

Analyse

Vakblad voor
biomedisch laboratoriummedewerkers

CRISPR-Cas9: Een Cutting Edge Ontwikkeling

Interview 'Glycotreat'

Immuun-stimuli beïnvloeden de RNA inhoud
van extracellulaire vesicles uit dendritische cellen

"DNA paspoort geeft schijnzekerheid"

Programma Congres Preactanalyse

"Vaccinatie, wat moet je ermee?"

Syndroom gerichte snelle moleculaire diagnostiek



- ✓ **Ontwikkeld voor de patiënt**
Snelle, accurate, klinisch relevante resultaten.
Voor kostenbesparende zorg.
- ✓ **Geoptimaliseerd voor het lab**
Bi-directionele koppeling, random access,
automatische order entry en resultaten rap-
portage. Schaalbare configuratie.

Respiratory Pathogen Panel (RP)
25 relevante targets

Blood Culture Identification Panels (BCIP)
70 relevante targets
resistentie markers

Binnenkort leverbaar:

- Gastro-enterologie panel
- Meningitis panel

Aspergillus lateral flow sneltest

- ✓ **LFD - voor de snelle diagnose van
invasieve pulmonaire aspergillose.**
- ✓ Detecteert Aspergillus-antigeen
in humaan serum en BAL.
- ✓ Hoge sensitiviteit, specificiteit en NPV.
- ✓ Resultaat in 15 minuten.

OLM
medical

GBS moleculaire sneltest

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



Group B Strep. en
C.diff. beschikbaar

**Van monster tot resultaat
in drie simpele stappen.**

GenePOC™

**Kwaliteit en service voor
in-vitro diagnostica**

MEDIPHOS
MEDICAL SUPPLIES

T: 0317-351838
www.mediphos.com



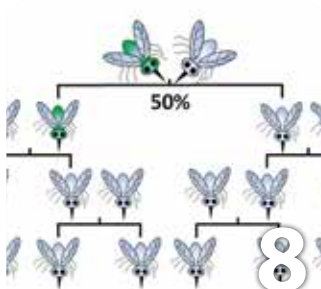
IN DIT NUMMER Nr. 1 | Februari 2019



4 Interview Glycotreat

Y. van Kooyk

We proberen nieuwe ontwikkelingen in te zetten waar in je vaccinatie combineert met het opheffen van de lokale immuunsuppressie in de tumor. Door dit soort combinatietherapieën te ontwikkelen versterken wij dusdanig de afweer, zodat deze zo optimaal mogelijk ingezet wordt in de strijd tegen kanker.



8 CRISPR-Cas9: Een Cutting Edge Ontwikkeling

H.J. van de Vrugt en R.M.F. Wolthuis

Er gaat een revolutie door het moleculair biologisch laboratorium: CRISPR! Met behulp van een bacterieel immuunsysteem is het voor het eerst mogelijk om eenvoudig en snel gerichte DNA veranderingen te maken in eukaryote cellen. Hier geven wij een overzicht van de werking van CRISPR, vatten nieuwe technische mogelijkheden samen, en beschrijven ontwikkelingen op het gebied van GGO wetgeving.



13 Verslag symposium "Vaccinatie, wat moet je ermee?"

A.C.M. Lauppe v. Meurs

Het symposium werd, kort samengevat, op de volgende wijze aangekondigd: "Tot schrik van overheid en RIVM loopt in Nederland de vaccinatiegraad terug. Daarmee neemt het gevaar voor verspreiding van ernstige infectieziekten toe. Hoogste tijd voor een bijeenkomst om feiten en emoties rond vaccinatie onder de loop te nemen."



15 Interview "DNA paspoort levert schijnzekerheid"

M. van Mill

Ik geef de cursus Genoom aan eerstejaars studenten. Dat is een cursus die gaat over de biologie van DNA en over DNA-technieken. Daarin probeer ik ook zoveel mogelijk de impact van de techniek te bespreken. Ik heb me verdiept in wat er allemaal aan commerciële testen wordt aangeboden en was vooral geïnteresseerd wat er dan in Nederland beschikbaar is. Ik schrok meteen.

7 Casus klinische chemie- hematologie

14 Antwoorden casus

17 Immün-stimuli beïnvloeden de RNA inhoud van extracellulaire vesicles uit dendritische cellen

20 Van het bestuur

21 Congres preanalyse

22 VAP/NVML samenwerking

22 Algemene ledenvergadering

22 Cursussen

23 Cao nieuws

23 Commissie Internationale Contacten

25 Arbeidsvitamine

25 Nieuwe website

26 Vaste Prik

26 Dag van de analist

28 In memoriam

29 Opleidingen

30 Cursus Malariadiagnostiek

30 Agenda

Uitgave

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

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

Redactiecoördinatie en eindredactie

Simone Priester-Vink

E-mail: nvml.redactie@nvml.nl

Redactie

mw. R. Blom, bureaumedeewerker NVML

mw. L. Lauppe, Nova College, Beverwijk

mw. A. Edel, Pathologie, Haaglanden Medisch
Centrum, Den Haag

mw. W. Kloezen, Medische Microbiologie en

Infectieziekten, ErasmusMC, Rotterdam

dhr. I.C. Schut, Sanquin Plasmaproducts,

Amsterdam

Mw. P. Glasius, Laboratorium voor Medische

Microbiologie, Noordwest Ziekenhuisgroep,

Alkmaar

Vormgeving en opmaak

Interface Communicatie, Ede

www.ifcommunicatie.nl

Coverfoto

www.shutterstock.com

Druk

Vellendrukkerij BDU Barneveld

Advertentie-exploitatie

Business Service Centre

Mw. M. van der Vegt

Tel.: 0572 - 820995

e-mail: info@mi-communicatie.nl

Oplage

2500 exemplaren

Advertenties & kopij

Geldend advertentietarief: Tarievenlijst 2019

Sluitingsdatum advertenties

Voor nummer 2: 29 maart

Inleverdata kopij

De redactie ziet korte berichten (bijvoorbeeld
over opleidingen) voor Analyse 2 graag uiterlijk
8 maart tegemoet. Analyse 2 verschijnt op 9 april

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

Interview Glycotreat

Prof. dr. Yvette van Kooyk

Hoogleraar moleculaire celbiologie, hoofd van de afdeling Moleculaire Celbiologie en Immunologie (MCBI), Amsterdam UMC, locatie VUmc

Wat was de aanleiding van jullie onderzoek?

Wij bestuderen hoe we het immuunsysteem kunnen gebruiken als therapie tegen kanker. Omdat we geïnventariseerd hebben hoe dendritische cellen mechanistisch reageren op hun omgeving, hebben wij nieuwe tools ontwikkeld waarmee wij bepaalde signalen van de omgeving kunnen gebruiken om deze in te zetten voor het effectief aanvallen van tumoren. Dit noemen we ook wel DC gemedieerde immuuntherapie. Doordat wij mechanistisch processen hebben blootgelegd zijn wij expert geworden in het ontwikkelen van nieuwe formuleringen om middels vaccinatiestrategieën kanker te bestrijden. Echter, daarmee ben je nog niet klaar, naast het induceren van immuniteit tegen kanker middels vaccinatie, is het belangrijk ook iets te doen aan de immuunsuppressie in het tumor micromilieu. We proberen nieuwe ontwikkelingen neer te zetten waarin je vaccinatie combineert met het opheffen van de lokale immuunsuppressie in de tumor. Door dit soort combinatietherapieën te ontwikkelen versterken wij dusdanig de afweer, zodat deze zo optimaal mogelijk ingezet wordt in de strijd tegen kanker.

Hoe is het onderzoek aangepakt?

Wij hebben een tijd geleden nieuwe receptoren op dendritische cellen ontdekt, waarbij het herkennen van suikerstructuren door dendritische cellen bepalend is om de afweer te stimuleren of te remmen. Deze receptoren zijn normaal gesproken betrokken bij het herkennen van pathogenen zoals bacteriën en virussen waarbij zij met name de suikerstructuren op de pathogenen herkennen. We hebben bedacht hoe wij die herkenningstructuren "de suikerstructuren" konden gebruiken om aan tumorantigenen te koppelen,

zodat zij net zo herkend zouden worden als pathogenen, en daarbij op dezelfde manier behandeld worden door dendritische cellen als pathogenen. Onderzoek doe je tegenwoordig met een groot team van mensen, zoals postdocs, AIOS, analisten en studenten, die elk verschillende onderdelen van dat proces in kaart brengen. Assays die wij uitvoeren zijn cellulaire assays, dus humane dendritische cellen die we kweken, daarvan kijken we hoe goed we die kunnen aansturen om een antitumor therapie, of T-cellen aan te zetten om de tumor te doden of te helpen met het doden. Naast humaan cellulair werk, doen we ook biochemisch werk, want wij modificeren allerlei antigenen met suikers. Suikers worden gemodificeerd, met behulp van chemische koppeling worden linkers gebruikt om de suiker aan tumor antigenen of peptide te koppelen, soms kan dat ook een nanopartikel zijn of een liposoom, een soort van nanotechnologie zit er in verwerkt. Je kan DC's *in vitro* bestu-

deren, maar je kan ook een meer complexere context bekijken zoals in het weefsel waarin ze 'in real life' aanwezig zijn, zoals in de huid, daar hebben wij een huidmodel voor. We kijken of we de verschillende DC's in de huid kunnen mobiliseren door middel van vaccinatie met nanopartikels of suikergemodificeerde peptides. Dat is nog een stap. Daarnaast is het van belang om te bewijzen dat hetgeen je ontwikkelt en getoetst hebt *in vitro* en in het huidmodel, ook in staat is effectief te zijn *in vivo* in muizen. Dit zijn dus drie toets niveaus. Dit betekent dat je al die expertises nodig hebt in je team. Dus je hebt een groot project nodig waarbij je met meerdere mensen aan een onderwerp kan laten werken.

Wat zijn de resultaten tot nu toe?

Wij weten nu heel goed hoe we antigenen kunnen modelleren, of dat nou in een partikel moet zitten of los, hoe groot het moet zijn, en of het veel verschillende DC subsets aanzet tot het induceren van specifieke immuni-





**Bekijk het filmpje via
youtu.be/KYRSluPCVIQ of
zoek op YouTube op Glycotreat.**

teit. Wij hebben vastgesteld hoe groot het vaccin moet zijn, wil de ene DC subset het beter doen dan de ander. We weten ook dat het sterk genoeg en effectief is om *in vivo* dendritische cellen te binden en deze T-cel activatie sterk doet laten toenemen. Tevens hebben we in het huidmodel laten zien dat we dendritische cellen kunnen mobiliseren tot het aanzetten van een tumorspecifieke T-cel respons. We weten dat deze vorm van vaccinatie effectief is om een tumor te doden, maar alleen als je het vaccin combineert met het onderdrukken van de lokale tumor immuunsuppressie. Pas dan wordt het beste resultaat behaald.

Je hebt dus twee interventies nodig om volledige remmissie van de tumor te krijgen.

In de loop der jaren zijn we ook veel meer te weten gekomen over wat er exact gebeurt in het tumor micro-milieu. Naarmate de tumor groeit komt er alsmaar meer infiltratie van immuuncellen, maar daar behoren ook macrofagen toe en andere immuun suppressieve immuuncellen, die met elkaar verschillende immuunsuppressieve mechanismen in gang zetten. Doordat we dit beter begrijpen kunnen we hierbij ook nieuwe interventies gaan ontwikkelen en onderzoeken of dit te moduleren is. Nieuwe

manieren vinden om de suppressie in het tumor micromilieu aan te pakken is de toekomst, dit kan ook nog verschillend zijn tussen tumoren en/of patiënten. We zijn begonnen met het ontwikkelen en optimaliseren van DC vaccinatie, maar om hier echt efficiëntie mee te behalen moeten we nu ook kijken naar de tumor zelf en wat we daar lokaal kunnen veranderen, zodat de immuuncellen die aangezet zijn door de vaccinatie toegang krijgen tot de tumor. Je hebt ze allebei nodig, de combinatie, samen zijn ze sterker.

Julie hebben ook een filmpje gemaakt. Waarom hebben jullie dit filmpje gemaakt?

Dat filmpje hebben we gemaakt omdat we afgelopen jaar een review in Nature Immunology hadden geschreven, waarin het principe van suikers en immunotherapie beschreven werd. Daarmee wilden we aandacht creëren en uitleg geven over de betrokkenheid van suikers in het beïnvloeden van de immuunreactie. Veel mensen weten niet dat veel 'verkeerde' suikers in het tumor micromilieu tot expressie komen, dit zijn de zogenaamde suppressieve suikers. De meeste onderzoekers bestuderen liever DNA, RNA en eiwit-interacties, dan de suikers die aan de eiwitten of lipides hangen. Men sluit liever de ogen voor de complexe suikers. Wat wij hebben laten zien is dat juist de immuuncellen het type suiker herkennen en daarmee de afweer beïnvloeden. Met het review

Onze kennis van remmende suikers gebruiken we nu om bewust over-activatie tegen bijvoorbeeld allergenen te remmen. Het koppelen van een remmende suiker aan bijvoorbeeld huisstofmijt allergeen kan het afweersysteem onderdrukken van iemand die allergisch is voor huisstofmijt. Het idee is om te kijken of je dat kan gebruiken als therapie voor allergische patiënten. Muizenmodellen hebben al laten zien dat dit effectief is, nu zijn we dit verder aan het ontwikkelen voor de mens. In eerste instantie ziet het er hoopvol uit, maar de sterkte van de suppressie en duur moet nog geanalyseerd worden. Het mooie van de suppressie die wij induceren met versuikerde allergenen is dat de suppressie specifiek is tegen het allergeen en tegen niets anders. De huidige puffers die allergische patiënten gebruiken zijn niet specifiek en zorgen dat de hele afweersysteem rustiger wordt, ook tegen iets waar je wel op moet reageren zoals bijvoorbeeld een virus. Het mooie van het vakgebied immunologie is dat het centrale processen kan remmen of activeren en dat het ziekte overtuigend ingezet kan worden. Wat bij de ene ziekte gebruikt wordt om te onderdrukken kan bij een andere ziekte ingezet worden om af te komen van buitensporige activatie.

wat wij geschreven hebben, laten we zien dat het suikerprofiel in de tumor heel bepalend is voor hoe effectief een immuuntherapie kan gaan werken. Met de film wilden we dit symboliseren en herkenbaar maken naar een breed publiek om duidelijk te maken waar wij mee bezig zijn en inzichtelijk te maken hoe de tumor bezig is met zich aan te passen aan de gastheer, waardoor hij onzichtbaar wordt voor de afweer. Als je manieren ontwikkelt om de onzichtbaarheid weg te halen dan wordt de tumor herkenbaar door het immuunsysteem en kan hij gedood worden. Je hebt het weghalen van die barrière nodig samen met het activeren van het immuunsysteem.

Met het filmpje Glycotreat hebben wij de eerste prijs gewonnen, op het filmfestival in Cannes, in de categorie

Science and Technology. Dat is natuurlijk heel bijzonder, dat hadden we niet verwacht! Ik vind het belangrijk om op een kunstzinnige manier duidelijk te maken waar wij als wetenschappers mee bezig zijn. Ik ben zelf ook meer visueel ingesteld, bij hele lappen tekst zie ik toch graag een plaatje ter verduidelijking.

Hoe ziet de toekomst van dit onderzoek er uit?

