

ВЛИЯНИЕ ВРЕМЕНИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* НА ПРОДУКЦИЮ ИМИ ЦИТОКИНО-ПОДОБНЫХ ВЕЩЕСТВ, ДЕТЕКТИРУЕМЫХ МЕТОДОМ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

© 2018 г. Л. О. Фомина¹, В. А. Зурочка^{1,2}, А. С. Симбирцев³,
В. А. Гриценко⁴

¹ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения
Российской академии наук, Екатеринбург, Россия;

²ФГАОУ ВО «Южно-Уральский государственный университет (национальный
исследовательский университет)», Челябинск, Россия;

³ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов»
Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия;

⁴ФГБУН «Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза» Уральского отделения
Российской академии наук, Оренбург, Россия

Поступила: 07.05.2018. Принята: 21.06.2018

В работе приведены результаты исследования супернатантов суточных и двухсуточных культур различных штаммов *Staphylococcus aureus* методом иммуноферментного анализа (ИФА) при помощи тест-систем для определения уровней цитокинов человека INF- α , INF- γ , IL-1Ra, IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, TNF- α (ООО «Цитокин», Санкт-Петербург). Установлено, что ряд штаммов стафилококков способны секретировать в среду инкубации различные цитокино-подобные вещества (ЦПВ), определяемые тест-системами для ИФА. Наиболее высокие показатели были установлены для ЦПВ, «тождественных» цитокинам человека INF- γ , INF- α , IL-4 и IL-1Ra. Остальные ЦПВ определялись в минимальных концентрациях. При этом уровень тех бактериальных ЦПВ, которые выявлялись в высоких концентрациях, достоверно повышался при увеличении времени инкубации *S. aureus* с 24 до 48 часов.

Ключевые слова: *Staphylococcus aureus*, цитокины, цитокино-подобные вещества

DOI: 10.31857/S102872210002427-4

Адрес: 620049 Екатеринбург, ул. Первомайская 106, ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения РАН, Фомина Людмила Олеговна.
Тел.: +79000918839; E-mail: fomina454@yandex.ru.

Авторы:

Фомина Л. О., аспирант ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия;

Зурочка В. А., д.м.н., доцент кафедры пищевых и биотехнологий, ФГАОУ ВО «Южно-Уральский государственный университет» (национальный исследовательский университет), с. н. с. лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, Челябинск, Россия;

Симбирцев А. С., член-корреспондент РАН, д.м.н., профессор, научный руководитель ФГУП «Гос.НИИ ОЧБ» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия;

Гриценко В. А., д.м.н., профессор, заведующий лабораторией Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, ученый секретарь Президиума Оренбургского научного центра УрО РАН, Оренбург, Россия.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы исследованиями [1–3] было показано, что с помощью мультиплексного иммунофлюоресцентного анализа на 15-, 17- и 27-плексных тест-системах, произведенных компаниями BioRAD и Multiplex (США), в суспензиях суточных бульонных культур бактерий различных видов микроорганизмов определяются цитокино-подобные вещества (ЦПВ) в широком спектре (21 цитокин на 27-плексной тест-системе) и различных концентрациях. Причем у бактерий вида *S. aureus* наблюдается самый широкий набор секретируемых ЦПВ, уровень продукции которых варьировал в широком диапазоне, то есть был штаммоспецифичен, причем у некоторых изолятов стафилококков он достигал относительно высоких значений.

Вместе с тем в методическом плане интересен вопрос о возможности детекции продукции ЦПВ *S. aureus* другими методами определения цитокинов человека, в частности тест-системами для иммуноферментного анализа (ИФА) отечественного производства.

Кроме того в опытах *in vitro* показано, что при культивировании микроорганизмов в присутствии синтетического пептида активного центра GM-CSF – ZP-2 бактерии вида *S. aureus* «отвечали» либо повышением, либо, наоборот, снижением продукции конкретных ЦПВ, или вели себя индифферентно, не реагируя на указанное воздействие, то есть характер реакции бактерий на пептид ZP-2 так же был штаммоспецифичен [4].

В то же время при контакте нейтрофилов с супернатантами большинства бактерий разных видов, как правило, наблюдалось снижение цитокино-продукции фагоцитами; исключение составляли *Staphylococcus aureus*, при взаимодействии с супернатантами которых, напротив, регистрировалось повышение уровня цитокинов в среде инкубации [5]. Вполне возможно, что подобное повышение концентрации цитокинов может быть связано с собственной цитокино-продукцией *S. aureus*.

