

## Taxonomie rodu *Acinetobacter*

A. Nemeč

Státní zdravotní ústav, Praha

### Souhrn

Od posledního vydání Bergeyovy příručky systematické bakteriologie došlo v taxonomii rodu *Acinetobacter* k významným změnám. Počínaje rokem 1986 bylo publikováno několik klasifikačních studií, které rod *Acinetobacter*, obsahující původně jediný druh *A. calcoaceticus* (18), postupně rozdělily do 19 genomospecií. Následovaly práce zabývající se praktickými možnostmi identifikace a hodnotící klinický význam jednotlivých druhů a genomospecií. V naší laboratoři jsme během posledních let získali informaci o druhovém zastoupení acinetobakterů v České republice a o taxonomické pozici multirezistentních a hromadně se vyskytujících kmenů.

**Klíčová slova:** *Acinetobacter* – mikrobiologie – klasifikace – identifikace – typizace – multirezistence – Česká republika.

### Summary

#### Nemeč A.: Taxonomy of the Genus *Acinetobacter*

In the last decade the taxonomy of the genus *Acinetobacter* showed important changes. Since 1986 several classification studies have been published dividing progressively the genus *Acinetobacter*, originally believed to include a single species, *A. calcoaceticus*, into 19 genomospecies. The following papers paid attention to practical possibilities of identification and to clinical importance of different species and genomospecies. In the last three years, interesting data on the distribution of different *Acinetobacter* species in the Czech Republic and on taxonomic position of the multiresistant strains and those isolated from nosocomial outbreaks have been gathered in our laboratory.

**Key words:** *Acinetobacter* – microbiology – classification – identification – typing – multiresistance – Czech Republic.

### Klasifikace a identifikace

Do rodu *Acinetobacter* Brisou a Prévot 1954 zahrnuli roku 1968 Baumann et al. oxidáza-negativní, nepohyblivé, gramnegativní diplobacily dříve řazené do různých rodů (*Herellea*, *Mima*, *Moraxella*, *Neisseria*, *Achromobacter*, *Bacterium* etc.) (2). O čtyři roky později prokázal E. Juni pomocí transformačního testu (založeného na schopnosti DNA testovaného kmene transformovat tryptofan-dependentní kmen *Acinetobacter calcoaceticus* BD413trpE27 na kmen prototrofní), že rod *Acinetobacter* představuje přirozenou skupinu odlišnou od rodů *Moraxella* a *Neisseria* (17). V roce 1986 publikovali Bouvet a Grimont (B&G) klasifikační studii, ve které na základě DNA-DNA hybridizace rozdělili rod *Acinetobacter* do 12 genomospecií (GS) (3). Dříve používaná jména *A. calcoaceticus*, *A. haemolyticus* a *A. lwoffii* byla přiřazena in sensu stricto skupinám GS 1, GS 4 a GS 8. Nově byly pojmenovány GS 2 (*A. baumannii*), GS 5 (*A. junii*) a GS 7 (*A. johnsonii*). Roku 1989 byla Bouvetem a Jeanjeanovou (B&J) publikována klasifikace neza-

řazených proteolytických kmenů (5), která rozšířila původní schéma o dalších pět genomospecií (GS 13 až GS 17). V témž roce Tjernbergová a Ursing (T&U) prezentovali klasifikaci kmenů izolovaných z klinického materiálu (25), která se v zásadě shodovala s klasifikací Bouveta a Grimonta a v níž byly popsány tři nové skupiny – GS 13, 14 a 15. Studie francouzských a švédských autorů byly publikovány ve stejné době, a tudíž se vzájemně nerespektovaly v číslování nových genomospecií. Důsledkem je dodnes trvající nejednotnost v označování genomospecií 13 až 15: GS 14 sensu T&U odpovídá GS 13 sensu B&J, referenční kmen GS 13 sensu T&U nebyl francouzskými autory zařazen do žádné skupiny, referenční kmene GS 15 sensu T&U, GS 14 sensu B&J a GS 15 sensu B&J nebyly druhou skupinou testovány. Současný stav klasifikace a nomenklatury rodu je uveden v tabulce 1.

Ve své úvodní studii z roku 1986 vypracovali Bouvet a Grimont identifikační schéma sestávající z 28 fenotypových testů (3), které v výjimkou GS 8 a 9 umožňovalo spolehlivé rozlišení všech genomospecií.

