

# De toekomst van tuberculosediagnostics in Nederland

Jakko van Ingen, Arjan Jansz, Ed J. Kuijper, Alewijn Ott, Maarten Scholing, Jurriaan de Steenwinkel

Er is al jaren een daling in de incidentie van actieve tuberculose in Nederland gaande, van 6,4/100.000/jaar in 2010 tot 3,6/100.000/jaar (concreet 623 patiënten) in 2020 [1]. De basis voor de laboratoriumdiagnose tuberculose is een positieve kweek en/of een NAAT met een bevestiging en typering via het kweken van de bacteriën van het *Mycobacterium tuberculosis*-complex (*Mtb*). Vanwege van de veiligheid van laboratoriumpersoneel wordt deze kweek verricht in gespecialiseerde laboratoria waarin gewerkt wordt met specifieke veiligheids- en inperkingsmaatregelen, het zogeheten BioSafetyLevel 3 (BSL-3). Dit houdt onder andere in dat er gewerkt wordt in een alleen via een sluis te betreden afgescheiden ruimte met glad afgewerkte constructies van niet-absorberende materialen, waarin alle (werk)oppervlakken bestand zijn tegen reinigings- en ontsmettingsmiddelen en waarin een trapsgewijs opgebouwde onderdruk gehandhaafd wordt tussen laboratorium, sluis en de rest van het gebouw [2]. Op deze wijze kan bioveiligheid (zowel biosafety als biosecurity) bereikt worden.

## Wat doen Nederlandse medisch-microbiologische laboratoria?

Op basis van deelname aan rondzendingen van Stichting Kwaliteitsbewaking Medische Laboratoriumdiagnostiek (SKML) en eerdere enquêtes lijken er momenteel 28 medisch-microbiologische laboratoria te zijn die mycobacteriële diagnostiek uitvoeren in BSL-3-faciliteiten [3]; zeven hiervan zijn gevestigd binnen universitair medische centra. Een aantal van deze laboratoria is momenteel onderdeel van fusieplannen of -processen. De afname van BSL-3-faciliteiten valt samen met een al langer zichtbare trend. In het jaar 2000 waren er 44 laboratoria met een BSL-3-faciliteit voor tuberculosediagnostics [3], tijdens de laatste European Centers for Disease Control (ECDC) audit in 2019 was dit gereduceerd naar 31

[2,4,5]. Een rondgang langs de BSL-3-laboratoria leerde dat er in 2018 mediaan 1858 kweken per jaar (spreiding 500-5454) werden ingezet per laboratorium, door gemiddeld zeven analisten. Dit leverde mediaan 15 positieve kweken voor *M. tuberculosis*-complex-organismen op per laboratorium (spreiding 7-218), dus 1,7 procent kweekpositiviteit (spreiding 0,5-5,5 procent) en daarnaast mediaan 41 (spreiding 8-161) positieve kweken met niet-tuberculeuze mycobacteriën (NTM) [3].

Dit past bij de geobserveerde stijging van het aantal infecties door niet-tuberculeuze mycobacteriën (NTM), tot een geschatte prevalentie van 2,3-5,9/100.000/jaar in 2019 [3,4]. Deze twee ontwikkelingen (minder *M. tuberculosis*-complex maar meer NTM) compenseren elkaar en kunnen er netto toe leiden dat het aantal materialen dat wordt aangeboden voor mycobacteriële kweken in het BSL-3-laboratorium niet verandert. Helaas zijn er over het exacte aantal aangeboden materialen over tijd in Nederland geen gegevens beschikbaar.

Los van het volume aan materialen is het waarschijnlijk dat de aard van de uit te voeren secundaire testen (identificatie, whole-genome sequencing, gevoelig-

Radboudumc, Nijmegen, afdeling Medische Microbiologie, dr. J. van Ingen, arts-microbioloog.

PAMM, Veldhoven, Laboratorium voor Medische Microbiologie, A. Jansz, arts-microbioloog.

LUMC, Leiden, afdeling Medische Microbiologie, prof. dr. E.J. Kuijper, arts-microbioloog, tevens werkzaam bij RIVM, Bilthoven, Centrum Infectieziekte-bestrijding.

