

BULLETIN INFECTIEZIEKTEN

Jaargang 6

nummer 6

1995



INHOUDSOPGAVE

De epidemie van respirator syncytieel virus (RSV) in 1994/95 120
J. de Jong

Commentaar van de Inspectie voor de Gezondheidszorg 123

Ebola virus haemorrhagische koorts 124
J.M. Ossewaarde, M.P.G. Koopmans

Commentaar van de Inspectie voor de Gezondheidszorg 128

Oorklachten na zwemmen in recreatieplassen;
 Een verslag van een epidemiologisch onderzoek tijdens een explosie 128
I.A. van Asperen, C.M. de Rover, C. Collé et al.

Commentaar van de Inspectie voor de Gezondheidszorg 130

Aankondiging 131

Registratie-overzichten 132

- GHI 4-weken overzicht
- Laboratorium Surveillance Infectieziekten
- Virologische Laboratoria

Toelichting Salmonella Bovismorbificans 137

RIVM reports 138

Het contactadres betreffende het Infectieziekten-Bulletin is:

IGZ

Mw. A.A. Warris-Versteegen
 Postbus 5850
 2280 HW Rijswijk
 070 - 3405972

RIVM

Mw. drs. M.I. Esveld, CIE, pb. 75 V-124
 Postbus 1
 3720 BA Bilthoven
 030 - 74 35 51 / 74 36 79

Lay-out: Marjan Nijssen, Studio, RIVM.

Overname van artikelen is alleen mogelijk met bronvermelding en na toestemming van de auteur.

De verantwoordelijkheid voor de gegevens berust bij de auteur.

ISSN 0925-711X

De epidemie van respiratoir syncytiaal virus (RSV) in 1994/95

J.C. de Jong*

Abstract

In the season 1994/95 in the Netherlands more patients with an infection with respiratory syncytial virus (RSV) were recorded in a shorter period of time compared with the previous three seasons. Consequently, hospitals were not always able to cope with the high numbers of young children who sought intensive medical care during the last season.

Inleiding

In december 1994 werd door de media op vaak alarmerende wijze aandacht gegeven aan de jaarlijkse winterepidemie van het RSV. Dit virus maakt vooral slachtoffers onder baby's, die na infectie een ernstige bronchiolitis kunnen ontwikkelen. Genoemde berichtgeving veroorzaakte veel onrust bij ouders en deed artsen zich afvragen of het circulerende virus een verhoogde virulentie bezat. In dit artikel zullen de RSV-epidemie van 1994/95 en haar verwekker daarom nader worden beschouwd.

Virologie

RSV werd in 1956 ontdekt als verkoudheidsvirus dat in celculturen celfusie induceert; hieraan ontleent het virus zijn naam¹. RSV is een paramyxovirus. In structureel opzicht lijkt het op de influenza- en paraïnfluenzavirussen, waarmee het overigens geen antigeenverwantschap heeft. Het is 150-300 nm groot en bezit een vetmembraan. Het gespiraliseerde nucleocapside bevat een niet-gesegmenteerd RNA-molecuul met negatieve polariteit ter lengte van 15000 basen. RSV is goed bestand tegen uitdroging² maar gezien de aanwezigheid van een envelop mag men aannemen dat het gevoelig is voor inactivering door de gebruikelijke desinfectantia.

In respiratoir materiaal van de patiënt wordt het virus klassiek aangetoond door kweek in celcultuur gevolgd door serologische identificering met de complementbindingsreactie, de neutraliseringsreactie of een ELISA. Ongeveer tien jaar geleden werd op een geleidelijk toenemende schaal de directe immuun-

fluorescentietoets met monoklonale antistoffen op geïnfecteerde cellen in het respiratoire monster ingevoerd. Recent zijn ook moleculaire methoden ontwikkeld waarbij het virus-RNA met de PCR (polymerase chain reaction) wordt vermeerderd; deze techniek is echter moeilijk, tijdrovend en kostbaar.

Pathologie

Infecties met RSV blijven beperkt tot de luchtwegen. Na een incubatietijd van vier tot vijf dagen ontstaat bij de baby een ziektebeeld gekenmerkt door moeilijke ademhaling, vaak gepaard gaand met piepen, emfyseem en cyanose.

RSV is de voornaamste oorzaak van lage-luchtweg-aandoeningen (bronchiolitis, tracheobronchitis en pneumonie) bij jonge kinderen³. In de eerste twee levensjaren is de attack rate van lage-luchtwegziekten door RSV 10-20 per 1000 kinderen per jaar, in het derde jaar 10 en op 4-5 jarige leeftijd 5³. De incidentie daalt verder met de leeftijd door opbouw van immuniteit. Deze is echter nooit volledig en ook volwassenen worden regelmatig opnieuw besmet, meestal met als gevolg een verkoudheid die wat ernstiger zou verlopen dan bij een rhinovirusinfectie. Jonge kinderen ontwikkelen na een RSV-infectie in ongeveer de helft van de gevallen een lage-luchtweg-aandoening; de meerderheid van de ernstige gevallen komt voor bij baby's onder de twaalf maanden, met een piek bij twee maanden. Bij jonge kinderen is ook otitis media een veel voorkomende complicatie. Secundaire bacteriële infecties worden zelden gezien (<1%). Ernstige complicaties zijn vooral te verwachten bij kinderen met onderliggende kwalen, met name hart- en longziekten en aangeboren afwijkingen; rond de helft van de sterfgevallen door RSV treft deze groep. Verder lopen vooral risico premature baby's en immuundeficiënte personen. Bovendien zijn er aanwijzingen dat baby's die een RSV-bronchiolitis hebben ondergaan een driemaal grotere kans hebben om astmatisch te worden.

* Laboratorium voor Virologie, RIVM Bilthoven

Therapie

De behandeling is symptomatisch en beperkt zich voornamelijk tot kunstmatige beademing met lucht die met extra zuurstof is verrijkt³. Sinds enige jaren beschikt de arts over een antiviraal middel, ribavirine genaamd, dat per aerosol wordt toegediend. De hoge prijs van ribavirine beperkt de toepassing tot de groepen met verhoogd risico op complicaties zoals die in de sectie Pathologie werden beschreven. Bovendien is het effect van ribavirine marginaal. In sommige Amerikaanse studies bleek bij behandeling met ribavirine alleen enige bekorting van de duur van de kunstmatige beademing mogelijk⁴. In de Europese praktijk lijkt dit effect kleiner te zijn. Ook in Amerikaanse kringen worden trouwens bij het nut van het chemotherapeuticum vraagtekens gezet⁵. Gevoegd bij het risico van verstopping van de beademingsapparatuur door ribavirine-kristallen zien de meeste Nederlandse ziekenhuizen tegenwoordig vrijwel geheel af van het gebruik van dit middel.

Preventie

Er is (nog) geen vaccin. De ontwikkeling hiervan wordt gehinderd door de lage leeftijd waarop de meeste complicaties optreden en doordat in het verleden kinderen die met een geïnactiveerd RSV-preparaat werden gevaccineerd enige tijd later bij natuurlijke infectie met het virus een ernstiger ziektebeeld vertoonden dan de controle-groep⁶.

Borstvoeding vermindert de kans op een ernstige RSV-infectie. Voorkomen van transmissie binnen het gezin lijkt onmogelijk.

In ziekenhuizen kan de verspreiding van het virus sterk worden beperkt door strikte hygiëne: handen wassen, neus-mondmaskers, besmette kinderen isoleren van de andere kinderen, personeel met luchtwegziekten weghouden van kinderen met verhoogd risico³. Overigens zijn kinderen al voor het optreden van de ziekte besmettelijk.

Epidemiologie

De winterepidemieën van RSV zijn in de gematigde streken een jaarlijks terugkerend verschijnsel. Een deel van de verklaring voor deze seizoensgebondenheid ligt in het feit dat RSV - net als influenzavirus - beter overleeft in droge dan in natte aerosolen². In de koude jaargetijden zorgt de huisverwarming voor relatief droge lucht.

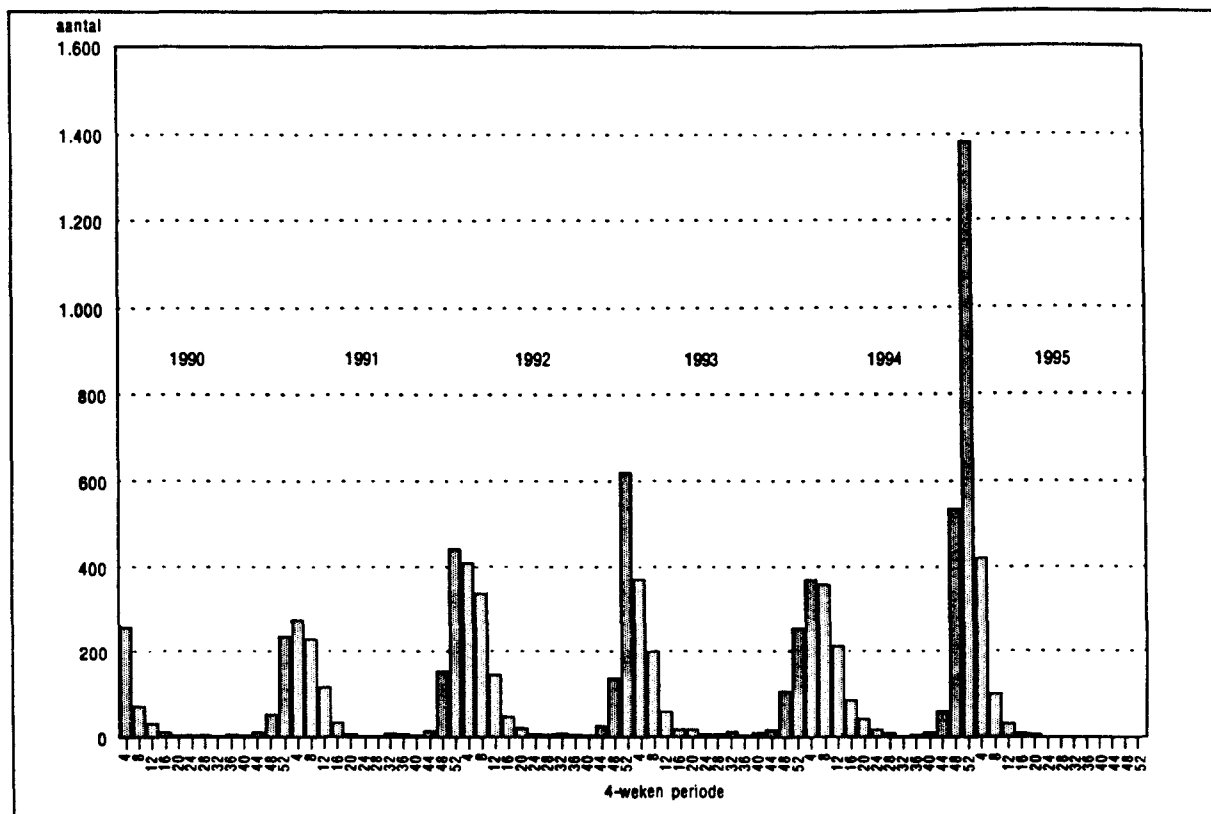
Voor Nederland is het incidentieverloop in principe sinds 1981 te volgen dankzij de registratie van RSV-

diagnoses door de Nederlandse Werkgroep voor Klinische Virologie (NWKV). In dit kader worden alle virologische uitslagen - waaronder die voor RSV - door de virusdiagnostische laboratoria wekelijks doorgegeven aan het RIVM (Laboratorium voor Virologie). Dit instituut sommeert de aantallen en rapporteert ze wekelijks terug aan de inzenders en andere belangstellenden. Ze worden ook in elk nummer van het Infectieziektenbulletin gepubliceerd. *Figuur 1* laat de gegevens van de NWKV voor RSV zien over de periode 1990/91 tot 1994/95. Men moet zich realiseren dat deze getallen niet de RSV-epidemie in de algemene bevolking representeren maar vrijwel alleen betrekking hebben op zeer jonge kinderen die met een lage luchtweginfectie door dit virus in het ziekenhuis zijn opgenomen. Bij oudere kinderen en volwassenen is het ziektebeeld in het algemeen goedaardig zodat bij hen zelden diagnostiek wordt ingezet. We zien in *figuur 1* dus het topje van het topje van de ijsberg, maar het betreft natuurlijk wel de belangrijkste groep patiënten.