Het vervolg is dat de kennis van de suikermutaties een voorspellende waarde kan hebben hoe suppressief tumoren zijn. Je zou graag willen dat dit soort informatie meegenomen wordt in de kliniek. Er zijn nu ook studies in Amerika waarin ze laten zien dat het weghalen van de verkeerde suikers in de tumor leidt tot een betere afweerreactie, en verdwijnen van de tumor. Als wij zo'n soort therapie kunnen

ontwikkelen, dat lijkt mij fantastisch. Maar daarvoor moeten we nog wel iets meer weten. Niet veel onderzoekers zijn bekend met de rol die suikers spelen in de biologie van cellen. Zodra je een cel activeert dan verandert het suikerprofiel. Een tumorcel heeft een heel ander suikerprofiel dan die van een gezonde cel. Enzymen die betrokken zijn bij het glycosyleringsproces worden geactiveerd of geremd waardoor de aanmaak van de bouwstenen van suikers verandert. Ik ben met name geïnteresseerd hoe de glycosylering of 'versuikering' van eiwitten, of lipides een functioneel gevolg hebben. Er ontstaat wel steeds meer interesse in dit vakgebied. Werken in dit veld betekent ook dat je de juiste mensen nodig hebt in je team, het is immunologie, celbiologie en chemie en glycobiochemie die wij combineren.

Nieuws

Cholesterol speelt grotere rol bij ziekte van Alzheimer dan gedacht

Dankzij een genetische techniek, die in 2012 nog de Nobelprijs ontving, ontdekten Amerikaanse en Nederlandse onderzoekers dat ophoping van cholesterol in hersencellen van Alzheimerpatiënten leidt tot opstapeling van schadelijke Alzheimer-eiwitten Tau en Amyloid.

We hebben voor ons onderzoek hersencellen gebruikt uit huidcellen van Alzheimerpatiënten. Net zoals in de hersenen van patiënten, stapelen Tau en Amyloid zich op in deze gekweekte hersencellen. Medicijnen die cholesterol verlagen stoppen dit ziekteproces" aldus Rik van der Kant, Alzheimer-onderzoeker aan de Vrije Universiteit Amsterdam.

Hoeveelheid cholesterol

De onderzoekers testten meer dan 1600 medicijnen en ontdekten dat medicijnen die cholesterol verlaagden in de Alzheimerhersencellen ook de opbouw van schadelijk Tau en Amyloid verhinderden. Bij Alzheimerpatiënten hopen schadelijke eiwitten zoals Amyloid- en Tau zich op in het brein, waar ze de communicatie tussen hersencellen verstoren en uiteindelijk leiden tot het afsterven van deze hersencellen, met dementie als gevolg. "Onze bevindingen laten zien dat de ophoping van cholesterol in hersencellen een veel schadelijker effect heeft dan voorheen gedacht. Dit geeft nieuwe aanknopingspunten voor de behandeling voor de ziekte van Alzheimer, met medicijnen die zich voornamelijk richten op het normaliseren

van de hoeveelheid cholesterol in de hersenen van Alzheimerpatiënten" aldus Van der Kant.

Efavirenz

Uit de studie blijkt ook dat het bestaande hiv-medicijn Efavirenz de hoeveelheid cholesterol en Tau sterk verlaagt. "Vergeleken met andere cholesterolverlagende medicijnen bereikt Efavirenz de hersenen veel beter. Daarmee is Efavirenz dus een potentieel medicijn om Alzheimer mee te behandelen. In samenwerking met het Alzheimercentrum Amsterdam van Amsterdam UMC en Alzheimer Nederland worden nu de eerste stappen gezet om de werking van Efavirenz bij Alzheimerpatiënten te testen. Hoewel Efavirenz een goedgekeurd medicijn is, is de dosering die op dit moment wordt gebruikt voor de behandeling van hiv mogelijk te hoog voor gebruik bij Alzheimer en kan zelfs een averechts effect hebben. "De eerste stap is om te testen welke doseringen van Efavirenz de hoeveelheid cholesterol in de hersenen van patiënten verlaagt" aldus Van der Kant.

Bron: VU University

Casus klinische chemie-hematologie

A.C.M Lauppe v. Meurs

De heer Edwin v.d. W. is 35 jaar oud, hij is getrouwd en vader van twee dochtertjes van 4 en 2 jaar. Hij rookt niet en let goed op wat hij eet. Met name beperkt hij de hoeveelheid vetten in zijn dieet. De laatste tijd voelt hij zich snel vermoeid en af en toe benauwd. Hij staat al enkele jaren onder controle van een internist vanwege een erfelijke ziekte in de familie. Omdat hij zich zorgen maakt neemt hij contact op met de huisarts, die hem doorstuurt naar het ziekenhuis.



Figuur 1: hand van de patiënt

Laboratoriumonderzoek geeft de volgende waarden:

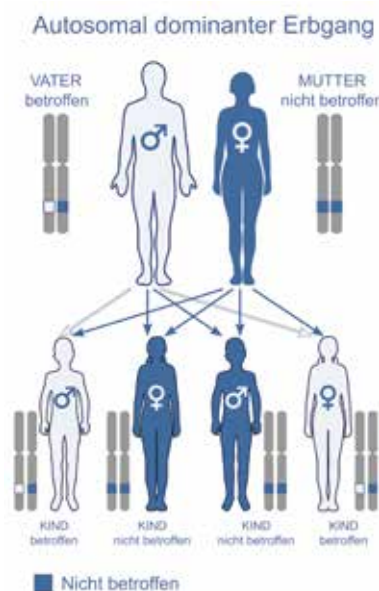
	Uitslag:
B.S.E.	14 mm
Leukocyten	$6,5 \times 10^9/l$
Erytrocyten	$4,9 \times 10^{12}/l$
Hemoglobine	9,5 mmol/l
Hematocriet	0,46 l/l
MCV	93,8 fl
Totaal cholesterol	7,5 mmol/l
LDL chol.	6,0 mmol/l
HDL chol.	0,5 mmol/l
Kreatinine	100 mmol/l
Troponine-I	59 ng/l
CK totaal	280 U/l
CK-MB	65 U/l

Vraag 1: Welke bepalingen geven een uitslag die buiten de referentiewaarden valt?

Vraag 2: LDL en HDL zijn lipoproteïnen. Wat verstaat men hieronder?

Vraag 3: Waarom is LDL cholesterol "ongunstiger" dan HDL cholesterol?

De erfelijke ziekte die in de familie voorkomt gaat gepaard met lichamelijke symptomen zoals op figuur 1. Hij slijkt al



Figuur 2: erfelijkheidsschema

sinds 7 jaar het middel simvastatine om de LDL-cholesterol te verlagen. Het lukte met dit middel lange tijd om de LDL cholesterol met ongeveer 40% naar beneden te krijgen. Ook een zorgvuldig samengesteld dieet draagt bij aan deze verlaging.

Vraag 4: Welk verschijnsel kun je waarnemen op de hand van de patiënt?

Vraag 5: Hoe werkt Simvastatine?

Vraag 6: Welke soort vetten zal dhr. v.d. W. vooral moeten mijden? Waarom?

De internist vertrouwt de situatie niet en laat enkele inspanningstesten uitvoeren. Tijdens deze testen nemen

de klachten van dhr. v.d. W. toe. Besloten wordt om hem op te nemen op de afdeling cardiologie.

Vraag 7: Welke erfelijke ziekte zal er in de familie van Edwin v.d. W. voorkomen?

Vraag 8: Hoeveel kans (zie figuur 2) heeft elk van de dochters op deze autosomaal, dominant erfelijke ziekte?

Verder onderzoek wijst uit dat enkele bloedvaten van dhr. v.d. W. bijna zijn dichtgeslibd.

Vraag 9: Bij welke laboratoriumuitslagen kun je daarvoor al een aanwijzing zien? Geef een verklaring.

Vraag 10: Welke behandeling zal dhr. v.d. W. waarschijnlijk moeten ondergaan?

Na deze behandeling besluit de arts samen met de patiënt om over te gaan op een nieuwe generatie medicijnen om de cholesterol te verlagen.

Zie pagina 14 voor de antwoorden.

CRISPR-Cas9: Een Cutting Edge Ontwikkeling

Henri J. van de Vrugt en Rob M.F. Wolthuis

Sectie Oncogenetica, Afdeling Klinische Genetica VUmc, Cancer Center Amsterdam, Amsterdam Universitaire Medische Centra, Amsterdam

Er gaat een revolutie door het moleculair biologisch laboratorium: CRISPR! Met behulp van een bacterieel immuunsysteem is het voor het eerst mogelijk om eenvoudig en snel gerichte DNA veranderingen te maken in eukaryote cellen. De stormachtige ontwikkeling van CRISPR technologie heeft een multi-tool opgeleverd om genfuncties te bestuderen, genen aan of uit te zetten, DNA te visualiseren in levende cellen, of cellen te volgen via unieke barcodes. Daarnaast kunnen CRISPR enzymen benut worden om een minieme hoeveelheid specifiek DNA of RNA te detecteren. Ook kan CRISPR niet-Mendeliaanse overerving van een eigenschap teweegbrengen, waardoor een populatie razend snel kan veranderen. Implementatie van CRISPR leidt nu al tot een explosieve groei van fundamentele kennis over moleculair-biologische processen. CRISPR biedt nieuwe mogelijkheden voor diagnostiek en therapieën tegen kanker, infecties, en erfelijke ziekten. Het potentieel van CRISPR heeft ook de aandacht van de farmaceutische en bio-industrie en dit leidt tot nieuwe vraagstukken over de toepassingen en wetgevingen met betrekking tot genetische modificaties. Hier geven wij een overzicht van de werking van CRISPR, vatten nieuwe technische mogelijkheden samen, en beschrijven ontwikkelingen op het gebied van GGO wetgeving.

Het 'CRISPR' in het laboratorium

Vanaf 2012 is het aantal wetenschappelijke publicaties met de woorden "CRISPR" of "Cas9" in de titel of abstract explosief toegenomen tot meer dan 4000 artikelen in 2018 (Figuur 1)(1). Er is sprake van een ware technische revolutie waardoor onze kennis op het gebied van functionele genetica zeer snel toeneemt.

Gedurende decennia maakten onderzoekers gebruik van patiëntencellen en modelorganismen zoals nematoden of fruitvliegjes, in combinatie met vaak moeilijk te controleren mutagenese technieken om functionele eigenschappen van genen te bepalen. Na de komst van de recombinant DNA technieken werd het mogelijk om veel gerichter DNA veranderingen aan te brengen in bijvoorbeeld embryonale stamcellen van muizen. Als dit werk voorspoedig verliep dan was pas na ongeveer 6 maanden een transgeen muismodel beschikbaar met een specifieke DNA aanpassing, waarna de functionele consequenties van de DNA aanpassing konden worden onder-

zocht. Meer recent zijn op basis van natuurlijke DNA bindingseiwitten, zogenaamde zinc finger nucleases (ZFN) en transcription activator like nucleases (TALENs) ontwikkeld, waarmee in een specifiek locus een DNA dubbelstrengs breuk (DSB) gemaakt kan worden om de DNA code aan te passen. Hoewel de ZFN en TALENs nieuwe mogelijkheden boden om specifieke genen te veranderen heeft dit niet geleid tot een brede implementatie doordat het niet eenvoudig is de juiste eiwit modules samen te stellen om een specifieke DNA sequentie te binden(2).

In 2012 werd een nieuwe gen-editing methode geïntroduceerd door de adaptatie van een bacterieel immuunsysteem dat werkt op basis van zogenaamde "*clustered regularly interspaced short palindromic repeats*" (CRISPR), een regio van regulier onderbroken korte palindromische repetitieve DNA sequenties. Onderzoek wees uit dat de "reguliere onderbreking" tussen de repeterende palindromische sequenties overeen kwam

met DNA van bacteriële virussen. Belangrijker, de aanwezigheid van een virale sequentie in de CRISPR regio creëerde resistentie tegen virussen die dezelfde sequentie in hun genoom droegen. In de bacterie *Streptococcus pyogenes* (*Sp*) werd een heel eenvoudig systeem opgehelderd.

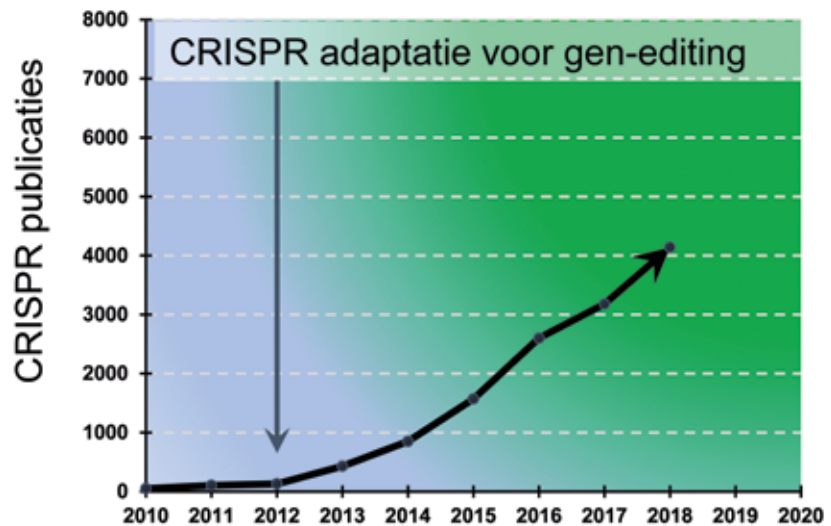
De virale DNA sequenties in het bacterieel genoom worden getranscribeerd in korte CRISPR RNA moleculen (crRNA) dat met behulp van een universeel transactivatie RNA-molecuul (tracrRNA) wordt gekoppeld aan het CRISPR-geassocieerd DNA nuclease eiwit (Cas9) (Figuur 2A). De crRNA en tracrRNA worden samen "gidsRNA" genoemd. Het RiboNucleo-Protein (RNP) complex zoekt naar DNA sequenties die gelijk zijn aan de crRNA sequentie. Indien een passende DNA sequentie in het genoom wordt gevonden, dan kunnen de DNA nuclease domeinen in het Cas eiwit geactiveerd worden. De dubbelstrengs DNA breuk wordt echter alleen gemaakt nadat het *SpCas9* eiwit heeft vastgesteld dat de doelsequentie

direct naast een specifieke 3 letter-DNA-code ligt: de zogenaamde proto-spacer-adjacent motif (PAM). Voor het *Sp*CRISPR/Cas9 systeem wordt de bijzonder hoge specificiteit dus bepaald door alle 20 ribonucleotiden in de crRNA in combinatie met de drie DNA basen in de genomische target sequentie (Figuur 2A). De breuk in het genomisch DNA maakt het vervolgens mogelijk om veranderingen te maken in de DNA code waarmee het gen geïnactiveerd of specifiek aangepast wordt(2).

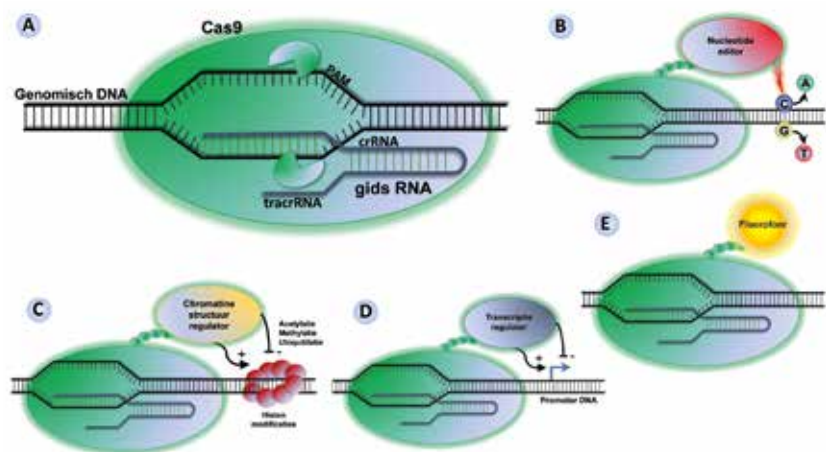
De beschrijving van de adaptatie van het *Sp*CRISPR/Cas9 systeem werd ontvangen als de ontdekking van de heilige graal in moleculair genetisch onderzoek. Ineens was het mogelijk om met behulp van een simpel gidsRNA molecuul een specifiek gen in een genoom te knippen zolang er maar een PAM sequentie in het locus aanwezig was. Een ander locus kon simpelweg getarget worden door een andere doel sequentie te definiëren in het gidsRNA molecuul en ook multiplex gen-editing bleek toepasbaar. Het maken van gerichte DNA aanpassingen, dat voorheen maanden in beslag nam, kan nu binnen enkele weken worden uitgevoerd.

