



Генотипирование *Staphylococcus aureus*, выделенного у низших приматов, на основе полиморфизма коагулазного гена и генов комплекса *agr*

В. А. Калашникова

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» (ФГБНУ «НИИ МП»), г. Сочи, Россия;
<https://orcid.org/0000-0002-1574-8674>, e-mail: vikky.aw@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus*) – патогенный микроорганизм, вызывающий большое количество заболеваний у человека и животных. Проведено много исследований по генотипированию *Staphylococcus aureus*, выделенных у людей и при маститах у коров, но данных по типированию *Staphylococcus aureus*, обнаруженного у обезьян, в зарубежной литературе не найдено. Однако инфекции стафилококковой природы у приматов распространены широко. В статье представлены результаты молекулярно-генетического изучения золотистых стафилококков, изолированных от низших обезьян, на основе типирования коагулазного гена и полиморфного локуса *agr*, являющегося регулятором экспрессии генов патогенности. Проведено исследование структуры коагулазного гена (*coa*) и полиморфных типов регуляторного гена (*agr*) у 145 изолятов *Staphylococcus aureus*, выделенных от обезьян разных видов. Получены одиночные фрагменты коагулазного гена четырех размеров: 600, 750, 800 и 900 п. н. По результатам рестрикции эндонуклеазой *AluI* изученные золотистые стафилококки классифицированы на семь различных *coa*-типов. Наиболее часто обнаруживали VII генотип (31,7%), реже – II генотип коагулазного гена (9,7%). Для каждого изолята *Staphylococcus aureus* характерен определенный профиль рестрикции коагулазного гена, следовательно, среди обезьян питомника циркулирует как минимум семь штаммов золотистого стафилококка. При этом стафилококки, содержащие коагулазный ген VII генотипа, являются инвазивными, так как выделены из различных органов и гноя, а также фекалий и носовой полости животных. Анализ результатов исследования показал, что между разными видами обезьян возможна передача бактерий данного вида. Установлено, что, в отличие от обнаруженных у людей изолятов *Staphylococcus aureus*, в геноме которых преобладает *agrI*, у изученных в настоящей работе изолятов превалирует *agrIV* (59,3%). Группы *agrII* и *agrIII* детектированы у 5,5 и 2,1% изолятов соответственно.

Ключевые слова: обезьяны, *Staphylococcus aureus*, коагулазный ген, регуляторный ген, группы комплекса *agr*

Благодарности: Работа выполнена за счет средств госбюджета, входит в раздел научных исследований по инфекционной патологии обезьян «Генетическое разнообразие и молекулярная характеристика *Staphylococcus aureus*, изолированных от обезьян».

Для цитирования: Калашникова В. А. Генотипирование *Staphylococcus aureus*, выделенного у низших приматов, на основе полиморфизма коагулазного гена и генов комплекса *agr*. Ветеринария сегодня. 2021; 10 (4): 335–341. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-335-341.

Конфликт интересов: Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Калашникова Виктория Алексеевна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник ФГБНУ «НИИ МП», 354376, Россия, Краснодарский край, г. Сочи, с. Веселое, ул. Мира, 177, e-mail: vikky.aw@gmail.com.

Coagulase gene and *agr* complex polymorphism-based genotyping of *Staphylococcus aureus* isolated from non-human primates

V. A. Kalashnikova

FSBSI "Research Institute of Medical Primatology" (FSBSI "SRI MP"), Sochi, Russia;
<https://orcid.org/0000-0002-1574-8674>, e-mail: vikky.aw@gmail.com

SUMMARY

Staphylococcus aureus is a pathogenic microorganism causing a great number of diseases in humans and animals. Many researches on genotyping *Staphylococcus aureus* isolated from humans and mastitis affected cows are performed, but no foreign reports on typing of *Staphylococcus aureus* detected in monkeys have been found. *Staphylococcus*-induced infections are however widely spread in primates. The paper demonstrates results of molecular and genetic examination of *Staphylococcus aureus* isolated from non-human primates. The examination was based on typing of coagulase gene and polymorphic locus of *agr* gene that regulates expression of pathogenicity-associated genes. Structures of coagulase gene (*coa*) and polymorphic types of regulatory gene (*agr*) were studied in 145 *Staphylococcus*

aureus isolates recovered from various monkey species. The studies resulted in singular coagulase gene fragments of four dimensions: 600, 750, 800 and 900 bps. Following *AluI* endonuclease restriction results *Staphylococcus aureus* was classified in seven different *coa*-types. Coagulase gene of genotype VII predominated (31.7%), genotype II was detected less frequently (9.7%). Each *Staphylococcus aureus* isolate is specified by a definite coagulase gene restriction profile; therefore, at least seven *Staphylococcus aureus* strains are currently circulating in the monkeys in the monkey facilities. Herewith, those staphylococci that bear genotype VII coagulase gene are invasive as they are isolated from various organs and pus as well as from feces and nasal cavities of the animals. Analysis of the study results demonstrated that bacteria of this species could be transmitted between different monkey species. Apart from human *Staphylococcus aureus*, in whose genome *agrI* prevails, *agrIV* prevailed in the isolates outlined in this paper (59.3%); *agrII* and *agrIII* were detected in 5.5 and 2.1% of the isolates, respectively.

Keywords: monkeys, *Staphylococcus aureus*, coagulase gene, regulatory gene, *agr* groups

Acknowledgements: The work was funded by the federal government, and it is a part of the research activities aimed at the examination of the infectious pathology of monkeys "Genetic diversity and molecular specification of *Staphylococcus aureus* isolated from monkeys".

