

Čtyři nové druhy v rodu *Staphylococcus* popsané v roce 2010

Four novel species of the genus *Staphylococcus* described in 2010

Petr Petráš

Souhrn • Summary

V letošním roce 2010 byly popsány 4 nové druhy stafylokoků. Jsou to *Staphylococcus microti*, *S. rostri*, *S. devriesei*, které byly zachyceny z veterinárního materiálu a *S. massiliensis*, který byl izolován z abscesu mozku u muže po neurochirurgické operaci mozkového nádoru. V příspěvku jsou zmíněny zajímavé záchyty koaguláza pozitivních stafylokoků *S. intermedius*, *S. schleiferi* subsp. *coagulans* a *S. hyicus* ze souboru 3813 humánních izolátů, které byly identifikovány v NRL pro stafylokoky v letech 1998–2009.

Four novel staphylococcal species have been described in 2010, i.e. *Staphylococcus microti*, *Staphylococcus rostri*, and *Staphylococcus devriesei* isolated from veterinary specimens and *Staphylococcus massiliensis* isolated from a human brain abscess sample. The article features coagulase-positive isolates of *S. intermedius*, *S. schleiferi* subsp. *coagulans* and *S. hyicus* identified among 3813 human isolates referred to the National Reference Laboratory for Staphylococci in 1998–2009.

Zprávy EM (SZÚ, Praha) 2010; 19(11): 334–337.

Klíčová slova: *S. microti*, *S. massiliensis*, *S. rostri*, *S. devriesei*, koaguláza pozitivní stafylokoky, taxonomie rodu *Staphylococcus*

Keywords: *S. microti*, *S. massiliensis*, *S. rostri*, *S. devriesei*, coagulase-positive staphylococci, taxonomy of the genus *Staphylococcus*

Do začátku letošního roku byl posledním, jubilejním padesátým stafylokokem *Staphylococcus pettenkoferi*, který byl popsán v hlavním taxonomickém časopise International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology (IJSEM) v červenci 2007 [1]. V letošním roce 2010 se rod *Staphylococcus* rozrostl o 4 nové, validně popsané druhy.

STAPHYLOCOCCUS MICROTI

V březnovém čísle IJSEM vyšel popis druhu *Staphylococcus microti* [2]. První autorkou je dr. Dana Nováková z České sbírky mikroorganismů (CCM) v Brně. Jedná se o šestého stafylokoky, kdy je prvním autorem český bakteriolog. Předchozí jsou *S. intermedius* (1976), *S. chromogenes* (1987), *S. muscae* (1992) a *S. saprophyticus* subsp. *bovis* (1996), kdy je prvním autorem prof. Hájek z Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci a *S. simiae* (2005), kterého uvedl do taxonomie doc. Pantůček z Přírodovědecké Fakulty Masarykovy Univerzity v Brně. Doc. Pantůček je také spoluautorem popisu *S. microti*, dále to jsou doc. Sedláček (PřF MU), prof. Hubálek (Ústav biologie obratlovců Akademie věd ČR v Brně) a kolegové E. Falsen (Göteborg, Švédsko), H.J. Busse (Wien, Rakousko) a P. Schumann (Braunschweig, Německo). Dva kmeny nového druhu byly izolovány při pitvě uhynulých hrabošů polních (*Microtus arvalis*).

S. microti jsou koaguláza negativní, novobiocin citlivé stafylokoky, které mají fylogeneticky i fenotypově nejbližší k druhu *S. muscae*. Podle biochemických testů mohou být od něj dobře odlišeny. Typový kmen byl uložen do brněnské sbírky CCM pod číslem CCM 4903^T.

STAPHYLOCOCCUS MASSILIENSIS

V květnovém čísle IJSEM byl uveden popis dalšího letošního nového stafylokoky, *S. massiliensis* [3]. Autory jsou M. A. Masalma, D. Raoult a V. Roux z mikrobiologických laboratoří nemocnice v Marseille ve Francii. Jeden kmen byl izolován z abscesu v mozku 52letého muže, který byl po neurochirurgické operaci mozkového nádoru. *S. massiliensis* je koaguláza negativní, novobiocin citlivý druh. Podle fenotypových charakteristik je nejbližším druhem *S. pettenkoferi*, ale i od něj ho lze dobře oddělit několika reakcemi. Fylogeneticky je blízký druhům *S. piscifermentans*, *S. condimenti*, oběma poddruhům *S. carnosus* (subsp. *carnosus* a subsp. *utilis*) a též *S. simulans*.

