

## Klinicky zajímavé bakteriální izoláty zachycené v NRL pro antibiotika a v České národní sbírce typových kultur (CNCTC) v letech 2011–2015

*Clinically interesting bacterial isolates identified in the NRL for Antibiotics and deposited to the Czech National Collection of Type Cultures in 2011-2015*

Renáta Šafránková (Kolínská), Lucie Mališová, Eliška Vreštiaková, Monika Marejková, Petr Petráš, Jana Zavidilová, Martin Musílek, Petr Ježek, Josef Scharfen, Jan Kubele, Vladislav Jakubů

### Souhrn • Summary

Česká národní sbírka typových kultur (Czech National Collection of Type Cultures, CNCTC) dourčila v letech 2011–2015 na základě výsledků analýzy MALDI-TOF a sekvenční analýzy části genu pro 16S rRNA celkem 9 izolátů, které pocházely z terénních laboratoří, a které se na původních pracovištích pomocí standardních biochemických metod nepodařilo dourčit. Ve všech případech se jednalo o kmeny velmi vzácně izolované nebo neobvyklé ve spojení s danou diagnózou.

*The Czech National Collection of Type Cultures (CNCTC), based on the results of MALDI-TOF and sequencing analysis, completed the identification of the 16S rRNA genes of nine isolates from field laboratories where standard biochemical methods are used and, therefore, further identification could not be carried out. These referral strains were either only rarely or uncommonly isolated in the context of the reported diagnosis.*

Zprávy CEM (SZÚ, Praha) 2016; 25(8): 267–269.

**Klíčová slova:** bakteriální izoláty, identifikace, MALDI-TOF, 16S rRNA

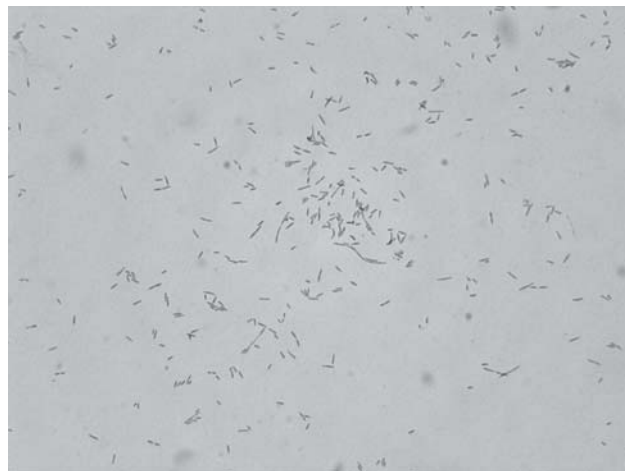
**Keywords:** bacterial isolates, identification, MALDI-TOF, 16S rRNA

V průběhu posledních pěti let byla Česká národní sbírka typových kultur Státního zdravotního ústavu Praha požádána o identifikaci patogenů, které se na původních pracovištích nepodařilo pomocí standardních biochemických identifikačních metod určit; dále popsané kmeny pocházely z terénních laboratoří a do NRL/CNCTC přišly již jako sekundární vyzolované vzorky. Zasláné izoláty byly získány: 5x z hemokultury (*Asaia lannensis*, *Capnocytophaga cynodegmi*, *Brevibacillus brevis*, *Gordonia otitidis*, *Corynebacterium imitans*), 2x ze stěru z rány (*Advenella migardefordensis*, *Actinomyces funkei*), z implantátu (*Campylobacter gracilis*), z punktátu (*Mycoplasma hominis*); ve všech případech se jednalo o kmeny velmi vzácně izolované nebo neobvyklé ve spojení s danou diagnózou. Tyto kmeny byly nejdříve podrobeny rozšířeným biochemickým identifikačním testům (API-Biomérieux) spolu s identifikací pomocí MALDI-TOF MS (Bruker Microflex). Vzorky pro systém API byly připraveny podle návodu pro jednotlivé API sety, vzorky pro identifikaci na MALDI-TOF MS byly zpracovány jak přímou, tak extrakční metodou dle návodu firmy Bruker. Po částečné (resp. neúspěšné) identifikaci byly všechny kmeny dourčeny sekvenční analýzou části genu pro 16S rRNA. Analyzovaný gen obsahuje jak oblasti, které jsou mezi všemi mikroorganismy velmi konzervované, tak i oblasti, které jsou variabilní a charakteristické pro každý bakteriální druh.