For citation: Kalashnikova V. A. Coagulase gene and *agr* complex polymorphism-based genotyping of *Staphylococcus aureus* isolated from non-human primates. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (4): 335–341. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-335-341.

Conflict of interest: The author declares no conflict of interest.

For correspondence: Victoria A. Kalashnikova, Candidate of Science (Biology), Leading Researcher, FSBSI "SRI MP", 354376, Russia, Krasnodar Krai, Sochi, s. Veseloye, ul. Mira, 177, e-mail: vikky.aw@gmail.com

ВВЕДЕНИЕ

Золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus*) является причиной заболеваний людей и животных, включая доброкачественные инфекции кожи и мягких тканей [1, 2]. Опасность патогена заключается в способности вызывать тяжелые инфекции, вплоть до летальных случаев (пневмония, сепсис и др.). Это является результатом действия большого количества продуцируемых им факторов вирулентности, таких как стафилокиназа, адгезины, гемолизины, лейкоцидины, энтеротоксины и др. [2, 3], экспрессия которых регулируется специальной системой – дополнительным регуляторным геном *agr* [2, 4–7]. Хотя этот локус является консервативным, но состоит из полиморфного гипервариабельного фрагмента, который используется для классификации штаммов *St. aureus* методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в одну из четырех групп (полиморфных типов) – *agrI*, *agrII*, *agrIII*, *agrIV* [4, 8]. Некоторые авторы утверждают, что *agr*-группы влияют на вирулентность штаммов и прогрессирование заболевания [9].

В конце прошлого века при исследовании различных патогенных микроорганизмов стали применяться молекулярные методы типирования, которые позволяют выявлять эпидемиологически значимые штаммы. С помощью этих методов были обнаружены генетические детерминанты вирулентности золотистого стафилококка и установлено, что данный микроорганизм принадлежит к гетерогенным и полиморфным видам, у которых многие гены патогенности присутствуют в хромосоме в составе «островков патогенности», стафилококковых хромосомных кассет и профагов. У разных штаммов эти генетические элементы существуют в виде аллельных форм и характеризуются различной степенью мобильности [4]. Горизонтальный перенос генов, расположенных на мобильных генетических элементах, вызывает генетическое разнообразие внутри вида *St. aureus*.

Одним из важнейших факторов вирулентности *St. aureus* является коагулаза – внеклеточный продукт штаммов, который стимулирует протромбин, что приводит к свертыванию крови. Ген коагулазы *coa* генетически изменчив, т. е. полиморфен [10, 11]. Типирование коагулазы было разработано как один из молекулярных методов, применяющихся для идентификации или дифференциации представителей *St. aureus* [12, 13]. Амплификация гена коагулазы считается простым и точным способом типирования *St. aureus*, выделенных из различных источников и дающих важную информацию о генетическом фоне изолятов [14, 15]. Этот метод основан на выявлении изменчивости и полиморфизма, возникающих в результате мутаций на 3'-конце коагулазного гена, содержащего tandemные повторы длиной в 81 пару нуклеотидов (п. н.), и меняющих размер гена [16–19]. Фрагменты ДНК, соответствующие вариабельной области гена коагулазы, амплифицируются в ПЦР с последующим расщеплением ферментами (эндонуклеазами) рестрикции и анализом картины различных длин рестрикционных фрагментов или паттернов (ПЦР-ПДРФ). На основании данных о количестве и размере этих фрагментов дифференцируют изоляты. Таким образом, изучение полиморфизма таких генов вирулентности *St. aureus*, как коагулазный и регуляторный, может иметь важное диагностическое значение [12, 20]. Генотипы коагулазного гена хорошо изучены у золотистых стафилококков, выделенных от людей [21]. Также много работ посвящено исследованию полиморфизма *coa*-гена представителей вида *St. aureus*, выделенных при маститах у коров и из молока [1, 6, 11, 15, 22–25]. Эти исследования показали, что разные генотипы *St. aureus* могут быть выявлены не только у коров, больных маститом в разных географических районах, но даже у коров в одном стаде [6]. Из литературных данных известно, что возможна передача штаммов между людьми и различными животными, включая обезьян [24]. Связанные с человеком штам-

мы *St. aureus* колонизируют и заражают низших обезьян в неволе и дикой природе [26, 27]. Считается, что приобретение и утрата генов, расположенных на мобильных генетических элементах, является основным фактором адаптации микроба после передачи между хозяевами [26].

Сведений по исследованию полиморфизма коагулазного гена и аллельных вариантов регуляторного гена у *St. aureus*, выделенных от обезьян разных видов, в зарубежных научных публикациях не обнаружено.

Цель настоящей работы – провести генотипирование изолятов *St. aureus*, выделенных от обезьян разных видов, на основе полиморфизма коагулазного гена и полиморфных типов регуляторного гена.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучено 145 изолятов *St. aureus*, полученных при бактериологическом обследовании 33 живых и 100 погибших обезьян разных видов (макак-резус – 51, макак яванский – 33, павиан гамадрил – 33, павиан анубис – 9, мартышка зеленая – 3, макак лапундер – 3, капуцин белоплечий – 1), содержащихся в условиях неволи в Адлерском питомнике. Обследованные обезьяны были обоих полов (♀ – 69, ♂ – 64) и разных возрастов (от 0 сут до 35 лет). Для исследования у живых обезьян были взяты стерильными тампонами мазки со слизистой носа ($n = 11$), зева ($n = 1$), из уретры ($n = 1$), пробы гноя из раны ($n = 2$). Стерильными ректальными тампонами из прямой кишки были взяты пробы фекалий ($n = 18$). У погибших животных материалом для исследования служили кусочки органов и биожидкости, полученные при патолого-анатомическом вскрытии (легкие – 66, печень – 11, селезенка – 12, почка – 6, лимфоузлы – 9, матка – 1, слепая кишка – 4, гной – 2, биологическая жидкость – 1).

