

# ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *STREPTOMYCES*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА



А.В. Лямин, В.С. Терещенко, А.В. Жестков, Д.Д. Исмагуллин

ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Самара, Россия

**Резюме.** В последнее время как в России, так и во всем мире наблюдается увеличение количества случаев обнаружения представителей кислотоустойчивых микроорганизмов из порядка *Actinomycetales* при развитии бактериальных инфекций у человека. Из данных бактерий наибольшее значение имеют патогены из семейств *Mycobacteriaceae*, *Nocardiaceae*, *Gordoniaceae*, *Tsukamurellaceae*, *Promicromonosporaceae*, *Brevibacteriaceae*, *Streptomycetaceae*. Настоящая статья посвящена анализу распространенности и видового разнообразия представителей семейства *Streptomycetaceae* рода *Streptomyces*, выделенных из клинического материала при обследовании на туберкулез. Нами было проведено изучение 865 посевов проб клинического материала при обследовании на туберкулез, в которых были выявлены признаки роста контаминирующей микрофлоры, а также 316 посевов проб клинического материала при обследовании на туберкулез, в которых были выявлены признаки роста нетуберкулезных микобактерий (НТМ). Материал был собран в период с января 2016 по январь 2019 г. Из проб с признаками роста контаминирующей микрофлоры идентифицировано 1093 штамма микроорганизмов, из проб с признаками роста НТМ — 352 штамма. Из них количество представителей рода *Streptomyces* составило 39 штаммов. Все штаммы стрептомицет были выделены из мокроты. Разнообразие выделенных стрептомицет: *S. phaeochromogenes* (13 штаммов), *S. albus* (1 штамм), *S. avidinii* (1 штамм), *S. badius* (2 штамма), *S. chartreusis* (2 штамма), *S. griseus* (1 штамм), *S. hirsutus* (2 штамма), *S. lavendulae* (3 штамма), *S. violaceoruber* (10 штаммов). Для 4 штаммов не удалось осуществить видовую идентификацию. Анализируя полученные данные, можно сделать заключение об умеренном распространении представителей рода *Streptomyces* в структуре контаминирующей микрофлоры при обследовании на туберкулез. В структуре выделенных микроорганизмов стрептомицеты составили 3,3%. Среди микрофлоры, выделенной из посевов с признаками роста НТМ, стрептомицеты были представлены единичными штаммами. Однако следует отметить, что стрептомицеты оказались доминирующей группой среди кислотоустойчивых актиномицет в структуре контаминирующей микрофлоры и составили 38,3%. С учетом того, что значительная часть из них была выделена в составе микробных ассоциаций, можно сделать вывод о том, что стрептомицеты оказались в данном случае классическими контаминантами. Тем не менее выделение стрептомицет в ассоциациях с клинически значимыми НТМ, на наш взгляд, можно рассматривать как неблагоприятный фактор. Это связано с тем, что среди стрептомицет широко распространены гены антибиотикорезистентности, которые могут быть переданы другим видам микроорганизмов из группы кислотоустойчивых актиномицет, в том числе и микобактериям. Таким образом, клинический материал для диагностики туберкулеза представляет собой интересный объект исследования, поскольку из него могут быть выделены различные представители кислотоустойчивых актиномицет, в том числе и стрептомицеты.

**Ключевые слова:** стрептомицеты, микобактерии, клинический материал, туберкулез, идентификация, масс-спектрометрия.

## Адрес для переписки:

Лямин Артем Викторович  
443079, Россия, г. Самара, ул. Гагарина, 18,  
ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский  
университет Минздрава России.  
Тел.: 8 (846) 260-33-61.  
E-mail: avlyamin@rambler.ru

## Contacts:

Artem V. Lyamin  
443079, Russian Federation, Samara, Gagarin str., 18,  
Samara State Medical University of the Ministry of Health  
of the Russian Federation.  
Phone: +7 (846) 260-33-61.  
E-mail: avlyamin@rambler.ru

## Для цитирования:

Лямин А.В., Терещенко В.С., Жестков А.В., Исмагуллин Д.Д. Видовое разнообразие представителей рода *Streptomyces*, выделенных из клинического материала // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 2. С. 386–390. doi: 10.15789/2220-7619-SDA-1838

## Citation:

Lyamin A.V., Tereshchenko V.S., Zhestkov A.V., Ismatullin D.D. Species diversity among the genus *Streptomyces* members isolated from clinical material // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 2, pp. 386–390. doi: 10.15789/2220-7619-SDA-1838

## SPECIES DIVERSITY AMONG THE GENUS *STREPTOMYCES* MEMBERS ISOLATED FROM CLINICAL MATERIAL

Lyamin A.V., Tereshchenko V.S., Zhestkov A.V., Ismatullin D.D.

