

Визначення генетичної варіативності клінічних штамів *S. aureus*, вилучених із *locus morbi* та з інших біотопів у хворих на atopічний дерматит

С.К. Джораєва, В.В. Гончаренко, Ю.В. Щербакова, О.В. Щоголева
ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України»

Резюме

Мета – визначити генетичну спорідненість штамів *S. aureus*, вилучених від хворих на atopічний дерматит (АД).

Матеріали та методи. Генетичну варіативність еталонного та 79 клінічних ізолятів *S. aureus* оцінювали за методом RAPD-PCR.

Результати. Встановлено загально високий генетичний поліморфізм *S. aureus*. Монотипність ізолятів корелювала з тяжкістю перебігу АД від трьох різних генетичних кластерів при легкому ступені тяжкості, до одного – при важкому. Ізоляти, виділені з різних біотопів від одного й того самого хворого, продемонстрували значну генетичну спорідненість на рівні ($79,5 \pm 1,6$)% для штамів, виділених зі слизових носових ходів та з *locus morbi*, та від ($75,1 \pm 4,4$)% до ($98,8 \pm 0,8$)% – для штамів з ділянок інтактної та ураженої шкіри в залежності від ступеня тяжкості АД ($p \leq 0,05$).

Висновки. Загально високий генетичний поліморфізм штамів *S. aureus*, виділених від хворих на АД, і високий рівень спорідненості ізолятів із різних біотопів одного і того самого пацієнта обґрунтовують аутопоходження штамів стафілококів, що колонізують *locus morbi*.

Ключові слова: atopічний дерматит, клінічні штами *S. aureus*, генетична варіативність, RAPD-типуння.

DOI: 10.33743/2308-1066-2020-4-12-16

Вступ

Необхідним елементом епідеміологічного нагляду за інфекціями є вивчення ареалу поширення збудників, дослідження широкого кола біологічних властивостей і проведення внутрішньовидового епідеміологічного типуння (ЕТ) штамів збудника [1]. ЕТ ґрунтується на виявленні стабільних маркерів фенотипічних чи генотипічних гетерогенних властивостей, за якими з максимальною точністю можна диференціювати штами мікроорганізмів і оцінювати їх спорідненість [5].

Сучасні методи внутрішньовидового ЕТ мікроорганізмів розділяють на традиційні – фенотипічні та нові – генотипічні [8]. Серед фенотипічних найвідоміші методи біотипуння (за ферментативною активністю), серотипуння (за антигенною структурою), фаготипуння (за чутливістю до фагів), бактеріоцинотипуння (за чутливістю до бактеріоцинів), антибіотикорезистенстипуння (за чутливістю до антибіотиків), патотипуння (за спектром наявних факторів патогенності) [4]. Проте фенотипічні ознаки є нестабільними і часто можуть змінюватись спонтанно або під дією різних чинників (відомі явища фаго- та сероконверсії, перехресних серотипічних реакцій, нестабільність ферментоварів тощо); мають гіперваріабельний

рівень дискримінантності, що ускладнює порівняльний аналіз та об'єктивність висновків.

Завданням мікробіологічного моніторингу як складової ЕТ є вивчення структури стафілококової популяції. Сучасні молекулярно-генетичні методи внутрішньовидового типуння мікроорганізмів, зокрема RAPD-PCR (random amplification of polymorphic DNA PCR, полімеразна ланцюгова реакція з випадковою ампліфікацією поліморфної ДНК), дають змогу виявляти епідемічно значущі штами і спостерігати за їх поширенням.

RAPD, або PCR з універсальними праймерами, ґрунтується на використанні праймерів з довільною послідовністю нуклеотидів. За розподілом продуктів реакції – RAPD-спектрів, що являють собою фрагменти ДНК різної довжини, можна реєструвати відмінності між геномами близькоспоріднених мікроорганізмів. Використання RAPD-PCR показало високу інформативність методу в популяційних дослідженнях для виявлення прихованого генетичного поліморфізму в лініях і близькоспоріднених видах, а також для індивідуальної ідентифікації; перевагою є простота виконання і надійність аналізу [7].

