

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologie

Rod *Kocuria*
Racková Lucie

Bakalářská práce

2017

Prohlášení:

Tuto práci jsem vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byl jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 3.7.2017

Racková Lucie

Na tomto místě bych velmi ráda poděkovala RNDr. Markétě Vydržalové, Ph.D za odborné vedení mé bakalářské práce, cenné rady, vstřícné jednání, trpělivost a za čas strávený při tvorbě této práce.

ANOTACE

Předmětem této bakalářské práce je vypracování literární rešerše se zaměřením na bakteriální rod *Kocuria*. První část práce je zaměřena na obecné vlastnosti rodu *Kocuria*. Druhá část práce se zabývá laboratorní diagnostikou a možnostmi terapie.

KLÍČOVÁ SLOVA

Rod *Kocuria*, *Kocuria kristinae*, *Kocuria rosea*, *Kocuria rhizophila*.

TITLE

Genus *Kocuria*

ANNOTATION

The subject of this work is elaboration of a literature review focused on the bacterial genus *Kocuria*. The first part is focused on the general characteristics of the genus *Kocuria*. In the second part of the thesis describes individual representatives of the genus.

KEYWORDS

Genus *Kocuria*, *Kocuria kristinae*, *Kocuria rosea*, *Kocuria rhizophila*.

Obsah

| | |
|---|----|
| Seznam tabulek | 9 |
| Seznam obrázků | 10 |
| Seznam zkratk | 11 |
| Úvod | 13 |
| 1.Charakteristika | 14 |
| 1.1. Taxonomie | 15 |
| 1.2. Morfologie | 15 |
| 1.2.1. Morfologie buněk | 15 |
| 1.2.2. Morfologie kolonií | 16 |
| 1.3. Metabolismus | 16 |
| 1.4. Biochemické vlastnosti | 16 |
| 1.4.1. Kataláza | 16 |
| 1.4.2. Oxidáza | 17 |
| 1.4.3. VP test | 17 |
| 1.5. Patogeneze | 18 |
| 1.6. Biofilm | 18 |
| 2. Významné druhy rodu <i>Kocuria</i> | 20 |
| 2.1. <i>Kocuria rosea</i> | 20 |
| 2.2. <i>Kocuria kristinae</i> | 21 |
| 2.3. <i>Kocuria rhizophila</i> | 22 |
| 3. Onemocnění | 23 |
| 4. Epidemiologie | 25 |
| 5. Citlivost na antibiotika | 26 |
| 6. Laboratorní identifikace | 29 |
| 6.1. Mikroskopický průkaz | 29 |
| 6.2. Kultivace | 30 |

| | |
|--|----|
| 6.3. Systém Vítek 2 (bioMe'rieux) | 32 |
| 6.4. Molekulárně biologické metody | 33 |
| 7. Terapie | 35 |
| 8. Závěr | 36 |
| Seznam literatury | 37 |

Seznam tabulek

| | |
|--|----|
| Tabulka 1 - Výskyt <i>Kocuria</i> spp. u pacientů s různým charakterem onemocnění, (Savini a kol., 2010) | 24 |
| Tabulka 2 – Citlivost rodu <i>Kocuria</i> na antibakteriální léčiva, (Savini a kol., 2010) | 27 |
| Tabulka 3 – Morfologie bakteriálních buněk rodu <i>Kocuria</i> a charakter růstu na krevním agaru s ovčí krví, (Savini a kol., 2010)..... | 31 |
| Tabulka 4 - Identifikace druhů rodu <i>Kocuria</i> podle systému Vitek, Vitek 2, API a identifikačních systémů BD, (Savini a kol., 2010) | 33 |

Seznam obrázků

| | |
|--|----|
| Obrázek 1 - <i>Kocuria rosea</i> : preparát obarvený dle Grama, zvětšení 1500x | 15 |
| Obrázek 2 - <i>Kocuria kristinae</i> : preparát obarvený dle Grama, zvětšení 1500x | 16 |
| Obrázek 3 - VP test | 17 |
| Obrázek 4 - Voštinová struktura polymerní matrice biofilmu..... | 19 |
| Obrázek 5- <i>Kocuria rosea</i> na MPA | 20 |
| Obrázek 6 - <i>Kocuria rosea</i> na TSA | 21 |
| Obrázek 7 - <i>Kocuria kristinae</i> na KA | 21 |
| Obrázek 8 - <i>Kocuria rhizophila</i> | 22 |
| Obrázek 9 - žlutá pigmentace kolonií rodu <i>Kocuria</i> spp. na KA po 24 hod. aerobní kultivaci | 30 |

Seznam zkratk

| | |
|--------------|---|
| G + C | guanin + cytosin |
| CONS | koaguláza negativní stafylokoky |
| G+ | gram pozitivní bakterie |
| G- | gramnegativní bakterie |
| MPA | masopeptonový agar |
| TSA | tryptózový sójový agar |
| MH agar | Mueller-Hinton agar |
| PBSCD | kmenové buňky periferní krve |
| KA | krvní agar |
| ID | identifikace |
| MIC | minimální inhibiční koncentrace |
| sp. | species |
| PHA | phytohemaglutinin |
| VP test | Voges – Proskauer test |
| <i>spp.</i> | <i>subspecies</i> |
| K. | <i>Kocuria</i> |
| S | citlivý |
| R | odolný |
| PBSCD | kmenové buňky periferní krve |
| μm | mikrometr |
| ID GPC | identifikace gram pozitivních koků |
| MALDI-TOF-MS | matricová laserová desorpční/ionizační hmotnostní spektrometrie |

| | |
|-------|--|
| NCCLS | národní výbor pro klinické laboratorní normy |
| CLSI | klinický laboratorní standardní ústav |
| GP | gram pozitivní |
| PCR | polymerázová řetězová reakce |
| PFGE | pulzní gelová elektroforéza |

Úvod

Cílem této bakalářské práce je zpracování literárního přehledu popisující základní charakteristiku rodu *Kocuria*.

Tento rod byl původně řazen mezi bakterie rodu *Micrococcus*, ze kterého byl na základě fylogenetických a chemotaxonomických analýz vyřazen a nyní patří do čeledi *Micrococcaaceae*. Bakterie tohoto rodu se běžně vyskytují na lidské kůži, orofaryngu, ve vodě a v půdě. Kvůli chybné identifikaci jsou infekce způsobené těmito bakteriemi považované za vzácné.

Jedná se o G^+ striktně aerobní koky, které se vyskytují ve dvojicích, krátkých řetízkách a tetrádách. Tyto bakterie jsou kataláza pozitivní, oxidáza a koaguláza negativní. Na živných půdách rostou kolonie v barvách růžové, žluté, červené, smetanové a zároveň netvoří exopigmenty. Na krevním agaru netvoří hemolýzu. V současné době je v tomto rodě zahrnuto osmnáct druhů. Z těchto osmnácti druhů je známo pouze pět nozokomiálních patogenů, kteří mohou komplikovat základní onemocnění. Bakterie rodu *Kocuria* jsou citlivé na širokospektrá antibiotika.

Vzhledem k velké fenotypové variabilitě se obtížně identifikují prostřednictvím biochemických vlastností. Bakterie rodu *Kocuria* se také vyznačují schopností měnit morfologii kolonií a adherovat k inertnímu materiálu. V souvislosti s těmito a dalšími vlastnostmi je značně ovlivněno epidemiologické šetření a pochopení patogenní role tohoto rodu v klinických izolátech.

1.Charakteristika

Rod *Kocuria* byl pojmenován po brněnském vedoucím sbírky mikroorganismů doc. RNDr. Miloši Kocurovi, CSc. (Votava a kol., 2003).

Bakterie rodu *Kocuria* se přirozeně vyskytují na lidské kůži a sliznici orofaryngu. Dále je lze nalézt v půdě, vodě a hojně se také vyskytují v potravinářském průmyslu kde je můžeme najít především na kuřecím mase, a to i v případě kdy je použita kyselina šťavelová jako konzervant. Přestože žijí v symbióze, mohou vést k infekčním procesům, které pak komplikují základní onemocnění. Z důvodu chybné identifikace v minulých letech, kdy byly bakterie rodu *Kocuria* určovány jako rod *Staphylococcus*, byly doposud infekce způsobené tímto rodem považovány za vzácné (Anang, 2006; Purty a kol., 2013; Savini a kol., 2010).

