

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:
info@cmac-journal.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

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»

© Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2023.

Содержание

Болезни и возбудители

- Гостев В.В., Сулян О.С., Павлова П.А., Нестерова Е.В., Калиногорская О.С., Чулкова П.С., Трофимова Н.Н., Агеевец В.А., Агеевец И.В., Сидоренко С.В.
- 116** Геномная характеристика *mecA*-положительных *Staphylococcus aureus* ST59, проявляющих чувствительность к оксациллину
- Носов Н.Ю., Образцова О.А., Катунин Г.Л., Плахова К.И., Соломка В.С.
- 123** Филогенез и антибиотикорезистентность *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*
- Сацук А.В., Солопова Г.Г., Плоскирева А.А., Акимкин В.Г.
- 131** Систематический обзор серопревалентности маркеров гепатита В, С и ВИЧ среди пациентов онкогематологического профиля
- Тряпышко А.А., Дехнич Н.Н.
- 142** Комбинация гастропротекторов и пробиотиков в эрадикации инфекции *H. pylori*: результаты рандомизированного сравнительного клинического исследования

Антимикробные препараты

- Белькова Ю.А., Рачина С.А., Козлов Р.С., Кулешов В.Г., Васильева И.С., Куркова А.А., Бочанова Е.Н., Елохина Е.В., Попов Д.А., Портнягина У.С., Решетько О.В., Сычев И.Н., Шегимова В.Д., Дрогашевская Д.В., Чеснокова М.С. и российская рабочая группа проекта Global PPS
- 150** Одномоментное многоцентровое исследование использования антимикробных препаратов в российских стационарах: результаты проекта Global-PPS 2021
- Клабукова Д.Л., Титова А.Р., Крысанов И.С., Поливанов В.А., Крысанова В.С., Ермакова В.Ю.
- 159** Анализ летальных случаев при применении цефтриаксона по данным национальной базы спонтанных сообщений
- Ортенберг Э.А.
- 165** Перспективные антимикотики для терапии инвазивных грибковых инфекций (краткий обзор литературы)
- Петрушин М.А., Мельниченко П.И., Власов П.А., Никифоров И.С., Кудряшова Е.А., Глущенко И.А.
- 171** Особенности проведения антибактериальной терапии у пациентов с тяжелой дыхательной недостаточностью, получающих вено-венозную экстракорпоральную мембранную оксигенацию (ЭКМО)

Антибиотикорезистентность

- Виноградова А.Г., Кузьменков А.Ю., Трушин И.В., Сухорукова М.В., Козлов Р.С.
- 179** Системная оценка результатов определения чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам в медицинских организациях Российской Федерации
- Бочарова Ю.А., Савинова Т.А., Чеботарь И.В.
- 187** Хромосомные гены *ESKAPE*-патогенов, мутации в которых индуцируют антибиотикорезистентность

Опыт работы

- Попов Д.А., Осокина Р.А., Вострикова Т.Ю.
- 202** Носительство *K. pneumoniae* и молекулярная структура продуцируемых ими карбапенемаз у детей первого года жизни с врожденными пороками сердца
- Кондратенко О.В., Зубова К.В.
- 211** Распределение значений минимальных подавляющих концентраций антибактериальных препаратов в отношении представителей порядка *Flavobacteriales*, выделенных из респираторных образцов от пациентов с муковисцидозом в Российской Федерации

Филогенез и антибиотикорезистентность *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*

Носов Н.Ю., Образцова О.А., Катунин Г.Л., Плахова К.И., Соломка В.С.

ФГБУ «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Минздрава России, Москва, Россия

Контактный адрес:
Никита Юрьевич Носов
Эл. почта: nosovnj@mail.ru

Ключевые слова: *Treponema pallidum*, сифилис, филогенетический анализ, антибиотикорезистентность, трепонематозы.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Вид *Treponema pallidum* включает в себя 4 подвида микроорганизмов, вызывающих инфекционные заболевания с общим названием – трепонематозы. Согласно биоинформатическому анализу данных полногеномного секвенирования возбудитель сифилиса *T. pallidum* subsp. *pallidum* вероятно более 800 лет назад отделился от возбудителей фрамбезии, бежеля и пинты. Предметом дискуссий остается его занос в Европу с последующей эпидемией, произошедшей в конце XV века. Быстрое распространение в странах Европы и рост заболеваемости с высокой долей вероятности были связаны с существенными геномными перестройками, повысившими контагиозность и вирулентность микроорганизма, а также социокультурными факторами той эпохи. В настоящее время *T. pallidum* subsp. *pallidum* делится на 2 филогенетические линии – SS14 и Nichols. Линия SS14 широко распространена и доминирует на территории почти всех стран, тем не менее, значительно уступая в генетическом разнообразии линии Nichols. Несмотря на данные факты, штаммы линии Nichols продолжают использоваться в научных лабораториях в качестве референсных, что очевидно является одним из недостатков при планировании научно-исследовательских работ. При сохранении чувствительности к пенициллину, отмечается значительное распространение резистентности изолятов возбудителя сифилиса к макролидам, в особенности среди изолятов линии SS14. Дальнейшие исследования генетической изменчивости, а также структуры белков внешней мембраны *T. pallidum* subsp. *pallidum* способны приблизить решение одной из важных проблем современной дерматовенерологии – создание вакцины от сифилиса.

