

МУЛЬТИЛОКУСНОЕ СИКВЕНС-ТИПИРОВАНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ *MYCOPLASMA HOMINIS*

Колесникова Е.А.¹, Бруснигина Н.Ф.¹, Алексеева А.Е.¹, Махова М.А.¹

¹ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени академика И.Н. Блохиной» Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Нижний Новгород, e-mail: shmelevael@yandex.ru

В настоящее время в России и за рубежом имеется существенный недостаток информации о генетическом разнообразии *Mycoplasma hominis*, ассоциированных с инфекциями урогенитального тракта. Цель - расширенное мультилокусное сиквенс-типирование клинических изолятов *Mycoplasma hominis*, выделенных на территории Нижегородской области, с применением технологии NGS. Полногеномное секвенирование проводили на платформе MiSeq. Определение молекулярных профилей и аллельной последовательности генов осуществлялось с помощью сервера pubmlst. Определение молекулярного профиля включало типирование последовательностей «генов домашнего хозяйства» MLST (ST-тип) (*gyrB*, *tuf*, *ftsY*, *uvrA*, *gap*) и генов вирулентности MVLST (VT-тип) (*p120'*, *vaa*, *Imp1*, *Imp3*, *p60*). Расширенное eMLST российских изолятов *Mycoplasma hominis* проведено впервые. В базу данных PubMLST депонированы 78 новых аллельных вариантов генов *uvrA*, *gyrB*, *ftsY*, *tuf*, *gap*, *p120'*, *vaa*, *Imp1*, *Imp3*, *p60* изолятов *Mycoplasma hominis*. Установлена высокая степень генетического разнообразия изолятов микоплазм не только относительно зарубежных штаммов, но и внутри исследуемой группы. Впервые определены и депонированы в базу данных PubMLST новые ранее не описанные 10 сиквенс-типов (ST) и 10 патотипов (VT) российских изолятов *Mycoplasma hominis*.

Ключевые слова: *Mycoplasma hominis*, MLST, *p120'*, *vaa*, MVLST, *gyrB*, *tuf*, *ftsY*.

Исследование выполнено в рамках Отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора на 2021–2025 гг. «Научное обеспечение эпидемиологического надзора и санитарной охраны территории Российской Федерации. Создание новых технологий, средств и методов контроля и профилактики инфекционных и паразитарных болезней» (утв. приказом Роспотребнадзора от 24.12.2020 г. № 869) по теме «Омиксные технологии в мониторинге лекарственной устойчивости возбудителей актуальных инфекций».

Авторы заявляют об отсутствии явного или потенциального конфликта интересов, связанного с публикацией статьи.

MULTILOCUS SEQUENCE TYPING OF *MYCOPLASMA HOMINIS* CLINICAL ISOLATS

Kolesnikova E.A.¹, Brusnigina N.F.¹, Alekseeva A.E.¹, Makhova M.A.¹

¹Academician IN Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Federal Service for Surveillance on Customers Rights Protection and Human Wellbeing, Nizhny Novgorod, e-mail: shmelevael@yandex.ru

Currently, there is a significant lack of information in Russia and abroad about the genetic diversity of *Mycoplasma hominis* associated with infections of the urogenital tract. The aim is an extended multilocus sequence typing of *Mycoplasma hominis* clinical isolates isolated in the Nizhny Novgorod region using NGS technology. Genome-wide sequencing was performed on the MiSeq platform. The determination of molecular profiles and the allelic sequence of genes was carried out using a server pubmlst. The determination of the molecular profile included typing sequences of "household genes" MLST (ST-type) (*gyrB*, *tuf*, *FtsY*, *uvrA*, *gap*) and virulence genes MVLST (VT-type) (*p120'*, *vaa*, *Imp1*, *Imp3*, *p60*). The extended eMLST of Russian *Mycoplasma hominis* isolates was conducted for the first time. 78 new allelic variants of genes *uvrA*, *gyrB*, *FtsY*, *tuf*, *gap*, *p120'*, *vaa*, *Imp1*, *Imp3*, *p60* isolates of *Mycoplasma hominis* were deposited in the PubMLST database. A high degree of genetic diversity of mycoplasma isolates has been established not only relative to foreign strains, but also within the study group. For the first time, 10 previously undescribed ST- and VT-types were assigned to Russian *Mycoplasma hominis* clinical isolates.

