

# Bacteriën als wapen

## Bacteria in battle

Mw. dr. ir. M.C. de Vries<sup>1</sup>, mw. dr. B.C.G. Voordouw<sup>2</sup>, dr. F.A.G. Reubsaet<sup>1</sup>

### SAMENVATTING

Bacteriën werden al ingezet in de strijd ver voordat hun bestaan bekend was. Die dreiging is nog steeds aanwezig in de vorm van bioterrorisme. Om hierop voorbereid te zijn, moet allereerst goede diagnostiek beschikbaar zijn om de bacteriën die gebruikt kunnen worden, te identificeren. Het herkennen van bacteriën die zijn vermeld op dreigingslijsten, in combinatie met signalen zoals een ziektebeeld dat afwijkt van het reguliere beeld (bijvoorbeeld respiratoir in plaats van cutaan) en toename van het aantal gevallen buiten de endemische regio of het seizoen, kunnen wijzen op bioterrorisme. De aandacht richt zich, net als bij een natuurlijke uitbraak, op het behandelen van patiënten en eventueel blootgestelden, bronopsporing en de veiligheid van verplegend en laboratoriumpersoneel. Dit artikel behandelt het bewust verspreiden van humaan pathogene bacteriën en de consequenties hiervan voor de medische praktijk.

(TIJDSCHR INFECT 2017;12(6):186-95)

### SUMMARY

Bacteria were used in battle long before any knowledge about their existence. This threat of bioterrorism is still present. To be prepared, good diagnostic methods to identify bacteria probably used for bioterrorism are needed. Presence of those bacteria, combined with signs like deviation from common clinical features (e.g. respiratory instead of cutaneous) and increased number of cases outside the endemic area or season, can indicate bioterrorism. Treatment of patients and exposed persons, source finding and safety of nursing and laboratory personnel is similar to a natural outbreak of those organisms. This article focuses on the use of human pathogenic bacteria in bioterrorism and consequences for medical practice.

### INLEIDING

Bacteriën werden al ingezet in de strijd ver voordat hun bestaan bekend was. Zo stuurden de Hittieten in Klein-Azië, 14 eeuwen voor Christus, rammen die waarschijnlijk geïnfecteerd waren met *Francisella tularensis* op hun vijand af om hen te verzwakken. Een ander bekend, maar moeilijk te verifiëren voorbeeld zijn de Mongolen die rond 1346 de lichamen van pestslachtoffers over de muren van het bezette Caffa (het tegenwoordige Feodosia op de Krim) gooiden. Door vluchtende inwoners brak een pestepidemie uit in Europa, waardoor meer dan 25 miljoen mensen omkwamen.<sup>1</sup>

In de 19<sup>e</sup> eeuw kwam microbiologische kennis beschikbaar die de basis legde voor grootschalige programma's voor biologische wapens. Vele landen, waaronder de Verenigde Staten, Rusland, Duitsland, Groot-Brittannië en Japan, ontwikkelden en testten deze wapens, bouwden productiefaciliteiten en legden voorraden aan.<sup>2,3</sup> Ook terroristen gebruikten bacteriën. Zo werden onder andere in 1984 saladebars van verschillende restaurants in Dallas in de Verenigde Staten besmet met *Salmonella* serovar Thyphimurium door een religieuze sekte die de verkiezingen wilde beïnvloeden. Er werden 751 mensen ziek, waarvan er 45 opgenomen werden in het

<sup>1</sup>wetenschappelijk medewerker Bijzondere Bacteriële Determinaties <sup>2</sup>arts-microbioloog, allen Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM). Correspondentie graag richten aan: mw. dr. ir. M.C. de Vries, wetenschappelijk medewerker Bijzondere Bacteriële Determinaties, afdeling Bacteriologische en Parasitologische Diagnostiek, Infectieziekteonderzoek, Diagnostiek en Screening, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Postbus 1, 3720 BA Bilthoven, e-mailadres: Maaik.de.Vries@rivm.nl  
Belangenconflict/financiële ondersteuning: geen gemeld.

**Trefwoorden:** Bioterrorisme, humaan pathogene bacteriën, toxines.

**Keywords:** Bioterrorism, human pathogenic bacteria, toxins.

ziekenhuis. In 2001 zijn brieven met *Bacillus anthracis*-sporen verstuurd, waardoor 22 mensen antrax opliepen, waarvan er 5 overleden. De reden hiervoor is nooit achterhaald, maar de vele poederbrieven die met verschillende doelen volgden, hebben veel economische schade veroorzaakt.<sup>1</sup>

Uit deze voorbeelden valt op te maken dat het gebruik van pathogenen van alle tijden is. Verder blijkt dat bacteriën gebruikt worden voor zowel militaire doeleinden (biologische oorlogsvoering) als voor burgerdoelen (bioterrorisme). Het Verdrag biologische wapens (1972), dat biologische oorlogsvoering verbiedt, is inmiddels door de meeste landen ondertekend. Bioterrorisme wordt echter nog steeds gebruikt om groepen mensen of regeringen te bedreigen en te demoraliseren. Dit kan ook door (dreigen met) het besmetten van planten of dieren, waardoor hongersnood of economische schade kan ontstaan.<sup>4</sup> Het Center for Disease Control (CDC) heeft een lijst opgesteld van bacteriën, virussen en bacteriële toxines waarvan aannemelijk is dat die gebruikt kunnen worden voor bioterrorisme.<sup>5</sup> Argumenten hiervoor zijn dat deze organismen potentieel grote impact op de volksgezondheid hebben met veel zieken of doden, gemakkelijk in grote hoeveelheden te produceren en te verspreiden zijn, zorgen voor angst in de publieke opinie en in eerste instantie lastig te diagnosticeren zijn. Deze lijst komt grotendeels overeen met de lijst van organismen gebruikt voor de biologische wapenprogramma's en is opgezet om verkoop, vervoer en onderzoek naar deze organismen te reguleren.<sup>3</sup> Er wordt onderscheid gemaakt tussen categorie A-bacteriën, die met grote waarschijnlijkheid gebruikt kunnen worden bij bioterrorisme, en categorie B-bacteriën, waarvan de waarschijnlijkheid iets kleiner is, maar nog steeds reëel (zie *Tabel 1*). Ook bedreigingen van de voedsel- en waterveiligheid vallen onder categorie B.<sup>5</sup> Dit artikel focust op het gebruik van humaan pathogene bacteriën bij bioterrorisme en de consequenties hiervan voor de medische praktijk.

