

Diagnostika onemocnění vyvolaných *Rothia dentocariosa*

Diagnosis of the diseases caused by *Rothia dentocariosa*

Josef Scharfen, ml., Tamara Bergerová, Zuzana Zemanová, Marta Fridrichová,
Helena Žemličková, Pavla Urbášková, Martin Bunček

Souhrn • Summary

Rothia dentocariosa je součástí rezidentní flóry dutiny ústní. Vyvolává endogenní infekce různé závažnosti včetně septických infekcí. Závažné jsou zejména endokarditidy, u nichž jsou rothie často izolovány z hemokultur. V takovém případě je třeba rothie správně identifikovat a nález správně interpretovat. Identifikace rothií je založena na znalosti jejich růstových, morfologických a fenotypových vlastností. Optimální výsledky poskytují testy API CORYNE, fy. bioMérieux, v případě obtíží je možno kmeny identifikovat sekvencováním genu pro 16SrRNA. Při dobré citlivosti rothií na betalaktamová antibiotika je lékem volby penicilin G.

Rothia dentocariosa is part of the resident flora of the oral cavity. It is a potential cause of a range of endogenous infections varying in severity, including septic ones. Endocarditis caused by rothia that is often isolated from blood cultures is among the most serious infections. It is crucial to identify the isolate and to interpret the results properly. The identification of rothiae is based on the knowledge of their growth, morphological and phenotypic characteristics. The optimal identification results are obtained using the bioMérieux API CORYNE system. In the case of ambiguity, species identification can be made by sequencing the 16S rRNA gene. As rothiae are susceptible to beta-lactams, high-dose penicillin G is the therapy of choice.

Zprávy EM (SZÚ, Praha) 2010; 19(5): 144–147.

Klíčová slova: endokarditida, sepse, subdurální empyém, diagnostika, identifikace

Keywords: endocarditis, sepsis, subdural empyema, diagnosis, identification

Rothia dentocariosa je normální částí orální flóry u člověka [13]. Bývá často izolována z dentoalveolárních štěrbin a ze slin. Může vyvolávat lokální infekce měkkých tkání v lokalizacích zhruba shodných se základními formami aktinomykózy [13]. Velmi často bývá izolována z parodontálních chobotů u rozvinuté parodontózy. I když infekce vyvolané rothiemi nejsou příliš časté, na rozdíl od ostatních mikroaerofilních aktinomycet častěji vyvolávají septické infekce [12, 16, 17], zejména endokarditidy [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10]. Pravděpodobně hematogenního původu mohou být infekce centrálního nervového systému. Velmi často jsou popisovány u endokarditid neurologické symptomy způsobené intrakraniálními hemoragiemi [1, 10, 11]. Z ostatních diagnóz se uvádějí pneumonie, infekce oka [8], břicha [14], osteomyelitidy [7] nebo infekce spojené s implantáty [9]. Jako první na světě popsal v roce 1975 patogenitu *R. dentocariosa* na periapendikulárním abscesu u mladé dívky a v pokusu na zvířeti J. Scharfen, sen. [14].

Z taxonomického hlediska je rod *Rothia* heterogenní směs bakterií, alespoň co se týče habitatu a vzhledu. Pro člověka mají význam *R. dentocariosa* a *R. mucilaginoso*, které se vyskytují u člověka [13, 15] (Tabulka 1).