Keywords: *Mycoplasma hominis*, MLST, *p120'*, *vaa*, MVLST, *gyrB*, *tuf*, *ftsY*.

The study was carried out within the framework of the Industry Research Program of Rosпотребнадзор for 2021–2025. "Scientific support of epidemiological surveillance and sanitary protection of the territory of the Russian Federation. Creation of new technologies, means and methods for the control and prevention of infectious and parasitic diseases" (approved by order of Rosпотребнадзор dated December 24, 2020 No. 869) on the topic "Omics technologies in monitoring drug resistance of pathogens of current infections."

The authors declare that there are no obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Урогенитальные инфекции являются одной из социально значимых в свете сохранения репродуктивного здоровья населения. В этиологии урогенитальных инфекций доминирующие позиции в последнее время занимают бактерии рода *Mycoplasma*, характеризующиеся высоким уровнем генетического полиморфизма, ответственного за формирование антибиотикорезистентности. В литературе имеются многочисленные данные, свидетельствующие о том, что генитальные микоплазмы могут быть причиной бесплодия у женщин и мужчин, влиять на течение и исход беременности, а также вызывать инфекционные заболевания у новорожденных [1; 2]. *Mycoplasma hominis* - один из самых известных представителей класса Mollicutes, отличительной особенностью которого является отсутствие ригидной клеточной стенки, наличие трехслойной цитоплазматической мембраны и самый малый размер генома среди прокариот. В процессе эволюции микоплазмы потеряли значительную часть своего генетического материала и метаболических путей, в связи с чем их геном содержит минимальную генетическую информацию, необходимую для поддержания процесса жизнедеятельности. Несмотря на то что микоплазмы относятся к грамтрицательным микроорганизмам, данные филогенетического анализа свидетельствуют о том, что они близки к кластридиальной ветви грамположительных эубактерий [3-5].

Известно, что *Mycoplasma hominis* относится к условно-патогенным микроорганизмам, широко распространенным в природе, однако при определенных условиях способны вызывать различные воспалительные заболевания органов урогенитального тракта у женщин и мужчин, а также инфекционные заболевания у новорожденных [1-4].

По данным литературы, геном микоплазм, включая гены, кодирующие поверхностные адгезины, подвержены постоянной рекомбинации, что изменяет их специфичность и аффинитет [3; 4; 6]. Такой высокий уровень генетического полиморфизма клинических изолятов *Mycoplasma hominis* обеспечивает гетерогенность антигенного профиля и, как следствие, уклонение от иммунной системы организма-хозяина. Прочная адгезия *Mycoplasma hominis* на поверхности эукариотических клеток часто приводит к слиянию их мембран, а далее к конкуренции за получение питательных компонентов. Данные биологические свойства микоплазм обуславливают длительное, бессимптомное персистирование возбудителя в макроорганизме, развитие воспалительных заболеваний, переходящих часто в хроническую форму.

С целью изучения генетического разнообразия штаммов *Mycoplasma hominis* и понимания процесса реализации их патогенного потенциала необходима разработка стандартизированного подхода к молекулярному типированию. Для дифференциации

изолятов микоплазм используют различные методы анализа консервативных и вариабельных генов: секвенирование по Сэнгеру, NGS-технологии. Предпочтительными являются методы анализа ДНК, основанные на секвенировании.

