

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.

Подписные индексы

По каталогу «Журналы России» на 2019 г. агентства «Роспечать»:

82125 – для индивидуальных подписчиков;

82126 – для организаций.

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:
www.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, 2019.

Содержание

Болезни и возбудители

- Макинтош Д.
253 Разработка вакцин против гонореи, сифилиса, хламидиоза, вируса простого герпеса, вируса иммунодефицита человека и вируса Зика
- Воронина О.Л., Кунда М.С., Рыжова Н.Н., Кутузова А.В., Аксенова Е.И., Карпова Т.И., Тартаковский И.С., Ющук Н.Д., Климова Е.А., Кареткина Г.Н., Чемерис О.Ю., Груздева О.А., Мелкумян А.Р., Орлова О.Е., Бурмистрова Е.Н.
261 Листерии: генотипирование как ключ к выявлению возможного источника заражения
- Муравьев А.А., Чагарян А.Н., Иванчик Н.В., Куркова А.А., Цветкова И.А., Козлов Р.С. и исследовательская группа «SPECTRUM»
275 Эпидемиология серотипов *S. pneumoniae*, выделенных у лиц старше 18 лет: здоровых носителей, пациентов с острым средним отитом, внебольничной пневмонией и инвазивной пневмококковой инфекцией (исследование «SPECTRUM»)

Антимикробные препараты

- Елисеева Е.В., Азизов И.С., Зубарева Н.А.
282 Обзор международных согласительных рекомендаций по оптимальному использованию полимиксинов
- Козлов Р.С., Голуб А.В.
310 Остановить темпы роста антибиотикорезистентности микроорганизмов сегодня – дать шанс на выживание человечества завтра

Антибиотикорезистентность

- Иванчик Н.В., Сухорукова М.В., Чагарян А.Н., Дехнич А.В., Козлов Р.С., Архипенко М.В., Беккер Г.Г., Гудкова Л.В., Ершова М.Г., Жолобова А.Ф., Зубарева Н.А., Исакова Л.М., Кречикова О.И., Морозова О.А., Москвитина Е.Н., Петрова Т.А., Сивая О.В., Чернявская Ю.Л.
317 Антибиотикорезистентность клинических штаммов *Haemophilus influenzae* в России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «ПеГАС 2014–2017»
- Веселов А.В.
324 Резистентность *Candida glabrata* к эхинокандинам: некоторые аспекты проблемы
- Зубарева Л.М., Эйдельштейн И.А., Руднева Н.С., Романов А.В., Власова Т.А., Лавриненкова Ю.В., Суханова Л.Н., Ахмедова А.М., Кузьменков А.Ю., Трушин И.В., Евстафьев В.В.
330 Распространенность ассоциированных с устойчивостью к макролидам мутаций у *Mycoplasma genitalium* среди пациентов с негонококковыми инфекциями, передающимися половым путем, в Смоленске и Туле

Опыт работы

- Шагинян И.А., Аветисян Л.Р., Чернуха М.Ю., Сиянова Е.А., Бурмистров Е.М., Воронкова А.Ю., Кондратьева Е.И., Чучалин А.Г., Гинцбург А.Л.
340 Эпидемиологическая значимость молекулярной изменчивости генома изолятов *Pseudomonas aeruginosa*, вызывающих хроническую инфекцию легких у больных муковисцидозом
- Демин М.В., Тихомиров Д.С., Бидерман Б.В., Глинщикова О.А., Дроков М.Ю., Судариков А.Б., Туполева Т.А., Филатов Ф.П.
352 Мутации в гене UL97 цитомегаловируса, ассоциированные с устойчивостью к ганцикловиру, у реципиентов аллогенных гемопоэтических стволовых клеток
- Кецко Ю.Л., Жестков А.В., Гусякова О.А., Лунина А.В., Лямин А.В.
359 Влияние тинкториальных свойств микроорганизма на нутритивный статус и ближайший прогноз у пациентов с синдромом системной воспалительной реакции бактериальной генеза
- Шамсиев Г.А., Хаммуд Ф.А., Закиров Ф.И., Попов Д.А., Лазарев Р.А., Абдуллоев О.К.
366 Случай успешного лечения инфекционного эндокардита митрального клапана, вызванного *Listeria monocytogenes*, после ранее выполненной операции на сердце

Распространенность ассоциированных с устойчивостью к макролидам мутаций у *Mycoplasma genitalium* среди пациентов с негонококковыми инфекциями, передающимися половым путем, в Смоленске и Туле

Зубарева Л.М.¹, Эйдельштейн И.А.², Руднева Н.С.³, Романов А.В.², Власова Т.А.¹, Лавриненкова Ю.В.¹, Суханова Л.Н.³, Ахмедова А.М.³, Кузьменков А.Ю.², Трушин И.В.², Евстафьев В.В.¹

¹ Смоленский кожно-венерологический диспансер, Смоленск, Россия

² НИИ антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России, Смоленск, Россия

³ Тульский областной клинический кожно-венерологический диспансер, Тула, Россия

Контактный адрес:

Инна Александровна Эйдельштейн
Эл. почта: Inna.Edelstein@antibiotic.ru

Ключевые слова:

Mycoplasma genitalium, макролиды, резистентность, мутации.

Цель. Определить распространенность штаммов *Mycoplasma genitalium*, устойчивых к макролидам, в период с 2013 по 2017 г. в двух российских городах (Смоленск и Тула).

Материалы и методы. В исследование было включено 574 клинических образца (соскобы со слизистых оболочек уретры и цервикального канала), полученных от пациентов с негонококковыми ИППП, в которых была обнаружена ДНК *M. genitalium*. Образцы выделенной ДНК *M. genitalium* исследовали с помощью разработанной технологии ПЦР-РВ с эффектом гашения флуоресценции зонда праймером, которая позволяет выявлять любые нуклеотидные замены в гене 23S рРНК в позициях 2058, 2059, 2611 (согласно нумерации для *E. coli*).

Результаты. Распространенность мутаций резистентности *M. genitalium* к макролидам в двух городах (Смоленск и Тула) составила 3,65% (21/574). Превалирующий вариант мутаций – нуклеотидная транзигция А2058G в гене 23S рРНК *M. genitalium*: 5/12 (41,6%) – Смоленск, 8/9 (88,8%) – Тула. Также обнаружены редко встречающиеся виды нуклеотидных замен: А2058Т и С2611Т.

Выводы. Частота мутаций, приводящих к устойчивости *M. genitalium* к макролидам, не превышает 4% по результатам исследования в двух городах Центральной России за период 2013–2017 гг. Несмотря на относительно низкие показатели устойчивости *M. genitalium* к макролидам в Смоленске и Туле, полученные данные подчеркивают необходимость эпидемиологического надзора за резистентностью.

Original Article

The rates of mutations associated with macrolide resistance in *Mycoplasma genitalium* among patients with non-gonococcal sexually transmitted infections in Smolensk and Tula

Zubareva L.M.¹, Edelstein I.A.², Rudneva N.S.³, Romanov A.V.², Vlasova T.A.¹, Lavrinenkova Yu.V.¹, Sukhanova L.N.³, Ahmedova A.M.³, Kuzmenkov A.Yu.², Trushin I.V.², Evstafev V.V.¹

¹ Smolensk Dermatology and Venerology Dispensary, Smolensk, Russia

² Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk, Russia

³ Tula Regional Clinical Dermatology and Venerology Dispensary, Tula, Russia

Contacts:

Inna A. Edelstein
E-mail: Inna.Edelstein@antibiotic.ru

Key words: *Mycoplasma genitalium*, macrolides, resistance, mutations.

