

1
НОМЕР

БОИЦ

ISSN 2304-9081

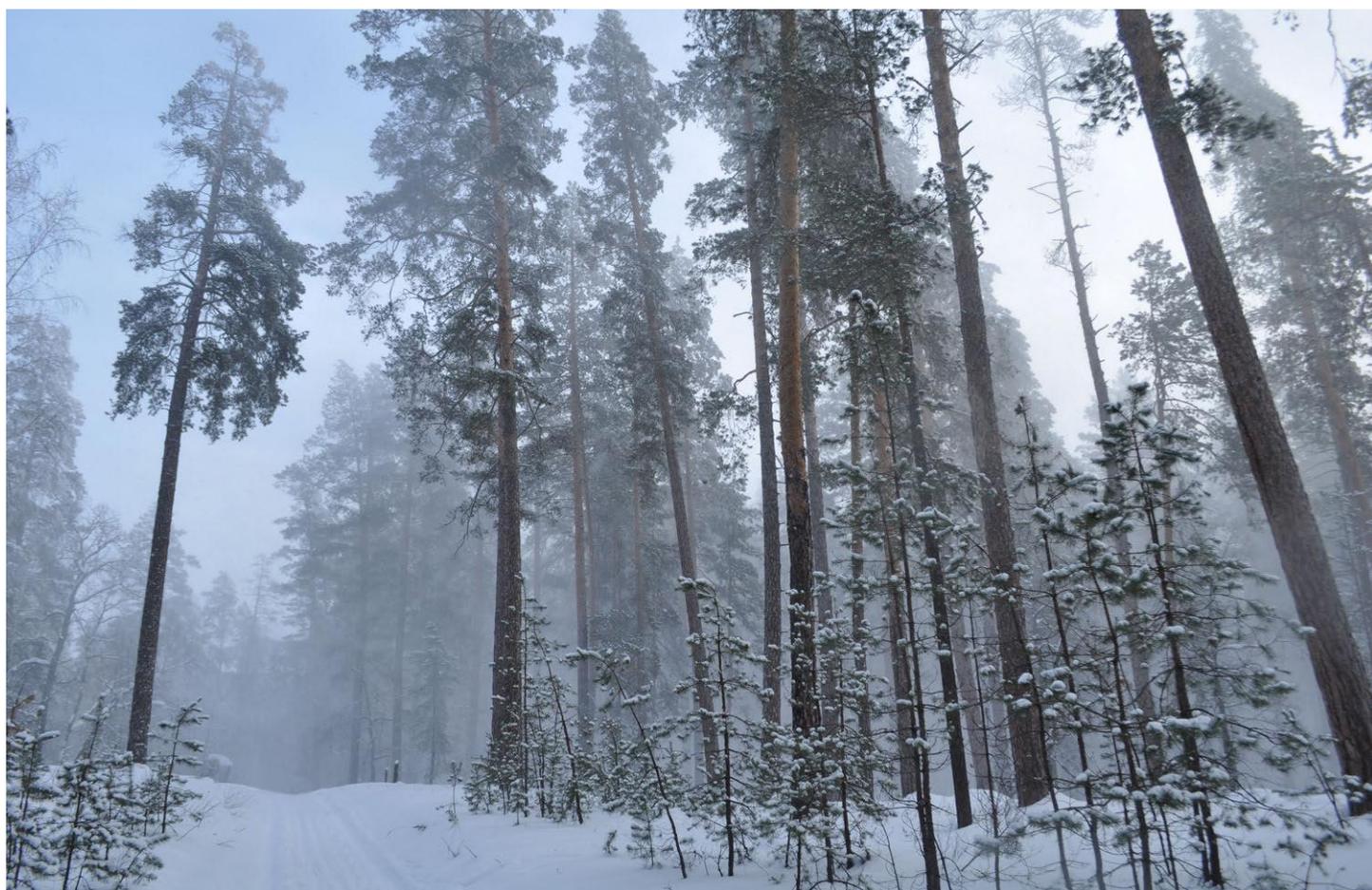
ЭЛЕКТРОННЫЙ ЖУРНАЛ

On-line версия журнала на сайте

<http://www.elmag.uran.ru>

БЮЛЛЕТЕНЬ

ОРЕНБУРГСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА УРО РАН



2017

УЧРЕДИТЕЛИ

УРАЛЬСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ РАН

ОРЕНБУРГСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР УРО РАН

© Коллектив авторов, 2017

УДК 616.98:579.861.2].015.8.076:575.083

*В.А. Гриценко^{1,2}, О.Л. Карташова¹, Т.М. Пашкова¹, Я.В. Тяпаева^{1,3},
Ю.П. Белозерцева³, П.П. Курлаев³, А.Р. Мавзютов⁴, А.А. Владимирова⁴*

ГЕНЫ *SDR*: РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ СРЕДИ ИЗОЛЯТОВ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ БИОТОПОВ ТЕЛА ЧЕЛОВЕКА

¹ Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия

² Оренбургский научный центр УрО РАН, Оренбург, Россия

³ Оренбургский государственный медицинский университет, Оренбург, Россия

⁴ Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия

Цель. Охарактеризовать с помощью ПЦР распространенность генов *sdr*-локуса среди изолятов *Staphylococcus aureus*, выделенных от бактерионосителей и больных с различными инфекционно-воспалительными заболеваниями стафилококковой этиологии.

Материалы и методы. Методом ПЦР исследован 171 штамм *S. aureus*, выделенный со слизистой оболочки носовой полости резидентных и транзиторных бактерионосителей, из отделяемого влагалища женщин с миомой матки (ММ), содержимого пустул новорожденных с перинатальной пиодермией (ПП), транссудата венозно-трофических язв нижних конечностей (ВТЯНК) и гнойных ран у больных с синдромом диабетической стопы (СДС).

Результаты. Установлено, что гены *sdr*-локуса у штаммов *S. aureus*, изолированных от резидентных носителей, больных с ВТЯНК и СДС, обнаруживались значительно чаще (84,2, 83,3 и 86,4%, соответственно), чем у штаммов *S. aureus*, выделенных от транзиторных носителей (45,0%). Показано, что у изученных штаммов *S. aureus* наиболее часто обнаруживались *sdrC* и *sdrE* (33,3 и 59,1%, соответственно), тогда как ген *sdrD* выявлялся лишь у 7,6% изолятов *S. aureus*. Охарактеризована зависимость частоты встречаемости генов *sdr*-локуса у штаммов *S. aureus* от источника выделения.

