



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.iaacmac.ru

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

Подписка на сайте издателя
<https://service.iaacmac.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»

Иллюстрация для обложки предоставлена: Ольга Николаевна Пинегина (ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России)

© Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2024.

Содержание

Болезни и возбудители

- Козлов Р.С., Каприн А.Д., Андреева И.В., Зикиряходжаев А.Д., Власова М.Ю., Дехнич А.В., Довгань Е.В., Коваленко Т.Н., Михайлов С.И., Стецюк О.У.
- 245** Практические рекомендации по применению антибиотиков при хирургии молочной железы: антибиотикопрофилактика и лечение инфекций области хирургического вмешательства и имплант-ассоциированных инфекций
- Мацвай А.Д., Безруков В.М., Николаева П.А., Стеценко И.Ф., Нурмуханова В.А., Дикая Г.С., Гордукова М.А., Галеева Е.В., Шипулин Г.А.
- 275** Опыт культивирования и молекулярно-генетическая характеристика полных геномов *Mycoplasma pneumoniae*, изолированных в России
- Белякова Е.Н., Шипулин Г.А.
- 286** Оспа обезьян: эпидемиологическая ситуация, диагностика, профилактика, новые вызовы и проблемы современности

Антимикробные препараты

- Рачина С.А., Федина Л.В., Стафеев А.Н., Кремнева А.О., Дехнич А.В.
- 302** Цефтобипрол медокарил: клинико-фармакологическая характеристика и возможности клинического применения
- Агеевец В.А.
- 311** Вторая жизнь полимиксина
- Козлов Р.С., Иванчик Н.В., Микотина А.В., Дехнич А.В.
- 318** *In vitro* активность макролидных антибиотиков в отношении *Streptococcus pneumoniae* и *Streptococcus pyogenes* в Российской Федерации: «Status praesens»

Антибиотикорезистентность

- Козлов Р.С., Палагин И.С., Иванчик Н.В., Трушин И.В., Дехнич А.В., Эйдельштейн М.В., Перепанова Т.С., и исследовательская группа «ДАРМИС-2023»
- 328** Национальный мониторинг антибиотикорезистентности возбудителей внебольничных инфекций мочевых путей в России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «ДАРМИС-2023»
- Шагабиева Ю.З., Шпилева М.В., Лагун К.М., Охлопкова О.В., Плахова К.И., Носов Н.Ю.
- 338** Генетическое разнообразие и антибиотикорезистентность *Neisseria gonorrhoeae* в России за период 2022–2023 гг.
- Ни О.Г., Шифман Е.М., Яковлев С.В., Быков А.О., Горбачева А.А., Круглов А.Н., Белоцерковский Б.З., Матюшков Н.С., Галата А.А., Проценко Д.Н.
- 345** Распространенность носительства генов, детерминирующих продукцию карбапенемаз, у пациентов, госпитализированных в Московский многопрофильный стационар
- Эйдельштейн И.А., Гуцин А.Е., Гладин Д.П., Романов А.В., Негашева Е.С., Фриго Н.В., Козлов Р.С., Потеев Н.Н., Козлова Н.С., Борухович Д.Г.
- 356** Высокая распространенность резистентности к макролидам и фторхинолонам у *Mycoplasma genitalium*, выделенных у пациентов из двух мегаполисов России – Москвы и Санкт-Петербурга в 2021–2024 гг.

Опыт работы

- Рыбалкина Т.Н., Каражас Н.В., Корниенко М.Н., Аветисян Л.Р., Бошьян Р.Е., Пульнова Н.Л., Кабикова О.Ф., Иванова М.Ю., Черешнева Е.В.
- 370** Участие *Pneumocystis jirovecii* в инфекционной и соматической патологии детей и взрослых при иммуносупрессии различного генеза
- Старкова Д.А., Гладышев Н.С., Полев Д.Е., Егорова С.А., Сварваль А.В.
- 378** Мутации в гене 23S рРНК, ассоциированные с устойчивостью к кларитромицину клинических изолятов *Helicobacter pylori* в Санкт-Петербурге
- Лямин А.В., Исмагуллин Д.Д., Козлов А.В., Алексеев Д.В., Каюмов К.А., Бочкарёва П.В., Антипов В.А., Железнова А.И.
- 384** Межприборное сравнение аналитической чувствительности автоматических микробиологических анализаторов гемокультур

Генетическое разнообразие и антибиотикорезистентность *Neisseria gonorrhoeae* в России за период 2022–2023 гг.

Шагабиева Ю.З., Шpileвая М.В., Лагун К.М., Охлопкова О.В., Плахова К.И., Носов Н.Ю.

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

Контактный адрес:

Юлия Зинуровна Шагабиева
Эл. почта: shagabieva1412@mail.ru

Ключевые слова: *N. gonorrhoeae*, антибиотикорезистентность, типирование, NG-STAR, антимикробные препараты, мониторинг.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Внешнее финансирование: исследование проведено без внешнего финансирования.

Цель. Провести филогенетический анализ для оценки изменений, происходящих в популяционной структуре российских клинических изолятов *N. gonorrhoeae* по протоколу NG-STAR.

