

Sledování produkce hyaluronidázy u kmenů rodu *Staphylococcus* v ČR – v NRL pro stafylokoky v letech 2004–2020

Monitoring the production of hyaluronidase in strains of the genus Staphylococcus in the Czech Republic at the National Reference Laboratory for Staphylococci, 2004–2020

Petr Petráš, Tereza Měřínská, Radoslava Hutníková

Věnováno památce prof. MUDr. Miroslava Votavy, CSc. (1942–2020)

Souhrn • Summary

Stafylokoková hyaluronidáza je významným faktorem virulence, participuje na průniku patogenních bakterií do tkání. V NRL pro stafylokoky byla v letech 2004–2020 sledována její produkce u 14 856 kmenů *Staphylococcus aureus*, z kterých byla pozitivita zjištěna u 98,71 %. Ze souboru 96 koaguláza pozitivních kmenů „non-aureus“ byla produkce tohoto enzymu zjištěna u všech 5 sledovaných *S. hyicus* a všech pěti sledovaných kmenů *S. argenteus*. Pozitivní byl i sledovaný jeden kmen *S. agnetis*. Všechny kmeny *S. pseudintermedius/S. intermedius* a *S. coagulans* byly negativní. Naprostá většina ze 1735 kmenů ze 42 různých (pod)druhů koaguláza negativních stafylokoků hyaluronidázu neprodukovala, slabá reakce byla zjištěna u 3 kmenů *S. lugdunensis*. S negativním výsledkem bylo otestováno i 79 kmenů oxidáza pozitivních zástupců bývalé „*S. sciuri* group“ – dnes různých druhů rodu *Mammaliococcus*. Bylo ověřeno, že test zjišťování produkce hyaluronidázy je velice specifický a může spolehlivě sloužit k jednoduchému konvenčnímu biochemickému odlišení kmenů *S. aureus*.

Staphylococcal hyaluronidase is an important virulence factor. It facilitates the entry of pathogenic bacteria into tissues. In 2004 to 2020, the production of hyaluronidase was monitored in 14 856 strains of *Staphylococcus aureus*, and 98.71 % of them turned out to be positive. Of 96 coagulase-positive non-aureus strains, all five study strains of *S. hyicus* and all five study strains of *S. argenteus* were producers of this enzyme. Its production was also detected in the single study strain of *S. agnetis*. All strains of *S. pseudintermedius/S. intermedius* and *S. coagulans* tested hyaluronidase negative. The vast majority of 1735 strains of 42 different coagulase-negative (sub)species did not produce hyaluronidase, and three strains of *S. lugdunensis* showed low reactivity. Seventy-nine oxidase positive representatives of the former “*S. sciuri* group” – now different species of the genus *Mammaliococcus* – also turned out to be hyaluronidase negative. The hyaluronidase production test proved to be highly specific and reliable for use as a simple conventional tool for biochemical identification of *S. aureus* strains.

Zprávy CEM (SZÚ, Praha) 2021; 30(5):145–148

Klíčová slova: *Staphylococcus aureus*, test hyaluronidázy, konvenční identifikace

Keywords: *Staphylococcus aureus*, hyaluronidase production test, conventional identification

ÚVOD

Stafylokoková hyaluronidáza patří do větší skupiny hyaluronidáz, které jsou produkovány Gram-pozitivními bakteriemi (např. různé druhy rodů *Streptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium* a d.). Bývá označována jako „průnikový faktor“ (spreading factor). Z chemického hlediska se jedná o poměrně jednoduchý protein o molekulární hmotnosti 92 kDa. Tento extracelulární enzym štěpí kyselinu hyaluronovou a chondroinsulfát, které jsou přítomny v mezibuněčných tmelech a podílí se na průniku patogenních bakterií do tkání [1, 2].

