

Nieuwe risicofactoren met betrekking tot transmissie en het ontwikkelen van *Pneumocystis* pneumonie en invasieve aspergillose na transplantatie

M.G.J. de Boer

Samenvatting

Op 15 maart 2011 promoveerde dr. M.G.J. de Boer aan de Universiteit van Leiden op het proefschrift 'Risk Factors and New Markers of Pulmonary Fungal Infection. *Pneumocystis* Pneumonia and Invasive Aspergillosis following Transplantation: indicators of Transmission, Risk and Disease'. Het onderzoek is verricht op de afdeling Infectieziekten van het Leids Universitair Medisch Centrum onder begeleiding van de promotor prof. dr. J.T. van Dissel en co-promoter dr. F.P. Kroon. Hieronder zijn de belangrijkste bevindingen beschreven.

(Tijdschr Infect 2011;6:228-32)

Inleiding^(H1)

In de laatste decennia neemt het aantal patiënten met een ernstig gecompromitteerd immuunsysteem tengevolge van orgaan- en stamceltransplantatie als behandeling voor eerder niet-geneesbare aandoeningen fors toe. Ten gevolge van deze ontwikkelingen in de geneeskunde trad ook een belangrijke stijging op in de incidentie van invasieve schimmelinfecties van de longen. In West-Europa zijn *Pneumocystis* pneumonia (PCP) en invasieve aspergillose (veroorzaakt door *Aspergillus* spp.) de 2 meest voorkomende schimmelinfecties optredend na solide orgaan- en stamceltransplantatie. In geval van beide ziekteverwekkers, maar in het bijzonder over de niet-kweekbare *Pneumocystis jirovecii*, bestaat een hoge mate van onbekendheid met betrekking tot de transmissie patronen en de dynamiek van de expositie. Een gedetailleerde beoordeling van de klinische

risicofactoren is voor PCP, evenals voor invasieve aspergillose, van groot belang om strategische keuzes te kunnen maken ten aanzien van de preventie van deze ziektebeelden, die een hoge morbiditeit en mortaliteit kennen.

Transmissie van *Pneumocystis jirovecii* en analyse van factoren die ten grondslag liggen aan het ontstaan van epidemieën onder niertransplantatiepatiënten^(H2/H3)

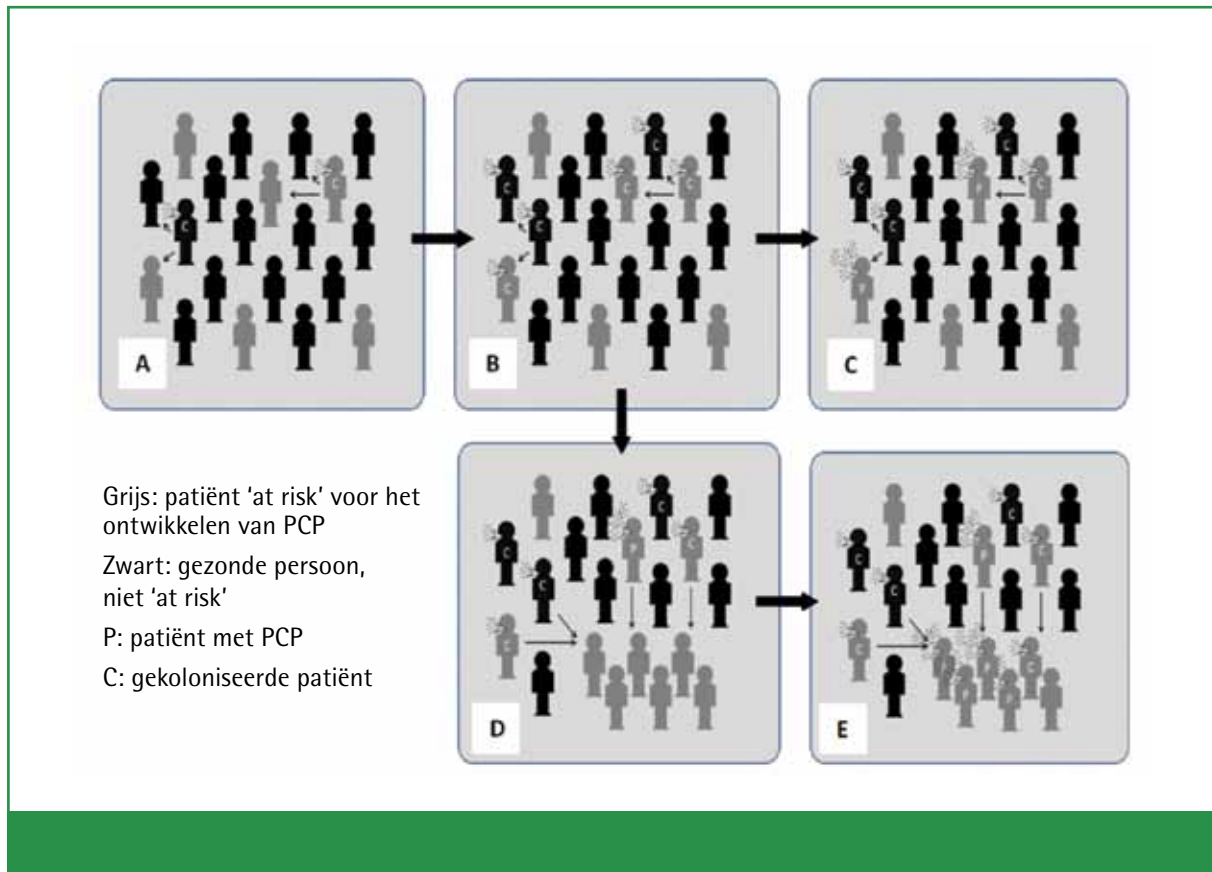
In het Leids Universitair Medisch Centrum is in de periode van 2005-2006 een onderzoek verricht naar een uitbraak van PCP binnen het ziekenhuis zelf. Er werden 22 bevestigde PCP-casus geïdentificeerd, terwijl op grond van de incidentie er slechts 0-1 werden verwacht. De transmissiekaart, waarin alle contacten van de PCP-patiënten onderling waren weergegeven,

