde community zorgt ervoor dat pathogenen geen kans krijgen, dit heet ook wel kolonisatieresistentie. Deze kolonisatieresistentie kan gebroken worden door enteropathogene organismen zoals *Salmonella typhimurium* en enterotoxigene *Bacteroides fragilis* (fragilysin)(10). Fragilysin zorgt er voor dat E-cadherine, een eiwit dat van belang is voor cel-cel adhesie en het darmepitheel afsluit, wordt geknipt. Via cel signaleringscascades (β -catenin) resulteert dit in verhoogde expressie van het oncogen c-myc, wat leidt tot verhoogde celdeling, en interleukine 8 wat inflammatoire cellen aantrekt (11). Enterotoxigene *Bacteroides fragilis* is niet de enige bacterie die interfereert met E-cadherine; een van de bacteriën die verhoogd aanwezig is op darmtumoren, *Fusobacterium nucleatum*, kan via zijn FadA adhesine binden aan E-cadherine en zorgen voor β -catenin signalering (12).

“Wanneer de darmbarrière is verminderd neemt de kans op infecties toe

Het behoud van een goede darmbarrière is daarom ook de sleutel tot gezondheid. Wanneer de darmbarrière is verminderd neemt de kans op infecties toe en dit resulteert vaak in shifts in de microbiële samenstelling van de darm. Al met al laat dit zien dat voor een gezond intestinaal ecosysteem, zowel darmfysiologie, dieet en microbiële competitie van belang zijn. Veranderingen in een van deze factoren kan daarom leiden tot een dysbiotische situatie en uiteindelijk resulteren in het ontstaan van ziekte.

“Met 16s kunnen we iets zeggen over de samenstelling van microben

Methoden om microbiota te meten

Door next generation sequencing hebben we de laatste jaren steeds meer inzicht gekregen in de veranderingen in de darmmicrobiota die optreden tijdens ziekte. We zijn al lang niet meer afhankelijk van het kweken van bacteriën, maar kunnen door middel van DNA, RNA en eiwit analyses de samenstelling en functie van de bacteriële community in kaart brengen. Met 16s rRNA sequencing wordt het 16s rRNA gen dat aanwezig is in bijna alle bacteriën vermeerderd en afgelezen. Dit gen heeft een aantal variabele regio's en aan de hand van de variaties in deze regio's kunnen we deze linken aan een bacteriële soort of genus (operational taxonomic units (OTU's)). Met 16s kunnen we dus iets zeggen over de samenstelling van microben. Het is ook mogelijk om met behulp van 16s rRNA probes bacteriën in het weefsel zichtbaar te maken (Fluorescence in situ hybridization (FISH)). Op deze manier kan je in darmbiopten de exacte locatie van bacteriën bepalen en zien of deze in direct contact staan met het weefsel of zelfs het weefsel infiltreren. Naast bacteriële samenstelling is het

ook van belang om naar bacteriële functies te kijken. Dit kan op genetisch niveau met shotgun metagenome sequencing. Hierbij wordt niet alleen het 16s rRNA gen maar het hele genoom van alle microben in een sample in kaart gebracht. Dit geeft informatie over alle genen aanwezig in de microbiële populatie. Daarnaast is er ook nog de mogelijkheid om naar het transcriptome te kijken (de genen die tot expressie komen), het proteome (de eiwitten die aanwezig zijn) of het metabolome te analyseren (de metabolieten die worden geproduceerd). Deze laatste drie methoden geven informatie over de functie van de microbiële community. Toch blijft kweken ook nog steeds een belangrijke methode, bijvoorbeeld als men op zoek is naar verschillende subtypes van bacteriën (zoals isotypes van toxines) of wanneer het om minder frequent voorkomende bacteriën gaat die moeilijk op te sporen zijn of zelfs gemist worden wanneer naar het geheel aan genen en functies wordt gekeken.

Microbiota bij dikkedarmkanker

Er zijn verschillende indicaties dat bacteriën mogelijk betrokken zijn bij het ontstaan van dikkedarmkanker. Het is moeilijk om dit in mensen causaal te onderzoeken, daarom komen veel aanwijzingen uit muizenstudies. Muizen zonder microben (zogenaamde germ free mice) en muizen behandeld met antibiotica hebben gedurende hun leven een lager risico op het krijgen van darmtumoren.

“Microben zijn bij de carcinogenese betrokken

Dit impliceert dat microben bij de carcinogenese betrokken zijn. Ook in een chemisch geïnduceerd inflammatiemodel (AOM/DSS model)¹ zijn bacteriën noodzakelijk om tumoren te veroorzaken⁽¹³⁾. Fecale transplantatie van een muis met tumoren naar een gezonde muis, geeft in deze

gezonde muis ook weer een twee keer verhoogde tumorvorming. Er lijkt dus sprake te zijn van zowel een microbiel aspect als ook een ontstekingsaspect bij het ontstaan van deze tumoren in muizen.

Dat inflammatie een rol speelt bij het risico op dikkedarmkanker is al bekend van patiënten met colitis ulcerosa, een chronische ontsteking van de dikke darm. Dikkedarmkanker ontstaat vaak in een van de aangedane regio's en het risico erop neemt toe naarmate de ziekte langer duurt en symptomen langer aanhouden. Een van de kenmerken van colitis ulcerosa is het veranderde bacterieprofiel, ook wel dysbiose genoemd. In tegenstelling tot gezonde personen, komen de bacteriën bij colitis ulcerosa in directe aanraking met de darm en vormen ze biofilms. Biofilms zijn een plak van bacteriën die in veel situaties in relatie worden gebracht met ziekte. Ze kunnen een beschermende omgeving bieden voor pathogene bacteriën. Zo heb je bijvoorbeeld biofilms op artificiële oppervlakken zoals protheses en biologische oppervlakken zoals tanden (tandplak, risico op cariës) en hartkleppen (endocarditis). Vorig jaar heeft mijn (ex)collega Christine Dejea van het JHMI (Johns Hopkins Medical Institutions) al aangetoond dat tumoren van de proximale darm vaak biofilms van bacteriën bevatten die in relatie staan tot een verhoogde celdeling in het weefsel⁽¹⁴⁾. In mijn lopende onderzoek bij patiënten met colitis ulcerosa gefinancierd door NWO (ZonMw Veni)² breng ik in kaart welke pathogene bacteriën aanwezig zijn in biofilms en of ze een relatie hebben met het ontstaan van dikkedarmkanker.

Er zijn al een aantal kandidaat pathogene bacteriën die mogelijk carcinogeen zijn, zoals enterotoxigene *Bacteroides fragilis* en *Escherichia coli* varianten die toxines tot expressie brengen (colibactin of het adhesin intimin). Naast deze al bekende bacteriën zijn er nog een heleboel darmbacteriën waarvan we niet precies weten wat ze doen. Met behulp van 16s rRNA

en metagenome sequencing is duidelijk geworden dat het microbiom van tumoren anders is dan dat van gezond weefsel, maar of dit het gevolg is van een veranderd micromilieu of mogelijk ook een causaal verband houdt met tumorvorming is voor de meeste bacteriën nog niet bekend^(15, 16). Het is dus zaak om de resultaten van sequencing studies verder te onderzoeken met in vitro en in vivo modellen om zo mogelijke causaliteit aan te tonen.

