

# Import en verspreiding van 'extended'-spectrum bètalactamase-producerende *Enterobacteriaceae* door internationale reizigers (COMBAT-studie): een prospectieve, multicenter cohort-studie

Import and spread of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Enterobacteriaceae* by international travellers (COMBAT study): a prospective, multicentre cohort study

M.S. Arcilla<sup>1\*</sup>, J.M. van Hattem<sup>2\*</sup>, dr. M.R. Haverkate<sup>3</sup>, dr. M.C.J. Bootsma<sup>3,4</sup>, dr. P.J.J. van Genderen<sup>5</sup>, dr. A. Goorhuis<sup>6</sup>, dr. M.P. Grobusch<sup>6</sup>, dr. A.M. Oude Lashof<sup>7</sup>, N. Molhoek<sup>5</sup>, dr. C. Schultsz<sup>2</sup>, dr. E.E. Stobberingh<sup>7</sup>, dr. H.A. Verbrugh<sup>1</sup>, dr. M.D. de Jong<sup>2</sup>, dr. D.C. Melles<sup>1</sup>, dr. J. Penders<sup>7,8</sup>

*Dit artikel is een Nederlandse bewerking van: Arcilla MS, Van Hattem JM, Haverkate MR, et al.*

*Import and spread of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* by international travellers (COMBAT study): a prospective, multicentre cohort study. Lancet Infect Dis 2017;17(1):78-85.*

## SAMENVATTING

Internationaal reizen draagt bij aan de verspreiding van antimicrobiële resistentie. Wij onderzochten de acquisitie van 'extended'-spectrum bètalactamase-producerende *Enterobacteriaceae* (ESBL-E) tijdens internationaal reizen, met een focus op de risicofactoren voor acquisitie, de duur van kolonisatie, en de transmissiekans in de thuissituatie. De data zijn eerder gepresenteerd in The Lancet Infectious Diseases. Binnen de prospectieve, multicenter COMBAT-studie, zijn 2.001 Nederlandse reizigers en 215 niet-reizende huisgenoten geïncludeerd. Ontlastingsmonsters en vragenlijsten over demografische gegevens, comorbiditeit, en gedrag werden verzameld voor, direct na en één, drie, zes en twaalf maanden na terugkomst. Monsters zijn gescreend op de aanwezigheid van ESBL-E. In monsters van direct na de reis zijn ESBL-genen gekarakteriseerd middels sequentieanalyse. Een PCR met specifieke primers voor de plasmidaal-gecodeerde beta-lactamasegenen TEM, SHV, en CTX-M groep 1, 2, 8, 9 en 25 is gebruikt om de aanwezigheid van ESBL-genen in vervolgon monsters te bevestigen. Multivariabele regressieanalyses zijn uitgevoerd om risicofactoren voor acquisitie en verlengde duur van kolonisatie te identificeren en een mathematisch model is ontwikkeld om de transmissiekans in de thuissituatie

\* beide auteurs hebben gelijkwaardig bijgedragen aan dit artikel.

<sup>1</sup>afdeling Medische Microbiologie en Infectieziekten, Erasmus Medisch Centrum (Erasmus MC), Rotterdam <sup>2</sup>afdeling Medische Microbiologie, Academisch Medisch Centrum (AMC), Amsterdam <sup>3</sup>Julius Centrum voor Gezondheidswetenschappen en Eerstelijns Geneeskunde, Universitair Medisch Centrum Utrecht (UMCU), Utrecht <sup>4</sup>afdeling Wiskunde, Faculteit Bètawetenschappen, Universiteit Utrecht, Utrecht <sup>5</sup>Instituut voor Tropische Ziekten, Havenziekenhuis, Rotterdam <sup>6</sup>Het Tropencentrum AMC, Amsterdam, <sup>7</sup>School for Public Health and Primary Care (Caphri), afdeling Medische Microbiologie, Maastricht Universitair Medisch Centrum (MUMC), Maastricht <sup>8</sup>School for Nutrition and Translational Research in Metabolism (NUTRIM), MUMC, Maastricht.

Correspondentie richten aan: mw. M.S. Arcilla, Afdeling Medische Microbiologie en Infectieziekten, Erasmus MC (Universitair Medisch Centrum Rotterdam), Wytemaweg 80, 3015 CN Rotterdam, e-mailadres: m.arcilla@erasmusmc.nl.

Belangenconflict/financiële ondersteuning: Deze studie is gefinancierd door de Nederlandse organisatie voor gezondheidsonderzoek en zorginnovatie (ZonMw, grant number 205200003)

**Trefwoorden:** antimicrobiële resistentie, carbapenemase, *Enterobacteriaceae*, 'extended'-spectrum bètalactamase, reizen

**Keywords:** antimicrobial resistance, carbapenemase, *Enterobacteriaceae*, extended-spectrum beta-lactamase, travel

vast te stellen. 633 (34,3%) van 1.847 reizigers die ESBL-negatief waren voor de reis en die een monster hadden opgestuurd na terugkomst verwierven een ESBL-E tijdens internationaal reizen (95% BI 32,1-36, 5%), met de hoogste acquisitiepercentages onder reizigers naar Zuid-Azië (136/181, 75,1%, 95% BI 68,4-80,9%). Belangrijke risicofactoren voor ESBL-E-acquisitie waren antibioticagebruik tijdens de reis (gecorrigeerde odds ratio (OR) 2,69, 95% BI 1,79-4,05), reizigersdiarree die aanhield bij terugkomst (2,31, 95% BI 1,42-3,76), en pre-existente chronische darmziekte (2,10, 1,13-3,90). De mediane duur van kolonisatie na de reis was 30 dagen (95% BI 29-33). Vijfzestig (11,3%) van de 577 reizigers bleven gekoloniseerd tot twaalf maanden na terugkomst. CTX-M enzym groep 9 ESBLs waren geassocieerd met een significant langere koloniseduur (mediane duur 75 dagen; 95% BI 48-102,  $p=0.0001$ ). Transmissie werd gezien bij 13 (7,7%) van 168 huisgenoten. De transmissiekans van ESBL-E naar een andere huisgenoot was 12% (95% BI 5-18). Internationaal reizen levert een substantiële bijdrage aan de acquisitie en verspreiding van ESBL-E. Reizigers naar gebieden met een hoog risico op ESBL-E-acquisitie moeten worden beschouwd als potentiële dragers van ESBL-E tot 12 maanden na de reis. (TIJDSCHR INFECT 2017;12(5):156-66)