Test na průkaz hyaluronidázy (dekapsulační test) se velice osvědčuje v diferenciální diagnostice kmenů rodu *Staphylococcus*. V naší republice byl jedním z prvních, kdo jej navrhl vedle klasického testu k průkazu volné plasmakoagulázy, brněnský veterinární mikrobiolog prof. MVDr. Boris Skalka, DrSc. (1930–2003) [3]. Naší laboratoři ho doporučil brněnský profesor MUDr. Miroslav Votava, CSc. (1942–2020). V pilotní studii jsme otestovali přes 500 kmenů ze 44 různých stafylokokových taxonů. Potvrdilo se nám, že pozitivní byly pouze kmeny *S. aureus* a jeden testovaný kmen *S. hyicus*. Všechny ostatní testované kmeny, včetně devíti kmenů *S. intermedius*, byly na průkaz hyaluronidázy negativní [4]. Zavedli jsme potom tento test do základních metodik a máme informace, že díky popularizaci jej začala s úspěchem používat řada našich terénních laboratoří.

MATERIÁL

Bakteriální kmeny

V období 2004–2020 byla v NRL pro stafylokoky CEM SZÚ (NRL/St) sledována produkce hyaluronidázy celkem u 14 856 kmenů *S. aureus* (taxonomicky přesně *S. aureus* subsp. *aureus*), u 96 koaguláza pozitivních kmenů “non-aureus” a 1735 stafylokoků koaguláza negativních. Ve studii byla produkce hyaluronidázy zjišťována i u 79 kmenů mammaliokoků, které původně patřily do “*Staphylococcus sciuri* group”. Kmeny pocházely z mikrobiologických pracovišť nemocnic a soukromých laboratoří ze všech krajů České republiky. Byly zaslány do NRL/St především ke zjištění faktorů virulence a k potvrzení identifikace.

METODY

Dekapsulační test

Metodu sledování produkce hyaluronidázy popsali již v roce 1949 Muray a Pearce [5]. K testu byl používán běžný krevní agar s 5 % ovčí krve. Indikátorem byl mukózní kmen *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, původně z České národní sbírky typových kultur SZÚ v Praze, číslo kultury Str 34/49, dnes CNCTC 7140.

Indikátorový kmen se naočkuje v pruhu asi o tloušce 15 mm – používáme rozmraženou suspenzi kmene v séroglycerinovém mediu, přechovávanou při –20 °C. K této zóně se kolmo očkují sledované stafylokokové kmeny, stačí inokulační linie délky cca 5 mm. Kultivuje se za normálních aerobních podmínek v 37 °C 18–24 hodin. Pokud testovaný stafylokok produkuje hyaluronidázu, je v blízkosti jeho linie v mukózním nárůstu *S. equi* patrný půlkruh bez hlenovitého nárůstu svědčící o ztrátě pouzdra (dekapsulaci). Semikvantitvně byla reakce hodnocena jako silná produkce (na +++), při zóně půlkruhu s průměrem asi 12–18 mm, u kmenů se slabou produkcí (na jeden +) byl průměr zóny s dekapulovaným *S. equi* asi 3–4 mm. Tato zóna se s dobou inkubace natolik zvětšuje a vyschne, že za 48 hod už tento test nelze hodnotit.

Identifikace

Kmeny *S. aureus* jsme prokazovali testem volné a vázané koagulázy a molekulárně potvrzovali zjištěním *nuc* genu metodou PCR, v novější době i hmotnostní spektrometrií.

Kmeny „non-aureus“ jsme identifikovali pomocí setu STAPHYtest24 (Erba-Lachema, Cz) a pomocí konvenčních zkumavkových reakcí. K vyhodnocování jsme používali program TNW (Lachema, Cz), který byl později nahrazen programem ErbaExpert (Erba-Lachema, Cz).

Od ledna 2011 máme v CEM SZÚ možnost využívat MALDI-TOF hmotnostní spektrometrii (Microflex LT, Bruker Daltonics, USA), která se záhy stala hlavní identifi-kační metodou. Databáze je výrobcem průběžně aktualizována, v současnosti používáme MBT 9607 MSP Library. Klasické fenotypové reakce nasazujeme v případech ne zcela jasných výsledků při odlišování poddruhů a při identifikaci vzácných, zřídka se vyskytujících stafylokoků.

VÝSLEDKY

Za dobu téměř 17 let (od dubna 2004 do konce roku 2020) byla sledována produkce hyaluronidázy u 14 856 kmenů *S. aureus* subsp. *aureus*. Z těch bylo silně pozitivních 14 550 tj. 97,94 % a 114 kmenů (0,77 %) bylo pozitivních slabě. Negativních bylo 192 kmenů, tj. 1,29 % (Tabulka 1).