Это согласуется с недавно опубликованными результатами исследований зарубежных авторов [6], где было показано, что супернатанты отдельных клинических изолятов *S. aureus* в ИФА обнаруживают перекрестную реакцию с антителами к мышинным цитокинам IL-1 β и TNF- α . Такая перекрестная реакция может приводить к завышению показателей и получению ложноположительных результатов, которые способны искажать реальную картину иммунных реакций клеток хозяина против *S. aureus* при инфекционном процессе. Авторами высказывается предположение о том, что некоторые штаммы *S. aureus* продуцируют вещества, имеющие неизвестные эпитопы, которые могут перекрестно реагировать с мышинными цитокинами, такими как IL-1 β и TNF- α [6].

Получение цитокин-детектируемых моноклональных антител, не дающих перекрестные реакции с бактериальными ЦПВ, значительно бы повысило специфичность ИФА тест-систем для определения цитокинов человека/животных в клинических/лабораторных исследованиях. С другой стороны, чтобы идентифицировать ЦПВ бактерий необходимо иметь моноклональные антитела, специфично реагирующие с ними.

Для их получения можно использовать высокоэффективную жидкостную хроматографию с колонками, нагруженными моноклональными антителами против соответствующих бактериальных ЦПВ. Однако для этого требуется получить положительные результаты цитокинопродукции бактерий как минимум с уже известными моноклональными антителами к цитокинам, желательного отечественного производства, поскольку приобрести моноклональные антитела против тех или иных цитокинов у импортных фирм-производителей для эффективной жидкостной хроматографии достаточно сложно и затратно.

В этой связи целью настоящего исследования явилось изучение с помощью отечественных тест-систем для ИФА цитокино-продукции бактериями вида *S. aureus* при их культивировании в жидкой питательной среде в течение 24 и 48 часов с отбором кандидатных штаммов стафилококков, обладающих высокой цитокиноподобной активностью.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на базе Института иммунологии и физиологии УрО РАН (г. Екатеринбург), Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН (г. Оренбург) и «ГНИИ ОЧБ» ФМБА (г. Санкт-Петербург).

В работе использованы 10 штаммов *S. aureus*, в том числе 2 эталонных штаммов из АТСС № 25923 и 6538–209Р. Бактерии выращивали в мясопептонном бульоне (МПБ) в течение 24 ч и 48 ч при 37°C, после чего культуры центрифугировали при 3000 об/мин в течение 30 мин, отбирали надосадочную жидкость (супернатант) и фильтровали через миллиметровые фильтры для удаления бактерий.

Наличие в супернатантах бактерий цитокинов (ЦПВ) определяли на приборе Multiscan (США) с использованием тест-систем ИФА (ООО «Цитокин», г. Санкт-Петербург) для определения 10 цитокинов человека (INF- α , INF- γ , IL-1Ra, IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, TNF- α); контролем служил МПБ без бактерий. Опыты проводили в двух повторах; результаты измерений округляли до 0,1 пкг/мл.

Статистическую обработку данных проводили при помощи пакета программы Statistica 10.0. Используя непараметрический критерий Манна-Уитни, различия считали достоверными при $p < 0,05$ [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследования показали, что через 24 часа культивирования бактерий при 37°C в супернатантах *S. aureus* методом ИФА определялись различные ЦПВ (табл. 1). При этом наиболее высокие показатели демонстрировали INF- γ , INF- α , IL-1Ra и IL-4, концентрация которых варьировала в достаточно широком диапазоне — от 6,7 до 2339,0 пкг/мл. Другие ЦПВ в супернатантах регистрировались гораздо реже и в значительно меньших концентрациях.

Обращает на себя внимание тот факт, что ряд суточных бульонных культур *S. aureus* проявляли относительно высокую степень цитокино-продукции. Это, прежде всего, относилось к эталонным штаммам стафилококков из АТСС №№ 25923 и 6538—209Р, а также клиническим изолятам *S. aureus* №№ 33К, 33К и 39К.

