

Korynebakteria v krevním řečišti člověka

Corynebacteria in the bloodstream of humans

Valentyna Vlasatá, Jana Zavadilová, Kateřina Koukolová, Jan Horník, Petr Ježek

Souhrn • Summary

V období od 1. 1. 2012 do 31. 12. 2016 byl sledován výskyt korynebakterií v hemokulturách konsekventně přijatých k mikrobiologickému vyšetření. Všechny izolované kmeny byly vyšetřeny fenotypovými metodami založenými na biochemických vlastnostech. Většina byla dále potvrzena v Národní referenční laboratoři pro pertusi a difterii v SZÚ v Praze. Citlivost k antibiotikům byla vyšetřována diskovou difúzní metodou.

Všechny případy byly konfrontovány s klinickým stavem, hodnotami zánětlivých markerů a byly posuzovány možnosti kontaminace v době odběru hemokultur. Dále byla hodnocena možná souvislost s klinickou diagnózou, frekvence dle pohlaví, sezónnost a věková distribuce. Na základě vyšetření citlivosti byla stanovena doporučená empirická antibioterapie.

From 1 January 2012 to 31 December 2016, the presence of corynebacteria was monitored in blood cultures consecutively referred for microbiological examination. All isolated strains were characterized by phenotypic methods based on biochemical properties. Most were also confirmed by the National Reference Laboratory for Pertussis and Diphtheria of the National Institute of Public Health, Prague. Their susceptibility to antibiotics was investigated by the disk diffusion method.

All cases were correlated with clinical status and levels of inflammatory markers, and possible contamination sources during blood culture collection were considered. In addition, association of the presence of corynebacteria with clinical diagnosis and sex, seasonality, and age distribution were assessed. On the basis of antimicrobial susceptibility testing, empirical antibiotherapy options were recommended.

Zprávy CEM (SZÚ, Praha) 2017; 26(11-12): 408–411.

Klíčová slova: korynebakteria, hemokultura, bakterémie

Keywords: *corynebacteria, hemocultures, bacteremia*

ÚVOD

V mikrobiologické praxi byla korynebakteria historicky považována až na výjimky (*Corynebacterium diphtheriae*) převážně za kontaminanty nebo saprofytickou flóru kožních povrchů člověka. Teprve s rozvojem molekulárně biologických metod a s tím souvisejícími taxonomickými změnami v tomto rodu se ukazuje, že některé druhy mohou vyvolat u člověka onemocnění nebo infekční komplikace u klinického stavu. Vybrané druhy mohou mít afinitu k určitým tkáním, jako např. *C. macginleyi* [1,2] k tkáním oka, jiné se mohou vyskytovat ve větší míře v některých kompartmentech, jako např. *C. coyleae* [3,4], které zatím bylo izolováno zejména z krevního řečiště. Popisovány jsou také infekční komplikace spojené s tvorbou biofilmů na katetrech nebo na totálních endoprotézách (TEP) [9]. Pozoruhodné je, že mnoho z nich nebylo dosud izolováno z kůže či sliznic člověka a je proto diskutabilní, tyto druhy označit právě za kontaminanty.

Korynebakteria jsou rovné nebo mírně zakřivené gram pozitivní tyčinky s typickým mikroskopickým uspořádáním buněk ve tvaru písmene V, mnohdy ztluštělé na jednom konci (kyjovitě tyčinky). Uvnitř buněk někdy bývají patrna metachromatická granula. Rostou aerobně nebo fakultativně anaerobně, nesporulují a nejsou acidorezistentní. Mají pozitivní katalázu. Rod je velmi heterogenní [5].

Podle růstových požadavků a podle metabolické aktivity je lze dělit na lipofilní (*C. jeikeium*, *C. urealyticum*, *C. accolens*, *C. macginleyi* aj.) a nonlipofilní. Poslední se dále člení na skupinu fermentujících (*C. diphtheriae*, *C. xerosis*, *C. amycolatum* aj.) a skupinu nefermentujících (*C. pseudodiphtheriticum*, *C. afermentans* ssp. *afermentans* aj.) korynebakterií.

