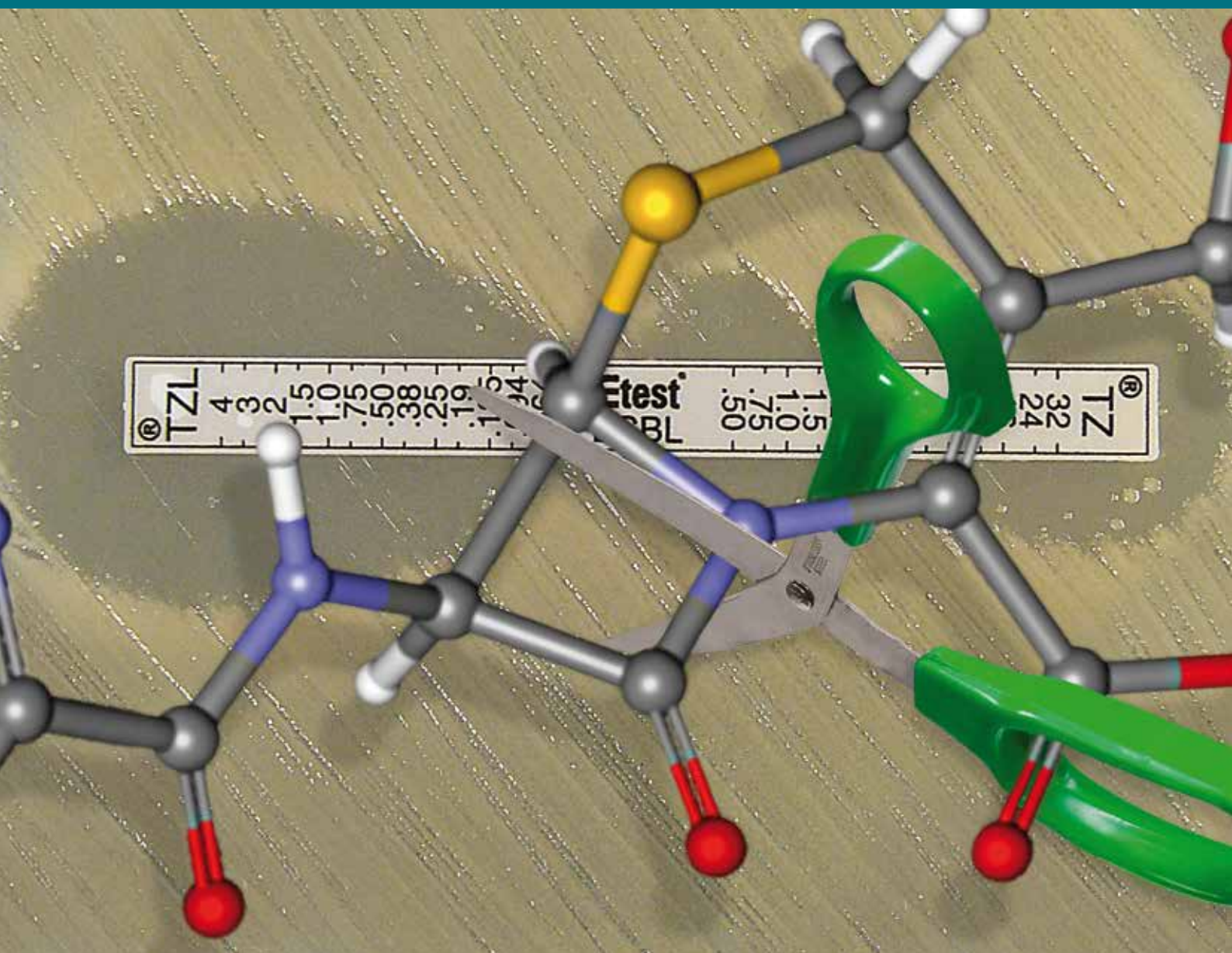


NEDERLANDS TIJDSCHRIFT VOOR MEDISCHE MICROBIOLOGIE



Multidisciplinaire richtlijn Soa voor de 2^e lijn

Brucella – een caseserie

Brachyspira species en humane intestinale
spirochetose - een review

Nederlands Tijdschrift voor Medische Microbiologie

Het Nederlands Tijdschrift voor Medische Microbiologie is het officiële orgaan van de Nederlandse Vereniging voor Medische Microbiologie (NVMM). Het doel van het tijdschrift is de lezers te informeren over ontwikkelingen betreffende het vakgebied. In het tijdschrift worden zowel fundamentele als klinische aspecten van de medische microbiologie belicht. Daarnaast biedt het plaats voor promoties e.d., nieuws over evenementen en mededelingen uit de (werkgroepen van de) vereniging.

NVMM-secretariaat

Postbus 21020, 8900 JA Leeuwarden
Tel. (058) 293 94 95
Fax (058) 293 92 00
E-mail: nvmm@knmg.nl
Internet: www.nvmm.nl

Hoofdredactie

Dr. G.I. Andriess, mw. dr. E. Heikens

Redactie

Mw. dr. I.A.J.M. Bakker-Woudenberg,
mw. drs. M. Jager, dr. J.A. Kaan,
dr. J.S. Kalpoe, B. Meek, dr. M. Van Rijn,
dr. H.F.L. Wertheim, R. te Witt

Redactiesecretariaat

Van Zuiden Communications B.V.
Mw. M.S. Kapteyn-Brus
Tel. (0172) 476191, e-mail:
kapteyn@vanzuidencommunications.nl

Advertentie-exploitatie

Van Zuiden Communications B.V.
Dhr. D. Mackay
Tel. (0172) 47 61 91

Oplage en frequentie

900 exemplaren, 4 x per jaar

Abonnementen

Gratis voor leden van de NVMM en leden van de VIZ.
Niet-leden NVMM of VIZ in Nederland:
€ 61,- per jaar
Buiten Nederland, in Europa: 85,- per jaar
Losse nummers: 12,50
Opgave abonnementen:
Tel. (0172) 47 61 91



© 2013, Van Zuiden Communications B.V.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden vervoerd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen, of enige andere manier, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de uitgever. Uitgever en redactie verklaren dat deze uitgave op zorgvuldige wijze en naar beste weten is samengesteld; evenwel kunnen uitgever en redactie op geen enkele wijze instaan voor de juistheid of volledigheid van de informatie. Uitgever en redactie aanvaarden dan ook geen enkele aansprakelijkheid voor schade, van welke aard ook, die het gevolg is van bedoelde informatie. Gebruikers van deze uitgave wordt met nadruk aangeraden deze informatie niet geïsoleerd te gebruiken, maar af te gaan op hun professionele kennis en ervaring en de te gebruiken informatie te controleren.

Algemene voorwaarden

Op alle aanbiedingen, offertes en overeenkomsten van Van Zuiden Communications B.V. zijn van toepassing de voorwaarden die zijn gedeponeerd bij de Kamer van Koophandel te Leiden.

ISSN 0929-0176



Inhoud

Van de redactie	2
Transmissieroute	
Een leven vol poëzie	3
<i>B. Mulder</i>	
Ingezonden	
The making of.....	4
<i>H. den Boer, L.H. van Damme</i>	
Artikelen	
Herziening Multidisciplinaire richtlijn: Diagnostiek en behandeling van seksueel overdraagbare aandoeningen	7
<i>H.J.C. de Vries, G.J.J. van Doornum, namens de werkgroep Multidisciplinaire richtlijn SOA voor de 2^e lijn</i>	
Brachyspira species en humane intestinale spirochetose – een review	13
<i>L.J. Westerman, M. Severs, M.E.I. Schipper, J.A. Wagenaar, J.G. Kusters</i>	
Brucella – een vaak onverwachte verwekker van persisterende koorts	21
<i>K. van Dijk, M. McCall</i>	
CBG	
Regulatoire aspecten bij de ontwikkeling van antibiotica voor multiresistente bacteriën (3)	27
<i>A. Vollaard, B. Voordouw</i>	
Samenvattingen proefschriften	
Lichtgevend antibioticum voor het opsporen van infecties in patiënten	29
<i>M. van Oosten, G.M. van Dam, J.M. van Dijk</i>	
Het microbiologisch spectrum van invasieve bacteriële infecties bij volwassenen in Cambodja, en de implicaties voor behandelingsrichtlijnen	34
<i>E. Vlieghe</i>	
Broad-spectrum β -lactamases in Enterobacteriaceae – detection, prevalence, and source tracking	36
<i>G. Voets</i>	
Boekrecensie	
Basisprincipes van de PCR, onder redactie van dr. C.C. Orelio en dr. M.J. van Plug	38
<i>R. te Witt</i>	
Cursusaankondiging NSPOH	39
Promoties en oraties	39
Agenda	41

Toelichting bij coverbeeld: ESBL met het aangrijpingspunt waar een ESBL de beta-lactamring “doorknipt”.

Omslag: Loes van Damme (l.h.vandamme@erasmusmc.nl) en

Hans den Boer (j.denboer@erasmusmc.nl)

Erasmus MC, Afdeling Medische Microbiologie & Infectieziekten,
Postbus 2040, 3000 CA, Rotterdam.

Graag meer PUSH!

Beste lezer,

Deze uitgave van het *NTMM* bevat bijdragen uit verschillende richtingen: SOA-richtlijn, *Brachyspira*, *Brucella*, proefschriften, het CBG. Het *NTMM* lijkt daarmee stevig verankerd in de microbiologische/infectiologische maatschappij. Lijkt? Inderdaad, ik vraag me af of het *NTMM* wel zo goed verankerd is. Het valt op dat de redactie minder vaak spontaan artikelen krijgt ingestuurd. Sinds twee jaar is de redactie daarom gaan werken met themanummers. De redactie stelt een thema vast en nodigt auteurs uit om artikelen in te sturen. In plaats van 'push' is het 'pull'. De 'pull' is echter geen makkelijke klus: steeds vaker krijgen we te horen dat 'men het te druk heeft'; dit geldt zowel voor potentiële auteurs als voor reviewers. Toch blijft de spontaan ingestuurde kopij van harte welkom. Het *NTMM* is een tijdschrift van en voor de leden van de NVMM: bij dezen daag ik u allen uit een bijdrage te leveren!

In dit nummer kunt u lezen over het werk van twee recent gepromoveerde collega's; beiden hebben een originele bijdrage geleverd aan de microbiologie. Laurens Westerman beschrijft de rol van *Brachyspira* in de tractus digestivus. U weet wel, *Brachyspira*. Sinds de introductie van de MALDI-TOF maak je regelmatig kennis met 'nieuwe' micro-organismen, maar de *Brachyspira* was al langer bekend. De bijdrage van Marleen van Oosten komt weer uit een geheel andere hoek: gelabelde vancomycine als 'tracer' in beeldvormende technieken van bacteriële infecties in het menselijk lichaam. Een goed alternatief voor de vage leukocytenscan? Ook *Nature* wist haar bijdrage te waarderen evenals de promotiecommissie (zij promoveerde cum laude).

Let ook even op de Transmissieroute door Bert Mulder!

Veel lees plezier,
Gunnar Andriess

Een leven vol poëzie

B. Mulder

De Transmissieroute kwam langs in de week van de poëzie. Mijn zachtaardige vader was boer en leerde mij als kleuter mijn eerste gedicht: *Het is een feit dat de koe meer schijt dan de geit*, zei hij altijd en ik voelde dat het iets bijzonders was tussen hem en mij en niet bedoeld was om zondags met de visite te delen. “Laat je nooit in je laars piesen” was zijn andere levenswijsheid. De fascinatie voor poep en pies in de microbiologie en zeker de parasitologie is altijd gebleven.

Tijdens mijn middelbare schooltijd verscheurde mijn lieve maar strenge moeder mijn eerste vertaalde gedicht van John Lennon. *Imagine there's no heaven, it's easy if you try* was niet het doel van haar katholieke opvoeding geweest. Tijdens de les Nederlands maakte ik kennis met de wonderlijke humor van Piet Paaltjes en Daan Zonderland: *Geachte heer, Ik moet u danken voor het postpakket dat ik ontving maar U vergeeft mij ongetwijfeld een zekere teleurstelling. Toen ik de hand vroeg van uw dochter, die ik hartstochtelijk bemint, deed ik zulks niet in letterlijke doch overdrachtelijke zin.*

In mijn studententijd ontdekte ik dat elpees van Leonard Cohen: *If you want a lover I'll do anything you ask me to and if you want another kind of love I wear a mask for you. (...) If you want a boxer I'll step into the ring for you and if you want a doctor I'll examine every inch of you* voor een romantische sfeer zorgden. Dat leidde tot de ontmoeting met mijn vrouw die destijds prachtige oorbellen droeg. 25 jaar na dato en nog steeds gelukkig getrouwd kan ik wel onthullen dat het gedicht *Was ik maar je oorbel bengelend aan je oor, of desnoods het voorspel dan speelde ik je voor niet door mijzelf maar door Freek de Jonge* was geschreven. Freek bewonderde ik om *Alles is gedaan, niets helpt: doe niets. Overal is narigheid, nergens is vrede: wees nergens.* We verhuisden naar de plek waar Willem Wilmink nog gewoon rondliep. *Het is het eindpunt van de trein, bijna geen mens hoeft er te zijn, bijna geen hond rijdt zover mee: Enschede.* Zijn grappige gedichten voorlezen verlichtte de pijn bij de hersenschudding van mijn dochter in het ziekenhuis *Een oertijdman kwam uit zijn hol en trapte in een grote drol van mammoetpoep hij klaagde in de oertijdspraak dat schijt verdorie allemaal op mijn stoep* en hij beschreef ook serieus hoe de kerk omging met ongedoopte kindjes: *Vader begraaft het kereltje in ongewijde grond Daarboven lopen Onze Heer de tranen langs de mond.* Mijn ouders zijn overleden maar de zintuiglijke pijn werd verzacht in het gedicht dat mijn jongste zus schreef en mijn broer voorlas: *Je ziet het als je binnenkomt meteen al bij*

de deur, je ruikt het aan de bloemen ze geven echt veel minder geur, je proeft het aan de tranen die er toch ineens weer zijn, je hoort het aan wind die meehuilt met je pijn, ik voel het in mijn hart, veel verdrietiger bij het slaan, want ma is veel te vroeg bij ons weggegaan.

Toen ik onlangs kanker kreeg, gaf de poëzie veel steun tijdens de chemo's en bestralingen: De Stones: *Daddy, you're a fool to cry.* Bob Dylan *Mamma take this pain from me, I can't take it anymore, it's getting dark, too dark to see. I feel like knocking on heaven's door...* Merkwaardig dat hij aan Billy the Kid dacht terwijl het me raakt alsof het voor mij was.

De lol van het vertalen van poëzie is gebleven en overgeërfd aan mijn zoon. Vanuit Parijs stuurde hij: *Peut-être qu'il a montré les plus beaux de ses tours Au camp de concentration, pendant ses derniers jours, avec un sourire, un geste de la main Ben Ali Libi, magicien van Wilmink.* Samen draaien we onze hand niet om voor vertalingen van Cohen of Dylan. Bovenstaande regels van Cohen werden *Wil je graag een minnaar Ik doe alles wat jij maar van me vraagt Ik ben een echte winnaar Die als het moet voor jou een masker draagt (...) Als een bange bokser in de ring als ik voor je sta, als je eigen dokter kijk ik elke centimeter van je na.* En zijn *Dance me to the end of love* over de Holocaust: *Dans me naar je schoonheid met een brandende gitaar Loods me langs mijn doodsangst tot ik veilig binnenwaar Breng me een olijftak als duif op het vredesuur Dans me naar het liefdesvuur.*

Maar het mooist was de genezing van de kanker en de slapeloosheid door de xerostomie na de bestraling leidde tot een variant op *Insomnia*:

*Denkend aan de dood kan ik niet slapen
Als ik niet kan slapen denk ik aan de dood
Zoals een zwangere in barensnood
moet baren van het leven in haar schoot
is in wezen elk wezen zwanger van de dood*

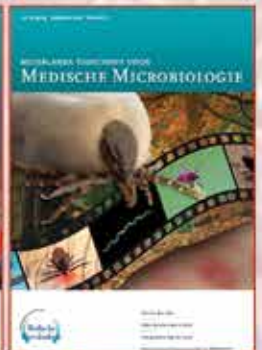
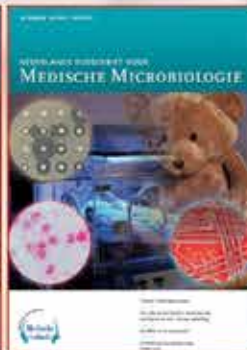
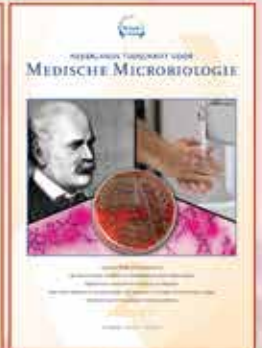
Mijn oproep na deze Transmissieroute luidt dan ook: *Lees meer poëzie!*

De Transmissieroute zal worden voortgezet door mw. B. van Hees, arts-microbioloog in Gelre ziekenhuizen te Apeldoorn.

B. Mulder, arts-microbioloog, Laboratorium voor Microbiologie
Twente en Achterhoek, e-mail: bmulder@labmicta.nl.

Covers NTMM

2006 - 2013



The making of

H. den Boer, L.H. van Damme

Misschien vraagt u zich af waar al die covers van het *NTMM* vandaan komen. Welnu, om eerlijk te zijn vragen ook wij ons iedere keer weer af hoe we het voor elkaar krijgen om deze te produceren.

Loes van Damme is al jaren de spil achter de ideeën voor de covers (zie de afbeelding op de pagina hiernaast). Sinds eind 2011 werkt ondergetekende mee om het geheel vorm te geven. Voordeel daarbij is dat ik niet alleen microbiologisch analist ben, maar ook freelance-fotograaf en als zodanig redelijk met Photoshop overweg kan.

Iedere nieuwe cover van het *NTMM* begint met een soort vaste volgorde. Als eerste komt de opmerking: “we moeten weer een nieuwe cover maken”! Vervolgens komen stevast de vragen: “waar gaat het deze keer over”, “welk onderwerp kiezen we uit” en – niet geheel onbelangrijk – “wanneer moet ‘ie af zijn”?

Een terugkerend probleem is niet alleen ‘verzinnen’ van een onderwerp en het zoeken dan wel maken van beeldmateriaal, maar ook de daarvoor beschikbare tijd. Welnu, het laatste is gelukkig erg simpel. Tijd is er meestal niet, dus beeldmateriaal zoeken en vormgeving gebeurt voornamelijk in eigen tijd (lees: vrije dag of avonduren). Een tweede probleem is dat een cover min of meer voor zichzelf moet spreken en aan een artikel gelinkt moet zijn, ook als je met het onderwerp niet zo goed bekend bent. Daarnaast moeten wij iets met het onderwerp hebben, anders hoeven we er niet eens aan te beginnen, én het moet natuurlijk een “mooi” plaatje worden.

Het is van zowel onze kant als de kant van de redactie even ‘aftasten’ geweest. De eerste cover – over aids – zal misschien gemengde reacties hebben opgeroepen. Het ontwerp was duidelijk verschillend van voorgaande covers. Enerzijds was het beeld confronterend, iets wat nog versterkt werd door het contrasterende kleurgebruik. Anderzijds hebben we het wel over een onderwerp dat jaarlijks nog steeds heel veel slachtoffers eist.

Soms haalt een cover het niet. Zo hebben we ervoor mij nog steeds één van de mooiste montages – een cover gemaakt over de ‘zwarte dood’. Helaas werd de pest slechts – bijna zijdelings – in een klein artikel aangestipt waardoor terecht voor een andere cover is gekozen.

Misschien vraagt u zich af waar wij al het beeldmateriaal vandaan halen. Ach, ook dát vragen wij ons iedere keer weer af. Het is vooral zoeken naar vrij te gebruiken foto’s – al dan niet op het internet – en dan liefst in een beetje behoorlijke resolutie. Soms zijn we genoodzaakt om zelf foto’s te maken omdat ze niet of nauwelijks zijn te vinden. Een duidelijk voorbeeld hiervan vindt u ook op de cover van deze *NTMM*. Eerst dachten we aan een cover die naar brucellose, ook wel de maltakoorts genoemd, zou verwijzen. Alleen vonden we het erg lastig om aan beeldmateriaal te komen. Qua bacterievorm is de *Brucella abortus* niet echt opvallend. Het idee om een landkaart van Malta als achtergrond te gebruiken hadden we al eens toegepast. Ten slotte zou een foto van een geit nog kunnen, maar dan moet je er zo ongeveer “made in Malta” op zetten om de samenhang met brucellose duidelijk te maken.

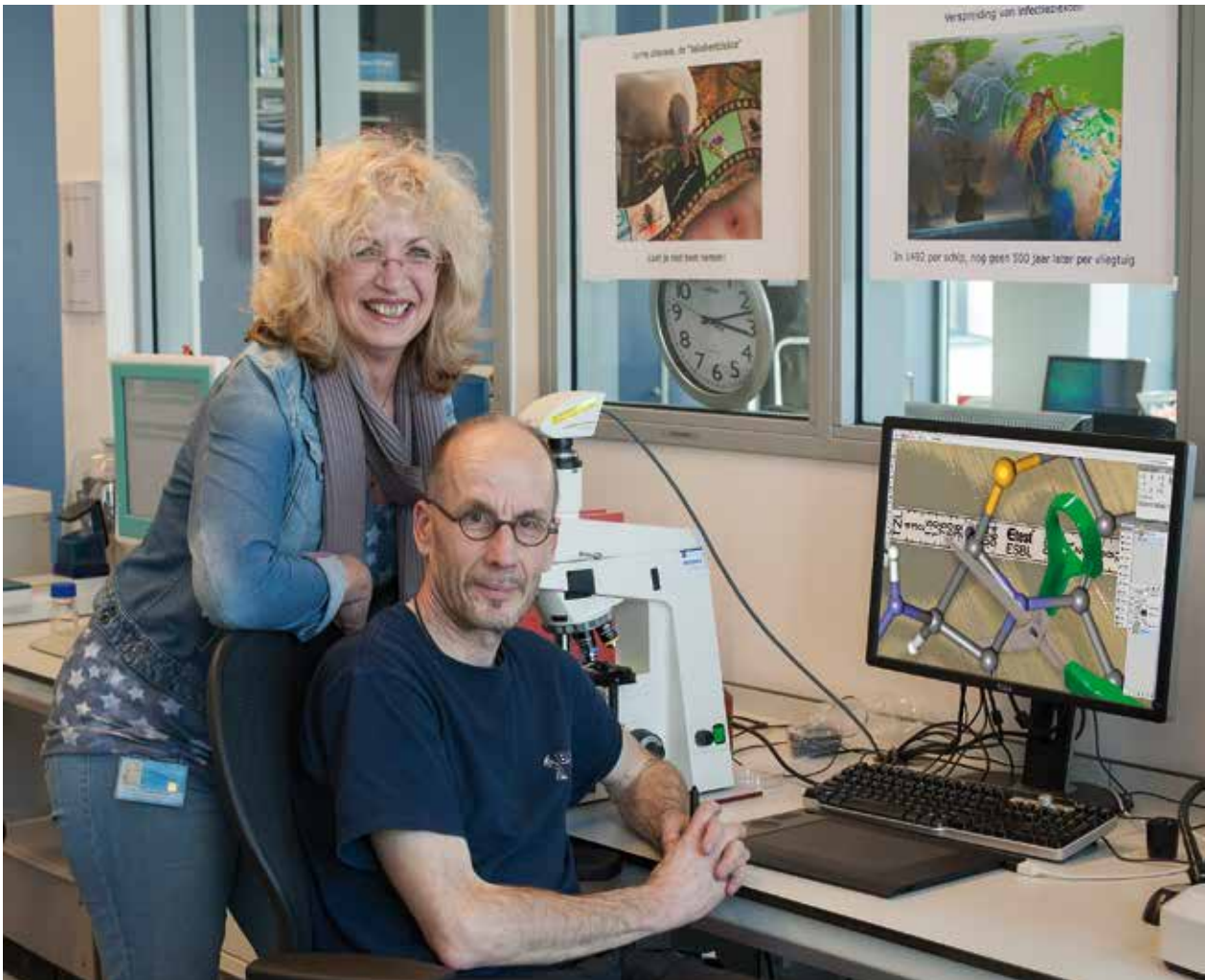
Uiteindelijk kies je dan voor een cover die naar ESBL (‘extended spectre bètalactamase’) verwijst. Een voedingsbodem met een ESBL is niet zo lastig te vinden, die komen we dagelijks in de routine tegen. Een afbeelding van een derdegeneratie-cefalosporine vormt ook niet zo’n probleem. Maar we vonden ‘m nog niet sprekend genoeg. We wilden het aangrijppingspunt van een ESBL benadrukken. Maar hoe? Een pijl is duidelijk, maar een beetje voor de hand liggend. Een kettingzaag leek ons het meest apart, maar dat paste toch niet in het beeld. Ten slotte hebben we voor een schaar gekozen. Al met al was er nogal wat tijd in gaan zitten en kwam de deadline steeds dichterbij. Dus denk je lui te zijn door ‘even’ een afbeelding van een schaar bij een beeldbank te kopen, per slot van rekening gaat dat om een relatief klein bedrag. Je gaat op internet naar een bekend stockbureau en tikt het trefwoord ‘pair of scissors’ in. Met ruim 22.000 opties moet je er toch zo eentje uit kunnen vissen? Nou, vergeet het maar. Wat betreft de licht- en schaduwval valt er nog wel wat te photoshopen, maar de

L.H. van Damme, H. den Boer, afdeling Medische Microbiologie en Infectieziekten, Erasmus MC, Rotterdam, e-mail: l.h.vandamme@erasmusmc.nl

hoek waaronder de foto is opgenomen moet wel kloppen. Per slot van rekening wil je het beeld van de schaar zo monteren dat de bèta-lactamring wordt 'doorgeknipt' op het aangrijpingspunt van het extended-bètalactamase-antibioticum. Na meer dan 2.000 bestanden doorgewor- steld te hebben maak je hem ten slotte zelf maar. Daarna moet je nog even de schaar in Photoshop vrijstaand maken, het blauwe handvat veranderen in groen omdat dit sterker

overkomt, en dit beeld vervolgens in de foto monteren. Als laatste een subtiele schaduw toevoegen om iets meer diepte te creëren en klaar ben je. Uiteindelijk is bedenken van en het zoeken naar geschikt materiaal veel tijdrovender dan het maken van de fotomontage zelf.