Název dostal podle latinského označení Marseille (Massilia), kde byl zatím jediný kmen izolován (5402776^T).

STAPHYLOCOCCUS ROSTRI

V zářijovém čísle IJSEM byl uveden do taxonomie nový „švýcarský“ druh, *S. rostri* [4]. A. Riesen a V. Perreten z Institutu veterinární bakteriologie Univerzity v Bernu zachytili 20 kmenů koaguláza negativních, novobiocin citlivých stafylokoků z rypáků zdravých prasat (Edelschwein) z různých farem. Všechny kmeny produkovaly delta-hemolyzin. Fenotypově byly blízké dvěma českým veterinárním druhům, *S. muscae* a letos nově popsánému *S. microti*, nicméně je lze dobře diferencovat. Typový

kmenem je ARI 262^T. Označení dostal tento druh podle latinského názvu pro prasečí rypek „rostrum“.

STAPHYLOCOCCUS DEVRIESEI

Poslední letošní nový stafylokok, rovněž koaguláza negativní, novobiocin citlivý, vyšel v prosincovém čísle IJSEM [5]. Popis vychází z vlastností deseti kmenů, které byly izolovány ze stěrů kravských struků a z kravského mléka ze šesti různých dobytčích stád v Belgii a v Nizozemsku. První autorkou je Karlien Supré z Fakulty veterinární medicíny Univerzity v belgickém Gentu, další autoři jsou z různých institucí v Gentu a jeden ze skotského Edinburku. Fylogeneticky jsou nejbližší druhy *S. haemolyticus*, *S. hominis* a *S. lugdunensis*, se kterými má také nejpodobnější vlastnosti fenotypové. Typový kmen má označení KS-SP 60^T.

Poslední letošní nový druh byl pojmenován na počest významného belgického mikrobiologa Luc A. Devriese za jeho velký příspěvek k bakteriální taxonomii, nejen stafylokokové. Je spoluautorem řady publikací, jako první autor je podepsán u popisů druhů *S. hyicus*, *S. caprae*, *S. gallinarum* a *S. pseudintermedius*.

V jiném časopise, než je oficiální IJSEM, vyšly ještě dva popisy nových druhů stafylokoků, které však zatím **nebyly validovány**. Je to „*S. pseudolugdunensis*“, fenotypově nerozlišitelný s druhem *S. lugdunensis*. Dvacet koaguláza negativních kmenů tohoto navrženého druhu bylo izolováno bakteriologi z Vanderbilt University v Nashville v USA z hemokultur [6]. Dalším doposud nevalidovaným druhem je novobiocin rezistentní, oxidáza pozitivní „*S. stepanovicii*“. Pět kmenů našli polští bakteriologové u divokých malých savců (hlodavců a hmyzožravců) [7].

Rod *Staphylococcus* má v současnosti (prosinec 2010) 54 validně popsanych druhů, resp. poddruhů (Tabulka 1). Je to celkem 43 druhů, 9 druhů má 2 a jeden 3 poddruhy.

Základním dělítkem zůstává už přes sto let známý test volné (zkumavkové) koagulázy. Z celku 54 taxonů stafylokoků je 8 koaguláza pozitivních. Kromě nejdůležitějšího druhu *S. aureus*, resp. poddruhu *S. aureus* subsp. *aureus* (anaerobní poddruh *S. aureus* subsp. *anaerobius* je patogenem u ovcí) je možné prakticky zachytit v humánním klinickém materiálu kmeny *S. intermedius* a *S. pseudintermedius*. Obvykle je to po kontaktu se zvířaty, nejtypičtěji po kousnutí psem. Podle literárních údajů i podle našich výsledků bude většina izolátů pocházejících z humánního klinického materiálu představovat spíše kmeny druhu *S. pseudintermedius*, kmeny *S. intermedius* budou asi vzácnější. Rozlišení těchto dvou druhů je možné pouze genotypově [8].

Zbývajících pět koaguláza pozitivních stafylokoků se nachází ve veterinárním materiálu: *S. hyicus* (nejčastěji prasata, hovězí dobytek, koně), *S. delphini* (delfín), *S. aureus* subsp. *anaerobius* (ovce), *S. schleiferi* subsp. *coagulans* (pes) a *S. lutrae* (vydra).

