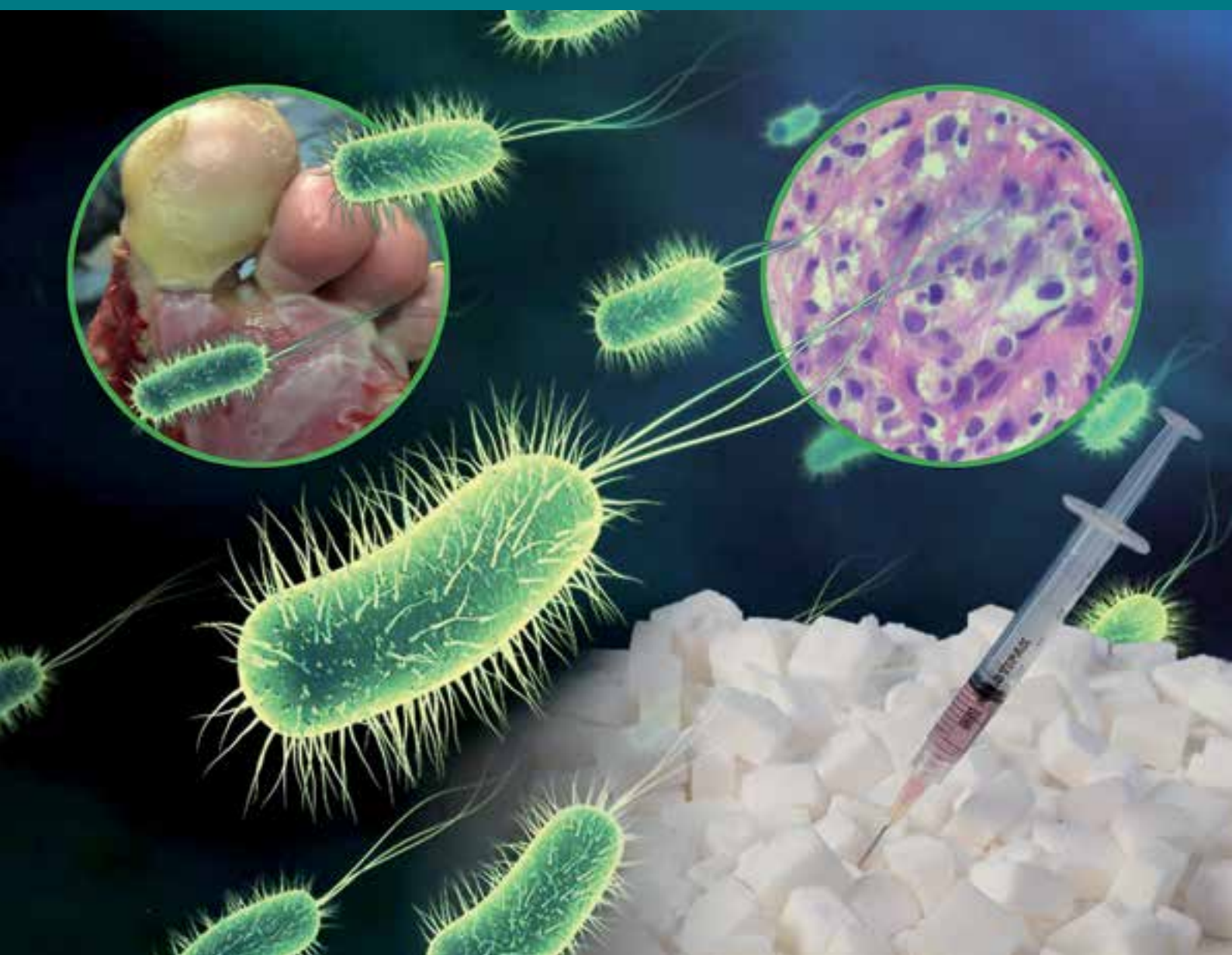


NEDERLANDS TIJDSCHRIFT VOOR  
**MEDISCHE MICROBIOLOGIE**



## 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 (werk)groepen 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](mailto:nvmm@knmg.nl)  
Internet: [www.nvmm.nl](http://www.nvmm.nl)

### Hoofredactie

Dr. G.I. Andriess, dr. C.W. Ang

### Redactie

Mw. dr. I.A.J.M. Bakker-Woudenberg,  
dr. E. Boel, mw. dr. E. Heikens, mw. T. Herremans, mw. drs. M. Jager, dr. J.A. Kaan, dr. J.S. Kalpoe, dr. M. Van Rijn,  
dr. C. Vink, dr. H.F.L. Wertheim

### Redactiesecretariaat

Van Zuiden Communications B.V.  
Mw. M.S. Kapteyn-Brus  
Tel. (0172) 476191, e-mail:  
[kapteyn@vanzuidencommunications.nl](mailto: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: € 55,- per jaar  
Buiten Nederland, in Europa: 77,- per jaar  
Losse nummers: 12,50  
Opgave abonnementen:  
Tel. (0172) 47 61 91



© 2012, 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

Sweet goodbyes 141

## Artikelen

Het influenzaseizoen 2011/12 in Nederland. Een kleine epidemie gedomineerd door het A(H3N2)-virus 142  
*J.C. de Jong, A. Meijer, G.A. Donker, W. van der Hoek, G.F. Rimmelzwaan, A.D.M.E. Osterhaus*

De toekomst van infectiepreventie (2) Norm, samenwerking, opleiding en financiering 149  
*I.J.B. Spijkerman, G.J.H.M. Ruijs, J. Kluytmans*

## Thema: Diabetes mellitus en infectieziekten

Diabetes en darmflora. Een nieuw aangrijpingspunt voor metabole controle? 153  
*A. Vrieze, R.S. Kootte, M. Nieuwdorp, F. Holleman*

De diabetische voet 157  
*E.J.G. Peters, K. Bakker*

Risicofactoren voor chronische Q-koorts. Speelt diabetes mellitus een rol? 163  
*E. Hoornenborg, L.M. Kampschreur, K.P. Bouter, P.C. Wever*

Asymptomatische bacteriurie en urineweginfecties bij patiënten met diabetes mellitus 167  
*C. Schneeberger, S.E. Geerlings*

Persisterende infecties en diabetes mellitus. De rol van biofilms 172  
*J.J.M. Bouwman*

## CBG

Farmacovigilantie wetgeving en anti-infectieuze middelen 180  
*L. Gross-Martirosyan, C. Geluk, S. Straus, B. Voordouw*

## Verenigingsnieuws

Abstracts Wetenschappelijke Najaarsvergadering NVMM en VIZ 181

Promoties 188

Oraties, afscheidsredes 189

Agenda, cursusaankondiging 190

Foto omslag: Loes van Damme ([l.h.vandamme@erasmusmc.nl](mailto:l.h.vandamme@erasmusmc.nl)) en Hans den Boer ([j.denboer@erasmusmc.nl](mailto:j.denboer@erasmusmc.nl))  
Erasmus MC, Afdeling Medische Microbiologie & Infectieziekten,  
Postbus 2040, 3000 CA, Rotterdam.

## Sweet goodbyes

Het stellen van de juiste diagnose bij een moeilijke casus voelt als een overwinning. Op wie of wat, is eigenlijk onbelangrijk. De Amerikaanse journalist Berton Roueché beschreef in zijn boek *Medical Detectives* een reeks speurneusverhalen die als inspiratie dienden voor de populaire televisieserie 'House'. Roueché tekende zijn verhalen op vanaf de jaren 40 tot 80 van de vorige eeuw, in een tijd waar de informatieoverdracht over bijzondere casus en uitbraken van nog onbekende ziekten sterk verbeterde, maar nog grotendeels afhankelijk was van leerboeken en tijdschriften. We zijn nu definitief het tijdperk van het internet binnengestapt. Elektronische alerts over uitbraken op landelijk of wereldniveau komen, mits je erop geabonneerd bent, elke dag in je mailbox, en er zijn duizenden websites met allerlei beschrijvingen van ziektes. Als je om het uur wordt gebeld door een collega die met hoorbaar ongeduld informeert of je al weet welke diagnostiek en therapie moet worden ingesteld bij de koortsige IC-patiënt die de afgelopen zes weken op vier verschillende continenten ongeveer alle activiteiten heeft uitgevoerd waarvoor je volgens de reisverzekering een aanvullende dekking moet hebben, dan moet je heel andere eigenschappen aanspreken dan 'House'. We kunnen het ons niet permitteren de onbegrepen genie uit te hangen, uit de heup een dozijn testen aan te vragen en, als iedereen naar huis is, een levensgevaarlijke peperdure therapie in te stellen. Nee, we hebben een gids nodig die ons helpt een pad te kiezen door de informatiejungle. Dat is precies wat een microbioloog hoopt te vinden bij collega's die misschien goed bekend zijn in hun favoriete stukje jungle.

Toen ik vijf jaar geleden het hoofdredacteurschap van het NTMM op me nam, werd de koers van het tijdschrift grotendeels gedictieerd door de kopij die binnen kwam druppelen. We hebben de afgelopen jaren geprobeerd

om met zoveel mogelijk thematische nummers, waarbij natuurlijk ook ruimte werd gelaten voor spontane inzendingen, een evenwicht te vinden tussen het brengen van diepgang en nieuwe informatie. De lezersenquête van afgelopen jaar toonde niet alleen duidelijk de waardering die de NVMM-leden hebben voor het tijdschrift, maar ook dat er andere behoeften zijn. De oprichting van de kennisdelingscommissie, met als eerste taak het ontwikkelen van Micropedia (een wikipedia gericht op de medische microbiologie in Nederland) geeft aan dat onze vereniging oog heeft voor ontwikkelingen of het gebied van uitwisselen van informatie. Hoewel de laboratoriumdiagnostiek voor veel medisch-microbiologische praktijken het kernpunt is, ben ik ervan overtuigd dat onze kennis van preventie en behandeling van infectieziekten minstens net zo belangrijk is. De technologische ontwikkelingen van de diagnostiek en de bedrijfsmatige ontwikkelingen op de Nederlandse markt dwingen ons tot een herwaardering van alle aspecten van ons vak. Kennisoverdracht tussen professionals, of dat nu collega's of concurrenten zijn, zal essentieel blijven voor het op peil houden van de kwaliteit van de zorg op het gebied van infectieziekten. De komende tijd zal ik mij gaan bezighouden met deze nieuwe initiatieven, waarvan Micropedia het eerste zichtbare resultaat zal moeten worden. Helaas betekent het ook dat ik mijn hoofdredacteurschap van het NTMM na vijf jaar zal neerleggen. Het waren vijf mooie jaren en ik wil hierbij de redactieleden en het redactiesecretariaat uit de grond van mijn hart bedanken voor alles wat we hebben neergezet in de afgelopen jaren.

Veel leesplezier bij dit nummer van het NTMM, dat als overkoepelend thema 'Diabetes mellitus en infectieziekten' heeft.

Wim Ang

# Het influenzaseizoen 2011/12 in Nederland

## Een kleine epidemie gedomineerd door het A(H3N2)-virus

J.C. de Jong, A. Meijer, G.A. Donker, W. van der Hoek, G.F. Rimmelzwaan, A.D.M.E. Osterhaus

### Samenvatting

De influenza-epidemie van het seizoen 2011/12 was klein, kort en laat. A(H3N2)-virussen overheersten, het A(H1N1)pdm09-virus werd slechts sporadisch gedetecteerd en onder de B-virussen was de fylogenetische lijn B/Yamagata/16/88 dominant. Bij de A(H1N1)pdm09- en B-virussen is er sinds 2010/11 geen significante antigene drift opgetreden en bij het begin van het seizoen leken de vaccinvirussen goed op de circulerende virussen. De uitslagen van onze hemagglutineringsremmingstesten (HAR) suggereren echter dat er gaande de epidemie laagreactieve A(H3N2)-stammen verschenen, wijzend op een antigene vaccinmismatch voor dit subtype. Twee A(H1N1)pdm09-virussen met een H275Y-aminozuursubstitutie in het neuraminidase, indicatief voor sterk verminderde remming door oseltamivir, werden gevonden bij patiënten die niet waren behandeld met oseltamivir. Voor het seizoen 2012/13 op het noordelijk halfrond heeft de Wereldgezondheidsorganisatie (WHO) als influenzavaccinsamenstelling aanbevolen:

- voor A(H1N1)pdm09: A/California/7/09
- voor A(H3N2): A/Victoria/361/11
- voor B: B/Wisconsin/1/10 van de lijn B/Yamagata/16/88

### Trefwoorden

Influenza, antigene drift, epidemiologie, vaccin

### Influenzasurveillance in Nederland

In Nederland wordt de influenzasurveillance uitgevoerd door het NIVEL (Nederlands Instituut voor Onderzoek van de Gezondheidszorg) te Utrecht en het door de WHO erkende NIC (Nationaal Influenza Centrum), dat een samenwerkingsverband is van het EMC (Erasmus Medisch Centrum) te Rotterdam en het RIVM (Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu) te Bilthoven. In het kader van de Continue Morbiditeits Registratie Peilstations Nederland van NIVEL registreerden in 2011/12 41 huisartspraktijken, de CMR-peilstations, wekelijks het aantal patiënten dat zich meldde met een influenza-achtig ziektebeeld (IAZ).<sup>1</sup> Deze peilstations vormen een landelijk netwerk dat 0,7% van de Nederlandse

bevolking bestrijkt en landelijk representatief is met betrekking tot leeftijd- en geslachtsverdeling, geografische spreiding en bevolkingsdichtheid. Het NIVEL berekent op grond van de geregistreerde aantallen IAZ-patiënten een landelijke IAZ-incidentie die de klinische influenza-activiteit weerspiegelt. Wekelijks wordt de incidentie aan het Europese Centre for Disease Control and Prevention (ECDC) in Stockholm gemeld, die deze informatie doorstuurt naar de centra van de WHO in Kopenhagen (Europees regionaal) en Genève (mondiaal).

### Virologische influenzasurveillance

Als gevolg van aminozuursubstituties in het hemagglutinine kunnen influenzavirussen bijna jaarlijks in zekere mate ontsnappen aan de neutraliserende werking van antilichamen die door eerdere infecties of vaccinaties in de bevolking tegen dit envelopeiwit zijn opgewekt. Dit verschijnsel wordt 'antigene drift' genoemd en kan worden bepaald door middel van een serologische test, de hemagglutineringsremmingstest (HAR), uitgevoerd met post-infectie-antisera bereid in fretten, en kalkoenerijtrocyten. HAR-antilichamen worden gezien als een betrouwbaar surrogaat voor virusneutraliserende antilichamen. Vergelijking van de epidemische virussen met de drie vaccinstammen verschaft informatie over de mate van bescherming die het vaccin heeft opgewekt tegen infecties met elk van de op het ogenblik circulerende virus(sub) typen, A(H1N1)pdm09, A(H3N2) en B.

Prof. dr. G.F. Rimmelzwaan, prof. dr. A.D.M.E. Osterhaus, virologen, Erasmus MC, afdeling Viroscience, Nationaal Influenza Centrum, Rotterdam, dr. G.A. Donker, huisarts-epidemioloog, NIVEL, Nederlands Instituut voor Onderzoek van de Gezondheidszorg, afdeling CMR-peilstations Nederland, Utrecht, dr. A. Meijer, viroloog, RIVM, Centrum Infectieziektebestrijding, Bilthoven, dr. W. van der Hoek, arts-epidemioloog, RIVM, Centrum Infectieziektebestrijding, Bilthoven.  
Correspondentieadres: dr. J.C. de Jong, Erasmus MC, Faculteit Geneeskunde, afdeling Viroscience, Nationaal Influenza Centrum, Postbus 2040, 3000 CA Rotterdam, e-mail: jong7662@planet.nl.

Op grond van de gegevens en de virusisolaten die het mondiale netwerk van NIC's verstrekt, brengt de WHO jaarlijks in februari en september advies uit voor de vaccinamenstelling voor het daaropvolgende influenzaseizoen op het noordelijk respectievelijk zuidelijk halfrond. In dit kader verzamelt en analyseert ook het Nederlandse NIC influenzavirusisolaten, waarvan ze regelmatig een selectie verzendt naar het WHO Collaborating Centre in Londen. Wekelijks neemt elke peilstationhuisarts van maximaal twee patiënten met een IAZ (of met een andere acute respiratoire aandoening als zich geen IAZ-patiënten melden), neus-keelwatten af en stuurt deze monsters naar het NIC. Bij voorkeur is één van de IAZ-patiënten jonger dan tien jaar. In de monsters tracht het NIC met de Taqman real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) influenzavirus aan te tonen en indien deze test positief is, het virus te isoleren. Daarnaast ontvangt het NIC van Nederlandse diagnostische ziekenhuislaboratoria influenzavirussen. Alle verkregen isolaten worden met de HAR geanalyseerd.

Influenzavirusdetecties uit het peilstationnetwerk en influenzavirussen die het NIC heeft ontvangen van andere laboratoria, worden op basis van de week van monsterafname wekelijks gerapporteerd aan het ECDC-kantoor, die deze gegevens analyseert en doorstuurt naar de Europese en mondiale WHO-kantoren.

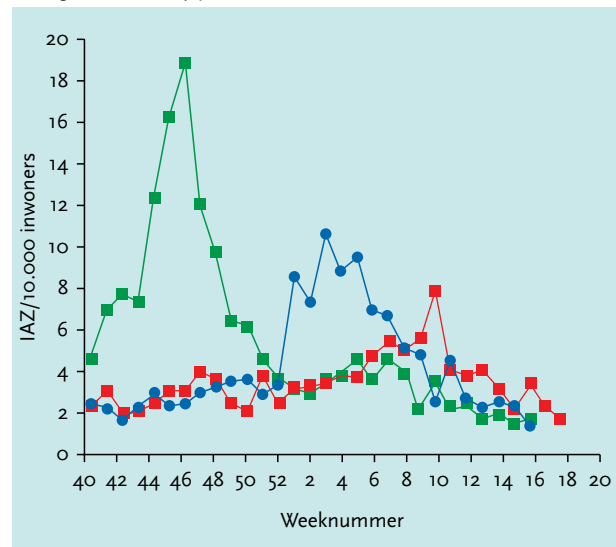
De isolaten afkomstig uit het peilstationnetwerk en steekproefsgewijs ook de isolaten uit de ziekenhuislaboratoria worden eveneens onderzocht op de gevoeligheid voor de neuraminidaseremmers oseltamivir en zanamivir en de M2-ionkanaalblockers amantadine en rimantadine.<sup>2</sup> Van geselecteerde virussen worden de nucleotidesequenties bepaald van de genen die coderen voor het antigene deel van het HA (HA1), het neuraminidase (NA) en het matrixeiwit (M), daarbij gebruikmakend van het klinische monster. Hieruit blijkt de fylogenetische cladeverdeling en de eventuele aanwezigheid van mutaties die zijn geassocieerd met (sterk) verminderde remming door antivirale middelen. Daarnaast worden de meeste influenzavirussen geanalyseerd met een mutatiespecifieke PCR, A(H1N1) pdm09-virussen op de aminozuursubstitutie H275Y in het neuraminidase en A(H3N2)-virussen op de aminozuursubstituties E119V en R292K in het neuraminidase, die indicatief zijn voor (sterk) verminderde remming door neuraminidaseremmers. Ook de resultaten van dit antivirale onderzoek worden gerapporteerd aan het ECDC.

### De influenza-epidemie van het seizoen 2011/12

Vanaf week 34 van 2011 tot en met week 24 van 2012 werden met RT-PCR en/of virusisolering sporadisch influenzavirussen aangetoond, vanaf week 6 van 2012 steeg het wekelijkse aantal gedetecteerde virusinfecties (figuur 2). Voor Nederland is afgesproken dat er sprake is van een griepedemie wanneer de IAZ-incidentie twee weken

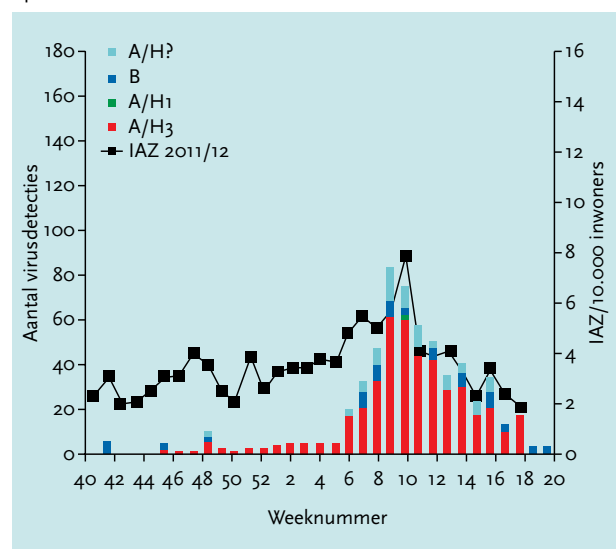
achtereen de drempelwaarde van 5,1 per 10.000 inwoners overschrijdt. Volgens dit criterium was er in Nederland in het seizoen 2011/12 een kleine griepedemie in de weken 9 en 10 (figuur 1). Dit is laat in het seizoen: over 35 griep-

**Figuur 1.** Klinische influenza-activiteit in Nederland in de seizoenen 2009/10 (pandemie, groene symbolen), 2010/11 (blauwe symbolen) en 2011/12 (rode symbolen), weergegeven als het wekelijkse aantal patiënten met een IAZ (influenza-achtig ziektebeeld) per 10.000 inwoners.



De gegevens werden verzameld door de peilstationhuisartsen van het NIVEL in het kader van de Continue Morbiditeits Registratie.

**Figuur 2.** Virusdetecties in het influenzaseizoen 2011/12. Afgebeeld zijn de totale wekelijkse aantallen bij het NIC bekende influenzavirusinfecties, opgesplitst naar (sub)type. De aantallen zijn weergegeven als balken, af te lezen op de linker verticale as: A(H3): rood, A(H1): groen, B: blauw en type A waarvan het subtype niet is bepaald: ongekleurd. Daarnaast is weergegeven het aantal IAZ en (influenza-achtige ziektebeelden) per 10.000 inwoners per week zoals geregistreerd door de peilstationhuisartsen van het NIVEL: curve, af te lezen op de rechter verticale as.



seizoenen bezien, lag het begin van een epidemie meestal eind december.<sup>3</sup> De piek viel in 2011/12 in week 10 en lag op de ongewoon lage waarde van 7,9 per 10.000 inwoners.

### Overzicht van de geïsoleerde influenzavirussen van het seizoen 2011/12

Gedurende het seizoen 2011/12 werden door het NIC in totaal 579 influenzavirussen van de ziekenhuislaboratoria ontvangen of in klinische monsters van de NIVEL-huisartspeelstations gedetecteerd (tabel 1). A(H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>)-virussen werden het vaakst aangetoond en onder de B-virussen was de fylogenetische lijn B/Yamagata/16/88 dominant. Zoals gewoonlijk werden B-virussen relatief vaker gezien in monsters van huisartspatiënten. Opvallend is dat A(H<sub>1</sub>N<sub>1</sub>)pdm09-virusinfecties – waaraan in het vorige seizoen nog 39 personen overleden – dit seizoen nauwelijks werden aangetoond. De meeste hiervan (4 van de in totaal 5) werden bij huisartspatiënten vastgesteld. Dit virus was ook wereldwijd weinig actief.<sup>4</sup>

### Karakterisering van de influenza A(H1)-virussen

Influenzavirussen die in bebroede kippeneieren zijn vermeerderd, vertonen dikwijls een antigene reacti-

viteit die afwijkt van virussen die uitsluitend in animale celcultuur zijn geïsoleerd en gepasseerd.<sup>5</sup> Laatstgenoemde virussen vertegenwoordigen beter de werkelijk circulerende virussen, omdat de nucleotidesequentie van het HA1 vaker gelijk is aan die van het virus in het klinische monster. De reactiviteit van antisera bereid met virussen die een eipassage hebben ondergaan – waaronder alle van de WHO verkregen stammen – , wijkt daardoor vaak af van die van antisera bereid met virussen die alleen in animale celcultuur zijn geïsoleerd en gepasseerd – zoals de Nederlandse isolaten. Om deze reden zoeken wij naar het vóórkomen van antigene drift aan de hand van de HAR-titers van laatstgenoemde antisera.

Op deze wijze stelden wij vast dat van de twee geïsoleerde A(H<sub>1</sub>)pdm09-virussen uit het seizoen 2011/12 het A/Netherlands/195/12-virus geen significante antigene drift vertoonde ten opzichte van het virus dat in 2009 pandemisch verscheen (tabel 2, kader). Daarentegen reageerde het tweede A(H<sub>1</sub>)pdm09-isolaat, A/Netherlands/155/12, zwak met de antisera tegen A/Netherlands/602/09, A/Netherlands/007/10 en het toekomstige vaccinvirus X-181; het reageerde wel maximaal met antiserum tegen zichzelf (tabel 2, laatste kolom).

Tabel 1. Aantallen gedetecteerde influenzavirussen in het seizoen 2011/12.

Type A: 520 (90%)		Type B: 59 (10%)			
Gesubtypeerd: 439 (84%)		Niet gesubtypeerd: 81 (16%)*		Fylogenetische lijn bepaald: 32 (54%)	Onbepaald: 27 (46%)*
A(H <sub>1</sub> N <sub>1</sub> )pdm09: 5 (1%)	A(H <sub>3</sub> ): 434 (99%)		B/Victoria/2/87: 4 (12%)	B/Yama-gata/16/88: 28 (88%)	

\* Ten gevolge van een te lage virusconcentratie kon van 81 A- en 27 B-virussen het subtype/de lijn niet worden bepaald.

Tabel 2. Antigene analyse van Nederlandse influenza A(H<sub>1</sub>)-virusisolaten uit het seizoen 2011/12. Weergegeven zijn de titers van frettenantisera bereid met referentiestammen, vaccinstammen en representatieve Nederlandse isolaten, bepaald in een hemagglutinatieremmingstest (HAR) met kalkoenerocyten.

Virusstam	Seizoen	HAR-titer <sup>1)</sup> van antiserum van fretten geïnfecteerd met					
		A/California	X-181A <sup>2)</sup>	X-181 <sup>3)</sup>	A/N/602	A/N/007	A/N/155
A/California/4/09 4)		2560	2560	2560	2560	1280	2560
X-181A <sup>2)</sup>		1280	2560	2560	1280	1280	2560
X-181 <sup>3)</sup>		2560	2560	2560	1280	1280	2560
A/Netherlands/602/09	2009/10	2560	2560	2560	2560	2560	2560
A/Netherlands/007/10	2010/11	2560	2560	1280	1280	2560	2560
A/Netherlands/195/12	2011/12	640	640	1280	1280	1280	2560
A/Netherlands/155/12	2011/12	320	640	160	80	80	2560

1) De titer in de HAR is de omgekeerde waarde van de hoogste verdunning van het frettenantiserum in de desbetreffende kolom die de hemagglutinatie van kalkoenerocyten door een standaarddosis van het influenzavirus in de desbetreffende rij nog juist volledig remt. Homologe titers zijn vet gedrukt. Verschillen tussen titers uit verschillende kolommen zijn niet van belang. Binnen één kolom zijn de titers wel vergelijkbaar, waarbij alleen titerverschillen van ten minste een factor vier als significant worden beschouwd. De titers werden gecorrigeerd voor de aviditeit van het virus. Kader: zie tekst.

2) X-181A was de vaccinstam voor het seizoen 2011/12. Het was een reassortant van A/California/7/09, die de A(H<sub>1</sub>N<sub>1</sub>)-vaccinreferentiestam was/zal zijn voor de seizoenen 2010/11, 2011/12 en 2012/13. Voor uitleg van het begrip reassortantvirus, zie het verslag van het vorige seizoen.<sup>6</sup>

3) X-181 zal de vaccinstam zijn voor het seizoen 2012/13. Het is eveneens een reassortant van A/California/7/09.

4) A/California/4/09 is nauw verwant aan A/California/7/09.

Wereldwijd geleken de meeste A(H1N1)pdm09-virussen op het A/Netherlands/195/12 virus. Laagreactieve A(H1N1)pdm09-virussen vormden wereldwijd slechts een kleine minderheid.<sup>4</sup> Dit betekent dat het vaccin in het afgelopen seizoen optimale bescherming heeft geboden tegen de meeste epidemische A(H1N1)pdm09-virusstammen. De stam A/California/7/09 is daarom voor het seizoen 2011/12 opnieuw gekozen als de vaccinreferentiestam voor subtype A(H1N1)pdm09.<sup>4</sup>

### Karakterisering van de influenza A(H3)-virussen

Van de influenza A(H3)-virussen is de vermeerdering in celcultuur de laatste jaren slechter geworden. Van de 520 in het seizoen 2011/12 gedetecteerde A(H3)-virussen was slechts 40% kweekbaar. Van een deel van de niet-kweekbare virussen kon wel worden vastgesteld dat de sequentie van het HA1-gen niet afweek van de wel kweekbare virussen, zodat de antigene reactiviteit in de HAR van de kweekbare A(H3)-virussen als representatief mag worden beschouwd voor alle circulerende A(H3)-virussen.

Zoals beschreven in het verslag van het vorige influenza-seizoen, werd in het vorige seizoen de HAR met A(H3)-virussen uitgevoerd in aanwezigheid van oseltamivir.<sup>6</sup> De reden was dat volgens een artikel van het WHO Collaborating Centre in Londen de hemagglutinatie van de recente A(H3)-virussen niet meer tot stand komt via het hemagglutinine maar via het neuraminidase.<sup>7</sup> Door de nog slechtere groei van de A(H3)-virussen, was gebruik van genoemde neuraminidaseremmer voor dit seizoen echter niet meer mogelijk en werd de HAR ook met de A(H3)-virussen als vanouds zonder oseltamivir uitgevoerd. Omdat het aangehaalde artikel intussen niet is bevestigd, omdat wij nooit een significant verschil hebben gevonden tussen HAR-titers bepaald met en zonder oseltamivir en omdat de overige WHO Collaborating Centres geen oseltamivir gebruiken, lijkt dit een verantwoorde handelwijze. De verkregen HAR-uitslagen laten zien dat beide isolaten uit week 48 nog vrijwel gelijk waren aan de vaccinstam X-187 maar dat later geïsoleerde virussen een verminderde reactiviteit vertoonden met antisera tegen de vaccinstam X-187 en tegen A/Netherlands/700/11 (tabel 3, kaders).

**Tabel 3.** Antigene analyse van Nederlandse influenza A(H3)-virusisolaten uit het seizoen 2011/12. Weergegeven zijn de titers van frettenantisera bereid met referentiestammen, vaccinstammen en representatieve Nederlandse isolaten, bepaald in een hemagglutinatieremmingstest (HAR) met kalkoenen- of humane O-erythrocyten.

Virusstam	Seizoen	Week	HAR-titer <sup>1)</sup> van antiserum van fretten geïnfecteerd met								
			A/Brisbane	X-187 <sup>2)</sup>	A/Vic/361	IVR-165 <sup>3)</sup>	A/N/377	A/N/009	A/N/063	A/N/700	A/N/002
A/Brisbane/10/07 <sup>4)</sup>			1280	160	20	80	1280	160	nb <sup>5)</sup>	80	80
X-187 <sup>2)</sup>			160	1280	1280	1280	40	1280	160	640	nb
A/Victoria/361/11			80	160	640	160	80	640	160	160	nb
rA/Vic/361/11 IVR-165 <sup>3)</sup>			160	640	640	1280	40	640	40	160	640
A/Netherlands/377/08	2008/09		1280	320	1280	160	1280	320	160	640	40
A/Netherlands/009/10	2009/10		40	320	1280	80	80	640	80	320	nb
A/Netherlands/063/11	2010/11		80	160	320	160	40	640	320	160	640
A/Netherlands/700/11	2011/12	48	160	640	nb	160	80	320	320	2560	320
A/Netherlands/702/11	2011/12	48	80	320	320	160	40	640	160	640	640
A/Netherlands/713/11	2011/12	52	80	160	nb	nb	80	320	320	1280	320
A/Netherlands/001/12	2011/12	1	80	160	80	nb	80	320	80	160	160
A/Netherlands/002/12	2011/12	2	80	40	nb	nb	40	320	80	160	640
A/Netherlands/003/12	2011/12	3	160	80	1280	160	80	320	160	160	640
A/Netherlands/279/12	2011/12	12	320	160	80	80	160	640	160	160	640
A/Netherlands/331/12	2011/12	13	160	80	80	160	80	640	80	160	320

1) Zie voetnoot 1 van tabel 2.

2) X-187 was de vaccinstam voor 2011/12. Het was een reassortant van A/Victoria/210/09, die in antigeen opzicht leek op de A(H3N2)-vaccinreferentiestam A/Perth/16/09 voor dit seizoen.

3) IVR165 wordt de vaccinstam voor 2012/13. Het is een reassortant van A/Victoria/361/11, de A(H3N2)-vaccinreferentiestam voor dit seizoen.

4) A/Brisbane/10/07 was de A(H3N2)-vaccinreferentiestam voor de seizoenen 2008/09 en 2009/10.

5) nb: niet bepaald.

Dit wijst op antigene drift. Omdat de bevindingen van de WHO overeenkomstig waren, heeft zij in haar vergadering van februari 2012 de A(H3N2)-vaccinreferentiestam A/Perth/16/09 vervangen door A/Victoria/361/11.<sup>4</sup>

### Influenza B-virussen

Zoals in het verslag van het vorige influenzaseizoen al is beschreven, circuleren er van het type B-virus twee fylogenetische lijnen, de B/Victoria/2/87-lijn en de B/Yamagata/16/88-lijn, die genetisch en antigenetisch divergerend zijn geëvolueerd.<sup>6</sup> Interessant is dat reeds vanaf de ontdekking van de B/Yamagata/16/88-lijn in 1988 de twee lijnen genetisch en antigenetisch sterk verschillen. Van de 59 in het seizoen 2011/12 in Nederland gedetecteerde B-virussen werden er 32 ingedeeld naar lijn. Hiervan behoorden er 4 (12%) tot de B/Victoria/2/87-lijn en 28 (88%) tot de B/Yamagata/16/88-lijn.

### Karakterisering van de influenza B-virussen van de B/Victoria/2/87-lijn

Sinds 2008/09 bleken in de influenza B-virussen van de B/Victoria/2/87-lijn geen significante antigene veranderingen te zijn opgetreden in (tabel 4, kader). De WHO verkreeg soortgelijke resultaten en handhaafde daarom B/Brisbane/60/08 als vaccinreferentievirus voor de B/Victoria/2/87-lijn.<sup>4</sup>

### Karakterisering van de influenza B-virussen van de B/Yamagata/16/88-lijn

De influenza B-virussen van de B/Yamagata/16/88-lijn hebben sinds 2003/04 geen significante antigene verandering ondergaan (tabel 5, kader). Wel was de antigene reactiviteit heterogeen. Twee isolaten reageerden

zwak met de antisera tegen een aantal nieuwere isolaten (tabel 5, kolommen 9-11).