Z ostatních koaguláza pozitivních kmenů byla produkce hyaluronidázy zjišťována u 78 kmenů *S. pseudintermedius/S. intermedius* a 7 kmenů *S. coagulans* – u všech s negativním výsledkem. Naopak hyaluronidázu produkovalo všech 5 sledovaných kmenů *S. argentus*, všech 5 sledovaných kmenů *S. hyicus* a též typová kultura *S. agnetis* (Tabulka 2).

Testováno bylo 1735 kmenů ze 42 různých (pod)druhů koaguláza negativních stafylokoků. Naprostá většina kmenů hyaluronidázu neprodukovala, výjimkou byl tři kmeny *S. lugdunensis*, které byly slabě pozitivní na jeden křížek (Tabulka 3).

Dále bylo otestováno 79 kmenů bývalých oxidáza pozitivních zástupců „*Staphylococcus sciuri* group“ – dnes různých druhů rodu *Mammaliococcus* – u všech s negativním výsledkem (Tabulka 4).

DISKUZE

V předchozích studiích jsme si ověřili, že identifikace českým setem STAPHYtest24 je srovnatelná, ne-li lepší, než ve světě nejčastěji používaný set API Staph (BioMerieux, Fr) [6]. Přešli jsme na tento český diagnostický set, který jsme v případě potřeby doplňovali výsledky klasických

Tabulka 1: Sledování produkce hyaluronidázy u kmenů *S. aureus* v letech 2004–2020

Produkce hyaluronidázy	silně pozitivní (+++)	slabě pozitivní (+)	celkem pozitivních	negativních	celkem sledováno
počty kmenů	14 550	114	14 664	192	14 856
%	97,94 %	0,77 %	98,71 %	1,29 %	100 %

Tabulka 2: Sledování produkce hyaluronidázy u koaguláza pozitivních kmenů non *S. aureus* v letech 2004–2020

<i>Staphylococcus</i> spp.	produkce hyaluronidázy				
	silně pozitivní (+++)	slabě pozitivní (+)	celkem pozitivních	negativních	celkem sledováno
<i>S. agnetis</i>	1	0	1	0	1
<i>S. argentus</i>	5	0	5	0	5
<i>S. coagulans</i>	0	0	0	7	7
<i>S. hyicus</i>	4	1	5	0	5
<i>S. pseudintermedius/ S.intermedius</i>	0	0	0	78	78
celkem sledováno					96

Tabulka 3: Počty koaguláza negativních stafylokoků testovaných na produkci hyaluronidázy 2004–2020: vše negativní s výjimkou 3 kmenů *S. lugdunensis*

Č.	<i>Staphylococcus</i> spp.	počet kmenů
1	<i>S. arlettae</i>	2
2	<i>S. auricularis</i>	10
3	<i>S. capitis</i> subsp. <i>capitis</i>	12
4	<i>S. capitis</i> subsp. <i>urealyticus</i>	17
5	<i>S. caprae</i>	21
6	<i>S. carnosus</i> subsp. <i>carnosus</i>	1
7	<i>S. casei</i>	1
8	<i>S. cohnii</i>	13
9	<i>S. condimenti</i>	9
10	<i>S. croceilyticus</i>	17
11	<i>S. devriesei</i>	1
12	<i>S. epidermidis</i>	288
13	<i>S. equorum</i> subsp. <i>equorum</i>	6
14	<i>S. equorum</i> subsp. <i>linens</i>	1
15	<i>S. felis</i>	12
16	<i>S. gallinarum</i>	8
17	<i>S. haemolyticus</i>	293
18	<i>S. hominis</i> subsp. <i>hominis</i>	157
19	<i>S. hominis</i> subsp. <i>novobiosepticus</i>	118
20	<i>S. chromogenes</i>	5
21	<i>S. lugdunensis</i> *)	136
22	<i>S. massiliensis</i>	1
23	<i>S. microti</i>	3
24	<i>S. nepalensis</i>	2
25	<i>S. pasteurii</i>	17
26	<i>S. petrasii</i> subsp. <i>jettensis</i>	96
27	<i>S. petrasii</i> subsp. <i>petrasii</i>	74
28	<i>S. pettenkoferi</i>	16
29	<i>S. piscifermentans</i>	4
30	<i>S. pragensis</i>	86
31	<i>S. rostri</i>	1
32	<i>S. saccharolyticus</i>	3
33	<i>S. saprophyticus</i> subsp. <i>bovis</i>	2
34	<i>S. saprophyticus</i> subsp. <i>saprophyticus</i>	108
35	<i>S. schleiferi</i>	9
36	<i>S. simiae</i>	11
37	<i>S. simulans</i>	43
38	<i>S. sp. **)</i>	3
39	<i>S. succinus</i>	1
40	<i>S. ureilyticus</i>	21
41	<i>S. warneri</i>	73
42	<i>S. xylosus</i>	33
	celkem	1 735

