

Prof.dr. E.J. Kuijper

# Sporen zoeken en kaartlezen



Universiteit  
Leiden

Bij ons leer je de wereld kennen

# Sporen zoeken en kaartlezen

Oratie uitgesproken door

Prof.dr. E.J. Kuijper

bij de aanvaarding van het ambt van hoogleraar in de

Experimentele Bacteriologie

aan de Universiteit Leiden

op vrijdag 20 december 2013



Universiteit  
Leiden



*Meneer de Rector, zeer gewaardeerde toehoorders,*

Op 7 april 1853 stond koningin Victoria in Buckingham Palace op het punt te bevallen van haar achtste kind. Dokter John Snow, een arts uit Yorkshire die een belangrijke voorstander was van het gebruik van chloroform als verdovend middel, werd naar het paleis geroepen om bij de bevalling aanwezig te zijn. De bevalling verliep prima en hiermee was het gebruik van chloroform koninklijk goedgekeurd. Kerkelijke goedkeuring werd verkregen toen John Snow chloroform gebruikte bij een ingreep bij de dochter van de aartsbisschop van Canterbury.

Maar, John Snow is door iets anders pas echt beroemd geworden, helaas na zijn overlijden.<sup>1</sup> Hij was de eerste arts die een kaart gebruikte om verspreiding van cholera te illustreren. In 1817 was cholera vanuit Oost-Azië opgerukt naar India en begon vandaar haar tocht naar het westen. Volgens prominente medici uit die tijd was cholera een ziekte die via “kwade dampen” werd overgebracht, maar John Snow vermoedde dat het om een micro-organisme ging dat via besmet voedsel en water werd overgedragen. Hij redeneerde dat de uitbraak was ontstaan nadat een besmette matroos vanuit Hamburg met cholera was teruggekeerd.

Eind augustus 1854 hoorde John Snow dat er gevallen van cholera waren gemeld vlak bij zijn eigen woning in Londen. Hij kende het gebied en zijn bewoners en ging op zoek naar sporen om zijn hypothese te kunnen bevestigen. Op een gedetailleerde plattegrond van de wijk markeerde hij de locatie van de 13 waterpompen waarvan de bewoners gebruik maakten. Met zwarte stippen gaf hij de plaats aan van de sterfgevallen. Hij ontdekte dat een openbare waterpomp op de hoek van Broad Street en Cambridge Street de oorzaak was; alle in 1 week overleden 89 patiënten woonden in de buurt van deze pomp. Na een presentatie van zijn bevindingen op 7 september voor het plaatselijk bestuur, werd de zwengel van

de pomp verwijderd en stopte de uitbraak. Zijn redenering was dat de bron van de infectie een aan cholera gestorven baby was. De moeder had de ontlasting van de baby steeds in de beerput in de kelder weggegooid. Lokale inspectie liet zien dat de ontlasting doorlekte in de bodem en zo waarschijnlijk het grondwater had besmet en daarmee de pomp. Als gevolg hiervan werden ook de sanitaire voorzieningen van de stad ter discussie gesteld en werd er een geheel nieuw netwerk van ondergrondse riolen gebouwd.

Pas in 1883 werd de verwekker van cholera, *Vibrio cholerae* door Koch ontdekt. In 1892 toonde Max Pettenkofer met een experiment aan dat een half glas met bouillon waarin *V. cholerae* was gegroeid, bij hem slechts matige klachten van diarree gaf. Andere onderzoekers herhaalden dit experiment en het werd duidelijk dat er een grote variatie was in het ontstaan van klachten na het drinken van met cholera besmette bouillon. Van de meer dan veertig experimenten die in die tijd zijn gedaan, heeft er geen enkele een dodelijke afloop gehad, terwijl een ongelukkige laboratoriuminfectie in Hamburg wel een persoon het leven kostte.<sup>2</sup> Thans neemt men aan dat dit kwam door de afweer van de proefpersonen en dat de vatbaarheid samenhangt met de samenstelling van de darmflora.

### **Waar bestaat de gewone flora uit?**

De gewone bacteriële flora die op onze huid, in onze luchtwegen, urinewegen en in onze darmen aanwezig is, speelt een veel grotere rol dan aanvankelijk gedacht. Alle verschillende micro-organismen die op en in ons lichaam leven, worden samen het “microbioom” genoemd.<sup>3</sup> Het aantal bacteriën in onze darmen is 10 keer zo groot als ons totale aantal lichaamscellen. Onze darmbewoners hebben meer dan 5 miljoen verschillende genen, de mens slechts 20.000. Met moleculaire technieken die het DNA van de bacteriën karakteriseren, blijken er in onze darmflora ongeveer 1.500 verschillende bacteriesoorten aanwezig te zijn, waarvan we een aanzienlijk deel niet in het laboratorium kunnen kweken. De samenstelling van de darmflora is afhankelijk van de leeftijd,

de verblijfplaats en voedsel. Voor een ruwe beoordeling van de kwaliteit van de darmflora wordt gekeken naar de diversiteit en naar de verhouding tussen Firmicutes en Bacteroidetes, de twee grootste phyla. Naast bacteriën, treft men in de flora ook virussen, planten en schimmelsoorten aan.

In deze gemeenschap van verschillende micro-organismen spelen zich allerlei processen af die de fysiologie van de gastheer beïnvloeden. Variaties in de samenstelling van de darmflora worden in verband gebracht met een grote verscheidenheid aan ziekten, zoals auto-immuunziekten, atherosclerose, endocrinologische ziekten, psychiatrische aandoeningen en infectieziekten.

Er zijn zelfs aanwijzingen dat het microbioom in de evolutie bij het ontstaan van soorten een rol heeft gespeeld. Iedere gastheer heeft namelijk een specifieke interactie met zijn microbioom. Als bijvoorbeeld twee verschillende, maar wel aan elkaar verwante, wespensoorten van het geslacht *Nasonia* met elkaar gekruist worden, ontstaan er larven die al snel overlijden.<sup>4</sup> Ze sterven aan de gevolgen van een ernstig verstoorde darmflora, die een infectie veroorzaakt. Hun darmflora verschilt aanzienlijk met die van ongekruiste soorten. Worden na de kruising de larven in een kiemvrije omgeving opgekweekt, dan overleven ze wel. Er is dus een evenwicht tussen de soort en zijn flora.

Bij mensen is over de totstandkoming van dit evenwicht niet veel bekend. Er is een ziektebeeld bij pasgeboren kinderen, de necrotiserende enterocolitis, waarbij kort na de geboorte een ernstige ontsteking van de darmen ontstaat. Een behandeling met breed spectrum antibiotica heeft meestal een gunstig effect. De oorzaak is onbekend, maar het is mogelijk dat dit ziektebeeld berust op een heftige immuunreactie van de gastheer met de zich ontwikkelende darmflora. De interactie van de gastheer met zijn microbioom speelt waarschijnlijk ook een rol bij het ontstaan van ernstige afstotingsreacties die worden waargenomen bij patiënten na

een beenmergtransplantatie. Deze afstotingsreacties lijken minder vaak voor te komen als de gehele intestinale flora onderdrukt wordt met antibiotica.<sup>5</sup> Deze twee voorbeelden zijn wetenschappelijke uitdagingen voor een toekomstige samenwerking tussen de afdelingen Neonatologie, Kindergeneeskunde, het Leiden Genome Technology Center en de Medische Microbiologie.

