

První záchyt *Staphylococcus pseudintermedius* z humánního klinického materiálu v České republice

The first isolation of Staphylococcus pseudintermedius from a human clinical specimen in the Czech Republic

Petr Petráš, Pavel Švec, Ivana Machová

Souhrn • Summary

Staphylococcus pseudintermedius je jedním z nejnovějších stafylokokových druhů, popsány v roce 2005 u nemocných zvířat. Je pravděpodobné, že i tento druh bude hrát roli v lidských infekcích obdobně jako fenotypově velice příbuzné kmeny *S. intermedius*. Tyto dva druhy je možné odlišit pouze s využitím molekulárně-biologických metod. Prezentovaný kmen byl izolován z výtěru krku při faryngitidě majitelky domácího psího mazlíčka 11 let před prvním popisem druhu v taxonomické literatuře.

Staphylococcus pseudintermedius, one of the most recently described staphylococcal species, was isolated from diseased animals in 2005. Similarly to phenotypically highly related *S. intermedius*, it is also likely to play a role in human infections. These two species can only be distinguished from each other by molecular biological methods. The presented strain *Staphylococcus pseudintermedius* was isolated from a throat swab of a pet dog owner with pharyngitis 11 years before the first report of this species in the taxonomic literature.

Zprávy EM (SZÚ, Praha) 2010; 19(3): 65–67.

Klíčová slova: *Staphylococcus pseudintermedius*, *Staphylococcus intermedius*, humánní klinický materiál, první záchyt v České republice, taxonomie stafylokoků, rep-PCR

Keywords: *Staphylococcus pseudintermedius*, *Staphylococcus intermedius*, human clinical specimens, first isolation in the Czech Republic, taxonomy of staphylococci, rep-PCR

Úvod

Staphylococcus pseudintermedius byl poprvé popsán známým belgickým bakteriologem Luc A. Devriesem a jeho kolegy v roce 2005 [1]. Jednalo se o 4 kmeny, které byly izolovány z veterinárního klinického materiálu (kočky, psa, koně a papouška). Druh patří do skupiny koagulázapozitivních stafylokoků a je fenotypově velmi podobný druhu *S. intermedius*. Fylogeneticky je *S. pseudintermedius* blízké příbuzný s druhu *S. intermedius* a *S. delphini*.

Druh *S. intermedius* popsal jako druhého koagulázapozitivního stafylokoka již v roce 1976 profesor Václav Hájek z Lékařské fakulty Palackého Univerzity v Olomouci [2]. Kmeny *S. intermedius* se vyskytují na kůži a sliznicích zdravých zvířat, ale v případě oslabení hostitele mohou vyvolat onemocnění obdobně jako nosičské kmeny *S. aureus*. Velice často to bývá u psů. Podle zkušeností NRL pro stafylokoky jsou kmeny *S. intermedius* obvyklým původcem zánětů psích uší a zhnisaných psích tlapek. Kmeny *S. intermedius* mohou být vzácně izolovány z humánního klinického materiálu. Často to bývá

u veterinárních pracovníků různých profesí, resp. u majitelů psů. Kmeny *S. intermedius* je možné často zachytit ve zhnisané ráně po kousnutí psem.

Fenotypové vlastnosti nového druhu *S. pseudintermedius* jsou prakticky shodné s vlastnostmi *S. intermedius* a k odlišení je zapotřebí genetická analýza. Proto jsou v poslední době často izoláty *S. intermedius*, které byla původně určeny podle fenotypových vlastností, reklasifikovány molekulárně-biologickými metodami jako *S. pseudintermedius* [3].

