



UvA-DARE (Digital Academic Repository)

Biomarkers in febrile patients

A quest for discriminators for infectious and inflammatory disease

Zandstra, J.

Publication date

2023

[Link to publication](#)

Citation for published version (APA):

Zandstra, J. (2023). *Biomarkers in febrile patients: A quest for discriminators for infectious and inflammatory disease*. [Thesis, fully internal, Universiteit van Amsterdam].

General rights

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Disclaimer/Complaints regulations

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <https://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

88

APPENDIX

English summary
Nederlandse samenvatting
List of publications
Contribution co-authors
PhD Portfolio
Curriculum Vitae

SUMMARY

For the proper treatment of patients, the right diagnosis is essential. Yet, getting to the correct diagnosis is often challenging when specific indicators are lacking that may help the treating physician. Fever is considered to be one of the key symptoms of infection that can be caused by bacteria, viruses, yeast or fungi. Independent of the elusive trigger, the fever often presents itself as a common denominator. For example, when fever is accompanied by coughing, increased respiratory rate and shortness of breath, it might well be a pulmonary infection but the trigger remains unknown. Moreover, fever has also been described for patients where no infection could be detected. As such, while fever is a clear indicator for disease, it is an 'obscure' and non-determining symptom which can hardly help the physician in its diagnosis and prescribing the right treatment. To overcome this limitation and to get a better understanding of the cause of the fever, we have set out to identify specific plasma protein patterns as so-called biomarkers in the patients' blood to aid the physician to make a more probable diagnosis. In this thesis we addressed three main questions:

- A) How can febrile patients be differentiated between with or without a pathogen-related infection?
- B) Which biomarkers may distinguish disease severity of bacterial or viral infection in febrile patients?
- C) How can bone marrow recovery and host defense be predicted in cancer patients treated with chemotherapy with either infection or inflammation?

Biomarkers for the diagnosis of febrile children

Kawasaki disease is a febrile post-infectious, inflammatory disease found in young children which is difficult to distinguish from infectious diseases. Kawasaki disease consists of the inflammation of the blood vessels. These patients experience high fever, red eyes and tongue as well as reddish and swollen hands and feet where their skin can start peeling after the fever subsides after 10 or more days. Despite the fact that the diagnosis of Kawasaki disease is complicated due to lack of specific indicators, it can be best treated with an infusion of antibodies (intravenous immunoglobulins, IVIG) within 10 days of onset instead of antibiotics. Failure to administer IVIG intime, puts the patient at risk to develop organ damage due to the inflamed blood vessels, particularly of the coronary arteries of the heart. Since the symptoms of Kawasaki disease are so generic compared to pathogen-related infection, we identified a set of biomarkers in **Chapter 2** that can help to discriminate between Kawasaki disease and infections by using the combination of the biomarkers C-reactive protein (CRP), MRP8/14 and human neutrophil elastase (HNE). Together, these data show that using the three biomarkers CRP, MRP8/14 and HNE you can discriminate Kawasaki disease from infection in febrile children.

Although important to distinguish Kawasaki disease from infection, it is of similar importance to be able to determine the cause of the infection if present. Fever in children is most frequently caused by either bacterial or viral infections. To date, current diagnostics still struggle to distinguish between these two types of infections correctly. Therefore, physicians may prescribe antimicrobial treatment in an unsubstantiated manner, leading to the misuse of antibiotics which may add to the rise of antibiotic resistance, but could also result in unwanted side effects that may weaken the patient and worsen its clinical outcome. To develop a rapid diagnostic test to differentiate between the two major types of infection, we identified a set of three additional biomarkers (Lipocalin-2 [LCN2], granulocyte colony stimulating factor [G-CSF], and galectin-3BP, in combination with the insensitive but routinely used CRP to help distinguish bacterial from viral infections in febrile children, as described in **Chapter 3**. The biomarker set was evaluated in two groups that together represented over 250 patients from different ethnic backgrounds from more than ten European countries. Where the set of CRP, LCN2 and G-CSF have the ability to predict bacterial over viral infections, the biomarker galectin-3BP was a good predictor for viral infections. Finally, we show that besides the choice for the right biomarkers we also need to have the right cutoff values for the populations where the choice has to be made between misdiagnosing patients or overtreating them.

In addition to the importance of distinguishing between bacterial and viral infection, predicting disease progression holds tremendous value as the state febrile children can quickly deteriorate. In **Chapter 4**, we identified seven biomarkers (CRP, LCN2, G-CSF, S100A12, and the soluble form of suppression of tumorigenicity 2 receptor [ST2], E-selectin and neural cell-adhesion molecule [NCAM-1]) that may score disease activity and reflects the need for more intensive care in hospitalized children with bacterial or viral infections. From a set of 27 biomarkers, ST2 showed the strongest increase in all patients (in both bacterial and viral infection) that were admitted to the pediatric intensive care unit. Since ST2 has also been shown to hold value as predictor of mortality in COVID-19 patients, we confirm here that ST2 can help to monitor patient deterioration. The biomarker soluble NCAM-1 was mainly found to be elevated in patients that suffer from a viral infection, compared to patients with a bacterial infection. The remainder of the biomarkers did often show increased levels in two of the three patients groups tested. Together these seven biomarkers could form the basis of a new predictive model to monitor disease progression in febrile patients when proven useful if applied longitudinally.

