

<https://doi.org/10.25208/vdv16837>



Микрочиповые технологии для анализа генетических детерминант устойчивости *Neisseria gonorrhoeae* к противомикробным препаратам

© Шаскольский Б.Л.^{1*}, Кравцов Д.В.¹, Кандинов И.Д.¹, Грядунов Д.А.¹, Шпилевая М.В.², Шагабиева Ю.З.², Носов Н.Ю.²

¹Центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины, Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, Россия

²Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии, Москва, Россия

Обоснование. Возбудитель гонококковой инфекции способен быстро формировать устойчивость к противомикробным препаратам. Доля лекарственно-устойчивых изолятов *Neisseria gonorrhoeae* в мире растет с каждым годом, что повышает вероятность возникновения неизлечимой инфекции.

Цель исследования. Актуализация данных о распространении генетических детерминант устойчивости изолятов современной российской популяции *N. gonorrhoeae* к ряду противомикробных препаратов с использованием технологии гидрогелевых биочипов.

Методы. В исследование включено 360 изолятов *N. gonorrhoeae*, поступивших с 2019 по 2023 г. в ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России из специализированных медицинских организаций дерматовенерологического профиля восьми субъектов Российской Федерации. Тестирование чувствительности *N. gonorrhoeae* к пенициллину, цефтриаксону, тетрациклину, азитромицину и ципрофлоксацину осуществляли методом серийных разведений в агаре с определением минимальных подавляющих концентраций (МПК). Идентификацию генетических детерминант устойчивости *N. gonorrhoeae* к противомикробным препаратам проводили с помощью технологии гидрогелевых биочипов.

Результаты. Представлены актуальные данные по распространению генетических детерминант устойчивости *N. gonorrhoeae* к противомикробным препаратам. В российской популяции *N. gonorrhoeae* происходят активные процессы, связанные с перераспределением долей изолятов, устойчивых к разным противомикробным препаратам. С 2020 г. возросла устойчивость к азитромицину, повышена доля изолятов, устойчивых к ципрофлоксацину, произошло восстановление чувствительности к пенициллину, при этом вся популяция остается чувствительной к цефтриаксону. Валидированный набор реагентов «NG-ТЕСТ» на основе биочипа обеспечивает быстрое определение устойчивости *N. gonorrhoeae* к цефтриаксону посредством одновременной идентификации генетических детерминант в генах *penA*, *penA* и *porB* и расчета значения МПК.

Заключение. Микрочиповые технологии для идентификации детерминант устойчивости *N. gonorrhoeae* к противомикробным препаратам могут быть использованы в качестве вспомогательного инструмента выявления резистентных штаммов. Результаты анализа на биочипах способствуют выбору стратегии лечения пациентов и обеспечивают возможность наблюдения за молекулярно-эпидемиологической картиной на уровне популяций.

Ключевые слова: *Neisseria gonorrhoeae*; устойчивость к противомикробным препаратам; олигонуклеотидные микрочипы

Конфликт интересов: авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Источник финансирования: работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, грант № 24-25-20084.

Для цитирования: Шаскольский Б.Л., Кравцов Д.В., Кандинов И.Д., Грядунов Д.А., Шпилевая М.В., Шагабиева Ю.З., Носов Н.Ю. Микрочиповые технологии для анализа генетических детерминант устойчивости *Neisseria gonorrhoeae* к противомикробным препаратам. Вестник дерматологии и венерологии. 2025;101(1):85–97.

doi: <https://doi.org/10.25208/vdv16837>



<https://doi.org/10.25208/vdv16837>

Microarray technologies for analysis of genetic determinants of *Neisseria gonorrhoeae* antimicrobial resistance

© Boris L. Shaskolskiy^{1*}, Dmitry V. Kravtsov¹, Ilya D. Kandinov¹, Dmitry A. Gryadunov¹, Marina V. Shpilevaya², Julia Z. Shagabieva², Nikita Yu. Nosov²

¹ Center for Precision Genome Editing and Genetic Technologies for Biomedicine, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

² State Research Center of Dermatovenereology and Cosmetology, Moscow, Russia

Background. *Neisseria gonorrhoeae* exhibits a remarkable capacity for rapid antimicrobial resistance development. Globally, the prevalence of antimicrobial-resistant *N. gonorrhoeae* isolates continues to rise steadily, raising concerns about the potential emergence of untreatable infections.

Aims. This work updates the distribution patterns of genetic resistance determinants in contemporary Russian clinical *N. gonorrhoeae* isolates to key antimicrobial agents, utilizing hydrogel microarray technology.

Methods. The study included 360 *N. gonorrhoeae* isolates collected at the Federal State Research Center of Dermatovenereology and Cosmetology between 2019 and 2023. The susceptibility of *N. gonorrhoeae* to penicillin, ceftriaxone, tetracycline, azithromycin, and ciprofloxacin was determined through serial dilution in agar, with the minimum inhibitory concentration (MIC) subsequently calculated. Genetic determinants of antimicrobial resistance in *N. gonorrhoeae* were identified using hydrogel microarray technology.

Results. The current data on the distribution of genetic determinants associated with antimicrobial resistance in *N. gonorrhoeae* are presented in this study. In the Russian population of gonococcus dynamic shifts are underway, leading to a redistribution of the proportion of isolates resistant or susceptible to various antimicrobial agents. Since 2020, a marked increase has been observed in the proportion of *N. gonorrhoeae* isolates resistant to azithromycin and ciprofloxacin. Concurrently, susceptibility to penicillin has rebounded, while the entire gonococcal population remains fully susceptible to ceftriaxone. The validated microarray-based NG-TEST diagnostic kit enables rapid detection of ceftriaxone resistance in *N. gonorrhoeae* by simultaneously identifying resistance-associated genetic markers in the *penA*, *ponA*, and *porB* genes, combined with MIC calculation.

Conclusion. Microarray technologies for detecting antimicrobial resistance genetic determinants in *N. gonorrhoeae* serve as a complementary tool for identifying resistant strains. Microarray-based analysis informs tailored treatment strategies for patients and enables population-level surveillance of antimicrobial resistance trends in *N. gonorrhoeae*.

Keywords: *Neisseria gonorrhoeae*; drug resistance; microarray analysis

Conflict of interest: the authors declare that there are no obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

Funding source: this work was funded by the Russian Science Foundation, grant no. 24-25-20084.

For citation: Shaskolskiy BL, Kravtsov DV, Kandinov ID, Gryadunov DA, Shpilevaya MV, Shagabieva JuZ, Nosov NYu. Microarray technologies for analysis of genetic determinants of *Neisseria gonorrhoeae* antimicrobial resistance. Vestnik Dermatologii i Venerologii. 2025;101(1):85–97. doi: <https://doi.org/10.25208/vdv16837>



Обоснование

Несмотря на почти 100-летнюю историю терапии гонококковой инфекции разнообразными противомикробными препаратами, в мире ежегодно регистрируют более 80 млн случаев данного заболевания [1]. Возбудителем гонореи является грамотрицательная бактерия *Neisseria gonorrhoeae*, обладающая исключительной способностью формировать устойчивость к антибиотикам [2]. Доля лекарственно-устойчивых штаммов *N. gonorrhoeae* в мире повышается с каждым годом; регулярно публикуются случаи неудачной терапии гонококковой инфекции рекомендованными препаратами, обусловленной суперустойчивыми вариантами гонококка [2–4]. Эпидемиологические данные свидетельствуют, что ситуация с гонококковой инфекцией в России на протяжении двух десятилетий XXI в. была и остается лучше, чем в странах Европы и США, несмотря на общий рост заболеваемости в последнее время: в 2021 г. — повышение на 10,4% в сравнении с предыдущим годом; в 2022 г. — на 10,0%; за первые четыре месяца 2023 г. — на 5,5% относительно аналогичного периода 2022 г. [5].

Препаратом выбора для лечения гонококковой инфекции в Российской Федерации является цефалоспорины III поколения цефтриаксон. В российской популяции гонококка доля изолятов, устойчивых к цефтриаксону, минимальна, в работах сообщается об обнаружении только чувствительных изолятов [6]. Такое состояние нетипично на фоне общемировой тенденции роста случаев выявления устойчивых к цефалоспорины III поколения изолятов [7–11]. Весьма непростая ситуация наблюдается в Китае, где доля устойчивых к цефтриаксону изолятов увеличилась с 2,9% в 2017 г. до 8,1% в 2022 г. [7].

Анализ чувствительности российской популяции *N. gonorrhoeae* к азитромицину (используемому как компонент комбинированной терапии для лечения гонококковой инфекции в большом числе стран, но не рекомендованному для терапии в России) зафиксировал рост устойчивых изолятов с 0% в 2018–2019 гг. до 17% в 2020 г. и 9% в 2021 г. [12]. Такая доля устойчивых к азитромицину изолятов исключает его применение в соответствии с критерием Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), при котором общая доля чувствительных штаммов гонококка в отношении противомикробного препарата не должна быть ниже 95% [13]. Вместе с тем полученные данные об устойчивости *N. gonorrhoeae* к азитромицину подчеркивают необходимость дальнейшего эпидемиологического наблюдения за распространением новых вариантов возбудителя гонококковой инфекции в России.