Objective. To determine prevalence of macrolide-resistant *Mycoplasma genitalium* isolates over the period of 2013-2017 in two Russian cities (Smolensk and Tula).

Materials and methods. A total of 574 *M. genitalium* DNA-positive specimens (urethral and cervical swabs) collected from the patients with non-gonococcal STI were included in the study. The DNA samples were tested by the real-time PCR method to identify any nucleotide substitutions in the 23S rRNA gene at the positions 2058, 2059 and 2611 (according to *E. coli* numbering).

Results. The prevalence of macrolide resistance-associated mutations in *M. genitalium* isolates from two cities (Smolensk and Tula) was 3.65% (21/574). The A2058G transition in 23S rRNA gene of *M. genitalium* was the most common mutation being associated with macrolide resistance: 5/12 (41.6 – Smolensk, 8/9 (88.8%) – Tula. The rare nucleotide substitutions in 23S rRNA gene (A2058T and C2611T) were also found.

Conclusions. The rates of macrolide resistance-associated mutations in *M. genitalium* were not more than 4% in two Russian cities during 2013-2017. Despite the relatively low rates of macrolide resistance among *M. genitalium* isolates in Smolensk and Tula, the study results stress the need for antimicrobial resistance surveillance of this pathogen.

Одним из облигатных патогенов, вызывающих инфекции, передающиеся половым путем (ИППП), является *Mycoplasma genitalium*. Этот возбудитель служит причиной уретритов у лиц обоего пола, цервицитов и эндометритов у женщин, а также осложняет течение беременности и родов. В Европе частота выявления *M. genitalium* из уретры у мужчин с симптоматическими проявлениями негонококковых уретритов (НГУ) составляет 15–25% [1]. У 7–10% женщин с признаками воспалительных заболеваний органов малого таза в образцах из шейки матки и/или эндометрия выделяется *M. genitalium* [2]. По оценкам российских исследователей, распространенность данного патогена составила 18,3% среди мужчин и 13,1% среди женщин, обратившихся за медико-консультативной помощью к дерматовенерологам г. Москвы [3]. Согласно результатам демографических исследований, проведенных в Великобритании, *M. genitalium* встречается среди 1–3% сексуально активных здоровых мужчин и женщин [4].

Для выявления *M. genitalium* применяется метод культивирования в жидкой питательной среде или в клеточной культуре, однако он требует больших материальных затрат и занимает много времени (до нескольких недель). В связи с этим культуральное изучение свойств данного микроорганизма и оценка его устойчивости к антибиотикам проводятся только в референтных лабораториях [5, 6]. Иммунологический метод диагностики, основанный на определении антител к антигенным структурам *M. genitalium*, неприменим из-за исключительно внутриклеточного расположения жизнеспособных форм микоплазм, их низкой иммуногенности и сходства антигенов *M. genitalium* с антигенами других видов микоплазм. На сегодняшний день рутинная этиологическая диагностика инфекций, ассоциированных с *M. genitalium*, основывается на методах амплификации нуклеиновых кислот, что отражено в отечественных и зарубежных руководствах [5–7].

Необходимость обязательного выявления *M. genitalium* для понимания причины инфекции продиктована особенностями подхода к подбору схем антибактериальной терапии (АБТ) ИППП. Отсутствие пептидогликановой клеточной стенки у микоплазм обуславливает их природную устойчивость ко многим антибиотикам, в том числе бета-лактамам и гликопептидам, однако тетрациклины, макролиды и фторхинолоны обеспечивают элиминацию микоплазм.

Несмотря на ограниченный выбор антимикробных препаратов, применяемых для терапии микоплазменных и хламидийных инфекций, российские стандарты лечения негонококковых ИППП несколько отличаются от зарубежных. В России для лечения неосложненных форм урогенитальных заболеваний, вызванных *M. genitalium*, в качестве препаратов первой линии применяют доксицилин 100 мг 2 р/сут внутрь 10 дней или джозамицин 500 мг 3 р/сут внутрь 10 дней; препаратом второй линии является офлоксацин [5]. В 2016 г. было разработано Европейское руководство по диагностике и лечению инфекций, ассоциированных с *M. genitalium*, где препаратами первой линии названы макролиды (азитромицин или джозамицин), а в качестве препарата резерва рассматривается моксифлоксацин [6]. Наряду с

данным регламентом действует Европейское руководство 2016 г. по ведению пациентов с НГУ [8]. Данный документ ограничивает алгоритм обследования пациентов определением ДНК *Chlamydia trachomatis* и ДНК *Neisseria gonorrhoeae* методами амплификации нуклеиновых кислот, а в качестве первой линии терапии при отсутствии ДНК *N. gonorrhoeae* предлагается доксицилин в дозе 100 мг 2 р/сут внутрь 7 дней, при этом настоятельно не рекомендуется эмпирическое назначение 1 г азитромицина однократно для лечения уретритов неясной этиологии из-за доказанной селекции мутаций при такой схеме терапии, а также снижения эффективности этой дозы препарата [1, 8–10]. В ситуациях, когда выполняется исследование на *M. genitalium*, выделение ДНК данного возбудителя служит основанием для применения азитромицина внутрь в расширенном режиме: 500 мг однократно, затем 250 мг/сут 4 дня [8]. Следует отметить, что в некоторых странах (Великобритания, США, Япония) в рутинной практике для пациентов с НГУ не предусмотрено обязательное обследование на *M. genitalium*. Считается, что *C. trachomatis* – социально более значимый этиологический фактор НГУ, и протоколы лечения сосредоточены на элиминации именно этого возбудителя [11–15]. Препаратами первой линии терапии в Великобритании являются доксицилин и азитромицин, альтернативный препарат – офлоксацин [11]. В Японии и США азитромицин также выступает основным антибиотиком для эмпирического лечения данной патологии. В случае неэффективности терапии макролидами рекомендуется применять моксифлоксацин [11, 12, 15].

Несмотря на различия в тактике назначения макролидов в разных странах, проблемы, возникающие с их использованием, остаются: за последние годы наблюдается снижение эффективности препаратов данной группы во всем мире [14–16]. В зарубежных статьях неоднократно упоминалось о случаях безрезультатного лечения макролидами [17, 21, 22]. Клинический неуспех терапии джозамицином у пациентов с НГУ, вызванными *M. genitalium*, также был описан и в российских публикациях [18–20].

