

**ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ШТАММОВ
STREPTOCOCCUS PYOGENES ГЕНОТИПА *emm12***

ПОЛЯКОВА Е. М., МНАЦАКАНЯН Е. С., БУРОВА Л. А., ДМИТРИЕВ А. В.

ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины РАМН»,
Санкт-Петербург

Полякова Е. М., Мнацаканян Е. С., Бурова Л. А., Дмитриев А. В. Генетическая гетерогенность штаммов *Streptococcus pyogenes* генотипа *emm12* // Мед. акад. журн. 2010. Т. 10. № 1. С. 39–44. ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины РАМН», 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12.

Проведено комплексное генетическое исследование штаммов *Streptococcus pyogenes* генотипа *emm12*, выделенных от детей в Санкт-Петербурге в течение 2007 г. Проанализированы *SmaI* рестрикционные паттерны геномной ДНК исследуемых штаммов. Изучена распространенность фаговых генов (генов, кодирующих факторы патогенности, а также генов фаговых интеграз). Обнаружена значительная генетическая гетерогенность изученных штаммов. Выявлен ген транспозона, ранее не обнаруженный у штаммов *S. pyogenes*.

Ключевые слова: *Streptococcus pyogenes*, генетическая гетерогенность, гены бактериофагов.

Polyakova E. M., Mnatsakanyan E. S., Burova L. A., Dmitriev A. V. The genetic heterogeneity of *Streptococcus pyogenes* strains of *emm12* genotype. // Med. Acad. Journ. 2010. Vol. 10. № 1. P. 39–44. Research Institute of Experimental Medicine of the RAMS, St. Petersburg, 197376.

Streptococcus pyogenes strains of *emm12* genotype, isolated from children in Saint-Petersburg in 2007, were investigated employing different molecular-genetic approaches. *SmaI* restriction patterns of genomic DNA of the strains were analyzed. Distribution of the phage genes, including virulence genes and integrase genes, was studied. The significant genetic heterogeneity was observed. The transposon gene, which has not been previously discovered in *S. pyogenes* strains, was identified.

Key words: *Streptococcus pyogenes*, genetic heterogeneity, phage genes.

Для корреспонденции: Полякова Екатерина Михайловна; С-Петербург, 197376, ул. Академика Павлова, д. 12; тел.: (812) 234-05-42, факс: 2349477; e-mail: katerinapolyakova@rambler.ru

ВВЕДЕНИЕ

Streptococcus pyogenes или стрептококк группы А (СГА) – патогенный микроорганизм человека, вызывающий локальные, генерализованные и системные заболевания. Начиная с середины 1980-х гг., во многих странах наблюдалось увеличение числа тяжелых инвазивных инфекций (некротический фасцит и миозит), вызванных СГА и носивших эпидемический характер [2, 5, 13, 15, 17, 18, 21]. В настоящее время распространенность снизилась до умеренных цифр, а сами заболевания являются спорадическими.

Все СГА разделяют на М-серотипы или *emm*-генотипы, в зависимости от антигенной специфичности М-белка или нуклеотидной последовательности 5'-конца кодирующего его *emm*-гена соответственно [10]. Определенные М-серотипы (или *emm*-генотипы) *S. pyogenes* нередко ассоциируются с развитием того или иного осложнения. В зависимости от характера постстрептококкового осложнения штаммы *S. pyogenes* подразделяют на ревматогенные и нефритогенные. Так, штаммы серотипов М5, М6 и М18 часто связаны с развитием ревматизма, а штаммы серотипов М1, М2, М4, М12, М25, М42, М49, М56, М57 и М60 – с развитием гломерулонефрита [6].

Кроме упомянутых М-серотипирования и *emm*-генотипирования, для сравнительной характеристики штаммов *S. pyogenes* используют разнообразные методы исследования, позволяющие оценить степень их генетической гетерогенности, такие как электрофорез в пульсирующем электрическом поле (pulsed field gel electrophoresis, PFGE), ПЦР со «случайной» затравкой (randomly amplified polymorphic DNA, RAPD) и др.

