

РАЗНООБРАЗИЕ БАКТЕРИЙ РОДА *STREPTOMYCES*

DIVERSITY OF BACTERIA OF THE GENUS *STREPTOMYCES*

10.15789/2220-7619-SDA-1838

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

Лямин А.В.,

Терещенко В.С.,

Жестков А.В.,

Исматуллин Д.Д.,

Самарский государственный медицинский университет Минздрава России,
Самара, Россия

**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 MH RF, Samara, Russia

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 данного порядка наибольшее значение имеют патогены из семейств *Mycobacteriaceae*, *Nocardiaceae*, *Gordoniaceae*, *Tsukamurellaceae*, *Promicromonosporaceae*, *Brevibacteriaceae*, *Streptomycetaceae*. Данная работа посвящена анализу распространенности и видового разнообразия представителей семейства *Streptomycetaceae* рода *Streptomyces*, выделенных из клинического материала при обследовании на туберкулез. В исследовании 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 собран в период с января 2016 по январь 2019 года. 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 провести 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 заключение 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 видами микроорганизмов из группы кислотоустойчивых актиномицет, в том числе и микобактериям. Таким образом, клинический материал при обследовании на туберкулез представляет собой интересный объект, из которого могут быть выделены различные представители кислотоустойчивых актиномицет, в том числе и стрептомицеты.

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

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 are pathogens in this bacterial order are members from the families Mycobacteriaceae, Nocardiaceae, Gordoniaceae, Tsukamurellaceae, Promicromonosporaceae, Brevibacteriaceae, Streptomycetaceae. This work is devoted to analyze 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, from 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 was 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 during examination for tuberculosis is an interesting object from which various representatives of acid-fast actinomycetes, including streptomyces, can be isolated.

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

1 Стрептомицеты являются важным объектом изучения различных
2 разделов микробиологии и биотехнологии. Широкое распространение
3 данной группы микроорганизмов в природе определило ряд свойств,
4 направленных на выживание представителей рода *Streptomyces* в
5 экстремальных условиях окружающей среды. Известно, что стрептомицеты
6 являются одними из важнейших биопродуцентов различных
7 антибактериальных веществ, многие из которых используются в медицине и
8 ветеринарии [3]. Большинство научных исследований, посвященных данной
9 группе микроорганизмов были проведены с использованием штаммов,
10 выделенных из различных объектов природных и искусственных мест
11 обитания стрептомицет [2,4]. С другой стороны, в литературных источниках
12 имеется ряд ссылок, в которых проводятся данные о возможном участии
13 представителей рода *Streptomyces* в качестве транзиторных обитателей
14 кожных покровов и слизистых оболочек человека. Но чаще стрептомицеты в
15 качестве представителей нормоценоза организма человека выявляются как
16 случайные находки [1].

17 На наш взгляд данный факт обусловлен отсутствием до недавнего
18 времени доступных методов идентификации стрептомицет в случае
19 выделения их из клинического материала. Замедленный рост, определенные
20 особенности культивирования, специфические культуральные свойства
21 данной группы микроорганизмов при работе с клиническим материалом
22 чаще приводит к тому, что стрептомицеты рассматриваются как
23 классические контаминанты, не имеющие клинического значения. Особенно
24 с учетом того, что представители рода *Streptomyces*, как этиологическая
25 причина патологии человека практически не рассматриваются. В тоже время,
26 выделение стрептомицет из клинического материала является важным с
27 точки зрения оценки их свойств и поиска новых антибактериальных агентов,
28 а увеличение доли иммунокомпрометированных пациентов особенно в
29 условиях пандемии новой коронавирусной инфекции в популяции неизбежно
30 ставит задачи по поиску новых потенциальных патогенов из числа

31 микроорганизмов, до настоящего времени рассматриваемых в качестве
32 комменсалов, не имеющих клинического значения.