У літературі є достатня кількість робіт щодо ролі *S. aureus* у обтяженні перебігу алергодерматозів. Відомо,

що за умов надлишкової колонізації *S. aureus* витісняє коменсальні бактерії зі шкіри, тоді як його фактори патогенності чинять негативний вплив на цілісність епітеліального бар'єра і функціонування імунної системи, виступаючи не лише вторинним чинником загострення atopічного дерматиту (АД), а й однією з причин виникнення загострень [2, 6].

Мета дослідження: визначення генетичної варіативності клінічних штамів *S. aureus*, вилучених із *locus morbi* та з інших біотопів хворих на АД, за допомогою RAPD-PCR з метою виявлення генетичного зв'язку між означеними штамми.

Матеріали та методи дослідження

Визначення генотипічного поліморфізму штамів *S. aureus*, вилучених з уражених та інтактних ділянок шкіри та носових ходів хворих на АД, проведено за допомогою RAPD-PCR. Загалом протестовано 79 штамів *S. aureus*: 67 – вилучено від хворих на АД (33 – з осередків ураження шкіри, 22 – з інтактних ділянок, 12 – зі слизових носових ходів хворих на АД), 11 – з інтактних ділянок шкіри практично здорових осіб, а також еталонний (типовий) штам *S. aureus* ATCC25923 – з метою дослідження генотипічного поліморфізму та генетичного зв'язку між ними.

Виділення ДНК проводили з використанням набору Diatom™ DNA Prep 2000 (РФ) згідно з інструкцією виробника. Реакції RAPD-PCR проводили з олігонуклеотидними праймерами OLP 6 (5'-GAGGGAAGAG-3'), OLP 11 (5'-ACGATGAGCC-3') і OLP 13 (5'-ACCGCCTGCT-3') виробництва Eurofins, Німеччина, як описано Zare S. et al. [9] та Debnath A. et al. [10]. Ампліфікацію проводили з використанням набору реагентів GenePak®PCRCore (РФ).

Кожна пробірка з готовою сумішшю містить інгібовану для «гарячого старту» ТаqДНК-полімераза, дезоксинуклеозидтрифосфати та $MgCl_2$ з кінцевими концентраціями, відповідно, 1u, 200 мМ та 2,5 мМ, а також оптимізовану буферну систему для проведення однієї стандартної PCR. Реакцію проводили в об'ємі 20 мкл. Реакційна суміш містила по 5 мкл кожного праймера в концентрації 3 мкМ і 5 мкл виділеної ДНК. Ампліфікацію фрагментів ДНК проводили в ампліфікаторі Терцик (РФ) з початковою денатурацією при 94 °С упродовж 5 хв з наступними 40 циклами денатурації при 93 °С упродовж 1 хв, відпадом при 37 °С упродовж 1,5 хв та з елонгацією при 72 °С упродовж 1 хв, з термінальною елонгацією упродовж 7 хв при 72 °С.

Як негативний контроль використовували ту саму реакційну суміш без додавання ДНК. Позитивним контролем слугувала суміш, що містить хромосому ДНК еталонного штаму *S. aureus* ATCC25923. Негативний і позитивний контроль додавали в кожен прогін. Кожен лабораторний ізолят *S. aureus* тестували за однакових умов, щонайменше двічі з вибраними олігонуклеотидами. Ампліфіковані фрагменти PCR піддавали електрофорезу в 1,5% агарозному гелі у TBE буфері, що містив 0,5 мкг/мл етидйї броміду при постійній напрузі електричного поля 4 В/см упродовж 40 хв.

Продукти праймерів аналізували з використанням маркера молекулярної маси ДНК (Маркер М-Combi виробництва РФ), що містив фрагменти ДНК розмірів 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 500, 600, 700, 800,

900, 1000, 1200, 1400, 1600, 1800 та 2000 н. п. Фрагменти ДНК, що утворювались з використанням OLP 6 та OLP 11 праймерів мали розміри від 100 до 1200 н. п. та від 300 до 2000 н. п. з використанням праймеру OLP 13. Спорідненість одержаних профілів оцінювали за допомогою патернів смуг RAPD-PCR, згенерованих кожним праймером. Ізоляти позначали як генетично нерозрізнені, якщо їх схеми мали однакову кількість смуг, а відповідні смуги мали однаковий видимий розмір. Ступінь подібності між профілями ампліконів оцінювали за формулою:

$$\frac{2N_{xy}}{(N_x + N_y)} \times 100\%,$$

де N_{xy} – число співпадаючих смуг на спектрах обох зразків; N_x і N_y – загальне число фрагментів зразків x і y . Культури відносили до одного генотипу при рівні гомології геномів $\geq 70\%$, що вказує на ймовірність спільного походження (можливо, родинні ізоляти) [10–12].

