

ORIDES – orientační identifikace koaguláza-negativních stafylokoků – verze 2018**ORIDES – presumptive identification of coagulase-negative staphylococci – version 2018****Petr Petráš****Souhrn • Summary**

V příspěvku je prezentováno aktualizované dichotomické schéma NRL pro stafylokoky ORIDES. Schéma může sloužit k jednoduchému vyhodnocení identifikace 25 druhů/poddruhů koaguláza-negativních stafylokoků (KNS), které jsou do NRL nejčastěji zasílány z pracovišť klinické mikrobiologie v ČR k identifikaci.

An update is presented of the dichotomous scheme ORIDES designed by the National Reference Laboratory for Staphylococci. This scheme is intended for simple presumptive identification of 25 species/subspecies of coagulase-negative staphylococci (CNS) that are most commonly referred for identification to the NRL by clinical microbiology laboratories in the Czech Republic.

Zprávy CEM (SZÚ, Praha) 2018; 27(6): 153–158.

Klíčová slova: rod *Staphylococcus*, koaguláza negativní stafylokoky, identifikace
Keywords: genus *Staphylococcus*, coagulase-negative staphylococci, identification

Koaguláza-negativní stafylokoky (KNS) jsou dnes považovány za podmíněné patogeny, které mohou u oslabeného pacienta (věk, imunita, dlouhodobý pobyt v nemocnici a uživatelé drog) vyvolat různá onemocnění. Mohou být příčinou endokarditid, osteomyelitid, meningitid, zhnisaných ran. U infekcí spojených se zdravotní péčí jsou KNS častým etiologickým agens onemocnění krevního řečiště. Známe jsou cystitidy vyvolané kmeny *S. saprophyticus* subsp. *saprophyticus*. KNS jsou všude přítomné. Tvoří hlavní součást normálního mikrobiálního osídlení kůže a sliznic člověka a vyskytují se i na sliznicích různých druhů zvířat. Nachází se v prostředí, některé jsou typické pro jisté potraviny. Vzhledem k své ubikviternosti jsou KNS nejčastější kontaminací hemokultur i dalšího vyšetřovaného materiálu.

V opodstatněných případech je zapotřebí kmeny KNS identifikovat a zjistit jejich citlivost k antibiotikům. Je samozřejmě důležité zvážit, kdy se jedná o původce infekce a kdy jde o kontaminaci.

ODLIŠENÍ KMENŮ KNS OD *S. AUREUS*

Pro klinické lékaře je při záchytu stafylokoků základní informace „je to *S. aureus* nebo KNS“. K odlišení kmenů KNS od kmenů *S. aureus* se v bakteriologických laboratořích běžně používá latexový test na „Clumping (shlukovací) faktor“, nazývaný též vázaná koaguláza. Je vhodné používat testy 3. generace, tj. ty, které jsou schopné vedle clumping faktoru detekovat protein A a kapsulární polysacharidy kmenů MRSA. Obvykle mají v označení slůvko „plus“. Pozitivní výsledek testu na clumping faktor mohou mít i kmeny *S. lugdunensis* a *S. schleiferi* subsp. *schleiferi* a s některými latexovými kity i kmeny *S. petrasii* subsp. *petrasii*.

K průkazu kmenů *S. aureus* se v NRL pro stafylokoky (NRL/St) nejvíce osvědčilo zjišťování produkce enzymu hyaluronidáza [1]. Metodika je dostupná na webových stránkách NRL pro stafylokoky: <http://www.szu.cz/prukaz-hyaluronidazy-k-prukazu-kmenu-s-aureus>

U sporných případů se řídíme výsledky genotypizace: metodou PCR zjišťujeme přítomnost *nuc* genu, který kóduje produkci termorezistentní nukleázy kmenů *S. aureus*.

IDENTIFIKACE KMENŮ KNS

Identifikace kmene KNS se v terénních klinických laboratořích provádí fenotypovými testy. V naší republice jsou k dispozici dobré komerční sety STAPHYtest 24 firmy Erba Lachema. Slovenská firma Diagnostics s.r.o. produkuje velice obdobné kity IDmikro GP24. Mají-li laboratoře možnost, používají kity API Staph, případně ID 32 Staph testy firmy Biomérieux, BBL Crystal Gram-positive ID Kit firmy Becton Dickinson a jiné. Vyhodnocování se obvykle provádí pomocí příslušných počítačových programů – pro STAPHYtesty 24 využíváme identifikační software ErbaExpert.

