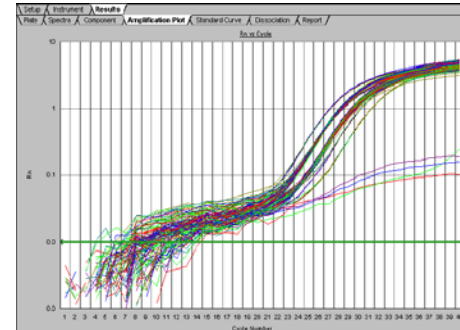


**To type or not to type,
that's the question?**



**Van kweek naar
moleculair: consequenties
voor harmonisatie.**



Katja Wolters (Voorzitter, AMC)

Foekje Stelma (Radboudumc), Erwin Duizer (RIVM), Mirjam Kooistra (Lab. Infectieziekten Groningen) ³, Jeroen Thjie (PAMM, Veldhoven), Frans Verduyn-Lunel (UMCU).

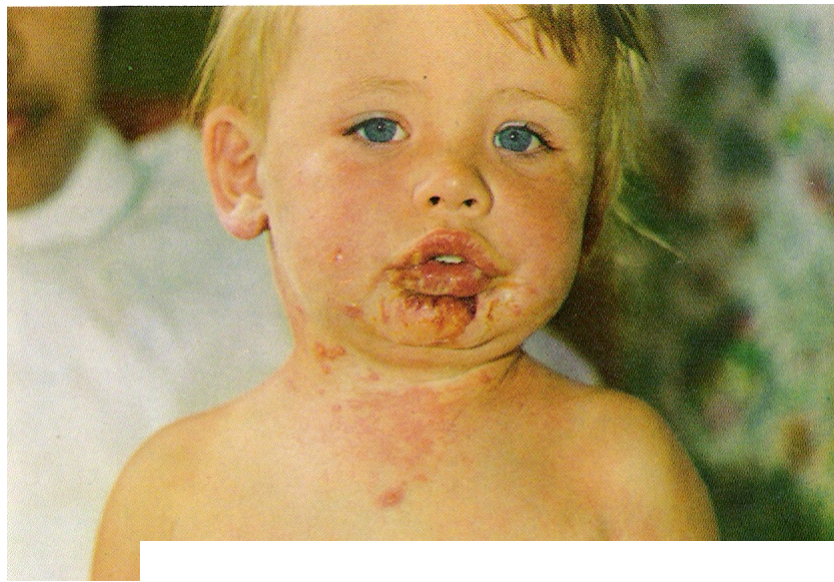


SKML sectie Virologie

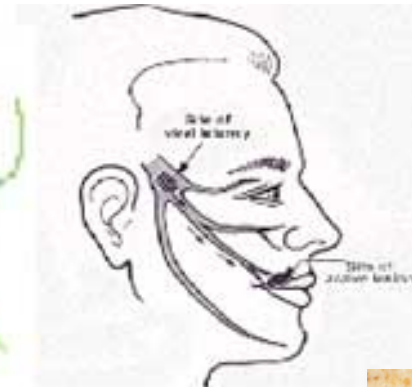
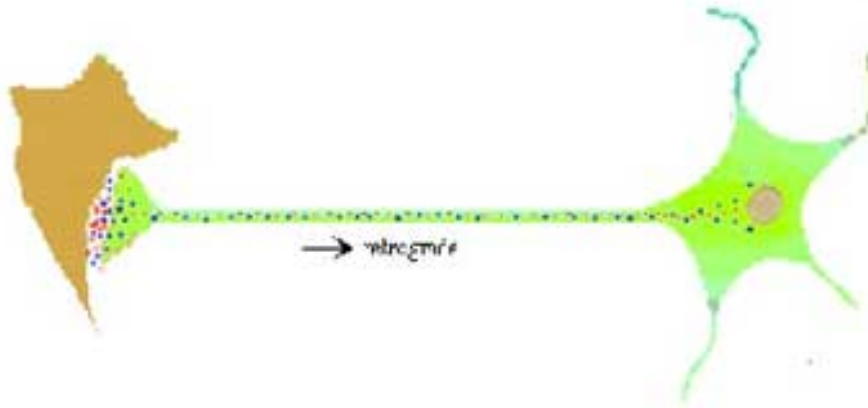
**To type or not to type, that's the
question**

Dr. Katja Wolthers

- Welkom in ons vakgebied
- SKML sectie virusdetectie
- Virusdetectie: scores per type?
- Typering wel/niet



