

Analyse

Vakblad voor
biomedisch laboratoriummedewerkers



De ziekte van Lyme:

Uitdagingen in diagnostiek en onderzoek naar langdurige klachten

Het belang van 24 uren urine voor onderzoek
en patiëntenzorg

Circulerend tumor DNA of "liquid biopsies"

Een voorproefje van het Spring Event

Van het bestuur:

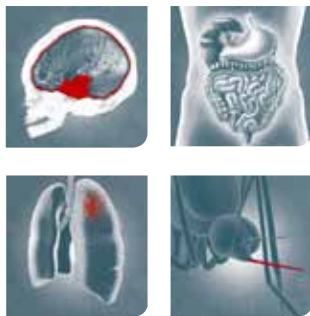
Een dag na een drukke weekenddienst

Kwaliteit en service voor in-vitro diagnostica

Fast-track realtime PCR kits met Mediphos ondersteuning

- ✓ CE gemarkeerd inclusief one-step mastermix.
- ✓ RNA én DNA detectie in één bepaling mogelijk.
- ✓ Eén universeel programma voor alle kits.

- Gastro-enteritis (viraal, bacterieel, parasieten)
- Meningitis (viraal, bacterieel)
- Dermatofyten
- Respiratoir
- Blaasjes (HSV, VZV)
- Kwantitatieve bepalingen (o.a. CMV, EBV)
- Tropical diseases

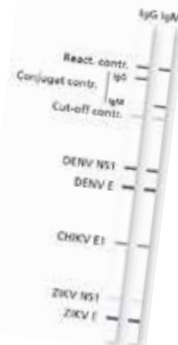


fast-track >>>
DIAGNOSTICS

Nieuw: line-blot Tropical Fever IgG-IgM

Eerste Immunoblot bepaling voor simultane detectie en differentiatie van:

- Dengue virus (DENV)
- Chikungunya virus (CHIKV)
- Zika virus (ZIKV)



- ✓ Zeer gevoelige Envelop E-eiwitten en specifieke NS-1 eiwitten zorgen voor een vermoedelijke Dengue, Zika of Flavivirus positief/negatief resultaat. Plus nog een resultaat voor Chikungunya, en dit allemaal op één strip.
- ✓ IgG én IgM strip beschikbaar.
- ✓ Te gebruiken met het officiële PAHO/WHO algoritme die het parallel testen van deze pathogenen aanbeveelt.

MIKROGEN
DIAGNOSTIK

Revogene™ POCT PCR



**BRINGING THE LAB
TO THE PATIENT**

- ✓ < 1 uur testtijd, < 1 min hands-on time.
- ✓ Real-time Multiplex PCR tot 12 targets per reactie.
- ✓ 8 testen per run.
- ✓ Faire prijs per test.

Beschikbaar: Group B Strep., C.diff.

In ontwikkeling o.a: CRE, Gastro panel, MRSA, Respiratoir

 **GenePOC™**

Orion GenRead® POCT moleculair platform

- ✓ Nieuw platform voor snelle moleculaire detectie van pathogenen.
- ✓ Gebaseerd op SIBA isothermale amplificatie.
- ✓ Eenvoudig in gebruik.
- ✓ Minder dan één uur testtijd.
- ✓ Betaalbare, bi-directioneel koppelbare tafelmodel analyser.



Beschikbaar: C.diff, Campylobacter

In ontwikkeling o.a: Influenza A&B, RSV

ORION
DIAGNOSTICA

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

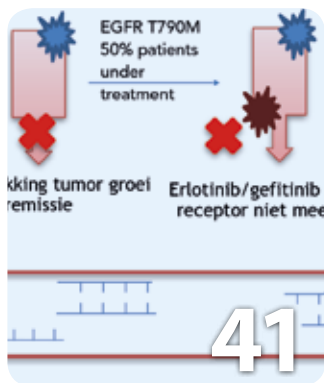


36

36 De ziekte van Lyme: uitdagingen in diagnostiek en onderzoek naar langdurige klachten

H. Vrijmoeth, J. Ursinus en A. Buskermolen

Het grootste deel van de mensen met Lymeziekte herstelt goed na behandeling met antibiotica. Toch zijn er ook mensen die na behandeling langer klachten houden. In het LymeProspect onderzoek worden factoren die een rol kunnen spelen bij het ontstaan van langdurige klachten.

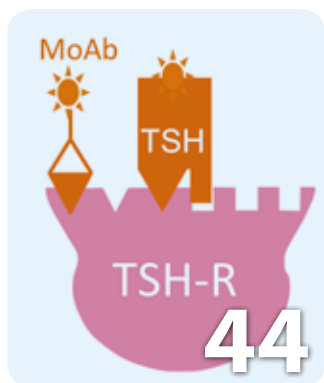


41

39 Het belang van 24 uren urine voor onderzoek en patiëntenzorg

M.H. Riphagen, R. Ramaker, S. Hartsema, D. Goedhart, C. IJsseldijk, R. Hibma en S. Hulstein, S.J.L. Bakker

Door de bewuste of onbewuste onder- en over rapportage binnen voedings- en gezondheidsonderzoek kunnen verbanden die in feite wel bestaan, niet worden gevonden of zelfs andersom lijken. Onderzoek van de urine kan hiervoor een oplossing bieden.



44

41 Circulerend tumor DNA of "liquid biopsies"

Dr. D. van den Broek

'Liquid biopsies' is binnen de oncologie een verzamelnaam voor diagnostiek in bloed aan de hand van verschillende biomarkers. Voorbeelden van deze biomarkers zijn circulerende tumorcellen, circulerend tumor DNA (ctDNA), exosomen, micro-RNA en 'tumor educated platelets'.

44 Een multicenter validatie van een assay voor TSH-Receptor stimulerende antistoffen

Dr. M.R. Batstra, Dr. M. Heron, Dr. R. Hoedemakers

Bij patiënten met de ziekte van Graves worden antistoffen tegen de TSH-Receptor bepaald. Recent is een nieuwe assay ontwikkeld die gebruik van een chimere TSH-R, waardoor alleen stimulerende antistoffen (TSI) zouden worden gedetecteerd.

Uitgave

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

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

Redactiecoördinatie en eindredactie

Simone Priester-Vink

E-mail: nvml.redactie@nvml.nl

Redactie

E. Liesting, Speciale Klinische Chemie
en Haematologie, UMC Utrecht, Utrecht
mw. R. Blom, bureaumedewerker NVML
mw. I. Linde, Infectieziekten, GGD, Amsterdam
dhr. R. Lindenbergh, Algemeen Medisch
Laboratorium (AML), Antwerpen
mw. dr. W.W.J. van de Sande, Medische
Microbiologie en Infectieziekten, Erasmus MC,
Rotterdam
vacant

Vormgeving en opmaak

Interface Communicatie, Ede
www.ifcommunicatie.nl

Coverfoto

www.shutterstock.com

Druk

BDU

Advertentie-exploitatie

Business Service Centre
Mw. M. van der Vegt
Tel.: 0572 - 820995 / 0572-348200
e-mail: info@mirandavandervegt.nl

Oplage

2500 exemplaren

Advertenties & kopij

Geldend advertentietarief: Tarievenlijst 2017

Sluitingsdatum advertenties

Voor nummer 3: 12 mei 2017

Inleverdata kopij

De redactie ziet korte berichten (bijvoorbeeld
over opleidingen) voor Analyse 3 graag uiterlijk
28 april 2017 tegemoet. Analyse 3 verschijnt op
13 juni 2017.

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

49 Speuren naar onbekende virussen

55 Spring Event

54 Van het bestuur:
Een dag na een drukke
weekenddienst

57 Vaste prik

60 Arbeidsvitamine

58 Nieuws uit de
stuurgroep

63 Cao Nieuws

60 Cursussen

62 Opleidingen

62 Wat is het?

63 Agenda

De ziekte van Lyme:

Uitdagingen in diagnostiek en onderzoek naar langdurige klachten

Hedwig Vrijmoeth¹, Jeanine Ursinus² en Anita Buskermolen³, namens het LymeProspect onderzoeksteam.

¹ Radboudumc, Nijmegen. Afdeling Interne Geneeskunde.

² Academisch Medisch Centrum, Amsterdam. Afdeling interne Geneeskunde.

³ Academisch Medisch Centrum, Amsterdam. Afdeling medische microbiologie/serologie.



Ruim 1 miljoen Nederlanders lopen jaarlijks een of meerdere tekenbeten op.¹ Teken kunnen de verwekker van Lymeziekte overdragen, de bacterie *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Ongeveer 1 op de 5 teken in Nederland draagt deze bacterie bij zich.² In 2014 meldden 23.500 mensen zich bij de huisarts in verband met het ontstaan van een erythema migrans (EM), dit is een uitbreidende rode ring of vlek die ontstaat op de plek van de tekenbeet als eerste uiting van Lymeziekte (figuur 1).³

EM wordt gewoonlijk door de huisarts gediagnosticeerd en dient behandeld te worden met een antibioticumkuur, zoals beschreven in de CBO richtlijn.⁴ Als de infectie niet of niet tijdig behandeld wordt, kan de bacterie zich verspreiden naar bijvoorbeeld het zenuwstelsel (dan is er sprake van zogenaamde Lyme neuroborreliose), een of meerdere gewrichten (Lyme-artritis) of elders op de huid (acrodermatitis chronica atrophicans, ACA). Deze ziektebeelden ontstaan enige tijd na de infectie en er is vaak aanvullend onderzoek nodig om de diagnose te stellen. De behandeling is ook uitgebreider dan voor EM.

Het aantal mensen dat de huisarts bezoekt voor een tekenbeet of een erythema migrans is in de afgelopen jaren sterk toegenomen.³ Dit kan te maken hebben met veranderingen in het gedrag van mensen (meer blootstelling aan teken), verandering in natuur en klimaat en zeker ook met de toegenomen aandacht voor Lymeziekte bij zowel patiënten als dokters. De diagnose Lymeziekte is gebaseerd op de klachten en symptomen in combinatie met het aantonen van IgM

en/of IgG antistoffen tegen de *Borrelia* bacterie in het bloed. In enkele gevallen kan de diagnose worden gesteld door directe detectie van de bacterie, bijvoorbeeld met kweek of een Polymerase Chain Reaction (PCR) op huidbiopten, liquor of synoviaal vocht.

Het grootste deel van de mensen met Lymeziekte herstelt goed na behandeling met antibiotica. Toch zijn er ook mensen die na behandeling langer klachten houden, zoals spier- en gewrichtspijnen en vermoeidheid. De oorzaak hiervan is niet altijd duidelijk. In het LymeProspect onderzoek worden factoren die een rol kunnen spelen bij het ontstaan van langdurige klachten na Lymeziekte onderzocht.

Diagnostiek en interpretatie

De diagnose Lymeziekte wordt mede gesteld op basis van kenmerkende symptomen. Een erythema migrans is een klinische diagnose; als een arts bij het zien van de huidafwijking vindt dat het een EM kan zijn, kan behandeling gelijk worden gestart. Er is in dit geval geen laboratoriumdiagnostiek nodig. Bij uitgebreidere vormen van Lymeziekte wordt wel diagnostiek gedaan ter ondersteuning van de diagnose. De

(inter)nationale richtlijnen, waaronder de Nederlandse CBO-richtlijn, adviseren om in eerste instantie een 'Enzyme-linked immunosorbent assay' (ELISA of EIA) te verrichten om IgM en IgG antistoffen aan te tonen tegen de *Borrelia* bacterie.⁴ Om de specificiteit te verhogen, wordt na een dubieuze of positieve uitslag van deze eerste test een IgM en/of IgG immunoblot gedaan om het resultaat te bevestigen. Deze manier van testen kent beperkingen, waar een arts rekening mee moet houden bij het interpreteren van de uitslag. Allereerst is de betrouwbaarheid van de serologische testuitslag afhankelijk van de duur van de *Borrelia* infectie. Zo kan het weken duren voordat antistoffen tegen de *Borrelia* bacterie worden aangemaakt en meetbaar zijn in het serum. In eerste instantie worden IgM-antistoffen aangemaakt; later volgen IgG-antistoffen. Antibiotische behandeling in de vroege fase van infectie, wanneer de antistofrespons nog niet of nauwelijks is gestart, kan ervoor zorgen dat de (verdere) antistofrespons uitblijft en dat de serologie dus negatief blijft. Dit kan gelden voor zowel de IgM als de IgG respons, maar ook voor de conversie van IgM



Figuur 1. Twee voorbeelden van een erythema migrans, de kenmerkende huidafwijking op de plaats van een tekenbeet, als eerste signaal van de ziekte van Lyme. Foto's van LymeProspect deelnemers. (De rechter foto is tevens gepubliceerd in het boek 'Ecology and prevention of Lyme borreliosis', Wageningen Academic Publishers 2016.)

naar IgG.

Bij het vaststellen van een erythema migrans wordt geadviseerd geen serologie te verrichten, omdat de antistof-test in ongeveer 50% van de gevallen (nog) negatief zal zijn. De sensitiviteit in deze vroege fase van de infectie is dan ook laag. Een negatieve testuitslag zou ertoe kunnen leiden dat behandeling onnodig wordt uitgesteld of dat patiënten misschien ten onrechte helemaal niet worden behandeld. De betrouwbaarheid van de testuitslag neemt toe naarmate de infectie langer bestaat, zoals bij uitgebreidere vormen van Lymeziekte. Zo is de sensitiviteit van de ELISA of EIA en immunoblots bij patiënten met acrodermatitis chronica atrophicans, een late Lyme manifestatie, gemiddeld 97%.⁵

Bij de interpretatie van de antistof-test moet tevens rekening worden gehouden met het feit dat IgG antistoffen nog vele jaren na een *Borrelia* infectie in het bloed aantoonbaar kunnen blijven, ook als de *Borrelia* bacterie niet meer actief is. Als er IgG antistoffen worden gevonden, is het niet altijd duidelijk of er sprake is van een actieve, onbehandelde *Borrelia* infectie of dat deze antistoffen een overblijfsel zijn van een eerder doorgemaakte infectie die niet meer behandeld hoeft te worden. Uit eerder onder-

zoek blijkt dat circa 4-8% van de Nederlandse bevolking *Borrelia*-IgG antistoffen heeft, bijvoorbeeld als gevolg van een zelf bestreden asymptomatische infectie.⁴ Concluderend kan de uitslag van een serologische test ondersteunend zijn bij het stellen van de diagnose Lymeziekte, mits bovenstaande beperkingen worden meegenomen in de interpretatie van de testuitslag.

Bij verdenking op Lyme neuroborreliose wordt geadviseerd om onderzoek van de liquor te doen. Een lymfocyttaire pleiocytose (toegenomen aantal lymfocyten in de liquor) in combinatie met intrathecale antistofproductie tegen *Borrelia* (de vorming van antistoffen in het hersenvocht) ondersteunt de diagnose voor Lyme neuroborreliose.

Directe detectie van de *Borrelia* bacterie is in sommige gevallen mogelijk, door middel van PCR of kweek op bijvoorbeeld huidbiopten (bij EM en ACA), synoviaal vocht (bij Lyme-artritis) of liquor (bij neuroborreliose). Een positieve uitslag is bewijzend voor de diagnose. Een negatieve uitslag sluit de diagnose echter niet altijd uit. Veel aandacht is er voor de ontwikkeling van nieuwe immunologische testen voor Lymeziekte, zoals T-cel proliferatie testen en immunologische markers. Hoewel ook dit indirecte

detectiemethoden zijn, zouden deze testen in theorie onderscheid kunnen maken tussen een doorgemaakte infectie en een actuele actieve infectie. Op dit moment zijn deze testen echter nog niet (voldoende) gevalideerd voor gebruik in de klinische praktijk. Deze testen dienen eerst nader onderzocht te worden.

Het LymeProspect onderzoek

Over het algemeen herstellen de meeste patiënten goed na behandeling voor Lymeziekte. Toch houdt een deel van de patiënten met Lymeziekte klachten na behandeling, vaak bestaande uit vermoeidheid, spierpijn, gewrichtspijn en hoofdpijn.⁶ Vooral nog is niet bekend waarom sommige mensen klachten houden en anderen goed herstellen. Wel zijn er verschillende hypothesen over. Zo kunnen aanhoudende klachten een gevolg zijn van een aanhoudende *Borrelia* infectie, een ontregeld immuunsysteem, genetische factoren en/of de manier waarop patiënten met hun klachten omgaan. Meerdere wetenschappelijke studies hebben laten zien dat een aanhoudende *Borrelia* infectie in de meeste gevallen niet de oorzaak lijkt te zijn van aanhoudende klachten, mede aangezien aanvullende antibioticakuren na een eerste kuur geen duidelijk (blijvend) effect hebben.⁷⁻¹⁰ De nationale

LymeProspect studie heeft als doel om meer inzicht te krijgen in het voorkomen en de oorzaken van langdurige klachten. Deze studie is een samenwerking tussen het RIVM, Radboudumc, AMC en Gelre ziekenhuizen Apeldoorn. Patiënten die door hun huisarts of specialist gediagnosticeerd zijn met een EM of andere vorm van Lymeziekte kunnen zich t/m 2018 binnen vier dagen na het starten van de antibioticakuur aanmelden via de website www.tekenradar.nl. Patiënten die bereid zijn om naar een van bovenstaande ziekenhuizen te reizen, kunnen aldaar binnen een week na het starten van de antibiotica deelnemen aan de studie. Gedurende een jaar wordt hun gezondheid gevolgd en door middel van driemaandelijke online vragenlijsten en een aantal bloedanalyses worden mogelijke oorzaken van aanhoudende klachten onderzocht. De resultaten van de LymeProspect studie zullen in de toekomst hopelijk bijdragen aan preventie van en betere behandelstrategieën voor aanhoudende klachten na behandeling voor Lymeziekte.