V poslední době stále více laboratoří používá hmotnostní spektrometrii, převážně pomocí přístroje Microflex (Bruker Daltonics). Většinu stafylokokových druhů lze programem Biotyper identifikovat velice dobře. (Připomínáme, že metodou MALDI typizace je možné zachytit i kmeny českého druhu *S. petrasii*, který je v databázi uveden „anonymně“ jako *Staphylococcus* [sp.1].)

ORIDES

Přes rozšíření počítačových programů se pro identifikaci KNS na některých bakteriologických pracovištích používá stále i dichotomické schéma naší laboratoře ORIDES (Orientační identifikace stafylokoků). V tomto příspěvku prezentujeme jeho aktualizaci, s kterou může ORIDES dočasně sloužit, než budou hmotnostní spektrometrie a molekulární metody běžně dostupné ve všech klinických bakteriologických laboratořích.

ORIDES je možné využít k orientační identifikaci nejčastějších 25 druhů, resp. poddruhů KNS, které se podle výsledků NRL pro stafylokoky vyskytují v humánním klinickém materiálu (tabulka V.). První verze ORIDESu byla zveřejněna v roce 1995 [2]. Proti předchozí verzi z roku 2015 [3] žádný další druh stafylokoků ve schématu nepřibyl. Od roku 2015 byly publikovány dva nové druhy KNS, *S. argensis* [4] a *S. edaphicus* [5]. Oba byly ale zachyceny z prostředí: *S. argensis* ze sedimentů řeky Argen u Bodamského jezera a *S. edaphicus* z kamenné drtě a písku na Rossově ostrově v Antarktidě. Proto nebyly do našeho schématu zahrnuty.

Tím nelze říci, že i tyto v podstatě veterinární, či environmentální stafylokoky nelze v humánním klinickém materiálu nalézt. Vzácně jsou v literatuře popisovány i jako původci lidských infekcí. Také v naší laboratoři byl v loňském roce potvrzen – ve spolupráci se sbírkou CCM Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity – kmen *S. condimenti*. Byl izolován kolegy ve Fakultní nemocnici Brno ze sekretu dutiny břišní při sepsi po těžké pankreatitidě u onkologického 71letého pacienta [6]. (Kmeny tohoto druhu se nacházejí obvykle v sojové omáčce a při fermentaci sýrů.)

Schéma ORIDES je založeno na charakteristických fenotypových vlastnostech jednotlivých taxonů, které mají v databázi výsledků reakcí rozlišující hodnoty, pokud možno alespoň 15 versus 85. U aberantních kmenů, které mají diskriminující charakteristiku atypickou, vyjde výsledek identifikace odlišně od skutečnosti. Podle dosavadních porovnání naší laboratoře je těchto kmenů asi 10–15 %.