## HUMANE DIAGNOSTIEK BIJ BIOTERRORISTISCHE DREIGING

Ziektebeelden van categorie A- en B-bacteriën (zie *Tabel 2*, pagina 189-92) beginnen vaak met aspecifieke symptomen, waardoor een verhoogd dreigingsniveau bij veel mensen leidt tot angst voor besmetting. Met snelle diagnostiek kunnen claims van bioterrorisme ontkracht of bevestigd worden. Hierdoor kunnen tijdig adequate maatregelen voor de volksgezondheid en de individuele patiënt genomen worden. Ten tijde van de antraxbrieven waren nog weinig goede diagnostische tests beschikbaar voor deze in West-Europa en Noord-Amerika in de kliniek zeldzaam voorkomende bacteriën (zie *Tabel 1*). Er zijn inmiddels technieken ontwikkeld die grote monsterstromen aankunnen en nauwelijks of geen

kweekstappen bevatten. Kweek vraagt namelijk om extra tijd en gezien de aard van het organisme is men verplicht om in faciliteiten met een hoger veiligheidsniveau (bioveiligheidsklasse 3 (BSL 3)) te werken.<sup>6</sup>

De meest gebruikte techniek voor veel van deze bacteriën is een specifieke PCR.<sup>7,8</sup> De PCR's zijn gebaseerd op detectie van het DNA van met name essentiële genen en/of virulentiekenmerken. Hiervoor wordt gekozen omdat essentiële genen nodig zijn voor groei, en virulentiekenmerken de ernst van het ziektebeeld bepalen. Deze genen kunnen dus niet zonder meer veranderd worden, waardoor ze én niet meer door de PCR gedetecteerd worden én toch functioneel (ziekmakend) blijven. Virulentiegenen, en dus targetgenen voor specifieke PCR's, kunnen echter tussen bacteriën uitgewisseld worden. Dit kan een fout-positieve uitslag opleveren. Dit soortvreemde DNA kan verkregen zijn door genetische modificatie of door natuurlijke uitwisseling van DNA tussen bacteriën. Zo hebben varianten van *Escherichia coli* en *Citrobacter koseri* het zogenoemde *plg*-gen, een veel gebruikt PCR-target voor *Yersinia pestis*.<sup>9,10</sup> In de reguliere patiëntendiagnostiek zal dit geen verwarring opleveren door het verschil in ziektebeelden. Wanneer echter een bioterroristische aanslag geclaimd wordt, moet een specifieke PCR aangevuld worden met speciesidentificatie. Met 'matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight'-massaspectrometrie (MALDI-TOF MS) is zo'n snelle identificatie mogelijk.

Na een primaire kweekstap genereert MALDI-TOF MS een spectrum van de massa van de cellulaire eiwitten, dat vergeleken wordt met spectra uit een database om tot identificatie te komen. Voorwaarde voor goede identificatie is dat het te identificeren organisme in de database voorkomt. Bij de in medisch microbiologische laboratoria veel gebruikte MALDI-TOF MS van Bruker (Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Duitsland) is een additionele database nodig voor agentia die mogelijk gebruikt worden voor bioterrorisme. De database van de Vitek MS (Biomerieux, Marcy l'Etoile, Frankrijk) bevat alleen de categorie A-bacteriën *B. anthracis* en *Y. pestis*. Doordat het grootste deel van het spectrum huishoudeiwitten bevat, hebben natuurlijke of bewuste veranderingen weinig invloed op de identificatie. Het nadeel is dat onderscheid tussen zeer nauw verwante species, zoals *Y. pestis* en *Y. pseudotuberculosis* of *B. anthracis* en *B. cereus*, met algemene databases vaak lastig te maken is (ongepubliceerde data). Ook het onderscheid tussen de *F. tularensis* subspecies is lastig te maken met de bestaande MALDI-TOF-databases, maar is met behulp van een specifieke database of met zogenoemde markerpieken wel mogelijk.<sup>11-13</sup> Onderscheid is essentieel omdat *F. tularensis* subspecies *tularensis* hoog virulent kan zijn en met name voorkomt in Noord-Amerika, terwijl de *F. tularensis* subspecies *holarctica* en *mediasiatica*