Review

Phylogeny and antibiotic resistance of *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*

Nosov N.Yu., Obratsova O.A., Katunin G.L., Plakhova K.I., Solomka V.S.

State Scientific Center of Dermatology, Venerology and Cosmetology, Moscow, Russia

Contacts:
Nikita Yu. Nosov
E-mail: nosovnj@mail.ru

Key words: *Treponema pallidum*, syphilis, phylogeny, antibiotic resistance, treponematoses.

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

The species *Treponema pallidum* includes 4 subspecies. According to the bioinformatic analysis, the syphilis pathogen *T. pallidum* subsp. *pallidum* was probably separated from the causative agents of yaws, bejel, and pinta more than 800 years ago. Its entry into Europe with its subsequent epidemic at the end of the 15th century remains a matter of debate. The rapid spread in the European countries and the increase in the incidence of the disease were most likely due to the significant genomic rearrangements, which increased the infectivity and virulence of the microorganism, as well as the sociocultural factors of that era. Currently, *T. pallidum* subsp. *pallidum* divides into 2 phylogenetic lines – SS14 and Nichols. The SS14 line is widespread and dominant in almost all countries; however, it is significantly inferior to the Nichols line in genetic diversity. Despite these facts, Nichols strains continue to be used in scientific laboratories as reference strains, which is obviously a disadvantage in research planning. While penicillin sensitivity remains, there is a significant spread of resistance of syphilis pathogen to macrolides, especially among SS14 isolates. Further studies of genetic variability as well as the structure of *T. pallidum* subsp. *pallidum* outer membrane proteins can bring modern medicine closer to the creating a vaccine against syphilis.

Введение

Сифилис является социально-значимым заболеванием, передающимся преимущественно половым путем, известным человечеству на протяжении многих веков. Возбудителем сифилиса является грамотрицательная спирохета *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*. Помимо

возбудителя сифилиса вид *Treponema pallidum* включает еще 3 подвида микроорганизмов, способных вызывать заболевания с общим названием трепонематозы с различной клинической картиной у человека – *T. pallidum* subsp. *pertenue* (возбудитель фрамбезии), *T. pallidum*

subsp. *endemicum* (возбудитель бежея) и *T. pallidum* subsp. *carateum* (возбудитель пинты) [1]. Данные микроорганизмы не имеют значимых различий в морфологии клетки, и на 99,6% идентичны генетически. Все подвиды *T. pallidum* относятся к некультивируемым микроорганизмам, что существенно усложняет их изучение. В то время как сифилис является распространенным заболеванием во многих странах мира и передается преимущественно половым путем, остальные трепонематозы встречаются в странах с жарким и влажным климатом и передаются в основном через контакт с пораженной кожей больного [2, 3].

Известным фактом является, что низшие приматы также являются восприимчивыми к возбудителям трепанематозов. На основе сочетания симптомов у приматов с проведенными серологическими и морфологическими исследованиями биоматериала были сделаны выводы о циркуляции сифилиса и фрамбезии в диких популяциях низших приматов в Африке. Это стало причиной возникновения гипотезы о зоонозном возникновении трепанематозов человека, однако было ли это в результате единичного или продолжающегося переноса остается невыясненным, так же, как и вопрос эволюционной дивергенции данных трепанем совместно с приматами [1, 4, 5].

С середины XX-го в. вплоть до широкого распространения и развития методов молекулярной генетики велись оживленные споры об этиологических агентах трепанематозов – не являются ли они одним и тем же микроорганизмом с клиническими проявлениями, зависящими от большого набора внешних факторов, таких как климат, путь передачи, социокультурная среда и др.

Сифилис, вызываемый *T. pallidum* subsp. *pallidum* относится к инфекциям, передаваемым преимущественно половым путем. При отсутствии своевременного лечения заболевание носит системный характер, вызывая осложнения, связанные с поражением внутренних органов, нервной и сердечно-сосудистой систем [1, 2]. При сохраняющейся чувствительности *T. pallidum* subsp. *pallidum* к пенициллину, в мире ежегодно регистрируется более 10 млн случаев сифилиса, большая часть которых приходится на страны с низким уровнем жизни [6].

Получение полных последовательностей геномов *T. pallidum* subsp. *pallidum* существенно затруднено тем, что бактерия является некультивируемой на искусственных питательных средах, а в клиническом материале от больных непродолжительное время содержится небольшое количество ДНК патогена, контаминированного другими микроорганизмами и ДНК человека. В связи с этим одним из широко распространенных способов получения генетического материала в достаточном для проведения секвенирования количестве является выращивание *T. pallidum* subsp. *pallidum* в тестикулах кроликов. Один из первых проектов по полногеномному секвенированию *T. pallidum* subsp. *pallidum* был осуществлен в 1998 г., тогда же было обнаружено, что геном этого микроорганизма составляет всего 1,1 млн п.н. Уже первые исследования полногеномных последовательностей показали, что бледная трепонема пошла по эволюцион-

ному пути, связанному с редукцией элементов генома, что свойственно многим возбудителям инфекционных заболеваний в связи с утратой ряда биохимических признаков в ходе адаптации к организму хозяина и зависимостью от него [5, 6].