Samara State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Samara, Russian Federation

**Abstract.** Recently, both in Russia and around the world, the number of cases detecting acid-fast microbial members from the order *Actinomycetales* while developing human bacterial infections has been increased. The most important pathogens in this bacterial order are the members from the families *Mycobacteriaceae*, *Nocardiaceae*, *Gordoniaceae*, *Tsukamurellaceae*, *Promicromonosporaceae*, *Brevibacteriaceae*, *Streptomycetaceae*. This work is devoted to analyzing prevalence and species diversity of representatives of the family *Streptomycetaceae* from the genus *Streptomyces* isolated from clinical material upon examining for tuberculosis. There were examined 865 cultures of clinical material samples while examining for tuberculosis, in which signs of growth of contaminating microflora were revealed, as well as 316 cultures of clinical material samples obtained during examination for tuberculosis, in which signs of growth of non-tuberculosis mycobacteria (NTM) were detected. The material was collected from January 2016 to January 2019. Samples with signs of growth of contaminating microflora allowed to identify 1,093 strains, samples with signs of growth of NTM — 352 strains. Among them, the number of representatives of the genus *Streptomyces* comprised 39 strains. All *Streptomyces* strains were isolated from sputum. Variety of isolated *Streptomyces*: *S. phaeochromogenes* (13 strains), *S. albus* (1 strain), *S. avidinii* (1 strain), *S. badius* (2 strains), *S. chartreusis* (2 strains), *S. griseus* (1 strain), *S. hirsutus* (2 strains), *S. lavendulae* (3 strains), *S. violaceoruber* (10 strains). Species identification was not possible for 4 strains. Analyzing the data obtained, it is possible to draw a conclusion about the moderate distribution of representatives of the genus *Streptomyces* in pattern of contaminating microflora while examining for tuberculosis. In pattern structure of isolated microorganisms, *Streptomyces* accounted for 3.3%. Among the microflora isolated from culture with signs of NTM growth, *Streptomyces* was presented by single strains. However, it should be noted that *Streptomyces* was the dominant group among acid-resistant actinomycetes in pattern of contaminating microflora and accounted for 38.3%. Taking into account the fact that a significant proportion of them were isolated as microbial associations, it can be concluded that *Streptomyces* turned out to be classical contaminants in this case. Nevertheless, we believe that the isolation of *Streptomyces* in association with clinically significant NTMs can be considered as an unfavorable factor due to the fact that antibiotic resistance genes are widespread among *Streptomyces* and may be transmitted to other types of microorganisms from the group of acid-resistant actinomycetes, including mycobacteria. Thus, the clinical material examining for tuberculosis is an interesting research object from which various representatives of acid-fast actinomycetes, including *Streptomyces*, can be isolated.

**Key words:** *Streptomyces*, *Mycobacterium*, clinical material, tuberculosis, identification, mass-spectrometry.

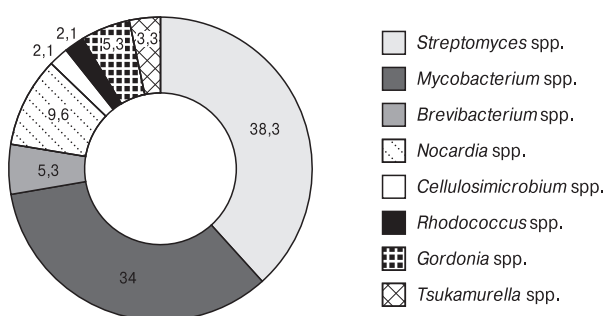
Стрептомицеты являются важным объектом изучения различных разделов микробиологии и биотехнологии. Широкое распространение данной группы микроорганизмов в природе определило ряд свойств, направленных на выживание представителей рода *Streptomyces* в экстремальных условиях окружающей среды. Известно, что стрептомицеты являются одними из важнейших биопродуцентов различных антибактериальных веществ, многие из которых используются в медицине и ветеринарии [3]. Большинство научных исследований, посвященных данной группе микроорганизмов, были проведены с использованием штаммов, выделенных из различных объектов природных и искусственных мест обитания стрептомицет [2, 4]. С другой стороны, в литературе имеется ряд источников, в которых приводятся данные о возможном участии представителей рода *Streptomyces* в качестве транзитных обитателей кожных покровов и слизистых оболочек человека. Однако чаще стрептомицеты в качестве представителей нормоценоза организма человека выявляются как случайно [1].

