

NEDERLANDS TIJDSCHRIFT VOOR MEDISCHE MICROBIOLOGIE

Van de redactie

Boekbespreking

De last van de drager; 30 columns over microbiologie, infectieziekten en openbare gezondheidszorg

Artikel

Cryptococcus neoformans en *Cryptococcus gattii*
T. Boekhout, F. Hagen

Scedosporium: een problematische groep schimmelinfecties
G.S. de Hoog

Moleculaire genotypering van *Aspergillus fumigatus*-isolaten
H.A. de Valk, J.F.G.M. Meis, C.H.W. Klaassen

Acute septische osteoarticulaire infecties bij kinderen: resultaten van een retrospectief onderzoek

I.B.Y. Tack, B.A. Semmekrot, P.M.V. van Wieringen, T.J.W. Fiselier,
J.F.G.M. Meis, G.P.J.M. Gerrits

Casuïstiek

Mucormycose tegenover aspergillose van de wang en/of sinus maxillaris?
Potentiële klinische gevolgen en de waarde van sneldiagnostiek

Ph.A. van Damme, K.J.A.O. Ingels, C. Boetes, S.S.N. de Graaf,
P.E. Verweij, E.H.M. Hartman

Rubrieken

Promoties
Personalialia
Agenda

2

advertentie C2

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 Vereniging.

NVMM-secretariaat

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

Redactie

Dr. A.M. Horrevorts, hoofdredacteur
Mw. Dr. I.A.J.M. Bakker-Woudenberg/
Dr. A. Fleer/Dr. T. van Gool/
J.A. Kaan/Mw. L.M. Kortbeek/
Dr. J.F.G.M. Meis/Dr. G.J.H.M. Ruijs/
Prof. dr. H.A. Verbrugh/H. Wertheim

Eindredactie

Mw. J. de Leeuw
Van Zuiden Communications B.V.
Postbus 2122, 2400 CC Alphen a/d Rijn
Telefoon (0172) 47 61 91, fax (0172) 47 18 82
E-mail ntm@zuidencomm.nl

Oplage

800 exemplaren, 4 x per jaar

Abonnementen

€ 35,00 per jaar voor niet-leden van de NVMM,
Europa € 42,50 per jaar, losse nummers € 10,20.
Opgave abonnementen: telefoon (0172) 47 61 91

Advertentie-exploitatie

Van Zuiden Communications B.V.
Telefoon (0172) 47 61 91



Auteursrecht en aansprakelijkheid

© Van Zuiden Communications B.V., 2005
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 auteurs verklaren dat deze uitgave op zorgvuldige wijze en naar beste weten is samengesteld; evenwel kunnen uitgever en auteurs op geen enkele wijze instaan voor de juistheid of volledigheid van de informatie.

Uitgever en auteurs 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 welke zijn gedeponereerd bij de Kamer van Koophandel te Amsterdam.

ISSN 0929-0176

Van de redactie	34
Boekbespreking	
De last van de drager; 30 columns over microbiologie, infectieziekten en openbare gezondheidszorg	34
Artikel	
<i>Cryptococcus neoformans</i> en <i>Cryptococcus gattii</i> T. Boekhout, F. Hagen	35
<i>Scedosporium</i> : een problematische groep schimmelinfecties G.S. de Hoog	38
Moleculaire genotypering van <i>Aspergillus fumigatus</i> -isolaten H.A. de Valk, J.F.G.M. Meis, C.H.W. Klaassen	40
Acute septische osteoarticulaire infecties bij kinderen: resultaten van een retrospectief onderzoek I.B.Y. Tack, B.A. Semmekrot, P.M.V. van Wieringen, T.J.W. Fiselier, J.F.G.M. Meis, G.P.J.M. Gerrits	44
Casuïstiek	
Mucormycose tegenover aspergillose van de wang en/of sinus maxillaris? Potentiële klinische gevolgen en de waarde van sneldiagnostiek Ph.A. van Damme, K.J.A.O. Ingels, C. Boetes, S.S.N. de Graaf, P.E. Verweij, E.H.M. Hartman	48
Rubrieken	
Promoties	51
Personalia	51
Agenda	52

Na een lange pauze in dit nummer weer eens aandacht voor het microbiologisch aandachtsgebied mycologie. Deze keer geen artikelen over *Candida* of diagnostiek van bekende opportunisten. We hebben gekozen om nieuwe ontwikkelingen en spraakmakende ontdekkingen uit enkele Nederlandse mycologische onderzoeksgroepen voor te stellen. Het eerste artikel verhaalt over de ontdekking van de 'tropische schimmel' *Cryptococcus gatti* als oorzaak van een uitbraak van meningitis bij mensen en dieren zonder afweerstoornis op Vancouver Island. Onderzoekers van het Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS) waren intensief betrokken bij deze ontdekking die recentelijk in de *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* werd gepubliceerd. Ook uit het CBS is het bericht over de opkomst van een wel zeer problematische groep van schimmels die steeds meer lijkt voor te komen. *Scedosporium*-soorten geven zelfs infecties bij immuuncompetente personen en erger: er zijn geen adequate antifungale middelen voorhanden om de soort *S. prolificans* te bestrijden. De Hoog heeft het initiatief genomen om onderzoek naar deze groep van schimmels in een Europese werkgroep onder te brengen. Het internationaal vermaarde CBS draagt aanzienlijk bij aan de voortrekkersrol die Nederland binnen Europa in de medische mycologie vervult. Nosocomiale aspergillose wordt geassocieerd met een invasieve infectie opgelopen in het ziekenhuis, meestal bij patiënten met verminderde weerstand. De vraag blijft alsmaar rondzingen of dit daadwerkelijk het geval is, omdat typeringsmethoden te ongevoelig zijn om *Aspergillus*-isolaten van een patiënt te associëren met omgevingsisolaten. De doorsnee persoon inhaleert elke dag gemiddeld 10 kubieke meter lucht al dan niet gecontamineerd met filamenteuze schimmels. Bewijsmateriaal dat een schimmelinfectie op een bepaalde plaats is opgelopen, zal met moleculaire typeringsmethoden moeten worden vergaard. In de USA lopen momenteel 10.000 rechtszaken die op een of andere manier zijn geassocieerd met schimmels en de vraag waar de veroorzaker van de problemen is opgelopen. De Valk en collegae geven een samenvatting van de tot nu toe bekende moleculaire typeringsmethoden en beschrijven een nieuwe, meer exacte methode, gebaseerd op repeterend voorkomende stukjes DNA in het *Aspergillus fumigatus*-genoom.

Tot slot raad ik u aan om de indrukwekkende casus te lezen over het kind met een hematologische maligniteit en een vlekje op de wang. Dit is naar mijn mening een fraaie illustratie van een multidisciplinair (zes betrokken specialismen) klinisch mycologisch vraagstuk.

Als we ons realiseren dat infecties met schimmels en gisten thans tot een van de meest frequente doodsoorzaken van immuungecompromitteerde patiënten kan worden gerekend, wordt duidelijk dat we in Nederland op de goede weg zijn. Het groeiende klinisch belang van mycologie wordt echter nog niet vertaald in de opleiding tot arts-microbioloog. Voor de medische mycologie is een cursus van slechts 15 schamele dagen vrijgemaakt, terwijl voor een ander aanpalend aandachtsgebied, de parasitologie, een stage van drie maanden verplicht is, naast cursussen. Medische mycologie is net als parasitologie, virologie, bacteriologie en infectiepreventie onlosmakelijk met het specialisme medische microbiologie verbonden.

Dr. J.F.G.M. Meis, arts-microbioloog, Canisius-Wilhelmina Ziekenhuis, afdeling Medische Microbiologie en Infectieziekten, Postbus 9015, 6500 GS Nijmegen.

BOEKBESPREKING

De last van de drager

30 columns over microbiologie, infectieziekten en openbare gezondheidszorg

Anno Lampe (1944) schrijft columns voor een medisch publiek. Vanwege de verfrissende kijk van de arts-microbioloog op zijn onderwerp en zeker ook de schrijfstijl waarin hij zijn onderwerp verpakt, verdienen de columns een bredere kring van lezers. Vandaar dat ze zijn gebundeld in een handzame pocket.

Bacteriën en virussen, wie heeft er niet mee te maken? Bijna dagelijks komen ze in het nieuws. Maar daarom zijn ze nog niet vertrouwd geworden. Zijn bacteriën en virussen ook ergens goed voor? Raakt de voorraad antibiotica echt

uitgeput? Hoe onderga je isolatie wegens besmettingsgevaar? Wat is MRSA en waarom moet je het bestrijden? Waarom zijn mensen tegen vaccinatie? Welke risico's zijn voor een leek wel en niet acceptabel? Dit soort vragen wordt besproken. Daarnaast valt te lezen wat Voltaire al wist over syfilis, hoe in de bijbel met miltvuur wordt bedreigd en hoe beeldend kunstenaar Bruce Nauman een bron van inspiratie kan zijn bij de bestrijding van infectieziekten.

De pocket is uitgegeven door Erasmus Publishing, Rotterdam 2004, ISBN 90-5235-175-9.

Cryptococcus neoformans en *Cryptococcus gattii*

T. BOEKHOUT, F. HAGEN

Cryptokokkose is de meest voorkomende levensbedreigende systemische schimmelinfectie bij HIV-geïnfekteerde mensen. Het betreft een soortencomplex waarvan de verschillende variëteiten behoren tot verschillende taxa, genotypen en serotypen. In Nederland is *Cryptococcus neoformans* serotype A met mating type alfa het meest algemeen. Een recente uitbraak van cryptokokkose op Vancouver Island (Canada) bleek te worden veroorzaakt door *Cryptococcus gattii*, die zowel immuuncompetente mensen als dieren kan infecteren.

Trefwoorden: *Cryptococcus*, Cryptokokkose, aids, epidemiologie, Vancouver Island-uitbraak

Inleiding

C. neoformans is een facultatieve mens- en dierpathogene gist die behoort tot de basidiomyceten (fungi). Isolaten van de gist kunnen worden geïsoleerd uit een grote verscheidenheid aan habitats, zoals vogeluitwerpselen en guano, insecten, bomen, lucht en gefermenteerde vruchtensappen.^{1,2} Waarschijnlijk is de primaire ecologische niche van de soort gerelateerd aan bomen,^{3,4} hoewel dat in Europa nog niet is vastgesteld. Hier is vooral het voorkomen van de gist in vogeluitwerpselen belangrijk, omdat deze een bron van besmetting kunnen zijn.^{2,5,6}

Gedurende de laatste jaren is duidelijk geworden dat *C. neoformans* in feite een soortencomplex betreft waarvan de verschillende variëteiten behoren tot verschillende taxa, genotypen en serotypen. PCR-*fingerprinting* en AFLP-analyse van een wereldwijd verzamelde collectie van isolaten heeft aangetoond dat er ten minste acht genotypen in het complex voorkomen.^{7,8} Een aantal van deze genotypen verschilt ook in klinische manifestatie. Genotypering en sequentie-analyse van een aantal genen en ribosomale DNA's hebben ertoe geleid dat *C. neoformans* variëteit *gattii* nu als een aparte soort, *C. gattii*, wordt opgevat.^{7,9} Mogelijk behoren ook de serotype D- (= *C. neoformans* variëteit *neoformans*) en de serotype A-stammen (= *C. neoformans* variëteit *grubii*) tot aparte soorten. Een extra bijzonderheid is verder het voorkomen van diploïde of aneuploïde hybriden tussen serotype A- en D-isolaten, de zogenaamde AD-hybriden, die klinisch vooral in Zuid-Europa van belang zijn.¹⁰ Onze huidige interpretatie is dat het hier steriele hybriden betreft die niet het resultaat zijn van seksuele recombinatie, maar het gevolg van interspecifieke conjugatie en karyogamie zonder dat reductiedeling en genetische recombinatie plaatsvindt. Er zijn aanwijzingen dat dergelijke hybriden mogelijk ook voorkomen tussen *C. gattii* en *C. neoformans* (M. Bovers en T. Boekhout, ongepubliceerde waarnemingen). Een belangrijke ontwikkeling is verder dat het genoom van twee serotype D-stammen is opgehelderd,¹¹ en dat momenteel wordt gewerkt aan de genoomanalyse van een serotype A-stam en van enkele variëteiten van *C. gattii*. Postgenomische benaderingen, zoals de ontwikkeling en toepassing van *micro arrays* ten behoeve van onderzoek naar virulentie en genomvariatie binnen het complex worden momenteel ontwikkeld.

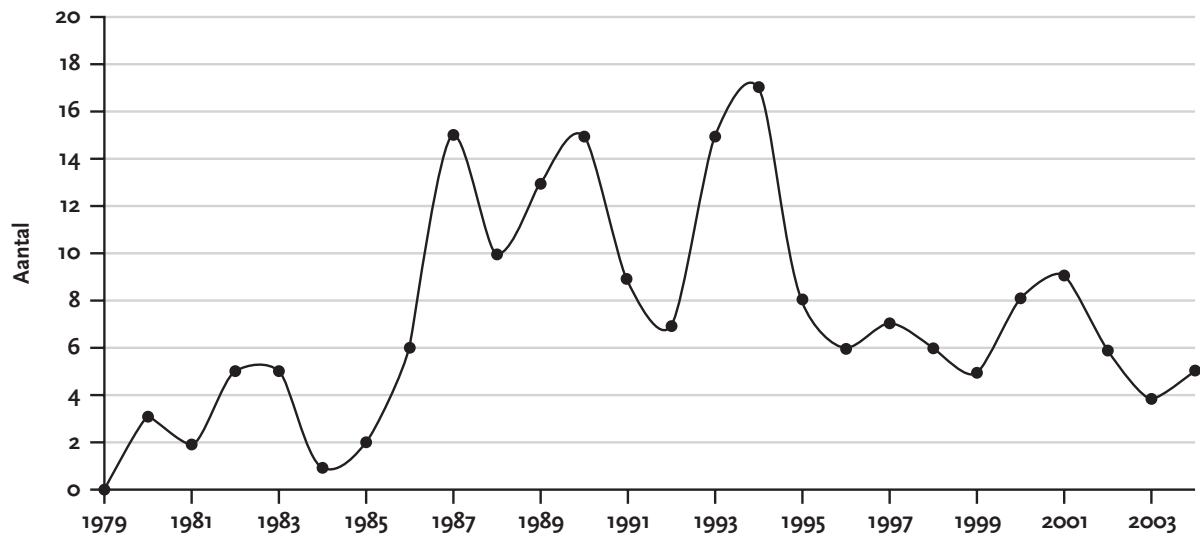
Cryptococcus en aids

Cryptokokkose is de meest voorkomende levensbedreigende systemische schimmelinfectie bij HIV-geïnfekteerde mensen.¹² De meest voorkomende klinische presentatie, gedissemineerde meningo-encefalitis, kent een fatale afloop indien behandeling met antimycotica achterwege blijft. Schattingen van UNAIDS/WHO laten zien dat in Afrika, voornamelijk ten zuiden van de Sahara (www.who.int/hiv; data 2002), meer dan 28 miljoen mensen met HIV zijn geïnfekteerd. Infectie met *C. neoformans* vormt voor deze HIV-geïnfekteerde populatie een aanzienlijk gezondheidsrisico. Tussen 1989 and 1998 is in Zuid-Afrika de incidentie van cryptokokkose verzesvoudigd, en in verreweg de meeste gevallen betreft het hier HIV-geïnfekteerden. In de provincie Gauteng (Zuid-Afrika, 9 miljoen inwoners) bedraagt de incidentie van *Cryptococcus*-infecties 13,8 per 100.000 inwoners, 18 per 100.000 inwoners boven de 15 jaar oud, en maar liefst 3.117 per 100.000 HIV-geïnfekteerde inwoners. Deze laatste categorie betreft voornamelijk (98%) jonge zwarte Zuid-Afrikanen,¹³ waarmee cryptokokkose in Afrika kan worden opgevat als een armoedegerelateerde infectieziekte, waarvoor helaas vanuit de politiek weinig belangstelling bestaat. Cynisch is dat behandeling goed mogelijk is, maar wegens financieel-economische ontwikkelingen en gebrek aan politieke wil achterwege blijft.