Biomarkers in COVID-19 infection and its associated disease severity

Patients infected with SARS-CoV-2 virus endured a high risk of mortality which was related to hyperactivation of the immune system. Upon admission to the hospital, prediction of the patient's outcome is difficult. To overcome this challenge, in **Chapter 5** we set out to confirm existing biomarkers as well as identify new candidates in order to help in the prediction of patient's

disease progression. Antibody titers against SARS-CoV-2 have shown to give insight the disease progression as well as the proinflammatory state of the patient. Our analysis showed that one third of both moderate and severe COVID-19 patients showed to have low fucosylation of their antibodies, which was described to correlate with related to the hyperactivation of the immune system. Besides the low degree of fucosylation of antibodies, severe COVID-19 was associated with increased levels of the decoy IL-33 receptor ST2, as well as the neutrophil-derived proteins S100A8/A9 and proteinase-3. In both moderate and severe COVID-19 the macrophage derived protein CD163 and TIMP1 were elevated in comparison to mild non-hospitalized cases of COVID-19. Using the biomarkers S100A8/A9 and ST2 we were able to develop a predictive model to discriminate between moderate and severe COVID-19.

Biomarkers to separate inflammation from infection in chemotherapy-treated cancer patients lacking a host defense signature

Patients with hematologic malignancies, such as acute myeloid leukemia (AML) undergo intensive chemotherapy. While successful, this treatment against cancer also temporarily eliminates some essential elements of the immune system such as neutrophils. As a result, these patients experience prolonged neutropenia and despite the preventive use of antibiotic patients may still experience bacterial or fungal infections with possible lethal outcome. As a result of the neutropenia, known neutrophil-based biomarkers for infection are useless. In **Chapter 6**, we show that the biomarker IL-8 can be used to discriminate an infectious cause of fever from non-infectious fever in neutropenic AML patients. Furthermore, our study indicates that plasma nucleosomes are a strong prognostic indicator for clinical deterioration as increased levels are already observed at 24-48 hours prior to admission to the intensive care. Finally, by making use of the HNE biomarker, restoration of the neutrophils could be detected prior to other techniques when chemotherapy was finished. As such, this biomarker could be used to determine how long patients should remain under close observation by their physician in the context of opportunistic bacterial or fungal infections.

Conclusion

A combination test consisting of a set of biomarkers can form a powerful tool to discriminate between various infectious diseases and some febrile inflammatory responses in children, to predict their progression as well as to monitor the patient's clinical condition. In this thesis we show the strength of combining several plasma protein biomarkers to diagnose the source of fever in different group of patients. In heterogeneous discovery cohorts we measured the plasma levels of various protein biomarkers and performed independent validations in separate cohorts. We are one step closer to developing a more sensitive test to improve early diagnosis and treatment practices by distinguishing bacterial from viral infections as well as infection from inflammatory disease. A solid diagnostic test will aid not only the diagnosis, but also the initial

treatment of febrile patients. Despite the progress made, our studies in selected cohorts also illustrate that additional real-world application in different settings and study populations should be tested. We should also be aware of the fact that a predictive model may never be final and complete, nor globally applicable since any diagnostic biomarker model built for rapid testing will depend on the selection of biomarkers, based on local exposure rates of most prevalent infections, newly emerging infections during epidemics (as illustrated by the new coronavirus), host genetics, and many other variables of regional relevance.

SAMENVATTING

Voor een goede behandeling van patiënten is de juiste diagnose essentieel. Toch is het vaak een uitdaging om de juiste diagnose te stellen wanneer specifieke symptomen ontbreken die de behandelend arts kunnen helpen. Koorts wordt beschouwd als een van de belangrijkste symptomen van infectie die kan worden veroorzaakt door bacteriën, virussen, gisten of schimmels. De koorts presenteert zich vaak op dezelfde manier onafhankelijk van de oorzaak. Als naast de koorts symptomen zoals hoesten en benauwde ademhaling wordt opgemerkt dan is een longinfectie een mogelijke diagnose, hoewel de oorzaak hiervan nog onzeker blijft. Bovendien is koorts ook beschreven bij patiënten waarbij geen infectie kon worden vastgesteld. Alhoewel koorts een duidelijk signaal is voor problemen met de gezondheid, is het als zodanig een te algemeen symptoom om de arts te helpen bij het stellen van een diagnose en daarmee het voorschrijven van de juiste behandeling. Om dit probleem te verhelpen hebben wij verschillende specifieke eiwitten, zogenaamde biomarkers, geïdentificeerd in het bloed van patiënten met koorts om de diagnostiek te verbeteren. In deze thesis hebben we drie hoofdvragen behandeld:

- A) Hoe kan er onderscheid gemaakt worden tussen koortsige patiënten met of zonder een infectie?
- B) Welke biomarkers kunnen onderscheid maken tussen bacteriële of virale infectie en de daaropvolgende ernst van de ziekte bij patiënten met koorts?
- C) Hoe kan het herstel van beenmerg voorspeld worden bij kankerpatiënten die met chemotherapie worden behandeld en ofwel een infectie of ontsteking hebben

Biomarkers voor de diagnose van koortsige kinderen

De ziekte van Kawasaki is een ontstekingsziekte die voorkomt bij jonge kinderen en zeer lastig te onderscheiden is van een infectie. De ziekte van Kawasaki wordt gekenmerkt door de ontsteking van de kleine en/of middelgrote bloedvaten, zoals de kransslagaders in het hart. Naast de ontsteking van de bloedvaten hebben de patiënten symptomen zoals hoge koorts, rode ogen en tong, evenals rode en gezwollen handen en voeten waarbij hun huid kan gaan vervellen, nadat de koorts wegzakt na meer dan 10 dagen. Ondanks het feit dat de diagnose van de ziekte van Kawasaki erg gecompliceerd is vanwege het ontbreken van specifieke indicatoren, kan het goed worden behandeld met een infuus van antilichamen als het binnen 10 dagen na aanvang wordt toegediend. Zonder behandeling loopt de patiënt het risico orgaanschade te ontwikkelen rond de ontstoken bloedvaten, zoals het hart. Omdat veel symptomen van de ziekte van Kawasaki vergelijkbaar zijn met een infectie, hebben we in **Hoofdstuk 2** een reeks biomarkers geïdentificeerd die onderscheid kunnen maken tussen de ziekte van Kawasaki en infecties met behulp van de combinatie van de biomarkers C-reactive protein (CRP), MRP8/14 en humaan neutrofiel elastase (HNE). Samen laten deze resultaten zien dat het gebruik van de biomarkers

CRP, MRP8/14 en HNE kan helpen bij het onderscheiden van de ziekte van Kawasaki en infectie bij kinderen met koorts.

Hoewel het belangrijk is om de ziekte van Kawasaki te onderscheiden van infectie, het is net zo belangrijk om te weten wat de oorzaak van infectie is. Koorts bij kinderen voornamelijk veroorzaakt door bacteriële of virale infecties. De huidige diagnostiek heeft moeite om deze twee soorten infecties correct en snel van elkaar te onderscheiden. Als zodanig kunnen artsen bijvoorbeeld antibiotica voorschrijven terwijl dat niet nodig. Dit kan leiden tot onjuist gebruik van antibiotica, wat weer kan bijdragen aan de toename van antibioticaresistentie, maar ook tot eventuele bijwerkingen die de patiënt kan verzwakken en de klinische uitkomst kan verslechteren. Voor de ontwikkeling van een snelle test om bacteriële en virale infecties bij kinderen met koorts te onderscheiden, hebben we een set van vier biomarkers geïdentificeerd (CRP, Lipocalin-2 [LCN2], granulocyt koloniestimulerende factor [G-CSF], en galectine-3BP), zoals beschreven in **Hoofdstuk 3**. Deze set biomarkers werd geëvalueerd in twee groepen die samen meer dan 250 patiënten met verschillende etnische achtergronden uit meer dan tien Europese landen vertegenwoordigden. Waar CRP, LCN2 en G-CSF verhoogd zijn in bacteriële infecties ten opzichte van virale infecties, was de biomarker galectine-3BP een goede voorspeller voor virale infecties. Ten slotte laten we zien dat we naast de keuze voor de juiste biomarkers ook de juiste afkapwaarden moeten hebben voor de populaties waar de keuze moet worden gemaakt tussen een verkeerde diagnose of overbehandeling van de patiënt.

Naast de diagnose van de onderliggende oorzaak van de symptomen is het voorspellen van ziekteprogressie van enorme waarde aangezien de toestand van koortsige kinderen snel achteruit kan gaan. In **Hoofdstuk 4** identificeerden we zeven biomarkers (CRP, LCN2, G-CSF, S100A12, en tumorigenicity 2 receptor [ST2], E -selectine en neurale celadhesiemolecuul [NCAM-1]) die mogelijk kunnen helpen om intensieve zorg te voorspellen bij kinderen met bacteriële of virale infecties. Van een set van 27 biomarkers liet ST2 de sterkste stijging zien bij alle patiënten (zowel bacteriële en virale infectie) die werden opgenomen op de pediatrie intensive care. Aangezien ook is aangetoond dat ST2 een voorspellende waarde heeft voor mortaliteit bij COVID-19-patiënten, bevestigen we hier dat ST2 kan helpen om de achteruitgang van de patiënt aan te tonen. De biomarker NCAM-1 bleek vooral verhoogd te zijn bij patiënten met een virale infectie, in vergelijking met patiënten met een bacteriële infectie. De rest van de biomarkers vertoonde vaak verhoogde niveaus in twee van de drie geteste patiëntengroepen. Samen zouden deze zeven biomarkers de basis kunnen vormen van een nieuw voorspellend model om ziekteprogressie bij patiënten met koorts te volgen.