С развитием молекулярно-генетических технологий стало возможным проводить целевое обогащение генетического материала возбудителя сифилиса в образце клинического материала для последующего полногеномного секвенирования [7]. Но пока что количество данных по полным последовательностям геномов *T. pallidum* subsp. *pallidum* и других возбудителей трепанематозов в международных генетических базах данных относительно невелико. Все это усложняет филогенетические исследования данного патогена, а также анализ его мутационной изменчивости, в том числе связанной с формированием устойчивости к действию антимикробных препаратов [6, 8].

Целью настоящего обзора явился анализ современных представлений о филогенетической структуре возбудителя сифилиса *T. pallidum* subsp. *pallidum* и его происхождении, его современной филогеографической распространенности и развитии антибиотикорезистентности.

Происхождение *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*

На протяжении многих лет в научном сообществе ведутся споры о природе происхождения возбудителя сифилиса, его распространении в странах Европы. Несмотря на обширный набор инструментов биоинформатического анализа и растущее число полногеномных последовательностей, депонируемых в общий доступ, многие вопросы происхождения и распространения *T. pallidum* subsp. *pallidum* остаются без ответа. Происхождение других подвидов *T. pallidum* до недавнего времени также оставалось малоизученным, эти вопросы если и упоминаются в научной литературе, то также в контексте проблемы происхождения возбудителя сифилиса [3, 6].

Наиболее ожесточенные споры ведутся о происхождении *T. pallidum* subsp. *pallidum* в Европе, где в конце XV-го века началась крупная эпидемия сифилиса. В попытках ответить на этот вопрос было сформулировано три основные гипотезы.

Согласно наиболее распространенной версии, завоз сифилиса произошел из-за возвращения экспедиции Колумба в 1493 г. из Нового Света. Сторонники этой гипотезы оперируют историческими источниками, в которых отсутствуют другие крупные исторические события такого уровня в то время. Также в доказательство приводятся записи испанских врачей того времени, которые утверждали, что заболевания с подобной картиной клинических проявлений ранее на территории Европы не встречались [8–10].

По другой гипотезе сифилис циркулировал среди населения Европы задолго до возвращения Колумба, и также был широко распространен в Новом Свете наряду с другими трепанематозами. Сторонники этой ги-

потезы предполагают, что многие случаи сифилиса тогда могли быть приняты за лепру. Сам факт эпидемии в конце XV-го века объясняется повышением вирулентности самого микроорганизма за счет стремительной мутационной изменчивости и сложившимися социальными и геополитическими факторами [9, 10].

По третьей гипотезе общий предок возбудителя сифилиса, как и других представителей вида *T. pallidum*, возник в Африке и задолго до путешествия Колумба распространился на другие континенты посредством работорговли, войн и паломничества. Эту гипотезу также называют унитарной, в ее поддержку свидетельствуют упоминания о заболеваниях с симптомами сходными с проявлениями трепонематозов известные еще с доисторических времен, например, заболевание «Ухеду», описываемое в египетских папирусах [11–13].

История попыток пролить свет на вопросы эволюции *T. pallidum* берет свое начало еще с середины XX века. В 1961 г. Кокберном была высказана теория о том, что пинта являлась исходной формой заболевания, в дальнейшем преобразовавшись в фрамбезию, затем в бежел и в конце концов в сифилис. Далее эта теория была развита Хадсоном в 1965 г., по его мнению, сифилис, бежел, пинта и фрамбезия являются одним и тем же заболеванием с различным спектром клинических проявлений [12, 14]. В 1998 г. была получена первая полная последовательность генома *T. pallidum* subsp. *pallidum*, что ознаменовало новый этап в филогенетических исследованиях этого патогена [15]. Первые исследования по идентификации вариабельных сайтов в геномах возбудителей трепанематозов показали чрезвычайно низкое число отличий между ними (менее 1%). В дальнейшем в исследованиях высказывались противоречивые данные о порядке происхождения *T. pallidum* subsp. *pallidum* относительно *T. pallidum* subsp. *pertenue*, *T. pallidum* subsp. *endemicum* и *T. pallidum* subsp. *carateum* [16, 17]. Данные пилотные исследования демонстрировали недостаток понимания эволюции вида *T. pallidum* и его генетического разнообразия в то время.

Увеличение числа полных последовательностей генома изолятов возбудителей сифилиса, понимание роли отдельных генов, в частности генов семейства *trp* (*Treponema pallidum* repeat), а также применение полногеномного анализа единичных нуклеотидных замен в совокупности с методами биоинформатического анализа позволило уточнить хронологию эволюционных событий внутри данного бактериального вида.

Таким образом, по одной из наиболее достоверных гипотез на основе результатов анализа большого количества полногеномных последовательностей изолятов возбудителей трепонематозов подвиды *T. pallidum* subsp. *pallidum*, *T. pallidum* subsp. *pertenue* и *T. pallidum* subsp. *endemicum* разделились в процессе эволюции и образовали ранних предков примерно 879 и 799 лет назад соответственно. Согласно этому варианту, данные подвиды имеют общего предка и единое происхождение. По мнению авторов, этот период можно именовать первой эволюционной фазой рода *Treponema*. Начало второй фазы авторы связывают с началом глобальной

эпидемии трепонематозов в конце XV – начале XVI вв. Согласно их исследованию, эпидемия сифилиса тогда была ознаменована приобретением ряда новых фенотипических свойств, связываемых со значительными перестройками в геноме, повысившими контагиозность и вирулентность штаммов [6, 17].

