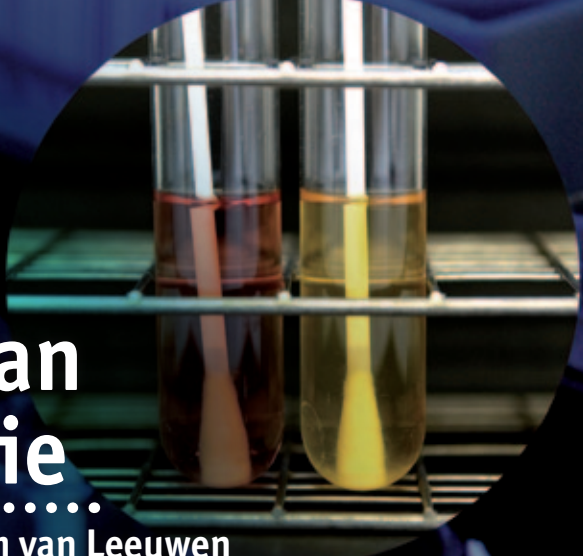




Een wolk van een bacterie

.....
Lectorale rede dr. Willem van Leeuwen
12 november 2013



Denk
Doe
Voel | *t*



Een wolk van een bacterie

Lectorale rede dr. Willem van Leeuwen
12 november 2013

© 2013

Dr. Willem van Leeuwen

Lector Moleculaire Diagnostiek
Hogeschool Leiden

Foto omslag: Loes van Damme

Leden van het College van Bestuur van Hogeschool Leiden,
mijnheer de directeur cluster Techniek, dames en heren docenten, studenten,
collega's, vrienden, familie, zeer gewaardeerde toehoorders.

**Infectieziekten hebben in onze samenleving net zoveel aandacht
als het weer en de verwachting ervan.**



- Wij wensen elkaar in grote regelmaat een breed aanbod aan infectieziekten toe. Om de associatie met “weer” te handhaven, duidt “pokken, kolere (cholera), tyfus en toring (TBC)” op een slecht tot zeer slecht weerbeeld. Het taalgebruik waarbij infectieziekten worden gebruikt, geven een ongunstig beeld weer.
- Bestrijding van infectieziekten vereisen een stevige interventie in de vorm van ingrepen of.....antibioticumtherapie en desinfectie.
- Micro-organismen wisselen in grote regelmaat genetische informatie (ziekmakende eigenschappen en antibioticumresistentie) uit en zijn niet al te kieskeurig.
- Infectieziekten discrimineren de gastheer, en hebben zo hun voorkeuren.
- Infectieziekten treffen jong en oud.

Infectieziekten, een stukje geschiedenis

Uit recentelijk onderzoek is gebleken dat infectieziekten bij de oermens, door het “huis”dier is overgebracht. Infectieziekten als pokken, griep, tuberculose, mazelen, pest en cholera hebben we te danken aan nauwe contacten met dit huisdier. Tegenwoordig worden veel van dit soort ziekten alleen van mens op mens verspreid. Het organisme is geëvolueerd en heeft nu een gastheer-specifiek karakter. Om infectieziekten te kunnen begrijpen, moet er onderzoek gedaan worden. Waarom en hoe kunnen en konden infectieziekten zoals AIDS en builenpest zich gemakkelijk wereldwijd verspreiden? Waarom beperken infectieverwekkers zich tot de mens, terwijl ze in het verre verleden van het dier afkomstig zijn?

Tabel 1

Infectieziekte bij de mens	Dier met nauw verwante infectieverwekker
Mazelen	Rundvee (runderpest)
Tuberculose	Rundvee
Pokken	Rundvee (koepokken)
Griep	Varkens en eenden
Kinkhoest	Varkens en honden
Malaria (Plasmodium falciparum)	Vogels (kippen en eenden?)

uit: *Guns, Germs and Steel. The fates of Human Societies.* Jared Dimond, 2013.

Vanuit het oogpunt van de verwekker, “de gast” gezien, lijkt het niet slim om zijn gastheer te doden. De gastheer wordt ziek, krijgt een ernstige vorm van diarree of een geslachtziekte en zonder afweer en/of behandeling overlijdt de gastheer. Een vorm van zelfdestructie van de gast. Het toppunt van co-evolutie van gast en gastheer is de inbouw van het zgn. mytochondrion, nu een celorganel van de menselijke cel. Het mytochondrion blijkt een voormalige Rickettsia soort, welke als endosymbiont in onze cellen leeft en deze cellen voorziet van energie. Een ander voorbeeld van endosymbiose vormt de cyanobacteriën en de chloroplast.



De gast kiest een gastheer om zichzelf zo effectief mogelijk te kunnen reproduceren in een zo goed mogelijke omgeving en die voldoet aan de wensen van de gast. Daarbij is het de bedoeling om vanuit een gastheer d.m.v. verspreiding zoveel mogelijk nieuwe gastheren te besmetten. De verspreiding of transmissie moet zo efficiënt mogelijk verlopen. Transmissie kan op de meest uiteenlopende manieren plaatsvinden; passief, bijvoorbeeld door het eten van besmette eieren (*Salmonella*) of door het opeten van de geïnfecteerde gastheer, zoals de vrouwen en kinderen van de Papoea's uit Nieuw Guinea aan Kuru (trilziekte) leden. Het bleek dat zij bij een begrafenis ritueel, hersenen van overleden stamleden opaten. Na verbod van dit kannibalisme verdween deze ziekte (prionen) onder de bevolking. De actieve vorm van transmissie is veelzijdig. De gastheer kan worden gebeten door een insect. De infectieoverwekker wordt via de speekselklieren van het insect van gastheer naar gastheer overgebracht. Musketieten, vlooien, luizen en vliegen brengen respectievelijk malaria, builenpest, tyfus of slaapziekte over.

De infectieverwekker kan eventueel de anatomie van de gastheer wijzigen om zich beter te verspreiden. Denk bijvoorbeeld aan genitale zweren bij syfilis. Bovendien kan de infectieverwekker het gedrag van het slachtoffer aanpassen om zich beter te kunnen verspreiden. Hoesten en niezen bij griep (Influenza), verkoudheid (Rhinovirus) of kinkhoest (Bordetella), diarree bij cholera (Vibrio) of buikgriep (Norovirus) zijn voorbeelden van evolutionaire transmissie strategieën.



Gezien vanuit de rol van de gastheer ontstaat er bij een infectie diverse reactieverschijnselen, zoals koorts. Dit is de primaire strategie om een gast te doden. Sommige micro-organismen zijn erg gevoelig voor hogere temperaturen. Bovendien mobiliseren wij ons afweersysteem: bacteriën worden door witte bloedcellen opgespoord en gedood. Er worden specifieke antilichamen tegen de infectieverwekker gemaakt om te doden en de kans op een herinfectie met deze verwekker te verkleinen. De antilichamen tegen kinkhoest (Bordetella), rode hond (Rubella), mazelen en bof beiden Paramyxovirus) bieden een langdurige en soms levenslange bescherming. Soms is bescherming zeer tijdelijk zoals bij griep (Influenza) of HIV. Deze micro-organismen veranderen hun cel componenten waartegen de antilichamen zijn gericht en om die reden niet meer functioneren (immune escape). Dit kan zelfs tijdens het infectieproces plaatsvinden (HIV). De mens is verwickeld in een evolutionaire wapenwedloop met het micro-organisme.

