



<https://doi.org/10.34883/PI.2025.14.1.003>



Маджарова О.А.¹✉, Эйдельштейн И.А.², Абельская И.С.¹, Карпов И.А.³, Сухобокова Н.Н.⁴, Лапука М.О.⁵, Чернякова Н.И.⁶, Романов А.В.², Козлов Р.С.²

¹ Республиканский клинический медицинский центр Управления делами Президента Республики Беларусь, Минск, Беларусь

² Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии Смоленского государственного медицинского университета, Смоленск, Россия

³ Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

⁴ Минский городской клинический центр дерматовенерологии, Минск, Беларусь

⁵ Брестский областной кожно-венерологический диспансер, Брест, Беларусь

⁶ Витебский областной клинический центр дерматовенерологии и косметологии, Витебск, Беларусь

Выявление генетических маркеров устойчивости к макролидам в клинических изолятах *Mycoplasma genitalium* в Республике Беларусь за период с марта 2022 по март 2024 года

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования, редактирование, сбор материала, обработка, написание текста – Маджарова О.А.; концепция и дизайн исследования, редактирование, обработка данных – Эйдельштейн И.А.; анализ материала – Романов А.В.; концепция и организация проекта – Козлов Р.С., Абельская И.С., Карпов И.А.; сбор материала – Сухобокова Н.Н., Лапука М.О., Чернякова Н.И.

Подана: 17.10.2024

Принята: 04.02.2025

Контакты: o.madzharova@mail.ru

Резюме

Цель. Изучить распространенность и спектр маркеров резистентности к макролидам в изолятах *Mycoplasma genitalium*, выделенных от пациентов из областных центров Республики Беларусь, обратившихся за медицинской помощью в лечебно-профилактические учреждения за период с марта 2022 по март 2024 года.

Материалы и методы. 322 образца ДНК *Mycoplasma genitalium* из трех областных центров (Брест, Витебск, Минск) Республики Беларусь исследовали на наличие маркеров резистентности к макролидам с помощью разработанной технологии полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, которая позволяет выявлять любые нуклеотидные замены в гене 23S рРНК *M. genitalium* в позициях 2058, 2059, 2611 (согласно нумерации *E. coli*). Для подтверждения характера нуклеотидных замен все образцы, несущие мутации, были дополнительно исследованы методом секвенирования по Сэнгеру.

Результаты. За период с марта 2022 по март 2024 года по Республике Беларусь частота распространения мутаций резистентности к макролидам у *M. genitalium* составила 15,22% (49/322). Мутационный профиль представлен 2 вариантами нуклеотидных замен V домена 23S рРНК *M. genitalium*: позиция A2059G – 10,25% (33/322) и A2058G – 4,97% (16/322). Распространенность макролидорезистентности и мутационный профиль у *M. genitalium* по областным городам Беларуси составили:

Минск – 20,6% (41/199) с мутациями в позициях A2059G – 14,57% (29/199) и A2058G – 6% (12/199); Брест – 5% (5/90) с мутациями в позициях A2059G – 4% (4/90) и A2058G – 1% (1/90); Витебск – 9% (3/33) с мутациями в позициях A2058G – 6% (2/33) и A2059G – 3% (1/33). Количество выявленных мутаций в позиции A2059G преобладает над A2058G в два раза. Такое количественное соотношение между выявленными генетическими детерминантами макролидорезистентности (A2059G и A2058G) характерно как для отдельных областных центров, так и для республики в целом. Распространенность маркеров резистентности к макролидам у *M. genitalium* в различных гендерных группах составила: в женской популяции – 15,56% (35/225), в мужской популяции – 14,43% (14/97). Различий в мутационном спектре у *M. genitalium*, выделенной от женщин и мужчин, не выявлено. В обеих группах преобладает один и тот же вариант в позиции A2059G. Результаты депонированы и импортированы на онлайн-платформу для анализа и обмена данными антибиотикорезистентности AMRcloud (<https://amrcloud.net/ru/project/demares/>).

Заключение. Полученные в рамках выполнения в России многоцентрового проекта DeMaRes (Detection of Macrolide Resistance – *Mycoplasma genitalium*) данные являются первыми результатами, демонстрирующими актуальность проблемы антибиотикорезистентности у *M. genitalium* для Республики Беларусь. Обнаруженные мутации подчеркивают необходимость внедрения методов молекулярной диагностики (ПЦР) в практику рутинного тестирования всех *M. genitalium*-положительных образцов на наличие мутаций устойчивости к макролидам.

Ключевые слова: *Mycoplasma genitalium*, макролиды, резистентность, антибактериальные препараты, мутации, 23S рРНК



Majarova O.¹✉, Eidelstein I.², Abelskaya I.¹, Karpov I.³, Sukhobokova N.⁴, Lapuka M.⁵, Chernyakova N.⁶, Romanov A.², Kozlov R.²

¹ Republican Clinical Medical Center of the Administration of the President of the Republic of Belarus, Minsk, Belarus

² Institute of Antimicrobial Chemotherapy of the Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia

³ Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

⁴ Minsk City Clinical Center of Dermatovenerology, Minsk, Belarus

⁵ Brest Regional Skin and Venereological Dispensary, Brest, Belarus

⁶ Vitebsk Regional Clinical Center of Dermatovenerology and Cosmetology, Vitebsk, Belarus

Identification of Genetic Markers of Resistance to Macrolides in Mycoplasma Genitalium Clinical Isolates in the Republic of Belarus for the Period from March 2022 to March 2024

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: study concept and design, editing, material collection, processing, text writing – Majarova O.; study concept and design, editing, processing – Eidelstein I.; material analysis – Romanov A.; project concept and administration – Kozlov R., Abelskaya I., Karpov I.; material collection – Sukhobokova N., Lapuka M., Chernyakova N.

Submitted: 17.10.2024

Accepted: 04.02.2025

Contacts: o.madzharova@mail.ru

Abstract

Purpose. To study the prevalence and spectrum of macrolide resistance markers in Mycoplasma genitalium isolated from patients of three regional centers (Brest, Vitebsk, and Minsk) of the Republic of Belarus who sought medical care in medical institutions for the period from March 2022 to March 2024.

Materials and methods. A total of 322 DNA samples of Mycoplasma genitalium from three regional centers (Brest, Vitebsk, Minsk) of the Republic of Belarus were tested for the presence of macrolide resistance markers using an elaborated real-time polymerase chain reaction technique allowing to detect any nucleotide substitutions in 23S pPHK gene of M. genitalium at positions 2058, 2059, and 2611 (according to numbering by E. coli). To confirm the nature of the nucleotide substitutions, all M. genitalium DNA samples carrying mutations were further tested by Sanger sequencing.