Primaire infectie



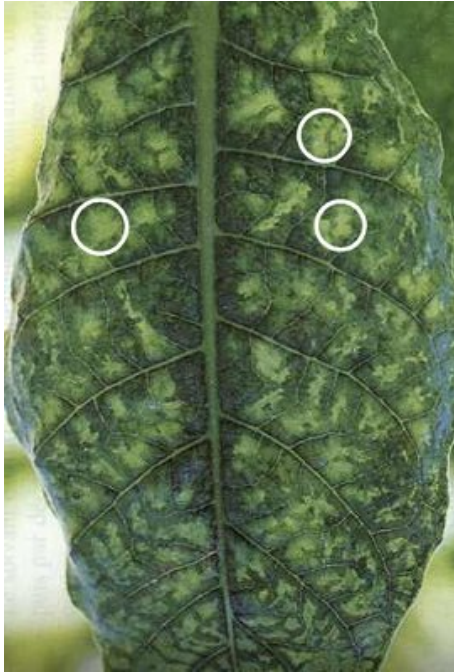
HSV-1 latency

Bv Herpesvirus



Recidief

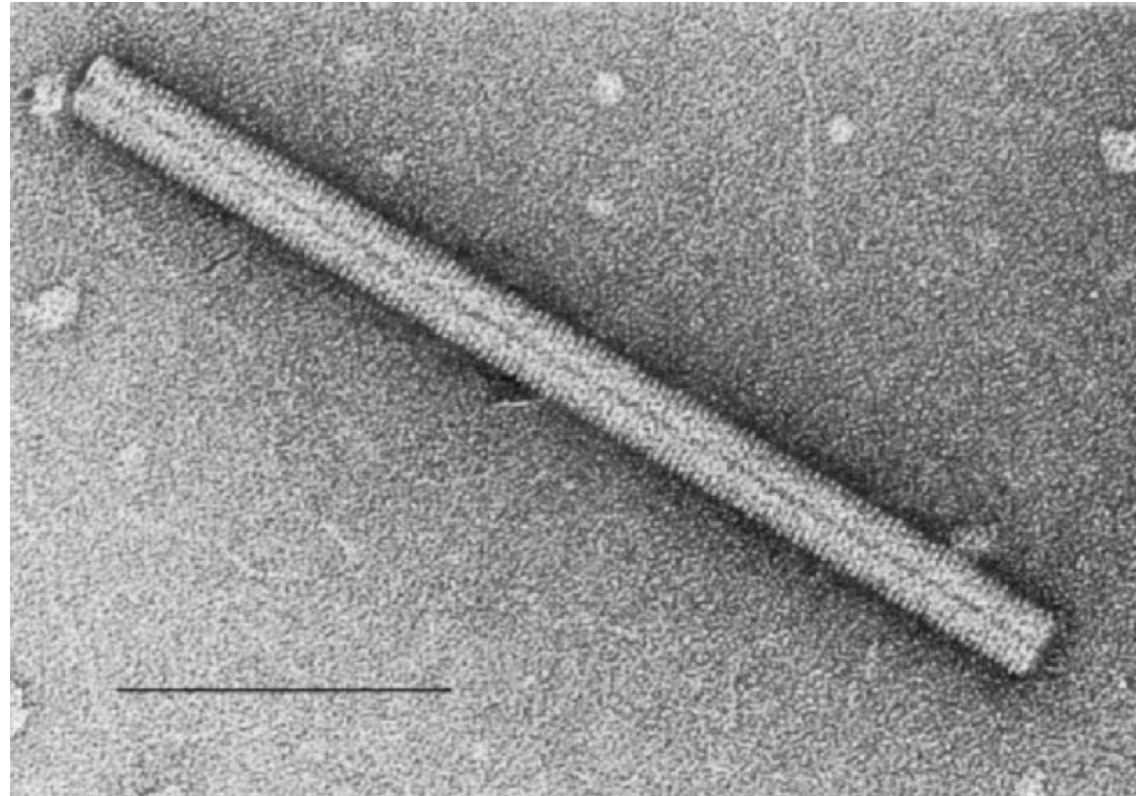
tabak mozaïek ziekte



- Mayer 1883 → besmettelijke sap, maar geen bacteriën gezien
- Ivanowsky 1893 → Sap bleef besmettelijk na filtreren
- Beijerinck, 1898 → besmettelijke deeltjes in Sap reproduceerden, en waren ongevoelig voor alcohol

