

Gerard de Vries
tbc-coördinator RIVM-CIb/ KNCV
Tuberculosefonds
Jessica de Beer
analist, Tuberculose referentielaboratorium,
RIVM-CIb

Douwe Bakker
moleculair microbioloog, Centraal Veterinair
Instituut, Lelystad
Dick van Soelingen
hoofd Tuberculose referentielaboratorium,
RIVM-CIb

Mycobacterium bovis: transmissie tussen mens en dier in Nederland

Nederland is officieel vrij van rundertuberculose. Toch komt er af en toe nog *Mycobacterium bovis*-tuberculose voor bij relatief jonge autochtone Nederlanders. Ook zijn er recent nog wel boviene uitbraken geweest. Dat roept de vraag op of er ook nu nog transmissie is van *M. bovis* tussen mens en dier. Daarom zijn in een studie de DNA-fingerprints van patiënten met *M. bovis* en van dieren met rundertuberculose met elkaar vergeleken.

Mycobacterium bovis is bij circa 1 tot 2 procent van tbc-patiënten de veroorzaker van tuberculose in Nederland; in vrijwel alle andere gevallen is de verwekker *Mycobacterium tuberculosis* (1). Hoewel *M. bovis* van mens op mens kan worden overgedragen, is de bron van infectie bij de mens meestal het dier. Er zijn twee belangrijke transmissieroutes: gastro-intestinaal, via het drinken van ongepasteuriseerde melk of het eten van rauwmelkse producten, of via de aëroge route, na aangehoest te zijn door een ziek dier met 'open tuberculose'. *M. bovis*-tuberculose bij de mens betreft tegenwoordig vooral oudere autochtone patiënten die waarschijnlijk decennia geleden geïnfecteerd zijn toen de melk nog niet werd gepasteuriseerd, of patiënten die geboren zijn in landen waar rundertuberculose nog endemisch is en aldaar zijn geïnfecteerd.

Van mens op dier

De mens kan *M. bovis* óók overdragen aan dieren. Huitema beschreef verschillende gevallen, zoals een boer met longtuberculose die 76 van zijn koeien infecteerde, en drie casus van patiënten met urogenitale tuberculose die via het plassen in de stal *M. bovis* verspreidden naar de vee-stapel. Totaal werden 636 *M. bovis*-infecties bij dieren gerelateerd aan 50 humane bronpatiënten (2).