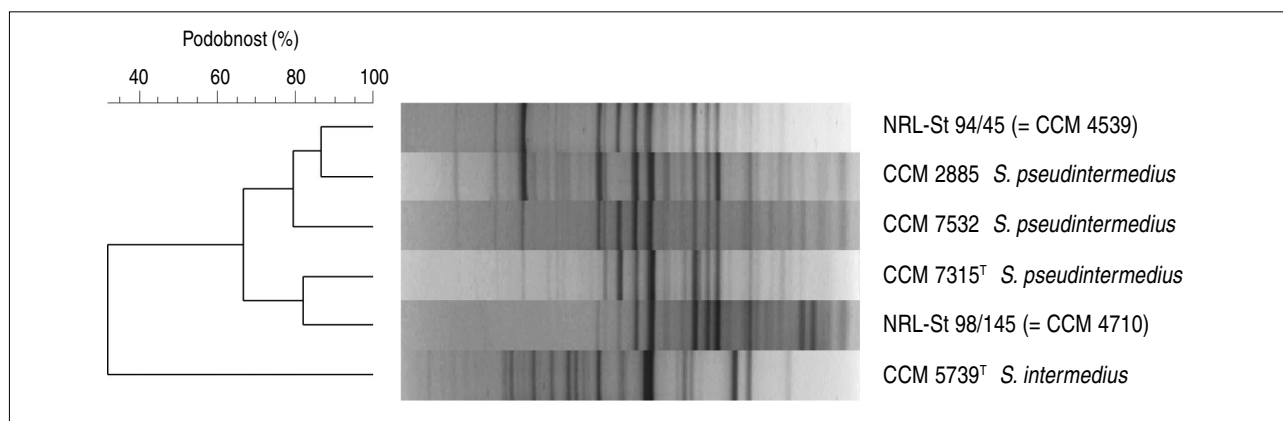
Kmeny *S. pseudintermedius* rostou shodně jako *S. intermedius* v nepigmentovaných koloniích, v testu volné zkumavkové koagulázy mají opožděný pozitivní výsledek (tj. až po 3 i více hodinách) a produkují termorezistentní nukleázu. Latexový test na clumping-faktor je negativní, stejně jako test produkce hyaluronidázy. Kmeny produkují beta-hemolysin (sfingomyelinázu), tzn., že částečná hemolýza po prvním dnu kultivace v 36 °C přejde chladovým efektem při 4 °C do 1-2 dnů v hemolýzu úplnou.

Identifikace kmene NRL-St 94/45 (= CCM 4539)

Kmen stafylokoka NRL-St 94/45 byl izolován z krku naší kolegyně při faryngitidě v únoru v roce 1994. Původně jsme jej určili jako suspektní *S. chromogenes* a poslali jsme ho do České sbírky mikroorganismů v Brně (CCM), kde byl uložen jako *Staphylococcus* sp. pod číslem CCM 4539.

V únoru 2010 byl v CCM tento kmen podroben typizační metodou rep-PCR s primerem (GTG)₅ [4]. Shluková analýza získaných výsledků přiřadila jednoznačně kmen

Obrázek 1: SHLUKOVÁ ANALÝZA VÝSLEDKŮ (GTG)₅-PCR TYPIZACE klinických a referenčních kmenů *S. pseudintermedius* a *S. intermedius*



NRL-St 94/95 (= CCM 4539) k referenčním kmenům *S. pseudintermedius* (obr. 1).

Na základě tohoto zjištění byla u kmene NRL-St 94/45 provedena znovu fenotypizace. Podle výsledků řady 50 konvenčních testů a pomocí identifikačního programu TNW, verze 7.0 (PLIVA-Lachema, Diagnostica), byl kmen diagnostikován jako atypický *S. intermedius*: identifikační skóre 99,98; T-index 0,620; atypické vlastnosti pozitivní VPtest (pro *S. intermedius* je v matici TNW hodnota 1) a pozitivní betaglukosidáza (v TNW u *S. intermedius* hodnota 10). *S. pseudintermedius* v databázi TNW zatím není. Právě pozitivní výsledek VPtestu ukazuje na druh *S. pseudintermedius*, stejně jako pozitivní maltóza (u kmenů *S. intermedius* je spíše negativní).

V tabulce 1 jsou uvedeny diskriminující fenotypové testy u koagulázapozitivních druhů *S. pseudintermedius*, *S. aureus* subsp. *aureus*, *S. intermedius*, *S. hyicus*

a *S. schleiferi* subsp. *coagulans*. Výsledky kmene NRL-St 94/45 (= CCM 4539) byly plně v souladu s výsledky pro *S. pseudintermedius*.

