

А.Г.Киреева^{1,2}, О.В.Калинина^{3,4}, А.М.Киселев³,
Н.И.Брико⁵, Е.В.Глушкова⁵, А.В.Дмитриев^{1,2}

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ЭЛЕМЕНТА ICE-emm12, СОДЕРЖАЩЕГО ГЕНЫ УСТОЙЧИВОСТИ tetM И ermB, СРЕДИ РОССИЙСКИХ И ВЬЕТНАМСКИХ ШТАММОВ СТРЕПТОКОККОВ ГРУППЫ А

¹Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург; ²Санкт-Петербургский государственный университет; ³Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А.Алмазова, Санкт-Петербург; ⁴Санкт-Петербургский государственный технологический институт «Технический университет»; ⁵Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова

Цель. Характеристика и изучение распространенности генетического элемента ICE-emm12, ассоциированного со вспышками стрептококковых заболеваний в Юго-Восточной Азии, среди российских и вьетнамских штаммов СГА. *Материалы и методы.* Изучены 96 штаммов, выделенных в 2007 — 2014 гг. Молекулярно-генетические эксперименты проводили по опубликованным методикам. Полногеномное секвенирование осуществляли по технологии MiSeq. *Результаты.* На основе анализа данных высокопроцессивного секвенирования в геноме вьетнамского штамма V31 идентифицирован фрагмент (61028 п.н.), гомологичный интегративно-конъюгативному элементу ICE-emm12 и содержащий гены устойчивости к MLS-антибиотикам (ermB) и тетрациклину (tetM). Этот элемент обнаружен у 12 (26,1%, типы emm12.0, emm12.22) из 46 вьетнамских штаммов и у 2 (4,0%, типы emm12.0, emm88.2) из 50 российских штаммов. У 13 из 14 штаммов ICE-emm12 интегрирован в структурную область гена РНК-метилтрансферазы, являющегося «горячей точкой» рекомбинаций. Во всех штаммах ICE-emm12 обнаруживался в линейной интегрированной форме и в замкнутой циклической форме, что указывает на возможность его дальнейшего горизонтального переноса. *Заключение.* Обнаружение у российских штаммов ICE-emm12 элемента, способного к переносу генов устойчивости к антибиотикам с учетом активного развития туризма в страны Юго-Восточной Азии указывают на необходимость постоянного молекулярно-эпидемиологического надзора за циркуляцией клонов-возбудителей стрептококковых заболеваний в России.

Журн. микробиол., 2018, № 2, С. 23—30

Ключевые слова: стрептококки группы А, мобильные генетические элементы, устойчивость к антибиотикам

A.G.Kireeva^{1,2}, O.V.Kalinina^{3,4}, A.M.Kiselev³,
N.I.Briko⁵, E.V.Glushkova⁵, A.V.Dmitriev^{1,2}

AN OCCURRENCE OF ICE-emm12 GENETIC ELEMENT CONTAINING tetM AND ermB RESISTANCE GENES AMONG RUSSIAN AND VIETNAMESE GROUP A STREPTOCOCCAL STRAINS

¹Institute of Experimental Medicine, Saint-Petersburg; ²Saint-Petersburg State University; ³Almazov North-West Federal Medical Research Centre, Saint-Petersburg; ⁴Saint-Petersburg State Technological Institute (Technical University); ⁵Sechenov First Moscow State Medical University, Russia

