STAPHYLOCOCCUS AUREUS: NOSIČSTVO, DIAGNÓZY A KOINFEKCIE VO VYBRANEJ DETSKEJ POPULÁCII
STAPHYLOCOCCUS AUREUS: CARRIAGE, DIAGNOSES AND COINFECTIONS IN SELECTED CHILDRENS POPULATION

KAŠLÍKOVÁ Katarína, KROKAVCOVÁ Kristína, MELUŠ Vladimír, KRAJČOVIČOVÁ Zdenka

Fakulta zdravotníctva, Trenčianska univerzita Alexandra Dubčeka v Trenčíne, Trenčín

ABSTRAKT

Východiská: Nosičstvo *Staphylococcus aureus* v populácii detí je z aspektu verejného zdravotníctva dôležitý parameter vzhľadom na neustálu variabilitu jeho antigénnych a sérologických parametrov v dôsledku selekčného tlaku, spôsobeného predovšetkým používaním antibiotík.

Cieľom tejto štúdie bolo zistiť frekvenciu a pretrvávanie kolonizácie *Staphylococcus aureus* v nadväznosti na diagnózy a prítomnosť iných mikroorganizmov.

Metodika a materiál: Vzorky boli spracované a kultivované podľa štandardných mikrobiologických postupov. Pre spracovanie všetkých získaných vzoriek sme použili kultivačnú metódu, následne mikroskopickú metódu. Pre bližšie určenie prítomnosti *Staphylococcus aureus* sme využili biochemickú identifikáciu. Vzorky sterov boli odobrané od detských pacientov narodených v rokoch 2002 - 2013 v sledovanom období január až jún 2016.

Výsledky: Celkovo bolo odobraných 469 vzoriek, z ktorých 122 vykazovalo prítomnosť *Staphylococcus aureus*, čo činilo 26% pozitívnych výsledkov. Spracovali sme výskyt *Staphylococcus aureus* z hľadiska prítomnosti v jednotlivých rokoch narodenia pacientov, kde najväčšie zastúpenie bolo v roku narodenia 2003 (n = 17). Rovnako podľa miesta kolonizácie, kde najfrekventovanejším miestom kolonizácie boli tonzily 78 vzoriek (64%) a druhým najčastejším miestom kolonizácie bola nosová sliznica 34 vzoriek (28%). Taktiež sme určili najčastejšie diagnózy, kde najvyššie percento zastúpenia (25%) mala diagnóza akútny zápal hrtana a priedušnice (J04.2). Zamerali sme sa aj na predpísané antibiotiká, kde prevládalo antibiotikum Klacid 24% a citlivosť na antibiotiká. U 12 diskov sa preukázala 100%-ná citlivosť, u 6 diskov sa pohybovala citlivosť v rozmedzí 70 - 100%. Najvyššia rezistencia sa prejavila u disku testovaného na cefoxitín 91,6%. Zistili sme, že časová dynamika výskytu v jednotlivých ročníkoch narodenia u pozitívnych detí má mierne kolísavú tendenciu, ale len s malými odchýlkami (p = 0,28). V prípade koinfekcií bol najčastejšie prítomný *Streptococcus viridans* (15%).

Záver: Naše výsledky potvrdzujú relatívne vysokú, avšak časovo stabilnú prevalenciu nosičstva *Staphylococcus* aureus v populácii ako aj pokles účinnosti beta-laktámových antibiotík a ich derivátov. V súčasnosti sú v prípade sledovaných kmeňov *Staphylococcus aureus* najúčinnejšími antibiotikami makrolidové deriváty. Vzhľadom na obmedzený počet antibiotík však vzrastajúci počet rezistentných kmeňov predstavuje závažný problém.

Kľúčové slová: *Staphylococcus aureus*. Nosičstvo. Koinfekcie

ABSTRACT

Background: Carriage of *Staphylococcus aureus* in the child population is an important aspect of public health as a parameter due to the constant variability of its antigenic and serological parameters due to the selective pressure caused, in particular, by the use of antibiotics.

The aim of this study was to identify the frequency and persistence of *Staphylococcus aureus* colonization following the diagnosis and presence of other microorganisms.

Methodology and Material: Samples were processed and cultured according to standard microbiological procedures. We used the cultivation method, followed by the microscopic method, to process all the samples obtained. To determine the presence of *Staphylococcus aureus* we have used biochemical identification. Stem samples were collected from pediatric patients born between 2002 and 2013 in the reference period January to June 2016.

