

Rijksinstituut voor Volksgezondheid  
en Milieu  
*Ministerie van Volksgezondheid,  
Welzijn en Sport*

*Van de vos Reinaerde: zijn  
wormen zijn geen fabels*

*Joke van der Giessen  
en Titia Kortbeek*

3 december zoonosensymposium



Fabel is een korte, verzonden vertelling die een zedenles aanschouwelijk voorstelt



Jean de La Fontaine

2 1621-1695



Van den vos Reynaerde (ca. 1275-1300): Epos. De vos wordt beschreven als uitgesproken demonisch: hij is wreed, bedrieglijk, hebzuchtig, vals, ontuchtig en genadeloos.

Fabel: le corbeau et le renard  
'vleiers leven ten koste van degenen die luisteren'

## Slide 2

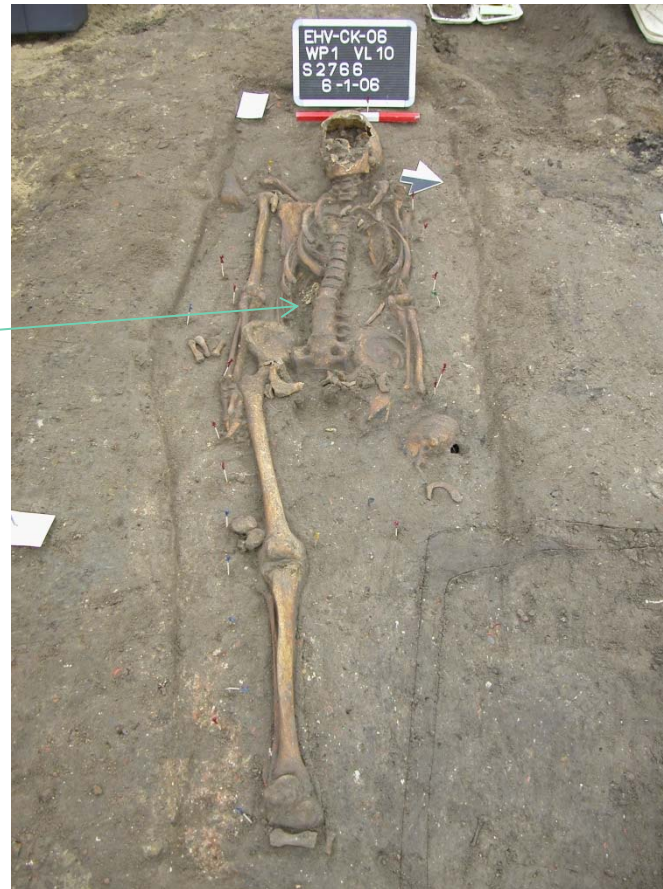
---

j1

joke, 11/22/2013



# Middeleeuwse opgravingen en paleoparasitologie in Eindhoven

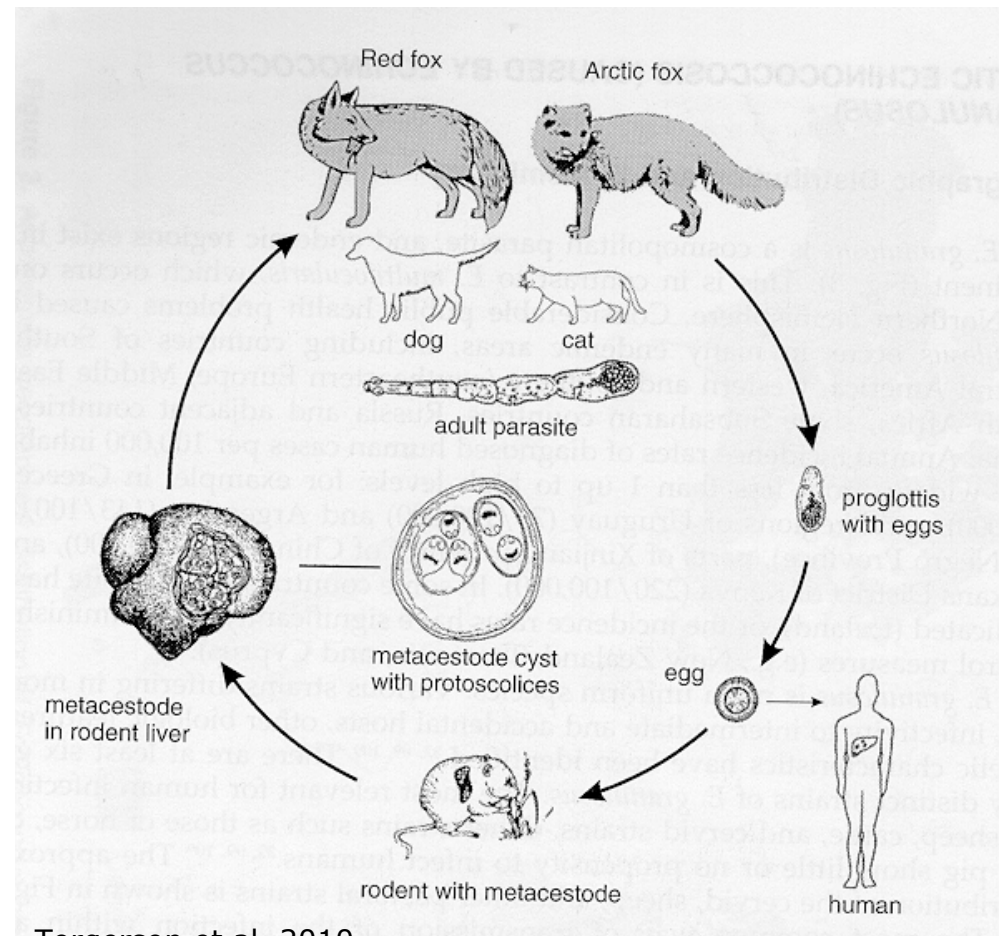
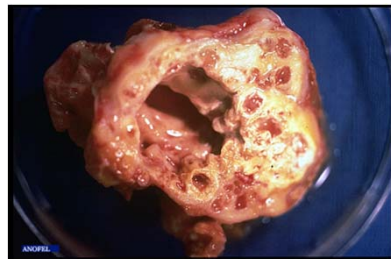