Cryptokokkose in Nederland

Op het Referentielaboratorium voor Bacteriële Meningitis aan het Academisch Medisch Centrum te Amsterdam wordt een collectie van *C. neoformans*-isolaten bewaard afkomstig van diverse Nederlandse klinische centra, die een periode bestrijkt van 1977 tot heden. In totaal zijn 193 isolaten getypeerd met behulp van AFLP en een mating- en serotypespecifieke PCR.¹⁴ De meeste isolaten waren afkomstig uit hersenvocht (77 procent), en in mindere mate uit bloed (15 procent) en overig lichaamsmateriaal (8 procent), zoals long- en botweefsel. De incidentie van cryptokokkose vertoonde een duidelijke stijging met de opmars van het HIV-virus in het begin van de jaren 80 van de vorige eeuw, maar na de introductie van de HAART-therapie is een duidelijke afname van het aantal *Cryptococcus*-infecties zichtbaar¹⁵ (figuur 1). De meeste isolaten behoren tot *C. neoformans* serotype A met mating type alfa (n=150), 19 zijn serotype D

Figuur 1. De ontwikkeling van cryptokokkose in Nederland gedurende de periode 1979 tot 2004. Het grootste aantal isolaten (n=99) was afkomstig van HIV-geïnfekteerden, 35 isolaten waren afkomstig uit immuungecompromiteerde patiënten, 17 van immuuncompetente patiënten en 42 hadden een onbekende klinische herkomst.



mating type alfa, twee serotype D mating type a, zes zijn AD-hybriden, één stam is een *C. gattii* (serotype B mating type alfa), drie isolaten betreffen mogelijke hybriden tussen *C. neoformans* en *C. gattii*, terwijl 13 isolaten niet konden worden getypeerd (F. Hagen, M. Bovers en T. Boekhout, ongepubliceerde waarnemingen). De grote meerderheid van isolaten (n=53) was afkomstig van mannen en 39 van vrouwen. De incidentie van cryptokokkose varieerde bij vrouwen gedurende de onderzochte periode tussen nul en vier gevallen per jaar, met een gemiddelde van 1,56 per jaar. Bij de mannen vertoonde de incidentie een sterke stijging tot 16 gevallen per jaar in 1994, met een gemiddelde van 6,1 per jaar. De hoogste aantallen kwamen voor in Amsterdam (n=77), Nijmegen (n=12), Rotterdam (n=9) en Utrecht (n=13).

Vancouver Island-uitbraak

Sinds 1999 is de incidentie van cryptokokkose op Vancouver Island, gelegen voor de westkust van Canada, sterk gestegen van 8,5 tot 37 gevallen per miljoen inwoners per jaar.¹⁶ Alle geïnfekteerde individuen waren immuuncompetent en woonden op het eiland of hadden dit kort tevoren bezocht. In de meeste gevallen (72 procent) betrof het een infectie van de longen, en bij slechts 26 procent werd een aantasting van het centrale zenuwstelsel geconstateerd. De patiënten varieerden in leeftijd van 11 tot 87 jaar, met een gemiddelde van bijna 60 jaar. Achtenvijftig procent was mannelijk, en de meerderheid (bijna 95 procent) blank en de overige Aziatisch. Naast mensen werden ook grote aantallen (> 200) geïnfekteerde dieren aangetroffen, waaronder katten, honden en fretten, maar ook dolfinnen. Deze laatste spoelden dood aan op stranden op, of in de buurt van, Vancouver Island. Dit is de eerste uitbraak waarbij zowel mensen als dieren op grote schaal werden geïnficeerd door cryptokokken. Opmerkelijk is dat vrijwel alle ziektegevallen van mensen en dieren zich voortdedden op het zuidoostelijk gelegen deel van het eiland en wel in een speciale ecologische zone, de zogenoemde *Coastal Douglas*

Fir-biogeoklimatologische zone (CDF). Uitgebreide bemonstering van de lucht, maar ook directe bemonstering van diverse bomen die voorkomen in deze CDF-zone, waaronder de aardbezieboom (= *Arbutus* spp.), els, eik, ceder, douglas spar en andere soorten, heeft aangetoond dat de gist op grote schaal voorkomt op bomen, maar ook in de lucht in de nabijheid van geïnficeerde bomen. De bemonsterde eucalyptusbomen, een belangrijke bron van *C. gattii*-infectie in Australië, waren echter negatief.

De voor de uitbraak verantwoordelijke gist werd met behulp van fenotypische en moleculaire technieken geïdentificeerd als *C. gattii*, die, zoals reeds vermeld, vroeger werd geclassificeerd als een variëteit van *C. neoformans*. Tot deze uitbraak was *C. gattii* vooral bekend van meer tropische gebieden, zoals grote delen van Zuid-Amerika, Azië, en Australië. Binnen *C. gattii* komen vier genotypen voor^{7,8} en één hiervan, namelijk genotype VGII of AFLP type 6, bleek verantwoordelijk voor de uitbraak. Dit genotype werd pas recentelijk onderscheiden en was tot voor kort bekend van een zeer beperkt aantal locaties, namelijk Uruguay, Aruba, Californië en Seattle in de staat Washington.⁷ Dit laatste isolaat (NIH 444 = CBS 6956), afkomstig uit sputum van een patiënt uit Seattle (Washington, USA), werd in het begin van de jaren 70 van de vorige eeuw geïsoleerd, en toont aan dat het zeer waarschijnlijk is dat het genotype VGII/AFLP6 toen al in de omgeving van Vancouver Island aanwezig was, zonder dat dit zich overigens ontwikkelde tot een epidemische uitbraak. PCR-*fingerprinting* en AFLP-analyse van uitbraakgerelateerde isolaten afkomstig van mensen, dieren en de natuurlijke omgeving heeft aangetoond dat de genetische variatie binnen de populatie zeer beperkt is. Met PCR-*fingerprinting* konden twee subtypen worden onderscheiden, terwijl AFLP drie subtypen liet zien. Het overgrote deel behoorde echter tot één enkel type, namelijk genotype VGIIa of AFLP6A.¹⁶ We weten inmiddels dat hetzelfde genotype VGII (= AFLP6) ook infecties veroorzaakt in Colombia (E. Castañeda en W. Meyer, ongepubliceerde resultaten) en Brazilië¹⁷ en ook in delen van Azië en Australië.⁸

Oorzaak uitbraak

Over de oorzaak van deze uitbraak bestaat nog veel onduidelijkheid. Vast staat dat de CDF-zone in het zuidoosten van Vancouver Island een hoge dichtheid heeft van deels zeer kleine (< 1,1 µm) gistcellen, die tot diep in de longen kunnen penetreren en zo een infectie kunnen bewerkstelligen.¹⁶ Waarschijnlijk zijn de infecties van mens en dier het gevolg van deze hoge dichtheid aan infectieuze cellen in de natuurlijke omgeving van Vancouver Island. Rest de vraag waarom deze dichtheid in het recente verleden zo kon toenemen. Ook is nog onduidelijk hoe de uitbraak is begonnen en hoe de waargenomen, zeer beperkte, genetische variatie is ontstaan. Is er een enkele introductie geweest van één genotype, waaruit de drie subtypen zich vervolgens hebben ontwikkeld of zijn de verschillende subtypen gescheiden geïntroduceerd? Gedetailleerd fylogeografisch onderzoek moet deze vraag beantwoorden. Hierbij wordt een groot aantal genetische markers van een representatieve populatie van genotype VGII/AFLP6 onderzocht, afkomstig uit verschillende delen van de wereld. Verder wijst alles erop dat de uitbraak is veroorzaakt door een bijzonder virulente stam, maar onduidelijk is hoe deze virulentie is ontstaan. Mogelijk is er sprake van een gecompliceerde interactie tussen enerzijds de genetische achtergrond van de gist en mogelijke opgetreden veranderingen hierin die hebben geresulteerd in een hoge mate van virulentie, en anderzijds mogelijke veranderingen in het milieu die hebben geleid tot een sterke expansie van de populatie van de gist. Gezien het recente karakter van de uitbraak ligt het voor de hand om hierbij te denken aan klimaatsveranderingen, en meer specifiek de toegenomen temperatuur gedurende de laatste jaren van de vorige eeuw, als oorzaak voor deze expansie. Verder onderzoek zal echter moeten uitwijzen of dit een juiste veronderstelling is of dat er nog andere oorzaken zijn, bijvoorbeeld gerelateerd aan het microklimaat of wijzigingen in het lokale natuurbeheer. Duidelijk is dat er in ieder geval een fascinerend onderzoeksgebied wacht met vele interessante onderzoeksvragen, die alleen met een multifunctioneel team van onderzoekers adequaat kunnen worden beantwoord.

Referenties

1. Kwon-Chung KJ. *Filobasidiella* Kwon-Chung. In: The yeasts, a taxonomic study, 4th ed. (Kurtzman CP en Fell JW, eds). Amsterdam: Elsevier Science Publ, 1998, pp. 656-62.
2. Casadevall A, Perfect J. *Cryptococcus neoformans*. Washington, D.C., USA: ASM Press, 1998, pp. 1-541.
3. Ellis DH, Pfeiffer TJ. Ecology, life cycle, and infectious propagule of *Cryptococcus neoformans*. Lancet 1990;336:923-5.
4. Lazera MS, Pires FD, Camillo-Coura L, Nishikawa MM, Bezerra CC, Trilles L, et al. Natural habitat of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* in decaying wood forming hollows in living trees. J Med Vet Mycol 1996;34:127-31.
5. Nosanchuk JD, Shoham S, Fries BC, Shapiro DS, Levitz SM, Casadevall A. Evidence of zoonotic transmission of *Cryptococcus neoformans* from a pet cockatoo to an immunocompromised patient. Ann Intern Med 2000;132:205-8.
6. Lagrou K, Eldere J van, Keuleers S, Hagen F, Merckx R, Verhaegen J, et al. Zoonotic transmission of *Cryptococcus neoformans* from a magpie to an immunocompetent patient. J Intern Med 2005;257:385-8.
7. Boekhout T, Theelen B, Diaz M, Fell JW, Hop WCJ, Abeln ECA, et al. Hybrid genotypes in the pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans*. Microbiology (UK) 2001;147:891-907.
8. Meyer W, Castañeda A, Jackson S, Huynh M, Castañeda E. The Ibero-American cryptococcal study group. Molecular typing of IberoAmerican *Cryptococcus neoformans* isolates. Emerg Infect Dis 2003;9:189-95.
9. Kwon-Chung KJ, Boekhout T, Fell JW, Diaz M. *Cryptococcus gattii* (Vanbreus. & Takashio) Kwon-Chung & Boekhout comb. nov. (Fungi, Basidiomycota, Hymenomycetes, Tremellomycetoidea) and a proposal to conserve the name *Cryptococcus gattii*. Taxon 2002;51:804-6.
10. Cogliati M, Esposto MC, Clarke DL, Wickes BL, Viviani MA. Origin of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* diploid strains. J Clin Microbiol 2001;39:3889-94.
11. Loftus BJ, Fung E, Roncaglia P, Rowley D, Amedeo P, Bruno D, et al. The genome of the basidiomycetous yeast and human pathogen *Cryptococcus neoformans*. Science 2004;307:1321-4.
12. Dupont B, Crewe Brown HH, Westermann K, Martins MD, Rex JH, Lortholary O, et al. Mycoses in AIDS. Med Mycol 2000;38 Suppl:259-67.
13. McCarthy K, Crewe-Brown HH, Maloba MRB, Hajeh R. The burden of cryptococcosis in Gauteng: results of population-based active surveillance: 2002-2003. Comm Dis Surv Bull Nov 2003;10-2.
14. Barreto de Oliveira MT, Boekhout T, Theelen B, Hagen F, Baroni FC, Lazera M, et al. *Cryptococcus neoformans* shows a remarkable genotypic diversity in Brazil. J Clin Microbiol 2003;42:1356-9.
15. Walenkamp AME, Elden LJR van, Lipovsky MM, Reiss P, Meis JFGM, Marie S de, et al. Epidemiology of cryptococcosis in the Netherlands: a 12-year survey (1986-1999) and the effect of highly active antiretroviral therapy (HAART). AIDS 2000;14:2787-8.
16. Kidd S, Hagen F, Tschark, RL, Huynh M, Bartkett KH, Fyfe M, et al. A rare genotype of *Cryptococcus gattii* caused the *cryptococcus* outbreak on Vancouver Island (Canada). Proc Natl Acad Sc USA 2004;101:17258-63.
17. Trilles L, Lazera M, Wanke B, Theelen B, Boekhout T. Genetic characterization of environmental isolates of the *Cryptococcus neoformans* species complex from Brazil. Med Mycol 2003;41:383-90.

Dr. T. Boekhout*, mycoloog, **F. Hagen**, analist-promovendus, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht.

*Correspondentieadres: **dr. T. Boekhout**, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Uppsalalaan 8, 3584 CT Utrecht, e-mail: **boekhout@cbs.knaw.nl**.

