

INDEL-типирование – новый метод дифференциации штаммов *Helicobacter pylori*

В.М.Сорокин, А.С.Водопьянов, Р.В.Писанов

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

Впервые предложен метод INDEL-типирования штаммов *Helicobacter pylori*. Проведен анализ нуклеотидных последовательностей 69 штаммов из локальной базы данных. Выявлено десять INDEL-маркеров, пять из которых, с наиболее высокой вариабельностью, послужили основой для создания схемы дифференциации. Проведено INDEL-типирование 21 штамма *H. pylori* различного географического происхождения и выявлено 15 индивидуальных генотипов с высоким индексом разнообразия (DI = 0,95). Для проведения кластерного анализа использован метод MST (минимальное остовное дерево), который продемонстрировал четкое распределение кластеров согласно географическому происхождению изученных штаммов. В дополнение к предлагаемому методу типирования при необходимости можно использовать метод MLVA-типирования.

Ключевые слова: *Helicobacter pylori*, ПЦР, INDEL, MST-дендрограмма, MLVA, географическое происхождение

Для цитирования: Сорокин В.М., Водопьянов А.С., Писанов Р.В. INDEL-типирование – новый метод дифференциации штаммов *Helicobacter pylori*. Бактериология. 2020; 5(1): 8–13. DOI: 10.20953/2500-1027-2020-1-8-13

INDEL-typing: a new method of differentiation of *Helicobacter pylori* strains

V.M.Sorokin, A.S.Vodop'janov, R.V.Pisanov

Rostov-on-Don Antiplague Institute of Rosпотребнадзор, Rostov-on-Don, Russian Federation

For the first time INDEL-typing method of *Helicobacter pylori* strains is offered. Analysis of the nucleotide sequences of 69 strains from the local database was carried out. Ten INDEL-markers were identified, five of which, with the highest variability, served as the basis for the differentiation scheme. INDEL-typing of twenty one strains of *H. pylori* of different geographical origin was carried out. And fifteen individual genotypes with a high diversity index were identified (DI = 0.95). For cluster analysis, the MST (minimal spanning tree) method was used, which demonstrated a clear distribution of clusters according to the geographical origin of the strains studied. In addition to the proposed method of typing, if necessary, the MLVA-typing method can be used.

Keywords: *Helicobacter pylori*, PCR, INDEL, MST dendrogram, MLVA, geographical origin

For citation: Sorokin V.M., Vodop'janov A.S., Pisanov R.V. Genetic profiling of actual for the Sochi region casual agents of natural focal and gastrointestinal infections. Bacteriology. 2020; 5(1): 8–13. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2020-1-8-13

Н *Helicobacter pylori* ассоциируют с такими заболеваниями, как хронический гастрит, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, лимфома и рак желудка [1–4]. Этим возбудителем инфицировано около 60% населения планеты, что позволяет считать хеликобактериоз одной из наиболее распространенных в мире инфекций [5, 6]. Инфицированность *H. pylori* взрослого населения России варьирует от 50 до 80%, а в некоторых регионах приближается к 100% [7, 8].

Важной отличительной особенностью *H. pylori* является высокая генетическая вариабельность штаммов, связан-

ная со значительной частотой эндогенных мутаций и обеспечивающая низкую встречаемость идентичных аллелей [9]. Кроме того, клетки *H. pylori* обладают природной компетентностью и могут интегрировать чужеродную ДНК в собственный геном посредством рекомбинации и производить обмен генетической информацией между различными штаммами, обитающими в одном желудке [10]. Как следствие, *H. pylori* является видом без существенной клональной структуры [10, 11]. Генетическое разнообразие *H. pylori* было доказано с помощью различных методических подходов [11–16].

Для корреспонденции:

Сорокин Владимир Михайлович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории туляремии ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
Адрес: 344002, Ростов-на-Дону, ул. ул. Максима Горького, 117/40
Телефон: (863) 240-9113
E-mail: soroka53@mail.ru

Статья поступила 25.02.2020 г., принята к печати 27.03.2020 г.

For correspondence:

Vladimir M. Sorokin, PhD (Biology), senior researcher of the tularemia laboratory of Rostov-on-Don Antiplague Institute of Rosпотребнадзор
Address: 117/40 Maksim Gor'ky str., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation
Phone: (863) 240-91-13
E-mail: soroka53@mail.ru

The article was received 25.02.2020, accepted for publication 27.03.2020

Используя метод мультилокусного секвенирования-типирования (MLST) семи генов жизнеобеспечения (*ureI*, *mutY*, *efp*, *ppa*, *yphC*, *atpA*, *trpC*), Achtman et al. [11] установили глобальную структуру популяции *H. pylori* с группировкой бактериальных изолятов согласно их географическому происхождению. Первоначально ими были описаны две группы штаммов со слабой клональной структурой: Asian Clone (азиатские штаммы) и Clone2 (штаммы из остальных частей мира). Позднее Falush et al. [17] выделили четыре группы штаммов с различным географическим происхождением: hpEurope, hpAfrica 1 (впоследствии разделенных на hspWAfrica и hspSAfrica), hpAfrica 2 и hpEastAsia (состоящую из hspAmerind, hspEAsia и hspMaori) [17]. Структура популяции штаммов *H. pylori*, циркулирующих в России, на сегодняшний день практически не изучена.

