

## AKTUALITY

## LATEST NEWS

**Helcococcus kunzii – kolonizace ran nebo patogen?****Helcococcus kunzii – a wound colonizer or pathogen?**

Petr Ježek, Petr Petráš, Pavel Švec, Petr Čapek

**Souhrn • Summary**

V článku je popsána izolace *Helcococcus kunzii* z defektu na dorzu pravé nohy u pacientky při komplikaci po operaci plochnoží a Hallux valgus. Identifikace kmene byla provedena biochemickými testy a potvrzena metodou hmotnostní spektrofotometrie MALDI TOF a metodou rep-PCR s primerem (GTG)<sub>5</sub>. Kromě *H.kunzii* byly z defektu zachyceny i kmeny *Staphylococcus pseudintermedius* a *Klebsiella oxytoca*. Patogenní účast raritního druhu *H.kunzii* zůstává v tomto případě nevyjasněna.

*The isolation of Helcococcus kunzii from a wound on the dorsum of the right foot is reported in a patient with complications after flat feet and Hallux valgus correction surgery. The identification of the strain was based on biochemical tests and was confirmed by MALDI TOF mass spectrometry and rep-PCR with the (GTG)<sub>5</sub> primer. Apart from Helcococcus kunzii, Staphylococcus pseudintermedius and Klebsiella oxytoca were recovered from the wound. The role of Helcococcus kunzii, a rare species, in the infection remains unclear.*

Zprávy CEM (SZÚ, Praha) 2011; 20(10): 360–363.

**Klíčová slova:** rod *Helcococcus*, *Helcococcus kunzii*, *Aerococcus*-like, kolonizace rány  
**Keywords:** genus *Helcococcus*, *Helcococcus kunzii*, *Aerococcus*-like, wound colonization

**ÚVOD**

Rod *Helcococcus* s jediným druhem *Helcococcus kunzii* popsal poprvé M.D.Collins a kol. [1] v roce 1993 při fylogenetické analýze některých *Aerococcus* – like organismů. Rodové jméno autoři odvodili z řeckého *helkos* = rána, druhové jméno zvolili po americkém mikrobiologovi Lawrenci J. Kunzovi. O šest let později v roce 1999 popisuje další druh *Helcococcus ovis* izolovaný z ovčí [2]. V roce 2004 opět tentýž autor a kol. publikují práci, kde izolovali třetí druh *Helcococcus sueciensis* [3] v ráně 83leté ženy ze Švédska. Posledním dosud v literatuře uvedeným druhem je „*Helcococcus pyogenes*“, izolovaný v roce 2004 z infektu kloubní náhrady [4]. Tento druh nebyl validován.

*Helcococcus kunzii* je grampozitivní, kataláza negativní, fakultativně anaerobní kokoidní mikroorganismus, jehož buňky jsou uspořádány v párech nebo hloučcích. Fenotypově se podobá druhu *Aerococcus viridans*, s nímž může být také zaměňován. Je nepohyblivý, na krevním agaru s 5 % ovčích erytrocytů tvoří za 24 hodin při 37 °C transparentní, nehemolytické nebo jen slabě α-hemolytické drobné kolonie. Obvykle roste lépe za mikroaerofilních podmínek. Charakteristickým fenotypovým znakem společným i pro aerokoky je pyrrolidonylarylamidázová pozitivita a leucin aminopeptidázová negativita.

*H.kunzii* je obvykle izolován z humánního klinického materiálu a to především z ran na dolních extremitách končetin. Předpokládá se větší afinita k infekcím u imuno-kompromitovaných pacientů, zejména diabetiků. Nicméně byl izolován i z defektů naprosto imunokompetentních lidí. Jeho etiologická účast v patologických procesech není dosud zcela objasněna, protože bývá obvykle izolován s dalšími druhy mikroorganismů, často se *Staphylococcus aureus* [10]. Jsou však popsány i případy, kde byl zachycen jako jediný druh a kde se jeho etiologická účast na patologických procesech předpokládá. Pravděpodobně je i součástí flóry kolonizující povrch lidského těla, zejména dolních končetin [5].

Z veterinární medicíny je publikována informace o jeho izolaci od prasat, kde autoři předpokládají jeho potenciální patogenitu [6].

**KAZUISTIKA**

Žena, 53 let, podstoupila v březnu 2007 operaci plochnoží na pravé noze dle Hellala, která se zkomplikovala vytvořením paklobu. V srpnu téhož roku jí byla provedena rekonstrukce Kirschnerovými dráty (K dráty) spolu s řešením Hallux valgus I.dx. V říjnu 2007 znovu provedena reoperace pro migraci drátů, které jí byly zavedeny zpět do kosti. V prosinci 2007 byly dráty vyjmuty.