Scedosporium: een problematische groep schimmelinfecties

G.S. DE HOOG

Sinds het voorjaar van 2004 is er gestructureerd aandacht voor de emerging environmental pathogenen *Pseudallescheria boydii* (= *Scedosporium apiospermum*) en de verwante fungus *Scedosporium prolificans*. Deze lang ondergediagnostiseerde schimmelinfecties worden nu Europa-breed aangepakt door een werkgroep van de European Confederation of Medical Mycology (ECMM). Een belangrijke aanleiding is de ontdekking dat de genoemde schimmelinfecties met grote regelmaat voorkomen als co-infectie met *Aspergillus* bij bijvoorbeeld lijders aan mucoviscidose. Dubbelinfecties worden ook bij andere patiëntengroepen gezien. De virulentie van *Scedosporium*-soorten is hoger dan die van *Aspergillus*, en de *Scedosporium*-soorten zijn beperkt gevoelig voor de meeste antimycotica. Transplantatiepatiënten die een succesvolle therapie voor aspergillose achter de rug hebben kunnen dus alsnog overlijden aan een *Scedosporium*-infectie.

Trefwoorden: *Pseudallescheria*, *Scedosporium*, filamenteuze schimmels, incidentie

Emerging opportunists

Voor weinig micro-organismen is de onderhand sleets geworden term *emerging opportunist* zo terecht gebruikt als voor *Scedosporium* (figuur 1). Het is een van de vroegst gerapporteerde schimmelinfecties; al in de tijd van Pasteur beschreef Siebenmann¹ een klinisch beeld dat we ook nu nog kennen: het druipoor door *P. boydii*. Sinds de jaren 20 van de vorige eeuw was het mycetoom het meest voorkomende klinische beeld: een subcutane, fistulerende infectie waarbij het organisme voorkomt in de vorm van korrels. *P. boydii* is de enige veroorzaker van mycetomen die endemisch is in de gematigde streken; alle overige eumycetomen zijn importziekten. Deze en andere traumatische infecties vinden we bij voor het overige gezonde patiënten, en ze bepalen het beeld tot rond 1960. Dan beginnen geleidelijk klinische entiteiten op te komen die te maken hebben met immunodpressie, zoals bij leukemie- en transplantatiepatiënten. De laatste 40 jaar zien we een gestage toename van pulmonale en systemische infecties, en deze maken nu het leeuwendeel van de infecties uit (figuur 1). Bij transplantatiepatiënten is de frequentie ongeveer een promille;² bij patiënten met hematologische maligniteiten rond de 4 promille.³ We zien dus een markante verandering in het klinische spectrum van deze overigens al vanouds bekende filamenteuze schimmel. *P. boydii*-infecties komen uit de omgeving en er is geen transmissie van mens op mens. Het organisme komt voor in vervuilde omgevingen, zoals in slootwater, of in overbemeste agrarische grond. Ook in de directe omgeving van de immuungecompromitteerde patiënt, zoals in potgrond van vensterbankplanten in het ziekenhuis, is het organisme aangetoond.

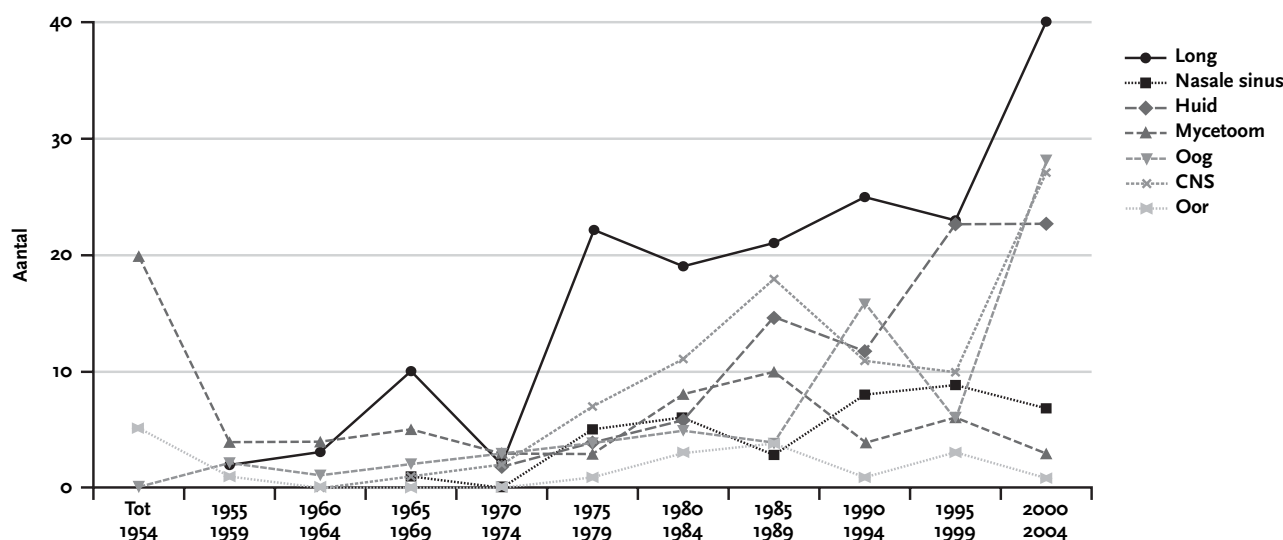
Merkwaardig is, dat onder de 'opkomende' ziektebeelden door *P. boydii* er zich een bevindt die vroeger ook al redelijk frequent voorgekomen moeten zijn: chronische cerebrale abcessen als gevolg van bijna-verdrinking met aspiratie van vervuild water. Na verloop van tijd na het ongeval, meestal als de patiënt reeds is genezen van het primaire lijden, treedt een cerebrale infectie op die zonder behandeling een fataal beloop heeft. Dit ziektebeeld is volstrekt uniek onder de fungi. We kennen dit pas sinds de jaren 60 van de vorige

eeuw, dus mogelijk werd dit voor die tijd niet correct gediagnosticeerd. Maar misschien is er de laatste decennia ook werkelijk een verhoogde kans op deze infectie onder invloed van klimaatverandering. Het oppervlaktewater wordt warmer en we zien vooral de meer thermotolerante genotypen van *P. boydii* terug als veroorzakers van infecties bij de mens. Het overvloedig voorkomen van *P. boydii* in bemeste landbouwgrond en slootwater suggereert dat er op dit moment natuurlijke selectie en evolutie plaatsvindt die zou kunnen leiden tot een relatieve toename van de virulentere genotypen. Detectie, epidemiologie en populatiedynamica van *Scedosporium*-species zijn belangrijke onderwerpen van de ECMM-onderzoeksgroep.

Kolonisatie door *P. boydii* van de longen van lijders aan mucoviscidose is lange tijd over het hoofd gezien, omdat zulke patiënten meestal tevens gekoloniseerd zijn door *Aspergillus* en *Candida*. De histopathologie van *Aspergillus fumigatus* is in weefsel identiek met die van *P. boydii*. Recent ontwikkelde moleculaire en serologische detectie heeft laten zien dat bij 21 procent van de patiënten met co-kolonisatie *P. boydii* aanwezig is; de frequentie van isolatie was aanmerkelijk lager.⁴ De infectie zelf verloopt meestal subklinisch, maar is een contra-indicatie voor longtransplantatie. Ook dit ziektebeeld toont een scherpe toename sinds 1960 (figuur 1). De meest waarschijnlijke verklaring is dat CF-patiënten nu veel langer leven dan voorheen: kolonisatie met *P. boydii* begint meestal tijdens de adolescentie.

De verwante species *S. prolificans* kan nog sterker als *emerging* worden aangemerkt. De schimmel werd voor het eerst in 1973 ontdekt in kasgrond.⁵ In 1984 werd de eerste klinische casus beschreven.⁶ Vrijwel alle sindsdien gerapporteerde stammen komen uit systemische infecties bij patiënten met een ernstige immunosuppressie. De soort is nu beslist geen ongewone verschijning meer: er zijn vele tientallen ziektegevallen in de literatuur beschreven. De meeste waren gedissemineerd en uiteindelijk fataal; een overzicht is in voorbereiding. Hoewel het organisme opportunist is, kennen we het nauwelijks buiten de menselijke patiënt: warme grond – in kassen, potplanten of in het mediterrane gebied – lijkt de natuurlijke besmettingsbron te zijn.

Figuur 1. Aantal gepubliceerde cases van *P. boydii*-infecties gedurende intervallen van vijf jaar, geordend naar lokalisatie. Het eerste interval beslaat de periode 1889-1954. Y-as = aantal cases. Leg. R. Horré.



Therapie

Hoewel de laatste jaren verschillende nieuwe antimycotica zijn geregistreerd, zoals voriconazol en caspofungine, blijft de behandeling van met name *S. prolificans* uiterst problematisch. De schimmel is ongevoelig voor polyenen zoals amfotericine B, en ook de meeste azolen zijn onwerkzaam. In diermodellen blijkt de activiteit gering. Het nieuwste azol, voriconazol, bleek effectief bij 25 procent van de patiënten met invasieve infectie. Er is een nieuw azol in ontwikkeling, albaconazol, dat in diermodellen effectief lijkt, maar het is nog onzeker of dit middel ook werkelijk op de markt komt. Combinatietherapie lijkt daarom voorlopig de aangewezen weg, zoals voriconazol met terbinafine. *P. boydii*-infecties zijn iets beter te behandelen, bijvoorbeeld met voriconazol, maar niettemin is er nog altijd een matige respons bij 41 procent van de behandelde patiënten.

ECMM-netwerk *Pseudallescheria-/Scedosporium*-infecties

De onderzoeksgroep heeft tot doel onderzoek te coördineren en gegevens en materiaal te verzamelen. Er is in de literatuur al veel kennis beschikbaar, maar deze is zeer ontoegankelijk en wijd verspreid. Er is een via internet interactieve databank in ontwikkeling, waarin werkgroepleden uit 16 Europese landen data en stammen deponeren en vrij ter beschikking stellen voor gezamenlijk onderzoek. Ter kalibratie van later werk is een referentieset van stammen geselecteerd. Ook Amerikaanse, Chinese en Japanse collega's hebben belangstelling getoond om aan deze onderzoeksgroep deel te nemen.

Er zijn drie subgroepen geformeerd, elk met een min of meer gescheiden thema en elk geleid door een klein comité van initiatiefnemers. Er is een klinische groep die onderzoek doet naar incidentie, klinische presentatie en virulentie. Een belangrijk onderdeel is ontwikkeling van betere methoden voor isolatie en detectie. Vaak zijn patiënten gekoloniseerd door verschillende genotypen van *P. boydii*. Dat is merkwaardig, omdat als infectieroute inhalatie of aspiratie wordt aangenomen, terwijl het organisme in de lucht niet of nauwelijks te detecteren is. De patiënt zorgt dus blijkbaar voor buitengewoon effectieve ophoping van de schimmel. Over de pathogene rol van het organisme is nog nagenoeg niets bekend.

Daarbij zijn we aangekomen bij het tweede thema, waar het accent ligt op therapie en diermodellen. De onderzochte soorten hebben maar een beperkte gevoeligheid voor vrijwel alle antimycotica. *S. prolificans*, die we bijna uitsluitend kennen van gedissemineerde opportunistische infecties met een hoge mortaliteit, is zelfs resistent tegen alle huidige antimycotica. Er zijn bemoedigende berichten over voriconazol en albaconazol en de mycologiegroep uit Nijmegen vond een werkzame combinatietherapie met terbinafine en azolen.⁷ Maar er is nog veel werk te verrichten voordat een standaard behandelingsprotocol beschikbaar is.

Het derde thema betreft de biologie van het organisme. Een grote collectie wordt aangelegd waarmee biodiversiteitsonderzoek, zoals fylogenie en epidemiologie wordt gecoördineerd. Een database waarin iedereen materiaal en gegevens kan deponeren is beschikbaar op www.scedosporium-ecmm.com. Al langere tijd is bekend dat met name *P. boydii* een grote moleculaire diversiteit vertoont. De groep van Joseph Cano in Spanje zal binnenkort enkele nieuwe *Scedosporium*-soorten introduceren (persoonlijke mededeling). Dit zal het landschap van klinische relevantie en onderzoek naar optimale therapie aanmerkelijk kunnen veranderen.

Referenties

1. Siebenmann F. Die Schimmelmikroskopen des menschlichen Ohres. 1899. Wiesbaden, Germany. JF Bergmann Verlag.
2. Nucci M. Emerging moulds: *Fusarium*, *Scedosporium* and *Zygomycetes* in transplant recipients. *Curr Opin Infect Dis* 2003;16:607-12.
3. Pagano L, Girmenia C, Mele L, Ricci P, Tosti ME, Nosari A, et al. Infections caused by filamentous fungi in patients with hematologic malignancies. A report of 391 cases by GIMEMA Infection Program *Haematologica* 2001;86:862-70.
4. Cimon B, Carrere J, Vinatier JF, Chazalotte JP, Chabasse D, Bouchara JP. Clinical significance of *Scedosporium apiospermum* in patients with cystic fibrosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000;19:53-6.
5. Hennebert GL, Desai BG. *Lomentospora prolificans*, a new hyphomycete from greenhouse soil. *Mycotaxon* 1974;1:45-50.
6. Malloch D, Salkin IF. A new species of *Scedosporium* associated with osteomyelitis in humans. *Mycotaxon* 1984;21:247-55.
7. Meletiadi J, Mouton JW, Rodriguez-Tudela JL, Meis JFGM, Verweij PE. *In vitro* interaction of terbinafine with itraconazole against clinical isolates of *Scedosporium prolificans*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:470-2.

Prof. dr. G.S. de Hoog, mycoloog, coördinator van de European Confederation of Medical Mycology (ECMM), werkgroep *Pseudallescheria-/Scedosporium*-infecties, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Uppsalalaan 8, 3584 CT Utrecht.

Moleculaire genotypering van *Aspergillus fumigatus*-isolaten

H.A. DE VALK, J.F.G.M. MEIS, C.H.W. KLAASSEN

Door de jaren heen zijn veel verschillende genotyperingstechnieken voor *Aspergillus fumigatus* beschreven. Deze technieken hebben wat betreft technische en inhoudelijke aspecten specifieke voor- en nadelen. De uiteindelijke keuze voor een bepaalde methode is daardoor mede afhankelijk van de specifieke vraagstelling en de uitrusting van een laboratorium. Om epidemiologische verbanden tussen grote aantallen isolaten ook over een langdurige periode te kunnen aantonen, is het gewenst een exacte typeringsmethode in te kunnen zetten met hoog onderscheidend vermogen. Een dergelijke typeringsmethode is nu voorhanden.

