

## *Staphylococcus petrasii*, nový druh stafylokoka z České republiky

### *Staphylococcus petrasii*, a novel staphylococcal species from the Czech Republic

Roman Pantůček, Ivo Sedláček, Pavel Švec, Ivana Machová, Jitka Černošková,  
Ivana Mašlaňová, Tereza Gelbíčová, Vladislava Růžičková, Jiří Doškař

#### Souhrn • Summary

V letošním roce byl popsán nový druh stafylokoka, *Staphylococcus petrasii*. Kmeny tohoto druhu se vyskytují v humánním klinickém materiálu a hrají zřejmě roli podmíněného patogena podobně jako řada dalších koagulázanegativních stafylokoků. Dosud byly nejspíše identifikovány jako atypické *Staphylococcus warneri*, s kterými jsou fenotypově nejbližší. Phylogeneticky jsou nejbližší k druhům *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus devriesei* a *Staphylococcus lugdunensis*.

A novel staphylococcal species, *Staphylococcus petrasii*, has recently been described. Strains of this species were isolated from human clinical specimens and are likely to be opportunistic pathogens, similarly to other coagulase-negative staphylococci. Previously, they may have been identified as atypical *Staphylococcus warneri*, to which they are phenotypically closest. Phylogenetically, they are closest to the species *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus devriesei*, and *Staphylococcus lugdunensis*.

Zprávy CEM (SZÚ, Praha) 2013; 22(8): 266–269.

**Klíčová slova:** koagulázanegativní stafylokoky, *S. petrasii*, taxonomie rodu *Staphylococcus*  
**Keywords:** coagulase-negative staphylococci, *S. petrasii*, taxonomy of the genus *Staphylococcus*

Rod *Staphylococcus* se letos rozrostl o nový druh *Staphylococcus petrasii*, který byl izolován a popsán v naší republice. Původní publikace s popisem druhu vyšla v časopise Systematic and Applied Microbiology [1], nový druh spolu s oběma poddruhy byl oficiálně validován ve validačním listě No. 152 v hlavním bakteriálním taxonomickém časopise International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology v červenci 2013 [2].

*S. petrasii* je typickým koagulázanegativním stafylokokem (KNS), který může být zachycen v humánním klinickém materiálu. Podobně jako jiné KNS (*S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, dva poddruhy *S. hominis* a řada dalších) bude zřejmě hrát roli podmíněného patogena, který může u oslabených jedinců vyvolat infekční onemocnění. Nasvědčují tomu nálezy těchto stafylokoků v klinickém materiálu: nejčastěji se jednalo o izoláty z hemokultur a z otitid (Tabulky 1 a 2). Často byly pacienti starší osoby, nebo naopak malé děti.

Kmeny byly zaslány k identifikaci do NRL pro stafylokoky v rozmezí 7 let (nejstarší izolát je z ledna 2006) z mikrobiologických laboratoří nemocnic v různých městech České republiky. Čtyři kmeny byly izolovány z otitid v Texasu, USA v letech 1998–2001.

Podrobná polyfázová genotypizace byla prováděna převážně v Oddělení genetiky a molekulární biologie Ústavu experimentální biologie Přírodovědecké fakulty Masarykovy Univerzity a v České sbírce mikroorganismů PŘF MU v Brně. Izoláty byly porovnány s dosud známými druhy stafylokoků metodami *rpoB* genové sekvenace, automati-

zované ribotypizace, repetitivní-PCR s primerem (GTG)<sub>5</sub> a MALDI-TOF hmotnostní spektrometrií. Analýza založená na 16S rRNA sekvenaci prokázala, že zkoumané kmeny jsou fylogeneticky nejbližší k druhům *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. devriesei* a *S. lugdunensis* (Obrázek 1). Metodou DNA-DNA hybridizace bylo potvrzeno, že se jedná o nový druh, který byl nazván *Staphylococcus petrasii* podle vedoucího NRL pro stafylokoky v SZÚ - CEM. Podrobná genotypová a fenotypová analýza rozdělila kmeny do dvou poddruhů. České izoláty patří do poddruhu *S. petrasii* subsp. *petrasii* (SPP), typový kmen (CCM 8418<sup>T</sup> = NRL/St 10/1050<sup>T</sup>) byl izolován v prosinci 2009 z hemokultury 59letého muže v Oblastní nemocnici Trutnov, a.s. Čtyři americké kmeny tvoří poddruh *S. petrasii* subsp. *croceilyticus* (SPC) (*croceus* = latinsky šafránový, žlutavý). Typový kmen (CCM 8421<sup>T</sup> = NRL/St 12/153<sup>T</sup> = MCC10046<sup>T</sup>) byl izolován v květnu 1998 z výtěru ucha při akutní otitidě 5letého chlapce v americkém Texasu.