Results: A total of 469 samples were taken, of which 122 showed the presence of Staphylococcus aureus, which represented 26% of the positive results. We processed the incidence of *Staphylococcus aureus* in terms of presence in the individual years of birth of patients, with the highest birth rate in 2003 (n = 17). Also, according to the colonization site, where the most frequent colonization site was 78 samples (64%) and the second most frequent colonization site was the nasal mucosa of 34 samples (28%). We also determined the most common diagnoses, where the highest percentage of representation (25%) had a diagnosis of acute inflammation of the larynx and trachea (J04.2). We also focused on the prescribed antibiotics, where antibiotic Klacid prevailed 24% and antibiotic sensitivity. For 12 disks, 100% sensitivity was demonstrated; for 6 disks the sensitivity ranged between 70-100%. The highest resistance was 91.6% for the cefoxitin tested. We found that the time dynamics of births in positive years in the births of the positive children was slightly fluctuating, but only with small variations (p = 0.28). In the case of co-infections *Streptococcus viridans* (15%) was most frequently present.

Conclusion: Our results confirm the relatively high but time-stable prevalence of *Staphylococcus aureus* in the population as well as the decrease in the efficacy of beta-lactam antibiotics and their derivatives. At present, macrolide derivatives are the most effective antibiotics in the case of *Staphylococcus aureus*. However, due to the limited number of antibiotics, the increasing number of resistant strains is a serious problem.

Key words: *Staphylococcus aureus*. Carriage. Coinfection.

ÚVOD

V súčasnej dobe je *Staphylococcus aureus* globálnym problémom pre humánnu a veterinárnu medicínu z dôvodu jeho vyššej adaptovateľnosti k prostrediu, v ktorom sa nachádza. Snaha prežiť ho núti k tvorbe nových účinnejších ochranných

prostriedkov. S týmto je spojená aj zvyšujúca sa rezistencia voči antibiotikám, ku ktorej prispieva aj nadmerné užívanie týchto preparátov. Na predlžovaní pobytu pacientov a zvyšovaní nákladov na liečbu v nemocničných zariadeniach sa podieľajú MRSA (meticilín rezistentný *Staphylococcus aureus*) a VRSA (vankomycín rezistentný *Staphylococcus aureus*).

Najčastejšie používaným antibiotikom (ATB) na liečbu infekcií je oxacilín (methicillin). Toto ATB patrí do skupiny penicilínov, ktoré sú odolné voči penicilinázam. Využívajú sa na liečbu lokálnych, ale aj systémových ochorení spôsobených stafylokokovým pôvodcom a pri zmiešaných infekciách so streptokokmi (infekcia mäkkých tkanív). U ochorenia ako je endokarditída a u celkových infekcií sa kombinuje oxacilín s gentamicínom. V tomto prípade sa využíva synergia účinku oboch ATB. Pri syndróme toxického šoku sa oxacilín podáva spoločne s klindamycínom, ktorý spadá do skupiny linkozamidov. Klindamycín inhibuje proteosyntézu, a tak potláča tvorbu bakteriálnych toxínov. K liečbe ľahších infekcií sa využíva amoxicilín/klavulanát, jedná sa o penicilínové ATB obohatené o inhibítor betalaktamáz [1-3].

MATERIÁL A METÓDY

Vzorky sterov od detských pacientov sa odoberali pomocou komerčne vyrábaných jednorazových detoxikovaných sterilných tampónov. Na mikrobiologický rozbor boli zaslané výtery z hrdla (tonzíl), nosa, rekta, pošvy a ucha. Pri transporte boli vzorky uložené v špeciálne upravenom termoboxe vo vertikálnej polohe. Po doručení do laboratória boli vzorky prevzaté, skontrolované, označené a spracované na mikrobiologické vyšetrenie. Vzorky sterov boli odobrané od detských pacientov narodených v rokoch 2002 – 2013 zo spádovej ambulancie pre deti a dorast v Revúcej.