Aim. Goal of the study is characterization and analysis of an occurrence of ICE-emm12 genetic element associated with streptococcal outbreaks, among Vietnamese and Russian GAS strains. *Materials and methods.* A total of 96 strains isolated in 2007 — 2014 in Moscow, Saint-Petersburg and different provinces of Vietnam were studied. Molecular genetic experiments were done as previously described. Whole genome sequencing was done using MiSeq technology. *Results.* Complete genome sequencing of Vietnamese strain V31 revealed the presence of 61028 bp fragment homologous to integrative and conjugative element ICE-emm12 containing resistance genes

to MLS-antibiotics (*ermB*) and tetracycline (*tetM*). This element was discovered in 12 (26,1%, types *emm12.0*, *emm12.22*) out of 46 Vietnamese strains, and 2 (4,0%, types *emm12.0*, *emm88.2*) out of 50 Russian strains. In 13 out of 14 strains, ICE-*emm12* was integrated in RNA-methyltransferase gene, which is possibly the «hot spot» for recombination. In all the strains ICE-*emm12* was present in two forms: integrated linearized form and excised circular form with potential to be horizontally transferred. *Conclusion.* The presence of ICE-*emm12* containing antibiotic resistance genes and associated with streptococcal outbreaks in South East Asia, among Russian GAS strains together with the fact of intensive tourism industry indicate the need of molecular epidemiological surveillance for circulation of epidemiologically actual streptococcal clones in Russia.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 2, P. 23—30

Key words: group A streptococci, mobile genetic elements, antibiotic resistance

ВВЕДЕНИЕ

Патогенные стрептококки серологической группы А (СГА, *Streptococcus pyogenes*) являются одними из наиболее распространенных возбудителей широкого спектра генерализованных, системных и местных заболеваний человека. СГА вызывают тонзилло-фарингит, скарлатину, рожистое воспаление, импетиго, флегмоны, инвазивные заболевания и др., а также приводят в инвалидизирующим осложнениям, таким как ревматизм и гломерулонефрит [4].

Широкое и бесконтрольное применение антибиотиков при лечении стрептококковых инфекций постепенно привело к формированию и росту лекарственной устойчивости СГА. В частности, важной проблемой в настоящее время является увеличивающийся рост уровня устойчивости СГА к MLS-антибиотикам (макролидам, линкозамидам и стрептограмину В) [6 — 9, 11, 15]. Изучение генетики СГА, устойчивых к макролидам, и анализ вызванных ими эпидемических вспышек выявили наличие в геномах штаммов СГА разнообразных мобильных генетических элементов (МГЭ), содержащих детерминанты устойчивости к антибиотикам [14]. Приобретение таких МГЭ обеспечивает клонам-реципиентам селективные преимущества, приводя к их быстрому распространению среди людей. Так, большинство штаммов СГА, выделенных во время вспышки скарлатины в Гонконге в 2011 г., относились к типу *emm12* и были устойчивы к макролидам [10]. Полногеномное секвенирование двух из этих штаммов выявило наличие в их геномах фрагментов ДНК размерами 64,9 т.п.н. и 46,4 т.п.н., представляющих собой соответственно интегративно-конъюгативный элемент ICE-*emm12*, кодирующий устойчивость к тетрациклину и макролидам за счет наличия генов *tetM* и *ermB*, и профага, кодирующий суперантиген *SpeC* и ДНКазу *Spd1* [13].

Поскольку вспышке скарлатины в Гонконге предшествовало увеличение частоты заболеваний скарлатиной на 40% во Вьетнаме в 2009 г. [12], целью исследования явился анализ штаммов СГА, выделенных во Вьетнаме в 2012 — 2014 гг., а также штаммов СГА, выделенных в России, на наличие генетических детерминант устойчивости к MLS-антибиотикам и тетрациклину.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе изучены следующие штаммы СГА: 46 штаммов различных типов, выделенных в 2012 — 2014 гг. от детей младшего школьного возраста (7 — 10 лет) во время экспедиций Совместного российско-вьетнамского тропическо-

го научно-исследовательского и технологического центра (г. Ханой) и Института экспериментальной медицины в различные регионы Вьетнама [1]; 18 штаммов типа emm12 из коллекции Института экспериментальной медицины, выделенных в 2007 г. в Санкт-Петербурге от детей школьного возраста, больных скарлатиной, гнойным синуситом, тонзиллитом, а также носителей [2]; 32 штамма различных типов из коллекции Первого московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова, выделенных в 2008 — 2011 гг. при инвазивных инфекциях мягких тканей в отделении гнойной хирургии 23 ГКБ им. «Медсантруд» (Москва).

