

## ATYPICKÉ KORYNEBAKTERIE

Atypickými korynebakteriemi rozumíme takové druhy z genus *Corynebacterium* mimo *Corynebacterium diphtheriae*, které bývají příležitostně izolovány z člověka a jsou větším či menším právem podezřelé ze schopnosti vyvolávat u něho pathologický proces.

Nepočítáme sem tedy bakterie *pseudodifterické*, jež jsou popsány ve statí *Corynebacterium diphtheriae*. Z důvodů taxonomických sem neřadíme ani *Corynebacterium acnes*, jelikož se pravidelně dá vypěstovat pouze ze spodních vrstev eflorescencí při *Acne juvenilis* a kromě toho typem svého metabolismu má být řazeno mezi propionibakterie, t. j. do čeledi laktobacilů.

Ze své statí předem vyřazujeme t. zv. *Corynebacterium enzymicum Mellon*, které je popsáno jako samostatný druh v Bergeyově soupisu s naznačením, že může být patogenním pro člověka a laboratorní zvířata. Podrobným studiem originálních prací *Mellanových a Ebersonových* (1916 a 1918) jsme nabyla přesvědčení, že tento mikrob jako zvláštní jednotlivé genus patrně neexistuje, nýbrž že autorův namnoze neúplný popis postihuje řadu druhů, z nichž některé jsou pravděpodobně identické s atypickými korynebakteriemi, jak budou popsány níže.

Systematické a přesné zařazení všech dosud (namnoze nedokonale) u člověka popsaných atypických korynebakterií je prozatím nemožné. Omezíme se tedy v této statí na popis těch druhů, jejichž persistenci a patogenní vlastnosti u člověka jsme opětovaně pozorovali s připojením několika jiných druhů, jejichž přítomnost v lidském těle je podle některých prací, byť i nedokonalých, velmi pravděpodobná.

Podle všeho se zdá, že většina chorob vyvolaných atypickými korynebakteriemi má se řadit mezi anthrozoonosy, neboť podrobné studium bakteriálních vyvolavatelů ukázalo, že tyto jsou buď blízkými příbuznými nebo snad humánovanými varianty pro zvíře pathogenních korynebakterií. Nevylučujeme ani zcela tu možnost, že mezi atypickými korynebakteriemi by bylo lze nalézt druhy přechodné od korynebakterií zvířecích až do blízkosti korynebakterie difterické, soudě alespoň podle popsané antigenní podobnosti mezi toxiny atypických korynebakterií a skutečné bakterie difterické.

Onemocnění, která vyvolávají atypické korynebakterie u člověka, jsou většinou lehčího rázu, velmi často je nalézáme pouze jako druhotnou infekci s putridně hnědavou florou a konečně jsou zachycena tyto korynebakterie na povrchu lidských sliznic (také v orgánech po sekci), kde sídlí snad jako epifyty nebo alespoň zárodky, jejichž vztah k lidské chorobě není jasný.

Doporučujeme tedy, aby se etiologické hodnocení nálezu atypické korynebakterie dělo vždy velmi opatrně a aby se bakteriologické vyšetření pokud možno opakovalo.

Námi dosud zjištěné, i v literatuře jako nesporné popsané případy lidských chorob, vyvolaných atypickými korynebakteriemi, jsou tyto:

1. Onemocnění anginosního rázu, vyskytující se až i v drobných epidemiích.
2. Anginy, upomínající na lehkou difterii.
3. Juvenilní hnisavá osteomyelitis (čistá kultura).
4. Rány po omrzlinách.
5. Furunkulosa.
6. Chronické otitidy.
7. Hnisavé vaginální fluory.
8. Hnisající abdominální píštěle (čisté i smíšené kultury).
9. Nekrotisující rány po laryngektomii.
10. Infekce v nekrosách při arteriosklerose.

Ve všech těchto námi i jinými uvedených případech byly zachyceny bakterie z největší části tak virulentní, po příp. toxicke pro pokusné zvíře, že o jejich patogenním účinku i na člověka nelze vůbec pochybovat.