Результати дослідження

На сьогодні в літературі відсутні дані щодо автентичності (вірогідної генетичної спорідненості) штамів *S. aureus*, котрі вегетують, як на різних ділянках шкіри хворих на алергодерматози, так і в основному біотопі цих мікроорганізмів – слизовій оболонці носа хазяїна. Тому важливим завданням є дослідження взаємозв'язку між генотипами вилучених від хворих на АД штамів *S. aureus* і ступенем тяжкості хвороби.

На рисунках 1–3 наведено електрофореграми RAPD-PCR-патернів (генерованих праймерами OLP6, OLP11 і OLP13) штамів *S. aureus*, вилучених від хворих на АД з легким (S1-S10), помірним (S11-S21) і важким (S22-S33) ступенем тяжкості захворювання відповідно.

Як видно з електрофореграм, серед RAPD-PCR-патернів штамів *S. aureus*, вилучених від хворих з різним ступенем тяжкості перебігу АД, загальна кількість візуалізованих смуг (ампліконів ДНК, що відрізнялись за розміром) коливалася від 6 до 11. За результатами аналізу RAPD-PCR-патернів штамів *S. aureus* S1-S10 (вилучених від хворих з легким ступенем тяжкості АД), останні згруповано у три генетичні кластери: I – з наявністю ампліконів розміром від 150 до 2000 н. п. (треки S2–S6 і S8–S10), II – 250–1200 н. п. (трек S1) і III – 50–900 н. п. (трек S7).

У межах I кластеру ступінь подібності RAPD-PCR-патернів коливався від 66,7 до 88,9% (із середнім значенням показника $(77,6 \pm 3,3)\%$), що дає змогу віднести штами *S. aureus* S2–S6 і S8–S10 до одного генотипу. Ступінь подібності кластерів I та II становив 42,9%, I і III кластеру – 66,7%, а II та III – 66,7%, що свідчить про значну генетичну відмінність порівнюваних штамів. Профіль RAPD-PCR еталонного штаму *S. aureus* ATCC25923 складався з ампліконів розміром 1800, 1600, 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 250 і 200 н. п. (трек ATCC) та мав високу (70,5%) спорідненість з профілем клінічного штаму S1, дещо нижчу (57,1%) – зі штамми кластеру I та відносно низьку (47,1%) з культурою S7 кластеру III.

За допомогою аналізу електрофореграм лабораторних ізолятів S11–S21 виділено 2 кластери RAPD-спектрів: з наявністю фрагментів масою від 250 до

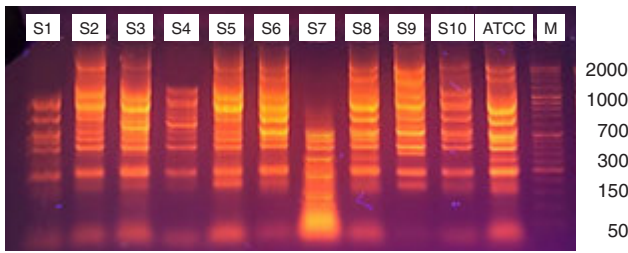


Рис. 1. RAPD-PCR-патерни штамів *S. aureus*, вилучених від хворих з легким ступенем тяжкості АД (S1–S10), та еталонного штаму *S. aureus* ATCC25923 (ATCC); маркер молекулярної маси ДНК М–Combi (M)

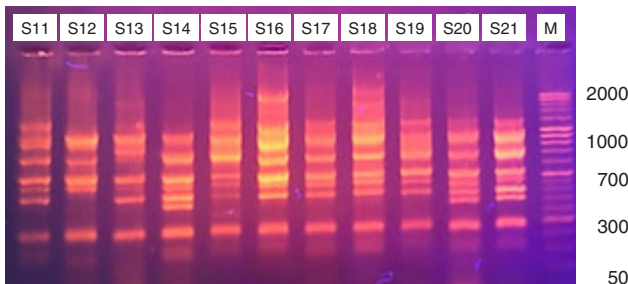


Рис. 2. RAPD-PCR-патерни штамів *S. aureus*, вилучених від хворих з помірним ступенем тяжкості АД (S11–S21); маркер молекулярної маси ДНК М–Combi (M)

