



Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России

Учредитель

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

Издатель

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии
www.iacmac.ru

Журнал зарегистрирован
Комитетом РФ по печати
30.09.1999 г. (№019273)
Тираж 3000 экз.

Подписка на сайте издателя
<https://service.iacmac.ru>

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

Электронная почта:
cmac@antibiotic.ru

Электронная версия журнала:
<https://cmac-journal.ru>

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

© Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2022.

Содержание

Болезни и возбудители

- 4 Чеботарь И.В., Бочарова Ю.А.
Загадочный *Achromobacter*
- 14 Диникина Ю.В., Шагдильева Е.В., Хостелиди С.Н., Шадривова О.В., Авдеенко Ю.Л., Волкова А.Г., Попова М.О., Зубаровская Л.С., Богомолова Т.С., Игнатъева С.М., Колбин А.С., Белогурова М.Б., Бойченко Э.Г., Клишко Н.Н.
Сочетание инвазивного аспергиллеза и мукормикоза у детей: описание клинического случая и результаты многоцентрового исследования

Антимикробные препараты

- 23 Гомон Ю.М., Колбин А.С.
Проблемы оценки экономической эффективности антимикробных препаратов: опыт Российской Федерации

Антибиотикорезистентность

- 31 Кузьменков А.Ю., Виноградова А.Г., Трушин И.В., Козлов Р.С.
Практика локального мониторинга антибиотикорезистентности в стационарах различных регионов РФ
- 39 Петрова Л.В., Кузьменков А.Ю., Камышова Д.А., Виноградова А.Г., Гусаров В.Г., Замятин М.Н.
Опыт внедрения онлайн-платформы AMRcloud для локального мониторинга антибиотикорезистентности в многопрофильном стационаре
- 47 Кожушная О.С., Солопова Г.Г., Маркелов М.И., Орел А.Р., Балашов Д.Н., Шелихова Л.Н., Новичкова Г.А.
Мониторинг мутаций в гене *UL97* цитомегаловируса, ассоциированных с резистентностью к ганцикловиру, у детей после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток
- 52 Эйдельштейн И.А., Руднева Н.С., Романов А.В., Зубарева Л.М., Кузьменков А.Ю., Колесникова Е.А., Трушин И.В., Борисов И.В., Суханова Л.Н., Ахмедова А.М., Новикова О.П., Козлов Р.С.
Mycoplasma genitalium: мониторинг распространения мутаций, связанных с резистентностью к макролидам в России

Микробиологическая диагностика

- 61 Чагарян А.Н., Иванчик Н.В., Миронов К.О., Муравьев А.А.
Современные методы капсульного типирования *Streptococcus pneumoniae*: возможности и доступность для практической лаборатории
- 67 Ивойлов О.О., Кочетов А.Г., Тирских К.А.
Современный подход к хронометражу рабочих мест микробиологической лаборатории

Опыт работы

- 77 Черкасова Ю.И., Кремлева Е.А., Щетинина Ю.С., Сгибнев А.В.
Влияние местного применения раствора, содержащего ионы железа двухвалентного, на эффективность терапии рецидивирующего урогенитального трихомониаза у женщин
- 83 Степанов Н.А., Рукоусева Т.В., Бочанова Е.Н., Боровлева А.В., Ганжа А.В., Носов А.С., Еремина К.И., Соболева В.О.
Оценка микробного загрязнения смартфонов медицинских работников

Mycoplasma genitalium: мониторинг распространения мутаций, связанных с резистентностью к макролидам в России

Эйдельштейн И.А.¹, Руднева Н.С.², Романов А.В.¹, Зубарева Л.М.³, Кузьменков А.Ю.¹, Колесникова Е.А.⁴, Трушин И.В.¹, Борисов И.В.⁵, Суханова Л.Н.², Ахмедова А.М.², Новикова О.П.⁶, Козлов Р.С.¹

¹ НИИ антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России, Смоленск, Россия

² ГУЗ «Тульский областной клинический кожно-венерологический диспансер», Тула, Россия

³ ОГБУЗ «Смоленский кожно-венерологический диспансер», Смоленск, Россия

⁴ ФБУН «Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия

⁵ Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, Россия

⁶ Медицинский центр «Консультант», Тула, Россия

Контактный адрес:

Инна Александровна Эйдельштейн

Эл. почта: Inna.Edelstein@antibiotic.ru

Ключевые слова: *Mycoplasma genitalium*, макролиды, резистентность, полимеразная цепная реакция в режиме реального времени, 23S рРНК, мутации.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Внешнее финансирование: исследование проведено без внешнего финансирования.

Цель. Определить спектр и распространенность маркеров резистентности к макролидам у *Mycoplasma genitalium* в российской популяции пациентов, обратившихся за медицинской помощью в период с 2009 по 2019 г.

Материалы и методы. 873 образца ДНК *Mycoplasma genitalium* из 5 географических регионов России исследовали с помощью разработанной технологии полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, которая позволяет выявлять любые нуклеотидные замены в гене 23S рРНК *M. genitalium* в позициях 2058, 2059, 2611 (согласно нумерации по *E. coli*). Для подтверждения наличия значимых замен все образцы ДНК *M. genitalium*, несущие мутации, были дополнительно исследованы методом секвенирования.

Результаты. Частота распространения мутаций резистентности *M. genitalium* к макролидам в 5 городах России, по результатам данного исследования, не превышает 4,9% (43/873). Наиболее частыми мутациями, связанными с устойчивостью к макролидам у *M. genitalium*, являются замены A2058G (60,5%) и A2059G (30,2%); редко встречающиеся мутации: A2058T (7%) и C2611T (2,3%). За исследуемый период времени тенденции к увеличению частоты мутаций устойчивости к макролидам не выявлено. Результаты исследования депонированы на платформе AMRcloud (<https://amrcloud.net/ru/project/demares/>).

Выводы. Учитывая сложность культивирования данного возбудителя, наиболее эффективным является выявление целевых мутаций с использованием амплификационных методов. Полученные нами данные подчеркивают необходимость регулярного эпидемиологического мониторинга устойчивости к макролидам у *M. genitalium*.