Certe, Groningen, afdeling Medische Microbiologie, dr. A. Ott, arts-microbioloog.

OLVG Lab BV, Amsterdam, afdeling Medische Microbiologie, M. Scholing, arts-microbioloog.

Erasmus MC, Rotterdam, afdeling Medische Microbiologie en Infectieziekten, dr. J. de Steenwinkel, arts-microbioloog. Correspondentieadres: J. van Ingen (jakko.vaningen@radboudumc.nl).

heidsbepalingen) wel verandert op basis van ontwikkelingen in techniek en epidemiologie. De invoering en uitbreiding van whole-genome sequencing (WGS) en het gebruik voor identificatie en een voorspelling van de resistentie van *M. tuberculosis*-complexisolaten zal hierop ook invloed hebben. De algemene taak van de medisch-microbiologische laboratoria (MML's) in Nederland voor de diagnostiek van tuberculose is nu het uitvoeren van directe diagnostiek, dat wil zeggen microscopie en het gebruik van NAAT voor detectie van *M. tuberculosis*-complexbacteriën, eventueel gevolgd door moleculaire detectie van resistentiemutaties in het patiëntmateriaal. Kweek van mycobacteriën en daarmee ook fenotypische of genotypische (via WGS) gevoeligheidsbepalingen kunnen alleen in BSL-3-laboratoria worden verricht. De NVMM draagt daarbij zorg voor de ontwikkeling van richtlijnen, in samenwerking met het tuberculose-referentielaboratorium van het RIVM en het nationaal programma voor tuberculosebestrijding belegd bij het Centrum Infectieziektebestrijding van het RIVM (RIVM/Cib). De meest recente richtlijn voor laboratoriumdiagnostiek van mycobacteriële infecties werd in 2015 gepubliceerd [5], met een officieus addendum over moleculaire detectie van resistentie in 2018. Er wordt momenteel binnen de NVMM een begin gemaakt met de vorming van een subwerkgroep Mycobacteriologie onder de Werkgroep Algemene Medische Microbiologie, om de expertises en inzichten te bundelen en de richtlijn te vernieuwen.

### De rol van het tuberculose-referentielaboratorium

Naast de klinische laboratoria staat het tuberculose-referentielaboratorium van het RIVM, dat zich primair richt op surveillance via moleculair-epidemiologische typeringen voor het nationale programma voor tuberculosebestrijding, maar ook op resistentiebepalingen. Met de invoering van WGS voor moleculair-epidemiologische typeringen en detectie van resistentiemutaties, is de rol van het tuberculose-referentielaboratorium van het RIVM uitgebreid. Vervanging van de fenotypische gevoeligheidsbepalingen door WGS zal, door het beschikbaar komen van deze techniek in steeds meer MML's en mogelijk gebruik voor meer (myco)bacteriën, ook leiden tot een herschikking van taken en diagnostische mogelijkheden. Afstemming tussen de MML's en het

referentielaboratorium rond thema's als rapportages voor epidemiologie en surveillance, maar ook kwaliteitstoetsing wordt dan ook steeds belangrijker.

Het referentielaboratorium is ook vertegenwoordigd bij diverse overlegstructuren in de tuberculosebestrijding, zoals de Commissie Praktische Tuberculosebestrijding (waarin ook de NVMM zitting heeft) en de MDR-TB-commissie. Het RIVM is lid van het internationale ECDC-netwerk van Europese tuberculose-referentielaboratoria, wat belangrijk is voor de internationale inbedding en het voeling houden met de internationale ontwikkelingen in de diagnostiek. In het kader van deze hoedanigheid worden jaarlijks vanuit het RIVM rondzendingen verzorgd in Europa en daarbuiten op het gebied van WGS voor tuberculose-referentielaboratoria.