“Bijna 60% van de patiënten met een *Streptococcus gallolyticus* infectie hebben tegelijkertijd ook dikkedarmkanker

Gebruik van microben als biomarker

Verandering van microbiota die optreden in de context van dikkedarmkanker kunnen mogelijk ook interessant zijn om te gebruiken als biomarker. Tijdens mijn promotie heb ik onderzoek gedaan naar de bacterie *Streptococcus gallolyticus*. Deze bacterie veroorzaakt hartklep infecties en sepsis. Bijna 60% van de patiënten met een *Streptococcus gallolyticus* infectie hebben tegelijkertijd ook dikkedarmkanker⁽¹⁷⁾. Omgekeerd krijgt minder dan 0,1% van alle dikkedarmkanker patiënten een infectie met deze bacterie. Een infectie met deze bacterie is daarom een signaal om een colonoscopie uit te voeren. Recent hebben we aangetoond dat de immuunrespons tegen *Streptococcus gallolyticus* oppervlakte-eiwitten significant gerelateerd is met dikkedarmkanker in een case-control studie. Dit geldt voor een subset (14%) van de dikkedarmkanker patiënten en heeft waarschijnlijk te maken met het feit dat niet alle darmkanker patiënten gekoloniseerd zijn met *Streptococcus gallolyticus*. Een methode die gebruikt maakt van meerdere kankergeassocieerde bacteriën is mogelijk succesvoller

als biomarker, zoals bijvoorbeeld classificatie op basis van metagenome sequences(18).

Toekomst

Ondanks dat er de laatste jaren veel inzicht is gekregen in de relatie tussen microben en dikkedarmkanker blijven er nog vele vragen onbeantwoord. Wat is bijvoorbeeld een gezond microbioom? Kunnen we door middel van dieet en interventies een gezond microbioom behouden of laten terug keren? Welke andere bacteriën spelen een rol bij promotie of remming van carcinogenese? Kunnen we ze elimineren of toxines bestrijden? Kunnen we causaliteit van de gevonden relaties aantonen en deze kennis gebruiken om kanker te voorkomen? Met mijn onderzoek in patiënten met colitis ulcerosa probeer ik de komende jaren een aantal van deze gevonden relaties te bevestigen en nieuwe relaties te vinden met als doel om beter inzicht te hebben wat het risico op dikkedarmkanker bepaald in deze patiëntengroep.

¹ AOM/DSS (azoxymethane/ Dextran sulfate sodium): AOM induceert DNA mutaties, DSS zorgt voor ontstekingsreactie.

² NWO = Nederlandse organisatie voor wetenschappelijk onderzoek (belangrijkste financieringsorgaan voor wetenschappelijk onderzoek in Nederland, ZonMW is de medische divisie (Nederlandse organisatie voor zorgonderzoek en zorginnovatie).

1. Dethlefsen L, Eckburg PB, Bik EM, Relman DA. 2006. Assembly of the human intestinal microbiota. *Trends Ecol Evol* 21:517–523.
2. Backhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JI. 2005. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science* (80-.). 307:1915–1920.
3. Wu S, Rhee KJ, Albesiano E, Rabizadeh S, Wu X, Yen HR, Huso DL, Brancati FL, Wick E, McAllister F, Housseau F, Pardoll DM, Sears CL. 2009. A human colonic commensal promotes colon tumorigenesis via activation of T helper type 17 T cell responses. *Nat Med* 15:1016–1022.
4. Boleij A, Hechenbleikner EM, Goodwin AC, Badani R, Stein EM, Lazarev MG, Ellis B, Carroll KC, Albesiano E, Wick EC, Platz EA, Pardoll DM, Sears CL. 2014. The *Bacteroides fragilis* Toxin Gene Is Prevalent in the Colon Mucosa of Colorectal Cancer Patients. *Clin. Infect. Dis.* 60:208–15.
5. Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsuneneko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, Sogin ML, Jones WJ, Roe BA, Affourtit JP, Egholm M, Henrissat B, Heath AC, Knight R, Gordon JI. 2009. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* 457:480–484.
6. Chen W, Liu F, Ling Z, Tong X, Xiang C. 2012. Human intestinal lumen and mucosa-associated microbiota in patients with colorectal cancer. *PLoS One* 7.
7. Toprak NU, Yagci A, Gulluoglu BM, Akin ML, Demirkalem P, Celenk T, Soyletir G. 2006. A possible role of *Bacteroides fragilis* enterotoxin in the aetiology of colorectal cancer. *Clin Microbiol Infect* 12:782–786.
8. Boleij A, Tjalsma H. 2012. Gut bacteria in health and disease: a survey on the interface between intestinal microbiology and colorectal cancer. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 87:701–30.
9. Johansson ME, Phillipson M, Petersson J, Velcich A, Holm L, Hansson GC. 2008. The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:15064–15069.
10. Stecher B, Maier L, Hardt W-D. 2013. “Blooming” in the gut: how dysbiosis might contribute to pathogen evolution. *Nat. Rev. Microbiol.* 11:277–84.
11. Wu S, Morin PJ, Maouyo D, Sears CL. 2003. *Bacteroides fragilis* enterotoxin induces c-Myc expression and cellular proliferation. *Gastroenterology* 124:392–400.
12. Rubinstein MR, Wang X, Liu W, Hao Y, Cai G, Han YW. 2013. *Fusobacterium nucleatum* promotes colorectal carcinogenesis by modulating E-cadherin/ β -catenin signaling via its FadA adhesin. *Cell Host Microbe* 14:195–206.
13. Zackular JP, Baxter NT, Iverson KD, Sadler WD, Petrosino JF, Chen GY, Schloss PD. 2013. The gut microbiome modulates colon tumorigenesis. *MBio* 4:e00692–13–.
14. Dejea CM, Wick EC, Hechenbleikner EM, White JR, Mark Welch JL, Rossetti BJ, Peterson SN, Snesrud EC, Borisy GG, Lazarev M, Stein E, Vadivelu J, Roslani AC, Malik AA, Wanyiri JW, Goh KL, Thevambiga I, Fu K, Wan F, Llosa N, Housseau F, Romans K, Wu X, McAllister FM, Wu S, Vogelstein B, Kinzler KW, Pardoll DM, Sears CL. 2014. Microbiota organization is a distinct feature of proximal colorectal cancers. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 111:18321–6.
15. Marchesi JR, Dutilh BE, Hall N, Peters WHM, Roelofs R, Boleij A, Tjalsma H. 2011. Towards the human colorectal cancer microbiome. *PLoS One* 6:e20447.
16. Tjalsma H, Boleij A, Marchesi JR, Dutilh BE. 2012. A bacterial driver-passenger model for colorectal cancer: beyond the usual suspects. *Nat. Rev. Microbiol.* 10:575–82.
17. Boleij A, van Gelder MM, Swinkels DW, Tjalsma H. 2011. Clinical Importance of *Streptococcus gallolyticus* infection among colorectal cancer patients: systematic review and meta-analysis. *Clin. Infect. Dis.* 53:870–878.
18. Zeller G, Tap J, Voigt AY, Sunagawa S, Kultima JR, Costea PI, Amiot A, Böhm J, Brunetti F, Habermann N, Herczeg R, Koch M, Luciani A, Mendel DR, Schneider MA, Schrotz-King P, Tournigand C, Tran Van Nhieu J, Yamada T, Zimmermann J, Benes V, Kloor M, Ulrich CM, von Knebel Doeberitz M, Sobhani I, Bork P. 2014. Potential of fecal microbiota for early-stage detection of colorectal cancer. *Mol. Syst. Biol.* 10:766.

