

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Capnocytophaga canimorsus

Nikita Izvak

Bakalářská práce

2022

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Nikita Izvak**
Osobní číslo: **C18387**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Klinická biologie a chemie**
Téma práce: ***Capnocytophaga canimorsus***
Téma práce anglicky: ***Capnocytophaga canimorsus***
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Charakterizujte rod *Capnocytophaga* ssp.
2. Popište bakteriální druh *Capnocytophaga canimorsus*
3. Uveďte laboratorní diagnostiku *Capnocytophaga canimorsus*
4. Nastiňte terapii u infekcí *Capnocytophaga canimorsus*

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Iveta Brožková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Konzultant bakalářské práce: **Ing. Květa Koryčanová, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2020**

Termín odevzdání bakalářské práce: **2. července 2021**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc. v.r.
děkan

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 26. února 2021

Prohlašuji:

Práci s názvem *Capnocytophaga canimorsus* 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., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, 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. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 20.6.2022

Nikita Izvak v.r.

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych rád poděkoval Ing. Ivetě Brožkové, Ph.D a Ing. Květě Koryčanové, Ph.D za odborné vedení, cenné rady, ochotu a velmi vstřícný přístup při vypracování bakalářské práce. V neposlední řadě chci poděkovat Univerzitě Pardubice za podporu Ukrajiny a studentů v této těžké době.

ANOTACE

Tato bakalářská práce se zabývá bakterií *Capnocytophaga canimorsus*, která je nejznámějším zástupcem rodu *Capnocytophaga*. První část práce je věnována charakteristice celého rodu a popisu jednotlivých druhů. Následující a hlavní část práce se zaměřuje na výskyt, patogeneze, diagnostiku, onemocnění způsobené *C. canimorsus* a možnosti léčby.

KLÍČOVÁ SLOVA

Capnocytophaga canimorsus, bakterie, orální flora, zoonotický patogen, septikemie, oportunní patogen

TITLE

Capnocytophaga canimorsus

ANNOTATION

This bachelor thesis deals with the bacterium *Capnocytophaga canimorsus*, which is the most famous representative of the genus *Capnocytophaga*. The first part of the work is devoted to the characteristics of the whole genus and the description of individual species. The next and main part of the work focuses on the occurrence, pathogenesis, diagnosis, diseases caused by *C. canimorsus* and treatment options.

KEYWORDS

Capnocytophaga canimorsus, bacteria, oral flora, zoonotic pathogen, septicemia, opportunistic pathogen

Obsah

Seznam obrázků.....	9
Seznam tabulek.....	9
Seznam použitých zkratk.....	10
Úvod.....	12
1 Rod <i>Capnocytophaga</i> spp.....	13
1.1 Taxonomie.....	13
1.2 Morfologie buňky a metabolismus.....	13
1.3 Klouzavý pohyb.....	14
1.4 Struktura buňky.....	15
1.5 Kultivace a morfologie kolonií.....	15
1.6 Biochemické vlastnosti.....	17
1.7 Patogeneze.....	17
1.8 Hlavní zástupci.....	17
1.8.1 <i>Capnocytophaga ochracea</i>	17
1.8.2 <i>Capnocytophaga gingivalis</i>	18
1.8.3 <i>Capnocytophaga sputigena</i>	19
1.8.4 <i>Capnocytophaga granulosa</i>	19
1.8.5 <i>Capnocytophaga haemolytica</i>	20
1.8.6 <i>Capnocytophaga cynodegmi</i>	21
1.8.7 <i>Capnocytophaga canimorsus</i>	21
1.8.8 Souhrn biochemických charakteristik jednotlivých druhů rodu <i>Capnocytophaga</i>	22
2 <i>Capnocytophaga canimorsus</i>	23
2.1 Výskyt.....	23
2.2 Přenos.....	24
2.3 Patogeneze <i>C. canimorsus</i>	24
2.4 Infekce.....	25
2.4.1 Infekce u zvířat.....	25
2.4.2 Lidské infekce a klinické příznaky.....	26
2.5 Rizikové skupiny.....	28
3 Diagnostika.....	30
3.1 Kultivace.....	30
3.2 Biochemické vyšetření.....	31
3.3 Identifikace <i>C. canimorsus</i> tradičními metodami.....	31

3.4	Molekulární identifikace pomocí 16S rRNA PCR.....	32
3.5	MALDI-TOF.....	33
3.5.1	MALDI-TOF: Principy a procesy.....	34
3.5.2	Účinnost MALDI-TOF při identifikace <i>C. canimorsus</i> a <i>C. cynodegmi</i>	35
4	Terapie a prevence.....	36
4.1	Citlivost na dezinfekční prostředky	36
4.2	Citlivost na antimikrobiální látky.....	36
4.2.1	Účinná antibiotika.....	37
4.2.2	Neúčinná antibiotika	37
4.3	Prevence infekcí <i>Capnocytophaga</i> po kousnutí.....	37
4.4	Léčba domácích zvířat	38
4.5	Terapie.....	38
4.5.1	Terapie bakteriémie a endokarditidy	39
4.5.2	Terapie systémových infekcí	39
4.5.3	Infekce kostí nebo kloubů.....	40
4.5.4	Souhrn — pokyny pro léčbu infekcí <i>Capnocytophaga</i>	40
5	Závěr.....	42
6	Reference.....	43

Seznam obrázků

Obrázek 1 — Barvení <i>Capnocytophaga</i> spp. dle Grama (Fernández V, 2007)	14
Obrázek 2 — Klouzavý pohyb kolonie <i>Capnocytophaga</i> na destičce krevního agaru (Ito, 2016)	14
Obrázek 3 — Kolonie <i>Capnocytophaga sputigena</i> (A) 5% agar z ovčí krve, (B) EMB agar, (C) čokoládový agar po 48 hodinách inkubace při 35 °C (Hazirolan, 2020).....	17
Obrázek 4 — Inkluze <i>C. granulosa</i> (Yamamoto, 1994).....	20
Obrázek 5 — Celková hemolýza <i>C. haemolytica</i> (Fernández V, 2007).....	21
Obrázek 6 — Králík s infekcí <i>C. canimorsus</i> po kousnutí psa do hlavy (Gaastra, 2010).....	25
Obrázek 7 — 16S rRNA PCR-RFLP analýza kmenů typu ATCC druhů <i>Capnocytophaga</i> s restriční endonukleázou CfoI. MM, marker molekulové hmotnosti; Cg, <i>C. gingivalis</i> ; Co, <i>C. ochracea</i> ; Cs, <i>C. sputigena</i> ; Cgr, <i>C. granulosa</i> ; Ch, <i>C. haemolytica</i> ; Ccn, <i>C. canimorsus</i> (Ciantar, 2005).....	33
Obrázek 8 — Princip MALDI-TOF MS pro mikrobiální identifikaci (Bourassa, 2015).....	35

Seznam tabulek

Tabulka 1 — Růst kmenů <i>Capnocytophaga</i> a klinických izolátů na 5 kultivačních mediích (Ehrmann, 2013).....	16
Tabulka 2 — Identifikace druhů <i>Capnocytophaga</i> (Parte, 2011).....	22
Tabulka 3 — Zadokumentované klinické projevy infekce <i>C. canimorsus</i> v letech 1990–2014 (Butler, 2015).....	27
Tabulka 4 — Doporučení pro léčbu infekcí <i>Capnocytophaga</i> (Jolivet-Gougeon, 2007).....	41

Seznam použitých zkratek

ATP	adenosintrifosfát
<i>C. bilanii</i>	<i>Capnocytophaga bilanii</i>
<i>C. canimorsus</i>	<i>Capnocytophaga canimorsus</i>
<i>C. canis</i>	<i>Capnocytophaga canis</i>
<i>C. cynodegmi</i>	<i>Capnocytophaga cynodegmi</i>
CDC	Centra pro kontrolu a prevenci nemocí (Centers for Disease Control and Prevention)
<i>C. endodontalis</i>	<i>Capnocytophaga endodontalis</i>
<i>C. felis</i>	<i>Capnocytophaga felis</i>
<i>C. gingivalis</i>	<i>Capnocytophaga gingivalis</i>
<i>C. granulosa</i>	<i>Capnocytophaga granulosa</i>
<i>C. haemolytica</i>	<i>Capnocytophaga haemolytica</i>
CKA	čokoládový krevní agar
<i>C. leadbetteri</i>	<i>Capnocytophaga leadbetteri</i>
<i>C. ochracea</i>	<i>Capnocytophaga ochracea</i>
<i>C. periodontitidis</i>	<i>Capnocytophaga periodontitidis</i>
<i>C. sputigena</i>	<i>Capnocytophaga sputigena</i>
<i>C. stomatis</i>	<i>Capnocytophaga stomatis</i>
DBA	kyselina 2,5-dihydroxybenzoová
DF	dysgonický fermentor
DIC	diseminovaná intravaskulární koagulace
DNA	deoxyribonukleová kyselina
DNáza	deoxyribonukleáza
EMB	eosin methylenová modř
GAM	Gifu Anaerobic Medium
HCCA/CHCA	alfa-kyano-4-hydroxycinamová kyselina
HUS	hemolyticko-uremický syndrom
IDSA	Společnost infekčních chorob v Americe (Infectious Diseases Society of America)
IgG	imunoglobulin G
KA	krevní agar

KIBL	kombinace inhibitorů β -laktamázy
LAP	leucinaminopeptidáza
LPSN	seznam prokaryotických jmen s postavením v nomenklatuře (List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature)
MALDI-TOF MS	hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpčí a ionizací za účasti matrice s průletovým analyzátozem (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry)
MD-2	myeloidní diferenciační faktor 2
MIC	minimální inhibiční koncentrace
ONPG	ortho-nitrofenyl- β -D-galaktopyranozid
PCR	polymerázová řetězová reakce
RNA	ribonukleová kyselina
TLR4	receptor podobný genu Toll 4 (Toll-like receptor 4)
TTP	trombotická trombocytopenická purpura
VCAT	Vancomycin, Colistin, Amphotericin B a Trimethoprim

Úvod

Vztahy mezi člověkem a zvířaty se v průběhu let vyvíjely. V poslední době se tento vztah stále více přibližuje a téměř každý člověk má domácího mazlíčka. Spolu s tímto kontaktem dochází k mikroskopické interakci, která může mít určitý vliv na člověka. Domácí zvířata jsou přenašeči bakterií, virů a parazitů. Tyto mikroorganismy mohou být přenášeny přímo na člověka, tj. kousnutím nebo poškrábáním, nebo nepřímo, např. prostřednictvím vektoru. Většina mikroorganismů je pro člověka neškodná, ale některé z nich jsou zoonotické patogeny schopné způsobovat různé infekce u lidí.

Bakterie *Capnocytophaga canimorsus* je součástí normální orální flóry psů a koček a je to nejznámější druh rodu *Capnocytophaga*. *C. canimorsus* je neškodná pro zvířata, ale může způsobit závažné infekce u lidí, jako je septikémie, meningitida a endokarditida s mírou úmrtnosti kolem 30 %. Bakterie také představuje nebezpečí v souvislosti s tím, že je pomalu rostoucí, náročný gramnegativní bacil, který je obtížné izolovat a identifikovat a častěji postihuje lidi s oslabenou imunitou.

První kapitola této práce pojednává o celém rodu *Capnocytophaga*, jeho taxonomii, morfologii kolonií a popisu jednotlivých druhů, které mají nejen různé chemické vlastnosti, ale i různý výskyt. Většina druhů rodu *Capnocytophaga* jsou součástí lidské ústní dutiny.

Následující a hlavní část práce je věnována charakteristice *C. canimorsus*, nemocím způsobeným přítomností právě této bakterii, diagnostice, jejíž hlavní metody jsou PCR a MALDI-TOF, a doporučení pro léčbu infekcí *Capnocytophaga* založená na zkušenostech autorů a literárních přehledech o volbě úspěšné antibiotické léčby.

1 Rod *Capnocytophaga* spp.

Bakterie rodu *Capnocytophaga* jsou skupina mikroorganismů, popsáných Anré Romainem Prévotem v roce 1956, patřící do čeledi *Flavobacteriaceae*. Podle LPSN (List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature) rod *Capnocytophaga* zahrnuje 14 druhů bakterií, rozdělených do dvou širokých skupin: první — součástí lidské ústní dutiny (*C. sputigena*, *C. ochracea*, *C. leadbetteri*, *C. haemolytica*, *C. granulosa*, *C. gingivalis*, *C. endodontalis*, *C. periodontitidis*, *C. stomatis*, *C. bilanii*), druhá — součástí normální orální flóry psů a koček (*C. canimorsus*, *C. canis*, *C. cynodegmi*, *C. felis*) (Parte, 2020).