Для изучения филогенетических связей между штаммами некоторых других микроорганизмов, кроме метода MLST-типирования, широко применяется метод INDEL-типирования [18–21]. До настоящего времени метод INDEL-типирования штаммов *H. pylori* в мировой литературе не описан.

Целью настоящего исследования является выявление INDEL-маркеров в геноме *H. pylori* и оценка возможности их использования для изучения филогенетических связей между штаммами из базы данных GenBank с известным географическим происхождением.

Материалы и методы

Для создания локальной базы данных геномов *H. pylori* были использованы как полные геномы из базы данных GenBank, так и риды, представленные в Internet-базах данных. Сборку геномов, представленных в виде ридов, проводили с использованием программы Spades [22]. Сравнительный анализ открытых рамок считывания (генов) проводили при помощи авторской программы GeneExpert, написанной на языке программирования Java. Варибельность обнаруженных инсерций/делеций (INDEL) оценивали по методу Симпсона (diversity index, DI) [23].

Конструирование праймеров и проведение полимеразной цепной реакции (ПЦР) *in silico* осуществляли при помощи авторских программ PrimerM и VirtualPCR. Кластерный анализ и построение дендрограммы проводили с использованием авторского программного обеспечения по методу UPGMA. Для построения дендрограммы использовали программу MEGA 5 [24]. Для построения филогенетического дерева методом MST (minimal spanning tree) использовали пакет программ Bionumerix 7.6.

Результаты и обсуждение

Для сравнительного анализа геномов *H. pylori*, представленных в базе данных GenBank, с помощью авторского программного обеспечения была создана локальная база данных нуклеотидных последовательностей 69 штаммов *H. pylori*. С помощью программы GeneExpert проведено попарное сравнение более 1500 открытых рамок считывания в геномах штаммов локальной базы данных для детекции всех INDEL-маркеров с предустановленным размером 6–20 п.н. Обнаружено 10 локусов, содержащих INDEL-мар-

Таблица 1. Частота варибельности INDEL-локусов (на 69 штаммах)

Локус	Аллель, п.о.	Частота	Варибельность
hp195	68	0,65	0,50
	69	0,10	
	80	0,25	
hp 1080	95	0,78	0,36
	125	0,17	
	97	0,04	
hp 2575	103	0,09	0,42
	103	0,74	
	103	0,17	
hp 3330	60	0,81	0,31
	69	0,19	
hp 5605	93	0,23	0,40
	102	0,74	
	102	0,03	
hp 6405	106	0,32	0,43
	100	0,68	
hp 340	79	0,62	0,54
	85	0,23	
	85	0,14	
hp 1390	64	0,61	0,54
	76	0,12	
	76	0,28	
hp 3660	108	0,49	0,62
	96	0,33	
	93	0,17	
hp 4135	62	0,93	0,13
	71	0,07	

Примечание: наличие пустых ячеек связано с высокой степенью генетического полиморфизма бактерий *H. pylori* и означает отсутствие ампликона *in silico*.

керы. Для всех 10 локусов, содержащих INDEL-маркеры, определена варибельность каждого индивидуального локуса (табл. 1).

Для дальнейшего исследования были выбраны 6 наиболее варибельных локусов (hp 3330, hp 5605, hp 6405, hp 340, hp 1390, hp 3660).

Виртуальная ПЦР и построение кладограммы

Для проведения ПЦР *in silico* были сконструированы праймеры с помощью авторской программы PrimerM. Был проведен кластерный анализ по методу UPGMA для 18 штаммов с известным географическим происхождением из наиболее распространенных популяций (hpEurope, hspWAfrica, hspEAsia) [25] с использованием 6 INDEL-локусов (рис. 1).