## SUMMARY

International travel contributes to the dissemination of antimicrobial resistance. We examined the acquisition of extended-spectrum beta-lactamase producing *Enterobacteriaceae* (ESBL-E) during international travel, with a focus on predictive factors for acquisition, duration of colonisation and probability of onward transmission. The presented data were published before in *The Lancet Infectious Diseases*. Within the prospective multi-centre COMBAT trial, 2,001 Dutch travellers and 215 non-travelling household members were enrolled. Faecal samples and questionnaires on demographics, illnesses, and behaviour were collected before and immediately after travel, and at one, three, six and twelve months after return. Samples were screened for the presence of ESBL-E. In post-travel samples, ESBL genes were sequenced and PCR with specific primers for plasmid-encoded beta-lactamase enzymes TEM, SHV, and CTX-M group 1, 2, 8, 9, and 25 were used to confirm the presence of ESBL genes in follow-up samples. Multivariable regression analyses and mathematical modelling were used to identify predictors for acquisition and sustained carriage, and to determine household transmission rates. 633 (34.3%) of 1,847 travellers who were ESBL negative before travel and had available samples after return had acquired ESBL-E during international travel (95% CI 32.1-36.5%, with the highest number of acquisitions being among those who travelled to southern Asia in 136 of 181 (75.1%, 95% CI 68.4-80.9%). Important predictors for acquisition of ESBL-E were antibiotic use during travel (adjusted odds ratio 2.69, 95% CI 1.79-4.05), traveller's diarrhoea that persisted upon return (2.31, 95% CI 1.42-3.76), and pre-existing chronic bowel disease (2.10, 1.13-3.90). The median duration of colonisation after travel was 30 days (95% CI 29-33). Sixty-five (11.3%) of 577 remained colonised at twelve months. CTX-M enzyme group 9 ESBLs were associated with a significantly increased risk of sustained carriage (median duration 75 days; 95% CI 48-102,  $p=0.0001$ ). Onward transmission was found in 13 (7.7%) of 168 household members. The probability of transmitting ESBL-E to another household member was 12% (95% CI 5-18). Acquisition and spread of ESBL-E during and after international travel was substantial and worrisome. Travellers to areas with a high risk for ESBL-E acquisition should be considered as potential carriers of ESBL-E for up to twelve months after return.

## INLEIDING

Antimicrobiële resistentie vormt een steeds belangrijkere dreiging voor de gezondheidszorg wereldwijd.<sup>1</sup> Het gebruik van antibiotica bij mens en dier is een belangrijke risicofactor voor deze toenemende resistentie.<sup>2</sup> 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 toename van resistentie.<sup>3</sup> Immers, resistente bacteriën of mobiele genetische elementen die resistentiegenen bevatten, kunnen zich zodoende makkelijk verspreiden tussen regio's.<sup>4</sup> Een belangrijk deel van de antimicrobiële resistentiegenen is gelegen op plasmiden en codeert onder andere voor extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs, zoals TEM, SHV en CTX-M) en carbapenemases, enzymen die resistentie ver-

oorzaken tegen de meeste beta-lactam antibiotica.<sup>2,4</sup> Bovendien zijn ESBL-producerende *Enterobacteriaceae* (ESBL-E) en carbapenemaseproducerende *Enterobacteriaceae* (CPE) vaak resistent tegen meerdere andere antibioticaklassen, waardoor weinig tot geen effectieve antimicrobiële middelen beschikbaar meer zijn voor de preventie en behandeling van infecties.<sup>4,5</sup>

Eerdere studies hebben hoge acquisitiepercentages van ESBL-E en sporadische acquisitie van CPE onder internationale reizigers gerapporteerd.<sup>6-11</sup> Data over ESBL-E-kolonisatie en -transmissie binnen het huishouden na reizen en risicofactoren voor de koloniseduur zijn echter beperkt. Zulke data zijn nodig om vast te stellen wat het risico van introductie en verspreiding van antimicrobiële resistentie door reizigers voor de volksgezondheid is en wat de mogelijke noodzaak en maatregelen zijn om deze risico's te monitoren of te beperken. Het identificeren van individuen die een risico lopen om ESBL-E-drager te zijn, maakt het mogelijk om tot doelmatige maatregelen te komen om verdere introductie en verspreiding van ESBL-E of CPE te voorkomen. Bovendien leidt het aanpassen van de empirische antimicrobiële therapie bij individuen die een risico lopen op ESBL-E-dragerschap tot optimale klinische zorg. In deze studie hebben wij de acquisitie van ESBL-E tijdens internationaal reizen, de risicofactoren voor deze acquisitie, de duur van kolonisatie en de transmissie naar huisgenoten onderzocht.

## METHODEN

### STUDIEOPZET EN DEELNEMERS

De studieopzet en -methoden zijn elders uitgebreid beschreven.<sup>12</sup> In een multicenter, longitudinale prospectieve cohortstudie hebben we reizigers vanaf één tot drie weken voor de reis tot twaalf maanden na terugkomst gevolgd. Om transmissie binnen het huishouden te bestuderen hebben we tevens niet-reizende huisgenoten in dezelfde periode gevolgd. Geschikte deelnemers waren volwassenen (leeftijd  $\geq 18$  jaar) die van plan waren om minimaal één week tot maximaal drie maanden te reizen. Ze werden geworven bij de Travel Clinic Havenziekenhuis (Rotterdam), het Tropencentrum AMC (Amsterdam), en de Ease Travel Clinic & Health support (Zuid-Limburg) van november 2012 tot november 2013. Alle deelnemers hebben een toestemmingsformulier ondertekend.

### PROCEDURES

Deelnemers kregen een ontlastingsafnamepakket en werden geïnstrueerd om zelf een fecale wattenstok te verzamelen voor, direct na en één maand na de reis. Indien een van deze ontlastingsmonsters een ESBL-E bevatte, werden de reiziger en zijn of haar huisgenoten gevraagd om tevens drie, zes en

twaalf maanden na de reis ontlastingsmonsters te verzamelen. Indien geen van de monsters positief was voor ESBL-E werden er geen extra monsters verzameld. Vragenlijsten werden op alle tijdstipmomenten verzameld om informatie te verzamelen over mogelijke risicofactoren voor ESBL-E-acquisitie en -koloniseduur, demografische gegevens, comorbiditeit, en gedrag voor, tijdens en na het reizen. Monsters werden direct na ontvangst verwerkt. Ze werden geïnculeerd in een trypticase sojabouillon gesupplementeerd met vancomycine (50 mg/L) om te selecteren voor *Enterobacteriaceae*. De bouillon werd vervolgens gekweekt op een chromID ESBL agarplaat (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Frankrijk). Alle morfologisch verschillende kolonies werden geïdentificeerd tot op species niveau met matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometrie (Bruker Microflex™ LT, Bruker, London, UK). De minimaal remmende concentratie van verschillende antibiotica werd bepaald van alle *Enterobacteriaceae* met de Vitek® (bioMérieux). ESBL-productie werd fenotypisch geconfirmeerd door de combinatie disk-diffusiemethode volgens de huidige nationale richtlijnen.<sup>13</sup>

Alle fenotypisch geconfirmeerde ESBL E-isolaten verworven tijdens de reis werden gescreend op de aanwezigheid van ESBL-genen met microarray zoals eerder beschreven.<sup>12,14-16</sup> De aanwezigheid van ESBL-genen werd geconfirmeerd door PCR met primers specifiek voor CTX-M enzym groepen 1,2,8,9 en 25. Verdere karakterisering door sequentieanalyse werd verricht voor de meest prevalentie CTX-M groepen, 1 en 9. PCR-confirmatie en sequentieanalyse van genen voor TEM- en SHV-ESBLs werden beperkt tot isolaten die negatief bleken voor alle CTX-M-genen op basis van de microarray. Een algemene CTX-M enzym groepen-PCR werd verricht indien geen ESBL-genen werden gedetecteerd door de microarray. Wanneer deze groepen-PCR positief was, volgde bevestiging door een specifieke PCR en sequentieanalyse voor de verschillende CTX-M groepen. Sequenties werden vergeleken met data uit de NCBI GenBank en Lahey databases.

Acquisitie werd gedefinieerd als afwezigheid van ESBL-E in ontlastingsmonsters voor de reis en aanwezigheid van fenotypisch geconfirmeerde ESBL-E in monsters verkregen direct na de reis. Duur van dragerschap werd gedefinieerd als het laatste positieve monster dat een ESBL van dezelfde groep (TEM, SHV, of CTX-M groep 1, 2, 8, 9 of 25 of een combinatie) bevatte als het monster afgenomen direct na de reis. Deelnemers met opeenvolgende monsters positief voor ESBL-E werden geclassificeerd als persisterende dragers en deelnemers met ESBL-E positieve monsters afgewisseld met tenminste één negatief monster werden geclassificeerd als intermitterende dragers.

