

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-240

**НОВЫЙ МЕТОД МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ТИПИРОВАНИЯ
ВОЗБУДИТЕЛЯ ГОНОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ*****A NEW METHOD FOR THE MOLECULAR GENETIC TYPING
OF THE CAUSATIVE AGENT OF GONOCOCCAL INFECTION**

И. Д. Кандинов, Б. Л. Шаскольский, А. А. Ларкин, Д. В. Кравцов, Д. А. Грядунов

Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва

I. D. Kandinov, B. L. Shaskolskiy, A. A. Larkin, D. V. Kravtsov, D. A. Gryadunov

Engelhardt Institute of Molecular Biology RAS, Moscow

✉ ilya9622@gmail.com

Аннотация

Глобальная проблема лекарственной устойчивости возбудителя гонококковой инфекции *Neisseria gonorrhoeae* требует совершенствования схем молекулярного типирования, пригодных для быстрого и массового скрининга. Целью настоящего исследования являлась разработка и апробация нового метода молекулярно-генетического типирования *N. gonorrhoeae* на основе отечественной технологии гидрогелевых олигонуклеотидных микрочипов.

Abstract

The global problem of drug resistance of the gonococcal pathogen *Neisseria gonorrhoeae* necessitates the improvement of molecular typing schemes that are suitable for rapid and mass screening. The objective of the study was to develop and validate a new method of molecular genetic typing of *N. gonorrhoeae* based on domestic technology of hydrogel oligonucleotide microarrays.

Гонорея — это инфекционное заболевание, передающееся половым путем, которое признано Всемирной организацией здравоохранения серьезной угрозой репродуктивному здоровью населения [1]. Одной из причин появления опасных генотипов возбудителя гонококковой инфекции *N. gonorrhoeae* в России является трансграничный перенос изолятов из других стран [2]. На фоне мирового роста устойчивости *N. gonorrhoeae* к актуальным антимикробным препаратам Россия уже в ближайшем будущем неизбежно столкнется с неэффективностью современных схем терапии и ростом заболеваемости.

Современные методы генотипирования *N. gonorrhoeae*, с помощью которых ведется непрерывный мониторинг за распространением резистентных штаммов, являются несовершенными. Multilocus Sequence Typing (MLST) — широко применяемый метод для молекулярно-генетического типирования *N. gonorrhoeae* [3]. Для MLST-генотипирования используются высококонсервативные, медленно эволюционирующие гены, последовательности которых для большинства бактерий, включая *Neisseria sp.*, представлены в базе данных PubMLST (<https://pubmlst.org/>). Секвенируют последовательности в основном по Сэнгеру, редко с использованием современных методов высокопроизводительного секвенирования, что является весьма трудоемким и дорогостоящим для рутинного генотипирования клинических изолятов *N. gonorrhoeae* и создает предпосылки для разработки новых подходов к молекулярно-генетическому типированию *N. gonorrhoeae*, пригодных для быстрого и массового скрининга.

Проанализировано 21 402 генома изолятов с известными MLST-генотипами из базы данных PubMLST. Используя последовательности семи высококонсервативных генов домашнего хозяйства, выявлено восемнадцать информативных полиморфизмов, составивших нуклеотидные профили (mini-MLST) для предсказания MLST-генотипов изолятов. На основе mini-MLST предложена новая система группировки отдельных сиквенс-типов в генетические группы (геногруппы). Проведенный филогенетический анализ глобальной популяции *N. gonorrhoeae* с учетом MLST-геногрупп показал, что большая часть сиквенс-типов, включенных в одну геногруппу, расположены филогенетически близко, а каждая геногруппа, как правило, занимает большую часть соответствующей клады. Таким образом, MLST-геногруппы являются стабильной характеристикой глобальной популяции *N. gonorrhoeae* и могут использоваться для популяционно-генетических исследований.

* Исследование выполнено при поддержке РФФИ (проект № 4-25-20084).

© И. Д. Кандинов, Б. Л. Шаскольский, А. А. Ларкин, Д. В. Кравцов, Д. А. Грядунов, 2024

Анализ наиболее распространенных в мире генетических групп показал, что предложенная нами схема группировки MLST объединяет изоляты, близкие по чувствительности к антимикробным препаратам [4]. В частности, изоляты из геногруппы G1901 больше всего ассоциированы со снижением чувствительности к цефалоспорином III поколения из-за наличия мозаичной аллели гена *penA*, в основном XXXIV типа. Изоляты из геногруппы G9363 ассоциированы с устойчивостью к азитромицину, как правило, в силу наличия мутаций в гене 23S rRNA, реже из-за мозаичного оперона *mtrCDE*.

Разработаны и размещены онлайн (<https://minimlst.su/>) алгоритмы предсказания молекулярных типов изолятов по схеме типирования mini-MLST. Созданная схема mini-MLST типирования *N. gonorrhoeae* реализована в методе определения/предсказания MLST-генотипов на основе гидрогелевого ДНК-микрочипа. Отличительной особенностью микрочипа является возможность одновременного определения всех восемнадцати информативных полиморфизмов, что существенно сокращает время анализа. Апробация метода на российских клинических изолятах показала высокую предсказательную способность с точностью до MLST-геногруппы. Таким образом, созданный метод молекулярного типирования гонококка на основе анализа восемнадцати информативных полиморфизмов является простой и экономически эффективной альтернативой существующим схемам генотипирования и позволяет существенно упростить массовый эпидемиологический скрининг *N. gonorrhoeae*.

Литература

1. WHO. Enhanced Gonococcal Antimicrobial Surveillance Programme (EGASP): Surveillance Report 2022.
2. Kandinov I.D., Dementieva E.I., Filippova M.A. et al. Emergence of Azithromycin-Resistant *Neisseria gonorrhoeae* Isolates Belonging to the NG-MAST Genogroup 12302 in Russia // *Microorganisms*. 2023. Vol. 11. P. 1226.
3. Maiden M. C., Jansen van Rensburg M. J., Bray J. E. et al. MLST revisited: the gene-by-gene approach to bacterial genomics // *Nat. Rev. Microbiol.* 2013. Vol. 11. P. 728–736.
4. Thomas J. C., Joseph S. J., Cartee J. C. et al. Phylogenomic analysis reveals persistence of gonococcal strains with reduced-susceptibility to extended-spectrum cephalosporins and mosaic *penA-34* // *Nat. Commun.* 2021. Vol. 12. P. 3801.