Original Article

Monitoring of macrolide resistance-associated mutations in *Mycoplasma genitalium* in Russia

Edelstein I.A.¹, Rudneva N.S.², Romanov A.V.¹, Zubareva L.M.³, Kuzmenkov A.Yu.¹, Kolesnikova E.A.⁴, Trushin I.V.¹, Borisov I.V.⁵, Sukhanova L.N.², Akhmedova A.M.², Novikova O.P.⁶, Kozlov R.S.¹

¹ Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk, Russia

² Tula Regional Clinical Dermatology and Venerology Dispensary, Tula, Russia

³ Smolensk Dermatology and Venerology Dispensary, Smolensk, Russia

⁴ Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia

⁵ Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms of the Russian Academy of Sciences, Saratov, Russia

⁶ Medical center «Consultant», Tula, Russia

Contacts:

Inna A. Edelstein

E-mail: Inna.Edelstein@antibiotic.ru

Key words: *Mycoplasma genitalium*, macrolides, antimicrobial resistance, real-time polymerase chain reaction, 23S rRNA, mutations.

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

External funding source: no external funding received.

Objective. To determine spectrum and prevalence of genetic determinants of resistance to macrolides in *Mycoplasma genitalium* in a Russian patient population.

Materials and methods. A total of 873 *M. genitalium*-positive samples from five geographical regions of Russia were investigated over the period of 2009–2019 using the previously developed protocol of real-time polymerase chain reaction (allows detecting any nucleotide substitutions in the 23S rRNA gene of *M. genitalium* at positions 2058, 2059, and 2611). The results were confirmed using Sanger sequencing.

Results. The most frequent mutations associated with resistance to macrolides in *M. genitalium* were the following: A2058G (60.5%) and A2059G (30.2%). The relatively rare mutations were A2058T (7%) and C2611T (2.3%). In the studied period, there was no trend to increase in frequency of mutations associated with resistance to macrolides. The study results are presented as an open project on the AMRcloud platform (<https://amrcloud.net/ru/project/demares/>).

Conclusions. Our data emphasize a need to introduce regular screening of *M. genitalium*-positive samples for the presence of macrolide resistance-associated mutations into clinical practice.

Эйдельштейн И.А. и соавт.

Введение

Mycoplasma genitalium является облигатным патогеном, вызывающим инфекции, передающиеся половым путем (ИППП) [1–3]. У большинства людей, инфицированных *M. genitalium*, симптомы отсутствуют, а клинические последствия бессимптомного течения инфекции остаются неясными, что осложняет надзор за распространением таких заболеваний [4, 5]. В Европе частота выявления *M. genitalium* в соскобах из уретры у мужчин с клиническими проявлениями негонеоккокковых уретритов (НГУ) составляет 15–25% [6, 7]. У 7–10% женщин с признаками воспалительных заболеваний органов малого таза в образцах с шейки матки и/или эндометрия выделяется *M. genitalium* [8]. Согласно результатам эпидемиологических исследований, проведенных в Великобритании, *M. genitalium* встречается у 1–3% живущих половой жизнью здоровых мужчин и женщин, а в популяции пациентов с НГУ – от 6% до 50% [9–11]. По оценкам российских исследователей, распространенность данного патогена составляет 18% среди мужчин и 13% среди женщин, обратившихся за медико-консультативной помощью к дерматовенерологам Москвы и Санкт-Петербурга [12, 13]. По мнению экспертов Центров США по контролю и профилактике заболеваний (CDC), инфекции, вызванные *M. genitalium*, представляют собой растущую во всем мире проблему, требующую изменения подходов к диагностике и лечению [14].

Отсутствие пептидогликановой клеточной стенки у микоплазм обуславливает их природную устойчивость ко многим антибиотикам, однако тетрациклины, макролиды и фторхинолоны активны в отношении данного возбудителя [1]. Учитывая особенности биологии развития микоплазм, на сегодняшний день рутинная этиологическая диагностика инфекций основывается на методах амплификации нуклеиновых кислот, что отражено в отечественных и зарубежных руководствах [7, 15–18].

Неудовлетворительные клинические результаты терапии доксициклином, где неэффективность лечения составляет 30–40%, указывают на необходимость использования макролидов в качестве препаратов выбора [19, 20].

За последние годы наблюдается снижение эффективности препаратов данной группы, несмотря на различия в тактике назначения в разных странах. Случаи отсутствия положительной динамики у пациентов после рекомендованных методов лечения были описаны исследователями в Европе, США и странах Азии [21–23]. В основе этой тревожной ситуации лежит несколько причин: отсутствие международного консенсуса в отношении стратегии обследования и лечения пациентов, необоснованное использование макролидов при респираторных инфекциях, плохое соблюдение схем лечения пациентами и их партнерами, недостаточная доступность тестов для выявления устойчивости микоплазм, а также отсутствие мониторинга за распространением штаммов, несущих маркеры резистентности к антимикробным препаратам.

Эксперты ВОЗ в разделе приоритетных направлений в области ИППП делают акцент на проблеме выявления устойчивости к антимикробным препаратам, оценке состояния вопроса на уровне стран и создании платформ для регулярного эпидемиологического мониторинга за распространением устойчивых патогенов [24].

Основным механизмом устойчивости к макролидам у генитальных микоплазм являются специфические нуклеотидные замены в гене 23S рРНК V домена пептидилтрансферазной петли, в основном в значимых позициях 2058 и 2059 (согласно нумерации *E. coli*) [20]. Штаммы, несущие маркеры устойчивости к антибиотикам, часто циркулируют в популяции пациентов еще до назначения терапии [25]. В связи с этим наиболее важным является вопрос о наличии быстрых, надежных и экономичных тестов для выявления таких маркеров. В Европейское руководство по ведению инфекций, вызванных *M. genitalium* (2016 г), внесены следующие рекомендации: «В связи с широким распространением в Европе резистентности *M. genitalium* к макролидам, настоятельно рекомендуется определять чувствительность к ним всех положительных образцов исследовательскими или коммерческими тестами, которые представлены на рынке» [15]. В настоящее время для применения в клинической практике в мире зарегистрированы 4 коммерческие тест-системы, основанные на молекулярно-генетических технологиях, которые позволяют одновременно с обнаружением ДНК *M. genitalium* установить статус антибиотикорезистентности возбудителя, выявив наиболее значимые мутации в формате мультиплекс [26–29]. Разработка и внедрение быстрых и качественных тестов в течение менее 4 лет однозначно указывает на возросший интерес к исследованию резистентности у *M. genitalium* и необходимости мониторинга состояния проблемы в различных странах. Результатом работы в этом направлении стал глобальный систематический обзор с метаанализом, опубликованный в 2020 г., который основывается на оценке результатов 59 исследований [30]. Карта, отображающая распространенность устойчивости к макролидам в различных географических регионах мира, представлена на Рисунке 1.

