

VU Research Portal

Chlamydia trachomatis: Clinical, bacterial, and host aspects of a silent love bug

Lanjouw, E.

2017

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

Lanjouw, E. (2017). *Chlamydia trachomatis: Clinical, bacterial, and host aspects of a silent love bug*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

SAMENVATTING

Het natuurlijk beloop van *Chlamydia trachomatis* (CT) infecties is tot op heden nog steeds niet voldoende in kaart gebracht om te voorspellen wie late complicaties krijgt na infectie en wie de infectie complicatieloos kan klaren. In dit proefschrift worden resultaten van verschillende studies over CT infecties gepresenteerd met zowel klinische als biologische aspecten waaronder gastheerreacties. Het achtergrondartikel over de Europese richtlijn voor 2015 voor de behandeling van CT-infecties fungeert als een klinisch overzicht van waar we nu staan in de ziektelast van CT-infecties en geeft actuele informatie over de epidemiologie en klinische presentatie. Aangezien het natuurlijk beloop van een urogenitale CT-infectie nog steeds gedeeltelijk onduidelijk is, hebben we ons gericht op twee typen gastheerreacties die bijdragen aan de gevoeligheid voor infecties of bijdragen aan het langdurige, ernstige verloop van CT-infecties, die kunnen leiden tot o.a. tubapathologie. Ten eerste hebben we de serologische responsen bestudeerd die door CT tijdens urogenitale infecties worden gegenereerd; daarbij is geprobeerd om een associatie te vinden tussen het type serovar en de IgG concentratie in het serum. Ten tweede hebben we gastheer-genetische variaties in genen die betrokken zijn bij de herkenning van CT onderzocht. We bestudeerden de bovengenoemde aspecten van CT-infecties in diverse doelgroepen in Nederland. Hieronder vatten we de belangrijkste bevindingen en conclusies per hoofdstuk samen.

In **hoofdstuk 1**, de introductie van dit proefschrift, wordt een overzicht van alle belangrijke epidemiologische en klinische aspecten van CT-infecties gegeven. Het is gedeeltelijk gebaseerd op onze Europese richtlijn voor de behandeling van urogenitale CT-infecties.

In **hoofdstuk 2** wordt het achtergrondartikel over de 2015 Europese richtlijnen voor de behandeling van CT-infecties gepresenteerd. Dit is een gedetailleerde beschrijving van de achtergrond en wordt onderbouwd door wetenschappelijk bewijs ten aanzien van de aanbevelingen en discussies aangaande de 2015 Europese richtlijn. Europese richtlijnen worden geproduceerd om medisch wetenschappelijk handelen door alle professionele partijen, die bij seksuele gezondheidszorg betrokken zijn, te stimuleren en te uniformeren. Het doel is om het overdragen van CT-infecties en daarmee de kans op complicaties zoals PID (een ontsteking in het kleine bekken ten gevolge van verspreiding van micro-organismen vanuit de vagina en de baarmoederhals) en onvruchtbaarheid te verminderen. De belangrijkste updates zijn: ruimere indicaties voor het testen en behandelen van CT-infecties; duidelijkere aanbevelingen ten aanzien van het exclusief gebruiken van NAAT testen (specifieke nucleïnezuur amplificatie testen) die uitsluitend gevalideerd en kwalitatief hoog-sensitief en -specifiek zijn; advies over het beleid ten aanzien van hertesten; aanbevelingen voor uitgebreidere testafnames bij SOA-poli's en GGD'en om de incidentie van eileiderontsteking te verminderen en opstijgende infectie te

voorkomen; en aanbevelingen om mogelijke CT-varianten te identificeren, te controleren en te rapporteren. Details met betrekking tot de etiologie, de transmissie, de klaring, epidemiologie en taxonomie van CT, klinische kenmerken, aanbevolen diagnostiek (met inbegrip van kwaliteitswaarborging), advies voor patiënten geïnfecteerd met CT, indicaties voor behandeling, aanbevolen en alternatieve behandelingen voor urogenitale en extra-genitale CT-infecties, het opsporen en behandelen van seksuele contacten, en het rapporteren van nieuwe CT-infecties zijn inbegrepen.