Представленные результаты INDEL-типирования с помощью ПЦР демонстрируют хорошую корреляцию распределения кластеров с географическим происхождением штаммов *H. pylori*, за исключением двух штаммов hpEurope. Кластер А представлен исключительно штаммами, принадлежащими к популяции hspEAsia, кластер В содержит 4 из 6 штаммов hpEurope. Кластер С содержит как штаммы hpEurope, так и штаммы hspWAfrica. Кластер D представлен двумя генетически удаленными штаммами hspWAfrica. С помощью программы AuSeTTS (Automated Selection of Typing Target Subsets) [26] проведена оптимизация набора 6 INDEL-локусов с целью получения максимального числа индивидуальных генотипов. Показано, что исключение локуса hp 3330 практически не влияет на разрешающую способность метода (14 индивидуальных генотипов), позволяет выявить у 18 штаммов *H. pylori* 13 индивидуальных генотипов с высоким индексом разнообразия (DI = 0,95) и позволяет исполь-

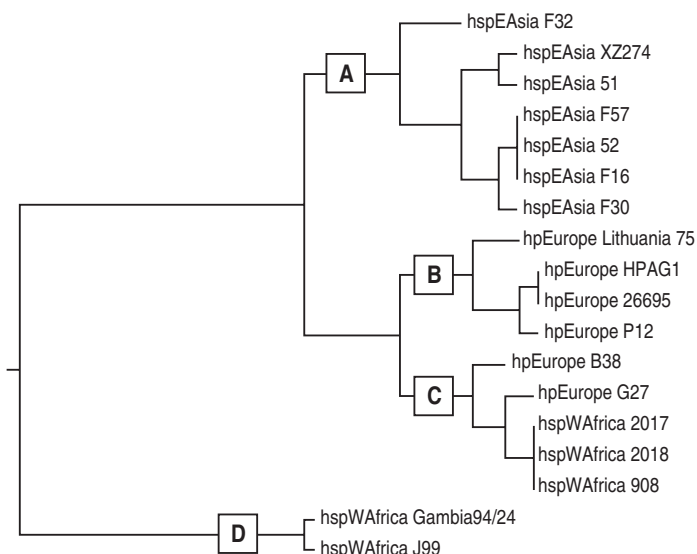


Рис. 1. Кладограмма распределения INDEL-генотипов штаммов *H. pylori* различного географического происхождения.

зывать метод для практической дифференциации штаммов как *in silico*, так и *in vitro*.

Построение и анализ филогенетического дерева

В последнее время для выяснения филогенетических связей между штаммами микроорганизмов разных видов все чаще применяется наиболее точный метод построения минимального остовного дерева (MST) [27–29]. Для типирования *in silico* к 18 ранее изученным штаммам были добавлены 3 штамма из популяции hpEurope, наиболее широко

представленной в Европе. Для исследования 21 штамма *H. pylori* из базы данных GenBank использованы 5 INDEL-локусов (hp 5605, hp 6405, hp 340, hp 1390, hp 3660). Результаты MST-анализа представлены на рис. 2.

Кластер В представлен исключительно штаммами, принадлежащими к популяции hspEAsia. Кластер А представлен только штаммами, принадлежащими к популяции hspWAfrica, а кластер С содержит европейские штаммы (hpEurope). MST-анализ *in silico* продемонстрировал более четкое разделение штаммов на кластеры согласно их географическому происхождению. Необходимо отметить значительную вариабельность индивидуальных генотипов внутри каждой из популяций: 3 индивидуальных генотипа у hspWAfrica, 5 генотипов у hspEAsia и 7 – у hpEurope. Высокая степень генетического разнообразия у hpEurope обусловлена смешением двух прародительских популяций AE1 и AE2, которые, возможно, достигли Европы в разное время и из разных источников: AE1 действительно присутствовала во всей Центральной Азии в дополнение к Европе, AE2 пришла из Северной Африки и Средней Азии [30]. В недавнем исследовании Vale et al. [31] смогли дифференцировать две европейских популяции, представленных в основном в Северной Европе (с генетическим родством с AE1) и Южной Европе (с генетическим родством с AE2). Исследование было построено на типировании нуклеотидной последовательности двух профагов *H. pylori*. Распределение INDEL-генотипов в кластере штаммов hpEurope также свидетельствует о существовании двух отличающихся друг от друга групп штаммов (рис. 2). Для увеличения разрешающей способности предлагаемого метода INDEL-типирования можно использовать описанный нами ранее способ MLVA-