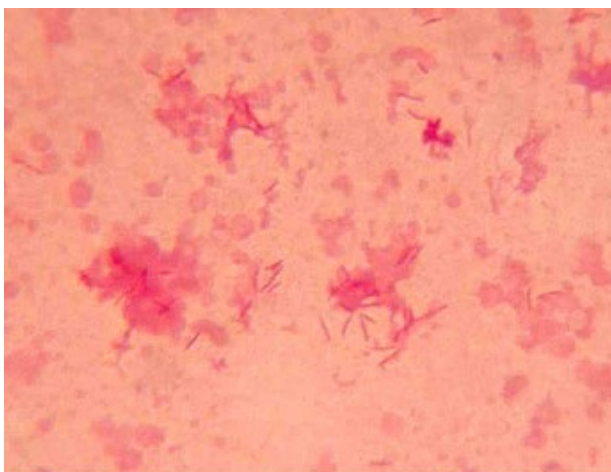
Tyto organismy jsou často považovány za oportunní patogeny. Bakterie mohou působit různé typy infekcí, jako například peritonitida (zánět pobřišnice), infekční endokarditida, bakteriémie, hnisavá lymfadenitida, infekce kosti, a to především u pacientů s imunosupresí, neutropenií a mukosítidou. Předpokládá se, že druhy, které kolonizují lidskou ústní dutinu, se účastní v patogenezi různých forem periodontálních onemocnění i u imunokompetentních jedinců (Jolivet Gougeon, 2017).

1.1 Taxonomie

Rod *Capnocytophaga* řadíme do třídy *Flavobacteriia*, řádu *Flavobacteriales* a čeledi *Flavobacteriaceae*. Je velmi podobný do rodu *Fusobacterium* a *Bacteroides*, ale snadno se diferencuje laboratorním vyšetřením. Rod byl navržen k odlišení těchto bakterií od *Cytophaga* spp., které také vykazují klouzavý pohyb. Dříve druhy bakterií tohoto rodu byly klasifikované do CDC skupin DF-1 a DF-2 (dysgonický fermentor). DF-2 je označení dané nejmenované skupiny pomalu rostoucích gramnegativních bakterií, které u lidí způsobují meningitidu a septikemii, získávají se hlavně po těsném kontaktu se psy nebo po jejich kousnutí. Na rozdíl od DF-2 skupina DF-1 kolonizuje ústní dutinu člověka a dává negativní výsledky na oxidázový a katalázový test.

1.2 Morfologie buňky a metabolismus

Capnocytophaga spp. jsou dlouhé, tenké, nesporulující gramnegativní bacily vřetenovitého tvaru (Obrázek 1). Jejich velikost se pohybuje v rozmezí 2,5-5,7 μm . Podle vztahu ke kyslíku jsou fakultativně anaerobní a patří ke kapnofilům (organismy, které pro svoji životní aktivitu vyžadují oxid uhličitý v koncentraci 10-15 %), což znamená, že pro optimální růst bakterie rodu *Capnocytophaga* vyžadují atmosféru obohacenou o CO_2 .



Obrázek 1 — Barvení *Capnocytophaga* spp. dle Grama (Fernández V, 2007)

Z hlediska výživy řadíme tyto bakterie k chemoorganotrofním mikroorganismům. Získávají energii oxidací organických látek procesy nazývanými kvašení a dýchání. Kvašení je metabolický proces získávání ATP cestou substrátové fosforylace. Organismus nepřijímá žádný kyslík z vnějšího prostředí, tudíž nepoužívá aerobní ani anaerobní respiraci.

1.3 Klouzavý pohyb

Bakterie se pohybuje bez použití bičků, klouzáním na agarovém médiu. Jako zdroj energie používá proton-motivní sílu. Po kontaktu s povrchem klouzavý pohyb umožňuje transport přes biologické membrány, vstup do hostitelských buněk a výstup z infikovaných buněk (Piau, 2013). Charakter takového pohybu popsaly IR Lapidus a HC Berg na příkladu klouzavé bakterie *Cytophaga* spp. Buňky se pohybovaly na skle jednotlivě, otáčely se kolem sloupu, převracely se, a to při rychlostí asi 2 $\mu\text{m/s}$. Buňky různých délek se pohybovaly přibližně stejnou rychlostí. Někdy nepřetržitě kmitaly o frekvenci kolem 2 Hz. Polystyrenové latexové kuličky se pohybovaly na povrchu buňky se stejnou rychlostí (Lapidus, 1982).



Obrázek 2 — Klouzavý pohyb kolonie *Capnocytophaga* na destičce krevního agaru (Ito, 2016)

1.4 Struktura buňky

Důležitou složkou buněčného obalu bakteriálního rodu *Capnocytophaga* jsou sulfonolipidy, kterým Leadbetter a Godchaux přiřadili triviální název kapniny. Elementární analýza purifikovaného kapninu poskytla složení: C, 57 %; H, 10,2 %; N, 4,2 %; O, 18 %; S, 9,1 % (celkem 98,5 %) a molekulární vzorec $C_{17}H_{37}NO_4S$. Výzkumy ukázaly, že kapniny nejsou jen neobvyklé biologické sloučeniny, ale mohou hrát roli v zánětlivém procesu při parodontitidě, protože sulfonáty jsou často toxické pro živočišné buňky. Mohou také poskytnout některé neobvyklé vlastnosti na buněčném povrchu. Například vysoký obsah N-acylkapninu dává membráně záporný náboj. N-acylkapnin může také podporovat fluiditu membrány (charakteristický pro celý rod *Capnocytophaga* klouzavý typ pohybu) (Godchaux, 1980).

1.5 Kultivace a morfologie kolonií

Izolace *Capnocytophaga* spp. z orálních klinických vzorků je velmi obtížná kvůli náročnému růstu tohoto bakteriálního rodu, rychlému růstu kompetitivní flóry orálního mikrobiomu a nesnadnému mikrobiálnímu postupu (Ehrmann, 2013). V roce 2013 E. Ehrmann a kol. dokázali, že v čisté kultuře mohou růst všechny druhy rodu *Capnocytophaga*, což umožnil jednoduchý krevní agar (KA) a čokoládový krevní agar (CKA). Nicméně pro získání tohoto bakteriálního rodu z polymikrobiálních vzorků je kvůli hojnosti komenzálních mikroorganismů nutné selektivní médium s antibiotiky — VCAT (Vancomycin, Colistin, Amphotericin B a Trimethoprim).

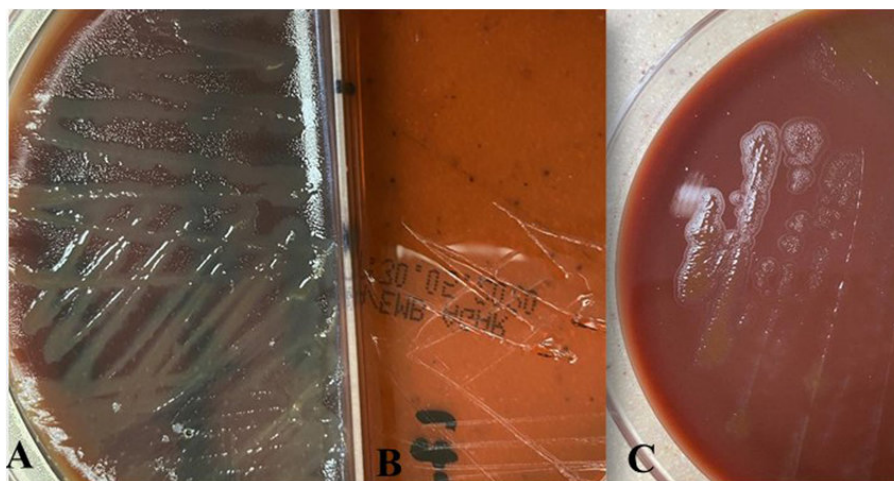
Výsledky zkoumání, týkajících se kultivačních medií, používaných pro růst a izolaci *Capnocytophaga* spp., jsou uvedené níže.

Tabulka 1 — Růst kmenů *Capnocytophaga* a klinických izolátů na 5 kultivačních médiích (Ehrmann, 2013)

Média	KA/CKA	VCAT	CAP _E	BCBA	VK
Obsah antibiotik (mg · l ⁻¹)	Žádné antibiotikum	Valkomycin (1) Colistin (3,75) Amfotericin B (0,5) Trimethoprim (1,5)	Colistin (10) Aztreonam (2)	Bacitracin (50)	Vancomycin (7,5) Kanamycin (100)
Čistá kultura	Počet druhu schopných růst (počet testovaných kmenů)				
<i>C. ochracea</i>	3 (3)	3 (3)	3 (3)	2 (3)	3 (3)
<i>C. sputigena</i>	3 (3)	3 (3)	2 (3)	2 (3)	2 (3)
<i>C. gingivalis</i>	3 (3)	2 (3)	3 (3)	2 (3)	3 (3)
<i>C. granulosa</i>	3 (3)	1 (3)	3 (3)	1 (3)	1 (3)
<i>C. haemolytica</i>	1 (1)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	1 (1)
<i>C. leadbetteri</i>	1 (1)	1 (1)	0 (1)	0 (1)	0 (1)
<i>C. canimorsus</i>	1 (1)	0 (1)	1 (1)	0 (1)	1 (1)
<i>C. cynodegmi</i>	NT	NT	NT	NT	NT
Celkový počet	15 (15)	11 (15)	13 (15)	8 (15)	12 (15)

Poznámka: NT – netestováno

Charakter růstu bakterie na agarové pudě popsali Alejandra Fernández a kol.. (Fernández V, 2007). Vyhovující půdou byl krevní agar a kultivace se prováděla při teplotě 35-37 °C. *Capnocytophaga* roste velmi pomalu a první viditelné kolonie vytvoří za 2-4 dny inkubace (Obrázek 3). Kolonie má plochý průřez, neprůhlednou transparentu, nažloutlou barvu a průměr 2-3 mm. Bakterie nemění vzhled krevního agaru a pouze druh *C. haemolytica* prokazuje β-hemolýzu. Mikroskopické pozorování odhalilo vysoký stupeň pleomorfismu se změnami velikosti, tvaru, barvy, stylu šíření na agaru v závislosti na podmínkách kultivace. Z výše uvedeného vyplývá, že kultivace je obtížná. Jde o růstově náročné bakterie.



Obrázek 3 — Kolonie *Capnocytophaga sputigena* (A) 5% agar z ovčí krve, (B) EMB agar, (C) čokoládový agar po 48 hodinách inkubace při 35 °C (Hazirolan, 2020)

1.6 Biochemické vlastnosti

Katalázové a oxidázové reakce se u jednotlivých druhů liší. Vykazují v testech pozitivní výsledky na ortho-nitrofenyl- β -galaktosid (ONPG) a benzidin (bifenyl-4,4'-diamin). Více o biochemických vlastnostech jednotlivých druhů *Capnocytophaga* je uvedeno v kapitole 1.8 Hlavní zástupci.

1.7 Patogeneze

Faktory virulence u různých druhů do určité míry odpovídají za jejich patogenitu. Při infekcích spojených s ústní mikroflórou člověka *C. gingivalis* a *C. sputigena* produkují řadu intracelulárních nebo extracelulárních faktorů, které mohou podporovat progresi paradontózy zvýšením růstu bakterií v zubním plaku nebo vyhýbáním se imunitní odpovědi hostitele. Mezi takové faktory patří: aminopeptidázy, imunoglobulin A1 proteázy a klouzavý pohyb (Janda, 2015).

1.8 Hlavní zástupci

1.8.1 *Capnocytophaga ochracea*

Capnocytophaga ochracea (Prévot a kol. 1956) Leadbetter a kol. 1982 (lat. *ochra* — žlutý) je nesporulující, mikroaerofilní, gramnegativní bacil, který produkuje žlutý pigment na pevném médiu. Demonstruje charakteristický pro celý rod klouzavý typ pohybu. Je součástí lidské ústní dutiny. *Capnocytophaga ochracea* byla poprvé izolovaná z lidských lézí

parodontitidy; následné studie však ukázaly, že tato bakterie je přítomna v zubním plaku. *Capnocytophaga ochracea* kolonizuje povrchy zubů vytvořením biofilmu a společně s *Fusobacterium nucleatum* tvoří můstek mezi bakteriemi na povrchu zubu a patogenními bakteriemi parodontu (Kita, 2016).

Biochemické vlastnosti izolátů byly vyšetřeny pomocí API 50 CH testu (BioMérieux, Marcy l'Etoile, Francie), který je standardizovaným systémem spojující 50 biochemických testů na miniaturizovaných testovacích prouzcích. Výsledky ukázaly, že *C. ochracea* neprodukuje kyselinu z xylózy, mannitolu, ribózy, arabinózy, trehalózy, melibiózy a sorbitolu. Navíc bylo zjištěno, že organismus hydrolyzuje glykogen a škrob, a fermentuje glukózu, fruktózu, maltózu, laktózu, sacharózu, galaktózu, rafinózu, manózu, inulin, amygdalin a celobiózu (Ito, 2016). *Capnocytophaga ochracea* neprodukuje enzym katalázu a nevytváří enzym cytochrom c oxidázu — dává negativní výsledky na oxidázový a katalázový test.

Jak bylo uvedeno výše, *C. ochracea* hraje klíčovou roli při tvorbě zubního plaku. Nicméně, bakterie způsobuje mnohem vážnější infekce, jakmile vstoupí do krevního řečiště, buď přes periodontální absces, nebo z vředů. Infekce *C. ochracea* jsou nejčastější u pacientů s oslabenou imunitou a mohou vést k sepsi, purpuře fulminans (onemocnění způsobené kvantitativními poruchami trombocytů), gangréně s úmrtností mezi 14 % - 43 %. U imunokompetentních pacientů *C. ochracea* způsobuje endokarditidu (zánět endokardu), peritonitidu, nitroděložní infekce a septickou artritidu kloubu (Desai, 2007).

