

Staphylococcus argenteus – nový druh koaguláza-pozitivního stafylokoka *Staphylococcus argenteus* – a new species of coagulase-positive *Staphylococcus*

Petr Petráš, Jana Kekláková, Radoslava Hutníková

Souhrn • Summary

Staphylococcus argenteus je nový druh koaguláza-pozitivního stafylokoka popsán v roce 2015, který je celosvětově považován za „emerging“ původce lidských infekcí, včetně PVL pneumonií a epidemií enterotoxikózy. Jeho charakteristiky jsou velice těžko odlišitelné od kmenů *S. aureus*. Kmeny *S. argenteus* jdou dobře identifikovat MALDI-TOF hmotnostní spektrometrií. V červenci byl do NRL pro stafylokoky SZÚ CEM zaslán kmen tohoto druhu, izolovaný v Ústavu klinické mikrobiologie FN Hradec Králové. Jedná se zřejmě o první záchyt v České republice.

Staphylococcus argenteus is a new species of coagulase-positive *Staphylococcus*, which was first described in 2015. It is considered worldwide as an emerging pathogen for humans causing PVL pneumonia and enterotoxigenic outbreaks. Its characteristics are difficult to distinguish from those of *S. aureus*. *S. argenteus* strains can be readily identified by MALDI-TOF mass spectrometry. In July 2019, a strain of this species isolated at the Institute of Clinical Microbiology, Hradec Králové University Hospital was referred to the National Reference Laboratory for Staphylococci, Centre for Epidemiology and Microbiology, National Institute of Public Health. This appears to be the first detection of *Staphylococcus argenteus* in the Czech Republic.

Zprávy CEM (SZÚ, Praha) 2019; 28(7): 262–263

Klíčová slova: *Staphylococcus argenteus*, *S. aureus*, MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie

Key words: *Staphylococcus argenteus*, *S. aureus*, MALDI-TOF mass spectrometry

Staphylococcus argenteus (SAG) byl popsán v taxonomickém časopise International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology v lednovém čísle ročníku 65 (2015) [1] společně s druhem *S. schweitzeri*. Nazván byl podle latinského označení argentum = stříbro. Australští a další taxonomové uvádějí v popise vlastnosti 6 kmenů izolovaných od lidí (4 kmeny v Severním teritoriu Austrálie, 1 kmen ve Spojeném království a 1 na ostrově Fidži v Oceánii). Původní materiál je uveden pouze u typového kmene MSHR1132T: byl izolován z hemokultury domorodé ženy, hospitalizované s nekrotizující fascitidou v nemocnici v Darwinu (správní středisko Severního teritoria v Austrálii).

Kmeny s těmito vlastnostmi byly zmíněny již v několika předchozích publikacích. SAG byl poprvé popsán již v roce 2009 jako klonální komplex *S. aureus* CC75 [2]. Zajímavá je práce Holta *et al.* z roku 2011 [3], kde uvádějí výskyt MRSA kmenů izolovaných od Aboriginců (původních obyvatel v severní Austrálii) jako „odlišnou linii *S. aureus* (SAU)“. Z genetických studií (založených především na multilokusové sekvenční analýze MLST a polymerázové řetězové reakci PCR) předpokládají, že se

asi bude jednat o nový druh. Zásadní zjištěnou vlastností je, že tyto kmeny postrádají geny *crt* kódující produkci staphyloxanthinu. Tento karotenoidní pigment je zodpovědný za charakteristickou barvu kolonií u typických kmenů SAU a je i jedním z faktorů virulence.

Validní publikací uvádějící nový druh je až práce Totha *et al.* v IJSEM [1]. Je to na základě komplexní genetické analýzy, především celogenomové sekvenace a dále odlišného profilu spektra v MALDI-TOF hmotnostní spektrometrii.

Klasickou rutinní diagnostikou není možné druhy SAG a SAU oddělit. Biochemicky mají kmeny SAG všechny charakteristické vlastnosti shodné jako kmeny SAU. Není je tedy možné identifikovat komerčními kity jako je STAPHYtest24, API Staph nebo GP 24.

Podle popisové práce nepomohla ani amplifikační metoda PCR: kmeny *S. argenteus* měly nuc gen, který je používán jako standardní marker k potvrzení kmenů *S. aureus*.

U kmenů SAG byla prokázána celá řada faktorů virulence stejných jako u SAU, i když je to relativně u menšího počtu kmenů. Mohou mít přítomné geny pro produkci Pantanova-Valentinova leukocidinu (PVL), stafylokokových enterotoxinů, byla popsána vysoká exprese alfa-hemolyzinu.

V literatuře lze najít řadu publikací, které popisují SAG jako etiologické agens různých infekčních

onemocnění. Např. již v roce 2015 byly francouzskými kolegy popsány dva případy PVL pneumonie [4]. V loňském roce byla publikována retrospektivní studie pacientů v tajvanské univerzitní nemocnici se stafylokokovou bakterémií. Z 394 původně uložených původců jako SAU, bylo 47 izolátů reidentifikováno jako SAG. Onemocnění, kdy byl příčinou SAG, měla těžší průběh a vyšší mortalitu než u SAU [5]. SAG může být také příčinou alimentární intoxikace a je považován za “an emerging foodborne pathogen” [6].

V Tokiu došlo v srpnu 2014 k epidemii stafylokokové enterotoxikózy. Původcem byl SAG produkující enterotoxin B, který byl izolován ze stolic pacientů, z rukou personálu jídelny i inkriminovaných potravin [7].

