

Научная статья
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-53>



***Moraxella osloensis* в микробиоте репродуктивного тракта при бесплодии: случайные находки или маркеры патологии?**

Годовалов А.П.[✉], Карпунина Н.С., Карпунина Т.И.

Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера, Пермь, Россия

Аннотация

Цель работы — анализ возможной роли *Moraxella osloensis* в микробиоте генитального тракта мужчин и женщин при бесплодии.

Материалы и методы. Проведено исследование образцов содержимого уретры мужчин и отделяемого заднего свода влагалища женщин репродуктивного возраста, состоящих в бесплодном браке. Культуральное исследование осуществляли с использованием селективных питательных сред с последующей идентификацией культур по биохимическим свойствам. Метагеномное исследование 16S рибосомальной РНК образцов осуществлено на платформе «Illumina MiSeq».

Результаты. При метагеномном исследовании содержимого генитального тракта мужчин и женщин, состоящих в бесплодном браке, а также пациентов с диагнозом «острая генитальная гонококковая инфекция» в 100% образцов, зачастую в значительном количестве, зарегистрированы фрагменты генома *Moraxella spp.*, среди которых *M. osloensis* занимали лидирующие позиции. У женщин доля *M. osloensis* была в 2 раза больше, чем у мужчин ($25,3 \pm 9,0$ и $11,7 \pm 9,3\%$ соответственно). Показана высокая частота встречаемости ассоциаций *M. osloensis* с другими оппортунистическими патогенами, в частности *G. vaginalis* и *E. faecalis*. Представляется, что *M. osloensis* могут способствовать развитию и поддерживают бессимптомный воспалительный процесс. Более того, постоянное присутствие моракселл в микробиоте при гонококковой инфекции может указывать и на их определенную патогенетическую активность, и на синергичный характер взаимоотношений между *M. osloensis* и *N. gonorrhoeae*.

Заключение. Можно полагать, что именно *M. osloensis* формируют консорциумы, обуславливающие патосимбиоз в репродуктивных органах. Снижение фертильности на фоне асимптомного хронического воспаления при устойчиво сложившемся симбиозе, включающем моракселлы, предлагается рассматривать как индикаторное состояние для этой патологии, а *M. osloensis* — как её маркер.

Ключевые слова: исследование микробиома, 16S РНК секвенирование, *M. osloensis*, патосимбиоз, бесплодие, маркер

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Администрации Пермского края в рамках научного проекта 17-44-590404 p_a.

Для цитирования: Годовалов А.П., Карпунина Н.С., Карпунина Т.И. *Moraxella osloensis* в микробиоте репродуктивного тракта при бесплодии: случайные находки или маркеры патологии? *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2021; 98(1): 28–35.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-53>

Original article
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-53>

***Moraxella osloensis* as a part of genital tract microbiota in infertility: incidental findings or pathology markers?**

Anatoliy P. Godovalov[✉], Natalia S. Karpunina, Tamara I. Karpunina

E.A. Vagner Perm State Medical University, Perm, Russia

Abstract

Aim. To assess the potential role of *M. osloensis* in genital microbiota of infertile males and females..

Materials and methods. Samples from men's urethra and women's posterior vaginal fornix in barren couples of the reproductive age were examined. Cultivation was carried out using elective culture media with subsequent

identification of strains by biochemical properties. A metagenomic study of 16S ribosomal RNA samples was performed on the Illumina MiSeq platform using the MiSeq Reagent Kits v3 kit (600-Cycle Kit).

Results. Metagenomic study of samples from genital tracts of barren married couples, as well as from patients with suspected «acute genital gonococcal infection» demonstrated that all samples (100%) contained fragments of the *Moraxella* spp. genome, mostly in a huge amount, among which *M. osloensis* occupied leading positions. In women, the proportion of *M. osloensis* was twice as large as in men (25.3 ± 9.0 and $11.7 \pm 9.3\%$, respectively). A high frequency of association of *M. osloensis* with other opportunistic pathogens, *G. vaginalis* and *E. faecalis* in particular, was established. It appears that *M. osloensis* can contribute to development of asymptomatic inflammatory process. Moreover, the constant presence of moraxellas in the microbiota during gonococcal infection may indicate their certain pathogenetic activity, and the synergistic nature of the relationship between *M. osloensis* and *N. gonorrhoeae*.

Conclusion. We assume that it is *M. osloensis* that forms the consortia determining pathosymbiocenosis in the reproductive organs. In this context, we propose to consider a decrease in fertility with a steadily established symbiocenosis, including moraxella, as an indicative condition for this pathology, and *M. osloensis* as its marker.

Keywords: microbiome investigation, 16S RNA sequencing, *M. osloensis*, pathosymbiocenosis, infertility, marker

Funding. This research was supported by RFBR grant 17-44-590404 p_a and Administration of Perm region.

For citation: Godovalov A.P., Karpunina N.S., Karpunina T.I. *Moraxella osloensis* as a part of genital tract microbiota in infertility: incidental findings or pathology markers? *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2021;98(1):28–35.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-53>

Введение

Проблемой, которая в настоящее время подвергается всестороннему изучению, является влияние вагинальной микробиоты (ВМБ) на состояние здоровья женщин и их новорождённых [1]. Развитие представлений о состоянии вагинального биотопа женщин репродуктивного возраста неразрывно связано с историей изучения нормальной микрофлоры влагалища. В 1892 г. А. Додерлейн впервые описал бактерии, преобладавшие в нормоценозе, которые впоследствии назвали палочками Додерлейна, а в настоящее время объединяют под общим названием *Lactobacillus* spp. Дальнейшие исследования доказали, что нормальная флора весьма разнообразна и изменчива. Её состав зависит от множества факторов: возраста женщины, фазы менструального цикла, сексуальной активности, наличия беременности и др. Однако признаком здоровья по сей день считается преобладание в микробном пейзаже влагалища лактобацилл (до 95%). Здоровые женщины в основном колонизированы *L. crispatus*, *L. jensenii* и *L. iners*; однако и другие бактерии могут быть элементами ВМБ [2].

