

## Klinicky zajímavé bakteriální izoláty zachycené v NRL pro antibiotika a České národní sbírce typových kultur (CNCTC) v letech 2016–2018

*Clinically interesting bacterial isolates identified in the NRL for Antibiotics and Czech National Collection of Type Cultures (CNCTC)*

Renáta Šafránková, Lucia Mališová, Martin Musílek, Petr Ježek, Helena Žemličková, Vladislav Jakubů

### Souhrn • Summary

Národní referenční laboratoř pro antibiotika a Česká národní sbírka typových kultur (CNCTC) dourčily v letech 2016–2018 na základě výsledků analýzy MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie a sekvenční analýzy části genu pro 16S rRNA celkem 14 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.

*In 2016-2018, the National Reference Laboratory for Antibiotics and the Czech National Collection of Type Cultures (CNCTC) identified, based on results of MALDI-TOF mass spectrometry and sequence analysis of a part of the 16S rRNA gene, 14 isolates from field laboratories which could not be identified by the standard biochemical methods. All these strains were either rare or uncommon in the context of the given diagnosis.*

Zprávy CEM (SZÚ, Praha) 2018; 27(10): 253–258

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

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

V průběhu posledních tří let byla Česká národní sbírka typových kultur opětovně žádána o identifikaci bakteriálních kmenů, které se na původních pracovištích nepodařilo určit jak pomocí standardních biochemických identifikačních metod, tak často ani pomocí moderních metod (MALDI-TOF MS). Bakteriální kultury pocházely z terénních laboratoří a do NRL pro antibiotika a Sbírkou kultur přišly již jako sekundární vyizolované kmeny. Izoláty byly získány: z hemokultury (n=6: *Lactobacillus sakei*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Corynebacterium tuberculostearicum*, *Moraxella atlantae*, *Gemella morbillorum*, *Lactobacillus rhamnosus*), výtěru z uretry (n=1: *Pasteurella dagmatis*), hnisu (n=1: *Dialister pneumosintes*), výtěru z ucha (n=5: *Cupriavidus gilardii*, *Bacillus sralis*, *Kerstersia gyiorum*, *Oligella urethralis*, *Rhizobium radiobacter*) a stěru z preputia (n=1: *Corynebacterium glucuronolyticum*). Jednalo se o kmeny velmi vzácně izolované nebo neobvyklé ve spojení s danou diagnózou; nehodnotil se etiologický podíl daného izolátu na onemocnění. Tyto kmeny byly nejdříve podrobeny rozšířeným biochemickým identifikačním testům (API-Biomerieux) spolu s identifikací pomocí MALDI-TOF MS (Bruker Microflex). Vzorokly na API byly připraveny podle návodu pro jednotlivé API sety, vzorky na MALDI-TOF MS byly zpracovány jak přímo, tak extrakční metodou dle návodu firmy Bruker. Po částečné (resp. neúspěšné) identifikaci byly všechny kmeny dourčeny sekvenční analýzou části genu pro 16S rRNA (Applied Biosystem). Sekvence byly vyhodnoceny v pro-

gramu BioNumerics 7.6.2 a porovnány s veřejně přístupnou databází (Nucleotide BLAST). Všechny kmeny jsou deponovány v České národní sbírce typových kultur.

### IZOLÁTY Z HEMOKULTURY

#### *Lactobacillus sakei* (CNCTC 7556)

Kultivace: Columbia blood agar (CBA), 37 °C, 24 h, 5 % CO<sub>2</sub>.  
Morfologie: G+ nesporulující tyčky.

Materiál: hemokultura od pacientky s mdlobou a kolapsem, 48 let.

*L. sakei* – tzv. antilisteriové kmeny jsou používány k výrobě zvláštního druhu salámů/klobás tzv. saucisson [1], tyto kmeny produkují bakteriociny tzv. sakaciny, které inhibují *L. monocytogenes*; etymologicky: saké = japonské rýžové víno.