Recent rapporteerden Amerikaanse onderzoekers dat de gevoeligheid van pasgeborenen voor bacteriële infecties niet alleen afhangt van de immuniteit die door de moeder wordt doorgegeven. Er zijn interacties van de zich geleidelijk ontwikkelende darmflora met het immuunsysteem, zodat via een specifiek signaalsysteem bacteriën het maag-darmkanaal koloniseren, zonder herkend en aangevallen te worden door het immuunsysteem.<sup>6</sup> Deze onderdrukking van het immuunsysteem vlak na de geboorte om de flora in het maag-darmkanaal een kans te geven, kan verantwoordelijk zijn voor een grotere vatbaarheid voor infecties op andere plaatsen in het lichaam.

Ook is het interessant te speculeren over de waarneming dat kinderen jonger dan 6 maanden dikker worden en blijven als ze antibiotica krijgen.<sup>7</sup> Dit wisten we al van varkens, kippen en koeien waarbij antibiotica als groeibevorderaars werden gebruikt. Het lijkt of het microbioom dus van invloed is op het ontstaan van overgewicht. Er zijn verschillende interessante wetenschappelijke waarnemingen die dit verder ondersteunen. Muizen die een krachtig antioxidant gebruiken, worden dunner als daarmee de lactobacillen verdwijnen uit hun flora.<sup>8</sup> De basis van overgewicht is de verhoogde productie van insuline, waardoor alle suikers, koolhydraten en eiwitten rechtstreeks in vet worden omgezet. We produceren nu tweemaal zoveel insuline als 30 jaar geleden en het is mogelijk dat de samenstelling van het microbioom dit beïnvloedt. Inderdaad is recent in een Nederlandse studie aangetoond dat verandering van het microbioom de insulineconcentratie verlaagt.<sup>9</sup> Ook lijkt de samenstelling van de darmflora

belangrijk te zijn voor de behandeling van kwaadaardige aandoeningen bij muizen met cyclofosamide, een middel dat vooral de immuniteit stimuleert en de tumorcellen doodt.<sup>10</sup> Een gelijktijdige behandeling met antibiotica kan de werking van het cyclofosamide nadelig beïnvloeden, vermoedelijk als gevolg van een interactie met het microbioom.

In Leiden raakten we geïnteresseerd in de rol van het microbioom bij de behandeling van terugkerende darminfecties door *Clostridium difficile*. Deze infectie ontstaat als door een antibiotische behandeling het evenwicht van de darmflora is verstoord. Dit geeft gelegenheid aan *Clostridium* om uit te groeien en gifstoffen te vormen die diarree veroorzaken. De infectie is moeilijk te behandelen en komt vaak terug. Een groep onderzoekers uit Amsterdam, Wageningen en het LUMC heeft onderzocht wat het effect is van vervanging van de darmflora van de patiënt met een geheel nieuwe flora van een donor. Kortom, een zogenaamde faecetransplantatie, waarbij de ontlasting van een gezonde persoon wordt overgebracht naar de patiënt.<sup>11</sup> Bij een tussentijdse analyse van de resultaten, bleek dat in de groep van patiënten die een faecetransplantatie had gekregen, geen terugkerende infecties ontstonden, zodat de studie voortijdig kon worden afgebroken. De resultaten zijn gepubliceerd in een gezaghebbend internationaal tijdschrift. De onderzoekers in Nederland werden alom geprezen om hun moed om zo'n studie te starten. Deze therapie is nu een regelmatig toegepaste behandeling geworden. Dat deze faecetransplantaties ook commercieel veelbelovend zijn, werd door een journalist van Vrij Nederland herkend en verwoord met de uitdrukking "het nieuwe bruine goud".

Eén van de onderzoeksgroepen onder leiding van prof. Willem de Vos, maakte een moleculaire kaart van de samenstelling van het microbioom en ontdekte dat bij patiënten met *Clostridium difficile*-infectie de diversiteit van de flora was verminderd en dat de verhouding tussen Bacteroidetes en Firmicutes veranderd.<sup>11</sup> In experimenteel onderzoek bij muizen vond een

Amerikaanse groep dat deze veranderde flora meer siaalzuur in de darm produceert waardoor de groei van *Clostridium difficile* wordt gestimuleerd en ziekte ontstaat.<sup>12</sup> Hier ligt een uitdaging voor medische microbiologie om de bacteriën die hiervoor verantwoordelijk zijn, te kweken en karakteriseren. Dit is recent voorgesteld als een nieuwe onderzoekstak met de naam "culturomics" die naast de "metagenomics" ons in staat moet stellen het microbioom te bestuderen.<sup>13</sup>

Op dit moment staan de wetenschappelijke toptijdschriften vol met klinisch-epidemiologische observaties van het microbioom. Maar, we hebben dringend behoefte aan wetenschappelijke experimenten en inzichten. Laten we eens in de tijd teruggaan naar 1877, toen Giovanni Schiaparelli een kaart van de planeet Mars maakte.<sup>14</sup> Hij gebruikte de astronomische waarnemingen van Francisco Fontana en Christiaan Huygens, waarbij op Mars lange, rechte kanalen waren getekend. Later, in 1894, raakte de astronoom Percival Lowell geobsedeerd door de hypothese dat er op Mars ooit een tekort aan water was ontstaan en dat intelligente wezens via grote kanalen water van de smeltende ijskappen hadden omgeleid. De hypothese van Lowell dat er Marskanalen bestonden, hield zeventig jaar stand tot 1965, toen de Mariner 4 zijn eerste foto's van het Marsoppervlak doorstuurde naar de Aarde. Het bleek dat de eerdere waarnemingen verkeerd waren geïnterpreteerd en dat er geen Marskanalen bestonden. Dit was de tijd van vóór de enorme telescopen en ruimtesondes. Zo staan we nu ook aan het begin van de zoektocht naar de betekenis van het microbioom. We hebben nieuwe meetinstrumenten en wetenschappelijke experimenten nodig om inzicht te krijgen in de ziekteprocessen die verband hebben met het microbioom. Met een systeembioologische aanpak zullen de netwerken bestudeerd moeten worden waarin micro-organismen met elkaar en met hun gastheer communiceren. De systeembioologie is de wetenschap die de biologische systemen als geheel bestudeert en dus, met andere woorden, zoekt naar de dynamische interactie tussen micro-organismen en hun gastheer. Dit kan leiden

tot andere behandelingsmethoden dan de wat onsmakelijke faacestransplantatie.