Poep als medicijn

I.M. Bos-Sanders¹, A.H. Friggen¹, E.M. Terveer²

1. Research analyst, Afdeling Medische Microbiologie van het Leids Universitair Medisch Centrum

2. Arts-microbioloog in opleiding, Afdeling Medische Microbiologie van het Leids Universitair Medisch Centrum

Besmetting met een *Clostridium difficile* bacterie kan leiden tot steeds terugkerende diarree. Patiënten met een *C. difficile*- infectie kunnen worden behandeld met antibiotica, maar bij sommige patiënten blijft *C. difficile* hardnekkig terugkomen en is de darmflora te ernstig verstoord om uit zichzelf te herstellen. Voor deze patiënten kan donorpoep in de vorm van een fecestransplantatie de oplossing bieden. De fecestransplantatie is een bewezen behandeling voor een darminfectie met *C. difficile*. Hierbij wordt de darmflora van de patiënt vervangen door de darmflora uit de ontlasting van een gezonde donor. Bloedtransfusies en het geven van bloed is tegenwoordig heel normaal, maar poep doneren of ontvangen via een fecestransplantatie vindt men een heel vies idee en is nog niet helemaal ingeburgerd.

Clostridium difficile

C. difficile is een anaerobe, grampositieve bacterie die onder andere in onze darmen leeft. De bacterie vormt sporen die resistent zijn tegen zuurstof, hitte, alcohol en andere desinfectantia. De sporen kunnen maanden of jaren binnen en buiten het lichaam overleven en vormen de overdraagbare vorm van de bacterie. *C. difficile* is een diverse species met meer dan 500 verschillende typen die door middel van een PCR gebaseerde methode worden onderverdeeld in zogenoemde PCR ribotypen (1). De typering van de stammen speelt een belangrijke rol voor epidemiologisch onderzoek en vindt plaats in het Nederlands *Clostridium difficile* Referentielaboratorium van het Leids Universitair Medisch Centrum.

Door het typeren krijgen we inzicht in welke types vaker voorkomen, betrokken zijn bij uitbraken en geassocieerd zijn met ernstige infectie/ziekte. Dit zijn de zogeheten virulente stammen met de twee voornaamste voorbeelden PCR ribotype 027 en PCR ribotype 078. De belangrijkste virulentie factor voor *C. difficile* is de productie van toxinen. De meeste stammen produceren zowel toxine A als toxine B en

soms ook nog een derde toxine. Alleen de stammen die toxinen kunnen produceren, veroorzaken ziekte. Deze toxinen beschadigen het darmepitheel waardoor een ontsteking in de darmen ontstaat, ook wel *C. difficile* geassocieerde infectie (CDI) genoemd. CDI komt in Nederland relatief vaak voor: ongeveer 2800 patiënten worden per jaar met een CDI in de Nederlandse ziekenhuizen opgenomen. Ongeveer 4 tot 5%, zo'n 120 mensen per jaar in Nederland, overlijdt direct ten gevolge van deze infectie (2). Soms verloopt de infectie mild en hebben patiënten alleen last van diarree, in sommige gevallen zijn de klachten ernstiger en hebben de patiënten een heftig ontstoken colon/endeldarm en zijn ernstig ziek.

Hoe komt het nu dat patiënten vatbaar worden voor een CDI? Ten eerste moet je de bacterie bij je dragen. Afhankelijk van de populatie waar naar gekeken wordt, is ongeveer 2 tot 5% van de mensen drager van de *C. difficile* bacterie. In ziekenhuizen of verpleeghuizen is dit dragerschap veel hoger, variërend van 5 tot 40%. In gezonde mensen houdt het immuunsysteem *C. difficile* zonder al te veel moeite onder controle. Ons immuunsysteem



Figuur 1

wordt daarbij geholpen door de lichaamseigen bacteriën in onze darmen. *C. difficile* is onderdeel van onze darmbacteriën, oftewel darmflora, en kan ongeremd uitgroeien als de darmflora wordt verstoord door bijvoorbeeld antibioticagebruik of bij mensen met een verzwakte afweer. Vooral de fluoroquinolonen en clindamycine zijn berucht; ze doden niet alleen ziekteverwekkers, maar schakelen ook nuttige darmbacillen uit. Het gevolg: *C. difficile* krijgt ruim baan in de darmen en gaat toxinen produceren die de diarree klachten veroorzaken.

Behandeling

Een *C. difficile* infectie wordt doorgaans behandeld met antibiotica. Deze behandeling is effectief in zo'n 70% van de gevallen, 30% van de patiënten krijgt een recidief. Als je deze patiënten met een CDI weer



Figuur 2



Figuur 3

zou behandelen is antibiotica nog maar in 60% van de gevallen effectief. Hoe vaker iemand een eerder recidief heeft gehad, hoe minder effectief antibiotica wordt. Uiteindelijk blijft er een patiëntengroep over, die klachten blijft houden en niet met antibiotica behandeld kan worden. Daarnaast is het zeer tegenstrijdig om een ziekte die veroorzaakt wordt door een verstoorde darmflora, met meer antibiotica te behandelen, die weer zorgt voor een verdere verstoring van diezelfde darmflora. Waarom dan niet ontlasting van gezonde personen met een rijke en evenwichtige darmflora gebruiken als medicijn?

Het gebruik van ontlasting als medicijn is niet nieuw. In de Chinese oudheid is voor het eerst melding gemaakt van het gebruik van menselijke ontlasting als therapie voor (voornamelijk) gastro-intestinale aandoeningen (3). Ook in het begin van de twintigste eeuw

is beschreven dat de Bedoeïenen ontlasting (van kamelen weliswaar) gebruikten als behandeling van diarree. In 1958 werd in de westerse literatuur voor het eerst een serie patiënten beschreven die donorontlasting krijgen toegediend; een Amerikaanse chirurg rapporteerde vier patiënten die op spectaculaire wijze genazen van door antibiotica veroorzaakte diarree nadat ze klysma's met donorontlasting gekregen hadden. Met de sterke stijging van het aantal CDI's aan het eind van de 21e eeuw en daarbij een groeiende groep patiënten met *C. difficile* recidieven ontstond hernieuwde interesse in deze behandeling.

Begin 2013 werd voor het eerst bewezen met een gerandomiseerde studie dat Feces Microbiota Transplantatie veel effectiever in het genezen van een recidiverende *C. difficile* infectie was, dan de reguliere antibiotica (4). Fecestransplantatie bleek in deze studie zo succesvol dat de studie voortijdig gestaakt werd, omdat het geven van antibiotische therapie en het onthouden van de 'experimentele' behandeling met ontlasting niet langer te verantwoorden was. Sindsdien is de fecestransplantatie opgenomen in diverse nationale en internationale *C. difficile* behandelrichtlijnen.

Opzet van Nederlandse Donor Feces Bank

Alhoewel er veel bereidheid is onder artsen om een feces transplantatie uit te voeren, en het geen technisch lastige handeling is, wordt de behandeling toch nog te weinig uitgevoerd. In Nederland wordt de behandeling nu ongeveer 40 tot 50 keer per jaar uitgevoerd, terwijl er zeer waarschijnlijk 200 tot 300 patiënten baat bij zouden kunnen hebben. De behandelend arts stuit op praktische en logistieke problemen: Waar vind ik een geschikte donor? Hoe moet ik deze donor screenen? Hoe moet ik de feces opwerken tot iets wat getransplanteerd kan worden? Daarnaast is het een behandeling die tot nu toe niet door zorgverzekeraars wordt vergoed.

