

Evaluatie rondzending *Neisseria gonorrhoeae* 2019

Alje P. van Dam en Ineke Linde

Streeklaboratorium GGD (referentielaboratorium
gonorroe GOREF), Nieuwe Achtergracht 100,
Amsterdam

avdam@ggd.amsterdam.nl

ilinde@ggd.amsterdam.nl

20 maart 2020

Samenvatting

Opzet Voor de rondzending 2019 zijn 10 goed gekarakteriseerde WHO-stammen rondgestuurd. Twee van deze stammen waren in duplo ingesloten, waardoor in totaal 12 stammen verzonden zijn. Stammen zijn door 33 labs op gevoeligheid getest. Opzet was om gevoeligheden voor ceftriaxon, azitromycine en ciprofloxacine tussen labs te vergelijken. De rondzending bevatte daarom 4 WHO-stammen die volgens EUCAST-criteria resistent zijn voor ceftriaxon, en twee stammen met een verhoogde MIC voor azitromycine (geen EUCAST breekpunten).

Resultaten 31/33 deelnemers rapporteerden ceftriaxon-gevoeligheid. De drie hoog-resistente stammen voor ceftriaxon werden door 31/31, 30/31 en 28/31 deelnemers correct als R uitgeslagen. Eén laag-resistente stam voor ceftriaxon werd door 80% van de deelnemers als S gerapporteerd, doorgaans met een MIC op het breekpunt. Twee deelnemers testten alleen cefotaxim en niet ceftriaxon. Deze deelnemers konden wel resistentie tegen cefotaxim aantonen bij de ceftriaxon-resistente stammen. Bij de 6 gevoelige ceftriaxon stammen werd slechts 2 maal door 1 deelnemer ten onrechte resistentie aangetoond.

Voor azithromycine bestaan geen EUCAST-breekpunten meer. Twee stammen met een MIC boven de epidemiologische cut-off werden door 24/26, resp 26/26 deelnemers correct geclassificeerd als zodanig. Van de acht stammen met een MIC onder of op de epidemiologische cut-off werd bij 4 stammen door 1 tot 3 deelnemers een MIC gerapporteerd boven deze cut-off, maar dat betrof vaak verschillen van één dilutie. Hoog-resistente stammen voor ciprofloxacine werden door alle deelnemers correct geclassificeerd, net als de twee cipro gevoelige stammen. Een stam met een MIC voor cipro die net boven de cut-off lag werd echter door de meeste labs ten onrechte als S of I gerapporteerd. Deze stammen komen in de praktijk niet veel voor.

Conclusie: Mocht een ceftriaxon-hoog resistente gonokok in Nederland gekweekt worden, dan zullen vrijwel alle laboratoria deze als resistent herkennen. Resistentie voor ciprofloxacine en verhoogde MICs voor azitromycine worden ook goed herkend.

Volledig verslag van de rondzending

Gekozen stammen

De rondgezonden stammen waren 10 WHO-referentiestammen; 2 van deze stammen zijn in duplo in het panel opgenomen. Stammen 1 en 2 waren identiek, evenals 6 en 9. Deze stammen zijn uitgebreid gekarakteriseerd en de referentie MIC's zijn overgenomen uit de publicatie hierover (1). Uitzondering hierbij is cefotaxim, waarvoor geen gegevens in de betreffende publicatie staan. De referentie-MIC voor cefotaxim is de MIC zoals bepaald op het Streeklaboratorium GGD Amsterdam (referentielab *Neisseria gonorrhoeae*). De reden dat in Nederland cefotaxim nog steeds deel uit maakt van het GRAS-panel is een historische: tot 2009 zijn alleen MIC-gegevens van cefotaxim beschikbaar, omdat ceftriaxon pas sinds 2010 deel uitmaakt van het GRAS panel. Voor 2009 was de gedachte dat de MIC's voor beide cefalosporines vergelijkbaar waren.

De rondgezonden stammen zijn:

- 1 WHO K (1K)
- 2 WHO K (replicate of 1)
- 3 WHO W (3W)
- 4 WHO G (4G)
- 5 WHO F (5F)
- 6 WHO P (6P)
- 7 WHO L (7L)
- 8 WHO Z (8Z)
- 9 WHO P (replicate of 6)
- 10 WHO X (10X)

11 WHO Y (11Y)

12 WHO V (12V)

Deelnemende laboratoria

De stammen zijn getest in 33 laboratoria: GGD Amsterdam, LVF Friesland, AZ Maastricht, Streeklab Haarlem, PAMM Veldhoven, Certe Groningen, HA STAR Zuid Etten Leur, Radboud UMC, MMM Amphia, Streeklab Tilburg, UMC Utrecht, EUMC Rotterdam, JBZ den Bosch, Regionaal lab MM Dordrecht, Streeklab Goes, Lab MICTA Hengelo, CBSL Hilversum, VUMC, MM Haga, MM Haaglanden MC, OLVG, Laurentius Roermond, MM Deventer, MM Rijnstate Velp, MM Ikazia, Reinier Haga MDC, HSL Rotterdam, Franciscus Rotterdam, Microvida Terneuzen, MMI Gelre, Zuyderland MC Heerlen, Comicro Hoorn, MMI Slingeland Doetinchem.