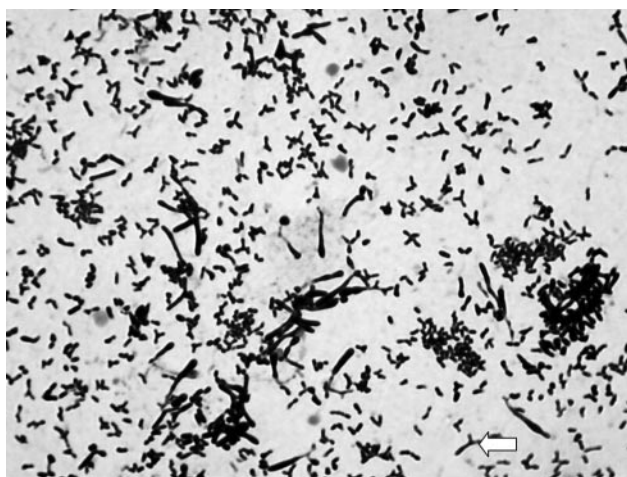
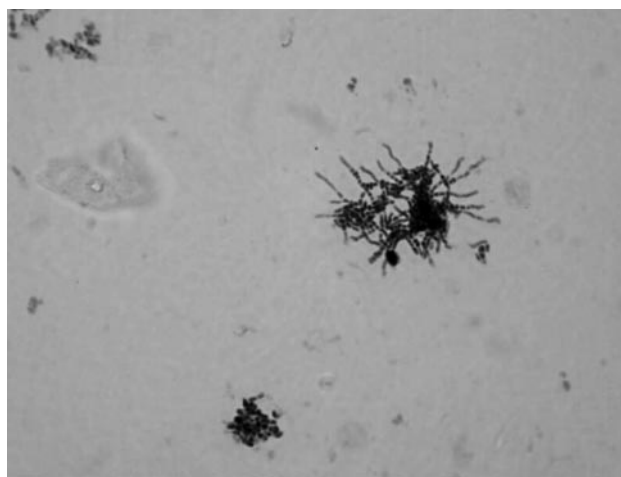
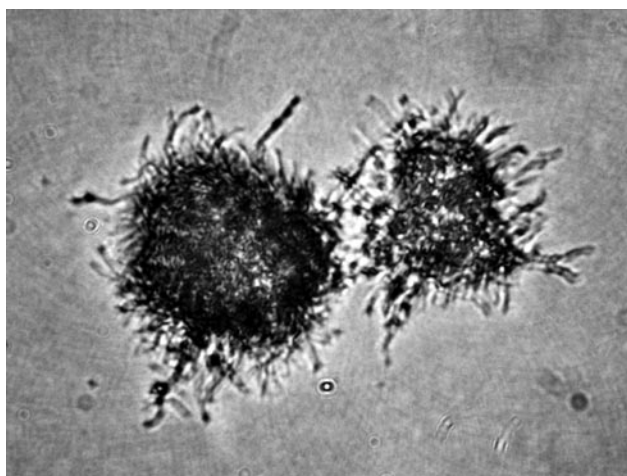
Pro praktickou diagnostiku infekcí vyvolaných rothiemi má význam znalost jejich výskytu, růstových vlastností, mikroskopické a makroskopické morfologie a volba identifikačního postupu [13].

Jediným místem, kde se za normálních okolností rothie u člověka vyskytují, je dutina ústní. Proto je diagnostický záchyt i z jediné hemokultivační lahvičky, který by při chybné identifikaci a interpretaci mohl znamenat potlačení nálezu jako „difteroidní“ kontaminanty kožního původu. Rothie jsou relativně kultivačně náročné, stejně jako ostatní bakterie ve skupině mikroaerofilních aktinomycet. Rostou dobře na Columbia krevním agaru. Jsou kataláza pozitivní, aerobní, CO₂ slabě podporuje růst. V preparátu barveném podle Grama je pozorujeme jako vysoce pleomorfní grampozitivní bakterie v široké škále tvarů, počínaje různě velikými nepravidelnými (oploštělými nebo zašpičatělými) koky, kokobacily, difteroidními tyčinkami často mohutným kyjovitým zakončením, různými většinou zakřivenými vlákny, někdy s větvením (Obrázek 1, 2). Specifickými útvary jsou tyčinky připomínající tvarem obraz stehenní kosti (femur s krčkem a trochanterem). I když je výsledný obraz ovlivněn kvalitou barvení, barví se rothie obvykle více světle modře než ostatní grampozitivní.

