

Parasitaire infecties bij immuungecompromitteerden

J.F. SLUITERS

Een opportunist is een parasiet die zich bij een verminderde werking van het immuunapparaat in korte tijd sterk weet te vermeerderen. Dit kan eigenlijk alleen wanneer het nageslacht van de parasieten in de gastheer aanwezig blijft en dit zich eveneens gaat vermenigvuldigen. Een dergelijke snelle accumulatie is te verwachten bij protozoa als *Toxoplasma gondii*, Leishmania soorten, *Entamoeba histolytica*, microsporidia (voor Nederland vooral uit de genera Enterocytozoon en Encephalitozoon), *Cryptosporidium parvum*, *Isospora belli* en de vrijwel alleen bij immuunglobuline deficiënties opportunistisch wordende *Giardia lamblia*. Van de wormen is *Strongyloides stercoralis* één van de rondwormen die aan de criteria van opportunist voldoet. De diagnostiek van toxoplasmose bij harttransplantaties wordt beschreven en daarbij worden de mogelijkheden van het gebruik van de Western blot toegelicht. De diagnostiek van toxoplasma encefalitis bij HIV-geïnfecteerden en AIDS-patiënten is eveneens door de Western blot verbeterd.

Trefwoorden: opportunistische parasitaire infecties; Toxoplasma gondii; hart transplantatie; toxoplasma encefalitis; Western blot

Wanneer beschadigingen aan de cornea ontstaan of een contactlensdrager onzorgvuldig omgaat met de lensvloeistof kunnen vrijlevende amoeben, zoals *Acanthamoeba sp.*, cornea infecties tot stand brengen met als gevolg het ontstaan van ulceraties, een keratitis of een uveïtis. In een dergelijk geval wordt de amoeben de toegang tot het weefsel verschaft en kunnen deze zich daar vermenigvuldigen. Een vanuit de amoebe gezien opportunistisch gebeuren. Toch worden deze protozoa niet als een opportunist beschouwd. De opportunisten zijn geassocieerd met een verminderde werking van het immuunsysteem. Weliswaar is hier de afweer van de patiënt aangetast, namelijk de integriteit van de intacte cornea, maar dat is niet het geval met het functioneren van het immuunapparaat. Een opportunist is een parasiet die zich bij een verminderde werking van het immuunapparaat in korte tijd sterk weet te vermeerderen. Dit kan eigenlijk alleen wanneer het nageslacht van de parasieten

in de gastheer aanwezig blijft en dit zich eveneens gaat vermenigvuldigen. Dan kunnen er grote aantallen bereikt worden. Een dergelijke snelle accumulatie van parasieten is te verwachten bij protozoa en een enkele worm, *Strongyloides stercoralis* (zie tabel 1.) De opportunist bij uitstek is *Pneumocystis sp.* Alleen bij immunodepressie geeft deze aanleiding tot ziekte. Deze aandoening wordt elders in dit nummer van het NTKC besproken. De andere parasieten in de tabel zijn ook ziekteverwekkers bij immunocompetente personen.

Tabel 1. Indeling van de opportunistische parasitaire pathogenen naar lokalisatie in het lichaam bij de immuungecompromitteerde gastheer.

Parasiet	Bevindingen bij de immuun gecompromitteerde gastheer
In weefsels <i>Pneumocystis sp.*</i>	kortademigheid; longontsteking ("pneumocystis carinii pneumonie, PCP"); gedissemineerde infectie (zeldzaam)
<i>Toxoplasma gondii</i>	koorts; gedissemineerde infectie; encefalitis
<i>Leishmania sp.</i>	koorts, grote milt, lever, lymfklieren, anemie; viscerale leishmaniasis; co-infectie met HIV(!)
<i>Entamoeba histolytica</i>	koorts, malaise; amoebenabces in de lever
In darm en weefsels microsporidia (gesl. Enterocytozoon, Encephalitozoon, Nosema, Pleistophora, <i>Microsporidium sp.</i>)	diarree; verschillende organen, darm, longen, nieren
<i>Strongyloides stercoralis</i>	diarree, buikpijn, longontsteking, gedissemineerde infectie; sepsis
In darm <i>Cryptosporidium parvum</i>	diarree, buikpijn, anorexie; maag-darmkanaal, galwegen, laat in infectie ook uitbreiding naar longen
<i>Isospora belli</i>	diarree, buikpijn
<i>Giardia lamblia</i>	diarree, malabsorptie; predispositie bij hypogammaglobulinemieën