De WHO stelde in februari 2012 vast dat in veel landen het aandeel van de B/Yamagata/16/88-lijn van de B-virussen stijgende is. Daarom werd aanbevolen voor de B-component van het influenzavaccin voor 2012/13 een virus van deze lijn te gebruiken.<sup>4</sup>

### Vaccinsamenstelling voor het seizoen 2012/13

In februari en september 2012 vonden te Genève de jaarlijkse vergaderingen van de WHO over de samenstelling van het influenzavaccin voor de seizoenen 2012/13 en 2013 op het noordelijk respectievelijk zuidelijk halfrond plaats. Het advies luidde voor beide seizoenen: voor A(H1N1)pdm09 een A/California/7/09-achtig virus, voor A(H3N2) een A/Victoria/361/11-achtig virus en voor B een B/Wisconsin/1/10-achtig virus van de B/Yamagata/16/88-lijn.<sup>4</sup>

In februari noemde de WHO voor het eerst de mogelijkheid af te wijken van haar advies welke fylogenetische lijn van het B-virus op te nemen in het trivalente vaccin. Zij vermeldde zelfs de mogelijkheid stammen van beide lijnen op te nemen in een *quadrivalent vaccin*.<sup>4</sup> Concreet mag in het komende seizoen in plaats van een B/Wisconsin/1/10-achtig virus van de B/Yamagata/16/88-lijn, een B/Brisbane/60/08-achtig virus van de B/Victoria/2/87-lijn worden gebruikt, of desgewenst beide virussen.

### Gevoeligheid voor antivirale middelen

Alle A(H1N1)pdm09-, A(H3N2)- en B-influenzavirussen die vanaf week 40/2011 tot juli 2012 zijn verzameld en geanalyseerd op antivirale gevoeligheid, vertoonden

**Tabel 4.** Antigene analyse van Nederlandse influenza B-virusisolaten uit het seizoen 2011/12 van de fylogenetische B/Victoria/2/87-lijn. Weergegeven zijn de titers van frettenantisera bereid met referentiestammen, vaccinstammen en representatieve Nederlandse isolaten, bepaald in een hemagglutineringsremmingstest (HAR) met kalkoenerythrocyten.

Virusstam	Seizoen	HAR-titer <sup>1)</sup> van antiserum van fretten geïnfecteerd met					
		B/Malaysia	B/Brisbane <sup>2)</sup>	B/N/076	B/N/385	B/N/026	B/N/441
B/Malaysia/2506/04		1280	160	80	40	40	160
B/Brisbane/60/08 <sup>2)</sup>		320	1280	40	640	320	640
B/Netherlands/076/06	2005/06	320	160	160	20	20	160
B/Netherlands/385/09	2008/09	20	160	<10	640	640	640
B/Netherlands/026/10	2010/11	<10	160	10	640	640	640
B/Netherlands/441/12	2011/12	<10	160	<10	640	640	640
B/Netherlands/483/12	2011/12	<10	80	<10	320	640	640

1) Zie voetnoot 1 van tabel 2.

2) B/Brisbane/60/08 was zowel de vaccinreferentiestam als de werkelijke vaccinstam voor het seizoen 2011/12.



**Tabel 5.** Antigene analyse van Nederlandse influenza B-virusisolaten uit het seizoen 2011/12 van de fylogenetische B/Yamagata/16/88-lijn. Weergegeven zijn de titers van frettenantisera bereid met referentiestammen, vaccinstammen en representatieve Nederlandse isolaten, bepaald in een hemagglutinatieremmingstest (HAR) met kalkoenerijtrocyten.

Virusstam	Seizoen	HAR-titer <sup>1)</sup> van antiserum van fretten geïnfecteerd met									
		B/Florida	B/Wisconsin <sup>2)</sup>	BX-39 <sup>3)</sup>	B/N/429	B/N/087	B/N/346	B/N/375	B/N/234	B/N/707	B/N/415
B/Florida/4/06		<b>1280</b>	1280	160	80	640	320	40	80	20	1280
B/Wisconsin/1/10 <sup>2)</sup>		320	<b>1280</b>	320	80	320	320	80	320	640	nb <sup>4)</sup>
BX-39 <sup>3)</sup>		320	1280	<b>640</b>	<10	320	320	80	320	160	320
B/Netherlands/429/98	1998/99	320	640	160	<b>1280</b>	1280	1280	320	640	320	nb
B/Netherlands/087/04	2003/04	640	640	320	160	<b>2560</b>	1280	320	320	160	nb
B/Netherlands/346/07	2007/08	640	1280	640	320	2560	<b>1280</b>	320	640	320	nb
B/Netherlands/375/08	2008/09	160	1280	320	160	640	640	<b>320</b>	640	320	1280
B/Netherlands/234/11	2010/11	160	640	160	320	640	640	320	<b>640</b>	320	640
B/Netherlands/707/11	2011/12	80	320	80	320	320	320	160	640	<b>320</b>	320
B/Netherlands/203/12	2011/12	80	320	40	320	640	640	320	640	320	640
B/Netherlands/343/12	2011/12	160	640	80	160	640	640	320	640	320	640
B/Netherlands/415/12	2011/12	160	160	80	20	320	160	40	40	40	<b>1280</b>
B/Netherlands/457/12	2011/12	80	320	80	20	160	160	40	160	80	640

1) Zie voetnoot 1 van tabel 2.

2) B/Wisconsin/1/10 wordt de WHO-vaccinreferentiestam voor het seizoen 2012/13.

3) BX-39 is de vaccinstam voor het seizoen 2012/13. Het is een reassortant van B/Hubei Wujiagang/158/09, die gelijk is op B/Wisconsin/1/10.

4) nb: niet bepaald.

**Tabel 6.** Overzicht van de gevoeligheid van influenzavirussen uit seizoen 2011/2012 voor antivirale middelen.

Virus	Aantal onderzochte virussen met (sterk) verminderde remming door:	
	Neuraminidaseremmers	M2-ionkanaalblokkers
A(H3N2)	0/254	34/34 (100%)
A(H1N1)pdm09	2/7	6/6 (100%)
B	0/7	nvt <sup>1)</sup>

1) nvt = niet van toepassing omdat al vanaf hun introductie bekend is dat M2-ionkanaalblokkers niet werkzaam zijn tegen type B-virussen

een normaal niveau van remming door neuraminidaseremmers in de fenotypische test en geen van deze virussen had de hierbovengenoemde moleculaire markers voor (sterk) verminderde gevoeligheid voor neuraminidaseremmers (tabel 6). Alle geanalyseerde A(H1N1)pdm09- en A(H3N2)-virussen bevatten wel de S31N-aminozuursubstitutie in het gen voor het M2-eiwit, die indicatief is voor sterk verminderde remming door M2-ionkanaalblokkers (tabel 6).

In april 2012 is een A(H3N2)-virus gedetecteerd met een I222V-substitutie in het neuraminidase. Deze mutatie vergroot verminderde gevoeligheid voor neuraminidaseremmers als gevolg van een mogelijke toekomstige E119V-substitutie en compenseert verlies van neuraminidaseactiviteit (*viral fitness*) door de eventuele E119V-substitutie. Het is belangrijk om ook dit soort mutaties te monitoren.

Begin augustus 2012 werd bij twee vakantiegangers die recent uit Spanje waren teruggekeerd, een infectie vastgesteld met een A(H1N1)pdm09-virus met in het neuraminidase de H275Y substitutie, die is geassocieerd met sterk verminderde remming door oseltamivir.<sup>8</sup> Deze patiënten waren hoogstwaarschijnlijk tijdens hun vakantie in Spanje besmet. Er werd geen epidemiologisch verband gevonden tussen de twee patiënten, die niet waren behandeld met oseltamivir. Sequentieanalyse van het neuraminidasegen liet drie aminozuursubstituties zien (V241I, N369K en N386S), die eerder zijn beschreven als 'permissieve' mutaties die mogelijk maken dat de mutatie H275Y in het neuraminidase kan worden ingebracht zonder verlies van *viral fitness*. Hierdoor wordt de kans vergroot dat er spontaan een stam ontstaat met

de H275Y-substitutie die zich gemakkelijk verspreidt. Dit gebeurde in 2007/08 met het toenmalige A(H1N1)-seizoensinfluenzavirus. Binnen een jaar heeft toen dit gemuteerde virus wereldwijd het oseltamivirgevoelige A(H1N1)-virus bijna compleet verdrongen.

### Summary

The influenza epidemic of the 2011/12 season was small, short and late. Most of the causative viruses were of subtype A(H3), the phylogenetic lineage B/Yamagata/16/88 was dominant among the B viruses, and subtype A(H1N1)pdm09 was rarely detected.

Since the 2010/11 season, in general no significant antigenic drift has occurred in any of the four circulating (sub) types/lineages and the vaccine components matched well with the circulating viruses. However, during the season, significantly low reactive A(H3) viruses appeared, indicating an antigenic vaccine mismatch for this subtype. For the 2012/13 season, the World Health Organisation (WHO) recommended inclusion of A/California/7/09-like strains for A(H1N1)pdm09, A/Victoria/361/11-like strains for A(H3N2) and B/Wisconsin/1/10-like strains from the B/Yamagata/16/88 lineage for B. For the first time, WHO also allowed the use of a B/Brisbane/60/08-like strain from the B/Victoria/2/87-lineage in a trivalent vaccine, or both B viruses in a quadrivalent vaccine. A(H1N1)pdm09-viruses showing highly reduced sensitivity to oseltamivir due to the H275Y amino acid substitution in the neuraminidase, were detected in two patients, who had not been treated with oseltamivir.

### Dankbetuigingen

Ook in het seizoen 2011/12 was de influenzasurveillance in Nederland niet mogelijk geweest zonder de bereidheid van de hoofden van de diagnostische ziekenhuislaboratoria influenzavirusstammen of klinische monsters waarin door hen influenzavirus was aangetoond, naar het NIC op te sturen. De bijdragen van de peilstationhuisartsen van het NIVEL waren eveneens essentieel voor deze surveillance.

De auteurs danken R. van Beek en H. de Gruyter (Erasmus MC), M. Bagheri, T. Marzec, S. Jenny, P. Overduin en M.A. de Lange (RIVM), en M. Heshusius-van Valen en P. ten Veen (NIVEL) voor de uitstekende technische ondersteuning.

The authors gratefully acknowledge the generous gift of influenza reference viruses and antisera from Dr. J. McCauley of the World Influenza Centre in London.

Potentieel belangenconflict: J.C. de Jong, G.F. Rimmelzwaan en A.D.M.E. Osterhaus zijn fulltime of parttime medewerkers van ViroClinics Biosciences BV, een Erasmus MC spin-out die contractresearch uitvoert voor de farmaceutische industrie. De andere auteurs meldden geen mogelijk belangenconflict.

### Referenties

1. Donker GA. Continue Morbiditeits Registratie peilstations Nederland 2010. Utrecht: NIVEL, 2011. 183 p; [www.nivel.nl/peilstations](http://www.nivel.nl/peilstations).
2. Meijer A, Jonges M, Abbink F, Ang W, van Beek J, Beersma M, et al. Oseltamivir-resistant pandemic A(H1N1) 2009 influenza viruses detected through enhanced surveillance in the Netherlands, 2009-2010. *Antiviral Res.* 2011;92:81-9.
3. Donker GA, Gravestijn J. De beste tijd voor griepvaccinatie. *Huisarts & Wetenschap.* 2007;50:41.
4. WHO. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2012-2013 northern hemisphere influenza season. *Wkly Epidemiol Rec.* 2012;87(10):83-95.
5. De Jong JC, de Ronde-Verloop FM, Veenendaal-van Herk TM, Weijers TF, Bijlsma K, Osterhaus ADME. Antigenic heterogeneity within influenza A(H3N2) virus strains. *Bull WHO.* 1988;66:47-55.
6. De Jong JC, Donker GA, Meijer A, van der Hoek W, Rimmelzwaan GF, Osterhaus ADME. Het influenzaseizoen 2010/11 in Nederland: het nieuwe A(H1N1)-virus van 2009 blijft actief. *Ned Tijdschr Med Microbiol.* 2011;19:21-27.
7. Lin YP, Gregory V, Collins P, Kloess J, Wharton S, Cattle N, Lackenby A, Daniels R, Hay A. Neuraminidase receptor-binding variants of human influenza A(H3N2) viruses resulting from substitution of aspartic acid 151 in the catalytic site: a role in virus attachment? *J Virol.* 2010;84:6769-81.
8. Meijer A, Jonges M, van Beek P, Swaan C, Osterhaus A, Daniels R, Hurt A, Koopmans M. Oseltamivir-resistant influenza A(H1N1)pdm09 virus in Dutch travellers returning from Spain, August 2012. *Euro Surveill.* 2012;6:17(36). pii: 20266.

# De toekomst van infectiepreventie (2)

## Norm, samenwerking, opleiding en financiering

I.J.B. Spijkerman, G.J.H.M. Ruijs, J. Kluytmans

### Inleiding

Infectiepreventie staat de laatste tijd steeds vaker en meer nadrukkelijk in de belangstelling van de media en beleidsmakers. Dit komt vooral door de sterke toename van resistentie tegen antibiotica, het besef dat zorggerelateerde infecties een ernstige bedreiging vormen voor de patiëntveiligheid en dat een aanzienlijk deel van deze infecties vermijdbaar is. De incidentie en ernst van zorggerelateerde infecties neemt toe omdat we te maken hebben met een steeds grotere groep kwetsbare patiënten, meer invasieve behandelingen en meer resistentie tegen antibiotica. Derhalve moeten de preventieve maatregelen worden geïntensiveerd om de incidentie van zorggerelateerde infecties niet verder te laten toenemen, en bij voorkeur te laten afnemen. In twee delen bespreken de auteurs een aantal uitdagingen op het gebied van infectiepreventie. Deel 1 verscheen in *NTMM 2* van dit jaar. In dit tweede deel zal de borging van de kwaliteit van de infectiepreventie in ziekenhuizen worden besproken.

### Trefwoorden

Infectiepreventie, kwaliteit, formatie, opleiding

### Normen infectiepreventie

Het takenpakket voor de infectiepreventie is de laatste 10 jaar fors uitgebreid. Er is meer vraag naar en aandacht voor audits, scholing, interventies (bijvoorbeeld VMS), surveillance van infecties, kwaliteitsbeleid, outbreakmanagement en nu ook implementatie van richtlijnen.<sup>1</sup> Daarnaast neemt de incidentie en ernst van zorggerelateerde infecties toe. Mede hierdoor is er in 2007 een nieuwe veldnorm voor de formatie van deskundigen infectiepreventie (DIP) en artsen-microbioloog (AM) met aandachtsgebied infectiepreventie ontwikkeld door de betrokken beroepsgroepen.<sup>2</sup> Deze nieuwe veldnorm biedt naast een aanscherping van de norm gebaseerd op het aantal bedden (DIP 1 fte/178 bedden, AM 1 fte/806 bedden), ook een norm gebaseerd op het aantal opnamen (DIP 1 fte/5000 opnamen, AM 1 fte/25.000 opnamen). Deze laatste norm is ontwikkeld omdat het aantal bedden niet meer goed correleert met de zorgzwaarte en hoeveelheid klinische patiënten.

De nieuwe veldnorm, die gebaseerd is op een model-ziekenhuis van 1370 bedden, 40 intensivacarebedden, 280.000 verpleegdagen en 39.000 opnamen per jaar met vertegenwoordiging van alle medisch specialismen, voorziet niet in een minimumformatie voor de infectiepreventie. Kleine ziekenhuizen moeten namelijk aan de basis net zoveel zaken op orde hebben op het gebied van infectiepreventie als grote ziekenhuizen. Formatie is dus niet volledig afhankelijk van schaalgrootte. Ook voorziet de norm niet in bijzondere functies met een disproportionele aandacht van infectiepreventie, zoals orgaantransplantaties. Hierop moet lokaal maatwerk worden geleverd. Verder vindt in verschillende ziekenhuizen de discussie plaats of de formatie voor AM met aandachtsgebied infectiepreventie binnen de reguliere formatie van een AM moet worden gezocht, of dat de ziekenhuizen deze formatie moeten toevoegen aan de AM-formatie (zie de paragraaf 'Financiering van infectiepreventie'). Vijf jaar na de totstandkoming van de veldnorm voor formatie van infectiepreventie moeten we helaas constateren dat deze niet bindend is voor de ziekenhuizen en dat de meeste ziekenhuizen niet aan de norm voldoen.<sup>3</sup> Al in 1985 is aangetoond in de SENIC-studie dat de toename van het aantal professionals infectiepreventie is geassocieerd met een afname van de incidentie van ziekenhuisinfecties.<sup>4</sup> Te weinig formatie kan de kwaliteit van de infectiepreventie negatief beïnvloeden. De verantwoordelijken voor het infectiepreventiebeleid in een instelling moeten er dus voor waken dat de middelen adequaat zijn (lees: ten minste voldoen aan de veldnorm).

Dr. I.J.B. Spijkerman, arts-microbioloog / directeur Bureau WIP (Werkgroep Infectiepreventie), Leids Universitair Medisch Centrum, Leiden, dr. G.J.H.M. Ruijs, arts-microbioloog Isaklinieken, Zwolle, voorzitter Regieraad WIP, prof. dr. J. Kluytmans, arts-microbioloog Amphibia ziekenhuis, Breda en VUmc, Amsterdam, voorzitter bestuur WIP.  
Correspondentieadres: dr. I.J.B. Spijkerman, Werkgroep Infectiepreventie, LUMC, Leiden, e-mail: ijspijkerman@gmail.com.

In de recente versie van de Kwaliteitsrichtlijn Infectiepreventie Ziekenhuizen (KRIZ) versie 2.0, waarin de NVMM en VHIG gezamenlijke normen voor de infectiepreventie in ziekenhuizen hebben geformuleerd, is de veldnorm overigens opgenomen in de kwaliteitseis 'de continuïteit van de werkzaamheden is gewaarborgd waarbij de afdeling zich conformeert aan de veldnorm terzake het benodigde aantal fte's'.<sup>5</sup> Als de KRIZ versie 2.0 wordt goedgekeurd door de NVMM (geëffectueerd) en VHIG, en wordt overgenomen door de NVZ, NFU en IGZ, leidt dit hopelijk snel tot een verbetering van de huidige situatie. Zeker zo belangrijk als de kwantiteit, is de kwaliteit is van de (organisatie van de) infectiepreventie in de instelling. Het functioneren van de betrokken professionals, veelal DIP en AM, speelt daarbij een sleutelrol. Het periodiek tegen het licht houden daarvan, liefst door buitenstaanders, is essentieel. Sinds enkele jaren worden er, vooralsnog als proef, door een gemengd team van DIP en AM visitaties uitgevoerd van de infectiepreventie met de KRIZ als norm en instrument.<sup>6</sup> We zijn van mening dat alle afdelingen infectiepreventie regelmatig zouden moeten worden gevisiteerd met de KRIZ als veldnorm. Bij voorkeur worden deze visitaties een integraal onderdeel van een of meer andere visitaties (zoals de CCKL-, beroeps- en opleidingsvisitaties).<sup>6</sup>

### Samenwerking tussen artsen-microbioloog (AM) en deskundigen infectiepreventie (DIP)

Een andere factor die samenhangt met kwaliteit van de infectiepreventie is de samenwerking tussen DIP en AM. Omdat beide professionals zich op hetzelfde werkgebied (namelijk preventie van zorggerelateerde infecties) richten, is het belangrijk de taken en verantwoordelijkheden van beide partijen goed vast te leggen, zodat het duidelijk is wie waarop kan worden aangesproken binnen een organisatie. Als dit niet goed is geregeld, kan het tot aanzienlijke problemen leiden, zoals onlangs duidelijk werd tijdens de uitbraak met *Klebsiella OXA-48* in het Maasstad Ziekenhuis. De commissie Lemstra, die deze uitbraak onderzocht, heeft op dit vlak een aantal aanbevelingen gedaan.<sup>7</sup> Zo beveelt de commissie aan dat de AM ten minste functioneel leiding geeft aan de DIP, dat de taken, verantwoordelijkheden en bevoegdheden van beiden worden vastgelegd en dat de DIP bij voorkeur worden geïntegreerd in de afdeling Medische microbiologie. De NVMM heeft deze aanbevelingen onderschreven. Ook de KRIZ versie 2.0 stelt eisen aan de samenwerking tussen AM en DIP die in overstemming zijn met de bovengemelde eerste twee aanbevelingen van commissie Lemstra.<sup>5</sup> Dat de infectiepreventie in de komende jaren steeds zwaarder zal worden belast en aan belang zal winnen, is in het licht van de toenemende resistentieproblematiek volstrekt helder en we kunnen ons dan ook geen

onderlinge Hoekse en Kabeljauwse twisten tussen DIP en AM permitteren. De belangrijkste vraag is: "Hoe kunnen we de samenwerking tussen AM en DIP zo organiseren dat we onze taken met betrekking tot infectiepreventie optimaal kunnen uitvoeren?"

Ten eerste moet de eigen specifieke expertise van de DIP en de AM ten volle tot zijn recht komen in het infectiepreventiebeleid van een ziekenhuis. Dat betekent dus dat de DIP en AM in gezamenlijkheid het beleid op het gebied van infectiepreventie in een ziekenhuis bepalen. Het betekent ook dat de taken en verantwoordelijkheden van de DIP en de AM verschillend zijn. De taken van de DIP zullen zowel op het operationele als op het beleidsmatige vlak liggen, terwijl de taken van de AM op het beleidsmatige en medische vlak zullen liggen.

Ten tweede is het van belang te borgen dat DIP en AM soepel als een eenheid opereren en de opvattingen over taken, bevoegdheden en verantwoordelijkheden niet uiteenlopen. Hiervoor is het ons inziens noodzakelijk dat de AM de DIP functioneel aanstuurt. Daarnaast is het noodzakelijk dat in de instelling helder vastligt hoe de verantwoordelijkheden liggen voor het infectiepreventiebeleid in het ziekenhuis. De eindverantwoordelijke zal in veel ziekenhuizen de AM zijn, maar zou in uitzonderlijke situaties ook bij de DIP kunnen liggen. Qua organisatie zijn er meer constructies mogelijk waarin DIP en AM samenwerken afhankelijk van de lokale situatie. Wij zijn echter van mening dat integratie van beide disciplines binnen één afdeling de beste garantie is voor een geïntegreerde benadering. In alle universitaire en de meeste topklinische ziekenhuizen treffen we deze organisatievorm inmiddels al aan.

Ten derde is het van belang dat de AM zich bewust is van zijn taak en verantwoordelijkheid op het gebied van de infectiepreventie, en deze verantwoordelijkheid ook neemt. Omdat het werkterrein van de AM zo breed is kan het voorkomen dat de AM niet altijd genoeg aandacht of prioriteit geeft aan infectiepreventie. Wij pleiten er dan ook voor dat alle samenwerkingsverbanden van artsen-microbioloog het belang erkennen, en invullen, van een volwaardige inzet voor infectiepreventie. Hierbij helpt het als per ziekenhuis de formatie aan artsen-microbioloog met aandachtsgebied infectiepreventie helder is vastgelegd per ziekenhuis.

### Opleiding tot arts-microbioloog

Door de toenemende complexiteit van de materie en de verantwoordelijkheden van de AM voor het infectiepreventiebeleid in het ziekenhuis, is het belangrijk dat in de opleiding tot arts-microbioloog voldoende aandacht wordt besteed aan infectiepreventie. Dit betekent dat er voldoende kennis op het gebied van infectiepreventie moet worden vergaard en dat de vaardigheden hiervoor worden

geleerd. De huidige opleiding biedt een te magere basis hiervoor.<sup>8</sup> Enerzijds is de huidige periode van de stage infectiepreventie erg kort (drie maanden), anderzijds is de voorgeschreven opzet van het huidige opleidings-schema dermate star dat, als er zich in die korte periode geen uitbraak voordoet, de AIOS geen kennis en ervaring opdoet met outbreakmanagement. Daarbij is het in drie maanden niet haalbaar om voldoende kennis te nemen van bijvoorbeeld de 131 richtlijnen op het gebied van infectiepreventie van de werkgroep infectiepreventie, laat staan om deze in de praktijk te kunnen implementeren. Ook andere aspecten zoals het beleidsplan voor infectiepreventie, organisatiesensitiviteit en verbeterstrategieën komen nog te weinig aan de orde in de opleiding. Wij pleiten dus voor een verlenging van de duur van de module Infectiepreventie en tevens een flexibilisering van de opleidingscriteria om de opleiding aan te passen aan de eisen van deze tijd. Daarnaast zou een landelijke cursus een betere basis voor dit onderdeel kunnen garanderen.

### Financiering van infectiepreventie

De kosten van infectiepreventie bestaan uit twee verschillende delen, namelijk enerzijds de kosten voor de formatie van betrokken professionals, en anderzijds de (meer)kosten die samenhangen met maatregelen bij uitbraken.

Professionals die in loondienst zijn worden betaald door het ziekenhuis. Hierbij wordt de formatie AM met aandachtsgebied infectiepreventie al dan niet geëxpliciteerd. In het laatste geval wordt de verdeling van formatie overgelaten aan de vakgroep van AM. Wij pleiten voor een expliciete vaststelling van de formatie AM met aandachtsgebied infectiepreventie per ziekenhuis met als richtlijn de veldnorm.

Voor de zelfstandig werkzame AM bestaan er twee vormen van financiering van de formatie voor infectiepreventie. Een deel van de ziekenhuisbesturen vindt dat de honorering voor infectiepreventie impliciet deel uitmaakt van de inkomsten uit de diagnostiek. Voor deze maatschappen varieert hun budget en dus ook formatie voor infectiepreventie met de hoeveelheid diagnostiek, en ook met de opvatting binnen de maatschap. Een ander deel van de ziekenhuizen heeft gekozen voor een aparte honorering voor de infectiepreventiewerkzaamheden, inclusief afspraken over wat die werkzaamheden inhouden. Afgezien van het feit dat er wellicht per 2015 geen zelfstandig werkzame medische specialisten meer te bekennen zijn, zijn wij van mening dat aparte honorering voor infectiepreventie werkzaamheden verre te verkiezen is boven de vrijblijvendheid van financiering via diagnostiek. In ziekenhuizen wordt ook verschillend met de (meer)kosten van uitbraken omgegaan. In het ene ziekenhuis wordt op basis van een jaargemiddelde over de afgelopen jaren geprobeerd om de kosten te begroten en de budget-

verantwoordelijkheid toe te schuiven naar de afdeling Infectiepreventie. In het andere ziekenhuis wordt het klinisch specialisme met een uitbraak aangeslagen voor de kosten van de epidemie.

Toch is ook hier wel een koninklijke weg aan te wijzen. Infectiepreventie is namelijk een zogenaamde nutsfunctie, vergelijkbaar met de brandweer of de politie. De kosten van de inzet daarvan wordt niet bij de bewoner van het (niet) afgebrande huis in rekening gebracht of bij de crimineel. Zo is ook het klinische specialisme niet toe te rekenen dat er plotseling een BRMO bij een patiënt aangetroffen wordt. Dus de kosten van zowel de afdeling Infectiepreventie als die van preventieve activiteiten bij een epidemie moeten toegerekend worden aan het ziekenhuis als geheel. Aangezien de kosten niet te voorzien zijn, zijn ze ook niet te begroten. Het zijn open eind kosten die noodzakelijk zijn binnen de kaders van de kwaliteitswet zorginstellingen.<sup>9</sup> Overigens kunnen ziekenhuizen zich ook verzekeren voor de meerkosten van uitbraken als deze buitensporig zijn.

Ten slotte is het belangrijk om je te realiseren dat goede infectiepreventie geld bespaart. Complicaties kosten ziekenhuizen, verzekeraars en maatschappij veel geld, nog afgezien van het persoonlijk leed. Het is essentieel om de besparingen zichtbaar te maken voor bestuurders en professionals. De AM van de toekomst moet steeds meer in staat zijn om het functioneren van de afdeling infectiepreventie en de effecten uit te drukken in maat en getal. Projectmatig werken met heldere doelstellingen is behulpzaam om een businesscase te kunnen onderbouwen en zodoende draagvlak te creëren voor investeringen in infectiepreventie.

### Conclusie

Er is de laatste tijd veel aandacht voor infectiepreventie in ziekenhuizen en andere gezondheidszorginstellingen. Om de kwaliteit van de infectiepreventie te borgen zou de veldnorm voor formatie van professionals infectiepreventie verplicht moeten worden voor ziekenhuizen. Tevens moet er meer aandacht worden besteed aan de taken, verantwoordelijkheden en organisatie van DIP en AM om onduidelijkheid en calamiteiten te voorkomen. Gezien de te verwachten intensivering van de infectiepreventieproblematiek zou er in de opleiding tot arts-microbioloog meer ruimte moeten zijn voor infectiepreventie. Ten slotte is het van belang dat niet vergeten wordt om de financiering van zowel de formatie aan infectiepreventieprofessionals als de (meer)kosten van uitbraken adequaat te structureren.

*Disclaimer: de auteurs schrijven bovenstaand artikel op persoonlijke titel. Voor de volledigheid vermelden we dat één van de auteurs is betrokken bij de organisatie van de landelijke cursus infectiepreventie voor AIOS.*

## Referenties

1. Spijkerman I, Ruijs G, Kluytmans J. De toekomst van de Infectiepreventie, deel 1: Richtlijnen en implementatie. Ned Tijdschrift Medische Microbiologie. 2012;20(2):70-2.
2. Van den Broek PJ, Kluytmans JAJW, Ummels LC, Voss A, Vandenbroucke-Grauls CMJE. How many infection control staff do we need in hospitals? J Hosp Infec. 2007;65:108-11.
3. PREZIES Prevalentieonderzoek: resultaten tot en met maart 2009.
4. Haley RW, Culver DH, White JW, et al. The efficacy of infection surveillance and control programs in preventing nosocomial infections in US hospitals. Am J Epidemiol. 1985;121:182-205.
5. Kwaliteitsrichtlijn voor Infectiepreventie in Ziekenhuizen (KRIZ) versie 2.0, [www.nvmm.nl](http://www.nvmm.nl) (besloten deel), -> kwaliteit -> richtlijnen.
6. Vos MC, Jansma A, Mascini E, Troelstra A, de Ruiter GJ, van Dijk Y, Meester HHM. Kwaliteitsrichtlijn voor Infectiepreventie in Ziekenhuizen (KRIZ)- Tijd voor versie 2.0. Ned Tijdschrift voor Medische Microbiologie. 2012;20(2):78-80.
7. Externe onderzoekscommissie MSC onder leiding van prof. dr. W.L. Lemstra. Oog voor het onzichtbare, onderzoek naar de uitbraak van de Klebsiella Oxa-48 bacterie in het Maasstadziekenhuis Rotterdam, 26-3-2012.
8. Besluit medische microbiologie Centraal College medische specialisten 12-4-2010, [www.nvmm.nl](http://www.nvmm.nl) (besloten deel), -> opleiding -> arts-microbioloog.
9. <http://wetten.overheid.nl/BWBR0007850>.

# Diabetes en darmflora

## Een nieuw aangrijpingspunt voor metabole controle?

A. Vrieze, R.S. Kootte, M. Nieuwdorp, F. Holleman

### Samenvatting

De darmmicrobiota bij de mens bestaat uit honderd-duizend miljard bacteriën. Ieder mens heeft een unieke darmmicrobiota. De samenstelling van de darmmicrobiota speelt mogelijk een rol bij het ontstaan van overgewicht. De hypothese is dat de mensen met obesitas beschikken over een metabool efficiëntere darmmicrobiota die hen in staat stelt meer energie uit voedsel te halen, waardoor zij dikker worden. In het Academisch Medisch Centrum (AMC) hebben we een dubbelblinde, gerandomiseerde studie uitgevoerd waarbij mannen met het metabool syndroom de darmmicrobiota van een slanke donor kregen door middel van een zogenoemde fecestransplantatie. In deze studie hebben we laten zien dat infusie van slanke donorfeces zorgt voor een toename van butyraatproducerende bacteriën en een tijdelijke verbetering van de insulinegevoeligheid. Het manipuleren van de darmmicrobiota kan in de toekomst mogelijk een nieuw aangrijpingspunt zijn bij de behandeling van overgewicht en diabetes.

### Trefwoorden

Darmmicrobiota, insulineresistentie, obesitas

### Inleiding darmmicrobiota

In onze darmen leven naar schatting honderdduizend miljard bacteriën, die met elkaar ongeveer een kilo wegen. De darmmicrobiota kan worden onderverdeeld in meer dan 1000 soorten.<sup>1</sup> Een groot deel van deze bacteriën kan niet in het laboratorium worden gekweekt, maar door de ontwikkeling van moderne moleculaire technieken (metagenomics) kunnen we tegenwoordig toch bepalen wat deze bacteriën in de darm doen. Alle darmbacteriën samen bevatten 100 maal zoveel genen als het menselijk genoom.<sup>2</sup> Onze darmmicrobiota wordt gedomineerd door drie fylobacteriën: *Firmicutes* (grampositief), *Bacteroidetes* (gramnegatief) en *Actinobacteriën* (grampositief). *Firmicutes* is het grootste bacteriële fyllum en omvat de genera: *Lactobacillus*, *Mycoplasma*, *Bacillus* en *Clostridium*. Bij de geboorte is het maag-darmkanaal steriel, in de eerste maanden post partum ontstaat de darmmicrobiota, die daarna het hele leven min of meer constant blijft. De

samenstelling van de darmmicrobiota is voor elk individu uniek, maar kan worden beïnvloed door zowel de genen als omgevingsfactoren.<sup>3</sup> Zo kan het gebruik van antibiotica de darmmicrobiotasamenstelling ernstig verstoren en duurt het na het stoppen van een antibioticakuur vier tot zes weken voordat de darmmicrobiota weer zijn originele samenstelling heeft bereikt.<sup>4</sup>

Het is al langer bekend dat darmbacteriën helpen bij de vertering van voedsel en de aanmaak van vitamines, maar er komen in de literatuur steeds meer aanwijzingen dat de samenstelling van de darmmicrobiota ook bepalend is voor de gezondheid van de gastheer. Zo wordt er momenteel geprobeerd een relatie te leggen tussen een verstoorde darmmicrobiota en het optreden van darmontstekingen (zoals de ziekte van Crohn en colitis ulcerosa) en darminfecties (*Clostridium difficile*).<sup>5,6</sup> De darmmicrobiotasamenstelling lijkt tevens een belangrijke rol te spelen bij het ontstaan van overgewicht en diabetes mellitus type 2 bij de mens.<sup>7</sup> De uitdaging is om te achterhalen of de veranderde bacteriesamenstelling oorzaak of gevolg is van de ziekte.