Diskuse

Kmeny *S. pseudintermedius* hrají roli ve veterinární medicíně. Byly popsány jako původce onemocnění kůže a měkkých tkání u domácích mazlíčků, především jako hlavní příčina psí pyodermie [5]. Řada publikací popisuje výskyt methicilin-rezistentních kmenů *S. pseudintermedius*, které jsou označovány MRSP [např. 6, 7]. Vysoce rezistentní kmeny MRSP popisují švýcarští autoři jako původce onemocnění urinárního traktu u koček [8]. U těchto kmenů byly dokonce zjištěny geny kódující produkci leukocidinu. V loňském roce byl v japonské práci popsán kmen *S. pseudintermedius*, který byl původcem pyodermie u psa a který produkoval exfoliatin při-

Tabulka 1: FENOTYPOVÉ CHARAKTERISTIKY k odlišení některých koagulázapozitivních stafylokoků

Test	<i>S.pseudintermedius</i>	<i>S.intermedius</i>	<i>S.aureus</i> subsp. <i>aureus</i>	<i>S.hyicus</i>	<i>S.schleiferi</i> subsp. <i>coagulans</i>
Koaguláza	+ (opožděně)	+ (opožděně)	+	D -	+
Clumping-faktor	-	D -	+	-	-
Termonukleáza	+	+	+	+	+
DNAza	+	+	+	+	+
Hyaluronidáza	-	-	+	D	-
alfa-hemolyzin	-	-	D + *)	-	-
beta-hemolyzin	+	+	- **)	-	-
Acetoin (VPtest)	+	-	+	-	+
PYRtest	+	+	-	-	D
ONPGtest	+	+	-	-	-
Maltóza	+	D -	+	-	D
Sacharóza	+	+	+	+	-

Legenda:

+ = více než 90 % kmenů pozitivních

- = více než 90 % kmenů negativních

D = různé výsledky

D - = spíše negativní

*) podle výsledků NRL-St produkuje alfa-hemolyzin asi 70 % kmenů *S. aureus*

***) podle výsledků NRL-St produkuje beta-hemolyzin pouze 2 % kmenů *S. aureus*

buzný exfoliatinům ETB a ETD vyskytujících se u druhu *S. aureus* a SHETB produkovaných kmeny *S. hyicus* [9]. *S. pseudintermedius* byl popsán i jako příčina rychle probíhající fatální nekrotizující fascitidy u psa [10]. V loňském roce byly popsány případy kolonizace nosní sliznice methicillin-rezistentním kmenem *S. pseudintermedius* u majitelů psů. Kmeny měly shodný antibiogram i shodný typ kazetového chromozomu SCCmec jako kmeny z kožních infekcí jejich psů [11].

První případ lidské infekce, vyvolaný kmenem *S. pseudintermedius*, je uveden v práci belgických autorů [12]. Jednalo o 60letého pacienta s implantovaným kardiostimulátorem, u kterého došlo k infekci v důsledku zavedení tohoto implantátu. Úplně recentně je v Journal of Clinical Microbiology popsána katérová bakterémie, kterou způsobil *S. pseudintermedius* u hemofilického dítěte v národní Taiwanské nemocnici v Taipei. V anamnéze je zmíněn dlouhodobý kontakt se psem [13].

Také naše kolegyně jistě získala kmen *S. pseudintermedius* od svého domácího psího mazlíčka. Podílel-li se na infekčním procesu je však otázka, na kterou již dnes odpověď nedostaneme. Kmen neobsahoval *mecA* gen (metoda PCR) a byl k oxacilinu i cefoxitinu citlivý (diskový test). V každém případě byl zachycen 11 let před prvním popisem tohoto druhu v taxonomické literatuře. Pokud se nám podařilo zjistit, nebyl dosud v české literatuře prezentován výskyt tohoto druhu v humánním klinickém materiálu. Kmen je uložen v České sbírce mikroorganismů v Brně jako *S. pseudintermedius* pod číslem CCM 4539.

Podobně byl reklasifikován kmen NRL-St 98/145, izolovaný dr. Ježkem v nemocnici Příbrami z rány 4leté dívky, kterou pokousal pes [14]. Kmen jsme původně identifikovali jako *S. intermedius* a zaslali do CCM, kde byl uložen pod číslem CCM 4710. Kromě penicilinu a tetracyklinu byl dobře citlivý na všechna protistafylokoková antibiotika, dívka byla залечена oxacilinem. Společně s ním byla z rány dívky zachycena *Pasteurella multocida* subsp. *septica*. Oba kmeny byly izolovány v masivním nárůstu z primokultury přibližně ve stejném poměru [14]. Kmen NRL-St 98/145 (= CCM 4710) byl také typizován metodou rep-PCR s primerem (GTG)₅ [4] a podle výsledku shlukové analýzy byl rovněž zařazen do druhu *S. pseudintermedius* (Obrázek 1).