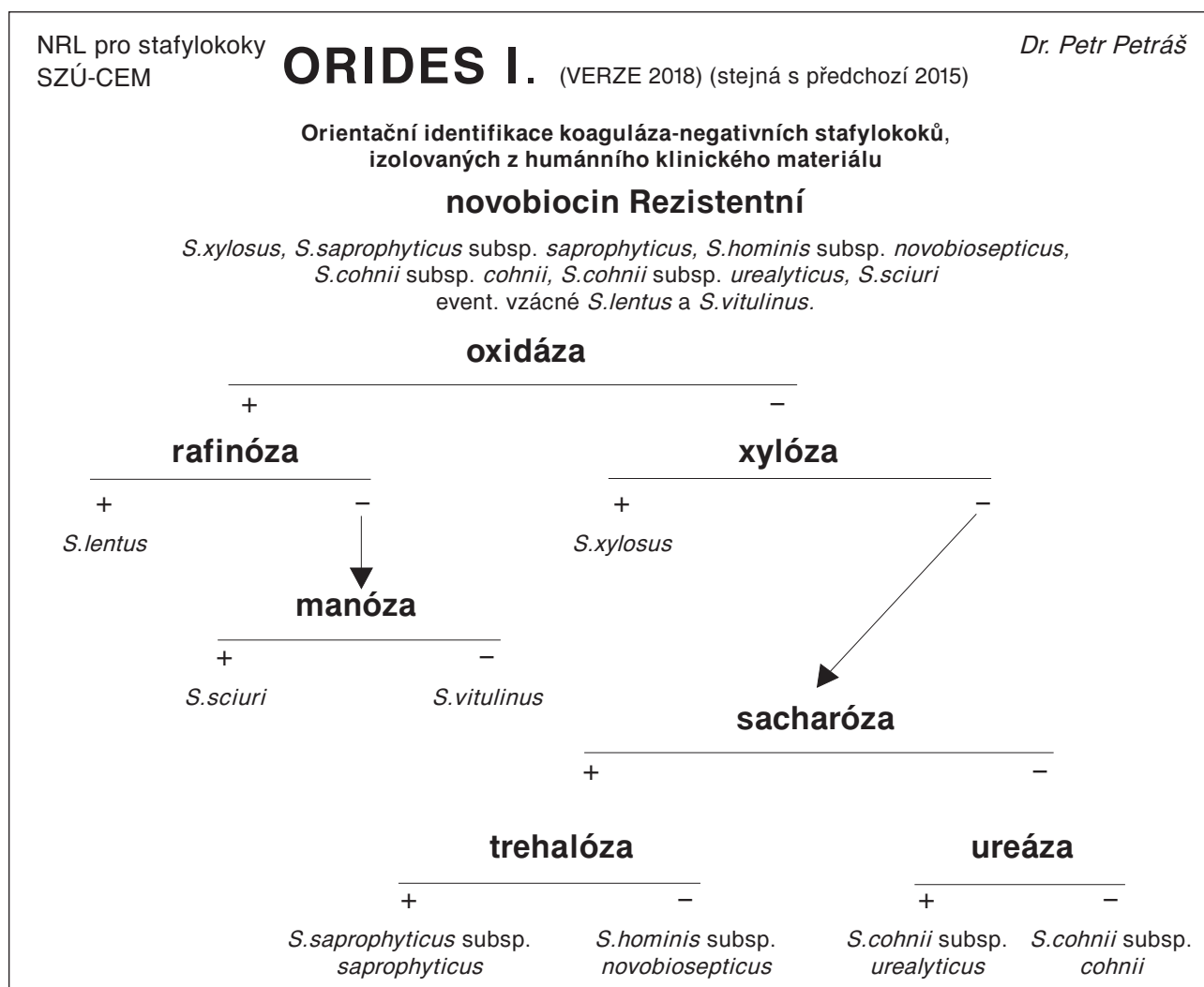
Prezentovaná verze 2018 se liší od předchozí z roku 2015 pouze v tabulce III, kdy byly upraveny reakce v posledních dvou krocích. Schémata v tabulkách I., II. a IV. zůstala stejná.

Celkem je v ORIDESu použito 18 základních biochemických reakcí, které jsou běžně využívány v bakteriologických laboratořích, ať už konvenčně, nebo v různých kitech – viz tabulka VI.

PODĚKOVÁNÍ

Autor děkuje svým současným spolupracovnicím Jance a Radce, i všem bývalým kolegyním v NRL pro stafylokoky za perfektní spolupráci. Dík patří i doc. Sedláčkovi a dr. Švecovi z České sbírky mikroorganismů v Brně a doc. Pantůčkovi z Ústavu experimentální biologie Přírodovědecké fakulty Masarykovy Univerzity v Brně za genotypové iden-

Tabulka I.



tifikace problematických kmenů. Autor děkuje i kolegům z Oddělení klinické mikrobiologie a antibiotické stanice Nemocnice Na Homolce, dr. Vanišovi a dr. Zemanové, za upozornění na chybu v minulé verzi.