Штаммы культивировали при 37°C в присутствии 5% CO₂ на агаризованных средах или в среде Todd-Hewitt Broth (Becton Dickinson, США), содержащей 0,2% дрожжевого экстракта (Difco, США). Устойчивость штаммов к действию антибиотиков определяли диско-диффузионным методом.

Геномную ДНК выделяли методом фенол/хлороформенной экстракции. Качество ДНК анализировали на спектрофотометре Nanodrop 1000 (ThermoScientific, США). Концентрацию ДНК определяли на флуориметре Quantifluor-ST (Promega, США).

Для полногеномного секвенирования был выбран штамм V31, выделенный в 2012 г. в провинции Куанг Чи (Вьетнам). Библиотеку фрагментов ДНК готовили с использованием набора реагентов Illumina Nextera XT DNA Sample Prep Kit (Illumina, США) согласно инструкции производителя. Качество полученной библиотеки оценивали с помощью анализатора Agilent Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies, США) и ПЦР в режиме реального времени согласно инструкции Sequencing Library qPCR Quantification Guide (Illumina). Ампликоны метили с использованием Nextera XT Index Kit (Illumina) согласно инструкции производителя. Секвенирование проводили на секвенаторе MiSeq (Illumina) с набором реагентов MiSeq Reagent Kit, v3, 2x300.

Сборку контигов проводили при помощи программы SPAdes, версия 3.6.2, с параметрами по умолчанию. Предварительно первые 17 нуклеотидов в ридях с праймерами были удалены с помощью программы fastx_trimmer (http://hannonlab.cshl.edu/fastx_toolkit/). Геном штамма V31 был охарактеризован 58 контигами. В анализе использовали контиги размером не менее 5 т.п.н. Аннотирование полученных в результате полногеномного секвенирования контигов осуществляли с использованием алгоритма RAST (<http://rast.nmpdr.org>). Биоинформатический анализ контигов проводили с использованием базы данных NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/blast) и программного обеспечения CLC Genomics Workbench (www.clcbio.com).

Все штаммы СГА анализировали методом ПЦР на наличие генов *ermB*, *tetM*, *iap*, *int*, *xis*, *ORF39*, входящих в состав ICE-*emm12* элемента (табл. 1). ПЦР проводили в следующем режиме: первичная денатурация ДНК — 3 мин при 95°C; 30 циклов амплификации — 15 сек при 95°C, 1 мин при температуре отжига праймеров, 1 мин при 72°C; окончательная достройка — 10 мин при 72°C. Электрофорез ПЦР продуктов проводили в 1% агарозном геле, и ДНК визуализировали при помощи бромистого этидия в проходящем УФ-свете.

Электрофорез ДНК в пульсирующем электрическом поле проводили по ранее опубликованной методике [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для полногеномного секвенирования был выбран штамм V31, относящийся к наиболее распространенному во Вьетнаме типу emm12. В результате биоинформатического анализа результатов высокопроцессивного секвенирова-

Таблица 1. Праймеры, использованные в работе

Ген	Кодируемый белок	Последовательности праймеров (5'→3')	Температура отжига, °С	Размер амплификата
iap	Предшественник эндопептидазы р60	For: cgccacctgaataactcttttga Rev: ccgccaccattaagaaagtc	52	536
int	Интеграза	For: ttttcttaaatgctcgtaaagcc Rev: aaagagaagcaacaggagcg	50	173
xis	Экстизионаза	For: aagcagactgagattccta Rev: gcgtccaatgtatctataa	50	193
tetM	Белок, препятствующий связыванию рибосомы с молекулой тетрациклина	For: agccctgttagtaccaccagcag Rev: ttcaattgagtgctacgatgttcgca	50	191
ermB	23S рРНК (аденин(2058)-N(6))-метилтрансфераза	For: attggaacaggtaaagggc Rev: gaacatctgttggtatggcg	55	441
ORF39	Поверхностный белок	For: ccagatgaaatctattccat Rev: agatattacagaaaatgcagaa	50	258
3'- и 5'-концевые фрагменты ICE- <i>emm12</i>		circ: acttaacaccaagctaattgggaata cirr: accttagaggtaacactaccga	50	593
Участки хромосомной ДНК в направлении 5'- и 3'- от места интеграции ICE- <i>emm12</i>		inf: ataacgacggctgatggattacta inr: accaagtgttattctgtagacc	50	500