Rod *Kocuria* řadíme do řádu *Actinomycetales* a od ostatních zástupců *Actinomycetales* můžeme rod *Kocuria* odlišit na základě přítomnosti aminocukrů galaktosaminu a glukosaminu a dle absence kyseliny teichoové a mykolové v buněčné stěně. Dalším odlišujícím znakem je přítomnost peptidoglykanu typu L-Lys-Ala_{3/4} a polárních lipidů difosfoglycerolu a fosfoglycerolu. Rod *Kocuria* má schopnost produkovat menachinon, MK – 7 a MK – 8. Podle obsahu G+C jsou aerobní gram-pozitivní koky rozděleny do dvou skupin. První skupina se skládá z organismů, které mají poměr bází od 30 do 40 mol%. Do této první skupiny je zahrnut rod *Staphylococcus*. Druhá skupina má poměr bází od 50 do 75 mol% a sem zahrnujeme rod *Micrococcus*. Mezeru mezi těmito dvěma skupinami zaplňují aerobní pohyblivé koky. Obsah G + C je u rodu *Kocuria* v závislosti na druhu 60–75 mol% (Kim a kol., 2004; Savini a kol., 2010; Yamada a kol.,1976).

Rod *Kocuria* se podílí na rozvoji barvy a chuti suchých salámů, degradací volných aminokyselin. Přispívá i tím, že inhibuje oxidaci nenasycených mastných kyselin (Tremonte a kol., 2010).

1.1. Taxonomie

Rod *Kocuria* byl vyčleněn z rodu *Micrococcus*. Rod *Micrococcus* byl popsán před více než 100 lety a od té doby byl jeho popis několikrát upraven. Na základě výsledků analýzy 16S rRNA bylo zjištěno, že se mikrokoky překrývají s rodem *Arthrobacter* sp. a tudíž není možné podle této metody vytvořit obstojné a obsáhlé seskupení rodu *Micrococcus* sp., které by vyčlenilo všechny druhy *Arthrobacter* sp. (Stackebrandt a kol., 1995).

Sekvenací genu 16S rRNA je rod *Kocuria* jasně oddělený od *Micrococcus* a dalších souvisejících gram-pozitivních koků jako je například *Arthrobacter* a *Rothia* (Kim a kol., 2004).

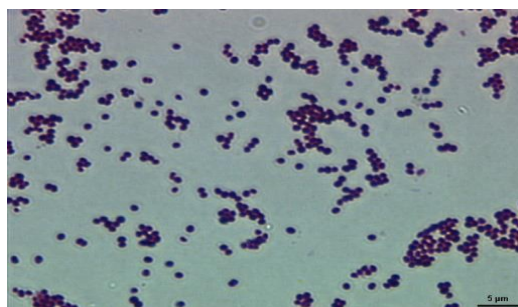
Rod *Micrococcus* byl dle Stackebrandta a kol. (1995) rozčleněn do rodů *Kocuria*, *Micrococcus*, *Kytococcus*, *Nesterenkonia* a *Dermacoccus*. Tyto rody byly poté nově uspořádány do dvou rodin, a to *Micrococcaceae* a *Dermacoccaceae*. *Micrococcaceae* a *Dermacoccaceae* patří společně do podřádu *Micrococcineae*. V současné době náleží rod *Kocuria* do čeledi *Micrococcaaceae*, řád *Actinomycetales*, třída *Actinobacteria* kmen *Actinobacteria* (Savini a kol., 2010; Sedláček a kol., 2007).

V současné době zahrnuje rod *Kocuria* osmnáct druhů a z tohoto počtu je známo pouze pět oportunistických, nozokomiálních patogenů (Savini a kol., 2010).

1.2. Morfologie

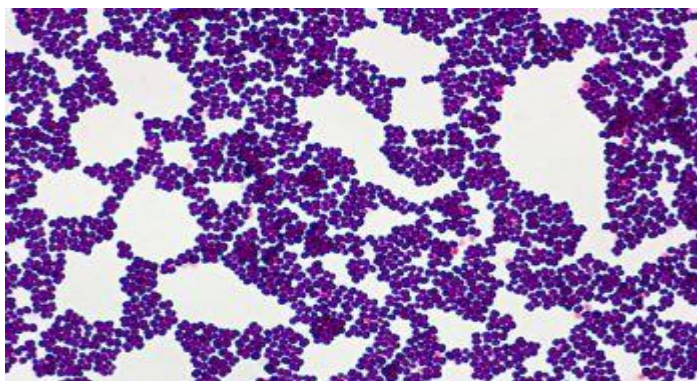
1.2.1. Morfologie buněk

Zástupci rodu *Kocuria* se řadí mezi gram pozitivní koky o průměru maximálně 1,5 mikrometru. Buňky jsou uspořádány do dvojic, krátkých řetízků, tetrad (obrázek č.1.) a shluků (obrázek č. 2.). Bakterie rodu *Kocuria* nemají pouzdra, nepohybují se a nevytvářejí endospory (Kandi a kol., 2016).



Obrázek 1 - *Kocuria rosea*: preparát obarvený dle Grama, zvětšení 1500x

<http://old.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/images/bakterie/mikro/krose8h.jpg> [18.5.2017]



Obrázek 2 - *Kocuria kristinae*: preparát obarvený dle Grama, zvětšení 1500x

<http://microbe-canvas.com/Bacteria/gram-positive-cocci/staphylococci/catalase-positive/staphaurex-negative/kocuria-kristinae.html> [18.5.2017]

1.2.2. Morfologie kolonií

Bakterie rodu *Kocuria* vytváří vyvýšené, konvexní, kulaté, 2–3 milimetry velké kolonie. Kolonie mohou mít barvu oranžovou, růžovou, červenou, žlutou nebo krémovou. Na krevním agaru kolonie netvoří hemolýzu (Savini a kol., 2010; Kandi a kol., 2016).

1.3. Metabolismus

Bakterie rodu *Kocuria* jsou striktně aerobní. Výjimkou je druh *Kocuria kristinae*, která je fakultativně anaerobní, *Kocuria marina*, která je schopná růst v přítomnosti 5 % oxidu uhličitého a *Kocuria rhizophila* kmen DC2201, který je schopen se množit za anaerobních podmínek (Savini a kol., 2010).

1.4. Biochemické vlastnosti

1.4.1. Kataláza

Bakterie rodu *Kocuria* jsou kataláza pozitivní. Důkaz produkce katalázy se provádí rozmícháním kultury testovaného mikroorganismu v kapce 2 % roztoku peroxidu vodíku. Pozitivní reakce se projeví únikem plynu ve formě bublinek a bakterie je tedy schopna tvořit enzym katalázu. Tento enzym je schopen rozkládat peroxid vodíku na molekulární kyslík a vodu (Táborská, 2009).

1.4.2. Oxidáza

Oxidázovým testem lze rozlišit bakterie rodu *Kocuria*, které mají tento test negativní od mikrokoků, které jsou na průkaz oxidázy pozitivní (Kandi a kol., 2016).

Některé bakterie obsahují enzym cytochromoxidázu, která se podílí na oxidativních procesech v buňce. Tento enzym se nachází u všech aerobních bakterií s respiračním metabolismem. Principem testu je reakce derivátu p-fenylendiaminu se železem, které je obsaženo v cytochromových respiračních komplexech. Je-li cytochromoxidáza přítomna je detekována barevnými reakcemi s pomocí příslušných činidel. Testovaná kultura se nanese sterilní kličkou na proužek papírku, ve kterém je obsaženo činidlo. Pokud mikroorganismus obsahuje enzym cytochromoxidázu během deseti sekund dojde k tmavě fialovému zbarvení proužku vlivem Wusterovi modří a test je tedy pozitivní (Purevdorj, 2011).

1.4.3. VP test

Podle Kandi a kol. (2016) má rod *Kocuria* Voges – Proskauer test na výrobu acetoinu a indolu pozitivní, avšak studie Savini a kol. (2010) tvrdí, že je tento test pro rod *Kocuria* negativní.

Voges – Proskauer test na je negativní i podle studie zabývající se identifikací kmene ve vzorku cyanobakteriální rohože z rybníka, který byl na základě fylogenetických a chemotaxonomických vlastností zařazen mezi příslušníky rodu *Kocuria* (Reedy a kol., 2003).

Tento test je zaměřený na tvorbu acetoinu, který prokážeme reakcí s α – naftolem a KOH. Z čisté kultury a fyziologického roztoku si připravíme suspenzi a do zkumavky se vloží papírkový VP test tak aby byly obě zóny ponořeny. Zkumavka se následně inkubuje po dobu dvou hodin při teplotě 37 °C. Po inkubaci se přikápně činidlo pro VP test a pozitivní reakce se projeví červeným zbarvením nebo růžovým zbarvením (obrázek č. 3.) (Táborská, 2009).