Results. For the period from March 2022 to March 2024 in the Republic of Belarus the frequency of distribution of macrolide resistance mutations in M. genitalium was 15.22% (49/322). The mutation profile is represented by 2 variants of nucleotide substitutions of the V domain of 23S rRNA of M. genitalium: position A2059G 10.25% (33/322) and position A2058G 4.97% (16/322). The prevalence of macrolide resistance and mutational profile in M. genitalium in regional centers of Belarus were as follows: in Minsk 20.6% (41/199) with mutations in two positions, A2059G 14.57% (29/199) and A2058G 6% (12/199), in Brest 5% (5/90) with mutations in positions A2059G 4% (4/90) and A2058G 1% (1/90), and in Vitebsk 9% (3/33) with mutations in two positions, A2058G 6% (2/33)

and A2059G 3% (1/33). The number of detected mutations in position A2059G is twofold more frequent than in A2058G. Such a quantitative ratio between the identified genetic determinants of macrolide resistance (A2059G and A2058G) is typical both for particular regional centers and for the Republic as a whole. The prevalence of macrolide resistance markers in *M. genitalium* in gender groups was as follow: 15.56% (35/225) in the female population, and 14.43% (14/97) in the male population. No differences in the mutation spectrum were found in *M. genitalium* isolated from women and men. The same variant in position A2059G prevails in both groups. The results were deposited and imported to the online platform for analysis and exchange of antibiotic resistance data AMRcloud (<https://amrcloud.net/ru/project/demares/>).

Conclusion. The data obtained within the framework of the multicenter project DeMaRes (Detection of Macrolide Resistance – *Mycoplasma genitalium*) in Russia are the first results demonstrating the relevance of *M. genitalium* antibiotic resistance issue for the Republic of Belarus. The detected mutations emphasize the need for implementing molecular diagnostic methods (PCR) into routine testing of all *M. genitalium*-positive samples for the presence of macrolide resistance mutations.

Keywords: *Mycoplasma genitalium*, macrolides, resistance, antibacterial drugs, mutations, 23S rRNA

■ ВВЕДЕНИЕ

Mycoplasma genitalium (MG) относится к облигатным патогенам, вызывающим инфекции, передаваемые половым путем (ИППП) [1]. Данный возбудитель выступает в роли этиологического фактора ряда таких заболеваний, как уретрит у лиц обоего пола, цервицит и воспалительные заболевания органов малого таза у женщин [2–5]. Частота выявления MG у пациентов с воспалительными заболеваниями мочеполовой системы составляет, по данным различных исследователей, от 10% до 45% [6–9]. *M. genitalium* обнаруживают у 15–20% пациентов с негонококковыми уретритами [6], у 20–25% пациентов с негонококковыми нехламидийными уретритами [3] и у 10–30% женщин с воспалительными заболеваниями органов малого таза [7–9].

Mycoplasma genitalium является одной из самых небольших по размерам бактерий с размером генома 580 kb [10]. Небольшой размер генома не позволяет в полной мере реализовать все процессы биосинтеза в клетке микроорганизма, что в свою очередь делает непригодным применение стандартных бактериологических методов диагностики в рутинной клинической практике профильных лабораторий. Таким образом, особенности биологии *M. genitalium* напрямую влияют на этиологическую диагностику данного возбудителя. Применение методов амплификации нуклеиновых кислот (МАНК), в частности метода полимеразной цепной реакции (ПЦР), привнесло значительный вклад в диагностический процесс выявления MG. К настоящему времени, согласно Европейскому руководству по ведению инфекций, вызванных *M. genitalium* (2021 г.), метод амплификации нуклеиновых кислот рекомендован как единственно эффективный метод диагностики, позволяющий идентифицировать специфическую нуклеиновую кислоту (ДНК) *M. genitalium* в клинических образцах [11–13].



В Республике Беларусь рутинная этиологическая диагностика *M. genitalium* основывается на применении ПЦР-метода, который включен в диагностические алгоритмы клинических протоколов Министерства здравоохранения Республики Беларусь, затрагивающих сферу лечения пациентов с ИППП [14], а также акушерства, гинекологии и урологических заболеваний [15, 16].

Поскольку *M. genitalium* является облигатным патогеном, вызывающим развитие патологических процессов органов мочеполовой системы, то обнаружение данного микроорганизма является прямым показанием для назначения этиотропной терапии [17]. Корректно назначенная терапия пациенту с инфекцией *M. genitalium* способствует не только клиническому выздоровлению, но и достижению элиминации возбудителя. Тем самым удается предотвратить развитие возможных осложнений при данной инфекции, а также нивелировать механизм ее распространения потенциальным половым партнерам. Как уже упоминалось, диагностика и терапия *M. genitalium* обусловлены биологией развития данного микроорганизма. В частности, отсутствие пептидогликановой клеточной стенки значительно сужает спектр применимых антибактериальных препаратов до трех групп: тетрациклины, макролиды и фторхинолоны [17].

В Европейском руководстве по ведению инфекций, вызванных *M. genitalium* (2021 г.), предпочтение отдается группе макролидов (азитромицин либо джозамицин) как препаратам первой линии терапии. Причиной этому послужили высокий уровень излечения (85–95%) при применении азитромицина, а также низкая эффективность (30–40%) доксициклина при использовании его в монотерапии [11]. В Республике Беларусь для лечения неосложненных форм урогенитальных заболеваний, вызванных *M. genitalium*, врачам-специалистам в качестве основной методики предлагается на выбор: доксициклин 100 мг 2 раза в сутки (первый прием – 200 мг) 7–10 суток или азитромицин 1,0 г однократно, затем по 500 мг 1 раз в сутки в течение 5–7 суток [14].

В последнее время в научных публикациях зарубежных авторов отмечен устойчивый рост уровня резистентности у *M. genitalium* к препаратам группы макролидов [18–20]. В статьях (Braam et al., 2017, Couldwell et al., 2013) описаны клинические случаи неэффективной терапии инфекции *M. genitalium* макролидами [21–23]. Авторы связывают данные наблюдения с первоначальным инфицированием пациентов штаммами MG, у которых в 23S рРНК уже есть мутации, а также с формированием в процессе терапии мутаций у *M. genitalium* с изначально диким фенотипом [24, 25].