Параллельно с изучением нормальной микрофлоры исследовали и микробиоту женщин с патологическими выделениями. До недавнего прошлого все заболевания, не обусловленные гонококками, трихомонадами и кандидами, назывались «неспецифический вагинит/кольпит». Первое классическое клинико-эпидемиологическое исследование, с которым официально связано начало изучения бактериальных вагинозов, было проведено Н.Л. Gardner и соавт. в 1954 г. [3]. Авторы выделили новую бактерию из половых путей женщин, подтвердив её этиологическую значимость в развитии «неспецифических кольпитов» и возможность полового пути передачи. Лишь в 1980 г., ис-

пользуя метод ДНК-РНК-гибридизации, установили её принадлежность к совершенно новому роду *Gardnerella*, названному в честь Н.Л. Gardner. Соответственно, заболевание стали называть гарднереллезом. В 1982 г. Р.А. Totten и соавт. [4] доказали, что *G. vaginalis* всегда обнаруживаются у больных, но они встречаются также у 5–40% клинически здоровых женщин. Другими словами, гарднереллы не являются единственной причиной заболевания, более того, ведущая роль принадлежит консорциуму анаэробных бактерий.

В 1984 г. в Стокгольме по предложению научной группы К. Holmes было принято современное название болезни — бактериальный вагиноз (БВ) — как наиболее точно характеризующее патологию. Оказалось, что обсеменённость влагалища при БВ на несколько порядков выше, чем у здоровых женщин: 10^{10} – 10^{11} против 10^6 – 10^7 КОЕ/мл. При этом резко изменяется соотношение аэробной и анаэробной флоры в сторону увеличения последней и существенно меняется качественный состав микроорганизмов, прежде всего за счёт значительного уменьшения количества лактобацилл (до уровня менее 30% от исходного), их видового спектра и функциональной активности, сопровождающегося активизацией роста разнообразных условно-патогенных видов. Наряду с этим расширяется и перечень таксонов, ассоциированных с БВ. В их числе *Atopobium vaginae*, *Mobiluncus* spp., *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp. и другие анаэробные бактерии [5]. Термин «вагиноз» подчеркивает отсутствие воспалительной реакции со стороны слизистой влагалища, несмотря на обильные выделения с неприятным запахом, что подтверждается низким содержанием нейтрофильных лейкоцитов в вагинальном содержимом.

БВ — исключительно женское заболевание, между тем и у мужчин детектируются микроорга-

низмы, заселяющие влагалище женщин в подобных случаях. Поскольку никакие клинические симптомы при этом у них обычно не возникают, принято считать, что мужчины выступают лишь носителями инфекции и своего рода ее распространителями среди женщин. Появляются публикации, указывающие на влияние классических возбудителей БВ на сперму и семенную жидкость — два основных компонента, связанных с мужской фертильностью [6]. Однако при бактериологическом исследовании такие признанные ассоцианты микробиоты женщин при БВ, как *G. vaginalis* и *A. vaginae*, крайне редко детектируются в эякуляте мужчин. В подобных случаях диагностику провести удается лишь с помощью высокоточных лабораторных методов, а интерпретация полученных при этом результатов весьма сложна.

Внедрение не зависящих от культуры молекулярных методов предоставило новую информацию о бактериальном разнообразии в ВМБ, выявив большое количество привередливых и/или некультивируемых видов бактерий. Эти молекулярные исследования сформировали новый взгляд на роль состава бактериальных сообществ. Стало ясно, что их пейзаж гораздо сложнее, чем ранее признавалось, а в ВМБ в дополнение к уже идентифицированным видам обнаруживаются многие до сих пор неизвестные бактериальные таксоны [7, 8].

В литературе последних лет, характеризующей ВМБ на основе применения различных технологий микробиологического анализа, в том числе при БВ [9, 10], мы лишь однажды встретили указание на более или менее значимое представительство бактерий семейства *Moraxellaceae* [11]. Впервые описанные V. Могах [12], эти бактерии проявляли высокую степень тропизма к тканям глаза и сегодня относятся к ведущим этиопатогенам кератита, конъюнктивита и эндофтальмита [13]. Об их встречаемости и роли в генитальном тракте свидетельствуют немногочисленные публикации прошлых лет [14–18].

Наш опыт молекулярно-генетического исследования микрофлоры генитального тракта мужчин и женщин, состоящих в бесплодном браке, заставлял обращать внимание на присутствие генетических маркеров *Moraxella* spp., к тому же представителей этого рода мы всегда обнаруживали и в материале больных с предположительным диагнозом «острая генитальная гонококковая инфекция» (ОГГИ).

Цель исследования — оценить возможную диагностическую и прогностическую роль *Moraxella* spp., детектируемых в генитальном тракте пациентов, состоящих в бесплодном браке.

Материалы и методы

Для исследования использовали образцы вагинального содержимого, полученного из заднего свода влагалища с помощью мерной ложки Фолькмана

от 15 женщин, и пробы эякулята от 15 мужчин — их половых партнеров — при бесплодном браке, а также пробы отделяемого генитального тракта 12 пациентов с подозрением на ОГГИ.

Метагеномное исследование 16S рибосомальной РНК образцов осуществлено на платформе «Illumina MiSeq» с использованием набора «MiSeq Reagent Kits v3» («600-Cycle Kit») согласно рекомендациям производителя. Библиотеки для секвенирования участков V3–V4 гена 16S РНК были приготовлены согласно 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation Illumina. При биоинформационной оценке применяли программное обеспечение для метагеномного анализа «Kraken Metagenomics v.2.0.0» (классификатор ридов — коротких нуклеотидных последовательностей), используя стандартную базу данных [19].

