

***Nocardia farcinica* z abscesu mozku u imunosuprimovaného pacienta**

Nocardia farcinica from a cerebral abscess in an immunocompromised patient

Josef Scharfen ml., Stanislav Plíšek, Marta Fridrichová, Pavla Urbášková, Monika Morávková, Vladimír Hobza, Martin Bunčec, Petr Ježek, Pavla Paterová

Souhrn • Summary

Nocardia farcinica byla izolována z abscesu mozku u imunosuprimovaného pacienta s plicní fibrózou při léčbě kortikosteroidy. Kmen byl orientačně identifikován podle fenotypu rezistence na antibiotika a ve druhém stupni polyfázově identifikován pomocí sekvenace genu pro 16S rRNA. Účinnost kotrimoxazolu a amikacinu, léků volby pro nokardiózu, byla potvrzena diluční mikrometodou.

Nocardia farcinica was isolated from a cerebral abscess in an immunocompromised patient with lung fibrosis treated with corticosteroids. The strain was identified by a polyphasic approach based on 16S rRNA gene sequencing and antibiotic resistance pattern. Antimicrobial activity of co-trimoxazole and amikacin, the drugs of choice for the treatment of nocardiosis, was confirmed by the standard microdilution method.

Zprávy EM (SZÚ, Praha) 2009; 18(4): 172–174.

Klíčová slova: *Nocardia farcinica*, absces mozku, fibróza plic, kortikosteroidy, 16S rRNA, fenotyp rezistence na antibiotika, léčba

Keywords: *Nocardia farcinica*, brain abscess, lung fibrosis, antibiotic resistance pattern, therapy.

ÚVOD

Nocardia farcinica je známým původcem abscesu mozku u imunokompromitovaných, ale i imunokompetentních osob [1, 2]. Její identifikace je podrobně popsána ve standardní metodice v doporučeném postupu [4, 5].

STRUČNÁ KAZUISTIKA

V popisovaném případě byla *N. farcinica* izolována z abscesu mozku pacienta, který byl diferenciativně diagnosticky vyšetřován pro podezření na maligní gliom mozku. 71letý pacient byl dlouhodobě léčen kortikosteroidy pro plicní fibrózu. Rozvoj mnohočetného laločnatého útvaru v mozku prokázaného na CT a kontrastní MRI byl prováděn pestrou neurologickou symptomatologií (apraxie, alexie, poruchy paměti a bolesti hlavy). Na Neurochirurgické klinice Fakultní nemocnice v Hradci Králové byla provedena trepanace lebky a navigovaná stereotaktická punkce obsahu a stěny útvaru s jeho odsátím a laváží. Při patologicko-anatomickém vyšetření byl vyloučen nádor a útvar byl popsán jako absces. Při současně probíhajícím mikrobiologickém vyšetření na Oddělení klinické mikrobiologie FN v Hradci Králové v hnisu obsahujícím masivní infiltrát polymorfonukleárních leukocytů nebyly mikroskopicky nalezeny žádné mikroorganismy. Po prodloužené inkubaci materiálu však po 5 dnech vyrostly drobné silně vrůstající kolonie. V dalších dnech postupně u kolonií vznikaly žlutooranžové nádechy a na některých bylo patrné vzdušné mycelium. V mikroskopickém preparátu z kolonií byly pozorovány pleomorfní grampozitivní

útvary typu koků, tyčků a krátkých vláken a bylo vysloveno podezření na nokardiózu. Z izolátu byla vyšetřena v Hradci Králové citlivost na antibiotika diskovou difúzní metodou, ve výsledku byla zajímavá rezistence na kotrimoxazol (lék volby při léčbě nokardiózy) a rezistence na cefalosporiny III. generace a aminoglykosidy, kromě amikacinu, který je alternativním lékem. Protože se zdálo být dobrá citlivost na amoxicilin-klavulanát, byl pacient léčen kombinací amoxicilin-klavulanátu s amikacinem.