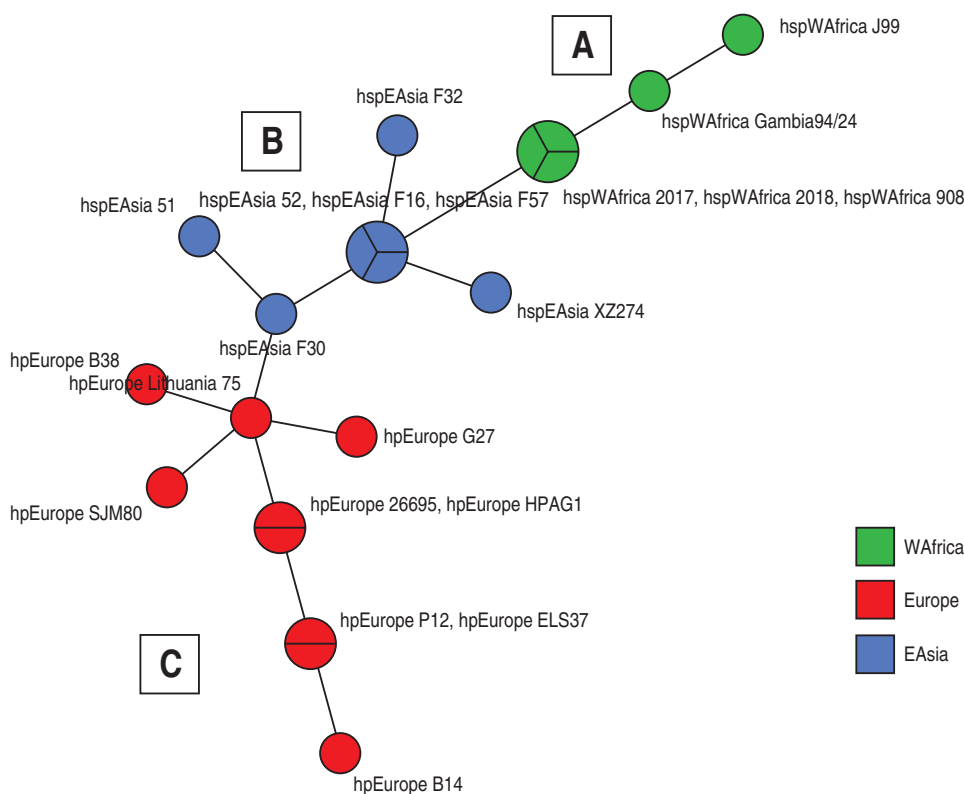


Рис. 2. Кладограмма распределения INDEL-генотипов штаммов *H. pylori* различного географического происхождения, полученная с помощью метода MST.

Таблица 2. VNTR-генотипы трех штаммов hspWAfrica *H. pylori*

Штаммы <i>H. pylori</i>	VNTR-локусы <i>H. pylori</i> [16]		
	HpA (число повторов)	HpD (число повторов)	HpG (число повторов)
hspWAfrica 908	4	2	0
hspWAfrica 2017	5	5	0
hspWAfrica 2018	2	3	0

типирования *H. pylori* [16]. Например, кластер А содержит три штамма *H. pylori* с одинаковым INDEL-генотипом. Ранее было показано, что штаммы hspWAfrica 2017 и 2018 являются клонами родительского штамма hspWAfrica 908, выделенными от одного пациента. Сравнительный анализ геномов штаммов 2017 и 2018 показал, что они почти идентичны и произошли от штамма 908 [32]. Оказалось, что применение метода MLST-типирования не дает возможности различить генотипы указанных штаммов, а их разделение возможно только при использовании полногеномного SNP-типирования [33]. Такой же результат достигается применением метода MLVA-типирования (табл. 2).

Создана локальная база данных нуклеотидных последовательностей 69 штаммов *H. pylori*. Проведено попарное сравнение более 1500 открытых рамок считывания в геномах штаммов локальной базы данных для детекции всех INDEL-маркеров с предустановленным размером 6–20 п.н. Обнаружено 10 локусов, содержащих INDEL-маркеры. Для типирования штаммов *H. pylori* различного географического происхождения выбраны 5 наиболее вариабельных локусов. Показано, что кластеризация штаммов по INDEL-маркерам коррелирует с данными, полученными при MLST-типировании. Разработанная схема типирования имеет высокий индекс разнообразия ($DI = 0,95$) и может быть дополнена ранее предложенным методом MLVA-типирования. На предлагаемый способ получен патент «Способ дифференциации штаммов *Helicobacter pylori* путем молекулярно-генетического типирования» (патент № 2 688 434 от 21.05.2019). В дальнейшем предполагается проведение INDEL-типирования *in vitro* региональных российских штаммов *H. pylori* с целью определения их географического происхождения.

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература

- Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. 1984 Jun 16;1(8390):1311-5. DOI: 10.1016/s0140-6736(84)91816-6
- Goodwin CS, Armstrong JA, Marshall BJ. Campylobacter pyloridis, gastritis, and peptic ulceration. J Clin Pathol. 1986 Apr;39(4):353-65. DOI: 10.1136/jcp.39.4.353
- Marshall BJ. Campylobacter pyloridis and gastritis. 1986 Apr;153(4):650-7. DOI: 10.1093/infdis/153.4.650

