

Česká národní sbírka typových kultur – 75 let od jejího založení

Czech National Collection of Type Cultures – 75 years since its foundation

Renáta Šafránková, Petra Španělová

Souhrn • Summary

V letošním roce uplyne 75 let od založení České národní sbírky typových kultur (CNCTC), která působí v rámci Centra epidemiologie a mikrobiologie ve Státním zdravotním ústavu v Praze. CNCTC byla oficiálně ustanovena v r. 1947 jako centrální sbírka lokálních souborů kultur spravovaných jednotlivými národními referenčními laboratorii, navázala na tradici sbírky kultur, založené v SZÚ na konci 20. let minulého století.

Prvním kurátorem byl doc. Juraj Strauss, za jehož působení byly do sbírky zařazeny typové kmeny získané ze zahraničních sbírek, zavedena jednotná dokumentace a evidence kultur a byly uplatněny moderní metody konzervace kmenů (lyofilizace). Dalším kurátorem sbírky se stal dr. Jiří Šourek, který vedl sbírku přes 40 let a významně ji rozšířil až na 5000 kmenů.

Pod jeho vedením byla sbírka už s akronymem CNCTC registrována ve Světové federaci sbírek kultur (WFCC) a v Evropské organizaci sbírek kultur – European Culture Collections Organization (ECCO). Od roku 1999 vedla sbírku doc. MUDr. Helena Žemličková, Ph. D., sbírka získala statut Národní referenční laboratoře (NRL), byla provedena rozsáhlá revize sbírky (biochemické metody).

V roce 2014 byla sbírka předána RNDr. R. Šafránkové, Ph.D., pokračuje revize sbírky pomocí moderních metod (MALDI-TOF MS, sekvenační analýza 16S rRNA, WGS...).

Souhrn činností/aktivit CNCTC: dlouhodobé uchovávání kultur včetně distribuce (prodej), příprava okruhu EHK – Bakteriologická diagnostika, lyofilizace kultur na zakázku, revizní a publikační činnost.

This year marks 75 years since the foundation of the Czech National Collection of Type Cultures (CNCTC), which operates within the Centre for Epidemiology and Microbiology at the National Institute of Public Health (NIPH) in Prague. The CNCTC was officially established in 1947 as a central collection of local collections of cultures managed by individual national reference laboratories, continuing the tradition of the collection of cultures established at NIPH at the end of the 1920s of the last century.

The first curator was doc. Juraj Strauss, during whose tenure type strains obtained from foreign collections were included in the collection, uniform documentation and records of cultures were introduced, and modern methods of strain preservation (lyophilization) were applied. A next curator of the collection was Jiří Šourek, who led the collection for over 40 years and significantly expanded it to 5,000 strains. Under his leadership, the collection, already with the acronym CNCTC, was registered in the World Federation of Culture Collections (WFCC) and in the European Culture Collections Organization (ECCO). From 1999, the collection was led by doc. MUDr. Helena Žemličková, Ph.D. It received the status of the National Reference Laboratory (NRL) and its extensive revision (biochemical methods) was performed.

In 2014, the collection was handed over to RNDr. R. Šafránková, Ph.D.; its revision continues to be carried out using modern methods (MALDI-TOF MS, 16S rRNA sequencing analysis, WGS...).

Summary of CNCTC activities: long-term preservation of cultures including distribution (sale), preparation of EQA (External Quality Assessment) – Bacteriological diagnostics, lyophilization of cultures to order, revision and publication activities.

Zprávy CEM (SZÚ, Praha). 2022; 31(11–12): 469–472

Klíčová slova: sbírky kultur, mikroorganismy, konzervace/prezervace, identifikace

Keywords: collections of cultures, microorganisms, long-term preservation, identification

národní sbírky typových kultur. Při této příležitosti je dobré si připomenout jak některé její milníky, tak i současný stav spolu s výhledem do budoucna.

ÚVOD

Existence sbírek kultur se v dnešním uspěchaném světě může při zběžném pohledu zdát jako něco archaického a překonaného. Nic ale není vzdálenější pravdě, neboť právě

V letošním roce uplyne již neuvěřitelných 75 let od založení jedné z největších sbírek mikroorganismů u nás – České

dnes plní sbírky kultur nezastupitelnou úlohu při ochraně biodiverzity a genofondu ve světě, který se nám doslova mění před očima, když se tzv. *ex situ* (= mimo místo původního výskytu) snaží o uchování organismů v jejich původní a nezměněné podobě.

