

Молекулярное типирование штаммов *Gardnerella vaginalis*, выделенных у женщин репродуктивного возраста с верифицированным диагнозом бактериального вагиноза

Т.В.Припутневич, В.В.Муравьева, А.Е.Донников, Д.Ю.Трофимов, Г.Р.Байрамова, Е.А.Межевитинова, Л.А.Любасовская, А.Б.Гордеев, П.Р.Абакарова, Е.С.Шубина, А.Ю.Гольцов

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И.Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация

Проведено молекулярное типирование 123 штаммов *Gardnerella vaginalis*, выделенных из вагинального отделяемого женщин с верифицированным диагнозом бактериального вагиноза, протекающего с клиническими проявлениями и бессимптомно. При типировании использовались особенности нуклеотидных последовательностей района межгенного спейсера (ITS), расположенного между генами 16S- и 23S-rРНК. Данный метод позволил разделить штаммы *Gardnerella vaginalis* на три подгруппы, для каждой из которых выделены специфические участки последовательностей ITS. Анализ результатов полногеномного высокопроизводительного секвенирования трех штаммов *G. vaginalis*, относящихся к трем разным подгруппам, выявил отличия в размерах генома и наборе факторов патогенности, что позволяет сделать предположение о различном уровне вирулентного потенциала штаммов, относящихся к разным подгруппам.
Ключевые слова: бактериальный вагиноз, *Gardnerella vaginalis*, типирование, полногеномное секвенирование, биотипирование

Для цитирования: Припутневич Т.В., Муравьева В.В., Донников А.Е., Трофимов Д.Ю., Байрамова Г.Р., Межевитинова Е.А., Любасовская Л.А., Гордеев А.Б., Абакарова П.Р., Шубина Е.С., Гольцов А.Ю. Молекулярное типирование штаммов *Gardnerella vaginalis*, выделенных у женщин репродуктивного возраста с верифицированным диагнозом бактериального вагиноза. Бактериология. 2018; 3(4): 26–32. DOI: 10.20953/2500-1027-2018-4-26-32

Molecular typing of *Gardnerella vaginalis* strains determined in women of reproductive age with virified diagnosis of bacterial vaginosis

T.V.Priputnevich, V.V.Muravyova, A.E.Donnikov, D.Yu.Trofimov, G.R.Bayramova, E.A.Mezhevitinova, L.A.Lyubasovskaya, A.B.Gordeev, P.R.Abakarova, E.S.Shubina, A.Yu.Goltsov

National Medical Research Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I.Kulakova, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

Molecular typing of 123 strains of *Gardnerella vaginalis* isolated from vaginal discharge of women with verified diagnosis of bacterial vaginosis, occurring with clinical manifestations and asymptomatic was carried out. The properties of nucleotide sequences in the region of intergenic spacer (ITS) located between 16S- and 23S-rRNA genes were used for typing. The method used allowed us to separate the *Gardnerella* strains into three subgroups according to specific sequences of the ITS. Analysis of the results of genome-wide high-throughput sequencing of three strains of the genome *Gardnerella vaginalis*, belonging to different subgroups, revealed differences in the length of the genomes and a set of virulence factors, which allows us to make an assumption about the different level of virulent potential of the strains belonging to different subgroups.
Keywords: bacterial vaginosis, *Gardnerella vaginalis*, typing, genome-wide sequencing, biotyping

For citation: Priputnevich T.V., Muravyova V.V., Donnikov A.E., Trofimov D.Yu., Bayramova G.R., Mezhevitinova E.A., Lyubasovskaya L.A., Gordeev A.B., Abakarova P.R., Shubina E.S., Goltsov A.Yu. Molecular typing of *Gardnerella vaginalis* strains determined in women of reproductive age with virified diagnosis of bacterial vaginosis. Bacteriology. 2018; 3(4): 26–32. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2018-4-26-32

Для корреспонденции:

Припутневич Татьяна Валерьевна, доктор медицинских наук, заведующая отделом микробиологии, клинической фармакологии и эпидемиологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И.Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Адрес: 117997, Москва, ул. Академика Опарина, 4
Телефон: (495) 438-2510

Статья поступила 25.09.2018 г., принята к печати 25.12.2018 г.

For correspondence:

Tatiana V. Priputnevich, MD, PhD, DSc, head of the department of microbiology, clinical pharmacology and epidemiology, National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I.Kulakov of Ministry of Healthcare of Russian Federation

Address: 4 Akademika Oparina str., Moscow, 117997, Russian Federation
Phone: (495) 438-2510

The article was received 25.09.2018, accepted for publication 25.12.2018

Бактериальный вагиноз (БВ) – одна из наиболее распространенных вагинальных инфекций у женщин репродуктивного возраста. Этиологическая структура БВ представлена широким спектром облигатно-анаэробных микроорганизмов (*Fusobacterium nucleatum*, *Atopobium vaginae*, *Prevotella bivia*, *Prevotella disiens*, *Mobiluncus mulieris*, *Veillonella sp.*, *Peptostreptococcus sp.*, *Peptoniphilus sp.* и другими видами), а также микроаэрофилом – *G. vaginalis*. Последний вид – единственный микроорганизм, который в 95% случаев встречается в вагинальном биотопе женщин с диагнозом БВ, чаще в составе групп микроорганизмов, ассоциированных с БВ, реже – как моновозбудитель заболевания [1–3]. У пациенток с рецидивирующим БВ *G. vaginalis* может встречаться в 100% случаев [4]. Однако *G. vaginalis* не всегда вызывает БВ. В низких титрах возбудитель может колонизировать влагалище здоровых женщин [5, 6]. *G. vaginalis* достаточно неоднородный вид, который подразделяется на ряд подгрупп.