**Tab. 1.** Klasifikace a nomenklatura rodu *Acinetobacter*

**Table 1.** Classification and nomenclature of the genus *Acinetobacter*

Nomenklatura	DNA skupina (genomospecies)	
	Bouvet a Grimont, 1986 Bouvet a Jeanjean, 1989	Tjernbergová a Ursing, 1989
<i>A. calcoaceticus</i>	1	1
<i>A. baumannii</i>	2	2
np	3	3
np	nz	13
<i>A. haemolyticus</i>	4	4
<i>A. junii</i>	5	5
np	6	6
<i>A. johnsonii</i>	7	7
<i>A. lwoffii</i>	8	8
np	9	8
np	10	10
np	11	11
<i>A. radioresistens</i>	12	12
np	13	14
np	14	nt
np	15	nt
np	16	nz
np	17	nt
np	nt	15

Vysvětlivky: np = nepojmenováno; nt = referenční kmen netestován; nz = referenční kmen nezařazen do skupiny

Explanations: np = not named; nt = reference strain not tested; nz = reference strain ungrouped

Identifikační matice byla odvozena z vlastností 74 kmenů klasifikovaných DNA-DNA hybridizací a dalších 181 kmenů charakterizovaných pouze fenotypově. Tento postup, při kterém byly vlastnosti většiny genomospecies odvozeny z malého počtu kmenů, riskoval podcenění fenotypové variability některých genomospecies a přecenění možností fenotypové identifikace. Francouzští autoři později zmenšili počet testů na 19 (14 utilizačních testů, testy oxyselování média s glukózou, hydrolýzy želatiny a růstu při 37 °C, 41 °C a 44 °C) a do identifikačního schématu zahrnuli nově popsané druhy (tab. 2) (4, 5, 15). Gerner-Smidt et al. testovali účinnost tohoto schématu na souboru 191 kmenů klasifikovaných DNA-DNA hybridizací (13). Poměrně nízká účinnost identifikace (78 % správně identifikovaných kmenů) vyplynula z fenotypové diverzity některých genomospecies a jejich neostře odlišení. Rozlišení GS 1, 2, 3 a 13 sensu T&U pomocí testů růstu při 37 °C, 41 °C a 44 °C a asimilace D-malátu se ukázalo jako nespolehlivé a v souladu s jejich podobností na genotypové úrovni pro ně bylo navrženo skupinové označení komplex *A. calcoaceticus* – *A. baumannii* (*Acb*). V numericko-taxonomické

práci z roku 1993 Kämpfer et al. (19) potvrdili nesnadnost fenotypové diferenciaci dalších skupin (GS 4 a GS 6; GS 8/9 a GS 15 sensu T&U; GS 10 a GS 11). Gerner-Smidt a Frederiksen (11) dále poukázali na možné obtíže při fenotypovém rozlišování *A. johnsonii*, *A. junii* a *A. lwoffii*, plynoucí z malého množství diskriminujících testů a z výskytu kmenů s přechodnými biochemickými profily. Navrhli zároveň redukované schéma fenotypové identifikace, v němž jsou sloučeny fenotypově neostře odlišené genomospecies a které bylo odvozeno z vlastností 198 kmenů klasifikovaných DNA-DNA hybridizací (tab. 3).

Množství druhově nezařaditelných kmenů se podle povahy testovaného souboru, zvoleného identifikačního schématu a kritérii pro přijetí identifikace pohybuje mezi 1,4–15 % (viz tab. 5). Jejich nižší počet v souborech nemocničních kmenů je výrazem rozhodující role komplexu *Acb* u nemocničních infekcí. Častěji jsou zastoupeny v souborech kmenů izolovaných z mimonemocničních pacientů (11) a především pak u environmentálních kmenů (24). Jejich výskyt může být důsledkem rozdílů fenotypových vlastností mezi testovanými kmeny a kmeny použitými pro konstrukci identifikačních schémat anebo – spolu s kmeny, které nebyly v hybridizačních studiích zařazeny do žádné skupiny – představují dosud nepopsané genomospecies. Složitější taxonomickou strukturu má i samotný komplex *Acb*, v němž byly nedávno identifikovány dvě nové genomospecies (12). Genotypově velmi heterogenní rod *Acinetobacter* tak představuje skupinu s omezenými možnostmi fenotypové identifikace a lze u ní v blízké době očekávat další taxonomické a názvoslovné změny. Příkladem toho je návrh na sloučení všech genomospecies komplexu *Acb* do jediného druhu *A. calcoaceticus* (10).