В сложившейся ситуации весьма актуальны исследования, направленные на ежегодный мониторинг российской популяции возбудителя гонококковой инфекции, включающий идентификацию генетических детерминант устойчивости как к цефтриаксону, так и к азитромицину, а также к препаратам, применявшимся для терапии гонореи ранее, — пенициллину, тетрациклину и цiproфлоксацину. Для решения поставленных задач ИМБ РАН совместно с Государственным научным центром дерматовенерологии и косметологии Минздрава России (ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России) разработано несколько поколений олигонуклеотидных гидрогелевых микрочипов (биочипов), обеспечивающих точную идентификацию генетических детерминант

устойчивости *N. gonorrhoeae* к различным противомикробным препаратам [12, 14, 15]. Особое внимание уделено анализу устойчивости к цефтриаксону, где по результатам идентификации детерминант на биочипе применяется метод машинного обучения для предсказания минимальной подавляющей концентрации (МПК) цефтриаксона [16]. Созданный подход с описанными в настоящей работе модификациями в виде молекулярных зондов для установления принадлежности к виду *N. gonorrhoeae* стал основой набора реагентов «NG-ТЕСТ» для идентификации генетических детерминант устойчивости возбудителя гонококковой инфекции *N. gonorrhoeae* к цефалоспорины III поколения.

Цель настоящего исследования — актуализация данных о распространении генетических детерминант устойчивости изолятов современной (2019–2023 гг.) российской популяции *N. gonorrhoeae* к ряду противомикробных препаратов с использованием технологии гидрогелевых биочипов.

Методы

Объекты исследования

В исследование включено 360 клинических изолятов *N. gonorrhoeae*, поступивших в референс-центр ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России в рамках проведения мониторинга устойчивости к противомикробным препаратам возбудителей инфекций, передаваемых половым путем, в том числе в 2019 г. — 123 клинических изолята; в 2020 г. — 119; в 2021 г. — 52; в 2022 г. — 25; в 2023 г. — 42. Образцы поступали из специализированных медицинских учреждений дерматовенерологического профиля, расположенных в восьми субъектах Российской Федерации, относящихся к пяти федеральным округам: Центральному — г. Москва ($n = 17$) и Калужская область ($n = 101$); Северо-Западному — Архангельская область ($n = 29$); Южному — Астраханская область ($n = 23$); Приволжскому — Республика Татарстан ($n = 20$) и Республика Чувашия ($n = 76$); Сибирскому — Омская ($n = 20$) и Новосибирская ($n = 74$) области.

Первичную идентификацию изолятов *N. gonorrhoeae* проводили в регионе их выделения по результатам микроскопического исследования и оксидазного теста [17–19]. Окончательную верификацию осуществляли в референс-центре ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России с использованием NH-карт на анализаторе VITEK 2 Compact (bioMérieux, Франция). В отношении грамотрицательных оксидазо-положительных диплококков по совокупности биохимических свойств, оцененных как *N. gonorrhoeae* с вероятностью менее 99%, проводили дополнительное подтверждающее исследование с использованием времяпроточного масс-спектрометра с ионизацией MALDI Microflex (Bruker Daltonics GmbH, Германия).

Тестирование чувствительности к противомикробным препаратам

Определение чувствительности штаммов *N. gonorrhoeae* к противомикробным препаратам проводили методом серийных разведений в агаре в соответствии со стандартной процедурой [20] с использованием контрольного штамма *N. gonorrhoeae* ATCC 49226 из коллекции типовых культур микроорганизмов. Оценку чувствительности *N. gonorrhoeae* к противомикробным препаратам выполняли в соответствии с критериями МУК 4.2.1890-04 (<https://fcgi.ru/download/>

Таблица 1. Критерии фенотипической чувствительности *N. gonorrhoeae* к противомикробным препаратам
Table 1. AMR criteria of *N. gonorrhoeae*

Противомикробный препарат (Ч; УР; Р, мг/л)
Пенициллин (≤ 0,06; 0,12–1,0; ≥ 2,0)
Цефтриаксон (≤ 0, 25; — ; > 0,25)
Тетрациклин (≤ 0,25; 0,5–1,0; ≥ 2,0)
Азитромицин (≤ 1,0; — ; > 1,0)
Ципрофлоксацин (≤ 0,03; 0,06; > 0,06)

Примечание. Ч — чувствительный; УР — умеренно резистентный; Р — резистентный. Азитромицин всегда используется в сочетании с другим эффективным средством (цефтриаксоном или цеффиксимом). В МУК 4.2.1890-04 отсутствуют указания об азитромицине, в связи с чем использовали EUCAST 14.0, в котором порог устойчивости ECOFF составляет 1 мг/л.
Note. Ч — susceptible; УР — moderately resistant; Р — resistant. Azithromycin is routinely administered in combination with a second effective antimicrobial agent (e.g., cephalosporin or cefixime). MUK 4.2.1890-04 does not contain any indications for azithromycin, therefore EUCAST 14.0 was used, in which the ECOFF resistance threshold is 1 mg/l.

elektronnaya_baza_metod_dokum/muk_1890-04.pdf, дата обращения: 12.09.2024) для всех противомикробных препаратов, кроме азитромицина, для которого применяли критерии EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, Version 14.0, <http://www.eucast.org>, дата обращения: 12.09.2024). Критерии чувствительности *N. gonorrhoeae* к противомикробным препаратам приведены в табл. 1.

Идентификация генетических детерминант устойчивости *N. gonorrhoeae* к противомикробным препаратам

Выделение бактериальной ДНК выполняли с использованием набора «ДНК-Экспресс» («Литех», Россия), оценку концентрации ДНК — с помощью спектрофлуориметра Qubit 3.0 (Invitrogen, США).

Анализ генетических детерминант, ассоциированных с устойчивостью к цефтриаксону, проводили с использованием серийных образцов набора реагентов «NG-ТЕСТ». Специализированный гидрогелевый биочип (рис. 1) обеспечивал одновременное выявление следующих детерминант:

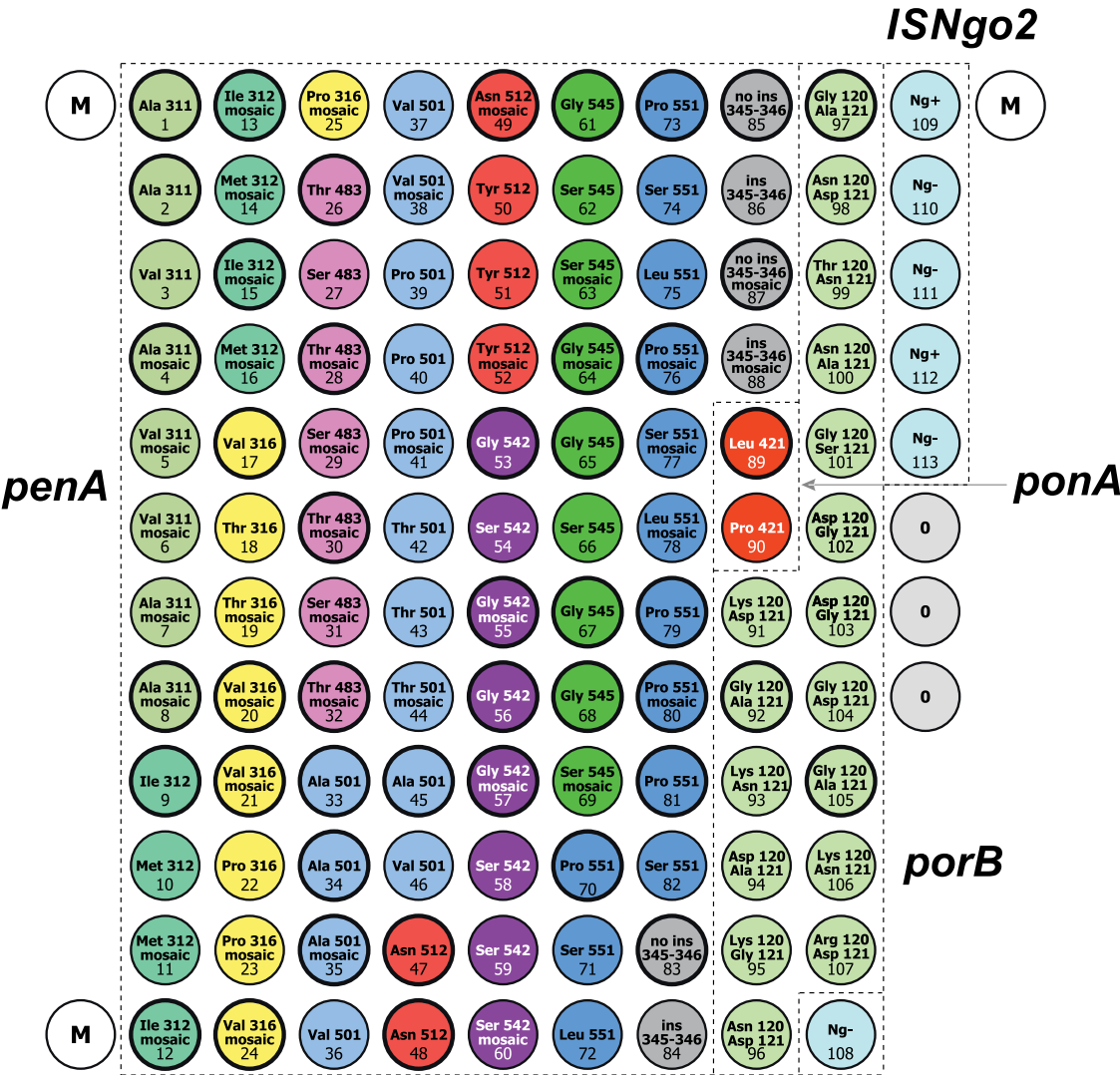


Рис. 1. Схема биочипа, входящего в набор «NG-ТЕСТ» и содержащего 113 иммобилизованных олигонуклеотидных зондов
Fig. 1. Schematic representation of the microarray integrated into the NG-TEST kit, featuring 113 immobilized oligonucleotide probes for targeted genetic analysis