Одна из первых популярных схем типирования *G. vaginalis* предложена P.Piot и соавт. [7]. В соответствии с этой схемой внутри вида *G. vaginalis* различают 8 биотипов на основе трех фенотипических тестов: по липазной и бета-галактозидазной активностям, а также по гидролизу гиппурата натрия. Позже стали появляться молекулярно-генетические схемы типирования: сначала метод рестрикционного анализа амплифицированной рибосомальной ДНК (ARDRA) [8], позволяющий выявить три-четыре генотипа *G. vaginalis*, и метод произвольно амплифицированной полиморфной ДНК (RAPD) [9], а затем – методы, основанные на секвенировании отдельных локусов ДНК. Чаще всего проводится либо секвенирование 16S рРНК, либо секвенирование нуклеотидной последовательности шаперонина-60 (срп60) [10, 11].

Прорыв в генотипировании штаммов *G. vaginalis* стал возможен благодаря методу высокопроизводительного секвенирования, когда в ходе сравнительного анализа полных геномов разных штаммов были обнаружены значительные отличия [12, 13]. В 2012 г. показано, что универсальная часть генома *G. vaginalis* включает в себя 746 генов, составляя только 27% от полного генома [14, 15]. При построении филогенетического дерева показано наличие 4 групп штаммов (ветвей), отличающихся друг от друга размером и структурой генома, а также по GC-составу. Высказано предположение, что, возможно, целесообразно рассматривать каждую из четырех групп как отдельный вид.

В последние годы в литературе встречаются публикации о корреляции групп *G. vaginalis* со структурной организацией генома, наличием того или иного набора генов патогенности и особенностями клинического течения БВ [15–17]. В других работах, напротив, такой корреляции не отмечается [18]. Таким образом, молекулярное типирование штаммов *G. vaginalis*, анализ взаимосвязи штаммовой принадлежности к определенным подгруппам с особенностями клинического течения БВ представляется актуальной задачей.

Цель исследования: провести молекулярное типирование штаммов *G. vaginalis*, выделенных из вагинального отделяемого женщин репродуктивного возраста с верифицированным диагнозом БВ, протекающего с клиническими проявлениями и бессимптомно.

Материалы и методы

В исследование включены 103 женщины репродуктивного возраста, у которых на основании комплексной микробиологической диагностики в соответствии с медицинской технологией «Интегральная оценка состояния микробиоты влагалища. Диагностика оппортунистических вагинитов» [19] верифицирован диагноз БВ. Из них 93 пациентки обратились в научно-консультативное отделение ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И.Кулакова» Минздрава России с жалобами на патологические выделения из половых путей: 39 – с рецидивирующим течением БВ (три и более эпизодов обострения в год) и 54 – с острым течением БВ, у которых из анамнестических данных не получено сведений о рецидиве заболевания в течение последнего года; 10 женщин с бессимптомным течением БВ обратились по поводу предгравидарной подготовки. Пациенткам выполнено культуральное исследование в условиях пониженного содержания кислорода и анаэробных условиях. Суммарно выделено 123 штамма *G. vaginalis*.

В работе использовали стандартные питательные среды и условия культивирования, адаптированные для *G. vaginalis*. Вагинальное отделяемое с использованием метода истощающего штриха засеивали на агар Columbia с добавлением 5% бараньей крови (Bio-Rad, США) с последующим культивированием в условиях CO₂-инкубатора (Shel Lab, США) или анаэробного бокса (Jouan, Франция) в атмосфере трехкомпонентной газовой смеси (N₂ – 80%, CO₂ – 10%, H₂ – 10%), а также на прeredуцированный агар Schaedler (Conda, Испания) с 5% крови человека в атмосфере трехкомпонентной газовой смеси (N₂ – 80%, CO₂ – 10%, H₂ – 10%) при 37°C в течение 48 ч.

Видовую идентификацию выделенных культур проводили с помощью метода MALDI-TOF-MS на масс-спектрометре Autoflex III с программным обеспечением MALDI Biotyper версии 3.0 (Bruker Daltonics, Германия) [20].

Биотипирование *G. vaginalis* проводили по методике, предложенной P.Piot и соавт. [21], позволяющей на основе трех тестов (оценке липазной и β-галактозидазной активности и гидролизу гиппурата) дифференцировать *G. vaginalis* на 8 биотипов.

Для обнаружения продукции β-галактозидазы использовали ONP-тест (ОНП-тест) (ERBA LACHEMA, Чехия). β-Галактозидаза, экспрессируемая *G. vaginalis*, гидролизует ONP-субстрат (о-нитрофенил β-D-галактопиранозид) с высвобождением желтого хромогенного соединения о-нитрофенола.

Для индикации гидролиза гиппурата натрия применяли Гиппурат-тест (ERBA LACHEMA, Чехия). *G. vaginalis* может вызывать гидролиз гиппурата натрия (1% водный раствор) с образованием глицина и бензоата натрия. Глицин дезаминируется окисляющим реагентом нингидрином, что сопровождается пурпурным окрашиванием.

Тест на продукцию липазы проводили на поверхности питательного агара (основа агара Schaedler) с добавлением после автоклавирования 10 мл эмульсии яичного желтка (HiMedia, Индия). После культивирования *G. vaginalis* оценивали в косом свете наличие маслянистого блеска в зоне роста культуры.

