

Masterclass Tuberculose Mycobacteriologie anno 2024

Jakko van Ingen, arts-microbioloog
E: Jakko.vanIngen@radboudumc.nl

Centrum voor Infectieziekten
Radboudumc

Leerdoelen / take home messages

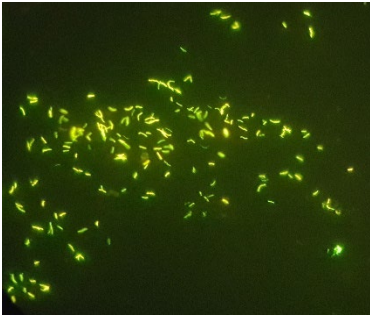
- De NTM verschijnt waar TB verdwijnt
- De microscopie vervangen door PCR / Ct waarde?

- TB
 - Whole genome sequencing vervangt traditionele resistentiebepaling
 - Resistentiebepaling gaat over naar EUCAST methode (eindelijk!)

- NTM
 - Whole genome sequencing vervangt traditionele identificatie
 - Resistentiebepaling gaat over naar EUCAST methode



LAB 😊



Garbage in = Garbage out



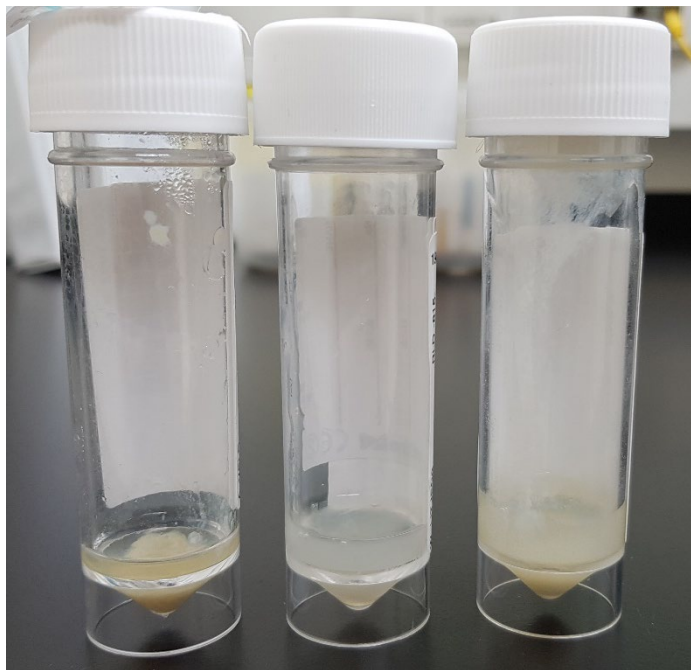
Even checken...

- Wat toon je aan met een PCR?
 - Antistoffen
 - DNA
 - Lipoarabinomannan
 - Antigenen (ESAT-6 / CFP-10)

Microbiologische diagnostiek

In vogelvlucht

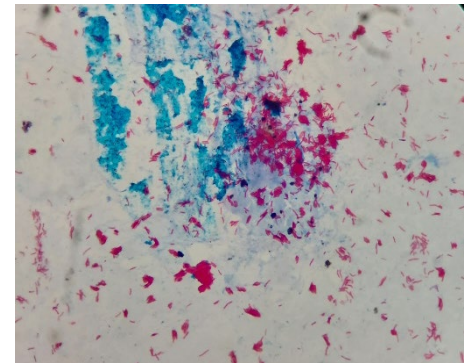
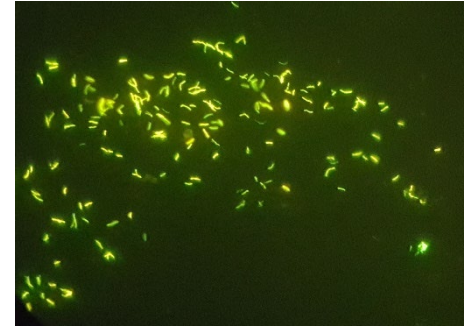
De basics: Materiaalafname