**TABEL 1.** Algemene karakteristieken van reizigers en niet reizende huisgenoten

	Reizigers (n=2.001)*	Niet-reizende huisgenoten (n=215)†
<b>Geslacht</b>		
Man	920 (46,0%)	80 (37,2%)
Vrouw	1.081 (54,0%)	135 (62,8%)
<b>Leeftijd in jaren (mediaan, IQR)</b>	50,5 (32,8-60,7)	46,9 (25,7-55,8)
<b>Opleidingsniveau</b>		
Geen opleiding, lager onderwijs of lager beroepsonderwijs	243 (12,4%)	78 (36,4%)
Middelbaar algemeen onderwijs	280 (14,2%)	37 (17,3%)
Middelbaar beroepsonderwijs of hoger algemeen onderwijs	200 (10,2%)	45 (21,0%)
Hoger beroepsonderwijs	642 (32,7%)	53 (24,7%)
Wetenschappelijk onderwijs	595 (30,3%)	38 (17,8%)
<b>Antibiotica gebruik in afgelopen 3 maanden</b>		
Nee	1.760 (90,1%)	189 (88,3%)
Ja	194 (9,9%)	25 (11,7%)
<b>Reizen in het afgelopen jaar</b>		
Geen reis	185 (9,5%)	27 (12,6%)
Reizen binnen Europa	915 (46,9%)	124 (57,7%)
Reizen buiten Europa	852 (43,6%)	64 (29,8%)
<b>Chronische ziekte‡</b>		
Nee	1.500 (77,2%)	173 (82,0%)
Ja	443 (22,8%)	38 (18,0%)
<b>Chronische darmziekte‡</b>		
Nee	1.912 (97,4%)	212 (99,1%)
Ja	51 (2,6%)	2 (0,9%)
<b>Continenten bezocht tijdens index reis§</b>		
Azië	1.016 (50,8%)	
Afrika	633 (31,6%)	
Amerika	326 (16,3%)	
Europa	21 (1,0%)	
Oceanië	5 (0,2%)	
<b>Duur van index reis (dagen)</b>	20 (15,0-25,0)	
<b>Reden van index reis</b>		
Vakantie	1.655 (84,2%)	
Werk of stage	161 (8,2%)	
Familiebezoek	82 (4,2%)	
Andere reden	66 (3,4%)	
<p>Data zijn in aantallen (%) of mediaan (IQR=interkwartiele bereik)                      *Sommige aantallen tellen niet op tot 2.001 vanwege missende data                      †Sommige aantallen tellen niet op tot 215 vanwege missende data                      ‡Zelfgerapporteerd door reiziger of niet reizende huisgenoot                      §Indien reiziger meerdere continenten heeft bezocht, wordt alleen het voornaamste continent gepresenteerd in deze tabel</p>		

## STATISTISCHE ANALYSE

De cumulatieve incidentie, de incidentie per 100 persoonsdagen van reizen en de bijbehorende 95% betrouwbaarheidsintervallen (BI) voor ESBL-E-acquisitie werden berekend voor elke subregio en land van bestemming. De incidentie per 100 persoonsdagen van reizen werd berekend met een 'maximum likelihood'-methode die was gebaseerd op een constante acquisitiekans met rechts-gecensureerde en interval-gecensureerde data.

Risicofactoren voor ESBL-E-acquisitie werden onderzocht met logistische regressiemodellen op basis van de methode van Bursac en collega's en geanalyseerd met SPSS Statistics (versie 21.0).<sup>17</sup> Resultaten zijn gepresenteerd als odds ratio's (ORs) en 95% BIs. Een afzonderlijke analyse werd uitgevoerd voor de subregio's Zuidoost-Azië, Zuid-Azië en Oost-Afrika, omdat diverse dieetgerelateerde factoren (consumptie van kip, barbecuevlees of varkensvlees) een statistische interactie lieten zien met specifieke subregio's. Tijd tot dekolonisatie werd vastgesteld met een 'Kaplan-Meier survival'-analyse met rechts-censurering van deelnemers wiens laatst verzamelde monster ESBL-E positief was. Univariabele en multivariabele Cox regressieanalyses werden verricht om te identificeren welke risicofactoren geassocieerd waren met dekolonisatie. Deze resultaten zijn gepresenteerd als hazard ratio's (HRs) en 95% BIs (HRs <1,00 geven aan dat er een verminderd risico is op dekolonisatie, oftewel een verhoogd risico op verlengde duur van dragerschap).

Om de transmissiekans van ESBL-E binnen huishoudens te berekenen, is een Markov-model ontwikkeld. Dit model was gebaseerd op fenotypisch bevestigde ESBL-E en alleen data van huishoudens met een maximale grootte van vijf personen zijn geïnccludeerd, wat 98% van de huishoudens omvatte. Het model hield rekening met fout-negatieve resultaten, missende kweekresultaten en de niet-geobserveerde tijden waarop kolonisatie is ontstaan. Het model werkte als volgt: ESBL-E-positieve personen (zowel reizigers als niet-reizende huisgenoten) konden ESBL-E overdragen naar hun huisgenoten met snelheid  $\beta$ . Transmissie van ESBL-E vanuit andere bronnen was opgenomen in de achtergrondtransmissieparameter  $\alpha$ . Verlies van kolonisatie met ESBL-E gebeurde met snelheid  $\gamma$ . Negatieve kweken konden in het model fout-negatief zijn en daarmee de schatting van de sensitiviteit ( $\phi$ ) beïnvloeden. De specificiteit van de kweken werd verondersteld 100% te zijn. De transmissiekans van ESBL-E van een ESBL-E-positieve persoon naar een ESBL-E-negatieve persoon, gegeven het feit dat de ESBL-E-negatieve persoon geen ESBL-E opliep via een andere route, kon berekend worden als  $\beta/(\beta+\gamma)$ . De verschillende parameters van het model werden gelijktijdig geschat met een 'maximum likelihood'-methode in Mathematica versie 9.0.

## RESULTATEN

2.737 reizigers zijn gescreend voor geschiktheid, waarvan er 2.001 geïnccludeerd zijn in de studie. De mediane leeftijd was 50,5 jaar (IQR 32,8-60,7) en de meerderheid had een goede gezondheid (zie *Tabel 1*, pagina 159). 49 reizigers raakten 'lost to follow-up'.