Trefwoorden: *Aspergillus*, typeren, moleculaire technieken

Introductie

A. fumigatus is een schimmel die wereldwijd veel voorkomt. Deze schimmel kan grote hoeveelheden conidia produceren die eenvoudig door de lucht kunnen worden verspreid. Door de alomtegenwoordige aanwezigheid hiervan kan iedereen door inhalatie worden blootgesteld aan conidia. Bij gezonde mensen zal dit zelden tot complicaties leiden. Bij patiënten met verminderde weerstand kan dit echter leiden tot een infectie.

A. fumigatus is de belangrijkste veroorzaker van invasieve aspergillosis (IA). IA is een ziektebeeld dat vooral voorkomt bij mensen die immuungecompromiteerd zijn, bijvoorbeeld na een beenmerg- of orgaantransplantatie. Aangezien dit soort ingrepen de laatste jaren sterk is toegenomen, is ook het aantal patiënten met IA dramatisch gestegen. Recentelijk zijn aanwijzingen gevonden dat ook beademde intensive-care-patiënten risico lopen van invasieve aspergillose.¹ Om besmettingsroutes tussen omgeving en klinische isolaten beter in kaart te brengen is het van groot belang om deze schimmel goed te typeren met reproduceerbare en betrouwbare *fingerprint*-technieken. In de afgelopen jaren is een veelvoud aan moleculair biologische technieken beschreven voor het typeren van *A. fumigatus*. In dit manuscript worden de verschillende methoden met elkaar vergeleken.

Random amplified polymorphic DNA (RAPD)

In een standaard PCR-reactie worden twee *primers* gebruikt die onder hoog stringente condities hechten op het te testen DNA. Het principe van de RAPD-techniek berust op het gebruik van één korte *primer* van circa acht tot 20 *base*-paren (bp) lang in combinatie met een lage annealingtemperatuur tijdens een PCR-reactie. Onder dergelijke condities kan de *primer* ook op een veelvoud aan posities hechten zonder dat sprake is van volledige overeenkomst. Op deze manier zal een aantal min of meer willekeurige fragmenten worden gevormd van verschillende grootte die worden gescheiden door agarose-elektroforese. Het aantal en de grootte van de fragmenten worden bepaald door het aantal plaatsen en de afstand tussen de plaatsen waar de *primer* onder dergelijke condities kan hechten. Dit is variabel tussen verschillende isolaten. Voor de RAPD-techniek zijn diverse synoniemen

in omloop, zoals AP-PCR (*arbitrarily primed PCR*) en *Interrepeat PCR*.

Aufauvre-Brown *et al.*² hebben totaal 44 verschillende *primers* getest op drie verschillende *A. fumigatus*-isolaten. Een veelgebruikte *primer* is de R108.^{3,5} Door andere groepen zijn later nog andere *primers* getest die geschikt bleken te zijn om onderscheid te maken tussen verschillende *A. fumigatus*-isolaten.⁶⁻⁸

Restrictie-enzymanalyse (REA)

Indien genomisch DNA wordt geknipt met een zes *base*-paren herkennend restrictie-enzym, ontstaan bij een *A. fumigatus*-isolaat ongeveer 10.000 DNA-fragmenten van gemiddeld 4.000 bp groot die niet van elkaar te onderscheiden zijn. Door de analyse te beperken tot de grotere DNA-fragmenten (10-50 kbp) is gebleken dat bij verschillende isolaten toch verschillende patronen worden verkregen. Door Denning *et al.* zijn verschillende restrictie-enzymen op hun bruikbaarheid getest.⁹ De enzymen XhoI en Sall blijken het grootste onderscheidend vermogen te hebben op een collectie van 31 *A. fumigatus*-isolaten.

Restrictie-fragmentlengtepolymorfisme (RFLP)

Deze methode lijkt op de REA-methode zoals hierboven staat beschreven. Het belangrijkste verschil is dat gebruik wordt gemaakt van een probe om specifieke restrictie-fragmenten aan te tonen. Genomisch DNA wordt geknipt met een restrictie-enzym. De verkregen DNA-fragmenten worden op grootte gescheiden door agarose-gelelektroforese. Na het overbrengen van het DNA op een filter door middel van *Southern blotting* worden specifieke restrictiefragmenten aangetoond met een gelabelde probe. Door een doelsequentie te kiezen die meerdere keren in het genoom voorkomt, kan een patroon met meerdere banden worden verkregen. Door verschillen in aantallen doelsequenties en in flankerende sequenties kunnen met deze techniek per isolaat verschillende patronen worden verkregen. Girardin *et al.*¹⁰ hebben gezocht naar multikopie-elementen uit het genoom en deze getest op hun bruikbaarheid voor deze techniek. Zij rapporteerden uitstekende resultaten met een doelsequentie waarvan later werd aangetoond dat deze specifieke eigen-

schappen bezat van een retrotransposon-achtig element.¹¹ Hiermee waren zij in staat om isolaten, verkregen bij verschillende patiënten, van elkaar te onderscheiden.

Sequentiespecifieke DNA-primer (SSDP)

Bij de SSDP-methode zijn RAPD-patronen gebruikt om fragmenten te zoeken die onderscheid maken tussen verschillende *A. fumigatus*-isolaten. Van deze fragmenten is een sequentieanalyse uitgevoerd en aan de hand hiervan zijn primer sets ontwikkeld. Deze primers worden met stringentere PCR-condities getest en er wordt gescoord op de aanwezigheid van een PCR-product bij verschillende *A. fumigatus*-isolaten. Mondon *et al.*¹² hebben in totaal 18 verschillende fragmenten geanalyseerd, verkregen met drie verschillende RAPD-primers. Vijf van deze primer-combinaties bleken goed reproduceerbaar. Met deze merkers kunnen in theorie 32 (2⁵) verschillende combinaties worden gedetecteerd. Uit een collectie van 55 isolaten werden 22 verschillende types onderscheiden.

Microsatellieten of short tandem repeats (STR's)

Bart-Delabesse *et al.*¹³ gebruikten voor het eerst STR's voor het typeren van *A. fumigatus*. STR's zijn korte repeterende sequenties die elkaar direct opvolgen en die bij verschillende isolaten kunnen variëren in het aantal herhalingen. Door PCR-primers aan weerszijden van de STR kiezen, kan een STR worden geamplificeerd. Indien één van de primers wordt gelabeld, kan met behulp van elektroforesesystemen van hoge resolutie de grootte van het verkregen fragment nauwkeurig worden vastgesteld. Uit de grootte van het fragment kan het aantal repetities van de STR worden afgeleid. Het resultaat van een dergelijke typering is een exact getal. Met vier verschillende merkers kon tot op zekere hoogte eenvoudig onderscheid worden gemaakt tussen verschillende isolaten. Met deze vier merkers kunnen in theorie ongeveer 30.000 verschillende combinaties worden verkregen. Gebruik van deze techniek is ook beschreven onder de volgende synoniemen: MLP (*microsatellite length polymorphism*),¹³ MSP (*microsatellite polymorphism*),¹⁴ PMM (*polymorphic microsatellite marker*).¹⁵

Intergenic spacer-analyse (IGS-PCR)

Dit is een op PCR gebaseerde methode, waarvan de primers de regio tussen de kleine en grote subunit van het ribosomale RNA-gen flankeren. Het genoom van schimmels bevat ongeveer 100 hooggeconserveerde kopieën van deze genen. Deze intergenic spacer-regio's kunnen variëren in lengte en op deze manier kunnen verschillende isolaten een verschillend bandenpatroon opleveren met meerdere banden variërend in grootte. Radford *et al.*¹⁶ heeft deze primers getest op een populatie van 119 isolaten van patiënten en omgeving uit één ziekenhuis; hieruit werden 11 verschillende types verkregen.

Amplified fragment length polymorphism (AFLP)

In een AFLP-analyse wordt genomisch DNA met twee verschillende restrictie-enzymen geknipt. Aan de verkregen uiteinden worden adapters geligeerd die kunnen fungeren als specifieke primer-bindingsplaatsen voor een PCR-reactie. De hoeveelheid fragmenten die op deze manier ontstaan, kan worden gereduceerd door de primers aan het 3'-uiteinde te verlengen met een of meerdere selectieve nucleotiden. Als een van de primers wordt gelabeld kan met hogeresolutie-

elektroforese de groep fragmenten van ongeveer 50-500 bp worden geanalyseerd. Variatie tussen verschillende isolaten kan ontstaan door verschillen in aantallen restrictie-enzymherkenningsplaatsen en verschillen in de afstand tussen opeenvolgende herkenningsplaatsen. In een onderzoek door Warris *et al.*¹⁷ is gebruikgemaakt van de restrictie-enzymen EcoRI en MseI met drie selecte residuen. In totaal werden 96 *A. fumigatus*-isolaten getest. De verschillende isolaten bleken goed van elkaar te kunnen worden onderscheiden.

Vergelijking van de verschillende typeringsmethoden

Een vergelijking tussen de praktische uitvoerbaarheid van de beschreven typeringsmethoden leert dat alle methoden zowel specifieke voor- als nadelen hebben. Een duidelijk minpunt voor de niet-PCR gebaseerde methoden RFLP en REA is dat er veel DNA voor nodig is. Het verkrijgen van grote hoeveelheden geschikt genomisch DNA van schimmels is vaak een arbeidsintensieve aangelegenheid. Voor de op PCR gebaseerde methoden volstaat de beschikbaarheid van geringe hoeveelheden zuiver c.q. amplificeerbaar DNA, hetgeen in dit opzicht een duidelijk voordeel oplevert.

Over het algemeen kan worden gesteld dat technieken waarbij complexe bandenpatronen worden gegenereerd, zoals RAPD, RFLP, REA, IGS en AFLP, niet gemakkelijk te interpreteren zijn. Verschillen in intensiteit van banden maakt de uitkomst vatbaar voor interpretatieverschillen. Bij deze technieken is het zelfs onmogelijk om de resultaten van grotere verzamelingen isolaten op het oog te beoordelen. De beschikbaarheid van vaak dure softwarepakketten kan hier een oplossing bieden. De exacte bepalingen SSDP en STR zijn eenvoudig te interpreteren al schrijft Lasker¹⁵ dat bij enkele SSDP-primers sporadisch ook zwakke banden worden gevonden, hetgeen het exacte karakter van de techniek ondergraaft.

Om langdurige onderzoeken naar *A. fumigatus* mogelijk te maken dient een techniek te worden gebruikt die op langere termijn stabiele resultaten oplevert. Alhoewel dit niet is onderzocht, kunnen hierover op theoretische gronden toch uitspraken worden gedaan. In dit opzicht scoort vooral RAPD slecht door de laag stringente annealing-condities. Kleine verschillen in reactiecondities, zoals DNA-concentratie en zuiverheid, primer-concentratie en dergelijke en verschillen in onder andere thermocyclers kunnen al van wezenlijke invloed zijn op de gegenereerde patronen. Deze factoren zijn voor de overige PCR-gebaseerde technieken die onder hoog stringente condities worden uitgevoerd duidelijk minder van belang. Verder geldt dat voor alle technieken waar de grootte van de verkregen DNA-fragmenten van belang is, dat deze onder gestandaardiseerde elektroforesecondities dienen te worden verkregen. Lin *et al.*¹⁸ rapporteren dat in dit opzicht de reproduceerbaarheid van REA te wensen overlaat, aangezien het met deze techniek al moeilijk blijkt te zijn om verschillende gelpatronen binnen één laboratorium met elkaar te vergelijken.

Technieken die al problemen geven met de interpretatie binnen één laboratorium zijn bij voorbaat ongeschikt om uit te wisselen met andere laboratoria. Helaas zijn er geen onderzoeken gedaan waarbij dezelfde set stammen in verschillende centra is getest. Van de exacte methoden STR en SSDP mag worden verwacht dat deze wel uitwisselbaar zijn tussen verschillende laboratoria. Voor deze methoden geldt ook dat zij beide specifiek zijn voor *A. fumigatus*. Voor de overige methoden geldt dat zij in meer of mindere mate

Tabel 1. Vergelijking van de verschillende typeringsmethoden.

	ONDER-SCHEIDEND VERMOGEN	REPRODUCEER-BAARHEID	UITWISSEL-BAARHEID	INTERPRETATIE	PRAKTISCHE UITVOERBAARHEID	DNA-INPUT	SPECIES-SPECIFIEK
AFLP	Goed	Goed	Slecht	Moeilijk	Eenvoudig	Laag	Nee
IGS	Beperkt	Goed	Onbekend	Redelijk	Eenvoudig	Laag	Nee
STR	Goed	Zeer goed	Onbekend	Eenvoudig	Eenvoudig	Laag	Ja
RAPD	Beperkt	Beperkt	Slecht	Redelijk	Eenvoudig	Laag	Nee
REA	Goed	Goed	Slecht	Moeilijk	Arbeidsintensief	Hoog	Nee
RFLP	Goed	Goed	Onbekend	Redelijk	Arbeidsintensief	Hoog	Probe-afhankelijk
SSDP	Beperkt	Goed	Goed	Eenvoudig	Eenvoudig	Laag	Ja

ook inzetbaar zijn voor andere *Aspergillus*-soorten (RFLP, IGS, REA) en zelfs voor totaal andere genera binnen of buiten de schimmelgroep (RAPD, AFLP).

Onderscheidend vermogen

Afgezien van de verschillen tussen de praktische uitvoerbaarheid van de diverse technieken kan deze vergelijking niet voorbijgaan aan het onderscheidende vermogen van de technieken. Om hierover uitspraken te kunnen doen, dienen collecties stammen met meerdere technieken te worden geanalyseerd. Helaas is dit slechts voor een paar technieken gedaan. De technieken RAPD, STR en RFLP zijn in twee vergelijkende onderzoeken geanalyseerd.¹⁵⁻¹⁹ In beide onderzoeken leverde RAPD het laagst onderscheidend vermogen op. In het onderzoek van Lasker doen STR en RFLP amper voor elkaar onder. In de populatie-isolaten getest door Bart-Delabesse *et al.* leverde RFLP echter een hoger onderscheidend vermogen op. De SSDP-methode heeft slechts een beperkt onderscheidend vermogen. Gebruik van slechts vijf primer-combinaties limiteert het aantal te onderscheiden types tot 32 (2⁵). Uit het onderzoek van Symoens *et al.*²⁰ waarbij omgevings- en patiëntenisolaten uit verschillende steden met elkaar zijn vergeleken door middel van SSDP, bleek dan ook dat er overeenkomsten zijn tussen niet-gerelateerde stammen uit verschillende Europese steden. Het onderscheidend vermogen van de IGS-methode is moeilijk in te schatten, omdat deze techniek niet is meegenomen in onderzoeken die verschillende typeringsmethoden met elkaar vergelijken.

