

Een koninklijke worm?



Laura Hughes
AIOS medisch microbiologie
UMCG, Groningen

Supervisor: Greetje Kampinga

NVP; 20 september 2022



Casus



- 53 jarige vrouw
- Afkomstig uit Eritrea
- Blanco medische voorgeschiedenis
- Opgenomen vanwege buikpijn, rugpijn en zwelling in de onderrug sinds 6 maanden, progressief
- Lichamelijk onderzoek
 - Buik diffuus drukpijnlijk
 - Linkerflank forse zwelling zichtbaar

- Lab onderzoek
 - Anaemie (Hb 6,0mmol/L)
 - Ontstekingsparameters: CRP 63mg/L (↑) ,BSE 11mm/uur (↑)
 - Geen leukocytose, geen eosinofilie
- Abdominale echografie & CT, MRI van de wervelkolom
 - Verdenking werveltuberculose met psoas abces links
 - Abces gedraineerd: gevoelige *Mycobacterium tuberculosis*
- Ondanks effectieve TBC behandeling, bleef patiënt afvallen
- Patiënt meldde bewegende wormen in de ontlasting te zien
 - Eerste keer gezien 4 jaar geleden in Eritrea
 - Geen anale jeukklachten



Sociale geschiedenis



- Russisch-Orthodox
- Ze eet geen varkensvlees
- Ze eet regelmatige rundvlees
- Afkomstig uit een ruraal gebied
- Had nooit medicatie gebruikt
- Een handvol gebakken pompoenpitten zorgde ervoor dat er veel wormen los kwamen en daarna had ze er gedurende 4 maanden weinig last van

Verdenking?



Onze verdenking



- Lintworm: segmenten
- Echter bijzondere oranje kleur
- Welke soort?
- Waarom belangrijk om te weten?
 - Public Health: varkenslintworm > eieren besmettelijk
 - Patiënt verbleef op TB afdeling, men kan hier ook zelf koken

Laboratoriumonderzoeken



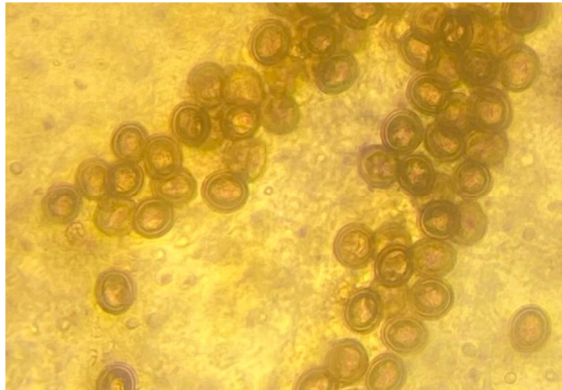
- Macroscopie
 - Gesegmenteerde worm
 - Proglottide lengte van 15-17 mm; breedte ruim 2 mm
- Faeces onderzoek
 - Geen eieren

Laboratoriumonderzoeken



- Proglottiden 1 uur in 50% glycerine
- Proglottide geplet in petrischaal
 - Proglottide in deksel, bodem daarop, stevig aandrukken
- Bekeken onder platen- en omkeermicroscoop
- Zijtakken tellen – lastig, maar leek meer dan 13
- Inkt – niet gelukt

Laboratoriumonderzoeken



- Eieren in de uterus
- Bekeken met een omkeer microscoop met 40x
- Radiaal gestreepte eiwand
- *Taenia* spp.
- Alles bij elkaar hoogste verdenking: *T. saginata*

Volgende stappen



- Gestuurd naar RIVM voor PCR
 - DNA sequentie analyse van mitochondrial CO1
PCR fragment: mitochondriaal gecodeerd cytochrome c oxidase I
- In-house Next Generation Sequentieanalyse (NGS) gedaan (Miseq van illumina)