## Rutinní identifikace

Lze zpochybnit potřebu druhové identifikace acinetobakterů v běžné laboratorní praxi. To platí především pro sporadicky izolované kmeny bez zřejmé souvislosti s klinickým onemocněním. Druhová diferenciaci je však důležitá v případech hromadného výskytu kmenů, u multirezistentních kmenů a izolátů z klinicky závažných onemocnění. Přestože některé komerčně dostupné systémy nabízejí možnost druhového zařazení, žádný z nich spolehlivou identifikaci neumožňuje, a to včetně systémů založených na utilizačních testech (API 20 NE, API ATB 32 GN, Biotype 100, Biolog) (11, 21). Poměrně komplikovaná procedura zkumavkových utilizačních testů vylučuje jejich používání v rutinní praxi. Testem růstu při 44 °C je možné s velkou pravděpodobností odlišit klinicky nejvýznamnější skupinu *A. baumannii*/GS13 sensu T&U a u ostatních lze pomocí běžných biochemických testů provést alespoň orientační diferenciaci, ovšem bez

**Tab. 2.** Identifikace rodu *Acinetobacter* (převzato z Grimont a Bouvet, 1991)

**Table 2.** Identification of the genus *Acinetobacter* (from Grimont and Bouvet, 1991)

Test	Genomospecies (B&G, B&J)																
	1	2	3	4	5	6	7	8/9	10	11	12	13	14	15	16	17	
růst při 44 °C	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
růst při 41 °C	-	+	+	-	90	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
růst při 37 °C	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	89	+	+	+	75	
kyselina z D-glukózy	+	95	+	60	-	50	-	6	+	-	40	+	+	-	-	-	
hydrolyza želatiny	-	-	-	96	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	
utilizace:																	
DL-laktát	+	+	+	-	+	-	+	99	+	+	+	+	+	+	+	+	
DL-4-aminobutyát	+	+	+	+	90	-	35	40	+	+	+	11	+	-	25	+	
trans-akonitát	+	99	+	52	-	-	-	-	-	-	-	11	67	-	-	50	
citrát	+	+	+	90	82	+	98	-	+	+	-	+	+	+	+	+	
glutarát	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	
aspartát	+	+	+	64	40	66	61	-	+	+	+	-	-	-	-	-	
azelát	+	90	+	-	-	-	-	+	50	25	+	-	+	-	-	-	
β-alanin	+	95	95	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	75	+	
L-histidin	+	98	94	96	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	
D-malát	-	98	+	96	+	66	20	60	+	+	-	+	+	+	+	+	
malonát	+	98	85	-	-	-	15	-	-	-	+	11	+	-	50	50	
histamin	-	-	-	-	-	-	-	-	75	+	-	-	-	-	-	-	
L-fenylalanin	+	87	66	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	
fenylacetát	+	87	66	-	-	-	-	94	25	50	+	+	+	+	+	+	

Vysvětlivky: Číselné údaje představují procento kmenů pozitivních v daném testu; + 100% pozitivita; - 100% negativita

Explanations: Numbers are the percentages of strains positive in a given test; + 100% positivity; - 100% negativity

**Tab. 3.** Identifikace rodu *Acinetobacter* (převzato z Gerner-Smidt a Frederiksen, 1993)

**Table 3.** Identification of the genus *Acinetobacter* (from Gerner-Smidt and Frederiksen, 1993)

Test	Genomospecies (T&U)										
	1-2-3-13	4	14	6	5	7	8-9-15	10	11	12	
glukóza	99	76	100	100	0	0	21	100	0	5	
želatináza	0	90	100	100	0	0	0	0	0	0	
hemolýza	0	95	100	100	38	0	0	0	0	0	
růst při 37 °C	97	100	25	50	100	0	79	100	0	100	
růst při 44 °C	51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
trans-akonitát	84	76	25	0	0	0	4	33	14	0	
L-histidin	97	100	100	100	90	0	0	100	100	0	
malonát	86	0	75	0	0	20	0	0	14	95	
histamin	0	0	25	0	0	0	0	67	86	0	
citrát	100	76	100	100	86	90	11	100	100	0	
DL-4-aminobutyát		95	50	0							
L-fenylalanin	81	0	100	0			0	0		91	
penicilin *)	3	0	0	0	67	70	97	0	0	32	
chloramfenikol *)	3	19	0	50	48	65	100	0	71	5	

Vysvětlivka: \*) hraniční koncentrace 8 µg/ml

Explanation: \*) breakpoint 8 µg/ml

možnosti spolehlivého druhového zařazení. Při takovém postupu je používání nové nomenklatury zavádějící a má být dána přednost rodovému označení s popisem testovaných vlastností.

