



Nocardioses : aspects pratiques du diagnostic biologique et prestation de conseil

Oana DUMITRESCU

LBMR Nocardioses, Hospices Civils de Lyon

Université Lyon 1, CIRI INSERM U 1111 – CNRS UMR5308

13 octobre 2022, Webinar SFM – REMIC





Société Française
de Microbiologie

Webinar SFM – REMIC : *Nocardia*

Aspects pratiques du diagnostic biologique et prestation de conseil

*Une jeune patiente de 29 greffée de moelle depuis 14 jours développe une fièvre résistante à l'antibiothérapie probabiliste du service d'Hématologie (Tazocilline iv). La symptomatologie se complique avec la survenue de crises d'épilepsie et l'IRM encéphalique montre la présence d'un abcès fronto-pariétal droit. Le traitement est alors modifié pour ceftriaxone + clindamycine. Des hémocultures reviennent positives pour un bacille à Gram positif identifié en MALDI-TOF comme « *Nocardia farcinica* ».*



Oana Dumitrescu

LBMR Nocardiose, Institut des Agents Infectieux,
Hospices Civils de Lyon



Que vais-je raconter au clinicien ?

- a – l'identification n'est pas fiable, attendons le retour du LBMR ...
- b – c'est probablement une Nocardiose, mais attendons l'antibiogramme du LBMR ...
- c – Attention *N. farcinica* est résistante à la ceftriaxone, il faut modifier le traitement !
- d – Le clinicien propose d'utiliser le méropène, c'est mieux toléré, les CMI sont plus basses, je lui donne raison !
- e – Le clinicien aimerait utiliser le tédizolide, car la toxicité hématologique disqualifie le cotrimoxazole et le linézolide, je ne sais pas quoi répondre, j'attends que le LBMR détermine la CMI tédizolide de la souche ...



Nocardia : bactérie environnementale, pathogène opportuniste

- Origine environnementale, saprophyte du sol
- Ubiquitaires: eaux douces et salées, composts, végétaux, poussière
- Sols contaminés par des hydrocarbures : propriétés hydrophobes
- Climats tempérés : *N. farcinica*, *N. nova*, *N. abscessus*, *N. transvalensis*
- Régions tropicales et subtropicales *N. brasiliensis*, *N. mexicana*, *N. neocaledoniensis* etc

Nocardioses : infections chroniques suppuratives granulomateuses

- Contamination : l'inhalation des germes (nocardiose pulmonaire) ou de la contamination d'une plaie



Nodule ulcéré



Nodules multiples



Mycétome



Nocardiose cutanée primitive

Nocardioses : infections chroniques suppuratives granulomateuses

- Contamination : l'inhalation des germes (nocardiose pulmonaire/ disséminée) ou de la contamination d'une plaie
- Facteurs de risque de type immunodépression
 - Déficit immunitaire cellulaire
 - Corticothérapie et autres immunosuppresseurs/biothérapies
 - Infection VIH (CD4 < 100 / mm³)
 - Transplantation d'organe solide/ greffe moelle
 - Hémopathie/cancer

Nocardioses : infections chroniques suppuratives granulomateuses

- Contamination : l'inhalation des germes (nocardiose pulmonaire) ou de la contamination d'une plaie
- Facteurs de risque de type immunodépression
 - Déficit immunitaire cellulaire
 - Corticothérapie et autres immunosuppresseurs/biothérapies
 - Infection VIH (CD4 < 100 / mm³)
 - Transplantation d'organe solide/ greffe moelle
 - Hémopathie/cancer
 - Pathologie broncho-pulmonaire
 - BPCO/DDB/Fibrose pulmonaire
 - Mucoviscidose (colonisation > infection)

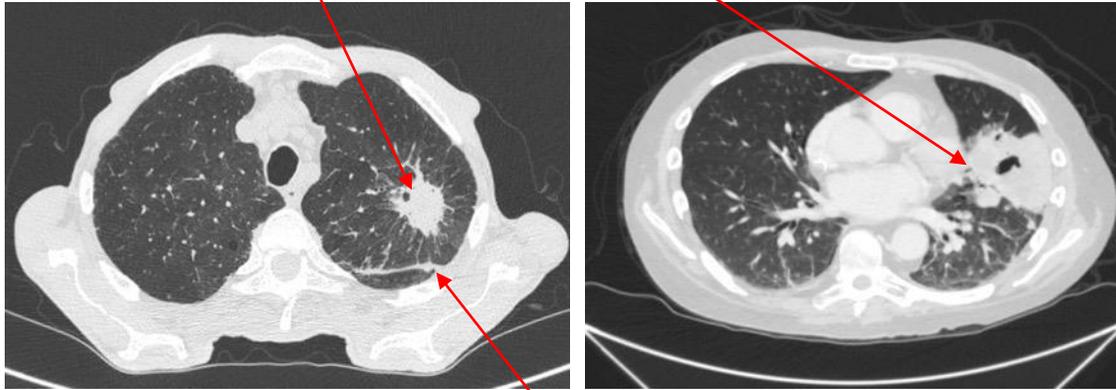
Nocardioses : infections chroniques suppuratives granulomateuses