Toch is er nog hoop op het vinden van microbiologisch leven op Mars. Volgens een hypothese, de lithopanspermia, kan leven tussen planetaire stelsels worden uitgewisseld door meteorieten.<sup>15</sup> Helaas heeft men in de meteorieten van Mars die op aarde zijn neergekomen, geen aanwijzingen gevonden voor de aanwezigheid van micro-organismen, ondanks de spectaculaire claim die in 1996 werd gedaan. Een Nederlandse geoloog, prof. Jan Smit, is één van de onderzoekers die aanwijzingen vond dat er 65 miljoen jaar geleden een reusachtige meteoriet is ingeslagen op Yucatan in Mexico. De inslag veroorzaakte geweldige tsunami's, meteorietenregens en aardbevingen, waardoor de grote dinosauriërs uitstierven en de helft van de diersoorten verdween. De inslagkrater is in het dorp Chicxulub gevonden. Onderzoekers simuleerden wat er zou gebeuren met al die meteorieten die van de aarde zijn weggeslingerd het heelal in. Als die na miljoenen jaren terechtkomen op plekken waar leven mogelijk is, dan hebben meegelifte bacteriën een kans om uit te groeien. Wel moeten deze bacteriën zo'n lange ruimtereis kunnen overleven. Het zal u straks niet verbazen dat ik denk dat één van de kandidaten *Clostridium difficile* is, een bacterie die bij mensen, dieren en in het milieu voorkomt en extreme omstandigheden kan overleven in een sporenvorm.

### **Hoe kunnen we het microbioom in kaart brengen?**

De ontwikkeling van de cartografie (dit is de wetenschap en techniek om kaarten te maken) startte in een universitaire omgeving en werd later commercieel geëxploreerd. Deze ontwikkeling toont veel overeenkomsten met de opkomst van moderne technieken om het microbiële genoom in kaart te brengen.

De oudste bijdrage aan de cartografie werd geleverd door Ptolemaeus die verbonden was aan de Grote Bibliotheek van Alexandrië in 330 v.C.<sup>14</sup> Ptolemaeus, een Grieks astroloog,

astronoom, geograaf, wiskundige en muziektheoreticus, maakte een set van 26 kaarten van de toenmalig bekende wereld; tien van Europa, vier van Afrika en twaalf van Azië. Hierna ontwikkelde de cartografie zich geleidelijk totdat rond 1580 Nederlanders de cartografie een commerciële dimensie gaven. De bekende Willem Blaeu maakte een "Atlas Maior" of "de Grooten Atlas". Het was echter geen "Lonely Planets" die je even meenam op reis. Bovendien waren de luxe en het gewicht van de atlas belangrijker dan de juistheid en bruikbaarheid. De volgende grote doorbraak kwam in 1960 met de satellietnavigatie in een Navstar project van het Amerikaanse ministerie van Defensie. In de jaren '80 werd het systeem in schepen geïntroduceerd, maar de echte doorbraak kwam in 2005. TomTom ontwikkelde digitale navigatie voor personenauto's. Maar, software heeft een uiterste houdbaarheidsdatum en TomTom is nu de kampioen van een krimpende markt. Google Maps is inmiddels de marktleider. De ambitie van Google Maps is om een digitale, "live atlas" van de gehele wereld te maken. Dus niet alleen onze steden, maar ook de wildernis, de polen, bodem van de oceaan, de woestijnen en zelfs de binnenkant van gebouwen, zoals bijvoorbeeld dit groot auditorium. In dit project zouden ook alle 400 miljard bomen in kaart moeten worden gebracht.

De ontwikkeling van DNA-sequencing heeft gelijkenis met de cartografie. DNA fungeert als belangrijkste drager van erfelijke informatie in alle bekende organismen. De structuur van DNA is in 1953 in kaart gebracht. DNA is stabiel en kan, mits in een juiste omgeving, eeuwenlang intact blijven. Zo heeft men recent in oude kalksteengrotten in het Atapuerca-gebergte in Spanje het oudste DNA kunnen isoleren uit een mensachtige die tenminste 300.000 jaar geleden leefde.<sup>16</sup> Dat lijkt lang geleden, maar de aarde ontstond 4,5 miljard jaar geleden en de eerste bacteriën ruim 1 miljard jaar later.

Aan het eind van de twintigste eeuw werden grote doorbraken geboekt in het navigeren door het DNA dankzij een snelle DNA-sequencing-methode, de zogenaamde "TomTom van

de moleculaire biologie<sup>2</sup>. Maar, anders dan de TomTom, kan men met deze methode ook terug in de tijd reizen, zoals bijvoorbeeld met de leprabacterie is gedaan.<sup>17</sup> Lepra is een chronische ontsteking van de huid, zenuwen en botten waarvoor *Mycobacterium leprae* verantwoordelijk is. De oudste waarneming dateert van 2000 v.C. bij een in India gevonden skelet. Lepra kwam tot de middeleeuwen in Europa voor. Een groep van wetenschappers van de Universiteit van Tübingen isoleerde uit een Deens skelet van 700 jaar oud het DNA van *Mycobacterium leprae*. Uit botten van 21 andere middeleeuwse skeletten, afkomstig van het Verenigd Koninkrijk, Zweden en Denemarken, werd het DNA vergeleken met het DNA van de leprabacteriën die in het Midden-Oosten en Zuid-Amerika waren gevonden. De resultaten lieten zien dat lepra lang geleden uit Europa naar Amerika is gebracht. Lepra die nu in het Midden-Oosten voorkomt, bleek zeer verwant aan de stam die in de middeleeuwen in Europa aanwezig was.

Net als bij de cartografie werden er al gauw commerciële mogelijkheden gezien en raakte het bedrijfsleven geïnteresseerd. Vergelijkbaar met Google is het Chinese Beijing Genomics Institute (BGI). Het is opgericht in 1999 en uitgegroeid tot het grootste DNA-sequencing bedrijf van de wereld. In 2007 kostte het kaart brengen van het 3 miljard tellende basenparen van het menselijk genoom nog € 50.000, nu is dat ongeveer € 5.000. Hoewel BGI regelmatig publiceert in toonaangevende tijdschriften, wil het ook geld gaan verdienen met het verrichten van medisch diagnostische testen. De verwachting is dat binnen 3 tot 5 jaar de genomen van meer dan 1 miljoen mensen, 1 miljoen planten en dieren en 1 miljoen bacteriën bekend is. Er is een sterke gelijkenis tussen de BGI-droom om elke soort op aarde te sequencen en die van Google om alles wat er in de wereld is, op de kaart te zetten.

### **Hoe staat de Experimentele Bacteriologie op de kaart?**

Experimentele Bacteriologie is nieuw in Leiden. In twee onderzoekslijnen proberen we verbanden te leggen tussen fundamenteel onderzoek en klinisch relevante vraagstellingen,

namelijk de snelle herkenning van bacteriën die voor antibiotica ongevoelig zijn en de bestrijding van *Clostridium difficile*-infecties. In ons onderzoek wordt intensief samengewerkt met epidemiologen, veterinaire geneeskundigen, natuurkundigen, biologen, moleculair biologen en met bio-informatici. Laten we bij de vraagstellingen van deze twee onderzoekslijnen even kort stilstaan.

