

Nederlandse samenvatting

Antimicrobiële resistentie vormt een steeds belangrijkere dreiging voor de gezondheidszorg wereldwijd. Het gebruik van antibiotica in mens en dier is een belangrijke risicofactor voor deze toenemende resistentie, het geeft verminderd gevoelige varianten of resistente mutanten een selectief voordeel. Daarnaast is de verspreiding van dergelijke resistente mutanten een belangrijke oorzaak van de opkomst van resistentie als medisch en maatschappelijk probleem. Gezien de enorme groei van internationaal toerisme, namelijk van 25 miljoen reizigers in 1950 naar 1,133 miljard reizigers in 2014 levert internationaal reizen mogelijk ook een substantiële bijdrage aan de opkomst van het resistentieprobleem. Immers resistente bacteriën of hun mobiele genetische elementen die resistentiegenen bevatten, kunnen zich dankzij allerlei vormen van transport makkelijk verspreiden tussen regio's. Een belangrijk deel van de antimicrobiële resistentiegenen is gelegen op plasmiden en codeert o.a. voor extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs, zoals TEM, SHV en CTX-M) en carbapenemases, enzymen die resistentie veroorzaken tegen de meeste beta-lactam antibiotica zoals penicillines, cefalosporines en de carbapenems. Bovendien zijn ESBL-producerende Enterobacteriaceae (ESBL-E) en carbapenemase producerende Enterobacteriaceae (CPE) vaak resistent tegen meerdere andere antibiotica klassen, een fenomeen dat co-resistentie wordt genoemd, waardoor weinig tot geen effectieve antimicrobiële middelen overblijven voor de preventie en behandeling van infecties.

Eerdere studies hebben laten zien dat mensen tijdens internationale reizen vaak ESBL-E en soms CPE oppikken (hoofdstuk 2). Echter, er waren nauwelijks gegevens over ESBL-E kolonisatie en transmissie binnen het huishouden na afloop van dergelijke reizen, noch over de duur van de kolonisatie en de factoren die daar van invloed op zijn. Zulke gegevens zijn nodig om vast te stellen wat het risico is van internationaal reizen op de introductie en verspreiding van antimicrobiële resistentie onder de bevolking, en welke maatregelen eventueel nodig zijn om deze risico's te beperken. Om deze vragen te beantwoorden hebben wij een prospectieve multicenter cohort studie opgezet waarin de acquisitie van ESBL-E tijdens internationaal reizen, de risicofactoren voor deze acquisitie, de duur van kolonisatie en de transmissie naar huisgenoten zijn onderzocht (hoofdstuk 3).

De resultaten van dit onderzoek (hoofdstuk 4) geven aan dat het risico op ESBL-E acquisitie tijdens reizen naar met name Azië en Noord-Afrika erg hoog is. De waargenomen frequentie van ESBL acquisitie en import door reizigers, 34,3% gemiddeld onder alle deelnemers, is een reden tot zorg. 75,1% van de reizigers naar Zuid-Azië en 40-50% van reizigers naar Centraal, Oost of West-Azië, en Noord-Afrika liepen tijdens hun reis een ESBL-E op. Naast reisbestemming bleken antibioticagebruik, het optreden van reizigersdiarree (vooral wanneer deze aanhield bij terugkomst), en een voor de reis al bestaande chronische darmziekte de belangrijkste risicofactoren voor de acquisitie van ESBL-E gedurende de reis. Van antibioticagebruik, reizigersdiarree en chronische darm-

ziekten is bekend dat deze geassocieerd zijn met een verstoring van de microbiële flora (microbiota) van de darm. Waarschijnlijk is verminderde kolonisatieresistentie vanwege een verstoring van de darm microbiota het onderliggende biologische mechanisme waardoor reizigers ontvankelijk zijn voor ESBL-E acquisitie.