В 2020 г. было проведено исследование скелетных останков людей с признаками трепонематозов, живших в Европе раннего нового времени, из которых были получены образцы ДНК микроорганизма, идентифицированного как *T. pallidum* subsp. *pallidum*. Применение филогенетического анализа в совокупности с методом молекулярных часов, радиоуглеродного анализа останков, а также археологическая сопутствующая информация позволили установить, что один из образцов, выделенный на территории современной Эстонии, существовал в середине XV в., значительно раньше экспедиций Колумба. Это стало серьезным доводом в пользу «доколумбовой» гипотезы происхождения возбудителя сифилиса [18, 19]. Следует отметить, что это не позволяет полностью исключить вероятность того, что экспедиция Колумба могла занести новые штаммы *T. pallidum* subsp. *pallidum* и других возбудителей трепонематозов, и это в итоге послужило толчком цепочки событий по рекомбинации генома возбудителя и будущей эпидемии.

Современное филогенетическое разнообразие *T. pallidum* subsp. *pallidum*

Для возбудителя сифилиса, как для медленно растущего и сильно зависящего от организма хозяина патогенного микроорганизма, характерен низкий показатель скорости эволюционного процесса – $1,78 \times 10^{-7}$ единичных нуклеотидных замен на сайт генома в год, что сопоставимо с такими микроорганизмами как *Chlamydia trachomatis* ($2,15 \times 10^{-7}$) и *Mycobacterium tuberculosis* (1×10^{-7}), для которых также характерен медленный рост. Данная отличительная особенность повлияла на внутреннюю генетическую дифференциацию и уже как минимум на протяжении 70 лет, филогенетическое разнообразие *T. pallidum* subsp. *pallidum* представлено всего лишь двумя основными линиями – SS14 и Nichols [2, 3, 20, 21]. Исследование генетических отличий между данными филогенетическими линиями возбудителя сифилиса показало наличие 95 единичных нуклеотидных замен, из которых 16 являлись несинонимичными и приводили к изменению кодируемого продукта. Но как показал дальнейший анализ, ни одно из них не давало изолятам той или иной линии фенотипических конкурентных преимуществ (Рисунок 1) [22].

Согласно многочисленным исследованиям данных полногеномного секвенирования с применением Байесовского анализа, линия SS14 возникла на эволюционном древе в начале XX-го века и в настоящий момент к ней относится подавляющее большинство клинических изолятов возбудителя сифилиса. Появление данной линии по мнению ряда исследователей связано со снижением заболеваемости сифилисом во всем мире

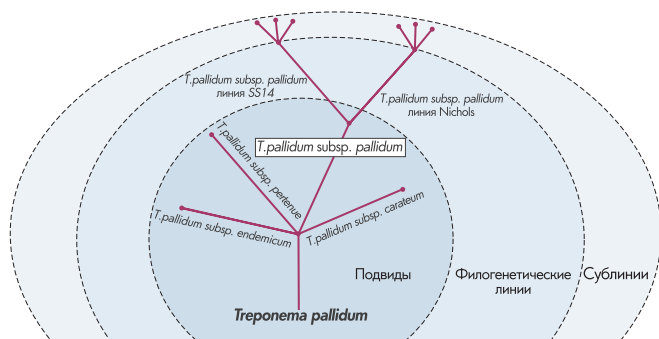


Рисунок 1. Современная структура вида *Treponema pallidum*

в то время, в связи с повсеместным использованием антибактериальных препаратов. Широкое географическое распространение линии SS14 позволяет считать ее «лицом» современных эпидемий и локальных вспышек данного заболевания [2, 3, 22].

Большое количество полногеномных последовательностей изолятов данной линии из различных стран мира позволило детально изучить ее внутреннюю структуру. На основе анализа 726 полных последовательностей геномов *T. pallidum* subsp. *pallidum* было выявлено 5 основных сублиний SS14 и 4 синглтона. Первая сублиния является наиболее распространенной и состоит в основном из Северо-Американских и Европейских изолятов, также в нее входят штаммы из Азии, стран Карибского бассейна, Океании и Южной Америки. На текущий момент наиболее старый образец в первой сублинии датируется 1981 г., и был выделен в США. Вторая сублиния состоит преимущественно из штаммов, выделенных в Китае, также включает американские, английские и канадские штаммы. В более ранних исследованиях вторую сублинию внутри условно делили на китайскую и американскую группы, но включение в выборку большого числа полногеномных последовательностей, выделенных в разных странах, показало, что в сублинию также входят образцы из Великобритании и Канады, указывая, что сублиния возможно не имеет географической детерминированности. Впрочем, наличие этих штаммов, также может указывать и на то, что заражение и постановка диагноза с последующим выделением клинического изолята происходила на территории разных стран. В этом случае окончательный вывод возможен при секвенировании большего числа штаммов и их дальнейшей кластеризации в пределах сублинии. Внутри линии SS14 также присутствует ряд менее распространенных сублиний, например, штаммы, выделенные на территории Зимбабве, формируют сублинию 4, а российские штаммы из Республики Тыва распределились между сублиниями 1, 3 и 5. Следует отметить, что сублиния 5 при этом встречается только на территории России [2, 8, 18, 22].