V únoru 2008 pacientka prodělala operaci halluxu i na levé dolní končetině řešenou opět K dráty, kdy došlo znovu k jejich uvolnění. V dubnu 2008 dráty opět operativně zavedeny. Jejich extrakce proběhla v červnu téhož roku.

Na základě RTG snímků při četných kontrolách prokázáno selhání operace halluxů vpravo i vlevo. Další pláno-

vaná operace odložena pro arytmiie. Tato byla uskutečněna až v září 2009, kdy byla provedena spongioplastika z proximální tibie na PDK. V srpnu 2010 však další reoperace na LDK.

V červnu 2011 uskutečněna reoperace halluxu na PDK po níž nastoupil výrazný otok s defektem na dorzu. Kultivace však provedena nebyla a antibiotika nasazena také nebyla. V srpnu téhož roku byla pacientka přijata k hospitalizaci na chirurgické oddělení, kde byla provedena evakuace hnisu z abscesu a nasazen ciprofloxacin p.o. a klindamycin i.v. Z hnisu byla vykultivována *Klebsiella oxytoca* v monokultuře s dobrou citlivostí k ciprofloxacinu. Na základě RTG vyšetření bylo vysloveno podezření na osteomyelitidu. Při kontrole za týden zjištěn výrazný otok pravé dolní končetiny s defektem cca 30 x 30 mm na dorzu nohy nad šlachou natahovače palce, povleklý serózní sekrecí bez terapeutického efektu nasazené antibiotické terapie. K drát zcela volný a proto byl vyjmut a zaslán spolu se stěrem z rány na mikrobiologické vyšetření. Empiricky nasazen cotrimoxazol (2x denně) na základě předchozí kultivace, kde byla izolována *Klebsiella oxytoca*

**Tabulka 1: MIKROBIOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ KLINICKÝCH MATERIÁLŮ PACIENTKY**

Mikroorganismus	Rána 21.8.2011	Rána 27.8.2011	K drát 27.8.2011
<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	+	-
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	-	-	+
<i>Helcococcus kunzii</i>	-	+	-

s touto citlivostí. Nyní ze stěru rány vykultivována opět klebsiela a nově *Helcococcus kunzii*. Z K drátu vykultivován *Staphylococcus pseudintermedius*. Pacientka v anamnéze uvádí chov kočky, což by mohlo vysvětlovat původ tohoto druhu v klinickém materiálu. Od 31. 8. 2011 nasazen amoxicilin/kys.klavulanová 1g po 12 hod., který užívala zpočátku souběžně s cotrimoxazolem asi 2 dny a potom pouze monoterapie potencovaným aminopenicilinem do 9. 9. 2011, kdy byl nasazen klindamycin 300 mg 4x denně p.o. Při další kontrole se defekt zatahuje. Tato léčba probíhala 25 dní. Defekt si pacientka denně převazovala a aplikovala Iruxol včetně Askina krytí. Při poslední kontrole byla noha zcela klidná, bez otoku s reziduálním asi 3 mm defektem, který se jevil lehce povleklý bez sekrece.

### MIKROBIOLOGIE

Při mikrobiologickém vyšetření v materiálech odebraných v srpnu 2011 byly izolovány tři druhy mikroorganismů (viz tab. 1).

V kultivaci z rány ze dne 27. 8. 2011 vedle klebsiely byl zachycen také kmen Gram pozitivních mírně  $\alpha$ -hemolytických mikroorganismů, jež na krevním agaru s 5 % ovčích erytrocytů za aerobních podmínek při 37 °C tvořily drobné transparentní kolonie. Kmen se vyznačoval pomalejším růstem. Za mikroaerofilních podmínek se růst značně zlepšil. Biochemická aktivita při prvním kontaktu byla vyšetřena soupravou STREPTOtest 24 (Erba Lachema, Brno), kde vykazoval vlastnosti uvedené v tabulce 2.

Na základě tohoto profilu program TNW 6.5 (Erba Lachema) vyhodnotil identifikaci jako *Alloiococcus otitis* s velmi nízkou pravděpodobností (viz tabulka 3).