De voornaamste reden voor reizen was toerisme (1.655 (84,2%) van 1.965 reizigers) en de mediane reisduur was twintig dagen (IQR 15,0-25,0; zie *Tabel 1*). De meest bezochte subregio's waren Zuidoost-Azië (n=650), Oost-Afrika (n=287), Zuid-Amerika (n=228), en Zuid-Azië (n=217). 122 (6,1%) van de 2.001 reizigers waren drager van ESBL-E voor de reis, waardoor nog 1.879 reizigers een risico hadden op ESBL-E-acquisitie. Van deze laatstgenoemde groep stuurden 1.847 (98,3%) reizigers een ontlastingsmonster in direct na de reis. Hiervan bleken 633 reizigers tenminste één ESBL-E te hebben verkregen tijdens de reis (zie *Tabel 2*), hetgeen overeenkomt met een acquisitiepercentage van 34,3% (95% BI 32,1-36,5). Van deze 633 reizigers werden 859 morfologisch verschillende ESBL-E-stammen geïsoleerd (759 *Escherichia coli*, 67 *Klebsiella pneumoniae*, en 33 andere species). CTX-M-15 (onderdeel van CTX-M groep 1) was het meest frequent verworven ESBL-gen (338/633 reizigers (53,4%)). ESBL-E werden het meest frequent verworven na een reis naar Zuid-Azië (75,1%, 95% BI 68,4-80,9), gevolgd door Centraal,- en Oost-Azië (48,8%, 38,4-59,3; zie *Tabel 2* en *Figuur 1*, pagina 162). De acquisitiepercentages varieerden echter ook sterk tussen landen binnen eenzelfde subregio. Onder de 22 meest frequent bezochte landen, was de acquisitie het hoogst in India (88,6%, 95% BI 79,8-93,9) en het laagste in Suriname (3,6%, 1,0-12,1). Ook reizigers naar Oost-Afrikaanse landen, zoals Oeganda (44,4%, 27,6-62,7), liepen regelmatig een ESBL-E op.

In de multivariabele logistische regressieanalyse bleek antibioticagebruik tijdens de reis de sterkste onafhankelijke risicofactor voor ESBL-E acquisitie (zie *Tabel 3*, pagina 163). Om het effect van verschillende antibioticaklassen vast te stellen, hebben we vervolgens de variabele "antibioticagebruik tijdens de reis (nee vs ja)" vervangen door de variabele "antibiotica klasse" (geen antibiotica versus beta-lactam, of quinolonen, of andere klasse antibiotica). Gebruik van quinolonen was het sterkst geassocieerd met ESBL-acquisitie (gecorrigeerde OR 6,0, 95% BI 2,9-12,4), terwijl associaties voor gebruik van betalactam antibiotica (2,2, 0,95-5,14) of andere antibiotica (1,7, 0,59-2,35) niet significant waren. Er was een sterke associatie tussen ESBL-E-acquisitie en diarree tijdens de reis, met name reizigersdiarree die aanhield na terugkomst van de reis (zie *Tabel 3*). Ook was er een verhoogd risico bij het eten van voedsel bij straatverkopers, dit risico werd hoger wanneer dit dagelijks gebeurde (zie *Tabel 3*). Zelf-



**TABEL 2.** Incidentieproportie en incidentie per 100 persoonsdagen van reizen voor ESBL-E-acquisitie in Nederlandse reizigers, per subregio

Reisbestemming	Reizigers (n=1847)*	Reizigers met ESBL-E-acquisitie (n=633)†	ESBL-E-incidentie proportie (95% BI)‡	Aantal reisdagen	Gemiddelde (SD) duur van reis in dagen	ESBL-E-incidentie per 100 persoonsdagen van reizen (95% BI)§
Zuid-Azië	181	136	75,1 (68,4-80,9)	3.727	20,6 (11,0)	7,2 (5,9-8,6)
Centraal en Oost-Azië	84	41	48,8 (38,4-59,3)	1.712	20,4 (10,8)	3,5 (2,5-4,7)
West-Azië	28	12	42,9 (26,5-60,9)	305	10,9 (7,5)	5,8 (3,0-9,9)
Noord-Afrika	81	34	42,0 (31,8-52,9)	981	12,1 (5,7)	4,5 (3,1-6,2)
Zuidoost-Azië	540	200	37,0 (33,1-41,2)	12.493	23,1 (11,6)	2,1 (1,8-2,4)
De Caraïben en Midden-Amerika	86	24	27,9 (19,5-38,2)	1.653	19,2 (12,4)	1,7 (1,1-2,5)
Midden en Oost-Afrika	205	57	27,8 (22,1-34,3)	4.060	19,8 (14,3)	1,6 (1,2-2,1)
West-Afrika	106	20	18,9 (12,6-27,4)	1.638	15,5 (11,1)	1,4 (0,8-2,0)
Zuid-Amerika	180	33	18,3 (13,4-24,6)	4.778	26,5 (14,7)	0,8 (0,5-1,1)
Zuid-Afrika	116	7	6,0 (2,5-12,0)	2.522	21,7 (8,6)	0,3 (0,1-0,6)
Noord-Amerika, Europa, en Oceanië	17	1	5,9 (1,1-27,0)	292	17,2 (11,3)	0,4 (0-1,6)

ESBL-E= 'extended'-spectrum bètalactamase-producerende Enterobacteriaceae

\*Aantallen tellen niet op tot 1.847 omdat 221 reizigers meer dan een subregio hebben bezocht (66 met ESBL-E-acquisitie) en reisbestemming mist voor twee reizigers

†Aantallen tellen niet op tot 633 omdat 66 reizigers met ESBL-E-acquisitie meer dan een subregio hebben bezocht en reisbestemming mist voor twee reizigers

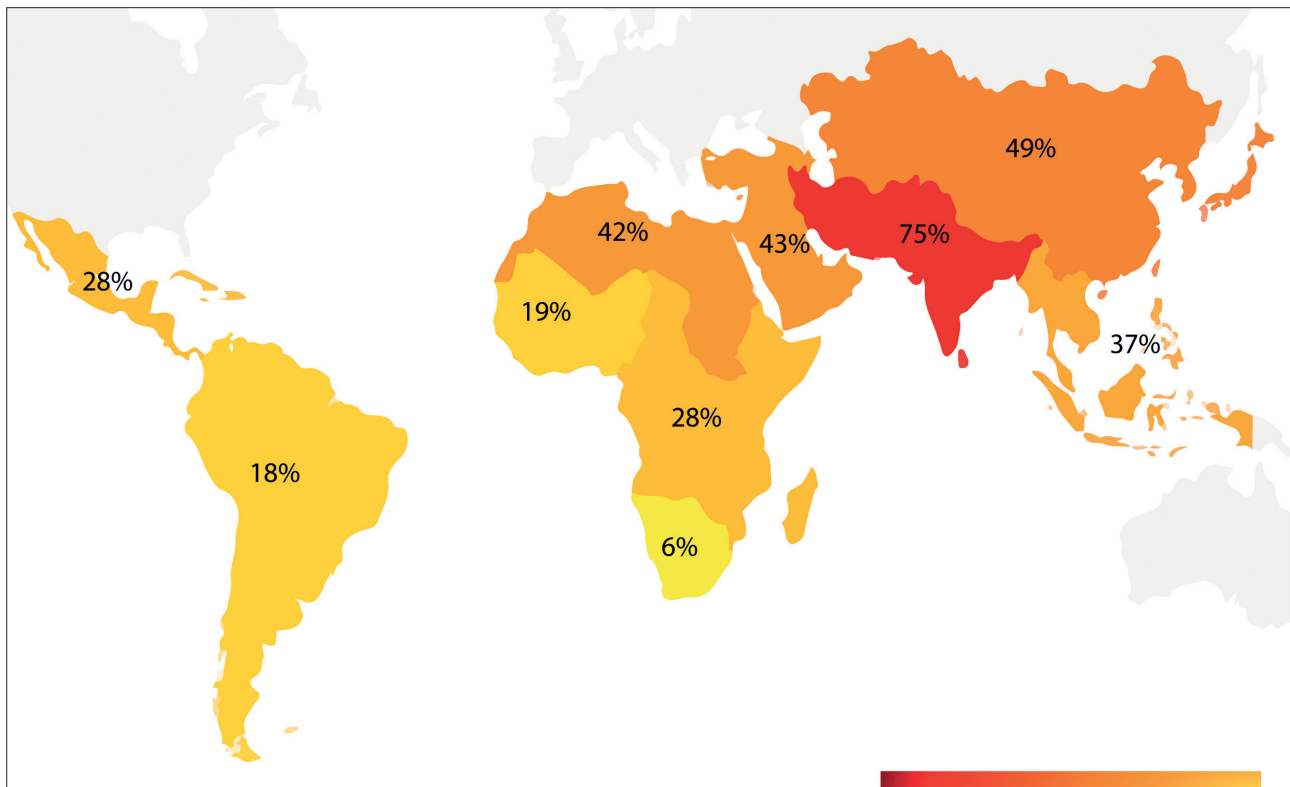
‡Gebaseerd op binomiale distributie (Wilson score interval)

§Berekend met 'maximum likelihood estimation'-methode gebaseerd op een constante acquisitiesnelheid met rechts-gecensureerde en interval-gecensureerde data

gerapporteerde pre-existente chronische darmziekte was een andere opvallende risicofactor voor ESBL-E-acquisitie (zie Tabel 3).