Počátky sbírkaření v oblasti mikroorganismů u nás zaznamenáváme již v 19. století, kdy obecně dochází k rozmachu oboru mikrobiologie (Pasteur, Koch, Pettenkofer, Lister a mnoho dalších) a kromě vyobrazení dosud neznámých struktur mikroorganismů se začínají se prosazovat snahy o nějakou formu jejich prezervace.

Průkopníkem v tomto směru byl v našich zemích František Král (1846–1911), který v roce 1890 založil první sbírku kultur ve své bakteriologické laboratoři (Kral's Bakteriologisches Laboratorium Prag). Ačkoli sám nikdy nevystudoval vysokou školu, těšil se velké přízni tehdejších lékařů a vědců – pracoval v Ústavu hygieny u prvního profesora hygieny Isidora Soyky [1], na Dermatologické klinice u prof. P. J. Picka, spolupracoval např. s R. Kochem, E. Smithem a dokonce mu byl udělen titul docenta na Německé technické škole, kde vyučoval bakteriologii a mykologii. Díky zkušenostem z předchozího zaměstnání (výroba skla), vyrobil sadu mikroorganismů ve speciálním laboratorním skle, některé z těchto exponátů jsou dosud k vidění ve vídeňském přírodovědném muzeu (Naturhistorisches Museum Wien).

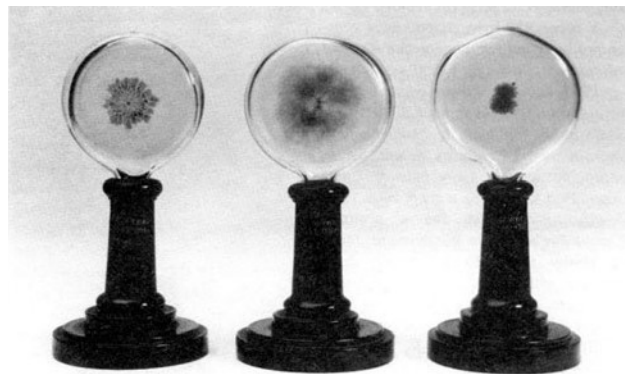
Po smrti F. Krále (1911) byla jeho sbírka dopravena na vídeňskou univerzitu (prof. Ernst Pribram). Část sbírky byla převezena v roce 1927 do Chicaga (USA) a některé kmeny se později dostaly i do největší sbírky mikroorganismů na světě ATCC*, část sbírky byla bohužel zničena před koncem 2. světové války.

Předchůdkyně CNCTC

Krátce po založení Státního zdravotního ústavu (rok 1925), vznikla potřeba uchovávat kmeny, které se používaly pro výrobu diagnostických a terapeutických produktů a dále i zajímavé kmeny patogenních bakterií, které byly izolovány na našem území. Přesný rok založení této předchůdkyně naší sbírky bohužel neznáme, nicméně v současné sbírce ještě jsou zachovány jedny z prvních kmenů z let 1927 a 1928 (*Bacillus anthracis*). Zakladatelem a zároveň vedoucím byl doc. Jaroslav Drbohlav. V průběhu 2. světové války byla kurátorkou paní Marie Kolčinská. Bohužel neexistence náležitých metod dlouhodobé konzervace kultur a z toho vyplývající

* jako příklad koloběhu kmenů sbírkami včetně sbírky Královny je možno uvést i náš kmen CNCTC 5293^T = ATCC 183 *Serratia plymuthica*: CNCTC << ATCC << R. S. Breed << Kral Collection << Abel << B. Fischer. Původní kmen je od pana B. Fischera, který ho v roce 1887 izoloval z vodovodu zásobující město Plymouth (Fischer's Plymouth bacillus, roter Bacillus der Wasserleitung von Plymouth). Přes pana Abela (o němž literatura mlčí) se kmen dostal do sbírky Královny (Kral Collection), po té putoval do USA k významnému mikrobiologovi R. S. Breedovi, následně do ATCC, ze které kmen pro naši sbírku v roce 1961 získal dr. Šourek.

Obrázek 1: Exponáty z původní Královny sbírky ve Vídni



Obrázek 2: Tištěný katalog Královny sbírky z roku 1902 [2]



nutnost častého pasážování vedla postupně k degeneraci většiny kmenů, a to zejména z čeledi *Enterobacteriaceae*.