К настоящему времени установлена генетическая природа механизмов антибиотикорезистентности к макролидам. Механизм действия направлен на ингибирование синтеза белка путем связывания с 50S-субъединицей бактериальной рибосомы (Parnham et al., 2014) и основывается на образовании нуклеотидных замен в V домене 23S рРНК пептидилтрансферазной петли. Возникшие мутации приводят к изменению сайта связывания макролидов с рибосомой в V-области, что способствует развитию устойчивости (Bissessor et al., 2015) и отсутствию терапевтического эффекта от лечения макролидами (Jensen et al., 2022). Наиболее распространенными позициями в локусе V домена 23S рРНК с подтвержденными клиническими случаями неудачной терапии являются: A2058, A2059, C2038 и A2062 (нумерация по *E. coli*) (Lau A. et al., 2015). Изучение нуклеотидной последовательности в данном регионе генома возбудителя позволяет выявлять штаммы MG, устойчивые к препаратам группы макролидов [21–25].

Актуальная информация, посвященная проблематике формирования и распространения мутантных штаммов *M. genitalium*, подытожена и представлена в Глобальном систематическом обзоре с метаанализом (Machalek D.A. et al., 2020). Аудит 59 исследований из 21 страны позволил установить суммарную распространенность мутаций, связанных с устойчивостью к макролидам, среди образцов *M. genitalium* – 35,5% (95% ДИ 28,8–42,5). В своем обзоре специалисты отмечают рост распространенности макролидрезистентных штаммов *M. genitalium* с 10,0% (95% ДИ 2,6–20,1%) (до 2010 г.) до 51,4% (40,3–62,4%) в 2016–2017 гг. ($p < 0,0001$) соответственно [26]. Сравнительный анализ межрегионального уровня резистентности к макролидам обозначил территории западной части Тихого океана и Америки как регионы ВОЗ (Всемирная организация здравоохранения) с более высоким показателем распространенности макролидорезистентности [26].

Важно отметить, что в 2024 году ВОЗ обновила список лекарственно-устойчивых бактерий, представляющих наибольшую угрозу для здоровья человека, *M. genitalium* не вошла в этот перечень [27]. В силу того, что в некоторых частях мира сложилась напряженная эпидемиологическая обстановка по уровню устойчивости к антибиотикам у *Mycoplasma genitalium*, эксперты ВОЗ на примере данного возбудителя рекомендуют адаптировать список лекарственно-устойчивых бактерий, исходя из эпидемиологических особенностей в стране и регионе. В дополнение к вышесказанному в рамках глобальной стратегии сектора здравоохранения по инфекциям, передаваемым половым путем, 2022–2030 гг. *M. genitalium* присвоен статус возбудителя с потенциальной устойчивостью к противомикробным препаратам [20]. Специалисты ВОЗ делают упор на необходимость усиления и расширения эпидемиологического надзора и мониторинга неудач в терапии, а также создании региональных сетей лабораторий для проведения тестирования на чувствительность к противомикробным препаратам. Данные, полученные в результате осуществленного эпидемиологического надзора, должны использоваться для регулярного обновления национальных клинических рекомендаций и политики в области лечения [20].

С учетом обозначенной проблемы антибиотикорезистентности, в Европейское руководство (2021 г.) по ведению инфекций, вызванных *M. genitalium*, внесены следующие рекомендации: «В связи с широким распространением в Европе резистентности *M. genitalium* к макролидам, все положительные образцы с *M. genitalium* должны быть протестированы на наличие мутаций устойчивости к макролидам». В Руководстве по лечению заболеваний, передаваемых половым путем (2021 г.), разработанном Центром по контролю и профилактике заболеваний США, предлагаются схемы терапии *M. genitalium* с учетом возможностей тестирования на устойчивость к макролидам [28].

В Республике Беларусь исследования по выявлению генетических детерминант антибиотикорезистентности у *M. genitalium* не проводятся, что связано с отсутствием до недавнего времени зарегистрированных коммерческих тест-систем диагностики, а также отсутствием рекомендаций по тестированию данного возбудителя на маркеры антибиотикорезистентности. В связи с этим отсутствует информация о эпидемиологии штаммов *M. genitalium*, устойчивых к антибактериальной терапии, применяемой при данной нозологической форме согласно клиническому протоколу Министерства здравоохранения Республики Беларусь за 2009 г. по диагностике и лечению пациентов с ИППП. Остаются нерешенными вопросы неэффективного лечения инфекций, вызванных *M. genitalium*.



Данное исследование по изучению спектра и распространенности маркеров резистентности к макролидам у *Mycoplasma genitalium* осуществляется в рамках научно-исследовательского сотрудничества в сфере медицинской науки между учреждением образования «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (СГМУ) и государственным учреждением «Республиканский клинический медицинский центр» Управления делами Президента Республики Беларусь (ГУ «РКМЦ»). Все результаты тестирования включены в открытый проект DeMaRes (Detection of Macrolide Resistance – *Mycoplasma genitalium*) «Анализ распространенности мутаций резистентности к макролидам и фторхинолонам у *Mycoplasma genitalium*» и размещены на платформе AMRcloud в России (<https://amrcloud.net/ru/project/demares/>).

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить распространенность и спектр генетических маркеров резистентности к макролидам в клинических изолятах *Mycoplasma genitalium*, выделенных от пациентов трех областных центров (Брест, Витебск, Минск) Республики Беларусь, обратившихся за медицинской помощью в лечебно-профилактические учреждения за период с марта 2022 по март 2024 года.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование устойчивости к макролидам было выполнено на образцах *M. genitalium*, собранных за период с марта 2022 года по март 2024 года. Коллекция из 322 положительных образцов ДНК *M. genitalium* представлена из централизованных лабораторий трех областных центров Республики Беларусь: УЗ «Минский городской клинический центр дерматовенерологии» и ГУ «Республиканский клинический медицинский центр» Управления делами Президента Республики Беларусь (n=199), УЗ «Брестский областной кожно-венерологический диспансер» (n=90), УЗ «Витебский областной клинический центр дерматовенерологии и косметологии» (n=33). Биологический материал, представленный соскобами со слизистых оболочек уретры (n=97) и цервикального канала (n=225), был получен от пациентов, обратившихся за медико-консультативной помощью к дерматовенерологам, гинекологам и урологам специализированных и многопрофильных медицинских учреждений областных и районных центров.

В лабораториях указанных учреждений здравоохранения клинический образец был классифицирован как положительный на основании первичного рутинного тестирования с использованием наборов, зарегистрированных на территории Республики Беларусь.