In Amerika, waar het aantal patiënten met terugkerende CDI veel groter is, is inmiddels een Nationale Donor Bank opgericht en wordt de behandeling centraal aangeboden. Hierdoor is de behandeling gemakkelijk uit te voeren. In navolging van het succes van de donorbank in Amerika, is de Nederlandse Donor Feces Bank (NDFB) tot stand gekomen, waarbij patiënten in heel Nederland gemakkelijk een fecestransplantatie kunnen ondergaan. Sinds begin 2016 faciliteert het LUMC deze feces bank. De missie van de NDFB is om donorontlasting toegankelijk te maken voor diegene die het nodig hebben: patiënten met terugkerende *C. difficile* infecties. Daarnaast werkt de NDFB met gestandaardiseerde protocollen voor onder andere donorscreening, het 'opwerken' van de feces tot een transplantatieproduct, de opslag bij -80°C en de uitgifte van de fecessuspensie. Verder biedt de NDFB-training aan de artsen die een fecestransplantatie uitvoeren.

Feces Microbiota Transplantatie

Voordat er een Feces Microbiota Transplantatie (FMT) toegepast kan worden, dient er eerst een donor geselecteerd te worden. Dit gaat aan de hand van een vragenlijst met betrekking tot bijvoorbeeld het reisverleden, ziekten, medicijngebruik, operaties en recent antibioticagebruik. Ook wordt er gevraagd naar ziektegeschiedenis van familie en aandoeningen die geassocieerd zijn met een verstoorde darmflora, zoals bijvoorbeeld de ziekte van Crohn, suikerziekte (diabetes mellitus type II) of zwaarlijvigheid (obesitas). Om de overdracht van infecties te voorkomen, wordt de donor uitgebreid gescreend op in totaal zo'n 50 verschillende ziektes die via het bloed en/of via de ontlasting overdraagbaar zijn zoals: HIV, Hepatitis B, darmparasieten of Salmonella.

Als de donor volledig gescreend is en geschikt is bevonden als feces donor, kan er op het laboratorium begonnen worden met het verwerken van de feces in een vloeibaar product dat toegediend

kan worden via een sonde. Dit gebeurt door 75 gram feces op te lossen in steriele PBS, met behulp van een vijzel en mortier (figuur 1). Hierna wordt de vloeibare suspensie een aantal maal gezeefd zodat alle onverteerde voedselresten eruit worden gefilterd (figuur 2). De suspensie die nu overblijft kan gemakkelijk met een spuit worden opgezogen en is in theorie klaar om via een sonde in de patiënt te worden ingebracht (figuur 3). De sonde is een dun buigzaam slangetje dat via de mond wordt ingebracht en uitkomt in de twaalfvingerige darm. Het inbrengen van de sonde verloopt meestal zonder problemen en patiënten merken meestal niets van de toediening van de oplossing.

Voordat de patiënt de transplantatie ondergaat heeft deze eerst een darmspoeling gekregen en een antibioticakuur. De antibiotica wordt een dag voordat de transplantatie plaatsvindt gestopt. Het is echter van groot belang dat de fecestransplantatie zo snel mogelijk na het produceren van de ontlasting door de donor wordt getransplanteerd. Dit omdat de meerderheid van de darmflora bestaat uit anaerobe bacteriën, die niet goed tegen zuurstof kunnen. Deze bacteriën zullen dus snel doodgaan als de ontlasting langer dan een (halve) dag buiten de darm is. Omdat het logistiek vaak niet haalbaar is zo snel te transplanteren, wordt de opgewerkte fecessuspensie kant en klaar ingevroren en kan de suspensie er vlak voor gebruik weer uit gehaald worden. Het is gebleken dat een transplantatie met ingevroren feces net zo doeltreffend is als bij het gebruik van verse feces. De fecessuspensie wordt, voordat deze in de -80°C wordt ingevroren, geconcentreerd via centrifugatie. Om het kristalliseren van de bacteriën tegen te gaan wordt er glycerol toegevoegd. De fecessuspensies liggen nu klaar voor uitgifte door heel Nederland.

Lopend onderzoek

Momenteel wordt er veel onderzoek gedaan naar de interactie van de nieuw verkregen darmflora

Luitingh-Sijthoff, De mooie voedselmachine, Giulia Enders € 10,00

Giulia Enders (25) is een bijna afgestudeerd studente geneeskunde aan het Institut für Mikrobiologie und Krankenhaushygiene. Ze heeft een leuke informele schrijfstijl en gebruikt absoluut geen ingewikkelde medische termen. Het boek is heel toegankelijk voor iedereen die meer wil weten over onze bijzondere en belangrijke darmen.

Onze darmen zijn meer dan alleen het spijsverteringsstelsel. Ze zijn eigenlijk belangrijk voor ons hele welzijn. Ze hebben invloed op het immuunsysteem en op het geluksgevoel. Zijn je darmen niet in balans? Grote kans dat jij je ook niet lekker in je vel voelt. Denk hierbij aan overgewicht maar ook bijvoorbeeld depressie, Alzheimer en allergie. Wist je dat onze darmen nauw in contact staan met ons zenuwstelsel? Die "knoop in onze maag" als we gespannen zijn, wordt zo ineens heel verklaarbaar. Het is van belang de darmflora gezond te houden. Stress (hormonen) kan de darmflora uit balans brengen maar uiteraard ook voedsel kan voor een hoop gerommel in je buik zorgen. Goede voeding is vanzelfsprekend heel belangrijk maar wat gezond is voor de ene darmflora kan juist problemen veroorzaken bij de andere. Het werelddeel waar je woont heeft hier bijvoorbeeld ook invloed op. Voedsel wat voor iemand in een Aziatisch land voor een gezonde darmflora zorgt kan de darmflora van een Europeaan compleet overstuurt maken. Dit heeft allemaal te maken met de micro-organismen die in onze darmen leven. Micro-organismen krijg je tijdens je geboorte en eerste levensjaren reeds mee. Echter de manier van geboren worden en het wel of geen borstvoeding krijgen is van invloed op de micro-organismen die je als kind meekrijgt.

De mooie voedselmachine beschrijft op een leuke en leerzame manier de charme van onze darmen, de sterke connectie tussen buik en brein en alle bewoners van darmstad met daarbij zeer vermakelijke illustraties.

Anke van Bruggen



in de darm van de patiënt: wat is het precieze mechanisme dat aan het gunstige effect van FMT ten grondslag ligt? Is de verandering in darmflora blijvend? Wat zijn de lange termijn effecten? Ook wordt er gekeken naar het toepassen van de FMT bij andere aandoeningen zoals de ziekte van Crohn, colitis ulcerosa, diabetes mellitus, de aanwezigheid van resistente bacteriën en patiënten met blijvende darmklachten na een darminfectie.

Als laatste, en niet geheel onbelangrijk wordt er veel onderzoek gedaan naar de optimalisering van het feces-transplantatie protocol, dit moet uiteindelijk leiden tot een minder belastende behandeling. Dit onderzoek kan bijdragen aan de ontwikkeling van een behandeling met een aantal gekweekte

bacteriën in bijvoorbeeld een capsule die uiteindelijk een feces-transplantatie overbodig maakt. Maar zo ver zijn we nog niet.