- Contamination : l'inhalation des germes (nocardiose pulmonaire) ou de la contamination d'une plaie
- Facteurs de risque de type immunodépression
 - Déficit immunitaire cellulaire
 - Corticothérapie et autres immunosuppresseurs/biothérapies
 - Infection VIH (CD4 < 100 / mm³)
 - Transplantation d'organe solide/ greffe moelle
 - Hémopathie/cancer
 - Pathologie broncho-pulmonaire
 - BPCO/DDB/Fibrose pulmonaire
 - Mucoviscidose (colonisation > infection)
 - 10 à 30% découverte de déficit immunitaire primaire
 - Granulomatose chronique
 - Déficit IL12RB1
 - Déficit idiopathique CD4
 - **Ac anti GM-CSF**

Nocardiose pulmonaire et disséminée

Nocardioses pulmonaire

- Localisation dominante
- Diag \neq de pneumopathie de l'immunodéprimé (TB)
- Infection chronique granulomateuse
 - Nodules pulmonaires +/- excavation

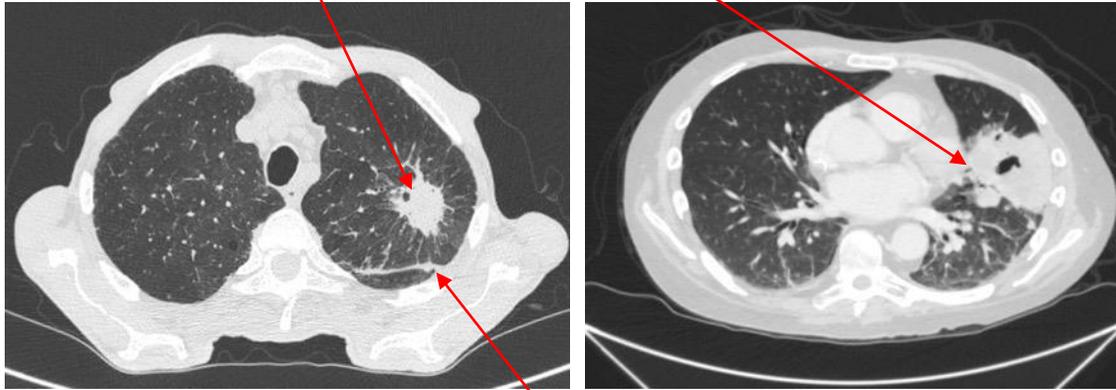


- Atteinte pleurale, scissurite

Nocardiose pulmonaire et disséminée

Nocardioses pulmonaire

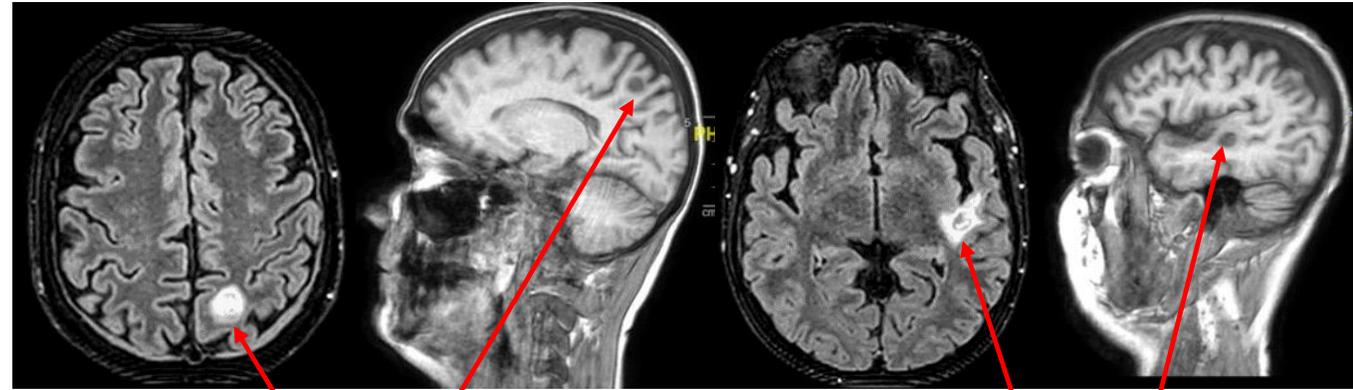
- Localisation dominante
- Diag \neq de pneumopathie de l'immunodéprimé (TB)
- Infection chronique granulomateuse
 - Nodules pulmonaires +/- excavation