Заключение. Обсуждены возможные причины варибельности частоты встречаемости отдельных *sdr*-генов и их комбинаций у штаммов *S. aureus*, выделенных из различных биотопов тела человека. Рассмотрена перспектива разработки панели генетических маркеров для идентификации патогенных вариантов *S. aureus* в микробиоценозах как источниках потенциальных возбудителей эндогенных инфекций.

Ключевые слова: *Staphylococcus aureus*, бактерионосительство, инфекционно-воспалительная патология, *sdr*-гены, MSCRAMM.

*V.A. Gritsenko^{1,2}, O.L. Kartashova¹, T.M. Pashkova¹, Y.V. Tyapaeva^{1,3},
Y.P. Belozertseva³, P.P. Kurnaev³, A. R. Mavzyutov⁴, A.A. Vladimirova⁴*

SDR GENES: DISTRIBUTION AMONG ISOLATES OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ISOLATED FROM DIFFERENT BIOTOPES OF MAN

¹ Institute for Cellular and Intracellular Symbiosis UB RAS, Orenburg, Russia

² Orenburg Scientific Centre UrB RAS, Orenburg, Russia

³ Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia

⁴ Bashkir State Medical University, Ufa, Russia

Objective. Characterized by PCR the distribution of the genes of *sdr*-region among *Staphylococcus aureus* strains, isolated from men with staphylococcal nasal-carriage and patients with various infectious and inflammatory diseases of staphylococcal etiology.

Materials and methods. 171 strains of *S. aureus*, isolated from the nasopharynx of resident and transient bacterial carriers, from the vaginal discharge of women with uterine myoma (UM), from the contents of the pustules of the newborns with perinatal pyoderma (PP), from the venous-trophic ulcer of the lower extremities (VTULE) and from the purulent separated erosion and ulcers of patients with diabetic foot syndrome (DFS) were studied by PCR.

Results. Found that genes of *sdr*-region from *S. aureus* strains isolated from resident carriers, patients with VTULE and DFS, were detected significantly more often (84,2, 83,3 and 86,4 per cent, respectively) than from *S. aureus* strains, isolated from transient carriers (45 per cent). The studied *S. aureus* strains were found most frequently *sdrC* and *sdrE* (33.3 and 59.1 per cent, respectively), while the *sdrD* gene was detected in only 7.6 per cent of *S. aureus* isolates was shown. The dependence of the frequency of occurrence of genes *sdr*-region of *S. aureus* strains from the emission source was characterized.

Conclusion. Possible causes of variability in the frequency of occurrence of individual *sdr*-genes and their combinations of *S. aureus* strains isolated from different biotopes of the human body were discussed. The long term development of panels of genetic markers to identify pathogenic variants of *S. aureus* in the microbiocenosis of man as sources of potential pathogens endogenous infections was considered.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, nasal-carriage, infectious and inflammatory pathology, *sdr*-genes, MSCRAMM.

Введение

Золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus*) по-прежнему остается наиболее актуальным возбудителем инфекционно-воспалительных заболеваний разной локализации [1-5]. Однако около четверти здоровых людей является бессимптомными транзитными или резидентными носителями *S. aureus* на поверхности кожи и слизистых оболочек открытых полостей организма (носоглотка, кишечник, урогенитальный тракт) [6-8]. Стафилококковое бактерионосительство способствует циркуляции данных бактерий в человеческой популяции и является частой причиной эпидемиологических рисков для организованных и декретированных групп населения – детей в дошкольных организациях и учебных заведениях, пожилых людей в пансионатах и домах престарелых, а также пациентов, находящихся на стационарном лечении, в силу компрометированности их иммунобиологического статуса и возможности развития у них широкого спектра эндогенных инфекционно-воспалительных заболеваний за счет транслокации стафилококков со слизистых оболочек во внутреннюю среду макроорганизма [9-11].

Одним из ключевых условий формирования бактерионосительства *S. aureus* и развития инфекционно-воспалительных заболеваний стафилококковой этиологии является способность данных бактерий к адгезии на эпителиальных клетках и межклеточном матриксе макроорганизма. В прикреплении

S. aureus к фибрину, фибронектину, ламинину и коллагену участвуют особые белки бактерий, названные MSCRAMM (Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules – микробные поверхностные компоненты, распознающие адгезивные молекулы матрикса), к которым относятся SDR протеины (serine-aspartate repeat proteins) [12-14], детерминированные генами *sdr*-локуса, расположенного на хромосоме и представленного генами *sdrC*, *sdrD* и *sdrE*. Последние отвечают за кодирование трех соответствующих белков, содержащих R области с различным количеством дипептидов серин-аспартат [15-20].

Цель работы – охарактеризовать с помощью ПЦР распространенность генов *sdr*-локуса среди изолятов *Staphylococcus aureus*, выделенных от стафилококковых бактерионосителей и больных с различными инфекционно-воспалительными заболеваниями стафилококковой этиологии.

Материалы и методы

Исследование проведено на 171 штамме *S. aureus*, из них: 19 штаммов выделено со слизистой оболочки переднего отдела носа у резидентных бактерионосителей (БН), 20 – у транзиторных БН, 15 – из слизистого отделяемого влагалища у женщин с миомой матки (ММ), 18 – из содержимого пустул у новорожденных с перинатальной пиодермией (ПП), 15 – из транссудата венозно-трофических язв нижних конечностей (ВТЯНК), 81 – из отделяемого гнойных ран при синдроме диабетической стопы (СДС). Все культуры стафилококков изолированы в соответствии с действующими рекомендациями, а их видовую идентификацию проводили общепринятыми методами по культуральным, тинкториальным и биохимическими признакам, в том числе с помощью официальных систем «STAPHYtest» («Erba Lachema s.r.o.», European Union) [21, 22] и методом ПЦР с использованием собственных праймеров к 16S рРНК *S. aureus*, подобранных с использованием программы PrimerSelect из пакета программ Lasergene (DNASTAR Inc, США) (табл. 1).

Выделение тотальной ДНК стафилококков осуществляли из бактериальных суспензий ($1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл; эквивалентных значению 0,5 стандарта мутности МакФарланда), приготовленных на стерильной H₂O из суточных агаровых культур *S. aureus*, сорбционным методом с использованием набора реактивов «ДНК-сорб-В» («ИнтерЛабСервис», Россия) согласно рекомендации производителя.