Alhoewel op theoretische gronden wel kan worden verwacht dat REA en AFLP een goed onderscheidend vermogen opleveren, is dit niet onderzocht in vergelijkende onderzoeken. Wat wel duidelijk naar voren komt uit het onderzoek van Warris *et al.* is dat de AFLP-methode geschikt is voor het opsporen van nog onbekende specifieke merkers. Gevonden werd dat specifieke DNA-fragmenten voorkomen bij isolaten uit luchtmonsters die niet voorkomen bij isolaten die in watermonsters zijn gevonden en vice versa.

Toekomstperspectief

Tot nu toe levert RFLP de beste resultaten op als het gaat om het onderscheiden van verschillende isolaten. Het grote nadeel van deze techniek is echter dat de methode erg arbeidsintensief is. Vanuit verschillende oogpunten lijkt een exacte STR-benadering, ook voor de langere termijn, een betere oplossing te bieden. De STR-methode zoals deze reeds is beschreven, heeft een lager onderscheidend vermogen

dan de RFLP. Het grote voordeel hiervan echter is dat deze goed reproduceerbaar is en daardoor uitermate geschikt om grote hoeveelheden isolaten te testen. In totaal kunnen met de techniek van Bart-Delabesse *et al.*¹³, die gebruikmaakt van vier verschillende merkers, ongeveer 30.000 combinaties worden gemaakt. Inmiddels is een soortgelijke techniek opgezet met negen nieuwe merkers, die zijn geselecteerd uit bekende stukken van het genoom van *A. fumigatus*.²¹ Met deze merkers kunnen in theorie minstens 27.000.000.000 genotypes worden onderscheiden. Dit is een verbetering met een factor 1.000.000 vergeleken met de huidige gerapporteerde STR-methode. De verwachting lijkt tevens gerechtvaardigd dat het discriminerend vermogen van de nieuwe merkers hoger zal zijn dan dat van de RFLP-techniek. Met inachtneming van de additionele voordelen van het exacte karakter van de methode, lijkt deze nieuwe STR-methode bij uitstek geschikt om epidemiologische relaties tussen *A. fumigatus*-isolaten ook over een langere termijn te analyseren.

Summary

In the past years several different genotyping techniques have been described for Aspergillus fumigatus. These techniques have specific advantages and disadvantages judged from a technical and qualitative perspective. The decision on which technique to use also depends on the specific context and the equipment of a laboratory. In order to analyze epidemiological relationships between large amounts of isolates over a long period of time, preference should be given to an exact genotyping technique with a high discriminatory power. Such a technique is now available.

Referenties

1. Vandewoude K, Blot S, Benoit D, Depuyt P, Vogelaers D, Colardyn F. Invasive aspergillosis in critically ill patients: analysis of risk factors for acquisition and mortality. *Acta Clin Belg* 2004;59(5):251-7.
2. Aufauvre-Brown A, Cohen J, Holden DW. Use of randomly amplified polymorphic DNA markers to distinguish isolates of *Aspergillus fumigatus*. *J Clin Microbiol* 1992;30:2991-3.
3. Lutz BD, Jin J, Rinaldi MG, Wickes BL, Huycke MM. Outbreak of Invasive *Aspergillus* infection in surgical patients, associated with a contaminated air-handling system. *Clin Infect Dis* 2003;15;37(6):786-93.
4. Mellado E, Diaz-Guerra TM, Cuenca-Estrella M, Buendia V, Aspa J, Prieto E, et al. Characterization of a possible nosocomial aspergillosis outbreak. *Clin Microbiol Infect* 2000;6;543-8.
5. Rath PM, Ansorg R. Value of environmental sampling and molecular typing of aspergilli to assess nosocomial sources of aspergillosis. *J Hosp Infect* 1997;37:47-53.
6. Belkum A van, Quint WG, Pauw BE de, Melchers WJ, Meis JF. Typing of *Aspergillus* species and *Aspergillus fumigatus* isolates by interrepeat polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1993;31:2502-5.
7. Loudon KW, Burnie JP, Coke AP, Matthews RC. Application of polymerase chain reaction to fingerprinting *Aspergillus fumigatus* by random amplification of polymorphic DNA. *J Clin Microbiol* 1993;31:1117-21.

8. Rodriguez E, Symoens F, Mondon P, Mallie M, Piens MA, Lebeau B, et al. Combination of three typing methods for the molecular epidemiology of *Aspergillus fumigatus* infections. European Research Group on Biotype and Genotype of *Aspergillus*. J Med Microbiol 1999;48:181-94.
9. Denning DW, Clemons KV, Hanson LH, Stevens DA. Restriction endonuclease analysis of total cellular DNA of *Aspergillus fumigatus* isolates of geographically and epidemiologically diverse origin. J Infect Dis 1990;162:1151-8.
10. Girardin H, Latge JP, Srikantha T, Morrow B, Soll DR. Development of DNA probes for fingerprinting *Aspergillus fumigatus*. J Clin Microbiol 1993;31:1547-54.
11. Neuveglise C, Sarfati J, Latge JP, Paris S. Afut1, a retrotransposon-like element from *Aspergillus fumigatus*. Nucleic Acids Res 1996;24:1428-34.
12. Mondon P, Brenier MP, Symoens F, Rodriguez E, Coursange E, Chaib F, et al. Molecular typing of *Aspergillus fumigatus* strains by sequence-specific DNA primer (SSDP) analysis. FEMS Immunol Med Microbiol 1997;17:95-102.
13. Bart-Delabesse E, Humbert JF, Delabesse E, Bretagne S. Microsatellite markers for typing *Aspergillus fumigatus* isolates. J Clin Microbiol 1998;36:2413-8.
14. Bertout S, Renaud F, Barton R, Symoens F, Burnod J, Piens MA, et al. Genetic polymorphism of *Aspergillus fumigatus* in clinical samples from patients with invasive aspergillosis: investigation using multiple typing methods. J Clin Microbiol 2001;39:1731-7.
15. Lasker BA. Evaluation of performance of four genotypic methods for studying the genetic epidemiology of *Aspergillus fumigatus* isolates. J Clin Microbiol 2002;40:2886-92.
16. Radford SA, Johnson EM, Leeming JP, Millar MR, Cornish JM, Foot AB, et al. Molecular epidemiological study of *Aspergillus fumigatus* in a bone marrow transplantation unit by PCR amplification of ribosomal intergenic spacer sequences. J Clin Microbiol 1998;36:1294-9.
17. Warris A, Klaassen CH, Meis JF, Ruiters MT de, Valk HA de, Abrahamsen TG, et al. Molecular epidemiology of *Aspergillus fumigatus* isolates recovered from water, air, and patients shows two clusters of genetically distinct strains. J Clin Microbiol 2003;41:4101-6.
18. Lin D, Lehmann PF, Hamory BH, Padhye AA, Durry E, Pinner RW, et al. Comparison of three typing methods for clinical and environmental isolates of *Aspergillus fumigatus*. J Clin Microbiol 1995;33:1596-601.
19. Bart-Delabesse E, Sarfati J, Debeaupuis JP, Leeuwen W van, Belkum A van, Bretagne S, et al. Comparison of restriction fragment length polymorphism, microsatellite length polymorphism, and random amplification of polymorphic DNA analyses for fingerprinting *Aspergillus fumigatus* isolates. J Clin Microbiol 2001;39:2683-6.
20. Symoens F, Burnod J, Lebeau B, Viviani MA, Piens MA, Tortorano AM, Nolard N, Chapuis F, Grillot R. Hospital-acquired *Aspergillus fumigatus* infection: can molecular typing methods identify an environmental source? J Hosp Infect 2002;52:60-7.
21. Valk HA de, Meis JFGM, Curfs IM, Mühlethaler K, Mouton JW, Klaassen CHW. Exact and high resolution fingerprinting of *Aspergillus fumigatus* isolates using a novel panel of nine short tandem repeats. J Clin Microbiol 2005, in druk.

H.A. de Valk, microbiologisch analist, dr. J.F.G.M. Meis, arts-microbioloog, dr. C.H.W. Klaassen, moleculair bioloog, Canisius Wilhelmina Ziekenhuis, afdeling Medische Microbiologie en Infectieziekten, Weg door Jonkerbos 100, 6532 SZ Nijmegen.

Bijsluiter

Bijsluiter

Acute septische osteoarticulaire infecties bij kinderen: resultaten van een retrospectief onderzoek

I.B.Y. TACK, B.A. SEMMEKROT, P.M.V. VAN WIERINGEN, T.J.W. FISELIER, J.F.G.M. MEIS, G.P.J.M. GERRITS

*De gegevens van 55 kinderen, opgenomen tussen 1983-2001 (Canisius-Wilhelmina Ziekenhuis in Nijmegen, CWZ) of 1990-2001 (Universitair Medisch Centrum St Radboud in Nijmegen, UMCN) met osteoarticulaire infecties werden bestudeerd: 32 met osteomyelitis (OM), 19 met septische artritis (SA) en vier met gecombineerde osteoarthritis (OA). De gemiddelde leeftijd (spreiding) bij presentatie – OM 44 maanden (7 dagen-148 maanden), SA 55 maanden (1 maand-164 maanden) – was het laagst bij OA: 20 dagen tot tien maanden. De mediane duur van symptomen tot presentatie bedroeg 3-5 dagen. Pijn was meestal het presenterende symptoom, gevolgd door immobilisatie van het betrokken lichaamsdeel/gewricht. Driekwart van alle patiënten had koorts. De meest aangedane lichaamsdelen waren femur, humerus (OM) en knie (SA). Bij presentatie waren BSE en CRP bij nagenoeg allen verhoogd, röntgenfoto's waren abnormaal bij 56, 47 en 75 procent, en ^{99m}Tc-botsctigrafieën bij 89, 83 en 100 procent (respectievelijk OM, SA en OA). Bij 53 procent van de OM- en SA- en 75 procent van de OA-gevallen werd een micro-organisme gevonden, overwegend *Staphylococcus aureus*.*

Concluderend is een septische osteoarticulaire infectie een aandoening van het jonge kind, waarbij femur, humerus en knie het meest zijn getroffen. Omdat op klinische gronden moeilijk is uit te maken of men met OM, SA, dan wel OA te maken heeft, zijn aanvullende onderzoeken onmisbaar. Er worden aanbevelingen gedaan met betrekking tot antibiotische behandeling.

Trefwoorden: osteomyelitis, septische artritis, osteoarticulaire infectie, septische bot-gewrichtsinfectie, behandeling, kinderen

Introductie

OM is gedefinieerd als een bacteriële ontsteking van het beenmerg, die zich verspreidt naar het bot en zijn omgeving. SA, vaak mono-articulair, is een bacteriële gewrichtsinfectie waarbij een micro-organisme kan worden gekweekt. Een bot- en gewrichtsinfectie is een combinatie van zowel OM als SA, meestal bij pasgeborenen. Acute osteoarticulaire infecties leiden in de dagelijkse praktijk geregeld tot vragen. Welke diagnostiek is aangewezen? Moet een diagnostische punctie worden verricht om een verwekker te identificeren? Moet therapeutische aspiratie of chirurgie plaatsvinden en zo ja, hoe kunnen complicaties worden voorkomen? Vragen zijn er ook ten aanzien van de duur van intraveneuze behandeling en totale duur van antibiotische behandeling. Om meer duidelijkheid te verkrijgen over diagnostiek en behandeling van acute osteoarticulaire infecties, is een retrospectief onderzoek van in Nijmegen behandelde patiënten verricht.

Patiënten en methoden

Het onderzoek werd uitgevoerd op de afdelingen Kindergeneeskunde van het CWZ en het UMCN in Nijmegen. Medische gegevens van alle patiënten met osteoarticulaire infecties, opgenomen van 1983-2001 (CWZ) en 1990-2001 (UMCN) werden geanalyseerd. Patiënten werden geselecteerd als ze aan twee of meer van de volgende criteria voldeden: klinische verdenking op OM/SA (pijn, roodheid, zwelling,

immobiliteit), suppuratieve aspiratie uit bot of gewricht, positieve kweken van bloed, gewricht of bot, afwijkingen bij beeldvorming (röntgen, echografie of ^{99m}Tc-botsctigrafie). Röntgenfoto's werden beschouwd als positief voor OM bij tekenen van diep weke-delenoedeem, lytische botveranderingen of periostale reacties, en voor SA bij gewrichtsruimteverwijding. Echografie werd als positief beschouwd bij aanwezigheid van weke-delenzwellen, botlaesie en oedeem. Exclusiecriteria waren: recent trauma met open of penetrerende wond, maligniteit, immuundeficiëntiesyndroom, sikkelcelanemie en OM/SA als onderdeel van bacteriële infectie of postoperatieve complicatie.

Gegevens van ingesloten kinderen werden geclassificeerd als OM of SA op basis van klinische presentatie, resultaat van naaldaspiratie en beeldvorming. Wanneer geen onderscheid kon worden gemaakt tussen OM and SA, terwijl aan criteria voor beide werd voldaan, werd gesproken van gecombineerde OA.

Klinische verbetering werd gedefinieerd als verbetering van symptomen en afwijkingen bij lichamelijk onderzoek, normaliseren van lichaamstemperatuur en afname van C-reactief-proteïne (CRP). Follow-up werd uitgevoerd door een orthopedisch of kinderchirurg en/of kinderarts. Radiologische botdestructie, recidief, groeiachterstand, pathologische fractuur, ontstaan van chronische OM, SA na OM, gewrichtsdislocatie en verminderde gewrichtsmobiliteit werden beschouwd als ernstige complicaties van OM/SA.

Resultaten

In totaal 55 kinderen (32 OM, 19 SA en 4 OA) werden ingesloten in het onderzoek. Symptomen bij presentatie staan weergegeven in *tabel 1*. Gemiddelde leeftijd (spreiding) was als volgt: OM 44 maanden (7 dagen-148 maanden), SA 55 maanden (1-164 maanden). Kinderen met OA waren tussen 20 dagen en tien maanden oud. De man-vrouwverhouding bedroeg 48:52 (OM), 42:58 (SA) en 25:75 procent (OA). De mediane duur (spreiding) van bestaan van symptomen vóór presentatie bedroeg 2,6 (0-29) dagen (geen significante verschillen tussen groepen).

Meest getroffen delen waren bij OM de lange pijpbeenderen (tien keer femur, acht keer humerus; wervels, talus en tibia/fibula: alle drie keer; vinger, scapula en calcaneus: alle twee keer; clavicula, radius en metatarsale: alle één keer) en bij SA knie, enkel en heup (zeven keer knie, vijf keer enkel, drie keer heup, twee keer SI-gewricht, één keer elleboog, één keer schouder). OA betrof twee keer schouder/humerus, één keer heup/femur en één keer humerus/elleboog.