### Hoe goed doen we het?

WHO en ECDC organiseren landenbezoeken om de hele keten van tuberculosezorg te auditeren. Uit het eerste landenbezoek in 2013 kwam een set aan verbeterpunten, met name voor de borging van de kwaliteit van de microbiologische diagnostiek [6]. De concrete aanbevelingen waren:

- Kweek en gevoeligheidsbepaling van *M. tuberculosis* zou beperkt moeten worden tot een geringer aantal laboratoria, met een richtlijn voor het minimum aantal te verrichten bepalingen om kwaliteit en expertise te borgen, ISO (of vergelijkbare) certificering en aantoonbare deelname aan kwaliteitsrondzendingen.
- Een formeel laboratoriumnetwerk moet worden ingericht, waarin voor alle deelnemers wordt vastgelegd welke diagnostische testen zij verrichten voor de tuberculosedagnostiek en waarin een herkenbaar referentielaboratorium wordt benoemd.
- Nieuwe positieve kweken met *M. tuberculosis*-complexisolaten dienen zo snel mogelijk naar het referentielaboratorium te worden gestuurd.
- Diagnostiek via NAAT-methoden dient altijd vergezeld te gaan van kweekdiagnostiek en gevoeligheidsbepalingen.
- De doorlooptijd van alle gebruikte methoden moet duidelijk vastgelegd zijn voor aanvragers en worden vervolgd.

Voor het formele laboratoriumnetwerk werd destijds door WHO/ECDC een structuur voorgesteld, die bestaat uit lokale laboratoria die microscopie en NAAT-detectie uitvoeren, regionale laboratoria die de kweken, en genotypische en fenotypische gevoeligheidsbepalingen voor eerstelijns anti-tuberculose-middelen uitvoeren en een nationaal referentielaboratorium dat hieraan de gevoeligheidsbepalingen voor tweedelijnsmiddelen, verificaties van gevonden resistenties en moleculaire typering voor surveillance toevoegt. In een vervolfbezoek in 2019 was dit geen hoofd-onderwerp en werd slechts aangeraden de aandachtspunten uit 2013 te blijven verbeteren [7].

Een kernboodschap van WHO/ECDC is dat het wenselijk zou zijn om het aantal BSL-3-laboratoria voor tuberculosedagnostiek te reduceren en ze beter te laten samenwerken. De argumentatie daarvoor is niet expliciet omschreven [6], maar de recente survey toont aan dat de expositie aan positieve kweken met *M. tuberculosis*-complexorganismen per analist maar ook per arts-microbioloog in de huidige BSL-3-laboratoria laag is, met het risico op verlies van expertise en ervaring [3]. Er is weinig bewijs dat het terugbrengen van het aantal BSL-3-laboratoria direct bijdraagt aan kwaliteitsverbetering. Wel is, juist ook in Nederlands onderzoek, al langer aangetoond dat het risico op laboratoriumkruiscontaminaties door *M. tuberculosis*-complexbacteriën het grootst is in laboratoria die minder dan 3000 materialen op jaarbasis aangeboden krijgen voor kweek, in laboratoria die niet dagelijks maar batchgewijs inzetten en bij onvoldoende training van analisten [3,8,9].

De NVMM heeft zich gebogen over de vraag wat theoretisch de minimale monsterstroom moet zijn om een BSL-3-laboratorium actief te houden. In de ALV van 2014 is dit gesteld op 375 monsters per jaar; dit is ook vastgelegd in de NVMM-richtlijn Mycobacteriële laboratoriumdiagnostiek in 2015 [5].

## Hoe is het geregeld voor andere BSL-3-pathogenen?

Er zijn meer bacteriële humane pathogenen die alleen onder BSL-3-condities in kweek gebracht mogen worden. Te denken valt aan *Bacillus anthracis*, *Yersinia pestis*, *Francisella tularensis*, *Brucella*-species en *Burkholderia pseudomallei*. Voor al deze pathogenen geldt dat moleculaire sneldiagnostiek beschikbaar is via het RIVM; kweken gebeuren lokaal, mits daar

BSL-3-faciliteiten, geschikte kweekmedia en identificatietechnieken beschikbaar zijn. Naast bovengenoemde bacteriën behoren sommige schimmels tot de BSL-3-klasse micro-organismen. *Histoplasma capsulatum* is bijvoorbeeld belangrijk in de differentiaaldiagnose van op tuberculose lijkende ziektebeelden vanwege overlap in beloop, endemische gebieden en radiologische en histologische presentatie. Voor al deze relatief zeldzame infecties gelden geen restricties voor laboratoria om monsters te kweken, zoals een minimum aantal diagnostiek-aanvragen per jaar.