Doc. MUDr. Juraj Strauss, CSc. (1917–2017)

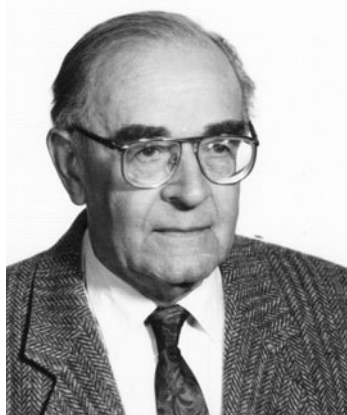
Po skončení 2. světové války, v roce 1947, se zbytku kolekce mikroorganismů, ujal tehdy mladý doktor Strauss, který se výrazně zapsal do začátků novodobé historie sbírky.

Za poměrně krátkou dobu se mu podařilo uskutečnit revizi zbývajících kmenů včetně taxonomické revize, zařadit do sbírky typové kmeny získané ze zahraničních sbírek, zavést jednotnou dokumentaci a evidenci kultur, ale především uplatnit nové metody konzervace a prezervace kultur, zejména lyofilizaci. Úplně první zaznamenané lyofilizáty u několika kmenů druhu *Corynebacterium diphtheriae* z 29. 11. 1950 máme stále uloženy, z čehož lyofilizát od kmene 5704 (= Dim 6/47) byl v roce 1998 ještě prokazatelně životaschopný a posloužil pro výrobu další šarže.

Na závěr svého působení na sbírce doc. Strauss v roce 1950 shromáždil a vydal 1. katalog sbírky kultur.

Bylo by škoda o doktoru, později docentu Strausovi, který měl zároveň i hodnost majora ve výslužbě, nenapsat víc. V letech 1944–45 sloužil u motopraporu u Dunkerque,

Obrázek 3: Doc. MUDr. Juraj Strauss, CSc., vedoucí CNCTC v letech 1947–1950



kde vykonával i práci sanitáře. Po skončení války nastoupil do Státního zdravotního ústavu, kde se po poměrně krátkém, ale intenzivním působení na sbírce kultur, stal vedoucím virologického oddělení a pak výzkumné skupiny exantematických a teratogenních nákaz. Až do svého důchodu působil ve Státním zdravotním ústavu. V letech 1975–1976 byl odeslán do Keni, kde pracoval na projektu Světové zdravotnické organizace – očkování dětí proti spalničkám. V roce 1983 obdržel s dalšími třemi pracovníky státní cenu za eliminaci spalniček v Československu [3].

Pan docent se v obdivuhodné duševní svěžesti dožil požeňnaného věku 100 let a zemřel na jaře 2017.

RNDr. PhMr. Jiří Šourek, DrSc (1925–1993)

Na Státní zdravotní ústav na tehdejší III. odbor nastoupil v roce 1948, kde v roce 1950 dokončil svou disertační (z dnešního pohledu zřejmě rigorózní) práci. V letech 1951–53 vykonával vojenskou prezenční službu, po které se vrací na původní pracoviště, které bylo přebudováno na Ústav epidemiologie a mikrobiologie, a byl pověřen vedením České státní sbírky kultur, na jejíž činnosti se již podílel v dřívějších letech.

Dr. Šourek během svého dlouhého působení sbírku podstatným způsobem rozšířil – až na 4 500 kmenů, jednalo se převážně o patogeny tuzemského původu, ze zahraničí do sbírky přibýly typové kmeny a kmeny vhodné pro určité aplikace.

V roce 1967 se dr. Šourkovi sbírku podařilo zaregistrovat do tehdejší Sekce sbírek kultur, (která vznikla v roce 1963 při Mezinárodní asociaci mikrobiologických společností IAMS) pod názvem Czechoslovak National Collection of Type Cultures a akronymem CNCTC; v roce 1972 již byla sbírka zařazena do Mezinárodní federace sbírek kultur (WFCC – vznikla v roce 1970 reorganizací Sekce sbírek kultur). V roce 1981 byla sbírka zavzata do WDCM (World Data Centre for Microorganisms).

V první polovině 80. let se sbírka též připojila k Evropské organizaci sbírek kultur (ECCO).

Dr. J. Šourkem bylo rovněž připraveno vydání druhé až páté tištěné verze katalogu sbírky kultur (1958, 1969, 1981, 1990).

