

Microbiotadiagnostiek in de klinische praktijk; zijn we er al?

Fons van den Berg, Stefan Boers, Liz Terveer

Samenvatting

Next-generation sequencing (NGS)-gebaseerde technologieën hebben het microbiomonderzoek ingrijpend veranderd, en klinische toepassingen daarvan winnen geleidelijk aan terrein. Hierbij wordt NGS steeds vaker ingezet voor pathogendetectie in steriele materialen, maar vormt de analyse van complexe, multi-microbiële populaties nog altijd een aanzienlijke uitdaging. Desondanks worden er diverse veelbelovende klinische toepassingen ontwikkeld. Zo worden microbiotaparameters onderzocht om kolonisatie van infectie te onderscheiden. Fecale microbiota-transplantatie (FMT) is een gevestigde therapie geworden voor terugkerende *Clostridioides difficile*-infecties en wordt momenteel onderzocht voor gebruik bij andere indicaties, zoals patiënten die niet reageren op immuuntherapie. Microbiota-gebaseerde testen zouden bovendien een hogere nauwkeurigheid kunnen bieden dan de huidige screeningsmethoden, zoals calprotectinebepalingen bij inflammatoire darmziekten. Ook het vaginale microbiota toont potentieel als voorspeller voor de uitkomst van fertiliteitsbehandelingen en het risico op vroeggeboorte. Binnen het farmacologisch domein laat farmacomicrobioomonderzoek zien dat darmbacteriën een belangrijke rol spelen in de opname, afbraak en effectiviteit van geneesmiddelen, en dat deze interactie wederkerig is.

Ondanks de veelbelovende resultaten uit wetenschappelijk onderzoek zijn de meeste bevindingen nog niet vertaald naar de klinische praktijk. Voor succesvolle implementatie zijn standaardisatie van analysemethoden, multi-disciplinaire samenwerking, prospectieve klinische validatie, referentiedatabases met uniforme metadata en integratie in klinische richtlijnen essentieel. De rol van artsen-microbioloog en medisch-moleculair microbiologen verschuift daarmee van pathogeenidentificatie naar interpretatie van complexe microbiële ecosystemen en advisering over microbiota-

modulerende strategieën, een ontwikkeling die nauw aansluit bij de opkomst van precisiegeneeskunde.

Summary

Next-generation sequencing (NGS)-based technologies have significantly advanced microbiome research and are now finding their way into clinical applications. Although NGS is commonly used for pathogen detection in sterile materials, analyzing complex microbial communities remains challenging. Several promising applications are currently under development. These include the use of microbiome-derived parameters to differentiate colonization from infection, as well as predictive tests for immunotherapy response. Fecal microbiota transplantation (FMT) has become an established therapy for recurrent *Clostridioides difficile* infections and is now under investigation for use in other indications such as non-responders to immunotherapy. Microbiome-based tests may outperform current screening tools, such as calprotectin assays for inflammatory bowel disease. Assessment of the vaginal microbiome also shows potential, for example, in predicting fertility treatment outcomes and the risk of preterm birth. Pharmacomicromics, an emerging field, underscores the bidirectional interactions between drugs and the microbiome. It is estimated that about 25% of medications influence microbial composition.

Amsterdam UMC locatie UMC, Amsterdam, dr. F.F. van den Berg, aios Medische Microbiologie LUMC, Leiden, dr. S.A. Boers, medisch moleculair microbioloog, dr. E.M. Terveer, arts-microbioloog. Correspondender auteur: dr. F.F. van den Berg, f.f.vandenberg@amsterdamumc.nl

Although promising, most findings have not yet been implemented in routine clinical practice. Critical prerequisites for implementation include standardization of diagnostic methods and reporting, multidisciplinary collaboration, prospective clinical validation, reference databases with uniform metadata, and integration into clinical guidelines. The role of medical and molecular microbiologists is therefore expanding, from pathogen identification to interpreting complex microbial ecosystems and advising on microbiota-modulating strategies. This represents a significant shift toward precision medicine.

NGS-technologieën in de klinische microbiologische diagnostiek

Moleculaire diagnostiek is een essentieel onderdeel van de moderne klinische microbiologie. De meeste laboratoria beschikken over een breed scala aan moleculaire detectiemethoden, van single-target PCR-tests tot uitgebreide multi-target testpanels. Deze technieken zijn snel en sensitief, maar vereisen een schatting van de a-priorikans van de te detecteren pathogenen. De introductie van next-generation sequencing (NGS) biedt hiervoor een krachtig alternatief. NGS maakt het mogelijk om in één enkel experiment de samenstelling en/of functie van microbiële populaties in uiteenlopende materialen te analyseren. Er zijn grofweg twee benaderingen: shotgun metagenomics en targeted sequencing (TS), elk met hun eigen voor- en nadelen. Bij ongerichte (shotgun) sequencing wordt al het DNA in een monster geanalyseerd (metagenomics). In theorie kunnen hiermee alle aanwezige micro-organismen worden geïdentificeerd en kunnen resistentiegenen of andere functionele eigenschappen worden voorspeld. In de praktijk is de klinische toepasbaarheid echter (nog) beperkt, vooral bij monsters met veel humaan DNA, zoals weefselbiopten, waarin dit meer dan 99,99 procent van de sequence reads kan uitmaken. Voorbehandelingsmethoden kunnen dit aandeel reduceren, maar zelfs dan is vaak ultradiepe sequencing nodig, wat doorgaans slechts gedeeltelijke microbiële genomen oplevert. Daarnaast zijn er technische en praktische obstakels, zoals complexe data-analyse, gebrek aan gestandaardiseerde workflows, ethische bezwaren rondom het (onbedoeld) sequencen van humaan DNA, en lange