LITERATUUR

1. Knetzsch et al. Current application and future perspectives of molecular typing methods to study *Clostridium difficile* infections. Euro Surveill. 2013 Jan 24;18(4):20381
2. van Dorp et al. Ninth annual report of the National Reference Laboratory for *Clostridium difficile* and results: May 2014-May 2015. Leiden/Bilthoven. http://www.rivm.nl/Documenten_en_publicaties/Algemeen_Actueel/Uitgaven/Infectieziekten/CDiffNL/Ninth_Annual_Report_of_the_National_Reference_Laboratory_for_Clostridium_difficile_and_results_of_the_sentinel_surveillance
3. Zhang F, et al. Should we standardize the 1700-year-old fecal microbiota transplantation? Am J Gastroenterol 2012; 107:1755-1756
4. Van Nood et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. N Engl J Med. 2013 Jan 31;368(5):407-15

“Meer is een optelsom van het goede van beide verenigingen”

Patrick Coolen

LEUSDEN - 5 maart 2016. Janny Baars is haar hele beroepsleven actief geweest voor zowel de NVML als de VAP. Vooral op het gebied van onderwijs heeft zij zich ingezet. Zij is als klinisch chemisch analist begonnen maar koos later voor de cytologie. Janny zocht steeds weer nieuwe uitdagingen en zij klom steeds hoger op de maatschappelijke ladder. Cytologie is haar grote liefde. Janny kan terugkijken op een mooie carrière maar zoals zij zelf zegt: “In al mijn banen heb ik altijd heel veel gehad aan de support van mijn collega’s!”

Janny is begonnen op het klinisch laboratorium in Dordrecht als adjunct analist. Zij volgde de inservice opleiding en behaalde haar SAL diploma. Janny: “Ik woonde in Sliedrecht. Ik wilde analist worden en ging naar de Dordtse Analistenschool. Het hoofd van de opleiding was tevens de klinisch chemicus van het Gemeenteziekenhuis. Een opleidingsplaats was er altijd vanwege een tekort aan analisten.” Op de vraag waarom zij analist wilde worden antwoordt Janny: “Ik wilde iets doen in de zorg. Hoewel ik eerst de verpleging in wilde werd dat later analist. Ik had meer interesse in het doen van onderzoek. Ik heb nog wel overwogen om chemisch analist te worden. In die tijd kreeg je na het behalen van je middelbare schooldiploma van vele kanten aanbiedingen.”

Pathologie was een onbekend vak

Janny koos voor de opleiding klinische chemie: “Toen ik met het laboratorium in aanraking kwam was pathologie een onbekend vak. Zeker; er waren wel PA labs, maar in de voorlichting naar scholieren speelde deze richting geen

rol. De Dordtse analistenschool kende twee richtingen: algemeen klinisch analist en microbiologisch analist. De school was zeer behoudend want in die tijd kende de meeste opleidingen klinische chemie en microbiologie.” De werkzaamheden van een analist zagen er vroeger anders uit. Janny: “Het was meer handwerk, pipetteren, titreren, centrifugeren en diverse, nu antieke, apparatuur die je moest bedienen. Door het prikken van patiënten werd je als jong volwassene geconfronteerd met het leed van anderen en daar was toen eigenlijk geen aandacht voor.”

Als ik het nu niet doe

De volgende stap was voor Janny een behoorlijke ommezwaai. Zij verkaste naar De Daniel den Hoedkliniek om op de pathologie te werken. “Ik wilde iets anders. Cytologie kende ik niet maar ik vond diffen en sedimenten kijken leuk.” Janny leerde de cytologie voor een groot deel in de praktijk maar later heeft zij de HBO-A opleiding cyto-histopathologie gedaan en behaalde haar papertje. Daar ontstond ook de liefde voor de cytologie. Hoewel zij het erg naar de zin had in Rotterdam koos zij na twaalf jaar voor een baan in het SSDZ in Delft. “Ik wilde niet weg uit Rotterdam en er kwam een vacature in Delft. Dat zet je aan het denken. Zoiets van: als ik het nu niet doe blijf ik misschien wel mijn hele leven in Rotterdam. Wil ik dit?” Janny wilde verder. Zij kwam in het SSDZ terecht waar zij hoofdanalist cytologie werd en bij dezelfde werkgever manager pathologie. Zij omschrijft deze periode als een stormachtige, maar

dynamische tijd waarin altijd wel wat gebeurde. Ondertussen bleef Janny studeren. Zij heeft Hoger management in de gezondheid-zorg gedaan. Na Delft koos Janny een baan in ziekenhuis Tergooi waar zij hoofdanalist werd van de pathologie. Ondertussen deed zij de studie WO psychologie.

Ik wilde weer wat anders gaan doen

Over de Tergooi tijd: “Na 21 jaar ben ik naar Tergooi gegaan. De reden? Omdat ik alles al wel een keer meegemaakt had in Delft en nog wel een keer of iets heel anders wilde doen of hetzelfde werk wilde doen in een andere omgeving. Bij deze werkgever heb ik het heel goed gehad. Ik heb veel waardering voor mijn werk gehad en ik heb er tot op de laatste dag met heel veel plezier gewerkt.”

Vroeger kon er heel veel

In al die jaren is er in pathologieland veel veranderd. Janny beaamt het; “Toen ik in 1970 binnen de pathologie kwam was het veel minder zakelijk dan nu. Er kon heel veel. Er waren heel veel kleine laboratoria en binnen een klein laboratorium was er soms ook nog, soms verregaande, specialisatie. Je had zelfstandige cytologische laboratoria die eigenlijk weinig of niets te maken hadden met de rest van de pathologie. Tegenwoordig maken centralisatie, automatisering en efficiënt werken het werk er niet altijd leuker op. Maar ja, men wil van hoger hand kosten besparen.” Als ik haar vraag waar het uiteindelijk naar toe gaat: “Concentratie en samenwerking van PA labs zal onvermijdelijk zijn. Ik geloof echter niet in de voor-spelling van Loek Winter dat er in

de toekomst in Nederland maar twee PA labs zullen zijn." Janny kan zich wel erg boos maken over de ontwikkelingen rond bevolkingsonderzoek baarmoederhalskanker: "Ik vind het schandalig dat de beslissing steeds uitgesteld wordt en dat mensen maar in onzekerheid worden gehouden. Het vervelende is dat dit nauwelijks door ons te beïnvloeden is."

Actief in VAP en NVML

Janny is voor zowel de NVML als voor de VAP altijd actief geweest. "Tijdens mijn opleiding en werkzaamheden als klinische chemisch analist ben ik lid geworden van wat toen VvMA heette en nu NVML heet. In 1975 werd de eerste stappen gezet voor oprichting van OCM en vanaf dat moment ben ik ook lid van deze vereniging, later VAP geworden."