Over de auteurs

Hedwig Vrijmoeth is in het laatste jaar van haar studie geneeskunde betrokken geraakt bij wetenschappelijk onderzoek naar de ziekte van Lyme. Na haar afstuderen is ze gaan werken als arts-onderzoeker voor de LymeProspect studie, in het Radboudumc in Nijmegen, onder leiding van prof. B.J. Kullberg en prof. L.A.B. Joosten. Jeanine Ursinus werkt als arts-onderzoeker in het AMC, binnen de onderzoeksgroep van Prof. J.W.R. Hovius aan de LymeProspect studie. Vooraf aan haar promotie onderzoek heeft zij geneeskunde gestudeerd en klinische ervaring opgedaan als arts-assistent binnen de afdeling interne geneeskunde. Anita Buskermolen is als bacteriologisch analiste al 30 jaar werkzaam op de afdeling Medische Microbiologie in het AMC en verantwoordelijk voor de bacteriologische serologische testen.

Literatuur

1. Hofhuis A, Harms MG, Giessen JWB van der, Sprong H, Notermans DW, Pelt W van. Ziekte van Lyme in Nederland 1994-2009: Aantal huisartsconsulten blijft toenemen. Is voorlichting en curatief beleid genoeg? Infectieziekten Bulletin 2010; 21: 84-87.
2. Rauter C, Hartung T. Prevalence of *Borrelia burgdorferi sensu lato* genospecies in *Ixodes ricinus* ticks in Europe: a metaanalysis. Appl Environ Microbiol. 2005;71(11):7203-7216.
3. Hofhuis A, Bennema S, Harms M, et al. Decrease in tick bite consultations and stabilization of early Lyme borreliosis in the Netherlands in 2014 after 15 years of continuous increase. BMC Public Health. 2016;16(1):425.
4. CBO. Richtlijn Lymeziekte. 2013 (beschikbaar op <http://www.diliguide.nl/document/1314>). 2013.
5. Leeflang MM, Ang CW, Berkhout J, et al. The diagnostic accuracy of serological tests for Lyme borreliosis in Europe: a systematic review and meta-analysis. BMC Infect Dis. 2016;16(1):140.
6. Hofhuis A, Harms M, Bennema S, van den Wijngaard CC, van Pelt W. Physician reported incidence of early and late Lyme borreliosis. Parasit Vectors. 2015;8:161.
7. Berende A, ter Hofstede HJ, Vos FJ, et al. Randomized Trial of Longer-Term Therapy for Symptoms Attributed to Lyme Disease. The New England journal of medicine. 2016;374(13):1209-1220.
8. Cameron D. Severity of Lyme disease with persistent symptoms. Insights from a double-blind placebo-controlled clinical trial. Minerva Med. 2008;99(5):489-496.
9. Klempner MS, Hu LT, Evans J, et al. Two controlled trials of antibiotic treatment in patients with persistent symptoms and a history of Lyme disease. The New England journal of medicine. 2001;345(2):85-92.
10. Krupp LB, Hyman LG, Grimson R, et al. Study and treatment of post Lyme disease (STOP-LD): a randomized double masked clinical trial. Neurology. 2003;60(12):1923-1930.

Nieuws

NVML Vakbeurs wordt 'Spring Event'

Op 16 mei a.s. organiseert de NVML het eerste 'Spring Event' in CineMec, Ede: een gevarieerd lezingenaanbod in vier zalen. U krijgt deze dag de laatste vernieuwingen op vakgebied te zien en te horen. Er zijn lezingen op het gebied van de klinische chemie, medisch microbiologie, pathologie, pre-analyse, fertiliteit en kwaliteit.

De lezingen lopen volledig parallel, zodat u makkelijk kunt 'hoppen' van de ene naar de andere zaal. Daag uzelf uit om

ook eens een kijkje te nemen bij een ander vakgebied! Op de beursvloer bent u van harte welkom om kennis te nemen van de nieuwste ontwikkelingen op het gebied van laboratoriumapparatuur en -materialen.

Opgave: via onze website www.nvml.nl tot uiterlijk 20 april.

Kosten: voor NVML-leden € 100,-

(ook de geld-terug-bon kan ingeleverd worden!) voor niet-leden € 150,-

Bokalen die overlopen van informatie:

Het belang van 24 uren urine voor onderzoek en patiëntenzorg



Margriet H. Riphagen¹, Rianne M. Ramaker², Seelke Hartsema³, Duco J.M. Goedhart³, Carlijn V.M. IJsseldijk³, Rachel K. Hibma³ en Suzanne J. Hulstein⁴, Stephan J.L. Bakker²

¹ Afdeling Laboratorium Geneeskunde, Universitair Medisch Centrum Groningen, Rijksuniversiteit Groningen, Groningen, Nederland

² Afdeling Interne Geneeskunde, Universitair Medisch Centrum Groningen, Rijksuniversiteit Groningen, Groningen, Nederland

³ Hanzehogeschool Groningen, Groningen, Nederland

⁴ NHL, Leeuwarden, Nederland

Klassiek wordt voedings- en gezondheidsonderzoek verricht aan de hand van vragenlijsten. Een belangrijk probleem met het gebruik van vragenlijsten is dat de lijsten vaak op een sociaal wenselijke manier worden ingevuld, met bewuste of onbewuste onder- en overrapportage als gevolg. Zo is het bijvoorbeeld bekend dat mensen met obesitas hun energie intake onderschatten en dat stevige rokers het aantal gerookte sigaretten zal onderrapporteren. Daarnaast wordt een beroep gedaan op het geheugen en beschikbare tijd om dingen vast te leggen, waardoor oudere mensen of mensen met een erg druk leven de vragenlijsten anders zullen invullen dan gemiddelde personen.

Door de bewuste of onbewuste onder- en overrapportage kunnen verbanden die in feite wel bestaan, niet worden gevonden of zelfs andersom lijken dan ze in werkelijkheid zijn. Sommige aspecten van de voeding of blootstelling aan schadelijke stoffen laten zich ook erg moeilijk vangen in vragenlijsten. Een van de belangrijkste voorbeelden is zout intake, omdat het heel moeilijk is te schatten hoeveel zout in een voedingsproduct zit of er aan toegevoegd wordt.

Onderzoek van de urine kan hiervoor een oplossing bieden. In de urine worden namelijk diverse stoffen die uit de voeding komen onveranderd uitgescheiden of in het lichaam gemetaboliseerd, waarna de afvalstoffen in de urine terecht komen. Klassieke voorbeelden van stoffen die onveranderd worden uitgescheiden zijn natrium en jodium, waarvan de uitscheiding in 24 uren urine dan ook beschouwd wordt als gouden standaard voor de intake. Een klassiek voorbeeld van een voedingsstof die eerst in het lichaam wordt gemetaboliseerd, is eiwit, waarvan het afvalproduct ureum in de urine terecht komt. De 24 uren ureum

excretie wordt dan ook beschouwd als de gouden standaard van eiwit intake. Een klassiek voorbeeld van de blootstelling aan een schadelijke stof is het meten van het afbraakproduct cotinine van nicotine in de 24 uren urine. Het feit dat stevige rokers de neiging hebben het aantal per dag gerookte sigaretten sterk te onderrapporteren bleek uit een studie die wij hebben uitgevoerd bij niertransplantatiepatiënten, waarbij we ook nog eens vonden dat het aantal gerapporteerde gerookte sigaretten geen verband hield met slechte gezondheidssuitkomsten en de hoeveelheid cotinine in de 24 uren urine wel.

De verzameling van 24 uren urine vergt naast goede instructie door de onderzoeker ook attentie en inspanning van degene die de urine aan het verzamelen is. Het is dus moeilijker uitvoerbaar dan het opvangen van een portie urine. Daarom wordt daar vaak naartoe uitgeweken, waarbij de gemeten concentratie van de stof van interesse wordt gedeeld door de creatinine concentratie, om te corrigeren voor de mate van concentratie van de urine. Omdat hierbij in feite wordt

vermenigvuldigd met 1 gedeeld door creatinine, ligt hier een belangrijk probleem. Creatinine ontstaat namelijk door continue laaggradige, non-enzymatische omzetting van creatine in spieren, waardoor 24 uren creatinine excretie wordt beschouwd als de gouden standaard voor het meten van spiermassa. Wij hebben in diverse bevolkingsonderzoeken gevonden dat een lage 24 uren creatinine excretie als marker voor een lage spiermassa sterk is gerelateerd aan slechte gezondheidssuitkomsten, zoals een toegenomen kans op voortijdig overlijden en het optreden van hart- en vaatziekten. Dit verband was met name heel sterk aanwezig in patiënten populaties, zoals patiënten met diabetes of patiënten met nierziekten. Ook een lage concentratie van creatinine in een portie urine blijkt op zichzelf al geassocieerd met slechte gezondheidssuitkomsten. Dit betekent dat met een vermenigvuldiging met 1 gedeeld door creatinine, naast een correctie voor geconcentreerdheid van de urine, ook een correctie wordt gedaan voor spiermassa. Deze correctie zal er dan voor zorgen dat een eventueel verband van de stof van

interesse met gezondheidsuitkomsten wordt veranderd, waarbij een eventueel positief verband van een stof met gezondheidsuitkomsten zal worden verzwakt en een invers verband zal worden versterkt. In het tussenliggende geval, van dat er in werkelijkheid geen verband is, zal het lijken alsof de stof beschermend is.

Daarnaast spelen natuurlijk dag-nacht ritmes in voedselinname, blootstelling en metabolisme en uitscheiding een rol, waardoor een 24 uren urine een veel betere integraal is van een voor de biologie relevante periode dan een enkelvoudige portie. Vanzelfsprekend zouden herhaaldelijke 24 uren urines, die liefst ook nog verzameld worden in de vorm van meerdere getimede verzamelingen over de dag, die tezamen kunnen worden opgeteld tot een totale 24 uren urine, meer en meer gedetailleerde informatie opleveren.

Naast over de genoemde voedingsstoffen, blootstelling aan nicotine uit sigarettenrook en spiermassa, kan 24 uren urine ook heel interessante informatie opleveren over andere voedingsstoffen, blootstelling aan stoffen uit de omgeving en gezondheidsparameters. Bij voedingsstoffen valt te denken aan vitamines en allerlei stoffen in de voeding die nog niet eerder met gezondheidsuitkomsten in verband werden gebracht, vaak simpelweg omdat ze niet voorkomen in tabellen waarop voedingsvragenlijsten zijn gebaseerd. Hierbij valt bijvoorbeeld te denken aan een stof zoals sulfaat, waarvan wij de laatste tijd in meerdere studies hebben gevonden dat de 24 uren urine excretie hiervan sterk samenhangt met gezondheidsuitkomsten in diverse populaties. Bij blootstelling valt niet alleen te denken aan merkers voor alcoholintake, zoals ethylglucuronide, maar ook aan afbraakproducten van pesticiden en bijv. triclosan uit deodorants. Bij gezondheidsparameters valt te denken aan cortisol, cortisolmetabolieten en catecholamines als markers voor stress, metabolieten van tryptofaan en melatonine als markers voor slaap en depressie, metabolieten van histamine als markers voor allergie en een profiel van de organische zuren als marker voor veranderingen in het

microbioom en maag- en darmklachten.

Tot nu toe is het alleen gegaan over voedings- en gezondheidsonderzoek. Het verzamelen van 24 uren urine is ook van groot belang in de patiëntenzorg. Aan de 24 uren natrium excretie kan bijvoorbeeld worden gezien hoeveel zout er met de voeding wordt gegeten, waardoor bloeddrukverlagende medicatie heel krachtig of juist niet kan lijken te werken. Een ander punt is het vervolgen van spiermassa. Veel chronisch zieke mensen hebben de neiging niet af te vallen, maar wel geleidelijk spiermassa te verliezen. Dit kan worden afgelezen aan het geleidelijk teruglopen van de 24 uren creatinine excretie over de tijd en kan dan aanleiding zijn de behandeling aan te passen.

Het is duidelijk dat 24 uren urine onschatbare informatie op kan leveren die niet kan worden verkregen uit vragenlijsten of porties urine. Dit is echter niet altijd het geval. Zoals gezegd vergt de verzameling van 24 uren urine naast goede instructie door de onderzoeker ook attentie en inspanning van degene die de urine aan het verzamelen is. Als de verzameling niet goed wordt verricht kan er onderverzameling, oververzameling of verontreiniging optreden, waardoor de resultaten van het onderzoek minder betrouwbaar worden of het onderzoek grotere aantallen deelnemers vereist dan noodzakelijk zou zijn bij optimale verzameling.

Daar waar sommige centra er toe neigen het verzamelen van 24 uren urine te gaan vervangen door het meten in porties, zijn wij er in het UMCG op gaan inzetten de 24 uren urine verzameling door patiënten te verbeteren en te vergemakkelijken. Uit een pilotonderzoek waarbij een aantal patiënten van de polikliniek nefrologie werden geïnterviewd kwam naar voren dat de huidige bokaal die gebruikt wordt om de 24 uren urine in op te vangen onhandig wordt gevonden. De bokaal is te groot, wordt gedurende de dag steeds zwaarder, lekt en heeft een kleine opening, wat er bij vrouwen vaak voor zorgt dat zij niet rechtstreeks in de bokaal kunnen urineren. Zij moeten dan een extra hulpmiddel gebruiken. Ook gaven vrouwelijke patiënten aan dat het veel

moeite kost om de urine tijdens de ontlasting op te vangen. Hierdoor hadden zij de neiging het opvangen van een dergelijke portie urine over te slaan. Ook de noodzaak van het koel bewaren van de bokaal ervaren de patiënten als niet prettig. De bokaal is vrij groot en opvallend waardoor patiënten het niet fijn vinden deze mee te nemen naar het werk, omdat ze zich er voor schamen. Dit geldt niet zozeer als een valkuil voor het optimaal verzamelen van urine op zich, maar belemmert de patiënten bij het beoefenen van sport en leidt tot psychosociale stress, wat vanzelfsprekend de resultaten van de 24 uren urine verzameling zou kunnen beïnvloeden.

Een van de meest belangrijke dingen om naar de patiënt te communiceren over 24-uren urine is het belang van een goede opvang. Wanneer de gebruiker van de bokaal overtuigd is van het belang van een optimale opvang, is gebleken dat hij/ zij ook daadwerkelijk optimaler de urine opvangt. De patiënt dient goede informatie mee te krijgen vanuit het ziekenhuis, zoals wanneer ze moeten beginnen en stoppen, hoe ze de urine moeten bewaren en wat ze wel en niet moeten doen tijdens het verzamelen. Elke afdeling die met de patiënt communiceert moet dezelfde informatie verschaffen, zodat hier geen verwarring over kan ontstaan. Ook is het belangrijk dat er intern duidelijk is wie welke informatie aan de patiënt verschaft. Als er gebruik wordt gemaakt van een toevoeging aan de bokaal zoals bijvoorbeeld poeder om bacteriegroei te voorkomen of omzetting van stoffen in de urine te voorkomen, moet de patiënt ook weten waar dit voor dient.

Het is duidelijk dat het sparen van 24 uren urine van grote toegevoegde waarde is voor voedings- en gezondheidsonderzoek en ook een belangrijke plaats heeft in het beschouwen en vervolgen van de effecten van behandeling bij patiënten. Helaas kan deze belangrijke plek in het onderzoek en in de patiëntenzorg niet vervangen worden door metingen in porties urine. Het is dus zaak meer aandacht te besteden aan het vergemakkelijken en verbeteren van de mogelijkheden tot 24 uren urine verzameling.