Выделение ДНК *M. genitalium* осуществлялось с использованием наборов реагентов «ДНК-сорб-АМ» («АмплиСенс» ФБУН «ЦНИИ», Россия), «Проба-НК-Плюс и Проба-Рапид» («ДНК-технология», Россия), «РеалБест экстракция 100» (АО «Вектор-Бест», Россия) и «АртДНК» («АртБиоТех», Беларусь).

Выявление ДНК *M. genitalium* осуществляли на основе технологии ПЦР с гибридно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени (ПЦР-РВ), для чего применялись наборы реагентов: «ПЛАЗМОГЕН-Mg. *Mycoplasma genitalium*» («ДНК-технология», Россия), «РеалБест ДНК *Chlamydia trachomatis*/*Mycoplasma genitalium*» (АО «Вектор-Бест», Россия) и «АМПЛИСЕНС® *C. trachomatis* / *Ureplasma spp.* /

M. genitalium / *M. Hominis*-Мультипрайм-FL» (ФБУН «ЦНИИ», Россия) в моноплексном и мультиплексном формате, предназначенные для обследования пациентов на *M. genitalium*, а также для исследования микрофлоры урогенитального тракта у женщин и мужчин (Фемофлор® 16, Фемофлор® 8, Фемофлор® Скрин, Андрофлор®, Андрофлор® Скрин («ДНК-технология», Россия). Использовались регистрирующие амплификаторы ДТ-96 и ДТ-lite («ДНК-технология», Россия), Rotor-Gene Q (QIAGEN, Германия) и CFX96 Touch (Bio-Rad, США).

При обнаружении ДНК *M. genitalium* образцы хранились при температуре -20°C и передавались в центральную лабораторию (НИИ антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО «СГМУ» Минздрава России, Смоленск) для дальнейшего тестирования на наличие генетических маркеров резистентности к макролидам.

Выявление специфических мутаций макролидорезистентности осуществлялось с использованием модифицированного метода ПЦР-РВ с эффектом гашения флюоресценции зонда праймером [29].

Во всех образцах ДНК *M. genitalium*, несущих мутации, в целях подтверждения характера нуклеотидных замен использовался метод секвенирования по Сэнгеру соответствующих фрагментов гена с использованием наборов BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit и генетического анализатора Applied Biosystems 3500 (Life Technologies, США) [29].

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

За период с марта 2022 года по март 2024 года было получено и проанализировано 322 клинических образца от пациентов из трех областных центров (Брест, Витебск, Минск) Республики Беларусь. Долевое соотношение в коллекции образцов распределилось следующим образом: Минск – 61,8% (199/322), Брест – 27,95% (90/322) и Витебск – 10,25% (33/322). Преобладание образцов из Минска ожидаемо, поскольку проект исследования стартовал именно с этого города и период сбора материала в нем длится дольше по времени, в сравнении с другими городами.

Гендерная структура представлена следующим образом: преобладающая доля принадлежит исследованиям урогенитального тракта женщин – 69% (225/322), на долю исследований урогенитального тракта мужчин приходится 31% (97/322). Таким образом, доминирующую позицию в исследованной выборке занимают образцы, полученные от женщин. Медиана возраста женщин составила 28 лет (18–56 лет), медиана возраста мужчин – 28 лет (17–54 года). Анализ полученных данных по областям Беларуси не установил значимых возрастных различий среди пациентов, средний возраст составил 30 лет. В целом выборка образцов представлена группой пациентов сексуально активного возраста с благоприятными репродуктивными возможностями – преимущественно женского пола. Такой гендерный перевес в группе женщин становится вполне объяснимым и понятным, если обратиться к медицинской документации, регламентирующей диагностические и терапевтические алгоритмы при заболеваниях мочеполового тракта. К настоящему времени при обследовании женщин на ИППП используется более широкий спектр показаний, нежели для мужчин. Аргументом служит обязательное обследование на *M. genitalium* всех беременных при постановке на учет, а также обследование пациенток, обратившихся в женскую консультацию при воспалительных заболеваниях женских тазовых органов. Перечень проводимых исследований соответствует клиническому



протоколу «Медицинское наблюдение и оказание медицинской помощи женщинам в акушерстве и гинекологии» [15].

В ходе анализа на наличие маркеров резистентности к макролидам было установлено: в 15,22% (49/322) (95% ДИ 11,71–19,35%) образцов выявлены мутации, у оставшихся 84,78% (273/322) (95% ДИ 80,45–88,29%) образцов мутации не были выявлены – «wild type» (рис. 1). Анализ характера нуклеотидных замен в образцах с выявленными мутациями (n=49) позволил определить мутационный профиль, который представлен 2 вариантами нуклеотидных замен: позиция A2059G – 10,25% (33/322) и A2058G – 4,97% (16/322) (рис. 1).

Выявленный при исследовании пациентов Республики Беларусь спектр мутаций к макролидам согласуется с данными зарубежных исследователей и является одним из самых распространенных фенотипов устойчивости, отмеченных в международных публикациях [21–24, 30–33].

Распространенность маркеров макролидорезистентности у *M. genitalium* в различных гендерных группах составила: в женской популяции – 15,56% (35/225), в мужской популяции – 14,43% (14/97) (рис. 2). Несмотря на то, что выборка образцов женской группы превышает выборку образцов мужской группы почти в два раза, выявленные уровни устойчивости к макролидам сопоставимы (рис. 2).

Различий в мутационном спектре у *M. genitalium*, выделенной от женщин и мужчин, не установлено. В обеих группах преобладает один и тот же вариант в позиции A2059G. Аналогичное сходство наблюдается в соотношении между уровнями выявленных генетических маркеров: преобладание A2059G над A2058G в два раза внутри

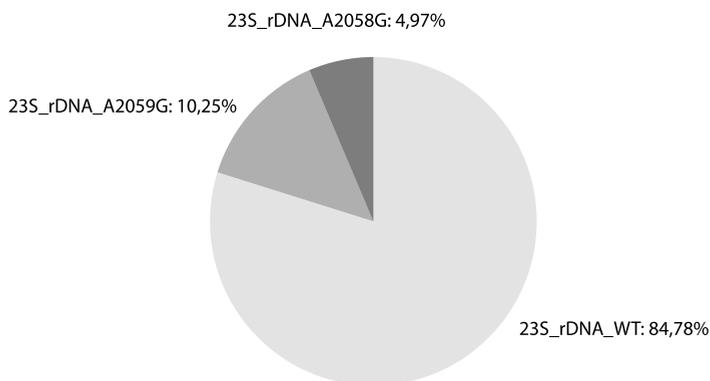


Рис. 1. Структура выборки всех положительных образцов (N=322) с ДНК *M. genitalium* на наличие маркеров резистентности к макролидам (<https://amrcloud.net/ru/>)

Примечания: 23S rDNA WT – образцы ДНК *M. genitalium*, в которых мутации не были выявлены, – «wild type»; 23S rDNA A2059G – позиция нуклеотидной замены V домена в гене 23S рPHK *M. genitalium*; 23S rDNA A2058G – позиция нуклеотидной замены V домена в гене 23S рPHK *M. genitalium*.