doorlooptijden van soms meerdere weken. Ook de hoge kosten beperken vooralsnog de inzet in de dagelijkse routine. Deze methode kan van meerwaarde zijn wanneer deze gericht wordt ingezet bij specifieke, complexe of moeilijke casuïstiek.

Targeted sequencing (TS)-methoden kunnen veel van deze obstakels ondervangen. Hierbij worden specifieke, taxonomisch informatieve marker-genen geamplificeerd en gesequenced. Voor bacteriën is dit doorgaans het 16S ribosomaal RNA (rRNA)-gen, terwijl voor schimmels en gisten vaak het 18S rRNA-gen en/of de interne getranscribeerde spacer (ITS) regio's worden gebruikt. Deze PCR-gebaseerde TS-methoden zijn gevoeliger, eenvoudiger en goedkoper dan shotgun sequencing, maar leveren geen genetische informatie buiten de geamplificeerde regio's zoals over genen die coderen voor virulentie, resistentie of andere functionele eigenschappen. Bovendien bestaat er geen universele genetische marker voor virussen. Hiervoor zijn 'capture-based' TS-methoden ontwikkeld, waarbij virale sequenties worden verrijkt met behulp van miljoenen verschillende capture probes. Dit verhoogt de detectiegevoeligheid, maar brengt hogere kosten met zich mee.

Hoewel NGS waardevol is voor taxonomische identificatie, kan functionele karakterisering van het microbiom, zoals resistentieprofielen, metaboliëten en immuuninteracties, aanvullende inzichten bieden die verder gaan dan enkel de samenstelling van het microbiom. De keuze voor een van beide benaderingen vereist daarom een zorgvuldige afweging van praktische haalbaarheid, kosten, doorlooptijd en klinische relevantie per casus.

Infectie versus kolonisatie

Het beoordelen of een aangetoond micro-organisme in een niet-steriel materiaal daadwerkelijk verantwoordelijk is voor infectie bij een symptomatische patiënt, is een dagelijkse, maar doorgaans uitdagende taak van de arts-microbioloog. Het onderscheid tussen infectie en kolonisatie is van cruciaal belang, omdat een verkeerde interpretatie kan leiden tot zowel onder- als overbehandeling. Pathogenen zoals *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* en gramnegatieve staven kunnen zowel asymptomatisch aanwezig zijn in de luchtwegen (kolonisatie of dragerschap), als een ernstige pneumonie of longabces veroorzaken.

NGS-analyse op sputa van patiënten met ernstig astma toont aan dat *Haemophilus influenzae*, indien aanwezig als relatief dominante soort, geassocieerd is met neutrofielenactivatie, wat duidt op een bacteriële infectie [1]. Bij *Clostridioides difficile*-infecties (CDI) maakt de huidige, veelgebruikte PCR-diagnostiek op het toxisogen het lastig om CDI te onderscheiden van andere oorzaken van diarree bij dragers van toxineproducerende *C. difficile*. Dit leidt tot foutieve diagnoses en onnodige antibiotische behandeling. Microbiotaparameters bieden, zij het in beperkte mate, de mogelijkheid om kolonisatie te onderscheiden van een infectie [2], zoals het voorspellen van CDI bij ziekenhuispopulaties [3]. In tegenstelling tot klassieke diagnostiek, kan microbiota-analyse additionele informatie geven over kolonisatieresistentie, en dus de balans tussen pathogenen en commensalen binnen het totale ecosysteem. Uit een multi-omicsanalyse blijkt dat asymptomatische *C. difficile*-dragers meer verwante species uit de Clostridia-klasse bij zich dragen die sucrose afbreken dan patiënten met een CDI [4]. Dergelijke studies kunnen in de toekomst bijdragen aan gerichte diagnostiek en betere behandelkeuzes. Er zijn echter nog verschillende hordes te nemen voordat implementatie mogelijk is, waaronder de noodzaak van uniforme interpretatie en rapportage van resultaten. In China is een vergelijkende studie opgezet onder 122 microbiologische laboratoria waarbij een matrix bestaande uit negatieve bronchoalveolaire lavagemonsters werd gespiked met drie verschillende mock communities bestaande uit luchtwegpathogenen en commensalen. Hoewel het pathogeen meestal wel werd gedetecteerd, werd in slechts 73,8 tot 88,5 procent van de gevallen het juiste pathogeen gerapporteerd zonder dat ook de aanwezige commensalen werden gerapporteerd [5]. De variabiliteit in gebruikte methoden, onder andere op het gebied van cellysis, DNA/RNA-extractie, library preparation, sequencing platform en bio-informatica tools, was groot en deze technische keuzes beïnvloeden de resultaten aanzienlijk [6]. Dit onderstreept dat zelfs bij gestandaardiseerd materiaal, technische bias, subjectieve interpretatie en gebrek aan richtlijnen tot foutieve klinische beslissingen kunnen leiden. Dit benadrukt de noodzaak van standaardisatie en optimalisatie van microbiële NGS-diagnostiek.