Komst elektronenmicroscopie

(Stanley, 1935)



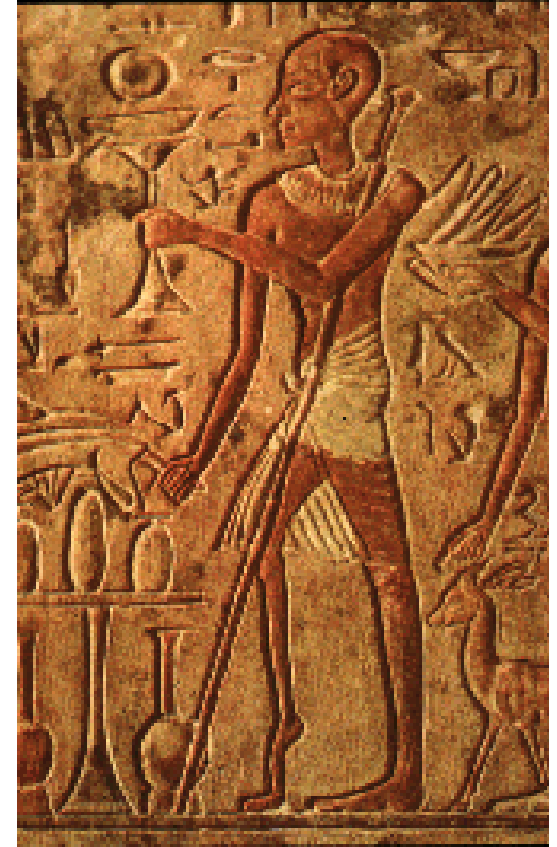
Influenza pandemie 1918: 20 milj †



Pokken

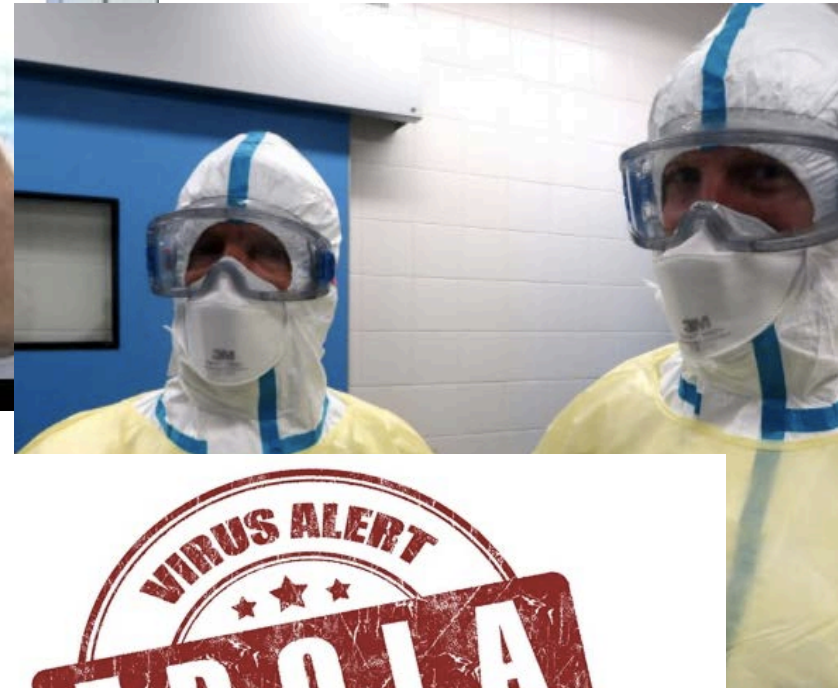


Polio



(Egypt 1400 BC)

Virologische dreiging: 'prepare'!



Minder grote bedreigingen: enterovirus 68

CDC TESTING FOR ENTEROVIRUS CASES

SOURCE:

70°
5:15
#KSLLive

5

amC

FOX 26 MYSTERY VIRUS STRIKES CHILDREN IN TEN STATES
9:13 83°

SKML virusdetectie: aantonen van virus



De sectie virologie van de SKML

- heeft ten doel het bevorderen van de kwaliteit van laboratorium diagnostiek op het gebied van de virusdetectie binnen de klinische virologie
- in het bijzonder met gebruikmaken van de celkweek technieken, antigeen detectie en de nucleïnezuur detectie,
- inclusief de interpretatie van de waarnemingen en de daaruit voortvloeiende klinische adviezen.
- De sectie is momenteel verantwoordelijk voor de algemene virusdetectie bestaande uit 4 rondzendingen van ieder gemiddeld 5 monsters.
- **Klinisch relevante virussen in klinisch relevant “patienten”-materiaal waarbij onbekend is wat erin zit (itt QCMD)**

SKML virus-rondzending: klinisch relevante vraag

- Enterovirus surveillance:

kunne

- Virus

HSV,

- Virus

rota, a

- Virus

HSV, vZV, entero, CMV, EBV, JC, ...