Отдельного упоминания заслуживает сублиния 6, которая, судя по расположению на филогенетических деревьях эволюционно находится довольно близко к точке бифуркации SS14-Nichols, и отнесение ее к линии SS14

или Nichols во многом может зависеть от применяемого в конкретном исследовании метода филогенетического анализа.

Для штаммов линии Nichols характерно более ярко выраженное генетическое разнообразие и большие длины ветвей сублиний на филогенетическом дереве, что в целом согласуется с предполагаемой датой ее происхождения примерно между XVII и XVIII в. Исходя из данных Байесовского анализа изоляты линии Nichols, наиболее генетически близки к последнему общему предку всех современных изолятов *T. pallidum* subsp. *pallidum*. Несмотря на то что изоляты данной линии выделяются во многих странах мира, включая большинство стран Европы, в настоящее время их доля колеблется от 6 до 26 % от всех выделяемых клинических изолятов *T. pallidum* subsp. *pallidum*, в среднем составляя меньше 10%. Единственной страной, где линия Nichols остается доминирующей, является Мадагаскар – более 99% выделяемых клинических изолятов относятся именно к данной линии. Также относительно высокая частота встречаемости изолятов линии Nichols наблюдается в Аргентине (37%), Перу (21%), Тайване (20%) и Японии (15%) [23, 24]. На текущий момент выявлено 12 сублиний и 4 синглтона внутри данной линии. Вопрос о реальной распространенности изолятов линии Nichols на территории многих отдельно взятых стран является предметом дискуссий ввиду отсутствия репрезентативной выборки изолятов, позволяющей сделать однозначный вывод [8, 25–27].

Рост устойчивости к макролидам

Препараты пенициллина уже более 70 лет успешно применяется в терапии сифилиса и за этот период не зарегистрировано ни одного случая лекарственной устойчивости к данной группе антибактериальных препаратов [2, 28]. В настоящее время в схемах лечения больных сифилисом, как один из препаратов резерва, указан эритромицин, в том числе в действующих клинических рекомендациях на территории России, при этом отмечается глобальный рост устойчивости штаммов *T. pallidum* subsp. *pallidum* к макролидам. Резистентность к макролидам генетически обусловлена двумя единичными нуклеотидными заменами в гене 23S рРНК – A2058G и A2059G [29–31]. Мутация A2058G была впервые обнаружена в штамме Street Strain 14, изолированном в 1977 г., который также является типовым штаммом филогенетической линии SS14. Глобальная распространенность данных мутаций оценивается в 90%, но при этом значительно варьирует в разных странах. Наиболее часто изоляты *T. pallidum* subsp. *pallidum* с устойчивостью к макролидам встречаются в США, Кубе, КНР и странах Европы, где их доля составляет от 60% до 100%. Низкая частота резистентных изолятов отмечается в Канаде, Южной Африке, Мадагаскаре и Перу, где она составляет менее 10% [32–40]. Геном возбудителя сифилиса содержит две копии гена 23S рРНК, при этом анализ данных полногеномного секвенирования показал, что обе копии несут одинаковые мутации при на-

личии устойчивости к макролидам, при этом чаще всего встречается вариант A2058G [2].

Филогенетический анализ, сопоставленный с данными о наличии мутаций в гене 23S рРНК, показывает, что устойчивость к макролидам ассоциирована с отдельными филогенетическими сублиниями и развивалась у них поэтапно и независимо друг от друга. При этом отмечается, что данные мутации стабильно сохраняются внутри сублиний, и отсутствуют зафиксированные случаи реверсии гена к дикому типу, что говорит о низкой энергетической ценности такой мутации, либо о развитии у микроорганизма неизученных компенсаторных механизмов в геноме, появившихся как следствие мутации. Необходимо отметить, что доля штаммов с детерминантами устойчивости к макролидам внутри линии SS14 (60–90%) намного выше, чем у Nichols (20–30%). Но этот факт не приближает нас к ответу на один из наиболее сложных вопросов в современной филогенетике *T. pallidum* subsp. *pallidum* о причинах текущего глобального доминирования линии SS14. В случае наличия данных детерминант устойчивости как конкурентного преимущества линии SS14 была бы совершенно иная внутренняя структура, представленная одним кластером. Однако резистентность к макролидам возникла и возникает независимо у сублиний относящихся как к SS14, так и к Nichols. Учитывая факт, что азитромицин и другие макролиды не входят в препараты терапии первой линии, данную тенденцию можно объяснить следствием ряда факторов. Наиболее вероятной причиной роста числа изолятов возбудителя сифилиса с устойчивостью к макролидам является применение азитромицина для лечения широкого спектра воспалительных инфекционных болезней – от инфекций респираторного тракта до инфекций, передаваемых половым путем. Рекомендуемая дозировка азитромицина, применяемая при терапии большого числа инфекционных заболеваний в сочетании с длительным периодом полувыведения данного препарата создает условия для накопления в организме пациента с латентным сифилисом или сифилисом в состоянии инкубационного периода доз препарата, способствующих мутационной изменчивости, и как следствие – формированию резистентности. Другим вероятным фактором роста устойчивости к макролидам является применение азитромицина для терапии фрамбезии, вызываемой родственником микроорганизмом *T. pallidum* subsp. *pertenue* в популяциях, в которых присутствуют как больные сифилисом, так и больные фрамбезией, что приводит к росту резистентности у возбудителей обеих инфекций.