Van genomische DNA breuk naar DNA verandering

Nadat het Cas nuclease eiwit gericht een DSB maakt in het genomisch DNA, zijn het de cel-eigen DNA herstelsystemen die in werking komen om de breuk te repareren. Tijdens het breuk-herstelproces kunnen veranderingen in het DNA gemaakt worden. Door het zogenaamde Non-Homologous End Joining (NHEJ) DNA herstel pad worden de losse uiteinden van het DNA direct aan elkaar geligeerd. Het NHEJ proces maakt echter regelmatig fouten, waardoor inserties, deleties, of (in mindere mate) substituties in de DNA code ontstaan. Indien de reparatie zonder fouten plaatsvindt, dan wordt ook de herkenning-sequentie van de toegepaste gidsRNA hersteld, waardoor CRISPR-Cas ook weer opnieuw kan aanvallen. Deze knip-en-plak cyclus gaat net zo lang door tot er een DNA verandering optreedt op de beoogde plek, en is de drijfkracht achter de efficiëntie van CRISPR/Cas: Cas activiteit stopt pas nadat de



Figuur 1. De CRISPR Revolutie. De revolutie in het moleculair laboratorium wordt geïllustreerd aan de hand van het aantal publicaties in PUBMED per jaar met de woorden "CRISPR" of "Cas9" in de titel of abstract. Na de adaptatie van CRISPR/Cas voor gen-editing in 2012 is er een explosieve stijging in publicaties zichtbaar¹.



Figuur 2. De werking van CRISPR/Cas9 en afgeleide toepassingen.

A) Met behulp van een gids-RNA molecuul, bestaande uit de crRNA en tracrRNA, wordt het *Sp*Cas9 nuclease naar een specifieke plek in het genomisch DNA geleid. Herkenning van het specifieke locus vindt plaats op basis van ongeveer 20 nucleotiden. Nadat het Cas9 eiwit heeft vastgesteld dat de juiste nucleotiden van het "protospacer adjacent motif" (PAM) aanwezig zijn in de genomisch DNA sequentie, worden de twee nuclease domeinen actief en wordt een dubbel strengs breuk (DSB) gecreëerd. De DSB maakt het mogelijk om het DNA ter plaatse te veranderen.

B-E) Multi-tool CRISPR/Cas toepassingen maken gebruik van het principe dat een specifiek gidsRNA het *Sp*Cas9 eiwit naar elke gewenste plek in het genoom kan brengen. Door de nuclease domeinen uit te schakelen en het "dode" *Sp*Cas9 (dCas9) eiwit te koppelen aan functionele groepen ontstaan nieuwe toepassingen. B) Zo is er een alternatieve "nucleotide-editor" ontwikkeld waarmee C>T, en dus ook G>A, substituties kunnen worden gemaakt in het DNA zonder een DSB te creëren. C) Ook is het mogelijk om epigenetische veranderingen aan te brengen op een unieke plaats in de chromatine structuur door dCas9 te koppelen aan regulatoren die modificaties van histonen veranderen. D) Verder kunnen specifieke genen aan- of uitgezet worden door dCas9 met een transcriptie activatie- (CRISPRa) of inhibitiedomeinen (CRISPRi) naar de promotor te leiden. E) Door dCas9 te koppelen aan fluorescente groepen is het haalbaar om specifieke regio's in het genomisch DNA zichtbaar te maken in levende cellen¹.

herkennings-sequentie van de gidsRNA of de PAM gemuteerd zijn. Aangezien NHEJ-veroorzaakte deleties of inserties vaak resulteren in frameshifts, wordt CRISPR/Cas in combinatie met dit DNA-herstel pad gebruikt om genen uit te schakelen of zelfs volledig weg te knippen door twee gen-flankerende breuken te maken.

Delende cellen hebben naast NHEJ de mogelijkheid om DSBs te repareren met behulp van een *DNA template*. Van nature repareert Homology-Directed Repair (HDR) breuken op basis van het identieke zuster chromatide. Bij CRISPR/Cas gen-editing kan HDR worden gestimuleerd door een exogene *DNA template* aan te bieden. Gen-editing met een DNA template geeft de mogelijkheid de DNA sequentie op voorbedachte wijze exact te herschrijven en lijkt daarmee uitermate geschikt voor therapeutische toepassingen. Echter, een veel voorkomend probleem bij template gen-editing is dat de keuze van het DNA herstel pad niet voldoende te sturen valt waardoor ongewenste NHEJ activiteit de meer specifieke HDR deels tegenwerkt.

Specificiteit van Gen-editing

De plek in het DNA waar *SpCas9* een DSB maakt wordt dus bepaald door de sequentie van 23 nucleotiden; de gids-RNA herkennings-sequentie en de PAM. Door deze relatief beperkte lengte is het vaak niet eenvoudig om een unieke doel sequentie te vinden in de genomische plek van interesse, aangezien veelvuldig homologe sequenties in het genoom voorkomen. Mogelijk kunnen ook enkele mismatches in de gidsRNA-DNA hybride worden getolereerd door het Cas eiwit, met als gevolg dat een DSB gemaakt wordt op andere plaatsen in het genoom, ondanks divergentie tussen gidsRNA en knip plek. DNA veranderingen op andere plekken dan het gewenste locus worden "off-targets" genoemd en zijn vanzelfsprekend ongewenst bij de toepassing van gen-editing.

Off-targets zijn gedeeltelijk te voorspellen met behulp van *online algoritmes* op basis van gidsRNA homologie met genomische DNA sequenties. Deze algoritmes zijn nog niet perfect:

ze werken op basis van een *referentie genoom* en houden daarom geen rekening met natuurlijke DNA variaties die in een populatie voorkomen en mogelijke off-target sites kunnen vormen. Door next-generation-sequencing (NGS) en andere detectie-methoden toe te passen kunnen off-targets na gen-editing in kaart gebracht worden. Alhoewel detectie-methoden steeds beter worden is het momenteel nog steeds lastig om met zekerheid alle off-targets te vinden.

De specificiteit van CRISPR/Cas gen-editing hangt ook nauw samen met de methode die wordt gekozen om Cas9 en gidsRNA in de cellen te krijgen (virale partikels dan wel plasmide, mRNA, of RNP in combinatie met nano-partikels of electroporatie). Langdurige expressie en hoge concentraties van Cas9 kunnen resulteren in meer off-target effecten. Om de kans op off-target effecten te verlagen zijn verbeterde versies van *SpCas9* ontwikkeld en worden chemisch gemodificeerde gidsRNAs toegepast. Ook worden bacterie soorten gescreend op alternatieve CRISPR systemen met hogere specificiteit. Daarnaast zijn remmers van NHEJ in staat om off-target effecten te verminderen aangezien DSB herstel via HDR en een endogeen zuster chromatide doorgaans niet leidt tot mutaties. De gerapporteerde off-target frequenties na CRISPR gen-editing variëren sterk van onaantoonbaar (mogelijk dus nul) tot onaanvaardbaar (vele off-targets inclusief genomische verandering als grote deleties en translocaties). Onder de juiste experimentele condities in combinatie met kwaliteitscontrole na gen-editing is echter een hoge specificiteit haalbaar waarmee ook klinische toepassingen van CRISPR/Cas wel degelijk gewaarborgd lijken(3).

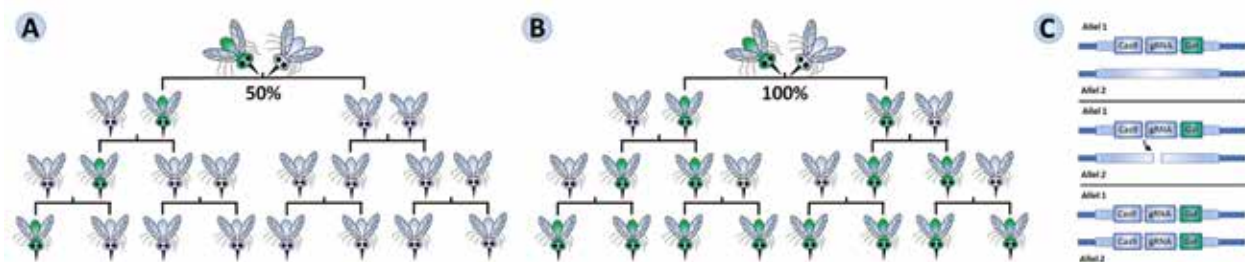
CRISPR Gene Discovery Power

De ontdekkingskracht van het CRISPR/Cas gen-editing systeem binnen de functionele genetika kan wellicht het best geïllustreerd worden aan de hand van genoom-wijde screens. Momenteel zijn er verscheidene bibliotheken beschikbaar met gidsRNAs gericht tegen elk gen in het humane genoom. Bij toepassing van deze bibliotheken wordt er in principe één unieke gidsRNA per indivi-

duële cel toegediend om hier één specifiek gen uit te schakelen. Het Cas nuclease kan met de gidsRNA meegeleverd worden of kan op een andere manier in de cellen tot expressie worden gebracht. Door de cellen met de CRISPR bibliotheek een bepaalde tijd in kweek te houden kan bepaald worden welke genen belangrijk zijn voor celgroei door de representatie van gidsRNAs aan het begin en aan het eind van het experiment te bepalen met behulp van NGS. Hiermee worden zogenaamde "essentialomes" bepaald, een verzameling van alle genen die essentieel zijn voor de proliferatie van de toegepaste cellen en waarvan de betreffende gidsRNAs dus niet meer vertegenwoordigd zijn in de celpopulatie aan het einde van het experiment. Al snel bleek dat verschillende tumorcellen licht afwijkende essentialome profielen lieten zien ten gevolge van onderliggende mutaties waardoor nieuwe moleculaire cascades in beeld komen voor kankertherapie(4). In tegenstelling tot de bovenstaande "drop-out" screens kunnen CRISPR bibliotheken ook gebruikt worden om te kijken of verlies van gen-functie resistentie tegen medicatie kan opleveren. Hierbij worden Cas9 en gidsRNA getransduceerde tumorcellen blootgesteld aan anti-kankerdrugs en wordt bepaald welke gidsRNAs aanwezig zijn in de overlevende cellen(5). In vergelijking met RNA interferentie worden in CRISPR screens meer genen geïdentificeerd doordat RNAi knock-down in veel gevallen niet volledig is en dus nog functioneel relevante expressie van een gen toelaat(4). Naast CRISPR screens op basis van proliferatie worden nieuwe moleculaire interacties ook opgespoord met behulp van aan- of afwezigheid van cell-surface markers in combinatie met flow cytometry sortering.

CRISPR DNA Barcoding

Het aantal afgeleide technieken op basis van CRISPR/Cas targeting van een specifiek locus in het genoom blijft toenemen. Onlangs werd CRISPR toegepast om te bepalen wat de oorsprong van cellen is bij embryogenese. Om de cel-origine te volgen werd gebruik gemaakt van *DNA barcoding*, waarbij de barcode wordt gevormd door de stochastische



Figuur 3. CRISPR gene drive. A) Bij normale Mendeliaanse overerving heeft een heterozygote drager van een bepaalde eigenschap (allel = groen) 50% kans om dit allel door te geven aan de volgende generatie. Deze eigenschap verspreid zich daardoor slechts over een beperkt percentage van de populatie. B) Bij een gene-drive wordt een niet-Mendeliaanse 100% overerving bewerkstelligd. Hierdoor kan een eigenschap zich binnen enkele generaties door de hele populatie verspreiden. C) Gene drive mechanisme: in de bevruchte eicel wordt door het CRISPR/Cas systeem een DSB gemaakt in het homologe allel op van maternale chromosoom. Deze breuk wordt vervolgens hersteld met behulp van het DNA template op het paternale chromosoom met de sequenties die coderen voor CRISPR/Cas en het gekoppelde gen van interesse (Gvl). Hierdoor ontstaat een homozygote situatie en erven alle nakomelingen van dit individu een kopie van het CRISPR/Cas/Gvl allel ⁷.

DNA-verandering ten gevolge van NHEJ breukherstel. Theoretisch zou de combinatie van 60 zelf-gerichte gids-RNAs sequenties opgenomen in het genoom van een muis voldoende zijn om tijdens de embryogenese accumulerende NHEJ barcodes te genereren om de oorsprong van alle 10 miljard cellen in het dier te bepalen. Aan de hand van NHEJ-barcodes kon worden vastgesteld dat cellen in overeenkomstige hersenstructuren in de linker en rechter hersenhelft meer verwant met elkaar waren dan cellen in verschillende gebieden in één hersenhelft(6). Ook in het kankeronderzoek wordt verwacht dat dit zogenaamde *cell lineage tracing* met behulp van CRISPR barcodes een belangrijke rol gaat spelen om tumor-progressie en metastasering te bestuderen in diermodellen.

CRISPR zonder DNA breuk

Op basis van een gemuteerd *SpCas9* zonder nuclease activiteit zijn recentelijk verschillende tools ontwikkeld waarbij CRISPR/Cas gebruikt wordt als vehikel om een andere functionele groep naar een specifieke plaats in het genoom te brengen (Figuur 2B-E). Deze toepassing kan zelfs gebruikt worden om de DNA code te herschrijven door zogenaamde "nucleotide-editors" te koppelen aan een "dood" Cas9. De nucleotide editors zijn in staat om een cytosine om te zetten in een thymine waardoor dus C>T en G>A transities gemaakt kunnen worden zonder de bijeffecten van DNA breukherstel (Figuur 2B). Nadeel van de nucleotide-editors is echter dat andere nabij depositio-

neerde cytosines in de doelsequentie ook kunnen worden omgezet naar een thymine, waarmee toepassing dus zeer locus-afhankelijk wordt. Andere toepassingen van dCas9 zijn gevonden op het gebied van chromatine structuur en histon-modificaties, transcriptie regulatie, en visualisatie van genomisch DNA in levende cellen (Figuur 2C-E)(1).

CRISPR ziektepreventie, diagnose en therapie.

Hoewel controversieel, kan CRISPR een rol gaan spelen in de bestrijding van infectieziekten die door muggen verspreid worden zoals malaria, ZIKA, Dengue, en West Nile virus. Een -momenteel theoretisch- voorbeeld: door het uitzetten van CRISPR gemoedificeerde muggen in gebieden waar deze ziekten voorkomen zou de soort-specifieke populatie van muggen binnen enkele generaties uitsterven. In het lab werd het principe van deze zogenaamde *gene-drive* aangetoond door een gen aan een populatie toe te voegen dat vrouwtjes muggen verandert in onvruchtbare hermafrodieten(7). De CRISPR gene drive maakt dat de overerving van de toegevoegde eigenschap 100% benadert in plaats van de Mendeliaanse 50% (Figuur 3A, B). In de bevruchte eicel zorgt CRISPR/Cas activiteit er namelijk voor dat de toegevoegde eigenschap gekopieerd wordt van het paternale naar het maternale chromosoom waardoor een homozygote situatie ontstaat en de volgende generatie altijd een kopie van het betreffende gen ontvangt (Figuur 3C). Hoewel technisch haalbaar, CRISPR gene-

drives zijn nog niet toegepast in de natuur en mogelijke ecologische consequenties zijn uiteraard onderwerp van discussie.

