

СЕКРЕТЫ ВЫЖИВАНИЯ *Neisseria gonorrhoeae*: ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ, ПАТОГЕНЕЗ И ЛЕКАРСТВЕННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ

© 2024 г. Б. Л. Шаскольский^{а, *}, И. Д. Кандинов^а, Д. А. Грядунов^а, Д. В. Кравцов^а

^аЦентр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины,
Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта
Российской академии наук, Москва, 119991 Россия

*e-mail: bls@shaskolskiy.ru

Поступила в редакцию 22.04.2024 г.

После доработки 22.04.2024 г.

Принята к публикации 24.05.2024 г.

Несмотря на почти столетнюю историю терапии гонококковой инфекции разнообразными антимикробными препаратами, в мире ежегодно регистрируют более 80 млн случаев данного заболевания. Возбудитель гонореи *Neisseria gonorrhoeae* обладает исключительными способностями формировать устойчивость к антибиотикам благодаря высокой генетической пластичности. Будучи облигатным патогеном, гонококк выработал механизмы, позволяющие обходить защитные системы хозяина, взаимодействуя как с врожденным, так и с адаптивным иммунитетом у мужчин и женщин, и способен обитать внутри эпителиальных клеток, макрофагов и нейтрофилов. Благодаря генетической изменчивости и горизонтальному транспорту генов сформировались штаммы, резистентные к каждому из препаратов, применяемых в терапии гонореи. Ключевую роль в горизонтальной передаче генов играет система секреции типа IV, функциональность которой служит двигателем развития устойчивости к антимикробным препаратам. В представленном обзоре рассмотрены механизмы патогенеза гонококковой инфекции и ускользания возбудителя от иммунного ответа, формирования его устойчивости к антибиотикам и генетической изменчивости, методы лабораторного анализа и тенденции в развитии новых подходов к диагностике и терапии гонококковой инфекции.

Ключевые слова: *Neisseria gonorrhoeae*, горизонтальный перенос генов, T4SS, устойчивость к антимикробным препаратам, бактериальный патогенез

DOI: 10.31857/S0026898424060032, **EDN:** HNAIJU

Сокращения: C3BP (C3b-binding protein) – C3b-связывающий белок; C4BP (C4b-binding protein) – C4b-связывающий белок; CEACAM (carcinoembryonic antigen-related cellular adhesion molecules) – молекула клеточной адгезии, связанная с раковоэмбриональным антигеном; cgMLST (core genome multi-locus sequence typing) – коргеномная система мультилокусного типирования; CREE (correia repeat enclosed elements) – повторяющиеся вложенные элементы корей; GGI (gonococcal genetic island) – генетический остров гонококка; HSPG (heparan sulfate proteoglycan) – гепарансульфатпротеогликан; IS (insertion sequence) – инсерционная последовательность; LOS (lipooligosaccharide) – липоолигосахарид; MLST (multilocus sequence typing) – мультилокусное типирование микроорганизмов; MME (minimal mobile elements) – минимальный мобильный элемент; NG-MAST (*N. gonorrhoeae* multi antigen sequence typing) – мультиантигенное типирование *N. gonorrhoeae*; NG-STAR (*Neisseria gonorrhoeae* sequence typing for antimicrobial resistance) – типирование последовательностей для определения устойчивости *N. gonorrhoeae* к антимикробным препаратам; NIME (neisserial intergenomic mosaic elements) – нейсерийный межгеномный мозаичный элемент; NLR (NOD-like receptors) – NOD-подобный рецептор; PAMP (pathogen-associated molecular patterns) – патогенассоциированные молекулярные паттерны; RCA (regulator of complement activation) – регулятор активации комплемента; ROS (reactive oxygen species) – активные формы кислорода; SREC (scavenger receptor expressed in endothelial cells) – рецепторы-мусорщики, экспрессируемые в эндотелиальных клетках; T4SS (type IV secretion system) – система секреции типа IV; TLR (Toll-like receptors) – Toll-подобный рецептор; АМП – антимикробный препарат; ГТГ – горизонтальный транспорт генов; МПК – минимальная концентрация, подавляющая 100% микроорганизмов.

ВВЕДЕНИЕ

Neisseria gonorrhoeae — грамотрицательная β-протеобактерия, принадлежащая к роду *Neisseria*. *N. gonorrhoeae* инфицирует преимущественно эпителий слизистой оболочки урогенитального тракта, а также других органов, таких как прямая кишка, глотка и конъюнктива [1]. В исключительных случаях *N. gonorrhoeae* способна вызывать диссеминированные гонококковые инфекции (ДГИ) и быть причиной септицемии, артрита, эндокардита, фарингита, тонзиллита, стоматита, паротита, мастита и тенозиновита [2]. До 40% случаев заболевания у мужчин [3] и до 50% случаев гонококковой инфекции у женщин [4] могут оставаться бессимптомными, что приводит к невыявленной и невылеченной инфекции, которая, в свою очередь, может повлечь за собой воспалительные заболевания органов малого таза, бесплодие у женщин и эпидидимит у мужчин, а также другие осложнения. В мире ежегодно регистрируют более 80 млн случаев гонореи [5].

Хромосома *N. gonorrhoeae* состоит из 2,2 млн.п.н. В состав внехромосомных элементов входит криптоплазмида размером 4,2 т.п.н., возможно присутствие плазмиды *pbla_{TEM}* (7,5 т.п.н.) и конъюгативной плазмиды (42 т.п.н.). Клетка гонококка содержит в среднем три генетически идентичных копии хромосомы [6, 7]. Благодаря естественной компетентности во всех фазах роста, *N. gonorrhoeae* осуществляет интенсивный горизонтальный транспорт генов (ГТГ), в том числе ассоциированных с патогенезом и устойчивостью к антимикробным препаратам [8–10]. Значительная доля изолятов *N. gonorrhoeae* имеет гонококковый генетический остров (GGI), кодирующий систему секреции IV типа (T4SS), способную выбрасывать оцДНК во внеклеточную среду. Эта ДНК участвует в ГТГ и вносит вклад в формирование биопленок в качестве структурного компонента на начальных этапах инфекции [11]. Для гонококков и других микроорганизмов рода *Neisseria*, не имеющих GGI, передача ДНК может осуществляться с помощью везикул внешней мембраны (OMV), а также посредством аутолиза, хотя и с меньшей эффективностью [12]. Механизмы горизонтального переноса являются основным фактором быстрого формирования и распространения детерминант устойчивости к антибиотикам в популяции *N. gonorrhoeae*, что стало проблемой для мирового здравоохранения.

Высокая генетическая изменчивость *N. gonorrhoeae* привела к тому, что для каждого антимикробного препарата, применяемого в терапии гонококковой инфекции, обнаружены устойчивые изоляты [13]. Все чаще встречаются мультирезистентные штаммы, способные одновременно формировать устойчивость к боль-

шинству применяемых против них препаратов [14]. Рост уровня лекарственно-устойчивых форм гонореи в мире повышается с каждым годом; описаны случаи неудачной терапии гонореи препаратами последнего поколения, что вызвано формированием суперустойчивых вариантов гонококка [15, 16]. За прошедшие десятилетия антимикробной терапии гонококк накапливал генетические детерминанты устойчивости к различным классам антибиотиков, что приводило к необходимости изменять схемы лечения, вводя новые препараты [17, 18].

Эволюционируя в течение множества поколений гонококк, как облигатный патоген, выработал механизмы, позволяющие обходить защитные системы хозяина, взаимодействуя как с врожденным, так и с адаптивным иммунитетом у мужчин и женщин, обладая при этом способностью обитать внутри эпителиальных клеток, макрофагов и нейтрофилов [1, 19–21].

РАЗВИТИЕ ИНФЕКЦИИ И ПАТОГЕНЕЗ

Выделяют следующие этапы развития вызываемой *N. gonorrhoeae* инфекции в слизистом эпителии половых путей: колонизация эпителия, инвазия в клетки хозяина, внутриклеточная персистенция и перемещение в субэпителиальную ткань (рис. 1) [20]. Ключевыми адгезинами возбудителя являются пили, белки мутности Ора, ионный канал PorB и липоолигосахарид (LOS). Под действием фрагментов пептидогликана, LOS, OMV, высвобождаемых *N. gonorrhoeae*, происходит активация Toll-подобных рецепторов (TLR2, TLR4) [22] и NOD-подобных рецепторов (NOD1, NOD2) [23], эпителиальных клеток, макрофагов и дендритных клеток (DC), что запускает каскад цитокинов и хемокинов (IL-6, IL-8, IL-1β, IL-17, интерферон-γ, TNF) посредством активации фактора транскрипции NF-κB [1, 24, 25]. Выделение провоспалительных цитокинов приводит к активации фагоцитов и лейкоцитов, их миграции в очаг инфекции и фагоцитозу *N. gonorrhoeae* [1]. Эпителиальные клетки также противодействуют *N. gonorrhoeae* с помощью аутофагии [26]. Важно отметить, что фагоциты не способны полностью элиминировать *N. gonorrhoeae*, которая может не только выживать, но и персистировать и реплицироваться как в нейтрофилах [27], так и в макрофагах [28–30]. Для противодействия адаптивному иммунитету *N. gonorrhoeae* стимулирует макрофаги к секреции иммуносупрессивного цитокина IL-10 [31]. Гонококк также подавляет Т-хелперы типа 1 и 2 и усиливает развитие клеток Th17 за счет индукции TGF-β [32]. Помимо этого, гонококковая инфекция индуцирует IL-17A [33], эффекторный цитокин Th17-клеток [25, 34]. При этом сигнализация IL-17A–NF-κB активирует

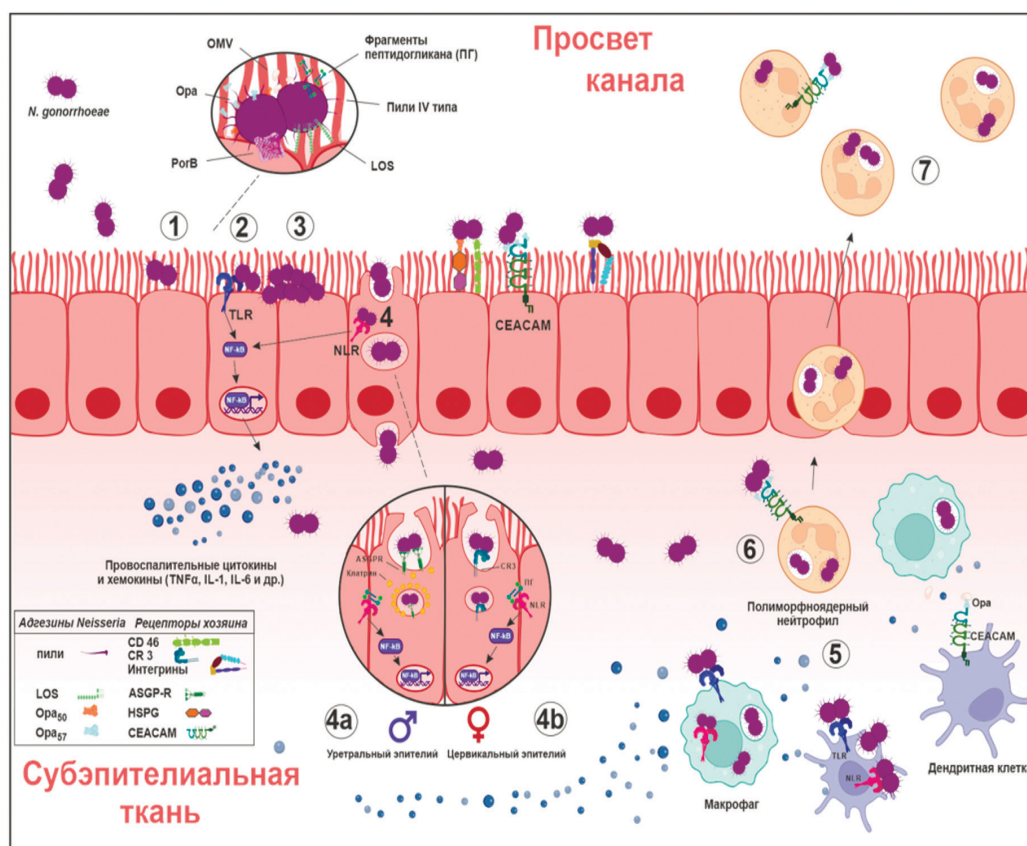


Рис. 1. Патогенез инфекции *N. gonorrhoeae*. Цифрами обозначены следующие стадии: 1 — прикрепление бактерий из просвета цервикального/уретрального канала к эпителию хозяина, инициируемое пилиями IV типа; 2 — связавшиеся с поверхностью клеток гонококки активируют Toll-подобные рецепторы, вызывая экспрессию цитокинов через путь NF- κ B; 3 — колонизация, формирование микроколоний и биопленок; 4 — эндоцитоз, инвазия и внутриклеточная персистенция гонококков, активация NOD-подобных рецепторов; 4a — взаимодействие *N. gonorrhoeae* с уретральным эпителием, связывание LOS с рецептором ASGP-R, клатрин-зависимая интернализация; 4b — взаимодействие *N. gonorrhoeae* с цервикальным эпителием, связывание пилей с рецептором CR3, клатрин-независимая интернализация; 5 — фагоцитоз *N. gonorrhoeae* макрофагами и дендритными клетками, привлеченными градиентами цитокинов; 6 — персистенция бактерий в макрофагах и нейтрофилах; 7 — эффлюкс нейтрофилов способствует распространению *N. gonorrhoeae* в составе гнойного экссудата.

несколько цепей отрицательной обратной связи, которые сдерживают активацию NF- κ B [35].

Начальной стадией гонококковой инфекции является прикрепление бактерии к апикальной стороне эпителия хозяина с использованием пилей типа IVa — многофункциональных мембраносвязанных тонких (≈ 6 –8 нм) и длинных (>1 мкм) филаментов, необходимых для вирулентности многих грамотрицательных патогенов [36]. Пили способны связываться с рецепторами, входящими в систему комплемента, такими как CR3 (гетеродимер интегрина CD11b/CD18), в женском мочеполовом эпителии [37, 38] и с регуляторным фактором комплемента CD46 (мембранный кофакторный белок) [39], экспрессирующимся в эпителии женских половых органов,

а также с I-доменсодержащими интегринами (IDC), которые могут служить рецепторами пилей в тканях уретры [40]. Показано, что пили значительно изменяются во время инфекции и обладают разной способностью к адгезии [41]. Антигенные вариации пилей происходят за счет рекомбинаций гена *pilE*, кодирующего наружный белок пилин, с одним из 19 вариантов этого гена (*pilS*) без промотора под действием RecF-подобных белков [42]. Помимо прикрепления к различным клеткам и тканям, пили играют роль в формировании микроколоний, подвижности и естественной компетентности [43].

Дальнейшему связыванию, а также последующим адгезии и колонизации, способствуют белки мутности Opa, гены которых представлены в ге-

номе не менее чем в 10 копиях. Каждый из генов *ора* способен к независимой фазовой вариации из-за ошибок в репарации пентамерных повторов СТСТТ [44], что ведет к прекращению или восстановлению экспрессии *ора*. Связывание белков Ора с рецепторами происходит за счет гипервариабельных петель [45]. Выделяют два множества белков Ора: Ора₅₇, связывающихся с семейством молекул клеточной адгезии раковоэмбрионального антигена CEACAM, и Ора₅₀, взаимодействующих с гепарансульфатпротеогликанами HSPG и белками внеклеточного матрикса ECM [46]. Большинство белков Ора связываются с рецепторами CEACAM, среди которых выделяют 12 типов. Часть из них экспрессируется на клетках, имеющих отношение к патогенезу гонококковой инфекции, включая нейтрофилы, эндотелиальные и эпителиальные клетки [46]. Взаимодействие между CEACAM и белками Ора *N. gonorrhoeae* позволяет гонококку прикрепляться к клеткам человека, колонизировать их, а также инициирует поглощение бактерий клетками хозяина [47] и способствует их выживанию в нейтрофилах [48].

Ионный канал PorB принимает участие в таких процессах, как адгезия, инвазия и ускользание от иммунного ответа посредством связывания с белками активации комплемента хозяина из семейства RCA, а также подавления антибактериальных процессов в нейтрофилах и макрофагах [19]. Показано, что везикулы внешней мембраны, содержащие PorB, вызывают апоптоз макрофагов [49]. Подобным же образом присутствующий в OMV PorB играет ключевую роль в выживании гонококка в эпителиальных клетках, вызывая митофагию (селективное разрушение митохондрий путем аутофагии) для уменьшения митохондриальной секреции активных форм кислорода (ROS) [50]. По структуре PorB — гомотримерный порин внешней мембраны (размеры мономеров от 32 до 38 кДа), стабилизированный пептидогликансвязывающим белком RmpM [51]. PorB разделяют на два класса: PorB_{IA} и PorB_{IB}. Большинство изолятов *N. gonorrhoeae* (78% из 19018 геномов, собранных со всего мира) содержат изоформу гена *porB1b*. Каждый класс *porB* обладает широким генетическим разнообразием [8], а сам ген не подвергается фазовым вариациям. Штаммы, экспрессирующие ген *porB1a*, с большей вероятностью вызывают диссеминированную гонококковую инфекцию [52, 53]. Выявлены специфичные взаимодействия PorB_{IA} с гликопротеином Gp96 человека и рецептором-мусорщиком SREC. Показано, что Gp96 действует как фактор, способствующий адгезии и препятствующий инвазии, а SREC облегчает инвазию в клетки хозяина, внося свой вклад в патогенез диссеминированной гонореи [53]. Согласованное взаимодействие PorB и пилей с клеткой хозяина вызывает

изменения концентрации кальция [54]. Увеличение концентрации свободного Ca²⁺ в цитозоле индуцирует транспорт основного белка лизосомной мембраны Lamp1 в плазматическую мембрану, где он расщепляется протеазой иммуноглобулина A1 (IgA1), секретируемой *N. gonorrhoeae*, что ведет к уменьшению числа лизосом в инфицированных клетках [55, 56]. Эти события способствуют внутриклеточному выживанию (персистенции) *N. gonorrhoeae* [57].

Половина массы внешней мембраны *N. gonorrhoeae* приходится на LOS [58] — разветвленный олигосахарид, прикрепленный к мембране через липид A. Одна из функций LOS — адгезия и инициация инвазии клеток *N. gonorrhoeae* за счет связывания с рецепторами асиалогликопротеинов (ASGP-R) на клетках уретрального эпителия [59] и эндометрия [60]. Длина и состав LOS зависят от генов *lgt*, кодирующих цитозольные гликозилтрансферазы. Фазовые вариации цитозольных гликозилтрансфераз, которые ферментативно определяют гликановый профиль молекул LOS, приводят к изменению структуры LOS [61, 62]. Ключевой модификацией LOS является сиалирование — присоединение остатка N-ацетилнейраминовой кислоты (Neu5Ac) к лакто-N-неотетрозе (LNnT) — терминальному сахару LOS — с помощью сиалилтрансферазы Lst. Важно отметить, что *N. gonorrhoeae* не синтезирует Neu5Ac из-за потери гена *siaB* и должна получить ее извне [63]. С сиалированием LOS связано одно из различий в патогенезе гонококковой инфекции у мужчин и женщин. Сиалирование LOS уменьшает вирулентность гонококков у мужчин, вызывает устойчивость к компонентам гуморального иммунитета, снижает эффективность киллинга под действием нейтрофилов и антимикробных пептидов [64]. Инфицирование клеток женского мочевого тракта не зависит от сиалирования LOS. При этом десиалирование LOS, необходимое для передачи гонококковой инфекции от женщин к мужчинам, может происходить под действием сиалидаз, обнаруженных в цервикагинальном секрете [65].

Механизмы ускользания от иммунного ответа

Иммунная система человека способна лишь к частичной эрадикации гонококка. Механизмы ухода *N. gonorrhoeae* от иммунного ответа выяснены не полностью, хотя информация весьма обширна, поэтому приведем только ключевые механизмы. Расположенные на внешней мембране *N. gonorrhoeae* антигены ограничивают эффективность лизоцима хозяина, системы комплемента и распознавания PAMP-рецепторами (pathogen-associated molecular patterns). В геноме гонококка присутствуют гены двух ингибиторов лизоцима человека с-типа: белка адгезинового комплекса ACP [66] и ингибитора лизоцима

SilC, не являющегося адгезином [67]. Сиалированный LOS ингибирует все три пути активации комплемента, уменьшая связывание IgG и осаждение компонента C4 системы комплемента на клетку патогена [68], связывая фактор H [69] и блокируя взаимодействие маннозосвязывающего лектина MBL, компонентов C4 и C3b [70]. PorB, особенно PorB_{IA}, может связывать ингибитор комплемента C4BP [71] и фактор H [72]. Кроме того, взаимодействие C4BP с белками Ора подавляет продукцию ROS и предотвращает фагоцитоз *N. gonorrhoeae* нейтрофилами [21]. Связывание адгезина ОраА с ингибитором комплемента витронектином может способствовать формированию устойчивости к комплементу [73]. Показано, что в удерживании витронектина и фактора H участвующий гепарин, связывающийся с Ора [74]. Cole и соавт. [75] показана устойчивость *N. gonorrhoeae* к гуморальному иммунитету из-за связывания белков Ора с C4BP. Ускользанию от комплемента способствует связывание IgG с мембранным белком Rmp, в результате чего образующийся комплекс компонентов системы комплемента с *N. gonorrhoeae* перестает быть летальным [76–78]. Истощение антител к Rmp приводит к эрадикации патогена [78]. Следует отметить, что *N. gonorrhoeae* не удается полностью ускользнуть от комплемента, о чем свидетельствует ДГИ у пациентов с дефектами системы комплемента [79, 80].