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

36 **Материалы и методы**

37 В работе был проведен анализ 865 посевов проб клинического
38 материала при обследовании на туберкулез, в которых были выявлены
39 признаки роста контаминирующей микрофлоры, а также 316 посевов проб
40 клинического материала при обследовании на туберкулез, в которых были
41 выявлены признаки роста нетуберкулезных микобактерий (НТМ). Посевы
42 клинического материала, включенные в исследование, были собраны в
43 период с января 2016 по январь 2019 года. Во всех пробах представители
44 *Mycobacterium tuberculosis* complex отсутствовали. Первичный посев проб
45 клинического материала проводили в соответствии с Приказом Минздрава
46 РФ от 21.03.2003 №109 «О совершенствовании противотуберкулезных
47 мероприятий в Российской Федерации». Из всех посевов, включенных в
48 исследование с первичных сред (Левенштейна-Йенсена, Финн II и
49 Миддлбрук 7Н9 с селективной добавкой PANTA) были проведены пересевы
50 выросших культур на плотные питательные среды: 5% кровяной агар (Bio-
51 Rad), универсальную хромогенную среду (Bio-Rad), агар Сабуро (HiMedia).
52 Посевы инкубировались при температуре 37°C в течение 7 суток с
53 последующим культивированием в течение 14 суток при температуре 28°C.
54 Во время инкубации проводился ежедневный просмотр посевов. Все
55 выросшие культуры идентифицировались с помощью MALDI-ToF масс-
56 спектрометра (Microflex LT, Bruker) методом прямого нанесения, методом
57 расширенного прямого нанесения и методом экстракции муравьиной
58 кислотой в соответствии с рекомендациями производителя оборудования. Из
59 проб с признаками роста контаминирующей микрофлоры было выделено и
60 идентифицировано 1093 штамма микроорганизмов, из проб с признаками

61 роста НТМ – 352 штамма. Клинический материал, посевы которого были
62 включены в исследование был представлен мокротой, мочой, бронхо-
63 альвеолярной лаважной жидкостью, аутопсийным материалом, промывными
64 водами желудка, плевральной жидкостью, спинномозговой жидкостью и
65 раневым отделяемым.

66 **Результаты и обсуждение**

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

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

81 Анализируя распространенность стрептомицет в контаминирующей
82 микрофлоре была выявлена еще одна закономерность. Для стрептомицет,
83 больше чем для других видов кислотоустойчивых актиномицет оказались
84 характерны ассоциации с другими контаминантами. Было выявлено 6
85 случаев двухкомпонентных ассоциаций: в трех случаях была выявлена
86 ассоциация стрептомицет с нетуберкулезными микобактериями (две
87 ассоциации *S.lavendulae*+*M.chelonae*, одна – *S.hirsutus*+*M.celatum*), в двух
88 случаях была выявлена ассоциация, состоящая из двух видов стрептомицет
89 (*S.badius*+ *S.griseus*, *S.violaceoruber*+*S.phaeochromogenes*), один штамм
90 *S.chartreusis* был выделен в ассоциации с *B.atrophaeus*. Схожие результаты

91 были получены при анализе структуры стрептомицет, выделенных из
92 посевов клинического материала с признаками роста НТМ. В одном случае
93 была выделена трехкомпонентная ассоциация с двумя видами микобактерий
94 (*M.pseudoshottsii*+*M.szulgai*+*S.lavendulae*), в одном случае была выделена
95 двухкомпонентная ассоциация, также с НТМ
96 (*M.fortuitum*+*S.phaeochromogenes*), один штамм *S.hirsutus* был выделен в
97 монокультуре.

98 При анализе сред, на которых был выявлен рост стрептомицет можно
99 сделать заключение, что плотные питательные среды на яичной основе
100 (Левенштейна-Йенсена и Финн II) не являются оптимальными для выделения
101 данной группы микроорганизмов из первичного клинического материала. На
102 среде Левенштейна-Йенсена не было выделено ни одного штамма
103 представителей рода *Streptomyces*, на среде Финн II был получен рост 2
104 штаммов стрептомицет. Все остальные штаммы были выделены с жидкой
105 питательной среды Миддлбрук 7Н9 с селективной добавкой РАНТА. При
106 последующих пересевах рост всех выделенных штаммов стрептомицет был
107 отмечен на кровяном агаре. Универсальная хромогенная среда оказалась
108 менее пригодной для культивирования стрептомицет. Возможно данный
109 факт обусловлен тем, что среды с избытком нативного белка и аминокислот
110 содержат вещества, которые оказывают лимитирующее воздействие на рост
111 стрептомицет.