**TABEL 1.** Bacteriën die gebruikt kunnen worden bij bioterrorisme.

Verwekker	Ziekte	CDC-categorie <sup>5</sup>	Meldplicht*	Voorkomen**	Stabiliteit in het milieu
<i>Bacillus anthracis</i> <sup>15,19</sup>	Antrax	A	Groep C	Endemisch in Azië, Afrika, Amerika en Zuid- en Oost-Europa, <b>witte kuilen in Nederland</b>	Sporen overleven decennia in grond en dierlijke materialen zoals huiden en karkassen
<i>Clostridium botulinum</i> -toxine <sup>15,19,25</sup>	Botulisme	A	Groep C	<b>Zeldzaam wereldwijd</b>	Overleeft in (water)vogels, vissen en levensmiddelen; toxine breekt af onder invloed van zonlicht, hitte, aerosolvorming, hoge of lage pH
<i>Yersinia pestis</i> <sup>15,19</sup>	Pest	A	Groep B1	Endemisch in Afrika, Noord- en Zuid-Amerika, en Azië	Overleeft in knaagdieren en vlooiën
<i>Francisella tularensis</i> <sup>14,15,19</sup>	Tularemie (jagersziekte, hazenpest)	A	Groep C	<b>Noordelijk halfrond</b> , <i>F. tularensis</i> subspecies <i>tularensis</i> alleen in Noord-Amerika	Overleeft in water, muggen en steekvliegen, zoogdieren met name haasachtigen en knaagdieren
<i>Brucella spp</i> <sup>15,19</sup>	Brucellose	B	Groep C	Endemisch in delen van Afrika, Zuid- en Midden-Amerika, Zuid-Europa, het Midden-Oosten en Azië	Overleeft in landbouwhuisdieren en andere dieren waaronder zeezoogdieren
<i>Burkholderia mallei</i> <sup>15,28</sup>	Kwade droes	B	Geen	Zeldzaam in Azië, Afrika en Midden-Oosten	Overleeft in paardachtigen
<i>Burkholderia pseudomallei</i> <sup>15,28</sup>	Melioidose	B	Geen	(sub)tropische regio's, met name Zuid- en Zuidoost-Azië en het noorden van Australië	Overleeft in oppervlaktewater en modder
<i>Chlamydia psittaci</i> <sup>15,19</sup>	Psittacose	B	Groep C	<b>Endemisch wereldwijd in vogels</b>	Overleeft in vogels
<i>Coxiella burnetii</i> <sup>15,19</sup>	Q-koorts	B	Groep C	<b>Endemisch wereldwijd behalve Nieuw-Zeeland</b>	Overleeft in (landbouwhuis) dieren en teken
<i>Rickettsia prowazekii</i> <sup>15,19</sup>	Epidemische vlektyfus	B	Geen	<b>Endemisch wereldwijd</b>	Overleeft in klerluis

\* Meldplicht: groep B1 en C melden bij vaststellen. Bij groep B1 behoren gedwongen opname tot isolatie of thuisisolatie, gedwongen onderzoek en verbod van beroepsuitoefening tot de wettelijke maatregelen. Bij groep C kunnen geen wettelijke maatregelen opgelegd worden.

\*\* Vet gedrukt: aanwezigheid Nederland

**TABEL 2.** Ziektebeelden, behandeling en transmissie van bacteriën die voor bioterrorisme gebruikt kunnen worden.

Ziekte	Ziektebeeld	Incubatietijd	Symptomen
Antrax <sup>15,19</sup>	Cutaan (95% gevallen)	1-12 dg	Zweer met zwarte korst (eschar), oedemische zwelling evt. met hoofdpijn, lichte koorts en malaise evt. gevolgd door sepsis
	Gastro-intestinaal (<5% gevallen)	1-7 dg	Abdominaal: lijkt op acute buik Orofaryngeaal: dysfagie, koorts, lymfklierzwellling in nek en sepsis
	Respiratoir (zeer zeldzaam)	2-60 dg	Milde aspecifieke luchtwegklachten, na 2-4 dagen plotselinge hoge koorts, acute benauwdheid, cyanose, bloederig sputum of bloed opgeven
	'Injectional' <sup>29</sup>	1-10 dg	(Pijnloze) oedeem, blaren
Botulisme <sup>15,19,25</sup>	Slappe verlamming	2-8 dg, bij inhalatie mogelijk korter	Symmetrische, afdalende, slappe verlamming begint altijd met bulbaire paralyse, geen koorts
Pest <sup>15,19</sup>	Builenpest (96% gevallen)	2-8 dg	Koorts, hoofdpijn en koude rillingen, gevolgd door zeer pijnlijke lymfadenitis ('buil') diameter >10 cm met erythemateuze bedekkende huid
	Septische pest	2-8 dg	Alle kenmerken van gramnegatieve sepsis
	Longpest (zeldzaam)	1-6 dg	Ernstige longontsteking, met ophoesten van (bloederig) sputum, pijn op borst en kortademigheid
Tularemie <sup>15,19</sup>	Ulceroglandulair (45-85% gevallen)	1-14 dg	Ulcus en regionale lymfeklierzwellling
	Glandulair (10-25% gevallen)	1-14 dg	Regionale lymfeklierzwellling zonder waargenomen ulcus
	Oculoglandulair		Unilaterale conjunctivitis en regionale lymfeklierzwellling
	Orofaryngeaal (<5% gevallen)	1-14 dg	Exsudatieve stomatitis en faryngitis, regionale lymfeklierzwellling
	Intestinaal	1-14 dg	Ulceratieve enteritis, milde persisterende diarree tot acuut fataal met disseminatie naar andere organen
	Respiratoir (<5% gevallen)	1-14 dg	Atypische pneumonie
Brucellose <sup>15,19</sup>	Acuut	B 1 wk-7 mnd	Geringe, golvende koorts en hoofdpijn, malaise, moeheid, zweten, artralgieën, spontane abortus, complicaties onder andere bacteriële endocarditis, nefritis, meningo-encefalitis, osteomyelitis en orchitis
	Chronisch		Eetlustvermindering en gewichtsverlies