Circulerend tumor DNA of “liquid biopsies”

Dr. D. van den Broek, algemeen klinisch laboratorium Antoni van Leeuwenhoek



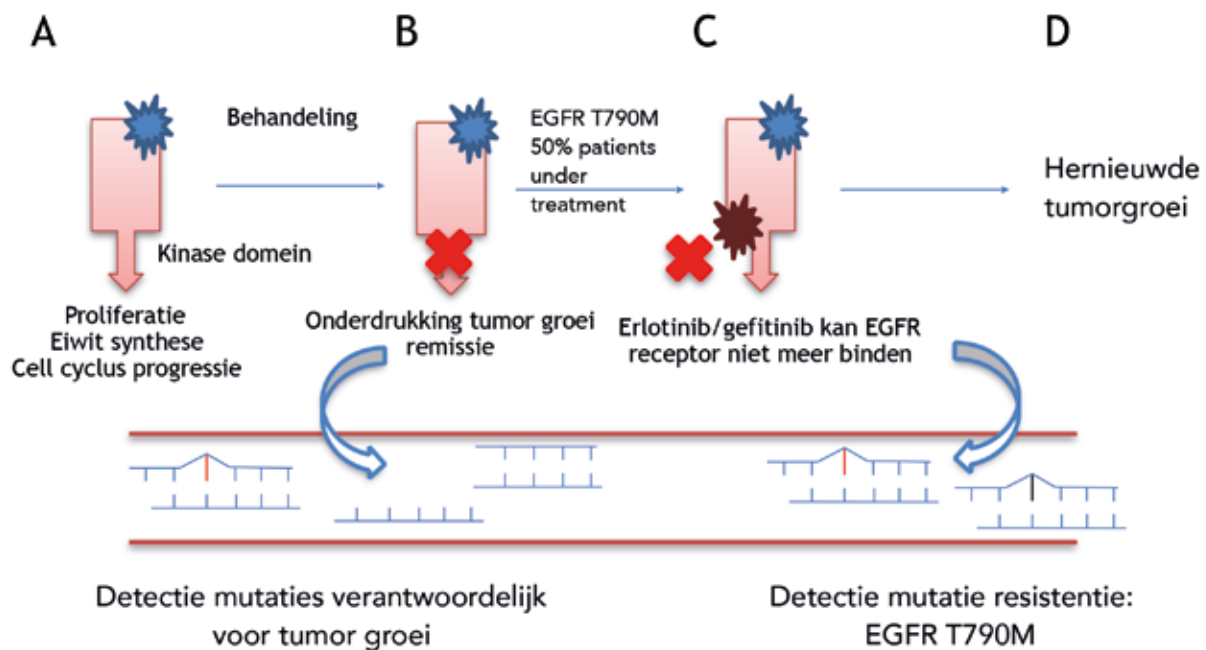
‘Liquid biopsies’ is binnen de oncologie een verzamelnaam voor diagnostiek in bloed aan de hand van verschillende biomarkers. Voorbeelden van deze biomarkers zijn circulerende tumorcellen, circulerend tumor DNA (ctDNA), exosomen, micro-RNA en ‘tumor educated platelets’. Al deze biomarkers vinden hun oorsprong in een tumor. Een tumor is een genetisch instabiel weefsel dat zich typeert door een hoge cell turnover, langere overleving, progressie door celcycli, etc. Als gevolg van hoge celdeling, apoptose, necrose en actieve processen worden verschillende componenten (DNA, RNA, eiwitten, etc.) afgegeven aan het bloed. Via een liquid biopsy kan er aan de hand van deze componenten informatie worden verkregen over de tumor.

Elke tumor is genetisch uniek. Verschillende genetische afwijkingen kunnen leiden tot het ontstaan en groei van een tumor. Het kennen van de genetische compositie van een tumor is essentieel voor het toepassen van een gerichte therapie. Bij deze therapie wordt er gebruik gemaakt van tyrosine kinase inhibitors (TKI's). TKI's zijn in staat om het effect van een specifieke genetische afwijking te onderdrukken. Met deze behandeling wordt er een betere overleving bereikt in vergelijking met chemotherapie. Om gerichte therapie te begrijpen moeten we eerst iets begrijpen van de tumor zelf. Wanneer er mutaties in het DNA optreden kan dit leiden tot afwijkingen op eiwit niveau. Deze mutaties kunnen disregulatie van bijvoorbeeld celdgroei, overleving van cellen, metastasering en angiogenese veroorzaken en de aanzet zijn tot ongeremde celdgroei en het ontstaan van een tumor. De bovengenoemde processen worden onder normale omstandigheden gereguleerd door trans-membraan eiwitten met een tyrosine kinase domein. Activatie van deze eiwitten leidt in de cel tot de fosforylering en daarmee activatie van andere eiwitten die op hun beurt verantwoordelijk zijn voor de regulatie van celdgroei, celdeling, overleving etc. Een voorbeeld van een eiwit met tyrosine kinase domein is HER1 of EGFR. In niet kleincellig longkanker (NSCLC) kunnen er in dit

EGFR-gen bijvoorbeeld puntmutaties, inserties of deleties worden gevonden. Wanneer dergelijke mutaties worden gevonden in een tumor is het mogelijk om gebruik te maken van een tyrosine kinase remmer. Een tyrosine kinase remmer (bijvoorbeeld erlotinib of gefitinib in het geval van een EGFR-mutatie) blokkeert het tyrosine kinase domein van EGFR en daarmee de processen die leiden tot tumorgroei. Omdat dergelijke tyrosine kinase remmers specifiek op bepaalde eiwitten werken, is het een voorwaarde om de mutatie(s) die verantwoordelijk is (zijn) voor de tumorgroei te kennen zodat de juiste therapie kan worden geselecteerd.

Voor de identificatie van tumor specifieke mutaties is tumorweefsel (of tumorcellen) nodig. Hiervoor wordt een stukje weefsel van de tumor verkregen via een punctie. Aan het gebruik van weefsel kleef een aantal nadelen. Allereerst is er in 25% van de patiënten geen weefsel te verkrijgen (Nederlandse kankerregistratie 2013). Het gevolg hiervan is dat deze patiënten chemotherapie krijgen in plaats van effectievere gerichte therapie. Wanneer er wel weefsel beschikbaar is, betreft dit vaak relatief weinig materiaal en wordt er niet altijd DNA van voldoende kwaliteit verkregen. Een tweede nadeel is de heterogeniteit

van tumorweefsel. Gezien een tumor in ruimte en tijd heterogeen kan zijn en met een punctie slechts een klein deel van de tumor kan worden geanalyseerd, bestaat de kans dat er mutaties die wel in de tumor aanwezig zijn, niet worden gevonden. Een derde nadeel is, dat het verkrijgen van weefsel relatief duur is, vaak invasieve handelingen vereist met de daarbij behorende risico's. Een laatste belangrijke uitdaging voor weefsel biopsies is het optreden van resistentie tegen een gerichte therapie. Deze resistentie bestaat eruit, dat het effect van de gerichte therapie teniet wordt gedaan door nieuwe mutaties (bijvoorbeeld in NSCLC EGFR T790M, BRAF, PIK3CA), amplificaties (bijvoorbeeld in NSCLC HER2, EGFR) of een switch van fenotype (bijvoorbeeld van NSCLC naar SCLC). Het gevolg hiervan is het wegvallen of omzeilen van de therapiedruk, waardoor de tumor weer zal gaan groeien. Het is dus van belang om eventuele resistenties te behandelen. Dit is mogelijk geworden doordat er een groeiend aantal TKI's beschikbaar is. Dit wil zeggen dat er bij resistentie tegen een TKI kan worden overgestapt naar een andere TKI. Welke TKI effectief zal zijn is afhankelijk van het resistentie mechanisme. Om resistentie mechanismen in een vroeg stadium te detecteren en daarmee tijdig te kunnen switchen naar de meest



Figuur 1. Behandeling van solide tumoren. Wanneer mutaties in genen voorkomen betrokken bij cel proliferatie, eiwitsynthese en celcyclus progressie (bijv. cel oppervlakte receptoren (EGFR, FGFR) of onderliggende pathways (BRAF, NRAS, KRAS)) kan dit leiden tot ongeremde celgroei (A). Op basis van geïdentificeerde mutaties kunnen TKI's worden ingezet voor behandeling (B). Onder behandeling kunnen nieuwe mutaties optreden waardoor de ingezette behandeling niet meer effectief is. EGFR T790M wordt in 50% van de patiënten die erlotinib en gefitinib gevonden (C). EGFR T790M leidt tot hernieuwde tumorgroei (D).

effectieve therapie, zou een frequente analyse nodig zijn, iets wat voor weefselbipten niet haalbaar is.

Tegen deze achtergrond zijn biomarkers in bloed mogelijk een goed alternatief of een aanvulling op de huidige diagnostiek. Een bloedafname is een laagdrempelige, beperkt invasieve en relatief goedkope handeling. In het bloed lijkt er geen (of slechts beperkte) invloed te zijn van heterogeniteit en er zijn meerdere bronnen waarin tumor specifieke mutaties kunnen worden gevonden (urine, CSF, ascites, etc.). Zoals reeds beschreven, bestaan er verschillende componenten die we in bloed kunnen meten. Op dit ogenblik is circulerend tumor DNA een van de belangrijkste markers die in enkele laboratoria in de klinische praktijk worden gebruikt.

ctDNA is afkomstig van apoptotische cellen en bestaat uit kleine DNA-fragmenten variërend van 60-200 bp. Er moet onderscheid worden gemaakt tussen ctDNA en celvrij DNA dat in alle mensen kan worden gevonden. De hoeveelheid celvrij DNA is afhankelijk van infecties, trauma, auto-immuun

ziekten, etc. Wanneer er een tumor aanwezig is, worden er verhoogde concentraties vrij DNA gevonden. Het circulerend tumor DNA vormt een subfractie (<1-80%) van het totaal celvrij DNA. Bettagowda et al., laat in een publicatie in 2014 zien, dat ctDNA in veel verschillende tumortypen te vinden is en dat de hoeveelheid ctDNA oploopt met de uitgebreidheid van de ziekte [1]. Daarnaast kan ctDNA worden gebruikt voor het vervolgen van ziekte, waarbij het door een korte halfwaardetijd een grote gevoeligheid laat zien voor progressie of remissie van ziekte. Hiervoor is het ook mogelijk gebruik te maken van individuele mutaties die aanwezig zijn in de tumor. CtDNA lijkt een goede marker voor het vervolgen van ziekte, efficiëntie van therapie, detectie van opkomende resistentie mechanismen en detectie van activerende mutaties.

Doordat de totale hoeveelheden DNA in bloed beperkt zijn en zeer variabel, is de detectie van mutaties afkomstig van de tumor zowel analytisch als pre-analytische uitdagend. Er zijn verschillende pre-analytische variabelen te identificeren, die invloed kunnen

hebben op de resultaten. De stabiliteit van ctDNA in een gewone EDTA-buis ligt rond de 24 uur, hierna is er een toename van achtergrond DNA waardoor relatief de hoeveelheid ctDNA afneemt. Er zijn inmiddels alternatieve buizen op de markt, waaronder STRECK, CellSave, Arosa en PaxGene. Deze buizen zijn in staat om onder andere de witte bloedcellen te stabiliseren en verlengen daarmee de houdbaarheid van het ctDNA. Andere aspecten die van invloed zijn op het ctDNA, zijn afdraai protocollen, isolatie protocollen, opslag van materiaal, etc. Landelijk en internationaal heeft hier nog geen standaardisatie plaatsgevonden. Een ander belangrijk pre-analytisch aspect vormt de "pakkans" van het ctDNA. Je kan je voorstellen dat bij lage concentraties er maar een bepaalde kans bestaat, dat de fragmenten waar je naar op zoek bent, aanwezig zijn in de 10 ml bloed die je afneemt. Doordat we op zoek zijn naar enkele fragmenten in een vele malen grotere achtergrond, is deze kans niet normaal verdeeld. Het kan dus heel goed voorkomen, dat er wel degelijk mutaties in de patiënt aanwezig zijn,

maar deze door een "statistical sample error" niet in de buis zitten die je hebt afgenomen. Het is dan ook vaak aan te raden om grotere hoeveelheden bloed af te nemen of meerdere malen een buis af te nemen. Alternatief hiervoor is het vervolgen van niet 1, maar bijvoorbeeld 10 tot 100 patiënt specifieke mutaties. Analytisch zijn er technieken nodig die met een grote gevoeligheid de relevante DNA-fragmenten detecteren in een veel grotere achtergrond van andere of wild-type DNA-fragmenten.

Analytisch gezien zijn er veel technieken en systemen beschikbaar om ctDNA te meten. De COBAS van Roche, Ydilla van Biocartis, BEAMing van Sysmex, ddPCR van Bio-Rad of Raindance zijn voorbeelden van systemen die commercieel verkrijgbaar zijn. Naast deze systemen zijn er veel technieken of technische aanpassingen beschreven, die erop gericht zijn een maximale gevoeligheid te bewerkstelligen. Van belang is je te realiseren, dat de klinische relevante gevoeligheid niet bekend is. Of een patiënt gebaat is bij het veranderen van de therapie wanneer er een mutatie wordt gevonden met een allele frequency van 0,1% of bij 0,001%, is niet bekend. De hierboven genoemde technieken kunnen 1 tot enkele tientallen mutaties in een plasma monster meten. Een andere aanpak maakt gebruik van Next Generation Sequencing (NGS) om veel breder naar mutaties te zoeken. Een belangrijk verschil op dit ogenblik tussen technieken op basis van PCR of op basis van NGS is de gevoeligheid en de benodigde hoeveelheid ctDNA. PCR-technieken hebben een hogere gevoeligheid en hebben minder materiaal nodig dan NGS. Aan de andere kant is het met de PCR-technieken niet altijd makkelijk om assays te ontwikkelen voor genetische afwijkingen buiten puntmutaties.

Al met al wanneer we de pre-analytische en analytische uitdagingen beschouwen, is er een gebrek aan standaardisatie. Standaardisatie en het kunnen controleren van patiënt gerelateerde variabelen zullen grote uitdagingen zijn voor de komende jaren.

Maar is er dan niets bekend over de

klinische relevantie van ctDNA?

Jazeker, een belangrijke publicatie is uit 2016 waarin in een retrospectieve serie weefsel en plasma zijn vergeleken, onderling maar ook ten opzichte van het therapie effect en progressie vrije overleving [2]. Deze studie is uitgevoerd in patiënten met resistentie op eerstelijns TKI's als gevolg van een EGFR T790M mutatie. Op basis van de EGFR T790M mutatie is de therapie aangepast naar een tweedelijns TKI. Dan blijkt, dat er weinig verschil bestaat wanneer je dit doet op basis van een weefsel of plasma uitslag. De totale concordantie tussen weefsel en plasma was in deze studie 70%. In totaal werden er in 18 patiënten een positief plasma sample gevonden met een negatieve weefsel uitslag voor EGFR T790M. Ook deze patiënten lieten een goede respons zien op de tweedelijns TKI. De conclusie is dan ook, dat een combinatie van weefsel en plasma kan leiden tot de identificatie van EGFR T790M in meer patiënten. Om dit in de praktijk te brengen kan je kiezen voor een werkwijze waarbij eerst plasma wordt geanalyseerd; bij een positieve uitslag kan direct de juiste therapie worden gegeven. Wanneer er geen mutatie aantoonbaar is, zou er wel een weefselbiopsie moeten worden genomen. In de dagelijkse praktijk binnen het AVL wordt ctDNA bepaald binnen de patiënten diagnostiek. We maken hierbij niet alleen gebruik van plasma maar ook van pleuravocht en liquor cerebrospinalis. De meeste aanvragen voor plasma analyse zijn aanvragen voor EGFR T790M (70%), activerende mutaties in afwezigheid van weefsel (17%), analyse van liquor (8%) en resistentie onder tweedelijns TKI (5%). Een andere ontwikkeling die je ziet, is dat door verschillen in gevoeligheid van technieken, het ook nuttig kan zijn om weefsels op de ddPCR te meten.

De verdere ontwikkelingen die nodig zijn om het ctDNA verder te implementeren, zullen zich richten op verdere standaardisatie, optimalisatie van de pre-analytische aspecten, evaluatie van de "health economic impact", prospectieve trials om de plek van ctDNA in de diagnostiek te evalueren en te vergelijken met de huidige

diagnostische mogelijkheden, etc.

Wanneer we binnen de oncologie naar de diagnostiek op bloed kijken, vormt ctDNA op dit ogenblik de biomarker die (ondanks de genoemde overwegingen) met een been in de dagelijkse praktijk staat. Naast ctDNA zijn er inmiddels verschillende andere in bloed te gebruiken biomarkers beschreven, zoals tumor educated platelets, exosomen, miRNA, etc. De mogelijkheden om in bloed informatie te verkrijgen over een tumor zijn dus divers. Tegen de achtergrond van een toenemend aantal biomarkers die binnen de oncologie in het bloed kunnen worden gemeten, de diversiteit aan technieken die hiervoor beschikbaar is, de dynamiek van de patiëntenzorg en het toenemend aantal therapeutische opties, is er steeds meer behoefte aan een vorm van "personalized diagnostics": de juiste test, op het juiste moment, voor de juiste patiënt. Deze diagnostiek binnen de oncologie vraagt hierdoor veel verschillende expertise en om een multidisciplinaire aanpak.