## Andere voorbeelden van het centraliseren van microbiologische diagnostiek

Voor de opvang en diagnostiek van patiënten verdacht voor hemorrhagische koorts (door bijvoorbeeld het ebola- of lassavirus) zijn in Nederland vijf centra benoemd. Ook de diagnostiek van infecties door deze virussen is gecentraliseerd in twee centra (Erasmus MC en RIVM). Eenzelfde centralisatie werd ook georganiseerd bij het begin van de SARS-CoV-2-pandemie en is nu opnieuw actueel bij het benoemen van de opschalingslaboratoria; interessant hierin is dat het kunnen uitpakken van materialen die mogelijk een BSL-3-organisme bevatten een criterium is in de selectie van deze opschalingslaboratoria [10]. Het centraliseren van diagnostiek voor infectieziekten is dus niet nieuw; de vraag is alleen of dit nodig of wenselijk is voor de kweekdiagnostiek van tuberculose (en daarmee ook NTM-infecties).

## Kritische beschouwing

Er wordt al langer geadviseerd door WHO en ECDC om het aantal BSL-3-laboratoria voor de tuberculosedagnostiek in Nederland te verminderen. Vanuit het oogpunt van een teruglopende incidentie en zorgen over de kwaliteit van diagnostiek is dit invoelbaar. De Nederlandse situatie is echter wel uniek. Het programma voor tuberculosebestrijding is geen aparte pijler in de zorg met een centrale regie, maar deze is ingebed in breder functionerende structuren, zoals de GGD's, ziekenhuizen en de MML's. De MML's nemen een bijzondere plaats in omdat zij deels zelfstandige entiteiten zijn en deels ingebed zijn in ziekenhuizen, en omdat zij wel voor maar niet in opdracht van het nationaal programma voor tuberculosebestrijding werken. MML's en de

Nederlandse microbiologie zijn verbonden via de beroepsvereniging NVMM en belangenvereniging VMML. Helaas is daarbinnen nog geen netwerkstructuur voor de tuberculosedagnostiek, evenmin als een formele relatie met het tuberculosereferentielaboratorium. Deze twee aspecten worden zorgelijk bevonden in de internationale audits. Toch betekent dit geenszins dat er een probleem is in de kwaliteit van tuberculosedagnostiek in Nederland. In onze MML's wordt door hoogopgeleid personeel en met behulp van zelf opgestelde richtlijnen en nationale en internationale programma's voor externe kwaliteitscontrole (SKML, QCMD, UKNEQAS, INSTAND) gestreefd naar optimale kwaliteit.

De eerste vraag is dus of we nog beter kunnen worden als we met minder laboratoria de BSL-3-tuberculosedagnostiek uitvoeren. Als dit zo is, dan vraagt dat offers. De BSL-3-laboratoria zijn onderdeel van MML's en het sluiten van BSL-3-laboratoria voor onder andere tuberculosedagnostiek leidt tot een verschraving van de beroepsuitoefening en een potentieel verlies van kennis en kunde. Daarnaast zijn er financiële consequenties. Een BSL-3-faciliteit is kostbaar en vermindering kan tot besparing leiden. Maar minder BSL-3-laboratoria vergroot mogelijk de kwetsbaarheid bij uitval van een laboratorium of plotselinge toename van de vraag naar BSL-3-capaciteit bij uitbraken. De vraag is dan in hoeverre de voordelen, zoals meer expertise door schaal-vergroting, eenvoudiger nationale afstemming en betaalbaar houden van het zorgsysteem hiertegen opwegen.