ния был обнаружен контиг размером 83954 п.н., содержащий гены устойчивости к MLS-антибиотикам (*ermB*) и тетрациклину (*tetM*). В пределах этого контига была выявлена последовательность размером 61028 п.н. (GC-состав 39,5%), гомологичная интегративно-конъюгативному элементу ICE-*emm12*, обнаруженному ранее в геноме штамма НКУ16, который был выделен в Гонконге от больного скарлатиной [13].

Аннотирование ICE-*emm12* элемента штамма V31 было выполнено с помощью алгоритма RAST. Данный элемент включает 53 открытые рамки считывания (ORFs), из которых 49 транскрибируются в одном направлении с генами *ermB* и *tetM* (рис.).

Анализ функций генов, входящих в состав ICE-*emm12* элемента в штамме V31, выявил в нем несколько характерных частей, в том числе: А — конъюгативный модуль, Б — модуль, содержащий гены антибиотикоустойчивости, В — участок, отвечающий за рекомбинацию (рис.).

Конъюгативный модуль включает в себя ORF42-44, ORF46 и ORF48-49, кодирующие семь консервативных белков, которые участвуют в процессе конъюгации. По-видимому, эти гены являются частью системы секреции IV С-типа, недавно обнаруженной у стрептококков, которая вместе с другими белками, например, хеликазой и ORF32, может осуществлять конъюгативный перенос ICE. Модуль, отвечающий за антибиотикоустойчивость, представлен полноразмерным транспозоном Tn6002 (20880 п.н.), насчитывающим 20 ORFs (ORF8 — ORF27), из которых ORF13 является геном устойчивости к тетрациклину (*tetM*), а ORF22 — геном устойчивости к эритромицину (*ermB*) [14]. Транспозон Tn6002 интегрирован в участок, содержащий гены ABC транспортеров, обеспечивающих защиту бактерий от действия многих антибиотиков (ORF5 — ORF7, ORF28, ORF29). Участок, отвечающий за рекомбинацию, содержит ген серин-зависимой рекомбиназы.

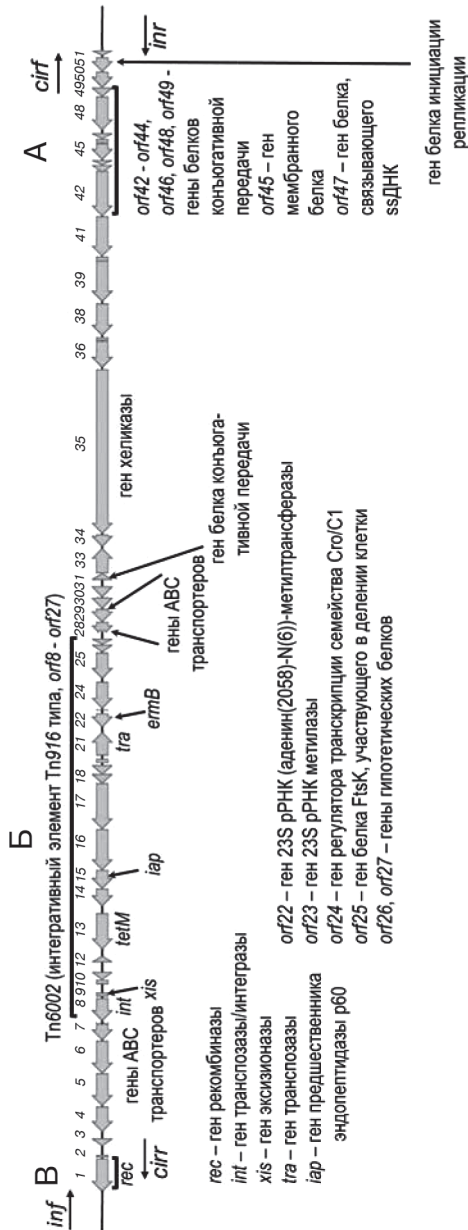
Сравнительный анализ ICE-*emm12* элемента во вьетнамском штамме V31 и гонконгском штамме НКУ16 обнаружил отсутствие в штамме V31 фрагмента размером 1100 п.н., кодирующего транспозазу, и фрагмента размером 2750 п.н., кодирующего два белка, один из которых участвует в конъюгации, а второй представляет собой ревертазу [13].