In **hoofdstuk 3** beschrijven we een opmerkelijke casus van een jongeman met visus klachten en obstipatie met bloederige anale afscheiding sinds één jaar. Hij rapporteerde onbeschermde passieve anale seksuele contacten met mannelijke partners. Bij het lichamelijk onderzoek werd een annulaire plaque gezien op het zachte gehemelte, perianale huiddefecten en tevens perianale fistels. Aanvullend onderzoek toonde positieve NAAT resultaten op rectaal materiaal voor *N. gonorrhoeae* en *C. trachomatis*; serotypering bevestigde een L-serotype *C. trachomatis* oftewel een LGV infectie. Aanvullende laboratorium testen bevestigden secundaire syfilis, hetgeen correspondeerde met de klinische presentatie van uveïtis anterior en een annulaire laesie op het gehemelte dat een condyloma latum voorstelde. HIV en Hepatitis C virus testen waren negatief. Dit gevorderde stadium van LGV infectie kan klinisch gelijkenis vertonen met de ziekte van Crohn. Een adequate seksuele anamnese is behulpzaam in het opstellen van de differentiële diagnose. In seksueel actieve MSM met rectale symptomen zou LGV altijd moeten worden overwogen, ook als HIV-testen negatief zijn. Omdat het aantal rectale LGV infecties met name in MSM nog steeds toeneemt, wordt aanbevolen om positieve rectale monsters altijd aanvullend te genotypen op LGV.

In **hoofdstuk 4** worden de resultaten beschreven die zijn verkregen door het Nederlandse *Chlamydia trachomatis* referentie laboratorium in de periode 2010-2015. Dit laboratorium is een initiatief van de Epidemiologie & Surveillance Unit, Centrum voor Infectieziektenbestrijding, van het Nationaal Instituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM) en het VU medisch centrum, Afdeling Medische Microbiologie en Infectie Preventie. De twee belangrijkste taken van dit laboratorium zijn: 1) het verrichten van CT surveillance programma's in verschillende geografische regio's in Nederland. Dit wordt gedaan door CT-positieve en CT-negatieve monsters van mannen en vrouwen te verzamelen van alle representatieve anatomische lokalisaties. Het doel is surveillance; met andere woorden in een zo vroeg mogelijk stadium het optreden van CT-varianten opsporen, net zoals destijds de Zweedse variant, om de betrouwbaarheid van detectie van CT in Nederland te kunnen waarborgen, 2) te fungeren als een informatiecentrum voor het beantwoorden van vragen over o.a. diagnostische problemen met inbegrip van mogelijke CT-varianten. Voor de eerste taak worden ieder kwartaal 25 CT negatieve en 10 CT positieve monsters, met een jaarlijkse minimum van 500 monsters uit 6 geografische

locaties in Nederland verzameld. Het resultaat tot nu toe is dat binnen deze studie 1,9% afwijkende monsters zijn gevonden, ten opzichte van de bepalingen van de deelnemende centra. Degradatie van het materiaal in combinatie met zeer lage hoeveelheden CT (load) waren de belangrijkste redenen van dit resultaat. Zeven plasmide-vrije stammen werden geïdentificeerd met de nieuw ontwikkelde PCRs. Aangezien dit een laag percentage betreft en de meeste commerciële testen ofwel RNA als target hebben of een dubbel target systeem (plasmide én chromosoom), heeft deze discrepantie geen groot effect op de detectiegraad. Voor de tweede taak is het referentie laboratorium benaderd door diverse partijen dat heeft geresulteerd in de identificatie van een Zweedse variant in Nederland en ook de eerste rectale Lymphogranuloma stam L2b in een vrouw, een stam die tot dan toe alleen vastgesteld was bij mannen die seks hebben met mannen (MSM). Met andere woorden de referentietaken hebben geleid tot het identificeren van verschillende CT-varianten en heeft daarmee zijn opzet en waarde bewezen.