Predictie van immunotherapie

De toepassing van diagnostische microbiota-analyses binnen de oncologie, met name in relatie tot immuun-checkpoint inhibitors (ICI's), heeft de afgelopen jaren een sterke ontwikkeling doorgemaakt en wordt gezien als een veelbelovend onderzoeksgebied. Deze vorm van immunotherapie werkt door remming van de PD-(L)1-signaalroute, die door tumorcellen wordt gebruikt om de aangeboren immuunrespons tegen maligne cellen te onderdrukken. Sommige commensalen, zoals bacteriën uit het *Enterocloster*-genus, blijken geassocieerd met resistentie tegen PD-1-blokkade, terwijl andere commensalen juist de effectiviteit van immunotherapie lijken te versterken. Deze inzichten hebben geleid tot de ontwikkeling van diagnostische testen zoals de BiomeOne®, die inmiddels IVDR-gecertificeerd is. Deze commerciële test is ontworpen om op basis van fecale microbiota-profielen onderscheid te maken tussen responders en non-responders, met een gerapporteerde sensitiviteit van 81 procent en een specificiteit van 50 procent. Hoewel het (niet-gepubliceerde) machine-learning algoritme zou zijn gebaseerd op gegevens van 10.000 patiënten, vond validatie plaats in een cohort van slechts 63 patiënten met een melanoom, niet-kleincellig longcarcinoom (NSCLC) of niercelcarcinoom [7]. Nadelen van deze test zijn het ontbreken van details over de gebruikte methode en classifiers, en de hoge kosten (€ 1000,00) die vooralsnog niet worden vergoed door zorgverzekeraars.

Recent is de TOPOSCORE-score gevalideerd op fecesmonsters van diverse patiëntcohorten [7,8]. Deze test is doorontwikkeld tot een qPCR-panel met 21 probes, en genereert binnen 48 uur een eenvoudig te interpreteren resultaat. Deze probes zijn gericht tegen species geassocieerd met non-respons (*Enterocloster bolteae*, *Erysipelatoclostridium ramosum*, *Clostridium symbiosum*, *Hungatella hathewayi* en *Veillonella atypica*) en respons (15 species waaronder butyraatproducerende bacteriën zoals *Roseburia*, *Eubacterium* en *Faecalibacterium prausnitzii*), en aanwezigheid van *Akkermansia muciniphila*. Voor NSCLC-patiënten bedroegen de sensitiviteit, specificiteit, positief- en negatiefvoorspellende waarde voor langetermijnoverleving respectievelijk 74,1, 56,8, 69,8 en 61,9 procent, met een area under the curve (AUC) van 0,66. De auteurs stellen dat, ondanks de beperkte voorspellende waarde, de test mogelijk

bruikbaar is voor indicatiestelling van microbiotagerichte interventies zoals fecale microbiotatransplantatie (FMT). Uit twee kleine proof-of-conceptstudies is al gebleken dat FMT bij non-responders op PD-(L)1-therapie een hernieuwde therapierespons op hetzelfde middel gaf in 30 tot 40 procent van de gevallen [9,10]. De klinische meerwaarde van microbioomdiagnostiek en FMT bij immunotherapie zal echter moeten blijken uit grotere, goed opgezette trials.

Samenvattend beginnen de eerste voorspellende microbioomtesten voor therapierespons op ICI's hun intrede te doen. BiomeOne® is reeds beschikbaar, maar deze test is duur en de methoden zijn niet transparant. De academisch ontwikkelde TOPOSCORE is transparant en uitgebreid gevalideerd, maar implementatie is technisch complex. Beide testen hebben een beperkte voorspellende waarde, waardoor het voorlopig lastig blijft om dergelijke testen te gebruiken voor klinische besluitvorming voor behandeling. Daarnaast varieert de microbiële samenstelling sterk per individu en is nog onvoldoende duidelijk welke specifieke micro-organismen of functies essentieel zijn voor een positieve ICI-respons. Dit resulteert in inconsistente bevindingen tussen cohorten [11].