Bron: Marga Lambrechtse en Joeske Nollen, Eindhoven



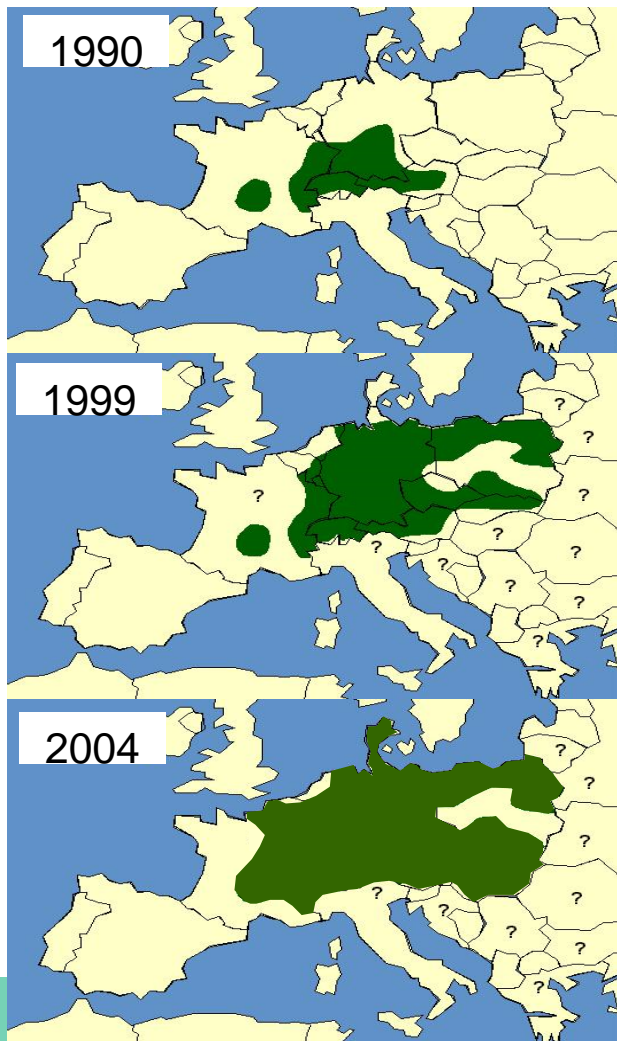
## *Echinococcus multilocularis* = een zoönose

- Vossenlintworm
- Intestinale parasiet
- Zoonotisch

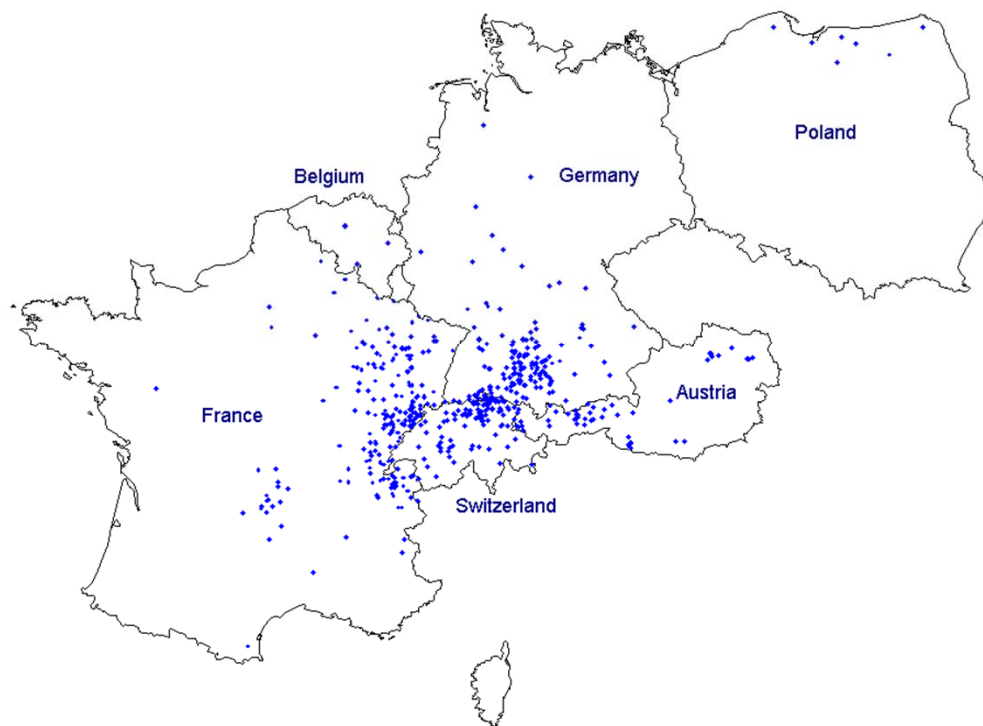




# Geografische verspreiding in Europa



Humane patienten met alveolair echinococcosse (1982-2000):

