

## První záchyt kmene *Staphylococcus pettenkoferi* v České republice

### *The first isolation of a Staphylococcus pettenkoferi strain in the Czech Republic*

Petr Petráš, Dana Nováková, Ivana Machová, Ivo Sedláček, Roman Pantůček,

#### **Souhrn • Summary**

Koagulázanegativní stafylokoky jsou podmíněně patogenní bakterie, které mohou vyvolat u oslabeného pacienta celou řadu onemocnění, především infekce krevního řečiště. Podrobnou fenotypovou a genetickou analýzou byl v izolátu z hemokultury od pacienta hospitalizovaného na ARO Fakultní nemocnice v Ostravě identifikován poslední z dosud popsáných stafylokokových taxonů, *Staphylococcus pettenkoferi*.

*Coagulase-negative staphylococci are opportunistic pathogens that can cause serious infection, particularly bloodstream infection, in compromised patients. Based on detailed phenotypic and genotypic analysis, a hemoculture isolate from a patient hospitalized in the Department of Anesthesiology and Resuscitation, University Hospital, Ostrava, was identified as Staphylococcus pettenkoferi, the last of the already described staphylococcal taxons.*

Zprávy EM (SZÚ, Praha) 2009; 18(2): 61–63.

**Klíčová slova:** koagulázanegativní stafylokoky, *Staphylococcus pettenkoferi*

**Keywords:** *coagulase negative staphylococci*, *Staphylococcus pettenkoferi*

Záchyty stafylokoků patří v humánním klinickém materiálu mezi nejčastější, jejich hlavní zástupce, *Staphylococcus aureus*, je jedním z nejdůležitějších lidských patogenů. V rodu *Staphylococcus* existuje ke dnešnímu dni 50 validně popsáných taxonů [1]. Asi u poloviny z nich je popisován výskyt v klinickém materiálu. Vedle kmenů *S. aureus* jsou to nejčastěji koagulázanegativní druhy

*S. epidermidis*, *S. haemolyticus* a dva poddruhy *S. hominis*: subsp. *hominis* a subsp. *novobiosepticus*. Koagulázanegativní stafylokoky jsou součástí fyziologické flóry na kůži a sliznicích, ale hrají i roli podmíněných patogenů. U oslabených pacientů (ať již věkem nebo u imunokompromitovaných) mohou vyvolat prakticky stejná onemocnění jako kmeny *S. aureus*. Výjimkou jsou toxikózy (syndromu toxického šoku, exfoliativní dermatitidy, kožní nekrotické infekce, abscedující pneumonie ad.), které působí toxinogenní kmeny *S. aureus*.

Posledním dosud popsáným stafylokokem, který se nachází v humánním klinickém materiálu, je *S. pettenkoferi* (SPE). První dva kmeny SPE byly izolovány a identifi-

fikovány kolektivem německých bakteriologů od pacientů z mnichovské nemocnice v roce 2002 [2]. V prvním případě se jednalo pacienta s extrapulmonární tuberkulózou, kmen byl izolován z hemokultury. Druhý kmen byl zachycen ze stěru pacienta s burzitidou, který trpěl lymfocystickou leukémií. Validní popis tohoto taxonu v IJSEM je z roku 2007 [3].

Ke dvěma zmíněným přibyl ještě kmen z hemokultury pacienta nemocnice v Münsteru a dva izoláty z hemokultur od pacientů v nemocnici v Gosselies v Belgii.

*S. pettenkoferi* je koagulázanegativní stafylokok, citlivý k novobiocinu, fakultativně anaerobní. Samozřejmě se jedná o grampozitivní, katalázapozitivní, nesporulující koky. Dobře rostou na všech běžných půdách pro stafylokoky, kolonie mají průměr 1–2 mm. Podle autorů jsou jeho fenotypové vlastnosti podobné kmenům *S. capitis* subsp. *capitis* a *S. auricularis*. U kmenů je popsána produkce pyrrolidonylarylamidázy, alkalické fosfatázy, ureázy a nitrátreduktázy a dále aerobní okyselení glukózy, sacharózy a fruktózy. Většina ostatních reakcí je negativní, včetně produkce acetoinu, arginindihydrolázy, ornitindekarboxylázy, eskulinhydrolázy a β-galaktosidázy. Podle metod molekulární biologie jsou druhu *S. pettenkoferi* nejbližší *S. auricularis* a *S. cohnii* subsp. *urealyticus* [3].

V literatuře jsou popsány další záchyty tohoto druhu v souvislosti s onemocněním oslabeného jedince. V loňském roce byl Francouzy publikován první případ osteomyelitidy, kterou SPE způsobil [4]. Jednalo se o 63letého diabetika, který prodělal částečnou amputaci chodidla. SPE byl izolován z biopsie kosti. Letos publikovali jihokorejsí bakteriologové infekci krevního řečiště u pacienta s pulmonární tuberkulózou [5], kterou rovněž způsobil kmen *S. pettenkoferi*.