Inflammatoire darmziekten

Inflammatoire darmziekten (IBD), waaronder de ziekte van Crohn en colitis ulcerosa, worden gekenmerkt door een chronische, ontregelde immuunrespons tegen darmantigenen resulterend in mucosale ontsteking. Deze verstoorde immuunreactie wordt waarschijnlijk gemedieerd door een complexe interactie tussen genetische predispositie, omgevingsfactoren en de intestinale microbiota [12]. IBD wordt gekarakteriseerd door een pro-inflammatoir cytokinemilieu, waarin de balans tussen regulatoire T-cellen (Tregs) en pro-inflammatoire T-helper-17-cellen verstoord is [13]. Normaal gesproken onderdrukken Tregs pro-inflammatoire T-helpercellen en dragen zo bij aan de mucosale tolerantie.

Microbiële verstoring wordt steeds vaker geassocieerd met de pathogenese van IBD. Patiënten met actieve colitis ulcerosa vertonen een minder diverse microbiële samenstelling in vergelijking met gezonde individuen [14], met name een afname van beschermende bacteriën, zoals *Faecalibacterium prausnitzii*, en

soorten uit *Clostridium*-cluster IV en XIVa, die behoren tot de families Ruminococcaceae en Lachnospiraceae binnen het phylum Firmicutes, en *Akkermansia muciniphila* binnen het phylum Verrucomicrobia. Tegelijkertijd wordt een overgroei waargenomen van facultatief anaerobe Enterobacteriaceae, waaronder *Escherichia coli* en *Klebsiella*-soorten. Bovendien is de productie van korteketenvezuren (SCFA) gereduceerd bij actieve IBD. SCFA's zoals butyraat vervullen verschillende functies, waaronder het in stand houden van een anaeroob milieu, het versterken van de intestinale barrière en modulatie van het immuunsysteem, wat mogelijk bijdraagt aan bescherming tegen mucosale ontsteking bij IBD. Op basis van fecale metagenomics is een multiplex droplet digital PCR-test ontwikkeld die acht bacteriële species detecteert en IBD (in een onderzoeksetting) nauwkeuriger onderscheidt van gezonde controles dan de huidige calprotectinetest dat doet [15]. De eerstgenoemde test bevindt zich echter nog in een experimenteel stadium en is nog niet breed beschikbaar in de diagnostische praktijk.

FMT wordt ook onderzocht als therapie voor patiënten met colitis ulcerosa. Een meta-analyse van acht randomised controlled trials (RCT's) rapporteerde een klinische remissie van 51,8 procent bij FMT-behandelde patiënten versus 16,1 procent in de controlegroep, zonder significante toename van bijwerkingen [16]. De effectiviteit lijkt echter soms sterk donorafankelijk, waarbij specifieke donoren tot wel 80 procent respons induceren, vergeleken met gemiddelde van 42 procent bij andere donoren [17,18]. Dit biedt perspectief voor verdere ontwikkeling van gepersonaliseerde therapieën met bacteriële consortia, de zogeheten live biotherapeutic products (LBP's). Opmerkelijk was dat de 'superdonor', die geselecteerd was op basis van metagenomics, in vitro assays en muismodellen, minder effectief was dan de controledonor met een 'ongunstiger' profiel. Dit onderstreept dat het vooralsnog moeilijk te voorspellen is welke donor daadwerkelijk effectief zal zijn, hoewel een gezond microbioom op populatieniveau algemeen beschreven kan worden [20]. Verdere studies moeten laten zien wat de optimale toedieningsroute, dosering, behandeluur en preconditionering is, om de klinische toepasbaarheid van microbiotamoderende therapie te verbeteren.

Vaginale microbiota

De vaginale microbiota is, in vergelijking met de gastro-intestinale microbiota, minder complex en wordt voornamelijk gedomineerd door *Lactobacillus*-species. Een complexe NGS-benadering is daarom meestal niet nodig. Een belangrijke studie uit 2012 onderscheidde vijf zogeheten community state types (CST), die worden gedomineerd door *Lactobacillus iners*, *L. crispatus*, *L. gasseri*, of *L. jensenii*, of een meer gevarieerd microbiota bestaande uit voornamelijk (facultatief) anaerobe bacteriën [19]. Met name de anaerobe CST wordt beschouwd als een dysbiotische staat en is geassocieerd met vroeggeboorte en falen van fertiliteitsbehandeling. De lokale immuunrespons, specifiek de vaginale β -defensin-2-concentratie, is in combinatie met de CST sterk voorspellend voor het risico op vroeggeboorte [20].