- Patiëntenmateriaal **vóór start therapie** afnemen
- Sputum, pleuravocht, CSF liefst **meermalen** afnemen
 - Ochtend sputum 5-10 ml
 - banale kweek, schimmels, PCRs, virus?
 - **Volume=sensitiviteit**
- Sputum evt **induceren**: Vernevelen 5-10% fys. zout

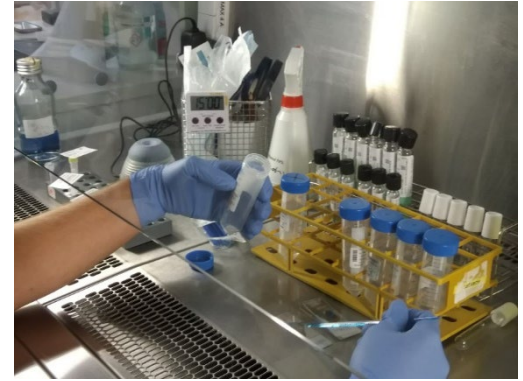
Microscopie/ Kleuringen

- Auramine(-rhodamine)
 - Fluorescentiemicroscopie nodig
 - Zeer sensitief, specificiteit prima
- Oude doos: Ziehl-Neelsen (ZN)
 - Minder sensitief, specificiteit heel hoog
- Te vervangen door PCR?
 - Ct waarde gebruiken, a la COVID?
 - Vervolgen is moeizaam



PCR direct op klinisch materiaal

- Detectie van *M. tuberculosis* complex
- Of: detectie *Mycobacterium* sp. en MTBc
- **PCR detectie soms gevoeliger dan kweek, voor *M. tuberculosis* complex**
 - Liquor!!
 - Klieren!!
 - Dubieus: pleuravocht, ascites



Kweken

- **Vloeibare en vaste kweekmedia**
- Geautomatiseerde vloeibare kweeksystemen
 - **MGIT960**
 - BacT-Alert
- Snellere groei dan op vaste bodems
- **Lowenstein-Jensen medium, ei-gebaseerd**
- **Combi 10% sensitiever**



Gevoeligheidsbepaling *M. tuberculosis*

- Old school: kweek
- MGIT met 4 AB-bevattende buizen (SIRE)
 - STR, INH, RIF, EMB
 - Breekpuntsbepaling
- Microdilutie in Middlebrook 7H9
 - Alle 1^e en 2^e lijnsmiddelen
 - MIC bepaling
- Breekpunten matig gedefinieerd, niet op basis van trials!

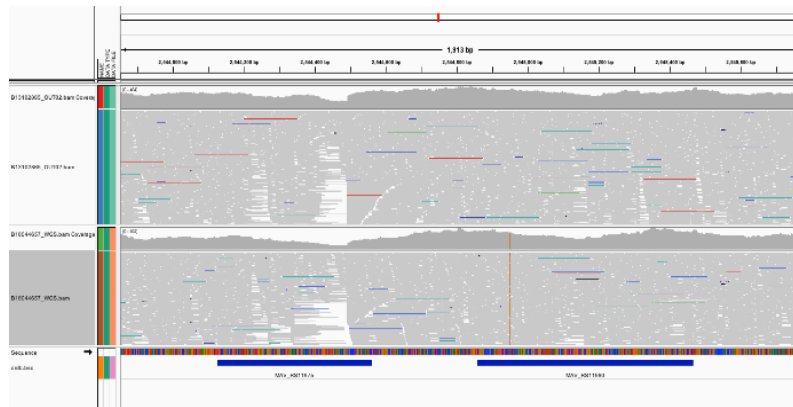
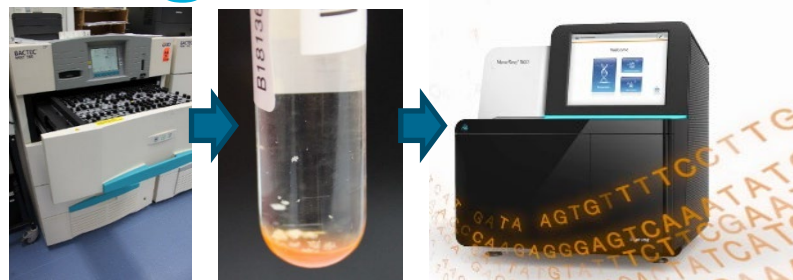


Mycobacteriologie anno 2024

Wat komt op ons af en wat kan ermee?