- Virusdetectie in respiratoire materialen

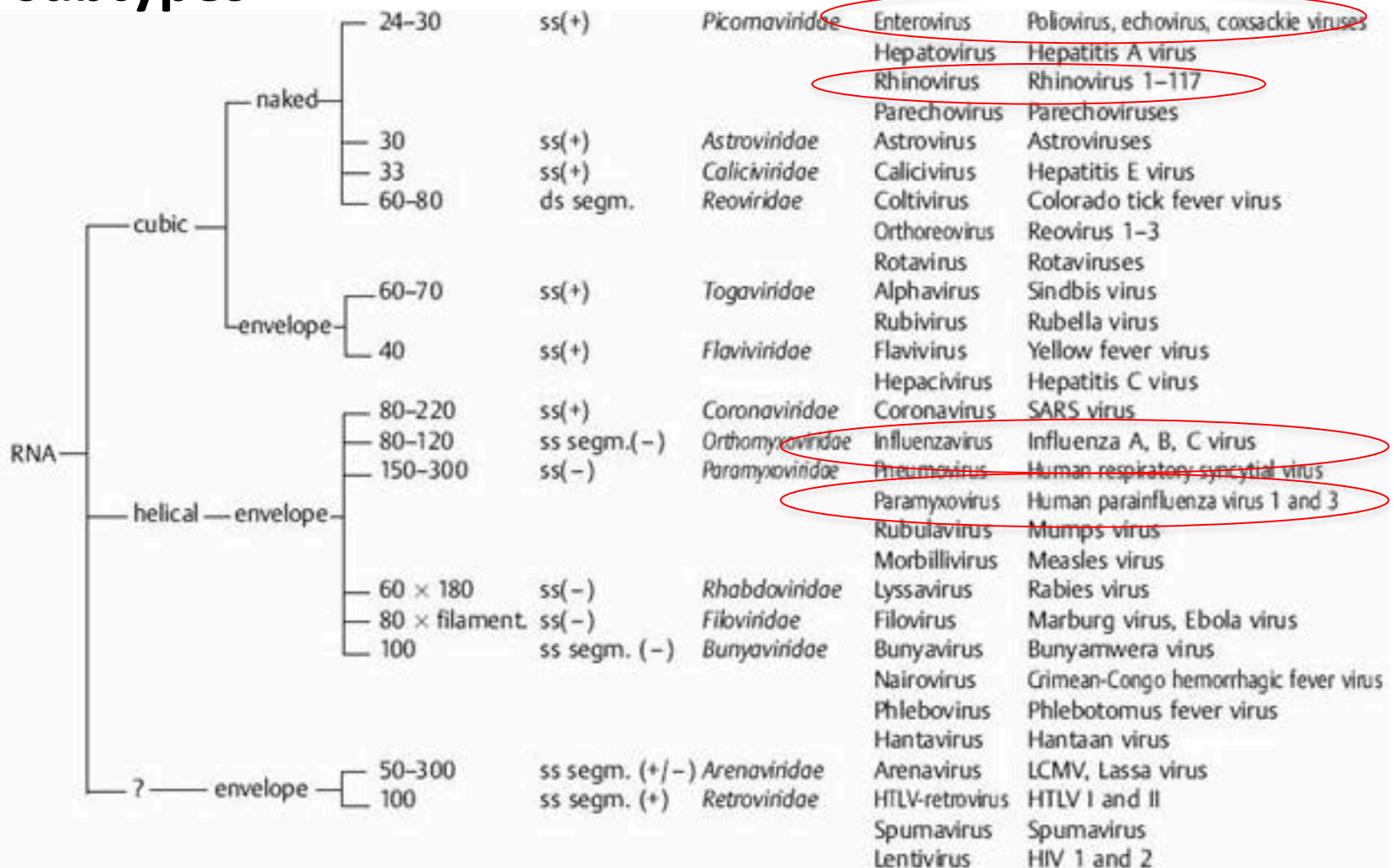
RSV, hMPV, Flu-A,B, parainfluenza, corona,



oguitstrijk

...