*: Pneumocystis wordt nu gezien als een Fungus.

Afd. Medische Microbiologie & Infectieziekten, Erasmus Universitair Medisch Centrum Rotterdam

Correspondentie: Dr. J.F. Sluiters, Afd. Medische Microbiologie en Infectieziekten, Dijkzigt L 327, Erasmus Universitair Medisch Centrum Rotterdam, Dr Molewaterplein 40, 3015 GD Rotterdam

Leishmaniasis is een complex van aandoeningen, waarvan de viscerale vorm een levensbedreigende infectie kan betekenen voor immunocompetente personen. In het Middellandse zee gebied zijn het parasieten behorend tot het *Leishmania donovani* complex verantwoordelijk voor de viscerale infecties bij de mens. Ook Nederlanders worden in die vakantiegebieden geïnfecteerd. Aangenomen wordt dat er veel latente infecties bij de mens voorkomen. Wanneer een situatie van immunosuppressie ontstaat kan zich een fulminante infectie ontwikkelen. In het geval er een co-infectie met HIV bestaat kan de aandoening atypisch verlopen. In het bloed zijn opvallend veel parasieten te vinden. Dat is natuurlijk aardig voor diagnostische doeleinden, maar daar zal het de parasieten niet om te doen zijn. Gaat de transmissie in Spanje, Portugal, zuidelijk Frankrijk en Italië normaal via honden en is het een ziekte van kinderen, door de co-infecties met HIV en de verspreiding via intraveneus drug gebruik is dit beeld geheel veranderd en is het een ziekte van volwassenen geworden. In deze situatie gebeurt de overdracht ook van mens tot mens. HIV infecties breiden zich nog steeds verder uit in de gebieden waar leishmaniasis ook al een probleem is. Op het ogenblik maakt men zich grote zorgen of dit geen aanleiding kan zijn tot een explosie van het aantal gevallen van viscerale leishmaniasis onder HIV-geïnfecteerden. In ieder geval is het aanleiding geweest voor de WHO om een bewustwordingscampagne te beginnen (1).

De 5 genera van de microsporidien die in de tabel genoemd staan, zijn voor ons niet allemaal even belangrijk. In Nederland gaat het vooral om infecties van HIV-geïnfecteerden met Enterocytozoon en Encephalitozoon (2). Diarree zal meestal de aanleiding zijn voor onderzoek in deze richting, maar de parasieten van het genus Encephalitozoon kunnen ook een meer systemische infectie tot stand brengen. De sporen zijn in de ontlasting te vinden, die van Encephalitozoon ook in de urine.

Cryptosporidium parvum kan bij HIV-geïnfecteerden en -AIDS patiënten aanleiding zijn tot een levensbedreigende infectie, wanneer het aantal CD4 T-lymfocyten beneden de 100 per kubieke mm daalt. De patiënt heeft een waterige diarree, maar de parasieten zijn ook in gevormde ontlasting aantoonbaar. De chronische infecties worden in stand gehouden door dunwandige oöcysten, die in het darmlumen uitkomen. De sporozoieten die in de enkele sporocyste binnen de oöcyste gevormd zijn, penetreren onmiddellijk een andere epitheelcel. De intracellulaire lokalisatie van de parasieten, met als bijzonderheid ook nog een extracytoplasmatische ligging, zal er mede de oorzaak van zijn dat er geen therapie voor deze infectie is gevonden. Door hun bijzondere lokalisatie wekken de stadia van de parasieten lichtmicroscopisch de indruk dat ze extracellulair tussen de microvilli van de epitheelcellen liggen.