Over de auteur

Dr. D. van den Broek is sinds 2012 werkzaam in het Antoni van Leeuwenhoek (AVL). Hij werkt in het AVL als klinisch chemicus en is afdelingshoofd van het algemeen klinisch laboratorium. Binnen het laboratorium wordt een breed pakket aan diagnostiek uitgevoerd t.b.v. de patiëntenzorg, trials en onderzoek. Het laboratorium omvat een routine laboratorium, een bloedtransfusielaboratorium, een biobank laboratorium en een aparte afdeling voor innovatie en onderzoek.

Literatuur

1. Bettagowda et al., 2014. Sc. trans. Med. Vol 6 issue 224
2. Oxnard et al., 2016 JCO 34

Een multicenter validatie van een assay voor TSH-Receptor stimulerende antistoffen

Dr. M.R. Batstra¹, Dr. M. Heron², Dr. R. Hoedemakers³

1. Reinier Haga Medisch Diagnostisch Centrum, Delft

2. Elisabeth Ziekenhuis Tilburg, laboratorium voor Microbiologie

3. Jeroen Bosch Ziekenhuis, laboratorium voor Klinische Chemie

Bij patiënten met de ziekte van Graves worden antistoffen tegen de TSH-Receptor bepaald. In de routinematige testen was het tot voor kort niet mogelijk onderscheid te maken tussen stimulerende (TSI) antistoffen en blokkerende antistoffen. Recent heeft de firma Siemens een nieuwe assay ontwikkeld die gebruik van een chimere TSH-R, waardoor alleen stimulerende antistoffen (TSI) zouden worden gedetecteerd. Dit is een verbetering van de diagnostiek van de ziekte van Graves.

Voor de ISO15189 certificering is het nodig dat nieuwe testen worden gevalideerd alvorens zij in de routine kunnen worden geïmplementeerd. Voor dit doel hebben drie laboratoria de handen ineen geslagen. Deze studie beschrijft daarvan de resultaten. De TSI assay is een technisch zeer stabiele test. De gevoeligheid van de TSI test is iets lager dan de in deze studie gebruikte ELISA voor TSH-R antistoffen. De specificiteit voor de ziekte van Graves is, zoals te verwachten met de gebruikte techniek, hoger. De resultaten van de validatie zijn samengevat in een validatierapport dat op verzoek beschikbaar wordt gesteld aan andere laboratoria. Hierdoor kan de test eenvoudig in andere laboratoria worden geïmplementeerd. Een verkorte verificatie is voldoende om te voldoen aan de ISO15189 criteria.

De Schildklier

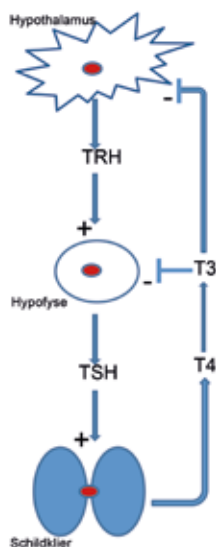
De schildklier is een orgaan in de hals dat bestaat uit twee lobben die aan weerszijden van de luchtpijp liggen. De schildklier produceert schildklierhormonen die zorgen voor regulatie van de stofwisseling. De belangrijkste schildklierhormonen zijn Thyroxine (T4) en Tri-iodothyronine (T3). Zij beïnvloeden de spijsvertering, werking van het hart, groei en ontwikkeling, temperatuurregulatie vetverbranding, spierspanning en werking van gewrichten en

de hersenactiviteit. De schildklier is als het ware de thermostaat van het lichaam (tabel 1). Werkt de schildklier te traag (hypothyreoïdie) dan voelen patiënten zich vermoeid en lusteloos, hebben weinig eetlust, hebben het vaak koud en doordat de gehele stofwisseling trager werkt zullen deze mensen vaak aankomen in gewicht. Hypothyreoïdie kan ook een rol spelen

bij het ontstaan van depressies. Bij patiënten met een te snel werkende schildklier (hyperthyreoïdie) verlopen veel processen in het lichaam te snel. Patiënten voelen zich gejaagd en beverig, vallen af in gewicht, hebben last van hartkloppingen en hebben het vaak warm. De activiteit van de schildklier wordt geregeld via de hypothalamus en de

Tabel 1: Symptomen van afwijkende schildklierfunctie.

	Hypothyreoïdie	Hyperthyreoïdie
Metabolisme	Gewichtstoename	Gewichtsafname, ondanks grote eetlust
	Koude intolerantie	Warmte intolerantie, zweten
Centraal zenuwstelsel	Depressie	Agitatie, nerveus
Huid	Droge huid en haar	Klamme huid, haarverlies
	Schorre stem	
Spijsvertering	Obstipatie	Diarree
Andere hormoonssystemen	Verstoorde menstruele cyclus	Amenorrhoea, verminderde vruchtbaarheid
	Verminderde groei	Versnelde groei en bot maturatie
Schildklier	Struma	Struma
Spierstelsel	Trage reflexen, algemene spierzwakte	Tremor, snelle vermoeidheid, spierzwakte en verlies van spiermassa
Hart	Bradycardie, cardiomegalie	Tachycardie, palpitaties, atrium fibrilleren



Figuur 1: Regulatie schildklier activiteit via hypothalamus en hypofyse.

hypofyse. De hypothalamus maakt TRH (TSH releasing hormone) en stimuleert daarmee de hypofyse om TSH (thyroid stimulating hormone) te maken. TSH zet vervolgens de schildklier aan tot productie van T4, hetgeen omgezet wordt in de actieve vorm T3. De actie van TSH op de schildklier verloopt via de TSH-receptor (TSH-R). Wanneer voldoende T3 aanwezig is heeft dit een negatieve feedback op zowel de hypothalamus als de hypofyse en wordt de productie van schildklierhormoon, door verlagning van TRH en TSH verminderd (figuur 1). TSH speelt dus een belangrijke rol bij regulatie van de schildklier activiteit. Wanneer er externe factoren aanwezig zijn die de actie van TSH nabootsen, maar die de negatieve feedback ontlopen, raakt de schildklierfunctie ontregeld. Dit gebeurt bijvoorbeeld bij de ziekte van Graves.

Tabel 2: Oorzaken van hyperthyroïdie.

M Graves
(Multi) Nodulaire schildklieraandoeningen
Subacute thyreoiditis (M. Quervain)
Toxisch adenoom
Post partum thyreoiditis
Veroorzaakt door medicijnen (lithium, amiodarone, jodium houdend contrast)

Oorzaken van hyperthyroïdie

Patiënten met een hyperthyroïdie kenmerken zich in het laboratorium door lage TSH spiegels en hoge concentraties T4. Een hyperthyroïdie kan verschillende oorzaken hebben, zoals is weergegeven in tabel 2. De meest voorkomende oorzaak is de ziekte van Graves.

De ziekte van Graves is een auto-immuunziekte. Dat wil zeggen dat het immuunsysteem de schildklier als lichaamsvreemd ziet en een afweerreactie tegen (onderdelen van) de schildklier wordt opgebouwd. Daarbij worden onder meer antistoffen gevormd tegen TSH receptoren (TSH-R). TSH-R zijn aanwezig op schildkliercellen. Binding van TSH aan de TSH-R zet de schildkliercellen aan tot de productie van T4. De antistoffen die voorkomen bij de ziekte van Graves hebben de zelfde werking als TSH. Binding van deze TSH-R antistoffen leidt zo tot groei en verhoogde activiteit van de schildkliercellen. Dit uit zich in een vergrote schildklier (struma) en hyperthyroïdie. We spreken van schildklier stimulerende antistoffen, ook wel TSI. Naast TSI bestaan ook schildklier blokkerende antistoffen. Deze blokkerende antistoffen binden een andere (blokkerende) plaats (epitop) op de TSH-R en hebben daardoor een tegengestelde werking. Zij remmen de activiteit van de schildkliercellen. Patiënten met de ziekte van Graves hebben vaak een mix van stimulerende en blokkerende antistoffen. De concentratie van de antistoffen komt daardoor niet noodzakelijk overeen met de mate van hyperthyroïdie. TSH-R antistoffen worden ook aangetroffen bij patiënten met andere schildklier auto-immuunziekten, zoals de ziekte van Hashimoto. Hierbij zijn vaak de blokkerende antistoffen prominenter aanwezig dan de TSI. Bij de ziekte van Hashimoto komen naast schildklierantistoffen ook antistoffen tegen TPO voor.

Laboratorium bepalingen voor TSH-R antistoffen

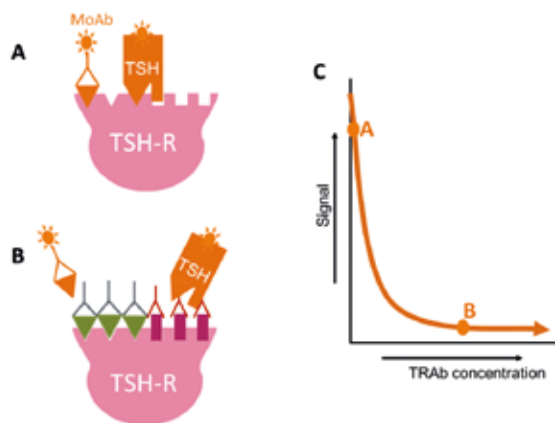
In de meeste laboratoria worden TSH-R antistoffen bepaald met behulp van een ELISA, of een hierop gelijkend systeem. Hierbij wordt gebruik gemaakt van TSH-R die is gecoat op een vaste drager. De TSH-R wordt geïncubeerd met patiënten serum en met gelabelde humane TSH of een

gelabelde monoclonale antistof tegen TSH-R (M22) (tracers). De TSH-R antistoffen uit het patiënten serum gaan competitie aan met de gelabelde tracers. Hoe minder binding van de tracer hoe meer TSH-R antistoffen in het serum aanwezig zijn (figuur 2). Omdat zowel stimulerende als blokkerende antistoffen in deze assay aan de TSH-R binden is het niet mogelijk om in de huidige systemen onderscheid te maken tussen stimulerende (TSI) en blokkerende antistoffen. Hiervoor bestaat wel een functionele TSH-R antistof bepaling, de zogenaamde Thyretain™ test. Hierbij wordt gebruik gemaakt van genetisch gemodificeerde hamstercellen (CHO cellen) die een TSH-R op hun membraan tot expressie brengen. Wanneer aan deze receptor stimulerende TSH-R antistoffen binden wordt een signaalcascade aangezet via de productie van cyclisch AMP. Dit resulteert in de productie van luciferase. De hoeveelheid luciferase die in het assay systeem wordt gemeten is een maat voor de hoeveelheid stimulerende antistoffen in het patiënten serum.

De Thyretain™ test is niet geschikt voor toepassing in diagnostische setting. Recent is een nieuwe methode ontwikkeld waarbij gebruik gemaakt wordt van chimere TSH-R. De blokkerende epitopen van de TSH-R zijn hierbij vervangen door een stuk van de LH/CG receptor (zie figuur 3a). Aan deze chimere receptor zullen blokkerende antistoffen theoretisch niet binden. In de assay is de chimere TSH/LH/CG receptor gebonden aan een vaste drager (capture TSH-R). Deze wordt geïncubeerd met patiënten serum. Als tracer wordt gebruik gemaakt van een chimere humane TSH-R met daaraan een tracer. De hoeveelheid TSI in het patiënten serum wordt in deze assay uitgelezen middels chemiluminiscentie (figuur 3b). Door het ontbreken van de blokkerende epitopen van de TSH-R in het capture antigeen zullen met deze methode theoretisch alleen TSI worden aangetoond.

Testevaluatie

De nieuwe TSI test is ontwikkeld voor het IMMULITE 2000 XPI Immunoassay systeem van de firma Siemens. Dit is

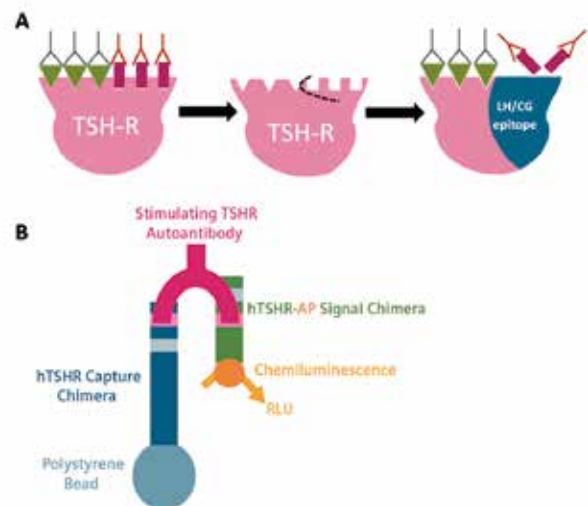


Figuur 2: Achtergrond van de huidige TSH-R antistoffen bindingassays. TSH-R wordt gecoat op een vaste drager en geïncubeerd met patiënten serum en met gelabelde humane TSH of een gelabelde monoclonale antistof tegen TSH-R (MoAb) (Tracers).

Panel A geeft de situatie weer indien geen antistoffen aanwezig zijn. De tracers zullen binden aan de gecoatde TSH-R en geven een hoog signaal in het uitlees systeem (punt A in panel C).

Panel B geeft de situatie weer indien in het patiënten serum antistoffen tegen de TSH-R aanwezig zijn (groen: stimulerende antistoffen, rood: blokkerende antistoffen). De antistoffen gaan in dit geval competitie aan met de tracer, hetgeen resulteert in een laag signaal in het uitlees systeem (punt B in panel C). Omdat zowel stimulerende als blokkerende antistoffen in deze assay aan de TSH-R binden en competitie aan zullen gaan met de tracers is het niet mogelijk om in deze bindingsassays onderscheid te maken tussen stimulerende (TSI) en blokkerende antistoffen.

Gemodificeerd van een illustratie van Siemens Healthcare Diagnostics Inc.



Figuur 3: Immulite® XPI TSI systeem – assay principe

A: Gebruik van een Chimere TSH-R waarin de blokkerende epitopen vervangen zijn door een deel van de LH/CG receptor (TSH-R capture chimere). Blokkerende antistoffen kunnen hierdoor niet meer binden aan het capture eiwit.

B: In de Immulite® assay wordt de TSH capture chimere (hTSHR Capture Chimera) gekoppeld aan een polystyrene bead en geïncubeerd met patiëntensera. Patiënten antistoffen worden aangetoond door gebruik te maken van een tweede chimere TSH-R – alkalisch fosfatase conjugaat (hTSHR-AP Signal Chimera) als tracer.

Gemodificeerd van een illustratie van Siemens Healthcare Diagnostics Inc.

een random access analyzer die gebruik maakt van immuno-chemoluminescentie. In een eerste studie had de assay een zeer hoge diagnostische gevoeligheid van 100%, bij specificiteit van 98.7%. In een samenwerkingsverband tussen het Jeroen Bosch Ziekenhuis in Den Bosch (laboratorium voor klinische chemie), Het Elisabeth Ziekenhuis in Tilburg (laboratorium voor microbiologie) en het Reinier Haga Medisch Diagnostisch centrum (laboratorium voor immunologie) werden de technische prestaties van de test in de Nederlandse setting geëvalueerd. Daarnaast werd een retrospectieve studie opgezet naar de diagnostische prestaties van de nieuwe TSI assay.

Technische validatie

De technische prestaties van de test werden getoetst aan prestatiekenmerken die werden aangeleverd door de fabrikant in de white papers. Deze karakteristieken zijn in tabel 3 weergegeven, met daarnaast de bevindingen van de verificatie. De kit is volgens de bijsluiters van de fabrikant 90 dagen stabiel op board van de IMMULITE 2000 XPI. Gedurende de

90 dagen on board periode werden 2 controlemonsters en 2 patiëntensera 13 keer getest. Zo werd de on board stabiliteit geverifieerd en de inter-assay variatie bepaald. Er was door de tijd geen afwijking te zien en de CVs waren zeer klein (6,1 % bij een gemiddelde waarde van 1,0 IU/ml).

Om de correlatie tussen verschillende laboratoria en instrumenten te verifiëren werden 40 patiënten-monsters op één dag getest door de drie deelnemende laboratoria. Deze 40 sera werden op een dag gekoeld (maar niet bevroren) tussen de drie laboratoria getransporteerd en getest. De correlatie (R^2) tussen de drie laboratoria was hoog: $\geq 0,98$.

Met behulp van deze zelfde 40 monsters werd een vergelijking gemaakt tussen de drie testen die op dat moment in de routine in gebruik waren op de deelnemende laboratoria. Dit zijn respectievelijk de TSH Receptor Autoantibody 3rd Generation ELISA Kit (RSR Ltd, Verenigd Koninkrijk), TRAKhuman (Brahms AG, Duitsland) en de Anti-TSH Receptor ELISA EA

1015 (Euroimmun AG, Duitsland). In figuur 4, zijn de resultaten van deze vergelijking weergegeven. In figuur 5 is aan de monsters op volgorde van sterkte in de TSH-R antistoffen bepaling van het Elisabeth Ziekenhuis een rangnummer toegewezen. De gemeten sterkte in de verschillende testen is uitgezet tegen dit rangnummer. Hieruit blijkt dat er een uitstekende correlatie is tussen de resultaten van de drie testen, de lijn van de TSI test wijkt niet af van de lijn van de andere 3 testen en lijkt qua verkregen waarden (IU/ml) het meeste op de RSR bepaling, die ook vrijwel dezelfde grens voor positiviteit hanteert (0.6 voor de RSR ELISA, 0.55 voor de TSI test).