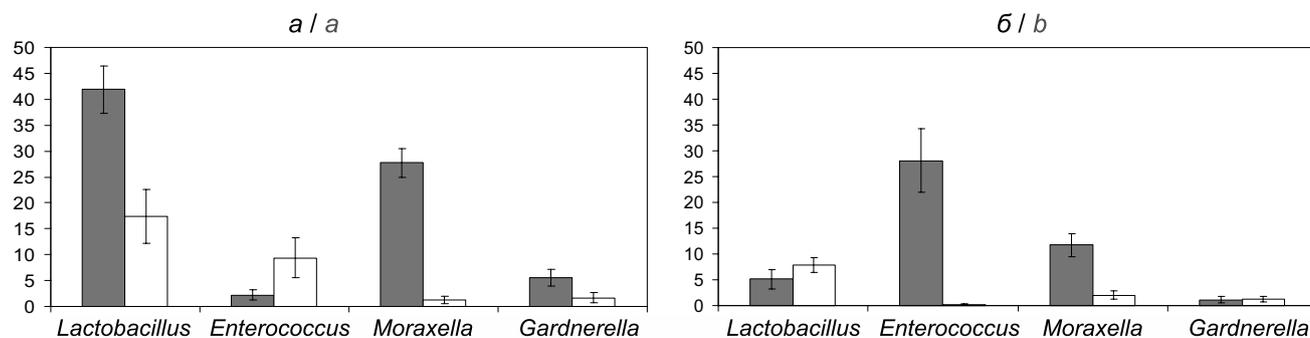
Для культурального метода применяли кровяной агар, среды Эндо и Сабуро, МРС, а также агар Мартена, изучали тинкториальные, культуральные и биохимические свойства выделенных штаммов.

Показатели количественных характеристик представлены как $M \pm \sigma$.

Результаты

При биоинформационной оценке полученных данных установлено высокое содержание фрагментов бактериальных геномов в образцах. Для вагинального биотопа — $83,9 \pm 16,1\%$, а для эякулята — $72,0 \pm 28,6\%$ от общего генетического материала в пробе.

Во влагалищной жидкости субфертильных женщин при метагеномном анализе доля бактерий семейства *Lactobacillaceae* составляла 12–84% ($41,9 \pm 17,99$; рисунок, а). В половине случаев содержание геномвариантов этого семейства не превышало 30% общей бактериальной массы, что характерно для БВ. Ведущее положение среди представителей семейства занимал род *Lactobacillus* с доминированием *L. jensenii*, *L. delbrueckii* и *L. amylolyticus*, однако генетические маркеры *L. crispatus* — индикатора нормоценоза — не выявлены, что также настораживает в плане дисбиотического состояния во влагалище обследованных. Генетический материал *L. iners* — бактерии скорее с негативной репутацией — практически не детектирован. В то же время удельное содержание анаэробных бактерий — типичных ассоциантов БВ: *Actinomyces* spp., *Peptoniphilus* spp., *Prevotella* spp., *Bacteroides* spp., *Fusobacterium* spp. и *Mobiluncus curtisii* — оказалось минимальным. *Enterococcus faecalis* детектированы во всех пробах, однако их удельный вес превышал 1% совокупного генетического материала лишь в трети случаев (рисунок, а). Доля микроорганизмов семейства *Staphylococcaceae* только в одном образце составила 0,5%, в остальных обнаруживали следовые количества, при этом преобладали гено-



Структура микрофлоры (показаны лидирующие таксоны) вагинального биотопа (а) и эякулята (б) при бесплодном браке (серые столбики) и ОГГИ (белые столбики).

The structure of microflora (leading taxa are shown) of the vaginal biotope (a) and ejaculate (b) in infertile marriage (gray bars) and acute genital gonococcal infection (white bars).

моварианты из рода *Staphylococcus*. Аналогично скудное представительство характерно и для семейства *Enterobacteriaceae*. Только в 2 случаях энтеробактерии в общей микробной массе составили 0,8%, хотя во всех пробах обнаружены фрагменты геномов *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. и комплекса *Enterobacter cloacae*.

В эякуляте мужчин — половых партнеров обследованных женщин во всех образцах детектировали *Enterococcus faecalis* — $28,1 \pm 23,6\%$ от общего количества генетического материала (рисунок, б). Кроме того, у всех мужчин обнаружены фрагменты генома представителей рода *Lactobacillus* и семейства *Enterobacteriaceae*, однако их более или менее значимое содержание ($\leq 5\%$) отмечали лишь в 1–2 образцах из 5. Удельный вес генетического материала бактерий — представителей родов *Prevotella*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Morganella*, *Corynebacterium* и *Staphylococcus*, которые встречались с заметным постоянством, был еще менее значительным.

Неожиданной находкой стало обнаружение во всех исследованных образцах в большом количестве генетических маркеров *Moraxella* spp. (рисунок), среди которых *M. osloensis* занимали лидирующие позиции. У женщин доля генетического материала *M. osloensis* оказалась в 2 раза больше, чем у мужчин ($25,3 \pm 9,0$ и $11,7 \pm 9,3\%$ соответственно).

Для вагинального биотопа субфертильных женщин установлено, что у половины из них *M. osloensis* присутствовали одновременно с *G. vaginalis*, при этом первый симбионт преобладал, а доля гарднерелл составляла порядка 10% общей бактериальной массы. В трети таких случаев присутствовали *E. faecalis* (8–15%). Кроме этого, *M. osloensis* чаще обнаруживали в пробах, когда среди лактобактерий лидировали представители *L. jensenii*. В 1 случае 20% генетического материала представлял геном *Bifidobacterium longum* в сочетании с *M. osloensis* (19%).