Biomarkers in COVID-19-infectie en de bijbehorende ernst van de ziekte

Patiënten die met het SARS-CoV-2-virus waren geïnfecteerd hadden een verhoogd sterfterisico

dat verband hield met hyperactivering van het immuunsysteem. Bij opname in het ziekenhuis is het moeilijk om het mogelijke herstel van de patiënt te voorspellen. In **Hoofdstuk 5** hebben we bestaande biomarkers en nieuwe kandidaten geïdentificeerd om de ziekteprogressie van de patiënt mogelijk te voorspellen. Antilichaam concentraties tegen SARS-CoV-2 hebben aangetoond dat ze inzicht kunnen geven in het ziekteverloop en de pro-inflammatoire toestand van de patiënt. Onze analyse toonde aan dat een derde van zowel matige als ernstige COVID-19-patiënten een lage fucosylering van hun antilichamen vertoonde, wat verband zou kunnen houden met de hyperactivering van het immuunsysteem zoals beschreven in eerdere studies. Naast de lage mate van fucosylering van antilichamen werd ernstige COVID-19 geassocieerd met verhoogde niveaus van de IL-33-receptor ST2, evenals de van neutrofielen afkomstige eiwitten S100A8/A9 en proteïnase-3. Bij zowel matige als ernstige COVID-19 was het macrofaag eiwit CD163 en TIMP1 verhoogd in vergelijking met milde niet-gehospitaliseerde patiënten met COVID-19. Met behulp van de biomarkers S100A8/A9 en ST2 konden we een voorspellend model ontwikkelen om onderscheid te maken tussen matige en ernstige COVID-19.

Biomarkers om ontsteking en infectie te scheiden bij met chemotherapie behandelde kankerpatiënten

Patiënten met kanker in het bloed, zoals acute myeloïde leukemie (AML), ondergaan intensieve chemotherapie. Hoewel nodig voor het elimineren van tumorcellen vernietigt deze behandeling ook essentiële elementen van het immuunsysteem, zoals neutrofielen. Hierdoor ervaren deze patiënten neutropenie en ondanks het preventieve gebruik van antibiotica kunnen patiënten nog steeds bacteriële of schimmelinfecties ontwikkelen met mogelijk fatale afloop. Als gevolg van de neutropenie zijn bekende neutrofiel gerelateerde biomarkers voor infectie niet meetbaar. In **Hoofdstuk 6** laten we zien dat de biomarker IL-8 kan worden gebruikt om koorts veroorzaakt door infectie te onderscheiden van niet-infectieuze koorts bij AML-patiënten met neutropenie. Bovendien geeft onze studie aan dat plasma-nucleosomen een voorspeller kunnen zijn voor verslechtering van de conditie van de patiënt, aangezien een concentratietoename 24-48 uur voorafgaand aan opname op de intensive care wordt waargenomen. Ten slotte, door gebruik te maken van de biomarker HNE kon herstel van de neutrofielen worden gedetecteerd voorafgaand aan andere technieken wanneer de chemotherapie was voltooid. Als zodanig zou deze biomarker kunnen worden gebruikt om te bepalen hoe lang patiënten nauwlettend in de gaten moeten worden gehouden door hun arts om opportunistische bacteriële of schimmelinfecties te vermijden.

Conclusie

Een diagnostische test die is gebaseerd op een combinatie van verschillende biomarkers vormt een krachtig hulpmiddel om onderscheid te maken tussen verschillende infectieziekten, om hun progressie te voorspellen en om de status van de patiënt te volgen. In dit proefschrift hebben

we de kracht aangetoond van gecombineerde plasma-eiwit biomarkers om de oorzaak van koorts te diagnosticeren bij verschillende groepen patiënten. In heterogene cohorten hebben we de plasmaspiegels van verschillende eiwit biomarkers gemeten en onafhankelijke validatie uitgevoerd in afzonderlijke cohorten. We zijn een stap dichterbij in de ontwikkeling van een snelle test om vroege diagnose en behandeling te verbeteren door onderscheid te maken tussen bacteriële, virale infecties en ontsteking. Een solide diagnostische test zal niet alleen de diagnose helpen, maar ook de behandeling van deze koortspatiënten. Ondanks de geboekte vooruitgang illustreren onze studies ook dat aanvullende biomarkers nog steeds nodig kunnen zijn voor gebruik als een echte toepassing in verschillende situaties en studiepopulaties. We moeten ons bewust zijn van het feit dat een voorspellend model misschien nooit definitief en volledig is, noch wereldwijd toepasbaar, aangezien elk diagnostisch model dat is gebouwd voor snel testen zal afhangen van de selectie van biomarkers, gebaseerd op lokale percentages van de meest voorkomende infecties, nieuw opkomende infecties tijdens epidemieën (zoals geïllustreerd door het nieuwe coronavirus), genetica en vele andere variabelen.

LIST OF PUBLICATIONS

van Asten I, Schutgens REG, Baaij M, **Zandstra J**, Roest M, Pasterkamp G, Huisman A, Korporaal SJA, Urbanus RT. Validation of flow cytometric analysis of platelet function in patients with a suspected platelet function defect. *J Thromb Haemost.* 2018 Apr;16(4):689-698.