VÝSLEDKY NRL PRO STAFYLOKOKY

V letech 1998–2009 bylo v NRL pro stafylokoky fenotypově identifikováno 3813 kmenů stafylokoků humánního původu, jiných než *S. aureus*. Z těch bylo 59 (1.5 %) kmenů, které jsme určili jako *S. intermedius*. Často se jednalo o zhnisané rány po kousnutí psem, ale také o izoláty z moče a hemokultury. Poté, co byl v roce 2005 Devriese a spolupracovníky popsán nový druh *S. pseudintermedius* bylo zřejmé, že fenotypově nemůžeme tyto dva druhy odlišit. Ve spolupráci s dr. Pavlem Švecem z České sbírky mikroorganismů v Brně bylo 11 kmenů z naší laboratorní sbírky, které jsme měli uloženy jako *S. intermedius*, charakterizováno metodou rep-PCR s primerem (GTG)₅. Tyto PCR metody jsou založeny na shlukové analýze PCR produktů získaných s primery komplementárními k rozptýleným repetitivním sekvencím [9]. Mimo primer (GTG)₅, který je na pracovišti CCM využíván k identifikaci a typizaci některých gram-pozitivních druhů bakterií, jsou v bakteriální taxonomii nejčastěji využívány také primery BOX, ERIC a REP.

K našemu překvapení bylo touto metodou 10 kmenů, fenotypově určených jako *S. intermedius*, jednoznačně identifikováno jako *S. pseudintermedius*; jeden zbývající kmen se nepodařilo přiřadit k žádnému referenčnímu PCR profilu, a tudíž nebyl identifikován.

K rep-PCR jsme poslali další soubor 27 kmenů. Z těch bylo touto metodou 26 kmenů opět identifikováno jako *S. pseudintermedius* a konečně jeden kmen se zařadil do shluku k typovému kmeni *S. intermedius* [8]. Výsledky rep-PCR byly následně potvrzeny i doc. Romanem Pantůčkem z Ústavu experimentální biologie PřF MU v Brně, který analyzoval vybrané kmeny metodou sekvenace genu pro β podjednotku RNA polymerázy (*rpoB*).

Ze souboru vybraných 38 našich sbírkových kmenů je to tedy zatím jediný humánní kmen *S. intermedius*. Má laboratorní číslo č. NRL/St 03/087 a je uložen v brněnské sbírce pod číslem CCM 7843. Poslala nám ho v únoru 2003 dr. Petra Havlová z mikrobiologického oddělení nemocnice v Duchcově. Kmen byl izolován ze zhnisané oční spojivky 25letého muže jako pravděpodobné etiologické agens konjunktivitidy.

Z ostatních koagulázopozitivních kmenů „non-*S. aureus*“ byly v souboru 3813 humánních kmenů diagnostikovaných v naší laboratoři v rozmezí 1998–2009 identifikovány i dva kmeny „psího“ poddruhu *S. schleiferi* subsp. *coagulans*. První kmen, č. NRL/St 00/762, byl izolován v září 2000 dr. Blankou Prokúpkovou z kladenské laboratoře ze zhnisané rány na ruce 42letého muže. Druhý (č. NRL/St 04/694) poslala dr. Eva Šimečková v říjnu 2004 ze strakonické nemocnice. Byl izolován ze zanedbané zhnisané rány na noze u staršího muže, který šlápl na hřebík.

V laboratorní sbírce máme i jeden humánní kmen *S. hyicus*. Kmen izolovala z výtěru ucha rovněž dr. Šimečková od 30leté ženy s akutním hnisavým zánětem středního ucha. Dr. Šimečková kmen identifikovala a poslala ke confirmaci v dubnu 2001. Byl uložen v laboratorní sbírce pod č. NRL/St 01/298.