Эксперименты на животных проводили в соответствии с межгосударственными стандартами по содержанию и уходу за лабораторными животными ГОСТ 33215-2014 и ГОСТ 33216-2014, принятыми Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации, а также согласно требованиям Хельсинкской декларации (2000 г.) и Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях.

Посев материала проводили на желточно-солевой агар (ЖСА) и 5%-й кровяной агар и инкубировали в термостате при 37 °C в течение 24–48 ч. Выросшие колонии стафилококков изучали морфологически (на основании характеристик колоний, их пигментации, окраски по Граму) и биохимически, учитывая лецитиназную активность на ЖСА, гемолитическую активность на кровяном агаре и плазмокоагуляцию. Видовую идентификацию проводили с помощью коммерческих тест-систем «Мультимикротесты для биохимической идентификации стафилококков (ММТ С)» (ООО НПО «Иммунотэк», Россия). Для дальнейшего молекулярно-генетического исследования изоляты золотистых стафилококков хранили при минус 20 °C.

Экстракцию ДНК и *agr*-типирование проводили, как описано ранее [28]. Детекцию коагулазного гена осуществляли согласно методике, описанной в предыдущей работе [29]. Структурный полиморфизм коагулазного гена исследовали по J. V. Hookey et al. [30] с использованием эндонуклеазы рестрикции *AluI* (New

England BioLabs, США) по прилагаемому протоколу: 5 мкл 10× NEBuffer, 34 мкл деионизированной воды, 10 мкл ДНК, 1 мкл *AluI*. Смесь инкубировали при температуре 37 °C в течение 1 ч. Дальнейший анализ проводили на основе определения размеров полученных ампликонов, количества и протяженности фрагментов рестрикции. *Coa*-ПЦР-ПДРФ-паттерны представляли в виде цифрового кода: первое число (до косой черты) соответствует размеру ПЦР-продукта, а затем (после косой черты) указаны размеры рестрикционных *AluI*-фрагментов.

Визуализацию продуктов амплификации осуществляли в Трис-ацетатном буфере (ТАЕ) с использованием 2%-го агарозного геля (Sigma, США), окрашенного раствором бромистого этидия (0,5 мкг/мл), в градиенте напряжения 130 В в течение 50 мин (электрофорез продуктов рестрикции проходил при 80 В в течение 1 ч 35 мин). По окончании электрофореза результаты просматривали в ультрафиолетовом свете на транс-иллюминаторе (длина волны 254 нм). Размер ампликонов определяли, используя ДНК-маркер 100–1200 п. н. (Evrogen, Россия). Результаты реакции фотографировали в ультрафиолетовом свете.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам амплификации коагулазного гена выделено четыре типа ампликона (табл. 1). Как видно из таблицы, у большинства изолятов (46%) был обнаружен коагулазный ген четвертого типа размером 900 п. н.

Использование эндонуклеазы *AluI* позволило выявить 7 различных профилей рестрикции коагулазного гена (генотипов) у изученных изолятов, давших количество фрагментов рестрикции от 1 до 3 и имеющих размер от 80 до 750 п. н. (табл. 2).

При этом для изолятов каждой группы была характерна одинаковая длина ампликонов и специфические сайты рестрикции. Отсутствие различий в размерах ампликонов указывает на отсутствие отличий в числе нуклеотидных повторов, а одинаковые сайты рестрикции – на структурное сходство этих повторов. Большинство изолятов *St. aureus* относились к VII типу рестрикции (31,7%), с наименьшей частотой выявлен VI генотип коагулазного гена (2,1%).

Следует отметить, что рестрикционный профиль 600/600 п. н. (I генотип *coa*-гена) с высокой частотой встречался у *St. aureus*, выделенных от обезьян рода павианов, – у 25 из 42 исследованных изолятов (рис.).

Таблица 1
Характеристика ПЦР-продуктов (ампликонов) коагулазного гена *St. aureus*, выделенных от обезьян

Table 1
Specification of coagulase gene PCR-products (amplicons) of *St. aureus* isolated from monkeys

<i>coa</i> -тип	Длина ПЦР-продукта (~ число пар оснований)	Число изолятов (%)	Число ПЦР-паттернов
1	600	42 (29%)	1
2	750	17 (12%)	1
3	800	19 (13%)	3
4	900	67 (46%)	3

Таблица 2
Частота детекции генотипов коагулазного гена и *agr*-типов *St. aureus*, выделенных от обезьян

Table 2
Frequency of monkey's *St. aureus* coagulase gene and *agr* detection by genotypes and types

Генотип <i>coa</i> -гена (профиль рестрикции)	<i>coa</i> -ПЦР-ПДРФ-паттерны, п. н.	<i>agr</i> -тип (количество)	Всего
I	600/600	<i>agrI</i> – 6 <i>agrIV</i> – 22	28 (19,3%)
II	600/300	<i>agrI</i> – 11 <i>agrII</i> – 2 <i>agrIV</i> – 1	14 (9,7%)
III	750/750	<i>agrI</i> – 5 <i>agrII</i> – 1 <i>agrIV</i> – 11	17 (11,7%)
IV	800/400-220-80	<i>agrI</i> – 4 <i>agrIV</i> – 15	19 (13,1%)
V	900/220-180-80	<i>agrI</i> – 8 <i>agrII</i> – 2 <i>agrIII</i> – 1 <i>agrIV</i> – 7	18 (12,4%)
VI	900/450-220-80	<i>agrI</i> – 3	3 (2,1%)
VII	900/550-220-80	<i>agrI</i> – 11 <i>agrII</i> – 3 <i>agrIII</i> – 2 <i>agrIV</i> – 30	46 (31,7%)

Обнаружение коагулазного гена с такой структурой у двух макаков и капуцина можно объяснить тем, что эти животные, возможно, содержались в изоляторе совместно с павианами (больными или носителями *St. aureus*), в результате чего произошло заражение данным изолятом. Таким образом, можно предположить, что в изоляторах происходит циркуляция изолятов золотистого стафилококка от одних обезьян к другим.