Таблица 1. Праймеры, использованные в работе

Ген	Праймер	Олигонуклеотидная последовательность (5'→3')	Размер продукта (п.н.)
16S рРНК <i>S. aureus</i>	(F)	AGCAGCGTCCATTGTGAGA	759
	(R)	ATTCTCAGATATGTGTGG	
<i>sdr</i> CDE	(F)	GTAACAATTACGGATCATGATG	600/700/500
	(R)	TACCTGTTTCTGGTAATGCTTT	

Для амплификации специфических фрагментов гена 16S рРНК *S. aureus* готовили реакционную смесь объемом в 25 мкл: 2,5 мкл Таq-буфера; 2,5 мкл dNTP; 2,0 мкл праймеров (по 1,0 мкл каждого); 1,0 мкл Таq-полимеразы, 1,0 мкл геномной ДНК и 16,0 мкл mQ. Во избежание испарения реакционной смеси в каждую пробирку добавляли по одной капле минерального масла. Амплификацию проводили на термоциклере «Терцик МС-2» («ДНК-технология», Россия). На начальном этапе проводилась денатурация ДНК при 94°C в течение 5 мин, после чего следовали 35 циклов амплификации, каждый из которых включал стадию денатурации ДНК при температуре 94°C (15 сек), стадию отжига праймеров при 62,5°C (15 сек) и стадию элонгации при температуре 72°C (20 сек). На заключительной стадии реакционная смесь выдерживалась при температуре 72°C в течение 2 мин для завершения построения комплементарных цепей фрагментов ДНК и исключения копий, содержащих не полностью достроенные молекулы.

Для обнаружения специфических VNTR-локусов, ассоциированных с патогенностью *S. aureus* (*sdrCDE*), проводили мультиплексную ПЦР с использованием соответствующих праймеров (табл. 1), предложенных в работе А. Sabat et al. [23]. Реакционная смесь для проведения VNTR амплификации включала: 2,0 мкл Таq – буфера; 2,0 мкл – dNTP, по 1,0 мкл каждого праймера (всего 2,0 мкл); 0,7 мкл Таq – полимеразы; 11,3 мкл mQ и 2,0 мкл геномной ДНК (общий объем смеси – 20,0 мкл). Во избежание испарения реакционной смеси в каждую пробирку добавляли по одной капле минерального масла. Реакцию амплификации проводили по следующей программе: 1 цикл денатурации ДНК при 94°C (5 мин), затем 20 циклов амплификации (денатурация ДНК - 94°C (30 сек), отжиг праймеров - 55°C (30 сек) и стадию элонгации - 72°C (30 сек) и 1 цикл завершения амплификации - 72°C (5 мин).

Продукты амплификации анализировали электрофоретически в горизонтальном 1,7% агарозном геле, окрашенном бромистым этидием, в TAE буферной системе с использованием стандартных наборов («ИнтерЛабСервис», Россия) и маркера длин ДНК 100+ bp DNA Ladder (ЕвроГен), который включал 9 фрагментов ДНК в диапазоне 100-1000 п.н. и дополнительный фрагмент 1500 п.н. При этом фрагмент 500 п.н. имел удвоенную концентрацию и легко идентифицировался на геле. Положительное заключение о наличии искомым фрагментов делали при обнаружении в дорожке специфической светящейся полосы, соответствующей определенной массе по линейке молекулярных масс.

Данные обработаны методами вариационной статистики [24, 25].

Результаты и обсуждение

Полученные данные свидетельствовали о вариабельности частоты встречаемости конкретных генов локуса *sdr* (*sdrC*, *sdrD* и *sdrE*) как у изолятов *S. aureus* в отдельных группах (с учетом источника их выделения), так и штаммов золотистого стафилококка во всей изученной выборке (табл. 2).

Установлено, что исследованные гены локуса *sdr* встречались не у всех изученных штаммов *S. aureus*, выделенных из разных источников (биотопов); у 28,7% изолятов стафилококков эти гены не обнаруживались, причем их отсутствие чаще регистрировалось среди культур *S. aureus*, изолированных от транзитных БН, новорожденных с ПП и женщин с ММ – в 55,0; 55,6 и 73,3% случаев, соответственно.

Из данных, представленных в таблице 2, следует, что у изученных золотистых стафилококков наиболее часто обнаруживались *sdrC* и *sdrE* (33,3 и 59,1%, соответственно), тогда как ген *sdrD* выявлялся лишь у 7,6% изолятов *S. aureus* и, исключительно, у штаммов, выделенных от новорожденных с ПП, больных с СДС и резидентных БН (22,2; 9,9 и 5,3%, соответственно). При этом ген *sdrC* относительно часто регистрировался у штаммов *S. aureus*, изолированных от резидентных БН и больных с СДС – 47,4 и 42,0%, соответственно, а ген *sdrE* – у культур *S. aureus*, выделенных от резидентных БН, новорожденных с ПП, больных с СДС и ВТЯНК – 63,2; 44,4; 72,8 и 83,3%, соответственно.

Таблица 2. Распространенность генов локуса *sdr* у штаммов *S. aureus*, выделенных из разных источников

Источники выделения штаммов <i>S. aureus</i> *	Число штаммов (n)	Нет генов локуса <i>sdr</i>	Наличие у штаммов <i>S. aureus</i> генов локуса <i>sdr</i> (абс./% **)		
			<i>sdrC</i> +	<i>sdrD</i> +	<i>sdrE</i> +
Резидентные БН	19	$\frac{3}{15,8}$	$\frac{9}{47,4}$	$\frac{1}{5,3}$	$\frac{12}{63,2}$
Транзиторные БН	20	$\frac{11}{55,0}$	$\frac{5}{25,0}$	0	$\frac{5}{25,0}$
Женщины с ММ	15	$\frac{11}{73,3}$	$\frac{3}{20,0}$	0	$\frac{2}{13,3}$
Новорожденные с ПП	18	$\frac{10}{55,6}$	$\frac{4}{22,2}$	$\frac{4}{22,2}$	$\frac{8}{44,4}$
Больные с ВТЯНК	18	$\frac{3}{16,7}$	$\frac{2}{11,1}$	0	$\frac{15}{83,3}$
Больные с СДС	81	$\frac{11}{13,6}$	$\frac{34}{42,0}$	$\frac{8}{9,9}$	$\frac{59}{72,8}$
Всего	171	$\frac{49}{28,7}$	$\frac{57}{33,3}$	$\frac{13}{7,6}$	$\frac{101}{59,1}$

Примечание: * БН - бактерионосители; ММ – миома матки; ПП – перинатальная пиодермия; ВТЯНК – венозно-трофическая язва нижних конечностей; СДС – синдром диабетической стопы.