Obrázek 4: Doc. MUDr. Helena Žemličková, PhD., vedoucí NRL/CNCTC v letech 1999–2014 (vpravo) a dlouholetá pracovnice sbírky paní Eliška Králová při přípravě kmenů k uchování, v pozadí lyofilizátor staršího typu



V roce 1988 dr. Šourek obhájil titul doktora věd, jeho posledním grantovým projektem byla Československá vakcína proti pseudomonádovým infekcím. Publikoval desítky původních vědeckých prací, jeho práce jsou citovány i v Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.

V SZÚ dr. Šourek působil 45 let a byl dlouholetým a oddaným vedoucím sbírky kultur až do své náhlé smrti 27. 8. 1993. Na počest zesnulého dr. Šourka bylo v roce 1999 nazváno nové agens, izolované z humánního klinického materiálu, *Facklamia soureki* [4].

„Novodobé dějiny“

Po úmrtí dr. Šourka byla sbírka několik let spravována různými kurátory, např. dr. Říhou, nicméně jednou z nevyzránějších osobností byla dr. Aldová (1922–2018) – přední česká mikrobioložka zejména v oblasti střevních bakterií.

V roce 1999 se sbírky ujala doc. MUDr. Helena Žemličková, Ph.D. Sbíрка získala statut Národní referenční laboratoře, došlo k rozsáhlé revizi sbírky (biochemické metody + mikrometody pomocí API bioMerieux), některé kmeny byly ze sbírky vyřazeny (špatná identifikace, kontaminace, malá/nulová životaschopnost). V roce 2005 byla pro správu deponátů, nezbytnou pro management sbírky kultur, vyvinuta databázová aplikace využívající systém MySQL, která shromažďuje veškerá data týkající se jednotlivých deponovaných kmenů, ať již jde o informace o původu, taxonomických změnách nebo o konzervaci, růstových testech nebo poskytování kultur. S databází komunikuje laboratorní informační systém pro správu deponátů i webový katalog, který také umožňuje odesílání objednávek na jednotlivé kmeny, podobně

jako v internetovém obchodě. Při tvorbě databáze byl kladen důraz na utřídění informací o jednotlivých kmenech. Proto bylo možné použít strukturovanou databázi k tvorbě různých seznamů nebo rejstříků definovaných uživatelem dle potřeby.

Od roku 2014 sbírku vede RNDr. Renáta Šafránková, Ph.D., dříve Kolínská, která pokračuje v revizi kmenů, především novými metodami (MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie, PCR, sekvenční analýza genu pro 16S rDNA [5, 6, 7, 8]). V posledních letech se díky spolupráci s Vojenským zdravotním ústavem (VZÚ) podařila celogenomová analýza několika sbírkových kultur. Zatím máme osekvenováno několik kmenů, které nebylo možné identifikovat pomocí MALDI-TOF MS ani metodou 16S rRNA. Jednalo se o kmeny izolované z klinických vzorků, např. *Corynebacterium* sp. [9], metodou 16S původně určené jako *C. aquatimens*. Dále druh *Planococcus glaciei* [10], následně kmeny oživené ze starších deponátů (*Staphylococcus aureus* z r. 1947, *S. succinus* a *S. agnetis* z roku 1989). Dále je ve spolupráci s Laboratoří bakteriální genetiky osekvenováno větší množství kmenů rodu *Acinetobacter*. Do budoucna by mohlo být schůdné rozšíření spolupráce s jednotlivými NRL a využití Illuminy MiSeq na SZÚ.

Klinickým a výzkumným laboratořím CNCTC ze svých deponátů v současnosti nabízí 1869 kmenů, které reprezentují 140 rodů, 469 druhů, z toho je 282 typových kultur.

Sbírka též zahrnuje množství bakteriálních rodů a druhů, jejichž názvy jsou spjaty s českou zemí (*Acinetobacter pragensis*, *Acinetobacter bohemicus*, *Budvicia aquatica*, *Pragia fontium*, *Staphylococcus pragensis*) nebo s jejími významnými bakteriologi (*Acinetobacter schindleri*, *Citrobacter sedlakii*, *Staphylococcus petrasii*, *Yersinia aldovae*).