*) ze 136 kmenů *S. lugdunensis* byly 3 slabě pozitivní; **) zatím neidentifikováno

biochemických testů. Program TNW byl později nahrazen programem ErbaExpert (Erba-Lachema, Cz).

Od roku 2011 pracujeme s MALDI–TOF hmotnostní spektrometrií, která je pro kmeny rodu *Staphylococcus* opravdu perfektní identifikační metodou. Maldid-identifikace jsou ve velmi dobrém souhlasu s výsledky konvenčních biochemických i molekulárních metod. Při ne zcela přesvědčivých výsledcích nám identifikaci konfirmovali pomocí moderních molekulárních metod kolegové v České sbírce mikroorganismů (CCM) a v Ústavu experimentální biologie PřF MU v Brně, a též v NRL pro antibiotika CEM SZÚ.

Pro fenotypizaci kmenů *S. aureus* se používá celá řada testů. První reakcí, která ho rozlišovala od tenkrát jediného dalšího druhu *S. epidermidis*, byla produkce volné

Tabulka 4: Počty mammaliokoků (býv. skupina oxidáza pozitivních stafylokoků) testovaných na produkci hyaluronidázy 2004–2020 – vše negativní

Č.	<i>Mammaliococcus</i> spp.	počet kmenů
1	<i>M. fleurettii</i>	2
2	<i>M. lentus</i>	11
3	<i>M. sciuri</i>	59
4	<i>M. stepanovicii</i>	1
5	<i>M. vitulinus</i>	6
	celkem	79

(zkumavkové) koagulázy. Prvenství objevu korelace produkce plasmakoagulázy a patogenity zjišťovaného stafylokokového kmene je připisováno maďarskému bakteriologovi Julius von Darányi [7]. Toto duální rozdělení přetrvává dodnes, kdy rozdělujeme stafylokoky na koaguláza pozitivní (v humánní klinické mikrobiologii hlavně *S. aureus*) a koaguláza negativní. V novější době se v terénních laboratořích hlavně využívá latexový test na clumping faktor (vázanou koagulázu). Je nutné pracovat s testem 3. generace, který detekuje kromě clumping faktoru též protein A, což je specifický povrchový antigen kmenů *S. aureus* a dále kapsulární polysacharidy u opouzdřených kmenů *S. aureus*. U těchto kmenů někdy latexové testy předchozích generací selhávaly.

V současnosti existuje k průkazu kmenů *S. aureus* řada genotypových metod, z nichž se asi nejčastěji používá PCR zjištění genu *nuc*, který kóduje produkci termostabilní nukleázy. Velice dobře umí identifikovat *S. aureus* MALDI-TOF hmotnostní spektrometrie, výsledek bývá většinou v zeleném skóre na dva/tři křížky.