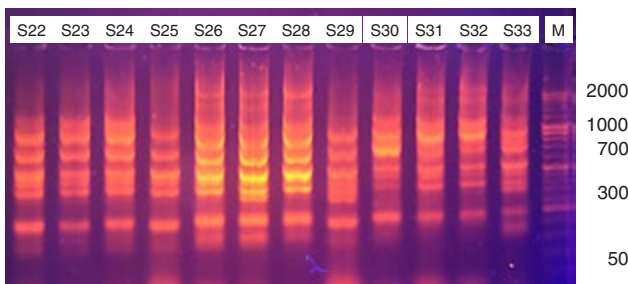


Рис. 3. RAPD-PCR-патерни штамів *S. aureus*, вилучених від хворих з важким ступенем тяжкості АД (S22–S33); маркер молекулярної маси ДНК М–Combi (M)

2000 н. п. (рис. 2, доріжки № 1 і 5–11) і від 250 до 900 (рис. 2, треки № 2–4). Ступінь подібності RAPD-спектрів коливався від 53,3 до 90,0% (середній показник $(75,0 \pm 3,6)\%$). Ступінь спорідненості між зазначеними кластерами становив 37,5%, що свідчить про їх низьку генетичну однорідність. Під час порівняння RAPD-спектрів лабораторних штамів з еталонною культурою *S. aureus* ATCC 25923 виявлена помірна генетична спорідненість зі штамми першого кластеру (52,6%) та низька – з профілями культур з другого кластеру (31,6%).

За допомогою аналізу електрофореграм лабораторних ізолятів S22–S33 виділено 1 кластер RAPD-спектрів: з наявністю фрагментів масою від 200 до 2000 н. п. (рис. 3, треки № 1–11). Ступінь подібності RAPD-спектрів коливався від 62,5 до 100% (середній показник становив $(80,3 \pm 3,9)\%$). Під час порівняння з еталонною культурою *S. aureus* ATCC 25923 відмічена низька генетична спорідненість (38,1%).

Таким чином, середній показник варіативності лабораторних штамів стафілококів, віднесених до найпоширенішого кластеру, становив $(77,6 \pm 1,5)\%$, що свідчить про високу генетичну спорідненість цих культур. Ступінь спорідненості зазначених штамів з еталонною культурою *S. aureus* ATCC 25923 у середньому становив $(53,1 \pm 5,4)\%$, що свідчить про їх помірну генетичну спорідненість.

За допомогою аналізу RAPD-спектрів штамів, вилучених з *locus morbi* та інтактних ділянок шкіри кожного з 8 пацієнтів, які мали легкий перебіг АД, показано, що ступінь генетичної спорідненості у середньому становив $(75,1 \pm 4,4)\%$, що свідчить про приналежність до одного генотипу. Лише у двох хворих спостерігали низьку та помірну генетичну спорідненість між штамми, вилученими з осередків ураження та інтактної шкіри – 47,1 і 64,7% відповідно, що вказує на ймовірність різного походження штамів.

На рисунку 4 наведено RAPD-спектри штамів, вилучених з уражених та інтактних ділянок шкіри хворих з важким АД. За допомогою аналізу електрофореграм лабораторних ізолятів S44–S55, вилучених з інтактних ділянок шкіри хворих на важкий АД, виділено один кластер RAPD-спектрів: з наявністю фрагментів масою від 200 до 2000 н. п. (рис. 4, ряд 2, трек № 1–11).

Ступінь спорідненості між ізолятами, виділеними з інтактної шкіри, становив від 70,6 до 100% (середній показник $(83,1 \pm 3,5)\%$). При порівнянні RAPD-спектрів штамів, вилучених з уражених та інтактних ділянок шкіри хворих з важким АД (12 пацієнтів), ступінь генетичної спорідненості штамів становив $(98,8 \pm 0,8)\%$, що свідчить про їх ідентичність.