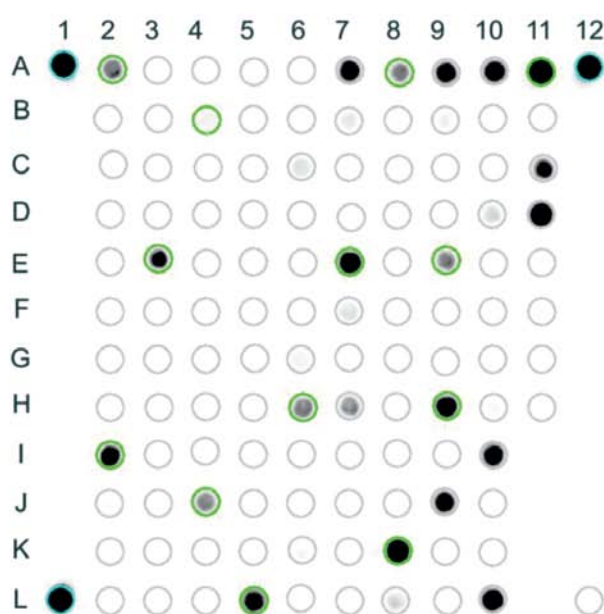
- инсерция кодона аспаргиновой кислоты в положение 345–346 гена *penA* и замены Ala311Val; Ile312Met; Val316Thr, Pro; Thr483Ser; Ala501Val, Thr, Pro; Asn512Tyr; Gly542Ser; Gly545Ser и Pro551Leu, Ser в мозаичных и немозаичных аллелях гена *penA*;
- замена Leu421Pro в гене *ponA*;
- замены Gly120Lys, Arg, Asp, Asn, Thr и Ala121Asp, Asn, Gly, Val, Ser в гене *porB*.

Биочип также включал молекулярные зонды для определения видоспецифичного для *N. gonorrhoeae* полиморфизма в мобильном элементе *ISNgo2* (см. рис. 1).

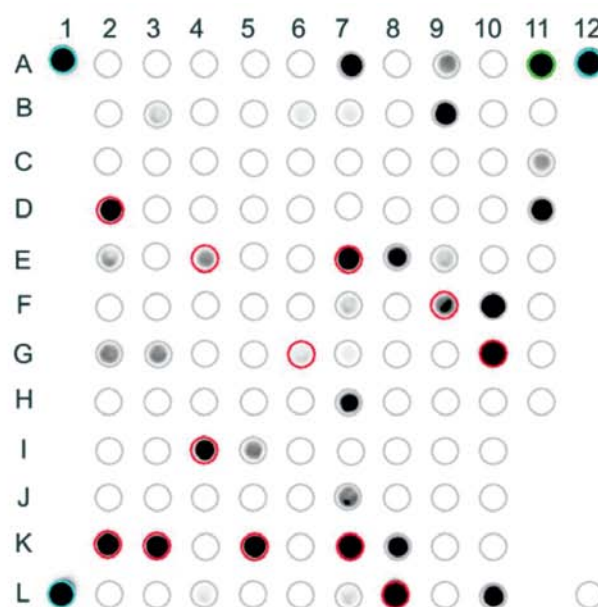
Элементы биочипа представлены в виде кружков, выделенных разными цветами исходя из анализируемого локуса, внутри них указан выявляемый маркер. Элементы с последовательностями зондов, соответствующих дикому типу, обведены толстым контуром. Элементы с индексами «Ng+» и «Ng–» содержат зонды к полиморфным локусам из мобильного элемента *ISNgo2* и служат для видовой идентификации *N. gonorrhoeae*. Ячейки с индексом «0» не содержат олигонуклеотидов и используются для нормировки фонового сигнала. Ячейки с индексом «М» содержат флуоресцентный маркер и необходимы для автоматической обработки гибридизационной картины биочипа.

Процедура анализа включала мультиплексную амплификацию и одновременное флуоресцентное маркирование фрагментов генома *N. gonorrhoeae* с последующей гибридизацией полученных продуктов на биочипе, автоматизированной регистрацией и интерпретацией результатов с использованием универсального аппаратно-программного комплекса для анализа биочипов (ИМБ РАН, Россия). По результатам анализа определяли генетические детерминанты, ассоциированные с устойчивостью *N. gonorrhoeae* к противомикробным препаратам.

Значение МПК цефтриаксона индивидуального изолята с идентифицированным набором генетических детерминант вычисляли с помощью регрессионной модели с 20 параметрами, как описано ранее [16]. На рис. 2 представлены флуоресцентные картины и интерпретация результатов анализа на биочипах с целью идентификации мутаций и предсказания МПК цефтриаксона. Зеленым цветом отмечены элементы биочипа, в которых иммобилизованные зонды сформировали совершенные гибридизационные комплексы с ДНК дикого типа. Красным цветом выделены элементы биочипа с комплексами иммобилизованных молекулярных зондов и ДНК с мутациями (в соответствии со схемой биочипа на рис. 1). Отче-



Обнаружена ДНК *Neisseria gonorrhoeae*
 Не найдены мутации, ассоциированные со снижением чувствительности к цефтриаксону
 Мутации в гене *penA*:
 не найдены
 Мутации в гене *ponA*:
 не найдены
 Мутации в гене *porB*:
 120: не найдены
 121: не найдены
 МПК цефтриаксона (мг/л): 0,002 (< 0,25)
 Изолят чувствителен



Обнаружена ДНК *Neisseria gonorrhoeae*
 Найдены мутации, ассоциированные со снижением чувствительности к цефтриаксону
 Мутации в гене *penA*:
 312: Ile->Met (мозаичная аллель)
 316: Val->Pro (мозаичная аллель)
 345-346: ins Asp
 483: Thr->Ser (мозаичная аллель)
 551: Pro->Ser
 Мутации в гене *ponA*:
 421: Leu->Pro
 Мутации в гене *porB*:
 120: Gly->Asp
 121: Ala->Gly
 МПК цефтриаксона (мг/л): 0,031 (< 0,25)
 Изолят чувствителен

Рис. 2. Флуоресцентные гибридизационные картины и интерпретация результатов анализа изолятов *N. gonorrhoeae* на биочипе с использованием набора реагентов «NG-TECT»
 Fig. 2. Fluorescent hybridization patterns and interpretation of genetic profiling results for antimicrobial resistance determinants in *N. gonorrhoeae* isolates analyzed using the NG-TEST kit

ты об интерпретации результатов в виде подтверждения принадлежности анализируемой ДНК к виду *N. gonorrhoeae*, наличия/отсутствия мутаций в генах *penA*, *ponA* и *porB* и рассчитанных значений МПК цефтриаксона при анализе ДНК: 1) изолята без мутаций, несущего немозаичный ген *penA* (МПК цефтриаксона = 0,002 мг/л); 2) изолята, обладающего мозаичным геном *penA* с различными заменами и множественными мутациями в генах *penA*, *porB*, *ponA* (МПК цефтриаксона = 0,031 мг/л). Оба изолята чувствительны к цефтриаксону в соответствии с критериями МУК 4.2.1890-04.

Определение генетических детерминант устойчивости изолятов *N. gonorrhoeae* к азитромицину, пенициллину, тетрациклину, ципрофлоксацину проводили, как описано ранее [12, 15]. В качестве маркеров устойчивости к азитромицину рассматривали присутствие замены C2611T в 23S рРНК или генетический профиль, в котором присутствует мозаичный аллель промотора *mtrR* совместно с мозаичным аллелем *mtrD*. Ранее была показана состоятельность данного подхода [21].

Статистический анализ

При анализе чувствительности изолятов к цефтриаксону и азитромицину сравнивали результаты определения устойчивости референсным микробиологическим и молекулярным методом и рассчитывали параметры диагностической специфичности (S_p) и чувствительности (S_n) при помощи следующих формул:

$$S_p = T_n / (T_n + F_p) \times 100\%,$$

$$S_n = T_p / (T_p + F_n) \times 100\%,$$

где T_p и T_n — соответственно истинно положительный и истинно отрицательный результаты; F_p и F_n — соответственно ложноположительный и ложноотрицательный результаты.

Результаты

Устойчивость изолятов *N. gonorrhoeae* к цефтриаксону

Все проанализированные изоляты были чувствительны к цефтриаксону. 4,7% изолятов обладало значением МПК цефтриаксона, равным 0,06 мг/л, что ниже порога устойчивости только на два разведения. Распределение генетических детерминант устойчивости в популяции с учетом МПК цефтриаксона представлено на рис. 3. Значительная доля изолятов со сниженной чувствительностью (МПК_{цеф} > 0,03 мг/л) обладала заменами в генах *penA* (312Met, 316Thr, 501Val, 545Ser, 551Ser) и *porB* (120Lys). В большинстве случаев именно сочетания мутаций в генах *penA*, *ponA* и *porB*, а не единичные замены приводили к существенному снижению чувствительности к цефтриаксону. Изоляты со сниженной чувствительностью также характеризовались генетическими профилями, характерными для мозаичных аллелей *penA*, со следующими заменами: Ile312Met, Val316Thr, Asn512Tyr и Gly545Ser. Всего в исследуемой выборке мозаичные аллели гена *penA* обнаружены у 4,3% изолятов (см. рис. 3).

Результаты сравнения значений МПК цефтриаксона, полученных методом серийных разведений, с предсказанным набором «NG-ТЕСТ» значением МПК представлены в табл. 2. Как видно из данных таблицы, предсказанные значения МПК хорошо совпадают с экспериментально измеренными. Для 78% штаммов предсказанные значения отличались не более чем на одно двукратное разведение. При анализе выборки не было получено ложноположительных результатов, все изоляты были корректно определены как чувствительные. Таким образом, современная российская популяция гонококка продолжает оставаться чувствительной к цефтриаксону.

