

Streptokoky z hľadiska systematickej bakteriológie

FRIDRICH GÖRNER - JAROSLAV ZEMANOVIČ

Súhrn. Nová systematika streptokokov, odôvodnená a navrhnutá v druhej polovici osemdesiatych rokov, spôsobuje pri interpretácii výsledkov mikrobiologických analýz isté nedorozumenia. V práci sa prezentuje nová systematika v porovnaní so zaužívanou. Z potravinársko-mikrobiologického a potravinársko-technologického hľadiska je významné, že pre skupiny streptokokov "mliečnych" a "enterokokov" boli určené nové rody *Lactococcus* a *Enterococcus*. Tieto rody obsahujú aj niektoré novodefinované druhy.

V taxonómii streptokokov sa v čase od posledného vydania Bergeyovho manuálu systematickej bakteriológie, diel druhý, v r.1986 [10], užívajú vedľa seba dva klasifikačné systémy rodu *Streptococcus*. V podstate sa líšia od seba skutočnosťou, že v Bergeyovom manuáli sa rod *Streptococcus* delí na šesť skupín: pyogénne streptokoky, orálne streptokoky, iné streptokoky, anaeróbné streptokoky, enterokoky a mliečne streptokoky, pokiaľ v odlišnom klasifikačnom systéme rodu *Streptococcus*, ako ho navrhli Schleifer a Kilpper-Bälz [6,8], je rozdelenie do vyššie uvedených klasických skupín streptokokov ponechané, s výnimkou vynechania skupiny anaeróbných streptokokov. Pre potravinárskych mikrobiológov je ale z taxonomického hľadiska ešte významnejšie, že uvedení autori navrhli skupinu enterokokov a skupinu mliečnych streptokokov povýšiť na samostatné rody *Enterococcus* a *Lactococcus*. Vo vnútri klasických skupín streptokokov a novonavrhnutých rodov odôvodnili a navrhli aj nové taxóny a niektoré presunuli medzi skupinami a rodmi.

Prof.Ing.Dr.Fridrich Görner, DrSc., Ing.Jaroslav Zemanovič, CSc., Katedra mlieka, tukov a hygieny požívatin, Chemickotechnologická fakulta STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava.

Toto novonavrhnuté, oproti platnému klasifikačnému systému odlišné delenie a nomenklatúra rodu *Streptococcus*, spôsobuje niekedy u praktikov pri interpretácii výsledkov mikrobiologických analýz isté nedorozumenie.

Cieľom tejto publikácie je vysvetliť a odôvodniť rozdielne a zhodné pohľady na systematiku streptokokov na základe dostupného písomníctva.

Mikrobiologická taxonómia sa v minulosti vo veľkej miere zakladala a ešte zakladá na morfológických a fyziologických vlastnostiach skúmaných a posudzovaných mikroorganizmov. Zväčša sa využívajú subjektívne interpretácie ich vonkajších fenotypických vlastností. V súčasnosti sa táto klasická fenotypická charakterizácia baktérií čoraz vo väčšej miere dopĺňa a nahrádza viacfázovou charakterizáciou založenou na štúdiu homológie nukleových kyselín. Cenné sú najmä metódy, ktoré umožňujú získať určitý obraz o genotype, lebo ten môže byť doplňujúcim kritériom k staršiemu výslovne fenotypickému prístupu v charakterizácii mikroorganizmov [2,11].

Rod *Streptococcus*

Rod *Streptococcus*, ako je popísaný v druhom dieli Bergeyovho manuálu systematickej bakteriológie Hardim [10], obsahuje katalázo-negatívne, grampozitívne koky usporiadané do párov a do retiazok, ktoré sú obyčajne fakultatívne anaeróbne. Niektoré druhy, menovite na polotuhých médiách, rastú ako krátke paličky. Všetky druhy vyžadujú komplexný prívod rastových faktorov a fermentujú laktózu na L(+)kyselinu mliečnu ako hlavný metabolit. Niektoré streptokoky môžu spôsobiť u ľudí ako aj u zvierat závažné ochorenie, ďalšie sú príležitostne patogénne alebo neškodné saprofyty a konečne tie, ktoré najviac zaujímajú potravinárskych mikrobiológov a technológov, sú významnými zložkami čistých bakteriálnych kultúr používaných v potravinárskom priemysle a v poľnohospodárstve.