При визначенні генетичної варіативності штамів *S. aureus*, вилучених зі шкіри практично здорових осіб, виділено два кластери RAPD-спектрів: з наявністю фрагментів масою від 200 до 2000 н. п. і 150–900 н. п. із загальною кількістю фрагментів від 5 до 9. Під час порівняння RAPD-спектрів першого і другого кластеру ступінь генетичної спорідненості між штамми коливався від 53,3 до 82,4% (середній показник спорідненості $(68,5 \pm 3,2)\%$), що свідчить про відсутність генетичної спорідненості між вилученими мікроорганізмами; при цьому не визначались генотипи, притаманні для здорової шкіри.

Відомо, що в більшості хворих на АД, особливо з важким перебігом захворювання, *S. aureus* вилучають не лише зі шкіри, а й зі слизової носових ходів [2], тому на наступному етапі було проведено вивчення RAPD-спектрів штамів, вилучених з носових ходів хворих на АД, та їх порівняння

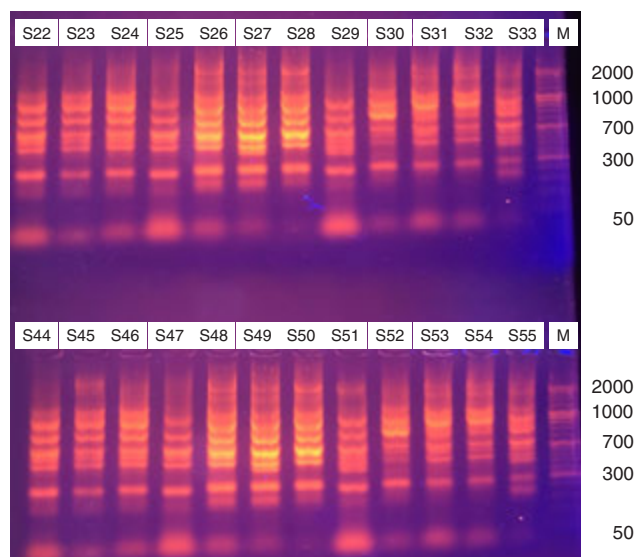


Рис. 4. RAPD-PCR-патерни ізолятів *S. aureus*, вилучених з *locus morbi* (S22–S33) та інтактних ділянок шкіри хворих з важким АД (S44–S55); маркер молекулярної маси ДНК М–Combi (M)

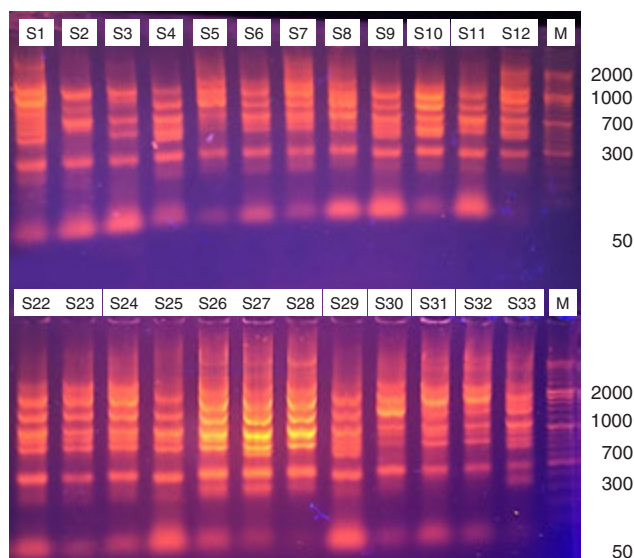


Рис. 5. RAPD-PCR-патерни ізолятів *S. aureus*, вилучених зі слизової носових ходів (S1–S12) і уражених ділянок шкіри (S22–S32) хворих з важким АД; маркер молекулярної маси ДНК M–Combi (M)

з фінгерпринтами штамів *S. aureus*, вилучених з *locus morbi* цих самих хворих. Отримані дані наведено на рисунку 5. За допомогою аналізу електрофореграм лабораторних ізолятів S1–S12, вилучених зі слизової носових ходів хворих з важким АД, виділено один кластер RAPD-спектрів з наявністю фрагментів масою від 200 до 2000 н. п. (рис. 5, трек № 1–11). Загальна кількість фрагментів становила від 5 до 10. При порівнянні RAPD-спектрів ступінь подібності коливався від 61,5 до 100%, середній показник дорівнював $(82,3 \pm 3,6)\%$.