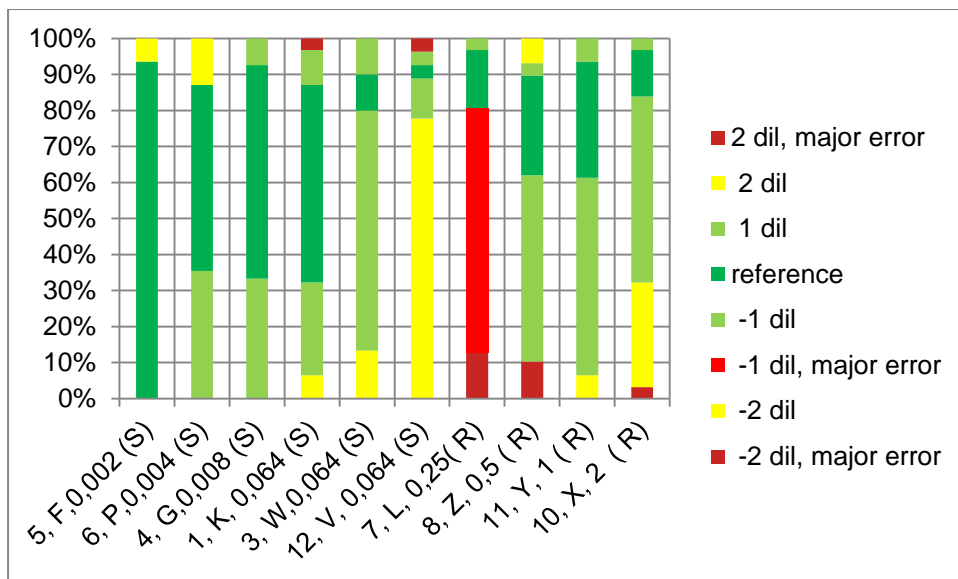
Geteste antibiotica

In het volgende overzicht wordt uitsluitend de performance van de deelnemers beschreven voor de middelen ceftriaxon, azithromycine en ciprofloxacine. Ceftriaxon is getest door 31/33 deelnemers (2 deelnemers testten alleen cefotaxim), azithromycine is getest door 26/33 deelnemers en ciprofloxacine is getest door alle 33 deelnemers. Cefotaxim is getest door 23/33 deelnemers. Daarnaast is ook penicilline getest door 22/33 deelnemers, spectinomycine door 5/33 deelnemers, en tetracycline door 3/33 deelnemers. Resultaten van MIC testen van penicilline, tetracycline en spectinomycine zijn niet verwerkt in deze analyse. Labs kunnen hun MIC resultaten van deze antibiotica vergelijken met MIC's zoals beschreven in de eerder rondgestuurde uitslag op 17 juli 2019.

Resultaten

Vergelijking duplos. Twee stammen, WHO K en WHO P, werden twee maal in het panel opgenomen als stam 1/2 en 6/9. WHO stam K is een stam met een verhoogde MIC voor ceftriaxon (MIC = 0,064), maar nog wel gevoelig. Deze stam is wel resistent voor cefotaxim (MIC = 0,5). De stam is gevoelig voor azithromycine en resistent voor ciprofloxacine. In alle gevallen – behoudens één hieronder genoemde uitzondering – verschilde de MIC tussen beide duplo's niet meer dan 1 dilutie. De enige uitzondering was dat 1 laboratorium deze stam 1 keer rapporteerde als MIC cefotaxim 0,047, MIC ceftriaxon 0,25 (beide duidelijk afwijkend van de te verwachten resultaten), en de tweede keer als MIC cefotaxim 0,75, MIC ceftriaxon 0,032 (beide conform verwachting). Mogelijk is hier sprake geweest van een administratieve vergissing. Stam P heeft een verhoogde MIC voor azithromycine (MIC = 4), en heeft lage MICs voor ceftriaxon, cefotaxim en ciprofloxacine. Ook hier zien we geen verschillen in de duplo waarden > 1 MIC dilutie, m.u.v. 1 deelnemer waar 1 keer een cipro MIC waarde > 32 gerapporteerd werd (wel interpretatie S) en 1 keer een correcte MIC. Waarschijnlijk ook een administratief probleem. Voor de verdere analyse zijn alleen de resultaten van stam 1 en 6 meegenomen.

