



Vak

2.B.1

Samenvatting

Zelfstudieopdrachten week 3

Zelfstudieopdrachten

ZO 1: RESERVOIRS, TRANSMISSIE EN PREVENTIE VAN M. TUBERCULOSIS

Tuberculose is een ziekte veroorzaakt door infectie met bacteriën van het Mycobacterium tuberculosis-complex (dit is een groep mycobacteria die tuberculose kunnen veroorzaken). Preventie van tuberculose is in Nederland de taak van de gemeentelijke gezondheidsdienst (GGD).

Besmettingen met *M. tuberculosis* verlopen van mens tot mens. Er zijn verschillende vormen van bestrijding:

- Screenen van risicogroepen met de Mantoux-test
- Röntgendiagnostiek
- Vaccinatie door middel van BCG

Outbreak management is een belangrijke mogelijkheid tot opsporing en preventie (binnen het ziekenhuis doet de infectiepreventie dit en extramuraal de GGD). In geval van een ontdekte open tuberculose (besmettelijke variant van tuberculose), worden contacten van de patiënt gecontroleerd. Hierbij begint men bij de nauwste contacten. De kring van contacten wordt uitgebreid naar gelang het aantal nieuwe gevonden tuberculosebesmettingen die daarbij gevonden worden.

Casus

- Man, 65 jaar oud, heeft tot zijn 63^{ste} levensjaar 10 jaar gewerkt in Kazakstan als ontwikkelingswerker. Nu is hij studentenbegeleider aan de Universiteit van Wageningen.
- Voorgeschiedenis: arteritis temporalis. Als behandeling kreeg hij hoge dosis prednison (60 mg).
- Drie maanden hierna: hemoptoë, moe, hoesten vooral in ochtend (met wit sputum en af en toe een sliertje bloed), matige dyspnoe
- De man wordt opgenomen in het ziekenhuis. Aanvullend onderzoek: BSE (benzinkingssnelheid erythrocyten) is 100 mm/uur. Dit is veel te hoog. De leukocyten zijn laag normaal. Verder zijn er geen afwijkingen.
- De man heeft 20 pack-years, en drinkt 2-4 glazen alcohol per dag.
- X-thorax: rechtsboven een schaduw in de long
- Bronchoscopie: geen afwijkingen zichtbaar
- Banale kweek: geen resultaten
- Onderzoek op tuberculose geeft een negatief auraminepreparaat (auramine kleurt tuberculose bacterie). Volgens protocol worden er een aantal sputumkweken ingezet op tbc. Er zijn minimaal drie kweken vereist om de tbc diagnose te bevestigen dan wel te verwerpen, omdat het ophoesten van mycobacteriën onvoorspelbaar is. Bovendien verhoog je de sensitiviteit door meer materiaal te bewerken.

Differentiaal diagnose

1. Bronchuscarcinoom
2. Tuberculose
3. (a)typische pneumonie
4. Emfyseem

De diagnose is onduidelijk en men verhoogt voor de zekerheid zijn dosis prednison. Hierdoor voelt meneer zich wel wat beter. Na ongeveer twee weken blijkt dat de auramine van het derde sputumpreparaat positief (3+) is. De voorlopige diagnose tuberculose wordt gesteld. Patiënt moet nu naar een eenpersoonskamer overgebracht worden, om expositie aan andere patiënten en personeel te voorkomen. Iedereen die deze kamer betreedt dient een speciaal tbc masker te gebruiken. De patiënt ligt nu in isolatie voor aërogeen overdraagbare ziekten. Personen met wie de patiënt contact had, moeten geïdentificeerd worden. Je hoeft niet acuut tuberculostatika te starten, dat kan ook een dag wachten.

In het ziekenhuis moet men de expositie aan andere patiënten en personeel inschatten door alle contacten te identificeren, die doe je door te vragen

- hoelang de patiënt al is opgenomen
- met wie hij op een kamer heeft gelegen.
- waar de patiënt woont (indien hij of zij in een verzorgingshuis woont, heeft dit consequenties voor de bewoners. De GGD van de betreffende woonplaats moet ingelicht worden.)
- Als het personeel niet regelmatig gescreend wordt op tbc, dan moet men hen oproepen. Indien er wel regelmatig gescreend wordt, dan kan het eerstvolgende onderzoek gescreend worden.
-

De isolatie moet ook tijdens de therapie gehandhaafd worden totdat er is aangetoond dat het sputum auramine weer negatief is. Ook na twee weken therapie is aerogene besmetting nog mogelijk. Belangrijk is niet het normale chirurgische masker voor isolatie te gebruiken, maar een speciaal masker voor de verpleging van o.a. besmettelijke TBC patiënten: het FFP2 masker.

De man slikt zijn drie tuberculostatica erg trouw, maar toch blijven zijn klachten onverminderd. Uit de kweek blijkt dat de bacterie INH resistent is. INH staat voor isoniazide. INH resistentie komt niet veel voor in Nederland, maar wel in de voormalige Sovjet unie, bijv. in Kazakstan.

Risicogroepen

- Asielzoekers en overige immigranten uit landen met een hoge tuberculoseprevalentie
- Gedetineerden
- Gezinsleden, verzorgers, partners en andere contacten van besmettelijke bronpatiënten
- Oud-patiënten (niet of inadequaet behandeld)
- Drugsverslaafden
- Illegalen
- Zeevarenden
- Dak- en thuislozen
- Immunogecompromitteerden: AIDS, verminderd CD4+-getal

Contactonderzoek

Tuberculose valt volgens de infectieziektewet onder aangifteplichtige groep B. Daarom dient de arts die de ziekte vaststelt bij de GGD aangifte te doen voor bron- en contactonderzoek volgens de infectieziektenwet. Naast de arts moet het hoofd van het laboratorium ook melding doen bij het vaststellen van een verwekker van een meldingsplichtige ziekte. Bepaalde infectieziekten moeten worden aangegeven om de incidentie in de maatschappij vast te stellen, met het doel adequate preventieve maatregelen te kunnen nemen. Volgens de infectieziektewet moeten de volgende infectieziekten aangegeven worden:

- **Groep A:** bij vermoeden al melden, zoals polio, pokken, SARS, virale hemorrhagische koorts
- **Groep B:** melden na definitieve diagnose, zoals botulisme, buiktyphus, bacillaire dysenterie, cholera, difterie, febris recurrens, hepatitis A, B en C, hondsdolheid, kinkhoest, mazelen, mengokokkose, paratyphus ABC, pest, tbc, virale hemorrhagische koorts, vlektyphus, acute voedselvergiftiging.

Bij een positief sputumpreparaat ga je over op bron- en contactopsporing. Contactopsporing wordt ingesteld volgens het ringprincipe naar aanleiding van de vaststelling van een nieuw geval van besmettelijke tuberculose. Wanneer in de directe omgeving (de eerste ring) van de indexpersoon geen infecties worden aangetoond, wordt het onderzoek in de regel niet verder uitgebreid naar personen met minder frequent contact (de tweede en volgende ringen).

Een besmetting met tuberculose wordt aangetoond door middel van de Mantoux-test of door een röntgenfoto van de thorax. Mantoux test wordt gebruikt voor contactonderzoek in laag endemische bevolkingen. Een Mantoux test is niet zinvol na BCG-vaccinatie en niet geschikt voor diagnostisch onderzoek bij individuele patiënten. Röntgendiagnostiek wordt gebruikt voor screening bij mensen uit hoog-endemische (waar het vaak voorkomt = hoog risico gebieden) gebieden of bij mensen die ooit BCG-vaccinatie hebben gehad.