11,3% van de reizigers die een ESBL-E hadden verworven waren 12 maanden na terugkomst nog steeds gekoloniseerd met deze resistente bacteriën. Onze bevindingen geven aan dat met name stammen die CTX-M groep 9 genen (dat zijn genen die coderen voor ESBL) bij zich dragen kennelijk een ecologisch voordeel hebben t.o.v. stammen die andere ESBL-genen hebben, want zij koloniseerden de reizigers het langst. Meer gedetailleerd moleculair en ecologisch onderzoek is nodig om te bepalen welke factoren verantwoordelijk zijn voor het persisterend dragerschap. Door onze acquisitiepercentages te combineren met gegevens van het Centraal Bureau voor de Statistiek met betrekking tot lange vakanties onder de Nederlandse bevolking hebben we de bijdrage van internationaal reizen aan het voorkomen van ESBL-E onder de Nederlandse bevolking (ESBL-E endemiciteit) kunnen schatten. De schatting is dat er jaarlijks een instroom van 500.000 tot 1.2 miljoen Nederlandse reizigers met ESBL-E is. Persisterend dragerschap draagt ook bij aan de ESBL-E endemiciteit, aangezien 11.3% van 500.000-1.2 miljoen betekent dat er 56.000-135.000 langdurige dragers van geïmporteerde ESBL-E zijn tot 12 maanden na de reis.

De geschatte kans op transmissie van ESBL-E van een ESBL-E positief persoon naar een ESBL-E negatief persoon binnen het huishouden van de betreffende reizigers bleek 12%, voornamelijk naar hun directe partner in het huishouden. Hoewel de berekende transmissiekans te laag is om een verdere verspreiding naar andere leden van het huishouden te veroorzaken, draagt deze wel bij aan de ESBL-E endemiciteit in Nederland, aangezien 12% van 500.000-1.2 miljoen reizigers betekent dat er 60.000 tot 144.000 reizigers jaarlijks hun ESBL-E doorgeven aan een partner in hun huishouden.

Op basis van onze gegevens stellen wij voor om reizigers die in een Nederlands ziekenhuis moeten worden opgenomen, terwijl zij in de afgelopen 1-3 maanden naar een ESBL-E hoog-endemisch gebied zijn geweest (landen waar > 40% van de reizigers een ESBL-E oploopt) te screenen voor ESBL-E. Ook kunnen de door ons vastgestelde risicofactoren gebruikt worden om een goede inschatting te maken of een patiënt een verhoogd risico heeft op ESBL-E dragerschap of ESBL-E infectie. In het kader van Antibiotic Stewardship programma's van ziekenhuizen kan zo het empirisch voorschrijven van zogenoemde reserve-antibiotica worden beperkt tot patiënten die een evident verhoogd risico hebben op een ESBL-E infectie. Vanzelfsprekend moet bij die keuze ook rekening worden gehouden met de ernst van infectie.

In ons cohort was 6.1% (136/2216) van de deelnemers voor aanvang van hun index reis al drager van ESBL-E (hoofdstuk 5). Dit percentage was goed vergelijkbaar met de percentages (4,5-8,6%) vermeld in eerdere Nederlandse studies onder gezonde indivi-

duen. Onze risicofactor analyse identificeerde antibioticagebruik, met name beta-lactam antibiotica in de afgelopen drie maanden en reizen buiten Europa in de afgelopen 12 maanden als belangrijkste risicofactoren voor ESBL-E dragerschap onder de deelnemers voor aanvang van hun reis. In onze populatie, was het populatie-attributieve-risico voor reizen buiten Europa tweemaal zo groot dan dat voor antibioticagebruik. Een nieuwe bevinding was dat reizigers naar Australië, ook na correctie voor reisduur en andere reisbestemmingen, een verhoogd risico voor ESBL dragerschap hebben. Tot op heden zijn er geen gegevens over het voorkomen (de prevalentie) van ESBL-E in de open bevolking van Australië. Wel is er een hoge ESBL-E prevalentie, 18%, gevonden in instellingen voor langdurige zorg. Overigens, vonden wij geen verband tussen het eten van bepaalde voedingsmiddelen (inclusief kip en rauwe groenten) of gebruik van maagzuurremmers en ESBL-dragerschap voor aanvang van de reis.