Obrázek 1: *LACTOBACILLUS SAKEI* (CNCTC 7556)



***Sphingomonas paucimobilis* (CNCTC 7640)**

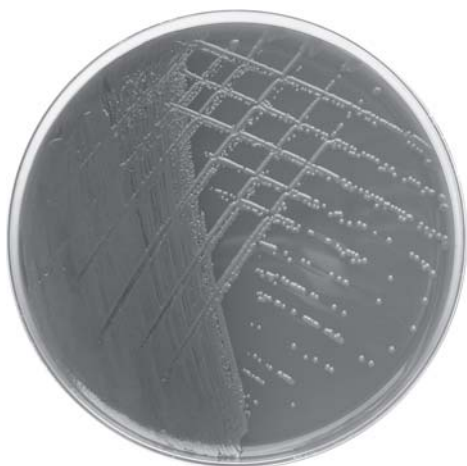
Kultivace: Columbia blood agar (CBA), 37 °C, 24 h, aerobně.

Morfologie: G- tyčky.

Materiál: hemokultura od 35leté pacientky s diagnózou mozkové aneurysma.

*S. paucimobilis* je původně půdní mikroorganismus (dříve r. *Pseudomonas*), má výrazný žlutý pigment, je vzácně izolován z klinického materiálu (krev, sputum, moč, ranné infekce), zdrojem je kontaminované prostředí a nástroje v nemocnicích [2]; etymologicky: sfingosin = nenasycený aminoalkohol, latinské adjektivum „paucimobilis“ = nepříliš pohyblivý.

**Obrázek 2: SPHINGOMONAS PAUCIMOBILIS (CNCTC 7640)**



***Corynebacterium tuberculostearicum* (CNCTC 7635)**

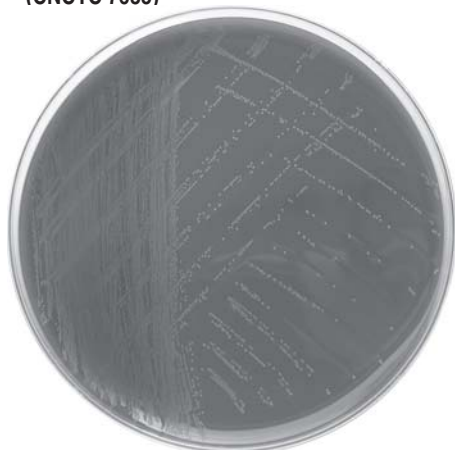
Kultivace: Columbia blood agar (CBA), 37 °C, 48 h, 5 % CO<sub>2</sub>.

Morfologie: G+ koryneformní tyčky.

Materiál: hemokultura od 54leté pacientky se střední neprůchodností.

*C. tuberculostearicum* – lipofilní korynebakterium, velmi často multirezistentní [3]; etymologicky: adjektivum se vztahuje ke kyselině tuberkulostearové, která je obsažena v buňkách.

**Obrázek 3: CORYNEBACTERIUM TUBERCULOSTEARICUM (CNCTC 7635)**



***Moraxella atlantae* (CNCTC 7572)**

Kultivace: Columbia blood agar (CBA), 37 °C, 48 h, aerobně.

Morfologie: G- krátké tyčky.

Materiál: hemokultura od pacienta s akutní cystitidou, 68 let.

*M. atlantae* je vzácný oportunní patogen, zpravidla citlivý k většině antibiotik [4]; etymologicky: druhové jméno se váže k městu Atlanta (USA), kde bylo agens poprvé izolováno [15].

**Obrázek 4: MORAXELLA ATLANTAE (CNCTC 7572)**



***Gemella morbillorum* (CNCTC 7637)**

Kultivace: Columbia blood agar (CBA), 37 °C, 72 h, mikroaerofilně.

Morfologie: G+ koky.

Materiál: hemokultura od pacienta (65 let) s akutní endokarditidou.

*G. morbillorum* – vzácná příčina onemocnění u člověka, často se vyskytuje jako komensál v orofaryngeální oblasti, byla popsána jako kauzální agens u endokarditid [5]; etymologicky: latinsky „gemmelus“ = dvojče, „morbillorum“ = vázající se ke spalničkám (morbilli).