Atypické korynebakterie rozdělujeme do čtyř skupin:

#### I. skupina

Atypické korynebakterie, dosud isolované z člověka v ČSR, a to prozatím v počtu celkem 14 kmenů, z nichž 12 isoloval Patočka se spolupracovníky, 1 Leksa, obojí v Mikrobiologickém ústavě K. U. v Praze, 1 Rakušanová z OHES Kolín. Po podrobném prostudování považujeme je za lidské varianty zvířecího *Corynebacterium pyogenes* Eberson, ačkoli mají odlišné biologické znaky, kterými se blíží druhu *Corynebacterium pseudotuberculosis* (Preisz-Nocardi) a některé upomínají na difteroidní tyčinky isolované z lidského nosohltanu a fermentující škrob i zkapalňující želatinu, jak je popsalo Jebb. Není vyloučeno, že Gilbertovo *Corynebacterium ulcerans* a v amerických sbírkách chované *Corynebacterium haemolyticum* (McClean, Liebow, Rosenberg) patří do téže kategorie. V rámci značné variability, která je pro tyto bakterie běžnou vlastností, mají tyto společné a charakteristické znaky.

Morfologie v primokulturách většinou odpovídá typickým štíhlým difteroидům občas s metachromatickými zrnečky. V subkulturách výskyt forem kratších, tlustších a nehomogenně se barvících, grampositivní. Nepohyblivé.

Růst v primokultuře pomalý, nejlépe za mikroaerofilních podmínek, vždy vyznačena serofilie, která podobně jako mikroaerofilie se v subkulturách ztrácí. Na krevní plotně pravidelně z počátku alfa-hemolysa, která zejména na agaru s králičí krví za mikroaerofilních nebo anaerobních podmínek se rychle mění ve velmi zřetelné a až několik milimetrů široké halobeta-hemolysy. Kolonie na agaru a krvi jsou po 24hodinovém růstu podobné streptokokovým, později se kalí, dostávají perleťový lesk a stávají se podobnými *C. diphtheriae*.

V bujonu (zejména se serem) zprvu lehký zákal, později tvorba granulek, které klesají ke dnu, při čemž se bujon vyčeří. Některé kmeny zanechávají při povrchu nádech velmi jemného okrajového prstence.

Všechny naše kmeny tvořily kyselinu z glukosy a maltosy. Nepravidelné bylo zkvašování laktosy a saccharosy, výjimečně fermentován manitol. Všechny kmeny, které jsme tímto způsobem zkoušeli, fermentovaly škrob. Nitráty nejsou redukovány, indol je pravidelně negativní, amoniak je u některých kmenů ve stopách.

Růst na telluritových půdách u některých kmenů zcela negativní, u jiných po čtyř i více dnech tvorba drobných, velmi pozvolně rostoucích kolonií, upomínajících nejspíše na *C. diphtheriae typus intermedius*.

Nejtypičtější vlastností kromě beta-hemolysy, serofilie, mikroaerofilie a špatného nebo žádného růstu na telluritových půdách je pomalé, vzácně rychlejší zkapalňování želatiny, které se projevuje zejména v želatině s kousky sterilních jater, inkubované při 37 °C.

Méně pravidelnou, ale stejně diferenciálně důležitou vlastností je částečná či úplná koagulace mléka, k níž dochází při 37 °C výjimečně během 3—4 dnů, pravidelně ale později, někdy dokonce až i po 12 dnech. Nejhodnější půdou i zde je mléko s kousky jater.

Optimální růst při 37 °C.

Hemolysin je solubilní, jeho produkce však nikdy nedosahuje takových kvant, jak popsáno u zvířecích kmenů *C. bovis*. Zdá se mít některé vlastnosti O-streptolysinu.

Více než dvě třetiny námi isolovaných kmenů, čerstvě vypěstovaných, byly patogenní pro morče a králíka. U morčete vyvolává vstříknutí 1,5 ml 3 dny staré bujonové kultury podkožně tvorbu edému, podobného na prvý pohled difterickému. V typických případech zvíře během 4—6 dnů zachází. V místě injekce lehce sanguinolentní exsudát se zbytky rosolovité hmoty. Na břišních svalech pod ním vždy velmi nápadný, fibrosně hnisavý nálet, odlišující lidské kmeny této korynebakterie od obrazu typického pro difterii. Břišní útroby jsou překrvány, nadledvinky jsou buď normální nebo lehce překrvané, nikdy ne zvětšené. U starších nebo málo toxických kultur se vytvoří na povrchu edému nekrosa, obsah se provalí a morče zůstane na živu. V žádném z našich případů nebylo lze zabránit smrti pokusného zvířete ani velkými dávkami difterického antitoxinu.