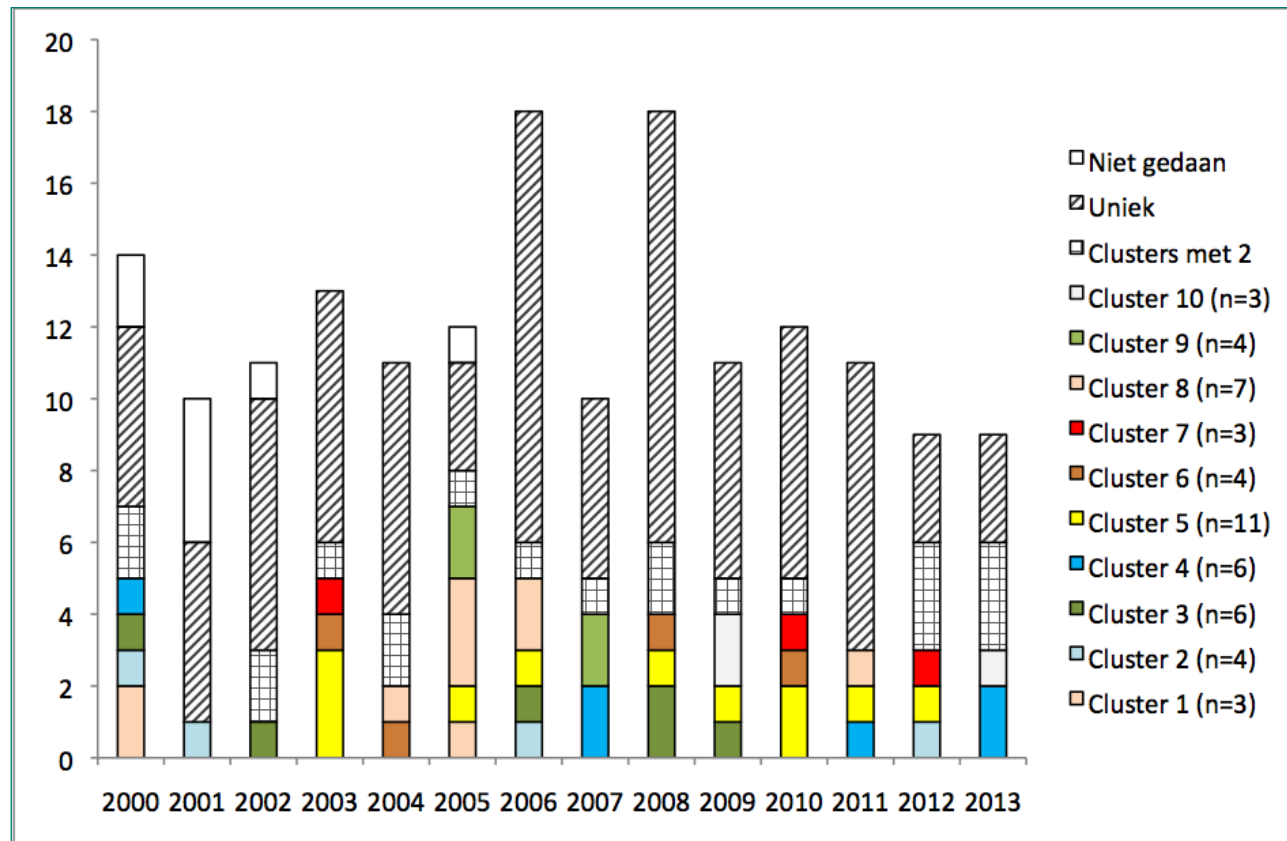
Vrij verklaard

Sinds 1999 is Nederland vrij verklaard van rundertuberculose. Om deze status te behouden moet de prevalentie op bedrijfsniveau onder de 0,1% blijven en dat is sindsdien ook het geval. Als er verdachte dieren of vlees worden gevonden, verricht het referentielaboratorium voor boviene tuberculose van het Centraal Veterinair Instituut (CVI) bevestigingsonderzoek op de vermoedelijke *M. bovis*-infectie door middel van PCR en kweek.

Onbeantwoorde vragen

Toch blijven er een aantal vragen onbeantwoord. Waarom krijgen soms relatief jonge autochtone Nederlanders *M. bovis*-tuberculose? Is transmissie van dier naar mens hierbij geheel uit te sluiten? De laatste jaren zijn toch immers nog een aantal boviene uitbraken beschreven. Zo kwam in 2008 een melding uit Ierland dat kalveren die vanuit dit land waren geëxporteerd mogelijk met *M. bovis* waren geïnfecteerd. Deze kalveren werden in Nederland snel opgespoord en onderzocht. Transmissie naar andere dieren was beperkt, maar werd wel geconstateerd (3). In 2010 was er een uitbraak bij een melkveebedrijf in Friesland, waar uiteindelijk alle koeien geruimd moesten worden. De bron van deze infecties is nooit vastgesteld. In 2012

Figuur 1. Variable Number of Tandem Repeat (VNTR)-clustergrootte van humane patiënten met *Mycobacterium bovis*-isolaten, 2000-2013



Tussen haakjes staat bij clusters het aantal patiënten in een cluster. Er waren 10 clusters met twee patiënten.

werd in Gelderland bij een rund tuberculose vastgesteld, waarbij een geïmporteerd rund uit België de bron was (4). Ook hier bleken bijna alle koeien van dat bedrijf geïnfected te zijn (zie ook de casus in het artikel dat begint op pagina 3).

Transmissie-onderzoek

In deze studie zijn DNA-fingerprints van patiënten met *M. bovis* en van dieren met rundertuberculose vergeleken om uit te zoeken of er tegenwoordig nog aanwijzingen zijn voor transmissie van *M. bovis* tussen mens en dier in Nederland.