Tabulka 1: PŘEHLED TAXONŮ V RODU *STAPHYLOCOCCUS* (prosinec 2010)

Č.	DRUH / PODDRUH	VÝSKYT			ROK	1. AUTOR
		ČLOVĚK	ZVÍŘE	POTRAVINA		
1	<i>S. aureus</i> subsp. <i>aureus</i> K +	člověk	zvíře	potravina, prostředí	1884	Rosenbach
2	<i>S. epidermidis</i>	člověk	zvíře	prostředí	1916	Evans
3	<i>S. saprophyticus</i> subsp. <i>saprophyticus</i>	člověk			1951	Shaw
4	<i>S. capitis</i> subsp. <i>capitis</i>	člověk			1975	Kloos
5	<i>S. cohnii</i> subsp. <i>cohnii</i>	člověk			1975	Schleifer
6	<i>S. haemolyticus</i>	člověk	zvíře	prostředí	1975	Schleifer
7	<i>S. hominis</i> subsp. <i>hominis</i>	člověk			1975	Kloos
8	<i>S. simulans</i>	člověk			1975	Kloos
9	<i>S. warneri</i>	člověk			1975	Kloos
10	<i>S. xylosus</i>	člověk	zvíře		1975	Schleifer
11	<i>S. intermedius</i> K +	člověk	zvíře		1976	Hájek
12	<i>S. sciuri</i> subsp. <i>sciuri</i>	člověk	zvíře		1976	Kloos
13	<i>S. hyicus</i> K +		zvíře	potravina	1978	Devriese
14	<i>S. carnosus</i> subsp. <i>carnosus</i>			uzeniny	1982	Schleifer
15	<i>S. auricularis</i>	člověk			1983	Kloos
16	<i>S. caprae</i>	člověk		kozí mléko	1983	Devriese
17	<i>S. gallinarum</i>		drůbež		1983	Devriese
18	<i>S. lentus</i>	čl. zřídka	zvíře		1983	Schleifer
19	<i>S. saccharolyticus</i> an.)	člověk			1984	Kilpper-Bälz
20	<i>S. arlettae</i>		koza, drůbež		1985	Schleifer
21	<i>S. equorum</i> subsp. <i>equorum</i>		kůň		1985	Schleifer
22	<i>S. kloosii</i>		divoká zvířata		1985	Schleifer
23	<i>S. aureus</i> subsp. <i>anaerobius</i> an.) K +		ovce		1985	DeLaFuente
24	<i>S. chromogenes</i>		zvíře	mléko	1987	Hájek
25	<i>S. lugdunensis</i>	člověk			1988	Freny
26	<i>S. schleiferi</i> subsp. <i>schleiferi</i>	člověk			1988	Freny
27	<i>S. delphini</i> K +		delfín		1988	Varaldo
28	<i>S. felis</i>		kočka		1989	Igimi
29	<i>S. schleiferi</i> subsp. <i>coagulans</i> K +		pes		1990	Igimi
30	<i>S. capitis</i> subsp. <i>urealyticus</i>	člověk			1991	Bannerman
31	<i>S. cohnii</i> subsp. <i>urealyticus</i>	člověk	zvíře		1991	Kloos
32	<i>S. muscae</i>		moucha, vepř		1992	Hájek
33	<i>S. piscifermentans</i>			marinované ryby	1992	Tanasupawat
34	<i>S. pasteurii</i>	člověk	zvíře	potravina	1993	Chesneau
35	<i>S. vitulinus</i>	čl. zřídka	zvíře	potravina	1994	Webster
	<i>S. pulvereri</i> = <i>S. vitulinus</i>	člověk	zvíře		1995	Zakrzewska
36	<i>S. saprophyticus</i> subsp. <i>bovis</i>		zvíře		1996	Hájek
37	<i>S. sciuri</i> subsp. <i>carnaticus</i>			masové výrobky	1997	Kloos
38	<i>S. sciuri</i> subsp. <i>rodentium</i>		hlodavci		1997	Kloos
39	<i>S. lutrae</i> K +		vydra říční		1997	Foster
40	<i>S. succinus</i> subsp. <i>succinus</i>			„jantar“ *)	1998	Lambert
41	<i>S. condimentii</i>			sojová omáčka	1998	Probst
42	<i>S. carnosus</i> subsp. <i>utilis</i>			potraviny	1998	Probst
43	<i>S. hominis</i> subsp. <i>novobiosepticus</i>	člověk			1998	Kloos
44	<i>S. fleurettii</i>			sýr z kozího mléka	2000	Vernozy-Rozand
45	<i>S. succinus</i> subsp. <i>casei</i>			zrající sýr	2003	Place
46	<i>S. equorum</i> subsp. <i>linens</i>			zrající sýr	2003	Place
47	<i>S. nepalensis</i>		kozy v Himalájích		2003	Spergser
48	<i>S. pseudintermedius</i> K +	člověk	zvíře		2005	Devriese
49	<i>S. simiae</i>		kotul veverovitý		2005	Pantůček
50	<i>S. pettenkoferi</i>	člověk			2007	Trülsch
51	<i>S. microti</i>		hraboš obecný		2010	Nováková
52	<i>S. massiliensis</i>	člověk			2010	Masalma
53	<i>S. rostri</i>		prase		2010	Riesen
54	<i>S. devriesei</i>		kráva	mléko	2010	Supré
	zatím nevalidovány:					
	<i>S. pseudolugdunensis</i>	člověk			2008	Tang
	<i>S. stepanovicii</i>		hlodavci, hmyzožravci		2010	Hauschild

