

Verslag 24^{ste} NVAMM-symposium – Molecular Diagnostics: the Future of Clinical Microbiology?

Little things are infinitely the most important'- Sir Arthur Conan Doyle
R.G. Bentvelsen, C. Schneeberger, F.M.H.P.A. Koene, J. Beuving, M.P.A. van Meer

Op 11 februari jongstleden organiseerde de wetenschapscommissie van de Nederlandse Vereniging voor AIOS Medische Microbiologie (NVAMM) voor de 24ste keer haar jaarlijkse symposium. Het vond voor de tweede keer plaats in het voormalige pesthuis, de Leeuwenbergh, in Utrecht. Dit jaar stond het symposium in het teken van de moleculaire diagnostiek. Niet alleen de huidige stand van zaken rondom Whole Genome Sequencing (WGS) en de nieuwste toepassingen ervan kwamen aan bod, maar er werd ook ingegaan op de klinische relevantie en de betekenis van deze nieuwe DNA-detectietechnieken voor de toekomst van het vak medische microbiologie.

Whole genome sequencing

Next-Generation Sequencing in microbial epidemiology

De eerste spreker was dr. Birgitta Duim, onderzoeker aan de faculteit diergeneeskunde. Zij gaf uitleg over de toepassing van Next-Generation Sequencing (NGS) in microbiologische epidemiologie. Ze leidde de dag in met uitleg over de geschiedenis en ontwikkeling van verschillende sequentieanalysemethoden en vergeleek hierna Single Nucleotide Polymorphism (SNP) fylogenie met Gene-by-Gene analyse. Verschillende pipelines, nodig voor de analyse van de enorme hoeveelheid data en de werkwijze van NGS werden besproken. Bacteriële resistentiedetectie via NGS werd geïllustreerd, waarbij databases met bekende resistentiepatronen binnen WGS een hoge mate van sensitiviteit in resistentiedetectie opleveren. Ze illustreerde dit met enkele voorbeelden van uitbraken met resistente stammen waarbij met NGS snelle detectie plaatsvond.



Dr. Birgitta Duim

Klinische toepassingen van Whole Genome Sequencing in de virologie

Infectieziekten worden door een breed scala van pathogenen veroorzaakt. Dr. Sander van Boheemen verwoordde dat het in het geval van een infectie zaak is zo snel mogelijk de verantwoordelijke pathogeen te detecteren. Zo werden nieuwe virussen als het MERS-CoV ontdekt. Technische facetten, de kosten en de tijd tot resultaat zullen nog moeten verbeteren. Door met WGS alle micro-organismen te detecteren, ook de vooraf nog niet geïdentificeerde, zorgen we voor een brede diagnostische scope.



Dr. Sander van Boheemen

Microbioom, virus discovery and clinical relevance

Microbioom analyse: 'guts & glory'

Het menselijk microbiom is vrijwel even uniek per persoon als de vingerafdruk. Het meest gecompliceerde microbiom is het gastro-intestinale microbiom waarvan

C. Schneeberger, Academisch Medisch Centrum Amsterdam, F.M.H.P.A. Koene, Maastricht Universitair Medisch Centrum, J. Beuving, St. Elisabeth Ziekenhuis Tilburg, M.P.A. van der Meer, Erasmus Medisch Centrum Rotterdam. Correspondentieadres: R.G. Bentvelsen, Leids Universitair Medisch Centrum, e-mail: R.G.Bentvelsen@lumc.nl

de precieze samenstelling en invloed op onze gezondheid nog niet bekend is. Prof. dr. Paul Savelkoul liet zien dat de nieuwste moleculaire detectietechnieken een tipje van de sluier van deze gecompliceerde samenstelling aan commensale flora doen oplichten en dat analyse van deze data inzicht geeft in chronische inflammatoire ziekten en het effect van therapeutische interventies, zoals fecestransplantatie, kan vervolgen.