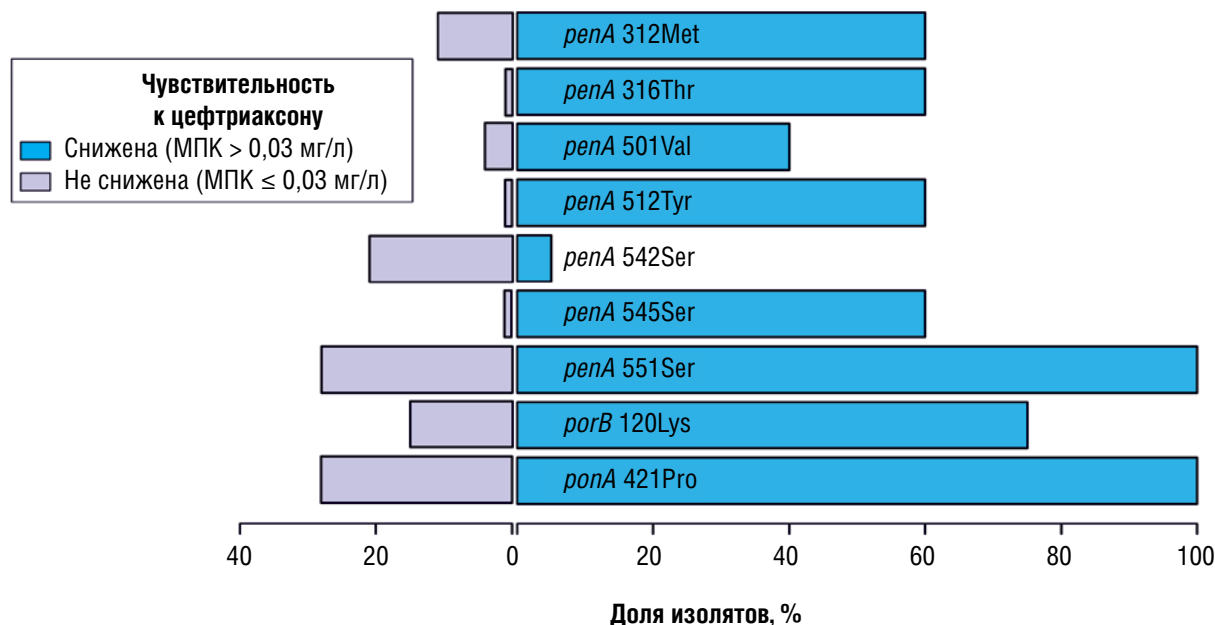


Рис. 3. Распределение замен в генах *penA*, *ponA* и *porB* при разделении изолятов исследуемой выборки на группы со сниженной (МПК_{цеф} > 0,03 мг/л) и несниженной (МПК_{цеф} ≤ 0,03 мг/л) чувствительностью к цефтриаксону

Fig. 3. Distribution of amino acid substitutions in the *penA*, *ponA*, and *porB* genes in *N. gonorrhoeae* isolates stratified by ceftriaxone susceptibility: reduced (MIC_{cef} > 0.03 mg/L) vs. retained (MIC_{cef} ≤ 0.03 mg/L)

Таблица 2. Сравнение результатов определения значения МПК цефтриаксона у штаммов *N. gonorrhoeae*, полученных методом серийных разведений и с использованием набора «NG-ТЕСТ»
Table 2. Comparative analysis of ceftriaxone MIC determination in *N. gonorrhoeae* strains: agar dilution method versus the NG-TEST kit

Фенотипические данные		Предсказанная МПК _{цеф} , мг/л
МПК _{цеф} , мг/л	Число образцов	Среднее геометрическое
0,0015	1	0,005
0,002	114	0,0039
0,004	77	0,0077
0,008	76	0,0091
0,015	39	0,0135
0,03	36	0,009
0,06	17	0,0081

Устойчивость изолятов *N. gonorrhoeae* к азитромицину
Доля изолятов, устойчивых к азитромицину (МПК > 1 мг/л), составила суммарно 11% всей выборки. Распределение генетических профилей, ассоциированных с устойчивостью к азитромицину, при разделении изолятов на чувствительные и устойчивые представлено на рис. 4. В изолятах, устойчивых к азитромицину, наблюдали увеличение доли генотипов с мозаичным промотором гена *mtrR* в сочетании с мозаичным геном *mtrD*. 7,5% устойчивых изолятов обладало заменами C2611T в 23S рРНК, причем во всех случаях они присутствовали во всех четырех копиях *rrn*-оперона. Не было выявлено ни одного изолята с заменами 2058G или 2059G в 23S рРНК. 2,5% изолятов, устойчивых к азитромицину, не содержало мутаций в анализируемых локусах *mtrR*, *mtrD* и 23S рРНК. Наиболее характерный для устойчивых к азитромицину изолятов

генетический профиль включал мозаичный ген *mtrD*, мозаичный промотор *mtrR* и замену в кодирующей области гена *mtrR* Ala86Thr.
По результатам сопоставления данных о фенотипической чувствительности к цефтриаксону и азитромицину и идентификации генетических детерминант устойчивости к указанным препаратам с использованием микрочиповых технологий определены диагностические характеристики молекулярных методов (табл. 3).

Устойчивость изолятов *N. gonorrhoeae* к ципрофлоксацину, тетрациклину и пенициллину
Устойчивость к ципрофлоксацину. В среднем доля изолятов, устойчивых к ципрофлоксацину (МПК ≥ 1 мг/л), составила 49%; 1% обладал промежуточной устойчивостью (МПК — 0,12–0,50 мг/л) и 50% было чувствительно (МПК ≤ 0,06 мг/л). Распределение

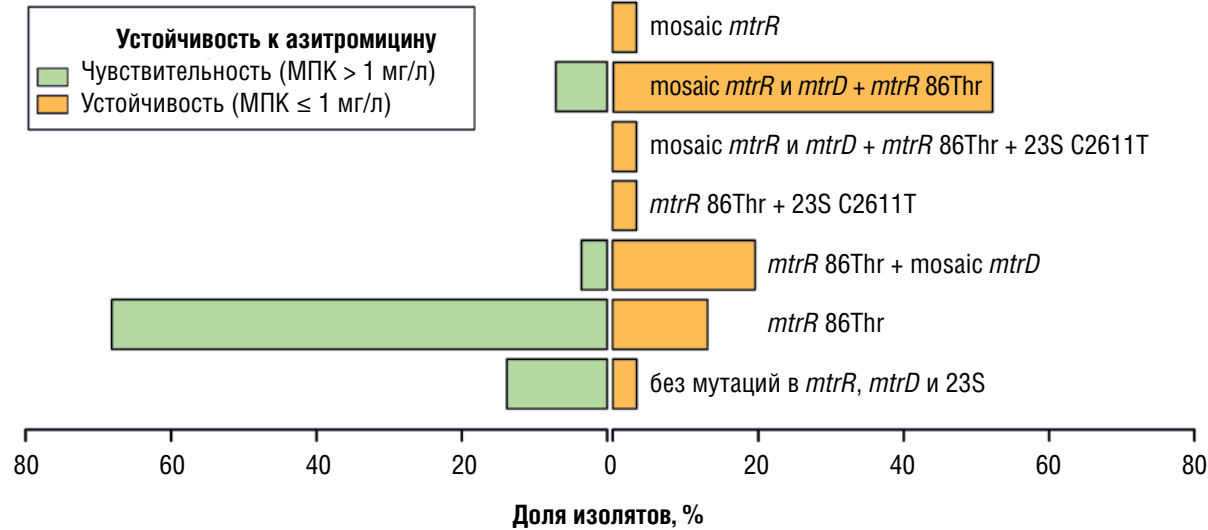


Рис. 4. Распределение генетических профилей локусов *mtrR*, *mtrD* и 23S рРНК в устойчивых и чувствительных к азитромицину изолятах в исследуемой выборке
Fig. 4. Distribution of resistance-associated genetic profiles in the *mtrR*, *mtrD*, and 23S rRNA loci among azithromycin-resistant versus azithromycin-susceptible *N. gonorrhoeae* isolates within the study sample

Таблица 3. Сравнение результатов определения чувствительности штаммов *N. gonorrhoeae* к цефтриаксону и азитромицину методом серийных разведений и с использованием микрочиповых технологий
Table 3. Comparative analysis of *N. gonorrhoeae* susceptibility to ceftriaxone and azithromycin: concordance between agar dilution assay and microarray-based technologies

Препарат	Характеристика устойчивости	Число изолятов с соответствующим фенотипом	Наличие детерминант устойчивости	Чувствительность, %	Специфичность, %
Цефтриаксон	Чувствительные	360	0	—	100
	Устойчивые	0	0		
Азитромицин	Чувствительные	339	24	88	93
	Устойчивые	21	18		

генетических профилей, характеризующих устойчивость *N. gonorrhoeae* к ципрофлоксацину, при разделении выборки изолятов на чувствительные, промежуточно устойчивые и резистентные представлено на рис. 5.

В большинстве устойчивых к ципрофлоксацину изолятов выявлялись мутации в «хинолоновом кармане», среди которых необходимо отметить замену Ser91Phe в гене *gyrA*. В исследуемой выборке она, как правило, не являлась единственной, а обнаруживалась в сочетании с заменами *gyrA* 95Ala/Gly/Asn и/или *parC* 87Arg/91Gly, что приводило к резкому превышению МПК выше порога устойчивости (от 4 до 16 мг/л как для первого, так и для второго профиля соответственно).