Локальный иммунный ответ на развитие гонококковой инфекции приводит к инфильтрации нейтрофилов, не способных к эрадикации патогена. Для ускользания от нейтрофильных внеклеточных ловушек (NET) *N. gonorrhoeae* секретирует нуклеазу Nuc, разрушающую NET и повышающую внеклеточное выживание гонококка в присутствии нейтрофилов [81]. Механизмы выживания в нейтрофилах включают подавление продукции ROS и неокислительных цитотоксических белков и пептидов [27, 30]. Один из механизмов подавления ROS в нейтрофилах обусловлен наличием фенотипа Ора[–] [82]. В противном случае результатом взаимодействия клетки патогена с рецепторами CEACAM3 нейтрофилов является фагоцитоз с последующей продукцией ROS [27, 30]. Следует отметить, что нейтрофилы в суспензии не способны осуществлять фагоцитоз неопсонизированных клеток *N. gonorrhoeae* с фенотипом Ора[–], однако приобретают такую способность после добавления IL-8 [83]. Другой механизм фагоцитоза, позволяющий *N. gonorrhoeae* избегать уничтожения нейтрофилами, осуществляется через рецептор комплемента CR3 [84]. Каноническим лигандом CR3 является комплементарный фрагмент iC3b, однако известен целый ряд лигандов CR3, включая белки внеклеточного матрикса, бактериальные токсины, липополисахарид и адгезины [85–88]. По-

давлению антимикробного ответа нейтрофилов на гонококковую инфекцию также способствует сиалированный LOS [89]. Следует отметить, что несмотря на целый спектр механизмов защиты от ROS, включающих каталазу, супероксиддисмутазу, систему импорта марганца, ферменты репарации ДНК, *N. gonorrhoeae* не способна выживать в нейтрофилах при окислительном стрессе [27].

Существует ряд механизмов ускользания *N. gonorrhoeae* от макрофагов [28]. Гонококковый LOS имитирует сахараиды человека, что приводит к снижению эффективности распознавания бактерий фагоцитами [90]. Многократное изменение белков на поверхности клеток *N. gonorrhoeae* предотвращает связывание антител и способствует ускользанию от опсонического фагоцитоза [74]. Еще один механизм, препятствующий опсонизации, — взаимодействие фактора H с порином PorB, которое предотвращает связывание iC3b [55]. Важный фактор выживания *N. gonorrhoeae* в нейтрофилах — связывание C4BP, осуществляемое преимущественно PorB, необходимо и достаточно для подавления индуцированной *N. gonorrhoeae* продукции ROS нейтрофилами и предотвращения фагоцитоза нейтрофилами клеток с фенотипом Ора⁺ [21]. *N. gonorrhoeae* подавляет апоптоз и аутофагию макрофагов [29, 91]. Кроме того, *N. gonorrhoeae* могут стимулировать макрофаги к принятию фенотипа M2, ассоциированного с иммуносупрессивными функциями и неспособного стимулировать деление Т-клеток [92].

Адаптивный иммунитет хозяина к *N. gonorrhoeae* весьма ограничен. Гонококк подавляет Th1/Th2-зависимый адаптивный иммунитет, индуцируя выработку TGF-β и стимулирует Th17-клеточный ответ [93]. Мыши, которым вводили антитела к TGF-β во время первичного заражения, смогли выработать антитела к гонококку и противостоять повторному заражению [93]. Помимо этого, подавление иммунного ответа обусловлено способностью *N. gonorrhoeae* индуцировать выработку IL-10 [31]. Ключевую роль в подавлении способности дендритных клеток стимулировать пролиферацию CD4⁺ Т-клеток играет белок PorB [94]. Адаптивный иммунитет против гонококковой инфекции практически отсутствует даже при симптоматической инфекции, при этом часто встречается повторное инфицирование гонококками [95, 96]. Причины слабого адаптивного иммунитета связаны со способностью *N. gonorrhoeae* ускользать от врожденного иммунитета за счет фазовых вариаций антигенов и наличием у нее механизмов, препятствующих развитию как В-, так и Т-клеточного иммунитета.

УСТОЙЧИВОСТЬ К АНТИМИКРОБНЫМ
ПРЕПАРАТАМ

Формирование устойчивости *N. gonorrhoeae* к антимикробным препаратам (АМП), в большинстве случаев ассоциировано с нуклеотидными заменами, заимствованием плазмид, рекомбинацией генов, приобретенных в результате селективного отбора [97, 98]. Молекулярные механизмы лекарственной устойчивости *N. gonorrhoeae* можно разделить на следующие группы.

- Модификация мишени АМП, ассоциированная с мутациями в хромосомных генах. Так, изменение пенициллинсвязывающих белков (ПСБ) приводит к устойчивости к β-лактамам антибиотикам [99, 100]. Мутации в генах, кодирующих ДНК-гиразу и топоизомеразу IV, вызывают устойчивость к фторхинолонам, а нуклеотидные замены в генах, кодирующих рРНК, снижают чувствительность к аминогликозидным и макролидным антибиотикам [101–103].
- Синтез белков, предотвращающих связывание препарата с его мишенью. Например, белки TetM защищают рибосомы от тетрациклинов

[104, 105]. Модифицировать 23S рРНК способны также различные erm-метилазы, снижающие тем самым аффинность связывания макролидов с рибосомой [106].

- Инактивация АМП в результате активности специфичных ферментов. В частности, β-лактамазы способны гидролизовать β-лактамы антибиотиков [107, 108].
- Изменение проницаемости наружной мембраны, связанное с увеличением эффлюкса и ограничением поступления (инфлюкс) АМП в клетку. Такие механизмы обусловлены изменениями структуры пориновых каналов, которые снижают проницаемость мембраны. Так, при мутациях в генах, кодирующих белки пориновых каналов, бактерии становятся менее чувствительными к пенициллину, тетрациклину и азитромицину [109]. Важным фактором, обеспечивающим защиту от АМП в патогенных бактериях, является вывод препаратов эффлюксными системами, состоящими из комплекса трансмембранных белков [110].

История применения АМП и эволюция устойчивости к ним, включая схематичное изображение

Таблица 1. Ключевые детерминанты устойчивости *N. gonorrhoeae* к ранее применяемым и актуальным антимикробным препаратам

Антимикробный препарат	Генетическая детерминанта
Сульфонамиды	Снижение эффективности препарата за счет конкурентного ингибирования с избыточно синтезируемой аминобензойной кислотой мутации в гене <i>folP</i> : Arg228Ser
Пенициллины	мутации в гене <i>penA</i> : инсерция Asp345–346 в ПСБ2 с одновременным изменением 4–8 аминокислотных остатков в С-концевой области ПСБ2 либо мозаичные аллели <i>penA</i> , кодирующие до 70 измененных аминокислотных остатков в ПСБ2, включая последовательности из близкородственных видов <i>Neisseria</i> мутации в гене <i>mtrR</i> : “delA” в положении –35 в промоторной области, инсерция нуклеотидов insTT/instT в положении –10, мутации в кодирующей области мутации в гене <i>porB</i> : замены Gly120Lys и Ala121Asp мутация в гене <i>ponA</i> : Leu421Pro пенициллиназа: плазмиды, кодирующие фермент β-лактамазу, TEM-1 или TEM-135
Тетрациклины	мутации в гене <i>rpsJ</i> : Val57Met мутации в гене <i>mtrR</i> : “delA” в положении –35 в промоторной области, инсерция нуклеотидов insTT/instT в положении –10, мутации в кодирующей области мутации в гене <i>porB</i> , замены Gly120Lys и Ala121Asp <i>tetM</i> : ген плазмидной локализации (защита рибосом)
Аминогликозиды	мутация в гене 16S рРНК: C1192T мутации в гене <i>rpsE</i> : Thr24Pro, Lys26Glu, делеция Val25
Фторхинолоны	мутации в гене <i>gyrA</i> : Ser91Phe, Asp95Asn и Asp95Gly мутации в гене <i>parC</i> : Asp86Asn, Ser88Pro и Glu91Lys
Макролиды	мутации в гене 23S рРНК: C2611T и A2059G. Уровень устойчивости зависит от количества <i>rrn</i> оперонов с мутациями мутации в опероне <i>mtrCDE</i> , мутации в гене-репрессоре <i>mtrR</i> , мозаичные аллели генов <i>mtrCDE</i> гены метилаз 23S рРНК: <i>ermA</i> , <i>ermB</i> , <i>ermC</i> , <i>ermF</i>
Цефалоспорины	мозаичные аллели гена <i>penA</i> : кодируют до 70 измененных аминокислот в ПСБ2, включая последовательности из негомококковых видов <i>Neisseria</i> . Аминокислотные замены, ассоциированные с резистентностью: Ala311Val, Ile312Met, Val316Thr, Val316Pro, Thr483Ser, Ala501Pro, Ala501Val, Asn512Tyr, Gly545Ser мутации в гене <i>penA</i> : замены Ala501Val и Ala501Thr мутации в опероне <i>mtrCDE</i> , мутации в гене репрессора <i>mtrR</i> , мозаичные аллели генов <i>mtrCDE</i> мутации в гене <i>porB</i> : замены аминокислот Gly120Lys, Gly120Arg и Ala121Asp

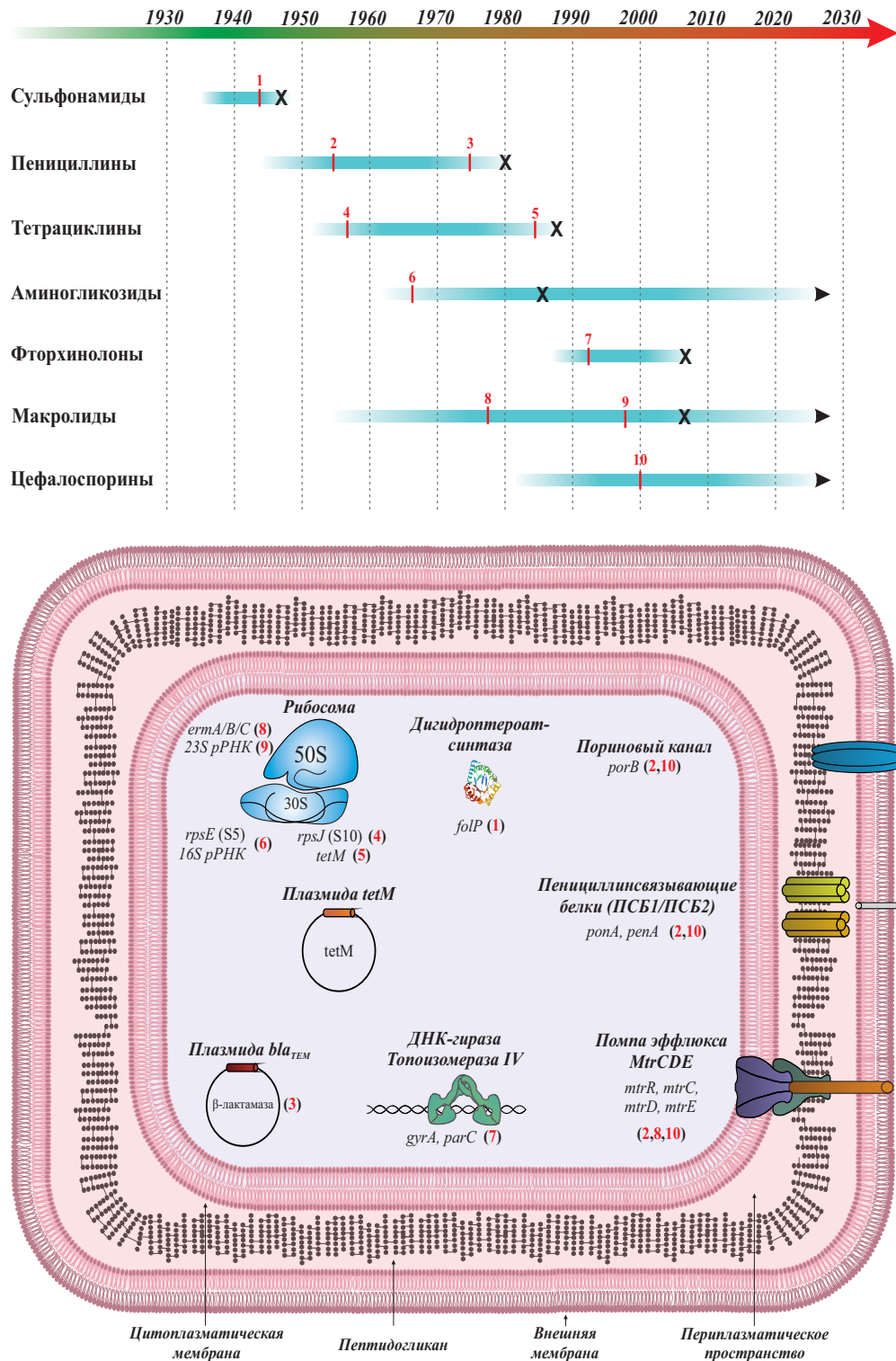


Рис. 2. История внедрения антимикробных препаратов в схемы терапии гонококковой инфекции и схематичное изображение клетки с основными мишенями действия антибиотиков и генетических детерминант устойчивости к ним. В верхней части рисунка изображена временная шкала основных рекомендованных классов антимикробных препаратов для терапии гонореи, символом (X) отмечен приблизительный год исключения препарата из протокола лечения. Красными линиями и цифрами на шкале выделена приблизительная дата обнаружения в клинической практике первых устойчивых изолятов. Нижняя часть рисунка — белки, рРНК, гены, вовлеченные в механизмы формирования устойчивости к антимикробным препаратам. Красные цифры соответствуют мишеням применяемых антибиотиков.

детерминант резистентности *N. gonorrhoeae*, представлены на рис. 2. Перечень основных генетических детерминант резистентности *N. gonorrhoeae* к ранее использованному и актуальному АМП представлен в табл. 1.

Сульфонамиды

Сульфонамиды стали первыми распространенными АМП, применяемыми при гонококковой инфекции, они вошли в общую клиническую практику в середине 1930-х годов [111]. Механизм действия сульфонамидов основан на конкуренции с *p*-аминобензойной кислотой за фермент дигидроптероатсинтазу, что препятствует биосинтезу фолиевой кислоты. Устойчивость *N. gonorrhoeae* к сульфонамидам возникла в результате хромосомной мутации Arg228Ser в гене *folP*, кодирующем дигидроптероатсинтазу [112]. Также гонококки могут в избытке вырабатывать *p*-аминобензойную кислоту, что приводит к снижению эффективности препарата за счет конкурентного ингибирования [113]. Первые устойчивые изоляты появились в середине 1940-х, а уже к их концу сульфонамиды перестали использовать в терапии гонореи [114].

Пенициллины

Как и все β -лактамы антибиотики, пенициллины ингибируют синтез клеточной стенки, блокируя транспептидазную активность ПСБ. Пенициллин предложили использовать в терапии гонококковой инфекции в 1943 г. [115, 116]. Показано, что разовое введение АМП приводит к неполной элиминации патогена из организма человека, а также к селекции наиболее устойчивых штаммов, что, в свою очередь, неизбежно снижает эффективность терапии [117]. Через несколько лет после начала терапии пенициллином начали появляться изоляты со сниженной чувствительностью, что заставило клиницистов повышать терапевтическую дозу препарата, а спустя еще несколько лет были обнаружены первые резистентные изоляты [118].

Сегодня выявлено большое количество устойчивых к пенициллину штаммов, что не позволяет вернуть данный АМП в схемы терапии. Как и большинство патогенных грамотрицательных бактерий, *N. gonorrhoeae* использует несколько механизмов формирования устойчивости к пенициллинам, ассоциированных как с хромосомными, так и с плазмидными детерминантами [111, 119].

Снижение аффинности пенициллинсвязывающих белков (ПСБ). Действие пенициллина направлено на бактериальные ПСБ, которые

участвуют в синтезе пептидогликана, основного компонента клеточной стенки бактерий [120]. Поскольку синтез клеточной стенки является ключевым фактором деления и роста бактерий, изменение структуры ПСБ приводит к нарушению формы и дефекту клеточных стенок, и ведет в конечном итоге к гибели клеток [121].

Наиболее распространенной мутацией в гене *penA* (кодирует ПСБ2), ассоциированной с резистентностью *N. gonorrhoeae* к пенициллинам, является инсерция Asp345/346, локализованная на С-концевом участке белка. Эта инсерция и/или другие аминокислотные замены, такие как Ala311Val, Ile312Met, Ala501Val/Thr/Pro, Asn512Tyr, Gly542Ser, Gly545Ser, Pro551Leu/Ser способны увеличить минимальную подавляющую концентрацию (МПК) пенициллина в 6–8 раз, понижая скорость ацилирования фермента [122–124]. Замена Leu421Pro в гене *penA*, кодирующем ПСБ1, приводит к уменьшению скорости ацилирования пенициллином в 2–4 раза и к снижению чувствительности *N. gonorrhoeae* соответственно [125].

У изолятов *N. gonorrhoeae* со сниженной чувствительностью к пенициллину обнаружены мотивы транспептидазного домена ПСБ из других близкородственных видов *Neisseria* [126, 127]. Мозаичный ген *penA* является ключевой детерминантой устойчивости *N. gonorrhoeae* к β -лактамным антибиотикам, включая пенициллины и цефалоспорины (см. ниже).

Вывод АМП из клетки посредством эффлюксных насосов. Большинство эффлюксных насосов *N. gonorrhoeae* состоят из трех полипептидных цепей — компонентов внешней и внутренней мембраны, а также периплазматического белка MFP (membrane fusion protein). В собранном виде трехкомпонентные системы эффлюкса пронизывают внутреннюю и внешнюю мембраны и периплазматическое пространство между ними. Формирование устойчивости к АМП обусловлено нарушением в работе эффлюксных насосов и связано со сверхэкспрессией кодирующих их генов или изменением конформации белков помпы, ассоциированных с мутациями в хромосомных генах [128, 129].

Устойчивость к АМП ассоциирована с полиморфизмом оперона *mtrCDE*, кодирующего эффлюксный насос MtrCDE и белок-репрессор транскрипции MtrR. Замены Ala39Thr, Arg44His, Gly45Asp, Leu47Pro а также делеция *delA* в положении –35 промоторной области и/или инсерция insTT/insT в положении –10 приводят к увеличению экспрессии всего эффлюксного насоса MtrCDE и усиленному выводу АМП из клетки [130, 131]. Кроме того, в результате горизонтального переноса между *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis*

и комменсальными *Neisseria* spp., такими как *N. lactamica*, *N. cinerea*, *N. flavescens*, могут возникать мозаичные аллели оперона *mtrCDE*. Мозаичные варианты генов *mtrR* и *mtrD* способны вызывать изменения в функционировании эффлюксной системы MtrCDE, приводящие к усиленному выводу АМП из клетки, а значит, к повышению МПК пенициллина [132, 133].

Стоит отметить, что большинство эффлюксных насосов способны транспортировать субстраты АМП разных классов. По этой причине штаммы с повышенной активностью таких насосов часто имеют сниженную чувствительность к нескольким препаратам [134].

Изменение проницаемости пориновых каналов. Изменение проницаемости PorB приводит к снижению притока АМП в периплазму, т.е. к понижению чувствительности к ним [135]. Замены Gly120Asp, Gly120Lys, Ala121Asp и Ala121Asn в PorB ассоциированы со снижением чувствительности к целому ряду АМП, включая пенициллин, тетрациклин, ципрофлоксацин и цефалоспорины разных поколений [109, 136].

Штаммы *N. gonorrhoeae*, продуцирующие пенициллиназу. Гонококки, несущие плазмиды с геном *bla*, способны продуцировать β-лактамазы семейства TEM, гидролизующие связь С-N в β-лактамном кольце антибиотика [137]. У *N. gonorrhoeae* выявлены различные варианты гена *bla*, кодирующие β-лактамазы типов TEM-1, TEM-135 и TEM-220 [138, 139], расщепляющих пенициллины.

Первые резистентные штаммы *N. gonorrhoeae* с плазмидами *pbla_{TEM}* обнаружили в 1976 г. в Азии, а позднее в Африке [140, 141], что позволило классифицировать их как “Азиатские” (длина 7426 п.н.) и “Африканские” (5599 п.н.) плазмиды в соответствии с их эпидемиологическим происхождением. Позднее у *N. gonorrhoeae* идентифицировали шесть других плазмид, ассоциированных с устойчивостью к пенициллинам, названных согласно географическому источнику: Торонто (5154 п.н.), Рио (5154 п.н.), Ним (6798 п.н.), Новая Зеландия (9309 п.н.), Йоханнесбург (4865 п.н.) и Австралия (3269 п.н.) [142–144]. Продуцирующие пенициллиназу изоляты *N. gonorrhoeae* обладают чрезвычайно высокими значениями МПК (16–32 мг/л) пенициллина в сравнении с МПК штаммов, имеющих только хромосомные мутации (0.008–2.0 мг/л). Быстрое распространение высокорезистентных штаммов *N. gonorrhoeae* с плазмидами *bla_{TEM}*, наряду с хромосомными мутациями, привело к отказу от терапии гонококковой инфекции пенициллинами в начале 1980-х [145].

Тетрациклины

Механизм действия тетрациклинов связан с подавлением синтеза белков в клетках бактерий посредством нарушения взаимодействий аминоацил-тРНК с 16S рРНК рибосомной субъединицы 30S. Устойчивость *N. gonorrhoeae* к тетрациклинам опосредована различными факторами: эффлюксом (удаление антибиотика из клетки), нарушением проницаемости наружной мембраны (мутации в гене *porB*), изменением конформации рибосомного белка S10 за счет мутаций в кодирующем его гене *rpsJ*, а также защитой рибосом путем экспрессии белка TetM [105, 146, 147]. Тетрациклин был рекомендован для терапии гонококковой инфекции в начале 1950-х годов и назначался пациентам с индивидуальной непереносимостью β-лактамов. Через несколько лет после начала терапии обнаружили штаммы со сниженной чувствительностью к тетрациклину. Такие изоляты содержали замену Val57Met в белке S10, уменьшая сродство тетрациклина к нему [105, 148]. Сопутствующие мутации в опероне *mtrCDE*, ассоциированные с выбросом тетрациклинов из клетки, также снижают чувствительность бактерий.

В середине 1980-х обнаружили изоляты *N. gonorrhoeae*, несущие плазмиду с геном *tetM*, кодирующим белок защиты рибосом TetM. Этот белок является структурным аналогом фактора элонгации EF-G, также обладающим GTPазной активностью. Связывание TetM с рибосомой вытесняет молекулу тетрациклина и предотвращает подавление синтеза белка. Изоляты *N. gonorrhoeae* с плазмидами с *tetM* характеризовались сверхвысокими уровнями устойчивости к тетрациклину, что быстро привело к исключению данного препарата из схем терапии [149].