- Atteinte pleurale, scissurite

Nocardioses cérébrale

- Abscès intracérébraux
- Toujours à rechercher dans une nocardiose disséminée
- Formes inaugurales/ pauci symptomatiques



Pariétal gauche

Temporal gauche

Nocardiose : diagnostic microbiologique

Recherche spécifique devant
une suspicion clinique

Découverte fortuite d'une
culture positive

Quels prélèvements :

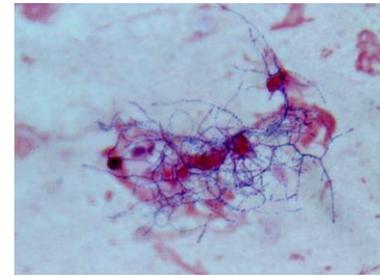
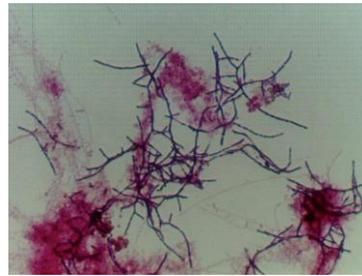
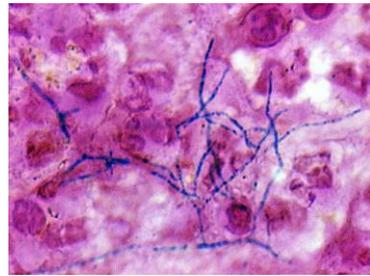
Nocardia : pathogène « stricte » → tout type d'échantillon
(respiratoire, cutanée ou suppuration profonde)

- Microscopie
- Mise en culture
- Identification
- Antibiogramme

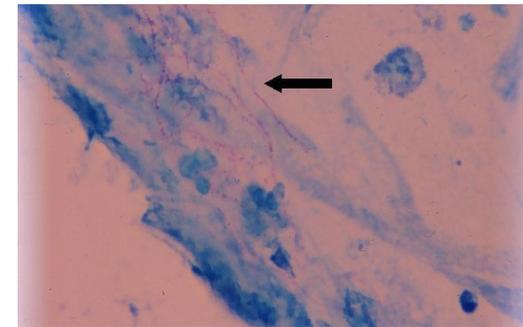
- Détection par PCR

Diagnostic microbiologique : Microscopie

- Coloration de Gram : *Nocardia* bacille Gram positif ramifié et pointillé (aspect tigré ou moucheté)



- Coloration spécifique Ziehl « doux » est informative pour *Nocardia* (paroi contient des a. mycoliques)



Diagnostic cultural de Nocardiose



- Bactéries aérobies, peu exigeantes

- Milieux variés (GS, chocolat, **BCYE**, BCP, Middlebrook ...)



- Sélectivité (pas de recommandation) : la piste du chauffage 10 min 65°C / co-culture avec amibes (Allam et al O0209 ECCMID 2019)

Diagnostic cultural de Nocardiose

- Bactéries aérobies, peu exigeantes
- Milieux variés (GS, chocolat, BCYE, BCP, Middlebrook ...)
- Vitesse de croissance:
 - Espèces à croissance rapide (48h à 72h): *N. farcinica*, *N. cyriacigeorgica*, *N. otitidiscaviarum*
 - Espèces à croissance lente (5 à 10 jours): *N. abscessus*, *N. nova*



↗ Incubation prolongées sur milieux qui supportent la croissance de *M. tuberculosis* → besoin de P3

Diagnostic cultural de Nocardiose

- Bactéries aérobies, peu exigeantes
- Milieux variés (GS, chocolat, BCYE, BCP, Middlebrook ...)
- Morphologie macroscopique variable:
 - Colonies cérébriformes
 - Pigmentation
 - Colonies incrustées, aspect poudré