## Typizace

Pro subspecifickou klasifikaci klinicky a epidemiologicky nejvýznamnějšího druhu *A. baumannii* navrhl Bouvet a Grimont sestavu šesti utilizačních testů

Tab. 4. Biotypy komplexu *A. calcoaceticus*-*A. baumannii* (převzato z Bouvet a Grimont, 1987 a Bouvet et al., 1990)

Table 4. Biotypes of the *A. calcoaceticus*-*A. baumannii* complex (from Bouvet and Grimont, 1987 and Bouvet et al., 1990)

Utilizační test	Biotyp																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
levulinát	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+
citronkonát	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+
L-fenylalanin a fenylacetát	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+
4-hydroxybenzoát	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+
L-tartarát	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-

(4). Tabulka 4 ukazuje vlastnosti dosud popsaných 19 biotypů (4, 6). Nejčastěji jsou izolovány biotypy č. 1, 2, 6 a 9, do nichž spadá 86–95 % kmenů (4, 23). Diskriminační účinnost této metody je tudíž malá a implikuje nutnost použití dalších metod. Pro rozlišení nemocničních kmenů byly testovány metody fenotypové analýzy [antibiogram (1, 20), fagotypizace (6), sérotypizace (26)] a molekulové analýzy [restrikční analýza buněčné DNA (20), ribotypizace (9, 20), plazmidový profil (1, 12, 20), dělení restrikčních fragmentů v pulzním elektrickém poli (14), multilokusová enzymová elektroforéza (22), spektrum buněčných proteinů (1) a proteinů vnější buněčné membrány (6)]. Z porovnání těchto přístupů a jejich kombinací vyplynulo, že nejučinnější je polyfázový popis – vhodně zvolená sestava metod genotypové a fenotypové typizace. Za účinné jsou považovány kombinace biotypizace a analýzy spektra proteinů vnější buněčné membrány (6) nebo restrikční analýza buněčné DNA, plazmidový profil a biotypizace (20). Ani v poslední době zdůrazňované metody genotypové analýzy (9, 14) nemají výlučnou platnost. Na Klinice popáleninové medicíny v Praze jsme prokázali současný výskyt tří multirezistentních kmenů *A. baumannii*, z nichž dva byly genotypově identické (shodný *EcoRI* a *HindIII* ribotyp, *HindIII* restrikční profil buněčné DNA, spektrum buněčných proteinů) a bylo je možno diferencovat pouze na základě biochemických testů a antibiogramu (20, 21).

### Přehled klinicky významných druhů a genomospecies

Zastoupení jednotlivých druhů a genomospecies v klinickém materiálu podle vybraných literárních pramenů je uvedeno v tabulce 5. Četnost záchytu jednotlivých genomospecies závisí na řadě faktorů, především na původu kmenů (např. nemocniční kmeny versus kmeny izolované z mimonemocničních pacientů); u fenotypově obtížně rozlišitelných skupin má významnou úlohu způsob identifikace.

Komplex *A. calcoaceticus*-*A. baumannii* zahrnuje fenotypově a genotypově podobné genomospecies 1

(*A. calcoaceticus*), 2 (*A. baumannii*), 3 a 13 sensu T&U lišící se svým klinicko-epidemiologickým významem. Fenotypové rozlišení komplexu je nespolehlivé. Konektní identifikaci umožňují pouze DNA-DNA hybridizace (25), ribotypizace (9) nebo restrikční analýza oblastí oddělujících geny pro 16 S a 23 S rRNA (7).

*A. calcoaceticus* je převážně izolován z půdy a pouze výjimečně z klinického materiálu [tři izoláty ve studii Tjernbergové a Ursinga (25)]. Nižší teplotní optimum je výrazem adaptace na vnější prostředí.

*A. baumannii* je téměř výlučně izolován z člověka a nemocničního prostředí. Převažuje mezi kmeny izolovanými z nemocničních infekcí a zahrnuje většinu kmenů s vysokou rezistencí. Za specifický znak byl Bouvetem a Grimontem považován růst při 44 °C. Při této teplotě však roste většina kmenů GS 13 sensu T&U a některé kmeny GS 3 (9, 13).

*Acinetobacter* genomospecies 3 byl izolován z půdy a klinického materiálu. Je uváděn na druhém místě v počtu kmenů izolovaných z klinického materiálu (4, 23) a uplatňuje se i při nemocničních epidemiích (16).

*Acinetobacter* genomospecies 13 sensu T&U. Kmeny rostoucí při 44 °C nelze biochemicky odlišit od *A. baumannii*, kmeny rostoucí při 41 °C od GS 3. V pracích vycházejících ze schématu Bouveta a Grimonta, které tento taxon neobsahuje, je možnost jeho identifikace a priori vyloučena. Dosud popsané kmeny patří téměř výlučně do biotypu 9 a většina neutilizuje malonát. Izolace z klinického materiálu jsou uváděné z Dánska, Švédska a České republiky, kde byly použity genotypové metody identifikace (9, 12, 20, 25).