In de subgroepanalyses voor drie van de bezochte subregio's waren het eten van rauwe groenten en gebruik van antibiotica risicofactoren voor ESBL-E-acquisitie in Zuidoost-Azië. In Zuid-Azië was de sterkste risicofactor contact met weeskinderen en een dagelijkse maaltijd in een hostel of guesthouse. In Oost-Afrika was de sterkste associatie dagelijks bezoek aan de lokale markten en een verblijf in rurale gebieden. Een verlengde duur van ESBL-E-dragerschap (persisterend en

intermitterend) na acquisitie werd gezien in 42,9%, 25,1%, 14,3% en 11,3% van de reizigers op respectievelijk één, drie, zes en twaalf maanden na de reis. De meerderheid van de reizigers was persisterend gekoloniseerd. De mediane duur van dragerschap na de reis was 30,0 dagen (95% CI 28,9-33,1, zie Figuur 2, pagina 164). ESBL-producerende *K. pneumoniae* en reizen naar West-Azië waren geassocieerd met de kortste tijd tot dekolonisatie. Reizigers die een CTX-M groep 9 ESBL-E hadden verworven hadden een significant langere duur van dragerschap vergeleken met reizigers die een CTX-M groep 1 ESBL-E hadden verworven.



**FIGUUR 1.** Percentage reizigers die 'extended'-spectrum bètalactamase-producerende *Enterobacteriaceae* verwierven per subregio (volgens VN-indeling).

Van de 215 niet-reizende huisgenoten in deze studie, waren er 63 huisgenoten die ESBL-E-negatief waren op moment van inclusie en die samenwoonden met deelnemers die een ESBL-E hadden verworven tijdens de reis. Daarnaast waren er 105 reizigers ESBL-E-negatief direct na de reis terwijl een andere reiziger binnen hetzelfde huishouden wel een ESBL-E had verworven tijdens de reis. In totaal waren er dus 168 huisgenoten (in 152 huishoudens) 'at risk' voor ESBL-E-transmissie. Transmissie binnen huishoudens werd gezien in 13 (7,7%) van deze 168 huisgenoten (10 medereizigers en 3 niet-reizende huisgenoten), doordat een of meer van hun follow-up isolaten positief was voor dezelfde ESBL-groep (TEM, SHV, CTX-M groep 1,2,8,9 of 25) als de indexreiziger. Vervolgens zijn 3.330 personen uit 1.542 huishoudens geïncubeerd om de transmissiekans van ESBL-E te bepalen na introductie in een huishouden. 381 huishoudens bestonden uit één persoon, 774 uit twee personen, 187 uit drie, 160 uit vier en 40 uit vijf. Transmissie van persoon-naar-persoon trad op met een geschatte snelheid van 0,0013 (95% BI 0,0005-0,0024) per gekoloniseerd persoon per dag. De achtergrondtransmissie gebeurde met een snelheid van 0,00073 (0,00054-0,0009) per dag. De snelheid van ESBL-E-dekolonisatie werd geschat op 0,010 (0,0092-0,011) per dag. De sensitiviteit van het screeningsproces werd door het model

geschat op 90% (86-93). De hieruit berekende transmissiekans van ESBL-E van een ESBL-E-positief persoon naar een ESBL-E-negatief persoon bleek 12% (5-18).

## DISCUSSIE

De resultaten van dit grote reizigerscohort geven aan dat het risico op ESBL-E-acquisitie tijdens reizen naar met name Azië en Noord-Afrika hoog is. 11,3% van de reizigers die een ESBL-E hadden verworven waren twaalf maanden na terugkomst nog steeds gekoloniseerd. De geschatte kans op transmissie van ESBL-E binnen huishoudens was 12%. Naast reisbestemming bleken antibioticagebruik, reizigersdiarree (vooral wanneer deze aanhield bij terugkomst), en pre-existente chronische darmziekten belangrijke risicofactoren voor de acquisitie van ESBL-E gedurende de reis. De frequentie van ESBL-import door reizigers 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 verwierven een ESBL-E tijdens de reis. Bovendien was de ESBL-E-acquisitie aanzienlijk in sommige landen binnen Centraal,- en Oost-Afrika, met name Oeganda (44,4%). Tot nu toe waren data over acquisitie onder reizigers naar landen in Centraal,- en Oost-Afrika zeer beperkt. Ook hebben we eerder acquisitie van carbapenemases en plasmide-gemedieerde

**TABEL 3.** Risicofactoren voor ESBL-E-acquisitie onder reizigers in het finale aangepaste logistische regressiemodel

	Reizigers met risico op ESBL-E-acquisitie (n=1.847)*	Reizigers met ESBL-E-acquisitie (n=633)†	Odds ratio (95% BI)‡	p-waarde	Adjusted odds ratio (95% BI)§	p-waarde
<b>Pre-existente chronische darmziekte</b>						
Nee	1.793 (97,3%)	606 (33,8%)	1,00		1,00	
Ja	50 (2,7%)	24 (48,0%)	2,34 (1,26-4,34)	0,007	2,10 (1,13-3,90)	0,019
<b>Strand vakantie</b>						
Nee	1.404 (76,1%)	504 (35,9%)	1,00		1,00	
Ja	441 (23,9%)	127 (28,8%)	0,72 (0,55-0,93)	0,010	0,73 (0,56-0,95)	0,021
<b>Reizigersdiarree¶</b>						
Geen	1.085 (60,1%)	329 (30,3%)	1,00		1,00	0,001
Tijdens reis	593 (32,8%)	235 (39,6%)	1,56 (1,24-1,96)	<0,001	1,42 (1,12-1,80)	0,003
Direct na de reis	41 (2,3%)	14 (34,1%)	1,19 (0,58-2,44)	0,640	1,3 (0,63-2,68)	0,477
Tijdens en direct na de reis	87 (4,8%)	44 (50,6%)	2,42 (1,50-3,91)	<0,001	2,31 (1,42-3,76)	0,001
<b>Antibiotica tijdens de reis¶</b>						
Nee	1.697 (92,8%)	553 (32,6%)	1,00		1,00	
Ja	132 (7,2%)	73 (55,3%)	2,65 (1,80-3,91)	<0,001	2,69 (1,79-4,05)	<0,001
<b>Bijwonen van grote (religieuze) bijeenkomst</b>						
Nee	1.744 (94,6%)	595 (34,1%)	1,00		1,00	
Ja	100 (5,4%)	36 (36,0%)	0,56 (0,34-0,92)	0,020	0,57 (0,34-0,94)	0,028
<b>Dagelijkse handhygiëne voor maaltijden</b>						
Geen	782 (42,4%)	265 (33,9%)	1,00		1,00	0,112
Schoonmaken met alcohol	161 (8,7%)	69 (42,9%)	1,03 (0,71-1,51)	0,870	0,97 (0,66-1,44)	0,885
Schoonmaken met zeep	666 (36,1%)	200 (30,0%)	0,82 (0,64-1,04)	0,100	0,77 (0,60-0,99)	0,044
Schoonmaken met alcohol en zeep	235 (12,7%)	97 (41,3%)	1,03 (0,74-1,44)	0,860	1,12 (0,79-1,59)	0,518
<b>Maaltijd bij straat kraampjes tijdens de reis</b>						
Nooit	1.248 (67,7%)	386 (30,9%)	1,00		1,00	0,014
Regelmatig	513 (27,8%)	205 (40,0%)	1,37 (1,08-1,73)	0,010	1,33 (1,04-1,71)	0,022
Dagelijks	83 (4,5%)	40 (48,2%)	2,09 (1,30-3,38)	0,003	1,78 (1,07-2,95)	0,025