Известно, что ген *tetM* *N. gonorrhoeae* расположен на конъюгативной плазмиде, способствующей горизонтальному переносу иных плазмид [150]. При анализе механизма приобретения лекарственной устойчивости следует обращать особое внимание на изоляты *N. gonorrhoeae*, резистентные к тетрациклину и несущие плазмиду с *tetM*, поскольку ее присутствие облегчает конъюгативный перенос плазмид с *bla_{TEM}* [151]. Подобные мультирезистентные изоляты обладали чрезвычайно высокими уровнями МПК к пенициллину и тетрациклину и стремительно распространились по всему миру. Количество изолятов *N. gonorrhoeae* с *tetM* и *pbla_{TEM}* в мировой популяции достаточно велико, что не позволяет вернуть эти АМП в схему терапии гонококковой инфекции [152, 153].

Аминогликозиды

Макролиды

Аминогликозидные антибиотики связываются с сайтом распознавания аминоацил-тРНК в 16S рРНК, входящей в состав 30S субъединицы, что приводит к подавлению синтеза белка и последующей гибели клеток. Штаммы гонококков, имеющие низкую чувствительность к спектиномицину, обладают хромосомными детерминантами устойчивости, среди которых однонуклеотидные замены в гене *rrs* (G1064C, G1058C и C1192T в сайте связывания аминогликозидов 16S рРНК), замена Thr24Pro и делеция Val27 одновременно с мутацией Lys26Glu в гене *rpsE*, кодирующем 5S субъединицу [154]. Изменения в структуре белка 5S, вероятно, нарушают связывание с 16S рРНК, что приводит к высокому уровню устойчивости к спектиномицину [155].

В терапии гонококковой инфекции применяли стрептомицин, канамицин, спектиномицин (2.0 г однократно внутримышечно), рекомендованный в России пациентам с индивидуальной непереносимостью β -лактамов антибиотиков [153, 156, 157]. В настоящее время устойчивость *N. gonorrhoeae* к аминогликозидам встречается чрезвычайно редко [158].

Фторхинолоны

Фторхинолоны — синтетические препараты, не имеющие природного аналога, действие которых направлено на топоизомеразу IV, состоящую из двух субъединиц — ParC и ParE, и ДНК-гиразу, также состоящую из субъединиц GyrA и GyrB. Участок связывания комплекса ДНК—ДНК-гираза с хинолонами получил название “хинолоновый карман”. Попадание хинолона в карман останавливает движение ДНК-гиразы, а затем и продвижение репликационной вилки [159].

Фторхинолоны, особенно ципрофлоксацин, стали препаратом выбора для терапии гонококковой инфекции в конце 1980-х годов, а первые устойчивые изоляты появились уже в начале 1990-х [160]. Механизм устойчивости гонококков к этой группе антибиотиков основан на снижении аффинности хинолонового кармана к препаратам и ассоциирован с мутациями Ser91Phe и Asp95Asn/Gly в гене *gyrA* и Asp86Asn, Ser87Pro и Glu91Lys в гене *parC*. К середине 2000-х на фоне распространения данных мутаций в глобальной популяции гонококка фторхинолоны были исключены из списка препаратов, рекомендованных для терапии гонореи [161].

Антимикробное действие макролидов направлено на нарушение процесса трансляции. Макролиды связываются с 23S рРНК рибосомной субъединицы 50S, блокируя канал выхода растущей пептидной цепи и заставляя рибосому высвобождать неполные, обрезанные полипептиды. Значимыми генетическими детерминантами устойчивости *N. gonorrhoeae* к макролидам являются мутации в пептидилтрансферазной петле II и V домена 23S рРНК [162]. Геном *N. gonorrhoeae* содержит четыре копии оперона *rrn* (*rrnA*, *rrnB*, *rrnC*, *rrnD*), в состав которого входит ген 23S рРНК. Замена C2611T в данном локусе приводит к появлению изолятов с умеренной резистентностью (МПК до 2 мг/л), а A2058G/A2059G — высокорезистентных (МПК > 256 мг/л) [163]. Следует отметить, что уровень устойчивости к азитромицину зависит от количества мутантных аллелей гена 23S рРНК — изоляты с тремя или четырьмя мутантными аллелями являются высокорезистентными (МПК от 256 до 4096 мг/л), в то время как изоляты с одним аллелем обладают незначительным уровнем устойчивости, ниже или на уровне порогового значения МПК, составляющего 1 мг/л [164]. Кроме того, ухудшение связывания макролидов с рибосомой может быть обусловлено метилированием оснований в ключевых положениях. За это отвечает другой механизм резистентности к макролидам — наличие генов метилаз 23S рРНК группы *erm* (*erm* — erythromycin ribosome methylation) [106].

Эритромицин применяли при гонококковой инфекции с середины 1950-х гг. В 1970-е гг. у *N. gonorrhoeae* обнаружили рРНК-метилазы ErmA, ErmB, ErmC, ErmF [165], что положило конец применению эритромицина в конце 1970-х и исключению макролидов из схем монотерапии. В настоящее время метилазы 23S рРНК у *N. gonorrhoeae* встречаются редко [166].

Азитромицин рекомендован как компонент двойной терапии с 2010-х гг., в настоящее время он используется в странах ЕС совместно с цефалоспорином III поколения [17, 167]. Изоляты с мутацией A2059G в одной копии оперона *rrn*, чувствительные к азитромицину, способны быстро формировать устойчивость за счет гомологичной рекомбинации во всех четырех копиях *rrn*.

Помимо мутаций в 23S рРНК, устойчивость *N. gonorrhoeae* к макролидам обусловлена также сверхэкспрессией эффлюкс-насоса MtrCDE [168]. Устойчивость к азитромицину и другим АМП формируется за счет ряда мутаций в генах эффлюксного насоса MtrCDE и его транскрипционного репрессора (*mtrD* и *mtrR* соответствен-

но) [169, 170]. Анализ клинических изолятов *N. gonorrhoeae*, собранных на территории Российской Федерации за период 2020–2021 г., выявил существенную долю (13.6%) штаммов, устойчивых к азитромицину, несмотря на то, что данный антибиотик не рекомендован для терапии гонококковой инфекции в России. Устойчивость к азитромицину в основном связана с мозаичной структурой в промоторной области гена *mtrR* — с делецией —35 delA или мутацией Ala86Thr, а также с мозаичной структурой гена *mtrD* [130]. Филогенетический анализ современной российской популяции гонококка выявил отдельный кластер азитромицинустойчивых изолятов, относящихся к молекулярному типу, широко распространенному в европейской популяции, при этом данный кластер оказался филогенетически удаленным от эндемичных российских изолятов. Таким образом, причиной возникновения в России нового варианта возбудителя гонококковой инфекции, устойчивого к макролидам, стал трансграничный перенос резистентного штамма со специфическими генетическими детерминантами [130].

Цефалоспорины III поколения

В настоящее время в большинстве стран мира для лечения гонококковой инфекции рекомендуют цефалоспорины III поколения (цефтриаксон, цефиксим) [171, 172]. Механизм действия цефалоспоринов, как и других β-лактамов антибиотиков, основан на связывании препарата с ПСБ2 (транспептидазами) и нарушении синтеза поперечных связей пептидогликана в клеточной стенке. Одной из ключевых детерминант снижения чувствительности к цефалоспорином является мозаичный аллель гена *penA*, кодирующего ПСБ2. Такой вариант *penA* может определять до 60–70 аминокислотных замен. Он появился в результате трансформации ДНК от комменсальных видов *Neisseria* с последующей рекомбинацией [102], подобно мозаичным аллелям оперона *mtrCDE*.

Устойчивость гонококка к цефалоспорином III поколения увеличивается с каждым годом, описано немало неудачных случаев лечения гонореи [17, 173–175]. Изоляты со сниженной чувствительностью к цефалоспорином быстро распространяются по всему миру. Первоначально в Японии выявили несколько вариантов гонококков с высоким уровнем устойчивости к цефтриаксону и цефиксиму, затем изоляты этой же генетической линии нашли во многих странах ЕС [119, 176]. Следует отметить, что на территории Российской Федерации пока не зарегистрированы случаи неудачного лечения гонококковой инфекции цефалоспорином III

поколения и не обнаружены соответствующие устойчивые варианты [177, 178].

Устойчивость к цефалоспорином III поколения ассоциирована с мутациями Ala311Val, Ile312Met, Val316Thr, Val316Pro, Thr483Ser, Ala501Pro, Ala501Val, Asn512Tyr, Gly545Ser, которые встречаются в основном в аллелях гена *penA* мозаичного типа [126, 179]. Однако и немозаичные аллели *penA* содержат мутации, вызывающие повышение МПК цефалоспоринов III поколения: замены остатков Ala501Val и Ala501Thr, а также Gly542Ser, Pro551Ser и Pro551Leu. Можно предположить, что эта замена возникла в результате селективного отбора гонококков, а не обусловлена переносом из других видов бактерий [14, 180, 181].

Номенклатура аллелей гена *penA* включает все их типы, в том числе, мутантные мозаичные и полумозаичные аллели. Аллели приняты нумеровать римскими цифрами от I до XXXVIII [182, 183]. Основным механизмом резистентности к цефалоспорином является специфическое изменение мишени ПСБ2, однако свой вклад вносят также усиленный эффлюкс и сниженный инфлюкс, опосредованные мутациями в *mtrCDE* и *porB* соответственно. Совокупность мутаций в *penA*, *ponA*, *porB* и *mtrR* приводит к появлению изолятов с МПК цефиксима 4 мг/л, МПК цефтриаксона 1–2 мг/л. Изоляты с подобными профилями детерминант устойчивости описаны в большинстве стран Европы и Азии [126, 184].

Встречающиеся у гонококков β-лактамазы TEM-1 и TEM-135 отличаются одной аминокислотной заменой — Met182Thr [185]. Всего одна замена G→A в гене *bla_{TEM-135}* приводит к замене Gly238Ser, что превращает TEM-135 в TEM-20, которая относится к β-лактамазам расширенного спектра, способным гидролизовать как пенициллины, так и цефалоспорины. Однако клинические изоляты *N. gonorrhoeae* с β-лактамазой TEM-20 в настоящий момент не обнаружены. В то же время, данные из Китая свидетельствуют о стремительном распространении изолятов *N. gonorrhoeae* с TEM-135 [143], что вызывает опасения из-за риска появления β-лактамаз расширенного спектра действия, которые поставят точку в применении цефалоспоринов III поколения. Тем не менее, эксперименты *in vitro* по созданию клеточных моделей *N. gonorrhoeae* с β-лактамазой TEM-20 показали, что жизнеспособность таких штаммов существенно снижена, что, возможно, объясняет отсутствие соответствующих клинических изолятов в природе и продлевает век применения цефалоспоринов в качестве основного препарата в терапии гонококковой инфекции [186].

*Новые антимикробные препараты,
эффективные в отношении N. gonorrhoeae*

В 2016 г. ВОЗ опубликованы обновленные рекомендации по лечению гонореи, в которых подчеркнута необходимость разработки новых АМП [187]. В настоящий момент продолжают клинические исследования золифлацина и солитромицина, прошедших третью фазу, и гепотидацина, завершившего вторую фазу [188–190].

Наиболее перспективным из перечисленных препаратов является золифлацин, который относится к классу спиропиримидинтрионов и ингибирует бактериальную топоизомеразу II [191, 192]. Чувствительность *in vitro* к золифлацину у клинических изолятов, выделенных в странах Евросоюза, находится на уровне МПК 0.032–0.25 мг/л. Не обнаружено перекрестной устойчивости этого препарата ни с одним из традиционно применяемых против гонококка АМП [193, 194]. *In vitro* анализ потенциальных детерминант резистентности *N. gonorrhoeae* к золифлацину показал возможность формирования ряда мутаций в гене *gyrB*, например Asp429Ala или Lys450Asn [160]. Подобные и сопутствующие замены в топоизомеразе типа II могут встречаться у изолятов *N. gonorrhoeae* в естественной среде и в перспективе привести к формированию устойчивого кластера в популяции [152, 194]. Требуется дальнейшие испытания золифлацина, включая валидацию на большой выборке, определение оптимального режима дозирования и порогового значения МПК, разделяющего чувствительные и устойчивые изоляты.

МОЛЕКУЛЯРНОЕ ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ВОЗБУДИТЕЛЯ

Важным инструментом контроля гонококковой инфекции является молекулярное типирование, направленное на выявление значимых молекулярных типов (генотипов, сиквенс-типов, ST) [17, 152]. Определение генотипа изолята позволяет анализировать пути передачи гонококковой инфекции, а также идентифицировать и контролировать распространение эпидемиологически опасных клонов. К числу наиболее распространенных в настоящее время методов генотипирования *N. gonorrhoeae* относятся следующие методы.

Генотипирование NG-MAST, основанное на определении нуклеотидной последовательности двух гипервариабельных локусов *porB* (490 п.н., кодирует трансмембранный белок поринового канала) и *thpB* (390 п.н., кодирует β -субъединицу трансферринсвязывающего белка) [195]. Создана и поддерживается мировая база данных

NG-MAST v.2.0 (<https://pubmlst.org/databases>), в которую депонированы последовательности геномных локусов *porB* и *thpB*, позволяющие определить сиквенс-тип штамма. На 2024 год база насчитывает порядка 13000 аллелей *porB* и 3000 аллелей *thpB* и постоянно дополняется новыми последовательностями. Отдельно стоит отметить, что генотипирование изолятов по протоколу NG-MAST позволяет достоверно различать аллели гена *porB* – *porB_{IA}* и *porB_{IB}*. Показано, что изоформа порина *PorB_{IA}* ассоциирована с диссеминированной гонококковой инфекцией, однако в мировой популяции гонококка она встречается относительно редко [8, 196, 197].

Генотипирование *N. gonorrhoeae* по протоколу NG-MAST получило широкое распространение, поскольку типы NG-MAST сцеплены с аллельными вариантами генов, которые ассоциированы с устойчивостью к АМП. Так, изоляты *N. gonorrhoeae* со сниженной чувствительностью к цефалоспорином III поколения относятся, как правило, к молекулярному типу 1407 [152]. Обнаружено, что фенотипически устойчивые к азитромицину изоляты ассоциированы с типом 12302 NG-MAST, который в последние годы преобладает на территории стран Евросоюза. Появление этого варианта на территории России (рис. 3) в 2020–2021 гг. привело к резкому увеличению доли изолятов, устойчивых к азитромицину [178]. Таким образом, генотипирование по протоколу NG-MAST позволяет успешно изучать особенности генетической структуры популяции *N. gonorrhoeae* и отслеживать тенденции, которые в ней происходят.

Генотипирование MLST основано на определении нуклеотидных последовательностей семи локусов генов домашнего хозяйства: *abcZ* (ABC-транспортер), *adk* (аденилаткиназа), *aroE* (шикиматдегидрогеназа), *fumC* (фумаратгидратаза), *gdh* (глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа), *pdhC* (субъединица пируватдегидрогеназы), *pgm* (фосфоглюкомутаза) [197]. Последовательности локусов, применяемых для генотипирования по протоколу MLST, существенно консервативнее в сравнении с локусами протокола NG-MAST. Результаты типирования гонококка по протоколу MLST депонируют в базу данных PubMLST (<http://pubmlst.org/databases>).

MLST-генотипирование *N. gonorrhoeae* позволяет выделять большое количество генетических вариантов в популяции гонококка, а также выявлять эволюционно успешные генотипы. Как и NG-MAST, определенные MLST-генотипы ассоциированы с устойчивостью к АМП различных классов. Так, изоляты доминирующего в мировой популяции MLST-генотипа 1901 характеризуются сниженной чувствительностью к цефалоспорином III поколения [115]. С каж-

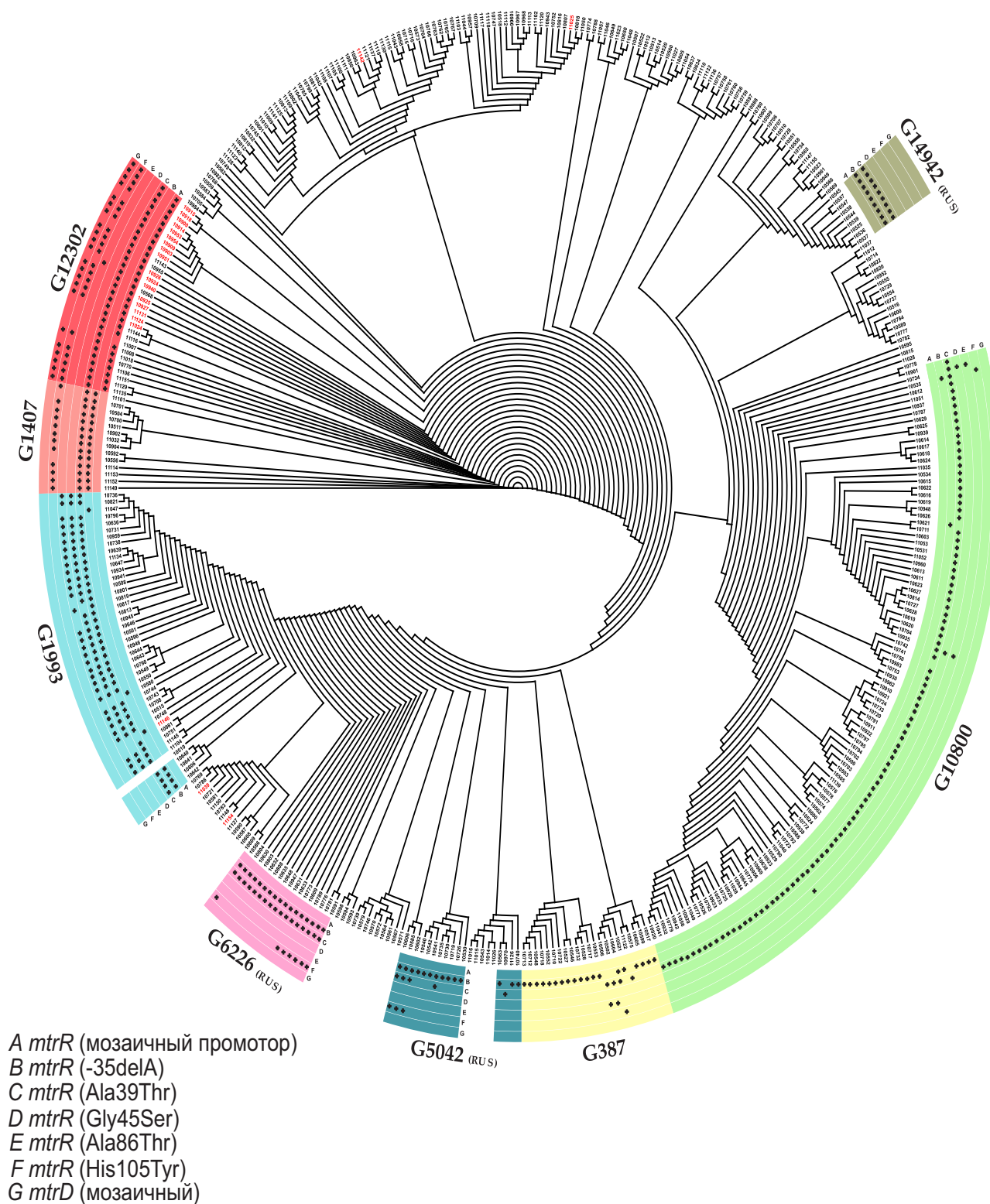


Рис. 3. Филогенетическое дерево российских изолятов *N. gonorrhoeae*, собранных в 2020–2021 г., построенное на основе данных NG-MAST-типирования. Цифры по периметру круга соответствуют коду изолята, красным отмечены коды изолятов, устойчивых к азитромицину. Основные геногруппы (G10800, G387 и др.) выделены разными цветами. Обнаруженные мутации (A–G), ассоциированные с устойчивостью к азитромицину, отмечены знаком “+”. Красным выделена геногруппа G12302, включающая азитромицинустойчивые изоляты с мутациями в гене *mtrR* и мозаичными вариантами гена *mtrD*. Изоляты геногруппы G12302 филогенетически удалены от эндемичных российских изолятов геногруппы G10800 (выделена зеленым).

дым годом возрастает доля изолятов MLST 9363, ассоциированных с устойчивостью к азитромицину, что, в целом, отражает мировую тенденцию роста антимикробной резистентности *N. gonorrhoeae* [198].

NG-STAR [199] — стандартизированный метод классификации семи хорошо охарактеризованных генов *N. gonorrhoeae* (*penA*, *mtrR*, *porB*, *ponA*, *gyrA*, *parC* и 23S рРНК), ассоциированных с устойчивостью к цефалоспорином, макролидам и фторхинолонам. Комбинация аллелей семи генов позволяет установить генотип изолята по протоколу NG-STAR, а также предсказать профиль фенотипической чувствительности к АМП на основе уже описанных генотипов. База данных NG-STAR (<https://ngstar.canada.ca/>) содержит около 2000 генетических профилей, соотнесенных с данными по чувствительности к указанным выше АМП. Достоверность определения уровня устойчивости *N. gonorrhoeae* к АМП по протоколу NG-STAR составляет 95% (соответствие предсказанного значения МПК экспериментально определенному) [182]. Вместе с тем, метод NG-STAR не подходит для изучения молекулярной эпидемиологии гонококковой инфекции, поскольку в большинстве случаев *N. gonorrhoeae* распространяется по сети контактов через клональное размножение. Таким образом, в разных популяциях, как правило, присутствует большое количество идентичных NG-STAR генотипов, что не позволяет в полной мере выделять и контролировать распространение наиболее эпидемиологически значимых клонов.

cgMLST. Новые подходы к молекулярной эпидемиологии гонококковой инфекции основаны на использовании технологий высокопроизводительного секвенирования (NGS), позволяющих одновременно определять как совокупность генов, характеризующих происхождение анализируемого клинического изолята, так и совокупность имеющихся у него генетических детерминант антибиотикорезистентности [200]. По сути, NGS позволяет решать задачи генотипирования по протоколам NG-MAST и MLST на более высоком уровне, при этом прямо, а не косвенно, связывая генотип изолята и его чувствительность к АМП [201]. NGS успешно применяется для идентификации детерминант резистентности, исследования филогенетических взаимосвязей, популяционной структуры и молекулярной эпидемиологии гонококка [202]. Несмотря на колоссальную информативность, методу присущи такие недостатки, как невысокая дискриминирующая способность в отношении отдельных нуклеотидов, требующая большого покрытия генома и, соответственно, дорогих наборов реагентов, отсутствие валидированных биоинформатических пайплайнов для интерпретации результатов.

