



Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России

**Учредители:**

Синопальников А.И.; Пискунов Г.Г.; Козлов Р.С.; Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии (МАКМАХ)

**Главный редактор:**  
Синопальников А.И.

**Адрес редакции:**

214019, Смоленская обл., г. Смоленск, ул. Кирова, д. 46А  
**Эл. почта:** info@cmac-journal.ru

**Адрес для корреспонденции:**  
214019, г. Смоленск, а/я 5.  
Тел./факс: +7(4812)45-06-02

**Издатель МАКМАХ:**

214019, г. Смоленск, ул. Кирова 46А. www.iaacmac.ru

**Адрес типографии:**

214020, Россия, г. Смоленск, ул. Смольянинова, д. 1

**Электронная версия журнала:**  
https://cmac-journal.ru

**Подписка на сайте издателя:**  
https://service.iaacmac.ru

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор).

Запись в реестре зарегистрированных СМИ: ПИ № ФС 77 – 86269 от 27.11.2023

Не распространяется через предприятия связи  
Тираж 3000 экз.

Свободная цена

Дата выхода – 00.00.2025

Журнал входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук  
Присланные в редакцию статьи проходят рецензирование

Мнение редакции может не совпадать с точкой зрения авторов публикуемых материалов

Ответственность за достоверность рекламных публикаций несут рекламодатели

При перепечатке ссылка на журнал обязательна

Журнал является научным изданием для врачей, в связи с чем на него не распространяются требования Федерального закона от 29.12.2010 №436-ФЗ «О защите детей от информации, причиняющей вред их здоровью и развитию»

Иллюстрация для обложки предоставлена: Ольга Николаевна Пинегина (Микробиологическая лаборатория ЕКДЛ SmartLab АО «Группа компаний «МЕДСИ»)

© Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2025.

## Содержание

### Болезни и возбудители

Гордеев А.Б., Бембеева Б.О., Нечаева О.В., Скоробогатый А.В., Денисов П.А., Изюмов Р.В., Николаева А.В., Зубков В.В., Бухарова М.В., Курочкина С.В., Устюжанин А.В., Савичева А.М., Шалепо К.В., Антонов Ю.В., Шумакова В.С., Припутневич Т.В.

**428** Молекулярно-биологические особенности штаммов *Streptococcus agalactiae*, выделенных у беременных женщин и рожениц в различных регионах Российской Федерации

Зубарева Н.А., Паршаков А.А., Голуб А.В., Золотухин К.Н., Козлов Р.С., Малкова О.Г., Молдованов А.В., Самородов А.В., Шаповалов К.Г., Шень Н.П.

**442** Проблема сепсиса и антибиотикорезистентности глазами студентов медицинских вузов: результаты многоцентрового кросс-секционного опроса

Захаренкова П.В., Рачина С.А., Стрелкова Д.А., Авдеев С.Н., Пименов Н.Н., Захаренков И.А., Власенко А.Е., Фомичева А.А., Неклюдова Г.В., Прошкина А.А., Тарыкина Е.В.

**450** Влияние пандемии COVID-19 на повседневную жизнь и эмоциональное состояние медицинских работников: взгляд изнутри

Веселова Е.И., Перегудова А.Б., Тинькова В.В., Тюлькова Т.Е., Ловачева О.В., Казюлина А.А., Самойлова А.Г.

**462** Молекулярно-генетические особенности возбудителей при неблагоприятном течении туберкулеза и ВИЧ-инфекции

Казюлина А.А., Панова А.Е., Байракова А.Л., Меренкова А.И., Соболев П.В., Тюлькова Т.Е., Самойлова А.Г.

**466** Диагностика и определение резистентности нетуберкулезных микобактерий как основа для принятия клинических решений

### Антибиотикорезистентность

Эйдельштейн М.В., Шек Е.А., Леонов В.В., Шайдуллина Э.Р., Романов А.В., Иванчик Н.В., Микотина А.В., Скленова Е.Ю., Азизов И.С., Дехнич А.В., Козлов Р.С.

**475** Структура популяции *Pseudomonas aeruginosa* в Российской Федерации: роль клонов «высокого риска» в распространении карбапенемаз и устойчивости к карбапенемам

Аветисян Л.Р., Чернуха М.Ю., Медведева О.С., Воронкова А.Ю., Красовский С.А., Кондратьева Е.И.

**485** Генетические детерминанты антибиотикорезистентности *Staphylococcus aureus*, выделенных от пациентов с хронической инфекцией легких при муковисцидозе

### Опыт работы

Кутловская Е.Н., Виноградова А.Г., Лютова Е.Ю., Белорус О.В., Бикбулатова Л.Н., Меньшаков В.В., Захарова М.Г., Новиков С.В., Кузьменков А.Ю. и рабочая группа по мониторингу АМП

**494** Региональная система автоматической валидации микробиологических заключений и мониторинга антимикробной резистентности: опыт Ямало-Ненецкого автономного округа

Умпелева Т.В., Цвиренко А.С., Кильдюшева Е.И., Премыслева Г.Е., Скорняков С.Н., Вахрушева Д.В.

