



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Parvovirus B19: diagnosis, distribution and disease associations

Russcher, A.

Citation

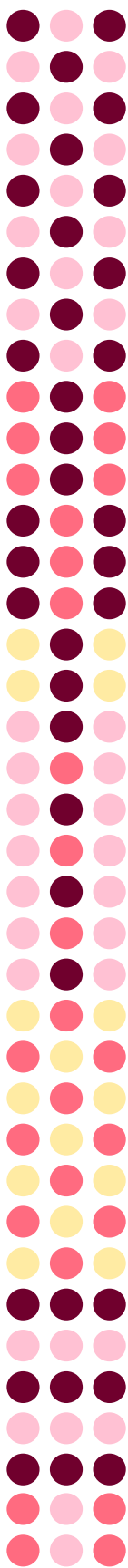
Russcher, A. (2025, March 11). *Parvovirus B19: diagnosis, distribution and disease associations*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4197416>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/4197416>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).



Addendum

Nederlandse samenvatting
List of publications
Curriculum vitae

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Achtergrond

Parvovirus B19 (B19V) werd ontdekt in 1975. Het is naar virologische begrippen een klein virus, wat het naamsdeel 'parvo' verklaart ('parvus' betekent 'klein' in het Latijn). B19V werd als bijvangst ontdekt in de zoektocht naar een geschikte test voor hepatitis B virus, en is vernoemd naar het nummer van het testpaneel waarin het virus aangetoond werd (nummer B19).

In latere jaren werd aangetoond dat B19V primair verantwoordelijk is voor het ziektebeeld 'vijfde ziekte', een koortsende ziekte op kinderleeftijd. Kinderen kunnen hierbij naast koorts ook kenmerkende vuurrode wangen (de zogenaamde 'slapped cheeks') en een fijnmazige uitslag op het lichaam ontwikkelen. Hierbij treedt spontaan herstel op. De infectie kan ook geheel zonder symptomen verlopen. Ongeveer 70% van de bevolking heeft op volwassen leeftijd B19V doorgeemaakt. Na doorgemaakte infectie, is men levenslang beschermd tegen een nieuwe infectie met B19V.

Naast de vijfde ziekte, kan B19V in bepaalde patiëntgroepen ook ernstiger ziektebeelden veroorzaken. B19V infecteert de voorlopercellen van rode bloedcellen in het beenmerg. Rode bloedcellen zijn onderdeel van een cyclus waarbij voortdurend rode bloedcellen sterven en aangevuld worden vanuit nieuw aangemaakte cellen uit het beenmerg. Infectie met B19V zorgt ervoor dat de voorlopercellen sterven, en er dus tijdelijk geen nieuwe aanmaak plaatsvindt. In gezonde personen heeft dit geen merkbaar effect; er zijn genoeg gezonde rode bloedcellen om de tijdelijke stop in aanmaak op te vangen. Er zijn echter enkele patiëntgroepen waarbij de stop in aanmaak wel merkbaar en relevant kan zijn. Zij ontwikkelen dan een (ernstige) bloedarmoede. Dit zijn:

- Personen die om andere redenen al een gestoorde bloedaanmaak of een verhoogde bloedaafbraak hebben (zoals patiënten met sikkelcelziekte of andere aangeboren stoornissen van de bloedaanmaak). Deze patiënten hebben geregeld een bloedtransfusie nodig om de bloedarmoede te bestrijden, maar zij herstellen uiteindelijk zelf.
- Personen met een ernstige stoornis in het immuunsysteem, waardoor zij de infectie niet zelf onder controle krijgen; de bestaande rode bloedcellen kunnen de stop dan niet langer opvangen. Deze patiënten kunnen behandeld worden met intraveneuze immuunglobulines (IVIG), waarbij B19V

geremd wordt totdat de eigen afweer functioneert.

- Ongeboren kinderen die in de baarmoeder geïnfecteerd raken met B19V. Ongeboren kinderen kunnen voor hun bloedarmoede behandeld worden met een bloedtransfusie in de baarmoeder, een zogeheten intra-uteriene transfusie (IUT). Vervolgens herstellen de ongeboren kinderen vaak vanzelf weer.