Устойчивость к пенициллину. Доля изолятов, устойчивых к пенициллину (МПК ≥ 2 мг/л), составила 8%; 41% обладал промежуточной устойчивостью (МПК — 0,12–1,00 мг/л); 50% было чувствительно (МПК ≤ 0,06 мг/л). Распределение генетических профилей, характеризующих устойчивость *N. gonorrhoeae* к пенициллину, при разделении выборки изолятов на чувствительные, промежуточно устойчивые и резистентные представлено на рис. 6.

31% устойчивых изолятов несли плазмиду blaTEM, наличие которой повышало МПК пенициллина до 4–32 мг/л. Замена в гене *penA* Leu421Pro в сочетании с мутациями в генах *penA* и *porB* встречалась в 55% устойчивых изолятов. Существенная доля чувствительных изолятов обладала изолированной вставкой аспартата в кодоне 345 гена *penA*. Наиболее характерный для устойчивых к пенициллину изолятов генетический профиль включал замену в гене *penA* Leu421Pro, вставку аспартата в кодоне 345 гена *penA* с заменой Gly542Ser в этом же гене и мутацию Gly120Lys в гене *porB*.

Устойчивость к тетрациклину. В среднем доля изолятов, устойчивых к тетрациклину (МПК ≥ 2 мг/л), составила 21%; 30% обладало промежуточной устойчивостью (МПК — 0,5–1,0 мг/л); 43% было чувствительно (МПК ≤ 0,25 мг/л). Распределение генетических профилей, характеризующих устойчивость *N. gonorrhoeae* к тетрациклину, при разделении выборки изолятов на чувствительные, промежуточно устойчивые и резистентные представлено на рис. 7.

62% изолятов, устойчивых к тетрациклину, несло конъюгативную плазмиду tetM, наличие которой повы-

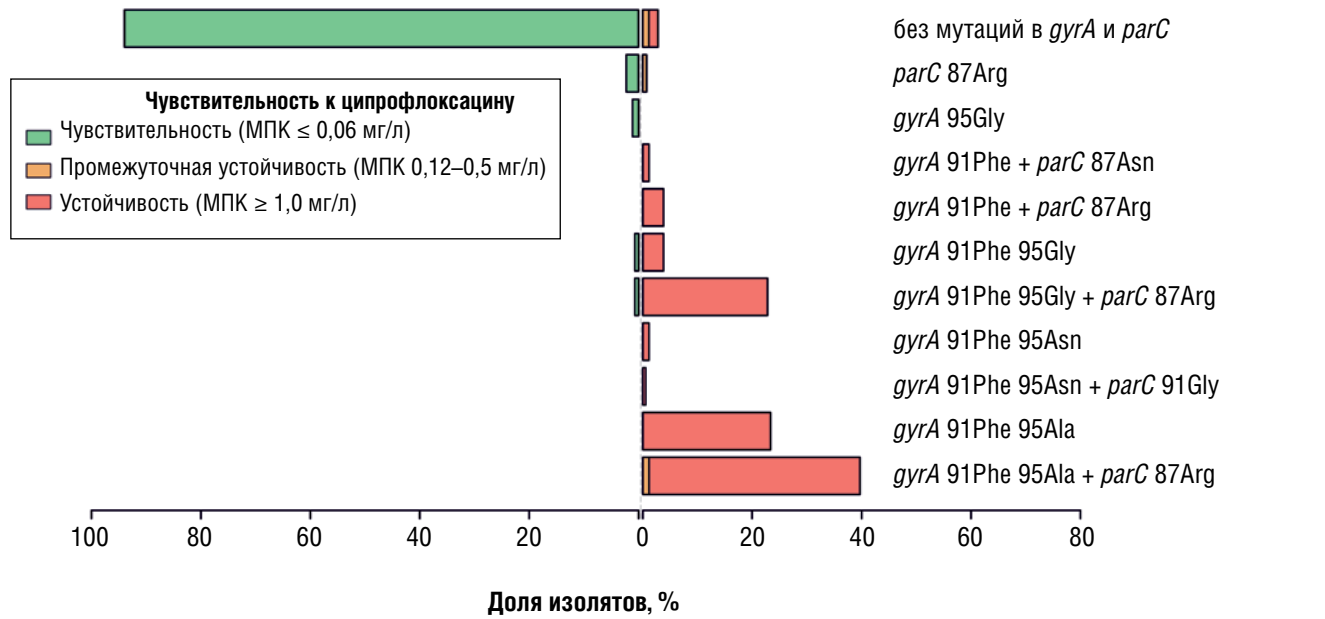


Рис. 5. Распределение генетических профилей локусов *gyrA* и *parC* в устойчивых и чувствительных к ципрофлоксацину изолятах в исследуемой выборке
Fig. 5. Distribution of resistance-associated genetic profiles in the *gyrA* and *parC* loci among ciprofloxacin-resistant versus ciprofloxacin-susceptible *N. gonorrhoeae* isolates within the study sample

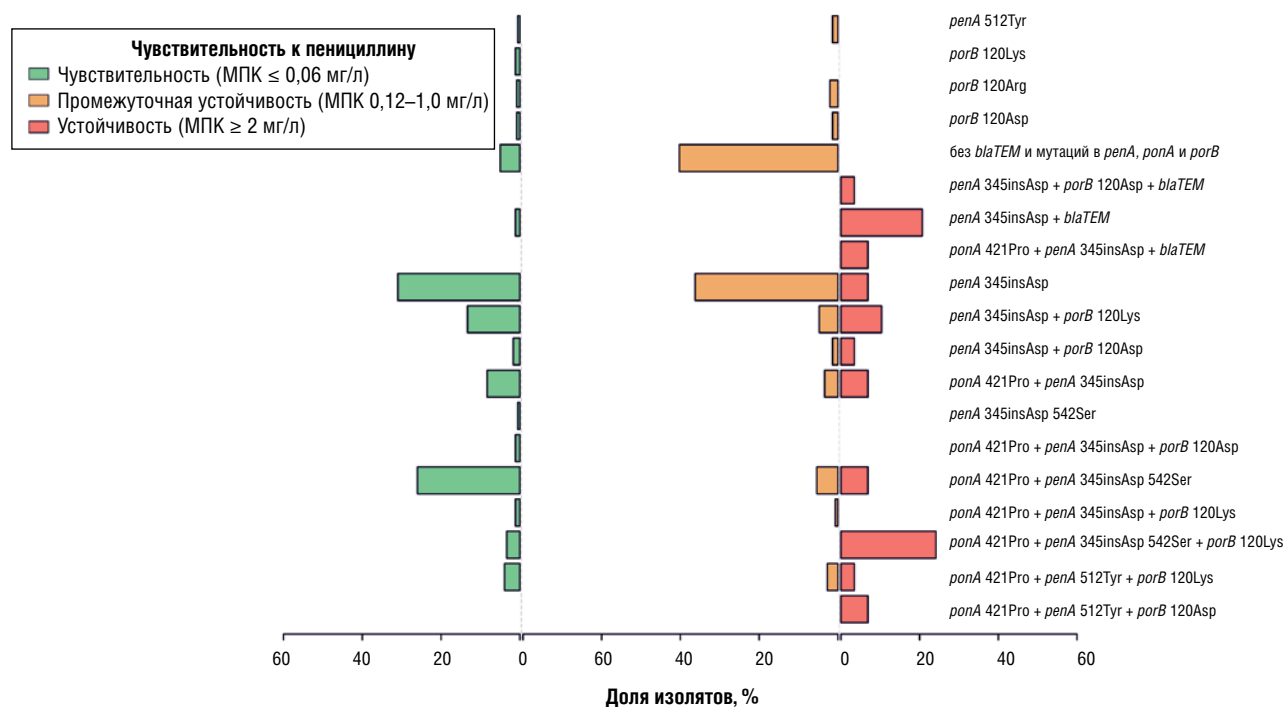


Рис. 6. Распределение генетических профилей локусов *penA*, *ponA*, *porB* и *blaTEM* в устойчивых и чувствительных к пенициллину изолятах в исследуемой выборке
Fig. 6. Distribution of resistance-associated genetic profiles in the *penA*, *ponA*, *porB* and *blaTEM* loci among penicillin-resistant versus penicillin-susceptible *N. gonorrhoeae* isolates within the study sample