Isospora belli wordt af en toe bij immunogecompromiteerde patiënten bij het onderzoek van ontlasting op parasieten gezien. *Giardia lamblia*, en vooral persisterende infecties welke aanleiding geven tot darmklachten, worden wel aangetroffen bij mensen met

een hypogammaglobulinemie. Het is een algemeen voorkomende parasiet in Nederland. De meeste infecties zullen dan ook hier worden opgedaan.

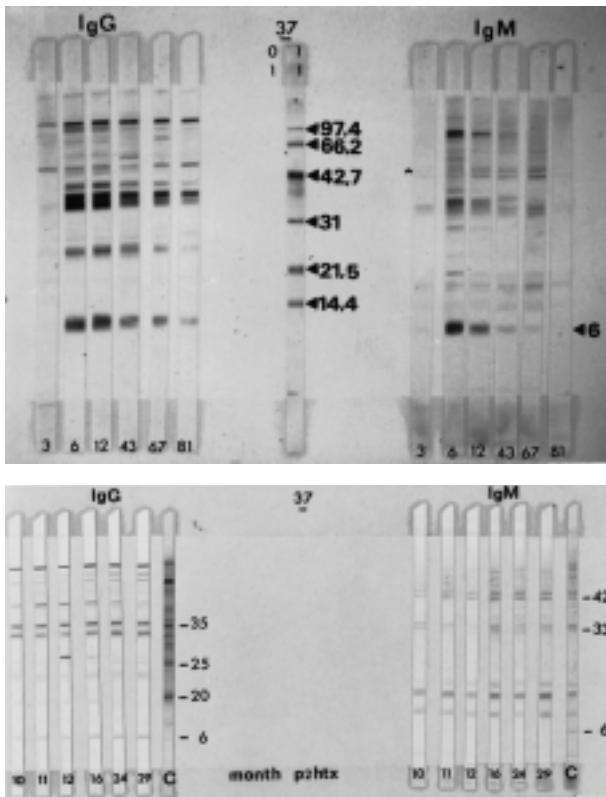
In het hieronder geplaatste gedeelte wordt ingegaan op eigen onderzoek aan infecties met *Toxoplasma gondii* bij patiënten in het Erasmus Universitair Medisch Centrum Rotterdam.

Infecties met *Toxoplasma gondii*

Laboratorium diagnostiek

Een enkele uitzondering daargelaten is de kliniek van toxoplasmose dermate variabel en weinig karakteristiek, dat voor het stellen van de diagnose de clinicus sterk afhankelijk is van het laboratorium. In het Erasmus Universitair Medisch Centrum Rotterdam wordt voor de laboratorium diagnostiek van toxoplasmose gebruik gemaakt van een combinatie van immunologische bepalingen om specifieke antilichamen aan te tonen. Hierbij wordt, naar gelang de categorie waarin de patiënt valt, een "gewogen" oordeel gegeven op basis van de resultaten van een indirecte of "sandwich" ELISA voor IgG en IgM (bepaald in de IgM serum fractie) en een "antibody capture" ELISA voor IgM. Bijvoorbeeld is in de "weging" van gewicht of de patiënt in staat is om IgM aan te maken. Zo wordt bij HIV-geïnfecteerden en AIDS-patiënten slechts zelden IgM gevonden. In de weging wordt ook betrokken of verder onderzoek nog waardevolle informatie over de infectie status van de patiënt kan geven. De polymerase ketting reactie voor het aantonen van Toxoplasma-DNA kan slechts in zeer speciale gevallen aanvullend zijn in de diagnostiek. Voor het verdere onderzoek wordt dan ook meestal gebruik gemaakt van Western blotting voor IgG en IgM (3, 4). Omdat het bepalen van de aanwezigheid van anti-toxoplasma IgA slechts in bepaalde gevallen van klinische betekenis is (bijvoorbeeld bij neonaten), wordt alleen in speciale gevallen een "antibody capture" ELISA en/of een Western blot voor IgA uitgevoerd. Behalve voor de "antibody capture" ELISA voor IgA wordt in alle testen een antigeenpreparaat met zowel membraan als cytoplasmatische antigenen van tachyzoieten gebruikt. De IgA test is commercieel verkrijgbaar en maakt gebruik van het P30 (ook wel SAG-1 genoemd) antigeen. Dit antigeen met een relatief molecuulgewicht van 30 kilodalton (kD) is het voornaamste membraaneiwit van Toxoplasmatachyzoieten. De tachyzoiet is het sterk prolifererende stadium van de parasiet dat gevonden wordt tijdens een actieve infectie, zowel tijdens de acute fase bij een eerste infectie als bij een reactivatie van een reeds bestaande latent aanwezige infectie. De oppervlakte antigenen van de tachyzoiet vormen de targets van de immuunrespons van de gastheer (5).

