

Shigella spp. en entero-invasieve *Escherichia coli*: diagnostiek, klinische gevolgen en invloed op de volksgezondheid

Shigella spp. and entero-invasive *Escherichia coli*: diagnostics, clinical implications and impact on public health

dr. M.J.C. van den Beld

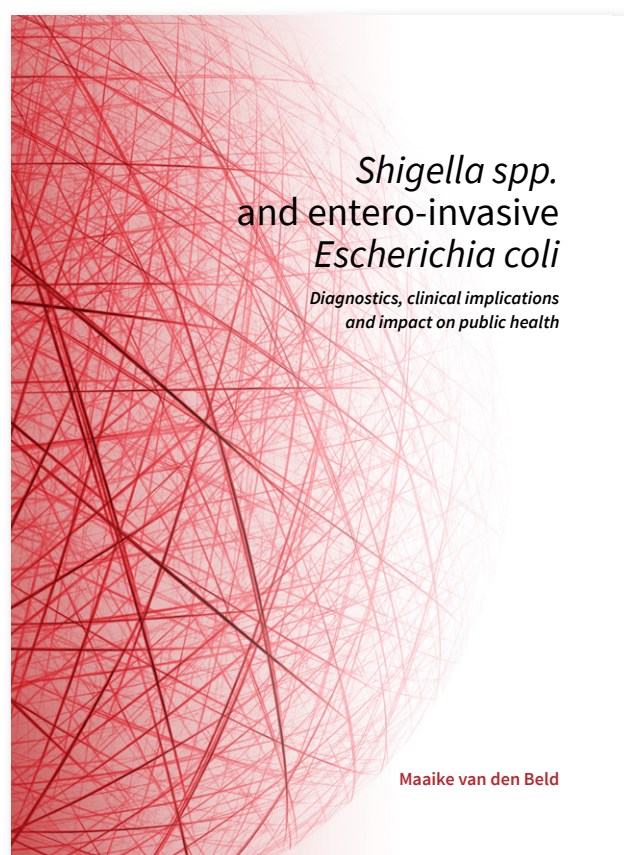
SAMENVATTING

Op 11 december 2019 promoveerde Maaïke van den Beld aan de Rijksuniversiteit Groningen op het proefschrift getiteld ‘*Shigella* spp. en entero-invasieve *Escherichia coli*, Diagnostiek, klinische gevolgen en invloed op de volksgezondheid’. Het onderzoek werd verricht onder supervisie van promotor prof. dr. J.W.A. Rossen en co-promotoren dr. A.M.D. Kooistra-Smid en dr. F.A.G. Reubsæet. In dit artikel worden de belangrijkste bevindingen besproken.

(TIJDSCHR INFECT 2020;15(6):232-4)

SUMMARY

On December 11th 2019, Maaïke van den Beld successfully defended her PhD thesis entitled ‘*Shigella* spp. and entero-invasive *Escherichia coli*, Diagnostics, clinical implications and impact on public health’, supervised by prof. dr. J.W.A. Rossen, dr. A.M.D. Kooistra-Smid and dr. F.A.G. Reubsæet. This article summarizes the most important findings of this thesis.



Correspondentie graag richten aan: mw. dr. M.J.C. van den Beld, wetenschappelijk medewerker en coördinator diagnostiek en laboratoriumsurveillance van enterale bacteriën, Centrum voor Infectieziekteonderzoek, Diagnostiek en laboratorium Surveillance, RIVM, Postbus 1, postvak 22, 3720 BA Bilthoven, tel.: 030 274 34 54, e-mailadres: maaïke.van.den.beld@rivm.nl

Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: het uitvoeren van de multicenterstudie IBESS werd financieel ondersteund vanuit het programmabudget van de Regionale Ondersteuning van het RIVM Centrum Infectieziektebestrijding.

Trefwoorden: diagnostiek, EIEC, *Escherichia coli*, *Shigella*, shigellose, surveillance.

Keywords: diagnostics, EIEC, *Escherichia coli*, *Shigella*, shigellosis, surveillance.

ONTVANGEN 2 MAART 2020, GEACCEPTEERD 12 MAART 2020.

