

Dankwoord

Curriculum Vitae

List of publications

PhD portfolio

DANKWOORD

Na een intensieve periode van 4 jaar is het zover. Met het schrijven van dit dankwoord leg ik de laatste hand aan mijn proefschrift. Graag wil ik alle collega's van zowel het Streeklaboratorium Haarlem als het Erasmus MC, familie en vrienden bedanken die mij de afgelopen jaren – direct of indirect – hebben geholpen gedurende mijn promotietraject. Ook wil ik de medeauteurs van de verschillende onderzoeken bedanken voor hun bijdrage aan dit proefschrift, op welke manier dan ook. De volgende personen wil graag in het bijzonder bedanken:

Dr. Jansen, beste Ruud. Jij hebt me door de jaren heen opgeleid van jonge analist naar de onderzoeker die ik nu ben, met als resultaat dit proefschrift. We werken al meer dan 12 jaar samen en gedurende deze tijd heb je mij geleerd om met een kritische houding onderzoek te doen. Ik heb het altijd erg prettig gevonden om met jou te brainstormen over nieuwe ideeën, of om gewoon een kletspraatje te maken, die bij voorkeur plaatsvonden onder het genot van een glaasje wijn en een stukje kaas. Het was fijn dat we vaak op dezelfde golfengte zaten. Ik ben je erg dankbaar voor jouw begeleiding en immer kritische blik, niet alleen op het onderzoek, maar eigenlijk op alles.

Dr. Hays, beste John. Ik ben je enorm dankbaar dat je mij de kans hebt gegeven om een promotietraject te starten binnen het Erasmus MC. Je was altijd 'kritisch-enthousiast' als ik nieuwe resultaten kwam laten zien en toonde daarnaast ook persoonlijke belangstelling. Bedankt voor al de vrijheid die jij me hebt gegeven tijdens het promotietraject en het vertrouwen dat je in me had. Misschien een beetje cliché, maar de snelheid waarmee jij de manuscripten nakeek is ongekend! Ik bewonder je passie voor het onderzoek en de gedrevenheid en ambitie waarmee jij jouw vak uitvoert. Mogen er nog vele samenwerkingen volgen.

Prof.dr. Mouton, beste Johan. Graag wil ik jou bedanken voor jouw rol tijdens de laatste fase van mijn promotietraject, het corrigeren van de laatste stukken van dit proefschrift en het in goede banen leiden van de papierwinkel rondom de promotie.

Leden van de promotiecommissie. Prof.dr. Boucher, Prof.dr. Savelkoul en Dr. Melchers wil ik bedanken voor het plaatsnemen in de kleine commissie en het beoordelen van mijn proefschrift. Ook de overige leden van de commissie wil ik uiteraard bedanken voor hun tijd, aandacht en oppositie.

Collega's van het Streeklaboratorium Haarlem. Na mijn vertrek in 2013 kwam ik snel en onverwacht terug op het 'oude nest' om het praktische werk dat beschreven is in dit proefschrift uit te voeren. Ik wil jullie bedanken voor de goede werksfeer en collegialiteit gedurende deze jaren. Het was een erg gezellige tijd, zowel op de werkvloer als tijdens de vrijdagmiddagborrels, barbecues, feestjes en etentjes. Dankjewel Cock, Chau, Debby, Elly[†], José, Katja, Linda, Kenny, Mike, Marjolein, Nicole, Paul, Rosanna en Sandra. Naast de analisten van de afdeling moleculaire biologie wil ik ook graag de wetenschappelijke staf, artsen-microbioloog en managementleden bedanken: Bjorn, Dick, Ed, Jan, Jayant, Paul, Rob, Sinwen, Theo en Willem. Jullie hebben het mede mogelijk gemaakt dat ik mijn praktische werk met veel plezier kon uitvoeren binnen het Streeklaboratorium Haarlem en ik heb tevens veel geleerd van de vakinhoudelijke discussies die ik met jullie heb mogen voeren. Sjoerd en Wil, ik wil jullie bedanken voor de statistische ondersteuning die jullie mij tijdens mijn promotietraject hebben gegeven. Door jullie enthousiasme en nieuwsgierigheid hebben jullie ook zeker bijgedragen aan de inhoud.