Recent ontwikkelde predictiemodellen hebben een AUC tot 0,87 bereikt [21,23], wat de potentie van de microbiota als voorspellende factor onderstreept. Een voorbeeld van een klinische toepassing is de Nederlandse receptIVFity-test. Deze test is gebaseerd op de in het Amsterdam UMC (destijds VUmc) ontwikkelde IS-promethode, een PCR-gebaseerde techniek die gebruikmaakt van de variabele lengte van de ITS-regio's van het bacteriële ribosomale operon om bacteriën te differentiëren [22]. Er is echter kritiek op de beperkte transparantie van de gebruikte methodologie, deels om octrooitechnische redenen, en de resultaten zijn tot op heden niet onafhankelijk gereproduceerd. Daarnaast worden de kosten (€ 400,00 per test) momenteel niet vergoed door zorgverzekeraars. Een RCT naar het effect van vaginale probiotica (combinatie van *L. gasseri* en *L. rhamnosus*) toonde geen verbetering van de testscore met de therapie, maar liet wel zien dat de testscore (spontaan) verbeterde in beide groepen [23]. De test wordt al gebruikt in sommige ziekenhuis voor de optimale timing van fertiliteitsbehandelingen, hoewel er nog geen studies zijn die de effectiviteit van deze benadering aantoont.

Ondertussen hebben veel laboratoria multiplex PCR-assays geïntegreerd voor de diagnose van bacteriële vaginose. Deze assays, waarvan meerdere commerciële varianten bestaan, detecteren en kwantificeren sleutelbacteriën zoals *Gardnerella vaginalis*, *Fannyhessea* (voorheen *Atopobium*) *vaginae*, *Megasphaera*- en diverse *Lactobacillus*-species [24]. Dit maakt een objectieve en

reproduceerbare beoordeling van het vaginale microbiota mogelijk, en vormt daarmee een goed voorbeeld van een praktische vereenvoudiging van microbiomdiagnostiek.

Pharmacomicrobiomics: de interactie tussen het microbiom en geneesmiddelen

Behalve dat microbiota-analyse nuttig kan zijn voor diagnose en behandeling, komt er steeds meer aandacht voor de rol van het microbiom bij reguliere geneesmiddelen. In het vakgebied pharmacomicrobiomics wordt onderzocht hoe darmbacteriën invloed hebben op de manier waarop medicatie wordt opgenomen, afgebroken en werkzaam zijn, en vice versa. Bepaalde bacteriële enzymen kunnen geneesmiddelen metaboliseren tot actieve of juist inactieve vormen. Zo kan *Eggerthella lenta* digoxine deactiveren, en wordt het pro-drug sulfasalazine pas in de dikke darm door bacteriële azoreductasen omgezet in de werkzame stoffen sulfapyridine en 5-aminosalicylzuur. Een ander sprekend voorbeeld is levodopa, een veelgebruikte therapie bij de ziekte van Parkinson. Darmbacteriën, zoals *Enterococcus faecalis*, kunnen levodopa met behulp van tyrosine decarboxylase omzetten in dopamine nog voordat het de bloed-hersenbarrière bereikt, waardoor de werkzaamheid van de therapie vermindert [25]. Tegelijkertijd kunnen geneesmiddelen het microbiom zelf beïnvloeden. Antibiotica zijn hierin de bekendste boosdoeners, maar ook veelgebruikte middelen als metformine en protonpompremmers kunnen de microbiële diversiteit verlagen, of het aandeel potentieel pathogene soorten vergroten. Uit recent onderzoek blijkt dat ongeveer 25 procent van de humane geneesmiddelen de microbiota in meer of mindere mate beïnvloedt, soms zelfs als onderdeel van hun werkingsmechanisme, zoals verondersteld bij antipsychotica en selectieve serotonineheropname-remmers [26,27]. De klinische relevantie van deze interacties wordt steeds duidelijker. Ook in andere vakgebieden worden verbanden gelegd tussen microbiotasamenstelling, therapierespons en bijwerkingen. Toekomstige farmacotherapie zal hier waarschijnlijk rekening mee houden, en pharmacomicrobiomic profiling zou kunnen helpen bij het selecteren van werkzame geneesmiddelen of het voorspellen van toxiciteit. Vooralsnog blijft brede klinische toepassing beperkt, mede vanwege de complexiteit van de interacties en het gebrek aan

gestandaardiseerde analysemethoden. Desondanks ontstaan er al initiatieven voor probiotische co-therapieën om bijwerkingen van geneesmiddelen te verminderen. Zo verminderde een multi-stam probioticum gastro-intestinale klachten bij metforminegebruikers in een placebogecontroleerde studie [28]. Ook zijn er aanwijzingen dat probiotica diarree kunnen verminderen bij patiënten met colorectale kanker die het chemotherapeutikum irinotecan gebruiken, met name bij patiënten met een colostoma [29]. Hoewel het vakgebied nog in de kinderschoenen staat, tonen deze voorbeelden aan dat farmacotherapie steeds vaker rekening houdt met microbiominteracties.