Behandeling*	Transmissie	Bron
Feneticilline (4 dd 500 mg) of amoxicilline (4 dd 500 mg), 7-10 dg	Beschadigde huid	Dode/zieke dieren of materiaal daarvan, opgraven van witte kuilen
Penicilline G IV,(6-4 dd 2-4 miljoen IE) minimaal 10-14 dg	Ingestie	Besmet vlees
Zie gastro-intestinaal	Inademing van sporen	Gedroogde huiden, karkassen of besmette kwasten, <b>bioterrorisme</b>
Ciprofloxacin IV (4 dd 400 mg) + clindamycine IV (4 dd 600 mg) + bijvoorbeeld penicilline G 4 MU (4-6 dd) + flucloxacilline (1 g 4 dd) + metronidazol (500 mg 2 dd)	Injectie van sporen	Besmette heroïne
Voedselgerelateerd: Botulinusantitoxine (tegen serotype A, B en E), test eerst overgevoeligheid	Absorptie toxine door slijmvlies of wonden	Levensmiddelen (onder andere honing, zelf ingemaakt voedsel, vis), heroïne, bij warm weer in vissen en watervogels, <b>bioterrorisme</b> , Infantiel botulisme: toxineproductie na kolonisatie darm met <i>C. botulinum</i>
Gentamicine IV of IM (1 dd 5 mg/kg) 10 dg óf streptomycine IM ( 2 dd 15 mg/kg max 2g dd) 10 dg	Vlooiende beet	Besmette knaagdieren, vooral ratten
Zie builenpest	Vlooiende beet, complicatie builenpest	Doorbraak van een 'buil' (50% builenpestgevallen) of primaire infectie
Zie builenpest	Inhalatie aerosolen, builenpest	Direct contact zieke mensen of dieren, organen of vlees hiervan, complicatie builen- of septische pest, laboratoriumactiviteiten, <b>bioterrorisme</b>
Gentamicine IM of IV (5 mg/kg dd) 10 dg of doxycycline IV (100 mg bdd) 14-21 dg of ciprofloxacin (400 mg bdd) 10 dg	Beschadigde huid, arthropodenbeet	Arthropoden, direct contact met geïnfecteerd dier
Zie ulceroglandulair	Beschadigde huid, arthropodenbeet	Arthropoden, direct contact met geïnfecteerd dier
Zie ulceroglandulair	Oog-slijmvliezen	Aanraken oog met gecontamineerde vingers
Zie ulceroglandulair	Ingestie	Geïnfecteerd vlees of water
Zie ulceroglandulair	Ingestie	Geïnfecteerd vlees of water
Zie ulceroglandulair	Inademen aerosolen	Aerosolen uit milieu (stof, water, dode dieren), laboratoriumactiviteiten, <b>bioterrorisme</b>
Gentamicine IV (5 mg/kg 1 dd) 14 dg + doxycycline PO (100 mg 2 dd) 6 wk	Beschadigde huid, slijmvliezen, ingestie of inhalatie	Besmette dieren, placenta's of geaborteerde foetussen, (producten van) rauwe melk, laboratoriumactiviteiten, <b>bioterrorisme</b> , mens-op-mensoverdracht zeldzaam
Spondylodiscitis: gentamicine IV (5 mg/kg 1 dd) 14-21 dg + doxycycline PO (100 mg 2 dd) 12 wk	n.v.t.	Onbehandelde acute brucellose

**TABEL 2** *vervolg*. Ziektebeelden, behandeling en transmissie van bacteriën die voor bioterrorisme gebruikt kunnen worden.

Ziekte	Ziektebeeld	Incubatietijd	Symptomen
Kwade droes <sup>15,28</sup>	Zie melioidose	Zie melioidose	Zie melioidose
Melioidose <sup>15,28</sup>	Respiratoir	10-14 dg	Pneumonie, longabscessen, pleurale effusie
	Sepsis	1-5 dg	Hoofdpijn, lichtgevoelig, spierpijn, blozen, cyanose, geelzucht, huidlaesies, lymfadenopathie, vergroting milt of lever
	Lokale infectie	1-5 dg	Hersen-, huid-, inwendige abscessen, lymfadenitis, osteomyelitis, septische artrose, parotidabscessen (kind)
	Chronisch	jaren	Meerdere etterbuilen op huid of in spieren, milt, lever
Psittacose <sup>15,19</sup>		5 dg-4 wk	Asymptotisch of griepachtig ziektebeeld met koorts, hevige hoofdpijn, spierpijn, hoesten, rillen en zweten, of pneumonie of sepsis met multi-organafalen
Q-koorts <sup>15,19</sup>	Acuut (60% asymptomatisch)	2-48 dg	Griepachtig ziektebeeld mild tot ernstig beloop, pneumonie, afwijkingen in alle organen mogelijk, zwangerschapscomplicaties
	Chronisch		Endocarditis, vasculaire afwijking, zeldzaam: chronische hepatitis en longafwijkingen, osteo-articulaire infectie
Epidemische vlektyfus <sup>15,19</sup>		Ongeveer 1 wk	Acuut begin met ernstige hoofdpijn, rillingen, koorts en spierpijn, neurologische verschijnselen. Na ongeveer 5 dagen huiduitslag

\*zie ook LCI-richtlijnen; *IV*=intraveneus, *IM*=intramusculair, *PO*=oraal, *dd*=dagelijkse dosis, *dg*=dagen, *mnd*=maanden

minder virulent zijn en op respectievelijk het hele noordelijk halfrond en in centraal-Azië voorkomen. Het wereldwijd voorkomende *F. tularensis* subspecies *novicida* is nauwelijks virulent.<sup>14</sup>

Kweek van deze hoog-pathogene bacteriën bij een uitbraak is niet wenselijk in de routinediagnostiek. Het is echter van groot belang om het antibiogram te bepalen inclusief antibioticumresistentie, en om bronopsporing met behulp van typering en onderzoek naar veranderingen in het organisme van onder andere virulentiekenmerken (genetische of natuurlijke modificatie) uit te kunnen voeren. In sommige gevallen is kweek ook essentieel voor de diagnostiek, zoals bij verdere determinatie van *Brucella*. Wanneer het een tot dan toe onbekende bacterie betreft, kan voor identificatie gebruikgemaakt worden van onder andere 16S-rDNA-sequentieanalyse, uitgebreide biochemische reacties en vetzuuranalyse. Serologie speelt geen rol bij acute besmettingen. Wel kan

met terugwerkende kracht, mits betrouwbare (sensitieve en specifieke) en gevalideerde assays beschikbaar zijn, gekeken worden naar de omvang van de uitbraak. Ook kan er zicht op asymptotische besmettingen verkregen worden.