Als instrument bij het bron- en contactonderzoek kan gebruik gemaakt worden van de DNA-fingerprint van M. tuberculosis-isolaten. Identieke fingerprints wijzen op epidemiologisch verband tussen de betreffende tuberculosegevallen.

Bij een positieve Mantoux-test zie je een induratie (onderhuidselweefselverharding) van 10 mm of meer, dat zo'n 72 uur na het zetten van de Mantoux ontstaat op de plaats van enting. Personen die positief zijn voor de Mantoux-test, krijgen een profylactische behandeling (INH). Personen die negatief zijn voor de Mantoux-test, krijgen een herhaling van de test na enige tijd als ze in de eerste ring van contactonderzoek zitten.

Een aantal studenten van onze patiënt hebben positieve Mantoux testen. Het is waarschijnlijk dat zij de ziekte door hun docent hebben gekregen, omdat slechts 1% in de groep van 20-30 jaar Mantoux positief is in Nederland. Verder van belang:

- Zijn de studenten van autochtone of allochtone afkomst?
- Hebben zij BCG vaccinatie (tegen tuberculose) gehad?
- Hebben zij voor langere perioden in ontwikkelingslanden doorgebracht?
- Zijn er mogelijk nog andere bronnen in de buurt (geweest)?

De patiënt komt ook geregeld in een café. Bezoekers van dit café moeten ook onderzocht worden. Oproep via de media en andere kanalen om bij de GGD te melden voor Mantoux onderzoek zijn enkele manieren om te werk te gaan. Je moet voorlichting geven over het gelopen risico. Mensen zijn niet verplicht om te komen. Van de 300 vaste klanten komen er 100 opdagen. Eén persoon blijkt besmet te zijn. Dit is niet meer dan je in deze bevolkingsgroep zou verwachten. Het risico in de tweede kring lijkt niet erg hoog te zijn geweest. De derde kring wordt daarom niet onderzocht.

Resistentie

Landen met een streng behandelregime zouden in theorie weinig resistente tbc moeten hebben. Als een tbc-bacterie resistent wordt, is dat meestal het gevolg van een verkeerde behandeling: de arts kan verkeerde medicijnen voorschrijven, de apotheek kan de verkeerde medicijnen afleveren, de medicijnen zijn van slechte kwaliteit en/of de patiënt kan de medicijnen verkeerd of niet innemen. Tbc wordt dus resistent als de ziekte niet meteen afdoende wordt bestreden. Er wordt onderscheid gemaakt tussen verschillende maten van resistentie:

- Monoresistentie. Dit is resistentie tegen één tuberculose-medicijn. Soms is hierdoor aanpassing van de behandeling nodig.
- Multi Drug Resistant Tuberculosis. Een MDR-TB is resistent voor tenminste INH en Rifampicine, ongeacht andere resistenties.
- Extensively Drug Resistant Tuberculosis. Bij XDR-TB bestaat er naast de resistenties die voorkomen bij de MDR-TB óók resistentie tegen tenminste een van de fluorquinolonen en tevens tegen minimaal één van de drie injectable agents uit de tweedelijnsmedicatie tegen tuberculose (Amikacine, Kanamycine of Capreomycine). De oorzaak van deze resistente vorm is, net als het ontstaan van andere resistenties, een slecht functionerend tb-bestrijdingsprogramma. De resistenties zijn 'man-made': hiermee wordt bedoeld dat de bacterie de gelegenheid heeft gekregen door onvoldoende dosering van onvoldoende middelen tegelijk in een aantal stappen een voor een resistent te worden tegen de gebruikte geneesmiddelen.

Als een patiënt wordt besmet met een al resistente bacterie heet dit een primaire resistentie. Als de bacterie pas tijdens de behandeling resistent wordt, gaat het om een secundaire resistentie. Bij resistentie geef je tweedelijns geneesmiddelen.

ZO 2: EEN KIND MET ZWELLING VAN DE HALS EN KOORTS

Zichtbare zwellingen worden door omstanders al snel geduid als zijnde kwaadaardig, en vormen daarom reden voor veel onrust en doktersbezoek. Zwelling van de hals komt veel voor bij kinderen, maar vaak is het niet pathologisch. Als het pathologisch is, is het bij kinderen vaker infectieus dan oncologisch. Bij slechts 1% van de kinderen met het symptoom lymfadenopathie is er sprake van een maligniteit.

Normale lymfeklieren hebben vier basiskenmerken:

- Plat en boonvormig
- Elastisch of week aanvoelend
- Cervicaal < 1 cm doorsnede
- Inguinaal < 2 cm doorsnede

Differentiaal diagnose

Bij lymfadenopathie kan je een differentiaal diagnose maken van zes hoofdgroepen:

1. Infectieziekten
2. Immunologische ziekten
3. Maligniteiten: bij kinderen is dit maar in 1% van de gevallen zo.
4. Stapelingsziekten
5. Endocriene ziekten
6. Menggroep

Elke factoren bij lymfadenopathie die meer passen bij maligne of benigne zijn:

Maligne	Benigne
Solitaire klier	Multiple klieren
Vast-elastisch	Elastisch
Niet pijnlijk en niet gevoelig	Pijnlijk en gevoelig
Oudere leeftijd	Jongere leeftijd
Risicofactoren (roken)	Geen risicofactoren
Supraclaviculaire lymfeklier	

Casus I

Een 8-jarige jongen met adenotonsillectomie (keel- en neusamandelen eruit knippen) ondergaan op vierjarige leeftijd. Nu heeft hij vergrote lymfeklieren links in de hals. Ze zijn in vier weken langzaam gegroeid. Hij is allergisch voor katten. Hij is niet ziek en niet verkouden geweest. Hij heeft geen koorts, geen aanvallen van nachtzweeten en is niet afgevallen. De zwellingen in zijn hals zijn niet pijnlijk. De 3 zwellingen zijn mobiel, vast-elastisch en hebben een diameter van 2,5-3,0 cm. De huid is niet verkleurd. De zwellingen zijn niet pijnlijk. De zwellingen zijn mobiel en zitten niet vast aan huid of onderlaag. Er is geen fluctuatie. Overige lymfeklierstations zijn vrij, lever en milt zijn niet palpabel. De huid is niet verkleurd.

Vervolgonderzoeken

- BSE/CRP. BSE is de snelheid waarmee de rode bloedcellen in een buisje bloed naar beneden zinken. Bij ontstekingen zijn bepaalde eiwitproducten (in het bijzonder fibrinogeen) in het bloed te vinden. Deze zorgen er voor dat de oppervlakte van de erythrocyten verandert van elektrische lading, waardoor zij meer samenklonteren dan anders en sneller naar beneden zakken. De BSE zegt echter weinig over de oorzaak van die ontsteking. De BSE wordt gemeten in mm van de heldere kolom plasma die op de neergezakte erythrocyten ligt. Normaal is dit onder de 10 mm per uur.