- Blaser MJ, Perez-Perez GI, Kleantous H, Cover TL, Peek RM, Chyou PH, Stemmermann GN, Nomura A. Infection with *Helicobacter pylori* strains possessing cagA is associated with an increased risk of developing adenocarcinoma of the stomach. Cancer Res. 1995;55(10):2111-5.
- Frenc R, Clemens J. Helicobacter in the developing world. Microbes Infect. 2003 Jul;5(8):705-13. DOI: 10.1016/s1286-4579(03)00112-6
- Pounder RE, Ng D. The prevalence of *Helicobacter pylori* infection in different countries. Aliment Pharmacol Ther. 1995;9 Suppl 2:33-9.
- Rothenbacher D. Burden of *H. pylori* and diseases in developed countries; recent developments and future implications. Microbes Infect. 2003 Jul;5(8):693-703. DOI: 10.1016/s1286-4579(03)00111-4
- Malaty H, Paykov V, Bykova O, et al. *Helicobacter pylori* and socioeconomic factors in Russia. Helicobacter. 1996;1:82-7.
- Wang G, Humayun MZ, Taylor DE. Mutation as an origin of genetic variability in *Helicobacter pylori*. Trends Microbiol 1999;7:488-93. DOI: 10.1016/s0966-842x(99)01632-7
- Suerbaum S, Smith JM, Bapumia K, Morelli G, Smith NH, Kunstmann E, et al. Free recombination within *Helicobacter pylori*. Proc Natl Acad Sci U S A. 1998;95:12619-24. DOI: 10.1073/pnas.95.21.12619
- Achtman M, Azuma T, Berg DE, Ito Y, Morelli G, Pan ZJ, et al. Recombination and clonal groupings within *Helicobacter pylori* from different geographical regions. Mol Microbiol. 1999 May;32(3):459-70. DOI: 10.1046/j.1365-2958.1999.01382.x
- Guo C, Liao Y, Li Y, Duan J, Guo Y, Wu Y, et al. Genotyping analysis of *Helicobacter pylori* using multiplelocus variable-number tandem-repeats analysis in five regions of China and Japan. 2011 Sep 3;11:197. DOI: 10.1186/1471-2180-11-197
- Kang J, Blaser MJ. Bacterial populations as perfect gases: genomic integrity and diversification tensions in *Helicobacter pylori*. Nat Rev Microbiol. 2006 Nov; 4(11):826-36. DOI: 10.1038/nrmicro1528
- Han SR, Zschausch HC, Meyer HG, Schneider T, Loos M, Bhakdi S, Maeurer MJ. *Helicobacter pylori*: clonal population structure and restricted transmission within families revealed by molecular typing. J Clin Microbiol. 2000 Oct;38(10):3646-51.
- Sorokin V, Pisanov R, Golubkina E, Bereznyak E, Prozorova L. Comparative Multiple-Locus Variable-Number Tandem Repeat Analysis of *Helicobacter pylori* Isolates from South of Russia. International Journal of Microbiology and Biotechnology. 2017;2(3):135-8. DOI: 10.11648/j.ijmb.20170203.15
- Sorokin VM, Pisanov RV, Vodop'janov AS. Improvement of Multiple-Locus VNTR Analysis Typing Scheme for *Helicobacter pylori*. Asian Journal of Biochemistry, Genetics and Molecular Biology. 2018;1-7. DOI: 10.9734/AJBGM/2018/v1i430045
- Falush D, Wirth T, Linz B, Pritchard JK, Stephens M, Kidd M, et al. Traces of human migrations in *Helicobacter pylori* populations. Science. 2003 Mar 7; 299(5612):1582-5. DOI: 10.1126/science.1080857
- Liu F, Hu Y, Wang Qi, et al. Comparative genomic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates. BMC Genomics. 2014 Jun 13;15(1):469. DOI: 10.1186/1471-2164-15-469
- Larsson P, Svensson K, Karlsson L. Canonical Insertion-Deletion markers for rapid DNA typing of *Francisella tularensis*. Emerging Infectious Diseases. 2007 Nov; 13(11):1725-32. DOI: 10.3201/eid1311.070603
- Li K, Gu W, Liang J, et al. Gene polymorphism analysis of *Yersinia enterocolitica* outer membrane protein A and putative outer membrane protein A family protein. BMC Genomics. 2014 Mar 16;15(1):201. DOI: 10.1186/1471-2164-15-201
- Водопьянов АС, Водопьянов СО, Олейников ИП, Мишанькин БН. INDEL-типирование штаммов *Vibrio cholerae*. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2017;22(4):195-200. DOI: 10.18821/1560-9529-2017-22-4-195-200
- Bankevich A, Nurk S, Antipov D, Gurevich A, Dvorkin M, Kulikov AS, et al. SPAdes: A New Genome Assembly Algorithm and Its Applications to Single-Cell Sequencing. Journal of Computational Biology. 2012;19(5):455-477.
- Simpson EH. Measurement of diversity. Nature (London). 1949;163(4148):668.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance,