### **Is het resistent worden van micro-organismen een reële bedreiging?**

Antimicrobiële middelen zijn in staat om de groei van micro-organismen te remmen. Zij worden onderverdeeld naar de groep van micro-organismen waarop ze actief zijn, zoals antischimmel middelen, antibacteriële middelen (ook wel antibiotica genoemd), antivirale middelen en antiparasitaire middelen. Resistentie voor antimicrobiële middelen komt in alle groepen voor, maar betreft het meest de antibiotica. Antibiotica zijn altijd wondermiddelen geweest voor behandeling van bacteriële infecties. Omdat ze zo gemakkelijk verkrijgbaar en goedkoop waren, zijn ze in overvloed gebruikt bij mensen en dieren. Dit heeft wereldwijd geleid tot het ontstaan van bacteriën die ongevoelig zijn voor antibiotica. De WHO beschouwt de toename van antibioticaresistente bacteriën als een van de grootste bedreigingen voor de mensheid in de komende 10 jaar. In het meest sombere scenario betekent dit dat we teruggaan naar het tijdperk dat er nog geen antibiotica waren en patiënten overleden aan de gevolgen van bloedvergiftiging bij allerlei infecties. Ook zullen veel moderne behandelingen voor kanker niet meer ondersteund kunnen worden met antibiotica. Aan fondsen voor de ontwikkeling van nieuwe kankergeneesmiddelen is geen gebrek, maar er is onvoldoende geld voor de ontwikkeling van nieuwe antibiotica. Er is dringend behoefte aan nieuwe antibiotica.<sup>18-21</sup>

Op dit moment zijn de resistentiecijfers verontrustend en heeft het “European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC)” berekend dat er per jaar in Europa ongeveer 400.000



infecties worden veroorzaakt door resistente bacteriën. Per jaar sterven er ongeveer 25.000 mensen aan de gevolgen van een infectie met een resistente bacterie. De economische meerkosten bij behandeling van infecties door resistente bacteriën, bedragen ongeveer 1,5 miljard Euro.<sup>20</sup>

Er zijn veel kaarten van Europa gemaakt met per land aangegeven wat de resistentiepercentages zijn. In Nederland viel het altijd mee, maar toch krijgen we via reizigers regelmatig resistente bacteriën in onze ziekenhuizen. Dat kan leiden tot verspreiding en een uitbraak, zoals in 2011 in het Maasstad ziekenhuis in Rotterdam, waar *Klebsiella pneumoniae* die zeer ongevoelig was voor antibiotica, meer dan 100 patiënten infecteerde. Deze bacterie was moeilijk in het laboratorium te ontdekken en het werd een uitdaging om daarvoor een test te ontwikkelen. Dat lukte uiteindelijk met een moleculaire test op een gen dat de informatie voor de resistentie bevatte. Recent zijn we er in geslaagd dit met behulp van eiwitanalyse sneller en gemakkelijker te doen. Voor dit onderzoek hebben we een nauwe samenwerking opgebouwd met dr. Paul Hensbergen en prof. André Deelder van het “Center for Proteomics and Metabolomics”. We hopen samen met collega’s van het Erasmus Medisch Centrum dit onderzoek verder uit te breiden.

We verwachten veel van de introductie van deze nieuwe technieken in de Medische Microbiologie, zoals we ook hebben gezien bij de toepassing van massaspectrometrie voor de diagnostiek van bacteriële infecties. Hierbij wordt de bacterie herkend op grond van zijn eiwitprofiel. Dat begon met een proef in 2009 in het LUMC en is inmiddels in de routine geïmplementeerd in 50% van de laboratoria van Medische Microbiologie in Nederland.<sup>22</sup> In Europa wordt de techniek nu in ongeveer 700 laboratoria gebruikt en de verwachting is dat dit aantal snel zal stijgen.

Opmerkelijk is dat resistente bacteriën vooral buiten het ziekenhuis, in het milieu en in voedsel aanwezig zijn. Voor een effectieve bestrijding is een gecoördineerde aanpak met veel

betrokken partijen noodzakelijk, niet alleen uit de medische sector, maar ook uit de veterinaire en agrarische wereld en met voedselproducenten en farmaceutische bedrijven. India heeft na de ervaringen met multiresistente bacteriën een oproep gedaan om alle specialisten te betrekken bij de bestrijding van dit resistentieprobleem en organiseerde een grote bijeenkomst in Chennai waar een roadmap voor de toekomst is vastgelegd. Deze roadmap staat nu bekend als de zogenaamde “Chennai verklaring” en zou ook voor westerse landen als voorbeeld kunnen dienen.<sup>23</sup>

Het is interessant even stil te staan bij de oorsprong van de resistentie van de thans veel voorkomende ESBL-enzymen.<sup>24</sup> Dit zijn enzymen met een “Extended-Spectrum  $\beta$ -lactamase” activiteit die door bacteriën gemaakt kunnen worden. Hiermee kunnen ze antibiotica afbreken die tot de klassen van penicillines en cefalosporines behoren. De ESBL-enzymen zijn van nature aanwezig in bacteriën die tot het genus *Kluyvera* behoren. Deze bacterie leeft in symbiose met plantenwortels, waar ze de opname van fosfaat uit de bodem bevordert. Om weerstand te bieden aan grondschimmels die van nature bèta-lactam-antibiotica produceren, heeft *Kluyvera* dit systeem ontwikkeld om deze natuurlijke antibiotica te kunnen inactiveren. *Kluyvera* heeft zijn genetische informatie voor de ESBL-enzymen doorgegeven aan andere bacteriesoorten. Op de genetische elementen met resistentiegenen die coderen voor ESBL zijn vaak ook genen aanwezig die de bacterie helpen weerstand te bieden aan zogenaamde quaternaire ammoniumverbindingen. Quaternaire ammoniumverbindingen zijn organisch-chemische stoffen die bacterie- en schimmeldodende eigenschappen hebben. Ze worden onder andere gebruikt als ontsmettingsmiddel in shampoo en schoonmaakmiddelen en geringe hoeveelheden kunnen in het milieu en in voedsel terecht komen. Een hypothese is nu dat de aanwezigheid van deze verbindingen in het milieu tot een selectiedruk heeft geleid die ervoor heeft gezorgd dat ESBL-producerende bacteriën een groei- en overlevingsvoordeel hadden.<sup>25</sup>

Andere voorbeelden van de rol van het milieu bij het ontstaan of selecteren van antimicrobiële resistentie vinden we bij de Leishmania-parasiet en Aspergillus-schimmel. Er is een verband gelegd met de aanwezigheid van arsenicum in het drinkwater en het ontstaan van resistentie bij Leishmania-parasieten voor zogenaamde 5-waardige antimoonverbindingen.<sup>26</sup> Hierbij is het verontrustend dat de resistente parasieten meer ziekmakende eigenschappen hebben dan de gevoelige parasieten. De opkomst van resistente Aspergillus-schimmels in Nederland is in verband gebracht met het toenemend gebruik van azool-achtige schimmelbestrijdingsmiddelen in de landbouw.<sup>27</sup> Dit merken we ook in het LUMC, waar nu 5-10% van de gekweekte Aspergillus-stammen ongevoelig is voor het eerste keuze behandelingsmiddel. Met collega's van de afdeling Intensive Care onderzoeken wat de gevolgen zijn voor de behandeling van ernstig zieke patiënten met een schimmelinfectie.

We weten nog onvoldoende van de aanwezigheid van erfelijke informatie voor antibioticaresistentie in het microbioom van de mens. Het is mogelijk dat in het gedeelte van het microbioom dat we niet kunnen kweken, een poel van resistentiegenen aanwezig is. Dit "resistoom" is belangrijk als er een DNA-uitwisseling plaatsvindt en de resistentiegenen overgaan naar wél kweekbare micro-organismen die zich verspreiden en infecties veroorzaken. Ook komen er steeds meer aanwijzingen dat microbiomen in het milieu een bron van resistentiegenen zijn.