Bij de Western blot verkrijgt men een "fingerprint" van de antilichamen die de patiënt maakt tegen de verschillende antigenen van de tachyzoiet. Bij een eerste infectie (fig. 1) verschijnen bijna gelijktijdig banden in zowel de IgG als de IgM blot. Uit vergelijkend onderzoek van een aantal eerste infecties (resultaten worden hier niet gegeven) blijkt dat het verschijnen van IgG antilichamen tegen membraan



Figuur. 1. Western blots voor IgG en IgM antilichamen tegen *Toxoplasma gondii* bij een voor *Toxoplasma* negatieve ontvanger van een hart van een voor *Toxoplasma* positieve donor. A: in het midden ligt het laantje met daarop aangegeven de relatieve molecuulgewichten van de merkers. Op ieder laantje staat het aantal weken na de transplantatie. Een *Toxoplasma* infectie wordt aangetoond door het verschijnen van antilichamen gericht tegen antigenen met een rel. molecuulgewicht van 33 - 35 kD in de IgG-blot en 6 kD in de IgM-blot in week 6 na transplantatie. B: hier staat op ieder laantje aangegeven het aantal maanden na een tweede harttransplantatie bij dezelfde ontvanger. Een positief controle serum (C) wordt steeds meegenomen bij de test, zowel voor IgG als IgM. Het laantje met de merkers wordt niet getoond. De banden van het 33 - 35 kD complex blijven zichtbaar in de IgG-blot; IgM-antilichamen tegen het 6 kD antigeen worden niet meer gezien. Wel is er een IgG-respons tegen het 6 kD antigeen op te merken.

antigenen met een relatief molecuulgewicht van 30 en 35 kD een constant gegeven is. Dit aangekleurde complex van banden wordt in figuur 1A geïllustreerd door de intensief gekleurde banden, tussen de merkers met resp. 31 en 42,7 kD, welke vanaf 6 weken na transplantatie in de IgG-laantjes zijn te zien. Op het laboratorium wordt, omdat indertijd de toekenning van het relatief molecuulgewicht plaatsvond op basis van bepaalde merkers, als een soort traditie niet over "30 en 35" kD, maar over "33 en 35" kD gesproken. Het betreft dezelfde antigenen. In de beoordeling wordt het als een "complex" van 33-35 kD beschouwd. Overigens worden nog steeds bij iedere "run" de merkers meegenomen. In figuur 1B valt op dat het 33 - 35 kD IgG-complex (alleen 35 kD is aangegeven bij de positieve controle) tot en met de 29ste maand een tweede transplantatie, dit is 38 maanden na het infectiemoment, zichtbaar blijft. Naast het 33 - 35 kD IgG-complex is de IgM-respons tegen het 6 kD membraanantigeen van belang. In de loop van de tijd

(maximaal 1,5 - 2 jaar) vervaagt deze band, maar er kunnen bij een reactivatie van de infectie weer opnieuw antilichamen tegen dit antigeen worden gemaakt. In figuur 1A is te zien dat 81 dagen na transplantatie de IgM-respons tegen 6 kD is verdwenen. In Figuur 1B is de IgM 6 kD-band niet te zien. Wel is er nog steeds een IgG-respons te zien tegen het 6 kD-antigeen. Een voorbeeld van de ingewikkeldheid van deze lastige materie wordt gegeven in de volgende casus.