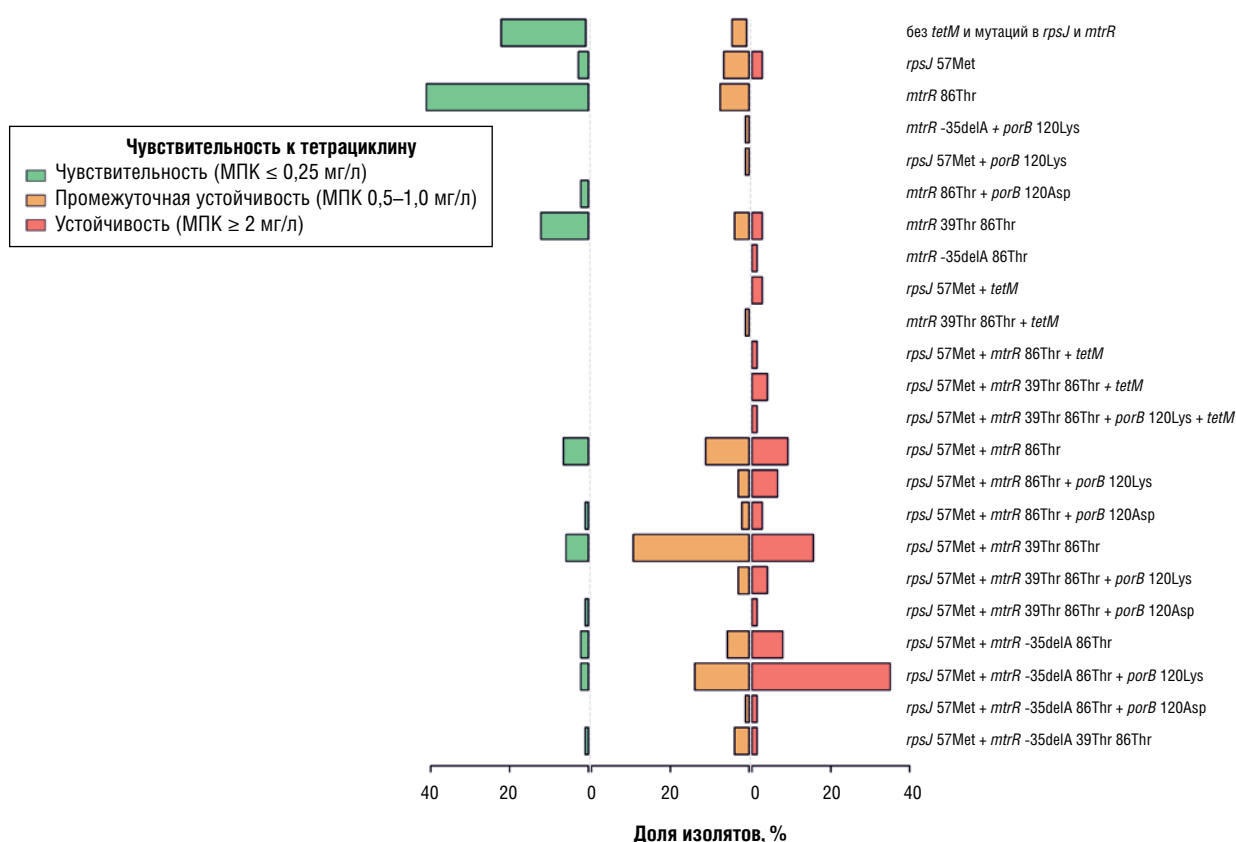


Рис. 7. Распределение генетических профилей локусов *rpsJ*, *mtrR*, *porB* и *tetM* в устойчивых и чувствительных к тетрациклину изолятах в исследуемой выборке
Fig. 7. Distribution of resistance-associated genetic profiles in the *rpsJ*, *mtrR*, *porB* and *tetM* loci among tetracycline-resistant versus tetracycline-susceptible *N. gonorrhoeae* isolates within the study sample

шало МПК тетрациклина до 4–16 мг/л. Изолированная мутация в кодирующей области гена *mtrR* Ala86Thr существенно чаще встречалась в чувствительных изолятах. Наиболее характерный для устойчивых к тетрациклину изолятов без конъюгативной плазмиды генетический профиль включал замену Val57Met в гене *rpsJ*, делецию аденина в положении -35 промотора гена *mtrR* и замену Ala86Thr в этом же гене, а также мутацию Gly120Lys в гене *porB*.

Динамика устойчивости изолятов *N. gonorrhoeae* к противомикробным препаратам в 2019–2023 гг.

Анализ распространения генетических профилей, характеризующих устойчивость *N. gonorrhoeae* к противомикробным препаратам, показывает различные тенденции в распространении характерных детерминант, вносящих наибольший вклад в повышение МПК. Доли изолятов с характерными генетическими детерминантами

устойчивости к ципрофлоксацину, пенициллину, тетрациклину и азитромицину в 2019–2023 гг. представлены на рис. 8.

Исчезновение изолятов, устойчивых к пенициллину, происходит на фоне ухода из популяции (по крайней мере в анализируемой выборке) штаммов с плазмидным геном *blaTEM* и снижения доли изолятов с хромосомными детерминантами устойчивости — заменой в гене *penA* Leu421Pro и вставкой аспартата в кодоне 345 гена *penA*.

Обратная тенденция наблюдается при анализе устойчивости к тетрациклину: регистрируется рост доли изолятов с хромосомными детерминантами, локализованными в генах *rpsJ*, *mtrR* и *porB*. Особо следует отметить сохранение штаммов с плазмидным геном *tetM* — наиболее «мощной» детерминантой устойчивости к тетрациклину. В целом доля изолятов, устойчивых тетрациклину, остается на стабильно высоком уровне (~30%).

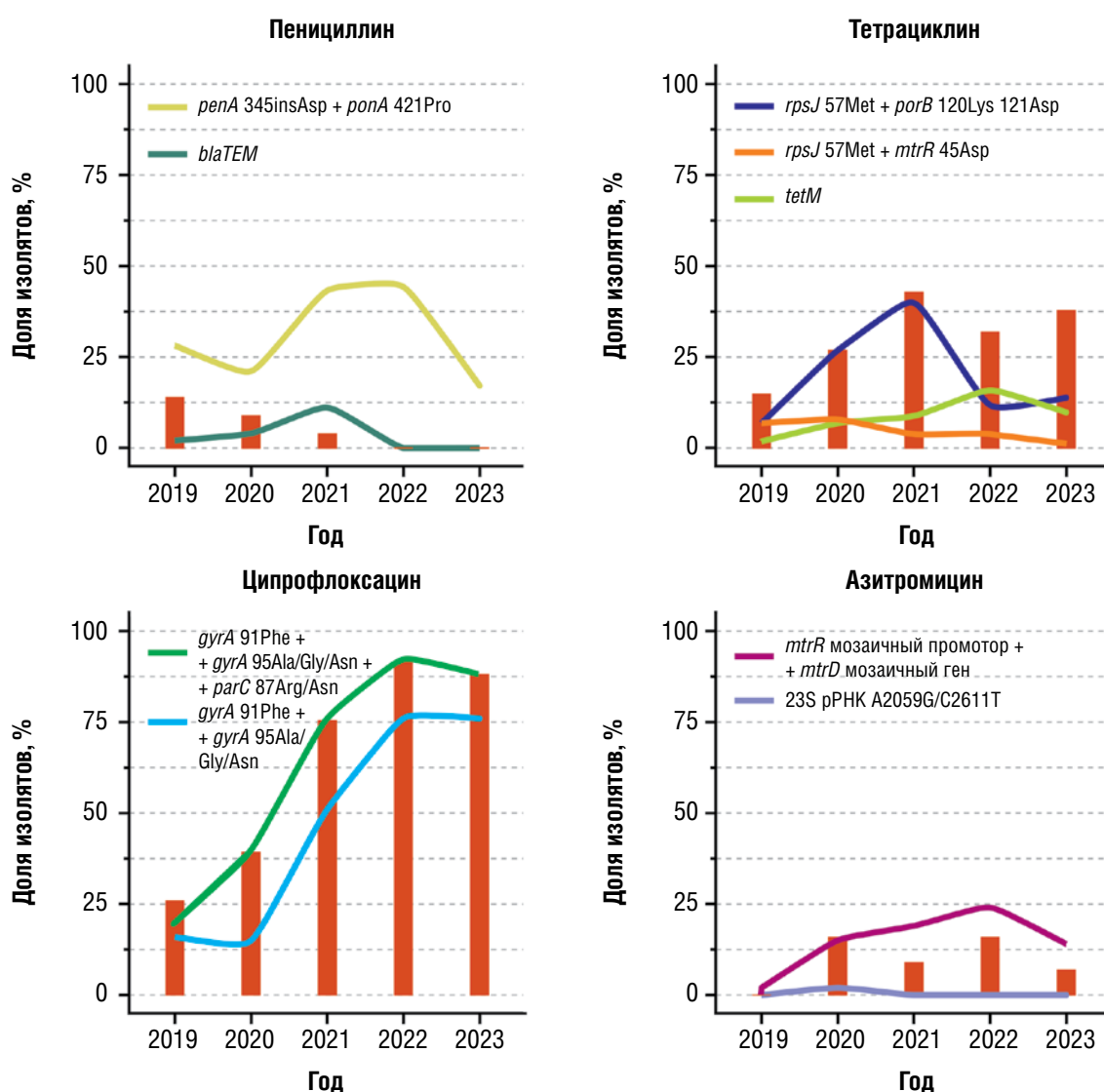


Рис. 8. Динамика встречаемости в 2019–2023 гг. изолятов *N. gonorrhoeae*, устойчивых к пенициллину, тетрациклину, ципрофлоксацину, азитромицину, обладающих генетическими детерминантами, вносящими наибольший вклад в повышение МПК. Линиями обозначено изменение долей характерных генетических детерминант. Столбцы гистограммы отражают ежегодную долю изолятов с фенотипической устойчивостью к соответствующему противомикробному препарату

Fig. 8. Temporal trends (2019–2023) in *N. gonorrhoeae* isolates resistant to penicillin, tetracycline, ciprofloxacin, and azithromycin, with genetic determinants driving elevated MICs. Bar plots illustrate the annual proportion of isolates exhibiting phenotypic resistance to each corresponding antimicrobial agent

Ежегодное повышение доли устойчивых к ципрофлоксацину изолятов подтверждается соответствующими детерминантами в генах *gyrA* и *parC*, включающих в себя в том числе замену Ser91Phe в *gyrA*. Тенденции к снижению устойчивости *N. gonorrhoeae* к фторхинолонам в России в настоящее время не наблюдается.