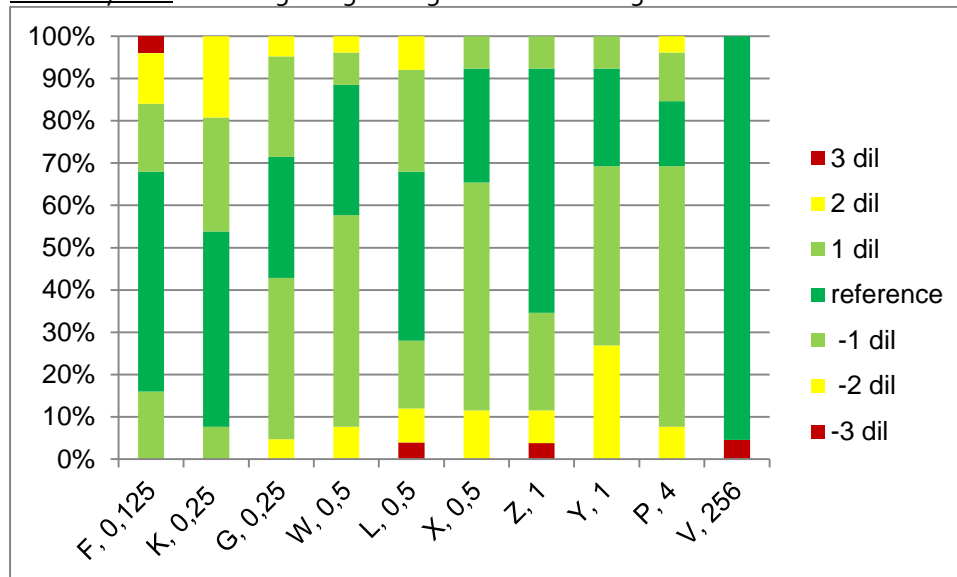
Ceftriaxon. Van de 10 rondgezonden WHO stammen hadden er 6 een verhoogde MIC t.o.v. wild type stammen. Wild type stammen hebben een MIC voor ceftriaxon van 0.016 of lager. Referentiewaarden voor stammen 4, 11 en 12 was 0.064, waarmee zij wel een verhoogde MIC tov wild-type stammen hebben. De resultaten zijn schematisch weergegeven in figuur 1.



Figuur 1: Weergave van ceftriaxon MIC's tov referentie MIC. Stammen 1-12 (muv 2 en 9, duplos van 1 en 6) zijn gesorteerd op MIC weergegeven. Ook is weergegeven onder de bars welke WHO stam dit betrof en of de stam S of R zou moeten zijn. Donkergroen: deel van de labs met dezelfde MIC als referentie, lichtgroen: één MIC dilutie verschil zonder verschil in interpretatie, geel: twee of meer diluties verschil zonder verschil in interpretatie, rood: één dilutie verschil, leidend tot major discrepancy (in dit geval S ipv R), donkerrood: twee diluties verschil, leidend tot major discrepancy.

Figuur 1 laat zien, dat als er verschillen bestaan t.o.v. de referentie, de meeste labs een MIC onder de referentie meten. Dit was ook in de rondzending van 2017 binnen de GRAS labs het geval. Lichtgroene, gele en rode delen van de bars boven het donkergroene (volledig correcte) deel zijn uitzonderingen. De meeste labs scoren correct of 1 dilutie verschil tov de referentiewaarde. Resistente stammen 8 (WHO Z), 11 (Y) en 10 (X) worden door vrijwel alle labs correct als resistent gerapporteerd. Uitzondering zijn 3 labs die stam 8 (Z) ten onrechte gevoelig rapporteren (MIC 0,125) en 1 deelnemer die stam X ten onrechte als gevoelig rapporteert. Bij deze stammen zijn specifieke mutaties in het penA gen aangetoond, waarvan aangetoond is dat deze tot een verhoging van de MIC leiden. Stam 1 (L) wordt door vrijwel alle labs als S gerapporteerd, in tegenstelling tot de referentie. Ook deze stam heeft mutaties in het penA gen, maar het is minder duidelijk dat die de resistentie volledig verklaren. Van de gevoelige stammen levert alleen stam 12 (V) éénmaal een probleem op. Stammen 1(K) en 2(K) en in mindere mate stam 3(W) worden ook door vrijwel alle labs herkend als stammen met een verhoogde MIC t.o.v. wild-type stammen. Voor stam 12(V) geldt dit niet.