- Bloedbeeld:

- Leucocyten (normaal: $4.0-10.0 \times 10^9 /l$)
- Leukocytendifferentiatie (eosinofielen 0-6%, segmentkernigen 28-64%, lymfocyten 24-58% en monocyt 1-11%)
- Hemoglobuline (normaal: 6.6-9.3 mmol/l)
- Thrombocyten (normaal: $150-450 \times 10^9 /l$)

- Echo

- De grootte van de lymfeklieren of het lymfeklierenpakket: hier uitgebreide vergrote lymfeklieren/lymfeklierenpakket

- Aspect van de vergrote klieren: hier homogeen
- Aanwezigheid van necrose: hier geen necrose of centrale verweking.
- Serologie
 - Epstein Barr Virus (EBV)
 - Bartonella Henselae (kattenkrabziekte)
 - Anti Streptolysine Titer (AST). Dit is een antistof gericht tegen streptolysine, een bacterieel toxine van de groep A streptococci.

Een casus zoals de bovenbeschreven casus kan door vele onderliggende ziekten worden veroorzaakt. Hieronder worden enkele infecties behandeld die in de differentiaal diagnose opgenomen zouden moeten worden.

1. Bartonella henselae infectie

Bartonella henselae is de belangrijkste oorzaak voor de kattenkrabziekte (infectieuze lymfadenitis). Het komt door een katten krab of beet en bacillary angiomatosis (vaak bij mensen met AIDS). Kenmerken van de kattenkrabziekte bij gezonde mensen: vergrote lymfeklieren in de rechter axilla en verhoging in de titer van antilichamen tegen *B. Henselae*. Behandeling: antimicrobieel. Deze groeit langzaam.

2. Groep A Streptococci infectie

Het geslacht *Streptococcus* bestaat uit een groep Gram-positieve cocci (rond). De groep is aan de hand van een combinatie van antigene, hemolytische en fysiologische kenmerken in te delen in groepen A, B, C, D, F, en G. Groep A kan de mens infecteren via besmet voedsel. Het is een soort met 40 antigene typering (Streptococci pyogenes).

Groep A streptococcus (GAS) is een bacterie die vaak gevonden kan worden in de keel en op de huid. Mensen kunnen GAS met zich meedragen zonder enige symptomen. Vaak blijven de GAS-infecties ook vaak relatief mild en geven ze alleen wat keelpijn. In zeldzame situaties kunnen ze echter levensbedreigende situaties veroorzaken

Besmettelijkheid

De bacteriën verspreiden zich via direct contact met de mucosa van een keel of neus van geïnfecteerde personen of via contact met wondjes op de huid. Vooral zieke personen kunnen de infectie verspreiden. Personen die de bacterie wel dragen, maar geen symptomen hebben, zijn veel minder besmettelijk.

Groep A Streptococcus is een van de hoofdoorzaken van infecties in de bovenste luchtwegen van mensen. Zij zijn bijna altijd hemolytisch en veroorzaken verschillende ziektebeelden (keelontsteking bij kinderen, pyoderma, glomerulonefritis en acute rheuma). De vaakst voorkomende Groep A streptokokkenziekte is pharyngitis.

Symptomen

Het organisme veroorzaakt sepsis, pijnlijke keel en roodvonk. Symptomen zijn pijnlijke en rode keel, pijn tijdens slikken, ontstoken smaakpapillen, hoge koorts, hoofdpijn, misselijkheid, overgeven, loopneus. Soms kan ook uitslag ontstaan. De incubatietijd is 1-3 dagen. Je behandelt deze bacterie met penicilline (Broxil, Amoxicilline).

3. Epstein Barr Virus

Het Epstein-Barr virus (EBV) behoort tot de herpesvirussen. Het veroorzaakt onder anderen de ziekte van Pfeiffer. Dat is een acute ziekte die voorkomt bij kinderen en jongvolwassenen.

Symptomen

Kenmerken zijn koorts, een zere keel, opzwellen van de lymfklieren en in ernstige gevallen vergroting van de lever en de milt. Voordat deze specifieke symptomen beginnen kunnen klachten zoals vermoeidheid en een algemeen gevoel van zich slecht voelen (malaise) voorkomen. De symptomen van de ziekte van Pfeiffer worden voor het grootste gedeelte veroorzaakt door de immunrespons op de Epstein-Barr virus infectie van het lichaam.

Het hele leven lang zal het virus latent aanwezig blijven in het lichaam. Latent wil zeggen dat het virus er wel zit, maar dat het niet opnieuw ziekte veroorzaakt.

Incubatieperiode

De periode tussen het moment van besmetting en het verschijnen van symptomen, de incubatieperiode, is ongeveer vier tot zeven weken. De overdracht van het virus vindt meestal plaats via speeksel en het wordt daarom ook wel de 'kissing disease' genoemd.

Diagnostiek

Om de diagnose te stellen wordt vaak gebruikgemaakt van een weefselkweek of serologie. Met weefselkweek is het wel mogelijk om het Epstein-Barr virus aan te tonen, maar dat is een moeilijke methode en het duurt tussen 30 en 90 dagen voordat er resultaten bekend zijn.

Een betere methode om het virus aan te tonen is het onderzoeken van het bloed, serologie. Er zijn verschillende specifieke antilichamen die kunnen worden aangetoond in het bloed. De specifieke IgM antilichamen komen alleen voor tijdens de acute infectie. Nadat de patiënt is hersteld verdwijnen ze uit het bloed. Het geeft een primaire respons weer tegen het Epstein-Barr virus. Het wordt dan ook gebruikt om recente infecties met het Epstein-Barr virus aan te tonen.

De vorming van IgG tegen specifiek antigeen komt iets later (hooguit enkele dagen) op gang dan IgM, maar blijft dan voor vele jaren, waarschijnlijk voor de rest van het leven aanwezig. Het aantonen van dit antilichaam geeft aan dat er in het verleden een infectie met het Epstein-Barr virus heeft plaatsgevonden.

Naast serologie is er ook de mogelijkheid om de PCR reactie te gebruiken bij het aantonen van een infectie met het Epstein-Barr virus. Deze reactie is vooral nuttig als de klassieke symptomen van een infectie met het Epstein-Barr virus ontbreken.

Niemand ontkomt aan het Epstein-Barr virus. Iedereen wordt vroeg of laat met dit virus geïnfecteerd, waarbij vroeg beter is dan laat. In het algemeen geldt dat hoe later je geïnfecteerd wordt met dit virus hoe meer kans je loopt dat je de ziekte van Pfeiffer ontwikkelt. Bij deze ziekte bestaat de behandeling uit uitzieken.

4. Atypische Mycobacteriën

Een atypische mycobacteriële infectie is een infectie veroorzaakt door een mycobacteriesoort anders dan *M. tuberculosis*. Atypische mycobacteriën kunnen verschillende infecties veroorzaken zoals abscessen en botinfecties.

Soorten

Er zijn veel verschillende soorten mycobacteriën. De vaakst voorkomende staan hieronder:

- *M. avium-intracellulare*: infecteert vooral AIDS patiënt en geeft koorts, lymfadenopathie en diarree. Kan ook longontsteking geven.
- *M. marinum*: geeft huidinfecties.
- *M. ulcerans*: geeft huidinfecties.
- *M. kansasii*: geeft longontsteking.

Incidentie

De incidentie van atypische mycobacteriële infecties is laag, maar neemt toe naarmate de AIDS populatie toeneemt. Risicogroepen bestaan uit mensen met een longziekte of mensen met een immuunziekte.

Symptomen: Koorts, gewichtsverlies, vergrote lymfeklieren, moe, kortademig, huidlaesies, botpijn, gewrichtspijn.