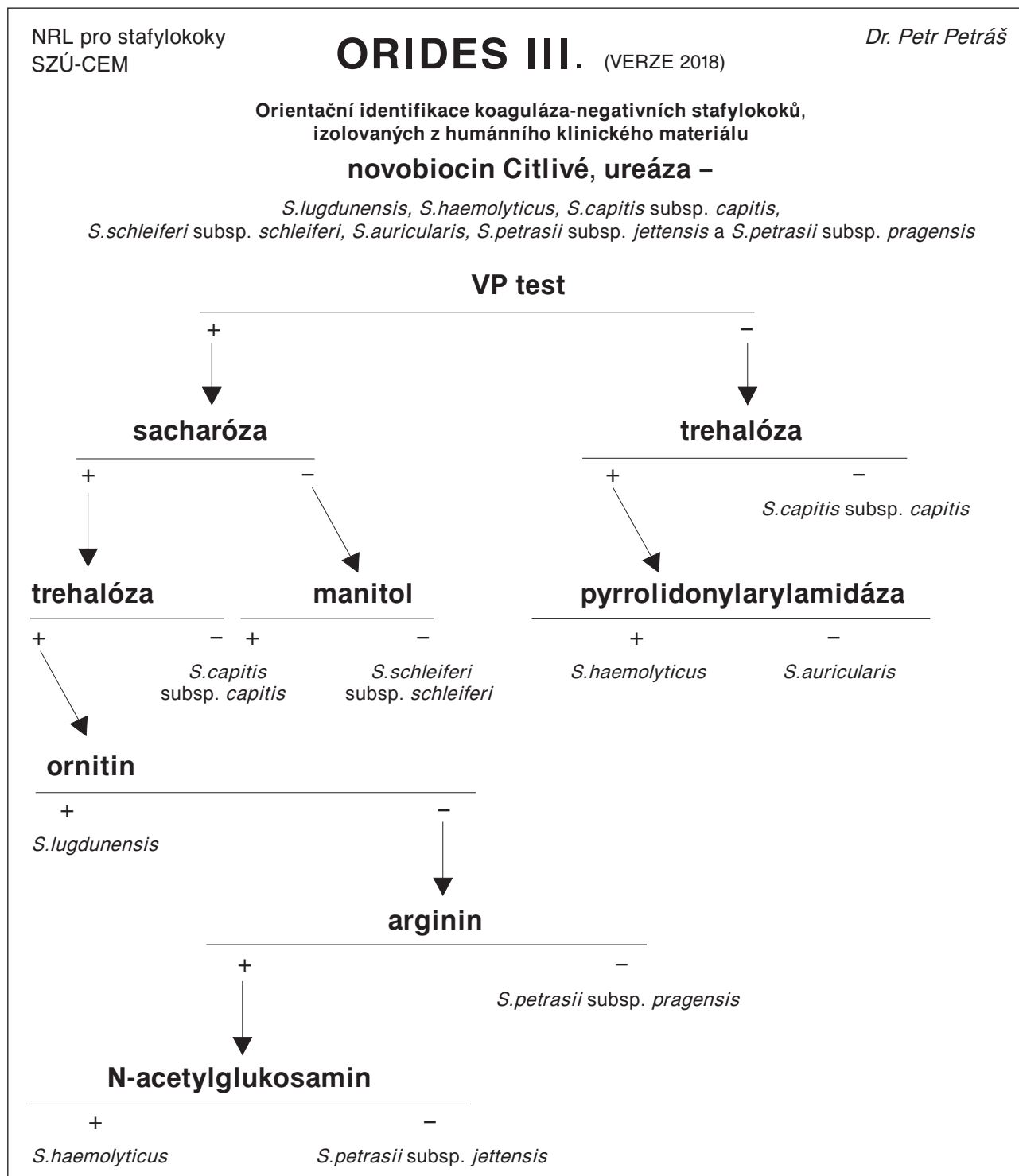
LITERATURA

- [1] Andrysík T, Machová I, Petráš P, Votava M. Průkaz hyaluronidázy u kmenů rodu *Staphylococcus*. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)* 2004; 13(5): 210–212. Metodika dostupná na webu: <http://www.szu.cz/prukaz-hyaluronidazy-k-prukazu-kmenu-s-aureus>
- [2] Petráš P. ORIDES – orientační identifikace koaguláza negativních stafylokoků z klinického materiálu. *Epidemiol mikrobiol imunol* 1995; 44(1): 15–19.
- [3] Petráš P. ORIDES – orientační identifikace koaguláza negativních stafylokoků – verze 2015. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)* 2015; 24(10): 332–337.
- [4] Hess S, Gallert C. *Staphylococcus argensis* sp. nov., a novel staphylococcal species isolated from an aquatic environment. *Int J Syst Evol Microbiol* 2015; 65(8): 2661–2665.
- [5] Pantůček R, Sedláček I, Indráková A, et al. *Staphylococcus edaphicus* sp. nov., isolated in Antarctica, harbors the *mecC* gene and genomic islands with a suspected role in adaptation to extreme environments. *Appl Env Microbiol* 2018; 84(2): e07146-17.
- [6] Vítková I, Lengerová M, Kratochvíl M, et al. *Staphylococcus condimenti* – jako původce sepse u oslabeného pacienta – kazuistika. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)* 2017; 26(4): 150–152.