### **Welke resistente bacteriën vormen nu in 2013 de grootste bedreiging?**

In 2013 heeft het gezaghebbende Amerikaanse CDC (Centers for Disease Control and Prevention) een rapport opgesteld waarin de drie belangrijkste micro-organismen worden genoemd, namelijk *Clostridium difficile*, carbapenem ongevoelige *Enterobacteriaceae* en ongevoelige gonokokken.<sup>21</sup> *Clostridium difficile* is zeer nauw geassocieerd met antibioticagebruik. Het kan uitgroeien en gifstoffen

produceren in het darmmilieu, als dat verstoord is door de sterfte van micro-organismen die een belangrijke rol spelen in de verdediging tegen ongewenste binnendringers. *Clostridium difficile*-infecties zijn wereldwijd een probleem en staan vooral bekend als ziekenhuisinfecties en infecties in verpleeghuizen. In het CDC rapport schat men dat zich per jaar in de Verenigde Staten 14.000 sterftegevallen ten gevolge van *Clostridium difficile*-infectie voordoen. We hebben recent samen met het Europese CDC, de tegenhanger van het Amerikaanse CDC, een berekening gemaakt en komen op 130.000 patiënten die jaarlijks in Europa een *Clostridium difficile*-infectie oplopen, waarvan er 12.400 overlijden. Dit is waarschijnlijk een onderschatting, omdat patiënten met een infectie die buiten het ziekenhuis is ontstaan, niet zijn meegerekend. Dit aantal is aanzienlijk hoger dan patiënten die overlijden aan de gevolgen van een infectie met de MRSA-bacterie, de multiresistente *Staphylococcus aureus*.

Ik wil u even mee terugnemen naar 1985 toen ik in opleiding was tot arts-microbioloog in het St. Elisabethziekenhuis in Tilburg. Ik was de eerste assistent-microbiologie in Tilburg en had veel contacten met de assistenten van andere specialismen, zoals Interne Geneeskunde, Intensive Care, Chirurgie, Kindergeneeskunde en Neurologie. We vormden een hechte groep en overlegden veel om patiëntenproblematiek te bespreken, niet gehinderd door officiële consultaanvragen of afbakening van specialistische terreinen. Hierbij wil ik één van mijn opleiders, dr. Marcel Peeters noemen, een zeer enthousiaste arts-microbioloog met een grote kennis van het vak en belangstelling voor wetenschappelijk onderzoek. In die omgeving hadden we al een waarneming gedaan bij een grote Tilburgse familie waarin veel door meningokokken veroorzaakte hersenvliesontstekingen bij mannen voorkwamen. Dit bleek het gevolg te zijn van een erfelijke afwijking in de properdinefactor die via het X-chromosoom overerft. Properdin speelt vooral een regulerende rol in de alternatieve route van complementactivatie waardoor meningokokken worden gedood.<sup>28</sup> Met een nieuwe test

toonden we aan dat het properdine wel aanwezig was, maar niet meer functioneerde. Dit onderzoek is toen uitgevoerd in nauwe samenwerking met het Referentielaboratorium voor Bacteriële Meningitis in het AMC en een laboratorium voor Immunologie in Lund (Zweden). Het resulteerde in een advies om patiënten met de erfelijk afwijking op jonge leeftijd te beschermen met een tetravalent meningokokken kapselpolysaccharide vaccin.

Het begon dus met een klinische observatie, leidde tot de ontwikkeling en toepassing van een nieuwe diagnostische test, breidde zich uit tot een epidemiologisch onderzoek en resulteerde vervolgens in fundamenteel onderzoek om inzicht te krijgen in het verband tussen meningokokkeninfecties en het humane afweersysteem. De waardering voor dit fundamenteel onderzoek kwam met een prijs die we ontvingen toen we het verband wisten te leggen tussen verschillende onderdelen van het complementsysteem met de verwekkers van bacteriële hersenvliesontsteking.

De samenwerking tussen een groot algemeen opleidingsziekenhuis met enthousiaste arts-microbiologen, een goed geoutilleerd microbiologisch laboratorium en een academisch instituut werd voor mij de bakermat van wetenschappelijk onderzoek.

In die tijd was *Clostridium difficile* net ontdekt als een verwekker van diarree, voornamelijk in ziekenhuizen. De wijze van overdracht en besmetting was echter nog onbekend. Ik herinner me nog goed een tweepersoonskamer in het St. Elisabeth ziekenhuis met tussen de twee bedden een tafeltje waarop de telefoon stond waarvan twee Tilburgs patiënten beurtelings gebruik maakten. Toen zij kort na elkaar een ernstige darminfectie met *Clostridium difficile* ontwikkelden, vermoedden we dat overdracht van sporen van *Clostridium difficile* via de telefoon had plaatsgevonden. We konden inderdaad *Clostridium difficile* gemakkelijk kweken van de toetsen van de telefoon. Met een nieuw ontwikkelde

moleculaire typeringstechniek bleken de bacteriën die gekweekt waren van de twee patiënten en van de telefoon, volledig identiek te zijn. De klinische waarneming leidde tot meer inzicht in transmissie van *Clostridium difficile* in een ziekenhuis en gaf een impuls om een typeringstechniek te ontwikkelen. We publiceerden onze waarnemingen en zagen dat onze typeringstechniek al snel werd gebruikt in andere landen, zoals bijvoorbeeld in de Verenigde Staten.<sup>29</sup> Het zou overigens interessant zijn om de smartphones en tablets, die tegenwoordig zeer frequent gebruikt worden door artsen in ziekenhuizen, te onderzoeken op de aanwezigheid van *Clostridium difficile*-sporen.

In 2002 kreeg ik gelegenheid een onderzoeksgroep op te richten in het LUMC. We begonnen met een kleine groep van 3 onderzoekers die zich aanvankelijk concentreerde op diagnostiek en epidemiologie van *Clostridium difficile*-infecties. Nu is deze groep uitgebreid tot 11 mensen om ook meer fundamenteel onderzoek naar de DNA-replicatie van *Clostridium difficile* te verrichten en om de virulentiefactoren in kaart te brengen. In nauwe samenwerking met partners in verschillende Europese projecten, kunnen we deze virulentiefactoren met moleculaire technieken uitschakelen. Het effect wordt vervolgens getest in een proefdierenmodel. De virulentieregulerende eiwitten van *Clostridium difficile* worden met massaspectrometrie, kristallisatie en functionele testen onderzocht, samen met partners uit de Verenigde Staten, Canada, het Verenigd Koninkrijk en Denemarken.

Dit fundamenteel onderzoek is voor het bestaan van de microbiologie essentieel. Op onze afdeling hebben we een sectie Moleculaire Virologie die onder leiding van prof. Eric Snijder staat. In de afgelopen jaren hebben wij hieruit twee onderzoekers geworven om in de Experimentele Bacteriologie het fundamenteel onderzoek inhoud te geven. Op dit moment wordt in het fundamenteel onderzoek fors bezuinigd. Helaas leent fundamenteel onderzoek zich niet voor “crowdfunding” waarbij onderzoekers via een platform op internet kapitaal

zouden moeten verwerven van particulieren. Er zal een andere vorm van financiering voor fundamenteel onderzoek moeten komen.