Геномы штаммов *S. pyogenes* содержат большое количество генов умеренных бактериофагов, включая гены, кодирующие разнообразные токсины, экспрессия которых повышает вирулентность штаммов [3, 11, 26]. Суммарный размер ДНК профагов может достигать 12% общего размера генома *S. pyogenes* [3, 11, 26]. При этом показано, что значительная часть отличий между штаммами *S. pyogenes* связана с различиями в составах и последовательностях профагов, содержащихся в их геномах [3]. Поэтому наличие или отсутствие фаговых генов в бактериальном геноме рассматривается в качестве одной из важных генетических характеристик штаммов *S. pyogenes*.

Цель данной работы заключается в генетической характеристике штаммов *S. pyogenes*, генотипа

emm12, выделенных от детей в Санкт-Петербурге в течение 2007 г. По существу, в настоящей работе продолжается изучение вопроса о наличии или отсутствии связи между генетической гетерогенностью и профилем фаговых генов штаммов одного и того же *emm* типа, но выделенных в разных географических зонах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили 18 эпидемически несвязанных штаммов *S. pyogenes*, выделенных от детей-носителей, а также от больных скарлатиной, острым и хроническим тонзиллитом и гнойным синуситом в Санкт-Петербурге в течение 2007 г. (табл. 1). Принадлежность штаммов к СГА устанавливалась в реакции коагутинации посредством диагностикума «Стреп-тест А» («Аквапаст», Санкт-Петербург). Культуры *S. pyogenes* выращивали в бульоне Todd-Hewitt («HiMedia», Индия) в течение 18 ч при 37 °С.

Хромосомную ДНК выделяли фенолхлороформной экстракцией. *emm*-генотип определяли согласно методике, опубликованной на сайте Centers for Disease Control and Prevention (www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/protocol_emm-type.htm). Фрагменты ДНК выделяли из агарозного геля посредством набора «Bacterial Genomic DNA Miniprep kit» («Ахуген», США). Секвенирование ДНК выполняли на секвенаторе ABI Prism 3100 Perkin-Elmer (США).

Аmplификацию фрагментов фаговых генов, кодирующих токсины и интегразы (табл. 2), проводили с использованием праймеров, опубликованных ранее [27]. Для анализа штаммов методом RAPD проводили ПЦР с использованием праймера H2 (5'-ССТСССГССАСС-3') [23] в смеси объемом 50 мкл, содержащей 20 нг хромосомной ДНК. Амплификацию осуществляли в следующем режиме: первичная денатурация ДНК – 3 мин при 95 °С; 30 циклов – 15 сек при 95 °С; 1 мин при 38 °С; 1 мин при 72 °С; и окончательная достройка – 10 мин при

Таблица 1

Штаммы *S. pyogenes* генотипа *emm12*, использованные в работе

Номер штамма	Диагноз	Материал
12	Синусит	Гной
94, 114, 118	Скарлатина	Мазок из зева
97	Острый тонзиллит	
120, 135, 137, 139, 143, 144, 152, 153, 155, 164, 170, 171	Носительство	
128	Хронический тонзиллит	

Таблица 2

Профили фаговых генов штаммов *S. pyogenes*

Гены	Номер профиля (число штаммов)							
	A1 (10)	A2 (2)	A3 (1)	A4 (1)	A5 (1)	A6 (1)	A7 (1)	A8 (1)
<i>speA</i>	–	–	–	–	–	+	+	–
<i>speI, speH</i>	+	+	+	+	–	+	+	+
<i>speL, sda</i>	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>speCJ</i>	–	–	–	–	+	–	+	–
<i>ssa</i>	–	+	–	–	–	+	–	+
<i>speC</i>	+	+	+	–	–	+	+	+
<i>sla</i>	–	–	–	–	–	+	–	–
<i>smeZ</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>int1, int2</i>	–	–	–	–	–	+	–	–
<i>int3</i>	+	+	–	–	–	+	+	–
<i>int4</i>	–	+	–	–	–	+	+	+
<i>int5</i>	+	+	+	+	–	+	+	+
<i>int6</i>	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>int7</i>	–	–	+	–	+	+	+	–
<i>int8</i>	–	–	–	–	–	+	–	–
<i>int9</i>	–	–	–	–	–	–	–	–

Символы «+» и «-» – соответственно наличие или отсутствие фагового гена в бактериальном геноме.

72 °С. Электрофорез ПЦР продуктов проводили в 1% агарозном геле, и ДНК визуализировали бромистым этидием в проходящем УФ-свете.