В то же время, в обоих штаммах ICE-*emm12* элемент интегрирован в ген РНК-метилтрансферазы (между нуклеотидами 1.114.028 и 1.114.029 референсного штамма СГА М1 SF370) [13]. Сравнительный анализ установил, что данная область является «горячей точкой» для рекомбинационных событий: в этом же месте генома в штамме MGAS2096 (тип *emm12*) располагается мобильный генетический элемент 2096-RD.2, содержащий ген устойчивости к тетрациклину *tetO*, а в штамме MGAS6180 (тип *emm28*) — интегративно-конъюгативный элемент 6180-RD.1. При этом все три элемента, ICE-*emm12*, 2096-RD.2 и 6180-RD.1, значительно отличаются друг от друга [3].

С целью изучения распространённости ICE-*emm12* элемента среди других штаммов, выделенных во Вьетнаме, был выбран маркерный ген ORF39, а также гены, расположенные в пределах транспозона Tn6002 (*ermB*, *tetM*, *iap*, *int*, *xis*) (рис.). Для их детекции методом ПЦР были сконструированы соответствующие пары праймеров (табл. 1), а ДНК штамма V31 была использована в качестве положительного контроля.

Наличие всех перечисленных генов было обнаружено у 12 штаммов типа *emm12* (*emm12.0*, *emm12.22*), что свидетельствует о наличии у них ICE-*emm12* элемента (табл. 2). Наличие 5 из 6 анализируемых генов, за исключением *ermB*, было обнаружено у шести штаммов типов *emm44.0* и *emm104.0*. Не исключено, что эти штаммы также имеют ICE-*emm12* элемент, но в нем вместо транспозона Tn6002 содержится транспозон Tn916, единственным отличием которого от Tn6002 является отсутствие гена *ermB* [14]. У одного штамма типа *emm89.24* был обнаружен ген *ermB*, но отсутствовали другие гены, ассоциированные с ICE-*emm12* (табл. 2). Вероятно, в этом штамме *ermB* входит в состав другого элемента, например, ICESp116 [14]. Присутствие генов *iap*, *int*, *xis*, *tetM* и отсутствие генов *ermB*, ORF39 у 23 штаммов свидетельствует о наличии у них транспозона Tn916, обеспечивающего устойчивость к тетрациклину и широко распространённого в популяции СГА (табл. 2). Следует отметить, что только у 4 вьетнамских штаммов не было обнаружено ни одного из анализируемых генов.

Согласно данным настоящего исследования и литературным данным,



Генетическая организация элемента ICE-*emm12* в штамме V31.