Полученные данные в целом согласуются с таковыми, полученными ранее с использованием тест-систем Luminex (США) для иммунофлюоресцентного мультиплексного анализа [1–3]. Кроме того эти результаты свидетельствуют о том, что моноклональные антитела против

тех или иных цитокинов человека разных фирм-производителей способны выявлять ЦПВ, продуцируемые *S. aureus*, вне зависимости от метода их детекции.

Сравнение результатов цитокино-продукции 24- и 48-часовых бульонных культур *S. aureus* указывало на то, что увеличение сроков инкубации бактерий до 48 ч приводило к достоверному повышению в супернатантах концентрации выявляемых ЦПВ в 1,22–1,47 раза и, прежде всего тех, уровень которых был изначально высоким (табл. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлено, что в супернатантах суточных бульонных культур *S. aureus* определяются цитокино-подобные продукты в широком спектре, а в ряде случаев и в относительно высоких концентрациях не только наборами для иммунофлюоресцентного мультиплексного анализа (как было показано ранее [1–3]), но и тест-системами для иммуноферментного анализа цитокинов человека.

Таблица 1. Уровень цитокино-подобных веществ в супернатантах суточных культур *S. aureus* (n=10)

| Цитокины Штаммы | INF α пкг/мл | INF γ пкг/мл | IL-1Ra пкг/мл | IL-1 β пкг/мл | IL-4 пкг/мл | IL-6 пкг/мл | IL-8 пкг/мл | IL-10 пкг/мл | IL-17 пкг/мл | TNF α пкг/мл |
|---|------------------------|------------------------|------------------|------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------------|
| <i>S. aureus</i> АТСС № 6538—209Р | 21,1 | 603,0 | 63,7 | 0,5 | 39,2 | 0,00 | 0,01 | 0,0 | 0,00 | 0,4 |
| <i>S. aureus</i> АТСС № 25923 | 178,2 | 2339,0 | 60,5 | 1,2 | 162,6 | 0,00 | 0,02 | 0,0 | 0,00 | 1,2 |
| <i>S. aureus</i> № 33К | 83,1 | 1291,0 | 49,7 | 1,3 | 103,4 | 0,01 | 0,02 | 0,0 | 0,00 | 0,5 |
| <i>S. aureus</i> № 34К | 5,9 | 73,0 | 0,97 | 0,1 | 2,0 | 0,00 | 0,00 | 0,0 | 0,00 | 0,0 |
| <i>S. aureus</i> № 35К | 42,0 | 901,0 | 28,9 | 0,8 | 63,9 | 0,01 | 0,02 | 1,0 | 0,00 | 0,3 |
| <i>S. aureus</i> № 37К | 39,4 | 883,0 | 0,00 | 0,1 | 59,1 | 0,00 | 0,00 | 0,0 | 0,00 | 0,0 |
| <i>S. aureus</i> № 38К | 4,8 | 18,0 | 0,00 | 0,1 | 1,3 | 0,00 | 0,04 | 0,0 | 0,00 | 0,0 |
| <i>S. aureus</i> № 39К | 131,0 | 1355,0 | 51,9 | 1,7 | 109,0 | 0,00 | 0,03 | 0,0 | 0,00 | 0,7 |
| <i>S. aureus</i> № 763Г | 5,8 | 93,0 | 38,0 | 0,8 | 1,3 | 0,01 | 0,00 | 27,0 | 0,15 | 0,4 |
| <i>S. aureus</i> № 885Г | 50,6 | 987,0 | 6,7 | 0,5 | 54,0 | 0,00 | 0,00 | 0,0 | 0,00 | 0,3 |
| Диапазон (min-max) концентраций ЦПВ во всей выборке штаммов | 4,8–178,2 | 18,0–2339,0 | 0–63,7 | 0–1,7 | 1,27–162,6 | 0–0,01 | 0–0,04 | 0–27,0 | 0–0,15 | 0–1,2 |
| Средний уровень ЦПВ во всей выборке штаммов (M \pm m) | 59,2 \pm 19,5 | 854,3 \pm 238,8 | 30,0 \pm 7,3 | 1,40 \pm 0,31 | 59,6 \pm 17,8 | 0,01 \pm 0,01 | 0,01 \pm 0,02 | 2,8 \pm 2,8 | 0,01 \pm 0,01 | 0,4 \pm 0,1 |

Примечание: Статистически значимые различия между показателями выделены полужирным шрифтом (п/ж — превышение), а основные показатели описаны в тексте.