Материалы и методы. Объектом исследования явились 34 клинических изолята *N. gonorrhoeae*, поступивших из российских медицинских организаций дерматовенерологического профиля в период 2022–2023 гг. Поступившие культуры рассеивали на шоколадный агар с добавлением 1% ростовой добавки ISOVitalex и 1% селективной добавки VCAT (Becton Dickinson, США). Затем проводили MALDI-TOF масс-спектрометрию на приборе MALDI Microflex (Bruker Daltonics, Германия). Определение чувствительности *N. gonorrhoeae* к 6 антимикробным препаратам – пенициллину, спектиномицину, цефтриаксону, тетрациклину, азитромицину и ципрофлоксацину осуществляли методом серийных разведений в агаре с определением минимальных подавляющих концентраций. Геномную ДНК выделяли из чистых культур *N. gonorrhoeae* с использованием набора «Проба-НК» (ДНК-Технология, Россия). Молекулярное типирование данных штаммов проводили на платформе MiSeq (Illumina, США). Для молекулярного типирования штаммов *N. gonorrhoeae* использовали метод Sequence Typing for Antimicrobial Resistance (NG-STAR) для выявления генотипов, ассоциированных с детерминантами антибиотикорезистентности.

Результаты. По протоколу NG-STAR проведено генотипирование 34 штаммов *N. gonorrhoeae*, поступивших из 4-х регионов России, с выявлением генотипических детерминант, ассоциированных с антибиотикорезистентностью. Было идентифицировано 19 сиквенс-типов, входящих в 7 уже описанных клональных комплексов (СС). Наиболее представительными СС среди исследованных штаммов явились 199 и 427 (38,2% и 26,5% соответственно). У 44,1% штаммов выявлена резистентность к 6 антибиотикам, ассоциированная с вариабельностью фрагментов генов *penA*, *mtrR*, *porB*, *porA*, *gyrA*, *parC* и 23S рРНК.

Выводы. Выявлен ряд молекулярных типов *N. gonorrhoeae*, ассоциированных с фенотипической мультирезистентностью, что подтверждает важность проведения комплексных лабораторных исследований клинических изолятов для предупреждения распространения резистентности в России.

Original Article

Genetic diversity and antibiotic resistance of *Neisseria gonorrhoeae* in Russia for the period 2022–2023

Shagabieva Yu.Z., Shpilevaya M.V., Lagun K.M., Ohlopokova O.V., Plakhova K.I., Nosov N.Yu.

State Research Center of Dermatovenereology and Cosmetology, Moscow, Russia

Contacts:

Yulia Z. Shagabieva
E-mail: shagabieva1412@mail.ru

Key words: *Neisseria gonorrhoeae*, antibiotic resistance, typing, NG-STAR, antimicrobials, surveillance.

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

External funding source: no external funding received.

Objective. To perform phylogenetic analysis to assess ongoing changes in population structure of Russian clinical isolates of *N. gonorrhoeae*.

Materials and methods. The object of the study was 34 clinical isolates of *N. gonorrhoeae* obtained from dermatovenereological medical institutions of the Russian Federation in the period 2022–2023. The cultures were spread on chocolate agar with 1% ISOVitalex growth additive and 1% VCAT selective additive (Becton Dickinson, USA). Mass spectrometric studies were performed using MALDI-TOF mass spectrometer (Bruker Daltonics, Germany). Susceptibility testing of *N. gonorrhoeae* to 6 antimicrobials (penicillin, spectinomycin, ceftriaxone, tetracycline, azithromycin, and ciprofloxacin) was performed by serial dilutions in agar with determination of minimum inhibitory concentrations. Genomic DNA was extracted from *N. gonorrhoeae* cultures using the Proba-NG kit (DNA-Technology, Russia). Molecular typing of the strains was performed on MiSeq platform (Illumina, USA).

Results. Genotyping of 34 *N. gonorrhoeae* strains from 4 Russian regions was performed using NG-STAR protocol to identify genotypic determinants associated with antibiotic resistance. A total of 19 sequence types included in 7 previously described clonal complexes (CC) were identified. The most representative CC among the studied strains were 199 and 427 (38.2% and 26.5%, respectively). Resistance to 6 antimicrobials associated with variability of *penA*, *mtrR*, *porB*, *porA*, *gyrA*, *parC* and 23S rRNA gene fragments was detected in 44.1% of strains.

Conclusions. A number of molecular types of *N. gonorrhoeae* associated with phenotypic multidrug resistance was identified, which confirms the importance of comprehensive laboratory studies of clinical isolates to prevent spread of antimicrobial resistance in Russia.

Шагабиева Ю.З. и соавт.