Актуальные вопросы исследования *T. pallidum* subsp. *pallidum*

Вопрос о причинах доминирования филогенетической линии SS14 до сих пор остается без ответа. Проведенные различными коллективами выявили генетические отличия между ними, но большая часть из них не приводит к изменению кодируемого продукта либо лежит в межгенном пространстве. Гены, которые

затрагиваются несинонимичными мутациями, не способны дать конкурентного преимущества в популяции. Возможно увеличение количества полногеномных последовательностей изолятов линии Nichols позволит приблизиться к пониманию сложившейся структуры генетического разнообразия данного патогена.

Другим спорным моментом в современных молекулярно-генетических исследованиях *T. pallidum* subsp. *pallidum* является то, что до сих пор штаммы линии Nichols являются референсными. Это входит в противоречие с тем, что кластеры, формируемые изолятами – референсными геномами, так или иначе произошедшими от оригинального штамма Nichols-1912, в настоящее время не представлены в современной популяции сифилиса и, как следствие, теряют свою актуальность в статусе референса. В связи с этим актуальной является задача по выбору подходящих на эту роль изолятов линии SS14 и проведении работ по их детальной характеристике с точки зрения фенотипа и генотипа.

Более глубокое понимание структуры и функционирования генетического аппарата *T. pallidum* subsp. *pallidum* приблизит научное сообщество к решению одной из актуальных проблем современной дерматовенерологии – разработки вакцины от сифилиса. Несомненно, существенную роль в эволюции *T. pallidum* subsp. *pallidum* играет давление иммунной системы человека, вызывая мутации в генах, ответственных за синтез белков внешней мембраны. Эти мутации часто являются основополагающими при дифференциации той или иной филогенетической сублинии возбудителя сифилиса. При этом большую сложность вызывают исследования, связанные с изучением структуры и изменчивости белков внешней мембраны, а также их способности формировать иммунный ответ в связи с тем, что микроорганизм является некультивируемым и прогресс в этом вопросе во многом зависит от методов биоинформатического анализа, в частности от компьютерного моделирования пространственной структуры белков. Очевидно, что разрабатываемая вакцина должна быть поливалентной, чтобы давать напряженный иммунитет от большей части штаммов сублиний SS14, являющихся наиболее распространенными.

Заключение

Возбудитель сифилиса – *T. pallidum* subsp. *pallidum* является патогенным микроорганизмом с малым размером генома и низкой скоростью эволюционного процесса. В научной среде до сих пор нет единого мнения о времени и месте происхождения данного патогена, но все имеющиеся источники склоняются к тому, что примерно 500 лет назад в результате ряда преобразований генома он приобрел свойства, позволившие ему стать причиной одной из самых крупных описанных в истории эпидемий.

Развитие методов молекулярной генетики позволило изучить популяционную структуру возбудителя сифилиса, подразделяющуюся на две филогенетические линии – SS14 и Nichols. В настоящее время к первой от-

носится подавляющее большинство всех современных выделяемых изолятов возбудителя сифилиса, также в ней чаще встречаются генетические детерминанты устойчивости к макролидам. Вопрос о причинах широкого распространения линии SS14 в настоящее время

остается без ответа. Несмотря на это штаммы линии Nichols продолжают использоваться в качестве референсных в научно-исследовательской работе, что требует пересмотра со стороны международного научного сообщества.