**506** Сопоставление микробных профилей мокроты и бронхиальных смывов пациентов с туберкулезом легких по данным ПЦР-исследования

Новокович Ю.С., Сапунова И.Д., Мезенцева Н.И., Радионова В.В., Глотов О.С., Асеев М.В., Глотов А.С.

**516** Исследование контрольных материалов ФСВОК, предназначенных для ПЦР-диагностики, в оценке качества выявляемости бактерий методом NGS секвенирования гена 16S рРНК

Смирнова С.С., Авдюнин Д.Д., Холманских М.В., Стагильская Ю.С., Жуйков Н.Н., Итани Т.М.

**524** Генетическая характеристика изолятов *Staphylococcus aureus*, выделенных в реанимационном отделении инфекционного госпиталя в период пандемии COVID-19

## Исследование контрольных материалов ФСВОК, предназначенных для ПЦР-диагностики, в оценке качества выявляемости бактерий методом NGS секвенирования гена 16S рРНК

Новокович Ю.С.<sup>1</sup>, Сапунова И.Д.<sup>2</sup>, Мезенцева Н.И.<sup>2</sup>, Радионова В.В.<sup>1</sup>, Глотов О.С.<sup>2</sup>, Асеев М.В.<sup>1</sup>, Глотов А.С.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Центр геномных технологий «СЕРБАЛАБ», Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> АСНП «Центр внешнего контроля качества клинических лабораторных исследований», Москва, Россия

<sup>3</sup> ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия

Контактный адрес:

Юлия Сергеевна Новокович  
Эл. почта: novokovich@inbox.ru

Ключевые слова: *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma* spp., секвенирование гена 16S рРНК, контроль качества, микробиом.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Внешнее финансирование: исследование проведено без внешнего финансирования.

**Цель.** Оценка качества выявляемости бактерий *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma* spp. методом секвенирования гена 16S рРНК с использованием аккредитованных контрольных материалов, предназначенных для проведения внешнего контроля качества ПЦР-исследований.

**Материалы и методы.** Контрольные материалы, полученные в рамках прохождения программы МСИ «ФСВОК»: «Выявление ДНК *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma* species, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum* ПЦР (ИППП)», были проанализированы методом секвенирования гена 16S рРНК на приборе Illumina MiSeq. Контрольные наборы образцов были представлены лиофилизированными растворами геномной ДНК *M. hominis*, *U. urealyticum*, *U. parvum* в заданных концентрациях и геномной ДНК человека в концентрации не менее  $2 \times 10^5$  копий/мл в двух циклах (август и октябрь 2024 г.).

**Результаты.** Нами было проанализировано 16 контрольных образцов, которые были получены в двух циклах МСИ. Анализ контрольных материалов, представленных в программе МСИ «ФСВОК», методом секвенирования гена 16S рРНК позволил точно произвести качественную оценку наличия и отсутствия условно-патогенных микроорганизмов, таких как *M. hominis*, *Ureaplasma* spp. Ограничением метода является затрудненная видовая идентификация *Ureaplasma parvum/urealyticum* из-за сходства в нуклеотидной последовательности в V3-V4 региона 16S рРНК. Несмотря на очень высокую чувствительность метода и выявление других микроорганизмов в крайне низких значениях (< 0,1%), отрицательный контрольный образец, не содержащий искомым бактериальных маркеров, в двух циклах программы не выявил *M. hominis*, *Ureaplasma* spp., что говорит об отсутствии контаминации на всех этапах лабораторного исследования, производства ОПК и хранения и рассылки организатором МСИ, а также отсутствии ложноположительных результатов в рамках применения метода секвенирования гена 16S рРНК.

**Выводы.** Данный метод исследования позволил достоверно определить ДНК *M. hominis*, *Ureaplasma* spp., *U. urealyticum*, *U. parvum* и остальных микроорганизмов в контрольных образцах, которые могут иметь клиническую значимость при оценке микробиоценоза влагалища, что является преимуществом по сравнению с ПЦР-методом, предназначенным для выявления конкретных представителей.

Original Article

## Use of control materials designed for PCR diagnostics in assessing quality of bacterial detection by NGS sequencing of the 16S rRNA gene

Novokovich Yu.S.<sup>1</sup>, Sapunova I.D.<sup>2</sup>, Mezentseva N.I.<sup>2</sup>, Radionova V.V.<sup>1</sup>, Glotov O.S.<sup>1</sup>, Aseev M.V.<sup>1</sup>, Glotov A.S.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Center for Genomic Technologies «Cerbalaб», Saint-Petersburg, Russia

<sup>2</sup> ASNPP «Center for External Quality Control of Clinical Laboratory Studies», Moscow, Russia

<sup>3</sup> Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, Saint-Petersburg, Russia

Contacts:

Yulia S. Novokovich  
E-mail: novokovich@inbox.ru

Key words: *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma* spp., 16S rRNA gene sequencing, quality control, microbiome.

**Objective.** To assess quality of bacterial detection using 16S rRNA gene sequencing with accredited control materials designed for external quality control of PCR studies.