Ondanks dat B19V voornamelijk deze voorlopercellen infecteert, kan het DNA van het virus aangetoond worden in vele verschillende weefsels waar dit DNA levenslang aantoonbaar blijft. Daarnaast blijft B19V DNA na doorgemaakte infectie ook maandenlang aantoonbaar in het bloed. De persisterende aanwezigheid van B19V DNA in bloed en weefsels kan leiden tot diagnostische dilemma's; is het DNA dat op een bepaald moment in een patiënt wordt aangetoond een oorzakelijk agens van actuele ziekte, of is het een restant van een oude infectie en daarmee bijvangst in de diagnostiek?

Dit proefschrift

Het belangrijkste doel van dit proefschrift was om meer inzicht te krijgen in de betekenis van B19V DNA-detectie in bloed of weefsel, in verschillende patiëntgroepen. Dit kan leiden tot een beter begrip van het pathogenetisch potentieel van B19V, de klinische impact van B19V en de ziektelast. Een aanvullend doel was om inzicht te krijgen in de epidemiologie van B19V en de samenhang hiervan met de klinische impact en ziektelast van het virus.

In Hoofdstuk 2 is de epidemiologie van B19V infecties in Nederland in de laatste decennia in kaart gebracht, en de impact daarvan op ongeboren kinderen. Hiertoe werden gegevens gebruikt van Sanquin (de Nederlandse bloedbank), de virologische weekstaten (wekelijkse rapportage van virusinfecties door laboratoria) en het aantal ongeboren kinderen in Nederland dat per jaar met een IUT behandeld werd in de afgelopen twintig jaar. Hierin werd aangetoond hoe B19V een jaarlijkse seizoenspiek beleeft met elke paar jaar een grotere verheffing, maar laat ook zien dat dit patroon het laatste decennium verstoord is geraakt. Ook werd beschreven hoe B19V infecties verdwenen gedurende de COVID-19 pandemie, en vervolgens weer terugkeerden. Tevens werd aangetoond dat er een relatie bestaat tussen het vóórkomen van B19V in de algemene bevolking op enig moment en het aantal ongeboren kinderen dat een IUT nodig heeft. In **hoofdstuk 3** werd de verheffing in IUT beschreven in 2024 in Nederland, België en Frankrijk, die

waargenomen werd na het eerdere verdwijnen van B19V gedurende de COVID-19 pandemie. In hoofdstuk 3 bleek ook dat er aanwijzingen zijn dat de uitkomst na IUT nadeliger was gedurende de recente epidemie ten opzichte van de jaren hiervoor. Er werd een associatie aangetoond met meer gevorderde amenorroeduur bij IUT en nadelige uitkomst. Een verklaring hiervoor zou kunnen zijn dat patiënten tijdens de recente epidemie relatief laat verwezen werden, mogelijk omdat alertheid op B19V infecties in de zwangerschap in de afgelopen jaren afgenomen is.

De diagnose intra-uteriene infectie met B19V wordt doorgaans tijdens de zwangerschap gesteld. In **hoofdstuk 4** werd onderzocht of bloed van pasgeborenen ook geschikt is om ná de geboorte een intra-uteriene infectie vast te stellen. Deze toepassing zou van waarde kunnen zijn bij epidemiologisch onderzoek naar het vóórkomen van intra-uteriene infecties met B19V, waarover we nu niet goed geïnformeerd zijn (behoudens de meest ernstige gevallen die zich presenteren voor IUT). In dit hoofdstuk werd aangetoond dat in hielprikbloed of navelstrengbloed de sensitiviteit van PCR 79% was, en dat de sensitiviteit het laagst was indien infectie vroeg in de zwangerschap had plaatsgevonden (bij een zwangerschapsduur van < 20 weken bij diagnose was de sensitiviteit slechts 45%). Met deze suboptimale sensitiviteit moet rekening gehouden worden indien deze diagnostiek wordt ingezet voor individuele patiëntenzorg of in epidemiologisch verband.

