Corynebacterium durum a možnosti jeho identifikace

Vítková P.[1], Bechyňková O.[1], Scharfen J.[1], Buchta V.[2]

[1]Oddělení lékařské mikrobiologie a imunologie, Oblastní nemocnice Trutnov, a.s.
[2]Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova, Ústav klinické mikrobiologie, Fakultní nemocnice Hradec Králové

SOUHRN

Corynebacterium (C.) durum je součástí rezidentní flóry dutiny ústní. Jeho podíl na etiologii infekčních onemocnění je nejednoznačný. S vyšším počtem imunoalterovaných pacientů je nutné s ním počítat jako s potenciálním oportunním patogenem. Nejčastěji je izolováno ze sputa, bronchoalveolární lavážní tekutiny, ale také z krve, zejména u imunosuprimovaných pacientů s pneumonií. V tom případě je nutné bakterii přesně identifikovat a nález správně interpretovat. Dříve velmi využívaný komerční test pro určení korynebakterií (API Coryne, BioMerieux) nelze použít pro všechna korynebakteria včetně *C. durum*. Tento druh není obsažen v databázi biotypových čísel. Lze provést porovnání biotypového čísla s údaji v literatuře. K přesnému odlišení od jiných korynebakterií je nutná chemotaxonomická a proteomická analýzy (MALDI-TOF MS), nebo sekvenace genu 16S rRNA. Klíčový je polyfázový přístup využívající poznatky z jednotlivých laboratorních vyšetření.

KLÍČOVÁ SLOVA

Corynebacterium durum – identifikace – MALDI-TOF MS – API Coryne

ABSTRACT

Vítková P., Bechyňková O., Scharfen J., Buchta V.: *Corynebacterium durum* and possibilities of its identification

Corynebaterium (C.) durum is a part of the resident human oral microbiota. Its role in the aetiology of infectious diseases is ambiguous. With the increasing number of immunocompromised patients, it must be considered a potential opportunistic pathogen. It is isolated from the sputum, bronchoalveolar-lavage fluid, as well as blood, especially from immunocompromised patients with pneumonia. In that case, the critical steps involve a correct identification of *Corynebacterium* to the species level and right interpretation of the findings. The previously widely used commercial test for the identification of Corynebacteria (API Coryne, BioMerieux) is not suitable for all species, including *C. durum,* as its biotype number is not included in the database. But the obtained result can be compared with the available literature data. Chemotaxonomic and proteomic analysis (matrix-assisted laser desorption/ionization – time of flight, MALDI-TOF MS) or 16S rRNA sequencing allow for accurate differentiation from the other Corynebacteria species. Nevertheless, these methods are not routinely used in clinical laboratories. A polyphasic approach to the taxonomy based on the data from combined laboratory tests is crucial.

KEYWORDS

Corynebacterium durum – identification – MALDI-TOF MS – API Coryne

Epidemiol Mikrobiol Imunol, 2025; 74(2): 113–117
https://doi.org/10.61568/emi/11-6492/20250428/140417

Corynebacterium durum je oportunní aktinomyceta, která patří do medicínsky významného podřádu *Corynebacterianeae*. Ten zahrnuje čeledi *Corynebacteriaceae*, *Mycobacteriaceae* a *Nocardiaceae.* Jedná se o bakterie velmi odolné k environmentálním faktorům řazené do uměle vytvořené skupiny „aerobních aktinomycet v užším slova smyslu", které často kolonizují dýchací cesty i povrch lidského těla a mohou vyvolat endogenní infekce [10, 21]. Do čeledi *Corynebacteriaceae* a rodu *Corynebacterium* patří také mikroaerofilní druhy jako *C. durum* nebo *C. matruchotii,* které obývají prostředí sliznic dutiny ústní a dýchacích cest [8, 11, 21]. Tyto druhy se překrývají se skupinou „mikroaerofilních aktinomycet" (MAFA), s jinou účelově vytvořenou skupinou bakterií s podobnou morfologií, fenotypovými vlastnostmi a diagnostickou strategií jako u výše zmíněných „aerobních aktinomycet".