Zij herinnert zich nog altijd waarom zij lid geworden is van de VvMA: "Destijds bij de start van mijn werkzaamheden op het laboratorium werd er regelmatig een lezing, voordracht of een rondleiding regionaal verzorgd en daar gingen we dan als leerlingen en later als analisten heen. Dat was altijd heel leerzaam, maar ook gezellig. Later volgde ik allerlei cursussen die werden georganiseerd door de NVML." Het was voor Janny daarom ook logisch om actief te worden binnen deze vereniging. Zij maakte negen jaar deel uit van het hoofdbestuur waarvan vijf jaar als voorzitter. Verder heeft zij in de commissie sociale begeleiding, onderwijscommissie, redactie en de commissie internationale betrekkingen gezeten. In de OCM (Organisatie voor Cytodiagnostische Medewerkers) maakte zij als penningmeester deel uit van het dagelijks bestuur. Als actief lid van beide verenigingen kan zij aangeven wat het verschil is tussen de VAP en de NVML. Janny: "NVML is gericht op alle disciplines binnen het laboratorium. Daarnaast speelt ook de sociale belangenbehartiging een grote rol. VAP is sterk vakgericht en heeft daarbij zijn eigen charme."

Gek van de afkortingen

Janny heeft zich altijd heel sterk

gemaakt voor de onderwijspoot van de beroepsverenigingen. Toch is zij er per ongeluk ingerold. Zij: "Een van de twee hoofdbestuurleden die onderwijs deed ging uit het bestuur en toen werd er, gezien mijn achtergrond, de pathologie, naar mij gekeken. In het begin werd ik gek van de afkortingen en termen. Later heb ik naast de onderwijscommissie ook deelgenomen aan andere commissies zoals de HBO raad, SAL, VOVOL, VAPRO en LAL. Voor mij was informatie van de VAPRO altijd heel nuttig omdat zij goed konden aangeven wat men vanuit het ministerie met het onderwijs wil."

Beoordeling geschiktheid vak ontbreekt

Terugkijkend op haar actieve periode is Janny het meest trots op het feit dat cytologie opgenomen is in het laboratoriumonderwijs in tegenstelling tot andere landen. Het is ook nog eens van een hoog niveau. Zij vindt het jammer dat er niet vooraf wordt gekeken of een student geschikt is voor het vak. "De laatste jaren zie je nogal eens stagiaires die of geen affiniteit met het vak hebben of gewoon het vak niet aankunnen omdat zij beperkingen hebben. Ik vind niet dat je deze jongelui pas hierop moet wijzen als ze op stage komen."

Uit fusie kan iets goeds ontstaan

De VAP en de NVML brengen nu een gemeenschappelijk blad uit. Hoe denkt zij over vergaande samenwerking of op termijn een fusie van beide verenigingen? Een eventuele fusie is volgens Janny onvermijdelijk. Zij vindt dat je elkaars sterke kanten kan benutten waaruit iets goeds kan ontstaan. Dat het ook geldt voor de laboratoria gelooft Janny niet; "Ik zie dit nog niet gebeuren met medisch specialisten en dat is toch het begin." De gezondheidszorg staat onder druk. Ziekenhuizen hebben het moeilijk. Laboratoria misschien nog wel meer in verband met schaalvergroting. Janny beaamt het; "Schaalvergroting is gezien de ontwikkelingen in het vak onvermijdelijk. Ik zou wel



graag willen zien dat er ook naar arbeidsvreugde en uitdaging gekeken werd bij deze schaalvergroting."

Tot het laatst toe met veel plezier gewerkt

Zij concludeert: "Terugkijkend op mijn werkzaam leven heb ik het heel goed gehad. Natuurlijk is er altijd wel wat maar door de bank genomen heb ik prettig samengewerkt met heel veel mensen. Tot het laatst toe ben ik met heel veel plezier naar mijn werk gegaan. Natuurlijk komt dit ook door al die mensen die mij hebben geholpen en gestimuleerd."

“Ik zou wel graag willen zien dat er ook naar **arbeidsvreugde** en **uitdaging** gekeken werd”

Wat kan jij de beide verenigingen nog meegeven? "Maak je sterk voor een goede opleiding, een sterke positie van de analist en stimuleer elkaar door nascholing. Het is meer dan een optelsom van het goede van beide verenigingen. Ik heb heel veel geleerd van de functies die ik naast mijn werk heb gehad. Ik roep jonge collega's op om dit ook te doen. Je krijgt een schat aan kennis zo maar op je bord en niemand neemt je dat af."

Op de vraag of zij alles uit haar werk heeft kunnen halen antwoordt zij: "In al mijn banen heb ik altijd heel veel gehad aan de support van mijn collega's!"

Aanmelding NVML cursussen geopend

Voor de volgende NVML cursussen is het aanmeldingsformulier te vinden op de website www.nvml.nl:

	Aanmelding geopend per	Sluitingsdatum inschrijving
Stollingsdiagnostiek	vanaf 3 maart	9 mei
Flowcytometrie van lymfoproliferatieve aandoeningen	vanaf 3 maart	9 mei

NVML- Nascholing Bloedgasen

Bij een bloedgasanalyse worden door- gaans de hoeveelheid zuurstof, koolstof- dioxide, bicarbonaat en de pH bepaald. De huidige bloedgasanalyzers kunnen daarnaast ook o.a. glucose, lactaat, natri- um, kalium, chloride en geïoniseerd cal- cium meten. De belangrijkste reden voor het aanvragen van een bloedgasanalyse is het controleren van de zuur-base-sta- tus. Voor het goed functioneren van de diverse functies in het menselijk lichaam is het van cruciaal belang dat de pH bin- nen nauwe grenzen (7,35-7,45) blijft. De pH wordt bepaald door het evenwicht tussen zuren en basen en verstoringen in dit zuur-base-evenwicht kunnen leiden tot een acidose of een alkalose. Zuur- base-stoornissen komen veelvuldig voor, met name bij ernstig zieke patiënten, en vormen geen ziekte op zich maar zijn

een uiting van een onderliggende ziekte of aandoening. Een zuur-base stoornis kan een respiratoire of een metabole oorzaak hebben, en vaak gaat het om een combinatie van een respiratoire en een metabole stoornis. De status van het zuur-base-evenwicht wordt beoordeeld aan de hand van arteriële bloedgasanaly- ses. Met deze uitslagen kan ook iets wor- den gezegd over (mogelijke) oorzaken van een zuur-base-stoornis. Beoordeling van pO₂, pCO₂ en sO₂ van het arteriële bloedgas geeft daarnaast inzicht in de oxygenatie van de patiënt.

In deze nascholing wordt ingegaan op het zuur-base-evenwicht en de bloed- gasanalyse. Aan de hand van praktijk- voorbeelden worden theorie, klinische toepassing, laboratoriumtesten en preanalytische aspecten besproken.

Sprekers

Mw. drs. L.M. Imming, longarts i.o., Medisch Spectrum Twente Enschede

Mw. Dr. Ir. J. Doorn, Klinisch chemicus i.o., UMC Groningen

Data en locatie:

Donderdag 9 juni 2016, Amphia ziekenhuis, locatie Langendijk Breda

Dinsdag 14 juni 2016, Gelre zieken- huizen, locatie Apeldoorn

Aanmelding

U kunt zich aanmelden **vóór 16 mei 2016** via www.nvml.nl. N.B. er wordt gevraagd meteen te betalen via Ideal, dus houdt uw betaalgegevens bij de hand!

Opleidingen

Hogeschool van Arnhem en Nijmegen Cursussen, post-hbo en maatwerk- opleidingen Life Sciences

Titel: Basiskennis Chemie
Datum: e-learning
(vrije keus startdatum)
Omvang: 2,5 maand
Kosten: € 595,00
Locatie: n.v.t.