- and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution*. 2011 Oct; 28(10):2731-9. DOI: 10.1093/molbev/msr121
25. Kawai M, Furuta Y, Yahara K, et al. Evolution in an oncogenic bacterial species with extreme genome plasticity: *Helicobacter pylori* East Asian genomes. *BMC Microbiology*. 2011 May 16;11:104. DOI: 10.1186/1471-2180-11-104
 26. O'Sullivan MV, Sintchenko V, Gilbert GL. Software for selecting the most informative sets of genomic loci for multi-target microbial typing. *BMC Bioinformatics*. 2013 May 1;14:148. DOI: 10.1186/1471-2105-14-148
 27. Wilkinson DA, O'Donnell AJ, Akhter RN, Fayaz A, Mack HJ, Rogers LE, et al. Updating the genomic taxonomy and epidemiology of *Campylobacter hyointestinalis*. *Sci Rep*. 2018 Feb 5;8(1):2393. DOI: 10.1038/s41598-018-20889-x
 28. Blouin Y, Hauck Y, Soler C, Fabre M, Vong R, et al. Significance of the Identification in the Horn of Africa of an Exceptionally Deep Branching *Mycobacterium tuberculosis* Clade. *PLoS ONE*. 2012;7(12):e52841. DOI: 10.1371/journal.pone.0052841
 29. Boujema S, Allaya AB, Mlik B, Mardassi H, Mardassi BBA. Phylogenetics of *Mycoplasma hominis* clinical strains associated with gynecological infections or infertility as disclosed by an expanded multilocus sequence typing scheme. *Sci Rep*. 2018 Oct 5;8(1):14854. DOI: 10.1038/s41598-018-33260-x
 30. Megraud F, Lehours P, Vale FF. The history of *Helicobacter pylori*: from phylogeography to paleomicrobiology. *Clinical Microbiology and Infection*. 2016 Nov; 22(11):922-927. DOI: 10.1016/j.cmi.2016.07.013
 31. Vale FF, Vadivelu J, Oleastro M, Breurec S, Engstrand L, Perets TT, et al. Dormant phages of *Helicobacter pylori* reveal distinct populations in Europe. 2015 Sep 21; 5:14333. DOI: 10.1038/srep14333
 32. Avasthi, Tiruvayipati Suma, Singamaneni Haritha Devi, Todd D. Taylor, Narender Kumar, Ramani Baddam, et al. Genomes of two chronological isolates (*Helicobacter pylori* 2017 and 2018) of the West African *Helicobacter pylori* strain 908 obtained from a single patient. *J Bacteriol*. 2011 Jul;193(13):3385-6. DOI: 10.1128/JB.05006-11
 33. Tsang AK, Lee HH, Yiu SM, Lau SK, Woo PC. Failure of phylogeny inferred from multilocus sequence typing to represent bacterial phylogeny. 2017 Jul 3;7(1):4536. DOI: 10.1038/s41598-017-04707-4
 34. Hooi JK, Lai WY, Ng WK, Suen MM, Underwood FE, Tanyingoh D, et al. Global prevalence of *Helicobacter pylori* infection: systematic review and meta-analysis. *Gastroenterology*. 2017 Aug;153(2):420-429. DOI: 10.1053/j.gastro.2017.04.022
 9. Wang G, Humayun MZ, Taylor DE. Mutation as an origin of genetic variability in *Helicobacter pylori*. *Trends Microbiol* 1999;7:488-93. DOI: 10.1016/s0966-842x(99)01632-7
 10. Suerbaum S, Smith JM, Bapumia K, Morelli G, Smith NH, Kunstmann E, et al. Free recombination within *Helicobacter pylori*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95: 12619-24. DOI: 10.1073/pnas.95.21.12619
 11. Achtman M, Azuma T, Berg DE, Ito Y, Morelli G, Pan ZJ, et al. Recombination and clonal groupings within *Helicobacter pylori* from different geographical regions. *Mol Microbiol*. 1999 May;32(3):459-70. DOI: 10.1046/j.1365-2958.1999.01382.x
 12. Guo C, Liao Y, Li Y, Duan J, Guo Y, Wu Y, et al. Genotyping analysis of *Helicobacter pylori* using multiplelocus variable-number tandem-repeats analysis in five regions of China and Japan. 2011 Sep 3;11:197. DOI: 10.1186/1471-2180-11-197
 13. Kang J, Blaser MJ. Bacterial populations as perfect gases: genomic integrity and diversification tensions in *Helicobacter pylori*. *Nat Rev Microbiol*. 2006 Nov; 4(11):826-36. DOI: 10.1038/nrmicro1528
 14. Han SR, Zschausch HC, Meyer HG, Schneider T, Loos M, Bhakdi S, Maeurer MJ. *Helicobacter pylori*: clonal population structure and restricted transmission within families revealed by molecular typing. *J Clin Microbiol*. 2000 Oct;38(10):3646-51.
 15. Sorokin V, Pisanov R, Golubkina E, Bereznyak E, Prozorova L. Comparative Multiple-Locus Variable-Number Tandem Repeat Analysis of *Helicobacter Pylori* Isolates from South of Russia. *International Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2017;2(3):135-8. DOI: 10.11648/j.ijmb.20170203.15
 16. Sorokin VM, Pisanov RV, Vodop'janov AS. Improvement of Multiple-Locus VNTR Analysis Typing Scheme for *Helicobacter pylori*. *Asian Journal of Biochemistry, Genetics and Molecular Biology*. 2018:1-7. DOI: 10.9734/AJBGMB/2018/v1i430045
 17. Falush D, Wirth T, Linz B, Pritchard JK, Stephens M, Kidd M, et al. Traces of human migrations in *Helicobacter pylori* populations. *Science*. 2003 Mar 7; 299(5612):1582-5. DOI: 10.1126/science.1080857
 18. Liu F, Hu Y, Wang Qi, et al. Comparative genomic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates. *BMC Genomics*. 2014 Jun 13;15(1):469. DOI: 10.1186/1471-2164-15-469
 19. Larsson P, Svensson K, Karlsson L. Canonical Insertion-Deletion markers for rapid DNA typing of *Francisella tularensis*. *Emerging Infectious Diseases*. 2007 Nov; 13(11):1725-32. DOI: 10.3201/eid1311.070603
 20. Li K, Gu W, Liang J, et al. Gene polymorphism analysis of *Yersinia enterocolitica* outer membrane protein A and putative outer membrane protein A family protein. *BMC Genomics*. 2014 Mar 16;15(1):201. DOI: 10.1186/1471-2164-15-201
 21. Vodopyanov AS, Vodopyanov SO, Oleinikov IP, Mishankin BN. INDEL-genotyping of *Vibrio cholerae* strains. *Epidemiology and Infectious Diseases (Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni)*. 2017;22(4):195-200. DOI: 10.18821/1560-9529-2017-22-4-195-200
 22. Bankevich A, Nurk S, Antipov D, Gurevich A, Dvorkin M, Kulikov AS, et al. SPAdes: A New Genome Assembly Algorithm and Its Applications to Single-Cell Sequencing. *Journal of Computational Biology*. 2012;19(5):455-477.
 23. Simpson EH. Measurement of diversity. *Nature (London)*. 1949;163(4148):668.
 24. Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution*. 2011 Oct; 28(10):2731-9. DOI: 10.1093/molbev/msr121
 25. Kawai M, Furuta Y, Yahara K, et al. Evolution in an oncogenic bacterial species with extreme genome plasticity: *Helicobacter pylori* East Asian genomes. *BMC Microbiology*. 2011 May 16;11:104. DOI: 10.1186/1471-2180-11-104
 26. O'Sullivan MV, Sintchenko V, Gilbert GL. Software for selecting the most informative sets of genomic loci for multi-target microbial typing. *BMC Bioinformatics*. 2013 May 1;14:148. DOI: 10.1186/1471-2105-14-148
 27. Wilkinson DA, O'Donnell AJ, Akhter RN, Fayaz A, Mack HJ, Rogers LE, et al. Updating the genomic taxonomy and epidemiology of *Campylobacter hyointestinalis*. *Sci Rep*. 2018 Feb 5;8(1):2393. DOI: 10.1038/s41598-018-20889-x