MATERIÁL A METODY

V období od 1. 1. 2012 do 31. 12. 2016 byl sledován výskyt korynebakterií v hemokulturách konsekventně přijatých k mikrobiologickému vyšetření v regionální mikrobiologické laboratoři v Oblastní nemocnici Příbram. Všechny izolované kmeny byly identifikovány fenotypovými biochemickými soupravami (EliChrom nebo REMEL CB Plus). Většina z nich byla dále potvrzena či identifikována v Národní referenční laboratoři pro pertusi a difterii ve Státním zdravotním ústavu v Praze (dále NRL). V NRL byla provedena druhová identifikace biochemickou soupravou API Coryne (BioMérieux, Francie) a pomocí hmotnostní spektrofotometrie metodou MALDI TOF na přístroji Microflex LT (Bruker Daltonics).

Všechny případy byly konfrontovány s klinickým stavem pacienta a laboratorními hodnotami vybraných zánětlivých parametrů (hladina CRP, počet leukocytů) v době odběru hemokultur. U všech byla také zvažována možnost kontaminace při odběru či v laboratoři.

Všechny izolované kmeny byly vyšetřeny na citlivost k antibiotikům diskovou difúzní metodou dle doporučených postupů. Sledována byla citlivost k vankomycinu, penicili-

linu, klindamycinu, doxycyklinu, gentamicinu, ciprofloxacinu a potencovaným aminopenicilinům.

Klinická data byla získávána z nemocničního informačního systému (IS), z laboratorního informačního systému (LIS) nebo přímo u ošetřujících lékařů. Každý případ byl konzultován s internistou s infektologickou specializací.

Na konci sledovaného období pak byla analyzována sezónnost, frekvence dle pohlaví, věková a druhová distribuce, souvislost s klinickou diagnózou a byla stanovena i empirická antibiototerapie.

VÝSLEDKY

Za sledované období od 1. 1. 2012 do 31. 12. 2016 bylo vyšetřeno celkem 9 486 hemokultur z čehož 2 519 bylo pozitivních, tj. s nálezem mikroorganismů. Korynebakteria tvořila z toho počtu 1,4 %. Celkem bylo identifikováno 10 druhů korynebakterií. U 14 kmenů se nepodařilo určit druh a to především proto, že v počátcích studie nebyly některé izoláty zaslány na identifikaci do NRL (celkem 12) a 2 kmeny z této skupiny nezařadila do druhu ani NRL. Nejčastěji byly pozorovány druhy *C. coyleae* a *C. imitans* (viz graf 1).

Sezónní dynamika ukázala vyšší výskyt zejména v chladných měsících roku (viz graf 2).

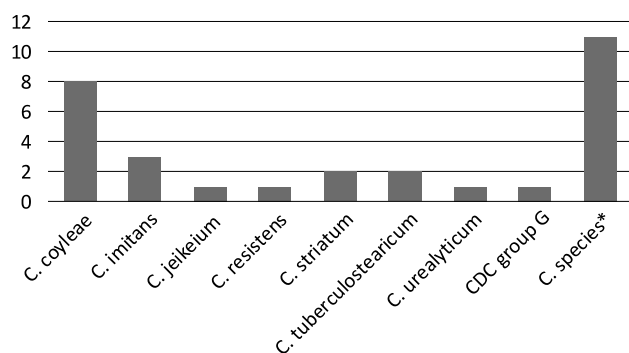
Ve věkové distribuci se ukazují jako riziková skupina zejména senioři nad 60 let věku bez rozdílů pohlaví. V nižších věkových kategoriích je výskyt víceméně sporadický. U mužů se korynebakteria v krevním řečišti vyskytovala zhruba dvakrát častěji než u žen (viz graf 3).

Na základě klinických dat a stanovené diagnózy lze předpokládat etiologickou souvislost u 41 % případů. Z nichž 14 % mělo v době odběru klinicky i laboratorně suspektní septikémii, u 14 % pacientů byla přítomna infekce měkkých tkání nebo kostí, 13 % pacientů trpělo horečkou nejasné etiologie, což je v literatuře u těchto infekcí často uváděná diagnóza (viz graf 4).