## VLASTNÍ VÝSLEDKY

V únoru 2007 byl do NRL zaslán koagulázanegativní stafylokok z Odboru mikrobiologie a parazitologie Zdravotního ústavu se sídlem v Ostravě. Kmen byl izolován dr. Janou Jančovou ze dvou vzorků krve 37letého muže. Hemokultury byly odebrány na ARO FN Ostrava, kde byl pacient s diagnózou T07 (neurčená mnohočetná poranění) asi 6 týdnů hospitalizován. U pacienta nebyla zjištěna infekce krevního řečiště, je možné, že se jednalo o kontaminaci.

Podle morfologie i biochemických reakcí kmen spíše připomíná mikrokoka, či kocuriu. Na krevním agaru roste v drobných koloniích o průměru do 1 mm, se slabě žlutým pigmentem. Nicméně skutečně se jedná o stafylokok: v preparátu jsou grampozitivní koky, kmen má pozitivní glycerol, produkuje katalázu a je rezistentní k bacitracinu a citlivý k furantoinu.

Testy na clumping-faktor, volnou koagulázu i hyaluronidázu jsou negativní. Kmen má negativní DNázu (po dvoudenní kultivaci je zřetelné projasnění pouze pod koloniemi). Slabě pozitivní byla reakce termorezistentní nukleázy, *nuc* gen, který je za ní zodpovědný, v DNA zjištěn nebyl.

Ze sestavy STAPHYtestu16 má pouze pozitivní ureázu a alkalickou fosfatázu, na nových STAPHYtestech24 má pouze pozitivní ureázu. Na setu API Staph byly pozitivní glukóza, fruktóza, slabě manóza, fosfatáza a sacharóza. V konvenčních testech kmen opožděně aerobně okyseluje glukózu, fruktózu a sacharózu. Slabě pozitivní je test produkce alkalické fosfatázy na Petriho misce. Kmen slabě produkuje pyrrolidonylarylamidázu (má pozitivní PYRtest) a slabě redukuje nitráty. Pozitivní výsledky biochemických reakcí kmene 07/289 jsou uvedeny v tabulce.

V synergickém testu s producentem beta-hemolyzinu (*S. intermedius* CCM 4710) je kmen pozitivní na produkci delta-hemolyzinu.

Kmen je producentem beta-laktamázy, v NRL pro antibiotika byla diluční metodou zjištěna rezistence k oxacilinu (MIC > 32 mg/l), mupirocinu (> 16 mg/l), erytromycinu (> 8 mg/l), klindamycinu (4 mg/l), ciprofloxacinu (8 mg/l) a tobramycinu (16 mg/l). K ostatním protistafylokokovým antibiotikům je kmen citlivý.

Po zadání výsledků reakcí do identifikačního software TNW (verze 7.0) vychází *S. auricularis*, Ident. skóre 95.30, ale T index 0.306 a systém hlásí „neidentifikováno“.

Na České sbírce mikroorganismů a Ústavu molekulární genetiky Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity v Brně byl kmen podroben analýze rep-PCR za použití (GTG)<sub>5</sub> primeru [6, 7]. Tato metoda byla vybrána z širokého spektra molekulárně-biologických metod pro její jednoduchost, rychlost a schopnost spolehlivé identifikace téměř všech validně popsaných druhů stafylokoků.

PCR produkty byly děleny agarózovou elektroforézou, digitalizovány a následně analyzovány pomocí softwaru BioNumerics v. 4.601. Analýza získaných PCR profilů jasně prokázala velkou podobnost testovaného kmene 07/289 s typovou kulturou *Staphylococcus pettenkoferi* (CCM 7495<sup>T</sup>). Podobnost zmíněných kmenů dosáhla 91,1 %, zatímco ostatní kmeny rozličných druhů stafylokoků vybraných z databáze CCM dosahovaly podobnost nanejvýš 45 %.

Tabulka: Pozitivní biochemické reakce u kmene *S. pettenkoferi*, č. NRL 07/289

č.		reakce	zkratka	výsledek u kmene č. NRL 07/289 *
1	aerobní okyselení	sacharóza	SUC	+
2		fruktóza	FRU	+
3		glukóza	GLU	+
4	produkce	ureáza	URE	+
5		alkalická fosfatáza	PHS	+ slabě
7		nitrát reduktáza	NIT	+ slabě
8		pyrrolidonyl arylamidáza	PYR	+ slabě
9		termorezistentní nukleáza	TNA	+ slabě

\* Na komerčních sotech jsou s výjimkou ureázy ostatní pozitivní výsledky buď jen velmi slabě pozitivní nebo úplně negativní. Projeví se při konvenčních reakcích a to opožděně, až druhý i další den.