Het Nespresso-apparaat naast m'n computer draait overuren....



L.H. (Loes) van Damme en J. (Hans) den Boer, Erasmus MC.

Herziening Multidisciplinaire richtlijn Diagnostiek en behandeling van seksueel overdraagbare aandoeningen

H.J.C. de Vries, G.J.J. van Doornum

Samenvatting

In dit artikel wordt een kort overzicht gegeven van de *Multidisciplinaire richtlijn SOA voor de 2^e lijn*, die op initiatief van de NVDV en NVMM in 2012 tot stand is gekomen. De richtlijn begint met een deel over de soagerelateerde syndromen. Het deel 'Speciële verwekkers en aandoeningen' volgt de indeling van de LCI-richtlijnen. Het laatste deel behandelt de procedures voor partnerwaarschuwing en soascreening bij seksueel misbruik van kinderen en minderjarige jongeren.

De nadruk is in dit overzicht gelegd op de laboratoriumdiagnostiek en de behandeling van soa's.

Trefwoorden

Soa, Multidisciplinaire richtlijn voor de 2^e lijn

Inleiding

In 2013 heeft een herziening van de *Multidisciplinaire richtlijn Seksueel Overdraagbare Aandoeningen voor de 2^e lijn* zijn beslag gekregen. De laatste multidisciplinaire richtlijn betreffende seksueel overdraagbare aandoeningen (soa's) en herpes neonatorum dateert uit 2002 en was dringend aan herziening toe. De richtlijn is bedoeld voor klinisch werkende medisch specialisten die in het bijzonder te maken hebben met de complicaties van deze infecties. De primaire diagnostiek en behandeling wordt veelal verricht door huisartsen en in de publieke gezondheidszorg op de GGD-SOA-poliklinieken. De richtlijn is tegelijkertijd afgestemd op de LCI-richtlijnen voor de dagelijkse praktijk van GGD-artsen en de NHG-richtlijn voor huisartsen. Om dit te bereiken is uitgegaan van de opbouw van de LCI-richtlijnen waarin speciële verwekkers en de daarbij horende ziektebeelden worden behandeld.

De richtlijn valt uiteen in drie delen: deel A 'Soagerelateerde syndromen', deel B 'Speciële verwekkers en aandoeningen' en deel C 'Procedures'. In deel A komen de klachten aan de orde die passen bij urethritis, fluor en vaginitis, epididymitis, pelvic inflammatory disease, balanopostitis, proctitis, genitale ulcera en inguinale lymfadenitis. Onder het thema 'genitale ulcera' zijn in

deel A ook de in Nederland weinig voorkomende infecties zoals chancroïd en granuloma inguinale opgenomen. In deel B worden de specifieke verwekkers van soa's behandeld: *Chlamydia trachomatis* (Ct) verdeeld over de non-LGV en de serotypen die lymphogranuloma venereum (LGV) veroorzaken, *Neisseria gonorrhoeae* (Ng, gonorrhoe), *Treponema pallidum* (Tp, syfilis), herpes simplexvirus (HSV, herpes genitalis) en humaanpapillomavirussen (HPV, anogenitale wratten). Hepatitis B- en hiv-infecties zijn buiten beschouwing gelaten omdat hiervoor al uitgebreide richtlijnen voor de tweede lijn zijn beschreven door de desbetreffende wetenschappelijke verenigingen, respectievelijk de Nederlandse Vereniging van HIV Behandelaren (NVHB) en de Nederlandse Vereniging van Maag-Darm-Leverartsen (NVMDL). Ten slotte zijn twee procedurele hoofdstukken omtrent partnerwaarschuwing, seksueel misbruik en soa's bij kinderen opgenomen vanwege het belang dat ook in de tweede lijn aan deze onderwerpen wordt toegekend.

Soagerelateerde syndromen

In deel A zijn voor de arts-microbioloog en medisch-moleculair bioloog de rubrieken Oorzaak, Aanvullend Onderzoek en Behandeling van belang. Voor de in de differentiaaldiagnose opgenomen infecties, die overigens geen soa hoeven te zijn, zijn ook therapieadviezen opgenomen. Hieronder volgt een beknopte samenvatting van de laboratoriumdiagnostiek en behandeladviezen bij de beschreven syndromen.

Prof. dr. H.J.C. de Vries, dermatoloog, afdeling Dermatologie, Academisch Medisch Centrum, Amsterdam, tevens SOA-polikliniek, cluster Infectieziekten, GGD Amsterdam, Amsterdam.

Correspondentieadres: prof. dr. G.J.J. van Doornum, arts-microbioloog, voorheen afdeling Virologie, Erasmus Medisch Centrum, Rotterdam, namens de werkgroep Multidisciplinaire richtlijn SOA voor de 2^e lijn, e-mail: g.vandoornum@erasmusmc.nl.

Urethritisklachten bij de man

Voor een urethritis wordt geadviseerd een behandeling te starten met azitromycine die is gericht op *C. trachomatis*, pas nadat materiaal voor microbiologisch onderzoek is afgenomen. Indien verdenking op of bewijs voor gonorrhoe aanwezig is, wordt geadviseerd dit te behandelen met ceftriaxon 500 mg i.m. eenmalig.

Fluor vaginalis en vaginitisklachten

Bij verdenking op een chlamydia-infectie, gonorrhoe of trichomonasinfectie wordt geadviseerd laboratoriumonderzoek te verrichten met behulp van nucleïnezuuramplificatietechnieken (bijvoorbeeld PCR) of kweekafhankelijk van wat het laboratorium aan diagnostiek te bieden heeft. Voor de laboratoriumdiagnose van bacteriële vaginose is tot nu toe geen algemeen erkende standaard voorhanden, behalve de door Amsel geformuleerde klinische criteria en de beoordeling van grampreparaten volgens Nugent. In de richtlijn wordt niet ingegaan op de vraag welke combinatie van gerichte kweken of welk moleculair-microbiologisch onderzoek de voorkeur heeft.

Epididymitis

Bij verdenking op een infectieuze oorzaak van epididymitis wordt in navolging van de NVU-richtlijn als laboratoriumonderzoek geadviseerd een urinekweek af te nemen inclusief een grampreparaat en onderzoek te doen naar Ct en Ng.

Bij de aanbevolen behandeling van epididymitisklachten wordt onderscheid gemaakt tussen die bij mannen jonger dan 35 jaar en bij mannen met verhoogd risico op soa (heteroseksuele mannen met wisselende contacten en MSM) enerzijds, en de behandeling bij mannen van 35 jaar en ouder. De onderbouwing voor dit onderscheid is niet overtuigend. Het is in ieder geval raadzaam altijd de risicofactoren voor een soa na te vragen.

Bij verdenking op een soa (Ct en/of Ng) wordt een empirische behandeling aanbevolen in afwachting van onderzoeksresultaten. Ofschoon azitromycine in deel B als eerstekeusmiddel voor de behandeling van een chlamydia-infectie wordt gezien, zijn er weinig tot geen referenties te vinden waarin de resultaten van een behandeling van een epididymitis met azitromycine worden beschreven. Daarom is in deze richtlijn het advies omtrent de empirische therapie uit de urologierichtlijn voorlopig gehandhaafd. Voor de behandeling van een acute epididymitis bij mannen jonger dan 35 jaar of bij mannen met een verhoogd risico op een soa wordt behandeling met doxycycline plus ceftriaxon geadviseerd; bij mannen van 35 jaar of ouder of met een urologische voorgeschiedenis wordt levofloxacin of ofloxacin geadviseerd.

Pelvic Inflammatory Disease (PID)

In ongeveer 60% van de gevallen wordt PID veroorzaakt door seksueel overdraagbare micro-organismen (Ct, Ng,

T. vaginalis). In de overige gevallen is sprake van een infectie met endogene facultatief-pathogene bacteriën zoals anaeroben (*Bacteroides*-species en peptostreptokokken), maar ook aeroben (*Escherichia coli*, *G. vaginalis*, *Haemophilus influenzae*, streptokokken) en mycoplasma. Naarmate de verschijnselen van een PID ernstiger zijn en de duur ervan langer, is het risico op complicaties, zoals infertiliteit, extra-uteriene graviditeit, tubo-ovarieel abces, pelveoperitonitis en perihepatitis groter. Het afnemen van materiaal (cervixuitstrijk of buikvocht) voor diagnostiek op Ct, Ng en *T. vaginalis* (nucleïnezuurtechnieken, NAAT) wordt aanbevolen en bij een bewezen soa wordt het aanbieden van hiv-test, HBV- en syfilisserologie geadviseerd.

Vanwege de kans op complicaties is het wenselijk bij verdenking op PID direct een antibiotische behandeling in te stellen, nog voordat de uitslag van het microbiologisch onderzoek bekend is. De behandeling moet in ieder geval gericht zijn tegen Ct, Ng en anaerobe bacteriën. Bij de overwegingen voor de behandeling van PID is in deze richtlijn meer gewicht gegeven aan de resistentie-ontwikkelingen van de *Neisseria gonorrhoeae* en het onmiddellijk behandelen van een mogelijke gonokokkeninfectie dan in de *Richtlijn Pelvic inflammatory disease en het tubo-ovarieel abces (2012)* van de Nederlandse Vereniging voor Obstetrie en Gynaecologie (NVOG). In de voorliggende richtlijn wordt voor de poliklinische behandeling van PID aanbevolen orale behandeling met ofloxacin en metronidazol plus ceftriaxon i.m. Indien gonorrhoe is uitgesloten, kan worden volstaan met ofloxacin en metronidazol. Het verschil tussen een klinische behandeling en poliklinische behandeling van PID is dan alleen gelegen in het intraveneus toedienen van de eerder oraal en intramusculair toegediende therapie met ofloxacin, metronidazol en ceftriaxon.

Aanbevelingen worden gegeven voor behandeling bij overgevoeligheid, zwangerschap/lactatie en alternatieve behandelingen bij allergie voor de eerstekeusmiddelen.

Indien geen ofloxacin i.v. beschikbaar is, kan levofloxacin 500 mg tweemaal daags i.v. worden toegediend. Aangezien oraal ofloxacin even werkzaam is als intraveneus toegediend ofloxacin, heeft orale toediening van ofloxacin de voorkeur, mede vanuit kostenoverwegingen.

Acute balanitis

Acute balanitis kent vele oorzaken en in veel gevallen is sprake van een combinatie van factoren. Groep A- en B-streptokokken behoren tot de meest voorkomende verwekkers. Andere oorzaken zijn *Candida albicans*, andere *Candida*-species en diverse anaerobe bacteriën zoals *Gardnerella vaginalis* en *Bacteroides melaninogenicus* en niet-venerische spirocheten. Verder kunnen de micro-organismen die seksueel overdraagbaar zijn, acute balanitis veroorzaken. Dat zijn vooral *Trichomonas vaginalis*,

Chlamydia trachomatis, *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum* en herpes simplexvirus type 1 en 2.

Chronische balanitis kent vele oorzaken die meestal niet infectieus zijn met als uitzondering candida-infecties, die vaker voorkomen bij mannen met diabetes mellitus of mannen die een verstoorde weerstand hebben.

De laboratoriumdiagnostiek kan stapsgewijs zijn gericht op detectie van bovengenoemde micro-organismen en de aanbevolen therapie is afhankelijk van de geïsoleerde micro-organismen.

Proctitis

Van de seksueel overdraagbare verwekkers van proctitis zijn Ng, Ct (inclusief LGV), *T. pallidum* en HSV de meest voorkomende.

Het stellen van de diagnose LGV gebeurt in de regel in twee stappen. Eerst wordt het monster getest op de species Ct. Bij een positief resultaat wordt vervolgens diagnostiek naar LGV verricht met behulp van LGV-specifieke NAAT. Als er geen LGV-specifieke NAAT voorhanden is, kan met behulp van Ct-specifieke serologie de diagnose LGV waarschijnlijker worden gemaakt. Het is ook mogelijk een LGV-waarschijnlijkheidsdiagnose te stellen op basis van het klinische beeld (ernstige proctitis, ulcera en/of bubo's).

Aanbevolen behandeling bij klachten van proctitis

Bij symptomen van proctitis en geen aanwijzingen voor gonorrhoe kan worden gestart met een behandeling met doxycycline 100 mg p.o., tweemaal daags gedurende zeven dagen of azitromycine 1000 mg p.o., eenmalig. Bij gonorrhoe wordt aanbevolen ceftriaxon 500 mg i.m. eenmalig plus voor een tegelijkertijd voorkomende Ct-infectie doxycycline 100 mg p.o., tweemaal daags gedurende zeven dagen (of als tweede keuze azitromycine 1000 mg eenmalig).

Bij verdenking op een LGV-proctitis wordt doxycycline 100 mg p.o. geadviseerd, tweemaal daags gedurende 21 dagen of erytromycine 500 mg p.o., viermaal daags gedurende 21 dagen. Bij een negatieve uitslag van LGV-genotypering en/of lage anti-Ct IgA-titer kan worden volstaan met doxycycline 100 mg p.o., tweemaal daags gedurende zeven dagen.

Ongeveer 13 procent van de anorectale Ct-infecties bij MSM wordt veroorzaakt door een LGV-type (RIVM, 2013).

Genitale ulcera

Voor de diagnostiek van genitale ulcera is het advies meerdere diagnoses op basis van de prevalentie in de geografische regio waar de aandoening is opgelopen te overwegen.

In de Nederlandse situatie worden syfilis en herpes genitalis relevant geacht voor elke presentatie van een genitaal ulcus. Indien de patiënt echter seksueel contact buiten Europa heeft gehad, zijn ook de overige soa's (chancroïd, granuloma inguinale) mogelijke diagnoses.

Er zijn NAAT's ontwikkeld voor een aantal infectieuze verwekkers die genitale ulcera kunnen veroorzaken, zoals herpes simplexvirus-1 en -2, *T. pallidum*, *H. ducreyi* en Ct-genovar LGV. Een NAAT kan voor elke agens apart worden uitgevoerd. Bij elk genitaal ulcus dient syfilis te worden uitgesloten, mede met behulp van serologische diagnostiek. Indien de eerste serologische bepaling negatief is, dient de test na 3, 6 en 12 weken te worden herhaald, gerekend vanaf het moment van ontstaan van het ulcus, vanwege een mogelijke late seroconversie. Elk genitaal ulcus met de verdenking op een soa rechtvaardigt het uitvoeren een hiv-test.

Speciële verwekkers en aandoeningen

In deel B zijn voor de arts-microbiologen en medisch-moleculair biologen de rubrieken Ziekte, waarin verwekker en pathogenese worden behandeld, Diagnostiek, Behandeling en Preventie van belang.

Chlamydia trachomatis non-LGV

Microbiologische diagnostiek bij Ct-infecties

De meest gangbare diagnostische testen zijn nucleïnezuurtechnieken (NAAT). Deze testen kunnen worden gebruikt op urine en bij cervix- en vagina-uitstrijkjes. Dit heeft als voordeel dat diagnostiek ook kan worden verricht op zelf afgenomen eerstegraadsurine (mannen) en diepvaginaal uitstrijkjes (vrouwen).

Indien er anamnestic (op basis van seksuele technieken of op basis van klachtenpresentatie) een risico is voor een Ct-infectie elders (rectum, conjunctiva, orofarynx), moet ook van deze locatie een uitstrijkje worden gemaakt.

Indien nacontrole is gewenst, is dit binnen vier weken niet zinvol omdat NAAT's in deze periode positieve uitslagen kunnen geven ten gevolge het nog aanwezige niet-infectieuze genetisch materiaal.

Bij verdenking op Ct-conjunctivitis kan een ooguitstrijkje worden verricht.

Uitvoerig is gediscussieerd over de diagnostiek van Ct-infectie bij pasgeborenen en kinderen; voor deze diagnostiek wordt verwezen naar de richtlijn zelf.

Serologische diagnostiek kan behulpzaam zijn bij de diagnostiek van invasief verloopende, ernstige Ct-infecties zoals bij LGV, maar ook bij PID is meestal wel sprake van hoge antistofproductie. Op dit moment is er nog geen plaats in de diagnostiek voor point of care-Ct-sneltesten wegens de teleurstellend lage sensitiviteit tussen de 12-27%.

De aanbevolen behandeling van cervicale en/of urethrale Ct-infecties bestaat uit azitromycine 1000 mg p.o. eenmalig of doxycycline 100 mg p.o., tweemaal daags gedurende zeven dagen. Een overzicht van de tweedekesbehandelingen wordt gegeven. Bij gebruik van tweede-

keuspreparaten is een 'test of cure' om therapiefalen uit te sluiten geïndiceerd.

Voor de behandeling van rectale Ct-infecties wordt aanbevolen doxycycline 100 mg p.o., tweemaal daags gedurende zeven dagen, wat bij bewezen LGV-infecties kan worden gecontinueerd tot een totale duur van drie weken.

Lymphogranuloma venereum

De uitbraak van anorectale lymphogranuloma venereum (LGV) onder MSM sinds 2004 duurt voort en er is nu sprake van endemische aanwezigheid van LGV in Nederland. Zie verder deel A over de genitale ulcera en proctitis.

Gonorroe

Nucleïnezuuramplificatietest van de eerste straal urine is de eerste keus om urogenitale gonorroe bij de man aan te tonen of uit te sluiten. Als alternatief kan worden gekozen voor NAAT van een urethra-uitstrijk. De tweede keus is een kweek van de urethra. Bij de vrouw is het eerste keus laboratoriumonderzoek en NAAT van ofwel door de onderzoeker afgenomen materiaal van de cervix plus de urethra (swab door onderzoeker), ofwel van door de vrouw zelf diepvaginaal afgenomen materiaal (zelfswab). Bij zwangere vrouwen met verdenking op gonorroe en bij patiënten met PID dient gonorroe altijd te worden uitgesloten middels NAAT. Bij blootstelling (passief anale en/of orale seks) en/of klachten wordt zowel bij mannen als bij vrouwen een uitstrijk van keel en/of proctum en/of conjunctiva voor NAAT afgenomen. De tweede keus is een kweek. De sensitiviteit van de NAAT is hoger dan die van de kweek, waarbij wordt aangetekend dat de sensitiviteit van NAAT's onderling kunnen verschillen en de sensitiviteit van een specifieke NAAT afhankelijk is van het te onderzoeken materiaal. De specificiteit van de huidige generatie NAAT's ligt bij urogenitale monsters hoog en benadert voor sommige NAAT's 100%.

Aanbevolen behandeling van gonorroe

Geadviseerd wordt om behandeling te starten als een van de onderstaande diagnostische testen positief is: een positieve NAAT, een positieve kweek, dan wel een positief urethraal grampreparaat bij mannen (cave fout-positieve testuitslag ten gevolge van aanwezigheid van andere *Neisseria*-species). Eveneens kan behandeling worden gestart na afname van materiaal voor diagnostiek bij syndroommanagement (behandeling instellen op basis van klachten) en bij vaste seksuele partners (met onbeschermd seksueel contact) van patiënten met gonorroe.

Aanbevolen behandeling van gonorroe: ceftriaxon 500 mg i.m. eenmalig. Indien Ct-infectie niet is uitgesloten, plus azitromycine 1000 mg p.o. eenmalig.

Met de toenemende ongevoeligheid van *N. gonorrhoeae* voor de eerstekeusantibiotica, de extended-spectrumcefalosporinen (7% in 2012, RIVM SOA rapport 2013), dreigt

de behandeling van gonorroe op termijn problematisch te worden. Daarom is resistentiesurveillance belangrijk en moet zo veel mogelijk een antibiogram op een kweek worden ingezet bij aangetoonde gonorroe-infecties. Alleen als bewezen gevoeligheid middels kweek is aangetoond, kan een alternatieve behandeling van gonorroe worden toegepast. In het licht van de resistentieontwikkeling en voor een aantal bijzondere situaties wordt in de richtlijn een overzicht gegeven van alternatieve behandelingen. Cefuroxim-axetil, dat in de NVDV-richtlijn 2011 nog wel wordt geadviseerd als tweede keus, wordt ontraden, enerzijds omdat er geen goede studies mee zijn verricht en omdat de farmacokinetiek van dit middel onvoorspelbaar is, anderzijds vanwege de toenemende frequentie van verhoogde MIC's voor cefalosporines.

Syfilis

Bij primaire syfilis was donkerveldmicroscopisch onderzoek voorheen de enige mogelijkheid voor snel laboratoriumonderzoek, omdat antistoffen pas vier tot acht weken na infectie aantoonbaar zijn. Met een NAAT kan tegenwoordig *T. pallidum*-DNA in ulcusuitstrijken worden aangetoond, waarmee de diagnose primaire syfilis gesteld is.

Bij verdenking op primaire syfilis, screening op de overige vormen van syfilis, neurosyfilis en congenitale syfilis is de serologie echter onontbeerlijk. Voor de serologische diagnostiek op liquor cerebrospinalis, is de VDRL de standaardtest, en deze is, in tegenstelling tot VDRL op serum, zeer specifiek maar weinig sensitief. Het gebruik van de indices bij liquoronderzoek geeft dikwijls niet meer inzicht en een geïsoleerde abnormale TPHA- of TPPA-index zonder andere aanwijzingen voor neurosyfilis is onvoldoende om de diagnose neurosyfilis te stellen.

De aanbevolen behandeling bij syfilis bestaat uit toediening van penicilline G (benzylpenicilline) i.m., afhankelijk van het stadium eenmalig of driemaal met intervallen van een week.

Resistentieproblemen zijn tot op heden niet gerapporteerd. Een lage en continue serumspiegel voor penicilline gedurende enkele weken is voldoende voor een succesvolle behandeling.

Alternatieve behandeling van syfilis

Bij (goed gedocumenteerde) overgevoeligheid voor penicilline wordt als alternatieve behandeling van syfilis doxycycline 100 mg p.o., tweemaal daags gedurende 14 dagen aanbevolen. Dit geldt echter niet voor zwangere vrouwen, hiv-patiënten en voor de behandeling van neurosyfilis. Bij hiv-positieve patiënten is met alternatieve middelen anders dan penicilline goede nacontrole noodzakelijk omdat therapiefalen in deze groep vaker wordt gerapporteerd. Hier blijft penicilline het middel van voorkeur.

Verhoogde kans op ernstig beloop van syfilis

Twee belangrijke patiëntengroepen kennen mogelijk een ernstiger en/of afwijkend beloop van syfilis: hiv-positieve patiënten en zwangere vrouwen.