Soorten virussen kunnen worden onderverdeeld in genera en subtypes



¹ = Configuration of nucleic acid: ss = single-stranded, ds = double-stranded; ² = without/with envelope

Typeren, klinisch significant?



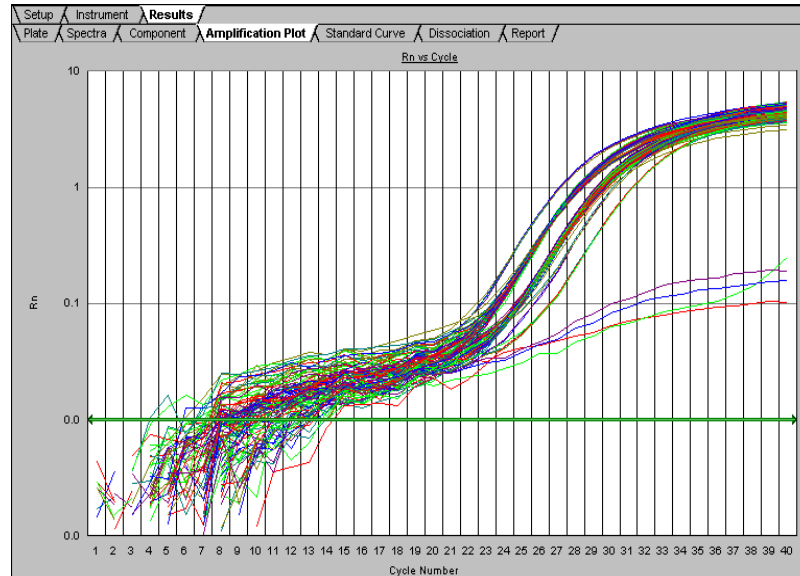
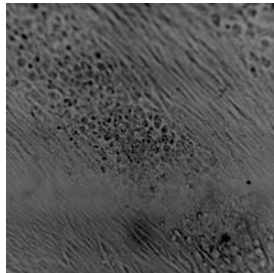
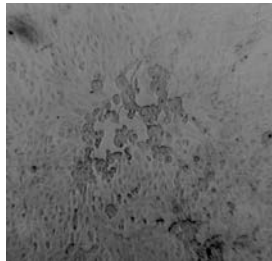
Tabel 1. Indeling van enterovirusserotypen in de genetisch bepaalde Enterovirus-A- tot D-species (aangepast van Van der Sanden).¹⁹

	Species A	Species B	Species C	Species D
Polioviruses			1-3	
Coxsackie-A-virussen	2-8, 10, 12, 14, 16	9	1, 11, 13, 15, 17-22, 24	
Coxsackie-B-virussen		1-6		
ECHO-viruses		1-9, 11-21, 24-27, 29-34		
Enteroviruses	71, 76, 89-92, 114, 119	69, 73-75, 77-88, 93, 97-98, 101, 106-107	95-96, 99, 102, 104-105, 109, 113, 116-118	68, 70, 94, 111

Basis of Adenovirus typing

- 52 human serotypes, 7 distinct species A-G
 - based on hemagglutination properties, DNA homology and oncogenic potential in rodents
- Different serotypes may cause infection or distinct diseases in different age groups or patient populations
- Neutralizing antibodies are serotype-specific
- Cellular immune response cross-reactive across various serotypes

Verschuiving in virus diagnostiek van kweek naar moleculaire detectie

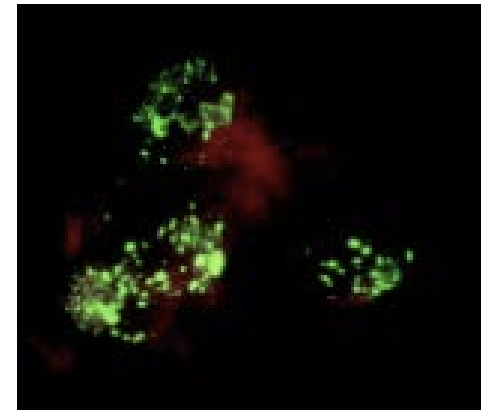


- Moleculaire detectie sneller, gevoeliger, en meer targets
- Verdere typering wordt niet standaard gedaan

Aantonen virale luchtweginfectie

Aantonen virus uit neus/keel spoelsel, wattenstok of broncho-alveolaire lavage (BAL)