Впервые схема молекулярного типирования изолятов *Mycoplasma hominis* была предложена в 2018 г. группой тунисских ученых и легла в основу базы данных, содержащих информацию о генетическом разнообразии *Mycoplasma hominis* [7]. По данным на 01 ноября 2023 г., в этой базе содержатся сведения о 66 геномах *Mycoplasma hominis*, выделенных на территории США и Туниса, а также о 234 аллельных вариантах, включенных в схему eMLST *Mycoplasma hominis*. В настоящее время в России отсутствует информация о генетической вариабельности урогенитальных микоплазм, ассоциированных с широким спектром воспалительных заболеваний мочевыводящих путей и органов репродукции.

Целью работы явилось проведение расширенного мультилокусного секвенирования клинических изолятов *Mycoplasma hominis* с применением технологии NGS.

Материалы и методы исследования. В исследование включены 10 изолятов *Mycoplasma hominis*, выделенных из соскобов эпителия цервикального канала женщин и уретры мужчин с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта и нарушениями репродуктивной функции (бесплодие). От всех пациентов получено письменное информированное согласие на участие в исследовании. Обнаружение, идентификацию, определение клинически значимого титра, антибиотикограммы микоплазм осуществляли с использованием коммерческих жидких дифференциально-диагностических сред производства ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора (РУ № ФСР 2008/03366). Клинические изоляты М45, М57, МН1002, МН1866 имели фенотип фторхинолон-резистентности. Изоляты МН621, МН1019, МН1861, МН1991 фенотипически характеризовались устойчивостью к макролидам. Штамм *Mycoplasma hominis* МН529 был одновременно устойчив к препаратам фторхинолонового ряда и к макролидам. Изолят МН1817 был чувствительным ко всем антибактериальным препаратам.

Материалом для исследования служили образцы ДНК 10 клинических изолятов *Mycoplasma hominis*.

Выделение ДНК из чистых культур штаммов бактерий осуществлялось сорбционным методом с применением коммерческих наборов «ДНК-сорб В» (ФСР 2012/14019) согласно инструкции производителя (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, г. Москва). Выделенную и очищенную ДНК хранили при минус 70 °С. Определение концентрации ДНК в образце проводили на флуориметре Qubit (Invitrogen, Австрия) с использованием набора Qubit™ dsDNA HS assay kit (Invitrogen, США). Объем образца для анализа составлял 5 мкл.

Подготовку библиотеки ДНК для секвенирования осуществляли с использованием реактивов NEBNext Ultra II FS DNA Library Prep Kit (New England BioLabs, США) и набора индексов NEBNext® Multiplex Oligos for Illumina® (Dual Index Primers Set 1) (New England BioLabs, США), в соответствии с инструкцией производителя. Время фрагментации геномной ДНК составило 30 мин. Оценку качества библиотеки ДНК проводили на приборе QIAxel advanced system (Qiagen, Германия) с использованием набора реагентов для разделения фрагментов ДНК QIAxel DNA Fast Analysis Kit (15 – 3000 п.н.).

Для определения концентрации ДНК в нМ использовали флуориметр Qubit (Invitrogen, Австрия), пересчет в нМ осуществляли по формуле:

$$((\text{концентрация ДНК в нг/мкл}) / 600 \times (\text{длина фрагмента})) \times 1000000$$

Расчет разведений образцов ДНК для нормализации проводили с использованием онлайн-калькулятора Illumina. Все образцы разводили 10 mM Tris-HCl, pH 8.5 буфером до концентрации 4 нМ. С целью получения пула смешивали образцы в соответствии с расчетом онлайн-калькулятора. Аннотация генома проведена с использованием сервера RAST и сервиса PGAP (NCBI), генотипирование изолятов *Mycoplasma hominis* осуществляли с помощью базы данных *Mycoplasma hominis* database [7].