### IZOLÁTY Z HEMOKULTUR

*Asaia lannensis*, kultivace – Columbia blood agar (CBA), 37 °C, 24h, aerobně; morfologie – G- tyčky až vlákna. *Material:* izolát z hemokultury od pacientky se septikémií 93 let.

*A. lannensis* – poprvé popsána v roce 2008 [1], izolována z květů rostliny křín asijský (spider lily; *Crinum asiaticum*); druhový název se vztahuje k názvu Lanna = starší název oblasti včetně regionu Chiang Mai, v severním Thajsku, kde byl izolován typový kmen (království Lanna resp. Lan Na Thai = „království tisíce rýžových polí“). V roce 2009 byla *A. lannensis* izolována při infekci krevního řečiště po transplantaci kostní dřeně [2].



Obrázek 1: *Asaia lannensis*, G- tyčky až vlákna

*Capnocytophaga cynodegmi*, kultivace – CBA, 37 °C, 24h, CO<sub>2</sub>; morfologie – G- tyčky až vlákna. *Materiál*: izolát z hemokultury od muže bez domova, který byl hospitalizován pro týden přetrvávající teploty, zimnice a dráždivý kašel spojený s vykašláváním šedého sputa. Pacient udával předchozí pokousání vlastním, zdravým psem [3].

*C. cynodegmi* (spolu s *C. canimorsus*) patří k běžným komenzálům dutiny ústní psů a koček, u imunokompromitovaných pacientů tyto druhy vzácně spojovány s infekcemi po kousnutí psem.



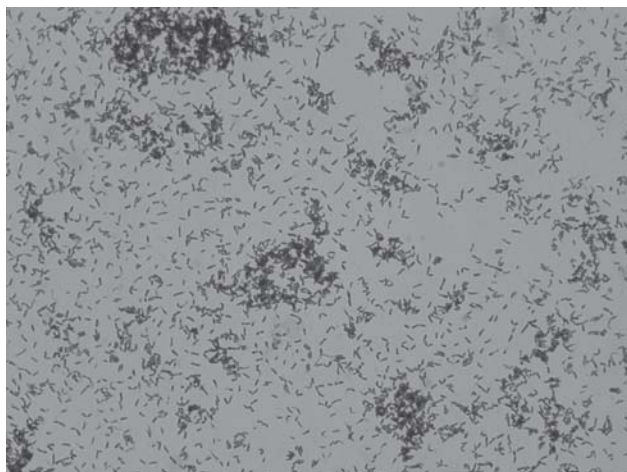
Obrázek 2: *Capnocytophaga cynodegmi*, G-tyčky až vlákna

*Brevibacillus brevis*, kultivace – CBA, 37 °C, 24h, aerobně; morfologie – G+ tyčky. *Materiál*: izolát z krve od 75letého pacienta s horečkou.

Tento druh byl popsán již v roce 1900 jako *Bacillus brevis*, v roce 1996 přeřazen do rodu *Brevibacillus*; etymologicky: brevis = latinsky krátký.

Je běžně izolován z půdy a potravin, byl popsán v souvislosti s peritonitidou u pacienta s hepatocelulárním karcinomem [4].

*Gordonia otitidis*, kultivace – CBA, 37 °C, aerobně, 24h; morfologie – G+ koryneformní tyčky. *Materiál*: izolát z hemokultury od 57leté pacientky, diagnóza neznámá.



