

## Diarreebacterie slaat toe door antibioticagebruik

Veel gezonde mensen dragen de darmbacterie *Clostridium difficile* bij zich zonder er last van te hebben. Bij ziekenhuispatiënten kan deze bacterie echter een levensgevaarlijke diarree veroorzaken die lastig te genezen is. Ziekenhuizen treffen maatregelen om besmetting op te sporen en te voorkomen.

*Clostridium difficile* is een anaerobe bacteriesoort die ongunstige omstandigheden kan overleven in de vorm van sporen (afbeelding 1). Sommige *C. difficile*-stammen produceren toxische eiwitten.

Door deze toxines gaan epitheelcellen van het dikkedarmslijmvlies dood, wat leidt tot een hardnekkige diarree die CDAD (*Clostridium difficile* associated diarrhea) wordt genoemd.

De bacterie slaat vooral toe bij mensen die breed spectrum-antibiotica gebruiken. Deze antibiotica zijn werkzaam tegen verschillende bacteriën en worden veel toegepast in ziekenhuizen.

afbeelding 1



*C. difficile* met sporen

De bouw en werking van onderdelen van het spijsverteringsstelsel vormen bij een gezond mens een natuurlijke bescherming tegen ziekteverwekkende bacteriën zoals *C. difficile*.

- 2p 26 Beschrijf van deze bescherming:
- een werkingsmechanisme op moleculair niveau;
  - een ander werkingsmechanisme op orgaan- of orgaanstelselniveau.

In de dikke darm leven honderden verschillende soorten symbiotische bacteriën, de zogenoemde darmflora. Commensalisme, mutualisme en parasitisme zijn verschillende vormen van symbiose.

- 2p 27 Welke vormen van symbiose kunnen bestaan tussen darmbacteriën en de mens?
- A alleen commensalisme en mutualisme
  - B alleen commensalisme en parasitisme
  - C alleen mutualisme en parasitisme
  - D commensalisme, mutualisme en parasitisme

De darmbacteriën die deel uitmaken van een gezonde darmflora dragen bij aan de bescherming tegen ziekteverwekkende bacteriën.

*C. difficile* is bij veel mensen aanwezig in de darmflora, zonder ziekteverschijnselen te veroorzaken.

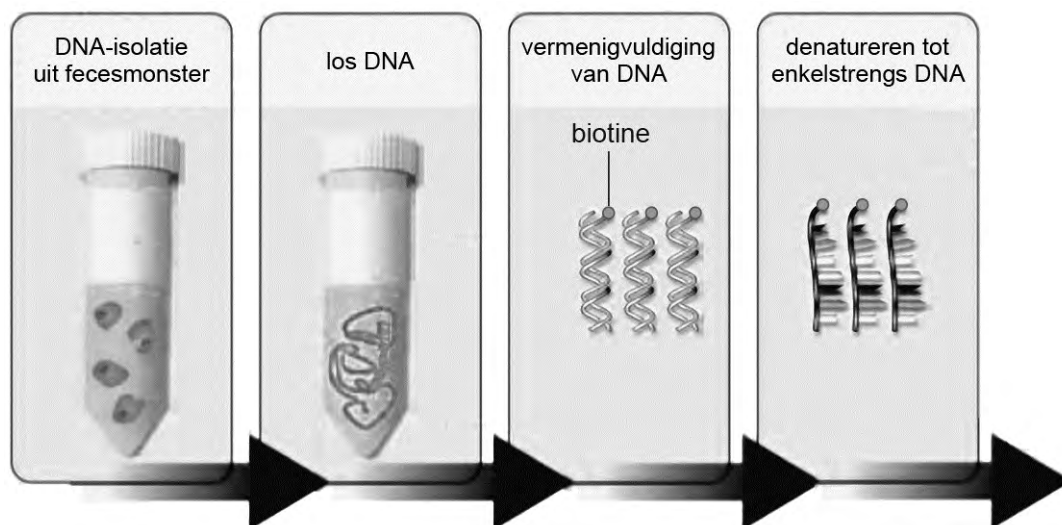
- 2p **28** Leg uit dat door een bepaalde eigenschap van *C. difficile* het gebruik van breedspectrum-antibiotica bij ziekenhuispatiënten een gevaarlijke vermeerdering van juist deze bacterie in hun darmen mogelijk maakt.