Отечественные исследования по изучению макролидорезистентности у *M. genitalium*, а также определению спектра и распространенности маркеров устойчивости до сих пор немногочисленны. Случаи клинической неэффективности терапии джозамицином у пациентов с НГУ, вызванными *M. genitalium*, были описаны в клиниках Москвы и Смоленска [31, 32]. Работа по изучению частоты распространения макролидоустойчивых штаммов в 5 городах России и Эстонии указывает на относительно низкий уровень резистентности у *M. genitalium* – не более 5% [33]. По данным опубликованных российских исследований, частота встречаемости мутаций, ассоциированных с устойчивостью к макролидам у *M. genitalium*, в Москве, Смоленске и Туле не превышает 6% [34–36].

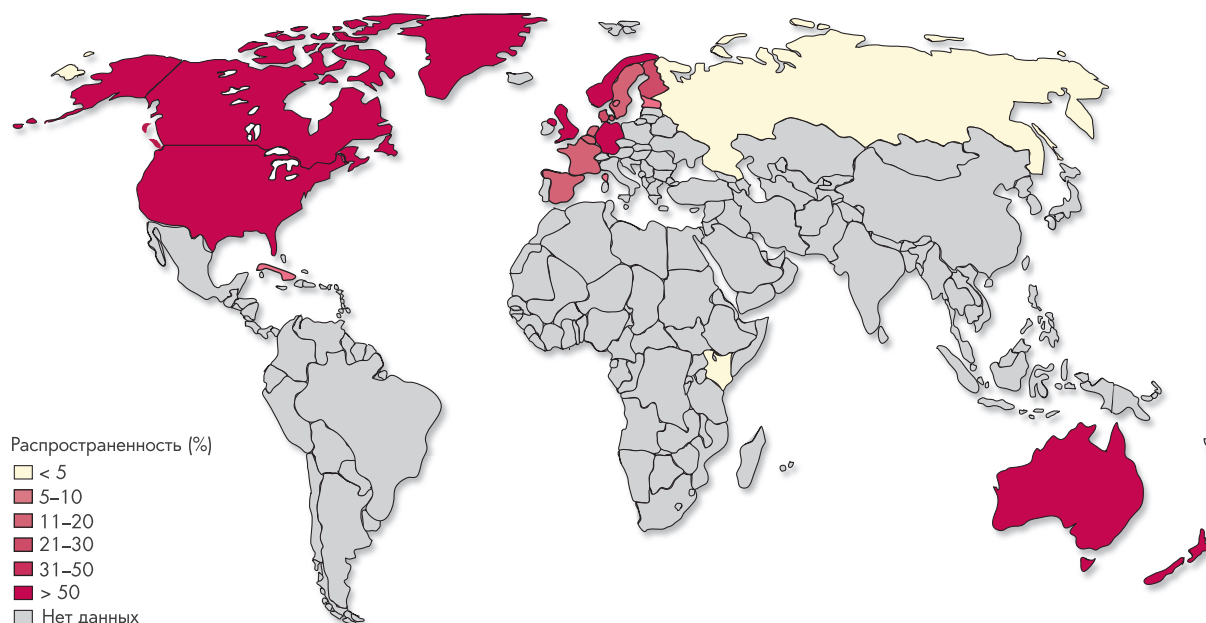


Рисунок 1. Распространенность маркеров устойчивости к макролидам у *M. genitalium* в различных регионах мира [30]

Помимо вышеуказанных работ по изучению снижения эффективности макролидных антибиотиков, а также описания спектра и частоты выявления значимых маркеров резистентности у *M. genitalium* в нескольких городах, информация по другим регионам России отсутствует. Национальных данных об устойчивости этого патогена недостаточно, а потребность в специальной системе наблюдения за возбудителем, которая связывает данные эпидемиологического надзора и результаты определения чувствительности к антимикробным препаратам очевидна.

Цель исследования — оценить распространенность мутаций резистентности к макролидам у *M. genitalium*, выделенных у различных групп пациентов в России в 2009–2019 гг.

Материалы и методы

Общий дизайн исследования

Ретроспективное исследование устойчивости к макролидам было выполнено на изолятах *M. genitalium*, собранных в период с 2009 по 2019 г. в 5 городах России (Москва, Нижний Новгород, Саратов, Смоленск, Тула). В местных лабораториях клинический образец был классифицирован как положительный на основании первичного рутинного тестирования с использованием коммерческих наборов, зарегистрированных на территории России. При обнаружении ДНК *M. genitalium* образцы хранились при температуре -20°C до момента дальнейшего исследования. Весь материал передавался в центральную лабораторию (НИИ антимикробной химиотерапии, Смоленск) для изучения маркеров резистентности к макролидным антибиотикам и осо-

бенностей их распространения в рамках многоцентрового исследования «DeMaRes» (Detection of Macrolide Resistance – *Mycoplasma genitalium*). Полученные результаты размещались на онлайн-платформе AMRcloud (<https://amrcloud.net/ru/project/demares/>) для анализа, визуализации и обмена данными с целью совершенствования взаимодействия участников проекта.

В исследование было включено 873 клинических образца – соскобов со слизистых оболочек уретры и цервикального канала, а также мочи и секрета простаты, полученных от пациентов, обращавшихся за помощью к врачам общей практики, дерматовенерологам в специализированных клиниках, специалистам частных клиник и клиник планирования семьи. Все образцы содержали ДНК *M. genitalium* по результатам первичного скрининга. Согласно отечественной практике, материал был получен как от пациентов с клиническими симптомами, так и от их бессимптомных половых партнеров. Из Тулы и Смоленска в дополнительной выборке представлен клинический материал от пациентов, подлежащих обязательному бесплатному скрининговому обследованию на наличие ДНК *M. genitalium*. Повторные образцы от одного пациента (контроль лечения, проведенный не ранее, чем через 3 недели), а также из разных анатомических локусов одного пациента исключались из исследования. Перед тестированием ни один из обследуемых не получал предшествующей антибактериальной терапии.

Детекция мутаций

Выявление специфических мутаций осуществляли с использованием модифицированного метода ПЦР-РВ с эффектом гашения флуоресценции зонда праймером, описанным ранее [37]. Разработанный метод, харак-

терной особенностью которого является специально подобранная система зондов и праймеров, обеспечивает возможность потенциально выявлять любые нуклеотидные замены в гене 23S рПНК *M. genitalium* в участке протяженностью с 2052 по 2069 и с 2609 по 2629 позиции (согласно нумерации по *E. coli*) с помощью анализа кривых плавления зондов после проведения амплификации в мультиплексном формате (патент РФ № 2010149524) [38]. Полученные пики плавления оценивали путем сравнения с контрольными образцами. Присутствие однонуклеотидной замены в области связывания зонда обуславливает меньшую температуру плавления, величина которой специфична для каждого вида мутации.