Helaas is het niet zinvol om ook oudere gegevens weer te geven. Pas aan het einde van de tachtiger jaren kwam er in de vorm van de eerder genoemde directe immunofluorescentie-techniek een gemakkelijke en betrouwbare diagnostische methode ter beschikking die thans algemeen wordt toegepast.

Opvallend in *figuur 1* is de geringe variabiliteit van tijdstip en omvang der jaarlijkse RSV-epidemie, althans voorzover deze betrekking heeft op jonge kinderen met ernstige lage luchtwegproblemen. Geen virus of bacterie vertoont zo'n regelmatig epidemiologisch patroon: half november begin van de stijging, de piek in december of januari, totale duur 4-5 maanden als men alleen de vierweekse perioden met meer dan 100 gerapporteerde gevallen epidemisch noemt. Ook de geregistreerde omvang wisselt weinig: in 1990/91, 1991/92, 1992/93 en 1993/94 respectievelijk circa 930, 1560, 1440 en 1470 gerapporteerde gevallen van RSV-infectie. Ook het virus zelf is weinig variabel. Er zijn geen significante antigeenveranderingen aangetoond sinds de ontdekking van RSV in 1956. Met behulp van monoklonale antistoffen worden wel twee antigene groepen onderscheiden⁷. Deze worden gewoonlijk met A en B aangeduid en kunnen in diverse subgroepen worden onderverdeeld. Beide groepen hebben al tenminste 25 jaar gecirculeerd, naast elkaar in wisselende verhoudingen in hetzelfde seizoen, hetzelfde land en dezelfde stad^{9,10}. Hoewel deze ontdekking al 10 jaar geleden werd gepubliceerd is nog steeds niet duidelijk of de twee groepen verschillen in pathogeen vermogen en of infecties beter beschermen tegen een homologe dan tegen een heterologe herinfectie^{7,8}.

Ziektenhuisinfecties komen frequent voor en worden



Figuur 1: Positieve uitslagen van het RS-virus per 4 weken, 1990 t/m week 20 1995, verzameld door de virologische laboratoria.

waarschijnlijk door verpleegkundigen overgebracht; tijdens RSV-epidemieën is soms de helft van de verpleegkundigen besmet³. De transmissie zou vooral via besmette voorwerpen en handen worden overgebracht en niet via de aerogene route. In respiratoire excreta op niet-poreuze oppervlakken kan het virus tenminste 24 uur lang nog infectieus zijn³.

De epidemie 1994/95

Ook de RSV-epidemie van het seizoen 1994/95 is goed te volgen aan de hand van de registratie van de NWKV (figuur 1, tabel 1). De epidemie trok vanaf week 43 over ons land. In week 50 (12-18 december) werden de meeste gevallen gemeld (tabel 1). Het verloop verschilde weinig per geografische regio. Alleen in regio Noord viel de piek een week later dan in de rest van Nederland en sleepte de epidemie zich nog lang voort. Interessant is dat de peilstation-huisartsen van het NIVEL (Nederlands instituut voor onderzoek van de gezondheidszorg) een piek van influenza-achtige ziektebeelden meldde in week 48. In deze tijd was er geen influenza en de piek is dus waarschijnlijk een 'echo' van de RSV-epidemie. Hierop

wijst ook het feit dat de piek het sterkste optrad in de leeftijdsgroep van 0-4 jarigen. Dat de piek in de NWKV-registratie twee weken later viel, zou enerzijds kunnen worden verklaard uit een vertraging in de rapportage naar de NWKV, anderzijds is het denkbaar dat de epidemie in de algemene bevolking zich pas één à twee weken later vertaalt in een verhoogd aantal ziekenhuisopnamen en de daarmee gepaard gaande RSV-diagnoses. Is er reden de afgelopen RSV-epidemie als uitzonderlijk te beschouwen? Het totale aantal aan de NWKV gemelde RSV-infecties tijdens de epidemische periode van week 43 t/m 6 bedraagt 2456. Dit is slechts 1,7x zoveel als gemiddeld over de vorige drie seizoenen en bevestigt de constantheid van de RSV-epidemiologie. Er is echter een tweede factor van belang. De RSV-epidemie van 1994/95 was abrupter dan gewoonlijk. Gedurende slechts drie vierweekse perioden werden RSV-incidenties gerapporteerd die hoger dan 100 lagen tegen vier tot vijf in de voorgaande vier seizoenen. Vermoedelijk kan de ontstane opschudding die de RSV-epidemie teweegbracht, worden verklaard uit een combinatie van omvang en duur. De kindziekenhuizen moesten een vijfde maal groter aantal patiëntjes verwerken in tweederde van de normale

Tabel 1: Aantal meldingen van RSV-infecties per week en per regio in het seizoen 1994/95 (De piekwaarden zijn vetgedrukt).

Week	Totaal	Regio			
		A	B	C	D
43	22	1	0	16	5
44	25	1	1	11	12
45	34	1	3	17	13
46	78	3	5	43	27
47	139	10	18	63	48
48	284	25	43	105	111
49	345	45	38	132	130
50	443	77	63	151	152
51	336	96	39	87	114
52	259	60	56	56	87
1	201	63	30	48	60
2	96	23	14	19	40
3	67	27	4	12	24
4	56	24	3	17	12
5	22	5	10	5	42
6	20	5	2	2	29
7	10	0	6	0	16

Regio A: Groningen, Friesland, Drenthe

Regio B: Overijssel, Gelderland

Regio C: Noord- en Zuid-Holland en Utrecht

Regio D: Zeeland, Noord-Brabant en Limburg

Bron: Nederlandse Werkgroep Klinische Virologie

tijd. De hoogste weekwaarde van 1994/95 (443) was zelfs bijna viermaal hoger dan die in 1993/94 (118). Dat deze sterk verhoogde piekbelasting in vele ziekenhuizen problemen gaf, valt te begrijpen.

Waarom het virus dit seizoen zich meer en sneller verspreidde dan in vorige jaren is niet bekend. Mogelijk was de groepsimmunitet tegen RSV wat lager dan vroeger. In vergelijking met andere microben blijft het RSV toch een zeer voorspelbaar virus zodat speculaties over een grotere virulentie¹⁾ van het virus 1994/95 weinig zinvol zijn.

Commentaar van de Inspectie voor de Gezondheidszorg

Eind 1994 is naar aanleiding van de RSV-epidemie onrust ontstaan en dit heeft bij een groot aantal GGD-en tot vragen geleid, met name van ouders van kinderen die een creche of kinderdagverblijf bezoeken. Gezien het in het algemeen aspecifieke karakter van de infectie, de transmissieweg van het virus en het feit dat verspreiding reeds mogelijk is voordat zich

Literatuur

1. McIntosh K, Chanock RM. Respiratory syncytial viruses. In: Fields BN, Knipe DM, red. *Fields Virology*, 2^e editie; New York: Raven Press, 1990: 1045-74.
2. Rechsteiner J, Winkler KC. Inactivation of respiratory syncytial virus in aerosol. *J gen Virol* 1969;5:405-10.
3. Hall CB. Respiratory syncytial virus. In: Mandell GL et al, red. *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 3^e editie; New York: Churchill Livingstone, 1990: 1265-78.
4. Smith DW, Frankel LR, Mathers LH, Tang ATS, Ariagno RL, Prober CG. A controlled trial of aerosolized ribavirin in infants receiving mechanical ventilation for severe respiratory syncytial virus infection. *N Engl J Med* 1991;325:24-9.
5. Wheeler JG, Wofford J, Turner RB. Historical cohort evaluation of ribavirin efficacy in respiratory syncytial virus infection. *Pediatr Infect Dis J* 1993;12:209-13.
6. Murphy BR, Hall SL, Kulkarni AB, Crowe JE, Collins PL, Connors M, Karron RA, Chanock RM. An update on approaches to the development of respiratory syncytial virus (RSV) and parainfluenza virus type 3 (PIV3) vaccines. *Virus Research* 1994;32:13-36.
7. Hurwitz ES, Gunn WJ, Pinsky PF, Schonberger LB. Risk of respiratory illness associated with day-care attendance. A nationwide study. *Pediatrics* 1991; 87:62-69.
8. Aymard M, et al. Epidemiology of viral infections and evaluation of the potential benefit of OM-85 BV on the virologic status of children attending day-care centers. *Respiration* 1994;61(suppl 1): 24-31
9. Anderson LJ, Hendry RM, Pierik LT, Tsou C, McIntosh K. Multicenter study of strains of respiratory syncytial virus. *J Infect Dis* 1991;163:687-92.
10. Warris M. Pattern of respiratory syncytial virus epidemics in Finland: Two-year cycles with alternating prevalence of groups A and B. *J Infect Dis* 1991;163:464-9.

verschijnselen voordoen, zijn specifieke op RSV gerichte maatregelen niet aan te geven, afgezien van het handhaven van de hygiënische richtlijnen in ziekenhuizen.

Mogelijk dat in de toekomst het Infectieziekten Surveillance Informatie Systeem zodanig verfijnd kan worden dat het mogelijk is in een vroeg stadium te waarschuwen voor een volgende afwijking van het gebruikelijke epidemiologische patroon zoals beschreven in het artikel van de Jong.

¹⁾ Virulentie bijvoorbeeld gedefinieerd als de verhouding tussen het aantal baby's opgenomen in het ziekenhuis wegens een RSV-infectie en het aantal RSV-infecties in de algemene bevolking.

Ebola-virus haemorrhagische koorts

J.M. Ossewaarde, M.P.G. Koopmans *

Inleiding

Virale haemorrhagische koortsen worden veroorzaakt door virussen uit tenminste vier verschillende families: filovirussen, arenavirussen, flavivirussen, en bunyavirussen. Het klinisch beeld van een virale haemorrhagische koorts begint met koorts en spierpijn. In dit stadium is de differentiaal-diagnoselijst bij een patiënt uit Afrika zeer lang. Gezien prevalentie en incidentie komen malaria en tyfus als eerste in aanmerking. Vervolgens komen meningococce-sepsis, infectie met *Yersinia*, *Leptospira*, *Rickettsia*, en tenminste acht andere virale haemorrhagische koortsen en fulminante hepatitis B in aanmerking, voordat aan de diagnose filovirus of Ebola-virus haemorrhagische koorts gedacht kan worden. Is het infecterend agens inderdaad een filovirus dan kan, afhankelijk van het betrokken virus, progressie optreden van het ziektebeeld met respiratoire problemen, nierinsufficiëntie, bloedingen en shock. Naast de koorts treden dan bij Ebolavirus-infecties braken, diarree, buikpijn en keelpijn op. Er ontstaan stollingsstoornissen en de patiënt gaat bloeden uit injectie plaatsen, uit het maag-darm kanaal en in de huid en inwendige organen. De letaliteit is afhankelijk van de stam en kan oplopen tot 90%. Hoewel de gebruikelijke gastheren van de haemorrhagische koorts-virussen knaagdieren en geleedpotigen zijn (zoals teken en muskieten), is zowel de natuurlijke gastheer als de eventuele vector van de filovirussen niet bekend¹.