### Darmmicrobiota en overgewicht

Het blijkt dat steriele muizen (muizen zonder darmmicrobiota) minder lichaamsvet hebben dan muizen met een darmmicrobiota.<sup>8</sup> Als bij deze steriele muizen vervolgens darmmicrobiota van normale muizen in de darm wordt ingebracht, nemen ze in gewicht toe. Als deze darmmicrobiota afkomstig is van een obese muis, is de gewichtstoename opvallend genoeg groter dan als de darmmicrobiota afkomstig is van een slanke muis.<sup>8</sup> De aanwezigheid van de darmmicrobiota lijkt er dus voor te zorgen dat er meer energie kan worden opgenomen uit

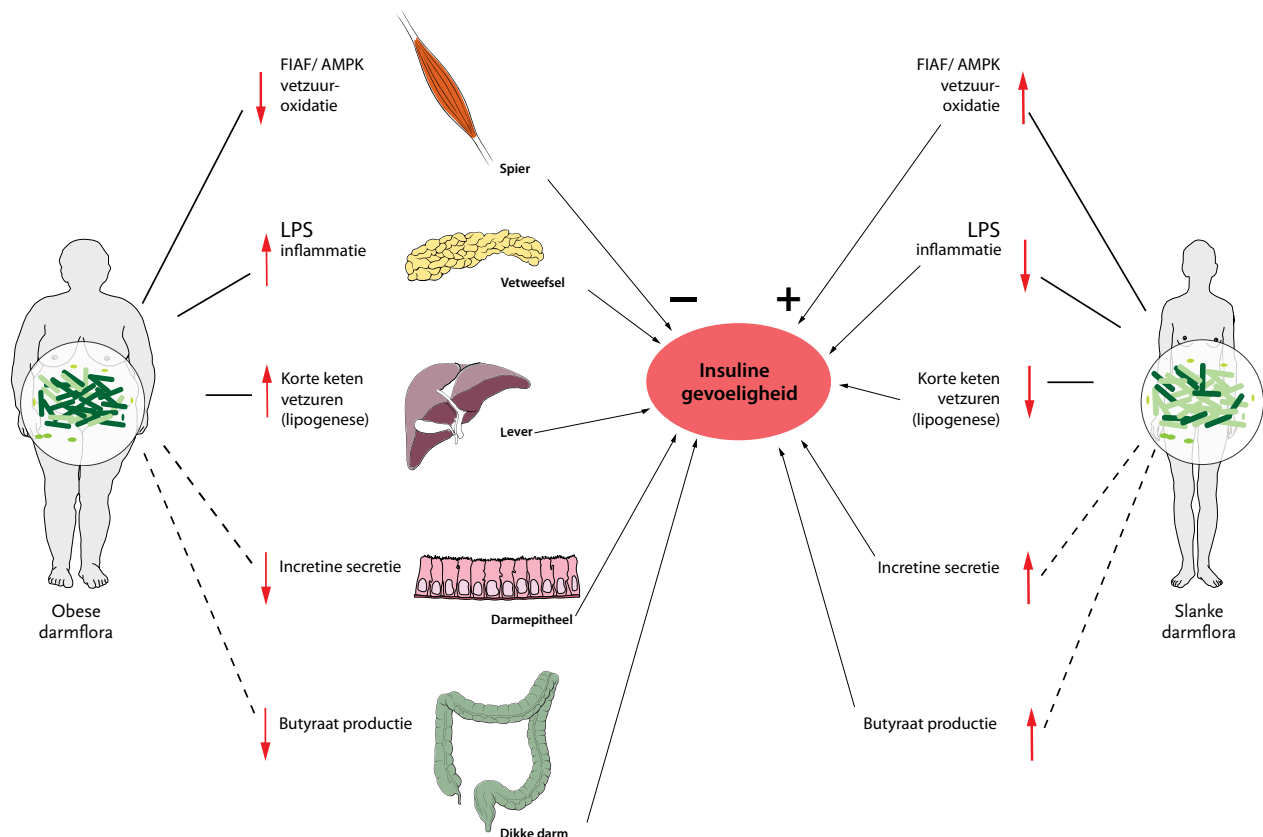
Drs. A. Vrieze, arts-onderzoeker klinische diabetologie,  
 drs. R.S. Kootte, arts-onderzoeker vasculaire geneeskunde,  
 dr. M. Nieuwdorp, internist-endocrinoloog, dr. F. Holleman,  
 internist-endocrinoloog.  
 Correspondentieadres: drs. A. Vrieze, Academisch Medisch  
 Centrum, Meibergdreef 9, kamer F4-256, 1105 AZ Amsterdam,  
 e-mail: a.vrieze@amc.uva.nl.

het dieet. Zo zijn er bepaalde darmbacteriën die specifiek helpen om energie uit de voeding te halen door het voedsel te fermenteren, waarbij suikers worden omgezet in korte-ketenvetzuren. De darm neemt deze vetzuren vervolgens op.

Ook bij mensen bestaan er verschillen in de darmmicrobiotasamenstelling van dikke en dunne personen.<sup>9</sup> De hypothese is dat de 'obese' darmmicrobiota efficiënter in staat is de energie vanuit de voeding beschikbaar te stellen aan de gastheer. Hierdoor zou een lagere calorie-intake toereikend zijn. Tevens blijkt de 'obese' darmmicrobiota te worden gekenmerkt door een lagere diversiteit. In muizen is een lage microbiële diversiteit geassocieerd met endotoxemie, chronische inflammatie en insulineresistentie.<sup>10,11</sup> Obesitas en diabetes mellitus type 2 worden allebei gekenmerkt door een verhoogde inflammatie van het vetweefsel. Het onderliggende mechanisme hierachter is nog steeds onbekend. De darmmicrobiota kan via de productie van lipopolysacharide (LPS) mogelijk een rol spelen bij deze inflammatie. LPS wordt continue geproduceerd in de darm door de afbraak van gramnegatieve bacteriën. Studies bij muizen laten zien dat continue

infusie van LPS leidt tot gewichtstoename en insulineresistentie.<sup>10</sup> Mogelijk speelt ook de productie van het korteketenvetzuur butyraat een rol bij de associatie tussen obesitas en inflammatie.<sup>12</sup> Bij mensen met overgewicht worden lagere plasmawaarden butyraat gemeten dan bij slanke mensen.<sup>13</sup> Butyraat wordt in de dikke darm geproduceerd door de bacteriële fermentatie van onverteerbare vezels en lijkt niet alleen te dienen als energiebron voor het darmepitheel, maar blijkt ook anti-inflammatoire eigenschappen te hebben. De twee belangrijkste butyraatproducerende bacteriële groepen zijn: *Roseburia/E. rectale* en *F. prausnitzii* (cluster van Firmicutes). Verschillende studies hebben aangetoond dat een vezelrijk dieet de groei van butyraatproducerende bacteriën kan bevorderen en op deze manier kan leiden tot hogere butyraatspiegels.<sup>14,15</sup> Studies bij proefdieren laten zien dat hogere butyraatspiegels zorgen voor een verbetering van de insulinegevoeligheid en verhoging van het energieverbruik.<sup>16</sup> Het lijkt dus aannemelijk dat de butyraatproductie een rol speelt in de pathogenese van obesitas en diabetes. In *figuur 1* is schematisch weergegeven hoe de darmmicrobiota het metabolisme kan beïnvloeden.

**Figuur 1.** Schematisch weergave van hoe de darmmicrobiota het metabolisme kan beïnvloeden.



Ononderbroken lijnen: waarschijnlijke relatie  
Gestippelde lijnen: mogelijke relatie



## Enterotypes

Recent is in het tijdschrift *Nature* een artikel verschenen waarbij proefpersonen aan de hand van de samenstelling van de darmflora (analyse DNA fecesmonster) werden ingedeeld in drie groepen, zogeheten 'enterotypen'.<sup>17</sup> Het voorkomen van deze enterotypen (te vergelijken met bloedgroepen) zou afhankelijk zijn van het type dieet, maar onafhankelijk van leeftijd, geslacht, ras of de body mass index. Het meest voorkomende enterotype is 'Ruminococcus', gevolgd door 'Bacteroides' en 'Prevotella'. Binnen de enterotypen zijn verschillen gevonden in de vertering van suikers en eiwitten. Ook de aanmaak van diverse vitaminen door darmbacteriën verschilde per enterotype. Vitamine C, B<sub>2</sub>, B<sub>5</sub> en biotine worden meer aangemaakt bij mensen met het 'Bacteroides'-enterotype. Mensen met het 'Prevotella'-enterotype maakten extra thiamine en foliumzuur aan en mensen met het 'Ruminococcus'-type zijn beter in staat om mucine (een complex koolhydraat) af te breken. Het is nog onduidelijk of je door aanpassingen in je dieet kunt switchen van enterotype.

## Fecetransplantatie

In 1958 beschreven Eiseman et al. vier patiënten met ernstige pseudomembraneuze colitis na gebruik van antibiotica die succesvol werden behandeld met klysma's met fecessuspensie van familieleden.<sup>18</sup> Sindsdien zijn in casuïstische mededelingen en overzichten van patiëntengroepen meer dan 70 patiënten met recidiverende *Clostridium difficile*-infecties (CDI) of pseudomembraneuze colitis beschreven die werden behandeld met donorfeces.<sup>5,6,19,20</sup>

In het Academisch Medisch Centrum (AMC) hebben we al enige jaren ervaring met deze behandeling in het kader van patiëntenzorg.<sup>21</sup> Door middel van een gerandomiseerde trial onderzochten wij of behandeling met gezonde donorfeces inderdaad in staat blijkt om de chronische *Clostridium difficile*-geassocieerde diarree te laten verdwijnen. De resultaten van dit door ZonMw betaalde onderzoek laten zien dat genezing van deze infectie door een eenmalige behandeling met de ontlasting van een gezonde donor beter werkt dan de standaardbehandeling met antibiotica.<sup>5</sup> Een fecetransplantatie lijkt dus een behandelingsoptie indien gangbare antibiotica geen soelaas bieden.

Deze resultaten alsook de reeds hierboven vermelde data bij proefdieren werpen de vraag op of je verstoringen in het glucose- en lipidenmetabolisme bij mannen met het metabool syndroom kunt verhelpen met een fecetransplantatie. In een dubbelblinde, gerandomiseerde studie hebben we gekeken naar het effect van fecetransplantatie op de samenstelling van de darmmicrobiota en glucosehomeostase. De behandeling met de slanke donorontlasting resulteerde in een tijdelijke (na zes weken)

verbetering van de insulinegevoeligheid. Tevens vonden we in de fecesamples een toename van de hoeveelheid butyraatproducerende bacteriën (onder meer *Roseburia intestinalis*).<sup>22</sup> Dit zou een mogelijke verklaring kunnen zijn voor de verbetering van de insulinegevoeligheid. Op dit moment loopt in het AMC een vervolgonderzoek waarbij er wordt gekeken of herhaalde dunne fecetransplantaties een langdurig effect op het metabool syndroom kunnen bewerkstelligen.

## Discussie

Onderzoek naar de rol van darmbacteriën in het humane metabolisme is tamelijk complex omdat, naast dat nog niet alle aanwezige darmbacteriën zijn getypeerd, er ook verschillende technieken bestaan om de darmflora in kaart te brengen, hetgeen de interpretatie van de resultaten bemoeilijkt. De afgelopen jaren zijn er veel publicaties verschenen over de rol van de darmmicrobiota bij metabolisme, maar tot op heden is de microbiota monsterafname, opslag en analyse nog niet gestandaardiseerd. Tevens maken de tot dusver verschenen studies gebruik van verschillende technieken en zijn de groepen van de humane studies klein. Hierdoor is het lastig de resultaten te generaliseren.<sup>23</sup> Dat er een associatie bestaat tussen samenstelling van de darmmicrobiota en metabolisme is zeer aannemelijk maar of dit ook een causaal verband is vereist nog meer onderzoek.

## Conclusie

Recente studies laten zien dat er een andere samenstelling van de darmmicrobiota gevonden wordt bij muizen/mensen met overgewicht dan bij slanke muizen/mensen. De hypothese is dat een 'obese' darmmicrobiota efficiënter werkt (onder meer doordat er meer korteketenvezuren worden geproduceerd) en er daardoor meer energie uit voedsel kan worden gehaald. Infusie van slanke donorontlasting zorgt voor een tijdelijke verbetering van de insulinegevoeligheid en toename van butyraatproducerende bacteriën. Mits een causaal verband aangetoond kan worden, is het manipuleren van de darmmicrobiota een mogelijk nieuw aangrijppingspunt bij de behandeling van overgewicht en diabetes mellitus type 2.

## Summary

The human intestinal tract contains  $10^{14}$  micro-organisms, of which bacteria are the most dominant and diverse. As a whole, the microbiome is more than 100 times larger than the human genome. Thus, intestinal microbiota can be viewed as an 'exteriorised organ' that contributes to overall metabolism and plays a role in converting food into nutrients and energy. Variations in the composition of microbiota are found in obese humans and mice. Increased energy yield from diet in obese mice and humans could be a contributing factor to obesity. We have demonstrated that

lean donor microbial infusion improves insulin sensitivity and levels of butyrate-producing intestinal microbiota in subjects with metabolic syndrome. Thus if causality is proven, influencing gut microbiota may provide a therapeutic target for insulin resistance in humans.

## Referenties

- Xu J, Gordon JI. Inaugural Article: Honor thy symbionts. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100:10452-9.
- Dethlefsen L, Fall-Ngai M, Relman DA. An ecological and evolutionary perspective on human-microbe mutualism and disease. *Nature*. 2007;449:811-8.
- Zoetendal EG, Akkermans AD, de Vos WM. The host genotype affects the bacterial community in the Human Gastrointestinal Tract. *Microbial Ecology in Health and Disease*. 2001;13:129-34.
- Dethlefsen L, Huse S, Sogin ML, Relman DA. The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing. *PLoS Biol*. 2008;6:2383-400.
- Van Nood E, Speelman P, Kuijper EJ, Keller JJ. Struggling with recurrent *Clostridium difficile* infections: is donor faeces the solution? *Euro Surveill*. 2009;14.
- Borody TJ, Khoruts A. Fecal microbiota transplantation and emerging applications. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2011;9(2):88-96.
- Vrieze A, Holleman F, Zoetendal EG, de Vos WM, Hoekstra JB, Nieuwdorp M. The environment within: how gut microbiota may influence metabolism and body composition. *Diabetologia*. 2010;53:606-13.
- Backhed F, Ding H, Wang T, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004;101:15718-23.
- Ley RE, Backhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005;102:11070-5.
- Cani PD, Amar J, Iglesias MA, et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*. 2007;56:1761-72.
- Greiner T, Backhed F. Effects of the gut microbiota on obesity and glucose homeostasis. *Trends Endocrinol Metab*. 2011;22:117-23.
- Schwartz A, Taras D, Schafer K, et al. Microbiota and SCFA in Lean and Overweight Healthy Subjects. *Obesity (Silver Spring)*. 2009;18(1):190-5.
- Vice E, Privette JD, Hickner RC, Barakat HA. Ketone body metabolism in lean and obese women. *Metabolism*. 2005;54:1542-5.
- Louis P, Scott KP, Duncan SH, Flint HJ. Understanding the effects of diet on bacterial metabolism in the large intestine. *J Appl Microbiol*. 2007;102:1197-208.
- Mahowald MA, Rey FE, Seedorf H et al. Characterizing a model human gut microbiota composed of members of its two dominant bacterial phyla. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009;106:5859-64.
- Gao Z, Yin J, Zhang J, et al. Butyrate Improves Insulin Sensitivity and Increases Energy Expenditure in Mice. *Diabetes*. 2009;58:1509-17.
- Arumugam M, Raes J, Pelletier E, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 2011;473(7346):174-80.
- Eiseman B, Silen W, Bascom GS, Kauvar AJ. Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis. *Surgery*. 1958;44:854-9.
- Borody TJ, Warren EF, Leis SM, Surace R, Ashman O, Siarakas S. Bacteriotherapy using fecal flora: toying with human motions. *J Clin Gastroenterol*. 2004;38:475-83.
- Persky SE, Brandt LJ. Treatment of recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhea by administration of donated stool directly through a colonoscope. *Am J Gastroenterol*. 2000;95:3283-5.
- Nieuwdorp M, van Nood E, Speelman P, et al. [Treatment of recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhoea with a suspension of donor faeces]. *Ned Tijdschr Geneesk*. 2008;152:1927-32.
- Vrieze A, van Nood E, F. Holleman, et al. Transfer of Intestinal Microbiota From Lean Donors Increases Insulin Sensitivity in Individuals With Metabolic Syndrome. *Gastroenterology*. 2012; 143: 913-6.
- Angelakis E, Armougom F, Million M, Raoult D. The relationship between gut microbiota and weight gain in humans. *Future Microbiol*. 2012;7:91-109.

## De diabetische voet

# Waarom lopen mensen met diabetes en een voetulcus een hoger risico tot het krijgen van ernstige infecties?

E.J.G. Peters, K. Bakker

### Samenvatting

Een diabetische voet probleem is een van de meest gevreesde complicaties voor iemand met diabetes mellitus. Een diabetisch voetulcus kan leiden tot een onderbeenamputatie. De etiologie van de ulcera is multifactorieel. Neuropathie, verhoogde biomechanische plantaire druk en perifere vaatlijden zijn de hoofdoorzaken van het ontstaan van een ulcus. Een voetulcus kan geïnfecteerd raken en zo leiden tot een amputatie van de onderste extremiteit. Mensen met diabetes lopen een hoger risico op het krijgen van ernstige infecties dan mensen zonder diabetes. Oorzaken zijn verminderde arteriële vaatvoorziening en verminderde humorale en cellulaire afweer. Diverse aspecten van de cellulaire immuniteit zijn onderdrukt, waaronder de vorming van zuurstofradicalen door fagocyterende cellen. Wat betreft de adaptieve afweer lijkt de glycatie van de immuunglobulinen een rol te spelen, waardoor het moleculaire herkenningsmechanisme tussen antilichaam en antigeen wordt gehinderd. Het is belangrijk weefselkweken in plaats van oppervlakkige wondkweken te gebruiken om de voor infectie verantwoordelijke micro-organismen te kunnen identificeren. Recent verschenen systematische reviews en richtlijnen van de IWGDF en IDSA geven suggesties voor gebruik van antibiotica in diabetische-voetinfecties.

### Trefwoorden

Diabetische-voetinfecties, diabetes mellitus, antibiotica

### Epidemiologie

In 2003 schatte de International Diabetes Federation (IDF) de wereldwijde prevalentie voor diabetes (20-79 jaar) op 195 miljoen. In 2011 werd dit bijgesteld tot 366 miljoen (8,3%), terwijl voor 2030 de voorspelling 552 miljoen (9,9%) is.<sup>1</sup> Er wordt dan ook gesproken van de epidemie van de 21<sup>e</sup> eeuw. In Nederland wordt het aantal mensen met type 1 en 2 diabetes mellitus (t1DM en t2DM) tezamen geschat op 1 miljoen. Eén van de meest gevreesde complicaties is

het ontstaan van een diabetisch voetulcus. Dit probleem kan leiden tot een amputatie van de onderste extremiteit. Mensen met diabetes hebben een 25 maal grotere kans op het ontstaan van een amputatie dan mensen zonder diabetes. Zeventig procent van alle amputaties in de wereld komt voor bij diabetes. In 2005 berichtte de Lancet dat "Iedere 30 seconden een been verloren wordt door diabetes". In westerse landen zal één van de zes mensen met diabetes ooit een ulcus ontwikkelen. In 85% van mensen met diabetes wordt een amputatie voorafgegaan door een (geïnfecteerd) voetulcus. Bij mensen met diabetes die gedialyseerd worden is het voorkomen van een voetproblemen met 40% zo mogelijk nog hoger.<sup>2</sup> De incidentie van een voetinfectie varieert van 4% per leven in de eerste lijn<sup>3</sup> tot 36,5 per 1.000 personen met diabetes per jaar.<sup>4</sup> In de VS worden de totale kosten voor diabetisch voetproblemen op niet minder dan op € 13,8 miljard per jaar geschat. In een Zweedse studie waren de kosten (gecorrigeerd voor inflatie 2012) € 19.000 voor behandeling van een voetinfectie zonder amputatie, € 36.000 voor behandeling door middel van een distale amputatie en € 32.500 voor behandeling van een infectie met een proximale amputatie.<sup>5</sup> Van deze bedragen was 95% geassocieerd met de ligduur en slechts 4% bedroegen directe kosten van antibiotica.

Mensen met diabetes hebben vaker infecties. In een onderzoek naar verzekeringsclaims in Canada werden meer dan 500.000 mensen met diabetes mellitus gematcht met mensen zonder diabetes.<sup>6</sup> Bijna 50% van

Dr. E.J.G. Peters, internist met aandachtsgebieden infectieziekten en acute geneeskunde, VU medisch centrum, Amsterdam, dr. K. Bakker, internist met aandachtsgebied endocrinologie np, chair IWGDF, Heemstede.  
Correspondentieadres: dr. E.J.G. Peters, VU medisch centrum, afdeling Interne geneeskunde, De Boelelaan 1117, 1081 HV Amsterdam, e-mail: e.peters@vumc.nl.

de mensen met diabetes had binnen een jaar een infectie vergeleken met 38% van de mensen zonder diabetes (riskratio van 1,2). Het relatieve risico voor ziekenhuisopname was 2,2, het relatieve risico voor ziekenhuisopname voor infectie was 2,0. De risicoratio was 4 voor osteomyelitis, 2 voor sepsis en 1,8 voor overlijden door infectie. Mensen met diabetes hadden een 80% hoger risico voor cellulitis. Een 12-maanden durende studie in Nederland bij 7417 mensen met diabetes in de eerste lijn, liet zien dat mensen met diabetes een hogere incidentie hadden van pneumonie, urineweginfectie en huidinfecties.<sup>7</sup>

### Pathofysiologie

Infecties ontstaan meestal bij chronische ulcera, die een porte d'entrée vormen voor bacteriën. De oorzaak van de ulcera is multifactorieel. Voetvervormingen leiden tot verhoogde biomechanische druk onder de voeten, die niet goed wordt waargenomen door de neuropathie. In de aanwezigheid van perifere vaatlijden ontstaat er vervolgens makkelijk een ulcus.

Hoewel mensen met diabetes vaker infecties hebben is niet helemaal duidelijk wat er gebeurt op fysiologisch niveau. Er zijn veel – met name *in vitro* – studies geweest naar de effecten van hyperglykemie op de verschillende delen van het immuunsysteem.

### Aangeboren humorale afweer

De aangeboren humorale afweer omvat onder andere lokaal vasoactieve of pro-inflammatoire cytokines en het complementsysteem. Normaal gezien leidt afgifte van lokaal vasoactieve cytokines zoals bradykinine tot vasodilatatie via de nitrooxide (NO)-respons. Bij hyperglykemie is er een dysregulatie van het endotheliale nitroxidesynthase (eNOS) / NO-systeem, wat kan leiden tot vasoconstrictie in plaats van vasodilatatie. Dit kan hierdoor leiden tot hypoxie, waardoor onder andere fagocyten minder goed werken.<sup>8</sup> In een wat oudere studie werd gesuggereerd dat complementactivatie vaker voorkomt bij patiënten met t2DM die insuline gebruiken.<sup>9</sup> Andere, recentere studies suggereerden dat hyperglykemie de immuunrespons door complement kan inhiberen. Complement receptor-3 en Fc $\gamma$ -receptorgemedieerde fagocytose zijn verminderd bij de normale humane neutrofiële granulocyt door activatie van proteïnekinases C  $\alpha$  en  $\beta$ .<sup>10</sup> De pro-inflammatoire cytokines als tumornecrosefactor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), Interleukine (IL) 1 $\beta$ , IL6, IL18 daarentegen, zijn verhoogd bij hyperglykemie. Deze hogere hoeveelheid cytokines kan leiden tot verergering van de insulineresistentie door verminderde mRNA-expressie van de cellulaire glucosetransporter, door toename van lipolyse en door activatie van stresshormonen via de hypofyse-bijnieras. Er kan een vicieuze cirkel ontstaan van inflammatie, insulineresistentie en hyperglykemie.<sup>11</sup>

### Aangeboren cellulaire afweer

Fagocyten, of polymorfonucleaire cellen (PMN), vormen de basis van het aangeboren cellulaire immuunsysteem. Mensen met diabetes hebben een verminderde functie in nagenoeg alle facetten van de functie van deze cellen zoals chemotaxis, adherentie, fagocytose en intracellulaire *killing*.<sup>12</sup> Verbetering van de metabole controle door behandeling met insuline zorgt vaak voor normalisatie van deze functies. In een studie werd zelfs bij gezonde proefpersonen een directe verbetering gezien bij euglykemische *clamp*. Hierbij wordt insuline samen met glucose toegediend om normoglykemie te houden. Dit suggereert een directer effect van insuline op de granulocyten.<sup>13</sup> *Advanced glycation end products* (AGE) zijn stoffen die accumuleren in het lichaam bij metabole ontregeling door hyperglykemie. Deze producten leiden tot een verminderde transendotheliale migratie van PMN's.<sup>14</sup> De chemotaxis van PMN's kan worden verbeterd door insulinetherapie blijkt enkele oudere studies.<sup>12,15,16</sup> De superoxide productie in PMN's, nodig voor intracellulaire *killing* van micro-organismen, wordt gereguleerd op twee belangrijke manieren, waarvan één via NADPH-oxidase is. De activiteit van het enzym wordt verminderd door hoge glucoseconcentraties.<sup>12,17</sup> Dit vindt plaats door inhibitie van glucose-6-fosfaatdehydrogenase, wat de vorming van NADPH normaal gezien katalyseert.<sup>17</sup> Het lijkt voor de hand te liggen om middelen te gebruiken die de functie van fagocyterende cellen verbeteren, bijvoorbeeld met *granulocyte colony stimulating factor* (G-CSF). Een meta-analyse van vijf gerandomiseerde trials (RCT's) naar gebruik van G-CSF bij patiënten met een diabetische voetinfectie leverde echter geen grote voordelen op door gebruik van G-CSF, hoewel er wel een trend leek te zijn voor het minder voorkomen van amputaties bij gebruik van G-CSF.<sup>18,19</sup>

### Adaptieve afweer

De invloed van diabetes mellitus op zowel het humorale als het cellulaire adaptieve immuunsysteem is niet zo goed gekarakteriseerd. Er lijken defecten te zijn in het cellulaire adaptieve immuunsysteem blijktens de resultaten van vaccinatiestudies in goed en slecht gereguleerde patiënten met t1DM.<sup>20,21</sup> In andere studies bij patiënten met goed gereguleerde t1DM en t2DM, werd echter een normale immuunrespons gevonden, wat suggereert dat er een normale T-geheugencel en CD4-positieve lymfocytenfunctie is.<sup>22-24</sup> Beschermende titers tegen het influenzavirus, pneumokokken en het hepatitis-B-virus lijken dan ook adequaat in de meeste studies bij mensen met diabetes.<sup>22-24</sup> Dit zou betekenen dat betere metabole controle helpt om het adaptieve immuunsysteem optimaal te laten functioneren. De functie van de antilichamen lijkt onder meer afhankelijk van de mate van 'versuikering' van de immuunglobulinen. De glycatie van IgG is gecorre-

leerd met de hoogte van het geglyceerde hemoglobine (HbA<sub>1c</sub>), wat gebruikt wordt door klinici om bij patiënten met diabetes de metabole controle vast te stellen. Vooral het antigeenbindende (Fab) fragment van IgG wordt geglyceerd, waardoor het moleculaire herkenningsmechanisme tussen antilichaam en antigeen wordt geïnhibeerd.<sup>25</sup>

### Waarom is de behandeling van een diabetische voet infectie soms zo problematisch?

De behandeling van een diabetische-voetinfectie berust op drie pijlers: chirurgie, antibiotica en, voor de uiteindelijke genezing van het ulcus, drukontlasting van de voetzool. De chirurgie is belangrijk in geval van een diepe voetinfectie, abscesvorming en osteomyelitis. Drainage van diepe infecties kan oedeemvorming, met als gevolg een compartimentsyndroom in voetcompartimenten, voorkomen. Door het compartimentsyndroom ontstaat ischemie en kan de infectie zich snel verder ontwikkelen. Er is meestal ook een atherosclerotische ischemische component die verergert door de lokale infectie. Door trombose van de vaten ontstaat verdere necrose. Ook de antibiotica en afweer komen minder goed ter plaatse bij perifere vaatlijden. De acute behandeling omvat dan ook vaak een arteriële reconstructie door een percutane transluminale angioplastiek (PTA) of een perifere arteriële bypass.

Het lijkt niet zo te zijn dat er meer microbiële resistentie voorkomt bij mensen met diabetes mellitus. In een studie naar verwekkers van urineweginfectie leek er zelfs minder resistentie voor te komen bij mensen met diabetes.<sup>26</sup> Het is niet duidelijk of dit ook geldt voor verwekkers van diabetische-voetinfecties. Volgens nog niet gepubliceerde data is er in Nederland bij 20% van de gevallen van diabetische-voetinfectie resistentie bij *S. aureus* voor clindamycine.

De identificatie van het juiste micro-organisme is vaak problematisch. De uitkomst van kweken bij oppervlakkige wondkweken, diepe wondkweken en botbiopten blijkt slecht overeen te komen. Bij diepe weefsel kweken en oppervlakkige wond swabs is de overeenkomst volgens een Turkse studie 73%.<sup>27</sup> In een Franse studie bleek dat de overeenkomst tussen een percutaan botbiopt bij osteomyelitis en oppervlakkige wond swab zelfs maar 23% bedroeg.<sup>28</sup> Het is natuurlijk, met name bij diepe infecties als osteomyelitis, van het grootste belang dat het juiste antibioticum wordt voorgeschreven. Het is misschien ook hierom dat uitkomst van behandeling van osteomyelitis op geleide van een botbiopt bij een niet-gerandomiseerde studie beter was dan empirische behandeling of behandeling op basis van oppervlakkige kweken.<sup>29</sup> Een caveat bij deze studie was wel dat de mensen met een botbiopt ook behandeling kregen met een regime van rifampicine en chinolone. In literatuur naar prothesegeassocieerde infecties en in-case-series bij chronische osteomyelitis lijkt een rifampicine-bevattend regime te leiden tot goede uitkomsten.<sup>30</sup>

De beste kans op het genezen van het ulcus is ontlasten van biomechanische druk onder de voetzool. De gouden standaard hiervoor is de Total Contact Cast, waarbij gips de voet nauw omsluit om de drukken op de voetzool gelijk te verdelen. Er kan hiermee een genezingspercentage van 80% in acht weken worden bereikt.<sup>31</sup>

### Behandeling van diabetische-voetinfectie

Recent zijn er systematische reviews en richtlijnen verschenen over de behandeling van diabetische-voetinfecties.<sup>19,32-34</sup> In de systematische review werden 33 studies gevonden naar de behandeling van diabetes mellitus.<sup>19</sup> Twee niet-gerandomiseerde studies vonden een significante reductie bij vroege chirurgie vergeleken met conservatieve therapie. Twaalf studies waren naar antibiotica in wekedeleninfecties, acht naar antibiotica in groepen waarin patiënten werden geïncludeerd met zowel wekedeleninfecties als osteomyelitis. Er zijn studies gevonden naar alle belangrijke groepen antibiotica. Er waren geen studies die een significant voordeel lieten zien van een bepaald soort antibioticum, een bepaalde duur of manier van toediening (oraal versus intraveneus) bij wekedeleninfecties. Bij osteomyelitis was er een studie die een beperkt voordeel liet zien bij gebruik van cefoxitine versus amoxicilline/clavulaanzuur. De gebruikte duur van antibiotica in de studies was relatief kort. Bij wekedeleninfecties varieerde deze van zes tot 27 dagen, bij osteomyelitis van zes tot 28 dagen. Er werden geen aanwijzingen gevonden dat antibiotica met een vermeende betere botpenetratie zoals chinolonen, clindamycine of ceftazidim betere uitkomsten hadden dan andere antibiotica.