**Obrázek 5: GEMELLA MORBILLORUM (CNCTC 7637)**



***Lactobacillus rhamnosus* (CNCTC 7638)**

Kultivace: Columbia blood agar (CBA), 37 °C, 48 h, 5 % CO<sub>2</sub>.  
Morfologie: G+ nesporulující tyčky.

Materiál: hemokultura od 35leté pacientky s diagnózou mozkové aneurysma.

*L. rhamnosus* byl původně poddruh *L. casei*, od roku 1989 je to samostatný druh. Používá se jako potravinový doplněk - probiotikum. Může být příčinou bakteriemií u imunosuprimovaných pacientů a u pacientů s katetrem [6]; etymologicky: latinské adjektivum se vztahuje k rhamnóze, tj. tento druh okyseluje rhamnózu (na rozdíl od *L. casei*).

Obrázek 6: **LACTOBACILLUS RHAMNOSUS** (CNCTC 7638)**IZOLÁT Z VÝTĚRU Z URETRY*****Pasteurella dagmatis* (CNCTC 7630)**

Kultivace: Columbia blood agar (CBA), 37 °C, 24 h, aerobně.  
Morfologie: G- tyčky až kokotyčky.

Materiál: výtěr z uretry od pacienta (24 let) při screeningovém vyšetření k vyloučení kapavky.

*P. dagmatis* je udávána jako původce bakteriemií v souvislosti s psím kousnutím [7]; etymologicky: z řeckého „dagma“ = kousnutí.

Obrázek 7: **PASTEURELLA DAGMATIS** (CNCTC 7630)**IZOLÁT Z HNISU*****Dialister pneumosintes* (CNCTC 7557)**

Kultivace: Columbia blood agar (CBA), 37 °C, 48 h, anaerobně.

Morfologie: G- tyčky.

Materiál: hnis z empyému u pacientky (47 let) s původně s neléčenou pulpidou (zánět zubní dřeně; závěr – subdurální empyém odontogenního původu).

*D. pneumosintes* (dříve *Bacteroides pneumosintes*) bývá nacházen u pacientů s mozkovými abscesy [8]; etymologicky: „pneumosintes“ = zloděj/ničitel dechu, původ rodového jména je neznámý.

Obrázek 8: **DIALISTER PNEUMOSINTES** (CNCTC 7557)**IZOLÁTY Z VÝTĚRU Z UCHA*****Cupriavidus gilardii* (CNCTC 7632)**

Kultivace: Columbia blood agar (CBA), 37 °C, 24 h, aerobně.  
Morfologie: G- tyčky.

Materiál: izolát z výtěru z ucha od 14letého pacienta s recidivující otitis externa (zánět zevního zvukovodu).

*C. gilardii* byl izolován z půdy kontaminované těžkými kovy (zejména mědí), málo častý původce infekcí imuno-

Obrázek 9: **CUPRIAVIDUS GILARDII** (CNCTC 7632)

kompromitovaných, ale i imunokompetentních pacientů, např. infekce krevního řečiště, byl izolován i z abscesu [9]; etymologicky: latinsky „cupri-avidus“ = lačný mědi.

***Bacillus siralis* (CNCTC 7633)**

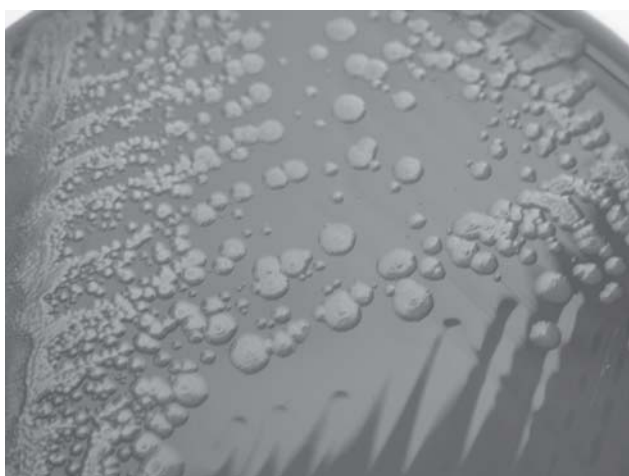
Kultivace: Columbia blood agar (CBA), 37 °C, 24 h, aerobně.