Секвенирование

Для подтверждения характера замены все образцы ДНК *M. genitalium*, несущие мутации, были дополнительно исследованы методом секвенирования. Внутренний фрагмент длиной 747 п.н. исследовали путем дополнительной амплификации и секвенирования с внутренними праймерами с использованием наборов BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit и генетического анализатора Applied Biosystems 3500 (Life Technologies, США).

Статистика

Анализ данных проводился с помощью онлайн-платформы AMRcloud (<https://amrcloud.net/>) с использованием стандартных методов описательной статистики: расчета абсолютных и относительных частот, медианных значений, доверительных интервалов по методу Уилсона, множественных сравнений с использованием точного теста Фишера с поправкой Холма [39].

Результаты и обсуждение

Всего было исследовано 873 клинических образца от пациентов из 5 городов России. Распределение материала из каждого региона в течение всего периода исследования представлено на Рисунке 2. В связи с различной выборкой проанализированных образцов, статистически значимые выводы об уровне резистентности к макролидам в определенном регионе (Саратов, Москва) сделать не представляется возможным так же, как и в первые годы старта проекта, когда количество образцов было нерепрезентативным. Можно отметить преобладание образцов из Смоленска и Тулы.

Наибольшую долю составили образцы, полученные от женщин – 562/873 (64%), соскобы из уретры у мужчин составили 311/873 (36%). Медиана возраста мужчин составила 38 лет (17–59 лет), медиана возраста женщин – 35 лет (14–57 лет). Согласно полученным данным, не установлено значимых различий по возрасту среди пациентов из разных регионов, средний возраст составил 26 лет. Это объясняется тем, что обследование посещает сексуально активная часть населения в детородном периоде. Преобладание в структуре клинических образцов соскобов из цервикального канала

объясняется большой долей проб, полученных от беременных в Туле, поскольку в этом регионе с 2015 г. действует программа «Улучшение демографической ситуации и поддержка семей, воспитывающих детей, в Тульской области», согласно которой все беременные женщины подлежат обязательному бесплатному скрининговому обследованию на наличие ДНК *M. genitalium* методом ПЦР-РВ [40].

В России на сегодняшний день зарегистрирована тест-система, которая позволяет оценивать спектр наиболее значимых мутаций, и широкомасштабные эпидемиологические результаты исследований, возможно, будут представлены позже. С 2009 г. мы проводим анализ всех *M. genitalium*-положительных образцов с использованием ранее описанного метода в рамках многоцентрового исследования DeMaRes.

Полученные результаты показывают, что 830/873 (95,1%, 95% ДИ: 93,43–96,32%) образцов *M. genitalium* продемонстрировали генотип дикого типа (чувствительные к макролидам) и 43/873 (4,9%, 95% ДИ: 3,68–6,57%) образца показали наличие мутаций, ассоциированных с устойчивостью к макролидам.

Распространенность мутаций устойчивости *M. genitalium* к макролидным антибиотикам суммарно в течение всего периода наблюдения в 5 географических регионах России составляет 4,9%. Это достаточно низкий показатель, в то время как в различных странах Европы он колеблется от 10% до 50%, в странах Азии – 30–50%, в Америке и Австралии превышает 50% [30].

Это можно объяснить особенностями диагностики и лечения ИППП в России. Препаратом стартовой терапии для инфекций, вызванных данным возбудителем, является доксициклин, в то время как во многих зарубежных странах для эрадикации *M. genitalium* применяется азитромицин [7, 18]. По данным исследования Read T. и соавт., доксициклин снижает бактериальную нагрузку патогена в моче до назначения азитромицина на 2,6 log₁₀, что позволяет рассматривать стартовое назначение этого препарата как полезную стратегию терапии, которая включена на сегодняшний день в национальные рекомендации [41].

По результатам многих Европейских исследований, назначение в качестве стартовой терапии 1 г азитромицина однократно приводит к селекции мутантных штаммов *M. genitalium* и показывает терапевтическую неэффективность примерно у 85% пациентов, что дополнительно может быть связано с изначально высокой инфекционной нагрузкой микроорганизмов у пациентов [42]. Как показало исследование Bissessor и соавт., вероятность отсутствия терапевтического эффекта растет с увеличением микробного числа. Более того, широкое использование такой схемы лечения без подтверждения эрадикации патогена может приводить к спонтанным мутациям у выживших микроорганизмов и дальнейшему распространению их в популяции [43]. Кроме того, отсутствие в ряде зарубежных стран алгоритма этиологической диагностики инфекций, вызванных *M. genitalium*, обуславливает применение стандартных схем антибактериальной терапии без выяснения природы возбудителя,

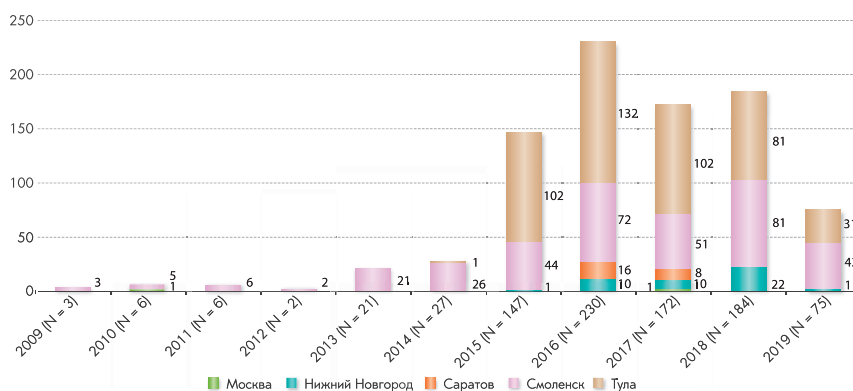


Рисунок 2. Распределение *M. genitalium*-положительных образцов, полученных из 5 городов России в 2009–2019 гг. в рамках исследования «DeMaRes» (n = 873)

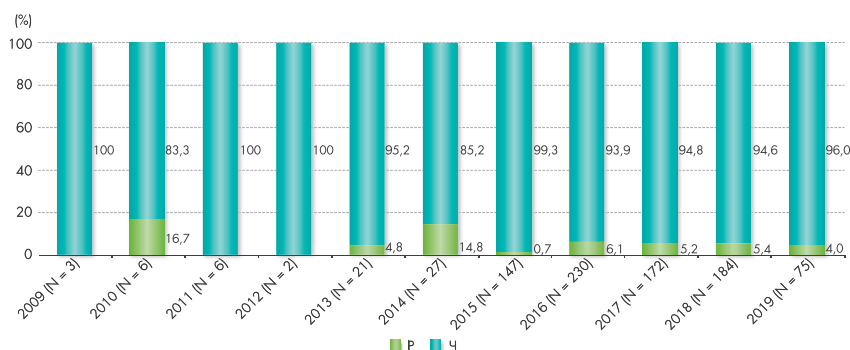


Рисунок 3. Распределение по годам генетических детерминант устойчивости к макролидам у *M. genitalium* в России (2009–2019 гг.)