**Materials and methods.** Control materials obtained as part of the ISI «FSVOK» program: «DNA detection of *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma* spp., *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum* by PCR (STI)», were analyzed by 16S rRNA gene sequencing. The control sets of samples were presented with lyophilized solutions of *M. hominis*, *U. urealyticum*, and *U. parvum* genomic DNA at specified concentrations and human genomic DNA at a concentration of at least  $2 \times 10^5$  copies/ml in two cycles.

Новокович Ю.С. и соавт.

Conflicts of interest: all authors report no conflicts of interest relevant to this article.

External funding source: no external funding received.

**Results.** We analyzed 16 control samples that were obtained in two MCI cycles. The analysis of control materials presented in the MCI program «FSVOK» using 16S rRNA gene sequencing allowed for an accurate qualitative assessment of the presence or absence of opportunistic microorganisms such as *M. hominis* and *Ureaplasma* spp. A limitation of the method is the difficulty in species identification of *Ureaplasma parvum/urealyticum* due to the similarity in nucleotide sequences in the V3-V4 region of the 16S rRNA. Despite the very high sensitivity of the method and the detection of other microorganisms at extremely low values (< 0.1%), the negative control sample, which did not contain the target bacterial markers, did not reveal *M. hominis* or *Ureaplasma* spp in two cycles of the program, indicating the absence of contamination at all stages of laboratory research, OPK production, storage, and distribution by the MCI organizer, as well as the absence of false-positive results in the application of the 16S rRNA gene sequencing method.

**Conclusions.** The method allows reliable identification of *M. hominis*, *Ureaplasma* spp., *U. urealyticum*, *U. parvum*, and other bacteria in control samples, which may have clinical significance in assessing vaginal microbiocenosis, as an advantage over the PCR method designed to detect specific individual targets.

## Введение

Выявление бактериальных инфекций остается одной из самых актуальных задач здравоохранения. Молекулярно-генетические методы, в частности ПЦР-диагностика, уже давно вошли в клиническую практику, так как имеют ряд преимуществ перед культуральными и микроскопическими методами. Благодаря быстрому развитию технологий высокопроизводительного секвенирования нового поколения (NGS) стало возможным внедрение новых молекулярно-генетических методов, таких как секвенирование гена 16S рРНК и метагеномное секвенирование (WGS). Основное отличие этих методов заключается в том, что при идентификации бактерий методом ПЦР амплифицируется короткий фрагмент генома определенной бактерии, в то время как на основе анализа гена 16S рРНК и WGS становится доступна идентификация сразу всех бактерий в образце. Ген 16S рРНК присутствует у всех бактерий и содержит уникальную для каждого вида нуклеотидную последовательность, что позволяет, используя методы биоинформатики, идентифицировать различные виды бактерий в одной постановке. Однако одним из ограничений этих методов является более высокая стоимость по сравнению с ПЦР-диагностикой, а также их отсутствие в нормативных документах. Таким образом, метагеномные методы диагностики в настоящее время в Российской Федерации используются, в основном, в исследовательских целях.

Тем не менее, в общемировой практике методы метагеномики активно внедряются в практическое здравоохранение, в частности для диагностики инфекций, передающихся половым путем, которая существенно изменилась благодаря применению новых молекулярно-генетических технологий. Метод секвенирования гена 16S рРНК позволяет чаще выявлять и определять условно-патогенные микроорганизмы, такие как *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma* spp., которые играют важную роль в развитии инфекционно-воспалительных заболе-

ваний мочеполовой системы [1]. Данные условно-патогенные микроорганизмы способны провоцировать развитие различных патологий, таких как уретрит, цервицит и цистит, а также могут способствовать возникновению осложнений в период беременности [2, 5]. Частота обнаружения генитальных микоплазм (*Ureaplasma* spp. и *M. hominis*) широко варьирует в различных популяционных группах, составляя от 10% до 50% (по данным ряда авторов – до 80%). *Ureaplasma* spp. и *M. hominis* могут выявляться у клинически здоровых лиц, но при реализации своих патогенных свойств они способны вызывать инфекционно-воспалительные заболевания мочеполовой системы [3, 5]. Применение 16S рРНК секвенирования позволяет оценить весь микробиоценоз и преодолеть ограничения рутинных методов, таких как ПЦР, и предоставить полную картину микробного состава, что особенно важно для диагностики условно-патогенных инфекций, коинфекций и адаптации к терапии. Реализация патогенных свойств условно-патогенных микроорганизмов зависит от большого количества факторов, таких как иммунный статус человека, наличие сопутствующих заболеваний, здоровое микробиомное окружение, особенно в таких экосистемах, как влагалище, кишечник или ротоглотка [4].

Основной составляющей здоровой микробиоты влагалища являются бактерии рода *Lactobacillus*, такие как *L. crispatus*, *L. gasseri*, и *L. jensenii*, которые поддерживают кислую среду влагалища, продуцируя молочную кислоту и перекись водорода, предотвращают рост условно-патогенных бактерий, таких как *Gardnerella vaginalis*, *Ureaplasma* spp. и *M. hominis* [5]. Нарушение нормального баланса микробиоты может привести к активизации этих микроорганизмов, что вызывает воспалительные процессы и инфекции [4].