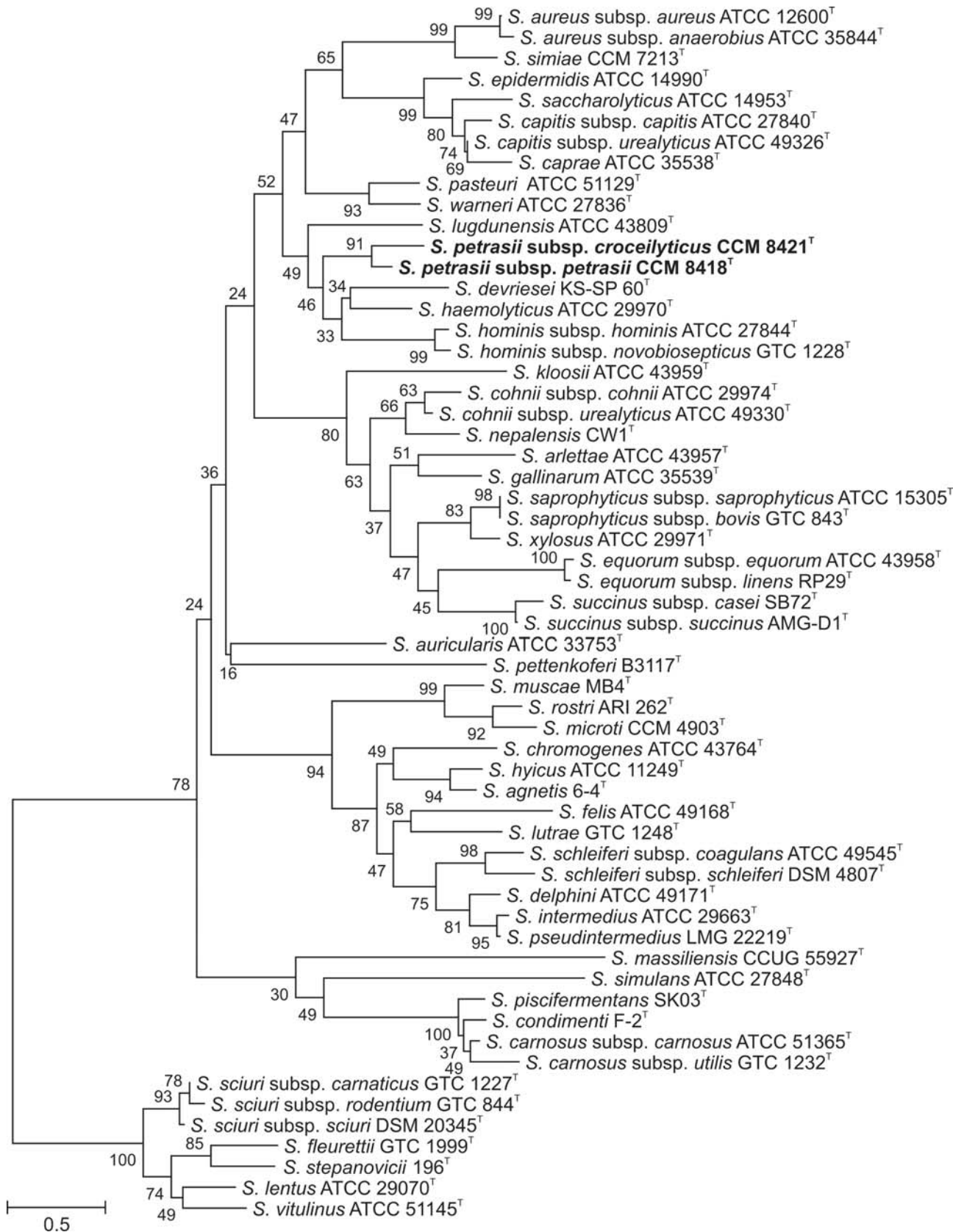
Nový poddruh SPP byl popsán na základě vlastností osmi klinických izolátů a jednoho kmene ze stěru nemocničního prostředí, v současnosti byla identifikace SPP potvrzena u dalších 5 kmenů vesměs z hemokultur [3]. K původním čtyřem americkým kmenům SPC se zatím přiřadil jeden letošní izolát z moče pacienta s cystitidou z Lintomyšle.