Filovirussen

Filovirussen zijn negatief enkel-strengs RNA bevattende virussen. Ze vormen een aparte familie in de orde Mononegavirales². De naam filovirus is ontleend aan de kenmerkende verschijning in de elektronen-microscop, nl. in de vorm van draden. Filovirussen lijken in sommige eigenschappen enigszins op paramyxovirussen en rhabdovirussen, maar worden toch tot een aparte familie gerekend, de Filoviridae. Tot deze familie behoort één genus, filovirus, met op dit moment twee virussen: het Marburg-virus en het Ebola-virus. Tussen deze virussen is geen anti-

gene kruisreactie aangetoond. Het Marburg-virus heeft zijn naam ontleend aan het Duitse plaatsje Marburg. Aldaar en in Frankfurt en Belgrado heeft in 1967 een epidemie gewoed onder laboratoriummedewerkers die werd veroorzaakt door geïnfecteerde apen uit Oeganda. De mortaliteit onder zowel mensen als apen was hoog. Serologisch onderzoek bij andere apen afkomstig uit het zelfde gebied leverde niets op. De hoge mortaliteit onder deze apen duidt er op, dat apen waarschijnlijk niet de natuurlijke gastheer van dit virus zijn. Sporadische gevallen van Marburg-virus-infecties zijn gerapporteerd in 1975 (Zuid Afrika, waarschijnlijk opgelopen in Zimbabwe), 1980 (Kenia), in 1982 (Zimbabwe) en in 1987 (Kenia). In alle gevallen werd waarschijnlijk een epidemie voorkomen door barrière-verpleging. Noch de natuurlijke gastheer noch een eventuele vector, kon achterhaald worden¹.

Ebola-virussen

Het Ebola-virus heeft zijn naam ontleend aan de rivier Ebola in Zaire, waar het virus voor het eerst is ontdekt. Het virion bestaat uit een helicoidaal nucleocapside, dat is omgeven door een membraan met 10 nm lange projecties. De gemiddelde lengte van een virion is 920 nm. De doorsnede is 80 nm. Virionen hebben de neiging spontaan te aggregeren en zo lange draden (=fili) te vormen. Het virion bevat enkel strengs negatief RNA en zeven eiwitten (een nucleoproteïne, een glycoproteïne, een polymerase en vier nog onvolledig gekarakteriseerde eiwitten). De genoomorganisatie is vrijwel gelijk aan dat van het Marburg-virus en lijkt sterk op die van de paramyxovirussen en rhabdovirussen³.

Karakterisatie van de virussen die de verschillende epidemieën hebben veroorzaakt, laat zien, dat er verschillen tussen de stammen bestaan. De verschillende stammen hebben ook een verschillende virulentie in infectieproeven bij apen. De meest virulente stam is de Zaire stam, gevolgd door de Sudan stam en als laatste de Reston stam⁴. De Côte-d'Ivoire stam, geïsoleerd uit een wetenschapper die de infectie heeft opgelopen na contact met chimpansees⁵, is nog niet onderzocht op virulentie. De

* Laboratorium voor Virologie RIVM, Bilthoven

mortaliteit onder de geïnfecteerde chimpansees was echter hoog en de directe aanleiding tot het nader onderzoek. De geïnfecteerde wetenschapper heeft de infectie overleefd. De Côte-d'Ivoire stam bleek anders te reageren met monoclonale antistoffen dan de Zaire, Sudan en Reston stammen (tabel 1). Onderzoek heeft aangetoond, dat de in 1976 en in 1979 geïsoleerde Sudan virussen vrijwel gelijk zijn. In tegenstelling tot andere RNA virussen is de mutatie frequentie waarschijnlijk laag.

De manier waarop het virus de gastheercel ingaat is nog onduidelijk. Wel is duidelijk dat er een zeer snelle vermenigvuldiging plaats vindt en dat nieuwe infectieuze virusdeeltjes snel vrijkomen. Met name bij de Sudan-stam is wel een extra passage in celkweek nodig om het virus uit patiëntenmateriaal te kweken, maar adaptatie aan de cellijn treed zeer snel op. In dierproeven zijn de virussen zeer virulent. De Sudan-stam is echter een uitzondering, deze infectie is relatief vaak self-limiting.

Epidemiologie

Hoewel er retrospectief serologische aanwijzingen bestaan voor een epidemie in 1961 en 1962 in Ethiopië⁶ waren tot voor kort slechts drie epidemieën bij mensen virologisch met zekerheid gedocumenteerd: in 1976 twee, één in Zaire en één in Sudan en in 1979 een derde wederom in Sudan. Het merendeel van de besmettingen vond plaats in ziekenhuizen. Onbekendheid met dit nieuwe agens en een gebrek aan medische hulpmiddelen en aan schone steriele naalden waren belangrijke factoren in de transmissie. Besmetting kan optreden bij hergebruik van naalden en intensieve verzorging van zieke patiënten. Het virus kan worden overgebracht door contact met besmet bloed, secreties en sperma. Het virus kan dus ook overgebracht worden via seksueel contact. Transmissie via aerosolen tussen mensen is niet met zekerheid aangetoond maar bij apen zijn hier wel enkele aanwijzingen voor. Het gebruik van de juiste hulpmiddelen, voorlichting en quarantaine-maatregelen konden verdere verspreiding van infecties bij de mens in alle gevallen voorkomen. De incubatietijd

is gemiddeld 5-7 dagen na contact via besmette naalden en 6-12 dagen na persoon-persoon contact. Men neemt aan dat de maximale incubatie tijd 3 weken is. De infectieroute en de infectiedosis zijn waarschijnlijk van invloed op de virulentie. Patiënten die een infectie overleefd hebben, kunnen het virus nog gedurende enkele weken uitscheiden in genitale secreten.

Hoewel duizenden monsters onderzocht zijn van dieren, gevangen op en rondom de plaatsen waar de epidemieën waren, is ook geen natuurlijk reservoir voor het Ebola-virus gevonden. Hoewel het op grond van genetische analyse niet waarschijnlijk geacht wordt, is het zelfs nog niet uitgesloten dat planten de natuurlijke gastheren van deze filovirussen zijn. De totale seroprevalentie onder de bevolking in Centraal-Afrika zou 24.4% zijn⁷. Risicofactoren waren ethnische afkomst en jagen in de bossen: de sero-prevalentie onder 21-40 jaar oude jagers (37.5%) zou driemaal hoger zijn dan onder even oude boeren (13.2%) in Centraal-Afrika⁸. Deze resultaten suggereren, dat subklinische infecties met filovirussen regelmatig voorkomen. Een tweede aanwijzing hiervoor is een waargenomen seroprevalentie van 6.9% bij inwoners van Duitsland⁹. Een probleem bij epidemiologisch onderzoek is de interpretatie van lage titers in serologische bepalingen. Uit nader onderzoek is gebleken, dat lage titers vrijwel nooit te confirmeren zijn met een Western blot of radio-immunoprecipitatie¹⁰. Ook werd de hoogste seroprevalentie niet gevonden in gebieden in Afrika, waar de epidemieën voorkomen. Deze resultaten kunnen verklaard worden door subklinische infecties of door specifieke reacties in de testen. De beschikbare gegevens over seroprevalentie dienen dan ook met enige terughoudendheid geïnterpreteerd te worden. Meerdere malen zijn bij apen geïmporteerd uit o.a. de Filipijnen, infecties met Ebola-virussen vastgesteld. De eerste maal was dit in 1989 in Reston, Virginia, USA¹¹, en later in de staten Virginia, Pennsylvania en Texas¹² en in Italië in 1992¹³. Serologisch onderzoek bij apen uit de Filipijnen, China en Oeganda toonde een filovirusinfectie bij 43.3% van 120 apen aan⁹. In dit laatste onderzoek zijn de serologische resultaten bevestigd met een confirmatietest. Nader

Tabel 1: Reactie van monoclonale antistoffen met verschillende Ebola-stammen⁵.

Stam	Reactie met CDC monoclonale antistof					
	CDC-1	CDC-2	CDC-8	CDC-9	CDC-10	CDC-16
Zaire 1976	+	-	+	+	-	+
Sudan	+	-	+	-	+	-
Reston	+	+	-	-	+	+
Côte-d'Ivoire	+	-	+	-	-	+

onderzoek naar de specificiteit van de serologische reacties en de herkomst van deze antistoffen is dan ook zeker aangewezen.

Diagnostiek

De laboratorium-diagnostiek berust op het aantonen van antistoffen tegen het virus, van antigeen van het virus of van het virus zelf. Deze testen zijn alleen beschikbaar in gespecialiseerde laboratoria. Voorafgaand aan de meeste testen, behalve kweek, kan het virus geïnactiveerd worden door verhitting (60 min bij 60°C) en/of toevoeging van een detergent (0.1% Triton X-100).

Aantonen van specifieke IgG- en IgM-antistoffen kan plaats vinden met een indirecte immunofluorescentie of een enzyme immunoassay. De resultaten dienen echter wel geconfirméerd te worden met een Western blot of een radio-immunoprecipitatie. Bij de interpretatie dient het tijdstip van afname van het serummonster in aanmerking genomen te worden. Bij een korte incubatietijd kunnen antistof bepalingen nog negatief zijn. Voor de diagnose is dan een monster op een later tijdstip nodig. Serologische diagnostiek kan ook fout negatief zijn als de verkeerde stam als antigeen gebruikt wordt. Dit wordt geïllustreerd door de observatie dat IgG-antistoffen uit het serum van de Côte-d'Ivoire patiënt goed met de eigen stam en met de Zaire 1976-stam reageerden, maar niet of nauwelijks met de Sudan- of de Reston- stam (tabel 2). IgM antistoffen reageerden uitsluitend met de eigen Côte-d'Ivoire stam⁵.

Virus-antigeen in het serum van een patiënt kan aangetoond worden met een antigeen-capture enzyme immunoassay. Een (postmortem) leverbiopt kan ook middels immunofluorescentie of electronen-microscopie onderzocht worden op de aanwezigheid van Ebola-virus. Ook kan m.b.v. electronen-microscopie plasma of serum onderzocht worden op de aanwezigheid van Ebola-virus¹⁴. Aangezien de verschillende epidemieën veroorzaakt werden door Ebola-stammen met verschillende antigene eigenschappen berust de

betrouwbaarste diagnostiek op kweek, gevolgd door confirmatie middels electronen-microscopie. Een blinde passage is soms nodig om het virus uit patiëntmateriaal te kweken, bijvoorbeeld bij de Sudan-stam. Viruskweek dient uitsluitend plaats te vinden onder in speciaal daartoe ingerichte laboratoria overeenkomstig de Nederlandse FIN IV- of Amerikaanse BSL4-normen. Patiëntmateriaal dient overeenkomstig de richtlijnen zoals deze gelden voor alle patiëntmaterialen, behandeld te worden.