Таблица 2. Распространенность генов интегративно-конъюгативного элемента ICE-emm12 среди российских и вьетнамских штаммов СГА

emm тип (количество штаммов)	Наличие гена ermB	Наличие генов транспозона (tetM, iap, int, xis)	Наличие генов элемента ICE-emm12 (ORF39)	Элемент
Штаммы, выделенные во Вьетнаме				
emm12.0 (9), emm12.22 (3)	+	+	+	ICE-emm12
emm44.0 (2), emm104.0 (4)	—	+	+	ICE-emm12-Tn916
emm89.24 (1)	+	—	—	возможно, ICESp116
emm4.0 (4), emm8.0 (1), emm12.0 (1), emm44.0 (4), emm104.0 (3), emm109.0 (1), emm109.1 (6), emm170.0 (2), emm170.2 (1)	—	+	—	Tn916
emm22.0 (1), emm58.0 (1), emm75.1 (1), emm170.1 (1)	—	—	—	—
Штаммы, выделенные в Санкт-Петербурге				
emm12.0 (1)	+	+	+	ICE-emm12
emm12.0 (3)	—	+	—	Tn916
emm12.0 (14)	—	—	—	—
Штаммы, выделенные в Москве				
emm88.2 (1)	+	+	+	ICE-emm12
emm41.2 (1), emm49.8 (1), emm64.0 (1), st221.0 (1)	—	+	—	Tn916
emm28.0 (1), emm44.0 (1), emm53.0 (1), emm64.0 (1), emm66.0 (1), st2940.2 (1)	—	tetM ⁺ , iap ⁻ , int ⁻ , xis ⁻	—	—
emm1.0 (1), emm1.47 (1), emm28.0 (2), emm32.2 (1), emm60.1(1), emm66.0 (1), emm66.1 (1), emm73.0 (1), emm76.0 (1), emm77.0 (1), emm80.0 (1), emm84.0 (4), emm88.2 (5)	—	—	—	—

ICE-emm12 элемент широко распространен среди штаммов типа emm12, выделенных у детей в странах Юго-Восточной Азии [1, 13]. Для того, чтобы определить, насколько широко ICE-emm12 представлен в штаммах, выделенных в России, коллекция штаммов типа emm12, выделенных в 2007 г. в Санкт-Петербурге от детей школьного возраста, была проанализирована на наличие ICE-emm12. В результате, все искомые гены, ассоциированные с ICE-emm12, были обнаружены только у 1 штамма из 18 (табл. 2). Дополнительный анализ 32 штаммов различных emm типов, выделенных в Москве в 2008 — 2011 гг., показал, что все гены, ассоциированные с ICE-emm12, присутствуют лишь у 1 штамма. Этот штамм принадлежал к редко встречающемуся типу emm88.2 и при этом был единственным из 32 штаммов, который содержал ген ermB.

С учетом установленной локализации ICE-emm12 в геноме штамма V31 (ген РНК-метилтрансферазы) были сконструированы две пары праймеров, inf — cirr (размер ампликона 479 п.н.) и ing — cirf (размер ампликона 453 п.н.) (рис., табл. 1). В состав каждой из этих пар входил праймер, соответствующий 5'- или 3'-концевому фрагменту ICE-emm12 (cirr или cirf), и праймер, соответствующий участку хромосомной ДНК в направлении 5'- или 3'- от места интеграции ICE-emm12 (inf или ing).

В результате анализа амплификатов было установлено, что во всех штаммах, выделенных во Вьетнаме (типы emm12.0, emm12.22), и в 1 штамме, выделенном в Москве (тип emm88.2), сайт интеграции ICE-emm12 был такой же, как в штамме V31. В то же время, в штамме типа emm12.0, выделенного в

Санкт-Петербурге, элемент ICE-emm12 интегрирован в другой участок хромосомы.