Литература

- Gogarten J.F., Dux A., Schuenemann V.J., Nowak K., Boesch C., Wittig R.M., et al. Tools for opening new chapters in the book of *Treponema pallidum* evolutionary history. *Clin Microbiol Infect.* 2016;22(11):916-921. DOI: 10.1016/j.cmi.2016.07.027
- Beale M.A., Marks M., Sahi S.K., Tantaló L.C., Nori A.V., French P., et al. Genomic epidemiology of syphilis reveals independent emergence of macrolide resistance across multiple circulating lineages. *Nat Commun.* 2019;10(1):3255. DOI: 10.1038/s41467-019-11216-7
- Arora N., Schuenemann V.J., Jäger G., Peltzer A., Seitz A., Herbig A., et al. Origin of modern syphilis and emergence of a pandemic *Treponema pallidum* cluster. *Nat Microbiol.* 2016;2:16245. DOI: 10.1038/nmicrobiol.2016.245
- Knauf S., Batamuzi E.K., Mlengya T., Kilewo M., Lejora I.A., Nordhoff M., et al. *Treponema* infection associated with genital ulceration in wild baboons. *Vet Pathol.* 2012;49(2):292-303. DOI: 10.1177/0300985811402839
- Knauf S., Liu H., Harper K.N. Treponemal infection in nonhuman primates as possible reservoir for human yaws. *Emerg Infect Dis.* 2013;19(12):2058-2060. DOI: 10.3201/eid1912.130863
- Sun J., Meng Z., Wu K., Liu B., Zhang S., Liu Y., et al. Tracing the origin of *Treponema pallidum* in China using next-generation sequencing. *Oncotarget.* 2016;7(28):42904-42918. DOI: 10.18632/oncotarget.10154
- Thurlow C.M., Joseph S.J., Ganova-Raeva L., Katz S.S., Pereira L., Chen C., et al. Selective whole-genome amplification as a tool to enrich specimens with low *Treponema pallidum* genomic DNA copies for whole-genome sequencing. *mSphere.* 2022;7(3):e0000922. DOI: 10.1128/msphere.00009-22
- Lieberman N.A.P., Lin M.J., Xie H., Shrestha L., Nguyen T., Huang M.L., et al. *Treponema pallidum* genome sequencing from six continents reveals variability in vaccine candidate genes and dominance of Nichols clade strains in Madagascar. *PLoS Negl Trop Dis.* 2021;15(12):e0010063. DOI: 10.1371/journal.pntd.0010063
- Luger A. The origin of syphilis. Clinical and epidemiologic considerations on the Columbian theory. *Sex Transm Dis.* 1993;20(2):110-117. PMID: 8503058.
- Hudson E.H. Treponematoses and man's social evolution. *Am Anthropol.* 1965;67:885e901. DOI: 10.1525/aa.1965.67.4.02a00020
- Bagirova A.A., Lomonosov K.M. Syphilis: from origins to the present day. *Infekcionnye bolezni.* 2019;17(1):100-104. Russian. (Багирова А.А., Ломоносов К.М. Сифилис: от истоков до наших дней. *Инфекционные болезни.* 2019;17(1):100-104.) DOI: 10.20953/1729-9225-2019-1-100-104
- Cockburn T.A. The origin of the treponematoses. *Bull World Health Organ.* 1961;24(2):221-228. PMID: 13694226.
- Milich M.V. Evolution of syphilis. M.: Medicina; 1987; p. 26-43. Russian. (Милич М.В. Эволюция сифилиса. М.: Медицина; 1987; с. 26-43.)
- Hudson E.H. Treponematoses in perspective. *Bull World Health Organ.* 1965;32:735-748. PMID: 5318224.
- Fraser C., Norris S., Weinstock G., White O., Sutton G., Dodson R., et al. Complete genome sequence of *Treponema pallidum*, the syphilis spirochete. *Science.* 1998;281:375-388. DOI: 10.1126/science.281.5375.375
- Harper K.N., Ocampo P.S., Steiner B.M., George R.W., Silverman M.S., Bolotin S., et al. On the origin of the treponematoses: a phylogenetic approach. *PLoS Negl Trop Dis.* 2008;2(1):e148. DOI: 10.1371/journal.pntd.0000148
- Gray R.R., Mulligan C.J., Molini B.J., Sun E.S., Giacani L., Godornes C., et al. Molecular evolution of the tprC, D, I, K, G, and J genes in the pathogenic genus *Treponema*. *Mol Biol Evol.* 2006;23(11):2220-2233. DOI: 10.1093/molbev/msl092
- Pla-Díaz M., Sánchez-Busó L., Giacani L., Šmajš D., Bosshard P.P., Bagheri H.C., et al. Evolutionary processes in the emergence and recent spread of the syphilis agent, *Treponema pallidum*. *Mol Biol Evol.* 2022;39(1):msab318. DOI: 10.1093/molbev/msab318
- Majander K., Pfrengle S., Kocher A., Neukamm J., du Plessis L., Pla-Díaz M., et al. Ancient bacterial genomes reveal a high diversity of *Treponema pallidum* strains in early modern Europe. *Curr Biol.* 2020;30(19):3788-3803.e10. DOI: 10.1016/j.cub.2020.07.058
- Hadfield J., Harris S.R., Seth-Smith H.M.B., Parmar S., Andersson P., Giffard P.M., et al. Comprehensive global genome dynamics of *Chlamydia trachomatis* show ancient diversification followed by contemporary mixing and recent lineage expansion. *Genome Res.* 2017;27(7):1220-1229. DOI: 10.1101/gr.212647.116
- Roetzer A., Diel R., Kohl T. A., Rückert C., Nübel U., Blom J., et al. Whole genome sequencing versus traditional genotyping for investigation of a *Mycobacterium tuberculosis* outbreak: a longitudinal molecular epidemiological study. *PLoS Med.* 2013;10:e1001387. DOI: 10.1371/journal.pmed.1001387
- Beale M.A., Marks M., Cole M.J., Lee M.-K., Pitt R., Ruis C., et al. Global phylogeny of *Treponema pallidum* lineages reveals recent expansion and spread of contemporary syphilis. *Nat Microbiol.* 2021;6:1549-1560. DOI: 10.1038/s41564-021-01000-z
- Nishiki S., Lee K., Kanai M., Nakayama S.I., Ohnishi M. Phylogenetic and genetic characterization of *Treponema pallidum* strains from syphilis patients in Japan by whole-genome sequence analysis from global perspectives. *Sci Rep.* 2021;11(1):3154. DOI: 10.1038/s41598-021-82337-7
- Šmajš D., Strouhal M., Knauf S. Genetics of human and animal uncultivable treponemal pathogens. *Infect*