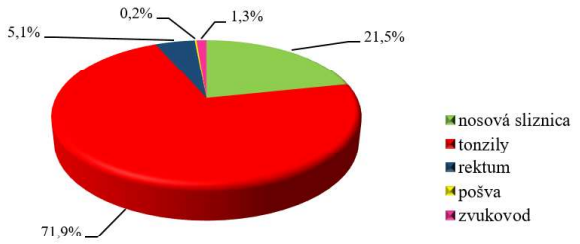
VÝSLEDKY

Počas sledovaného obdobia od januára 2016 do júna 2016 sme sa zamerali na sledovanie výskytu *Staphylococcus aureus* vo vzorkách sterov z nosovej sliznice, tonzíl, rekta, zvukovodu a pošvy. Vzorky boli odobraté od detských pacientov vo vekovej kategórii od 3 do 14 rokov (roky narodenia 2002-2013) zo spádovej oblasti Ambulancie pre deti a dorast v Revúcej. Celkovo sme odobrali 469 vzoriek, z tohto počtu bolo 196 (42%) dievčat a chlapcov 273 (58%). Tabuľka 1 predstavuje prehľad o celkovom počte odobratých vzoriek a poukazuje na konkrétne počty chlapcov a dievčat, u ktorých boli stery vykonané. Percentuálne zastúpenie jednotlivých sterov odobraných detským pacientom narodených v rokoch 2002 – 2013 udáva graf 1. Najväčšie zastúpenie mal ster z tonzíl, čo predstavovalo až 71,9%, ako druhý najčastejšie odobratý ster bol ster z nosovej sliznice 21,5%, ďalej to bol výter z rekta 5,1%, výter zo zvukovodu 1,3% a najmenej bolo výterov z pošvy 0,2%.

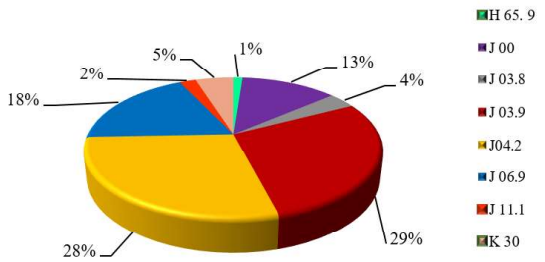
V grafe 2 uvádzame percentuálne zastúpenie diagnóz vyskytujúcich sa u detí v sledovanom období. Najčastejšie stanovenými diagnózami boli J03.9 (nešpecifikovaný akútny zápal mandlí) a J04.2 (akútny zápal hrtana a priedušnice), obe v rovnakom počte 119 pacientov. A práve akútny zápal hrtana a priedušnice dominoval medzi ochoreniami vyvolanými *Staphylococcus aureus* (30 prípadov za sledované obdobie). Uvedená hodnota predstavuje 25% z celkového množstva diagnóz s označením J04.2.

Tabuľka 1 Celkový počet odobratých vzoriek za obdobie január - jún 2016

Rok narodenia (vek)	Počet odobratých vzoriek		
	spolu	chlapci	dievčatá
2002 (14 r.)	35	20	15
2003 (13 r.)	48	28	20
2004 (12 r.)	42	24	18
2005 (11 r.)	36	21	15
2006 (10 r.)	34	21	13
2007 (9 r.)	39	22	17
2008 (8 r.)	40	21	19
2009 (7 r.)	50	30	20
2010 (6 r.	32	23	9
2011 (5 r.)	41	20	21
2012 (4 r.)	35	22	13
2013 (3 r.)	37	21	16
Spolu	469	273	196



Graf 1 Percentuálne zastúpenie všetkých sterov podľa miesta odberu u pacientov z rokov narodenia 2002 až 2013



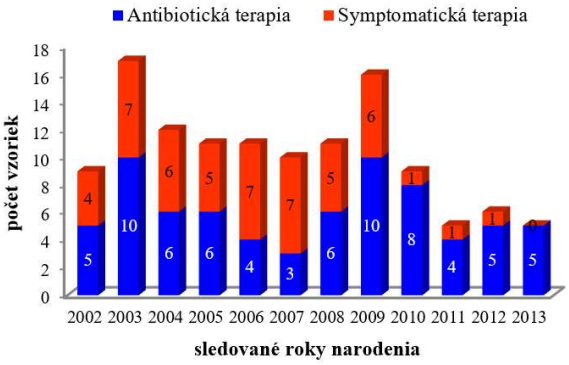
Graf 2 Percentuálne zastúpenie všetkých najčastejšie sa vyskytujúcich diagnóz u detí narodených v rokoch 2002 – 2013

V grafe 3 sme porovnali zastúpenie antibiotickej a symptomatickej terapie u detí narodených v rokoch 2002 - 2013, z ktorého vyplýva prevaha antibiotickej (n = 72) liečby nad symptomatickou (n = 50).