Доказательством мобильности интегративно-конъюгативного элемента является его перенос в процессе конъюгации от одной бактерии к другой, при этом необходимым условием является образование циклической формы элемента. Существование у исследуемых штаммов циклических форм элемента ICE-emm12 и предполагаемого элемента ICE-emm12-Tn916, наряду с их интегрированными линейными формами, было доказано при помощи ПЦР с парами праймеров *cirf-cirr* (размер апмпликона 593 п.н.) и *inf-inr* (размер апмпликона 500 п.н.) (рис.). Положительные результаты ПЦР свидетельствовали, что часть бактериальных клеток каждого конкретного штамма содержит интегрированные линейные формы ICE, а у части клеток ICE выщепляется, переходя в циклическую форму с возможностью дальнейшего горизонтального переноса.

Увеличение уровня устойчивости штаммов СГА к эритромицину и клиндамицину за счет распространения штаммов emm12.0 типа, содержащих гены *int*, *xis*, *tetM* и *ermB*, было зарегистрировано в 2005 – 2013 гг. в странах Юго-Восточной Азии (Китай, Тайвань, Япония) [6, 13]. В ряде случаев эти штаммы были ассоциированы со вспышками стрептококковых инфекций [13]. В данной работе элемент ICE-emm12, содержащий перечисленные гены, был выявлен у 12 штаммов СГА типов emm12.0 и emm12.22, выделенных во Вьетнаме в 2012 – 2014 гг., а также у 1 штамма типа emm12.0, выделенного в 2007 г. в Санкт-Петербурге, и у 1 штамма типа emm88.2, выделенного в 2008 г. в Москве. Дополнительный анализ 12 штаммов СГА, выделенных во Вьетнаме, методом электрофореза в пульсирующем электрическом поле выявил их клональную идентичность (данные не приведены), подтверждая определенные эволюционные преимущества в результате приобретения ICE-emm12 элемента.

В то же время, остается открытым вопрос о клоне-реципиенте ICE-emm12 элемента, а также месте и времени его приобретения. С одной стороны, не исключено, что ICE-emm12 был приобретен одним из клонов СГА типа emm12 в Юго-Восточной Азии в конце 2000-х годов, с другой — присутствие ICE-emm12 в штамме редко встречающегося типа emm88.2, выделенного в 2008 г. в Москве, оставляет открытым вопрос об истинной роли этого элемента в эволюции и эпидемиологии стрептококков группы А.

Учитывая, что Юго-Восточная Азия является регионом биоразнообразия возбудителей многих инфекционных болезней и формирования новых эпидемически значимых клонов, существует риск заноса на территорию России высоковирулентных клонов микроорганизмов, включая и стрептококки. В связи с этим, обнаружение среди российских штаммов СГА генетического элемента ICE-emm12, ассоциированного со вспышками стрептококковых заболеваний в Юго-Восточной Азии, указывает на необходимость постоянного молекулярно-эпидемиологического надзора за циркуляцией эпидемически значимых клонов-возбудителей стрептококковых заболеваний в России.

ЛИТЕРАТУРА

1. Носик А.Г., Ильясов Ю.Ю., Линь Ф.К., Дмитриев А.В. Молекулярно-эпидемиологическая характеристика стрептококков, выделенных у детей младшего школьного возраста во Вьетнаме. Журн. инфектологии. 2015, 7 (3): 112-118.
2. Полякова Е.М., Мнацаканян Е.С., Бурова Л.А., Дмитриев А.В. Генетическая гетерогенность штаммов *Streptococcus pyogenes* генотипа emm12. Медицинский академический журнал. 2010, 10 (1): 39-44.