Omdat Leiden samen met het Centrum voor Infectieziektenbestrijding van het RIVM het Nationaal Referentielaboratorium voor *Clostridium difficile* huisvest, ontvangt het vanuit ziekenhuizen en verpleeghuizen in Nederland klinische en epidemiologische informatie van patiënten met *Clostridium difficile*-infecties. Dit is een optimale constructie om klinisch en epidemiologisch onderzoek te koppelen aan fundamenteel wetenschappelijk onderzoek en is mogelijk dankzij medewerking van arts-microbiologen en deskundigen infectiepreventie. Door deze samenwerking is de Nederlandse surveillance van *Clostridium difficile*-infecties naar een hoog niveau getild en wordt vaak genoemd als voorbeeld voor andere landen. Zo ontdekten we in 2008 een nieuw type 078 van *Clostridium difficile* dat vooral bij jongere patiënten buiten de ziekenhuizen als verwekker van diarree werd gevonden.<sup>30</sup> We hebben in korte tijd met inzet van de hele onderzoeksgroep dit type gekarakteriseerd. Vrij snel na onze ontdekking werd dit type ook in andere Europese landen gevonden en is nu het tweede meest voorkomende type. Samen met het ECDC zijn we bezig een Europees netwerk op te richten dat *Clostridium difficile*-infecties beter in kaart brengt.<sup>31</sup> Op dit moment maken we ons zorgen over de toename van *Clostridium difficile*-infecties in verpleeg- en verzorgingstehuizen, die regelmatig via overgeplaatste patiënten ook in ziekenhuizen worden waargenomen.

In Nederland is *Clostridium difficile* ook gevonden bij dieren, zoals paarden, kippen en kalveren. In samenwerking met de faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit van Utrecht, ontdekten we dat type 078 ook een belangrijke verwekker is van diarree bij jonge varkens.<sup>32,33</sup> Met behulp van “whole genome sequencing” toonden we aan dat de stammen van varkens en van mensen nauw verwant zijn. Voor deze studie heeft een van onze jonge onderzoekers een intensieve

samenwerking met het Sanger Institute in Cambridge opgezet om de aldaar ontwikkelde technieken in Leiden te gebruiken. In samenwerking met de onderzoeksgroep van prof. Heederik in Utrecht, analyseren we nu het verband tussen humane infecties met varkenshouderijen. We gebruiken hierbij een geografisch informatiesysteem om patiëntengegevens te koppelen aan locaties waar type 078 voorkomt.

Ons meest recente onderzoek laat zien dat *Clostridium difficile* een belangrijke verwekker van diarree is bij patiënten die zich bij de huisarts melden. Voor dit onderzoek zijn meer dan 12.000 faecesmonsters onderzocht en was 1,5% positief voor de aanwezigheid van *Clostridium difficile*. *Campylobacter* werd het meest gevonden, maar *Salmonella* en *Clostridium difficile* deelde de tweede plaats. De diagnose *Clostridium difficile*-infectie wordt echter zelden door de huisarts gesteld. We zoeken op dit moment naar karakteristieken van de patiënten zodat de huisarts gericht de diagnostiek kan aanvragen.

Nieuw onderzoek is nodig om de verspreiding van *Clostridium difficile* op varkenshouderijen, in het milieu, in ziekenhuizen, in verzorgingstehuizen en in verpleeghuizen te bestrijden. Het is een uitdaging om bijvoorbeeld het microbiom zodanig te beïnvloeden dat mensen en varkens niet meer vatbaar zijn voor *Clostridium difficile*. Dat zal niet kunnen gebeuren met de thans beschikbare commerciële preparaten, beter bekend als probiotica. Er zijn geen overtuigende wetenschappelijke onderzoeken bekend dat deze probiotica enig gunstig effect hebben. Een recent in de Lancet gepubliceerde studie liet ook geen enkel effect zien op het voorkomen van *Clostridium difficile*-infecties.<sup>34</sup> Van sommige producten zijn zelfs ernstige infecties als bijwerking beschreven.<sup>35</sup> Inmiddels is het wereldwijde probleem van *Clostridium difficile*-infecties doorgedrongen tot grote farmaceutische bedrijven die nu druk bezig zijn met de ontwikkeling van nieuwe geneesmiddelen en vaccins om *Clostridium difficile*-infecties te voorkomen en te bestrijden.

Geachte toehoorders, ik heb u in de afgelopen drie kwartier verteld over sporen zoeken en kaartlezen, hier in Leiden, in Europa, de wereld en zelfs op Mars. De medische kaart van John Snow waarop het aantal aan cholera overleden patiënten met potlood werd weergegeven, heeft plaatsgemaakt voor satelliet ondersteunende geografische informatiesystemen en nieuwe moleculaire typeringsmethoden om verspreiding van bacteriën te volgen. We kunnen nu veel data verzamelen van het genoom en van het microbiom. Een nieuwe vorm van sporen zoeken is het vinden van patronen in deze data en die te analyseren. Tegelijkertijd zal fundamenteel onderzoek nodig zijn om de patronen te begrijpen. Dit wordt de uitdaging voor de komende jaren.

### **Dankwoord**

Aan het einde van mij oratie gekomen, wil ik een aantal mensen bedanken die hebben bijgedragen aan de totstandkoming van deze benoeming.

Bij mijn dankbetuiging aan het College van Bestuur van de Universiteit en aan de Raad van Bestuur van het Leids Universitair Medisch Centrum, moet ik denken aan “De Grote Bibliotheek van Alexandrië” in 330 v.C. waar Ptolemaeus de eerste wereldkaart maakte. Het was een internationaal studiecentrum voor onderzoek en kan beschouwd worden als voorloper van de latere universiteiten. Ik ben trots op de gelegenheid die u mij hier in Leiden biedt en hoop in de komende periode uw verwachtingen waar te maken.

De schatkaart is de oudste kaartvorm en dateert van ruim 37.000 jaar geleden. Het betrof een vingertekening in de grotten bij Nîmes die aangaf waar een goed jachtgebied was. Ik ontdekte een schatkaart van Medische Microbiologie in het Binnengasthuis en in het Laboratorium voor de Gezondheidsleer aan de Mauritskade in Amsterdam. Onder de bezielende leiding van dr. Peter Rietra, prof. Jan van der Noordaa en prof. Bob Zanen maakte ik kennis met het vak. Het laboratorium in het AMC was een bijzondere vindplaats van

schatten, zoals de legionellabacterie, de helicobacterbacterie en de lymbacterie. Dank Wies, Ruud, Peter en Lodewijk dat ik met jullie mocht samenwerken.

Het waren prof. Willy Spaan, prof. Herman Goossens en prof. Jaap van Dissel die ongeveer 13 jaar geleden hier in Leiden de “Mappa Mundi” van het Centrum voor Infectieziekten presenteerden. Het was eigenlijk meer een roadmap voor in infectieziekten geïnteresseerde onderzoekers. Het centrum bruiste van plannen en activiteiten en ik liet me overhalen de overstap te maken van het AMC naar het LUMC. Ik dank jullie voor jullie steun.

Prof. Louis Kroes, ons afdelingshoofd en klinisch viroloog, heeft met veel succes onze afdeling op de kaart gezet. Ik wil hem bedanken voor de plaats die de Experimentele Bacteriologie op die kaart heeft gekregen.