Casus

Een 45-jarige Nederlandse vrouw ondergaat op dag 0 een orthotopie harttransplantatie. Zij ontvangt daartoe de standaard immunosuppressieve therapie met cyclosporine en prednisolon. Profylactisch wordt gehandeld tegen cytomegalovirus en tuberculose. Ook ontvangt ze pyrimethamine als voorzorg tegen toxoplasmose, omdat zijzelf geen antilichamen tegen *Toxoplasma* had en zij het hart heeft gekregen van een donor die wel die antilichamen in het serum bezat. Het is bekend dat bij een dergelijke "mismatch" de ontvanger gevaar loopt vanuit het nieuwe hart een fatale *Toxoplasma*-infectie te ontwikkelen(6). Bij onze patiënte wordt zo snel mogelijk overgegaan op immunosuppressieve onderhoudstherapie. Al gedurende de eerste 14 dagen na transplantatie gaan de leverfuncties achteruit. Omdat dit een bekende bijwerking is van de tuberculose profylaxe wordt dit gestaakt. Op dag 15 blijkt uit een biopt dat afstoting dreigt. Om dit te onderdrukken worden er antithymocyten globulinen gegeven, waardoor het leukocyten aantal sterk gaat dalen. Omdat pyrimethamine, profylactisch gegeven tegen toxoplasmose, beenmerg remmend is wordt dat nu eveneens gestopt. Voor een urineweg infectie ontvangt de patiënte antibiotica. Van dag 37 tot en met dag 43 wordt de patiënte opgenomen vanwege hoge koorts en griepachtige symptomen. Weer blijkt afstoting te dreigen en wordt opnieuw een extra immunosuppressief medicament gegeven. Op dag 43 wordt patiënte ontslagen uit het ziekenhuis en gaat naar huis. 's Nachts ontwikkelt zij hoge koorts en zij wordt de volgende dag weer opgenomen. Opnieuw wordt er afstoting geconstateerd. Opnieuw wordt de immunosuppressie verhoogd. De temperatuur zakt, maar loopt vervolgens weer op. Er wordt een urineweginfectie gevonden en een sepsis gediagnostiseerd, waarvoor antibiotica worden toegediend. Op geleide van de kweekresultaten worden de antibiotica aangepast. Er volgt een epileptisch insult, dat toegeschreven wordt aan de bijwerkingen van een antibioticum. Vervolgens gaat de ademhaling achteruit, de bloeddruk daalt; er ontstaat longoedeem. De patiënte wordt asystolisch en sterft op dag 53 na transplantatie.

Bij deze patiënte was men bedacht op een mogelijke toxoplasmose. De serologie is frequent en geheel volgens het infectie/afstotingsprotocol uitgevoerd. Twee keer extra zijn er Western blots voor IgG en IgM uitgevoerd ten tijde van de eerste twee afstotingsepisoden. Steeds was als uitslag afgegeven "geen *Toxoplasma*-infectie". De ELISA resultaten waren beneden de detectiedrempel ("negatief"). Groot was dan ook