Obrázek 3 - VP test

<http://microbesinfo.com/2014/04/voges-proskauer-test-vp-test-principle-procedure-interpretation-and-quality-control/> [24.5.2017]

1.5. Patogeneze

Bakterie rodu *Kocuria* se přirozeně vyskytují na sliznicích savců. *Kocuria kristinae*, *Kocuria marina* a *Kocuria rhizophila* byly izolovány z různých klinických vzorků. Vzhledem ke skutečnosti, že *Kocuria kristinae* je druh, který se často vyskytuje na lidské sliznici a kůži, může být zdrojem infekce jakékoliv místo. V literatuře jsou popisovány případy přenosu bakterie z matky na dítě během porodu (Sivaraman a kol., 2016).

Zástupci rodu *Kocuria* mají schopnost adherovat na různé povrchy a následně vytvářet biofilm. Tvorba biofilmu na katetrech nebo implantátech může vést k sepsi u nemocného. Z tohoto důvodu by se neměla podceňovat izolace rodu *Kocuria* z implantovaného zařízení (Purty a kol., 2013).

Kmen *Kocuria rosea* (BS1) je schopen produkce exopolysacharidu, který byl nazvaný Kocuran. Tento exopolysacharid má in vitro antioxidační a imunosupresivní vlastnosti. V lidských polymorfonukleárních kulturách, které jsou stimulovány PHA inhibuje Kocuran proliferaci buněk a zároveň inhibuje hemolýzu zprostředkovanou komplementem (Moreira a kol., 2015).

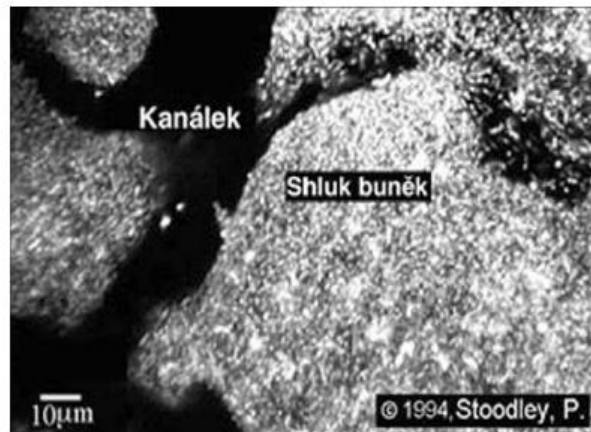
1.6. Biofilm

U rodu *Kocuria* je předpoklad tvoření biofilmu nejčastěji ve spojení s jinými bakteriemi. Schopnost produkovat biofilm jakýmkoliv patogenem, činí tento patogen odolnějším. Bakterie rodu *Kocuria* mají velkou fenotypovou variabilitu. Vyznačují se schopností měnit morfologii kolonií, jsou schopny exo-polysacharidové výroby a jsou schopny adheze (Moreira a kol., 2015; Purty a kol., 2013; Savini a kol., 2010).

Bakterie *Kocuria varians* je velmi často izolována z různých zařízení na zpracování potravin. Byl také hlášen případ, kdy tato bakterie způsobila mozkový absces. V průmyslových podmínkách je často nalézán ve smíšených biofilmech společně s *Listeria monocytogenes* (Raghupathi a kol., 2016).

Pomocí adhezinů se volně plující planktonické buňky přichycují na pevný povrch. Po jejich přichycení dochází ke změně chování a fenotypu. Z produkce velkého množství lepivého polysacharidu, který je podobný škrobu se vytváří hlenová matrice, která drží buňky u sebe a funguje jako voštinové lešení. Ve voštinovém lešení se buňky množí a tvoří se zde mikrokolonie a spleť kanálků (obrázek č. 4.). Na určitý impulz se buňky z biofilmu odlučují a přecházejí také do planktonického stavu poté odplouvají a dochází k další kolonizaci povrchu.

Biofilm se dá zobrazovat pomocí konfokálního laserového mikroskopu v optických řezech a z nich pak následně složit prostorovou strukturu, dá se také pořídit animovaný záznam dějů v biofilmu. Podle dostupných živin je tloušťka biofilmu od několika desítek mikrometrů do stovek mikrometrů. Biofilm není homogenní, neboť se skládá ze shluků a buněk a mnoha dutin, které jsou navzájem propojeny kanálky (Schindler, 2010)



Obrázek 4 - Voštinová struktura polymerní matrice biofilmu

(Schindler, 2010)

2. Významné druhy rodu *Kocuria*

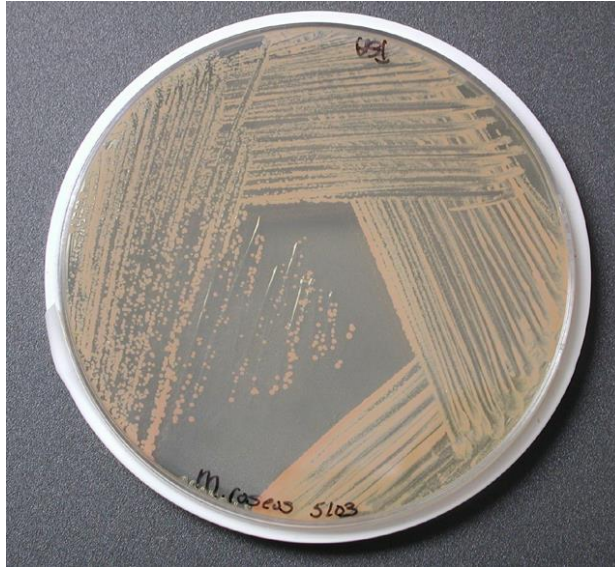
2.1. *Kocuria rosea*

Kocuria rosea je gram pozitivní, striktně aerobní mikroorganismus patřící do čeledi *Micrococcaceae*. Bakterie byla poprvé izolována v roce 1886 jako *Micrococcus rosea* a pod tímto názvem byla vedena až do roku 1995 kdy obdržela své aktuální jméno *Kocuria rosea*. Tyto bakterie obvykle rostou na jednoduchých médiích MPA a TSA (obrázek č. 5.) a (obrázek č. 6.). Bakterie rodu *Kocuria rosea* jsou obecně považovány za nepatogenní komenzály, které kolonizují nosohltan, kůži a sliznici. U pacientů se sníženou imunitou, avšak mohou vystupovat jako oportunní patogeny. *Kocuria rosea* syntetizuje oranžové a růžové karotenoidy kanthaxanthin a astaxanthin a produkuje proteázy, které jsou schopny štěpit keratin. To znamená, že se zvýší koncentrace aminodusíku a tím vzroste počet volných aminokyselin a peptidů. Ty slouží jako nutriční zdroj uhlíku a dusíku ve fermentační půdě. Stejně jako většina gram pozitivních koků je i *Kocuria rosea* citlivá k penicilinu a vankomycinu (Altuntas a kol., 2004; Bertsch a kol., 2005; Corti a kol., 2012).



Obrázek 5- *Kocuria rosea* na MPA

<http://old.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/images/bakterie/kolonie/kocuria.jpg> [23.4. 2017]



Obrázek 6 - *Kocuria rosea* na TSA

https://www.canyons.edu/Faculty/takedad/PublishingImages/Plates/M.roseus_tsa_5-03_640x587.jpg [23.4.2017]

2.2. *Kocuria kristinae*

Kocuria kristinae je gram pozitivní aerobní kok vyskytující se v tetrádách, který patří do čeledi *Micrococcaceae* a dříve byla známý jako *Micrococcus kristinae*. Poprvé byl popsán v roce 1947. Tato bakterie se nachází na pokožce a sliznici a jen málokdy byla izolována z klinických vzorků. Proto není považován za patogenní mikroorganismus. Může však způsobit infekce u pacientů, kteří mají zavedené katetry a tím zhoršit základní onemocnění. Na krevním agaru roste tato bakterie v drobných, bledých nehemolytických a hladkých koloniích (obrázek č. 7.) (Ma a kol., 2005; Tewari a kol., 2013).