Введение

Возбудителем гонореи, одной из самых распространенных инфекций, передаваемых половым путем (ИППП), является *Neisseria gonorrhoeae*, грамотрицательный диплококк. Благодаря высокой пластичности генетического материала *N. gonorrhoeae* приобрел способность адаптироваться к иммунной системе хозяина [1–3]. Обладая чрезвычайно высокой вариабельностью генома, выражающейся в накоплении большого количества мутаций, зачастую реализующихся в генетических детерминантах резистентности к антимикробным препаратам (АМП), *N. gonorrhoeae* может приобрести мультирезистентность, что впоследствии может перевести вызываемое им заболевание в статус неизлечимого [4–6]. Показано, что гонококк сформировал устойчивость к АМП, которые ранее применялись в терапии гонококковой инфекции: сульфаниламиды, пенициллины, тетрациклины, фторхинолоны, аминоциклитолы и макролиды [7, 8]. В настоящее время для лечения гонококковой инфекции в России используется цефтриаксон, относящийся к цефалоспорином III поколения [9, 10]. При этом по литературным данным, все чаще выявляются штаммы *N. gonorrhoeae* с резистентностью к этому АМП, особенно в таких странах, как Япония и Китай [11]. Данные штаммы встречаются и на территории Европы – в Англии, Ирландии и Дании [12, 13]. Данная тенденция послужила основанием для включения гонококка в список ВОЗ из 12 патогенов, для которых в незамедлительном порядке требуется разработка новых АМП [14]. Наряду с этим важной задачей является отслеживание как путей распространения *N. gonorrhoeae*, так и оценка антибиотикорезистентности штаммов, решить которую позволяет протокол молекулярного типирования NG-STAR [15]. С учетом того, что в России, как и во многих других странах, заболеваемость гонореей возросла [16], возникает острая необходимость регулярного филогенетического анализа российских клинических изолятов *N. gonorrhoeae* для оценки происходящих изменений в популяционной структуре, что и составило **цель** данной работы.

Материалы и методы

Объектом исследования явились 34 клинических изолята *N. gonorrhoeae*, поступившие из российских медицинских организаций дерматовенерологического профиля в период 2022–2023 гг. Первичную идентификацию *N. gonorrhoeae* проводили бактериоскопическими и бактериологическими методами в соответствии со стандартной операционной процедурой (СОП) «Проведение видовой идентификации возбудителя гонореи» [17]. Выделенные культуры *N. gonorrhoeae* замораживали в среде, содержащей 20% глицерина, и транспортировали в ГНЦДК в соответствии с СОП «Транспортировка и доставка биологического материала и выделенных культур возбудителя гонореи» [18]. Поступившие культуры рассеивали на шоколадный агар с добавлением

1% ростовой добавки ISOVitalex и 1% селективной добавки VCAT (Becton Dickinson, США) и далее верифицировали по биохимическим показателям с использованием NH-карт на анализаторе VITEK 2 Compact (bioMerieux, Франция). Для культур, определенных как *N. gonorrhoeae* с вероятностью менее 99%, проводили MALDI-TOF масс-спектрометрию на приборе Microflex (Bruker Daltonics, Германия).

Определение чувствительности *N. gonorrhoeae* к 6 АМП (пенициллину, спектиномицину, цефтриаксону, тетрациклину, азитромицину, ципрофлоксацину) осуществляли методом серийных разведений в агаре с определением минимальных подавляющих концентраций (МПК). Результаты определения чувствительности *N. gonorrhoeae* к АМП интерпретировали в соответствии с критериями EUCAST (2022).

Геномную ДНК выделяли из чистых культур *N. gonorrhoeae* с использованием набора «Проба-НК» (ДНК-Технология, Россия). Молекулярное типирование данных штаммов проводили на платформе MiSeq (Illumina, США). Для приготовления геномных библиотек каждого анализируемого штамма использовали по 600 нг ДНК, которые фрагментировали до размера 400–700 п. н. по стандартному протоколу «GS RapidLibrary»

Таблица 1. Нуклеотидные последовательности по протоколу NG-STAR

| Ген | Название праймера | Нуклеотидная последовательность (5' – 3') |
|----------|----------------------|---|
| penA | PenA-A1 forward | CGGGCAATACCTTTATGGTGGAAAC |
| | PenA-B1 reverse | AACCTTCCTGACCTTTGCCGTC |
| | PenA-A2 forward | AAAACGCCATTACCCGATGGG |
| | PenA-B2 reverse | TAATGCCGCGCACATCCAAAG |
| | PenA-A3 forward | GCCGTAACCGATATGATCGA |
| | PenA-B3 reverse | CGTTGATACTCGGATTAAGACG |
| | PenA-A4 forward | AATTGAGCCTGCTGCAATTGGC |
| mtrR | MTR1 forward | AACAGGCATTCTTATTTACG |
| | MTR2 reverse | TTAGAAGAATGCTTTGTGTC |
| porB1b | por-NGMAST-F forward | CAAGAAGACCTCGGCAA |
| | por-NGMAST-R reverse | CCGACAACCACTTGGT |
| ponA | ponA1-f forward | CGCGGTGCGGAAAACATATATCGAT |
| | ponA1-r reverse | AGCCCGGATCGGTTACCATACGTT |
| gyrA | GYRA-1 forward | AACCCTGCCCGTCAGCCTTGA |
| | GYRA-2 reverse | GGACGAGCCGTTGACGAGCAG |
| parC | parC F forward | GTTTCAGACGGCCAAAAGCC |
| | parCR reverse | GGCATAAAATCCACCGTCCCC |
| 23S рPHK | gonrRNAF forward | ACGAATGGCGTAACGATGGCCACA |
| | gonrRNAR2 reverse | TTCGTCCACTCCGGTCTCTCGTA |