Diagnostiek

Een infectie met mycobacteriën kan worden aangetoond door microscopisch onderzoek op de aanwezigheid van zuurvaste staafjes met specifieke kleuringen (Ziehl-Neelsen, Kinyoun, auramine), door kweek van de mycobacteriën in/op vaste en vloeibare media en door DNA-amplificatiemethodes. Microscopisch onderzoek op

zuurvaste staafjes is snel en relatief goedkoop; dit onderzoek is vooral van belang om snel vast te stellen of een patiënt verdacht voor tuberculose als besmettelijk moet worden beschouwd. Gebruik van een fluorescentiekleuring (auramine) verdient de voorkeur vanwege de hogere gevoeligheid in vergelijking met de klassieke Ziehl-Neelsen of Kinyoun-kleuring. Kweek van mycobacteriën is de gouden standaard voor de diagnostiek

Behandeling

De behandeling bestaat uit specifiek antibiotica (claritromycine en rifampicine). Bepaalde lymfeklierinfecties en huidlaesies worden chirurgisch verwijderd

Terug naar de patiënt van casus I

Bij het 8-jarige jongentje was de BSE 10 mm/uur. Zijn Hb was 7,8 mmol/l, leukocyten en thrombocyten waren normaal. Ook de leukocytendifferentiatie was normaal. De klieren hebben een homogeen aspect. De jongen is positief voor IgG Bartonella Henselae maar negatief voor IgM Bartonella Henselae. Epstein Barr Virus-CA IgG is positief, EBV-NA IgG is ook positief, en EBV-EA IgG is negatief.

Er is onvoldoende steun voor infectie in het algemeen. Er zijn geen aanwijzingen in bloedbeeld voor leukemie. De echo is niet steunend voor infectie, maar is meest passend bij iets maligne. Er is mogelijk een Bartonella infectie op basis van de serologie. De serologie laat ook zien dat er een EBV infectie is doorgemaakt in het verleden. De AST is negatief.

Differentiaal diagnose

- Groep A streptococ infectie
 - o Voor: voorgeschiedenis, leeftijd
 - o Tegen: BSE, leukocyten en differentiatie, klinisch beloop in tijd, ontbreken pijnklachten, aspect op de echo, hoogte van AST, weinig klachten.
- Bartonella henselae infectie
 - o Voor: weinig klachten, serologie, aspect op de echo, langzame groei.
 - o Tegen: BSE, locatie klieren, meerdere klieren, geen katten contact.
- Atypische mycobacteriën
 - o Voor: klinisch beloop (langzame groei), wonen op boerderij.
 - o Tegen: niet pijnlijk bij palpatie, ontbreken fluctuatie, ontbreken huidverkleuring, BSE, echo, locatie klieren.
- Epstein Barr infectie
 - o Voor: leeftijd, aspect op echo.
 - o Tegen: BSE, leukocytengehalte en differentiatie, klinisch beloop in tijd, ontbreken malaise, serostatus (doorgemaakte EBV)
- Maligniteit
 - o Voor: BSE, beloop in tijd, vast-elastisch, unilateraal, echo.
 - o Tegen: leeftijd, meerdere klieren (uitzondering is het Hodgekin lymfoom), geen verdere symptomen, mobiliteit van de klieren.

Uiteindelijk bleek na biopsie van de klieren (PA onderzoek) dat er sprake was van M. Hodgkin.

Casus II

Een 4-jarig meisje heeft sinds zes weken een zwelling links onder de onderkaak. Er is sprake van subfebriele temp (38 – 38,5 °C). De zwelling is pijnlijk bij aanraking. De huid is ter plaatse verkleurd, aanvankelijk rood, daarna blauw-paars. Recent is er een wondje ontstaan waaruit gele vloeistof kwam. Er zijn wat aspecifieke klachten als moeheid en verminderde eetlust. Het patiëntje is niet afgefallen. Er is geen bijzondere reisanamnese. Er is geen recent contact met dieren geweest.

Bij onderzoek voel je een grote zwelling onder de linkerkaak, met huidverkleuring, afmetingen bedragen 10 bij 6 cm. De zwelling voelt elastisch tot vast-elastisch aan met iets fluctuatie. Bij drukverhoging komt er wat gele

vloeistof uit het wondje. Supraclaviculair, axillair en inguinaal vind je geen vergrote lymfeklieren. Overig lichamenlijk onderzoek geeft geen verdere afwijkingen, met name is er geen lever- of miltvergroting.

Vervolgonderzoeken:

- BSE
- CRP. Het C-reactief proteïne (CRP) is een zogenaamd acutefase-eiwit. CRP wordt geproduceerd door de lever en afgegeven in de bloedbaan. Na het ontstaan van een ontsteking neemt de hoeveelheid CRP in het lichaam binnen een paar uur toe. Hierdoor is CRP waardevol voor het vaststellen van de aanwezigheid van een ontsteking of om het effect van een medische behandeling op de ontsteking te volgen.
- Bloedbeeld
- ECHO
- Kweek pusmateriaal

Het BSE is verhoogd (47 mm/uur). De leukocyten zijn verhoogd, maar de differentiatie is goed. Op de echo ziet men een uitgebreid en vergroot lymfeklierenpakket onder linker kaak met centrale verwekingshaarden. Verder lymfeklieren zichtbaar voor en achter de musculus sternocleidomastoideus vanaf mastoid tot aan clavicula. Serologie levert het volgende op: Bartonella henselae IgG is zwak positief; Bartonella henselae IgM is negatief. Epstein Barr Virus CA IgG is negatief, EB-NA IgG is negatief, EBV-EA IgG is ook negatief. AST is < 1:200 en dus negatief. Bij het microbiologisch onderzoek worden geen aeroben of anaeroben gekweekt. Er worden wel enkele zuurvaste staafjes gezien. De kweek (atypische) mycobacteriën volgt nog.

Er is bewijs voor infectie in het algemeen. Er zijn geen aanwijzingen voor leukemie. De echo is ondersteunend voor infectie, meest passend bij atypische mycobacteriële infectie. Serologisch is er geen steun voor ingezette verwekkers. De zuurvaste staven passen bij (atypische) mycobacteriën.

Differentiaal diagnose

- Groep A streptococ infectie
 - o Voor: echo, locatie klier, klinisch aspect, pijn, BSE, leukocyten en differentiatie
 - o Tegen: beloop in de tijd, koorts, negatieve kweek pus, lage AST
 - Bartonela henselae infectie
 - o Voor: klinisch beloop, BSE, echo
 - o Tegen: geen diercontact, serologie, locatie klier
 - Atypische mycobacteriën
 - o Voor: klinisch beloop, verkleuring huid, afmeting klier, BSE, echo, zuurvaste staven, negatieve serologie
 - o Tegen: geen
 - Epstein Barr infectie
 - o Voor: BSE, algemene malaise, subfebriële temperatuur.
 - o Tegen: klinisch beloop, lichamenlijk onderzoek, leukocyten differentiatie, ontbreken gegen. lymfadenopathie, fluctuatie pus, echo, serologie, zuurvaste staven.
 - Maligniteit
 - o Voor: klinisch beloop qua tijd, negatieve serologie, algemene malaise
 - o Tegen: leeftijd, pus fluctuatie, BSE en de echo
- Uiteindelijk bleek Bianca een mycobacterium avium infectie door te maken.