Beschikbaarheid van bijzondere diagnostiek in Nederland, inclusief de organismen die mogelijk gebruikt worden voor bioterrorisme, is terug te vinden op de website van het RIVM ([www.rivm.nl](http://www.rivm.nl)) onder de specifieke ziekten.

## NATUURLIJKE OF BEWUSTE BESMETTING

Diagnostische methoden maken geen onderscheid tussen natuurlijke of bewuste besmettingsbronnen. De in *Tabel 1* genoemde bacteriën kunnen allemaal op natuurlijke wijze verspreid worden en dus mensen infecteren. Natuurlijke verspreiding van zeldzame micro-organismen zie je bijvoorbeeld door import na verblijf in een endemisch gebied. Het

Behandeling*	Transmissie	Bron
Zie melioidose	Zie melioidose	Paardachtigen
Imipenem IV (50 mg/kg/dag tot 1 g 4 dd) of meropenem IV (500 mg-1 g 3dd), 6-12 mnd	Inhalatie aerosolen, hematogene verspreiding	Modder en oppervlaktewater, <b>bioterrorisme</b>
Imipenem IV (50 mg/kg/dag tot 1 g 4 dd) of meropenem IV (500 mg-1 g 3 dd) 2 wk, aansluitend 6 maanden oraal	Inhalatie, huid, ingestie	Modder en oppervlaktewater, buitenkant groente en fruit
Imipenem (50 mg/kg/dag tot 1 g 4 dd) of meropenem IV (500 mg-1 g 3 dd), 20 wk	Via beschadigde huid of slijmvliezen	Modder en oppervlaktewater, buitenkant groente en fruit
Imipenem (50 mg/kg/dag tot 1 g 4 dd) of meropenem IV (500 mg-1 g 3 dd), 20 wk	n.v.t.	Eerdere (lokale) infectie
Doxycycline (100 mg 1 dd) 10-14 dg met 1x oplaaddosis 200 mg op eerste dag	Inhalatie elementair deeltje (inactieve, infectieuze stadium)	(Oppedroogde) excreta van geïnfecteerde vogels, <b>bioterrorisme</b> , mens-op-mensoverdracht zeldzaam
Spontaan herstel in 1-2 wk, behandeling vermindert kans complicaties: doxycycline (1 dd 200 mg) 14-21 dg	Inhalatie aerosolen, mogelijk ingestie, arthropodenbeet	(Ingedroogde) excreta van geïnfecteerde dieren, in Nederland met name kleine herkauwers als schapen en geiten, arthropoden, <b>bioterrorisme</b> , mens-op-mensoverdracht zeldzaam
Doxycycline (1 dd 200 mg) + hydroxychloroquine (3 dd 200 mg) minimaal 1,5 jaar	1-3% acute Q-koorts	n.v.t.
Doxycycline (2 dd 100 mg) 7 dg (of tot 2-3 dg na verdwijnen koorts)	Beschadigde huid	Kleerluis, <b>bioterrorisme</b>

vaststellen van de reis- en verblijfplaatsen van patiënten is dan ook van essentieel belang. In sommige gevallen, zoals beschreven voor *Burkholderia pseudomallei*, kan een besmetting ook jaren later nog tot ziekteverschijnselen leiden.<sup>15</sup> Brononderzoek, ook bij besmetting van één enkele patiënt met een aan bioterrorisme gerelateerd organisme, is nodig om een eerste slachtoffer van een bioterroristische aanslag te onderscheiden van een zeldzame natuurlijke besmetting. In het voorjaar van 2007 viel het een oplettende huisarts uit Herpen op dat hij in korte tijd erg veel patiënten met longontsteking in zijn praktijk zag. Dit was het begin van de grootste Q-koortsuitbraak ooit beschreven met 3.525 bevestigde gevallen, waarvan meer dan 699 ziekhuisopnamen. Aangezien Q-koorts vaak asymptomatisch of mild verloopt, ligt het totale aantal infecties met *Coxiella burnetii* vele malen hoger. Zoals inmiddels bekend is, is deze uitbraak veroorzaakt door besmette schapen en geiten. Bij de eerste gevallen

van onbekende pneumonie moeten echter alle diagnostische opties open gehouden worden. Ruimen van de besmette bedrijven, verplicht inenten van melkschapen en -geiten en vergaande hygiënemaatregelen hebben de uitbraak in 2010 tot staan gebracht.<sup>16</sup>

Anthrax is vooral bekend van de associatie met poederbrieven, maar kan ook via andere onverwachte wegen opgelopen worden. Zo zijn er verschillende meldingen uit onder andere het oosten van Londen (Engeland) en Pennsylvania (Verenigde Staten) van personen die anthrax hebben opgelopen door het maken van trommels met huiden die waren geïmporteerd uit gebieden waar *B. anthracis* endemisch is.<sup>17,18</sup> Door de lange levensvatbaarheid van de sporen veroorzaken deze na inademing nog steeds anthrax. In Nederland worden nog steeds levensvatbare sporen gevonden in zogenoemde witte kuilen, waarin tot 1942 met *B. anthracis* besmet vee werd begraven. De kans op besmetting met anthrax door