Штами, вилучені з носових ходів, мали високий рівень генетичної спорідненості зі штамми, вилученими з уражених ділянок шкіри на рівні $(79,5 \pm 1,6)\%$ (від 71,4 до 92,3%), що вказує на однаковість генотипів

досліджуваних *S. aureus* і свідчить про аутопоходження штамів, що вегетують на уражених та інтактних ділянках шкіри хворих.

Висновки

У результаті проведених досліджень встановлено, що середній показник варіативності лабораторних штамів *S. aureus*, вилучених від хворих на АД, становив $(77,6 \pm 3,3)\%$, що свідчить про їх високу генетичну спорідненість; при цьому ступінь спорідненості з еталонною культурою *S. aureus* ATCC 25923 – лише 33,6%.

При порівнянні RAPD-спектрів штамів, вилучених з уражених та інтактних ділянок шкіри хворих з легким і помірним ступенем тяжкості, ступінь генетичної спорідненості становив $(75,1 \pm 4,4)\%$ і $(75,0 \pm 3,6)\%$ відповідно, що свідчить про належність штамів до одного генотипу. Лише в одного хворого спостерігали низьку генетичну спорідненість $(47,1\%)$ між штамми, вилученими з осередка ураження та з інтактною шкіри, що вказує на ймовірність їх різного походження. При порівнянні RAPD-спектрів штамів, вилучених з уражених та інтактних ділянок шкіри хворих з важким АД (12 пацієнтів), ступінь генетичної спорідненості становив $(98,8 \pm 0,8)\%$, що свідчить про належність штамів до одного генотипу.

Таким чином, при дослідженні штамів *S. aureus*, вилучених від хворих на АД, не було визначено жодного генотипу, який би асоціювався з АД або ступенем тяжкості захворювання. Встановлено високий рівень генетичної однотипності штамів, вилучених з *locus morbi* та носових ходів $(79,5 \pm 1,6)\%$, що вказує на їх аутопоходження. Показано, що зі збільшенням ступеня тяжкості перебігу АД збільшувалась генетична однотипність ізолюваних збудників: так, у хворих з легким ступенем тяжкості АД визначено 3 генетичних класери мікроорганізму, з помірним – 2, з важким – лише 1.

Література

- Кирик Д.Л. Молекулярні методи у мікробіологічній діагностичній практиці і епідеміологічному аналізі. Профілактична медицина. 2015. № 1–2 (24). С. 127–134.
- Кутасевич Я.Ф., Джораева С.К., Мангушева В.Ю. Исследование состава микробиоты кожи и анализ ее антибиотикорезистентности у больных аллергодерматозами. Экспериментальная и клиническая медицина. 2018. № 1 (78). С. 101–107.
- Распространенность мобильных генетических элементов SCCmec-типа у штаммов *Staphylococcus aureus*, изолированных с кожи и слизистых пациентов с аллергической патологией / А.Ф. Шамсутдинов, А.А. Тойменцева, Ю.А. Тюрин, Л.Т. Баязитова. Гены и клетки. 2014. Т. IX, № 3. С. 284–288.
- Тимченко О.М., Пожил С.І. Порівняльна характеристика методів руйнування клітин мікроорганізмів для отримання інтактних форм плазмідної та хромосомної ДНК. Annals of Mechnikov's Institute. 2005. № 2. С. 82–90.
- Шагинян И.А. Идентификация и типирование патогенных бактерий: современные подходы. Вестник РАМН. 2000. № 1. С. 22–28.
- Feuillie C., Vitry P., McAleeretal M.A. Adhesion of *Staphylococcus aureus* to Corneocytes from Atopic Dermatitis Patients Is Controlled by Natural Moisturizing Factor Levels. mBio. 2018. Vol. 9, Iss. 4. P. 01184–18.
- Debnath A., Chikkaswamy B.K. Randomly Amplified Polymorphic DNA Assay of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Clinical Samples from Bengaluru, India. Int. J. Cur. Microbiol. Appl. Sci. 2015. Vol. 4, N. 11. P. 342–355.
- Evaluation and application of molecular genotyping on nosocomial pathogen-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in Guangzhou representative of Southern China / J. Miao, L. Chen, J. Wang et al. Microb. Pathog. 2017. Vol. 107. P. 397–403.
- Molecular typing of *Staphylococcus aureus* from different sources by RAPD-PCR analysis / S. Zare, A. Derakhshandeh, M. Haghighah et al. Heliyon. 2019. Vol. 5, Iss. 8. P. 1–6.
- Molecular and phenotypic characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from a tertiary hospital in the Philippines / D.L. Valle Jr, P.A. Pacilbare, E.C. Cabrera, W.L. Rivera. Trop. Med. Health. 2016. Vol. 44. P. 3.
- Prevalence and odds of *Staphylococcus aureus* carriage in atopic dermatitis: a systematic review and meta-analysis / J. E. Totté, W. T. vander Feltz, M. Hennekam et al. British Journal of Dermatology. 2016. Vol. 175, Iss. 4. P. 687–695.
- RAPD-анализ в изучении генетической гетерогенности *Corynebacterium diphtheriae* / С.И. Доан, А.И. Савчук, Е.А. Гладкая и др. Профілактична медицина. 2011. № 2 (14). С. 39–44.