Традиционно диагностика микоплазменных и уреоплазменных инфекций основывалась на культуральных

методах, которые были трудоемкими и не всегда давали точные результаты из-за особенностей роста этих микроорганизмов. Появление ПЦР-диагностики позволило значительно упростить и ускорить процесс выявления указанных инфекций, а также повысить точность идентификации возбудителей. Однако ПЦР имеет ограничения: метод направлен на детекцию конкретных патогенов и не представляет полной картины микробного состава. Метод секвенирования гена 16S рРНК позволяет преодолеть эти ограничения, так как он основан на идентификации всех бактерий, присутствующих в образце, что делает его универсальным инструментом для анализа микробиоты [6]. Таким образом, 16S рРНК секвенирование значительно расширяет диагностические возможности, что особенно важно в случаях хронических и рецидивирующих инфекций, после многократных курсов как местной, так и системной антибактериальной терапии, давших кратковременный положительный эффект, либо не давших эффекта вовсе [4].

Для внедрения метода 16S рРНК секвенирования в клиническую практику необходима стандартизация и контроль качества методики выполнения исследования. Контроль качества лабораторных исследований – важная составляющая системы здравоохранения, обеспечивающая надежность и точность результатов, которая повышает достоверность, снижает количество ложноположительных и ложноотрицательных результатов и увеличивает межлабораторную воспроизводимость.

В России контроль качества исследований, проводимых лабораториями, проводится аккредитованным Федеральной службой по аккредитации на соответствие ГОСТ 17043-2015 провайдером АСНП «ЦВКК» в рамках программ межлабораторных сравнительных испытаний (МСИ) «ФСВОК». Однако на сегодняшний день для 16S рРНК секвенирования нет унифицированных контрольных материалов, что затрудняет его широкое применение. В этой связи единственным способом оценки качества метода 16S рРНК секвенирования является использование контрольных материалов, предназначенных для ПЦР диагностики, так как оба метода основаны на анализе ДНК.

**Цель** исследования – оценка достоверности выявления ДНК микроорганизмов урогенитальных инфекций: *M. hominis*, *Ureaplasma* spp., *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum* методом высокопроизводительного NGS секвенирования гена 16S рРНК при помощи аккредитованных контрольных материалов, предназначенных для проведения внешнего контроля качества ПЦР-исследований.

## Материалы и методы

Контрольные материалы, полученные в рамках прохождения программы МСИ «ФСВОК»: «Выявление ДНК *M. hominis*, *Ureaplasma species* *U. urealyticum*, *U. parvum* ПЦР (ИППП)», были проанализированы методом секвенирования гена 16S рРНК. Контрольные наборы образцов были представлены лиофилизированными раство-

рами геномной ДНК *M. hominis*, *U. urealyticum*, *U. parvum* в заданных концентрациях и геномной ДНК человека в концентрации не менее  $2 \times 10^5$  копий/мл в двух циклах МСИ (май и октябрь 2024 г.). Библиотеки для секвенирования 16S рРНК были подготовлены в соответствии с протоколом подготовки библиотеки для метагеномного секвенирования 16S рРНК (Illumina, Сан-Диего, Калифорния, США) (Part #15044223 Rev. B). Для этого было использовано 5 нг общей ДНК на образец. С помощью рекомендуемых праймеров для региона V3–V4 был амплифицирован целевой фрагмент гена 16S рРНК. Для этого было проведено 25 циклов ПЦР с использованием KAPA HiFi HotStart ReadyMix (2×) (Roche Diagnostics, Цуг, Швейцария). После очистки продуктов ПЦР с помощью SPRI bins было проиндексировано 5 нг полученных ампликонов с помощью KAPA HiFi HotStart ReadyMix (2×) от Roche Diagnostics и набора Nextera XT Index Kit от Illumina. Затем было проведено 8 циклов индексной ПЦР в соответствии с протоколом Illumina. Полученные библиотеки были секвенированы на платформе Illumina MiSeq.

## Результаты

Полученные в результате 16S рРНК секвенирования и значения ОПК в рамках первого и второго этапа представлены в Таблице 1. Из-за выявленного высокого разнообразия полученных данных мы ограничились перечислением самых высоко представленных 10 микроорганизмов в образцах.

Во втором цикле мы получили качественно аналогичные результаты, что говорит о высокой воспроизводимости метода. Отличия наблюдались в процентных соотношениях, которые могут варьироваться в зависимости от качества секвенирования, амплификации целевых регионов и других параметров. Так как метод является количественным (определяет процентное соотношение в образце), то данные между циклами могли не совпадать, так как распределение аналита при заготовке контрольных материалов могло отличаться. Несмотря на использование одинаковых материалов в двух циклах, оценка воспроизводимости метода не входила в цели данного исследования.