### Internationale richtlijnen over management en preventie voor diabetische-voetinfecties

Breedgedragen richtlijnen, mits voldoende geïmplementeerd, zijn essentieel voor het kwalitatief verbeteren van zorg voor mensen met diabetes en voetproblemen.<sup>35</sup> Een aantal internationale specialisten op het gebied van de diabetische voet heeft hiervoor in 1996 de International Working Group on the Diabetic Foot (IWGDF) opgericht met het doel betere zorg en meer aandacht voor preventieve maatregelen te leveren. De laatste updates van richtlijnen verschenen in 2012. Deze omvatten preventie van voetproblemen, diabetische-voetinfectie, vaatlijden en wondbehandeling.<sup>36,37</sup> De richtlijnen voor diabetische-voetinfecties zijn gebaseerd op een systematische review van literatuur.<sup>19,33,34</sup> Een andere belangrijke recent verschenen richtlijn is die van de *Infectious Diseases Society of America* (IDSA).<sup>32</sup> Bij afwezigheid van betere uitkomsten voor bepaalde antibiotica, adviseren de richtlijnen geen bepaald soort antibioticum. Er worden wel op basis van expert opinion suggesties gedaan voor soorten empirische antibiotica (tabel 1), duur en methode van toediening (tabel 2). Op basis van (diepe/weefsel) kweken kan vervolgens een meer

Tabel 1. (Empirisch) te gebruiken antibiotica bij diabetische-voetinfecties (gebaseerd op IDSA- en IWGDF-aanbevelingen.)<sup>32,34</sup>

Ernst van infectie	Waarschijnlijke pathogenen	Antibioticum	Commentaar		
Mild	<i>S. aureus</i> en streptokokken	Flucloxacilline	Viermaaldaagse dosering, smal spectrum, goedkoop		
		Clindamycine	Inhibitie eiwitsynthese van sommige bacteriële toxines. Alleen empirisch toedienen bij lage lokale resistentie		
		Cefalexine	Viermaaldaagse dosering. Goedkoop		
		Moxifloxacin/levofloxacin	Eenmaaldaagse dosering. Suboptimale dekking <i>S. aureus</i>		
Matig ernstig of ernstig	<i>S. aureus</i> , streptokokken, Enterobacteriaceae, obligaet anaeroben	Ceftriaxon	Eenmaaldaagse dosering, derde generatie cefalosporine		
		Amoxicilline/clavulaanzuur			
		Moxifloxacin/levofloxacin	Eenmaaldaagse dosering. Relatief breed spectrum. Suboptimale dekking <i>S. aureus</i>		
		Clindamycine met levofloxacin of met ciprofloxacin	Cave resistentie tegen clindamycine. Zowel oraal als i.v. te geven		
		Ertapenem	Eenmaaldaagse dosering, i.v. Niet actief tegen <i>Pseudomonas</i> . Actief bij ESBL		
		Imipenem/cilastin of meropenem	Breed spectrum, geen activiteit tegen MRSA. Actief bij ESBL en <i>Pseudomonas</i>		
		Ciprofloxacin	Liever niet als empirische therapie. Onvoldoende dekking als monotherapie tegen grampositieve kokken. Kan ook oraal worden gegeven		
		Tigecycline	Breed spectrum. Activiteit tegen MRSA. Mogelijk hogere mortaliteit		
		MRSA	Vancomycine	I.v.-toediening op geleide spiegels	
			Daptomycine	Eenmaaldaagse dosering, i.v. Monitoring creatinekinase	
			Linezolid	Zowel oraal als i.v. grampositief spectrum. Cave neuro- en beenmergtoxiciteit	
			<i>Pseudomonas</i> (meestal geen pathogeen tenzij in uitzonderlijke situaties)	Piperacilline/tazobactam	Viermaaldaagse i.v. dosering. Twijfel of tazobactam induceerbare <i>betalactames</i> bij <i>Pseudomonas</i> kan induceren
				Ceftazidim	Driemaaldaagse i.v.-dosering. Geen adequate <i>S. aureus</i> -dekking
		Imipenem/cilastin of meropenem	Breed spectrum, geen activiteit tegen MRSA. Actief bij ESBL en <i>Pseudomonas</i>		
	<i>S. aureus</i> , streptokokken, enterobacteriaceae, obligaet anaeroben en <i>Pseudomonas</i>	Vancomycine en ceftazidime of piperacilline/tazobactam of aztreonam of imipenem/cilastin of meropenem	Zeer breed spectrum meestal niet nodig in Nederland. Bij cefalosporines of aztreonam: overweeg ook anaerobe dekking		

gerichte therapie worden gegeven. Bij verdenking MRSA zijn uiteraard daarvoor geschikte antibiotica aangewezen.<sup>32</sup>

## Discussie

Met de enorme stijging van het aantal mensen met diabetes in de wereld neemt ook het aantal complicaties toe. Een van de meest gevreesde vormen daarvan is het ontstaan van een diabetisch-voetprobleem. De oorzaak van het ontstaan van ulcera is multifactorieel. Sensitieve neuropathie (wegvallen van pijnsensatie), het ontstaan

van verhoogde biomechanische druk, perifere vaatlijden en infectie zijn de hoofdoorzaken tot het ontstaan van een ulcus. Een voetulcus kan ernstig geïnfecteerd raken en leiden tot een amputatie van de onderste extremiteit. Mensen met diabetes lopen een hoger risico tot het krijgen van ernstige infecties dan mensen zonder diabetes. Waarom is dat zo?

De aangeboren humorale afweer raakt gestoord. Hyperglykemie kan de immuunrespons door complement inhiberen. Er lijkt een dysregulatie te ontstaan van het

Tabel 2. Duur van antibiotische behandeling.<sup>32,34</sup>

Plaats infectie	Ernst infectie	Route antibiotica	Setting	Duur antibiotica
Weke delen	Mild	Oraal	Poliklinisch	1-2 weken, bij langzame respons tot 4 weken
	Matig	Oraal (of initieel parenteraal)	Ziekenhuis/ poliklinisch	1-3 weken
	Ernstig	Initieel parenteraal, switch naar oraal wanneer mogelijk	Ziekenhuis, later poliklinisch	2-4 weken
Bot of gewricht	Geen residuaal geïnfecteerd weefsel (bijvoorbeeld post-amputatie)	Parenteraal of oraal		2-5 dagen
	Residuaal geïnfecteerde weke delen (geen bot)	Parenteraal of oraal		1-3 weken
	Residuaal geïnfecteerd, maar vitaal bot	Initieel parenteraal, overweeg switch naar oraal wanneer mogelijk		4-6 weken
	Geen chirurgie, residuaal avitaal bot na operatie	Initieel parenteraal, overweeg switch naar oraal wanneer mogelijk		> 3 maanden
	Bot na operatie	Overweeg switch naar oraal wanneer mogelijk		

endotheliale nitroxidesynthase (eNOS) / NO-systeem, wat kan leiden tot vasoconstrictie in plaats van vasodilatatie. Hogere hoeveelheden cytokines kunnen leiden tot verergering van de insulineresistentie door verminderde mRNA-expressie van de cellulaire glucosetransporter, door toename van lipolyse en door activatie van stresshormonen via de hypofyse-bijnieras. Zo kan er een vicieuze cirkel ontstaan van inflammatie, insulineresistentie en hyperglykemie.

Ook de aangeboren cellulaire afweer bij mensen met diabetes is verminderd. Fagocyten, of polymorfonucleaire cellen (PMN), vormen de basis van het aangeboren cellulaire immuunsysteem. Mensen met diabetes hebben een verminderde functie in nagenoeg alle facetten van de functie van deze cellen zoals chemotaxis, adherentie, fagocytose en intracellulaire killing.

Wat betreft de adaptieve afweer lijkt de glycatie van de immuunglobulinen een rol te spelen. Vooral het antigeenbindende (Fab) fragment van IgG wordt geglyceerd, waardoor het moleculaire herkenningsmechanisme tussen antilichaam en antigeen wordt gehinderd.

De behandeling van de diabetische-voetinfectie bestaat uit de volgende peilers: chirurgische interventie, drukontlasting, herstel van vaatlijden en het gebruik van de juiste antibiotica. Bovendien helpt betere metabole controle om het adaptieve immuun systeem optimaal te laten functioneren. Bij de antibiotische behandeling moet vooral gelet worden de identificatie van de micro-organismen, hetgeen niet altijd eenvoudig is. Verschillende studies wijzen op de verschillende uitkomsten van kweken waarbij de afname techniek steeds een grote rol speelt. Diepe wondkweken en botbiopten zijn het meest betrouwbaar in

deze. Toenemende zorg voor het ontstaan van resistentie vragen extra aandacht, "blind" antibiotisch behandelen moet dan ook zoveel mogelijk vermeden worden.

Het is sterk aan te bevelen om van de recent gepubliceerde reviews met de daaruit voortkomende richtlijnen voor het juiste antibiotica gebruik te maken. De "International Working Group on the Diabetic Foot" (IWGDF) opgericht met het doel betere zorg en meer aandacht voor preventieve maatregelen te leveren liet een laatste update van richtlijnen verschijnen in 2012 en omvatten preventie van voetproblemen, diabetische-voetinfectie, vaatlijden en wondbehandeling. De richtlijnen voor diabetische-voetinfecties zijn gebaseerd op een systematische review van literatuur. Andere recent verschenen richtlijnen zijn die van de Infectious Diseases Society of America (IDSA) en de Britse National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE).

### Summary

A diabetic foot problem is one of the most feared complications of diabetes mellitus. A diabetic foot ulcer can lead to a lower limb amputation. The etiology of ulcers is multifactorial. Neuropathy, elevated biomechanical plantar pressure, and peripheral arterial disease are the principal causes of ulcers. A foot ulcer can get infected, leading to a lower extremity amputation. People with diabetes have a higher risk of developing severe infections than people without diabetes. Reasons are arterial insufficiency and diminished adaptive and cellular immunity. Several aspects of the cellular immunity are suppressed, such as the formation of radical oxygen species by phagocytosing cells. Glycation of immunoglo-

bulins inhibits the molecular recognition system of the antibodies. It is important to use tissue cultures instead of superficial wound swabs to identify causing microorganisms. Recently published guidelines and reviews by the IWGDF and the IDSA have suggested antibiotics for use in diabetic foot infections.

## Referenties

- International Diabetes Federation. Diabetes atlas. Fifth edition 2011. Available at: <http://www.idf.org/diabetesatlas/5e/the-global-burden>.
- Ndip A, Lavery LA, Lafontaine J, et al. High levels of foot ulceration and amputation risk in a multiracial cohort of diabetic patients on dialysis therapy *Diabetes Care*. 2010;33(4): 878-80.
- Verhoeven S, van Ballegooie E, Casparie AF. Impact of late complications in type 2 diabetes in a dutch population. *Diabet Med*. 1991;8(5):435-8.
- Lavery LA, Armstrong DG, Wunderlich RP, Tredwell J, Boulton AJ. Diabetic foot syndrome: Evaluating the prevalence and incidence of foot pathology in mexican americans and non-hispanic whites from a diabetes disease management cohort. *Diabetes Care*. 2003;26(5):1435-8.
- Ragnarson Tennvall G, Apelqvist J, Eneroth M. Costs of deep foot infections in patients with diabetes mellitus. *Pharmacoeconomics*. 2000;18(3):225-38.
- Shah BR, Hux JE. Quantifying the risk of infectious diseases for people with diabetes. *Diabetes Care*. 2003;26(2):510-3.
- Muller LM, Gorter KJ, Hak E, et al. Increased risk of common infections in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Clin Infect Dis*. 2005;41(3):281-8.
- Kim SH, Park KW, Kim YS, et al. Effects of acute hyperglycemia on endothelium-dependent vasodilation in patients with diabetes mellitus or impaired glucose metabolism. *Endothelium*, 2003;10(2):65-70.
- Bergamaschini L, Cardinali M, Poli M, Lorini R, Bosi E, Agostoni A. Complement activation in diabetes mellitus. *J Clin Lab Immunol*. 1991;35(3):121-7.
- Saiepour D, Sehlin J, Oldenberg PA. Insulin inhibits phagocytosis in normal human neutrophils via PKCalpha/beta-dependent priming of F-actin assembly. *Inflamm Res*. 2006;55(3):85-91.
- Turina M, Fry DE, Polk HC, Jr. Acute hyperglycemia and the innate immune system: Clinical, cellular, and molecular aspects. *Crit Care Med*. 2005;33(7):1624-33.
- Delamaire M, Maugendre D, Moreno M, Le Goff MC, Allanic H, Genetet B. Impaired leucocyte functions in diabetic patients. *Diabet Med*. 1997;14(1):29-34.
- Walrand S, Guillet C, Boirie Y, Vasson MP. In vivo evidences that insulin regulates human polymorphonuclear neutrophil functions. *J Leukoc Biol*. 2004;76(6):1104-10.
- Collison KS, Parhar RS, Saleh SS, et al. RAGE-mediated neutrophil dysfunction is evoked by advanced glycation end products (AGEs). *J Leukoc Biol*. 2002;71(3):433-44.
- Geerlings SE, Hoepelman AI. Immune dysfunction in patients with diabetes mellitus (DM). *FEMS Immunol Med Microbiol*. 1999;26(3-4):259-65.
- Cavalot F, Anfossi G, Russo I, et al. Insulin, at physiological concentrations, enhances the polymorphonuclear leukocyte chemotactic properties. *Horm Metab Res*. 1992;24(5):225-8.
- Perner A, Nielsen SE, Rask-Madsen J. High glucose impairs superoxide production from isolated blood neutrophils. *Intensive Care Med*. 2003;29(4):642-5.
- Cruciani M, Lipsky BA, Mengoli C, de LF. Are granulocyte colony-stimulating factors beneficial in treating diabetic foot infections?: A meta-analysis. *Diabetes Care*. 2005;28(2):454-60.
- Peters EJ, Lipsky BA, Berendt AR, et al. A systematic review of the effectiveness of interventions in the management of infection in the diabetic foot *Diabetes Metab Res Rev*. 2012;28 Suppl 1:142-62.
- Eibl N, Spatz M, Fischer GF, et al. Impaired primary immune response in type-1 diabetes: Results from a controlled vaccination study. *Clin Immunol*. 2002;103(3):249-59.
- Spatz M, Eibl N, Hink S, et al. Impaired primary immune response in type-1 diabetes. functional impairment at the level of APCs and T-cells. *Cell Immunol*. 2003;221(1):15-26.
- Diepersloot RJ, Bouter KP, van BR, Lucas CJ, Masurel N, Erkelens DW. Cytotoxic T-cell response to influenza A subunit vaccine in patients with type 1 diabetes mellitus. *Neth J Med*. 1989;35(1-2):68-75.
- el-Madhun AS, Cox RJ, Seime A, Sovik O, Haaheim LR. Systemic and local immune responses after parenteral influenza vaccination in juvenile diabetic patients and healthy controls: Results from a pilot study. *Vaccine*. 1998;16(0264-410;2-3):156-60.
- Marseglia G, Alibrandi A, d'Annunzio G, et al. Long term persistence of anti-HBs protective levels in young patients with type 1 diabetes after recombinant hepatitis B vaccine. *Vaccine*. 2000;19(0264-410;7-8):680-3.
- Lapolla A, Tonani R, Fedele D, et al. Non-enzymatic glycation of IgG: An in vivo study. *Horm Metab Res*. 2002;34(5):260-4.
- Meiland R, Geerlings SE, De Neeling AJ, Hoepelman AI. Diabetes mellitus in itself is not a risk factor for antibiotic resistance in escherichia coli isolated from patients with bacteriuria *Diabet Med*. 2004;21(9):1032-4.
- Mutluoglu M, Uzun G, Turhan V, Gorenek L, Ay H, Lipsky BA. How reliable are cultures of specimens from superficial swabs compared with those of deep tissue in patients with diabetic foot ulcers? *J Diabetes Complications*. 2012.
- Senneville E, Melliez H, Beltrand E, et al. Culture of percutaneous bone biopsy specimens for diagnosis of diabetic foot osteomyelitis: Concordance with ulcer swab cultures. *Clin Infect Dis*. 2006;42(1):57-62.
- Senneville E, Lombart A, Beltrand E, et al. Outcome of diabetic foot osteomyelitis treated nonsurgically: A retrospective cohort study. *Diabetes Care*. 2008;31(4):637-42.
- Senneville E, Yazdanpanah Y, Cazaubiel M, et al. Rifampicin-ofloxacin oral regimen for the treatment of mild to moderate diabetic foot osteomyelitis. *J Antimicrob Chemother*. 2001;48(6):927-30.
- Bus SA, Valk GD, van Deursen RW, et al. The effectiveness of footwear and offloading interventions to prevent and heal foot ulcers and reduce plantar pressure in diabetes: A systematic review. *Diabetes Metab Res Rev*. 2008;24 Suppl 1:S162-80.
- Lipsky BA, Berendt AR, Cornia PB, et al. 2012 infectious diseases society of america clinical practice guideline for the diagnosis and treatment of diabetic foot infections *Clin Infect Dis*. 2012;54(12):e132-73.
- Lipsky BA, Peters EJ, Berendt AR, et al. Specific guidelines for the treatment of diabetic foot infections 2011 *Diabetes Metab Res Rev*. 2012;28 Suppl 1: 234-5.
- Lipsky BA, Peters EJ, Senneville E, et al. Expert opinion on the management of infections in the diabetic foot *Diabetes Metab Res Rev*. 2012;28 Suppl 1: 163-78.
- Clinical Guidelines Task Force. Guide for guidelines. A guide for clinical guideline development. Vol. [www.idf.org](http://www.idf.org). Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2003.
- Bakker K, Apelqvist J, Schaper NC, International Working Group on Diabetic Foot Editorial Board. Practical guidelines on the management and prevention of the diabetic foot 2011 *Diabetes Metab Res Rev*, 2012;28 Suppl 1: 225-31.
- International Working Group on the Diabetic Foot. International consensus on the diabetic foot and supplements, DVD. 2011; Complete IWGDF data DVD Guidelines 2011 at <http://shop.idf.org>.



# Risicofactoren voor chronische Q-koorts

## Speelt diabetes mellitus een rol?

E. Hoornenborg, L.M. Kampschreur, K.P. Bouter, P.C. Wever

### Samenvatting

Van 2007 tot 2010 ondervond Nederland een epidemie van Q-koorts. De veroorzakende bacterie *Coxiella burnetii* wordt overgedragen van dier op mens via inhalatie van geïnfecteerde (stof) partikels. De belangrijkste risicofactoren voor het ontwikkelen van chronische Q-koorts zijn pre-existente hartklepafwijkingen, hartklepoperaties, aneurysmata, vaatprothesen en nierinsufficiëntie. Diabetes mellitus is geen directe risicofactor voor chronische Q-koorts, echter mogelijk wel een indirecte risicofactor indien er sprake is van vasculaire complicaties door diabetes.

### Trefwoorden

Q-koorts, *Coxiella burnetii*, risicofactoren, diabetes mellitus

### Casus

Een 63-jarige man is sinds 1999 bekend met diabetes mellitus type 2 waarvoor hij wordt behandeld met glimepiride en metformine. Sinds 2005 heeft hij daarbij een microalbuminurie met een glomerulaire filtratiesnelheid van 70 ml/min, waarvoor hij start met een angiotensine-I-converting enzymremmer. Overige complicaties van diabetes mellitus zijn er niet. In verband met hypercholesterolemie heeft hij atorvastatine. Er wordt een matige aortaklepstenose vastgesteld in 2003 waarvoor een expectatief beleid wordt gevoerd. In 2006 wordt patiënt, op dat moment 57 jaar, opgenomen met een langdurige periode van koorts, die niet reageert op bèta-lactam antibiotica. Laboratoriumonderzoek toont een verhoogd C-reactieproteïnegehalte van 116 mg/l, normaal leukocytengetal van  $6,9 \times 10^9/l$ , verhoogd creatininegehalte van 185  $\mu\text{mol/l}$ , levertestafwijkingen met aspartaat-aminotransferase van 156 U/l, alanine-aminotransferase van 177 U/l, gamma-glutamyltransferase 144 U/l en een normaal bilirubinegehalte. Bloedkweken, computertomografiescan, positronemissietomografiescan en echografie van het hart laten geen verklaring voor de koorts zien. Hoewel er op dat moment nog geen sprake was van een epidemie, is de mogelijkheid van een acute Q-koortsinfectie wel overwogen. *Coxiella burnetii*-serologie wordt ingezet en IgM- en IgG-antistoffen tegen zowel

fase-I- en -II-antigenen van *C. burnetii* bleken positief, passend bij een recente Q-koortsinfectie. Polymerase chain reaction (PCR) voor *C. burnetii*-DNA werd niet verricht. Na het bekend worden van deze uitslagen was de koorts reeds spontaan verdwenen en is de patiënt, hoewel arbitrair, niet alsnog behandeld met doxycycline.

Drie jaar later klaagt hij over progressieve dyspneu d'effort en orthopneu. Bij onderzoek blijkt er een duidelijke systolische soufflé over het aortakleptraject en is er tevens sprake van boezemfibrilleren met snelle volgfrequentie. Hij wordt opgenomen voor evaluatie en intraveneuze diuretica. Er wordt een Q-koortsendocarditis vastgesteld (fase-I-IgG-titer 1:65536, PCR op serum positief voor *C. burnetii*-DNA) met een ernstige aortaklepinsufficiëntie bij een pre-existente bicuspide aortaklep die op eerdere echo's niet was beschreven en tevens een aneurysma van de aortawortel. Er wordt een aortawortelvervangning verricht in combinatie met een coronary artery bypass grafting (CABG) in verband met significante atherosclerose van de coronairvaten. PCR van het hartklepweefsel is positief voor *C. burnetii*-DNA. De patiënt start met doxycycline en hydroxychloroquinebehandeling voor de chronische Q-koorts. Vanwege bijwerkingen in de vorm van een verdenking op netvlies toxiciteit gaat hij over op ciprofloxacin monotherapie. Dit gebruikt hij in totaal twee jaar waarna de behandeling in mei 2011 wordt gestaakt. Bij het meeste recente bezoek aan de polikliniek in september 2012 heeft hij geen klachten meer en is de fase-I-IgG-titer

E. Hoornenborg, afdeling Interne geneeskunde, Jeroen Bosch Ziekenhuis, 's-Hertogenbosch, L.M. Kampschreur, afdeling Interne geneeskunde, Jeroen Bosch Ziekenhuis, 's-Hertogenbosch, afdeling Interne geneeskunde en infectieziekten, Universitair Medisch Centrum Utrecht, K.P. Bouter, afdeling Interne geneeskunde, Jeroen Bosch Ziekenhuis, 's-Hertogenbosch, P.C. Wever, Regionaal Laboratorium Medische Microbiologie en Infectiepreventie, Jeroen Bosch Ziekenhuis, 's-Hertogenbosch.  
Correspondentieadres: E. Hoornenborg, Jeroen Bosch Ziekenhuis, afdeling Interne geneeskunde, Postbus 90153, 5200 ME 's-Hertogenbosch, e-mail: elske.hoornenborg@zonnet.nl.

gedaald naar 1:16384 met een negatieve PCR op serum voor *C. burnetii* DNA.

Concluderend was er sprake van een Q-koortsendocarditis met een pre-existente hartklepafwijking als risicofactor bij een patiënt met diabetes mellitus type 2 met micro- en macrovasculair vaatlijden.

### De bacterie

*C. burnetii*, de verwekker van Q-koorts, is een gramnegatieve intracellulaire bacterie die fylogenetisch is gerelateerd aan de *legionellaceae*. Q-koorts werd voor het eerst beschreven door Derrick in 1937 bij medewerkers van een vleesverwerkingsfabriek.<sup>1</sup> De bacterie infecteert macrofagen en monocytën en na het binnendringen van de cel vindt vermeerdering plaats in fagolysosomen bij een pH rond 4,5. Q-koorts is een zoönose. Het belangrijkste reservoir voor overdracht naar de mens is in Nederland de geit, maar ook koeien, schapen en verschillende andere dieren dragen de bacterie bij zich.<sup>2</sup> *C. burnetii* staat op de lijst van bioterrorisme-agentia van het Amerikaanse Centers for Disease Control and Prevention.

### Q-koorts in Nederland

Van 2007 tot 2010 was er sprake van een belangrijke Q-koortsepidemie in Nederland, met name in Noord-Brabant. Acute Q-koorts is volgens de Wet Publieke Gezondheid een meldingsplichtige ziekte en in deze periode werden meer dan 4000 patiënten gerapporteerd bij het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu.<sup>3</sup> Het werkelijke aantal infecties zal aanzienlijk hoger liggen aangezien de infectie vaak asymptomatisch verloopt. Seroprevalentiecijfers van antistoffen tegen *C. burnetii* geven een indicatie van het aantal doorgemaakte infecties. In epidemische regio's in Nederland lopen deze uiteen van 10-12%.<sup>4,5</sup>

De bron voor de Nederlandse epidemie waren de geitenfokkerijen, van soms wel 5000 of meer geiten, waar voorafgaand aan de epidemie bij ten minste een deel van de bedrijven veel abortussen ten gevolge van Q-koortsbesmetting plaatsvonden.<sup>6</sup> Met de zwangerschapsproducten van geïnfecteerde geiten komen grote aantallen bacteriën vrij die maanden lang infectieus kunnen blijven en in de lucht via (stof)partikels worden verspreid. Mensen die binnen een straal van twee kilometer van een geitenboerderij woonden, hadden een relatief risico van 31,1 (95% BI 16,4-59,1) op het krijgen van acute Q-koorts vergeleken met mensen die meer dan vijf kilometer weg woonden. De windrichting bepaalt mede waar infecties plaats vinden.<sup>6</sup> Na de overheidsmaatregelen in 2009 en 2010, waarbij alle drachtige dieren op geïnfecteerde geitenbedrijven werden geruimd en alle geiten werden gevaccineerd, is de epidemie tot stilstand gekomen. Sinds 2011 worden minder dan 100 gevallen van acute Q-koorts per jaar gemeld.

### Acute Q-koorts

Q-koorts kent zowel een acuut als een chronisch ziektebeeld. Na inhalatie van de bacterie verloopt ongeveer 50-60% van de infecties asymptomatisch. In de overige gevallen wordt een griepachtig beeld gezien al dan niet gecompliceerd door een pneumonie of hepatitis. Ook zijn neurologische verschijnselen beschreven.<sup>7,8</sup> Naast de nabijheid tot geitenboerderijen zijn de belangrijkste risicofactoren voor het krijgen van acute Q-koorts mannelijk geslacht en roken.<sup>9,10</sup> In een recente studie uit Guyana wordt tevens een leeftijd tussen 40 en 60 jaar genoemd als risicofactor voor acute Q-koorts bij patiënten die zich presenteren met een pneumonie.<sup>9</sup> Diabetes mellitus is geen bekende risicofactor voor het krijgen van acute Q-koorts. In een Nederlands cohort van 85 patiënten met acute Q-koorts was de prevalentie van diabetes 6%.<sup>11</sup> In deze studie waren geen controlepatiënten meegenomen. De te verwachten prevalentie van diabetes mellitus in een vergelijkbaar leeftijdscohort in Nederland is met 4-5% echter vergelijkbaar.<sup>12</sup> De diagnose acute Q-koorts kan worden gesteld door PCR op *C. burnetii*-DNA op plasma of serum, of door het bepalen van antistoffen. De PCR is positief gedurende de eerste twee tot drie weken van de symptomatische periode waarna de antistofproductie op gang komt. Er worden twee fases van antistofproductie onderscheiden, gebaseerd op de beschreven shift in antigenen van *C. burnetii*. Na infectie verschijnen in eerste instantie antistoffen tegen fase-II-antigenen gevolgd door antistoffen tegen fase-I-antigenen. Over de diagnostiek van acute Q-koorts in Nederland is al eerder gepubliceerd.<sup>13,14</sup>

### Chronische Q-koorts

Maanden tot jaren na het doormaken van een *C. burnetii*-infectie ontwikkelt 1-5% van de patiënten een chronische Q-koortsinfectie. Chronische infecties uiten zich met name als endocarditis en vasculaire infecties van aneurysmata of vaatprothesen. Endocarditis is internationaal de meest beschreven manifestatie van chronische Q-koorts: in ongeveer 75% van de patiënten. Echter in de recente Nederlandse epidemie komen relatief veel vasculaire infecties voor: bij ongeveer 50% van de patiënten.<sup>2,8,15-17</sup> Risicofactoren voor het ontwikkelen van chronische Q-koorts zijn hartklepafwijkingen en vaatafwijkingen of -prothesen. Verder zijn immunodeficiëntie, leeftijd > 60 jaar en zwangerschap bekende risicofactoren voor het ontwikkelen van chronische Q-koorts. Mild nierfalen is een recent beschreven risicofactor. Redenen voor deze laatste risicofactoren zijn waarschijnlijk een verminderde werking van het immuunsysteem.<sup>17-24</sup> De diagnose chronische Q-koorts wordt gesteld door middel van PCR op serum, plasma of weefsel op *C. burnetii*-DNA en door serologie en klinische parameters (tabel 1). Het stellen van de diagnose chronische Q-koorts kan lastig

Tabel 1. Nederlandse consensusrichtlijn Diagnose chronische Q-koorts.

Bewezen chronische Q-koorts	Waarschijnlijke chronische Q-koorts	Mogelijke chronische Q-koorts
<p>1. Positieve <i>Coxiella burnetii</i>-PCR in bloed of weefsel in afwezigheid van acute Q-koortsinfectie</p> <p>Of:</p> <p>2. IFA <math>\geq 1:1024</math> voor <i>C. burnetii</i> fase-I-IgG Met tevens één van de volgende manifestaties:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Diagnose van endocarditis volgens de gemodificeerde Duke-criteria</li> <li>- Infectie van vaatwand of vaatprothese, vastgesteld bij beeldvormend onderzoek (PET, CT, MRI, of echo abdomen)</li> </ul>	<p>IFA <math>\geq 1:1024</math> voor <i>C. burnetii</i> fase-I-IgG Met tevens één van de volgende manifestaties:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Hartklepafwijking die niet voldoet aan de definitie van endocarditis volgens de gemodificeerde Duke-criteria</li> <li>- Bekend aneurysma of hartklep- of vaatprothese zonder aanwijzingen voor infecties bij echo cor, PET, CT, MRI of echo abdomen</li> <li>- Verdenking op osteomyelitis of hepatitis als uiting van chronische Q-koorts</li> <li>- Zwangerschap</li> <li>- Klinische symptomen van chronische infectie, zoals koorts, gewichtsverlies, nachtzweeten, hepatosplenomegalie of onverklaard persisterend verhoogde CRP of bezinking</li> <li>- Granulomateuze ontsteking bij pathologisch onderzoek</li> <li>- Immundeficiëntie</li> </ul>	<p>IFA <math>\geq 1:1024</math> voor <i>C. burnetii</i> fase-I-IgG zonder manifestaties zoals beschreven in de categorieën bewezen en waarschijnlijk chronische Q-koorts</p>

CRP: C-reactieve proteïne; CT: computertomografie; IFA: immunofluorescentie; MRI: magnetische resonantie imaging; PET: positronemissietomografie

zijn. Hoge fase-I-IgG-titers kunnen bijvoorbeeld tijdelijk ook na een ongecompliceerde acute Q-koortsepisode aanwezig zijn. Endocarditis door *C. burnetii* geeft vrijwel geen aantoonbare vegetaties, wat zelfs tot aanpassing van de internationale Duke-criteria voor de diagnose van endocarditis heeft geleid.<sup>25</sup> Daarnaast hebben veel patiënten in het begin van de ziekte weinig tot geen symptomen. Derhalve zijn diagnostische criteria opgesteld voor de diagnose *mogelijke, waarschijnlijke* of *bewezen* chronische Q-koorts door de Nederlandse consensusgroep diagnostiek Q-koorts (tabel 1).<sup>26</sup>

### Behandeling

De gevolgen van een chronische infectie zijn groot: de morbiditeit en mortaliteit zijn hoog (> 60%) indien onbehandeld.<sup>27</sup> De hoeksteen van de behandeling van chronische Q-koorts is langdurige behandeling met een combinatie van doxycycline en hydroxychloroquine. Hiermee is de mortaliteit van chronische Q-koortsendocarditis gedaald van 60% tot ongeveer 5% in een groot Frans cohort.<sup>27,28</sup> Als er sprake is van een vasculaire infectie, is chirurgie de meest effectieve behandeling, hoewel dat niet altijd mogelijk is in het geval van vasculaire prothesen en/of comorbiditeit.<sup>23,29</sup> Nederlandse data over mortaliteit bij chronische Q-koorts worden op korte termijn verwacht. Bovendien is er een landelijke database opgesteld met gegevens van alle mogelijke, waarschijnlijke en bewezen chronische Q-koortspatiënten. Dit is een samenwerkingsverband tussen ziekenhuizen in gebieden waar Q-koorts epidemisch was. Doelstelling is om al deze patiënten prospectief te vervolgen om zo meer te weten te komen

over risicofactoren, diagnostiek, behandeling en prognose. Momenteel zijn er 284 patiënten geïncludeerd.

### Diabetes mellitus en chronische Q-koorts

Een recente Nederlandse case-controlstudie met 105 chronische Q-koortspatiënten en 200 controles heeft de risicofactoren op het ontwikkelen van chronische Q-koorts na een doorgemaakte acute Q-koortsinfectie in kaart gebracht.<sup>20</sup> In univariaatanalyse blijkt diabetes mellitus een risicofactor voor het ontwikkelen van chronische Q-koorts met een oddsratio van 2,4 en een betrouwbaarheidsinterval van 1,1 tot 5,3. Dit werd echter niet bevestigd in multivariaatanalyse. In multivariaatanalyse werden een voorgeschiedenis met een hartklepoperatie, vaatprothese of aneurysma gevonden als risicofactoren, alsmede milde nierinsufficiëntie, gedefinieerd als een glomerulaire filtratie snelheid van 30-60% (stadium 3 volgens de Kidney Diseases Outcome Quality Initiative guidelines).<sup>30</sup> Immundeficiëntie, gedefinieerd als cumulatieve prednison-dosis meer dan 750 mg, gebruik van methotrexaat, tumornecrosefactor- $\alpha$ -blokker of mycofenolaatmofetil, of splenectomie was in univariaatanalyse een risicofactor. Ook dit kon echter niet worden bevestigd in de multivariaatanalyse, mogelijk als gevolg van lage patiëntenaantallen. Diabetes mellitus veroorzaakt vaatlijden en een verminderde werking van het immuunsysteem.<sup>31-34</sup> Over de relatie tussen aneurysmata en diabetes mellitus is weinig gepubliceerd. Eén studie laat opvallend genoeg zien dat er geen relatie lijkt te zijn.<sup>35</sup> Het lijkt erop dat niet diabetes mellitus zelf, maar mogelijk wel de complicaties van diabetes mellitus predisponeren voor het ontwikkelen van chronische Q-koorts.

## Conclusie

Na de Q-koortsepidemie die van 2007 tot 2010 plaatsvond in Zuid-Nederland, is een groot aantal patiënten met chronische Q-koorts geïdentificeerd. De belangrijkste risicofactoren voor het ontwikkelen van chronische Q-koorts zijn een hartklepafwijking, vaatprothese, aneurysma en nierinsufficiëntie. Aangezien diabetes mellitus predisponeert voor vasculair lijden is diabetes mogelijk indirect een risicofactor voor chronische Q-koorts. Wij adviseren diagnostiek op chronische Q-koorts te verrichten bij patiënten met een progressief aneurysma, vaatprothesedisfunctie of hartklepafwijkingen die tussen 2007 en 2010 in de epidemische regio's in Nederland woonden.

## Summary

From 2007 to 2010, The Netherlands experienced an epidemic of acute Q fever. *Coxiella burnetii*, the causative organism, is transmitted from animals to humans through contaminated (dust) particles. Important risk factors for the development of chronic Q fever are a history of cardiac valve abnormality, valve surgery, aneurysm, vascular prosthesis and kidney failure. Diabetes mellitus is not a direct risk factor for chronic Q fever, however, it might be an indirect risk factor in case of vascular complications caused by diabetes.