Diagnóza infekcí způsobených korynebakteriemi je velmi závislá na možnostech a schopnostech laboratoře tyto mikroorganismy identifikovat [6, 10]. Určení korynebakterií není vždy jednoduchou záležitostí, což platí jak pro rutinní diagnostiku, tak pro sbírkové kmeny (ATCC), protože morfologické i biochemické vlastnosti *C. durum* jsou velmi podobné ostatním korynebakteriím [1, 10]. Rutinní laboratoře mohou využít k diferenciaci izolátů jejich fenotypové vlastnosti, morfologii kolonií, mikroskopii a základní biochemické testy (tab. 1).

proLékaře.cz | 12.4.2026

Tabulka 1. Fenotypové vlastnosti odlišující *Corynebacterium durum* od vybraných aktinomycet [10, 17, 20]
Table 1. Phenotypic characteristics distinguishing *Corynebacterium durum* from selected actinomycetes [10, 17, 20]

Charakteristika	*C. durum*	*Rothia* spp.	*Actinomyces* spp.	*Propionibacterium* spp.	*Nocardia* spp.
Morfologie buněk	dlouhé pleomorfní tyčinky, někdy přítomna vlákna	nepravidelné tyčinky, krátké větvení	tyčinky, koky, někdy rozvětvená vlákna	nepravidelné tyčinky, koky, rozvětvení	vlákna, až terciální větvení, někdy koky
Acidorezistence	negativní/ parciální	negativní	negativní	negativní	pozitivní
Vztah ke kyslíku	aerobní	aerobní	anaerobní/ aerobní	anaerobní/aerobní	aerobní
Obsah G+C mol %	55	47–53	55–69	57–68	–
Mykolové kyseliny (počet uhlíků)	+ (26–36)	–	–	–	+ (44–60)
Fermentace glukózy – hlavní produkt	kyselina propionová	kyselina octová	kyselina jantarová	kyselina propionová	–
Produkce kyseliny z galaktózy	+	V	V	V	V
Produkce kyseliny z manitolu	+	-	V	V	V
Přítomnost β-galaktosidázy	–	–	V	+	+
Přítomnost α-glukosidázy	–	+	V	V	V

Vysvětlivky: + (pozitivní), – (negativní), V (variabilní)
Notes: + (positive), – (negative), V (variable)

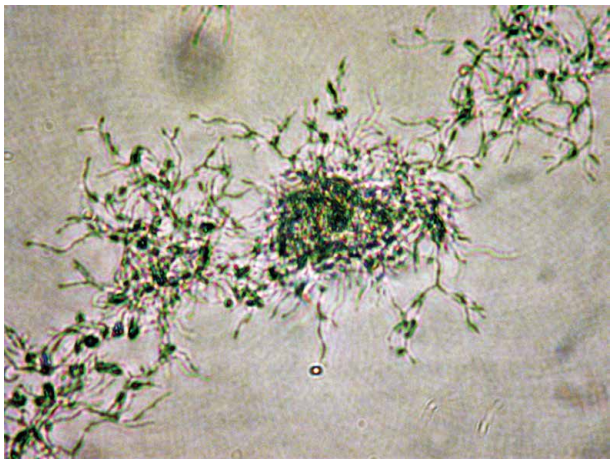
Jako první poukázal na patogenní potenciál *C. durum* v souvislosti s jeho přítomností v klinickém izolátu Riegel et al. (1997) [17], zpětná analýza však odhalila, že už v roce 1971 byl v České republice tento bakteriální druh izolován ze sputa a podrobně popsán Scharfenem (1971). Studovaný kmen byl pod kódovým číslem (RL – 348) součástí sbírky NRL pro patogenní aktinomycety a teprve jeho sekvenace roku 2008 odhalila, že se jednalo o *C. durum* [21].

První izolované kmeny *C. durum* pocházely z respiračních vzorků (sputum, bronchoalveolární lavážní tekutina) imunokompromitovaných pacientů s pneumonií, včetně, jak ukázaly novější studie, u pacientů s cystickou fibrózou [9, 18]. Později byly kmeny *C. durum* vykultivovány také z extrapulmonálních materiálů – abscesů, zánětu dásní a hemokultur [1]. Studium mikrobioty pomocí nových sekvenačních metod, v souladu se staršími nálezy, ukázalo, že *C. durum* hraje především významnou roli ve zdraví dutiny ústní jako prospěšný komenzální druh, pravděpodobně nepřímo prostřednictvím interakcí s orálními streptokoky, takže jeho patogenní potenciál je v současnosti diskutabilní [11, 14, 15, 16, 23].