Alternatieve CRISPR enzymen zijn recent ontdekt waarmee een minieme hoeveel specifieke RNA of DNA moleculen kan worden gedetecteerd. Met deze technieken kunnen virale infecties zoals ZIKA, Ebola, of HPV aangetoond worden zelfs als virale titers extreem laag zijn. Daarnaast kan CRISPR diagnose ingezet worden om circulerend tumor DNA op te sporen aan de hand van specifieke kanker-geassocieerde mutaties hetgeen de vroeg-detectie van tumoren kan verbeteren(8).

Daarnaast worden therapeutische behandelingen ontwikkeld om CRISPR/Cas gen-editing direct in te zetten tegen infectieziekten zoals AIDS, kanker, en erfelijke aandoeningen. De voortgang van de klinische implementatie van CRISPR/Cas werd recent door ons beschreven(3, 9). Een belangrijk onderscheid dat gemaakt moet worden bij de klinische toepassing van CRISPR is het verschil tussen een "ex-vivo" en "in-vivo" behandeling. Bij de ex-vivo procedure worden cellen uit het lichaam van de patiënt gehaald om gen-editing toe te passen in het lab. De geCRISPRde cellen kunnen vervolgens na kwaliteitscontrole terug geplaatst worden in de patiënt. Bij in-vivo toediening van CRISPR/Cas is veel minder controle mogelijk op cel-delivery en de uitkomsten van het gen-editing proces. Daarbij is recent

aangetoond dat 96% van de geteste personen cellulaire en humorale afweer heeft opgebouwd tegen het SpCas9 eiwit ten gevolge van normaal voorkomende bacteriële infecties. Ondanks deze vraagstukken heeft in vivo CRISPR therapie veelbelovende resultaten laten zien in preklinische diermodellen(3).

Richtlijnen Genetisch Gemodificeerde Organismen (GGO)

Gen-editing met CRISPR/Cas kan op zodanige wijze worden uitgevoerd dat afgezien van de aangebrachte mutatie geen andere aantoonbare veranderingen in een cel of organisme achterblijven. Daarmee is een CRISPR/Cas DNA aanpassing in essentie niet te onderscheiden van natuurlijke gebeurtenissen die leiden tot een genomische verandering. Vanwege dit gebrek aan onderscheid werd verwacht dat CRISPR gemodificeerde organismen niet strikt als GGO zouden worden beschouwd. Echter het Europese Hof maakte een einde aan deze verwachting en oordeelde dat geCRISPRde cellen en organismen wel degelijk onder de GGO wetgeving zouden moeten vallen. De discussie over de GGO status van CRISPR DNA aanpassingen is daarmee niet afgelopen en bijvoorbeeld minister Schouten van Landbouw staat open voor experimentele toepassingen(10).

Eindwoord

Het is duidelijk dat de adaptatie van het CRISPR/Cas bacterieel immuunsysteem in een gen-editing tool in zeer

korte tijd een explosie aan nieuwe onderzoeks-tools heeft opgeleverd waardoor ook onze kennis op het gebied van genetica, cel- en ontwikkelingsbiologie razendsnel toeneemt. Het gevolg van deze ontwikkelingen is dat nieuwe maatschappelijke kwesties en regelgeving in beeld komen, evenals ethische vraagstukken over de wenselijkheid van het ingrijpen in DNA van plant, mens of dier. De inzet van CRISPR voor het modificeren van humane embryo's, zoals recent geopenbaard door een Chinese wetenschapper, is niet ethisch en ook medisch gezien op dit moment geheel onverdedigbaar. Desalniettemin, zijn de multifunctionaliteit en controlebaarheid van CRISPR-Cas dermate indrukwekkend dat er op papier, en voorzichtig in de praktijk, ruimte is voor het veilig ontwerp van therapeutische toepassingen in gevallen van bijvoorbeeld ernstige genetische aandoeningen(3). Met name in moleculair biologische studies naar de functies van genen in gezonde en maligne cellen is CRISPR/Cas in ieder geval al een revolutionaire en onmisbare techniek geworden.

Over de auteurs

Henri van de Vrugt heeft Biologie gestudeerd aan de Rijks Universiteit Groningen. Vanwege zijn interesse in het ontstaan van kanker heeft hij promotie onderzoek gedaan bij de afdeling Klinische Genetica van de Vrije Universiteit in Amsterdam. Als fellow van KWF kankerbestrijding werkte hij bij de Oregon Health & Science University (Verenigde Staten) om verbanden tussen DNA herstel mechanismen te vinden. Na terugkeer in Nederland richtte hij zich op therapeutische toepassing van CRISPR/Cas gen-editing bij het Nederlands

Kanker Instituut. Sinds 2014 is Henri opnieuw verbonden aan de afdeling Klinische Genetica, sectie Oncogenetica, van de Amsterdam Universitaire Medische Centra (AUMC).

Rob Wolthuis

Rob Wolthuis heeft Biologie gestudeerd aan de Universiteit Utrecht en is daar gepromoveerd op onderzoek naar de rol van Ras-GTPases in groeifactor signalering. Na zijn promotie werkte hij als KWF fellow bij het Gurdon Institute van de University of Cambridge (UK) en vervolgens als Junior Group Leader bij het Nederlands Kanker Instituut/Antoni van Leeuwenhoek ziekenhuis in Amsterdam, waar hij het proces van celdeling bestudeerde. Tegenwoordig is hij thema leider Cancer Biology en hoofd van de Sectie Oncogenetica bij het Cancer Center Amsterdam van het AUMC. Samen met Henri van de Vrugt introduceerde hij het gebruik van CRISPR/Cas gen editing technologie op het AUMC, en diverse toepassingen daarvan in het onderzoek naar genen die een rol spelen bij het ontstaan van kanker.

Correspondentie:

h.vandevrugt@vumc.nl
r.wolthuis@vumc.nl

Literatuur

Adli, M. (2018) The CRISPR tool kit for genome editing and beyond. *Nat. Commun.* 9:1911. doi: 10.1038/s41467-018-04252-2.
Penissi, E. (2013) The CRISPR Craze. *Science*. 341:833-6. doi: 10.1126/science.341.6148.833.
Van de Vrugt, H.J., Cornel, M.C., Wolthuis, R.M.F. (2018) Ned. Tijdschr. Geneesk. 162: pii: D2461.
Hart, T., et al. (2015) High-Resolution CRISPR Screens Reveal Fitness Genes and Genotype-Specific Cancer Liabilities. *Cell*. 163:1515-26. doi: 10.1016/j.cell.2015.11.015.
Shalem, O., et al. (2014) Genome-scale CRISPR-Cas9 knockout screening in human cells. *Science*. 343:84-87. doi: 10.1126/science.1247005.
Kalhor, R., et al. (2018) Developmental barcoding of whole mouse via homing CRISPR. *Science*. 361: pii: eaat9804. doi: 10.1126/science.aat9804
Kyrrou, K., et al. (2018) A CRISPR-Cas9 gene drive targeting doublesex causes complete population suppression in caged *Anopheles gambiae* mosquitoes. *Nat Biotechnol*. doi: 10.1038/nbt.4245.
Chertow, D.S. (2018) Next-generation diagnostics with CRISPR. *Science*. 360:381-382. doi: 10.1126/science.aat4982
Van de Vrugt, H.J., et al. (2018) Effective CRISPR/Cas9-mediated correction of a Fanconi anemia defect by error-prone end joining or templated repair. *Sci. Rep.* In press.
Van de Vrugt, H.J., et al. (2019) Effective CRISPR/Cas9-mediated correction of a Fanconi anemia defect by error-prone end joining or templated repair. *Sci. Rep.* doi: 10.1038/s41598-018-36506-w.
De Groot, A. (2018) Sta genetische modificatie in de landbouw toe. *NRC*. www.nrc.nl/nieuws/2018/11/02/sta-genetische-modificatie-in-de-landbouw-toe-a2753745

Word jij ons nieuwe redactielid?

Analyse is altijd op zoek naar nieuwe redactieleden. Heb je leuke ideeën voor artikelen en rubrieken in Analyse? Wil je graag 3 keer per jaar brainstormen over de inhoud van Analyse samen met andere analisten?

Zou je zelf iets willen schrijven (niet verplicht), zoals een artikel of boekrecensie? Wil je meer informatie of een keertje meekijken? Neem dan contact op met de NVML via nvml.redactie@nvml.nl of 030 2523792

“Vaccinatie, wat moet je ermee?”

18 december 2018, Amsterdam UMC locatie AMC.

Georganiseerd door Fransje van der Waals, hoogleraar Global Health Education.

Het symposium werd, kort samengevat, op de volgende wijze aangekondigd: “Tot schrik van overheid en RIVM loopt in Nederland de vaccinatiegraad terug. Daarmee neemt het gevaar voor verspreiding van ernstige infectieziekten toe. Hoogste tijd voor een bijeenkomst om feiten en emoties rond vaccinatie onder de loop te nemen.”

“De vaccinatiegraad loopt terug. In 1995 was 95,9 procent van de tweejarigen in ons land ingeënt. In 2015 is dat nog 92,6 procent. Volledig ingeënt – tegen twaalf belangrijke infectieziekten – is 90,2 procent van de geboren kinderen. Dat lijkt best veel, maar als je bijvoorbeeld kijkt naar de norm die de Wereldgezondheidsorganisatie WHO stelt voor de mazelen, 95 procent, haalt Nederland die nu niet.”

“Zoals in veel andere landen, zetten ook in Nederland steeds meer ouders vraagtekens bij de noodzaak hun kinderen te laten vaccineren”, zegt Stuart Blume van de Universiteit van Amsterdam. Blume’s specialiteit is de antropologie van de gezondheid, de zorg en het lichaam. “Zelfs velen die wél kiezen voor vaccinatie vragen zich af of ze het goede doen. Wat zit er achter deze trend? Kan die worden gekeerd? Is vaccinatie wettelijk verplicht stellen het antwoord? Zes vaccinatiespecialisten werden uitgenodigd om te komen vertellen en discussiëren over de dalende trend.” De eerste spreker was Seth Berkley, onder andere werkzaam als CEO van de organisatie Gavi. Dit is een internationale organisatie die overheden en private partijen bij elkaar brengt met als doel vaccinatie voor kinderen in arme derde-wereld landen mogelijk te maken.

Hij schetste de huidige stand van zaken betreffende de vaccinatiegraad in Afrika, Azië en Zuid-Amerika. In deze gebieden kampt men met problemen als (letterlijk) slechte bereikbaarheid van de gezondheidszorg, meestal hoge vaccinatieprijzen, tekort aan vaccins en slecht georganiseerde overheden. Toch zijn er goede resultaten dankzij het aanbieden van betaalbare vaccins. Er

moet wel betaald worden, maar dankzij Gavi veel minder dan in rijke westerse landen. Weigering van vaccinatie is daar niet het probleem, maar uitbraken van ernstige ziekten zoals Ebola en AIDS onder controle krijgen. Moderne techniek, met drones waarmee vaccins kunnen worden afgeleverd, zal in de toekomst de vaccinatiegraad waarschijnlijk nog hoger maken.

De tweede spreker was Jaap Goudsmit, hij houdt zich onder andere bezig met het samenstellen van de juiste griepvaccins. Door wisselende types influenzavirus ieder jaar, is het een puzzel om het juiste mengsel samen te stellen, vooral ook omdat het maken van het vaccin zo’n 6 maanden voor de jaarlijkse uitbraak van de griep van start gaat. Er is dus ook een behoorlijk risico voor wat betreft het effect van de griepvaccinatie en daarmee op de geloofwaardigheid daarvan. In Nederland wordt het vaccin aangeboden aan ouderen, risicopatiënten en werkers in de gezondheidszorg.

In Japan worden schoolkinderen ingeënt tegen de griep. Dit blijkt veel effectiever voor de bescherming van ouderen, die immers vaak een onvoldoende reagerend immuunsysteem hebben. Zou dat in Nederland ook beter zijn?

Voor de toekomst voorziet hij zo rond 2030 een universeel vaccin tegen griep. Het zal worden samengesteld met de “vaste” delen van het influenza A en B virus. Wellicht wordt er een pil ontwikkeld in plaats van een te injecteren vloeistof. Ook het tijdstip van vaccineren staat ter discussie. Antistoffen geven ongeveer 6 weken

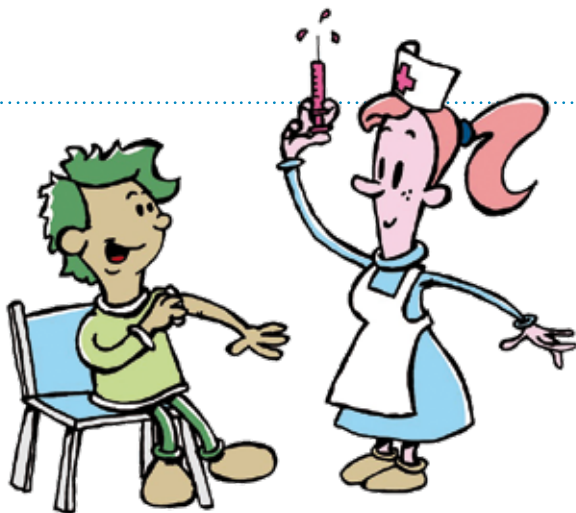
bescherming. Tegen de tijd dat de griep uitbreekt is de bescherming dus vaak al minder.

Vervolgens krijgt Jaap van Dissel het woord. Hij is directeur van het RIVM, dat in Nederland verantwoordelijk is voor het vaccinatieprogramma. Hij geeft een schets van diverse vaccinatiehistories in Nederland. Mazelenvaccinatie heeft waarschijnlijk zo’n 9000 levens gered. Nieuwe ontwikkeling is dat aan zwangere vrouwen vanaf 2019 een gratis vaccinatie tegen kinkhoest wordt aangeboden. Dat geeft het kind na de geboorte gedurende een aantal maanden bescherming tegen kinkhoest.

Slecht scoort de vaccinatie tegen het humane papillomavirus, HPV. Slechts 53 % van de 13 jarige meisjes wordt in Nederland hiertegen ingeënt. Heel jammer, want in 2017 kregen ongeveer 800 vrouwen de diagnose cervixcarcinoom. Hiervan overlijden circa 200 vrouwen.

In landen als Frankrijk, Bulgarije, Oekraïne en Georgië zijn regelmatig uitbraken van mazelen. Een 16 jarige atlete, Marine Eraville, met een verminderd immuunsysteem door medicatie vanwege een harttransplantatie werd de dupe van het anti-vaccinatiesentiment. Zij overleed in 2018 aan mazelen.

Dit soort voorbeelden geven zou een stimulans moeten zijn om wel te vaccineren. Mensen zien kinderziekten als onschuldig en kennen niet de akelige voorbeelden. Het succesvolle vaccinatieprogramma is eigenlijk een vijand voor de vaccinatiebereidheid. In Nederland was in 2013/2014 een mazelenuitbraak in de biblebelt. Dat



Afbeelding 1: vaccinatie tegen kinderziekten

geeft weer voor een aantal jaren bescherming, maar ervaring leert dat we de volgende uitbraak alweer kunnen voorspellen.

De laatste spreker was Stuart Blume, afkomstig uit de UK en emeritus hoogleraar aan de universiteit van Amsterdam. Hij schetste de geschiedenis van de angst voor vaccineren. Eigenlijk bestaat die al vanaf het begin ervan in de 19^e eeuw. Na 1990 begon internet een grote rol te spelen. Er zijn

soms websites die gerund worden door een klein clubje anti-vaccineerders. Toch ziet hij internet niet als de grootste boosdoener. Commerciële zaken spelen ook een rol. Vroeger was er meer bereidwilligheid om kennis te delen. Nu zijn er veel kleine labs die strijden om het als eerste vinden van een medicijn. Ook de opkomst van het populisme zou een rol kunnen spelen. Men moet voorzichtig zijn met de beschuldigende vinger uitsteken. De wetenschap moet zich steeds de vraag

stellen: hebben we gelijk? Er zijn soms bijverschijnselen, daar moet eerlijk over gedaan worden. Ook komen er alleen maar vaccins bij en niemand stelt zich de vraag of er niets af kan. Daarna was er een mogelijkheid tot discussie. Daar kwamen nog wat punten aan de orde. De voorstanders van vaccineren zouden te stil zijn. Er moet betere voorlichting komen met voorbeelden van hoe het mis kan gaan bij niet vaccineren. HPV is een grote killer in derde wereldlanden. Dat werkt wel vaccinatie bevorderend. Is weigeren van kinderen die niet gevaccineerd zijn in kinderdagverblijven een oplossing? Maar er wordt betwijfeld of een wettelijke verplichting tot vaccinatie makkelijk is door te voeren. Daar kleven allerlei ethische bezwaren aan.