## Referenties

- Derrick EH. "Q" fever, new fever entity: Clinical features, diagnosis and laboratory investigation. *Med J Aust.* 1937;2:281-99.
- Parker NR, Barralet JH, Bell A M. Q fever. *Lancet.* 2006;367:679-88.
- van der Hoek W, Hogema BM, Dijkstra F, Rietveld A, Wijkmans CJ, Schneeberger PM, Zaaijer HL. Relation between Q fever notifications and *Coxiella burnetii* infections during the 2009 outbreak in the Netherlands *Euro Surveill.* 2012;17(3):pii=20058.
- Hogema BM, Slot E, Molier M, Schneeberger PM, et al. *Coxiella burnetii* infection among blood donors during the 2009 Q-fever outbreak in The Netherlands. *Transfusion.* 2012;52:144-50.
- Kampschreur LM, Hagenaars JCJP, Wielders CCH, Elsman P, et al. Screening for *Coxiella burnetii* seroprevalence in chronic Q fever high-risk groups reveals the magnitude of the Dutch Q fever outbreak. *Epidemiol Infect.* 2012;1-5.
- Dijkstra F, van der Hoek W, Wijers N, Schimmer B, et al. The 2007–2010 Q fever epidemic in The Netherlands: characteristics of notified acute Q fever patients and the association with dairy goat farming. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2012;64:3-12.
- Bernit E, Pouget J, Janbon F, Dutronc H, et al. Neurological involvement in acute Q fever: a report of 29 cases and review of the literature. *Arch Intern Med.* 2002;162: 693-700.
- Maurin M, Raoult D. Q fever. *Clin Microbiol Rev.* 1999;12:518-53.
- Epelboin L, Chesnais C, Boullé C, Drogoul A-S, et al. Q Fever pneumonia in French Guiana: prevalence, risk factors, and prognostic score. *Clin Infect Dis.* 2012;55:67-74.
- Veenstra T, Snijders BE, Schimmer B, Rietveld A, Van Dam S, Schneeberger PM, et al. Risk Factors for Q Fever in the Netherlands. *WebmedCentral INFECTIOUS DISEASES* 2011;2(7):WMC002006.
- Limonard GJM, Peters JB, Nabuurs-Franssen MH, Weers-Pothoff G, et al. Detailed analysis of health status of Q fever patients 1 year after the first Dutch outbreak: a case-control study. *QJM.* 2010;103:953-8.
- <http://www.nationaalkompas.nl/gezondheid-en-ziekte/ziekten-en-aandoeningen/endocriene-voedings-en-stofwisselingsziekten-en-immuniteitsstoornissen/diabetes-mellitus/omvang/>, accessed 24 May 2012.
- Raoult D, Marrie T, Mege J. Natural history and pathophysiology of Q fever. *Lancet Infect Dis.* 2005;5:219-26.
- Wegdam-Blans MC, Nabuurs-Franssen MN, Horrevorts AM, Peeters MF, et al. Laboratory diagnosis of acute Q fever. *Nederlands tijdschrift voor geneeskunde.* 2010; 154:A2388.
- Fenollar F, Thuny F, Xeridat B, Lepidi H, Raoult D. Endocarditis after acute Q fever in patients with previously undiagnosed valvulopathies. *Clin Infect Dis.* 2006;42:818-21.
- Delsing CE, Kullberg BJ, Bleeker-Rovers CP. Q fever in the Netherlands from 2007 to 2010. *Neth J Med.* 2010;68:382-7.
- Raoult D, Tissot-Dupont H, Foucault C, Gouvernet J, et al. Q fever 1985-1998. Clinical and epidemiologic features of 1,383 infections. *Medicine (Baltimore).* 2000;79:109-23.
- Fenollar F, Fournier PE, Carrieri MP, Habib, G, et al. Risks factors and prevention of Q fever endocarditis. *Clin Infect Dis.* 2001;33:312-6.
- van der Hoek W, Hunink J, Vellema P, Droogers P. Q fever in The Netherlands: the role of local environmental conditions. *Int J Environ Health Res.* 2011;21:441-51.
- Kampschreur LM, Dekker S, Hagenaars JCJP, Lestrade PJ, et al. Identification of risk factors for chronic Q fever, the Netherlands. *Emerg Infect Dis.* 2012;18:563-70.
- Tissot-Dupont H, Vaillant V, Rey S, Raoult D. Role of sex, age, previous valve lesion, and pregnancy in the clinical expression and outcome of Q fever after a large outbreak. *Clin Infect Dis.* 2007;44:232-7.
- Brouqui P, Dupont HT, Drancourt M, Berland Y, et al. Chronic Q fever. Ninety-two cases from France, including 27 cases without endocarditis. *Arch Intern Med.* 1993;153:642-8.
- Botelho-Nevers E, Fournier P-E, Richet H, Fenollar F, et al. *Coxiella burnetii* infection of aortic aneurysms or vascular grafts: report of 30 new cases and evaluation of outcome. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2007;26:635-40.
- Frankel D, Richet, H, Renvoisé, A. & Raoult, D. Q fever in France, 1985-2009. *Emerg Infect Dis.* 2011;17:350-6.
- Fournier PE, Casalta JP, Habib G, Messana T, Raoult D. Modification of the diagnostic criteria proposed by the Duke Endocarditis Service to permit improved diagnosis of Q fever endocarditis. *Am J Med.* 1996;100:629-33.
- Wegdam-Blans MCA, Kampschreur LM, Delsing CE, Bleeker-Rovers CP, et al. Chronic Q fever: review of the literature and a proposal of new diagnostic criteria. *J Infect.* 2012;64:247-59.
- Million M, Thuny F, Richet H, Raoult D. Long-term outcome of Q fever endocarditis: a 26-year personal survey. *Lancet Infect Dis.* 2010;10:527-35.
- Raoult D, Houpihan P, Tissot Dupont H, Riss JM, et al. Treatment of Q fever endocarditis: comparison of 2 regimens containing doxycycline and ofloxacin or hydroxychloroquine. *Arch Intern Med.* 1999;159:167-73.
- Wegdam-Blans MCA, Vainas T, van Sambeek MR, Cuypers PW, et al. Vascular complications of Q-fever infections. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2011;42:384-92.
- Kidney Disease Outcome Quality Initiative clinical practice guide- lines for chronic kidney disease: evaluation, classification and stratification. National Kidney Foundation. 2002 [cited 2011 June 13]. [http://www.kidney.org/professionals/kdoqi/guidelines\\_ckd/p4\\_class\\_g1.htm](http://www.kidney.org/professionals/kdoqi/guidelines_ckd/p4_class_g1.htm).
- Kannel WB, McGee DL. Diabetes and cardiovascular disease. The Framingham study. *JAMA.* 1979;241:2035-8.
- Geerlings SE, Hoepelman A. I. Immune dysfunction in patients with diabetes mellitus (DM). *FEMS Immunol Med Microbiol.* 1999;26:259-65.
- Rayfield EJ, Ault MJ, Keusch GT, Brothers MJ, et al. Infection and diabetes: the case for glucose control. *Am J Med.* 1982;72:439-50.
- Peleg AY, Weeraratna T, McCarthy JS, Davis TME. Common infections in diabetes: pathogenesis, management and relationship to glycaemic control. *Diabetes Metab Res Rev.* 2007;23:3-13.
- Shantikumar S, Ajjan R, Porter KE, Scott DJA. Diabetes and the abdominal aortic aneurysm. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2010;39:200-7.

# Asymptomatische bacteriurie en urineweg-infecties bij patiënten met diabetes mellitus

C. Schneeberger, S.E. Geerlings

## Samenvatting

Zowel de prevalentie van asymptomatische bacteriurie (ASB) (bacteriurie zonder klachten) als de incidentie van urineweginfecties (UWI) zijn verhoogd bij patiënten met diabetes mellitus (DM). Daarnaast ontstaan er bij patiënten met DM vaker complicaties van een UWI. De belangrijkste risicofactoren voor UWI's bij diabeten zijn seksuele gemeenschap (type 1 DM) en de aanwezigheid van ASB (type 2 DM). Glucosurie en een slechte regulatie van de DM zijn geen risicofactor. Het verhoogde risico kan mogelijk worden verklaard door verschillen in de gastheer zoals een veranderde afweerreactie, maar niet door verschillen in veroorzakende micro-organismen zoals virulentiefactoren. Op dit moment zijn er geen gerandomiseerde studies die de vraag beantwoorden wat de optimale behandeling is van UWI's bij patiënten met DM. Richtlijnen adviseren om UWI's bij diabeten als gecompliceerde UWI te beschouwen en daarom langer (7 dagen) te behandelen. Behandelen van ASB wordt afgeraden bij diabeten, mede omdat ASB niet leidt tot achteruitgang van de nierfunctie. ASB en UWI's komen vaker voor bij zwangere vrouwen met diabetes en kunnen een negatieve invloed hebben op het kind. Nederlandse richtlijnen raden, in tegenstelling tot de internationale richtlijnen, aan zwangere vrouwen niet te screenen op ASB, maar als ASB aangetoond wordt dit wel te behandelen.

## Trefwoorden

Asymptomatische bacteriurie, urineweginfecties, diabetes mellitus

## Inleiding

Patiënten met diabetes mellitus (DM), de meest voorkomende endocriene ziekte, hebben een verhoogde kans op infecties in vergelijking met de algemene populatie en de urinewegen zijn de belangrijkste infectiefocus.<sup>1,2</sup> Bij patiënten met DM is zowel de incidentie van urineweginfecties (UWI) als de prevalentie van asymptomatische bacteriurie (ASB) verhoogd.<sup>2,3,4</sup> Diabeten met een UWI verdienen extra aandacht omdat er vaker complicaties optreden. Om deze redenen wordt een UWI bij patiënten met DM als gecompliceerd beschouwd.<sup>2,3</sup>

Maar wat voor consequenties heeft dit voor de praktijk: moet een UWI bij patiënten met DM anders worden behandeld dan bij patiënten zonder DM? Is het zinvol om ASB bij diabeten te behandelen? Heeft een zwangerschap invloed op het beleid? Wat zijn de eventuele risicofactoren en gevolgen van ASB en UWI's bij patiënten met diabetes? En moeten we bedacht zijn op andere verwekkers of resistentiepatronen?

## Definities en toelichting

De definitie van DM is gebaseerd op een verhoogde plasmaglucosespiegel, veroorzaakt door afgenomen insulinesecretie, verstoorde werking van insuline of een combinatie van beide (nuchtere plasmaglucoze > 7 mmol/l). Zwangere vrouwen kunnen zwangerschapsdiabetes of diabetes gravidarum (DMG) ontwikkelen. DMG is gedefinieerd als iedere vorm van glucose-intolerantie die ontstaat of wordt ontdekt tijdens de zwangerschap. In de meeste gevallen normaliseert de glucosespiegel na de bevalling.<sup>5</sup>

Bij ASB is er sprake van kolonisatie en niet per definitie van een infectie. ASB wordt gedefinieerd als bacteriurie met ten minste  $10^5$  kve/ml (klinisch relevante hoeveelheid) van één of twee micro-organismen zonder klachten van een UWI bij voorkeur aangetoond in twee opeenvolgende kweken in schoongewassen midstreamurine.<sup>4,6</sup> Tegenwoordig wordt één positieve kweek ook geaccepteerd. De oorspronkelijke reden voor het afnemen van een tweede kweek was om onderscheid te kunnen maken tussen contaminatie en 'echte' ASB. Uit meerdere onderzoeken blijkt echter dat het afkappunt van

C. Schneeberger, arts-onderzoeker, afdeling Interne geneeskunde, onderafdeling Infectieziekten, Center for Infection and Immunity Amsterdam (CINIMA), Academisch Medisch Centrum, Amsterdam, afdeling Epidemiologie, Universitair Medisch Centrum Groningen, Groningen.  
Correspondentieadres: dr. S.E. Geerlings, internist-infectioloog, afdeling Interne geneeskunde, onderafdeling Infectieziekten, Center for Infection and Immunity Amsterdam (CINIMA), Academisch Medisch Centrum, kamer F4-217, e-mail: S.E.Geerlings@amc.uva.nl.

$10^5$  kve/ml en niet een tweede kweek, de belangrijkste factor is bij het maken van dit onderscheid.<sup>4,7,8</sup>

Een UWI wordt gedefinieerd als de aanwezigheid van bacteriurie bij een patiënt met symptomen van een UWI.<sup>9</sup> De afkapwaarde van het aantal micro-organismen voor UWI is niet eenduidig. In het verleden werden concentraties lager dan  $10^4$  kve/ml aan verontreiniging toegewezen maar onderzoek heeft aangetoond dat bij vrouwen met klachten van UWI en bacterieaantallen van uropathogenen tussen  $10^2$  kve/ml en  $10^4$  kve/ml ('low count bacteriurie') eveneens wijzen op de aanwezigheid van een UWI. Dit is onder andere aangetoond doordat klachten van deze patiënten reageerden op antibiotische therapie gericht tegen de aangetroffen verwekker.<sup>7,9</sup>

### Epidemiologie ASB

ASB is een dynamische aandoening die komt en gaat, ook zonder interventies zoals behandeling met antibiotica. In gezonde volwassen vrouwen ligt de prevalentie van ASB tussen de 2-5% en bij gezonde volwassen mannen komt ASB nauwelijks voor.<sup>4</sup> ASB komt drie tot vier keer vaker voor bij vrouwen met diabetes in verhouding met gezonde vrouwen.<sup>4,10</sup> Uit een recente meta-analyse van onderzoeken gedaan tussen 1966 en 2007 blijkt dat de puntprevalentie van ASB bij zowel vrouwen (14,2% vs. 5,1%; oddsratio (OR) 2,6, 95%-betrouwbaarheidsinterval (BI) 1,6-4,1), en mannen (2,3% vs. 0,8%; OR 3,7, 95%-BI 1,3-10,2) als adolescenten en kinderen (12,9% vs. 2,7%; OR 5,4, 95%-BI 2,7-11,0) met diabetes verhoogd is vergeleken bij gezonde controles zonder diabetes.<sup>11</sup>

De resultaten van een driejarige follow-upstudie naar het natuurlijke beloop van ASB laten zien dat bij vrouwen met diabetes een tendens bestaat voor persisterende of recidiverende ASB, ondanks behandelingen van tussentijdse UWI's. Bijna 20% bleef gedurende de hele studieperiode gekoloniseerd met het oorspronkelijk aangetoonde micro-organismen bij aanvang van de studie.<sup>12</sup>

### Epidemiologie UWI

Meerdere onderzoeken hebben laten zien dat UWI's vaker voorkomen bij diabetes patiënten. Een Nederlandse studie uitgevoerd in de eerste lijn bevestigt dat zowel vrouwen als mannen met diabetes een verhoogd risico hebben op het ontwikkelen van UWI's (DM type 1 OR 1,56, 95%-BI 1,13-2,15; DM type 2 OR 1,21, 95%-BI 1,07-1,38) in vergelijking met controles.<sup>1</sup> Uit een studie bij postmenopauzale vrouwen bleek dat het risico op ontwikkelen van UWI met name hoog is bij diabetes die werden behandeld met insuline (OR 2,6, 95%-BI 1,5-4,6) of orale antidiabetica (OR 2,9, 95%-BI 1,7-5,1) en minder evident als ze alleen werden behandeld met een dieet (OR 1,3, 95%-BI 0,7-2,3).<sup>13</sup>

Vooraf het risico op recidiverende UWI's is verhoogd bij patiënten met diabetes; 7,1% relapses (recidief binnen zes weken na start eerste antibiotica kuur) en 15,9%

re-infecties (recidief zes weken na start eerste antibiotica kuur) bij vrouwen met en maar 2,0% relapses en 4,1% re-infecties bij vrouwen zonder diabetes (OR 2,0, 95%-BI 1,4-2,9).<sup>14</sup>

### ASB en UWI bij zwangere vrouwen met diabetes of diabetes gravidarum

Een speciale groep diabetes zijn zwangere vrouwen met DM of DMG. Zwangerschap is ook een risicofactor voor ASB en UWI's. Zowel ASB en UWI tijdens de zwangerschap kunnen mogelijk een negatieve invloed hebben op het kind zoals vroeggeboorte en een laag geboortegewicht (De Nederlandse Vereniging voor Obstetrie en Gynaecologie, NVOG-richtlijn).<sup>4</sup>

Alvarez et al. toonden aan dat vrouwen met al bestaande diabetes voor de zwangerschap een verhoogd risico (18% vs. 8,2%, OR 2,47, 95%-BI 1,37-4,45) hadden op ASB in vergelijking met zwangere vrouwen zonder diabetes. *Streptococcus* groep B (GBS) was de meest voorkomende verwekker (26%).<sup>15</sup> In een andere studie werd de associatie tussen ASB een zwangere vrouwen met DM niet gezien, maar deze onderzoekspopulatie bestond alleen uit zwangere vrouwen met DMG.<sup>16</sup> Een recente studie met Australische zwangere vrouwen bevestigt dit resultaat en laat ook geen verhoogde prevalentie van ASB bij zwangere vrouwen met voornamelijk DMG zien in vergelijking met vrouwen zonder DMG. Wel wordt in de laatstgenoemde studie ook GBS (uitgewerkt vanaf  $10^2$  kve/ml) gevonden als meest voorkomende verwekker van ASB bij zwangere met en zonder DM.<sup>17</sup> Dit is een belangrijke bevinding, omdat kolonisatie met GBS is geassocieerd met neonatale sepsis (NVOG-richtlijn). Bij zwangere vrouwen met GDM wordt tevens geen verhoogde incidentie van UWI's gevonden in vergelijking met zwangere vrouwen zonder DM.<sup>16,17</sup>

### Pathogenese en microorganismen ASB en UWI

De pathogenese van ASB en UWI's is niet verschillend bij vrouwen met en zonder DM. Er bestaan verschillende hypothesen die de verhoogde prevalentie van ASB en incidentie van UWI bij DM-patiënten verklaren.

#### Micro-organismen

Patiënten met DM hebben in vergelijking met patiënten zonder DM vaker andere verwekkers (*Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter spp.*, *Proteus mirabilis*) dan *E.coli* (17% vs. 0%).<sup>18</sup> Dit verschil was nog groter in een Zweedse studie (45% vs. 9%).<sup>19</sup> Maar *E.coli* blijft het meest voorkomende pathogeen in zowel ASB als UWI's.

Adherentie (hechting) van het micro-organisme aan de uro-epitheliale cel is de belangrijkste stap in de pathogenese van een UWI. Dientengevolge zijn de adherentieorganellen (fimbriae) de belangrijkste virulentiefactoren. Met polymerase chain reaction (PCR) zijn verschillende virulentiefactoren van *E. coli*, geïsoleerd uit

de urine van vrouwen met DM en ASB. De prevalentiepercentages van de verschillende virulentiefactoren waren vergelijkbaar met *E. coli* geïsoleerd uit de urine van vrouwen zonder DM.<sup>20,21</sup>

Er zijn nagenoeg geen studies waarin resistentiepercentages voor de meest gebruikte antimicrobiële middelen van asymptomatische *E. coli* uit de urine van DM vrouwen werden vergeleken met die van uropathogenen afkomstig uit de algemene populatie. In een Nederlandse studie uit 2004 werden geen grote verschillen in resistentiepercentages gevonden.<sup>22</sup>

### Gastheer

Er zijn enkele aanwijzingen dat de afweerreactie van patiënten met diabetes minder effectief verloopt, maar in hoeverre deze stoornissen leiden tot een grotere infectiegevoeligheid is niet geheel duidelijk.

Een vaakgehoorde uitleg is dat glucosurie de verhoogde prevalentie van ASB en incidentie van UWI's verklaart. Een in vitro studie liet een vermeerdering in de groei van *E. coli* zien in de aanwezigheid van glucose. Deze resultaten konden echter niet worden bevestigd door epidemiologische studies, waar glucosurie geen risicofactor voor het hebben van ASB of krijgen van een UWI bleek te zijn.<sup>20,21</sup> Defecten in de functie van leukocyten zouden ook een verklaring kunnen zijn voor het verhoogde risico bij diabetes maar studies naar de functie van granulocyten van diabetespatiënten laten tegenstrijdige resultaten zien. Het blijft ook de vraag wat de klinische relevantie van deze subtiele in-vitroverschillen is. Des te meer omdat bacteriurie niet vaker voorkomt bij patiënten met een granulocytopenie.<sup>20,21</sup>

Mogelijk speelt een verandering in de productie van cytokines een rol. Interleukine-6 (IL-6) en interleukine-8 (IL-8) worden bij patiënten met bacteriurie lokaal in de urinewegen geproduceerd. In een ex-vivostudie werden lagere IL-6- en IL-8-concentraties gevonden in de urine van vrouwen met DM en ASB vergeleken bij vrouwen zonder DM met ASB. Bovendien waren de lagere IL-6- en IL-8-concentraties gecorreleerd aan een lager aantal leukocyten in de urine. Deze lagere aantallen (en dus niet de disfunctie van) leukocyten kunnen mede de oorzaak zijn van de verhoogde prevalentie van bacteriurie bij vrouwen met DM.<sup>20,21</sup>

### Diagnostiek en kliniek

De diagnose van een UWI is ook bij patiënten met diabetes primair gebaseerd op de typische symptomen van een UWI (dysurie) gecombineerd met onderzoek van de urine voor de aanwezigheid van bacteriën en/of witte bloedcellen.<sup>9</sup> De symptomen van een UWI verschillen niet tussen patiënten met en zonder DM. De SWAB-richtlijn Antimicrobiële therapie van gecompliceerde urineweginfecties (www.swab.nl) raadt aan om in het ziekenhuis bij

iedere patiënt een urinekweek (de gouden standaard) voor determinatie en resistentie, af te nemen, bij voorkeur voor start van therapie.<sup>3</sup>

Op dit moment bestaat er discussie of deze aanbeveling in de eerste lijn bij iedere patiënt met diabetes moet worden overgenomen (mondelinge communicatie, werkgroep Revisie NHG-Standaard Urineweginfecties). Andere diagnostische tests, die vooral in de eerste lijn worden gebruikt, zijn de 'dipstick'-leukocytentest, de nitriettest en het onderzoek van het urinesediment. Er bestaat een grote variatie in sensitiviteit en specificiteit bij deze testen mede beïnvloed door geselecteerde populaties gebruikt in de studies. Om die reden loopt er een onderzoek naar de diagnostiek van ongecompliceerde UWI's en UWI's bij patiënten met DM in de eerste lijn.<sup>23</sup> De resultaten van dit onderzoek moeten antwoord geven op de vraag wat de optimale combinatie van diagnostiek in de eerste lijn bij onder andere deze groep patiënten moet zijn.

### Risicofactoren en consequenties ASB

In een Nederlands cohort van 589 vrouwen met DM werd aangetoond dat vrouwen met DM type 1 met een langere duur van de diabetes of met de complicaties perifere neuropathie of macroalbuminurie, vaker ASB hadden. Bij de vrouwen met DM type 2 waren leeftijd, de aanwezigheid van de diabetescomplicatie macroalbuminurie en een symptomatische UWI in het jaar voor de studie risicofactoren voor het hebben van ASB. Er bestond geen associatie tussen de regulatie van de diabetes (HbA1c) of de aanwezigheid van glucosurie en ASB.<sup>24</sup>

Het hebben van ASB is een risicofactor voor het ontwikkelen van een UWI.<sup>25,26</sup> Een onderzoek met patiënten die allemaal ASB hadden, liet zien dat 67,6% van de vrouwen en 76,5% van de mannen met DM binnen 12 maanden een UWI ontwikkelde in vergelijking met 14,9% van de vrouwen en 2,6% van de mannen zonder DM.<sup>26</sup> Uit een Nederlandse follow-upstudie van 1,5 jaar bleek het ontwikkelen van UWI's met name verhoogd bij vrouwen met DM type 2 (DM type 1: 14%; type 2: 23%).<sup>25</sup>

Daarnaast is ASB bij vrouwen met diabetes geassocieerd met verhoogde kans op ziekenhuis opname vanwege een urosepsis. Behandeling van ASB lijkt echter het ontstaan van een UWI en daaraan verbonden opname niet te voorkomen.<sup>10,11,27</sup>

### Risicofactoren en consequenties UWI

De belangrijkste risicofactor voor het ontwikkelen van een UWI is seksuele gemeenschap bij vrouwen met type 1 DM en de aanwezigheid van ASB bij vrouwen met DM type 2. Belangrijk is dat er geen verband werd gevonden met glucosurie, de hoogte van het HbA1c (maat regulatie DM), de aanwezigheid van perifere neuropathie en blaasneuropathie of macrovasculaire complicaties terwijl wel vaak gedacht wordt dat dit mogelijke risicofactoren zijn.<sup>25</sup>

De reden dat UWI's bij patiënten met diabetes als gecompliceerd worden beschouwd is omdat ze vaker complicaties ontwikkelen inclusief ernstige en zeldzame complicaties zoals bacteriëmie, emfysemateuze pyelonefritis en intrarenale abcessen. Bij diabetes zijn UWI's de belangrijkste infectiebron voor bacteriëmie.<sup>28</sup> Horcajada et al. observeerden dat patiënten met diabetes gemiddeld langer (5,2 dagen vs. 3,9 dagen  $p = 0,006$ ) opgenomen liggen in vergelijking met patiënten zonder DM.<sup>18</sup>

### Behandeling ASB bij DM & zwangerschap

Uit meerdere onderzoeken blijkt dat behandeling van ASB bij patiënten met diabetes niet is gerechtvaardigd, onder andere omdat het niet leidt tot betere klinische uitkomsten (nierfunctieverlies, ontstaan UWI).<sup>29</sup>

Internationale richtlijnen adviseren om in tegenstelling tot diabetes zwangere vrouwen wel te screenen en te behandelen voor ASB.<sup>4</sup> In Nederland volgen we dit advies (nog) niet, omdat volgens de richtlijnmakers de onderzoeken waarop deze aanbevelingen zijn gebaseerd, van matige kwaliteit zijn en voor de prenatale diagnostiek met echo zijn uitgevoerd. Bovendien is het Nederlandse verloskundige systeem uniek in de wereld (NVOG-richtlijn). Om die reden wordt op dit moment in Nederland een prospectieve cohortstudie uitgevoerd naar prevalentie, risicofactoren en consequenties van ASB bij zwangere vrouwen met en zonder DM (Pregnancy, Asymptomatic Bacteriuria and Urinary Tract Infections PRABUTI-studie en NTR-3068)).

Een aanbeveling uit de Nederlandse richtlijn is echter om wel om ASB bij zwangere vrouwen te behandelen op het moment dat het gediagnosticeerd wordt (NVOG-richtlijn). Dit is een moeilijke aanbeveling, omdat de vraag blijft wanneer een diagnose van een asymptomatische aandoening plaatsvindt. De aanbevolen behandeling voor zowel ASB als UWI tijdens de zwangerschap is nitrofurantoïne, 100 mg tweemaal daags of amoxicilline/clavulaanzuur 500/125 mg driemaal daags met behandelingsduur van ten minste 5 dagen (NVOG-richtlijn).

### Behandeling UWI

Volgens de huidige Nederlandse richtlijnen (de Stichting Werkgroep Antibiotica Beleid SWAB en Nederlandse Huisartsen Genootschap NHG) moet een UWI bij patiënten met diabetes worden gezien als een gecompliceerde UWI en daarom langer worden behandeld. De eerste keus voor lage UWI bij diabetes volgens de NHG-standaard is zeven dagen nitrofurantoïne tweemaal daags 100 mg. Tweede keus is zeven dagen trimethoprim eenmaal daags 300 mg. De SWAB-richtlijn adviseert UWI te behandelen met zeven dagen nitrofurantoïne of amoxicilline-clavulaanzuur. De analyse van een grote retrospectieve database ( $n = 210.624$ ) van Nederlandse apothekers laat echter zien dat postmenopauzale vrouwen met DM

vaker recidieven hebben als ze zijn behandeld met nitrofurantoïne in vergelijking met trimethoprim en norfloxacin onafhankelijk van de duur van de behandeling.<sup>30</sup>

Op dit moment zijn er geen gerandomiseerde trials naar de duur van therapie gedaan bij patiënten met DM. De verlengde duur is gebaseerd op expert opinion. De resultaten uit een andere studie van de boven beschreven apothekersdatabase laat tevens zien dat zowel pre- als postmenopauzale vrouwen met diabetes al voor aanpassingen van de huidige NHG-standaard vaker een langere duur en norfloxacin (in plaats van nitrofurantoïne) voorgeschreven kregen voor lage UWI's vergeleken met vrouwen zonder DM. Desondanks hadden de vrouwen met diabetes vaker recidieven van deze UWI's. Om die reden lijkt het toch dat vrouwen met DM langer moeten worden behandeld, maar, het is niet duidelijk wat de optimale behandelingsduur is.<sup>31</sup>

### Conclusie

ASB en UWI's komen vaker voor bij patiënten met diabetes. Desalniettemin blijven er veel vragen over dit ziektebeeld onbeantwoord. Voornamelijk de eventuele verschillen in resistentie van de uropathogenen voor de meest gebruikte antimicrobiële middelen en de optimale behandelstrategie (keus middel en duur therapie) vergeleken bij patiënten zonder diabetes verdienen verder onderzoek.

### Summary

The prevalence of asymptomatic bacteriuria (ASB) (bacteriuria without complaints) and the incidence of urinary tract infections (UTI) are increased in patients with diabetes mellitus (DM). In addition diabetics more often develop complications of a UTI. The most important risk factors for UTIs in diabetics are sexual intercourse (DM type 1) and the presence of ASB (DM type 2). Glucosuria and a poor diabetes regulation are not risk factors. The increased risk can possibly be explained by differences in immune responses of the hosts, but are not due to differences in causing organisms such as virulence factors. At this point there are no randomised controlled trials addressing the question what the optimal treatment strategy is for UTIs in patients with DM. Guidelines recommend to consider UTIs in diabetics as complicated UTIs and consequently treat longer ( $> 7$  days). Treatment of ASB in patients with DM is not recommended, partially because ASB is not causing decline in renal function. ASB and UTIs are common in pregnant women with DM and may contribute to complications in the newborn. Dutch guidelines, in contrast to the current international guidelines, do not include routine screening of ASB in pregnancy, but when ASB is diagnosed treatment is advised.



## Referenties

1. Muller LM, Gorter KJ, Hak E, Goudzwaard WL, Schellevis FG, Hoepelman IM, et al. Increased risk of infection in patients with diabetes mellitus type 1 or 2. *Ned Tijdschr Geneesk.* 2006 Mar 11;150(10):549-53.
2. Shah BR, Hux JE. Quantifying the risk of infectious diseases for people with diabetes. *Diabetes Care.* 2003;26(2):510-3.
3. Geerlings SE, van den Broek PJ, van Haast EP, Vleming LJ, van Haaren KM, Janknegt R, et al. Optimisation of the antibiotic policy in the Netherlands. X. The SWAB guideline for antimicrobial treatment of complicated urinary tract infections. *Ned Tijdschr Geneesk.* 2006;150(43):2370-6.
4. Nicolle LE, Bradley S, Colgan R, Rice JC, Schaeffer A, Hooton TM. Infectious Diseases Society of America; American Society of Nephrology; American Geriatric Society. Infectious Diseases Society of America guidelines for the diagnosis and treatment of asymptomatic bacteriuria in adults. *Clin Infect Dis.* 2005;40(5):643-54. Epub 2005 Feb 4. Erratum in: *Clin Infect Dis.* 2005;40(10):1556.
5. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2003;26 Suppl 1:S5-20.
6. Mandell Sobel JD, Kaye D. Urinary tract infections. In: Mandell GL, Douglas JE, Dolin R editor(s). *Principles and Practice of Infectious Disease.* 7. Vol. 1, Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier, 2010:957-85.
7. Kass EH. Chemotherapeutic and antibiotic drugs in the management of infections of the urinary tract. *Am J Med.* 1955;18(5):764-81.
8. Geerlings SE, Brouwer EC, Gaastra W, Hoepelman AI. Is a second urine specimen necessary for the diagnosis of asymptomatic bacteriuria? *Clin Infect Dis.* 2000;31:e3-e4.
9. Van Haaren KAM, Visser HS, Van Vliet S, Timmermans AE, Yadava R, Geerlings SE, et al. NHG-Standaard Urineweginfectie (Tweede herziening); Huisarts Wet. 2005;8:341-52.
10. Harding GK, Zhanel GG, Nicolle LE, Cheang M. Manitoba Diabetes Urinary Tract Infection Study Group. Antimicrobial treatment in diabetic women with asymptomatic bacteriuria. *N Engl J Med.* 2002;347(20):1576-83.
11. Renko M, Tapanainen P, Tossavainen P, Pokka T, Uhari M. Meta-analysis of the significance of asymptomatic bacteriuria in diabetes. *Diabetes Care.* 2011;34(1):230-5. Epub 2010 Oct 11.
12. Nicolle LE, Zhanel GG, Harding GK. Microbiological outcomes in women with diabetes and untreated asymptomatic bacteriuria. *World J Urol.* 2006;24(1):61-5. Epub 2005 Dec 31.
13. Boyko EJ, Fihn SD, Scholes D, Chen CL, Normand EH, Yarbrow P. Diabetes and the risk of acute urinary tract infection among postmenopausal women. *Diabetes Care.* 2002;25(10):1778-83.
14. Gorter KJ, Hak E, Zuithoff NP, Hoepelman AI, Rutten GE. Risk of recurrent acute lower urinary tract infections and prescription pattern of antibiotics in women with and without diabetes in primary care. *Fam Pract.* 2010;27(4):379-85. Epub 2010 May 12.
15. Alvarez JR, Fechner AJ, Williams SF, Ganesh VL, Apuzzo JJ. Asymptomatic bacteriuria in pregestational diabetic pregnancies and the role of group B streptococcus. *Am J Perinatol.* 2010 Mar;27(3):231-4. Epub 2009 Oct 15.
16. Rizk DE, Mustafa N, Thomas L. The prevalence of urinary tract infections in patients with gestational diabetes mellitus. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct.* 2001;12(5):317-21; discussion 321-2.
17. Schneeberger C, Geerlings SE, Erwich JJHM, Stolk RP, Middleton P, Crowther CA. Asymptomatic bacteriuria and urinary tract infections in pregnant women with and without diabetes mellitus. Poster presentatie P1567 22nd ECCMID, Londen Engeland.
18. Horcajada JP, Moreno I, Velasco M, Martínez JA, Moreno-Martínez A, Barranco M, et al. Community-acquired febrile urinary tract infection in diabetics could deserve a different management: a case-control study. *J Intern Med.* 2003;254(3):280-6. PubMed PMID: 12930238.
19. Brauner A, Flodin U, Hylander B, Ostenson CG. Bacteriuria, bacterial virulence and host factors in diabetic patients. *Diabet Med.* 1993;10(6):550-4.
20. Hoepelman AI, Meiland R, Geerlings SE. Pathogenesis and management of bacterial urinary tract infections in adult patients with diabetes mellitus. *Int J Antimicrob Agents.* 2003;22 Suppl 2:35-43.
21. Geerlings SE. Urineweginfecties bij vrouwen met diabetes mellitus (DM). *Ned Tijdschr Urol.* 2009;5:137-9.
22. Meiland R, Geerlings SE, De Neeling AJ, Hoepelman AI. Diabetes mellitus in itself is not a risk factor for antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolated from patients with bacteriuria. *Diabet Med.* 2004 Sep;21(9):1032-4.
23. Knottnerus BJ, Bindels PJ, Geerlings SE, Moll van Charante EP, ter Riet G. Optimizing the diagnostic work-up of acute uncomplicated urinary tract infections. *BMC Fam Pract.* 2008 Dec 8;9:64.
24. Geerlings SE, Stolk RP, Camps MJ, Netten PM, Hoekstra JB, Bouter PK, et al. Asymptomatic bacteriuria can be considered a diabetic complication in women with diabetes mellitus. *Adv Exp Med Biol.* 2000;485:309-14.
25. Geerlings SE, Stolk RP, Camps MJ, Netten PM, Collet TJ, Hoepelman AI. Diabetic Women Asymptomatic Bacteriuria Utrecht Study Group. Risk factors for symptomatic urinary tract infection in women with diabetes. *Diabetes Care.* 2000;23(12):1737-41.
26. Ribera MC, Pascual R, Orozco D, Pérez Barba C, Pedrera V, Gil V. Incidence and risk factors associated with urinary tract infection in diabetic patients with and without asymptomatic bacteriuria. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2006;25(6):389-93.
27. Karunajeewa H, McGechie D, Stuccio G, Stingemore N, Davis WA, Davis TM. Asymptomatic bacteriuria as a predictor of subsequent hospitalisation with urinary tract infection in diabetic adults: The Fremantle Diabetes Study. *Diabetologia.* 2005;48(7):1288-91. Epub 2005 May 26.
28. MacFarlane IA, Brown RM, Smyth RW, Burdon DW, FitzGerald MG. Bacteraemia in diabetics. *J Infect.* 1986;12(3):213-9.
29. Meiland R, Geerlings SE, Stolk RP, Netten PM, Schneeberger PM, Hoepelman AI. Asymptomatic bacteriuria in women with diabetes mellitus: effect on renal function after 6 years of follow-up. *Arch Intern Med.* 2006;166(20):2222-7.
30. Schneeberger C, Stolk RP, Devries JH, Herings RM, Geerlings SE. Recurrence of urinary tract infections in postmenopausal diabetic women using different antibiotics. *Journal of Diabetes Mellitus.* 2012;2(2):261-3.
31. Schneeberger C, Stolk RP, Devries JH, Schneeberger PM, Herings RM, Geerlings SE. Differences in the pattern of antibiotic prescription profile and recurrence rate for possible urinary tract infections in women with and without diabetes. *Diabetes Care.* 2008 Jul;31(7):1380-5. Epub 2008 Mar 24.