В 2019 г. не было выявлено ни одного устойчивого к азитромицину изолята. Их появление датировано 2020 г. с закреплением в российской популяции гонококка штаммов, обладающих мозаичным промотором гена *mtrR* вместе с мозаичным геном *mtrD*. В то же время изоляты с мутациями в гене 23S рРНК остаются редкими: за рассматриваемый период было выявлено только три изолята с полиморфизмом C2611T.

Обсуждение

Результаты данного исследования показывают, что устойчивость гонококка к цефтриаксону в России соответствует критерию ВОЗ для применения антибиотика (доля чувствительных изолятов в популяции — более 95%). В то же время почти 5% выявленных изолятов со сниженной чувствительностью (МПК > 0,03 мг/л) к цефтриаксону и распространение устойчивых штаммов по всему миру в совокупности с применением цефтриаксона в качестве противомикробного препарата выбора обуславливают важность использования молекулярных методов для анализа устойчивости *N. gonorrhoeae* к данному препарату.

С 2020 г. зарегистрировано появление и закрепление в российской популяции гонококка изолятов, резистентных к азитромицину, ранее встречавшихся только спорадически [22]. Ввиду существенной доли таких изолятов, превышающей критерий ВОЗ, целесообразность применения данного препарата для терапии гонококковой инфекции в общем случае поставлена под сомнение.

В исследовании изолятов, полученных в России в 2005–2016 гг., была отмечена тенденция к снижению устойчивости к пенициллину, тетрациклину и ципрофлоксацину, связанная с исключением данных препаратов из схем терапии [22]. Результаты настоящей работы показывают, что такая тенденция сохраняется только до пенициллина. По-прежнему существует доля штаммов с промежуточной устойчивостью (или штаммов, устойчивых при повышенной экспозиции) при сокращении и элиминации изолятов с истинно резистентным к пенициллину фенотипом. Интересной особенностью популяции 2022–2023 гг. стала очень малая доля изолятов с плазмидным геном *blaTEM* при сохранении изолятов с плазмидами *tetM*. Ранее показано, что конъюгативная плазида *tetM* у *N. gonorrhoeae* может способствовать переносу в клетку других плазмид, в том числе *blaTEM* [23], которые часто обнаруживаются совместно с плазмидами *tetM* [24]. Несмотря на прекращение использования ципрофлоксацина для терапии гонореи, наблюдается рост изолятов с множественными детерминантами устойчивости во «фторхинолоновом кармане» (в генах *gyrA* и *parC*) и сохранение стабильно высокой доли изолятов, устойчивых к ципрофлоксацину. В отсутствие селективного давления препарата эти мутации должны негативно воздействовать на бактериальный фитнес, однако данный процесс парадоксальным образом не сопровождается быстрой элиминацией соответствующих вариантов из популяции *N. gonorrhoeae*.

Разработанные микрочиповые технологии валидированы с использованием 360 клинических изолятов.

Диагностическая специфичность набора реагентов «NG-ТЕСТ» составила 100%, при этом не было получено ни одного ложноотрицательного результата. Отличительной особенностью созданного метода является не просто разделение изолятов на чувствительные и устойчивые, но и определение значения МПК цефтриаксона для анализируемого образца. В настоящем исследовании метод показал хорошую сходимость с фенотипическим определением МПК для 78% изолятов. Помимо предсказания МПК, разработанный метод предоставляет данные о наличии генетических детерминант лекарственной устойчивости к цефалоспорином, а значит, пригоден для решения задач как клинической лабораторной диагностики, так и молекулярной эпидемиологии гонококка.

При определении устойчивости к азитромицину с использованием биочипа получены значения диагностической чувствительности и специфичности 88% и 93%, соответственно. Эти характеристики сопоставимы с результатами, получаемыми при анализе данных полногеномного секвенирования азитромицин-устойчивых изолятов *N. gonorrhoeae*. Согласно данным базы Pathogenwatch, чувствительность и специфичность такого метода составляют 72% и 100%, соответственно [25].

Определенный интерес для молекулярной эпидемиологии также представляют описанные ранее биочипы [12, 14, 15], позволяющие получать данные о детерминантах устойчивости *N. gonorrhoeae* к применявшимся ранее ципрофлоксацину, пенициллину и тетрациклину. При анализе популяции гонококка показано, что для предсказания чувствительности изолята к противомикробным препаратам необходимо учитывать генетический профиль из мутаций в разных локусах, при этом вклад каждой мутации в фенотипическую чувствительность в общем случае различен. Использование микрочиповых технологий позволит в перспективе осуществлять динамическое наблюдение путей переноса *N. gonorrhoeae* в регионах, улучшить систему эпидемиологического наблюдения и повысить эффективность лечения гонореи.

Заключение

В российской популяции *N. gonorrhoeae* происходят активные процессы, связанные с перераспределением долей изолятов, устойчивых к разным противомикробным препаратам. С 2020 г. резко возросла устойчивость к азитромицину, увеличивается доля изолятов, устойчивых к ципрофлоксацину, произошло восстановление чувствительности к пенициллину, но при этом вся популяция остается чувствительной к цефтриаксону.

Разработанный и валидированный на 360 образцах набор реагентов «NG-ТЕСТ» обеспечивает быстрое определение устойчивости *N. gonorrhoeae* к цефтриаксону посредством одновременной идентификации генетических детерминант устойчивости в генах *penA*, *ponA* и *porB* и расчета значения МПК. Этот метод и другие микрочиповые технологии для определения детерминант устойчивости *N. gonorrhoeae* к противомикробным препаратам могут быть использованы в качестве вспомогательного инструмента выявления резистентных штаммов *N. gonorrhoeae*. Применение микрочиповых технологий будет способствовать как выбору правильной стратегии лечения конкретного пациента, так и сбору эпидемиологической информации, обеспечивающей возможность наблюдения за молекулярно-эпидемиологической картиной на уровне популяций. ■