Collega's van het Erasmus MC. Beste (oud) kamergenoten van Na-902 en onderzoekers en technisch personeel uit 'Nb/Nc', ik wil jullie allemaal bedanken voor de gezelligheid en de gesprekken over van alles en nog wat als ik weer eens langs kwam buurten in Rotterdam. Veel succes in de toekomst met het (afmaken van promotie) onderzoek! Andrew and Saskia, I want to thank both of you for the important role you have played in the research that is described in this thesis. Although our discussions could last for (many) hours, you always kept it interesting with an emphasis on humour. I must thank you for both your patience with me and my constant changing wishes regarding the bioinformatics analysis of our data. I'm happy that I have worked with a great and dedicated team as your Bioinformatics department and I hope that our collaboration will continue in the future.

Vrienden en familie. Ik ben blij dat ik mij gelukkig mag prijzen met een aantal hele goede vrienden. Erik, Frank, Martijn, Ruud en Anne, Tom en Nelli, Debbie, Jacqueline, Marjolijn en Marleen: bedankt voor de interesse in mijn promotieonderzoek, maar ook zeker voor de jaarlijkse skivakanties en andere gezellige en minder sportieve momenten, waarop ik even helemaal niet bezig hoefde te zijn met mijn promotietraject. Uiteraard wil ik ook mijn ouders, zussen en schoonfamilie bedanken voor alle support en jullie blijvende interesse in mijn onderzoek! Sarita en Ruud, erg fijn dat jullie mij willen bijstaan als paranimfen tijdens de promotieplechtigheid.

Dayenne. Ondanks dat mijn promotieonderzoek een totaal ander vakgebied is dan je eigen, wist je mij altijd te helpen wanneer ik weer eens mijn (chaotische) gedachten moest vertalen naar een goedlopend manuscript. Op de juiste momenten wist jij me aan te moedigen en ik weet zeker dat dit proefschrift zonder jouw liefde, hulp en interesse nooit zo mooi was geworden. Bedankt voor al je support en ik ben blij dat ik dit onderzoek heb kunnen doen met jou aan mijn zijde.

CURRICULUM VITAE

Stefan Alexander Boers was born on the 7th of May 1984 in Oldenzaal, the Netherlands. After finishing his secondary education (HAVO) at the Twents Carmel College De Thij in Oldenzaal in 2001, he started studying for a BAS degree in Biology and Medical Laboratory Research at the Saxion Hogeschool Enschede. During this time, he specialized in molecular biology by performing research on the lactic acid bacterium *Lactobacillus plantarum* at NIZO Food Research and the opportunistic pathogen *Legionella pneumophila* at the National Institute for Public Health and the Environment (RIVM). He graduated in 2005 and in the same year he started working as a microbiological technician at the Regional Laboratory of Public Health Kennemerland in Haarlem (SLH). There, he was responsible for the culture-based detection of *Legionella* spp. and the molecular typing of patient isolates and environmental strains of *Legionella* as part of the National Legionella Outbreak Detection Program. As well as being responsible for the *Legionella*-work, he took part in the Employees Council and performed internal audits on a regular basis. To further develop his knowledge and professional skills, he combined his work at the SLH with obtaining a MSc degree in Biomolecular Sciences at the VU University Amsterdam, which started in 2009. As part of this master study, he performed two internships at the SLH under the supervision of Dr. Ruud Jansen. During the first internship, he successfully implemented a *bcr/abl* RT-PCR for the molecular diagnosis of the Philadelphia chromosome translocation in the routine practice of the clinical diagnostic laboratory and for his second internship he developed a high-throughput multilocus sequence typing method ('HiMLST') by adapting current next-generation sequencing (NGS) technology. To attain his MSc degree, he also wrote a Master thesis on CRISPR-Cas entitled 'CRISPR-Cas: An RNA-directed Adaptive Immunity System in Prokaryotes'. Following his graduation (*cum laude*) in 2012, he was appointed as senior molecular technician at the SLH and was responsible for the development and implementation of new approaches to aid the routine molecular diagnostics of infectious diseases. In 2013, he accepted a PhD position and began working in the Department of Medical Microbiology and Infectious Diseases at the Erasmus University Medical Centre (Erasmus MC), Rotterdam, performing research under the supervision of Dr. John Hays (Erasmus MC) and Dr. Ruud Jansen (SLH). During his PhD studies, he was part of a consortium of researchers participating in the European Union FP7-funded project 'TAILORED-Treatment', whose main goal was to establish a broad-based strategy that could be used to better target antibiotic prescribing to patients in cases of respiratory tract infection and sepsis. As a lead researcher in the TAILORED-Treatment consortium, Stefan was responsible for the development of a complete microbiota profiling workflow using NGS techniques and managed the quality of NGS results used in the project. In 2015, he took a leave of absence to volunteer for a period of 6 weeks as team leader at the Dutch

Mobile Ebola Lab Koidu, Sierra Leone, to diagnose Ebola infection during the 'West African Ebola virus epidemic (2013-2016)'. Here, he gained experience and management skills in the diagnostic testing and management of Advisory Committee on Dangerous Pathogens (ACDP) Category 4 infectious material. Stefan currently works at the Leiden University Medical Centre (LUMC), Leiden, under the supervision of Dr. Eric Claas, where he has started a 2-year training programme to become a qualified Medical Molecular Microbiologist (MMM).