## Обсуждение

Как видно из таблицы, анализ контрольных материалов, представленных в программе МСИ «ФСВОК», методом 16S рРНК секвенирования позволил точно произвести качественную оценку наличия условно-патогенных микроорганизмов, таких как *M. hominis*, *U. parvum/urealyticum*. Ограничением метода является затрудненная доверительная идентификация *U. parvum/urealyticum* из-за схожести в нуклеотидной последовательности в V3-V4 региона 16S рРНК. Данную проблему можно решить путем секвенирования всего гена 16S, а не его участка, либо проведением полногеномного секвенирования (WGS)

**Таблица 1.** Исследование бактериального состава контрольных материалов МСИ ФСВОК «Выявление ДНК *M. hominis*, *Ureaplasma species*, *U. urealyticum*, *U. parvum* методом ПЦР (ИППП)» в двух циклах, полученного методом 16S рРНК секвенирования

№ ОПК	Результаты 16S рРНК секвенирования				Состав ОПК (по паспорту)		
	Микроорганизмы в первом цикле МСИ	Количество в первом цикле, %	Микроорганизмы во втором цикле МСИ	Количество во втором цикле, %	ДНК <i>Mycoplasma hominis</i> , копий/мл	ДНК <i>Ureaplasma urealyticum</i> копий/мл	ДНК <i>Ureaplasma parvum</i> , копий/мл
1	<i>Unclassified</i>	44,32	<i>Unclassified</i>	11,06			
	<b><i>Mycoplasma hominis</i></b>	<b>11,47</b>	<b><i>Mycoplasma hominis</i></b>	<b>57,71</b>	<b>3,20 × 10<sup>4</sup></b>		
	<i>Bacteroides dorei/vulgatus</i>	7,26	-				
	<b><i>Ureaplasma parvum/urealyticum</i></b>	<b>7,12</b>	<b><i>Ureaplasma parvum/urealyticum</i></b>	<b>27,65</b>		<b>0</b>	<b>1,3 × 10<sup>4</sup></b>
	<i>Anaerostipes hadrus</i>	3,31	<i>Bradyrhizobium cytisi/ganzhouense/guangdongense/japonicum/manausense</i>	0,75			
	<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	2,83	<i>Cutibacterium acnes/avidum</i>	0,63			
	<i>Dorea longicatena</i>	2,82	<i>Sphingomonas alpina/echinoides/mali/oligophenolica/rhizogenes/sanxanigenens</i>	0,25			
	<i>Bacteroides uniformis</i>	2,46	<i>Escherichia/Shigella albertii/boydii/coli/dysenteriae/fergusonii/flexneri/marmotae/sonnei</i>	0,18			
	<i>Barnesiella intestinihominis</i>	1,81	<i>Pelomonas aquatica/puraquae</i>	0,14			
	<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	1,68	<i>Brevibacillus agri/brevis</i>	0,14			
2	<i>Bacteroides cellulosilyticus/intestinalis</i>	0,49	<i>Bacillus aerius/amyloliquefaciens/aryabhattai/atrophaeus/cereus/circulans/firmus/halotolerans/licheniformis/megaterium/paralicheniformis/pumilus/siamensis/subtilis/tequilensis/vallismortis/velezensis</i>	0,12			
	<i>Unclassified</i>	52,65	<i>Unclassified</i>	12,70			
	<b><i>Mycoplasma hominis</i></b>	<b>14,86</b>	<b><i>Mycoplasma hominis</i></b>	<b>68,51</b>	<b>3,20 × 10<sup>4</sup></b>		
	<b><i>Ureaplasma parvum/urealyticum</i></b>	<b>8,35</b>	<b><i>Ureaplasma parvum/urealyticum</i></b>	<b>11,50</b>		<b>0</b>	<b>1,3 × 10<sup>4</sup></b>
	<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	1,64	<i>Cutibacterium acnes/avidum</i>	1,66			
	<i>Porphyrobacter HT-58-2/neustonensis/tepidarius</i>	1,62	<i>Sphingomonas alpina/echinoides/mali/oligophenolica/rhizogenes/sanxanigenens</i>	0,56			
	<i>Alkalibacterium indicireducens/pelagium/thalassium</i>	1,37	<i>Bradyrhizobium cytisi/ganzhouense/guangdongense/japonicum/manausense</i>	0,32			
	<i>Bacteroides dorei/vulgatus</i>	1,18	<i>Escherichia/Shigella albertii/boydii/coli/dysenteriae/fergusonii/flexneri/marmotae/sonnei</i>	0,31			
	<i>Methylocystis echinoides/parvus</i>	1,16	<i>Pelomonas aquatica/puraquae</i>	0,25			
	<i>Mongoliitalea lutea</i>	0,95	<i>Marmoricola aurantiacus/scoriae</i>	0,25			
<i>Blautia obeum/wexlerae</i>	0,80	<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	0,22				