Epidemische infectieziekten kenmerken zich door een snelle verspreiding. De gehele bevolking wordt in korte tijd aan de infectie blootgesteld. De epidemische infectie verloopt acuut; je gaat dood of je geneest volledig. De genezen patiënt ontwikkelen antilichamen die bescherming bieden tegen de infectieziekte.

De verwekkers van epidemische infectieziekten zoals mazelen, kinkhoest of pokken beperken zich tot de mens en leeft niet in bodem of in dieren. Er is geen alternatief reservoir. Uiteindelijk overleeft de mens en de verwekker sterft uit, tenzij de humane populatie omvangrijk genoeg is om in stand te blijven. De epidemisch infectieziekten, ook wel volksziekten genoemd, hebben enorme menselijke populaties nodig en ontwikkelden zich om die reden pas enkele duizenden jaren geleden

Rond 1600 jaar voor Christus laten opgravingen van menselijke resten kenmerken van pokken zien, 400 jaar voor Christus de bof en in 1840 polio en tenslotte in 1959 wordt voor het eerst HIV beschreven. Volksziekten zijn ontstaan na het domesticeren van dieren, zoals bijvoorbeeld geïnfecteerde koeien en varkens. Het wachten was op evolutionaire aanpassing van de verwekker naar de nieuwe gastheer, de mens. Door natuurlijke selectie past één enkel micro-organisme zich aan en is in staat om de mens te infecteren. Met de huidige moleculaire technieken kunnen we deze evolutie aantonen. Mazelenvirus lijkt sterk op het virus wat runderpest veroorzaakt (zie tabel 1). Het mazelenvirus besmet tegenwoordig geen rundvee. Dit virus is geëvolueerd tot een gastheer-specifiek organisme. Infectieziekten evolueren, d.w.z. een micro-organisme, dat een ziekte veroorzaakt en de gastheer dood is een evolutieproces in volle gang.

Kleine geïsoleerde groepen kennen het begrip volksziekten niet. In de dunbevolkte wereld van de oertijd kwamen zeker infecties voor. Deze verwekkers hadden wel een alternatief reservoir (het huisdier, of de aardbodem). Een voorbeeld van een infectieziekte die in versnipperde kleine populaties voorkomt is lepra (*Mycobacterium leprae*). De infectie is typisch chronisch en het doden van de gastheer neemt vele tientallen jaren in beslag, zodat er voldoende tijd is voor verspreiding.

Het is één van de oudste infectieziekten en evolutionair succesvol. Naast grote populaties (crowding factor) is slechte hygiëne, zoals het ontbreken van riolering of schoon water, een risicofactor voor de verspreiding van volksziekten. Vóór de Industriële revolutie van 1870 daalde in Europa door epidemische infectieziekten (cholera en tyfus) en een toenemende verstedelijking in hoge mate de levensverwachting van de mens. Door de aanleg van gesloten riolering en waterleidingen vanaf 1870 daalt het aantal slachtoffers t.g.v. infectieziekten en neemt elk decennium de levensverwachting van de mens met 2 a 3 jaar toe. In de eerste helft van de vorige eeuw worden vaccins en antibiotica ontwikkeld en zien we het sterftcijfer als gevolg van infectieziekten nog verder afnemen. Dit beeld geldt echter voor de welvaartsstaten en niet voor de ontwikkelingslanden. Door gebrek aan hygiëne in die landen blijft het aantal slachtoffers t.g.v. epidemische infectieziekten als malaria, tuberculose en HIV zeer hoog. We zien dat “de Wet tot Behoud van Ellende” ook in de infectiewereld geldt; bacteriën ontsnappen aan vaccins (kinkhoest) of worden resistent tegen elk denkbaar antibioticum. Maar dat is een ander verhaal voor een andere keer.

Onderzoek van Infectieziekten



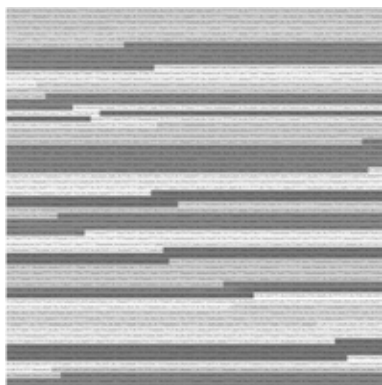
Genomics

Beginnende onderzoekers vragen zich soms af: wat valt er nog te onderzoeken? Tegenwoordig moeten we de ruimte in of in de diepste diepten van oceanen duiken om de resultaten in Nature, Science of PNAS te kunnen publiceren. Is deze situatie de realiteit? Terugdenkend aan één van de ontdekkers van de onzichtbare wereld van microben, Martinus Beijerinck, lijkt deze stelling wankel. Beijerinck wilde de veroorzaker van tabaksmozaïek detecteren. Hij filterde en filterde geïnfecteerde extracten steeds verder tot hij ver voorbij de grootte van

de gemiddelde bacterie was gekomen. Het filtraat bleek nog steeds infectieus en hij gaf hieraan de Latijnse naam voor gif “virus”. Door de ontdekking van het virus opende Beijerinck een nieuwe wereld voor ons. Virussen maken het grootste deel uit van de genetische informatie van alle levensvormen wereldwijd. Met de ontdekking van het virus en de kennis over het virus, zoals genetische kenmerken, zijn grote mijlpalen in de bestrijding van virusinfecties bereikt. Het pokkenvirus is volledig “uitgeroeid”, er is een vaccin ontwikkeld tegen cervicale tumoren en zoals we tegenwoordig weten, veroorzaakt door humaan papillomavirus (HPV). Beijerinck ontdekte het virus niet eeuwen geleden, maar rond de vorige eeuwwisseling (1898). De eerste auto’s reden, maar we wisten nog niets af van een belangrijke levensvorm met een enorme impact op de mens.

Tegenwoordig zijn er krachtige middelen ontwikkeld om onderzoek te doen naar de onzichtbare wereld van het micro-organisme. “Whole genome sequencing”, een methode om in één enkele test de gehele erfelijke informatie van een organisme te geven, is meer dan het oppervlakkig bestuderen van individuele soorten. Complete metagenomen van gemeenschappen in en om ons heen kunnen worden bestudeerd. Ik heb me jarenlang beziggehouden met een veelzijdig humaan pathogeen, de Staphylococcus aureus. Deze bacterie huist voornamelijk in de vestibulum nasi, de zgn. neuspeuterzone. Ongeveer 1/3 van de menselijke bevolking in Europa is permanent met deze bacterie gekoloniseerd. Het overige deel van de bevolking draagt deze bacterie af en toe in de neus en meestal in veel lagere aantallen of is er nooit te vinden. Belangrijk is te weten, welke rol

de omgevingsfactoren, zoals de bacteriële neusflora (neus microbioom) een rol speelt in het wel of niet koloniserend vermogen van de *S. aureus* in de neus. Dit onderzoek is relevant, omdat *S. aureus* vanuit de neus van het individu, onder bepaalde omstandigheden (invasieve ingrepen in het ziekenhuis zoals chirurgie of veneuze lijnen) in staat is levensbedreigende infecties (endogene infecties) te veroorzaken, resulterend in het hoogste sterftecijfer onder ziekenhuispatiënten. Een metagenoomstudie van bacterieel erfelijk materiaal uit dit neuspeutergebied is zinvol. Waarom is neus van de ene persoon met *S. aureus* gekoloniseerd en de ander niet of nauwelijks? Wat is de rol van de omgeving?