In de Siemens White papers is beschreven dat de aanwezigheid van reumafactoren niet van invloed is op de testresultaten. Dit laatste werd geverifieerd in 18 sera afkomstig van patiënten zonder biochemische schildklierafwijkingen waarbij in bij routine diagnostiek IgM reumafactoren werden aangetroffen. In alle sera waren TSI antistoffen $<0,1$ IU/L. Daarnaast werd

Tabel 3: Technische specificaties TSI assay

	Specificaties fabrikant	Deze studie
Intra assay variatie	<7%	C1 3,9% (gem 1,07 IU/ml)*
		C2 3,3% (gem 25,4IU/ml)*
Inter assay variatie	<8,3%	C1 6,1% (gem 1,04 IU/ml)**
		C2 4,6% (gem 23,04 IU/ml)**
		M1 5,3% (gem 2,42 IU/ml)**
		M2 7,7% (gem 7,71IU/ml)**
Interlaboratorium variatie	<8,3%	Gemiddelde VC 4% (range 0,3 – 13,1)***
		R2 ≥0.98
Referentiewaarden	< 0.55 IU/ml	0,1 ± 0,014

C1, C2: controlemateriaal, geleverd bij de kit door fabrikant

M1, M2: patiëntsera

*Op basis van 10 testen

** Op basis van 13 testen, over een periode van 90 dagen

*** Op basis van 40 patiëntsera in drie verschillende laboratoria. 2 sera met een hogere VC dan 8,3% hadden een gemiddelde TSH-R antistoffen concentratie >20 IU/ml.

Tabel 4: Diagnostische waarde van de TSI test vergeleken met de RSR-TSH-R antistoffen ELISA.

		TSI		RSR TSH-R	
M Graves	n=109	Sens: 77%	PPV: 0.92	Sens: 88%	PPV: 0.85
Overige schildklierziektes	n=70	Spec: 90%	NPV: 0.72	Spec: 76%	NPV: 0.80
M Graves, korte ziekte	n=65	Sens: 89%	PPV: 0.89	Sens: 95%	PPV: 0.78
Overige schildklierziektes	n=70	Spec: 90%	NPV: 0.90	Spec: 76%	NPV: 0.95

Sens: sensitiviteit, Spec: specificiteit, PPV: positief voorspellende waarde, NPV: negatief voorspellende waarde.

onderzocht of infecties van invloed zouden kunnen zijn op de uitkomsten van de TSI test door sera van 20 patiënten met een recente CMV infectie en normale schildklierfunctie in de TSI test te testen. In alle gevallen was de concentratie TSI antistoffen <0,1 IU/L. Aanwezigheid van RF en infecties lijken derhalve niet tot vals verhoogde waarden van de TSI test te leiden.

Klinische validatie

Voor het bepalen van TSI referentiewaarden zijn 40 monsters gemeten van gezonde controles van 18 jaar en ouder (17 mannen). De sera waren geselecteerd uit aanvragen van huisartsen, waarbij TSH, Hb, leukocyten, trombocyten, BSE en CRP binnen de normaalwaarden vielen en geen T4 was aangevraagd. Op basis van dit cohort "gezonde controles" zijn de TSI referentiewaarden: 0.1 ± 0.014 IU/ml (mediaan ± 2SD). De normaal-

waarden die in de bijsluiters worden gehanteerd zijn > 0,55 IU/ml. De klinische sensitiviteit en specificiteit werd bepaald in serummonsters uit de routinediagnostiek, die in de periode januari 2014 – december 2015 waren ingestuurd voor het bepalen van TSH-R antistoffen. Inclusiecriteria waren: volwassenen, behandeling door een internist-endocrinoloog Reinier de Graaf Gasthuis voor een schildklierziekte en voldoende serum beschikbaar. In de diagnose registratie in het elektronisch patiënten dossier werd per patiënt de diagnose teruggezocht. Patiënten die geïnccludeerd werden waren gediagnosticeerd met de ziekte van Graves (n=109), de ziekte van Hashimoto (n=27), multinodulair struma (n=5), ziekte van Quervain (n=21) en schildklier carcinoom (n=17). In figuur 6 zijn de uitkomsten van de TSI test per patiëntengroep weergegeven. Alleen

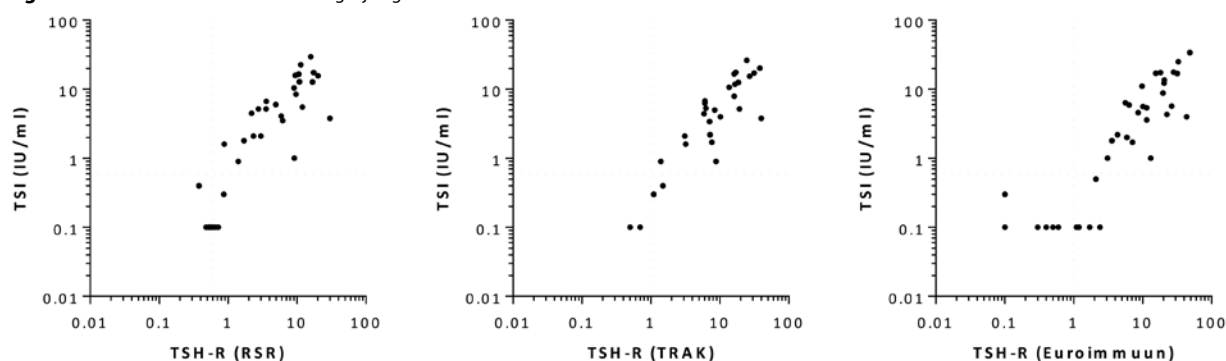
bij de patiënten met de ziekte van Graves en de ziekte van Hashimoto werden TSI aangetroffen.

In tabel 4 worden de sensitiviteit en specificiteit van de TSI vergeleken met de resultaten van de ELISA (RSR Ltd) die op dat moment in het Reinier Haga MDC in gebruik was. Omdat de test in de dagelijkse praktijk zal worden toegepast bij patiënten met schildklierziekten en niet bij gezonde controles is gekozen de specificiteit en voorspellende waarde te berekenen met behulp van de groep patiënten met overige schildklierziekten en niet met gezonde controles. De sensitiviteit van de TSI test was in deze analyse 77%. Dit is aanzienlijk lager dan verwacht naar aanleiding van de door Siemens gepubliceerde prestatiekenmerken en de publicatie van Aurizio et al. De groep Graves patiënten was in de huidige studie echter erg divers met een ziekte-duur variërend van 0 dagen tot 51 jaar. Daarom is een tweede analyse uitgevoerd waarin alleen Graves patiënten met een ziekte-duur van korter dan 30 dagen zijn geïnccludeerd. De sensitiviteit in deze kleinere patiëntengroep van 65 patiënten bedroeg 89% tegen een sensitiviteit van 95% voor de conventionele ELISA. De specificiteit van de TSI test is in deze studie wel aanzienlijk beter dan de specificiteit van de conventionele ELISA (90% versus 76%). De positief voorspellende waarde van de TSI test (de kans dat een patiënt de ziekte van Graves heeft bij positieve TSI antistoffen) is dan ook beter (0,89) dan van de conventionele TSH-R antistoffen test. Omdat de sensitiviteit van de TSI test nog steeds niet volledig aan de verwachtingen voldeed is onderzocht of het nuttig zou kunnen zijn een andere Grens voor positief te hanteren in de TSI test. Verlaging van de grens met 0,05 IU/ml naar 0,50 resulteerde in een toename van het aantal TSI positieve Graves patiënten met 2 (sensitiviteit 92%), bij gelijk blijvende specificiteit.

Conclusie

De detectie van TSH-R antistoffen neemt een belangrijke plaats in bij de diagnostiek van de Ziekte van Graves. Een nieuwe TSI assay, waarbij gebruik gemaakt wordt van chimere TSH-R,

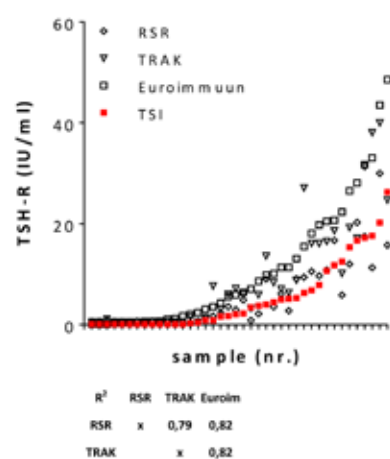
Figuur 4: Resultaten van de TSI test in vergelijking tot de resultaten behaald met de drie ELISAs.



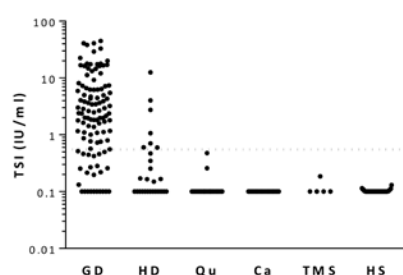
a: RSR – ELISA vergeleken met de TSI test

b: Trakhuman vergeleken met de TSI test, Euroimmun ELISA vergeleken met de TSI test. Stippellijnen geven de grenswaarden voor positief die in de verschillende testen aan. Monsters buiten kwadrant 2 of 3 vallen zijn discordant qua interpretatie.

c: Euroimmun-ELISA vergeleken met de TSI test.



Figuur 5: Vergelijking van 3 TSH-R antistoffen ELISAs met de TSI-test (in rood). Samples is een rangnummer toegewezen op basis van de uitkomsten van de Euroimmun ELISA (x-as).



Figuur 6: TSI in verschillende patiëntengroepen met schildklierziekten (GD: ziekte van Graves, HD: ziekte van Hashimoto, Qu Ziekte van Quervain, Ca: Schildklier carcinoom, TMS toxisch multinodulair struma) en gezonde controles (HS). Stippellijn weerspiegelt de grens voor positieve interpretatie (0,55 IU/ml)

detecteert volgens de fabrikant alleen stimulerende antistoffen (TSI). Dit zou een verbetering betekenen van de diagnostiek van de ziekte van Graves. In een multicenter studie is de technische performance van de assay bevestigd. Het betreft een robuuste en stabiele assay. In de populatie patiënten met schildklierziekten die in deze studie is geïncludeerd om de klinische toepasbaarheid van de assay te evalueren bleek de sensitiviteit van de test lager te zijn dan in eerdere pilot studies en lager dan de sensitiviteit van een conventionele 3e generatie TSH-R ELISA. De specificiteit van de TSI assay is, zoals verwacht kan worden op basis van het chimeer principe, hoger dan de conventionele ELISA. Het is gebleken dat in een multicenter verband een effectieve validatiefase kan worden doorlopen. Op basis van deze validatie kan in andere laboratoria volstaan worden met een verificatie alvorens de test volgens ISO 15189 normen in het laboratorium te implementeren.

Over de auteurs

Dr. M. (Michiel) Heron is verbonden aan het Elisabeth-Tweesteden Ziekenhuis als Medisch Immunoloog. Hij studeerde Biologie aan de rijksuniversiteit Utrecht, en promoveerde op onderzoek naar immunologische markers van cel activatie in pulmonale sarcoidose aan de rijksuniversiteit Utrecht. Daarna heeft hij de opleiding tot medisch immunoloog gevolgd in het opleidingscluster Rotterdam-Delft. Naast zijn werk als medisch immunoloog is hij freelance ISO 15189 beoordelaar bij de RVA.
Dr. R.M.J. (Rein) Hoedemakers is verbonden aan het Jeroen Bosch Ziekenhuis in 's-Hertogenbosch als Klinisch Chemicus. Hij studeerde Medische Biologie aan de rijksuniversiteit Utrecht, en promoveerde op onderzoek naar liposomale immuuntherapie

ter preventie van coloncarcinoom op de rijksuniversiteit Groningen. Daarna heeft hij de opleiding tot klinisch chemicus gevolgd in het Catharinaziekenhuis in Eindhoven. Naast zijn werk als klinisch chemicus is hij freelance ISO 15189 beoordelaar bij de RVA.
Dr. M.R. (Manou) Batstra is verbonden aan het Reinier HAGA Medisch Diagnostisch centrum in Delft als Medisch Immunoloog. Zij heeft gestudeerd aan de rijksuniversiteit Leiden, en promoveerde op onderzoek naar type-1 diabetes in het ErasmusMC te Rotterdam. Daarna heeft zij de opleiding tot medisch immunoloog gevolgd in het opleidingscluster Rotterdam-Delft. Naast haar werk als medisch immunoloog is zij freelance ISO 15189 beoordelaar bij de RVA.

Literatuur

1. Krenner EP, Wiersinga WM, Lamberts SWJ et al (eds). Endocrinologie. Springer media BV. Amsterdam 2007.
2. BatstraMR, Drexhage HA. Auto-immuunziekten van endocriene organen. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2006;31:275-281.
3. Morshed SA, Davies TF. Graves'Disease Mechanisms: The role of Stimulating, Blocking and Cleavage Region TSH Receptor Antibodies. Horm Metab Res 2015; 47:727-734.
4. Pekelharing JM, Hooijkaas H, Punt JM et al (eds). Handboek medische laboratorium diagnostiek. Prelum uitgevers. Houten 2009
5. Stockwell J, Grippa L, Curtiss T et al. Development of a Novel Reporter Cell Line and Standardized Protocol for the Detection of Thyroid Stimulating Immunoglobulin (TSI). American Thyroid Association 2009 Annual Meeting.
6. D'Aurizio F, VillaltaD et al. The measurement of TSH Receptor stimulating autoantibodies: the holy grail for the laboratory diagnosis of Graves' disease? 1st Congresso Nazionale della societa italiana di patologia Clinica e Medicina di Laboratorio.
7. Kiaei D, Birmingham N, Chapman-Montgomery S, et al. White paper: Analytical and Clinical Performance of the IMMULITE 2000 TSI Assay. Siemens Healthcare Diagnostics, Tarrytown, NY, USA

Speuren naar onbekende virussen

Debby Schipper, Claudia M.E. Schapendonk en Bart L. Haagmans
Afdeling Viroscience, Erasmus Medisch Centrum, Rotterdam

Virussen kunnen een serieuze bedreiging vormen voor de volksgezondheid. Soms zien we dat voorheen onbekende virussen opduiken en uitbraken veroorzaken bij de mens. Veelal zijn deze virussen afkomstig van dieren of insecten maar door te muteren kan een dergelijk virus zich aanpassen aan de nieuwe gastheer. Voorbeelden van deze zogenaamde “emerging” virussen zijn het severe acute respiratory distress syndrome (SARS) virus, Middle East respiratory syndrome (MERS) coronavirus en influenza virus H5N1, welke dodelijke infecties kunnen veroorzaken bij de mens.

In eerste instantie worden deze virussen niet opgepikt in de routine virale diagnostiek en is het daarom noodzakelijk om met andere moleculaire technieken naar deze virussen te speuren. Sequentie analyse van materiaal van de patiënt en detectie van het virus in weefsel materiaal is dan een eerste stap in het onderzoek. Op basis van deze studies kan dan de routine virale diagnostiek worden verbeterd en kunnen vervolg onderzoeken starten naar de bestrijding van de virus uitbraak. Hoe wordt zo een nieuw virus nu ontdekt en wat wordt er nu precies op een laboratorium gedaan als een dergelijk virus wordt geïdentificeerd?

Virus Discovery

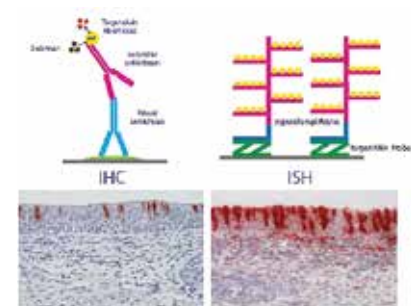
Het is van belang om bij ziekte-uitbraken met een onbekende oorzaak snel vast te stellen welk virus mogelijk de veroorzaker is. Voorheen werden deze virussen genetisch gekarakteriseerd door middel van amplificatie, gebruikmakende van degeneratieve en nieuw ontwikkelde primers, klonering, transformatie gevolgd door sanger sequencing. Hoewel deze technieken succesvol kunnen zijn, kosten ze veel tijd. Dankzij next-generation sequencing, kunnen nieuwe virussen nu sneller worden ontdekt.