References

- Kyryk DL. Molecular methods in microbiological practice and epidemiological analysis (Molecular methods in epidemiological analysis). Profylaktychna medytsyna. 2015;1–2(24):127–134.
- Kutasevich YaF, Dzhoravaeva SK, Mangusheva VYu. Issledovaniye sostava microbioty kozhi i analiz yeyo antibiotikorezistentnosti u bolnykh allergodermatozami (Study of the skin microbiota composition and analysis of its antibiotic resistance from the patients with allergic dermatoses). Experimentálna i klinichna medytsyna. 2018;1(78):101–107.
- Shamsudinov AF, Toymentseva AA, Tyurin YuA, Bayazitova LT. Rasprostranennost mobilnykh geneticheskikh elementov SCCmec-tipa u shtammov *Staphylococcus aureus*, izolirovannykh s kozhi i slizistykh patsiyentov s allergologicheskoy patologiyey (Prevalence of mobile genetic elements of SCCmec type in *Staphylococcus aureus* strains isolated from skin and mucous of patients with allergic pathology). Geny i kletki. 2014;IX:3:284–288.
- Tymchenko OM, Pokhyl SI. Porivnyalna kharakterystyka metodiv ruynuvannya klityn mikroorganizmiv dlya otrymannya intaktnykh form plazmidnoyi ta chromosomnoyi DNK (Comparative characteristic of methods of microorganism cell destruction for receiving of plasmid and chromosomal DNA intact forms). Annals of Mechnikov's Institute. 2005;2:82–90.
- Shaginyan IA. Identifikatsiya i tipirovaniye patogennykh bakteriy: sovremennyye podkhody (Identification and typing of the pathogenic bacteria: modern approaches). Vestnik RAMN. 2000;1:22–28.
- Feuillie C, Vitry P, McAleeretal MA. Adhesion of *Staphylococcus aureus* to Corneocytes from Atopic Dermatitis Patients Is Controlled by Natural Moisturizing Factor Levels. mBio. 2018;9(4):01184–18.
- Debnath A, Chikkaswamy BK. Randomly Amplified Polymorphic DNA Assay of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Clinical Samples from Bengaluru, India. Int. J. Cur. Microbiol. Appl. Sci. 2015;4(11):342–355.
- Miao J, Chen L, Wang J, et al. Evaluation and application of molecular genotyping on nosocomial pathogen-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in Guangzhou representative of Southern China. Microb. Pathog. 2017;107:397–403.
- Zare S, Derakhshandeh A, Haghighah M, et al. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* from different sources by RAPD-PCR analysis. Heliyon. 2019;5(8):1–6.
- Valle Jr DL, Pacilbare PA, Cabrera EC, Rivera WL. Molecular and phenotypic characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from a tertiary hospital in the Philippines. Trop. Med. Health. 2016;44:3.
- Totté JEE, vander Feltz WT, Hennekam M, et al. Prevalence and odds of *Staphylococcus aureus* carriage in atopic dermatitis: a systematic review and meta-analysis. British Journal of Dermatology. 2016;175(4):687–695.
- Doan SY, Savchuk AY, Hladkaia EA, et al. RAPD-analiz v vyzucheniyu heterycheskoi heterohenosti *Corynebacterium diphtheriae* (RAPD analysis in the study of genetic heterogeneity of *Corynebacterium diphtheriae*). Profylaktychna medytsyna. 2011;2(14):39–44.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ВАРИАТИВНОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ *S. AUREUS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ *LOCUS MORBI* И ИЗ ДРУГИХ БИОТОПОВ У БОЛЬНЫХ АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ

С.К. Джораева, В.В. Гончаренко, Ю.В. Щербакова, Е.В. Щеголева
ГУ «Институт дерматологии и венерологии НАМН Украины»

Резюме

Цель – определить генетическое родство штаммов *S. aureus*, изолированных от больных с АД.