Een studie waarin het metagenoom uit de neuzen van enkele honderden vrijwilligers gepooled en vervolgens geanalyseerd is, laat het volgende resultaat zien: naast genetische informatie van humane oorsprong, wordt eveneens informatie gevonden van bacteriële- en virale aard die tot de normale bacteriële neusflora behoren en onschadelijk zijn voor de mens. Er wordt ook iets interessants gevonden: 20% van de genetische

informatie uit de neus blijkt van volledig onbekende oorsprong. De informatie blijkt niet afkomstig te zijn van een plant of schimmel. Het werd door de auteurs “dark matter”, biologische zwarte materie genoemd. Het ziet eruit als normaal genetisch materiaal, maar van onbekende oorsprong of van een onbekend organisme. Een metagenoomstudie van de darm resulteert in 40-50% zwarte materie en zelfs van het relatief steriele bloed is 1-2% van de genetische informatie “zwart”. In eerste instantie dachten onderzoekers dat deze informatie een artefact was van de relatief nieuwe sequence technologie, maar deze techniek wordt steeds accurater. De hypothese is nu, dat dit erfelijk materiaal handtekeningen zijn van een onbekende levensvorm.

Net zoals Beijerinck een fundamentele aanzet gaf met de ontdekking van het virus, kunnen we met whole genome sequencing epidemieën van onbekende oorsprong bestrijden, bepaalde vormen van kanker verklaren of nieuwe moleculair diagnostische technieken ontwikkelen. Misschien lachen de mensen over 100 jaar om het feit dat we nu een bepaalde levensvorm hebben ontdekt, die letterlijk aan onze neuzen hangt. Het is waar, er zijn geen witte gebieden meer op de wereldkaart behalve in de ruimte en in de diepste diepten van oceanen. Het is waar, we kennen waarschijnlijk alle zoogdieren. Maar, wat we zien of niet zien is niet het hele verhaal. Er is meer onbekend gebied dat ontdekt kan worden en biologische zwarte materie is daar één van.

Microbiota en het microbioom

Het onderzoek van het microbiologisch laboratorium is vrijwel altijd gericht op een pathogeen micro-organisme, de verwekker van de infectie, in staat om ons te doden. Minstens zo interessant is het bestuderen van de enorme wolk van bacteriën, die normaal om ons heen “zwermen” en ons voordelen biedt. Het blijkt dat 10% van onze cellen humaan zijn. De overige cellen behoren toe aan het ecosysteem of –systemen van micro-organismen. Bij het bestuderen van deze micro-organismen is het bekijken ervan door een microscoop niet voldoende, maar zal de bouwsteenvolgorde van het erfelijk materiaal, de nucleïnezuuren, moeten worden vastgelegd. Wanneer materiaal van een bepaalde plaats in of op het menselijk lichaam wordt verzameld en de totale DNA bouwsteenvolgorde van de aanwezige bacterieflora (microbioom) wordt vastgelegd, zien we dat er in en om ons lichaam vele duizenden soorten micro-organismen voorkomen. Het blijkt ook dat het microbiom verschilt van individu tot individu.

Op dit moment zijn er een aantal grootschalige microbiom onderzoeksprojecten die de rol van het microbiom (microbiota) in relatie tot gezondheid en ziekte van de mens bestuderen (Human Microbiome Project in USA en MetaHit, Metagenomics of the Human Intestinal Tract in Europa). Deze studies laten al een aantal interessante feiten zien:

- Tijdens de geboorte van de baby passeert het door het geboortekanaal van de moeder en wordt op deze manier gekoloniseerd met de eerste, zeer essentiële flora. Bij een geboorte m.b.v. een keizersnede, een redelijk steriele geboorte, krijgt de baby alleen wat huidflora van de moeder mee. Een kind geboren via de keizersnede heeft een verhoogd risico op het krijgen van allerlei allergische reacties.
- Het microbiom helpt bij de ontwikkeling van het immuunsysteem en bij de afweer van pathogene micro-organismen (o.a. kolonisatie resistentie). Het microbiom ondersteunt ons metabolisme door bijvoorbeeld de aanmaak van vitaminen. Het microbiom bepaalt de snelheid van ons metabolisme, bepaalt onze geur, bepaalt het risico op obesitas, bepaalt onze gemoedstoestand, et cetera, et cetera.

Het microbiota onderzoek betreft micro-organismen, die ons niet ziek maken, maar over organismen die het lichaam beïnvloeden, onze normale bacteriële flora. Toch blijkt dat vele mensen een enorme fobie voor deze flora hebben. We wassen ons de gehele dag door, douchen ons dagelijks en bovendien pompen we antibiotica in ons voedsel en in de gemeenschap. Bacteriën doden met antibiotica die ernstige infecties te weeg brengen is prima, maar deze antibiotica heeft ook invloed op onze normale bacterieflora. Overdagig gebruik van antibiotica bij kinderen is geassocieerd met risicofactoren zoals obesitas en autoimmuunziekten. Uit diverse studies blijkt dat antibioticumgebruik een dramatische en langdurige verstoring van het microbiom teweeg brengt.

Maar kunnen we deze verstoorde gemeenschap ook herstellen? Probiotica kunnen helpen met het herstel van het microbioom en blijken effectief in bepaalde gevallen van het voorkomen en behandelen van necrotiserende enterocolitis in prematuren. Prematuren hebben nauwelijks een microbioom en mogelijk dat probiotica voorkomt dat er zich een ernstige, chronische darminfectie ontwikkelt. Probiotica zoals Yakult bestaat uit enkele soorten bacteriën in relatief lage aantallen.

Het enterobioom, het microbioom van de darm, bestaat uit duizenden bacteriesoorten in een hoeveelheid van 10^{12} bacteriën per gram ontlasting. Kunnen we het enterobioom hiermee werkelijk herstellen? Zoogdieren hebben daar een simpele oplossing voor. Bij darmproblemen eten zij hun eigen ontlasting, ook wel coprofagie genoemd. Old-school dierenartsen bereiden wel eens "poep-thee" afkomstig van een gezond dier om darmkoliek bij zieke paarden en koeien te behandelen. Sommige patiënten krijgen een faecestransplantatie voor de behandeling van een chronische darminfectie met *Clostridium difficile*. Het gezonde microbioom moet gezien worden als een functioneel orgaan, dat verstandig en respectvol moet worden behandeld en niet moet worden verstoord door overmatig antibioticumgebruik, of doorgeslagen hygiëne.

Het microbioom onderzoek kan ons informatie verschaffen over onze gezondheid. Met behulp van whole genome sequencing zou het mogelijk zijn om het enterobioom van 100 patiënten met Morbus Crohn, 100 patiënten met colitis ulcerosa en 100 gezonde en gematchde vrijwilligers met en zonder antibioticagebruik te bestuderen en te vergelijken. Dit biedt deze patiënten mogelijk een juiste en effectieve therapie i.p.v. symptoombestrijding door colonresectie.

