

Toxinebepaling van corynebacteriën – wanneer, hoe en waarom?

Jorrit Hofstra, Frans Reubsaet, Daan Notermans, Bettie Voordouw

Introductie

Difterie was tussen de twee wereldoorlogen in Europa de belangrijkste doodsoorzaak in de leeftijdsgroep van 4 tot 10 jaar. Door grootschalige immunisatie tegen difterietoxine in nationale vaccinatieprogramma's is difterie in de Westerse wereld zeldzaam geworden. Toch is de ziekte niet helemaal weg, met incidentele infecties bij terugkerende reizigers en onverwachte bevindingen zonder reishistorie. Vaststellen of een *Corynebacterium diphtheriae*, *C. ulcerans* of *C. pseudotuberculosis* difterietoxine produceert is essentieel voor de juiste behandeling en voorzorgmaatregelen.

Casus

Een jonge vrouw presenteert zich na een reis naar Thailand en Indonesië met een niet genezende wond aan haar been. Uit een wondkweek wordt *C. diphtheriae* geïsoleerd, die in de difterietoxine-PCR bij IDS/RIVM positief is. Omdat zij ook keelklachten heeft besluit de GGD om in overleg met LCI en IDS contactonderzoek te starten en isolatiemaatregelen in te stellen.¹ De Elek-test (fenotypisch immunodiffusietest) blijkt vervolgens negatief te zijn.

Difterie

C. diphtheriae kan geïnfecteerd door een bacteriofaag een krachtig exotoxine produceren. De zoönotische *C. ulcerans* (runderen, paarden, honden, katten) en *C. pseudotuberculosis* (geiten, schapen) kunnen dit echter ook. Na besmetting volgt asymptomatisch dragerschap of een infectie die kan variëren van subklinisch beloop tot een snel fatale afloop. Afhankelijk van de lokalisatie onderscheidt men respiratoire (neus, keel, larynx) en cutane difterie. Niet-toxigene stammen van *C. diphtheriae* en *C. ulcerans* kunnen wel alle lokale ziekteverschijnselen veroorzaken, maar geven zeer zelden afwijkingen op afstand

(myocarditis, neuritis, acute tubulusnecrose).

Wanneer?

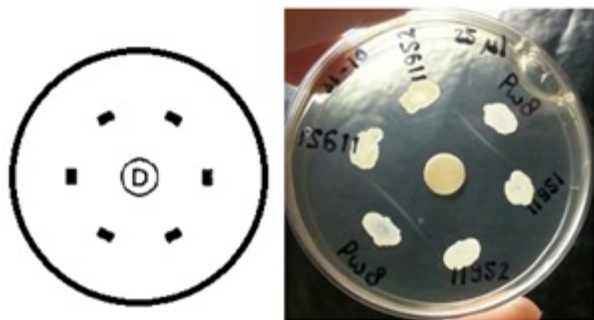
Difterie is een meldingsplichtige ziektegroep B1 wanneer de stam toxine produceert.² Als bij een patiënt met klinische verschijnselen van difterie een van de genoemde corynebacteriën is vastgesteld, is het belangrijk dat de toxinebepaling zo snel mogelijk wordt uitgevoerd. Indien deze positief is, moet dit binnen 24 uur worden gemeld bij de GGD³ (stroomschema).⁴ De GGD ontvangt echter graag een vooraanmelding bij een positieve kweek nog voordat de toxinebepaling is uitgevoerd. *C. diphtheriae* wordt betrouwbaar gedetermineerd door de MALDI-TOF. Voor *C. ulcerans* en *C. pseudotuberculosis* zijn aanvullende fenotypische testen voor nodig.

Hoe?