(graaf)werkzaamheden in dergelijke witte kuilen beperkt zich tot cutane antrax wanneer de sporen door de beschadigde huid dringen. Inhalatie-antrax is hierbij onwaarschijnlijk en alleen voor zeer droge en stoffige omstandigheden beschreven.<sup>19</sup> Tussen 2009 en 2013 kwam er ook antrax voor onder Europese injecterende heroïnegebruikers. Opvallend aan deze uitbraak was het onbekende ziektebeeld. De specifieke eschar van cutane antrax ontbrak, terwijl een oedeem vaak wel aanwezig was.<sup>20</sup> Typering van de stammen met verschillende moleculaire technieken liet zien dat de uitbraakstammen nauw verwant waren met een stam uit Turkije. Uit forensisch onderzoek bleek het om heroïne te gaan die vanuit Afghanistan via Turkije naar Europa was gekomen. De heroïne kan besmet worden door versnijden met besmet beendermeel of smokkelen in besmette huiden.<sup>20,21</sup>

Een plotselinge en onverklaarbare toename van niet-endermische bacteriën is, ondanks bovenstaande voorbeelden, een signaal voor mogelijk bewuste verspreiding. Uitbraken van organismen buiten het seizoen kunnen ook een aanwijzing zijn voor onnatuurlijke verspreiding, mits de gebruikte methoden een acute infectie terecht aantonen. Testen van de seroprevalentie veroorzaakte tijdens de Nederlandse Q-koortsuitbraak mogelijk een hoger aantal meldingen in het winterseizoen dan verwacht.<sup>16</sup>

Het te verwachten aantal besmettingen bij het bewust verspreiden van pathogenen is afhankelijk van de manier van verspreiden, de infectieuze dosis van het organisme en de stabiliteit in het milieu. Verspreiding van een hoog-pathogene bacterie via de lucht, in een drukbevolkt gebied, zal potentieel veel mensen kunnen besmetten en voor grote paniek zorgen. Aerogene verspreiding is voor veel van de beschreven organismen een effectieve manier van verspreiden, veroorzaakt een ernstig ziektebeeld en de infectieuze dosis is laag (zie Tabel 2). Bij aerogene verspreiding van *F. tularensis* kunnen bijvoorbeeld minder dan 10 bacteriën besmetting veroorzaken.<sup>14</sup> Pleuropulmonaire pneumonie is niet het van nature meest voorkomende ziektebeeld bij deze bacterie (zie Tabel 2) en attendeert op mogelijk bewuste verspreiding. *F. tularensis* overleeft slecht bij aerogene verspreiding en zal maar gedurende korte tijd slachtoffers maken. *C. burnetii*, daarentegen, is stabiel in het milieu en zal dus veel langer besmettingen veroorzaken; pneumonie ontwikkelt zich doorgaans pas in de tweede week van de ziekte.<sup>22</sup> *Y. pestis* geeft pneumonie secundair aan builenpest, tenzij (opzettelijk) arogeen verspreid. Mens-op-mensoverdracht van *Y. pestis* komt voor bij intensief contact op korte afstand.<sup>23</sup> Een bijzondere vorm van aerogene verspreiding is via de post met sporenvormende bacteriën zoals bij de antraxbrieven in 2001. Verspreiding via voedsel is voor veel van de genoemde organismen ook een mogelijkheid (zie Tabel 2) en zal gezien de aard van de

klachten niet snel leiden tot diagnostiek gericht op deze bacteriën. Besmetting van drinkwater is minder effectief door de snelle verdunning van het agens.<sup>24</sup> Mens-op-mensoverdracht is voor al deze hoog-pathogene bacteriën, op *Y. pestis* na, zeer beperkt. Aangezien veel van deze bacteriën zoönotisch zijn of overleven in water, grond of modder, kan na een aerogene verspreiding een secundaire uitbraak ontstaan. Voor *B. anthracis* en *C. burnetii* kan dit eveneens via de lucht plaatsvinden; bij de andere bacteriën is dit onwaarschijnlijk. Builenpest wordt veroorzaakt na massale rattensterfte, waardoor met *Y. pestis* besmette vlooien overspringen naar de mens. Deze route ligt in Nederland voor zowel bewuste als natuurlijke verspreiding niet voor de hand, aangezien ratten actief worden bestreden.

Bacteriële toxines zijn wellicht ook effectief als bioterroristisch agens. Toxine vermeerdert in tegenstelling tot bacteriën niet na verspreiding. *Clostridium botulinum* produceert, net als *C. argentinense*, *C. baratii* en *C. butyricum*, stabiele en zeer giftige neurotoxines. Eén gram in kristallijne vorm is voldoende om een miljoen mensen te doden. De toxines worden industrieel geproduceerd voor onder andere cosmetische behandelingen (botox). Verspreiding naar grote groepen mensen is lastig door de snelle afbraak onder invloed van zonlicht, en doordat besmetting alleen plaatsvindt door inhalatie of ingestie en niet via de intacte huid. Over inhalatiebotulisme is weinig bekend; experimenten met muizen veroorzaakten naast de bekende symptomen ernstige longschade.<sup>25</sup>

## RESPONS

Om adequaat te kunnen reageren op (bewuste) verspreiding van bacteriën geldt voor de meeste van deze organismen een meldingsplicht (zie Tabel 1). Melding bij de GGD van *B. pseudomallei*, *B. mallei* en *Rickettsia prowazekii* is niet verplicht, maar wel aan te raden wanneer de besmettingsbron onduidelijk is. Ook is het actief informeren van andere artsen en laboratoria over de gevonden infectie en specifieke kenmerken van de ziekte en de bacterie belangrijk voor het herkennen en achterhalen van andere mogelijke gevallen. Dit kan met behulp van de e-mailservice (lab)inf@ct of via het signaleringsoverleg, beide gecoördineerd door het Centrum Infectieziektebestrijding (CIb, RIVM).<sup>26</sup> Het identificeren van zoveel mogelijk gevallen is de basis voor bronopsporing en maakt inschatting van de grootte van het probleem mogelijk.