** в числителе – количество штаммов с признаком (абс.); в знаменателе – доля штаммов с признаком (%).

Таким образом, наличие генов локуса *sdr* (особенно – генов *sdrC* и *sdrE*) характерно, прежде всего, для изолятов *S. aureus*, выделенных из очагов воспаления у больных с инфекционно-воспалительной патологией и носовой полости у резидентных стафилококковых бактерионосителей.

Более детальный анализ присутствия генов локуса *sdr* у изученных культур *S. aureus* показал, что данные гены у золотистых стафилококков могут выявляться как изолированно (по отдельности), так и в разных комбинациях из двух или трех генов (рисунок).

Из диаграммы видно, что у большей части (48,5%) штаммов *S. aureus* обнаруживался только один из трех возможных генов локуса *sdr* (*sdrC*, *sdrD* или *sdrE*), у остальных изолятов золотистых стафилококков выявлялись комбинации двух и трех генов – соответственно у 17,0 и 5,8% культур.

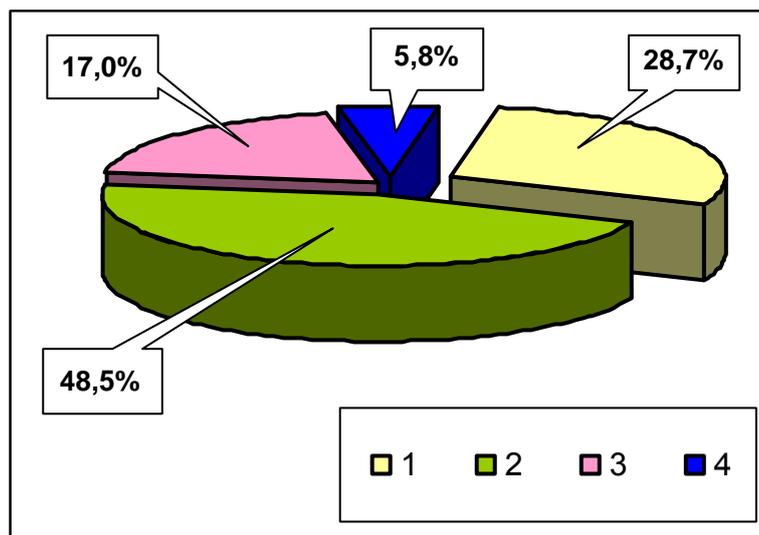


Рис. Структура штаммов *S. aureus* с учетом наличия генов локуса *sdr* и их комбинаций.

Обозначения: 1 – изоляты с отсутствием генов локуса *sdr*; 2 – изоляты с 1 геном; 3 – изоляты с 2 генами; 4 – изоляты с 3 генами.

Наиболее часто у изученных штаммов *S. aureus* регистрировался ген *sdrE* как изолированно (у 36,8% культур), так и в комбинации с геном *sdrC* (у 15,8% изолятов) или в комплексе из всех трех генов локуса *sdr* (*sdrC*, *sdrD*, *sdrE*) – в 5,8% случаев (табл. 3). Другие комбинации из двух генов (*sdrC+sdrD* и *sdrD+sdrE*) у изолятов золотистого стафилококка встречались крайне редко (0,6%).

Следует отметить, что комплекс трех генов (*sdrC*, *sdrD*, *sdrE*) обнаруживался только у золотистых стафилококков, выделенных из пустул у новорожденных с ПП и гнойных ран у больных с СДС, а наиболее часто регистрируемая комбинация из двух генов (*sdrC+sdrE*) выявлялась преимущественно среди штаммов *S. aureus*, изолированных из носовых ходов у резидентных БН (26,3%) и раневых дефектов у больных с СДС.

Что касается изолированного присутствия у культур *S. aureus* гена *sdrE*, то чаще всего он фиксировался у золотистых стафилококков, выделенных от пациентов с ВТЯНК (72,2%), больных с СДС (43,2%) и резидентных БН (31,6%), тогда как среди штаммов *S. aureus*, изолированных от женщин с ММ, транзитных БН и новорожденных с ПП, частота его встречаемости была значительно ниже – 6,7; 20,0 и 22,2%, соответственно (табл. 3).

Таблица 3. Наличие у штаммов *S. aureus*, выделенных из разных источников, генов локуса *sdr* изолированно и в комбинациях

Источники выделения штаммов <i>S. aureus</i> *	Число штаммов (n)	Наличие у штаммов <i>S. aureus</i> отдельных генов <i>sdr</i> и их комбинаций (абс./% **)						
		<i>sdrC</i>	<i>sdrD</i>	<i>sdrE</i>	<i>sdrC+</i> <i>sdrD</i>	<i>sdrC+</i> <i>sdrE</i>	<i>sdrD+</i> <i>sdrE</i>	<i>sdrC+</i> <i>sdrD+</i> <i>sdrE</i>
Резидентные БН	19	$\frac{4}{21,1}$	0	$\frac{6}{31,6}$	0	$\frac{5}{26,3}$	$\frac{1}{5,3}$	0
Транзиторные БН	20	$\frac{4}{20,0}$	0	$\frac{4}{20,0}$	0	$\frac{1}{5,0}$	0	0
Женщины с ММ	15	$\frac{2}{13,3}$	0	$\frac{1}{6,7}$	0	$\frac{1}{6,7}$	0	0
Новорожденные с ПП	18	0	0	$\frac{4}{22,2}$	0	0	0	$\frac{4}{22,2}$
Больные с ВТЯНК	18	0	0	$\frac{13}{72,2}$	0	$\frac{2}{11,1}$	0	0
Больные с СДС	81	$\frac{9}{11,1}$	$\frac{1}{1,2}$	$\frac{35}{43,2}$	$\frac{1}{1,2}$	$\frac{18}{22,2}$	0	$\frac{6}{7,4}$
Всего	171	$\frac{19}{11,1}$	$\frac{1}{0,6}$	$\frac{63}{36,8}$	$\frac{1}{0,6}$	$\frac{27}{15,8}$	$\frac{1}{0,6}$	$\frac{10}{5,8}$

Примечание: * БН - бактерионосители; ММ – миома матки; ПП – перинатальная пиодермия; ВТЯНК – венозно-трофическая язва нижних конечностей; СДС – синдром диабетической стопы. ** в числителе – количество штаммов с признаком (абс.); в знаменателе – доля штаммов с признаком (%).