VNTR

In Nederland worden sinds 2009 alle *M. tuberculosis*-complex isolaten van humane patiënten door het RIVM getypeerd met de Variable

Number of Tandem Repeats (VNTR)-methode, om onderzoek naar transmissie te faciliteren. Deze methode maakt voor *M. bovis* een beter onderscheid dan de Restrictie Fragment Lengte Polymorfisme (RFLP)-typeermethode die in de periode 1993-2008 werd gebruikt. *M. bovis*-isolaten van alle tbc-patiënten uit de periode 2004-2008 zijn eerder als nog getypeerd met VNTR om het zoeken naar epidemiologische verbanden te optimaliseren (5, 6). Voor de huidige studie zijn ook de *M. bovis*-isolaten van patiënten uit de periode 2000-2003 getypeerd met de VNTR-methode.

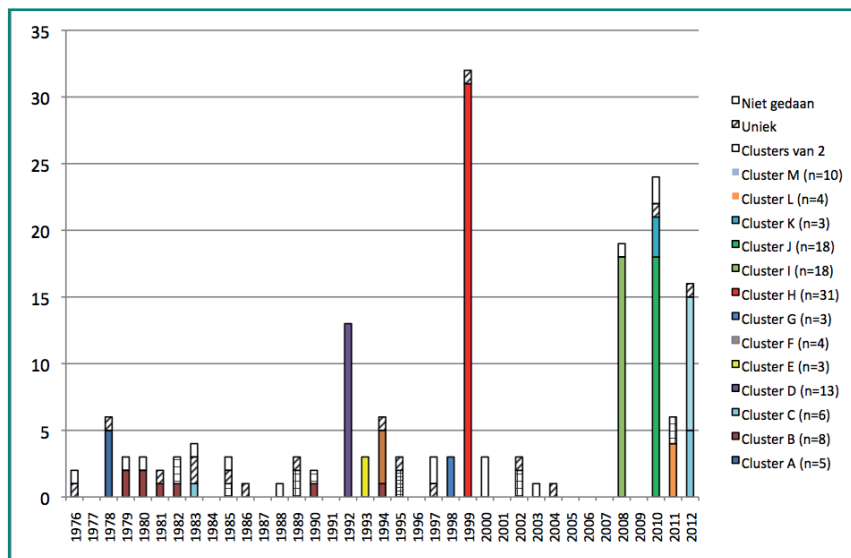
Het CVI stuurde voor deze studie alle nog beschikbare dierlijke *M. bovis*-isolaten naar het RIVM voor VNTR-typing. Als er meerdere isolaten tot een uitbraak behoorden, dan werd

een representatief deel daarvan onderzocht met de VNTR-methode. De VNTR-typingen van de *M. bovis*-isolaten van mens en dier zijn vervolgens vergeleken en indien er identieke patronen waren, is contact opgenomen met de GGD om mogelijke transmissieroutes tussen mens en dier te onderzoeken.

M. bovis-tuberculose (bij de mens)

In de periode 2000 tot 2013 is door het RIVM van 169 humane patiënten uit het ingezonden materiaal een *M. bovis* geïdentificeerd. Er zijn 161 VNTR-typingen gedaan (van 8 isolaten is om verschillende redenen geen typing gedaan). Er werden 110 verschillende VNTR-patronen aangetoond, waarvan 90 zich eenmaal voordeden; dit betreft dus unieke gevallen. Er werden 20 maal

Figuur 2. Variable Number of Tandem Repeat (VNTR)-clustergrootte van dieren met *Mycobacterium bovis*-isolaten, 1976-2013



De 15 isolaten van de uitbraak in 2012 vormden twee clusters (C en M). De VNTR-clusters verschilden op één locus.

twee of meer identieke patronen ('clusters') gevonden, met in totaal 70 patiënten (zie Figuur 1). Het grootste humane cluster bevatte 11 patiënten.