Azitromycine. Verdeling van gevoeligheden staan in figuur 2.



Figuur 2: verdeling van azitromycine MICs over de labs. Voor legenda zie figuur 1. Aangezien er geen breekpunten voor azitromycine-gevoeligheid bestaan zijn alleen verschillen in MICs weergegeven.

26 van de 33 deelnemers hebben azitromycine getest.. Omdat EUCAST geen afkappunten meer geeft voor azitromycine is alleen een verdeling weer te geven voor MICs. Stam V, met een extreem hoge MIC (> 256) voor azitromycine wordt correct geclassificeerd door alle labs. Eén deelnemer vindt een MIC van 16, wat nog steeds erg hoog is. Voor stam P, met een referentie-MIC van 4 mg/l, vinden 24/26 deelnemers een MIC van 2,4 of 8, wat boven de epidemiologische cut-off is. Bij vier van de acht stammen met een MIC onder of op het epidemiologisch breekpunt worden MIC waarden boven dit breekpunt gerapporteerd door enkele deelnemers. Dit betrof .1, 2, 3 en 2 deelnemers voor resp. stam W,L, Z en Y. Vaak betrof dit slechts een één dilutie hogere MIC dan de referentiewaarde. De gerapporteerde MICs van de overige 4 stammen waren niet boven de epidemiologische cut-off.

Ciprofloxacin.

Van de 10 rondgezonden stammen waren er 7 hoog-resistent voor ciprofloxacin (MIC > 32 mg/l). Deze werden door alle deelnemers –voor zover kweek succesvol was- gerapporteerd als R, met één uitzondering waarbij een deelnemer de stam als gevoelig bij een MIC > 32 rapporteerde. Dit lijkt een administratief probleem. Wel was er één stam (Y) met een MIC >32, waarbij 8 deelnemers MICs van 4 of 8 rapporteerden. De twee gevoelige stammen werden door alle deelnemers correct geclassificeerd met een correcte MIC. Eén stam (G) was low-level resistent, referentie MIC 0,125 mg/l, en die MIC-waarde werd slechts door 4/28 labs gevonden. Bovendien rapporteerde 1 van die 4 labs de stam alsnog als S. Achttien deelnemers vonden een MIC van 0,064, en dat is volgens de huidige EUCAST-richtlijnen ook R. Zo werd dat ook door 7 labs gerapporteerd, de andere 11 gebruikten blijkbaar nog de oude richtlijnen en rapporteerden I of S. Zes deelnemers rapporteerden een MIC van 0,032, dus 2 diluties lager en (onjuist) S. Bij vijf deelnemers groeide stam G niet.

De rondzending was met name gericht op het vergelijken van gevoeligheidresultaten voor azithromycine en ceftriaxon. 8 van de 10 WHO stammen waren hoog-resistent voor ciprofloxacin, wat door alle labs gevonden werd. De gevoelige stam werd ook door alle labs correct als S afgegeven. Alleen stam 2, volgens EUCAST criteria S, met een MIC van 0,125 mg/l, werd door vrijwel alle labs als I (0,064 mg/l) of S afgegeven.

Conclusies. Hoog-resistente stammen voor ceftriaxon en azitromycine worden goed herkend in bijna alle deelnemers. Stam L is hier een uitzondering op, en dit was ook bij de rondzending van 2017 het geval. Stam L wordt wel algemeen herkend als een stam met een verhoogde MIC voor ceftriaxon, maar gemeten MIC's liggen steeds onder het breekpunt. De stam is door de WHO gedefinieerd als een stam met Low Level Resistance voor ceftriaxon, maar dit blijkt moeilijk aantoonbaar in routinematige resistentiebepaling.

Gemeten MIC's van dezelfde stammen door verschillende lab's kunnen 2-3 MIC's verschillen.

20 maart 2020, Alje van Dam, Ineke Linde

- (1) Unemo M, Golparian D, Sánchez-Busó L, Grad Y, Jacobsson S, Ohnishi M, Lahra MM, Limnios A, Sikora AE, Wi T, Harris SR. The novel 2016 WHO *Neisseria gonorrhoeae* reference strains for global quality assurance of laboratory investigations: phenotypic, genetic and reference genome characterization. *J Antimicrob Chemother.* 2016 Nov;71(11):3096-3108.