Auteur: dhr. dr. M.G.J. de Boer, internist-infectioloog, afdeling Infectieziekten, Leids Universitair Medisch Centrum (LUMC), Postbus 9600, 2300 RC Leiden, tel.: 071 526 2613, e-mailadres: m.g.j.de_boer@lumc.nl.

Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: geen gemeld.

Trefwoorden: Pneumocystis-pneumonie, aspergillose, transplantatie.

Ontvangen 11 oktober 2011, geaccepteerd 28 oktober 2011.



Figuur 1. Model voor transmissie van *P. jirovecii* en het ontstaan van PCP-epidemieën in een populatie met individuen 'at risk' voor het ontwikkelen van PCP. Paneel A-B: Dragerschap (= kolonisatie) van *P. jirovecii* circuleert zowel bij immuungecompromitteerde als gezonde personen. Overdracht van de cystevorm van *P. jirovecii* vindt plaats via de lucht. Paneel C: Bij immuungecompromitteerde personen kan verworven dragerschap zich ontwikkelen tot symptomatische ziekte (PCP). Dit hangt waarschijnlijk onder meer af van de specifieke toestand van hun celgemedieerde immuniteit op een bepaald moment in de tijd, en virulentie factoren van *P. jirovecii*. Panelen D-E: Een set van specifieke aanvullende factoren (bijvoorbeeld 'crowding'), kan leiden tot een verhoogde blootstelling en dit - eventueel gecombineerd met een tijdelijk verhoogde gevoeligheid - kan aanleiding geven voor een PCP-epidemie in een populatie met immuungecompromitteerde individuen.

suggesteerde overdracht van patiënt tot patiënt als de meest waarschijnlijke verklaring. Een aanvullende case-controlestudie sloot onder meer de kamers op de verpleegafdeling of een specifieke arts of verpleegkundige uit als gemeenschappelijke bron. Genotypering door sequentie bepaling van de ITS1 en ITS2-genregio's van *P. jirovecii* toonde type Ne in 12 van de 16 met succes getypeerde 'samples'. Genotype Ne werd gevonden in slechts 2 van een set van 12 referentiemonsters. Dit biedt echter nog steeds de mogelijkheid dat een enkele *Pneumocystis*-stam patiënten besmet, vanuit de, als externe bron fungerende niche. Veruit het meeste contact tussen niertransplantatiepatiënten onderling vond plaats in de wachtkamer van de poli-

kliniek. Een opvallend gegeven was echter dat onder levertransplantatiepatiënten, die de dezelfde wachtkamer gebruikten, zich geen gevallen van PCP voordeden. Ook deze groep patiënten gebruikte voor het overgrote deel geen PCP-profylaxe. De spreekuren voor deze groep patiënten vonden echter op andere tijdstippen plaats en waren dus niet simultaan. Deze observatie pleit sterk voor overdracht van individu naar individu en tegen een lokale bron.