Corynebacterium durum je kultivačně poměrně náročné, stejně jako ostatní bakterie ve skupině mikroaerofilních aktinomycet. Roste pomalu na Columbia krevním agaru. Za 48 h při 37 °C tvoří v prostředí obohaceném 5 % CO_2 drobné (0,5–1 mm) kompaktní zvrásněné kolonie, které silně adherují k podkladu (obr. 1). Na chudých agarových půdách (Mueller Hintonův agar) je při epimikroskopii možné pozorovat dobře vyvinuté mycelium, uzavřené kolonie s kompaktním středem a větvením na periferii [22] (obr. 2).

Obr. 1. *Corynebacterium durum* kolonie na krevním agaru Columbia, makrofotografie, skutečná velikost kolonie 1 mm
Foto: MUDr. J. Scharfen, ml.
Figure 1. *Corynebacterium durum* colonies on Columbia blood agar, macrophoto. Actual colony size 1 mm.
Photo: J. Scharfen, M.D., Jr.

proLékaře.cz | 12.4.2026

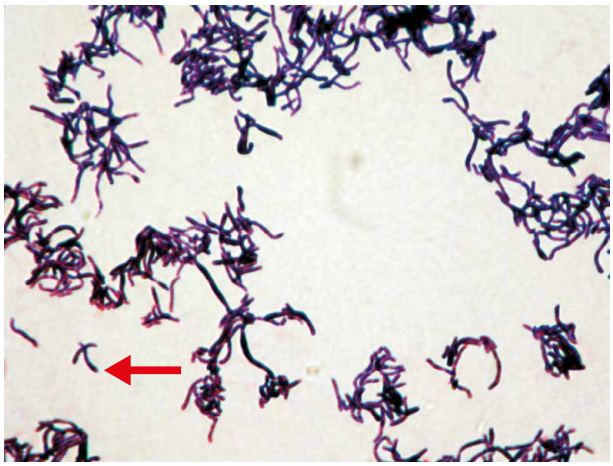


Obr. 2. Epimikroskopie in situ mikrokolonie *C. durum* na MH agaru v procházejícím světle
Zvětšení 400x při sníženém kondenzoru.
Foto: MUDr. J. Scharfen, ml.
Figure 2. In situ epimicroscopy of *C. durum* microcolony on MH agar in transmitted light.
Magnification x400 with reduced condenser aperture.
Photo: J. Scharfen, M.D., Jr.

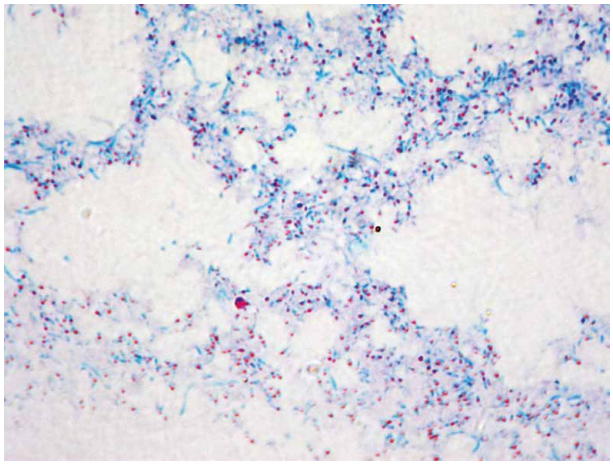
V preparátu barveném dle Grama je možné pozorovat G+ pleomorfní jemné i silnější tyčinky, krátké, některé rohlíčkovitě zahnuté, konce kyjovitě rozšířené. Uspořádání je typické pro korynebakteria do V-forem a palisád. Často se v preparátu vyskytují i krátká vlákna, která se bohatě větví [1, 22] (obr. 3). Při obarvení dle Kinyouna je možné u *C. durum* na rozdíl od jiných korynebakterií sledovat parciální acidorezistenci (krátké fialovočervené úseky a granulka) [22] (obr. 4).