1.8.2 *Capnocytophaga gingivalis*

Capnocytophaga gingivalis Leadbetter a kol. 1982 (lat. *gingiva* — dásně) je součástí normální orální flóry člověka a je přítomna v supragingiválním i subgingiválním plaku. Jak i většina bakterií rodu *Capnocytophaga* je podmíněným patogenem a může způsobit periodontální onemocnění. Faktory virulence jsou popsány v odstavci 1.7 Patogeneze.

Fyziologické a morfologické charakteristiky odpovídají charakteristice celého rodu. Na rozdíl od *C. ochracea* vytváří oranžový pigment při kultivaci buď za aerobních nebo anaerobních podmínek.

Z biochemického hlediska řadíme *C. gingivalis* do kataláza a oxidáza negativních bakterií. Biochemicky není tak aktivní jako *C. ochracea*. Nehydrolyzuje škrob, dextran, chitin, celulózu a nefermentuje galaktózu, celobiózu, trehalózu, amygdalin, salicin, arabinózu, xylózu, ribózu, eskulin, rafinózu a sorbitol. Fermentuje glukózu, sacharózu, manózu a maltózu (London, 1985).

1.8.3 *Capnocytophaga sputigena*

Capnocytophaga sputigena Leadbetter a kol. 1982 (lat. *sputum* — slina, chrchel) je bakterie patřící do orálního mikrobiomu. Tento mikroorganismus lze izolovat ze vzorku sputa, přičemž sputum je obtížným vzorkem pro interpretaci a diagnostiku infekce, které vyvolají *C. sputigena*. Je podmíněným patogenem a podílí se hlavně na abscesech, bakteriémií a endokarditidě. Včasná detekce tudíž hraje důležitou roli v diagnostice infekcí krevního řečiště, zejména u pacientů s poškozenou ústní sliznicí nebo u pacientů s oslabenou imunitou. Byly ale zdokumentovány případy pneumonie u imunokompetentních hostitelů způsobené *C. sputigena* (Gosse, 2019).

Fyziologické a morfologické charakteristiky odpovídají charakteristice celého rodu.

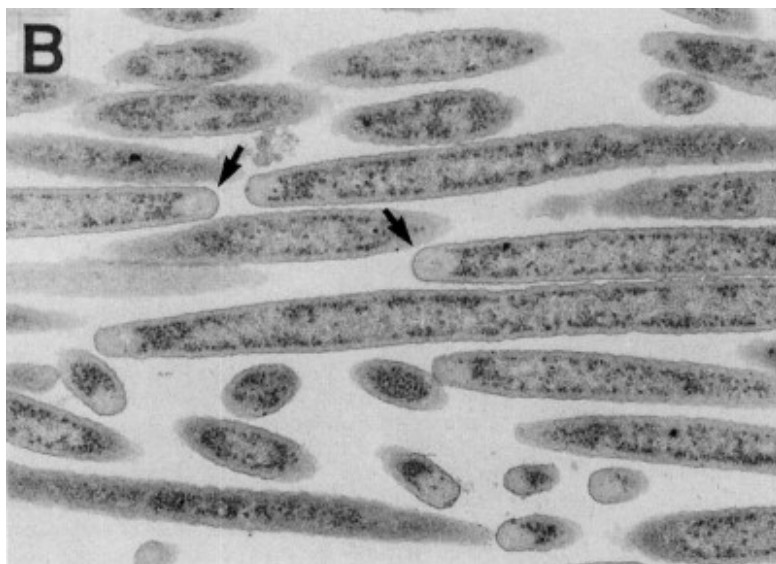
Capnocytophaga sputigena má proměnlivou schopnost fermentovat laktózu, fruktózu a dextran, ale nefermentuje galaktózu. Bakterie hydrolyzuje eskulin, ale nevyužívá celobiózu, glykogen a škrob. Také bylo zjištěno, že izoláty *C. sputigena* mohou redukovat nitráty na nitrity. Jak i předchozí druhy, *C. sputigena* je kataláza i oxidáza negativní (Parte, 2011).

1.8.4 *Capnocytophaga granulosa*

Capnocytophaga granulosa Yamamoto a kol. 1994 (lat. *granulum* — jádérko, zrníčko) je další bacil rodu *Capnocytophaga*, který lze izolovat ze supragingiválního plaku z míst s chronickou parodontitidou. Klinické izoláty *C. granulosa* barvené podle Grama vykazují charakteristické intracelulární granulární inkluze, které můžeme pozorovat na koncích a uprostřed obarvených buněk. Tyto inkluze jsou jasně pozorovatelné při pěstování anaerobně za teploty 37 °C v GAM bujónu (Gifu Anaerobic Medium) po dobu 5 až 7 dnů. Barva kolonií je šedá až fialová na tryptikázo-sójovém agaru.

Fyziologické a morfologické charakteristiky odpovídají charakteristice celého rodu.

Capnocytophaga granulosa vykazuje vysokou aktivitu aminopeptidázy. Enzym aminopeptidáza byl purifikován a klasifikován jako metalopeptidáza a endopeptidáza. Tento druh produkuje kyselinu z D-glukózy, D-laktózy, D-maltózy, D-manózy, škrobu a D-sacharózy. Je kataláza a oxidáza negativní; neredukuje dusičnany a nitráty; netvoří kyselinu z celulózy, D-mannitolu, ribózy, sorbitolu, xylózy, dextranu, glykogenu a inulinu. Hlavními konečnými produkty fermentace glukózy jsou acetát a sukcinát (Yamamoto, 1994).



Obrázek 4 — Inkluze *C. granulosa* (Yamamoto, 1994)

1.8.5 *Capnocytophaga haemolytica*

Capnocytophaga haemolytica Yamamoto a kol. 1994 (lat. *haima* — krev; lat. *lyticus* — schopný se rozpustit, uvolnit) je bakterie, kterou stejně jako *C. granulosa* lze snadno izolovat ze supragingiválního plaku.

Fenotypová charakteristika druhu odpovídá charakteristice celého rodu *Capnocytophaga*, ale úroveň genetické příbuznosti mezi *C. haemolytica* a ostatními druhy *Capnocytophaga* (kromě *C. granulosa*) je menší než 20 % (Parte, 2011). *C. haemolytica* je jediná bakterie rodu *Capnocytophaga*, která vykazuje β -hemolýzu na krevním agaru (Obrázek 5).

Redukuje dusičnany a hydrolyzuje eskulin. Produkuje kyselinu z D-glukózy, galaktózy, D-manózy, D-sacharózy, D-maltózy, D-laktózy a škrobu; 63 % kmenů produkuje kyseliny z inulinu a dextranu. Nevykazuje oxidázovou a katalázovou aktivitu; neprodukuje H_2S a indol; není pozorovaná aktivita aminopeptidázy. Hlavní konečné produkty fermentace glukózy jsou acetát a sukcinát (Yamamoto, 1994).



Obrázek 5 — Celková hemolýza *C. haemolytica* (Fernández V, 2007)

1.8.6 *Capnocytophaga cynodegmi*

Capnocytophaga cynodegmi Brenner a kol. 1990 (řec. *kunos* — pes; *degmos* — kousnutí) (dříve "organismus typu DF-2") je zoonotická, gramnegativní, kapnofilní bakterie, která se obvykle vyskytuje u lidí s infekcemi spojenými s kousnutím psa nebo kočky (Workman, 2008). Prevalence *C. cynodegmi* u psů a koček je velmi vysoká. Poslední studie prokázala vysokou prevalenci *C. cynodegmi* v ústní mikrobiotě psů žijících v Brazílii. Více než polovina ze 121 testovaných zvířat byla pozitivní (66,94 %) (Nogueria, 2021).

C. cynodegmi je považována za méně patogenní než *C. canimorsus*, která je také normální součástí orální flóry u psů a koček. *C. cynodegmi* způsobuje více lokalizovaných infekcí, obvykle lokalizovanou celulitidu různé závažnosti nebo keratitidu. Systémová infekce, jako je septický šok, byla hlášena u pacientů se splenektomií (operační vyjmutí sleziny), s cukrovkou, cirhózou nebo u alkoholiků (Pers, 2007).

C. cynodegmi a *C. canimorsus* se liší od ostatních druhů rodu tím, že jsou kataláza a oxidáza pozitivní. *C. cynodegmi* může redukovat dusičnany na dusitany, produkuje kyseliny ze sacharózy, rafinózy, melibiózy a inulinu (Pers, 2007).

1.8.7 *Capnocytophaga canimorsus*

Capnocytophaga canimorsus Brenner a kol. 1990 stejně jako *C. cynodegmi* je fermentující gramnegativní tyč, která se běžně vyskytuje v orální mikroflóře zvířat a vyskytuje se převážně ve slinách koček a psů.

Více informací o tomto druhu je uvedeno v kapitole 2 *Capnocytophaga canimorsus*.

1.8.8 Souhrn biochemických charakteristik jednotlivých druhů rodu *Capnocytophaga*

V tabulce č. 2 jsou uvedené biochemické charakteristiky jednotlivých druhů rodu *Capnocytophaga* na základě biochemických identifikačních testů: vztahu ke kyslíku, redukce nitrátů, tvorby indolu, míry hemolýzy, fermentace cukrů atd.

Tabulka 2 — Identifikace druhů *Capnocytophaga* (Parte, 2011)

Charakteristika	<i>C. orchea</i>	<i>C. gingivalis</i>	<i>C. sputigena</i>	<i>C. haemolytica</i>	<i>C. granulosa</i>	<i>C. camimorsus</i>	<i>C. cynodegmi</i>
Fermentace							
Eskulin	V	—	—				
Glukóza	+	+	+	+	+	+	+
Laktóza	+	—	V	+	+	+	+
Inulin	+	+	+	+	—		
Maltóza	+	+	+	+	+	+	+
Sacharóza	+	+	+	+	+	—	+
Škrob	+	—	V	+	+		
Hydrolyza							
Eskulin	+	±	±	+	—	V	+
Škrob	±	—	—				
Oxidáza	—	—	—	—	—	+	+
Kataláza	—	—	—	—	—	+	+
Růst v O ₂	—	—	—	—	+		
KNO ₃	—	—	±	+	—	—	—
Indol	—	—	—	—	—		
LAP	+	+	+	—	+		
β-hemolýza	—	—	—	+	—	—	—

Poznámka: LAP, leucinaminopeptidáza; +, ≥ 90% pozitivní výsledek; V, 40-60% pozitivní výsledek; —, ≤ 10% pozitivní výsledek; ±, více kmenů vykazovalo pozitivní výsledek; —, více kmenů vykazovalo negativní výsledek

2 *Capnocytophaga canimorsus*

V roce 1976 byl poprvé popsán pacient s meningitidou a sepsí způsobenou neidentifikovaným gramnegativním bacilem po nedávném kousnutí psem. V tu dobu byly známy jenom fenotypové a biochemické vlastnosti tohoto mikroorganismu. Nyní víme, že tento gramnegativní bacil byl pravděpodobně členem rodu *Capnocytophaga*, s největší pravděpodobností *Capnocytophaga canimorsus* (CDC skupina DF-2). O rok později bylo hlášeno dalších 17 případů infekcí po nedávném kousnutí psem a povaha infekcí se pohybovala od celulitidy do meningitidy, endokarditidy až selhaní orgánů. Organismus dostal jméno v roce 1989 na základě své potřeby CO₂ pro růst a druhu přenosu (lat. *canis* — pes; lat. *morsus* — pokousání) (Gaastra, 2010).

Capnocytophaga canimorsus je komenzální bakterie v orální flóře psů a koček a je nejznámější druh rodu *Capnocytophaga*. Bakterie je neškodná pro zvířata, ale může ve vzácných případech vést k závažným infekcím u lidí po kousnutí, poškrábání, olíznutí psem nebo kočkou, ale dokonce i blízkým kontaktem se zvířaty. Od roku svého objevu bylo v literatuře hlášeno více než 480 případů infekcí, zejména septikémie, vyvolané *C. canimorsus*, s mírou úmrtnosti 26 % (Butler, 2015).

2.1 Výskyt

Vyšetření orální flóry psů pro *C. canimorsus* poprvé provedl v roce 1978 W. E. Bailie a zjistil, že 4 z 50 (8 %) psů byli přenašečem patogenu. O 20 let později P. Blanche izoloval bakterii z 26 % testovaných psů a 18 % koček (Gaastra, 2010). Prevalence *C. canimorsus* u psů a koček stanovená současnými studii je o něco vyšší než ta, která byla popsána dříve, kde byla pro identifikaci použita metoda bakteriální izolace. Tak, například, lze stanovit přítomnost bakterii metodou využívající detekci DNA pomocí testování 16S rRNA genu pomocí PCR. *Capnocytophaga canimorsus* byl detekován u 74 % psů a 57 % koček. Prevalence stanovená v této studii byla vyšší než prevalence předchozích zpráv, pravděpodobně proto, že detekce PCR je citlivější než izolace bakterií (Suzuki, 2010). A byla podobná té, která byla později hlášena pro jiný region Japonska (69,7 % u psů a 54,8 % u koček) (Umeda, 2014).

Existují určité znalosti o pravděpodobnosti výskytu *C. canimorsus* v závislosti na věku, zdraví a životním stylu psů. Byly odebrány vzorky zubního plaku od 131 jedinců a po kultivaci, fyziologických i molekulárních testech statistická analýza ukázala, že samci, kastrování psi, jedinci starší než 6 měsíců mají větší pravděpodobnost hostit tuto bakterii. Plemeno také bylo

statisticky významným prediktorem, přičemž menší plemena pravděpodobněji přenášejí potenciální patogen (Dilegge, 2011).