Таким образом, наличие у штаммов *S. aureus* гена *sdrE* изолированно или в комбинации с другими генами этого локуса (прежде всего – с *sdrC*) ассоциируется с их выделением либо от резидентных стафилококковых бактерионосителей, либо из очагов воспаления у больных с инфекционно-воспалительной патологией (перинатальная пиодермия, гнойная рана при синдроме диабетической стопы и венозно-трофической язве нижних конечностей), что может указывать на патогенетическую причастность поверхностного протеина, детерминированного данным геном, к развитию стафилококков различной локализации и персистенции золотистых стафилококков на слизистой оболочке носовой полости.

Анализ литературных данных свидетельствует о достаточно широкой распространенности и вариабельности частоты встречаемости *sdr*-генов среди золотистых стафилококков. Так, в работе Н. Liu et al. [20] показано, что

гены локуса *sdr* выявлялись у 95,5% культур из 288 штаммов *S. aureus*, изолированных от больных с инфекциями кожи и мягких тканей и пациентов с бактериемией, причем частота встречаемости генов *sdrC*, *sdrD* и *sdrE* составляла 87,8; 63,9 и 68,1%, соответственно, и практически не зависела от источника выделения. В то же время А. Sabat et al. [19], обобщая результаты исследований ряда авторов и собственные данные по распространенности среди 497 изолятов золотистого стафилококка (из разных источников) *sdr*-генов, указывают на их наличие у всех изученных культур, отмечая более частую встречаемость гена *sdrE*, чем гена *sdrD* (89,5 против 59,8%), но подчеркивая, что у штаммов *S. aureus*, выделенных от больных с остеомиелитом, эти гены присутствовали с одинаковой частотой (88,8 и 83,1%).

Результаты наших исследований показывают, что указанные гены *sdr*-локуса выявлялись у 72,3% изолятов из 171 изученного штамма *S. aureus*, а по частоте встречаемости (с учетом ее уменьшения) их можно ранжировать в следующий ряд: *sdrE* – *sdrC* – *sdrD* (59,1 – 33,3 – 7,6%, соответственно). Отличие этих данных от выше приведенных, возможно, связаны с тем, что анализируемые в нашей работе культуры золотистого стафилококка были изолированы из других источников, в частности из носовой полости у транзитных бактерионосителей и влагалища у женщин с миомой матки, откуда высевались штаммы *S. aureus*, у которых редко обнаруживались гены *sdrC* и *sdrE* (13,3-25,0%), а ген *sdrD* вовсе не выявлялся. С другой стороны, изоляты *S. aureus* из раневых дефектов у больных с венозно-трофическими язвами нижних конечностей и пациентов с синдромом диабетической стопы относительно часто обладали геном *sdrE* (83,3 и 72,8% соответственно), что вполне согласуется с литературными данными.

Вместе с тем необходимо отметить, что комбинированное присутствие двух или трех *sdr*-генов у изученных в нашей работе штаммов золотистого стафилококка регистрировалось относительно редко (лишь у 22,8% изолятов), что в 3,4 раза меньше, чем у культур *S. aureus*, которые анализировались в других работах [19, 20], где у большинства (72,3-94,2%) из них указанные гены обнаруживались в комплексе.

Нельзя исключить, что отмеченная выше вариабельность параметров распространенности *sdr*-генов (частота встречаемости отдельных генов, наличие их комбинаций) среди штаммов золотистого стафилококка, исследо-

ванных в нашей и цитируемых работах, обусловлены не только различиями в источниках их выделения, но и циркуляцией на разных территориях разных клоновых линий *S. aureus*, у которых, как известно [20], присутствие конкретных генов *sdr*-локуса и их сочетаний сильно отличается.

Заключение

Микробиота кожи и слизистых оболочек человека, безусловно, сайт-специфична [26, 27], а её биогеография даже в норме зависит от целого ряда, часто неустановленных и/или не учитываемых, причин [28, 29], включая, например, способ родоразрешения [10]. Вместе с тем нельзя игнорировать возможность «эволюции» патогенности у отдельных её представителей, которая связана, в частности, с передачей генетических детерминант между сочленами микробиоценозов и способна существенно влиять на характер бактериально-гостальных взаимоотношений, трансформируя относительно мирное сожительство (бессимптомное бактерионосительство) в антагонистическое взаимодействие (инфекционно-воспалительный процесс).

Представленные результаты по тестированию у 171 штамма золотистого стафилококка генов *sdr*-локуса, кодирующих ответственные за процесс бактериальной адгезии к тканям макроорганизма MSCRAMM-протеины, отражают особенности распространенности указанных генетических маркеров патогенности в популяциях *S. aureus*, изолированных из разных биотопов тела человека, и свидетельствуют об определенной зависимости частоты их присутствия у бактерий от источника выделения последних.

Выявленное «сходство» штаммов *S. aureus*, выделенных от больных с инфекционно-воспалительными заболеваниями стафилококковой этиологии и резидентных носителей золотистого стафилококка, по наличию ряда *sdr*-генов (прежде всего *sdrC* и *sdrE*) и их комбинаций, во-первых, подтверждает причастность этих генетических маркеров к детерминации патогенного потенциала данных микроорганизмов, во-вторых, косвенно указывает на возможную патогенетическую роль персистенции *S. aureus* на назальном эпителии в развитии инфекционно-воспалительной патологии, в частности гнойных ран у больных с синдромом диабетической стопы и венозно-трофическими язвами нижних конечностей. Следует отметить существенное отличие штаммов *S. aureus*, изолированных от резидентных и транзитных стафилококковых бактерионосителей, по *sdr*-локусу, которое подтверждает «принци-

пиальную» разницу между этими группами микроорганизмов, что ранее было продемонстрировано при анализе у них ряда вирулентных и персистентных характеристик на фенотипическом уровне [30, 31].