Актуальность проблемы клинической неэффективности антибактериальных препаратов (АБП) группы макролидов связана с появлением и циркуляцией в популяции микоплазм с механизмами, обуславливающими антибиотикорезистентность. Наиболее частой причиной фенотипического проявления макролидорезистентности у генитальных микоплазм являются специфические нуклеотидные замены в гене 23S рРНК V домена пептидилтрансферазной петли, главным образом в позициях 2058 и 2059 (нумерация по *E. coli*), которые приводят к конформационным изменениям и нарушению связывания антибиотика с мишенью его действия, вследствие чего формируется клинически значимая устойчивость к лекарственному препарату [22]. В Европейском руководстве 2016 г. по ведению инфекций, вызванных *M. genitalium*, отмечено: «В связи с широким распространением в Европе резистентности *M. genitalium* к макролидам, настоятельно рекомендуется определять чувствительность к ним всех положительных образцов представленными на рынке исследовательскими или

Таблица 1. Частота выявления мутаций, ассоциированных с резистентностью к макролидам у *M. genitalium*, среди пациентов с ИППП в различных странах

| Страна | Год | Частота выявления | Ссылка |
|----------------|------|-------------------|-------------------|
| Австралия | 2013 | 65,6% | Trembizki E. [31] |
| Англия | 2014 | 41% | Pond M. [32] |
| Испания | 2014 | 35% | Barbera M. [50] |
| США | 2014 | 50,8% | Getman D. [33] |
| Япония | 2015 | 47% | Deguchi T. [34] |
| Швеция | 2015 | 18,6% | Haddad R. [48] |
| Южная Африка | 2015 | 10% | Hay B. [29] |
| Франция | 2016 | 17,4% | le Roy C. [30] |
| Германия | 2016 | 53% | Dumke R. [51] |
| Канада | 2016 | 56,5% | Gratrix J. [49] |
| Новая Зеландия | 2017 | 63,6% | Anderson T. [52] |

коммерческими тестами. Право выбора тестов определяется референтной лабораторией» [6]. Данные по частоте выявления маркеров макролидорезистентности у *M. genitalium* в зарубежных странах представлены в Таблице 1.

На сегодняшний день унифицированного подхода к диагностике резистентности *M. genitalium* к макролидам не существует, а применение различных технологий, таких как секвенирование по Сэнгеру, методы на основе ПЦР («Cycleave» ПЦР, «TaqMan 5' nuclease real-time PCR», ПЦР-РВ с анализом кривых плавления высокого разрешения (HRM), ПЦР-РВ с анализом кривых плавления FRET-зондов), используется преимущественно для научных исследований. Эти технологии позволяют без предварительного культивирования микроорганизма определять мутации после выявления ДНК возбудителя или включают в себя два этапа одновременно – диагностику возбудителя и детекцию мутаций [23–27]. Для клинической практики единственной зарегистрированной коммерческой тест-системой на данный момент является *ResistancePlus MG (Speedx, Австралия)*, одновременно выявляющая ДНК *M. genitalium* и 5 наиболее значимых мутаций без оценки характера замены в формате мультиплекс [28].

На основании результатов, полученных с использованием различных методов детектирования однонуклеотидных замен, опосредующих макролидорезистентность, ведутся эпидемиологические наблюдения, по результатам которых можно судить о наиболее преобладающих вариантах мутаций в разных странах мира (Таблица 2).

Нуклеотидные последовательности в гене рНК *M. genitalium* представлены согласно нумерации по *E. coli*.

Российские исследования по выявлению маркеров макролидорезистентности у *M. genitalium* и определению частоты их встречаемости до сих пор немногочисленны, что, вероятно, связано с отсутствием доступных коммерческих систем диагностики. В России опубликованы единичные данные [20, 36, 37]. Также была проведена совместная работа отечественных и зарубежных ученых по изучению распространенности устойчивости

к макролидам штаммов в 5 городах России и Эстонии [35]. По результатам этих исследований, в Москве частота встречаемости мутаций, ассоциированных с макролидорезистентностью у *M. genitalium*, составила 5,2–5,6% [35, 36]. Информация по другим регионам России отсутствует.

В связи с этим целью настоящего исследования явилась оценка распространенности мутаций резистентности к макролидам у *M. genitalium* в Смоленской и Тульской областях, а также размещение полученных в ходе работы результатов на карте антибиотикорезистентности России AMRmap [38].

Материалы и методы

Клинические образцы

В исследование было включено 574 клинических образца (соскобы со слизистых оболочек уретры и цервикального канала), полученных от пациентов, получавших медико-консультативную помощь врачей-дерматовенерологов в специализированных клиниках Смоленска и Тулы с 2013 по 2017 г. Все образцы содержали ДНК *M. genitalium* по результатам первичного исследования. Предшествующая АБТ у пациентов не проводилась. Повторные образцы, полученные от одного и того же пациента (контроль лечения), исключались из исследования.

Первичный скрининг

Выделение ДНК *M. genitalium* проводили с использованием наборов «Рибо-Преп» (ФБУН ЦНИИЭ, Россия) и РеалБест ДНК-экспресс («Вектор-Бест», Россия). Выявление ДНК *M. genitalium* осуществляли на основе технологии ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с применением коммерческих наборов «РеалБест ДНК *Chlamydia trachomatis*/ *Mycoplasma genitalium*», «РеалБест ДНК *Mycoplasma genitalium*/ *Mycoplasma hominis*» («Вектор-Бест», Россия), «АмплиСенс® *Mycoplasma genitalium*-FL», «АмплиСенс® *Chlamydia trachomatis*-FL», «АмплиПрайм®NCMT» (ФБУН ЦНИИЭ, Россия) с использованием регистрирующих амплификаторов CFX96 (Bio-Rad, США), ДТ-96 («ДНК-технология», Россия), Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия). При обнаружении в первичном скрининге ДНК *Mycoplasma genitalium* образцы хранились при -20°C до момента дальнейшего исследования.

Детекция мутаций

Определение специфических мутаций осуществляли с использованием модифицированного метода ПЦР-РВ с эффектом гашения флуоресценции зонда праймером, описанным ранее [39]. Разработанный метод дает возможность выявлять любые нуклеотидные замены в гене 23S рНК *M. genitalium* в позициях 2058, 2059, 2611 с помощью анализа кривых плавления зондов после проведения амплификации в мультиплексном формате (патент РФ № 2010149524). Полученные пики плавления оценивали путем сравнения с контрольными образцами. Присутствие однонуклеотидной замены в области связывания зонда обуславливает меньшую температуру плавления

Таблица 2. Структура и распространенность различных видов однонуклеотидных замен, ассоциированных с резистентностью *M. genitalium* к макролидам, в различных странах

| Страна | Год | Общая частота мутаций | Вид мутаций, распространенность | Способ детекции | Автор, ссылка |
|-----------------|-----------|----------------------------------|---|--|--------------------|
| Англия | 2011 | 9/22 (41%) | A2058G – 5/9 A2059G – 3/9 A2059C – 1/9 | Секвенирование | Pond M. [32] |
| Франция | 2011–2012 | 19/134 (14,2%) | A2059G – 11/19 A2058G – 8/19 | FRET PCR, секвенирование | Touati A. [27] |
| Нидерланды | 2012–2014 | 44/146 (30,1%) | A2058G – 16/44 A2059G – 14/44 A2058T – 12/44 A2058C – 1/44 A2062C – 1/44 | Секвенирование | Nijhuis R. [40] |
| Япония | 2011–2013 | 5/68 (7,7%) | A2058G – 4/5 A2059G – 1/5 | Секвенирование | Kikuchi M. [56] |
| Испания | 2013–2014 | 26/74 (35%) | A2059G – 15/26 A2058G – 11/26 | Секвенирование | Barbera M. [50] |
| Швеция | 2011–2015 | 87/469 (18,6%) 28/184 (15,2%) | A2059G – 52/115 A2058G – 46/115 A2059C – 13/115 A2058C – 3/115 A2058T – 1/115 | Секвенирование | Hadad R. [48] |
| Австралия | 2015 | 38/64 (63,1%) | A2058G/A2059G – 33/38 | ResistancePlusMG, FRET PCR, секвенирование | Tabrisi S. [28] |
| Бельгия | 2015–2016 | 2/31 (6,5%) | A2058G – 1/2 A2059G – 1/2 | NAAT | Coorevits S. [53] |
| Новая Зеландия | 2010–2016 | 89/115 (77,4%) | A2059G – 64/89 A2058G – 20/89 A2059C – 2/89 A2058C – 2/89 A2058T – 1/89 | FRET PCR, секвенирование | Anderson T. [52] |
| Россия | 2009–2015 | 33/719 (4,6%) | A2059G – 20/33 A2058G – 10/33 A2058C – 1/33 A2058T – 1/33 A2062G – 1/33 | Секвенирование | Shipitsyna E. [35] |
| Эстония | 2014–2016 | 11/110 (10%) | A2059G – 7/11 A2058G – 3/11 C2055G – 1/11 | Секвенирование | Shipitsyna E. [35] |
| Сингапур | 2016 | 4/16 (25%) | A2058T – 2/4 A2058G – 1/4 A2059G – 1/4 | Секвенирование | Bakham T. [57] |
| Западная Канада | 2016 | 30/52 (56,5%) | A2059G – 15/30 A2058G – 12/30 A2058T – 3/30 | Секвенирование | Gratrix J. [49] |
| Дания | 2016–2017 | 43/76 (56,6%) | A2059G – 23/76 A2058G – 20/76 | Секвенирование | Unemo M. [54] |
| Норвегия | 2016–2017 | 57/101 (56,4%) | A2059G – 34/57 A2058G – 20/57 A2058T – 2/57 A2059C – 1/57 | Секвенирование | Unemo M. [54] |