Shrnutí – činnosti CNCTC

- Dlouhodobé uchovávání kultur (uchovávání kmenů dvěma různými způsoby – lyofilizace a zamražení na -80 °C)
- Distribuce – prodej:
 - Kontrolní kmeny: pro testování vlastností kultivačních médií, pro testování citlivosti na antibiotika a vyšetřování specifické antibiotické rezistence, používání pozitivních anebo negativních kontrol v testech při identifikaci mikroorganismů, testování metod sterilizace
 - Kmeny pro vědu, výzkum: jsou využívány jako srovnávací materiál při taxonomické práci, při výuce
- Příprava EHK – okruh Bakteriologická diagnostika od roku 1993, ověření schopnosti účastníků identifikovat bakteriální patogeny a stanovit citlivost k antimikrobním látkám
 - 4× ročně humánní vzorky, 4× ročně veterinární vzorky
 - spolupráce s extramurálními pracovišti na dalších okruzích (Mykologická diagnostika – MUDr. K. Mencl, OKM, Pardubice; Mgr. R. Dobiáš, Ph.D., ZUOVA; Detekce papillomavirů – RNDr. R. Tachezy, Ph.D., ÚHKH)
- Revizní a publikační činnost, viz literatura

- Spolupráce s Pasteurovým institutem [Dr. F. Weill, 11], spolupráce s Vojenským zdravotním ústavem [9, 10].

Budoucnost?

Předvídat budoucnost sbírky v dnešních dnech je věc poněkud ošidná a nejistá, samozřejmě bude záviset především na finanční i personální situaci, možná i na náladě ve společnosti.

Nicméně velmi rádi bychom pokračovali v revizi sbírkových kmenů pomocí celogenomové sekvenace (WGS, NGS), neboť při popisu nových druhů je dnes již metoda NGS prakticky standardem. Chtěli bychom v tomto směru rozvíjet spolupráci s dalšími institucemi, jak s těmi, které se osvědčily v minulosti, tak s i novými potenciálními partnery.

A pokud situace dovolí, dopřáli bychom si rádi nové webové stránky, neb staré dosluhují a pro dnešní potřebu už jim chybí spousta funkcionalit a nespĺňují současné požadavky na bezpečnost, kvalitu, stabilitu a rychlost.

LITERATURA

- [1] Kožíšek F. Hygienik, na kterého se mělo zapomenout (ke 165. výročí narození Isidora Soyky). *Hygiena*. 2015; 60(1): 25-29 | DOI: 10.21101/hygiena.a1370
- [2] Der gegenwärtige Bestand der Kral'schen Sammlung von Mikroorganismen, 1902
- [3] <https://www.pametnaroda.cz/cs/strauss-juraj-20020214-0>
- [4] Collins MD, Hutson RA, Falsen E, Sjødén B. *Facklamia soureki* sp. nov., isolated from human sources. *Int J Syst Bacteriol*. 1999; 49(2): 635-638
- [5] Kolínská R, Dřevínek M, Jakubů V, Žemličková H. Species identification of *Campylobacter jejuni* ssp. *jejuni* and *C. coli* by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry and PCR. *Folia Microbiol (Praha)*. 2008; 53(5): 403-409
- [6] Kolínská R, Dřevínek M, Aldová E, Žemličková H. Identification of *Plesiomonas* spp.: serological and MALDI-TOF MS methods. *Folia Microbiol (Praha)*. 2010; 55(6): 669-672
- [7] Kolínská R, Španělová P, Dřevínek M, Hrabák J, Žemličková H. Species identification of strains belonging to genus *Citrobacter* using the biochemical method and MALDI-TOF mass spectrometry. *Folia Microbiol (Praha)*. 2015; 60(1): 53-59
- [8] Mališová L, Šafránková R, Kečláková J, et al. Correct species identification (reclassification in CNCTC) of strains of *Staphylococcus intermedius*-group can improve an insight into their evolutionary history. *Folia Microbiol (Praha)*. 2019; 64(2): 231-236
- [9] Mališová L, Ježek P, Dresler J, et al. *Corynebacterium* sp. isolated from blood culture of a bacteremic patient. Will the assumptions about a new corynebacterium be confirmed? *Epidemiol Mikrobiol Imunol*. 2021; 70(4): 285-290
- [10] Mališová L, Španělová P, Sedláček I, et al. The first case of *Planococcus glaciei* found in blood, a report from the Czech Republic. *Folia Microbiol (Praha)*. 2022; 67(1): 121-127
- [11] Njamkepo E, Fawal N, Tran-Dien A, et al. Global phylogeography and evolutionary history of *Shigella dysenteriae* type 1. *Nat Microbiol*. 2016; 21(1): 16027

RNDr. Renáta Šafránková, Ph.D.

Mgr. Petra Španělová

NRL – Česká národní sbírka typových kultur (CNCTC)

CEM SZÚ Praha