In hoeverre hebben kinderen met een lage afweer door chemotherapie of immunosuppressiva "recht op bescherming" via vaccinatie van hun omgeving? Kortom, veel vragen en lang niet overal een antwoord op.

Lia Lauppe v. Meurs

Antwoorden casus

Vraag 1: Welke bepalingen geven een uitslag die buiten de referentiewaarden valt?

Totaal cholesterol en LDL chol ↑ HDL chol. ↓
Troponine-I, CK totaal en CK-MB ↑

Vraag 2: LDL en HDL zijn lipoproteïnen. Wat verstaat men hieronder?

Transportvormen van vet in het plasma. Ze zijn min of meer van een vaste samenstelling aan vetten met een laagje eiwit eromheen, de z.g.n. apo-proteïnen.

Vraag 3: Waarom is LDL cholesterol "ongunstiger" dan HDL cholesterol?

LDL is een maat voor de afgifte van cholesterol aan de weefsels, dus ook de vaten. HDL is een maat voor de afvoer hiervan. LDL is dus atherosclerose bevorderend en HDL juist niet.

Vraag 4: Welk verschijnsel kun je waarnemen op de hand van de patiënt?

Pees xanthomen, vetbultjes.

Vraag 5: Hoe werkt Simvastatine?

Cholesterolverlagingsremmen de werking van een eiwit dat een belangrijke rol speelt bij de cholesterolfabricage, HMG-CoA reductase. Als dit eiwit zijn werk niet kan doen,

ontstaat er al snel een cholesteroltekort, waarna de lever LDL-cholesterol uit het bloed gaat opnemen en het cholesterolgehalte in het bloed daalt.

Vraag 6: Welke soort vetten zal dhr. v.d. W. vooral moeten mijden? Waarom?

Vetten met verzadigde vetzuren (harde vetten). Deze stimuleren de cholesterolopname in de darmen.

Vraag 7: Welke erfelijke ziekte zal er in de familie van Edwin v.d. W. voorkomen?

Familiaire Hypercholesterolaemie (FH)

Vraag 8: hoeveel kans (zie figuur 2) heeft elk van de dochters op deze autosomaal, dominant erfelijke ziekte? 50%

Vraag 9: Bij welke laboratoriumuitslagen kun je daarvoor al een aanwijzing zien? Geef een verklaring.

De cholesteroluitslagen. Totaal chol en LDL chol zijn verhoogd.

Vraag 10: Welke behandeling zal dhr. v.d. W. waarschijnlijk moeten ondergaan?

Dottering of het plaatsen van "stents" in de slagaderen die zijn aangetast.

Interview “DNA paspoort levert schijnzekerheid”

Marc van Mill

Universitair hoofddocent biomedische genetica, UMC Utrecht

U bent gaan kijken naar DNA paspoorten, hoe is dit begonnen?

Ik geef de cursus Genoom aan eerstejaars studenten. Dat is een cursus die gaat over de biologie van DNA en over DNA-technieken. Daarin probeer ik ook zoveel mogelijk de impact van de techniek te bespreken. Dan hebben we het bijvoorbeeld over CRISPR-Cas en halen we het voorbeeld van de Chinese onderzoeker erbij. We bespreken ook Next Generation Sequencing en we bespreken het contrast tussen wat we in de kliniek en in een onderzoeksetting met sequencing technologieën doen én de SNP-arrays die veel gebruikt worden door commerciële aanbieders. Die aanbieders zeggen dat je een DNA test krijgt, maar het is natuurlijk maar een heel beperkte DNA test. Ik heb me verdiept in wat er allemaal aan commerciële testen wordt aangeboden en was vooral geïnteresseerd wat er dan in Nederland beschikbaar is. Ik werd getipt door een journalist, die me wees op het bedrijf iGene. Ik schrok meteen, omdat ze juist heel erg gericht zijn op uitspraken over ziektes. Terwijl de meeste DNA testen op dit moment de ‘fun testen’ zijn, zoals ‘kun je bitter proeven?’, allemaal redelijk onschuldig. Uiteindelijk heb ik besloten mijn eigen DNA naar iGene te sturen, maar ook het DNA van een vriendin van mij, in overleg natuurlijk. Dit hebben we gedaan omdat zij een BRCA-1 mutatie heeft en daardoor een sterk verhoogde kans op erfelijke borstkanker. Daar wilde ik in mijn onderwijs aandacht aan besteden, maar dat is wat groter geworden dan de collegezaal. Ik denk namelijk dat het ook voor een breder publiek heel belangrijk is om te beseffen wat de beperkingen van dit soort tests zijn.

Wat hebben jullie gedaan na de uitslag?

Nadat we de uitslagen van de test

binnen hadden, hebben er een aantal gesprekken met de directeur en een inhoudelijke expert van het bedrijf gehad. Dat deed mij eigenlijk nog meer beseffen dat het heel belangrijk is dat je overziet wat zo’n SNP-array wel en niet aan ruwe data oplevert. En vervolgens, wat zo’n bedrijf daar dan mee doet, wat voor uitspraken ze doen. Ik had het idee dat ze zelf niet overzagen wat de beperkingen van hun tests zijn. Welke uitspraken ze doen die je eigenlijk helemaal niet kunt doen op basis van een SNP-array. Ik wilde hier iets mee, dus we hebben de klinische genetica erbij gehaald. Die waren ook al een behoorlijk bezorgd over commerciële DNA testen. We hebben deze casus gebruikt om daarmee naar buiten te treden.

Wat kwam er eigenlijk uit de test?

Dorien, die vriendin van mij, en ik gingen er vanuit dat ze die BRCA-1 mutatie wel zouden oppikken, want het bedrijf communiceert dat ze BRCA-1 en -2 testen. Ik wist dat ze niet gingen sequencen, dus ik had mijn twijfels. Wat bleek; ze hadden de mutatie van Dorien helemaal niet opgepikt en ze kreeg zelfs te horen dat ze een verlaagde kans op borstkanker had. Dat betekent dus dat mensen een vals negatieve uitslag kunnen krijgen terwijl ze verwachten dat op een accurate manier de kans op borstkanker bepaald wordt. Ik vind het ernstig dat een bedrijf een techniek inzet die volslagen ongeschikt is voor dit type bepalingen. Als het gaat om erfelijke mutaties, dan moet je dat niet met een SNP-array doen. Zij zeggen: Wij bepalen voor iedereen het risico op borstkanker. Voor de meeste vrouwen geldt dat je met een SNP-array kan bepalen dat je een beetje verhoogde of verlaagde kans hebt ten opzichte van het gemiddelde. Het gemiddelde is 12% in Nederland, dus



dan zou je te horen kunnen krijgen dat je 9 of 14% kans hebt. Ik ga er nog steeds vanuit dat ze dat aardig kunnen bepalen. De vraag is eigenlijk of dat hier relevant is, zeker als je niet naar andere factoren kijkt dan alleen het DNA. Maar als je met die test de erfelijke borstkanker niet accuraat kunt meten, maar suggereert dat je dat wel doet, dan ben je volgens mij fout bezig. Ze claimen ook het risico op darmkanker te bepalen, maar ook daar heb je een erfelijke variant van, dus daar geldt precies hetzelfde voor.

Geldt dit ook voor andere ziekten?

Een nog complexere categorie vind ik de hart- en vaatziekten. Daarvoor krijg je ook een risico-percentage. Nu heb je natuurlijk erfelijke hartafwijkingen. Zitten die daar ook in? Op basis van de techniek die ze gebruiken kan je al zeggen dat dat niet zo is. Ze kunnen ze nooit allemaal meenemen. Het is voor de meeste mensen volkomen onbegrijpelijk als je zo’n test bestelt. Dat vind ik dus kwalijk. Ze doen ook een farmacogenetische analyse. Welke medicijnen breek je sneller af dan gemiddeld en welke minder snel dan gemiddeld? Ze kijken



dan naar enzymvarianten op basis van DNA. Hier geloof ik wel in en ik denk dat dit best nuttig kan zijn. Er zijn best degelijke studies over hoe je dit kan inzetten. Het lastige is natuurlijk dat als ik zo'n test heb laten doen bij een commerciële partij en zo'n farmacogenetisch paspoort krijg en daar staat in dat ik een hogere dosis nodig heb van een bepaald medicijn, gaat mijn huisarts daar dan in mee? Of vraagt hij welk laboratorium het heeft bekeken? Op basis hiervan actie ondernemen gaat dus helemaal niet.

Wat moet er volgens u gebeuren met deze commerciële testen?

Ik denk niet dat je commerciële aanbieders moet verbieden. Er zou meer controle en betere samenwerking moeten zijn tussen de commerciële aanbieders en de medische wereld. Ik maak me zorgen over de manier waarop ze de uitslag communiceren. Normaal gesproken krijg je in het ziekenhuis uitgebreide begeleiding bij DNA-onderzoek, vooraf en achteraf. Dat dit niet gebeurt met een commerciële test vind ik de moeite waard om aan de kaak te stellen. Als consument heb je er nu maar je weg in te vinden. Je moet de zin en onzin van elkaar scheiden, wat is nou echt

en wat is nauwelijks nuttig. En kan ik met uitslagen van een commerciële test eigenlijk wel terecht bij mijn dokter? Ik ken een verhaal van een man die door zo'n test te horen kreeg dat hij een BRCA-2 mutatie zou hebben. Hij heeft een dochtertje van 2. Hij ging naar de huisarts en de klinisch geneticus en kreeg te horen dat ze niet op de commerciële test konden voortbouwen. Hij moest weer van voren af aan beginnen, dat was een hele periode van onzekerheid. Het heeft heel veel impact gehad op dat gezin. Dit was een traject van een half jaar, waarbij de klinisch geneticus uiteindelijk deze BRCA-2 afwijking niet heeft kunnen vinden. Het is lastig om de betrouwbaarheid van die testen, maar ook de bruikbaarheid van de resultaten in te schatten als consument. Dan is het misschien aan ons, mensen die er wat meer verstand van hebben, om daarin het voortouw te nemen en daar uitleg over te geven. Nu is er zelfs melding bij de inspectie gedaan, dus het ministerie zou hier ook iets mee moeten. Misschien moet hier wetgeving voor komen, wat wel en niet commercieel aangeboden mag worden en hoe een aansluiting met de medische wereld gewaarborgd kan worden.

Wilt u verder nog iets kwijt?

Bij veel bedrijven krijg je de interpretatie, maar meestal kan je ook de ruwe data wel krijgen. Het is wel belangrijk dat mensen zich realiseren dat daar veel meer informatie in staat dan dat waar ze voor betaald hebben. Er zijn websites waar je die ruwe data kunt uploaden en dan komt dus alles eruit wat er aan gegevens in zit. Nou moeten mensen dat voor zichzelf weten, maar het is wel handig als je weet waar je aan begint. Wat ik interessant zou vinden is als je je DNA naar verschillende bedrijven stuurt of je dan dezelfde ruwe data terug krijgt. Dat heb ik zelf nog niet gedaan. Bovendien moet ik me afvragen of ik mijn DNA bij al die bedrijven wil hebben, omdat je toch je genetische data inlevert bij een commercieel bedrijf. Je tekent natuurlijk een overeenkomst waar vaak in staat dat ze die gegevens mogen doorverkopen, weliswaar geaggregeerd en geanonimiseerd. Ze verdienen niet zozeer aan het bedrag dat ik aan ze betaal, maar ze verdienen vooral aan het doorverkopen van die data. Het is wel handig als je dat weet. Ik denk niet dat er veel mensen zijn die zich dat realiseren als ze voor 70 euro een kitje bestellen bij MyHeritage of iets dergelijks.

Immuun-stimuli beïnvloeden de RNA inhoud van extracellulaire vesicles uit dendritische cellen

Tom Driedonks en Esther Nolte-'t Hoen

Extracellulaire vesicles (EV) zijn minuscule 'membraanblaasjes' (50 – 200 nm) die worden uitgescheiden door vrijwel alle typen cellen in het lichaam. Deze blaasjes zijn veelvuldig aanwezig in lichaamsvloeistoffen zoals melk, plasma, urine en semen. EV spelen een belangrijke rol in de communicatie tussen cellen; EV die worden uitgescheiden, kunnen binden aan of opgenomen worden door ontvangende cellen. Op deze manier kunnen eiwitten, lipiden en RNA moleculen met een signalerende of regulerende functie worden uitgewisseld tussen cellen. De samenstelling van EV kan wijzigen onder invloed van veranderingen in de status van de cel, bijvoorbeeld als deze geactiveerd of gemuteerd raakt. Op deze manier geeft een geactiveerde cel een andere 'boodschap' door via zijn EV dan een cel in rust.

Er zijn al veel functies van EV ontdekt. Zo spelen de EV van tumorcellen een rol bij het onderdrukken van het immuunsysteem zodat de tumor niet wordt opgeruimd. Naast dit soort signalerende functies staan EV erg in de belangstelling omdat ze mogelijk als biomarker kunnen dienen voor diagnose van ziekten zoals kanker en de ziekte van Alzheimer. Omdat EV worden aangetroffen in relatief eenvoudig te verkrijgen lichaamsvloeistoffen, en omdat zij informatie bevatten over de ziekte-status van de EV-producerende cel, wordt intensief onderzocht welke verschillen in EV-samenstelling samenhangen met bepaalde ziekten. Wellicht is het dan in de toekomst mogelijk om aan de hand van EV in bijvoorbeeld bloed vast te stellen of iemand een bepaalde ziekte heeft. Daarnaast geeft het bestuderen van EV meer inzicht in de manier waarop cellen met elkaar communiceren bij gezondheid en ziekte (1).