Běžnými biochemickými testy nelze jednoduše odlišit *C. durum* od ostatních aktinomycet. Problém u biochemického testu API Coryne (BioMerieux) je příprava homogenního inokula (McFarland 6) z velmi kompaktních drobných kolonií zákal o hustotě odpovídající stupni 6 McFarlandovy stupnice. Test API Coryne by měl být podle manuálu odečten po 24hodinové inkubaci. Vzhledem k pomalému růstu a biochemické aktivitě bakterie je vhodnější po 24 h odečíst jen enzymatické testy a testy fermentace cukrů až za 48 h [1, 17]. Von Graevenitz [11] prodloužil inkubaci dokonce na 4 dny a teprve po této době odečítal výsledek. Potom však nastává komplikace při hodnocení testu, protože *C. durum* je biochemicky velmi variabilní a odečet výsledku fermentačních reakcí je často subjektivní záležitostí. Výsledkem je množství biotypových skóre, která jsou pro *C. durum* zaznamenána v jednotlivých studiích [1, 3, 11, 17], ale v databázi API Coryne *C. durum* chybí, takže je možné provést pouze porovnání výsledku s údaji v literatuře (tab. 2).

Pro kultivaci a současně předběžnou identifikaci *C. durum* je možné použít i selektivní kultivační médium označené OCM (oral *Corynebacterium* species medium), na kterém orální korynebakteria dobře rostou



Obr. 3. *C. durum* nátěr z kultury obarvený dle Grama, typicky kyjovitě rozšířená tyčinka (šipka vlevo dole)
Zvětšení 1000x, foto: J. Scharfen, ml.
Figure 3. *C. durum* smear from Gram-stained culture, typically a club-shaped rod (arrow bottom left)
Magnification x1000. Photo: J. Scharfen, Jr.



Obr. 4. *C. durum* nátěr z kultury obarvený za studena dle Kyniouna, parciální acidorezistence
Zvětšení 1000x, foto: J. Scharfen, ml.
Figure 4. *C. durum* smear from Kinyoun cold stained culture, partial acid resistance
Magnification x1000. Photo: J. Scharfen, Jr.

Tabulka 2. Publikovaná biotypová čísla 38 testovaných kmenů *C. durum* získaná pomocí API Coryne testu
Table 2. Published biotype numbers of 38 tested *C. durum* strains obtained by the API Coryne test

Biotypové číslo	Publikace
3440335	Barrett et al., 2001
3040335	Barrett et al., 2001
3040135	Riegel et al., 1997 von Graevenitz et al., 1998
3400125	Riegel et al., 1997

proLékaře.cz | 12.4.2026

a díky utilizaci galaktózy je možné *C. durum* odlišit od *C. matruchotii* [24].

Další technologií pro identifikaci je Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization – Time Of Flight (MALDI-TOF) hmotnostní spektrometrie. Metoda je velice přesná a reprodukovatelná [2, 13]. Výhodou použití MALDI-TOF MS je zkrácení doby identifikace z 24–48 hodin na několik minut, a tím i možnosti časného nasazení cílené léčby, která by měla vycházet z místní epidemiologické situace s ohledem na bakteriální rezistenci [12].

Spolehlivost identifikace pomocí hmotnostního spektrometru je vysoká; předčí klasické biochemické testy a vyrovná se genetickým metodám. Výhodou jsou vedle její rychlosti, nepočítáme-li pořizovací cenu hmotnostního spektrometru, také nízké náklady jednotlivých vyšetření [12]. Tímto se parametry identifikace s využitím MALDI-TOF MS technologie přibližují optimálnímu určení druhu/rodu patogena, což je podstatné pro rychlou a spolehlivou diagnostiku s významným benefitem pro pacienta i lékaře. Z pohledu interpretace mikrobiologického nálezu v rámci klinického obrazu pacienta je třeba konfirmovat identifikaci provedenou hmotnostní spektrometrií klasickými bakteriologickými postupy jako je kontrola validity vzorku, Gramovo barvení nebo odečet kultivace mikrobiologem [19].