LIST OF PUBLICATIONS

- Lück PC, Hahn F, Senger M, **Boers SA**, Brandsema P. European network cooperation to identify hotel as source for pneumonia caused by *Legionella pneumophila* serogroup 2. *Euro Surveill* 2008; 13: 18903.
- **Boers SA**, van Ess I, Euser SM, Jansen R, Tempelman FR, Diederer BM. An outbreak of a multiresistant methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MR-MSSA) strain in a burn centre: the importance of routine molecular typing. *Burns* 2011; 37: 808-813.
- **Boers SA**, van der Reijden WA, Jansen R. High-throughput multilocus sequence typing: bringing molecular typing to the next level. *PLoS One* 2012; 7: e39630.
- Euser SM, Bruin JP, Brandsema P, Reijnen L, **Boers SA**, Den Boer JW. Legionella prevention in the Netherlands: an evaluation using genotype distribution. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2013; 32: 1017-1022.
- Bruin JP, Kostrzewa M, van der Ende A, Badoux P, Jansen R, **Boers SA**, Diederer BMW. Identification of *Haemophilus influenzae* and *Haemophilus haemolyticus* by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014; 33: 279-284.
- Haenen OLM, van Zanten E, Jansen R, Roozenburg I, Engelsma MY, Dijkstra A, **Boers SA**, Voorbergen-Laarman M, Moller AVM. *Vibrio vulnificus* outbreaks in Dutch eel farms since 1996: strain diversity and impact. *Dis Aquat Organ* 2014; 108: 201-209.
- Souverein D, **Boers SA**, Veenendaal D, Euser SM, Kluytmans J, Den Boer JW. Polyclonal spread and outbreaks with ESBL positive gentamicin resistant *Klebsiella* spp. in the region Kennemerland, The Netherlands. *PLoS One* 2014; 9: e101212.
- **Boers SA**, Burggrave R, van Westreenen M, Goessens WHF, Hays JP. Whole-genome mapping for high-resolution genotyping of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Microbiol Methods* 2014; 106: 19-22.
- **Boers SA**, Hays JP, Jansen R. Micelle PCR reduces chimera formation in 16S rRNA profiling of complex microbial DNA mixtures. *Sci Rep* 2015; 5: 14181.

- **Boers SA**, Jansen R, Hays JP. Suddenly everyone is a microbiota specialist! *Clin Microbiol Infect* 2016; 22: 581-582.
- Voor in 't Holt AF, Wattel AA, **Boers SA**, Jansen R, Hays JP, Goessens WHF, Vos MC. Detection of healthcare-related extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* transmission events using combined genetic and phenotypic epidemiology. *PLoS One* 2016; 11: e0160156.
- **Boers SA**, Hays JP, Jansen R. Novel micelle PCR-based method for accurate, sensitive and quantitative microbiota profiling. *Sci Rep* 2017; 7: 45536.
- **Boers SA**, de Zeeuw M, Jansen R, van der Schroeff MP, van Rossum AMC, Hays JP, Verhaegh SJC. Characterization of the nasopharyngeal and middle ear microbiota in gastroesophageal reflux-prone versus gastroesophageal reflux non-prone children. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2018; 37: 851-857.
- **Boers SA***, Hiltmann SD*, Stubbs AP, Jansen R, Hays JP. Development and evaluation of a culture-free microbiota profiling platform (MYcrobiota) for clinical diagnostics. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2018; 37: 1081-1089.
- van Houten C, Oved K, Eden E, Cohen A, Engelhad D, **Boers SA**, Kraaij R, Karlsson R, Fernandez D, Gonzalez E, Li Y, Stubbs A, Moore E, Hays J, Bont L. Observational multi-centre, prospective study to characterize novel pathogen- and host-related factors in hospitalized patients with lower respiratory tract infections and/or sepsis – The “TAILORED-Treatment” Study. *BMC Infect Dis* 2018; 18: 377.
- Croughs PD, Klaassen CHW, van Rosmalen J, Maghdid DM, **Boers SA**, Hays JP, Goessens WHF, on behalf of the Dutch Antibiotic Resistance Surveillance Group. Unexpected mechanisms of resistance in Dutch *Pseudomonas aeruginosa* isolates collected during fourteen years of surveillance. *Int J Antimicrob Agents* 2018; in press.
- **Boers SA**, Reijnen L, Herpers BL, Hays JP, Jansen R. Detection of bacterial DNA in septic arthritis samples using the MYcrobiota platform. *J Clin Rheumatol* 2018; in press.