Таблица 2. Сравнение цитокино-продукции культур *S. aureus* при 24 и 48 часах инкубации при 37°C

| Показатели цитокино-продукции <i>S. aureus</i> \ Цитокины | INF α пкг/мл | INF γ пкг/мл | IL-1 α пкг/мл | IL-1 β пкг/мл | IL-4 пкг/мл | IL-6 пкг/мл | IL-8 пкг/мл | IL-10 пкг/мл | IL-17 пкг/мл | TNF α пкг/мл |
|---|---------------------------|------------------------------|---------------------------|------------------------|---------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------------|
| Диапазон (min-max) концентраций ЦПВ во всей выборке штаммов, 24 ч | 4,8-178,2 | 18,0-2339,0 | 0,0-63,7 | 0,0-1,7 | 1,3-162,6 | 0,0-0,01 | 0,0-0,04 | 0,0-27,0 | 0,0-0,2 | 0,0-1,2 |
| Средний уровень ЦПВ во всей выборке штаммов (M \pm m), 24ч | 59,2 \pm 19,5 | 854,3 \pm 238,8 | 30,0 \pm 7,3 | 1,4 \pm 0,3 | 59,6 \pm 17,8 | 0,01 \pm 0,01 | 0,01 \pm 0,02 | 2,8 \pm 2,8 | 0,01 \pm 0,01 | 0,4 \pm 0,1 |
| Диапазон (min-max) концентраций ЦПВ во всей выборке штаммов, 48 ч | 5,1-191,8 | 48,0-2523,0 | 0,0-80,0 | 0,0-2,3 | 1,2-174,6 | 0,0-0,01 | 0,0-0,04 | 0,0-21,7 | 0,0-0,2 | 0,0-1,2 |
| Средний уровень ЦПВ во всей выборке штаммов (M \pm m), 48 ч | 84,5 \pm 24,0 p<0,05 | 1128,7 \pm 282,0 p<0,05 | 36,6 \pm 12,4 p<0,05 | 1,0 \pm 0,3 | 87,8 \pm 23,4 p<0,05 | 0,01 \pm 0,01 | 0,02 \pm 0,01 | 2,2 \pm 2,2 | 0,01 \pm 0,01 | 0,5 \pm 0,1 |

Примечание: достоверность различий концентраций ЦПВ при разных сроках инкубации (24 и 48 ч) – p < 0,05.

Отмечается высокая степень внутривидовой (межштаммовой) вариабельности *S. aureus* по их цитокин-продуцирующей активности: от нулевого до относительно высокого уровня. Очень важно, что 2 эталонных штамма *S. aureus* из АТСС №№ 25923 и 6538–209Р обладали выраженной способностью продуцировать ряд бактериальных ЦПВ, поскольку у этих стафилококков имеются актуальные генетические «паспорта» (расшифрованная нуклеотидная последовательность), которые открывают перспективы для поиска генетических детерминант, контролирующих синтез тех или иных ЦПВ.

Обнаруженные в работе музейные и клинические культуры *S. aureus* с высокой продукцией отдельных бактериальных ЦПВ (штаммы-супер-продуценты) могут быть использованы для выделения данных веществ из супернатантов при помощи соответствующих моноклональных антител на колонках методом специфической высокоэффективной хроматографии с последующей расшифровкой их строения, характеристикой их функциональной активности и определением генетических локусов их кодирования в геноме *S. aureus*. Кроме того, это позволит разработать тест-системы (в том числе, на основе праймеров) для фено- и генетического тестирования цитокино-продуцирующей активности у золотистых стафилококков (возможно, и у бактерий другой таксономической принадлежности).

Повышение концентрации ЦПВ в 48-часовых культурах (в сравнении с суточными) мож-

но использовать для увеличения выхода «целевого продукта», что позволит оптимизировать процедуру выделения ЦПВ в чистом виде.

Кроме того важно подчеркнуть, что при использовании тест-систем для ИФА отечественного производства (как, впрочем, и импортных наборов для мультиплексного иммунофлуоресцентного анализа) при определении антицитокиновой активности различных бактерий [2], а также при изучении продукции цитокинов клетками/фагоцитами после контакта с золотистыми стафилококками или другими цитокино-продуцирующими бактериями, нужно учитывать способность самих микроорганизмов секретировать в среду ЦПВ.

