

## Immunologische getuigen van infecties: nieuwe diagnostische strategieën voor infectieziekten

Footprints of infection: novel diagnostic strategies in infectious diseases

Dr. J. ten Oever

### Samenvatting

Op 21 oktober 2015 promoveerde dr. J. ten Oever aan de Radboud Universiteit te Nijmegen op het proefschrift 'Footprints of infection: novel diagnostic strategies in infectious diseases'. Het onderzoek werd verricht onder leiding van promotor prof. dr. M.G. Netea en co-promotores dr. ir. M. van Deuren en dr. F.L. van de Veerdonk (afdeling Interne Geneeskunde, Radboudumc, Nijmegen). Hieronder staan de belangrijkste bevindingen van het proefschrift beschreven.

(Tijdschr Infect 2016;11(3):103-4)

### Inleiding

Het maken van een onderscheid tussen een infectieuze en niet-infectieuze ontsteking en het vaststellen van de oorzaak van deze ontsteking heeft belangrijke klinische consequenties. Het tijdig toedienen van de juiste antimicrobiële therapie voorkomt morbiditeit en mortaliteit, overmatig antibioticagebruik dient echter vermeden te worden vanwege het gevaar op resistentieontwikkeling van bacteriën en schimmels en de hiermee geassocieerde potentiële bijwerkingen en toegenomen kosten. In dit proefschrift onderzochten wij nieuwe (combinaties van) diagnostische biomarkers gekozen op basis van een verwachte afweerrespons. Daarnaast hadden we tot doel de diagnostische waarde van cytokineproductietesten te onderzoeken bij patiënten die geanalyseerd werden in verband met een mogelijke afweerstoornis.

### Nieuwe biomarkers

Het aangeboren afweersysteem herkent met behulp van patroonherkende receptoren geconserveerde biochemische structuren op pathogenen (pathogeen-geassocieerde moleculaire patronen). Toll-like receptor (TLR)2 en TLR4 zijn voorbeelden van zulke receptoren en herkennen vooral onderdelen van de bacteriële en fungale celwand. Recent zijn oplosbare vormen van deze receptoren ontdekt: soluble Toll-like receptor (sTLR)2 en sTLR4. Onze hypothese was dat sTLR2 en sTLR4 in verschillende mate vrijkomen

gedurende verschillende inflammatoire ziekten.<sup>1</sup> Lipopolysaccharide (LPS) afkomstig van *E. coli* (een TLR4-ligand) en Pam3Cys (een TLR2-ligand) induceerden beide het vrijkomen van sTLR2 and sTLR4 uit gekweekte mononucleaire cellen uit het perifere bloed. Dit toont aan dat het afsplitsen van TLRs niet voorbehouden is aan stimulatie van de corresponderende celgebonden receptor. Intraveneuze toediening van LPS aan gezonde vrijwilligers resulteerde in circulerend sTLR2 en sTLR4. Tot slot testten we het onderscheidend vermogen van circulerend sTLR2 en sTLR4 en vergeleken dat met CRP bij patiënten met infectieuze en niet-infectieuze inflammatoire aandoeningen. sTLR4 was gelijkwaardig aan CRP wat betreft het maken van onderscheid tussen infectieuze en niet-infectieuze inflammatie, sTLR2 presteerde echter slechter dan CRP. CRP onderscheidde een bacteriële infectie beter van een virale infectie dan sTLR2 en sTLR4.

Een andere patroonherkende receptor is galectine-3. Galectine-3 herkent onder andere  $\beta$ -1,2 mannoside, een celwandbestanddeel van schimmel. Desalniettemin vonden we gelijke concentraties van galectine-3 in het plasma tijdens candidemie en bacteriële sepsis.<sup>2</sup> Galectine-3 onderscheidde echter wel patiënten met infecties (virale lageluchtweginfecties bacteriële sepsis en candidemie) van patiënten zonder infecties (jicht, autoinflammatoire syndromen en pancreatitis). Een concentratie van >20.6 ng/ml was >95% speci-

Correspondentie richten aan: dr. J. ten Oever, internist-infectioloog, afdeling Interne Geneeskunde, Radboudumc, huispost 463, postbus 9191, 6500 HB Nijmegen, tel.: 024 - 3667209, e-mailadres: jaap.tenoever@radboudumc.nl.

Belangenconflict/financiële ondersteuning: geen gemeld.

**Trefwoorden:** diagnostiek.

**Keywords:** diagnostics.

Ontvangen 4 april 2016, geaccepteerd 11 april 2016.

fiek voor een infectie. De sensitiviteit was hoger dan die van CRP: 43% versus 27%. Met het sequentiële gebruik van CRP en galectine-3 kon ruim de helft van de patiënten met een infectie op deze manier geïdentificeerd worden. Voor het uitsluiten van een infectie is deze marker dus ongeschikt. Vluchtige stoffen in de uitademingslucht vormen een andere categorie biomarkers die snel op non-invasieve wijze te meten zijn. We concentreerden ons op stikstofoxide (NO), een klein molecuul, waarvan de productie aanzienlijk toeneemt tijdens inflammatie.<sup>3</sup> Tijdens septische shock speelt NO een sleutelrol in de pathofysiologie van vasculaire dysfunctie. In een studie met beademde septische patiënten met of zonder pneumonie en een controlegroep van patiënten na cardiale chirurgie of grote acute cerebrale pathologie, toonden we aan dat lokale productie, in plaats van systemische klaring, verantwoordelijk is voor de toegenomen concentraties van uitgeademde NO tijdens een pneumonie. Daarnaast vonden we een tijdsafhankelijke afname van uitgeademde NO na het verbeteren van de sepsis. Er was echter wel een overlap tussen patiënten met en zonder pneumonie, waarschijnlijk ten gevolge van de complexe balans tussen productie en consumptie van NO. Dus op individueel niveau kan NO in de uitademingslucht niet gebruikt worden om een pneumonie vast te stellen.