Электрофорез в пульсирующем электрическом поле проводили согласно методике [9]. Для рестрикции хромосомной ДНК использовали фермент *SmaI*. Разделение фрагментов осуществляли в электрофоретической камере CHEF-DR-III («Bio-Rad», США) в 1% агарозном геле в течение 30 ч, в интервале пульсов от 4 до 40 сек при напряжении 6 В/см².

РЕЗУЛЬТАТЫ

Гетерогенность штаммов *S. pyogenes* генотипа *emm12* по наличию фаговых генов. В ходе работы первоначально была использована коллекция из 173 штаммов *S. pyogenes*. У случайно отобранных 64 штаммов был изучен *emm*-генотип, и 18 штаммов *S. pyogenes* генотипа *emm12*, наиболее часто встречающегося среди исследованных штаммов, были выбраны для дальнейшей работы. Данные штаммы были проанализированы методом ПЦР на наличие в геноме фаговых генов.

В результате исследования оказалось, что во всех исследованных штаммах генотипа *emm12* присутствовал ген *smeZ*, кодирующий токсин Z (табл. 2). Большинство штаммов содержали гены *speI* (94,4%), *speH* (94,4%) и *speC* (88,9%), кодирующие пирогенные токсины СГА типов I, H и C соответственно.

Фаговые гены *speA* (ген пирогенного токсина А), *ssa* (ген суперантигена) и *sla* (ген фосфолипазы А2) обнаруживались значительно реже и присутствовали у 11,1%, 22,2% и 5,6% штаммов соответственно (табл. 2).

Геномы большинства исследованных штаммов (14 из 18) содержали от двух до трех генов, кодирующих различные фаговые интегразы. Наиболее распространенными были гены *int5* (94,4%) и *int3* (77,8%), в то время как гены *int2* (5,6%) и *int8* (5,6%) обнаруживались крайне редко (табл. 2). Гены *int6* и *int9* отсутствовали у всех исследованных штаммов.

В целом, среди 18 исследованных штаммов было выявлено 10 профилей (А1 – А10) фаговых генов (табл. 3). Профиль А1 оказался доминирующим. Он был характерен для 10 исследованных штаммов.

Анализ штаммов методом RAPD. При изучении этих же 18 штаммов методом RAPD было выявлено 5 различных паттернов (В1 – В5), два из которых были характерны для 83,3% штаммов (паттерн В1 – для 12 штаммов, паттерн В2 – для 3 штаммов) (рис. 1).

При анализе паттернов RAPD выявлено несколько фрагментов ДНК, встречающихся не у всех штаммов (рис. 1). Первый фрагмент размером около 550 п.н. присутствовал только в паттернах В2 (3 штамма) и В3 (1 штамм); второй фрагмент размером около 1100 п.н. – только в паттерне В3 (1 штамм).

Сопоставление результатов анализов штаммов *S. pyogenes* методами ПЦР, RAPD и PFGE

Номер штамма	Профиль фаговых генов	Паттерн RAPD	Паттерн PFGE	
97	A2	B1	C3	
171				
118	A1		B1	C1
137				
152				
153				
155				
164				
170				
94				
114	C5			
120	C1			
139	A6	B4	C1	
143	A8	B1	C4	
12	A3		C6	
128	A4		C8	
144	A7	B5	C7	
135	A5	B3	C7	



Рис. 1. Паттерны RAPD штаммов *S. pyogenes*. Треки 1–5 соответствуют паттернам RAPD В1 – В5. Трек 6 – ДНК маркер (400 п.н., 800 п.н., 1200 п.н. и 2000 п.н. – 400, 800, 1200 и 2000 пар нуклеотидов соответственно). Стрелками обозначены фрагменты ДНК, секвенированные в настоящей работе

В результате секвенирования оказалось, что последовательность фрагмента размером около 550 п.н. гомологична последовательности одного из генов (ORF24, локус – CP001015) транспозона, который, в

основном, встречается среди штаммов *S. pneumoniae* и никогда ранее не был обнаружен у *S. pyogenes* [7]. Секвенирование второго фрагмента показало, что его последовательность гомологична последовательности одного из фаговых генов, функция которого в настоящий момент неизвестна [15].