V jedné zprávě byla popsána izolace *C. canimorsus* z ovcí, skotů, koňů, králíků (25–30 % testovaných zvířat) (Westwell, 1989), ale nikdy nebyl učiněn žádný pokus toto pozorování potvrdit.

2.2 Přenos

Capnocytophaga canimorsus je původcem zoonotických onemocnění, což znamená, že infekce jsou přirozeně přenosné mezi zvířaty a lidmi. Primární způsob přenosu je spojený s kousnutím psa a kočky, a to v 54 % případů. Nejčastěji místo úrazu je na končetinách, v oblasti hlavy, na trupu (v sestupném pořadí podle výskytu). Ačkoli z rány lze izolovat bakterie téměř vždy, šance se nakazit po kousnutí psem není tak velká (3-20 %), ale je větší než po kousnutí kočkou. Hluboké, ostré vpichy s relativně malým poškozením tkáně utvořené kousnutím kočkou pravděpodobně vytvářejí méně příznivé podmínky pro růst bakterie než větší povrchové rány s velkým množstvím poškozené tkáně způsobené kousnutím psem (Gaastra, 2010).

Další způsoby, jak se člověk může nakazit od psů a koček, jsou poškrábání (8,5 % případů), blízký kontakt se zvířaty (27 % případů) a olizování lidských ran (Edlukudige Keshava, 2020).

2.3 Patogeneze *C. canimorsus*

Bylo dosaženo pokroku v porozumění mechanismu patogenity bakterií *C. canimorsus*. Tyto mechanismy lze rozdělit do čtyř oblastí: (1) *C. canimorsus* nevyvolají vrozenou imunitní odpověď, která je založena na rezistenci vůči lýze zprostředkovaná komplementem a fagocytóze; (2) neschopnost Toll-like receptoru 4 (TLR4) reagovat s bakterií aktivací prozánětlivého cytokinu interleukinu-6, chemokiny (např. interleukinu-8) a oxidu dusnatého; (3) přítomnost na povrchu buňky enzymu sialidázy, který umožňuje štěpit glykosidickou vazbu glykoproteinů hostitelských buněk, včetně imunoglobulinu G (IgG), což vede k růstu bakterií a persistenci v živém organismu; a (4) upravený lipid A, zodpovědný za toxicitu gramnegativních bakterií, který se spojuje s myeloidním diferenciacním faktorem 2 (MD-2) (Janda, 2015).

2.4 Infekce

2.4.1 Infekce u zvířat

Capnocytophaga canimorsus zřídka způsobuje příznaky onemocnění u zvířat. Jsou známy pouze dva zdokumentované případy, ve kterých jiné druhy, než člověk měli infekcí způsobenou touto bakterií.

V 2004 byl hlášen případ útoku na dvouletého zdravého domácího králíka, který byl kousnut psem do hlavy. Králík utrpěl relativně hluboká zranění, ale veterinární péče byla aplikována až po 2 dnech, kdy došlo ke vzniku otoku a následnému abscesu v poraněné oblasti (Obrázek 6). Králík byl klinicky vyšetřen a izolovaná kultura byla identifikovaná jako *C. canimorsus* (Van Duijkeren, 2006).

V druhém případě byl *C. canimorsus* izolován z infikované rány u psa. Pes neměl žádnou bakteriémii, ale *C. canimorsus* mohl být z rány izolován ještě 2 dny po primární izolaci (Meyers, 2008).



Obrázek 6 — Králík s infekcí *C. canimorsus* po kousnutí psa do hlavy (Gaastra, 2010)

Je zajímavé, že i když jsou rány po kousnutí psem běžné u mnoha druhů zvířat, zejména u psů a koček, prakticky neexistují zdokumentované případy infekce rány způsobené *C. canimorsus* u zvířat. Je několik možných vysvětlení. Za prvé *C. canimorsus* může být přehlédnut při obecné kultivaci kvůli jeho náročnému chování a pomalému růstu. Infekce související s kousnutím psem jsou často polymikrobiální a *C. canimorsus* může být těžko rozpoznáván v přítomnosti jiných mikroorganismů. Proto je možné, že infekce *C. canimorsus*

je nedostatečně diagnostikována a jsou ve skutečnosti častější u zvířat s rány po kousnutí psem nebo kočkou. Na druhou stranu může být člověk lepším hostitelem pro tuto bakterii (Gaastra, 2010).

2.4.2 Lidské infekce a klinické příznaky

Inkubační doba od kousnutí do nástupu systémových příznaků je přibližně 5 dní. Doba mezi kousnutím a vyhledáním lékařské pomoci je v průměru 7 dní (Le Moal, 2003). Pacienti, kteří dorazí na pohotovost do 8-12 hodin po kousnutí psem, mohou mít lokální léze bez významných známek zánětu. V pozdějších stádiích může mít infekce příznaky od mírného onemocnění podobné chřipce do akutního hnisavého zánětu hlubokých podkožních tkání a někdy svalů, bolesti v místě poranění, hnisavého výtoky, lymfangitidy (zánět lymfatických cév) a lymfadenopatií (zvětšení uzlin). Nejčastějším klinickým projevem infekce způsobené *C. canimorsus* je septikemie. Počáteční příznaky septikemie jsou horečka (78 % pacientů), zimnice (46 %), myalgie (bolesti svalstva; 31 %), zvracení (31 %), průjem (26 %), bolesti břicha (26 %), malátnost (26 %), dušnost (23 %), duševní zmatek (23 %) a bolesti hlavy (18 %) (Pers, 1996). U imunokompromitovaných pacientů, jejichž přirozené obranné mechanismy jsou narušeny, se závažnou sepsí se může objevit fulminantní průběh infekce, který je spojen s purpurou nebo petechií, diseminovanou intravaskulární koagulací (DIC), hemolyticko-uremickým syndromem (HUS) a trombotickou trombocytopenickou purpurou (TTP) (Mulder, 2001). Purpura je mnohočetné tečkovité krvácení do kůže, sliznic či vnitřních orgánů. DIC označuje nadměrnou aktivaci kaskády koagulace v krevním oběhu. Jejimi hlavními projevy jsou početné mikrotromby omezující krevní zásobení. Mikrovaskulární tromby mohou vést k periferní gangréně horních a dolních končetin často vedoucí k amputaci. Také bylo prokázáno krvácení do nadledvin charakteristické pro Waterhouse – Friderichsenův syndrom u několika pacientů (Macrea, 2008).

Podle tabulky, která znázorňuje zadokumentované klinické projevy infekce *C. canimorsus* v letech 1990–2014 (Tabulka 3), druhým nejčastějším projevem byla meningitida (32 případů). Liší se od případů sepse tím, že vykazují nižší míru úmrtnosti a demograficky vyšším středním věkem pacientů (64 proti 54). Kromě toho, inkubační doba po kousnutí psem nebo jiné expozici nemoci byla delší (průměrně 7 dní) ve srovnání s pacienty se sepsí (průměrně 3 dny) (Butler, 2015).

Endokarditida, což je zánět vnitřního povrchu srdce neboli endokardu, byla identifikována méně často, jenom u 12 pacientů, včetně jednoho s hepatitidou C. Ačkoli u většiny pacientů onemocnění byla hlášena po kousnutí, jenom u 5 došlo k výrazným infekcím

ran vyvolaným organismem izolovaným z kultury rány. Některé rány po kousnutí však vykazovaly těžkou nekrózu. Oční infekce byly rovněž vzácné a vyskytovaly se pouze v šesti případech. Dva byli veterináři, kteří manipulovali se zvířecími zuby; jeden měl endoftalmitidu (akutní zánět všech nitroočních tkání a struktur); jeden byl pacient, který podstoupil odstranění katarakty; jedna infekce vedla k chirurgickému odstranění očního bulbu a jedna vedla k odchlípení sítnice a úplné ztrátě zraku, a to po kousnutí kočkou (Butler, 2015).

Tabulka 3 — Zadokumentované klinické projevy infekce *C. canimorsus* v letech 1990–2014 (Butler, 2015)

Klinické projevy infekce	Počet pacientů
Sepse	222
Purpura nebo petechie	25
DIC	31
Septický šok	30
Gangréna nebo amputace končetin	18
Břišní potíže s bolestí, roztažením, průjmem nebo nutností laparotomie	28
Infarkt myokardu	3
Meningitida	32
Endokarditida	12
Infekce rán	5
Oční infekce	6
Jiné	5

V České republice jsou hlášeny dva případy invazivní infekce způsobené *C. canimorsus*. První se projevila jako těžká sepsa u ženy se splenektomií. Druhý pacient měl závažnou hnisavou meningitidu (Prasil, 2020).

2.5 Rizikové skupiny

Riziko nakazit se *C. canimorsus* pro běžnou populaci je příliš nízké. Však existuje několik skupin, které jsou vystaveny vyššímu riziku infekce touto bakterií. Mezi zvláště ohrožené patří veterináři, chovatelé a majitelé zvířat. Průzkum veterinářů v Americe ukázal, že z 995 respondentů 64,4 % utrpělo závažné zranění. Ve své kariéře bylo 92 % veterinářů kousnuto psem, 81 % kočkou a 72 % poškrábáno kočkou. Přesto je jenom několik hlášení o osobách v této rizikové skupině infikovaných *C. canimorsus*: pracovník obchodu se zvířaty, tři veterináři, zaměstnanec útulku pro zvířata, pracovník chovatelské stanice. Ve dvou případech nebyli veterináři infikováni kousnutím nebo poškrábáním, ale zlomeninou zubu při manuální extrakci, která zasáhla veterináře do oka (Gaastra, 2010).

Capnocytophaga canimorsus je oportunní patogen, který je schopný být patogenem jen tehdy, když jsou obranné mechanismy poškozeny (poranění kůže, sliznic, po lékařských zákrocích, porucha fyziologických dějů) a je snížena imunita. 60 % lidí nakažených tímto organismem mají predisponující podmínky. Až 40 % případů se však vyskytuje u dříve zdravých dospělých (Le Moal, 2003). Pacienti po splenektomii (33 %), po operační vyjmutí sleziny, tvoří vysoce rizikovou skupinu s 30 – 60krát vyšším rizikem fatální septikemie. Často, již do 24 hodin od projevu příznaků, mohou se postsplenektomické infekce vést k rychle zhoršujícímu klinickému průběhu, který dál může postupovat do selhání více orgánových systémů a smrti (Band, 2011).

Dalšími predisponujícími faktory infekce jsou onemocnění jater způsobená zneužíváním alkoholu (24 % případů) (Galles, 2020). Když byli pacienti se sepsi způsobenou *C. canimorsus* s intaktní slezinou a bez alkoholismu porovnání s pacienty se splenektomií nebo jinými příčinami hyposplenismu (slezina je sice anatomicky přítomna, neplní však adekvátně svoje funkce), byli pacienti s intaktní slezinou významně starší, 60 let proti 47,7. Střední věk pacientů-alkoholiků byl 54 roků. Podle věkových trendů lze navrhnout, že účinky užívání alkoholu se projevují s časem a že reziduální funkce neporušené sleziny pomáhá chránit člověka před onemocněním způsobeným *C. canimorsus* tím, že nemoc odloží na pokročilejší věk (Butler, 2015).

Neutropenie, chronické plicní onemocnění a hematologická malignita byly také považovány za predisponující podmínky. Zneužívání alkoholu, anatomická nebo funkční

asplenie, hemochromatóza (nadměrné ukládáním železa do tkání) a kouření vedou k absorpci dvojnásobného množství železa (Gaastra, 2010). Vysvětlením, proč tyto podmínky tvoří riziko infekce *C. canimorsus*, může být, že dvojnásobné zvýšení hodnot železa v séru mnohem lépe podporuje růst bakterie *C. canimorsus* (Weinberg, 2000).

3 Diagnostika

Rychlá diagnostika a vhodná léčba je u bakteriální sepse nezbytná kvůli rostoucímu riziku úmrtí každou hodinu bez vhodné antibiotické léčby. *Capnocytophaga canimorsus* je pomalu rostoucí, náročný gramnegativní bacil, který je obtížné izolovat a identifikovat. Například, pouze jedna třetina (32 % ze 60 izolátů) všech izolátů předaných do laboratoři mikrobiálních chorob v Kalifornii byla podána se správnou identifikací druhu. Mnoho kmenů bylo přijato buď jako neidentifikovaná gramnegativní tyč nebo jako "neznámá identifikace" (55 %). V některých případech (\approx 13 %) byly kmeny předloženy s nesprávnou identifikací, jako *Streptobacillus* spp., *Haemophilus* spp., *Legionella* spp. Důvody nesprávného označení mohou zahrnovat nedostatečnou znalost organismu, nedostatek vhodných biochemických testů nebo použití metod identifikace, které nejsou určeny pro identifikaci mikroorganismů s náročným růstem (Janda, 2006).