Продолжение таблицы 1

№ ОПК	Результаты 16S рРНК секвенирования				Состав ОПК (по паспорту)		
	Микроорганизмы в первом цикле МСИ	Количество в первом цикле, %	Микроорганизмы во втором цикле МСИ	Количество во втором цикле, %	ДНК <i>Mycoplasma hominis</i> , копий/мл	ДНК <i>Ureaplasma urealyticum</i> , копий/мл	ДНК <i>Ureaplasma parvum</i> , копий/мл
3	Unclassified	48,79	Unclassified	9,89			
	<b><i>Mycoplasma hominis</i></b>	<b>15,39</b>	<b><i>Mycoplasma hominis</i></b>	<b>57,01</b>	<b>3,20 × 10<sup>4</sup></b>		
	<b><i>Ureaplasma urealyticum</i></b>	<b>8,96</b>	<b><i>Ureaplasma parvum/urealyticum</i></b>	<b>27,35</b>		<b>1,20 × 10<sup>4</sup></b>	<b>0</b>
	<i>Bacteroides dorei/vulgatus</i>	1,37	<i>Cutibacterium acnes/avidum</i>	0,84			
	<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	1,33	<i>Bradyrhizobium cytisi/ganzhouense/guangdongense/japonicum/manausense</i>	0,49			
	<i>Porphyrobacter HT-58-2/neustonensis/tepidarius</i>	1,31	<i>Sphingomonas alpina/echinoides/mali/oligophenolica/rhizogenes/sanxanigenens</i>	0,48			
	<i>Flavobacterium degerlachei/frigoris</i>	1,30	<i>Delftia acidovorans/lacustris/tsuruhatensis</i>	0,46			
	<i>Dorea longicatena</i>	0,85	<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	0,32			
	<i>Bacteroides uniformis</i>	0,81	<i>Escherichia/Shigella albertii/boydii/coli/dysenteriae/fergusonii/flexneri/marmotae/sonnei</i>	0,27			
4	Unclassified	50,95	Unclassified	11,31			
	<b><i>Mycoplasma hominis</i></b>	<b>16,71</b>	<b><i>Mycoplasma hominis</i></b>	<b>51,86</b>	<b>3,20 × 10<sup>4</sup></b>		
	<b><i>Ureaplasma parvum/urealyticum</i></b>	<b>8,97</b>	<b><i>Ureaplasma parvum/urealyticum</i></b>	<b>14,78</b>		<b>1,20 × 10<sup>4</sup></b>	<b>0</b>
	<i>Porphyrobacter HT-58-2/neustonensis/tepidarius</i>	1,39	<i>Acholeplasma laidlawii</i>	1,53			
	<i>Alkalibacterium indicireducens/pelagium/thalassium</i>	1,01	<i>Cutibacterium acnes/avidum</i>	1,20			
	<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	0,87	<i>Bradyrhizobium cytisi/ganzhouense/guangdongense/japonicum/manausense</i>	0,78			
	<i>Flavobacterium degerlachei/frigoris</i>	0,72	<i>Escherichia/Shigella albertii/boydii/coli/dysenteriae/fergusonii/flexneri/marmotae/sonnei</i>	0,47			
	<i>Flavobacterium degerlachei/gillisiae</i>	0,59	<i>Bacillus acidicola/altitudinis/amyloliquefaciens/atrophaeus/cereus/circulans/firmus/flexus/gibsonii/halotolerans/intestinalis/licheniformis/megaterium/murimartini/nematocida/oleronius/pumilus/safensis/siamensis/sonorensis/sporothermodurans/subtilis/tequilensis/thuringiensis/timonensis/vallismortis/velezensis/virus</i>	0,42			
	<i>Acholeplasma laidlawii</i>	0,55	<i>Brevibacillus agri</i>	0,28			
Unclassified	50,93	Unclassified	7,81				