Voor individuele patiënten is vanzelfsprekend een adequate behandeling noodzakelijk (zie Tabel 2). Met het vaststellen van antibioticagevoeligheid wordt eventuele (bewust ingebouwde) resistentie aangetoond en kan een juiste behandeling ingesteld worden. Verder is het essentieel vast te stellen wie blootgesteld zijn, waarna er voor gekozen kan worden



## AANWIJZINGEN VOOR DE PRAKTIJK

- 1** Hoog-pathogene bacteriën die gebruikt kunnen worden voor bioterrorisme veroorzaken ook in Nederland infecties.
- 2** Het ziektebeeld, het aantal patiënten, het voorkomen van deze organismen buiten de regio waar ze endemisch zijn of buiten het normale ziekte-seizoen, of de claim van een aanslag kunnen een indicatie voor bewuste verspreiding zijn.
- 3** De respons in de gezondheidszorg komt overeen met de respons op een natuurlijke uitbraak met hetzelfde organisme.
- 4** De kans op paniek en onnodige druk op de gezondheidszorg kan met goede en snelle diagnostiek en duidelijke communicatie hierover verminderd worden.
- 5** De diagnostiek van infecties die worden veroorzaakt door bacteriën die op de lijst staan als potentieel bioterroristische agentia, wordt ernstig bemoeilijkt door het ontbreken van deze species in de standaard MALDI-TOF MS-database van Bruker en doordat de database van de Vitek MS slechts *B. anthracis* en *Y. pestis* bevat.
- 6** Beschikbaarheid van bijzondere diagnostiek in Nederland, inclusief de organismen die mogelijk gebruikt worden voor bioterrorisme, is terug te vinden op de RIVM-website ([www.rivm.nl](http://www.rivm.nl)) onder de specifieke ziekten.

deze mensen profylactisch te behandelen. Het testen van iedereen die mogelijk blootgesteld is, maar geen symptomen vertoont, is niet altijd zinvol. De besmetting kan nog niet detecteerbaar zijn, en in het geval van zeldzame of nieuwe verwekkers zijn de beschikbare methoden vaak onvoldoende betrouwbaar of niet beschikbaar. Het informeren van het publiek wanneer medische hulp gezocht moet worden en wanneer dat niet relevant is, draagt bij aan het voorkómen van paniek. Een telefonische hulplijn kan veel druk op de gezondheidszorg wegnemen en bijdragen aan de rust in de samenleving.<sup>27</sup>

Hoewel deze organismen, op *Y. pestis* na, nauwelijks van mens op mens overdraagbaar zijn, worden er gezien de ernst van de infecties bij detectie hiervan extra beschermingsmiddelen geadviseerd voor verplegend personeel.<sup>19</sup> Laboratoriumpersoneel loopt meer risico's door het werken met een hoge concentratie van deze organismen. Er zijn voor onder andere *Y. pestis*, *F. tularensis* en *Brucella* spp meerdere gevallen beschreven van laboratoriumbesmettingen (zie Tabel 2). Het reduceren van aerosolvormende stappen met infectieus materiaal en werken onder BSL 3-condities verkleinen dit risico. Indien pas tijdens de diagnostiek geconcludeerd wordt dat er met een mogelijk hoog-pathogeen organisme gewerkt wordt en er onvoldoende beschermingsmiddelen zijn gebruikt, is snelle bevestiging van de identiteit van het organisme noodzakelijk om het tijdig starten met profylaxe mogelijk te maken. Kennis van het organisme kan voor het bemonsteren van de omgeving veel werk besparen. Zo is bijvoorbeeld bij ver-

spreiding van *Brucella*, dat alleen in mens en dier overleeft, bemonsteren van water en bodem niet nodig (zie Tabel 1). Onnodige druk op de (patiënten)diagnostiek wordt zo vermeden.

## CONCLUSIE

Het optreden van onverwacht veel ziektegevallen met een bijzonder ziekteverloop, veroorzaakt door bacteriën die bekend zijn om hun mogelijke gebruik bij bewuste verspreiding, kan wijzen op bioterrorisme. Ook zijn het voorkomen buiten het endemisch gebied van een micro-organisme of buiten het seizoen aanwijzingen hiervoor. In principe kan er gehandeld worden als bij een natuurlijke uitbraak, maar het is belangrijk ongewone omstandigheden te rapporteren aan de betreffende autoriteiten. Extra veiligheidsmaatregelen bovenop de reeds bestaande regelgeving (voor natuurlijke uitbraken) zijn niet nodig.

## REFERENTIES

1. Barras V, Greub G. History of biological warfare and bioterrorism. *Clin Microbiol Infect* 2014;20:497-502.
2. Morse SA. Historical Perspectives of Microbial Bioterrorism. In: Anderson B, Friedman H, Bendinelli M, editors. *Microorganisms and Bioterrorism*. Boston, MA: Springer US; 2006. p. 15-29.
3. Martin JW, Christopher GW, Eitzen EM. History of biological weapons: from poisoned darts to intentional epidemics. In: Dembek Z, editor. *Textbooks of military medicine Medical aspects of biological warfare*. Washington D.C., U.S.A.: Borden Institute; 2007. p. 1-20.