Diagnóza *C. canimorsus* se obvykle provádí na základě bakteriální kultivace krve (88 % případů), tělních tekutin (mozkomíšni mok, 7 %) nebo méně často z rány po kousnutí (Gaastra, 2010). Mezi metody identifikace *C. canimorsus* patří kultivace a následná biochemická analýza, hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí/ionizací pomocí matice (MALDI-TOF) nebo amplifikace genu 16S rRNA. Účinnost prokázala také identifikace a kvantifikace domnělých parodontopatogenních bakterií, včetně druhů *Capnocytophaga*, komerčně dostupnými metodami založenými na rychlé PCR (např. Micro-IDent a micro-IDent Plus).

3.1 Kultivace

Tento mikroorganismus je považován za obtížné kultivovatelný kvůli jeho specifickým požadavkům na živiny a podmínky kultivace. Kromě toho jsou vzorky rány často kontaminovány normální kožní flórou, která snadno zastaví růst náročných druhů. *C. canimorsus* vyžaduje pro růst velká množství exogenního železa. Roste pomalu na krevním a čokoládovém agaru v 5-10 % CO₂. Média musí být inkubovaná při 37 °C po dobu nejméně 5 dnů. Po 24 hodinách jsou kolonie většinou příliš malé, aby byly viditelné. Tradičně lze tyto bakterie diagnostikovat na základě morfologie jejich kolonií a fenotypových testů až po 48–72 hodinách inkubace. Kolonie jsou malé (cca 1-2 mm), povrch je hladký a lesklý s nízkým konvexním vyvýšením a prstovitými výběžky. *Capnocytophaga canimorsus* nevykazuje hemolytickou aktivitu, ale vykazuje klouzavý pohyb na agaru. Ačkoli se barva kolonií může lišit od růžové po žlutou, jsou kolonie všech izolátů po seškrábnutí z agarové plotny žluté.

Charakteristické je také Gramovo barvení, které ukazuje tenkou a štíhlou Gram negativní tyč s fusiformním vzhledem (Gaastra, 2010).

Bylo zjištěno, že krevní agar z koňské krve lépe podporuje růst *C. canimorsus* než krevní agar z ovčí krve nebo čokoládový agar (Pers, 1996). Nicméně mikroorganismus neroste na agaru MacConkey. V poslední době jako růstové médium byl optimalizován (Heart Infusion agar Difco s 5% ovčí krve) a kolonie lze pozorovat již za 2 dny při teplotě 37 °C v 5 % CO₂ (Mally, 2008).

3.2 Biochemické vyšetření

Vyšetření pomocí biochemických testů je obtížné kvůli pomalému růstu organismu a tím, že biochemické vlastnosti jednotlivých druhů *Capnocytophaga* jsou příliš podobné. Hlavní odlišnost spočívá v tom, že *C. canimorsus* spolu s *C. cynodegmi* je kataláza a oxidáza pozitivní. Dále mikroorganismus vykazuje pozitivní výsledek na ONPG (orto-Nitrofenyl-β-galaktosid), arginin dihydrolázu, eskulin a negativní na ureázu, lysin, želatinu, dusičnany, indol, ornitin a DNázu čili deoxyribonukleázu. *Capnocytophaga canimorsus* může jako fermentovatelné substráty a zdroj energie používat různé sacharidy, jako je glukóza, laktóza, maltóza, manóza, ale nefermentuje sacharózu, rafinózu, xylózu, fruktózu a manitol (Suzuki, 2018).

3.3 Identifikace *C. canimorsus* tradičními metodami

Jak je popsáno výše, identifikace hlavně spočívá v morfologii kolonii a ve dvou biochemických testech (oxidáza a kataláza). Tyto metody jsou levné a nejsou příliš sofistikované, ale pomáhaly mikrobiologům diagnostikovat *C. canimorsus* mnoho let. Toto diagnostické paradigma obecně funguje dobře pro rychlé rostoucí bakterie (druhy *Staphylococcus*, *Streptococcus* a *Pseudomonas*) a dokáže identifikovat nejběžnější a klinicky významné bakterie na úrovni druhů. Podrobnější identifikace náročných bakterií, jako je *Capnocytophaga*, vyžaduje další metody anebo rozšíření rozsahu biochemických testů (Zangenah, 2016).

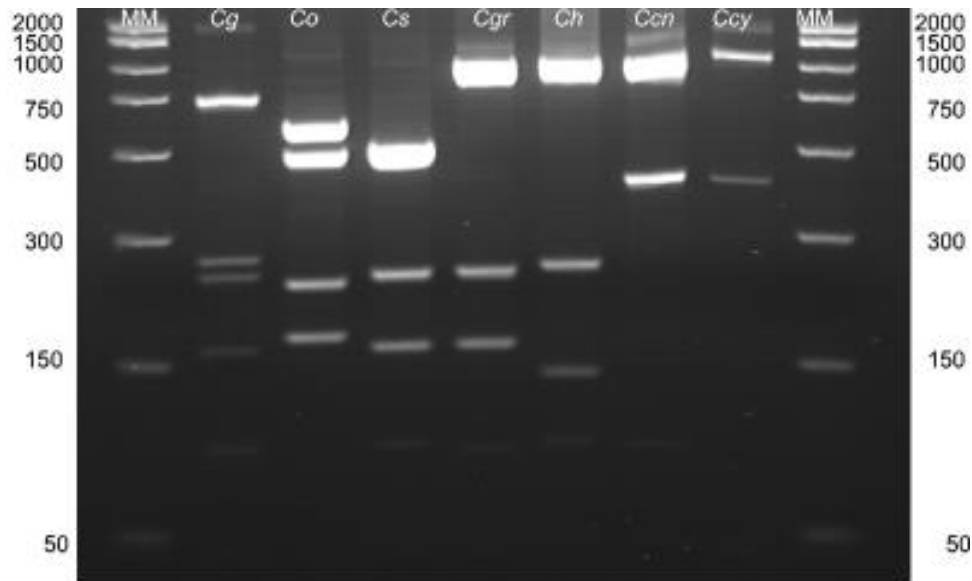
Na základě gramová barvení, negativních oxidázových a katalázových testů lze rozlišit druhy *Capnocytophaga* spojené s kousnutím zvířat od lidských druhů *Capnocytophaga*. K rozlišení *C. canimorsus* od *C. cynodegmi* lze použít testy na sacharózu a rafinózu (Zangenah, 2016). Nicméně taková tradiční bakteriologická metoda je považovaná za nepřesnou, pomalou a nespolehlivou v klinickém kontextu, a proto jsou pro klinickou identifikaci relevantní moderní mikrobiologické metody.

3.4 Molekulární identifikace pomocí 16S rRNA PCR

Tradiční bakteriální identifikace *Capnocytophaga* spp. byla stanovena pomocí široké škály fenotypových charakteristik. Mikroorganismy byly zařazeny do skupin na základě morfologických znaků (makro- a mikroskopických, včetně charakteristik barvení) a fyziologických vlastností, jako jsou požadavky na výživu, podmínky růstu (kyslík, teplota a inhibiční produkty), produkty fermentace a schopnost tvořit spory. Tyto fenotypové znaky sdílí mnoho druhů, a proto jsou nespecifické. Liší se v závislosti na kulturních podmínkách a/nebo věku koloniální kultury. Tohle tvoří základ klasifikace jen pro bakteriální rody. Přístupnost a snadné použití bakteriální genetické informace nastartovalo novou éru v bakteriální identifikaci a systematice. Hlavní průlom v určování evoluce a fylogeneze prokaryot přišel se zavedením technik sekvencování rRNA (Ciantar, 2005).

16S rRNA je RNA, která se skládá ze 1542 nukleotidů a tvoří složku menší 30S podjednotky ribozomu prokaryot. Gen obsahuje oblasti, které jsou velmi konzervované mezi různými druhy bakterií, stejně jako oblasti, které jsou proměnlivé a charakteristické pro každý bakteriální rod. Vzhledem ke své konzervativní povaze a snadné manipulaci je používán k zajištění přesné identifikace klinických bakteriálních izolátů. Amplifikace genu 16S rRNA pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) umožňuje získat velké množství kopií tohoto genu. Štěpení ampliconů genu 16S rRNA generovaných pomocí PCR restričními enzymem vede k diferenciaci polymorfismem délky restričních fragmentů. Dále se pro analýzu produktů PCR používá elektroforéza v agarozovém gelu (Obrázek 7). Definitivní identifikace klinických izolátů je dosažena porovnáním sekvenovaných genů 16S rRNA s geny dostupnými v databázích (Ciantar, 2005).

Několik studií ukázalo, že PCR je citlivá metoda, která nezávisí na přítomnosti životaschopných mikroorganismů, což je velkou výhodou v situaci, kdy byl pacient předem léčen antibiotiky (Saravolatz, 2003). Také v jedné zprávě PCR diagnostika pomohla detekovat DNA *C. canimorsus* u 39 z 53 psů, což svědčí o účinnosti této metody (Van Dam, 2009). Význam technologie PCR je zvláště vysoký v případech, kdy se jedná o pomalu rostoucí nebo náročné organismy (jako je *Capnocytophaga* spp.) nebo ať už měl pacient předchozí expozici antibiotikům, a proto komerční PCR testy jsou stále více dostupné. (Hansen, 2019).



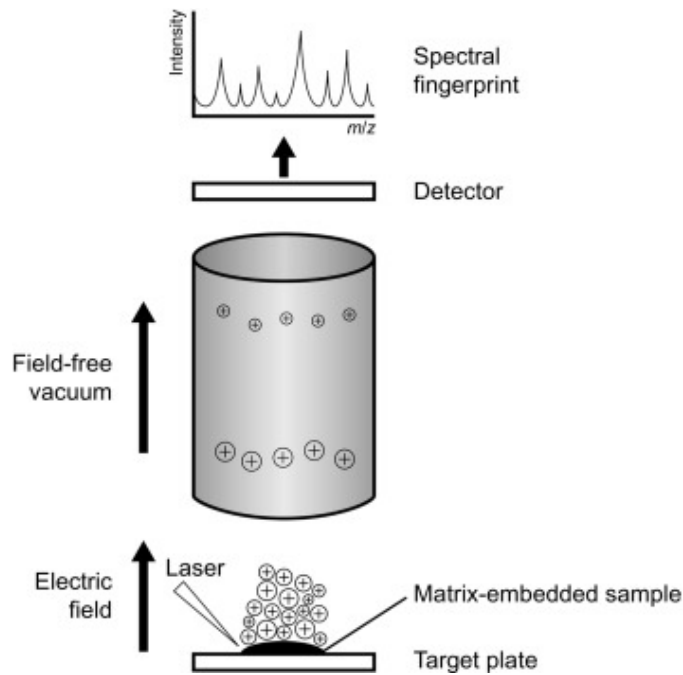
Obrázek 7 — 16S rRNA PCR-RFLP analýza kmenů typu ATCC druhů *Capnocytophaga* s restriční endonukleázou *CfoI*. MM, marker molekulové hmotnosti; Cg, *C. gingivalis*; Co, *C. ochracea*; Cs, *C. sputigena*; Cgr, *C. granulosa*; Ch, *C. haemolytica*; Ccn, *C. canimorsus* (Ciantar, 2005)

3.5 MALDI-TOF

Použití hmotnostní spektrometrie k charakterizaci bakterií bylo poprvé navrženo v roce 1975, kdy bylo pozorováno, že malé molekuly z lyofilizovaných bakterií produkují odlišná spektra pro různé bakteriální rody a druhy. Lyofilizace je tedy metoda sušení vlhkých materiálů (např. sušení mrazem), která se využívá v biotechnickém průmyslu pro sušení bakterií či buněk. Neporušené proteiny však mohly být analyzovány až po vzniku takzvaných technik měkké ionizace, jako je hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí a ionizací za účasti matrice s průletovým analyzátozem (MALDI-TOF MS = Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry). Zatímco počáteční studie před analýzou pomocí MALDI-TOF MS používaly techniky buněčné extrakce, pozdější studie ukázaly, že lze analyzovat celé bakteriální buňky. Od té doby stále roste počet studií prokazujících, že MALDI-TOF MS produkuje charakteristická a reprodukovatelná spektra, která lze použít k diferenciaci mikroorganismů na úrovni rodu a druhu. S vývojem snadno použitelných komerčně dostupných systémů se identifikace organismů metodou MALDI-TOF MS stala standardem praxe v mnoha klinických mikrobiologických laboratořích po celém světě (Bourassa, 2015).