Описанные методы генотипирования *N. gonorrhoeae* играют ключевую роль в проведении молекулярно-эпидемиологических исследований. В условиях растущей проблемы распространения мультирезистентных штаммов *N. gonorrhoeae* генотипирование представляет собой чрезвычайно важный и мощный инструмент не только для мониторинга гонококковой инфекции, но и для изучения процессов молекулярной эволюции в популяции гонококка.

МЕХАНИЗМЫ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ *N. gonorrhoeae*

Трансформация — ключевой путь горизонтального переноса у нейссерий

N. gonorrhoeae обладает исключительной способностью к изменению своего генетического материала благодаря механизмам горизонтального переноса и естественной компетентности во всех фазах роста. Горизонтальный перенос генов может происходить посредством конъюгации, трансформации и трансдукции, при этом трансформация, вероятно, является ключевым способом передачи хромосомной ДНК у *N. gonorrhoeae* [203]. Трансдукция гонококков бактериофагами происходит сравнительно нечасто, а конъюгация способна переносить только плазмидную ДНК [204, 205].

У большинства бактерий, способных к генетической трансформации, состояние компетентности достигается лишь на короткое время и часто в специальных условиях (электропорация, химическая трансформация). Только малая часть видов (пока описано всего 82 [206]) компетентны в естественных условиях, при этом подавляющая их часть обладает непостоянной компетентностью [207]. *N. gonorrhoeae* выделяется на их фоне, так как обладает этим свойством во всех фазах роста [205, 208, 209]. С течением времени именно высокая частота и эффективность трансформации гонококков привели к быстрому распространению детерминант устойчивости к антибиотикам в популяции *N. gonorrhoeae*, что стало проблемой для мирового здравоохранения.

Процесс трансформации клеток можно разделить на три этапа: связывание донорной ДНК, поглощение и рекомбинация [205]. Прежде чем встроиться в геном, ДНК должна быть распознана пилями клетки-реципиента по определенной 10–12-буквенной последовательности (atGCCGTCTGAA) [210], встречающейся в хромосоме *N. gonorrhoeae* и других видов *Neisseria* в среднем 1 раз на 1100 п.н. Эту последовательность называют DUS (DNA Uptake Sequence) и, вероятно, она служит своеобразным “водяным знаком”, устраняющим барьеры для проникно-

вления собственной ДНК в геноме в условиях отсутствия у гонококка функциональной системы CRISPR-Cas [211].

Механизмы передачи донорной ДНК для трансформации

Донорная ДНК может быть получена и передана гонококком с помощью автолиза, везикул внешней мембраны (OMV) или системы секреции ДНК IV типа (T4SS), наиболее изученной в настоящее время.

Автолиз

В отличие от многих грамположительных и грамотрицательных бактерий, *N. gonorrhoeae* не может выживать в течение длительного времени после прекращения роста. Автолиз обычно происходит в стационарной фазе или в условиях отсутствия роста, таких как истощение питательных веществ, неоптимальные температура, pH или осмолярность [212]. Снижение жизнеспособности коррелирует с лизисом клеток, происходящим после истощения запасов глюкозы в среде [213]. Автолиз может привести к образованию клеток с поврежденной оболочкой (L-форма), способных подвергаться репарации и возобновлять рост при благоприятных условиях [214]. За процесс автолиза ответственны литические трансгликозилазы, такие как AtlA, LtgA, LtgB, LtgC, LtgX, эндопептидаза EppA, N-ацетилглюкозаминидаза NagZ и N-ацетилмураоил-L-аланин-амидаза AmiC [215, 216].

В процессе автолиза в окружающую среду выделяются фрагменты пептидогликана, обладающие цитотоксическими свойствами и способствующие селективному уничтожению реснитчатых клеток фаллопиевой трубы, что важно для развития гонококковой инфекции в органах малого таза [216]. Кроме модуляции иммунного ответа хозяина, потенциальная выгода автолиза может состоять в предоставлении ДНК для формирования биопленок, а также для естественной трансформации.

Везикулы внешней мембраны (OMV)

У *N. gonorrhoeae*, как и у *N. meningitidis*, еще одного облигатного патогена рода *Neisseria*, обнаружены OMV [214]. Они наиболее интенсивно вырабатываются в экспоненциальной фазе либо в ответ на стресс [218] и могут содержать фосфолипиды, нуклеиновые кислоты, компоненты клеточной стенки, метаболиты, сигнальные молекулы и белки [223].

Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что OMV гонококков влияют на клетки хозяина, стимулируя иммунный ответ в нефагоцитирующих клетках и индукцию апоптоза макрофагов [49]. Помимо этого, OMV содержат как плазмидную, так и хромосомную ДНК, обеспечивая горизонтальный перенос, в том числе, генов устойчивости к антибиотикам, например, плазмид с генами *blaTEM* [219].

Система секреции IV типа (T4SS)

Отличительным механизмом выделения хромосомной оцДНК во внешнюю среду у гонококка является система T4SS, кодируемая генами GG1. Полагают, что наличие T4SS связано с высокой эффективностью горизонтального переноса между различными популяциями *N. gonorrhoeae* из-за увеличения количества ДНК, доступной для трансформации в окружающей среде. Кроме того, T4SS играет важную роль в формировании биопленок за счет большого вклада “липкой” ДНК в построение матрикса этих пленок [11]. Функционирующая система T4SS обеспечивает в 500 раз более высокую эффективность трансформации гонококков, чем автолиз [12]. Основной комплекс T4SS гонококков состоит из мультимерных белков TraB, TraK и TraV, формирующих помпу (рис. 4). Он охватывает клеточную стенку от внутренней мембраны через периплазму до внешней мембраны. Периплазматические и трансмембранные белки TraE, TraF, TraG, TraH, TraL, TraN, TraW, TraU, Yag, DsbC и TrbC участвуют в сборке аппарата секреции и его закрепления в клеточной стенке [220–222]. Предполагается, что перед встраиванием помпы в клеточную стенку в этом месте должно произойти расщепление пептидогликана литическими трансгликозилазами AtlA и LtgX.

Ведущую роль во взаимодействии ДНК с T4SS играют белки ParA-ParB и TraI — релаксаза, принадлежащая к семейству MOB_H. Канонически ParA-ParB необходимы для точной сегрегации сестринских пар молекул ДНК в цитоплазме при делении клетки [223], но в случае T4SS *N. gonorrhoeae* они соединяются с TraI, образуя релаксому TraI-ParAB на внутренней мембране [224]. При этом ParB, вероятно, отвечает за привлечение хромосомной ДНК к TraI, а АТР-зависимая активность ParA облегчает процесс разрезания ДНК релаксомой. Главный компонент релаксомы — белок TraI закреплен на внутренней мембране гидрофобным N-концом, каталитически активен в присутствии ионов Mn^{2+} и осуществляет несколько функций, включая одноцепочечный сайт-специфический разрез хромосомы по мотиву oriT, ее расплетание и повторное, но неспецифичное разрезание [225, 226]. Последовательность oriT состоит из

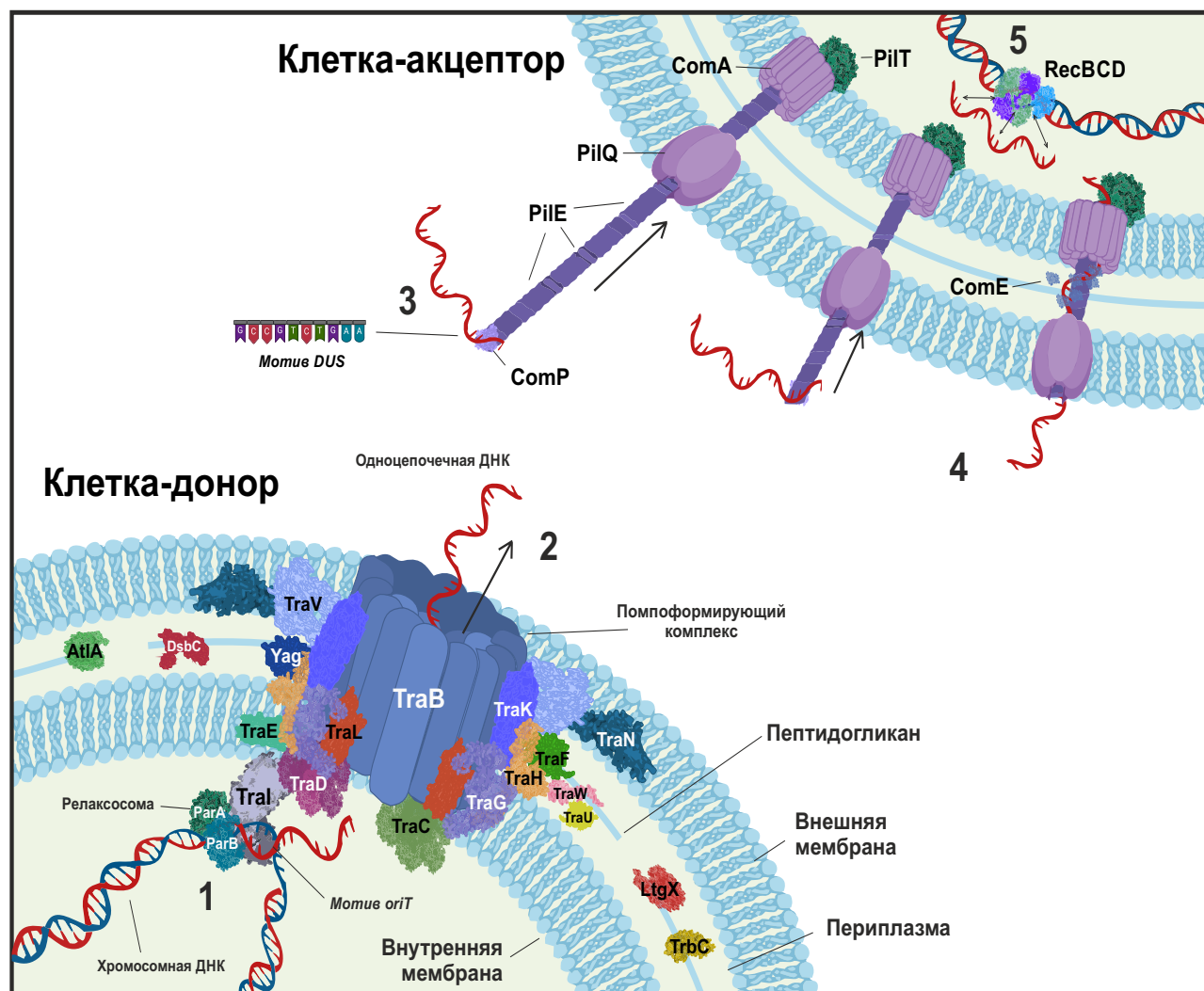


Рис. 4. Горизонтальный перенос генов *N. gonorrhoeae* с помощью T4SS. Показаны основные компоненты T4SS, системы компетентности и пилей IV типа. 1 – Релаксосома TraI-ParAB разрезает одну из цепей хромосомы клетки-донора по мотиву oriT, расплетает ее и производит оцДНК; 2 – оцДНК выходит через помпу T4SS за пределы клетки; 3 – находящийся во внешней среде комплекс TraI-оцДНК связывается с пилиями клетки-акцептора посредством белка компетентности ComP, распознающего мотив DUS; 4 – молекулярный мотор PilQ осуществляет вытягивание пили, в результате чего ДНК переносится в периплазму через пориновый канал PilQ. Связывание ДНК с ComE препятствует обратному перемещению ДНК из клетки и способствует переносу молекулы через канал ComA в цитоплазму; 5 – ДНК встраивается в геном клетки-акцептора посредством рекомбинации RecBCD.

инвертированного повтора (IR), образующего вторичную структуру типа “шпилька”, которая распознается TraI, и *pic*-сайта, по которому этот фермент производит разрез. Кроме того, oriT присутствует и в самом GGI, способствуя его распространению в популяции.

Белок TraD способствует сопряжению релаксосомы TraI-ParAB с остальными структурными компонентами помпы T4SS. АТРаза TraC обеспечивает транспорт оцДНК через помпу за пределы клетки, высвобождая необходимую для этого энергию из АТФ. Интересно, что образующаяся

оцДНК защищена с 5'-конца от экзонуклеаз. Предполагалось, что она выбрасывается из клетки, будучи связанной с TraI, подобно тому, как это происходит в конъюгативных T4SS-системах, и поэтому не подвержена 5'-расщеплению [226]. Однако позже выяснилось, что комплекс “TraI-оцДНК” не образуется, а 5'-деградации препятствует то, что 5'-конец, начинающийся с *pic*-сайта, находится на слишком малом расстоянии от IR-шпильки (3 н.), которая и препятствует расщеплению экзонуклеазой [225]. Оказавшись за пределами клетки, оцДНК, содержащая мотив DUS, может специфически

связаться с белком ComP на поверхности пили IV типа клетки-акцептора и участвовать в процессе естественной трансформации, изображенном на рис. 4. После связывания ДНК с ComP, мотор пили PilT с силой притягивает ДНК по направлению к клетке, чтобы затем она могла пройти через мембранный порин PilQ далее в периплазму. По мере прохождения через мембрану, ДНК связывается многими копиями белка ComE, который количественно регулирует пропускную способность периплазмы [227]. PilQ не специфичен к поступающей ДНК, он может пропускать ее как внутрь, так и наружу. ComE связывается с ДНК, препятствуя ее движению назад. Из периплазмы ДНК проходит через внутреннюю мембранную пору ComA и попадает в цитозоль [228]. Полученная ДНК становится доступной для включения в хромосому путем гомологичной рекомбинации системой RecA и RecBCD [229].

*Гонококковый генетический остров —
молекулярный двигатель распространения
антибиотикорезистентности N. gonorrhoeae*

Система T4SS *N. gonorrhoeae* кодируется генами GGI, который включает 66 генов и имеет длину ~59000 п.н. [209, 220, 230]. Как и все генетические острова, GGI является мобильным элементом, сам он когда-то был получен путем горизонтального переноса, о чем свидетельствует пониженный GC-состав GGI (43% при среднем составе 52% по геному *N. gonorrhoeae*) и гораздо меньшее количество DUS на единицу длины [231]. За мобильность GGI отвечает система сайт-специфической рекомбинации XerCD, способная вырезать/вставлять остров по фланкирующим сайтам difA и difB [232]. Эксперименты по анализу генов GGI, обеспечивающих функционирование T4SS, показали, что только 21 из 66 генов (*traG*, *atlA*, *traI*, *parA* и *parB*, *traK*, *traV*, *traB*, *traD*, *litX*, *yag*, *traL*, *traE*, *dsbC*, *traC*, *traW*, *traU*, *trbC*, *traN*, *traF*, *traH*) необходим для сохранения способности к секреции ДНК [209, 233, 234].

Описаны значительные вариации GGI в области генов *traG-atlA-ych-exp1-cspA-exp2* [12]. Трансмембранный белок TraG имеет три изоформы (TraG1, TraG2, TraG3), которые различаются С-концевой последовательностью, обращенной в цитоплазму, и связываются с другими компонентами T4SS [235]. Выделяют три класса GGI, которые различаются уровнем секреции ДНК во внеклеточную среду: I — *traG1+atlA*; II — *traG2+atlA*; и III — *traG3 + eppA* (класс III содержит *eppA* вместо *atlA*, ген *ych* заменен геном *ych1*, а ген *exp1* отсутствует) [235]. Изоляты с GGI класса III утратили способность секретировать

ДНК. При этом эндопептидаза EppA, функционально схожая с литической трансглюкозилазой AtlA, не обеспечивает формирования необходимого отверстия в клеточной стенке для сборки системы T4SS на мембране. Предполагается, что потеря способности секретировать ДНК связана не только с отсутствием *atla*, но и с “плохой” аффинностью С-конца TraG3 к другим ключевым белкам GGI, таким как белок сопряжения TraD, АТПаза TraC или релаксаза TraI [220].

В отличие от двух других механизмов передачи ДНК, таких как автолиз и OMV, в ряде работ была установлена статистическая значимая связь между присутствием GGI и устойчивостью к АМП на популяционном уровне. Обнаружена ассоциация между наличием GGI и увеличением доли изолятов, устойчивых к цеффиксиму, пенициллину, тетрациклину, ципрофлоксацину, со снижением доли изолятов, устойчивых к азитромицину [200]. Отмечено также, что устойчивость к азитромицину и опосредованная плазмидами устойчивость к пенициллину и тетрациклину не ассоциированы с GGI. Это вполне объяснимо, ведь GGI передает только хромосомную ДНК [236]. Сравнительный полногеномный анализ молекулярных типов возбудителя, доминирующих в России и в мире, выявил связь между снижением чувствительности изолятов *N. gonorrhoeae* к АМП и отсутствием нарушений в генах GGI, значимых для функционирования T4SS [237]. Далее на глобальной популяции *N. gonorrhoeae* сравнили распределение устойчивости к АМП среди изолятов с функциональным GGI и без GGI, а также между геномами с функциональным и нефункциональным GGI, и выявили различие между долями изолятов, устойчивых к цеффиксиму, тетрациклину, пенициллину и ципрофлоксацину [238]. При удалении из выборок изолятов с плазмидами с генами *blaTEM* и *tetM* и сравнении долей устойчивых изолятов в выборках без GGI и с функциональным GGI, доля устойчивых к пенициллину изолятов выросла с 1.2 до 2.6, а к тетрациклину — с 1.9 до 3.4. Выявленные изменения можно объяснить тем, что плазмиды передаются посредством конъюгации, а не T4SS. В то же время, доля изолятов без GGI, устойчивых к азитромицину, была выше, чем изолятов с функциональным GGI. Отметим, что при сравнении выборок с функциональным и нефункциональным GGI доля изолятов, устойчивых к азитромицину, была одинаковой. Это наблюдение может указывать на распространение устойчивости к азитромицину по иному механизму [238].

Филогенетический анализ GGI в мировой популяции гонококка выявил разделение GGI на три кластера, соответствующих описанным ранее классам [235], которые отличаются последовательностью генов *traG*, *atla*, *ych*, *exp1*, *cspA*, *exp2*

[238]. Детальный анализ с разделением кластеров на субкластеры показал, что системы молекулярного типирования MLST и NG-MAST позволяют отнести анализируемый изолят к определенному субкластеру GGI с точностью 83 и 91%, соответственно, и сделать вывод о наличии GGI и его функциональности, а значит и о способности изолята секретировать ДНК [238].

Роль секретируемой ДНК в формировании биопленок

ДНК является важным компонентом биопленок, она стабилизирует биопленку и участвует в прикреплении клеток к клеткам. В частности, обработка ДНКазой I заметно ингибировала образование биопленок или даже приводила к их разрушению [239–241].

Образование биопленок *N. gonorrhoeae* изучено не только на штамме MS11, обладающем функциональным T4SS, но и на штаммах 1291 и FA1090, у которых нет этой системы [242]. Все три штамма способны образовывать биопленки, т.е. T4SS не является обязательным условием формирования биопленки. Однако мутант MS11 с делецией ключевого для T4SS гена *traB*, приводящей к остановке секреции оцДНК, демонстрировал существенно более медленную динамику образования биопленки с заметно худшей стабильностью [11]. оцДНК, секретируемая T4SS, играет важную роль на начальных этапах формирования биопленки, когда клетки прикрепляются к поверхности, ускоряя этот процесс, в то время как на последующих этапах больший вклад вносит дцДНК, высвобождаемая автолизом или везикулами [11].

Комменсальные *Neisseria* – резервуары генетического материала и детерминант устойчивости *N. gonorrhoeae* к антибиотикам

На настоящий момент описаны по меньшей мере 15 комменсальных видов *Neisseria* spp., колонизирующих человека, не считая таксонов внутри полифилетических групп. Восемь из них упоминаются часто (кокковидные *N. lactamica*, *N. mucosa*, *N. cinerea*, *N. polysaccharea*, *N. oralis*, *N. subflava* и палочковидные *N. elongata*, *N. bacilliformis*), а семь открыты относительно недавно (*N. bergeri*, *N. maigaei*, *N. uirgultaei*, *N. basseii*, *N. blantyrii*, *N. viridiae*, *N. benedictiae*) [243]. Комменсальные *Neisseria*, как правило, не представляют угрозы для здоровья. Они составляют значительную долю микрофлоры рото/носоглотки [244] и могут обмениваться генетическим материалом с патогенными *Neisseria*, являясь резервуаром детерминант устойчивости к АМП [245]. Около 6% всего генома

N. gonorrhoeae получено от других представителей рода *Neisseria* [245–248], вероятно, при орофарингеальной гонорее. Именно таким путем в популяции гонококка возникли мозаичные аллели гена *penA*, где донорами рекомбинантной ДНК для *N. gonorrhoeae* были *N. subflava* либо *N. cinerea* [102, 249–251]. Произошло это событие в Японии в 1990-х годах на фоне перорального потребления сублетальных концентраций цефиксима [102]. Затем штаммы с мозаичными *penA* распространялись в условиях рекомендованной терапии цефалоспоридами [252].

Нельзя не упомянуть и о мозаичных аллелях генов оперона *mtrCDE*. Впервые такие аллели описали в 2012 году в небольшой группе изолятов из Австралии, устойчивых к азитромицину [253]. Последовательность промотора гена *mtrR* у этих штаммов гомологична последовательности из менингококкового, но не гонококкового генома (meningitidis-like). Дальнейшие исследования выявили не только изоляты *N. gonorrhoeae* с геном *mtrR* и его промотором, гомологичными *N. meningitidis*, но и изоляты *N. gonorrhoeae* в которых гены оперона *mtrCDE* были целиком или частично гомологичны *N. lactamica* и *N. polysaccharea* [133, 254].