Vysoké procento (99,1 % z 680 kmenů) úspěšné identifikace koryneformních organismů dosáhl na hmotnostním spektrometru firmy Bruker Daltonics ve své práci Cherkaoui [12], Risch [18] udává ve své studii nižší procento úspěšných identifikací, a to 86,8 % pro 204 kmenů. Oba autoři použili pro ověření výsledků konvenční metody i genetickou analýzu. Většina chybných nebo neproveditelných identifikací je způsobena neúplnými databázemi hmotnostního spektrometru nebo velkou podobností kmenů na úrovni druhu [18]. V databázi hmotnostního spektrometru firmy Bruker Daltonics je *C. durum* zastoupeno několika kmeny, což většinou vede k úspěšné identifikaci, jejíž přesnost lze zlepšit použitím extrakčního kroku pomocí kyseliny mravenčí. Bizzini et al. uvádí, že extrakce sice o pár minut prodlouží identifikaci vzorku, ale zvýší přesnost až o 25 % [4].

Jako zlatý standard identifikace je brána sekvenace genu 16S rRNA a porovnání získaných sekvencí s databázemi již stanovených bakterií (GenBank, RIDOM). Jako metoda volby připadá zejména v případě špatně kultivovatelných bakterií, kam náleží i *C. durum*. Čas identifikace je zkrácen na dobu několika hodin [7, 17, 20]. Sekvenace se v běžných klinických laboratořích rutinně nevyužívá především kvůli ceně, ale pro referenční laboratoře je jednou z důležitých metod identifikace vzácných a nových mikroorganismů či verifikace zvoleného metodického postupu [5].

Ať již laboratoře používají k identifikaci biochemické testy nebo výše uvedené technologie, je nutný především zkušený mikrobiolog, který výsledky vyšetření správně vyhodnotí. Je důležité přistupovat k identifikaci jako k polyfázové taxonomii, kdy se výsledky z jednotlivých metod navzájem potvrzují a skládají v rozsáhlé databáze, kde je možné stanovit neznámé bakterie porovnáním s vlastnostmi již popsaných mikroorganismů. Laboratoře si tímto postupem neustále způsob identifikace zpřesňují. To zlepšuje jejich služby a umožňuje rychlejší a efektivnější diagnostiku a léčbu infekcí.