Behandeling

Een specifieke therapie is niet bekend. Antivirale middelen, zoals ribavirine, zijn in vitro niet werkzaam. Interferon heeft mogelijk enig effect en toediening kan overwogen worden. Hoewel convalescent humaan plasma geen neutraliserende antistoffen bevat, heeft het toedienen hiervan mogelijk wel een gunstig effect op het ziektebeloop. Dergelijke preparaten zijn echter niet eenvoudig te verkrijgen. Therapie is dus vooral symptomatisch en intensieve zorg is het belangrijkste: preventie van shock, hersenoedeem, nierinsufficiëntie, bacteriële superinfectie, hypoxie, en hypotensie kan levensreddend zijn. Het gebruik van isolatoren wordt niet nodig geacht, maar barrière-verpleging is wel noodzakelijk.

Immunititeit

In dierexperimentele modellen blijkt de helft van de apen die een infectie overleefd hebben, niet beschermd te zijn tegen een dodelijke dosis Ebola-virus.

Preventie

Een vaccin bestaat (nog) niet. Preventie richt zich dan ook sterk op hygiënische maatregelen ter voorkoming van verspreiding van het virus. Alle epide-

Tabel 2: Reactie van IgG- en IgM-antistoffen uit het serum van de Côte-d'Ivoire patiënt met verschillende Ebola-virus stammen.

Ziekte dag	Immunofluorescentie-test				IgG-EIA				IgM-capture EIA			
	CI	Z	S	R	CI	Z	S	R	CI	Z	S	R
3	0	0	0	0	0	0	0	0	1250	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	15000	0	0	0
23	2048	512	64	64	6000	1600	0	200	10000	0	0	0
40	4096	128	0	0	10000	1600	0	200	3000	0	0	0
78	2048	64	0	0	5500	800	0	200	200	0	0	0

CI=Côte-d'Ivoire stam; Z=Zaire stam; S=Sudan stam; R=Reston stam.

mieën in het verleden, inclusief de Kikwit-epidemie, zijn ingedamd door actieve opsporing van geïnfecteerde personen, barrière-verpleging en gebruik van gesteriliseerde hulpmiddelen.

De Kikwit-epidemie, Zaire

De recente epidemie in Kikwit lijkt al in januari 1995 te zijn begonnen bij een boer, die ook in de bossen arbeid verrichtte. De epidemie in de ziekenhuizen van Kikwit begon waarschijnlijk op 4 april 1995 bij een analist van één van de ziekenhuizen. Hij werd geopereerd op 10 en 11 april 1995 onder verdenking van darmperforatie. Leden van het medisch team ontwikkelden enkele dagen na zijn overlijden op 14 april 1995 een vergelijkbaar klinisch beeld, dat sterk leek op een virale haemorrhagische koorts¹⁵. Na melding van Ebola-verdenking bij de Zairese autoriteiten is de hulp ingeroepen van deskundigen van de WHO en de CDC, en uit België, Frankrijk en Zuid-Afrika. Bloedmonsters van 14 zieke personen zijn begin mei onderzocht in de laboratoria van de CDC, Atlanta, VS. Op 10 mei 1995 werd bij alle 14 patiënten de diagnose Ebola virus-infectie gesteld: 11 monsters waren in de antigeentest positief, 2 in de antistoftest en 12 monsters waren in de RT-PCR-test positief¹⁶. De nucleotide-volgorde van het PCR-product leek het meest op die van de stam die in 1976 in Zaire de epidemie veroorzaakte.

De epidemie heeft zich voornamelijk verspreid via ziekenhuizen in Kikwit en directe omgeving en via directe contacten. In de tweede helft van mei was de epidemie over haar hoogtepunt heen; er werden nog slechts 6 nieuwe gevallen geconstateerd. Begin juni waren er 282 gevallen geconstateerd met een mortaliteit van 80%. Alle gevallen traden op in de provincie Bandundu en geruchten over gevallen elders, inclusief Kinshasa, bleken ongegrond. Een wetenschappelijk team wordt nu geformeerd om de natuurlijke gastheer en een eventuele vector te proberen op te sporen¹⁷.

Referenties

1. Murphy FA, Kiley MP, Fisher-Hoch SP. Filoviridae. Marburg and Ebola viruses. In: Virology. Fields BN, Knipe DM, et al. (eds.). Raven Press Ltd, New York, 1990, pp. 933-942.
2. Feldmann H, Klenk HD, Sanchez A. Molecular biology and evolution of filoviruses. Arch Virol Suppl 1993;7:81-100.
3. Sanchez A, Kiley MP, Holloway BP, Auferin DD. Sequence analysis of the Ebola virus genome: organization genetic elements, and comparison with the genome of Marburg virus. Virus Res 1993;29:215-240.
4. Fisher-Hoch SP, Brammer TL, Trappier SG, Hutwagner LC, Farrar BB, Ruo SL, Brown BG, Hermann LM, Perez-Oronoz GI, Goldsmith CS, Hanes MA, McCormick JB. Pathogenic potential of filoviruses: role of geographic origin of primate host and virus strain. Journal of Infectious Diseases 1992;166:753-763.
5. Le Guenno B, Formetry P, Wyers M, Gounon P, Walker F, Boesch C. Isolation and partial characterization of a new strain of Ebola virus. Lancet 1995;345:1271-1274.
6. Tignor GH, Casals J, Shope RE. The yellow fever epidemic in Ethiopia, 1961-1962: retrospective serologic evidence for concomitant Ebola or Ebola-like virus infection. Trans R Soc Trop Med Hyg 1993;87:162.
7. Johnson ED, Gonzalez JP, Georges A. Hemorrhagic fever virus activity in equatorial Africa: distribution and prevalence of filovirus reactive antibody in the Central African Republic. Trans R Soc Trop Med Hyg 1993;87:530-535.
8. Johnson ED, Gonzalez JP, Georges A. Filovirus activity among selected ethnic groups inhabiting the tropical forest of equatorial Africa. Trans R Soc Trop Med Hyg 1993;87:536-538.
9. Becker S, Feldmann H, Will C, Slenczka W. Evidence for occurrence of filovirus antibodies in humans and imported monkeys: do subclinical filovirus infections occur worldwide? Med Microbiol Immunol Berl 1992;181:43-55.
10. Elliott LH, Bauer SP, Perez-Oronoz G, Lloyd ES. Improved specificity of testing methods for filovirus antibodies. J Virol Methods 1993;43:85-100.
11. Jahrling PB, Geisbert TW, Dalgard DW, Johnson ED, Ksiazek TG, Hall WC, Peters CJ. Preliminary report: isolation of Ebola virus from monkeys imported to USA. Lancet 1990;335:502-505.
12. Mahy BW, Dykewicz C, Fisher-Hoch S, Ostroff S, Tipple M, Sanchez A. Virus zoonoses and their potential for contamination of cell cultures. Dev Biol Stand 1991;75:183-189.
13. WHO Collaborating Centre on Virus Reference and Research, Colindale, London. Viral haemorrhagic fever in imported monkeys. Weekly Epidemiological Record 1992;19:142-143.
14. Geisbert TW, Rhoderick JB, Jahrling PB. Rapid identification of Ebola virus and related filoviruses in fluid specimens using indirect immunoelectron microscopy. J Clin Pathol 1991;44:521-522.
15. Press Release WHO/33, 17 May 1995.

16. Musong M, Kibasa. Outbreak of Ebola viral hemorrhagic fever - Zaire, 1995. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 1995;44:381-382.

17. WHO Press Release 42. The Ebola epidemic in Zaire: stabilisation is confirmed. WHO Press Release 42, 1 June 1995.

Commentaar van de Inspectie voor de Gezondheidszorg

Op 10 mei jl. hebben de eerste berichten over een epidemie met het Ebola-virus in Zaire het Ministerie bereikt. Dezelfde dag zijn de GGD'en door middel van een schrijven van de Inspectie van de belangrijkste feiten op de hoogte gesteld.

Op 18 mei heeft het Professioneel Ebola overleg advies uitgebracht over de handelwijze die gevolgd moet worden wanneer zich bij personen die recent uit Zaire zijn gearriveerd, een ziektebeeld voordoet waarbij een Ebola-virus infectie niet op voorhand is uit te sluiten.

Gezien het feit dat het bij haemorrhagische koorsten gaat om een A-ziekte in de zin van de Wet Bestrijding Infectieziekten, dient melding aan de Inspectie

reeds bij vermoeden plaats te vinden.

De Inspectie heeft een beperkt aantal ziekenhuizen, te weten het Academisch Ziekenhuis te Groningen, het Medisch Spectrum Twente te Enschede, het St. Radboud Ziekenhuis te Nijmegen, het Academisch Ziekenhuis te Utrecht, het Academisch Medisch Centrum te Amsterdam, het Havenziekenhuis te Rotterdam en het St. Jans Gasthuis te Weert, verzocht zich voor te bereiden op een eventuele opname. Overigens wordt de kans dat zich een reële verdenking voordoet zeer gering geacht. Een minimale voorwaarde vormt een verblijf korter dan 3 weken vóór het begin van de symptomen in het gebied waar het virus circuleert.

Naar aanleiding van de epidemie is een concept-protocol opgesteld als aanvulling op de protocollen infectieziekten.

Oorklachten na zwemmen in recreatieplassen; Een verslag van een epidemiologisch onderzoek tijdens een explosie

I.A. van Asperen¹, C.M. de Rover², C. Collé³, J.F. Schijven⁴, S. Bambang Oetomo², J.F.P. Schellekens⁵, W.J. van Leeuwen⁵, A.H. Havelaar⁴, D. Kromhout⁶, M.J.W. Sprenger¹

Klachten

Medio juli 1994 werd bij de GGD Regio Achterhoek en de Provincie Gelderland melding gemaakt van enkele tientallen patiënten met otitis externa (ontsteking van de uitwendige gehoorgang) die hadden gezwommen in een recreatieplas in Oost-Gelderland. Juli 1994 was, met een gemiddelde temperatuur van 21,4 °C, de warmste kalendermaand sinds 1706. Uit watermonsters die uit de plas werden genomen, werd de bacterie *Pseudomonas aeruginosa* in relatief hoge concentraties geïsoleerd. Ook in het oorsmeer van een aantal patiënten die in de plas hadden gezwommen,

werd deze bacterie gevonden. Inmiddels werden meer huisartsen in de regio geconfronteerd met een verhoogde incidentie van otitis externa en ook van buiten de regio kwamen klachten.

Eind juli werd de Geneeskundige Hoofdinspectie (GHI) op de hoogte gesteld. De vraag rees of moest worden overgegaan tot het sluiten van alle plassen, of tot algemene publieksvoorlichting. Het warme weer maakte het sluiten van de plassen echter bijna onmogelijk en bovendien is het moeilijk te beslissen op grond van welke criteria een plas daarna weer open kan worden gesteld. Afgaande op de wettelijke normen was de waterkwaliteit van de plassen in

¹ Centrum voor Infectieziekten Epidemiologie, RIVM, Bilthoven

² GGD Regio Achterhoek, Doetinchem

³ Provincie Gelderland, Dienst Milieu en Water, Arnhem

⁴ Laboratorium voor Water- en Levensmiddelenmicrobiologie, RIVM, Bilthoven

⁵ Laboratorium voor Bacteriologie en Antimicrobiële middelen, RIVM, Bilthoven

⁶ Sectorbureau 2, RIVM, Bilthoven

orde. Ook waren de klachten niet van dien aard dat zij levensbedreigend waren en het aantal zwemmers met oorklachten was nog niet extreem groot. Daarom besloot de Provincie Gelderland de plassen open te laten. Wel werden risicogroepen gewaarschuwd.