Анализ штаммов методом PFGE. В результате исследования штаммов методом электрофореза в пульсирующем электрическом поле было выявлено 8 паттернов (С1 – С8) (рис. 2). Паттерн С1 был обнаружен у 9 из 18 штаммов, по 2 штамма имели паттерны С2 и С3, по 1 штамму – паттерны С4, С5, С6, С7, С8.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Изучение распространенности генов фаговых токсинов и интеграз. В результате исследования оказалось, что геномы большинства штаммов генотипа *emm12* (17 из 18, 94,4%) содержали гены *speI* и *speH*, кодирующие пирогенные токсины СГА типов I и H соответственно (табл. 2). Высокая распространенность гена *speH* среди исследованных штаммов (94,4%) согласуется с данными литературы в отношении штаммов генотипа *emm12* (81,5%), а также с данными, полученными нами ранее (100%) [1, 7]. В то же время, согласно литературным данным, ген *speI* практически не был распространен среди штаммов генотипа *emm12*; он встречался лишь у 1,8% штаммов [8], в отличие от штаммов, исследованных в настоящей работе. Это не удивительно, если допустить, что у исследованных нами штаммов гены *speI* и *speH* принадлежат одному и тому же профагу (поэтому их распространенность одинаково высока), а у штаммов, изученных другими авторами, – разным профагам. Основанием для этого предположения являются также данные, согласно которым у штаммов Manfredo и MGAS9429 [4] все три гена (*speI*, *speH* и *int5*) входят в состав профагов Man3 и 9429.2 соответственно. В то же время у ряда штаммов, например SF370, данные гены принадлежат разным профагам [4, 11], что может объяснить различную распространенность генов *speI*, *speH* и *int5*, отмеченную ранее [1, 7, 8]. У всех исследованных нами штаммов генотипа *emm12* присутствие генов *speI* и *speH* коррелировало с присутствием гена, кодирующего фаговую интегразу *int5*. Таким образом, представляется обоснованным, что 17 из 18 исследованных штаммов содержат в геноме профага, сходный с профагом Man3 или 9429.2, ранее описанными в литературе [4].

В настоящем исследовании показано, что 16 из 18 штаммов (88,9%) содержали ген *speC*, кодирующий пирогенный токсин типа С. В настоящее время ген *speC* широко распространен среди штаммов *S. pyogenes* различных генотипов, в том числе генотипа *emm12* [8, 12, 16, 29]. Возможно, это обусловлено тем, что профаг, содержащий ген *speC*, является бо-

лее ранним приобретением по сравнению с другими профагами *S. pyogenes*.

Геномы большинства исследованных штаммов содержали от двух до трех генов, кодирующих различные фаговые интегразы. К настоящему времени не обнаружены штаммы *S. pyogenes*, содержащие в геноме менее двух или более шести профагов [3]. Однако в настоящей работе в геноме двух штаммов (№ 128 и № 135) было обнаружено только по одному гену интегразы. Это может быть вызвано тем, что геномы данных штаммов содержат ген интегразы с неизвестной в настоящее время нуклеотидной последовательностью. В одном из штаммов (№143) было обнаружено 7 генов интеграз, что указывает на возможность присутствия 7 профагов. При этом, несмотря на наличие генов семи интеграз, в геноме данного штамма не было обнаружено большого числа генов токсинов, которые обычно присутствуют в профагах (табл. 2). Согласно результатам PFGE, данный штамм обладал таким же паттерном рестрикции, как и штаммы №118, 137, 139, 152, 153, 155, 164, 170 (рис. 2, табл. 3), содержащие меньшее число генов интеграз (табл. 2). Вероятнее всего, в геноме штамма №143 в основном присутствуют фрагменты профагов (в частности, гены интеграз), а не полноразмерные фаговые геномы, в противном случае ожидаемый размер генома этого штамма был бы существенно большим, чем геномы остальных исследованных штаммов.

В целом, среди 18 исследованных штаммов было выявлено 10 профилей фаговых генов (табл. 2). Профиль А1 доминировал и был характерен для 10 исследованных штаммов. По-видимому, приобретение штаммом-реципиентом *S. pyogenes* фаговых генов, характерных для данного профиля, привело к появлению клона с рядом селективных преимуществ, что повысило его адаптивность к человеческому организму и привело к более широкому распространению среди людей.