Uit een systematisch literatuuronderzoek (hoofdstuk 3 van dit proefschrift) ten aanzien van de kenmerken van PCP-epidemieën onder niertransplantatiepatiënten blijkt dat de uitbraken meestal worden veroorzaakt door een dominante of zelfs

een enkele *Pneumocystis*-stam. De gepoolde epidemiologische gegevens en genotyperingresultaten wijzen er op dat de transmissie van *Pneumocystis* plaatsvindt door middel van overdracht van patiënt tot patiënt (zie *Figuur 1* op pagina 229). Deze hypothese wordt tevens sterk gedragen door het fenomeen van dragerschap in de luchtwegen van zowel gezonde als immuungecompromitteerde gastheren en de gebondenheid van elke *Pneumocystis*-soort aan een specifiek zoogdier als gastheer.

Profylaxe ter voorkoming van *Pneumocystis pneumonia* bij niertransplantatie^(H4)

Verschuillende richtlijnen bevelen het voorschrijven van PCP-profylaxe aan voor ten minste 3-6 maanden na de transplantatie. Dit is niet gebaseerd op prospectieve studies en tussen de verschuillende richtlijnen bestaat veel onderlinge variatie. Het alternatief van een selectief, meer geïndividualiseerde benadering van het voorschrijven van PCP-profylaxe was nog niet onderzocht. Door middel van een case-controlestudie onderzochten we welke factoren het sterkst waren geassocieerd met het ontstaan van PCP op een later tijdstip. De onderzochte patiëntengroep betrof voornamelijk PCP-casus welke niet geclusterd waren. Op het moment van transplantatie waren dit de leeftijd van de patiënt (adjusted OR 2,7 95%CI 1,3-5,9, bij een leeftijd ouder dan 55 jaar) mede als het niet ontvangen van basiliximab ter preventie van resectie (adjusted OR 0,2 95%CI 0,1-0,9). Over de gehele follow-up duur waren behandeling voor resectie (adjusted OR 5,8 95%CI 1,9-17,5, geen versus 1 of meerdere behandelingen) en het optreden van CMV-reactivatie (adjusted OR 3,0 95%CI 1,2-7,9) het meest sterk geassocieerd met het optreden van PCP.

De bovengenoemde variabelen werden vervolgens opgenomen in een rekenkundig model waarmee de effecten van verschuillende - hypothetische - risicofactor- en tijdsafhankelijke profylaxestrategieën konden worden geschat. De implementatie van de resultaten kent wel een aantal beperkingen. PCP blijft een relatief zeldzame diagnose en prospectieve validatie van een door het model aangegeven profylactische strategie kan jaren duren. Daarnaast kunnen de diverse belangrijke kenmerken in de tijd veranderen (bijvoorbeeld de gemiddelde leeftijd

van de getransplanteerde patiënten, het standaard immunosuppressieve regime en nieuwe behandelingen om transplantaatrejectie tegen te gaan).

Serum markers voor de diagnose *Pneumocystis pneumonia*^(H5)

De uitgevoerde studie was gericht op de evaluatie van S-adenosylmethionine (AdoMet) en 1,3- β -D-glucan (β -D-glucan). Als serummarkers voor de diagnose *Pneumocystis pneumonia* bij hiv-negatieve patiënten. AdoMet is een lichaamseigen stof die door de cellen van het lichaam wordt gebruikt bij diverse metabole processen. Onderzoek bij ratten laat zien dat tijdens een infectie met *Pneumocystis* de concentratie van deze stof in het serum fors daalt. De hypothese is dat *P. jirovecii* niet in staat is tot het zelf aanmaken van AdoMet en afhankelijk is van opname uit de omgeving. In tegenstelling tot AdoMet is het β -D-glucan niet een lichaamseigen stof, maar een belangrijk onderdeel van de celwand van *P. jirovecii*. Bij het uit elkaar vallen van het micro-organisme komt het β -D-glucan vrij in de bloedcirculatie. Uit onze studie bleek dat het serum AdoMet-waarden niet goed discrimineerden tussen het hebben van wel of geen *Pneumocystis pneumonia* op het moment van presentatie in het ziekenhuis. Daarentegen was het onderscheidende vermogen van de β -D-glucan serummarker wel goed, met een gevoeligheid van 0,90 en specificiteit van 0,89 op de 60 pg/ml 'cut-off'. Verder was de β -D-glucanspiegel significant op omgekeerde wijze gecorreleerd met de drempelwaarden ('ct-values') van de *Pneumocystis*-PCR op de broncho-alveolaire lavage (BAL-) vloeistof. Nadeel van de β -D-glucantest blijft dat deze ook in het geval van sommige andere schimmelinfecties een positieve uitslag geeft. Dit maakt dat deze test alleen als diagnosticum voor *Pneumocystis pneumonia* gebruikt kan worden als hierop een hoge klinische verdenking bestaat op basis van zowel het onderliggende lijden en de radiologische beeldvorming (CT-scan).