3. Beres S.B., Musser J.M. Contribution of exogenous genetic elements to the group A *Streptococcus* metagenome. *PLoS One*. 2007, 2 (8): e800.
4. Carapetis J.R., Steer A.C., Mulholland E.K. et al. The global burden of group A streptococcal diseases. *Lancet Infectious Diseases*. 2005, 5 (11): 685-694.
5. Elliot J.A., Farmer K.D., Facklam R.R. Sudden increase in isolation of group B streptococci, serotype V, is not due to emergence of a new pulsed-field gel electrophoresis type. *J. Clin. Microbiol.* 1998, 36: 2115-2116.
6. Feng L.J., Lin H.R., Ma Y.L. et al. Macrolide-resistant *Streptococcus pyogenes* from Chinese pediatric patients in association with Tn916 transposons family over a 16-year period. *Diagnostic Microbiology Infectious Disease*. 2010, 67 (4): 369-375.
7. Guy R., Williams C., Irvine N. et al. Increase in scarlet fever notifications in the United Kingdom, 2013/14. *Eurosurveillance*. 2014, 19 (12): 20749.
8. Ip M., Lyon D.J., Leung T. et al. Macrolide resistance and distribution of *erm* and *mef* genes among beta-haemolytic streptococci in Hong Kong. *European J. Clinical Microbiology Infectious Diseases*. 2002, 21 (3): 238-240.
9. Kataja J., Huovinen P., Seppala H. Macrolide resistance study G. Erythromycin resistance genes in group A streptococci of different geographical origins. *J. Antimicrobial Chemotherapy*. 2000, 46 (5): 789-792.
10. Luk E.Y., Lo J.Y., Li A.Z. et al. Scarlet fever epidemic, Hong Kong, 2011. *Emerging Infectious Diseases*. 2012, 18 (10): 1658-1661.
11. Olivieri R., Morandi M., Zanchi A. et al. Evolution of macrolide resistance in *Streptococcus pyogenes* over 14 years in an area of central Italy. *J. Medical Microbiology*. 2015, 64: 1186-1195.
12. ProMED-Mail (2009, June 20). *Streptococcus, group A, scarlet fever — Vietnam*. Retrieved December 06, 2015.
13. Tse H., Bao J.Y.J., Davies M.R. et al. Molecular characterization of the 2011 Hong Kong Scarlet Fever Outbreak. *J. Infectious Diseases*. 2012, 206 (3): 341-351.
14. Varaldo P.E., Montanari M.P., Giovanetti E. Genetic elements responsible for erythromycin resistance in streptococci, *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 2009, 53: 343-353.
15. Yan J.J., Wu H.M., Huang A.H. et al. Prevalence of polyclonal *mefA*-containing isolates among erythromycin-resistant group A streptococci in southern Taiwan. *J. Clinical Microbiology*. 2000, 38 (7): 2475-2479.

Поступила 05.11.17.

Контактная информация: Киреева Александра Геннадьевна,
197376, Санкт-Петербург, ул. акад. Павлова, 12, р.т. (812)234-05-42

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

*А.Е.Платонов¹, J.Koetsveld², Н.М.Колясникова^{1,3}, О.А.Стуколова¹,
А.С.Долгова¹, М.Г.Топоркова⁴, Д.С.Сарксян⁵*

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ НЕЙТРОФИЛОВ ЧЕЛОВЕКА С *VORRELIА MIYAMOTOI*, ВОЗБУДИТЕЛЕМ ИКСОДОВОГО КЛЕЩЕВОГО БОРРЕЛИОЗА

¹Центральный НИИ эпидемиологии, Москва; ²Academic Medical Centre, University of Amsterdam, Netherlands; ³Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П.Чумакова, Москва; ⁴ООО МО Новая больница, Екатеринбург; ⁵Ижевская государственная медицинская академия

Цель. Исследованы последствия инкубации *Borrelia miyamotoi* с нейтрофилами. *Материалы и методы.* Спирахеты *B. miyamotoi* штамма НТ31 инкубировали 3 часа при 37°C с нейтрофилами здоровых доноров (5*10⁶ клеток/мл) в пропорции 1:1. Среда инкубации содержала также неиммунную сыворотку крови здоровых доноров (СЗД) и в ряде экспериментов высокоиммунную сыворотку крови переболевших ИКБ-БМ (С-ИКБ-БМ). Методом темнопольной микроскопии оценивали долю нейтрофилов, связавших боррелии, а также количество и жизнеспособность (подвижность) свободных боррелий. *Результаты.*