Результаты исследования и их обсуждение. Расширенное молекулярное типирование *Mycoplasma hominis* необходимо для изучения эволюционного разнообразия и понимания процесса реализации их патогенных свойств. До 2018 г. были лишь немногочисленные попытки разработать оптимальную схему типирования *Mycoplasma hominis* [8]. Учитывая генетический полиморфизм микоплазм, в 2018 году тунисскими исследователями Wojtama S. et al. была предложена расширенная (eMLST) схема молекулярного типирования, включающая не только анализ относительно консервативных последовательностей генов «домашнего хозяйства» (*gyrB*, *tuf*, *ftsY*, *uvrA*, *gap*), но и анализ генов вирулентности (*p120'*, *vaa*, *Imp1*, *Imp3*, *p60*), для определения сиквенс- (ST-тип) и патотипа (VT-тип) клинических изолятов *Mycoplasma hominis*, выделенных у пациентов с воспалительными заболеваниями органов малого таза и бесплодием [7]. Наиболее исчерпывающую информацию о генетических абберациях *Mycoplasma hominis* позволяет получить технология NGS. На 01 ноября 2023 года в базе данных PubMLST представлена информация о геноме 66 изолятов *Mycoplasma hominis* и 234 аллельных вариантах генов, используемых для типирования. Результаты, полученные в ходе нашего исследования, свидетельствуют о чрезвычайно высокой гетерогенности генов «домашнего хозяйства» и вирулентности, не только относительно вариантов, размещенных в базе PubMLST, но и внутри группы российских штаммов микоплазм, включенных в исследование.

Таблица 1

Аллельные варианты генов «домашнего хозяйства» и генов вирулентности российских изолятов *Mycoplasma hominis*, депонированные на портале PubMLST

Примечание: *- аллели, присвоенные российским изолятам; ** - аллели, присвоенные эталонному и тунисским штаммам микоплазм.

Локус	Изоляты <i>Mycoplasma hominis</i>									
	M45	M57	MH529	MH621	MH1002	MH1019	MH1817	MH1861	MH1866	MH1991
MLST										
<i>uvrA</i>	15*	16*	18*	19*	22*	21*	23*	24*	18*	20*
<i>gyrB</i>	6*	7*	7*	9*	10*	10*	10*	10*	8*	10*
<i>ftsY</i>	9*	1**	1**	10*	13*	12*	14*	7**	3**	11*
<i>tuf</i>	11**	13**	4**	7**	15*	7**	7**	13**	14*	13**
<i>gap</i>	14*	14*	14*	16*	14*	18*	7**	19*	15*	17*
MVLST										
<i>p120'</i>	13**	14**	2**	17*	20*	19*	18*	21*	16*	18*
<i>vaa</i>	8*	9*	11*	12*	15*	14*	16*	10*	10*	13*
<i>lmp1</i>	19*	20*	23*	21**	26*	25*	27*	28*	22*	24*
<i>lmp3</i>	17*	15**	19*	20*	22*	21*	23*	9**	18*	5**
<i>p60</i>	14*	13*	15*	16*	18*	17*	19*	2**	2**	17*

Таблица 2

Сиквенс-типы и патотипы российских изолятов *Mycoplasma hominis*

Типы	Изоляты <i>Mycoplasma hominis</i>									
	M45	M57	MH529	MH621	MH1002	MH1019	MH1817	MH1861	MH1866	MH1991
ST	36	37	45	39	42	41	43	44	38	40
VT	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41
eMLST	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42

Результаты типирования нижегородских штаммов *Mycoplasma hominis* M45, M57, MH529, MH621, MH1002, MH1019, MH1817, MH1861, MH1866, MH1991 позволили обнаружить 37 новых аллельных вариантов генов «домашнего хозяйства» и 41 аллель генов вирулентности, которые были депонированы в базу данных *Mycoplasma hominis isolates database* [7] (табл. 1).