Hoofdstuk 5 beschreef de ontwikkeling en toepassing van een nieuwe methode om te differentiëren tussen de aanwezigheid van intacte B19V viruspartikels en de aanwezigheid van enkel virale overblijfselen, d.w.z. het ‘naakte’ DNA van het virus. In dit hoofdstuk werd het beloop van een acute B19V infectie gevolgd in 10 bloeddonoren. Bloedmonsters die met PCR-test positief waren getest voor B19V, werden onderworpen aan een vergelijkende test. Een deel van het monster werd geïncubeerd met endonuclease, een enzym dat ‘naakt’ DNA afbreekt maar het DNA in een viruspartikel niet kan bereiken, omdat dit beschermd wordt door de eiwitmantel van het virus. Na incubatie werd de PCR test herhaald; indien het DNA bestaat uit ‘naakt’ DNA is dit door endonuclease afgebroken en is virale load nu sterk gedaald of zelfs negatief, en was hier dus sprake van een ‘DNAemie’, en geen viremie. Indien het DNA beschermd is door een eiwitmantel (en het dus gaat om een intact viruspartikel), heeft endonuclease geen effect gehad en is de load ver-

gelijkbaar gebleven. Uit dit hoofdstuk bleek dat bij de acute infecties in 10 gezonde bloeddonoren, na gemiddeld 150 dagen het aanwezige B19V DNA geheel door endonuclease afbreekbaar was. Dit moment leek samen te vallen met de overgang van hoge virale loads naar lage virale loads rond 10^4 IU/ml. Hieruit blijkt dat na acute infectie, gedurende de maandenlange periode waarin B19V DNA in lage hoeveelheden aantoonbaar is in het bloed, het gaat om DNA overblijfselen van B19V en geen infectieus, replicerend virus.

De persisterende aanwezigheid van B19V DNA in bloed en weefsels heeft tot veel wetenschappelijk discours geleid. Dit geldt met name voor de betekenis van aantoonbaar B19V DNA in patiënten met cardiomyopathie. In het verleden is vaker gesteld dat B19V een belangrijke oorzaak van cardiomyopathie zou zijn, met name gebaseerd op de detectie van B19V DNA in cardiaal weefsel, terwijl in meerdere studies een oorzakelijk verband ontkracht wordt. In **hoofdstuk 6** werd de betekenis van B19V DNAëmie onderzocht in een cohort van patiënten met cardiomyopathie met behulp van de endonuclease test uit hoofdstuk 5. Er werden 20 patiënten geselecteerd met hoge waarden B19V DNA in het hart. In 6 van de 20 patiënten bleek er tevens sprake te zijn van een DNAëmie. De endonuclease test toonde in alle 6 patiënten aan dat er sprake was van virale overblijfselen. Dit cohort werd vergeleken met een cohort van 18 patiënten met verschillende uitingvormen van acute infectie met B19V. In al deze gevallen bestond de DNAëmie uit intacte viruspartikels (en was er dus sprake van een viremie). Dit maakt het onwaarschijnlijk dat een actuele cardiomyopathie door actieve B19V-infectie veroorzaakt wordt.

Hoofdstuk 7 onderzocht de prevalentie en de klinische betekenis van B19V DNAëmie na niertransplantatie in een cohort niertransplantatie patiënten in een Nederlands academisch ziekenhuis. Er werd een puntprevalentie van B19V DNAëmie vastgesteld van 1.5% (2 van de 134 gescreende patiënten). De 2 positieve patiënten werden nader onderzocht. Er werd met behulp van aanvullende monsters nagegaan hoe lang DNA aantoonbaar was en met behulp van de endonuclease test werd nagegaan wat de aard van het aangetoonde DNA was. Ook werd gekeken of het DNA mogelijk afkomstig was van de donornier door een donornierbiopt pretransplantatie te testen op B19V DNA. Bij 1 ontvanger was transmissie vanuit de donor zeer waarschijnlijk; de patiënt was seronegatief voor én na de DNAëmie en het donornierbiopt was positief. Bij de tweede patiënt was het donornierbiopt

ook positief, maar gezien de ontvanger ook seropositief was, was niet met zekerheid te zeggen waar het DNA van afkomstig was. Deze studie toont aan dat B19V DNAemie met voorzichtigheid geïnterpreteerd moet worden in deze populatie. Het toont zowel aan dat DNAemie niet klinisch relevant hoeft te zijn en dat B19V DNA afkomstig kan zijn van een donororgaan, wat betekent dat DNAemie in deze patiënten niet gelijk staat aan een actieve of doorgemaakte infectie met B19V.

