



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Typhoid fever : aspects of environment, host and pathogen interaction
Ali, S.

Citation

Ali, S. (2006, November 2). *Typhoid fever : aspects of environment, host and pathogen interaction*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4965>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/4965>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Nederlandse samenvatting

110 Dit proefschrift beschrijft de wisselwerking tussen drie determinanten van de uitkomst van een buiktyfus- en paratyfusinfectie: de bijdrage van omgevingsfactoren en van genetische factoren van de menselijke gastheer in combinatie met eigenschappen van de bacterie. *Salmonella typhi* en *S. paratyphi* veroorzaken een ernstig ziektebeeld (aangeduid met respectievelijk buiktyfus en paratyfus), met koorts die meerdere weken kan aanhouden en, indien de patiënt niet behandeld wordt, een mortaliteit van circa 15% heeft. Naast de koorts, malaiseklachten en gewichtsverlies, wordt de infectie gekenmerkt door zweren van de dunne darm waaruit een darmbloeding of zelfs darmperforatie kan ontstaan. Bij circa één op de tien patiënten treedt na schijnbaar herstel een “relapse”, een tweede koortsepisode op. Hierin onderscheiden *S. typhi* en *S. paratyphi* zich van de vele andere *Salmonella* bacteriën die meestal een “self-limiting” gastro-enteritis veroorzaken, of hooguit een ernstige ziekte veroorzaken bij patiënten met gestoorde afweer. *S. typhi* heeft nog een unieke eigenschap: deze bacterie kan alleen bij de mens een infectie veroorzaken. Een klein deel van deze patiënten, rond de vier procent wordt na infectie een chronische drager (“carrier”). Dit betekent dat ze vele jaren in de ontlasting *S. typhi* uitscheiden, en daarmee een bron van besmetting kunnen zijn voor andere mensen, vooral als ze betrokken zijn bij voedselbereiding (“Typhoid Mary”). Omdat buiktyfus alleen mensen infecteert, is het in principe mogelijk de infectieziekte uit te roeien, zoals eerder met pokken is gelukt, mits er voldoende bekend is over de wijze van overdracht. Al ruim 100 jaar weet men dat *S. typhi* en *S. paratyphi* bacteriën in de ontlasting van patiënten en dragers worden uitgescheiden en dat daardoor transmissie in de bevolking in stand wordt gehouden. De overdracht treedt op zolang patiënten persoonlijke hygiëne veronachtzamen en/of ontlasting in drinkwater of voedsel terecht kan komen door een defect waterleidingssysteem. In de ontwikkelde Westerse landen werd met de aanleg van riolering gescheiden van de drinkwatervoorziening, zorg voor persoonlijke hygiëne en de opsporing van dragers de faeco-orale transmissie van mens-tot-mens doorbroken en zijn buiktyfus en paratyfus tot importinfectieziekten geworden. In de rest van de wereld komt immers nog veel buiktyfus en paratyfus voor: jaarlijks treden naar schatting ruim 21 miljoen gevallen van buiktyfus en 5 miljoen gevallen van paratyfus op.

Ondanks het feit dat de omgevingsfactoren en aspecten van het menselijke gedrag, welke bijdragen aan de transmissie van beide infectieziekten, bekend zijn, althans in theorie, is in een ontwikkelingsland zoals Indonesië niet duidelijk welke van die factoren en aspecten de belangrijkste bijdrage leveren aan vóórkomen van de ziekten. Dergelijke kennis is echter onontbeerlijk om kosten-effectieve interventies op te stellen en uit te voeren, vooral in landen waar het budget voor gezondheidszorg nu eenmaal beperkt is. Om die zwakste schakel (‘weak link’) in de overdracht van *S. typhi* en *S. paratyphi* in kaart te brengen is in

Jakarta een bevolkingsonderzoek verricht.

Jakarta is een megacity met ruim 12 miljoen inwoners. In een oostelijk district van deze stad, Jatinegara, een gebied van 10.6 km² met circa 260.000 inwoners, werd gedurende anderhalf jaar bij patiënten die zich melden bij een van de lokale gezondheidscentra ('puskesmas') en drie of meer dagen koorts hadden een bloedkweek afgenomen. Hierbij bleek dat één op elke tien van zulke patiënten een buiktyfus- of paratyfusinfectie hadden. Karakteristieken van deze patiënten werden vergeleken met die van personen met koorts ontwikkeld door een andere reden dan buiktyfus- of paratyfusinfectie, en die van bijna 400 willekeurige, gezonde controles die in hetzelfde gebied woonden. Op die manier werd nagegaan welke risicofactoren in gedrag of omgeving van invloed waren op de buiktyfus en paratyfus. Ook konden deze groepen op immunologische en genetische eigenschappen vergeleken worden om na te gaan of er naast omgevingsfactoren ook andere verklaringen aan te wijzen zijn voor verschillen in gevoeligheid voor infectie of ernst van ziekte. Tenslotte werd onderzoek verricht naar eigenschappen van de bacteriën zelf: welke typeringsmethoden kunnen toegepast worden om te helpen bij de epidemiologische analyse van overdracht en verspreiding?