Kmeny *S. petrasii* rostou dobře na všech půdách vhodných pro stafylokoky v podobě drobnějších kolonií, které mají různý průměr, takže vyvolávají dojem nehomogenní kultury. Na klasickém krevním agaru jsou bělavé, zatímco na světlejších půdách je patrný světle žlutý pigment, který u izolátů poddruhu *S. petrasii* subsp. *croceilyticus* je až šafránově-okrový. Jsou to klasické grampozitivní, kataláza-pozitivní koky, citlivé k novobiocinu. U kmenů SPP je důležitou vlastností možná pozitivní reakce s latexovými testy 3. generace na clumping faktor. Nejvýraznější je u kitu

Pastorex Staph plus (Bio-Rad), ale aglutinace je drobnější než u kmenů *S. aureus*. Slabší je u kitu Staph plus Kit (Diamondial), u kitu Staphylect plus (Oxoid) je prakticky ne-

gativní. *S. latexy* 1. a 2. generace je tato skriningová reakce negativní, stejně jako u kmenů SPC. Kmeny nového druhu neprodukuje volnou koagulázu ani hyaluronidázu. U všech

**Obrázek 1: FYLOGENETICKÝ STROM VALIDNĚ POPSANÝCH DRUHŮ A PODDRUHŮ STAFYLOKOKŮ, ZALOŽENÝ NA ANALÝZE NUKLEOTIDOVÉ SEKVENCE GENU PRO 16S RIBOZOMÁLNÍ RNA**



Tabulka 1: KMENY ZAŘAZENÉ DO PODDRUHU *S. PETRASII* SUBSP. *PETRASII*

Pořadí	Č. NRL/St	Datum izolace	Lokalita	Materiál	Pacient pohlaví	Pacient věk (let)	Onemocnění
1	06/029	leden 2006	Nové Město na Mor.	nemocniční prostředí	–	–	–
2	07/045	leden 2007	Strakonice	výtěr nosu	žena	31	zdravá žena monitorovaná pro nosičství
3	08/280	duben 2008	České Budějovice	hnis z rány	muž	6	zhnisaná rána na noze
4	08/738	září 2008	Hořovice	výtěr z uší	žena	0	novorozenecká bakt. sepse
5	10/670	červenec 2010	Strakonice	hemokultura	žena	87	? (pobyt na ARO)
6	10/1050 T	prosinec 2009	Trutnov	hemokultura	muž	59	mozkové krvácení
7	11/077	únor 2011	Klatovy	hemokultura	žena	60	bolest břicha (EARSS)
8	12/012	leden 2012	Ústí n. Labem	hemokultura	žena	0	nízká porodní váha
9	12/015	leden 2012	Kladno	hemokultura	žena	78	mozková příhoda
10	07/427	květen 2007	České Budějovice	hemokultura	muž	56	horečka neznámého původu
11	08/435	květen 2008	České Budějovice	hemokultura	žena	41	sekund. zhoubný novotvar mizních uzlin (EARSS)
12	08/525	červenec 2008	Šternberk	hemokultura	muž	68	? (zasláno do EARSS)
13	12/584	září 2012	Tábor	hemokultura	žena	76	horečka neznámého původu (EARS-Net)
14	13/057	leden 2013	Lbereg	hemokultura	žena	50	respirační selhání (EARS-Net)

Tabulka 2: KMENY ZAŘAZENÉ DO PODDRUHU *S. PETRASII* SUBSP. *CROCEILYTICUS*

Pořadí	Č. NRL/St	Datum izolace	Lokalita	Materiál	Pacient pohlaví	Pacient věk (let)	Onemocnění
1	12/151	říjen 2001	Texas, USA	výtěr z uší	žena	32	výtěr ze zdravého ucha
2	12/153 T	květen 1998	Texas, USA	výtěr z uší	muž	5	akutní otitis
3	12/154	říjen 1998	Texas, USA	výtěr z uší	žena	7	akutní otitis
4	12/155	říjen 1998	Texas, USA	výtěr z uší	muž	1	akutní otitis
5	13/014	leden 2013	Litomyšl	moč	muž	2	Infekce močových cest

Tabulka 3: ODLIŠENÍ KOAGULÁZANEGATIVNÍCH STAFYLOKOKŮ CITLIVÝCH K NOVOBIOCINU, POZITIVNÍCH K UREÁZE, SACHARÓZE, TREHALÓZE A MANITOLU

Druh/poddrůh stafylokoka	NAG	PYR	GLR
<i>S. simulans</i>	+		
<i>S. warneri</i>	–	–	
<i>S. pasteurii</i>	–	–	
<i>S. petrasii</i> subsp. <i>petrasii</i>	–	+	–
<i>S. petrasii</i> subsp. <i>croceilyticus</i>	–	+ W	+

legenda: NAG = N-acetyl glukosamin  
 PYR = pyrrolidonyl arylamidáza  
 GLR = beta-glukuronidáza

kmenů byla synergickým testem s beta-hemolysin produkujícím kmenem *S. pseudintermedius* zjištěna produkce delta-hemolysinu.