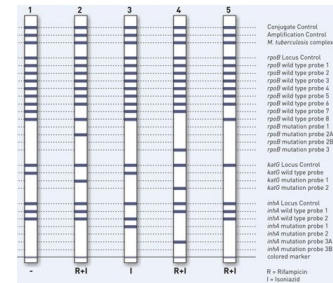
Whole genome sequencing

- Van **gekweekte** mycobacteriën
- **Identificatie** tot (sub)species / genotype
- Detectie **resistentie-mutaties**
- **Typering** tot stam-niveau
 - Moleculaire epidemiologie
 - Uitbraak analyse
 - Relapse / reinfection



Quiz moleculaire resistentie test 1

- 1- De microbioloog meldt: MTB+, LPA: katG/inhA/rpoB geen mutaties
- Stopt U nu ethambutol? (Ja/Nee)



Mag de ethambutol nu gestopt?

- FAST-TB trial
- Ethambutol stop bij geen mut
- Uitkomst gelijk

Open Forum Infectious Diseases

MAJOR ARTICLE



Treatment With a Three-Drug Regimen for Pulmonary Tuberculosis Based on Rapid Molecular Detection of Isoniazid Resistance: A Noninferiority Randomized Trial (FAST-TB)

N. De Castro,^{1,6} F. Mechat,² D. Bachelet,² A. Canestri,⁴ V. Joly,² M. Vandenhende,^{5,6} D. Boutoille,^{7,8} M. Kerjouan,⁹ N. Veziris,^{10,11} J. M. Molina,^{1,12} N. Grall,³ P. Tattevin,^{9,13} C. Laouenan,³ and Y. Yazdanpanah,^{3,12,14} for the FAST TB Study Group*

¹AP-HP Hôpital Saint-Louis, Paris, France, ²AP-HP Hôpital Avicenne, Bobigny, France, ³AP-HP Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France, ⁴AP-HP Hôpital Tenon, Paris, France, ⁵Hôpital Saint-André-CHU de Bordeaux, Bordeaux, France, ⁶Université Bordeaux, Bordeaux, France, ⁷CHU Nantes, Nantes, France, ⁸Centre d'Investigation Clinique, Unité d'Investigation Clinique 1413 INSERM, Nantes, France, ⁹CHU de Rennes, Rennes, France, ¹⁰Centre d'Immunologie et des Maladies Infectieuses (Cimi-Paris), Sorbonne Université, UMR 1135, Paris, France, ¹¹AP-HP Hôpital Saint-Antoine, Centre National de Référence des Mycobactéries, Paris, France, ¹²Université de Paris, Paris, France, ¹³Université de Rennes, Rennes, France, and ¹⁴Inserm, IAME UMR 1137 INSERM, Paris, France

Background. The rationale behind the use of ethambutol in the standard tuberculosis treatment is to prevent the emergence of resistance to rifampicin in case of primary resistance to isoniazid. We evaluated whether early detection of isoniazid resistance using molecular testing allows the use an ethambutol-free regimen.

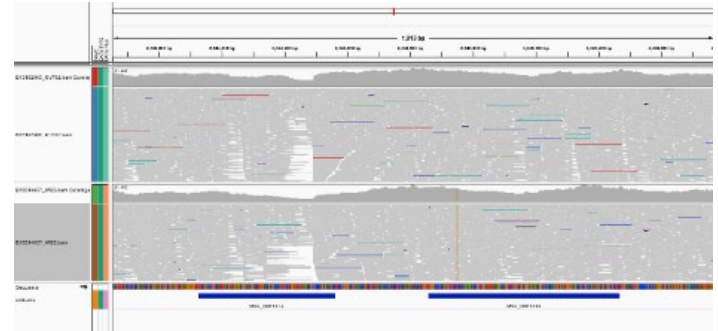
Het is 2024!