Паттерн 900/550-220-80 (VII генотип) чаще детектировали у *St. aureus*, выделенных от макаков, – у 36

из 87 исследованных изолятов. Только у трех макаков-резусов обнаружен коагулазный ген, имеющий паттерн 900/450-220-80 (VI генотип *coa*-гена). Так как для каждого изолята характерен свой профиль рестрикции коагулазного гена, то, согласно полученным данным, у содержащихся в Адлерском питомнике обезьян циркулирует как минимум 7 изолятов *St. aureus*.

Штамм *St. aureus*, содержащий *coa*-ген VII генотипа (900/550-220-80), является инвазивным, так как выделен из всех органов и гноя (табл. 3).

С другой стороны, изоляты *St. aureus*, обнаруженные в фекалиях и носовой полости у клинически здоровых обезьян, преимущественно имеют I генотип коагулазного гена (паттерн 600/600). Из легких погибших обезьян с диагнозом «пневмония» чаще выделяли *St. aureus* с III и VII генотипом коагулазного гена. По сообщению некоторых авторов, существует предположение о том, что золотистые стафилококки с преобладающим генотипом коагулазы более устойчивы к действию нейтрофилов, чем с редкими генотипами [23].

Agr-типирование *St. aureus* показало, что более чем у половины изолятов выявлен *agr* группы IV (59,3%), редко детектированы *agr* групп II и III (табл. 4).

Как видно из таблицы, *agrIII* обнаружен у двух изолятов *St. aureus*, выделенных из печени, и у одного изолята – из селезенки. Ни у одного из 66 золотистых стафилококков, выделенных из легких обезьян, не детектирована третья группа регуляторного гена, а у изолятов, обнаруженных в печени и селезенке, не выявлена *agrII*.

Частота детекции генов комплекса *agr* у изолятов *St. aureus* разных типов коагулазного гена представлена в таблице 2. Анализ *agr*-типирования показал, что у изолятов VII типа *coa*-гена выявлена только первая группа регуляторного гена. У всех остальных стафилококков превалирует четвертая группа *agr*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, использование метода типирования коагулазного гена позволило обнаружить различные генотипы среди *St. aureus*, выделенных от обезьян разных видов. Это подтверждает, что золотистый стафилококк имеет определенную гетерогенность в 3'-концевой области *coa*-гена. В ходе проведенного исследования обнаружено четыре типа коагулазного гена протяженностью от 600 до 900 п. н. и семь профилей его рестрикции, длина фрагментов которых варьировала от 80 до 550 п. н. Наиболее распространенным был 4-й тип коагулазного гена, имеющий длину 900 п. н., детектированный у 46% изолятов и VII генотип рестрикции *coa*-гена (паттерн 900/550-220-80 п. н.), выявленный у 31,7% *St. aureus*. Полученные результаты указывают на то, что пневмонию у обезьян вызывают штаммы золотистого стафилококка, имеющие широкий полиморфизм коагулазного гена, однако большинство изолятов *St. aureus*, выделенных из легких (19 из 66), были отнесены к VII профилю рестрикции коагулазного гена (28,8%). На основании проведенных исследований можно сделать вывод, что среди обезьян, содержащихся в питомнике, циркулирует как минимум 7 изолятов *St. aureus*, которые способны вызывать пневмонию, могут быть в составе сопутствующей микрофлоры при кишечных заболеваниях как в кишечнике, так и во внутренних органах, а также колонизировать носовую полость у клинически здоровых животных.

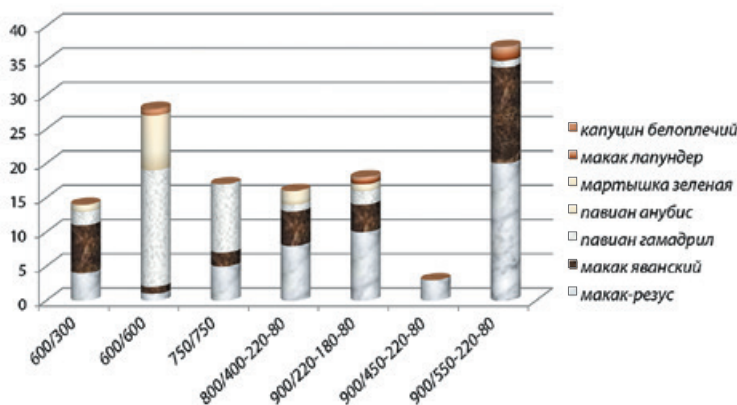


Рис. Профили рестрикции коагулазного гена *St. aureus*, выделенного у разных видов обезьян

Fig. Coagulase gene restriction profiles of *St. aureus* isolated from different monkey species