Tabel 1. Symptomen bij presentatie van osteoarticulaire infecties. Getallen representeren percentages waarin het desbetreffende symptoom bij presentatie aanwezig was.

SYMPTOOM	OM (%)	SA (%)	OA (%)
Pijn	97	100	100
Immobilisatie	91	90	100
Zwelling	63	83	100
Koorts	63	79	75
Warmte	53	74	25
Roodheid	53	42	50

Afkortingen: OM=osteomyelitis, SA=septische artritis, OA=gecombineerde osteoarthritis.

Laboratorium

Het aantal kinderen van wie laboratoriumonderzoek een afwijkend BSE, CRP en afwijkende leukocyten en trombocyten liet zien, staat weergegeven in *tabel 2*. BSE en CRP waren meestal verhoogd en normaliseerden tijdens behandeling; CRP sneller dan BSE.

Beeldvorming

Bij 45 van 55 kinderen werd bij presentatie een röntgenfoto van het aangedane lichaamsdeel gemaakt: 30 positief, 25

negatief. Tien van 25 negatieven werden later alsnog positief, zes bleven negatief. ^{99m}Tc-botsintigrafie was positief bij 28 van 32 (88 procent) kinderen bij wie dit werd verricht. Van kinderen met een positieve scan hadden 12 een positieve en 16 een negatieve röntgenfoto. Van de vier kinderen met een negatieve scan had één een positieve en drie hadden een negatieve röntgenfoto bij presentatie. Combinatie van röntgen en scintigrafie gaf de diagnose bij presentatie en follow-up bij respectievelijk 82 en 95 procent (OM: 91 en 100 procent; SA: 74 en 89 procent, OA: 100 procent). Echografie werd verricht bij 15 kinderen en was positief bij 11. Bij SA leverde een combinatie van röntgenfoto, scintigrafie en echografie bij 79 procent van de gevallen de diagnose bij presentatie.

Microbiologie

OM: bloedkweken werden afgenomen bij 28 (87,5 procent) van 32 kinderen met OM, bij 12 (43 procent) van deze 28 kinderen werd een micro-organisme gevonden. Van de 16 met negatieve kweek waren drie tevoren behandeld met orale antibiotica. Bij 13 kinderen werd materiaal verkregen via botpunctie: zeven hiervan leverden een micro-organisme (54 procent), waarvan twee met voorafgaande orale antibiotische behandeling. In totaal werd bij 17 van 32 kinderen (53 procent) met OM een micro-organisme gevonden bij kweken van bloed, bot, of beide.

SA: bloedkweken werden afgenomen bij 16/19 kinderen met SA, bij vijf (31 procent) werd een micro-organisme gevonden. Drie van de 11 met negatieve bloedkweek waren voorafgaand behandeld met antibiotica. Bij 12 werd een kweek van gewrichtsvocht verricht: zes (50 procent) hiervan leverden een micro-organisme, waarvan één met voorafgaande antibiotische behandeling. In totaal werd bij tien van 19 kinderen (53 procent) met SA een micro-organisme gevonden.

OA: bij alle vier kinderen met OA werden zowel bloedkweken als lokale kweken afgenomen: bloedkweek was positief bij één (25 procent) en lokale kweek (gewricht) bij drie (75 procent). Gekweekte micro-organismen staan weergegeven in *tabel 3*.

Behandeling

De duur van antibiotische behandeling bij kinderen met OM bedroeg gemiddeld 37 dagen (22 intraveneus en 19 oraal). Eén kind werd tevens behandeld met chirurgisch ingebrachte gentamicine kralen. Bij 14 werd tevens naaldaspiratie, incisie of drainage verricht.

Bij kinderen met SA bedroeg de duur van antibiotische behandeling gemiddeld 34 dagen (15 intraveneus en 22 oraal).

Tabel 2. Laboratoriumbevindingen bij 55 patiënten met osteoarticulaire infecties (32 OM, 19 SA, 4 OA).

	BSE		CRP		LEUKOCYTEN		I/T-RATIO	TROMBOCYTEN	
	AANTAL ABNORMAAL*	WAARDE (MM/UUR)	AANTAL ABNORMAAL*	WAARDE (MG/L)	AANTAL VERHOOGD*	WAARDE (x 10 ⁹ /L)	AANTAL VERHOOGD	AANTAL VERHOOGD*	WAARDE (x 10 ⁹ /L)
OM	23/24	67	22/25	71	11/31	15,2	16	11/21	499
SA	10/13	41	19/19	90	6/19	12,2	9	8/14	383
OA	2/3	43	4/4	99	2/4	17,2	4	4/4	536
Totaal	35/40	50,3	45/48	86,6	19/54	14,9	29	23/39	473
Percentage	88%		94%		35%			59%	

*Getallen in deze kolom representeren het aantal kinderen met een abnormale waarde van de gemeten parameter ten opzichte van het totale aantal kinderen waarbij dit werd bepaald. De kolom ernaast geeft de gemiddelde waarde van de parameter voor desbetreffende subgroep.

Afkortingen: BSE= bezinkingsnelheid erythrocyten, CRP= C-reactief proteïne, I/T-ratio= verhouding van het aantal immature ten opzichte van het totale aantal neutrofiële granulocyten, OM=osteomyelitis, SA=septische artritis, OA=gecombineerde osteoarthritis.

Tabel 3. Leeftijd van kinderen met osteoarticulaire infecties en gevonden micro-organismen.

LEEFTIJD (JAREN)	TOTAAL (N)	S. AUREUS			S. PNEUMONIAE		S. PYOGENES		OVERIGE*			GEEN MICRO- ORGANISME GEKWEET		
		OM	SA	OA	OM	SA	OM	SA	OM	SA	OA	OM	SA	OA
0-2	28	5	0	2	1	1	1	0	2	0	1	8	6	1
2-5	12	2	2	0	1	0	0	2	0	0	0	4	1	0
5-8	7	0	3	0	0	0	1	1	0	0	0	2	0	0
8-15	8	4	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0

* 1x *H. influenzae*

Afkortingen: OM= osteomyelitis, SA= septische artritis, OA= gecombineerde osteoartritis.

Bij 12 kinderen werd naaldaspiratie, incisie of drainage verricht. De duur van antibiotische behandeling bij kinderen met OA bedroeg gemiddeld 44 dagen (36 dagen intraveneus en acht oraal). Alle kinderen met OA ondergingen naaldaspiratie, incisie of drainage.

Complicaties

Bij drie van 32 kinderen met OM deed zich een complicatie voor. Een jongetje van 34 maanden ontwikkelde een pathologische fractuur van de linkerhumerus met pseudo-artrose. Hij onderging tweemaal chirurgische interventie en houdt een armlengteverschil van 3 cm en beperkte exo-/endorotatie van de schouder. Eén kind had een 5°-beperking in dorsale enkelflexie en één een beenverkorting van 1,5 cm. Van de 19 kinderen met SA had één meisje een subluxatie van de heup met verminderde ipsilaterale abductie (30°) en exo-/endorotatie (25°). Kinderen met OA waren allen zonder complicaties. De mediane duur van follow-up (*range*) bedraagt bij OM acht maanden (7 dagen-11 jaar), bij SA zes maanden (14 dagen-4 jaar), bij OA 21 maanden (1-5 jaar). Voorzover vervolgd, werden noch bij OM, SA of OA recidieven vastgesteld.

Discussie

Dit onderzoek geeft resultaten van 55 kinderen uit de regio Nijmegen met osteoarticulaire infecties en laat zien dat deze infecties voornamelijk voorkomen bij kinderen jonger dan vijf jaar, zoals in de literatuur wordt beschreven.^{4,14} De vier kinderen met gecombineerde bot-gewrichtsinfectie (OA) waren jonger dan tien maanden. Kinderen jonger dan een jaar hebben een ruimere epifysaire doorbloeding, wat het risico van lokale verspreiding van infectie van bot naar gewricht verhoogt.^{11,14,20} Bij deze kinderen is SA daarom vaker het gevolg van OM van de nabijgelegen metafyse, bij oudere kinderen functioneert de epifysairschijf als barrière.¹⁴ In het onderzoek waren ongeveer evenveel jongens als meisjes aangedaan, terwijl de literatuur een voorkeur voor jongens laat zien.⁴ Bij OM zijn de lange pijpbeenderen vaker getroffen, wat wordt verklaard door de vasculaire en benige architectuur ervan.¹⁷ Bij onze kinderen met SA was de knie het meest aangedaan, conform de literatuur.^{4,14} Het is niet mogelijk osteoarticulaire infecties op basis van uitsluitend BSE, CRP en leukocytentelling te onderscheiden van andere infecties. Voor OM is de sensitiviteit van BSE en CRP respectievelijk 96 en 88 procent, voor SA 67 en 100 procent. Minder dan de helft had leukocytose, bij de helft hiervan met linksverschuiving, consistent met eerdere onderzoeken.^{6,7,13} Bij pasgeborenen zijn laboratoriumparameters aanvankelijk vaak nog normaal en is de diagnose vooral gebaseerd op symptomatologie.^{11,20} Tijdens behande-

ling normaliseert CRP sneller dan BSE. Voor evaluatie van het beloop is het CRP daarom de meest gevoelige parameter. Het eerste radiologische teken van OM is diepe weke-delenzwelling, gevolgd door botdestructie en periostale reactie, die doorgaans pas 7-21 dagen na het begin van de eerste symptomen ontstaan.^{7,8,13,17} Zoals in de literatuur^{3,4,6,10,14} had slechts ongeveer 50 procent van de kinderen bij eerste presentatie een positieve röntgenfoto, oplopend tot gemiddeld 70 procent in het verdere beloop. Ondanks de lage sensitiviteit en specificiteit van de röntgenfoto wordt toch geadviseerd deze te maken bij osteoarticulaire infecties, ter uitsluiting van andere oorzaken en vergelijking bij follow-up.^{3,4,6,10,14} ^{99m}Tc-botscintigrafie is meestal binnen 24-48 uur na presentatie positief. De sensitiviteit van dit onderzoek bedroeg in het onderzoek gemiddeld 87 procent, overeenkomend met de literatuur.⁸ Botscintigrafie differentieert in 90 procent tussen OM en SA^{8,14} en identificeert bovendien multipale foci, aanwezig bij 7 procent van kinderen en 22-50 procent van pasgeborenen.^{10,11,14} Een uitzondering daargelaten²¹ wordt bij neonaten meestal een lagere sensitiviteit gemeld.¹¹ Omdat scintigrafie maandenlang positief blijft, kan deze niet worden gebruikt bij evaluatie van de behandeling.⁸ Echografie is goed bruikbaar bij SA, sluit deze aandoening eigenlijk uit bij afwezigheid van effusie², is gemakkelijk uitvoerbaar, maakt naaldaspiratie mogelijk, maar is niet specifiek voor infectie. Echografie werd, evenals MRI en CT-scanning, in dit retrospectieve onderzoek weinig verricht omdat deze beeldvorming in het begin van de onderzoeksperiode nog niet algemeen werd gebruikt. MRI heeft een hoge sensitiviteit, is geschikt bij gecompliceerde patiënten en voor follow-up van OM,^{8,11} maar laat geen multipale foci zien en de procedure vereist sedatie. CT-scanning is superieur in het aantonen van corticale destructie, botemfyseem en sequesters, maar dit voordeel moet worden afgewogen tegen het stralingsnadeel.¹⁰

Microbiologie

Het percentage OM- en SA-gevallen waarbij micro-organismen werden gekweekt, is vergelijkbaar met de literatuur.^{4,6,9,14,16,19} evenals dat bij kinderen met OM na voorafgaande antibiotische behandeling.^{4,13,17,20} Vanwege grotere kans op vinden van een verwekker is het zinvol om een diagnostische punctie te verrichten, zelfs wanneer voorafgaande antibiotische behandeling heeft plaatsgevonden.

De veroorzakende micro-organismen bij OM en SA in het onderzoek komen overeen met die welke eerder werden gerapporteerd.^{4,6,13-16,19,20} Belangrijkste verwekkers waren *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* en *Streptococcus pyogenes* (zie tabel 3).

Complicaties

In het onderzoek ontwikkelden drie kinderen met OM (9 procent) en één met SA (5 procent) een complicatie, vergelijkbaar met door anderen vermelde cijfers.^{1,4-6,12-16,18,19}

Behandeling

Er wordt gestart met een intraveneus toe te dienen antibioticum dat de meest voorkomende verwekkers (*S. aureus*) dekt, bijvoorbeeld cefuroxim 150 mg/kg/dag. Drainage wordt aanbevolen wanneer pus wordt gezien bij beeldvorming en wordt altijd geadviseerd bij SA van schouder en heup. Bij punctieverwondingen dient tevens rekening te worden gehouden met *Pseudomonas aeruginosa* als verwekker. De totale duur van antibiotische behandeling bij osteoarticulaire infecties wordt verschillend opgegeven, evenals het moment waarop kan worden overgegaan van intraveneuze naar orale behandeling, en verschilt niet voor OM of SA.^{1,4,6,9,13,15-19} De overgang van intraveneuze naar orale behandeling wordt bepaald door de klinische respons (lokale symptomen, normalisatie van temperatuur) en het verloop van de laboratoriumparameters (CRP, BSE).^{14,18,19} Vereiste voorwaarden voor overgang naar oraal zijn de mogelijkheid van het kind om orale antibiotica in te nemen, binnen te houden en te resorberen en goede compliantie van de ouders. Dit betekent goede voedingstolerantie met afwezigheid van braken en diarree. Men kan de inname controleren door het bepalen van therapeutische serumconcentraties van het gebruikte antibioticum. Het oraal in te nemen antibioticum moet een goed farmacokinetisch en -dynamisch profiel hebben met goede biologische beschikbaarheid in bot en weke delen.

De totale duur van de behandeling voor osteoarticulaire infecties staat niet vast. Vroeger werd zes weken behandeld, maar kortere behandelingsperioden lijken even effectief, waarbij de kans op recidief toeneemt zodra de behandelingsduur rond de drie weken komt.¹⁴ Op grond van de gegevens uit het onderzoek wordt aangesloten bij het recente advies om, afhankelijk van snelheid van respons en in afwezigheid van complicaties, in totaal vier weken te behandelen.

Het advies is tevens om kinderen na het doormaken van een osteoarticulaire infectie nauwkeurig te vervolgen, bijvoorbeeld na zes en 12 maanden, maar langer bij verhoogde kans op late complicaties zoals neonatale osteomyelitis of infecties van heup- of schoudergewricht.