111

Omgevingsfactoren en buiktyfus en paratyfus in Jakarta

In het onderzoeksgebied Jatinegara werden 1019 patiënten geïncludeerd tijdens de surveillance periode van anderhalf jaar: 88 gevallen van buiktyfus, 26 van paratyfus en 905 patiënten met koorts door andere redenen, de zgn. "fever controls". Deze patiënten én de gezonde controles werden thuis bezocht. Bij dit bezoek werd een vragenlijst ingevuld, en monsters van bloed, faeces en drinkwater verkregen. Uit de analyse bleek dat buiktyfus met name binnen huishoudens ('eet- en hygiëne unit') werd overgedragen, door personen in dat huishouden die recent een buiktyfusinfectie doorgemaakt hadden, hun handen niet wasten en waarmee de overige leden het eten deelden van één en hetzelfde bord. In Indonesië eten veel mensen met hun handen. In het huishouden van veel buiktyfuspatiënten ontbrak bovendien een toilet.

Het krijgen van een paratyfusinfectie bleek geassocieerd met eten buitenshuis, en met overstroming van het huis. Veel Indonesiërs eten buiten de deur, omdat daar een gevarieerd en goedkoop dieet wordt aangeboden. Veelal goedkoper dan wanneer zelf gekookt wordt. Drinkwater, zelfs drinkwater uit de waterleiding, is in Jakarta vaak faecaal verontreinigd. Omdat mensen gewend zijn hun drinkwater voor consumptie te koken, was de mate van verontreiniging van drinkwater niet geassocieerd met buiktyfus of paratyfus. Deze gewoonte is een wenselijk en noodzakelijk gedragsmoment, en het gunstige effect daarvan zou benadrukt moeten worden, naast maatregelen gericht op persoonlijke hygiëne, zoals het wassen van handen met zeep. Door middel van zulke relatief simpele gedragsinterventies

zou de transmissie belangrijk gereduceerd kunnen worden, zeker zolang de kostbare aanleg van riolering en een centrale drinkwaterinfrastructuur in de sloppenwijken nog op zich laat wachten.

Er werden in de huishoudens geen chronische dragers (“carriers”) geïdentificeerd onder de individuen die het voedsel bereiden. De bijdrage aan de overdracht van buiktyfus door chronische dragers bleek dus geringer dan die als gevolg van transiente, tijdelijke faecale uitscheiding door personen die herstelden van een doorgemaakte infectie.

112 Met gegevens van ziektesurveillance gekoppeld aan optimale individuele diagnostiek door bloedkweken werd inzicht verkregen over het vóórkomen van buiktyfus en paratyfus: slechts 10% van de personen met langdurige koorts bleek buiktyfus of paratyfus te hebben. Omdat de dokters in het onderzoeksgebied (en elders in Jakarta) zelden bloedkweken verrichten beschouwen zij –tenminste buiten het Dengue seizoen– de meeste van deze personen als buiktyfuspatiënten en stellen een behandeling in met antibiotica. Opmerkelijk was dat paratyfus een kwart van de systemische *Salmonella* infecties veroorzaakte en klaarblijkelijk met een opmars bezig is, iets dat ook in andere Aziatische landen gesignaleerd is. Praktisch gezien betekent dit dat dure massavaccinatiecampagnes tegen buiktyfus niet langer een gewenste strategie vormen, omdat buiktyfusvaccins specifiek gericht zijn tegen buiktyfus en gevallen van paratyfus niet voorkómen.

Paratyfus, en in mindere mate ook buiktyfus, bleek geassocieerd met straatvoedsel. Om dit nader te duiden werd een cross-sectioneel onderzoek verricht onder 74 verkopers uit restaurants en 128 personen met voedselstalletjes of -karren. Veel van de geteste personen bleek geïnfecteerd met darmparasieten, en bij een belangrijk aantal werden salmonella uit de faeces gekweekt. Ook bij deze groep zouden relatief eenvoudige interventies de overdracht van bacteriën door straatvoedsel kunnen inperken, omdat handwashygiëne en het gebruik van zeep in afwaswater in gebreke bleven bij de straatverkopers. Ook moet meer aandacht geschonken worden aan veilige (gekoelde) opslag van voedsel.