*A. lwoffii* je izolován z pacientů, rukou zdravých lidí, potravin a vnějšího prostředí. Představoval 3–7 % nemocničních izolátů (4, 23), avšak náležela do něj většina kmenů izolovaných z klinického materiálu v Dánsku (11). Fenotypově jej nelze odlišit od genomospecies 9 a 15 sensu T&U.

*A. johnsonii* je izolován z půdy, potravin, zvířat, kůže zdravých lidí a příležitostně z klinického materiálu [Seifert et al. uvádějí až 7 % (23)]. Neroste při 37 °C; jeho nález v klinickém materiálu musí být tudíž uvážlivě interpretován.

*A. junii* je příležitostně izolován z klinického materiálu a vnějšího prostředí. Hemolytické kmeny [38 %

podle Gerner-Smidta et al. (13)] na rozdíl od proteolytických kmenů nehydrolyzují želatinu.

*A. haemolyticus* je izolován z klinického materiálu a nemocničního prostředí. Jako ostatní proteolytické genom-species hydrolyzuje želatinu a hemolyzuje beraní erythrocyty. Má většinu biochemických vlastností společných s GS 6.

*A. radioresistens* byl původně izolován z bavlny. Z pacientů je izolován ojediněle, ve studii Tjernbergové a Ursinga (25) však představoval druhou největší skupinu kmenů izolovaných z klinického materiálu.

## Situace v České republice

### Druhové zastoupení

V tabulce 6 je uvedena druhová příslušnost kmenů rodu *Acinetobacter*, které byly identifikovány v naší laboratoři v letech 1993–1994. Z celkového počtu 235 kmenů bylo 133 izolováno ve Fakultní nemocnici Královské Vinohrady, ostatní pocházely z mimopražských laboratoří. Vzhledem k zaměření naší laboratoře (typizace hromadně se vyskytujících nemocničních

Tab. 5. Druhové zastoupení u kmenů rodu *Acinetobacter* izolovaných z klinického materiálu podle literárních pramenů

Table 5. Occurrence of *Acinetobacter* genom-species in clinical material (data from the literature)

	Bouvet a Grimont, 1987	Tjernbergová a Ursing, 1989	Seifert et al., 1993	Gennari a Lombardi, 1993	Gerner-Smidt a Frederiksen, 1993
k. <i>A. calcoaceticus</i> – <i>A. baumannii</i>	264 (90,7)	40 (23,8)	325 (77,4)	41 (49,4)	23** (20,5)
<i>A. calcoaceticus</i>	0	3 (1,8)	0	0	0
<i>A. baumannii</i>	244 (83,8)	6 (3,6)	275 (65,5)	30 (36,1)	5 (4,5)
GS 3	20 (6,9)	28 (16,7)	50 (11,9)	11 (13,3)	8 (7,1)
GS 13 sensu T&U	n	3 (1,8)	n	*	6 (5,6)
<i>A. haemolyticus</i>	8 (2,7)	8 (4,8)	8 (1,9)	4 (4,8)	2 (1,8)
<i>A. junii</i>	1 (0,3)	18 (10,7)	11 (2,6)	6 (7,2)	0
GS 6	0	0	1 (0,2)	1 (1,2)	1 (0,9)
<i>A. johnsonii</i>	4 (1,4)	8 (4,8)	26 (6,2)	5 (6,0)	26 (23,2)
<i>A. lwoffii</i>	8 (2,7)	38 (22,6)	21 (5,0)	6 (7,2)	38 (33,9)
GS 10	1 (0,3)	2 (1,2)	7 (1,7)	5 (6,0)	1 (0,9)
GS 11	1 (0,3)	4 (2,4)	4 (1,0)	1 (1,2)	0
<i>A. radioresistens</i>	0	30 (17,8)	2 (0,5)	3 (3,6)	3 (2,7)
GS 13 sensu B&G GS 14 sensu T&U	n	3 (1,8)	0	7 (8,4)	2 (1,8)
nezařazeno	4 (1,4)	15 (8,9)	15 (3,8)	4 (4,8)	16 (14,3)
celkem	291	168	420	83	112
způsob identifikace	B&G 1987	DNA-DNA hybridizace	B&G 1987 B&J 1989	B&G 1987 B&J 1989	Gerner-Smidt a Frederiksen 1993**)
původ kmenů	převážně nemocniční kmeny	nemocniční a mimonemocniční kmeny	nemocniční kmeny	nemocniční kmeny	nemocniční a mimonemocniční kmeny
	převážně Francie	Malmö, Švédsko	Německo	Lombardie	Dánsko