Technische uitdagingen

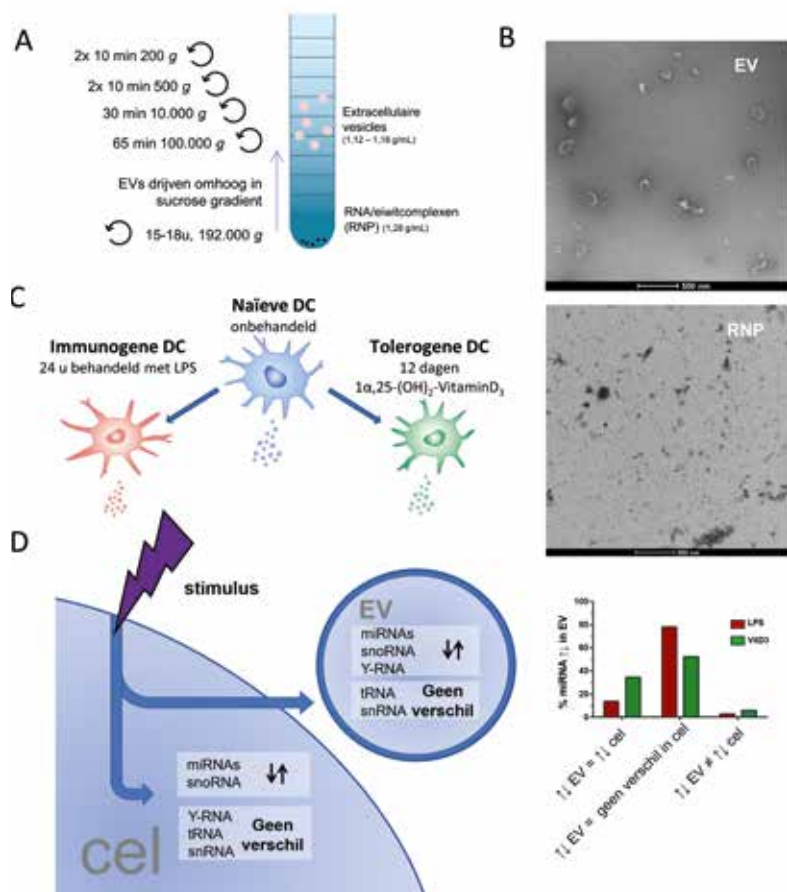
In vergelijking tot het werken met cellen is het werken met EV technisch erg uitdagend. In vitro onderzoeken naar EV maken gebruik van gekweekte cellen die EV uitscheiden in hun kweekmedium. Deze EV worden vervolgens opgezuiverd uit het medium met behulp van uitgebreide protocollen. Zo'n protocol is niet alleen

nodig om de EV te concentreren uit een groot volume medium, maar ook om allerlei contaminanten zoals eiwitcomplexen of lipide partikels uit het mengsel te verwijderen. De meest betrouwbare methode hiervoor is differentiële ultracentrifugatie (Figuur 1A), waarbij medium waarin cellen gekweekt zijn bij steeds oplopende centrifugesnelheden wordt gecentrifugeerd. Bij lage g-krachten worden cellen en grote apoptotische blaasjes uit het medium verwijderd, waarna uiteindelijk bij 100.000g de EV zelf worden gepelletiseerd. Dit pellet bevat echter ook eiwitcomplexen. Die kunnen door middel van een sucrose dichtheidsgradient van de EV worden gescheiden op basis van verschil in soortelijke dichtheid. Dit uitgebreide protocol levert uiteindelijk zuivere EV op waarvan de eiwitsamenstelling of RNA inhoud kan worden bepaald (Figuur 1B). Ook kunnen de functionele effecten getest worden door de EV toe te voegen aan ontvangende cellen die in vitro worden gekweekt. Omdat technische onvolkomenheden zo'n groot effect kunnen hebben op de uitkomst van een proef, zijn er richtlijnen opgesteld door de International Society for Extracellular Vesicles (ISEV), waarbij aangetoond moet worden dat er met de gebruikte methode inderdaad EV geanalyseerd worden (2). Ook is er een onafhankelijk platform (EV-TRACK) opgericht

waarin onderzoeksgroepen de technische details van hun studie kunnen uploaden (3). Dit heeft als doel de reproduceerbaarheid van EV-studies te bevorderen. Kortom, dit onderzoeksveld is sterk in ontwikkeling en is daardoor erg interessant.

Extracellulaire vesicles als genetische boodschappers

In 2007 is ontdekt dat EV verschillende soorten RNA moleculen bevatten, namelijk messenger RNAs (mRNA) die coderen voor eiwitten en microRNAs (miRNA) die een regulerende functie hebben op mRNA niveaus in de cel. Via de EV kunnen deze RNAs worden overgedragen van de ene naar de andere cel (4). De rol van miRNAs in communicatie via EV is uitgebreid onderzocht; na activatie van cellen bevatten EV een andere miRNA-samenstelling (5), die na opname door ontvangende cellen mRNA niveaus reguleren, waardoor bepaalde eiwitten in een andere verhouding tot expressie komen (6). Later hebben wij aangetoond dat het grote merendeel van EV-RNA bestaat uit andere typen RNA die niet coderen voor eiwitten (7). Deze 'non-coding' RNAs vervullen belangrijke huishoudfuncties in de cel, zoals bijvoorbeeld transfer RNA (tRNA, belangrijk voor het omzetten van mRNA naar eiwitten), small nuclear RNA (snRNA, belangrijk onderdeel van het spliceo-



A) Differentieel ultracentrifugatie protocol wat gebruikt wordt om EV op te zuiveren uit kweekmedium. Het medium wordt bij oplopende snelheden gecentrifugeerd, vervolgens worden de EV gepelleteerd bij 100,000 x g. Deze EV worden van eiwitcomplexen gescheiden in een sucrose dichtheidsgradiënt. B) Transmissie-electronenmicroscopische foto van EV en eiwitcomplexen (RNP) van dendritische cellen. Schaal-balkje komt overeen met 500 nanometer. C) Opzet van deze studie: primaire muizen beenmergcellen worden gedifferentieerd tot DCs. Deze DCs worden immunogeen (immuun-activerend) gemaakt met behulp van lipopolysaccharide (LPS) of tolerogeen (immuun-dempend) gemaakt door middel van Vitamine D3. Vervolgens is het RNA van de cellen en de EV van elk van deze condities geanalyseerd via RNA sequencing. D) Schematische weergave van onze vindingen. Verschillende immuun-stimuli veroorzaken veranderingen in miRNA, snoRNA en Y-RNA in EV, terwijl tRNA en snRNA niet veranderen onder invloed van stimulatie. Niet alle immuun-gerelateerde veranderingen in EV kwamen overeen met veranderingen in cellen; een groot aantal RNAs veranderde alleen in EV, maar niet in cellen, terwijl slechts een klein aantal RNAs op eenzelfde manier veranderde in zowel EV als in cellen. N.B. Figuur 1A, 1B en 1D zijn volledig of gedeeltelijk afkomstig uit referentie (8), onder een Creative Commons licentie.

soom, wat verantwoordelijk is voor mRNA splicing), snoRNA (small nuclear RNA, wat mRNA splicing reguleert). Een belangrijke vraag in het EV veld is of de aanwezigheid van dit soort RNAs in EV betekent dat ze een rol spelen in intercellulaire communicatie. Het is echter onbekend of hun aanwezigheid in EV beïnvloed wordt door externe stimuli, zoals ook het geval is voor de miRNAs. Dat zou erop kunnen wijzen dat deze andere RNAs specifiek onder bepaalde condities uit de cel getransporteerd worden om

hun signaleringsfunctie te vervullen.

Immuun-stimuli beïnvloeden de RNA inhoud van EV

Om te onderzoeken welke van de in EV aanwezige RNA typen beïnvloed worden door de activatie-status van de EV-producerende cel hebben we gebruik gemaakt van immuuncellen. Cellen van het immuunsysteem moeten adequaat reageren op signalen uit de omgeving en door middel van communicatie met andere immuuncellen effectieve afweerreacties tot stand brengen.

Binnen onze onderzoeksgroep wordt veel onderzoek gedaan aan dendritische cellen (DC). Deze DC kunnen, afhankelijk van de signalen uit hun omgeving een immuun-activerend of een immuun-dempende functie krijgen, en spelen een belangrijke sturende rol in het immuunsysteem. Daarom zijn DCs interessante cellen om te onderzoeken of de RNA inhoud van EV verandert onder invloed van stimuli die de functie van deze cellen beïnvloedt. Primaire DCs gekweekt uit muizen beenmergcellen hebben we met verschillende stimuli in een immuun-activerende of immuun-suppressieve staat gebracht (Figuur 1C). Vervolgens hebben we de EV gezuiverd uit het kweekmedium van deze cellen, waarna we de RNA inhoud van deze EV geanalyseerd hebben (8). Om een compleet beeld te krijgen van de RNA samenstelling van de EV van de verschillend gestimuleerde cellen hebben we gebruik gemaakt van RNA sequencing. Bij RNA sequencing wordt de basenvolgorde afgelezen van alle afzonderlijke RNA moleculen in een sample. Omdat elk type RNA een unieke basenvolgorde heeft, is te herleiden welke RNAs aanwezig zijn in het sample en in welke hoeveelheid. Interessant genoeg vonden wij dat sommige small non-coding RNAs in EV veranderden onder invloed van verschillende stimuli, terwijl andere RNAs geen verandering vertoonden (Figuur 1D). Wat betreft de miRNAs bleken sommige miRNAs verrijkt te zijn in EV van geactiveerde cellen, terwijl andere miRNAs juist verrijkt waren in EV van immuun-suppressieve cellen. De door ons gevonden miRNAs bleken volgens de literatuur betrokken te zijn bij immuun-activerende danwel -suppressieve processen. Voor andere klassen RNA, zoals tRNA en snRNA, vonden we juist geen verschillen in EV van verschillend gestimuleerde DCs, al waren deze RNAs wel prominent aanwezig. Mogelijk dienen deze RNA typen als structurele componenten die belangrijk zijn voor de vorming van EV. Een belangrijke observatie die wij deden was, dat er naast de miRNAs nog twee andere typen RNA waren waarvan de sortering naar EV werd beïnvloed door de activatie-status van de DC. Met name Y-RNA trok onze aandacht omdat dit type RNA

aanwezig is in EV van veel verschillende celtypen en omdat hiervan hoge hoeveelheden terug te vinden zijn in bloed (8). Onze studie is een eerste indicatie dat externe factoren de sortering van Y-RNA naar andere cellen beïnvloeden. Dit is interessant omdat uit andere studies is gebleken dat Y-RNA in EV zowel immuun-activerende en immuun-suppressieve functies kan vervullen (9). Kortom, naast miRNA zou ook Y-RNA een rol kunnen spelen bij signalering tussen immuuncellen via EV. Ook zou Y-RNA gebruikt kunnen worden als immuun-gerelateerde biomarker, omdat de hoeveelheid Y-RNA in EV afhangt van de immuunstatus van de EV producerende cel. Dit zijn we op dit moment verder aan het onderzoeken.

EV als 'snapshots' van cellen

In studies naar EV-RNA biomarkers wordt er vaak vanuit gegaan dat de RNA-inhoud van EV een directe afspiegeling ('snapshot') is van de RNA inhoud van EV-producerende cellen. Op basis hiervan zouden EV gebruikt kunnen worden om de gezondheidsstatus van cellen 'af te lezen'. Echter, uit onze data bleek dat slechts een deel van de immuun-gerelateerde veranderingen in EV-RNA overeen kwamen met veranderingen die in het cellulair RNA van de DC waren opgetreden (Figuur 1D). Daarnaast bleek een groot aantal RNAs exclusief in EV, of exclusief in de cel te veranderen. De aanname van vele biomarker studies, dat EV-RNA een snapshot is van het cellulair RNA, is daarom niet geheel correct. Verschillen tussen EV-RNA van geactiveerde en niet-geactiveerde cellen geven zeker informatie over de activatiestatus van de cel, maar zijn geen volledige afspiegeling van veranderingen in het cellulair RNA. In plaats daarvan is het waarschijnlijk dat bepaalde RNAs specifiek in EV worden verpakt onder bepaalde omstandigheden. Meer onderzoek is nodig om deze moleculaire sorteringsprocessen beter te leren begrijpen. In conclusie hebben we aangetoond dat stimuli die de status van cellen veranderen de sortering van verschillende klassen RNA in EV kunnen beïnvloeden. De nieuw ontdekte spelers in het EV-RNA veld, zoals het veelvuldig aanwezige Y-RNA, vervullen mogelijk een belangrijke rol in EV en zijn

potentieel interessante kandidaat-biomarkers.

Over de auteurs

Tom Driedonks is sinds 2011 als aio werkzaam in de groep van Esther Nolte-'t Hoen. Hij is van plan in 2019 te promoveren en daarna als postdoc de rol die EV en EV-RNA spelen in de balans tussen gezondheid en ziekte verder te onderzoeken. Esther Nolte-'t Hoen is Universitair Docent bij de Universiteit Utrecht en sinds 2003 actief in het onderzoek naar de compositie en functie van EV. In 2013 ontving zij een ERC Starting Grant en startte zij haar eigen onderzoeksgroep. Haar onderzoek richt zich op het achterhalen van de functie van EV in immuniteit en microbiële infecties. Hierbij wordt specifieke nadruk gelegd op de rol van verschillende soorten niet-code-rende RNAs in EV.

Literatuur

1. van der Grein SG, Nolte-'t Hoen ENM. "Small Talk" in the Innate Immune System via RNA-Containing Extracellular Vesicles. *Front Immunol* (2014) 5:1–8. doi:10.3389/fimmu.2014.00542
2. Théry C, Witwer KW, Aikawa E, Alcaraz MJ, Anderson JD, Andriantsitohaina R, Antoniou A, Arab T, Archer F, Atkin-Smith GK, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *J Extracell Vesicles* (2019) 8:1535750. doi:10.1080/20013078.2018.1535750
3. Van Deun J, Mestdagh P, Agostinis P, Akay Ö, Anand S, Anckaert J, Martinez ZA, Baetens T, Beghein E, Bertier L, et al. EV-TRACK: transparent reporting and centralizing knowledge in extracellular vesicle research. *Nat Methods* (2017) 14:228–232. doi:10.1038/nmeth.4185
4. Valadi H, Ekström K, Bossios A, Sjöstrand M, Lee JJ, Lötvall JO. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol* (2007) 9:654–659. doi:10.1038/ncb1596
5. Montecalvo A, Larregina AT, Shufesky WJ, Stolz DB, Sullivan MLG, Karlsson JM, Baty CJ, Gibson GA, Erdos G, Wang Z, et al. Mechanism of transfer of functional microRNAs between mouse dendritic cells via exosomes. *Blood* (2012) 119:756–66. doi:10.1182/blood-2011-02-338004
6. Alexander M, Hu R, Runtz MC, Kagele DA, Mosbruger TL, Tolmachova T, Seabra MC, Round JL, Ward DM, O'Connell RM. Exosome-delivered microRNAs modulate the inflammatory response to endotoxin. *Nat Commun* (2015) 6:7321. doi:10.1038/ncomms8321
7. Nolte-'t Hoen ENM, Buermans HPI, Waasdorp M, Stoorvogel W, Wauben MHM, 't Hoen PAC. Deep sequencing of RNA from immune cell-derived vesicles uncovers the selective incorporation of small non-coding RNA biotypes with potential regulatory functions. *Nucleic Acids Res* (2012) 40:9272–85. doi:10.1093/nar/gks658
8. Driedonks TAP, van der Grein SG, Ariyurek Y, Buermans HPI, Jekel H, Chow FWN, Wauben MHM, Buck AH, Hoen PAC, Nolte-'t Hoen ENM. Immune stimuli shape the small non-coding transcriptome of extracellular vesicles released by dendritic cells. *Cell Mol Life Sci* (2018) 3857–3875. doi:10.1007/s00018-018-2842-8
9. Driedonks TAP, Nolte-'t Hoen ENM. Circulating Y-RNAs in Extracellular Vesicles and Ribonucleoprotein Complexes; Implications for the Immune System. *Front Immunol* (2019) 9:1–15. doi:10.3389/fimmu.2018.03164



Ontdek de energiezuinige
TSX koelkasten en vriezers
voor veilige opslag van bloed
medicijnen en vaccins
Kijk op polytemp.nl voor meer info

Part of your team!
Al 35 jaar uw betrokken leverancier
in de medische diagnostiek

POLYTEMP
SCIENTIFIC

Koelkasten | Vriezers | CO2 Incubatoren |
Flowkasten | Schudders | Onderhoud |

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

Bereikbaarheid bureaumedewerkers

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

Lidmaatschap

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

Contributie

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

Opzegging

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

Bestuur

Voorzitter

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

Penningmeester

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

Secretaris/vicevoorzitter

vacant

Leden

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

Adviseurs

- Prof. dr. R. de Jonge, Amsterdam, klinisch chemicus

NVML-Commissies en werkgroepen

Commissie Internationale Contacten

Contactpersoon: Marja Pospiech, bureau NVML.

Commissie Kwaliteit / Landelijk kwaliteitsnetwerk (LKN)

Contactpersoon: Petra Melsen

Commissie Nascholing

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

Commissie/Platform Onderwijs

Contactpersoon: Marja Pospiech, bureau NVML.

Commissie Preeanalyse

Contactpersoon: Kor Kooy.