Rundertuberculose

Het CVI stuurde 172 *M. bovis*-isolaten uit de periode 1976-2003 naar het RIVM voor VNTR-typering. Drie isolaten (van gemsbokken) werden geïdentificeerd als *Mycobacterium orygis*; een recent beschreven subspecies in het *M. tuberculosis*-complex (7). Deze werden buiten het onderzoek gehouden. Van de 169 isolaten is van 106 een VNTR-typering gedaan en werd bij 49 typering achterwege gelaten omdat ze tot een uitbraak behoorden waarvan al één of meerdere isolaten met VNTR getypeerd waren. Deze isolaten werden toegekend aan het cluster van de uitbraak. Van de overige 15 isolaten is om verschillende redenen geen VNTR-typering gedaan.

Figuur 2 toont uitbraken in 1992 (Noord-Brabant), 1999 (Twente),

2008 (kalveren uit Ierland), 2010 (Friesland) en 2012 (Gelderland). Bij een aantal uitbraken waren veel meer dieren betrokken dan de getoonde *M. bovis*-isolaten.

Overeenkomsten tussen humane en veterinaire *M. bovis*-isolaten

Er waren 7 VNTR-matches tussen *M. bovis*-isolaten van mensen en dieren.

1) Vier patiënten clusterden (cluster 2 in Figuur 1) met een *M. bovis*-isolaat dat in 1986 van een dier werd geïsoleerd uit een slachterij (het VNTR-type werd eenmaal bij dieren vastgesteld):

- a) Een Marokkaanse man (tussen 40 en 50 jaar) met tuberculose in 2000, die werkte als uitbener in dezelfde regio waar de slachterij zich bevond. De GGD ging er destijds aanvankelijk vanuit dat hij in Marokko was geïnfectedeerd, maar het is dus zeer wel mogelijk dat hij tijdens zijn werkzaamheden in de slachterij in Nederland besmet raakte.

b) Een Marokkaanse vrouw (tussen 30 en 40) jaar met tuberculose in 2001. Er werd geen verband gevonden met andere patiënten in het cluster en ook later niet met het veterinaire isolaat. De GGD gaat ervan uit dat zij in haar jeugd in Marokko is geïnfectedeerd.

c) Een Nederlandse vrouw (tussen 70 en 80 jaar) met tuberculose in 2006. Ook hier geen verband met patiënten in het cluster of met het veterinaire isolaat. De GGD gaat ervanuit dat zij in de jeugd is geïnfectedeerd met *M. bovis* door het drinken van ongepasteuriseerde melk op het bedrijf van haar ouders.

d) Een Nederlandse man (tussen 90 en 100 jaar) met tuberculose in 2012. De GGD gaat ervanuit dat deze persoon besmet is in de tijd dat hij een boerenbedrijf met melkvee had of in zijn jeugd. Er was geen relatie met patiënten in het cluster of met het veterinaire isolaat.

2) Een Nederlandse man (tussen 50 en 60 jaar) had in 2000 dezelfde VNTR (uniek type bij humane isolaten) als een isolaat dat in 1981 werd geïsoleerd bij een dier in een slachthuis (uniek type bij veterinaire isolaten). Er waren sterke aanwijzingen voor een epidemiologisch verband, omdat de persoon circa 20 jaar eerder in een slachthuis in dezelfde regio werkte.

3) Een Nederlandse man (tussen 40 en 50 jaar) had in 2000 dezelfde VNTR (uniek type bij humane isolaten) als het cluster F dat bij een rundveebedrijf werd gevonden. Er is mogelijk een epidemiologisch verband, omdat hij in dezelfde periode als uitbener in een slachthuis werkte. Het is echter niet bekend of dieren van deze uitbraak in het slachthuis zijn geslacht.



Metten van een tuberculine reactie bij het rund in de hals (Fotografie: Douwe Bakker)

4) Een oudere tbc-patiënt (tussen 70 en 80 jaar) had in 2007 dezelfde VNTR (uniek type bij humane isolaten) als het cluster H dat bij een uitbraak werd gevonden. Er was geen epidemiologisch verband met deze uitbraak. De GGD gaat ervanuit dat deze persoon in de jeugd is geïnfecteerd met *M. bovis*.