Vysvětlivky: V závorkách uvedeno procentuální vyjádření; n = neobsaženo v identifikačním schématu;\*) nerozlišovány GS 2 a GS 13 sensu T&U; \*\*) ribotypizace u komplexu *A. calcoaceticus*–*A. baumannii*, 4 kmeny zůstaly nezařazeny (Gerner-Smidt a Tjernbergová, 1993)

Explanations: In parenthesis percentage data; n = not included in identification scheme; \*) GS 2 and GS 13 sensu T&U not differentiated; \*\*) ribotyping in *A. calcoaceticus*–*A. baumannii* complex, four strains were not identified (Gerner-Smidt and Tjernberg, 1993)

**Tab. 6.** Identifikace 235 kmenů rodu *Acinetobacter* izolovaných v České republice v letech 1993–1994 z klinického materiálu a nemocničního prostředí

**Table 6.** Identification of 235 strains of the genus *Acinetobacter* isolated in the Czech Republic in 1993–1994 from clinical material and hospital environment

Druhová příslušnost	Počet izolovaných kmenů	
	z klinického materiálu	z prostředí
komplex <i>A. calcoaceticus</i> – <i>A. baumannii</i>	185	11
<i>A. lwoffii</i>	11	
<i>A. haemolyticus</i>	5	
<i>A. radioresistens</i>	3	
<i>A. junii</i>	1	
<i>Acinetobacter</i> GS 11		1
<i>Acinetobacter</i> GS 13 (B&G)	2	
<i>Acinetobacter</i> sp. (druhově nezařazeno)	16	

kmenů) v souboru převažovaly kmeny izolované z hospitalizovaných pacientů. Výsledky fenotypové identifikace [podle Grimonta a Bouveta (15) a Gerner-Smidta et al. (13)] tudíž podle očekávání odpovídají údajům v pracích zaměřeným na nemocniční kmeny (4, 23): výrazně převažuje komplex *Acb* (83,4 %), ostatní taxony jsou zastoupeny pouze několika kmeny. Druhově nezařazené kmeny (6,8 %) byly izolovány převážně z mimonemocničních pacientů. Taxonomická struktura komplexu *Acb* byla studována na souboru 28 kmenů izolovaných ve Fakultní nemocnici Královské Vinohrady a reprezentujících genotypově nebo fenotypově odlišné kmeny (20). Ribotypizací bylo 18 kmenů identifikováno jako *A. baumannii*, 5 kmenů bylo zařazeno do GS 13 sensu T&U a 5 kmenů do GS 3. Skutečnost, že 5 z 23 kmenů komplexu *Acb* rostoucích při 44 °C patřilo ke genomospecies 13 sensu T&U, potvrzuje výše zmíněnou nelegitimitu fenotypové diferenciace komplexu *Acb*. Biotypizace 180 kmenů komplexu *Acb* podle Bouveta a Grimonta prokázala

převažující výskyt biotypů 11, 9, 6, 8 a 2. Většina dosud publikovaných studií (4, 6, 23) však uvádí pouze biotypizaci kmenů komplexu *Acb* rostoucích při 44 °C (předpokládáný *A. baumannii*), proto je s ohledem na možnost porovnání v tabulce 7 uvedeno i zastoupení biotypů pouze u těchto kmenů. Ze srovnání s literaturou i potom vyplývá zcela neobvyklá početní převaha kmenů s biotypem 11, který je jinde uváděn pouze výjimečně. Analýza údajů o těchto kmenech ukázala, že téměř výlučně jde o multirezistentní kmeny izolované z kliniky a epidemiologicky závažných případů na různých místech České republiky.