Анализ геномов методами вычислительной филогенетики выявил ряд мутаций в генах *rplB*, *rplD* *rpsY*, которые, вероятно, возникли в результате химеризации с *N. cinerea*, *N. subflava* и *N. lactamica* [10]. Показано также, что детерминанты устойчивости к фторхинолонам в генах *gyrA*, *gyrB*, *parC* и *parE* появились в геноме гонококка в результате горизонтального переноса [9]. Доказательства внутривидового и внутриродового горизонтального транспорта получены и для гена *porB* [8].

Барьеры для межвидового горизонтального переноса генов внутри рода *Neisseria*

Несмотря на приведенные примеры успешного межвидового горизонтального переноса ДНК, внутри рода *Neisseria* существуют определенные барьеры, препятствующие данным событиям [245]. Так, коэволюция мотивов DUS и связывающего их белка компетентности ComP способствовала возникновению “репродуктивной изоляции” между видами *Neisseria*, которая усиливается по мере их филогенетического расхождения [255]. Восемь вариантов мотивов DUS в сочетании с альтернативными формами белка ComP создают дивергентные “диалекты”, которые сильно увеличивают частоту связывания, поглощения и трансформации ДНК внутри вида по сравнению с межвидовыми взаимодействиями [256].

Другим препятствием для межвидового обмена генетическим материалом является различие в количестве и идентичности систем рестрикции-модификации у патогенных и комменсальных видов *Neisseria*. Например, *N. gonorrhoeae* может содержать от 14 до 19 таких систем, филогенетически близкая *N. lactamica* — от 14 до 17, а дальнородственная *N. elongata* — лишь 7–10 [257] (данные из базы REBASE, <http://tools.neb.com/genomes/index.php?page=N>). Эти виды по-разному модифицируют мотивы CpG и GpC, создавая видоспецифичные паттерны метилирования. На примере ДНК *N. elongata* показано, что несовпадающее метилирование приводит к расщеплению хромосомы рестриктазами и смерти клетки *N. gonorrhoeae*, которая попыталась встроить в свой геном фрагменты ДНК другого вида [258, 259]. Примечательно, что другие естественно-компетентные роды, такие как *Streptococcus*, *Helicobacter*, *Moraxella* и *Haemophilus*, также обладают большим количеством систем рестрикции-модификации [257], которые, вероятно, защищают их от попадания чужеродной ДНК и способствуют сохранению клональных линий. Впрочем, вопреки этим барьерам, межвидовая рекомбинация *in vitro* и *in vivo* отражает важность комменсальных *Neisseria*, особенно близкородственных *N. gonorrhoeae*, как резервуаров генетических вариаций и детерминант лекарственной устойчивости гонококка.

Фазовые и антигенные вариации

Фазовая вариация — это случайное обратимое переключение фазы экспрессии гена в состоянии включена/выключена, либо изменение уровня экспрессии в определенных границах [231]. Антигенная же вариация не регулирует экспрессию гена, а изменяет последовательность белка, что приводит к потенциальному появлению нескольких форм антигена (например, сдвиг рамки считывания может приводить к экспрессии трех разных продуктов). Геномы патогенных *N. gonorrhoeae* и *N. meningitidis* содержат в среднем 54 и 47 фазово- и антигенно-вариабельных генов соответственно [260]. Не всегда, но часто эти гены кодируют факторы патогенности, а их высокая изменчивость может быть вызвана необходимостью уходить от иммунного ответа. Так, типичными фазово- и антигенно-вариабельными локусами являются гены пилей IV типа, адгезинов, белков мутности Ора и биосинтеза LOS.

Некоторые фазовые и антигенные вариации можно наблюдать фенотипически, например, при взаимопревращении типов морфологии колоний. Культуры первичных изолятов, выделенных при острой гонорее, дают в основном вирулентные, имеющие пилы, колониальных типов T1 и T2. После нескольких пассажей на агаре

они утрачивают эти свойства, переходя в авирулентные типы T3 и T4, у которых нет пилей [261, 262], которые, впрочем, могут быть восстановлены при селективном пересеве в определенных условиях. Частота фазовых и антигенных переходов пилей (P+/P-) и белков мутности (Ора+/Ора-) может достигать 10^{-2} – 10^{-3} событий на колонию за поколение [263, 264]. При этом такая частота слишком высока, чтобы ее можно было объяснить классическими мутационными событиями.

Фазовые вариации из-за неспаривания скользящей цепи (SSM)

Большинство фазовых вариаций у *Neisseria* возникают в результате ошибок репликации нуклеотидных повторов. Данный механизм носит название “неспаривание скользящей цепи” (slipped-strand mispairing, SSM), при котором один повтор спаривается с соседним на противоположной цепи, что приводит к проскальзыванию ДНК-полимеразы. Затем в этот локус направляются белки системы репарации, после чего повтор либо вырезается, либо дублируется, при этом частота последнего события выше. В случае нарушений в системе репарации *mutS/mutL* частота фазовых вариаций может повышаться в 100–1000 раз [265]. Число нуклеотидных повторов в последовательности зависит от генетической изменчивости локуса: большее число повторов приводит к увеличению скорости изменчивости и наоборот [266]. Кроме того, чем длиннее повтор, тем меньше его копий нужно для обеспечения высокой частоты мутаций. Среди гомополимерных повторов у *N. meningitidis* и *N. gonorrhoeae* наиболее часто встречаются (G)^{9–26} и (T)^{11–30}, а среди тандемных повторов — (GC)⁶, (CTTG)^{5–34}, (CTTCT)^{5–24}, (CAACCG)³, (GCGCGT)³, (TAGGCT)³, (CATTTCT)^{3–22} и (GCCAAAGTT)^{5–25} [260].

Наиболее распространенными простыми короткими нуклеотидными повторами у микроорганизмов рода *Neisseria*, вовлеченными в процесс фазовой вариабельности, являются poly(G)-повторы, чаще всего расположенные в кодирующей области гена около 5'-конца [260, 267]. Проскальзывания в повторе приводят к сдвигу рамки считывания и трансляции дефектного белка, либо к образованию стоп-кодона и остановке трансляции. В качестве известных примеров можно привести гены пилина (*pilC*) [268], гемоглобинсвязывающих белков (*hpuA/hpuB*) [269], а также *pglA* [270] и *lgtA/lgtC/lgtD* [271], ответственных за гликозилирование пилей и биосинтез LOS соответственно. С другой стороны, если повтор находится ближе к 3'-концу, то SSM может приводить к переключению между тремя рамками считывания на

С-конце кодируемого белка, результатом которого является антигенная вариация. Например, этому подвержен полиморфный ген токсина (*mafB*) [267], который, как полагают, способствует конкуренции между видами и штаммами в пределах одной ниши [272]. Гомополимерные повторы также встречаются в промоторных областях, где SSM изменяет расстояние между положениями -10 и -35 , влияя на эффективность транскрипции. Примеры такого рода фазовых вариаций обнаружены в менингококковых генах порина (*porA*) [273] и белка внешней мембраны (*opc*) [274], а также гонококкового рецептора сидерофора (*fetA*), участвующего в поглощении железа [275].

Тандемные повторы встречаются реже гомополимерных [260, 276], среди них наиболее распространены (СТСТТ)ⁿ-повторы в генах белков мутности (*ora*). Почти в каждой из копий гена ближе к 5'-концу локализован участок СТСТТ длиной от 5 до 24 повторов. Кроме того, из-за высокого нуклеотидного сходства копии *ora* могут гомологично рекомбинировать друг с другом (генная конверсия), порождая еще больший репертуар белков мутности [277]. Встречаются также внутригенные тандемные повторы, по длине кратные трем, не приводящие к сдвигу рамки считывания, что обеспечивает генерацию структурного разнообразия белков [278]. Например, они с разной копийностью присутствуют в виде повторов длиной 15 п.н. в генах липопротеинового антигена (*lip*) [279], 24 п.н. в гене поринового канала (*pilQ*) [280] и 108 п.н. в гене деления и биосинтеза клеточной стенки (*dcaC*) [281].

Интересно, что фазовые вариации в одних генах могут влиять на эпигенетическую модификацию множества других. Тандемные повторы (AGCC)ⁿ и (CCCAA)ⁿ вызывают фазовые вариации в генах метилтрансфераз (*modA* и *modB*), соответственно, входящих в систему рестрикции-модификации типа III. Показано, что указанные выше изменения приводят к изменению паттернов метилирования в промоторах, влияя на уровень экспрессии десятков генов, формирование биопленок и взаимодействие с эпителиальными клетками человека [282, 283].

Фазовые вариации на уровне генной конверсии

Генная конверсия происходит в результате гомологичной рекомбинации схожих фрагментов ДНК, что приводит к фазовым или антигенным вариациям. Часто эти фрагменты расположены в виде генных кассет и уровень разнообразия, вносимого конверсией, зависит от числа генов в кассете и их вариабельности [284]. Генная конверсия определяет антигенную вариабельность пилей *N. gonorrhoeae*. Разбросанные по хромосоме кассеты беспромоторных усеченных генов

pilS, гомологичных гену основной субъединицы пилина *pilE*, служат для него резервуаром вариабельной генетической информации.

Геном гонококка обычно содержит четыре–пять кассет, несущих суммарно до 19 генов *pilS*, менингококка — одну кассету с четырьмя–шестью *pilS* [285]. Перенос гомологичной ДНК из копии *pilS* в экспрессирующийся *pilE* происходит независимо от RecBCD [286] за счет RecF-подобных белков (RecA), причем для события рекомбинации необходим G4-квадруплекс [42]. Частота рекомбинации в *pilE* является одной из самых высоких среди систем генной конверсии у патогенных микроорганизмов, она может достигать 6.8×10^{-3} событий на клетку за поколение, способствуя уклонению от действия иммунной системы [287].

Геномные перестройки

Известно, что порядок генов на хромосоме прокариот часто изменяется в процессе эволюции и, как правило, быстрее, чем аминокислотные последовательности, которые они кодируют [288–291]. Геномные перестройки могут происходить в результате событий гомологичной, сайт-специфической и незаконной рекомбинации: инсерций, делеций, инверсий и транслокаций. При этом частота перестроек коррелирует с состоянием систем репарации/рекомбинации и количеством мобильных элементов в геномах [291, 292]. В ходе сравнения трех геномов филогенетически удаленных молекулярных типов *N. gonorrhoeae* были выявлены крупномасштабные хромосомные перестройки [293]. Показано также, что перестройки могут происходить за относительно небольшой промежуток времени (8 недель) в лабораторных условиях под воздействием стресса (повышенной температуры и добавления сублетальной концентрации хинолонового антибиотика — налидиксовой кислоты) [294].

При этом в “горячих точках” между перестроенными фрагментами генома (синтенными блоками) обнаруживают последовательности профагов (NgoΦ1–9) и других мобильных элементов, таких как инсерционные элементы IS (IS5, IS110, IS1595) и MITE (miniature inverted-repeat transposable elements). К последним относят нейссерийские межгенные мозаичные элементы (NIME) длиной 70–200 п.н. (в среднем 80 на геном); элементы Корреи (CREE) длиной 100–150 п.н. (126 на геном); элементы Спенсера–Смита (SSREE) длиной 650 п.н. (три на геном) [295]. Вовлеченность перечисленных мобильных элементов в процесс перестроек различна, лишь менее половины (44%) событий перестройки можно объяснить их присутствием в горячих точках [295].

Изучение взаимосвязи перестроек с филогенетической близостью *N. gonorrhoeae* и *N. meningitidis* показало, что количество перестроек в популяции гонококка не зависит от молекулярного типа изолята и слабо коррелирует ($\rho = 0.33$) с филогенетической близостью, тогда как у *N. meningitidis* такая корреляция существует ($\rho = 0.62$) [295]. Вероятным объяснением может быть тот факт, что популяция менингококков обладает примерно в 6 раз большим нуклеотидным разнообразием, чем популяция гонококков, которая, по-видимому, не так давно прошла через бутылочное горлышко [295].

Известно, что геномные перестройки могут влиять на экспрессию генов. Например, многие IS-элементы содержат на своих концах ориентированные наружу –35 промоторные фрагменты, поэтому вставка на правильном расстоянии от подходящего мотива –10 может привести к усилению транскрипции [296]. У представителей рода *Neisseria* роль регуляторов экспрессии могут играть элементы CREE, также фланкированные промоторными фрагментами. Подвергаясь инверсии под воздействием стресса [297] и находясь в горячих точках рекомбинации [293, 295], они способны влиять на транскрипцию близлежащих генов. Так, у *N. meningitidis* транскрипция генов эффлюкс-помпы MtrCDE управляется CREE-элементом, находящимся неподалеку от промотора [298]. Кроме того, элементы NIME, служащие сайтами для гомологичной и сайт-специфической рекомбинаций, могут способствовать как генерации новых мозаичных аллелей ближайших генов, так и протеканию фазовых и антигенных вариаций в них. Тем не менее, несмотря на приведенные примеры, влияние геномных перестроек на фенотип и экспрессию генов у *N. gonorrhoeae* и других представителей рода *Neisseria* пока остается малоизученным.

ДИАГНОСТИКА ГОНОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ

Микроскопическая (бактериоскопическая) диагностика

Микроскопическая диагностика основана на исследовании нативных или окрашенных препаратов в оптическом микроскопе. Анализируют отделяемое уретры у мужчин или отделяемое эндоцервикса у женщин. Мазки исследуют в два этапа: 1) окраска по Граму для сокращения списка предполагаемых возбудителей, вызывающих сходные симптомы; 2) окраска метиленовым синим или бриллиантовым зеленым с целью выявления микроорганизмов рода *Neisseria* с характерной морфологией и расположением относительно нейтрофилов и клеток эпителия

[299, 300]. К отличительным морфологическим признакам нейссерий относятся бобовидная форма и парное расположение: снаружи кокки имеют выпуклую поверхность, вогнутой стороной они обращены друг к другу. При острой инфекции в препаратах отделяемого пациентов гонококки обнаруживаются внутри нейтрофилов и на поверхности клеток плоского эпителия. В препарате, окрашенном по Граму, гонококки выглядят оранжево-красными, контрастируя с фиолетовыми ядрами лейкоцитов и клеток эпителия. В окрашенных метиленовым синим препаратах темно-синие диплококки выделяются цветом и размером на фоне голубой цитоплазмы, синих ядер эпителиальных клеток и нейтрофилов [300].

К преимуществам микроскопического метода относятся быстрота, низкая стоимость, высокая чувствительность и специфичность (>95%) анализа мазков из уретры. Основные недостатки – низкая чувствительность анализа цервикальных проб (45–65%), неприменимость для фарингеальных и ректальных проб, а также в случае ранней и бессимптомной гонореи. По этим причинам микроскопию рекомендуют применять только в совокупности с другими методами [301, 302] (рис. 5).

Культуральная (бактериологическая) диагностика

Культуральная (бактериологическая) диагностика, основанная на получении культуры *N. gonorrhoeae* с использованием селективных питательных сред с последующей идентификацией вида по биохимическим и морфологическим признакам, является золотым стандартом [301]. Для выделения культуры гонококка применяют среды Тайера–Мартина, Мартина–Люиса, Нью-Йоркский агар. Все эти методы основаны на шоколадном агаре с добавлением различных антибиотиков, подавляющих рост грамположительных кокков, энтеробактерий и грибов. Взятые образцы немедленно высевают на предварительно прогретые до 37°C чашки с плотной питательной средой. После 24 ч инкубации при 37°C в атмосфере 5% CO₂ колонии гонококка могут иметь диаметр 0.5–2.0 мм и округлую форму с блестящей поверхностью. Они могут быть как прозрачными, так и непрозрачными, бесцветными или беловатыми, иметь разную консистенцию и степень выпуклости. Наиболее характерные колонии маркируют для приготовления окрашиваемых по Граму препаратов. Микроскопически оценивают чистоту культуры, в идеале наблюдают монокультуру грамотрицательных диплококков, не образующих гроздей или цепочек, свойственных стрептококкам и стафилококкам. Посевы на чашках,

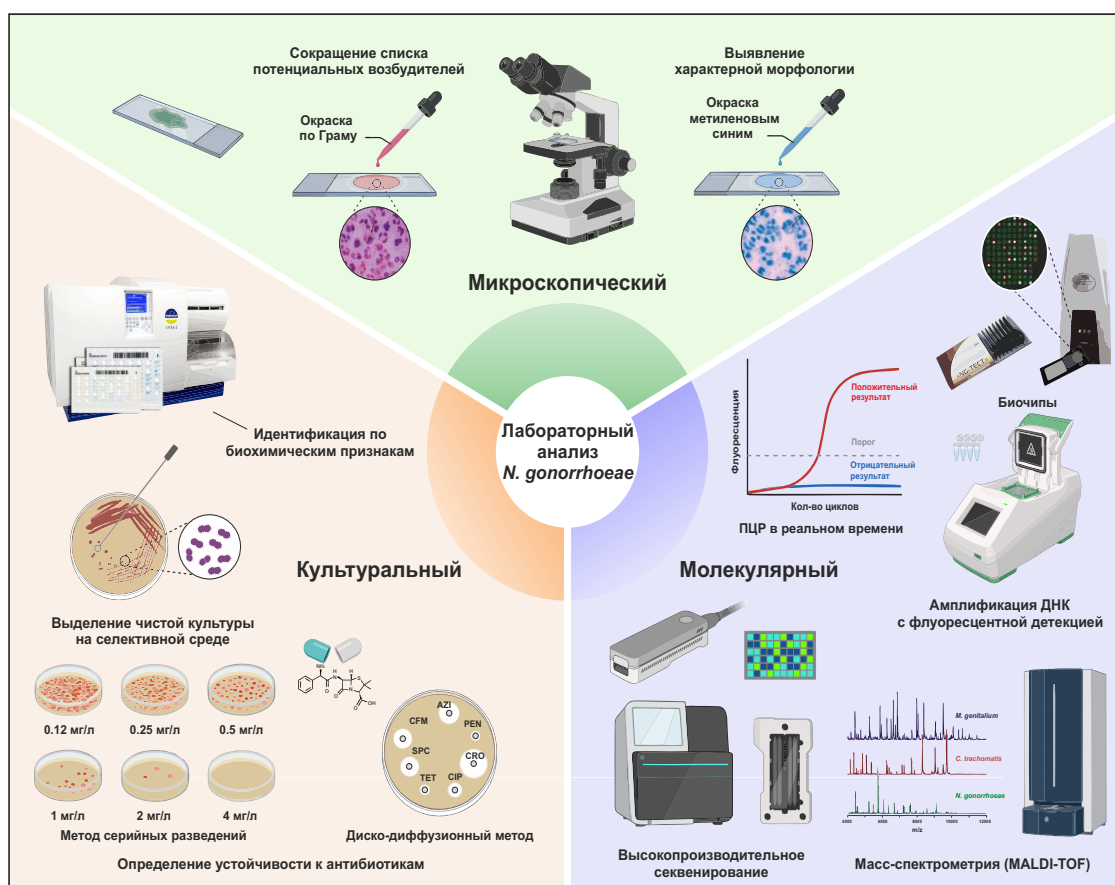


Рис. 5. Методы обнаружения *N. gonorrhoeae* в биологических образцах человека и/или определения МПК.

не давшие роста, вновь помещают в CO_2 -инкубатор. При отсутствии признаков роста через 48–72 ч инкубации наблюдение прекращают. Дополнительно измеряют МПК антибиотиков, используя либо диско-диффузионный метод, либо метод серийных разведений в агаре и др. [299, 300].

Морфологические свойства колоний *N. gonorrhoeae* могут сильно варьировать вследствие частых фазовых вариаций, что затрудняет идентификацию возбудителя. Во избежание этого проводят качественные реакции на активность оксидазы, каталазы и расщепление сахаров. Свежеприготовленный 1%-ный раствор ди- или тетраметил-*n*-фенилендиамина вступает в реакцию с *Neisseria*, окрашивая колонию в розово-фиолетовый цвет. В каталазном тесте используют 3–30%-ный пероксид водорода, обильное выделение пузырьков кислорода свидетельствует о принадлежности колонии к *Neisseria* spp. Поскольку все представители рода *Neisseria* оксидазо- и каталазоположительные, для видовой идентификации дополнительно анализируют метаболизм сахаров. В ряду

моносахаридов, которые *Neisseria* spp. могут использовать в качестве субстрата, *N. gonorrhoeae* расщепляет исключительно глюкозу [299, 300].

Кроме того, для видовой идентификации применяют коммерческие тест-системы Vitek 2 NH system (“bioMérieux”, Франция), Rapid NH system (“Thermo Fischer Scientific”, США), BBL Crystal NH ID system (“Becton Dickinson”, США). Они могут включать до нескольких десятков биохимических тестов в одной панели, что позволяет выявлять множество микроорганизмов, что важно при коинфекциях. К преимуществам бактериологического метода по сравнению с бактериоскопическим относится высокая чувствительность (80–90%) и специфичность (до 100% при видовой идентификации), а также применимость к широкому спектру образцов. Эффективность этого метода особенно важна при исследовании патологического материала, полученного из цервикального канала, экстрагенитальных очагов инфекции и при диагностике гонореи у детей [299, 300].

Молекулярная диагностика

Широкое распространение получила масс-спектрометрическая идентификация гонококка (времяпролетная масс-спектрометрия с матрично ассоциированной лазерной десорбцией/ионизацией, MALDI-TOF), при которой получают протеомный спектр — “отпечаток пальца”, характерный для определенного микроорганизма [303]. MALDI-TOF хорошо зарекомендовал себя для выявления гонококка, а его прогностическая значимость может достигать 99.3% [304]. Что же касается обнаружения антител к *N. gonorrhoeae*, то ни один из молекулярно-иммунологических методов не позволяет отличить текущую инфекцию от инфекций, перенесенных в прошлом. Трудности вызывают и постоянные фазовые вариации поверхностных антигенов гонококка, способствующие его уклонению от иммунного ответа. Поэтому иммунологические методы, хорошо зарекомендовавшие себя для диагностики других инфекций, передающихся половым путем (сифилиса, трихомоноза), при гонорее не используются [301].