LITERATURA

1. Barrett SL, Cookson BT, Carlson L, et al. Diversity within Reference Strains of *Corynebacterium matruchotii* Includes *Corynebacterium durum* and a Novel Organism. *Journal of Clinical Microbiology*, 2001,39(3):934–938.
2. Bengali C, Rossi V, Dolina M et al. Matrix Assisted Laser Desorption Ionization – Time of Flight Mass Spectrometry for Identification of Clinically Relevant Bacteria. *Public Library of Science,* 2011,6(1):e16424.
3. Bernard KA, Munro C, Wiebe D, et al. Characteristics of Rare or Recently Described *Corynebacterium* Species Recovered from Human Clinical Material in Canada. *Journal of Clinical Microbiology*, 2002,40(11):4375-4381.
4. Bizzini A, Durussel C, Bille J, et al. Performance of Matrix-Asissted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry for Identification of Bacteria Strains Routinely Isolated in a Clinical Microbiology Laboratory. *Journal of Clinical Microbiology*, 2010, 48(5):1549–1554.
5. Claridge JE. Impact of 16S rRNA Gene Sequence Analysis for Identification of Bacteria on Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Clinical Microbiology Reviews*, 2004,17(4):840–862.
6. Coyle MB and Lipsky BA. Coryneform Bacteria in Infectious Diseases: Clinical ans Laboratory Aspects. *Clinical Microbiology Reviews,* 1990,3(3):2007–246.
7. Drancourt M, Bollet C, Carlioz A, et al. 16S Ribosomal DNA Sequence Analysis of a Large Collection of Environmental and Clinical Unidentificable Bacterial Isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 2000,38(10):3623–3630.
8. Eungyung L, Suhyun P, Sunwoo U, et al. Article Microbiome of Saliva and Plaque in Children According to Age and Dental Caries Experience. *Diagnostics,* 2021,11(8), 1324. Dostupné na www: https://doi.org/10.3390/diagnostics11081324.
9. Francavilla R, Ercolini D, Piccolo M. Salivary Microbiota and Metabolome Associated with Celiac Disease. *Applied and Environmental Microbiology,* 2014,80(11): 3416–3425.
10. Funke G, von Graevenitz A, Clarridge JE, et al. Clinical Microbiology of Coryneform Bacteria. *Clinical Microbiology Reviews,* 1997,10(1):125–159.
11. Von Graevenitz A, Pünter-Stret V, Riegel P, et al. Coryneform Bacteria in Throat Coultures of Healthy Individuals. *Journal of Clinical Microbiology,* 1998,36(7):2087–2088.
12. Cherkaoui A, Hibbs J, Emonet S et al. Comparasion of Two Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spetrometry Methods with Conventional Phenotypic Identification for Routine Identification of Bacteria to the Species Level. *Journal of Clinical Microbiology,* 2010,48(4):1169–1175.
13. Konrad R, Berger A, Hubert I, et al. Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight (MALDI-TOF) Mass Spectrometry as a Tool for Rapid Diagnosis of Potentialy Toxigenic *Corynebacterium* Species in the Laboratory Management of Diphteria--Associated Bacteria. *Euro Surveillance,* 2010,15(43):9–13.
14. Lee E, Park S, Um S, et al. Microbiome of Saliva and Plaque in Children According to Age and Dental Caries Experience. *Diagnostics* (Basel), 2021,11(8):1324. DOI: 10.3390/diagnostics11081324.
15. Qudeimat M, Alyahya A, Karched M, et al. Dental plaque microbiota profiles of children with caries-free and caries--active dentition. *J Dent*., 2021,104:103539. DOI: 10.1016/j.jdent.2020.103539.
16. Redanz U, Redanz S, Treerat P, et al. Differential Response of Oral Mucosal and Gingival Cells to *Corynebacterium durum*, *Streptococcus sanguinis*, and *Porphyromonas gingivalis* Multispecies Biofilms. *Front Cell Infect Microbiol*., 2021,11,686479. DOI: 10.3389/fcimb.2021.686479.

proLékaře.cz | 12.4.2026

17. Riegel P, Heller R, Prevost G, et al. *Corynebacterium durum* sp. Novel., from Human Clinical Specimens. *International Journal of Systematic Bacteriology,* 1997,47(4):1107–1111.
18. Risch M, Radjenovic D, Han JN, et al. Comparasion of MALDI TOF with Conventional Identification of Clinically Relevant Bacteria. *Swiss Medical Weekly,* 2010,140:w13095.
19. Sachio T, Hiroshi U, Tomohiro N. Current Status of Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization –Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) in Clinical Diagnostic Microbiology. *Molecules*, 2020,25:4775. DOI: 10.3390/molecules25204775.
20. Scharfen J. Nokardie – smrtící krásky. *Živa,* 2007,2:50–52.
21. Scharfen J. Laboratorní diagnostika onemocnění vyvolaná MAFA. In: Scharfen J, jr. (ed.). *Mikroaerofilní aktinomycety a aktinomykóza.* Nucleus HK, Hradec Králové, 2010:51–91.
22. Treerat P, Redanz U, Redanz S, et al. Synergism between *Corynebacterium* and *Streptococcus sanguinis* reveals new interactions between oral commensals. *ISME J.*, 2020; 14(5):1154–1169. DOI: 10.1038/s41396-020-0598-2.
23. Tsuzukibashi O, Uchibori S, Shinozaki-Kzwahara N, et al. A selective medium for the isolation of *Corynebacterium* species in oral cavities. *Journal of Microbiological Methods,* 2014,104:(67–71).

Poděkování
Výzkum byl podpořen Grantovou agenturou Univerzity Karlovy, SVV UK, projekt LF HK č. 260544.

Do redakce došlo dne 28. 9. 2024.

Adresa pro korespondenci:
Mgr. Petra Vítková
Oddělení lékařské mikrobiologie a imunologie
Oblastní nemocnice Trutnov a.s.
Maxima Gorkého 77
541 01 Trutnov
e-mail: vitkova.petra@nemtru.cz