ления, величина которой специфична для каждого вида мутации [41].

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 – Mge23sSeqF 3'-CGTCCCGCTTGAATGGTGTAAAC-5' и Mge23sSeqR

3'-GCGCTACAACCTGGAGCATAAG-5' – с использованием наборов BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit и генетического анализатора Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzer (Life Technologies, США).

Статистический анализ

Все расчеты были проведены на свободно распространяемом языке программирования R. Сводные статистические данные включали: количество (n), а также среднее значение, стандартное отклонение (CO), медиану (Me), интерквартильный размах (первый и третий

Таблица 3. Демографические характеристики пациентов, включенных в исследование (n = 574)

| Город | Пол, n (%) | Возраст, лет | | | |
|----------|----------------|--------------|----------------------|-------|-------|
| | | Среднее ± СО | Ме (Q1; Q3) | Мин. | Макс. |
| Смоленск | Ж – 133 (55,6) | 27,42 ± 8,53 | 25,65 (21,42; 30,23) | 16,34 | 61,78 |
| | М – 106 (44,4) | 31,29 ± 8,01 | 30 (25,9; 35,13) | 17,57 | 58,00 |
| Тула | Ж – 272 (81,2) | 26,29 ± 5,13 | 26,36 (22,38; 29,44) | 15,85 | 56,71 |
| | М – 63 (18,8) | 28,15 ± 5,4 | 27,53 (24,24; 32,27) | 18,55 | 41,55 |

СО – стандартное отклонение; Ме (Q1; Q3) – медиана (квартиль 1, квартал 3)

квартили), минимальное и максимальное значение для непрерывных переменных, абсолютную (N) и относительную (%) частоты для категориальных переменных.

Результаты

Всего было исследовано 574 клинических образца (239 из Смоленской и 335 из Тульской области). Наибольшую долю составили образцы, полученные от женщин: 133/239 (55,6%) – Смоленск, 272/335 (81,2%) – Тула. Соскобы из уретры у мужчин составили 106/239 (44,4%) в Смоленске и 63/335 (18,8%) – в Туле (Таблица 3). ДНК *Chlamydia trachomatis* была выявлена в 64/574 (11,1%) образцах: 18/239 (7,5%) – в Смоленске и 46/335 (13,7%) – в Туле. В случае сочетания микоплазменной и хламидийной инфекции макролиды (азитромицин, джозамицин) также являются препаратами выбора, что может способствовать селекции устойчивых к макролидам штаммов *M. genitalium*, поскольку, в отличие от *C. trachomatis*, у *M. genitalium* быстро развивается устойчивость к АБП.

Результаты исследования показали, что частота выявления мутаций, ассоциированных с устойчивостью к макролидам у *M. genitalium*, составила 3,65% (21/574) (Рисунок 1).

В Смоленске определили 5,0% (12/239) образцов с наличием мутаций, среди образцов из Тулы этот показатель был в 2 раза ниже и составил 2,7% (9/335). Дальнейшее исследование характера мутаций позволило выделить 4 варианта нуклеотидных замен в гене 23S рРНК *M. genitalium* (Таблица 4).

В 5 (41,6%) образцах из Смоленска и 8 (88,8%) из Тулы обнаружена нуклеотидная замена в позиции А2058G гена 23S рРНК *M. genitalium*. Специфическую замену А2058Т

Таблица 4. Структура мутаций в гене 23S рРНК *M. genitalium*, ассоциированных с устойчивостью к макролидам, в Смоленске и Туле (n = 21)

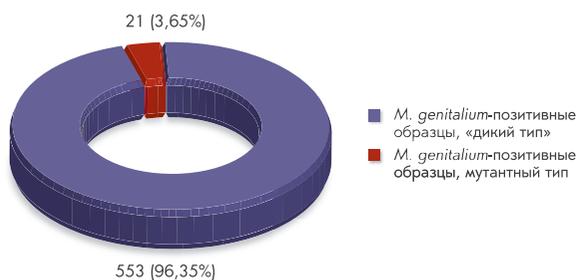
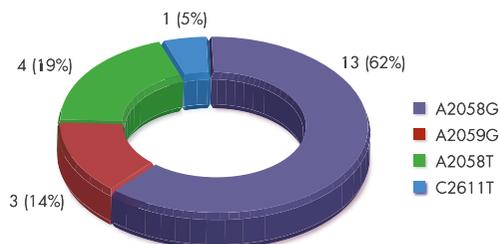
| Вариант мутации* | Смоленск, n | Тула, n |
|------------------|-------------|----------|
| A2058G | 5 | 8 |
| A2059G | 3 | 0 |
| A2058Т | 3 | 1 |
| C2611Т | 1 | 0 |
| Всего | 12 | 9 |

* Нуклеотидные последовательности в гене рРНК *M. genitalium* представлены согласно нумерации по *E. coli*.

содержали 3 (25%) образца из Смоленска и 1 (11,1%) образец из Тулы. В 3 (25%) образцах из Смоленска выявлен вариант мутации А2059G. Единственный клинический образец из Смоленска был представлен крайне редко встречающимся вариантом нуклеотидной замены С2611Т. Мутационный профиль, представленный вариантами А2058С и А2059С, в исследуемой выборке образцов обнаружен не был. Суммарные результаты исследования представлены на Рисунке 2.

Абсолютное количество изолятов с различными генетическими детерминантами устойчивости по годам представлены на карте AMRmap (Рисунок 3).

Анализ и визуализация пространственно-временного распространения выбранного генетического маркера устойчивости представлены для каждого вида мутации и позволяют отследить время первого обнаружения того или иного характера замены в данном географическом регионе, что является особо важным для эпидемиологической оценки уровня резистентности (Рисунок 4).