ZO 3 CHRONISCHE ONTSTEKINGSPROCESSEN EN WONDGENEZING

Een chronische ontstekingsreactie is een ontstekingsreactie die langer duurt (in termen van weken en maanden). Tegelijkertijd moeten er tekenen van acute/ actieve ontsteking, weefselbeschadiging en pogingen tot

herstel aanwezig zijn. Reumatoïde artritis, atherosclerose en tuberculose zijn chronische ontstekingsprocessen waaraan geen acute/actieve ontstekingsreactie aan vooraf is gegaan.

Twee verschillende maagbiopten genomen als gevolg van persistente maagklachten:

Biopt 1 Maagslijmvliesbiopt (antrum en corpus): chronische Helicobacter geassocieerde pan-gastritis met matige activiteit. Geen aanwijzingen voor atrofie, intestinale metaplasie of dysplasie. Een patholoog zal in dit biopt veel lymfocyten, verspreid gelegen macrofagen, plasmacellen en veel neutrofiële granulocyten zien die het epitheel aantasten (te zien als neutrofiële granulocyten die tussen het epitheel liggen).

Biopt 2 Maagslijmvlies biopt (antrum en corpus): matige chronische ontsteking, geen aanwijzingen voor Helicobacter pylori, intestinale metaplasie, atrofie of dysplasie. De patholoog zal veel lymfocyten, verspreid gelegen macrofagen en plasmacellen vinden. De patholoog zal vrijwel geen neutrofiële granulocyten vinden die het epitheel aantasten.

Helicobacter Pylori

Helicobacter Pylori is de belangrijkste oorzaak van (chronische) ontstekingen in de maag. Een groot deel van de mensen in het Westelijk Halfrond is besmet met de bacterie en waarschijnlijk wordt de besmetting opgedaan op de kinderleeftijd. De bacterie heeft zich op verschillende manieren aangepast aan het milieu in het maagslijmvlies. De Helicobacter Pylori bacterie is niet-invasief, vormt geen sporen en is gramnegatief.

De besmette mensen hebben een verhoogd risico op het krijgen van gastritis, ulcera van de maag en duodenum, maligne lymfomen en mogelijk adenocarcinomen van de maag. De behandeling bestaat uit het uitroeien van de bacterie met antibiotica, maar recidief besmetting komt vrij vaak voor. Ook bij maligne lymfomen wordt deze strategie gevolgd zolang het lymfoom laaggradig is en zich in een laag stadium bevindt.

Granulomateuze ontsteking

Een van de vormen van een chronische ontsteking is een granulomateuze ontsteking. De granulomateuze ontsteking wordt gekenmerkt door het overheersen in het infiltraat van geactiveerde macrofagen met een epitheloïde fenotype. Meerkernige reuscellen hoeven dus niet per definitie bij een granulomateuze ontsteking aanwezig te zijn.

Verschillende ziekten die met een granulomateuze ontsteking gepaard gaan:

- Syfilis tertiair stadium (Lues 3). Etiologie: Treponema Pallidum
- Sarcoïdose. Etiologie onbekend.
- Morbus Crohn. Etiologie onbekend, mogelijk infectieus.
- TBC, zowel long als systemisch. Etiologie: mycobacterium tuberculosis, vooral bij AIDS of immunodeficiënties. Hierbij komen dan mycobacterium avium of kansai voor.
- Tuberculoïde Lepra. Etiologie: mycobacterium leprae

Enkele definities

- Een **histocyt** is een weefselmacrofaag.
- Een **epitheloïde cel** is een cel die lijkt op een epitheliale cel, maar die geen epitheel cel is. Voorbeelden zijn geactiveerde (epitheloïde) macrofagen/histiocyten bij een granulomateuze ontsteking, maar ook cellen van een epitheloïde sarcoom (mesenchymale oorsprong).
- Een **vreemdlichaamsreuscelreactie** is een chronische ontsteking die tegen lichaamsvreemd, onverteerbaar, moeilijk afbreekbaar materiaal (hechtingen, glas) en lichaamseigen materiaal (haar, hoorn, cholesterol kristallen) op plaatsen waar het niet hoort, gericht is. Deze veroorzaken vaak een ontstekingsreactie met dezelfde kenmerken als een granulomateuze ontsteking, bestaande uit infiltraten met lymfocyten en plasmacellen, veel epitheloïde macrofagen en meestal ook meerkernige reuscellen.

Wondgenezing

Gelijktijdig met de acute ontstekingsreactie begint de wondgenezing om de schade te herstellen. Wondgenezing vindt plaats langs twee wegen: regeneratie en littekenvorming. Deze vinden vaak tegelijkertijd plaats. Bij regeneratie is er sprake van herstel van het oorspronkelijke parenchym dat verloren is gegaan door een

schadelijke agens en bij littekenvorming is er sprake van vervanging van het oorspronkelijke parenchym door bindweefsel. Het evenwicht tussen regeneratie en littekenvorming is afhankelijk van de intrinsieke delingsactiviteit van de cellen en verschilt daarom per celtype. De regeneratie en de littekenvorming is afhankelijk van de celtype b.v. :

- Labiele cellen: continue mitose activiteit, hoge turnover (darmepitheel)
- Stabiele cellen: lage mitose activiteit, kan eventueel bij beschadiging en celverlies opgeschroeft worden. (levercellen en pancreascellen)
- Permanente cellen: vrijwel geen mitose activiteit. Bij beschadiging onder normale omstandigheden meestal littekenvorming. (zenuwcellen en myocardcellen)

Een ligand receptor binding zorgt voor initiatie van de celdeling. Er is expressie van receptoren op de celmembraan. Groeireceptoren zijn vaak steroidreceptoren. Wanneer een receptor activatie plaatsvindt is er tyrosine kinase activiteit, receptor dimerisatie en komt een signaal cascade op gang. Vervolgens is er signaaltransductie door activatie van 'second messenger' eiwitten. Dit kan via fosforylatie, conformatieveranderingen en secundaire signaal eiwitten. Als laatste vindt dan de transcriptie plaats van genen betrokken bij de celdeling. Er wordt gebruik gemaakt van transcriptie factoren.

Er zijn heel wat verschillende groeifactoren:

- EGF: Epidermal Growth Factor, geproduceerd door macrofagen.
- PDGF: Platelet Derived Growth Factor, geproduceerd door bloedplaatjes.
- FGF: Fibroblast growth factor, geproduceerd door macrofagen.
- TGF- β : Transforming Growth Factor Beta, geproduceerd door endotheel en T-cellen.
- VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor, geproduceerd door cellen in het bindweefsel, waaronder fibroblasten.
- IL-1: Interleukin 1, geproduceerd door macrofagen
- TNF: Tissue Necroses Factor, geproduceerd door macrofagen.

Angiogenese wordt gestimuleerd door FGF en VEGF. Proliferatie van endotheel wordt gestimuleerd door FGF, VEGF. Proliferatie van fibroblasten wordt gestimuleerd door EGF, PDGF, FGF, TGF. De collageen synthese en uitscheiding wordt gestimuleerd door TGF, FGF, PDGF en EGF. De groeifactoren TGF- β en TNF hebben een groeiremmend effect.

Een groeimodulerende factor heeft een pleiotroop effect, dit betekent dat de groeifactor niet alleen groei/celdeling stimuleert maar ook nog een aantal andere effecten heeft zoals celdifferentiatie en remodelering.