Fig. 1. Sampling structure of all positive samples (N=322) with *M. genitalium* DNA for the presence of macrolide resistance markers (<https://amrcloud.net/ru/>)

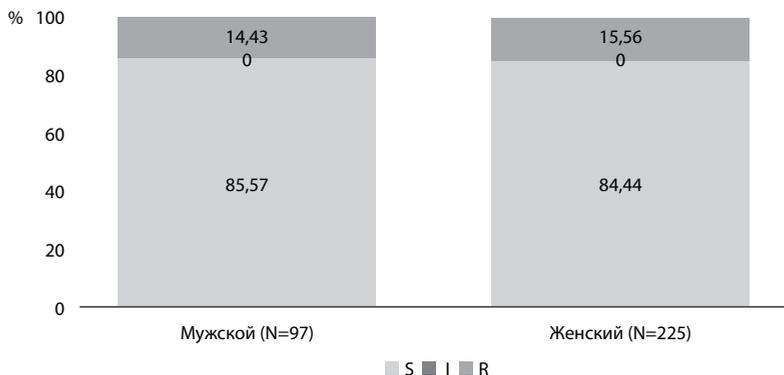


Рис. 2. Распространенность маркеров макролидорезистентности у *M. genitalium* в различных гендерных группах (N=322)

Примечания: S – образцы ДНК *M. genitalium*, в которых мутации не были выявлены (возбудитель, чувствительный к препаратам группы макролидов); R – образцы ДНК *M. genitalium*, в которых были выявлены мутации в V домене в гене 23S рРНК *M. genitalium* (возбудитель, устойчивый к препаратам группы макролидов).

Fig. 2. Prevalence of macrolide resistance markers in *M. genitalium* in different gender groups (N=322)

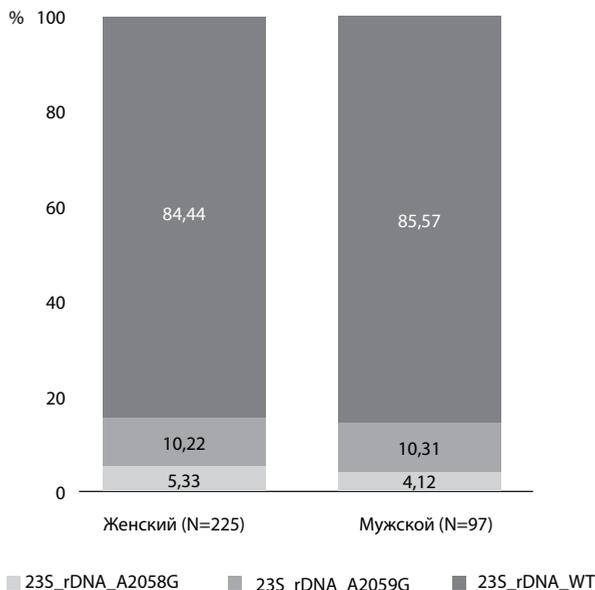


Рис. 3. Структура и мутационный спектр у *M. genitalium* в выборке образцов, выделенных от женщин и мужчин (N=322)

Примечания: 23S rDNA WT – образцы ДНК *M. genitalium*, в которых мутации не были выявлены, – «wild type»; 23S rDNA A2059G – позиция нуклеотидной замены V домена в гене 23S рРНК *M. genitalium*; 23S rDNA A2058G – позиция нуклеотидной замены V домена в гене 23S рРНК *M. genitalium*.

Fig. 3. Structure and mutation spectrum of *M. genitalium* in a sample of samples isolated from women and men (N=322)



каждой гендерной группы. Межгрупповое сравнение уровней A2059G и A2058G различий не выявило (рис. 3).

За период с марта 2022 года по март 2024 года уровень макролидорезистентности у *M. genitalium* по Беларуси менялся от максимального – 20,75% до минимального – 14% (рис. 4). Чтобы разобраться в причинах вариации показателя резистентности по годам, следует проанализировать структуру и объем выборки исследований. Результаты за 2022 год (9 месяцев) – это начальный этап выполнения исследования: коллекция немногочисленная (n=53) и представлена только образцами от пациентов с выраженными клиническими проявлениями заболеваний урогенитального тракта. Коллекция образцов за 2024 год (3 месяца) также немногочисленная (n=50), но неоднородна по демографическим характеристикам. Аналогичная ситуация по структуре выборки наблюдалась и за 2023 год (хотя объем представлен за целый год). Важно отметить, что с 2023 года в структуру общей выборки исследований включены результаты тестирования беременных женщин: тем самым прослеживается снижение показателя уровня макролидорезистентности по соответствующим годам (рис. 4).

В ходе исследования были определены распространенность макролидорезистентности и мутационный профиль у *M. genitalium* по областным городам Республики Беларусь (см. таблицу). В г. Минске распространенность маркеров резистентности составила 20,6% (41/199) с выявленным мутационным профилем в двух позициях: A2059G – 14,57% (29/199) и A2058G – 6% (12/199). В Бресте макролидорезистентность составила 5% (5/90) с мутационным профилем в позициях A2059G – 4% (4/90)

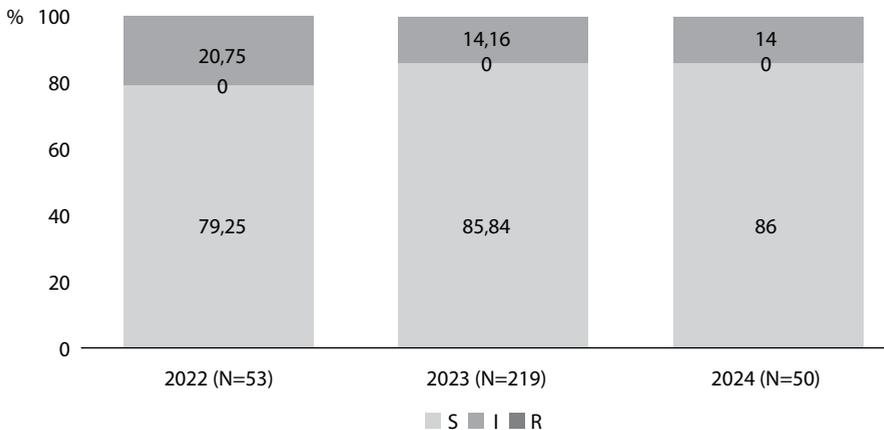


Рис. 4. Динамика уровня макролидорезистентности у *M. genitalium* по Беларуси за период с марта 2022 года по март 2024 года (N=322)

Примечания: S – образцы ДНК *M. genitalium*, в которых мутации не были выявлены (возбудитель, чувствительный к препаратам группы макролидов); R – образцы ДНК *M. genitalium*, в которых были выявлены мутации в V домене в гене 23S рРНК *M. genitalium* (возбудитель, устойчивый к препаратам группы макролидов).