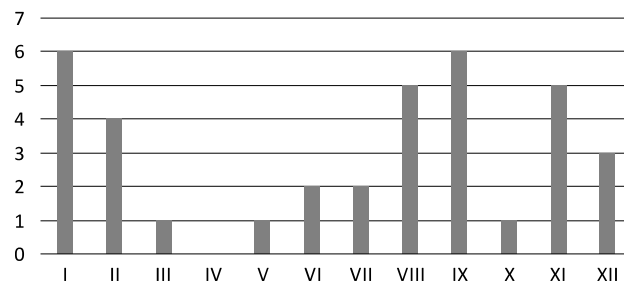
Ze sledovaných zánětlivých parametrů (CRP, počet leukocytů) vykazovalo elevaci v době odběru 58 % pacientů v obou parametrech a 97 % mělo zvýšený nad hodnotu normy alespoň jeden z nich (viz graf 5). Prokalcitonin nebyl zahrnut do vyhodnocení, protože byl vyšetřován jen u malého počtu pacientů.

Nejlepší citlivost z antibakteriálních látek vykazoval vankomycin (100 %). U ostatních látek byl zjištěn větší nebo menší stupeň rezistence. Amoxicilin/kys.klavulanová

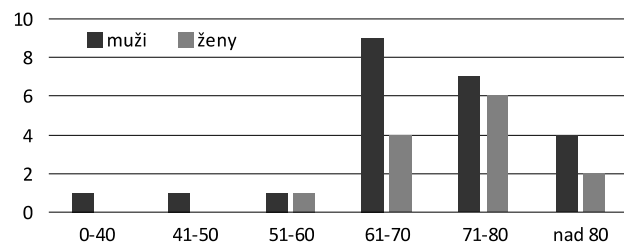
Graf 1: DRUHOVÉ ZASTOUPENÍ



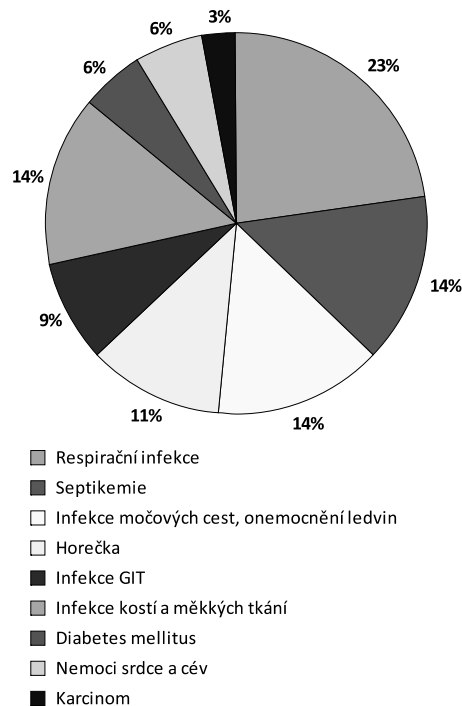
Graf 2: SEZÓNÍ VÝSKYT



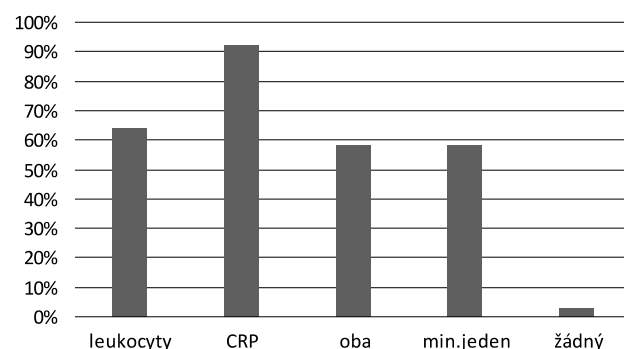
Graf 3: VÝSKYT PODLE VĚKU A POHLAVÍ



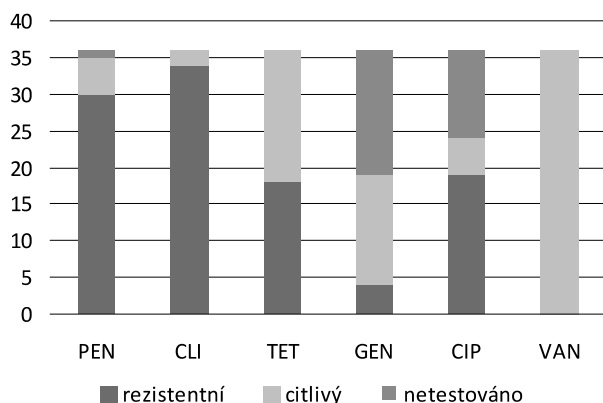
Graf 4: VÝSKYT PODLE DIAGNÓZ



Graf 5: VÝSKYT PODLE ELEVACE ZÁNĚTLIVÝCH PARAMETRŮ



Graf 6: CITLIVOST K ANTIBIOTIKŮM



dle velikosti zóny okolo disku byl velmi pravděpodobně také dobře citlivý. Data nejsou ukázána, protože EUCAST nemá pro toto antibiotikum stanoveny break pointy.

DISKUZE

V naší studii byly v hemokulturách detekovány především druhy, které jsou popisovány i v dalších studiích, jako téměř výhradně nebo velmi často se vyskytující v krvi (*C. coyleae*, *C. imitans*, *C. resistens*, *C. afermentans*) [3,4,6,7,8,9]. Tyto druhy dosud nebyly popsány jako běžná flóra lidského povrchu a předpokládáme, že mohou být skutečnou příčinou septikémie s nejasným fokusem v organismu. *C. resistens* je popisováno u sepsí imunokompromitovaných pacientů obvykle s fatálním koncem [8]. Náš pacient zemřel devátý den po odběru hemokultur. *C. urealyticum*, *C. jeikeium*, *C. tuberculostrictum* a *C. accolens* jsou druhy, které byly izolovány z různých patologických procesů včetně endokarditid, septikémií, ale jsou také někdy považovány za běžnou saprofytickou flóru člověka [9]. Jejich význam v našem souboru je proto diskutabilní. *C. jeikeium* bývá izolováno u dlouhodobě hospitalizovaných pacientů. V našem případě šlo rovněž o dlouhodobě hospitalizovaného pacienta pro spondylodiscitidu s exitem následující den po odběru hemokultury.