Продолжение таблицы 1

№ ОПК	Результаты 16S рРНК секвенирования				Состав ОПК (по паспорту)		
	Микроорганизмы в первом цикле МСИ	Количество в первом цикле, %	Микроорганизмы во втором цикле МСИ	Количество во втором цикле, %	ДНК <i>Mycoplasma hominis</i> , копий/мл	ДНК <i>Ureaplasma urealyticum</i> , копий/мл	ДНК <i>Ureaplasma parvum</i> , копий/мл
5	<b><i>Mycoplasma hominis</i></b>	<b>16,04</b>	<b><i>Mycoplasma hominis</i></b>	<b>44,36</b>	<b>3,20 × 10<sup>4</sup></b>		
	<b><i>Ureaplasma parvum/urealyticum</i></b>	<b>8,73</b>	<b><i>Ureaplasma parvum/urealyticum</i></b>	<b>20,80</b>		<b>1,20 × 10<sup>4</sup></b>	<b>0</b>
	<i>Porphyrobacter HT-58-2/neustonensis/tepidarius</i>	1,47	<i>Acholeplasma laidlawii</i>	1,11			
	<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	1,42	<i>Cutibacterium acnes/avidum</i>	0,91			
	<i>Alkalibacterium indicireducens/pelagium/thalassium</i>	1,16	<i>Escherichia/Shigella albertii/boydii/coli/dysenteriae/fergusonii/flexneri/marmotae/sonnei</i>	0,55			
	<i>Bacteroides vulgatus</i>	0,89	<i>Bradyrhizobium cytisi/ganzhouense/guangdongense/japonicum/manausense</i>	0,54			
	<i>Bacteroides cellulosilyticus/intestinalis</i>	0,64	<i>Saccharopolyspora dendranthemaе/ endophytica/spongiae/tripterygii</i>	0,33			
	<i>Mongoliitalea lutea</i>	0,62	<i>Ralstonia insidiosa/solanacearum</i>	0,29			
	<i>Unclassified</i>	49,19	<i>Unclassified</i>	6,99			
6	<b><i>Mycoplasma hominis</i></b>	<b>13,51</b>	<b><i>Mycoplasma hominis</i></b>	<b>32,26</b>	<b>3,20 × 10<sup>4</sup></b>		
	<b><i>Ureaplasma parvum/urealyticum</i></b>	<b>12,64</b>	<b><i>Ureaplasma parvum/urealyticum</i></b>	<b>31,59</b>		<b>1,20 × 10<sup>4</sup></b>	
	<b><i>Ureaplasma urealyticum</i></b>	<b>6,83</b>	<b><i>Ureaplasma urealyticum</i></b>	<b>19,38</b>			<b>1,20 × 10<sup>4</sup></b>
	<i>Staphylococcus aureus/capitis/caprae/epidermidis/haemolyticus/warneri</i>	1,54	<i>Porphyrobacter neustonensis/tepidarius</i>	2,94			
	<i>Porphyrobacter HT-58-2/neustonensis/tepidarius</i>	1,18	<i>Alkalibacterium indicireducens/pelagium/thalassium</i>	1,39			
	<i>Bacteroides vulgatus</i>	1,01	<i>Acholeplasma laidlawii</i>	1,17			
	<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	0,91	<i>Cutibacterium acnes/avidum</i>	0,83			
	<i>Flavobacterium degerlachei/frigoris</i>	0,75	<i>Staphylococcus aureus/capitis/caprae/epidermidis/haemolyticus/saprophyticus/warneri</i>	0,37			
	<i>Prevotella copri</i>	0,72	<i>Bradyrhizobium cytisi/ganzhouense/guangdongense/japonicum/manausense</i>	0,30			
<i>Unclassified</i>	53,99	<i>Unclassified</i>	8,59				
7	<b><i>Mycoplasma hominis</i></b>	<b>15,26</b>	<b><i>Mycoplasma hominis</i></b>	<b>35,13</b>	<b>3,20 × 10<sup>4</sup></b>		
	<b><i>Ureaplasma parvum/urealyticum</i></b>	<b>9,52</b>	<b><i>Ureaplasma parvum/urealyticum</i></b>	<b>31,67</b>		<b>1,20 × 10<sup>4</sup></b>	
	<b><i>Ureaplasma urealyticum</i></b>	<b>6,28</b>	<b><i>Ureaplasma urealyticum</i></b>	<b>18,18</b>			<b>1,20 × 10<sup>4</sup></b>
	<i>Flavobacterium degerlachei/frigoris</i>	1,79	<i>Acholeplasma laidlawii</i>	1,26			

№ ОПК	Результаты 16S рРНК секвенирования				Состав ОПК (по паспорту)		
	Микроорганизмы в первом цикле МСИ	Количество в первом цикле, %	Микроорганизмы во втором цикле МСИ	Количество во втором цикле, %	ДНК <i>Mycoplasma hominis</i> , копий/мл	ДНК <i>Ureaplasma urealyticum</i> копий/мл	ДНК <i>Ureaplasma parvum</i> , копий/мл
	<i>Porphyrobacter HT-58-2/neustonensis/tepidarius</i>	1,58	<i>Cutibacterium acnes/avidum</i>	0,67			
	<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	0,88	<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	0,66			
	<i>Alkalibacterium indicireducens/pelagium/thalassium</i>	0,78	<i>Roseomonas aquatica</i>	0,32			
	<i>Psychrobacter alimentarius/frigidicola/glacincola/maritimus</i>	0,54	<i>Collinsella aerofaciens</i>	0,31			
	<i>Methylocystis echinoides/parvus</i>	0,45	<i>Bacillus acidicola/altitudinis/amyloliquefaciens/atrophaeus/cereus/circulans/firmus/flexus/gibsonii/halotolerans/intestinalis/licheniformis/megaterium/murimartini/nematocida/oleronius/pumilus/safensis/siamensis/sonorensis/sporothermodurans/subtilis/tequilensis/thuringiensis/timonensis/vallismortis/velezensis/virus</i>	0,30			
8	Unclassified	72,88	Unclassified	66,16			
	<i>Alkalibacterium indicireducens/pelagium/thalassium</i>	2,29	<i>Bradyrhizobium cytisi/ganzhouense/guangdongense/japonicum/manausense</i>	7,35			
	<i>Pantoea agglomerans/vagans</i>	2,1	<i>Ralstonia insidiosa/solanacearum</i>	5,76			
	<i>Pantoea agglomerans/anantatis/conspicua/eucalypti/vagans</i>	1,93	<i>Cutibacterium acnes/avidum</i>	2,93			
	<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	1,87	<i>Escherichia/Shigella albertii/boydii/coli/dysenteriae/fergusonii/flexneri/marmotae/sonnei</i>	1,83			
	<i>Porphyrobacter HT-58-2/neustonensis/tepidarius</i>	1,46	<i>Bacillus acidicola/altitudinis/amyloliquefaciens/atrophaeus/cereus/circulans/firmus/flexus/gibsonii/h</i>	1,81			
	<i>Bradyrhizobium cytisi/ganzhouense/guangdongense/japonicum/manausense</i>	1,09	<i>Sphingomonas alpina/echinoides/mali/oligophenolica/rhizogenes/sanxanigenens</i>	1,04			
	<i>Akkermansia muciniphila</i>	0,71	<i>Porphyrobacter colymbi/donghaensis/neustonensis/sanguineus/tepidarius</i>	0,87			
	<i>Pseudomonas fluorescens/fulva/hunanensis/monteilii/plecoglossicida/putida/taiwanensis</i>	0,66	<i>Brevibacillus agri/brevis</i>	0,82			
	<i>Meiothermus silvanus</i>	0,61	<i>Bacteroides dorei/vulgatus</i>	0,71			
	<b><i>Mycoplasma hominis</i></b>	0	<b><i>Mycoplasma hominis</i></b>	0	0		
	<b><i>Ureaplasma parvum/urealyticum</i></b>	0	<b><i>Ureaplasma parvum/urealyticum</i></b>	0		0	
	<b><i>Ureaplasma urealyticum</i></b>	0	<b><i>Ureaplasma urealyticum</i></b>	0			0