Commissie Sociale Belangen

Contactpersonen: Marja Pospiech en Jenny Schoemaker, bureau NVML.

Landelijk fertiliteitsnetwerk (LFN)

Contactpersoon: Wendy Hogervorst

POCT netwerkgroep

Contactpersoon: Gerdie Weijers

Redactiecommissie

Contactpersoon: Simone Priester-Vink

Werkgroep e-learning

Contactpersoon: Nelly IJzerman

Werkgroep Hoofdanalisten Klinische Chemie (WHAKC)

Contactpersoon: Eline Liesting

Werkgroep Hoofdanalisten Medische Microbiologie (WHAMM)

Contactpersoon: Marianne Egbers

Werkgroep Hoofdanalisten Pathologie (WHAPA)

Contactpersoon: Paul Rombout

Werkgroep Registratie

Contactpersoon: Marja Pospiech, bureau NVML

Van het bestuur

Samen staan we sterker

De feestdagen liggen achter ons en het nieuwe jaar is begonnen. Als ik terugkijk op het vorige jaar denk ik aan de mooie reis die ik in het najaar heb gemaakt door Namibië. Het uitgestrekte landschap met de vele verschillende woestijnen. De oude culturen en niet te vergeten de prachtige flora en fauna. Van bloeiende cactussen tot een olifantenbul bij een drinkplaats met zebra's en springbokken. Soms denk je dat dit niet meer te overtreffen is en dan kom je in de Sossusvlei. Adembenemend. Terwijl je terugkijkt maak je in je hoofd al plannen voor de vakantie dit jaar. Wat zal het worden: Suriname, Canada of misschien iets dichterbij huis. Geen idee, maar zeker is dat de plannen worden gesmeed.

Zo ook bij de NVML. We kijken terug op een jaar waarin veel is gebeurd. Er is massaal ja gezegd door de leden van de NVML voor de samenwerking met de VAP. Op de achtergrond is door de bureaumedewerkers hard gewerkt aan de nieuwe website en het nieuwe klantenregistratiesysteem. Daarnaast is bijna het gehele bestuur van de NVML vernieuwd.

De nieuwe website is ingericht, gekoppeld aan het nieuwe klantenregistratiesysteem en getest. Dit is iets wat slechts eenmaal in de zoveel tijd voorkomt. Naast de reguliere werkzaamheden was dit een grote uitdaging voor de bureaumedewerkers. Met veel inzet is het dan ook gelukt en zal de website in februari 2019 live gaan. Via deze weg wil ik dan ook de medewerkers van het bureau complimenteren met deze prestatie. Natuurlijk zullen er na de livegang zich nog probleempjes voordoen, maar ik heb het volste vertrouwen dat deze op een goede manier zullen worden opgelost.

In 2019 gaan we van start met de samenvoeging van de VAP en de NVML. Twee verschillende organisaties met hetzelfde doel. Ook hier zullen we voor nieuwe uitdagingen komen te staan. Naast overeenkomsten zullen we verschillen moeten overbruggen. Er zullen veranderingen zijn en aanpassing gevraagd worden. Daarnaast zal er uiteindelijk een nieuw bestuur VAP/NVML komen. Wederom spreek ik mijn vertrouwen uit. "Samen staan we sterker" en "samen" gaat ons dat zeker lukken.

Els Wester, voorzitter NVML

Congres Preanalyse: 'Een goed begin...'

Programma

Dagvoorzitter: Dr. G. de Kort, klinisch chemicus en directeur LabWest, Den Haag

10:00 uur	Opening
10:10 - 10:45 uur	Casuïstiek: 'Luchtweg-infectiepathogenen, een divers geheel' Dr. G.H.J. Wagenvoort, arts-microbioloog, ISALA, Zwolle
10:45 - 11:20 uur	MRSA/VRE en ziekenhuishygiëne H. Schotsman, deskundige Infectiepreventie, UMCG, Groningen
11:20 - 11:50 uur	Koffie/ thee pauze
11:50 - 12:2 uur	Omgaan met werkdruk: 'Hoezo Druk?!' J. Seinstra-Seinen, facilitator Creative Thinking, Crioel, Leeuwarden
12:25 - 12:50 uur	Hepatitis E Dr. B.M. Hogema, biochemicus, Sanquin diagnostiek, Amsterdam
12:50 - 13:50 uur	Lunch pauze
13:50 - 14:25 uur	Centrale Preanalyse voor alle disciplines
14:25 - 15:00 uur	Forensisch onderzoek en richtlijnen voor de preanalyse Dr. P. Van Driessche, onafhankelijk forensisch patholoog, Thanatosophia
15:00 uur	Afsluiting en aansluitend borrel met hapjes



Locatie

Congrescentrum de Eenhoorn in Amersfoort, direct tegenover station Amersfoort CS

UEC

U ontvangt 3 UEC bij deelname aan dit congres

Kosten

€ 105,- voor NVML-leden
€ 160,- voor niet-leden

Aanmelding

Aanmelding uitsluitend via de NVML-website www.nvml.nl t/m 21 februari 2019.
N.B. er wordt gevraagd meteen te betalen via iDEAL, dus houd uw betaalgegevens bij de hand!



Graag geef ik u een update over de stand van zaken m.b.t. de samenwerking VAP en NVML. Nadat via een enquête de leden hebben aangegeven positief tegenover het invlechten van de twee verenigingen te staan, is de stuurgroep VAP/NVML verder aan de slag gegaan.

Er is een sollicitatieprocedure gestart voor een externe projectmanager (interim) die het geheel zal moeten begeleiden en aansturen. Quinten de Coo van Patzorg is in december 2018 aangesteld. Afgesproken is dat deze interim projectmanager ondersteund gaat worden door twee projectbegeleiders, van elke vereniging één. Daarnaast zullen werkgroepen worden gevormd die elk een onderdeel van de samenwerking gaan voorbereiden

en bespreken. Ook zal een klankbordgroep in het leven worden geroepen. De stuurgroep zal in samenwerking met de projectmanager en projectbegeleiders elk voorstel overwegen en een beslissing nemen.

In januari komt de stuurgroep en de projectmanager bij elkaar om de planning en de vorm te bespreken waarin de samenwerking tot stand moet gaan komen.

Namens de stuurgroep,

Marianne Egbers

Algemene Ledenvergadering

Algemene Ledenvergadering NVML op 21 mei 2019

Hierbij nodigt het bestuur van de NVML haar leden uit tot het bijwonen van de Algemene Ledenvergadering. Deze vindt plaats op dinsdag 21 mei aansluitend aan het Spring Event in theater de Buitensoos te Zwolle.

Alle stukken komen begin mei achter het ledenscherm te staan. Toegang voor de ALV is gratis en aanmelding is niet nodig, maar als u vooraf een drankje meedrinkt vragen wij u dit kenbaar te maken via een mail naar de NVML (nvml@nvml.nl o.v.v. borrel ALV)

Cursussen NVML

Aanmelding NVML cursussen

Er is nog plaats bij:

	Sluiting inschrijving	Cursusdata
Meewerkend leidinggevende plus (B)	5 maart	Dinsdag 9, 16 april, met de terugkomochtend op 28 mei
Hemoglobinoopathieën	5 maart	Donderdag 11 april
Morfologie voor kinderen en neonaten	26 maart	Donderdag 25 april
Basiscursus malariadiagnostiek	22 april	Dinsdag 28 mei en 4 juni

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

Cao ziekenhuizen

In maart starten de onderhandelingen voor een nieuwe cao Ziekenhuizen. Binnenkort zal de inzet van de vakbonden bekend zijn. Als er nieuws is, wordt dit geplaatst op de nieuwspagina van de NVML-website, dus neem regelmatig even een kijkje!

Cao umc

Per 1 januari 2019 wordt het persoonlijk budget van alle umc-medewerkers omgezet naar een salarisverhoging van 0,92%. Verder is de afspraak gemaakt van een salarisverhoging van 2,5% structureel per 1 augustus 2018, als het goed is, is deze inmiddels bij uw salaris gekomen. De vakbonden zijn nog met de umc's in overleg over verlaging van de werkdruk en een generatieregeling. Mocht hier nieuws over zijn: zie hiervoor de nieuwspagina van de NVML-website.

Wist je dat...

je lijf je spieren
afbreekt als je griep hebt?

Onderzoekers hebben gevonden in dierproeven dat een influenza infectie leidt tot een verhoging van expressie van genen die spieren afbreken en een verlaging van genen die spieren opbouwen. Dit is de reden dat je zulke zware en vermoeide benen hebt als je griep hebt. De onderzoekers denken dat dit een bijwerking is van de immuunrespons tijdens de infectie.

Bron: www.iflscience.com

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

EPBS – CIC

Commissie Internationale Contacten (CIC)

De Commissie Internationale Contacten (CIC) van de NVML heeft op 12 oktober 2018 deelgenomen aan het symposium van de European Association for Professions in Biomedical Science (EPBS) in Figueira da Foz, Portugal. Het thema van het symposium was: 'Free movement'. Een voor de Nederlandse analisten belangrijk thema. Vrij beroepenverkeer voor biomedisch laboratoriumpersoneel is op zich al belangrijk, maar om het vrije beroepen verkeer in Europa effectief te laten zijn is erkenning, registratie en bescherming van het analistenvak wenselijk, zo niet noodzakelijk. Zoals bij jullie bekend, is Nederland het zwarte schaap als het gaat om registratie en bescherming van het vak.

Er waren interessante verhalen;

- Een vertegenwoordiger van CORU, de Ierse multi-professionele regulator in de gezondheidszorg, vertelde over hoe de regulering in Ierland is geregeld.
- Sandra Ribeiro, lid van het DG's arbeidsverhoudingen in Portugal, lichtte de problemen en oplossingen rondom de buitenlanders die in Portugal willen werken toe.
- SOLVIT, de bezwaren- en rechten tool van de Europese commissie werd getoond.

Wat erg opviel was dat al deze bestuurders aangaven dat het spreken van de landstaal geen barrière is/mag zijn. Hier werd door alle leden nadrukkelijk bezwaar tegen gemaakt.

Het lijkt ons ondenkbaar dat iemand volledig als analist kan functioneren als hij/zij niet de Nederlandse taal op tenminste HAVO niveau spreekt, leest en schrijft. Lezen en schrijven van voorschriften, lezen van aanvragen, algemene communicatie naar aanvragers en onderling, vereisen een goede taalbeheersing. Veel landen hanteren dan ook een minimum taalniveau in hun functie beschrijving. Het tweede deel van het symposium en andere onderwerpen tijdens deze conferentie komen in de volgende Analyse aan bod.

Namens de CIC,
Eric Hazenberg

CONGRES

Preanalyse 'Een goed begin...'



Centrale preanalyse / Ziekenhuishygiëne voor de preanalyse /
Hepatitis E / Omgaan met werkdruk / Casuïstiek /
Forensisch onderzoek en richtlijnen

CONGRESCENTRUM DE EENHOORN AMERSFOORT
DONDERDAG 07/03/2019





Hoeveel invloed heb je op je werktijdregeling?

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: er ligt een plan om de werktijden op het lab nogal drastisch te wijzigen. Heb ik daar nog invloed op, en zo ja, hoe dan?

Voor een (wijziging van de) werktijdenregeling is instemming nodig van de OR (ondernemingsraad), dat staat in de WOR (Wet op de Ondernemingsraden, art.27.1). De OR zal eerst kijken wat de aanleiding is om de roosters te wijzigen; daarna of de voorgestelde wijzigingen passen bij de beweegredenen. En: zijn de gevolgen voor de betrokkenen redelijk of onredelijk? Het eventuele commentaar van de OR kan leiden tot wijziging van de voornemens.

Maar het is ook mogelijk dat de OR zich niet wil bezighouden met de werktijdregeling van iedere afdeling van het ziekenhuis apart. Dan kan zij een 'kaderregeling' afspreken (art. 28.2 WOR: delegeren van bevoegdheden). Met zo'n kaderregeling kan iedere afdeling zelf de werktijden regelen. Wat zou er in zo'n kaderregeling moeten staan?

1. De participatie en inspraak van betrokkenen moet goed geregeld zijn: eerst kijken wat het probleem precies is, en dan met de medewerkers bespreken wat de beste oplossing is, waarbij inbreng van de werknemers serieus overwogen wordt.
2. Dat de werktijdenregeling binnen de arbeidstijdenwetgeving moet passen;
3. Dat wijziging van het arbeids- en rusttijdenpatroon

minimaal 28 dagen van tevoren bekend moet zijn bij de werknemer (cao Z. art 6.7, cao Umc art.???)

4. Dat er gebruik wordt gemaakt van voorwaarts roteren (een volgende dienst begint steeds op dezelfde tijd of later; zo is er altijd voldoende rusttijd tussen de diensten);
 5. Dat er bij onvoldoende werkcapaciteit gezocht wordt naar andere oplossingen dan een wijziging van werktijdenregeling (bijvoorbeeld inzet personeel van andere afdelingen, uitzendkrachten);
 6. Hoe er omgegaan wordt met verworven rechten;
 7. Welke afbouwregeling er is voor degenen die door een nieuwe werktijdenregeling in de problemen komen;
 8. Borg de mogelijkheid voor een klachtenprocedure.
- Sowieso is het raadzaam om bij een nieuwe werktijdenregeling het personeel inspraak te geven volgens bovenstaande richtlijnen.

Dus samenvattend: mocht er bij jou een nieuwe werktijdregeling in de maak zijn, check dan bij de OR of er wellicht een kaderregeling afgesproken is. Zo niet, dan kun je de bezwaren van jezelf en/of je collega's doorgeven aan de OR en vragen of zij dit inbrengen bij de bespreking.

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.

Medio februari opent de nieuwe website!



Nieuws

Protocollen: administratieve overlast of nuttig?

Vanaf de veilige zijlijn wil ik graag het volgende met jullie delen: reageren mag!

ISO stond dat niet voor: Is Soms Overbodig? Wat is het toch, dat bijna iedereen in de stress schiet als het woord ISO door de kwaliteitsfunctionarissen weer ter sprake wordt gebracht? Op het lab moeten we nu als de wiedeweerga alle SOP's (Soms Ook Praktisch) weer bekijken en aanpassen.

De hele ontwikkeling van kwaliteit en verslaglegging op allerlei gebied heb ik jaren van dichtbij mee mogen maken. Eerlijkheidshalve moet ik eerlijk zeggen dat ik als leidinggevende mij herhaaldelijk heb afgevraagd: waar zijn we nou met z'n allen mee bezig? Moet dit nu allemaal? Schieten we niet door in sommige zaken? Houden we elkaar zo mooi bezig? En vooral wie gaat dit allemaal doen? Het nut van een SOP is natuurlijk duidelijk: een (vooral) korte en duidelijke uitleg van wat er moet gebeuren en onder welke voorwaarden. Een werkvoorschrift, maar dan in een uniform jasje, en dan heel goed kijken of je niet alles gaat beschrijven.

Een praktijkvoorbeeld: hoe bedien ik de buispost? Druk op 1, druk op... etc. Dan schieten we ons doel duidelijk voorbij en hebben we binnen de kortste keren 240 SOP's. Nu terug naar de stress... Een jaar is zo voorbij, dus plannen en

bijhouden is het praktische recept. Goed afspreken van wie doet wat en het gezonde verstand gebruiken. Er wordt in deze wereld al hééél veel geregeld en vaak ook overgeregeld. Hou het overzichtelijk, en zeer belangrijk: voor iedereen begrijpelijk. Zorg dat de SOP's zichtbaar bij de dagelijkse praktijk horen. Neem iedereen van de praktijk zoveel mogelijk mee in het proces. Samen verantwoordelijk zijn werkt toch vaak wel.