C. striatum je jinak běžně považováno za rezidentní flóru kůže a sliznic člověka. Námí izolované dva případy byly prokazatelně příčinou katetrové sepse, neboť identické kmeny byly izolovány i z odstraněných katetrů na základě vyšetření Makího metodou.

Podle našich zkušeností lze konstatovat, že nelze spolehlivě rozhodnout pouze na základě druhové identifikace o etiologické účasti daného korynebakteria. Vždy je nutné posuzovat každý případ individuálně a při rozhodování o antibiototerapii se řídit zejména podle klinické symptomatologie a laboratorních hodnot každého pacienta v dané chvíli. I rezistentní druhy mohou způsobit bakterémii, zejména u imunokompromitovaných pacientů.

Pro vyšší výskyt korynebakterií v chladnějších obdobích roku stejně jako pro vyšší frekvenci výskytu u mužů nemáme v současné době žádné racionální vysvětlení.

Nejvyšší výskyt v kategorii pacientů nad 60 let souvisí pravděpodobně s vyšší komorbiditou dalších i závažných onemocnění (diabetes, onkologičtí pacienti aj.). Tito pacienti jsou také často po invazivních a intenzivních medi-

cínských zákrocích. Takovéto situace mohou být predisponující pro výskyt i oportunních patogenů. Jejich výskyt je často vázán právě na imunokompromitované pacienty.

Souvislosti s diagnózou pacienta v době odběru je velmi obtížné hodnotit, neboť základní diagnóza nemusí souviset se vznikem bakterémie, v době odběru nejsou vždy plně známy všechny klinické souvislosti a v neposlední řadě se nám ani v jednom případě nepodařilo izolovat stejný druh korynebakteria z jiných lokalit či klinických materiálů daného pacienta s výjimkou katetrových sepsí v případě *C. striatum* (viz výše). Proto předkládané vyhodnocení je více či méně spekulativní.