#### Taxonomická pozice multirezistentních a hromadně se vyskytujících kmenů

Do naší laboratoře bylo během let 1992–1994 zasláno 78 multirezistentních kmenů izolovaných v osmi nemocnicích České republiky. Ribotypizací byly tyto kmeny identifikovány jako *A. baumannii* a bylo tak – z klinicko-epidemiologického hlediska – prokázáno dominantní postavení tohoto druhu u nás. Soubor 23 kmenů získaný po vyřazení mnohočetných izolátů téhož kmene izolovaných na téže lokalitě byl popsán sedmi metodami typizace (21). Subspecifická klasifikace prokázala geneticky ostře ohraničenou skupinu 11 kmenů (48 %), které byly izolovány na všech lokalitách kromě jedné. Do této skupiny patřily hromadně se vyskytující (Ostrava, Kladno) i ojediněle zachycené kmeny (Praha, Příbram, Tábor, Liberec, Slaný) izolované z klinicky závažných případů. Z detailního popisu biochemických vlastností (25 zkumavkových utilizačních testů, API 20 NE, BIOLOG) vyplynulo, že jde o skupinu fenotypově ostře odlišenou od ostatních kmenů *A. baumannii*, a to i od kmenů se shodným ribotypem a podobným plazmidovým profilem. Šlo o neobvyklý biotyp *A. baumannii* (biotyp 11 sensu B&G nerostoucí na L-arabinóze), který není zahrnut ve standardních identifikačních systémech (systém API 20 NE jej identifikuje jako atypický *A. baumannii*

**Tab. 7.** Biotypy 180 kmenů komplexu *A. calcoaceticus*–*A. baumannii* izolovaných v České republice v letech 1993–1994 z klinického materiálu a nemocničního prostředí

**Table 7.** Biotypes of 180 strains of the *A. calcoaceticus*–*A. baumannii* complex isolated in the Czech Republic in 1993–1994 from clinical material and hospital environment

Počet kmenů	Biotyp												Celkem
	1	2	5	6	8	9	10	11	12	16	18	n	
růst při 44 °C	1	12 (8,9)	2	35 (25,9)	4 (3,0)	35 (25,9)	1	41 (30,4)	1	1	2	0	135
celkem	2	13 (7,2)	2	36 (20,0)	19 (10,5)	40 (22,2)	1	53 (29,4)	2	1	5	3	180

Vysvětlivky: V závorkách uvedeno procentuální vyjádření; n = biotyp neobsažený ve schématu Bouveta a Grimonta

Explanations: In parenthesis percentage data; n = biotype not described by Bouvet and Grimont

a systém Biotype 100 jej druhově nezařazuje). Pozoruhodná byla skutečnost, že do této skupiny patřila většina kmenů komplexu *Acb* náležejících do biotypu 11 sensu B&G a rostoucích při 44 °C. Nižší specifická genotypových vlastností (shodný *Hind*III – restriční profil buněčné DNA, *Eco*RI a *Hind*III – ribotyp a plazmid o velikosti 8,7 kb měly i dva fenotypově výrazně odlišné kmeny) je pravděpodobně výrazem genetické a evoluční příbuznosti mezi biochemicky diskrétními skupinami. V České republice lze tudíž předpokládat významný výskyt genotypově homogenní a fenotypově diskrétní skupiny *A. baumannii*, která se svými fenotypovými vlastnostmi výrazně odlišuje od epidemiologicky významných kmenů tohoto druhu dosud izolovaných v západní Evropě.

Stať byla vypracována v souvislosti s řešením projektu IGA 0968-2.