Titel: Introductie Massa Spectrometrie
Datum: 24 mei 2016 (9.00 – 17.30 uur)
Kosten: € 550,00
Locatie: Nijmegen

Titel: Proteomics
Data: 31 mei en 7 juni 2016
(2 dagen 9.00-17.00 uur)
Kosten: € 1.505,00
Locatie: Nijmegen

Titel: Morfologie van het Urinesediment
Datum: 9 juni 2016 (9.30-17.00 uur)
Kosten: € 392,00
Locatie: Nijmegen

Titel: Bloedbankkunde
Start: 13 september 2016
(11 dinsdagen 18.00-21.00 uur)
Kosten: € 1.128,00
Locatie: Amsterdam

Titel: Labmanagement - Communicatie
Start: 13 september 2016
(4 dagen 9.00-13.00 uur)
Kosten: € 948,00
Locatie: Nijmegen

Titel: Labmanagement -
Projectmanagement
Start: 13 september 2016
(3 dagen 14.00-18.00 uur)
Kosten: € 795,00
Locatie: Nijmegen

Titel: Labmanagement - Kwaliteitszorg
Start: 4 oktober 2016
(4 dagen 14.00-17.00 uur)
Kosten: € 948,00
Locatie: Nijmegen

Voor aanmelding en aanvullende in- formatie over onze opleidingen kunt u terecht op onze website www.hanlifesciences.nl of mailen naar info.lifesciences@han.nl.

Incompany maatwerk

Het CBD heeft al meer dan twintig jaar ervaring met het verzorgen van schooling op maat en is voor veel bedrijven en instellingen uitgegroeid tot een betrouwbare partner. De kracht van de CBD-aanpak is dat we specifiek trainen op wat in de werksituatie van belang is. Wij kunnen dit organiseren door middel van een individueel traject of een groepsgewijze aanpak. Zo garanderen we maximale effectiviteit.

Titel: Workshop Diagnostiek van protozoaire darminfecties
Data: 15 juni 2016
Inschrijven vóór 4 mei 2016
Cursusprijs: € 530,- (bij inschrijving vóór 15 april 2016 € 490,-)

Titel: Nieuwe moleculaire diagnostische technieken
Data: 2 juni 2016
Inschrijven vóór 19 mei 2016
Cursusprijs: € 360,-

Titel: Workshop RNAseq
Data: 30 en 31 mei 2016
Inschrijven vóór 18 april 2016
Cursusprijs: € 815,-

Titel: Workshop Analyse van Next Generation Sequencing (NGS) data
Data: 19 en 20 mei 2016
Inschrijven vóór 18 april 2016
Cursusprijs: € 815,-

Titel: Masterclass Immunohistochemistry
Data: 16 juni 2016
Inschrijven voor 5 mei 2016
Cursusprijs: € 490,- (korting wanneer inschrijving is ontvangen voor 7 april 2016 € 445,-)

Titel: Statistiek voor analisten
Data: 13 en 20 juni 2016
Inschrijven vóór 2 mei 2016
Cursusprijs: € 755,-

Titel: Praktijkcursus Bloedcelmorfologie van normale tot bijzondere bloedbeelden
Data: 2, 9 en 16 juni 2016
Inschrijven vóór 21 april 2016
Cursusprijs: € 525,-

Titel: Masterclass antibiotica resistentie: nu en in de toekomst
Data: 3 juni 2016

Inschrijven vóór 22 april 2016
Cursusprijs: € 495,-

Titel: Basic principles of GMP (English course)
Data: 6 en 7 juni 2016
Inschrijven vóór 25 april 2016
Cursusprijs: € 535,-

Titel: Workshop Primer en probes
Data: 14 en 15 juni 2016
Inschrijven vóór 3 mei 2016
Cursusprijs: € 755,-

Titel: Kwaliteitsaspecten en troubleshooting bij PCR-technologie
Data: 23, 27 mei en 1 juni 2016
Inschrijven vóór 18 april 2016
Cursusprijs: € 1175,-

Indien u zich minimaal vier weken voor de uiterste inschrijfdatum inschrijft, ontvangt u korting. 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.

Avans Hogeschool Breda

Het lectoraat Analysetechnieken in de Life Sciences van Avans Hogeschool ontwikkelt en geeft cursussen op het gebied van biomedische laboratoriumtechnieken voor bedrijven, universiteiten en instellingen. In 2014 worden de volgende internationale cursussen georganiseerd:

Titel: Hedendaagse Moleculaire analysetechnieken in de microbiologie
Module 1: Basiskennis Moleculaire Biologie
Datum: donderdag 21 april 2016
Locatie: Avans Hogeschool Breda
Kosten: € 150,-/module

Titel: Hedendaagse Moleculaire analysetechnieken in de microbiologie
Module 2: Moleculair typeringstechnieken in microbiologische ziekenhuislaboratoria
Datum: maandag 23 mei 2016
Locatie: Avans Hogeschool Breda
Kosten: € 150,-/module

Titel: Hedendaagse Moleculaire analysetechnieken in de microbiologie
Module 3: Real-time PCR in microbiologische ziekenhuislaboratoria
Datum: maandag 20 juni 2016

Locatie: Avans Hogeschool Breda
Kosten: € 150,-/module

Titel: Hedendaagse Moleculaire analysetechnieken in de microbiologie
Module 4: Next generation sequencing in microbiologische ziekenhuislaboratoria
Datum: donderdag 22 september 2016
Locatie: Avans Hogeschool Breda
Kosten: € 150,-/module

Voor meer informatie over deze cursus verwijs ik u graag naar onze website: <http://www.alsavans.nl>.
Voor vragen, neem contact op met: Secretariaat Lectoraat Analysetechnieken in de Life Science, Avans Hogeschool, Mevr. Sari van Heel-Vauhkala,
Tel: +31 (0)88 525 7728;
e-mail: si.vanheel-vauhkala@avans.nl

Hogeschool Utrecht Institute for Life Sciences & Chemistry

Een deel van de cursussen die in de bacheloropleidingen van het Institute for Life Sciences & Chemistry worden gegeven, kunt u ook los volgen. Dit worden keuzemodules genoemd. De cursussen hebben een erkend certificaat.

Hieronder de cursussen die zijn te volgen:

- Biotechnologie
- Celbiologie
- Experimental design en Cell culture
- Fysiologische regulatiesystemen
- Medische immunologie
- Infectieziekten
- Medical laboratory
- Medische microbiologische diagnostiek
- Metabole ziekten
- Metabolisme en spierfysiologie
- Microbiologie
- Moleculaire diagnostiek en epidemiologie
- Practicum moleculaire biologie
- Moleculaire Biologie theorie
- Proefdierkunde hbo-technicus

De cursussen starten door het jaar heen (5 september 2016, 14 november 2016, 6 februari 2017 en 17 april 2017) Kijk op onze website www.cvnt.nl voor meer informatie. Wilt u de opleidingsbehoefte binnen uw organisatie in huis en op maat invullen, neem dan contact op met de studieadviseur Life Sciences via 088-481 8888 of info@cvnt.nl.