Hardiho [10] rozdelenie streptokokov sa vyznačuje širším poňatím druhov, lebo obsahuje nielen fakultatívne anaeróbne, ale aj striktné anaeróbne grampozitívne koky. Podľa Schleifera a Kilpper-Bälza [8] tento popis rodu *Streptococcus* nezodpovedá alebo iba čiastočne zodpovedá z hľadiska novších poznatkov fylogenetической príbuznosti. Podľa týchto autorov bolo potrebné na tieto skutočnosti odbornú verejnosť upozorniť, lebo pri zostavovaní Bergeyovho manuálu [10] Hardi tieto novšie taxonomické poznatky z časových dôvodov nemohol uplatniť.

Porovnanie rozdelenia rodu *Streptococcus* podľa Bergeyovho manuálu [10] a novšej klasifikácie rodov *Streptococcus*, *Enterococcus* a *Lactococcus* je uvedené v tab.1.

Pyogénne streptokoky zahrňujú podľa novšej klasifikácie sérologické skupiny A, A-variant, C, G (skupina tvoriaca veľké kolónie, G streptokoky) a skupinu L. Zaraďuje sa medzi ne päť druhov: *S.pyogenes*, *S.equi* subsp. *equi*, *S.equi* subsp. *zooepidemicus*, *S.dysgalactiae*, *S.canis* a *S.iniae*. Druh *S.pyogenes* pozostáva zo streptokokov typických sérovarov skupín A a A-variantu. Tento druh má primárnu afinitu k ľudskému organizmu, v ktorom môže spôsobiť rôzne ochorenia. Príležitostne sa vyskytuje aj vo vemene dojníc.

V Bergeyovom manuáli [10] je v pyogénnej skupine aj *S.agalactiae*, avšak geneticky vykazuje k nej iba slabú príbuznosť [8]. Podľa novších poznatkov sa *S.agalactiae* považuje za bližšie príbuzný ku streptokokom sérologickej skupiny B, ktorých väčšina tvorí oranžovo-červený pigment, pravdepodobne β -karotenoid. Schopnosť tvorby tohoto pigmentu a schopnosť dávať pozitívnu reakciu s tzv. CAMP testom (vyhľadávanie dojníc s latentným zápalom vemena) a jednoznačná reakcia s antisérom B, sú významnými znakmi pravdepodobnosti identifikácie a klasifikácie *S.agalactiae*. Tento organizmus je významným pôvodcom zápalov vemien dojníc.

Orálne streptokoky, ako samostatná skupina sa vyskytujú prevažne v ústnej dutine a v hornej časti dýchacieho traktu ľudí a zvierat. Za zvláštnych podmienok môžu v organizme spôsobiť aj endokarditídy a bakteriémie. Väčšina orálnych streptokokov tvorí α -hemolýzín (viridácia na krvnej platni), avšak táto vlastnosť nie je dostatočným znakom pre ich zaradenie do tejto skupiny. Na rozdiel od pyogénnych streptokokov a od "iných streptokokov", nedajú sa zoskupovať na základe sérologických vlastností. Preto je snaha o ich identifikáciu a klasifikáciu podľa rôznych fyziologických a biochemických znakov. Podľa súčasných vedomostí, získaných štúdiom ich fylogenetической príbuznosti [6,7,8], sú v skupine orálnych streptokokov zaradené druhy: *S.salivarius*, ďalej *S.sanguis*, *S.oralis*, *S.pneumoniae*, *S.anginosus*, *S.constellatus* a *S.intermedius*; tieto tvoria spolu "skupinu *S.oralis*". Posledné tri v tejto skupine nie sú presne určené, podľa staršej nomenklatúry sú považované za druh *S.milleri*. Ďalej sú v skupine orálnych streptokokov *S.mutans*, *S.rattus*, *S.cricketus*, *S.sobrinus*, *S.ferus* a *S.macacae* (tab.1).

Tabuľka 1. Porovnanie klasifikačných systémov rodu *Streptococcus* podľa Bergeyovho manuálu systematickej bakteriológie, 2.diel, 1986 a nového klasifikačného systému navrhnutého Schleiferom a kol. [6,7 a 8].

Table 1. The comparison of *Streptococcus* genus classification system according to Bergey manual of systematic bacteriology, Part 2, 1986 and classification system proposed by Schleifer at al. [6,7,8].