Fenotypově jsou kmeny *S. petrasii* nejbližší k druhům *S. warneri*, *S. pasteurii*, *S. simulans* event. k druhům *S. lugdunensis* a *S. hominis* subsp. *hominis*. Jednoduché odlišení

Tabulka 4: ODLIŠENÍ KOAGULÁZANEGATIVNÍCH STAFYLOKOKŮ CITLIVÝCH K NOVOBIOCINU, POZITIVNÍCH K UREÁZE, SACHARÓZE, TREHALÓZE A NEGATIVNÍCH K MANITOLU

Druh/poddrůh stafylokoka	ARG	PYR	GLR
<i>S. lugdunensis</i>	–		
<i>S. hominis</i> subsp. <i>hominis</i>	–		
<i>S. hominis</i> subsp. <i>hominis</i>	+	–	
<i>S. warneri</i>	+	–	
<i>S. petrasii</i> subsp. <i>petrasii</i>	+	+	–
<i>S. petrasii</i> subsp. <i>croceilyticus</i>	+	+ W	+

legenda: ARG = arginin dihydroláza  
 PYR = pyrrolidonyl arylamidáza  
 GLR = beta-glukuronidáza

je uvedeno tabulkách 3 a 4. Poměrně snadno lze diferencovat i oba poddruhy mezi sebou – viz tabulka 5.

Podle schématu ORIDES (v. 2010) [4] vyjde identifikace kmenů SPP jako *S. warneri*, kmenů SPC jako *S. hominis* subsp. *hominis*.

Tabulka 5: FENOTYPOVÉ ODLIŠENÍ PODDRUHŮ *S. PETRASII*

TEST	<i>S. petrasii</i>	
	subsp. <i>petrasii</i>	subsp. <i>croceilyticus</i>
CPF 3. gen.	d	–
DNA	w	–
GLR	–	+
MNS	+	–
L-FUC	–	+

**legenda:** CPF 3. gen. = latexový test na clumpig faktor 3. generace (nejvýraznější je reakce s kitem Pastorex Staph plus (Bio-Rad))

DNA = deoxyribonukleáza  
GLR = beta-glukuronidáza  
MNS = kyselina z manózy  
FUC = kyselina z L- fukózy

Metodou MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie přístrojem Microflex LT (Bruker Daltonics) při použití softwaru Maldi Biotyper (DBUpdate 4111) byly kmeny *S. petrasii* identifikovány jako *Staphylococcus* sp. 10w414721 RLH, *Staphylococcus* sp. 901400083 LBK, nebo *Staphylococcus* sp. 4 PIM.

## ZÁVĚR

Kmeny nového druhu se vyskytují v klinickém materiálu a byly dosud nejspíše identifikovány jako atypický *S. warneri*. Vzhledem k možné pozitivní reakci u skriningových testů 3. generace latexů na clumping faktor mohou být některé kmeny SPP zaměněny i za druh *S. aureus*. Tím lze vysvětlit, že několik izolátů SPP bylo jako *S. aureus* posláno do projektu EARS-Net (resp. dříve EARSS). Tuto mezinárodní síť národních systémů surveillace antibiotické rezistence u nejčastěji se vyskytujících invazivních bakterií na území Evropy koordinuje v naší republice NRL pro antibiotika SZÚ-CEM. Byli bychom rádi, kdybyste kmen,

o němž se domníváte, že by mohl patřit k novému druhu *Staphylococcus petrasii*, zaslali do NRL pro stafylokoky v SZÚ-CEM.

## LITERATURA

- Pantůček R, Švec P, Dajcs JJ, Machová I, Černošlávková J, Šedo O, Gelbíčová T, Mašlaňová I, Doškař J, Zdráhal Z, Růžičková V, Sedláček I. *Staphylococcus petrasii* sp. nov., including *S. petrasii* subsp. *petrasii* subsp. nov. and *S. petrasii* subsp. *croceilyticus* subsp. nov., isolated from human clinical specimens and human ear infections. *Syst Appl Microbiol* 2013; 36(2): 90–95.
- Euzéby J. Validation List no. 152. *Int J Syst Evol Microbiol* 2013; 63(7): 2365–2367.
- Pantůček R, Švec P, Petráš P, Sedláček I, Machová I, Gelbíčová T, Černošlávková J, Mašlaňová I, Doškař J. Genotypic and phenotypic characterization of novel coagulase-negative staphylococcal species *Staphylococcus petrasii* isolated from human clinical material. Poster: 13th International Conference on Culture Collections. 23–27. 9. 2013 Beijing, China.
- Petráš P. ORIDES - orientační identifikace koagulázanegativních stafylokoků - verze 2010. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)* 2010; 19(12): 373–378.

Roman Pantůček  
Ivana Mašlaňová  
Vladislava Růžičková  
Jiří Doškař  
Oddělení genetiky a molekulární biologie  
Ústavu experimentální biologie PřF MU, Brno

Ivo Sedláček  
Pavel Švec  
Jitka Černošlávková  
Tereza Gelbíčová  
Česká sbírka mikroorganismů PřF MU v Brně

Ivana Machová  
NRL pro stafylokoky SZÚ- CEM