Wanneer er geen concrete oorzaak gevonden kan worden op basis van de

routine virale diagnostiek wordt het monster naar het onderzoekslaboratorium gestuurd. Als eerste wordt er een voorbehandeling op deze monsters gedaan om gastheer DNA en RNA af te breken en wordt het over een filter gehaald om bacteriën eruit te verwijderen. Dan wordt eerst enkel strengs cDNA gemaakt met een random primer waar een tag aanzit en geamplificeerd met een specifieke primer tegen de tag. Vervolgens wordt er een zogenaamde library gemaakt. Hierbij wordt aan het geamplificeerde product een andere tag gehangen, waaraan je het monster kunt herkennen. Hierdoor kun je meerdere monsters tegelijk deep sequenzen gebruikmakende van verschillende platforms zoals Illumina. In het verleden hebben we voornamelijk gebruik gemaakt van de Roche 454 methode waarbij een emulsie PCR gedaan wordt zodat een losse streng DNA aan een bolletje geamplificeerd wordt. Door deze methode krijg je op elk bolletje dan heel veel kopieën van dezelfde streng DNA. Al deze kopieën van verschillende strengen worden vervolgens gesequenced. Om te achterhalen wat er precies is gesequenced worden de sequenties eerst gescheiden per monster aan de hand van de tag. Vervolgens worden de tag en de primers er af ‘geknipt’. De overgebleven sequenties worden vervolgens vergeleken met de sequenties van bekende virussen. Wanneer de

sequentie gedeeltelijk overeenkomt met een reeds bekend virus, kan het een nieuwe variant van dat virus zijn. Om het complete genoom van het ‘nieuwe’ virus te krijgen, worden alle sequenties in elkaar gepast en worden er primers ontwikkeld om delen die nog niet bekend zijn te amplificeren en te sequencen met de Sanger techniek.

Figuur 1: Detectie van viraal antigeen en viraal RNA in neusweefsel van dromedarissen experimenteel geïnfecteerd met MERS-CoV met behulp van IHC en ISH, respectievelijk. Voor de immunohistochemische kleuring wordt gebruik gemaakt van een primair antilichaam gericht tegen een viraal antigeen en een HRP-gelabeld secundair antilichaam gericht tegen het primaire antilichaam. Met behulp van een substraat kan het target antigeen worden gedetecteerd. De in situ hybridisatie maakt gebruik van preAMP moleculen die hybridiseren aan elk oligo probe paar, vervolgens hybridiseren meerdere AMP moleculen aan elk preAMP molecuul en meerdere HRP- of AP-geconjugeerde label probes binden aan elk AMP molecuul. Op deze manier wordt het detectiesignaal versterkt.



Vervolgonderzoek

Wanneer het complete genoom van een nieuw virus bekend is wordt er verder onderzoek verricht om vast te stellen of er een link is tussen het geïdentificeerde virus en het ziektebeeld dat gezien wordt in de patiënt. Op basis van de genoom sequentie kunnen allereerst nieuwe diagnostische testen worden ontwikkeld die een verdere aanwijzing kunnen leveren voor de connectie virus-patiënt. Deze tools kunnen vervolgens ook worden ingezet om het virus terug te traceren naar de bron, vaak een dier dat normaliter als gastheer voor het virus optreedt. Daarnaast is het belangrijk om aan te tonen dat de pathologische veranderingen in de weefsels te linken zijn aan de aanwezigheid van dit virus ter plekke.

Een mogelijkheid is ook nu weer gebruik te maken van de reeds eerder bepaalde virale genoom sequentie en

op basis hiervan probes te ontwikkelen die het virus in weefsel van de patiënt kunnen aantonen. Met behulp van in situ hybridisatie (ISH) worden specifieke target mRNA species binnen individuele cellen in weefselsecties geïdentificeerd. Dit verschilt van immunohistochemie (IHC), die eiwitten lokaliseert in weefselsecties. ISH wordt gebruikt voor het detecteren van target RNA in intacte cellen door het hybridiseren van de complementaire streng van een (oligo)nucleotide probe met de target sequentie. De probe bevat ook een kleurtag (in de meeste gevallen een fast-red) zodat het gevisualiseerd kan worden onder de microscoop. De weefsel secties gefixeerd in paraffine worden in dunne plakjes van 5µm gesneden en gefixeerd op glaasjes. Vervolgens worden de glaasjes een uur gebakken bij 60°C, zodat de weefsel secties goed plakken aan het glaasje. Om ervoor te zorgen dat de probe het

target RNA kan bereiken, moet het weefsel worden gepermeabiliseerd. Door middel van antigeen retrieval en het toevoegen van protease wordt het RNA toegankelijk voor de target probe; nu kan de target probe binden aan het target RNA. Dit gebeurt in een gehybridiseerde omgeving waar de temperatuur een constante waarde behoud van 40°C. Een goede hybridisatie hangt af van het vermogen van het oligonucleotide om te hybridiseren met de complementaire RNA streng, net onder het smeltpunt. Na de hybridisatie wordt het weefsel gewassen om ongebonden probe te verwijderen. Door middel van amplificatie met "versterkers" (AMP moleculen) en gelabelde probes wordt het hybridisatiesignaal versterkt via sequentiële hybridisatie (zie figuur 1). Als laatste wordt er een Fast-Red substraat aangeboden waardoor er een rode kleurreactie ontstaat met het target RNA. Elk rood gestippeld signaal staat



SARSTEDT

Your Partner in Medicine
and Science Worldwide



SARSTEDT – Product solutions
for enhanced reproducibility
in analytics

info.nl@sarstedt.com · www.sarstedt.com

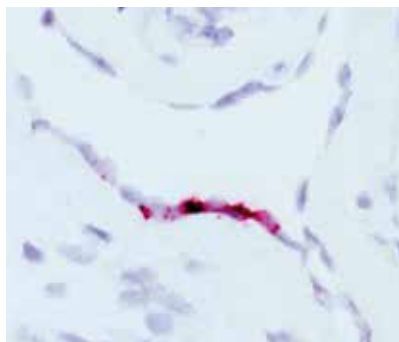


SARSTEDT

Sarstedt B.V. · Penningweg 29 · 4879 AE ETTEN-LEUR · Tel: +31 76 501 7550 · Fax: +31 76 501 7626



Figuur 2: Dromedarissen zijn geïdentificeerd als bron voor de verspreiding van het MERS coronavirus van dier naar de mens (foto: B.Haagmans).



Figuur 3: Vruchtwaterrepietheel van de placenta kleurt positief voor ZIKA-RNA aangetoond door middel van in situ hybridisatie met ZIKA-virus specifieke probes (foto: D.Schipper).

voor één enkel target RNA molecuul en kan worden gevisualiseerd met een helderveld microscoop (figuur 1).

Naast de in situ detectie van virale genomen is het ook mogelijk gebruik te maken van IHC voor het lokaliseren van virale antigenen. In de vroege fase van een onderzoek kan het echter zijn dat specifieke antisera niet voorhanden zijn. Een mogelijkheid is om sera van de patiënt op te zuiveren en direct te labelen met een enzym om detectie in weefsel mogelijk te maken. Een alternatief is het genereren van specifieke sera in proefdieren door middel van immunisatie met virale antigenen verkregen door klonering of na infectie met virussen die geïsoleerd zijn van de patiënt. Wanneer weefsels voor IHC worden aangeboden is het belangrijk dat de epitopen en morfologie behouden blijven en dus moeten de weefsels op de juiste manier worden gefixeerd. In de meeste gevallen worden weefsels die gebruikt worden voor IHC ingebed in paraffine. Daarom is het van belang de weefsels zo snel mogelijk na verwijdering te fixeren in een formaline oplossing.

Alvorens te kunnen overgaan tot de eigenlijke IHC, moeten de epitopen worden opgehaald, die door de fixatie zijn gemaskeerd. Hierdoor kan het primaire antilichaam niet binden aan het target epitoom. De meeste gebruikelijke methode om antigeen terug te halen, is het opkoken (warmte) van de objectglaasjes in citraatbuffer gedurende 15-20 minuten. Na de antigeen retrieval kan de eigenlijke kleuring beginnen. Het ongeconjugeerd

primaire antilichaam bind aan het target antigeen en het secundaire antilichaam is in veel gevallen gelabeld met het enzym horseradisch peroxidase (HRP) oftewel mierikswortel peroxidase. Dit enzym wordt pas detecteerbaar wanneer er wordt geïncubeerd met een geschikt substraat. Vaak wordt gebruik gemaakt van het substraat aminoethyl carbazool (AEC), een alcohol oplosbaar chromogeen. Deze genereert een roodachtige kleuring op de plaats waar het target antigeen zich bevindt. Na de immunokleuring wordt het weefsel tegen gekleurd met hematoxyline dat de basofiele structuren (celkernen en ribosomen) blauwpaars kleurt. Op deze manier wordt de lokalisatie van het aangekleurde eiwit beter zichtbaar en kan er worden vastgesteld in wat voor soort cellen of weefsel het target antigeen zich bevindt.

Gebruikmakende van deze verschillende technieken zijn al vele nieuwe virussen in ons lab geïdentificeerd en verder gekarakteriseerd. Dit kunnen volledig onbekende virussen zijn zoals het MERS-coronavirus maar ook virussen die onverwacht opduiken zoals het Zika virus. Deze technieken zijn van belang om causale verbanden te kunnen leggen tussen de geobserveerde aandoening in de patiënt en het virus, zoals geïllustreerd in het geval van de ZIKA virus uitbraak waarbij vroege miskraam kon worden herleid naar de aanwezigheid van dit virus in weefsel van de foetus. Daarnaast kunnen deze technieken van belang zijn bij het karakteriseren van de virale infectie in dieren, waaronder

de natuurlijke gastheer, zoals geïllustreerd met studies in MERS-coronavirus geïnfecteerde dromedarissen. In het onderzoek naar onbekende virussen is het verder van belang aandacht te besteden aan virussen die reeds bij dieren voorkomen en die de potentie hebben om mogelijk over te springen naar de mens. Een voorbeeld van zo een zoektocht is het circovirus bij vossen.

Casus MERS-CoV

Een 60-jarige man uit Saudi-Arabië leed aan acute longontsteking en nierfalen. Elf dagen na opname in het ziekenhuis overleed de patiënt. In het serum en sputum van de patiënt konden met specifieke tests geen van de reeds bekende virussen worden geïdentificeerd. Een test voor coronavirussen, in combinatie met next-generation sequencing, liet zien dat de man geïnfecteerd was met een tot dan toe onbekend virus behorende tot de familie van coronavirussen (1). Het nieuwe virus werd, nadat in meer patiënten in die regio met een vergelijkbaar ziektebeeld dit virus werd aangetoond, MERS-CoV genoemd. Eind 2016 waren er bij de World Health Organisatie meer dan 1800 bevestigde gevallen van infectie met MERS-CoV bekend, waaronder 659 doden. MERS wordt gekenmerkt door respiratoire klachten, waarbij de meeste patiënten zijn opgenomen met longontsteking of acuut respiratoir distress syndroom (ARDS). Het opduiken van dit nieuwe virus en de voortdurende toename van humane besmettingen vraagt om meer onderzoek naar de bronnen van besmetting en de transmissieroutes van het virus. In augustus 2013 werd er voor het eerst een verband gelegd tussen dromedarissen en MERS-CoV (Figuur 2). In verschillende serologische studies bij dromedarissen werden MERS-CoV neutraliserende antistoffen gevonden, wat kan duiden op circulatie van MERS-CoV in deze diersoort. In vervolg studies werd met behulp van onder andere IHC en ISH viraal antigeen en viraal RNA aangetoond in neusweefsel van experimenteel geïnfecteerde dromedarissen (2 en figuur 1). Al deze bevindingen zijn een indicatie voor een mogelijke transmissieroute van de dromedaris naar de mens.

Casus ZIKA Virus

In januari 2016 melde een 31 jarige vrouw, die 10 weken zwanger is, zich op een polikliniek in Rotterdam. Ze heeft dan al 2 dagen lang last van hoofdpijn, milde gewrichtspijn en een jeukende huiduitslag. De symptomen traden op na een 3,5 week durende reis naar Suriname, wat grenst aan Noord-Brazilië. De pijnsymptomen verdwenen spontaan na 6 dagen maar 14 dagen nadat de eerste symptomen zich voordeden is er tijdens een routine controle een echo gemaakt waar op geen hartslag van de foetus meer zichtbaar was. Een week later, 21 dagen nadat de eerste symptomen van een ZIKA-virus gerelateerde ziekte zich voordeden, werd een curettage uitgevoerd. Er werd onder andere weefsel van de foetus en placenta bewaard voor verder onderzoek. Weefsel van de foetus en de placenta werd positief getest voor ZIKA-virus in semi-kwantitatieve RT-PCR en celweek isolatie. De resultaten werden bevestigd met behulp van next-generation sequencing (3). In situ hybridisatie, waarbij gebruik werd gemaakt van ZIKA-virus specifieke probes liet zien dat het vruchtwater-epitheel van de placenta positief was voor ZIKA-RNA, net als mesenchymale cellen van de foetus (Figuur 3). Dit bevestigt dat het ZIKA virus replicateert in vruchtwater stamcellen die betrokken zijn in een vroeg stadium van de embryonale ontwikkeling en wat mogelijk een vroege miskraam tot gevolg heeft.

Casus Circovirus

Tussen 2009 en 2013 werden in het Verenigd Koninkrijk 31 volwassen vossen gevonden die tekenen

vertoonden van een neurologische aandoening. De vossen vertoonden onder andere abnormaal gedrag, geen angst en verlamming aan de achterpoten. In gevangenschap werd de ziekte niet erger, maar de vossen werden geëuthanaseerd, omdat ze niet reageerde op medische behandelingen. Door middel van de willekeurige PCR methode en next-generation sequencing werden in sera van drie vossen sequenties van een circovirus gedetecteerd (4). Een real-time vos circovirus PCR werd ontwikkeld en uitgevoerd op 32 serum monsters van vossen. In totaal waren 20 vossen positief voor vos circovirus. Met behulp van in situ hybridisatie werd het vos circovirus ook aangetoond in hersen monsters van vossen met een neurologische aandoening en niet in hersen monsters van vossen die geen neurologische aandoening hadden. Deze bevindingen wijzen er op dat vos circovirussen dus mogelijk zijn geassocieerd met de ontwikkeling van neurologische aandoeningen. Omdat de prevalentie van circovirussen in vossen relatief hoog is en aanverwante circovirus species ziekte kunnen veroorzaken in zowel honden als vossen, is er aanvullend onderzoek nodig om de epidemiologie en pathogeniteit van circovirussen in vossen duidelijk te krijgen.

Conclusie

Momenteel is het mogelijk met behulp van deep sequencing technieken vrij eenvoudig de virale genoom sequentie van onbekende virussen te achterhalen. De informatie die dan verkregen wordt is de basis voor nieuwe diagnostische testen en verdere onderzoeken naar de associatie tussen virus en ziekte.

Over de auteurs

Na 10 jaar een bijdrage te hebben geleverd als research analist in het wereldje van de Oncologie, is D. Schipper sinds 2013 betrokken bij de afdeling Viroscience van het Erasmus MC te Rotterdam. Haar voornaamste researchlijn is onderzoek naar MERS-CoV, maar ook andere "Emerging Viruses", zoals bijvoorbeeld ZIKA en SARS. Na 3 jaar onderzoek te hebben gedaan naar bacteriën op de afdeling Medische Microbiologie van het UMC Utrecht is C.M.E. Schapendonk sinds 2011 verbonden als research analist aan de afdeling Viroscience van het Erasmus MC te Rotterdam. Haar voornaamste researchlijn is Virus Discovery, maar tegenwoordig doet ze ook onderzoek naar corona- en norovirussen. Bart Haagmans is onderzoeksleider op de afdeling Viroscience van het Erasmus MC en onderzoekt de pathogenese van zoönotische virale infecties. De focus ligt hierbij op de karakterisatie van coronavirussen. Op basis van de verkregen resultaten worden daarop interventie strategieën ontwikkeld om deze virussen onder controle te krijgen.

Literatuur

1. Van Boheemen S. et al, Genomic characterization of a newly discovered coronavirus associated with acute respiratory distress syndrome in humans. *MBio* 2012 Nov 20;3(6). pii: e00473-12. doi: 10.1128/mBio.00473-12.
2. Haagmans B.L. et al, An orthopoxvirus-based vaccine reduces virus excretion after MERS-CoV infection in dromedary camels. *Science*. 2016 Jan 1;351(6268):77-81. doi: 10.1126/science.aad1283. Epub 2015 Dec 17.
3. van der Eijk A. et al, Miscarriage Associated with Zika Virus Infection. *N Engl J Med*. 2016 Sep 8;375(10):1002-4. doi: 10.1056/NEJMc1605898. Epub 2016 Jul 27.
4. Bexton S, et al. Detection of Circovirus in Foxes with Meningoencephalitis, United Kingdom, 2009–2013. *Emerg Infect Dis*. 2015 Jul;21(7):1205-8. doi: 10.3201/eid2107.150228

Nieuws

'Spring Event' in Analyse

Kunt u ook niet wachten tot het 16 mei is? In deze editie van Analyse krijgt u een voorproefje van het Spring Event. De eerste drie artikelen zijn van sprekers, uit verschillende

vakgebieden, die een lezing zullen geven op het 'Spring event'. Zij verklappen niet alles wat ze zullen vertellen, maar maken zeker enthousiast met hun boeiende artikelen.