112 Анализируя полученные данные можно сделать заключение об
113 умеренном распространении представителей рода *Streptomyces* в структуре
114 контаминирующей микрофлоры при обследовании на туберкулез. В
115 структуре выделенных микроорганизмов стрептомицеты составили 3,3%.
116 Среди микрофлоры, выделенной из посевов с признаками роста НТМ
117 стрептомицеты были представлены единичными штаммами. Однако следует
118 отметить, что стрептомицеты оказались доминирующей группой среди
119 кислотоустойчивых актиномицет в структуре контаминирующей
120 микрофлоры и составили 38,3%. С учетом того, что значительная часть из

121 них была выделена в составе микробных ассоциаций можно сделать
122 заключение о том, что стрептомицеты оказались в данном случае
123 классическими контаминантами. Тем не менее, выделение стрептомицет в
124 ассоциациях с клинически значимыми НТМ можно рассматривать, на наш
125 взгляд, как неблагоприятный фактор, т.к. среди стрептомицет широко
126 распространены гены антибиотикорезистентности, которые могут быть
127 переданы другим видами микроорганизмов из группы кислотоустойчивых
128 актиномицет, в том числе и микобактериям.

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

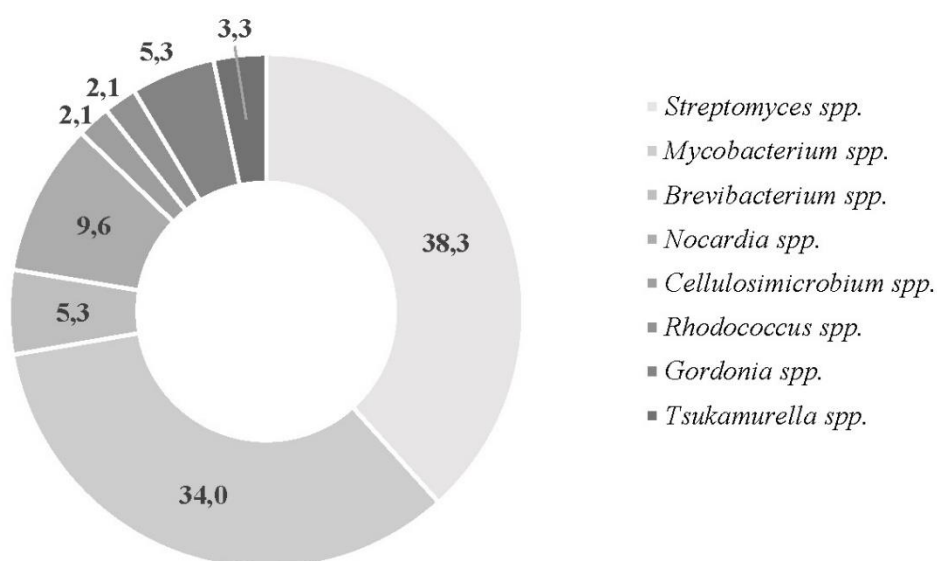
139 Таким образом, клинический материал при обследовании на туберкулез
140 представляет собой интересный объект, из которого могут быть выделены
141 различные представители кислотоустойчивых актиномицет, в том числе и
142 стрептомицеты. Бактерии рода *Streptomyces* могут представлять
143 определенный интерес для специалистов в различных областях
144 микробиологии, как с целью поиска новых антибактериальных и других
145 биологически активных веществ, так и с точки зрения оценки
146 потенциального клинического значения выделенных штаммов, особенно у
147 иммунокомпрометированных пациентов. Дополнительной сферой интереса
148 может быть анализ влияния стрептомицет на рост трудно культивируемых
149 микроорганизмов, например, хеликобактеров, кампилобактеров (при
150 заболеваниях желудочно-кишечного тракта), возбудителей бронхолегочной

151 патологии и ряда других, для выделения которых используются селективные
152 среды, что обусловлено возможностью подавления анализируемой
153 микрофлоры антибактериальными веществами, активно выделяемыми
154 стрептомицетами.

РИСУНКИ

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 (%).