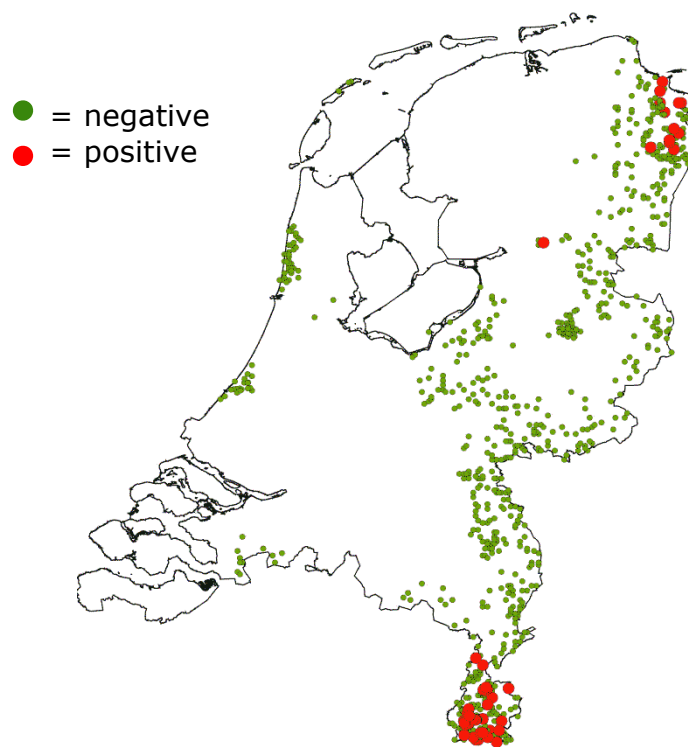


Kern et al, EID 2003



## *E. multilocularis* in Nederland

- Parasiet voor het eerst aangetoond in vossen in 1996-1997 in Limburg en Groningen.

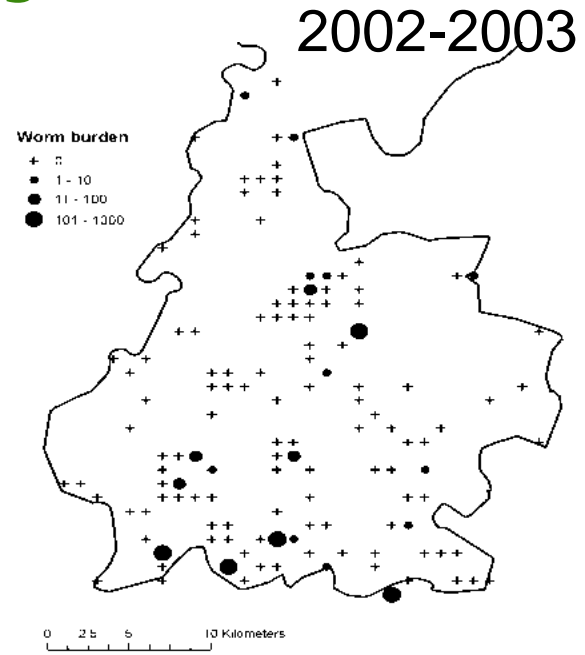
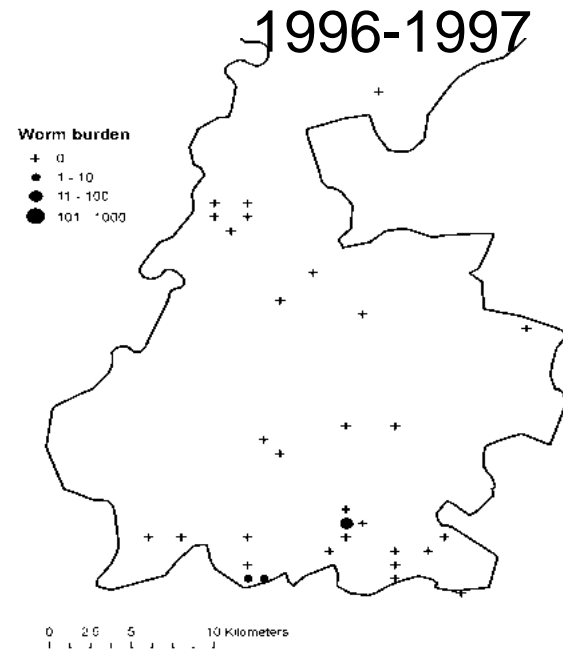
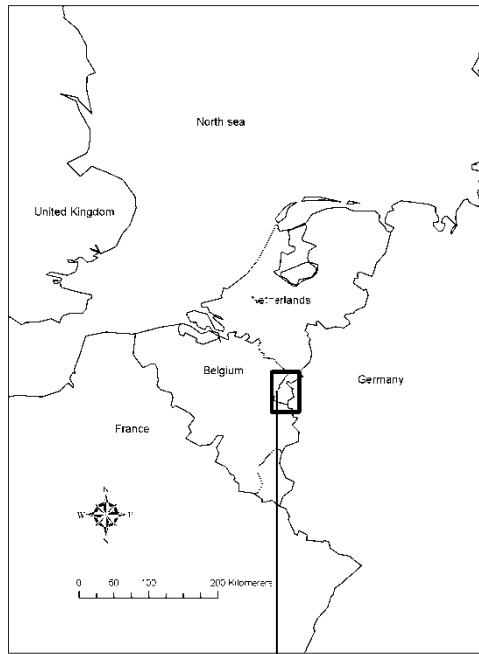


