

Bepaling van eiwitprofielen in glasvocht bij acute post-operatieve endophthalmitis met behulp van Surface Enhanced Laser desorption/ionization time-of-flight (SELDI-tof) technologie.

Gepubliceerd: 07-07-2009 Laatste bijgewerkt: 05-05-2024

Het evalueren van de bruikbaarheid van het SELDI-tof technologie bij het vaststellen van ziekte-specifieke eiwitprofielen van bacteriële verwekkers in glasvocht van patiënten met endophthalmitis na cataractextractie. Er wordt bepaald of deze...

Ethische beoordeling	Goedgekeurd WMO
Status	Werving gestopt
Type aandoening	Ooginfecties, -irritaties en -ontstekingen
Onderzoekstype	Observationeel onderzoek, met invasieve metingen

Samenvatting

ID

NL-OMON33140

Bron

ToetsingOnline

Verkorte titel

Infectiedetectie met SELDI-tof bij endophthalmitis

Aandoening

- Ooginfecties, -irritaties en -ontstekingen

Synoniemen aandoening

Infectie van glasvocht, ontsteking van oogvocht

Betreft onderzoek met

Mensen

Ondersteuning

Primaire sponsor: Universitair Medisch Centrum Utrecht

Overige ondersteuning: de F.P Fischer Stichting

Onderzoeksproduct en/of interventie

Trefwoord: endophthalmitis, glasvocht, infectie, SELDI-tof

Uitkomstmaten

Primaire uitkomstmaten

De volgende analyses worden uitgevoerd met behulp van SELDI-tof in vergelijking tot reguliere kweekmethoden:

1. Onderscheid in eiwit samenstelling van glasvocht in vergelijking tot het serum verkregen bij maculagat of macula pucker operaties: beide subgroepen van de controle-populatie
2. Onderscheid in eiwit samenstelling van glasvocht in vergelijking tot het serum van patiënten met endophthalmitis
3. Onderscheid in eiwit samenstelling van glasvocht van endophthalmitis patiënten versus de controle populatie

Secundaire uitkomstmaten

1. Evaluatie van relatie van specifieke verwekkers van endophthalmitis aangetoond via kweek met specifieke piekpatronen verkregen via SELDI-tof analyse.
2. Evaluatie van samenhang tussen glasvocht van endophthalmitis met een negatieve kweek uitslag en het piek patroon verkregen bij SELDI-tof analyse. Vergelijking van deze

patronen met de patronen van specifieke

verwekkers aangetoond met kweek zal plaats vinden

Toelichting onderzoek

Achtergrond van het onderzoek

Endophthalmitis is een oog-ontsteking, die primair in het glasvocht en het voorste oogkamer vocht voorkomt. De patiënt ervaart frequent hevige pijn in combinatie met forse roodheid van het oog. De ontsteking wordt gediagnosticeerd met biomicroscopie. Een infectie wordt aangetoond met een reguliere kweek, afkomstig van een glasvochtbipt. Endophthalmitis wordt behandeld met intravitreaal antibiotica, initieel met breed spectrum antibiotica. Op basis van de uitslag van de kweek kan de behandeling aangepast worden aan het micro-organisme dat gedetecteerd is in het glasvochtbipt. In het geval van endophthalmitis welke binnen 6 weken na cataractextractie ontwikkelt, wordt bij ongeveer 70% een verwekker van de infectie aangetoond. Echter tot wel 30% van de kweken blijft negatief.(1) Tot op heden is niet aangetoond of er bij negatieve kweken sprake is van een steriele ontsteking of dat de bacteriële load in het glasvochtbipt te laag is om met kweek aan te tonen. Bijkomend nadeel van de reguliere kweektechnieken is dat de uitslagen enkele dagen op zich laten wachten. Met nieuwe technieken zou de diagnostiek rond endophthalmitis geoptimaliseerd kunnen worden.