- **Boers SA**, Prest EI, Taučer-Kapteijn M, Knezev A, Schaap PG, Hays JP, Jansen R. Monitoring of microbial dynamics in a drinking water distribution system using the culture-free, user-friendly, MYcrobiota platform. *Sci Rep* 2018; in press.
- Hiltemann SD*, **Boers SA***, van der Spek PJ, Jansen R, Hays JP, Stubbs AP. Galaxy mothur Toolset (GmT): a user-friendly application for 16S rRNA gene sequencing analysis using mothur. *Submitted for publication*.
- van der Weide H, ten Kate MT, Vermeulen-de Jongh D, van der Meijden A, Wijma R, **Boers SA**, Hays JP, Goessens WHF, Bakker-Woudenberg IAJM. Successful monotherapy of tigecycline compared to meropenem in ESBL- and KPC-positive *Klebsiella pneumoniae* pneumonia models in rats. *Submitted for publication*.
- Heikema AP, Horst-Kreft D, **Boers SA**, Jansen R, de Ridder MAJ, van Houten CB, Bont LJ, Stubbs AP, Hays JP. Nanopore 16S rRNA gene sequencing of the human nasal microbiota indicates the (bioinformatics) loss of established genera and shows high bacterial species diversity. *Submitted for publication*.
- **Boers SA**, Jansen R, Hays JP. Understanding and overcoming the pitfalls and biases of next-generation sequencing (NGS) for use in the routine clinical microbiological diagnostic laboratory. *Submitted for publication*.

* These authors contributed equally to the work.

PHD PORTFOLIO

Name: Stefan A. Boers
Institute: Erasmus University Medical Centre
Department: Medical Microbiology and Infectious Diseases
PhD period: 2013 – 2017
Promotor: Prof.dr. J.W. Mouton
Co-promotor: Dr. J.P. Hays
 Dr. R. Jansen

In-depth courses

	Year
- Partek Course on Microarray and NGS, MolMed, Rotterdam, the Netherlands	2014
- Metagenomics Approaches and Data Analysis, NBIC, Nijmegen, the Netherlands	2014
- Course on Whole Genome Sequencing, MolMed, Rotterdam, the Netherlands	2014
- A broad spectrum of NGS Applications in Molecular Medicine, MolMed, Rotterdam, the Netherlands	2014
- Research Integrity, Erasmus MC, Rotterdam, the Netherlands	2017

National and International conferences

	Year
- Introduction to Microbiota Research, Glasgow, Scotland (oral presentation)	2014
- 19 th Molecular medicine day, Rotterdam, the Netherlands (poster presentation)	2015
- Scientific spring meeting KNVM & NVMM, Papendal, the Netherlands (oral presentation)	2015
- 9 th European Meeting on Molecular Diagnostics (EMMD), Noordwijk aan Zee, the Netherlands (oral presentation)	2015
- Microbiology: What can NGS do for us, Utrecht, the Netherlands	2015
- Applied Bioinformatics in Life Sciences, Leuven, Belgium (poster presentation)	2016
- Scientific spring meeting KNVM & NVMM, Papendal, the Netherlands (poster presentation)	2016
- 26 th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Amsterdam, the Netherlands (eposter mini oral presentation)	2016
- 2 nd Annual Microbiology & Immunology Virtual Conference (poster presentation)	2016
- 4 th Microbiome R&D and Business Collaboration Forum: Europe, Amsterdam, the Netherlands (poster presentation)	2017
- Scientific spring meeting KNVM & NVMM, Papendal, the Netherlands (poster presentation)	2017
- 7 th Congress of European Microbiologist (FEMS), Valencia, Spain (oral and poster presentation)	2017

Scientific meetings

	Year
- Departmental Journal Clubs (oral presentations)	2013-2017
- Departmental Research meetings (oral presentations)	2013-2017
- TAILORED-Treatment consortium meetings (oral presentations)	2013-2017

Teaching

	Year
- Supervision of 2 nd year medical students "VO Infectieziekten"	2013-2017
- Lecturer in the summer course of the research master "Infection and Immunity"	2015-2016
- Lecturer in the MolMed course "Galaxy for NGS"	2017