что нередко приводит к незавершенности лечебного процесса и необходимости изменения и усложнения тактики лечения.

В России существует строгий диагностический алгоритм выявления этиологии ИППП, который диктует определенные схемы эрадикационной терапии. Так, в отечественных рекомендациях показана схема назначения джозамицина 500 мг 3 раза в сутки в течение 10 дней. Этот режим терапии в отличие от однократного приема 1 г азитромицина, вероятно, не приводит к такому уровню селекции резистентности ввиду значительно более короткого периода полувыведения джозамицина. Этих рекомендаций придерживаются и в тех специализированных лечебных учреждениях, которые участвовали в нашем исследовании, и причина невысокой частоты выявленной резистентности вероятно, связана с преимущественным назначением доксициклина как препарата первой линии терапии и джозамицина в случае отсутствия терапевтического эффекта от предшествующей терапии или сочетанной инфекции.

Абсолютное количество изолятов с генетическими детерминантами устойчивости по годам представлено на гистограмме платформы AMRcloud, которая позволяет оценить динамику распространения мутаций в заданный

временной промежуток (Рисунок 3). Принимая во внимание общее количество ежегодно исследованных образцов, можно видеть тенденцию к отсутствию увеличения уровня резистентности к макролидам у *M. genitalium* в течение последних 10 лет.

Дальнейшее исследование характера мутаций позволило выделить 4 варианта нуклеотидных замен в гене 23S рРНК *M. genitalium*, структура которых представлена на Рисунке 4.

В 26 (60,5%) образцах выявлена нуклеотидная замена А→G в позиции 2058 гена 23S рРНК *M. genitalium*, которая составила наибольшую долю. Данный вид мутаций наиболее часто встречается как в России, так и за рубежом [25].

В 13 (30,2%) образцах выявлена мутация А2059G – вторая по значимости и распространенности у генитальных микоплазм. В соответствии с вторичной структурой 23S рРНК у *M. genitalium* рядом с 2058 располагается 2059 и 2611. Все нуклеотиды, участвующие во взаимодействии с макролидами, образуют относительно плотный кластер и, как показывают кристаллографические модели, наиболее частые замены происходят в позиции 2058 или 2059 (мутация изменяет положения фосфатных групп в сайте связывания), конформационно

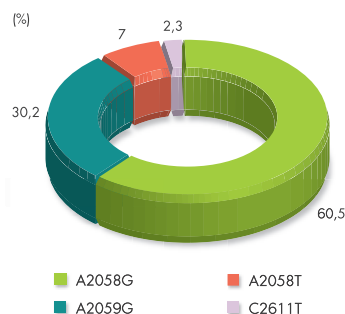


Рисунок 4. Распространенность мутаций устойчивости к макролидам у *M. genitalium* в 2009–2019 гг. (n = 43)

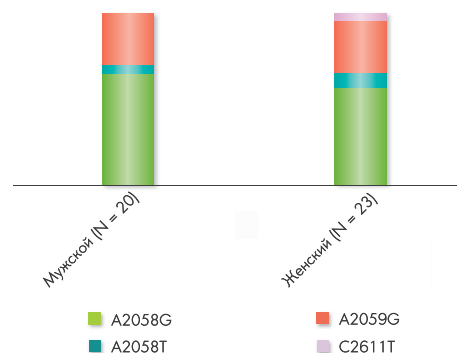


Рисунок 5. Распределение по полу пациентов различных вариантов мутаций в гене 23S рРНК у *M. genitalium* (n = 43)

затрудняющие связывание молекулы макролида в месте посадки.

Третья по частоте встречаемости мутация A2058T была обнаружена в 3 (7%) случаях. Этот вид генетической детерминанты резистентности также описан в литературе и имеет взаимосвязь с неэффективностью терапии пациентов, инфицированных таким штаммом [44].

Следует отметить, что из всей выборки изученных образцов в одном случае (2,3%) нами была выявлена крайне редкая нуклеотидная замена C2611T в гене 23S рРНК *M. genitalium*, клиническое и микробиологическое значение которой определили только у *M. hominis* и *M. pneumoniae* [45, 46]. Все выявленные варианты мутаций являются значимыми и однозначно опосредуют высокий уровень устойчивости к макролидным антибиотикам.

Мутационный профиль, представленный вариантами A2058C и A2059C, в исследуемой выборке образцов не обнаружен. Также не выявлено замен в положении A2062, которые могут опосредовать высокий уровень устойчивости преимущественно к джозамицину, что обусловлено различиями в сайте связывания по сравнению с 15-членными макролидами. Полученные нами результаты в целом согласуются с данными аналогичных международных исследований [30].

Различия в спектре мутантных вариантов у *M. genitalium*, полученных от мужчин и женщин, отсутствовали. В каждой выборке пациентов было сопоставимое число образцов (Рисунок 5).

Анализ и визуализация пространственно-временного распространения выбранного генетического маркера устойчивости представлены для каждого вида мутации на онлайн-платформе AMRcloud и позволяет отследить время первого обнаружения того или иного вида мутаций в данном географическом регионе, что является важным для эпидемиологической оценки динамики уровня резистентности (Рисунок 6).