Молекулярное типирование штаммов *G. vaginalis* осуществляли с помощью тест-системы собственной разработ-

Таблица 1. Результаты полногеномного секвенирования и сборки геномов

№ штамма	Количество коротких чтений	Количество контигов >1000 п.н.	Длина генома (п.н.)	N90 (п.н.)	Кратность покрытия
1	1060502	56	1,73 млн	18544	55x
2	1185029	64	1,59 млн	12850	44x
3	1559008	37	1,56 млн	19931	101x

ки, основанной на методе ПЦР в режиме «реального времени». При разработке тест-системы учитывали специфические участки нуклеотидных последовательностей района межгенного спейсера (ITS), расположенного между генами 16S- и 23S-rPHK. Для поиска гомологичных последовательностей использовали опубликованную на ресурсе NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) последовательность рДНК *G. vaginalis* L08167.1. Поиск проводили с помощью программы BLAST [22]. Отобранные последовательности рДНК *G. vaginalis* выравнивали с помощью программы MEGA (http://www.megasoftware.net/mega4/m_creating.html). Специфические для трех подгрупп участки нуклеотидных последовательностей района межгенного спейсера (ITS) использовали для размещения праймеров. Параметры выбранных олигонуклеотидов оценивали с помощью программы Oligo 4 (<http://www.oligo.net/>).

Полногеномное секвенирование штаммов *G. vaginalis* проводили на секвенаторе Ion PGM Torrent с наборами Ion Sequencing Kit (Life Technologies Thermo Fisher, США) по протоколу производителя. Геномную ДНК выделяли после лизиса лизоцимом и протеиназой K, а также дальнейшей очисткой ДНК фенол-хлороформной экстракцией. Библиотеки ДНК готовили с помощью наборов Ion Xpress Plus Fragment Library Kit и Ion Xpress Barcode adapters 1-16 (Life Technologies Thermo Fisher, США). Проверку качества библиотек проводили на приборе Bioanalyzer 2100 с наборами High Sensitivity DNA kit (Agilent Technologies, США). Постановку эмульсионной ПЦР и обогащение сфер проводили с наборами Ion OneTouch Template Kit (Life Technologies Thermo Fisher, США).

Сборку коротких чтений осуществляли с помощью программного обеспечения Mira3. При сборке использовали следующие параметры: «genome, de novo, accurate». Результаты сборки геномов представлены в таблице 1.

Поиск генов патогенности осуществляли с помощью программы BLAST [22] путем сравнения нуклеотидных последовательностей геномов с последовательностями генов патогенности, взятыми из базы данных NCBI GenBank [23]. Набор генов патогенности определялся генами, представленными в работе С.Д.Уотан и соавт. [13].

Результаты и обсуждение

Анализ нуклеотидных последовательностей района межгенного спейсера (ITS), расположенного между генами 16S- и 23S-rPHK, доступных на ресурсе NCBI, выявил три подгруппы *G. vaginalis*. Для каждой подгруппы были выделены специфические участки последовательностей ITS, представленные на рисунке. Исходя из полученной информации о специфических участках ITS, подобраны три пары праймеров и разработана собственная тест-система для типирования *G. vaginalis*, основанная на методе ПЦР в режиме реального времени.

С помощью разработанного метода проведено молекулярное типирование 123 штаммов *G. vaginalis*, выделенных из вагинального отделяемого пациенток с подтвержденным диагнозом БВ. В зависимости от особенностей специфических участков последовательностей ITS установлено, что наиболее часто встречались штаммы, принадлежащие к I подгруппе (93 штамма), реже – к подгруппам II и III (24 и 6 штаммов соответственно).

Анализ частоты встречаемости штаммов *G. vaginalis* указанных подгрупп среди пациенток с различным течением БВ показал, что у пациенток с острым течением БВ абсолютно доминирующей была подгруппа I *G. vaginalis* (92,6%), в том числе в двух случаях (3,7%) – в сочетании с подгруппой II, не встречавшейся изолированно. *G. vaginalis* подгруппы III обнаружена у четырех пациенток (7,4%). Таким образом, при остром течении БВ *G. vaginalis* в 100% случаев представлена подгруппами I и III, отличающимися большим набором факторов патогенности. *G. vaginalis* подгруппы II у пациенток с острым БВ встречалась редко и всегда ассоциировалась с подгруппой I.

У женщин с бессимптомным течением БВ, обследованных в связи с подготовкой к беременности, при культуральном исследовании суммарно получено 10 изолятов *G. vaginalis*. Генотипирование показало, что все изоляты принадлежали к подгруппе II.

Анализ причин обращения пациенток с рецидивирующим БВ к врачу показал, что в 45 случаях поводом для посещения врача было обострение (рецидив) заболевания, под-

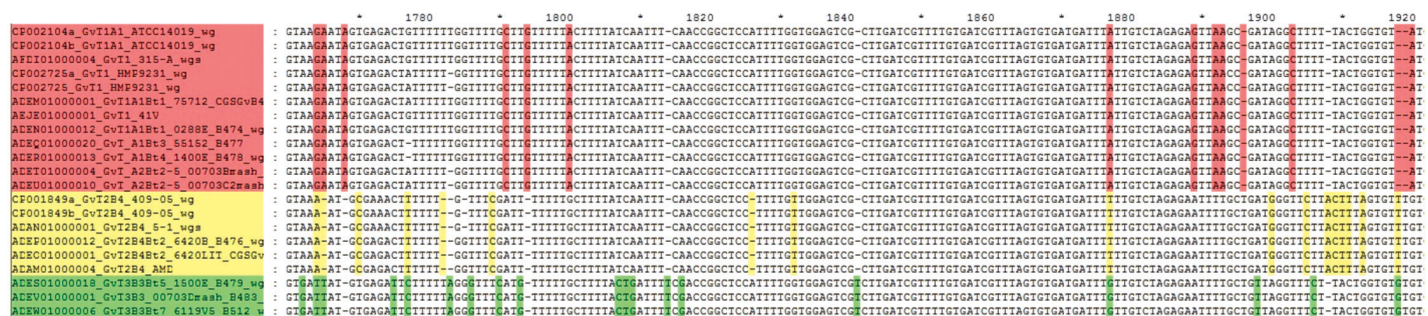


Рисунок. Выравнивание последовательностей рДНК *G. vaginalis*. Специфические для каждой подгруппы участки выделены цветом: подгруппа I – красный; подгруппа II – желтый; подгруппа III – зеленый.