3.5.1 MALDI-TOF: Principy a procesy

Nejjednodušší aplikací MALDI-TOF MS k identifikaci mikroorganismů je analýza nepoškozených mikrobiálních buněk bez rozsáhlé přípravy (Obrázek 8). Testování začíná aplikací čerstvě vypěstované bakteriální nebo kvasinkové kolonie z kultivační misky přímo na cílovou destičku pomocí dřevěné tyčinky, párátko nebo sterilní kličky. K analýze je obvykle zapotřebí koncentrace 10^4 až 10^6 KJT (jednotek tvořících kolonie) testovaného mikroorganismu. Ten je poté překryt roztokem matrice složeným z malých rozpustných kyselých molekul. Mezi běžně používané matricové roztoky patří kyselina α -kyano-4-hydroxycinnamová (HCCA nebo CHCA) a kyselina 2,5-dihydroxybenzoová (DBA). Jak matrice zasychá, mikroorganismus a matrice společně krystalizují a mikroorganismus se do matrice ukládá. U většiny intaktních bakterií dojde ke osmotické lýze (prasknutí buňky) pod vlivem vody, organického rozpouštědla nebo silné kyseliny v roztoku matrice. Po vysušení matrice a mikrobiálního vzorku se cílová destička vloží do ionizační komory přístroje MALDI-TOF MS. Dusíkový laser dodává každému vzorku krátké pulsy energie, což vede k sublimaci matrice a mikrobiálního vzorku z pevné fáze do plynné fáze s výslednou ionizací vzorku. Ionizované molekuly jsou urychlovány elektrickým nábojem a putují vakuovou trubicí směrem k detektoru. Jak se pohybují, ionizované molekuly se oddělují na základě jejich poměru hmotnosti k náboji (tj. m/z). Hmotnostní analyzátor přístroje přesně měří čas, který každý iont potřebuje k dosažení detektoru, a zaznamenává čas letu (TOF) pro generování hmotnostního spektra. MALDI-TOF MS detekuje proteiny, a to převážně ribozomální a cytosolické. Jelikož se složení proteinů liší v různých rodech a druzích bakterií, vytváří se jedinečná spektra. Spektrum musí být poté porovnáno s databází referenčních spekter k identifikaci neznámého mikroorganismu. Celý proces je extrémně rychlý a obvykle trvá méně než 60 sekund od doby laserové pulzace po dokončení dotazování databáze (Bourassa, 2015).



Obrázek 8 — Princip MALDI-TOF MS pro mikrobiální identifikaci (Bourassa, 2015)

3.5.2 Účinnost MALDI-TOF při identifikaci *C. canimorsus* a *C. cynodegmi*

Účinnost MALDI-TOF při identifikaci *C. canimorsus* a *C. cynodegmi* testoval Zangenah a kol. (2012) pomocí klinických izolátů ze vzorků krve a ran, které byly odebrány v letech 2007-2011. Do studie bylo zahrnuto celkem 22 kmenů *C. canimorsus* nebo *C. cynodegmi*. Osm krevních izolátů a 14 izolátů z rány bylo identifikováno na základě hrubé morfologie, Gramova barvení a fenotypových testů (oxidázových a katalázových). Všechny kmeny byly identifikovány jako *C. canimorsus/cynodegmi* sekvenováním 16S rRNA (95–99% homologie sekvence). Standardní metoda molekulárního sekvenování nemohla rozlišovat mezi poddruhem *C. canimorsus* a *C. cynodegmi*, a proto byl jako referenční metoda (metoda, která je podrobně popsána a ověřena) použit protokol PCR využívající druhově specifické primery. Druhově specifická PCR odhalila, že většina izolátů z krve byl *C. canimorsus* (6/8) a z rány *C. cynodegmi* (13/14). VITEK2 byl další metodou identifikace bakterií a správně identifikoval jenom 10/20 izolátů. VITEK2 je fenotypový systém založený na chemických a fermentačních testech. Protože je známo, že *C. canimorsus* a *C. cynodegmi* vykazují při těchto testech nízkou reaktivitu, algoritmus VITEK2 umožňoval identifikaci izolátů pouze na úrovni rodu.

4 Terapie a prevence

Ačkoli je *Capnocytophaga* považována za oportunní patogen u neutropenických hostitelů, protože narušení imunitní odpovědi se shoduje se schopností této bakterie uniknout imunitní reakci, existují případy, kdy byl patogen identifikován u normálního hostitele. U imunokompromitovaných pacientů měla většina podstatnou orální patologii a bakteriémií. Naproti tomu u imunokompetentních hostitelů byl *Capnocytophaga* izolován z různých míst, obvykle při polymikrobiální infekci. Vzhledem k tomu, neexistuje jediný konsenzus o volbě antibiotik a délce léčby (Jolivet-Gougeon, 2007). Okamžitá péče o ránu, jako je omývání, dezinfekce a převazování rány, je přinejmenším stejně důležitá jako antibiotická léčba pro prevenci infekce (Stefanopoulos, 2005).

4.1 Citlivost na dezinfekční prostředky

Ústní dutina, a zejména zubní plak, je hlavním místem výskytu bakterií rodu *Capnocytophaga*. Je tedy nejdůležitějším zdrojem šíření kmenů a hlavním cílem každé preventivní terapie (Idate, 2020). Profylaktický protokol pro pacienty rizikových skupin by měl zahrnovat dobrou ústní hygienu vedoucí ke snížení hladiny plaku. Měla by být doporučena ochrana pacientů s rizikovými faktory a novorozenců před infekcemi nebo zraněními způsobenými domácími zvířaty (Rosenman, 2003). Výsledky týkající se citlivosti rodu *Capnocytophaga* k antiseptickým přípravkům nejsou dobře známy. Ústní vody obsahující chlorhexidin jsou nejpoužívanější a testované a lze je doporučit pro imunokompromitované pacienty s onemocněním parodontu. K dispozici jsou různé koncentrace a formulace; nicméně koncentrace chlorhexidinu v tomto typu produktu je často nedostatečná k zajištění jeho aktivity, protože pomocné látky hrají zásadní roli v modulaci aktivity chlorhexidinu (Jolivet-Gougeon, 2007). Tak použití 1% roztoku jodovaného jodu (komplex jodu a polyvinylpyrrolidonu) a lokální aplikace antibiotik pod dohledem orální hygieny zlepšila stav dásní u pacientů s chronickou neutropenií (Okada, 2001).

4.2 Citlivost na antimikrobiální látky

Většina studií týkajících se citlivosti *Capnocytophaga* k antimikrobiálním látkám byla publikována před rokem 2000, ale klinické zprávy posledních let o infekcích *Capnocytophaga* využívající předchozí údaje zdůrazňují důležitost dobře zvolené empirické terapie (Jolivet-Gougeon, 2007).

V literatuře se k testování antimikrobiální citlivosti nejčastěji používá disková difúzní metoda, diluční metody a E-test. Studie antimikrobiální citlivosti *in vitro* (v kontrolovaném prostředí mimo živou buňku nebo organismus) jsou obtížné a takové výsledky se liší v závislosti na použitých specifikacích nebo rozdílech v testovaných kmenech, zejména s vankomycinem, metronidazolem a aminoglykosidy. Testování citlivosti rodu *Capnocytophaga in vitro* je komplikováno i jejich relativně pomalým růstem a nutností náročných růstových požadavků (Piau, 2013).

4.2.1 Účinná antibiotika

Antibiotikem první volby při infekci *C. canimorsus* je penicilin G, i když byla rezistence prokázána u několika izolátů. Citlivost byla prokázána pomocí diluční a difúzní metody také na imipenem, klindamycin, chloramfenikol, cefalosporiny III. generace, fluorochinolony, erythromycin, doxycyklin a metronidazol (Mendes, 2020). Výsledky ohledně citlivosti na rifampicin, vankomycin, aminoglykosidy, moxalaktam se liší. Minimální inhibiční koncentrace (MIC) vankomycinu se pohybuje v rozmezí od <0,20 µg/ml do 50 µg/ml a od 8 µg/ml do 128 µg/ml. Pro tyto variace nebylo navrženo žádné vysvětlení (Piau, 2013). Rutinní profylaxe amoxicilinem-kyselinou klavulanovou byla navržena pro všechny imunokompromitované pacienty a v případech pozorovaných do 8 hodin po středně těžkých až tržných ranách nebo při postižení kostí a kloubů (Gaastra, 2010). Rozšíření kmenů produkujících β-laktamázy omezuje použití β-laktamů jako léčby první volby, což je základem nutnosti testovat *in vitro* citlivost klinických kmenů (Sixou, 2006). Nicméně dosud nebyl hlášen žádný kmen *C. canimorsus* produkující β-laktamázu (Le Moal, 2003).

4.2.2 Neúčinná antibiotika

Polymyxin, fosfomycin, trimethoprim/sulfamethoxazol, colimycin a aminoglykosidy nejsou proti této bakterii účinné (Tanabe, 2019).

4.3 Prevence infekcí *Capnocytophaga* po kousnutí

Až 20 % zvířecích kousnutí může být zdrojem infekce, nejčastěji polymikrobiální infekce. Obecně rána obsahuje pět typů bakteriálních izolátů, přičemž ve více než polovině případů je to směs aerobních a anaerobních bakterií. Zahájení postexpoziční profylaxe je kontroverzní, ale používá se za jistých okolností, včetně středně těžkých až těžkých kousnutí.

Při léčbě antibiotiky je důležité okamžité vyčištění rány a odstranění poraněných tkání (Piau, 2013). Ačkoli je systémové podávání antimikrobiálních látek u zdravých osob sporné, těm, kterým byla slezina odstraněna, by měla být po kousnutí psem nebo v případě otevřené rány, která přicházela do styku se slinami psa, podána profylaktická antibiotika proti tomuto mikroorganismu. V některých zemích je po kousnutí psem doporučována systémová antibiotická léčba všem osobám (nejen imunokompromitovaným pacientům) (Gaastra, 2010). Pokyny společnosti Infectious Diseases Society of America (IDSA) doporučují použití amoxicilinu/kyseliny klavulanové u pacientů, kteří nejsou alergičtí na peniciliny, k prevenci infekcí způsobených *Streptococcus*, *Pasteurella*, meticilin-rezistentní *Staphylococcus aureus* a anaeroby (Piau, 2013).

4.4 Léčba domácích zvířat

Zdraví psi a kočky by neměli být testováni na *C. canimorsus*. Očekává se, že většina domácích mazlíčků budou pozitivní. Přesto je přenos bakterií rodu *Capnocytophaga* z domácího mazlíčka na člověka v domácnosti velmi nepravděpodobný, především pokud jsou dodržována příslušná opatření. Není jasné, jakého pokroku bude dosaženo v léčbě psů, protože ošetřený pes může být snadno znovu kolonizován *C. canimorsus* po kontaktu s jinými psy. Neexistují žádné zprávy o psech, kteří byli testováni několikrát za určité období. Není tedy známo, zda negativní pes zůstane negativní po celý svůj život, nebo zda pozitivní pes bude mít příště vždy pozitivní výsledek (Gaastra, 2010).

4.5 Terapie

Druhy rodu *Capnocytophaga* jsou obvykle citlivé na mnoho antimikrobiálních látek. Protože některé kmeny produkují β -laktamázu, lékem pro parenterální terapii je kombinace penicilin/ β -laktamáza nebo cefalosporin s rozšířeným spektrem. Užitečné mohou být amoxicilin, ampicilin-klavulanát, piperacilin/tazobaktam, ceftriaxon, cefepim nebo ceftazidim. Pro perorální terapii mírnějších infekcí lze použít klindamycin, doxycyklin nebo fluorochinolony. Karbapenemy mohou být indikovány u smíšených infekcí měkkých tkání s odolnějšími organismy než kapnocytofágy. Aminoglykosidy, antistafylokokové peniciliny, kolistin a cefalosporiny první generace nejsou považovány za účinné (Janda, 2015).

4.5.1 Terapie bakteriémie a endokarditidy

Léčba septikémie nebo endokarditidy způsobené bakteriemi rodu *Capnocytophaga* je zpočátku empirická, protože tyto organismy jsou pomalu rostoucí bakterie. Výsledky citlivosti jsou často k dispozici příliš pozdě u bakteriémie a antibiotikum by mělo být navrženo, jakmile jsou přímým vyšetřením pozorovány gramnegativní fusiformní bacily, zejména na hemokulturách. Většina pacientů je úspěšně léčena širokospektrými antibiotiky, protože mnoho kmenů je stále citlivých na všechna antibiotika (Sandoe, 2004). U vysoce rizikových pacientů s neutropenií by měla být léčba pečlivě zvážena na základě spektra účinnosti antibiotik předepsaných proti běžně izolovaným gramnegativním kmenům: v těchto případech by měla být preferována imipenem/clistatin, vzhledem k tomu, že kmeny rodu *Capnocytophaga* jsou na tuto kombinaci vždy citlivé. Neexistuje však žádná alternativa pro pacienty alergické na peniciliny. Pokud jsou producenti β -laktamázy izolováni u imunokompetentních hostitelů, měly by být předepsány kombinace inhibitorů β -laktamázy nebo klindamycin. Ve všech případech musí být antibiotická léčba revidována podle hodnot MIC (minimální inhibiční koncentrace), což je možné pouze po izolaci kmene (Jolivet-Gougeon, 2007).

4.5.2 Terapie systémových infekcí

Úvodní režim léčby při systémových infekcích závisí na místě rány, závažnosti infekce a charakteristikách pacientů. Účinnost léčby, pravděpodobně zahájená parenterálním podáním β -laktamového antibiotika, musí být vždy potvrzena po izolaci a testování citlivosti bakteriálního kmene *in vitro*. Mohou být použity kombinace inhibitorů β -laktamázy, klindamycinu, linezolidu, tetracyklinu, chloramfenikolu, fluorochinolonů nebo rifampicinu. Imipenem/cilastatin by měl být podáván u komplikovaných infekcí a u pacientů s predisponujícími faktory (pacienti s imunosupresí nebo asplenií, alkoholici) (Bonatti, 2003).

Mohou se objevit i jiné infekce hematogenního původu, jako je amnionitida (infekce dělohy, amniotického vaku, plodu) a následná kolonizace plodu rodem *Capnocytophaga*. Matka a její novorozenec musí být léčeny intravenózně po dobu alespoň 1 týdne. V případech infekcí močových cest, jako je pyonefróza (stav, kdy je ledvina naplněna hnisem), nelze kapnocytofágy izolovat z moči standardními technikami, pouze z hnisu odebraného při operaci, protože mohou být přítomny jiné abscesy, které musí být nejprve chirurgicky vypuštěny. Mohou být také přidána antibiotika, jako jsou fluorochinolony, amoxicilin/kyselina klavulanová nebo klindamycin (Jolivet-Gougeon, 2007).