Izolát byl zaslán na identifikaci do NRL pro patogenní aktinomycety v Trutnově. Zde byl na základě opakovaného vyšetření fenotypu rezistence a na podkladu nejdůležitějších orientačních testů předběžně identifikován kmen jako *Nocardia farcinica*. Byla izolována DNA, která byla sekvencována ve firmě Generi Biotech v Hradci Králové s pomocí univerzálního primeru pro 16S rRNA. V NRL byl proveden alignment v databázi GenBank s použitím softwaru BLAST s výsledkem *Nocardia farcinica*, který odpovídal fenotypové identifikaci. Z NRL pro patogenní aktinomycety byl předběžně určený izolát zaslán do NRL pro antibiotika v SZÚ v Praze. Zde byla vyšetřena citlivost kmene standardní diluční metodou podle metody NCCLS/CLSI, která je pro aerobní aktinomycety metodou volby [3, 7]. Ukázalo se, že MIC ke kotrimoxazolu je ještě v kategorii citlivý. Na základě tohoto vyšetření byla změněna po třech týdnech terapie na kombinaci kotrimoxazolu s amikacinem, což odpovídá optimálním postupům z literatury a umožňuje pozdější deeskalaci přechodu na sekvenční dlouhodobou terapii kotrimoxazolem p.o. Změna vycházela zejména z klinických projevů léčeného pacienta, který se celkově cítil velmi dobře, ale ložisko, které nebylo možno chirurgicky úplně odstranit neregredovalo a mohlo by dojít k relapsu. Pacient je léčen při pokračující imunosupresi pro základní onemocnění. Léčba vzhledem k vážné prognóze základního onemocnění bude dlouhodobá, měla by prodloužit a zkvalitnit život

pacienta a odstranit obtížné neurologické problémy, které mu znemožňovaly život mimo zdravotnické zařízení.

DISKUSE

V krátké diskusi bychom chtěli upozornit na některé momenty důležité pro vývoj případu, pro základní diagnostiku nokardiózy v mikrobiologických laboratořích i pro léčbu na infekčním oddělení. Rozvoj mnohočetných abscesů v mozku je typický pro nokardiózu [1, 6]. Obvykle navazuje na onemocnění plic, primární ložisku není někdy prokázáno. Zde předchází imunoprese kortikoidy podávanými pro plicní fibrózu je predisponujícím momentem, rovněž však i intersticiální pneumonie se sníženou funkcí plic je predispozicí pro některé kolonizující mikroorganismy včetně nokardií, jak vyplývá z naší dlouhodobé spolupráce s prim. Ježkem z Příbrami – izoláty ve skupině aerobních aktinomycet v užším slova smyslu tj. nokardií, gordonii, tsukamurel a rychle rostoucích mykobaktérií od pacientů vyšetřovaných kultivační metodou na BK po dekontaminaci sputa.

Příčinou negativního mikroskopického průkazu v preparátu barveném dle Grama může být lýza nokardií v hni-

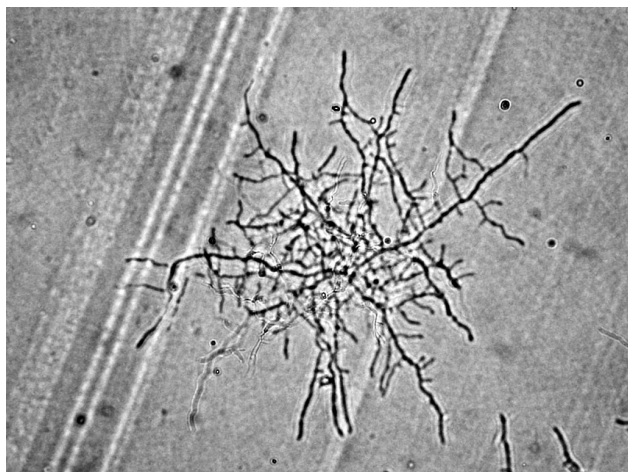
su, mnohem pravděpodobnější příčinou se však jeví nízká schopnost přijímat barvivo, která je charakteristická pro všechny aerobní nokardioformní aktinomycety. Obecně také není výjimkou záměna kokovitých forem nokardií v abscesu mozku za streptokoky odontogenního původu. Vyšetření citlivosti nokardií diskovou difusní metodou má především taxonomický význam pro zařazení nokardií do komplexů podle fenotypu rezistence. Pro vyšetření citlivosti z klinické indikace má toto vyšetření řadu nevýhod.