De toxinen van *C. difficile* beschadigen in darmepitheelcellen het buitenmembraan van de mitochondriën. Dit leidt tot apoptose van deze darmcellen en dus tot verlies van darmepitheel.

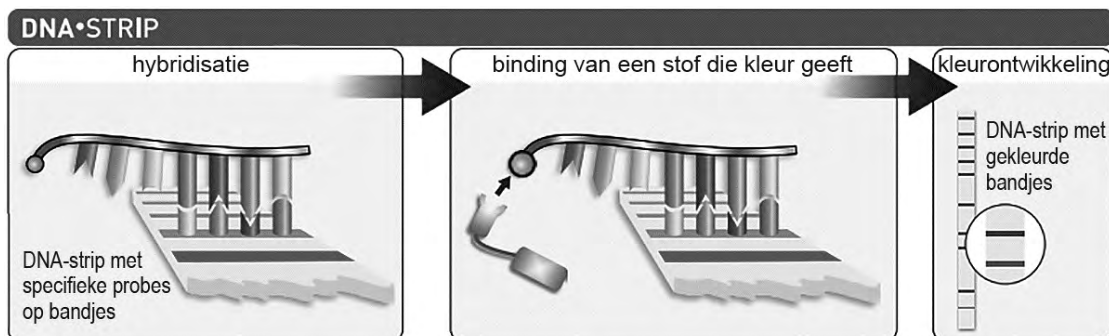
- 2p **29** Hoe leidt deze schade aan de mitochondriën tot apoptose?
- A Cytochroom-c komt in het cytoplasma terecht en activeert enzymen die het DNA afbreken.
  - B  $H^+$ -ionen komen in het cytoplasma terecht, waardoor de cel verzuurt.
  - C NADH en  $FADH_2$  komen in het cytoplasma terecht, waardoor geen ATP meer kan worden gevormd.

Bij het vermoeden van een *C. difficile*-infectie wordt de ontlasting (feces) van de patiënt onderzocht op aanwezigheid van de bacterie en/of de toxinen. Daarnaast is er een DNA-strip ontwikkeld waarmee specifieke genen van *C. difficile* in het fecesmonster opgespoord kunnen worden. Het gaat om de genen die coderen voor toxine A, toxine B en voor binair toxine, en verder om bepaalde regulatorgenen (die de hoeveelheid toxine reguleren) en het resistentie-gen tegen het antibioticum moxifloxacin. Voorafgaand aan deze test wordt het fecesmonster geprepareerd, zoals schematisch is weergegeven in afbeelding 2. Daarbij worden DNA-strengen geproduceerd waaraan een biotinmolecuul (aan de 5'-kant van de primer) is gebonden. Hierna vindt de eigenlijke test plaats met een DNA-strip, zoals weergegeven in afbeelding 3.