De invloed van genetische polymorfismen in genen van het aangeboren immuunsysteem op het ontwikkelen van invasieve aspergillose na stamceltransplantatie^(H6/H7)

In het eerste deel van de 2 hoofdstukken betreffende

dit onderwerp werd er onderzocht of een incomplete of defecte Dectin-1-receptorfunctie, ten gevolge van de stopcodon mutatie Y238X, het risico op het ontwikkelen van invasieve aspergillusinfectie verhoogt. Het klinische belang van de aanwezigheid van deze mutatie werd onderzocht in een groep van 71 patiënten die een allogene stamceltransplantatie hadden ondergaan, en in een aparte groep van 21 patiënten die een invasieve aspergillusinfectie ontwikkelden na chemotherapie zonder stamceltransplantatie. Bij patiënten uit de voorlaatste groep was trend aanwezig tot een hoger risico voor het ontwikkelen van een invasieve aspergillusinfectie. Het genotype van de stamceldonor was niet van invloed. Een opvallende bevinding was dat Y238X-allelfrequentie hoger was bij niet-getransplanteerde hematologiepatiënten met een invasieve aspergillusinfectie (19,0%) ten opzichte van het wél getransplanteerde patiëntencohort en een steekproef uit de Nederlandse bevolking (bereik 6,9%-7,7%, p-waarde <0.05). Uit in-vitro stimulatieproeven bleek, dat uit het bloed gewonnen cellen met een volledig defect in dectine-1-functie minder efficiënt reageerden tegen *Aspergillus*. Gekweekte macrofagen met dezelfde deficiëntie, bleken ondanks de gebrekkige dectine-1-functie wel een adequate reactie te kunnen genereren tegen *Aspergillus*. Dit laat zien dat het aangeboren afweersysteem vermoedelijk beschikt over alternatieve oplossingen in geval van een defect in deze afzonderlijke component.

Het tweede hoofdstuk beschrijft het onderzoek naar de invloed van de gemeenschappelijke aanwezigheid van mutaties in Toll-like receptor- en cytokinegenen op het risico voor het ontwikkelen van een invasieve aspergillusinfectie. De aanwezigheid van de 1063 A>G-mutatie in Toll-like receptor-4 bleek alleen geassocieerd met het ontstaan van een invasieve aspergillusinfectie indien deze mutatie aanwezig was bij de donor van de getransplanteerde patiënt. In een multivariate analyse was de gecombineerde aanwezigheid (in de donor) van de Toll-like receptor-4 1063 A>G-mutatie en de interferon α 874 T>A-mutatie of de gecombineerde aanwezigheid van de Toll-like receptor-6 745 C>T met de interferon α -874 T>A

mutatie, geassocieerd met het optreden van invasieve aspergillusinfectie. Opmerkelijk genoeg waren 'single nucleotide polymorphisms' (SNPs) die betrokken waren bij de productie van IL-10, een van de belangrijkste negatieve modulators van de IL-12 en interferon gamma (IFN- γ) macrofaagactiverende route, niet geassocieerd met IA.

Conclusies

Het onderzoek beschreven in dit proefschrift onderbouwt de hypothese dat - in ieder geval tijdens epidemieën - de overdracht van *Pneumocystis jirovecii* plaatsvindt van patiënt tot patiënt. De bevindingen benadrukken verder het belang van het toepassen van een profylaxestrategie ter voorkoming van een *Pneumocystis* pneumonia bij niertransplantatiepatiënten. Ten aanzien van de duur van de profylaxe zijn er meerdere benaderingen mogelijk. Om de incidentie van *Pneumocystis* pneumonia onder niertransplantatiepatiënten laag te houden (beneden de 1 per 100 niertransplantaties) kan bijvoorbeeld gekozen worden voor een duur tot 12 maanden na transplantatie voor iedere patiënt, of voor een risicoprofiel geleid algoritme.

Het onderzoek naar het gebruik van serummarkers voor de diagnose *Pneumocystis* pneumonia bij niet hiv-geïnfecteerden laat zien dat β -D-glucan het meest geschikt is voor dit doel. Een juiste beoordeling van de a priori kans op basis van de klinische en radiologische gegevens is van groot belang om de uitslag juist te kunnen interpreteren.

Uit de studies naar de genetische predispositie voor het ontwikkelen van een invasieve aspergillusinfectie na stamceltransplantatie blijkt dat, tot heden, geen enkele mutatie in het aangeboren immuunsysteem van essentieel klinisch belang is. Aanwezigheid van de Dectin-1-Y238X-mutatie heeft bijvoorbeeld maar een heel beperkte invloed op de kans op het ontstaan van een invasieve aspergillusinfectie. Combinaties van verscheidene mutaties lijken wel relevant. Meer uitgebreide, prospectieve onderzoeken met grote patiëntenaantallen zijn echter nodig om deze bevindingen te bevestigen.