Fig. 4. Changes in *M. genitalium* macrolide resistance levels in Belarus for the period from March 2022 to March 2024 (N=322)

Распространенность макролидорезистентности и мутационный профиль у *M. genitalium* по областным городам Беларуси
Prevalence of macrolide resistance and mutation profile in *M. genitalium* in regional centers of Belarus

Город	Общая частота мутаций	Вариант мутации*	Распространенность
Брест	5/90 (5%)	A2059G A2058G	4/90 (4%) 1/90 (1%)
Витебск	3/33 (9%)	A2058G A2059G	2/33 (6%) 1/33 (3%)
Минск	41/199 (20,6%)	A2059G A2058G	29/199 (14,57%) 12/199 (6%)

Примечание: * нуклеотидные последовательности в геноме рПНК *M. genitalium* представлены согласно нумерации по *E. coli*.

и A2058G – 1% (1/90), в Витебске – 9% (3/33) с мутационным профилем в двух позициях: A2058G – 6% (2/33) и A2059G – 3% (1/33).

Таким образом, анализ всей выборки образцов позволил выявить, что город Минск занимает доминирующую позицию по уровню макролидорезистентности среди других областных центров, оказавшемуся выше среднереспубликанского уровня. Этот факт ожидаем, поскольку преобладающая доля образцов – 61,8% (199/322) – представлена из Минска. В Бресте и Минске доминирует одинаковый вариант нуклеотидной замены A2059G. В Витебске доминирующую позицию занимает вариант A2058G. Полученные результаты демонстрируют, что проблема антибиотикорезистентности у MG актуальна для всех областей страны, которые были включены в исследование. Следует отметить, что существующий в Республике Беларусь принцип централизации проведения лабораторных исследований может послужить платформой для создания на основании рекомендаций ВОЗ региональных сетей лабораторий для проведения тестирования на чувствительность к противомикробным препаратам. Внедрение методов молекулярно-биологического тестирования на наличие маркеров резистентности к макролидам у *M. genitalium* позволит реализовать мониторинг уровня антибиотикорезистентности по областям и стране в целом.

Выявленный уровень резистентности по Республике Беларусь 15,22% (49/322) оказался ниже аналогичного суммарного показателя 35,5%, описанного в систематическом обзоре с приведенными сведениями о метаанализе (Machalek D.A. et al., 2020). Сравнивая наши результаты выполненного исследования с таковыми из отдельных европейских стран, можно полагать, что они сопоставимы с аналогичными данными, полученными во Франции – 10–15,4% [30] и Англии – 16% [31], но значительно уступают данным из Германии – 79,9% [32] и Италии – 63,8% [33].

Анализируя вероятные причины относительно низкого показателя уровня макролидорезистентности у *M. genitalium*, выделенной от обследованных пациентов из Республики Беларусь, можно предположить, что одной из них является применяемая схема терапии для данного возбудителя. К настоящему времени в Беларуси для лечения неосложненных форм урогенитальных заболеваний, вызванных *M. genitalium*, в качестве стартовой этиотропной терапии врачам-специалистам предлагается на выбор: доксициклин 100 мг 2 раза в сутки (первый прием – 200 мг) 7–10 суток или азитромицин 1,0 г однократно, затем по 500 мг 1 раз в день 5–7 суток.



Как показал ретроспективный анализ историй болезни, чаще всего врачами-специалистами назначается схема применения доксициклина в монотерапии. В Европейском руководстве по ведению инфекций, вызванных *M. genitalium* (2021 г.), отмечено, что доксициклин имеет слабую эффективность (30–40%), но резистентность к нему не повышается [11]. Однако зарубежными учеными было установлено, что применение доксициклина способствует снижению бактериальной нагрузки возбудителя на организм, что, в свою очередь, приводит к повышению терапевтического эффекта после последующего назначения макролидов [34]. К настоящему времени такая двухкомпонентная схема терапии для *M. genitalium* предложена в Руководстве по лечению заболеваний, передаваемых половым путем (2021 г.), разработанном Центром по контролю и профилактике заболеваний США.

Таким образом, резюмируя описанную информацию относительно применения доксициклина как препарата выбора, для белорусского пациента возникает несколько сценариев событий: благоприятный – достигается клиническое выздоровление с полной эрадикацией возбудителя, либо неблагоприятный – эрадикация возбудителя не наступает, возникает эффект мнимого выздоровления за счет снижения бактериальной нагрузки на организм пациента. Следует подчеркнуть, что после окончания терапии пациент должен проходить повторное тестирование для контроля излечения и принятия тактики дальнейшего лечения.

Вторым препаратом выбора при инфекции *M. genitalium* является азитромицин. Ретроспективный анализ назначаемых схем терапии выявил, что обоснованием для назначения азитромицина 1,0 г однократно при инфекции *M. genitalium* послужило отсутствие терапевтического эффекта от применения доксициклина либо выявление случаев коинфекции с *S. trachomatis*. В связи с этим хотелось бы акцентировать внимание на том, что в руководстве по лечению инфекций, передающихся половым путем (2021 г., CDC), подчеркивается, что лечение инфекции *M. genitalium* только азитромицином вызывает селекцию резистентности, а лечение азитромицином в дозе 1,0 г однократно чувствительных к макролидам микоплазм приводит к селекции резистентных штаммов в 10–12% случаев. Например, показатели устойчивости к макролидам 30–45% отмечаются в странах, в которых для лечения применяется азитромицин однократно 1,0 г [35–37].