P. aeruginosa kan van nature voorkomen in oppervlaktewater en kan zich onder gunstige omstandigheden vermenigvuldigen¹. Er zijn echter weinig gegevens over het werkelijke voorkomen ervan in onze recreatieplassen. Voor *P. aeruginosa* in zwemwater bestaat geen normstelling en de vraag is of die er moet (en kan) komen. De huidige zwemwaternormen in de Wet Hygiëne en Veiligheid Zwemgelegenheden (WHVZ) zijn vooral gericht op verontreiniging van zwemwater met pathogenen van faecale oorsprong. Of deze normen uitgebreid moeten worden met een norm voor *P. aeruginosa* zou uit onderzoek moeten blijken.

Om een verband tussen de oorklachten en het zwemmen in recreatieplassen na te gaan en om te onderzoeken of voor de toekomst de kwaliteitsnorm aangepast zou moeten worden, hebben de Geneeskundige Hoofdinspectie, het Directoraat Generaal Milieubeheer van VROM en de Hoofdinspectie voor de Milieuhygiëne het RIVM opgedragen nader onderzoek op te zetten. In samenwerking met de GGD Regio Achterhoek, de Provincie Gelderland, de Waterleidingmaatschappij Midden Gelderland, het Recreatieschap Oost Gelderland, de Streeklaboratoria te Arnhem en Enschede, alle huisartsen en gemeenten in de regio van de betrokken GGD en het Laboratorium voor Water- en Levensmiddelenmicrobiologie, het Laboratorium voor Bacteriologie en Antimicrobiële middelen, het Laboratorium voor Anorganische Chemie en het Centrum voor Infectieziekten Epidemiologie van het RIVM, is binnen 48 uur een onderzoekprogramma opgezet. Over deze onderzoeken is een rapport verschenen².

Otitis externa

Eén van de vragen was of er een verband bestond tussen het voorkomen van otitis externa en het zwemmen in recreatieplassen en zo ja, of het optreden van otitis externa kon worden gerelateerd aan de concentratie *P. aeruginosa* in het water. Hiertoe is een patiënt-controle onderzoek opgezet. Gedurende twee weken werden alle vijf recreatieplassen in de GGD-regio onderzocht op *P. aeruginosa*. In dezelfde periode is aan alle huisartsen in de regio gevraagd alle patiënten die met otitis externa op het spreekuur kwamen, te melden bij de GGD. De GGD nam ver-

volgens een telefonisch interview af. Bij elke patiënt werd geprobeerd twee controles van dezelfde leeftijd, geslacht en uit dezelfde woonplaats te zoeken en te interviewen. Van iedereen werd informatie verzameld over o.a. het hebben van oorklachten en blootstelling aan zwemwater. Van alle patiënten en de helft van de controles is ook een oorkweek afgenomen voor onderzoek naar *P. aeruginosa*. Na vier weken zijn de patiënten nogmaals benaderd met de vraag of de klachten verdwenen waren. Aan de controlegroep werd gevraagd of ze in de tussentijd oorklachten hadden gekregen.

Het patiënt-controle onderzoek werd uitgevoerd met 98 patiënten en 149 controles. Van de patiënten had 96% oorpijn; ook gehoorverlies en jeuk in de oren werd door meer dan 50% van de patiënten gerapporteerd. Na vier weken had nog 14% van de patiënten last van gehoorverlies. Ruim 50% van de patiënten bezocht twee of meer malen de huisarts voor de oorklachten. Het risico op het optreden van otitis externa was voor zwemmers zes maal hoger dan voor niet-zwemmers; voor zwemmers in een recreatieplas was het risico 15 maal hoger, terwijl dit voor zwemmen in een zwembad, zee of rivier slechts twee maal hoger was. Personen met een geschiedenis van chronische oorklachten hadden -wanneer zij niet zwommen- ook een verhoogd risico op otitis externa (16 maal hoger), als deze personen hadden gezwommen in een recreatieplas was het risico 325 maal hoger dan voor niet-zwemmers zonder chronische klachten. Voor alle zwemmers bleek het risico toe te nemen als er vaker werd gezwommen. Uit 83% van de oren van patiënten en uit slechts 4% van de controles werd *P. aeruginosa* gekweekt, andere mogelijke veroorzakers van otitis externa werden slechts incidenteel aangetroffen. Bij aanvang van het onderzoek trad een plotselinge weersomslag op, waardoor een kwantitatieve relatie tussen de kans op otitis externa en de concentratie *P. aeruginosa* in het water niet kon worden onderzocht.

Pseudomonas aeruginosa

Naast het patiëntenonderzoek werd onderzocht of het voorkomen van *P. aeruginosa* in relatief hoge concentraties in de recreatieplassen een gevolg was van de hoge watertemperatuur of het grote aantal zwemmers. Hiertoe werden een aantal groeiproeven gedaan met isolaten van *P. aeruginosa* uit de recreatieplassen en uit oorkweken van personen met otitis externa. Ook zijn gedurende acht weken in acht recreatieplassen in Gelderland op verschillende tijdstippen en op diverse plekken watermonsters genomen, is de temperatuur, zuurstof en pH van het water

gemeten en werd het aantal zwemmers genoteerd. *P. aeruginosa* bleek goed te kunnen groeien in het water van de recreatieplassen, en de groeisnelheid nam toe bij een water temperatuur rond 20 °C. De groeieigenschappen van stammen uit water en oren waren identiek. Het water in de recreatieplassen voldeed vrijwel steeds aan de Nederlandse normen voor zwemwater; er was een geringe microbiologische verontreiniging; het doorzicht was meestal groter dan 1 meter en er was weinig algengroei. Toch werd *P. aeruginosa* aangetroffen in 31% van de onderzochte monsters. Er was een verband met het voorkomen van faecale streptococci (één van de normen uit de Nederlandse wetgeving), maar ook bij concentraties van deze bacteriën lager dan de norm kon *P. aeruginosa* worden aangetroffen, vooral als het water warmer was dan 18 °C.

Normstelling

Door intensieve samenwerking met verschillende disciplines is er in een kort tijdsbestek veel informatie verzameld die moet bijdragen tot het vergroten van kennis over gezondheidsrisico's van zwemmen in oppervlaktewater. Ook bleek het goed mogelijk te zijn tijdens een acute situatie waardevol epidemiologisch onderzoek te doen. Uit het onderzoek kwam naar voren dat er in de warme zomer van 1994 in Gelderland een sterk verhoogd risico bestond op otitis externa na zwemmen in recreatieplassen die voldeden aan de wettelijke normen. Er is echter nog onvoldoende informatie beschikbaar om te komen tot aanbevelingen voor normstelling of beheersmaatregelen ten aanzien van *P. aeruginosa*. Daarvoor is verder (prospectief) epidemiologisch onderzoek en monitoring van zwemwater noodzakelijk. Bij hogere watertemperaturen is voorlichting van zwemmers, zeker van personen met chronische oorklachten, aan te bevelen.

Het is reeds langer de vraag of de huidige zwemwaternormen wel voldoende bescherming bieden aan de gezondheid van zwemmers. Uit epidemiologisch onderzoek in het buitenland is namelijk gebleken dat onder de huidige normen al een verhoogd ziekterisico bestaat en dat andere dan in de wet beschreven parameters het risico op gezondheidsklachten beter voorspellen^{3,4}. Om dit voor Nederland te onderzoeken doet het RIVM al een aantal jaren prospectief onderzoek bij triatleten⁵. Met het onderzoeksprogramma dat momenteel wordt uitgevoerd op het RIVM zou het op termijn mogelijk moeten zijn een bijdrage te leveren aan de ontwikkeling van betere, op gezondheidsklachten gebaseerde, zwemwaternormen.

Literatuur

1. Kooij van der D, Oranje JP, Hijnen WAM. Growth of *P. aeruginosa* in tap water in relation to utilization of substrates at concentrations of a few micrograms per liter. *Appl Environ Microbiol* 1982; 44,5: 1086-1095.
2. Asperen IA van, Rover CM de, Collé C, Schijven JF, Bambang Oetomo S, Schellekens JFP, Leeuwen WJ van, Havelaar AH, Kromhout D, Sprenger MJW. Een zwemwater gerelateerde epidemie van otitis externa in de zomer van 1994. Bilthoven: RIVM, 1995. RIVM-rapport nr. 214666001.
3. Kay D, Fleisher JM, Salmon RL et. al. Predicting likelihood of gastroenteritis from sea bathing: results from randomised exposure. *Lancet* 1994; 344: 905-09.
4. Cabelli VJ, Dufour AP, McCabe LJ, Levin MA. Swimming associated gastroenteritis and water quality. *Am J Epidemiol* 1982; 115: 606-16.
5. Asperen IA van, Medema GJ, Klokman-Houweling JM et. al. Onderzoek naar de relatie tussen microbiologische waterkwaliteitsparameters en gezondheidsklachten: een haalbaarheidsonderzoek bij duursportwedstrijden. Bilthoven: RIVM, 1993. RIVM-rapport nr. 289202001.

Commentaar van de Inspectie voor de Gezondheidszorg

Naar aanleiding van meldingen uit diverse regio's van otitis externa afgelopen zomer bij personen die hadden gezwommen in recreatieplassen, hebben RIVM, de GGD Regio Achterhoek en de Provincie Gelderland op verzoek van de Inspectie voor de

Gezondheidszorg en het Ministerie van VROM nader onderzoek verricht naar het verband tussen het optreden van de klachten en het zwemmen in recreatieplassen. Een aantal resultaten van het onderzoek worden in voorgaand verslag gepresenteerd en maken een verband aannemelijk. De conclusies bevestigen opnieuw dat het optreden van gezondheidsklachten niet kan worden uitgesloten als

het zwemwater voldoet aan de huidige wettelijk normen.

Ook laten de resultaten zien dat adequate bijstelling van de (microbiële) normen niet eenvoudig zal zijn en voorlopig ook niet te verwachten is.

De bevolking dient zich bewust te zijn van de toenemende risico's op klachten bij aanhoudend warm weer. GGD'en en Provincies, in goede onderlinge samenwerking, hebben een belangrijke voorlichtende taak op dit gebied. Daarbij is het voor de

GGD'en van belang alert te zijn op het optreden van klachten en de voorlichting hierop af te stemmen.

Ten slotte is het verheugend te constateren dat de problematiek in de afgelopen zomer voor GGD'en en Provincies aanleiding is geweest (opnieuw) afspraken te maken over de afstemming van de activiteiten op dit gebied, waarbij het protocol 'Ziekten gerelateerd aan recreatie in en rond zwemwater' als uitgangspunt heeft gegolden.

Aankondiging

Theoriecursus levensmiddelenmicrobiologie & -hygiëne

Op 12 september 1995 start in Utrecht de theoriecursus levensmiddelenmicrobiologie & -hygiëne van de Stichting EFFI. In de periode september - december worden in 10 bijeenkomsten van ca. 2,5 uur uitgebreid ingegaan op voedselvergiftigers, bederffactoren, eigenschappen van micro-organismen, warenwet, hygiëne, GMP en HACCP, fermentatie, reiniging en desinfectie.

De kosten (inclusief cursusmap en examen) bedragen fl. 1700,- excl. BTW.