Таблица 2. Различия в наборе генов патогенности у трех разных подгрупп *G. vaginalis*

Продукт гена	Подгруппа I (штамм №1)	Подгруппа II (штамм №2)	Подгруппа III (штамм №3)
Цитотоксичность			
Вагинолизин	+	+	+
Гемолизин из семейства TlyA	+	+	+
Прекурсор сиалидазы A	+	-	+
α-L-Фукозидаза	+	-	-
β-Галактозидаза	+	-	-
α-Маннозидаза	+	-	-
O-Сиалогликопротеин-эндопептидаза	+	+	+
Гликопротеаза из семейства M22	+	+	+
Резистентность			
Эффлюксная пермеаза множественной устойчивости к лекарственным препаратам, из семейства MATE (Multidrug And Toxic compound Extrusion / Выведение лекарственных препаратов и токсичных соединений)	+	+	+
Резистентность к антибиотикам	+	-	+
Белок резистентности к метициллину	+	-	-
Антипортер множественной устойчивости к лекарственным препаратам	+	+	+
ABC-транспортер 532 множественной устойчивости (ATP-binding cassette / АТФ-связывающая кассета)	+	+	+
ABC-транспортер множественной устойчивости	+	+	+
Блеомицингидролаза	+	+	+
Аминогликозид-фосфотрансфераза	+	-	-
Белок из семейства DedA	+	+	+
Формирование биопленок			
Гликозилтрансфераза 1 из семейства 1	+	+	+
Гликозилтрансфераза 2 из семейства 1	-	+	-
Гликозилтрансфераза 1 из семейства 2	+	+	+
Гликозилтрансфераза 2 из семейства 2	+	+	+
Гликозилтрансфераза 3 из семейства 2	-	+	-
Гликозилтрансфераза 4 из семейства 2	-	+	-
Гликозилтрансфераза 5 из семейства 2	+	-	+
Гликозилтрансфераза 6 из семейства 2	+	-	-
Гликозилтрансфераза 7 из семейства 2	+	-	-
Гликозилтрансфераза 8 из семейства 2	+	-	-
Гликозилтрансфераза из семейства 4	+	+	+
Гликозилтрансфераза	+	+	+
Защита от иммунного ответа			
Белок клеточной поверхности из семейства Rib	+	-	-
Адгезия к эпителиальным клеткам			
Прекурсоры фимбрий, тип 1	+	+	+
Прекурсоры фимбрий, тип 2	+	+	+

твержденное результатами клинико-лабораторного обследования. Обращает на себя внимание тот факт, что все случаи рецидива БВ ассоциировались с подгруппами *G. vaginalis* I и III. В 12 случаях визит к врачу был связан с плановым обследованием на фоне динамического наблюдения, в соответствии с алгоритмом ведения женщин с рецидивирующим БВ. Пациентки не предъявляли каких-либо жалоб, клинически не отмечено манифестации заболевания. Однако по результатам комплексной микробиологической диагностики состояние вагинального микроценоза соответствовало критериям БВ или мезоценоза (состояния микробиоты влагалища, промежуточного между нормоценозом и БВ). Во всех 12 случаях выявлена только II подгруппа *G. vaginalis*. Таким образом, все эпизоды обострения БВ были связаны с наличием *G. vaginalis* I и III подгрупп, а бессимптомные эпизоды ассоциировались с наличием *G. vaginalis* II подгруппы.

Из каждой подгруппы было взято по одному штамму ($n = 3$), для которых выполнено полногеномное высокопроизводительное секвенирование. В результате секвенирования образцов получено 1 060 502–1 559 008 ридов с медианой длины рида около 110 п.н. (табл. 1). После сборки в контиги итоговая длина генома получилась примерно одинаковой для штаммов подгрупп II и III и несколько длиннее для штамма, относящегося к подгруппе I.

Для *G. vaginalis* описано несколько групп факторов, ответственных за патогенность: адгезия к эпителиальным клеткам, продукция токсинов, резистентность к антибиотикам, защита от иммунного ответа клеток хозяина, способность формировать биопленки. У всех трех штаммов проверено наличие описанных генов. Результаты приведены ниже (табл. 2). Для штамма из подгруппы I обнаружен больший набор генов, отвечающих за цитотоксичность, чем в двух других штаммах. Ген предшественника сиалидазы A, который часто описывают как один из основных факторов вирулентности, присутствует в штаммах из подгрупп I и III и отсутствует у штамма из подгруппы II. А гены, кодирующие фукозидазу, галактозидазу и маннозидазу, присутствуют только в геноме штамма из подгруппы I. В целом наибольшим набором генов патогенности обладает штамм, относящийся к подгруппе I, наименьшим набором – штамм из подгруппы II. Штамм, относящийся к подгруппе III, содержит промежуточное число генов патогенности.

Проведено биотипирование всех изучаемых штаммов *G. vaginalis*. Результаты представлены в таблице 3. Установлено, что наиболее часто выявляли II, IV, III, I и V биотипы *G. vaginalis* (31,7; 19,5; 15,5; 14,6 и 12,2% соответственно).