SELDI-tof is een techniek waarmee met behulp van biomarkers detectie eiwitten, van de patiënt of van pathogenen, in vloeistoffen kunnen worden aangetoond. Deze techniek is reeds effectief gebleken bij detectie van verwekkers van diverse infecties, waaronder intra-amnion infecties, SARS en congenitaal CMV hepatitis.(2,3,4) Het eiwitprofiel blijkt in hoge mate sensitief en specifiek voor diverse bacteriële en virale verwekkers. Deze techniek kan worden toegepast op diverse lichaamsvloten en is uitermate geschikt voor microvolumina. Slechts 1 microliter is nodig om op een biochip aan te brengen. De eiwitten binden vervolgens aan deze chip en worden in het SELDI-tof apparaat door een laser geïoniseerd en losgeschoten in een vacuüm buis. De snelheid waarmee deze eiwitten door deze buis migreren is een maat voor de massa van het eiwit. Dit resulteert in een piekenpatroon specifiek voor het diverse eiwitstructuren. Ontstekings-specifieke biomarkers of verwekker-specifieke biomarkers kunnen worden geïdentificeerd door de profielen van patiënten onderling en met die van controles te vergelijken. Tot heden zijn er geen gegevens bekend over contaminatie van glasvocht met serumeiwitten bij perforatie van de bulbus tijdens een operatie of afname van een bipt. Tevens wordt theoretisch diffusie van ontstekingseiwitten vanuit de bloedbaan naar het glasvocht mogelijk geacht.

Referenties:

1. Results of the Endophthalmitis Vitrectomy Study. A randomized trial of immediate vitrectomy and of intravenous antibiotics for the treatment of postoperative bacterial endophthalmitis. Endophthalmitis Vitrectomy Study Group. Arch Ophthalmol 1995;113:1479-96.
2. Gravett MG, Novy MJ, Rosenfeld RG, et al. Diagnosis of intra-amniotic infection by proteomic profiling and identification of novel biomarkers. JAMA 2004;292:462-9.
3. Kang X, Xu Y, Wu X, et al. Proteomic fingerprints for potential application to early diagnosis of severe acute respiratory syndrome. Clin Chem 2005;51:56-64.
4. Ward DG, Suggett N, Cheng Y, et al. Identification of serum biomarkers for colon cancer by proteomic analysis. Br J Cancer 2006;94:1898-905.

Doel van het onderzoek

Het evalueren van de bruikbaarheid van het SELDI-tof technologie bij het vaststellen van ziekte-specifieke eiwitprofielen van bacteriële verwekkers in glasvochten van patiënten met endophthalmitis na cataractextractie. Er wordt bepaald of deze eiwitprofielen aangetoond kunnen worden bij glasvocht monsters van patiënten met endophthalmitis met een negatieve kweek uitslag.

Primaire doel:

Het evalueren van de bruikbaarheid van het SELDI-tof technologie in vergelijking tot reguliere kweekmethodes bij het vaststellen van ziekte-specifieke eiwitprofielen van de volgende species:
-bacteriële verwekkers in glasvochten van patiënten met endophthalmitis ontstaan na cataractextractie.

Secundair doel:

Indien de kweek van glasvocht bij endophthalmitis geen bacteriële groei vertoont:
-analyse met SELDI-tof van het eiwit-patroon van glasvocht met een negatieve kweek vergelijken met eiwitpatronen van glasvocht van endophthalmitis waarbij de verwekker bij kweek is geïdentificeerd. Evaluatie naar overeenkomsten in de eiwitpatronen tussen deze beide groepen.

To evaluate the usefulness of SELDI-tof (surface enhanced laser desorption/

ionisation-technology) technology in determination of disease-specific protein profiles of bacteria in vitreous of patients with endophthalmitis after cataract surgery.

Protein profiles of vitreous samples from endophthalmitis patients with a negative culture will be compared to those from patients in which the bacterial cause is identified.