3 Tabel 1. Resultaten van onderzoek van *Echinococcus multilocularis* (Em) bij vossen in Nederland (2,3,4)

Periode van onderzoek	Regio	Em Positief/ Getest	Em Prevalentie (95% betrouwbaarheidsinterval)
1996-1997	Grensregio (incl. Groningen en Limburg)	5/272	1,8% (0,93-82%)
1998	Veluwe	0/72	0% (0-4,0%)
1998-2000	Kust (Zuid- en Noord-Holland)	0/99	0% (0-2,9%)
1998-2000	Oost-Groningen	10/106	9,4% (5,8-15,3%)
2002-2003	Zuid-Limburg	25/196	12,7% (9,4-17,2%)
2005-2006	Zuid-Limburg rond Sibbe	15/166	9,0% (6,1-13,4%)
2009-2010	Vlieland	0/9	0% (0-25,8%)
2009-2010	Sallandse heide	0/45	0% (0-6,3%)
2011	Flevoland	0/16	0% (0,3-16,1%)
2010-2012	Grensregio (excl. Groningen en Limburg)	1/262	0,4% (0,1-1,8%)



# *E. multilocularis* in Zuid Limburg



$R_0$ : 1.6 (95% CI: 1.1-3.5)

Takumi et al. 2008

*E. multilocularis* spreidt met 2.7 km/jaar

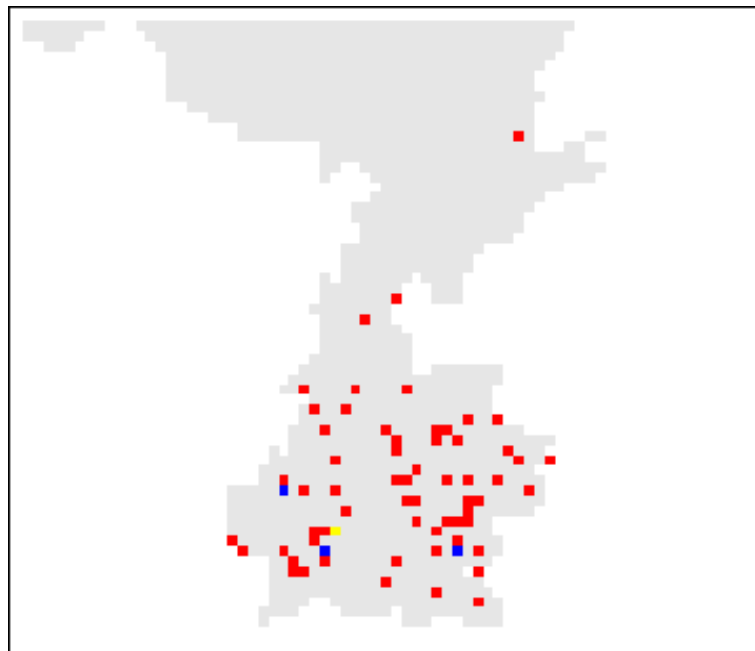
2005/2006: *E. multilocularis* in vossen vlakbij Maastricht

Takumi K, de Vries A, Chu ML, Mulder J, Teunis P, van der Giessen J. Evidence for an increasing presence of Echinococcus multilocularis in foxes in The Netherlands. Int J Parasitol. 2008 Apr;38(5):571-8.

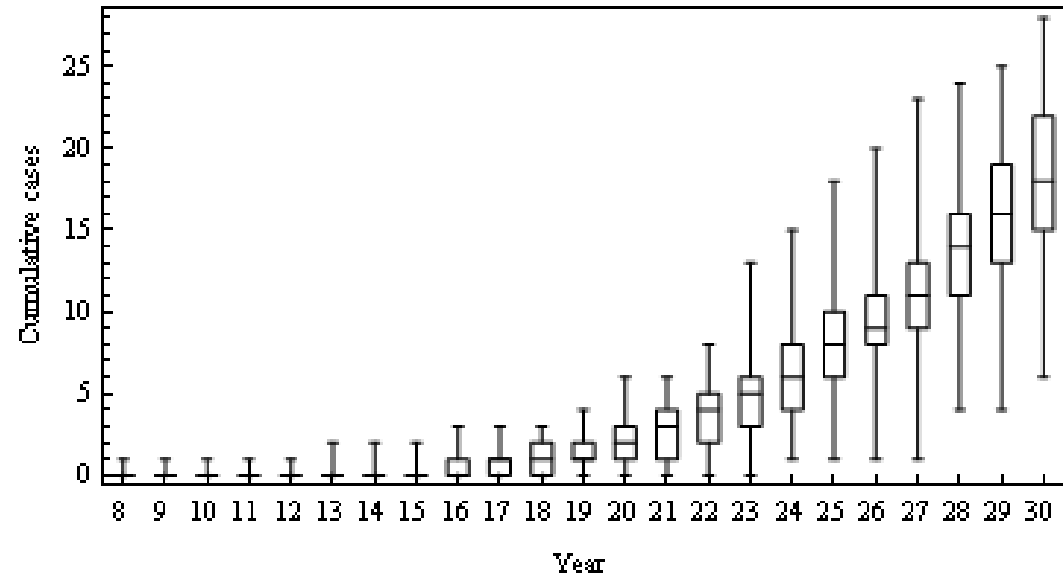




## Risico kaart: voorspelde aantal humane patienten in Limburg



- 0 case (grey)
- 1 case (red)
- 2 cases (blue)
- 3 cases (yellow)



Voorspelling: eerste autochtone patient in 2008



## Casus

- Vrouw, 55 jaar
- Medische voorgeschiedenis
  - liposarcoma : 1e episode in 1993
  - Verschillende relapses
- Begin 2008 cervicale pijn
  - metastase liposarcoma?
- Imaging April 2008:
  - PET-CT: PET negative but....