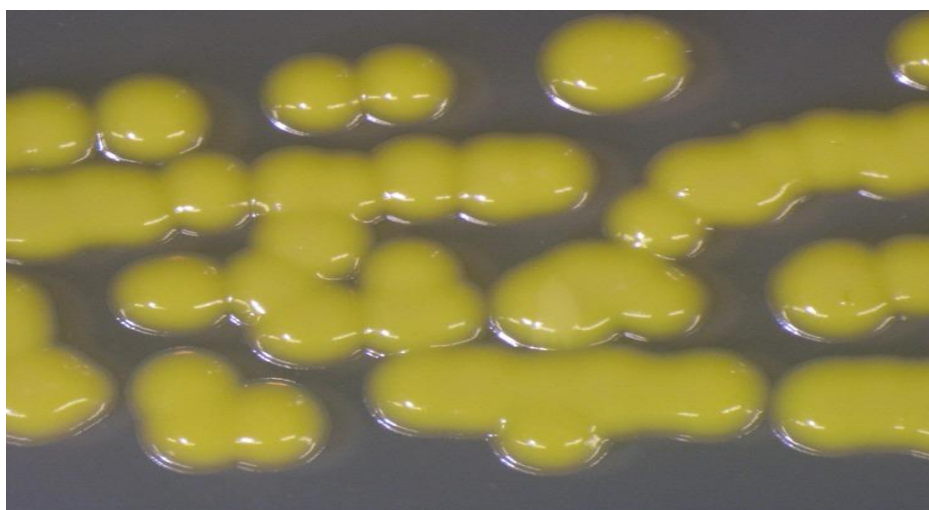


Obrázek 7 - *Kocuria kristinae* na KA

(Tewari a kol., 2013)

2.3. *Kocuria rhizophila*

Buňky této bakterie jsou sférické, vyskytují se ve dvojicích, tetrádách a paketech. Buňky v průměru dosahují velikostí od 1,0 až 1,5 mikrometru. *Kocuria rhizophila* je gram pozitivní bakterie, která se nepohybuje a netvoří endospory. Kolonie na živném agaru mají v průměru 1,5 – 2,5 milimetru a jsou neprůhledné s hladkými, ale nepravidelnými okraji žluté barvy (obrázek č. 8.). Tato bakterie je aerobní, chemoorganotrofní a neroste v teplotách nad 40 °C. Vykazuje dobrý růst v rozmezí pH od 5,7 do 7,7. Bakterie druhu *Kocuria rhizophila* jsou kataláza a benzidin pozitivní. Mezi další pozitivní testy patří test na želatinázu, fosfatázu, hydrolýzu Tween 80. Tyto bakterie rostou na Simonsově – citrátovém agaru. Testy na oxidázu, hydrolýzu škrobu, indol, ureázu, hydrolýzu askulinu, arginindihydrolázu a fenilalanin deaminázovou reakci jsou negativní. Produkce H₂S je slabá a dusičnany nejsou redukovány na dusitany. Tento druh produkuje kyseliny z D-glukózy, D-fruktózy, D-manózy a sacharózy. Neprodukuje kyseliny z glycerolu, manitolu, sorbitolu, ribózy, D-xylózy a L-arabinózy, galaktózy, laktózy, maltózy, β – gentibiózy, D-turanózy, arbutinu, salicinu, trehalózy a melezitózy. Využívá adonitol, L-arabinózu, D-fruktózu, L-fukózu, D-glukózu, turanózu, xylitol, methylpyruvát, glukuronamid, dextrin, glykogen, Tween 40, Tween 80 a N-acetyl-D-glukosamin. Nevyužívá celobiózu, D-trehalózu, N-acetyl-galaktosamin, maltózu, D-manitol, sorbitol, inosin, kyselinu L-glutamovou a L-alanin. Dobře roste za přítomnosti 10 % NaCl. Převažují polární lipidy, a to hlavně faszfatidylglycerol a difoszfatidylglycerol. DNA se skládá z G + C s obsahem bází 69,4 % (Kovács a kol., 1999).



Obrázek 8 - *Kocuria rhizophila*

<http://www.actino.jp/DigitalAtlas/subwin.cgi?target=4-5> [7.3.2017]

3. Onemocnění

Onemocnění způsobená kocuriemi jsou spíše vzácná. Nejčastěji jsou bakterie rodu *Kocuria* prokazovány ve vzorcích od pacientů s hematologickými malignitami, vážnými nádory nebo metabolickými poruchami. Mezi infekce v jejichž průběhu byla tato bakterie izolována patří infekce močových cest, cholecystitida, bakteriémie spojená s katetrem, dakryocystitida, canaliculitis, keratitida, endokarditida nativní chlopně, peritonitida, sestupná nekrotizující mediastinitida, absces mozku a meningitida. Onemocnění, které je připisováno *Kocuria rosea* je zánět pobřišnice a bakteriémie s příznaky vysoké horečky, zimnice, tachykardie a zrychleného dýchání. Tyto případy však nejsou genomicky potvrzeny. Přisuzování těchto onemocnění *Kocuria rosea* nebo rodu *Kocuria* je tedy předmětem diskuze (Altuntas a kol., 2004; Kandi a kol., 2016; Savini a kol., 2010).

Predispozičními faktory, které jsou spojeny s infekcemi způsobenými *Kocuria spp.* jsou vrozené deformity (syndrom krátkého střeva), chronická katetrizace (v případě celkové parenterální výživy), maligní onemocnění (rakovina vaječníků, rakovina žaludku, myelodysplastický syndrom, akutní myelogenní leukémie, nehodgkinská nemoc) a pacienti s akutním renálním selháním podstupující kontinuální ambulantní peritoneální dialýzu. Za další stavy spojené s infekcí vyvolanou *Kocuria spp* patří diabetes mellitus, tuberkulóza a dále jsou k infekci náchylní také pacienti po transplantaci kmenových buněk, trpící žlučovými kameny, methylmalonovou acidurií a pankreatickými pseudocystami. Seznam nemocí, během kterých mohou být zástupci rodu *Kocuria* identifikováni ve vzorcích (tabulka č. 1.). Nejčastěji identifikovanými druhy jsou *Kocuria kristinae*, *Kocuria marina* a *Kocuria rhizophila* (Kandi a kol., 2016; Savini a kol., 2010).

Tabulka 1 - Výskyt *Kocuria spp.* u pacientů s různým charakterem onemocnění, (Savini a kol., 2010)

| Zástupce | Choroba | Komorbidity/ rizikový faktor | Odkaz |
|------------------------|---|---|---------------------------|
| <i>K. marina</i> | zánět pobřišnice* | kontinuální peritoneální dialýza | Lee et al. (2009) |
| <i>K. rosea</i> | zánět pobřišnice* | kontinuální peritoneální dialýza | Kaya et al. (2009) |
| | bakteriémie související s katetrem | Hodgkinova nemoc při transplantaci PBSCD† | Altuntas et al. (2004) |
| <i>K. rhizophila</i> | Port-a-Cath příbuzná bakteriémie | Methylmalonová acidurie | Becker et al. (2008) |
| <i>K. kristinae</i> | akutní cholecystitida | Post-laparoskopická cholecystektomie | Ma et al. (2005) |
| | Port-a-Cath příbuzná bakteriémie | Karcinom vaječnicků | Basaglia et al. (2002) |
| | | Rakovina žaludku | Lai et al. (2010) |
| | | Syndrom vrozeného krátkého střeva | |
| | | Hypogamaglobulinémie | |
| Infekční endokarditida | Ischemická choroba střev, syndrom krátkého střeva | Lai et al. (2010) | |

Legenda:

* Předpokládaná identifikace (fenotypová charakterizace), † PBSCD kmenové buňky periferní krve

4. Epidemiologie

Bakterie *Kocuria spp.* jsou komenzálové lidské kůže a nosohltanu a nachází se také v půdě a vodě (Altuntas a kol., 2004; Becker a kol., 2008; Lee a kol., 2009; Schumann a kol., 2000; Zhou a kol., 2008). Bakterie *Kocuria aegyptia* byla izolována z alkalického vzorku půdy v Egyptě (Li a kol., 2013). *Kocuria marina* byla nalezena ve východním Sibiřském moři, kde je součástí mořského sedimentu (Kim a kol., 2004). Bakterie *Kocuria carniphila* kolonizuje maso (Tvrzová a kol., 2004). *Kocuria polaris* byla nalezena ve vzorku kyanobakteriální rohože z rybníka na Antarktidě (Reddy a kol., 2003). Bakterie *Kocuria rhizophila* a *Kocuria palustris* se často nacházejí v kuřecím mase i přes to, že je ošetřeno kyselinou šťavelovou (Becker a kol., 2008). *Kocuria koreensis* a *Kocuria atrinae* byly izolovány z jeotgalu, což je tradiční, fermentovaný mořský pokrm. Obě bakterie byly nalezeny v Korei stejně jako *Kocuria salsicia*, *Kocuria gwangalliensis* (Park a kol., 2010 a, b; Seo a kol., 2009; Yun a kol., 2011). V Číně byla izolována bakterie *Kocuria halotolerans*, která se nacházela v slané půdě odebrané v lesní rezervaci (Tang a kol., 2009). *Kocuria flava* a *Kocuria turfanensis* byly nalezeny ve vzduchu v Xinjiang (Zhou a kol., 2008) a *Kocuria himachalensis* byla nalezena pod ledovcem v Himalájích (Mayilraj a kol., 2006).