На наш взгляд, данный факт обусловлен отсутствием до недавнего времени доступных методов идентификации стрептомицет в случае выделения их из клинического материала. Благодаря замедленному росту, определенным особенностям культивирования, специфическим культуральным свойствам данной группы микроорганизмов при работе с клиническим материалом стрептомицеты чаще рассматриваются как классические контаминанты, не имеющие клинического значения, особенно с учетом того, что как этиологическая причина патологии человека они практически не рассматриваются. В то же время выделение стрептомицет из клинического материала является важным с точки зрения оценки их свойств и поиска новых антибактериальных агентов, а увеличение в популяции доли иммунокомпromетированных пациентов, особенно в условиях пандемии новой коронавирусной инфекции, неизбежно ставит задачи по поиску новых потенциальных патогенов из числа микроорганизмов, до настоящего времени рассматриваемых в качестве комменсалов, не имеющих клинического значения.

Цель исследования — анализ распространенности и видового разнообразия представителей рода *Streptomyces*, выделенных из клинического материала при обследовании на туберкулез.

## Материалы и методы

В работе был проведен анализ 865 посевов проб клинического материала при обследовании на туберкулез, в которых были выявлены признаки роста контаминирующей микрофлоры, а также 316 посевов проб клинического материала при обследовании на туберкулез, в которых были выявлены признаки роста нетуберкулезных микобактерий (НТМ). Посевы клинического материала, включенные в исследование, были собраны в период с января 2016 по январь 2019 года. Во всех пробах представители комплекса *Mycobacterium tuberculosis* отсутствовали. Первичный посев проб клинического материала проводили в соответствии с приказом Минздрава РФ от 21.03.2003 № 109 «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации». Из всех посевов, включенных в исследование, с первичных сред (Левенштейна–Йенсена, Финна II и Миддлбука 7Н9 с селективной добавкой PANTA) были проведены пересевы выросших культур на плотные питательные среды: 5% кровяной агар (Bio-Rad, США), универсальную хромогенную среду (Bio-Rad, США), агар Сабуро (HiMedia, Индия). Посевы инкубировались при температуре 37°C в течение 7 суток с последующим культивированием в течение 14 суток при температуре 28°C. Во время инкубации проводился ежедневный просмотр посевов. Все выросшие культуры идентифицировались с помощью MALDI-ToF масс-спектрометра Microflex LT (Bruker, США)



**Рисунок. Видовое разнообразие представителей рода *Streptomyces*, выделенных из проб клинического материала, в посевах которого были выявлены признаки контаминации (%)**

Figure. Species diversity of representatives of the genus *Streptomyces* isolated from samples of clinical material, which cell culture had signs of contamination (%)

методом прямого нанесения, методом расширенного прямого нанесения и методом экстракции муравьиной кислотой в соответствии с рекомендациями производителя оборудования. Из проб с признаками роста контаминирующей микрофлоры было выделено и идентифицировано 1093 штамма микроорганизмов, из проб с признаками роста НТМ — 352 штамма. Клинический материал, посевы которого были включены в исследование, был представлен мокротой, мочой, бронхоальвеолярной лаважной жидкостью, аутопсийным материалом, промывными водами желудка, плевральной жидкостью, спинномозговой жидкостью и раневым отделяемым.

## Результаты и обсуждение

Всего в исследовании было выделено и идентифицировано 39 штаммов представителей рода *Streptomyces*. Разнообразие выделенных стрептомицет было представлено следующими видами: *S. phaeochromogenes* (13 штаммов), *S. albus* (1 штамм), *S. avidinii* (1 штамм), *S. badius* (2 штамма), *S. chartreusis* (2 штамма), *S. griseus* (1 штамм), *S. hirsutus* (2 штамма), *S. lavendulae* (3 штамма), *S. violaceoruber* (10 штаммов). Для 4 штаммов не удалось осуществить видовую идентификацию.

С учетом специфических культуральных свойств, характерных для стрептомицет, большинство штаммов было выделено из посевов клинического материала с признаками контаминации (36 штаммов). Из посевов клинического материала с признаками роста НТМ было выделено всего 3 штамма. Важно отметить, что стрептомицеты наряду с НТМ были доминирующей группой среди кислотоустойчивых актиномицет, выделенных из клинического материала с признаками контаминирующего роста (рис.).