Délka léčby je kontroverzní, odhaduje se obvykle na několik týdnů. Prognóza infekce *C. canimorsus* je špatná, s celkovou mortalitou 30 %. K prevenci systémových infekcí po kousnutí se doporučuje místní péče a použití amoxicilinu/kyseliny klavulanové nebo tetracyklinu (Wilson, 2016).

4.5.3 Infekce kostí nebo kloubů

Při léčbě infekcí rodem *Capnocytophaga* lokalizovaných v kostech a kloubech je cílem určit jak antimikrobiální léčbu, tak zajistit dobrou difuzi tkáně kostí a kloubů. U infekční artritidy jsou k dosažení tohoto cíle obvykle dostatečná antibiotika odvozená od β -laktamu. Délka léčby akutní artritidy je obvykle 6 týdnů.

Fluorochinolony jsou široce používány u infekční osteoartrózy, často v kombinaci s rifampicinem. Tato kombinace je považována za zlatý standard pro léčbu stafylokokových infekcí. Protože většina kmenů *Capnocytophaga* je citlivá, fluorochinolony by mohly být alternativní léčbou první volby pro dokumentované citlivé kmeny *Capnocytophaga* u pacientů s alergií na β -laktamy.

Klindamycin může být také zajímavou alternativou pro léčbu kostních infekcí díky svému dobrému pronikání do kloubů a známé aktivitě proti anaerobům u různých infekcí *Capnocytophaga*, ale nedoporučuje se jako empirická antibiotická terapie po kousnutí zvířetem (zejména kočkou) a před mikrobiální identifikací kvůli jeho nedostatečné účinnosti u infekcí rodem *Pasteurella* (Piau, 2013).

Bez ohledu na antimikrobiální režim, pokud není dosaženo rychlého zlepšení, je třeba infekci kloubu léčit chirurgickou drenáží nebo debridementem kloubu. Nekróza se může vyvíjet rychle, proto by se operace neměla odkládat a byla provedena buď na počátku, nebo po selhání antibiotik (Hawkins, 2011).

4.5.4 Souhrn — pokyny pro léčbu infekcí *Capnocytophaga*

V tabulce č. 4 jsou uvedena doporučení pro léčbu infekcí *Capnocytophaga* založená na zkušenostech autorů, hlavních literárních přehledech o volbě úspěšné antibiotické léčby a nejnovějších bakteriologických dat zohledňujících nové formy antimikrobiální rezistence.

Tabulka 4 — Doporučení pro léčbu infekcí *Capnocytophaga* (Jolivet-Gougeon, 2007)

Infekce	Imunokompetentní hostitel a/nebo mírné léze	Imunokompromitovaný hostitel, komplikované infekce nebo predisponující faktory
<i>Bakteriémie, endokarditida</i>		
Léčba první linie pro <i>Capnocytophaga</i> neprodukující β -laktamázu	Parenterální širokospektrá antibiotika, včetně β -laktamů	Parenterální širokospektrá antibiotika, včetně β -laktamů
<i>Capnocytophaga</i> produkující β -laktamázu	KIBL Imipenem/cilastatin	KIBL Imipenem/cilastatin Linezolid v kombinaci s jinými antibiotiky Klindamycin v kombinaci s jinými antibiotiky
<i>Meningitida, mozkové abscesy</i>		
Léčba první linie pro <i>Capnocytophaga</i> neprodukující β -laktamázu	Amoxicilin a cefalosporiny III. generace	Širokospektrá parenterální antibiotika
<i>Capnocytophaga</i> produkující β -laktamázu	Imipenem/cilastatin + klindamycin	Imipenem/cilastatin Linezolid
<i>Systémové infekce</i>		
Léčba první linie pro <i>Capnocytophaga</i> neprodukující β -laktamázu	Místní péče (dezinfekce) Chirurgická drenáž, sanitace	Lokální dezinfekce Chirurgická drenáž
<i>Capnocytophaga</i> (kousnutí)	Lokální antibiotika: fluorochinolony, klindamycin Systémová antibiotika: β -laktamy	Klindamycin pro místní použití Systémová KIBL
<i>Capnocytophaga</i> produkující β -laktamázu	Idem + systémová antibiotika KIBL Moxifloxacin Klindamycin	Idem + systémová antibiotika KIBL Moxifloxacin Klindamycin (při alergii na β -laktamy) Linezolid (při alergii na β -laktamy)

Poznámka: KIBL — kombinace inhibitorů β -laktamázy

5 Závěr

Tato práce je zaměřena na bakterii *C. canimorsus*. Bakterie patří do rodu *Capnocytophaga* a je jeho nejvýznamnějším zástupcem. *Capnocytophaga canimorsus* je nesporulující, pomalu rostoucí gramnegativní bacil, který se nachází přirozeně v ústní dutině psů a koček.

Bakterie je původcem zoonotických onemocnění. Přenáší se hlavně kousnutím psem nebo kočkou anebo těsným kontaktem se zvířaty. Nicméně riziko se nakazit *C. canimorsus* pro běžnou populaci je příliš nízké. Mikroorganismus je považován za oportunní patogen, což představuje nebezpečí pro imunokompromitované osoby, jejichž přirozené obranné mechanismy jsou narušeny. Pacienti po splenektomii, alkoholici, lidé s chronickým onemocněním plic a nemocní s hematologickou malignitou tvoří vysoce rizikovou skupinu. Infekce způsobené *C. canimorsus* mohou probíhat jak mírně, tak mít příznaky akutního hnisavého zánětu hlubokých podkožních tkání. Hlavním klinickým projevem infekce je septikemie, která může vést k septickému šoku, gangréně nebo amputaci končetin. Meningitida a endokarditida jsou dalšími nejčastějšími klinickými projevy s nižší mírou úmrtnosti.

Rutinní bakteriologické metody, včetně fermentačních a fenotypových testů, nestačí k správné identifikaci *C. canimorsus* kvůli jeho specifickým požadavkům na živiny a podmínky kultivace. Sekvenování rRNA 16S pomocí polymerázové řetězové reakce a metoda hmotnostní spektrometrie s detekcí matrixovou laserovou desorpční ionizací (MALDI-TOF MS) jsou považovány za "zlatý standard" pro identifikaci *C. canimorsus* a umožňují rozlišovat bakterii mezi poddruhy *Capnocytophaga*.

Léčba infekce způsobené bakteriemi rodu *Capnocytophaga* je často empirická a většina pacientů je úspěšně léčena širokospektrými antibiotiky. Nicméně existují kmeny produkující β -laktamázy, což může ovlivnit volbu antibiotické léčby.

6 Reference

1. BAND, R., D. GAIESKI, M. GOYAL a J. PERRONE, 2011. A 52-Year-Old Man with Malaise and a Petechial Rash. *The Journal of Emergency Medicine* [online]. **41**(1), 39-42. ISSN 07364679. Dostupné z: doi:10.1016/j.jemermed.2007.12.031
2. BONATTI, H., D. ROSSBOTH, D. NACHBAUR, 2003. A series of Infections due to *Capnocytophaga* spp. in immunosuppressed and immunocompetent patients. *Clinical Microbiology and Infection* [online]. **9**(5), 380-387. ISSN 1198743X. Dostupné z: doi:10.1046/j.1469-0691.2003.00538.x
3. BOURASSA, L. a S. BUTLER-WU, 2015. MALDI-TOF Mass Spectrometry for Microorganism Identification. *Current and Emerging Technologies for the Diagnosis of Microbial Infections* [online]. Elsevier, s. 37-85. Methods in Microbiology. ISBN 9780128032978. Dostupné z: doi:10.1016/bs.mim.2015.07.003
4. BUTLER, T., 2015. *Capnocytophaga canimorsus*: an emerging cause of sepsis, meningitis, and post-splenectomy infection after dog bites. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* [online]. **34**(7), 1271-1280. ISSN 0934-9723. Dostupné z: doi:10.1007/s10096-015-2360-7
5. CIANTAR, M., H. NEWMAN, M. WILSON a D. SPRATT, 2005. Molecular Identification of *Capnocytophaga* spp. via 16S rRNA PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis. *Journal of Clinical Microbiology* [online]. **43**(4), 1894-1901. ISSN 0095-1137. Dostupné z: doi:10.1128/JCM.43.4.1894-1901.2005
6. DESAI, S., R. HARRISON a M. MURPHY, 2007. *Capnocytophaga ochracea* causing severe sepsis and purpura fulminans in an immunocompetent patient. *Journal of Infection* [online]. **54**(2), 107-109. ISSN 01634453. Dostupné z: doi:10.1016/j.jinf.2006.06.014
7. DILEGGE, S., V. EDGCOMB a E. LEADBETTER, 2011. Presence of the oral bacterium *Capnocytophaga canimorsus* in the tooth plaque of canines. *Veterinary Microbiology* [online]. **149**(3-4), 437-445. ISSN 03781135. Dostupné z: doi:10.1016/j.vetmic.2010.12.010
8. EDLUKUDIGE KESHAVA, V., H. BHAVSAR, N. GHIONNI, R. BABA a W. MCNAMEE, 2020. Overwhelming Sepsis due to *Capnocytophaga canimorsus* in an Immunocompetent Individual: A Rare Case Study. *Cureus* [online]. ISSN 2168-8184. Dostupné z: doi:10.7759/cureus.10177
9. EHRMANN, E., A. JOLIVET-GOUGEON, M. BONNAURE-MALLET a T. FOSSE, 2013. Antibiotic content of selective culture media for isolation of *Capnocytophaga* species from oral polymicrobial samples. *Letters in Applied Microbiology* [online]. -. ISSN 02668254. Dostupné z: doi:10.1111/lam.12112
10. FERNÁNDEZ V, A., C. JULIET L a M. VALENZUELA M, 2007. *Capnocytophaga* sp. *Revista chilena de infectología* [online]. **24**(1). ISSN 0716-1018. Dostupné z: doi:10.4067/S0716-10182007000100009

11. GAASTRA, W. a L. LIPMAN, 2010. *Capnocytophaga canimorsus*. *Veterinary Microbiology* [online]. **140**(3-4), 339-346. ISSN 03781135. Dostupné z: doi:10.1016/j.vetmic.2009.01.040
12. GALLES, A., E. MONLUN, L. VILLENEUVE a S. POIROT-MAZÈRES, 2020. Méningite à *Capnocytophaga canimorsus*. *Médecine et Maladies Infectieuses* [online]. **50**(8), 754-756. ISSN 0399077X. Dostupné z: doi:10.1016/j.medmal.2020.09.001
13. GODCHAUX, W. a E. LEADBETTER, 1980. *Capnocytophaga* spp. contain sulfonolipids that are novel in procaryotes. *Journal of Bacteriology* [online]. **144**(2), 592-602. ISSN 0021-9193. Dostupné z: doi:10.1128/JB.144.2.592-602.1980
14. GOSSE, L., S. AMRANE, M. MAILHE, G. DUBOURG a J. LAGIER, 2019. *Capnocytophaga sputigena*: An unusual cause of community-acquired pneumonia. *IDCases* [online]. **17**. ISSN 22142509. Dostupné z: doi:10.1016/j.idcr.2019.e00572
15. HANSEN, M. a N. CRUM-CIANFLONE, 2019. *Capnocytophaga canimorsus* Meningitis: Diagnosis Using Polymerase Chain Reaction Testing and Systematic Review of the Literature. *Infectious Diseases and Therapy* [online]. **8**(1), 119-136. ISSN 2193-8229. Dostupné z: doi:10.1007/s40121-019-0233-6
16. HAWKINS, J., A. WILSON a E. MCWILLIAMS, 2011. 'Biting the hand that feeds': fever and altered sensorium following a dog bite. *Case Reports* [online]. **2011**(291), 0820103265-0820103265. ISSN 1757-790X. Dostupné z: doi:10.1136/bcr.08.2010.3265
17. HAZIROLAN, Gulsen, 2020. *Capnocytophaga sputigena*: A rarely encountered gram-negative bacterium in microbiology laboratories. In: *Researchgate.net* [online]. [cit. 2022-06-06]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/347202670_Capnocytophaga_sputigena_A_rarely_encountered_gram-negative_bacterium_in_microbiology_laboratories
18. IDATE, U., K. BHAT, V. KOTRASHETTI, M. KUGAJI a V. KUMBAR, 2020. Molecular identification of *Capnocytophaga* species from the oral cavity of patients with chronic periodontitis and healthy individuals. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology* [online]. **24**(2). ISSN 0973-029X. Dostupné z: doi:10.4103/jomfp.JOMFP_33_20
19. ITO, S., H. HAGIYA, K. KIMURA, 2016. *Capnocytophaga ochracea*-related Bacterium Bacteremia in a Hypertrophic Cardiomyopathy Patient without Neutropenia. *Internal Medicine* [online]. **55**(18), 2731-2735. ISSN 0918-2918. Dostupné z: doi:10.2169/internalmedicine.55.6593
20. JANDA, J. Michael, 2015. *Capnocytophaga*. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases* [online]. Elsevier, 2645-2648.e1. ISBN 9781455748013. Dostupné z: doi:10.1016/B978-1-4557-4801-3.00235-6
21. JANDA, J., M. GRAVES, D. LINDQUIST a W. PROBERT, 2006. Diagnosing *Capnocytophaga canimorsus* Infections. *Emerging Infectious Diseases* [online]. **12**(2), 340-342. ISSN 1080-6040. Dostupné z: doi:10.3201/eid1202.050783