INLEIDING

Shigella spp. en het *Escherichia coli*-pathotype entero-invasieve *E. coli* (EIEC) veroorzaken waterige of bloederige diarree: shigellose of dysenterie. Beide gebruiken hetzelfde infectiemechanisme en zijn genetisch zo verwant dat ze, samen met andere *E. coli*-pathotypen, als 1 species zouden moeten worden geclassificeerd.^{1,2} Laboratoriumonderscheid met commensalen of andere pathotypen van *E. coli* wordt hierdoor bemoeilijkt. Bovendien is de isolatie door middel van kweek ongevoelig en arbeidsintensief. Moleculaire detectie is gevoeliger dan kweek en kan onderscheid maken tussen *Shigella* spp./EIEC en andere *E. coli*, maar niet tussen *Shigella* spp. en EIEC. Hierdoor blijft kweek noodzakelijk, temeer omdat alleen kweekbevestigde *Shigella*-infecties zijn opgenomen in de Nederlandse meldcriteria voor de bestrijding van shigellose. Daarnaast is een reïncultuur noodzakelijk voor een bepaling van het antibiogram en voor nationale surveillance-doeleinden.^{1,3} Zoals in veel andere landen is in Nederland de bestrijding en epidemiologische surveillance voor EIEC niet gereguleerd via wetten en richtlijnen.³ De complexe differentiatie tussen *Shigella* spp. en EIEC, en de ongevoelige kweekmethode bemoeilijken de uitvoering van deze shigellose-richtlijnen. Het doel van het onderzoek in dit proefschrift was het leveren van een bijdrage aan beter onderscheidende diagnostiek. Daarnaast werden de klinische gevolgen en invloed op de volksgezondheid van infecties met *Shigella* spp. en EIEC onderzocht om de praktische toepassing van diagnostiek en de shigellose-richtlijnen te verbeteren.

TAXONOMIE

Een taxonomische studie, gebaseerd op sequenties van hele genomen van de type stammen van de *Shigella*- en *Escherichia*-genera, toonde aan dat alle species van *Shigella* en *E. coli* een genetische gelijkenis vertonen binnen de vastgestelde speciesgrenzen. Dit in tegenstelling tot de type stammen van de overige species binnen het genus *Escherichia*: de gelijkenis met zowel *Shigella* spp. en *E. coli*, als de species onderling viel buiten de speciesgrenzen.

DIAGNOSTIEK

Een multicenter-evaluatie onder 16 medisch microbiologische laboratoria (MML's) toonde aan dat een grote variëteit aan kweekprotocollen voor *Shigella* spp. wordt gebruikt in de routinediagnostiek, terwijl 11 van de 16 MML's geen protocol hadden geïmplementeerd voor het kweken van EIEC. Voor moleculaire diagnostiek gebruikte elk MML een uniek protocol, dat geen invloed had op de kwalitatieve detectie van *Shigella* spp. en EIEC.⁴

Het gebruik van een moleculair algoritme voor diagnostiek direct toegepast op feces, waarbij het *ipaH*-gen, gecombi-

neerd met O-antigeengenen (*wzx*- en *wzy*-genen), worden gedetecteerd, gevolgd door gerichte kweek, bleek een snelle, accurate detectiemethode voor *Shigella* spp. en EIEC. Indien een uitvoerige identificatie en serotypering gewenst is, kan een fenotypisch algoritme worden toegepast door een referentielaboratorium. Dit algoritme bestaat uit de detectie van eerder beschreven virulentiemarkers, fenotypetesten en agglutinatie met antisera.⁵

In de meeste MML's wordt MALDI-TOF-massaspectrometrie toegepast voor de identificatie van bacteriën, waarbij gebruik wordt gemaakt van reguliere commerciële databanken. Deze methode bleek niet geschikt om onderscheid te maken tussen *Shigella* spp., *E. coli* en EIEC, ook niet na het optimaliseren van deze methode: het bouwen van een lokale databank, het toewijzen van biomarkers en het ontwikkelen van classificatiemodellen met behulp van 'machine learning' als alternatieven.⁶

INCIDENTIE, EPIDEMIOLOGIE, KLINISCHE GEVOLGEN EN INVLOED OP DE VOLKSGEZONDHEID

Gedurende IBESS (invasieve bacteriën *E. coli*-*Shigella*-studie), een 2-jarig, cross-sectioneel multicenteronderzoek in Nederland, werden 1.199 shigellose-patiënten geïncludeerd. Op het fecesmateriaal werd laboratoriumdiagnostiek verricht. Tevens werden epidemiologische en klinische patiëntendata uitgevraagd.⁷ Incidentie, risicofactoren, ernst van het ziektebeeld, secundaire infecties, en sociaaleconomische consequenties van infecties met *Shigella* spp. en EIEC werden vergeleken met behulp van regressiemethoden, waarbij de grootste verschillen gevonden werden in risicofactoren. Ernst van het ziektebeeld, de mate van secundaire infecties, zorgvraag en andere sociaaleconomische gevolgen verschilden niet significant tussen beide verwekkers. Kweekbevestigde en alleen moleculair bevestigde, kweeknegatieve shigellose verschilden ook significant qua risicofactoren. Daarbij hadden patiënten bij wie de kweek negatief was, een ernstiger ziektebeeld en verzuimden langer van werk dan patiënten met een positieve kweek.⁷

Uit 'genome-wide association studies' van de IBESS-data bleek dat voorspellende genetische markers voor bepaalde ziekte-uitkomsten niet aanwezig waren in de ziekteverwekkende *Shigella* spp. en EIEC.⁸ De variatie in het ziektebeeld kan veroorzaakt worden door andere, waarschijnlijk gastheergebonden, factoren.