Установлено, что геномы исследуемых изолятов содержат 78 новых, ранее не депонированных аллелей консервативных локусов и локусов, отвечающих за патогенность микоплазм. Несмотря на то что гены «домашнего хозяйства» являются высококонсервативными и менее подвержены генетическим изменениям в процессе эволюции, лишь в 13 случаях отмечено совпадение аллелей исследуемой группы штаммов микоплазм и штаммов, представленных в базе PubMLST. При анализе последовательностей «генов домашнего хозяйства» (MLST) у 5 изолятов *Mycoplasma hominis* (MH1002, MH1019, MH1817, MH1861, MH1991) выявлен 10-й аллель локуса *gyrB*, у двух штаммов (M57, MH529) 7 аллель. Два локуса генов домашнего хозяйства (*gyrB* и *uvrA*) не имели одинаковых аллелей у исследуемых штаммов *Mycoplasma hominis* и представленных в базе PubMLST. В других двух локусах MLST (*gap* и *ftsY*) встречалось от 1 до 4 совпадений с аллельными вариантами тунисских штаммов, выделенных у женщин с бесплодием. Следует отметить, что ген *ftsY* играет ключевую роль в делении прокариотической клетки, четыре из десяти исследуемых изолятов имели полную идентичность аллелей этого локуса с уже размещенными геновариантами штаммов микоплазм. В двух случаях определено полное совпадение последовательности 1 аллеля локуса *ftsY* двух исследуемых изолятов (M57 и MH529) и эталонного штамма *Mycoplasma hominis* (FP236530.1). Самым консервативным локусом у российских и тунисских изолятов *Mycoplasma hominis* оказался локус *tuf*, лишь два представителя исследуемой группы MH1002 и MH1866, характеризующиеся устойчивостью к фторхинолонам, имели уникальные, впервые описанные авторами аллели. Показано, что у трех российских изолятов (MH621, MH1019, MH1817) локус *tuf* совпадал с 7 аллелем тунисских штаммов микоплазм, относящихся к двум сиквенс-типам ST-10 и ST-62. Кроме того, при сравнительном анализе исследуемых и представленных в базе PubMLST штаммов, установлено, что 13 аллель гена *tuf* был идентичным у пяти изолятов *Mycoplasma hominis*, выявленных в России, Китае и Тунисе. Следует отметить, что российские и тунисские штаммы микоплазм были выделены из образцов эпителия цервикального канала женщин с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта и бесплодием, а китайский штамм MH-BL03 был обнаружен в крови пациентки с септическим состоянием после оперативного вмешательства на матке [8]. Китайский изолят *Mycoplasma hominis*, по данным Zeng T. et al., характеризовался устойчивостью к фторхинолонам и макролидам [9]. Штамм (ST51),

выделенный в Тунисе, обладал устойчивостью к препаратам тетрациклинового ряда [10]. Российские штаммы отличались резистентностью к фторхинолонам (M57) и макролидам (MH1861, MH1991). На основании проведенного авторами MLST-типирования показано, что 7 геновариант локуса *tuf* был идентичным у трех изолятов микоплазм, включенных в исследование (MH621, MH1019, MH1817), и двух тунисских штаммов (ST-10, ST-62). По данным Boujema S. et al., тунисские штаммы (2), выделенные из образцов эпителия вагины у женщин с бесплодием, характеризовались чувствительностью ко всем препаратам, применяемым при терапии воспалительных заболеваний урогенитального тракта. Особого внимания заслуживает генетическое сходство штаммов *Mycoplasma hominis*, выявленных у мужчин (MH621 и MH1817) и женщин (MH1019) репродуктивного возраста с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта и проблемами репродукции. Наибольшая гомология внутри исследуемой группы отмечена по 10-му аллелю локуса *gyrB* (у пяти изолятов) и по 14-му аллелю гена *gap* (у 4 изолятов). Кроме того, данные геноварианты встречаются только среди российских изолятов микоплазм. Высокие показатели генетической variability *Mycoplasma hominis* подтверждают существующую парадигму о геномной рекомбинации. Данные о сиквенс-типах и патотипах российских штаммов *Mycoplasma hominis*, представленные в таблице 2, получены впервые. Все изоляты *Mycoplasma hominis*, включенные в исследование, имеют уникальные, ранее не описанные ST- и VT-типы. Результаты типирования, основанного на анализе генов вирулентности (MVLST), исследуемых штаммов микоплазм, показали чрезвычайное разнообразие их патотипов. Основными поверхностными адгезинами, ответственными за реализацию патогенного потенциала *Mycoplasma hominis*, принято считать гены *vaa* и *p120* [11]. Установлено полное совпадение последовательности 13 аллеля локуса *p120* *Mycoplasma hominis* M45 и четырех изолятов *Mycoplasma hominis* (MH56, MH57, MH58, MH59), выделенных в Тунисе у женщин с различными заболеваниями урогенитального тракта. Установлено, что последовательность гена *vaa*, кодирующего поверхностный адгезин, оказалась уникальной у каждого российского изолята, и лишь у двух штаммов (MH1861 и MH1866) данный локус был представлен 10 аллелем. Однако внутри группы российских изолятов у двух изолятов был выявлен 10 аллель локуса *vaa*, оба изолята были выделены у женщин с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта. Примечательно, что российские изоляты *Mycoplasma hominis* по отдельным локусам патогенности имели сходство с китайскими изолятами микоплазм. Такая variability комбинаций аллельных вариантов, установленная с помощью расширенного молекулярного типирования изолятов *Mycoplasma hominis*, свидетельствует о различной степени их генетического полиморфизма в различных популяциях урогенитальных микоплазм, циркулирующих в странах мира. Определено полное совпадение 2 аллеля гена *rbo*