Summary

Data of 55 children admitted with osteoarticular infections between 1983-2001 (CWZ) or between 1990-2001 (UMCN) were studied: 32 osteomyelitis (OM), 19 septic arthritis (SA), four combined osteoarthritis (OA). Mean ages at presentation (range) - 44 months (7 days-148 months) in OM, 55 months (1-164 months) in SA - were lowest in OA: 20 days to ten months. Median duration of symptoms till presentation was 3-5 days. Pain was the presenting symptom, followed by immobilisation of the affected extremity/joint. About 75 per cent of patients had fever. Most affected sites were femur, humerus (OM) and knee (SA). Initial erythrocyte sedimentation rates and C-reactive protein values were elevated in virtually all patients. X-rays were abnormal in 56, 47 and 75 per cent, and ^{99m}Tc bone scintigraphies in 89, 83 and 100 per cent (OM, SA, OA, respectively). In 53 per cent of OM and SA cases, and 75 per cent of OA cases, respectively, a micro-organism was found, mainly *Staphylococcus aureus*.

In conclusion, acute septic osteoarticular infection is a disease of the young child, usually involving femur, humerus and knee. Since OM, SA and OA can hardly be differentiated clinically, it remains imperative to perform additional investigations in these patients. Recommendations with respect to antibiotic treatment are given.

Referenties

1. Blyth MJG, Kincaid R, Craigen MAC, Bennet GC. The changing epidemiology of acute and subacute osteomyelitis in children. *J Bone Joint Surg* 2001;83-B:99-102.
2. Cardinal E, Bureau NJ, Aubin B, Chhem RK. Role of ultrasound in musculoskeletal infections. *Radiol Clin North Am* 2001;39:191-201.
3. Carek PJ, Dickerson LM, Sack JL. Diagnosis and management of osteomyelitis. *Am Fam Physician* 2001;63:2413-20.
4. Christiansen P, Frederiksen B, Glazowski J, Scavenius M, Knudsen FU. Epidemiologic, bacteriologic, and long-term follow-up data of children with acute hematogenous osteomyelitis and septic arthritis: A ten year review. *J Pediatr Orthop Part B* 1999;8:302-5.
5. Dagan R. Management of acute hematogenous osteomyelitis and septic arthritis in the pediatric patient. *Pediatr Infect Dis J* 1993;12:88-93.
6. Dahl LB, Høyland AL, Dramsdahl H, Kaaresen PI. Acute osteomyelitis in children: A population-based retrospective study 1965 to 1994. *Scand J Infect Dis* 1998;30:573-7.
7. Dirschl DR, Almekinders LC. Osteomyelitis: Common causes and treatment recommendations. *Drugs* 1993;45:29-43.
8. Elgazzar AH, Abdel-Dayem HM, Clark JD, Maxon HR. Multimodality imaging of osteomyelitis. *Eur J Nucl Med* 1995;22:1043-63.
9. Goldenberg DL. Septic arthritis. *Lancet* 1998;351:197-202.
10. Jaramillo D, Treves ST, Kasser JR, Harper M, Sundel R, Laor T. Osteomyelitis and septic arthritis in children: Appropriate use of imaging to guide treatment. *Am J Radiol* 1995;165:399-403.
11. Joekes EC, Zonderland HM, Wagenvoort MM. Neonatale osteomyelitis: een aparte categorie qua beeld en verloop. *Ned Tijdschr Geneesk* 1996;140:1105-9.
12. Kaandorp CJ, Krijnen P, Bernelot Moens HJ, Habbema JDF, Schaardenburg D van. The outcome of bacterial arthritis, a prospective community-based study. *Arthritis Rheum* 1997;40:884-92.
13. Kawowska A, Davies HD, Jadavji T. Epidemiology and outcome of osteomyelitis in the era of sequential intravenous-oral therapy. *Pediatr Infect Dis J* 1998;17:1021-6.
14. Hartwig NG, Sakkers RJB. Infecties van bot en/of gewricht. *Tijdschr Kindergeneesk* 2003;71:2-8.
15. Peltola H, Unkila-Kallio L, Kallio MJT. Simplified treatment of acute staphylococcal osteomyelitis of childhood. *Pediatrics* 1997;99:846-50.
16. Scott RJ, Christofersen MR, Robertson WW, Davidson RS, Rankin L, Drummond DS. Acute osteomyelitis in children: A review of 116 cases. *J Pediatr Orthop* 1990;10:649-52.
17. Sonnen GM, Henry NK. Pediatric bone and joint infections. Diagnosis and antimicrobial management. *Pediatr Clin North Am* 1996;43:933-47.
18. Syrogiannopoulos GA, Nelson JD. Duration of antimicrobial therapy for acute suppurative osteoarticular infections. *Lancet* 1988;9:37-40.
19. Tröbs RB, Möriz RP, Bühligen U, et al. Changing pattern of osteomyelitis in infants and children. *Pediatr Surg Int* 1999;15:363-72.
20. Wong M, Isaacs D, Howman-Giles R, Uren R. Clinical and diagnostic features of osteomyelitis occurring in the first three months of life. *Pediatr Infect Dis J* 1995;14:1047-53.

I.B.Y. Tack¹, arts-assistent kindergeneeskunde, dr. B.A. Semmekrot^{2*}, kinderarts-neonatoloog, dr. P.M.V. van Wieringen¹, kinderarts, dr. T.J.W. Fiselier², kinderarts-reumatoloog, dr. J.F.G.M. Meis³, arts-microbioloog, dr. G.P.J.M. Gerrits¹, kinderarts-pulmonoloog. ¹Canisius-Wilhelmina Ziekenhuis, afdeling Kindergeneeskunde, Nijmegen, ²Universitair Medisch Centrum St Radboud, afdeling Kindergeneeskunde, Nijmegen, ³Canisius-Wilhelmina Ziekenhuis, afdeling Medische Microbiologie en Infectieziekten, Nijmegen.

***Correspondentieadres: dr. B.A. Semmekrot, Canisius-Wilhelmina Ziekenhuis, afdeling Kindergeneeskunde, Postbus 9015, 6500 GS Nijmegen, tel: 024-365 87 08, fax: 024-365 79 99, e-mail: B.Semmekrot@cwz.nl.**

Mucormycose tegenover aspergillose van de wang en/of sinus maxillaris?

Potentiële klinische gevolgen en de waarde van sneldiagnostiek

PH.A. VAN DAMME, K.J.A.O. INGELS, C. BOETES, S.S.N. DE GRAAF, P.E. VERWEIJ, E.H.M. HARTMAN

De waarde van gedifferentieerde chirurgische exploratie en mycologische sneldiagnostiek van een voor fulminante mucormycose verdachte schimmelinfectie van de wang en sinus maxillaris wordt geïllustreerd aan de hand van een casus. Een 14-jarige jongen met acute myeloïde leukemie blijkt uiteindelijk een aspergillose van de wanghuid te hebben, veroorzaakt door *Aspergillus flavus*, en gelukkigerwijs werd voorkomen dat hij een radicale en-bloc-resectie van het wang-maxillacomplex moest ondergaan.

Trefwoorden: aspergillose, mucormycose, wang, sinus maxillaris, leukemie, sneldiagnostiek

Casus

Een 14-jarige jongen was opgenomen op de afdeling Kinderoncologie in verband met cytostatische behandeling van acute myeloïde leukemie (FAB-classificatie M4 – myelomonocytaire leukemie). Na de tweede kuur was sprake van een ernstige neutropenie en deed zich een infectieuze complicatie voor. Op c.q. in de rechterwang ontstond in aansluiting op het verwijderen van een adhesieve ‘kaasplak’-pleister (DuoDERM) – aangebracht ter fixatie van de neusmaagsonde – aanvankelijk een kleine huidlaesie (5 mm), die echter snel in omvang toenam (figuur 1). Uit de rand ervan werd een ponsbiopsie genomen waarin bij pathologisch-anatomisch onderzoek aanwijzingen voor een invasieve schimmelinfectie werden gezien. Een Blankophor-P-preparaat en kweek van het biopt waren negatief, en er was geen circulerend *Aspergillus*-antigeen aantoonbaar in het serum. Op grond hiervan werd empirisch gestart met liposomaal amfotericine B (ambisome) in hoge dosering. Ondanks deze therapie breidde de laesie zich uit. De CT-scanbeelden lieten aanwijzingen zien voor botaan-tasting van de begrenzingen van de sinus maxillaris en de orbita (figuur 2). Differentieel diagnostisch werd primair gedacht aan zygomycose waarbij gevaarlijk snelle uitbreiding van het proces naar de neusbijholten en het cerebrum/cranium is beschreven als rinocerebrale mucormycose.¹

Bij klinisch onderzoek van de binnenzijde van de wang en de mondholte werden evenwel geen zichtbare of palpabele afwijkingen gevonden, en bleek de wang los en beweeglijk ten opzichte van de onderliggende benige structuren. Er waren evenmin aanwijzingen voor orbita of oculaire pathologie. Inspectie van de oro- en nasofarynx toonde geen verschijnselen van een zogenaamde *postnasal drip*. Aan het gebit werden geen bijzonderheden opgemerkt.

Bij operatieve exploratie langs intraorale weg werd na buccale vestibulaire benadering (figuur 3) een luikje gemaakt in de benige laterale sinus maxillaris-wand, waarna het antrum-slijmvlies zodanig werd geopend dat enerzijds een incisioneel biopt (voor microbiologische sneldiagnostiek) hiervan kon worden genomen en anderzijds de sinus (endoscopisch) kon worden geïnspecteerd, gespoeld en gekweekt. Wat werd waargenomen was een nauwelijks gepneumatiseerde

rudimentaire sinus maxillaris, maar expliciet zonder klinische tekenen van infectie of perforatie. Naso-endoscopie toonde geen afwijkingen, behoudens enige slijmvlieszwelling en irritatie, mogelijk als gevolg van de neusmaagsonde. Het luikje werd gesloten en separaat werd de necrotische haard in de wanghuid van extra-orale zijde ellipsoïd omsneden en eveneens ingezonden voor mycologische sneldiagnostiek. In afwachting van de uitslagen hiervan werd de patiënt in narcose gehouden.

De biopten werden microscopisch onderzocht met behulp van Gram-kleuring en Blankophor P. Uit de voorlopige uitslagen bleek de antrum-mucosa vrij van schimmel, terwijl de biopsie van de huid en subcutis daarentegen volzat met schimmeldraden (figuur 4). Morfologisch toonde het preparaat schimmeldraden met septa en dichotome vertakkingen het meest waarschijnlijk passend bij *Aspergillus* (of een andere gesepteerde schimmel) en niet bij zygomycose. Op basis hiervan werd besloten het aangedane gebied weliswaar ruim te resecteren tot voorbij de hyperemische geïndureerde randen (figuur 5), maar met intactlating van de mimische musculatuur en zonder het veroorzaken van een open verbinding met de mondholte of de sinus maxillaris en orbita. Een zogenaamde en-bloc-resectie werd voorkomen respectievelijk vermeden door gericht klinisch onderzoek en aanvullende mycologische sneldiagnostiek.

De kweek leverde uiteindelijk *A. flavus* op en de ambisome-medicatie werd vervangen door voriconazol. De invasieve schimmelinfectie werd hiermee onder controle gebracht.

Het ligt in de lijn der verwachting dat – na afronding van de intensieve chemotherapie vanwege AML en allogene beenmergtransplantatie – het huidweefseldefect te zijner tijd kan worden gesloten door middel van een huidtransplantaat van volledige dikte, ofwel door transpositie van huid, bijvoorbeeld van de schouderregio.

Bespreking

Mucormycose, een zygomycose, is een ongewoon ziektebeeld. Het is een potentieel allesverwoestende infectie veroorzaakt door schimmels van de klasse *Zygomycetes*, gekarakteriseerd door uitgebreide en ernstige weefselnecrose in gevallen van

neutropenie, traumatisch letsel en diabetes mellitus (rino-cerebrale mucormycose).¹ Zygomyceten zijn aanwezig in aarde, plantenresten en kunnen worden aangetroffen in natuurlijke materialen zoals hout (tongspatels) en verbandmiddelen.² Ze dringen het lichaam binnen, gewoonlijk na inhalatie via de paranasale sinus, maar ook het direct binnendringen via oppervlakkige wonden is beschreven bij personen met traumatisch letsel en/of na bijna-verdrinking.³ Invasie van de intacte huid door zowel zygomyceten als *Aspergillus* is eveneens beschreven vanuit gecontamineerde tongspatels, die waren gebruikt om veneuze katheters te fixeren, en vanuit verbandmiddelen, zoals pleisters.^{2,4} Het verloop van mucormycose is zelden goedaardig en progressieve lokale destructie gevolgd door interne disseminatie is frequent voorkomend. De gerapporteerde letaliteitscijfers variëren van 38 tot 80 procent, waarbij dient te worden aangetekend dat de hogere cijfers zijn geassocieerd met vertraging in de herkenning en diagnostiek van deze infectieziekte.¹

Vroegdiagnostiek kan het beste worden uitgevoerd door een biopsie van de necrotische afwijking te nemen en hiervan microscopisch onderzoek laten verrichten. Voor het detecteren van schimmels en gisten kunnen preparaten worden gemaakt in 20 procent KOH-oplossing waaraan Blankophor P is toegevoegd. Blankophor P bindt met chitine, cellulose, β 1-3 en β 1-4 polysacchariden van de schimmelcelwand, waardoor er bij een bepaalde golflengte (330 tot 380 nm) blauw/groene fluorescentie te zien is (figuur 4). Op basis van morfologische kenmerken zoals de diameter van de schimmeldraden, aanwezigheid van septa, hoek waaronder de schimmeldraden zich vertakken en aanwezigheid van gistcellen kan er onderscheid worden gemaakt tussen gisten, zygomyceten en andere schimmels, waaronder *Aspergillus*. Hoewel de aanwezigheid van schimmeldraden met een diameter van 3 μ m, dichotome vertakkingen en septa sterk verdacht is voor *Aspergillus*, zijn er vele andere schimmels die morfologisch niet te onderscheiden zijn van *Aspergillus*, zoals *Scedosporium* en *Fusarium*. Impression smears van de wondranden zouden de karakteristieke fungi kunnen tonen. Het succes van behandeling hangt af van de snelle diagnostiek, gevolgd door antischimmel-chemotherapie met lipide formuleringen van amfotericine B en chirurgische verwijdering van necrotisch weefsel.^{1,3} Een nog niet geregistreerde nieuwe triazool, posaconazol, lijkt effectief te zijn bij de behandeling van patiënten met invasieve zygomycose, en momenteel vinden er klinische onderzoeken plaats. Hyperbare zuurstoftherapie is niet bewezen effectief.