Met de introductie van effectieve antiretrovirale therapie gaat men er van uit dat het verloop van syfilis bij patiënten met een goede afweer (CD4-getal > 350 cellen/mm³) niet afwijkt van dat bij hiv-negatieve patiënten. De behandeling van syfilis bij hiv-positieve patiënten is gelijk aan de behandeling bij hiv-negatieve patiënten. Volgens de laatste inzichten van het CDC verbetert het standaard verrichten van liquoronderzoek de klinische uitkomst van syfilis bij hiv-patiënten niet. Alleen bij aanwezigheid van neurologische afwijkingen is nu liquoronderzoek geboden. Dit vereist wel regelmatige follow-up van hiv-patiënten na de behandeling van syfilis, inclusief screening op neurologische afwijkingen. Omdat de kans op asymptomatische neurosyfilis niet verwaarloosbaar is, staan sommige behandelaars op het standpunt liquoronderzoek te verrichten bij hiv-patiënten met syfilis, ook zonder neurologische verschijnselen. De richtlijn geeft op dit punt geen unaniem standpunt weer.

In Nederland wordt sinds de screening van alle zwangere vrouwen in het eerste trimester zelden congenitale syfilis meer gezien. Van groot belang is de taak van arts-microbioloog in de overdracht van informatie van verloskundige naar gynaecoloog, kinderarts en huisarts bij positieve syfilisserologie tijdens de zwangerschap en aangevraagde diagnostiek bij de neonat.

Herpes genitalis

De eerste keus voor het aantonen van het virus is een NAAT op materiaal van de bodem van de laesie of vocht van een blaasje en voor het onderzoek van liquor bij verdenking op HSV-meningitis. Bij een gegeneraliseerde of orgaanherpesinfectie, zoals hepatitis is het HSV-viral-loadbepaling in bloed (serum of plasma) aangewezen.

Bij patiënten met afweerstoornissen of ernstige therapieresistente recidieven kan het van belang zijn om resistentiebepalingen uit te voeren.

Het bepalen van HSV-typespecifieke antistoffen kent voor individuele diagnostiek weinig toepassing. Wel kan de serologie van nut zijn in sero-epidemiologische studies en kan men er gebruik van maken om vast te stellen of de klinische verschijnselen berusten op een primaire infectie of op een recidief, op basis van aantoonbaar specifiek IgG en IgM.

Voor de aanbevolen diagnostiek bij herpes neonatorum en herpes genitalis in de zwangerschap en rondom de geboorte wordt verwezen naar de richtlijn zelf.

Anogenitale HPV, geen high risk HPV (hrHPV), vaccinatie en screening

Vaccinatiestrategieën ter primaire preventie van baarmoederhalskanker en/of anogenitale wratten worden in de richtlijn niet besproken. In het algemeen kan de diagnose

condylomata acuminata (genitale wratten door HPV type 6 of 11) klinisch worden gesteld. Bij twijfel tussen condylomata acuminata of condylomata lata (syfilis) moet ook diagnostiek in die richting worden uitgevoerd. HPV detectie kan worden gedaan op een uitstrijk van de laesie of een biopsie. Bij een laesie verdacht voor een anuscarcinoom zal een biopsie worden genomen dat histologisch wordt onderzocht en waarop HPV-onderzoek met behulp van een NAAT wordt uitgevoerd. Een overzicht van de diagnostiek en de aanbevolen behandeling van AGW kan in de richtlijn worden gevonden.

Procedures

Het deel C over partnerwaarschuwing en seksueel misbruik mag minder belangrijk lijken voor de in het laboratorium werkzame medisch specialist, maar juist bij aanvragen voor onderzoek binnen het kader van regelingen en afspraken is het goed om op deze informatiebron te kunnen terugvallen.

Belangenconflict en financiële ondersteuning

Geen gemeld.

Zie voor gebruikte afkortingen en referenties de richtlijn via www.huidarts.info.

Samenstelling van de werkgroep

In de werkgroep waren vertegenwoordigd de dermatologen (NVDV), gynaecologen (NVOG), artsen-microbioloog (NMMM), internisten (NIV, NVHB), kinderartsen (NVK), neurologen (NVN) en urologen (NVU). De multidisciplinaire werkgroep bestond uit vertegenwoordigers van diverse wetenschappelijke verenigingen en adviseurs afkomstig uit het Cib/RIVM, GGD'en, NHG, Soa Aids Nederland, V&VN, HIV Vereniging Nederland. Door deze samenstelling en het gebruikmaken van het formaat van de LCI-richtlijnen is getracht zo veel mogelijk overeenstemming te bereiken tussen de eerstelijns SOA-richtlijn voor huisartsen en de richtlijnen die worden gehanteerd bij de GGD-Soa-poliklinieken. Daarnaast werd commentaar gegeven door Nederlandse Vereniging voor Reumatologie, de Nederlandse Vereniging voor Cardiologie, de Nederlandse Vereniging van Maag-Darm-Leverartsen, de Nederlandse Vereniging voor Keel-Neus-Oorheelkunde en Heelkunde van het Hoofd-Halsgebied, en het Nederlands Oogheelkundig Gezelschap. Bij een volgende versie van de richtlijn kan worden overwogen de werkgroep uit te breiden met meer aangrenzende specialisten. Ondersteuning werd gegeven door het bureau van de NVDV en met name door dr. J.J. van Everdingen. Alle zeven achterliggende wetenschappelijke beroepsverenigingen hebben de richtlijn geautoriseerd. Financiële steun werd verleend door de Stichting Kwaliteitsgelden Medisch Specialisten (SKMS).

Naam	Functie	Affiliatie	Vertegenwoordiging
Prof. dr. H.J.C. de Vries	Dermatoloog, voorzitter werkgroep	AMC, GGD Amsterdam	NVDV
Prof. dr. G.J.J. van Doornum	Arts-microbioloog	Erasmus MC, emeritus	NVMM
Dr. C.J. Bax	Gynaecoloog	AMC	NVOG
Prof. dr. J.E.A.M. van Bergen	Huisarts, epidemioloog, public health arts	Soa Aids Nederland	Soa Aids Nederland
Drs. J. de Bes	Arts-onderzoeker richtlijnontwikkeling	NVDV	NDVD
Dr. A.P. van Dam	Arts-microbioloog	OLVG	NVMM
Dr. J.J.E. van Everdingen	Directeur NVDV	NVDV	NVDV
Dr. H. Götz	Arts infectieziekten	GGD Rotterdam-Rijnmond	GGD
Drs. A.G.W van Hulzen	Verpleegkundig specialist	Isala klinieken	V&VN
Dr. S.H. Kardaun	Dermatoloog	UMC Groningen	NVDV
Dr. E. Lanjouw	AIOS dermatologie	Erasmus MC	NVDV
Dr. E. van Leeuwen	Gynaecoloog	AMC	NVOG
Drs. M.T.W. Lock	Uroloog	UMC Utrecht	NVU
Prof. dr. P. Portegies	Neuroloog	OLVG Amsterdam, AMC	NVN
Dr. K.D. Quint	AIOS dermatologie	LUMC	NVDV
Dr. B.J.A. Rijnders	Internist	Erasmus MC	NVHB
Dr. G.I.J.G. Rours	Kinderarts, klinisch epidemioloog	Erasmus MC	NVK
Dr. M.A.B. van der Sande	Arts-epidemioloog	RIVM	RIVM
Dhr. L. Schenk	Patiënt-vertegenwoordiger	Poz&Proud, Hiv Vereniging Nederland	Hiv Vereniging Nederland
Dr. H.J. Scherpbier	Kinderarts	AMC, Emma kindziekenhuis	NVK
Dr. V. Sigurdsson	Dermatoloog	UMC Utrecht	NVDV
Drs. R. Soetekouw	Internist	Kennemer Gasthuis	NIV
Dr. J. van Steenbergen	Arts-epidemioloog	RIVM	RIVM
Dr. H.T. Tjhie	Arts-microbioloog	Stichting PAMM	NVMM
Drs. L. Verlee	Huisarts/wetenschappelijk medewerker	NHG	NHG

Referenties

- Haarst EP van. Epididymitis. Ned Tijdschr Urol. 2009;17:112-6.
- Nederlandse Vereniging voor Obstetrie en Gynaecologie. Richtlijn Pelvic inflammatory disease en tubo-ovarieel abces, 2012.
- Nederlandse Vereniging voor Urologie. Richtlijn Bacteriële urineweg-infecties bij adolescenten en volwassenen. Etiologie, diagnostiek, behandeling en profylaxe, 2009.
- Soetens et al. Sexually Transmitted Infections including HIV, in the Netherlands in 2012. RIVM, 2013.
- STI's including HIV, in the Netherlands in 2012. RIVM report 2013.
- Vries HJ de, Smelov V, Ouburg S, Pleijster J, Geskus RB, Speksnijder AG, Fennema JS, Morré SA. Anal lymphogranuloma venereum infection screening with IgA anti-*Chlamydia trachomatis*-specific major outer membrane protein serology. Sex Transm Dis. 2013;789-95.
- Wasley GD, Wong HHY. Syphilis Serology, Principles and Practice. Oxford Medical Publications, 1988:103.

Raadplegen en bestellen

- De richtlijn is te downloaden via www.tinyurl.com/soarichtlijn2012 of via www.huidarts.info.nl.
- De samenvattingskaart is te raadplegen via www.soaids.nl/MDR.
- Via <http://webshop.soaids.nl/webwinkel/overig> kan een gedrukte versie van de samenvattingskaart worden besteld (1 euro per stuk, excl. verzendkosten).

Brachyspira species en humane intestinale spirochetose: een review

L.J. Westerman, M. Severs, M.E.I. Schipper, J.A. Wagenaar, J.G. Kusters

Samenvatting

Brachyspira-species zijn obligaat anaerobe spirocheten. Er zijn zeven officieel erkende species en verschillende nog niet erkende species. Sommige zijn belangrijke pathogenen in dieren, terwijl andere bekend staan als onschuldige commensalen. Eén species in het bijzonder, *Brachyspira pilosicoli*, staat bekend om het ontbreken van gastheerspecificiteit en koloniseert veel verschillende diersoorten, waaronder de mens. In deze review passeren de belangrijkste kenmerken en klinische relevantie van deze veelal onderbelichte groep bacteriën de revue.

Abstract

Brachyspira species are obligate anaerobic spirochaetes. There are seven officially recognized species and several unofficial species. Some are important pathogens in animals, whereas others are considered harmless commensals of the gut-flora. One species in particular, *Brachyspira pilosicoli* is known to colonize multiple animal species, including humans. This review focuses on this frequently overlooked group of bacteria.

Trefwoorden

Brachyspira, spirocheten

Casus

Een 28-jarige hiv-positieve patiënt van Marokkaanse afkomst presenteert zich met koorts en thoracale pijn op de spoedeisende hulp. Onder HAART-therapie is de virale hiv-load al enige tijd ondetecteerbaar. Hij vertelt dat hij drie maanden geleden nog in Marokko is geweest voor familiebezoek. De afgelopen weken is hij ook al tweemaal opgenomen is geweest op de afdeling Cardiologie wegens recidiverende koorts met verdenking op een pericarditis. Hiervoor kreeg hij twee kuren moxifloxacin, waarna een goede klinische respons werd gezien. Op zoek naar de oorzaak van de koorts werden infecties met *Mycobacterium tuberculosis*, *Coxiella burnetii* en *Legionella pneumophila* uitgesloten.

Ditmaal meldt hij naast de thoracale pijnklachten ook buikklachten: misselijkheid en obstipatie. Er wordt besloten hem opnieuw op te nemen voor nadere diagnostiek. Op een PET-scan wordt niet alleen een

recidief pericarditis, maar ook een verhoogde activiteit in het colon ascendens gezien, verdacht voor colitis. Differentiaaldiagnostisch wordt gedacht aan een gemeenschappelijke infectieuze oorzaak voor de pericarditis en de colitis, dan wel een chronische idiopathische inflammatoire darmziekte met een pericarditis als extra-intestinale manifestatie.

Er wordt een ileocoloscopie gedaan, waarbij endoscopisch geen afwijkingen worden gezien, desondanks worden er colonbiopten genomen. Histopathologisch wordt er onverwacht een uitgebreide intestinale spirochetose (figuur 1), gezien zonder ontstekingsverschijnselen. PCR op deze biopten is positief voor *Brachyspira pilosicoli*, een voor dieren bekende pathogene spirocheet. De patiënt krijgt vervolgens een standaardbehandeling met een tiendaagse kuur metronidazol (driemaal daags, 500 mg) en hierop nemen na een aantal dagen de buikklachten af, waarop hij ontslagen wordt. Hij wordt nadien nog een aantal keer opgenomen voor een recidief van de pericarditis, waarvoor nooit een sluitende verklaring wordt gevonden, maar buikklachten of obstipatie worden niet meer gemeld.

Wat zijn *Brachyspira*-species?

Brachyspira-species zijn gramnegatieve, obligaat anaerobe spirocheten uit het fylum Spirochaetes. Dit fylum bestaat uit één klasse (Spirochaetes), één order (Spirochaetales) en vier bevestigde families (*Brachyspiraceae*, *Brevinemataceae*, *Leptospiraceae* en *Spirochaetaceae*) en één onzekere familie (*Spirochaetales incertae sedis*). Deze families zijn vervolgens onder te verdelen in verschillende genera (figuur 2). Het genus *Brachyspira* bestaat uit een groot

Dr. L.J. Westerman, Universitair Medisch Centrum Utrecht, Utrecht, afdeling Medische Microbiologie, drs. M. Severs, Universitair Medisch Centrum Utrecht, Utrecht, afdeling Gastroenterologie en Hepatologie, dr. M.E.I. Schipper, Erasmus Medisch Centrum, prof. dr. J.A. Wagenaar, Departement Infectieziekten en Immunologie, faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Utrecht, Utrecht, Centraal Veterinair Instituut, Wageningen Universiteit en Onderzoekscentrum, Lelystad.
Correspondentieadres: dr. J.G. Kusters, Universitair Medisch Centrum Utrecht, Huispostnummer G 04.614, Postbus 85500, 3508 GA Utrecht, e-mailadres: h.kusters@umcutrecht.nl.

aantal species, waarvan er slechts zeven officieel zijn geaccepteerd. Hoewel al sinds het eind van de 19^e eeuw bekend is dat er spirocheten in de feces van mensen leven,¹ heeft de officiële erkenning van het genus *Brachyspira* tot het einde van de 20^e eeuw geduurd.^{2,3} Dit komt zeer waarschijnlijk omdat deze bacteriën erg moeilijk te kweken zijn.

Geschiedenis van de *Brachyspiraceae*

In 1886 beschreef Escherich spirocheten in de feces van kinderen met diarree¹ en in de daaropvolgende jaren publiceerden andere auteurs over deze bacteriën in verschillende delen van de wereld. Op basis van het aantal wendingen onderscheidde men twee soorten: *Spirochaeta eurygyrata* en *Spirochaeta stenogyrata*.⁴ Al snel realiseerde men zich dat dit geen goed criterium was om soorten in te delen en veronderstelde men dat het maar om één soort ging: *Spirochaeta eurygyrata*.⁵ Na omstreeks 1930 verdween de interesse in de fecale spirocheet bij mensen om pas weer terug te keren in de jaren 50-60 toen de 'humane intestinale spirochetose' opnieuw werd 'ontdekt' door Geoffrey Shera. Hij beschreef 52 patiënten bij wie spirocheten in de feces werden aangetroffen en beschreef hierbij een associatie met een gemakkelijk bloedende 'aardbeienlaesie' in het colon bij coloscopie. Volgens Shera infecteerden de spirocheten eerst de mond, vervolgens de maag, waar deze bacteriën soms zelfs kanker veroorzaakten, om te eindigen in het colon. Gedurende deze trektocht door het darmkanaal veranderden zij van grootte,

Figuur 1. Humane intestinale spirochetose. De spirocheten zijn zichtbaar als een 'false brush-border' aan de lumenale zijde van het colonepitheel (pijl). Vaak is het gehele colon bedekt met een bacteriefilm (hematoxyline en eosinekleuring, originele vergroting 630 maal, het balkje staat voor 20 µm).



maar Shera was er toch vrij zeker van dat het dezelfde organismen waren. De klachten die de patiënten rapporteerden liepen erg uiteen, maar voorop stonden flatulentie, buikpijn, gewichtsverlies en al dan niet bloederige, stinkende diarree. Shera's associatie met de spirocheten is echter niet heel erg overtuigend, iets wat hij zelf ook beaamde: "Let it be noted here that there are many diseases, e.g. the enteric group infections, where Koch's postulates have been far less well satisfied than in this case but in which the causal organism is in no doubt whatsoever".⁶ Ondanks het feit dat Shera bijna een decennium eerder de intestinale spirochetose beschreef, worden Harland en Lee gezien als de ontdekkers van de spirocheten in het maag-darmkanaal. Zij komen in 1967 met histopathologisch bewijs: de aanwezigheid van een bacteriefilm op de mucosa van het colon (figuur 1) en noemen deze aandoening 'humane intestinale spirochetose' (HIS) en de bacterie '*Borrelia eurygyrata*'.⁷ '*Borrelia*' op basis van hun observatie dat de spirocheten aankleuren met hematoxyline en eosine en '*eurygyrata*' refererend aan de 'oude' literatuur omdat zij vermoeden dat het dezelfde spirocheet is. Dat de histopathologische ontdekking van deze spirocheten zo lang heeft geduurd, heeft vermoedelijk te maken met het feit dat de afwijking bij lichtmicroscopie moeilijk is te herkennen en dat pas in de jaren 60 de elektronenmicroscopie beschikbaar kwam. Na dit artikel nam de interesse voor de spirocheten weer toe, ditmaal onder pathologen. Verschillende auteurs meldden spirocheten in het hele colon, tot aan de appendix toe.⁸ Even leek het zelfs dat 'appendiceal spirochaetosis' was geassocieerd met een klinisch acute appendicitis, zonder de histopathologische kenmerken van een acuut ontstekingsbeeld. Deze observatie was al gedaan door Mazza in 1930.⁹ Recent onderzoek wijst echter uit dat dit geen apart ziektebeeld is.¹⁰ Wel lijkt er een associatie te zijn met homoseksuele mannen, hoewel mannen in het algemeen vaker zijn gekoloniseerd dan vrouwen, om onduidelijke redenen.¹⁰ De verwekker werd voor het eerst geïsoleerd in 1982 door Hovind-Hougen et al. en kreeg de naam *Brachyspira aalborgi* ('korte spiril uit Aalborg').³ Echter, Tompkins et al. isoleerden al eerder spirocheten uit humane feces, maar correleerden hun bevindingen niet aan de karakteristieke histopathologische bevindingen van HIS.¹¹ Vermoedelijk isoleerden zij *Brachyspira pilosicoli*, die relatief gemakkelijker is te kweken dan *B. aalborgi*.

De *Brachyspira*-species

Het genus *Brachyspira* heeft verscheidende naamsveranderingen ondergaan, die in dit kader niet allemaal de revue zullen passeren. Een goed overzicht van de naamswijzigingen en de verschillende *Brachyspira*-species is te vinden in het proefschrift 'Human Intestinal Spirochaetosis' van L.J. Westerman.¹⁰

Er zijn zeven officieel erkende species: *Brachyspira hyodysenteriae*, *B. innocens*, *B. aalborgi*, *B. pilosicoli*, *B. intermedia*,

Figuur 2. Fylogenetische relatie van het fylum Spirochaetes (uitsluitend van type-strains). 16S-rDNA gedownload van de Ribosomal Database Project (release 10, update 30). Groen: Spirochaetaceae (lichtgroen Treponema; donkergroen Spirochaeta; groen Borrelia); blauw: Leptospiraceae (blauw: Leptospira; donkerblauw: Turneriella; lichtblauw: Leptonema); geel: Brevinemataceae (slechts een genus: Brevinema); rood: Brachyspiraceae (met slechts één genus: Brachyspira) en roze: Spirochaetales incertae sedis (met slechts één genus: Exilispira). Als outspecies is *Escherichia coli* gebruikt (grijs). De fylogenetische analyse is gemaakt met SplitsTree (versie 4.12.6, built 24 mei 2012) en de boom is getekend met behulp van FigTree v1.4 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).



B. murdochii en *B. alvinipulli*. Naast deze zeven officieel erkende species zijn er acht nog niet officieel erkende, maar wel geïsoleerde *Brachyspira*-species: ‘*Brachyspira canis*’, ‘*Brachyspira pulli*’, ‘*Brachyspira suanatina*’, ‘*Brachyspira corvi*’, ‘*Brachyspira muris*’, ‘*Brachyspira muridarum*’, ‘*Brachyspira rattus*’ en ‘*Brachyspira hampsonii*’. De *Brachyspira*-species hebben een aantal kenmerken gemeen: ze groeien zonder uitzondering uitsluitend

anaeroob, hebben een smalle groei-temperatuurrange, groeien als kolonies op selectieve media (figuur 3), maar zwermen uit op niet-selectieve media en zijn dan ook niet meer als kolonies te herkennen. De meeste kunnen slechts kortdurend overleven in een zuurstofrijke omgeving, en groeien langzaam (drie tot vijf dagen) tot zeer langzaam (21 dagen voor *B. aalborgi*). Voor alle *Brachyspira*-species is de veronderstelde transmissieroute fecaal-oraal.

De verschillende *Brachyspira*-species laten zich niet altijd even gemakkelijk onderscheiden: niet van alle species zijn de fenotypische kenmerken (voldoende) uitvoerig beschreven (tabel 1). Daarom wordt het onderscheid tussen de verschillende species vaak gemaakt op basis van moleculaire typering, met behulp van het ribosomaal 16S-rDNA en het NADH-oxidase gen (*nox*-gen). Aangezien het 16S-rDNA in veel gevallen niet voldoende specifiek is om tot op speciesniveau te determineren, wordt vaak het *nox*-gen gebruikt. Het *nox*-gen speelt een zeer belangrijke rol als het (vermoedelijk) enige mechanisme om zuurstof te metaboliseren. Dit *nox*-gen is zeer geconserveerd bij de verschillende *Brachyspira*-species,¹² en vertoont grotere sequentieverschillen dan het 16S-rDNA.

Bij mensen komen twee soorten *Brachyspira*-species voor: *Brachyspira aalborgi* en *Brachyspira pilosicoli*.¹⁰ Daarnaast is er een drietal species voorgesteld op basis van 16S-rDNA vergelijkingsstudies, zonder de spirocheten te isoleren. Hierbij werd er een *B. aalborgi*-achtige cluster gevonden,

Figuur 3. *Brachyspira pilosicoli* op een selectieve bloedplaat.