Prof. dr. Paul Savelkoul

Moleculaire diagnostiek in de medische microbiologie: 'sense and sensitivity'

De huidige ontwikkelingen binnen de moleculaire diagnostiek gaan snel, mogelijk te snel. De klinische relevantie van de geproduceerde uitslagen is nog niet altijd duidelijk. Hoe zit het nu met de 'sense and sensitivity' van de moleculaire diagnostiek. Prof. dr. Menno de Jong uit het AMC blikte vooruit en beschreef hoe een microbiologische uitslag er in 2020 uit zou kunnen zien. Door nieuwe technieken kunnen we hopelijk niet alleen een compleet overzicht van de aanwezige micro-organismen rapporteren, maar ook welke micro-organismen relevant zijn omdat ze daadwerkelijk tot ziekte hebben geleid op basis van de gastheer response. De uitslag van de toekomst is compleet met een gepersonaliseerd behandeladvies.



Prof. dr. Menno de Jong

'Virus discovery, how to make sense'

Hoe ontdek je virussen waar je het bestaan niet van weet? Dr. Lia van der Hoek uit het AMC nam ons mee op een 'virus discovery'. Het draait om een mix van de juiste methode om alles, inclusief het onbekende, te sequensen in combinatie met een rationele keuze voor het te onderzoeken klinische materiaal van patiënten en de kunst om uit het geheel aan verkregen sequenties de onbekende virussen te filteren. Bewijzen dat een nieuw ontdekt virus ook daadwerkelijk de onderzochte ziekte veroorzaakt, is daarna de grootste uitdaging.



Dr. Lia van der Hoek

Molecular diagnostics in practice

Organisatie en logistiek van moleculaire diagnostiek in de praktijk

Dr. Kate Templeton, werkzaam in de Universiteit van Edinburgh, opende het middagprogramma met een mooi overzicht van de organisatorische structuur en logistiek binnen haar laboratorium. Ze liet onder andere zien dat een andere indeling van de laboratoriumdiensten en daarmee samenwerking met de klinische chemie, haematologie en genetica kan leiden tot goedkopere en snellere diagnostiek en daarnaast een beter continu aanbod aan externen kan bieden.



Dr. Kate Templeton

Transitiefase naar nieuwe genotyperingsmethoden

Het unieke voordeel van WGS-technieken als primaire diagnostische benadering is het schrappen van de eis om vooraf de moleculaire targets te kiezen. Zonder deze selectie biedt sequentie-analyse voordeel door een brede scoop en het kwantificeren van de data. Prof. dr. Louis Kroes gaf de verwachting aan dat NGS diepgaande effecten zal hebben op de organisatie van de medische microbiologie en andere medische takken (genetica, pathologie en oncologie). Enkele grote uitdagingen zijn het snel en gebruiksvriendelijk verwerken van de sequentiedata en de relatief grote tijdsdruk voor het stellen van een microbiologische diagnose, vergeleken met andere vakgebieden. De variatie in pathogenen en ziektebeelden zal een interpretatie vergen en hiervoor zijn microbiologen essentieel. Deze taak zal blijven hoewel er grote veranderingen in de logistiek en infrastructuur, regionale organisatie en vergoedingstelsel zullen plaatsvinden.



Prof. dr. Louis Kroes

Moleculaire typering: casus uit de praktijk

Dr. Lieke van Alphen gaf een mooi voorbeeld van het nut van typeren en de mogelijkheden en beperkingen hiervan vanuit een klinische casus waarbij er mogelijk overdracht had plaatsgevonden van *Staphylococcus aureus*. Haar presentatie leidde tot veel discussie met betrekking tot het gebruik en de interpretatie van de informatie die wordt verkregen door de nieuwere moleculaire typeringsmethoden zoals WGS.