Основой для оптимальных технических вариантов тест-систем могли бы стать те моноклональные антитела, которые определяют только цитокины человека/животных и перекрестно не реагируют на ЦПВ бактерий. Но на сегодняшний момент, как показали наши исследования, тест-системы многих фирм-производителей способны выявлять и бактериальные ЦПВ, что, по-видимому, потребует дополнительных исследований компаний-производителей моноклональных антител к цитокинам.

На основе проведенного анализа, можно сделать следующие **выводы**:

1. У *S. aureus* методом ИФА с использованием отечественных тест-систем можно выявлять цитокино-подобные продукты, «тождественные» таким цитокинам человека, как INF α ,

INF γ , IL-1Ra, IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, TNF α , при этом их концентрация в среде культивирования может колебаться в достаточно широком диапазоне, что отражает штаммоспецифичность цитокин-продуцирующей активности;

2. Данные по способности *S. aureus* секретировать во внеклеточное пространство ЦПВ, полученные с применением ИФА, в целом коррелируют с таковыми, полученными ранее при использовании мультиплексного иммунофлюоресцентного анализа, хотя в первом случае спектр бактериальных ЦПВ был несколько уже;

3. Увеличение сроков культивирования *S. aureus* в МПБ с 24 до 48 часов приводило к повышению концентрации бактериальных ЦПВ в супернатантах, что можно использовать в биотехнологических процессах для повышения эффективности получения ЦПВ как «целевых продуктов».

(Работа выполнена по теме из Плана НИР ИИФУрОРАН, № гос. регистрации АААА-А18-118020690020-1, и теме из Плана НИР ИКВС УрО РАН, № гос. регистрации 116021510075)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Зурочка А. В., Дукардт В. В., Зурочка В. А., Добрынина М. А., Зуева Е. Б., Тяпаева Я. В., Гриценко В. А. Бактерии как продуценты цитокиноподобных веществ. Российский иммунологический журнал 2017. Т. 11 (20), № 3. С. 374–376. [Zurochka A. V., Dukardt V. V., Zurochka V. A., Dobrynina M. A., Zuyeva E. B., Tyapayeva Y. V., Gritsenko V. A. Bacteria as producers of cytokine-like substances. Russian journal of immunology 2017. T. 11 (20), № 3. P. 374–376].
2. Зурочка А. В., Зурочка В. А., Добрынина М. А., Зуева Е. Б., Тяпаева Я. В., Дукардт В. В., Гриценко В. А. Цитокиновая и антицитокиновая активность стафилококков. Методические особенности. Российский иммунологический журнал 2017. Т. 11 (20), № 4. С. 707–709. [Zurochka A. V., Zurochka V. A., Dobrynina M. A., Zuyeva E. B., Tyapayeva Y. V., Dukardt V. V., Gritsenko V. A. Cytokine and anti-cytokine activity of staphylococci. Methodical features. Russian journal of immunology 2017. T. 11 (20), № 4. P. 707–709].
3. Зурочка А. В., Дукардт В. В., Зурочка В. А., Добрынина М. А., Зуева Е. Б., Тяпаева Я. В., Гриценко В. А. Стафилококки как продуценты цитокиноподобных веществ. Российский иммунологический журнал 2017. Т. 11 (20), № 2. С. 134–136. [Zurochka A. V., Dukardt V. V., Zurochka V. A., Dobrynina M. A., Zuyeva E. B., Tyapayeva Y. V., Gritsenko V. A. Staphylococcus aureus: spontaneous production of cytokine-like substances and regulation by synthetic analogue of the active centre of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF). Bulletin of Orenburg scientific center UrB RAS. 2017. № 1. 15p. [An electronic resource]. (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2017-1/Articles/ZAV-2017-1.pdf>).
4. Зурочка А. В., Дукардт В. В., Зурочка В. А., Добрынина М. А., Зуева Е. Б., Белозерцева Ю. П., Тяпаева Я. В., Гриценко В. А. *Staphylococcus aureus*: спонтанная продукция цитокино-подобных веществ и её регуляция синтетическим аналогом активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ). Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2017. № 1. 15с. [Электр. ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2017-1/Articles/ZAV-2017-1.pdf>).
5. Зурочка А. В., Зурочка В. А., Зуева Е. Б., Добрынина М. А., Дукардт В. В., Ю. П. Белозерцева, Тяпаева Я. В., Гриценко В. А. Сравнительная оценка влияния синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ (Zp2) и супернатантов суточных культур грамотрицательных и грамположительных бактерий на продукцию цитокинов нейтрофилами периферической крови человека. Российский иммунологический журнал 2016. Т. 10 (19). № 4. С. 430–433. [Zurochka A. V., Zurochka V. A., Zuyeva E. B., Dobrynina M. A., Dukardt V. V., Belozertseva Y. V., Tyapayeva Y. V., Gritsenko V. A. Comparative assessment of influence of synthetic peptide of the GM-CSF active center (Zp2) and supernatants of daily cultures of gramnegative and grampositive bacteria on production cytokines neutrophils by human peripheral blood. Russian journal of immunology 2016. T. 10 (19). № 4. P. 430–430].
6. Numan Javed, Guang Xue, Ailing Lu, Yue Xing, Yoichiro Iwakura, Hui Xiao, Hervé Lecoœur, Gerald F. Späth, Guangxun Meng. Cross reactivity of *S. aureus* to murine cytokine assays: A source of discrepancy. Cytokine 2016. Vol. 81. P. 101–108.
7. Медик В. А., Токмачев М. С., Фишман Б. Б. Статистика в медицине и биологии. «Теоретическая статистика»./ Под ред. Ю. М. Комарова. М.: Медицина, 2000. 454 с. [Medik V. A., Tokmachev M. S., Fishman B. B. Statistika in medicine and biology. "Theoretical statistics". Under the editorship of Yu. M. Komarov. Moscow: Medicine, 2000, 454 p.]