Таблица 3

Типы коагулазного гена у *St. aureus*, выделенных из биоматериала обезьян

Table 3

Types of coagulase gene of *St. aureus* isolated from biomaterials of monkeys

Тип coa-гена	Материал для исследования (количество)								
	легкое (n = 66)	печень (n = 11)	почка (n = 6)	селезенка (n = 12)	лимфоузел (n = 9)	слепая кишка (n = 4)	гной (n = 4)	фекалии (n = 18)	слизистая оболочка носа (n = 11)
I	8	1	1	0	0	1	1	9	5
II	11	1	0	0	0	0	1	1	0
III	12	1	0	1	0	2	0	0	1
IV	8	1	1	3	2	0	0	3	0
V	8	1	0	1	2	0	0	3	3
VI	0	1	1	1	0	0	0	0	0
VII	19	5	3	6	5	1	2	2	2

Таблица 4

Группы регуляторного гена, обнаруженные у *St. aureus*, выделенных из различного биоматериала обезьян

Table 4

Regulatory gene groups identified in *St. aureus* isolated from different biomaterials of monkeys

Материал для исследования	agr-тип, количество (%)				Всего
	I	II	III	IV	
Легкое	22 (33,3%)	3 (4,6%)	0	41 (62,1%)	66
Печень	4 (36,4%)	0	2 (18,2%)	5 (45,4%)	11
Почка	2 (33,3%)	0	0	4 (66,7%)	6
Селезенка	4 (33,3%)	0	1 (8,3%)	7 (58,4%)	12
Лимфоузел	4 (44,5%)	0	0	5 (55,6%)	9
Матка	0	0	0	1	1
Гной	1	2	0	1	4
Биологическая жидкость	0	0	0	1	1
Слепой кишечник	2	1	0	1	4
Фекалии	5 (27,7%)	1 (5,6%)	0	12 (66,7%)	18
Слизистая оболочка носа	4	1	0	6	11
Зев	0	0	0	1	1
Уретра	0	0	0	1	1
Всего	48 (33,1%)	8 (5,5%)	3 (2,1%)	86 (59,3%)	145

Проведенное *agr*-типирование показало, что у *St. aureus*, выделенных от обезьян, превалирует IV группа регуляторного гена, в то время как у изолятов *St. aureus*, обнаруженных у людей, преобладает *agrI*, а у золотистых стафилококков, выделенных от больных маститом коров, преобладающими являются *agrI* и *agrIII* [4, 6, 25]. Распространение других детерминант вирулентности изолятов *St. aureus* требует дальнейшего изучения, а также секвенирования вышеозначенных генов, что позволит выявить принадлежность к клональным линиям золотистого стафилококка, циркули-

рующего у обезьян, и сравнить с известными данными, полученными при исследовании штаммов, обнаруженных у людей и других животных, оценить эпизоотическую ситуацию по данному бактериальному патогену в питомнике обезьян.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Sharma V., Sharma S., Dahiya D. K., Khan A., Mathur M., Sharma A. Coagulase gene polymorphism, enterotoxigenicity, biofilm production, and antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine raw milk in North West India. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 2017; 16 (1):65. DOI: 10.1186/s12941-017-0242-9.