Dezelfde techniek kunnen we ook loslaten op het analyseren van het urobioom, met de vraag of de samenstelling ervan invloed heeft op de vruchtbaarheid van de vrouw. En op deze wijze de doelmatigheid van een IVF behandeling te verhogen. We kunnen op dit moment microbiomen en miljoenen genen met elkaar vergelijken. Mogelijk kunnen we niet alleen een correlatie aangeven, maar ook een causaal verband. Het wordt steeds goedkoper om dit soort grote klinische studies uit te voeren. Het microbioom kan vastgelegd worden a.h.v. het DNA, door de effecten die DNA verschillen met zich meebrengen en het effect hiervan op ziekte en gezondheid. Zijn dat geen fantastische uitdagingen voor het Centre of Expertise Genomics, waarbij het thema van onderzoek "Health and Biodiversity" is?

Diagnostiek van infectieziekten in de gezondheidszorg



Klassieke microbiologie

Microbiologische diagnostiek is patiënt georiënteerd onderzoek naar het beloop van een infectie en naar de preventie van verspreiding van de infectie.

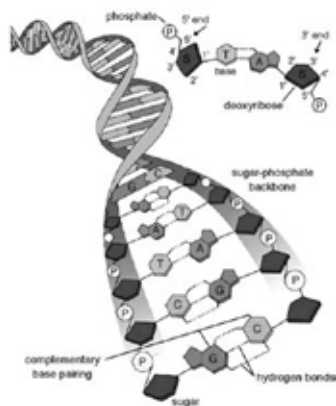
De veroorzaker van een infectie kunnen virussen zijn of micro-organismen zoals bacteriën, gisten, schimmels of parasieten. Parasieten variëren qua grootte van micro tot macro, respectievelijk van malaria tot een lintworm. Ik beperk me in deze lezing tot de bacterie en bacteriële infecties. Het is van klinisch belang om allereerst de infectieverwekker in het materiaal van de patiënt aan te tonen. Bij zeer relevant materiaal, zoals bloed of hersenvocht, is de infectie vaak levensbedreigend en moet acuut worden gehandeld om een goede (breedspectrum) antibioticumtherapie te starten. Hiervoor wordt microscopisch onderzoek ingezet, waarbij een algemene (Gram)kleuring wordt toegepast om de eerste classificatie te maken. Bij verdenking op een bepaalde infectieverwekker, zoals tuberculose, wordt een celwand-specifieke kleuring ingezet (Auramine). In de regel volgt de conventionele diagnostiek in de vorm van een kweek, waarbij het patiëntenmateriaal uit het geïnfecteerde gebied wordt overgebracht, geënt, op algemene of selectieve vaste voedingsbodems. Bij infecties, waarbij een laag bacterie aantal wordt verwacht, zoals bij bloedbaaninfecties, is een verrijkingsstap gewenst.

Daartoe wordt het monster in steriel vloeibaar medium gebracht, waarvan een deel van de inhoud na groei (troebeling) voor verdere identificatie op vaste media wordt overgebracht. Bij voldoende groei van biomassa, een bacteriekolonie, wordt macroscopisch (kleur, grootte, geur, etc.) beoordeeld of dit de verwekker van een infectie zou kunnen zijn. Hiervoor is een goede opleiding en veel ervaring nodig. Op basis van de macroscopische en evt. microscopische beoordeling wordt een identificatie strategie gekozen en een panel van antibiotica geselecteerd voor de antibioticumgevoeligheidstest. Deze conventionele diagnostische methoden zijn nog gebaseerd op principes, die zo'n anderhalve eeuw geleden door de grondleggers van de klassieke microbiologie Louis Pasteur en Robert Koch zijn ontwikkeld. De kweek is goedkoop, simpel, maar tijdrovend. Een andere beperking vormt de niet- of zeer traag groeiende bacteriën, zoals respectievelijk *Chlamydia ssp* of *Mycobacterium tuberculosis*.

Een alternatieve, indirecte vorm van diagnostiek is "serologie". Hierbij wordt voornamelijk bloed, maar soms ook ander materiaal van de patiënt, op de aanwezigheid van specifieke antistoffen tegen de verwekker, of bacteriecelbestanddelen (antigenen) van de verwekker getest. Vele mensen zijn in het verleden, mogelijk meerdere keren, in aanraking met een bepaalde bacterie geweest en hebben in het bloed circulerende antistoffen. Een positief testresultaat hoeft nog niet te duiden op een actief infectieproces. Om de dynamiek van een actief proces waar te nemen, is een tweede reconvalescent bloedmonster nodig, dat ongeveer een week na het eerste monster wordt afgenomen. Niet direct een sneltest te noemen. Deze indirecte vorm van diagnostiek wordt nog steeds voor vele vormen van infectieziekten, zoals Q-koorts, Lyme of syphilis ingezet.

Medisch moleculaire microbiologie

De tekortkomingen en beperkingen in de klassieke microbiologie hebben geleid tot andere vormen van diagnostiek. Ruim 2 decennia geleden werd de toepasbaarheid van moleculair-biologische technieken voor microbiologische diagnostiek onderzocht. Het principe van moleculaire biologie is berust op het aantonen van genetische informatie, vastgelegd op het DNA molecuul, dat in elke bacterie aanwezig is. DNA is een draadvormig molecuul dat uit 4 verschillende bouwstenen bestaat.



De volgorde van deze bouwstenen of nucleotiden bepaalt het soort genetische informatie. Elke bacteriesoort bevat stukken genetische informatie, dat uniek is voor dat soort. Deze soort-specifieke genetische informatie is het doelwit voor moleculaire diagnostiek en hiermee wordt een bacteriesoort in het materiaal van de patiënt gedetecteerd en geïdentificeerd. In de gereedschapskist van de moleculaire biologie zitten verschillende instrumenten om de aan- of afwezigheid van deze unieke DNA fragmenten in een patiëntenmonster te kunnen vaststellen. Hiervan zijn PCR en DNA sequencing de meest belangrijke methoden. PCR ofwel de Polymerase Ketting Reactie is een techniek om een uniek DNA fragment, indien aanwezig in het monster, tot wel miljarden kopieën te vermeerderen totdat dit fragment “zichtbaar” wordt.

In theorie kan één enkel DNA molecuul, d.w.z. één bacteriecel, worden gedetecteerd met deze PCR methode. Echter, in de praktijk zijn er voor detectie meerdere DNA moleculen nodig vanwege allerlei PCR remmende of versturende factoren welke in het monster aanwezig kunnen zijn. Een PCR reactie levert binnen enkele uren een resultaat, terwijl de kweekmethode er dagen en soms weken over doet, voordat de veroorzaker van de infectie kan worden geïdentificeerd.

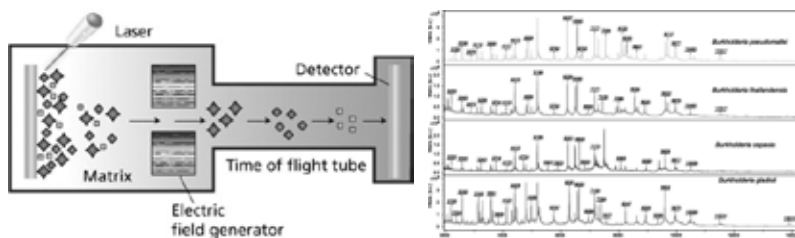
PCR is, zoals hierboven beschreven, een zeer gevoelige diagnostische techniek en ook zeer specifiek vanwege de uniciteit van het DNA fragment. Dit zijn voor een diagnostische test enorme voordelen, maar tegelijkertijd vormen deze prachtige kwaliteitscriteria, beperkingen voor de diagnostiek van infectieziekten. De hoge mate van specificiteit levert problemen bij de diagnostiek van syndromen, zoals luchtweg infecties.