Выводы

Резистентность *M. genitalium* к макролидам в последнее время становится значимой темой для научного и медицинского сообщества, требующей активного внедрения молекулярно-диагностических методов, использование которых позволит быстро и эффективно предоставить данные для подбора оптимального режима антибиотикотерапии. Общая частота выявления мутаций за исследуемый период 2009–2019 гг. в России составляет 4,9%. Тенденции к увеличению уровня резистентности к макролидам у *M. genitalium* в течение последних 10 лет не наблюдается. Самым распространенным вариантом мутации является A2058G 23S рРНК *M. genitalium* (60,5%), реже представлена замена A2059G (30,2%). Выявлены редко встречающиеся виды нуклеотидных замен: A2058T и C2611T. Все обнаруженные варианты мутаций являются клинически значимыми. Полученные данные подчеркивают

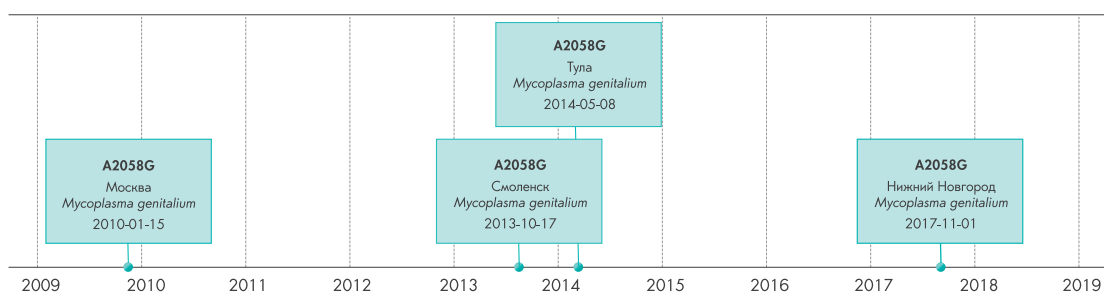


Рисунок 6. Время первого обнаружения генетических детерминант устойчивости к макролидам у *M. genitalium* в России

необходимость введения в отечественные рекомендации по лечению ИППП практики рутинного тестирования всех *M. genitalium*-положительных образцов на наличие мутаций устойчивости к макролидам с использованием амплификационных методов, а также регулярного эпидемиологического мониторинга для обеспечения эффективного ведения пациентов, раци-

онального использования антибактериальных препаратов и предотвращения дальнейшего распространения устойчивых штаммов.

Данное исследование является первым многоцентровым проектом в России, в котором на регулярной основе проводится скрининг мутаций, приводящих к устойчивости *M. genitalium* к антибиотикам группы макролидов.

Литература

1. Gnanadurai R., Fifer H. *Mycoplasma genitalium*: a review. Microbiology. 2020;166(1):21-29. DOI: 10.1099/mic.0.000830
2. Khatib N., Bradbury C., Chalker V., Koh G., Smit E., Wilson S., et al. Prevalence of *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma genitalium* and *Ureaplasma urealyticum* in men with urethritis attending an urban sexual health clinic. Int J STD AIDS. 2015;26(6):388-392. DOI: 10.1177/0956462414539464
3. Seña A.C., Lee J.Y., Schwebke J., Philip S.S., Wiesenfeld H.C., Rompalo A.M., et al. A silent epidemic: the prevalence, incidence and persistence of *Mycoplasma genitalium* among young, asymptomatic high-risk women in the United States. Clin Infect Dis. 2018;67(1):73-79. DOI: 10.1093/cid/ciy025
4. Henning D., Eade D., Langstone A., Bean-Hodges A., Marceglia A., Azzopardi P. Asymptomatic *Mycoplasma genitalium* infection amongst marginalised young people accessing a youth health service in Melbourne. Int J STD AIDS. 2014;25(4):299-302. DOI: 10.1177/0956462413502317
5. Ahmadi M.H., Mirsalehian A., Gilani M.A.S., Bahador A., Talebi M. Improvement of semen parameters after antibiotic therapy in asymptomatic infertile men infected with *Mycoplasma genitalium*. Infection. 2018;46(1):31-38. DOI: 10.1007/s15010-017-1075-3
6. Asenjo A., Kusters J.G., Severs T.T., Alós J.-I. *Mycoplasma genitalium* in Spain: prevalence of genital infection and frequency of resistance to macrolides. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2018;36(3):169-171. DOI: 10.1016/j.eimc.2017.01.006
7. Horner P.J., Blee K., Falk L., van der Meijden W., Moi H. 2016 European guideline on the management of nongonococcal urethritis. Int J STD AIDS. 2016;27(11):928-937. DOI: 10.1177/0956462416648585
8. Nye M.B., Harris A.B., Pherson A.J., Cartwright C.P. Prevalence of *Mycoplasma genitalium* infection in women with bacterial vaginosis. BMC Womens Health. 2020;20(1):62. DOI: 10.1186/s12905-020-00926-6
9. Wiesenfeld H.C., Manhart L.E. *Mycoplasma genitalium* in women: current knowledge and research priorities for this recently emerged pathogen. J Infect Dis. 2017;216(Suppl. 2):S389-S395. DOI: 10.1093/infdis/jix198
10. Tucker J.D., Ong J.J. *Mycoplasma genitalium*: an important sexually transmitted infection comes into focus. Sex Transm Infect. 2018;94(4):240-241. DOI: 10.1136/sextrans-2017-053517
11. Ovens K.J., Reynolds-Wright J.J., Cross E.L.A., Rickwood L., Hassan-Ibrahim M.O., Soni S. High rates of treatment failure for *Mycoplasma genitalium* among men and women attending a sexual health clinic. BMJ Sex Reprod Heal. 2020;46(2):132-138. DOI: 10.1136/bmjsh-2019-200384
12. Shipitsyna E., Khusnutdinova T., Budilovskaya O., Krysanova A., Shalepo K., Savicheva A., et al. Bacterial vaginosis-associated vaginal microbiota is an age-independent risk factor for *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium* and *Trichomonas vaginalis* infections in low-risk women, St. Petersburg, Russia. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2020;39(7):1221-1230. DOI: 10.1007/s10096-020-03831-w
13. Bernier A., Remyantseva T., Reques L., Volkova N., Kyburz Y., Maximov O., et al. HIV and other sexually transmitted infections among female sex workers in Moscow (Russia): prevalence and associated risk factors. Sex Transm Infect. 2020;96(8):601-607. DOI: 10.1136/sextrans-2019-054299
14. Workowski K.A., Bolan G.A. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2015. Morb Mortal Wkly Rep. 2015;64(RR-03):1-137.
15. Jensen J.S., Cusini M., Gomberg M., Moi H. 2016 European guideline on *Mycoplasma genitalium* infections. J Eur Acad Dermatology Venereol. 2016;30(10):1650-1656. DOI: 10.1111/jdv.13849
16. Unemo M., Shipitsyna E., Savicheva A., Solokovskiy E., Ballard R., Domeika M., et al. Guidelines for the laboratory diagnosis of *Mycoplasma genitalium* infections in east European countries. Acta Derm Venereol. 2010;90(5):461-467. DOI: 10.2340/00015555-0929
17. Workowski K.A., Bachmann L.H., Chan P.A., Johnston C.M., Muzny C.A., Park I., et al. Sexually Transmitted Infections Treatment Guidelines, 2021. MMWR Recomm Reports. 2021;70(4):1-187. DOI: 10.15585/mmwr.r7004a1
18. Diseases of the skin. Sexually transmitted infections. Dermatovenereology 2015. Federal Clinical Recommendations