- Genet Evol. 2018;61:92-107. DOI: 10.1016/j.meegid.2018.03.015
25. Grillová, L., Oppelt J., Mikalová L., Nováková M., Giacani L., Niesnerová A., et al. Directly sequenced genomes of contemporary strains of syphilis reveal recombination-driven diversity in genes encoding predicted surface-exposed antigens. *Front Microbiol.* 2019;10:1691. DOI: 10.3389/fmicb.2019.01691
 26. Strouhal M., Smajs D., Matejková P., Sodergren E., Amin A.G., Howell J.K., et al. Genome differences between *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* strain Nichols and *T. paraluisuniculi* strain Cuniculi A. *Infect Immun.* 2007;75(12):5859-5866. DOI: 10.1128/IAI.00709-07
 27. Pětrošová H., Pospíšilová P., Strouhal M., Čejková D., Zobaníková M., Mikalová L., et al. Resequencing of *Treponema pallidum* ssp. *pallidum* strains Nichols and SS14: correction of sequencing errors resulted in increased separation of syphilis treponeme subclusters. *PLoS One.* 2013;8(9):e74319. DOI: 10.1371/journal.pone.0074319
 28. Cha J.Y., Ishiwata A., Mobashery S. A novel β -lactamase activity from a penicillin-binding protein of *Treponema pallidum* and why syphilis is still treatable with penicillin. *J Biol Chem.* 2004;279(15):14917-14921. DOI: 10.1074/jbc.M400666200
 29. Stamm L.V., Bergen, H.L. A point mutation associated with bacterial macrolide resistance is present in both 23S rRNA genes of an erythromycin-resistant *Treponema pallidum* clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44(3):806-807. DOI: 10.1128/AAC.44.3.806-807.2000
 30. Matějková P., Flasarová M., Zákoucká H., Bořek M., Křemenová S., Arenberger P., et al. Macrolide treatment failure in a case of secondary syphilis: a novel A2059G mutation in the 23S rRNA gene of *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*. *J Med Microbiol.* 2009;58(Pt. 6):832-836. DOI: 10.1099/jmm.0.007542-0
 31. Molini B.J., Tantaló L.C., Sahi S.K., Rodriguez V.I., Brandt S.L., Fernandez M.C., et al. Macrolide resistance in *Treponema pallidum* correlates with 23S rDNA mutations in recently isolated clinical strains. *Sex Transm Dis.* 2016;43(9):579-583. DOI: 10.1097/OLQ.0000000000000486
 32. Martin I.E., Tsang R.S.W., Sutherland K., Anderson B., Read R., Roy C., et al. Molecular typing of *Treponema pallidum* strains in western Canada: predominance of 14d subtypes. *Sex Transm Dis.* 2010;37:544-548. DOI: 10.1097/OLQ.0b013e3181d73ce1
 33. Muller E.E., Paz-Bailey G., Lewis D.A. Macrolide resistance testing and molecular subtyping of *Treponema pallidum* strains from southern Africa. *Sex Transm Infect.* 2012;88:470-474. DOI: 10.1136/sextrans-2011-050322
 34. Van Damme K., Behets F., Ravelomanana N., Godornes C., Khan M., Randrianasolo B., et al. Evaluation of azithromycin resistance in *Treponema pallidum* specimens from Madagascar. *Sex Transm Dis.* 2009;36:775-776. DOI: 10.1097/OLQ.0b013e3181bd11dd
 35. Iasárová M., Pospíšilová P., Mikalová L., Vališová Z., Dastychová E., Strnadel R., et al. Sequencing based molecular typing of *Treponema pallidum* strains in the Czech Republic: all identified genotypes are related to the sequence of the SS14 strain. *Acta Derm Venereol.* 2012;92:669-674. DOI: 10.2340/00015555-1335
 36. Tipple C., McClure M.O., Taylor G.P. High prevalence of macrolide resistant *Treponema pallidum* strains in a London centre. *Sex Transm Infect.* 2011;87:486-488. DOI: 10.1136/sextrans-2011-050082
 37. Grimes M., Sahi S.K., Godornes B.C., Tantaló L.C., Roberts N., Bostick D., et al. Two mutations associated with macrolide resistance in *Treponema pallidum*: increasing prevalence and correlation with molecular strain type in Seattle, Washington. *Sex Transm Dis.* 2012;39:954-958. DOI: 10.1097/OLQ.0b013e31826ae7a8
 38. Noda A.A., Matos N., Blanco O., Rodríguez I., Stamm L.V. First report of the 23S rRNA gene A2058G point mutation associated with macrolide resistance in *Treponema pallidum* from syphilis patients in Cuba. *Sex Transm Dis.* 2016;43:332-334. DOI: 10.1097/OLQ.0000000000000440
 39. Lukehart S.A., Godornes C., Molini B.J., Sonnett P., Hopkins S., Mulcahy F., et al. Macrolide resistance in *Treponema pallidum* in the United States and Ireland. *N Engl J Med.* 2004;351:154-158. DOI: 10.1056/NEJMoa040216
 40. Chen X.S., Yin Y.P., Wei W.H., Wang H.C., Peng R.R., Zheng H.P., et al. High prevalence of azithromycin resistance to *Treponema pallidum* in geographically different areas in China. *Clin Microbiol Infect.* 2013;19(10):975-979. DOI: 10.1111/1469-0691.12098