5. Citlivost na antibiotika

Nedílnou součástí mikrobiologického vyšetření je stanovení citlivosti na antibiotika. Rod *Kocuria* je citlivý na širokospektrá antibiotika. Citlivost kmenů *Kocuria* byla dosud hodnocena dle normy určené pro rod *Staphylococcus*. Tyto výsledky však zcela neodpovídají skutečnosti. Řada kmenů rodu *Kocuria* je k antibiotikům rezistentní z důvodu schopnosti efluxu nebo vlivem snížené propustnosti buněčné membrány. Purty a kol (2013) stanovili citlivost 42 kmenů *Kocuria*. Prokázali, že všechny kmeny byly citlivé k antibiotikům amoxicilin/ klavulanát, ceftriaxon, cefuroxim, doxycyklin a amikacin (Purty a kol., 2013; Savini a kol., 2010).

Efluxní mechanismus byl popsán u *Kocuria rhizophila* kmene DC2201, kde genom obsahuje třináct proteinů, které by se pravděpodobně měli na tomto mechanismu podílet. Efluxní mechanismem se bakterie brání zániku. Katalyzuje se aktivní transport antibiotik z intracelulárního prostoru do okolního prostředí buňky. Tímto mechanismem tedy dochází k zamezení hromadění antibiotik uvnitř buňky, tím dojde ke snížení koncentrace antibiotik, a tedy i ke snížení jejich účinku. Efluxní mechanismus se zároveň podílí na vylučování toxických organických sloučenin a metabolických zplodin z buňky (Savini a kol, 2010; Raunerová, 2016).

Rod *Kocuria* má různou vnímavost k β – laktamovým antibiotikům, chinolonům, linkosamidům a kotrimoxazolu. Zatím nebyla prokázána rezistence ke glykopeptidům, streptograminům, kyselině fusidové, rifampicinu nebo linezolidu. Neočekávaně byla popsána citlivost k polymyxinu. Na toto antibiotikum je převážná většina gram pozitivních bakterií rezistentní. Citlivost rodu *Kocuria* k antibakteriálním léčivům je neobvyklá. Jednotlivé citlivosti na antibiotika (tabulka č. 2.) (Savini a kol.,2010).

Stackebrandt (1995) uvádí, že většina kmenů *Kocuria varians* vykazuje rezistenci k těmto antibiotikům: tetracyklinu, chloramfenikolu, erythromycinu, oleandomycinu, streptomycinu a penicilinu G. Tato rezistence není zahrnut v tabulce (Savini a kol., 2010).

Tabulka 2 – Citlivost rodu *Kocuria* na antibakteriální léčiva, (Savini a kol., 2010)

| Antibiotika | <i>K. varians</i> | <i>K. kristinae</i> | <i>K. rosea</i> | <i>K. flava/ K. turfanensis</i> | <i>K. marina</i> | <i>K. polaris</i> | <i>K. rhizophila</i> | <i>K. palustris</i> |
|--|-------------------|---------------------|-----------------|-------------------------------------|------------------|-------------------|----------------------|---------------------|
| Gentamicin | | | | | S* | | | |
| Amikacin | | | | | | (S) | | |
| Kanamycin | (S) | (S) | (S) | (S) | (R) | (S) | | |
| Neomycin | (S) | (S) | (S) | | (S) | | | |
| Streptomycin | (S) | | (S) | | (S) | (S) | | |
| Nespecifický polymyxin/ polymyxin B | (S) | (S) | (S) | | (R) | | | |
| Colistin (polymyxin E) | | | | | | (R) | | |
| Vankomycin | S† | S*†‡§ | S† | | S*‡ | (S) | S† | S† |
| Penicilin G/benzylpenicilin | S† | S*†‡ | S† | | S*/R‡ | (S) | S† | S† |
| Ampicillin/ Amoxicillin | S† | S†‡ | S† | (S) | S*‡ | (S) | S† | S† |
| Ampicillin- sulbactam | S† | S† | S† | | S* | | S† | S† |
| Meticillin/ oxacillin | (S) | S†§/R‡ | (S) | | S† | | | |
| Cloxacillin | | S* | | | | | | |
| Cefalexin | S† | S† | S† | | | | S† | S† |
| Cefuroxim | | | | | | (S) | | |
| Cefoperazon | S† | S† | S† | | | (S) | S† | S† |
| Cephazolin | | | | | | (S) | | |
| Cefotaxime | | | | | | (S) | | |
| Tetracyklin | (S) | (S) | (S) | | S* | (S) | | |
| Chlortetracyklin | | | | (S) | | | | |
| Erythromycin | S† | S*†§‡ | S† | (S) | S*‡ | (S) | S† | S† |

Legenda:

*agarová metoda NCCLS / CLSI (interpretační kritéria pro stafylokoky), † agarová metoda NCCLS / CLSI (nejsou uvedena žádná kritéria), ‡ BD Phoenix (interpretační kritéria pro stafylokoky), § bioMérieux Vitek/Vitek 2 (nejsou uvedena žádná kritéria), S – citlivý, R – rezistentní, Š – střední citlivost, položky v závorce – neexistují metody testování citlivosti,

Za hlavní kritérium pro předběžnou fenotypovou identifikaci lze použít odolnost vůči nitrofurantoinu, furazolidonu a lysostafinu a citlivost na bacitracin. Kmeny kocurií citlivé k těmto antibiotikům lze odlišit od stafylokoků, které jsou rezistentní k bacitracinu a lysozymu. Zajímavé je, že se skupiny aminoglykosidů je rezistentní hlavně ke kanamycinu.

Aminoglykosidy jsou baktericidní antibiotika, jejíž praktické použití klesá. Nejvíce se používají v kombinaci s β -laktamy (Bednář, 1996; Kandi a kol., 2016; Savini a kol., 2010).

6. Laboratorní identifikace

Identifikace bakterií rodu *Kocuria* prostřednictvím biochemických metod je velmi obtížná, protože tyto bakterie vykazují velkou biochemickou variabilitu mezi jednotlivými druhy. Reagují odlišně na běžné laboratorní identifikační testy jako je test na využití oxidázy, amylázy, želatinázy, fosfatázy, ureázy a citrátu. Různé druhy bakterií rodu *Kocuria* také odlišně reagují na testy odhalující využití inulinu, arabinosy, kyseliny N-acetyl- α -glutamové a na redukční testy. Bakterie obvykle nefermentují manitol a na test prokazující volnou a vázanou koagulázu. Hlavní nevýhoda v identifikaci zástupců rodu *Kocuria* je nutnost použití metod, jako je 16S rRNA a MALDI-TOF-MS. Bakterie tohoto rodu vykazují podobnosti s jinými patogeny, a to hlavně s koaguláza negativními stafylokoky (Kandi a kol., 2016; Savini a kol., 2010, Moreira a kol., 2015).

6.1. Mikroskopický průkaz

Bakterie rodu *Kocuria* jsou gram pozitivní koky, které vytvářejí páry, tetrády, klastry, balíky, krátké řetízky nebo jednotlivé buňky. V preparátu zhotoveném z kontaminovaného materiálu lze v zorném poli vidět tmavě obarvené abnormálně velké koky, které v případě stafylokoků nebo mikrokoků viditelné nejsou (Kandi a kol., 2016; Savini a kol., 2010).