Sequentie analyse

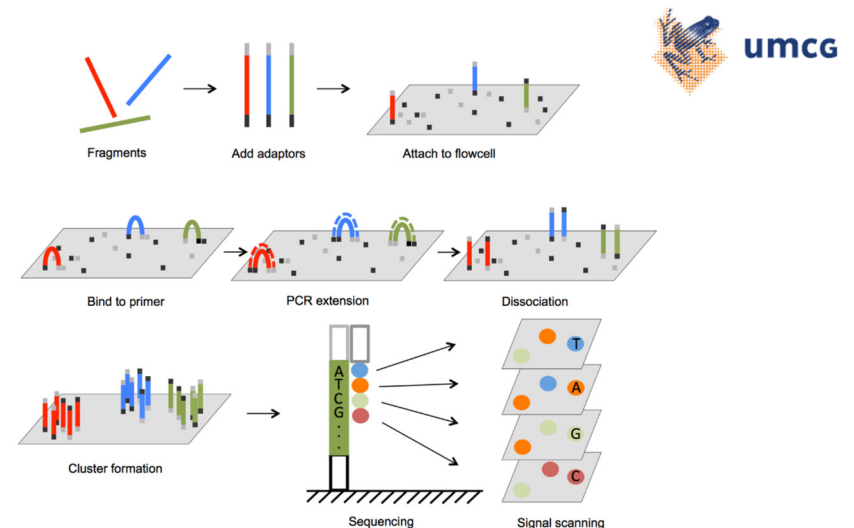


STEP 1: Extraction



- Stap 1: DNA isolatie van een stukje proglottide met lysis stap gevolgd door DNA isolatie met 16S direct kit (QIAamp DNA mini kit)
- Voor sequentie analyse van bacterieel genoom (1-7 Mb) 0,2ng/ul DNA nodig
- 2x 0,2nl/ul DNA voor de worm gebruikt (*Taenia* 130-169 Mb)

Beeld: <https://irepertoire.com/ngs-overview-from-sample-to-sequencer-to-results/>



Beeld: <https://www.intechopen.com/chapters/49419>

Alignment

er-ga oven-g
gaat-n en-gr
t-niks-bo groni
iks-bo onin
boven ing
ven-g ngen

er-gaat-niks-boven-groningen

Dia gebruikt met toestemming van Monika Fliss, UMCG

Onze worm

- 48 Mbp gesequenset
- Assembly van bijna 44809 contigs
- BLAST van eerste contigs: geen resultaten



- Monika Fliss (onze MMM'r) ging op zoek naar genen die gebruikt kunnen worden om *Taenia* species te determineren
 - Mitochondriale genen: *Cox1* en *cob*
 - Gezocht op de primer sequentie van beschreven PCR in de contigs > dat stuk in BLAST gedaan

Review

Review on Molecular Diagnosis of Cestode and Metacestode in Cattle

Ziyad M. Bilal, DVM^{1*}; Kadir S. Musa, DVM²

¹Department of Veterinary Medicine, Bedano Woreda Veterinary Clinic, East Hararghe, Ethiopia

²Department of Veterinary Medicine, Haramaya University, College of Veterinary Medicine, P. O. Box 138, Dire Dawa, Ethiopia

Mitochondrion BLAST van contig_211 (13665bp)

Description
22300907431-unknown_contig_211
22300907431-unknown...

Molecule type
dna

Query Length
13665

Other reports
[Distance tree of results](#)
[MSA viewer](#)

Percent Identity

to

E value

to

Query Coverage

to

Filter
Reset

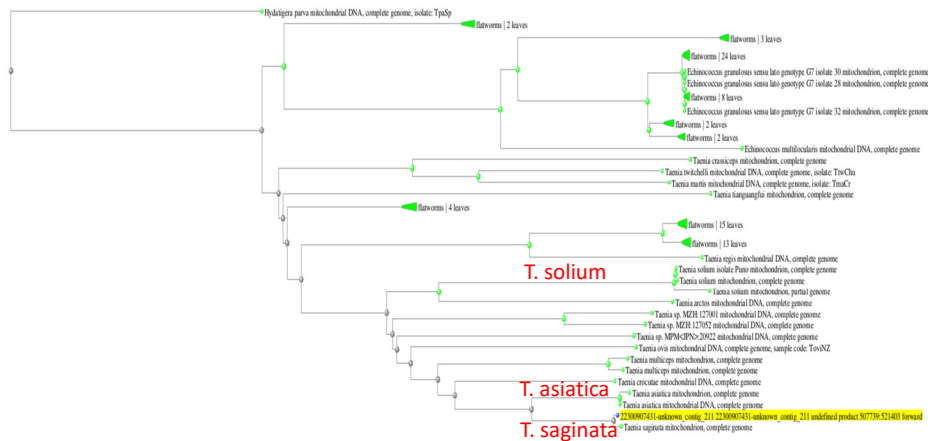
Descriptions
Graphic Summary
Alignments
Taxonomy