- Directe Immuunfluorescentie en blot (<24 h) (alleen spoelsel)
- Celkweek (3-10 dagen)
bv **niet** corona, boca, EBV
lage loads RSV of influenza
- PCR: viraal DNA of RNA (24-48 hr)
meerdere targets (~14stk) tegelijk
- *Antistoffen (serologie) nauwelijks een rol meer.*



Basisprincipes scoring

- De score hangt aan het virus:
1 punt voor een correct genus en 1 punt voor een correct species.
Dus maximale score per virus = 2 punten.
- Doorsturen voor typering wordt beloond met 1 punt.
- Wanneer een virus gedetecteerd wordt wat **niet aanwezig** is, of wanneer de nadere **typering niet correct** is wordt hiervoor een **aftrekpunt (-1)** toegekend.
- De score per monster kan variëren van 0 tot +2.

monster : D Nasopharynxswab.

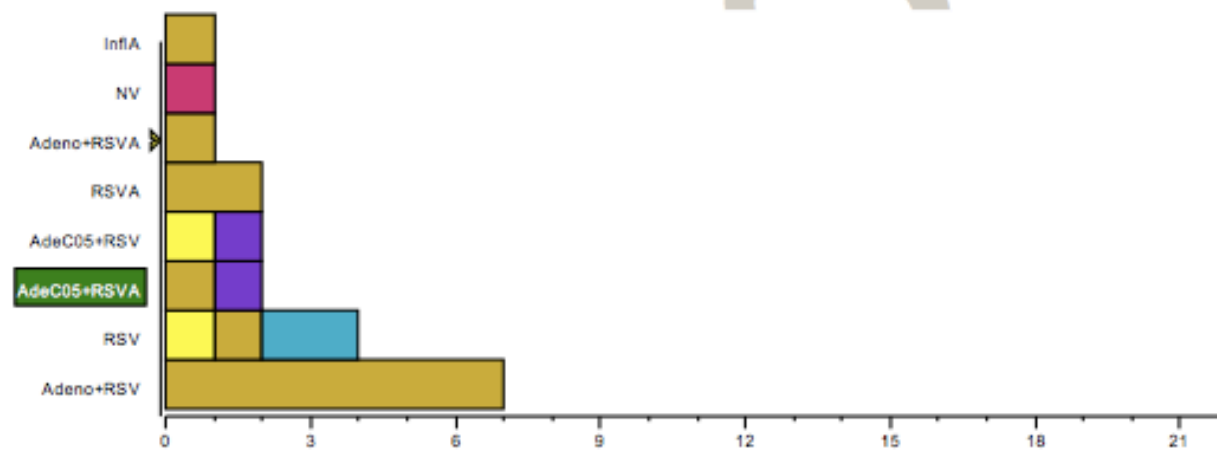
Patiënt : Kind van 4 jaar opgenomen op de Kinder IC i.v.m. een exacerbatie astma. Gaarne diagnostiek naar virale verwekkers.

Vraag : Virusdetectie.

Opmerkingen : Bij techniek vult u in welke techniek u heeft gebruik bij de primaire detectie dit betreft dus niet de typerings techniek.

Determinatie	Expert uitslag	Score	Uw uitslag
	Adenovirus C type 05	2	Adenovirus type onbekend ✓
	Respiratoir syncytieel virus type A	2	Respiratoir syncytieel virus type A ✓
		Totaalscore :	3

Histogram



Respiratoir syncytieel virus type onbekend

Adenovirus C type 05



Legenda

■ Weefselweek

■ Moleculaire detectie

■ Onbekend

■ Weefselweek en moleculaire detectie

■ Antigeendetectie

Monster : **B** Nasopharynxwat.