Значение метода RAPD для оценки гетерогенности штаммов *S. pyogenes* и выявления генетических маркеров. В ходе проведенного исследования был использован метод RAPD. Основанием для этого явились публикации, указывающие на невысокую воспроизводимость и невозможность сопоставления результатов RAPD [19, 21, 24]. Перед нами стояла задача выяснить, действительно ли результаты RAPD плохо воспроизводимы или причиной этого является нестандартизованность условий реакций, применяемых в разных лабораториях. В результате проведенного исследования оказалось, что число, размер и интенсивность амплификатов, получаемых для одного и того же штамма (паттерн RAPD), практически не зависят от концентрации ДНК в ПЦР смеси (10-кратное разведение ДНК не оказывало влияния на результат). В то же время было показа-

но, что результат ПЦР в первую очередь зависит от модели амплификатора, а также реагентов, входящих в состав ПЦР смеси (данные не приведены). Таким образом, представляется вполне закономерным, что у разных исследователей, использующих различные условия (реагенты, оборудование) для исследования штаммов методом RAPD, возникают трудности при сопоставлении полученных результатов [19, 21, 24]. В ходе данного исследования все эксперименты были проведены по 3 раза в одних и тех же условиях, в результате чего была отмечена 100%-ая воспроизводимость результатов. Таким образом, нам удалось показать, что использование данного метода в стандартизованных условиях должно найти применение в целях молекулярной эпидемиологии. Кроме того, метод RAPD позволяет выявить маркеры, которые дают возможность оценить генетическую гетерогенность популяции *S. pyogenes* и охарактеризовать гены (например, ген транспозона), ранее не обнаруженные у *S. pyogenes*.

Штаммы *S. pyogenes* гетерогенны по *Sma*I рестрикционным паттернам. В результате исследования с использованием метода электрофореза в пульсирующем электрическом поле было выявлено 8 различных паттернов (С1 – С8) (рис. 2).

Выявленные паттерны существенно отличались друг от друга как по числу рестрикционных фрагментов, так и по их молекулярным весам. Интересно, что паттерны С2 и С5 были практически идентичны. Единственным отличием было присутствие в паттерне С5 рестрикционного фрагмента размером около 200 т.п.н., отсутствующего в паттерне С2. Возможно, это обусловлено значительными геномными перестройками у штаммов *S. pyogenes*, по-видимому,

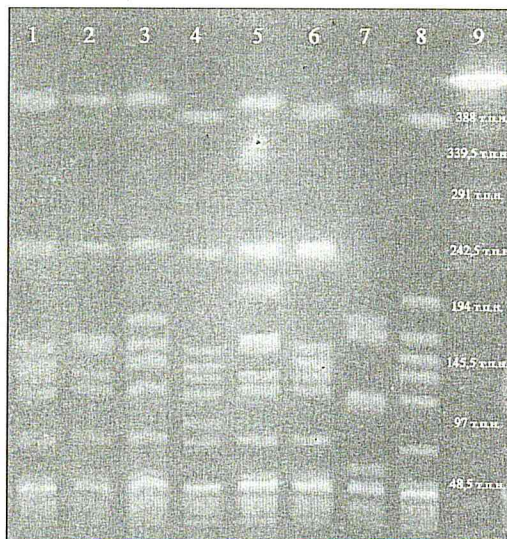


Рис. 2. *Sma*I паттерны хромосомной ДНК *S. pyogenes*. Треки 1–8 соответствуют паттернам С1 – С8 соответственно. Трек 9 – маркер молекулярного веса. Размеры приведены в тысячах пар нуклеотидов (т.п.н.)

связанными с приобретением или утратой больших участков ДНК в результате дупликаций, делеций или инсерции фаговой ДНК.

Комплексный анализ штаммов. При сопоставлении данных о генетической гетерогенности, полученных с использованием трех разных подходов, оказалось, что для штаммов № 118, 137, 152, 153, 155, 164, 170 был характерен один и тот же профиль по набору фаговых генов (А1), а также одинаковые паттерны по данным RAPD (В1) и по данным PFGE (С1) (табл. 3). Та же закономерность была характерна для штаммов № 97, 171 (профиль А2, паттерны В1 и С3 соответственно) и для штаммов № 94, 114 (профиль А1, паттерны В2 и С2) (табл. 3). Учитывая сходство генетических характеристик (один и тот же профиль профаговых генов, одинаковые паттерны RAPD и PFGE), можно предположить, что каждая из трех перечисленных групп включает генетически близкородственные штаммы. Однако ряд штаммов (№ 12, 120, 139, 143, 128) отличались по результатам одного или двух из методов исследования. Так, штаммы № 12 и № 128 обладали идентичным паттерном RAPD (В1), но имели различные паттерны PFGE (С4 и С6) и профили фаговых генов (А3 и А4). В то же время штаммы № 135 и № 144 обладали уникальными профилями фаговых генов и паттернами RAPD и PFGE, каждый из которых не встречался у других штаммов. Так, штамм № 135 характеризовался профилем фаговых генов А5, паттерном RAPD – В3 и паттерном PFGE – С7 (табл. 3).