De karakterisering van isolaten, verzameld tijdens de IBESS-studie, toonde aan dat kennis over circulerende isolaten met behulp van laboratoriumsurveillance een meerwaarde heeft: een substantieel deel van de isolaten bleek resistent tegen cotrimoxazol (73%) en ciprofloxacine (19%).⁹

AANWIJZINGEN VOOR DE PRAKTIJK

- 1 Een moleculair algoritme voor diagnostiek dat direct wordt toegepast op feces, gevolgd door gerichte kweek, is goed te gebruiken als snelle, accurate detectiemethode voor *Shigella* spp. en EIEC.**
- 2 MALDI-TOF-massaspectrometrie, al dan niet geoptimaliseerd, is niet geschikt voor de differentiatie tussen *Shigella* spp. en *E. coli*.**
- 3 Resistentie tegen in richtlijnen geadviseerde antibiotica voor de behandeling van shigellose komt veel voor. Behandeling zou alleen moeten plaatsvinden op geleide van het antibiogram.**
- 4 De shigellose-richtlijnen worden momenteel heroverwogen. Dit biedt een kans om een betere aansluiting te faciliteren op de huidige diagnostiek en op de uitkomsten van infecties met *Shigella* spp. en EIEC.**

Beide worden geadviseerd bij de behandeling van shigellose. Daarnaast kon worden vastgesteld dat internationaal gerapporteerde uitbraakclusters ook binnen Nederland circuleren en zich verder verspreiden.⁹

CONCLUSIE

Differentiatie van *Shigella* spp. en EIEC blijft lastig, ook als de diagnostiek is geoptimaliseerd. De oorsprong hiervan ligt in de incorrecte classificatie van *Shigella* als apart genus. Herclassificatie van *Shigella* spp. en/of het pathotype EIEC zou de praktische uitvoering van diagnostiek en richtlijnen voor de volksgezondheid beter ondersteunen. Hiertoe zou een officieel verzoek moeten worden ingediend bij de gerechtelijke commissie van de Internationale Commissie van Systematiek van Prokaryoten. Tussen de gevolgen van infecties met *Shigella* spp. en EIEC bestaan geen grote verschillen. Er is geen ondersteuning gevonden voor de huidige meldcriteria en casusdefinitie, waarbij alleen kweekbevestigde shigellose veroorzaakt door *Shigella* spp. meldingsplichtig is en bestrijdingsprotocollen in werking worden gesteld. Daarnaast werden geen van species onafhankelijke, voorspellende markers voor de mate van ziekte gevonden om bestrijding te prioriteren. Tot slot toonde karakterisering van *Shigella* spp. en EIEC-isolaten aan dat multifactoriële benaderingen, bestaande uit laboratorium- en epidemiologische surveillance, een meerwaarde hebben voor de (inter)nationale surveillance en uitbraakdetectie van shigellose. Suggesties in dit proefschrift zullen worden gebruikt bij de huidige heroverweging van de shigellose-richtlijnen.

REFERENTIES

1. Van den Beld MJ, Reubsaaet FA. Differentiation between *Shigella*, enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC) and noninvasive *Escherichia coli*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2012;31:899-904.
2. Lampel KA, Formal SB, Maurelli AT. A brief history of *Shigella*. EcoSal Plus 2018;8:doi: 10.1128/ecosalplus.ESP-0006-2017.
3. LCI-richtlijn Shigellose. Te raadplegen op: <https://lci.rivm.nl/richtlijnen/shigellose>.
4. Van den Beld MJ, Friedrich AW, Van Zanten E, et al. Multicenter evaluation of molecular and culture-dependent diagnostics for *Shigella* species and entero-invasive *Escherichia coli* in the Netherlands. J Microbiol Methods 2016;131:10-5.
5. Van den Beld MJ, De Boer RF, Reubsaaet FA, et al. Evaluation of a culture dependent algorithm and a molecular algorithm for identification of *Shigella* spp., *Escherichia coli*, and enteroinvasive *E. coli* (EIEC). J Clin Microbiol 2018;56:e00510-18.
6. Van den Beld MJ, Rossen JW, Evers A, et al. Matrix-assisted laser desorption-ionization time-of-flight mass spectrometry using a custom-made database, biomarker assignment or mathematical classifiers does not differentiate *Shigella* spp. and *Escherichia coli*. BioRxiv 2019;714295.
7. Van den Beld MJ, Warmelink E, Friedrich AW, et al. Incidence, clinical implications and impact on public health of infections with *Shigella* spp. and entero-invasive *Escherichia coli* (EIEC): results of a multicenter cross-sectional study in the Netherlands during 2016-2017. BMC Infect Dis 2019;19:1037.
8. Hendriks AC, Reubsaaet FA, Kooistra-Smid AM, et al. Genome-wide association studies of *Shigella* spp. and enteroinvasive *Escherichia coli* isolates demonstrate an absence of genetic markers for prediction of disease severity. BMC Genomics 2020;21:138.
9. Van den Beld MJ, Reubsaaet FA, Pijnacker R, et al. A multifactorial approach for surveillance of *Shigella* spp. and entero-invasive *Escherichia coli* is important for detecting (inter)national clusters. Front Microbiol 2020;11:564103.