Een luchtweginfectie kan door tientallen verschillende bacterie- en virussoorten worden veroorzaakt. De PCR reactie toont er maar één aan. Ruim 20 PCR reacties per monster is niet alleen kostbaar, maar ook tijdrovend. Een oplossing is de PCR multiplexstrategie waarbij per reactie maximaal 5 verschillende unieke DNA fragmenten kan worden gedetecteerd. Er moeten dus keuzes gemaakt worden bij de samenstelling van het diagnostisch panel, want sommige verwekkers van luchtweginfecties zijn seizoensgebonden (Influenza) of patiëntgebonden (Aspergillus pneumonie bij patiënten met verminderde weerstand).

Daarnaast vormt de zeer hoge gevoeligheid van PCR een probleem bij de interpretatie van het resultaat in het patiëntenmateriaal. Sommige potentiële veroorzakers van een infectie kunnen asymptomatisch bepaalde plekken van het menselijk lichaam koloniseren.

Bij detectie van een bepaalde ziekteverwekker kan de vraag rijzen of dit de veroorzaker van de infectie is of gewoon een bystander, die normaal deze patiënt koloniseert. Een oplossing biedt de kwantitatieve PCR reactie, waarbij hoge aantallen bacteriën kunnen duiden op een infectie. Een andere beperking van PCR is dat er alleen bacteriële DNA fragmenten worden aangetoond, d.w.z. ook dode bacteriecellen leiden tot een positief resultaat. Differentieel diagnose, d.w.z. het totaalpakket van klinische symptomen (koorts e.d.), resultaten van imaging technieken en laboratorium uitslagen leveren het diagnostisch totaalplaatje.

In de laatste 10 jaar is er om eerdergenoemde beperkingen van diagnostische methoden, een ontwikkeling in de biofysische of analytisch-chemische platforms. De belangrijkste techniek, die inmiddels omarmd is door de gemiddelde zeer conservatieve arts-microbioloog is de MALDI-TOF.



Dit acroniem staat voor: Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-time of flight. De methode is afgesteld op de herkenning van bepaalde eiwitten, die in elke bacterie aanwezig zijn. Deze eiwitten zijn soort-specifiek en op deze manier is de infectieverwekker te herkennen. Deze detectie is snel (minuten) en de methode is volledig te automatiseren. Een nadeel is de ongevoeligheid van MALDI-tof. Er zijn grote hoeveelheden bacteriecellen (biomassa) nodig om ze te kunnen identificeren. Dat houdt in, dat er een tijdrovende kweekstap aan vooraf gaat. De toepasbaarheid van MALDI-tof voor de voor de analyse van het antibioticumgevoeligheidsspectrum van de verwekker is nog niet mogelijk. Het is wel mogelijk om de meest belangrijke vorm van antibioticum resistentie te meten, de inactivatie van het antibioticum door een bacterieel enzym. Hierbij wordt het antibioticum gehydrolyseerd door het bacterieel enzym, het antibioticum verandert van vorm en wordt onwerkzaam.

MALDI-tof kan het antibioticum en de ontstane reactie producten detecteren. De aanwezigheid van reactie producten duidt op resistentie. Het grote voordeel van het snel vaststellen van antibioticumresistentie is het snel aanpassen van de therapie bij levensbedreigende infecties. In Nederland houden we graag antibioticum resistente bacteriën buiten de deuren van de gezondheidszorg instellingen. Snelle detectie resulteert in snelle, adequate preventieve maatregelen. De patiënt wordt direct geïsoleerd en de kans op verspreiding van de antibioticumresistente bacterie beperkt.

Tenslotte, patiënten waarvan bekend is dat ze een groot risico hebben op kolonisatie of infectie met een resistente bacteriestam (bijv. opname vanuit een buitenlands ziekenhuis) kunnen direct aan de poort worden gescreend op de aanwezigheid van een dergelijke buitengewoon resistente micro-organismen (BRMO). Dat spaart tijd uit voor onnodige isolatie van de patiënt.

Op dit moment wordt door de firma Biosparq B.V. uit het Leiden BioSciencepark in samenwerking met het lectoraat Innovatieve Moleculaire Diagnostiek (IMD) van Hogeschool Leiden gewerkt aan de ontwikkeling en validatie van een next-generation MALDI-tof diagnostisch platform. Het MALDI-tof principe is identiek, maar er is een celsorteersysteem aan de "inlaat" van het apparaat gekoppeld, dat het patiëntmonster cel-voor-cel aanbiedt. Op deze wijze kan iedere cel worden geïdentificeerd en classificeert op kwantitatieve wijze de verschillende (bacterie)celsoorten. Het is dan mogelijk om zonder enige kweek- of andere verrijkingsstap, de verwekker(s) direct en kwantitatief binnen enkele minuten uit het patiëntenmateriaal te identificeren. De diagnostische meerwaarde is duidelijk. U zult maar patiënt zijn met een levensbedreigende infectie, waarin empirisch vastgestelde breedspectrum antibiotica ingegoten wordt en om die reden mogelijk niet optimaal wordt behandeld. Deze vorm van sneldiagnostiek redt levens en bespaart veel kosten in de gezondheidszorg.

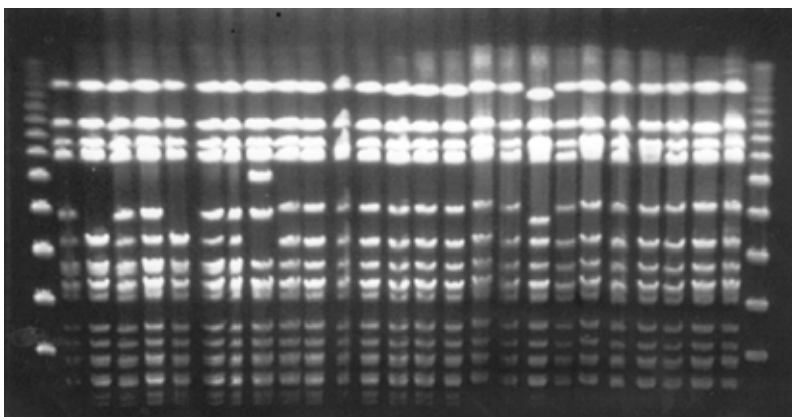
Een andere vorm van analytisch-chemische analyse, dat ingezet kan worden als diagnostisch platform voor infectieziekten, is Ramanspectroscopie. Elke moleculaire verbinding levert een specifiek Ramanspectrum, en dit geldt ook voor grote diversiteit aan zeer complexe moleculen, een levende bacteriecel. De analyse is zeer reproduceerbaar, heeft een hoog onderscheidend vermogen en analyseert in enkele minuten. Deze techniek heeft echter, net als de conventionele MALDI-tof methode, behoefte aan biomassa en is om die reden een kweekstap vooraf essentieel. Op dit moment wordt binnen het lectoraat IMD onderzocht of dit systeem kan worden ingezet als diagnostisch platform voor de identificatie van de verwekker van een bacteriële bloedbaaninfectie (RAAKpro project: Sepsismanagement door Optische Sneldiagnostiek, SOS).