Het Clb-IDS kan toxinevorming aantonen via een toxinegen-PCR en een bevestiging met de Elek-test.⁵ Bij deze gemodificeerde Elek-test wordt op een speciaal Elek-medium het patiëntenisolaat samen met twee bekend positieve isolaten en één negatief isolaat op vaste plekken via een mal geïnoculeerd (*figuur 1*) en in het midden een geprepareerde disk met antitoxine (D). Indien toxine wordt geproduceerd diffundeert dit vanuit de bacterie in het medium, het antitoxine diffundeert vanaf de disk en in de zone van equivalentie

Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM), Centrum voor Infectieziekteonderzoek, Diagnostiek en laboratorium Surveillance, Bilthoven, dr. J. Hofstra, aios medische microbiologie, dr. F. Reubsaet, senior wetenschappelijk medewerker bijzondere bacteriële determinaties, dr. D. Notermans, arts-microbioloog, dr. A.C.G. Voordouw, arts-microbioloog. Correspondentieadres: dr. A.C.G. Voordouw (bettie.voordouw@rivm.nl).

Figuur 1. Mal voor de Elek-test.



waar [toxine]=[antitoxine] ontstaat een precipitatielijn (figuur 2). De PCR-uitslag, die het snelst bekend is, is leidend voor verdere melding aan de GGD. Kweken dienen bij voorkeur te worden ingestuurd op bloedagar. Omdat toxinepositieve en -negatieve stammen naast elkaar voorkomen is het belangrijk niet een zuivere kweek van één kolonie in te sturen maar meerdere verdachte kolonies op één plaat, of de oorspronkelijke kweek en/of kweken.

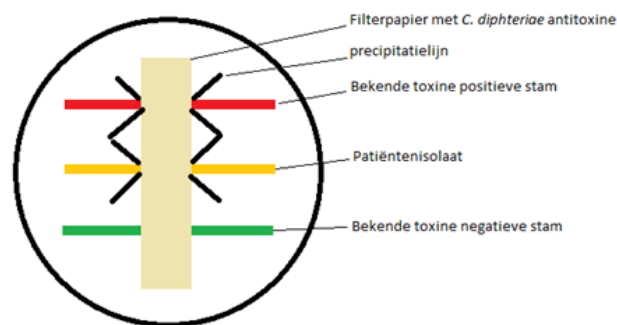
Waarom?

Bij verdenking van respiratoire *C. diphtheriae* met een toxigene stam moet voor de betrokkene druppelisolatie ingesteld worden tot de kweekuitslagen bekend zijn, en wordt bij contacten na afname van kweken profylaxe voorgeschreven en de vaccinatiestatus op peil gebracht. Bij cutane difterie zonder keeldragerschap wordt dit alleen bij wondcontacten gedaan en is contactisolatie aangewezen. Voor *C. ulcerans* en *C. pseudotuberculosis* is isolatie niet nodig maar is wel brononderzoek (diercontacten) noodzakelijk.

Hoewel het aantal aanvragen voor toxinebepaling beperkt is, lijkt er door de jaren een toenemende trend waar te nemen, mogelijk door introductie van de MAL-DITOF. Sinds 2001 betrof het 97 stammen (83 tussen 2011-2018), waarvan 17 toxine-PCR-positief waren. Bij zeven stammen werd toxineproductie bevestigd via de Elek-test (*C. ulcerans* (n = 4), *C. diphtheriae* (n = 3)).

Naast antibiotische behandeling (macrolide of penicilline) dient bij respiratoire difterie zo snel mogelijk te worden gestart met toediening van antitoxine. De indicatie hiervoor moet besproken worden met de LCI, waarna het te bestellen is bij het RIVM. In verband met verminderde penicillinegevoeligheid, vooral bij *C. ulcerans*, dient penicilline alleen gestart te worden na aangetoonde

Figuur 2. Elek-test met precipitatielijn.



gevoeligheid.²

Referenties

1. Tahiri K, van 't Veen A, van Rijckevorsel G, Reubsat F, Notermans DW, van Kessel R, Jaspers L. Dilemma's rond een bijzonder geval van huiddifterie. Infect Bull. 2019;30.
2. <https://lci.rivm.nl/richtlijnen/difterie>.
3. <https://www.rivm.nl/meldingsplicht-infectieziekten/welke-infectieziekten-zijn-meldingsplichtig>.
4. <https://www.rivm.nl/sites/default/files/2019-01/Folder%20Meldingsplicht%20jan%202019.pdf>.
5. ELEK SD. The recognition of toxicogenic bacterial strains in vitro. Br Med J. 1948;1:493-6.