Sequences producing significant alignments
Download
Select columns
Show
100

☒ select all
100 sequences selected

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
☒	Taenia saginata mitochondrial complete genome	Taenia saginata	24829	24891	99%	0.0	99.55%	13670	AY64272.1
☒	Taenia asiatica mitochondrial complete genome	Taenia asiatica	20958	21018	99%	0.0	94.51%	13703	AF445798.2
☒	Taenia multiceps mitochondrial complete genome	Taenia multiceps	16789	16789	99%	0.0	88.96%	13693	GQ228818.1
☒	Taenia crocutae mitochondrial DNA complete genome	Taenia crocutae	15141	17733	99%	0.0	90.50%	13711	AB905201.1
☒	Taenia madoquae mitochondrial DNA complete genome isolate Tma120	Taenia madoquae	14582	17068	99%	0.0	89.67%	13689	AB731726.1
☒	Taenia serialis mitochondrial DNA complete genome sample code TserAus	Taenia serialis	14349	16660	99%	0.0	89.33%	13688	AB731674.1
☒	Taenia multiceps mitochondrial complete genome	Taenia multiceps	14079	16703	99%	0.0	88.88%	13700	FJ495086.1
☒	Taenia ovis mitochondrial DNA complete genome sample code TovNZ	Taenia ovis	13477	15384	99%	0.0	87.88%	13704	AB731675.1
☒	Taenia sp. MPM-iPK-20922 mitochondrial DNA complete genome	Taenia sp. MPM.20922	12750	14790	99%	0.0	86.81%	13670	AB905202.1
☒	Taenia asiatica mitochondrial DNA complete genome	Taenia asiatica	12711	21474	99%	0.0	95.25%	13644	AP011670.1
☒	Taenia sp. MZH 127001 mitochondrial DNA complete genome	Taenia sp. MZH 127001	12501	14297	99%	0.0	86.42%	13691	AB905209.1
☒	Taenia sp. MZH 127052 mitochondrial DNA complete genome	Taenia sp. MZH 127052	12467	14286	99%	0.0	86.37%	13672	AB905203.1

Boom op basis van mitochondrion uit BLAST



Dia gebruikt met toestemming van Monika Fliss, UMCG



- Tijd tot resultaat: 5 dagen
- Kosten:
 - 360 euro (incl. personeel)
 - Kostprijs €149 (incl. afschrijving apparatuur)
- Bevestiging door RIVM: na 3 weken
 - Kostprijs PCR €135



Dia gebruikt met toestemming van Monika Fliss, UMCG

Conclusie



- **Oranje kleur: patient gebruikte rifampicine!**
 - Kleurt secreta sterk oranje en meest waarschijnlijk oorzaak van verkleuring van de worm

Infectie met *T. saginata*

- Grootte van proglottide past daarbij (16-20 mm x 2 mm)
- *T. solium* <=12 mm x 1 mm
- Aantal uterustakken leek >13; *T. solium* 7-13, meestal <=10
- Proglottiden waren zeer stevig > bij *T. saginata* daarom zelden eieren in feces

Behandeling



- Niclosamide of praziquantel
- Landelijk SWAB boek: niclosamide 1ste keus
- Onze patient
 - Rifampicine
 - Praziquantel kan niet samen met rifampicine omdat je dan zeer lage concentraties van praziquantel krijgt
 - Gekozen voor niclosamide

Met dank aan



- Greetje Kampinga
- Monika Fliss
- Marleen van Oosten
- Ditmer Talsma
- Analisten op het bacteriologie lab