ESBL-E= 'extended'-spectrum bètalactamase-producerende Enterobacteriaceae

\*Aantallen tellen niet op tot 1847 vanwege missende data. Percentages zijn gerapporteerd na verwijderen van missende data, waarvan werd aangenomen dat deze zich at random voordeden

†Aantallen tellen niet op tot 633 vanwege missende data. De noemers voor percentages zijn de aantallen reizigers met risico op ESBL-E-acquisitie gepresenteerd in de voorgaande kolom.

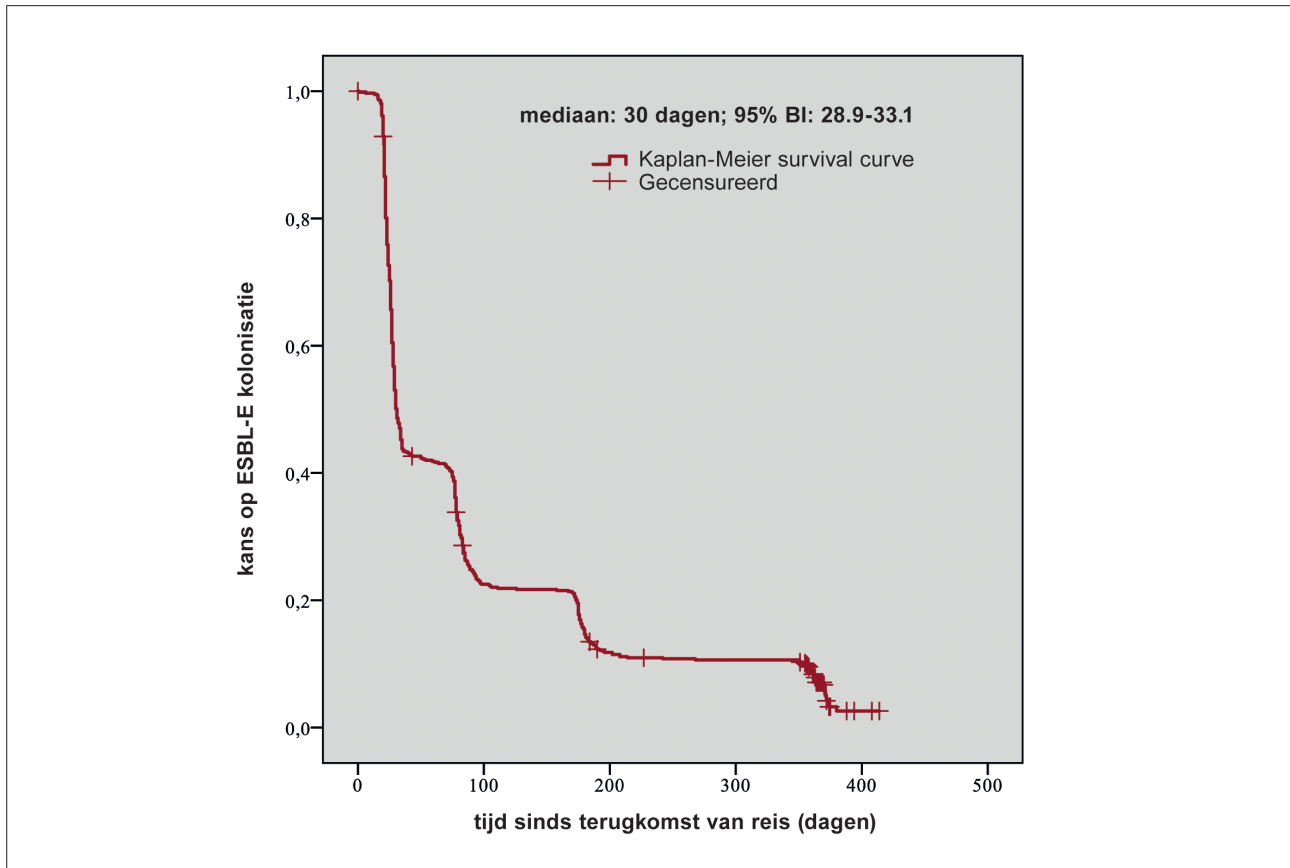
‡Alleen gecorrigeerd voor reisbestemming gedefinieerd als VN subregio's: Caraïben/Midden-Amerika, Midden/Oost Afrika, Centraal/Oost-Azië, Noord-Amerika/Europa/Oceanië, Zuid-Azië, Zuid-Oost Azië, West Azië, Noord-Afrika, Zuid-Afrika, West-Afrika, Zuid-Amerika

§Aangepast voor reisbestemming en reis-gerelateerde variabelen die in tabel zijn gepresenteerd

¶Gedefinieerd als ≥ 3 maal waterdunne of brijige ontlasting binnen 24 uur, met of zonder begeleidende symptomen

¶Meest frequent gebruik voor behandeling van gastroenteritis (41 [31,1%] van 132 reizigers), van wie 17 (41,5%) antibiotica gebruikte zonder het consulteren van een arts





**FIGUUR 2.** Kaplan-Meier-curve van tijd tot dekolonisatie van ESBL-E in reizigers. ESBL-E='extended'-spectrum bètalactamase-producerende Enterobacteriaceae.

mcr-1 colistineresistentie genen aangetoond bij respectievelijk vijf en zes reizigers binnen deze studiepopulatie.<sup>18,19</sup> Slechts drie van de zeven studies die eerder een multivariabele risicofactoranalyse hebben uitgevoerd, identificeerden antibioticagebruik en reizigersdiarree als significante risicofactoren voor ESBL-E-acquisitie onder reizigers.<sup>6-8,11</sup> Dit kan waarschijnlijk worden verklaard door de beperkte power van deze eerdere studies om uitgebreide risicofactoranalyses uit te voeren. Een zelfgerapporteerde pre-existente chronische darmziekte (voornamelijk inflammatoire darmziekten, prikkelbare darmsyndroom en coeliakie) was een risicofactor voor ESBL-E-acquisitie in onze studie die nog niet eerder beschreven was. Van antibioticagebruik, reizigersdiarree en chronische darmziekten is bekend dat deze geassocieerd zijn met een verstoring van de darmmicrobiota.<sup>20-22</sup> Waarschijnlijk is de verminderde kolonisatieresistentie als gevolg van microbiële dysbiose het onderliggende biologische mechanisme waardoor de reizigers ontvankelijk waren voor ESBL-E-acquisitie. Antimicrobiële middelen beïnvloeden de darmmicrobiota, wat zich voornamelijk uit als een vermindering in kolonisatieresistentie waardoor pathogene of resistente bacteriën de mogelijkheid hebben om uit te groeien. In deze