Onderzoeksopzet

De controle groep bestaat uit twee subgroepen: 30 patiënten die aan een maculagat worden geopereerd en 30 patiënten die aan een macula pucker worden geopereerd. De operatie vindt op voorkeur van de patiënt onder retrobulbair verdoving of algehele anesthesie plaats. Bij beide subgroepen dient tijdens de operatie, een pars plana vitrectomie, het glasvocht te worden geaspireerd vanwege de chirurgische behandeling van de macula. Het glasvocht wordt hierbij weggegooid. Voor deze studie zal na toestemming van de patiënt aan het begin van de operatie 0,2 ml onverdund glasvocht worden afgenomen en worden opgeslagen bij

-80 graden Celsius op de afdeling Virologie. Voor aankomst op de afdeling Virologie zal het glasvocht worden gecodeerd. Patiënten met retinopathie ten gevolge van diabetes mellitus of uveitis in het verleden worden geëxcludeerd. Tevens zal bij 10 patiënten, na verlenen van informed consent, een stolbuis bloed worden afgenomen. Van dit bloed wordt het serum gescheiden en opgeslagen bij -80 graden Celsius. Ook het serum worden gecodeerd voor aankomst op de afdeling Virologie.

De groep patiënten met endophthalmitis bestaat uit patiënten die endophthalmitis hebben ontwikkeld binnen 6 weken na een cataractextractie. Patiënten met uveitis in het verleden in het aangedane oog zullen worden geëxcludeerd. Bij deze populatie wordt onder retrobulbair anesthesie een glasvochtbipt (0,2-0,3ml) gedaan met behulp van een vitrectoom. Tevens wordt na afname van het bipt breedspectrum antibiotica in de glasvocht ruimte geïnjecteerd. Het bipt van het glasvocht wordt op kweek gezet. Voor dit onderzoek zal na toestemming van de patiënt van het glasvochtbipt 0,1 ml worden gesepareerd en worden opgeslagen bij -80 gr Celsius. Tevens zal bij 10 patiënten, na verlenen van informed consent, een stolbuis bloed worden afgenomen. Van dit bloed wordt het serum gescheiden en opgeslagen bij -80 graden Celsius. Zowel het glasvocht en serum zal worden gecodeerd voor aankomst op de afdeling Virologie.

Analyse:

Het SELDI-tof apparaat bevindt zich op de afdeling Virologie van het UMC Utrecht.

Slechts een zeer kleine hoeveelheid oogvocht en serum worden gespot op een NP

20 biochip, een array die frequent voorkomende eiwitten bindt, en aan de lucht gedroogd. Vervolgens wordt met het SELDI-tof apparaat de mate van migratie van het eiwit gerelateerd aan het moleculair gewicht van het eiwit. Het gewicht van de diverse eiwitten in een glasvochtbiopt tonen diverse pieken in een golfpatroon.

Met behulp van de SELDI-tof Biomarker Analysis Module, Expression Difference Mapping (EDM) analyse en de Cluster Wizard (Ciphergen Express Software 3.0) wordt statistische analyse toegepast op de experimenten. Met EDM worden multiële experimenten statistisch geanalyseerd op eventuele biomarkers en met behulp van de Cluster Wizard kunnen pieken geclusterd worden (een cluster is een groep pieken met dezelfde massa, op dezelfde soort array). Statistische significantie wordt bereikt bij $P < 0.05$.

De volgende analyses worden uitgevoerd:

1. Onderscheid in eiwit samenstelling van glasvocht in vergelijking tot het serum verkregen bij maculagat of macula pucker operaties: beide subgroepen van de controle-populatie
2. Onderscheid in eiwit samenstelling van glasvocht in vergelijking tot het serum van patiënten met endophthalmitis
3. Onderscheid in eiwit samenstelling van glasvocht van endophthalmitis patiënten versus de controle populatie
4. Evaluatie van relatie van specifieke verwekkers van endophthalmitis aangetoond via kweek met specifieke piekpatronen verkregen via SELDI-tof analyse.
5. Evaluatie van samenhang tussen glasvocht van endophthalmitis met een negatieve kweek uitslag en het piek patroon verkregen bij SELDI-tof analyse. Vergelijking van deze patronen met de patronen van specifieke verwekkers aangetoond met kweek zal plaats vinden.