Microbiotatransplantatie als microbiotamodulerende therapie

FMT is een effectieve en richtlijngebaseerde behandeling voor recidiverende *Clostridioides difficile*-infecties (rCDI) [30]. De werkzaamheid berust op het herstel van de darmmicrobiota, die essentieel is voor kolonisatieresistentie tegen *C. difficile*. Dit proces omvat niet alleen bacteriën, maar ook virussen, eukaryoten en hun metabolieten, die gezamenlijk de darmhomeostase beïnvloeden. Patiënten met rCDI vertonen een sterk gereduceerde microbiële diversiteit en een relatieve overgroei van facultatief anaeroben. Dit resulteert onder andere in een verstoorde omzetting van primaire naar secundaire galzouten en een verminderde competitie om nutriënten en ecologische niches, waardoor *C. difficile* kan uitgroeien en toxines kan produceren [31,32]. FMT herstelt een functioneel microbiel ecosysteem, wat leidt tot een verbeterde kolonisatieresistentie, immuunmodulatie en reductie van inflammatoire processen. Meta-analyses tonen een klinische resolutie van 81 tot 94 procent na FMT, significant hoger dan de 31 procent bij behandeling met vancomycine [33,34].

Naast rCDI wordt FMT steeds vaker onderzocht als mogelijke therapie voor andere aandoeningen waarbij verstoring van de microbiota een rol speelt. Voorbeelden zijn eerder besproken aandoeningen, zoals inflammatoire darmziekten, metabole en neurologische aandoeningen, en respons op immuun-checkpoint inhibitors. Hoewel de werkzaamheid hierbij minder goed is vastgesteld, suggereren studies dat FMT een effect kan hebben op immuunregulatie en inflammatie, maar deze studies zijn zeer heterogeen in studieopzet en uitkomsten. Dit onderstreept de

noodzaak van verdere standaardisatie en klinische studies om de optimale donorselectie, fecespreparatie en toedieningsstrategieën te bepalen.

Vaginale microbiotatransplantatie werd toegepast bij vijf vrouwen met refractaire bacteriële vaginose waarna vier vrouwen langdurige in remissie waren, maar er zijn tot heden nog geen trials gepubliceerd [35]. FMT wordt momenteel geclassificeerd als een 'substance of human origin' (SoHo), wat strikte regelgeving en kwaliteitsbewaking vereist. De oprichting van fecesbanken, zoals de Nederlandse Donor Feces Bank (NDFB), speelt hierin een essentiële rol door veilige en gestandaardiseerde fecespreparaten beschikbaar te stellen. Parallel hieraan worden databases opgezet om de langetermijnveiligheid en effectiviteit te monitoren. De inzichten uit FMT-onderzoek vormen de basis voor de ontwikkeling van meer gestandaardiseerde en gerichte microbiotamodulerende therapieën, zoals live biotherapeutic products (LBP's). De eerste gerandomiseerde klinische studies naar deze volgende generatie probiotica laten voorzichtig positieve resultaten zien [36]. Hoewel FMT momenteel de gouden standaard is voor rCDI, zal de toekomst waarschijnlijk een verschuiving laten zien naar precisiegerichte microbiota-interventies, waarbij specifiek samengestelde bacteriële consortia therapeutisch worden ingezet. Tot op heden is er echter geen overtuigend bewijs dat microbiële profiling van de donor leidt tot betere klinische uitkomsten bij rCDI. Het is doorgaans voldoende om donoren te selecteren op basis van uitgebreide anamnese en uitsluiting van factoren die het microbiom negatief kunnen beïnvloeden (zoals bijna alle chronische ziekten en medicatiegebruik). Bij andere indicaties dan rCDI, zoals inflammatoire darmziekten of immuuntherapie hebben donorprofielen mogelijk wel invloed op de effectiviteit, maar hiervoor zijn nog geen robuuste en reproduceerbare predictiemodellen beschikbaar [37].

Toekomst

De klinische implementatie van microbiotadiagnostiek en -modulatie bevindt zich in een stroomversnelling. Diagnostische testen zoals BiomeOne®, TOPOSCORE en ReceptIVFity markeren de eerste stappen richting microbiotagebaseerde voorspellende testen. De beperkte transparantie van de commerciële testen, het ontbreken van validatiestudies en het uitblijven van vergoeding door zorgverzekeraars zijn

barrières voor implementatie. Therapieën zoals FMT en LBP's, eventueel gestuurd door microbiotamarkers, bieden perspectief op gepersonaliseerde behandelingen. Voor een betrouwbare en brede toepassing in de klinische praktijk is echter een gestructureerde aanpak vereist. Belangrijke randvoorwaarden voor succesvolle implementatie zijn onder andere:

1. Standaardisatie van analysemethoden, inclusief interpretatie en rapportage van resultaten en de onderliggende bioinformatica- pijplijnen.
2. Effectieve multidisciplinaire samenwerking tussen artsen-microbioloog, medisch-moleculair microbiologen, klinisch farmacologen, bioinformatici en behandelend specialisten.
3. Klinische validatie van testen in grootschalige, bij voorkeur prospectieve, gecontroleerde studies.
4. De opbouw van goed gekarakteriseerde microbiota-databanken (en referentiecohorten) met uniforme metadata.
5. Integratie van bewezen toepassingen in klinische richtlijnen.
6. Waarborging van de kwaliteit door middel van certificering en externe kwaliteitscontroles of rondzendingen.