Yousef H, Czupalla CJ, Lee D, Chen MB, Burke AN, Zera KA, **Zandstra J**, Berber E, Lehallier B, Mathur V, Nair RV, Bonanno LN, Yang AC, Peterson T, Hadeiba H, Merkel T, Körbelin J, Schwaninger M, Buckwalter MS, Quake SR, Butcher EC, Wyss-Coray T. Aged blood impairs hippocampal neural precursor activity and activates microglia via brain endothelial cell VCAM1. *Nat Med.* 2019 Jun;25(6):988-1000.

Zandstra J*, van de Geer A*, Tanck MWT, van Stijn-Bringas Dimitriades D, Aarts CEM, Dietz SM, van Bruggen R, Schweintzger NA, Zenz W, Emonts M, Zavadska D, Pokorn M, Usuf E, Moll HA, Schlapbach LJ, Carrol ED, Paulus S, Tsoia M, Fink C, Yeung S, Shimizu C, Tremoulet A, Galassini R, Wright VJ, Martínón-Torres F, Herberg J, Burns J, Levin M, Kuijpers TW; EUCLIDS Consortium, PERFORM Consortium and UK Kawasaki Disease Genetics Study Network. Biomarkers for the Discrimination of Acute Kawasaki Disease From Infections in Childhood. *Front Pediatr.* 2020 Jul 22;8:355.

Zandstra J, Jongerius I, Kuijpers TW. Future Biomarkers for Infection and Inflammation in Febrile Children. *Front Immunol.* 2021 May 17;12:631308.

van de Geer A*, **Zandstra J***, Tanck MWT, Nur E, van Mierlo G, Jongerius I, van Bruggen R, Zeerleder SS, Kuijpers TW. Biomarkers to predict infection and infection-related complications during chemotherapy-induced neutropenia in acute myeloid leukaemia: a pilot study. *Br J Haematol.* 2021 Jun;193(5):1008-1012.

Lorés-Motta L, van Beek AE, Willems E, **Zandstra J**, van Mierlo G, Einhaus A, Mary JL, Stucki C, Bakker B, Hoyng CB, Fauser S, Clark SJ, de Jonge MI, Nogoceke E, Koertvely E, Jongerius I, Kuijpers TW, den Hollander AI. Common haplotypes at the CFH locus and low-frequency variants in CFHR2 and CFHR5 associate with systemic FHR concentrations and age-related macular degeneration. *Am J Hum Genet.* 2021 Aug 5;108(8):1367-1384.

Sprenkeler EGG, **Zandstra J**, van Kleef ND, Goetschalckx I, Verstegen B, Aarts CEM, Janssen H, Tool ATJ, van Mierlo G, van Bruggen R, Jongerius I, Kuijpers TW. S100A8/A9 Is a Marker for the Release of Neutrophil Extracellular Traps and Induces Neutrophil Activation. *Cells.* 2022 Jan 11;11(2):236.

** These authors contributed equally to this work*

CONTRIBUTION COAUTHORS TO THE MANUSCRIPT

Future Biomarkers for Infection and Inflammation in Febrile Children.

Authors: Judith Zandstra, Ilse Jongerius and Taco W. Kuijpers

Concept: JZ, IJ, TWK

Writing of the manuscript: JZ, IJ, TWK

Final approval of the manuscript: JZ, IJ, TWK

Biomarkers for the discrimination of acute Kawasaki disease from infections in childhood

Authors: J. Zandstra*, A. van de Geer*, M.W.T. Tanck, D. van Stijn-Bringas Dimitriades, C.E.M. Aarts, S.M. Dietz, R. van Bruggen, N.A. Schweintzger, W. Zenz, M. Emonts, D. Zavadská, M. Pokorn, E. Usuf, H. A. Moll, L. J. Schlapbach, E. D. Carrol, S. Paulus, M. Tsolia, C. Fink, S. Yeung, C. Shimizu, A. Tremoulet, R. Galassini, V.J. Wright, F. Martínón-Torres, J. Herberg, J. Burns, M. Levin, and T.W. Kuijpers on behalf of EUCLIDS consortium, PERFORM consortium and UK Kawasaki Disease Genetics Study Network.

Study design: RB, WZ, ME, DZ, MP, EU, HM, LJS, EDC, SP, MWTT, CF, SY, FM-T, JH, JB, ML, TWK

Enrolling patients: NAS, CS, AT, RG, VJW

Collecting data: JZ, AG, DS-B, CEMA, SMD

Analyzing results: JZ, AG, DS-B, CEMA, SMD, MWTT, TWK

Writing initial manuscript: JZ, AG, DS-B, CEMA, SMD

Critical reviewing and revising of the manuscript: all named authors

Final approval of the manuscript: all named authors

Development and validation of a multivariable prediction model to distinguish bacterial or viral infection in febrile children

