

Epidemiologie en laboratoriumdiagnostiek van *Nocardia*-infecties in Nederland

Iris Tabak, Karola Waar, Jakko van Ingen

Inleiding

Nocardia-bacteriën zijn aerobe actinomyceten. Het genus *Nocardia* bestaat inmiddels uit 119 officieel erkende species, waarvan er een groot aantal bekend staan als opportunistische pathogenen. De klinische manifestaties van *Nocardia*-infecties variëren van huidinfecties na traumatische inoculatie, longinfecties bij onderliggend longlijden tot gedissemineerde infecties bij ernstig immuungecompromitteerden. De gedissemineerde infecties zijn berucht om de frequente betrokkenheid van het centraal zenuwstelsel, met hersenabcessen als voornamelijk manifestatie [1].

De laboratoriumdiagnostiek van *Nocardia*-infecties is uitdagend, vanwege de lange incubatieduur, moeizame identificatie en taxonomie en de lastig te interpreteren gevoeligheidsbepalingen, waarvoor nog geen EUCAST-consensusmethode bestaat.

Om inzicht te krijgen in de isolatiefrequentie van *Nocardia*-species en de huidige praktijk van identificatie en gevoeligheidsbepalingen, is er in juni/juli 2021 een survey uitgestuurd via de Werkgroep Algemene Medische Microbiologie van de NVMM.

De vragen betroffen a) informatie over het aantal geïsoleerde *Nocardia*-stammen in 2019 en 2020, b) of identificaties en gevoeligheidsbepalingen van *Nocardia*-species werden uitgevoerd en c) of en hoe deze werden uitgevoerd.

Uitkomsten

Van de 48 medisch-microbiologische laboratoria in de NVMM-databank (via www.nvmm.nl) reageerden er 29 op de survey. De 28 deelnemende centra die informatie gaven over isolatiefrequentie vonden in totaal bij 53 patiënten *Nocardia*-isolaten in 2019 (gemiddeld per laboratorium 1,89, bereik 0-7) en bij 55 patiënten in 2020 (gemiddeld 1,96, bereik 0-7). Extrapolerend naar het totaal aantal laboratoria (48) zou dat neerkomen op 91 en 94 patiënten met isolaten in 2019 en 2020 in

heel Nederland. Op basis van de populatiegetallen voor 2019 (17,282,163) en 2020 (17,407,585) van het Centraal Bureau voor de Statistiek (via www.cbs.nl) is de geschatte incidentie van *Nocardia*-isolatie 0,53/100,000/jaar in 2019 en 0,54/100,000/jaar in 2020.

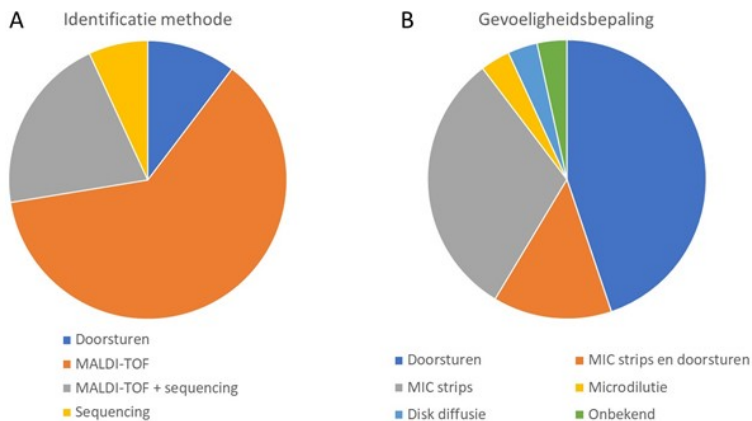
De meeste centra die aan de enquête deelnamen, voeren de identificatie van *Nocardia*-isolaten zelf uit (26/29; 90 procent), hoewel vier van deze centra wel isolaten doorsturen naar andere centra voor confirmatie. Malditof is de meest gebruikte methode voor identificatie (24/26; 92 procent).

Bij 18 centra (inclusief de vier centra die op indicatie doorsturen voor sequencing) is dit de enige methode van identificatie, zes centra combineren dit met sequencing van één of meerdere genen. Twee centra identificeren via sequencing van 16S of andere, niet-gespecificeerde, targets ($n = 1$) of het hele genoom ($n = 1$). Deze uitkomsten zijn gevisualiseerd in *figuur 1A*.

Gevoeligheidsbepalingen van *Nocardia*-isolaten worden in de meerderheid van de gevallen uitgevoerd door externe centra, en niet door de laboratoria zelf. Twaalf centra doen zelf de gevoeligheidsbepalingen (negen via MIC-strips, één middels diskdiffusie, één middels microdilutie en één zonder opgave van methode), vier centra gaven aan zelf te screenen middels MIC-strips en daarnaast door te sturen naar elders voor aanvullende bepalingen. De overige 13 centra gaven aan isolaten altijd door te sturen voor gevoeligheidsbepalingen (*figuur 1B*).