Morfologie: G+ tyčky s oválnými sporami.

Materiál: izolát z výtěru z ucha u pacientky, 23 let, s otitis externa, pacientka měla kontakt s chovem skotu včetně siláže (sic!).

*B. siralis* byl popsán ze siláže [10]; etymologicky: „baculum“ = latinsky hůl, „siralis“ = vztahující se k silu (lat. sirus = silo).

Obrázek 10: *BACILLUS SIRALIS* (CNCTC 7633)



***Kerstersia gyiorum* (CNCTC 7636)**

Kultivace: Columbia blood agar (CBA), 37 °C, 24 h, aerobně.

Morfologie: G- drobné tyčky až kokotyčky.

Materiál: izolát z výtěru z ucha od pacientky (44 let) s otitis externa (patrně významný podíl na onemocnění, masivní nález v obou uších).

*K. gyiorum* – nepříliš častá infekce lidí, je spojována s chronickými rannými infekcemi dolních končetin a infekcí ucha [11]; etymologicky: tato bakterie je nazvána po belgickém

Obrázek 11: *KERSTERSIA GYIORUM* (CNCTC 7636)



mikrobiologovi Kerstersovi, adjektivum pochází z řeckého „gyion“ = končetina (většina kmenů byla izolována z ran na dolních končetinách).

***Oligella urethralis* (CNCTC 7641)**

Kultivace: Columbia blood agar (CBA), 37 °C, 24 h, aerobně.

Morfologie: G- drobné koky až kokotyčky.

Materiál: izolát z výtěru z ucha od pacientky (66 let) s diagnózou chronický atikoantrální (nadbubínková dutina) zánět středního ucha.

*O. urethralis* (dříve rod *Moraxella*), je raritně se vyskytující druh, byla popsána nejčastěji u pacientů s infekcemi močového traktu, ale i např. z obsahu cysty labia u 56leté ženy [12]; etymologicky: řecky „oligos“ = malý, tj. jedná se o malou bakterii s nepříliš velkými růstovými nároky.

Obrázek 12: *OLIGELLA URETHRALIS* (CNCTC 7641)



***Rhizobium radiobacter* (CNCTC 7644)**

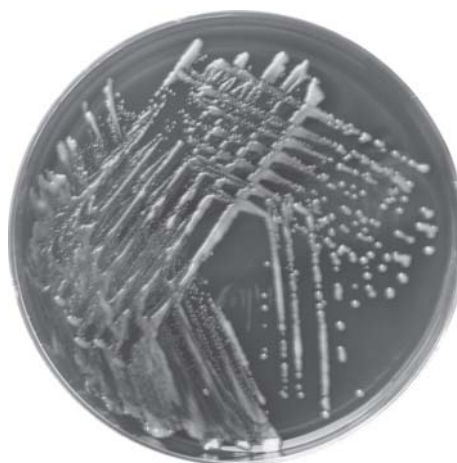
Kultivace: Columbia blood agar (CBA), 37 °C, 24 h, aerobně.

Morfologie: G- pleomorfní tyčky.

Materiál: izolát z výtěru z ucha s otitis externa (pacientka 52 let).

*R. radiobacter* se nachází hlavně v půdě v rhizosféře, u lidí málo častý oportunní patogen, je udáván jako původce infekcí spojených se zdravotní péčí (HAI = Healthcare-asso-

Obrázek 13: *RHIZOBIUM RADIOBACTER* (CNCTC 7644)





ciated infections; [13]); etymologicky: z řeckého slova „rhi-za“ = kořen, latinsky „radius“ = paprsek, „bacter“ = hůl, tyč.

## IZOLÁT ZE STĚRU Z PREPUTIA

### *Corynebacterium glucuronolyticum* (CNCTC 7664)

Kultivace: Columbia blood agar (CBA), 37 °C, 48 h, aerobně.

Morfologie: G+ velké koryneformní tyčky.