Таким образом, в ходе проведенного исследования обнаружена значительная генетическая гетерогенность штаммов *S. pyogenes* генотипа *emm12*, выделенных в Санкт-Петербурге в 2007 г. Убедительно показана достоверность RAPD-анализа при соблюдении стандартных условий постановки реакции. Посредством данного метода выявлен ген, характерный для транспозона, ранее не описанного у *S. pyogenes*. Показано, что использование комплекса подходов позволяет точнее оценить степень генетической гетерогенности клинических изолятов *S. pyogenes*.

Дальнейшие исследования штаммов *S. pyogenes* различных *emm*-генотипов посредством сочетания нескольких подходов помогут в будущем установить, существует ли взаимосвязь между генетическими особенностями штаммов, их *emm*-генотипом, характером вызываемых заболеваний и ареалом распространения. Такая постановка вопроса поможет выявлению связи между особенностями циркулирующих штаммов и условиями их среды обитания.

Литература

1. Полякова Е.М., Гао В., Янг Я. и др. Молекулярно-генетическое сравнение штаммов *Streptococcus pyogenes* типов *emm1* и *emm12* по набору профаговых генов // Журн. микробиол. 2009. Т. 2. С. 18–24.

2. Banks D.J., Lei B. & Musser J.M. Prophage induction and expression of prophage-encoded virulence factors in group A streptococcus serotype M3 strain MGAS315 // *Infect. Immun.* 2003. Vol. 71. № 12. P. 7079–7086.
3. Beres S.B., Sylva G.L., Barbian K.D. et al. Genome sequence of a serotype M3 strain of group A Streptococcus: phage-encoded toxins, the high-virulence phenotype, and clone emergence // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002. Vol. 99. № 15. P. 10078–10083.
4. Beres S.B., Musser J.M. Contribution of Exogenous Genetic Elements to the Group A Streptococcus Metagenome // *PLoS ONE* 2: e800.
5. Carapetis J., Robins-Browne R., Martin D. et al. Increasing severity of invasive group A streptococcal disease in Australia: clinical and molecular epidemiological features and identification of a new virulent M-non-typeable clone // *Clin. Infect. Dis.* Vol. 21. № 5. P. 1220–1227.
6. Cunningham M.W. Pathogenesis of Group A Streptococcal diseases // *Clin. Microbiol. Rev.* 2000. Vol. 13. № 3. P. 470–511.
7. Dopazo J., Mendoza A., Herrero J. et al. Annotated draft genomic sequence from a Streptococcus pneumoniae type 19F clinical isolate // *Microbiol. Drug Resist.* 2001. Vol. 7. № 2. P. 99–125.
8. Ekelund K., Skinhoj P., Madsen J. et al. Reemergence of *emm1* and a changed superantigen profile for group A streptococci causing invasive infections: results from a nationwide study // *J. Clin. Microbiol.* 2005. Vol. 43. № 4. P. 1789–1796.
9. Elliot J.A., Farmer K.D., Facklam R.R. Sudden increase in isolation of group B streptococci, serotype V, is not due to emergence of a new pulsed-field gel electrophoresis type // *J. Clin. Microbiol.* 1998. Vol. 36. P. 2115–2116.
10. Facklam R.F., Martin D.R., Lovgren M. et al. Extension of the Lancefield classification for group A streptococci by addition of 22 new M protein gene sequence types from clinical isolates: *emm103* to *emm124* // *Clin. Infect. Dis.* 2002. Vol. 34. № 1. P. 28–38.
11. Ferretti J.J., McShan W.M., Ajdic D. et al. Complete genome sequence of an M1 strain of *Streptococcus pyogenes* // *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2001. Vol. 98. № 8. P. 4658–4663.
12. Green N.M., Beres S.B., Graviss E.A. et al. Genetic diversity among type *emm28* group A Streptococcus strains causing invasive infections and pharyngitis // *J. Clin. Microbiol.* 2005. Vol. 43. № 8. P. 4083–4091.