Можно надеяться, что дальнейшее изучение молекулярной эпидемиологии генов патогенности и особенностей генетических профилей у изолятов золотистого стафилококка с учетом источника их выделения позволит разработать панель генетических маркеров для идентификации патогенных вариантов *S. aureus* в микробиоценозах носовой полости, кишечника и других биотопов как источниках потенциальных возбудителей эндогенных инфекций стафилококковой этиологии.

(Часть работы выполнена в рамках проекта ИКВС УрО РАН № 15-3-4-34 по Комплексной программе фундаментальных исследований УрО РАН)

ЛИТЕРАТУРА

1. Paulsen J., Mehl A., Askim Å., Solligård E., Åsvold B.O., Damås J.K. Epidemiology and outcome of *Staphylococcus aureus* bloodstream infection and sepsis in a Norwegian county 1996–2011: an observational study. BMC Infectious Diseases. 2015. 15: 116. DOI 10.1186/s12879-015-0849-4
2. Smit J., Thomsen R.W., Schønheyder H.C., Nielsen H., Frøslev T., Søgaard M. Outcome of Community-Acquired *Staphylococcus aureus* Bacteraemia in Patients with Diabetes: A Historical Population-Based Cohort Study. PLoS ONE. 2016. 11(4): e0153766. doi:10.1371/journal.pone.0153766.
3. Bouchiat C., Moreau K., Devillard S., et. al. *Staphylococcus aureus* infective endocarditis versus bacteremia strains: Subtle genetic differences at stake. Infect Genet Evol. 2015. 36: 524-30.
4. Rhee Y., Aroutcheva A., Hota B., et. al. Evolving Epidemiology of *Staphylococcus aureus* Bacteremia. Infect Control Hosp Epidemiol. 2015. 36(12): 1417-1422.
5. Aguilar J., Urdy-Cornejo V., Donabedian S. et. al. *Staphylococcus aureus* meningitis: case series and literature review. PLoS One. 2017. 12(1): e0168814. doi: 10.1371/journal.pone.0168814.
6. Merriman J.A., Mueller E.A., Cahill M.P. et. al. Temporal and Racial Differences Associated with Atopic Dermatitis *Staphylococcus aureus* and Encoded Virulence Factors. mSphere. 2016. 1(6): e00295-16. doi: 10.1128/mSphere.00295-16.
7. Wang Y., Leng V., Patel V., Phillips K.S. Injections through skin colonized with *Staphylococcus aureus* biofilm introduce contamination despite standard antimicrobial preparation procedures. Sci. Rep. 2017. 7: 45070; doi: 10.1038/srep45070.
8. Rocha L.C., Carvalho M.O.S., Nascimento V.M.L., dos Santos M.S., Barros T.F., Adorno E.V., Reis J.N., da Guarda C.C., Santiago R.P., Gonçalves M.d.S. Nasopharyngeal and Oropharyngeal Colonization by *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae* and Prognostic Markers in Children with Sickle Cell Disease from the Northeast of Brazil. Front. Microbiol. 2017; 8: 217. doi: 10.3389/fmicb.2017.00217.
9. Krezalek M.A., Hyoju S., Zaborin A., Okafor E., Chandrasekar L., Bindokas V., Guyton K., Montgomery C.P., Daum R.S., Zaborina O., Boyle-Vavra S., Alverdy J.C. Can Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Silently Travel From the Gut to the Wound and Cause Post-operative Infection? Modeling the "Trojan Horse Hypothesis". Ann Surg. 2017; Feb 9. doi: 10.1097/SLA.0000000000002173.
10. Kennedy E.A., Connolly J., O'B. Hourihane J., Fallon P.G., McLean W.H.I., Murray D., Jo

- J.-H., Segre J.A., Kong H.H., Irvine A.D. Skin microbiome before development of atopic dermatitis: Early colonization with commensal staphylococci at 2 months is associated with a lower risk of atopic dermatitis at 1 year. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 2017. 139(1): 166-172.
11. Гриценко В.А., Иванов Ю.Б. Роль персистентных свойств в патогенезе эндогенных инфекций. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2009. 4: 66-71.
 12. Patti J.M., Allen B.L., McGavin M.J., Hook M. MSCRAMM - Mediated Adherence of Microorganisms to Host Tissues *Annu. Rev. Microbiol.* 1994. 48: 585-617.
 13. Файзуллина Г.А., Постригань Б.Н., Давлетова А.Р., Файзуллина Д.Б., Кадыргулова Д.Р., Мавзютов А.Р. Молекулярно-генетическое типирование возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний полости рта и мягких тканей лица. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2011. 9: 48.
 14. Johannessen M., Sollid J.E., Hanssen A.-M. Host and microbe determinants that may influence the success of *S. aureus* colonization. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology.* 2012. 2: 56. doi: 10.3389/fcimb.2012.00056.
 15. Speziale P., Pietrocola G., Foster T.J., Geoghegan J.A. Protein-based biofilm matrices in *Staphylococci*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology.* 2014; 4: 171. doi: 10.3389/fcimb.2014.00171
 16. Zhang X., Wu M., Zhuo W., Gu J., Zhang S., Ge J., Yang M. Crystal structures of Bbp from *Staphylococcus aureus* reveal the ligand binding mechanism with Fibrinogen α . *Protein Cell.* 2015. 6(10):757-766. DOI 10.1007/s13238-015-0205-x.
 17. Askarian F., Uchiyama S., Valderrama J.A., Ajayi C., Sollid J.U.E., van Sorge N.M., Nizet V., van Strijp J.A.G., Johannessen M.. Serine aspartate repeat protein D increases *Staphylococcus aureus* virulence and survival in blood. *Infect. Immun.* 2017. 85: e00559-16. doi.org/10.1128/IAI.00559-16.
 18. Luo M., Zhang X., Zhang S., Zhang H., Yang W., Zhu Z., Chen K., Bai L., Wei J., Huang A., Wang D. Crystal Structure of an Invasivity-Associated Domain of SdrE in *S. aureus*. *PLoS ONE.* 2017; 12(1): e0168814. doi:10.1371/journal.pone.0168814.
 19. Sabat A., Melles D.C., Martirosian G. et al. Distribution of the serine-aspartate repeat protein-encoding *sdr* genes among nasal-carriage and invasive *Staphylococcus aureus* strains. *J Clin Microbiol.* 2006. 44: 1135–1138.
 20. Liu H., Lv J., Qi X., Ding Y., Li D., Hu L., Wang L., Yu F. The carriage of the serine-aspartate repeat protein-encoding *sdr* genes among *Staphylococcus aureus* lineages. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases.* 2015. 19(5): 498-502.
 21. Приказ МЗ СССР от 22.04.1985 г. № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений».
 22. Донецкая Э.Г. Клиническая микробиология: Руководство для специалистов клинической лабораторной диагностики.- М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. 480 с.
 23. Sabat A., Krzyszton-Russjan J., Strzalka W., Filipek R., Kosowska K., Hryniewicz W., Travis J., Potempa, J. New method for typing *Staphylococcus aureus* strains: multiple-locus variable-number tandem repeat analysis of polymorphism and genetic relationships of clinical isolates. *J. Clin. Microbiol.* 2003. 41(4): 1801-1804.
 24. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.
 25. Трухачева Н.В. Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica. М.: ГОЭТАР-Медиа, 2013.
 26. Costello EK, Lauber C.L., Hamady M., Fierer N., Gordon J.I., Knight R. Bacterial community variation in human body habitats across space and time. *Science.* 2009. 326: 1694-1697.
 27. Grice E.A., Kong H.H., Conlan S., Deming C.B., Davis J., Young A.C., Bouffard G.G., Blakesley R.W., Murray P.R., Green E.D., Turner M.L, Segre J.A. Topographical and temporal diversity of the human skin microbiome. *Science.* 2009. 324: 1190-1192.
 28. Oh J., Conlan S., Polley E.C., Segre J.A., Kong H.H. Shifts in human skin and nares microbiota of healthy children and adults. *Genome Med.* 2012. 4: 77.