SAFE MET DE VERZENDOPLOSSINGEN
VAN DAKLAPACK

DaklaPack®
europe

 **ELITechGroup**
ELITECH BENELUX

**Sample-to-Result
Molecular Diagnostics**



ELITE InGenius

It's a Jungle out there!



**Clinically Relevant
EQAS for Microbiology**

External quality assessment programs

- Bacterial serology
- Bacteriology
- Immunology
- Molecular biology
- Mycology
- Parasitology
- Prenalytics
- Virology

Sales and customer service: labquality@r-biopharm.nl

LABQUALITY 

 **pepperflow**
VAN STRATEGIE NAAR RESULTAAT

Een hele zorg minder!

- ✓ Digitalisering management review
- ✓ Processen accreditaties en audits vereenvoudigen
- ✓ Efficiënt vergaderen
- ✓ De interactieve actielijst
- ✓ Projectmanagement

"Met Pepperflow wordt het werk overzichtelijker. Alles staat op één plek. Ik zie direct waar de afdeling staat en wat de actiepunten zijn".

Wies Ramaekers. Kam Functionaris UMC Utrecht afdeling Pathologie

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, Hillelrom, 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, Gelre Ziekenhuizen, locatie Apeldoorn
mw. H. Duijn, Antoni van Leeuwenhoekziekenhuis Amsterdam
Aspirant bestuurslid: E.M. Wester, Opleidingsadviseur, Atalmedial Hoofddorp

Adviseurs

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

NVML-Commissies en werkgroepen

Commissie Internationale Contacten

Contactpersoon: Marja Pospiech, bureau NVML.

Commissie Kwaliteit / Landelijk kwaliteitennetwerk (LKN)

Contactpersoon: Petra Melsen

Commissie Nascholing

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

Commissie/Platform Onderwijs

Contactpersoon: Marja Pospiech, bureau NVML.

Redactiecommissie

Contactpersoon: Simone Priester-Vink

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

Werkgroep Hoofdanalisten Medische Microbiologie (WHAMM)

Contactpersoon: Marianne Egbers

Werkgroep Hoofdanalisten Klinische Chemie (WHAKC)

Contactpersoon: Eline Liesting

Werkgroep Hoofdanalisten Pathologie (WHAPA)

Contactpersoon: Paul Rombout

Van het bestuur

Een dag na een drukke weekenddienst van een klinisch chemisch analist

Lk zit op de bank naar buiten te kijken. De tuin kleurt nog prachtig wit na de gevallen sneeuw van gisteren. Het afgelopen weekend heb ik mogen werken en wederom is mij weer duidelijk geworden dat automatisering, collegialiteit en communicatie niet te missen schakels zijn binnen laboratoria.

Helaas ondervonden wij zaterdag problemen met de automatisering en moesten er diverse handelingen handmatig worden uitgevoerd. Dit leverde vertraging op in de rapportage van diverse uitslagen. Tijdig zijn de klinisch chemicus, dienstdoende artsen, hoofdverpleegkundige en de intensive care geïnformeerd. In de ziekenhuiswereld, waarin alle uitslagen liever gister dan vandaag bekend moeten zijn, was dit geen wenselijke situatie. Zondag kregen mijn collega en ik nog wat extra ondersteuning van een derde collega. Door deze hulp konden de resultaten in een rap tempo worden gerapporteerd. Met z'n drieën vormden wij een sterk en geroutineerd team. Het gaf mij het trotse gevoel dat dit probleem een muis bleef en geen olifant werd en dat we de patiënten van goede zorg konden blijven voorzien.



Het ziekenhuis kan niet zonder functionerende automatisering, maar ook zeker niet zonder communicatie en collegialiteit. Door een open en heldere communicatie wordt begrip voor lastige situaties gecreëerd. Een ieder kan op deze manier kennismaken met de wereld buiten zijn eigen werkzaamheden. Men kan elkaar op deze manier helpen en leren begrijpen. Het gaat niet alleen om communicatie en collegialiteit tussen afdelingen, maar ook binnen afdelingen van het ziekenhuis.

Zoals mijn collega-lid van de commissie pre-analyse reeds aangaf in de rubriek 'Vaste prik', hebben medewerkers, werkzaam in de pre-analyse, vaak het gevoel dat hun werkzaamheden minder worden gewaardeerd. Terwijl het verkrijgen van de juiste resultaten valt en staat met een juist pre-analytisch traject. De NVML biedt ook hierbij een platform. Wij zijn een vakvereniging voor alle biomedische disciplines binnen laboratoria. Iedereen heeft een stem die gehoord mag en moet worden.

Dit werd wederom duidelijk tijdens het congres 'Vooruit in de pre-analyse!'. Er was een grote opkomst tijdens dit tweede congres georganiseerd voor de pre-analytische medewerker en de eerste reacties waren lovend. Het was een dag met uiteenlopende onderwerpen. Van het op de juiste manier en onder de juiste condities vervoeren van patiëntmaterialen tot aan het creëren van inzicht in de norm ISO15189. Deze dag werd ook gebruikt om te netwerken. Bezoekers van het congres kwamen bekenden tegen en informatie en ideeën werden met elkaar uitgewisseld. Als NVML zijn wij trots op dit gegeven en trots op het feit dat we nu ook een platform kunnen bieden voor de pre-analytische medewerker.

Hester Duijn

Nieuwe e-learning modules online

Het e-learningaanbod van de NVML is in december en januari uitgebreid met de nieuwe modules 'Interne kwaliteitscontrole', 'Leverfuncties en -enzymen' en 'Antibiotica-3'. Met deze uitbreiding is het totaal aan modules op 21 gekomen. Het streven is om voor alle disciplines binnen de medische laboratoria relevante modules aan te bieden op verschillende niveaus. Daarom is deze uitbreiding een goede aanvulling op de al bestaande mogelijkheden.

Inhoud module 'Interne kwaliteitscontrole'

Deze module introduceert de basisbegrippen en handelwijze bij moderne interne kwaliteitscontrole. Aan de hand van 12 leertaken wordt belangrijke kennis over interne kwaliteitscontrole behandeld. Na de leertaken volgt een toets. Het examen bestaat uit 10 vragen. Minimum niveau: MBO

Inhoud module 'Leverfuncties en -enzymen'

In deze module maakt u kennis met de leverfysiologie en de belangrijkste functies van de lever. Daarnaast is er aandacht voor de meest voorkomende leveraandoeningen en de bijbehorende klinisch chemische laboratoriumdiagnostiek. De module bestaat uit 6 leertaken. Na de leertaken volgt een toets. Het examen bestaat uit 10 vragen. Minimum niveau: post-MBO.

Inhoud module

In deze derde van vier antibiotica modules, geschreven vanuit het oogpunt van de medisch microbiologisch analist, worden de belangrijkste nu bekende resistentie-

mechanismen, aanwezig bij Gramnegatieve staven en de diagnostiek hierop uitgelegd. Aan het eind vindt u een begrippenlijst.

De module bestaat uit 8 leertaken. Na de leertaken volgt een toets. Het examen bestaat uit 10 vragen. Minimum niveau: post-HBO.

Belangstelling?

Voor het volgen van de e-learning van de NVML kunnen organisaties staffels aanschaffen. Met een staffel zijn hun deelnemende medewerkers verzekerd van het kunnen volgen van alle bestaande en toekomstige modules voor de duur van een (kalender)jaar. Alles over de inschrijving, zowel voor organisaties als individueel, is te vinden op de website www.nvml.nl onder het kopje 'Opleiding & registratie' en vervolgens 'E-learning'.

Voor verdere informatie kunt u contact opnemen met de NVML via nvml@nvml.nl.

E-learning doe je met de NVML!

BHV

Bedrijfshulpverlening

Als vereniging ben je verplicht een bedrijfshulpverlener (BHV'er) in huis te hebben. Wat zijn de taken van een BHV'er? Een BHV'er wordt opgeleid hoe te handelen bij calamiteiten. Dit kan zijn: verwondingen, botbreuken, brand, duizeligheid, hartinfarct.

Als bureaumedewerker heb ik de cursus BHV een aantal jaren gevolgd. Het is heel leerzaam hoe te handelen bij calamiteiten, voor waar je ook bent. De kennis neem je overal mee naar toe.

Bij een brand is het extra belangrijk om snel te handelen. Op de cursus leer je dan ook eens per jaar een brand-oefening te organiseren.

In december 2016 is er een oefening gedaan op kantoor bij de NVML. Tijdens de cursus 'stagebegeleiding' is er een brandalarm afgegaan. Zowel de deelnemers als alle andere personen die in het gebouw aanwezig waren moesten zo snel mogelijk het pand verlaten. De tijd die voor een

ontruiming staat is 3 minuten. Binnen 3 minuten hadden alle deelnemers en andere in het gebouw aanwezige personen zich buiten verzameld.

Tijdens de oefening had elke bureaumedewerker een taak bij het afgaan van het alarm. Ook konden wij tijdens de oefening zien waar nog het één en ander aangepast moest worden. Bijvoorbeeld alle deuren en ramen sluiten. Maar ook de sleutel van het gebouw niet vergeten mee te nemen naar buiten. Ook dit jaar zullen wij weer onverwacht een oefening inplannen. Want uiteindelijk geldt nog steeds 'oefening baart kunst'.

Alice Gosselt-Imming

Alere™ i

Moleculaire detectie in minuten

De Alere™ i is een snel isothermisch systeem voor de kwalitatieve detectie van infectieziekten binnen 15 minuten. Wij bieden momenteel drie testen aan op de Alere™ i: RSV, Influenza en Strep A. Binnenkort uitgebreid met C. diff en Chlamydia/Gonorrroe.

Eenvoudig in gebruik
Groot kleurentouchscreen
Visuele gebruiksinstructies
Ruimtebesparend

Direct gebruiksklaar
Portable
Rechtstreeks verbinding
met uw netwerk



Neem voor meer informatie contact op uw account manager of bezoek onze website.
Alere Health BV Dr. Hub van Doorneweg 175 5026 RD Tilburg
T +31 (0)13 467 27 00 | F +31 (0)13 467 80 16 | infoNL@alere.com | www.alere.com

© 2017 Alere. All rights reserved. All trademarks referenced are trademarks of their respective owners. NMB-0415

instru

chemie



www.instruchemie.nl

Science without f(r)iction since 1979

ISO-9001 / 13485 / CE

Zwet 26 9932AB Delfzijl The Netherlands

Tel. +31 596 634 831 Fax. +31 596 634 755

e-mail: info@instruchemie.nl

Vaste Prik

De rubriek voor de pre-analytisch medewerker

De juiste zorg voor de patiënt

De bloedafname bij een patiënt is vaak één van de eerste schakels in de patiëntenzorg. Indien een patiënt zich voor het eerst met klachten meldt bij een zorgverlener, wordt er met regelmaat bloed afgenomen om een eerste inzicht te krijgen in de lichamelijke gesteldheid van de patiënt. Ook zijn er patiënten die zich herhaaldelijk melden bij een bloedafname. Denk aan patiënten die regelmatig bloed moeten laten afnemen voor het controleren van de INR of patiënten bij wie bloed afgenomen moet worden voor aanvang van het ontvangen van een chemokuur om te beslissen of de conditie van de patiënt dit toelaat.

Patiënten bouwen vaak een vertrouwensband op met medewerkers van een bloedafname. Zij maken vaak even een praatje met de medewerker en kunnen even hun hart luchten, maar er vinden soms ook verdrietige gesprekken plaats indien zij net van een behandelend arts hebben vernomen dat er voor de patiënt geen behandeling meer mogelijk is.

Soms is er geen verbale communicatie, behalve dan bij het identificeren van de patiënt. Een foutieve bloedafname van een patiënt kan tenslotte verregaande gevolgen hebben. Wie wil nu niet dat zijn of haar bloedafname aan de hand van de juiste kwaliteitsnormen wordt afgenomen. Patiënten verdienen de juiste zorg. Zij leggen hun lot in de handen van de zorgverlener in soms de meest schrijnende situaties.

Hoe belangrijk kwaliteit is binnen laboratoria werd weer eens goed duidelijk tijdens het tweede congres georganiseerd voor de pre-analytische medewerker, 'Vooruit in de



pre-analyse'. Onderwerpen, zoals het onder de juiste conditie en op de juiste manier vervoeren van patiënten materialen, ISO15189 en hygiëne in de zorg kwamen allemaal aan bod. Ook werd er inzicht gecreëerd in het verwerken van patiënten materialen, verkregen bij een patiënt op een invasieve manier, om het belang weer te geven van de omgang met deze materialen.

Ook het tweede congres was een daverend succes en het werd maar weer eens bevestigd hoe belangrijk het is dat de groep medewerkers in deze discipline zich tot elkaar en een vakvereniging kunnen richten. Een platform wordt geboden waar eenieder zijn stem kan laten horen.

Moet er een opleiding komen om het vak van pre-analytisch medewerker te mogen beoefenen? Voelt de groep pre-analytische medewerkers zich voldoende gewaardeerd binnen de zorginstelling? Zomaar een greep uit een aantal vragen waar de commissie pre-analyse zich over buigt. Dat het wordt gewaardeerd dat deze commissie is opgericht door de NVML is duidelijk.

Weet dat de commissie pre-analyse graag input van jullie ontvangt over de datgeen wat jullie als medewerker ervaren en bezighoudt. Dit alles draagt bij aan die kwaliteit die de patiënt graag ziet en verdiend. Aan het vertrouwen dat de patiënt verwacht te kunnen hebben in zijn of haar zorgverlener. Laten wij elke dag met trots onze werkzaamheden uitvoeren, waarbij wij een stukje kunnen bijdragen aan de juiste en goede zorg voor de patiënt.

Kor Kooij en Hester Duijn, commissie pre-analyse



Voortgang samenwerking VAP (Vereniging Analisten Pathologie) en NVML

Hierbij een korte update over het project dat de NVML en de VAP zijn aangegaan om te onderzoeken of een fusie of een andere vorm van samenwerking tot de mogelijkheden behoort.

Inmiddels heeft de stuurgroep diverse analyses gemaakt en ligt er een concept projectplan klaar.

De volgende stap is om een professioneel adviseur in de arm te nemen die het project verder kan begeleiden. Welke opdracht de adviseur meekrijgt is nog niet bekend. Het kan alleen een advies zijn tot en met het daadwerkelijk implementeren van een samenwerkingsovereenkomst of fusie.

Er zijn vier kandidaten uitgenodigd voor een gesprek. De beide voorzitters van de verenigingen zullen deze gesprekken voeren. De keuze hangt af van of er een "klik" is en wat de kosten zijn. Deze kosten zullen in de Algemene Ledenvergadering tijdens de begroting worden voorgelegd ter goedkeuring.

Ondertussen wordt er weer hard gewerkt aan een jaarlijks eenmalig gezamenlijk vakblad. De vorige was echt een succes!

Marianne Egbers

Nieuws

Diabetes type 1 is niet de schuld van het afweersysteem

Diabetes type 1 kan ontstaan doordat insulineproducerende cellen een afwijkend eiwit maken in plaats van insuline. Dat schrijven LUMC-onderzoekers Bart Roep en Arnaud Zaldumbide in *Nature Medicine*: 'Dit geeft ons een heel nieuwe kijk op deze ziekte'.

Bij mensen met diabetes type 1 keert het afweersysteem zich tegen de bètacellen in de alvleesklier. De gedachte was tot nu toe dat het afweersysteem insuline ten onrechte als gevaarlijk beschouwt en de cellen aanvalt. Roep en Zaldumbide hebben ontdekt dat het afweersysteem in veel gevallen reageert op een foutief eiwit dat bètacellen soms maken in plaats van insuline. Niet het afweersysteem, maar de bètacellen vergissen zich dus.

Overwerkt

Dat bètacellen af en toe een verkeerd eiwit maken is niet zo vreemd. Roep: 'Het zijn hoogproductieve fabrieken. Als de vraag naar insuline groot is, kan één bètacel per minuut één miljoen insulinemoleculen maken.' De onderzoekers laten zien dat de bètacellen de fout in gaan als ze onder stress staan, bijvoorbeeld vanwege een virusinfectie, gluten in de eerste drie maanden na de geboorte of een aantasting van het darmflorakanaal. Ze raken dan 'overwerkt'. Het verkeerde eiwit dat ontstaat, wekt een afweerreactie op, blijkt uit experimenten. Roep: 'Met het

afweersysteem van deze mensen is dus niets mis, integendeel. Het doet precies wat het moet doen: cellen aanpakken die een verkeerd eiwit maken.'