Cyclines zijn een soort eiwitten. Door het variëren van hun intracellulaire concentratie regelen ze de celcyclus. Ze voeren hun regelfunctie uit door geactiveerde complexen te vormen met cycline afhankelijke kinasen. Hiervan is een constitutieve expressie. Er zijn verschillende combinaties van cyclines en cycline afhankelijke kinase, elke combinatie heeft weer een andere functie. Wanneer binding optreedt vindt er uiteindelijk mitose plaats, DNA replicatie en afbraak van cyclines.

Het standaard wondgenezingsmodel: chirurgische incisie van de huid, wondranden worden bij elkaar gebracht en gehouden door hechtingen.

De verschillende tijdfasen:

- *Incisie 0-3 uur*: Door de incisie sterven een aantal bindweefselcellen en epitheliale cellen en wordt de basale membraan doorbroken. Door bloeding en stolling wordt de vorming van korst (bestaat uit gedehydrerde bloedstolsel met fibrine en bloedcellen) in gang gezet.
- *3-24 uur*: Chemotaxis van neutrofiële granulocyten naar wondgebied. Verdikking van wondranden door mitotische activiteit van epitheelcellen van de basale laag aan de wondrand. Migratie van epitheelcellen tussen wondranden en afzetten van basaalmembraan materiaal.

- *3 dagen na incisie:* Neutrofiële granulocyten worden door macrofagen vervangen. Granulatieweefsel met jonge bloedvaten wordt gevormd en collageen wordt door fibroblasten afgezet. Proliferatie van epiteelcellen verdikt de epitheliale bekleding.
- *5 dagen na incisie:* Maximale neovascularisatie en vorming van granulatieweefsel. Horizontale oriëntatie van collageenbundels die wondranden overbruggen. De epidermis bereikt zijn normale dikte en vertoont weer keratinisatie.
- *2 weken na incisie:* De vascularisatie is nu weer ongeveer normaal. Infiltraten van ontstekingscellen zijn verdwenen. Collageen neemt langzaam toe en reorganiseert.
- *2 maanden na incisie:* Epidermis is intact (ziet er morfologisch weer als nieuw uit). Er is echter geen regeneratie van huidadnexen op de incisieplaats. **Huidadnexen** zijn organen in de huid met afzonderlijke functie, zoals haren, nagels en exocriene klieren. Toename van treksterkte van de huid.

De wondsterkte is na 3 maanden op 70-80% van de oorspronkelijke sterkte van het weefsel. Dit kan in de loop van de tijd nog iets toenemen.

Gestoorde wondgenezing

Keloïd (hypertrofisch litteken) vorming is een vorm van gestoorde wondgenezing. Het is wondgenezing met vorming van overmatige hoeveelheid litteken bindweefsel door overmatige productie van collageen. Keloïd vorming komt meer voor bij negroïde personen dan blanke personen. Bij keloïd is de dermis huidadnex-arm (weinig zweet- en talgklieren) omdat er een overmatige hoeveelheid littekenbindweefsel zit op de plaats waar normaal huidadnexen zitten. De huidadnexen worden weggedrukt.

Er zijn verschillende factoren die een gestoorde of vertraagde wondgenezing kunnen veroorzaken:

- Infecties (belangrijkste oorzaak!)
- Voedingstoestand: vitamine C deficiëntie
- Metabole status : diabetes mellitus
- Toestand van algemene circulatie: gestoorde wondgenezing bij onvoldoende bloedvoorziening bij atherosclerose
- Hormonen (bijv. corticosteroïden die de collageen synthese remmen)
- Mechanische factoren: krabben
- Aanwezigheid lichaamsvreemd materiaal, bijv. glas, hout of kogels
- Lokalisatie van de wond: wond geneest sneller in gebied met betere vascularisatie (bijvoorbeeld het gezicht veel beter dan op de voeten)

Hechtingen

Hechtingen worden er in het algemeen tussen de 7 en 10 dagen na excisie uit gehaald. Dit omdat na deze periode de hechtingen niet substantieel meer bijdragen aan de treksterkte van de wond en ze gaan bovendien als vreemd lichaamsmateriaal werken met chronische granulomateuze ontstekingsreactie en gestoorde wondgenezing als gevolg.

De basis van verlittekening kan verschillend zijn. In het geval van een longabces wordt het beschadigde parenchym vervangen door bind-/littekenweefsel. In geval van een fibropurulente peritonitis wordt de afgezette fibrine vervangen door bind-/littekenweefsel.

ZO 4 Autoïnfammatie en inflammasoomactivatie

Er zijn verschillende cellulaire receptoren die bij stimulatie sterke innate responsen opwekken tegen componenten van micro-organismen en sommige lichaamseigen producten die vrijkomen bij schade. Dit zijn onder meer de membraangebonden Toll-like receptoren (TLR) en de cytoplasmatische NOD-like receptoren (NLR). De componenten die aan deze receptoren binden zijn:

PAMP : Pathogen-associated molecular pattern
MAMP : microbial-associated molecule pattern
DAMP : danger (damage)-associated molecular pattern

Stimulering van immuuncellen via deze receptoren leidt tot de productie van pro-inflammatoire cytokines, zoals IL-1 β , IL-6 en TNF- α . Het cytokine IL-1 wordt eerst als pro-cytokine in het cytoplasma geproduceerd, en moet dan worden geactiveerd door een intracellulair multimeer eiwitcomplex, het zgn. inflammasoom. Fouten hierin, b.v. door mutaties in betrokken eiwitten, kunnen leiden tot inflammatoire aandoeningen zonder dat daarbij infecties of andere schadelijke agentia duidelijk aantoonbaar zijn.

Autoinflammatie is een pathologische activatie van het innate immuunsysteem zonder betrokkenheid van auto-antilichamen of autoreactieve T cellen. Een groep autoinflammatoire ziekten zijn hereditary periodic fever syndromes. Dit is een groep ziektebeelden die wordt gekenmerkt door onstekingsverschijnselen en koorts, zonder dat er aantoonbare ziekteverwekkers zoals virussen of bacteriën zijn, en waarbij andere oorzaken van koorts zoals maligniteiten zijn uitgesloten. Veelal komen deze ziektebeelden binnen families voor. Ze tonen dan een autosomaal recessief of autosomaal dominant overervingspatroon.

Een inflammasoom is een cytoplasmatisch multiproteïne complex dat bestaat uit een NOD-achtige receptor (NLR), het adaptor eiwit ASC en pro-caspase 1. Het enzym caspase-1 wordt bij inflammasoomactivatie omgezet van een inactieve in een actieve vorm. Fagolysosomen zijn vesikels in het cytoplasma die door een membraan zijn afgescheiden van de andere compartimenten. Fagolysosomen ontstaan door fusie van fagosomen met lysosomen. De inflammasomen worden niet door een membraan omgeven (en zijn een dimensie kleiner) Een inflammasoom heeft tot doel om het inactieve pro-IL-1 β enzymatisch te bewerken, zodat actief IL-1 β ontstaat, wat kan worden uitgescheiden door de cel. Op vergelijkbare manier activeert het inflammasoom ook IL-18 dat een rol speelt bij de stimulatie van Th1 cellen.