Сложившийся уровень устойчивости к макролидам у *M. genitalium* в Республике Беларусь в результате применяемых схем терапии при инфекции *M. genitalium* показывает, что в 15,22% случаев терапия азитромицином не эффективна. Полученные результаты исследования подчеркивают актуальность проблемы резистентности у *M. genitalium* для Беларуси и необходимость эпидемиологического надзора за резистентностью, поскольку в стране не осуществляется регулярный мониторинг уровня устойчивости к антибиотикам у *M. genitalium* и случаев неудач терапии. К настоящему времени в Республике Беларусь не существует инструментов эпидемиологического мониторинга резистентности к антимикробным препаратам у MG. Все данные по стране, полученные в рамках проекта DeMaRes, депонированы и импортированы на онлайн-платформу для анализа и обмена данными антибиотикорезистентности AMRcloud [38]. Онлайн-платформа представляет собой высокотехнологичный продукт синтеза современных информационных технологий и медицины. Данный инструмент мониторинга позволяет не только хранить импортированные данные, но и проводить анализ с последующей графической визуализацией результатов [38].

Возможность динамического онлайн-наблюдения за выявленными маркерами резистентности к антимикробным препаратам у *M. genitalium* по отдельным областям страны подчеркивает особую актуальность многоцентрового проекта DeMaRes для Беларуси.

Полученные в ходе исследования результаты демонстрируют необходимость дальнейшего углубленного изучения механизмов резистентности к антибиотикам у *M. genitalium*, что позволит своевременно определиться с тактикой терапии и достичь эрадикации возбудителя.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В Республике Беларусь частота распространения мутаций резистентности к макролидам у *M. genitalium* составила 15,22% (49/322).

Мутационный профиль представлен 2 вариантами нуклеотидных замен A2059G – 10,25% (33/322) и A2058G – 4,97% (16/322).

Уровень макролидорезистентности и мутационный профиль у *M. genitalium* по областным городам Беларуси распределились следующим образом: по г. Минску распространенность маркеров резистентности к макролидам у *M. genitalium* – 20,6% (41/199) с выявленным мутационным профилем в позициях A2059G – 14,57% (29/199) и A2058G – 6% (12/199); по Бресту распространенность маркеров резистентности к макролидам у *M. genitalium* составляет 5% (5/90) с мутационным профилем в позициях A2059G – 4% (4/90) и A2058G – 1% (1/90); по Витебску распространенность маркеров резистентности к макролидам у *M. genitalium* составляет 9% (3/33) с мутационным профилем в позициях A2058G – 6% (2/33) и A2059G – 3% (1/33).

Полученные данные подчеркивают необходимость внедрения методов молекулярной диагностики (ПЦР) в практику «рутинного» тестирования всех *M. genitalium*-положительных образцов на наличие мутаций устойчивости к макролидам. При подборе оптимальной схемы антибиотикотерапии следует учитывать профиль резистентности к антимикробным препаратам возбудителя. Обнаруженные мутации подчеркивают актуальность проблемы антибиотикорезистентности у *M. genitalium* для Беларуси и необходимость эпидемиологического надзора за резистентностью.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Khatib N, Bradbury C, Chalker V, Koh G, Smit E, Wilson S, et al. Prevalence of *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma genitalium* and *Ureaplasma urealyticum* in men with urethritis attending an urban sexual health clinic. *Int J STD AIDS*. 2015;26(6):388–392. doi: 10.1177/0956462414539464
2. Bachmann L.H., Kirkcaldy R.D., Geisler W.M., et al.; the MAGNUM Laboratory Working Group. Prevalence of *Mycoplasma genitalium* infection, antimicrobial resistance mutations and symptom resolution following treatment of urethritis. *Clin Infect Dis*. 2020;71:e624–32. Available at: <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa293>
3. Taylor-Robinson D., Jensen J.S. *Mycoplasma genitalium*: from chrysalis to multicolored butterfly. *Clin Microbiol Rev*. 2011;24:498–514. doi: 10.1128/CMR.00006-11
4. Seña A.C., Lensing S., Rompalo A., et al. Chlamydia trachomatis, *Mycoplasma genitalium*, and *Trichomonas vaginalis* infections in men with nongonococcal urethritis: predictors and persistence after therapy. *J Infect Dis*. 2012;206:357–65. doi: 10.1093/infdis/jis356
5. Lis R., Rowhani-Rahbar A., Manhart L.E. *Mycoplasma genitalium* infection and female reproductive tract disease: a meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 2015;61:418–26. doi: 10.1093/cid/civ312
6. Wikstrom A., Jensen J.S. *Mycoplasma genitalium*: a common cause of persistent urethritis among men treated with doxycycline. *Sex Transm Infect*. 2006;82:276–279.
7. Mobley V.L., Hobbs M.M., Lau K., Weinbaum B.S., Getman D.K., Seña A.C. *Mycoplasma genitalium* infection in women attending a sexually transmitted infection clinic: diagnostic specimen type, coinfections, and predictors. *Sex Transm Dis*. 2012;39:706–9. doi: 10.1097/OLQ.0b013e318255de03
8. Gaydos C., Maldeis N.E., Hardick A., Hardick J., Quinn T.C. *Mycoplasma genitalium* as a contributor to the multiple etiologies of cervicitis in women attending sexually transmitted disease clinics. *Sex Transm Dis*. 2009;36:598–606. doi: 10.1097/OLQ.0b013e3181b01948