Nocardia identification

- Très important pour guider l'antibiothérapie probabiliste : corrélation identification (groupe taxonomique) \Leftrightarrow antibiotype
- Gold standard biologie moléculaire :
 - PCR séquençage 16S/ hsp65/ SecA1/ gyrB (multilocus sequence analysis MLSA) \rightarrow phylogénomie basée sur WGS
 - PCR séquençage 16S très performante si couplée à la phylogénie



Nocardia identification

- Très important pour guider l'antibiothérapie probabiliste : corrélation identification (groupe taxonomique) \Leftrightarrow antibiotype
- Gold standard biologie moléculaire :
 - PCR séquençage 16S très performante si couplée à la phylogénie
- MALDI-TOF
 - Les 3 principaux automates ont été évalués (Bruker Microflex, VITEK-MS, Autof MS1000)
 - Préparation des échantillons : simple dépôt avec a. formique/ extraction éthanol/ acétonitrile/ a. formique (préparation longue) / Vitek[®] PickMe[®] pen
 - Performances satisfaisantes d'identification au niveau du complexe
=> Pas d'erreur au niveau de l'antibiotype



Diagnostic de nocardiose par PCR



- Pas de kit commercial
- PCR « maison » avec amorces 16S et sondes spécifiques *Nocardia spp*
 - *Détection ADN Nocardia*
 - *Affiner l'espèce après une étape de séquençage*
- PCR spécifique *N. farcinica*
- Réalisable sur une grande variété d'échantillons cliniques
- Interprétation PCR faiblement positive dans les échantillons respiratoires (colonisation >> infection)
- Avantages:
 - Infections décapitées
 - Pvts congelés (rendement cultural diminué)

Antibiogramme des Nocardia

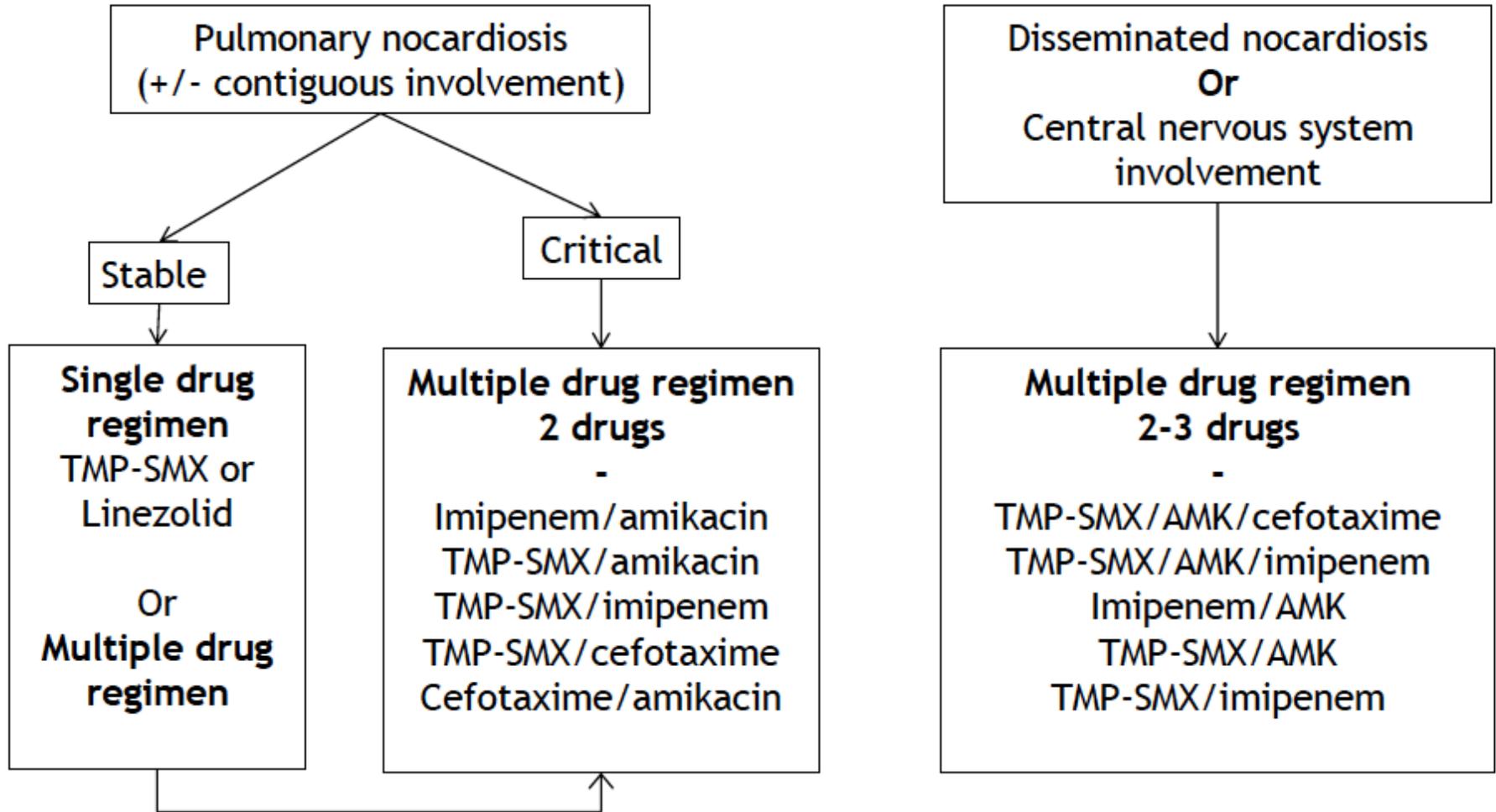
- Recommandations CLSI technique micro-dilution
 - Bouillon Mueller-Hinton, incubation 37°C, lecture 48H (*N. farcinica*, *N. cyriacigeorgica*) ou 72H (*N. nova*, *N. abscessus*)