AGENDA

Agenda NVML

April:

26 Start NVML-cursus Fertilititeit en zwangerschap Utrecht

Mei:

24 NVML-congres Kwaliteit 'Op het juiste spoor' Amersfoort

24 Algemene Ledenvergadering NVML Amersfoort

26 Start NVML-cursus Malariadiagnostiek Rotterdam

Juni:

7 Start NVML-cursus Stollingsdiagnostiek Utrecht

9 NVML-nascholing Bloedgassen Breda

14 NVML-nascholing Bloedgassen Apeldoorn

16 NVML-cursus Flowcytometrie van lymfoproliferatieve aandoeningen Utrecht

September:

15 Start NVML-cursus Meewerkend Leidinggevende Plus(C) Utrecht

29 Symposium Fertilititeit Amersfoort

29 Start NVML-cursus Stagebegeleiding (C) Utrecht

November:

29 Jubileumcongres NVML Leiden

Agenda VAP activiteiten

Deze activiteiten zijn alleen toegankelijk voor VAPleden

2 en 3 november 2016 WIHC, 2-daagscongres Maag/darm/tractus

17 november 2016 11e WHTdag NBC Nieuwegein

Agenda overige activiteiten

Deze activiteiten worden niet door de VAP georganiseerd

20 en 21 april Training course Pathology 2.0, MedicalPHIT. www.phit.nl

9 t/m 13 mei 2016 9th European Tutorial in Cytology, Denmark

28 mei t/m 1 juni 2016 The 19th International Congress of Cytology. Pacifico Yokohama, Japan

24 t/m 30 sept. 2016 The XXXI International Congress of the International Academy of Pathology and the 28th Congress of the European Society of Pathology will for the first time be organised as a joint venture, in the Köln Messe in Cologne, Germany

2 t/m 5 oktober 2016 40th European Congress of Cytology, Liverpool Engeland

4 t/m 7 oktober World of Technology & Science (WoTS), Jaarbeurs Utrecht. www.wots.nl

Om de agenda up to date te houden moeten data en gegevens tijdig doorgegeven worden aan de redactie. De redactie is niet verantwoordelijk voor de juistheid van de aangeleverde data en gegevens.

Wat is het?

Vorige keer stond de rubriek 'Wat is het?' weer in Analyse. De oplossing was: Gestapelde petrischalen, gevuld met verschillende voedingsbodems (zoals rechts hieronder te zien). De gelukkige winnaar is M. de Mooij! Zij krijgt binnenkort een VVV-bon ter waarde van €10,00 thuisgestuurd.



Dit keer hebben we weer een nieuw raadsel.

Wat staat hieronder op de foto? Het antwoord kun je sturen naar nvml@nvml.nl onder vermelding van 'Wat is het?'. Oplossingen kunnen ingestuurd worden tot 29 april 2016. De winnaar ontvangt een VVV-bon ter waarde van €10,00. De winnaar en de oplossing worden bekend gemaakt in Analyse en VAPvisie nummer 3 in 2016.



Verschijningsdata 2016

Nummer	deadline artikelen	deadline advertenties	verschijningsdatum
VAPvisie 02-16 *	26 februari 2016	11 maart 2016	14 april 2016
VAPvisie 03-16	6 mei 2016	20 mei 2016	23 juni 2016
VAPvisie 04-16	22 juli 2016	1 augustus 2016	25 augustus 2016
VAPvisie 05-16	9 september 2016	23 september 2016	27 oktober 2016
VAPvisie 06-16	4 november 2016	18 november 2016	22 december 2016

NVML

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 bureaumedewerkers

- 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. M.J. Egbers, afdeling Medische Microbiologie, Isala Klinieken Zwolle

Penningmeester

mw. S. Versluis-van den Born, Medisch Centrum Kinderwens, Leiderdorp

Secretaris/vicevoorzitter

mw. P. IJzerman, Hillegrom, transitie manager

Leden

mw. E.C. Liesting, afdeling Specieële Klinische Chemie en Hematologie, UMC Utrecht

dhr. A.J. van der Kolk, operationeel manager KCI Deventer ziekenhuis

dhr. B. Klein Brink, Manager Histopathologie, Symbiant

mw. H. Duijn, Antoni van Leeuwenhoekziekenhuis Amsterdam

Adviseurs

- Prof. dr. R. de Jonge, Amsterdam, klinisch chemicus
- dr. H. Hazelbag, Den Haag, patholoog
- mw. E.C. de Jong PhD, cellulair immunoloog
- dr. C.H.E. Boel, Utrecht, arts-microbioloog

NVML-Commissies en werkgroepen**Commissie Internationale Contacten**

Contactpersoon: Marja Pospiech, bureau NVML.

Commissie Kwaliteit

Contactpersoon: Petra Melsen

Commissie Nascholing

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

Commissie/Platform Onderwijs

Contactpersoon: Marja Pospiech, bureau NVML.

Redactiecommissie

Contactpersoon Annerieke Nieuwenhuijse

Werkgroep Registratie

Contactpersoon: Marja Pospiech, bureau NVML

Commissie Sociale Belangen

Contactpersonen: Marja Pospiech en Jenny Schoemaker, bureau NVML.

Werkgroep e-learning

Contactpersoon: Nelly IJzerman

Landelijk fertiliteitsnetwerk (LFN)

Contactpersoon Sandra Versluis

Landelijk kwaliteitnetwerk (LKN)

Contactpersoon Elly Bom

Werkgroep Hoofdanalisten Medische Microbiologie (WHAMM)

Contactpersoon: Marianne Egbers

Werkgroep Hoofdanalisten Klinische Chemie (WHAKC)

Contactpersoon: Eline Liesting

Werkgroep Hoofdanalisten Pathologie (WHAPA)

Contactpersoon: John van Marsdijk

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

Annerieke Nieuwenhuijse

E-mail: nvml.redactie@nvml.nl

Redactie

mw. M. de Bie, Pathologie,

St. Elisabeth Ziekenhuis, Tilburg

mw. R. Blom, bureaumedewerker NVML

mw. I. Linde, Infectieziekten, GGD, Amsterdam

dhr. R. Lindenberg, Algemeen Medisch

Laboratorium (AML), Antwerpen

mw. dr. W.W.J. van de Sande, Medische Microbiologie
en Infectieziekten, Erasmus MC, Rotterdam

Druk

BDU

Advertentie-exploitatie

Business Service Centre

Mw. M. van der Vegt

Tel.: 0572 – 820995 / 0572-348200

e-mail: info@amirandavandervegt.nl

Opplage

4100 exemplaren

Advertenties & kopij

Geldend advertentietarief: Tarievenlijst 2016

Sluitingsdatum advertenties

Voor nummer 3: 20 mei 2016

Inleverdata kopij

De redactie ziet korte berichten (bijvoorbeeld over opleidingen) voor Analyse 3 graag uiterlijk 29 april 2016 tegemoet. Analyse 3 verschijnt op dinsdag 31 mei 2016 en Analyse 4 op dinsdag 26 juli 2016.

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

RIDA[®] GENE – Meer dan een PCR test

Flexibel:

gevalideerd voor een breed scala aan manuele en geautomatiseerde extractiemethoden; kan uitgevoerd worden op meest gebruikelijke real-time PCR instrumenten – vele studies beschikbaar

Compleet:

bevat alle benodigde componenten – geen extra kosten

Validated:

CE gemarkeerd en QCMD (externe kwaliteitsevaluatie) deelname

Specifiek en gevoelig:

real-time PCR met 'Taqman Hydrolysis Probe Technology'

Betrouwbaar:

- inclusief extractiecontrole (Internal Control RNA/ Internal Control DNA) voor de detectie van PCR
- remming en/of monitoren van kwaliteit reagentia
- en efficiëntie van DNA/RNA extractie

Efficiënt:

- Identiek PCR profile voor
- alle DNA en RNA analyses