Для выявления возбудителя гонореи применяют также молекулярно-генетические методы, основанные на амплификации нуклеиновых кислот возбудителя (NAAT — Nucleic Acid Amplification Technologies) с последующей флуоресцентной детекцией продуктов амплификации (например, в ходе ПЦР в реальном времени или гибридизации на микрочипах). Тесты NAAT быстры, высокочувствительны (>95%) и специфичны (>99%), их можно проводить на широком спектре клинических образцов, при этом наличие жизнеспособных бактерий не требуется [305]. Многие из тестов многопараметрические и могут выявлять сразу несколько возбудителей ИППП (например, *Chlamydia trachomatis* вместе с *N. gonorrhoeae*).

Рынок молекулярной диагностики *N. gonorrhoeae* насыщен отечественными и зарубежными NAAT-тестами, такими как COBAS AMPLICOR (“Roche Diagnostics”, Швейцария), GeneXpert CT/NG assay (“Cepheid”, США), Abbott m2000 Real Time CT/NG assay (“Abbott”, США), BD Max CT/GC/TV (“Becton Dickinson”), ГОНО-ГЕН, Андрофлор (“ДНК-Технология”, Россия), AmpliSens NG (ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия), ГОНОПОЛ (НПФ “ЛИТЕХ”, Россия). Мишени для идентификации возбудителя включают гены 16S рРНК, белков мутности (*opa*) и адгезина (*opcA*), цитозин-метилтрансферазы (*dcmG*), гомолога белка инверсии пилей (*pilvNG*), псевдоген *porA* гонококков, гены мобильных элементов [301, 305]. Следует учитывать, что на эффективность выявления возбудителя может влиять генетическая изменчивость гонококка. Показано, что потеря или модификация ДНК-мишени снижа-

ет чувствительность теста [306, 307], тогда как на специфичность влияет наличие в образце ДНК *Neisseria* spp., а также горизонтальный перенос ДНК от *N. gonorrhoeae* к *Neisseria* spp. [308, 309]. Кроме того, ДНК гонококка может присутствовать в урогенитальных образцах в течение 2 недель после успешного лечения, приводя к ложноположительным результатам тестирования [310]. Ключевым недостатком NAAT-диагностики в сравнении с бактериологическим методом является невозможность получения фенотипических данных об устойчивости изолята к антибиотикам, для чего требуется выделение чистой культуры.

Разнообразие молекулярных детерминант лекарственной устойчивости *N. gonorrhoeae* не позволяет рассматривать тесты на основе ПЦР как оптимальные для идентификации широкого спектра генетических маркеров резистентности к АМП. Интенсивно разрабатываются новые методы выявления детерминант устойчивости и предсказания уровня МПК на основе данных о генотипе изолята [110, 177, 311]. Особенно информативным могут быть сведения о полном геноме *N. gonorrhoeae*, полученные с использованием методов высокопроизводительного секвенирования. Полногеномный анализ с помощью как коротких (“Illumina”, США; “MGITech”, Китай), так и длинных прочтений (“Oxford Nanopore Technologies”, Великобритания), как правило, проводят, используя геномную ДНК изолятов, выращенных на специальных микробиологических средах [312]. Задачу получения геномных данных из клинических образцов *N. gonorrhoeae* без предварительного культивирования изолятов можно решить, используя процедуру целевого обогащения (target enrichment) [313], позволяющую перед секвенированием увеличить концентрацию геномов или геномных фрагментов, представляющих интерес. Процедура основана на применении биотинилированных РНК-олигонуклеотидных зондов, дающих возможность захватывать и увеличивать долю интересующих регионов путем гибридизации и выделения на магнитных частицах [313]. Вместе с тем, эффективность полногеномного анализа *N. gonorrhoeae* на клиническом материале еще предстоит установить.

Модели машинного обучения для предсказания устойчивости N. gonorrhoeae к антимикробным препаратам

Технологии машинного обучения сегодня являются глобальным направлением развития научных исследований и клинической диагностики. Предсказание устойчивости к АМП становится неотъемлемым компонентом диагностических тест-систем и эпидемиологических

баз данных. Устойчивые тенденции увеличения объема данных и развития методов их анализа дают надежду на увеличение чувствительности и специфичности предсказательных моделей.

Существующие методы предсказания устойчивости *N. gonorrhoeae* к АМП можно концептуально разделить на два класса, различающихся априорными данными о генетических детерминантах лекарственной устойчивости. В первом случае в качестве размеченных данных выступают значения МПК и сведения о выявленных детерминантах, во втором — значения МПК и весь геном патогена. Методы предсказания МПК можно подразделить на бинарные/тернарные (деление на устойчивые и чувствительные, либо устойчивые, промежуточные и чувствительные) и многоклассовые. В бинарных методах классификации, основанных на анализе известных детерминант, часто применяют логические правила и решающие деревья [314, 315]. Так, база данных Pathogenwatch (<https://pathogen.watch/genomes/all?genusId=482&speciesId=485>) содержит (на апрель 2024 г.) информацию о 38000 геномах *N. gonorrhoeae* и алгоритм предсказания устойчивости по бинарной/тернарной классификации к азитромицину, цефтриаксону, цефиксиму, ципрофлоксацину, тетрациклину, пенициллинам, спектиномицину, сульфаниламидам, используя данные о генетических детерминантах резистентности, автоматически определяемых при анализе генома [314]. На тестовой выборке значения специфичности и чувствительности предсказания устойчивости *N. gonorrhoeae* к различным АМП находились в диапазонах 61.3–99.9% и 33.3–99.2% соответственно [314]. В многоклассовой классификации по известным локусам применяют прежде всего регрессию [311, 316–318].

Согласно валидированным регрессионным моделям предсказания устойчивости *N. gonorrhoeae* к цефалоспорином, наибольший вклад в увеличение МПК цефтриаксона внесли замены Ala501Pro, Ala311Val, Gly545Ser, вставка Asp(345–346) в PCB2, а также замена Gly120Arg в PorB [311, 316]. При сравнении моделей наибольшее значение точности и площади под кривой при ROC-анализе показано с использованием логистической регрессии, k-соседей, дерева решений и случайного леса [318].

В методах без априорного задания локусов (входными данными является последовательность полного генома) предсказание значений МПК сводится к задаче классификации или регрессии с применением методов машинного обучения. В качестве исходных данных берут набор нередуцированных перекрывающихся нуклеотидных k-меров из анализируемых геномов и значения МПК препаратов. Получают

матрицу, в которой k-меры и значения МПК рассматриваются как признаки каждого генома. Для решения задачи классификации при предсказании МПК применяется, в том числе и для *N. gonorrhoeae* [319], метод решающих списков, называемый также “машиной покрывающих множеств” (set covering machine (SCM)), и метод случайного леса (СЛ) и СЛ-регрессия. Yasir и соавт. сравнивали разные методы машинного обучения без априорного задания локусов и получили наилучшие результаты на моделях случайного леса, CATBoost и XGBoost [320]. В работе Eugene и соавт. показана неравнозначная эффективность прогностических моделей на основе машинного обучения в случае разных лекарственных препаратов, что может быть объяснено размером выборки и ее несбалансированностью [317]. Может показаться, что предсказательными являются модели предсказания МПК, построенные не по известным детерминантам, а по k-мерам. Однако сравнение эффективности прогностических моделей с использованием геномных наборов показало, что даже при относительно больших и фенотипически сбалансированных наборах данных нельзя ожидать, что алгоритмы машинного обучения смогут успешно моделировать сложные и разнообразные механизмы резистентности, особенно учитывая, что представленность механизмов резистентности в обучающих наборах данных априори неизвестна [319].

АЛЬТЕРНАТИВА ПРИМЕНЕНИЮ АНТИМИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ В БОРЬБЕ С ГОНОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

Способность *N. gonorrhoeae* формировать устойчивость к АМП представляет глобальную угрозу и побуждает искать альтернативные методы борьбы с гонококковой инфекцией. Одним из таких подходов могла бы стать эффективная и доступная вакцина. Основные факторы, препятствующие разработке эффективной вакцины — антигенная и фазовая вариация потенциальных мишеней, а также отсутствие защитного иммунитета после инфекции. Первые попытки получить вакцину против *N. gonorrhoeae* были сделаны более 40 лет назад и стартовали с таких антигенов, как убитые клетки возбудителя [321] и пили [322]. За прошедшие годы были проанализированы антигены к компонентам внешней мембраны (PorB, Ора, ОрсА, ОмпА, ОмпU), участникам метаболизма железа (TbpA, TbpB, LbpA, LbpB, FetB), цинка (TdfJ, TdfH) и анаэробного метаболизма (AniA), эффлюксной помпе (MtrE) и многим другим клеточным компонентам [323]. Подающие надежды результаты получены при использовании менингококковой вак-

цины серогруппы B4CMenB (Bexsero) [324]. 4CMenB это многокомпонентная вакцина, содержащая четыре основных иммуногенных компонента, включая нейссерияльный гепаринсвязывающий антиген (NHBA), слитый с геномным антигеном *Neisseria* GNA1030; fHbp, слитый с GNA2091; и нейссерияльный адгезин A (NadA); обработанные детергентом OMV, содержащие белок PorA в качестве основного антигена [324]. К достоинствам менингококковых OMV следует отнести растворимость и нативную форму белковых антигенов внешней мембраны [325]. Интерес к изучению антигонококкового потенциала менингококковых вакцин возник после ретроспективного исследования пациентов из Новой Зеландии [326]. В данной работе показано, что снижение частоты диагностики гонореи (эффективность вакцины 31%) связано с вакцинацией MeNZB [326] — вакциной на основе OMV, выделенных из менингококкового штамма NZ98/254 [327]. В настоящее время вакцина 4CMenB находится на II–III фазах клинических исследований. Математическое моделирование последствий использования вакцины предсказывает значительное снижение уровня заболевания гонококковой инфекцией даже при низкой эффективности вакцин [328, 329].

Альтернативный метод терапии гонококковой инфекции может исходить из механизмов межвидовой борьбы бактерий, выраженной в продукции бактериоцинов, выработке токсичных липидов, конкуренции за питательные вещества. Бактериоцины — это белковые вещества, продуцируемые одной бактерией и обладающие бактерицидной активностью против того же или родственного вида бактерий. Считается, что летальное действие бактериоцинов обусловлено их связыванием с поверхностными рецепторами с последующим взаимодействием с внутриклеточной мишенью. Ряд штаммов стафилококка содержит плазмиду вирулентности 56S, которая кодирует бактериоцин “Bac R1”. Показано, что он ингибирует рост значительного количества грамположительных бактерий, а также и *N. gonorrhoeae*. Потеря жизнеспособности 7/7 штаммов гонококка через 30 мин роста составила около 90%, а через 5 ч достигла 99.9% [330]. Показано что пиоцины — бактериоцины, вырабатываемые *P. aeruginosa*, также подавляют рост *Neisseria*, в том числе 56/56 протестированных штаммов *N. gonorrhoeae*, 3/20 *N. meningitidis* и 5/16 *N. lactamica* [331]. Гибель гонококков происходила одновременно и требовала всего одну молекулу пиоцина на колониеобразующую единицу, сопровождаясь эндогенным лизисом. Однако выяснилось, что *N. gonorrhoeae* может развивать

устойчивость к бактериоцинам *P. aeruginosa*, изменяя структуру LOS последовательными deletциями и инсерциями сахаридов [332].

Исследовано подавление роста *N. gonorrhoeae in vitro* с использованием микроорганизмов, титры которых в вагинальном или цервикальном секрете превышают 10^5 КОЕ/мл. Установлено, что большинство штаммов *S. epidermidis*, *S. aureus*, меньшинство штаммов *S. viridans*, *Neisseria* spp., *Candida* и *Bifidobacterium* могут ингибировать рост гонококка [333]. Помимо этого, во влагалище обитает около 50 различных видов микроорганизмов, например *Lactobacillus*. Вырабатывая молочную кислоту, лактобациллы могут способствовать поддержанию низкого уровня pH во влагалище, что может подавлять рост других бактерий. Так, колонизация *Lactobacillus* sp., продуцирующими пероксид водорода, ассоциирована с более низкой частотой гонореи [334].

Отношения между культурами клеток облигатно-патогенных и комменсальных нейссерий далеки от благоприятных. *N. cinerea* [335] подавляет рост *N. meningitidis* в культуре эпителиальных клеток, а ДНК, выделяемая *N. elongata* и несколькими другими непатогенными видами *Neisseria*, способна убивать *N. gonorrhoeae* [258]. Aho и соавт. [336] сообщали об антимикробной активности *N. mucosa* по отношению к *N. gonorrhoeae*, хотя позднее это было опровергнуто [337]. Обнаруженная же способность *N. cinerea* подавлять рост *N. meningitidis* и *N. gonorrhoeae* обусловлена экспрессией системы секреции типа VI (T6SS), что не стало сюрпризом [338]. T6SS — это одна из важнейших систем межвидовой борьбы, она присутствует более чем в 25% всех грамотрицательных бактерий и способна вводить токсины как в другие бактерии, так и в эукариотические клетки [339].

Еще одной альтернативой борьбы с гонококковой инфекцией могла бы стать фаговая терапия [340, 341]. К преимуществам бактериофагов относится их нетоксичность и специфичность, а значит и отсутствие неблагоприятного влияния на микробиом человека. Сообщается об успешной терапии уропатогенной *E. coli* [342]. Основная проблемой фаговой терапии — выделение литических фагов. В 1955 году был описан полученный из смывов носоглотки человека бактериофаг, активный против ряда штаммов *N. perflava* [343]. Проверить активность этого фага в отношении *N. gonorrhoeae* не удалось, но была показана его активность в отношении *N. subflava*, *N. sicca*, *N. flavescens*, *M. catarrhalis* и *N. meningitidis* [343]. В 1967 г. выделены фаги с лизогенной активностью в отношении нескольких штаммов *N. perflava* и *N. subflava*, однако не удалось добиться эффективного лизиса

N. gonorrhoeae этими фагами [344]. В 2021 г. описали антигонококковую активность орофарингеальных и аноректальных смывов в отношении клинических штаммов *N. gonorrhoeae* [345]. Наблюдали образование фаговых бляшек, но попытка выделения антигонококкового бактериофага закончилась неудачно [345]. Таким образом фаговая терапия имеет большой потенциал, но пока еще остается темой для умозрительных рассуждений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Высокая генетическая пластичность позволяет *N. gonorrhoeae* формировать устойчивость ко всем терапевтическим антимикробным препаратам, что на фоне множества механизмов ускользания от иммунного ответа справедливо ставит гонококк в ряд патогенов, представляющих глобальную угрозу. Для отслеживания тенденций в развитии устойчивости к антимикробным препаратам необходим постоянный мониторинг с применением глубокого секвенирования гонококковой, менингококковой и комменсальной популяций *Neisseria* spp. Усилия, предпринимаемые на пути разработки вакцин, а также новых антимикробных препаратов и альтернативных методов терапии, оставляют надежду на возможность благоприятного прогноза развития эпидемиологической ситуации, возможного при комплексном подходе к решению вопроса о гонококковой инфекции, сочетающего не только терапию, но и профилактику.

Авторы благодарят В.С. Гоголеву за ценные замечания и предложения при обсуждении раздела “Развитие инфекции и патогенез”.

Работа выполнена при поддержке Соглашения с Министерством науки и высшего образования РФ № 075-15-2019-1660 на осуществление государственной поддержки создания и развития центра геномных исследований мирового уровня “Центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины” ИМБ РАН в рамках реализации Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 годы.

Работа выполнена без привлечения людей и животных в качестве объектов изучения.

Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Quillin S.J., Seifert H.S. (2018) *Neisseria gonorrhoeae* host adaptation and pathogenesis. *Nat. Rev. Microbiol.* **16**, 226.
2. Humbert M.V., Christodoulides M. (2020) Atypical, yet not infrequent, infections with *Neisseria* species. *Pathogens.* **9**, 1.
3. Martín-Sánchez M., Ong J.J., Fairley C.K., Chen M.Y., Williamson D.A., Maddaford K., Aung E.T., Carter G., Bradshaw C.S., Chow E.P.F. (2020) Clinical presentation of asymptomatic and symptomatic heterosexual men who tested positive for urethral gonorrhoea at a sexual health clinic in Melbourne, Australia. *BMC Infect. Dis.* **20**, 486.
4. Martín-Sánchez M., Fairley C.K., Ong J.J., Maddaford K., Chen M.Y., Williamson D.A., Bradshaw C.S., Chow E.P.F. (2020) Clinical presentation of asymptomatic and symptomatic women who tested positive for genital gonorrhoea at a sexual health service in Melbourne, Australia. *Epidemiol. Infect.* **148**, e240.
5. WHO (2022) Global health sector strategies on, respectively, HIV, viral hepatitis and sexually transmitted infections for the period 2022–2030. Geneva, Switzerland: World Health Organization.
6. Tobiason D.M., Seifert H.S. (2006) The obligate human pathogen, *Neisseria gonorrhoeae*, is polyploid. *PLoS Biol.* **4**, e185.
7. Tobiason D.M., Seifert H.S. (2010) Genomic content of *Neisseria* species. *J. Bacteriol.* **192**, 2160–2168.
8. Manoharan-Basil S.S., Gestels Z., Abdellati S., Akomoneh E.A., Kenyon C. (2023) Evidence of horizontal gene transfer within *porB* in 19018 whole-genome *Neisseria* spp. isolates: a global phylogenetic analysis. *Microbial Genomics.* **9**, mgen001041.
9. Manoharan-Basil S.S., González N., Laumen J.G.E., Kenyon C. (2022) Horizontal gene transfer of fluoroquinolone resistance-conferring genes from commensal *Neisseria* to *Neisseria gonorrhoeae*: a global phylogenetic analysis of 20047 isolates. *Front. Microbiol.* **13**, 793612.
10. Manoharan-Basil S.S., Laumen J.G.E., Van Dijk C., De Block T., De Baetselier I., Kenyon C. (2021) Evidence of horizontal gene transfer of 50S ribosomal genes *rplB*, *rplD*, and *rplY* in *Neisseria gonorrhoeae*. *Front. Microbiol.* **12**, 683901.
11. Zweig M., Schork S., Koerdt A., Siewering K., Sternberg C., Thormann K., Albers S.V., Molin S., van der Does C. (2014) Secreted single-stranded DNA is involved in the initial phase of biofilm formation by *Neisseria gonorrhoeae*. *Environ. Microbiol.* **16**, 1040–1052.
12. Dillard J.P., Seifert H.S. (2001) A variable genetic island specific for *Neisseria gonorrhoeae* is involved in providing DNA for natural transformation and is found more often in disseminated infection isolates. *Mol. Microbiol.* **41**, 263–277.
13. Shaskolskiy B., Kandinov I., Dementieva E., Gryadunov D. (2022) Antibiotic resistance in *Neisseria gonorrhoeae*: challenges in research and treatment. *Microorganisms.* **10**, 1699.

14. Golparian D., Vestberg N., Södersten W., Jacobsson S., Ohnishi M., Fang H., Bhattarai K.H., Unemo M. (2023) Multidrug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* isolate SE690: mosaic *penA*-60.001 gene causing ceftriaxone resistance internationally has spread to the more antimicrobial-susceptible genomic lineage, Sweden, September 2022. *Euro Surveill.* **28**, 2300125.
15. Maubaret C., Camelena F., Mrimeche M., Braille A., Liberge M., Mainardis M., Guillaume C., Noel F., Bebear C., Molina J.M., Lot F., Chazelle E., Bercot B. (2023) 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.* **28**, 2300456.
16. Pleininger S., Indra A., Golparian D., Heger F., Schindler S., Jacobsson S., Heidler S., Unemo M. (2022) Extensively drug-resistant (XDR) *Neisseria gonorrhoeae* causing possible gonorrhoea treatment failure with ceftriaxone plus azithromycin in Austria, April (2022) *Euro Surveill.* **27**, 2200455.
17. Golparian D., Unemo M. (2022) Antimicrobial resistance prediction in *Neisseria gonorrhoeae*: current status and future prospects. *Expert. Rev. Mol. Diagnostics.* **22**, 29–48.
18. Unemo M., Shafer W.M. (2014) Antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in the 21st century: past, evolution, and future. *Clin. Microbiol. Rev.* **27**, 587–613.
19. Jones R.A., Jerse A.E., Tang C.M. (2024) Gonococcal PorB: a multifaceted modulator of host immune responses. *Trends Microbiol.* **32**, 355–364.
20. Walker E., van Niekerk S., Hanning K., Kelton W., Hicks J. (2023) Mechanisms of host manipulation by *Neisseria gonorrhoeae*. *Front. Microbiol.* **14**, 1119834.
21. Werner L.M., Alcott A., Mohlin F., Ray J.C., Belcher Dufresne M., Smirnov A., Columbus L., Blom A.M., Criss A.K. (2023) *Neisseria gonorrhoeae* co-opts C4b-binding protein to enhance complement-independent survival from neutrophils. *PLoS Pathog.* **19**, e1011055.
22. Packiam M., Wu H., Veit S.J., Mavrogiorgos N., Jerse A.E., Ingalls R.R. (2012) Protective role of Toll-like receptor 4 in experimental gonococcal infection of female mice. *Mucosal Immunol.* **5**, 19–29.
23. Mavrogiorgos N., Mekasha S., Yang Y., Kelliher M.A., Ingalls R.R. (2014) Activation of NOD receptors by *Neisseria gonorrhoeae* modulates the innate immune response. *Innate Immun.* **20**, 377–389.
24. Płaczekiewicz J., Adamczyk-Popławska M., Kozłowska E., Kwiatek A. (2022) Both *Neisseria gonorrhoeae* and *Neisseria sicca* induce cytokine secretion by infected human cells, but only *Neisseria gonorrhoeae* upregulates the expression of long non-coding RNAs. *Pathogens.* **11**, 4.
25. Naumann M., Wessler S., Bartsch C., Wieland B., Meyer T.F. (1997) *Neisseria gonorrhoeae* epithelial cell interaction leads to the activation of the transcription factors nuclear factor kappaB and activator protein 1 and the induction of inflammatory cytokines. *J. Exp. Med.* **186**, 247–258.
26. Mendes A.C., Ciccone M., Gazolla B., Bahia D. (2020) Epithelial haven and autophagy breakout in gonococci infection. *Front. Cell Dev. Biol.* **8**, 439.
27. Palmer A., Criss A.K. (2018) Gonococcal defenses against antimicrobial activities of neutrophils. *Trends Microbiol.* **26**, 1022–1034.
28. Escobar A., Rodas P.I., Acuña-Castillo C. (2018) Macrophage-*Neisseria gonorrhoeae* interactions: a better understanding of pathogen mechanisms of immunomodulation. *Front. Immunol.* **9**, 3044.
29. Château A., Seifert H.S. (2016) *Neisseria gonorrhoeae* survives within and modulates apoptosis and inflammatory cytokine production of human macrophages. *Cell. Microbiol.* **18**, 546–560.
30. Criss A.K., Seifert H.S. (2012) A bacterial siren song: intimate interactions between *Neisseria* and neutrophils. *Nat. Rev. Microbiol.* **10**, 178–190.
31. Liu Y., Liu W., Russell M.W. (2014) Suppression of host adaptive immune responses by *Neisseria gonorrhoeae*: role of interleukin 10 and type 1 regulatory T cells. *Mucosal Immunol.* **7**, 165–176.
32. Liu Y., Islam E.A., Jarvis G.A., Gray-Owen S.D., Russell M.W. (2012) *Neisseria gonorrhoeae* selectively suppresses the development of Th1 and Th2 cells, and enhances Th17 cell responses, through TGF- β -dependent mechanisms. *Mucosal Immunol.* **5**, 320–331.
33. Masson L., Mlisana K., Little F., Werner L., Mkhize N.N., Ronacher K., Gamielien H., Williamson C., McKinnon L.R., Walzl G., Abdool Karim Q., Abdool Karim S.S., Passmore J.A. (2014) Defining genital tract cytokine signatures of sexually transmitted infections and bacterial vaginosis in women at high risk of HIV infection: a cross-sectional study. *Sex Transm. Infect.* **90**, 580–587.
34. Simpson S.D., Ho Y., Rice P.A., Wetzler L.M. (1999) T lymphocyte response to *Neisseria gonorrhoeae* porin in individuals with mucosal gonococcal infections. *J. Infect. Dis.* **180**, 762–773.
35. McGeachy M.J., Cua D.J., Gaffen S.L. (2019) The IL-17 family of cytokines in health and disease. *Immunity.* **50**, 892–906.
36. Craig L., Volkmann N., Arvai A.S., Pique M.E., Yeager M., Egelman Edward H., Tainer J.A. (2006) Type IV pilus structure by cryo-electron microscopy and crystallography: implications for pilus assembly and functions. *Mol. Cell.* **23**, 651–662.
37. Edwards J.L., Brown E.J., Ault K.A., Apicella M.A. (2001) The role of complement receptor 3 (CR3) in *Neisseria gonorrhoeae* infection of human cervical epithelia. *Cell. Microbiol.* **3**, 611–622.
38. Edwards J.L., Brown E.J., Uk-Nham S., Cannon J.G., Blake M.S., Apicella M.A. (2002) A co-operative interaction between *Neisseria gonorrhoeae* and complement receptor 3 mediates infection of primary cervical epithelial cells. *Cell. Microbiol.* **4**, 571–584.
39. Källström H., Blackmer Gill D., Albiger B., Liszewski M.K., Atkinson J.P., Jonsson A.B. (2001) Attachment of *Neisseria gonorrhoeae* to the cellular pilus receptor CD46: identification of domains important for bacterial adherence. *Cell. Microbiol.* **3**, 133–143.