29. Oh J., Byrd A.L., Deming C., Conlan S., Kong H.H., Segre J.A. NISC Comparative Sequencing Program. Biogeography and individuality shape function in the human skin metagenome. *Nature*. 2014. 514: 59-64.
30. Бухарин О.В., Усвяцов Б.Я., Карташова О.Л. Биология патогенных кокков. М.: Медицина: Екатеринбург: УрО РАН, 2002. 282 с.
31. Карташова О.Л., Норкина А.С., Чайникова И.Н. и др. Фенотипическая характеристика стафилококков и местный иммунитет при бактерионосительстве. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2009. 4: 99-103.
32. Пикина А. П., Шкопоров А. Н., Кулагина Е. В. и др. Сравнительное генетическое типирование изолятов *Staphylococcus aureus*, выделенных с поверхности кожи, из носовой полости и кишечника у детей, страдающих атопическим дерматитом. *Вестник Российской Академии медицинских наук*. 2016. 5: 367-374.

Поступила 17.03.2017

(Контактная информация: **Гриценко Виктор Александрович** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, ученый секретарь Президиума Оренбургского научного центра УрО РАН; адрес: 460000, г. Оренбург, ул. Пионерская, 11; тел.: +7(3532)77-05-12; E-mail: vag59@mail.ru;

Мавзютов Айрат Радикович – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой фундаментальной и прикладной микробиологии Башкирского государственного медицинского университета Минздрава России; адрес: 450077, г. Уфа, ул. Ленина, 3, тел./факс 8 (347) 272-41-73, e-mail: ufalab@mail.ru)

LITERATURA

1. Paulsen J., Mehl A., Askim Å., Solligård E., Åsvold B.O., Damås J.K. Epidemiology and outcome of *Staphylococcus aureus* bloodstream infection and sepsis in a Norwegian county 1996–2011: an observational study. *BMC Infectious Diseases*. 2015. 15: 116. DOI 10.1186/s12879-015-0849-4
2. Smit J., Thomsen R.W., Schønheyder H.C., Nielsen H., Frøslev T., Søgaard M. Outcome of Community-Acquired *Staphylococcus aureus* Bacteraemia in Patients with Diabetes: A Historical Population-Based Cohort Study. *PLoS ONE*. 2016. 11(4): e0153766. doi:10.1371/journal.pone.0153766.
3. Bouchiat C., Moreau K., Devillard S., et. al. *Staphylococcus aureus* infective endocarditis versus bacteremia strains: Subtle genetic differences at stake. *Infect Genet Evol*. 2015. 36: 524-30.
4. Rhee Y., Aroutcheva A., Hota B., et. al. Evolving Epidemiology of *Staphylococcus aureus* Bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2015. 36(12): 1417-1422.
5. Aguilar J., Urday-Cornejo V., Donabedian S. et. al. *Staphylococcus aureus* meningitis: case series and literature review. *PLoS One*. 2017. 12(1): e0168814. doi: 10.1371/journal.pone.0168814.
6. Merriman J.A., Mueller E.A., Cahill M.P. et. al. Temporal and Racial Differences Associated with Atopic Dermatitis *Staphylococcus aureus* and Encoded Virulence Factors. *mSphere*. 2016. 1(6): e00295-16. doi: 10.1128/mSphere.00295-16.
7. Wang Y., Leng V., Patel V., Phillips K.S. Injections through skin colonized with *Staphylococcus aureus* biofilm introduce contamination despite standard antimicrobial preparation procedures. *Sci. Rep*. 2017. 7: 45070; doi: 10.1038/srep45070.
8. Rocha L.C., Carvalho M.O.S., Nascimento V.M.L., dos Santos M.S., Barros T.F., Adorno E.V., Reis J.N., da Guarda C.C., Santiago R.P., Gonçalves M.d.S. Nasopharyngeal and Oropharyngeal Colonization by *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae* and Prognostic Markers in Children with Sickle Cell Disease from the Northeast of Brazil. *Front*.