13. Holden M.T., Scott A., Cherevach I. et al. Complete genome of acute rheumatic fever-associated serotype M5 *Streptococcus pyogenes* strain manfredo // *J. Bacteriol.* 2007. Vol. 189. № 4. P. 1473–1477.
14. Holm S.E., Norrby A., Bergholm A.M. et al. Aspects of pathogenesis of serious group A streptococcal infections in Sweden 1988–1989 // *J. Infect. Dis.* 1992. Vol. 166. № 1. P. 31–37.
15. Ho P.L., Johnson D.R., Yue A.W.Y. et al. Epidemiologic analysis of invasive and noninvasive group A streptococcal isolates in Hong Kong // *J. Clin. Microbiol.* 2003. Vol. 41. № 3. P. 937–942.
16. Jing H., Ning B., Hao H. et al. Epidemiological analysis of group A streptococci recovered from patients in China // *Med. Microbiol.* 2006. Vol. 55. № 8. P. 1101–1107.
17. Kaul R.A., McGeer A., Low D.E. et al. Population-based surveillance for group A Streptococcal necrotizing fasciitis, clinical features, prognostic indicators, and microbiologic analysis of seventy-seven cases // *Am. J. Med.* 1997. Vol. 103. № 1. P. 18–24.
18. Kiska D.L., Thiede B., Caracciolo J. et al. Invasive group A streptococcal infections in North Carolina: epidemiology, clinical features, and genetic and serotype analysis of causative organisms // *J. Infect. Dis.* 1997. Vol. 176. № 4. P. 992–1000.
19. Matthews R.C. PCR fingerprinting microbes by random amplification of polymorphic DNA // *J. Med. Microbiol.* 1993. Vol. 39. № 3. P. 161–162.
20. Musser J.M. and Krause R.M. The revival of group A streptococcal diseases, with a commentary on staphylococcal toxic shock syndrome // *Emerging Infections.* 1998. P. 185–218.
21. Nandi S., Ganguly N., Kumar R. et al. Genotyping of group A streptococcus by various molecular methods // *Indian J. Med. Res.* 2008. Vol. 127. № 1. P. 71–77.
22. O'Brien K.L. et al. Epidemiology of invasive Group A *Streptococcus* disease in the United States, 1995–1999 // *Clin. Infect. Dis.* 2002. Vol. 35. № 11. P. 268–276.
23. Rogers S., Commons R., Danchin M. et al. Strain prevalence, rather than innate virulence potential, is the major factor responsible for an increase in serious group A streptococcus infections // *J. Infect. Dis.* 2007. Vol. 195. № 11. P. 1625–1633.
24. Seppala H., He Q., Osterblad M. et al. Typing of group A streptococci by random amplified polymorphic DNA analysis // *J. Clin. Microbiol.* 1994. Vol. 32. № 8. P. 1945–1948.
25. Sharkawy A. et al. Severe group A streptococcal soft tissue infections in Ontario: 1992–1996 // *Clin. Infect. Dis.* 2002. Vol. 34. № 4. P. 454–460.
26. Smoot J.C., Barbian K.D., Van Gompel J.J. et al. Genome sequence and comparative microarray analysis of serotype M18 group A *Streptococcus* strains associated with acute rheumatic fever outbreaks // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002. Vol. 99. № 7. P. 4668–4673.
27. Suvorov A., Polyakova E., McShan W. & Ferretti J. Bacteriophage content of M49 strains of *Streptococcus pyogenes* // *FEMS microbiology letters.* In press.
28. Vlamincx B.J., Schuren F.H., Montijn R.C. et al. Determination of the relationship between group A streptococcal genome content, M type, and toxic shock syndrome by a mixed genome microarray // *Infect. Immunol.* 2007. Vol. 75. № 5. P. 2603–2611.
29. Wahl R.U., Lütticken R., Stanzel S. et al. Epidemiology of invasive *Streptococcus pyogenes* infections in Germany, 1996–2002: results from a voluntary laboratory surveillance system // *Clin. Microbiol. Infect.* 2007. Vol. 13. № 12. P. 1173–1178.

Представлена академиком РАМН А. А. Тоголяном