4. Keremidis H, Appel B, Menrath A, et al. Historical perspective on agroterrorism: lessons learned from 1945 to 2012. *Biosecur Bioterror* 2013;11(Supplement 1):S17-S24.
5. Rotz LD, Khan AS, Lillibridge SR, et al. Public health assessment of potential biological terrorism agents. *Emerg Infect Dis* 2002;8:225-30.
6. Agterberg M, van den Berg L, Bitter FM, et al. *Veilig werken met micro-organismen, parasieten, en cellen in laboratoria en andere werkruimten*. 4 ed. Maas-luis, Nederland: KNVM; 2016. 88 p.
7. Jones SW, Dobson ME, Francesconi SC, et al. DNA assays for detection, identification, and individualization of select agent microorganisms. *Croat Med J* 2005;46:522-9.
8. Diagnostisch Vademecum Infectieziekten. Te raadplegen op: [http://www.rivm.nl/Onderwerpen/I/Infectieziekte\\_informatie\\_voor\\_professionals/Diagnostiek/Diagnostisch\\_Vademecum\\_Infectieziekten](http://www.rivm.nl/Onderwerpen/I/Infectieziekte_informatie_voor_professionals/Diagnostiek/Diagnostisch_Vademecum_Infectieziekten)
9. Hansch S, Cilli E, Catalano G, et al. The pla gene, encoding plasminogen activator, is not specific to *Yersinia pestis*. *BMC Res Notes* 2015;8:535.
10. Armougom F, Bitam I, Croce O, et al. Genomic insights into a new *Citrobacter koseri* strain revealed gene exchanges with the virulence-associated *Yersinia pestis* pPCP1 plasmid. *Front Microbiol* 2016;7:340.
11. Seibold E, Maier T, Kostrzewa M, et al. Identification of *Francisella tularensis* by whole-cell matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry: fast, reliable, robust, and cost-effective differentiation on species and subspecies levels. *J Clin Microbiol* 2010;48:1061-9.
12. Karatuna O, Celebi B, Can S, et al. The use of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in the identification of *Francisella tularensis*. *Bosn J Basic Med Sci* 2016;16:132-8.
13. Durighello E, Bellanger L, Ezan E, et al. Proteogenomic biomarkers for identification of *Francisella* species and subspecies by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Anal Chem* 2014;86:9394-8.
14. Reubsaet FAG. Het genus *Francisella* en tularemie. *Tijdschr Infect* 2015;10:176-81.
15. Török ME, Cook FJ, Moran E. *Oxford handbook of infectious diseases and microbiology*. New York: Oxford University Press Inc.; 2009.
16. Van der Hoek W, Dijkstra F, Schimmer B, et al. Q fever in the Netherlands: an update on the epidemiology and control measures. *Euro Surveill* 2010;15(12).
17. Anaraki S, Addiman S, Nixon G, et al. Investigations and control measures following a case of inhalation anthrax in East London in a drum maker and drummer. *Euro Surveill* 2008;13(51).
18. Nguyen TQ, Clark N, Karpati A, et al. Public health and environmental response to the first case of naturally acquired inhalational anthrax in the United States in 30 years: infection of a New York city resident who worked with dried animal hides. *J Public Health Manag Pract* 2010;16:189-200.
19. LCI. LCI-richtlijnen. Te raadplegen op [http://rivm.nl/Documenten\\_en\\_publicaties/Professioneel\\_Praktisch/Richtlijnen/Infectieziekten/LCI\\_richtlijnen](http://rivm.nl/Documenten_en_publicaties/Professioneel_Praktisch/Richtlijnen/Infectieziekten/LCI_richtlijnen)
20. Price EP, Seymour ML, Sarovich DS, et al. Molecular epidemiologic investigation of an anthrax outbreak among heroin users, Europe. *Emerging Infect Dis* 2012;18:1307-13.
21. Grunow R, Klee SR, Beyer W, et al. Anthrax among heroin users in Europe possibly caused by same *Bacillus anthracis* strain since 2000. *Euro Surveill* 2013;18(13).
22. Lightfoot NF, Lloyd G. *Coxiella burnetii*. In: Borriello SP, Murray PR, Funke G, editors. *Topley & Wilson's Microbiology and microbial infections*. Bacteriology volume 2. London, UK: Hodder Arnold; 2005. p. 2077.
23. Dennis DT, Inglesby TV, Henderson DA, et al. Tularemia as a biological weapon: Medical and public health management. *JAMA* 2001;285:2763-73.
24. Anderson PD, Bokor G. Bioterrorism: pathogens as weapons. *J Pharm Pract* 2012;25:521-9.
25. Villar RG, Elliott SP, Davenport KM. Botulism: the many faces of botulinum toxin and its potential for bioterrorism. *Infect Dis Clin North Am* 2006;20:313-27, ix.
26. Rahamat-Langendoen JC, van Vliet JA, Suijkerbuijk AW. Recognition of threats caused by infectious diseases in the Netherlands: the early warning committee. *Euro Surveill* 2006;11:242-5.
27. Rubin GJ, Dickmann P. How to reduce the impact of "low-risk patients" following a bioterrorist incident: lessons from SARS, anthrax, and pneumonic plague. *Biosecur Bioterror* 2010;8:37-43.
28. Bossi P, Tegnell A, Baka A, et al. Bichat guidelines for the clinical management of glanders and melioidosis and bioterrorism-related glanders and melioidosis. *Euro Surveill* 2004;9:E17-8.
29. Hicks CW, Sweeney DA, Cui X, et al. An overview of anthrax infection including the recently identified form of disease in injection drug users. *Intensive Care Med* 2012;38:1092-104.

ONTVANGEN 29 MAART 2017, GEACCEPTEERD 2 AUGUSTUS 2017.