# Ctscan (ct scan 1 jaar eerder: geen lesies)



Picture: courtesy Laura van Dommelen Maastricht



## Casus : vervolg

- Start Chemotherapie juni/juli 2008
- Imaging Juli 2008: geen verandering
- Partiele hepatectomie augustus 2008
  - 3 lesions verwijderd
- Pathologie: Echinococcosis ?



## Casus : cont.

Serologie *E.granulosus* positief

Leiden: *E.granulosus* 1:320; IgG1 pos; IgG4 neg; IgE neg.

- Serologie november 2008 (RIVM)
  - ELISA *E.granulosus* 1:80
  - Immunoblot IgG<sub>1</sub> positief
  - Immunoblot IgG<sub>4</sub> negatief
  - ELISA *E.multilocularis* Em<sub>2</sub><sup>plus</sup> **negatief**

PCR op levermateriaal: DNA van *E. multilocularis*



## Casus : vervolg

Conclusie: patiënte met *E.multilocularis*

Maar waar heeft ze de infectie opgelopen?

Risico factoren:

- 3 korte vakanties in Zwitserland, Italië en Oostenrijk
- Tuinierde niet
- Geen contact met dieren
- Had een hekel aan (bos) fruit.
- Woonde in Zuid- Limburg (bij Kerkrade)





## *Echinococcus multilocularis* : bij de mens

- Primaire lesie: in de lever  
Groeit destructief door alle weefsels heen;
- Tumorachtige lesies
  - Cysteuze structuur
  - Necrotiserende haarden
  - Dikke roze (eosinofiele) wand
  - Verkalkingen
- Geen duidelijke haken of protoscolices
- Geen schotten
- Aparte ICD code: ICD-9-CM Diagnosis 122.6-7



*Echinococcus granulosus*  
weefselparasiet

Ziektebeeld : grote cysten; laat  
symptomatisch (Eg)

Veterinair aangifteplichtig,  
humaan niet aangifteplichtig

EU reportable disease

*Echinococcus multilocularis*  
weefselparasiet

Ziektebeeld: Doorvretende  
tumor (Em)

Veterinair aangifteplichtig,  
humaan niet aangifteplichtig

EU reportable disease







# Echinococcus granulosus

VITTELLO, A.M.  
ID:2339005  
DoB:1961-01-30  
2004-09-29  
09:14:38  
No.19  
Abdomen^Abdomen routine M

Q: 90%   
DIACONESSENHUIS  
Volume Zoom



# Echinococcus multilocularis



ANOFEL



Fotos: met dank aan Annette Stemerding UMCU



## Diagnostiek

Altijd een combinatie:

- Beeldvorming
- Serologie
- Klinische symptomen
  
- Als het mogelijk is: PCR lever biopt



## Diagnostiek PCR

1. **Cestode PCR drie markers:** CO1 en NADH en 12 S (geïmplementeerd door Cib Dr. Joke van der Giessen, LZO 1999)
2. **DNA Sequenzen**
  - *E. granulosus* ( G1- G8) and *E. multilocularis* typing
  - *Taenia solium* and *T. saginata*
  - *Other Cestodes*



## *E. multilocularis* serologie

### 1. ELISA Em2plus ( commercial kit)

- Als de Em<sub>2</sub>plus positief is en/of immunoblot alleen 28 kD positief:
  - > Confirmatie in referentie laboratorium (Besançon, France of in Japan)
  - > Of PCR cystevloeistof.

### 2. Altijd in combinatie met ELISA *E.granulosus* en Immunoblot IgG<sub>1</sub> en IgG<sub>4</sub> Echinococcus.

- En altijd **in combinatie met beeldvorming!**

Positieve serologie alleen is onvoldoende bewijs!

Bron: WHO richtlijnen 2001:

Sensitivities and specificities of assays for antibody detection in human alveolar echinococcosis (AE)

Antigen	Assay	Assay Percentage sensitivity in cases of AE (cases tested)	Percentage specificity in cases of cystic echinococcosis (cases tested)	Percentage specificity in cases of other parasitoses (cases tested)	Ref.
<i>E. granulosus</i> Hydatid fluid	ELISA	97 (140)	–	51 (144) <sup>(a)</sup>	48
Hydatid fluid	IgG4-ELISA	52 (54)	62 (56)	100 (80) <sup>(b)</sup>	49
<i>E. multilocularis</i> CH-10: crude	ELISA	96 (140)	39 (124)	97 (144) <sup>(a)</sup>	48
<b>Em2: partially purified</b>	<b>ELISA</b>	<b>89 (140)</b>	<b>94 (124)</b>	<b>100 (144)<sup>(a)</sup></b>	<b>48</b>
Em 10: recombinant <sup>(c)</sup>	ELISA	86 (140)	93 (124)	98 (144) <sup>(a)</sup>	48
		93 (74)	89 (124)	100 (30) <sup>(d)</sup>	52
<b>Em2Plus: mixture of Em2 &amp; Em II/3-10<sup>(e)</sup></b>	<b>ELISA</b>	<b>97 (140)</b>	<b>74 (124)</b>	<b>98 (144)<sup>(a)</sup></b>	<b>48</b>
Em alkaline phosphatase: purified	ELISA	100 (37)	100 (44)	100 (34) <sup>(e)</sup>	98
Em C: 30-35 kDa fraction of crude	WB	95 (60)	100 (10)	100 (24) <sup>(f)</sup>	100
Em 18/16: partially purified	ELISA	91 (79)	67 (48)	100 (35) <sup>(g)</sup>	57