Rothie vytvářejí velmi krásné kolonie. S formy bývají hladké, lesklé s celistvým okrajem, mazlavé se spodinou vrůstající do půdy, při delší kultivaci vytvářejí typický obraz kola s loukotěmi (Obrázek 4), R formy jsou drsné často se zrnitým povrchem, prostorově velmi členité, silně vrůstající a připomínají svou strukturou kolonie nokardií, ovšem bez aeriálního mycelia (Obrázek 3). Vlákňitý růst a charakter kolonií vedl kdysi k pojmenování *Nocardia salivae*, čili nokardie vyskytující se ve slinách. M formy nebo tzv. želé kolonie se vyskytují spíše u *R. mucilaginoso*. Frekvence záchytu rothií ze sput kontaminovaných slinami nebo z výtěru z krku není tak častá, jak by odpovídalo jejich výskytu. Může za to prav-

Tabulka 1: DRUHY RODU *ROTHIA*

Druhy rodu <i>Rothia</i>	Popis	Morfologie, vlastnosti	Výskyt
<i>R. aeria</i>	Li et.al.2004	Grampozitivní koky	Vzduch na kosmické stanici
<i>R. amarae</i>	Fan, Y. et.al. 2002	Grampozitivní koky	Odpadní vody
<i>R. dentocariosa</i>	(Onishi 1949) Georg and Brown 1967 emend. Daneshvar et al. 2004	Pleomorfní grampozitivní koky, difteroidní tyčinky, vlákna, femury. Silně vrůstají.	Dutina ústní člověka
<i>R. mucilaginoso</i> dříve <i>Stomatococcus mucilaginosus</i>	(Bergan and Kocur 1982) Collins et al. 2000	Pleomorfní grampozitivní koky. Silně vrůstají. Biofilm.	Dutina ústní člověka
<i>R. nasimurium</i>	Collins et al. 2000	Grampozitivní koky	Nos myši
<i>R. terrae</i>	Chou et al. 2008	Grampozitivní koky	Půda

Obrázek 1: *Rothia dentocariosa* nátěr z kultury obarvený podle Grama. Typické tvary femuru (šipka). Foto: J. Scharfen, ml.Obrázek 2: Vlákenná mikrokolonie *R.dentocariosa* obarvená podle Grama, izolát ze subdurálního empyému. Olejová imerze s objektivem 100x. Foto: J. Scharfen, ml.Obrázek 3: Epimikroskopie vláknité mikrokolonie *R. dentocariosa* na BHI agaru v procházejícím světle (Oxoid, UK). Objektiv 40x při sníženém kondenzoru. Foto: J. Scharfen, ml.Obrázek 4: *R. dentocariosa* S kolonie loukořovitého vzhledu na krevním agaru Columbia, makrofotografie, skutečná velikosti 3 mm. Foto: J. Scharfen, ml.

děpodobně kompetice s běžnou flórou dutiny ústní. Poměrně často však vyrůstají rothie při vyočkování na bohaté selektivní půdy, zejména BCYE používané pro záchyt legionel. Na bohatých průhledných půdách (BHIA, YEG, MH) můžeme pozorovat při epimikroskopickém

vyšetření myceliální morfologii ranných vývojových stádií kolonií. Mikroskopická morfologie je silně závislá na odebrané části kolonie při zhotovování preparátu. Baktérie silně fragmentují a někdy vidíme pouze kokovité formy [13].

Z uvedených znaků obvykle usuzujeme na pravděpodobnou účast rothií, pro jejichž identifikaci jsou nejvhodnější sety API CORYNE, eventuálně jejich ekvivalent fy REMEL. Biotypová čísla odečtená podle výsledků biochemických reakcí obvykle velmi dobře identifikují izoláty s použitím originální databáze výrobce (Tabulka 2). Kolonie rostoucí v M formě jsou obvykle fenotypovými metodami identifikovány pouze do rodu. Často nedávají konzistentní výsledky ani při sekvencování. Bude se nejspíše jednat o kmeny *R. mucilaginosa*. Rothie jsou velmi dobře citlivé na betalaktamová antibiotika včetně penicilínu, který je lékem volby. Lze je velmi dobře vyšetřovat jak diluční tak diskovou metodou s interpretací výsledku podle streptokokových breakpointů (Tabulka 3).