Tabel 1. Biochemische eigenschappen, type of referentiestammen en 16S-rDNA- en NOX-sequenties van de verschillende *Brachyspira*-species.¹⁰

Species	β-haemolyse	Indole	Hippurate	α-galactosidase	α-gluco-sidase	β-gluco-sidase	Type of referentie stam*
<i>B. hyodysenteriae</i>	Sterk	+	-	-	+/-	+	B-78 ^T
<i>B. innocens</i>	Zwak	-	-	+	+	+	B256 ^T
<i>B. pilosicoli</i>	Zwak	-	+	+	-	-	P43/6/78 ^T
<i>B. intermedia</i>	Zwak	+	-	-	+	+	PWS/A ^T
<i>B. murdochii</i>	Zwak	-	-	-	-	+	56-150 ^T
<i>B. alvinipulli</i>	Zwak	-	+	-	-	+	C1 ^T
<i>B. aalborgi</i>	Zwak/Negatief	-	N/A	-	-	-	513A ^T
" <i>B. canis</i> "	Zwak	-	-	-	N/A	+	Dog A2 ^{R*}
" <i>B. corvi</i> "	Zwak	-	-	+	N/A	-	AN 968/2/04*
" <i>B. pulli</i> "	Zwak	-	N/A	+	+	+	AN304/04*
" <i>B. muridarum</i> "	Zwak/Negatief	-	-	-	N/A	-	A58/06*
" <i>B. muris</i> "	Zwak/Negatief	-	-	-	N/A	-	A10/06*
" <i>B. rattus</i> "	Zwak	-	-	-	N/A	+	A249/07*
" <i>B. suanatina</i> "	Sterk	+	-	-	N/A	+	AN 4859/03 ^{R*}
" <i>B. hampsonii</i> " - Clade I	Sterk	-	-	-	-	+	NSH-16 ^T
" <i>B. hampsonii</i> " - Clade II	Sterk	-	-	-	-	-	NSH-24 ^T
" <i>B. hominis</i> "	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	adhucomuHca09*
" <i>B. christiani</i> "	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
" <i>B. ibaraki</i> "	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	HIS24/11/99*

*Als er geen type of referentiestam bekend is, wordt de eerste in de literatuur beschreven stam vermeld. Type-strains worden aangegeven met een 'T', referentiestammen met een 'R'.

die de voorgestelde species “*B. hominis*”, “*B. christiani*” of “*B. ibaraki*” omvat.^{10,13-15} Deze soorten kunnen zeer waarschijnlijk worden gezien als 16S-rDNA-varianten van *B. aalborgi*.¹⁰

Brachyspira pilosicoli

B. pilosicoli werd voor het eerst beschreven bij varkens door Taylor et al.¹⁶ Geïnfecteerde varkens ontwikkelen diarree en colitisverschijnselen, met als gevolg groei-vertraging waardoor het meer tijd kost om op ‘slachtgewicht’ te komen, wat leidt tot economisch verlies. Taylor et al. beschreven ook dat de spirocheten als een ‘false brush-border’ aanwezig zijn aan de lumenale zijde van het colonepitheel. Direct volgend op deze eerste beschrijving, suggereerden verschillende auteurs dat er bij de mens spirocheten voorkomen die hier sterk op lijken.^{17,18} Koopman et al. toonden in 1993 aan dat spirocheten met eenzelfde genotype zowel bij honden als bij mensen voorkomen, wat in de jaren hierna wordt bevestigd in andere studies.¹⁹⁻²² *B. pilosicoli* is tot nu toe beschreven bij varkens, kippen, eenden, ganzen, nandoes, mensen, honden, ratten en muizen.¹⁰ Eigenlijk bij vrijwel alle diersoorten waarin (tot nu toe) *Brachyspira*-species zijn aangetoond, is *B. pilosicoli* ook beschreven. Bij kippen, varkens en honden geldt zij bovendien als pathogeen en ook voor mensen zijn hier aanwijzingen voor (zie HIS, hieronder).^{10,23-25} Verschillende studies suggereren een zoönotisch potentieel van *B. pilosicoli*.²⁶⁻²⁸ De incidentie is sterk afhankelijk van de diersoort en de geografische locatie van de onderzoekspopulatie.

Brachyspira aalborgi

Brachyspira aalborgi is zeer moeilijk te kweken, waardoor er ook slechts een beperkt aantal isolaten is beschreven in de literatuur. Een recente studie naar de pathogeniciteit van *Brachyspira*-species in de huisartsenpraktijk toonde aan dat *B. aalborgi* een commensaal is,¹⁰ hoewel er een aantal case-reports is over patiënten met gastro-intestinale klachten bij wie *B. aalborgi* werd aangetoond. In de meeste beschrijvingen leidde behandeling met een antibioticum gericht tegen anaerobe bacteriën tot verbetering van de klachten. Er is geen duidelijk klinisch beeld van een infectie met *B. aalborgi* bij mensen. De prevalentie bij mensen is onbekend, aangezien de diagnose vrijwel uitsluitend bij histopathologisch onderzoek van een colonbiopt wordt gesteld, en dit onderzoek geen speciesspecifieke identificatie oplevert. Op basis van verschillende moleculaire studies is bekend dat *B. aalborgi* verantwoordelijk is voor de meerderheid van alle HIS-gevallen.¹⁰

Zoönose

Aangezien *B. pilosicoli* bij veel verschillende dieren en bij de mens is gevonden, hebben meerdere auteurs verondersteld – en bewijs gevonden – dat het om een

bacterie gaat met een zoönotisch potentieel. Op basis van inoculatiestudies kunnen stammen van de ene diersoort persisterend een andere diersoort koloniseren en tot de klassieke ziektesymptomen leiden.^{23,30} Echter, verschillende fylogenetische studies vertroebelen dit beeld vervolgens. Er zijn zowel studies die een sterke gastheerspecifieke clustering vinden als studies die geen clustering vinden.^{19,20,26,31} Dit werd verklaard door een studie van Trott et al., waarin zij aantoonde dat *B. pilosicoli* een epidemische populatiestructuur heeft, wat betekent dat bepaalde klonen uit de populatie zeer succesvol zijn in hun propagatie én dat er geen klonale populatiestructuur is, maar een recombinantstructuur. Dit laatste is van zeer groot belang: *B. pilosicoli* wisselt zeer gemakkelijk genen uit met andere *B. pilosicoli*'s, wat fylogenetische studies naar het zoönotisch potentieel van deze bacteriën bemoeilijkt.³²

Er zijn drie studies die aanwijzingen geven waar de overdracht van dier op mens (en andersom) kan plaatsvinden. Oxberry et al. onderzochten een meertje met veel watervogels in een dierentuin, waaromheen mensen konden picknicken. Zij vonden dat 19% van de watervogels positief waren voor *B. pilosicoli* en slechts 0,5% van de overige dieren in de dierentuin. Ook vonden zij 3/7 (43%) van de watersamples uit dit meertje positief voor *B. pilosicoli*, waaruit zij concludeerden dat bij dit meer mensen blootgesteld zouden kunnen worden aan besmetting met *B. pilosicoli*.²⁸ Trott et al. onderzochten 496 dorpelingen in vijf verschillende Papoea-Nieuw-Guineese dorpen en vonden 22,8% (n = 113) positief voor *B. pilosicoli*. Er was echter een veel lagere infectiefrequentie in de honden, varkens en eenden in deze dorpen, waardoor zij suggereerden dat mensen het reservoir van deze spirocheet zouden moeten zijn.³³ Vervolgens toonde Verlinden et al. aan dat 59% van de karkassen van leghennen die als soepkip worden verkocht in Belgische supermarkten, zijn besmet met *Brachyspira*-species en dat dit in 15,4% van de gevallen *B. pilosicoli* was.³⁴

Op basis van deze studies lijkt *B. pilosicoli* een buitengewoon diverse bacterie. Het ogenschijnlijk complete gebrek aan gastheerspecificiteit is een uitstekende manier om de soort in stand te houden. Door de epidemiologische populatiestructuur lijkt het zoönotisch potentieel van deze bacterie enerzijds zeer aannemelijk, maar maakt het anderzijds lastig te bewijzen.

Eén mogelijke verklaring voor de epidemiologische populatiestructuur is het bestaan van een *Brachyspira*-specifieke bacteriofaag die is beschreven in *B. hyodysenteriae* en *B. pilosicoli*. Deze faag is geïncorporeerd in het genoom van alle *Brachyspira*-species (in *B. aalborgi* wordt dit nog betwist), en is niet in staat tot zelfreproductie.

De faag verpakt 7,5 kb aan genomische informatie en wordt geïnduceerd door antibiotica. Het is aangetoond dat genen die coderen voor antibioticaresistentiemechanismen selectief verpakt en effectief overgedragen worden bij antibiotische druk.³⁵ Een uitgebreidere beschrijving van deze faag is te vinden in het proefschrift 'Human Intestinal Spirochaetosis' van L.J. Westerman.¹⁰

Humane intestinale spirochetose

Humane intestinale spirochetose (HIS) wordt gekenmerkt door de *Brachyspira*-species die aan de lumenale zijde van het coloneptheel (inclusief appendix) vasthechten⁷ en wordt veroorzaakt door *Brachyspira aalborgi* en *Brachyspira pilosicoli*.³⁶ Recent onderzoek heeft aangetoond dat *B. aalborgi* een commensaal is: *B. aalborgi* kwam bij 2,3% van mensen met gastro-enteritis voor versus 2,9% van mensen zonder gastro-intestinale bezwaren ($p = 0,77$).¹⁰ Er zijn aanwijzingen dat *B. pilosicoli* ook bij mensen als pathogeen kan worden gezien: *B. pilosicoli* is significant geassocieerd met inflammatoire kenmerken in het colonbiopt en infectie met *B. pilosicoli* leidt in vitro tot apoptose, uiteenvallen van de plasmamembraan en upregulatie van de cytokines IL-1 β en IL-8 in humane adenocarcinoomcellen (Caco-2-cellen).^{10,37} Omdat pathogenen op grond van routine H&E-kleuringen geen onderscheid kunnen maken tussen *B. aalborgi* en *B. pilosicoli* is nooit goed mogelijk geweest om klachten te koppelen aan een van de twee soorten. Derhalve is de klinische significantie voorsnog onduidelijk en er is geen klinisch beeld bekend. Aan de andere kant is microbiologische diagnostiek lastig doordat de *Brachyspira*-species obligaata anaeroob zijn, langzaam tot zeer langzaam groeien en op niet-selectieve media niet in kolonies groeien. Hierdoor is er weinig onderzoek naar HIS gedaan.

De incidentie van HIS is sterk afhankelijk van verschillende factoren:

1. De economische status van het land
 - a. In landen met een gemiddeld hoog bruto nationaal product is de incidentie laag, terwijl in landen met een laag bruto nationaal product de incidentie hoog is. Hygiëne wordt hiervoor verantwoordelijk gehouden.
2. Het materiaal
 - a. *B. aalborgi* is vrijwel onmogelijk te isoleren uit feces, waardoor in feces uitsluitend *B. pilosicoli* wordt gevonden, waarbij in colonbiopten het onderscheid tussen de twee soorten niet is te maken zonder geavanceerde histopathologische technieken (zoals in-situfluorescentie met speciesspecifieke probes of met PCR).
3. De populatie
 - a. Het is bekend dat de incidentie bij mannen veel hoger is dan bij vrouwen,³⁸ en er zijn verschillende artikelen

die rapporteren dat de incidentie bij homoseksuele mannen nog hoger is dan bij niet-homoseksuele mannen.³⁸

Tabel 2 geeft een uitgebreid overzicht van deze verschillen.

Ondanks diverse publicaties is de klinische relevantie van HIS nog niet onomstotelijk vastgesteld en berust het bewijs voor pathogeniciteit voornamelijk op case-reports en retrospectieve studies. Tevens zijn er enkele case-reports over bacteriëmiën met *Brachyspira pilosicoli* bij ernstig zieke patiënten.³⁹⁻⁴⁵ De klinische symptomen die vaak worden geassocieerd met HIS zijn diarree, buikpijn, bloed en slijm bij de feces.^{38,46-48} Weisheit et al. verzamelden de klinische gegevens van 209 patiënten met HIS en vonden geen duidelijk verband tussen gastro-intestinale klachten en de aanwezigheid van HIS.³⁸ Een belangrijke beperking in hun studie is dat zij geen onderscheid maakten tussen de verschillende bij de mens voorkomende *Brachyspira*-species. Speciesonderscheid is belangrijk, aangezien vanuit de veterinaire sector bekend is dat er zowel commensalen als pathogenen kunnen voorkomen. Hoewel de pathogeniciteit van *B. pilosicoli* voor mensen nog steeds niet onomstotelijk bewezen is, lijkt – bij gebrek aan het vinden van een andere oorzaak voor buikklachten – een proefbehandeling met tweemaal daags 500 mg metronidazol voor 10 dagen geïndiceerd.

Conclusie

Bij onze patiënt is nooit een andere verklaring voor de buikklachten gevonden dan de aanwezigheid van *Brachyspira pilosicoli*. Na behandeling met metronidazol (10 dagen lang 500 mg tweemaal daags) verdwenen de buikklachten en keerden ze niet terug.

Brachyspira-species komen bij zeer veel verschillende diersoorten voor. Een aantal *Brachyspira*-species zijn erkende pathogenen bij verschillende diersoorten zoals varkens en legpluimvee. Er zijn verschillende publicaties over intestinale spirochetten bij andere diersoorten: patrijzen, fazanten, herten, paarden en koeien.⁴⁹⁻⁵² Het is zeer waarschijnlijk dat er in de toekomst nog nieuwe

Tabel 2. Incidentie van intestinale spirochetten bij mensen in de literatuur, gegroepeerd naar BNP.

Groep	Colon biopten	Appendices	Feces*
Hoog BNP	0,0 – 9,0%	2,1 – 7,8%	1,1 – 6,0%
Gemiddeld BNP	13,3%	0,3 – 9,6%	–
Laag BNP	–	–	5,1 – 31,3%
Homoseksuelen	30,0 – 53,7%	–	33,8%

* Kweekdata van voor 1967 is onvermeld aangezien betrouwbare anaerobe kweektechnieken pas sinds de vroege jaren 70 algemeen toegankelijk werden.

Brachyspira-species aan deze grote familie toegevoegd worden.

B. pilosicoli infecteert vrijwel alle diersoorten waarin *Brachyspira*-species worden gevonden en is erkend als pathogeen bij varkens, kippen en honden. Ook bij de mens komt *B. pilosicoli* voor, maar hun pathogeniciteit is ondanks een aantal belangrijke aanwijzingen (nog) niet bewezen. Dit komt vermoedelijk doordat bij de mens een andere *Brachyspira*-species, namelijk *B. aalborgi*, veel vaker voorkomt. Omdat de diagnose HIS alleen gesteld wordt op histopathologisch onderzoek van colonbiopten, waarbij speciesonderscheid niet goed mogelijk is zonder gebruik te maken van aanvullende immunohistochemische technieken, is het pathogene potentieel van *B. pilosicoli* vermoedelijk nooit op waarde geschat.

Dankbetuiging

De auteurs willen graag hierbij drs. S.P.J. Krul van het Academisch Medisch Centrum bedanken voor zijn hulp in het vinden van enkele artikelen.

Referenties

1. Escherich T. Beiträge zur Kenntniss der Darmbakterien. *MMW Munch Med Wochenschr* 1886; 45(33):815-7.
2. Ochiai S, Adachi Y, Mori K. Unification of the genera *Serpulina* and *Brachyspira*, and proposals of *Brachyspira hyodysenteriae* Comb. Nov., *Brachyspira innocens* Comb. Nov. and *Brachyspira pilosicoli* Comb. Nov. *Microbiol Immunol*. 1997;41:445-52.
3. Hovind-Hougen K, Birch-Andersen A, Henrik-Nielsen R, et al. Intestinal spirochetosis: morphological characterization and cultivation of the spirochete *Brachyspira aalborgi* gen. nov., sp. nov. *J Clin Microbiol*. 1982;16:1127-36.
4. Werner H. Über Befunde von Darmspirochäten beim Menschen. *Centralbl f Bakt Orig* 1909; 1(lil):241-3.
5. Fantham HB. Observations on *Spirochaeta eurygyrata*, as found in human faeces. *BMJ*. 1916; 1:815-6.
6. Shera AG. Specific granular lesions associated with intestinal spirochaetosis. *The British journal of surgery* 1962;50:68-77.
7. Harland WA, Lee FD. Intestinal spirochaetosis. *BMJ*. 1967;3:718-9.
8. Henrik-Nielsen R, Lundbeck FA, Teglbjaerg PS, Ginnerup P, Hovind-Hougen K. Intestinal spirochetosis of the vermiform appendix. *Gastroenterology*. 1985;88:971-7.
9. Mazza S. Spiroquetosis apendiculares [Appendiceal spirochaetosis]. *La Prensa Médica Argentina*. 1930;17:464-8.
10. Westerman LJ. Human Intestinal Spirochaetosis. Utrecht: Utrecht University; 2013.
11. Tompkins DS, Waugh MA, Cooke EM. Isolation of intestinal spirochaetes from homosexuals. *J Clin Pathol*. 1981;34:1385-7.
12. Stanton TB, Hanzelka BL, Jensen NS. Survey of intestinal spirochaetes for NADH oxidase by gene probe and by enzyme assay. *Microbiol Ecol Health and Dis*. 1995;8:93-100.
13. Tachibana H, Nakamura S, Hampson DJ, Adachi Y. Proposal of *Brachyspira ibaraki* sp. nov. for Japanese human intestinal spirochetes. *Proceedings of the 17th International Pig Veterinary Society Congress*; 2002; Ames, IA, USA; 2002. p. 63.
14. Jensen TK, Boye M, Ahrens P, et al. Diagnostic examination of human intestinal spirochetosis by fluorescent in situ hybridization for *Brachyspira aalborgi*, *Brachyspira pilosicoli*, and other species of the genus *Brachyspira* (*Serpulina*). *J Clin Microbiol*. 2001;39:4111-8.
15. Pettersson B, Wang M, Fellstrom C, et al. Phylogenetic evidence for novel and genetically different intestinal spirochetes resembling *Brachyspira aalborgi* in the mucosa of the human colon as revealed by 16S rDNA analysis. *Syst Appl Microbiol*. 2000;23:355-63.
16. Taylor DJ, Simmons JR, Laird HM. Production of diarrhoea and dysentery in pigs by feeding pure cultures of a spirochaete differing from *Treponema hyodysenteriae*. *Vet Rec*. 1980;106:326-32.
17. Coene M, Agliano AM, Paques AT, et al. Comparative analysis of the genomes of intestinal spirochetes of human and animal origin. *Infect Immun*. 1989;57:138-45.
18. de Wergifosse P, Coene MM. Comparison of the genomes of pathogenic *treponemes* of human and animal origin. *Infect Immun*. 1989;57:1629-31.
19. Koopman MB, Kasbohrer A, Beckmann G, van der Zeijst BA, Kusters JG. Genetic similarity of intestinal spirochetes from humans and various animal species. *J Clin Microbiol*. 1993;31:711-6.
20. Lee JI, Hampson DJ. Genetic characterisation of intestinal spirochaetes and their association with disease. *J Med Microbiol*. 1994;40:365-71.
21. Stanton TB, Trott DJ, Lee JI, et al. Differentiation of intestinal spirochaetes by multilocus enzyme electrophoresis analysis and 16S rRNA sequence comparisons. *FEMS Microbiol Lett*. 1996;136:181-6.
22. Fellstrom C, Pettersson B, Uhlen M, Gunnarsson A, Johansson KE. Phylogeny of *Serpulina* based on sequence analyses of the 16S rRNA gene and comparison with a scheme involving biochemical classification. *Research in veterinary science*. 1995;59:5-9.
23. Trott DJ, McLaren AJ, Hampson DJ. Pathogenicity of human and porcine intestinal spirochetes in one-day-old specific-pathogen-free chicks: an animal model of intestinal spirochetosis. *Infect Immun*. 1995;63:3705-10.
24. Trott DJ, Stanton TB, Jensen NS, Duhamel GE, Johnson JL, Hampson DJ. *Serpulina pilosicoli* sp. nov., the agent of porcine intestinal spirochetosis. *Int J Syst Bacteriol*. 1996;46:206-15.
25. Hidalgo A, Rubio P, Osorio J, Carvajal A. Prevalence of *Brachyspira pilosicoli* and "*Brachyspira canis*" in dogs and their association with diarrhoea. *Vet Microbiol*. 2010;146:356-60.
26. Hampson DJ, Oxberry SL, La T. Potential for zoonotic transmission of *Brachyspira pilosicoli*. *Emerg Infect Dis*. 2006;12:869-70.
27. Jamshidi A, Hampson DJ. Experimental infection of layer hens with a human isolate of *Brachyspira pilosicoli*. *J Med Microbiol*. 2003;52:361-4.
28. Oxberry SL, Trott DJ, Hampson DJ. *Serpulina pilosicoli*, waterbirds and water: potential sources of infection for humans and other animals. *Epidemiol Infect*. 1998;121:219-25.
29. Mikosza AS, Munshi MA, Hampson DJ. Analysis of genetic variation in *Brachyspira aalborgi* and related spirochaetes determined by partial sequencing of the 16S rRNA and NADH oxidase genes. *J Med Microbiol*. 2004;53:333-9.
30. Trott DJ, Huxtable CR, Hampson DJ. Experimental infection of newly weaned pigs with human and porcine strains of *Serpulina pilosicoli*. *Infect Immun*. 1996;64:4648-54.
31. Atyeo RF, Oxberry SL, Hampson DJ. Pulsed-field gel electrophoresis for sub-specific differentiation of *Serpulina pilosicoli* (formerly '*Anguillina coli*'). *FEMS Microbiol Lett*. 1996;141:77-81.
32. Trott DJ, Mikosza AS, Combs BG, Oxberry SL, Hampson DJ. Population genetic analysis of *Serpulina pilosicoli* and its molecular epidemiology in villages in the eastern Highlands of Papua New Guinea. *Int J Syst Bacteriol*. 1998;48:659-68.
33. Trott DJ, Combs BG, Mikosza AS, et al. The prevalence of *Serpulina pilosicoli* in humans and domestic animals in the Eastern Highlands of Papua New Guinea. *Epidemiol Infect*. 1997;119:369-79.
34. Verlinden M, Pasmans F, Garmyn A, De Zutter L, Haesebrouck F, Martel A. Occurrence of viable *Brachyspira* spp. on carcasses of spent laying hens from supermarkets. *Food microbiology*. 2012;32:321-4.
35. Stanton TB, Humphrey SB, Sharma VK, Zuerner RL. Collateral effects of antibiotics: carbadox and metronidazole induce VSH-1 and facilitate gene transfer among *Brachyspira hyodysenteriae* strains. *Applied and environmental microbiology*. 2008;74:2950-6.
36. Mikosza AS, Hampson DJ. Human intestinal spirochetosis: *Brachyspira aalborgi* and/or *Brachyspira pilosicoli*? *Animal health research reviews / Conference of Research Workers in Animal Diseases* 2001;2:101-10.

37. Naresh R, Song Y, Hampson DJ. The intestinal spirochete *Brachyspira pilosicoli* attaches to cultured Caco-2 cells and induces pathological changes. *PLoS One* 2009;4(12):e8352.
38. Weisheit B, Bethke B, Stolte M. Human intestinal spirochetosis: analysis of the symptoms of 209 patients. *Scand J Gastroenterol.* 2007;42:1422-7.
39. Prim N, Pericas R, Espanol M, Rivera A, Mirelis B, Coll P. Bloodstream infection due to *Brachyspira pilosicoli* in a patient with multiorgan failure. *J Clin Microbiol.* 2011;49:3697-9.
40. Bait-Merabet L, Thille A, Legrand P, Brun-Buisson C, Cattoir V. *Brachyspira pilosicoli* bloodstream infections: case report and review of the literature. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2008;7:19.
41. Kanavaki S, Mantadakis E, Thomakos N, et al. *Brachyspira* (Serpulina) *pilosicoli* spirochetemia in an immunocompromised patient. *Infection.* 2002;30:175-7.
42. Brooke CJ, Margawani KR, Pearson AK, Riley TV, Robertson ID, Hampson DJ. Evaluation of blood culture systems for detection of the intestinal spirochaete *Brachyspira* (Serpulina) *pilosicoli* in human blood. *J Med Microbiol.* 2000;49:1031-6.
43. Trott DJ, Jensen NS, Saint Girons I, et al. Identification and characterization of *Serpulina pilosicoli* isolates recovered from the blood of critically ill patients. *J Clin Microbiol.* 1997;35:482-5.
44. Fournie-Amazouz E, Baranton G, Carlier JP, et al. Isolations of intestinal spirochaetes from the blood of human patients. *The Journal of hospital infection.* 1995;30:160-2.
45. Zeeshan M, Irfan S, Ahmed I. *Brachyspira* species blood stream infection. *JPMA The Journal of the Pakistan Medical Association.* 2009;59:723-4.
46. Tanahashi J, Daa T, Gamachi A, et al. Human intestinal spirochetosis in Japan; its incidence, clinicopathologic features, and genotypic identification. *Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 2008;21:76-84.
47. Carr NJ, Mahajan H, Tan KL, Sharma R. The histological features of intestinal spirochetosis in a series of 113 patients. *Int J Surg Pathol.* 2010;18:144-8.
48. Anthony NE, Blackwell J, Ahrens W, Lovell R, Scobey MW. Intestinal spirochetosis: An enigmatic disease. *Digestive diseases and sciences* 2012.
49. Shibahara T, Hikita M, Wada Y, et al. Intestinal spirochetosis in wild sika deer (*Cervus nippon yesoensis*) infected with *Brachyspira* species. *The Journal of veterinary medical science / the Japanese Society of Veterinary Science.* 2000;62:947-51.
50. Jansson DS, Brojer C, Gavier-Widen D, Gunnarsson A, Fellstrom C. *Brachyspira* spp. (Serpulina spp.) in birds: a review and results from a study of Swedish game birds. *Animal health research reviews / Conference of Research Workers in Animal Diseases* 2001;2:93-100.
51. Shibahara T, Kuwano A, Ueno T, et al. Immunohistochemical and ultrastructural detection of intestinal spirochetes in Thoroughbred horses. *Journal of veterinary diagnostic investigation: official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc* 2005;17:145-50.
52. Shibahara T, Wada Y, Sueyoshi M, Ohya T, Ishikawa Y, Kadota K. Bovine intestinal spirochaetosis with dysentery. *Vet Rec.* 2000;146:585-6.