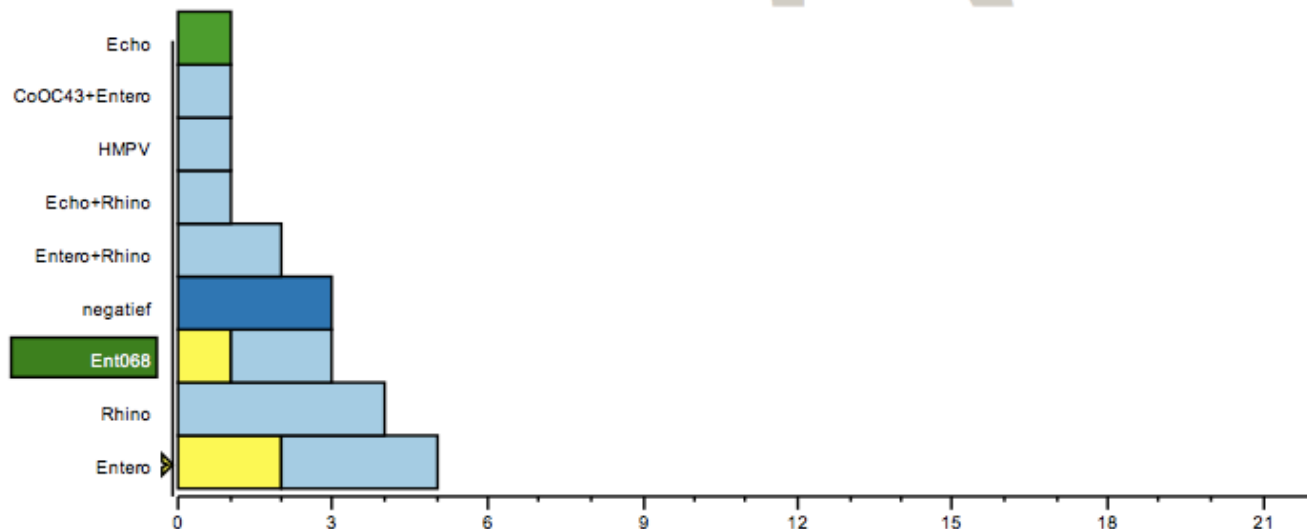
Patiënt : 14-jarige jongen, bekend met astma, binnengekomen op de eerste hulp met hoesten en ernstige dyspneu. Sinds 4 dagen ziek.

Vraag : Virusdetectie.

Opmerkingen : Vergeet u niet de verdiepingsvragen in te vullen?

Determinatie	Expert uitslag	Score	Uw uitslag
	Enterovirus type 068	2	Enterovirus type onbekend 1 Vervolg : Nadere typering
		Totaalscore :	2

Histogram



Enterovirus type onbekend

Geen virussen gezien

Rhinovirus

Echovirus type onbekend

Toe naar uniforme scores: normering

- Norm is niet meer gelijk aan maximale score:
 - bestuur legt norm vast per rondzending
 - individueel lab legt eigen norm vast



- Norm per monster kan verschillen: bestuur kan core monsters en moeilijke monsters definiëren
- Uniformiteit in scores: bestuur toetst scores per rondzending
- Scores mogen straks gaan van -2 naar +2 per virus: sommige fouten erger dan anderen (meer aftrek?) bv foutief poliovirus

Respiratoire rondzending 2014

- Norm: 70% (7 uit 10 punten); norm per monster

Tot de kernmonster worden gerekend:

- Monster A, humaan metapneumovirus. Dit virus moet detecteerbaar zijn in een standaard respiratoire screening, de norm is 100% (2/2)
- Monster B, enterovirus 68 (EV68). Omdat het belangrijk is om enterovirus uitbraken te kunnen detecteren, zoals de EV68 uitbraak in de US en delen van Europa, wordt de norm gesteld op het detecteren_van enterovirus en het (laten) typeren van het virus. Norm 100% (2/2).
- Monster C, parainfluenzavirus 2. Behoort tot de standaard (moleculaire) detectie voor respiratoire virussen, norm 100% (2/2).