Skupiny podľa Bergeyovho manuálu ¹	BERGEYHO SYSTÉM ² druhy	NOVÝ SYSTÉM ³ druhy
PYOGÉNNE STREPTOKOKY ⁴	<i>S.pyogenes</i> (sk.A) <i>S.equi</i> (sk.C) <i>S.iniae</i> <i>S.pneumoniae</i> <i>S.agalactiae</i>	<i>S.pyogenes</i> (sk.A, A-variant) <i>S.equi</i> subsp. <i>equi</i> (sk.C) <i>S.equi</i> subsp. <i>zooepidemicus</i> (sk.C) <i>S.dysgalactiae</i> (sk.C,G,L) <i>S.canis</i> (sk.C) <i>S.iniae</i> viď orálne streptokoky ⁵ <i>S.agalactiae</i> (sk.B) ^a
ORÁLNE STREPTOKOKY ⁶	<i>S.salivarius</i> <i>S.sanguis</i> "S.mitior" (<i>S.mitis</i>) ^b "S.milleri" <i>S.mutans</i> <i>S.ratus</i> <i>S.cricetus</i> <i>S.sobrinus</i> <i>S.ferus</i>	<i>S.salivarius</i> <i>S.sanguis</i> <i>S.oralis</i> <i>S.pneumoniae</i> (<i>S.mitis</i>) ^b <i>S.anginosus</i> <i>S.constellatus</i> <i>S.intermedius</i> <i>S.mutans</i> <i>S.rattus</i> <i>S.cricetus</i> <i>S.sobrinus</i> <i>S.ferus</i> <i>S.macacae</i> "S.milleri" ^b "S.mutans - skupina" ⁷ "S.mutans - skupina" ⁸
INÉ STREPTOKOKY ⁹	<i>S.acidominimus</i> <i>S.equinus</i> <i>S.bovis</i> <i>S.thermophilus</i> "S.suis"	<i>S.acidominimus</i> <i>S.equinus</i> (<i>S.bovis</i>) ^b <i>S.alactolyticus</i> <i>S.saccharolyticus</i> <i>S.thermophilus</i> <i>S.suis</i> (sk.R,S,RS,T) <i>S.porcinus</i> (sk.E,P,U,V) (<i>S.uberis</i>) ^b (<i>S.cecorum</i>) ^b
ANAERÓBNE STREPTOKOKY ¹⁰	<i>S.hansenii</i> <i>S.morbilorum</i> <i>S.parvulus</i> <i>S.pleomorphus</i>	bez príbuznosti ku streptokokom ¹¹ príbuznosť nie je určená ¹² <i>Peptostreptococcus parvulus</i> bez príbuznosti k streptokokom ¹¹

Tabuľka 1. - pokračovanie
Table 1. - continued

Skupiny podľa Bergeyovho manuálu ¹	BERGEYHO SYSTÉM ² druhy	NOVÝ SYSTÉM ³ druhy
ENTEROKOKY ¹³	<i>S.faecalis</i> <i>S.faecium</i> "S.avinum" <i>S.gallinarum</i>	<i>Enterococcus faecalis</i> <i>E.faecium</i> <i>E.avinum</i> <i>E.gallinarum</i> <i>E.casseliflavus</i> <i>E.durans</i> <i>E.hirae</i> <i>E.malodoratus</i> <i>E.mundtii</i>
KYSLOMLIEČNE STREPTOKOKY ¹⁴	<i>S.lactis</i> <i>S.raffinolactis</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> <i>L.lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> <i>L.lactis</i> subsp. <i>hordniae</i> <i>L.raffinolactis</i> <i>L.garviae</i> <i>L.plantarum</i>

a - *S.agalactiae* nie je členom skupiny pyogénnych streptokokov,

b - pomenovanie druhov, ktorých miesto nie je v súčasnosti v taxonómii presne určené, sú v zátvorkách.

1 - Groups according Bergey manual, 2 - Bergey system, 3 - New system, 4 - Pyogen streptococci, 5 - See oral streptococci, 6 - Oral streptococci, 7 - "S.oralis-group", 8 - "S. mutans-group", 9 - Other streptococci, 10 - Anaerobic streptococci, 11 - Without affinity to streptococci, 12 - Affinity is not determined, 13 - Enterococci, 14 - Lactococci, a - *S.agalactiae* is not the member of pyogen streptococci group, b - species names position of which are not determined in present in taxonomy, are given in brackets.

Iné streptokoky. Medzi "iné streptokoky" sa zaraďujú tie, ktoré nie sú príslušníkmi skupiny pyogénnych a orálnych streptokokov, patriacich do sérologických skupín: D, E, P, R, S, T, U a V alebo nereagujú so žiadnym antisérom podľa Lancefieldovej [5]. Niektoré kmene, ktoré javia príbuznosť k rozličným sérologickým skupinám a vykazujú blízku prítomnosť podľa iných kritérií, sa považujú za reprezentantov nových druhov uvedených v tab.1.