В то же время показано, что несмотря на очень высокую чувствительность метода и выявление микроорганизмов в крайне низких значениях (< 0,1%), восьмой отрицательный контрольный образец, который не содержал искомого бактериальных маркеров, в двух циклах не выявил *M. hominis*, *U. parvum/urealyticum*, что говорит об отсутствии контаминации на этапах лабораторного исследования, производства ОПК, хранения и рассылки организатором МСИ, а также отсутствии ложноположительных результатов.

Так как данные контрольные материалы являлись клиническими мазками от пациентов, а не смесью «чистых культур», то наличие других микроорганизмов в образцах является показателем сложной экосистемы урогенитального биоценоза.

### Заключение

Впервые в России проведен анализ методом 16S рРНК секвенирования контрольных материалов, предназначенных для ПЦР-диагностики. Установлено, что данный метод позволяет выявить интересные бак-

териальные маркеры, а также другие бактерии, представленные в материале. Несмотря на то что видовая диагностика *U. parvum/urealyticum* затруднена, метод показал отсутствие ложноположительных и ложноотрицательных результатов в двух повторностях, что говорит о его воспроизводимости и требует дальнейшего изучения. Секвенирование гена 16S рРНК является перспективным методом диагностики бактериальных инфекций, который позволяет получить более расширенное представление о микробиомном разнообразии исследуемого образца, по сравнению с ПЦР-методом, предназначенным для выявления конкретных представителей. В рамках нашего исследования мы подтвердили эффективность выявления *M. hominis* и *Ureaplasma* spp. методом секвенирования гена 16S рРНК. Для дальнейшего успешного внедрения данного метода в клиническую практику необходима его стандартизация и разработка контрольных образцов для проверки качества выявляемости по другим бактериальным маркерам. В дальнейшем секвенирование может стать важным инструментом в диагностике и терапии инфекционных заболеваний и повысить качество медицинской помощи.

### Литература

1. Vitale S.G., Ferrari F., Ciebiera M., Zgliczyńska M., Rapisarda A.M.C., Vecchio G.M., et al. The role of genital tract microbiome in fertility: a systematic review. *Int J Mol Sci.* 2021;23(1):180. DOI: 10.3390/ijms23010180
2. The Integrative Human Microbiome Project. *Nature.* 2019;569(7758):641-648. DOI: 10.1038/s41586-019-1238-8
3. Tadera K., Kitagawa H., Kitano H., Hara T., Kashiyama S., Nomura T., et al. Prevalence of *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, and *Ureaplasma parvum* detection in urine and respiratory tract samples in Hiroshima, Japan. *Heliyon.* 2023;9(3):e14543. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e14543
4. Núño K., Jensen A.S., O'Connor G., Houston T.J., Dikici E., Zingg J.M., et al. Insights into women's health: exploring the vaginal microbiome, quorum sensing dynamics, and therapeutic potential of quorum sensing quenchers. *Mol Aspects Med.* 2024;100:101304. DOI: 10.1016/j.mam.2024.101304
5. Zhou Q., Yu Y., Zhou J., Liu J., Gao J. Relationship of *Lactobacillus* vaginal microbiota changes and the risk of preterm birth: a systematic review and meta-analysis. *J Womens Health.* 2024;33(2):228-238. DOI: 10.1089/jwh.2023.0393
6. Muzny C.A., Cerca N., Elnaggar J.H., Taylor C.M., Sobel J.D., Van Der Pol B. State of the art for diagnosis of bacterial vaginosis. *J Clin Microbiol.* 2023;61(8):e00837-22. DOI: 10.1128/jcm.00837-22