# Persisterende infecties en diabetes mellitus

## De rol van biofilms

J.J.M. Bouwman

### Samenvatting

Een bacterieel verdedigingsmechanisme tegen antibiotica is het creëren van biofilms, die worden gevormd uit een bacterie omgeven door een plakkerige, gelachtige film. De hierin aanwezige microben zijn hierdoor minder toegankelijk voor antibiotische therapie en leiden tot persisterende infecties. Ischemische wondgebieden en verminderde immuniteit veroorzaken bij patiënten met diabetes mellitus wondinfecties met een hoog risico op het ontwikkelen van persistentie en complicaties. Naast de goed gedocumenteerde factoren die aan deze problematiek bijdragen is de rol van biofilms misschien wel de kardinale risicofactor voor het ontstaan van persisterende infecties bij patiënten met diabetes mellitus. De opgedane inzichten in het ontstaan en de progressie van biofilms geeft ons wellicht een instrument in handen voor het terugdringen dan wel elimineren van (chronische) infecties.

### Trefwoorden

Diabetes mellitus, infectie, inflammatie, persistentie, biofilms, resistentie

### Introductie

Diabetes mellitus (DM) kan ertoe leiden dat het lichaam een duidelijk verminderd vermogen heeft om infecties te bestrijden. Hoge bloedsuikerspiegels in de circulatie leiden uiteindelijk ook tot hoge glucosewaarden in de weefsels. Bij patiënten met DM kunnen infecties zich hierdoor sneller en makkelijker ontwikkelen. Voorkeursplaatsen voor infecties zijn urinewegen, vagina, gingiva, huid en voeten (diabetische voet).

Een slechte bloedsomloop is een andere belangrijke factor die een rol speelt bij een slechte genezing van wonden. De cutis en subcutis worden aangetast, hetgeen de kans op hardnekkige infecties vergroot. Verminderde doorbloeding van de ledematen benadeelt de immunfunctie en draagt ertoe bij dat infecties hardnekkig en soms gevaarlijk kunnen worden. Diabetische ulcera in ischemische gebieden ontwikkelen zich vaak na eenvoudige schaafwonden, kneuzingen of snijwonden en zijn berucht omdat zij lastig te behandelen zijn omdat medicatie in deze

gebieden slecht doordringt. Infecties kunnen zich ook voordoen op de plaats van insuline-injecties en in gebieden die worden gebruikt om bloedmonsters voor bloedglucosemeting te nemen. Perifere wondinfecties leiden niet zelden tot gangreen, in het slechtste geval tot amputatie van ledematen.

Infecties die vrijwel uitsluitend bij diabetici voorkomen zijn onder meer invasieve otitis externa,<sup>1</sup> rinocerebrale mucormycose<sup>2</sup> en emfysemateuze infecties (cholecystitis en pyelonefritis).

Ook de aanwezige microflora kan ertoe bijdragen dat wonden slecht genezen. Weefsel is voortdurend in contact met van nature aanwezige micro-organismen die zich onder pathologische omstandigheden kunnen ontwikkelen tot ziekteverwekkers. Hierbij kan een scala aan pathogenen betrokken zijn. Anaerobe bacteriën zoals *Bacteroides* en *Clostridium spp.* resideren in de zuurstofarme diepere lagen van de dermis en zijn vaak verantwoordelijk voor destructieve infecties, frequent resulterend in gangreen. Infecties leiden tot aanzienlijke morbiditeit en mortaliteit bij patiënten met DM. Ze kunnen enerzijds leiden tot metabole verstoringen, maar anderzijds kunnen de metabole verstoringen bij diabetes het risico op infecties bevorderen. Verschillende factoren zijn gerelateerd aan dit verhoogde risico.<sup>3</sup>

Gastheer- en micro-organismespecifieke factoren en componenten van het immuunsysteem maken diabetici vatbaarder voor bepaalde (persisterende) infecties. Vasculaire insufficiëntie, neuropathie en kolonisatie van huid en slijmvliezen met pathogenen zijn belangrijke gastheer specifieke factoren die hiervoor predisponeren. Perifeer arterieel vaatlijden kan leiden tot een verminderde bloedtoevoer die nodig is voor genezing van ulcera en infecties.

Dr. J.J.M. Bouwman, Laboratorium voor Medische Microbiologie & Immunologie, Diakonessenhuis Utrecht.  
Correspondentieadres: Institute for Life Sciences & Chemistry,  
Faculteit Natuur en Techniek, Hogeschool Utrecht, F.C.  
Dondersstraat 65, 3572 JE Utrecht, e-mail: john.bouwman@hu.nl.

Sensorische neuropathie gaat gepaard met verminderd gevoel van pijn en temperatuur. Autonome neuropathie kan leiden tot verminderde zweetsecretie met als resultaat een droge, gebarsten huid, waardoor micro-organismen kunnen infiltreren. Hyperglykemie belemmert de celgemedieerde immuniteit van de gastheer. De functie van neutrofielen wordt onderdrukt en komt tot uiting door verstoring van adherentie aan endotheel, chemotaxie, fagocytose en verminderde intracellulaire killing. Hyperglykemiegerelateerde verstoring van de immuunrespons kan geheel of gedeeltelijk herstellen, door normalisering van de pH en de bloedsuikerspiegel. Ook antioxidantsystemen die betrokken zijn bij bactericidie en de celgemedieerde immuniteit kunnen worden onderdrukt.<sup>4</sup>

In het navolgende wordt ingegaan op de relaties tussen chronische infecties, biofilms en diabetes. Daarbij kan worden onderscheid worden gemaakt tussen infecties die de complicaties veroorzaken en onderhouden en de betekenis van biofilms bij het persisteren van chronische infecties.

### Inflammatie en persistentie

De immuniteit van de gastheer speelt een hoofdrol in de interactie tussen de gastheer en ziekteverwekker. Inflammatie kan worden geclassificeerd als acuut of chronisch. Bij acute inflammatie zijn infiltratie van leukocyten in het aangedane weefsel en de productie van ontstekingsmediatoren de eerste tekenen van ontsteking. Inflammatie is aspecifiek en wordt beschouwd als een mechanisme van het aangeboren immuunsysteem, in tegenstelling tot de verworven immuniteit, die specifiek is voor elk pathogeen. Bij chronische ontsteking dringen voornamelijk mononucleaire cellen binnen in het aangedane weefsel. Via MHC-II-moleculen treedt de verworven immuniteit in werking door herkenning van specifieke moleculaire structuren op antigeen presenterende cellen zoals macrofagen en T-cellen.

Infecties door pathogenen leiden daardoor meestal tot snelle adequate activering van de aangeboren en adaptieve immuunrespons maar als de ontsteking chronisch wordt kan dit leiden tot atherosclerose of reumatoïde artritis. Daarom is inflammatie nauw gereguleerd. Langdurige, chronische inflammatie leidt tot een cascade van biochemische processen waarbij het vasculaire systeem en verschillende componenten van het immuunsysteem actief zijn in het beschadigde weefsel (cellulaire respons, fagocytose, opsonisatie). In de gezonde gastheer wordt de ziekteverwekker efficiënt geëlimineerd door het immuunsysteem. Maar bacteriën kunnen ook, ondanks een acute inflammatoire fase en actieve immuniteit, langdurig in de gastheer persisteren zonder klinische symptomen.<sup>5</sup> Zij kunnen dit doen door zich aan te passen en te ontsnappen aan het immuunsysteem.<sup>6</sup> Kennelijk ontstaat

er een langdurig evenwicht tussen microben en gastheer hoewel langdurige blootstelling aan pathogenen of zelfs commensalen kan leiden tot weefselschade en chronische inflammatie.<sup>7-9</sup>

Er is vrij veel bekend over de bacteriële factoren die zijn betrokken bij acute infecties, maar veel minder over mechanismen die zijn betrokken bij de kolonisatie en persistentie. Wij weten inmiddels dat maagzweren (*Helicobacter pylori*) en een aantal vormen van kanker (EBV, hepatitis) postinfectieuze aandoeningen kunnen zijn. De meeste persistente infecties worden evenwel veroorzaakt door virussen, zoals de herpesvirussen, HPV, hepatitisvirussen maar ook chlamydia. Persistentie van bacteriën komt ook voor bij endocarditis, chronische otitis, tuberculose, astma, COPD en taaislijmziekte.

### Infecties, inflammatie en diabetes

De pathogenese van DM 1 en DM 2 is significant verschillend. Hoewel genetische factoren bij beide typen een rol spelen, staan auto immuunreacties en een specifieke T-cel respons tegen bètacellen in de pancreas bij DM 1 voorop, in tegenstelling tot DM 2 waarbij insulineresistentie, obesitas en leefstijlfactoren een rol spelen. Chronische inflammatoire ziekten en auto-immuunziekten zoals reumatoïde artritis, inflammatoire darmziekten, diabetes mellitus en multiple sclerose worden gekenmerkt door aanzienlijke morbiditeit en vroege sterfte.

Hoewel diabetes een multifactoriële aandoening is bestaat er ook een infectiehypothese die veronderstelt dat infecties en slecht gecontroleerde gastheerimmuniteit gemeenschappelijke oorzaken zijn van chronische inflammatoire ziekten. Er is voldoende bewijs dat infecties met diverse virussen een rol spelen in de pathogenese van diabetes type 1.<sup>10-13</sup> Vooral enterovirussen kunnen via lytische infectie insulineproducerende bètacellen vernietigen en anderzijds door een persisterende infectie in de insulineproducerende cellen van de alvleesklier zodanige veranderingen veroorzaken dat deze cellen door het immuunsysteem niet meer als 'eigen' worden herkend. Het resultaat is eveneens destructie van de insulineproducerende cellen, nu door auto-immuniteit.<sup>14</sup>

Hoewel persistente infecties meestal worden veroorzaakt door virussen hebben patiënten met diabetes mellitus ook meer kans op het ontwikkelen van chronische ziekte na bacteriële infecties. Zo bleek dat zowel patiënten met slecht gereguleerde diabetes als patiënten met een goed gereguleerde diabetes na gewrichtsprotheses meer algemene infecties en meer urineweginfecties kregen in vergelijking met patiënten zonder diabetes.<sup>15</sup> De hypothese dat hyperglykemie op zichzelf invloed zou kunnen hebben op de groei van micro-organismen is echter discutabel. Vaak zal hyperglykemie eerder gevolg dan oorzaak zijn van infecties.<sup>16</sup>

Infecties lijken bij patiënten met diabetes mellitus niet onevenredig vaker voor te komen, maar het is duidelijk dat vasculaire ziekte, neuropathie en de hyperglykemie en inflammatie die zijn geassocieerd met diabetes mellitus, tot gevolg hebben dat bepaalde infecties ernstiger verlopen.<sup>17</sup> Desondanks zorgen perifere vasculaire problemen, die vaak voorkomen bij diabetes, wel voor een verhoogd infectierisico.

### Infecties geassocieerd met diabetes

#### Infecties van weke delen

Patiënten met diabetes hebben vaker huidinfecties. Naast perifere vaatlijden, neuropathie en hyperglykemie zijn cellulitis, droge huid, oedeem en trauma's van buitenaf belangrijke risicofactoren voor de ontwikkeling van wekedeleninfecties (figuur 1). Wekedeleninfecties zoals erysipelas en necrotiserende fasciitis kennen bij de suikerzieke patiënt een hogere incidentie en verlopen heftiger.

Figuur 1. Diabetische voet.

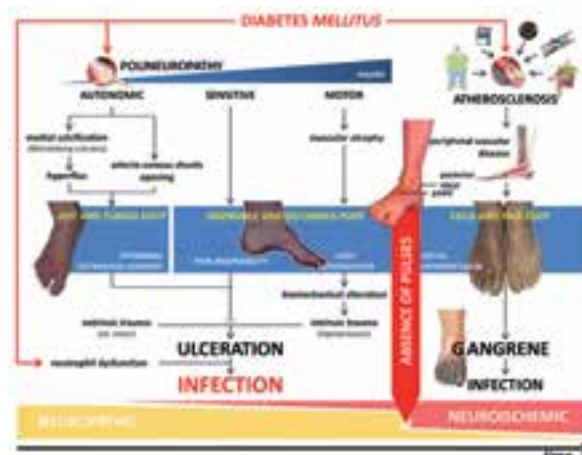


Bron: www.podiatrytoday.com

#### Infecties bij diabetische voet

De meest voorkomende infectie die optreedt bij DM is die aan de onderste extremiteit. Infecties beginnen vaak na een klein trauma en kunnen zich ontwikkelen tot cellulitis. In een deel van de gevallen ontwikkelt zich, als gevolg van ischemie, weefselnecrose en zelfs gangreen (figuur 2). Ook kan osteomyelitis optreden al dan niet leidend tot sepsis. De belangrijkste micro-organismen die uit necrotisch weefsel gekweekt worden zijn groep-A streptokokken (GAS) en *S. aureus*. Chronische wonden zijn vaker polymicrobieel van aard met gramnegatieve staven en anaeroben. Het gaat dan om anaerobe streptokokken, *Bacteroides* en *Clostridium species*.<sup>18-20</sup> Eerdere antibiotische behandeling kan micro-organismen uitselcteren die het wondoppervlak koloniseren maar geen directe klinische betekenis hebben.<sup>7</sup>

Figuur 2. Pathofysiologie van de diabetische voet. Een complexe interactie van een aantal risicofactoren. Neuropathie veroorzaakt zweren als gevolg van trauma of overdruk in de voet. Diabetische ulcera in ischemische gebieden leiden tot bacteriële kolonisatie van diepe weefsels. Dit wordt mede gecompliceerd door perifere vaatlijden, hyperglykemie en een gestoorde celgemedieerde immuniteit.<sup>60</sup>



#### Longinfecties

Luchtweginfecties met *Streptococcus pneumoniae*, *Legionella*, en influenzavirus kennen bij DM een verhoogde morbiditeit en mortaliteit. Het feit dat tot 30% van de patiënten met diabetes mellitus drager is van *S. aureus* in de neus in vergelijking met 11% van de gezonde personen maakt aannemelijk dat diabetes ook een verhoogd risico hebben voor een pneumonie met *S. aureus*. Zeker is dat patiënten met diabetes mellitus vier keer meer kans hebben om te sterven aan longontsteking of griep dan personen zonder onderliggend lijden.<sup>21,22</sup>

#### Urogenitale infecties

Hoewel er geen verschil is in de ontwikkeling van symptomatische urineweginfecties, komt asymptomatische bacteriurie drie keer vaker voor bij diabetici dan bij niet-diabetische vrouwen.<sup>23</sup> Mede als gevolg van een hoog glucosegehalte in de urine, is de incidentie van gecompliceerde hoge-urineweginfecties, zoals pyelonefritis, bij diabetes verhoogd.

Een zeldzame, gecompliceerde infectie die vrijwel uitsluitend bij diabetes voorkomt is emfysemateuze pyelonefritis, die wordt gekenmerkt door de aanwezigheid van gas in de blaaswand, hematurie en chronische buikpijn.

#### Abdominale infecties

Hoewel cholecystitis bij diabetes waarschijnlijk niet vaker voorkomt, worden fulminante infecties met vooral gasvormende organismen (Enterobacteriaceae, anaeroben) wel vaker gezien. Deze infectie kan gepaard gaan met gangreen en perforaties en heeft een mortaliteit van 15%; opvallend is dat dit niet altijd gepaard gaat met een klinische peritonitis.

## Hart- en vaatziekten

Als gevolg van chemische veranderingen in het bloed kunnen zowel diabetes type 1 als type 2 leiden tot ernstige gezondheidsproblemen zoals hoge bloeddruk en hart- en vaatziekten, die op hun beurt weer bijdragen aan het ontstaan van atherosclerose. Uit onderzoek van Bertoni et al. blijkt dat volwassenen met diabetes een drie keer groter relatief risico hebben op aan infectie gerelateerde mortaliteit ten gevolge van hart- en vaatziekten.<sup>24</sup> Het chronische proces waarbij endotheeldisfunctie resulteert in complicaties als atherosclerose, kan worden veroorzaakt door klassieke risicofactoren zoals roken, hypercholesterolemie en systemische hypertensie en diabetes of andere factoren zoals persisterende ontsteking.<sup>25,26</sup> Chronische infecties kunnen directe vaatschade maar ook systemische ontstekingsreacties tot gevolg hebben. Een laaggradige chronische ontsteking zoals die voor komt bij obesitas, diabetes en metabool syndroom kan leiden tot een versnelling van de cellulaire en humorale immunologische respons. Verschillende micro-organismen, hormonen en ontstekingsfactoren zijn in verband gebracht met ziekten zoals obesitas, atherosclerose en DM 2.<sup>27</sup>

Obese patiënten hebben een verhoogd risico op de ontwikkeling van atherosclerose, de ontwikkeling van DM 2 en hartinfarcten. Hoewel de exacte pathofysiologische mechanismen nog niet duidelijk zijn, blijken aan overgewicht gerelateerde insulineresistentie en ontsteking belangrijke componenten te zijn.<sup>28,29</sup>

Obesitas en het metabool syndroom hebben chronische inflammatie tot gevolg. Hieruit vloeien afwijkende protrombotische markers voort, die in verband worden gebracht met een verhoogd risico op het ontwikkelen van DM 2 en daaropvolgende hart- en vaatziekten.<sup>30,31</sup>

Bijgevolg blijkt inflammatie van abdominaal vetweefsel gecorreleerd te zijn met hart- en vaatziekten, hoge bloeddruk en diabetes, waarbij adipocyten disfunctie in het vetweefsel een cruciale rol speelt.<sup>32</sup> Ook het ontstaan van obesitas is in verband gebracht met het optreden van virale infecties. Hiervoor is de term 'Infectobesity' ontworpen.<sup>33,34</sup> In zijn proefschrift beschrijft Bouwman dat diverse micro-organismen niet alleen vetcellen kunnen infecteren, maar ook endotheelcellen, hepatocyten en monocytten. Het centrale concept is dat disfunctioneel weefsel als gevolg van deze infecties leidt tot (over)productie van ontstekingsmediatoren. Dit ondersteunt de hypothese dat micro-organismen mogelijk een rol spelen in het ontstaan en onderhouden van een chronisch sluimerend ontstekingsproces dat ook gezien wordt bij atherosclerose en diabetes. Deze bevindingen verschaffen meer inzicht in de manier waarop infecties op afstand een oorzakelijk verband zouden kunnen vormen tussen obesitas en de verhoogde kans op het ontstaan van hart- en vaataandoeningen en diabetes.<sup>35</sup>

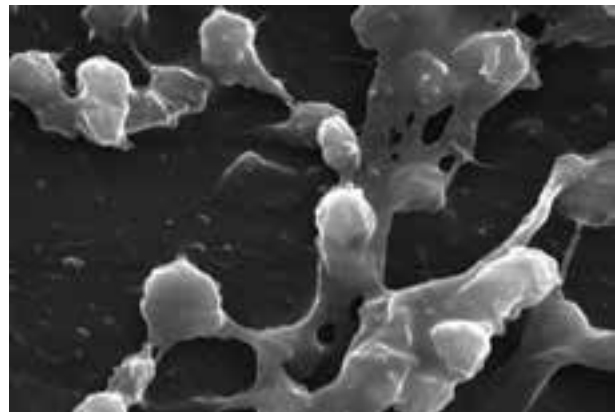
## Biofilms en persistente infecties

### Initiatie en progressie van biofilms

Een biofilm is voor te stellen als een dunne, aan het oppervlak van organische of anorganische structuren gehechte slijmachtige laag waarin micro-organismen ingebed zijn in een door hen zelf geproduceerde matrix van extracellulaire polymersubstanties (EPS) (figuur 3). Het bekendste voorbeeld van een biofilm is tandplaque, maar biofilms zijn ook betrokken bij infectiegerelateerde problemen met hartkleppen en katheter- of prothesematerialen. Biofilms huisvesten niet een enkele specifieke bacteriesoort, maar ze zijn polymicrobieel; in tandplaque zijn bijvoorbeeld meer dan 300 bacteriesoorten geïdentificeerd. Door de vorming van een biofilm ontstaat een soort verdedigingsbolwerk tegen invloeden van buitenaf, zoals uv-straling, mechanische stress of trauma en dehydratie. Maar de ontwikkeling van biofilms impliceert ook dat de aanwezige microflora op deze wijze een overlevingsmechanisme creëert en beschermd is tegen gastheerimmunitet zoals fagocytose door granulocyten en macrofagen. Biofilms zorgen er bovendien voor dat micro-organismen resistent zijn tegen antibiotica; ze blijken ongevoelig te zijn voor het 100- tot 1000-voudige van de antibioticumconcentratie die vrij levende bacteriën remt. Dit verklaart waarschijnlijk ook de discrepantie die kan optreden tussen *in vitro*-gevoeligheidsbepalingen en de *in vivo*-respons op antibiotische therapie.<sup>36</sup> Biofilmvorming gebeurt in verschillende stappen, te weten hechting, celdeling, differentiatie en loslating. Het ontstaan van een biofilm begint met de hechting van enkele bacteriën aan een meestal vochtig oppervlak. Hierbij ondergaan bacteriën vele metabole, fenotypische en fysiologische veranderingen. Adhesie induceert en activeert de transcriptie van genen die de synthese van de kleverige extracellulaire polymeersubstantie in gang zet die uiteindelijk 85% van de biofilm

**Figuur 3.** Stafylokokken in een biofilm.

Elektronenmicroscopische opname van stafylokokken, ingebed in en verbonden door een plakkerige substantie.



Bron: [www.wetenschap24.nl](http://www.wetenschap24.nl)

vormt. Deze omgeving stelt andere micro-organismen in staat om zich in de biofilm te nestelen. Hierdoor ontstaat een genetische en fenotypische diversiteit, die uiteindelijk leidt tot een stabiele bacteriële habitat. In deze symbiotische omgeving zijn bacteriën overigens niet per se pathogeen, zij profiteren vooral van elkaars aanwezigheid.<sup>37</sup> De verscheidenheid aan micro-omgevingen binnen de biofilm biedt niches voor micro-organismen en versterkt het vermogen om diverse invloeden zoals milieu, immuunsysteem en antimicrobiële middelen het hoofd te bieden. Een deel van de aanwezige bacteriën gaat over in een biofilmfenotype, een rustfase die door inbedding en lage metabole activiteit beschermd is tegen de effecten van macrofagen en neutrofielen. Een ander deel gaat wel in celdeling en -differentiatie en zo worden biofilm microkolonies en later macrokolonies gevormd, waardoor bacteriën actief of mechanisch van het biofilmoppervlak kunnen loskomen.

### Quorum sensing

De ontwikkeling van een stabiele biofilm is niet geheel willekeurig en wordt geleid door expressie van eiwitten die processen als de citroenzuurcyclus, aminozuurmetabolisme en koolstofmetabolisme reguleren. De verschillende bacteriesoorten in de biofilm communiceren onderling via cel-celsignalering. Afscheiding van kleine diffusieerbare signaalmoleculen kan worden gedetecteerd door naburige microben en dat leidt tot het aan- of uitzetten van de expressie van genen van omringende cellen. Dit proces van onderlinge beïnvloeding wordt quorum sensing genoemd.<sup>38</sup>

### Chronische infecties als biofilmziekten

Van biofilms kan niet worden bewezen dat zij de oorzaak zijn van ziekte. Een van de postulaten van Koch is dat gastheerbesmetting met een pathogeen moet leiden tot ziekte en dat hetzelfde pathogeen kan worden geïsoleerd uit alle geïnfecteerde personen. Bij chronische infecties lijkt deze stelregel niet van toepassing. Immers, belangrijke kenmerken van chronische infecties zijn juist dat micro-organismen latent of persistent aanwezig zijn. Het fenomeen persistente bacteriële infecties werpt een aantal fundamentele vragen op: hoe metabool actief zijn bacteriën tijdens een persisterende infectie; delen zij nog of is er een staat van rust? En hoe weten deze bacteriën zo lang het immuunsysteem te omzeilen? Het is mogelijk dat er *de novo* synthese van eiwitten is, maar geen productieve infectie.<sup>39</sup> Veruit de meerderheid van infecties worden veroorzaakt door vrij levende bacteriën. Er zijn aanwijzingen dat bacteriën in kweek maar weinig overeenkomst hebben met infectieuze biofilms. Wanneer bacteriën overgaan van een vrije fase naar een biofilmomgeving, treedt een fenotypische transitie op en verandert de genexpressie van de bacteriën radicaal. De bacteriën gaan

beschermende polymeren en feromonen (bv. quorumafstappende moleculen) uitscheiden, waardoor cel-celsignalering tussen de soorten op gang komt en multi-speciesbiofilms veranderen in een voor omgevingsfactoren nauwelijks te nemen vesting. Dit impliceert tevens dat conventionele kweekmethoden niet effectief zijn om alle relevante bewoners in de flora van een biofilm te identificeren, vooropgesteld dat ze al kweekbaar zijn. Er wordt verondersteld dat slechts 1% van de bacteriën in een biofilm in kweek zou zijn te brengen. Er wordt geschat dat meer dan 65 tot 80% van besmettelijke ziekten in de ontwikkelde wereld wordt veroorzaakt door biofilms.<sup>36,40</sup>

De vorming van biofilms vindt ook plaats rond implantaten en andere medische hulpmiddelen zoals katheters, mechanische hartkleppen en gewrichtsprothesen. Het is zelden mogelijk de infectie te bestrijden zonder deze middelen te verwijderen. Het besef dat biofilms zo vaak betrokken zijn bij (chronische) ziekte leidt tot de conclusie dat we gevoeliger onderzoeksmethoden nodig hebben. Toenemende kennis van de compositie en functioneren van biofilms bij chronische infectieziekten verschaft daarom nieuwe inzichten in detectie en behandelingsmogelijkheden van chronische bacteriële biofilmziekte. Er zijn PCR's, microarrays en sequentietechnieken ontwikkeld voor de detectie en identificatie van de microflora in biofilms. Met de huidige technische ontwikkelingen lijkt detectie van al dan niet pathogenen en markers van resistentie een veelbelovende optie.

### Biofilms en diabetes

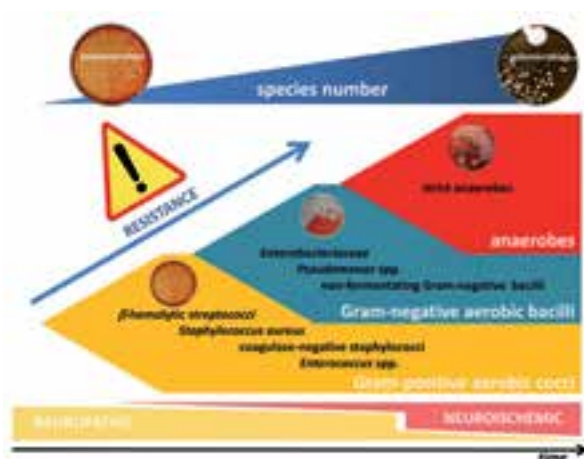
Chronische inflammatoire ziekten veroorzaakt door obesitas zijn wereldwijd een van de snelst toenemende bedreigingen van de volksgezondheid. Bij aandoeningen zoals metabool syndroom, diabetes en atherosclerose, werkt vetweefsel als een endocrien orgaan dat inflammatoire mediators in omloop brengt. Dit is waarschijnlijk de oorzaak dat infecties zijn geassocieerd met obesitas, metabool syndroom, diabetes en atherosclerose.<sup>35,41</sup> Hoewel veel pathogeen-gastheerinteracties nog niet zijn opgehelderd, is de laatste decennia overtuigend bewijs voor een infectiehypothese bij obesitasgeassocieerde ziekten opgebouwd. Obesitas en daarmee samenhangende aandoeningen zoals diabetes worden nu dan ook beschouwd als chronische ontstekingsziekten.<sup>42</sup> Ontsteking wordt vooral gekenmerkt door productie van pro-inflammatoire cytokines, zoals IL-6 en TNF- $\alpha$ . Deze leiden onder meer tot insulineresistentie, atherosclerose, vaatschade, endotheel disfunctie en perifere vaatlijden, wat weer bijdraagt aan de ontwikkeling van DM 2 en atherosclerose. Het is klinisch aangetoond dat infectieziekten de glykemische controle bij patiënten met diabetes verstoren.<sup>43-45</sup> Chronische ontsteking en metabole verstoringen, zoals bij diabetes, kunnen uiteindelijk ook bijdragen aan verslechtering van normale weefselfunctie, weefselnecrose en slechte

wondgenezing. Dit verschaft micro-organismen een porte d'entree, vergroot de kans op het persisteren van (lokale) infecties en staat de ontwikkeling van biofilms toe.

Obesitas en blootstelling aan infectieuze agentia beïnvloeden elkaar wederzijds, overgewicht leidt tot ontstekingen, chronische ontsteking bevordert insulineresistentie.<sup>46</sup> Zo kunnen chronische ontsteking, inflammatie en persisterende pathologische processen (infectie) elkaar in stand houden.

Een andere hypothese is dat veranderingen in omgevingscomponenten, zoals afname van nuttige (ontstekingsremmende) bacteriën, ons immuunsysteem beïnvloeden en dat deze microbiële verschuivingen leiden tot cellulaire disfuncties die op hun beurt weer (auto)immuunziekten zoals Crohn, multiple sclerose en diabetes tot gevolg kunnen hebben.<sup>47</sup> Net als ons eigen microbioom is een biofilm een complexe leefgemeenschap van verschillende micro-organismen. Hoe dit zich precies verhoudt met ons immuunsysteem en welke bacteriën het immuunsysteem weten te activeren of juist te omzeilen is nog onduidelijk. Fysiologisch zal er een balans zijn tussen ontstekingsremmende en ontstekingsbevorderende activiteiten. Bij auto-immuunaandoeningen, waartoe ook diabetes wordt gerekend, kan de balans verstoord raken. De relatie tussen (poly)microbiële infecties en auto-immuunziekten zou kunnen verklaren dat diabetes vanwege hun immuungecompromitteerd zijn, chronische of persisterende infecties (zoals atherosclerose) hebben. Bovendien ontstaat bij iedere antibiotische behandeling selectiedruk; gevoelige bacteriën gaan dood, relatief ongevoelige bacteriën overleven. Ook dit is een typerend proces bij biofilmvorming.

**Figuur 4.** Resistentie-ontwikkeling in een polymicrobiële omgeving. In een chronische wondomgeving dragen neuropathie, ischemie en vooral de ontwikkeling van meer complexe polymicrobiële populaties, zoals in biofilms, essentieel bij aan de toename van resistentie.<sup>60</sup>



## De biofilm als resistentiefactor

Biofilmgerelateerde ziekten zijn meestal hardnekkige infecties die zich langzaam ontwikkelen. De bacteriën zijn beschermd tegen de activiteit van omgevingsfactoren zoals vrije radicalen en zeer resistent tegen antimicrobiële middelen.<sup>36</sup> De biofilm beschermt de bacteriën fysiek tegen de bactericide werking van antibiotica waardoor ze in staat zijn om extreem hoge doses antibiotica te tolereren (figuur 4).<sup>48</sup> Omdat biofilms veelal polymicrobieel zijn samengesteld, vertonen deze een grote metabole heterogeniteit. Resistentie tegen antibiotica in de biofilm-omgeving is echter een complex van factoren. Tijdens een behandeling met antibiotica, kunnen metaboolactieve bacteriën in de buitenste lagen van de biofilm wel worden gedood, maar wanneer de behandeling wordt gestaakt kan de biofilm zich herstellen door uitgroei van persisters, die niet per se intrinsiek resistent hoeven te zijn. Hoewel intrinsieke resistentie van bacteriën aan het probleem kan bijdragen, zou men ook de theorie kunnen opwerpen dat biofilms een natuurlijke resistentie tegen antibiotica bezitten. Brooun et al. concludeerden dat slechts een fractie van de biofilmbacteriën verantwoordelijk is voor resistentie omdat lage concentraties van antibiotica de meerderheid van bacteriën al wel konden doden, maar hogere antibioticumconcentraties niet de gehele bacteriële populatie elimineerden.<sup>49</sup>

Belangrijker is waarschijnlijk het feit dat de werkingsmechanismen van de meeste antibiotica zich richten op cellulaire processen die actief zijn tijdens de groei van bacteriën en dus bij metaboolinactieve bacteriën niet werkzaam zijn. Bacteriën worden in hun metabole rustfase (persistentie) gedreven als gevolg van signaalstoffen die worden uitgescheiden in en door de biofilmpopulatie. Deze onderlinge celsignalering leidt dus tot persistentie en resistentie als gevolg van het stopzetten van actieve cellulaire processen. Samengevat is resistentie in biofilms een combinatie van fysieke omgeving, bacteriepopulatie en fenotypische variatie.