**Рисунок 1.** Распространенность мутаций устойчивости к макролидам у *M. genitalium* в Смоленске и Туле в 2013–2017 гг. (n = 574)**Рисунок 2.** Суммарные результаты определения генетических детерминант резистентности к макролидам у *M. genitalium* в Смоленске и Туле в 2013–2017 гг. (n = 21)

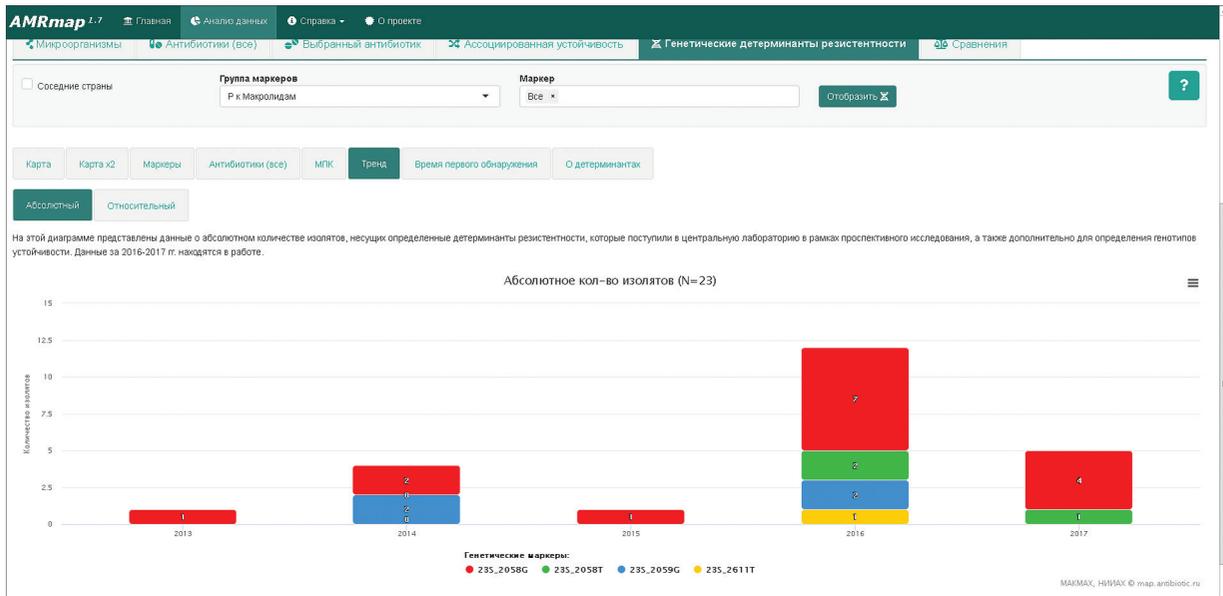


Рисунок 3. Распределение генетических детерминант устойчивости к макролидам у *M. genitalium*

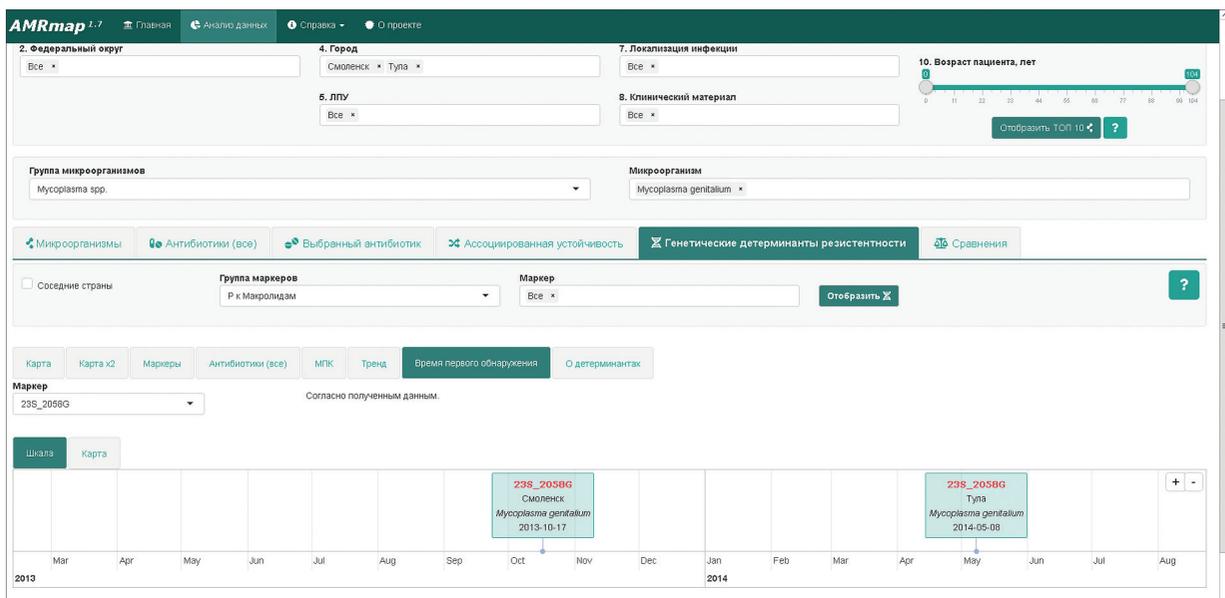


Рисунок 4. Время первого обнаружения генетических детерминант устойчивости к макролидам у *M. genitalium* в двух регионах России (интерактивная временная шкала)

Обсуждение

Согласно данным, представленным в Таблице 3, значимых различий по возрасту как среди пациентов из разных регионов (Смоленск и Тула), так и при анализе в рамках каждого региона не установлено. Средний возраст общей популяции включенных в исследование пациентов составил 28 лет. 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», в рамках которой все беременные женщины подлежат обязательному бесплатному скрининговому обследованию на наличие ДНК *M. genitalium* методом ПЦР-РВ [42].

Очевидно, что доля выявленных образцов, несущих мутации устойчивости к макролидам, в Смоленске выше, несмотря на общее преобладание образцов из Тулы в структуре клинического материала: Смоленск – 12/239 (5%), Тула – 9/335 (2,7%). Следует предположить, что

это связано с различием демографических характеристик обследуемых пациентов. Беременные женщины без симптомов поражения мочеполовой системы, а также с отсутствием АБТ по поводу заболеваний других органов и систем в течение длительного времени, минимизировали селекцию мутаций у *M. genitalium*. Дополнительным аргументом является тот факт, что микоплазменная инфекция часто встречается в популяциях высокого риска (пациенты, обращающиеся за помощью к врачу-дерматовенерологу), а выделенный микроорганизм уже может нести маркер резистентности к макролидам до назначения этой группы препаратов

Распространенность мутаций устойчивости *M. genitalium* к макролидным антибиотикам суммарно в двух регионах России не превышает 4% (3,65%), в то время как этот эпидемиологический показатель в зарубежных странах значительно выше: 56,5% – в Канаде, 65,6% – в Австралии, 63,6% – в Новой Зеландии, 47% – в Японии (Таблица 1). В странах Европы выявляется до 50% резистентных штаммов: в Швеции – до 18,6%, в Германии – 53%, во Франции – 14–17% [29–34, 40, 48–52].