При анализе распространенность стрептомицет в контаминирующей микрофлоре была выявлена еще одна закономерность. Для стрептомицет, больше чем для других видов кислотоустойчивых актиномицет оказались характерны ассоциации с другими контаминантами. Было выявлено 6 случаев двухкомпонентных ассоциаций: в трех случаях была выявлена ассоциация стрептомицет с нетуберкулезными микобактериями (две ассоциации *S. lavendulae* + *M. chelonae*, одна — *S. hirsutus* + *M. celatum*), в двух случаях была выявлена ассоциация, состоящая из двух видов стрептомицет (*S. badius* + *S. griseus*, *S. violaceoruber* + *S. phaeochromogenes*), один штамм *S. chartreusis* был выделен в ассоциации с *B. atrophaeus*. Схожие результаты были получены при анализе структуры стрептомицет, выделенных из посевов клинического материала с признаками роста НТМ. В одном случае была

выделена трехкомпонентная ассоциация с двумя видами микобактерий (*M. pseudoshottsii* + *M. szulgai* + *S. lavendulae*), в одном случае была выделена двухкомпонентная ассоциация, также с НТМ (*M. fortuitum* + *S. phaeochromogenes*), один штамм *S. hirsutus* был выделен в монокультуре.

При анализе сред, на которых был выявлен рост стрептомицет, можно сделать вывод, что плотные питательные среды на яичной основе (Левенштейна–Йенсена и Финна II) не являются оптимальными для выделения данной группы микроорганизмов из первичного клинического материала. На среде Левенштейна–Йенсена не было выделено ни одного штамма представителей рода *Streptomyces*, на среде Финна II был получен рост 2 штаммов стрептомицет. Все остальные штаммы были выделены с жидкой питательной среды Миддлбука 7Н9 с селективной добавкой PANTA. При последующих пересевах рост всех выделенных штаммов стрептомицет был отмечен на кровяном агаре. Универсальная хромогенная среда оказалась менее пригодной для культивирования стрептомицет. Возможно, данный факт обусловлен тем, что среды с избытком нативного белка и аминокислот содержат вещества, которые оказывают лимитирующее воздействие на рост стрептомицет.

Анализируя полученные данные, можно сделать вывод об умеренном распространении представителей рода *Streptomyces* в структуре контаминирующей микрофлоры при обследовании на туберкулез. В структуре выделенных микроорганизмов стрептомицеты составили 3,3%. Среди микрофлоры, выделенной из посевов с признаками роста НТМ, стрептомицеты были представлены единичными штаммами. Однако следует отметить, что стрептомицеты оказались доминирующей группой среди кислотоустойчивых актиномицет в структуре контаминирующей микрофлоры и составили 38,3%. С учетом того, что значительная часть из них была выделена в составе микробных ассоциаций, можно сделать заключение о том, что стрептомицеты оказались в данном случае классическими контаминантами. Тем не менее выделение стрептомицет в ассоциациях с клинически значимы-

ми НТМ можно рассматривать, на наш взгляд, как неблагоприятный фактор, так как среди стрептомицет широко распространены гены антибиотикорезистентности, которые могут быть переданы другим видам микроорганизмов из группы кислотоустойчивых актиномицет, в том числе и микобактериям.

Среди выделенных видов стрептомицет преобладающими оказались представители *S. phaeochromogenes* и *S. violaceoruber*, которые в совокупности составили 59,0% всех выделенных штаммов. Остальные виды были представлены единичными (от 1 до 3) штаммами. *S. phaeochromogenes* описан в литературе как вид, представители которого продуцируют значительное количество разнообразных веществ с антимикробной активностью [6]. При этом в научной литературе отсутствуют данные о его клиническом значении и об особенностях биологических свойств штаммов, выделенных из клинического материала. *S. violaceoruber* по данным литературы обладает меньшим набором веществ с антимикробной активностью [5].

Таким образом, клинический материал для диагностики туберкулеза представляет собой интересный объект исследования, поскольку из него могут быть выделены различные представители кислотоустойчивых актиномицет, в том числе и стрептомицеты. Бактерии рода *Streptomyces* могут представлять определенный интерес для специалистов в различных областях микробиологии, как с целью поиска новых антибактериальных и других биологически активных веществ, так и с точки зрения оценки потенциального клинического значения выделенных штаммов, особенно у иммунокомпрометированных пациентов. Дополнительной сферой интереса может быть анализ влияния стрептомицет на рост трудно культивируемых микроорганизмов, например хеликобактеров, кампилобактеров (при заболеваниях желудочно-кишечного тракта), возбудителей бронхолегочной патологии и ряда других, для выделения которых используются селективные среды, что обусловлено возможностью подавления анализируемой микрофлоры антибактериальными веществами, активно выделяемыми стрептомицетами.