МЕТАДАННЫЕ

Автор, ответственный за переписку с редакцией:

Лямин Артем Викторович, д.м.н., профессор кафедры общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, 443079, г. Самара, ул. Гагарина, д. 18, тел. +7(846)2603361, e-mail: avlyamin@rambler.ru

Lyamin Artem Victorovich, Doctor of Medical Science, Professor of the Department of General and Clinical Microbiology, Immunology and Allergology Federal State Budgetary Institution of Higher Education "Samara State Medical University" of the Ministry of Health of Russia, 443079, Samara, Gagarin str., 18, tel. +7 (846) 2603361, e-mail: avlyamin@rambler.ru

Соавторы:

Терещенко Василий Сергеевич (Tereshchenko Vasily Sergeevich), старший лаборант кафедры общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России

Жестков Александр Викторович (Zhestkov Alexandr Victorovich), з.д.н. РФ, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России

Исматуллин Данир Дамирович (Ismatullin Danir Damirovich), ассистент кафедры общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России

Название статьи: Видовое разнообразие представителей рода *Streptomyces*, выделенных из клинического материала

Количество страниц текста:

6 страниц

Количество рисунков:

1

Количество таблиц:

Нет

Раздел журнала:

Краткие сообщения

Дата отправления работы:

07.12.2021

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ

**Видовое разнообразие представителей рода *Streptomyces*, выделенных из
клинического материала**

**Species diversity of representatives of the genus *Streptomyces* isolated from
clinical material**

Лямин А.В., д.м.н., профессор кафедры общей и клинической
микробиологии, иммунологии и аллергологии

Lyamin A.V., Doctor of Medical Science, Professor of the Department of General
and Clinical Microbiology, Immunology and Allergology

Терещенко В.С., старший лаборант кафедры общей и клинической
микробиологии, иммунологии и аллергологии

Tereshchenko V.S., senior assistant of the Department of General and Clinical
Microbiology, Immunology and Allergology

Жестков А.В., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общей и
клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии

Zhestkov A.V., Doctor of Medical Science, Professor, Head of the Department of
General and Clinical Microbiology, Immunology and Allergology

Исматуллин Д.Д., ассистент кафедры общей и клинической микробиологии,
иммунологии и аллергологии

Ismatullin D.D., assistant of the Department of General and Clinical
Microbiology, Immunology and Allergology

Самарский государственный медицинский университет Минздрава России,
Самара, Россия

Samara State Medical University of MH RF, Samara, Russia

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

Разнообразие бактерий рода *Streptomyces*

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

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

Адрес для переписки:

443079, г. Самара, ул. Гагарина, д. 18, тел. +7(846)2603361, e-mail:
avlyamin@rambler.ru

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи и/или
1	Андрянова И.В., Вахрушев С.Г., Каширцева И.А. Особенности микробиоты носоглотки у детей с хроническим аденоидитом // Российская ринология. 2014. Т. 22, № 2. С. 40.	Andriyanova I.V., Vakhrushev S.G., Kashirtseva I.A. Features of the microbiota of the nasopharynx in children with chronic adenoiditis // Rossiyskaya Rinologiya = Russian rhinology, 2014, vol. 22, no. 2, pp. 40. (In Russ.)	
2	Виноградов К.А., Булгаков В.Г., Полин А.Н. Стрептомицеты в свете концепции «многоклеточности» бактерий // Антибиотики и химиотерапия. – 2016. Т. 61,	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	

	№ 7-8. С. 33-47.	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 // Mikrobiologija = Microbiology. 2007, no. 4, pp. 480-487.	
4	Омургазиева Ч.М., Каулбекова А.А. Фенотипические свойства штаммов <i>Streptomyces</i> , 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 <i>Streptomyces</i> strains isolated from soils of natural and technogenic zones of Kyrgyzstan // Vestnik Kyrgyzskogo Nauional'nogo universiteta imeni Zhusupa Balasagyna = Bulletin of the Kyrgyz National	

		University named after Zhusup Balasagyn. 2017, vol. 4, no. 92. pp. 32-41.	
5	Duangmal K., Ward A.C., Goodfellow M. Selective isolation of members of the <i>Streptomyces violaceoruber</i> clade from soil. FEMS Microbiology Letters. 2005, vol. 245, no 2, pp. 321-327.		https://academic.oup.com/femsle/article/245/2/321/562370 [DOI: 10.1016/j.femsle.2005.03.028]
6	Ritacco F.V., Eveleigh D.E. Molecular and phenotypic comparison of phaeochromycin- producing strains of <i>Streptomyces</i> <i>phaeochromogenes</i> and <i>Streptomyces ederensis</i> . Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology. – 2008, vol. 35, no. 9, pp. 931-		https://academic.oup.com/jimb/article/35/9/931/5997721 [DOI: 10.1007/s10295-008-0367-0]

	945.		
--	------	--	--