References

28. Blouin Y, Hauck Y, Soler C, Fabre M, Vong R, et al. Significance of the Identification in the Horn of Africa of an Exceptionally Deep Branching *Mycobacterium tuberculosis* Clade. PLoS ONE. 2012;7(12):e52841. DOI: 10.1371/journal.pone.0052841
29. Boujema S, Allaya AB, Mlik B, Mardassi H, Mardassi BBA. Phylogenetics of *Mycoplasma hominis* clinical strains associated with gynecological infections or infertility as disclosed by an expanded multilocus sequence typing scheme. Sci Rep. 2018 Oct 5;8(1):14854. DOI: 10.1038/s41598-018-33260-x
30. Megraud F, Lehours P, Vale FF. The history of *Helicobacter pylori*: from phylogeography to paleomicrobiology. Clinical Microbiology and Infection. 2016 Nov; 22(11):922-927. DOI: 10.1016/j.cmi.2016.07.013
31. Vale FF, Vadivelu J, Oleastro M, Breurec S, Engstrand L, Perets TT, et al. Dormant phages of *Helicobacter pylori* reveal distinct populations in Europe. 2015 Sep 21; 5:14333. DOI: 10.1038/srep14333
32. Avasthi, Tiruvayipati Suma, Singamaneni Haritha Devi, Todd D. Taylor, Narender Kumar, Ramani Baddam, et al. Genomes of two chronological isolates (*Helicobacter pylori* 2017 and 2018) of the West African *Helicobacter pylori* strain 908 obtained from a single patient. J Bacteriol. 2011 Jul;193(13):3385-6. DOI: 10.1128/JB.05006-11
33. Tsang AK, Lee HH, Yiu SM, Lau SK, Woo PC. Failure of phylogeny inferred from multilocus sequence typing to represent bacterial phylogeny. 2017 Jul 3;7(1):4536. DOI: 10.1038/s41598-017-04707-4
34. Hooi JK, Lai WY, Ng WK, Suen MM, Underwood FE, Tanyingoh D, et al. Global prevalence of *Helicobacter pylori* infection: systematic review and meta-analysis. Gastroenterology. 2017 Aug;153(2):420-429. DOI: 10.1053/j.gastro.2017.04.022