- М., Delovoj jekspress 2016. 768 p. Russian. (Болезни кожи. Инфекции передаваемые половым путем. Дерматовенерология 2015. Федеральные клинические рекомендации – М., Деловой экспресс 2016. 768 с.)
19. Falk L., Fredlund H., Jensen J.S. Tetracycline treatment does not eradicate *Mycoplasma genitalium*. Sex Transm Infect. 2003;79(4):318-319. DOI: 10.1136/sti.79.4.318
 20. van der Schalk T.E., Braam J.F., Kusters J.G. Molecular basis of antimicrobial resistance in *Mycoplasma genitalium*. Int J Antimicrob Agents. 2020;55(4):105911. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105911
 21. Stafford I.A., Hummel K., Dunn J.J., Muldrew K., Berra A., Kravitz E.S., et al. Retrospective analysis of infection and antimicrobial resistance patterns of *Mycoplasma genitalium* among pregnant women in the southwestern USA. BMJ Open. 2021;11(6):e050475. DOI: 10.1136/bmjopen-2021-050475
 22. Hilmarssdóttir I., Arnardóttir E.M., Jóhannesdóttir E.R., Valsdóttir F., Golparian D., Hadad R., et al. Prevalence of *Mycoplasma genitalium* and antibiotic resistance-associated mutations in patients at a sexually transmitted infection clinic in Iceland, and comparison of the S-DiaMGTV and Aptima *Mycoplasma genitalium* assays for diagnosis. Munson E., Ed. J Clin Microbiol. 2020;58(9):e01084-20. DOI: 10.1128/JCM.01084-20
 23. Fernández-Huerta M., Barberá M.J., Serra-Pladevall J., Esperalba J., Martínez-Gómez X., Centeno C., et al. *Mycoplasma genitalium* and antimicrobial resistance in Europe: a comprehensive review. Int J STD AIDS. 2020;31(3):190-197. DOI: 10.1177/0956462419890737
 24. Korenromp E.L., Wi T., Resch S., Stover J., Broutet N. Costing of national STI program implementation for the global STI control strategy for the health sector, 2016-2021. PLoS One. 2017;12(Suppl. 1):e0170773. DOI: 10.1371/journal.pone.0170773
 25. Fernández-Huerta M., Barberá M.J., Esperalba J., Fernandez-Naval C., Vall-Mayans M., Arando M., et al. Prevalence of *Mycoplasma genitalium* and macrolide resistance among asymptomatic people visiting a point of care service for rapid STI screening: a cross-sectional study. Sex Transm Infect. 2020;96(4):300-305. DOI: 10.1136/sextrans-2019-054124
 26. Le Roy C., Hénin N., Bébéar C., Pereyre S. Evaluation of a commercial multiplex quantitative PCR (qPCR) assay for simultaneous detection of *Mycoplasma genitalium* and macrolide resistance-associated mutations in clinical specimens. J Clin Microbiol. 2017;55(3):978-979. DOI: 10.1128/JCM.02168-16
 27. Tabrizi S.N., Su J., Bradshaw C.S., Fairley C.K., Walker S., Tan L.Y., et al. Prospective evaluation of ResistancePlus MG, a new multiplex quantitative PCR assay for detection of *Mycoplasma genitalium* and macrolide resistance. J Clin Microbiol. 2017;55(6):1915-1919. DOI: 10.1128/JCM.02312-16
 28. Thellin O., Elmoualij B., Zorzi W., Jensen J.S., Close R., Deregowski V., et al. Four-color multiplex real-time PCR assay prototype targeting azithromycin resistance mutations in *Mycoplasma genitalium*. BMC Infect Dis. 2019;19(1):827. DOI: 10.1186/s12879-019-4424-2
 29. Le Roy C., Bébéar C., Pereyre S. Clinical evaluation of three commercial PCR assays for the detection of macrolide resistance in *Mycoplasma genitalium*. J Clin Microbiol. 2020;58(Suppl. 2):e01478-19. DOI: 10.1128/JCM.01478-19
 30. Machalek D.A., Tao Y., Shilling H., Jensen J.S., Unemo M., Murray G., et al. Prevalence of mutations associated with resistance to macrolides and fluoroquinolones in *Mycoplasma genitalium*: a systematic review and meta-analysis. Lancet Infect Dis. 2020;20(11):1302-1314. DOI: 10.1016/S1473-3099(20)30154-7
 31. Guschin A., Ryzhikh P., Rummyantseva T., Gomberg M., Unemo M. Treatment efficacy, treatment failures and selection of macrolide resistance in patients with high load of *Mycoplasma genitalium* during treatment of male urethritis with josamycin. BMC Infect Dis. 2015;15(1):40. DOI: 10.1186/s12879-015-0781-7
 32. Zubareva L.M., Eydel'shteyn I.A., Romanov A.V., Evstaf'ev V.V., Kozlov R.S. Clinical case of failure of josamycin in a patient with urethritis caused by *Mycoplasma genitalium*. Vestnik dermatologii i venerologii. 2018;94(4):55-59. Russian. (Зубарева Л.М., Эйдельштейн И.А., Романов А.В., Евстафьев В.В., Козлов Р.С. Клинический случай неуспеха терапии джозамицином у пациента с уретритом, вызванным *Mycoplasma genitalium*. Вестник дерматологии и венерологии. 2018;94(4): 55-59.) DOI: 10.25208/0042-4609-2018-94-4-55-59
 33. Shipitsyna E., Rummyantseva T., Golparian D., Khayrullina G., Lagos A.C., Edelstein I., et al. Prevalence of macrolide and fluoroquinolone resistance-mediating mutations in *Mycoplasma genitalium* in five cities in Russia and Estonia. PLoS One. 2017;12(4):e0175763. DOI: 10.1371/journal.pone.0175763
 34. Shedko E.D., Khayrullina G.A., Goloveshkina E.N., Akimkin V.G. Clinical evaluation of commercial PCR assays for antimicrobial resistance in *Mycoplasma genitalium* and estimation of resistance-mediated mutation prevalence in Moscow and Moscow region. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2021;40(7):1413-1418. DOI: 10.1007/s10096-021-04170-0
 35. Romanova I.V., Kisina V.I., Khayrullina G.A., Frigo N.V., Zhukova O.V., Gushhin A.E. The prevalence and type of mutations of in dermatovenereological patients from the Moscow region for 2014-2018. Klinicheskaja dermatologija i venerologija. 2020;19(1):7-12. Russian. (Романова И.В., Кисина В.И., Хайруллина Г.А., Фриго Н.В., Жукова О.В., Гущин А.Е. Распространенность и тип мутаций у пациентов дерматовенерологического профиля Московского региона за период 2014-2018 гг. Клиническая дерматология и венерология. 2020;19(1):7-12.) DOI: 10.17116/klinderma2020190117
 36. Zubareva L.M., Edelstein I.A., Rudneva N.S., Romanov A.V., Vlasova T.A., Lavrinenkova Y.V., et al. The rates of mutations associated with macrolide resistance in *Mycoplasma genitalium* among patients with non-gonococcal sexually transmitted infections in Smolensk and Tula.