Aspergillose is een veel vaker voorkomende en door betere diagnostische mogelijkheden doorgaans beter (eerder) behandelbare schimmelziekte dan mucormycose, maar ook hierbij is sprake van ernstige morbiditeit en hoge letaliteit bij immuungecompromitteerde patiënten. Kolonisatie in de bovenste luchtwegen is niet ongewoon.⁵ De besmettingsweg is primair aërogeen, hoewel recentelijk aannemelijk is gemaakt dat infecties eveneens kunnen ontstaan via besmet water in ziekenhuizen.⁶ De primaire cutane vorm van aspergillose van de wang is zeldzaam, maar beschreven bij (een) patiënt(en) met ernstige immuunsuppressie met fatale afloop.⁷ Over uitbreiding naar en primaire infestatie van de sinus maxillaris is frequenter gerapporteerd.^{5,8} In onze koudere luchtstreken betreft het dan meestal *Aspergillus fumigatus*, in plaats van de hier zeldzame *A. flavus*, die meer in de warmere luchtstreken voorkomt. Er zijn verschillende

vormen onderscheiden naar gelang de ernst en uitbreiding van de ziekte: allergisch, non-invasief, non-invasief destructief, invasief en fulminant. De fulminante vorm lijkt echter vaker te moeten worden toegeschreven aan een zygomycet-infectie dan aan *Aspergillus*. De aanbeveling voor behandeling van de fulminante vorm is directe antischimmel-chemotherapie en agressieve radicale chirurgie.^{8,9}

Snelle intensieve antischimmelbehandeling en uitgebreid chirurgisch debridement zijn de pijlers van de brug naar overleving. Sneldiagnostiek is hierbij van elementair belang.¹⁰ Ter voorkoming van overbehandeling en dan vooral in de vorm van te uitgebreid wegnemen van essentiële weke en

Figuur 1. Klinisch beeld van de patiënt na eerdere huidbiopsie en snelle uitbreiding van de huidlaesie in de rechterwang.



Figuur 2. CT-scanbeelden met aanwijzingen voor botaantasting van de begrenzingen van de sinus maxillaris en de orbita (zie pijlen).



Figuur 3. Operatieve exploratie langs intraorale weg via buccale vestibulaire benadering voor het maken van een luijke in de benige laterale sinus-maxillariswand. Aan het gebit worden geen bijzonderheden opgemerkt.



Figuur 4. Blankophor-P-preparaat van het huidbiopt van de patiënt. Zichtbaar zijn schimmeldraden met septa en dichtotome vertakkingen.



Figuur 5. Status na ruime resectie tot voorbij de hyperemische geïndureerde randen, maar met intactlating van de mimische musculatuur en zonder het veroorzaken van een open verbinding met de mondholte of de sinus maxillaris en orbita.



benige delen in het gelaat, wat in hoge mate ontsierend en ernstig invaliderend is, blijft naast het in de literatuur aanbevolen CT-scanonderzoek, het klinisch onderzoek en gedifferentieerde chirurgische exploratie van cruciaal belang.

Summary

The values of differentiated surgical exploration and mycological quick-analysis in case of suspicion of fulminate mucormycosis of the cheek and maxillary sinus are demonstrated in a case report of a 14-year-old boy with acute myeloid leukemia. The final diagnosis turned out to be Aspergillosis of the cheek-skin caused by Aspergillus flavus and fortunately radical en-bloc resection of the maxilla-cheek-complex could be prevented.

Referenties

1. Hay RJ. Mucormycosis: an infectious complication of traumatic injury. *Lancet* 2005;365:830-1.
2. Mitchell SJ, Gray J, Morgan ME, Hocking MD, Durbin GM. Nosocomial infection with *Rhizopus microsporus* in preterm infants: association with wooden tongue depressors. *Lancet* 1996;348:441-3.
3. Chun JK, Christy M, Rudikoff D, Silver L. Cutaneous mucormycosis of the upper extremity: a series of patients and review of the literature. *Eur J Plast Surg* 2004;27:291-4.
4. Meessen NEL, Oberndorff KMEJ, Jacobs J A. Disseminated aspergillosis in a premature neonate. *J Hosp Infect* 1998;40:249-50.
5. Shannon MT, Sclaroff A, Colm SJ. Invasive aspergillosis of the maxilla in an immunocompromised patient. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990;70:425-7.
6. Warris A, Voss A, Verweij PE. Hospital sources of *Aspergillus*: New routes of transmission? *Rev Iberoam Micol* 2001;18:156-62.
7. Nakai K, Kanda Y, Mineishi S, Hori A, Chizuka A, Niiya H, et al. Primary cutaneous aspergillosis caused by *Aspergillus ustus* following reduced-intensity stem cell transplantation. *Ann Hematol* 2002;81:593-6.
8. Chakrabarti A, Sharma SC. Paranasal sinus mycoses. *Indian J Chest Dis Allied Sci* 2000;42:293-304.
9. Hovi L, Saarinen UM, Donner U, Lindqvist C. Opportunistic osteomyelitis in the jaws of children on immunosuppressive chemotherapy. *J Pediatr Hematol Oncol* 1996;18:90-4.
10. Verweij PE, Donnelly JP, Die CE van, Blijlevens NM, Kullberg BJ, Pauw BE de. [Improved diagnostics in invasive aspergillosis and systematic monitoring in patients at high risk of infection]. *Ned Tijdschr Geneeskd* 2005;149:561-7.

Dr. Ph.A. van Damme^{*}, mond-, kaak- en aangezichtschirurg, dr. K.J.A.O. Ingels, KNO-arts, aangezichtschirurg, dr. C. Boetes, radioloog, dr. S.S.N. De Graaf, kinderhematoloog/oncoloog, prof. dr. P.E. Verweij, arts-microbioloog, dr. E.H.M. Hartman, plastisch en reconstructief chirurg, micro- en aangezichtschirurg, Universitair Medisch Centrum St Radboud, Nijmegen/Radboud Universiteit Nijmegen.

^{*}Correspondentieadres: **Dr. Ph.A. van Damme, Universitair Medisch Centrum St Radboud, afdeling Mond- en kaakchirurgie, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen, tel: (024) 361 73 14, fax: (024) 354 11 65, e-mail: ph.vandamme@mkc.umcn.nl.**

18 oktober 2004 - A.G. Vonk

Host defence against disseminated and invasive *Candida albicans* infections. Promotores: prof. dr. B.J. Kullberg, prof. dr. J.W.M. van der Meer. Co-promotor: dr. M.G. Netea. Universitair Medisch Centrum St Radboud.

6 december 2004 - L.B. Bungener

Therapeutic immunization strategies against cervical cancer. Induction of cell-mediated immunity in murine models. Promotor: prof. dr. J.C. Wilschut. Co-promotor: dr. C.A.H.H. Daemen. Rijksuniversiteit Groningen, fac. Medische Wetenschappen, afd. Medische Microbiologie, sectie Moleculaire Virologie.

25 januari 2005 - A.M. van Roon

Schistosoma mansoni: structural and biophysical aspects of Lewis X-antibody interactions. Promotores: prof. dr. J.P. Abrahams, prof. dr. A.M. Deelder. Co-promotor: dr. C.H. Hokke. Leiden Institute of Chemistry, afd. Biophysical Structural Chemistry, Leids Universitair Medisch Centrum, afd. Parasitologie.

25 januari 2005 - A.M. Vollaard

Typhoid and paratyphoid fever in Jakarta, Indonesia. Epidemiology and risk factors. Promotor: prof. dr. J.T. van Dissel. Co-promotores: prof. dr. C. Surjadi, prof. dr. S. Widjaja. Leids Universitair Medisch Centrum, afd. Infectieziekten.

26 januari 2005 - P.L.A. Fraaij

Clinical research in HIV-1 infected children. Promotor: prof. dr. R. de Groot. Erasmus Medisch Centrum Rotterdam, afd. Kindergeneeskunde, subafd. Infectiologie en Immunologie.

10 maart 2005 - M.F.M. Langelaar

Heat shock protein 70 and bovine paratuberculosis. Promotores: prof. dr. W. van Eden, prof. dr. J.P.T.M. Noordhuizen. Co-promotores: dr. V.P.M.G. Rutten, dr. A.P. Koets. Universiteit Utrecht, fac. Diergeneeskunde, hoofdafd. Infectieziekten en Immunologie.

10 maart 2005 - F.C.M. van Leth

The use of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors in the treatment of HIV-1 infection. Promotor: prof. dr. J.A.M. de Lange. Co-promotores: dr. P. Reiss, dr. F.W.N.M. Wit. Academisch Medisch Centrum Amsterdam, Internationaal AIDS Therapie Evaluatie Centrum.

24 maart 2005 - W. Ayele

Diagnostics tailored to HIV-1 subtype C: the Ethiopian experience. Promotor: prof. dr. J. Goudsmit. Co-promotor: dr. G. Pollakis. Academisch Medisch Centrum Amsterdam, afd. Humane Retrovirologie.

24 maart 2005 - C. Bronke

Cytomegalovirus-specific T-cell dynamics in HIV infection. Promotor: prof. dr. F. Miedema. Co-promotores: dr. D. van Baarle, dr. K. Tesselaar. Universitair Medisch Centrum Utrecht, afd. Immunologie.

31 maart 2005 - M.I. Bakker

Epidemiology and prevention of leprosy: a cohort study in Indonesia. Promotor: prof. dr. W.R. Faber. Co-promotores: dr. L. Oskam, dr. M. Hatta. Academisch Medisch Centrum Amsterdam, afd. Dermatologie.

31 maart 2005 - E.R.W.A.N. Piriou

Viro-immunology of EBV-HIV co-infection. Promotores: prof. dr. H.J. van Oers, prof. dr. F. Miedema. Co-promotor: dr. D. van Baarle. Academisch Medisch Centrum, afd. Hematologie, Universitair Medisch Centrum Utrecht, afd. Immunologie.

15 april 2005 - J.J. Oosterheert

Kosteneffectieve methode voor de diagnostiek en behandeling van onderste-luchtweginfecties. Promotores: prof. dr. I.M. Hoepelman, prof. dr. M.J. Bonten. Co-promotor: dr. M.M.E. Schneider. Universitair Medisch Centrum Utrecht, afd. Interne Geneeskunde en Infectieziekten.

13 mei 2005 - H.R. van Doorn

Rapid diagnosis and drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis*. Promotor: prof. dr. C.M.J.E. Vandenbroucke-Grauls. Co-promotores: dr. E.J. Kuijper, dr. M.D. de Jong. Academisch Medisch Centrum Amsterdam, afd. Medische Microbiologie.

ORATIE**15 april 2005 - Prof. dr. H. Goossens**

De toekomst van de infectieziekten: een dubbeltje op zijn kant. Hoogleraar Medische Microbiologie, in het bijzonder de Bacteriologie. Leids Universitair Medisch Centrum.

PERSONALIA

Nieuwe leden

- Mw. S.Y. Boomkens, Sint Bonifaciusstraat 7, 3553 SN Utrecht.

Adreswijzigingen

- G.I. Andriessse, Streeklaboratorium voor de Volksgezondheid, Postbus 747, 5000 AS Tilburg.

- D.W. Notermans, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, LIS, Postbus 1, 3720 BA Bilthoven.
- Dr. M. van Rijn, Ikaziaziekenhuis, afd. Medische Microbiologie, Postbus 5009, 3008 AA Rotterdam.
- Mw. Dr. I.J.B. Spijkerman, Onze Lieve Vrouwe Gasthuis, Medisch Microbiologisch Laboratorium, Postbus 95500, 1090 HM Amsterdam.

10 JUNI 2005

20^e Leverdag

De Doelen, Rotterdam. Aanvang 14.30 uur.
Informatie: tel: 010-463 59 42/37 93, e-mail:
m.hoogendoorn@erasmusmc.nl.

16 EN 17 JUNI 2005

Boerhaavecursus Importziekten

Leids Universitair Medisch Centrum, Leiden.
Informatie en inschrijven: website: www.boerhaavenet.nl,
tel: 071-527 53 60, fax: 071-527 52 62.

24 JUNI 2005

**Boerhaavecursus 'Evidence based'-preventie van
zorginfecties**

Leids Universitair Medisch Centrum, Leiden.
Informatie en inschrijven: website: www.boerhaavenet.nl,
tel: 071-527 53 60, fax: 071-527 52 62.

23-28 JULI 2005

**International Union of Microbiological Societies (IUMS)
2005**

San Francisco, Californië, USA.
Informatie: e-mail: meetingsinfo@asmusa.org, website:
www.iums2005.org.

30 JULI-5 AUGUSTUS 2005

30th International Herpesvirus Workshop

Turku, Finland.
Informatie: e-mail: congress@utu.fi, website:
www.herpesvirusworkshop.com.

1-4 SEPTEMBER 2005

4th World Society for Pediatric Infectious Diseases WSPID

Warschau, Polen.
Informatie: e-mail: wspid2005@kenes.com, website:
www.kenes.com/wspid2005.

12 SEPTEMBER 2005

**311^e Bijeenkomst van de Werkgroep Oost, medische
microbiologie**

Huize Heyendaal, Nijmegen. Aanvang 14.30 uur.
Informatie: J.A. Kaan, tel: 030-256 67 48.

21-24 SEPTEMBER 2005

**45th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and
Chemotherapy (ICAAC)**

New Orleans, Louisiana, USA.
Informatie: ASM, 1752 N Street, NW Washington,
DC 20036-2804, USA, e-mail: ICAAC@asmusa.org, website:
www.icaac.org/ICAAC.asp.

13-24 OKTOBER 2005

4th Scheveningen Meeting

Scheveningen.
Informatie: Wens Reizen bv, Brinkzicht 20, 3743 EX Baarn,
e-mail: info@molecularmeeting.com, website:
www.molecularmeeting.com.

19-22 OKTOBER 2005

7th European Congress of Chemotherapy and Infection

Florence, Italië.
Informatie: Congrex Holland BV, Postbus 302, 1000 AH
Amsterdam, e-mail: Ecc2005@chemio.org, website: www.ioc.it.

23-26 OKTOBER 2005

2nd Trends in Medical Mycology

Berlijn, Duitsland.
Informatie: Congress Care, Postbus 440, 5201 AK Den Bosch,
e-mail: info@congresscare.com, website: www.timm2005.org.

12 DECEMBER 2005

**312^e Bijeenkomst van de Werkgroep Oost, medische
microbiologie**

Huize Heyendaal, Nijmegen. Aanvang 14.30 uur.
Informatie: J.A. Kaan, tel: 030-256 67 48.

22-25 FEBRUARI 2006

2nd Advances against Aspergillosis

Athene, Griekenland.
Informatie: Congress Care, Postbus 440, 5201 AK Den Bosch,
e-mail: info@congresscare.com, website: www.AAA2006.org.

Bijsluiter

advertentie C₃

advertentie C4