Obrázek 3: *Gordonia otitidis*, G+ koryneformní tyčky

Druh *G. otitidis* byl popsán v roce 2005; etymologicky – pojmenována po bakteriologovi R. E. Gordonovi, otitidis = zánět ucha.

Rod *Gordonia* – převážně půdní mikroorganismy, patří mezi aerobní aktinomycety, infekce u lidí způsobuje spíše výjimečně, nejčastěji nozokomiální nákazy u oslabených osob, (katérové sepse, endokarditidy, mozkové abscesy [5].

*Corynebacterium imitans*, kultivace – CBA, 37 °C, aerobně, 24h; morfologie – G+ koryneformní tyčky. *Materiál*: izolát z hemokultury u pacienta se suspektní bakteriemií [6].

*C. imitans* poprvé popsal v roce 1997 Funke a kol. u dítěte se suspektní difterií [7], zatím poměrně raritní druh s dosud nevyjasněným působením na člověka. Etymologicky – z řec. korune = kyj, palice, imitans = napodobující klinický obraz faryngeální difterie i biochemický profil ostatních druhů rodu *Corynebacterium*.

*Mycoplasma hominis*, kultivace – CBA, 37 °C, 48h, CO<sub>2</sub>; pleomorfní organismus bez buněčné stěny, ohraničený pouze membránou. *Materiál*: izolát z punktátu u pacientky s diagnózou břišní kýla.

*M. hominis* je součástí normální vaginální flóry u 20–50 % zdravých žen, nicméně může být původcem infekcí ženského pohlavního ústrojí a novorozeneckých infekcí; muži mohou být přenašeči této bakterie, ale k rozvoji infekce u nich nedochází. Přenáší se nechráněným pohlavním stykem včetně styku orálního a dále během těhotenství nebo porodu z matky na dítě. *M. hominis* způsobuje infekce ženského pohlavního ústrojí, a to především endometritidu (zánět děložní sliznice), salpingitidu (zánět vejcovodů) a zánět malé pánve neboli PID (pelvic inflammatory disease).

## IZOLÁTY ZE STĚRU Z RÁNY

*Actinomyces funkei*, kultivace – CBA, čokoládový agar, 72–96h, 37 °C, CO<sub>2</sub>; morfologie – G+ koryneformní tyčky. *Materiál*: izolát ze stěru z rány u pacienta s flegmónou a celulitidou prstů ruky a nohy.

Tento druh byl původně popsán jako *Actinomyces*-like bacterium, izolovaný z krve od 40letého uživatele intravenózních drog s endokarditidou [8].

*Advenella mimigardefordensis*, kultivace – CBA, 37 °C, 24h, aerobně; morfologie – G- krátké tyčky až kokotyčky. *Materiál*: izolát ze stěru z rány po apendektomii, masivní nárůst v čisté kultuře, předpokládaná etiologická účast v patologickém procesu rány, pacientka vietnamské národnosti.

Relativně nový druh patřící do čeledi *Alcaligenaceae* byl popsán v roce 2006 jako *Tetrathlobacter mimigardefordensis*, 2009 přejmenován na *Advenella mimigardefordensis* [9]; příslušníci této čeledě se vyskytují v přírodě v půdě, ve splašcích, v odpadních vodách, v bahně. Etymologicky: adjektivum *mimigardefordensis* se vztahuje k *Mimegardefordum* (= středověký název Münsteru), kde byl izolován typový kmen; *advena* = latinsky cizinec, *advenella* = malý

cizinec (odkazuje na skutečnost, že zdroj těchto neobvyklých organismů je neznámý).



Obrázek 4: *Advenella mimigardefordensis*, G- krátké tyčky až kokotýčky

#### IZOLÁTY Z IMPLANTÁTU

*Campylobacter gracilis*, kultivace – CBA, 37 °C, 72h, anaerobně; morfologie – G- velmi drobné tyčky zakřivené až spirálovité. *Materiál*: izolát z cévní náhrady (aortobifemorální bypass), pacientka 68 let, polymorbidní. Zdrojem infekce – střevo při aortoduodenální fistuli [10].