Radboudumc, afdeling Medische Microbiologie, Nijmegen, mw. I. Tabak, masterstudent microbiologie, dr. J. van Ingen, arts-microbioloog.
IZORE Laboratorium voor Infectieziekten Friesland, Leeuwarden, mw. K. Waar, arts-microbioloog.
Correspondentieadres: dr. J. van Ingen (jakko.vaningen@radboudumc.nl).

Figuur 1. Verdeling van strategieën voor (A) identificatie en (B) gevoeligheidsbepalingen voor *Nocardia*-isolaten onder deelnemers aan de survey.



Kweekbevestigde *Nocardia*-infecties zijn relatief zeldzaam in Nederland, met een geschatte incidentie van 0,5/100.000/jaar. Goede diagnostiek is essentieel om tot een adequate behandeling te komen. In Nederland is malditof de meest gebruikte techniek, door sommige centra bevestigd door sequensen. Wanneer alleen sequensen wordt gebruikt voor identificatie is het van groot belang om over goede databanken te beschikken; publieke databanken zoals van het NCBI zijn niet op kwaliteit gecontroleerd en bevatten voor sommige targets/genen maar weinig sequenties, wat de identificatie van met name de zeldzamere species belemmert [1]. De kwaliteit van malditofidentificaties is ook afhankelijk van de beschikbare databanken; deze waren initieel matig voor *Nocardia*-species, maar zijn inmiddels sterk verbeterd [1,2]. Zeker bij het vinden van zeldzame *Nocardia*-species wordt confirmatie via sequensen van een of meer genen geadviseerd [1]. Het identificeren van *Nocardia*-species op basis van whole-genome sequencing is nog onvoldoende gevalideerd (slechts beschreven in case reports) [1].

MIC-strips of microdilutie?

De gevoeligheidsbepaling wordt door veel laboratoria met MIC-strips uitgevoerd. De prestaties van MIC-strips, afgezet tegen microdilutie als gouden standaard, zijn wisselend in studies. In een studie door Biehle en collega's was de categorische overeenkomst (gevoelig, intermediair, resistent) over het geheel 96

procent [3], maar in een studie in Zuid Afrika door Lowman en collega's was de categorische overeenkomst zeer wisselend per antibioticum, tussen 67 en 100 procent; met name voor amikacine, claritromycine en imipenem werden 'very major errors' gezien, met als gevolg interpretatie van MIC-strips als gevoelig, waar de gouden standaard (microdilutie) resistentie toonde [4].

Op basis van eerder vastgestelde goede reproduceerbaarheid [5] adviseert CLSI momenteel het gebruik van microdilutie [6], maar dit is een kostbare bepaling en niet altijd makkelijk in te passen in de praktijk. Het gebruik van MIC-strips is daarom verdedigbaar, zeker als screeningsmethode [1]. Bij gevoeligheidspatronen die afwijken van wat voor het species de norm is, kan worden doorgestuurd voor confirmatie via microdilutie. EUCAST werkt momenteel aan een methode voor *Nocardia*-gevoeligheidsbepalingen [1].

Conclusie

Deze survey biedt inzicht in de stand van zaken van *Nocardia*-isolatie en gehanteerde technieken voor identificatie en gevoeligheidsbepalingen. Uitdagingen voor de toekomst zijn het verbeteren van malditof en (whole-genome) sequentiedatabanken en het beter standaardiseren van de gevoeligheidsbepaling, bij voorkeur met richtlijnen van EUCAST. Dat biedt uiteindelijk ook de kans om de relatie tussen in vitro gevoeligheid en de uitkomst van therapie in vivo beter in kaart te brengen.

Referenties

1. Margalit I, Lebeaux D, Tishler O, et al. How do I manage nocardiosis? *Clin Microbiol Infect.* 2021;27:550-58.
2. Blosser SJ, Drake SK, Andrasko JL, et al. Multicenter Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry Study for Identification of Clinically Relevant *Nocardia* spp. *J Clin Microbiol.* 2016;54:1251-8.
3. Biehle JR, Cavalieri SJ, Saubolle MA, Getsinger LJ. Comparative evaluation of the E test for susceptibility testing of *Nocardia* species. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1994;19:101-10.
4. Lowman W, Aithma N. Antimicrobial susceptibility testing and profiling of *Nocardia* species and other aerobic actinomycetes from South Africa: comparative evaluation of broth microdilution versus the Etest. *J Clin Microbiol.* 2010;48:4534-40.
5. Conville PS, Brown-Elliott BA, Wallace RJ Jr, et al. Multisite reproducibility of the broth microdilution method for susceptibility testing of *Nocardia* species. *J Clin Microbiol.* 2012;50:1270-80.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. Susceptibility testing of mycobacteria, nocardiae, and other aerobic actinomycetes; Approved standard, third edition M24-A3. CLSI, Wayne, PA, USA, 2018.