Таблица 3. Частота встречаемости различных биотипов среди изолятов *G. vaginalis*

Биотип	Частота встречаемости среди различных генотипов (абс./%)			Всего ($n = 123$)
	подгруппа I ($n = 93$)	подгруппа II ($n = 24$)	подгруппа III ($n = 6$)	
I	16/17,2	2/8,3	0	18/14,6
II	27/29,0	10/41,7	2/33,3	39/31,7
III	11/11,8	7/29,2	1/16,7	19/15,5
IV	21/22,6	3/12,5	0	24/19,5
V	11/11,8	2/8,3	2/33,3	15/12,2
VI	3/3,2	0	1/16,7	4/3,3
VII	1/1,1	0	0	1/0,8
VIII	2/2,2	0	0	2/1,6

Остальные биотипы (VI, VII, VIII) встречались редко (не более 3,3%).

Полученные результаты свидетельствуют о гетерогенности штаммов *G. vaginalis*. По данным литературы, *G. vaginalis* – филогенетически неоднородный микроорганизм. Различные методы молекулярного типирования позволяют выявить 3–4 группы штаммов *G. vaginalis*. В данной работе для типирования использовались специфические участки последовательностей межгенного спейсера (ITS), расположенного между генами 16S- и 23S-рРНК, которые позволили разделить штаммы *G. vaginalis* на три подгруппы, встречающиеся с различной частотой. Обнаружены штаммы, относящиеся к каждой из трех подгрупп, причем различные подгруппы обладали разной частотой встречаемости. Чаще всего выявляли штаммы, относящиеся к подгруппе I, реже – штаммы из подгруппы III.

Анализ частоты встречаемости различных биотипов среди штаммов *G. vaginalis*, относящихся к подгруппам I–III, показал, что чаще других выявляли II биотип, однако не отмечено достоверной разницы в частоте встречаемости этого биотипа среди штаммов I–III подгрупп. Вторую позицию занимает III биотип, который несколько чаще обнаруживали среди штаммов, относящихся к подгруппе II (41,7%). Остальные биотипы встречались реже и без достоверного различия их распространения в подгруппах штаммов разной генетической принадлежности. Таким образом, четкой корреляции между отдельными биотипами и генотипами не выявлено.

Сравнение набора генов патогенности в геномах представителей каждой из трех подгрупп показало, что наибольшим набором генов патогенности обладает штамм, относящийся к подгруппе I, наименьшим – штамм из подгруппы II. Кроме того, длина генома штамма из подгруппы I несколько больше, чем у штаммов из подгрупп II и III. Можно предположить, что штаммы, относящиеся к подгруппам I и III, обладают более высоким вирулентным потенциалом. Обнаружение штаммов *G. vaginalis* I и III подгрупп только у пациенток с острым течением БВ или при обострении рецидивирующего БВ является косвенным тому подтверждением. Однако данное предположение нуждается в проверке.

Учитывая весьма слабую изученность генетического полиморфизма штаммов *G. vaginalis*, выделенных из вагинального отделяемого женщин с верифицированным диагнозом БВ в Российской Федерации, полученные результаты вносят определенный вклад в решение данного вопроса.

Литература

- Catlin BW. *Gardnerella vaginalis*: characteristics, clinical considerations, and controversies. Clin Microbiol Rev. 1992 Jul;5(3):213-37.
- Menard J-P, Mazouni C, Salem-Cherif I, Fenollar F, Raoult D, Boubli L et al. High vaginal concentrations of *Atopobium vaginae* and *Gardnerella vaginalis* in women undergoing preterm labor. Obstet Gynecol. 2010 Jan;115(1):134-40. DOI: 10.1097/AOG.0b013e3181c391d7
- Карапетян ТЭ, Анкирская АС, Муравьева ВВ. Бактериальный вагиноз в первом триместре беременности. Медицинский совет. 2015;20:68-71.
- Bradshaw CS, Tabrizi SN, Fairley CK, Morton AN, Rudland E, Garland SM. The association of *Atopobium vaginae* and *Gardnerella vaginalis* with bacterial vaginosis and recurrence after oral metronidazole therapy. J Infect Dis. 2006 Sep 15;194(6):828-36. DOI: 10.1086/506621