Sonickým rozbitím bakteriálních těl byly námi isolovány z typického kmene dvě frakce, které byly nakoncentrovány: 1. rozpustný thermolabilní hemolysin, 2. letální toxin charakteru endotoxinu, který po i. v. vstříknutí vyvolával v několikahodinové inkubační době smrt u králíků a myšek za příznaků ascendentní paralysy.

## 2. skupina

Některé zprávy z literatury naznačují, že z člověka byly isolovány atypické korynebakterie, které mají mnohé znaky zvířecího *Corynebacterium pseudotuberculosis* (*Preisz-Nocardi* či *ovis*).

Typické bakterie tohoto druhu vypadají takto:

Morfologicky jde o grampositivní, krátké difteroidy, začasté s nehomogenním protoplasmatem a někdy s přítomností metachromatických zrneček, nepohyblivé.

Růst je optimální při 37 °C za aerobních podmínek, v primokultuře je naznačená mikroaerofilie. Na rozdíl od předcházející korynebakterie nejsou serofilní. Na obyčejném agaru vyrůstají zvolna malé, jemné a suché kolonie, buď granulárního charakteru nebo s koncentrickými kruhy, z počátku naledlé, později krémového tónu, až běžové barvy. Údaje o hemolyse na krevních půdách se různí. *Hall a Stone* uvádějí beta-hemolysu jako pravidelněji existující, *Carne* ji nalezl pouze asi u dvou třetin zkoušených kmenů, a to ještě jen kolem některých kolonií, vyrůstajících v hloubce krevního agaru. Když tyto beta-hemolytické kolonie přeočkoval na povrch krevní plotny, byly obklopeny pouze zřetelnou alfa-hemolysou.

Na Löfflerově seru je podobný růst jako na agaru, kolonie však mívají někdy výrazněji nažloutlou barvu.

V bujonu je granulární sediment, při povrchu zřetelná pelikula.

O růstu na telluritových půdách chybějí přesvědčivé údaje.

Mléko není koagulováno, želatina podle některých autorů bývá po delší době mělké zkapalňována.

Lakmusové mléko je beze změny, nitráty nereduovány.

Z cukru je pravidelně fermentována glukosa, maltosa a dextrin, ostatní méně pravidelně.

V přírodě je mikrob běžným vyvolavatelem kaseosní lymfadenitidy u ovcí a hovězího dobytka a ulcerosní lymfangoitidy u koní.

Isolované kmeny jsou nepravidelně pathogenní pro laboratorní zvířata, zejména pro morče, někdy též i pro krysy. Podkožní injekce virulentní kultury morčeti vyvolává edém, lokální nekrosu kůže a smrt. Tato smrt má téměř nesporně toxický charakter, při čemž však změny na vnitřních orgánech morčete záleží pouze v překrvení a někdy hemoragiích, nikdy se nepodobají oněm typickým změnám pro difterii. Sebevětší dávky difterického antitoxinu nemohou smrti zabránit. Intravenosní injekce kultury morčeti smrtí až přibližně po deseti dnech s přítomností kaseosních metastas ve vnitřních orgánech, zejména v plicích a játrech. Intraperitoneální injekce samci vyvolává skrotální fenomen, podobný Straussovou. U krys dochází zhusta ke smrtící septikemii. Toxický princip lze údajně prokázat u velmi virulentních kmenů v 5–8 dní starých kulturách.

*Gilbert a Stewart* isolovali z anginosního, prý na difterii vzdáleně upomínajícího onemocnění 31 kmenů, které podle jejich názoru byly nejpodobnější atypickému Preisz-Nocardovu bacilu.

Později vypěstoval čtyři analogické kmeny *Barrat*, z nichž jeden byl nesporným vyvolavatelem anginosního onemocnění.