Можно предположить, что полученный нами результат связан с особенностями диагностики и лечения ИППП в России и объясняется несколькими факторами. Во-первых, согласно отечественным клиническим рекомендациям, необходимо проводить этиологическую диагностику ИППП на облигатные патогены, в число которых обязательно входит *M. genitalium*, а также выбирать АБП с учетом выявленного возбудителя. Во-вторых, в России препаратом стартовой терапии для инфекций, вызванных этим возбудителем, является доксициклин, в то время как во многих зарубежных странах для эрадикации *M. genitalium* и *S. trachomatis* применяется азитромицин по расширенной схеме. Кроме того, отсутствие в ряде зарубежных стран алгоритма этиологической диагностики инфекций, вызванных *M. genitalium*, обуславливает применение стандартных схем АБТ без выяснения возбудителя, что нередко приводит к незавершенности лечебного процесса и необходимости изменения и усложнения тактики лечения. Вероятно, недостаточное количество доказательств того, что *M. genitalium* так же, как и *S. trachomatis*, способна длительно персистировать в мочеполовой системе, вызывать хронизацию воспалительного процесса и приводить к нарушению фертильности, уменьшает ее клиническую значимость [32, 40]. В июне 2016 г. экспертами ВОЗ была разработана глобальная стратегия сектора здравоохранения по ИППП 2016–2021 гг. «Global health sector strategy on Sexually Transmitted Infections, 2016–2021». В данном документе в качестве основных возбудителей ИППП определены такие облигатные патогены, как *Chlamydia trachomatis*, *Treponema pallidum* и *Neisseria gonorrhoeae*, однако *M. genitalium* не упоминается, и приоритетных направлений работы с этим инфекционным агентом не рассматривается [16]. В России существует строгий диагностический алгоритм выявления этиологии ИППП, который диктует определенные схемы терапии. Данные рекомендации соблюдают и в тех специализированных лечебных учреждениях, которые участвовали в настоящем исследовании, и причина невысокой частоты выявленных резистентных *M. genitalium* в Смоленске и Туле, веро-

ятно, связана с преимущественным назначением доксициклина как препарата первой линии терапии.

Полученные в ходе нашего исследования данные в целом согласуются с результатами аналогичных международных исследований. Наибольшую долю составила замена A2058G в гене 23S рРНК *M. genitalium* – 61,9% (13/21). Данный вид мутации регистрируется чаще всего и в России, и за рубежом (Таблица 2). В соответствии с вторичной структурой 23S рРНК у *M. genitalium* рядом с A-2058 располагаются A-2059 и C-2611; эти основания также могут определять способность данного участка домена связывать макролиды, при этом, имея единственный набор генов рРНК, микоплазмы эволюционно быстрее закрепляют точечные мутации, результатом которых является фенотипическая резистентность.

Метод секвенирования позволил подтвердить связь между наличием мутаций A2058G и A2059G 23S рРНК и клинической устойчивостью к 15- и 16-членным макролидам у микоплазм в исследованиях *in vitro* [22, 32]. Культивирование *M. genitalium* для определения минимальных подавляющих концентраций (МПК) не унифицировано и проводится в единичных референтных лабораториях, поэтому до сих пор нет международных руководств по интерпретации данных чувствительности этого патогена к различным АБП [43, 44]. Однако только с помощью культурального исследования *in vitro* подтверждена роль однонуклеотидных замен как генетической основы микробиологической устойчивости возбудителя к макролидам вследствие повышения МПК антибиотиков (азитромицина, кларитромицина, эритромицина) [29]. Так, в исследовании Fookes M. и соавт. указывается на четкую корреляцию значений МПК (>800 раз) азитромицина и эритромицина у референтных штаммов *M. genitalium*, характеризующихся «диким» фенотипом, и штаммов, несущих мутации в позициях A2059G и A2058G [55].

Вторая по частоте встречаемости мутация A2058T была обнаружена в 19% (4/21) случаев. Такой вид генетической детерминанты резистентности *M. genitalium* также описан в литературе и имеет взаимосвязь с неудачами в лечении пациентов, инфицированных данным штаммом [17].

Клинически значимый вариант мутации A2059G был выявлен в 3 (25%) образцах из Смоленска, в тульской выборке такой вид замены обнаружен не был. Также отмечено, что данный вариант однонуклеотидной замены ассоциирован с устойчивостью *M. genitalium* к джозамицину [15, 18].

Следует отметить, что из всей выборки изученных образцов из Смоленска нами была выявлена крайне редкая нуклеотидная замена C2611T в гене 23S рРНК *M. genitalium* (1/21), клиническое и микробиологическое значение которой определили только у *M. hominis* и родственной генитальным микоплазмам *M. pneumoniae* [46, 47].

В последнее время исследователи, изучающие распространение антибиотикорезистентных штаммов в разных странах, с помощью секвенирования выявляют мутацию A2062G в гене 23S рРНК *M. genitalium*, подтверждая ее влияние на формирование резистентности

к 16-членным макролидам [18]. В проведенном нами исследовании такого варианта нуклеотидной замены обнаружено не было.

Выводы

Распространенность мутаций, ассоциированных с устойчивостью *M. genitalium* к макролидам, в Смоленске и Туле за период 2013–2017 гг. составила 3,65%. Самым распространенным вариантом мутации является A2058G в гене 23S рНК: 5/12 (41,6%) – Смоленск, 8/9 (88,8%) – Тула. Нуклеотидная замена A2059G обнаружена в 3 образцах (25%) из Смоленска. Выявлены редко встречающиеся виды нуклеотидных замен:

A2058T и C2611T. Все обнаруженные варианты мутаций являются клинически значимыми. Резистентность *M. genitalium* к макролидам представляет собой актуальную проблему, требующую активного внедрения молекулярных методов на основе ПЦР, которые являются высокоэффективными, быстрыми и незаменимыми для своевременной постановки диагноза. Выбор оптимального режима АБТ следует осуществлять с учетом профиля антибиотикорезистентности возбудителя. Данные, размещенные на карте AMRmap, дают возможность получения актуальной информации по различным регионам для оценки эпидемиологической ситуации с распространением маркеров резистентности *M. genitalium* к макролидам.