## ZÁVĚR

Podle dosavadních literárních údajů budou kmeny SPE zřejmě součástí normální bakteriální flóry na lidské pokožce a sliznicích, v případě oslabených pacientů však mohou být příčinou onemocnění podobně jako ostatní podmíněně patogenní koagulázanegativní stafylokoky. Pokud se nám podařilo zjistit, nebyl dosud záchyt *S. pettenkoferi* v české literatuře popsán. Kmen *Staphylococcus pettenkoferi* č.NRL 07/289 je uložen v České sbírce mikroorganismů pod číslem CCM 7521.

**Prof. Max von Pettenkofer** (\* 3.12.1818 Lichtenheim v Bavorsku, + 10.2. 1901 Mnichov), na jehož počest byl nový stafylokok nazván, je zajímavou postavou, především v dějinách německé i evropské hygieny. Studoval farmacii, přírodní vědy a medicínu, promoval jako lékař a měl též aprobaci z lékárnictví. Po dalším studiu chemie byl jmenován profesorem lékařské chemie na mnichovské univerzitě, kde působil jeden čas i jako její rektor. Byl prvním německým profesorem hygieny, v roce 1876 založil a vedl první německý hygienický institut a v letech 1890–1899 byl prezidentem bavorské akademie věd.

Max von Pettenkofer je považován za jednoho ze zakladatelů oboru hygiena. Znamé jsou jeho studie o hygieně půdy, o hygieně ovzduší a větrání, o znečišťování řek odpadními vodami. Energicky bojoval proti systému zaskovacích jam na fekálie, které byly často v blízkosti studní na pitnou vodu. Díky jemu byla v Mnichově zavedena kanalizace a rozvod zdravotně nezávadné vody.

Max von Pettenkofer se věnoval i infekční epidemiologii, zvláště etiologii břišního tyfu a cholery. Byl velice vášnivý diskutér. Populární je jeho polemika z roku 1892 s Robertem Kochem, s kterým se dostal do sporu o příčině epidemii cholery, když prohlásil, že nákaza pochází ze spodní vody. V průběhu veřejné přednášky vlil do sklenice s vodou a sodou suspenzi choleryvých vibríí a vypil ji. Chtěl dokázat, že pouhé požití patogenů nestačí k rozvinutí choroby. Skutečně, kromě průjmu se mu nic nestalo. Nevěděl, že Robert Koch, který byl o kulturu bakterií *Vibrio cholerae* požádán, poslal kmen oslabený a nevirulentní.

## PODĚKOVÁNÍ

Autoři děkují paní Emilii Blažkové za excelentní technickou asistenci a MUDr. Martě Fridrichové z NRL pro ATB za zjištění rezistence k antibiotikům. Dík patří též Mgr. Tereze Škapové z OMP ZÚ Ostrava za zaslání zdravotní dokumentace k případu.

## LITERATURA

1. Petráš, P. Jubilejní padesátý stafylokok. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)* 2007; 16(7): 314–317.
2. Trülsch K, Rinder H, Treck J, Bader L, Wilhelm U, and Heesemann J. 'Staphylococcus pettenkoferi', a novel staphylococcal species isolated from clinical specimens. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002; 43: 175–182.
3. Trülsch K, Grabein B, Schumann P, Mellmann A, Antonenka U, Heesemann J, and Becker K. *Staphylococcus pettenkoferi* sp. nov., a novel coagulase-negative staphylococcal species isolated from human clinical specimens. *Int J Syst Evol Microbiol.*, 2007; 57: 1543–1548.
4. Lodez C, Wallet F, Pischedda P, Renaux E, Senneville E, Mehdi N, Courcol RJ. First case of osteomyelitis caused by *Staphylococcus pettenkoferi*. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 1069–1071.
5. Song SH, Park JS, Kwon HR, Kim SH, Kim HB, Chang HE, Park KU, Song J, Kim EC. Human bloodstream infection caused by *Staphylococcus pettenkoferi*. *J Med Microbiol* 2009; 58(2): 270–272.
6. Gevers D, Huys G and Swings J. Applicability of rep-PCR fingerprinting for identification of *Lactobacillus* species. *FEMS Microbiology Letters* 2001; 205: 31–36.
7. Švec P, Nováková D, Žáčková L, Kukletová M and Sedláček I. Evaluation of (GTG)<sub>5</sub>-PCR for rapid identification of *Streptococcus mutans*. *Antonie Van Leeuwenhoek* 2008; 94: 573–579.

Petr Petráš, Ivana Machová  
NRL pro stafylokoky SZÚ

Dana Nováková, Ivo Sedláček  
Česká sbírka mikroorganismů PŘF MU, Brno

Roman Pantůček  
Ústav experimentální biologie PŘF MU, Brno