40. Edwards J.L., Apicella M.A. (2005) I-domain-containing integrins serve as pilus receptors for *Neisseria gonorrhoeae* adherence to human epithelial cells. *Cell. Microbiol.* **7**, 1197–1211.
41. He Y., Zhang S., Zhang Y., Wu B., Xue Y., Ye C., Li Q., Olivia A.N., Tembo J.M., Chen H., Cai H., Chen T. (2021) Distinct patterns of host adherence by *Neisseria gonorrhoeae* isolated from experimental gonorrhea. *Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol.* **2021**, 7865405.
42. Cahoon L.A., Seifert H.S. (2011) Focusing homologous recombination: pilin antigenic variation in the pathogenic *Neisseria*. *Mol. Microbiol.* **81**, 1136–1143.
43. Craig L., Forest K.T., Maier B. (2019) Type IV pili: dynamics, biophysics and functional consequences. *Nat. Rev. Microbiol.* **17**, 429–440.
44. Stern A., Meyer T.F. (1987) Common mechanism controlling phase and antigenic variation in pathogenic *Neisseriae*. *Mol. Microbiol.* **1**, 5–12.
45. Bos M.P., Kao D., Hogan D.M., Grant C.C., Beland R.J. (2002) Carcinoembryonic antigen family receptor recognition by gonococcal Opa proteins requires distinct combinations of hypervariable Opa protein domains. *Infect. Immun.* **70**, 1715–1723.
46. Sadarangani M., Pollard A.J., Gray-Owen S.D. (2011) Opa proteins and CEACAMs: pathways of immune engagement for pathogenic *Neisseria*. *FEMS Microbiol. Rev.* **35**, 498–514.
47. Martin J.N., Ball L.M., Solomon T.L., Dewald A.H., Criss A.K., Columbus L. (2016) Neisserial Opa protein–CEACAM interactions: competition for receptors as a means of bacterial invasion and pathogenesis. *Biochemistry.* **55**, 4286–4294.
48. Alcott A.M., Werner L.M., Baiocco C.M., Belcher D.M., Columbus L., Criss A.K. (2022) Variable expression of Opa proteins by *Neisseria gonorrhoeae* influences bacterial association and phagocytic killing by human neutrophils. *J. Bacteriol.* **204**, e0003522.
49. Deo P., Chow S.H., Hay I.D., Kleifeld O., Costin A., Elgass K.D., Jiang J.H., Ramm G., Gabriel K., Dougan G., Lithgow T., Heinz E., Naderer T. (2018) Outer membrane vesicles from *Neisseria gonorrhoeae* target PorB to mitochondria and induce apoptosis. *PLoS Pathog.* **14**, e1006945.
50. Gao S., Gao L., Yuan D., Lin X., van der Veen S. (2024) Gonococcal OMV-delivered PorB induces epithelial cell mitophagy. *Nat. Commun.* **15**, 1669.
51. Chen A., Seifert H.S. (2013) Structure-function studies of the *Neisseria gonorrhoeae* major outer membrane porin. *Infect. Immun.* **81**, 4383–4391.
52. Cannon J.G., Buchanan T.M., Sparling P.F. (1983) Confirmation of association of protein I serotype of *Neisseria gonorrhoeae* with ability to cause disseminated infection. *Infect. Immun.* **40**, 816–819.
53. Rechner C., Kühlewein C., Müller A., Schild H., Rudel T. (2007) Host glycoprotein Gp96 and scavenger receptor SREC interact with PorB of disseminating *Neisseria gonorrhoeae* in an epithelial invasion pathway. *Cell Host Microbe.* **2**, 393–403.
54. Ayala P., Wilbur J.S., Wetzler L.M., Tainer J.A., Snyder A., So M. (2005) The pilus and porin of *Neisseria gonorrhoeae* cooperatively induce Ca²⁺ transients in infected epithelial cells. *Cell. Microbiol.* **7**, 1736–1748.
55. Ngampasutadol J., Ram S., Gulati S., Agarwal S., Li C., Visintin A., Monks B., Madico G., Rice P.A. (2008) Human factor H interacts selectively with *Neisseria gonorrhoeae* and results in species-specific complement evasion. *J. Immunol.* **180**, 3426–3435.
56. Ayala B.P., Vasquez B., Clary S., Tainer J.A., Rodland K., So M. (2001) The pilus-induced Ca²⁺ flux triggers lysosome exocytosis and increases the amount of Lamp1 accessible to *Neisseria* IgA1 protease. *Cell. Microbiol.* **3**, 265–275.
57. Lin L., Ayala P., Larson J., Mulks M., Fukuda M., Carlsson S.R., Enns C., So M. (1997) The *Neisseria* type 2 IgA1 protease cleaves LAMP1 and promotes survival of bacteria within epithelial cells. *Mol. Microbiol.* **24**, 1083–1094.
58. Mandrell R.E., Griffiss J.M., Macher B.A. (1988) Lipooligosaccharides (LOS) of *Neisseria gonorrhoeae* and *Neisseria meningitidis* have components that are immunochemically similar to precursors of human blood group antigens. Carbohydrate sequence specificity of the mouse monoclonal antibodies that recognize crossreacting antigens on LOS and human erythrocytes. *J. Exp. Med.* **168**, 107–126.
59. Harvey H.A., Jennings M.P., Campbell C.A., Williams R., Apicella M.A. (2001) Receptor-mediated endocytosis of *Neisseria gonorrhoeae* into primary human urethral epithelial cells: the role of the asialoglycoprotein receptor. *Mol. Microbiol.* **42**, 659–672.
60. Timmerman M.M., Shao J.Q., Apicella M.A. (2005) Ultrastructural analysis of the pathogenesis of *Neisseria gonorrhoeae* endometrial infection. *Cell. Microbiol.* **7**, 627–636.
61. Burch C.L., Danaher R.J., Stein D.C. (1997) Antigenic variation in *Neisseria gonorrhoeae*: production of multiple lipooligosaccharides. *J. Bacteriol.* **179**, 982–986.
62. Chakraborti S., Lewis L.A., Cox A.D., St. Michael F., Li J., Rice P.A., Ram S. (2016) Phase-variable heptose I glycan extensions modulate efficacy of 2C7 vaccine antibody directed against *Neisseria gonorrhoeae* lipooligosaccharide. *J. Immunol.* **196**, 4576–4586.
63. Mandrell R.E., Lesse A.J., Sugai J.V., Shero M., Griffiss J.M., Cole J.A., Parsons N.J., Smith H., Morse S.A., Apicella M.A. (1990) *In vitro* and *in vivo* modification of *Neisseria gonorrhoeae* lipooligosaccharide epitope structure by sialylation. *J. Exp. Med.* **171**, 1649–1664.
64. John C.M., Phillips N.J., Cardenas A.J., Criss A.K., Jarvis G.A. (2023) Comparison of lipooligosaccharides from human challenge strains of *Neisseria gonorrhoeae*. *Front. Microbiol.* **14**, 1215946.
65. Ketterer M.R., Rice P.A., Gulati S., Kiel S., Byerly L., Fortenberry J.D., Soper D.E., Apicella M.A. (2016) Desialylation of *Neisseria gonorrhoeae* lipooligosaccharide by cervicovaginal microbiome sialidases:

- the potential for enhancing infectivity in men. *J. Infect. Dis.* **214**, 1621–1628.
66. Humbert M.V., Awanye A.M., Lian L.-Y., Derrick J.P., Christodoulides M. (2017) Structure of the *Neisseria* adhesin complex protein (ACP) and its role as a novel lysozyme inhibitor. *PLoS Pathog.* **13**, e1006448.
 67. Zielke R.A., Le Van A., Baarda B.I., Herrera M.F., Acosta C.J., Jerse A.E., Sikora A.E. (2018) SliC is a surface-displayed lipoprotein that is required for the anti-lysozyme strategy during *Neisseria gonorrhoeae* infection. *PLoS Pathog.* **14**, e1007081.
 68. Gulati S., Schoenhofen I.C., Whitfield D.M., Cox A.D., Li J., St. Michael F., Vinogradov E.V., Stupak J., Zheng B., Ohnishi M., Unemo M., Lewis L.A., Taylor R.E., Landig C.S., Diaz S., Reed G.W., Varki A., Rice P.A., Ram S. (2015) Utilizing CMP-sialic acid analogs to unravel *Neisseria gonorrhoeae* lipooligosaccharide-mediated complement resistance and design novel therapeutics. *PLoS Pathog.* **11**, e1005290.
 69. Ram S., Sharma A.K., Simpson S.D., Gulati S., McQuillen D.P., Pangburn M.K., Rice P.A. (1998) A novel sialic acid binding site on factor H mediates serum resistance of sialylated *Neisseria gonorrhoeae*. *J. Exp. Med.* **187**, 743–752.
 70. Gulati S., Sastry K., Jensenius J.C., Rice P.A., Ram S. (2002) Regulation of the mannan-binding lectin pathway of complement on *Neisseria gonorrhoeae* by C1-inhibitor and alpha 2-macroglobulin. *J. Immunol.* **168**, 4078–4086.
 71. Ram S., Cullinane M., Blom A.M., Gulati S., McQuillen D.P., Boden R., Monks B.G., O'Connell C., Elkins C., Pangburn M.K., Dahlbäck B., Rice P.A. (2001) C4bp binding to porin mediates stable serum resistance of *Neisseria gonorrhoeae*. *Int. Immunopharmacol.* **1**, 423–432.
 72. Ram S., McQuillen D.P., Gulati S., Elkins C., Pangburn M.K., Rice P.A. (1998) Binding of complement factor H to loop 5 of porin protein 1A: a molecular mechanism of serum resistance of nonsialylated *Neisseria gonorrhoeae*. *J. Exp. Med.* **188**, 671–680.
 73. Duensing T.D., Putten J.P. (1998) Vitronectin binds to the gonococcal adhesin OpaA through a glycosaminoglycan molecular bridge. *Biochem. J.* **334**, 133–139.
 74. Virji M. (2009) Pathogenic neisseriae: surface modulation, pathogenesis and infection control. *Nat. Rev. Microbiol.* **7**, 274–286.
 75. Cole J.G., Fulcher N.B., Jerse A.E. (2010) Opacity proteins increase *Neisseria gonorrhoeae* fitness in the female genital tract due to a factor under ovarian control. *Infect. Immun.* **78**, 1629–1641.
 76. Virji M., Heckels J.E. (1988) Nonbactericidal antibodies against *Neisseria gonorrhoeae*: evaluation of their blocking effect on bactericidal antibodies directed against outer membrane antigens. *J. Gen. Microbiol.* **134**, 2703–2711.
 77. Joiner K.A., Scales R., Warren K.A., Frank M.M., Rice P.A. (1985) Mechanism of action of blocking immunoglobulin G for *Neisseria gonorrhoeae*. *J. Clin. Invest.* **76**, 1765–1772.
 78. Rice P.A., Vayo H.E., Tam M.R., Blake M.S. (1986) Immunoglobulin G antibodies directed against protein III block killing of serum-resistant *Neisseria gonorrhoeae* by immune serum. *J. Exp. Med.* **164**, 1735–1748.
 79. Lewis L.A., Ram S. (2020) Complement interactions with the pathogenic *Neisseriae*: clinical features, deficiency states, and evasion mechanisms. *FEBS Lett.* **594**, 2670–2694.
 80. Ram S., Lewis L.A., Rice P.A. (2010) Infections of people with complement deficiencies and patients who have undergone splenectomy. *Clin. Microbiol. Rev.* **23**, 740–780.
 81. Juneau R.A., Stevens J.S., Apicella M.A., Criss A.K. (2015) A thermonuclease of *Neisseria gonorrhoeae* enhances bacterial escape from killing by neutrophil extracellular traps. *J. Infect. Dis.* **212**, 316–324.
 82. Criss A.K., Seifert H.S. (2008) *Neisseria gonorrhoeae* suppresses the oxidative burst of human polymorphonuclear leukocytes. *Cell. Microbiol.* **10**, 2257–2270.
 83. Johnson M.B., Criss A.K. (2013) *Neisseria gonorrhoeae* phagosomes delay fusion with primary granules to enhance bacterial survival inside human neutrophils. *Cell. Microbiol.* **15**, 1323–1340.
 84. Smirnov A., Daily K.P., Gray M.C., Ragland S.A., Werner L.M., Brittany Johnson M., Eby J.C., Hewlett E.L., Taylor R.P., Criss A.K. (2023) Phagocytosis via complement receptor 3 enables microbes to evade killing by neutrophils. *J. Leukocyte Biol.* **114**, 1–20.
 85. DuMont A.L., Yoong P., Day C.J., Alonzo F., McDonald W.H., Jennings M.P., Torres V.J. (2013) *Staphylococcus aureus* LukAB cytotoxin kills human neutrophils by targeting the CD11b subunit of the integrin Mac-1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **110**, 10794–10799.
 86. van Bruggen R., Zweers D., van Diepen A., van Dissel J.T., Roos D., Verhoeven A.J., Kuijpers T.W. (2007) Complement receptor 3 and Toll-like receptor 4 act sequentially in uptake and intracellular killing of unopsonized *Salmonella enterica* serovar Typhimurium by human neutrophils. *Infect. Immun.* **75**, 2655–2660.
 87. Ross G.D. (2000) Regulation of the adhesion versus cytotoxic functions of the Mac-1/CR3/αMβ2 – integrin glycoprotein. *Crit. Rev. Immunol.* **20** (3), 197–222.
 88. Vandendriessche S., Cambier S., Proost P., Marques P.E. (2021) Complement receptors and their role in leukocyte recruitment and phagocytosis. *Front. Cell. Dev. Biol.* **9**, 624025.
 89. Cardenas A.J., Thomas K.S., Broden M.W., Ferraro N.J., John C.M., Pires M.M., Jarvis G.A., Criss A.K. (2024) *Neisseria gonorrhoeae* scavenges host sialic acid for Siglec-mediated, complement-independent suppression of neutrophil activation. *mBio.* e0011924.
 90. Mandrell R.E. (1992) Further antigenic similarities of *Neisseria gonorrhoeae* lipooligosaccharides and human glycosphingolipids. *Infect. Immun.* **60**, 3017–3020.
 91. Zughaier S.M., Kandler J.L., Balthazar J.T., Shafer W.M. (2015) Phosphoethanolamine modification of *Neisseria gonorrhoeae* lipid A reduces autophagy flux in macrophages. *PLoS One.* **10**, e0144347.

92. Ortiz M.C., Lefimil C., Rodas P.I., Vernal R., Lopez M., Acuña-Castillo C., Imarai M., Escobar A. (2015) *Neisseria gonorrhoeae* modulates immunity by polarizing human macrophages to a M2 profile. *PloS One*. **10**, e0130713.
93. Liu Y., Russell M.W. (2011) Diversion of the immune response to *Neisseria gonorrhoeae* from Th17 to Th1/Th2 by treatment with anti-transforming growth factor β antibody generates immunological memory and protective immunity. *mBio*. **2**, e00095–00011.
94. Zhu W., Tomberg J., Knilans K.J., Anderson J.E., McKinnon K.P., Sempowski G.D., Nicholas R.A., Duncan J.A. (2018) Properly folded and functional PorB from *Neisseria gonorrhoeae* inhibits dendritic cell stimulation of CD4⁺ T cell proliferation. *J. Biol. Chem.* **293**, 11218–11229.
95. Schmidt K.A., Schneider H., Lindstrom J.A., Boslego J.W., Warren R.A., Van De Verg L., Deal C.D., McClain J.B., Griffiss J.M. (2001) Experimental gonococcal urethritis and reinfection with homologous gonococci in male volunteers. *Sex. Transm. Dis.* **28**, 555–564.
96. Fox K.K., Thomas J.C., Weiner D.H., Davis R.H., Sparling P.F., Cohen M.S. (1999) Longitudinal evaluation of serovar-specific immunity to *Neisseria gonorrhoeae*. *Am. J. Epidemiol.* **149**, 353–358.
97. Whelan J., Abbing-Karahagopian V., Serino L., Unemo M. (2021) Gonorrhoea: a systematic review of prevalence reporting globally. *BMC Infectious Dis.* **21**, 1152.
98. Unemo M., Seifert H.S., Hook E.W., Hawkes S., Ndowa F., Dillon J.R. (2019) Gonorrhoea. *Nat. Rev. Dis. Primers*. **5**, 79.
99. Hiyama Y., Yamamoto S., Sato T., Ogasawara N., Masumori N., Takahashi S., Yokota S.I. (2024) Affinity of β -lactam antibiotics for *Neisseria gonorrhoeae* penicillin-binding protein 2 having wild, cefixime-reduced-susceptible, and cephalosporin (ceftriaxone)-resistant *penA* Alleles. *Microb. Drug Resist.* **30**, 141–146.
100. Zhao Y., Le W., Genco C.A., Rice P.A., Su X. (2023) Increase in multidrug resistant *Neisseria gonorrhoeae* FC428-like isolates harboring the mosaic *penA* 60.001 gene, in Nanjing, China (2017–2020). *Infect. Drug Resist.* **16**, 4053–4064.
101. Liu H., Tang K., Pham C.D., Schmerer M., Kersh E.N., Raphael B.H. (2022) Characterization of a *Neisseria gonorrhoeae* ciprofloxacin panel for an antimicrobial resistant isolate bank. *PLoS One*. **17**, e0264149.
102. Yahara K., Ma K.C., Mortimer T.D., Shimuta K., Nakayama S.I., Hirabayashi A., Suzuki M., Jinnai M., Ohya H., Kuroki T., Watanabe Y., Yasuda M., Deguchi T., Eldholm V., Harrison O.B., Maiden M.C.J., Grad Y.H., Ohnishi M. (2021) Emergence and evolution of antimicrobial resistance genes and mutations in *Neisseria gonorrhoeae*. *Genome Med.* **13**, 51.
103. Zhou Q., Liu J., Chen S., Xu W., Han Y., Yin Y. (2021) The accuracy of molecular detection targeting the mutation C2611T for detecting moderate-level azithromycin resistance in *Neisseria gonorrhoeae*: a systematic review and meta-analysis. *Antibiotics*. **10**, 9.
104. Kivata M.W., Mbuchi M., Eyase F., Bulimo W.D., Kyanya C.K., Oundo V., Mbinda W.M., Sang W., Andagalu B., Soge O.O., McClelland R.S., Distelhorst J. (2020) Plasmid mediated penicillin and tetracycline resistance among *Neisseria gonorrhoeae* isolates from Kenya. *BMC Infect. Dis.* **20**, 703.
105. Shaskolskiy B., Dementieva E., Leinsoo A., Petrova N., Chestkov A., Kubanov A., Deryabin D., Gryadunov D. (2018) Tetracycline resistance of *Neisseria gonorrhoeae* in Russia, 2015–2017. *Infect. Genet. Evol.* **63**, 236–242.
106. Derby A., Mekonnen D., Woldeamanuel Y., Abebe T. (2020) Azithromycin resistant gonococci: a literature review. *Antimicrob. Resist. Infect. Control*. **9**, 138.
107. Nokchan N., Nitayanon P., Tribuddharat C. (2023) Molecular epidemiology of penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae* isolates and their *bla(TEM-135)* gene variant in Bangkok, Thailand, 2015–(2017). *Jpn. J. Infect. Dis.* **76**, 126–134.
108. Walter de Walthoff S. (2022) Penicillinase plasmid Australia type in *Neisseria gonorrhoeae* isolated in Poland. *Arch. Microbiol.* **204**, 130.
109. Thakur S.D., Levett P.N., Horsman G.B., Dillon J.R. (2018) Association of *Neisseria gonorrhoeae* genogroups and specific PBP2/MtrR/PorB mutation patterns with susceptibility to penicillin in a susceptible gonococcal population. *J. Antimicrob. Chemother.* **73**, 2682–2686.
110. Donà V., Low N., Golparian D., Unemo M. (2017) Recent advances in the development and use of molecular tests to predict antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *Expert Rev. Mol. Diagn.* **17**, 845–859.
111. Unemo M., Del Rio C., Shafer W.M. (2016) Antimicrobial resistance expressed by *Neisseria gonorrhoeae*: a major global public health problem in the 21st Century. *Microbiol. Spectr.* **4**, 3.
112. Juma M., Sankaradoss A., Ndombi R., Mwaura P., Damodar T., Nazir J., Pandit A., Khurana R., Masika M., Chirchir R., Gachie J., Krishna S., Sowdhamini R., Anzala O., Meenakshi I.S. (2021) Antimicrobial resistance profiling and phylogenetic analysis of *Neisseria gonorrhoeae* clinical isolates from Kenya in a resource-limited setting. *Front. Microbiol.* **12**, 647565.
113. Landy M., Gerstung R.B. (1945) *p*-Aminobenzoic acid synthesis by *Neisseria gonorrhoeae* in relation to clinical and cultural sulfonamide resistance. *J. Immunol.* **51**, 269–277.
114. Catlin B.W. (1989) Genetic basis of the association of sulphonamide resistance with methionine auxotrophy in *Neisseria gonorrhoeae*. *J. Gen. Microbiol.* **135**, 1101–1111.
115. Unemo M., Golparian D., Nicholas R., Ohnishi M., Gallay A., Sednaoui P. (2012) High-level cefixime- and ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* in France: novel *penA* mosaic allele in a successful international clone causes treatment failure. *Antimicrob. Agents Chemother.* **56**, 1273–1280.