Wat in de hoofdstukken 5, 6 en 7 opvalt is dat aanwezigheid van ‘naakt’ DNA d.w.z. niet-replicerend virus correleert met de aanwezigheid van lage virale loads. Het is daarom belangrijk om virale loads betrouwbaar te kunnen kwantificeren. Daarnaast wordt (metagenomic) next-generation sequencing (NGS) steeds meer toegepast in de klinische virologie. Omdat B19V persisteert in bloed en weefsels, heeft dit als gevolg dat B19V steeds vaker wordt gedetecteerd als nevenbevinding in klinische samples. Om deze nevenbevinding te kunnen duiden, is het wenselijk dat dit gepaard gaat met goede kwantificering. Eerder is kwantificering d.m.v. NGS een tekortkoming gebleken. In **hoofdstuk 8** werd onderzocht of metagenomic NGS betrouwbare kwantificeerbare resultaten oplevert. Dit hoofdstuk toonde aan dat meerdere DNA-virussen, waaronder B19V, goed gekwantificeerd konden worden met een nieuwe NGS methode. Hiermee wordt een drempel weggenomen om NGS in te zetten in de klinische praktijk.

In **hoofdstuk 9** werd dieper ingegaan op het beloop van B19V viremie in immuungestoorde patiënten. Doordat zij door hun verminderde immuniteit de B19V infectie niet snel klaren, bestaat er een langdurige viremie. In dit hoofdstuk werd in drie patiënten met langdurige viremie nagegaan of er gedurende de infectie mutaties optraden in het viraal genoom. Bij één van de drie patiënten werden twee mutaties aangetoond gedurende het beloop. Door middel van eiwit modellering werd inzichtelijk gemaakt dat één van deze mutaties mogelijk ook leidt tot een structurele verandering in één van de oppervlakte-eiwitten van het virus. Deze patiënt had voorafgaand aan de mutatie zelf antilichamen tegen B19V ontwikkeld, maar was deze ook weer verloren. Dit zou erop kunnen wijzen dat er sprake is van een verandering in het virale eiwit onder druk van antilichamen. Deze bevindingen benadrukken het belang van het monitoren van het viraal genoom bij langdurige of terugkerende viremie, om meer inzicht te krijgen hoe het virus zich ontwikkelt tijdens een dergelijke infectie.

Concluderend is één van de belangrijkste bevindingen in dit proefschrift het belang om onderscheid te maken tussen de aanwezigheid van replicerend virus

en virale overblijfselen. Dit onderscheid kan gemaakt worden met de endonuclease test. Het belang van dit onderscheid speelt in meerdere patiëntgroepen. Daarnaast is gebleken dat de hoogte van virale load (of DNA load) correleert met de aanwezigheid van replicerend virus. Bij een positieve B19V PCR bevinding in een patiënt moet men zich dan ook altijd afvragen wat deze voor de individuele patiënt betekent, en dit zou aanleiding moeten zijn tot het laagdrempelig inzetten van nadere B19V diagnostiek, zoals een virale load bepaling of een endonuclease test, om hier duidelijkheid over te krijgen.

Dit proefschrift laat ook zien dat B19V in epidemieën voorkomt die gepaard kunnen gaan met ernstige consequenties voor ongeborenen. Monitoring van en aandacht voor de epidemische verheffingen waarmee B19V voorkomt is aangewezen om infecties tijdig te kunnen opsporen en de consequenties hiervan te beperken.

Een van de belangrijkste vragen waarop nog geen definitief antwoord verkregen is, betreft het mechanisme dat verantwoordelijk is voor het langdurig aantoonbaar blijven van B19V in bloed en weefsels. Toekomstig onderzoek zou zich hierop moeten richten, niet alleen om definitief te kunnen begrijpen hoe B19V zich gedraagt in de gastheer maar ook omdat dit zou bijdragen aan inzicht in gastheer-pathogeen interacties voor virussen in het algemeen.