Authors: J. Zandstra, H. Jackson, M.W.T. Tanck, M. Jansen, E. D. Carrol, M. Emonts, C. Fink, J. Herberg, H. A. Moll, S. Paulus, M. Pokorn, L. J. Schlapbach, F. Martínón-Torres, M. Tsolia, R. Galassini, V.J. Wright, D. Zavadská, W. Zenz, M. Levin, M. Kaforou, I. Jongerius and T.W. Kuijpers on behalf of EUCLIDS consortium and PERFORM consortium

Study design: WZ, ME, DZ, MP, HM, LS, EC, SP, MWTT, CF, FM-T, JH, ML, TWK

Enrolling patients: RG, VJW

Collecting data: JZ, HJ, MHJ

Analyzing results: JZ, HJ, MWTT, MK, IJ, TWK

Writing initial manuscript: JZ, HJ

Critical reviewing and revising of the manuscript: all named authors

Final approval of the manuscript: all named authors

Severity markers for infection and inflammation in febrile children

Authors: J. Zandstra, M.H. Jansen, R. Galassini, V.J. Wright, I. Jongerius and T.W. Kuijpers on behalf of EUCLIDS consortium and PERFORM consortium

Study design: IJ, TWK

Enrolling patients: RG, VJW

Collecting data: JZ, MHJ

Analyzing results: JZ, MHJ, IJ, TWK

Writing initial manuscript: JZ

Critical reviewing and revising of the manuscript: all named authors

Final approval of the manuscript: all named authors

Biomarkers in COVID-19 patients and their correlations with disease severity

Authors: J. Zandstra, H. Jackson, A. Gómez Carballa, I. Goetschalckx, I. Rivero Calle, M.H. Janssen, M.W.T. Tanck, M. I. de Jonge, M. Steenhuis, J. Van Coillie, F. Linty, J. Nouta, M. Wuhrer, G. Vidarsson, T. Rispens, M. Kafarou, I. Jongerius, F. Martinon-Torres, T.W. Kuijpers

Study design: GV, TR, MIJ, MK, IJ, FM-T, TWK

Enrolling patients: AGC, IRC, FM-T

Collecting data: JZ, HJ, IG, MHJ, MS, JC, JN, MW

Analyzing results: JZ, HJ, IG, MWTK, MS, IJ, TWK

Writing initial manuscript: JZ, HJ

Critical reviewing and revising of the manuscript: all named authors

Final approval of the manuscript: all named authors

Biomarkers to predict infection and infection-related complications during chemotherapy-induced neutropenia in acute myeloid leukemia: a pilot study

Authors: A. van de Geer*, J. Zandstra*, M.W.T Tanck, E. Nur, G. van Mierlo, I. Jongerius, R. van Bruggen, S.S. Zeerleder#, T.W. Kuijpers#

Study design: SZ, TWK

Enrolling patients: AG

Collecting data: AG, JZ, GM

Analyzing results: AG, JZ, MWTT, TWK

Writing initial manuscript: AG, JZ

Critical reviewing and revising of the manuscript: all named authors

Final approval of the manuscript: all named authors

PHD PORTFOLIO

PhD student: Judith Zandstra
 PhD period: February 2017 – March 2021
 Promotor: Prof. Dr. Taco W. Kuijpers
 Co-promotor: Dr. Ilse Jongerius

PhD training courses	Year	ECT
Scientific writing in English, AMC graduate School	2020	1.5
Practical Biostatistics, AMC graduate School	2019	1.4
Personal Development Program, Mennen Training & Consultancy	2019-2020	1.6
European Network of Immunology Institutes (ENII)	2018	2.5
Advanced Immunology Summer School, Porto Cervo, Italy		
- Poster presentation		

Seminars and workshops	Year	ECTS
Weekly Department meeting	2017-2021	5
Weekly Sanquin Research Seminar	2017-2021	5
Landsteiner Lectures	2017-2021	2
Monthly IP Seminars	2017-2021	2
Journal Club	2017-2021	4

(Inter)national conferences	Year	ECTS
38 th Annual Meeting of the European Society for Pediatric Infectious Diseases (ESPID), Rotterdam, The Netherlands	2020	1.75
- 2x poster presentation		
CIDA symposium	2020	0.25
Annual Meeting Dutch Society for Immunology (NVVI), Noordwijk, The Netherlands	2019	1
- Poster presentation		
Sanquin Science Day, Amsterdam, The Netherlands	2019	0.75
- Poster presentation		
Annual PERFORM meeting, Lyon, France	2019	1.25
- Oral presentation		
37 th Annual Meeting of the European Society for Pediatric Infectious Diseases (ESPID), Ljubljana, Slovenia	2019	1.5
- Oral presentation		