Tabulka II.

NRL pro stafylokoky SZÚ-CEM	Dr. Petr Petráš
ORIDES II. (VERZE 2018) (stejná s předchozí 2015)	
Orientační identifikace koaguláza-negativních stafylokoků, izolovaných z humánního klinického materiálu	
novobiocin Citlivé, ureáza +	
<i>S. caprae</i> , <i>S. simulans</i> , <i>S. warneri</i> , <i>S. pasteurii</i> , <i>S. capitis</i> subsp. <i>urealyticus</i> , <i>S. lugdunensis</i> , <i>S. hominis</i> subsp. <i>hominis</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>S. petrasii</i> subsp. <i>petrasii</i> a <i>croceilyticus</i> , <i>S. pettenkoferii</i>	
sacharóza	
+	–
(u kmenů <i>S. pettenkoferii</i> je okyselování sacharózy opožděné 2. až 3. den)	<i>S. caprae</i>
manitol	
+	–
↓	↓
trehalóza	viz ORIDES IV.
+	–
	<i>S. capitis</i> subsp. <i>urealyticus</i>
N-acetylglukosamin	
+	–
<i>S. simulans</i>	
PYR test	
+	–
β-glukuronidáza	
+	–
<i>S. petrasii</i> subsp. <i>croceilyticus</i>	<i>S. petrasii</i> subsp. <i>petrasii</i>
sorbitol	
+	–
<i>S. pasteurii</i>	<i>S. warneri</i>

Tabulka III.



**Tabulka V. Koaguláza negativní stafylokoky
zahnuté ve schématu ORIDES (verze 2018)**

Č.	zkratka *)	druh/poddruh rodu <i>Staphylococcus</i>
1	SAC	<i>S. auricularis</i>
2	SCA	<i>S. capitis</i> subsp. <i>capitis</i>
3	SUR	<i>S. capitis</i> subsp. <i>urealyticus</i>
4	SCP	<i>S. caprae</i>
5	SCO	<i>S. cohnii</i> subsp. <i>cohnii</i>
6	SCU	<i>S. cohnii</i> subsp. <i>urealyticus</i>
7	SEP	<i>S. epidermidis</i>
8	SHA	<i>S. haemolyticus</i>
9	SHO	<i>S. hominis</i> subsp. <i>hominis</i>
10	SHN	<i>S. hominis</i> subsp. <i>novobiosepticus</i>
11	SLE	<i>S. lentus</i>
12	SLU	<i>S. lugdunensis</i>
13	SPA	<i>S. pasteurii</i>
14	SPC	<i>S. petrasii</i> subsp. <i>croceilyticus</i>
15	SPJ	<i>S. petrasii</i> subsp. <i>jettensis</i>
16	SPP	<i>S. petrasii</i> subsp. <i>petrasii</i>
17	SPR	<i>S. petrasii</i> subsp. <i>pragensis</i>
18	SPE	<i>S. pettenkoferi</i>
19	SSA	<i>S. saprophyticus</i> subsp. <i>saprophyticus</i>
20	Scs	<i>S. sciuri</i>
21	SSF	<i>S. schleiferi</i> subsp. <i>schleiferi</i>
22	SSI	<i>S. simulans</i>
23	SVI	<i>S. vitulinus</i>
24	SWA	<i>S. warneri</i>
25	SXY	<i>S. xylosus</i>

*)zkratka používaná v NRL pro stafylokoky

Tabulka VI. Biochemické reakce použité ve schématu ORIDES

Č.	zkratka	reakce
1	NOV	rezistence k novobiocinu
2	OXI	oxidáza
3	RAF	rafinóza
4	MNS	manóza
5	XYL	xylóza
6	SUC	sacharóza
7	TRE	trehalóza
8	URE	ureáza
9	MAN	manitol
10	NAG	N-acetylglukosamin
11	PYR	pyrrolidonylarylamidáza
12	GLR	beta-glukuronidáza
13	SOR	sorbitol
14	VPT	acetoin
15	ORN	ornitin dekarboxyláza
16	ARG	arginin dihydroláza
17	THI	anaerobní růst (thioglykolát)
18	GLS	beta-glukosidáza

RNDr. Petr Petráš, CSc.
NRL pro stafylokoky
CEM-SZÚ, Praha