V skupine "iné streptokoky" je zaradený aj mliekárensky významný termofilný druh *S.thermophilus*. Jeho čerstvo izolované kmene nerastú na agare a netvorí α-hemolýzín. Vyznačuje sa obsahom dvoch dehydrogenáz tvoriacich L-laktát, čím sa líši od iných baktérií mliečneho kysnutia, ktoré majú viac ako jednu dehydrogenázu, ale tvoria DL-laktát.

Anaeróbne streptokoky. Rod *Streptococcus* zahrňuje podľa nového poňatia iba väčšinu známych druhov streptokokov, menovite pyogénne a orálne streptokoky vrátane pneumokokov, ale neobsahuje anaeróbne strep-

tokoky: *S.parvulus*, *S.hansenii*, *S.morbilloorum* alebo *S.pleomorphus*. Podľa novších poznatkov nejavia spoľahlivú príbuznosť ku streptokokom [6,7].

Rod *Enterococcus*

Príslušníci nového rodu *Enterococcus*, v Bergeyovom manuáli [10] vedenom ako "skupina enterokoky", boli a sú predmetom záujmu potravinárskych mikrobiológov a technológov. V niektorých komoditách sú technologicky užitočné, v sušených mliekach sú indikátorom sanitácie výrobného zariadenia, v pitnej vode sa považujú za indikátor fekálneho znečistenia a v nie poslednej miere ich niektorí autori posudzujú ako fakultatívne toxogénne organizmy, dekarboxyláciou aminokyselín môžu spôsobiť tvorbu biogénnych amínov, napr. tyramín [1,3,4].

Enterokoky sa od ostatných katalázo-negatívnych, grampozitívnych, fakultatívne anaeróbných kokov líšia ich schopnosťou rásť pri 10°C ako aj pri 45°C, v bujóne s 6,5 % NaCl a pri pH 9,6 (Shermanove kritériá [9]). Porovnávacia oligonukleotidová katalogizácia 16S rRNA a DNA-rRNA hybridizácia odôvodnili, že bunky vyhovujúce týmto kritériám tvoria samostatný rod, nazvaný *Enterococcus*. Ďalšími štúdiami DNA-DNA hybridizácie bolo dokázané, že aj pôvodne vo vnútri skupiny enterokokov zahrnuté druhy je potrebné prehodnotiť. Takto vznikli nové, dostatočne odlišné taxóny, ktoré sú v novonavrhnutej systematike uvedené ako samostatné druhy: *E.faecalis*, *E.faecium*, *E.avivum*., *E.gallinarum*, *E.casseliflavus*, *E.durans*, *E.hirae*, *E.malodoratus* a *E.mundtii* (tab.1) [7].

Všetci príslušníci rodu *Enterococcus* reagujú s antisérom skupiny D, ale fekálne druhy *S.bovis* a *S.equinus*, ktoré taktiež reagujú s týmto antisérom, nie sú členmi rodu *Enterococcus*.

Rod *Lactococcus*

Príslušníci nového rodu *Lactococcus* sú v Bergeyovom manuáli [10] vedení v rode *Streptococcus* v skupine "kyslomliečne streptokoky" s dvomi druhmi *S.lactis* a *S.raffinolactis*; pričom v druhu *S.lactis* sú zahrnuté aj dávnejšie diskutované druhy *S.cremoris* a *S.lactis subsp. diacetylactis*.

Hybridizáciou nukleových kyselín a porovnávacími sérologickými štúdiami *S.lactis* a *S.raffinolactis* sa dokázalo, že tieto druhy majú vlastnosti

samostatného rodu, ktorý bol nazvaný *Lactococcus*. Členovia tohoto rodu majú podľa novších poznatkov významne odlišné vlastnosti od členov rodu *Streptococcus* a *Enterococcus*. V tomto rode, okrem iných druhov znovu našiel svoje miesto aj *L.cremoris*. Citran fermentujúci kmeň *L.lactis*, dávnejšie vedený ako *S.lactis* subsp. *diacetylactis*, nebol uznaný ako samostatný druh; jeho schopnosť využívať citran a tvoriť z neho diacetyl je vlastnosť menlivá, kódovaná plazmidom [7]. Rod *Lactococcus* obsahuje druhy: *L.lactis* subsp. *lactis*, *L.lactis* subsp. *cremoris*, *L.lactis* subsp. *hordniae*, *L.raffinolactis*, *L.garviae* a *L.plantarum* (tab.1).