Литература/References

1. Global health sector strategies on, respectively, HIV, viral hepatitis and sexually transmitted infections for the period 2022–2030. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2022. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240053779>
2. Shaskolskiy B, Kandinov I, Demetieva E, Gryadunov D. Antibiotic Resistance in *Neisseria gonorrhoeae*: Challenges in Research and Treatment. *Microorganisms*. 2022;10(9):1699. doi: 10.3390/microorganisms10091699
3. Maubaret C, Caméléna F, Mirmèche M, Braille A, Liberge M, Mainardis M, et al. Two cases of extensively drug-resistant (XDR) *Neisseria gonorrhoeae* infection combining ceftriaxone-resistance and high-level azithromycin resistance, France, November 2022 and May 2023. *Euro Surveill*. 2023;28(37):2300456. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2023.28.37.2300456
4. Pleininger S, Indra A, Golparian D, Heger F, Schindler S, Jacobsson S, et al. Extensively drug-resistant (XDR) *Neisseria gonorrhoeae* causing possible gonorrhoea treatment failure with ceftriaxone plus azithromycin in Austria, April 2022. *Euro Surveill*. 2022;27(24):2200455. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2022.27.24.2200455
5. Красносельский Т.В., Соколовский Е.В., Рахматулина М.Р., Новоселова Е.Ю., Мелехина Л.Е. Заболеваемость сифилисом и некоторыми другими ИППП в Российской Федерации: прошлое, настоящее и пути достижения контроля эпидемиологической ситуации в будущем. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2023;99(4):41–59. [Krasnoselskikh TV, Sokolovskiy EV, Rakhmatulina MR, Novoselova EYu, Melekhina LE. Syphilis and some other STIs in the Russian Federation: past, present and ways to control of the epidemiological situation in the future. *Vestnik Dermatologii i Venerologii*. 2023;99(4):41–59. (In Russ.)] doi: 10.25208/vdv13726
6. Шагабиева Ю.З., Носов Н.Ю., Шпилевая М.В., Дерябин Д.Г., Образцова О.А., Никонорова Е.Р., и др. Анализ динамики устойчивости *Neisseria gonorrhoeae* к антимикробным препаратам в РФ за период 2005–2021 гг. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2023;99(3):53–62. [Shagabieva JZ, Nosov NYu, Shpilevaya MV, Deryabin DG, Obratsova OA, Nikonorova ER, et al. Analysis of the dynamics of *Neisseria gonorrhoeae* resistance to antimicrobial drugs in the Russian Federation for the period 2005–2021. *Vestnik Dermatologii i Venerologii*. 2023;99(3):53–62. (In Russ.)] doi: 10.25208/vdv1410
7. Xiaoyu Z, Yue Xi, Xiangdong G, Shaochun C. Ceftriaxone-Resistant Gonorrhea — China, 2022. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2024;73(12):255–259. doi: 10.15585/mmwr.mm7312a2
8. Reimche JL, Pham CD, Joseph SJ, Hutton S, Cartee JC, Ruan Y, et al. Novel strain of multidrug non-susceptible *Neisseria gonorrhoeae* in the USA. *Lancet Infect Dis*. 2024;24(3):e149–e151. doi: 10.1016/S1473-3099(23)00785-5
9. Day M, Pitt R, Mody N, Saunders J, Rai R, Nori A, et al. Detection of 10 cases of ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* in the United Kingdom, December 2021 to June 2022. *Euro Surveill*. 2022;27(46):2200803. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2022.27.46.2200803
10. Crucitti T, Belinga S, Fonkoua M, Abanda M, Mbanzouen W, Sokeng E, et al. Sharp increase in ciprofloxacin resistance of *Neisseria gonorrhoeae* in Yaounde, Cameroon: analyses of a laboratory database period 2012–2018. *Int J STD AIDS*. 2020;31(6):579–586. doi: 10.1177/0956462419897227
11. Caméléna F, Mirmèche M, Brousseau J, Mainardis M, Verger P, Le Risbé C, et al. Emergence of Extensively Drug-Resistant *Neisseria gonorrhoeae* France, 2023. *Emerg Infect Dis*. 2024;30(9):1903–1906. doi: 10.3201/eid3009.240557
12. Kandinov I, Dementieva E, Filippova M, Vinokurova A, Gorshkova S, Kubanov A, et al. Emergence of Azithromycin-Resistant *Neisseria gonorrhoeae* Isolates Belonging to the NG-MAST Genogroup 12302 in Russia. *Microorganisms*. 2023;11(5):1226. doi: 10.3390/microorganisms11051226
13. Updated recommendations for the treatment of *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, and *Treponema pallidum* (syphilis) and new recommendations on syphilis testing and partner services. World Health Organization; 2024. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240090767>
14. Gryadunov DA, Shaskolskiy BL, Nasedkina TV, Rubina AY, Zasedatelev AS. The EIMB Hydrogel Microarray Technology: Thirty Years Later. *Acta Naturae*. 2018;10(4):4–18. doi: 10.32607/20758251-2018-10-4-4-18
15. Shaskolskiy B, Kandinov I, Kravtsov D, Vinokurova A, Gorshkova S, Filippova M, et al. Hydrogel Droplet Microarray for Genotyping Antimicrobial Resistance Determinants in *Neisseria gonorrhoeae* Isolates. *Polymers (Basel)*. 2021;13(22):3889. doi: 10.3390/polym13223889
16. Shaskolskiy B, Kandinov I, Kravtsov D, Filippova M, Chestkov A, Solomka V, et al. Prediction of ceftriaxone MIC in *Neisseria gonorrhoeae* using DNA microarray technology and regression analysis. *J Antimicrob Chemother*. 2021;76(12):3151–3158. doi: 10.1093/jac/dkab308
17. Стандартные операционные процедуры по забору клинического материала у пациентов с подозрением на гонококковую инфекцию СОП № ГОН 002/04. М.: ДЭКС-ПРЕСС; 2008. 20 с. [Standartnye operacionnye procedury po zaboru klinicheskogo materiala u pacientov s podozreniem na gonokokkovuju infekciju (SOP No. GON 002/04). Moscow: DEKS-PRESS; 2008. (In Russ.)]
18. Кубанова А.А., Фриго Н.В., Кубанов А.А., и др. Стандартные операционные процедуры по транспортировке и доставке клинического материала и выделенных культур возбудителя гонореи СОП № ГОН 001/03. М.: ДЭКС-ПРЕСС; 2008. 17 с. [Kubanov AA, Frigo NV, Kubanov AA, et al. Standartnye operacionnye procedury po transportirovke i dostavke klinicheskogo materiala i vydelennykh kul'tur vzbuditelja gonorei (SOP No. GON 001/03). Moscow: DEKS-PRESS; 2008. (In Russ.)]
19. Кубанова А.А., Кубанов А.А., Фриго Н.В., и др. Стандартные операционные процедуры по проведению видовой идентификации возбудителя гонореи СОП № ГОН 003/04, СОП № ГОН 004/04, СОП № 005/04. М.: ДЭКС-ПРЕСС; 2008. 29 с. [Kubanov AA, Kubanov AA, Frigo NV, et al. Standartnye operacionnye procedury po provedeniju vidovoj identifikacii vzbuditelja gonorei (SOP No. GON 003/04; SOP No. GON 004/04; SOP No. GON 005/04). Moscow: DEKS-PRESS; 2008. (In Russ.)]
20. Кубанова А.А., Фриго Н.В., Кубанов А.А. и др. Стандартные операционные процедуры по методам определения чувствительности гонококка к антибактериальным препаратам. М.: ДЭКС-ПРЕСС; 2008. 16 с. [Kubanov AA, Frigo NV, Kubanov AA, et al. Standartnye operacionnye procedury po metodam opredelenija chuvstvitel'nosti gonokokka k antibakterial'nym preparatam (SOP No. GON 006/03). Moscow: DEKS-PRESS; 2008. 16 s. (In Russ.)]
21. Kandinov I, Shaskolskiy B, Kravtsov D, Vinokurova A, Gorshkova S, Kubanov A, et al. Azithromycin Susceptibility Testing and Molecular Investigation of *Neisseria gonorrhoeae* Isolates Collected in Russia, 2020–2021. *Antibiotics (Basel)*. 2023;12(1):170. doi: 10.3390/antibiotics12010170
22. Kubanov A, Solomka V, Plakhova X, Chestkov A, Petrova N, Shaskolskiy B, et al. Summary and Trends of the Russian Gonococcal Antimicrobial Surveillance Programme, 2005 to 2016. *J Clin Microbiol*. 2019;57(6):e02024-18. doi: 10.1128/JCM.02024-18
23. Roberts MC, Knapp JS. Transfer of beta-lactamase plasmids from *Neisseria gonorrhoeae* to *Neisseria meningitidis* and commensal *Neisseria* species by the 25.2-megadalton conjugative plasmid. *Antimicrob Agents Chemother*. 1988;32(9):1430–1432. doi: 10.1128/AAC.32.9.1430
24. Shaskolskiy B, Dementieva E, Kandinov I, Filippova M, Petrova N, Plakhova X, et al. Resistance of *Neisseria gonorrhoeae* isolates to beta-lactam antibiotics (benzylpenicillin and ceftriaxone) in Russia, 2015–2017. *PLoS One*. 2019;14(7):e0220339. doi: 10.1371/journal.pone.0220339
25. Sánchez-Busó L, Yeats CA, Taylor B, Goater RJ, Underwood A, Abudahab K, et al. A community-driven resource for genomic epidemiology and antimicrobial resistance prediction of *Neisseria gonorrhoeae* at Pathogenwatch. *Genome Med*. 2021;13(1):61. doi: 10.1186/s13073-021-00858-2

Участие авторов: все авторы несут ответственность за содержание и целостность всей статьи. Концепция и дизайн исследования — Б.Л. Шаскольский, Д.А. Грядунов; сбор и обработка материала — Ю.З. Шагабиева, М.В. Шpileвая; экспериментальные исследования — Д.В. Кравцов, И.Д. Кандинов, Н.Ю. Носов; обработка результатов — Б.Л. Шаскольский, Д.В. Кравцов; написание текста статьи, редактирование рукописи — Б.Л. Шаскольский, Д.А. Грядунов.

Authors' participation: all authors: approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article. Concept and design of the study — Boris L. Shaskolskiy, Dmitry A. Gryadunov; collection and processing of material — Julia Z. Shagabieva, Marina V. Shpilevaya; experimental investigation — Dmitry V. Kravtsov, Ilya D. Kandinov, Nikita Yu. Nosov; data analysis — Boris L. Shaskolskiy, Dmitry V. Kravtsov; text writing, editing — Boris L. Shaskolskiy, Dmitry A. Gryadunov.

Информация об авторах

***Шаскольский Борис Леонидович** — к.х.н.; адрес: Россия, 119991, Москва, ул. Вавилова, д. 32; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0316-2262>; eLibrary SPIN: 2374-4539; e-mail: bls@shaskolskiy.ru
Кравцов Дмитрий Витальевич — ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4180-6898>; eLibrary SPIN: 7600-3971; e-mail: solo13.37@yandex.ru
Кандинов Илья Денисович — к.б.н.; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9416-875X>; eLibrary SPIN: 8118-6614; e-mail: ilya9622@gmail.com
Грядунов Дмитрий Александрович — д.б.н.; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3183-318X>; eLibrary SPIN: 6341-2455; e-mail: grad@biochip.ru
Шpileвая Марина Валентиновна — к.б.н.; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9957-4009>; eLibrary SPIN: 6600-3311; e-mail: aniram1970@list.ru
Шагабиева Юлия Зинуровна — к.х.н.; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7595-0276>; eLibrary SPIN: 7270-5113; e-mail: shagabieva1412@mail.ru
Носов Никита Юрьевич — к.б.н.; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3967-8359>; eLibrary SPIN: 8806-8539; e-mail: nosovnj@mail.ru

Information about the authors

***Boris L. Shaskolskiy** — Cand. Sci. (Chem.); address: 32 Vavilova street, 119991 Moscow, Russia; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0316-2262>; eLibrary SPIN: 2374-4539; e-mail: bls@shaskolskiy.ru
Dmitry V. Kravtsov — ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4180-6898>; eLibrary SPIN: 7600-3971; e-mail: solo13.37@yandex.ru
Ilya D. Kandinov — Cand. Sci. (Biol.); ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9416-875X>; eLibrary SPIN: 8118-6614; e-mail: ilya9622@gmail.com
Dmitry A. Gryadunov — Dr. Sci. (Biol.); ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3183-318X>; eLibrary SPIN: 6341-2455; e-mail: grad@biochip.ru
Marina V. Shpilevaya — Cand. Sci. (Biol.); ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9957-4009>; eLibrary SPIN: 6600-3311; e-mail: aniram1970@list.ru
Julia Z. Shagabieva — Cand. Sci. (Chem.); ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7595-0276>; eLibrary SPIN: 7270-5113; e-mail: shagabieva1412@mail.ru
Nikita Yu. Nosov — Cand. Sci. (Biol.); ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3967-8359>; eLibrary SPIN: 8806-8539; e-mail: nosovnj@mail.ru

Статья поступила в редакцию: 10.10.2024
 Принята к публикации: 19.01.2025
 Опубликовано онлайн: 26.01.2025

Submitted: 10.10.2024
 Accepted: 19.01.2025
 Published online: 26.01.2025