de verrassing toen na obductie de pathologische anatomie aangaf dat Toxoplasmaparasieten in de weefsels gevonden waren. Dit is later onomstotelijk vastgesteld. Retrospectief herhalen van het diagnostisch onderzoek voor toxoplasmose gaf dezelfde "negatieve" waarden te zien. Echter, de IgG Western blot van een nog niet eerder onderzocht serum, afgenomen tijdens de laatste afstotingsepisode, 10 dagen voor het overlijden, gaf als eerste IgG-antilichamen aan tegen het 33 - 35 kD complex. De ELISA's voor IgG, IgM en IgA waren alle tot het einde toe "negatief". Achteraf gezien hebben misschien de, correct bepaalde, negatieve bevindingen van de diagnostiek gemaakt dat een mogelijke toxoplasmose niet meer werd overwogen, temeer daar de ELISA's wel waren ingezet met een "negatief" resultaat. In de Western blot werden geen antilichamen tegen andere antigenen aangetoond. Als casus uitzonderlijk en met een droef resultaat, maar het geeft wel aan dat de Western blot belangrijke diagnostische mogelijkheden te bieden heeft.

Toxoplasma encephalitis

Bij HIV-geïnfecteerden en AIDS-patiënten komt relatief frequent Toxoplasma encephalitis (TE) voor, wanneer er nog maar weinig CD4 T-lymfocyten aanwezig zijn (7). Bij niet-HIV immunodepressie komt TE bij een bestaande gedissemineerde infectie ook wel voor, maar bij HIV geïnfecteerden staat TE sterk op de voorgrond. Bij de HIV en AIDS patiënten laat de serodiagnostiek het afweten, al kan bij de meeste patiënten specifiek IgG worden aangetoond. De polymerase kettingreactie voor het aantonen van Toxoplasma-DNA biedt ook hier geen oplossing (8). In verschillende studies is getracht een bevredigende diagnostische methode te vinden. Omdat de afwijkingen in cerebro sterk lijken op die welke door lymfomen kunnen worden veroorzaakt, begint men vaak maar met een antitoxoplasma therapie. Vervolgens kan het 2 tot 4 weken duren voordat het effect van therapie zichtbaar wordt.

Bij de bestudering van de resultaten van de Western blot bij patiënten met reactivaties van latent aanwezige Toxoplasma-infecties bleek steeds dat IgG-antilichamen tegen het 6 kD antigeen op de blot zichtbaar werden. Dit deed ons besluiten om deze respons ook bij HIV-geïnfecteerden na te gaan. De patiënten werden geïncludeerd in de studie wanneer met de computer tomografie (CT) scan in cerebro laesies te zien waren en er antitoxoplasma therapie werd gegeven. Het bewijs voor TE werd geleverd bij een neurologische verbetering van de patiënt en indien er een afname van de laesies te zien was op de CT scan. Dertig patiënten verbeterden onder therapie en de CT scan demonstreerde dat de laesies kleiner waren geworden of verdwenen waren. Het bleek dat bij 28 van de 30 patiënten IgG-antilichamen tegen het 6 kD antigeen konden worden aangetoond. Bij de andere 2 patiënten bleek er een toegenomen aankleuring van het 33 - 35 kD complex in de IgG Western blot te zijn. Van de 23 patiënten die niet reageerden op therapie hadden 3 IgG-antilichamen tegen het 6 kD antigeen. De diagnostische waarde van de Western blot

om TE aan te tonen bleek op het gebied van de specificiteit significant beter te zijn dan die van de ELISA voor IgG: ELISA-IgG 0,48 (95% betrouwbaarheidsinterval (b.i.) 0,32 - 0,66) en Western blot 0,86 (b.i. 0,71 - 0,95). Voor de detectie van TE betekent dit dat in de niet-TE patiënten meer vals-positieve IgG ELISA's gevonden worden dan met de Western blot. De sensitiviteit was niet verschillend: ELISA-IgG 0,97, Western blot 1,00. De negatief voorspellende waarde van de blot bleek 1,00 (b.i. 0,89 - 1,00). Ook bij deze patiënten groep blijkt een plaats voor de Western blot in de diagnostiek van toxoplasmose.