In 1581 PIENTER2 sera : specificiteit  
**76,5 % (1-4 jr)**  
 tot 94 % (5-79 jr)

ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay  
 WB : Western blot



## Therapie

- Operatief indien mogelijk
- Bij doorgroei in vitale organen / inoperabele patienten: levenslang albendazol
- Effectiviteit albendazol meestal goed
  - Bij patienten met onderliggend lijden als leukemie, tumoren : slecht-binnen korte termijn dodelijk

Zie ook ECCMID Berlijn 2012 presentatie Beate Grüner (Ulm, Germany)

S271 New trends in the management and treatment of Echinococcus multilocularis

28 april 2012

[https://www.escmid.org/escmid\\_library/online\\_lecture\\_library/?search=1&current\\_page=1&search\\_term=multilocularis&entrytitle%5B%5D=4534](https://www.escmid.org/escmid_library/online_lecture_library/?search=1&current_page=1&search_term=multilocularis&entrytitle%5B%5D=4534)





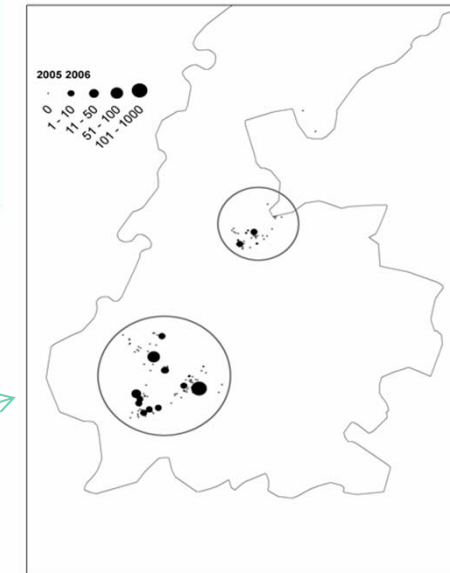
## Patiënten in NL:

1. Patiënt uit Zwitserland (NTvG)
2. NL patiënt in Duitsland: jager
3. NL patiënt in België
4. Turkse vrouw in Groningen, jarenlang behandeld als *E.granulosus*; komt uit Oost Turkije
5. Patiënte uit Zuid-Limburg (2008)  
vDommelen
6. Patiënte uit Ermelo (2011)
7. Patiënte uit Amersfoort (2011)





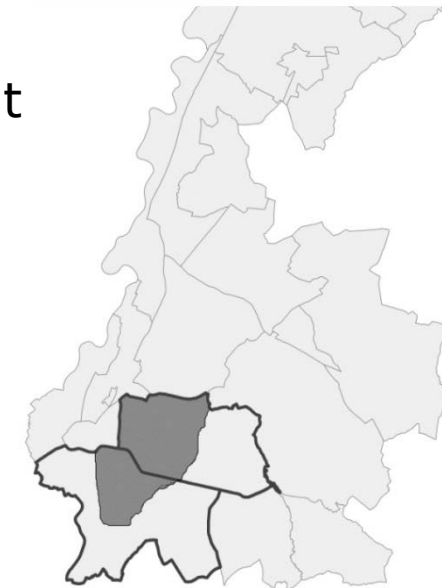
## Hot spot in Zuid Limburg, Is transmissie via honden mogelijk?



- Prevalentie vossen in 2005/2006: 11% (7-18%)

2012-2013: Studie in honden en vossen in Maastricht

- Oktober 2012- April 2013
- Sample size: 50 vossen en 300 honden
  
- Microscopie (Intestinal Scraping Technique)
- Colon inhoud: nested PCR (Van der Giessen et al. 1999)