Brucella – een vaak onverwachte verwekker van persisterende koorts

K. van Dijk, M.B.B. McCall, B.C.G.C. Slingerland, O. Pontesilli, M.J. Schijffelen, J. Jansen, B. Vlaminckx, J.E.M. de Steenwinkel

Samenvatting

Brucella-species zijn beduchte verwekkers van zoönotische infecties, die in Nederland alleen als importgevallen voorkomen. De klinische presentatie van brucellose is aspecifiek en een goede (reis)anamnese bij patiënten met onbegrepen koorts is van groot belang om de ziekte op het spoor te komen. Niet zelden betreft de microbiologische diagnose een toevallsbevinding. Hier beschrijven wij drie casus van brucellose en beschouwen wij de etiologie, epidemiologie, diagnostiek, behandeling en preventie van de ziekte. Bij klinische verdenking op brucellose bij een patiënt dient het medisch-microbiologisch laboratorium hierover altijd geïnformeerd te worden om potentiële laboratoriumbesmettingen te voorkomen.

Trefwoorden

Brucella, bacteriëmie, onbegrepen koorts

Abstract

Brucella-species are a notorious cause of zoonotic infections, which in the Netherlands only occur as imported cases. The clinical presentation of brucellosis is non-specific and a focused (travel) history is important to track down the disease in patients with unexplained fever. The microbiological diagnosis is not infrequently made coincidentally. Here we describe three cases of brucellosis and we discuss the etiology, epidemiology, diagnostic tools, treatment and prevention of this disease. Upon clinical suspicion of brucellosis in a patient, the medical microbiology laboratory should always be informed in order to prevent possible laboratory infections.

Inleiding

Een infectie met *Brucella* kenmerkt zich door langdurige koorts, maar kent verschillende klinische uitingsvormen. Omdat in Nederland infecties met *Brucella* niet vaak voorkomen, maar het wel belangrijk is om deze verwekker in de differentiaaldiagnose te hebben indien nodig, beschrijven wij drie casus van brucellose en beschouwen wij de etiologie, epidemiologie, diagnostiek, behandeling en preventie van de ziekte.

Casus A

Een 49-jarige Nederlandse patiënte presenteerde zich op de polikliniek interne geneeskunde met gedurende twee weken bestaande klachten van droge hoest, hoofdpijn, koorts tot 40°C, koude rillingen en transpireren in de ochtend. Verder was er sprake van verminderde eetlust en was zij ongeveer twee kilo afgevallen in twee weken. In haar directe omgeving waren geen zieken. Ze bezat geen huisdieren, maar gaf wel aan melk bij de boer te halen. Verder kwam zij regelmatig in Oost-Turkije, waarbij haar laatste bezoek drie maanden geleden was. Voor zover bekend was er geen tuberculose (tbc)-contact geweest en zij had naar eigen zeggen geen risico gelopen op seksueel overdraagbare aandoeningen (soa). De verdere tractusanamnese leverde geen bijzonderheden op. In de voorgeschiedenis had zij een pacemakerimplantatie in 1981 in verband met atrioventriculair (AV) -blok na ablatie van de bundel van His in verband met AV-nodale re-entrytachycardie.

Het lichamelijk onderzoek was niet afwijkend, behalve een iets drukpijnlijke bovenbuik rechts.

Het bloedbeeld was niet afwijkend, met een hemoglobine van 8,5 mmol/l (normaalwaarden 7,0-9,3 mmol/l), leukocyten van $3,9 \times 10^6/l$ ($2,5-8,2 \times 10^6/l$) en trombocyten van $150 \times 10^6/l$ ($150-350 \times 10^6/l$). De leverenzymen waren verhoogd, met onder andere een alanineaminotransferase (ALAT) van 194 U/l (< 34 U/l), een gammaglutamyltransferase (γ GT) van 146 U/l (< 38 U/l) en een lactaatdehy-

Dr. M.B.B. McCall, B.C.G.C. Slingerland, dr. J.E.M. de Steenwinkel, afdeling Medische Microbiologie en Infectieziekten, Erasmus MC, Rotterdam, dr. O. Pontesilli, Laboratorium Medische Microbiologie, Maasstadziekenhuis, Rotterdam, M.J. Schijffelen, dr. B. Vlaminckx Laboratorium Medische Microbiologie en Immunologie, St Antoniusziekenhuis, Nieuwegein, J. Jansen, afdeling Interne Geneeskunde, St Antoniusziekenhuis, Nieuwegein. Correspondentieadres: dr. K. van Dijk, afdeling Medische Microbiologie, Academisch Medisch Centrum, Laboratorium Medische Microbiologie en Immunologie, St Antoniusziekenhuis, Nieuwegein, e-mailadres: K.vanDijk@amc.uva.nl.

drogenase (LDH) van 572 U/l (< 247 U/l), maar met een normaal totaalbilirubine van 10 µmol/l (1-17 µmol/l). Het C-reactieve proteïne (CRP) was met 25 mg/l (< 10 mg/l) licht verhoogd, het thyroïdstimulerend hormoon (TSH) was normaal en de nierfunctie was ongestoord. De X-thorax toonde geen afwijkingen.

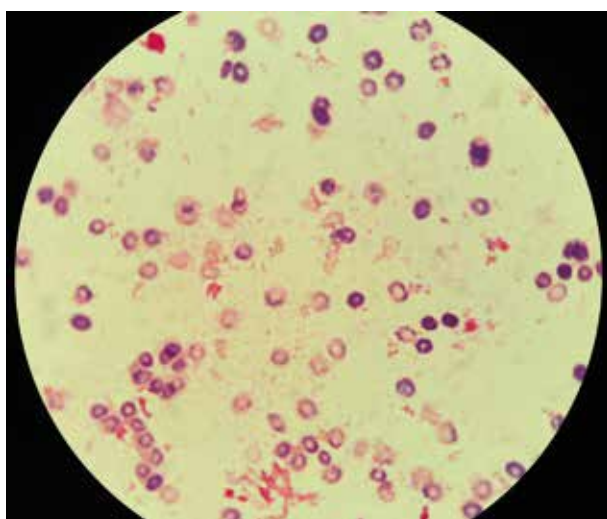
Differentiaaldiagnostisch werd gedacht aan een atypische pneumonie, virale hepatitis, respiratoir virus, of primo CMV- of EBV-infectie en diagnostiek hiervoor werd ingezet.

Patiënte werd zes dagen later poliklinisch teruggezien en had toename van de malaiseklachten en van de droge hoest en was daarbij sneller kortademig. Haar eetlust was nog steeds minimaal en ze was verder afgevallen. Tevens had zij een zeurende pijn boven in haar buik rechts, hevige hoofdpijn, myalgie en artralgie. Bij lichamelijk onderzoek was er sprake van een pijnlijke cervicale lymfadenopathie rechts. Overig lichamelijk onderzoek was niet afwijkend. Laboratoriumonderzoek toonde een bloedbeeld dat niet afwijkend was, behalve een iets verlaagd trombocytengetal van $138 \times 10^9/l$. Daarnaast waren de leverenzymafwijkingen iets afgenomen. Het CRP was nu 33 mg/l en het albumine was normaal 37,4 g/l (25-55 g/l).

Op verdenking van een endocarditis lenta werden bloedkweken afgenomen en er werd een interferon-gamma release assay (IGRA) voor tbc ingezet. Een opname ter analyse van de koorts met echo abdomen en HR-CT van de thorax werd gepland.

Drie dagen na het inzetten van de bloedkweek werd een van de twee flesjes positief met kleine gramnegatieve staafjes (figuur 1). Daarop werd differentiaaldiagnostisch gedacht aan een infectie met *Brucella* spp. of een bacterie uit de HACEK-groep (*Haemophilus aphrophilus*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens*, *Kingella kingae*). Gezien het

Figuur 1. Grampreparaat van de bloedkweek van casus A.



recente bezoek aan Oost-Turkije was de verdenking op *Brucella* spp. het hoogst en werd in afwachting van verdere determinatie gestart met doxycycline 2 dd 100 mg en rifampicine 1 dd 600 mg p.o. De volgende dag bleek het verkregen eiwitspectrum in de Maldi-ToF-MS (Bruker, Duitsland) een betrouwbare identificatie te geven voor *Brucella melitensis*. Hierop werd de GGD ingelicht. De serologie, bepaald door middel van de reactie van Bang, een serumagglutinatie test, was positief met een titer van 1:320 ($\geq 1:80$).¹ Gezien de positieve bloedkweek en de pacemaker in de voorgeschiedenis werd een TEE verricht. Deze toonde een mobiele structuur op de uiteinden van de pacemakerdraden en mogelijk ook afwijkingen van de mitralisklep en de aortaklep. Hierop werd gentamicine aan de behandeling toegevoegd in verband met de werkdiagnose *Brucella* endocarditis. Patiënte werd ingepland voor verwijdering van de pacemakerdraden en operatieve exploratie van de hartkleppen.

Twee weken na opname werden de pacemakerdraden operatief verwijderd via een mini-thoracotomie. Peroperatief werden geen afwijkingen aan de hartkleppen gezien en daarom werd afgezien van klepvervangings. Na ontslag werd patiënte nog zes weken behandeld met doxycycline en rifampicine p.o., waarmee haar klachten verdwenen.

Casus B

Een 18-jarige man van Turkse afkomst presenteerde zich met koorts en buikpijn. Hij was sinds enkele maanden onder analyse in een ander ziekenhuis in verband met *febris e.c.i.*. Patiënt had koortsaanvallen tot 38,7°C die enkele dagen aanhielden alvorens weer één tot twee weken te verdwijnen. Daarbij was hij toenemend vermoeid en sinds het begin van de klachten (circa negen maanden) 10 kg afgevallen. Tevens zou er eenmalig sprake zijn geweest van passagère diplopie. Omdat de verdenking op familiale mediterrane koorts (FMF) was uitgesproken, was de patiënt recent naar Turkije afgereisd voor een second opinion, waarvan de uitslag nog niet bekend was. Vlak na terugkomst in Nederland presenteerde hij zich met progressieve pijn in de onderbuik rechts, koorts, misselijkheid en braken (gallig, zonder bloed). De patiënt ontkende wisselende of onveilige seksuele contacten en had behalve in Turkije nooit buiten Europa gereisd. Hij was werkzaam als stagiair in de detailhandel en vermeldde geen noemenswaardige dierencontacten. Er waren geen zieken in zijn omgeving. Familieanamnese vermeldde consanguïene ouders en een tante met FMF.

Tijdens het eerste consult werd een zieke bleke, jongeman gezien met een temperatuur van 38,6°C. Lichamelijk onderzoek was niet afwijkend, behalve druk- en loslaatpijn van de onderbuik rechts. Neurologisch onderzoek leverde geen bijzonderheden op. Laboratoriumonderzoek toonde een hemoglobine van 6,9 mmol/l (8,6-10,5 mmol/l)

en een relatieve leukopenie ($4,8 \times 10^6/l$ ($3,5-10,0 \times 10^6/l$). Trombocyten waren $180 \times 10^6/l$ ($150-370 \times 10^6/l$) en de ontstekingsparameters waren sterk verhoogd met een CRP van 299 mg/l (0,0-9,0 mg/l) en een bezinking (BSE) van 52 mm/uur (0-14 mm/u). Het ferritine was 418 µg/l (30-240 µg/l). De lever- en de nierfunctie waren niet afwijkend. CT-scan van de thorax en het abdomen toonde een verdikte appendix met appendicoliet, beginnende abcesvorming en multipale vergrote lokale lymfeklieren. Op verdenking van een geperforeerde appendicitis onderging de patiënt een laparoscopische appendectomie. Uit peroperatief afgenomen kweken van buikvocht groeiden een *E. coli* en een *S. anginosus*. Gezien het aanvankelijk gunstige postoperatieve beloop werd hij in afwachting van de uitslagen van de ingezette diagnostiek naar chronische koorts naar huis ontslagen. Enkele dagen later werd patiënt heropgenomen in verband met koorts. Bij beeldvorming werd een restabces geconstateerd in het cavum Douglasi, dat echogeleid werd gedraineerd. Uit dit materiaal werden een *E. coli* en een *S. constellatus* gekweekt. Kweken op *M. tuberculosis* uit het oorspronkelijke buikvocht en drie opeenvolgende sputummonsters waren negatief na een incubatieperiode van zes weken.

Ongeveer tegelijk werd bekend dat de *Brucella*-serologie, ingezet in het kader van de chronische koorts, positief was: de directe agglutinatie-test (DAT)-titer was 1:640 en de titer van de complementbindingsreactie (CBR) was > 1:128. Hierop werd gestart met gentamicine 1 dd 5 mg/kg i.v. en doxycycline 2 dd 100 mg p.o. en werd de GGD ingelicht. Vanwege de eerder vermelde episode van diplopie werd de neuroloog in consult gevraagd en werd een lumbaalpunctie verricht. In de liquor werd een pleiocytose (leukocyten $36 \times 10^6/l$) geconstateerd met verlaagd glucose van 2,4 mmol/l (2,4-3,7 mmol/l) en verhoogd eiwit van 0,59 g/l (0,18-0,58 g/l). De CBR voor antistoffen tegen *Brucella* spp. was positief (titer 1:32) in de liquor en uit de liquorweek groeide *B. melitensis*, die werd gedetermineerd via Maldi-ToF-MS. Vanwege de diagnose neurobrucellose werd de antibiotische behandeling aangepast in ceftriaxon 2 dd 2 gr i.v. voor de duur van twee maanden, plus doxycycline 2 dd 100 mg en rifampicine 1 dd 600 mg p.o. voor de duur van vier maanden. Na enkele dagen kon de patiënt worden ontslagen, met continuering van behandeling in de thuissituatie.

Casus C

Een 69-jarige Turkse man presenteerde zich met flankpijn aan de linkerzijde sinds enkele maanden, urge-incontinentie en verminderde eetlust. Sinds enkele maanden was er tevens sprake van conditionele achteruitgang, koorts en nachtzweeten. De patiënt was zes maanden per jaar woonachtig in Turkije. De overige anamnese leverde geen bijzonderheden op. De voorgeschiedenis van de patiënt vermeldde diabetes mellitus type II, nefroli-

thiasis links, hypercholesterolemie, hypertriglyceridemie, radiculair syndroom linkerbeen, prostaatresectie vanwege een prostaatacarcinoom en orchidectomie in 2010.

Bij het lichamelijk onderzoek werd diffuse drukpijn in de onderbuik en een systolische soufflé graad 2/6, punctum maximum tweede intercostaal rechts gevonden.

Het bloedbeeld toonde een hemoglobine van 5,1 mmol/l (8,6-10,5 mmol/l). De BSE en het CRP waren verhoogd (61 mm/uur (0-14 mm/u) en 47 mg/l (0-9 mg/l), respectievelijk). Het creatinine was verhoogd, 224 µmol/l (65-115 µmol/l). De leverenzymen bleken alle verhoogd: het ALAT bedroeg 95 U/l (0-44 U/l), γGT was 147 U/l (0-54 U/l) en LDH 315 U/l (0-247 U/l). Op basis van de klachten en de verhoogde ontstekingsparameters werden bloed- en urinekweken afgenomen.

Een CT van het abdomen twee weken vóór presentatie toonde een beeld mogelijk passend bij pyelonefritis. Vanwege deze verdenking werd behandeling ingezet met amoxicilline 3 dd 1000 mg i.v. op grond van eerdere urinekweekuitslagen (*E. faecalis*).

In verband met aanhoudende koorts werd het antibiotisch beleid tijdelijk verbreed naar piperacilline-tazobactam i.v.. Een echo van het abdomen toonde inderdaad een beeld passend bij pyelonefritis en de urinekweek werd opnieuw positief met *E. faecalis*. Drie dagen na de afname van bloedkweken werden deze echter positief met kleine gramnegatieve staven. Middels Maldi-ToF-MS werd *Brucella melitensis* aangetoond. Derhalve werd onmiddellijk gestart met rifampicine 1 dd 600 mg en doxycycline 2 dd 100 mg p.o. en werd de GGD ingelicht.

De nierfunctie verslechterde tijdens opname dusdanig met daarbij een beeld van decompensatio cordis, dat ervoor werd gekozen de patiënt over te plaatsen naar het Erasmus MC. De conditie van de patiënt ging verder achteruit waardoor hij een week na de overplaatsing moest worden gedialyseerd. Vervolgbloedkweken zijn niet positief geworden. In verband met de cardiale soufflé in combinatie met de *Brucella*-bacteriemie werd een echo cor gepland en de patiënt werd twee weken later in goede conditie uit het ziekenhuis ontslagen. Twee dagen na ontslag belandde hij in een reanimesetting, waarvoor opname op de IC volgde. De CT-thorax liet een beeld zien van een longembolie. Gedurende de opname scoorde de patiënt neurologisch voornamelijk E1M1V1. Een echo cor werd niet meer verricht in verband met zijn slechte neurologische status. Elf dagen na de reanimatie en zonder enige neurologische vooruitgang, werd besloten een abstinereend beleid te voeren. Een dag later is de patiënt overleden. Er werd geen obductie verricht.

Bij nadere anamnese bleek patiënte A in Oost-Turkije een slagerij te hebben bezocht waar hele kadavers aanwezig waren en op boerderijen in Nederland ongepasteuriseerde melk te hebben gedronken. Patiënt B meldde bij navraag

dat hij in het verleden bij familieleden in Turkije zelfge-
maakte schapenkaas van rauwe melk had genuttigd. Patiënt C bleek in Turkije kaas te laten importeren vanuit
Nederland, maar hij had geen contact gehad met dieren en
gebruikte geen ongepasteuriseerde zuivelproducten.

Beschouwing

Deze casus laten zien dat er géén ‘typische’ presentatie
is van brucellose en dat er bij patiënten met aspecifieke
klachten ook aan een infectie met *Brucella* spp. moet
worden gedacht. Een goede anamnese, inclusief reisa-
namnese, is daarbij van groot belang.

Het ziektebeeld brucellose werd voor het eerst beschreven
in 1861 door Marston, die op Malta verantwoordelijk was
voor de gewonden en zieken van de Krimoorlog, zelf ziek
werd en zijn eigen ziektebeeld gedetailleerd versloeg.²
De verwekker van brucellose is in 1887, eveneens op
Malta, voor het eerst geïsoleerd door Bruce, waarna
de bacterie naar hem werd genoemd.³ *Brucella*-species
zijn kleine aerobe, facultatief intracellulaire, gramnega-
tieve coccoïde staven en hebben als natuurlijke gastheer
verschillende (landbouw)dieren. Vier soorten kunnen
zoönotische infecties veroorzaken bij de mens, in volgorde
van afnemende pathogeniciteit: *B. melitensis* (bij geiten/
schapen), *B. suis* (varkens), *B. abortus* (runderen) en *B.*
canis (honden).

Epidemiologie

Hoewel brucellose wereldwijd de meest voorkomende
zoönotische infectie is (incidentie > 500.000/jaar), komt
deze infectie in Nederland alleen als importziekte voor.^{4,5}
De voornaamste reden hiervoor is dat de Nederlandse
veestapel sinds respectievelijk 1993, 1973 en 1999 vrij
is verklaard van *B. melitensis*, *B. suis* en *B. abortus*.
Nog altijd wordt steekproefsgewijs serologisch gecontro-
leerd op antistoffen tegen *Brucella* spp. in monsters van
landbouwhuisdieren. Ter voorkoming van nieuwe gevallen
is het verboden om varkens te voeren met keuken- of
vleesafval (‘swill feeding’). Hoewel er een veterinair
vaccin bestaat tegen brucellose, mag dit in Nederland niet
worden gebruikt, om de serologische diagnostiek bij en
daarmee de *Brucella*-vrije status van de veestapel niet te
vertoebelen. Brucellose komt voor in delen van Afrika,
Zuid- en Midden-Amerika, het Midden-Oosten, Azië,
maar ook in Zuid-Europa.⁵ Zo is de dierpopulatie van
een aantal Mediterrane landen, zoals Spanje, Portugal,
Zuid-Italië, Griekenland en Turkije niet vrij van *Brucella*
spp. Brucellose is een meldingsplichtige infectieziekte uit
groep C.

De incidentie in Nederland is gemiddeld vier humane
gevallen per jaar (range 1-10), waarbij de importgevallen
vooral in Turkije en andere landen in het Midden-Oosten
worden besmet.⁵ Een infectie wordt meestal opgelopen

door de consumptie van ongepasteuriseerde zuivelpro-
ducten, maar jagers, boeren, dierenartsen, slachters en
slagers kunnen ook worden geïnfecteerd door contact
met geïnfecteerde dieren of hun secreties. Daarnaast
kunnen laboratoriummedewerkers worden geïnfecteerd
door inhalatie van gecontamineerde aerosol en van een in
kweek gebrachte *Brucellae*.^{6,7} Mens-op-menstransmissie
(via bloed- of weefseltransplantatie, seksueel contact of
borstvoeding) is gesuggereerd maar lijkt zeer zeldzaam.

Kliniek

Brucellose uit zich een week tot twee maanden na
besmetting met meestal een sluipend begin met koorts,
malaise, nachtzweeten en gewichtsverlies. De ziekte kan
echter ook acuut beginnen. Karakteristiek is een golvend
koortspatroon (febris undulans), maar ook hoofdpijn,
moeheid en depressie kunnen optreden. In 10-20% van de
gevallen treedt lymfadenopathie op en bij 20-30% hepato-
splenomegalie. Endocarditis is een beruchte complicatie
en komt in minder dan 2% van de gevallen voor, met
name van de aortaklep, zowel bij natieve kleppen als bij
kunstkleppen. Bij zwangeren is er een verhoogde kans
op abortus. Daarnaast kunnen onder andere spondylodis-
citis,⁸ artritis,⁹ pericarditis, glomerulonefritis, meningo-
encefalitis, orchitis en mycotische aneurysmata optreden.
Bij 5-10% van de patiënten treedt drie tot zes weken na
behandeling een opleving van de ziekte op door persiste-
rende foci in bot, milt, lever of andere organen. Ondanks
de mogelijke complicaties is de mortaliteit van brucellose
laag (< 1%),¹⁰ waarbij endocarditis het hoogste risico op
overlijden geeft.¹¹

Diagnostiek

Omdat de klachten van brucellose niet specifiek zijn, is het
belangrijk om een gedetailleerde anamnese af te nemen.
Bezoek aan endemische gebieden, eten van ongepasteu-
riseerde zuivelproducten, contact met landbouwhuis-
dieren en beroep moeten zeker worden uitgevraagd. De
diagnose is zeker als er *Brucella* spp. wordt gekweekt
uit bloed, beenmerg of ander weefsel. Snelle geautoma-
tiseerde determinatiesystemen zijn niet altijd toegerust
om *Brucella* spp. te detecteren. Daarom moet bij deter-
minatie van kleine gramnegatieve staven, die met de
routinedatabases van de in Nederland gebruikte Maldi-
ToF-massaspectrometersystemen geen betrouwbare identi-
ficatie geeft, gedacht worden aan *Brucella*.¹² In verband met
de Amerikaanse en Duitse wetgeving waren eiwitspectra
van bacteriën, die met bioterrorisme worden geassocieerd,
niet opgenomen in de routinedatabases.¹³ Inmiddels
kan na goedkeuring door de FDA een aanvullende
database worden aangeschaft, waarin de eiwitspectra van
Bacillus anthracis, *Brucella* spp., *Burkholderia pseudomallei*
en *Francisella tularensis* zijn opgenomen. Indien deze
database (bioterrorismedatabase) is toegevoegd aan de

Maldi-ToF-MS, kunnen *Brucella* spp. wel worden gedetermineerd. Naast kweek kan serologie worden gedaan om antistoffen tegen *Brucella* aan te tonen, via de DAT, CBR of de klassieke Rose-Bengal-kaarttest; nieuwere enzymimmunoassay (EIA)- en immunochromatografie (snell)-testen zijn ook beschikbaar. In de meeste Nederlandse laboratoria wordt de DAT uitgevoerd, ook wel bekend als de reactie van Bang. Deze Deense arts isoleerde in 1895 de verwekker uit de placenta van koeien die aan infectieuze abortus leden.¹ Seroconversie voor IgM treedt doorgaans op binnen één week van acute *Brucella*-infectie (piek na vier weken) en voor IgG vanaf de tweede week na infectie.¹⁴ Gebruikelijk wordt de diagnose brucellose gesteld via een (meer dan) viervoudige DAT-titerstijging of een eenmalig hoge ($\geq 1:160$) DAT-titer. Door kruisreactie tussen hun smooth lipopolysaccharides (sLPS) is er met de oudere serologische assays géén onderscheid te maken tussen infecties met *B. melitensis*, *B. suis* en *B. abortus*. Tevens kan door IgM-antistoffen kruisreactie ontstaan met onder meer *V. cholerae*, *F. tularensis*, *Y. enterocolitica* O:9 en *E. coli* O116 & O157.¹⁵ Fout-negatieve reacties kunnen ontstaan door het prozone-fenomeen. Naast kweek en serologie is moleculaire diagnostiek mogelijk, in de vorm van een PCR die beschikbaar is bij het RIVM.