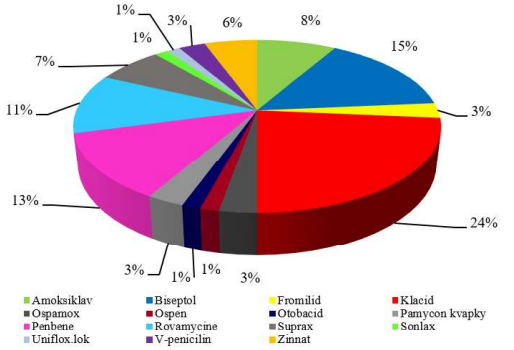
Na liečbu ochorení vyvolaných *Staphylococus aureus* boli použité antibiotiká, ktoré sme percentuálne zobrazili v grafe 4. Z výsledkov vyplýva, že najviac predpisovaným antibiotikom bol Klacid, až v 24%.

V grafe 5 je zobrazené porovnanie výsledkov citlivosti a rezistencie *Staphylococcus aureus* voči uvedeným antibiotikám.

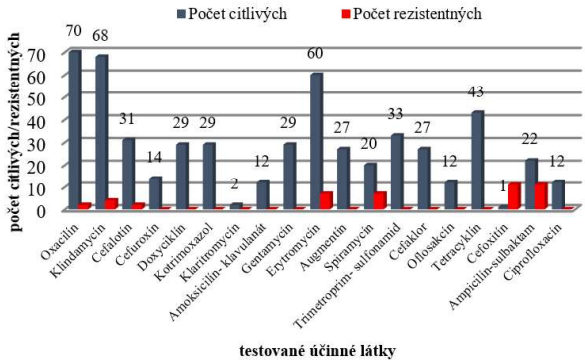
Okrem *Staphylococcus aureus* sme sledovali aj iných pôvodcov ochorení: *Escherchia coli, Haemophilus influenzae, Streptococcus viridans, Streptococcus pyogenes, Staphylcoccus alfa haemolyticus, Neisseria pharyngis, Moraxella catarhalis.* V grafe 6 je znázornené percentuálne vyhodnotenie vybraných baktérií spolu so *Staphylococcus aureus.* Z výsledkov je zrejmé, že *Staphylococcus aureus* (26%) prevláda spomedzi identifikovaných agens. V odobratých steroch od detských pacientov bola v 26% prítomnosť normálnej mikroflóry horných dýchacích ciest (NFHDC).



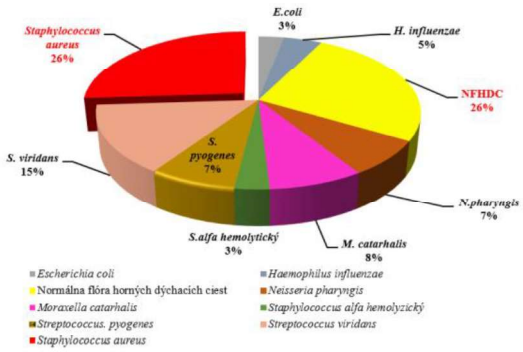
Graf 3 Porovnanie antibiotickej a symptomatickej terapie v daných rokoch narodenia respondentov



Graf 4 Percentuálne zastúpenie ATB použitých na liečbu ochorení spôsobených *S. aureus*

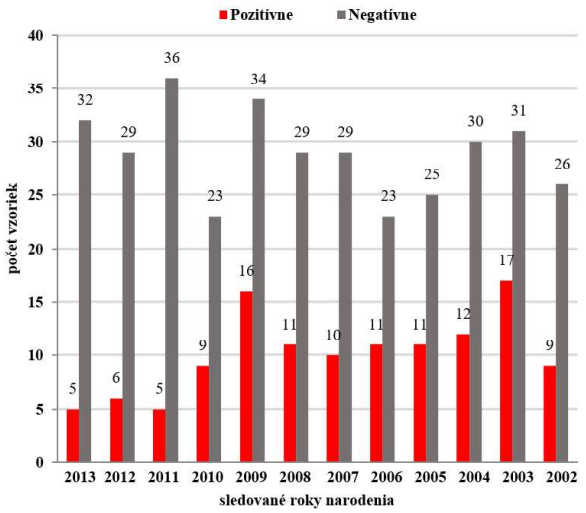


Graf 5 Zobrazenie výsledkov citlivosti a rezistencie kmeňov *Staphylococcus aureus*