Diagnostika onemocnění vyvolaných *R. dentocariosa* není obtížná, pokud se na ně myslí v diferenciální diagnostice. Jedná se o onemocnění poměrně vzácná a někdy může být záchyt kmene překvapením v nejrůznějších lokalizacích [15]. Pro interpretaci nálezu zejména v hemokulturách je základní podmínkou správná identifikace. Kokovitá morfolgie by neměla zmařit při volbě správného identifikačního postupu. Nález *R. dentocariosa* v hemokultuře je důležitým faktorem v etiologické diagnostice a léčbě endokarditid.

POUŽITÉ ZKRATKY

- BCYE Bizmut Cystein Yeast Extract agar, selektivní kulturační půda pro legionely
 BHIA Brain Heart Infusion agar – mozkosrdcový agar
 MH MH agar k testování citlivosti
 YEG Yeast Extract Glucose agar – agar s kvasnicovým extraktem a glukózou

Literatura

- [1] Almuzara MN, Mariñansky AL, Valenzuela VC, Vay CA. [Endocarditis due to *Rothia dentocariosa* complicated by septic cerebral embolism] *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2004; 22(4): 255-256.
 [2] Binder D, Zbinden R, Widmer U, Opravil M, Krause M Native and prosthetic valve endocarditis caused by *Rothia dentocariosa*: diagnostic and therapeutic considerations. *Infection* 1997; 25(1): 22-26
 [3] Boudewijns M, Magerman K, Verhaegen J, Debrock G, Peetermans WE, Donkersloot P, et al. *Rothia dentocariosa*, endocarditis and mycotic aneurysms: case report and review of the literature. *Clin Microbiol Infect* 2003; 9: 222-229.
 [4] Broeren SA, Peel MM. Endocarditis caused by *Rothia dentocariosa* *J Clin Pathol* 1984; 37: 1298-1300

Tabulka 3: *R. DENTOCARIOSA* ZE SUBDURÁLNÍHO EMPYÉMU. Minimální inhibiční koncentrace na různá antibiotika zjištěné diluční mikrometodou

Aktivní substance	MIC
amikacin	1
ampicilin	≤ 0,25
ampicilin sulbactam	≤ 0,25
ciprofloxacín	0,5
klindamycin	2
chloramfenikol	2
colistin	> 32
cotrimoxazol	8
cefepim	≤ 0,25
cefotaxim	≤ 0,25
ceftazidim	1
cefoxitin	≤ 0,25
erytromycin	≤ 0,063
fusidová kyselina	≤ 0,032
gentamicin	1
meropenem	≤ 0,125
mupirocin	> 16
nalidixin	> 64
oxacilin	0,25
piperacilin/ tazobactam	≤ 0,25
quinupristin /dalfopristin	0,25
rifampicin	≤ 0,032
streptomycin	0,25
teikoplanin	2
tetracyklin	1
tigecyklin	0,125
tobramycin	4
trimetoprim	8
vankomycin	2

Legenda: MIC = minimální inhibiční koncentrace

- [5] Kong R, Mebazaa A, Heitz B, Briel DA, Kiredjian M, Raskine L, Payen D. Case of Triple Endocarditis Caused by *Rothia dentocariosa* and Results of a Survey in France. *J Clin Microbiol* 1998; 36(1): 309-310.
 [6] Larkin J, Montero J, Targino M, Powers A, Accurso C, Campbell M. *Rothia dentocariosa* endocarditis. *Clin Microbiol Newsletter* 2001; 23: 13-15.