Dr. Lieke van Alphen

Het gebruik van WGS in de dagelijkse diagnostiek en nationale surveillance

Dr. Henrik Hasman van het Statens Serum Institut in Kopenhagen liet de klinische mogelijkheden zien van WGS in de bacteriologie. WGS-data bevat alle klinisch relevante informatie die nodig is voor diagnostiek en typering van bacteriën. Hiervoor is het van belang om betaalbare, gebruiksvriendelijke en geüniformeerde software beschikbaar te hebben. In Denemarken heeft men een gratis web-service opgezet waarmee volledige genomen doorzocht kunnen worden op diverse gebieden, zoals resistentiegenen, virulentiefactoren et cetera. Ter illustratie voor de kliniek werd getoond hoe WGS gebruikt kan worden voor resistentiebepaling en vergeleken met het fenotypisch resistentiepatroon met zeer hoge concordantie (99,74 procent). Daarnaast werd het nut van een grote database van bacteriële genomen getoond: zodra in de literatuur melding werd gemaakt van het bestaan van het mcr-1-gen, dat codeert voor colistineresistentie, heeft men de eigen database doorzocht op de aanwezigheid van dit gen. Andersom is het mogelijk om de database te gebruiken voor het snel detecteren van nog onbekende resistentiegenen, door de sequenties van resistente en gevoelige stammen te vergelijken. Tot slot werd het aantonen van infecties met moeilijk kweekbare micro-organismen getoond.



Dr. Henrik Hasman

Moleculaire diagnostiek in de parasitologie

Steeds meer parasieten kunnen middels PCR worden aangetoond. Echter, er heerst nog steeds onzekerheid over wat de rol van PCR is ten opzichte van microscopie. Dr. Jaco Verweij (Elisabeth-Tweesteden Ziekenhuis Tilburg) liet zien dat PCR-detectie gevoeliger is dan microscopie, terwijl het risico op een foutpositieve uitslag als gevolg van contaminatie of 'dood' DNA klein blijkt te zijn in een laag-endemische setting. Microscopie heeft als voordeel dat ook parasieten kunnen worden gevonden waar men niet bewust naar op zoek was, al blijkt dat

bijvoorbeeld *Strongyloides* ook met microscopie regelmatig gemist wordt. Bovendien komen in een laag-endemische setting als Nederland zeer weinig parasieten voor die niet standaard in het PCR-panel zitten. Het potentieel missen van deze parasieten door het achterwege laten van microscopie kan worden ondervangen door in risicopopulaties alsnog microscopie te verrichten, of aanvullende PCR's (zoals een helminth-PCR).



Dr. Jaco Verweij

'Culture is not dead'

Als laatste spreker van de dag schudde prof. dr. Alex van Belkum iedereen wakker door vanaf één blaadje het publiek een aantal discussiepunten rondom en de keerzijden van de op handen zijnde spectaculaire NGS en transcriptomics technieken voor te leggen en zijn presentatie achterwege te laten. Allereerst werd er gespeculeerd of het realistisch en wenselijk is dat in de toekomst huisartsen zelf met een eigen MinION USB-stick (NGS met behulp van de Nanopore-technologie) de verwekkers van urineweginfecties en hun resistentiegenen identificeren. Als tweede punt kwam de betaalbaarheid van deze moderne moleculaire technieken in de derde wereld aan bod. De meeste laboratoria op de wereld zijn te klein, te slecht uitgerust en gewoonweg te arm om deze technieken te kunnen implementeren. Daarnaast werden de klinische relevantie van genetische informatie zonder bekend fenotype, verschillen in de soorten bacteriën die je vindt met uitgebreide kweekmethoden (culturomics) en NGS (genomics) en het gevaar van te hoge complexiteit van bijvoorbeeld een 20-plex-PCR voor een goede terugkoppeling naar de kliniek besproken.



Prof. dr. Alex van Belkum

Dr. Lesla Bruijnesteijn van Copenraet leidde als eerste dagvoorzitter op bekwame en gedecideerde wijze de sprekers in. 's Middags was dr. Willem Melchers de aanjager van positief opbouwende reuring en discussie. Er was veel interesse voor het onderwerp. Bijna 180 mensen namen deel aan het symposium. Het publiek bestond met name uit AIOS medische microbiologie en arts-microbiologen, maar er waren ook veel medisch moleculair microbiologen al dan niet in opleiding aanwezig. Gezien de grote opkomst en de enthousiaste reacties van de deelnemers en de sprekers kan er absoluut gesproken worden van een zeer geslaagde en inspiratieve dag.



Dr. Lesla Bruijnesteijn van Copenraet dag.



Dr. Willem Melchers