## Biofilms en antibiotische behandeling

De diversiteit bij polymicrobiële infecties speelt een prominente rol bij chronische infecties zoals de diabetische voet.<sup>37</sup> Behandeling van in aanleg milde infecties met antibiotica is doorgaans afdoende. Bij staken van de behandeling kunnen infecties zich uitbreiden. De behandeling moet worden aangepast wanneer de infectie zich dreigt uit te breiden. Antibiotische therapie op basis van conventionele kweekmethoden is niet altijd toereikend omdat waarschijnlijk slechts enkele en waarschijnlijk niet de juiste van de species in biofilms bestreden worden.<sup>50</sup> In de klinische praktijk wordt adequate behandeling van infecties steeds gecompliceerder door toenemende resistentie tegen antibiotica. De mechanismen van resistentie tegen antibiotica van biofilms dient daarom mede in ogenschouw te worden genomen. Het lijkt

paradoxaal dat het met antibiotica niet mogelijk is om infecties afdoende te behandelen. De wetenschap dat een groot deel van de bacteriën in biofilms metabool inactief is en daardoor persisteert, leidt ook tot een dilemma. Om gevoelige bacteriën in de biofilm te remmen zou haast groeistimulering nodig zijn; een interessante gedachte, maar uiteraard een ongewenste strategie. Het ligt voor de hand om langer te behandelen dan wel adjuvante therapieën toe te passen. Wanneer infecties na antibiotische therapie progressief zijn, dient overwogen te worden om geïnfecteerd weefsel chirurgisch te verwijderen. Frequente debridement van diabetische voetwonden is de meest succesrijke behandeloptie, zeker met de gedachte dat wondzorg gebaseerd op fysieke verwijdering van biofilms essentieel zal bijdragen aan effectieve wondgenezing.<sup>51</sup> Andere behandelingen voor infecties bij een diabetische voet zijn de toepassing van wondsluiting onder vacuüm, hyperbare zuurstof en granulocyt koloniestimulerende factor (G-CSF).<sup>52-54</sup>

Naast antiseptische omstandigheden zouden door lokale toepassing van antibiotica, zoals in geïnfecteerde gewrichtsprothesen, veel hogere antibioticaconcentraties op de plaats van infectie kunnen worden bereikt dan bij systemische behandeling.<sup>55</sup>

De meerwaarde van deze opties voor effectieve behandeling biofilmgerelateerde infecties is discutabel. Veelbelovender voor het elimineren van deze hardnekkige infecties zijn nieuwe strategieën die specifiek op structuur en functie van biofilms aangrijpen. Te denken valt aan verhinderen van de bacteriële hechting, door implantatiematerialen te kiezen die biofilmvorming voorkomen.<sup>56</sup>

Ook kan de matrix van extracellulaire polymeersubstanties worden vernietigd. Dit is onderzocht door het toepassen van ultrasone trilling bij behandeling van chronische wonden waardoor de quorum sensing wordt verstoord.<sup>57</sup>

Een derde aanpak is het blokkeren van de cel-celsignalering. Lu et al. ontwierpen bacteriofagen die slijmoplossende enzymen afscheiden, die de matrix infiltreren en deze inclusief aanwezige bacteriën vernietigen.<sup>58</sup> Boles et al. construeerden synthetische signaaleiwitten, die zij toevoegden aan stabiele biofilms. Dit leidde tot het uiteenvallen van de matrix. Bovendien bleken de vrijgekomen bacteriën veel gevoeliger voor antibiotica.<sup>59</sup>

## Beschouwing

Patiënten met DM hebben een verhoogde kans op het ontwikkelen van ernstige infecties. Bovendien zijn infecties in aanwezigheid van DM vaak complex. Naarmate het aantal patiënten met diabetes verder stijgt, zal ook het aantal diabetische complicaties, zoals voetulcera, toenemen. Behandeling die inflammatie of immunrespons onderdrukken zijn slechts palliatief, dus inadequaat en zouden zelfs kunnen bijdragen aan persistentie van infecties.

We beginnen langzaam aan meer te begrijpen welke bacteriële en gastheerfactoren betrokken zijn bij de gastheer-pathogeeninteractie tijdens persisterende infecties.

Biofilms spelen een rol in de resistentie van slecht genezende chronische wonden. Kweken uit oppervlakkige wonden blijken de ziekteverwekkers die verantwoordelijk zijn voor diepere infecties niet goed te detecteren. Hiervoor zijn monsters van diep weefsel of ulcus nodig, na zorgvuldig debridement van necrotisch weefsel tot op het gezonde, bloedende weefsel en biofilmmateriaal.

Erkenning van de sleutelrol van biofilms en onderzoek naar de bijbehorende wondmicrobiologie verschaffen wellicht nieuwe inzichten in de pathogenese en slechte genezing van wonden bij diabeten. Het doorgronden van biofilmprocessen, zoals bacteriële celadhesie, celsignalering en quorum sensing stelt ons mogelijk in staat om de juiste ziekteverwekkers te detecteren en te anticiperen op de implicaties van biofilmgerelateerde infecties. Wetenschappelijk onderzoek naar de vorming van biofilms en mogelijkheden om medicamenteus het verstoren van de biofilm te bewerkstelligen, leiden er hopelijk toe dat in de toekomst aan biofilmgerelateerde ziekten effectief kunnen worden behandeld.

## Dankwoord

Graag wil ik Rob Diepersloot en Jan Kaan, artsen-microbioloog van het Diakonessenhuis bedanken voor hun expertise en professionele adviezen bij het schrijven van dit manuscript. Dr. J.J. Mendes dank ik voor de toestemming om de afbeeldingen (*figuren 2 en 4*) uit zijn recente publicatie<sup>60</sup> te mogen gebruiken.

## Referenties

1. Durand M, Joseph M, Baker AN. Infections of the upper respiratory tract. In: Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 14th ed. New York: McGraw Hill; 1998:179-180.
2. Earhart KC, Baugh WP. Rhinocerebral mucormycosis. *eMedicine journal*. Last Updated: December 8, 2011. Available at: [www.emedicine.com/med/topic2026.htm](http://www.emedicine.com/med/topic2026.htm). Date accessed: March 15, 2012.
3. Muller LM, Gorter KJ, Hak E et al. Increased risk of common infections in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Clin Infect Dis*. 2005 Aug 1;41(3):281-8.
4. Tan JS. Infectious complications in patients with diabetes mellitus. *Int Diabetes Monitor*. 2000;12:1-7.
5. Diacovich L, Gorvel JP. Bacterial manipulation of innate immunity to promote infection. *Nat Rev Microbiol*. 2010;8(2):117-28.
6. Young D, Hussell T, Dougan G. Chronic bacterial infections: living with unwanted guests. *Nat Immunol*. 2002;3(11):1026-32.
7. Blaser MJ, Kirschner D. The equilibria that allow bacterial persistence in human hosts. *Nature*. 2007;449(7164):843-9.
8. Eswarappa SM. Location of pathogenic bacteria during persistent infections: insights from an analysis using game theory. *PLoS One*. 2009;4(4):e5383.
9. Monack DM, Mueller A, Falkow S. Persistent bacterial infections: the interface of the pathogen and the host immune system. *Nat Rev Microbiol*. 2004;2(9):747-65.



10. Jun HS, Yoon JW. Role of Viruses in the Pathogenesis of Type 1 Diabetes Mellitus. *Diabetologia* 2001;44(3):271-85.
11. Jun HS, Yoon JW. A new look at viruses in type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*. 2003;19(1):8-31.
12. Menser MA, Forrest JM, Bransby RD. Rubella infection and diabetes mellitus. *Lancet*. 1978;1:211.
13. Akerblom HK, et al. Environmental factors in the etiology of type 1 diabetes. *AJMG*. 2002;115:18-29.
14. Hober D, Sauter P. Pathogenesis of type 1 diabetes mellitus: interplay between enterovirus and host. *Nat Rev Endocrinol*. 2010 May;6(5):279-89
15. Marchant MH Jr, Viens NA, Cook C, et al. The impact of glycemic control and diabetes mellitus on perioperative outcomes after total joint arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am*. 2009; 91:1621
16. Bartelink ML, Hoek L, Freriks JP, Rutten GE. Infections in patients with type 2 diabetes in general practice. *Diabetes Res Clin Pract*. 1998;40(1):15.
17. Joshi N, Caputo GM, Weitekamp MR, Karchmer AW. Infections in patients with diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1999;341(25):1906-12.
18. Jeffcoate WJ, Harding KG. Diabetic foot ulcers. *Lancet*. 2003;361:1545.
19. Dinh MT, Abad CL, Safdar N. Diagnostic accuracy of the physical examination and imaging tests for osteomyelitis underlying diabetic foot ulcers: meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 2008;47:519.
20. CBO-Richtlijn diabetesse voet 2006.
21. Ljubic S, Balachandran A, Pavlić-Renar I. Pulmonary infections in diabetes mellitus. *Diabetologia Croatica*. 2005;4:115-24.
22. Valdez R, Narayan KM, Geiss LS, Engelgau MM. Impact of diabetes mellitus on mortality associated with pneumonia and influenza among non-Hispanic black and white US adults. *Am J Public Health*. 1999;89:1715-21.
23. Geerlings SE, Stolk RP, Camps MJ et al. Asymptomatic bacteriuria may be considered a complication in women with diabetes. *Diabetes Care*. 2000;23:744-9.
24. Bertoni AG, Saydah S, Brancati FL. Diabetes and the risk of infection-related mortality in the United States. *Diabetes Care*. 2001;24:1044-9.
25. Paoletti R, Gotto AM, Jr, Hajjar DP. Inflammation in atherosclerosis and implications for therapy. *Circulation*. 2004;109(23):III20-6.
26. Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999;340(2):115-26.
27. Young, D, T. Hussell, and G. Dougan.. Chronic bacterial infections: living with unwanted guests. *Nature Immunol*. 2002;3:1026-32.
28. Lindsay RS, Howard BV. Cardiovascular risk associated with the metabolic syndrome. *Curr Diab Rep*. 2004;4(1):63-8.133.
29. Koh KK, Han SH, Quon MJ. Inflammatory markers and the metabolic syndrome: insights from therapeutic interventions. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46(11):1978-85.
30. Duncan BB, Schmidt MI, Pankow JS et al. Low-grade systemic inflammation and the development of type 2 diabetes: the atherosclerosis risk in communities study. *Diabetes*. 2003;52(7):1799-805.
31. Festa A, D'Agostino R, Jr, Tracy RP, Haffner SM. Elevated levels of acute-phase proteins and plasminogen activator inhibitor-1 predict the development of type 2 diabetes: the insulin resistance atherosclerosis study. *Diabetes* 2002;51(4):1131-7.
32. Van Gaal LF, Mertens IL, De Block CE. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. *Nature* 2006;444(7121):875-80.
33. Desruisseaux MS, Trujillo ME, Trujillo ME, Tanowitz HB, Scherer PE. Adipocyte, adipose tissue, and infectious disease. *Infect Immun* 2007;75(3):1066-78.
34. Dhurandhar NV. Infectobesity: obesity of infectious origin. *J Nutr*. 2001;131(10):2794-7.
35. Bouwman JJ. Thesis: Intracellular infections in the pathogenesis of vascular diseases; *in vitro* studies. June 2009. ISBN 978-90-393-50447.
36. Stewart PS, Costerton JW. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet* 2001; 58:135-8.
37. Dowd SE, Wolcott RD, Sun Y, McKeenan T, Smith E, et al. (2008) Polymicrobial Nature of Chronic Diabetic Foot Ulcer Biofilm Infections Determined Using Bacterial Tag Encoded FLX Amplicon Pyrosequencing (bTEFAP). *PLoS ONE* 3(10): e3326.
38. Zijngje V, Abbas F, Degener JE. [Strength in numbers: illness-causing biofilms]. *Ned Tijdschr Tandheelkd*. 2008 Jan;115(1):5-12.
39. Ruby T, Monack DM. At home with hostility: How do pathogenic bacteria evade mammalian immune surveillance to establish persistent infection? *F1000 Biol Rep*. 2011;14:3:1.
40. Randall D. Wolcott RD, Ehrlich GD. Biofilms and Chronic Infections. *JAMA*. 2008;299(22):2682-4.
41. Cheng-Min Wang, Kaltenboeck B. Exacerbation of chronic inflammatory diseases by infectious agents: Fact or Fiction? *World J Diabetes*. 2010;1(2):27-35.
42. Galinier A, Carriere A, Fernandez Y, et al. Adipose tissue proadipogenic redox changes in obesity. *J Biol Chem*. 2006;281:12682-7.
43. Mealey BL, Rose LF. Diabetes mellitus and inflammatory periodontal diseases. *Compend Contin Educ Dent*. 2008;29:402-8.
44. Begue RE, Mirza A, Compton T, Gomez R, Vargas A. Helicobacter pylori infection and insulin requirement among children with type 1 diabetes mellitus. *Pediatrics*. 1999;103:e83
45. Taylor GW, Burt BA, Becker MP et al. Severe periodontitis and risk for poor glycemic control in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Periodontol*. 1996;67:1085-93.
46. Hotamisligil G.S. *Nature* 2006;444:860-7.
47. Chow J, Lee SM, Shen Y, Khosravi A, Mazmanian SK. Host-bacterial symbiosis in health and disease. *Adv Immunol*. 2010;107:243-74.
48. Davis, S. C, Ricotti, C, Cazzaniga, A. et al. Microscopic and physiologic evidence for biofilm-associated wound colonization in vivo. *Wound Repair and Regeneration* 2008;16:23-9.
49. Brooun A, Liu S, Lewis K. A Dose-Response Study of Antibiotic Resistance in Pseudomonas aeruginosa Biofilms. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000; 44(3): 640-6.
50. Høiby N, Ciofu O, Johansen HK et al. The clinical impact of bacterial biofilms. *Int J Oral Sci*. 2011;3(2):55-65.
51. Davis SC, Martinez L, Kirsner R. The diabetic foot: the importance of biofilms and wound bed preparation. *Curr Diab Rep*. 2006;6(6):439-45.
52. Blume PA, Walters J, Payne W, Ayala J, Lantis J. Comparison of negative pressure wound therapy using vacuum-assisted closure with advanced moist wound therapy in the treatment of diabetic foot ulcers: a multicenter randomized controlled trial. *Diabetes Care*. 2008;31(4):631.
53. Cruciani M, Lipsky BA, Mengoli C, de Lalla F. Are granulocyte colony-stimulating factors beneficial in treating diabetic foot infections?: A meta-analysis. *Diabetes Care*. 2005;28(2):454.
54. Gough A, Clapperton M, Rolando N, Foster AV, Philpott-Howard J, Edmonds ME. Randomised placebo-controlled trial of granulocyte-colony stimulating factor in diabetic foot infection. *Lancet*. 1997;350(9081):855.
55. Walenkamp GH. Gentamicin PMMA beads and other local antibiotic carriers in two-stage revision of total knee infection: a review. *J Chemother*. 2001 Nov;13 Spec No 1(1):66-72.
56. Lichter JA, Thompson MT, Delgadillo M, Nishikawa T, Rubner MF, Van Vliet KJ. Substrata mechanical stiffness can regulate adhesion of viable bacteria. *Biomacromolecules*. 2008;9(6):1571-8.
57. Ensing GT, Neut D, van Horn JR et al. The combination of ultrasound with antibiotics released from bone cement decreases the viability of planktonic and biofilm bacteria: an *in vitro* study with clinical strains. *J Antimicrob Chemother* 2006; 58: 1287-90.
58. Lu TK, Collins JJ. Dispersing biofilms with engineered enzymatic bacteriophage. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007;104(27):11197-202.
59. Boles BR, Horswill AR. Agr-mediated dispersal of Staphylococcus aureus biofilms. *PLoS Pathog*. 2008;4(4):e1000052.
60. Mendes JJ, Neves J. Diabetic Foot Infections: Current Diagnosis and Treatment. *J. Diab. Foot Compl*. 2012;4(2):26-45.

# Farmacovigilantie wetgeving en anti-infectieuze middelen

L. Gross-Martirosyan, C. Geluk, S. Straus, B. Voordouw

In een tijd waarin 5% van alle ziekenhuisopnames zijn toe te schrijven aan bijwerkingen van geneesmiddelen, staat veiligheid van geneesmiddelen bovenaan de agenda voor Europese wet- en regelgeving. Als een direct gevolg hiervan is in juli 2012 binnen de Europese Unie (EU)<sup>1</sup> de nieuwe farmacovigilantiewetgeving van kracht geworden. Deze heeft tot doel de patiëntveiligheid te bevorderen door meer proactieve detectie, beoordeling en preventie van bijwerkingen gerelateerd aan het gebruik van geneesmiddelen. Dit is de grootste verandering in de wet- en regelgeving voor geneesmiddelen voor humaan gebruik in de EU sinds lange tijd. Om toe te zien op de veiligheid van geneesmiddelen in de EU is de Pharmacovigilance Risk Assessment Committee (PRAC) gevormd. Deze bestaat uit afgevaardigden van elke EU-lidstaat, patiënten en vertegenwoordigers uit de gezondheidszorg.

## Verbeterde melding en detectie

Eén van de belangrijkste middelen om toezicht te houden op de veiligheid van geneesmiddelen is het verzamelen en analyseren van gemelde bijwerkingen. Een belangrijke verandering onder de nieuwe wetgeving is de wettelijke verplichting voor actieve detectie van nieuwe bijwerkingen door de nationale registratieautoriteiten zoals het CBG. Dit houdt in dat elke vier weken de gemelde bijwerkingen worden geanalyseerd en er wordt bekeken of maatregelen nodig zijn. Het CBG is verantwoordelijk voor het beoordelen van bijwerkingen van 52 werkzame stoffen, waaronder bijvoorbeeld foscarnet, ganciclovir en valganciclovir. De bijwerkingen worden gemeld bij een Europese database (de zogeheten EudraVigilance database)<sup>2</sup>. Door verruiming van de definitie van bijwerkingen wordt bij de beoordeling ook gekeken naar gebrek aan werkzaamheid en ook naar gebruik buiten de geregistreerde indicaties. Dergelijke proactieve monitoring kan daarmee niet alleen bijdragen aan de identificatie van klinische bijwerkingen, maar ook aan verbeterde detectie van veiligheidsproblemen voor de volksgezondheid.

Daarnaast kan in het geval van anti-infectiemiddelen aan firma's worden gevraagd om toezicht te houden op resistentie-ontwikkeling voor hun product als

onderdeel van een Risk Management Plan (RMP). Voor antibiotica houdt dergelijke proactieve monitoring een extra mogelijkheid in voor detectie van resistentie, naast de reeds bestaande surveillance van gevoeligheid van micro-organismen. Tijdige herkenning van en inzicht in resistentie-ontwikkeling, zoals bijvoorbeeld de sterke toename van *Escherichia coli*-resistentie in Europa en de MRSA-problematiek, is belangrijk omdat dit consequenties heeft voor de toepasbaarheid van antibiotica in de diverse indicaties. Dit zou voor antibiotica die tot nu toe gevoelig werden geacht voor *E.coli* kunnen leiden tot een veranderd inzicht in hun werkzaamheid en bruikbaarheid bij de behandeling van bijvoorbeeld urineweginfecties en daarmee tot veranderingen in de productinformatie. Daarnaast kan het systeem van farmacovigilantie mogelijk bijdragen aan meer inzicht in het gebruik van middelen in nog niet geregistreerde indicaties, bijvoorbeeld veroorzaakt door zeldzame verwekkers (zoals het gebruik van antimycotica voor exotische schimmels), die niet direct in klinische studies kunnen worden onderzocht. Door het gebruik van anti-infectiemiddelen in zeldzaam of minder frequent voorkomende ziekteverwekkers goed te documenteren en te melden kan men als behandelaar bijdragen aan de evidence-based farmacotherapie.

In Nederland worden alle bijwerkingen door het Lareb verzameld. Om bij te dragen aan de herkenning van nieuwe veiligheidsproblemen wordt alle gezondheidszorgmedewerkers en patiënten sterk aangeraden om alle bijwerkingen bij het Lareb te melden.<sup>3</sup>

## Referenties

1. European Commission. The EU pharmacovigilance system (last accessed on 16 October 2012).
2. European Medicines Agency. EudraVigilance Human (last accessed on 16 October 2012).
3. Nederlands Bijwerkingen Centrum. Online meldformulier.

L. Gross-Martirosyan, C. Geluk, S. Straus, CBG  
Correspondentieadres: B. Voordouw, klinisch senior speerpuntbeoordelaar anti-infectiva, farmacotherapeutische groep IV, CBG, AIOS Medische microbiologie LUMC, e-mailadres: ac.voordouw@cbg-meb.nl.

# Abstracts Najaarsvergadering NVMM / VIZ 2012

## A patient with falciparum malaria locally acquired in the south of France

J.E. Arends<sup>1</sup> en J.J. Oosterheert<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Afdeling Interne Geneeskunde en Infectieziekten, Universitair Medisch Centrum Utrecht (UMCU), Utrecht

Malaria caused by *Plasmodium falciparum* is not endemic in Europe and reported cases are almost exclusively from imported disease from travellers to endemic areas. Here, we describe one patient who had not been in malaria epidemic areas for years, but acquired falciparum malaria locally in the south of France. A 34-year old woman originating from Sierra Leone was recently seen at the out patients department complaining of periodic spiking fever lasting pain in her abdomen and arthralgia for 2 weeks. Her last visit to a malaria-endemic country (Sierra Leone) was in 2003. Before presentation she stayed in France (Bourgogne area) with her family in an apartment. Several people recently returning from Africa to the apartment block, came down with malaria. On physical examination, small wounds of insect bites were seen around the ankles. In her blood results the most striking was the anemia with a haemoglobin of 7.1 mmol/L, a thrombocytopenia of  $80 \times 10^9/L$  and a leucocytopenia of  $3.7 \times 10^9/L$  with a normal differentiation. Further investigation with microscopy of a thick smear and malaria antigen test (Binax Now) were positive for *Plasmodium falciparum* with a parasitaemia of 0.18%. She was started on a 3-day course of Malarone (atovaquon/proguanil) 4 times daily and returned home. She fully recovered and at follow-up visits in the out patients department no malaria parasites were seen on thick smear. Vectors for *plasmodium falciparum* are observed throughout Europe. Together with more immigration, local transmission of malaria could become a problem in Europe in the future.

## Abiotrophia-gerelateerde endocarditis imiteert polymyalgia rheumatica

N. Hilt<sup>1</sup>, M. Janssen<sup>2</sup>, C.M.A. Swanink<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Medisch Microbiologisch en Immunologisch Laboratorium Ziekenhuis Rijnstate Velp,

<sup>2</sup>Afdeling Reumatologie Ziekenhuis Rijnstate Velp

Een 94-jarige man werd verwezen wegens een therapie-resistente polymyalgia rheumatica (PMR). Ondanks maandenlange behandeling met glucocorticoiden bleef

patiënt klachten houden van extreme vermoeidheid, spierpijn en subfebriële temperatuur. Poliklinisch werden bloedkweeken afgenomen, waaruit na drie dagen grampositieve kokken werden geïsoleerd. Met behulp van de Maldi-tof (Bruker Daltonik GmbH) konden de kokken worden geïdentificeerd als *Abiotrophia defectiva*. Dit werd later bevestigd met 16S rDNA partiële sequentieanalyse. Transoesofageale echocardiografie liet vegetaties zien op de aorta- en mitralisklep met mitralisklepperforatie. Behandeling werd gestart met penicilline 12 miljoen EH intraveneus per dag in combinatie met gentamicine 3 mg/kg/dag. De spierpijnen namen tijdens behandeling duidelijk af. Uiteindelijk overleed de patiënt aan de gevolgen van hartfalen. Subacute bacteriële endocarditis kan zich presenteren met klachten zoals spierpijn, subfebriële temperatuur en een hoge bezinking, die sterk doen denken aan PMR. De differentiaaldiagnose van PMR omvat ondermeer endocarditis; vooral bij een subfebriële temperatuur in combinatie met een cardiale soufflé of een onvoldoende respons op glucocorticoiden dient een endocarditis te worden uitgesloten.

## Micro-organismen in het Amsterdamse oppervlaktewater en de relatie met verwekkers van pneumonieën na near-drowning in Amsterdam

M. Hoogewerf, Y.J. Debets-Ossenkopp

Medische Microbiologie en Infectiepreventie, VU Medisch Centrum, Amsterdam

In juli 2012 is op onze Intensive Care voor volwassenen een retrospectief onderzoek verricht waarbij is gekeken naar verwekkers, behandeling en kliniek van pneumonieën bij near-drowningpatiënten die in de afgelopen 10 jaar zijn opgenomen.

In het kader van deze studie werden alsnog watermonsters afgenomen van drie verschillende locaties in Amsterdam, waar near-drownings hadden plaatsgevonden.

De gekweekte isolaten uit het water werden vergeleken met de klinische isolaten.

Van elk watermonster werd 6 x 100 ml gefilterd door een nitrocellulose membraan (Sartorius cellulose nitrate filter, 0,45 µm) en de membranen werden gekweekt op zes verschillende agars: 2 Sabouroud-agars (25 °C en 37 °C, 2 weken incubatie); 1 bloedagar, aeroob 24 uur; 1 Mac-Conkey-agar, aeroob 24 uur; 1 Karmali-agar, micro-aerofiel 72 uur en 1 TCBS-agar, aeroob 24 uur geïncubeerd.

Alle gramnegatieve staven werden gedetermineerd door de Vitek 2 en eventueel geconfirmereerd door de Vitek MS (Biomérieux). Grampositieve staven en kokken werden gedetermineerd middels gramkleuring, biochemische testen of API 20 STREP (Biomérieux). Bij een verdenking op een *Vibrio cholera* werd een agglutinatie-test verricht. Schimmels werden gedetermineerd middels microscopie. Van de uit de watermonsters gekweekte bacteriën en schimmels kwamen de volgende micro-organismen overeen met de klinische isolaten: *Aeromonas* spp. (het merendeel van de klinische isolaten), *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas* spp., *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus fumigatus*. Overigens is uit het water ook een *Vibrio cholerae* non-O1-type gekweekt.

Binnenkort wordt op de watermonsters diagnostiek middels IS-pro verricht. De bevindingen hiervan worden vergeleken met de kweekresultaten.

### Clinical evaluation of methods for enrichment of pathogen DNA from whole blood combined with a search for a good infection marker for patient preselection

A. Loonen<sup>1,2</sup>, J. Tosserams<sup>3</sup>, P. de Jager<sup>3</sup>, P. Wever<sup>4</sup>, A. van den Brule<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratory for Molecular Diagnostics, Jeroen Bosch Hospital, 's-Hertogenbosch, <sup>2</sup>Fontys University of Applied Science, Department of Medical Molecular Diagnostics, Eindhoven, <sup>3</sup>Department of Intensive Care and Department of Emergency Medicine, Jeroen Bosch Hospital, 's-Hertogenbosch, <sup>4</sup>Department of Medical Microbiology and Infection Control, Jeroen Bosch Hospital, 's-Hertogenbosch

In this study, we analytically and clinically present the evaluation of two enrichment methods for selective isolation of DNA from pathogens in EDTA blood.

In a first set of experiments, EDTA blood samples (5 ml) were spiked with *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*. In a next step, one ml residual EDTA blood was obtained from 37 patients presenting at the Emergency Department with  $\geq 2$  SIRS criteria. Selective pathogen DNA isolation was performed with Polaris (Biocartis) and MolYsis (Molzym), and samples were analyzed for the presence pathogens using the commercially available Magicplex Sepsis test (Seegene) and SepsisTest (Molzym). Additionally, CRP, neutrophil-lymphocyte count ratio (NLCR), procalcitonine and soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) levels were obtained. All spiked pathogens were detectable at concentrations of 1-10 CFU/ml blood. The evaluation of patient samples resulted in six positive blood cultures (16.2%). In contrast, 15 samples were detected as positive by using Polaris combined with the Seegene PCR. MolYsis combined with SepsisTest resulted in 2 positive results. Although NLCR

( $\geq 10$ ) seemed a good predictor for clinically relevant blood culture results, none of the studied infection markers was predictive of positive PCR results.

In conclusion, the novel enrichment methods enable reliable detection of bacterial and fungal DNA at clinically relevant concentrations by standard molecular tests within 3-4 hours. The clinical relevance of DNA positivity is still unknown. In this study, no single infection marker was found which can be helpful in preselection for molecular assays. More patients are currently being included.

### Differentiation of *Raoultella ornithinolytica/planticola* and *Klebsiella oxytoca* clinical isolates by MALDI-TOF MS and Phoenix identification

E. de Jong<sup>1</sup>, A.S. de Jong<sup>1</sup>, N. Smidts-van den Berg<sup>1</sup>, R.J. Rentenaar<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Microbiology, Radboud University Nijmegen Medical Centre, Nijmegen

True *Raoultella ornithinolytica/planticola* clinical isolates are frequently misidentified as *Klebsiella oxytoca* by many commercial chemical identification systems. We investigated 99 clinical isolates, identified by Phoenix ID as *K. oxytoca*. Isolates were analyzed by Matrix assisted laser desorption ionisation time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). Discrepant results were resolved by 16S rRNA gene sequencing. Ninetyfour isolates were correct identifications of *K. oxytoca* and 5 were misidentifications of *R. planticola/ornithinolytica*. If the highest MALDI-TOF MS score value was used as the sole criterion, all five Phoenix misidentifications were correctly identified by MALDI-TOF MS, but, using this criterion, an additional 3 true *K. oxytoca* isolates were misidentified as *R. ornithinolytica*. A rule of differential percentage of MALDI-TOF MS score values is proposed to aid in discrimination of the two species by MALDI-TOF MS.

### In vitro *C. burnetii* induced interferon- $\gamma$ production for the diagnosis of Q fever

T. Schoffelen<sup>1</sup>, L.A.B. Joosten<sup>1</sup>, T. Herremans<sup>2</sup>, A.F.J. de Haan<sup>3</sup>, A. Ammerdorffer<sup>1</sup>, H.C. Rümke<sup>4</sup>, C.J. Wijkmans<sup>5</sup>, H.I.J. Roest<sup>6</sup>, M.G. Netea<sup>1</sup>, J.W.M. van der Meer<sup>1</sup>, T. Sprong<sup>1,7</sup>, M. van Deuren<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Medicine, Radboud University Nijmegen Medical Centre, and Nijmegen Institute for Infection, Inflammation and Immunity (N4i), Nijmegen, <sup>2</sup>National Institute for Public Health and the Environment, Centre for Infectious Disease Control, Bilthoven, <sup>3</sup>Department of Epidemiology, Biostatistics and HTA, Radboud University Nijmegen Medical Centre, Nijmegen, <sup>4</sup>Vaxinostics BV, Rotterdam, <sup>5</sup>Municipal Public Health Service 'Hart voor Brabant', 's-Hertogenbosch, <sup>6</sup>Department of Bacteriology and TSEs, Central Veterinary Institute, part of Wageningen UR, Lelystad, <sup>7</sup>Department of Internal Medicine and Department

Current practice for diagnosis of Q fever, caused by the intracellular pathogen *Coxiella burnetii*, relies mainly on serology and, in pre-vaccination assessment, also on skin testing (ST). However, both techniques have drawbacks. We developed an assay for *C. burnetii*-specific interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) production as a new diagnostic tool for Q fever circumventing most of these drawbacks. We compared it to serology and ST in 1,525 individuals with a risk for chronic Q fever in pre-vaccination screening. IFN- $\gamma$  production was measured after *in vitro* stimulation of whole blood with *C. burnetii* antigens. Different formats using different *C. burnetii* antigens were tested.

In all formats and with all tested *C. burnetii* antigens, the specific IFN- $\gamma$  production was higher ( $p < 0.0001$ ) in seropositive or ST-positive subjects than in seronegative and ST-negative subjects. Stimulation with *C. burnetii* Nine Mile for 24 hours showed optimal performance. After exclusion of subjects with equivocal serology and/or borderline ST results, IFN- $\gamma$  production was  $449 \pm 82$  pg/mL in the positive individuals ( $n = 219$ ) and  $21 \pm 3$  pg/mL in the negatives ( $n = 908$ ). Using Bayesian analysis, sensitivity and specificity at a IFN- $\gamma$  cut-off value of 32 pg/mL were 87.0% and 90.2% respectively, similar to the combination of serology and ST (83.0% and 95.6%). Agreement with the combination of serology and ST was moderate (84% concordance,  $\kappa = 0.542$ ).

In conclusion, specific IFN- $\gamma$  production is a promising diagnostic tool for Q fever and performs in the pre-vaccination setting at least as good as the combination of serology and ST. Studies to investigate the value in patient care are ongoing.