Nejpozoruhodnější nález učinil *Mair* isolací lidského kmene, označeného 2255. Kultivačními vlastnostmi byla korynebakterie prý nejvíce podobná

C. Preisz-Nocardovu. Podkožní injekce usmrcovala morče intoxikací. Předběžná injekce 1000 UA difterického antitoxinu zabránila smrti morčete, ale nezabránila tvorbě abscesů v místě inokulace. Petrie a McClean potvrdili Mairův nález tím, že snad jde o mikroba přechodného mezi *Corynebacterium* ovis a lidskou difterií.

### 3. skupina

Representována asi 20 kmeny, fermentujícími škrob a zkapalňujícími želatinu; růstem na plotnách (též telluritových) podobných *C. diphtheriae* typu *gravis* byly isolovány vesměs z lidského nosohltanu, prostudovány Jebbem, jenž sám z nich 6 vypěstoval.

Podle popisu tyčinky podobné spíše pseudodifterii, t. j. člunkovitého tvaru, nepohyblivé, pouze ve starších kulturách kyjovité útvary, ojediněle metachromatická zrnečka, grampositivní.

Růst je rychlý a upomínající na *Corynebacterium diphtheriae* typu *gravis*. Na Löfflerově seru vyrůstají mohutné kolonie krémové barvy, na krvi kolonie podobného tvaru jako u *C. diphtheriae*, spíše nažloutlé a o něco menší. Většinou jsou obklopeny úzkou zonou beta-hemolysy. Kolonie na krevním agaru s přidáním Kalia tellurosum jsou rovněž podobny *C. diphtheriae* drobivé konsistence. Kalium tellurosum je redukováno zejména v centru kolonie.

V bujonu roste difusním zákalem se sedimentem a zřetelným náznakem blanky. Vždy je fermentována glukosa, škrob a dextrin, po týdnu až třech týdnech také trehalosa. Většina kmenů fermentovala maltosu a galaktosu.

Lakmusové mléko je prakticky nezměněno nebo lehce alkalické. Indol se nevyskytuje, nitráty nejsou redukovány.

Želatina při pokojové kultuře je mírně a zřetelně zkapalňována, a to všemi kmeny.

Všechny kmeny byly přezkoušeny intradermálním testem na morčeti, a to metodou popsanou u *C. diphtheriae*. Jeden kmen byl vstříknut stejně jako u *C. diphtheriae* podkožně jednak morčeti pokusnému, jednak zvířatům chráněným difterickým antitoxinem. Intrakutánní injekce vedly ve všech případech k zánětlivým reakcím, až nekrosám, na něž difterický antitoxin se nezdál mít podstatný vliv. Subkutánní injekce usmrtila nechráněné zvíře s nálezem malého množství exsudátu v peritoneální a pleurální dutině a překrvaných nadledvinek. Zvířata chráněná antitoxinem přežila. Z toho usuzuje Jebb, že jím studované kmeny, podobně jako Mairovo *Corynebacterium*, produkují toxin, jenž má letální efekt neutralisovatelný velkými dávkami difterického antitoxinu a dále frakci účinkem podobnou *C. pseudotuberculosis*, na níž je difterický antitoxin bez vlivu.

Autor považuje tři biologické vlastnosti za nejdůležitější diferenciálně diagnostické vodítko k odlišení těchto kmenů od *C. diphtheriae* typu *gravis*: 1. pozdní fermentace trehalosy, 2. neschopnost redukovat nitráty a 3. želatino-lysá při pokojové temperatuře.

Vcelku je *Jebb* nakloněn považovat všechny tyto kmény za podezřelé ze schopnosti vyvolávat lidské onemocnění, a to tím spíše, že některé z nich byly isolovány z případů choroby, upomínající na difterii.

#### 4. skupina

Některá pozorování svědčí pro to, že v lidském nosohltanu může být příležitostně zachyceno *Corynebacterium*, které je podle většiny svých biologických vlastností buď příbuzné nebo dokonce variantou *Corynebacterium equi*. O jeho roli jakožto pathogenního agens pro člověka se dosud nelze vyslovit. Nejvíce se zdá, že je tam přítomno jako náhodný epifyt. Jelikož však byla zjištěna i jeho perseverance, nutno uvažovat o pravděpodobné možnosti adaptace na pobyt na lidských sliznicích, což je prvním krokem k možnému parazitismu.