Activatie van het inflammasoom leidt tot productie en processing van de pro-vorm van IL-1 β . Deze cytokine en ook IL-18 worden als volgt geproduceerd en geactiveerd:

- 1 inflammasoom
- 2 NLRP3, wordt ook NALP3 of cryopyrine genoemd, dit is de celsensor voor celschade door stress
- 3 pro-caspase-1
- 4 actief caspase-1
- 5 pro-IL-1 β
- 6 actief IL-1 β (cytoplasmatisch)
- 7 actief IL-1 β (extracellulair)
- 8 pro-IL-18
- 9 actief IL-18 (cytoplasmatisch)
- 10 actief IL-18 (extracellulair)

Autoinflammatie geeft toegenomen productie van o.a. IL-1 β . Dit stimuleert op zijn beurt een cascade van andere mediators, waaronder opregulatie van prostaglandine E2. Dit is verantwoordelijk voor het ontstaan van koorts door effecten in de hypothalamus waar het thermoregulatiecentrum is gelegen.

Na triggering van de IL-1R wordt – via dezelfde signaleringsroute als bij activatie van TLR – transcriptie van diverse pro-inflammatoire cytokines en andere ontstekingsmediators geïnduceerd. Dit zijn dus IL-1 zelf, TNF- α , IL-6, etc. Dit betekent dat, als IL-1 β productie eenmaal op gang is gekomen, er een positieve feedbackloop ontstaat waarmee de ontstekingsreactie verder wordt versterkt.

IL-1 β functies: inductie van koorts, activatie van immuuncellen (o.a. T-cellen, macrofagen) en endotheel, versterking van de ontstekingsreactie. Voor secretie van actief IL-1 β is geen *de novo* synthese nodig, als het pro- IL-1 β als eiwit al in het cytoplasma aanwezig is. Enzymatische klieving door actief caspase-1 is dan voldoende voor uitscheiding van actief IL-1 β

Stimulatie met een TLR-ligand zoals LPS leidt in eerste instantie tot een versterking van de pro-inflammatoire respons van cellen (positieve feedback via IL-1). Bij een voldoende hoge concentratie van

IL-1RA neemt het stimulerend effect van geproduceerd actief IL-1 β echter af, omdat IL-1RA competeert met IL-1 β voor de IL-1R, maar niet leidt tot signalering. Daarom zijn chronisch blootgestelde cellen veel minder gevoelig voor LPS stimulatie. Een intrinsieke rem op de proinflammatoire respons is de vorming van IL-1RA (IL-1 receptor antagonist) na triggering van de TLR/IL-1R cascade. IL-1RA bindt wel aan de IL-1R, maar activeert niet de onderliggende signaleringsroute. Daarom is IL-1RA klinisch belangrijk voor behandeling van ontstekingsziekten, zoals HPFS en reumatoïde artritis. Een alternatieve therapie is remming van ontsteking met antistoffen gericht tegen IL-1 β .

Patiënten met Muckle Wells syndroom hebben een mutatie in het NLRP3 gen. Het betreft in alle gevallen puntmutaties die leiden tot veranderingen in de aminozuursequentie van het NLRP3 eiwit. Mutaties in NLRP3 die aanleiding geven tot autoinflammatie zijn activerende mutaties, die dus leiden tot continue geactiveerde inflammasomen. Het is onbekend waarom patiënten niet permanent ziek zijn. Er kan wel periodiek koorts optreden. Er moet een prikkel zijn om pro-IL-1 β te maken in het cytoplasma, wat vervolgens door het (continue geactiveerde) inflammasoom kan worden geactiveerd. Die prikkel kan b.v. cellulaire schade zijn die is veroorzaakt door een, op zichzelf onschuldige, infectie. Als de ontstekingsreactie door de remmende werking van IL-1RA wordt getemperd, en de schade wordt hersteld, is er ook geen prikkel om pro-IL-1 β te maken, en verdwijnen de symptomen.

Sommige autoinflammatoire aandoeningen, zoals *familial mediterranean fever* (FMF), kunnen succesvol worden behandeld met colchicine. Het mechanisme hierbij is onduidelijk. Van colchicine is bekend dat het de celmembraan stabiliseert door de polymerisatie van tubuline tot microtubuli te remmen. Door de remming van microtubulivorming in cellen heeft colchicine meerdere effecten. Het is een sterke remmer van de *migratie van granulocyten*, die als ontstekingscellen een pro-inflammatoire rol spelen, omdat ze veel lokale schade kunnen aanrichten. Daarnaast worden ook de *mitose* geremd en andere cellulaire processen waarbij transport een belangrijke rol speelt. Binnen twaalf tot vierentwintig uur na colchicine toediening worden pro-inflammatoire genen en genen die de celmigratie regelen in granulocyten geremd. Ook zal de *exocytose* van b.v. enzymen minder goed verlopen.

Aluin is een van de vele agentia die het inflammasoom activeren. Aluin is een verzamelnaam voor aluminiumhydroxide verbindingen, evt. met fosfaten en/of sulfaten, en dit is een van de slechts drie immuunadjuvantia die zijn toegestaan voor gebruik in de mens bij vaccinatie. De andere twee zijn aluin in combinatie met immuunstimulerend lipide A, en een olie-in-water emulsie die squaleen bevat. Academie en industrie zetten sterk in op het ontwikkelen van effectieve en veilige adjuvantia, maar dat blijkt niet eenvoudig. Dat aluin goed werkt was vooral een ervaringsfeit, maar de onderliggende mechanismen zijn slechts beperkt opgehelderd. Een immuunadjuvant is een substantie die de immunogeniciteit, dus het vermogen om een adaptieve immuunrespons op te wekken, van antigenen verhoogt. Antigenen worden gemengd met de adjuvantia voor een optimale werking.

Aluin (Al(OH)₃ en hieraan verwante moleculen) geeft een schadesignaal af aan antigeen-presenterende cellen en veroorzaakt zo een van de cellulaire insulten die het inflammasoom aanschakelen. Dit stimuleert een lokale activatie van APC, die antigeen (dat vermengd is met het aluin) opnemen, dit verwerken en na migratie naar de drainerende lymfeklier presenteren aan T-cellen. De activatie van de APC gaat, naast verhoogde expressie van HLA klasse II (signaal 1) en co-stimulatiemoleculen (signaal 2), gepaard met pro-inflammatoire cytokineproductie (signaal 3), wat op zijn beurt activerend werkt voor de Thelpercellen. Aluminiumzouten stimuleren de vorming van antilichamen en sturen de immuunrespons in de richting van Th2.

Twee zeer sterke adjuvantia die worden gebruikt in diermodellen voor autoimmuunziekten (bijv. reumatoïde artritis en multiple sclerose) zijn incompleet Freund's adjuvant (IFA, een olie-in-water emulsie) en compleet Freund's adjuvant (CFA). Gebruik in de mens is verboden vanwege de sterke bijwerkingen, die in dieren mogelijk juist bijdragen aan het doorbreken van immunologische tolerantie voor zelfantigenen. Incomplete Freund's adjuvant (IFA) is een olie-in-water emulsie. Het werkingsmechanisme berust op vertraagde afgifte van antigeen en verhoogde opname door macrofagen. Complete Freund's adjuvant (CFA) is een olie-in-water emulsie waaraan dode mycobacteriën zijn toegevoegd. Deze laten veroorzaken een sterke activatie van APC (DC en macrofagen) via TLR en NLR. Daarmee is CFA een

veel potenter adjuvant voor het induceren van een primaire immuunrespons. Prominente bijwerkingen van CFA zijn een hoge productie van proinflammatoire cytokines, leidend tot systemisch verhoogde niveaus hiervan (cytokinestorm), en granuloomvorming. Beide fenomenen worden geïnduceerd door de mycobacteriën in het adjuvant. Hierdoor is toepassing van dit adjuvant niet toegestaan bij de mens

ZO 5 Inleiding in de Virologie

Virussen zijn obligaat intracellulaire parasieten. Ze hebben de mechanismen van de hostcel nodig voor replicatie van het genoom, productie van virale eiwitten en voor hun energievoorziening. Om deze reden worden ze niet als 'levend' beschouwd.