Therapie

Om opleving van de ziekte te voorkomen, wordt aangeraden om antibiotische combinatietherapie toe te passen. Bij een ongecompliceerde infectie kan orale therapie worden gegeven met doxycycline 2 dd 100 mg en rifampicine 1 dd 600 mg p.o. gedurende zes weken. Een alternatief is gentamicine 1 dd 5 mg/kg i.v. en doxycycline p.o. Bij gecompliceerde infecties wordt aangeraden om doxycycline te combineren met twee of meer andere middelen. In geval van een endocarditis lijkt toevoeging van een aminoglycoside aan de behandeling met rifampicine en doxycycline een beter resultaat te geven^{16,17} en bij neurobrucellose wordt minimaal vier weken therapie met ceftriaxon 2 dd 2 gr i.v. in combinatie met vier tot zes maanden rifampicine en doxycycline p.o. geadviseerd.¹⁸

Laboratoriumbesmetting

Omdat *Brucella* een besmettingsrisico vormt voor laboratoriumpersoneel, is het essentieel dat behandelend artsen het vermoeden op een *Brucella*-infectie bij hun patiënt melden aan het laboratorium, zodat adequate veiligheidsmaatregelen kunnen worden genomen. Het risico op een laboratoriumbesmetting is het hoogst bij (rein)kweken van de bacterie, maar ook besmetting door spataccidenten of aerosolvorming van primaire (vloeibare) patiëntmaterialen is beschreven. Daarom is het belangrijk dat verdacht materiaal altijd in een flowkast wordt ingezet onder minimaal BSL-2-omstandigheden en dat (rein) kweken van *Brucella*-species onder BSL-3-omstandigheden

verder worden verwerkt. Ook voor *Brucella*-verdachte kweken (bijvoorbeeld kleine, traaggroeiende gramnegatieve staven) zouden onder BSL-3-omstandigheden moeten worden behandeld totdat determinatie mogelijk is. Indien er toch onbeschermd contact heeft plaatsgevonden zal een risico-inschatting per medewerker moeten worden gemaakt. Zo nodig zal worden geadviseerd om postexpositie profylaxe (PEP) te starten met daarnaast het vervolgen van serologische titers tot 6 maanden of meer na blootstelling. Deze PEP bestaat uit doxycycline 2 dd 100 mg en rifampicine 1 dd 600 mg voor drie tot zes weken.^{5,19} In een schriftelijke enquête onder Spaanse microbiologen, meldde 12% van 628 respondenten ooit een *Brucella*-infectie te hebben opgelopen.²⁰ In 80% van deze gevallen bleken veiligheidsvoorschriften te zijn genegeerd. In Nederland, waar de incidentie beduidend lager is, werden tussen 2001 en 2006 twee gevallen van laboratoriumbesmetting gemeld bij het RIVM. Het is echter onduidelijk hoeveel medewerkers PEP aangeboden hebben gekregen, aangezien de (CDC) richtlijnen hierover pas in 2006 verschenen.^{21,22}

Conclusie

Brucellose komt in Nederland alleen voor als importziekte, maar de drie casus in dit artikel laten zien dat het belangrijk is om deze ziekte te overwegen bij patiënten met persisterende koorts. Een gedetailleerde reis-, beroeps-, en voedselanamnese is belangrijk voor het stellen van de diagnose. Het is raadzaam om bij een positieve bloedkweek met *Brucella* een echo van het hart te maken, omdat endocarditis een beruchte complicatie van brucellose is, die zelfs bij natieve kleppen kan optreden. Het is essentieel om het microbiologisch laboratorium in te lichten van een verdenking op brucellose, omdat dan tijdig de nodige voorzorgsmaatregelen kunnen worden genomen om besmetting van het laboratoriumpersoneel te voorkomen.

Referenties

1. Bang B. Die Aetiologie des seuchenhaften ("infectiösen") Verwerfens. Zeitschrift für Tiermedizin. 1897;1:241-78.
2. Marston JA. Report on fever (Malta). Army Medical Department Reports. 1861;3:486-521.
3. Bruce D. Observations on Malta fever. Br Med J. 1889;1101-5.
4. Pappas G, Papadimitriou P, Akritidis N, Christou L, Tsianos EV. The new global map of human brucellosis. Lancet Infect Dis 2006;6:91-9.
5. RIVM/LCI. Brucellose. 2012: http://www.rivm.nl/dsresource?objectid=rivmp:5448&type=org&disposition=inline&ns_nc=1.
6. Young EJ. Human brucellosis. Rev Infect Dis. 1983;5:821-42.
7. Young EJ. Brucella. In: Mandell GLD, Douglas JE, Dolin R. Principles and practice of infectious diseases. 7th ed. Philadelphia: Elsevier Inc.; 2010. p. 2921-6.
8. Kant GD, van Lijf JH, Karthaus RP. Spondylodiscitis door *Brucella suis*. Ned Tijdschr Geneesk. 1994;138:2584-7.
9. Ewals JA. Brucellose als importziekte bij een jonge man met artritis. Ned Tijdschr Geneesk. 2005;149:2810-4.

10. Colmenero JD, Reguera JM, Martos F, Sanchez-De-Mora D, Delgado M, Causse M, et al. Complications associated with *Brucella melitensis* infection: a study of 530 cases. *Medicine*. 1996;75:195-211.
11. Keshtkar-Jahromi M, Razavi SM, Gholamin S, Keshtkar-Jahromi M, Hossain M, Sajadi MM. Medical versus medical and surgical treatment for brucella endocarditis. *Annals Thorac Surg*. 2012;94:2141-6.
12. Kaan JA. Is de Maldi wel altijd tof? *NTMM*. 2013;21(3).
13. Cunningham SA, Patel R. Importance of using Bruker's security-relevant library for Biotyper identification of *Burkholderia pseudomallei*, *Brucella* species, and *Francisella tularensis*. *J Clin Microbiol*. 2013;51:1639-40.
14. Sisirak M, Hukic M, Knezevic Z. Evaluation of some diagnostic methods for the brucellosis in humans – a five year study. *Prilozi*. 2010;31:91-101.
15. Pappas G, Akritidis N, Bosilkovski M, Tsianos E. Brucellosis. *N Engl J Med*. 2005;352:2325-36.
16. Koruk ST, Erdem H, Koruk I, Erbay A, Tezer-Tekce Y, Erbay AR, et al. Management of *Brucella* endocarditis: results of the Gulhane study. *Int J Antimicrob Agents*. 2012;40:145-50.
17. Skalsky K, Yahav D, Bishara J, Pitlik S, Leibovici L, Paul M. Treatment of human brucellosis: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Br Med J*. 2008;336:701-4.
18. Erdem H, Ulu-Kilic A, Kilic S, Karahocagil M, Shehata G, Eren-Tulek N, et al. Efficacy and tolerability of antibiotic combinations in neurobrucellosis: results of the Istanbul study. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56:1523-8.
19. Reddy S, Manuel R, Sheridan E, Sadler G, Patel S, Riley P. Brucellosis in the UK: a risk to laboratory workers? Recommendations for prevention and management of laboratory exposure. *J Clin Pathol*. 2010;63:90-2.
20. Bouza E, Sanchez-Carrillo C, Hernangomez S, Gonzalez MJ, Spanish Co-operative Group for the Study of Laboratory-acquired B. Laboratory-acquired brucellosis: a Spanish national survey. *J Hosp Infect*. 2005;61:80-3.
21. Centre for Disease Control and Prevention. Laboratory-acquired Brucellosis-Indiana and Minnesota, 2006. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2008;18:39-42.
22. Yagupsky P, Baron EJ. Laboratory exposures to brucellae and implications for bioterrorism. *Emerg Infect Dis*. 2005;11:1180-5.

Regulatoire aspecten bij de ontwikkeling van antibiotica voor multiresistente bacteriën (3)

A. Vollaard, B. Voordouw

In de vorige twee columns (in *NTMM* 3 en 4) werd ingegaan op het registratieproces van (nieuwe) antibiotica en de noodzaak tot aanpassing daarvan in verband met de groeiende problematiek van antimicrobiële resistentie (AMR). In deze column leest u een verslag van een bijeenkomst van de eerdergenoemde werkgroep van alle stakeholders in dit proces. Op 8 november 2013 vond op het kantoor van de European Medicines Agency (EMA) in Londen een conferentie plaats onder de titel 'Best use of medicines legislation to bring new antibiotics to patients and combat the resistance problem'. Aanwezig waren regulatoire autoriteiten, zowel van nationale agentschappen (zoals het CBG) als vanuit EMA en FDA, en vertegenwoordigers van de Europese commissie, farmaceutische industrie, patiëntengroepen, Infectious Diseases Society of America (IDSA), ziektekostenverzekeraars (onder meer CVZ), ministeries van volksgezondheid, WHO, ESCMID, ECDC, artsensorganisatie en de veterinaire sector.

Toename van AMR en het ontbreken van prudent gebruik van antibiotica

De ECDC schetste het huidige klimaat van resistentie met bekende cijfers van 25.000 doden per jaar door multi-drugresistente (MDR) bacteriën in de EU en 900 miljoen euro extra ziekenhuiskosten. Om prudent gebruik van antibiotica te stimuleren heeft de ECDC jaarlijks een Antibiotic Awareness Day geïnitieerd. Op een willekeurige dag krijgt 33% van de patiënten in een Europees ziekenhuis een antibioticum toegediend en wordt bij 59% van de patiënten meer dan één dag perioperatieve profylaxe gegeven. Ondanks de toename van AMR hebben maar 14 van de 34 landen richtlijnen voor alle Grote Vijf van hospital-acquired infecties (huid- en wekedeleninfecties (SSI), ventilatorgeassocieerde pneumonie (VAP), katetergeassocieerde urineweginfecties (CAUTI), centrale lijngeassocieerde bacteriëmie (CLABSI) en *Clostridium difficile*-infecties).

Politieke klimaat

Vanuit de Europese Commissie werd geschetst hoe al vanaf 2011 een AMR Actieplan is geadopteerd, waarin humane en veterinaire aspecten moeten samenkomen.

Dit 'European Commission Action Plan against the rising threats from antimicrobial resistance' hoopt dat op Europees niveau belangrijke stappen worden genomen: bij prudent gebruik van antibiotica bij dier en mens, bij de preventie van verspreiding van infecties, bij de ontwikkeling van nieuwe antibiotica, samenwerking met internationale partners om het risico van AMR beheersbaar te houden, en om surveillance, opleiding en research – onder meer naar snellere diagnostiek – te promoten. Sinds 1999 heeft de EU 800 miljoen euro besteed aan onderzoek en projecten in dit kader, waaronder het Innovative Medicines Initiative (IMI), dat synergie stimuleert tussen publieke en private partners in het 'New Drugs for Bad Bugs' programma. Naast het zoeken naar nieuwe antibiotica in combinatie met de farmaceutische industrie via IMI wil men ook klinische studies met oude antibiotica zoals colistine en met bacteriofagen bij bijvoorbeeld infecties van brandwonden financieren. Hierin wordt al actief gekeken naar mogelijke regulatoire acceptatie van onderzoeksvoorstellen en de mogelijke condities voor goedkeuring. 'Horizon 2020' continueert dit financiële initiatief vanuit de EU vanaf 2014.

Regulatoire aspecten

Vanuit de EMA werd belicht hoe het regulatoire deel zich heeft ontwikkeld sinds 2012 met een kernrichtlijn voor evaluatie van antibiotica, een verdere uitwerking in een Addendum in 2013 met daarin opening voor enerzijds een pathogeenspecifieke goedkeuring' vooral op het terrein van 'unmet medical need' en anderzijds de ontwikkeling van een richtlijn voor vereiste minimale PK/PD-gegevens voor nieuwe antibiotica die in 2014 wordt opgesteld. Daarbij is er meer flexibiliteit ook voor eventuele postregistratie-observaties en is er overlap met FDA-criteria voor studie-

A. Vollaard, klinisch beoordelaar anti-infectiva, FT4, CBG, internist-infectioloog LUMC.

Correspondentieadres: B. Voordouw, klinisch senior speerpuntbeoordelaar, anti-infectiva, farmacotherapeutische groep. IV, CBG; AIOS medische microbiologie LUMC, e-mail: ac.voordouw@cbg-meb.nl.

design, inclusiecriteria en selectie van grenzen voor non-inferioriteit, zodat er geen afzonderlijk Amerikaans én Europees ontwikkelingstraject voor deze antibiotica nodig is. Bovendien zal na het goedkeuren van één middel voor een ‘unmet medical need’ dezelfde preferentiële regulatoire benadering worden gehanteerd, ook voor de antibiotica die daarna ter registratie worden aangeboden, om ook alternatieven als reservemiddelen te ontwikkelen.

Ontwikkeling en financiering

De ontwikkeling van nieuwe antibiotica is lastig, omdat de ontwikkeling ervan niet gepaard zal gaan met een streven naar maximale verkoop, zoals bij veel andere medicijnen wel het geval is. De prijs van nieuwe antibiotica zal dus fors zijn in verband met verwachte lage omzet. De industrie vreest dat studiekosten astronomisch zullen worden als standardeisen voor registratie blijven gelden. Een standaardstudie met circa 1000 patiënten kost nu 50 tot 70 miljoen dollar. Als zeldzame MDR-infecties – die nu geen behandelingsopties meer hebben – moeten worden onderzocht, gaan die kosten nog verder omhoog door de noodzaak van multicenter design en trage inclusie van patiënten. In Europa wordt nog niet door ziektekostenverzekeringen vooruitgedacht of deze nieuwe antibiotica wel mogen worden vergoed, waardoor de afzetmarkt onzeker blijft. Ook is er grote behoefte aan betere en snellere diagnostiek om resistentie vast te stellen. Hierbij blijft voor studies van belang om in ieder geval 24 uur antibioticagebruik voorafgaand aan studie-inclusie te blijven tolereren, voordat eventuele uitslagen bekend zijn.

Een boeiend initiatief in de Verenigde Staten is overigens het voorstel van een ‘Limited Population Antibacterial Drug’ (LPAD), wat een aparte status geeft aan antibiotica voor ernstige infecties zonder goede behandeling. Op basis van kleine studies zou snellere registratie mogelijk zijn, waarbij het medicijn dan een apart LPAD-logo krijgt op de verpakking, zodat de arts beseft dat voor een selecte patiëntengroep het voordeel de risico’s overtreft. Daarnaast stelt de IDSA voor belastingvoordeel te geven aan bedrijven die antibiotica ontwikkelen, omdat de kosten van niets doen het eventuele verlies aan belastinginkomsten lijken te overstijgen. De EMA heeft al langere tijd een strategie voor kleinere bedrijven die minder betalen voor registratie en wetenschappelijk advies.

Geconcludeerd kan worden dat een brede discussie zoals op 8 november jl. werd gehouden, steeds relevanter wordt, om maatschappelijk besef te ontwikkelen omtrent de groeiende risico’s van ongebreideld antibioticagebruik zowel bij mens als dier, en omtrent de groei van AMR, waardoor ziekenhuisopnames risicovoller zullen worden. Daarbij zal ook het besef moeten groeien bij artsen en patiënten dat er in kritische situaties nieuwe medicijnen kunnen worden gebruikt, die een ander goedkeurings-traject hebben doorlopen dan veel andere medicijnen en waarbij dus andere voorwaarden voor gebruik gelden.

Referentie

1. Vollaard, B. Voordouw. Regulatorische aspecten bij de ontwikkeling van antibiotica voor multiresistente bacteriën (2). NTMM. 2013;4:159.

Lichtgevend antibioticum voor het opsporen van infecties in patiënten

M. van Oosten, G.M. van Dam, J.M. van Dijk

Samenvatting

De huidige diagnostische beeldvormende mogelijkheden voor detectie van bacteriële infecties hebben als grootste tekortkoming, dat ze niet specifiek bacteriegericht zijn. Het is hierdoor vaak moeilijk betrouwbaar bacteriële infecties van andere processen te onderscheiden. Door middel van specifieke contrastmiddelen, bijvoorbeeld radionuclidegelabelde antibiotica of anderszins gelabelde bacteriespecifieke moleculen is het mogelijk doelgerichte beeldvorming te verrichten en zo de specificiteit van detectie aanzienlijk te verhogen. Een relatief nieuwe beeldvormingsmodaliteit voor dit doeleinde is fluorescentie (optische) beeldvorming. Recent zijn zowel op het gebied van radionuclidegediende beeldvorming als fluorescentiebeeldvorming veelbelovende stappen gezet naar doelgerichte beeldvorming van bacteriële infecties. Dit artikel geeft een kort overzicht van deze ontwikkelingen en is een samenvatting van een deel van het proefschrift getiteld "Fluorescence targeted imaging of cancer and bacterial infections", verdedigd op 12 februari 2014 door M. van Oosten, assistent in opleiding tot arts-microbioloog.

Abstract

Current diagnostic imaging modalities for the detection of bacterial infections suffer from limited specificity. Consequently, it is often challenging to reliably discriminate bacterial infection from other processes. Using contrast agents, for example radionuclide-labeled bacteria-specific molecules such as antibiotics, it is possible to perform targeted imaging. This will increase the specificity of bacterial detection substantially. A relatively new imaging modality for this purpose is fluorescence (optical) imaging. Recently, major progress has been made in the targeted imaging of bacterial infections. This article gives a short overview of these developments and summarizes part of the thesis entitled "Fluorescence targeted imaging of cancer and bacterial infections" defended on 12 February 2014 by M. van Oosten, medical microbiologist in training.

Trefwoorden

Beeldvormingstechnieken, fluorescentiebeeldvorming

Introductie

Op dit moment wordt de diagnose 'infectie' gesteld op basis van een combinatie van beeldvorming, infectieparameters in het bloed en medisch-microbiologische laboratoriumonderzoeken. Ter detectie van infectie wordt een rijke verscheidenheid aan beeldvormingstechnieken gebruikt, zoals standaard röntgendiagnostiek, computed tomography (CT), magnetic resonance imaging (MRI), positron emission tomography (PET), single-photon emission computed tomography (SPECT) en echografie. Deze technieken zijn in de afgelopen jaren sterk verbeterd en hebben elk hun eigen voordelen en beperkingen. Geen van deze beeldvormende technieken is echter in staat om specifiek bacteriële infecties van andere oorzaken van inflammatie, zoals bijvoorbeeld maligniteiten, of van fysiologische processen, zoals wondgenezing na een operatie, te onderscheiden. Indien vervolgens de medisch-microbiologische kweken niet eenduidig zijn en het niet mogelijk is om biopten te verkrijgen, kan het stellen van de juiste diagnose zeer uitdagend zijn. Er is daarom dringend behoefte aan een beeldvormingstechniek die betrouwbaar, gericht en met hoge gevoeligheid verschillende ziekteprocessen en gezonde weefsels van elkaar kan onderscheiden.

Doelgerichte beeldvorming

In doelgerichte beeldvorming wordt een contrastmiddel gebruikt, dat specifiek wordt opgenomen of gebonden door het zieke weefsel. Op deze manier is het mogelijk om specifiek ziekteprocessen te identificeren en te lokaliseren. Een specifiek en doelgericht contrastmiddel kan worden gevormd door een beeldvormingsmolecuul (bijvoorbeeld een radionuclide) te conjugereren aan een molecuul dat specifiek bindt aan een kenmerkende target voor een

M. van Oosten, G.M. van Dam, J.M. van Dijk, afdelingen Chirurgie en Medische Microbiologie, Rijksuniversiteit Groningen en Universitair Medisch Centrum Groningen.
Correspondentieadres: M. van Oosten, e-mail: marleenvanoosten@hotmail.com.

bepaald ziekteproces. De target kan bijvoorbeeld een receptoreiwit op een kankercel zijn of een specifiek molecuul in de celwand van een bacterie.

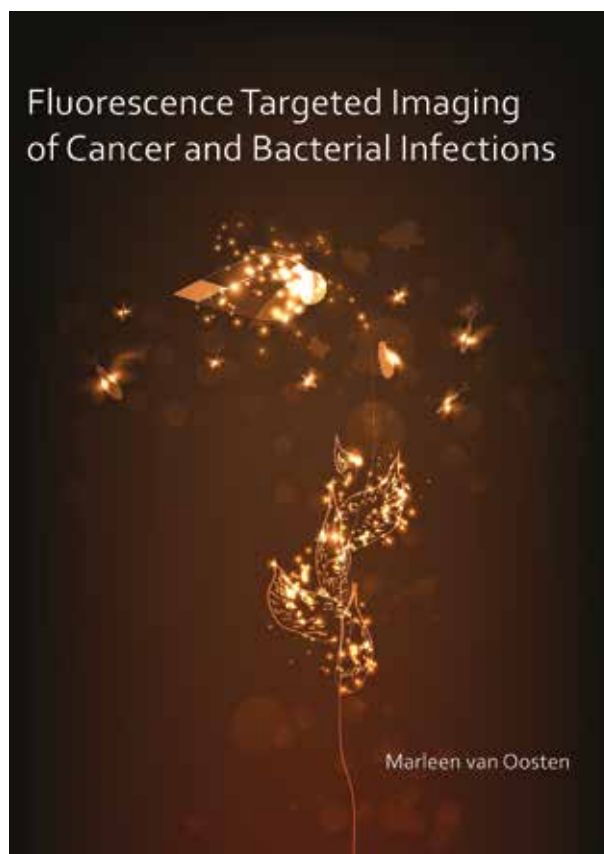
Doelgerichte beeldvorming kan met PET/SPECT, CT, MRI en echografie worden uitgevoerd. De sensitiviteit en de specificiteit hangen af van het contrastmiddel en het detectieapparaat, maar vooral ook van de target die wordt gekozen. De mate en het patroon van de expressie van een gekozen target in ziek en gezond weefsel hebben sterke invloed op de zogeheten target-to-normal tissue ratio (T/N-ratio) van het signaal. Hoe hoger deze ratio, des te sterker de signaal-ruisverhouding. Daarom is het belangrijk de target te identificeren die de beste T/N-ratio oplevert.

Radionuclidegedemedieerde beeldvorming (bijvoorbeeld PET) specifiek gericht op bacteriën is voor verschillende probes al bij patiënten beschreven. Het meest uitgebreid bestudeerd is ^{99m}Tc -ciprofloxacine (^{99m}Tc -ciprofloxacine; Infecton®). In een grote multicentrische klinische trial is aangetoond dat (^{99m}Tc -ciprofloxacine een sensitiviteit heeft van 85,4% en een specificiteit van 81,7% voor het detecteren van bacteriële infecties.¹ Hoewel deze getallen veelbelovend zijn, is vooral de specificiteit enigszins aan de lage kant. Ook op grond van kleinere studies en in dierstudies is twijfel gerezen over de strikte specificiteit van ^{99m}Tc -ciprofloxacine voor bacteriën en specificiteit kon ook in vitro niet worden aangetoond.²⁻⁴ Daarnaast kan ciprofloxacine-gemedieerde beeldvorming potentieel worden belemmerd door de inmiddels wijdverspreide resistentie tegen ciprofloxacine.^{5,6} Andere veelbelovende probes zijn inmiddels ook bekend. Van ceftriaxon en fleroxacin gelabeld met een radionuclide is succesvol gebruik bij patiënten beschreven, maar deze studies waren nog te klein om een definitieve uitspraak over de sensitiviteit en specificiteit te kunnen doen.^{7,8} Als alternatief voor het gebruik van gelabelde antibiotica voor beeldvorming van bacteriële infecties is fialuridine (1-(2-deoxy-2-fluoro- β -D-arabino-furanosyl)-5-iodouracil; FIAU), een nucleoside analoog, bij patiënten onderzocht. Hierbij werd aangetoond dat FIAU wel door bacteriën opgenomen en in het DNA geïncorporeerd wordt, maar niet door humane cellen. Succesvolle detectie van bacteriële infecties met FIAU, gelabeld met een radionuclide, is beschreven, maar ook dit betrof slechts onderzoek van kleine patiëntengroepen.⁹ Ubiquidine, een humaan antimicrobieel eiwit, bindt specifiek aan grampositieve en gramnegatieve bacteriën en schimmels en is in combinatie met een radionuclide eveneens gebruikt voor het specifiek aantonen van bacteriële dan wel schimmelinfecties bij patiënten. Kleine klinische trials hebben een sensitiviteit van 100% en een specificiteit die varieert van 80 tot 100% laten zien.¹⁰⁻¹³ Ten slotte is al sinds langere tijd beeldvorming middels radionuclidegelabelde humane polyklonale immunoglobulines (HIG) mogelijk.¹⁴⁻¹⁶ Bij deze aanpak is de specificiteit

echter sterk variabel (tussen 50% en 90%) doordat steriele ontstekingen vaak in een vals-positief signaal resulteren. Het is daarom betwistbaar of HIG strikt bacteriespecifiek is. Ten slotte moet worden opgemerkt dat bacteriespecifieke beeldvorming met behulp van CT, MRI en echografie tot dusver niet is beschreven.