Tabulka 2: VÝSLEDKY IDENTIFIKACE NĚKTERÝCH IZOLÁTŮ *R. DENTOCARIOSA* U SEPTICKÝCH ONEMOCNĚNÍ

Izolát	Původ	Biotypové číslo API CORYNE (bioMérieux)
CCTR1407 Trutnov	Endokarditida, myxom, u kojící ženy	1050125 Doubtful profile, dourčeno sekvencováním 16SrRNA
Plzeň	Endokarditida u seniora po stomatochirurgickém zákroku	7050125 Excellent identification
CCTR1430 Praha	Subdurální empyém	7050125 Excellent identification

- [7] Llopis F, Carratalá J. Vertebral osteomyelitis complicating *Rothia dentocariosa* endocarditis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000; 19(7): 562-563.
- [8] Morley AM, Tuft SJ. *Rothia dentocariosa* isolated from a corneal ulcer. *Cornea* 2006; 25(9): 1128-1129.
- [9] Morris SK, Nag S, Suh KN, A Evans G. Recurrent chronic ambulatory peritoneal dialysis-associated infection due to *Rothia dentocariosa*. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2004; 15(3): 171-173
- [10] Ricaurte JC, Klein O, LaBombardi V, Martinez V, Serpe A, Joy M. *Rothia dentocariosa* endocarditis complicated by multiple intracranial hemorrhages. *South Med J* 2001; 94: 438-440.
- [11] Sadhu A, Loewenstein R, Klotz SA. *Rothia dentocariosa* endocarditis complicated by multiple cerebellar hemorrhages. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2005; 53(3): 239-240. Epub 2005 Oct 21.
- [12] Shin JH, Shim JD, Kim HR, Sinn JB, Kook JK, Lee JN. *Rothia dentocariosa* septicemia without endocarditis in a neonatal infant with meconium aspiration syndrome. *J Clin Microbiol* 2004; 42(10): 4891-4892.
- [13] Scharfen J, ml. Mikroaerofilní aktinomykety. Aktinomykóza. Hradec Králové: NUCLEUS; 2010. ISBN 978-80-87009-69-7
- [14] Scharfen J. sen. Untraditional glucose fermenting Actinomycetes as human pathogens. Part II: *Rothia dentocariosa* as a cause of abdominal actinomycosis and a pathogen for mice. *Zentralbl Bakteriol (Orig A)* 1975; 233: 80-92.
- [15] von Graevenitz A. *Rothia dentocariosa*: taxonomy and differential diagnosis. *Clin Microbiol Infect* 2004; 10(5): 399-402.
- [16] Wiesmayr S, Stelzmueller I, Berger N, Jungraithmayr TC, Fille M, Eller M, Zimmerhackl LB, Margreiter R, Bonatti H. *Rothia dentocariosa* sepsis in a pediatric renal transplant recipient having post-transplant lymphoproliferative disorders. *Pediatr Transplant* 2006; 10(3): 377-379.
- [17] Yang CY, Hsueh PR, Lu CY, Tsai HY, Lee PI, Shao PL, Wang CY, Wu TZ, Chen SW, Huang LM. *Rothia dentocariosa* bacteremia in children: report of two cases and review of the literature. *J Formos Med Assoc* 2007; 106 (3 Suppl): S33-38.

Josef Scharfen, ml.

*Národní referenční laboratoř pro patogenní aktinomykety, Oddělení lékařské mikrobiologie a imunologie, Oblastní nemocnice Trutnov, a.s.; scharfen@nemtru.cz
Ústav klinické mikrobiologie, Lékařská fakulta Hradec Králové, Karlova Universita v Praze*

Tamara Bergerová

*Oddělení mikrobiologie,
Lékařská fakulta a Fakultní nemocnice v Plzni,
Karlova Universita Praha*

Zuzana Zemanová

*Oddělení klinické mikrobiologie,
Nemocnice na Homolce, Praha*

Marta Fridrichová

Helena Žemličková

Pavla Urbášková

*Národní referenční laboratoř pro antibiotika,
Státní zdravotní ústav Praha*

Martin Bunčeka

Generi Biotech, a.s., Hradec Králové