Inlichtingen en opgave bij:

Stichting EFFI
Postbus 553
6700 AN Wageningen
Tel: 08370-22114
Fax: 08370 -21817

GHI 4-weken overzicht

Aantal aangegeven gevallen van infectieziekten over de periode 24 april - 21 mei 1995 (week 17 - 20) in Nederland
 Number of notified cases of infectious diseases for the period of 24 April - 21 May 1995 (week 17 - 20) in the Netherlands

	Groningen	Friesland	Drenthe	Overijssel	Flevoland	Gelderland	Utrecht	Noord-Holland	Zuid-Holland	Zeeland	Noord-Brabant	Limburg	Utrecht stad	Amsterdam	Den Haag	Rotterdam
Groep A																
febris typhoidea	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1	2	-	1	-	1	-
lassakoorts ea vormen van Afrik. vir.haemorrh. koorts	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pest/plaque	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
poliomyelitis ant.acuta	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
rabies	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Groep B																
anthrax	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
botulisme	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
brucellosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
cholera	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
difterie	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
dysenteria bacillaris	1	1	-	-	-	-	5	7	8	-	2	2	-	3	1	3
febris recurrens	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
gele koorts/yellow fever	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
hepatitis A	-	-	-	-	1	-	5	6	18	1	6	1	2	4	1	12
hepatitis B	-	-	-	-	-	3	-	2	7	-	1	3	-	2	-	4
legionella pneumonie	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-
lepra	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
leptospiroses	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
malaria	-	-	1	-	1	1	2	8	6	-	1	-	-	6	-	1
meningitis cer.epidemic	-	1	-	1	-	2	2	3	6	-	3	1	-	2	3	1
meningokokken sepsis	-	2	-	-	-	-	2	1	3	-	-	8	1	-	1	-
morbilli	-	-	-	-	-	2	-	1	6	-	-	-	-	-	-	4
ornithosis/Psittacosis	-	-	-	-	-	-	1	-	6	-	-	-	-	-	-	2
paratyfus B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pertussis	-	1	-	-	-	-	1	2	5	-	2	-	-	-	-	1
atypische pertussis	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Q-koorts/Q-fever	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	1
rubella	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2	-	-	-	-	-
scabies	-	5	-	-	7	4	4	3	44	2	8	5	3	1	5	31
tetanus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
trichinosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
tuberculosis	6	3	-	5	2	20	9	57	22	4	13	6	4	39	6	3
tularemia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
tyfus exanthematicus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
voedselvergiftiging/-infectie/foodborn-infections/-poisoning)	-	-	-	32	-	-	-	-	11	-	2	22	-	-	11	-
Groep C																
gonorrhoea	-	-	2	4	2	4	7	45	31	1	7	3	5	39	12	17
syphilis. prim./sec.	-	-	-	-	-	2	1	2	6	-	2	1	-	-	-	6
syphilis congenita	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
parotitis epidemica	1	-	-	1	-	-	2	-	2	-	-	-	2	-	-	1

Aangegeven gevallen van infectieziekten in Nederland per 4 weken, 1995
 Notified cases of infections diseases in the Netherlands per 4 weeks, 1995

	week	week	week	cumulatief totaal	
	09 - 12	13 - 16	17 - 20	t/m week 20	
	totaal	totaal	totaal	1995	1994
Groep A					
febris typhoidea	1	3	5	21	15
lassakoorts ea vormen van Afrk.vir.haemorrh.koorts	-	-	-	-	-
pest/plague	-	-	-	-	-
poliomyelitis ant.acuta	-	-	-	-	-
rabies	-	-	-	-	-
Groep B					
anthrax	-	-	-	-	-
botulisme	-	-	-	-	-
brucelloses	1	1	-	2	3
cholera	2	1	2	5	-
difterie	-	-	-	-	-
dysenteria bacillaris	17	21	26	97	63
febris recurrens	-	-	-	-	-
gele koorts/yellow fever	-	-	-	-	-
hepatitis A	86	54	38	364	346
hepatitis B	20	31	16	98	75
legionella pneumonie	4	3	2	15	16
lepra	2	2	-	14	-
leptospiroses	1	1	-	5	3
malaria	19	11	20	89	79
meningitis cer.epidemica	17	32	19	95	90
meningokokken sepsis	20	31	16	99	104
morbilli	50	10	9	159	93
ornithosis/psittacosis	7	5	7	28	17
paratyfus B	-	-	-	-	3
pertussis	15	9	11	81	129
atypische pertussis	2	-	1	5	9
Q-koorts/Q-fever	1	2	2	9	6
rubella	4	1	4	12	4
scabies	74	67	82	482	427
tetanus	1	-	-	1	-
trichinosis	-	-	-	-	-
tuberculosis	170	113	147	671	717
tularemia	-	-	-	-	-
tyfus exanthematicus	-	-	-	-	-
voedselvergiftiging/-infectie foodborn infections/-poisoning	59	36	67	205	286
Groep C					
gonorrhoea	113	82	106	544	476
syfilis prim./sec.	15	4	14	73	49
syfilis congenita	-	-	-	-	1
parottitis epidemica	1	2	6	18	12

Overzicht van bij de Inspectie voor de Gezondheidszorg aangegeven gevallen van infectieziekten over de periode 24 april - 21 mei 1995 (week 17-20)

In de afgelopen 4-wekenperiode werden 5 patiënten aangegeven wegens buiktyfus. Zij liepen de besmetting in het buitenland op te weten Azië (3) en Afrika (2).

Cholera, veroorzaakt door *Vibrio cholerae*, biotype El Tor, serotype O1 Ogawa, werd geconstateerd bij een Nederlands echtpaar. Zij hebben de besmetting mogelijk tijdens een reis naar Indonesië opgedaan.

Wegens **bacillaire dysenterie** werden 26 patiënten aangegeven. De infecties werden veroorzaakt door *S.sonnei* (10), *S.flexneri* (9), *S.boydii* (1) en *S.dysenteriae* (1), in 5 gevallen was het *Shigella* type onbekend. Tweëntwintig patiënten liepen de besmetting in het buitenland op, te weten: Azië (15), Afrika (4), Midden- en Zuid-Amerika (2) en in 1 geval was het land van besmetting onbekend.

Van **hepatitis A** werden 38 gevallen gemeld. In 3 gevallen werd de besmetting mogelijk in het buitenland opgelopen, te weten: Afrika (2) en in 1 geval is het land van besmetting onbekend.

Van **hepatitis B** werden 16 gevallen gemeld. Vijf patiënten zijn mogelijk besmet via sexueel contact, 3 patiënten door intraveneus druggebruik en van 8 patiënten is de bron van besmetting onbekend.

Er werden 2 gevallen van **legionellapneumonie** gemeld. Eén patiënt heeft de besmetting mogelijk in het buitenland opgelopen.

Er werden 20 gevallen van **malaria** aangegeven. De patiënten hebben de besmetting in de volgende gebieden opgedaan: Oost-Afrika (2 *P.ovale*, 1 *P.vivax*), West-Afrika (8 *P.falciparum*, 2 *P.ovale*), Centraal-Afrika (1 *P.ovale*, 1 *P.vivax*) en Azië (5 *P.vivax*).

Het aantal aangegeven patiënten met **meningococcosis** bedraagt 35, waarvan 16 met een sepsis.

Wegens **mazelen** werden 9 patiënten aangegeven. Slechts 1 patiënt was gevaccineerd. De reden van het niet vaccineren was bij 1 patiënt om antroposofische redenen, bij 1 patiënt de leeftijd, bij 2 patiënten vanwege een principiële overweging en bij 4 patiënten was de reden van het niet vaccineren onbekend.

Zeven patiënten werden aangegeven wegens **ornithose/psittacose**. In 4 gevallen was er sprake van contact met vogels.

Er werden 11 gevallen van **pertussis** gemeld, waarvan 6 personen niet- of onvolledig gevaccineerd waren. De reden van het niet vaccineren was bij 4 patiënten de leeftijd en bij 2 patiënten een medische reden.

Er werd 1 geval van **atypische pertussis** gemeld. De patiënt was gevaccineerd.

Q-koorts werd geconstateerd bij 2 patiënten. Eén patiënt heeft de besmetting mogelijk in Afrika opgelopen en van de andere patiënt is de bron van besmetting onbekend.

Wegens **scabies** werden 82 personen aangegeven. Voor het merendeel betrof het solitaire- en gezinsbesmettingen.

Van **tuberculose** werden 147 gevallen gemeld, waarvan 64 geconstateerd bij Nederlanders en 83 bij buitenlanders.

Wegens **voedselvergiftiging/-infectie** werden 67 patiënten aangegeven.

Eén patiënt is werkzaam in de verzorgende sector. Zeven gezinsinfecties deden zich voor met in totaal 18 personen.

Na een familiefeest werden 15 personen mogelijk na het eten van makkataart ziek.

Na een gemeenschappelijke maaltijd in een verzorgingshuis werden 32 personen ziek. Zij werden besmet met een *Salmonella enteritidis*.

Eén nagekomen aangifte werd ontvangen. De *S.enteritidis* melding behoorde bij een explosie in de vorige 4-weken periode.

Van **gonorroe** werden 106 gevallen gemeld, waarvan 75 geconstateerd bij mannen en 31 bij vrouwen.

Primaire en secundaire syfilis werd vastgesteld bij 10 mannen en 4 vrouwen.

Notified cases of infectious diseases registered at the Inspectorate for Health Care, 24 April - 21 May 1995 (week 17-20). Summary of the main points

During the past four-weekly period 5 patients have been notified with typhoid fever. The patients had acquired the infection in Africa (3) and Asia (2).

Cholera, caused by *Vibrio cholerae*, biotype El Tor, serotype O1 Ogawa, has been diagnosed in a Dutch couple who presumably had acquired the infection in Indonesia.

For **bacillary dysentery** 26 cases have been notified, caused by *S. sonnei* (10), *S. flexneri* (9), *S. dysenteriae* (1), *S. boydii* (1), while in 5 cases no *Shigella* group was mentioned. Twenty-two patients had acquired the infection abroad.

Hepatitis A has been diagnosed in 38 patients. Three of them had acquired the infection abroad.

For **hepatitis B** 16 cases have been notified. Five patients have probably been infected by sexual route and 3 by intravenous use of drugs. In 8 cases no route of transmission could be established.

For **legionellapneumonia** 2 patients have been reported. One patient got probably infected abroad.

For **malaria** 20 cases have been notified. The patients had acquired the infection in the following malarious areas: East-Africa (2 *Pl. ovale*, 1 *Pl. vivax*), West-Africa (8 *Pl. falciparum*, 2 *Pl. ovale*), Central-Africa (1 *Pl. ovale*, 1 *Pl. vivax*) and Asia (5 *Pl. vivax*).

Thirty-five patients were notified for **meningococcosis**, 16 of them with septicæmia.

For **measles** 9 cases have been reported. One of them had been immunized.

For **ornithosis** 7 patients have been reported. Four patients had contact with birds.

Pertussis has been diagnosed in 11 patients, 6 of them had not been immunized.

One patient has been reported for **atypical pertussis**, he had been immunized.

For **Q-fever** 2 cases were reported. One patient probably got infected in Africa and the other patient probably in the Netherlands.

Tuberculosis was diagnosed in 147 patients, including 83 of foreign origin.

Thirty-seven patients were reported for suffering from **foodborne infections**.

One patient is a health care worker. Seven family-outbreaks were reported involving 18 persons.

Thirty-two persons of a service home became ill after a meal. They got infected with a *Salmonella enteritidis*.

After a family-party 15 guests became ill after eating mocha tart.

And 1 case has been notified which belongs to an earlier four weekly period.

For **gonorrhoea** 106 cases have been reported; 75 diagnosed in men and 31 in women.

Primary and secondary **syphilis** has been found in 10 males and 4 females.