Intraoperatieve beeldvorming

Naast toepassingen in de diagnostiek is het tevens mogelijk om middels beeldvorming tijdens operaties de chirurg van extra informatie te voorzien. Vergeleken met de voornoemde diagnostische peri-operatieve beeldvorming staat de intraoperatieve beeldvorming nog in de kinderschoenen. Tot op heden vertrouwt de chirurg met name op direct zichtbare en voelbare veranderingen in het lichaam van de patiënt. Hierdoor is het vaak lastig om tijdens operaties bij patiënten met bijvoorbeeld geïnfecteerde biomaterialen of fasciitis necroticans betrouwbaar vast te stellen tot waar een infectie zich uitstrekt. Door middel van vriescoupees is het weliswaar mogelijk om tijdens een operatie te beoordelen of weefsel is geïnfecteerd, maar dit is een indirecte methode die alleen informatie geeft over het kleine gedeelte van de snijvlakken waaruit een biopsie is genomen. De ontwikkeling van methoden om beeldvorming tijdens een operatie te verbeteren is daarom zeer gewenst, aangezien dit kan resulteren in een betere



detectie van geïnfecteerde weefsels. Dit zou dan kunnen leiden tot een preciezer en meer radicale resectie, wat uiteindelijk een betere prognose voor de patiënt zou kunnen opleveren.

Fluorescentiebeeldvorming

Doelgerichte fluorescentiebeeldvorming biedt interessante mogelijkheden om de peri-operatieve diagnostiek en de intraoperatieve precisie in de chirurgie te verbeteren. Fluorescentiebeeldvorming, ook wel optische beeldvorming genoemd, is een elegante beeldvormingstechniek die zich momenteel snel ontwikkelt. Het onderliggende principe is als volgt: elektronen in een fluorescent molecuul (een zogeheten fluorofoor) raken geëxciteerd wanneer dit molecuul wordt blootgesteld aan licht van een bepaalde golflengte. Wanneer de geëxciteerde elektronen vervolgens terugvallen in hun normale energietoestand, zendt het molecuul licht uit van een net iets langere golflengte. Dit licht kan worden opgevangen met een speciale camera. Hoewel menselijk weefsel van nature autofluorescent is (vooral in het spectrum van 400-600 nm) kan met bepaalde sterke fluoroforen die licht uitzenden van een geschikte golflengte (vooral in het nabij-infrarode spectrum tussen 700-1000 nm) het uitgezonden signaal worden onderscheiden van de fluorescentie van het omliggende weefsel. Daarnaast heeft het signaal van nabij-infrarood fluorescente moleculen een optimale weefselpenetratie.¹⁷ Verder heeft fluorescentiebeeldvorming een aantal gunstige eigenschappen in vergelijking tot andere beeldvormende technieken, zoals een hoge resolutie, de afwezigheid van radioactieve straling, relatief lage kosten en de mogelijkheid om realtimebeeldvorming te kunnen doen.¹⁷

Fluorescentiebeeldvorming is met name goed te gebruiken voor beeldvorming van oppervlakkig gelegen structuren, bijvoorbeeld tijdens operaties waarbij de chirurg het zieke weefsel benadert door het omliggende weefsel in te snijden of te verwijderen.¹⁸ Het nadeel van de huidige fluorescentiebeeldvorming is dat het fluorescente signaal slechts door maximaal 1-2 cm weefsel is waar te nemen. Hierdoor is deze vorm van detectie slechts toepasbaar voor oppervlakkig gelegen infecties, zoals het geval is bij wekedeleninfecties of oppervlakkige implantaatinfecties. Recent is echter een nieuwe opto-akoestische detectietechniek beschreven, waarmee in potentie de detectie van een fluorescent signaal op een weefseldiepte van 11 cm mogelijk is.¹⁹ Deze nieuwe methodiek kan de detectie van dieper gelegen ziekteprocessen bij patiënten aanzienlijk verbeteren, hetgeen met name van nut kan zijn voor de peri-operatieve detectie van bijvoorbeeld bacteriële infecties van heupimplantaten of endocarditis.

Ondanks dat er veel fluoroforen beschikbaar zijn, zijn er slechts enkele goedgekeurd en getest voor gebruik in patiënten, waaronder fluoresceïne isothiocyanaat (FITC;

518 nm), indocyanine groen (ICG; 790 nm) en IRDye® 800CW (800 nm).

Doelgerichte fluorescentiebeeldvorming is zowel peri-operatief als intraoperatief te gebruiken. Met behulp van fluorescentgelabelde stoffen die specifiek zijn gericht op targets die verhoogd tot expressie komen bij ziekte en een gevoelige camera die het uitgezonden signaal kan opvangen en omzetten in een beeld op een beeldscherm, kan een behandelend arts van specifieke informatie over de locatie van het zieke weefsel worden voorzien. Tijdens de operatie kan de chirurg zijn visuele informatie op deze manier zodanig uitbreiden, dat hij tumorspots met een grootte van minder dan 1 millimeter kan waarnemen.²⁰ Recent is de werk- en haalbaarheid van dit concept aangetoond in patiënten met eierstokkanker en klinische implementatie is bewerkstelligd voor patiënten met blaaskanker en in de hersenchirurgie.²¹⁻²³ Peri-operatief kan het gebruik van doelgerichte fluorescentiebeeldvorming helpen om op een niet-invasieve manier infecties te detecteren. Door de hoge resolutie van de fluorescentie en de hoge sensitiviteit en specificiteit van het doelgerichte contrastmiddel, zouden infecties eerder kunnen worden opgespoord dan nu het geval is, zodat patiënten sneller en efficiënter kunnen worden behandeld en de schade aan gezond weefsel minimaal blijft.

Eerste bevindingen

Tot dusver is slechts in enkele studies in diermodellen het gebruik van bacteriegerichte fluorescentiebeeldvorming beschreven, maar wel met zeer intrigerende resultaten. Ning et al. hebben laten zien dat een fluorescent gelabeld maltodextrinemolecuul specifiek wordt opgenomen door verschillende bacteriën, waardoor het mogelijk is specifiek en met hoge T/N-ratio's bacteriële infecties te onderscheiden van steriele inflammatie.²⁴ Panizzi et al. hebben voor beeldvorming gebruikgemaakt van fluorescent gelabeld, geïnactiverend protrombine, dat bindt aan de coagulasen van *Staphylococcus aureus*. In muismodellen werd aangetoond dat met deze probe *S. aureus*-geïnduceerde endocarditis kan worden onderscheiden van *Staphylococcus epidermidis*-vegetaties en steriele endocarditis.²⁵ Verschillende andere groepen hebben het gebruik van fluorescente bis zinc (II)-dipicolylaminecomplexen beschreven.²⁶ Deze probes hechten aan de negatief geladen membranen van bacteriën. De specificiteit van laatstgenoemde probes lijkt echter relatief gering, aangezien bijvoorbeeld ook negatief geladen apoptotische cellen hiermee worden aangekleurd.²⁷ Door Kong et al. werd een zogeheten 'slimme activeerbare probe' voor beeldvorming van bacteriële infecties gesynthetiseerd.²⁸ Bij dergelijke probes wordt een fluorescentiedovend molecuul – de 'quencher' – in de directe nabijheid van een gerichte fluorofoor gebracht. Hierdoor is de fluorofoor niet meer

in staat een fluorescent signaal uit te zenden. Wanneer de fluorofoor-quenchercombinatie vervolgens zijn target bereikt, wordt de quencher door een enzymatische reactie van de fluorofoor gescheiden, hetgeen leidt tot uitzending van een fluorescent signaal door de fluorofoor. Op deze manier kunnen hoge T/N-ratio's worden bereikt. Het gebruik van dergelijke 'slimme' activeerbare probes is inmiddels beschreven voor beeldvorming van zowel tumoren als bacteriën, maar dit is voornamelijk beperkt gebleven tot dierstudies.²⁹ Kong et al. construeerden hun activeerbare probe op basis van een bètalactamring die door bacteriële bètalactamase wordt gehydrolyseerd, hetgeen leidt tot activatie van de fluorofoor. De werking van deze activeerbare probe werd aangetoond door beeldvorming van *Mycobacterium tuberculosis*-infecties bij muizen, waarbij overigens de exacte T/N-ratio's niet werden gegeven. Hoewel uitsluitend de visualisatie van *M. tuberculosis*-infecties is beschreven, is dit concept toepasbaar op iedere bètalactamaseproducerende bacteriesoort.

In de eerdergenoemde studies omtrent fluorescente bacteriespecifieke beeldvorming ontbrak het aan een eenvoudige mogelijkheid tot klinische translatie. Daarom werd door onze groep het antibioticum vancomycine gelabeld met de nabij-infrarode fluorofoor IRDye800CW met als doel het resulterende 'vanco-800CW' te gebruiken voor specifieke beeldvorming van grampositieve bacteriële infecties bij patiënten.³⁰ Aangezien zowel vancomycine als IRDye800CW klinisch goedgekeurde bestanddelen zijn, zal naar verwachting vanco-800CW veilig in de kliniek kunnen worden geïntroduceerd, uiteraard na zorgvuldige GMP-synthese en de noodzakelijke toxiciteitstesten. Met behulp van vanco-800CW was het inderdaad mogelijk om een *S. aureus*-infectie in een in-vivo-muizenmodel te detecteren en te onderscheiden van een steriele ontsteking of een infectie met de gramnegatieve bacterie *Escherichia coli*. Bovendien kon met vanco-800CW een bacteriële biofilm van *S. epidermidis* op een metalen implantaat worden gedetecteerd in een humaan post-mortemmodel, waarbij gebruik werd gemaakt van een klinisch goedgekeurde intraoperatieve infraroodcamera. In potentie is het nu mogelijk middels deze techniek in een vroeg stadium biomateriaalinfecties te detecteren, zowel intraoperatief als peri-operatief. Alternatieve toepassingen zijn uiteraard ook denkbaar.

Proefschrift

Marleen van Oosten promoveerde op dit onderwerp op 12 februari jl. aan de Rijksuniversiteit Groningen. Het beschreven vanco-800CW onderzoek maakt onderdeel uit van haar proefschrift. Tevens beschrijft ze in haar proefschrift uitgebreid en overzichtelijk de stand van zaken met betrekking tot bacteriespecifieke beeldvorming.

Ook besteedt zij aan in haar proefschrift aandacht aan de fluorescentiebeeldvorming van solide tumoren.

Referenties

1. Britton KE, Wareham DW, Das SS, Solanki KK, Amaral H, Bhatnagar A, et al. Imaging bacterial infection with (99m)Tc-ciprofloxacin (Infecton). *J Clin Pathol.* 2002;55:817-23.
2. Sarda L, Crémieux AC, Lebellet Y, Meulemans A, Lebtahi R, Hayem G, et al. Inability of 99mTc-ciprofloxacin scintigraphy to discriminate between septic and sterile osteoarticular diseases. *J Nucl Med.* 2003;44:920-6.
3. Siaens RH, Rennen HJ, Boerman OC, Dierckx R, Slegers G. Synthesis and comparison of 99mTc-enrofloxacin and 99mTc-ciprofloxacin. *J Nucl Med.* 2004;45:2088-94.
4. Dumarey N, Blocklet D, Appelboom T, Tant L, Schoutens A. Infecton is not specific for bacterial osteo-articular infective pathology. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2002;29:530-5.
5. Hall AV, Solanki KK, Vinjamuri S, Britton KE, Das SS. Evaluation of the efficacy of 99mTc-Infecton, a novel agent for detecting sites of infection. *J Clin Pathol.* 1998;51:215-9.
6. Malamitsi J, Giamarellou H, Kanellakopoulou K, Dounis E, Grecka V, Christakopoulos J, et al. Infecton: a 99mTc-ciprofloxacin radiopharmaceutical for the detection of bone infection. *Clin Microbiol Infect.* 2003;9:101-9.
7. Kaul A, Hazari PP, Rawat H, Singh B, Kalawat TC, Sharma S, et al. Preliminary evaluation of technetium-99m-labeled ceftriaxone: infection imaging agent for the clinical diagnosis of orthopedic infection. *Int J Infect Dis.* 2012;pii:S1201-9712(12)01295-7.
8. Fischman AJ, Livni E, Babich JW, Alpert NM, Bonab A, Chodosh S, et al. Pharmacokinetics of [18F]floroxacin in patients with acute exacerbations of chronic bronchitis and complicated urinary tract infection studied by positron emission tomography. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996;40:659-64.
9. Diaz LA Jr, Foss CA, Thornton K, Nimmagadda S, Endres CJ, Uzuner O, et al. Imaging of musculoskeletal bacterial infections by [124I]FIAU-PET/CT. *PLoS One.* 2007;2:e1007.
10. Assadi M, Vahdat K, Nabipour I, Sehhat MR, Hadavand F, Javadi H, et al. Diagnostic value of 99mTc-ubiquidicin scintigraphy for osteomyelitis and comparisons with 99mTc-methylene diphosphonate scintigraphy and magnetic resonance imaging. *Nucl Med Commun.* 2011;32:716-23.
11. Akhtar MS, Qaisar A, Irfanullah J, Iqbal J, Khan B, Jehangir M, et al. Antimicrobial peptide 99mTc-ubiquidicin 29-41 as human infection-imaging agent: clinical trial. *J Nucl Med.* 2005;46:567-73.
12. Meléndez-Alafort L, Rodríguez-Cortés J, Ferro-Flores G, Arteaga De Murphy C, Herrera-Rodríguez R, et al. Biokinetics of (99m)Tc-UBI 29-41 in humans. *Nucl Med Biol.* 2004;31:373-9.
13. Gandomkar M, Najafi R, Shafei M, Mazidi M, Goudarzi M, Mirfallah SH, et al. Clinical evaluation of antimicrobial peptide [(99m)Tc]/Tricine/HYNIC(o)ubiquidicin 29-41 as a human-specific infection imaging agent. *Nucl Med Biol.* 2009;36:199-205.
14. Nijhof MW, Oyen WJ, van Kampen A, Claessens RA, van der Meer JW, Corstens FH. Evaluation of infections of the locomotor system with indium-111-labeled human IgG scintigraphy. *J Nucl Med.* 1997;38:1300-5.
15. Buscombe JR, Oyen WJ, Grant A, Claessens RA, van der Meer J, Corstens FH, et al. Indium-111-labeled polyclonal human immunoglobulin: identifying focal infection in patients positive for human immunodeficiency virus. *J Nucl Med.* 1993;34:1621-5.
16. Buscombe JR, Oyen WJ, Corstens FH, Ell PJ, Miller RF. A comparison of 111In-HIG scintigraphy and chest radiology in the identification of pulmonary infection in patients with HIV infection. *Nucl Med Commun.* 1995;16:327-35.
17. Luo S, Zhang E, Su Y, Cheng T, Shi C. A review of NIR dyes in cancer targeting and imaging. *Biomaterials.* 2011;32:7127-38.
18. Pleijhuis RG, Langhout GC, Helfrich W, Themelis G, Sarantopoulos A, Crane LM, et al. Near-infrared fluorescence (NIRF) imaging in breast-conserving surgery: assessing intraoperative techniques in tissue-simulating breast phantoms. *Eur J Surg Oncol.* 2011;37:32-9.

19. Ntziachristos V. Going deeper than microscopy: the optical imaging frontier in biology. *Nat Methods*. 2010;7:603-14.
20. Terwisscha van Scheltinga AG, van Dam GM, Nagengast WB, Ntziachristos V, Hollema H, Herek JL, et al. Intraoperative near-infrared fluorescence tumor imaging with vascular endothelial growth factor and human epidermal growth factor receptor 2 targeting antibodies. *J Nucl Med*. 2011;52:1778-85.
21. van Dam GM, Themelis G, Crane LM, Harlaar NJ, Pleijhuis RG, Kelder W, et al. Intraoperative tumor-specific fluorescence imaging in ovarian cancer by folate receptor- α targeting: first in-human results. *Nat Med*. 2011;17:1315-9.
22. Witjes JA, Redorta JP, Jacqmin D, Sofras F, Malmström PU, Riedl C, et al. Hexaminolevulinate-guided fluorescence cystoscopy in the diagnosis and follow-up of patients with non-muscle-invasive bladder cancer: review of the evidence and recommendations. *Eur Urol*. 2010;57:607-14.
23. Colditz MJ, Jeffree RL. Aminolevulinic acid (ALA)-protoporphyrin IX fluorescence guided tumour resection. Part 1: Clinical, radiological and pathological studies. *J Clin Neurosci*. 2012;19:1471-4.
24. Ning X, Lee S, Wang Z, Kim D, Stubblefield B, Gilbert E, Murthy N. Maltodextrin-based imaging probes detect bacteria in vivo with high sensitivity and specificity. *Nat Mater*. 2011;10:602-7.
25. Panizzi P, Nahrendorf M, Figueiredo JL, Panizzi J, Marinelli B, Iwamoto Y, et al. In vivo detection of Staphylococcus aureus endocarditis by targeting pathogen-specific prothrombin activation. *Nat Med*. 2011;17:1142-6.
26. Leevy WM, Gammon ST, Johnson JR, Lampkins AJ, Jiang H, Marquez M, et al. Noninvasive optical imaging of staphylococcus aureus bacterial infection in living mice using a Bis-dipicolylamine-Zinc(II) affinity group conjugated to a near-infrared fluorophore. *Bioconjug Chem*. 2008;19:686-92.
27. Thakur ML, Zhang K, Paudyal B, Devakumar D, Covarrubias MY, Cheng C, et al. Targeting apoptosis for optical imaging of infection. *Mol Imaging Biol*. 2012;14:163-71.
28. Kong Y, Yao H, Ren H, Subbian S, Cirillo SL, Sacchetti JC, et al. Imaging tuberculosis with endogenous beta-lactamase reporter enzyme fluorescence in live mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107:12239-44.
29. Elias DR, Thorek DL, Chen AK, Czupryna J, Tsourkas A. In vivo imaging of cancer biomarkers using activatable molecular probes. *Cancer Biomark*. 2008;4:287-305.
30. van Oosten M, Schäfer T, Gazendam JA, Ohlsen K, Tsompanidou E, de Goffau MC, et al. Real-time in vivo imaging of invasive- and biomaterial-associated bacterial infections using fluorescently labelled vancomycin. *Nat Commun*. 2013;4:2584.

Het microbiologisch spectrum van invasieve bacteriële infecties bij volwassenen in Cambodja, en de implicaties voor behandelingsrichtlijnen

E. Vlieghe

Invasieve bacteriële infecties, zoals bloedbaaninfecties, veroorzaken wereldwijd veel ziekteleed en sterfte. Achtergrondkennis over de meest voorkomende bacteriën die deze invasieve infecties veroorzaken, is voor artsen essentieel om het meest geschikte antibioticum voor hun patiënt te kunnen kiezen. Bacteriële infecties zijn immers veel moeilijker behandelbaar geworden door de wereldwijde opmars van antibioticaresistentie. Daarom is het belangrijk om de aanwezigheid van antibioticaresistentie te meten in bacteriën die invasieve ziekte veroorzaken. Daarbij is het nuttig de (erfelijke) mechanismen die bacteriën resistent maken, te bestuderen. Bloedkweken van ernstig zieke patiënten kunnen veel interessante informatie over bacteriële ziekteverwekkers en hun resistentiepatronen opleveren. In geïndustrialiseerde landen met voldoende microbiologische laboratoria van goede kwaliteit, zoals in Europa en Noord-Amerika, is deze informatie beschikbaar via surveillancesystemen en netwerken van kwaliteitslaboratoria. In armere landen, zoals Cambodja, zijn goedwerkende laboratoria erg schaars, waardoor heel weinig bekend is over lokale oorzaken van invasieve bacteriële infecties en hun resistentiepatronen.

In 2007 ondernamen het Instituut voor Tropische Geneeskunde (Antwerpen) en Sihanouk Hospital Centre of HOPE (SHCH), een klein NGO-ziekenhuis in Phnom Penh (Cambodja), een gezamenlijke bloedkweekstudie bij volwassen patiënten die zich met koorts in SHCH meldden. In de periode 2007-2010 werden 5714 bloedmonsters voor kweek afgenomen bij 4833 patiënten. In 445 monsters (8,8%) detecteerden we klinisch significante bacteriën. Ongeveer één op vier patiënten met een bloedbaaninfectie overleed. De meest voorkomende en opmerkelijke bacteriën waren: *Escherichia coli* en andere *Enterobacteriaceae*, *Salmonella enterica*, *Burkholderia pseudomallei*, *Staphylococcus aureus* en *Streptococcus suis*. Veel van deze bacteriën waren resistent voor verschillende veelgebruikte antibiotica.

Burkholderia pseudomallei is een bacterie die leeft in de bodem en in het oppervlaktewater in specifieke streken

op aarde, vooral in Zuidoost-Azië en in het tropische noorden van Australië. Deze bacterie is de verwekker van melioïdose, een infectieziekte die aantasting en abcesvorming ter hoogte van de huid, longen, lever, milt en ook bloedbaan kan veroorzaken. De bacterie heeft een intrinsieke resistentie voor de meest gangbare antibiotica; doeltreffende behandeling dient te gebeuren met (vaak dure) breedspectrumantibiotica zoals ceftazidime of carbapenems. In onze studie beschreven we een reeks van 58 patiënten met melioïdose in Cambodja, de eerste die in het land bij volwassenen werden beschreven. De ziekte manifesteerde zich vooral tijdens het regenseizoen, en voornamelijk bij mensen met onderliggende suikerziekte. Meer dan helft van de patiënten overleed, vooral patiënten met ernstige vormen van de ziekte (bijvoorbeeld bloedbaaninfectie) en zij die initieel een inadequate antibiotische therapie kregen. Een snellere diagnostiek en de beschikbaarheid van doeltreffende antibiotica zouden een stap voorwaarts betekenen voor de behandeling van deze patiënten.

Salmonella-bloedbaaninfecties kunnen worden veroorzaakt door *Salmonella*-types die alleen mensen infecteren (met name *Salmonella* Typhi en *Salmonella* Paratyphi, die beide buiktyfus veroorzaken), of door niet-tyfoïde *Salmonella*, ziekteverwekkers van dieren die maar zelden mensen ziek maken. Tussen 2007 en 2010 beschreven we 72 patiënten met *Salmonella*-bloedbaaninfectie: 20 en 2 werden respectievelijk veroorzaakt door *Salmonella* Typhi en *Salmonella* Paratyphi A, en 50 door 'niet-tyfoïde *Salmonella*', voornamelijk *Salmonella* Choleraesuis. Deze bacterie veroorzaakt gewoonlijk koorts bij varkens, en af en toe bij immunogecompromitteerde patiënten. In onze studie veroorzaakte *Salmonella* Choleraesuis herhaalde koortsepisodes bij mensen met hiv/aids. Antibioticaresistentie was hoog bij de meeste van deze *Salmonella*-infecties, vooral voor cipro-

Correspondentieadres: E. Vlieghe, e-mail: evlieghe@itb.be

floxacin (bij *Salmonella* Typhi) en voor azithromycine (bij *Salmonella* Choleraesuis), twee belangrijke antibiotica in de behandeling van buiktyfus. Daarom stellen we voor de lokale behandelingsrichtlijnen aan te passen.