Genetische gastheerfactoren en buiktyfus en paratyfus in Jakarta

Een tweede aspect van het onderzoek betrof de gastheerreactie op een infectie, een complex gebeuren waarin meerdere typen afweercellen nauw moeten samenwerken. *Salmonella* bacteriën overleven in macrofagen van lever, milt en beenmerg, de eerste lijn van afweer tegen de bacteriën die erin geslaagd zijn de darmwand te passeren. In ons onderzoek hebben we enkele facetten van dit eerste contact nader onderzocht.

Allereerst werd duidelijk dat *Salmonella typhi* het chloridekanaal op de enterocyt, de zogenaamde Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator (CFTR), gebruikt om aan te hechten aan de darmwand, een eerste essentiële stap bij het binnendringen. Een kleine verandering in het genetische materiaal (een genmutatie) dat codeert voor het CFTR

kan zeer schadelijk zijn en tot de ernstige longziekte cystic fibrosis (CF) leiden. In het laatste geval heeft de patiënt van beide ouders een afwijkend gen geërfd, en heeft de genetische verandering tot gevolg dat er in het geheel geen CFTR op de membraan van cellen in longen, darm, etc. aanwezig is. Hierdoor kan geen chloride (en daarmee water) uitgescheiden worden op de slijmvlieksoppervlakten en ontstaat taaislijmziekte. Omdat CF een ernstige ziekte is en zeker vroeger altijd resulteerde in de dood van een patiënt op jeugdige leeftijd is het opmerkelijk dat het afwijkende gen zo vaak in de bevolking vóórkomt (tot bij 3-5%). Zou het zo kunnen zijn dat de afwezigheid van CFTR (of verlaging van de hoeveelheid CFTR bij dragers van een afwijkend gen) enige bescherming biedt tegen een ernstige infectieziekte zoals buiktyfus? Uit ons onderzoek blijkt dat de in het Westen karakteristieke CF-mutatie in Jakarta niet voorkomt. Wel bleken enkele specifieke genetische variaties in het CFTR-gen geassocieerd met buiktyfus. Ofschoon de oorspronkelijke hypothese niet getest kon worden door ontbreken van de karakteristieke CF-mutatie in Indonesië, kon wel aangetoond worden dat kleine veranderingen in CFTR geassocieerd waren met buiktyfus. Blijkbaar speelt het CFTR eiwit dus een essentiële rol in de pathogenese van buiktyfus, ofwel door te fungeren als aanlegsteiger van de bacterie in de darm, ofwel als essentiële co-factor bij het doordringen van de darmwandcellen.

113

Naast het CFTR werd de rol onderzocht van genen die coderen voor pro-inflammatoire cytokines en hun receptoren, zoals TNF- α , IFN- γ , IL-1 α , IL-1 β , IL-12, IL-18, TNFR1, IFN- γ R1, IL-1R, CASP1 en CRP. Deze cytokinen en hun receptoren spelen een belangrijke rol bij de samenwerking tussen macrofagen, T-lymfocyten en Natural Killer cellen in de immuunreactie tijdens buiktyfus en paratyfus. De interpretatie van de uitkomsten maakt duidelijk dat genetische verschillen in aanmaak van deze cytokines geen rol spelen bij het feit of iemand vatbaar is voor ziekte of niet. Hooguit spelen eventuele verschillen hierin een rol bij de consequenties daarna: de ernst van de ziekte, die b.v. bepaalt of iemand moet worden opgenomen of niet.

Daarnaast werd nagegaan of single nucleotide polymorfismen (SNPs; veranderingen van enkele basenparen in het erfelijk materiaal DNA) in het PARK2/PACRG gen geassocieerd is met buiktyfus of paratyfus. Eerder was vastgesteld dat mutaties in deze genen individuen verhoogd vatbaar maken voor lepra, net als salmonella een intracellulair pathogeen micro-organisme. De eiwitten die door het PARK2/PACRG gensysteem gecodeerd worden zijn van belang voor poly-ubiquitinatie van eiwitten in het cytoplasma van de afweercellen. Het gaat hier om het van een ubiquitinlabel voorzien van eiwitten, waarna deze geïdentificeerd en afgebroken kunnen worden door het proteasoom ('stofzuiger') in het cytoplasma. Dergelijke mechanismen zijn van groot belang bij de gerichte afbraak van bacteriële eiwitten (toxines) die het functioneren van de cellen beïnvloeden. Van verschillende SNPs in de PARK2/PACRG gen was PARK2_e01(-2599) geassocieerd met buiktyfus, net als in lepra,

terwijl andere SNPs, PARK2_eo1(-697), rs1333955 en rs1040079 dat niet waren. Verder onderzoek moet verhelderen hoe de “proteasome-ubiquitination pathway” *S. typhi* en *S. paratyphi* helpt te overleven in de macrofagen.