Overzicht registratie Laboratorium Surveillance Infectieziekten

Bacteriële ziekteverwekkers, week 17 - 20, 1995
Bacterial pathogens, weeks 17 - 20, 1995

	week 09 - 12 totaal	week 13 - 16 totaal	week 17 - 20 totaal	cumulatief totaal t/m week 20	
				1995	1994
Salmonella	105	101	139	562	669
S. Agona	1	0	6	7	22
S. Bovismorbificans	1	2	12	21	12
S. Enteritidis	47	39	45	207	219
S. Hadar	5	2	0	16	29
S. Infantis	4	0	2	14	13
S. Livingstone	0	0	1	2	11
S. Panama	2	1	4	8	3
S. Paratyphi A	0	1	0	3	3
S. Paratyphi B	0	0	0	0	3
S. Typhi	0	1	1	8	5
S. Typhimurium	32	31	41	180	218
S. Virchow	2	7	9	25	41
Overige Salmonella	11 (7) ¹	17 (14) ¹	18 (11) ¹	71	90
Shigella	14	11	22	82	37
Shigella boydii	0	0	2	6	0
Shigella dysenteriae	0	0	0	1	4
Shigella flexneri	10	4	10	33	16
Shigella sonnei	4	7	10	41	17
Shigella spp ²	0	0	0	1	0
Yersinia	12	9	8	49	52
Yersinia enterocolitica	11	9	7	47	50
Yersinia frederiksenii	0	0	0	0	0
Yersinia spp ²	1	0	1	2	2
Listeria	3	3	1	10	5
Listeria monocytogenes	3	3	1	10	4
Listeria spp ²	0	0	0	0	1
Legionella	2	1	3	6	6
Legionella pneumophila	2	1	3	6	6
Legionella spp ²	0	0	0	0	0
Bordetella	4	0	2	10	5
Bordetella pertussis	4	0	1	9	5
Bordetella parapertussis	0	0	0	0	0
Bordetella spp ²	0	0	1	1	0
Haemophilus influenzae	4	3	5	21	1
Streptococcus pyogenes	484	481	427	2075	42
normalter steriel compartiment	46	44	32	176	6
niet steriel compartiment	438	437	395	1899	36

Bron: Infectieziekten Surveillance Centrum.
Dit overzicht bestaat uit:

1. Salmonella, ingestuurd voor typering naar het laboratorium voor Bacteriologie van het RIVM door de streeklaboratoria. Dit betreft in principe alleen de eerste isolaties bij de mens.
2. Shigella, Yersinia, Legionella en Bordetella volgens melding van Streeklaboratoria aan het Infectieziekten Surveillance Centrum (LSI) van het RIVM
3. Aantal meldingen van Haemophilus influenzae (uit liquor, bloed, synoviavocht en beenmergpunctaat) en Streptococcus pyogenes door de Streeklaboratoria aan het Infectieziekten Surveillance Centrum van het RIVM

1 Aantal serotypen / species 2 niet nader geïdentificeerd

Registratie virologische laboratoria

Positieve uitslagen virologische laboratoria, week 17 - 20, 1995

Positive results from laboratories for virology, weeks 17 - 20, 1995

	week 09 - 12 totaal	week 13 - 16 totaal	week 17 - 20 totaal	cumulatief totaal t/m week 20	
				1995	1994
Adenovirus	57	74	47	316	448
Bofvirus	1	2	1	7	5
Chlamydia psittaci	10	9	14	56	60
Chlamydia trachomatis	147	203	215	979	949
Coronavirus	-	-	-	5	6
Coxiella burnetii	2	2	3	10	15
Enterovirus	15	40	33	166	313
Hepatitis A-virus	29	32	19	155	135
Hepatitis B-virus	35	47	45	209	323
Influenza A-virus	41	89	52	189	128
Influenza B-virus	24	65	32	143	12
Influenza C-Virus	-	3	-	5	3
Mazelvirus	2	11	11	33	24
Mycopl. pneumoniae	47	51	54	266	168
Parainfluenza	14	19	36	107	72
Parvovirus	11	13	12	47	72
Rhinovirus	20	2	5	51	60
RS-virus	30	9	6	564	1065
Rotavirus	181	278	198	842	916
R.conorii	-	-	1	5	5
Rubellavirus	1	3	3	9	4

De weergegeven getallen zijn gebaseerd op de aantallen positieve resultaten zoals gemeld door de leden van de werkgroep Klinische Virologie. Zonder toestemming van de werkgroep mogen deze gegevens niet voor andere doeleinden gebruikt worden.

Contactpersoon: M.I. Esveld, RIVM 030 - 743551

Toelichting

De afgelopen weken zijn er weer een aantal meldingen binnen gekomen van *S.Bovismorbificans*. Bij uitsplitsing naar laboratorium is opvallend dat dit Salmonella-type met name afkomstig zijn uit de Streeklaboratoria in Groningen, Leeuwarden en Enschede.

Dit fenomeen wordt al jaren gezien: In 1994 was 64% van alle Streeklab-meldingen betreffende *S.Bovismorbificans* van deze drie Streeklaboratoria

afkomstig. In 1992 en 1993 waren deze percentages respectievelijk 61% en 82%.

Ook op GGD-niveau is dit verschil tussen Noord- en de rest van Nederland goed te zien: De meeste meldingen zijn afkomstig uit de regio van de GGD'en Groningen en Oost-Groningen, de GGD Noord-Friesland, de GGD'en Zuidoost-Drenthe, Noord- en Midden-Drenthe en Zuidwest Drenthe en de GGD Twente.

Uit de meldingen blijkt dat het meestal gaat om één of enkele gevallen; Klusteringen komen slechts af en toe voor. *S.Bovismorbificans* lijkt dus min of meer endemisch in het noorden van het land voor te komen en steekt af en toe de kop op. De infectie komt even vaak bij mannen als bij vrouwen voor en treft met name oudere volwassenen en bejaarden.

Nadere analyse van de niet-humane *Salmonella*-stammen geeft te zien dat *S.Bovismorbificans* met name wordt geïsoleerd uit vlees- en vleesprodukten, pluimvee, varkens en in mindere mate uit runderen. Of er een relatie bestaat tussen (intensieve) veehouderij in deze gebieden en het voorkomen van *S.Bovismorbificans*, is met de bestaande gegevens niet te zeggen.

RIVM reports

RIVM reports is a quarterly bulletin of the National Institute of Public Health and environmental protection (RIVM). The section below contains bibliographic descriptions and abstracts of recent research reports of the Institute, concerning Infectious Diseases.

Copies of the reports can be ordered at Bureau Rapporten Beheer RIVM (Postbus 1, 3720 BA BILTHOVEN, tel: (+31) 30 743156, fax: (+31) 30 284388). Please quote the author's name, title and report number. A price (in Dutch guilders, excl. VAT) is specified for each report and a bill will be enclosed.

Bruijn ACP de; Asten JAAM van

Test method for the microbial barrier properties of packaging for medical devices; RIVM method. Report number 319011012. In English, 34 pp. fl.25,-

One of the most important qualities of packaging for medical devices is the ability to keep the contents sterile. The quality of the packaging is determined by the quality of the material and the quality of the seals. The former is usually tested with test methods using micro-organisms. In hospitals many packages are formed by wrapping instrument trays in sheet material. The seals are formed by folding the sheet material several times. There is however no standard test method available to test the quality of these kind of seals. The same problem occurs with container packaging system. The filters or valves can be tested with a microbial challenge, but not the complete unit. In 1990 the RIVM developed a physical test method. In contrast to existing test methods, which only test the barrier properties of a sample of the material, the

RIVM method is capable of testing all aspects of a pack which influence the barrier properties of the pack after the pack is formed, sealed and sterilized. The initial method was not very accurate and had a poor reproducibility. The method has now been modified. This study shows that the modified RIVM method is both accurate and reproducible.

Meijer A; Borleffs JCC; Roosendaal G; Loon AM van

Development of molecular methods for detection and epidemiological investigation of HIV-1, HIV-2, and HTLV-I/II infections. Report number 118504001. In English, 41 pp. fl.25,-

The work presented here was initiated to determine the possibilities of molecular methods for the detection and epidemiological investigation of HIV and HTLV infections. We present the results of a literature research and describe the development and partial evaluation of a new PCR method for the amplification of RNA and DNA sequences of the HIV-1 pol, env and gag, HIV-2 ltr and HTLV-I/II tax/rex genes. For the amplification of viral RNA, samples were treated with guanidium thiocyanate and sodium lauryl sarcosinate to disrupt the virus and to inactivate RNAses. Paramagnetic beads were used to extract the RNA, followed by solid-phase reverse transcription for cDNA synthesis. DNA or cDNA was amplified using a two-step PCR protocol in which the product from the first PCR was further amplified in a second PCR with nested primers combined with a touch-down temperature protocol to enhance sensitivity and specificity. A pilot study showed that in all peripheral blood mononuclear cell

(PBMC) samples from seven HIV-1-infected individuals of CDC class II, proviral HIV-1 DNA was detected using three primer sets. HIV-1 RNA could be detected in the plasma from ten of fifteen HIV-1-infected individuals of CDC class II. Together with data from the literature, our results indicate that PCR methods are useful in the detection of HIV-1 infections and complementary to conventional methods such as enzyme immunoassays and Westernblot. They are especially useful when conventional methods do not allow a diagnosis to be made, for example in newborns of HIV-infected mothers, in monitoring of the viral load, and in patients with idiopathic CD4+ T-lymphocytopenia. Using the same method, we amplified HIV-2 and HTLV-I RNA and DNA sequences. However, clinical evaluation of these PCR methods must be conducted. This newly developed method may possibly be used in molecular epidemiological studies as we were able to directly sequence the product of the HIV-1 env np-PCR, the V3 variable region of the gp120 gene. However, molecular epidemiology must be conducted at the clonal level with more than one isolated part of the viral genome. For molecular epidemiological studies of HIV-1, for example, the variable regions V3, V4, and V5 of the gp120 gene together are useful targets. Promising methods for obtaining materials for PCR as well as serology with regard to epidemiology on the streets are the use of finger-prick blood spots on filter paper and saliva collection. Further studies are needed to determine the value of these methods in molecular epidemiological investigation.

Wolf F de; Akker R van den; Valk M; Bakker M; Goudsmit J; Loon AM van

V3-serotyping programme evaluated for HIV-1 variation in the Netherlands and Curacao.
Report number 118504002. In English, 31 pp. fl.25,-

To obtain insight into the variation of the HIV-1 V3 neutralization domain of variants circulating in the Netherlands, 126 Dutch, 70 Curacao and 45 African serum samples from HIV-1 infected individuals were screened for antibody reactivity to a set of 16 to 17 mer synthetic peptides, representing the central part of the V3-loop of gp120 of HIV-1 variants circulating in the US, Europe and Africa. These peptides were used in an ELISA and antibody reactivity to the peptides was compared to the actual amino acid sequence of viral RNA circulating in a subset of the same serum samples. In conclusion, we found a relatively high genetic and antigenic homogeneity of the V3 gene of HIV infections in the

Netherlands and Curacao during the years 1988-1990. Antibody reactivity to synthetic V3 peptides, as well as sequence analysis confirmed the prevalence of B subtype HIV-1 among the Dutch and Curacao samples and the prevalence of A/D subtypes among the Tanzanian samples. Screening of HIV-1 positive serum samples for genetic typing by using a set of well defined synthetic V3 peptides appeared to be feasible. In combination with molecular analysis (V3 sequencing and/or heteroduplex mobility assay) of this method can be applied to obtain insight in changes in genetic and antigenic variation of HIV-1 in a population: changes within subtype B HIV-1 variants, as well as introduction of other (new) HIV-1 variants can this be surveyed. This is of importance to obtain insight in the (molecular) epidemiology of HIV-1 as well as with respect to the development and the eventual use of an HIV-1 vaccine.