CHAPTER 8

The Amsterdam Infection and Immunity Institute PhD Retreat, Heemskerk, The Netherlands - Oral presentation	2018	1
Sanquin Science Day, Amsterdam, The Netherlands - Poster presentation	2018	0.75
5 th European Congress of Immunology, Amsterdam, The Netherlands - Poster presentation	2018	1.25
36 th Annual Meeting of the European Society for Pediatric Infectious Diseases (ESPID), Malmö, Sweden - Poster presentation	2018	1.5
CIDA Symposium	2018	0.25
Sanquin Science Day, Amsterdam, The Netherlands - Poster presentation	2017	0.75
Annual PERFORM meeting, Athens, Greece	2017	0.75
The Amsterdam Infection and Immunity Institute PhD Retreat, Heemskerk, The Netherlands - Oral presentation	2017	1
Amsterdam Complement Symposium	2017	0.25
Teaching	Year	ECTS
<u>Lecturing</u>		
Practical course assistant – “Immunology: research and clinic” BSc course for Biomedical Sciences (University of Amsterdam)	2019	1
<u>Supervising</u>		
MSc student Nadine van Kleef, 9 months internship	2019/2020	3
BSc student Julia Giezen, 1 month internship	2019	0.3
BSc student Chaja van Ansenwoude, 1 month internship	2019	0.3
BSc student Bibian Verstegen, 9 months internship	2018/2019	3

CURRICULUM VITAE

Judith Zandstra was born on June the 2nd 1992, in Geleen, the Netherlands. After graduating high school in 2010 she started the bachelor study Biomedical Science at Utrecht University. After receiving her bachelor's degree, Judith continued with her master study Biology of Disease at Utrecht University.

During her master study, Judith performed her first internship of 9 months at the UMC Utrecht, working under supervision of Dr. Rolf Urbanus at the LKCH Laboratorium. Here, she aided in designing a new test to diagnose suspected platelet defects in patients. Next, she wrote her master thesis about stem cells and organoids, facilitated by the Hubrecht Institute in Utrecht. At the end of her masters Judith moved to the United States of America for her second internship of 9 months. At the Departments of Neurology and Neurological Sciences, Stanford University School of Medicine, she worked under supervision of Prof. dr. Tony Wyss-Coray. Here, Judith studied the effect of aging on the neurogenesis and inflammation of the brain using mouse models. Judith received her master's degree in 2016.

Beginning of 2017 Judith started her PhD project at Sanquin Research and Landsteiner Laboratory, Department of Immunopathology, Amsterdam University Medical Centers, University of Amsterdam. Here, she worked under supervision of Dr. Ilse Jongerius and Prof. dr. Taco W. Kuijpers. Her PhD project was part of the European consortium PERFORM. Judith identified and validated protein biomarkers to improve diagnostics for febrile children. The results of this study are presented in this thesis.

Since August 2021 Judith is working as a teacher and education developer for the Bachelor Biomedical Science at Utrecht University.

DANKWOORD

Het is eindelijk zover! Ik mag mijn dankwoord schrijven. Zoals iedereen weet, komt de inhoud van een boekje niet tot stand door alleen het werk van de promovendus. Het resultaat in al deze hoofdstukken was niet mogelijk geweest door de samenwerking van vele partijen. Aan hen wil ik mijn dank uitspreken.

Mijn promotor Taco, bedankt dat ik onder jouw begeleiding dit project heb mogen doen. Ik heb mij vaak verwonderd over jouw ongelofelijke geheugen. Ik moest zelf af en toe even terugzoeken naar bepaalde resultaten, maar jij was altijd op de hoogte van alle details. Hoe je dat doet, met alle andere zaken waar je je mee bezig houdt, daar heb ik mij regelmatig over verbaasd. Misschien was het toch die standaard 4 uur cup-a-soup bij onze meetings om 3 uur.

Mijn copromotor Ilse, je bent later in het project ingestapt toen de biomarker-trein al op gang was. Als Taco en Gerard weer op dreef waren met spannende ideeën voor nieuwe experimenten was jij er altijd om ervoor te zorgen dat er niet te veel werd afgedreven van het doel.

The PERFORM consortium, thank you for the opportunity to be a part of such an amazing international group. The ESPID was a lot more fun with all of you and I will never forget the annual PERFORM meetings in the most amazing cities.

De complement groep: Angela, Mieke, Dorina, Gerard, Anna, Richard, Laura, Esther en Bert. Jullie hebben mij opgenomen in de groep, ondanks dat ik nog nooit een complement-experimentje heb uitgevoerd. Jullie stonden altijd klaar om te helpen, of gewoon om te kletsen met een kop thee/koffie. Gerard, een extra bedankje aan jou. Op dag 1 ben ik met jouw hulp begonnen met 1 ELISA plaatje, al snel deed ik er 40+ op een dag, vaak met een extra helpende hand van jou. Jij stond altijd klaar, met zoveel kennis en ook vaak spannende theorieën en ideeën.

Marieke, je staat voor iedereen klaar op de afdeling. Bedankt dat ik daarvan onderdeel mocht zijn.

Fatima en Kaoutar, zonder jullie organisatorische talenten zou het allemaal wat lastiger zijn geweest.

Alle mede-PhDers van IP: Karin, Richard, Anna, Anna, Marlieke, Sanne, Anouk, Karin, Peter-Paul, Willem, Inge, Twan, Saskia, Niels, Lea, Laura, Jorn, Casper, Jana, Nieke, Nienke, Juulke, Yasmin, Tamara, Myrddin, Esther en Bert. Het is erg fijn om alle lief en leed te kunnen bespreken met mensen die precies hetzelfde doormaken. Dank voor de etentjes en borrels samen. Extra

bedankje aan Anna, voor het wegwijs maken in de wereld van grote cohorten en veel, heeeeeeeeeeeeeeeel veel, ELISAs.