Bij de afweging van de resultaten tot een eindoordeel heeft de Western blot een groot gewicht gekregen. De techniek lijkt inzicht te geven in de manier waarop het individu reageert met de aanmaak van specifieke antilichamen. Reactivaties van reeds langer bestaande latente infecties zijn makkelijker dan voorheen op te sporen. Maar niet alle reactivaties, waarschijnlijk de meeste, zullen aanleiding zijn tot het ontwikkelen van een symptomatologie. Voor de interpretatie van de uitkomsten van de serologie is het belangrijk om te weten om wat voor patiënt het gaat. Het is even belangrijk om nauwkeurig op de hoogte te zijn van de mogelijkheden van de assays op het laboratorium. Een intensief samenspel tussen de kliniek en het laboratorium is essentieel voor de kwaliteit van de zorg.

Literatuur

1. Beales PF (ed.) Leishmania & HIV in gridlock. WHO/CTD/LEISH/98.9 Geneva 1998.
2. Gool T van. Microsporidia infection in HIV-infected and HIV-negative individuals. Thesis. Universiteit van Amsterdam 1997.
3. Erlich HA, Rodgers G, Vaillancourt P, Araujo FG, Remington JS. Identification of an antigen-specific immunoglobulin M antibody associated with acute Toxoplasma infection. Infect Immun 1983; 41: 683-690.
4. Potasman I, Araujo FG, Remington JS. Analysis of *Toxoplasma gondii* antigens recognized by human sera obtained before and after acute infection. J Infect Dis 1986; 154: 650-657.
5. Soète M, Dubremetz JF. *Toxoplasma gondii*: Kinetics of stage-specific protein expression during tachyzoite-bradyzoite conversion in vitro. In: Gross U (ed.). *Toxoplasma gondii*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1996; 75-80.
6. Sluifers JF, Balk AHMM, Essed CE, Mochtar B, Weimar W, Simoons ML, IJzerman EPF. Indirect enzyme-linked immunosorbent assay for immunoglobulin G and four immunoassays for immunoglobulin M to *Toxoplasma gondii* in a series of heart transplant recipients. J Clin Microbiol 1989; 27: 529-535.
7. Luft BJ, Remington JS. Toxoplasmic encephalitis in AIDS. Clin Infect Dis 1992; 15: 211-222.
8. Eggers C, Gross U, Klinker H, Schalke B, Stellbrink HJ, Kunze K. Limited value of cerebrospinal fluid for direct detection of *Toxoplasma gondii* in toxoplasmic encephalitis associated with AIDS. J Neurol 1995; 242: 644-649.

Summary

Parasitic infections in the immune compromised host. Sluifers JF. Ned Tijdschr Klin Chem 1999; 24: 71-75.

Opportunistic parasites are defined by the capability to multiply rapidly in the presence of a weakened immune response,

thereby reaching high numbers in a very short time. These opportunists are found with those species of parasites in which the progeny stays in the same host and also starts to multiply. Therefore they are found with the Protozoa such as *Toxoplasma gondii*, *Leishmania sp.*, *Entamoeba histolytica*, *microsporidia* (in The Netherlands mainly from the genera *Enterocytozoon* and *Encephalitozoon*), *Cryptosporidium parvum*, *Isospora belli* and predisposed by immunoglobulin deficiencies to opportunistic *Giardia lamblia* infection. Only a single

worm species, *Strongyloides stercoralis*, acts as an opportunistic infection. The diagnostic approach in the detection of *Toxoplasma* infections in cardiac transplant recipients is described, in which the use of the Western blot is of increasing importance. Also the diagnosis of toxoplasmic encephalitis improved by the introduction of the Western blot.