22. JOLIVET GOUGEON, A. a M. HILLAR VELLEND, 2017. *Capnocytophaga* species. In: *Antimicrobe* [online]. [cit. 2020-11-28]. Dostupné z: <http://www.antimicrobe.org/b92.asp>
23. JOLIVET-GOUGEON, A., J. SIXOU, Z. TAMANAI-SHACOORI a M. BONNAURE-MALLET, 2007. Antimicrobial treatment of *Capnocytophaga* infections. *International Journal of Antimicrobial Agents* [online]. **29**(4), 367-373. ISSN 09248579. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijantimicag.2006.10.005
24. KITA, D., S. SHIBATA, Y. KIKUCHI, E. KOKUBU, K. NAKAYAMA, A. SAITO, K. ISHIHARA a J. SCHOTTEL, 2016. Involvement of the Type IX Secretion System in *Capnocytophaga ochracea* Gliding Motility and Biofilm Formation. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. **82**(6), 1756-1766. ISSN 0099-2240. Dostupné z: doi:10.1128/AEM.03452-15
25. LAPIDUS, I. a H. BERG, 1982. Gliding motility of *Cytophaga* sp. strain U67. *Journal of Bacteriology* [online]. **151**(1), 384-398. ISSN 0021-9193. Dostupné z: doi:10.1128/JB.151.1.384-398.1982
26. LE MOAL, G., C. LANDRON, G. GROLLIER, R. ROBERT a C. BURUCOA, 2003. Meningitis Due to *Capnocytophaga canimorsus* after Receipt of a Dog Bite: Case Report and Review of the Literature. *Clinical Infectious Diseases* [online]. **36**(3), 42-46. ISSN 1058-4838. Dostupné z: doi:10.1086/345477
27. LONDON, J., R. CELESK, A. KAGERMEIER a J. JOHNSON, 1985. Emended Description of *Capnocytophaga gingivalis*. *International Journal of Systematic Bacteriology* [online]. **35**(3), 369-370. ISSN 0020-7713. Dostupné z: doi:10.1099/00207713-35-3-369
28. MACREA, M., M. MCNAMEE a T. MARTIN, 2008. Acute Onset of Fever, Chills, and Lethargy in a 36-Year-Old Woman. *Chest* [online]. **133**(6), 1505-1507. ISSN 00123692. Dostupné z: doi:10.1378/chest.07-2566
29. MALLY, M. a G. CORNELIS, 2008. Genetic Tools for Studying *Capnocytophaga canimorsus*. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. **74**(20), 6369-6377. ISSN 0099-2240. Dostupné z: doi:10.1128/AEM.01218-08
30. MENDES, F., F. BRUNIERA, J. SCHMIDT, 2020. *Capnocytophaga sputigena* bloodstream infection in hematopoietic stem cell transplantations: two cases report and review of the literature. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* [online]. **62**. ISSN 1678-9946. Dostupné z: doi:10.1590/s1678-9946202062048
31. MEYERS, B., J. SCHOEMAN, A. GODDARD a J. PICARD, 2008. The bacteriology and antimicrobial susceptibility of infected and non-infected dog bite wounds: Fifty cases. *Veterinary Microbiology* [online]. **127**(3-4), 360-368. ISSN 03781135. Dostupné z: doi:10.1016/j.vetmic.2007.09.004
32. MULDER, A.H., P.G. GERLAG a A.W. VAN DEN WALL BAKE, 2001. Hemolytic uremic syndrome after *Capnocytophaga canimorsus* (DF-2) septicemia. *Clinical Nephrology* [online]. [cit. 2022-06-02]. PMID: 11269682.

33. NOGUERIA, B., A. MARTINI, I. MENEZES, R. SOUZA, F. MARUYAMA, J. RODRIGUES, L. NAKAZATO a V. DUTRA, 2021. Detection of *Capnocytophaga canimorsus* and *Capnocytophaga cynodegmi* in dogs with periodontal disease of Brazil. *Research, Society and Development* [online]. **2021**. ISSN 2525-3409. Dostupné z: doi:10.33448/rsd-v10i13.21146
34. OKADA, M., M. KOBAYASHI, T. HINO, H. KURIHARA a K., MIURA, 2001. Clinical Periodontal Findings and Microflora Profiles in Children With Chronic Neutropenia Under Supervised Oral Hygiene. *Journal of Periodontology* [online]. **72**(7), 945-952. ISSN 0022-3492. Dostupné z: doi:10.1902/jop.2001.72.7.945
35. PARTE, A., J. SARDà CARBASSE, J. MEIER-KOLTHOFF, L. REIMER a M. GÖKER, 2020. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN) moves to the DSMZ. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* [online]. **70**(11), 5607-5612. ISSN 1466-5026. Dostupné z: doi:10.1099/ijsem.0.004332
36. PARTE, A., N. KRIEG a W. LUDWIG, 2011. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume 4. PARTE, A., N. KRIEG, W. LUDWIG. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume 4: the Bacteroidetes, Spirochaetes, Tenericutes (Mollicutes), Acidobacteria, Fibrobacteres, Fusobacteria, Dictyoglomi, Gemmatimonadetes, Lentisphaerae, Verrucomicrobia, Chlamydiae, and Planctomycetes, Edition 2*. s. 174 - 176. ISBN 9780387685724.
37. PERS, C., B. GAHRN-HANSEN a W. FREDERIKSEN, 1996. *Capnocytophaga canimorsus* Septicemia in Denmark, 1982-1995: Review of 39 Cases. *Clinical Infectious Diseases* [online]. **23**(1), 71-75. ISSN 1058-4838. Dostupné z: doi:10.1093/clinids/23.1.71
38. PERS, C., E. TVEDEGAARD, J. CHRISTENSEN a J. BANGSBORG, 2007. *Capnocytophaga cynodegmi* Peritonitis in a Peritoneal Dialysis Patient. *Journal of Clinical Microbiology* [online]. **45**(11), 3844-3846. ISSN 0095-1137. Dostupné z: doi:10.1128/JCM.00761-07
39. PIAU, C., C. ARVIEUX, M. BONNAURE-MALLET a A. JOLIVET-GOUGEON, 2013. *Capnocytophaga* spp. involvement in bone infections: a review. *International Journal of Antimicrobial Agents* [online]. **41**(6), 509-515. ISSN 09248579. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijantimicag.2013.03.001
40. PRASIL, P., L. RYSKOVA, S. PLISEK a P. BOSTIK, 2020. A rare case of purulent meningitis caused by *Capnocytophaga canimorsus* in the Czech Republic – case report and review of the literature. *BMC Infectious Diseases* [online]. **20**(1). ISSN 1471-2334. Dostupné z: doi:10.1186/s12879-020-4760-2
41. ROSENMAN, J., J. REYNOLDS a M. KLEIMAN, 2003. *Capnocytophaga canimorsus* meningitis in a newborn: an avoidable infection. *The Pediatric Infectious Disease Journal* [online]. **22**(2), 204-205. ISSN 0891-3668. Dostupné z: doi:10.1097/01.inf.0000048949.21724.78

42. SANDOE, J, A.T., 2004. *Capnocytophaga canimorsus* endocarditis. *Journal of Medical Microbiology* [online]. **53**(3), 245-248. ISSN 0022-2615. Dostupné z: doi:10.1099/jmm.0.05274-0
43. SARAVOLATZ, L., O. MANZOR, N. VANDERVELDE, J. PAWLAK a B. BELIAN, 2003. Broad-Range Bacterial Polymerase Chain Reaction for Early Detection of Bacterial Meningitis. *Clinical Infectious Diseases* [online]. **36**(1), 40-45. ISSN 1058-4838. Dostupné z: doi:10.1086/345438
44. SIXOU, J., A. AUBRY-LEULIETTE, O. DE MEDEIROS-BATTIST, 2006. *Capnocytophaga* in the dental plaque of immunocompromised children with cancer. *International Journal of Paediatric Dentistry* [online]. **16**(2), 75-80. ISSN 0960-7439. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-263X.2006.00697.x
45. STEFANOPOULOS, P.K. a A.D. TARANTZOPOULOU, 2005. Facial bite wounds: management update. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* [online]. **34**(5), 464-472. ISSN 09015027. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijom.2005.04.001
46. SUZUKI, M., K. IMAOKA, Y. HAGA, 2018. Characterization of three strains of *Capnocytophaga canis* isolated from patients with sepsis. *Microbiology and Immunology* [online]. **62**(9), 567-573. ISSN 03855600. Dostupné z: doi:10.1111/1348-0421.12642
47. SUZUKI, M., M. KIMURA, K. IMAOKA a A. YAMADA, 2010. Prevalence of *Capnocytophaga canimorsus* and *Capnocytophaga cynodegmi* in dogs and cats determined by using a newly established species-specific PCR. *Veterinary Microbiology* [online]. **144**(1-2), 172-176. ISSN 03781135. Dostupné z: doi:10.1016/j.vetmic.2010.01.001
48. TANABE, K., S. OKAMOTO, S. HIRAMATSU ASANO a J. WADA, 2019. *Capnocytophaga canimorsus* peritonitis diagnosed by mass spectrometry in a diabetic patient undergoing peritoneal dialysis: a case report. *BMC Nephrology* [online]. **20**(1). ISSN 1471-2369. Dostupné z: doi:10.1186/s12882-019-1415-x
49. UMEDA, K., R. HATAKEYAMA, T. ABE, K. TAKAKURA, T. WADA, J. OGASAWARA, S. SANADA a A. HASE, 2014. Distribution of *Capnocytophaga canimorsus* in dogs and cats with genetic characterization of isolates. *Veterinary Microbiology* [online]. **171**(1-2), 153-159. ISSN 03781135. Dostupné z: doi:10.1016/j.vetmic.2014.03.023
50. VAN DAM, A., A. VAN WEERT, C. HARMANUS, K. HOVIUS, E. CLAAS a F. REUBSAET, 2009. Molecular Characterization of *Capnocytophaga canimorsus* and Other Canine *Capnocytophaga* spp. and Assessment by PCR of Their Frequencies in Dogs. *Journal of Clinical Microbiology* [online]. **47**(10), 3218-3225. ISSN 0095-1137. Dostupné z: doi:10.1128/JCM.01246-09
51. VAN DUIJKEREN, E., C. VAN MOURIK, M. BROEKHUIZEN, M. LEUVEN, W. GAASTRA a D. HOUWERS, 2006. First documented *Capnocytophaga canimorsus* infection in a species other than humans. *Veterinary Microbiology* [online]. **118**(1-2), 148-150. ISSN 03781135. Dostupné z: doi:10.1016/j.vetmic.2006.07.002

52. WEINBERG, E. D, 2000. Modulation of intramacrophage iron metabolism during microbial cell invasion. *Microbes and Infection* [online]. **2**(1), 85-89. ISSN 12864579. Dostupné z: doi:10.1016/S1286-4579(00)00281-1
53. WESTWELL, A., K. KERR, M. SPENCER a D. HUTCHINSON, 1989. DF-2 infection. *BMJ* [online]. **298**(6666), 116-117. ISSN 0959-8138. Dostupné z: doi:10.1136/bmj.298.6666.116-c
54. WILSON, J., K. KAFETZ a D. FINK, 2016. Lick of death: *Capnocytophaga canimorsus* is an important cause of sepsis in the elderly. *BMJ Case Reports* [online]. **2016**, -2016-215450. ISSN 1757-790X. Dostupné z: doi:10.1136/bcr-2016-215450
55. WORKMAN, H., N. BAILIFF, S. JANG a J. ZINKL, 2008. *Capnocytophaga cynodegmi* in a Rottweiler Dog with Severe Bronchitis and Foreign-Body Pneumonia. *Journal of Clinical Microbiology* [online]. **46**(12), 4099-4103. ISSN 0095-1137. Dostupné z: doi:10.1128/JCM.00173-08
56. YAMAMOTO, T., S. KAJIURA, Y. HIRAI a T. WATANABE, 1994. *Capnocytophaga haemolytica* sp. nov. and *Capnocytophaga granulosa* sp. nov., from Human Dental Plaque. *International Journal of Systematic Bacteriology* [online]. **44**(2), 324-329. ISSN 0020-7713. Dostupné z: doi:10.1099/00207713-44-2-324
57. ZANGENAH, S., V. ÖZENCI, S. BORÄNG a P. BERGMAN, 2012. Identification of blood and wound isolates of *C. canimorsus* and *C. cynodegmi* using VITEK2 and MALDI-TOF. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* [online]. **31**(10), 2631-2637. ISSN 0934-9723. Dostupné z: doi:10.1007/s10096-012-1606-x
58. ZANGENAH, S., 2016. Diagnostic and pathophysiological aspects of *Capnocytophaga canimorsus* infections. Stockholm. ISBN 978-91-7676-429-9. <http://hdl.handle.net/10616/45270>. *Doctoral Theses. Karolinska Institutet*.