Bovendien laten pilotexperimenten zien dat het mogelijk is om de verandering van de bacteriecel onder invloed van een antibioticum te meten. Op deze wijze zou het totale antibioticumgevoeligheidsspectrum van de bacterie binnen enkele uren worden vastgesteld, hetgeen een tijdswinst van minimaal 48 uur oplevert.

Moleculaire epidemiologie

Bij moleculaire diagnostiek houden we ons bezig met het zo goed en zo snel mogelijk detecteren en identificeren van de verwekker van een infectie. Moleculaire epidemiologie richt zich op de analyse van bacteriële eigenschappen van het bacteriesoort en deze eigenschappen met elkaar te vergelijken voor het beantwoorden van allerlei epidemiologische vraagstellingen. Bij het onderzoek naar de verspreiding van vaak antibioticumresistente bacteriën die infectieziekten veroorzaken, wordt een verwantschapsanalyse tussen de betrokken stammen binnen het soort uitgevoerd. Voorbeeld: een bacterie verspreidt zich in een kort tijdsbestek van de één naar de andere gastheer/patiënt via o.a. de handen van het ziekenhuispersoneel.

Een belangrijke aanname hierbij is, dat bacteriën afkomstig van een bepaalde bron en zich vervolgens verspreiden, dezelfde voorouder hebben en daardoor sterk verwant aan elkaar zijn in tegenstelling tot unieke, niet gerelateerde stammen van hetzelfde soort. Deze verwantschap kan tot uitdrukking komen in de samenstelling en organisatie van erfelijk DNA materiaal, het genoom van de bacterie. De gereedschapskist van de moleculaire biologie bevat naast PCR, gereedschappen als DNA knippen (restrictie), -plakken (hybridisatie) en -sequenzen. Door (gecombineerde) toepassing van deze gereedschappen kan de genomorganisatie van verschillende bacteriën vergeleken worden. Dit wordt “typeren” genoemd. Het resultaat van een genomanalyse m.b.v. een moleculaire techniek zoals restrictie, levert een barcode of fingerprint per bacteriestam. En barcodes zijn zelfs visueel te vergelijken en hierdoor kan de molecuulair-bioloog vaststellen of een aantal bacteriestammen identiek, verwant of uniek zijn. De resultaten van een typeersysteem bevestigen het vermoeden op de verspreiding van een multiresistente bacterie, zoals de MRSA, op een ziekenhuis(afdeling).



Op dit moment wordt er zgn. retrospectief getypeerd. Het typeren van de verzamelde “epidemische” stammen voor een verwantschapsanalyse start pas nadat er een verdenking op verspreiding (uitbraak) bestaat. In dit geval heeft de bacterie ruimschoots de tijd om zich te verspreiden. Bovendien kost het typeren ongeveer 3-5 dagen.

Bij verdenking op verspreiding wordt wel gestart met infectie-preventieve maatregelen, zoals isolatie van de patiënt of personeelslid, en de start van een screeningsonderzoek van patiënten en personeelsleden op de aanwezigheid van de betrokken bacterie. Door gebruikmaking van een snelle, eenvoudige techniek kan het microbiologisch diagnostisch laboratorium routinematig, prospectief en real-time alle bacteriële isolaten typeren. Bij een surveillance studie is een beginnende verspreiding van een bacteriesoort te zien als toename van de “infection rate” op een ziekenhuisafdeling. Op deze wijze kan in een zeer vroeg stadium de zgn. uitbraak worden vastgesteld en kan op adequate wijze infectiepreventieve maatregelen worden genomen.

Een geschikte techniek hiervoor is de al eerder genoemde Ramanspectroscopische analyse. De inzet van dit instrument voor het typeren van antibioticum-resistente bacterie stammen werd in samenwerking met het Erasmus MC te Rotterdam in het Toplab van het lectoraat IMD onderzocht. Naast verwantschapsanalyse van bacteriestammen voor allerlei epidemiologische vraagstellingen, richt de moleculaire epidemiologie zich op het aantonen van specifieke pathogene of ziekmakende eigenschappen van de bacterie, het zgn. pathotyping. Het onderzoek richt zich op de detectie en identificatie van zgn. mobiele DNA elementen. Dit zijn DNA fragmenten, die naar believen in en uit een bacteriecel kunnen springen. Een voorbeeld is het bacterievirus of bacteriofaag. Deze vrij grote DNA elementen bevatten hoofdzakelijk genetische informatie over het ziekmakend karakter of antibioticumresistentie van een bacterie. Deze DNA elementen zorgen ervoor dat een bacterie zich efficiënter kan verspreiden. Een evolutionair voordeel. Pathotyping dient als “early warning system” en kan een onderdeel vormen in de maatwerk-behandeling van de patiënt.

Lectoraat Innovatieve Moleculaire Diagnostiek

Het lectoraat Innovatieve Moleculaire Diagnostiek (IMD) wordt door Hogeschool Leiden gefaciliteerd met een modern onderzoekscentrum, het Toplab. De analyse apparatuur op het gebied van moleculaire biologie is state-of-the-art te noemen. Het Toplab is buiten de hogeschool gelegen en maakt deel uit van de Leidse Stichting BioPartner, die huisvesting biedt aan (door)startende life science bedrijven. Belangrijke reden voor de externe huisvesting van het lectoraat is: een sterke interactie met ondernemers binnen BioPartner en bedrijven van het Leidse Bio Science park. Het lectoraat heeft ook diverse samenwerkingsprojecten en onderzoeksopdrachten met bedrijven, onderwijs- en (semi)overheidsinstellingen en academische centra buiten de Leidse regio. Eén van de grote voordelen voor bedrijven om met het lectoraat van Hogeschool Leiden samen te werken, is de eenvoud van de hiërarchie, zodat de communicatieve lijnen kort zijn. Hierdoor kan er slagvaardig worden ingespeeld op de wensen van bedrijven en instellingen.

Een aantal innovatieve projecten zijn de revue al gepasseerd. Aan de hand van een aantal voorbeelden wil ik de flexibiliteit van het lectoraat en de duurzaamheid van de samenwerking demonstreren. Het lectoraat IMD werkt sinds vele jaren samen met Gimaris. Het bedrijf is gespecialiseerd in mariene onderzoek, - inventarisatie en strategische oplossingen. Vrijwel alle laboratoriumwerkzaamheden van Gimaris worden in het Toplab door het lectoraat uitgevoerd. Projecten zoals het vaststellen van de geografische herkomst van de mossel ten behoeve van het kwaliteitskeurmerk of de screening van schelpdierpercelen op de aanwezigheid gastro-intestinale infectieverwekkers in opdracht van de Producenten Organisatie van de Nederlandse Mosselcultuur, zijn enkele voorbeelden van onderzoeksprojecten. Twee jaar geleden heeft Gimaris en het lectoraat IMD een “viruscontrol” voor de schelpdiersector opgezet. Wekelijks kunnen schelpdieren worden onderzocht op de aan- of afwezigheid van gastro-enteropathogeen virus; het Norovirus. Door adequate afspraken en goede logistiek zijn resultaten binnen 24 uur beschikbaar, i.t.t. andere mariene-diagnostische laboratoria, die hiervoor minimaal een week of zelfs meerdere weken nodig hebben. Hierdoor kunnen schelpdiertransporteurs en -kwekers, binnen een dag op de hoogte zijn van de kwaliteit van het product.