Het virus partikel bindt aan de host cel door binden aan eiwitten op het oppervlak van de hostcel (virale receptoren). Deze eiwitten hebben hun eigen functie en het virus gebruikt ze slechts om binnen te komen. Daarna gaat het virus de host cel binnen. Het gebruikt de cel om nieuwe virale eiwitten en viraal genoom te synthetiseren. Sommige virussen hebben een RNA (RNA virussen) genoom en anderen DNA (DNA virussen). Het geproduceerde virale genoom kan in de host cel getransleerd worden naar nieuwe virale eiwitten. Hierna komen de eiwitten en het genoom samen tot nieuwe virus partikels die vrijkomen van de geïnfecteerde cel om andere hostcellen te infecteren.

Alleen cellen met de specifieke virale receptor kunnen geïnfecteerd worden met het virus en cellen zonder de receptor kunnen over het algemeen niet geïnfecteerd worden. Verschillende cellen brengen verschillende virale receptoren tot expressie. Dit verklaart waarom een virus een bepaalde soort organismen of een bepaalde host cel infecteert. De host range van een virus is een type cellen en de host soort die het virus kan infecteren. Virus tropisme is de range van specifieke celtypen binnen een soort die een virus kan infecteren en in repliceren. Behalve het type receptoren, zijn ook omgevingsfactoren zoals temperatuur en pH van belang voor het tropisme. Dit verklaart waarom plant virussen mensen niet infecteren.

Om een virus te detecteren of te identificeren wordt er gezocht naar specifieke virale eiwitten die niet voorkomen in een niet-geïnfecteerde host en viraal genoom of delen ervan. Viraal DNA of RNA kan gedetecteerd worden door specifieke sequenties door gebruik van moleculaire technieken. Diagnostische testen voor een virale infectie worden ingedeeld in twee groepen:

- directe testen: testen die (delen van) het virus partikel detecteren. Dit zijn vaak virale eiwitten, virale antigenen, viraal genoom of het cytopathogeen effect (CPE). Directe diagnostische testen zijn:
 - o Electronen microscopie (EM): het virale partikel wordt direct zichtbaar gemaakt, waarmee het informatie geeft over de morfologie van het virus maar niet genoeg om de species te identificeren. Het wordt gebruikt voor de ontdekking van nieuwe virussen.
 - o Polymerase chain reaction (PCR): met primers in het DNA sample wordt DNA geamplificeerd. Door DNA polymerase toe te voegen en herhaald te koelen en verwarmen ontstaat er een exponentiële amplificatie. Dit is vooral nuttig voor detectie van geringe hoeveelheden viraal DNA of RNA
 - o Cytopathogeen effect (CPE), indien het virus gekweekt kan worden: verandering in celmorfologie waarnemen door de aanwezigheid en replicatie van het virus. De test is specifiek voor het type cellijn en virus. Niet elk virus geeft een CPE
- indirecte testen: testen die de host immuunrespons op de virale infectie meten. Zo worden inductie van virus-specifieke antilichamen gemeten in plasma of andere lichaamsvloeistoffen. Indirecte diagnostische testen zijn:
 - o Enzyme Immuno assay (EIA): detectie van virus-specifieke antilichamen. Het gebruikt specifieke binding van antilichamen aan antigenen. Antilichamen worden op een test-plaat gebracht, waaraan het virus kan binden. Viraal antigeen aantonen wordt gedaan met een extra enzym aan het antilichaam, die een kleurverandering kunnen geven. Minimale hoeveelheden kunnen gedetecteerd en gekwantificeerd

worden. Directe detectie is detectie van virale antigenen en indirecte detectie is detectie van virus-specifieke antilichamen.

- Immunoblot: virale eiwitten worden met gel-elektroforese gescheiden en overgebracht op een nitrocellulose membraan (blotten). Antilichamen tegen het virus worden toegevoegd en kunnen incuberen in het immunoblot. De banden verschijnen indien er een specifiek virus eiwit aanwezig is. Behalve virale eiwitten (direct) kunnen ook antilichamen (indirect) aangetoond worden. Bij deze laatste zitten de eiwitten al in het immunoblot en wordt serum toegevoegd
- Agglutinatie assay: een sample wordt toegevoegd aan smalle cupjes met virus-specifiek antigen, waarna er agglutinatie plaatsvindt indien het virus aanwezig is. Dit kan ook weer direct en indirect.
- Immunofluorescentie: specifieke antilichamen detecteren virale eiwitten in patiënten materiaal of virus culturen. Het antilichaam wordt gelabeld met een fluorescente kleuring voor een fluorescentie microscoop. Het antilichaam kan gelabeld worden (direct) of het antilichaam wat een viraal eiwit bindt wordt gelabeld met een secundair antilichaam (indirect)

EIA, Immunoblot, Agglutinatie assay en immunofluorescentie behoren allemaal tot de groep van immunoassays. Dit zijn technieken die binding van een antigen en het homologe antilichaam gebruiken om een specifiek antigen (direct) of antilichaam (indirect) te kwantificeren in een sample.

Sampling

Bij het formulier van het sample zijn essentieel: gegevens van de patiënt, gegevens van de arts, type sample en de vraagstelling

Producten:

- Bloedsamples worden afgenomen door venapunctie in een stolbuis voor stolbloed/serum, EDTA-bloed/plasma of heparine-bloed/plasma. Ze kunnen niet gebruikt worden voor PCR, omdat heparine PCR reactie inhibeert
- BAL (broncho-alveolaire lavage) van gespecialiseerd personeel op de longafdeling of neusspoeling
- neuswat (nasal swab), keelwat (throat swab). Deze worden in een virus transport medium bewaard tot ze verwerkt worden in het lab.
- Sputum in een potje
- Liquor, cerebrospinaal vloeistof, door een lumbaal punctie verkregen
- Feces of urine
- Conjunctiva uitstrijk, cornea uitstrijk, lipwat of mondwat
- Anuswat, cervixwat, peniswat en vulvawat
- Biopsies in een steriel potje
- Overige samples: vesicelvloeistof, seminaal vloeistof, moedermelk en tranen

Voor het afnemen van een sample is het belangrijk dat het goed bewaard wordt. Indien de replicatie van een virus gemeten wordt, is het belangrijk dat het virus intact blijft. Van invloed zijn zonlicht, pH en temperatuur. Voor PCR moet het genoom intact blijven, wat verstoort kan worden door zonlicht, pH, nucleases aanwezig op de huid, uitdroging en hoge temperaturen. Het transport medium bevat dan ook een optimale en constante pH en antibiotica tegen contaminatie door bacteriën. De tijd tussen sampling en de test zou zo kort mogelijk moeten zijn, om afbraak door nucleases te voorkomen.