Knapen F van; Franchimont JH; Garate T; Henriksen SA; Martinez-Fernandez A; Pfeiffer G; Ring C; Soule C; Voigt WP

EU experimental study on wild boar trichinellosis.
Report number 189201006. In English, 16 pp. fl.15,-

From January 1994 onwards the Council Directive 92/45 EEC concerning the examination of wild game meat for trichinellosis is valid. Laboratory methods required are identical to those used for the examination of pork. In an international experiment the suitability of these methods to control wild boar meat was tested. Required meat parts of experimentally with *T. spiralis* infected wild boars were shipped to seven laboratories in Europe under code. It was concluded that trichinoscopy and pool sample digestion methods ment for pork examination could equally well be used for control of wild boar meat. The so called Trichomatic method required a few adaptations. Moreover it was demonstrated that extra washing procedures were required to prevent cross contamination between samples with Trichomatic equipment.

Wiessing LG; Houweling H; Meulders WAJ; Cerda E; Jansen M; Loon AM van; Sprenger MJW

Prevalentie van HIV-infecties onder druggebruikers in Zuid-Limburg.

[Prevalence of HIV infections among drug users in Southern Netherlands.]

Report number 214230001. In Dutch, 26 pp. fl.25,-

OBJECTIVES: To assess the prevalence of HIV among intravenous (IDU) and non-intravenous drug

users in Heerlen and Maastricht (Southern Netherlands). To detect subgroups of IDU with a higher risk of HIV infection. To assess the risk of a further spread of HIV. METHODS: Between August 15 and November 25, 1994 a saliva specimen and a short questionnaire were obtained from 449 drug users (340 IDU) in Heerlen (and surroundings) and Maastricht. Participants were recruited through methadone care (54%), syringe exchange (16%), a street prostitution project (3%), street recruitment (23%) and other drug users (4%). RESULTS: Of the 340 IDU 33 were infected (prevalence 10%, 95% confidence interval [CI] 7-13%), among the 109 non-IDU no infections were found (0%, 95%CI 0-3%). IDU making use of the syringe exchange had a higher prevalence (odds ratio 3.13, 95%CI 1.37-7.61). One in five currently injecting IDU reported having used a needle or syringe from someone else in the last 6 months. One in five IDU has a non-drug user as steady sexual partner. In sexual contacts between steady partners condom use is low. On the base of self-reported serostatus it seems that infections have taken place recently.

CONCLUSIONS: The prevalence of HIV among IDU in Heerlen and Maastricht is about 10%. IDU using the syringe exchange have a higher prevalence. The risk of a further spread among IDU is high. The risk of spread to non-IDU and non-drug users is existent.

Duynhoven YTHP van; Wiessing LG; Katchaki JN; Nieste HLJ; Esveld MI; Houweling H
Laboratorium surveillance van HIV-infecties, regio Arnhem, 1989-1994.

[Laboratory-based surveillance of HIV-infections in the Arnhem area, 1989-1994.]

Report number 214670002. In Dutch, 28 pp. fl.25,-

From april 1989, surveillance-activities of HIV infections are carried out in the Arnhem area. This report presents five years of monitoring of laboratory diagnostics of HIV infections, in addition to a continuous questionnaire on the indication for testing sent to the requesting physicians. Between April 1989 and June 1994 16,411 HIV tests were performed in 14,715 individuals living in the service area of the Arnhem Regional Public Health Laboratory (RPHL). The percentage of positive tests (1.8%, n=303) was almost twice the percentage of positive persons (1.0%, n=140). No increase in number of new infections was observed over time, although the number of requested tests dramatically increased. This was mainly caused by a sharp increase in the number of tests for "changing

heterosexual contacts". Since the start of the questionnaire in January 1990, 13,002 individuals were tested, of which 114 were HIV-positive. Information about the indication for testing was available for 88% of these individuals. The non-reponse on the questionnaire increased till the second half of 1993, but subsequently decreased again. Of individuals, 38.3% were tested due to third party requests, mainly for taking out a life insurance. HIV was demonstrated twice (0.05%). Tests at medical indications were performed for 3835 men and 3220 women, 1.3% of these tests were positive. Most infections in men occurred among homo/bisexuals: 9.7% seropositive. This percentage fluctuated between 6 and 10% in separate calendar years. Among injecting drug users 4.2% and 5.8% of male and female drug users resp. tested positive. About 44% of males and 59% of females tested for medical indications were tested due to heterosexual risk behaviour. However, the number of infections was low: 0.2% and 0.3% of resp. males and females was HIV-positive. No trend in heterosexually acquired infections could be observed over the five years. It appears that the spread of HIV is still restricted to known risk groups: signs for considerable spread in the general population could not be found.

Buijs J; Pitstra B; Rouws C; Rees E van; Savelkoul HFJ

Toxocara canis: Het effect van behandeling met anti-interleukine-5 en anti-interleukine-4 op immunologische en ontstekingsparameters in de longen.

Report number 189204001. In English, 28 pp. fl.25,-

Toxocara canis-infected BALB/c mice were treated with rat hybridoma cells producing either anti-interleukin-5 (anti-IL-5) or anti-IL-4 to inhibit increases in eosinophils and immunoglobulin E respectively. The aim of the investigation was to study the effect of this inhibition on the course of pulmonary inflammation caused by T.canis migrating larvae. Anti-IL-5 producing cells administered i.p. (1 x 1000000) two days before and 5 days after infection inhibited completely the eosinophil increases in blood and bronchoalveolar lavage fluid (BALF). The albumin concentration in the BALF of infected mice increased significantly. Treatment with anti-IL-5 or with isotype control did not affect this increase, showing that eosinophils apparently played a minor role in the observed change in microvascular permeability. Lung tissue sections stained to demonstrate IL-5 and IFN-gamma positive cells showed their absence in non-infected mice and in

infected mice treated with anti-IL-5. In the lungs of isotype and saline-treated infected controls IL-5 positive cells were present although their number was low. Remarkable was that anti-IL-5 treatment, and to a less extent isotype treatment, of infected mice caused a huge increase in IFN-gamma positive cells. These results suggested that administration of rat proteins to *T.canis*-infected animals promoted the increase of IFN-gamma positive cells and apparently stimulated T helper 1 cells. Anti-IL-4 treatment seemed unsuccessful. Administration of $1,5 \times 10^6$ cells at day 0 and 1×10^6 at day 7 p.i. did not have any effect on the cell populations in the BALF. Anti-IL-4 inhibited the IgE increase in infected mice with about 70% in both, serum and BALF at 14 days p.i. but no inhibition was observed at 28 days p.i.. Isotype treatment even stimulated IgE production in infected mice. The persisting presence of larvae and thus of antigen caused a continuous stimulation of the immune response with emphasis on the T helper 2 cells. Prolonged stimulation seemed to induce a type of B-epsilon cells producing IgE independent of IL-4. Inhibition of specific cytokines using non-self proteins, in this case rat proteins, may cause unexpected, and unwished, side effects.

Manavakis M; Dommelen JA van; Mooijman KA; Havelaar AH

Collaborative study with reference materials containing *Clostridium perfringens* (strain D10) for water microbiology.

Report number 281008006. In English, 73 pp. fl.25,-

In December 1993 an international collaborative study for water microbiology was organized to test the newly developed reference material containing *Clostridium perfringens* (strain D10). Twenty-four European laboratories participated in this collaborative study. Each laboratory tested 8 capsules. Each capsule was reconstituted according to a standardized procedure and analysed in duplicate by means of membrane filtration, using two culture methods. One method was standardized for all laboratories (MF-REF method), the other method was chosen by the participating laboratory (MF-OWN method). Optionally the laboratories could carry out an additional own method. The most important objectives of the collaborative studies were: 1) Evaluation of the suitability of the reference material containing *Clostridium perfringens* for the enumeration of sulphite-reducing anaerobes (clostridia) as described in standard methods for water microbiology used in EU countries. 2) Identification of reasons for deviating results in

individual laboratories. The pH value of the MF-REF medium (tryptose sulphite agar) used by several laboratories did not meet the ISO 6461/2 requirement of 7.6 ± 0.1 . However these deviations in pH (6.53 up to 8.08) seemed to have no effect on the growth of *Clostridium perfringens*. Virtually all participating laboratories had problems with membrane filtration of the reconstituted capsule solutions. It is not clear what caused these filtration problems. Despite these filtration problems the counts of the *Clostridium perfringens* reference materials obtained with the MF-REF method and MF-OWN method was very similar. Most of the laboratories found no significant difference between the two methods. The range of counts found by the different laboratories was quite small for both the MF-REF and MF-OWN method. The values found for the repeatability (r) and reproducibility (R) (1.407 and 1.522 for the MF-REF; 1.530 and 1.574 for the MF-OWN respectively) were close to the theoretical optimum, thus confirming both good performance by the laboratories in this collaborative study and good quality of the reference material. The stability of the reference material was very good, due to the use of spores in this material. No significant decrease in contamination level was observed during 8 months storage at -20 degrees or 4 weeks at 30 degrees. A decrease in contamination level was only observed during 4 weeks storage at 37 degrees. It can be concluded that the *Clostridium perfringens* reference material showed good stability and gave good, reproducible results. After resolving the membrane filtration problems, this reference material will be suitable for certification.

Het Infectieziekten-Bulletin is een uitgave van de Geneeskundige Hoofdinspectie (GHI) en het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiëne (RIVM), in samenwerking met de streeklaboratoria en de GGD'en. Het Infectieziekten-Bulletin is een informatie- en communicatiemiddel tussen organisaties die betrokken zijn bij de opsporing, bestrijding en bewaking van infectieziekten. Het Infectieziekten Bulletin wil een forum zijn voor de actualiteit van de epidemiologie van infectieziekten.

De verantwoordelijkheid voor de artikelen berust bij de auteurs. Overname van artikelen is alleen mogelijk, na overleg met het redactiesecretariaat, met bronvermelding en na toestemming van de auteur.

De redactie bestaat uit:

Dr. J.R.J. Bänffer	(namens de Streeklaboratoria)
D.A. van den Bosch, arts	(namens de GGD'en)
Mw.Drs. M.I. Esveld	(Centrum voor Infectieziekten Epidemiologie, RIVM)
H. Houweling, arts	(Centrum voor Infectieziekten Epidemiologie, RIVM)
Dr. J.C. de Jong	(Laboratorium voor Virologie, RIVM)
Mw. L.M. Kortbeek, arts	(Laboratorium voor Parasitologie en Mycologie, RIVM)
Mw. Drs. W.J. van Leeuwen	(Laboratorium voor Bacteriologie en Antimicrobiële middelen, RIVM)
Mw. A.W.M. Suijkerbuijk	(Centrum voor Infectieziekten Epidemiologie, RIVM)
W.A. Schop	(namens de GGD'en)
Mw. A.A. Warris-Versteegen	(namens de Inspectie voor de Gezondheidszorg)

Redactiesecretariaat

Mw. M.S. Akkerman

Centrum voor Infectieziekten Epidemiologie, RIVM

Postbus 1

3720 BA Bilthoven

030 - 74 36 79

Productie:

Facilitaire dienst
Hoogvoorde