- Gardner HL, Duker CH. Haemophilus vaginalis vaginitis: a newly defined specific infection previously classified as 'nonspecific' vaginitis. Am J Obstet Gynecol. 1955 May;69(5):962-76.
- Kim TK, Thomas SM, Ho M, Sharma S, Reich CI, Frank JA, et al. Heterogeneity of vaginal microbial communities within individuals. J Clin Microbiol. 2009 Apr;47(4):1181-9. DOI: 10.1128/JCM.00854-08.
- Piot P, Van Dyck E, Peeters M, Hale J, Totten PA, Holmes KK. Biotypes of *Gardnerella vaginalis*. J. Clin. Microbiol. 1984;20:667-79.
- Pleckaityte M, Janulaitiene M, Lasickiene R, Zvirbliene A. Genetic and biochemical diversity of *Gardnerella vaginalis* strains isolated from women with bacterial vaginosis. FEMS Immunol Med Microbiol. 2012 Jun;65(1):69-77. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2012.00940.x
- El Aila NA, Tency I, Claeys G, Verstraelen H, Saerens B, Santiago GL, et al. Identification and genotyping of bacteria from paired vaginal and rectal samples from pregnant women indicates similarity between vaginal and rectal microflora. BMC Infect Dis. 2009 Oct 14;9:167. DOI: 10.1186/1471-2334-9-167.
- Hummelen R, Fernandes AD, Macklaim JM, Dickson RJ, Chagalucha J, Gloor GB, et al. Deep sequencing of the vaginal microbiota of women with HIV. PLoS One. 2010 Aug 12;5(8):e12078. DOI: 10.1371/journal.pone.0012078.
- Hill JE, Goh SH, Money DM, Doyle M, Li A, Crosby WL, et al. Characterization of vaginal microflora of healthy, nonpregnant women by chaperonin-60 sequence based methods. Am J Obstet Gynecol. 2005 Sep;193(3 Pt 1):682-92. DOI: 10.1016/j.ajog.2005.02.094
- Harwich MD Jr, Alves JM, Buck GA, Strauss JF, Patterson JL, Oki AT, et al. Drawing the line between commensal and pathogenic *Gardnerella vaginalis* through genome analysis and virulence studies. BMC Genomics. 2010 Jun 11; 11:375. DOI: 10.1186/1471-2164-11-375.
- Yeoman CJ, Yildirim S, Thomas SM, Durkin AS, Torralba M, Sutton G, et al. Comparative genomics of *Gardnerella vaginalis* strains reveals substantial differences in metabolic and virulence potential. PLoS One. 2010 Aug 26;5(8):e12411. DOI: 10.1371/journal.pone.0012411.
- Ahmed A, Earl J, Retchless A, Hillier SL, Rabe LK, Cherpes TL, et al. Comparative genomic analyses of 17 clinical isolates of *Gardnerella vaginalis* provide evidence of multiple genetically isolated clades consistent with speciation into genovars. J Bacteriol. 2012 Aug;194(15):3922-37. DOI: 10.1128/JB.00056-12
- Balashov SV, Mordechai E, Adelson ME, Gyax SE. Identification, quantification and subtyping of *Gardnerella vaginalis* in noncultured clinical vaginal samples by quantitative PCR. J Med Microbiol. 2014 Feb;63(Pt 2):162-75. DOI: 10.1099/jmm.0.066407-0.
- Schuyler JA, Mordechai E, Adelson ME, Sobel JD, Gyax SE, Hilbert DW. Identification of intrinsically metronidazole-resistant clades of *Gardnerella vaginalis*. Diagn Microbiol Infect Dis. 2016 Jan;84(1):1-3. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2015.10.006
- Janulaitiene M, Paliulyte V, Grinceviciene S, Zakareviciene J, Vladisauskiene A, Marcinkute A, et al. Prevalence and distribution of *Gardnerella vaginalis* subgroups in women with and without bacterial vaginosis. BMC Infect Dis. 2017 Jun 5; 17(1):394. DOI: 10.1186/s12879-017-2501-y.
- Hilbert DW, Schuyler JA, Adelson ME, Mordechai E, Sobel JD, Gyax SE. *Gardnerella vaginalis* population dynamics in bacterial vaginosis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2017 Jul;36(7):1269-1278. DOI: 10.1007/s10096-017-2933-8
- Анкирская АС, Муравьева ВВ. Интегральная оценка состояния микробиоты влагалища. Диагностика оппортунистических вагинитов (медицинская технология). М., 2011.
- Припутневич ТВ, Мелкумян АР. Масс-спектрометрия – новое слово в клинической микробиологии. Клиническая лабораторная диагностика. 2016; 61(12):842-8. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-12-842-848
- Piot P, Van Dyck E, Peeters M, Hale J, Totten PA, Holmes KK. Biotypes of *Gardnerella vaginalis*. J Clin Microbiol. 1984;20:667-79.

22. Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol.* 1990;215:403-10.
23. Benson DA, Cavanaugh M, Clark K, Karsch-Mizrachi I, Lipman DJ, Ostell J, et al. GenBank. *Nucleic Acids Res.* 2013 Jan;41(Database issue):D36-42. DOI: 10.1093/nar/gks1195

References

1. Catlin BW. *Gardnerella vaginalis*: characteristics, clinical considerations, and controversies. *Clin Microbiol Rev.* 1992 Jul;5(3):213-37.
2. Menard J-P, Mazouni C, Salem-Cherif I, Fenollar F, Raoult D, Boubli L et al. High vaginal concentrations of *Atopobium vaginae* and *Gardnerella vaginalis* in women undergoing preterm labor. *Obstet Gynecol.* 2010 Jan;115(1):134-40. DOI: 10.1097/AOG.0b013e3181c391d7
3. Karapetyan TE, Ankirskaya AS, Muravyova VV. Bacterial vaginosis in the first trimester of pregnancy. *Meditsinskiy Sovet (Medical Council).* 2015;20:68-71. (In Russian).
4. Bradshaw CS, Tabrizi SN, Fairley CK, Morton AN, Rudland E, Garland SM. The association of *Atopobium vaginae* and *Gardnerella vaginalis* with bacterial vaginosis and recurrence after oral metronidazole therapy. *J Infect Dis.* 2006 Sep 15;194(6):828-36. DOI: 10.1086/506621
5. Gardner HL, Dukes CH. Haemophilus vaginalis vaginitis: a newly defined specific infection previously classified as 'nonspecific' vaginitis. *Am J Obstet Gynecol.* 1955 May;69(5):962-76.
6. Kim TK, Thomas SM, Ho M, Sharma S, Reich CI, Frank JA, et al. Heterogeneity of vaginal microbial communities within individuals. *J Clin Microbiol.* 2009 Apr;47(4):1181-9. DOI: 10.1128/JCM.00854-08.
7. Piot P, Van Dyck E, Peeters M, Hale J, Totten PA, Holmes KK. Biotypes of *Gardnerella vaginalis*. *J. Clin. Microbiol.* 1984;20:667-79.
8. Pleckaityte M, Janulaitiene M, Lasickiene R, Zvirbliene A. Genetic and biochemical diversity of *Gardnerella vaginalis* strains isolated from women with bacterial vaginosis. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2012 Jun;65(1):69-77. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2012.00940.x
9. El Aila NA, Tency I, Claeys G, Verstraelen H, Saerens B, Santiago GL, et al. Identification and genotyping of bacteria from paired vaginal and rectal samples from pregnant women indicates similarity between vaginal and rectal microflora. *BMC Infect Dis.* 2009 Oct 14;9:167. DOI: 10.1186/1471-2334-9-167.
10. Hummelen R, Fernandes AD, Macklaim JM, Dickson RJ, Changalucha J, Gloor GB, et al. Deep sequencing of the vaginal microbiota of women with HIV. *PLoS One.* 2010 Aug 12;5(8):e12078. DOI: 10.1371/journal.pone.0012078.
11. Hill JE, Goh SH, Money DM, Doyle M, Li A, Crosby WL, et al. Characterization of vaginal microflora of healthy, nonpregnant women by chaperonin-60 sequence based methods. *Am J Obstet Gynecol.* 2005 Sep;193(3 Pt 1):682-92. DOI: 10.1016/j.ajog.2005.02.094
12. Harwich MD Jr, Alves JM, Buck GA, Strauss JF, Patterson JL, Oki AT, et al. Drawing the line between commensal and pathogenic *Gardnerella vaginalis* through genome analysis and virulence studies. *BMC Genomics.* 2010 Jun 11;11:375. DOI: 10.1186/1471-2164-11-375.
13. Yeoman CJ, Yildirim S, Thomas SM, Durkin AS, Torralba M, Sutton G, et al. Comparative genomics of *Gardnerella vaginalis* strains reveals substantial differences in metabolic and virulence potential. *PLoS One.* 2010 Aug 26;5(8):e12411. DOI: 10.1371/journal.pone.0012411.
14. Ahmed A, Earl J, Retchless A, Hillier SL, Rabe LK, Chernes TL, et al. Comparative genomic analyses of 17 clinical isolates of *Gardnerella vaginalis* provide evidence of multiple genetically isolated clades consistent with subspeciation into genovars. *J Bacteriol.* 2012 Aug;194(15):3922-37. DOI: 10.1128/JB.00056-12
15. Balashov SV, Mordechai E, Adelson ME, Gyax SE. Identification, quantification and subtyping of *Gardnerella vaginalis* in noncultured clinical vaginal samples by quantitative PCR. *J Med Microbiol.* 2014 Feb;63(Pt 2):162-75. DOI: 10.1099/jmm.0.066407-0.