- Targeted-NGS
- 15 – 24 resistentiegenen
- Direct in klinisch materiaal
- Als geen mutaties – EMB stop?



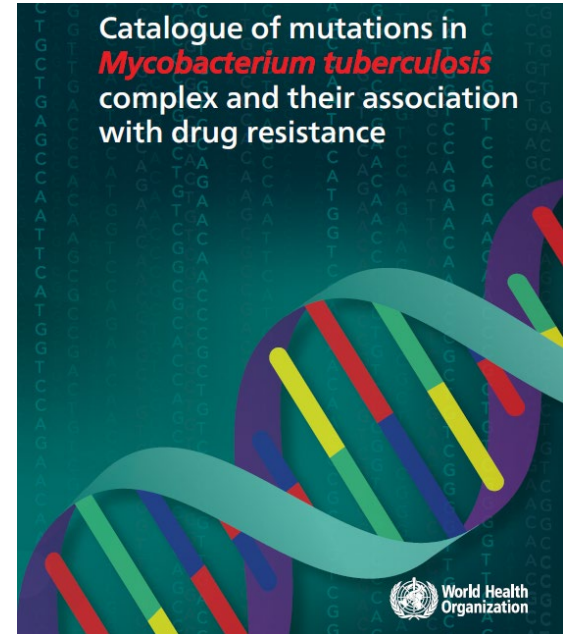
Quiz moleculaire resistentie test 2

- 2- De nieuwe microbioloog belt: MTB+, WGS: geen resistentiemutaties
- Stopt U nu ethambutol? (Ja/Nee)

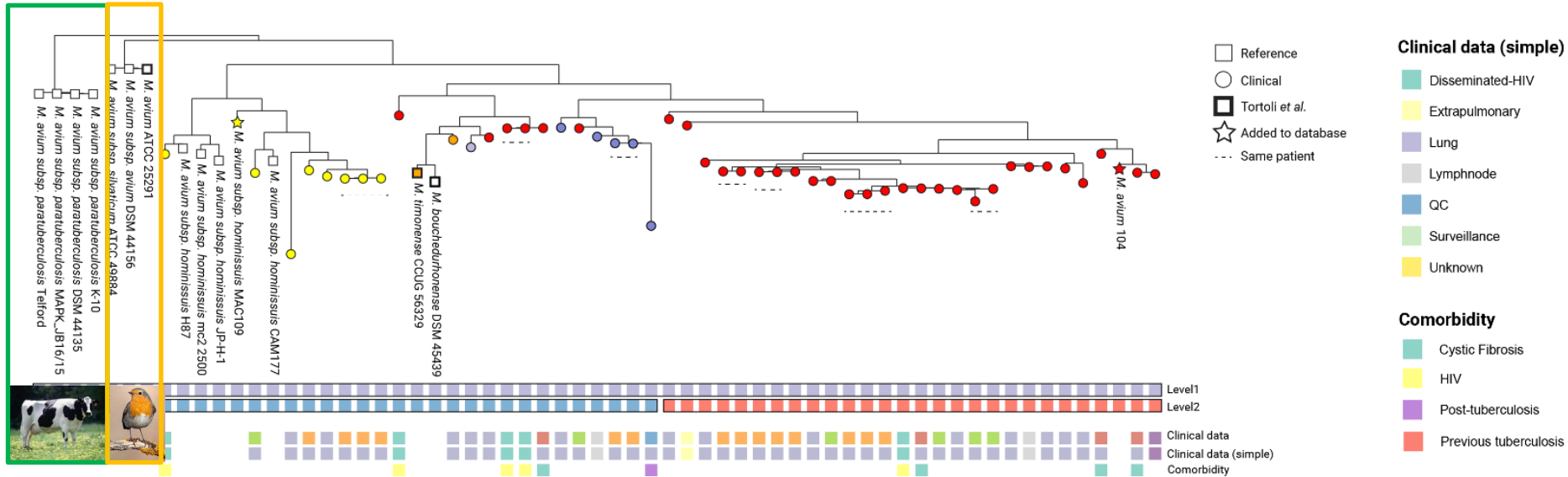


Mtb Resistentedetectie middels WGS

- 2021: WHO catalogus resistentiemutaties
- Hoog/laag niveau van resistentie
- Zekere/dubieuze/geen relatie met resistentie
- Wordt 2x/jaar geupdate



WGS *M. avium* in NL - link klinisch beeld?