Rust gunnen

'Dit nieuwe inzicht heeft consequenties voor de behandeling', zegt Zaldumbide. 'Een optie kan zijn om de stress van bètacellen weg te halen, bijvoorbeeld door een ontsteking te remmen, zodat ze beter functioneren en minder fouten maken. Of misschien is het mogelijk mensen tegen diabetes te vaccineren met fragmenten van het verkeerde eiwit.' Roep voegt toe: 'Als je bètacellen rust gunt en daarmee redt, is je kans op complicaties aanzienlijk kleiner, zo niet nul! Zonder dat je het realiseert, help je je lichaam hiermee en geef je de onderzoekers de tijd en de kans om therapieën te vinden om de ziekte te stoppen.'

Dit onderzoek werd gefinancierd door het Diabetes Fonds, JDRF en Stichting DON.

Bron: Diabetes Fonds

Nascholing Pediatrische bloedtransfusie; Wat kunnen wij als laboratorium?

In deze nascholing worden de belangrijkste bloedgroepsystemen (ABO; Rh etc.) behandeld. De nadruk ligt vooral op het klinisch en bloedgroep serologisch beeld wat bij het (ongeboren) kind ontstaat als gevolg van de vorming van irregulaire antistoffen gedurende de zwangerschap, namelijk de hemolytische ziekte van de pasgeborene. Zoals genoemd in de subtitel ligt de nadruk op het laboratoriumonderzoek bij moeder en kind, wat dit met zich meebrengt én het opstellen van een transfusieadvies met keuze van het juiste bloedproduct.

Belicht wordt o.a. de benodigde specifieke kennis bij het transfunderen aan neonaten. Hier spelen vaak andere factoren een belangrijke rol dan antistoffen: namelijk de toxische effecten van het bloedproduct.

Verder zullen de revue passeren: antistoftypering m.b.v. celpanels, ADCC test, elueren, geïllustreerd door enkele theoretische voorbeelden. We bespreken tevens een aantal praktijkvoorbeelden, waaronder auto-antistoffen, medicijn invloeden.

Sprekers

Peter Geneste, hemovigilantieconsulent, Reinier de Graaf Gasthuis, Delft
Edith Vrijmoed, aandachtsanalist bloedgroepserologie, Reinier de Graaf Gasthuis, Delft

Datum en locatie

Donderdag 1 juni Delft Reinier de Graaf Gasthuis

Programma

13.30	Ontvangst met koffie/thee
14.00	Opening NVML
14.05	Interactieve nascholing
15.15	Pauze
15.30	Vervolg interactieve nascholing
16.30	Afsluiting

Niveau

Post-hbo

UEC

Voor deze nascholingsmiddag ontvangt u 3 UEC.

Kosten

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

Aanmelden

Graag vóór 16 mei 2017
U kunt zich uitsluitend aanmelden via de website www.nvml.nl

Nieuws

Erfelijke vorm van beroertes en dementie komt veel vaker voor dan gedacht

CADASIL, een erfelijke aandoening die leidt tot beroertes en dementie, komt veel vaker voor dan tot nu toe gedacht. In plaats van 3 op de 100.000 personen, blijkt wereldwijd 3 op de 1000 personen de erfelijke aanleg voor CADASIL te hebben. Dat ontdekten Saskia Lesnik Oberstein en Julie Rutten van de afdeling Klinische Genetica van het Leids Universitair Medisch Centrum (LUMC). Reden genoeg om veel meer bewustwording te creëren rond deze toch niet zo zeldzame ziekte. Bijvoorbeeld door 7 kilometer te zwemmen van Robbeneiland naar het vaste land van Zuid-Afrika. LUMC-arts in opleiding Annabelle Slingerland trotseerde op 2 april de Atlantische Oceaan tijdens 'The Freedom Swim',

een van de zwaarste openwaterraces ter wereld. Met haar deelname wil ze zoveel mogelijk geld ophalen voor onderzoek naar CADASIL. "We hopen met dit soort acties de ziekte ook bij een breder publiek onder de aandacht te brengen, zodat vaker en sneller een juiste diagnose wordt gesteld", vertelt dr. Lesnik Oberstein. "CADASIL is lastig te herkennen. Je moet bij deze ziekte kijken naar de puzzelstukjes. De arts ziet een MRI-scan, kijkt naar de leeftijd en familiegeschiedenis van de patiënt en moet dan denken: "Hé, misschien is het wel CADASIL." Dit kan vervolgens vrij eenvoudig met een DNA-test worden bevestigd." *Bron: LUMC*



Overuren en vakantie-uren

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

Vraag: Sinds juli 2016 ben ik werkzaam op een lab, ik werk nu op mijn tweede contract dat loopt van 1 november 2016 tot 31 oktober 2017. Krijg ik nu hierna een vaste aanstelling?

Vanaf 1 juli 2015 is er een nieuwe 'Flexwet' (eigenlijke titel: Wet Werk & Zekerheid). Deze wet geldt voor iedereen in Nederland, ongeacht onder welke cao je valt. Daarin staat dat je maximaal twee jaar mag werken op tijdelijke aanstelling en maximaal drie tijdelijke contracten mag krijgen. Dat betekent voor jou dus: tot uiterlijk eind juni 2018. Wel mag je werkgever in die twee jaar drie maal een tijdelijk contract aanbieden, dus bijvoorbeeld van 1 juli t/m 31 oktober 2016, van 1 november 2016 t/m 31 oktober 2016 en van 1 november 2017 t/m 30 april 2017. Maar afgezien hiervan is het natuurlijk het prettigst als je, na enige tijd op een tijdelijk contract gewerkt te hebben, een vast contract krijgt. Dat werkgevers dat niet altijd aanbieden wordt wel eens gemotiveerd door te zeggen: "We weten nog niet hoe het over een jaar zal zijn." Dit hebben de vakbonden bij onderhandelingen voor de (huidige) cao Ziekenhuizen en umc's proberen te omzeilen door werkgevers te stimuleren om een interne flexpool op te zetten met medewerkers in vaste dienst die flexibel ingezet kunnen worden. Zodoende hoeft alleen voor vast werk, dat blijvend is, een nieuwe medewerker aangehouden te worden. In de cao Ziekenhuizen 2014-2016 staat: "Hiertoe is afgesproken dat een contract voor bepaalde tijd in principe wordt opgevolgd door een arbeids-overeenkomst voor onbepaalde tijd" (pag. 10). Of dit in de praktijk ook zo werkt, is onzeker. De vakbonden hebben zich voorgenomen dit te monitoren. Ook bij de huidige cao umc's zijn afspraken gemaakt over flexibele en tijdelijke inzet. Hier ligt het aangaan van tijdelijke contracten wat ingewikkelder in verband met tijdelijke

geldstromen voor onderzoeksprojecten. Zie hiervoor hoofdstuk 2 van de Cao umc's.

Dus om terug te komen op je vraag: je werkgever mag je nog éénmaal een contract aanbieden, tot uiterlijk 30 juni 2018. En daarna: hopelijk een vaste aanstelling!

P.S. Graag hoort de Commissie Sociale Belangen goede en slechte ervaringen met het werken op tijdelijk contract en/of in een flexpool. Krijg je inderdaad een vaste aanstelling na twee jaar tijdelijke contracten? Of gebeurt dit niet?

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

De compliment-
binding wordt te
weinig uitgevoerd
Anna Listje

Lab uitspraken is een nieuwe rubriek in Analyse. Wij verzamelen grappige en treffende uitspraken over hoe het is om te werken in het lab. Heeft u zelf een grappige uitspraak? Stuur deze dan naar: nvml.redactie@nvml.nl en misschien staat uw uitspraak de volgende keer in Analyse.

Cursussen NVML

Aanmelding NVML cursussen geopend

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

	Sluitingsdatum inschrijving	Cursusdata
Malaria diagnostiek	18 april 2017	Donderdag 1 en 8 juni
Stagebegeleiding, het vervolg (NIEUW)	9 mei 2017	Donderdag 15 en 29 juni
Fertiliteit en Zwangerschap	18 april	Dinsdag 30 en woensdag 31 mei
Theorie en kliniek van Immuno-assays Blok-1	1 september	Dinsdag 26 september, 3 en 10 oktober, examen op donderdag 26 oktober
Theorie en kliniek van Immuno-assays Blok-2	20 december	Donderdag 18, 25 januari en 1 februari, examen 22 februari



Massa Spectrometrie op het ziekenhuis laboratorium

質量分析法

Datum: 11-mei-2017

Locatie: ETZ Tilburg, locatie Twee Steden Ziekenhuis



SHIMADZU

Excellence in Science

Seminar voor ziekenhuis laboratoria, met als onderwerp Massa Spectrometrie en automatisering op het Klinisch Chemisch & Klinisch Farmaceutisch ziekenhuis laboratorium.



Sprekers;

Dr. Jody M.W. van den Ouweland (CWZ),

Dr. Frans A.L. van der Horst (Reinier Haga),

Dr. Neil Loftus (Shimadzu), en nog vele andere.

Inschrijven via: www.shimadzu.nl



Hogeschool van Arnhem en Nijmegen

Cursussen, post-hbo en maatwerkopleidingen Life Sciences

Titel: Basiskennis Chemie
Datum: e-learning (vrije keus startdatum)
Omvang: 2,5 maand
Kosten: € 603,-
Locatie: n.v.t.

Titel: Morfologie van het Urinesediment
Datum: 1 juni 2017 (1 dag 9.30 – 17.00 uur)
Kosten: € 455,-
Locatie: Nijmegen

Titel: Bloedbankkunde
Start: september 2017 (11 dinsdagen 18.00-21.00 uur)
Kosten: € 1.128,00
Locatie: Amsterdam

Titel: Labmanagement - Communicatie
Start: september 2017 (4 dagen 9.00-13.00 uur)
Kosten: € 948,00
Locatie: Nijmegen

Titel: Labmanagement - Projectmanagement
Start: september 2017 (3 dagen 14.00-18.00 uur)
Kosten: € 948,00
Locatie: Nijmegen

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

Hogeschool Leiden

Centrum Bioscience en Diagnostiek

Titel: Masterclass kwaliteitsanalyse van real-time PCR amplificatiecurven
Data: 8 en 9 mei 2017
Inschrijven: vóór: 20 april 2017
Cursusprijs: € 785,-

Titel: Kwaliteitsaspecten en troubleshooting bij PCR-technologie
Data: 15, 22 en 29 mei 2017
Inschrijven: vóór: 3 april 2017
Cursusprijs: € 1.220,-

Titel: Nieuwe moleculaire diagnostische technieken
Datum: 1 juni 2017
Inschrijven: vóór: 20 april 2017
Cursusprijs: € 375,-

Titel: Workshop Primer en probe design
Data: 13 en 14 juni 2017
Inschrijven: vóór: 2 mei 2017
Cursusprijs: € 785,-

Titel: Workshop Analyse van Next Generation Sequencing (NGS)
Data: 18 en 19 mei 2017
Inschrijven: vóór: 4 mei 2017
Cursusprijs: € 845,-

Titel: Masterclass Antibiotica resistentie nu en in de toekomst
Datum: 15 juni 2017
Inschrijven: vóór: 4 mei 2017
Cursusprijs: € 515,- (bij inschrijving vóór 6 april 2017 € 470,-)

Titel: ELISA theorie; achtergronden en kwaliteitsaspecten
Data: 27 september, 4 en 11 oktober 2017
Inschrijven: vóór: 16 augustus 2017
Cursusprijs: € 1.150,- (bij inschrijving vóór 19 juli 2017 € 1.045,-)

Titel: Praktijkcursus Bloedcelmorfologie van normale tot bijzondere bloedbeelden
Data: 8, 15 en 22 juni 2017
Inschrijven: vóór: 25 mei 2017
Cursusprijs: € 545,-

Titel: Hematologie
Data: 5, 12, 19, 26 september, 10, 31 oktober, 7 en 14 november 2017
Inschrijven: vóór: 25 juli 2017
Cursusprijs: € 1.485,- (bij inschrijving tot 27 juni 2017 € 1.350,-)

Titel: Statistiek voor analisten
Data: 12 en 19 juni 2017
Inschrijven: vóór: 1 mei 2017
Cursusprijs: € 785,-

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.

Wat is het?



Wat is het?

Vorige keer stond de rubriek 'Wat is het?' weer in Analyse. De oplossing is niet geraden, daarom herhalen we deze 'Wat is het?' nog eenmaal.

Wat staat hiernaast op de foto? Het antwoord kun je sturen naar nvml@nvml.nl onder vermelding van 'Wat is het?'. Oplossingen kunnen ingestuurd worden tot 28 april 2017. De winnaar ontvangt een prijs. De winnaar en de oplossing worden bekend gemaakt in Analyse nummer 3 van 2017.

Cao Ziekenhuizen

Nog geen akkoord

Tijdens de onderhandelingen van 2 maart is gesproken over de uitbetaling van achterstallige ORT over verlof.

Aanleiding hiervoor is de uitspraak van april 2016 van de Haagse rechter dat een ziekenhuismedewerker recht heeft op onregelmatigheidstoelage over de verlofuren. Om een stroom van rechtszaken te voorkomen wordt nu aan de cao-onderhandelingsstafel afspraken gemaakt om hiervoor alsnog een vergoeding toe te kennen. Een definitieve afspraak is hierover nog niet gemaakt. Overigens is dit in de huidige

cao al opgenomen; het gaat hier nu alleen nog om de jaren vóór 2015 (zie pag. 9 cao 2014-2016).

Verder is er gesproken over een 'generatiepact'. Het idee hierachter is dat er een regeling is waarmee ouderen gezond en met plezier langer door kunnen werken en jongeren (versneld) een stap kunnen zetten in hun ziekenhuis carrière: meer vaste banen met de gewenste arbeidsduur. Een voorbeeld zou kunnen zijn: je gaat 80% van je huidige uren werken, krijgt 90% uitbetaald en de pensioenopbouw

gaat voor 100% door (dit wordt genoemd: '80-90-100-regeling'). Ook hier zijn nog geen definitieve afspraken over gemaakt.

Een loonsverhoging is helemaal nog niet ter sprake geweest. Er is dus nog wel wat werk aan de winkel! Bonden en werkgevers komen nog bijeen om te onderhandelen op 7 april en 15 mei.

Het laatste nieuws over de onderhandelingen kunt u volgen op de nieuwspagina van de NVML-website.

Onderzoek bereikbaarheidsdiensten

Draait u regelmatig 's avonds, 's nachts of in het weekend bereikbaarheidsoproep- en/of consignatiediensten? Dan vragen wij u om een vragenlijst

hierover in te vullen. FNV Zorg & Welzijn doet samen met de Radboud Universiteit onderzoek naar de gevolgen van deze diensten. Een

link naar de vragenlijst treft u aan op de nieuwspagina van onze website.

Agenda

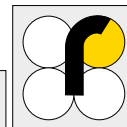
April	4	Start cursus Meewerkend Leidinggevende plus	Utrecht
	5	NVVC leidinggevendendag	Den Haag
	6	NVML-WHAMM-bijeenkomst (10 jaar WHAMM)	Amsterdam
	13	Conferentie Milieu & Veiligheid op (ziekenhuis) laboratoria	Amersfoort
Mei	2	Start NVML-cursus Stagebegeleiding (B)	Utrecht
	11	BCF Career Event, carrièrebeurs voor o.a. Life Sciences.	Utrecht
	16	NVML-congres Spring Event (voorheen Vakbeurs Techniek & diagnostiek)	Ede
	16	ALV	Ede
	17-18	NVB-TRIP Symposium, thema: Alloïmmunisatie.	Ede
	25	Cursus en congres AETEL (Asociacion Espanola Technicos de Laboratorio)	Cadiz, Spanje
Juni	30	Start NVML-cursus: Fertiliteit en Zwangerschap	Utrecht
	1	Start NVML-cursus Malaria diagnostiek	Rotterdam
	1	Nascholing 'Pediatrie bloedtransfusie: wat kunnen wij als laboratorium?'	Delft
	6	SKML-congres: Hoe goed moet het?	Ede
	6-9	3rd NordiQC Conference on Applied Immuno-histochemistry	Aalborg, Denemarken
	15	Start NVML-cursus Stagebegeleiding, het vervolg	Utrecht
September	11	Nascholing: "Vitamine D, een veelzijdige vitamine" (avondnascholing)	Veldhoven
	14	start NVML-cursus Stagebegeleiding (C)	Utrecht
	28	HOVON-Hematologie scholingsdag	Ede
Oktober	5	start NVML-cursus Meewerkend Leidinggevende plus	Utrecht
	5	NVML-symposium Fertiliteit (LFN)	Amersfoort
	24	start cursus Invloedrijk Communiceren	Utrecht
	31	Congres Autoïmmuniteit	Amersfoort



* De lettertoevoeging geeft aan dat de cursus meerdere keren wordt gegeven; de inhoud is echter identiek.

Voor meer informatie over de NVML-nascholingen kunt u terecht bij het bureau van de NVML, tel: 030-252 37 92;

fax: 030-254 18 14; e-mail: nvml@nvml.nl. Ga via uw mobiel naar de agendapagina op de website middels de QR-code hiernaast.



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 profiel voor
- alle DNA en RNA analyses