2. Adame-Gómez R., Castro-Alarcón N., Vences-Velázquez A., Toribio-Jiménez J., Pérez-Valdespino A., Leyva-Vázquez M.-A., et al. Genetic diversity and virulence factors of *S. aureus* isolated from food, humans, and animals. *Int. J. Microbiol.* 2020; 2020:1048097. DOI: 10.1155/2020/1048097.
3. Javid F., Taku A., Bhat M. A., Badroo G. A., Mudasil M., Sofi T. A. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* based on coagulase gene. *Vet. World.* 2018; 11 (4): 423–430. DOI: 10.14202/vetworld.2018.423-430.
4. Гостев В. В., Гончаров А. Е., Грачева М. А., Сидоренко С. В. Распространение генов комплекса Immune evasion cluster и других факторов вирулентности у *Staphylococcus aureus*. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2013; 15 (4): 270–278. Режим доступа: <https://cmac-journal.ru/publication/2013/4/cmhc-2013-t15-n4-p270>.
5. Mullarky I. K., Su C., Frieze N., Park Y. H., Sordillo L. M. *Staphylococcus aureus* agr genotypes with enterotoxin production capabilities can resist neutrophil bactericidal activity. *Infect. Immun.* 2001; 69 (1): 45–51. DOI: 10.1128/IAI.69.1.45–51.2001.
6. Kroning I. S., Iglesias M. A., Mendonça K. S., Lopes G. V., Silva W. P. Presence of classical enterotoxin genes, agr typing, antimicrobial resistance, and genetic diversity of *Staphylococcus aureus* from milk of cows with mastitis in Southern Brazil. *J. Food Prot.* 2018; 81 (5): 738–742. DOI: 10.4315/0362-028X.JFP-17-436.
7. Gomes-Fernandes M., Laabei M., Pagan N., Hidalgo J., Molinos S., Villar Hernandez R., et al. Accessory gene regulator (Agr) functionality in *Staphylococcus aureus* derived from lower respiratory tract infections. *PLoS One.* 2017; 12 (4): e0175552. DOI: 10.1371/journal.pone.0175552.
8. de Almeida L. M., de Almeida M. Z., de Mendonça C. L., Mamizuka E. M. Comparative analysis of agr groups and virulence genes among subclinical and clinical mastitis *Staphylococcus aureus* isolates from sheep flocks of the Northeast of Brazil. *Braz. J. Microbiol.* 2013; 44 (2): 493–498. DOI: 10.1590/S1517-83822013000200026.
9. Jarraud S., Mougil C., Thioulouse J., Lina G., Meugnier H., Forey F., et al. Relationships between *Staphylococcus aureus* genetic background, virulence factors, agr groups (alleles), and human disease. *Infect. Immun.* 2002; 70 (2): 631–641. DOI: 10.1128/IAI.70.2.631-641.2002.
10. Khoshkaram-Roodmajani H., Sarvari J., Bazargani A., Kandevar-Ghahraman M. R., Nazari-Alam A., Motamedifar M. Molecular typing of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* isolates from Shiraz teaching hospitals by PCR-RFLP of coagulase gene. *Iran J. Microbiol.* 2014; 6 (4): 246–252. PMID: 25802708; PMCID: PMC4367941.
11. Karahan M., Cetinkaya B. Coagulase gene polymorphisms detected by PCR in *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical bovine mastitis in Turkey. *Vet. J.* 2007; 174 (2): 428–431. DOI: 10.1016/j.tvjl.2006.05.016.
12. Salehzadeh A., Zamani H., Langeroudi M. K., Mirzaie A. Molecular typing of nosocomial *Staphylococcus aureus* strains associated to biofilm based on the coagulase and protein A gene polymorphisms. *Iran J. Basic Med. Sci.* 2016; 19 (12): 1325–1330. DOI: 10.22038/ijbms.2016.7919.
13. Ibrahim O. M. A., Bilal N. E., Azoz M. E. H., Eltahir H. B. Coagulase gene polymorphisms of *Staphylococcus aureus* isolates from patients at Kosti Teaching Hospital, Sudan. *Access Microbiol.* 2019; 1 (3): e000026. DOI: 10.1099/acmi.0.000026.
14. Абаев И. В., Скрыбин Ю. П., Печерских Э. И., Мицевич И. П., Мицевич Е. В., Коробова О. В. и др. Генотипирование изолятов *Staphylococcus aureus*, выделенных при вспышке эксфолиативного дерматита новорожденных. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2014; 16 (1): 70–77. Режим доступа: <https://cmac-journal.ru/publication/2014/1/cmhc-2014-t16-n1-p070>.
15. Su C., Herbelin C., Frieze N., Skardova O., Sordillo L. M. Coagulase gene polymorphism of *Staphylococcus aureus* isolates from dairy cattle in different geographical areas. *Epidemiol. Infect.* 1999; 122 (2): 329–336. DOI: 10.1017/s0950268899002228.
16. Carter P. E., Begbie K., Thomson-Carter F. M. Coagulase gene variants associated with distinct populations of *Staphylococcus aureus*. *Epidemiol. Infect.* 2003; 130 (2): 207–219. DOI: 10.1017/s0950268802008038.
17. Al-Ajealy B. A., Al-Shukri M. S. M., Al-Jumaily H. S. Detection of newly defined superantigenic toxin genes and coagulase gene polymorphism in *Staphylococcus aureus* isolates. *Rev. Med. Microbiol.* 2017; 28 (4): 158–163. DOI: 10.1097/RRM.0000000000000114.
18. Abdulghany H. M., Khairy R. M. The frequency of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and coagulase gene polymorphism in Egypt. *Int. J. Bacteriol.* 2014; 2014:680983. DOI: 10.1155/2014/680983.
19. Mohajeri P., Azizkhani S., Farahani A., Norozi B. Genotyping of coa and aroA genes of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from nasal samples in Western Iran. *Jundishapur J. Microbiol.* 2016; 9 (1): e26460. DOI: 10.5812/jjm.26460.
20. Grinholc M., Nakonieczna J., Negri A., Rapacka-Zdonczyk A., Motyka A., Fila G., et al. The agr function and polymorphism: impact on *Staphylococcus aureus* susceptibility to photoinactivation. *J. Photochem. Photobiol. B.* 2013; 129: 100–107. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2013.10.006.
21. Omar N. Y., Ali H. A., Harfoush R. A., El Khayat E. H. Molecular typing of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates on the basis of protein A and coagulase gene polymorphisms. *Int. J. Microbiol.* 2014; 2014:650328. DOI: 10.1155/2014/650328.
22. Montaz H., Tajbakhsh E., Momeni M. Coagulase gene polymorphism of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical and sub-clinical bovine mastitis in Isfahan and Chaharmahal va Bakhtiari provinces of Iran. *Comp. Clin. Path.* 2011; 20 (5): 519–522. DOI: 10.1007/s00580-010-1029-y.
23. Rodrigues da Silva E., da Silva N. Coagulase gene typing of *Staphylococcus aureus* isolated from cows with mastitis in southeastern Brazil. *Can. J. Vet. Res.* 2005; 69 (4): 260–264. PMID: 16479723; PMCID: PMC1250237.
24. Gharibi D., Ghadimipour R., Ghorbanpoor M., Fazlara A. Restriction fragment length polymorphism typing of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis and dairy products in Ahvaz, Iran, using of digested coagulase gene. *Arch. Razi Inst.* 2019; 74 (3): 303–311. DOI: 10.22092/ari.2017.115900.1159.
25. Rossi B. F., Bonsaglia E. C. R., Castilho I. G., Dantas S. T. A., Salina A., Langoni H., et al. Genotyping of long term persistent *Staphylococcus aureus* in bovine subclinical mastitis. *Microb. Pathog.* 2019; 132: 45–50. DOI: 10.1016/j.micpath.2019.04.031.
26. Senghore M., Bayliss S. C., Kwambana-Adams B. A., Foster-Nyarko E., Manneh J., Dione M., et al. Transmission of *Staphylococcus aureus* from humans to green monkeys in the Gambia as revealed by whole-genome sequencing. *Appl. Environ. Microbiol.* 2016; 82 (19): 5910–5917. DOI: 10.1128/AEM.01496-16.
27. Калашникова В. А. Пневмонии у обезьян, содержащихся в условиях неволи: частота гибели животных, сезонность заболевания и микробные ассоциации. *Российский ветеринарный журнал*. 2018; 4: 15–18. DOI: 10.32416/article_5bd1c1fb78c823.61694479.
28. Калашникова В. А. Agr-типирование метициллин-чувствительных *Staphylococcus aureus* (MSSA), выделенных у низших приматов. *Ветеринария сегодня*. 2020; 2: 127–131. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-127-131.
29. Калашникова В. А. Молекулярное типирование метициллин-чувствительных *Staphylococcus aureus* (MSSA), изолированных от обезьян, на основе полиморфизма коагулазного гена. *Ветеринария сегодня*. 2019; 3: 57–62. DOI: 10.29326/2304-196X-2019-3-30-57-62.
30. Hookey J. V., Richardson J. F., Cookson B. D. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* based on PCR restriction fragment length polymorphism and DNA sequence analysis of the coagulase gene. *J. Clin. Microbiol.* 1998; 36 (4): 1083–1089. DOI: 10.1128/JCM.36.4.1083-1089.