Členovia rodu *Lactococcus* sú podobne ako rody *Streptococcus* a *Enterococcus* katalázo-negatívne, grampozitívne, fakultatívne anaerobné koky. Tvoria guľovité alebo vajcovité bunky, vyskytujúce sa izolovane, v pároch alebo v retiazkach; v smere retiazky bývajú niekedy predĺžené. Predĺženie buniek sa niekedy prejavuje ako krátke paličky, čo v minulosti spôsobilo, že niektoré laktokoky boli klasifikované ako laktobacily, napr. *Lactobacillus xylosus* a *Lactobacillus hordniae*. Tieto dva, nesprávne klasifikované druhy boli reklasifikované ako *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* a *Lactococcus lactis* subsp. *hordniae* (tab.1).

Laktokoky sú nepohyblivé, obyčajne netvoria hemolýzu, iba niektoré kmene *L.lactis* tvoria miernu hemolytickú reakciu. Väčšina laktokokov rastie v prostredí so 4 % NaCl; výnimku tvorí *L.lactis* subsp. *cremoris*, ktorý toleruje iba 2 % NaCl. Na rozdiel od členov rodu *Enterococcus*, rastú členovia rodu *Lactococcus* pri 10°C, ale nie pri 45°C. Tento znak je vhodný na ich rozlíšenie od rodu *Enterococcus* a od rodu *Streptococcus*. Väčšina laktokokov reaguje s antisérmi sérologickej skupiny N; naopak, nie všetky kmene, ktoré reagujú s antisérmi skupiny N sú laktokoky [7,10].

Členovia rodu *Lactococcus* sú v prírode veľmi rozšírení, menovite všade tam, kde prebieha spontánne kysnutie biologického materiálu. V potravinárskom, najmä v mliekárenskom priemysle sa využívajú ako čisté mezofilné kultúry pri výrobe kyslých mliek, smotán, masla, tvarohov a syrov.

Literatúra

1. ASPERGER, H., Zur Bedeutung des mikrobiologischen Kriteriums Enterokokken für fermentierte Milchprodukte, Lebensmittelindustrie und Milchwirtschaft, 30, 1992, s.900-904.
2. BETINA, V. - NEMEC, P., Všeobecná mikrobiológia, Vyd.I, ALFA, Bratislava, 1977, s.477.
3. GÖRNER, F. - ŠIMKOVICOVÁ, H., Hodnotenie enterokokov v mliekárenskej mikrobiológii, Čs. Hyg., 23, 1978, s.349-357.

4. GÖRNER, F. - FRAŇO, L. - ŠIMKOVICOVÁ, H. - ÁBELOVSKÁ, M., Enterokoky ako indikátor sanitácie pri výrobe termizovaných produktov, Mlékařské listy, 5, 1979, s.40-42.
5. LANCEFIELD, R.C., A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci, J. Exp. Med., 59, 1933, s.571-591.
6. SCHLEIFER, K. H. - KILPPER-BÄLZ, R., Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the genus *Enterococcus*, Int. J. Syst. Bacteriol., 34, 1984, s.31-34.
7. SCHLEIFER, K. H. - DVORAK, C. - KILPPER-BÄLZ, R. - COLLINS, M. D. - FISCHER, W., Transfer of *Streptococcus lactis* and related streptococci to the genus *Lactococcus* gen. nov., Syst. Appl. Microbiol., 6, 1985, s.183-195.
8. SCHLEIFER, K. H. - KILPPER-BÄLZ, R., Molecular and chemi-taxonomic approaches to the classification of *Streptococci*, *Enterococci* and *Lactococci*, System. Appl. Microbiol., 10, 1987, s.1-19.
9. SHERMAN, J. M., The Streptococci Bacteriol. Rev., 1, 1937, s.3-97.
10. SNEATH, P. U. - MAIR, N. S. - SHARPE, ELISABETH, N. - HOLT, J. G., Bergeys Manual of systematic Bacteriology, Vol.2, Ed., Wilams and Wilkins, Baltimore/London, 1986, s.634.
11. VAUTERIN, L. - VAUTERIN, P., Computer aided objective comparison of electrophoresis patterns for Grouping and Identifikation of Microorganism, European Microbiology, 1, 1992, s.37-41.

Do redakcie došlo 9.3.1993.

Streptococci from the systematic bacteriology point of view.

Summary

The streptococci systemization justified and proposed in the second half of 1980's causes certain misunderstanding in interpretation of microbiologic analyses results. A new systemization in comparison with the mentioned one. From the food-microbiologic and food-technologic point of view it is significant that for streptococcus groups of "milk streptococci" and "enterococci" new genres *Lactococcus* and *Enterococcus*. These genres contain also some newly defined species.