Таблица 2. Сиквенс-типы исследованных штаммов *N. gonorrhoeae*

| Субъект Российской Федерации | Шифр | <i>penA</i> | <i>mtrR</i> | <i>porB</i> | <i>ponA</i> | <i>gyrA</i> | <i>parC</i> | 23S | CC | NG-STAR |
|------------------------------|----------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-----|------|---------|
| Республика Татарстан | 09/23/02 | 854 | 216 | 1 | 100 | 7 | 4 | 100 | 426 | 3003 |
| Республика Татарстан | 09/23/03 | 538 | 89 | 9 | 100 | 7 | 4 | 100 | 426 | 1673 |
| Республика Татарстан | 09/23/04 | 23 | 216 | 11 | 100 | 7 | 4 | 100 | 168 | 3344 |
| Калужская область | 20/23/02 | 288 | 40 | 1 | 1 | 7 | 3 | 100 | 199 | 1869 |
| Калужская область | 20/23/03 | 288 | 40 | 100 | 1 | 7 | 3 | 100 | 199 | 3977 |
| Калужская область | 20/23/04 | 23 | 40 | 100 | 100 | 7 | 3 | 100 | 427 | 436 |
| Калужская область | 20/23/05 | 288 | 40 | 100 | 100 | 7 | 3 | 100 | 427 | 5296 |
| Калужская область | 20/23/06 | 288 | 40 | 100 | 100 | 7 | 3 | 100 | 427 | 5296 |
| Калужская область | 20/23/07 | 288 | 40 | 3 | 1 | 7 | 3 | 100 | 199 | 2178 |
| Калужская область | 20/23/08 | 1525 | 40 | 100 | 100 | 7 | 3 | 100 | 427 | 2413 |
| Калужская область | 20/23/10 | 3106 | 274 | 100 | 1 | 1 | 3 | 100 | 267 | 3991 |
| Калужская область | 20/23/12 | 288 | 40 | 1 | 1 | 7 | 3 | 100 | 199 | 1869 |
| Калужская область | 20/23/13 | 288 | 40 | 1 | 1 | 7 | 3 | 100 | 199 | 1869 |
| Калужская область | 20/23/14 | 266 | 1 | 11 | 1 | 1 | 3 | 100 | 90 | 90 |
| Калужская область | 20/23/15 | 266 | 1 | 11 | 1 | 1 | 3 | 100 | 90 | 90 |
| Москва | 00/22/01 | 288 | 39 | 3 | 1 | 7 | 3 | 100 | 199 | 3872 |
| Москва | 00/22/02 | 166 | 1 | 100 | 100 | 7 | 3 | 100 | 3420 | 1660 |
| Москва | 00/22/03 | 166 | 1 | 100 | 100 | 7 | 3 | 100 | 3420 | 1660 |
| Москва | 00/22/04 | 288 | 40 | 1 | 1 | 7 | 3 | 100 | 199 | 1869 |
| Новосибирская область | 21/22/04 | 284 | 19 | 12 | 1 | 1 | 123 | 100 | 38 | 2385 |
| Новосибирская область | 21/22/03 | 288 | 40 | 1 | 1 | 7 | 3 | 100 | 199 | 1869 |
| Новосибирская область | 21/22/02 | 166 | 39 | 100 | 100 | 7 | 4 | 100 | 168 | 2187 |
| Новосибирская область | 21/22/01 | 288 | 40 | 1 | 1 | 7 | 3 | 100 | 199 | 1869 |
| Калужская область | 20/22/10 | 288 | 122 | 1 | 1 | 7 | 3 | 100 | 1387 | 1615 |
| Калужская область | 20/22/09 | 23 | 40 | 100 | 100 | 7 | 3 | 100 | 427 | 436 |
| Калужская область | 20/22/05 | 288 | 39 | 3 | 1 | 7 | 3 | 100 | 199 | 3872 |
| Калужская область | 20/22/04 | 23 | 40 | 100 | 100 | 7 | 3 | 100 | 427 | 436 |
| Калужская область | 20/22/03 | 23 | 40 | 100 | 100 | 7 | 3 | 100 | 427 | 436 |
| Калужская область | 20/22/02 | 23 | 40 | 100 | 100 | 7 | 3 | 100 | 427 | 436 |
| Калужская область | 20/22/01 | 288 | 39 | 3 | 1 | 7 | 3 | 100 | 199 | 3872 |
| Калужская область | 20/22/06 | 288 | 39 | 3 | 1 | 7 | 3 | 100 | 199 | 3872 |
| Калужская область | 20/22/07 | 23 | 40 | 100 | 100 | 7 | 3 | 100 | 427 | 436 |
| Калужская область | 20/22/08 | 288 | 40 | 1 | 1 | 7 | 3 | 100 | 199 | 1869 |
| Калужская область | 20/22/11 | 288 | 122 | 1 | 1 | 7 | 3 | 100 | 1387 | 1615 |

(Roche, Швейцария). После очистки полученных фрагментов на колонках «MiniElutePCR Purification Kit» (Qiagen, США) проводили восстановление их концевых участков, лигировали с олигонуклеотидными адаптерами и иммобилизовали на связывающих частицах для секвенирования в соответствии с протоколом «PCR Amplification Manual» (Roche, Швейцария). Амплификацию полученных библиотек проводили в эмульсионной ПЦР с использованием комплекта реа-

гентов «GS JuniorePCRkit» согласно рекомендациям производителя (Roche, Швейцария).