9. Nye M.B., Harris A.B., Pherson A.J., Cartwright C.P. Prevalence of *Mycoplasma genitalium* infection in women with bacterial vaginosis. *BMC Womens Health*. 2020;20(1):62. doi: 10.1186/s12905-020-00926-6
10. Wu Yueyue, Xiu Feichen, Xi Yixuan, Liu Lu, Chen Yiwen & You Xiaoxing. *Pathogenicity and virulence of Mycoplasma genitalium: Unraveling Ariadne's Thread, Virulence*. 2022;13:1:1161–1183. doi: 10.1080/21505594.2022.2095741
11. Jensen J.S. 2021 European guideline on the management of *Mycoplasma genitalium* infections. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2022;36(5):641–650. doi: 10.1111/jdv.17972
12. Unemo M., Shipitsyna E., Savicheva A., Solokovskiy E., Ballard R., Domeika M., et al. Guidelines for the laboratory diagnosis of *Mycoplasma genitalium* infections in east European countries. *Acta Derm Venereol*. 2010;90(5):461–467. doi: 10.2340/00015555-0929
13. Workowski K.A., Bachmann L.H., Chan P.A., Johnston C.M., Muzny C.A., Park I., et al. Sexually Transmitted Infections Treatment Guidelines, 2021. *MMWR Recomm Reports*. 2021;70(4):1–187. doi: 10.15585/mmwr.r7004a1
14. *Clinical protocol for diagnosis and treatment of patients with sexually transmitted infections (approved by the order of the Ministry of Health of the Republic of Belarus dated 10.29.2009 No. 1020)*. Available at: <https://minzdrav.gov.by/ru/dlya-spetsialistov/standarty-obsledovaniya-i-lecheniya/dermatovenerologiya.php> (accessed November 14, 2024). (in Russian)
15. *Clinical protocol "Medical observation and provision of medical care to women in obstetrics and gynecology" (approved by the Resolution of the Ministry of Health of the Republic of Belarus dated 19.02.2018 No. 17)*. Available at: <https://minzdrav.gov.by/ru/dlya-spetsialistov/standarty-obsledovaniya-i-lecheniya/akusherstvo-ginekologiya.php> (accessed November 14, 2024). (in Russian)
16. *Clinical protocol for diagnostics and treatment of patients (adult population) with urological diseases when providing medical care in outpatient and inpatient settings of district, regional and republican healthcare organizations of the Republic of Belarus (approved by order of the Ministry of Health of the Republic of Belarus dated 22.09.2011 No. 920)*. Available at: <https://minzdrav.gov.by/ru/dlya-spetsialistov/standarty-obsledovaniya-i-lecheniya/urologiya.php> (accessed November 14, 2024). (in Russian)
17. Gnanadurai R., Fifer H. *Mycoplasma genitalium*: a review. *Microbiology*. 2020;166(1):21–29. doi: 10.1099/mic.0.000830
18. 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
19. 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
20. *Global Health Sector Strategies on, respectively, HIV, viral hepatitis and sexually transmitted infections for the period 2022–2030 (GHSS)*. July, 2022. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240053779>
21. Stafford I.A., Hummel K., Dunn J.J., Muldrew K., Berra A., Kravitz E.S., et al. Retrospective analysis of infection and antimicrobial resistance patterns of *Mycoplasma genitalium* among pregnant women in the southwestern USA. *BMJ Open*. 2021;11(6):e050475. doi: 10.1136/bmjopen-2021-050475
22. Hilmarsdóttir I., Arnardóttir E.M., Jóhannesdóttir E.R., Valsdóttir F., Golparian D., Hadad R., et al. Prevalence of *Mycoplasma genitalium* and antibiotic resistance-associated mutations in patients at a sexually transmitted infection clinic in Iceland, and comparison of the S-DiaMGTV and Aptima *Mycoplasma genitalium* assays for diagnosis. *J Clin Microbiol*. 2020;58(9):e01084–20. doi: 10.1128/JCM.01084-20
23. Fernández-Huerta M., Barberá M.J., Serra-Pladevall J., Esperalba J., Martínez-Gómez X., Centeno C., et al. *Mycoplasma genitalium* and antimicrobial resistance in Europe: a comprehensive review. *Int J STD AIDS*. 2020;31(3):190197. doi: 10.1177/0956462419890737
24. Jensen J., Bradshaw C., Tarbizi S., Fairley C., Hamasuna R. Azithromycin 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
25. Chrisment D. Detection of macrolide resistance in *Mycoplasma genitalium* in France. *J Antimicrob Chemother*. 2012;67(11):2598–601. doi: 10.1093/jac/dks263
26. Machalek D.A., Tao Y., Shilling H., Jensen J.S., Unemo M., Murray G., et al. Prevalence of mutations associated with resistance to macrolides and fluoroquinolones in *Mycoplasma genitalium*: a systematic review and metaanalysis. *Lancet Infect Dis*. 2020;20(11):1302–1314. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30154-7
27. *WHO bacterial priority pathogens list, 2024: Bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance*. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240093461>
28. Kimberly A. Workowski, Laura H. Bachmann, Philip A. Chan, Christine M. Sexually Transmitted Infections Treatment Guidelines 2021. 2021;70(4):1–187.
29. Eidelstein I., Romanov A., Kozlov R. Development of a real-time PCR assay for detection of macrolide resistance mutation in *Mycoplasma genitalium* and its application for epidemiological surveillance in Russia. *Microbial Drug Resistance*. 2023;29(3):69–77. doi: 10.1089/mdr.2022
30. Chrisment D. Detection of macrolide resistance in *Mycoplasma genitalium* in France. *J Antimicrob Chemother*. 2012;67(11):2598–601. doi: 10.1093/jac/dks263
31. Pitt R. Antimicrobial resistance in *Mycoplasma genitalium* sampled from the British general population. *Sex Transm Infect*. 2020;96(6):464–468. doi: 10.1136/sextrans-2019-054129
32. Dumke R.J. Prevalence of macrolide- and fluoroquinolone-resistant *Mycoplasma genitalium* strains in clinical specimens from men who have sex with men of two sexually transmitted infection practices in Berlin, Germany. *Glob Antimicrob Resist*. 2019;18:118–121. doi: 10.1016/j.jgar.2019.06.015
33. Sandri A. *Mycoplasma genitalium* antibiotic resistance-associated mutations in genital and extragenital samples from men-who-have-sex-with-men attending a STI clinic in Verona, Italy. *Front Cell Infect Microbiol*. 2023;13:1155451. doi: 10.3389/fcimb.2023.1155451
34. Soni S., Horne P.J. Launch of the BASHH guideline for the management of *M. genitalium* in adults. *Sex Transm Infect*. 2019;95(4):237. doi: 10.1136/sextrans-2018-053831
35. Bjornelius E., Anagrus C., Bojs G. et al. Antibiotic treatment of symptomatic *Mycoplasma genitalium* infection in Scandinavia: a controlled clinical trial. *Sex Transm Infect*. 2008;84:72–76.
36. Mena L.A., Mroczkowski T.F., Nsuami M., Martin D.H. A randomized comparison of azithromycin and doxycycline for the treatment of *Mycoplasma genitalium*-positive urethritis in men. *Clin Infect Dis*. 2009;48:1649–1654.
37. Horner P., Ingle S.M., Garrett F. et al. Which azithromycin regimen should be used for treating *Mycoplasma genitalium* A meta-analysis. *Sex Transm Infect*. 2018;94:14–20.
38. Kuzmenkov A., Trushin I., Avramenko A., Edelstein M., Dekhnich A., Kozlov R. AMRmap: an online platform for monitoring antibiotic resistance. *Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija*. 2017;19(2):84–90. (in Russian)