16. Schuyler JA, Mordechai E, Adelson ME, Sobel JD, Gyax SE, Hilbert DW. Identification of intrinsically metronidazole-resistant clades of *Gardnerella vaginalis*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2016 Jan;84(1):1-3. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2015.10.006
17. Janulaitiene M, Paliulyte V, Grinceviciene S, Zakareviciene J, Vladisauskiene A, Marcinkute A, et al. Prevalence and distribution of *Gardnerella vaginalis* subgroups in women with and without bacterial vaginosis. *BMC Infect Dis.* 2017 Jun 5; 17(1):394. DOI: 10.1186/s12879-017-2501-y.
18. Hilbert DW, Schuyler JA, Adelson ME, Mordechai E, Sobel JD, Gyax SE. *Gardnerella vaginalis* population dynamics in bacterial vaginosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2017 Jul;36(7):1269-1278. DOI: 10.1007/s10096-017-2933-8
19. Ankirskaya AS, Murav'eva VV. Integral'naya otsenka sostoyaniya mikrobyoty vlagalishcha. *Diagnostika opportunisticheskikh vaginitov (meditsinskaya tekhnologiya).* Moscow, 2011. (In Russian).
20. Pripitnevich TM, Melkumyan AR. The mass-spectrometry as a new word in clinical microbiology. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics.* 2016;61(12):842-8. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-12-842-848 (In Russian).
21. Piot P, Van Dyck E, Peeters M, Hale J, Totten PA, Holmes KK. Biotypes of *Gardnerella vaginalis*. *J Clin Microbiol.* 1984;20:667-79.
22. Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol.* 1990;215:403-10.
23. Benson DA, Cavanaugh M, Clark K, Karsch-Mizrachi I, Lipman DJ, Ostell J, et al. GenBank. *Nucleic Acids Res.* 2013 Jan;41(Database issue):D36-42. DOI: 10.1093/nar/gks1195

Информация об авторах:

Муравьева Вера Васильевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории микробиологии отдела микробиологии, клинической фармакологии и эпидемиологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И.Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Адрес: 117997, Москва, ул. Академика Опарина, 4
Телефон: (495) 438-2510

Донников Андрей Евгеньевич, кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией молекулярно-генетических методов Института репродуктивной генетики ФГБУ «Национальный исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И.Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Адрес: 117997, Москва, ул. Академика Опарина, 4
Телефон: (495) 438-4951

Трофимов Дмитрий Юрьевич, доктор биологических наук, директор Института репродуктивной генетики ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И.Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Адрес: 117997, Москва, ул. Академика Опарина, 4
Телефон: (495) 438-4951

Байрамова Гюльдана Рауфовна, доктор медицинских наук, заведующая по клинической работе научно-поликлиническим отделением ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И.Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Адрес: 117997, Москва, ул. Академика Опарина, 4
Телефон: (495) 438-1866

Межевитинова Елена Анатольевна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник научно-поликлинического отделения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И.Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Адрес: 117997, Москва, ул. Академика Опарина, 4
Телефон: (495) 438-7747

Любасовская Людмила Анатольевна, кандидат медицинских наук, заведующая отделением клинической фармакологии отдела микробиологии, клинической фармакологии и эпидемиологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И.Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Адрес: 117997, Москва, ул. Академика Опарина, 4
Телефон: (495) 438-2510

Гордеев Алексей Борисович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории микробиологии отдела микробиологии, клинической фармакологии и эпидемиологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И.Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Адрес: 117997, Москва, ул. Академика Опарина, 4
Телефон: (495) 438-2510