Bij verdere ontwikkeling van microbiotagebaseerde toepassingen is het van belang dat de nadruk niet uitsluitend ligt op de taxonomische samenstelling, maar vooral op de functionele eigenschappen van het microbioom. Mechanistisch inzicht in microbiële metaboliën, enzymatische routes en interacties met het immuunsysteem is essentieel om translationele relevantie te waarborgen en de stap naar klinische toepasbaarheid te vergemakkelijken. De opkomst van microbiotagebaseerde diagnostiek en therapie verbreedt het takenpakket van artsen-microbioloog en medisch moleculair microbiologen, die een steeds belangrijker rol spelen in de vertaling van microbiotadata naar de kliniek. Naast hun bestaande rol in onder meer pathoëenidentificatie, infectiepreventie, diagnostisch en antibiotisch advies, wordt ook de interpretatie van complexe microbiotaprofielen en het adviseren over microbiotamodulerende strategieën steeds relevanter. Daarmee vormen zij een cruciale schakel

tussen sequencingdata, klinische besluitvorming en de verdere ontwikkeling van precisiegeneeskunde. De integratie van microbiotagebaseerde toepassingen vraagt dus om zorgvuldige validatie, maar biedt duidelijke perspectieven op meer gepersonaliseerde en effectieve patiëntenzorg. We zijn er nog niet, maar de contouren van klinische bruikbare microbiotadiagnostiek worden steeds duidelijker.

Referenties

1. Versi A, Azim A, Ivan FX, et al. U BIOPRED study group. A severe asthma phenotype of excessive airway Haemophilus influenzae relative abundance associated with sputum neutrophilia. *Clin Transl Med.* 2024;14(9):e70007.
2. Robinson JI, Weir WH, Crowley JR, et al. Metabolomic networks connect host-microbiome processes to human Clostridioides difficile infections. *J Clin Invest.* 2019;129(9):3792-806.
3. Berkell M, Mysara M, Xavier BB, et al. ANTICIPATE study group. Microbiota-based markers predictive of development of Clostridioides difficile infection. *Nat Commun.* 2021;12(1):2241.
4. Fishbein SR, Robinson JI, Hink T, et al. Multi-omics investigation of Clostridioides difficile-colonized patients reveals pathogen and commensal correlates of C. difficile pathogenesis. *Elife.* 2022;11:e72801.
5. Diao Z, Zhang Y, Chen Y, et al. Assessing the Quality of Metagenomic Next-Generation Sequencing for Pathogen Detection in Lower Respiratory Infections. *Clin Chem.* 2023;69(9):1038-49.
6. Tourlousse DM, Narita K, Miura T, et al. Validation and standardization of DNA extraction and library construction methods for metagenomics-based human fecal microbiome measurements. *Microbiome.* 2021;9(1):95.
7. Robinson I, Hochmair MJ, Schmidinger M, et al. Assessing the Performance of a Novel Stool-Based Microbiome Test That Predicts Response to First Line Immune Checkpoint Inhibitors in Multiple Cancer Types. *Cancers (Basel).* 2023;15(13):3268.
8. Derosa L, Iebba V, Silva CAC, et al. Custom scoring based on ecological topology of gut microbiota associated with cancer immunotherapy outcome. *Cell.* 2024;187(13):3373-89.e16.
9. Davar D, Dzutsev AK, McCulloch JA, et al. Fecal microbiota transplant overcomes resistance to anti-PD-1 therapy in melanoma patients. *Science.* 2021;371(6529):595-602.
10. Baruch EN, Youngster I, Ben-Betzalel G, et al. Fecal microbiota transplant promotes response in immunotherapy-refractory melanoma patients. *Science.* 2021;371(6529):602-9.
11. Simpson RC, Shanahan ER, Scolyer RA, Long GV. Towards modulating the gut microbiota to enhance the efficacy of immune-checkpoint inhibitors. *Nat Rev Clin Oncol.* 2023;20(10):697-715.
12. Chang JT. Pathophysiology of Inflammatory Bowel Diseases. *N Engl J Med.* 2020;383(27):2652-664.
13. Eastaff-Leung N, Mabarrack N, Barbour A, Cummins A, Barry S. Foxp3+ regulatory T cells, Th17 effector cells, and cytokine environment in inflammatory bowel disease. *J Clin Immunol.* 2010;30(1):80-9.
14. Alam MT, Amos GCA, Murphy ARJ, Murch S, Wellington EMH, Arasardnam RP. Microbial imbalance in inflammatory bowel disease patients at different taxonomic levels. *Gut Pathog.* 2020;12:1.