studie vonden we dat naast reisbestemming, antibioticagebruik, met name gebruik van quinolonen zoals ciprofloxacine, tijdens de reis de sterkste risicofactor was voor ESBL-E-acquisitie. Een grote verstoring in de menselijke microbiota is gerapporteerd na ciprofloxacinebehandeling.<sup>20,24</sup> Hoewel het effect van amoxicilline op de darmmicrobiota-samenstelling beperkt is, wordt ook voor amoxicilline een toename in de relatieve hoeveelheid van resistente *Enterobacteriaceae* beschreven.<sup>20,23</sup> Antibiotica werden door de reizigers binnen onze studie het meest gebruikt voor de behandeling van gastro-enteritis, hetgeen consistent is met eerdere studies.<sup>25</sup> Import van ESBL-E door reizigers zou kunnen worden verminderd door reizigers vóór de reis te adviseren terughoudend te zijn met antibiotica wanneer het gaat om zelflimiterende infecties. Kantele en collega's lieten bijvoorbeeld zien dat gebruik van uitsluitend loperamide voor de behandeling van milde reizigersdiarree niet geassocieerd was met een verhoogd risico op ESBL-E-kolonisatie.<sup>26</sup>

De hogere ESBL-E-acquisitiepercentages onder reizigers naar Azië is waarschijnlijk het gevolg van de wijde verspreiding van ESBL-E in deze regio en daarmee een hoog risico op contaminatie van voedsel. Dieetgeassocieerde risicofactoren

kunnen om deze reden per reisbestemming verschillen, en kunnen daarom mogelijk gemist zijn in eerdere studies die hun analyses niet stratificeerden op reisbestemming. In de algemene analyse was het eten van voedsel van straatverkopers geassocieerd met een verhoogd risico op ESBL-E-acquisitie, maar in de gestratificeerde analyse waren in Zuid-Azië het nuttigen van een maaltijd in een hostel of guesthouse en in Zuid-Oost Azië het eten van rauwe groenten risicofactoren.

Hoewel de frequentie van ESBL-E-acquisitie tamelijk consistent rond de 30% is in de bestaande studies, varieert de duur van dragerschap van 5-24% tot zes maanden na terugkomst van de reis. In onze studie vonden we dat 65 (11,3%) van de 577 reizigers die een ESBL-E hadden verworven tijdens de reis twaalf maanden na terugkomst nog steeds gekoloniseerd (persisterend en intermitterend) waren. Hoewel onze studie zich heeft gericht op asymptomatisch dragerschap van ESBL-E, is aangetoond dat internationaal reizen geassocieerd is met ESBL-E-infectie onder patiënten in de open populatie en in het ziekenhuis.<sup>27,28</sup> Afhankelijk van het lokale beleid, zou daarom aanpassing van de empirische antimicrobiële therapie moeten worden overwogen in patiënten die recent terug gekomen zijn van een internationale reis.

Onze bevindingen geven aan dat stammen of plasmiden die CTX-M groep 9 ESBL -genen bij zich dragen een kolonisatievoordeel hebben dat resulteert in een langere kolonisatieduur. Dit komt overeen met andere studies die laten zien dat deze genen geassocieerd zijn met een langere duur van dragerschap in terugkerende reizigers uit Azië, in patiënten in de open populatie en in het ziekenhuis.<sup>29,30</sup> Bovendien was in de huidige studie de kolonisatieduur langer in reizigers die ESBL-producerende *E. coli* hadden verworven ten opzichte van reizigers met ESBL producerende *K. pneumoniae*. Dit kan mogelijk verklaard worden door aanvullende kolonisatiefactoren, zoals P-fimbriae of aerobactine, of verschillen in bacteriële conditie en plasmidestabiliteit tussen *E. coli* en *K. pneumoniae*.<sup>31,32</sup>

Het mathematische model, dat rekening hield met factoren als totaal aantal leden in een huishouden, schatte een transmissiekans van 12% van ESBL-E na introductie in huishoudens van reizigers. In huishoudens van recent ontslagen patiënten, rapporteerden Hilty en collega's transmissie van ESBL-E naar 20 (22,7%) van de 88 huisgenoten.<sup>33</sup> Dit hogere risico kan mogelijk verklaard worden door meer frequente en langere expositietijden tussen zorgverlenende leden in een huishouden en ontslagen patiënten. Het toepassen van handhygiëne kan mogelijk het risico op ESBL-E-transmissie binnen het huishouden verminderen.<sup>34</sup>

Onze studie heeft enkele beperkingen. Ten eerste zal onze

studiepopulatie waarschijnlijk welgestelder en gezonder zijn dan het gemiddelde voor de algemene bevolking, zoals in de meeste epidemiologische studies. Dit zou kunnen hebben geleid tot selectieve inclusie waardoor de frequentie van ESBL-E-acquisitie en statistische power en generaliseerbaarheid van de resultaten zijn beïnvloed. Wanneer bias zich voor zou doen, zou de selectie echter een effect moeten hebben op de expositie en uitkomst, wat onwaarschijnlijk is in prospectieve cohortstudies. Ook is het onwaarschijnlijk dat (selectieve) uitval onze conclusies heeft beïnvloed, aangezien er slechts minimale uitval tijdens de follow-up was, en de follow-up in 92,2% van de reizigers twaalf maanden na terugkomst werd afgerond. Ten tweede, zou in theorie fecale kruiscontaminatie tijdens het verzamelen van ontlastingsmonsters de schattingen voor kolonisatie en transmissie kunnen hebben beïnvloed. Door het aanbieden van duidelijke instructies voor het verzamelen van ontlastingsmonsters, inclusief plaatjes, is getracht dit risico te verminderen. Tot slot bleek uit de resultaten dat er sprake was van een zeer lage achtergrondtransmissie. Doordat we alleen het genotype hebben bepaald van het ESBL-gen, en we geen moleculaire typering hebben gedaan van de ESBL-producerende stammen of mobiele genetische elementen kan er enige overschatting zijn van de kolonisatieduur en transmissie binnen het huishouden. Wanneer een deelnemer op verschillende meetmomenten hetzelfde ESBL-type gen bij zich draagt, kan niet worden uitgesloten dat de deelnemer het index ESBL-gen heeft verloren en een nieuw ESBL-gen heeft verkregen van buiten het huishouden met hetzelfde genotype als het index ESBL-gen.

Per jaar bezoeken 320 miljoen mensen Azië, Noord-Afrika, en het Midden-Oosten en om deze reden kan worden verwacht dat internationaal reizen een aanzienlijke bijdrage levert aan de toename en verspreiding van ESBL-E in de landen van herkomst van deze reizigers. Wanneer we rekening houden met het totaal aantal Nederlandse reizigers dat deze regio's per jaar bezoekt, schatten we dat elk jaar tussen de 3,0% en 7,1% van de Nederlandse bevolking een ESBL-E verwerft tijdens reizen naar bestemmingen buiten Europa, Noord-Amerika, en Oceanië. Samenvattend, met een acquisitiepercentage van 34,3% en langere kolonisatieduur na acquisitie in 11,3% van de reizigers twaalf maanden na terugkomst, plus een transmissiekans van 12% binnen het huishouden, steunen onze bevindingen de stelling dat internationaal reizen substantieel bijdraagt aan de toename en verspreiding van ESBL-E en antimicrobiële resistentie wereldwijd. De mate van ernst van de gevolgen die hieruit voortvloeien zal echter per regio verschillen, en sterk afhankelijk zijn van de lokale prevalentie van antimicrobiële resistentie in het land van herkomst van de reiziger.