у российских штаммов *Mycoplasma hominis* (МН1861 и МН1866) и 19 изолятов микоплазм, выделенных у пациенток из Туниса. В одном случае обнаружена гомология 21 аллеля локуса *Imp1* у российского изолята МН621, выделенного из образца эпителия уретры мужчины, страдающего бесплодием, и китайского штамма *Mycoplasma hominis*.

В настоящее время как в Российской Федерации, так и за рубежом имеется существенный недостаток информации о структуре генома циркулирующих штаммов *Mycoplasma hominis*, а также об их факторах патогенности, что связано с трудностями индикации и идентификации данного возбудителя с использованием классических микробиологических методов исследования. Результаты расширенного молекулярного типирования *Mycoplasma hominis* с помощью технологии высокопроизводительного секвенирования (NGS), впервые проведенного в России, позволили получить новые знания о генетическом разнообразии и факторах патогенности *Mycoplasma hominis*, ассоциированных с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта и нарушением репродуктивной функции у женщин и мужчин, что имеет научно-практическое значение для фундаментальной и прикладной микробиологии. Информация, представленная в международной базе данных PubMLST, содержит лишь сведения о геноме единичных штаммов микоплазм, циркулирующих в Тунисе и Китае. Регистрация новых локусов *Mycoplasma hominis* позволила существенно расширить представленность аллельных вариантов российских изолятов, что необходимо для проведения полноценного филогенетического анализа на качественно новом уровне, а также для поиска источников и факторов передачи при нозокомиальных инфекциях.

Заключение. Таким образом, с использованием NGS-технологии впервые проведено расширенное мультилокусное сиквенс-типирование российских штаммов *Mycoplasma hominis*, выделенных у мужчин и женщин репродуктивного возраста с различными воспалительными заболеваниями мочевыводящих путей и органов репродукции. Установлено, что геномы исследуемых изолятов содержат 78 новых, ранее не депонированных аллелей консервативных локусов (*uvrA*, *gyrB*, *ftsY*, *tuf*, *gap*) и локусов, отвечающих за патогенность (*p120'*, *vaa*, *Imp1*, *Imp3*, *p60*) микоплазм. Впервые определены и депонированы в базу данных PubMLST новые ранее не описанные 10 сиквенс-типов (ST) и 10 патотипов (VT) российских изолятов *Mycoplasma hominis*. Полученные новые знания о популяционной структуре и патогенных свойствах урогенитальных микоплазм имеют важное значение в аспекте понимания эволюции и патогенеза заболеваний, ассоциированных с *Mycoplasma hominis*.