afbeelding 2



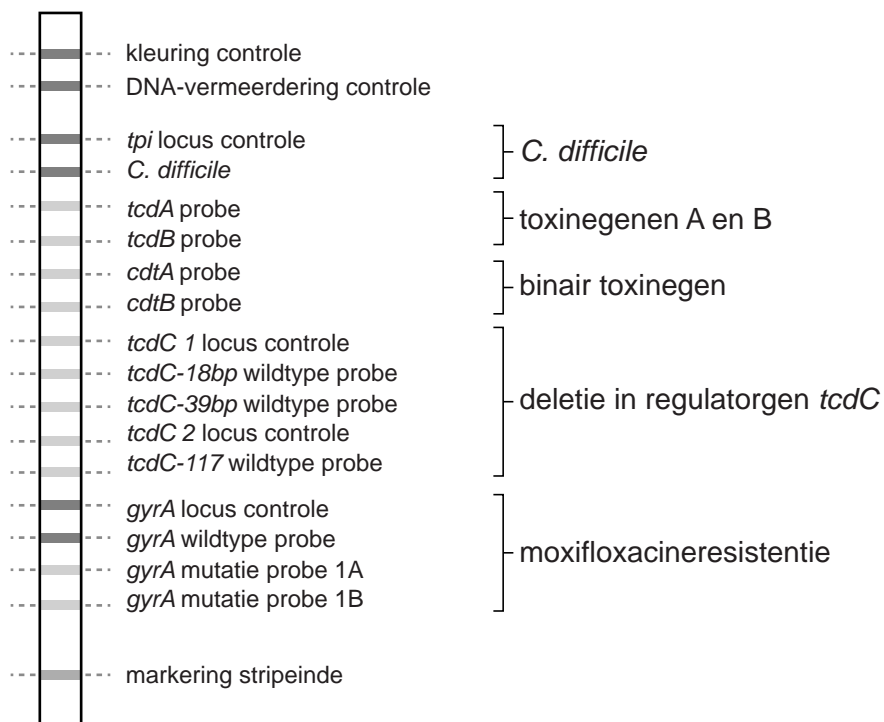
afbeelding 3



- 2p **30** – Noteer de naam van de methode (afbeelding 2) waarmee het DNA kunstmatig wordt vermenigvuldigd.  
 – Beschrijf de functie van de biotine in deze test (afbeelding 3).
- 2p **31** Welke bindingen worden gevormd tijdens de hybridisatie (stap 1 in afbeelding 3)?  
**A** deoxyribose-fosfaatbindingen  
**B** peptidebindingen  
**C** waterstofbruggen

Het resultaat van zo'n test met een DNA-strip is in afbeelding 4 als voorbeeld weergegeven, met daarbij aangegeven de plaats en betekenis van de verschillende bandjes.

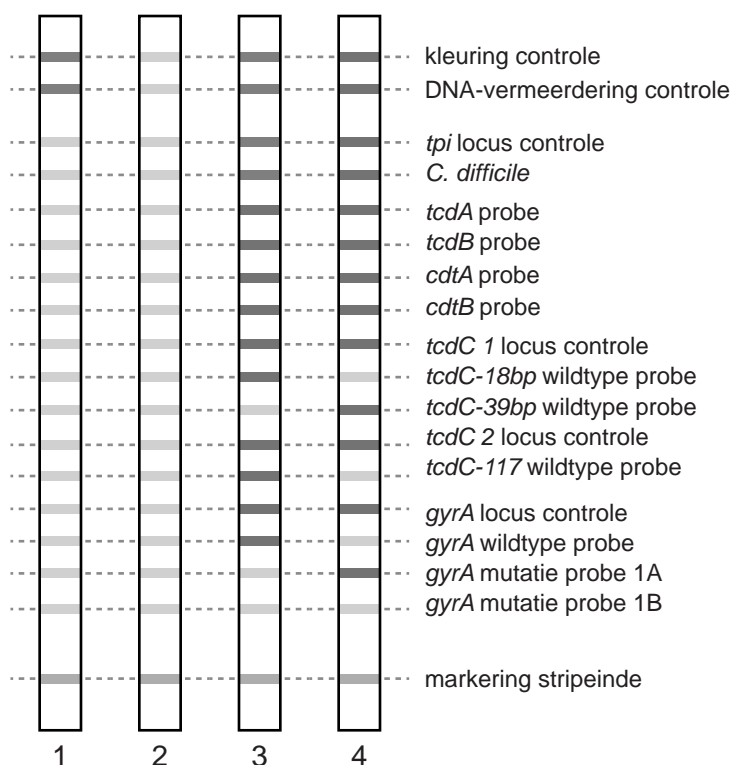
**afbeelding 4**



In dit voorbeeld zijn zes bandjes donker gekleurd. Daaruit blijkt dat in het fecesmonster van de patiënt een ongevaarlijke stam van *C. difficile* zit, die gevoelig is voor het antibioticum moxifloxacin.

Van vier patiënten met diarree wordt de ontlasting onderzocht met de DNA-striptest. De testuitslagen (bandjespatronen 1, 2, 3 en 4) van deze patiënten zijn in afbeelding 5 weergegeven.

afbeelding 5



De testuitslagen leiden tot vier diagnoses van de bijbehorende patiënten, die hieronder in willekeurige volgorde zijn weergegeven.

P: Bij deze patiënt wordt de diarree niet veroorzaakt door *C. difficile*.

Q: Deze patiënt is besmet met een pathogene stam van *C. difficile*, die bestreden kan worden met moxifloxacin.

R: Deze patiënt is besmet met een pathogene, moxifloxacin-resistente stam van *C. difficile*.

S: Van deze patiënt is de test onbetrouwbaar.

- 2p 32 Zet de letters van de patiënten (P, Q, R en S) onder elkaar op je antwoordblad en koppel elke patiënt aan een van de testuitslagen (nummer 1, 2, 3 of 4).