LABORATORNÍ VÝSLEDKY

V červenci poslal do NRL pro stafylokoky Mgr. Rudolf Kukla, Ph.D. z Ústavu klinické mikrobiologie FN Hradec Králové kmen, který jsme uzavřeli jako *S. argenteus*. Kmen č. prot. J4348 (č. NRL/St 19/736) byl izolován z aspirátu 72letého muže (německé národnosti), který byl hospitalizován pro poruchu vědomí způsobenou rozsáhlým subdurálním hematomem. Kmen přišel již jako suspektní SAG (identifikovaný na ÚKM FN HK pomocí MALDI-TOF MS) ke konfirmaci. Jedná se velice pravděpodobně o první záchyt *S. argenteus* v České republice.

Výsledek téměř všech diskriminujících testů byl shodný jako pro SAU. Pozitivní byly testy na volnou (zkumavkovou) i vázanou (clumping-faktor) koagulázu, hyaluronidázu, termorezistentní nukleázu. Kmen byl rezistentní k polymyxinu C a produkoval alfa- i beta-hemolysin, což se projevilo dvojitou zónou hemolýzy na krevním agaru. Zajímavá situace je s průkazem enzymu pyrrolidonyl arylamidáza, který se prokazuje např. PYRAtestem. V popisové práci [2] je v tabulce 3 uvedena hodnota u SAG + (94), podobně jako u SAU + (100). Což bude zřejmě omyl, kmeny SAU mají PYRtest pozitivní velice vzácně. U hradeckého kmene byl výsledek negativní.

Metodou PCR nebyly prokázány geny pro enterotoxiny A, B, C a D, exfoliatiny A, B a D, Pantonův-Valentinův leukocidin ani pro toxin syndromu toxického šoku TSST-1. Kmen neměl gen *mecA*.

Na rozdíl popisové práce z IJSEM, nebyl u kmene J4348 (č. NRL/St 19/736) metodou PCR prokázán *nuc* gen. V literatuře existuje několik článků, kde se také píše, že u jejich kmenů SAG nebyl *nuc* gen rovněž prokázán. [8, 9].

Tato skutečnost by mohla pomoci v rutinní laboratoři alespoň některé kmeny SAG zachytit. Bezpečně je možné identifikovat kmeny SAG MALDI-TOF hmotnostní spektrometrií. Kmen měl „dvoukřížkový“ výsledek *S. argenteus*, se score value 2.0.

V případě, že zachytíte v bakteriologické laboratoři kmen, který se jeví jako nepigmentovaný *S. aureus*, nemá *nuc* gen a nemáte možnost ověřit to MALDItypizací, pošlete jej do naší NRL. Je pravděpodobné, že jste izolovali „stříbrného“ stafylokokoka *S. argenteus* místo „zlatého“ *S. aureus*.

Poděkování

Autoři vyjadřují velké poděkování Mgr. Rudolfu Kuklovi, Ph.D. za zaslání kmene i všech informací k tomuto izolátu. Připravujeme společně podrobnou publikaci.

LITERATURA

1. Tong SY, Schaumburg F, Ellington MJ, *et al.* Novel staphylococcal species that form part of a *Staphylococcus aureus*-related complex: the non-pigmented *Staphylococcus argenteus* sp. nov. and the non-human primate-associated *Staphylococcus schweitzeri* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2015; 65(Pt1):15–22.
2. Ng JW, Holt DC, Lilliebridge RA, *et al.* Phylogenetically distinct *Staphylococcus aureus* lineage prevalent among indigenous communities in northern Australia. *J Clin Microbiol.* 2009; 47(7): 2295–2300.
3. Holt DC, Holden MTG, Tong SYC, *et al.* A very early-branching *Staphylococcus aureus* lineage lacking the carotenoid pigment staphyloxanthin. *Genome Biol Evol.* 2011; 3: 881–895
4. Dupieux C, Blonde R, Bouchiat C, *et al.* Community-acquired infections due to *Staphylococcus argenteus* lineage isolates harbouring the Panton-Valentine leucocidin, France, 2014. *Eurosurveillance.* 2015; 20: 6–8.
5. Chen SY, Lee H, Wang XM, *et al.* High mortality impact of *Staphylococcus argenteus* on patients with community-onset staphylococcal bacteraemia. *Int J of Antimicrob Agents.* 2018; 52: 747–753
6. Shi X, Yhang DF. *Staphylococcus argenteus*: an emerging foodborne pathogen? *Current Opinion in Food Science.* 2018; 20: 76–81
7. Suzuki Y, Kubota H, Ono HK, *et al.* Food poisoning outbreak in Tokyo, Japan caused by *Staphylococcus argenteus*. *Int J Food Microbiol.* 2017; 262: 31–37.
8. Kaden R, Engstrand L, Rautelin H, Johansson C. Which methods are appropriate for the detection of *Staphylococcus argenteus* and is it worthwhile to distinguish *S. argenteus* from *S. aureus*. *Infect Drug Resist.* 2018; 11: 2335–2344.
9. Hansen TA, Bartels MD, Hogh SV, *et al.* Whole Genome Sequencing of Danish *Staphylococcus argenteus* Reveals a Genetically Diverse Collection with Clear Separation from *Staphylococcus aureus*. *Front Microbiol* 2017; 8: 1512; <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01512>

Petr Petráš,
Jana Kekláková,
Radoslava Hutníková
NRL pro stafylokoky CEM – SZÚ