Литература

1. Taylor-Robinson D., Jensen J.S. *Mycoplasma genitalium*: from Chrysalis to multicolored butterfly. Clin Microbiol Rev. 2011;24(3):498-514. DOI: 10.1128/CMR.00006-11
2. Manhart L.E., Critchlow C.W., Holmes K.K., Dutro S.M., Eschenbach D.A., Stevens C.E., et al. Mucopurulent cervicitis and *Mycoplasma genitalium*. J Infect Dis. 2004;190(4):866. DOI: 10.1086/367992
3. Gushchin A.E., Kisina V.I., Khayrullina G.A. The modern view of the diagnosis and treatment of sexually transmitted mono- and mixed infections. Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya. 2015;14(3):85-93. Russian. (Гущин А.Е., Кисина В.И., Хайруллина Г.А. Современный взгляд на проблемы диагностики и лечения моно- и микстинфекций, передаваемых половым путём. Клиническая дерматология и венерология. 2015;14(3):85-93.) DOI: 10.17116/klinderma201514385-93
4. Sonnenberg P., Ison C.A., Clifton S., Field N., Tanton C., Soldan K., et al. Epidemiology of *Mycoplasma genitalium* in British men and women aged 16–44 years: evidence from the third National Survey of Sexual Attitudes and Lifestyles (Natsal-3). Int J Epidemiol. 2015;44(6):1982-1994. DOI: 10.1093/ije/dyv194
5. Russian society of dermatovenerologists and cosmetologists. Federal clinical recommendations. Dermatovenerology 2015: Diseases of the skin. Sexually transmitted infections. Moscow: Delovoy ekspress. 2016;721-729. Russian. (Российское общество дерматовенерологов и косметологов. Федеральные клинические рекомендации. Дерматовенерология 2015: Болезни кожи. Инфекции, передаваемые половым путем. 5-е изд., перераб. и доп. М.: Деловой экспресс. 2016;721-729.)
6. Jensen J.S., Cusini M., Gomberg M., Moi H. 2016 European guideline on *Mycoplasma genitalium* infections. J Eur Acad Dermatol Venerol. 2016;30(10):1650-1656. DOI: 10.1111/jdv.13849
7. Unemo M., Ison C., Lewis D. World Health Organization Laboratory diagnosis of sexually transmitted infections, including human immunodeficiency virus. 2013. Chapter 3: 15-19. ISBN 978 92 4 150584 0
8. Horner P., Blee K., Falk L., van der Meijden W., Moi H. 2016 European guideline on the management of non-gonococcal urethritis. Int J STD AIDS. 2016;27(11):928-937. DOI: 10.1177/0956462416648585
9. Horner P., Blee K., Adams E. Time to manage *Mycoplasma genitalium* as an STI but not with azithromycin 1 gram! Curr Opin Infect Dis. 2014;27(1):68-74. DOI: 10.1097/qco.0000000000000030
10. Horner P., Ingle S., Blee K., Muir P., Moi H. Treatment of *Mycoplasma genitalium* with azithromycin 1 g is less efficacious and associated with induction of macrolide resistance compared to a 5 day regimen. Sex Transm Infect. 2015;91(Suppl. 1):A10.1-A10. DOI: 10.1136/sextrans-2015-052126.28
11. Horner P., Blee K., O'Mahony C., Muir P., Radcliffe K. and on behalf of the Clinical Effectiveness Group of the British Association for Sexual Health and HIV. 2015 UK National Guideline on the management of non-gonococcal urethritis. Int J STD AIDS. 2016;27(2):85-96. DOI: 10.1177/0956462415586675
12. Workowski K. Centers for Disease Control and Prevention Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines. Clin Infect Dis. 2015;61(Suppl. 8):759-762. DOI: 10.1093/cid/civ771
13. Golden M., Workowski K., Bolan G. Developing a Public Health Response to *Mycoplasma genitalium*. J Infect Dis. 2017;216(Suppl. 2):420-426. DOI: 10.1093/infdis/jix200
14. Martin D., Manhart L., Workowski K. *Mycoplasma genitalium* From Basic Science to Public Health: Summary of the Results From a National Institute of Allergy and Infectious Diseases Technical Consultation and Consensus Recommendations for Future Research Priorities. J Infect Dis. 2017;216(Suppl. 2):427-430. DOI: 10.1093/infdis/jix147
15. Hamasuna R. *Mycoplasma genitalium* in male urethritis: diagnosis and treatment in Japan. Int J Urol. 2013;20(7):676-684. DOI: 10.1111/iju.12152
16. Global health sector strategy on Sexually Transmitted Infections 2016-2021. July, 2016. WHO reference number: WHO/RHR/16.09. Available at: www.who.int/reproductivehealth/publications/rtis/ghss-stis/ru/-34k.
17. 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
18. Gushchin 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;3:15-40. DOI: 10.1186/s12879-015-0781-7
19. Zubareva L.M., Edelstein I.A., Romanov A.V., Evstafev 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
20. Kisina V.I., Zhukova O.V., Romanova I.V., Khairullina G.A., Gushchin A. Characteristics of *M. genitalium* -infection caused by mutant strains of the pathogen. Proceedings of the IX all-Russian scientific-practical conference with international participation. Moscow 2017. Volume 1. Page 378. Russian. (Кисина В.И., Жукова О.В., Романова И.В., Хайруллина Г.А., Гушин А.Е. Характеристика *M. genitalium* – инфекции, обусловленной мутантными штаммами возбудителя. Сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Москва 2017 г., Том 1, 378 с.)
 21. Braam J.F., van Dommelen L., Henquet C.J.M., van de Bovenkamp J.H., Kusters J. Multidrug-resistant *Mycoplasma genitalium* infections in Europe. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2017;36:1565-1567. DOI 10.1007/s10096-017-2969-9
 22. Jensen J., Bradshaw C., Tarbizi S., Fairley C., Hamasuna R. Azythromycin treatment failure in *Mycoplasma genitalium*-positive patients with non-gonococcal urethritis in associated with induced macrolide resistance. Clin Infect Dis. 2008;47:1546-1553. DOI: 10.1086/593188
 23. Liu Y., Ye X., Zhang H., Wu Z., Xu X. Rapid detection of *Mycoplasma pneumoniae* and its macrolide resistance mutation by Cycleave PCR. Diagn Microbiol Infect Dis. 2014;78(4):333-337. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2013.12.002
 24. Wold C., Sorthe J., Hartgill U., Moghaddam A., Reinton N. Identification of macrolide-resistant *Mycoplasma genitalium* using real-time PCR. J Eur Acad Dermatol Venerol. 2015;29:1616-1620. DOI: 10.1111/jdv.12963
 25. Jensen J.S. Protocol for the detection of *Mycoplasma genitalium* by PCR from clinical specimens and subsequent detection of macrolide resistance-mediating mutations in region V of the 23S rRNA gene. Methods Mol Biol. 2012;903:129-139. DOI: 10.1007/978-1-61779-937-2_8
 26. Twin J., Jensen J.S., Bradshaw C.S., Garland S.M., Fairley C.K., Min L.Y., et al. Transmission and selection of macrolide resistant *Mycoplasma genitalium* infections detected by rapid high resolution melt analysis. PLoS One. 2012;7(4):e35593. DOI: 10.1371/journal.pone.0035593
 27. Touati A., Peuchant O., Jensen J.S., Bébéar C., Pereyre S. Direct detection of macrolide resistance in *Mycoplasma genitalium* isolates from clinical specimens from France by use of real-time PCR and melting curve analysis. J Clin Microbiol. 2014;52(5):1549-1555. DOI: 10.1128/jcm.03318-13
 28. Tabrizi S.N., Tan L.Y., Walker S., Twin J., Poljak M., Bradshaw C.S., et al. Multiplex assay for simultaneous detection of *Mycoplasma genitalium* and macrolide resistance using PlexPrime technology. PLoS One. 2016;11(6):p.e0156740. DOI: 10.1371/journal.pone.0156740
 29. Hay B., Dubbink J., Ouburg S., Le Roy C. Prevalence and macrolide resistance of *Mycoplasma genitalium* in South African women. Sex Transm Dis. 2015;42(3):140-142. DOI: 10.1097/olq.0000000000000246
 30. Le Roy C., Hénin N., Pereyre S., Bebear C. Fluoroquinolone-Resistant *Mycoplasma genitalium*, Southwestern France. Emerg Infect Dis. 2016;22(9):1677-1679. DOI: 10.3201/eid2209.160446
 31. Trembizki E., Buckley C., Bletchly C., Nimmo G. High levels of macrolide-resistant *Mycoplasma genitalium* in Queensland, Australia. J Med Microbiol. 2017;66:1451-1453. DOI: 10.1099/jmm.0.000584
 32. Pond M.J., Nori A.V., Witney A.A., Lopeman R.C., Butcher P.D., Sadiq S.T. High prevalence of antibiotic-resistant *Mycoplasma genitalium* in nongonococcal urethritis: the need for routine testing and the inadequacy of current treatment options. Clin Infect Dis. 2014;58:631-637. DOI: 10.1093/cid/cit752
 33. Getman D., Jiang A., O'Donnell M., Cohen S. *Mycoplasma genitalium* prevalence, coinfection, and macrolide antibiotic resistance frequency in a multicenter clinical study cohort in the United States. J Clin Microbiol. 2016;54:2278-2283. DOI: 10.1128/jcm.01053-16
 34. Deguchi T., Yasuda M., Horie K., Seike K., Kikuchi M., Mizutani K., et al. Drug resistance-associated mutations in *Mycoplasma genitalium* in female sex workers, Japan. Emerg Infect Dis. 2015;21:1062-1064. DOI: 10.3201/eid2106.142013
 35. Shipitsyna E., Romyantseva T., Golpar D., Khayrullina G., Lagos A.C., Edelstein I.A., 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
 36. Khayrullina G.A., Makhova T.I., Gushchin A.E. To study the prevalence of macrolide-resistant *Mycoplasma genitalium* strains in Moscow. Proceedings of the IX all-Russian scientific-practical conference with international participation. Moscow 2017. Volume 1, P. 357. Russian. (Хайруллина Г. А., Махова Т.И., Гушин А.Е. Изучение распространённости штаммов *Mycoplasma genitalium*, устойчивых к макролидам, в Москве. Сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Москва 2017 г., Том 1, 357 с.)
 37. Zubareva L.M., Kovnereva N.A., Edelshtein I.A., Evstafev V.V., Kozlov R.S. Prevalence of *Mycoplasma genitalium* strains resistant to macrolide preparations among patients with nongonococcal forms of sexually transmitted infections in Smolensk and Smolensk region. Laboratornaia sluzhba. 2017;3(6):96. Russian. (Зубарева Л.М., Ковнерёва Н.А., Эйдельштейн И.А., Евстафьев В.В., Козлов Р.С. Распространение штаммов *Mycoplasma genitalium*, устойчивых к препаратам группы макролидов, среди пациентов с негонококковыми формами инфекций, передаваемых половым путём, в Смоленске и Смоленской области. Лабораторная служба. 2017;3(6):96.)
 38. Kuzmenkov A.Yu., Trushin I.V., Avramenko A.A., Edelstein M.V., Dekhnich A.V., Kozlov R.S. AMRmap: an online platform for monitoring antibiotic resistance. Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija. 2017;19(2):84-90. Russian. (Кузьменков А.Ю., Трушин А.В., Авраменко А.А., Эйдельштейн М.В., Дехнич А.В., Козлов Р.С. AMRmap: интернет-платформа антибиотикорезистентности. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2017;19(2):84-90.)
 39. Edelshtein I.A., Edelshtein 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. Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija. 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.)
 40. Nijhuis R., Severs T., Van der Vegt D., Van Zwet A., Kusters J. High levels of macrolide resistance-associated mutations in *Mycoplasma genitalium* warrant antibiotic susceptibility-guided treatment. J Antimicrob Chemother. 2015;70(9):2515-2518. DOI: 10.1093/jac/dkv136
 41. Edelstein I.A., Romanov A.V., Edelstein M.V. Development and