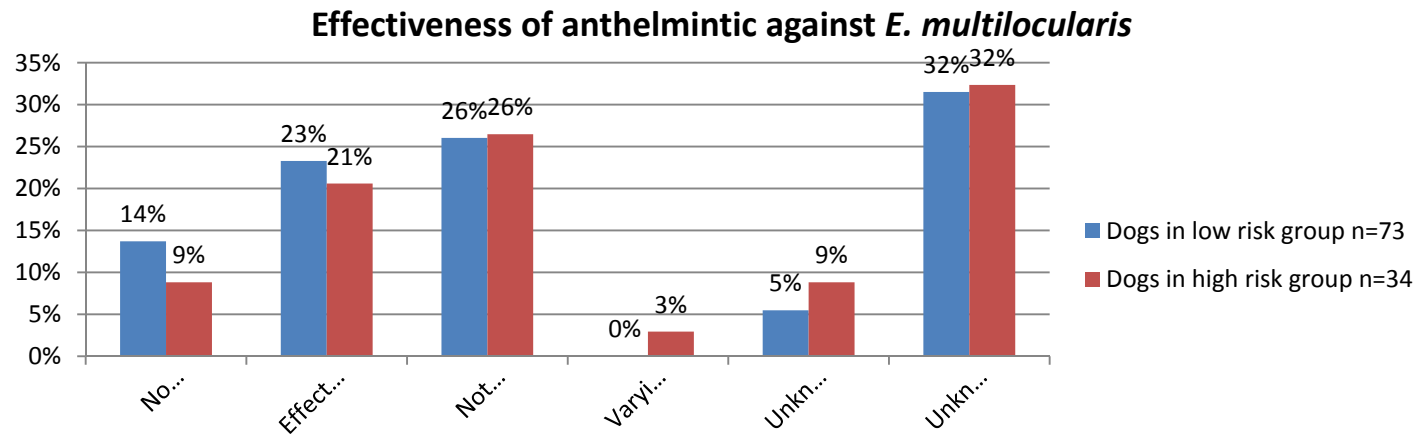
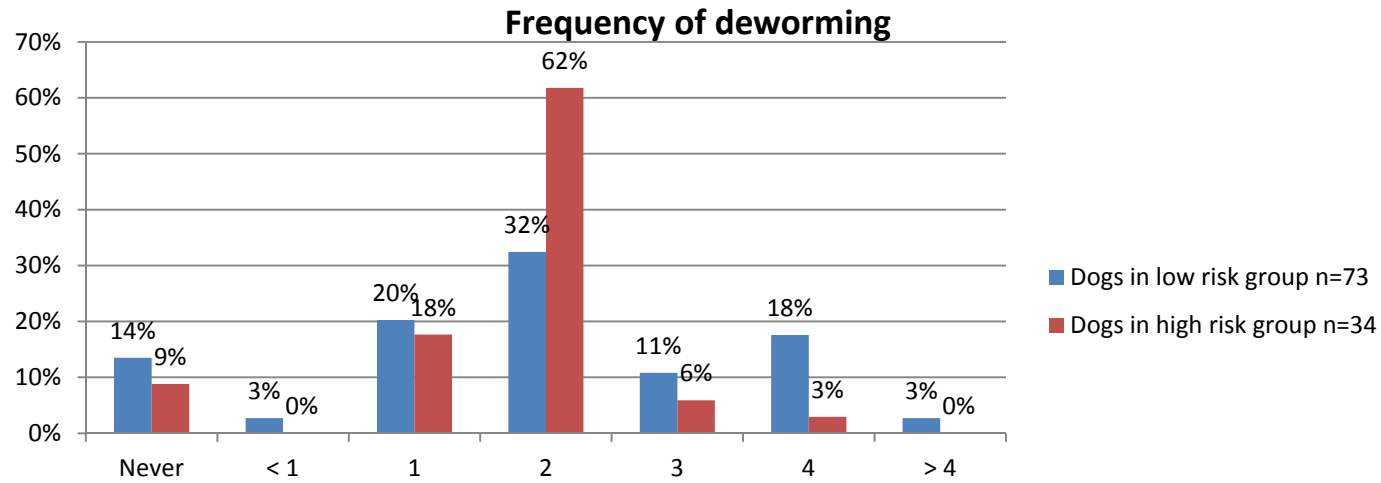


## Resultaten bij de honden

- ☑ 142 honden via dierenartsenpraktijken in Maastricht onderzocht met nested PCR, geen positieve fecesmonsters (95% BI > 2%)
- ☑ Vragenlijst voor risicofactoren en ontwormingsschema's van honden.



# Resultaten ontwormen





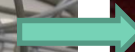
## Conclusie vragenlijsten en ontwormen

Honden worden te weinig ontwormd en met verkeerde middelen (mn bij risicohonden).

Conclusie: betere voorlichting aan dierenartsen en hondeneigenaren



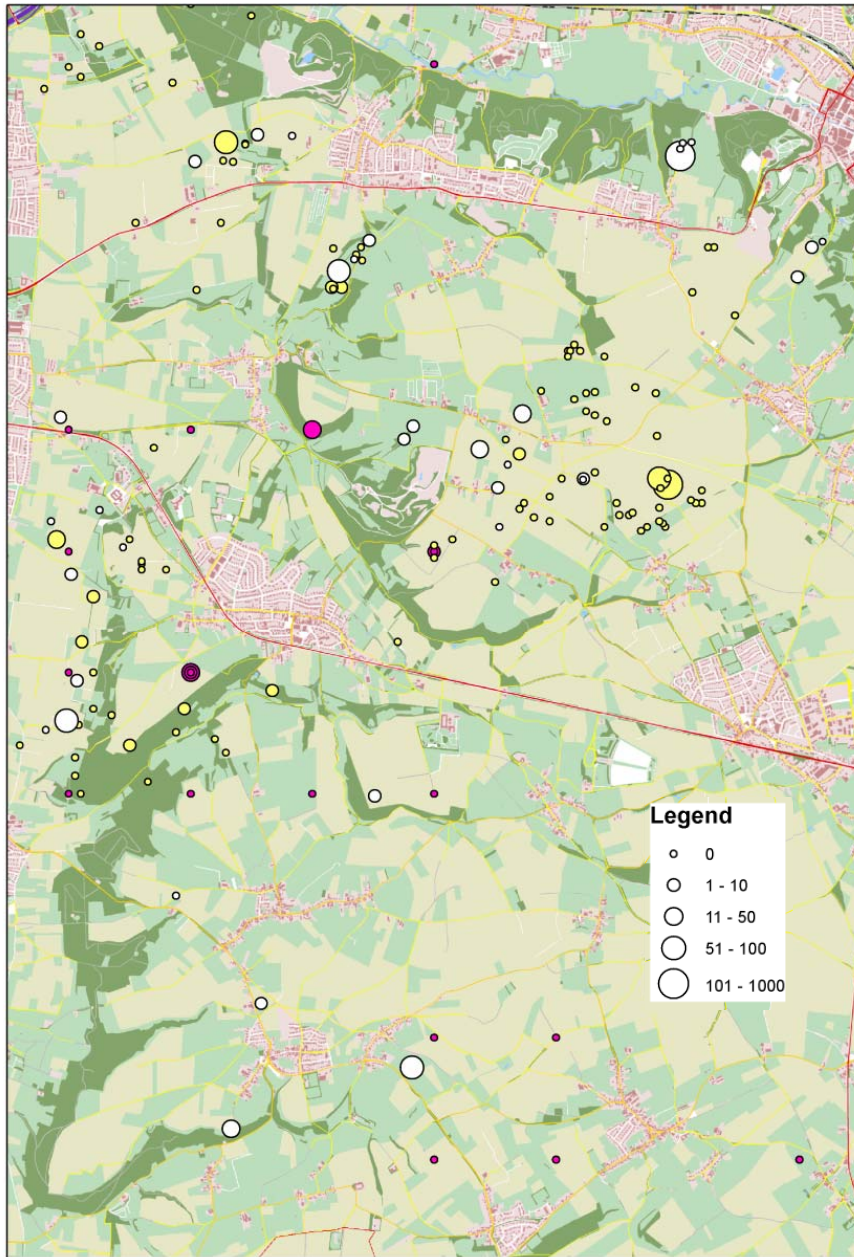
## Onderzoek vossen voor *E. multilocularis*