Závěr

Je pravděpodobné, že kmeny *S. pseudintermedius* budou hrát svou roli i v lidských onemocněních, především tam, kde došlo ke kontaktu se zvířetem, např. po kousnutí psem. Spolehlivá identifikace a odlišení druhu *S. pseudintermedius* od *S. intermedius* jsou však možné pouze s využitím molekulárně-biologických metod.

V současnosti existuje v rodu *Staphylococcus* 52 validně popsanych taxonů. V posledním čísle taxonomického časopisu International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology byl zveřejněn popis druhu *S. massiliensis*. Jeden kmen tohoto koagulázanegativního stafylokoka izolovali francouzští bakteriologové z mozkového abscesu 52letého muže, který byl operován pro nádor na mozk. Fenotypově je kmen *S. massiliensis* 5402776^T nejbližší s druhem *S. pettenkoferi*. Název do-

stal podle názvu Massilia, antického pojmenování Marseille, kde byl typový a zatím jediný kmen izolován [15].

LITERATURA

1. Devriese LA, Vancanneyt M, Baele M, et al. *Staphylococcus pseudintermedius* sp. nov., a coagulase-positive species from animals. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2005; 55: 1569–1573.
2. Hájek V. *Staphylococcus intermedius*, a new species isolated from animals. *Int J Syst Bacteriol.* 1976; 26: 401–408.
3. Sasaki T, Kikuchi K, Tanaka Y, et al. Reclassification of phenotypically identified *Staphylococcus intermedius* strains. *J Clin Microbiol* 2007; 45(9): 2770–2778.
4. Švec P, Nováková D, Žáčková I, Kukletová M, Sedláček I. Evaluation of (GTG)₅-PCR for rapid identification of *Streptococcus mutans*. *Anton Leeuw Int J G* 2008; 94: 573–579.
5. Fitzgerald RJ. The *Staphylococcus intermedius* group of bacterial pathogens: species re-classification, pathogenesis and the emergence of methicillin resistance. *Vet Dermatol* 2009; 20(5-6): 490–495.
6. Rusher C, Lübke-Becker A, Wieklini CG, et al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from clinical samples of companion animals and equidae. *Vet Microbiol* 2009; 136(1-2): 197–201.
7. Perreten V, Kadlec K, Schwarz S, et al. Clonal spread of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in Europe and North America: an international multicentre study. *J Antimicrob Chemother* 2010 Advance Access March 25, doi: 10.1093/jac/dkq 078.
8. Wettstein K, Descloux S, Rossano A, Perreten V. Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in Switzerland: three cases of urinary tract infections in cats. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2008; 150(7): 339–343.
9. Futagawa-Saito K, Makino S, Sunaga F, et al. Identification of first exfoliative toxin in *Staphylococcus pseudintermedius*. *FEMS Microbiol Lett.* 2009; 301(2): 176–180.
10. Weese JS, Poma R, Buenviale G, et al. *Staphylococcus pseudintermedius* necrotizing fasciitis in a dog. *Can Vet J* 2009; 50(6): 655–666.
11. Frank LA, Kanta SA, Kiryeder EM, et al. Risk of colonization or gene transfer to owners of dogs with methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *Vet Dermatol* 2009; 20(5–6): 496–501.
12. Hoovels LA, Vankeerberghen A, Boel A, et al. First case of *Staphylococcus pseudintermedius* infection in a human. *J Clin Microbiol* 2006; 44(12): 4609–4612.
13. Chuang CY, Yang YL, Hsueh PR, Lee PI. Catheter-related bacteremia caused by *Staphylococcus pseudintermedius* refractory to antibiotic-lock therapy in a hemophilic child with dog exposure. *J Clin Microbiol* 2010; 48(4): 1497–1498.
14. Petráš P, Ježek P. Smíšená infekce *Staphylococcus intermedius* a *Pasteurella multocida* subsp. *septica* po kousnutí psem. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)* 1998; 7(3): 116–117.
15. Masalma MA, Raoult D, Roux V. *Staphylococcus massiliensis* sp. nov., isolated from a human brain abscess sample. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2010; 65(5): 1066–1072.

Podpořeno projekty MSM 0021622416
a GAČR 310/09/04569.

Petr Petráš, Ivana Machová
NRL pro stafylokoky, SZÚ, Praha

Pavel Švec
Česká sbírka mikroorganismů, PřF MU, Brno