Espèce / Complexe	Antibiotique									
	Amoxicilline Ac. clavulanique	Ceftriaxone	Imipénème	Ciprofloxacine	Minocycline	Linézolide	Cotrimoxazole	Amikacine	Tobramycine	Clarithromycine
<i>N. cyriacigeorgica</i>	R	S	S	R	V	S	S	S	S	R
<i>N. abscessus</i>	S	S	R	R	V	S	S	S	V	R
<i>N. nova</i> complexe ¹	R	S	S	R	V	S	S	S	R	S
<i>N. transvalensis</i> complexe ²	V	S	V	S	V	S	S	R	R	R
<i>N. farcinica</i>	S	R	V	S	V	S	S	S	R	R
<i>N. brasiliensis</i>	S	V	R	R	S	S	S	S	S	R
<i>N. pseudobrasiliensis</i>	R	V	R	S	R	S	S	S	S	S
<i>N. otidiscaviarum</i>	R	R	R	S	V	S	S	S	V	V

Thérapeutique probabiliste :

jamais de β -lactamines en monothérapie



Guide pour prestation de conseil

- L'efficacité des β -lactamines est incertaine (surtout si pas d'identification d'espèce)
- Quelques molécules constamment efficaces : cotrimoxazole, amikacine (sauf *N. transvalensis*)
- Linézolide et tédizolide toujours actifs
- Les carbapénèmes ne sont pas équivalents
 - Imipénem plus actif sur *N. farcinica*
 - Méropénem plus actif sur *N. abscessus*





Société Française
de Microbiologie

Webinar SFM – REMIC : *Nocardia*

Aspects pratiques du diagnostic biologique et prestation de conseil

*Une jeune patiente de 29 greffée de moelle depuis 14 jours développe une fièvre résistante à l'antibiothérapie probabiliste du service d'Hématologie (Tazocilline iv). La symptomatologie se complique avec la survenue de crises d'épilepsie et l'IRM encéphalique montre la présence d'un abcès fronto-pariétal droit. Le traitement est alors modifié pour ceftriaxone + clindamycine. Des hémocultures reviennent positives pour un bacille à Gram positif identifié en MALDI-TOF comme « *Nocardia farcinica* ».*



Oana Dumitrescu

LBMR Nocardiose, Institut des Agents Infectieux,
Hospices Civils de Lyon



Que vais-je raconter au clinicien ?

- a – l'identification n'est pas fiable, attendons le retour du LBMR ...
- b – c'est probablement une Nocardiose, mais attendons l'antibiogramme du LBMR ...
- c – Attention *N. farcinica* est résistante à la ceftriaxone, il faut modifier le traitement !
- d – Le clinicien propose d'utiliser le méropène, c'est mieux toléré, les CMI sont plus basses, je lui donne raison !
- e – Le clinicien aimerait utiliser le tédizolide, car la toxicité hématologique disqualifie le cotrimoxazole et le linézolide, j'attends que le LBMR détermine la CMI tédizolide de la souche ...