In december 2010 publiceerde Facebook een nieuwe wereldkaart die bestond uit lijnen in de vorm van een web dat werd gevormd door internetverbindingen van actieve Facebookgebruiker. Deze structuur lijkt op de netwerkstructuur van de afdeling Medische Microbiologie, waar de verbindingen intensief worden gebruikt door mijn collega's dr. Sandra Bernards, dr. Karin Ellen Veldkamp, dr. Ann Vossen, dr. Jutte de Vries, dr. Mariet Feltkamp, dr. Els Wessels, dr. Lisette van Lieshout, dr. Martha van der Beek, drs. Jairo Gooskens en dr. Eric Claas. In dit netwerk zorgen deskundige analisten en administratieve medewerkers voor een continue input van gegevens. Onze 11 gemotiveerde en enthousiaste assistenten in opleiding voor arts-microbioloog functioneren als kandidaat netwerkbeheerders en zijn van grote waarde voor de toekomst van onze roadmap. Bovendien houden ze ons bij de les en zorgen voor een plezierig werkklimaat. De afdeling Infectieziekten, nu tijdelijk onder leiding van dr. Frank Kroon, helpt ons het netwerk verder uit te breiden en de verbindingen te verbeteren.

De kaart van de Londense ondergrondse is de meest herdrukte kaart. De stations en verbindingen zijn zo duidelijk, omdat alle details zijn weggelaten. Deze kaart zou ook een weergave van de activiteiten van de onderzoeksgroep Experimentele Bacteriologie kunnen zijn. De belangrijkste stations zijn dr. Jeroen Corver, dr. Hans van Leeuwen en dr. Wiep-Klaas Smits. Zij leveren de innovatieve ideeën voor nieuwe verbindingen en zijn continue op zoek naar prestigieuze projectaanvragen. De twee analisten Céline Harmanus en Ingrid Sanders hebben bij het maken van de kaart een zeer belangrijke bijdrage geleverd. Zonder hen zou het Nationaal Referentielaboratorium voor *C. difficile* dat sinds de oprichting in 2004 sterk op nationaal en internationaal niveau is gegroeid, niet bestaan. De onderzoekers in opleiding, Erika, Sofie, Dennis, Wilco en Frank, ondersteund door Annemieke, dank ik voor hun keuze van onze kaart gebruik te maken.

Dames en heren studenten; elke 2 jaar zetten jullie Leiden op de kaart met het “Leiden International Medical Student Conference”, dat veel studenten uit het buitenland trekt. Dit jaar heb ik met zeer veel plezier meegewerkt en was ik onder indruk van de voortreffelijke organisatie en de kwaliteit. Het onderwijs zal in de komende jaren nog meer gaan internationaliseren en digitaliseren. Ik ben enthousiast over de zogenaamde “Massive Open Online Courses”; gratis cursussen met massale deelname, waarbij cursusmateriaal via het web verspreid wordt en deelnemers niet aan een locatie gebonden zijn. Op dit moment zijn er drie universiteiten in Nederland die dit organiseren, waaronder Leiden met “European Law” en meer dan 45.000 deelnemers. Ik zie uit naar de toepassingen in de Geneeskunde en natuurlijk in de Medische Microbiologie. Ook ga ik me met veel plezier bezighouden met de inrichting van een nieuw onderwijsblok “Spoedeisende zorg” dat we samen met de Intensive Care vorm mogen geven in het nieuwe curriculum.

Ik kom uit een groot gezin met 5 kinderen waarvan mijn broers Ab en Frans te vroeg zijn overleden. Moeder, vandaag ben jij onze eregast, want dat ik hier sta is aan jou te danken.

Anniek, Lisette, Jurriën en Eveline. Jullie leven in de wereld van “Mapipedia”, dat wil zeggen; een wereld die continue gebruik maakt van digitale gegevens via het internet en gelinked is aan Wikipedia. Ik dank jullie voor het begrip van mijn ongewone fascinatie voor bacteriën. Jullie hebben het allemaal getroffen met je vrienden en vriendinnen en ik ben er trots op hoe jullie je allemaal ontwikkelen.

Tenslotte, lieve Anneke, jij bent de Atlas die ons gezin op je schouders draagt en de raadgever waar we allemaal zo graag gebruik van maken. Jouw inzichten en capaciteiten passen perfect bij mijn tekortkomingen. Helaas zijn jouw ouders en je zus, Pien, er vandaag niet bij, maar ik weet zeker dat zij ook trots op jou zouden zijn geweest.

Ik heb gezegd.

## Referenties

- 1 Hempel S, John Snow. Lancet 2013; 381; 1269-70.
- 2 Glaser H. Dramatische Medizin. Orell Füssli Verlag, Zurich. MCMLXI.
- 3 The Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. Nature 2012; 486; 206-14.
- 4 Brucker RM, Bordenstein SR. The hologenomic basis of speciation: Gut bacteria cause hybrid lethality in the genus *Nasonia*. Science 2013; 341; 667-9.
- 5 Vossen JM, Heidt PJ, Van den Berg H, et al. Prevention of infection and graft-versus-host disease by suppression of intestinal microflora in children treated with allogeneic bone marrow transplantation. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1990; 9; 14-23.
- 6 Elahi S, Ertelt JM, Kinder JM, et al. Immunosuppressive CD71+ erythroid cells compromise neonatal host defence against infection. Nature 2013; 504; 158-62.
- 7 Trasande L, Blustein J, Liu M, Corwin E, et al. Infant antibiotic exposures and early-life body mass. Int J Obes 2013; 37; 16-23.
- 8 Li F, Jiang C, Krausz KW, Li Y, et al. Microbiome remodelling leads to inhibition of intestinal farnesoid X receptor signalling and decreased obesity. Nat Commun 2013; 4: 2384.
- 9 Vrieze A, Van Nood E, Holleman F, et al. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. Gastroenterology 2012; 143; 913-6.
- 10 Viaud S, Saccheri F, Mignot G, et al. The intestinal microbiota modulates the anticancer immune effects of cyclophosphamide. Science 2013; 342; 971-6.
- 11 Van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, et al. Duodenal infusion of donor faeces for recurrent *Clostridium difficile*. N Engl J Med 2013; 368; 407-15
- 12 Ng KM, Ferreyra JA, Higginbottom SK, et al. Microbiota-liberated host sugars facilitate post-antibiotic expansion of enteric pathogens. Nature 2013; 502; 96-9.
- 13 Grueb G. Culturomics: a new approach to study the human microbiome. Clin Microbiol Infect 2012; 18; 1157-9.
- 14 Simon Garfield . On the map. Why the world looks the way it does. 2012, Profile Books.
- 15 Worth RJ, Sigurdsson S, House CH, et al. Seeding Life on the moons of the outer planets via Lithopanspermia. Astrobiology 2013; 13: 1155-65.
- 16 Meyer M, Fu Q, Aximu-Petri A, et al. A mitochondrial genome sequence of a hominin from Sima de los Huesos. Nature 2013 Dec 4. doi: 10.1038/nature12788 [Epub ahead of print].
- 17 Schuenemann VJ, Singh P, Mendum TA, et al. Genome-wide comparison of medieval and modern *Mycobacterium leprae*. Science 2013; 341; 179-83.
- 18 Huttner A, Harbarth S, Carlet J, et al. Antimicrobial resistance: a global view from the 2013 World Healthcare-Associated Infections Forum. Antimicrob Resist Infect Control 2013 Nov 18; 2(1); 31 [Epub ahead of print].
- 19 Laxminarayan R, Duse A, Wattal C, et al. Antibiotic resistance-the need for global solutions. Lancet Infect Dis 2013; 13; 1057-98.
- 20 ECDC/EMA JOINT TECHNICAL REPORT. The bacterial challenge: time to react. EMA doc. ref. EMA/576176/2009. Stockholm, September 2009; ISBN 978-92-9193-193-4, doi 10.2900/2518.
- 21 Antibiotic resistance threats in the United States, 2013. US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention (<http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/>).
- 22 Van Veen SQ, Claas EC, Kuijper EJ. High-throughput identification of bacteria and yeast by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in conventional medical microbiology laboratories. J Clin Microbiol 2010; 48; 900-7.
- 23 Ghafur A, Mathai D, Muruganathan A, Jayalal JA, Kant R, Chaudhary D, et al.: The Chennai declaration: a roadmap