K+ = koaguláza pozitivní; an.) = striktně anaerobní; *) *S. succinus* subsp. *succinus* byl izolován ve zbytcích třetího ročníku rostlin zakonzervovaných v jantaru.

Paní doktorka Eva Šimečková, primářka Centrálních laboratoří a úseku klinické mikrobiologie Nemocnice Strakonice, se stala držitelkou **Ceny zlatého stafylokoka za rok 2010**. BLAHOPŘEJEME! Tato Cena, udělovaná za výjimečnou spolupráci s naší laboratoří, je vyhlašována již od roku 1993. Dosud ji získalo 23 kolegů.

O zajímavých nálezech koaguláza negativních stafylokoků budeme referovat v některém z příštích čísel Zpráv EM.

PODĚKOVÁNÍ

Autor děkuje RNDr. Pavlu Švecovi, Ph.D. z České sbírky mikroorganismů v Brně za spolupráci při určování obtížně identifikovatelných stafylokoků i za kritickou diskusi během přípravy rukopisu.

LITERATURA

- [1] Trülsch K, Grabein B, Schumann P, et al. *Staphylococcus pettenkoferi* sp. nov., a novel coagulase-negative staphylococcal species isolated from human clinical specimens. *Int J Syst Evol Microbiol* 2007; 57(7): 1543–1548.
- [2] Nováková D, Pantůček R, Hubálek Z, Falsen E, Busse HJ, Schumann P, Sedláček I. *Staphylococcus microti* sp. nov., isolated from the common vole (*Microtus arvalis*) *IJSEM* 2010; 60(3): 566–573.
- [3] Masalma MA, Raoult D, Roux V. *Staphylococcus massiliensis* sp. nov., isolated from human brain abscess. *IJSEM* 2010; 60(5): 1066–1072.
- [4] Riesen A, Perreten V. *Staphylococcus rostri* sp. nov., a haemolytic bacterium isolated from the noses of healthy pigs. *IJSEM* 2010; 60(9): 2042–2047.
- [5] Supré K, De Vlieghe S, Cleenweck I, et al. *Staphylococcus devriesei* sp. nov., isolated from teat apices and milk of dairy cows. *IJSEM* 2010; 60(12): 2739–2744.
- [6] Tang YW, Han J, McCormac MA, Li H, Stratton W. *Staphylococcus pseudolugdunensis* sp. nov., pyrrolidonyl arylamidase / ornithin decarboxylase-positive bacterium isolated from blood cultures. *Diagn Microbiol Inf Dis* 2008; 60: 351–359.
- [7] Hauschild T, Stepanovic S, Zakrzewska-Czerwinska J. *Staphylococcus stepanovicii* sp. nov., a novel novobiocin-resistant oxidase-positive staphylococcal species isolated from wild small mammals. *Syst Appl Microbiol* 2010; 33: 183–187.
- [8] Švec P, Pantůček R, Petráš P, Sedláček I, Nováková D. Identification of *Staphylococcus* spp. using (GTG)₅-PCR fingerprinting. *Syst Appl Microbiol* 2010; 33(8): 451–456.
- [9] Versalovic, J, Schneider, M, de Bruijn, FJ, Lupski, JR. (1994) Genomic fingerprinting of bacteria using repetitive sequence-based polymerase chain reaction. *Methods Mol Cell Biol* 5, 25–40.

Dr. Petr Petráš
NRL pro stafylokoky SZÚ, OML
e-mail: petrasi@szu.cz