REFERENCES

1. Sharma V., Sharma S., Dahiya D. K., Khan A., Mathur M., Sharma A. Coagulase gene polymorphism, enterotoxigenicity, biofilm production, and antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine raw milk in North West India. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 2017; 16 (1): 65. DOI: 10.1186/s12941-017-0242-9.
2. Adame-Gómez R., Castro-Alarcón N., Vences-Velázquez A., Toribio-Jiménez J., Pérez-Valdespino A., Leyva-Vázquez M.-A., et al. Genetic diversity and virulence factors of *S. aureus* isolated from food, humans, and animals. *Int. J. Microbiol.* 2020; 2020:1048097. DOI: 10.1155/2020/1048097.
3. Javid F., Taku A., Bhat M. A., Badroo G. A., Mudasil M., Sofi T. A. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* based on coagulase gene. *Vet. World.* 2018; 11 (4): 423–430. DOI: 10.14202/vetworld.2018.423-430.
4. Gostev V. V., Goncharov A. E., Grachyova M. A., Sidorenko S. V. Distribution of immune evasion cluster genes and genes encoding other virulence factors among *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2013; 15 (4): 270–278. Available at: <https://cmac-journal.ru/publication/2013/4/cmhc-2013-t15-n4-p270>. (in Russ.)
5. Mullarky I. K., Su C., Frieze N., Park Y. H., Sordillo L. M. *Staphylococcus aureus* agr genotypes with enterotoxin production capabilities can resist neutrophil bactericidal activity. *Infect. Immun.* 2001; 69 (1): 45–51. DOI: 10.1128/IAI.69.1.45–51.2001.
6. Kroning I. S., Iglesias M. A., Mendonça K. S., Lopes G. V., Silva W. P. Presence of classical enterotoxin genes, agr typing, antimicrobial resistance, and genetic diversity of *Staphylococcus aureus* from milk of cows with mastitis in Southern Brazil. *J. Food Prot.* 2018; 81 (5): 738–742. DOI: 10.4315/0362-028X.JFP-17-436.
7. Gomes-Fernandes M., Laabei M., Pagan N., Hidalgo J., Molinos S., Villar Hernandez R., et al. Accessory gene regulator (Agr) functionality in *Staphylococcus aureus* derived from lower respiratory tract infections. *PLoS One.* 2017; 12 (4): e0175552. DOI: 10.1371/journal.pone.0175552.
8. de Almeida L. M., de Almeida M. Z., de Mendonça C. L., Mamizuka E. M. Comparative analysis of agr groups and virulence genes among subclinical and clinical mastitis *Staphylococcus aureus* isolates from sheep flocks of the Northeast of Brazil. *Braz. J. Microbiol.* 2013; 44 (2): 493–498. DOI: 10.1590/S1517-83822013000200026.