Barvení dle Grama je jedna z nejdůležitějších barvicích diagnostických metod, která je využívána při základním určování rodů a druhů bakterií. Tuto metodu zavedl dánský bakteriolog Ch. Gram v roce 1884, který objevil, že bakterie lze rozdělit do dvou skupin podle schopnosti udržet si barvivo v přítomnosti alkoholu nebo acetonu. Barvení dle Grama se provádí u fixovaného preparátu. V prvním kroku se používá krystalová violet, která obarví bakterie do fialova. Následuje krok, ve kterém se používá roztok jodu nebo Lugolův roztok a vzniká tak nerozpustný komplex, barvivo – jód, který lze z některých buněk určitých rodů a druhů mikroorganismů vyplavit prostřednictvím ethanolu nebo acetonu. Tyto látky dehydratují proteiny a rozpouští lipidy buněčné stěny. Stěnu G^+ bakterií tvoří silná peptidoglykanová vrstva díky které zůstávají bakterie při barvení dle Grama zbarveny fialově. Komplex krystalová violet – jód z nich totiž nelze zcela odplavit alkoholem. U G^- bakterií, které mají tenkou vrstvu peptidoglykanu dochází k vyplavení komplexu krystalová violet – jód. A pro mikroskopii jsou buněčné stěny těchto bakterií dobarvovány karbolfuchsinem nebo safraninem. Proto jsou G^- bakterie červené nebo růžové (Kaňa a kol., 2010; Purevdorj, 2011).

6.2. Kultivace

Bakterie rodu *Kocuria* jsou mezofilní, což značí schopnost růstu v rozmezí 22 až 37 °C. Mnoho zástupců tohoto rodu má zvýšenou toleranci k vysokým koncentracím soli a to až 15 % chloridu sodného, avšak nepotřebují ho pro samotný růst. Bakterie rodu *Kocuria* rostou na běžných kultivačních mediích a jsou kultivovány aerobně při 37 °C. Příkladem vhodného média je agar s beraní krví, kde *Kocuria* rostou v různě barevných koloniích. Barva kolonií závisí na charakteristických vlastnostech jednotlivých druhů (Moreira a kol., 2015; Savini a kol., 2010; Sedláček a kol., 2007; Seung a kol., 2004).

Kocurie spp. na krevním agaru nevytvářejí hemolýzu na rozdíl od většiny klinických izolátů stafylokoka. Po krátké inkubační době vytváří obvykle kolonie, které jsou bělavé, malé, kulaté, vyvýšené, konvexní a 2–3 milimetry velké. Při dlouhodobé inkubaci vyrůstají bakterie rodu *Kocuria* ve žlutých koloniích (obrázek č. 9.) (Kandi a kol., 2016).



Obrázek 9 - žlutá pigmentace kolonií rodu *Kocuria spp.* na KA po 24 hod. aerobní kultivaci

(Kandi a kol., 2016)

Mikroskopické a kultivační vlastnosti charakteristické pro jednotlivé zástupce jsou shrnuty v tabulce (tabulka č. 3.) (Savini a kol., 2010).

Tabulka 3 – Morfologie bakteriálních buněk rodu *Kocuria* a charakter růstu na krevním agaru s ovčí krví, (Savini a kol., 2010)

| Druh | Průměr buněk | Uspořádání buněk | Charakteristika kolonií | Růstová teplota |
|--------------------------|---------------------------------|---|---|-----------------|
| <i>K. rosea</i> | 1 – 1,5 μm | páry, tetrády a hrozny | hladké nebo hrubé, mírně konvexní, oranžové, červené nebo růžové | 25–37 °C |
| <i>K. varians</i> | 0,9 – 1,5 μm | Samostatně, tetrády, nepravidelné seskupení tetrad, balíčky | mírně konvexní, hladké a lesklé, nebo hrubé a matné, pokrčené a suché, žluté | 22–37 °C |
| <i>K. kristinae</i> | 0,7 – 1,1 μm | Tetrády, hrozny tetrad | crenate nebo celé, hladké nebo hrubé, konvexní, světlé krémové až světle oranžové | 25–37 °C |
| <i>K. flava</i> | - | - | žluté | 28–45 °C |
| <i>K. turfanensis</i> | - | - | žluté – oranžové | 30–40 °C |
| <i>K. carniphila</i> | 1,5 μm | páry, tetrády | Konvexní, matné, žluté – oranžové | 28–37°C |
| <i>K. marina</i> | - | páry, tetrády, hrozny | žluté – oranžové | 4–43 °C |
| <i>K. salsicia</i> | 1,0 – 1,5 μm | - | kruhové okraj a neprůhlednými kraji, citronově žlutá | 15–37°C |
| <i>K. holotolerans</i> | 0,6 – 1,0 μm | - | kruhové, mírně konvexní, hladké, matné, světle žluté | 10–37°C |
| <i>K. atrinae</i> | 1,0 – 1,5 μm | - | kruhové, hladké, matné, světle žluté | 25–37°C |
| <i>K. gwangalliensis</i> | 0,6 – 1,2 μm | páry | hladké, konvexní, růžové až oranžové | 10–37°C |
| <i>K. koreensis</i> | 1,0 – 1,5 μm | - | kruhové, hladké, matné, světle krémové a světle žluté | 15–37°C |
| <i>K. palustris</i> | 1,0 – 1,5 μm (vzácně 2,0 μm) | páry, tetrády, balíčky | hladké s nepravidelnými hranami, světle žlutá | 5–30°C |
| <i>K. rhizophila</i> | 1,0 – 1,5 μm (vzácně 2,0 μm) | páry, tetrády, balíčky | hladké s nepravidelnými hranami, krémové, matné, žluté až oranžové | 10–40°C |
| <i>K. himachalensis</i> | 1,0 – 1,5 μm | páry, tetrády, hrozny | Červené až oranžové | 20–37°C |
| <i>K. polaris</i> | 1,0 – 1,5 μm | páry, tetrády, hrozny | hladké, mukózní, jednotné okraje, průhledné, žluté až oranžové | 5–30°C |
| <i>K. aegyptia</i> | 0,8 – 1,1 μm | páry, tetrády, hrozny | mírně konvexní, neprůhledné, růžové | 20–40°C |

6.3. Systém Vitek 2 (bioMe'rieux)

Jedná se o automatizovaný, propojený systém na bakteriální identifikaci a testování citlivosti. Systém Vitek 2 (bioMe'rieux) používá k identifikaci technologii založenou na fluorescenci, která v mikrodestičkách z tenkého plastu detekuje růst bakterií a metabolické změny na základě různého obsahu antibiotik nebo biochemických substrátů. Tento systém se skládá z plnicí utěšňovací jednotky, čtečky, inkubátoru, počítačem řízeného modulu, datového terminálu a tiskárny. Se zavedením systému Vitek 2 (bioMe'rieux) do mikrobiologické laboratoře vzrostl počet klinických izolátů rodu *Kocuria*. Tento rod však může být zaměňován s koaguláza negativními stafylokoky (CNOS). Ve studii Ben-Ami (2005) byla používána gram pozitivní identifikační karta Vitek 2 ID GPC (bioMe'rieux, Marcy l'Etoile, Francie) a upozorňuje, že by větší počet klinických vzorků s obsahem rodu *Kocuria spp.* měl zvýšit podezření na infekce vyvolané CNOS. Využívala však systém Vitek 2 ID GPC gram pozitivní identifikační karty. Ve studii provedenou Boudewijns a kol. (2005) měli podobné zkušenosti s kartou Vitek 2 ID GPC, ale nová gram pozitivní identifikační karta Vitek GP a databáze, která byla zavedena bioMe'rieux umožňuje identifikaci dalších taxonů. Varuje však, že se hodnocení vztahuje pouze k nejčastějším gram pozitivním kokům a je doporučeno další zhodnocení vzácných taxonů. Tato studie na základě svého výzkumu tvrdí, že je možné podle nové karty GP v systému Vitek 2 spolehlivě identifikovat *Kocuria kristinae* a může jejím používáním v rutinní mikrobiologické laboratoři vést k lepšímu pochopení patogenity tohoto druhu. Správná identifikace rodu stejně jako chybná identifikace *Kocuria* dle Vítka, Vítka 2, API a identifikačních bodů BD (tabulka č. 4.) (Ben-Ami a kol.,2005; Boudewijns a kol.,2005; Garcia-Garrote a kol.,2000).