15. Zheng J, Sun Q, Zhang M, et al. Noninvasive, microbiome-based diagnosis of inflammatory bowel disease. *Nat Med.* 2024;30:3555-67.
16. Liu H, Li J, Yuan J, Huang J, Xu Y. Fecal microbiota transplantation as a therapy for treating ulcerative colitis: an overview of systematic reviews. *BMC Microbiol.* 2023;23(1):371.
17. Rossen NG, Fuentes S, van der Spek MJ, et al. Findings From a Randomized Controlled Trial of Fecal Transplantation for Patients With Ulcerative Colitis. *Gastroenterology.* 2015;149(1):110-18.e4.
18. van Lingen E, Nooij S, Terveer EM, et al. Faecal Microbiota Transplantation Engraftment After Budesonide or Placebo in Patients With Active Ulcerative Colitis Using Pre-selected Donors: A Randomized Pilot Study. *J Crohns Colitis.* 2024;18(9):1381-93.
19. Ravel J, Gajer P, Abdo Z, et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108 Suppl 1(Suppl 1):4680-7.
20. Elovitz MA, Gajer P, Riis V, et al. Cervicovaginal microbiota and local immune response modulate the risk of spontaneous preterm delivery. *Nat Commun.* 2019;10(1):1305.
21. Golob JL, Oskotsky TT, Tang AS, et al. Microbiome preterm birth DREAM challenge: Crowdsourcing machine learning approaches to advance preterm birth research. *Cell Rep Med.* 2024;16;5(1):101350.
22. Koedooder R, Singer M, Schoenmakers S, et al. The vaginal microbiome as a predictor for outcome of in vitro fertilization with or without intracytoplasmic sperm injection: a prospective study. *Hum Reprod.* 2019;34(6):1042-54.
23. Jepsen IE, Saxtorph MH, Englund ALM, et al. Probiotic treatment with specific lactobacilli does not improve an unfavorable vaginal microbiota prior to fertility treatment-A randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022;13:1057022.
24. Muzny CA, Cerca N, Elnaggar JH, Taylor CM, Sobel JD, Van Der Pol B. State of the Art for Diagnosis of Bacterial Vaginosis. *J Clin Microbiol.* 2023;61(8):e0083722.
25. Maini Rekdal V, Bess EN, Bisanz JE, Turnbaugh PJ, Balskus EP. Discovery and inhibition of an interspecies gut bacterial pathway for Levodopa metabolism. *Science.* 2019;364(6445):eaau6323.
26. Maier L, Pruteanu M, Kuhn M, et al. Extensive impact of non-antibiotic drugs on human gut bacteria. *Nature.* 2018;555(7698):623-8.
27. Vich Vila A, Collij V, Sanna S, et al. Impact of commonly used drugs on the composition and metabolic function of the gut microbiota. *Nat Commun.* 2020;11(1):362.
28. Nabrdalik K, Drożdż K, Kwiendacz H, et al. Clinical Trial: Probiotics in Metformin Intolerant Patients with Type 2 Diabetes (ProGasMet). *Biomed Pharmacother.* 2023;168:115650.
29. Mego M, Kasperova B, Chovanec J, et al. The beneficial effect of probiotics in the prevention of irinotecan-induced diarrhea in colorectal cancer patients with colostomy: a pooled analysis of two probiotic trials (Probio-SK-003 and Probio-SK-005) led by Slovak Cooperative Oncology Group. *Front Oncol.* 2024;14:1438657.
30. van Prehn J, Reigadas E, Vogelzang EH, et al. Guideline Committee of the European Study Group on Clostridioides difficile. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: 2021 update on the treatment guidance document for Clostridioides difficile infection in adults. *Clin Microbiol Infect.* 2021;27 Suppl 2:S1-S21.
31. Buffie CG, Bucci V, Stein RR, et al. Precision microbiome reconstitution restores bile acid mediated resistance to Clostridium difficile. *Nature.* 2015;517(7533):205-8.
32. Weingarden AR, Chen C, Bobr A, et al. Microbiota transplantation restores normal fecal bile acid composition in recurrent Clostridium difficile infection. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2014;306(4):G310-9.
33. Quraishi MN, Widlak M, Bhala N, et al. Systematic review with meta-analysis: the efficacy of faecal microbiota transplantation for the treatment of recurrent and refractory Clostridium difficile infection. *Aliment Pharmacol Ther.* 2017;46(5):479-93.
34. Moayyedi P, Yuan Y, Baharith H, Ford AC. Faecal microbiota transplantation for Clostridium difficile-associated diarrhoea: a systematic review of randomised controlled trials. *Med J Aust.* 2017;207(4):166-72.
35. Lev-Sagie A, Goldman-Wohl D, Cohen Y, et al. Vaginal microbiome transplantation in women with intractable bacterial vaginosis. *Nat Med.* 2019;25(10):1500-4.
36. Louie T, Golan Y, Khanna S, et al. VE303, a Defined Bacterial Consortium, for Prevention of Recurrent Clostridioides difficile Infection: A Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 2023;329(16):1356-66.
37. Podlesny D, Durdevic M, Paramsothy S, et al. Identification of clinical and ecological determinants of strain engraftment after fecal microbiota transplantation using metagenomics. *Cell Rep Med.* 2022;3(8):100711.