INFLUENCE OF TIME OF CULTIVATION OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ON THE PRODUCTION OF CYTOKINE-LIKE SUBSTANCES THAT DETECTED BY ELISA

© 2018 L. O. Fomina¹, V. A. Zurochka^{1,2}, A. S. Symbircev³,
V. A. Gritsenko⁴

¹*Institute of Immunology and Physiology UrB RAS, Ekaterinburg, Russia;*

²*South-Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russia;*

³*Federal state unitary enterprise "State research Institute of high-purity biological products" of the Federal medical biological Agency, St. Petersburg, Russia;*

⁴*Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis UrB RAS, Orenburg, Russia*

Received: 07.05.2018. **Accepted:** 21.06.2018

The paper presents the results of the study of supernatants 24 and 48 hours cultures of various strains of *Staphylococcus aureus* by the method of enzyme immunoassay (ELISA) by means of test-systems for determining the levels of human cytokines INF- α , INF- γ , IL-1Ra, IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, TNF- α ("Cytokine", St. Petersburg). It has been established that a number of strains of staphylococci are able to secrete various cytokine-like substances (CLSs), determined by test systems for ELISA, in the incubation medium. The highest rates were established for CLSs, "identical" to human cytokines INF- γ , INF- α , IL-4 and IL-1Ra. The remaining CLSs were determined in minimum concentrations. At the same time, the level of bacterial CLSs that was detected in high concentrations significantly increased significantly with increasing incubation time of *S. aureus* from 24 to 48 hours.

Key words: cytokines, *S. aureus*, cytokine-like substances

Authors:

Fomina L. O., ✉ post-graduate student of the Institute of immunology and physiology of the Ural branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia;

620049 Ekaterinburg, Pervomaïckaya str. 106, Institute of Immunology and Physiology UrB RAS. Phone: +79000918839;

E-mail: fomina454@yandex.ru.

Zurochka V. A., MD, assistant professor of the Department of food and biotechnology, senior researcher of the laboratory of molecular immunology of the South Ural state University (national research University), senior scientific researcher of the laboratory of immunology of inflammation of the Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Chelyabinsk, Russia;

Simbirtsev A. S., MD, corresponding member of RAS, Professor, Director of scientific work of FSUE " State.Research Institute " FMBA of Russia, St. Petersburg, Russia;

Gritsenko V. A., MD, Professor, head of the laboratory of the Institute of cellular and intracellular symbiosis of the RAS, scientific Secretary of the Presidium of the Orenburg scientific center of the RAS, Orenburg, Russia.