**Tabulka 2: BIOCHEMICKÉ VLASTNOSTI KMENE HELCOCOCCUS KUNZII ZA 24 h. ZA AEROBNÍCH A MIKROAEROFILNÍCH PODMÍNEK**

Testy	Aerobně	Mikroaerofilně	Testy	Aerobně	Mikroaerofilně	Testy	Aerobně	Mikroaerofilně
PYR	+	+	ESL	+	+	AMG	-	-
HIP	-	-	INU	-	-	TGT	-	-
NAG	+	+	MAN	-	-	MLT	-	-
LAP	+	-	SOR	-	-	RAF	-	-
bMN	-	-	MLB	-	-	TRE	-	+(po 48 h.)
GLR	-	-	RIB	-	-	SOE	-	-
bGL	+	+	LAC	-	+	VPT	-	-
bGA	+	+	PUL	-	-	CAT	+	+
aGA	-	-	ARG	-	-			
PHS	-	-	S06	+	+			

**Tabulka 3: PRVOTNÍ PROFIL IDENTIFIKACE TESTEM STREPTOTEST 24 (Erba Lachema, Brno)**

Identifikovaný taxon	Identifikační skóre	T-index
<i>Alloiococcus otitis</i>	96,84	0,24
<i>Abiotrophia adiacens</i>	2,84	0,21
<i>Helcococcus kunzii</i>	0,32	-0,12

Výsledky biochemického profilu provedeného za mikroaerofilních podmínek ukazují, že za těchto podmínek a při prodloužené kultivaci byl docílen mnohem přesnější výsledek. Suspektní kmény proto doporučujeme kultivovat a testovat za uvedených podmínek (viz tab. 2), protože při standardním postupu nemusí biochemické vlastnosti být dobře vyjádřeny a profil může ukazovat na jiné druhy

s nižší nebo dokonce s velmi nízkou pravděpodobností, jako v našem případě.

Druhá příslušnost byla potvrzena metodou hmotnostní spektrofotometrie MALDI TOF na přístroji Microflex (Bruker Daltonics) na SZÚ Praha. Kmen byl následně v České sbírce mikroorganismů PřF MU v Brně podroben typizaci metodou rep-PCR s primerem (GTG)<sub>5</sub> [11]. Získaný profil vykázal vysokou podobnost (70,3 %) s typovým kmenem *Helcococcus kunzii* CCM 4547<sup>T</sup> a potvrdil tak výsledek identifikace získané MALDI TOF MS.

Metodou rep-PCR byl rovněž dourčen kmen *S. pseudintermedius*, který biochemickými testy, ani metodou MALDI TOF není možné odlišit od druhu *S. intermedius*.

Výsledek vyšetření k antibakteriálním preparátům je uveden v tabulce 4.

Kmen *Helcococcus kunzii* je uložen v České sbírce mikroorganismů Masarykovy univerzity v Brně pod číslem CCM 7989.

**Tabulka 4: CITLIVOST KMENE HELCOCOCCUS KUNZII K ANTIBIOTIKŮM DISKOVÝM DIFÚZNÍM TESTEM**

ATB	výsledek	ATB	výsledek
penicilin	<b>C</b>	ciprofloxacín	<b>R</b>
klindamycin	<b>C</b>	doxycyklin	<b>C</b>
klaritromycin	<b>C</b>	Amoxicilin/klav.	<b>C</b>
azitromycin	<b>C</b>	vankomycin	<b>C</b>

## DISKUZE

Etiologický význam *Helcococcus kunzii* v našem případě není zcela vyjasněn, podobně jako tomu je v několika případech publikovaných ve světové literatuře [5,6,7,8,9,10], která je na toto téma velmi chudá. Nicméně jsou zdokumentovány také případy, kdy jiný patogen nebyl z klinického materiálu izolován a kde autoři předpokládají potenciální patogenní úlohu tohoto druhu [7,8,9]. Podobně se předpokládá jejich účast zejména v defektech DK s horším prokrvením. V práci publikované Haasem a kol. (1997) byla popsána jistá afinita tohoto druhu ke kolonizaci dolních končetin u podiatrických pacientů a u pacientů s diabetickou nohou, kde však nebylo jednoznačně potvrzeno jejich patogenní působení [5].

Ve většině publikovaných prací se autoři shodují, že druh vykazuje predispozici k dolním extremitám, ale vzhledem k tomu, že je často izolován spolu s dalšími druhy, zejména stafylokoky a to jak *Staphylococcus aureus*, tak s koaguláza negativními druhy, je jeho potenciální patogenita dosud nevyjasněna a bude potřebovat další pozornost. Vyšší výskyt byl zaznamenán u pacientů s imunodeficitem, např. trpících cukrovkou nebo u pacientů s defekty cévního zásobení končetin.