Tabulka 4 - Identifikace druhů rodu *Kocuria* podle systému Vitek, Vitek 2, API a identifikačních systémů BD, (Savini a kol., 2010)

| Molekulární ID | Vitek 2 | Vitek | API | Phoenix |
|----------------------|---|---|---|---------------------|
| <i>K. marina</i> | <i>K.varians, K. kristinae</i> | - | <i>K. kristinae, Staphylococcus chromogenes</i> | <i>K. varians</i> |
| <i>K. rhizophila</i> | <i>K. varians, K. rosea, Dermacoccus nishinomiyaensis, Micrococcus luteus, K. kristinae</i> | <i>Staphalococcus auricularis, Staphylococcus capitis</i> | - | - |
| <i>K. kristinae</i> | <i>K. kristinae</i> | - | <i>K. kristinae</i> | <i>K. kristinae</i> |

Legenda:

*ID, identifikace

6.4. Molekulárně biologické metody

DNA hybridizace je metoda pro objasnění vztahů mezi příbuznými kmeny a druhy. Podobný potenciál jako DNA hybridizace mají sekvenční analýzy genů kódující rRNA a určitých proteinů. Sekvenční analýza 16S rRNA s některými omezeními umožňuje stanovit zda jsou taxony fylogeneticky homogenní. Pokud ne, jsou chybně klasifikovány a patří do rozsáhlého hierarchického systému. Primární struktura 16S rRNA je vysoce konzervativní, proto druhy které mají 70 % nebo vyšší podobnost DNA mají většinou více než 97% sekvenční identitu. Tyto 3 % nejsou rovnoměrně rozptýlené podél primární struktury. Soustřeďují se hlavně v určitém hypervariabilním prostoru. Pozice hypervariabilního prostoru je specifický taxon, u kterého je nutné určit sekvence kompletních molekul pomocí sekvenční analýzy. Tyto rozdíly by mohli být použity jako měřítko fylogenetické vzdálenosti mezi kmeny. 16S rRNA analýza je nejcennějším příspěvkem polyfázického přístupu k bakteriální klasifikaci. Tato analýza je velmi užitečná při rozhodování o tom, zda je nutné provést reasociaci DNA. (Stackebrandt a kol., 1994).

V této studii byly používány dva bakteriální kmeny *Kocuria spp.*, které byly 1. ledna 2007 izolovány v továrně na úpravu vody Fawa v Kafr ElShakhe – Egypt z čerstvé vody Rasheed

u pobřeží řeky Nil. Sekvence DNA byly izolovány z purifikovaných izolátů dle Sambrook a kolektiv (1989). V této studii byl k amplifikaci fragmentu 16S oblasti rRNA použit jako přední primer 5'AGAGTTTGATCMTGGCTCAG3' a jako reverzní primer byl použit 5'TACGGYTACCTTGTTACGACTT3'. Takto PCR amplifikované fragmenty byly purifikovány a sekvencovány. Na základě výsledků provedené analýzy byly experimentální bakteriální izoláty začleněny do rodu *Kocuria* a sekvence byly uloženy v GenBank (El-Sharouny a kol., 2013).

Genomová analýza pomocí sekvenování 16S rRNA je nutná pro správnou charakterizaci na úrovni rodu a druhu. Použití metody PFGE je užitečné pro potvrzení klonality různých izolátů (Savini a kol, 2010).

7. Terapie

Mezi možnosti léčby patří terapie antibiotiky, avšak u této terapie nebyla dosud definována správná léčba pro infekce vyvolané rodem *Kocuria* a to i přes to, že tento rod vykazuje zvýšenou náchylnost k většině antibiotikům. Szczerba (2003) navrhuje amoxicillin/ klavulanát společně s ceftriaxonem, cefuroximem, doxycyklinem a amikacinem jako léčbu první linie u mikrokokálních patologií. Doba léčby se odvíjí od charakteru onemocnění. Léčba bakteriemií způsobených kocuriemi je doporučována po dobu 10 až 14denní podání. U pacientů se zavedenými katetry je doporučeno jeho odstranění, a to v případech kdy je předpokladem, že tvorba biofilmu bude mít patogenní roli (Savini a kol., 2010).

Infekce druhem *Kocuria varians* způsobující absces mozku byla odstraněna chirurgickým zákrokem a následnou kombinovanou léčbou pomocí cefalosporinů třetí generace. Kdy byly cefalosporiny podávány intravenózně a poté perorálně. Podle této studie by tento postup mohl být standartní terapií při abscesu mozku způsobeném *Kocuria varians*. Cefalosporiny třetí generace byly zvoleny vzhledem k diagnóze (Tsai a kol., 2010).

Pacientovi s recidivující Hodgkinovou nemocí byl implantován žilní katetr. Po třech dnech hospitalizace se u pacienta objevila vysoká teplota, tachykardie a zrychlené dýchání. Byla zahájena léčba intravenózním imipenem / cilastatinem 2 gramy / den a amikacinem 1 gram / den. Kultury odebrané z katetru byly identifikované jako *Kocuria rosea*. Testy citlivosti na antibiotika prokázaly citlivost na ampicilin, erythromycin a vankomycin. Léčba pomocí imipenemu a vankomycinu nebyla úspěšná a v kulturách katetru byl nalezen masivní růst *Kocuria rosea*. Závěrem této studie je že bakterie rodu *Kocuria rosea* mohou způsobovat infekce katetru a v prvním kroku léčby by tedy mělo dojít k odstranění katetru a následně by měla být zahájena léčba antibiotiky (Altutans a kol., 2004).

V současné době je velmi málo známo o antimikrobiální odolnosti *Kocuria spp.* a navíc nebyl definovaný žádný obecně přijatelný terapeutický režim pro závažné infekce (Moissenet a kol., 2012).

8. Závěr

Cílem bakalářské práce bylo zpracování literární rešerše zabývající se bakteriálním rodem *Kocuria*.

Tento rod byl původně řazen mezi bakterie rodu *Micrococcus*, ze kterého byl na základě fylogenetických a chemotaxonomických analýz vyřazen a nyní patří do čeledi *Micrococcaaceae*. Bakterie tohoto rodu se běžně vyskytují na lidské kůži, orofaryngu, ve vodě a v půdě. Kvůli chybné identifikaci, kdy bývá rod *Kocuria* identifikován jako koaguláza negativní stafylokok jsou infekce způsobené těmito bakteriemi považované za vzácné.

Bakterie rodu *Kocuria* jsou gram pozitivní striktně aerobní koky, které se vyskytují ve dvojicích, krátkých řetízcích a tetádách. Tyto bakterie jsou kataláza pozitivní. Oxidáza a koaguláza negativní. Test na produkci acetoinu a indolu je negativní. Bakterie rodu *Kocuria* jsou citlivé na širokospektrá antibiotika, avšak citlivost je hodnocena dle norem pro stafylokoky.

Na živných půdách rostou kolonie v barvách růžové, žluté, červené, smetanové a netvoří exopigmenty. Barva kolonií záleží na vlastnostech jednotlivých druhů. Bakterie rodu *Kocuria* na krevním agaru netvoří hemolýzu.

Vzhledem k velké fenotypové variabilitě se obtížně identifikují prostřednictvím biochemických vlastností. Bakterie rodu *Kocuria* se také vyznačují schopností adheze a schopností měnit morfologii kolonií. V souvislosti s těmito a dalšími vlastnostmi je značně ovlivněno epidemiologické šetření a pochopení patogenní role tohoto rodu v klinických izolátech.

Seznam literatury

- ALTUNTAS, Fevzi, et al. Catheter-related bacteremia due to *Kocuria rosea* in a patient undergoing peripheral blood stem cell transplantation. *BMC Infectious Diseases*, 2004, 4.1: 62.
- ANANG, D. M., et al. Inhibitory effect of oxalic acid on bacterial spoilage of raw chilled chicken. *Journal of food protection*, 2006, 69.8: 1913-1919.
- BECKER, Karsten, et al. *Kocuria rhizophila* adds to the emerging spectrum of micrococcal species involved in human infections. *Journal of clinical microbiology*, 2008, 46.10: 3537-3539.
- BEDNÁŘ, Marek. *Lékařská mikrobiologie: Bakteriologie, virologie, parazitologie*. Dotisk prvního vydání. Praha: Marvil, 1996. ISBN 859-4-315-0528-0.
- BEN-AMI, R., et al. Erroneous reporting of coagulase-negative staphylococci as *Kocuria* spp. by the Vitek 2 system. *Journal of clinical microbiology*, 2005, 43.3: 1448-1450.
- BERTSCH, A.; COELLO, N. A biotechnological process for treatment and recycling poultry feathers as a feed ingredient. *Bioresource technology*, 2005, 96.15: 1703-1708.
- BOUDEWIJNS, Michael; VANDEVEN, Jozef; VERHAEGEN, Jan. Vitek 2 automated identification system and *Kocuria kristinae*. *Journal of clinical microbiology*, 2005, 43.11: 5832-5832.
- CORTI, Marcelo, et al. Bacteremia by *Kocuria rosea* in an AIDS patient. *Revista chilena de infectologia: organo oficial de la Sociedad Chilena de Infectologia*, 2012, 29.3: 355-356.