Het VU Medisch Centrum in Amsterdam treft extra maatregelen om een uitbraak van *C. difficile* te voorkomen. Daar 'werkt' de beagle Cliff (afbeelding 6), een speurhond die ruikt of een patiënt besmet is met *C. difficile*.

Cliff is getraind om naast (het bed van) een besmette patiënt te gaan zitten.

### afbeelding 6



Testen met hond Cliff gaat veel sneller dan de test met de DNA-strip, waardoor de behandeling van de patiënt ook snel kan beginnen.

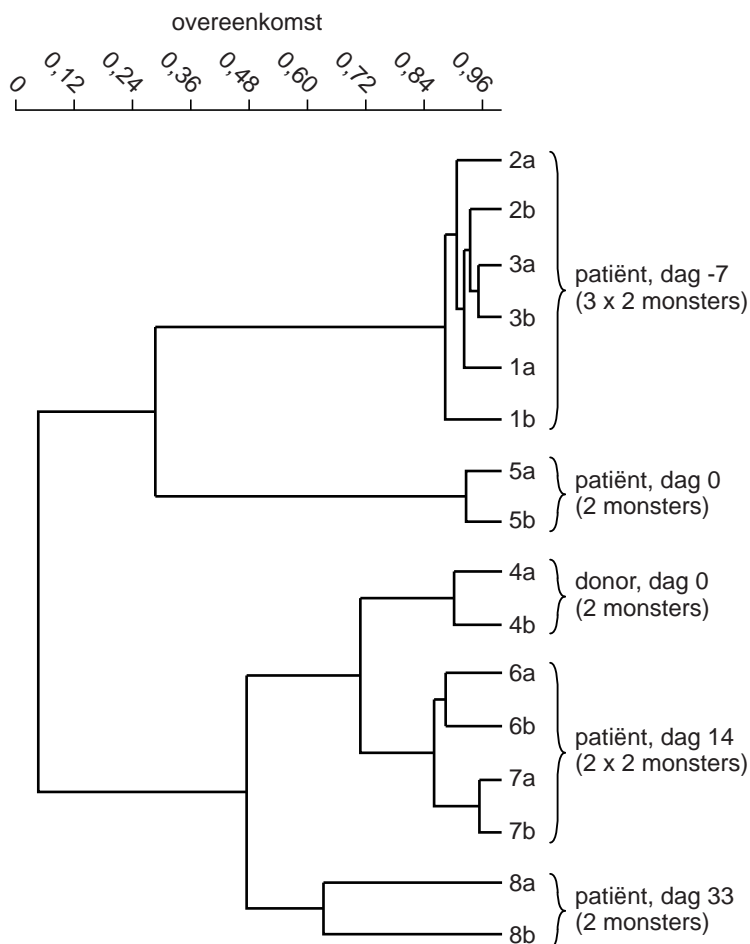
1p 33 Noteer nog een biomedisch voordeel van het gebruik van Cliff om *C. difficile* in het ziekenhuis op te sporen.

Bij patiënten met hardnekkige CDAD is fecestransplantatie bijzonder effectief gebleken. Hierbij wordt na een darmspoeling een fecessuspensie van een gezonde donor via een katheter rechtstreeks in de dunne darm gebracht. In een vakblad wordt de succesvolle fecestransplantatie beschreven van een vrouw die al acht maanden leed aan zeer ernstige CDAD. Ze kreeg een eenmalige transplantatie met feces van haar echtgenoot.

Aan de hand van genetische vingerafdrukken van haar darmflora en die van het transplantaat kon het resultaat gevolgd worden. Daartoe zijn op verschillende momenten vóór en na de transplantatie in totaal acht fecesmonsters verzameld van haarzelf (de patiënt) en haar man (de donor). Elk monster, genummerd 1 tot en met 8, werd twee keer geanalyseerd (a en b).

De resultaten zijn weergegeven in het dendrogram van afbeelding 7. Het dendrogram toont de mate van genetische overeenkomst tussen de monsters.

**afbeelding 7**



De behandeling was succesvol, want twee dagen na de transplantatie had de vrouw weer vaste ontlasting. In het dendrogram is het effect van de behandeling op de darmflora terug te zien.

2p 34 Beschrijf hoe uit het dendrogram blijkt dat de behandeling succesvol was.