- Kliniceskaa mikrobiologia i antimikrobnaya himioterapiya. 2019;21(4):330-339. Russian. (Зубарева Л.М., Эйдельштейн И.А., Руднева Н.С., Романов А.В., Власова Т.А., Лавриненкова Ю.В. и соавт. Распространенность ассоциированных с устойчивостью к макролидам мутаций у *Mycoplasma genitalium* среди пациентов с негонеомонокулярными инфекциями, передающимися половым путем, в Смоленске и Туле. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2019; 21(4):330-339.) DOI: 10.36488/смас.2019.4.330-339
37. Edelstein I.A., Edelstein M.V., Romanov A.V., Zaitsev A.A., Rakovskaya I.V., Barkhatova O.I., et al. Four cases of resistance mutations in 23S rRNA gene in *Mycoplasma pneumoniae* isolated from the hospitalized military personnel. Kliniceskaa mikrobiologia i antimikrobnaya himioterapiya. 2017;19(3):248-253. Russian. (Эйдельштейн И.А., Эйдельштейн М.В., Романов А.В., Зайцев А.А., Раковская И.В., Бархатова О.И. и соавт. Четыре случая выявления мутаций устойчивости в гене 23S рРНК *Mycoplasma pneumoniae*, выделенных от военнослужащих с пневмонией, находящихся на лечении в военном госпитале. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2017;19(3):248-253.)
 38. Romanov A.V., Kozlov R.S., Edelstein I.A., Edelstein M.V. A method for detecting mutations leading to resistance in *Mycoplasma genitalium* and *Mycoplasma pneumoniae* to macrolide antibiotics. Patent RU 0264612. Available at: www1.fips.ru/fips_servl/fips_servlet?DB=RUPAT&rn=8176&DocNumber=02646123&TypeFile=html. Accessed at March 2022. Russian. (Романов А.В., Козлов Р.С., Эйдельштейн И.А., Эйдельштейн М.В. Способ выявления мутаций, приводящих к резистентности у *Mycoplasma genitalium* и *Mycoplasma pneumoniae* к макролидным антибиотикам. Патент RU 0264612. Доступно по адресу: www1.fips.ru/fips_servl/fips_servlet?DB=RUPAT&rn=8176&DocNumber=02646123&TypeFile=html. Ссылка активна на март 2022 г.)
 39. Kuzmenkov A.Y., Vinogradova A.G., Trushin I.V., Avramenko A.A., Edelstein M.V., Dekhnich A.V., et al. AMRcloud: a new paradigm in monitoring of antibiotic resistance. Kliniceskaa mikrobiologia i antimikrobnaya himioterapiya. 2019;21(2):119-124. Russian. (Кузьменков А.Ю., Виноградова А.Г., Трушин И.В., Авраменко А.А., Эйдельштейн М.В., Дехнич А.В. и соавт. AMRcloud: новая парадигма мониторинга антибиотикорезистентности. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2019;21(2):119-124.) DOI: 10.36488/смас.2019.2.119-124
 40. Rudneva N., Sukhanova L., Dolgova T., Anisimova N., Gushchin A. Experience in organizing and conducting screening of pregnant women for sexually transmitted infections in the framework of the regional program of the Tula region. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologii. 2015;22(4):104-111. Russian. (Руднева Н.С., Суханова Л.Н., Долгова Т.И., Анисимова Н.С., Гущин А.Е. Опыт организации и проведения скрининга беременных на наличие инфекций, передаваемых половым путем в рамках региональной программы Тульской области. Вестник новых медицинских технологий. 2015;22(4):104-111.) DOI: 10.12737/17033
 41. Read T.R.H., Fairley C.K., Murray G.L., Jensen J.S., Danielewski J., Worthington K., et al. Outcomes of resistance-guided sequential treatment of *Mycoplasma genitalium* infections: a prospective evaluation. Clin Infect Dis. 2019;68(4):554-560. DOI: 10.1093/cid/ciy477
 42. Read T.R.H., Fairley C.K., Tabrizi S.N., Bissessor M., Vodstrcil L., Chow E.P.F., et al. Azithromycin 1.5 g over 5 days compared to 1g single dose in urethral *Mycoplasma genitalium*: impact on treatment outcome and resistance. Clin Infect Dis. 2017;64(3):250-256. DOI: 10.1093/cid/ciw719
 43. Sethi S., Zaman K., Jain N. *Mycoplasma genitalium* infections: current treatment options and resistance issues. Infect Drug Resist. 2017;10:283-292. DOI: 10.2147/IDR.S105469
 44. Couldwell D., Lewis D. *Mycoplasma genitalium* infection: current treatment options, therapeutic failure, and resistance-associated mutations. Infect Drug Resist. 2015;8:147-161. DOI: 10.2147/idr.s48813
 45. Pereyre S., Gonzalez P., de Barbeyrac B., Darnige A., Renaudin H., Charron A., et al. Mutations in 23S rRNA account for intrinsic resistance to macrolides in *Mycoplasma hominis* and *Mycoplasma fermentans* and for acquired resistance to macrolides in *M. hominis*. Antimicrob Agents Chemother. 2002;46(10):3142-3150. DOI: 10.1128/AAC.46.10.3142-3150.2002
 46. Haddad R., Golparian D., Lagos A., Jensen J.S. Macrolide and fluoroquinolone resistance in *Mycoplasma genitalium* in two Swedish counties. APMIS. 2017;126(2):123-127. DOI: 10.1111/amp.12792