Pro ty laboratoře, které zatím tyto moderní metody nemohou využívat, můžeme doporučit průkaz hyaluronidázy. Je velice jednoduchý a levný. Je pravda, že nejde jako u clumping faktoru odečíst výsledek ihned a musí se počkat do dalšího dne. Ale je opravdu specifický a senzitivní. Z téměř 15 000 kmenů *S. aureus* bylo pouze 1,29 % negativních (u těch jsme potvrdili identifikaci molekulárními metodami). Z dalších koaguláza pozitivních druhů byly všechny sledované *S. coagulans* a kmeny, které označujeme *S. pseudintermedius*/*S. intermedius*, negativní. Když byl v roce 2006 popsán *S. pseudintermedius* bylo zřejmé, že fenotypově tyto dva taxony nelze odlišit. Díky spolupráci s kolegy z brněnských pracovišť na PřF MU a kolegy z NRL pro antibiotika CEM SZÚ jsme zjistili, že naprostá většina kmenů, které jsme měli dosud uložené v kryosbírce jako *S. intermedius*, jsou ve skutečnosti *S. pseudintermedius*. Jako geneticky potvrzený druh *S. intermedius* máme pouze dva kmeny: jeden ze zánětu spojivky 25letého muže (identifikován v r. 2003) a druhý z nosního polypu 60letého muže (identifikován v r. 2007).

Pozitivní test na hyaluronidázu jsme ale zjistili u všech pěti sledovaných kmenů *S. hyicus*. To je v soulase s literaturou, již v popisové práci Devriese a kol. [8] se uvádí 128 pozitivních ze 132 sledovaných.

Hyaluronidázu produkovalo i všech 5 kmenů *S. argenteus*. V popisové práci [9] tato vlastnost uvedena není, a ani se nám nepodařilo nalézt jiný údaj v literatuře. Vzhledem

k tomu, jak jsou druhy *aureus* a *argenteus* fylogeneticky velice příbuzné, dalo se to předpokládat. Mohou být multirezistentní a vykazují podobné patogenní vlastnosti jako *S. aureus*. Byly u nich zjištěny stejné faktory virulence, včetně enterotoxinů a Pantonova-Valentinova leukocidinu [10]. Spolehlivě jdou odlišit metodou celogenomového sekvenování, a podle našich prvních zkušeností se zdá, že identifikovat je umí i hmotnostní spektrometrie.

Positivitu na tři křížky jsme zjistili i u jednoho kmene *S. agnetis* (typová kultura CCM 8869^T). V originálním popisu v IJSEM [11] a v dostupných publikacích jsme výsledek tohoto testu nenalezli.

V literatuře je řada publikací, které popisují produkci hyaluronidázy pouze u kmenů *S. aureus* a *S. hyicus* a nikoliv u koaguláza negativních. V r. 1980 Essers a kol. uvádí 217 hyaluronidáza pozitivních z 218 kmenů *S. aureus*, a 149 negativních ze 150 kmenů „non-aureus“ [12].

V roce 2009 publikoval Hart a kol. studii, ve které zjišťovali metodou Southern analýzy přítomnost genu *hysA*, který hyaluronidázu kóduje [13]. V souboru měli 43 kmenů *S. aureus* (93 % pozitivních) a typové kmeny 20 různých druhů „non-aureus“ stafylokoků, včetně *S. intermedius*, *S. delphini*, *S. coagulans* a *S. hyicus*. Tyto byly všechny negativní, včetně typového kmene *S. hyicus* ATCC 11249^T.

ZÁVĚR

Diferenciální test na průkaz hyaluronidázy byl proveden u více jak 16 000 kmenů stafylokoků. Ze 14 856 kmenů *S. aureus* bylo zjištěno pouze 192 (1,29 %) hyaluronidáza negativních. Z ostatních koaguláza pozitivních kmenů produkovaly tento enzym kmeny *S. hyicus*, *S. argenteus* a typový kmen *S. agnetis*. Kmeny *S. coagulans* a *S. pseudintermedius/S. intermedius* měly test negativní. Naprostá většina z 1 735 kmenů koaguláza negativních hyaluronidázu neprodukovala, slabá produkce byla zaznamenána u 3 kmenů *S. lugdunensis*. Negativní výsledek byl zjištěn i u 79 oxidáza pozitivních kmenů bývalé „*Staphylococcus sciuri* group“, které byly recentně přerazeny do nově utvořeného rodu *Mammaliicoccus* [14]. **Test k průkazu hyaluronidázy je velmi specifický i senzitivní a lze ho ve stafylokokové diagnostice velice doporučit.**

Kmeny *S. argenteus*, které mají také test hyaluronidázy pozitivní, lze běžnými metodami, včetně genotypizace metodou PCR, jen velice obtížně rozlišit od kmenů *S. aureus*. Existují názory, že vzhledem k velice podobnému virulenciálnímu potenciálu není tato diferenciace až tak potřebná [15]. Kmeny *S. hyicus* a *S. agnetis* jsou veterinárními patogeny a v humánní klinické mikrobiologii se prakticky nevyskytují.