Graf 6 Percentuálne zastúpenie všetkých identifikovaných mikroorganizmov

V grafe 7 sme vyhodnotili výskyt *Staphylococcus aureus* v sledovanej skupine detí a zároveň poukázali na časovú dynamiku výskytu. *Staphylococcus aureus* v jednotlivých ročníkoch narodenia mierne kolíše, ale len s malými rozdielmi. U respondentov v roku narodenia 2003 bol izolovaný najvyšší počet pozitívnych vzoriek (n = 17) na prítomnosť baktérie *Staphylococcus aureus* a najnižší počet v rokoch 2011 a 2013 (n = 5).



Graf 7 Časová dynamika výskytu *Staphylococcus aureus* v jednotlivých ročníkoch detí

DISKUSIA

V našej štúdii sme upriamili pozornosť na výskyt *Staphylococcus aureus* vo vzorkách získaných od detských pacientov. Respondenti boli vo vekovej kategórii od 3 do 14 rokov, zo spádovej oblasti Ambulancie pre deti a dorast v Revúcej.

Odberovými miestami v našej práci boli nosová sliznica, povrch tonzíl, výtery z rekta, pošvy a zvukovodu. Zo všetkých vzoriek sme zostavili poradie najčastejšie sa vyskytujúcich kolonizovaných miest v jednotlivých rokoch narodenia detských pacientov (graf 1). Najväčšie zastúpenie vo všetkých skúmaných ročníkov mal ster z tonzíl, predstavoval 337 vzoriek (71,9%), druhé najväčšie zastúpenie mal ster z nosovej sliznice 101 vzoriek (21,5%), z rekta 24 vzoriek (5,1%), zo zvukovodu 6 vzoriek (1,3%) a z pošvy 1 vzorka (0,2%). *Staphylococcus aureus* predstavuje predmet záujmu aj v odborných celosvetových štúdiách.

Esposito a spol. [4] sa vo svojej štúdii zaoberali orofaryngiálnou a nosovou kolonizáciou *Staphylococcus aureus* u zdravých detí. Zamerali sa na vekovú kategóriu od 6 - 17 rokov. Vzorky odobrali v decembri 2013 od 497 detí a adolescentov. Dospeli k výsledku, že u 264 vzoriek (53,1%) bol identifikovaný *Staphylococcus aureus*. V 129 izolátoch (25,9%) potvrdili prítomnosť *Staphylococcus aureus*, ktorý osídľoval orofaryngiálnu oblasť, 195 vzoriek (39,2%) predstavovalo nosovú kolonizáciu, z ktorej 60 vzoriek (12,1%) vykazovalo kombinovanú orofaryngiálnu aj nosovú kolonizáciu. V štúdii uvádzajú, že prítomnosť orofaryngiálneho nosičstva sa priamo úmerne zvyšuje s vekom ($p < 0,001$), zatiaľ čo nosové nosičstvo sa znižuje.

Rovnako aj Aida Hamdan-Partida [5] a spol. vo svojej štúdii odobrali stery od detských pacientov. Získali spolu 1243 vzoriek, z ktorých 743 bolo pozitívnych na prítomnosť *Staphylococcus aureus*. U pozitívnych vzoriek išlo v 46,5% o kolonizáciu tonzíl a v 37,1% o kolonizáciu nosovej sliznice ($p < 0,001$).

Naše zistenia v porovnaní s týmito štúdiami, potvrdili prevládajúci výskyt tonzilového nosičstva nad nosovým u pacientov detského veku.

Tiež nás zaujímali diagnózy, ktoré boli stanovené na základe výsledkov odobratých vzoriek. Z nich sme vybrali 8 najfrekventovanejších (graf 2). Medzi ochoreniami dominoval akútny zápal hrtana a priedušnice (J04.2), čo predstavovalo 30 prípadov (25%) z celkového množstva diagnóz za sledované obdobie. Ostatné diagnózy boli v rôznom a nepravidelnom zastúpení v porovnaní medzi sledovanými ročníkmi.