- application of real-time PCR assay for detection of mutations associated with macrolide resistance in *Mycoplasma genitalium* directly in clinical specimens. Proceedings of the 26th European Congress of Clinical Microbiology and Infection Diseases (ECCMID). Amsterdam, Netherlands; 9-12 April 2016. Abstr. EP0235.
42. 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 путём в рамках региональной программы Тульской области. Вестник новых медицинских технологий. 2015;22(4):104-111.)
 43. Mondeja B., Rodriguez N., Barroto B., Blanco O., Jensen J.S. Antimicrobial susceptibility patterns of recent Cuban *Mycoplasma genitalium* isolates determined by a modified cell culture-based method. PLoS One. 2016;11(9):e0162924. DOI: 10.1371/journal.pone.0162924
 44. The Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). M43A. Methods of antimicrobial susceptibility testing for human Mycoplasmas; 1st Edition. Available at www.clsi.org.
 45. Lanjouw E., Ossewaarde J., Stary A., Boag F., van der Meijden W.I. European guideline for the management of *Chlamydia trachomatis* infections. Int J STD AIDS. 2010;21:729-737. DOI: 10.1258/ijsa.2010.010302
 46. Matsuoka M., Narita M., Okazaki N., Ohya H., Yamazaki T., Ouchi K., et al. Characterization and molecular analysis of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* clinical isolates obtained in Japan. Antimicrob Agents Chemother. 2004;48(12):4624-4630. DOI: 10.1128/AAC.48.12.4624-4630.2004
 47. 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
 48. 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
 49. Gratrix J., Plitt S., Turnbull L., Smyczek P., Brandley J., Scarrott R., et al. Prevalence and antibiotic resistance of *Mycoplasma genitalium* among STI clinic attendees in Western Canada: a cross sectional analysis. BMJ Open. 2017;7(7):e016300. DOI: 10.1136/bmjopen-2017-016300
 50. Barbera M., Fernandez-Huerta M., Jensen J.S., Caballero E., Andreu A. *Mycoplasma genitalium* macrolide and fluoroquinolone resistance: prevalence and risk factors among 2013-2014 cohort of patients in Barcelona, Spain. Sex Transm Dis. 2017;44(8):457-462. DOI: 10.1097/olq.0000000000000631
 51. Dumke R., Thurmer A., Jacobs E. Emergence of *Mycoplasma genitalium* strains showing mutations associated with macrolide and fluoroquinolone resistance in the region Dresden, Germany. Diagn Microbiol Infect Dis. 2016;86(2):221-223. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2016.07.005
 52. Anderson T., Coughlan E., Wernoa A. *Mycoplasma genitalium* macrolide and fluoroquinolone Resistance Detection and Clinical Implications in a Selected Cohort in New Zealand. J Clin Microbiol. 2017;55:3242-3248. DOI: 10.1128/jcm.01087-17
 53. Coorevits L., Traen A., Binge L., Descheemaeker P., Boelens J., Reynders M., et al. Macrolide resistance in *Mycoplasma genitalium* from female sex workers in Belgium. J Glob Antimicrob Resist. 2018;12:149-152. DOI: 10.1016/j.jgar.2017.09.018
 54. Unemo M., Salado-Rasmussen K., Hansen M., Olsen A., Falk M., Golparian D., et al. Clinical and analytical evaluation of the new Aptima *Mycoplasma genitalium* assay, this data on *M. genitalium* prevalence and antimicrobial resistance in *M. genitalium* of Denmark, Norway and Sweden in 2016. J Clin Microbiol Infect. 2018;24(5):533-539. DOI: 10.1016/j.cmi.2017.09.006
 55. Fookes M., Hadfield J., Harris S., Parmar S., Unemo M., Jensen J., et al. *Mycoplasma genitalium*: whole genome sequence analysis, recombination and population structure. BMC Genomics. 2017;18:993. DOI: 10.1186/s12864-017-4399-6
 56. Kikuchi M., Ito S., Yasuda M., Tsuchiya T., Hatazaki K., Takanashi M., et al. Remarkable increase in fluoroquinolone-resistant *Mycoplasma genitalium* in Japan. J Antimicrob Chemother. 2014;69:2376-2382. DOI: 10.1093/jac/dku164
 57. Barkham T., Tang W., Mansoor S., Tze-Wei Chio M. Macrolide Resistance in *Mycoplasma genitalium* in Singapore. Open Forum Infect Dis. 2017;4(Suppl. 1):104. DOI: 10.1093/ofid/ofx163.093