### No added value of performing ZN on auramine positive direct smears of respiratory samples for the detection of TB and exclusion of NTM

A.L. den Hertog<sup>1</sup>, S. Daher<sup>1</sup>, M. Straetemans<sup>1</sup>, M. Scholing<sup>2</sup>, R.M. Anthony<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Royal Tropical Institute (KIT), KIT Biomedical Research, Amsterdam, <sup>2</sup>Public Health Laboratory, Municipal Health Service (GGD), Amsterdam

There is a push to switch from Ziehl-Neelsen (ZN) to auramine microscopy to detect tuberculosis (TB). Despite WHO guidelines that one staining method is sufficient, the Dutch guidelines for laboratory diagnosis of TB prescribe that all auramine positive samples should be confirmed with ZN. We investigated the added value of performing ZN to confirm auramine positive respiratory samples. Using diagnostic data from 10 276 respiratory samples tested for TB at the Municipal Health Service of Amsterdam between May 2006 and October 2011 we determined the diagnostic

accuracy of auramine alone and after confirmation of auramine positive samples by ZN. Culture results of liquid and solid media, confirmed by TB PCR and non-tuberculosis mycobacteria (NTM) Line Probe Assay were used as gold standard. Confirming auramine positive samples with ZN staining from 5525 patients provided no clinically relevant information. Of the 141 TB complex positive samples detected by auramine on which ZN was subsequently performed, 32 (22.7%) were negative by ZN. In addition in 19 of 25 samples (76%) containing NTM species detected by auramine were positive by ZN. Confirming auramine positive samples with ZN in this setting appears to be a waste of resources as a positive auramine result followed by a negative ZN result could not be used to exclude TB or indicate the presence of NTM species.

### Adequacy of the recommended and actually prescribed antibiotic therapy for complicated urinary tract infections: effectiveness of a national guideline

V. Spoorenberg<sup>1</sup>, J.M. Prins<sup>1</sup>, E.E. Stobberingh<sup>3</sup>, M.E.J.L. Hulscher<sup>2</sup> and S.E. Geerlings<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Internal Medicine, Division of Infectious Diseases, Centre for Infection and Immunity Amsterdam, Academic Medical Centre, Amsterdam, <sup>2</sup>Scientific Institute for Quality of Healthcare, Radboud University Nijmegen Medical Centre, Nijmegen, <sup>3</sup>Department of Medical Microbiology, Care and Public Health Research Institute (CAPHRI), Maastricht University Medical Centre, Maastricht

In 2006 the Dutch Working Party on Antibiotic Policy published an evidence-based guideline for the treatment of complicated urinary tract infections (UTIs), with general recommendations and specific recommendations for patients with a urinary catheter. The baseline measurement of an implementation study (NTR1742) provided us the opportunity to investigate the adequacy of the guideline-recommended treatment options and the actually prescribed antibiotic therapy one to two years after publication of the guideline.

Included were 810 patients with a complicated UTI without special conditions and 174 patients with a urinary catheter. The susceptibility patterns of the cultured uropathogens were compared with the guideline-recommended treatment options and the actually prescribed empirical treatment. We considered inadequate treatment rates below 10% as acceptable.

Of the recommended therapy options for complicated UTIs in patients without other conditions, only the combination of amoxicillin and gentamicin was acceptable (inadequate treatment rate below 10%). Inadequate treatment rates of the recommended regimens for patients with a catheter ranged from 3-24%. Had these patients been treated with the general recommended therapy for patients without other conditions, inadequate treatment rates were for most

regimens above 30%. While presented in the guideline as being equal first choice options, in daily practice there was a preference for some recommended options and the avoidance of others.

This study shows that in the dynamic field of continuously changing bacterial resistance rates regular real-life assessments of recommended treatment options are necessary. The results endorse specific recommendations for patients with a urinary catheter in place.

### Evaluation of a tailored hepatitis B vaccination program for injecting drug users in the Netherlands

A.T. Urbanus, P.M. van Beek, J.H.T.C van den Kerkhof, A. Timen

Centre for infectious Diseases (CIb) National Institute for Public Health and the Environment (RIVM), Bilthoven

**Background:** In 2002, the Netherlands introduced a free hepatitis B (HBV) vaccination program targeted at behavioral risk groups (gay men, sex workers and injecting drug users – IDUs) since universal vaccination was not current policy in the Netherlands yet. Here we evaluate the participation of IDUs in this program.

**Methods:** Vaccination is given at 0, 1 and 6 months at the public health services (PHS) or at outreach locations (e.g. methadone programs). Screening of antiHBc is performed along with the first vaccination. When antiHBc is positive the vaccination schedule stops. Participation and compliance are stimulated by the use of targeted media and vaccination is registered in an online tool.

**Results:** From 2002-2011, 17,860 drug users (mean age 37, range 12-76) received at least one HBV vaccination. Overall compliance with the second and third vaccination is 81% and 58% respectively. The number of IDUs decreased from 3609 in 1999 to 1871 in 2008. Only 0.2% (3/1383) of the acute HBV infections were transmitted by IDU. It was estimated that 28% of the total IDU population completed the vaccination schedule. In total 0.7% IDUs were diagnosed with chronic HBV-infection (HBsAg positive) and 11.7% had ever acquired HBV-infection (antiHBc positive).

**Conclusion:** The vaccination program for IDUs is successful; the number of acute HBV infections has decreased. Besides, the number of IDUs has decreased as well. Therefore a collective vaccination program for this group is not efficient anymore. From 2013 vaccination of IDUs is considered individual care.

### Mouth masks prevent persistent carriage of livestock-associated MRSA in pig farmers: a prospective cohort study

B.A.G.L. van Cleef<sup>1,2,3</sup>, B.H.B. van Benthem<sup>1</sup>, M.F.Q. Kluytmans-van den Bergh<sup>3</sup>, E. Verkade<sup>2,3</sup>, M. van Rijen<sup>3</sup>, J.A.J.W. Kluytmans<sup>2,3,4</sup>

<sup>1</sup>Centre for Infectious Disease Control Netherlands, RIVM National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven, <sup>2</sup>Laboratory for Medical Microbiology and Immunology, St. Elisabeth Hospital, Tilburg, <sup>3</sup>Laboratory for Microbiology and Infection Control, Amphia Hospital, Breda, <sup>4</sup>Department of Medical Microbiology and Infection Control, VU University Medical Centre, Amsterdam

Since 2005 pigs and veal calves have been recognized as a source for livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (LA-MRSA). Carriage rates in pig and veal farmers are very high (20-40%) compared to the general Dutch population (0.1%). The aim of this prospective cohort study was to further elucidate the dynamics and determinants of LA-MRSA carriage in pig farmers. In total, 110 pig farmers from 50 Dutch pig farms were included in the study. Nasal and pharyngeal samples and questionnaires were collected on 6 sampling moments during a one-year follow-up period. The mean MRSA prevalence per sampling moment was 63%, 38% of pig farmers were persistently carrying MRSA. Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) nasal carriage was a significant protective factor for the acquisition of MRSA (prevalence ratio (PR) 0.47, p-value 0.02). Multivariate analysis identified intense pig contact, i.e. working in the stables for more than 40 hours per week (PR 1.89, p 0.01), and working with sows (PR 2.26, p 0.03), and being of medium age (40-49 years, PR 2.13, p 0.00) as independent risk factors for persistent carriage of MRSA. The continuous use of a mouth mask when working in the stables was a statistically significant protective factor that prevented 87% of persistent MRSA carriage (PR 0.13, p 0.02). This cohort study shows that MSSA carriage protects pig farmers from acquiring LA-MRSA and that using a mouth mask during stable work prevents LA-MRSA to become persistent. We recommend to perform intervention studies on the use of mouth masks in pig farming.

### Livestock-associated MRSA in household members of pig farmers: a prospective cohort study

B.A.G.L. van Cleef<sup>1,2,3</sup>, B.H.B. van Benthem<sup>1</sup>, M.F.Q. Kluytmans-van den Bergh<sup>3</sup>, E. Verkade<sup>2,3</sup>, M. van Rijen<sup>3</sup>, J.A.J.W. Kluytmans<sup>2,3,4</sup>

<sup>1</sup>Centre for Infectious Disease Control Netherlands, RIVM National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven, <sup>2</sup>Laboratory for Medical Microbiology and Immunology, St. Elisabeth Hospital, Tilburg, <sup>3</sup>Laboratory for Microbiology and Infection Control, Amphia Hospital, Breda, <sup>4</sup>Department of Medical Microbiology and Infection Control, VU University Medical Centre, Amsterdam

Since 2005 pigs and veal calves have been recognized as a source for livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (LA-MRSA). Reported prevalences

in household members of pig- and veal farmers are lower than those in farmers themselves (4-8% versus 20-40%), but substantially higher than in the general Dutch population (0.1%). The aim of this prospective cohort study was to further elucidate the dynamics and determinants of LA-MRSA carriage in household members of pig farmers. In total, 171 household members living on 50 Dutch pig farms were included in the study. On six sampling moments in a one-year period, repeated human and environmental samples were taken, and questionnaires were completed. The mean MRSA prevalence in household members per sampling moment was 10%, 4% of household members were persistently carrying MRSA. All stables, 63% of the home environments, and 74% of dogs were MRSA-positive. Multivariate analysis identified working in the stables (prevalence ratio (PR) 2.11 per 10 hours per week, p-value 0.00), working with sows (PR 1.97, p 0.00), and presence of an MRSA-positive pig farmer (PR 4.62, p 0.02) as independent risk factors for a MRSA positive sample during the study. Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) nasal carriage was a significant protective factor (PR 0.50, p 0.02). This cohort study shows that MSSA carriage protects household members of pig farmers from MRSA acquisition, and that contact with pigs and MRSA positive pig farmers are the most important risk factors. Whether human-to-human transmission occurs, or LA-MRSA acquisition is always due to animal contact, remains to be disclosed.

### Livestock-associated MRSA does not add substantially to the disease-burden caused by *Staphylococcus aureus*

B.A.G.L. van Cleef<sup>1,2</sup>, B.H.B. van Benthem<sup>1</sup>, A.P.J. Haenen<sup>1</sup>, J. Monen<sup>1</sup>, T. Bosch<sup>1</sup>, J.A.J.W. Kluytmans<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Centre for Infectious Disease Control Netherlands, RIVM National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven, <sup>2</sup>Laboratory for Medical Microbiology and Infection Prevention, St. Elisabeth Hospital, Tilburg, <sup>3</sup>Department of Medical Microbiology and Infection Control, VU University Medical Centre, Amsterdam

We describe the incidence of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (LA-MRSA) bacteraemia compared to bacteraemia with other MRSA variants and all *S. aureus*. This shows the limited burden of disease caused LA-MRSA.

MRSA is a worldwide problem in both hospitals and communities all over the world. Since 2005 a new MRSA clade has emerged, with a reservoir in pigs and veal calves: LA-MRSA. We wanted to estimate the current incidence of invasive infections due to LA-MRSA using the national antibiotic resistance surveillance system ISIS-AR from the

year 2009 in the Netherlands. We found a low incidence of LA-MRSA bacteraemia episodes, compared to bacteraemias caused by MRSA in general or all *S. aureus* (0.04, 0.18 and 19.3 episodes of bacteraemia per 100,000 inhabitants per year, respectively). Our findings show that the disease-burden of MRSA, including LA-MRSA, is very low (approximately 1%) compared to the total burden of disease caused by *S. aureus*. This may be explained by a combination of reduced virulence of the strain involved, the effectiveness of the search and destroy policy for MRSA in the Netherlands and the good health status of the population that is affected with LA-MRSA. At present the impact of MRSA, including LA-MRSA, for the Dutch population is very limited.

### Prevalentie van *Staphylococcus aureus*-neusdragerschap bij chirurgen en chirurgen in opleiding in Nederland

J.L.A. van Vugt<sup>1</sup>, R.J.S. Coelen<sup>1</sup>, J.P.M. Derikx<sup>1,3</sup>, D.W. van Dam<sup>2</sup>, J.H.M.B. Stoot<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Afdeling Chirurgie, Orbis Medisch Centrum, Sittard, <sup>2</sup>afdeling Medische Microbiologie, Orbis Medisch Centrum, Sittard, <sup>3</sup>afdeling Chirurgie, Maastricht Universitair Medisch Centrum, Maastricht

*Staphylococcus aureus*-neusdragerschap bij patiënten is een bekende bron voor post-operatieve wondinfecties. Het is onbekend in welke mate *S. aureus* neusdragerschap bij zorgverleners bijdraagt aan post-operatieve wondinfecties. Doel van deze studie was om het percentage *S. aureus*-neusdragerschap bij een grote groep chirurgen en chirurgen in opleiding in Nederland te beschrijven.

Tijdens de Chirurgendagen in mei 2012 werden chirurgen (n = 216) en chirurgen in opleiding (n = 148), 256 mannen en 108 vrouwen, vrijwillig gescreend op *S. aureus*-neusdragerschap. De controlegroep bestond uit patiënten regulier gescreend op *S. aureus*-neusdragerschap (n = 1990).

De prevalentie van *S. aureus*-neusdragerschap onder chirurgen (in opleiding) bedroeg 45,1%, hetgeen significant hoger was dan in onze controlegroep (27,1%, p < 0,001). Mannelijke chirurgen in opleiding (49,4 %) en mannelijke chirurgen met 0-10 jaar ervaring (60,0 %) hadden het hoogste percentage *S. aureus*-neusdragerschap. De laagste percentages *S. aureus*-neusdragerschap werden gevonden bij vrouwelijke chirurgen meer dan 10 jaar praktiserend (25,0 %) en mannelijke chirurgen meer dan 20 jaar praktiserend (34,9 %).

Concluderend laat deze studie zien dat *S. aureus*-neusdragerschap in Nederland bij chirurgen (in opleiding) in 45,1 % voorkomt, significant hoger dan de controlegroep, met de hoogste percentages bij mannelijke chirurgen met 0-10 jaar ervaring en mannelijke chirurgen in opleiding.

## Prevalence in the Netherlands of OXA-48 producing *E. coli* and *K. pneumoniae* with meropenem MICs below the screenbreakpoint of the Dutch carbapenemase guideline

K. van Dijk<sup>1,2</sup>, J. Scharringa<sup>2</sup>, A.C. Fluit<sup>2</sup>, J.M. Ossewaarde<sup>3</sup>, A. van der Zee<sup>3</sup>, M. A. Leverstein-Van Hall<sup>4,5</sup>, H.A. Bijlmer<sup>4</sup>, M.J.M. Bonten<sup>2</sup>, J.W.T. Cohen Stuart<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Microbiology, Academic Medical Center, Amsterdam, <sup>2</sup>Department of Medical Microbiology, University Medical Center Utrecht, Utrecht, <sup>3</sup>Department of Medical Microbiology, Maastricht Hospital, Rotterdam, <sup>4</sup>Centre for Infectious Disease Control, National Institute for Public Health and the Environment (RIVM), Bilthoven, <sup>5</sup>Department of Medical Microbiology, Bronovo Hospital, the Hague

In a recent outbreak of OXA-48 producing Enterobacteriaceae, 56% of *E. coli* and 25% of *K. pneumoniae* were screen negative according to the Dutch detection guideline (meropenem  $\leq 0.25$  mg/L and imipenem  $\leq 1$  mg/L). All isolates had ertapenem MICs  $\geq 0.5$  mg/L. Aim of this study was to estimate the prevalence in the Netherlands of screen negative OXA-48 producing *E. coli* and *K. pneumoniae* in non-outbreak settings.

All 9 Dutch laboratories using Phoenix<sup>TM</sup> systems were asked to send *E. coli* and *K. pneumoniae* isolates with meropenem MICs  $\leq 0.5$  mg/L and ertapenem MICs  $\geq 0.5$  mg/L collected between January 1st 2011 and March 1st 2012. Species identification was confirmed by Maldi-ToF, and OXA-48 PCR was performed in isolates with ertapenem MIC  $\geq 0.5$  mg/L, confirmed by Etest.

In total, 448 isolates matched the inclusion criteria. Of these, 97 were available. Twenty-one isolates were excluded because of contamination or species misidentification, leaving 76 isolates (13 *K. pneumoniae* and 63 *E. coli*), in which ertapenem MIC  $\geq 0.5$  mg/L was confirmed in 16. Of these, 2 *E. coli* isolates produced OXA-48 plus an ESBL, and meropenem MICs were  $\leq 0.25$  mg/L by Etest. Both patients had recently traveled to the Mediterranean basin. By extrapolation using ISIS-AR data, 29 (95%-CI: 18-40) OXA-48 producing *E. coli* and no *K. pneumoniae* would have been missed in 2011 in the Netherlands (1 per 1-2 laboratories).

In conclusion, with the current carbapenemase detection guideline, the estimated number of undetected OXA-48 producing *E. coli* and *K. pneumoniae* is around 29 per year in the Netherlands.

## Negative rtPCR of sputum and oropharyngeal wash specimens cannot rule out diagnosis of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia

J. van Ingen<sup>1</sup>, T. Arens<sup>1</sup>, J. Hopman<sup>1</sup>, P.D.J. Sturm<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Microbiology, Radboud University Nijmegen Medical Centre, Nijmegen

*Pneumocystis jirovecii* pneumonia (PJP) is a potentially fatal opportunistic infection that requires invasive sampling of the lower airways by broncho-alveolar lavage (BAL) and detection of *Pneumocystis jirovecii* for diagnosis. A noninvasive rule-out test to be performed in upper airway specimens would be clinically useful.

To assess their potential as rule-out tests for PJP, we performed real-time PCR (rtPCR) analysis of paired samples of sputum and/or oropharyngeal wash fluid and BAL fluid of 47 patients with a high clinical suspicion of PJP, evaluated between January 2009 and January 2011. A positive rtPCR in BAL was used as a gold standard for disease.

Seventeen patients had a positive rtPCR for *Pneumocystis jirovecii* in BAL fluid. rtPCR of sputum samples (n = 17) showed a sensitivity of 88%, specificity of 78%, positive predictive value (PPV) of 78% and negative predictive value (NPV) of 88%. rtPCR of oropharyngeal wash fluid (n = 34) revealed a sensitivity of 57%, specificity of 90%, PPV of 57% and NPV of 75%.

Three out of six rtPCR-positive BAL samples of patients with rtPCR-negative oropharyngeal wash samples were positive by immunofluorescence. The sole rtPCR-positive BAL sample of which the paired sputum sample was negative was negative by immunofluorescence.

In conclusion, the NPVs are insufficient to use rtPCR of sputum or oropharyngeal wash samples as a rule-out test in the clinical diagnosis of PJP, using the current gold standard. Applying stricter criteria for diagnosis, including positive immunofluorescence, rtPCR of sputum may be of value as a rule-out test.

## As of yet unexplained supraregional emergence of cryptosporidiosis in the Netherlands

P.C. Wever<sup>1</sup>, I.T.M.A. Overdeest<sup>2</sup>, B. Mulder<sup>3</sup>, T.G. Mank<sup>4</sup>, M.H.A. Hermans<sup>5</sup>, J. Roelfsema<sup>6</sup>, J.G. Kusters<sup>7</sup>, J.W. Dorigo-Zetsma<sup>8</sup>, M. Deege<sup>9</sup>, L.M. Kortbeek<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Microbiology and Infection Control, Jeroen Bosch Hospital, 's-Hertogenbosch, <sup>2</sup>Laboratory for Medical Microbiology and Immunology, St. Elisabeth Hospital, Tilburg, <sup>3</sup>Laboratory of Medical Microbiology Twente Achterhoek, Enschede, <sup>4</sup>Regional Laboratory for Medical Microbiology & Public Health, Haarlem, <sup>5</sup>Molecular Diagnostics, Jeroen Bosch Hospital, 's-Hertogenbosch, <sup>6</sup>Center for Infectious Disease Control Netherlands, Laboratory for Infectious Diseases and Perinatal Screening, RIVM, Bilthoven, <sup>7</sup>Department of Medical Microbiology, University Medical Center Utrecht, Utrecht, <sup>8</sup>Department of Medical Microbiology, Tergooiziekenhuizen, Hilversum/Almere, <sup>9</sup>SALTRO, Primary Health Care Laboratory, Utrecht

Cryptosporidiosis is a seasonal gastrointestinal illness caused by protozoa of the genus *Cryptosporidium*. From



week 31 onwards an increase in the number of cryptosporidiosis cases was observed in the 's-Hertogenbosch area. In a 7-week period (weeks 31-37), 43 patients were identified with stools that were PCR positive for *Cryptosporidium* spp. (median Ct value 28.1, range 19.1-37.5). In 2011, 3 patients with positive stools were detected in the same period. Of the 43 patients, 63.4% were female, while 39.5% of patients were aged 0-5 years, 11.6% 6-10 years, 7.0% 11-18 years, 41.9% 19-65 years and 0.0% > 65 years. Although there were 6 groups of  $\geq 2$  patients with identical four digit postal codes, geographic clustering was not apparent. Stool diagnostics of 37 patients were requested by 30 family physicians and the remainder by hospital pediatricians. Significant co-infections were identified in 20.1% of patients (*Giardia lamblia* (6x), *Campylobacter lari*, *Salmonella* spp., human parechovirus/enterovirus). A recent visit abroad was listed for 14.0% of patients. Similar signals were subsequently received from Tilburg/Breda/Roosendaal (5.8% and 7.8% of stool samples *Cryptosporidium* positive in August and September 2012 versus 1.5% and 1.4% in August and September 2011), Hilversum/Almere, Utrecht, Enschede, Groningen and Friesland. Ninety-one positive stools referred to the RIVM from 's-Hertogenbosch, Hilversum/Almere, Utrecht, Haarlem and Enschede were subtypable using GP60 analysis and identified as containing *Cryptosporidium hominis* IbA10G2 in 75 (82.4%) of cases. *C. hominis* exists only in a human-to-human transmission cycle. As of yet, a cause for this increase has not been identified.

### The diagnostic value of real-time PCR in the diagnosis of acute Q fever infections

C.C.H. Wielders<sup>1,2</sup>, P.C.A. Wijnbergen<sup>1,3</sup>, J.J.A. Schellekens<sup>4</sup>, P.M. Schneeberger<sup>1</sup>, P.C. Wever<sup>1</sup>, M.H.A. Hermans<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Microbiology and Infection Control, Jeroen Bosch Hospital, 's-Hertogenbosch, <sup>2</sup>Centre for Infectious Disease Control, National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven, <sup>3</sup>University of Western Ontario, London, Ontario, Canada, <sup>4</sup>Molecular Diagnostics, Jeroen Bosch Hospital, 's-Hertogenbosch

PCR is very effective in diagnosing acute Q fever at the early stages of infection, when the bacterium is present in the bloodstream but antibodies have not yet developed. PCR starts to become negative as IgM phase II antibodies appear (approximately 14 days after onset of symptoms), at which point serology becomes a more useful diagnostic tool. The objective of this study was to determine the diagnostic value of real-time PCR in diagnosing acute Q fever. In 2009, 3043 patients had PCR for *Coxiella burnetii* DNA performed on at least one serum sample at the Jeroen Bosch Hospital. After excluding requests from external laboratories and PCR tests to check for chronic infection,

2715 patients remained. A positive/low positive/ambiguous PCR result (defined as positive) was found in 385 patients, while 2330 patients tested negative. To calculate sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV), we analysed patients with a negative PCR and a follow-up sample within 14 days (n = 316), and PCR positive patients with at least one follow-up sample (n = 372). Based on immunofluorescence assay results we assessed whether the PCR result was correct or incorrect. Sensitivity was 92.3%, specificity 99.0%, PPV 99.2%, and NPV 90.2%. When Ct values during acute infection were investigated, we found that 5/7 patients who later developed possible/probable/proven chronic Q fever infection were observed among the 10 lowest Ct values during the acute infection. Thus, PCR is a valuable tool in the diagnosis of acute Q fever.

### Evaluation of the EUCAST guidelines 2011 on amoxicillin-clavulanate susceptibility testing in *Escherichia coli* in the routine clinical setting

M.A. Leversteijn-van Hall, K. Waar, J. Muilwijk, J. Cohen Stuart on behalf of the ISIS-AR study group

For susceptibility testing of Enterobacteriaceae to amoxicillin-clavulanate (amoxi-clav) with broth microdilution, CLSI recommends to use a fixed 2:1 ratio of amoxi-clav, while the new EUCAST guideline recommends a fixed 2 mg/L clavulanate concentration with increasing amoxicillin concentrations. For 3 Dutch laboratories previously using CLSI guidelines, a change to EUCAST guidelines resulted in an 58% increase (19.5% in 2010; 30.8% in 2011) of amoxi-clav non-susceptible rates for clinical *E. coli* isolates. The increased amoxi-clav resistance was a direct consequence of EUCAST implementation since 1) for the same strains no amoxicillin MIC increase was observed, 2) in the same period, no increase was observed of amoxi-clav resistance rates in 17 laboratories still using CLSI, 3) the same degree of increase in resistance rate was observed in all 3 laboratories that implemented the new method.

Of 319 clinical *E. coli* isolates that were resistant to amoxi-clav based on automated microdilution (Phoenix using EUCAST compliant UNMIC-85 card), 43% tested amoxi-clav susceptible using the EUCAST disc diffusion method, and 37% tested susceptible with Etest. However, the evaluation of the clinical outcome of 89 patients with *E. coli* sepsis in relation with the susceptibility results showed that the EUCAST method of testing had a better correlation between clinical response and measured MICs than the CLSI method based Etest. Clinical failure was associated with the occurrence of major errors by the Etest (Etest susceptible and Phoenix resistant (N)/ all isolates (N)) in the test result (20% (7/34) vs 5% (3/55); p = 0.04).

## PROMOTIES

### 30 augustus 2012 S.J. van Beurden

Molecular characterization of the alloherpesvirus anguillid *herpesvirus 1*

Promotor: prof. dr. P.J.M. Rottier

Copromotores: dr. ir. M.Y. Engelsma en dr. B.P.H. Peeters  
Universiteit Utrecht (UU), Departement Infectieziekten en Immunologie, afd. Virologie

### 19 september 2012 F.M. Verduyn Lunel

Epidemiology and diagnosis of invasive Candidiasis

Promotores: prof. dr. P.E. Verweij, prof. dr. A. Voss

Copromotor: dr. J.P. Donnelly

UMC St. Radboud Nijmegen (UMCN), afd. Medische Microbiologie

### 12 oktober 2012 Rashid Nazir

The ecological success of *Burkholderia terrae* BSo01 and related strains in the mycosphere

Promotor: J.D. van Elsas

Copromotor: J.A. Warmink

Rijksuniversiteit Groningen, afd. Microbiële Ecologie

### 19 oktober 2012 M.D. Thedja

Genetic Diversity of *Hepatitis B Virus* in Indonesia:

Epidemiological and Clinical Significance

Promotores: prof. dr. J. Verhoef (emeritus), prof. dr. A.I.M.

Hoepelman, prof. dr. G. Marzuki

Copromotor: dr. D. Handojo Muljono

UMC Utrecht (UMCU), afd. Klinische Microbiologie

### 29 oktober 2012 E. Mavridou

Azole resistance and virulence of *Aspergillus fumigatus*: implications for treatment. Ways to annihilate a modern Lernaean hydra

Promotores: prof. dr. P.E. Verweij, prof. dr. J.W. Mouton

Copromotor: dr. J.G. Melchers

UMC St Radboud Nijmegen (UMCN), afd. Medische Microbiologie

### 7 november 2012 H. Gradstedt

*Streptococcus pneumoniae* and the host cell

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

Copromotor: dr. J.J.E. Bijlsma

UMC Groningen (UMCG), afd. Medische Microbiologie

### 7 november 2012 T. Kamphuis

A virosomal respiratory syncytial virus vaccine candidate with a Toll-like receptor ligand as built-in adjuvant

Promotor: prof. dr. J.C. Wilschut

Copromotores: dr. A.J.H. Stegman, dr. A. de Haan  
UMC Groningen (UMCG), afd. Medische Microbiologie: Moleculaire Virologie

### 16 november 2012 J.E.M. de Steenwinkel

PREDICT TB, Prevention of Resistance, Evaluation of

Diagnosics and Intensified or Custom-made Treatment of Tuberculosis

Promotor: prof. dr. H.A. Verbrugh

Copromotor: dr. I.A.J.M. Bakker-Woudenberg

Erasmus MC Rotterdam, afd. Medische Microbiologie en Infectieziekten

### 29 november 2012 G.R.J.L. Gaajetaan

Limiting viral infections with immunomodulating agents

Promotor: prof. dr. C.A. Bruggeman

Co-promotor: dr. F.R.M. Stassen

Maastricht UMC (MUMC), afd. Medische Microbiologie

### 3 december 2012 C.G. Monteferrante

The twin-arginine translocation network of *Bacillus subtilis*

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

UMC Groningen (UMCG), afd. Medische Microbiologie

### 29 november 2012 G.R.J.L. Gaajetaan

Limiting viral infections with immunomodulating agents

Promotor: prof. dr. C.A. Bruggeman

Copromotor: dr. F. Stassen

Maastricht Universitair Medisch Centrum (MUMC), Afdeling Medische Microbiologie

### 12 december 2012 N. van Braeckel-Budimir

Towards a cross-protective influenza vaccine

Promotores: prof. dr. J.C. Wilschut, prof. dr. A.L.W. Huckriede

Copromotor: dr. A. de Haan

UMC Groningen (UMCG), afd. Medische Microbiologie: Moleculaire Virologie

## ORATIES

**21 september 2012**    **prof. dr. A. Verbon**

Hoogleraar Inwendige Geneeskunde, in het bijzonder  
Infectieziekten

Titel oratie: “Antibiotica: wondermiddel of total loss?”  
Erasmus MC Rotterdam, afd. Inwendige Geneeskunde

**6 november 2012**    **prof. dr. A.L.W. Huckriede**

Hoogleraar met leeropdracht Vaccinologie

Titel oratie: “Towards rational vaccine design”  
Universitair Medisch Centrum Groningen (UMCG),  
afd. Medische Microbiologie: Moleculaire Virologie

**7 december 2012**    **prof. dr. C.J.P.A. Hoebe**

Bijzonder hoogleraar Infectious Disease Control.

Titel oratie: “Infectieziektebestrijding 2.0: nieuwe wegen,  
nieuwe kansen.”

Maastricht Universitair Medisch Centrum (MUMC),  
afd. Medische Microbiologie

## AFSCHEIDSREDES

**6 september 2012**    **prof. dr. C.A. Bruggeman**

hoogleraar Medische Microbiologie, i.h.b. de virologie  
Titel afscheidscollege: De veranderende wereld van de  
medische microbiologie.

Maastricht Universitair Medisch Centrum (MUMC),  
afd. Medische Microbiologie

**9 november 2012**    **prof. dr. A.M. Deelder**

hoogleraar Parasitologie

Titel afscheidscollege: “Enabling technologies”  
Leids Universitair Medisch Centrum Leiden (LUMC),  
afd. Parasitologie

## AGENDA

### 15 januari 2013

#### **Nederlandse Werkgroep Klinische Virologie (NWKV)**

LUMC, Leiden  
Info: Annelies Riezebos-Brilman (secretaris),  
tel. 050-3616161, <http://www.nvmm.nl/nwkv>

### 14-17 februari 2013

#### **2nd International Conference on Controversies in Vaccination in Adults (CoVAC), CoVAC 2013**

München, Duitsland  
Info: [www.comtecmed.com/covac](http://www.comtecmed.com/covac), [covac@comtecmed.com](mailto:covac@comtecmed.com)

### 8 maart 2013

#### **Dutch Annual Virology Symposium 2013**

Het Trippenhuis, KNAW, Amsterdam  
Info: [www.uu.nl/vet/davs](http://www.uu.nl/vet/davs)

### 11 maart 2013

#### **Werkgroep Algemene Medische Microbiologie**

Antonius Ziekenhuis, Nieuwegein, aanvang 14.00 uur  
Info: Saskia Nijssen, [squaskia@gmail.com](mailto:squaskia@gmail.com), Rolf Vreede, [Vreede@rdgg.nl](mailto:Vreede@rdgg.nl)

### 16-17 april 2013

#### **Voorjaarsvergadering NVMM**

Papendal  
Info: <http://www.nvmm.nl/voorjaarsvergadering-2013>

### 16 april 2013

#### **Werkgroep Algemene Medische Microbiologie**

Papendal  
Info: Saskia Nijssen, [squaskia@gmail.com](mailto:squaskia@gmail.com), Rolf Vreede, [Vreede@rdgg.nl](mailto:Vreede@rdgg.nl)

### 27-30 april 2013

#### **23rd European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID)**

Berlijn  
Info: <http://www.congex.ch/eccmid2013/>

### 28 mei-1 juni 2013

#### **31st European Society for Pediatric Infectious Diseases (ESPID)**

Milaan  
Info: <http://espid.kenes.com/>

### 3 juni 2013

#### **Werkgroep Algemene Medische Microbiologie**

UMCN, Nijmegen, aanvang 14.00 uur  
Info: Saskia Nijssen, [squaskia@gmail.com](mailto:squaskia@gmail.com), Rolf Vreede, [Vreede@rdgg.nl](mailto:Vreede@rdgg.nl)

### 4 juni 2013

#### **Nederlandse Werkgroep Klinische Virologie (NWKV)**

MUMC, Maastricht  
Info: Annelies Riezebos-Brilman (secretaris),  
tel. 050-3616161, <http://www.nvmm.nl/nwkv>

### 11 juni 2013

#### **SKML congres: De Juiste Score**

Info: <http://www.skml.nl/organisatie/symposia-overzicht/skml-congres-2013>

### 24 augustus 2013

#### **27th International Congress of Pediatrics 2013 (ICP)**

Melbourne, Australia  
Info: [www.ipa-world.org/IPAcongress](http://www.ipa-world.org/IPAcongress)

### 23 september 2013

#### **Werkgroep Algemene Medische Microbiologie**

Antonius Ziekenhuis, Nieuwegein, aanvang 14.00 uur  
Info: Saskia Nijssen, [squaskia@gmail.com](mailto:squaskia@gmail.com), Rolf Vreede, [Vreede@rdgg.nl](mailto:Vreede@rdgg.nl)

### 11-14 oktober 2013

#### **6th Trends in Medical Mycology**

Kopenhagen  
Info: <http://www.TIMM2013.org>

### 19-22 november 2013

#### **8th World Congress on Pediatric Infectious Diseases**

Kaapstad, Zuid-Afrika  
Info: <http://w3.kenes-group.com/mailshot/congress/wspid2013/ms3.htm?ref3=db1>

## CURSUSAANKONDIGING NSPOH

### **Outbreakonderzoek**

Aan de hand van casestudies, afgewisseld met theorie, doorloopt u het onderzoekstraject van enkele outbreaks (klein en groot).

Doelgroep: artsen en sociaalverpleegkundigen werkzaam in de infectieziektebestrijding, bedrijfsartsen, huisartsen, dierenartsen en medisch microbiologen.

Data: dinsdag 5, 12, 19 en 26 maart 2013

Kosten: € 1540,00

Locatie: Amsterdam

Inlichtingen: tel. 020-4097000, e-mail: [info@nspoh.nl](mailto:info@nspoh.nl), [www.nspoh.nl](http://www.nspoh.nl)