Key-words: opportunistic parasitic infections; *Toxoplasma gondii*; cardiac transplant recipients; toxoplasmic encephalitis; Western blot

Ned Tijdschr Klin Chem 1999; 24: 75-78

Laboratoriumdiagnostiek van infecties met *Pneumocystis carinii*

P.J.A. BECKERS

***Pneumocystis carinii*-pneumonie blijft, ondanks goede profylaxe en therapie, een opportunistische infectie waarmee rekening dient te worden gehouden in de risicogroepen.**

Verantwoorde laboratoriumdiagnostiek van *Pneumocystis*-infecties is gebaseerd op een combinatie van kleuringen waarmee zowel de karakteristieke celinhoud van de organismen alsook de typerende structuren in de verdikte wanden van de cystestadia aangetoond worden. De introductie van specifieke, fluorescerende, monoclonale antilichamen heeft de gevoeligheid van de microscopische diagnostiek van *Pneumocystis* enigszins verhoogd maar ook het risico op vals positieve bevindingen vergroot. Vooral de grote voorspellende waarde van negatieve fluorescentie testen met behulp van deze monoclonale antistoffen is een waardevolle aanvulling op de microscopische diagnostische methoden. Twee diagnostische strategieën worden gepresenteerd die gebaseerd zijn op morfologische karakteristieken van *Pneumocystis* en de specifieke monoclonale aankleuring.

De meerwaarde van de moleculaire technieken ligt voorlopig op het gebied van epidemiologie, maar zou in de toekomst het gebruik van niet-invasieve bemonstering voor de diagnostiek mogelijk kunnen maken.

Trefwoorden: *Pneumocystis carinii*; kleuringen; morfologie; monoclonale antistoffen; IFT; PCR; diagnostische strategieën

Pneumocystis carinii is een micro-organisme dat wereldwijd bij zoogdieren in de longen wordt aangetroffen. Het is altijd als protozo beschouwd; recent is echter gebleken dat *Pneumocystis* moleculair geneti-

sche overeenkomsten vertoont met schimmels. *Pneumocystis* kan alleen bij een gestoorde afweer van de gastheer een (fataal verlopende) longontsteking veroorzaken (1).

De frequentie waarmee *Pneumocystis carinii* wordt gezien, is de laatste jaren aanzienlijk afgenomen door het succes van de profylaxe bij de risicogroepen, waaronder die van HIV-positieve patiënten nog steeds de grootste is. Daardoor zou de situatie kunnen ontstaan dat de voor het aantonen van de parasiet benodigde expertise slechts gehandhaafd blijft in een beperkt aantal centra, waar de vraag naar *Pneumocystis*-diagnostiek zich regelmatig voordoet. Recente ontwikkelingen maken het aantonen van *Pneumocystis* enerzijds gemakkelijker en gevoeliger, maar vergroten anderzijds het risico van vals positieve bevindingen. Een van de oorzaken is het verlaten van karakteristieke morfologische kenmerken als absoluut criterium voor de laboratoriumdiagnose. De methoden voor het aantonen van *Pneumocystis* zijn uitgebreid met een aantal immunologische en moleculair biologische technieken. Voor de klinische routine neemt de specifieke aankleuring met monoclonale antistoffen de meest prominente plaats in onder deze vernieuwingen. Daarom staat deze techniek centraal in dit overzicht.

Onderzoeksmateriaal

Het onderzoeksmateriaal bij uitstek is de bronchoalveolaire lavage (BAL), waarvan een sediment wordt gemaakt na behandeling met een slijmreducerend middel. Van het geresuspendeerde en eventueel gewassen sediment worden preparaten gemaakt voor de verschillende aantoonreacties (tabel 1). Ook wordt geïnduceerd sputum gebruikt voor de diagnostiek; belangrijke nadelen hiervan zijn echter de geringere gevoeligheid en de contaminatie met keel- en mondflora. De ontwikkelingen in de moleculaire technieken lijken het gebruik van mond- en keelspoelsel in de toekomst voor de *Pneumocystis*-diagnostiek zinvol te maken.

Afdeling Medische Microbiologie, Sectie Medische Parasitologie, AZN St. Radboud Nijmegen

Correspondentie: P.J.A. Beckers, Afdeling Medische Microbiologie, Sectie Medische Parasitologie, AZN St. Radboud, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen; Email: p.beckers@mmb.azn.nl