Для молекулярного типирования штаммов *N. gonorrhoeae* использовали протокол Sequence Typing for Antimicrobial Resistance (NG-STAR) для выявления генотипов, ассоциированных с детерминантами антибиотикорезистентности [15].

Молекулярное типирование *N. gonorrhoeae* проводили путем анализа нуклеотидных последовательностей

Таблица 3. Значения МПК (мг/л) антибиотиков для клинических изолятов *N. gonorrhoeae*, выделенных в 2022–2023 гг.

| № п/п | № в коллекции | Пенициллин | Цефтриаксон | Тетрациклин | Ципрофлоксацин | Спектиномицин | Азитромицин |
|-------|---------------|------------|-------------|-------------|----------------|---------------|-------------|
| 1 | 20/22/01 | 0,25 | 0,06 | 1 | 64 | 32 | 0,12 |
| 2 | 20/22/02 | 0,06 | 0,03 | 16 | 64 | 16 | 0,5 |
| 3 | 20/22/03 | 0,06 | 0,03 | 0,5 | 32 | 16 | 0,12 |
| 4 | 20/22/04 | 0,06 | 0,06 | 0,5 | 32 | 16 | 0,12 |
| 5 | 20/22/05 | 0,5 | 0,03 | 1 | 128 | 32 | 4 |
| 6 | 20/22/06 | 0,25 | 0,03 | 1 | 64 | 32 | 4 |
| 7 | 20/22/07 | 0,12 | 0,03 | 8 | 32 | 32 | 1 |
| 8 | 20/22/08 | 0,12 | 0,03 | 1 | 64 | 32 | 1 |
| 9 | 20/22/09 | 0,12 | 0,03 | 0,5 | 32 | 64 | 0,12 |
| 10 | 20/22/10 | 0,5 | 0,12 | 1 | 32 | 16 | 0,5 |
| 11 | 20/22/11 | 0,5 | 0,03 | 1 | 32 | 32 | 0,5 |
| 12 | 00/22/01 | 0,12 | 0,06 | 8 | 64 | 16 | 2 |
| 13 | 00/22/02 | 0,12 | 0,06 | 8 | 64 | 16 | 2 |
| 14 | 00/22/03 | 0,12 | 0,06 | 8 | 64 | 16 | 1 |
| 15 | 00/22/04 | > 1 | 0,06 | 8 | 128 | 32 | 1 |
| 16 | 21/22/01 | 0,25 | 0,06 | 1 | 64 | 16 | 2 |
| 17 | 21/22/02 | 0,12 | 0,06 | 1 | 32 | 16 | 4 |
| 18 | 21/22/03 | 0,12 | 0,06 | 1 | 32 | 16 | 0,5 |
| 19 | 21/22/04 | 0,5 | 0,12 | 8 | 128 | 16 | 0,12 |
| 20 | 09/23/02 | 0,03 | 0,03 | 16 | 0,12 | 4 | 0,12 |
| 21 | 09/23/03 | 0,03 | 0,03 | 16 | 0,12 | 16 | 0,25 |
| 22 | 09/23/04 | 0,03 | 0,03 | 16 | 0,12 | 16 | 0,5 |
| 23 | 20/23/02 | 0,06 | 0,06 | 1 | 0,12 | 2 | 0,03 |
| 24 | 20/23/03 | 0,06 | 0,03 | 2 | 0,12 | 32 | 0,25 |
| 25 | 20/23/04 | 0,06 | 0,03 | 1 | 0,25 | 8 | 0,25 |
| 26 | 20/23/05 | 0,06 | 0,06 | 1 | 16 | 8 | 0,5 |
| 27 | 20/23/06 | 0,015 | 0,004 | 0,25 | 0,06 | 16 | 0,12 |
| 28 | 20/23/07 | 0,03 | 0,008 | 1 | 0,03 | 16 | 0,5 |
| 29 | 20/23/08 | 0,12 | 0,008 | 0,5 | 0,06 | 16 | 1 |
| 30 | 20/23/10 | 0,015 | 0,03 | 0,5 | 0,12 | 8 | 0,03 |
| 31 | 20/23/12 | 0,12 | 0,002 | 8 | 16 | 16 | 0,25 |
| 32 | 20/23/13 | 0,06 | 0,002 | 0,06 | 0,008 | 16 | 1 |
| 33 | 20/23/14 | 0,06 | 0,004 | 0,03 | 0,015 | 16 | 0,5 |
| 34 | 20/23/15 | 0,015 | 0,002 | 1 | 0,06 | 2 | 0,03 |

Зеленым цветом выделены чувствительные штаммы (S); синим – штаммы, чувствительные при увеличенной экспозиции препарата (I); красным – резистентные штаммы (R).

вариабельных участков генов, вовлеченных в формирование антибиотикорезистентности (Таблица 1), в соответствии с протоколом NG-STAR.