## REFERENTIES

- Appelbaum PC. 2012 and beyond: potential for the start of a second pre-antibiotic era? *J Antimicrob Chemother* 2012;67(9):2062-8.
- El Salabi A, Walsh TR, Chouchani C. Extended spectrum beta-lactamases, carbapenemases and mobile genetic elements responsible for antibiotics resistance in Gram-negative bacteria. *Crit Rev Microbiol* 2013;39(2):113-22.
- (UNWTO) WTO. UNWTO tourism highlights, 2014 edition. Madrid: UNTWO; 2014. Available from: <http://www.unwto.org/doi/pdf/1018111/9789284416226>.
- Carattoli A. Plasmids and the spread of resistance. *Int J Med Microbiol* 2013;303(6-7):298-304.
- Schultsz C, Geerlings S. Plasmid-mediated resistance in Enterobacteriaceae: changing landscape and implications for therapy. *Drugs* 2012;72(1):1-16.
- Hassing RJ, Alsmas J, Arcilla MS, et al. International travel and acquisition of multidrug-resistant Enterobacteriaceae: a systematic review. *Euro Surveill* 2015;20(47).
- Ruppe E, Armand-Lefevre L, Estellat C, et al. High Rate of Acquisition but Short Duration of Carriage of Multidrug-Resistant Enterobacteriaceae After Travel to the Tropics. *Clin Infect Dis* 2015;61(4): 593-600.
- Kantele A, Laaveri T, Mero S, et al. Antimicrobials increase travelers' risk of colonization by extended-spectrum betalactamase-producing Enterobacteriaceae. *Clin Infect Dis* 2015;60(6):837-46.
- Paltansing S, Vlot JA, Kraakman ME, et al. Extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae among travelers from the Netherlands. *Emerg Infect Dis* 2013;19(8):1206-13.
- Ostholm-Balkhed A, Tarnberg M, Nilsson M, et al. Travel-associated faecal colonization with ESBL-producing Enterobacteriaceae: incidence and risk factors. *J Antimicrob Chemother* 2013;68(9):2144-53.
- Reuland EA, Sonder GJ, Stolte I, et al. Travel to Asia and traveller's diarrhoea with antibiotic treatment are independent risk factors for acquiring ciprofloxacin-resistant and extended spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae—a prospective cohort study. *Clin Microbiol Infect* 2016;22(8):731.e1-7.
- Arcilla MS, Van Hattem JM, Bootsma MC, et al. The Carriage Of Multi-resistant Bacteria After Travel (COMBAT) prospective cohort study: methodology and design. *BMC Public Health* 2014;14:410.
- Bernards AT, Bonten MJM, Cohen Stuart J, et al. NVMM Guideline Laboratory detection of highly resistant microorganisms (HRMO). <http://www.nvmm.nl/richtlijnen/hrmo-laboratory-detection-highly-resistant-microorganisms> 2012.
- Anjum MF, Choudhary S, Morrison V, et al. Identifying antimicrobial resistance genes of human clinical relevance within Salmonella isolated from food animals in Great Britain. *J Antimicrob Chemother* 2011;66(3):550-9.
- Card R, Zhang J, Das P, et al. Evaluation of an expanded microarray for detecting antibiotic resistance genes in a broad range of gram-negative bacterial pathogens. *Antimicrob Agents Chemother* 2013;57(1):458-65.
- Batchelor M, Hopkins KL, Liebana E, et al. Development of a miniaturised microarray-based assay for the rapid identification of antimicrobial resistance genes in Gram-negative bacteria. *Int J Antimicrob Agents* 2008;31(5):440-51.
- Bursac Z, Gauss CH, Williams DK, et al. Purposeful selection of variables in logistic regression. *Source Code Biol Med* 2008;3:17.
- Arcilla MS, Van Hattem JM, Matamoros S, et al. Dissemination of the mcr-1 colistin resistance gene. *Lancet Infect Dis* 2016;16(2):147-9.
- Van Hattem JM, Arcilla MS, Bootsma MC, et al. Prolonged carriage and potential onward transmission of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Dutch travelers. *Future Microbiol* 2016;11:857-64.
- Sullivan A, Edlund C, Nord CE. Effect of antimicrobial agents on the ecological balance of human microflora. *Lancet Infect Dis* 2001;1(2):101-14.
- Youmans BP, Ajami NJ, Jiang ZD, et al. Characterization of the human gut microbiome during travelers' diarrhea. *Gut Microbes* 2015;6(2):110-9.
- Sheehan D, Moran C, Shanahan F. The microbiota in inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol* 2015;50(5):495-507.
- Jernberg C, Lofmark S, Edlund C, et al. Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota. *Microbiology* 2010;156(Pt 11):3216-23.
- Dethlefsen L, Huse S, Sogin ML, et al. The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing. *PLoS Biol* 2008;6(11):e280.
- Kantele A. A call to restrict prescribing antibiotics for travellers' diarrhea—Travel medicine practitioners can play an active role in preventing the spread of antimicrobial resistance. *Travel Med Infect Dis* 2015;13(3):213-4.
- Kantele A, Mero S, Kirveskari J, et al. Increased Risk for ESBL-Producing Bacteria from Co-administration of Loperamide and Antimicrobial Drugs for Travelers' Diarrhea(1). *Emerg Infect Dis* 2016;22(1):117-20.
- Laupland KB, Church DL, Vidakovich J, et al. Community-onset extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli*: importance of international travel. *J Infect* 2008;57(6):441-8.
- Epelboin L, Robert J, Tsyryna-Kouyoumdjian E, et al. High Rate of Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacilli Carriage and Infection in Hospitalized Returning Travelers: A Cross-Sectional Cohort Study. *J Travel Med* 2015;22(5):292-9.
- Titelman E, Hasan CM, Iversen A, et al. Faecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae is common 12 months after infection and is related to strain factors. *Clin Microbiol Infect* 2014;20(8):O508-15.
- Barreto Miranda IDM, Ignatius RPD, Pfuller RDM, et al. High carriage rate of ESBL-producing Enterobacteriaceae at presentation and follow-up among travellers with gastrointestinal complaints returning from India and Southeast Asia. *J Travel Med* 2016;23(2):tav024.
- Cottell JL, Webber MA, Piddock LJ. Persistence of transferable extended-spectrum-beta-lactamase resistance in the absence of antibiotic pressure. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56(9):4703-6.
- Nowrouzian FL, Adlerberth I, Wold AE. Enhanced persistence in the colonic microbiota of *Escherichia coli* strains belonging to phylogenetic group B2: role of virulence factors and adherence to colonic cells. *Microbes Infect* 2006;8(3):834-40.
- Hilty M, Betsch BY, Bogli-Stuber K, et al. Transmission dynamics of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in the tertiary care hospital and the household setting. *Clin Infect Dis* 2012;55(7):967-75.
- Bloomfield SF, Cookson B, Falkner F, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Clostridium difficile*, and extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in the community: assessing the problem and controlling the spread. *Am J Infect Control* 2007;35(2):86-8.

ONTVANGEN 1 AUGUSTUS 2017, GEACCEPTEERD 11 SEPTEMBER 2017.