9. Jarraud S., Mougé C., Thioulouse J., Lina G., Meunier H., Forey F., et al. Relationships between *Staphylococcus aureus* genetic background, virulence factors, agr groups (alleles), and human disease. *Infect. Immun.* 2002; 70 (2): 631–641. DOI: 10.1128/IAI.70.2.631-641.2002.
10. Khoshkham Roodmajani H., Sarvari J., Bazargani A., Kande-kar-Ghahraman M. R., Nazari-Alam A., Motamedifar M. Molecular typing of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* isolates from Shiraz teaching hospitals by PCR-RFLP of coagulase gene. *Iran J. Microbiol.* 2014; 6 (4): 246–252. PMID: 25802708; PMCID: PMC4367941.
11. Karahan M., Cetinkaya B. Coagulase gene polymorphisms detected by PCR in *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical bovine mastitis in Turkey. *Vet. J.* 2007; 174 (2): 428–431. DOI: 10.1016/j.tvjl.2006.05.016.
12. Salehzadeh A., Zamani H., Langeroudi M. K., Mirzaie A. Molecular typing of nosocomial *Staphylococcus aureus* strains associated to biofilm based on the coagulase and protein A gene polymorphisms. *Iran J. Basic Med. Sci.* 2016; 19 (12): 1325–1330. DOI: 10.22038/ijbms.2016.7919.
13. Ibrahim O. M. A., Bilal N. E., Azoz M. E. H., Eltahir H. B. Coagulase gene polymorphisms of *Staphylococcus aureus* isolates from patients at Kosti Teaching Hospital, Sudan. *Access Microbiol.* 2019; 1 (3): e000026. DOI: 10.1099/acmi.0.000026.
14. Abaev I. V., Skryabin Yu. P., Petchersky E. I., Mitsevitich I. P., Mitsevitich E. V., Korobova O. V., et al. Genotyping of *Staphylococcus aureus* isolates in outbreak of exfoliative dermatitis in neonates. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2014; 16 (1): 70–77. Available at: <https://cmac-journal.ru/publication/2014/1/cmhc-2014-t16-n1-p070>. (in Russ.)
15. Su C., Herbelin C., Frieze N., Skardova O., Sordillo L. M. Coagulase gene polymorphism of *Staphylococcus aureus* isolates from dairy cattle in different geographical areas. *Epidemiol. Infect.* 1999; 122 (2): 329–336. DOI: 10.1017/s0950268899002228.
16. Carter P. E., Begbie K., Thomson-Carter F. M. Coagulase gene variants associated with distinct populations of *Staphylococcus aureus*. *Epidemiol. Infect.* 2003; 130 (2): 207–219. DOI: 10.1017/s0950268802008038.
17. Al-Ajealy B. A., Al-Shukri M. S. M., Al-Jumaily H. S. Detection of newly defined superantigenic toxin genes and coagulase gene polymorphism in *Staphylococcus aureus* isolates. *Rev. Med. Microbiol.* 2017; 28 (4): 158–163. DOI: 10.1097/MMR.0000000000000114.
18. Abdulghany H. M., Khairy R. M. The frequency of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and coagulase gene polymorphism in Egypt. *Int. J. Bacteriol.* 2014; 2014:680983. DOI: 10.1155/2014/680983.
19. Mohajeri P., Azizkhani S., Farahani A., Norozi B. Genotyping of *coa* and *aroA* genes of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from nasal samples in Western Iran. *Jundishapur J. Microbiol.* 2016; 9 (1): e26460. DOI: 10.5812/jjm.26460.
20. Grinholc M., Nakonieczna J., Negri A., Rapacka-Zdonczyk A., Motyka A., Fila G., et al. The agr function and polymorphism: impact on *Staphylococcus aureus* susceptibility to photoinactivation. *J. Photochem. Photobiol. B.* 2013; 129: 100–107. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2013.10.006.
21. Omar N. Y., Ali H. A., Harfoush R. A., El Khayat E. H. Molecular typing of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates on the basis of protein A and coagulase gene polymorphisms. *Int. J. Microbiol.* 2014; 2014:650328. DOI: 10.1155/2014/650328.
22. Momtaz H., Tajbakhsh E., Rahimi E., Momeni M. Coagulase gene polymorphism of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical and sub-clinical bovine mastitis in Isfahan and Chaharmahal va Bakhtiari provinces of Iran. *Comp. Clin. Path.* 2011; 20 (5): 519–522. DOI: 10.1007/s00580-010-1029-y.
23. Rodrigues da Silva E., da Silva N. Coagulase gene typing of *Staphylococcus aureus* isolated from cows with mastitis in southeastern Brazil. *Can. J. Vet. Res.* 2005; 69 (4): 260–264. PMID: 16479723; PMCID: PMC1250237.
24. Gharibi D., Ghadimipour R., Ghorbanpoor M., Fazlari A. Restriction fragment length polymorphism typing of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis and dairy products in Ahvaz, Iran, using of digested coagulase gene. *Arch. Razi Inst.* 2019; 74 (3): 303–311. DOI: 10.22092/ari.2017.115900.1159.
25. Rossi B. F., Bonsaglia E. C. R., Castilho I. G., Dantas S. T. A., Salina A., Langoni H., et al. Genotyping of long term persistent *Staphylococcus aureus* in bovine subclinical mastitis. *Microb. Pathog.* 2019; 132: 45–50. DOI: 10.1016/j.micpath.2019.04.031.
26. Senghore M., Bayliss S. C., Kwambana-Adams B. A., Foster-Nyarko E., Manneh J., Dione M., et al. Transmission of *Staphylococcus aureus* from humans to green monkeys in the Gambia as revealed by whole-genome sequencing. *Appl. Environ. Microbiol.* 2016; 82 (19): 5910–5917. DOI: 10.1128/AEM.01496-16.
27. Kalashnikova V. A. Pneumonia in monkeys kept in captivity: frequency of animal death, disease seasonality and microbe association. *Russian Veterinary Journal*. 2018; 4: 15–18. DOI: 10.32416/article_5bd1c1fb78c823.61694479. (in Russ.)
28. Kalashnikova V. A. Agr-typing of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) isolated from non-human primates. *Veterinary Science Today*. 2020; 2: 127–131. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-127-131.
29. Kalashnikova V. A. Molecular typing of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA), isolated from monkeys, based on coagulase gene polymorphism. *Veterinary Science Today*. 2019; 3: 57–62. DOI: 10.29326/2304-196X-2019-3-30-57-62.
30. Hookey J. V., Richardson J. F., Cookson B. D. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* based on PCR restriction fragment length polymorphism and DNA sequence analysis of the coagulase gene. *J. Clin. Microbiol.* 1998; 36 (4): 1083–1089. DOI: 10.1128/JCM.36.4.1083-1089.

Поступила в редакцию / Received 17.05.2021

Поступила после рецензирования / Revised 14.07.2021

Принята к публикации / Accepted 30.07.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ / INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Калашникова Виктория Алексеевна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник ФГБНУ «НИИ МП», г. Сочи, Россия.

Victoria A. Kalashnikova, Candidate of Science (Biology), Leading Researcher, FSBSI "SRI MP", Sochi, Russia.