Tot onze verrassing zagen we tussen 2011 en 2013 een zeer sterke stijging van het aantal infecties door *Salmonella* Paratyphi A, vooral in de hoofdstad Phnom Penh. Aangezien dit samenviel met de observatie in een aantal Europese landen dat er ook een forse toename was van uit Cambodja terugkerende reizigers met *Salmonella* Paratyphi A-infectie, vermoeden we dat zich een lokale epidemie voordoet, waarvoor verder onderzoek is vereist.

Escherichia coli is de meest voorkomende verwekker van urineweg- en buikinfecties. In onze studie stelden we vast dat ongeveer 50% van deze bacteriën erg resistent is, voornamelijk door aanwezigheid van een 'extended spectre bètalactamase' (ESBL). Bijna al deze hoogresistente bacteriën met ESBL bezaten hetzelfde mechanisme, met name CTX-M, waarvan bekend is dat het zich de laatste jaren erg succesvol wereldwijd heeft verspreid. Mensen die reeds thuis antibiotica genomen hadden voor ze naar het ziekenhuis kwamen, hadden in onze studie een hoger risico om ESBL-positieve *Escherichia coli*-bloedbaaninfectie te krijgen.

Ongeveer één op drie patiënten met *Escherichia coli*-bloedbaaninfectie stierf, vooral mensen met andere onderliggende ziekten. Opmerkelijk genoeg had een inadequate antibioticakeuze hier niet dezelfde negatieve invloed op overleving als bij melioidosepatiënten.

Staphylococcus aureus is de belangrijkste verwekker van huidinfecties wereldwijd. De meest voorkomende resistentie in deze bacterie is resistentie voor meticilline (MRSA). MRSA staat algemeen bekend als een typische 'ziekenhuisbacterie', maar komt nu ook meer en meer buiten het ziekenhuis voor. In onze studie was 23% van alle invasieve *Staphylococcus aureus*-infecties MRSA. Hoge leeftijd, oppervlakkige huidinfecties en een recent contact met de gezondheidssector bleken risicofactoren voor infectie met MRSA. Ongeveer 15% van alle patiënten overleed, vooral mensen ouder dan 50 jaar. We stelden ten slotte een breed scala aan genetische types van deze bacterie vast, waarbinnen vijf types dominant bleken, waarvan er twee ook beschreven zijn als ziekteverwekker bij dieren (met name ST 398 en ST 9).



The microbiological spectrum of invasive bacterial infections in Cambodian adults and implications for standard treatment guidelines.



Tijdens onze studieperiode stelden we ook de diagnose van invasieve *Streptococcus suis*-infectie bij 13 patiënten. *Streptococcus suis* infecteert normaal gesproken varkens; mensen kunnen per toeval besmet raken door nauw contact met varkens of onvoldoende verhit vlees. Deze ziekte komt veel voor in Vietnam en het Verre Oosten. Deze 13 patiënten hadden hersenvliesontsteking met of zonder bloedbaaninfectie, en hadden vaak verschillende weken antibiotica nodig om te genezen. Al deze patiënten overleefden hun infectie, maar één op drie hield er restverschijnselen zoals doofheid aan over. Het resistentiepatroon van deze 'varkensbacteriën' deed vermoeden dat er veel antibiotica aan deze dieren wordt gegeven. Ten slotte stelden we ook vast dat de *Streptococcus suis*-bacteriën uit Cambodja genetisch erg lijken op die uit zuidelijk Vietnam. Samenvattend kunnen we stellen dat bloedbaaninfecties bij volwassenen in Cambodja worden veroorzaakt door moeilijk te behandelen bacteriën en vaak met hoge mortaliteit gepaard gaan. Er dienen verschillende maatregelen te worden genomen om deze situatie te verbeteren, van het beschikbaar maken en reglementeren van bepaalde breedspectrumantibiotica, het aanpassen en moderniseren van behandelingsrichtlijnen en het invoeren van handhygiëne in ziekenhuizen tot betere opleiding van gezondheidswerkers en internationale samenwerking in de strijd tegen antibioticaresistentie.

Proefschrift

E. Vlieghe promoveerde op 10 februari 2014 aan de Katholieke Universiteit Leuven (België). Haar promotor was: prof. dr. W.E. Peetermans (Katholieke Universiteit Leuven, België). Copromotor was prof. dr. J.A. Jacobs (Instituut voor Tropische Geneeskunde Antwerpen, België).

Broad-spectrum β -lactamases in Enterobacteriaceae – detection, prevalence and source tracking

G. Voets

Derdegeneratie-cefalosporinen maken deel uit van de empirische behandeling van ernstige infecties die mogelijk het gevolg zijn van *Enterobacteriaceae*. Het verschijnen van multiresistente *Enterobacteriaceae*, met name isolaten die ‘extended spectre bètalactamases’ (ESBL's) en carbapenemasen met zich meedragen, is daarom een bedreiging voor de volksgezondheid.

Accurate detectie en typering van deze resistente isolaten en de plasmiden die de resistentiegenen met zich meedragen is van cruciaal belang. Het doel van dit proefschrift is om inzicht te verschaffen in de genetische achtergrond van de meest prevalentie mechanismen in Nederland die resistentie veroorzaken tegen derdegeneratie-cefalosporine.

In dit proefschrift werd een aantal technieken voor de detectie van ESBL's en carbapenemasen ontwikkeld en geëvalueerd. Evaluatie van *Brilliance*TM CRE Agar toonde een hoge sensitiviteit ($\geq 90\%$) aan voor verscheidene carbapenemasen, bijvoorbeeld KPC, NDM, GIM en VIM. De sensitiviteit voor het detecteren van OXA-48-producerende *Enterobacteriaceae* was echter maar 84% en de specificiteit voor carbapenemaseproducerende *Enterobacteriaceae* was slechts 71%.

De check-MDR CT102 DNA-microarray evaluatie liet een hoge sensitiviteit (respectievelijk 97% en 100% voor ESBL's en carbapenemasen) en specificiteit (respectievelijk 100% en 98%, voor ESBL's en carbapenemasen) zien; soms werden isolaten die SHV-12 bezitten als lid van de SHV-2-groep in plaats van de SHV-4-groep gekarakteriseerd. We konden helaas niet achterhalen waarom deze fout optreedt.

De reproduceerbaarheid van het DiversiLab-isolaat-typeringssysteem (bioMérieux), dat gebruikmaakt van een automatische repetitive-sequence-based PCR (rep-PCR)-techniek, werd geëvalueerd voor *Escherichia coli* en *Klebsiella* spp. in een multicentrische setting. Op basis van lokale analyse was de reproduceerbaarheid onvoldoende. Een centrale analyse verbeterde de concordantie naar een acceptabel niveau. In vergelijking tot pulsed-field gel elektroforese (PFGE) had DiversiLab een lager resolutie-niveau voor het onderscheiden van isolaten.



Correspondentieadres: G. Voets, e-mailadres: gmvoets@gmail.com

Ook werd een set van zeven multiplex PCR's ontwikkeld. Deze set biedt de mogelijkheid voor het detecteren van 17 verschillende carbapenemase- en AmpC-families met behulp van één amplificatieprotocol.

Verscheidende van de hierboven beschreven technieken werden gebruikt om de populatiedistributie van bètalactamasegenen die resistentie tegen derdegeneratie-cefalosporinen geven in klinische *Enterobacteriaceae* te beschrijven. De meest prevalent gevonden ESBL-familie was de CTX-M-familie, waarvan CTX-M-15 het meest voorkwam. Deze resultaten zijn in overeenstemming met resultaten voor West-Europa, Noord-Europa en Amerika. De tweede meest gevonden CTX-M, CTX-M-1, wordt niet vaak gerapporteerd in studies van klinische isolaten. Van de SHV- en TEM-families waren SHV-12 en TEM-52 het meest prevalent. SHV-12 wordt ook vaak gesignaleerd in nationale studies van andere landen, TEM-52 daarentegen wordt niet vaak gevonden in klinische studies. De twee zeldzamere ESBL's, CTX-M-1 en TEM-52, vormden een ongewoon groot gedeelte (30%) van de in deze studie gevonden ESBL's. CTX-M-1 en TEM-52 worden echter wel vaak gerapporteerd bij pluimvee.

Deze laatste bevindingen waren de aanleiding om onderzoek te doen naar kip en kippenvlees als mogelijke

bron voor bètalactamasedragende *Enterobacteriaceae* voor de mens. Er werden overeenkomsten op het niveau van isolaat- (MLST), plasmide- (replicon) en bètalactamase- (sequentie)gen gevonden tussen *E. coli*-isolaten afkomstig van kippenvlees en mensen. We konden aantonen dat *E. coli* afkomstig van pluimvee- en kippenvlees kunnen groeien in de aanwezigheid van humane microbiota in een ex-vivomodel. Daarnaast werd er suggestief bewijs verkregen dat plasmiden kunnen worden overdragen. Dit ondersteunt de hypothese dat kip en kippenvlees een potentiële bron voor ESBL-genen bij humane isolaten kunnen zijn.

Het gepresenteerde onderzoek kan echter niet zonder twijfel aantonen dat ESBL-producerende *E. coli* of ESBL-dragende plasmiden worden overgedragen van pluimvee naar mens via de voedselketen en vervolgens eventueel een infectie veroorzaken. Daarnaast is de potentiële rol van andere reservoirs voor bètalactamasedragende isolaten bij de mens niet bepaald als onderdeel van dit proefschrift. Hiervoor is aanvullend onderzoek nodig. Dit zal een whole genome sequencing onderzoek vereisen gezien de benodigde resolutie die nodig is op zowel het niveau van de isolaten als de plasmiden.

Basisprincipes van de PCR

Onder redactie van dr. C.C. Orelia, dr. M.J. van Plug

Sinds de ontwikkeling van de polymerase chain reaction (PCR) in 1983 is het gebruik hiervan exponentieel gegroeid en tegenwoordig heeft PCR in zeer veel laboratoria in uiteenlopende vakgebieden een vaste plaats ingenomen. Het boek kent een logische en duidelijke indeling en begint bij de basis. Nucleïnezuren, nucleïnezuurisolatiemethoden en algemene principes van PCR worden in de eerste drie hoofdstukken besproken. Hierna gaan de auteurs dieper in op de verschillende onderdelen van PCR, met achtereenvolgens een hoofdstuk over de verschillende reactiecomponenten en een zeer uitgebreid hoofdstuk over primers.

Hoofdstuk 6 behandelt realtime PCR, waarna hoofdstuk 7 ingaat op de scheiding en detectie van PCR-producten. Persoonlijk had ik deze volgorde omgewisseld. Zeker omdat hoofdstuk 8 vervolgens verder gaat met de detectie en analyse van qPCR.

In het laatste hoofdstuk (9) wordt stilgestaan bij contaminatiepreventie en kwaliteitsaspecten van PCR. Uiteraard zeer belangrijke onderdelen van moleculaire technieken en daarom is het jammer dat hier niet uitgebreider op wordt ingegaan. Ik had graag gezien dat er in dit hoofdstuk meer aandacht werd besteed aan optimalisatie, validatie en kwaliteitsborging.

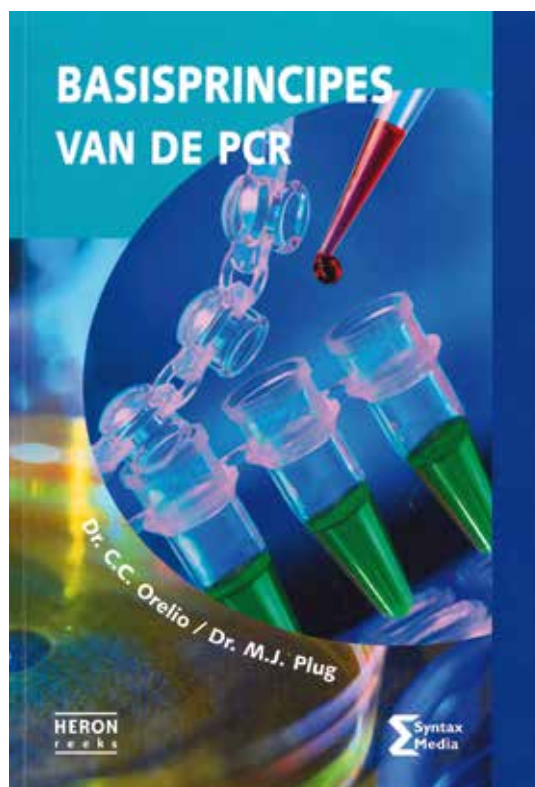
Beide auteurs zijn afkomstig van het Centrum Bioscience en Diagnostiek van Hogeschool Leiden en hebben jarenlange ervaring in het onderwijs aan HLO-studenten en laboratoriummedewerkers. In het huidige curriculum van de opleiding Biologie en medisch laboratoriumonderzoek neemt de moleculaire biologie uiteraard een zeer belangrijke plaats in. In het najaar van 2012 hebben de auteurs besloten al het studiemateriaal dat is geschreven en/of samengesteld door henzelf en andere docenten samen te voegen, met als resultaat dit boek waarin de moderne PCR wordt beschreven.

Het boek is helder geschreven. Er is ruimschoots gebruik gemaakt van zeer duidelijke kleurenillustraties, die goed aansluiten bij de tekst. Een mooi extraatje vormen de intermezzo's in bijna ieder hoofdstuk. Zo wordt in hoofdstuk 2 aandacht gegeven aan 'ancient DNA isolatie'; het isoleren en analyseren van (sterk beschadigd) DNA uit biologisch materiaal dat tien- tot honderdduizenden jaren oud is en

in hoofdstuk 6 bestaat het intermezzo uit genotypen met behulp van qPCR.

Het boek is duidelijk geschreven voor HLO-studenten, maar is ook zeker geschikt voor (startende) analisten en wetenschappers die zich (gaan) bezighouden met moleculaire technieken. Bovendien is het boek zeer betaalbaar en daarmee de prijs-kwaliteitverhouding dik in orde.

R. te Witt



ISBN: 978-90-77423-97-4

175 pagina's

Eerste druk

Uitgever: Syntax Media

Prijs: € 25,00

Taal: Nederlands

Globalisering van de infectieziektebestrijding

Verdiep u in de infectieziektebestrijding binnen en buiten Europa. Wat is het effect hiervan op de Nederlandse bestrijding van infectieziekten?

Doelgroep: Professionals werkzaam in infectieziektebestrijding, artsen AGZ en JGZ, bedrijfsartsen, huisartsen en medisch microbiologen.

Data: Donderdag 19 en 26 juni 2014

Kosten: € 770,-

Locatie: Utrecht

Link: <http://www.nspoh.nl/page.ocld?pageid=32&id=85>

Inlichtingen: tel. 030-8100500, e-mail: info@nspoh.nl

Let op:

Vanaf 1 januari 2014 heeft de NSPOH een nieuw adres:

Postadres: Postbus 20022, 3502 LA Utrecht

Bezoekadres: Churchillaan 11 (10e etage), 3527 GV Utrecht

PROMOTIES

6 november 2013 X. Jiang

Construction, characterization and application of Flavivirus infectious clones

Promotor: prof. dr. W. Spaan

Copromotor: dr. P. Bredenebeek

LUMC Leiden, afd. Medische Microbiologie

13 november 2013 A.H. de Wilde

Host factors in Nidovirus replication

Promotor: prof. dr. E.J. Snijder

Copromotor: dr. M.J. van Hemert

LUMC Leiden, afd. Medische Microbiologie

19 november 2013 R.J.F. Ypma

Mathematical models in molecular epidemiology:

Combining genetic and epidemiological data to unravel infectious disease dynamics

Promotor: prof. dr. M.J.M. Bonten

Copromotoren: dr. W.M. van Ballegooijen, dr. J. Wallinga

UMC Utrecht, afd. Klinische Microbiologie

22 november 2013 W. Hoefsloot

Nontuberculous mycobacteria: new insights in epidemiology and clinical relevance

Promotoren: prof. dr. D. van Soolingen, prof. dr. P.N.R. Dekhuijzen

Copromotoren: dr. M.J. Boeree, dr. J. van Ingen

Radboudumc Nijmegen, afd. Medische Microbiologie, afd. Longziekten

27 november 2013 V.J. Goosens

Bacillus systems exporting folded proteins and folding exported proteins

Promotor: prof. dr. J.M. van Dijk

UMC Groningen, afd. Medische Microbiologie

12 december 2013 T. Geelen

Haemophilus influenzae in respiratory disease: from the bug to the body

Promotor: prof. dr. C.A. Bruggeman (emeritus)

Copromotor: dr. F. Stassen

UMC Maastricht, afd. Medische Microbiologie

16 december 2013 A.M.M. Vernooij-van Langen

Newborn screening for cystic fibrosis in the Netherlands; the CHOPIN study

Promotor: prof. dr. E. Dompeling

Copromotoren: dr. J.E. Dankert-Roelse, dr. J.G. Loeber

UMC Maastricht, afd. Kindergeneeskunde

17 december 2013 A.J.M. Loonen

Developments for improved diagnosis of bloodstream infections

Promotor: prof. dr. C.A. Bruggeman (emeritus)

Copromotoren: dr. A. van den Brule, dr. ir. P.F. Wolffs

UMC Maastricht, afd. Medische Microbiologie

10 januari 2014 J.T. van Mierlo

Viral suppression of antiviral RNAi in insects

Promotor: prof. dr. J.M.D. Galama

Copromotor: dr. R.P. van Rij

Radboudumc Nijmegen, afd. Medische Microbiologie

17 januari 2014 M.C.A. Wegdam-Blans

Diagnostic challenges during the Dutch Q fever outbreak

Promotoren: prof. dr. J.A.W. Teijink; prof. dr. M.P.G.

Koopmans

Copromotoren: dr. J.H.T. Tjhie, dr. H.A. Bijlmer

UMC Maastricht, afd. Cardiothoracale Chirurgie. Erasmus

MC Rotterdam, afd. Viroscience

3 februari 2014 **M.N.T. Huyen**

Molecular epidemiology of tuberculosis in Vietnam
Promotores: prof. dr. D. van Soolingen, prof. dr. F.G.J. Cobelens
Copromotores: dr. ir. E.W. Tiemersma, dr. L.T.N. Thi Ngoc Nguyen
Radboudumc Nijmegen, afd. Medische Microbiologie.
AMC Amsterdam, afd. Global Health

12 februari 2014 **M. van Oosten**

Fluorescence targeted imaging of cancer and bacterial infections
Promotores: prof. dr. J.M. van Dijl, prof. dr. G.M. van Dam, prof. dr. T. Wiggers
UMC Groningen, afd. Medische Microbiologie

12 februari 2014 **L. van der Linden**

Novel enterovirus inhibitors; viral and host targets
Promotores: prof. dr. F.J.M. van Kuppeveld, prof. dr. J.M.D. Galama, prof. dr. J. Neyts
Radboudumc, afd. Medische Microbiologie. Universiteit Utrecht, afd. Virologie. KU Leuven, afd. Microbiologie en Immunologie

17 februari 2014 **H.P. Patil**

Development of adjuvanted influenza vaccines for pulmonary delivery
Promotores: prof. dr. A.L.W. Huckriede, prof. dr. H.W. Frijlink, prof. dr. J.C. Wilschut
Copromotor: dr. W. L.J. Hinrichs
UMC Groningen, afd. Medische Microbiologie. RU Groningen, afd. Farmaceutische Technologie & Biofarmacie

24 februari 2014 **T. Donker**

Disease transmission through hospital networks
Promotor: prof. dr. H.J. Grundmann
Copromotor: dr. J. Wallinga
UMC Groningen, afd. Medische Microbiologie. RIVM Bilthoven, Centrum Infectieziektebestrijding

28 februari 2014 **M. Bruins**

Transferable Odor Differentiation Models for infectious disease diagnostics
Promotor: prof. dr. A. van Belkum
Copromotores: dr. ing. W.W.J. Laureijssen-van de Sande, dr. ir. A. Bos
Erasmus MC Rotterdam, afd. Medische Microbiologie & Infectieziekten

11 maart 2014 **L.G.M. Bode**

Prevention of healthcare associated *Staphylococcus aureus* infections
Promotor: prof. dr. M.C. Vos
Erasmus MC Rotterdam, afd. Medische Microbiologie & Infectieziekten

13 maart 2014 **T. Feuth**

Lymphocytes and liver fibrosis in HIV & HCV coinfection
Promotores: prof. dr. A.I.M. Hoepelman, prof. dr. P. D. Siersema
Copromotores: dr. D. van Baarle, dr. J.E. Arends
UMC Utrecht, afd. Interne Geneeskunde en Infectieziekten, afd. Maag-darm-leverziekten

26 maart 2014 **S. Torres Pedraza**

Early events in dengue virus infection
Promotores: prof. dr. J.M. Smit, prof. dr. S. Urcuqui
Copromotor: dr. I.A. Rodenhuis-Zybert
UMC Groningen, afd. Medische Microbiologie

2 april 2014 **N.V. Ayala Núñez**

Dengue virus cell entry: Unraveling the role of antibodies, maturation status and antiviral drugs
Promotores: prof. dr. J.M. Smit, prof. dr. J.C. Wilschut
UMC Groningen, afd. Medische Microbiologie

ORATIE

20 december 2013 **Prof. dr. E.J. Kuijper**

Hoogleraar met als leeropdracht Experimentele Bacteriologie
Titel oratie: "Sporen zoeken en kaartlezen"
LUMC Leiden, afd. Medische Microbiologie

AGENDA

24-26 maart 2014

Boerhaave cursus Moleculaire Diagnostiek

2-5 april 2014

16th ICID

Kaapstad, Zuid-Afrika

<http://www.isid.org/icid/>

15-16 april 2014

Voorjaarsvergadering NVMM

Papendal, Arnhem

6 mei 2014

Begrijpelijk en doelgericht schrijven voor huisartsen en medisch specialisten

www.pe-online.nl

10-13 mei 2014

24th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID)

Barcelona

<http://www.congrex.ch/eccmid2014/>

15 mei 2014

3rd European Confederation of Medical Mycology (ECMM) Educational Symposium

Amsterdam

[http://www.iccc2014.org/en/Educational-](http://www.iccc2014.org/en/Educational-Symposium_20_270.html)

[Symposium_20_270.html](http://www.iccc2014.org/en/Educational-Symposium_20_270.html)

15-19 mei 2014

9th International Conference on Cryptococcus and cryptococcosis (ICCC9)

Amsterdam

http://www.iccc2014.org/en/Home_10_6_12.html

17-20 mei 2014

ASM 2014, 114th General Meeting

Boston, Massachusetts

<http://gm.asm.org/>

26 mei 2014

WAMM-bijeenkomst

St. Antonius Ziekenhuis Nieuwegein

10 juni 2014

WMDI-bijeenkomst (samen met NWKV)

12-13 juni 2014

Summer frontiers symposium: age & immunity

19-20 juni 2014

6^e Nederlandse Tuberculose Diagnostiek Dagen

Rotterdam

22-26 juni 2014

15th Biennial INTERNATIONAL PARVOVIRUS Workshop

Bordeaux

<http://parvovirus.org/2014/home/>

6-9 september 2014

54th ICAAC 2014

Washington DC, USA

[www.http://www.asm.org/index.php/asm-events/](http://www.asm.org/index.php/asm-events/icaac2013)

[icaac2013](http://www.asm.org/index.php/asm-events/icaac2013)

11-13 september 2014

European Bone and Joint Infection Society-congres

Utrecht

www.ebjis2014.org; email: ebjis2014@congressbydesign.com

16 september 2014

WMDI-bijeenkomst

23 september 2014

Begrijpelijk en doelgericht schrijven voor huisartsen en medisch specialisten

www.pe-online.nl

23 september 2014

Bijeenkomst Werkgroep Klinische Parasitologie

29 oktober-1 november 2014

16th Biennial Meeting of the European Society for Immunodeficiencies

Praag

[http://w3.kenes-group.com/mailshot/congress/esid2014/](http://w3.kenes-group.com/mailshot/congress/esid2014/ms2.html?ref2=db1)

[ms2.html?ref2=db1](http://w3.kenes-group.com/mailshot/congress/esid2014/ms2.html?ref2=db1)

3 november 2014

WAMM-bijeenkomst

St. Antonius Ziekenhuis Nieuwegein.

4 november 2014

WMDI-bijeenkomst

13 en 14 november 2014

Najaarsvergadering NVMM