## Literatura

- Alexander, M., Rahman, M., Taylor, M., Noble, W. C.: A study of the value of the electrophoretic and other techniques for typing *Acinetobacter calcoaceticus*. *J. hosp. Infect.*, 12, 1988, s. 273-287.
- Baumann, P., Doudoroff, M., Stanier, R. Y.: A study of the *Moraxella* group. II. Oxidative-negative species (genus *Acinetobacter*). *J. Bact.*, 95, 1968, s. 1520-1541.
- Bouvet, P. J. M., Grimont, P. A. D.: Taxonomy of the genus *Acinetobacter* with the recognition of *Acinetobacter baumannii* sp. nov., *Acinetobacter haemolyticus* sp. nov., *Acinetobacter johnsonii* sp. nov., and *Acinetobacter junii* sp. nov., and emended description of *Acinetobacter calcoaceticus* and *Acinetobacter lwoffii*. *Int. J. syst. Bact.*, 36, 1986, s. 228-240.
- Bouvet, P. J. M., Grimont, P. A. D.: Identification and biotyping of clinical isolates of *Acinetobacter*. *Ann. Inst. Pasteur, Microbiol. (Paris)*, 138, 1987, s. 569-578.
- Bouvet, P. J. M., Jeanjean, S.: Delineation of new proteolytic genomic species in the genus *Acinetobacter*. *Res. Microbiol.*, 140, 1989, s. 291-299.
- Bouvet, P. J. M., Jeanjean, S., Vieu, J.-F., Dijkshoorn, L.: Species, biotype, and bacteriophage type determinations compared with cell envelope protein profiles for typing *Acinetobacter* strains. *J. clin. Microbiol.*, 28, 1990, s. 170-176.
- Dolzani, L., Tonin, E., Lagatolla, C. et al.: Identification of *Acinetobacter* isolates in the *A. calcoaceticus* - *A. baumannii* complex by restriction analysis of the 16S-23S rRNA intergenic spacer sequences. *J. clin. Microbiol.*, 33, 1995, s. 1108-1113.
- Gennari, M., Lombardi, P.: Comparative characterization of *Acinetobacter* strains isolated from different foods and clinical sources. *Zbl. Bakt.*, 279, 1993, s. 553-564.
- Gerner-Smidt, P.: Ribotyping of the *Acinetobacter calcoaceticus* - *Acinetobacter baumannii* komplex. *J. clin. Microbiol.*, 30, 1992, s. 2680-2685.
- Gerner-Smidt, P.: *Acinetobacter*: Epidemiological and taxonomical aspects. *Acta path. microbiol. immunol. scand.*, 102, 1994, Suppl. 47, s. 5-41.
- Gerner-Smidt, P., Frederiksen, W.: *Acinetobacter* in Denmark: I. Taxonomy, antibiotic susceptibility, and pathogenicity of 112 clinical strains. *Acta path. microbiol. immunol. scand.*, 101, 1993, s. 815-825.
- Gerner-Smidt, P., Tjernberg, I.: *Acinetobacter* in Denmark: II. Molecular studies of the *Acinetobacter calcoaceticus* - *Acinetobacter baumannii* komplex. *Acta path. microbiol. immunol. scand.*, 101, 1993, s. 826-832.
- Gerner-Smidt, P., Tjernberg, I., Ursing, P.: Reliability of phenotypic tests for identification of *Acinetobacter* species. *J. clin. Microbiol.*, 29, 1991, s. 277-282.
- Gouby, A., Carles-Nurit, M.-J., Bouzuges, N. et al.: Use of pulsed-field gel electrophoresis for investigation of hospital outbreaks of *Acinetobacter baumannii*. *J. clin. Microbiol.*, 30, 1992, s. 1588-1591.
- Grimont, P. A. D., Bouvet, P. J. M.: Taxonomy of *Acinetobacter*. In: Towner, K. J., Bergogne-Bérézin, E., Fewson, C. A. (eds): *The biology of Acinetobacter*. New York, Plenum Press 1991, s. 25-36.
- Horrevorts, A., Bergman, K., Kollée, L. et al.: Clinical and epidemiological investigations of *Acinetobacter* genospecies 3 in a neonatal intensive care unit. *J. clin. Microbiol.*, 33, 1995, s. 1567-1572.
- Juni, E.: Interspecies transformation of *Acinetobacter*: Genetic evidence for ubiquitous genus. *J. Bact.*, 112, 1972, s. 917-931.
- Juni, E.: Genus III. *Acinetobacter* Brisou et Prévot 1954. In: Krieg, N. R., Holt, J. G. (eds), *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Vol. 1, Baltimore, Williams & Wilkins 1984, s. 303-307.
- Kämpfer, P., Tjernberg, I., Ursing, P.: Numerical classification and identification of *Acinetobacter* genomic species. *J. appl. Bact.*, 75, 1993, s. 259-268.
- Nemec, A., Urbášková, P., Grimont, F. et al.: Identifikace a typizace nemocničních kmenů komplexu *Acinetobacter calcoaceticus* - *Acinetobacter baumannii*. *Epidemiol. Mikrobiol. Imunol.*, 45, 1996, v tisku.
- Nemec, A.: Nepublikované výsledky.
- Picard, B., Goulet, P.: Epidemiological typing of *Acinetobacter* strains by esterase electrophoresis. *FEMS Microbiol. Lett.*, 72, 1990, s. 229-234.
- Seifert, H., Baginski, R., Schulze, A., Pulverer, G.: The distribution of *Acinetobacter* species in clinical culture materials. *Zbl. Bakt.*, 279, 1993, s. 544-552.
- Soddell, J. A., Beachham, A. M., Seviour, R. J.: Phenotypic identification of non-clinical isolates of *Acinetobacter* species. *J. appl. Bact.*, 74, 1993, s. 210-214.
- Tjernberg, I., Ursing, P.: Clinical strains of *Acinetobacter* classified by DNA-DNA hybridization. *Acta path. microbiol. immunol. scand.*, 97, 1989, s. 595-605.
- Traub, W. A.: *Acinetobacter baumannii* serotyping for delineation of outbreaks of nosocomial cross-infection. *J. clin. Microbiol.*, 27, 1989, s. 2713-2716.

Došlo do redakce: 3. 10. 1995

RNDr. Alexandr Nemec,  
Státní zdravotní ústav,  
Šrobárova 48, 100 42 Praha 10