Bacteriële factoren en buiktyfus en paratyfus in Jakarta

114 *S. typhi* en *S. paratyphi* hebben veel overeenkomsten in hun voorkeur voor de mens en hun ziekmakende eigenschappen, maar zijn toch twee verschillende micro-organismen, met in Jakarta verschillende transmissieroutes. Binnen de twee bacteriën zelf zijn ook weer meerdere varianten, subtypes, te onderscheiden, mits er analyses worden gedaan die voldoende discriminerend vermogen hebben. Dergelijke analyses kunnen helpen meerdere gevallen aan een bron te koppelen, en zijn essentieel bij de epidemiologische analyse van onderzoeksgegevens. Zo zijn er verschillen in gevoeligheid voor antibiotica te onderscheiden, al zijn in Jakarta slechts zeer weinig bacteriën multidrug-resistent (MDR). Deze methode helpt niet bij het verder onderverdelen in “subtypes”, al is het natuurlijk gunstig te kunnen constateren dat buiktyfus en paratyfus in Jakarta met relatief simpele antibiotica nog steeds adequaat behandeld kunnen worden. De meeste van deze antibiotica zijn goedkoop en voldoende voorradig in de meeste gezondheidscentra. Ook onze andere methoden, zoals biochemische tests en AFLP, bleken “subtypes” niet te kunnen onderscheiden. De in Jakarta circulerende buiktyfus en paratyfus- stammen zijn dus bijzonder homogeen, wat wellicht weerspiegelt dat kleine veranderingen in genetisch profiel, zoals gedetecteerd door AFLP, de bacteriële fitness zodanig verminderen dat er niet langer een infectie optreedt. Andere mogelijke verklaringen zijn dat er een centrale gemeenschappelijke bron voor infectie aanwezig is (minder waarschijnlijk vanwege de spreiding van infecties in plaats en tijd), of dat de gekozen analysemethodes onvoldoende sensitief zijn als discriminatoire test. Nieuwe testen moeten dus ontwikkeld en gevalideerd worden die wel de lokale verspreiding van specifieke “subtypes” kunnen ophelderen, om daarmee specifieke overdrachtskenmerken in kaart te brengen, die kunnen helpen bestrijdingsplannen te verfijnen.

Conclusie

S. typhi en *S. paratyphi* infecties hebben in de ontwikkelde landen geen voet meer aan de grond, dankzij de verbeteringen in riolering, drinkwatervoorziening, hygiëne en voedselveiligheid. De afname van incidentie werd bereikt vóór de introductie van antibiotica of vaccinaties. Ook in Jakarta is vandaag de grootste gezondheidswinst niet zozeer te bereiken door het uitbreiden van de gezondheidszorg, maar door verbeteringen in de eerstgenoemde omgevings- en gedragsfactoren.

Ons onderzoek maakt duidelijk dat adequate surveillance en risicofactoronderzoek noodzakelijk zijn om effectieve interventieprogramma's te ontwerpen. Veranderingen in incidentie van de ziekten als gevolg van grote, dure infrastructurele projecten kunnen voorafgegaan worden door een belangrijke afname als gevolg van aandacht voor persoonlijk (handwas)hygiëne, zowel in huishoudens als in de commerciële voedselbereiding. Er bestaat een grote behoefte aan nieuwe diagnostische testen (of introductie van bestaande bloedkweektechnologie) omdat een empirische behandeling met antibiotica van alle koortspatiënten ('verdenking buiktyfus') een grove overbehandeling inhoudt, en op termijn multi-drug resistentie induceert. Eventuele massavaccinatie-campagnes zullen de toename van paratyfus niet afremmen.

Op individueel niveau maakt niet zozeer de cytokine-reactie op infectie uit of iemand vatbaar is voor buiktyfus of paratyfus, maar blijkt de entree een bepalende factor met een belangrijke rol van CFTR hierin. Pas daarna komen cytokines in het spel, alsmede mutaties in het PARK2/PACRG gen, die een tolerant klimaat in de afweercellen creëren dat bacteriële overleving mogelijk maakt.

115

Over omgeving en gastheer moge meer duidelijk geworden zijn, maar de eigenschappen van de bacterie blijven nog onderbelicht, vooral omdat de juiste analysemethode ontbreekt om subtypes te differentiëren om daarna die kennis te kunnen koppelen aan specifieke risicofactoren. Wel weten we dat de behandelingsopties (nog) ruim voorhanden zijn, omdat multi-drug resistentie in Jakarta, in tegenstelling tot veel andere Aziatische landen, praktisch afwezig is. Mijn hoop is dat dit proefschrift een bijdrage levert aan het inzicht in buiktyfus en paratyfus, zowel wat de bestrijding ervan in Jakarta aangaat, als wat betreft de complexe communicatie over en weer tussen bacterie, omgeving en mens.