Информация об авторах:

Водопьянов Алексей Сергеевич, кандидат медицинских наук, заведующий группой вирусологии ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
Адрес: 344000, Ростов-на-Дону, ул. Максима Горького, 117/40
Телефон: (863) 240-2266

Писанов Руслан Вячеславович, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией диагностики особо опасных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
Адрес: 344000, Ростов-на-Дону, ул. Максима Горького, 117/40
Телефон: (863) 240-9113

Information about authors:

Alexey S. Vodop'janov, MD, PhD, head of the virology group, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute of Rosпотребнадзор
Address: 117/40 Maksim Gor'ky str., Rostov-on-Don, 344000, Russian Federation
Phone: (863) 240-2266

Ruslan V. Pisanov, PhD (Biology), head of laboratory for diagnosis of especially hazardous infections, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute of Rosпотребнадзор
Address: 117/40 Maksim Gor'ky str., Rostov-on-Don, 344000, Russian Federation
Phone: (863) 240-9113

НОВОСТИ НАУКИ**Кишечная флора поможет создать универсальную донорскую кровь**

Донорская кровь требуется постоянно: и для экстренных оперативных вмешательств, и для плановых переливаний. Но переливать можно только совместимую кровь, и ученые работают над созданием универсальной донорской крови с помощью ферментов кишечных бактерий человека.

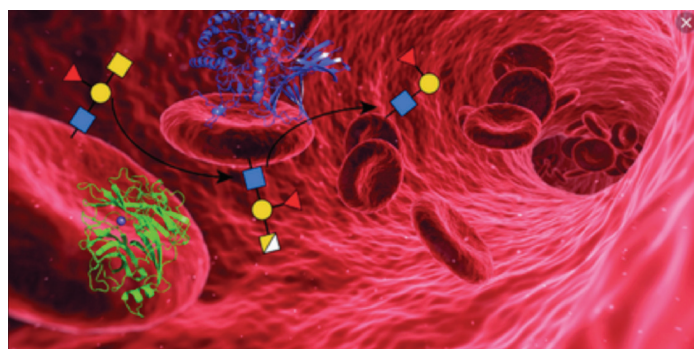
Совместимость крови зависит от особых молекул (антигенов – гликопротеинов или гликолипидов), которые находятся на поверхности красных кровяных клеток – эритроцитов.

Если человеку перелить кровь несовместимой группы, то произойдет опасная для жизни иммунная реакция и эритроциты слипнутся. Но нельзя ли создать универсальную кровь, искусственно «срезав» с эритроцитов «ненужные» молекулы?

Ученые из Университета Британской Колумбии (Канада) обнаружили, что некоторые из кишечных бактерий человека производят ферменты, которые расщепляют *муцины*, входящие в состав слизи, покрывающей стенку кишечника. Структура этих соединений похожа на антигены эритроцитов. Исследователи выделили из образцов фекалий бактериальную ДНК и провели поиск генов, кодирующих белки, способные расщеплять антигены, определяющие II группу крови. Ученые начали с антигенов А потому, что эта группа крови встречается чаще, чем с антигеном В.

Поиски были долгими, но в конце концов ученые обнаружили, что для такой работы необходимы сразу два фермента, которые производит бактерия *Flavonifractor plautii*. Добавление совсем небольшого количества этих белков в кровь превращает II группу крови в «универсальную» I группу.

В дальнейшем планируются аналогичные работы по преобразованию эритроцитов, несущих антигены В. И конечно, нужно еще убедиться в полной безопасности этой эффективной и экономически выгодной технологии.



Rahfeld P, Sim L, Moon H, et al.

An enzymatic pathway in the human gut microbiome that converts A to universal O type blood. Nat Microbiol. 2019;4:1475-85. DOI: 10.1038/s41564-019-0469-7