Bespreking

In de periode 2000-2013 waren er een zeer beperkt aantal matches tussen de *M. bovis*-isolaten van mensen en dieren met tuberculose. Bij drie tbc-patiënten, allen gediagnosticeerd in 2000, werd besmetting tijdens werkzaamheden in het slachthuis aannemelijk geacht. Deze personen ontwikkelden ziekte nadat ze mogelijk 5, 14 en 19 jaar eerder met *M. bovis* waren geïnfecteerd.

De transmissieroutes bij een aantal patiënten met *M. bovis* zijn ook na deze studie een raadsel. Verder onderzoek is nodig naar andere risicofactoren van patiënten met deze onbekende transmissieroutes, in het bijzonder bij de relatief jonge autochtone patiënten. Consumptie van ongepasteuriseerde melk en melkproducten in het buitenland kan bijvoorbeeld een rol spelen in de etiologie van deze ziekte.

In dit onderzoek zijn geen gevallen van mens-diertransmissie van *M. bovis* gevonden. Import van geïnfecteerde dieren is de belangrijkste risicofactor voor het optreden van ziekte en nieuwe uitbraken van rundertuberculose onder Nederlands vee (8). Monitoring c.q. bewaking vindt alleen nog maar plaats op het slachthuis. Deze bewaking, bestaande uit het insnijden van longen en lymfeklieren en visuele inspectie, waarbij bij verdenking tbc-diagnostiek wordt ingezet, heeft een relatief lage gevoeligheid. Dit heeft tot gevolg dat vanaf het moment van introductie van de infectie op een bedrijf het lang kan duren voordat de ziekte ontdekt wordt, met als gevolg dat een groot deel van de veestapel al geïnfecteerd kan zijn.

Deze studie laat zien dat DNA-fingerprinting een goed instrument is om overdracht van *M. bovis* van dier naar mens en van mens naar dier scherp in de gaten te houden. We bevelen daarom aan dat *M. bovis*-isolaten van dieren voortaan direct aan VNTR-typering worden onderworpen zodat de DNA-patronen met humane *M. bovis*-isolaten kunnen worden vergeleken. Indien er matches bestaan, kan allereerst uitge-

zocht worden of transmissie tussen dier en mens heeft plaatsgevonden en indien dit het geval is, kunnen er maatregelen worden genomen.

Financiering en dankzegging

Het Diagnostiekbudget Openbare Gezondheidszorg van het RIVM financierde een deel van de VNTR-typeringen.

De onderzoekers bedanken medewerkers van de afdelingen tbc-bestrijding van GGD'en en het RIVM voor het aanvullen van data en het uitzoeken van de epidemiologische verbanden. 🇳🇱

Literatuur

1. Tuberculose in Nederland 2013 - Surveillance rapport. Bilthoven: RIVM; 2014.
2. Huitema H. The eradication of bovine tuberculosis in the Netherlands and the significance of man as a source of infection in cattle. Royal Netherlands Tuberculosis Association, selected papers. Vol. 12, 1969;12:62-7.
3. Jansen NL, Timmermans ELM. Koeien uit Engeland brengen bovine tuberculose binnen. Tegen de Tuberculose 2009;105:14-5.
4. Spierenburg MAH, Valkenburg SM, Van Zijderveld F. Import van met TBC besmette runderen uit officieel vrije lidstaten. Tijdschr Diergeneeskd 2014; 12:28-31.
5. De Vries G, Van Hunen R, Van Soolingen D. Dynamiek in DNA-fingerprintclusters in Nederland. Tegen de Tuberculose 2013;109(2):3-6.
6. Van Soolingen D, De Vries G, Van Hunen R, Kamst M, De Beer J. Epidemiologische typering van *Mycobacterium tuberculosis* - van faagtypering tot Whole Genome Sequencing in twee decennia. Ned Tijdschr Voor Med Microbiol 2014;22:55-60.
7. Van Ingen J, Rahim Z, Mulder A, et al. Characterization of *Mycobacterium orygis* as *M. tuberculosis* complex subspecies. Emerg Infect Dis 2012;18(4): 653-5.
8. De Rosa SM, Spierenburg MAH. Draaiboek rundertuberculose. Tegen de Tuberculose 2015;111(1).