PODĚKOVÁNÍ

Autoři děkují všem svým bývalým kolegyním, které se na práci NRL pro stafylokoky za celou dobu podílely.

Velký dík patří pracovníkům České sbírky mikroorganismů (CCM) a Ústavu experimentální biologie Přírodovědecké

fakulty Masarykovy univerzity v Brně za úžasnou mnohaletou spolupráci ve stafylokokové problematice.

Za spolupráci děkujeme i svým kolegům z České sbírky typových kultur CNCTC a NRL pro antibiotika CEM SZÚ.

LITERATURA

- [1] Hynes WL, Walton SL. Hyaluronidases of Gram-positive bacteria. *FEMS Microbiol Lett.* 2000; 183(2): 201–207.
- [2] Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. *Medical Microbiology.* 4th ed. Mosby, St. Louis 2002; s. 826.
- [3] Skalka B. Hyaluronidázový test v diagnostice stafylokoků. *Veter Med.* 1985; 30: 373–377.
- [4] Andrysík T, Machová I, Petráš P, Votava M, Woznicová V. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha).* 2004; 13(5): 210–212.
- [5] Murray RGF, Pearce RH. The detection and assay of hyaluronidase by means of mucoid streptococci. *Can J Res Sec E.* 1949; 27: 254–260.
- [6] Sedláček I, Petráš P, Pakrová E, Škapová T, Jančová J, Ježek P. Identification of staphylococci by using commercial kits STAPHYtest 24 and API Staph. *Clin Microb Inf.* 2008; 18th ECCMID Barcelona, Abstract book, str. 394, poster P1386.
- [7] von Darányi J. Pathogenität und Einstellung der Staphylococccen. *Zbl Bakt I. Abt Orig.* 1926; 99: 74–79.
- [8] Devriese LA, Hájek V, Oeding P, et al. *Staphylococcus hyicus* (Sompolinsky 1953) comb. nov. and *Staphylococcus hyicus* subsp. *chromogenes* subsp. nov. *Int J Syst Bacteriol.* 1978; 28(4): 482–490.
- [9] Tong SYC, Schaumburg F, Ellington MJ, et al. Novel staphylococcal species that form part of an *Staphylococcus aureus*-related complex: the non-pigmented *Staphylococcus argenteus* sp. nov. and non-human primate-associated *Staphylococcus schweitzeri* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2015; 65(1): 15–22.
- [10] Dupieux C, Blonde R, Bouchiat C, et al. Community-acquired infections due to *Staphylococcus argenteus* lineage isolates harbouring the Panton-Valentine leukocidin, France 2014. *Eurosurveillance.* 2015; 20: 6–8.
- [11] Taponen S, Suprę K, Piessens V, et al. *Staphylococcus agnetis* sp. nov., a coagulase—variable species from bovine subclinical a mild clinical mastitis. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2012; 62(1): 61–65.
- [12] Essers L, Radebold K. Rapid and reliable identification of *Staphylococcus aureus* by latex agglutination test. *J of Clin Microbiol.* 1980; 12(5): 641–643.
- [13] Hart ME, Hart MJ, Roop AJ. Genotypic a phenotypic assessment of hyaluronidase among type strains of select group staphylococcal species. *Inter J Microbiol.* 2009; 13: 614371; doi: 10.1155/2009/614371.
- [14] Madhaiyan M, Wirth JS, Saravanan VS. Phylogenomic analyses of the *Staphylococcaceae* family suggest the reclassification of five species within the genus *Staphylococcus* as heterotypic synonyms, the promotion of five subspecies to novel species, the taxonomic reassignment of five *Staphylococcus* species to *Mammaliicoccus* gen. nov., and the formal assignment of *Nosocomiicoccus* to the family *Staphylococcaceae*. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2020; 70(11): 5926–5936.
- [15] 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.

Petr Petráš, Tereza Měřínská, Radoslava Hutníková
NRL pro stafylokoky, CEM SZÚ