В эякуляте субфертильных мужчин детектирована устойчивая ассоциация *E. faecalis* и *M. osloensis*.

В трети проб доминирующее положение занимали *M. osloensis*, а более чем в половине — *E. faecalis*.

При сравнении с пробами, полученными от мужчин и женщин с предположительным диагнозом ОГГИ, установлено, что генетический материал *M. osloensis* в них только в 1 случае достигал 7% от общего содержания, а в остальных — не превышал 1%. Если сравнить встречаемость и содержание *M. osloensis* и *N. gonorrhoeae* в микробиоте, то в половине случаев генетический материал моракселл преобладал над таковым гонококков, только в каждом третьем образце фрагменты генома *N. gonorrhoeae* регистрировали чаще, чем *M. osloensis*. В остальных образцах эти два вида имели равный удельный вес.

При использовании культурального метода представители рода *Moraxella* не были выделены ни в одной пробе. При посевах образцов зачастую регистрировали один вид микроорганизмов, реже ассоциации 2 бактерий и менее чем в десятой доле проб — совокупность 3 микроорганизмов. При молекулярно-генетическом исследовании обнаружен значительно более широкий видовой спектр в каждой пробе. Примечательно, что те виды, которые высевали при культивировании, детектированы и при метагеномном исследовании, но в минимальных количествах, и наоборот, что трудно объяснить.

Обсуждение

При обследовании супружеских пар, состоящих в бесплодном браке, а также пациентов с типичной клинической картиной ОГГИ — признанной патологии, зачастую приводящей к infertility, — при молекулярно-генетическом изучении патологического материала нами во всех случаях обнаружены представители рода *Moraxella*. Важно подчеркнуть, что при применении бактериоскопического и культурального методов такие находки были единичными при бесплодии и не регистрировались при гнойно-воспалительном процессе.

Неудачи микроскопического исследования, скорее всего, связаны с особенностями биотопа. По данным [13], при инфицировании глаза, например, моракселлы могут быть достаточно успешно детектированы при использовании только микроскопического метода, поскольку являются грамотрицательными диплобациллами и их легко отличить от других немногочисленных таксонов в слезной жидкости. При исследовании отделяемого генитального тракта, где фигурирует широкий спектр бактериальных морфотипов, внешне сходных с моракселлами, такой подход не информативен. Более того, *M. osloensis* отчасти может удерживать кристаллический фиолетовый, что еще более затрудняет диагностический процесс. Идентификация моракселл по фенотипическим признакам при бактериологическом анализе также затруднительна: для культивирования требуются длительная инкубация (более 48 ч) и сложные условия (6% CO₂, многокомпонентные дорогостоящие, а порой недостаточно качественные среды и др.), при этом первоначальные колонии точечные, редко достигают 2 мм в диаметре [13]. Причинами неудач культурального метода, скорее всего, следует считать и предшествующее антагонистическое действие ассоциантов в биотопе, и бактерицидное влияние компонентов секретов и т.п. В то же время самые информативные метагеномные исследования не дают оснований судить о жизнеспособности и характере взаимоотношений между детектируемыми микроорганизмами [20]. Более того, описаны трудности интерпретации результатов такого анализа, поскольку между видами, например, рода *Neisseria* существует значительное сходство, достигающее в отдельных случаях 98–99% [21].

Наш первый опыт, констатирующий детекцию фрагментов генома моракселл в 100% исследованных образцов, в силу минимального объема наблюдений не может претендовать на сколько-нибудь категорическую оценку этого феномена. Однако он дает повод рассматривать представителей рода *Moraxella*, в первую очередь *M. osloensis*, в качестве возможных маркёров патологических изменений в микробиоте генитального тракта, ассоциированных с нарушением фертильности.

Наряду с установленной нами частотой их встречаемости в подобных случаях, основанием для такого предположения служат, на наш взгляд, и результаты ряда исследований других авторов, характеризующие биологические особенности этих бактерий. Исследователи указывают на высокую степень устойчивости моракселл к окислительному стрессу, который можно наблюдать в репродуктивном тракте в результате активности лейкоцитов и/или лактобактерий. Моракселлы, обладающие каталазной активностью, способны в большей степени выдерживать такой стресс, чем каталазанегативные

виды [22], а каталазная активность *M. osloensis* превышает таковую у *E. coli* [23].

Moraxella spp. широко распространены в окружающей среде, что обусловлено их относительно высокой устойчивостью. *M. osloensis*, например, хорошо переносят высушивание и действие ультрафиолета, даже в большей степени, чем *E. coli* и *S. aureus*, что обусловлено содержащимися в клеточной мембране липидами и жирными кислотами [24, 25]. Можно предположить, что симбиоз с такими бактериями весьма полезен для других ассоциантов, в частности энтерококков и гарднерелл, поскольку они способны нейтрализовать антагонистическое действие представителей нормальной микрофлоры и эффекторов иммунной системы. В настоящее время *M. osloensis* относят к оппортунистическим патогенам, при том что их патогенный потенциал увеличивается при «старении» штаммов. Например, 60-часовые культуры оказались в несколько раз более вирулентными, чем 24-часовые, которые практически не оказывали повреждающего действия на тест-объекты [26].

Остается нерешенным вопрос о продукции токсина(ов), хотя логично предположить, что описанные выше эффекты могут быть связаны с тем, что через 60 ч инкубации культуры *M. osloensis* или существенно увеличивают продукцию, или накапливают токсин(ы). В целом для представителей рода описаны такие факторы патогенности, как липополисахарид, фимбрии, выработка капсулоподобного вещества и гемагглютинина [26]. Наличие такого комплекса факторов патогенности в совокупности с медленным накоплением токсина(ов) позволяет предположить, что *M. osloensis* могут играть ключевую роль в поддержании патосимбиоза, особенно при хроническом воспалении.