Materiál: stěr z léze v preputiu od muže 37 let s diagnózou balanopostitida (zánět předkožky a žaludu), pacient byl cestovatel - pobýval v Brazílii, kde lovil krokodýly s domorodci, obtíže se objevily po návratu do ČR.

*C. glucuronolyticum* bylo popsáno u několika pacientů (mužů) s genitourinárními infekcemi [14]; etymologicky: řecky „korune“ = kyj, druhové jméno = štěpící kys. glukuronovou; náš kmen byl ovšem β-glukuronidáza negativní.

Obrázek 14: *CORYNEBACTERIUM GLUCURONOLYTICUM* (CNCTC 7664)



## LITERATURA

1. Zagorec M et al.: *Lactobacillus sakei*: A starter for sausage fermentation, a protective culture for meat products. *Microorganisms*. 2017; 5(3): 56.
2. Toh HS et al.: Risk factors associated with *Sphingomonas paucimobilis* infection. *J Microbiol Immunol Infect*. 2011; 44(4): 289-295.
3. Hinic V et al.: *Corynebacterium tuberculostearicum*: a potentially misidentified and multiresistant *Corynebacterium* species isolated from clinical specimens. *J Clin Microbiol*. 2012; 50(8): 2561-2567.
4. De Baere T et al.: Bacteremia due to *Moraxella atlantae* in a cancer patient. *J Clin Microbiol*. 2002; 40(7): 2693-2695.
5. Zakir RM et al.: Mitral bioprosthetic valve endocarditis caused by an unusual microorganism, *Gemella morbillorum*,

in an intravenous drug user. *J Clin Microbiol*. 2004; 42(10): 4893-4896.

6. Gouriet F et al.: *Lactobacillus rhamnosus* bacteremia: an emerging clinical entity. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2012; 31(9): 2469-2480.
7. Xiong J et al.: Bacteremia due to *Pasteurella dagmatis* acquired from a dog bite, with a review of systemic infections and challenges in laboratory identification. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2015; 26(5): 273-276.
8. Rousée JM et al.: *Dialister pneumosintes* associated with human brain abscesses. *J Clin Microbiol*. 2002; 40(10): 3871-3873.
9. Tena D et al.: Muscular abscess caused by *Cupriavidus gilardii* in a renal transplant recipient. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2014; 79(1):108-110.
10. Pettersson B et al.: *Bacillus siralis* sp. nov., a novel species from silage with a higher order structural attribute in the 16S rRNA genes. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2000; 50(6): 2181-2187.
11. Pence MA et al.: Two cases of *Kerstersia gyiorum* isolated from sites of chronic infection. *J Clin Microbiol*. 2013; 51(6): 2001-2004.
12. Ježek P et al.: Izolace raritního druhu *Oligella urethralis* z obsahu cysty labia gynekologické pacientky. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)*. 2012; 21(1): 19-21.
13. Lai CC et al.: Clinical and microbiological characteristics of *Rhizobium radiobacter* infections. *Clin Infect Dis*. 2004; 38(1): 149-153.
14. Gherardi G et al.: *Corynebacterium glucuronolyticum* causing genitourinary tract infection: Case report and review of the literature. *IDCases*. 2015; 2(2): 56-58.
15. Bøvre K et al: *Moraxella atlantae* sp. nov. and its distinction from *Moraxella phenylpyruvica*. *Int J Syst Bacteriol*. 1976; 26, 511-521.

Poděkování kolektivu sbírky a NRL pro antibiotika (E. Křížová, V. Horová, I. Vrbová, M. Horáková, J. Kašík) za pečlivou práci při přípravě vzorků a všem spolupracujícím laboratorům za zaslání izolátů.

Projekt byl podpořen SVV 260398.

L. Mališová

M. Musílek

Centrum epidemiologie a mikrobiologie  
Státní zdravotní ústav, Praha

P. Ježek

Oddělení klinické mikrobiologie a parazitologie,  
Oblastní nemocnice, Přebíram

H. Žemličková

R. Šafránková

V. Jakubů

Centrum epidemiologie a mikrobiologie,  
Státní zdravotní ústav, Praha

Lékařská fakulta v Hradci Králové,

Univerzita Karlova, Hradec Králové