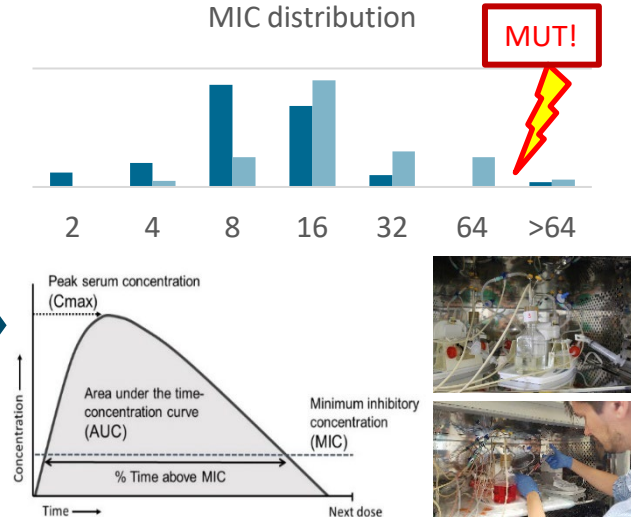
Invoering EUCAST methodologie



MGIT
STR, INH, RIF, EMB
Breekpuntsbepaling
Zwart/wit / binair (S/R)



Microdilutie
Alle middelen (behalve PZA)
MIC bepaling
Grijstinten (S/I/R)



Microdilutie vlg EUCAST
Alle middelen
MIC bepaling
Breekpunten obv ECOFF (distr,mut,clin)

Quiz: resistent of toch niet?

- Ingewikkelde patient blijkt kweek-positief voor TB.
- Moleculair wordt een rpoB mutatie gevonden
- De MGIT gevoeligheidsbepaling zegt 10 dagen later: rifampicine gevoelig

- Wat doet U?
 - Toch rifampicine stoppen/gestopt laten
 - Rifampicine dosering verhogen naar 35 mg/kg
 - Ik vraag de arts-microbioloog om beide testen te herhalen
 - Ik bel Dekkerswald/Beatrixoord (waar patiënt al heen is gestuurd)

Leerdoelen / take home messages

- De NTM verschijnt waar TB verdwijnt
- De microscopie vervangen door PCR / Ct waarde?

- TB
 - Whole genome sequencing vervangt traditionele resistentiebepaling
 - Resistentiebepaling gaat over naar EUCAST methode (eindelijk!)

- NTM
 - Whole genome sequencing vervangt traditionele identificatie
 - Resistentiebepaling gaat over naar EUCAST methode

Radboudumc TB/NTM team

Medical Microbiology



Jodie
Schildkraut



Jelmer
Raaijmakers



Sandra Salillas



Jakko
van Ingen



Jordy Coolen



Eva
Terschlusen

Infectious Diseases



Frank van de
Veerdonk



Arjan van
Laarhoven



Reinout van Crevel



Mihai Netea

Pulmonary Diseases



Wouter Hoefsloot



Martin Boeree

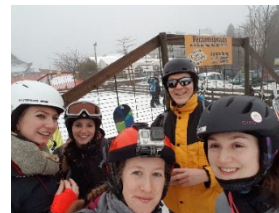


Cecile Magis



Neeltje Carpaij

Mycobacteriology teams



Melanie Wattenberg
Mariëlle Rockland
Nicole Aalders
Mike Mientjes



Ellen Koenraad
Myriam Vermeeren

Pharmacy / Pharmacology



Lindsey te Brake



Rob Aarnoutse



Elin Svensson

Pediatrics



Koen van Aerde



Stefanie Henriët