Особый интерес в этой связи вызывает накопившаяся к настоящему времени информация о том, что долговременная колонизация органа определенными видами бактерий, вызывающими локальный генотоксический стресс, может стать причиной клеточной трансформации и в конечном счете привести к раку. Генотоксический стресс, в свою очередь, может быть следствием хронического воспаления, вызванного бактериями, накопления их метаболитов в тканях и органах. Установлено, что генотоксины приводят к увеличению повреждений ДНК и блокировке систем репарации [27]. Сведений о продукции подобных метаболитов *M. osloensis* в литературе мы не обнаружили, хотя считаем такую их способность вероятной.

Представляется, что *M. osloensis*, доминирующие в репродуктивном тракте субфертильных пациентов, способствуют развитию и поддерживают бессимптомный воспалительный процесс, а медленное накопление токсина может оказывать пролонгированное повреждающее действие на га-

меты. Более того, постоянное присутствие моракселл в микробиоте при ОГГИ может указывать и на их определенную патогенетическую активность, и на синергичный характер взаимоотношений между *M. osloensis* и *N. gonorrhoeae*.

В истории изучения вагинальной микробиоты есть примеры, когда трудно объяснимая встречаемость одного и того же микроорганизма в отсутствие симптоматики и при установленной патологии, в том числе при БВ, находила достаточно неожиданное объяснение. Так случилось, например, при детальном изучении представителей рода *Gardnerella*: факты позволяют предположить, что у здоровых женщин преобладают штаммы (или виды) гарднерелл с низкой вирулентностью, а за развитие заболевания, которое даже предлагается вновь называть гарднереллезом [28], отвечают высоковирулентные разновидности этих бактерий [29–32]. Авторы отмечают важную для развития полиэтиологического БВ особенность гарднерелл — их способность к симбиозу с другими условно-патогенными анаэробами, предоставляя последним комфортную среду обитания [33].

Аналогичные гипотезы возникают при анализе биологических особенностей и частоты встречаемости моракселл в микробиоте генитального тракта обследованных мужчин и женщин. Отсутствие информации о связи этих бактерий с БВ, как, впрочем, и о прямой причастности последнего к снижению фертильности, с одной стороны, и выявление типичных признаков этого дисбиотического состояния (существенное снижение доли лактобактерий, присутствие *G. vaginalis*) — с другой, представляется нам фактом интересным и требующим пристального дальнейшего изучения. Можно полагать, что именно *M. osloensis* в ассоциациях с другими оппортунистическими патогенами, в частности *G. vaginalis* и *E. faecalis*, формируют консорциумы, обуславливающие устойчивый патосимбиоз, встречающийся в репродуктивном тракте, в том числе при бесплодии. Поскольку с каждым годом увеличивается число случаев, когда детектируют хронические воспалительные процессы в репродуктивном тракте, отличающиеся отсутствием клинических симптомов, но в то же время существенным поражением и даже деструкцией клеток человека [34], снижение фертильности при устойчиво сложившемся симбиозе, включающем моракселлы, можно рассматривать как индикаторное состояние для этой патологии, а *M. osloensis* — как её маркер.

Заключение

При метагеномном исследовании отделяемого генитального тракта мужчин и женщин, состоящих в бесплодном браке, зарегистрирована высокая частота встречаемости и зачастую значительная доля генетического материала *Moraxella* spp., в первую очередь *M. osloensis*, детектируемых в ассоциации

с фрагментами генома *E. faecalis* и *G. vaginalis*. Наличие таких консорциумов в микробиоте репродуктивных органов указывает на возможную роль моракселл в поддержании патосимбиоза, обуславливающего бессимптомный хронический воспалительный процесс, приводящий, в частности, к снижению фертильности.

Данных об индуцируемых микробиотой генитального тракта генотоксических эффектах и мутагенезе, обусловленном и (или) модулируемом бактериями, в частности о способности моракселл к продукции генотоксинов, в доступной литературе мы не обнаружили. Однако исследования в этом направлении, в том числе при бесплодии, следует признать перспективными и целесообразными.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Kamińska D., Gajecka M. Is the role of human female reproductive tract microbiota underestimated? *Benef. Microbes*. 2017; 8(3): 327–43. <https://doi.org/10.3920/BM2015.0174>
2. Buchta V. Vaginal microbiome. *Ceska Gynekol. Winter*. 2018; 83(5): 371–9.
3. Gardner H.L., Dukes C.D. Haemophilus vaginalis vaginitis: a newly defined specific infection previously classified non-specific vaginitis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1955; 69(5): 962–76.
4. Piot P., Van Dyck E., Totten P.A., Holmes K.K. Identification of *Gardnerella (Haemophilus) vaginalis*. *J. Clin. Microbiol.* 1982; 15(1): 19–24. <https://doi.org/10.1128/jcm.15.1.19-24.1982>
5. Machado A., Cerca N. Influence of biofilm formation by *Gardnerella vaginalis* and other anaerobes on bacterial vaginosis. *J. Infect. Dis.* 2015; 212(12): 1856–61. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv338>
6. Damke E., Kurscheidt F.A., Irie M.M.T., Gimenes F., Consolaro M.E.L. Male partners of infertile couples with seminal positivity for markers of bacterial vaginosis have impaired fertility. *Am. J. Mens. Health.* 2018; 12(6): 2104–15. <https://doi.org/10.1177/1557988318794>
7. Ravel J., Gajer P., Abdo Z., Schneider G.M., Koenig S.S., McCulle S.L., et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2011; 108(Suppl. 1): 4680–7. <https://doi.org/10.1073/pnas.1002611107>
8. Martin D.H., Marrazzo J.M. The vaginal microbiome: current understanding and future directions. *J. Infect. Dis.* 2016; 214(Suppl. 1): S36–41. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw184>
9. Martin D.H., Zozaya M., Lillis R., Miller J., Ferris M.J. The microbiota of the human genitourinary tract: trying to see the forest through the trees. *Trans. Am. Clin. Climatol. Assoc.* 2012; 123: 242–56.
10. Hong X., Fang S., Huang K., Yin J., Chen J., Xuan Y., et al. Characteristics of the vaginal microbiome in cross-border female sex workers in China: a case-control study. *PeerJ*. 2019; 7: e8131. <https://doi.org/10.7717/peerj.8131>
11. Li F., Chen C., Wei W., Wang Z., Dai J., Hao L., et al. The metagenome of the female upper reproductive tract. *Giga-science*. 2018; 7(10): giy107. <http://doi.org/10.1093/gigascience/giy107>
12. Morax V. Note sur un diplobacille pathogène pour la conjunctivite humaine. *Ann. Inst. Pasteur*. 1896; 10: 337–45.
13. LaCroce S.J., Wilson M.N., Romanowski J.E., Newman J.D., Jhanji V., Shanks R.M.Q., et al. *Moraxella nonliquefaciens* and *M. osloensis* are important *Moraxella* species that cause ocular infections. *Microorganisms*. 2019; 7(6): 163. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7060163>
14. Henriksen S.D. *Moraxella*, *Acinetobacter*, and the *Mimeae*. *Bacteriol. Rev.* 1973; 37(4): 522–61.