ESBL-E stammen geïsoleerd bij deelnemers voor aanvang van hun reis bleken in 31.3% (40/128) het CTX-M-15 gen te bezitten en in 21.9% (28/128) het CTX-M-14/18 gen te bezitten. Onze hypothese is dat een groot deel van de ESBL-genen gevonden bij deelnemers voor hun reis zijn verworven tijdens een eerdere internationale reis. De gevonden prevalentie voor CTX-M-14/18 was hoger of vergelijkbaar met prevalenties (13-19%) gevonden in eerdere Nederlandse studies in de open bevolking. Hoewel onze studie statistisch onvoldoende omvang had om te kunnen vaststellen of CTX-M-14 dragerschap voor de reis geassocieerd was met een eerdere reis van de deelnemer naar een CTX-M-14 endemische regio in de wereld, is het zeer goed mogelijk dat deze CTX-M-14 genen oorspronkelijk zijn verworven tijdens een eerdere reis naar een CTX-M-14 endemische gebied, aangezien CTX-M-14 niet dominant aanwezig is in Nederland.

Co-resistentie tegen gentamicine, nitrofurantoïne, co-trimoxazol en multipole resistentie was significant lager onder stammen geïsoleerd van deelnemers met ESBL-E dragerschap voor de reis in vergelijking tot reizigers met ESBL-E acquisitie tijdens de reis. Een mogelijke verklaring hiervoor is dat genen die verantwoordelijk zijn voor de co-resistenties relatief snel worden verloren na de reis, sneller dan een eventueel verlies van ESBL-genen zelf.

In ons reizigerscohort bleken 5 van de 2001 (0.25%) reizigers een CPE te hebben opgelopen tijdens hun reis. De verworven CPE-genen waren NDM-1/2, NDM-7, OXA-48, OXA-244 en IMI-2, en de reizigers waren in, respectievelijk, Zuid-Oost Azië/Oost-Azië, Myanmar, Turkije/Griekenland, Indonesië en Myanmar geweest (hoofdstuk 6). Bij een reiziger die een OXA-244 positieve CPE had opgelopen tijdens zijn reis trad na terugkomst van zijn reis transmissie van de CPE naar zijn huisgenoot op. Wanneer we rekening houden met de meest populaire vakantiebestemmingen van Nederlanders dan zullen Nederlanders het meest waarschijnlijk worden blootgesteld aan CPE in de hoog endemische regio's Turkije en Egypte (OXA-48), Italië (KPC), Spanje (OXA-48) en Griekenland (KPC, VIM).

Nadat in najaar 2015 in de literatuur werd gerapporteerd dat er in China een plasmide was geïsoleerd met daarop het voor colistine-resistentie coderende *mcr-1* gen, hebben wij in onze collectie stammen gekeken naar de prevalentie van *mcr-1*. Zes reizigers uit ons studiecohort bleken het *mcr-1* gen verworven te hebben tijdens hun reis naar verschillende regio's (Zuid-Oost Azië, Oost-Azië, West-Azië en Zuid-Amerika). Deze bevinding betekent dat het *mcr-1* gen zich al voor de start van onze studie in 2013 wereldwijd had verspreid (hoofdstuk 7). Vlak na deze ontdekking werden vele studies uit vele delen van de wereld gepubliceerd die het *mcr-1* gen beschreven in Enterobacteriaceae stammen geïsoleerd van dieren, dierlijke producten, mensen en uit omgevingsmonsters. In een overzichtsartikel hebben we de dynamiek van de wereldwijde verspreiding van het *mcr-1* gen beschreven (hoofdstuk 8). Door vergelijking van de complete genoom sequenties van de 65 gepubliceerde *mcr-1* positieve *E. coli* isolaten afkomstig van mensen, dieren en de omgeving, verzameld over de wereld, konden wij aannemelijk maken dat de wereldwijde verspreiding van het *mcr-1* gen vooral het gevolg is geweest van de verspreiding van een beperkt aantal plasmiden en niet het gevolg was van klonale verspreiding van *mcr-1* positieve *E. coli* stammen zelf.