## Список литературы/References

1. Андриянова И.В., Казакова О.Э., Шервашидзе С.В., Вахрушев С.Г., Каширцева И.А., Шульмин А.В. Изучение микрофлоры носоглотки здоровых детей в различных возрастных группах по микробным маркерам // Российская ринология. 2018. Т. 26, № 3. С. 47–53. [Andriyanova I.V., Kazakova O.E., Shervashidze S.V., Vahrushev S.G., Kashirceva I.A., Shulmin A.V. The study of the microflora of the nasopharynx of healthy children in different age groups by microbial markers. *Rossiyskaya rinologiya = Russian Rhinology*, 2018, vol. 26, no. 3, pp. 47–53. (In Russ.)]
2. Виноградов К.А., Булгаков В.Г., Полин А.Н. Стрептомицеты в свете концепции «многоклеточности» бактерий // Антибиотики и химиотерапия. 2016. Т. 61, № 7–8. С. 33–47. [Vinogradov K.A., Bulgakov V.G., Polin A.N. Streptomycetes in the light of the concept of “multicellularity” of bacteria. *Antibiotiki i khimioterapiya = Antibiotics and Chemotherapy*, 2016, vol. 61, no. 7–8, pp. 33–47. (In Russ.)]



3. Илич С.Б., Константинович С.С., Тодорович З.Б., Лазич М.Л., Велькович В.Б., Йокович Н., Радованович Б.Ц. Биоактивные метаболиты из изолятов стрептомицетов — описание и антимикробная активность // Микробиология. 2007. № 4. С. 480–487. [Ilich S.B., Konstantinovich S.S., Todorovich Z.B., Lazich M.L., Vel'kovich V.B., Yokovich N., Radovanovich B.Ts. Bioactive metabolites from streptomycete isolates — description and antimicrobial activity. *Mikrobiologiya = Mikrobiologiya (Microbiology)*, 2007, no. 4, pp. 480–487. (In Russ.)]
4. Омургазиева Ч.М., Каулбекова А.А. Фенотипические свойства штаммов *Streptomyces*, выделенных из почв естественных и техногенных зон Кыргызстана // Вестник Кыргызского национального университета имени Жусупа Баласагына. 2017. Т. 4, № 92. С. 32–41. [Omurgazieva Ch.M., Kaulbekova A.A. Phenotypic properties of *Streptomyces* strains isolated from soils of natural and technogenic zones of Kyrgyzstan. *Vestnik Kyrgyzskogo natsionalnogo universiteta imeni Zhusupa Balasagyna = Bulletin of the Kyrgyz National University named after Zhusup Balasagyn*, 2017, vol. 4, no. 92. pp. 32–41. (In Russ.)]
5. Duangmal K., Ward A.C., Goodfellow M. Selective isolation of members of the *Streptomyces violaceoruber* clade from soil. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2005, vol. 245, no. 2, pp. 321–327. doi: 10.1016/j.femsle.2005.03.028
6. Ritacco F.V., Eveleigh D.E. Molecular and phenotypic comparison of phaeochromycin-producing strains of *Streptomyces phaeochromogenes* and *Streptomyces ederenis*. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 2008, vol. 35, no. 9, pp. 931–945. doi: 10.1007/s10295-008-0367-0

**Авторы:**

**Лямин А.В.**, д.м.н., профессор кафедры общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Самара, Россия;

**Терещенко В.С.**, старший лаборант кафедры общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Самара, Россия;

**Жестков А.В.**, д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, зав. кафедрой общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Самара, Россия;

**Исмагуллин Д.Д.**, ассистент кафедры общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Самара, Россия.

**Authors:**

**Lyamin A.V.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Department of General and Clinical Microbiology, Immunology and Allergology, Samara State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Samara, Russian Federation;

**Tereshchenko V.S.**, Head Technician, Department of General and Clinical Microbiology, Immunology and Allergology, Samara State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Samara, Russian Federation;

**Zhestkov A.V.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Honored Worker of Science of the Russian Federation, Head of the Department of General and Clinical Microbiology, Immunology and Allergology, Samara State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Samara, Russian Federation;

**Ismatullin D.D.**, Assistant, Department of General and Clinical Microbiology, Immunology and Allergology, Samara State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Samara, Russian Federation.