Na tuhých kultivačních půdách je toto *Corynebacterium* přítomno ve tvaru krátkých, grampositivních kokobacilů nebo nejvýše člunkovitých pseudodifterií.

V bujonu lze mezi krátkými formami spatřit i formy delší, které pak pravidelně mívají zřetelně naznačený kyjovitý charakter. Mikrob zpravidla nemá metachromatická zrnečka, výjimečně jsou vypěstovány abnormální formy, v nichž se tato vyskytuje. Mikrob není pohyblivý.

Růst na kultivačních půdách je pomalý, zřetelné a typické kolonie se vytvářejí až po 3—4 dnech. Mikrob se zdá růst z počátku rychleji při 37 °C, po dvou dnech se však vyrovná a konečný efekt je optimální při 25 °C.

Růstově je *Corynebacterium equi* nenáročný mikrob, pomnožuje se dobře na všech universálních půdách, není serofilní a je aerobní.

Na agarové plotně je růst po 24 hod. sotva viditelný, během 3—4 dnů dochází k vytvoření okrouhlých, lesklých kolonií, neprůhledných, běžové, až lehce oranžové barvy, někdy s nádechem do růžova.

Na Löfflerově seru je dobrý růst, žlutá pigmentace je zvláště výrazná.

Koagulovaný vaječný žloutek: velmi dobrý růst, kultury narůžovělé barvy. Podle některých popisů se tento povlak stává po dlouhé kultivační době suchým a krabatým, podobně jako u mykobakterií.

Na bramboru je růst dobrý, pigmentovaný.

V bujonu zákal s nepatrnným sedimentem, některé kmény mají tendenci k tvorbě pelikuly.

Lakmusové mléko prakticky beze změny.

Cukry nejsou zkvašovány, indol je negativní, nitráty jsou redukovány, sirovodík je produkován, amoniak nikoli.

Námi studované kmény nehemolysovaly, popisuje se však produkce nevýrazného beta-hemolysinu na koňské krvi jako zjev celkem vzácný.

Podle údajů v literatuře *C. equi* není pathogenní pro laboratorní zvířata. Pravidelně bývá toto *Corynebacterium* zachycováno z ložisek při zvláštní pneumonii hřibat. Jsou také popsány záchyty z vepřů a hovězího dobytka. Případný vztah této korynebakterie k lidskému onemocnění bude musit být teprve studován.

Jak je z předeslaných kapitol patrno, je problematika atypických korynebakterií, nalézaných u člověka, v počátečním stadiu svého rozvoje. Co již dnes je možno potvrdit, je okolnost, že souvisí jednak s otázkami anthropozoonos, jednak s vývojovými problémy i variabilitou korynebakterií. Prozatím je nutno upozorňovat na jejich výskyt a pokusit se o jejich taxonomické zařazení podle výše uvedeného schematu, jež je z určité části podloženo vlastní zkušeností.

## Literatura

- Ballard-Upsher-Seely:** Amer. J. clin. Path. 17, 209, 1947  
**Barrat:** J. Path. and Bact., 36, 369, 1933  
**Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**, Baltimore 1949  
**Bláha-Dvořáček:** Čas. lék. čes. 88, 561, 1949  
**Carne:** J. Path. Bact., 49, 313, 1939  
**Forgeot:** Ann. Inst. Pasteur, 65, 320, 1940  
**Hall-Stone:** J. Infect. Dis., 18, 195, 1916  
**Jebb:** J. Path. and Bact., 15, 3, 1948  
**Lowel:** J. Path. and Bact. 56, 525, 1944  
**Mackie-McCartney:** Handbook of Practical Bacteriology, Edinburg 1949  
**McClean-Liebow-Rosenberg:** I. Inf. Dis., 79, 69–90, 1946  
**Mellon:** J. Bact., 2, 81, 1917  
**Merchant:** J. Bact., 30, 95, 1935  
**Patočka F. a spol.:** Učební texty vysokých škol – Speciální bakteriologie, r. 1950  
**Patočka F.:** Čas. lék. čes. 94, 1323, 1955  
**Petrie-McClean:** J. Path. and Bact., 39, 635, 1934.