Nejvýznamnější z nich je neexistence závazných breakpointů inhibičních zón. V literatuře se údaje často velmi liší, většinou podle účelu, jemuž měla příslušná publikace sloužit. Metoda má podstatné nevýhody v nestabilitě inhibičních zón v čase, kdy různá antibiotika mají různou optimální dobu odečtu, proto NRL pro patogenní aktinomycety doporučuje měřit zóny inhibice po 24, 48 a 72 hodinách nebo i po delší době. Zóny mohou mít závoj nebo nezřetelné okraje, u kotrimoxazolu se u některých kmenů doporučuje hodnotit už 50% inhibici růstu jako citlivost. Z těchto důvodů mohou být výsledky vyšetření

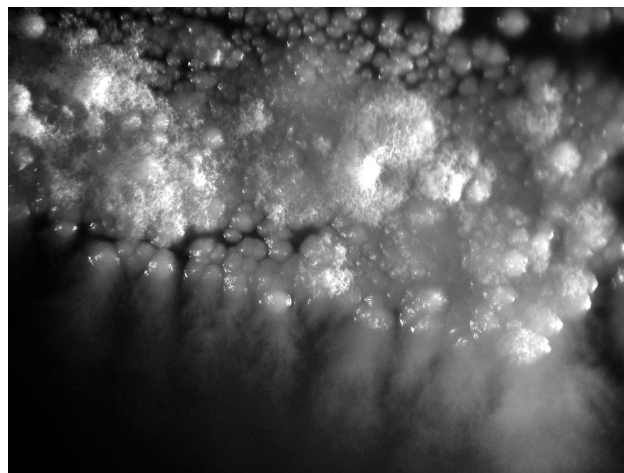
Obrázek 1: *Nocardia farcinica* grampozitivní pleomorfní difteroidní kokobacily, tyčinky a vlákna z kolonie na krevním agaru (objektiv 100x)



Obrázek 2: *N. farcinica* mikrokolonie mycelia na vodovodním agaru v procházejícím světle (objektiv 40x)



Obrázek 3: *N. farcinica* žlutě pigmentované kolonie ostrůvkovitě pokryté bílým vzdušným myceliem, podrostlé submerzním myceliem uvnitř kultivační půdy. Columbia krevní agar ve stereoskopickém mikroskopu (skutečná velikost emerzní části kolonie 3 mm)



Obrázek 4: *N. farcinica* kolonie na vodovodním agaru (skutečná velikost včetně korony submerzních vláken 5 mm)



citlivosti nokardií zatíženy falešně pozitivními nebo falešně negativními chybami. Proto je nutné provádět vyšetření citlivosti nokardií standardní diluční metodou podle NCCLS/CLSI. V současnosti tuto metodu rutinně provádí NRL pro antibiotika ve Státním zdravotním ústavu v Praze [3, Tabulka 1]. Na tyto výsledky se lze plně spolehnout, bohužel použitá sestava antibiotik, primárně používaná pro jiné bakterie neobsahuje některá antibiotika pro aerobní aktinomyce. Např. amoxicilin-klavulanát je nahrazen ampicilin-sulbactamem a imipenem je nahrazen meropenemem. U nokardií nelze z výsledku vyšetření antibiotik z jedné skupiny extrapolovat na všechny zástupce této skupiny. Např. rezistence na meropenem nevylučuje použití imipenemu, který je alternativním lékem pro léčbu nokardiózy CNS a je rezistentní jen vzácně u specifických fenotypů rezistence (*N. abscessus*, *N. brasiliensis*). Klavulanát zase indukuje betalaktamázu u nokardií *N. nova* komplexu, která je rezistentní na amoxicilin-klavulanát se zachovanou citlivostí na ampicilin, což je diagnostický znak.

V současné době se chystá na náš trh diluční test podle standardu NCCLS/CLSI určený pro rychle rostoucí mykobakterie a nokardie. Nedá se předpokládat, že frekvence izolátů ze skupiny aerobních aktinomycet bude taková, aby se vyplatilo pravidelně tyto destičky odebrat, existuje ale dost referenčních a jiných specializovaných laboratoří, které by je mohly pravidelně používat a pokud je expirační doba 1 rok, tak jak je deklarováno výrobcem, může je mít v záloze i větší laboratoř klinické mikrobiologie.