## ZÁVĚR

Autoři popisují záchyt *Helcococcus kunzii* z rány u pacientky s komplikacemi po četných reoperacích plochnoží

a haluxu. Jeho potenciální patogenitu v daném procesu nelze jednoznačně potvrdit, vzhledem k současnému zachytu dalších mikroorganismů (*Staphylococcus pseudintermedius* a *Klebsiella oxytoca*). Vztahy izolovaných druhů v defektu mohou být podobné, jako je tomu v situacích po pokousání zvířetem, kdy se často na patologickém procesu podílí *Staphylococcus pseudintermedius*, *Staphylococcus intermedius* a pasteurely. Špatný imunitní terén pacienta může patogenní působení *H.kunzii* jen podpořit.

Ve světové literatuře je jen velmi málo informací na toto téma a v české odborné literatuře autoři nenašli žádný záznam o izolaci tohoto druhu z humánního materiálu. Důvody mohou být v podobnosti tohoto druhu s viridujícími streptokoky a s druhem *Aerococcus viridans*, s nimiž může být mikrobiology mnohdy zaměňován. Doporučujeme proto věnovat gram pozitivním mikroorganismům izolovaným z defektů DK větší mikrobiologickou pozornost.

## PODĚKOVÁNÍ

NRL pro stafylokoky děkuje firmě BioVendor za dlouhodobé zapůjčení přístroje Microflex k MALDI-TOF MS identifikaci bakterií. Práce byla částečně podpořena projektem GAČR 310/09/0459.

## LITERATURA

- Collins MD, Facklam RR, Rodrigues MM, Ruoff K. Phylogenetic analysis of some *Aerococcus*-like organisms from clinical sources: description of *Helcococcus kunzii* gen.nov., sp.nov. *Int J Syst Bacteriol.* 1993; 43(3): 425–429.
- Collins MD, Falsen E, Foster G, Monasterio LR, Dominguez L, Fernandez-Garazabal JF. *Helcococcus ovis* sp.nov., a gram-positive organism from wheel. *Int J Syst Bacteriol.* 1999; 49(4): 1429–1432.
- Collins MD, Falsen E, Brownlee K, Lawson PA. *Helcococcus sueciensis* sp.nov., isolated from a human wound. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2004; 54(5): 1557–1560.
- Panackal AA, Houze YB, Prentice J, Leopold SS, Cookson BT, Liles WC, Limaye AP. Prosthetic joint infection due to „*Helcococcus pyogenes*“ (corrected). *J Clin Microbiol.* 2004; 42(6): 2872–2874.
- Haas J, Jernick SL, Scardina RJ, Teruya J, Caliendo AM, Ruoff KL. Colonization of skin by *Helcococcus kunzii*. *J Clin Microbiol.* 1997; 35(11): 2759–2761.
- Grattarola C, Bellino C, Tursi M, Maggi E, D' Angelo A, Gianella P, Dondo A, Cagnasso A. *Helcococcus kunzii* isolated from a sow with purulent urocystitis. *J Clin Microbiol.* 2010; 48(8): 3019–3020.
- Lamaitre N, Huvent D, Loiez C, Wallet F, Courcol RJ. Isolation of *Helcococcus kunzii* from plantar phlegmon in a vascular patient. *J Med Microbiol* 2008; 57(7): 907–908.
- Riegel P, Lepargneur JP. Isolation of *Helcococcus kunzii* from a post-surgical foot abscess. *Int.J.Med.Microbiol.* 2003; 293(6): 437–439.
- Chagla AH, Borczyk AA, Facklam RR, Lovgren M. Breast abscess associated with *Helcococcus kunzii*. *J Clin Microbiol.* 1998; 36(8): 2377–2379.
- Caliendo AM, Jordan CD, Ruoff KL. *Helcococcus*, a new genus of katalase-negative, gram-positive cocci isolated from clinical specimen. *J Clin Microbiol.* 1995; 33(6): 1638–1639.
- Švec P, Nováková D, Žáčková I, Kukletová M, Sedláček I. Evaluation of (GTG)<sub>5</sub>-PCR for rapid identification of *Strep-tococcus mutans*. *Anton Leeuw Int J G* 2008; 94: 573–579.

*Petr Ježek*  
*Oddělení klinické mikrobiologie a parazitologie*  
*Oblastní nemocnice Příbram, a.s.*

*Petr Petráš*  
*Národní referenční laboratoř pro stafylokoky*  
*Státní zdravotní ústav, Praha*

*Pavel Švec*  
*Česká sbírka mikroorganismů*  
*Masarykova Univerzita, Brno*

*Petr Čapek*  
*Ortopedicko-traumatologické oddělení*  
*Oblastní nemocnice Příbram, a.s.*

*kontakt: [petr.jezek@onp.cz](mailto:petr.jezek@onp.cz)*