Результаты

По результатам секвенирования в 34 исследованных штаммах *N. gonorrhoeae* было выявлено 9 вариантов аллели *penA*, 8 вариантов аллели *mtrR*, 5 вариантов аллели *porB*, 2 варианта аллели *ropA*, 2 варианта аллели *gyrA*, 3 варианта аллели *parC* и 1 вариант аллели 23S, что позволило идентифицировать 19 сиквенс-типов (ST),

входящих в 7 ранее описанных клональных комплексов (CC) (Таблица 2). Новых ST выявлено не было. При этом наиболее распространенными CC среди исследованных штаммов были 199 и 427 (38,2% и 26,5% соответственно).

Анализ резистентности исследованных штаммов *N. gonorrhoeae* к АМП (Таблица 3) показал, что к пенициллину резистентны (МПК > 1 мг/л) 3% изолятов, чувствительные при увеличенной экспозиции (МПК = 0,12–1 мг/л) – 50%, к тетрациклину резистентны (МПК > 1 мг/л) 35,3% штаммов, чувствительные при увеличенной экспозиции (МПК ≤ 1 мг/л) – 41,2%; к ци-

профлоксацину резистентны (МПК > 0,06 мг/л) 82,3% исследуемых штаммов, чувствительные при увеличенной экспозиции (МПК = 0,06 мг/л) – 8,8%. Более 35,0% штаммов были резистентны к азитромицину (МПК > 1 мг/л). Следует отметить, что все исследованные штаммы *N. gonorrhoeae* оказались чувствительны к спектиномицину и цефтриаксону.

Сравнительный анализ полученных результатов генотипирования (по протоколу NG-STAR) и значений МПК показал, что генотипы ST-1660, ST-1869, ST-436 ассоциированы с резистентностью к 3 АМП, что позволяет охарактеризовать их как штаммы, обладающие фенотипической мультирезистентностью. Штамм 00/22/04 обладает резистентностью одновременно к 4 АМП – пенициллину, тетрациклину, ципрофлоксацину и азитромицину.

Обсуждение

Проведенное исследование показало сохранение высокой чувствительности изученных штаммов *N. gonorrhoeae* к цефтриаксону, применяемому для лечения гонореи в России [19, 20]. При этом следует отметить появление штаммов, в частности ST-2385, ST-1615, с признаками снижения чувствительности к данному антибиотику (МПК > 0,12 мг/л). Интересным фактом оказался рост резистентности к азитромицину по сравнению с предыдущим периодом. Так, если в 2020–2021 гг. 13,6% изолятов оказались резистентны к азитромицину [21], то в нашем исследовании таких изолятов было уже 35%. С одной стороны, это согласуется с литературными данными о росте доли устойчивых штаммов *N. gonorrhoeae* к данному антибиотику [22], а с другой, поскольку азитромицин не используется для лечения гонореи в России, может свидетельствовать о трансграничных переносах резистентных штаммов, тем более что во многих странах азитромицин используется в ком-

бинации с цефалоспоридами III поколения в качестве двойной антимикробной терапии гонореи [23]. Данное исследование показало сохранение высокого уровня устойчивости к тетрацикламам, фторхинолонам и азитромицину, несмотря на их длительное отсутствие в рекомендуемых схемах терапии гонококковой инфекции [24, 25]. Также следует отметить формирование устойчивого тренда на постепенное восстановление чувствительности *N. gonorrhoeae* к пенициллинам по сравнению с предыдущими периодами [26].

Показанная в данном исследовании ассоциация генотипов ST-1660, ST-1869, ST-436 с фенотипической мультирезистентностью подтверждается литературными данными. В частности мультирезистентный генотип 436 широко распространен в США и европейских странах [27].

Заключение

У 44,1% штаммов выявлена резистентность к 6 АМП, ассоциированная с вариабельностью фрагментов генов *penA*, *mtrR*, *porB*, *ponA*, *gyrA*, *parC* и 23S рРНК, входящих в схему NG-STAR. В результате проведенных исследований российских штаммов *N. gonorrhoeae* было идентифицировано 19 ST, входящих в 7 ранее описанных СС. Наиболее распространенными СС среди исследованных штаммов явились 199 и 427 (38,2% и 26,5% соответственно).

Выявление целого ряда ST *N. gonorrhoeae*, ассоциированных с фенотипической мультирезистентностью, подтверждает важность проведения комплексных лабораторных исследований клинических изолятов, полученных из различных российских регионов, для предупреждения распространения резистентности на территории РФ.

Исследование проведено в рамках Государственного задания № 056-00003-24-02.