Tabulka 1: VÝSLEDKY VYŠETŘENÍ
minimálních inhibičních koncentrací (MIC)
Nocardia farcinica diluční mikrometodou

Antibiotikum	MIC mg/l	Kategorie citlivosti	Interpretační kritéria pro nokardie MIC mg/l*	
			citlivý	rezistentní
ampicilin	> 32	R	<= 8	> 16
ampicilin/sulbactam	32	R	<= 8	> 16
cefotaxim	> 32	R	<= 8	> 16
meropenem	16	R	<= 4	> 8
ciprofloxacin	2	I	<= 1	> 2
ko-trimoxazol	8	C	<= 32	> 32
gentamicin	> 32	R	<= 4	> 8
tobramycin	> 32	R	<= 4	> 8
amikacin	2	C	<= 8	> 8

LEGENDA: kategorie C – citlivý, R – rezistentní, I – intermediární

ZÁVĚR

Nokardie a ostatní aerobní aktinomyce, které se ubikviterně vyskytují v okolním prostředí lze považovat za tzv. emerging pathogens. Pro zdravého člověka tato skupina bakterií obvykle nepředstavuje zvláštní nebezpečí. Takové lidé se však v dnešní populaci vyskytují stále méně a zejména v dnešních nemocnicích převažují lidé s defekty

imunity v důsledku léčebných postupů a nebo pro závažná základní onemocnění jako jsou malignity, cukrovka, autoimunitní choroby. Proto musíme být na tyto infekce připraveni, rychle je rozpoznat, etiologicky diagnostikovat, vyšetřit jejich citlivost a kauzálně je dostatečnými dávkami antibiotik léčit. Cílená léčba je účinnější, šetrnější k pacientovi a nepřispívá k selektování rezistentních bakterií vyvolávajících u takových pacientů sekundární infekce.

Případ bude podrobně prezentován v časopise *Epidemiologie, mikrobiologie a imunologie*.

LITERATURA

- [1] Brown-Elliott BA, Brown JM, Conville PS, Wallace RJ jr. Clinical and laboratory features of the *Nocardia* spp., based on current molecular taxonomy. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19(2): 259–282.
- [2] Iannotti CA, Hall GS, Procop GW, Tuohy MJ, Staugaitis SM, Weil RJ. Solitary *Nocardia farcinica* brain abscess in an immunocompetent adult mimicking metastatic brain tumor: rapid diagnosis by pyrosequencing and successful treatment. *Surg Neurol* 2008; May 29. [Epub ahead of print].
- [3] NCCLS. Susceptibility testing of mycobacteria, nocardiae, and other aerobic actinomycetes. Approved standard. NCCLS document M24-A. NCCLS, Wayne, Pa, 2003.
- [4] Scharfen J jr. Doporučená metoda k předběžné identifikaci nokardií podle fenotypu rezistence (Recommended method for preliminary identification of *Nocardia* spp. according to antimicrobial susceptibility pattern), *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)* 2007; 16(3): 131–136.
- [5] Scharfen J jr. Nokardióza. Doporučená metoda mikrobiologické diagnostiky nokardiózy s přehledem léčby nokardiózy a návrhem standardního operačního postupu. *NUCLEUS Hradec Králové*, 2008; ISBN 978-80-87009-43-7.
- [6] Sorrell TC, et al: *Nocardia* species, pp.2916-2924 In Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 6th ed, Elsevier, 2005.
- [7] Urbášková P. Rezistence bakterií k antibiotikům. Vybrané metody. Trios 1998.

MUDr. Josef Scharfen, ml., CSc.

NRL pro patogenní aktinomyce,
Oddělení lékařské mikrobiologie a imunologie,
Oblastní nemocnice Trutnov, a.s.,
Gorkého 77, 541 01 Trutnov,
Ústav klinické mikrobiologie LF UK a FN v Hradci Králové

MUDr. Stanislav Plíšek, PhD.

Infekční klinika LF UK a FN v Hradci Králové

RNDr. Pavla Urbášková, CSc.

MUDr. Marta Fridrichová
NRL pro antibiotika, SZÚ Praha

MUDr. Monika Morávková

MUDr. Pavla Paterová

Ústav klinické mikrobiologie LF UK a FN v Hradci Králové

MUDr. Vladimír Hobza, PhD.

Neurochirurgická klinika LF UK a FN v Hradci Králové

PharmDr. Martin Bunčák, PhD.

Generi Biotech, a.s., Hradec Králové

MVDr. Petr Ježek

Oddělení klinické mikrobiologie, Nemocnice Příbram