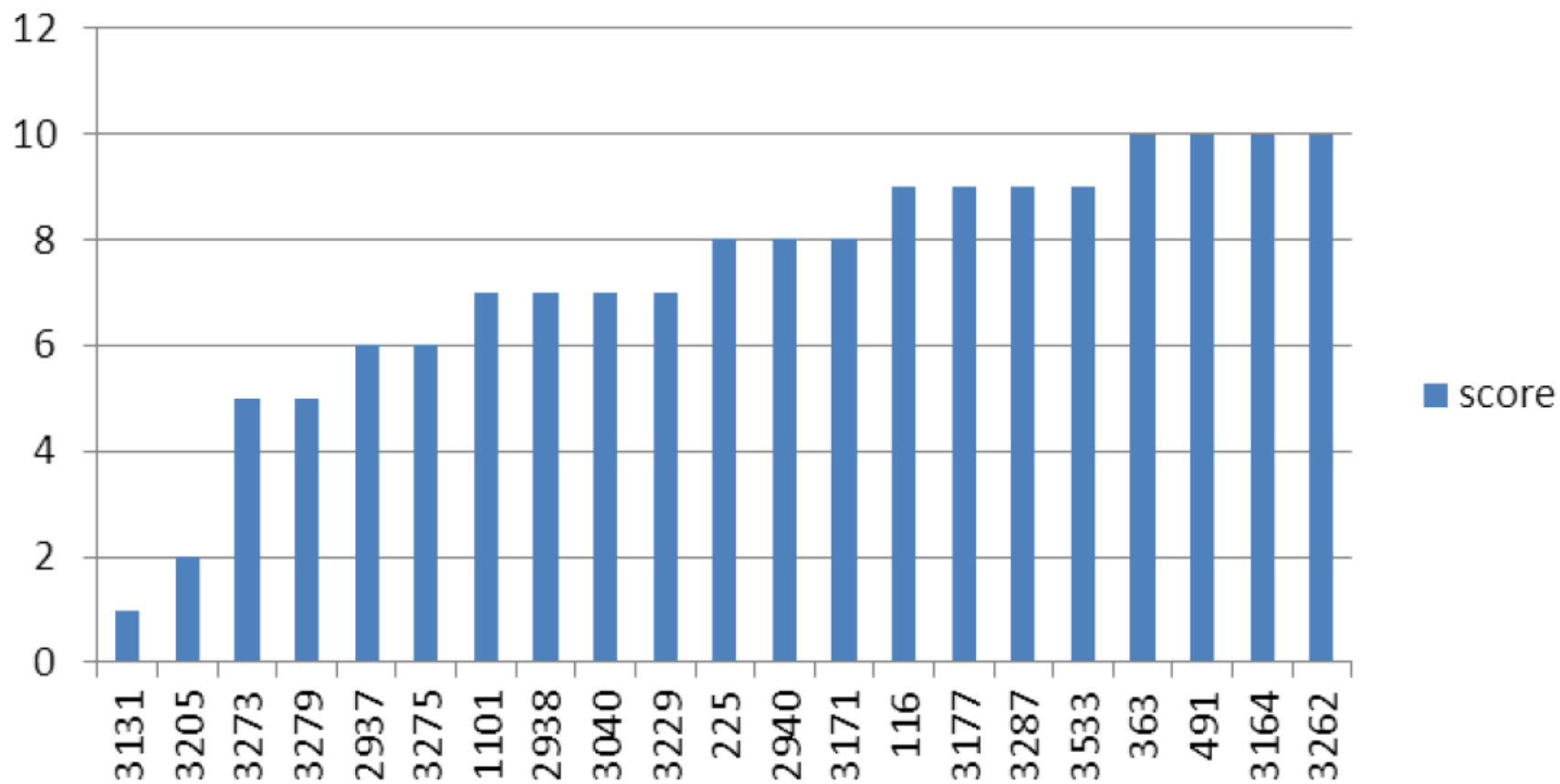
De rondzending bevatte als verdiepingsmonsters:

- Monster D, een HSV-1. Niet een klassiek respiratoir pathogeen, maar gezien het klinische verhaal moet men wel bedacht zijn op een virus uit de herpes familie. Een typering mag maar hoeft niet; norm 50% (1/2)
- Monster E, bevatte EBV, maar gezien de aard van het materiaal (keelwat) zou dit niet getest moeten worden. Omdat er wel EBV in het monster zat is het aantonen van EBV niet onjuist en krijgt dan ook 1 punt, maar de juiste klinische uitslag is dus 'geen virus', 100% (2/2)

Voor deze rondzending wordt gehanteerd 3 kernmonsters goed en 1 verdiepingsmonster volgens de norm, daarmee komt de totale norm op het behalen van 7 uit 10 punten (70%).



Score per deelnemer



Current issues

- Doorsturen voor typeren scoort even goed als zelf typeren:
Eerlijk???
- Normen voor typering niet 'objectief' maar veld-gestuurd:
 - Influenza A, B, maar niet RSV A, B
 - Enterovirus types wel, rhinovirus types niet
- Je kunt sturen d.m.v. de norm:
 - niet getypeerde uitslag levert 1 punt op maar dat kan de norm zijn
- Veel debat over normering bij enterovirussen

Typering voors / tegens

- Tegen:
 - Niet klinisch relevant
 - Maakt niet uit voor verder beleid
- Voor:
 - Igv enterovirus typering: voldoen aan WHO norm uitsluiting polio
 - Wel klinisch relevant: adenotypes/enterotypes geassocieerd met bepaalde ziektebeelden
 - Outbreak management: EV-D68 was maar in 33% van de labs opgepikt

Zelfde soort, toch verschillend...
belang van typering