- Microbiol. 2017; 8: 217. doi: 10.3389/fmicb.2017.00217.
9. Krezalek M.A., Hyoju S., Zaborin A., Okafor E., Chandrasekar L., Bindokas V., Guyton K., Montgomery C.P., Daum R.S., Zaborina O., Boyle-Vavra S., Alverdy J.C. Can Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Silently Travel From the Gut to the Wound and Cause Post-operative Infection? Modeling the "Trojan Horse Hypothesis". Ann Surg. 2017; Feb 9. doi: 10.1097/SLA.0000000000002173.
 10. Kennedy E.A., Connolly J., O'B. Hourihane J., Fallon P.G., McLean W.H.I., Murray D., Jo J.-H., Segre J.A., Kong H.H., Irvine A.D. Skin microbiome before development of atopic dermatitis: Early colonization with commensal staphylococci at 2 months is associated with a lower risk of atopic dermatitis at 1 year. J. Allergy. Clin. Immunol. 2017. 139(1): 166-172.
 11. Gricenko V.A., Ivanov Ju.B. Rol' persistentnyh svoystv v patogeneze jendogennyh infekcij. Zhurnal mikrobiologii, jepidemiologii i immunobiologii. 2009. 4: 66-71.
 12. Patti J.M., Allen B.L., McGavin M.J., Hook M. MSCRAMM - Mediated Adherence of Microorganisms to Host Tissues Annu. Rev. Microbiol. 1994. 48: 585-617.
 13. Fajzullina G.A., Postrigan' B.N., Davletova A.R., Fajzullina D.B., Kadyrgulova D.R., Mavzjutov A.R. Molekuljarno-geneticheskoe tipirovanie vozбудitelej gnojno-vozpалitel'nyh zabolevanij polosti rta i mjangkih tkanej lica. Klinicheskaja laboratornaja diagnostika. 2011. 9: 48.
 14. Johannessen M., Sollid J.E., Hanssen A.-M. Host and microbe determinants that may influence the success of *S. aureus* colonization. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2012. 2: 56. doi: 10.3389/fcimb.2012.00056.
 15. Speziale P., Pietrocola G., Foster T.J., Geoghegan J.A. Protein-based biofilm matrices in Staphylococci. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2014; 4: 171. doi: 10.3389/fcimb.2014.00171
 16. Zhang X., Wu M., Zhuo W., Gu J., Zhang S., Ge J., Yang M. Crystal structures of Bbp from *Staphylococcus aureus* reveal the ligand binding mechanism with Fibrinogen α . Protein Cell. 2015. 6(10):757-766. DOI 10.1007/s13238-015-0205-x.
 17. Askarian F., Uchiyama S., Valderrama J.A., Ajayi C., Sollid J.U.E., van Sorge N.M., Nizet V., van Strijp J.A.G., Johannessen M.. Serine aspartate repeat protein D increases *Staphylococcus aureus* virulence and survival in blood. Infect. Immun. 2017. 85: e00559-16. doi.org/10.1128/IAI.00559-16.
 18. Luo M., Zhang X., Zhang S., Zhang H., Yang W., Zhu Z., Chen K., Bai L., Wei J., Huang A., Wang D. Crystal Structure of an Invasivity-Associated Domain of SdrE in *S. aureus*. PLoS ONE. 2017; 12(1): e0168814. doi:10.1371/journal.pone.0168814.
 19. Sabat A., Melles D.C., Martirosian G. et al. Distribution of the serine-aspartate repeat protein-encoding sdr genes among nasal-carriage and invasive *Staphylococcus aureus* strains. J Clin Microbiol. 2006. 44: 1135-1138.
 20. Liu H., Lv J., Qi X., Ding Y., Li D., Hu L., Wang L., Yu F. The carriage of the serine-aspartate repeat protein-encoding sdr genes among *Staphylococcus aureus* lineages. The Brazilian Journal of Infectious Diseases. 2015. 19(5): 498-502.
 21. Prikaz MZ SSSR ot 22.04.1985 g. № 535 «Ob unifikacii mikrobiologicheskikh (bakteriologicheskikh) metodov issledovanija, primenjaemyh v kliniko-diagnosticheskikh laboratorijah lechebno-profilakticheskikh uchrezhdenij».
 22. Doneckaja Je.G. Klinicheskaja mikrobiologija: Rukovodstvo dlja specialistov klinicheskoy laboratornoj diagnostiki.- M.: GJeOTAR-Media, 2011. 480 s.
 23. Lakin G.F. Biometrija. M.: Vysshaja shkola, 1990. 352 s.
 24. Truhacheva N.V. Matematicheskaja statistika v mediko-biologicheskikh issledovanijah s primeneniem paketa Statistica. M.: GOJeTAR-Media, 2013.
 25. Costello EK, Lauber C.L., Hamady M., Fierer N., Gordon J.I., Knight R. Bacterial community variation in human body habitats across space and time. Science. 2009. 326: 1694-1697.
 26. Grice E.A., Kong H.H., Conlan S., Deming C.B., Davis J., Young A.C., Bouffard G.G., Blakesley R.W., Murray P.R., Green E.D., Turner M.L, Segre J.A. Topographical and tem-

- poral diversity of the human skin microbiome. *Science*. 2009. 324: 1190-1192.
27. Oh J., Conlan S., Polley E.C., Segre J.A., Kong H.H. Shifts in human skin and nares microbiota of healthy children and adults. *Genome Med*. 2012. 4: 77.
 28. Oh J., Byrd A.L., Deming C., Conlan S., Kong H.H., Segre J.A. NISC Comparative Sequencing Program. Biogeography and individuality shape function in the human skin metagenome. *Nature*. 2014. 514: 59-64.
 29. Buharin O.V., Usvjacov B.Ja., Kartashova O.L. *Biologija patogenih kokkov*. M.: Medicina: Ekaterinburg: UrO RAN, 2002. 282 s.
 30. Kartashova O.L., Norkina A.S., Chajnikova I.N. i dr. Fenotipicheskaja harakteristika stafilokokkov i mestnyj immunitet pri bakterionositel'stve. *Zhurnal mikrobiologii, jepidemiologii i immunobiologii*. 2009. 4: 99-103.
 31. Pikina A. P., Shkoporov A. N., Kulagina E. V. i dr. Sravnitel'noe geneticheskoe tipirovanie izoljatov *Staphylococcus aureus*, vydelennyh s poverhnosti kozhi, iz nosovoj polosti i kishechnika u detej, stradajushhijh atopicheskim dermatitom. *Vestnik Rossijskoj Akademii medicinskih nauk*. 2016. 5: 367-374.

Образец ссылки на статью:

Гриценко В.А., Карташова О.Л., Пашкова Т.М., Тяпаева Я.В., Белозерцева Ю.П., Курлаев П.П., Мавзютов А.Р., Владимирова А.А. Гены *sdr*: распространенность среди изолятов *Staphylococcus aureus*, выделенных из разных биотопов тела человека. *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН*. 2017. №1. 15 с. [Электронный ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2017-1/Articles/VAG-2017-1.pdf>).