De summerschool naar Sardinië was nooit zo leuk geweest zonder Laura, Twan, Max, Loreto, Jana, Ammarina en Casper. Het was een van de mooiste momenten en ik ben blij dat ik dat met jullie heb mogen delen.

Evelien, we zijn samen begonnen bij PERFORM, ondanks dat we op een andere afdeling werkten. Ik vond het erg gezellig dat we samen naar Athene, en Lyon konden gaan. Ik wens je heel veel succes met je nieuwe baan in Nijmegen.

Michael, wat ben ik ontzettend blij dat jij als expert hebt kunnen helpen met de statistische analyses. Met engelengeduld heb je mij meerdere keren door alle nieuwe cijfertjes heen gepraat. Dank hiervoor.

Machiel, bedankt voor de uitvoering van de Luminex. Door jou is er heel veel extra data in het boekje terecht gekomen.

Jolanda en Irma, bedankt dat ik de kans kreeg om te assisteren tijdens practica bij de bachelor cursus. Dit was voor mij het moment dat ik ben gaan nadenken of lesgeven iets voor mij zou zijn. En ik kan nu zeggen, ja is geweldig.

Mijn studenten Chaja, Julia, Bibian en Nadine. Het gaf mij veel voldoening om te zien hoe jullie steeds zelfstandiger werden door de tijd heen. Ik heb met veel plezier met jullie gewerkt. Dank voor jullie vertrouwen in mij.

Alle andere collega's van IP die ik nog niet genoemd heb. Zonder jullie zou mijn tijd bij IP vast niet zo leuk zijn geweest. Ik ben dankbaar voor alle lunches, etentjes, borrels, weekendjes weg en playbackshows die we samen hebben gehad.

Mijn liefste vriendinnen Lies, Marieke en Kim. Jullie zijn onmisbaar in mijn leven. Als ik drie paranimfen naast mij had mogen hebben, dan waren jullie het alle drie geweest. Wat moet ik zonder onze wekelijkse etentjes. Jullie onuitputtelijke geduld als ik weer moest klagen, maar natuurlijk ook het samen vieren van succes. En gelukkig was er ook vaak genoeg reden om dit te doen. Al 13 jaar onafscheidelijk en ik kan niet wachten om daar meer jaren van te maken.

Rob en Dominique, mijn schoonouders. Vanaf het eerste moment heb ik mij altijd thuis gevoeld bij jullie. Iedere keer word ik met open armen ontvangen en staan jullie klaar als ergens hulp bij

nodig is. Ik mag zelfs de zolder al een jaar mijn thuiswerkplek noemen, echt zo fijn. Vincent, je begroet mij zo vaak met 'hee zusje'. En zo voelt het ook voor mij, broer. Yuije, ik weet dat ik dit niet meer voor je in het Engels hoeft te schrijven. Samen met Vincent heb je helemaal je plek gevonden. De jonge maatjes zijn nu allemaal gepromoveerd, tijd om dit te vieren.

Papa en mama, er is niet vaak een week voorbij gegaan zonder dat een van jullie vroeg: hoe gaat het nu met je onderzoek? Ik wist dat ik jullie niet verveelde met mijn (soms uitgebreide) beschrijvingen van wat ik nou aan het doen was. Zelfs toen het op het einde wat langzamer ging, bleven jullie naar updates vragen. Door het benoemen wat allemaal al gelukt was, wist ik dat ik door moest gaan. Dorien en Heleen, mijn lieve zussen. Een vaste waarde in mijn leven. We hebben tijdens het studeren en daarna vaak onze zussendagjes samen gehad. Het is allemaal iets hectischer geworden, eerst met de fantastische aanvulling van Gijs en Vincent en nu Abel, Mees, Noor en Joppe erbij. Het is druk en chaotisch soms, maar ik weet dat we altijd op elkaar kunnen rekenen als het nodig is.

Steven, mijn liefste, mijn man. Jij had dit hele proces zelf al meegemaakt voordat ik eraan begon. Jij wist alle valkuilen, waarschuwde mij daar (soms) voor, liet mij mijn eigen fouten maken en stond er altijd om me weer op te vangen. Het is gelukt, het is klaar. Ik weet niet hoe ik dit zonder jou had kunnen doen. Jij voelt precies aan wanneer ik het nodig heb om even gepusht te worden maar je weet ook wanneer je mij juist mijn gang moeten laten gaan. Je trekt mij uit mijn comfortzone maar stimuleert mij op andere momenten om door te zetten waar ik mee bezig ben. Je bent op sommige punten mijn tegenpool, maar op andere vlakken lijken we veel op elkaar. Ik kan niet wachten om de volgende fase van ons leven te beginnen in dat ene huis waar we al bijna twee jaar voor aan het aftellen zijn. Niemand weet wat de toekomst brengt, maar ik weet dat jij naast mij staat. Altijd.