*C. gracilis* byl popsán v roce 1981 jako *Bacteroides gracilis*, reklasifikován 1995 na r. *Campylobacter* [11]. Etymologicky: název *Campylobacter* pochází z řeckého kampu-los = zakřivený, ohnutý; gracilis latinsky štíhlý, útlý, tenký. Běžně se nachází v ústní flóře, byl izolován při onemocněních parodontu, infekcích měkkých tkání, pleuropulmonálních infekcích a bakteriemiích [12].

#### LITERATURA

1. Malimas T, et al.: *Asaia lannaensis* sp. nov., a new acetic acid bacterium in the Alphaproteobacteria. *Biosci Biotechnol Biochem* 2008; 72: 666–671.
2. Abdel-Haq N, et al.: *Asaia lannaensis* bloodstream infection in a child with cancer and bone marrow transplantation. *J Med Microbiol* 2009; 58(Pt 7): 974–976.
3. Vreštiaková El, et al.: Bakteriémie způsobená bakterií *Capnocytophaga canimorsus/cynodegmi*. Poster, prezentováno na konferenci XXIII. Tomáškovy dny mladých mikrobiologů; Brno 2014.
4. Parvez N, et al.: *Brevibacillus brevis* peritonitis. *Am J Med Sci* 2009; 337(4): 297–299.
5. Iida S, et al.: *Gordonia otitidis* sp. nov., isolated from a patient with external otitis. *Int J Syst Evol Microbiol* 2005; 55: 1871–1876.
6. Ježek P, et al.: *Corynebacterium imitans* izolované z hemokultury u pacienta se suspektní bakteriemií – první izolace v humánním klinickém materiálu v České republice. *Klin mikrobiol inf lék* 2014; 20(3): 98–101.
7. Funke G, et al.: *Corynebacterium imitans* sp. nov., isolated from patients with suspected diphtheria. *J Clin Microbiol* 1997; 35(8): 1978–1983.
8. Lawson PA, et al.: *Actinomyces funkei* sp. nov., isolated from human clinical specimens. *Int J Syst Evol Microbiol* 2001; 51: 853–855.
9. Gibello A, et al.: Reclassification of the members of the genus *Tetrathioabacter* Ghosh et al. 2005 to the genus *Advenella* Coenye et al. 2005. *Int J Syst Evol Microbiol* 2009; 59: 1914–1918.
10. Vaniš V, Kubele J, Jakubů V, Ježek P, Marejková M: Komplikovaná infekce cévní náhrady s podílem *Campylobacter gracilis*. Ústní sdělení, předneseno 1.12.2015 v Lékařském domě v Praze.
11. Vandamme P, et al.: Chemotaxonomic analyses of *Bacteroides gracilis* and *Bacteroides ureolyticus* and reclassification of *B. gracilis* as *Campylobacter gracilis* comb. nov. *Int J Syst Bacteriol* 1995; 45: 145–152.
12. Skinha T: Fatal bacteremia caused by *Campylobacter gracilis*, United States. *Emerg Infect Dis* 2015; 21: 1084–1085.

R. Šafránková (Kolínská)

L. Mališová

E. Vreštiaková

M. Marejková

P. Petráš

J. Zavadilová

M. Musílek

V. Jakubů

Centrum epidemiologie a mikrobiologie

Státní zdravotní ústav, Praha

P. Ježek

Odd. klinické mikrobiologie a parazitologie

Oblastní nemocnice, Příbram

J. Scharfen

Odd. mikrobiologie a imunologie

Oblastní nemocnice, Trutnov

J. Kubele

Odd. klinické mikrobiologie a antibiotická stanice

Nemocnice na Homolce, Praha