V našej práci sme získali 122 vzoriek s pozitívnym nálezom *Staphylococcus aureus*, ktorý bol liečený antibiotickou alebo symptomatickou liečbou. V 72 prípadoch boli indikované antibiotiká. Predpisované antibiotiká sme zoradili podľa frekvencie použitia: Klacid s účinnou látkou klarytromycín bol predpísaný v 24%, Biseptol 15%, Penbene 13%, Rovamycine 11%, Amoksiklav 8%, Zinnat 6%, Fromilid 3%, Ospamox 3%, Pamycon kvapky 3%, V-penicilin 3%, Ospen 1%, Otobacid 1%, Sonlax 1%, Suprax 7%, Uniflox lokálne 1%.

Na určenie citlivosti *Staphylococcus aureus* voči použitým antibiotikám sme využili diskový difúzny test. Výsledkom bola 97,2% citlivosť a 2,8% rezistencia na oxacilín, čo svedčí o prítomnosti MRSA, konkrétne v dvoch prípadoch. Ďalej sme testovali citlivosť na klindamycín (citlivých 94,4%, rezistentných 5,6%), na cefalotín (citlivých 93,9%, rezistentných 6,1%), na erytromycín (citlivých 85,6%, rezistentných 10,4%), na spiramycín (citlivých 74,1%, rezistentných 25,9%), na cefoxitín (citlivých

8,4%, rezistentných 91,6%), na ampicilín-sulbaktam (citlivých 66,7%, rezistentných 33,3%). 100%-ná citlivosť sa preukázala v prípade cefuroximu, doxycyklínu, kotrimoxazolu, klaritromycínu, amoksicilín-klavilanátu, gentamycínu, augmentínu, trimetriprim-sulfoamidu, cefakloru, ofloxacínu, tetracyklínu, ciprofloxacínu (graf 5).

Účinnosť antibiotík voči patogénu zohráva hlavnú úlohu pri jeho odstránení z ľudského organizmu, a preto sa mnoho štúdií zaoberá touto problematikou. Aida Hamdan-Pardita a spol. [5] vykonali testy citlivosti *Staphylococcus aureus* na určené antibiotiká a výsledkom bolo percentuálne vyhodnotenie zistenej rezistencie na: penicilín 91,1%, erytromycín 23,1%, tetracyklín 15,5%, cefalotín 7,1%, klindamycín 6,2%. Nanajvýš 2%-ná rezistencia bola dokázaná na ciprofloxacín, fosfomycín, trimetoprim-sulfametoxazol a gentamycín. Nebola nájdená žiadna rezistencia voči vankomycínu. V porovnaní s našimi výsledkami voči erytromycínu sme zistili nižšie percento rezistencie (10,4%), zatiaľ čo citlivosť na tetracyklín bola 100%-ná na rozdiel od hodnoty v štúdii. V prípade cefalotínu (6,1%) a klindamycínu (5,6%) nenastal výrazný rozdiel medzi našou prácou s porovnávanou štúdiou.

Aj ďalšia štúdia, ktorú uskutočnili Chinelo Erbuke a spol. [6] prezentuje, že všetky izoláty *Staphylococcus aureus* boli citlivé na meticilín, no spozorovali odolnosť voči trimetroprim-sulfametoxazolu (15%) a tetracyklínu (34,3%).

Okrem *Staphylococcus aureus* nás zaujímal výskyt ostatných pôvodcov ochorení v sledovanej skupine detí. V 26% vzoriek sme zistili normálnu flóru horných dýchacích ciest a v rovnakom zastúpení sa vyskytol aj *Staphylococcus aureus.* Identifikovali sme *Escherchia coli,* ktorá sa vyskytla v 3% vzoriek, *Haemophilus influenzae* 5% vzoriek, *Streptococcus viridans* 15% vzoriek, *Streptococcus pyogenes* 7% vzoriek, *Staphylcococus alfa haemolyticus* 3% vzoriek, *Neisseria pharyngis* 7% vzoriek, *Moraxella catarhalis* 8% vzoriek. Z týchto výsledkov je zrejmé, že *Staphylococcus aureus* (26%) prevláda spomedzi identifikovaných agens (graf 6). U respondentov v roku narodenia 2003 bol izolovaný najvyšší záchyt izolátov *Staphylococcus aureus* (n = 17) a v rokoch narodenia 2013 a 2011 najnižší, čo predstavovalo 5 pozitívnych vzoriek. Zistili sme, že časová dynamika výskytu v jednotlivých ročníkoch narodenia u pozitívnych detí má mierne kolísavú tendenciu, ale len s malými odchýlkami, ktoré neboli štatisticky významné (p = 0,28). Na základe našich výsledkov a porovnaním údajov z odborných štúdii sa potvrdila prítomnosť *Staphylococcus aureus* v populácii v takej miere, že jeho výskyt zatiaľ nepredstavuje riziko.