Литература

1. Kubanov A.A., Leinsoo A.T., Chestkov A.V., Dementieva E.I., Shaskolskiy B.L., Solomka V.S., et al. Drug resistance mutations and susceptibility phenotypes of *Neisseria gonorrhoeae* isolates in Russia. *Molekuljarnaja biologija*. 2017;51(3):431-441. Russian. (Кубанов А.А., Лейнсоо А.Т., Честков А.В., Дементьева Е.И., Шаскольский Б.Л., Соломка В.С. и соавт. Мутации лекарственной устойчивости и фенотипы восприимчивости изолятов *Neisseria gonorrhoeae* в России. Молекулярная биология. 2017;51(3):431-441.) DOI: 10.7868/S0026898417030119
2. Kubanov A., Solomka V., Plakhova X., Chestkov A., Petrova N., Shaskolskiy B., et al. Summary and trends of the Russian Gonococcal Antimicrobial Surveillance Programme, 2005 to 2016. *J Clin Microbiol*. 2019;57(6):e02024-18. DOI: 10.1128/JCM.02024-18
3. Shaskolskiy B., Dementieva E., Kandinov I., Filippova M., Petrova N., Plakhova X. et al. Resistance of *Neisseria gonorrhoeae* isolates to beta-lactam antibiotics (benzylpenicillin and ceftriaxone) in Russia, 2015-2017. *PLoS One*. 2019;14(7):e0220339. DOI: 10.1371/journal.pone.0220339
4. Unemo M., Shafer W. Antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in the 21st century: past, evolution, and future. *Clin Microbiol Rev*. 2014;27(3):587-613. DOI: 10.1128/CMR.00010-14
5. Kubanov A., Vorobyev D., Chestkov A., Leinsoo A., Shaskolskiy B., Dementieva E., et al. Molecular

- epidemiology of drug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* in Russia (Current Status, 2015). BMC Infect Dis. 2016;16:389. DOI: 10.1186/s12879-016-1688-7
6. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing – EUCAST. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version.12.0. Available at: www.eucast.org. Accessed December 20, 2023.
 7. Kubanov A.A., Solomka V.S., Rakhmatulina M.R., Deryabin D.G. Antimicrobial resistance of *Neisseria gonorrhoeae* and gonococcal infection therapy: yesterday, today, tomorrow. Vestnik dermatologii i venerologii. 2022;98(3):15-23. Russian. (Кубанов А.А., Соломка В.С., Рахматулина М.Р., Дерябин Д.Г. Устойчивость *Neisseria gonorrhoeae* к антимикробным препаратам и средства терапии гонококковой инфекции: вчера, сегодня, завтра. Вестник дерматологии и венерологии. 2022;98(3):15-23.) DOI: 10.25208/vdv1317
 8. Kandinov I., Shaskolskiy B., Kravtsov D.A., Vinokurova A., Gorshkova S., Kubanov A., et al. Azithromycin susceptibility testing and molecular investigation of *Neisseria gonorrhoeae* isolates collected in Russia, 2020-2021. Antibiotics (Basel). 2023;12(1):170. DOI: 10.3390/antibiotics12010170
 9. Nosov N., Kubanov A., Solomka V., Deryabin D. Biochemical atypia in Russian *Neisseria gonorrhoeae* clinical isolates belonging to the G807 NG-MAST genogroup/ST1594 MLST. Microorganisms. 2022;10(11):2271. DOI: 10.3390/microorganisms10112271
 10. Shaskolskiy B., Dementieva E., Kandinov I., Chestkov A., Kubanov A., Deryabin D., et al. Genetic diversity of *Neisseria gonorrhoeae* multi-antigen sequence types in Russia and Europe. Int J Infect Dis. 2020;93:1-8. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.01.020
 11. Shimuta K., Lee K., Yasuda M., Furubayashi K., Uchida C., Nakayama S.I., et al. Characterization of 2 *Neisseria gonorrhoeae* strains with high-level azithromycin resistance isolated in 2015 and 2018 in Japan. Sex Transm Dis. 2021;48(7):e85-e87. DOI: 10.1097/OLQ.0000000000001303
 12. Unemo M., Ross J., Serwin A.B., Gomborg M., Cusini M., Jensen J.S. 2020 European guideline for the diagnosis and treatment of gonorrhoea in adults. Int J STD AIDS. 2020;956462420949126. DOI: 10.1177/0956462420949126
 13. Global health sector strategy on Sexually Transmitted Infections, 2016-2021. Available at: www.who.int/ru/publications/i/item/WHO-RHR-16.09. Accessed August 21, 2024.
 14. Кубанов А.А., Рунина А.В., Честков А.В., Кудрявцева А.В., Пеков Ю.А., Корвиго И.О., Дерябин Д.Г. Полногеномное секвенирование российских штаммов *Neisseria gonorrhoeae*, отнесенных к геногруппе ST 1407. Acta Naturae. 2018;10(3):68-76. Russian. (Кубанов А.А., Рунина А.В., Честков А.В., Кудрявцева А.В., Пеков Ю.А., Корвиго И.О., Дерябин Д.Г. Whole-genome sequencing of Russian *Neisseria gonorrhoeae* isolates related to ST 1407 genogroup. Acta Naturae. 2018;10(3):68-76.) DOI: 10.32607/20758251-2018-10-3-68-76
 15. Golparian D., Sanchez-Buso L., Cole M., Unemo M. *Neisseria gonorrhoeae* Sequence Typing for Antimicrobial Resistance (NG-STAR) clonal complexes are consistent with genomic phylogeny and provide simple nomenclature, rapid visualization and antimicrobial resistance (AMR) lineage predictions. J Antimicrob Chemother. 2011;76(4):940-944. DOI: 10.1093/jac/dkaa552
 16. Shaskolskiy B., Kandinov I., Kravtsov D., Vinokurova A., Gorshkova S., Filippova M., et al. Hydrogel droplet microarray for genotyping antimicrobial resistance determinants in *Neisseria gonorrhoeae* isolates. Polymers (Basel). 2021;13(22):3889. DOI: 10.3390/polym13223889
 17. Kubanova A.A., Kubanov A.A., Frigo N.V., Plevshchikova S.A., Solomka V.S., Lesnaya I.N., et al. Standard operating procedures for species identification of the gonorrhea pathogen. Collection of standard operating procedures. (SOP № 003/04 GON; SOP № 004/04 GON; SOP № 005/04 GON). Moscow: ООО «ДЕКСПРЕСС»; 2008. Russian. (Кубанова А.А., Кубанов А.А., Фриго Н.В., Полевщикова С.А., Соломка В.С., Лесная И.Н. и соавт. Стандартные операционные процедуры по проведению видовой идентификации возбудителя гонореи. (СОП № 003/04 ГОН; СОП № 004/04 ГОН; СОП № 005/04 ГОН). ООО «ДЭКСПРЕСС»; 2008.)
 18. Frigo N.V., Kubanova A.A., Solomka V.S., Plevshchikova S.A., Standard operating procedures for transportation and delivery of clinical material and isolated cultures of the causative agent of gonorrhoea. SOP № 001/03 GON. Moscow: ООО «ДЕКСПРЕСС»; 2008. Russian. (Фриго Н.В., Кубанова А.А., Соломка В.С., Полевщикова С.А. Стандартные операционные процедуры по транспортировке и доставке клинического материала и выделенных культур возбудителя гонореи. (СОП № 001/03 ГОН). ООО «ДЭКСПРЕСС»; 2008.)
 19. Alcott A.M., Werner L.M., Baiocco C.M., Dufresne M.B., Columbus L., Criss A.K. Variable expression of Opa proteins by *Neisseria gonorrhoeae* influences bacterial association and phagocytic killing by human neutrophils. J Bacteriol. 2022;19;204(4):e0003522. DOI: 10.1128/jb.00035-22
 20. Kubanova A., Kubanov A., Frigo N., Solomka V., Semina V., Vorobyev D., et al. Russian Gonococcal Antimicrobial Susceptibility Programme (RU-GASP) – resistance in *Neisseria gonorrhoeae* during 2009-2012 and NG-MAST genotypes in 2011 and 2012. BMC Infect Dis. 2014;14:342. DOI: 10.1186/1471-2334-14-342
 21. George C.R., Enriquez R.P., Gatus B.J., Whiley D.M., Lo Y.R., Ishikawa N., et al. Systematic review and survey of *Neisseria gonorrhoeae* ceftriaxone and azithromycin susceptibility data in the Asia Pacific, 2011 to 2016. PLoS One. 2019;3;14(4):e0213312. DOI: 10.1371/journal.pone.0213312
 22. Gonococcal infection. Clinical recommendations. Approved at the meeting of the Scientific and Practical Council of the Ministry of Health of the Russian Federation (Protocol № 43/2-3-4 dated 10.12.2020). Available at: https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/218_1. Accessed