Dit verbetert de voedselveiligheid en dus ook het lagere risico op het krijgen van een gastro-intestinale infectie van de consument. Een ander langlopend samenwerkingsverband heeft het lectoraat IMD afgesloten met Koppert Biological Systems. Koppert Biological Systems is een producent en leverancier voor de professionele land- en tuinbouw op het gebied van biologische gewasbescherming en natuurlijke bestuiving. Naast scholing en advies in moleculair biologische technieken, ondersteunt het lectoraat IMD de R&D van Koppert door het ontwikkelen en valideren van snelle moleculair diagnostische methoden om een betere service aan hun klanten te bieden. Op dit ogenblik loopt via het lectoraat Biodiversiteit een opdracht van Koppert op het gebied van “whole genome sequencing” van één van hun biologische producten.

Onderwijs en onderzoek

Alle onderzoeksprojecten worden door docenten en studenten in teamverband uitgevoerd. Om de continuïteit van het onderzoek te garanderen is een labcoördinator, Hinke Dekter en een analist, Seydi Tektas aangesteld. Zij begeleiden docenten en studenten bij hun onderzoek, beheren het lab instrumentarium en zijn verantwoordelijk voor de logistieke processen, waarbij alle processen, procedures, documenten en ruwe data zijn opgenomen in het Laboratorium Informatie en Management Systeem (LIMS). De studenten afkomstig van de diverse HLO opleidingen binnen het cluster Techniek (Biologie en Medisch Laboratoriumonderzoek, Chemie en Bio-informatica) en ook studenten van het MLO vinden hun plaats in het Toplab. Het zijn 3e en 4e jaars studenten, die hun minorstage “Molecular Diagnostics” of HLO/MLO stage en HLO/MLO afstudeeropdracht op het Toplab willen voltooien. De studenten leren zelfstandig onderzoek te doen en leren te rapporteren. Ze maken in het Toplab kennis met het eerder genoemde LIMS systeem. Helaas ontbreekt LIMS vooralsnog in het curriculum van de bacheloropleiding en maakt slecht een beperkt deel van de studenten hier in hun minorspecialisatie “Laboratoriummanagement en Kwaliteitszorg” kennis mee. Dit is in mijn ogen een onwenselijke situatie aangezien elk laboratorium, in de diagnostiek of het onderzoek, met een dergelijk systeem werkt of op korte termijn ermee gaat werken. LIMS is een software pakket waarin alle laboratoriumprocessen is opgenomen en beheerd, en op deze wijze de kwaliteit ervan waarborgt.

Alle ISO gecertificeerde laboratoria werken hiermee. Op het Toplab ondervinden de studenten de cultuur van de logistieke structuur binnen een moleculair diagnostisch laboratorium. Samen met de stagebegeleider communiceert de student ook direct met de opdrachtgever, het bedrijfsleven: “the young professional has born”.

Eén van de belangrijkste prestatieafspraken van het lectoraat is de inzet van de docent bij onderzoekswerkzaamheden in het Toplab. De kerntaak van het lectoraat IMD is de docent uit te dagen om het onderwijs te vernieuwen door het doen van onderzoek. Het lectoraat levert hiervoor de gereedschappen. De ervaring heeft me geleerd dat er een bewustwordingsproces bij de docent aan vooraf gaat; onderwijs en onderzoek gaan samen! Het is de opdracht van het lectoraat om de docent te motiveren om onderzoek te zien als een meerwaarde in de noodzakelijke onderwijsvernieuwing. Het onderzoek moet verdiepend zijn voor de docent. Onderzoeksopdrachten zijn van fundamenteel wetenschappelijke aard in een toegepaste context. De inzet van de docent, het kenniskringlid van het lectoraat, is van beperkte tijdsduur vanwege zijn of haar onderwijstaken. Dit levert voor het lectoraat een extra uitdaging in de tijdsplanning van het Toplabonderzoek. Samengevat is de taak van het lectoraat om de kennis en praktische vaardigheden van de docent op een hoger plan te tillen. In deze context levert het lectoraat een belangrijke bijdrage aan het ontwikkelplan van die docent en aan onderwijsvernieuwing.

Op dit moment levert het lectoraat een directe bijdrage aan het verdiepend onderwijs door het geven van enkele hoorcolleges waarin de praktijksituatie centraal staat. Bovendien levert het lectoraat zijn bijdrage in diverse minoren en is medeontwikkelaar van de internationale minor “Molecular Diagnostics”. Samenwerking met het Centrum Bioscience en Diagnostiek (post-HLO onderwijs) en het lectoraat kan een synergistische werking hebben. Het netwerk van het CBD biedt potentiële mogelijkheden om naast bijscholing van het personeel, ook ondersteuning van het bedrijf in Research & Development te leveren en er voor dat bedrijf of instelling een totaalpakket aangeboden kan worden.

Op dit moment verzorgt het lectoraat ondersteuning in het cursusprogramma door de organisatie van een masterclass en door het geven van enkele hoorcolleges voor diverse cursussen. Mijn wens is om de samenwerking tussen het CBD en het lectoraat te intensiveren. Het lectoraat moet garant staan voor opdrachten in het Honoursproject. Topstudenten hebben uitdagingen nodig en deze uitdagingen behoren lectoraten te leveren.

Ik moet helaas constateren dat de lector en het lectoraat niet bekend is bij de gemiddelde student van het cluster Techniek. Het is voor mij een belangrijke opdracht om de positie en de bekendheid van het lectoraat in de nabije toekomst te verbeteren. Het lectoraat moet vertegenwoordigd zijn in het onderwijs vanaf het prille begin. De eerstejaars student tot en met de afgestudeerde bachelor moeten “last” hebben van het lectoraat. Het onderzoek, kennisgeneratie en -overdracht van het lectoraat zou om die reden als een rode draad door het hele curriculum moeten lopen. Het nieuwe Centre of Expertise Genomics kan hiervoor een uitkomst bieden. Dit onderzoekscentrum zal opgebouwd worden door en grotendeels bestaan uit de lectoraten van het cluster Techniek, te weten Biodiversiteit en Innovatieve Moleculaire Diagnostiek met daaraan toegevoegd een nieuw te ontwikkelen lectoraat Bio-informatica. Het onderzoeksthema zal Health en Biodiversity worden met als tools genomics en bio-informatica.

Dankwoord

Onderwijsvernieuwing door onderzoek is een sterke wens van Hogeschool Leiden en m.n. van het cluster Techniek. Voor onderzoek in de Techniek was een laboratorium nodig, dat moest voldoen aan de kritische eisen van de moleculaire diagnostiek. Bovendien moest dit laboratorium volgestouwd worden met state-of-the-art apparatuur. De locatie van het laboratorium moest niet binnen de fysieke vierkante meters van het hogeschool terrein vallen, maar het liefst midden in het bedrijfsleven. Eisen en wensen van mij, die zonder al teveel problemen door het College van Bestuur van Hogeschool Leiden werden ingewilligd. Beste Paul en Agnita, mijn hartelijke dank hiervoor. Door jullie is het uithangbord van de hogeschool een dynamisch onderzoekscentrum geworden. Ik werd wel geacht hiervoor een tegendienst te bewijzen en Agnita Mur heeft me hier in grote regelmaat op gewezen. De reden dat we hier allemaal aanwezig zijn, is vooral aan haar te danken.