## Resultaten vossen

- 42 vossen ontvangen en 37 vossen post mortem onderzocht
  - Microscopie: 11/37 positief (worm burden from 1 to 500-1000)
  - Nested PCR: 20/36 positief
- Totaal (microscopie en/of PCR positief): 22/37 positief: 59% (95%CI 43-74%)
- Geen significante verschillen in regio (WBE), geslacht en leeftijd van vossen



## Long term resultaten

- 2002-2003: 25/196 (13%; 95% CI 9-17%)
- 2005-2006: 15/166 (9%; 95% CI 6-14%)
- 2012-2013: 22/37 (59%; 95% CI 43-74%)

Wat is de consequentie van deze sterke stijging van *E. multilocularis* in de vossenpopulatie en wat kunnen we eraan doen?





## Risico communicatie

1. Realistische risico perceptie door pro-active communicatie
2. Focus op risico groepen en regio's
3. Informatie hoe mensen het infectierisico kunnen minimaliseren
4. Informatie hoe zich te gedragen tav vossen (hou ze schuw!)  
(Hegglin et al. 2008)





## Preventieve maatregelen in Zuid Limburg en Oost Groningen

- Raak met de blote hand geen uitwerpselen of kadavers van vossen aan. Gebruik altijd handschoenen.
- Blijf uit de buurt van vossenholen en zorg er ook voor dat eigen honden ervan wegblijven.
- Was wilde bosvruchten, paddenstoelen, valfruit en groenten altijd grondig. We adviseren groenten en fruit uit risicogebieden te koken voor consumptie.
- Invriezen in huishoudelijke diepvriesapparaten werkt niet, omdat die niet beneden de  $-18^{\circ}\text{C}$  vriezen. Vossenlintwormeitjes gaan pas dood bij  $-80^{\circ}\text{C}$ .
- Was na grond- en bosbouwwerkzaamheden, tuinieren en contact met honden en katten altijd goed de handen met water en zeep.
- Ontworm jachthonden in gebieden waar de vossenlintworm voorkomt. Doe dit elke 4 weken met een wormmiddel actief tegen deze lintworm (praziquantel).
- Ontworm honden en katten in Zuid-Limburg en Oost-Groningen, die regelmatig los buiten lopen, elke 4 weken met een wormmiddel actief tegen deze lintworm (praziquantel).
- Ontworm honden en katten die op vakantie zijn geweest in een endemisch gebied (België, Frankrijk, Duitsland, Zwitserland, Oostenrijk, Tsjechië, Polen, Baltische Staten) twee achtereenvolgende dagen met een praziquantelhoudend middel. Zorg dat tot twee dagen na ontwormen de ontlasting niet in het milieu komt. Voer de ontlasting af via het huishoudelijk afval en niet via het GFT-afval.



## Conclusie

- *Echinococcus multilocularis* is emerging in Limburg en mogelijk spreidend in NL
- Denk bij levertumoren zeker aan alveolaire echinococcose
- Goede serodiagnostiek ontbreekt
- Vossen zeer hoge prevalentie in hot spot en nog geen transmissie naar de hondenpopulatie aangetoond
- Honden met name de hoog risico honden te weinig en ontwormd met verkeerde middelen
- Meer onderzoek nodig naar inperking Em in de vossenpopulatie dmv baiting



# International Symposium on Echinococcosis 27-29 March 2014 – Besançon, France

*The symposium, organized by the WHO-Collaborating Centre for Prevention and Treatment of Human Echinococcosis (Franche-Comté University and University Hospital) and the Institute of Parasitology of the University of Berne, with the support of the WHO, the Franche-Comté Region, and the French National Centre for Scientific Research (CNRS) will be dedicated to: **“Innovation for the Management of Echinococcosis”***

Scientific programme, registration and abstract submission available on-line: <http://imes2014.scientific-event.com/>

For more information: [ccoms@chu-besancon.fr](mailto:ccoms@chu-besancon.fr)

# Acknowledgements

- Z&O: Miriam Maas, Cecile van Dam, Katsuhisa Takumi, Annika van Roon, Dierenartsenpraktijken in Maastricht, GGD-Zuid Limburg/ NVWA regionale consulent

- IDS: Jeroen Roelfsema, Nahid Nozari

en vele anderen in binnen- en buitenland meer!

- Gefinancierd door NVWA en CIb