- August 21, 2024. Russian. (Гонококковая инфекция. Клинические рекомендации. Одобрены на заседании научно-практического совета Министерства здравоохранения Российской Федерации. (Протокол № 43/2-3-4 от 10.12.2020). Доступно по адресу: https://сг.minzdrav.gov.ru/recomend/218_1. Ссылка активна на 21 августа 2024 г.)
23. Katz A.R., Komeya A.Y., Soge O.O., Kiaha M.I., Lee M.V.C., Wasserman G.M., et al. *Neisseria gonorrhoeae* with high-level resistance to azithromycin: case report of the first isolate identified in the United States. *Clin Infect Dis.* 2012;54(6):841-843. DOI: 10.1093/cid/cir929
 24. Demczuk W., Sidhu S., Unemo M., Whiley D.M., Allen V.G., Dillon J.R., et al. *Neisseria gonorrhoeae* sequence typing for antimicrobial resistance, a novel antimicrobial resistance multilocus typing scheme for tracking global dissemination of *N. gonorrhoeae* strains. *J Clin Microbiol.* 2017;55(5):1454-1468. DOI: 10.1128/JCM.00100-17
 25. Kivata M.W., Mbuchi M., Eyase F., Bulimo W.D., Kyanya C.K., Oundo V., et al. Plasmid mediated penicillin and tetracycline resistance among *Neisseria gonorrhoeae* isolates from Kenya. *BMC Infect Dis.* 2020;20(1):703. DOI: 10.1186/s12879-020-05398-5
 26. Unemo M., Ahlstrand J., Sanchez-Buso L., Day M., Aanensen D., Golparian D., et al. High susceptibility to zoliflodacin and conserved target (GyrB) for zoliflodacin among 1209 consecutive clinical *Neisseria gonorrhoeae* isolates from 25 European countries, 2018. *J Antimicrob Chemother.* 2021;76(5):1221-1228. DOI: 10.1093/jac/dkab024
 27. Thomas J.C., Seby S., Abrams A.J., Cartee J., Lucking S., Vidyaprakash E., et al. Evidence of recent genomic evolution in gonococcal strains with decreased susceptibility to cephalosporins or azithromycin in the United States, 2014-2016. *J Infect Dis.* 2019;220(2):294-305. DOI: 10.1093/infdis/jiz079