Inschatting van belasting en risico

Per subgroep zal bij 10 patiënten zowel glasvocht als bloed worden afgenomen. Deze patiënten zullen mondeling en schriftelijk over het onderzoek worden geïnformeerd

(zie: informatiebrief deelname studie endophthalmitis/ maculagat of pucker). De stolbuis bloed zal worden afgenomen, indien de patiënt informed consent heeft gegeven. Indien de patiënt deelname aan de studie weigert, zal wanneer de patiënt ook afname van glasvocht voor de studie weigert (mondelinge toestemming: er wordt een aantekening in de poliklinische status gemaakt), geen

glasvocht worden afgenomen tbv van de studie. Wanneer de patient zowel afname van glasvocht als serum weigert, zullen deze beiden niet worden verzameld tbv de studie.

De patiënten zullen geen hinder ondervinden van de afname van maximaal 0,1ml glasvocht, aangezien zowel bij de controle populatie als de populatie met endophthalmitis minstens 0,2 ml glasvocht wordt afgenomen voor kweek. De minimum vereiste voor een kweek van afname van glasvocht bij endophthalmitis bedraagt 0,1 ml. Concluderend dient er geen additionele hoeveelheid glasvocht te worden afgenomen.

English version:

The collection of blood samples will only take place after permission of the patient through signing informed consent.

Patients will not experience any additional discomfort, because of all 3 patient groups a minimum of 0.2 ml vitreous for culture or more (in case of pars plana vitrectomy) is extracted for therapeutic purposes. The minimum required amount of vitreous for culture is 0.1 ml. Consequently, no extra vitreous needs to be collected for this study. Both samples of vitreous and serum will be coded before arrival on the department of Virology to protect patients privacy.

Contactpersonen

Publiek

Universitair Medisch Centrum Utrecht

Heidelberglaan 100, Postbus 85500
3508 GA, Utrecht
Nederland

Wetenschappelijk

Universitair Medisch Centrum Utrecht

Heidelberglaan 100, Postbus 85500
3508 GA, Utrecht
Nederland

Locaties

Landen waar het onderzoek wordt uitgevoerd

Netherlands

Deelname eisen

Leeftijd

Volwassenen (18-64 jaar)

65 jaar en ouder

Belangrijkste voorwaarden om deel te mogen nemen (Inclusiecriteria)

*Patienten met endophthalmitis:

- wilsbekwaamheid

- leeftijd ≥ 18 jaar

- endophthalmitis ontstaan binnen 6 weken na cataract extractie; *Controle groep:

- wilsbekwaamheid

- leeftijd ≥ 18 jaar

- patienten die een pars plana vitrectomie ondergaan in verband met een maculagat of macula pucker

Belangrijkste redenen om niet deel te kunnen nemen (Exclusiecriteria)

- Endophthalmitis groep:

- patients able to give informed consent

- voorgaande uveitis in het aangedane oog.

- Status na pars plana vitrectomie in het aangedane oog ;Controle groepen: maculagat/ macula pucker

- retinopathie ten gevolge van Diabetes Mellitus of voorgaande uveitis in het aangedane oog

- Status na pars plana vitrectomie in het aangedane oog

Onderzoeksopzet

Opzet

Type:	Observationeel onderzoek, met invasieve metingen
Onderzoeksmodel:	Anders
Toewijzing:	Niet-gerandomiseerd
Blindering:	Open / niet geblindeerd
Controle:	Geneesmiddel
Doel:	Diagnostiek

Deelname

Nederland	
Status:	Werving gestopt
(Verwachte) startdatum:	13-11-2009
Aantal proefpersonen:	30
Type:	Werkelijke startdatum

Ethische beoordeling

Goedgekeurd WMO	
Datum:	07-07-2009
Soort:	Eerste indiening
Toetsingscommissie:	METC NedMec

Registraties

Opgevolgd door onderstaande (mogelijk meer actuele) registratie

Geen registraties gevonden.

Andere (mogelijk minder actuele) registraties in dit register

Geen registraties gevonden.

In overige registers

Register

CCMO

ID

NL26551.041.09