De tweede vraag is wat de impact zal zijn van whole-genome sequencing / next-generation sequencing; deze techniek heeft de diagnostiek en met name de resistentiedetectie van *M. tuberculosis*-complex compleet veranderd. Met de toenemende betaalbaarheid en afnemende complexiteit van benodigde infrastructuur van deze techniek zal deze nog meer gebruikt worden in MML's die nu ook al BSL-3-faciliteiten hebben. Daarnaast zijn er technische ontwikkelingen die deze techniek toepasbaar maken op directe patiëntmaterialen, waardoor de noodzaak tot kweken en dus BSL-3-faciliteiten mogelijk afneemt [11]. De kwaliteitsborging van deze moleculaire next-generation sequencing-bepalingen wordt dan erg belangrijk. Daarbij is de vraag of de rol van het tuberculosereferentielaboratorium van het RIVM, dat nu nog deze test routinematig en gratis aanbiedt, gaat verschuiven naar een meer faciliterende en

coördinerende rol. Te denken valt aan het aanbieden van een centrale databank waarin elders verkregen genomesequenties met een 'eenheid van taal'-principe kunnen worden opgeslagen om zowel identificatie als resistentiedetecties te vervolgen, maar ook om nog meer real-time aan surveillance (inclusief kruiscontaminaties in het laboratorium) te kunnen werken. Doordat het directe diagnostiek is lijkt een dergelijke bepaling ook dicht bij de patiënt zijn plaats te moeten hebben. Dit is mogelijk een goede aanleiding om de door WHO/ECDC zo gewenste afspraken rondom verdeling van taken alsnog van de grond te krijgen. De afnemende incidentie van tuberculose roept vragen op over verdergaande centralisatie van diagnostiek, naast bijvoorbeeld het aanbieden van nationaal of regionaal gecentraliseerd onderwijs voor analisten en artsen-microbioloog in opleiding of het gezamenlijk valideren van nieuwe testen. De huidige bewegingen in het landschap van MML's leidt al tot concentratie van tuberculosekweken. In een mycobacteriologie-werkgroep binnen de NVMM/WAMM kunnen alle genoemde vraagstukken, maar ook andere WHO/ECDC-suggesties geadresseerd worden.

## Referenties

1. Slump E, van Beurden KM, van den Boogaard J, et al. Tuberculose in Nederland 2020. Beschikbaar via: <https://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/2021-0192.pdf>
2. Werkgroep TB diagnostiek NVMM. Veilig werken aan betere kwaliteit. Laboratoriumdiagnostiek van tuberculose in de praktijk. NVMM, 2011.
3. Mourik BC, Kuijper E, van Ingen J, de Steenwinkel J, de Vries G, van Soelingen D. Ned Tijdschr Med Microbiol. 2020;28: 38-40.
4. Schildkraut JA, Zweijffening SMH, Nap M, et al. The epidemiology of nontuberculous mycobacterial pulmonary disease in the Netherlands. ERJ Open Res. 2021;7:00207-2021.
5. NVMM Richtlijn Mycobacteriële laboratoriumdiagnostiek. NVMM, 2015. Beschikbaar via [www.nvmm.nl](http://www.nvmm.nl).
6. World Health Organization and European Centers for Disease Control. Report of the joint WHO and ECDC programme review of the national TB control programme in the Netherlands, 30 September – 4 October 2013. Geneva: WHO; 2014.
7. European Centre for Disease Prevention and Control. Tuberculosis in the Netherlands – Report of the joint ECDC and WHO review of the tuberculosis prevention and care system in the Netherlands, 24–28 June 2019. Stockholm: ECDC; 2020.
8. de Boer AS, Blommerde B, de Haas PE, et al. D. False-positive Mycobacterium tuberculosis cultures in 44 laboratories in The Netherlands (1993 to 2000): incidence, risk factors, and consequences. J Clin Microbiol. 2002;40: 4004-9.
9. Martín A, Herranz M, Lirola MM, et al. Optimized molecular resolution of cross-contamination alerts in clinicalmyco-bacteriology laboratories. BMC Microbiol. 2008;8:30.
10. LCI Richtlijn COVID-19, bijlage, update 11-01-2022. Beschikbaar via: <https://lci.rivm.nl/covid-19/bijlage/aanvullend>
11. Cabibbe AM, Spitaleri A, Battaglia S, et al. Application of Targeted Next-Generation Sequencing Assay on a Portable Sequencing Platform for Culture-Free Detection of Drug-Resistant Tuberculosis from Clinical Samples. J Clin Microbiol. 2020;58: e00632-20.