15. Riley P.S., Hollis D.G., Weaver R.E. Characterization and differentiation of 59 strains of *Moraxella urethralis* from clinical specimens. *Appl. Microbiol.* 1974; 28(3): 355–8.
16. Abdolrasouli A., Amin A., Baharsefat M., Roushan A., Hemmati Y. *Moraxella catarrhalis* associated with acute urethritis imitating gonorrhoea acquired by oral-genital contact. *Int. J. STD AIDS.* 2007; 18(8): 579–80. <http://doi.org/10.1258/095646207781439775>
17. Gómez-Camarasa C., Fernández-Parra J., Navarro-Marí J.M., Gutiérrez-Fernández J. *Moraxella osloensis* emerging infection. Visiting to genital infection. *Rev. Esp. Quimioter.* 2018; 31(2): 178–81. (in Spanish)
18. Coker D.M., Griffiths L.R. *Moraxella urethritis* mimicking gonorrhoea. *Genitourin. Med.* 1991; 67(2): 173–4. <http://doi.org/10.1136/sti.67.2.173-a>
19. Богун А.Г., Кисличкина А.А., Галкина Е.В., Майская Н.В., Соломенцев В.И., Мухина Т.Н. и др. Использование современных методов идентификации бактерий в деятельности государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур (ГКПМ-Оболенск). *Инфекция и иммунитет.* 2016; 6(3): 8.
20. Shaffer M., Armstrong A.J.S., Phelan V.V., Reisdorph N., Lopez C.A. Microbiome and metabolome data integration provides insight into health and disease. *Transl. Res.* 2017; 189: 51–64. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2017.07.001>
21. Кубанов А.А., Барышков К.В., Честков А.В., Шаскольский Б.Л., Грудянов Д.А., Дерябин Д.Г. Генотипическое разнообразие популяции *Neisseria gonorrhoeae* в Архангельске (Россия): механизмы формирования и связь с устойчивостью к антимикробным препаратам. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* 2018; 36(3): 43–8. <http://doi.org/10.17116/molgen20183603143>
22. Di Capua C., Bortolotti A., Farias M.E., Cortez N. UV-resistant *Acinetobacter* sp. isolates from Andean wetlands display high catalase activity. *FEMS Microbiol. Lett.* 2011; 317(2): 181–9. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2011.02231.x>
23. Kubota H., Mitani A., Niwano Y., Takeuchi K., Tanaka A., Yamaguchi N., et al. *Moraxella* species are primarily responsible for generating malodor in laundry. *Appl. Environ. Microbiol.* 2012; 78(9): 3317–24. <https://doi.org/10.1128/aem.07816-11>
24. Beney L., Gervais P. Influence of the fluidity of the membrane on the response of microorganisms to environmental stresses. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2001; 57(1-2): 34–42. <https://doi.org/10.1007/s002530100754>
25. Sugimoto C., Miyagawa E., Nakazawa M., Mitani K., Ishizawa Y. Cellular fatty acid composition comparisons of *Haemophilus equigenitalis* and *Moraxella* species. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1983; 33(2): 181–7. <https://doi.org/10.1099/00207713-33-2-181>
26. Tan L., Grewal P.S. Endotoxin activity of *Moraxella osloensis* against the grey garden slug, *Deroceras reticulatum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2002; 68(8): 3943–7. <http://doi.org/10.1128/aem.68.8.3943-3947.2002>
27. Баранова Е.Д., Дружинин В.Г. Состав бактериальной микрофлоры человека: генотоксические и канцерогенные эффекты, ассоциированные с его изменениями в различных органах. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* 2019; 37(2): 58–63. <https://doi.org/10.17116/molgen20193702158>
28. Cerca N., Vanechoutte M., Guschin A., Swidsinski A. Polymicrobial infections and biofilms in women's health: Gahro Expert Group Meeting Report. *Res. Microbiol.* 2017; 168(9-10): 902–4. <http://doi.org/10.1016/j.resmic.2017.07.002>
29. Khan S., Voordouw M.J., Hill J.E. Competition among *Gardnerella* subgroups from the human vaginal microbiome. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2019; 9: 374. <http://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00374>
30. Hill J.E., Albert A.Y.K., VOGUE Research Group. Resolution and cooccurrence patterns of *Gardnerella leopoldii*, *G. swidsinskii*, *G. piotii*, and *G. vaginalis* within the vaginal microbiome. *Infect. Immun.* 2019; 87(12): e00532-19. <http://doi.org/10.1128/IAI.00532-19>
31. Castro J., Jefferson K.K., Cerca N. Genetic heterogeneity and taxonomic diversity among *Gardnerella* species. *Trends Microbiol.* 2020; 28(3): 202–11. <http://doi.org/10.1016/j.tim.2019.10.002>
32. Nisha K., Antony B., Udayalaxmi J. Comparative analysis of virulence factors & biotypes of *Gardnerella vaginalis* isolated from the genital tract of women with & without bacterial vaginosis. *Indian. J. Med. Res.* 2019; 149(1): 57–61. http://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_1674_16
33. Савичева А.М., Крысанова А.А., Лищук О.В. Единственная в своём роде? *StatusPraesens. Гинекология, акушерство, бесплодный брак.* 2019; (5): 32–40.
34. Belkaid Y., Hand T.W. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell.* 2014; 157(1): 121–41. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.03.011>