Список литературы

1. Charity Ezeanya-Bakpa C., Regina Agbakoba N., Blanche Oguejiofor C., Bessie Enweani-Nwokelo I. Sequence analysis reveals asymptomatic infection with *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* possibly leads to infertility in females: A cross-sectional study // Int J. Reprod Biomed. 2021 Vol. 13. Is. 19 (11). P. 951-958. DOI: 10.18502/ijrm.v19i11.9910.
2. Farahani L., Tharakan T., Yap T., Ramsay J.W., Jayasena C.N., Minhas S. The semen microbiome and its impact on sperm function and male fertility: A systematic review and meta-analysis // Andrology. 2021. Vol. 9. Is. 1. P. 115-144. DOI: 10.1111/andr.12886.
3. Борхсениус С.Н., Чернова О.А., Чернов В.М., Вишняков И.Е. Микоплазмы в биологии и медицине начала XXI века. СПб.: Наука, 2016. 333 с.
4. Чернова О.А., Медведева Е.С., Музыкантов А.А., Баранова Н.Б., Чернов М.В. Микоплазмы и их устойчивость к антибиотикам: проблемы и перспективы контроля микоплазменных инфекций и контаминаций клеточных культур // Acta Naturae. 2016. Т. 8. № 2. С. 24-34.
5. Woese C.R. Bacterial evolution // Microbiol Rev. 1987. Vol. 51. Is. 2. P. 221-271. DOI: 10.1128/mr.51.2.221-271.1987.
6. Mardassi B.B., Ayari H., Béjaoui-Khiari A., Mlik B., Moalla I., Amouna F. Genetic variability of the P120' surface protein gene of *Mycoplasma hominis* isolates recovered from Tunisian patients with uro-genital and infertility disorders // BMC Infect Dis. 2007. Vol. 5. Is. 7. P. 142. DOI: 10.1186/1471-2334-7-142.
7. Boujemaa S., Ben Allaya A., Mlik B., Mardassi H., Ben Abdelmoumen Mardassi B. Phylogenetics of *Mycoplasma hominis* clinical strains associated with gynecological infections or infertility as disclosed by an expanded multilocus sequence typing scheme // Sci Rep. 2018. Vol. 8. Is. 1. P. 14854. DOI: 10.1038/s41598-018-33260-x.
8. Jironkin A., Brown R.J., Underwood A., Chalker V.J., Spiller O.B. Genomic determination of minimum multi-locus sequence typing schemas to represent the genomic phylogeny of *Mycoplasma hominis* // BMC Genomics. 2016. Vol. 17. Is. 1. P. 964. DOI: 10.1186/s12864-016-3284-z.
9. Zeng T., Wu Y., Yang Z., Luo M., Xu C., Liu Z., Ouyang J., Liu L., Zhang X. Clinical and Microbiological Characterization of Bloodstream Infections Caused by *Mycoplasma hominis*: An Overlooked Pathogen // Infect Dis Ther. 2022. Vol. 11. Is. 3. P. 1003-1017. DOI: 10.1007/s40121-022-00616-w.
10. Boujemaa S., Mlik B., Mardassi H., Ben Abdelmoumen Mardassi B. Clonal Spread of Tetracycline Resistance Among *Mycoplasma hominis* Clinical Strains, Tunisia // Infect Drug Resist. 2020. Vol. 2. Is. 13. P. 2093-2097. DOI: 10.2147/IDR.S249630.
11. Mardassi B.B., Ayari H., Béjaoui-Khiari A., Mlik B., Moalla I., Amouna F. Genetic variability of the P120' surface protein gene of *Mycoplasma hominis* isolates recovered from Tunisian patients

with uro-genital and infertility disorders // BMC Infect Dis. 2007. Vol. 5. Is. 7. P. 142. DOI:
10.1186/1471-2334-7-142.