- to tackle the challenge of antimicrobial resistance. *Indian J Cancer* 2013; 50; 71-73.
- 24 Kuijper EJ, en Van Dissel JT. Opmars van resistente gramnegatieve bacteriën. *Ned Tijdschr Geneeskd.* 2010; 154(45): A2868.
  - 25 Gaze WH, Abdoulsalam N, Hawkey PM, et al. Incidence of class 1 integrons in a quaternary ammonium compound-polluted environment. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 1802-7.
  - 26 Perry MR, Wyllie S, Raab A, et al. Chronic exposure to arsenic in drinking water can lead to resistance to antimonial drugs in a mouse model of visceral leishmaniasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110; 19932-7.
  - 27 Snelders E, Camps SM, Karawajczyk A, et al. Triazole fungicides can induce cross-resistance to medical triazoles in *Aspergillus fumigatus*. *PLoS One* 2012; 7; e31801.
  - 28 Sjöholm AG, Kuijper EJ, Tijssen CC, et al. Dysfunctional properdin in a Dutch family with meningococcal disease. *N Engl J Med* 1988; 319; 33-7.
  - 29 Kuijper EJ, Oudbier JH, Stuijbergen WN, et al. Application of whole-cell DNA restriction endonuclease profiles to the epidemiology of *Clostridium difficile*-induced diarrhea. *J Clin Microbiol* 1987; 25; 751-3.
  - 30 Abraham Goorhuis. Epidemiological explorations on *Clostridium difficile* infections. Thesis LUMC, 2011.
  - 31 Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for *Clostridium difficile*; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of *Clostridium difficile*-associated disease in North America and Europe. *Clin Microbiol Infect.* 2006; 12Suppl 6; 2-18.
  - 32 Debast SB, Van Leengoed LA, Goorhuis A, et al. *Clostridium difficile* PCR ribotype 078 toxinotype V found in diarrhoeal pigs identical to isolates from affected humans. *Environ Microbiol* 2009; 11; 505-11.
  - 33 Keessen EC, Harmanus C, Dohmen W, Kuijper EJ, Lipman LJ. *Clostridium difficile* infection associated with pig farms. *Emerg Infect Dis.* 2013; 19: 1032-4.
  - 34 Allen SJ, Wareham K, Wang D, et al. Lactobacilli and bifidobacteria in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea and *Clostridium difficile* diarrhoea in older inpatients (PLACIDE): a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet* 2013; 382; 1249-57.
  - 35 Besselink MG, Van Santvoort HC, Buskens E, et al. Probiotic prophylaxis in predicted severe acute pancreatitis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2008; 371; 651-9.





## PROF.DR. E.J. KUIJPER



- 1982 Artsexamen, Universiteit van Amsterdam
- 1982-1986 Specialisatie Medische Microbiologie: St. Elisabeth Ziekenhuis, Tilburg (opleiders: dr. M.F. Peeters en dr. A. Jansz)
- 1986-1987 Onderzoeker op de afdeling “Molecular Biology Laboratory, Meningitis and Special Pathogens Branch” (hoofd: dr. Don J. Brenner), Centers for Disease Control, Atlanta, Georgia
- 1987-1989 Wetenschappelijk onderzoeker op de Afdeling Medische Microbiologie van Academisch Medisch Centrum Amsterdam (AMC)
- 1989 Promotie met proefschrift “*Aeromonas*-associated diarrhea in the Netherlands.” Promotor: prof. H.C. Zanen, co-promotores: dr. M. F. Peeters en dr. Don Brenner
- 1989-2000 Aanstelling arts-microbioloog, AMC, Amsterdam
- 2000-2013 Aanstelling als deellabcoördinator voor de Bacteriologie en plaatsvervangend opleider, Afdeling Medische Microbiologie, Leids Universitair Medisch Centrum (LUMC)
- 2005 Hoofd van het Nationaal Referentielaboratorium voor *Clostridium difficile*, een samenwerkingsverband van het Centrum Infectieziektebestrijding (Cib) van het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM) en het LUMC

2013 Benoemd tot hoogleraar Experimentele Bacteriologie bij de Afdeling Medische Microbiologie en de Faculteit der Geneeskunde, onderdeel van het LUMC

Bestuurlijke functies:

- \* Voorzitter van de “European Study group of *Clostridium difficile* (ESGCD)”
- \* Voorzitter van de Richtlijnencommissie “Tuberculose diagnostiek”, namens de Nederlandse Vereniging voor Medische Microbiologie
- \* Lid van de “International Society of Peritoneal Dialysis (ISPD)” voor opstellen richtlijnen voor diagnostiek en behandeling van peritonitis

In de onderzoeksperioden in Tiburg en Amsterdam werd het belang van bacteriën uit het genus *Aeromonas* als verwekker van diarree herkend. De meeste laboratoria zoeken nu gericht naar de aanwezigheid van deze bacterie bij patiënten met diarree. Het onderzoek naar het verband tussen meningokokkeninfecties en erfelijke afwijkingen van eiwitten die behoren tot het complementsysteem heeft geleid tot adviezen om families te herkennen met vatbare individuen en deze op jonge leeftijd te beschermen met een tetravalent meningokokken kapselpolysaccharide vaccine. De interesse voor infecties door *Mycobacterium tuberculosis* en de niet-tuberculeuze mycobacteriën leidde tot de ontwikkeling van nieuwe diagnostische testen die vervolgens toegepast werden in een grote nationale studie naar de effectiviteit van verschillende behandelingen. Op dit moment zijn studies naar de pathogenese en de epidemiologie van *Clostridium difficile*-infecties bij mensen en dieren een belangrijk onderdeel van de activiteiten van de Experimentele Bacteriologie. Hiernaast wordt onderzoek verricht naar diagnostiek en epidemiologie van infecties met multi-resistente bacteriën met gebruik van nieuwe massaspectrometrische technieken en “whole genome DNA sequencing”. Een verfijning van deze technieken zal ook moeten resulteren in toepassingen voor de bepaling van de samenstelling van het intestinale microbiom.



Universiteit  
Leiden