John van der Willik, clusterdirecteur Techniek en nog een hele batterij titels en functies erachter, wil ik meer dan hartelijk danken voor het vertrouwen in mij en de vrijheid in de keuze van onderzoek die hij me toelaat. Zijn sterk analytische geest werkt inspirerend, en in ons meestal informeel verlopende 3-wekelijks overleg worden onze wederzijdse vragen, opmerkingen en klachten met ruime aandacht voor detail besproken. De koffie, koek en andere zoetigheden zijn altijd in ruime mate aanwezig.

Mijn dank gaat ook zeker uit naar Hinke Dekter, mijn rechter- en linkerhand op het Toplab. Multitasken is haar dagelijkse bezigheid. Hinke is een vrolijke duizendpoot die streng maar rechtvaardig de studenten en docenten op het Toplab stuurt, adviseert en begeleid. Zij wordt daarbij ondersteund door Seydi Tektas, die een belangrijk nieuw doel in zijn leven heeft; het openen van schelpdieren en inspectie op “enge beestjes”.

Dank aan alle docenten van de kenniskring, het zijn er teveel om op te noemen, die een geweldige bijdrage hebben geleverd tijdens de kenniskring voortgangsbijeenkomsten op het Topperslab. Hun actieve onderzoeks-bijdragen, kritische opmerkingen en soms briljante ideeën hebben bijgedragen tot de ontwikkeling van dit kenniscentrum. Twee ervan, Claudia en Bep, mag ik inmiddels tot de permanente inventaris van het lectoraat rekenen. De energie en motiverende kracht die de docenten uitstralen geven mij de “drive” om hiermee door te gaan tot.....

Ik dank ook de enorme kudde met alle soorten van studenten. Van Hind en Vikash, die bij de wieg van het lectoraat hebben gestaan, tot de Dannies, Bastiaans, Andemariams en Rajesa's van nu. Stuk voor stuk enthousiaste mensen met passie voor onderzoek en grote bereidwilligheid tot keihard werken in het Toplab.

Dank aan Gerard Parlevliet en Bep van Pelt voor het kritisch doorlezen van onderdelen van deze lezing. Hun opmerkingen brachten mij op nieuwe ideeën en weerhielden mij van enige afdwalingen.

Dank Mascha, Hidde, Roos, José, Mariam, ma en “last but not least” Mehri, zij vormen een onmisbaar deel in mijn leven.

Ik heb Rotterdam verlaten en ingeruild voor Leiden, of nog beter
Tralala Leiden tralala!

Ik dank u allen voor uw komst.

Ik heb gezegd

Referenties

- Guns, Germs and Steel. The fates of Human Societies – Jared Diamond, 2013.
- The Peloponnesian War – Thucides, Amsterdam 1986.
- Plaques and People – William McNeill, Garden City New York 1976.
- Human Genetics – Friedrich Vogel and Arno Motusky, 2e Ed Springer Berlin 1986.
- Infectious Diseases: their evolution and eradication – Aidan Cockburn, Springfield Ill. 1967.
- Mummies, Diseases and ancient cultures – Aidan Cockburn & Eve Cockburn, Cambridge Univ Press 1983.
- Insights in the phylogeny and coding potential of microbiological dark matter – C. Rinke et al. Nature 2013.
- Phylogeny of bacterial and archeal genomes using conserved genes: supertrees and supermatrices. – J.A. Eisen, PloSONE 2013.
- Phylogeny and phylogenomic approaches to the analysis of microbial communities. – Social Biology of Microbial Communities, a report from the National Academy of Sciences Forum on Microbial Threats 2012.
- Sanitation: pragmatic works. – J.P. Mackenbach, Brit Med Journal 2007.
- Human Genome Project. www.genome.gov
- Metagenomics of the human intestinal tract. www.metahit.eu.
- Het einde van antibiotica – Rinke van den Brink, De Geus 2013.
- Ontwikkelingen en trends van moleculaire diagnostiek in het microbiologisch laboratorium. – W.B. van Leeuwen, Moleculaire Diagnostiek, 2e druk. 2013.
- Biofysische methoden. – W.B. van Leeuwen, K. Maquelin en M. Bruins, Moleculaire Diagnostiek, 2e druk, 2013.
- Biofysische methoden: nieuw klinisch microbiologische diagnostiek. – R. te Witt., A. van Belkum and W.B. van Leeuwen, Ned Tijdschr Med Microbiol 2012.
- Targets en Tools voor typering van MRSA in uitbraaksituaties. – W.B. van Leeuwen, Ned Tijdschr Med Microbiol 2012.
- The Role of New Technologies in Medical Microbiological Diagnosis and Research. – John P. Hays and W.B. van Leeuwen Eds, Bentham Books publishers, 2012.
- Molecular detection and identification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. – W.B. van Leeuwen and A. van Belkum. Molecular Microbiology: principles and practice. 2nd Edition. ASM press. Persing et al. Edts. 2010.

Curriculum vitea

Dr. Willem van Leeuwen was born on April 13th 1954 in Rotterdam, The Netherlands. He studied Microbiology on the University of Applied Science in Rotterdam (BSc in 1975) and specialized in Medical Biology on the University of Applied Science in Etten-Leur, The Netherlands (MSc in 1982).

In 2002 he wrote his thesis “Binary typing of *Staphylococcus aureus*” and became a specialist in Medical Molecular Microbiology at the Erasmus Medical Center Rotterdam, department of Medical Microbiology & Infectious Diseases. The population structure analysis and host-pathogen interaction of *Staphylococcus aureus* were the subjects of study during the post-doctoral phase in the department of Medical Microbiology & Infectious Diseases at the Erasmus MC Rotterdam. From august 2002 through 2013 he is responsible for the Molecular Diagnostics (validation and implementation of new diagnostic platforms) at the unit of Microbiology Diagnostics and became staff member in 2003. In February 2007 he was invited to become lecturer Innovative Molecular Diagnostics at the University of Applied Science of Leiden, the Netherlands and became coordinator of the Toplab in Leiden. Since September 2013 he works for the University of Applied Science of Leiden as full-time employee.

In 2003 he was appointed editor of Microbiology of the General Society of Microbiology and mini-review editor for FEMS Immunology and Medical Microbiology. Since 2009, he became editor of the Iranian Journal for Microbiology and review editor of the European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases.

He is organizer of:

- the post-graduate course “Molecular Diagnostics”, post graduate school Erasmus University Rotterdam, the Netherlands, since 2006;
- Tutor instructor of the master course “Infection and Immunity” at the Erasmus Medical Center Rotterdam, the Netherlands, since 2008;
- Staffmember / instructor of the Dutch National Committee for Medical-Biological Research Training (MMO) in the Netherlands since 2011;
- Member of the Dutch Society of Medical Microbiologist (NvMM) and the Study group of Molecular Microbiology of Infectious Diseases (WMDI) since 1996;
- Member of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) since 1996;
- Honorary member of the Iranian Society of Microbiologists since 2010.



Denk
Doe
Voel | *t*

.....



Hogeschool Leiden

Zernikedreef 11
2333 CK Leiden
Postbus 382
2300 AJ Leiden



071 - 518 88 00



leeuwen.van.w@hsleiden.nl



hsleiden.nl/lectoraten