We analyseerden in **hoofdstuk 5** de serologische immunoglobuline (Ig) G serumconcentraties in CT-geïnfecteerde patiënten, aangezien antilichamen zijn geassocieerd met het klaren van CT-infecties maar ook met de aanwezigheid van tubopathologie bij vrouwen. We hebben urogenitale swabs en serum onderzocht van 718 Nederlandse positieve CT-patiënten die een soa-polikliniek bezochten in Den Haag of Amsterdam. Detectie van DNA van CT in swabs werd uitgevoerd met behulp van twee verschillende PCR technieken. Genotypering van serovars werd uitgevoerd met de CT-DT assay (Labo Biomedical Products BV, Rijswijk, Nederland) die gebaseerd is op de reverse hybridisatie assay (RHA) methodologie en via PCR gebaseerde Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) analyse. Bepaling van CT IgG niveaus in het serum van alle patiënten werd gedaan middels een specifieke Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)-test die kwantitatieve resultaten genereert op basis van Optical Density (OD) waarden om zo IgG titers te kunnen berekenen. Onze resultaten tonen aan dat de meest voorkomende urogenitale serovars van serogroep B, serovars D en E, de hoogste IgG serumconcentraties induceren, en de minst voorkomende serovars uit groep C de laagste concentraties induceren in zowel mannen als vrouwen. Deze resultaten geven iets meer inzicht in de immunologische respons tegen een CT-infectie zowel op serogroep als op serovar niveau.

Genetische variaties in genen die coderen voor het immuunsysteem van de gastheer zijn betrokken bij het verloop van infecties. Een single nucleotide polymorfisme (SNP) is een genetische variatie in één nucleotide die optreedt op een bepaalde plaats in het genoom. Recente studies hebben een positief effect van vitamine D op de regulering van het immuunsysteem aangetoond. Onderzoek naar polymorfismen in genen van de vitamine D biopathway in relatie tot CT-infecties is beschreven in **hoofdstuk 6** om verschillen in gevoeligheid voor urogenitale CT-infecties in mensen te onderzoeken.

Een analyse van polymorfismen met ofwel een bewezen ofwel theoretisch functioneel effect (ofwel aminozuur verandering, of invloed op eiwit expressie) en/of haplotype tagging (het vinden van een set van zogenaamde tagging SNPs) werd uitgevoerd. We onderzochten SNPs uit de volgende genen: *VDR* (rs1544410 G> A, rs2228570 C> T), *CYP27B1* (rs10877012 G> T), *DHCR7* (rs7944926 G> A, rs3829251 G> A), *GC* (rs3755967) en *CYP2R1* (rs10741657 G> A, rs2060793 G> A). Alle polymorfismen werden ge genotypeerd door LGC Genomics met gebruikmaking van competitieve allel-specifieke PCR (KASP). In ons SOA cohort van Nederlandse blanke vrouwen (n = 574), werden geen statistisch significante verschillen gevonden tussen de genotype verdelingen van de acht polymorfismen. *VDR*, *CYP27B1*, *DHCR7*, *GC*, en *CYP2R1* polymorfismen lijken dus geen belangrijke rol te spelen bij de gevoeligheid voor CT-infecties zoals ze blijkbaar wel doen bij bepaalde andere ziekten. Echter, genen in de vitamine D biopathway vertonen een pleiotrope rol in het immuunsysteem, dus de rol van vitamine D moet nog niet direct verworpen worden voor het gehele klinische beloop van CT-infecties en vereist verder onderzoek met focus op late complicaties zoals onvruchtbaarheid. Dit kan van waarde zijn voor het implementeren van gastheer-genetische markers in klinische toepassingen in de toekomst om vrouwen die vatbaar zijn voor tubapathologie te onderscheiden.

Hoofdstuk 7 is de discussie over het gepresenteerde werk. Dit proefschrift draagt onder andere bij aan het optimaliseren van interventiestrategieën om CT-infecties onder controle te krijgen. Klinische richtlijnen zijn nuttig voor professionals en tegenwoordig is deze informatie voor het behandelen van urogenitale CT-infecties gemakkelijk (online) toegankelijk. Verbetering van zowel de kwaliteit en kwantiteit van CT-gerelateerde klinische trials bevordert het niveau van wetenschappelijk bewijs. Ten tweede dient de identificatie van vrouwen die risico lopen op het ontwikkelen van tubapathologie en dus onvruchtbaarheid te worden vereenvoudigd. Idealiter wordt een niet invasieve voorspellende tool ontwikkeld voor de triage van subfertiele vrouwen met potentieel tubapathologie. Deze tool zou bestaan uit een tweeledige assay met serologische markers én gastheer-genetische markers die gezamenlijk kunnen bijdragen aan het beter voorspellen van het wel of niet optreden van late complicaties bij vrouwen na een CT-infectie. Onnodig invasieve en kostbare procedures, zoals laparoscopieën, zouden dan grotendeels kunnen worden voorkomen.