REFERENCES

1. Kamińska D., Gajecka M. Is the role of human female reproductive tract microbiota underestimated? *Benef. Microbes.* 2017; 8(3): 327–43. <https://doi.org/10.3920/BM2015.0174>
2. Buchta V. Vaginal microbiome. *Ceska Gynekol. Winter.* 2018; 83(5): 371–9.
3. Gardner H.L., Dukes C.D. *Haemophilus vaginalis* vaginitis: a newly defined specific infection previously classified non-specific vaginitis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1955; 69(5): 962–76.
4. Piot P., Van Dyck E., Totten P.A., Holmes K.K. Identification of *Gardnerella (Haemophilus) vaginalis*. *J. Clin. Microbiol.* 1982; 15(1): 19–24. <https://doi.org/10.1128/jcm.15.1.19-24.1982>
5. Machado A., Cerca N. Influence of biofilm formation by *Gardnerella vaginalis* and other anaerobes on bacterial vaginosis. *J. Infect. Dis.* 2015; 212(12): 1856–61. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv338>
6. Damke E., Kurscheidt F.A., Irie M.M.T., Gimenes F., Consolaro M.E.L. Male partners of infertile couples with seminal positivity for markers of bacterial vaginosis have impaired fertility. *Am. J. Mens. Health.* 2018; 12(6): 2104–15. <https://doi.org/10.1177/1557988318794>
7. Ravel J., Gajer P., Abdo Z., Schneider G.M., Koenig S.S., McCulle S.L., et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011; 108(Suppl. 1): 4680–7. <https://doi.org/10.1073/pnas.1002611107>
8. Martin D.H., Marrazzo J.M. The vaginal microbiome: current understanding and future directions. *J. Infect. Dis.* 2016; 214(Suppl. 1): S36–41. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw184>
9. Martin D.H., Zozaya M., Lillis R., Miller J., Ferris M.J. The microbiota of the human genitourinary tract: trying to see the forest through the trees. *Trans. Am. Clin. Climatol. Assoc.* 2012; 123: 242–56.
10. Hong X., Fang S., Huang K., Yin J., Chen J., Xuan Y., et al. Characteristics of the vaginal microbiome in cross-border female sex workers in China: a case-control study. *PeerJ.* 2019; 7: e8131. <https://doi.org/10.7717/peerj.8131>
11. Li F., Chen C., Wei W., Wang Z., Dai J., Hao L., et al. The metagenome of the female upper reproductive tract. *Gigascience.* 2018; 7(10): giy107. <http://doi.org/10.1093/gigascience/giy107>
12. Morax V. Note sur un diplobacille pathogène pour la conjunctivite humaine. *Ann. Inst. Pasteur.* 1896; 10: 337–45.
13. LaCroce S.J., Wilson M.N., Romanowski J.E., Newman J.D., Jhanji V., Shanks R.M.Q., et al. *Moraxella nonliquefaciens* and *M. osloensis* are important *Moraxella* species that cause ocular infections. *Microorganisms.* 2019; 7(6): 163. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7060163>