Абакарова Патимат Рапиевна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник научно-поликлинического отделения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И.Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Адрес: 117997, Москва, ул. Академика Опарина, 4
Телефон: (495) 438-7747

Шубина Екатерина Сергеевна, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией биоинформатического анализа геномных данных Института репродуктивной генетики ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И.Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Адрес: 117997, Москва, ул. Академика Опарина, 4
Телефон: (495) 438-4951

Гольцов Андрей Юрьевич, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией биоинформатического анализа геномных данных Института репродуктивной генетики ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И.Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Адрес: 117997, Москва, ул. Академика Опарина, 4
Телефон: (495) 438-4951

Information about authors:

Vera V. Muravieva, PhD (Biology), senior researcher, Laboratory of microbiology, Department of microbiology, clinical pharmacology and epidemiology, National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I.Kulakov of Ministry of Healthcare of Russian Federation
Address: 4 Akademika Oparina str., Moscow, 117997, Russian Federation
Phone: (495) 438-2510

Andrey E. Donnikov, MD, PhD, head of the laboratory of molecular genetic methods, Institute of reproductive genetics, National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I.Kulakov of Ministry of Healthcare of Russian Federation
Address: 4 Akademika Oparina str., Moscow, 117997, Russian Federation
Phone: (495) 438-4951

Dmitry Yu. Trofimov, PhD, DSc (Biology), Director of the laboratory of the molecular genetic methods, Institute of reproductive genetics, National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I.Kulakov of Ministry of Healthcare of Russian Federation
Address: 4 Akademika Oparina str., Moscow, 117997, Russian Federation
Phone: (495) 438-4951

Gyuldana R. Bairamova, MD, PhD, DSc, head of the clinical department scientific-polyclinic unit, National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I.Kulakov of Ministry of Healthcare of Russian Federation
Address: 4 Akademika Oparina str., Moscow, 117997, Russian Federation
Phone: (495) 438-2510

Elena A. Mezhevitinova, MD, PhD, DSc leader researcher, scientific-polyclinic unit, National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I.Kulakov of Ministry of Healthcare of Russian Federation
Address: 4 Akademika Oparina str., Moscow, 117997, Russian Federation
Phone: (495) 438-2510

Lyudmila A. Lyubasovskaya, MD, PhD, head of the unit of pharmacology, department of microbiology, clinical pharmacology and epidemiology, National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I.Kulakov of Ministry of Healthcare of Russian Federation
Address: 4 Akademika Oparina str., Moscow, 117997, Russian Federation
Phone: (495) 438-2510

Alexey B. Gordeev, PhD (Biology), senior researcher, Laboratory of microbiology, Department of microbiology, clinical pharmacology and epidemiology, National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I.Kulakov of Ministry of Healthcare of Russian Federation
Address: 4 Akademika Oparina str., Moscow, 117997, Russian Federation
Phone: (495) 438-2510

Patimat R. Abakarova, MD, PhD, researcher, scientific-polyclinic Unit, National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I.Kulakov of Ministry of Healthcare of Russian Federation
Address: 4 Akademika Oparina str., Moscow, 117997, Russian Federation
Phone: (495) 438-7747

Yekaterina S. Shubina, PhD (Biology), head of the laboratory of the molecular genetic methods, Institute of reproductive genetics, National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I.Kulakov of Ministry of Healthcare of Russian Federation
Address: 4 Akademika Oparina str., Moscow, 117997, Russian Federation
Phone: (495) 438-4951

Andrey Y. Goltsov, PhD (Biology), researcher, laboratory of the molecular genetic methods, Institute of reproductive genetics, National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I.Kulakov of Ministry of Healthcare of Russian Federation
Address: 4 Akademika Oparina str., Moscow, 117997, Russian Federation
Phone: (495) 438-4951

НОВОСТИ НАУКИ

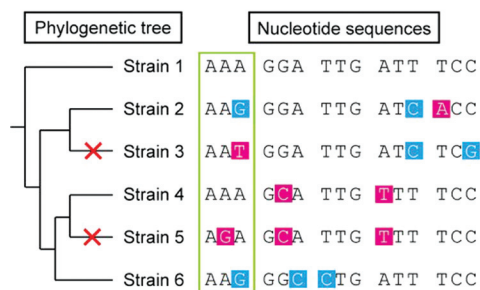
Анализ выявляет ключевой ген бактериальной инфекции

Ученые дали новую надежду в борьбе с бактериями, устойчивыми к антибиотикам, выявив генетический фактор, который важен для вирулентности *Streptococcus pneumoniae*. Эта бактерия вызывает сепсис, пневмонию и менингит и представляет серьезную угрозу для общественного здравоохранения во всем мире. При помощи молекулярно-эволюционного анализа последовательностей генов попытались идентифицировать ген, не подверженный мутациям, предполагая, что это важно для инфекции/размножения этой бактерии.

Было показано, что ген *cbpJ* помогает бактериям избежать обнаружения и очистки нейтрофилами.

Тот факт, что ген *cbpJ* находится под строгим отрицательным селективным давлением, делает его особенно привлекательной мишенью для лекарств, так как это давление будет ограничивать вероятность появления устойчивых к лекарствам мутантов. Это исследование также показывает ценность молекулярно-эволюционного анализа для выявления новых лекарственных мишеней, в том числе среди факторов пневмококковой вирулентности, особенно в сочетании с традиционными молекулярно-микробиологическими подходами.

A. Phylogenetic relationship before natural selection



B. Real population resulting from natural selection



Analysis reveals key gene for bacterial infection [Electronic resource].
URL: <https://phys.org/news/2019-03-analysis-reveals-key-gene-bacterial.html>