Vztah k zánětlivým markerům pacienta v době odběru je významným kritériem pro posuzování klinické septikémie a také pro zahájení antibioterapie. Nicméně u pacientů s dalšími komorbiditami nemusí vždy přesně korelovat.

Na základě vyšetření citlivosti ke sledovaným antibiotikům lze doporučit s velkou spolehlivostí empirickou terapii vankomycinem pro septikémii vyvolané korynebaktérii. Jiná antibiotika lze použít až po stanovení antibiogramu. Nouzově lze využít eventuálně i potencované aminopeniciliny, které v naší studii vykazovali s velkou pravděpodobností také výbornou citlivostí, ovšem i vzhledem k tomu, že dosud není pro tuto látku znám break point, nelze ji obecně doporučit k používání při léčbě infekcí způsobených korynebaktérii.

ZÁVĚR

Z výsledků studie vyplývá, že korynebakteria jsou klinicky významnou skupinou mikroorganismů, které již nelze běžně hodnotit při nálezu jen jako pouhou saprofytickou či kontaminující flóru. Je pravděpodobné, že se uplatňují v celé řadě patologických procesů jako patogenní a etiologicky významné organismy. Proto je důležité, aby se i rutinní laboratoře zabývaly určením až na druhovou úroveň, zejména při nálezech v primárně sterilních tekutinách nebo v klinicky významných materiálech, a nebo při jejich dominantním výskytu v polybakteriálních nálezech.

LITERATURA

- Joussen AM, Funke G, Joussen F, Herberich G: *Corynebacterium macginleyi*: a conjunctiva specific pathogen. *Br.J.Ophthalmol.*2000; 84: 1420-1422
- Ježek P, Petráš P, Horník J: *Corynebacterium macginleyi* – původce konjunktivitidy starší ženy. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)* 2013; 22(7): 227-229
- Funke G, Ramos CP, Collins MD: *Corynebacterium coyleae* sp.nov., isolated from human clinical specimens. *Int.J.Syst.Bacteriol.*1997; 47(1): 92-96
- Ježek P, Zavadilová J, Lžičarová D, Polák M, Petráš P: Izolace *Corynebacterium coyleae* z hemokultury u pacienta hospitalizovaného na JIP pro cévní mozkovou příhodu. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)*2013; 22(3): 102-105
- Sedláček I. Taxonomie prokaryot. Masarykova Univerzita Brno 2007; ISBN 80-210-4207-9
- Bernard KA, Munro C, Wiebe D, Ongansoy E: Characteristics of rare or recently described *Corynebacterium* species recovered from human clinical material in Canada. *J.Clin.Microbiol.* 2002; 40(11): 4375-4381

7. Ježek P, Zavadilová J, Kolínská R, Švec P, Guttwirth J, Petráš P: *Corynebacterium imitans* izolované z hemokultury u pacienta se suspektní bakterémií – první izolace v humánním klinickém materiálu v České republice. *KMIL* 2014; 20(3): 98-101
8. Otsuka Y, Kawamura Y, Koyama T, Iihara H, Ohkusu K, Ezaki T: *Corynebacterium resistens* sp.nov., a new multidrug-resistant coryneform bacterium isolated from human infections. *J.Clin.Microbiol.* 2005; 43(5): 3713-3717
9. Funke G, Von Graevenitz A, Clarridge 3rd JE, Bernard KA: Clinical microbiology of coryneform bacteria. *Microbiol.Rev.* 1997; 10(1):125-159

Valentýna Vlasatá

Kateřina Koukolová

Petr Ježek

*Odd. klinické mikrobiologie a parazitologie,
Oblastní nemocnice Příbram*

Jana Zavadilová

*Národní referenční laboratoř pro pertusi a difterii,
CEM, Státní zdravotní ústav, Praha*

Jan Horník

Interní odd., Oblastní nemocnice Příbram