Zo'n stukje als bovenstaand kan iedereen wel schrijven (is ook geen SOP). Er zijn zeker al veel labs waar dit goed geregeld is. Mooi, kunnen we van elkaar leren! Graag dus jullie reacties!! Dan kunnen we dat in de toekomst, als er behoefte aan is, een keer met elkaar delen en landelijk eens bekijken hoe we deze stressfactor in het werk tot een minimum kunnen beperken.

Kor Kooi

Reageren kan naar nvml@nvml.nl, onder vermelding van: protocollen. Eventueel kunnen (delen) uit uw inbreng in Analyse gepubliceerd worden, maar wij vragen daar altijd eerst uw toestemming voor.

Dag van de Analist

Vier de dag van de Analist!



Analisten uit verschillende umc's (Radboudumc, Leiden UMC, UMC Groningen, en UMC Utrecht) slaan de handen ineen en hebben de intentie de dag van de analist te vieren op 15 april aanstaande. Internationaal staat 15 april al in het teken van de 'Biomedical Laboratory Science day' vandaar dat we voor deze datum gekozen hebben.

In het RadboudUMC zal een labsafari plaatsvinden waarbij analisten een kijkje in de keuken kunnen nemen op een ander lab met als doel kennis te delen, mobiliteit te bevorderen en meer zichtbaarheid te creëren voor de werkzaamheden van de analist. 'Uiteraard ook omdat het vooral heel leuk is om eens bij één van je collega's te gaan kijken' aldus het Radboud Analisten Platform (RAP) dat vorig jaar ook een labsafari georganiseerd heeft in het Radboudumc dat met veel enthousiasme werd ontvangen.

Aan de umc's uit Leiden, Groningen en Utrecht is de optie om een labsafari intern te organiseren al voorgelegd. Bij

deze willen we de overige umc's ook oproepen mee te doen een labsafari op 15 april 2019 te organiseren voor analisten intern en op deze manier de dag van de analist mee te vieren!

Jeroen van den Heuvel, NVML-werkgroep umc's, RAP / Radboudumc

De NVML ondersteunt dit mooie initiatief. Met de ervaring van de umc's wil de NVML dit initiatief volgend jaar uitbreiden naar de overige biomedische laboratoria. Wij houden u op de hoogte. Voor vragen: nvml@nvml.nl

CONGRES

Spring Event 2019

NIEUW DIT CONGRES:
Interactieve
Spring Event App met
o.a. nieuwsupdates
en programma

Beschikbaar vanaf
april 2019



**‘Samen naar
de toekomst’**

Presentatie van onze speciale
gast: cabaretier/filosoof

Paul Smit

Parallelsessies in 4 zalen:

Preanalyse, Point of Care Testing, Pathologie,
Medische Microbiologie, Klinische chemie,
Immunologie en Kwaliteit

LOCATIE: THEATER BUITENSOOS, ZWOLLE

DINSDAG 21/05/2019



NVML

In memoriam Jean Bonga

In december kregen we het bericht dat oud-voorzitter en bestuurslid Jean Bonga is overleden op 79-jarige leeftijd. De crematie heeft in familiekring plaats gevonden.

Jean heeft vele jaren zich met grote gedrevenheid ingezet voor het beroep van medisch analist. Als docent aan de Hogeschool van Amsterdam heeft ze de kwaliteit en het niveau van de studenten aan de HLO-opleiding met argusogen bewaakt.

Het is dan ook vanuit die optiek dat ze in 1992 als bestuurslid en later als voorzitter, zich inzette voor het landelijk Platform Onderwijs bij het MLO en HLO. Toen ze aantrad bij destijds de Vereniging van Medisch Analisten (VvMA) telde deze een aantal afdelingen met ieder een eigen bestuur. De afdelingen werden onder haar leiding opgeheven in 1998 om twee redenen: er waren steeds minder bestuursleden te vinden en er was nauwelijks structurele nascholing. Besloten werd een netwerk van vertegenwoordigers op te stellen en de nascholing vanuit het bureau in Utrecht landelijk op te zetten met professionele medewerkers, afkomstig uit de beroepsgroep. Dit bleek zeer succesvol en het huidige bestuur heeft deze trend voortgezet en uitgebreid met de moderne communicatiemiddelen zoals e-learning.

Ook internationaal heeft zij zich samen met medebestuurders ingezet om het Europees Professional Dossier te optimaliseren; alle leden van Europese Verenigingen kunnen hierin hun nascholingen laten accrediteren. Een leven lang leren was hierbij het motto.

Verder is Jean de motor geweest van de naamswijziging van de vereniging. Met name zij was van mening dat de naam 'analist' in dit tijdperk onvoldoende de lading dekte. Vanaf het 50-jarig jubileum in 1996 ging de vereniging



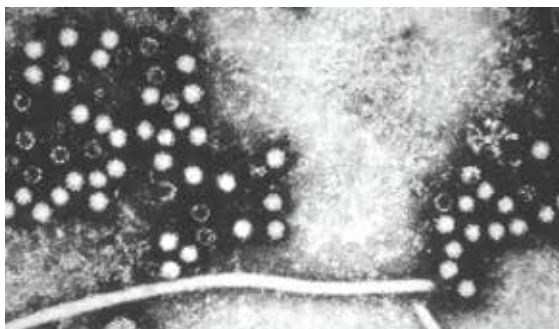
verder onder de naam NVML (Nederlandse Vereniging van bioMedisch Laboratoriummedewerkers).

We houden Jean in herinnering als een markante persoonlijkheid die zich bijna 10 jaar heel actief heeft ingezet voor de NVML.

*Annelia Govers
Oud-directeur NVML*

Wat is het?

Wat is het?



De 'Wat is het?' uit Analyse 6 is niet geraden. We plaatsen hem nog 1 keer. Wat staat hieronder op de foto? Hint: het heeft te maken met een van de artikelen in Analyse 6. Het antwoord kun je sturen naar nvml@nvml.nl onder vermelding van 'Wat is het?'. Oplossingen kunnen ingestuurd worden tot 8 maart 2019. De winnaar ontvangt een prijs. De winnaar en de oplossing worden bekend gemaakt in Analyse nummer 2 van 2019.

Hogeschool Leiden

Centrum Bioscience en Diagnostiek

Titel: Klinische chemie
Datum: 5, 19 maart, 2, 9, 16 en 23 april 2019 (09.30-15.00 uur)
Inschrijven: Vóór: 19 februari 2019
Prijs: € 1.990,-

Titel: Timemanagement in het lab
Datum: 8 maart en 10 mei 2019 (09.30-16.30 uur en 09.30-12.30 uur)
Inschrijven: Vóór: 15 februari 2019
Prijs: € 950,-

Titel: Macroscopie van de huid
Datum: 12 maart en 14 mei 2019 (09.30-16.00 uur)
Inschrijven: Vóór: 26 februari
Prijs: € 815,-

Titel: Professionele communicatie in het lab
Datum: 22 maart, 5 april en 24 mei 2019 (09.30-16.30 uur)
Inschrijven: Vóór: 22 februari 2019
Prijs: € 950,-

Titel: Markers en panels in de diagnostiek van testis en ovarium tumoren
Datum: 10 en 17 mei 2019 (09.30-15.00 uur)
Inschrijven: Vóór: 26 april 2019
Prijs: € 815,- (bij inschrijving vóór 1 maart 2019 € 775,-)

Titel: Kwaliteitsaspecten en 'trouble-shooting' bij PCR technologie
Datum: 13, 20 en 27 mei 2019 (09.30-15.00 uur)
Inschrijven: Vóór: 1 april 2019
Prijs: € 1.275,- (bij inschrijving vóór 4 maart 2019 € 1.160,-)

Titel: In situ hybridisatie
Datum: 14 en 21 mei 2019 (09.30-15.00 uur)
Inschrijven: Vóór: 2 april 2019
Prijs: € 800,- (bij inschrijving vóór 3 februari 2019 € 730,-)

Titel: Analyse van next generation sequencing (NGS) data
Datum: 4 en 5 juni 2019 (09.30-16.00 uur)
Inschrijven: Vóór: 23 april 2019
Prijs: € 880,- (bij inschrijving vóór 26 maart 2019 € 805,-)

Titel: Praktijkcursus Bloedcelmorfologie van normale tot bijzondere bloedbeelden
Datum: 6, 13 en 20 juni 2019 (18.00-20.30 uur)
Inschrijven: Vóór: 25 april 2019
Prijs: € 570,- (bij inschrijving vóór 28 maart 2019 € 520,-)

Titel: Workshop Primer en probe design
Datum: 18 en 19 juni 2019 (09.30-16.00 uur)
Inschrijven: Vóór: 7 mei 2019
Prijs: € 820,- (bij inschrijving vóór 9 april 2019 € 750,-) H

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

Fontys Hogeschool

Toegepaste natuurwetenschappen

Titel: Post HBO cursus Immunologie
Data: 21 maart 2019 t/m 20 juni 2019, 12 avonden
Locatie: Rachelsmolen 1, Eindhoven
Kosten: € 975- (inclusief studiemateriaal)

De cursus wordt (bij voldoende deelname) georganiseerd voor laboratoriummedewerkers die bij voorkeur werkzaam zijn in een klinisch chemisch laboratorium of een hematologisch laboratorium. Voor aanmelding en aanvullende informatie kunt u een bericht sturen naar tnwcursussen@fontys.nl

Avans Hogeschool Breda

In 2019 worden de volgende internationale cursussen georganiseerd:

Titel: Course Variant effect prediction
Data: 2, 3, 4 en 5 april 2019 (4-daagse cursus)
Locatie: Avans Hogeschool, Lovensdijkstraat 63, Breda
Kosten: €900,- (including course materials and lunch)

Titel: Cursus Flowcytometrie, van Kalibratie tot applicatie.
Data: 2, 9 en 16 april 2019 van 16:00 tot 18:30.
Locatie: Bibliotheek van afdeling Immunologie (kamer Na-1201) Erasmus MC, Wytemaweg 80, 3015CN Rotterdam
Kosten: €600,- (inclusief theoretisch naslagwerk)

Titel: Cursus Mohs micrografische chirurgie, Een praktische benadering voor analisten.
Data: 14 en 21 mei 2019.
Locatie: Avans Hogeschool, Lovensdijkstraat 63, 4818 AJ Breda
Kosten: €750,- (inclusief cursusmap, cursusboek 'introduction to Mohs Cryotomy, drank en lunches)

Voor meer informatie over deze cursus verwijst ik u graag naar onze website: www.alsavans.nl.
 Voor vragen, neem contact op met: Mevr. Deborah Herremans, Tel: +31 (0)88 525 5799; e-mail: dwe.herremans@avans.nl

Hogeschool Utrecht

Institute for Life Sciences & Chemistry, Heidelberglaan 7, Utrecht

Cursus: Hematologie
Data: Dinsdagen 5, 12, 19, 26 maart, 2, 9, 16, 24 april 2019
Tentamen: 14 mei, hertentamen 28 mei 2019.
Omvang: 8: bijeenkomsten van 18.00 – 21.30 uur.
Kosten: € 1.450,- (vrij van BTW)

Cursus: Using R for Data Analysis
Data: Donderdagen 11, 18, 25 april en 9, 16, 23 mei 2019
Omvang: 6 bijeenkomsten van 12.30 – 17.00 uur
Kosten: € 1.750,- (vrij van BTW)

Kijk op onze website www.hu.nl en u vindt onder Deeltijdopleidingen, Natuur en techniek, Life Sciences & Chemistry ons volledige cursusaanbod of kies voor keuzemodules uit het bacheloronderwijs.

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

Index 2018

De index van Analyse van 2018 zal binnenkort op de website geplaatst worden. Hou www.nvml.nl in de gaten!

Cursus: Malaria diagnostiek is vernieuwd en heet nu: **Malariadiagnostiek, basiscursus (2 dagen)**

Algemeen

Deze 2-daagse cursus is gericht op analisten die nog geen of weinig ervaring hebben met malaria diagnostiek. De cursus besteedt aandacht aan alle aspecten van malaria diagnostiek in een routine laboratorium.

Leerdoelen en opzet

De cursus is vooral op de praktijk gericht. Zelf oefenen in het maken, kleuren en beoordelen van dikke druppel- en uitstrijkpreparaten staat centraal. Theorie van malaria diagnostiek wordt beknopt behandeld,

waardoor zelfstudie voorafgaande aan de cursus aangeraden wordt (bijv. de relevante hoofdstukken uit Medische Parasitologie, 5^e druk.

Docenten

Dr. J. van Hellemond, parasitoloog, Erasmus MC, Rotterdam
Dhr. R. Koelewijn, hoofdanalist parasitologie, Erasmus MC, Rotterdam

Datum, tijdstip en locatie

Datum: dinsdag 28 mei en 4 juni 2019
Tijd: van 9.00 tot 17.00 uur

Locatie: Erasmus Medisch Centrum, 's-Gravendijkwal 230, 3015 CE Rotterdam. Exacte locatie in Erasmus MC volgt na inschrijving.

Niveau

Post HBO

Accreditatie

NVML: 25 UEC
NVP-certificatie

Kosten

Voor leden € 495,- en voor niet-leden € 570,-, koffie/thee/lunch en reader zijn daarbij inbegrepen. NVML-leden kunnen persoonlijk via de 'geld-terug-bon' achteraf een gedeeltelijke terug-gave claimen.

Aantal deelnemers

Minimaal 10 en maximaal 20 deelnemers

Aanmelding

Via de website van de NVML.

De volgende onderwerpen worden tijdens de cursus behandeld:

- Ziektebeeld, epidemiologie, behandeling malaria (theorie)
- Sneltesten (theorie en praktijk)
- Maken dikke druppel- en uitstrijkpreparaten (praktijk)
- Kleuren van preparaten: Giemsa versus snelkleuringen (theorie en praktijk)
- Morfologische kenmerken 5 humane *Plasmodium* soorten (theorie)
- Beoordeling van dikke druppel- en uitstrijkpreparaten (theorie en praktijk)
- Bepaling van de parasitaemie (theorie en praktijk)
- Quantitative Buffy Coat (QBC) analyse (theorie & demonstratie)
- Overige diagnostische methoden: PCR en serologie (theorie)

Agenda

Maart	5	NVML-cursus Beenmergdiagnostiek in de dagelijkse praktijk (A)	Utrecht
	7	NVML-congres Preactalyse	Amersfoort
	11	NVML-nascholing Immunotherapie; wij kunnen er niet meer omheen!	Veldhoven
	11	Bijscholing Hemostase: laboratoriumaspecten (Maastricht UMC+)	Maastricht
	18	Bijscholing Transfusie: laboratoriumaspecten (Maastricht UMC+)	Maastricht
	21	start NVML-cursus Stagebegeleiding (B)	Utrecht
April	2	Themadag hoofdanalisten WHAPA	Amersfoort
	9	start NVML-cursus Meewerkend leidinggevende plus (B)	Utrecht
	11	NVML-cursus Hemoglobinopathieën	Utrecht
Mei	21	NVML Spring Event	Zwolle
	21	ALV	Zwolle
	23	BCF-Career Event voor o.a. Life Sciences	Utrecht
	24	Congres Spaanse beroepsvereniging 'Biopsia Liquida' (meer info op de website)	Coruna, Spanje
	28	start NVML-cursus Basiscursus malariadiagnostiek (vernieuwd)	Rotterdam



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



Save time and consolidate

Space for controls on your analyzer is at a premium.

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



MAS
Omni•CARDIO



MAS
Omni•IMMUNE Pro



MAS
Omni•IMMUNE



MAS
Omni•CORE

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

Find out more at thermofisher.com/QC

ThermoFisher
SCIENTIFIC



Labquality – EQAS

Externe Kwaliteitsrondzendingen voor uw Laboratorium

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

Klinische Chemie

Haematologie

Point-of-Care

Immunologie

Microbiologie

Moleculaire Diagnostiek

Pathologie

Pre-analyse

Veterinair

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

LABQUALITY

www.labquality.com