ZÁVER

Staphylococcus aureus je bežne vyskytujúci sa ľudský patogén, ktorý je prirodzenou súčasťou ľudskej mikroflóry. Avšak v prípade jedincov s oslabenou imunitou je schopný vyvolať široké spektrum ochorení. Vysokou mierou zapríčiňuje výskyt nozokomiálnych infekcií, ktoré môžu končiť až smrťou.

V práci sme sa zamerali na výskyt *Staphylococcus aureus* a jeho nosičstvo v zdravej populácii. Stanovili sme si ciele, ktoré boli splnené. Pozornosť sme upriamili na detských pacientov vo vekovej kategórii od 3 do 14 rokov, ktoré pochádzali zo spádovej oblasti Ambulancie pre deti a dorast v Revúcej. Po spracovaní a vyhodnotení získaných vzoriek sa nám potvrdila prítomnosť *Staphylococcus aureus* v 26% prípadov, s najčastejším výskytom na tonzilách. Pozitivita bola v porovnaní medzi jednotlivými ročníkmi mierne kolísavá, ale len s malými rozdielmi. Z toho môžeme usúdiť, že výskyt *Staphylococcus aureus* je pod kontrolou s dobrou prognózou.

V súčasnosti sa v súvislosti s infekciami spôsobenými *Staphylococcus aureus* odborníci zameriavajú najmä na rezistenciu k antibiotikám, tvorbu biofilmu a intracelulárne prežívanie. Cieľom ich úsilia je zabezpečiť účinnú elimináciu jeho výskytu a to hlavne správnou identifikáciou patogénu a podporou účelnej preskripcie liekov v primárnej starostlivosti. Dôraz sa taktiež kladie na význam hygienicko-epidemiologických opatrení. Podstatné je zostať obozretným a starostlivo pozorovať vzniknuté klinické prejavy vyvolané *Staphylococcus aureus*.

ZOZNAM BIBLIOGRAFICKÝCH ODKAZOV

[1] BENEŠ, J.: *Infekční lékařství.* Praha, Galén, 2009, 616 s., ISBN 978-80-7262-644-1.

[2] VOTAVA, M.: *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno, Neptun, 2003, 495 s., ISBN 80-902-8966-5.

[3] JINDRÁK, V., HEDLOVÁ, D., URBÁŠKOVÁ, P.: *Antibiotická politika a prevence infekcí v nemocnici.* 1. vyd., Praha, Mladá fronta, 2014, Aeskulap, ISBN 978-80-204-2815-8.

[4] ESPOSITO, S., TERRANOVA, L., ZAMPIERO, A., LERARDI, V., RIOS, W. P., PELUCCHI, [4] C., PRINCIPI, N.: *Oropharyngeal and nasal Staphylococcus aureus carriage by healthy children.* BMC Infect Dis, 2014; 14: 723, doi: 10.1186/s12879-014-0723-9.

[5] HAMDAN-PARTIDA, A., SAINZ-ESPUÑES, T., BUSTOS-MARTINEZ, J.: *Characterization and persistence of Staphylococcus aureus strains isolated from the front Nares and throats of healthy carriers in the Mexican community.* Journal of Clinical Microbiology, 2010; 48 (5): 1701-1705, doi: 10,1128 / JCM.01929-09.

[6] EBRUKE, CH., DIONE, M. M., WALTER, B., WORWUI, A., ADEGBOLA, R. A., ROCA, A., ANTONIO, M.: *High genetic diversity of Staphylococcus aureus strains colonising the nasopharynx of Gambian villagers before widespread use of pneumococcal conjugate vaccine.* BMC Microbiology BMC series – open, inclusive and trusted 201616:38 doi: 10.1186/s12866-016-0661-3, Published: 12 March 2016.