- EL-SHAROUNY, Ebaa Ebrahim; BELAL, Mona Aly; YUSEF, Hoda Hasan. Isolation and characterization of two novel LOCAL psychrotolerant *Kocuria* spp. with high affinity towards metal cations biosorption. *Life Science Journal*, 2013, 10.4.
- GARCIA-GARROTE, Fernando; CERCENADO, Emilia; BOUZA, Emilio. Evaluation of a new system, VITEK 2, for identification and antimicrobial susceptibility testing of enterococci. *Journal of clinical microbiology*, 2000, 38.6: 2108-2111.
- KANDI, Venkataramana, et al. Emerging Bacterial Infection: Identification and Clinical Significance of *Kocuria* Species. *Cureus*, 2016, 8.8.
- KAŇA, Pavel. Možnosti přípravy antibakteriálního polystyrenu pomocí plniv. 2010.
- KIM, Seung Bum, et al. *Kocuria marina* sp. nov., a novel actinobacterium isolated from marine sediment. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 2004, 54.5: 1617-1620.
- KOVÁCS, Gabor, et al. *Kocuria palustris* sp. nov. and *Kocuria rhizophila* sp. nov., isolated from the rhizoplane of the narrow-leaved cattail (*Typha angustifolia*). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 1999, 49.1: 167-173.
- LEE, Mi Kyung; CHOI, Soon Ho; RYU, Dae Woong. Descending necrotizing Mediastinitis caused by *Kocuria rosea*: a case report. *BMC infectious diseases*, 2013, 13.1: 475.
- LEE, Ja Young, et al. Two cases of peritonitis caused by *Kocuria marina* in patients undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Journal of clinical microbiology*, 2009, 47.10: 3376-3378.
- LI, Wen-Jun, et al. *Kocuria aegyptia* sp. nov., a novel actinobacterium isolated from a saline, alkaline desert soil in Egypt. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 2006, 56.4: 733-737.

- MA, Edmond SK, et al. *Kocuria kristinae* infection associated with acute cholecystitis. *BMC infectious diseases*, 2005, 5.1: 60.
- MAYILRAJ, Shanmugam, et al. *Kocuria himachalensis* sp. nov., an actinobacterium isolated from the Indian Himalayas. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 2006, 56.8: 1971-1975.
- MOISSENET, Didier, et al. Persistent bloodstream infection with *Kocuria rhizophila* related to a damaged central catheter. *Journal of clinical microbiology*, 2012, 50.4: 1495-1498.
- MOREIRA, Jorge Salomão, et al. Endocarditis by *Kocuria rosea* in an immunocompetent child. *The Brazilian Journal of infectious diseases*, 2015, 19.1: 82-84.
- PARK, Eun-Jin, et al. *Kocuria atrinae* sp. nov., isolated from traditional Korean fermented seafood. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 2010a, 60.4: 914-918.
- PARK, Eun-Jin, et al. *Kocuria koreensis* sp. nov., isolated from fermented seafood. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 2010b, 60.1: 140-143.
- PUREVDORJ, Khatantuul. Produkce biogenních aminů bakteriemi izolovanými z masných výrobků a produktů studené kuchyně. 2011.
- PURTY, Shashikala, et al. The expanding spectrum of human infections caused by *Kocuria* species: a case report and literature review. *Emerging microbes & infections*, 2013, 2.10: e71.
- RAGHUPATHI, Prem K., et al. Genome sequence of *Kocuria varians* G6 isolated from a slaughterhouse in Denmark. *Genome announcements*, 2016, 4.2: e00076-16.

- RAUNEROVÁ, Eliška, et al. ATB rezistence, její význam v současné medicíně a možnosti prevence. 2016.
- REDDY, Gundlapally SN, et al. *Kocuria polaris* sp. nov., an orange-pigmented psychrophilic bacterium isolated from an Antarctic cyanobacterial mat sample. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 2003, 53.1: 183-187.
- SAVINI, Vincenzo, et al. Drug sensitivity and clinical impact of members of the genus *Kocuria*. *Journal of medical microbiology*, 2010, 59.12: 1395-1402.
- SEDLÁČEK, Ivo. *Taxonomie prokaryot*. Brno: Masarykova univerzita, 2007. ISBN 978-80-210-4207-0.
- SEO, Yong Bae, et al. *Kocuria gwangalliensis* sp. nov., an actinobacterium isolated from seawater. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 2009, 59.11: 2769-2772.
- SCHVÁLIL, Vypracoval Kontroloval; SCHARFEN, MUDr Josef. ZÁKLADNÍ MIKROBIOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ HEMOKULTUR METODOU MIKROSKOPICKOU A KULTIVAČNÍ V AUTOMATICKÉM HEMOKULTIVAČNÍM SYSTÉMU.2014
- SCHINDLER, Jiří. *Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů*. Grada Publishing as, 2010.
- SCHUMANN, Peter, et al. *Pelczaria aurantia* ATCC 49321T (= DSM 12801T) is a strain of *Kocuria rosea* (Flügge 1886) Stackebrandt et al. 1995. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 2000, 50.4: 1421-1424.
- SIVARAMAN, Umadevi, et al. Umbilical Sepsis Caused by Multidrug Resistant Strain of *Kocuria kristinae* in a New Born: A Case Report. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 2016, 10.4: DD01.

- STACKEBRANDT, EaBMG; GOEBEL, B. M. Taxonomic note: a place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 1994, 44.4: 846-849.
- STACKEBRANDT, Erko, et al. Taxonomic Dissection of the Genus *Micrococcus*: *Kocuria* gen. nov., *Nesterenkonia* gen. nov., *Kytococcus* gen. nov., *Dermacoccus* gen. nov., and *Micrococcus* Cohn 1872 gen. emend. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 1995, 45.4: 682-692.
- TÁBORSKÁ, Kateřina. Výskyt bakterií rodu *Bacillus* v dehydrovaných potravinách. 2009.
- TANG, Shu-Kun, et al. *Kocuria halotolerans* sp. nov., an actinobacterium isolated from a saline soil in China. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 2009, 59.6: 1316-1320.
- TEWARI, Rachna, et al. *Kocuria kristinae* in catheter associated urinary tract infection: a case report. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 2013, 7.8: 1692-3.
- TREMONTE, P., et al. Interactions between *Lactobacillus sakei* and CNC (*Staphylococcus xylosus* and *Kocuria varians*) and their influence on proteolytic activity. *Letters in applied microbiology*, 2010, 51.5: 586-594.
- TSAI, Cheng-Yu, et al. *Kocuria varians* infection associated with brain abscess: A case report. *BMC infectious diseases*, 2010, 10.1: 102.
- TVRZOVÁ, Ludmila, et al. Reclassification of strain CCM 132, previously classified as *Kocuria varians*, as *Kocuria carniphila* sp. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 2005, 55.1: 139-142.
- VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902896-6-5.

- YAMADA, YUZO, et al. The menaquinone system in the classification of aerobic Gram-positive cocci in the genera *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Planococcus*, and *Sporosarcina*. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 1976, 22.5: 227-236.
- YUN, Ji-Hyun, et al. *Kocuria salsicia* sp. nov., isolated from salt-fermented seafood. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 2011, 61.2: 286-289.
- ZHOU, Guoling, et al. *Kocuria flava* sp. nov. and *Kocuria turfandensis* sp. nov., airborne actinobacteria isolated from Xinjiang, China. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 2008, 58.6: 1304-1307.
- <http://old.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/images/bakterie/mikro/krose8h.jpg>: staženo dne 18.5.2017
- <http://microbe-canvas.com/Bacteria/gram-positive-cocci/staphylococci/catalase-positive/staphaurex-negative/kocuria-kristinae.html>: staženo dne 18.5.2017
- <http://old.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/images/bakterie/kolonie/kocuria.jpg>: staženo dne 23.4. 2017
- https://www.canyons.edu/Faculty/takedad/PublishingImages/Plates/M.roseus_tsa_5-03_640x587.jpg: staženo dne 23.4. 2017
- <http://microbe-canvas.com/Bacteria/gram-positive-cocci/staphylococci/catalase-positive/staphaurex-negative/kocuria-kristinae.html>: staženo dne 7.3.2017
- <http://www.actino.jp/DigitalAtlas/subwin.cgi?target=4-5>: staženo dne 7.3.2017
- <http://microbesinfo.com/2014/04/voges-proskauer-test-vp-test-principle-procedure-interpretation-and-quality-control/>: staženo dne 24.5.2017