14. Henriksen S.D. *Moraxella*, *Acinetobacter*, and the *Mimeae*. *Bacteriol. Rev.* 1973; 37(4): 522–61.
15. Riley P.S., Hollis D.G., Weaver R.E. Characterization and differentiation of 59 strains of *Moraxella urethralis* from clinical specimens. *Appl. Microbiol.* 1974; 28(3): 355–8.
16. Abdolrasouli A., Amin A., Baharsefat M., Roushan A., Hemmati Y. *Moraxella catarrhalis* associated with acute urethritis imitating gonorrhoea acquired by oral-genital contact. *Int. J. STD AIDS.* 2007; 18(8): 579–80.
<http://doi.org/10.1258/095646207781439775>
17. Gómez-Camarasa C., Fernández-Parra J., Navarro-Marí J.M., Gutiérrez-Fernández J. *Moraxella osloensis* emerging infection. Visiting to genital infection. *Rev. Esp. Quimioter.* 2018; 31(2): 178–81. (in Spanish)
18. Coker D.M., Griffiths L.R. *Moraxella urethritis* mimicking gonorrhoea. *Genitourin. Med.* 1991; 67(2): 173–4.
<http://doi.org/10.1136/sti.67.2.173-a>
19. Bogun A.G., Kislichkina A.A., Galkina E.V., Mayskaya N.V., Solomentsev V.I., Mukhina T.N., et al. Using modern methods for identifying bacteria in the activities of the state collection of pathogenic microorganisms and cell cultures (GKPM-Obolensk). *Infektsiya i immunitet.* 2016; 6(3): 8 (in Russ)
20. Shaffer M., Armstrong A.J.S., Phelan V.V., Reisdorph N., Lozupone C.A. Microbiome and metabolome data integration provides insight into health and disease. *Transl. Res.* 2017; 189: 51–64. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2017.07.001>
21. Kubanov A.A., Baryshkov K.V., Chestkov A.V., Shaskol'skiy B.L., Grudyanov D.A., Deryabin D.G. Genotypic diversity of the *Neisseria gonorrhoeae* population in Arkhangelsk (Russia): mechanisms of formation and relationship with antimicrobial resistance. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya.* 2018; 33(3): 201–6. (in Russ)
<http://doi.org/10.17116/molgen20183603143>
22. Di Capua C., Bortolotti A., Fariás M.E., Cortez N. UV-resistant *Acinetobacter* sp. isolates from Andean wetlands display high catalase activity. *FEMS Microbiol. Lett.* 2011; 317(2): 181–9.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2011.02231.x>
23. Kubota H., Mitani A., Niwano Y., Takeuchi K., Tanaka A., Yamaguchi N., et al. *Moraxella* species are primarily responsible for generating malodor in laundry. *Appl. Environ. Microbiol.* 2012; 78(9): 3317–24. <https://doi.org/10.1128/aem.07816-11>
24. Beney L., Gervais P. Influence of the fluidity of the membrane on the response of microorganisms to environmental stresses. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2001; 57(1-2): 34–42.
<https://doi.org/10.1007/s002530100754>
25. Sugimoto C., Miyagawa E., Nakazawa M., Mitani K., Ishizawa Y. Cellular fatty acid composition comparisons of *Haemophilus equigenitalis* and *Moraxella* species. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1983; 33(2): 181–7.
<https://doi.org/10.1099/00207713-33-2-181>
26. Tan L., Grewal P.S. Endotoxin activity of *Moraxella osloensis* against the grey garden slug, *Deroceras reticulatum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2002; 68(8): 3943–7.
<http://doi.org/10.1128/aem.68.8.3943-3947.2002>
27. Baranova E.D., Druzhinin V.G. Human bacterial microflora composition: genotoxic and carcinogenic effects associated with its changes in various organs. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya.* 2019; 34(2): 75–80. (in Russ.)
<https://doi.org/10.17116/molgen20193702158>
28. Cerca N., Vanechoutte M., Guschin A., Swidsinski A. Polymicrobial infections and biofilms in women's health: Gahro Expert Group Meeting Report. *Res. Microbiol.* 2017; 168(9-10): 902–4.
<http://doi.org/10.1016/j.resmic.2017.07.002>
29. Khan S., Voordouw M.J., Hill J.E. Competition among *Gardnerella* subgroups from the human vaginal microbiome. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2019; 9: 374.
<http://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00374>
30. Hill J.E., Albert A.Y.K., VOGUE Research Group. Resolution and cooccurrence patterns of *Gardnerella leopoldii*, *G. swidsinskii*, *G. piovii*, and *G. vaginalis* within the vaginal microbiome. *Infect. Immun.* 2019; 87(12): e00532-19.
<http://doi.org/10.1128/IAI.00532-19>
31. Castro J., Jefferson K.K., Cerca N. Genetic heterogeneity and taxonomic diversity among *Gardnerella* species. *Trends Microbiol.* 2020; 28(3): 202–11.
<http://doi.org/10.1016/j.tim.2019.10.002>
32. Nisha K., Antony B., Udayalaxmi J. Comparative analysis of virulence factors & biotypes of *Gardnerella vaginalis* isolated from the genital tract of women with & without bacterial vaginosis. *Indian. J. Med. Res.* 2019; 149(1): 57–61.
http://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_1674_16
33. Savicheva A.M., Krysanova A.A., Lishchuk O.V. One of a kind? *StatusPraesens*. *Ginekologiya, akusherstvo, besplodnyy brak.* 2019; (5): 32–40. (in Russ.)
34. Belkaid Y., Hand T.W. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell.* 2014; 157(1): 121–41.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.03.011>

Информация об авторах

Годовалов Анатолий Петрович[✉] — к.м.н., в.н.с. ЦНИЛ, доц. каф. микробиологии и вирусологии ПГМУ им. акад. Е.А. Вагнера, Пермь, Россия, agodovalov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5112-2003>

Карпунина Наталья Сергеевна — д.м.н., проф. каф. госпитальной терапии и кардиологии ПГМУ им. акад. Е.А. Вагнера, Пермь, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3127-1797>

Карпунина Тамара Исаковна — д.б.н., проф. каф. микробиологии и вирусологии ПГМУ им. акад. Е.А. Вагнера, Пермь, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-2511-4656>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Статья поступила в редакцию 08.06.2020;
принята к публикации 15.11.2020; опубликована 25.02.2021.

Information about the authors

Anatoliy P. Godovalov[✉] — PhD (Med.), leading researcher, Central scientific research laboratory, Assoc. Prof., Microbiology and virology department, E.A. Vagner Perm State Medical University, Perm, Russia, agodovalov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5112-2003>

Natalia S. Karpunina — D. Sci. (Med.), Prof., Hospital therapy and cardiology department, E.A. Vagner Perm State Medical University, Perm, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3127-1797>

Tamara I. Karpunina — D. Sci. (Biol.), Prof., Microbiology and virology department, E.A. Vagner Perm State Medical University, Perm, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-2511-4656>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

The article was submitted 08.06.2020;
accepted for publication 15.11.2020; published 25.02.2021.