### Combinatie van biomarkers

Het nut van het combineren van biomarkers onderzochten wij bij 167 Roemeense kinderen met mazelen.<sup>4</sup> De acute ontstekingsreactie tijdens mazelen werd gekenmerkt door afwezigheid van kenmerken van de acutefaserespons, zoals een leukocytose en duidelijk verhoogde concentraties van CRP, interleukine (IL)-6 en IL-1Ra. Typerend voor de acute ontstekingsreactie tijdens mazelen waren juist verhoogde concentraties van IL-18 en interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ). Dit weerspiegelt de Thelper-1-reactie die nodig is voor de klaring van het virus. Daarnaast vonden we een lymfocytopenie en aanzienlijk verhoogde concentraties van lactaatdehydrogenase. De combinatie van deze bevindingen verschilde significant van een controlegroep bestaande uit kinderen met koorts en huiduitslag, maar zonder mazelen. Dit suggereert dat dit biomarkerprofiel gebruikt kan worden in de differentiële diagnostiek van koorts en huiduitslag bij kinderen. In een studie met septische patiënten met een lageluchtweg-infectie op de spoedeisende hulp, vergeleken we het onderscheidend vermogen van CRP en inflammatoire biomarkers om een bacteriële infectie te voorspellen. Dit werd gedaan door een CRP-bepaling te vergelijken met een combinatie van CRP en één andere inflammatoire biomarker [lipopolysaccharide-bindend eiwit (LBP), procalcitonine, IL-6, IL-18 of sTREM-1].<sup>5</sup> Het oppervlak onder de 'receiver operator characteristic' curve (AUROC) van CRP was 0,82 (95%-betrouwbaarheidsinterval 0,70-0,93), passend bij een matig

onderscheidend vermogen. De combinatie van CRP met een van de andere biomarkers had echter geen significant effect op de AUROC in vergelijking met CRP alleen, evenmin in de subgroep van patiënten met een CRP-waarde >150 mg/l, dat zeer specifiek was voor een bacteriële infectie.

### Immuundeficiëntie

Cytokineproductietesten zijn testen die meten hoeveel cytokines uitgescheiden worden door gekweekte mononucleaire cellen uit het perifere bloed na stimulatie met verschillende (bestanddelen van) micro-organismen. In een studie met 157 volwassen patiënten met ernstige, terugkerende of opportunistische infecties of onverklaarde niet-infectieuze inflammatoire aandoeningen bleek een derde van deze patiënten lymfocyten te hebben met een gebrekkige productie van cytokines IFN- $\gamma$ , IL-17A en/of IL-22.<sup>6</sup> Deze observatie ondersteunt de recente opvatting dat meer patiënten aan een afweerstoornis lijden dan voorheen werd aangenomen. Deze functionele bevindingen bleken behulpzaam bij het vaststellen van een mutatie in *STAT1* bij autosomaal dominante mucocutane candidiasis en de diagnose van het hyper-IgE-syndroom. Overeenkomstig hun immunologische eigenschappen, werd een verminderde productie van IFN- $\gamma$  overwegend gevonden bij patiënten met een mycobacteriële of schimmelinfectie en was een verminderde IL-17A- en IL-22-respons geassocieerd met mucocutane schimmelinfecties. Een kwart van de patiënten met een niet-infectieuze inflammatoire aandoening (met name hidradenitis suppurativa) had een IFN- $\gamma$ -deficiëntie, mogelijk ten gevolge van een overproductie van IL-17. De uitkomsten van deze testen kunnen het gebruik van immunotherapie, in de zin van recombinant IFN- $\gamma$  (voor specifieke defecten) of IL-1Ra (om overstimulatie van IL-17 te blokkeren), sturen. Opvallend was dat de cytokine-productie door monocyten slechts zelden was aangedaan, in tegenstelling tot cytokineproductie door lymfocyten.

### Referenties

1. Ten Oever J, et al. The discriminative capacity of soluble Toll-like receptor (sTLR)2 and sTLR4 in inflammatory diseases. *BMC Immunol* 2014;15:55.
2. Ten Oever J, et al. Circulating galectin-3 in infections and non-infectious inflammatory diseases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2013;32:1605-10.
3. Ten Oever J, et al. Pulmonary infection, and not systemic inflammation, accounts for increased concentrations of exhaled nitric oxide in patients with septic shock. *J Breath Res* 2013;7:036003.
4. Ten Oever J, et al. Characterization of the acute inflammatory response in measles infection. *J Pediatr Infect Dis* 2014;3:197-200.
5. Ten Oever J, et al. Combination of biomarkers for the discrimination between bacterial and viral lower respiratory tract infections. *J Infect* 2012;65:490-5.
6. Ten Oever J, et al. Cytokine production assays reveal discriminatory immune defects in adults with recurrent infections and non-infectious inflammation. *Clin Vaccine Immunol* 2014;21:1061-9.