Материалы и методы. Генетическую вариативность 79 клинических изолятов *S. aureus* оценивали с помощью метода RAPD-PCR.

Результаты. Установлен значительный генетический полиморфизм *S. aureus*. Монотипность изолятов росла в зависимости от тяжести течения АД от трех различающихся генетических кластеров при легкой степени тяжести, до одного – при тяжелой. Изоляты, выделенные из разных биотопов от одного и того же больного, продемонстрировали значительное генетическое родство на уровне $(79,5 \pm 1,6)\%$ для штаммов, выделенных со слизистой носовых ходов и из *locus morbi*, и от $(75,1 \pm 4,4)\%$ до $(98,8 \pm 0,8)\%$ для штаммов с участков интактной и пораженной кожи в зависимости от степени тяжести АД ($p \leq 0,05$).

Выводы. Значительный генетический полиморфизм штаммов *S. aureus*, выделенных от больных с АД, и высокий уровень родства изолятов из разных биотопов одного и того же пациента свидетельствуют в пользу аутопроисхождения штаммов стафилококков, колонизирующих *locus morbi*.

Ключевые слова: атопический дерматит, клинические штаммы *S. aureus*, генетическая вариативность, RAPD-типирование.

DETERMINATION OF GENETIC VARIABILITY OF CLINICAL STRAINS OF *S. AUREUS* EXTRACTED FROM *LOCUS MORBI* AND OTHER BIOTOPES IN PATIENTS WITH ATOPIC DERMATITIS

S.K. Dzhoraeva, V.V. Goncharenko, Yu.V. Shcherbakova, O.V. Shchogolyeva
SE «Institute of Dermatology and Venereology of NAMS of Ukraine»

Abstract

The objective: the study of genetic affinity of *S. aureus* strains isolated from patients with AD

Materials and methods. Genetic variability of the 79 *S. aureus* isolates was evaluated according to the results of the RAPD-PCR study.

Results. It was revealed a generally high genetic polymorphism of *S. aureus*. It was established that with an increase in the severity of AD, the monotypism of pathogen isolates grows ($p \leq 0,05$) from three different genetic clusters in patients with AD with a mild disease course to only one cluster with a severe disease course. A high level of genetic affinity was established between *S. aureus* strains isolated from different biotopes from the same patients, which for strains isolated from the nasal mucosa and from *locus morbi* reached $(79,5 \pm 1,6)\%$, and for strains isolated from intact and affected skin are as increased from $(75,1 \pm 4,4)\%$ to $(98,8 \pm 0,8)\%$ in parallel with the increase in the severity of the disease course in patients with AD from mild to severe forms, respectively ($p \leq 0,05$).

Conclusions. Both the generally high genetic polymorphism of *S. aureus* strains isolated from allergodermatoses patients and the high affinity of isolates from different biotopes of the same patient, justify the auto-origin of the strains of staphylococci colonizing *locus morbi*.

Key words: atopic dermatitis, clinical strains of *S. aureus*, genetic variability, RAPD-typing.

Відомості про авторів:

Джораєва Світлана Кар'ягдівна – канд. мед. наук, завідувач лабораторно-експериментального відділу ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України», dzhoraevasvetlana@gmail.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2486-5474>

Гончаренко Валентина Василівна – канд. мед. наук, наук. співроб. лабораторії мікробіології ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України», idvnamnu.ukr.net

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8168-0818>

Щербакова Юлія Валеріївна – д-р мед. наук, старший дослідник, вчений секретар ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України»; iuliascherbakova@gmail.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3682-7451>

Щоголева Олена Володимирівна – мол. наук. співроб. лабораторії мікробіології ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України»; idvnamnu.ukr.net

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7235-3556>