Hoewel de populatie van *mcr-1* dragende *E. coli* stammen zeer divers was, vonden wij dat de verzameling voornamelijk bestond uit twee grote groepen van aan elkaar genetische verwante isolaten. Een van die twee groepen bevatten stammen behorend bij het klonale type ST10, een veelvoorkomend *E. coli* ST type bij mensen en dieren dat vaak resistentie genen bij zich draagt. Omdat ST10 waarschijnlijk makkelijk resistentiegenen oppikt, is onze hypothese dat bepaalde commensale *E. coli* kloons, zoals ST10, kunnen fungeren als reservoir voor het *mcr-1* gen.

Van de 65 *mcr-1* positieve *E. coli* isolaten bevatten er vier genen die voor carbapenemase coderen, en 29/65 (44.6%) bevatten plasmiden met CTX-M ESBL genen. Hoewel studies laten zien dat de prevalentie van *mcr-1* onder de Nederlandse bevolking voornamelijk erg laag is (0.35%), blijft het belangrijk alert te zijn op het opduiken van voor alle middelen-resistente (pan-drug resistent) Enterobacteriaceae, en op de import van dergelijke stammen door reizigers of transmissie vanuit de veterinaire naar de humane sector.

In hoofdstuk 9 hebben we de acquisitie van verscheidene bacteriële, virale en parasitaire darmpathogenen onderzocht bij 98 reizigers uit ons studiecohort. In deze studie vonden we dat een groot aantal reizigers al voor aanvang van hun reis drager waren van de parasietensoorten *Dientamoeba fragilis* (32%) en *Blastocystis* spp (19%). De meest frequent verworven parasitaire darmpathogenen tijdens de reis waren ook *Blastocystis* spp. (10%) en *D. fragilis* (6%). Hoewel deze laatste reizigers voor hun reis géén drager waren van deze darmparasieten, moet men een positieve test met *Blastocystis* spp. en/of *D. fragilis* bij een terugkerende reiziger met gastro-intestinale klachten nuanceren, aangezien er een kans bestaat dat de reiziger voor aanvang van de reis al drager hiervan

was. Van de bacteriële pathogenen werden *Plesiomonas shigelloides* (7%) en *Shigella* spp (5%) het vaakst opgelopen tijdens de reis. Gezien bacteriële darmpathogenen vaker werden verworven dan virale darmpathogenen, lijken bacteriële darmpathogenen een grotere rol te spelen bij reizigersdiarree.

In het laatste hoofdstuk worden onze belangrijkste resultaten samengevat en een aantal punten verder bediscussieerd (hoofdstuk 10). In dit hoofdstuk wordt onder andere dieper ingegaan op de risicofactoren voor ESBL-E acquisitie tijdens de reis. Reisbestemming is de allerbelangrijkste factor voor het oplopen van een ESBL-E tijdens reizen. Hoewel reizigers naar Zuid-Azië het hoogste acquisitiepercentage (75.1%) hadden, dragen reizigers naar West-Azië en Noord-Afrika waarschijnlijk het meest bij aan de endemiciteit van ESBL-E in Nederland. Dit komt doordat dit de twee meest populaire regio's zijn voor lange vakanties bij Nederlanders. In ons onderzoek vonden wij een acquisitiepercentage van 42.0-42.9% onder reizigers naar deze twee regio's. Onze inschatting is dat Nederlandse reizigers naar West-Azië (met name Turkije) en Noord-Afrika (met name Egypte en Marokko) samen verantwoordelijk zijn voor een jaarlijkse instroom van 320.000 tot 870.000 personen die ESBL-E invoeren in Nederland. Ook worden de impact en eventuele implicaties van internationaal reizen op ESBL-E, CPE en mcr-1 in Nederland besproken. Tenslotte worden kennishiaten aangekaart en suggesties voor toekomstig onderzoek gedaan.