116. Fedarovich A., Djordjevic K.A., Swanson S.M., Peterson Y.K., Nicholas R.A., Davies C. (2012) High-throughput screening for novel inhibitors of *Neisseria gonorrhoeae* penicillin-binding protein 2. *PLoS One*. **7**, e44918.
117. Chisholm S.A., Mouton J.W., Lewis D.A., Nichols T., Ison C.A., Livermore D.M. (2010) Cephalosporin MIC creep among gonococci: time for a pharmacodynamic rethink? *J. Antimicrob. Chemother.* **65**, 2141–2148.
118. Shigemura K., Fujisawa M. (2015) History and epidemiology of antibiotic susceptibilities of *Neisseria gonorrhoeae*. *Curr. Drug Targets*. **16**, 272–280.
119. Cole M.J., Day M., Jacobsson S., Amato-Gauci A.J., Spiteri G., Unemo M., European Gonorrhoea Response Plan Group (2022) The European response to control and manage multi- and extensively drug-resistant *Neisseria gonorrhoeae*. *Euro Surveill*. **27**(18), 2100611.
120. Zapun A., Morlot C., Taha M.K. (2016) Resistance to beta-lactams in *Neisseria ssp.* due to chromosomally encoded penicillin-binding proteins. *Antibiotics*. **5**(4), 35.
121. Lopez-Arguello S., Montaner M., Marmol-Salvador A., Velazquez-Escudero A., Docobo-Perez F., Oliver A., Moya B. (2023) Penicillin-binding protein occupancy dataset for 18 beta-lactams and 4 beta-lactamase inhibitors in *Neisseria gonorrhoeae*. *Microbiol. Spectr.* **11**, e0069223.
122. Zhao L., Liu A., Li R., Zhao S. (2018) Trends in antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* and molecular characteristics of *N. gonorrhoeae* with decreased susceptibility to ceftriaxone in Shandong, China, 2007 to 2014. *Int. J. Antimicrob. Agents*. **51**, 52–56.
123. Кубанов А.А., Лейнсоо А.Т., Честков А.В., Деметьева Е.И., Шаскольский Б.Л., Соломка В.С., Грядунов Д.А., Дерябин Д.Г. (2017) Хромосомные детерминанты резистентности к антибиотикам и фенотипическая чувствительность к антимикробным препаратам в российской популяции *Neisseria gonorrhoeae*. *Молекуляр. биология*. **51**, 431–441.
124. Fedarovich A., Cook E., Tomberg J., Nicholas R.A., Davies C. (2014) Structural effect of the Asp345a insertion in penicillin-binding protein 2 from penicillin-resistant strains of *Neisseria gonorrhoeae*. *Biochemistry*. **53**, 7596–7603.
125. Osawa K., Shigemura K., Nukata Y., Kitagawa K., Yamamichi F., Yoshida H., Shirakawa T., Arakawa S., Fujisawa M. (2017) *penA*, *ponA*, *porB1*, and *mtrR* mutations and molecular epidemiological typing of *Neisseria gonorrhoeae* with decreased susceptibility to cephalosporins. *Antimicrob. Agents Chemother.* **61**, e01174–17.
126. Liao Y., Xie Q., Yin X., Li X., Xie J., Wu X., Tang S., Liu M., Zeng L., Pan Y., Yang J., Feng Z., Qin X., Zheng H. (2024) *penA* profile of *Neisseria gonorrhoeae* in Guangdong, China: novel *penA* alleles are related to decreased susceptibility to ceftriaxone or cefixime. *Int. J. Antimicrob. Agents*. **63**, 107101.
127. Mahajan N., Sood S., Das B.K., Kapil A., Sreenivas V., Kar H.K., Sharma V.K. (2021) Molecular characterization of decreased susceptibility to ceftriaxone and genotyping of *Neisseria gonorrhoeae* isolates in New Delhi, India. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **101**, 115423.
128. Lyu M., Ayala J.C., Chirakos I., Su C.C., Shafer W.M., Yu E.W. (2022) Structural basis of peptide-based antimicrobial inhibition of a resistance-nodulation-cell division multidrug efflux pump. *Microbiol. Spectr.* **10**, e0299022.
129. Handing J.W., Ragland S.A., Bharathan U.V., Criss A.K. (2018) The MtrCDE efflux pump contributes to survival of *Neisseria gonorrhoeae* from human neutrophils and their antimicrobial components. *Front. Microbiol.* **9**, 2688.
130. Kandinov I., Shaskolskiy B., Kravtsov D., Vinokurova A., Gorshkova S., Kubanov A., Solomka V., Shagabieva J., Deryabin D., Dementieva E., Gryadunov D. (2023) Azithromycin susceptibility testing and molecular investigation of *Neisseria gonorrhoeae* isolates collected in Russia, 2020–2021. *Antibiotics*. **12**, 170.
131. Ayala J.C., Balthazar J.T., Shafer W.M. (2022) Transcriptional regulation of the mtrCDE efflux pump operon: importance for *Neisseria gonorrhoeae* antimicrobial resistance. *Microbiology (Reading)*. **168**, 8.
132. Rouquette-Loughlin C.E., Reimche J.L., Balthazar J.T., Dhulipala V., Gernert K.M., Kersh E.N., Pham C.D., Pettus K., Abrams A.J., Trees D.L., St Cyr S., Shafer W.M. (2018) Mechanistic basis for decreased antimicrobial susceptibility in a clinical isolate of *Neisseria gonorrhoeae* possessing a mosaic-like mtr efflux pump locus. *mBio*. **9**, 6.
133. Shafer W.M. (2018) Mosaic drug efflux gene sequences from commensal *Neisseria* can lead to low-level azithromycin resistance expressed by *Neisseria gonorrhoeae* clinical isolates. *mBio*. **9**, e01747–18.
134. Ohneck E.A., Goytia M., Rouquette-Loughlin C.E., Joseph S.J., Read T.D., Jerse A.E., Shafer W.M. (2015) Overproduction of the MtrCDE efflux pump in *Neisseria gonorrhoeae* produces unexpected changes in cellular transcription patterns. *Antimicrob. Agents Chemother.* **59**, 724–726.
135. Zeth K., Kozjak-Pavlovic V., Faulstich M., Fraunholz M., Hurwitz R., Kepp O., Rudel T. (2013) Structure and function of the PorB porin from disseminating *Neisseria gonorrhoeae*. *Biochem. J.* **449**, 631–642.
136. Zhao S., Duncan M., Tomberg J., Davies C., Unemo M., Nicholas R.A. (2009) Genetics of chromosomally mediated intermediate resistance to ceftriaxone and cefixime in *Neisseria gonorrhoeae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **53**, 3744–3751.
137. Nakayama S., Tribuddharat C., Prombhul S., Shimita K., Srifuefung S., Unemo M., Ohnishi M. (2012) Molecular analyses of *TEM* genes and their corresponding penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae* isolates in Bangkok, Thailand. *Antimicrob. Agents Chemother.* **56**, 916–920.
138. Elsener T.A., Jolley K.A., Sanders E., Maiden M.C.J., Cehovin A., Tang C.M. (2023) There are three major *Neisseria gonorrhoeae* beta-lactamase plasmid variants which are associated with specific lineages and carry distinct *TEM* alleles. *Microb. Genom.* **9**, mgen001057.

139. Zhao L., Liu A., Li R., Zhang Z., Jia Y., Zhao S. (2022) High prevalence of blaTEM-135 and genetic epidemiology of blaTEM-135-carrying *Neisseria gonorrhoeae* isolates in Shandong, China, 2017–19. *J. Antimicrob. Chemother.* **77**, 2406–2413.
140. Phillips C.W., Aller R.D., Cohen S.N. (1976) Penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae*. *Lancet*. **2**, 960.
141. Ashford W.A., Golash R.G., Hemming V.G. (1976) Penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae*. *Lancet*. **2**, 657–658.
142. Trembizki E., Buckley C., Lawrence A., Lahra M., Whiley D. (2014) Characterization of a novel *Neisseria gonorrhoeae* penicillinase-producing plasmid isolated in Australia in (2012) *Antimicrob. Agents Chemother.* **58**, 4984–4985.
143. Yan J., Zhang J., van der Veen S. (2019) High prevalence of TEM-135 expression from the Asian plasmid in penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae* from Hangzhou, China. *Int. J. Antimicrob. Agents*. **54**, 361–366.
144. Rim J.H., Kim H., Lee H., Yong D., Jeong S.H., Lee K. (2018) Recent increase in the incidence of TEM-135 beta-lactamase-harboring *Neisseria gonorrhoeae* in Korea. *Ann. Lab. Med.* **38**, 324–330.
145. Ropp P.A., Hu M., Olesky M., Nicholas R.A. (2002) Mutations in *ponA*, the gene encoding penicillin-binding protein 1, and a novel locus, *penC*, are required for high-level chromosomally mediated penicillin resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **46**, 769–777.
146. Nguyen F., Starosta A.L., Arenz S., Sohmen D., Dönhöfer A., Wilson D.N. (2014) Tetracycline antibiotics and resistance mechanisms. *Biol. Chem.* **395**, 559–575.
147. Mortimer T.D., Grad Y.H. (2023) A genomic perspective on the near-term impact of doxycycline post-exposure prophylaxis on *Neisseria gonorrhoeae* antimicrobial resistance. *Clin. Infect. Dis.* **77**, 788–791.
148. Mortimer T.D., Zhang J.J., Ma K.C., Grad Y.H. (2022) Loci for prediction of penicillin and tetracycline susceptibility in *Neisseria gonorrhoeae*: a genome-wide association study. *Lancet. Microbe*. **3**, e376–e381.
149. Yee W.X., Elsener T., Cehovin A., Maiden M.C.J., Tang C.M. (2023) Evolution and exchange of plasmids in pathogenic *Neisseria*. *mSphere*. **8**, e0044123.
150. Pachulec E., van der Does C. (2010) Conjugative plasmids of *Neisseria gonorrhoeae*. *PLoS One*. **5**, e9962.
151. Shaskolskiy B., Dementieva E., Kandinov I., Filippova M., Petrova N., Plakhova X., Chestkov A., Kubanov A., Deryabin D., Gryadunov D. (2019) Resistance of *Neisseria gonorrhoeae* isolates to beta-lactam antibiotics (benzylpenicillin and ceftriaxone) in Russia, 2015–(2017) *PLoS One*. **14**, e0220339.
152. Sanchez-Buso L., Cole M.J., Spiteri G., Day M., Jacobsson S., Golparian D., Sajedi N., Yeats C.A., Abudahab K., Underwood A., Bluemel B., Aanensen D.M., Unemo M. (2022) Europe-wide expansion and eradication of multidrug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* lineages: a genomic surveillance study. *Lancet Microbe*. **3**, e452–e463.
153. Kubanov A., Solomka V., Plakhova X., Chestkov A., Petrova N., Shaskolskiy B., Dementieva E., Leinsoo A., Gryadunov D., Deryabin D. (2019) Summary and trends of the Russian Gonococcal Antimicrobial Surveillance Programme, 2005 to 2016. *J. Clin. Microbiol.* **57**, 6.
154. Maness M.J., Foster G.C., Sparling P.F. (1974) Ribosomal resistance to streptomycin and spectinomycin in *Neisseria gonorrhoeae*. *J. Bacteriol.* **120**, 1293–1299.
155. Ilina E.N., Malakhova M.V., Bodoev I.N., Oparina N.Y., Filimonova A.V., Govorun V.M. (2013) Mutation in ribosomal protein S5 leads to spectinomycin resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *Front. Microbiol.* **4**, 186.
156. Барышков К.В., Фриго Н.В., Соломка В.С. (2013) Молекулярный мониторинг и определение чувствительности *N. gonorrhoeae* к антимикробным препаратам как инструменты контроля над распространением гонококковой инфекции в Архангельской области. *Вест. дерматол. венерол.* **89**, 52–62.
157. Ison C.A., Littleton K., Shannon K.P., Easmon C.S., Phillips I. (1983) Spectinomycin resistant gonococci. *Brit. Med. J.* **287**, 1827–1829.
158. Chen S.C., Hu L.H., Zhu X.Y., Yin Y.P. (2020) Gonococcal urethritis caused by a multidrug resistant *Neisseria gonorrhoeae* strain with high-level resistance to spectinomycin in China. *Emerg. Microbes Infect.* **9**, 517–519.
159. Heddle J., Maxwell A. (2002) Quinolone-binding pocket of DNA gyrase: role of GyrB. *Antimicrob. Agents Chemother.* **46**, 1805–1815.
160. Golparian D., Jacobsson S., Sanchez-Buso L., Bazzo M.L., Lan P.T., Galarza P., Ohnishi M., Unemo M. (2022) GyrB *in silico* mining in 27 151 global gonococcal genomes from 1928–2021 combined with zoliflodacin *in vitro* testing of 71 international gonococcal isolates with different GyrB, ParC and ParE substitutions confirms high susceptibility. *J. Antimicrob. Chemother.* **78**, 150–154.
161. Thomas J., Sullivan T., Doyle L.J., Dixon P., Wintterscheid K., Ehret J.M., Grabenstein M., Bowers S., Pettus K., Parekh M., Knapp J. (2007) Update to CDC's sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2006: fluoroquinolones no longer recommended for treatment of gonococcal infections. *Morbidity Mortality Weekly Rep.* **56**, 332–336.
162. Chisholm S.A., Dave J., Ison C.A. (2010) High-level azithromycin resistance occurs in *Neisseria gonorrhoeae* as a result of a single point mutation in the 23S rRNA genes. *Antimicrob. Agents Chemother.* **54**, 3812–3816.
163. Lin X., Chen W., Yu Y., Lan Y., Xie Q., Liao Y., Wu X., Tang S., Qin X., Zheng H. (2022) Emergence and genomic characterization of *Neisseria gonorrhoeae* isolates with high levels of ceftriaxone and azithromycin resistance in Guangdong, China, from 2016 to 2019. *Microbiol. Spectr.* **10**, e0157022.
164. Gianecini R.A., Poklepovich T., Golparian D., Cuenca N., Scocozza L., Bergese S., Canigia L.F., Vilches V., Lazzarino Elgart M.J., Unemo M., Campos J., Galarza P. (2023) Sustained transmission of

- Neisseria gonorrhoeae* strains with high-level azithromycin resistance (MIC ≥ 256 $\mu\text{g/mL}$) in Argentina, 2018 to 2022. *Microbiol. Spectr.* **11**, e0097023.
165. Cousin S., Whittington W.L., Roberts M.C. (2003) Acquired macrolide resistance genes in pathogenic *Neisseria* spp. isolated between 1940 and 1987. *Antimicrob. Agents Chemother.* **47**, 3877–3880.
 166. Belkacem A., Jacquier H., Goubard A., Mougari F., La Ruche G., Patey O., Micaelo M., Semaille C., Cambau E., Bercot B. (2016) Molecular epidemiology and mechanisms of resistance of azithromycin-resistant *Neisseria gonorrhoeae* isolated in France during 2013–14. *J. Antimicrob. Chemother.* **71**, 2471–2478.
 167. Bignell C., Fitzgerald M., Guideline Development Group, British Association for Sexual Health and HIV UK (2011) UK national guideline for the management of gonorrhoea in adults, 2011. *Int. J. STD AIDS.* **22**, 541–547.
 168. Mlynarczyk-Bonikowska B., Kowalewski C., Krolak-Ulinska A., Marusza W. (2022) Molecular mechanisms of drug resistance and epidemiology of multi-drug-resistant variants of *Neisseria gonorrhoeae*. *Int. J. Mol. Sci.* **23**, 10499.
 169. Beggs G.A., Ayala J.C., Kavanaugh L.G., Read T.D., Hooks G.M., Schumacher M.A., Shafer W.M., Brennan R.G. (2021) Structures of *Neisseria gonorrhoeae* MtrR-operator complexes reveal molecular mechanisms of DNA recognition and antibiotic resistance-conferring clinical mutations. *Nucl. Acids Res.* **49**, 4155–4170.
 170. Joseph S.J., Thomas J.C., Schmerer M.W., Cartee J.C., St Cyr S., Schlanger K., Kersh E.N., Raphael B.H., Gernert K.M., Antimicrobial Resistant *Neisseria gonorrhoeae* Working Group (2022) Global emergence and dissemination of *Neisseria gonorrhoeae* ST-9363 isolates with reduced susceptibility to azithromycin. *Genome Biol. Evol.* **14**, evab287.
 171. Unemo M., Ross J., Serwin A.B., Gomberg M., Cusini M., Jensen J.S. (2020) 2020 European guideline for the diagnosis and treatment of gonorrhoea in adults. *Int. J. STD AIDS.* 956462420949126. doi: 10.1177/0956462420949126.
 172. Ghanem K.G., Erbeling E.J., Cheng W.W., Rompalo A.M. (2006) Doxycycline compared with benzathine penicillin for the treatment of early syphilis. *Clin. Infect. Dis.* **42**, e45–9.
 173. Bala M., Kakran M., Singh V., Sood S., Ramesh V., Members of WHO GASP SEAR Network (2013) Monitoring antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in selected countries of the WHO South-East Asia Region between 2009 and 2012: a retrospective analysis. *Sex. Transm. Infect.* **89**(Suppl 4), iv28–35.
 174. Cole M.J., Spiteri G., Jacobsson S., Pitt R., Grigorjev V., Unemo M., Euro-GASP Network (2015) Is the tide turning again for cephalosporin resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in Europe? Results from the 2013 European surveillance. *BMC Infect. Dis.* **15**, 321.
 175. Dillon J.A., Trecker M.A., Thakur S.D., Gonococcal Antimicrobial Surveillance Program Network in Latin America and Caribbean (2013) Two decades of the gonococcal antimicrobial surveillance program in South America and the Caribbean: challenges and opportunities. *Sex. Transm. Infect.* **89**, 36–41.
 176. Golparian D., Pleininger S., Jacobsson S., Indra A., Unemo M. (2022) Complete reference genome sequence of the extensively drug-resistant strain *Neisseria gonorrhoeae* AT159, with ceftriaxone resistance and high-level azithromycin resistance, using nanopore Q20+ chemistry and illumina sequencing. *Microbiol. Res. Announ.* **11**, e0074422.
 177. Shaskolskiy B., Kandinov I., Kravtsov D., Vinokurova A., Gorshkova S., Filippova M., Kubanov A., Solomka V., Deryabin D., Dementieva E., Gryadunov D. (2021) Hydrogel droplet microarray for genotyping antimicrobial resistance determinants in *Neisseria gonorrhoeae* isolates. *Polymers.* **13**, 3889.
 178. Kandinov I., Dementieva E., Filippova M., Vinokurova A., Gorshkova S., Kubanov A., Solomka V., Shagabieva J., Deryabin D., Shaskolskiy B., Gryadunov D. (2023) Emergence of azithromycin-resistant *Neisseria gonorrhoeae* isolates belonging to the NG-MAST genogroup 12302 in Russia. *Microorganisms.* **11**, 1226.
 179. Unemo M., Jensen J.S. (2017) Antimicrobial-resistant sexually transmitted infections: gonorrhoea and *Mycoplasma genitalium*. *Nat. Rev. Urol.* **14**, 139–152.
 180. Tanaka M., Furuya R., Kobayashi I., Ohno A., Kanesaka I. (2021) Molecular characteristics and antimicrobial susceptibility of penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae* isolates in Fukuoka, Japan, 1996–2018. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* **26**, 45–51.
 181. Zhang L., Hu L., Li Y., Xiu L., Wang D., Huang J., Gu W., Peng J. (2023) Identification of high-level ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* isolates with diverse *penA* alleles in Zhejiang, China. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* **35**, 51–55.
 182. Demczuk W., Sidhu S., Unemo M., Whitley D.M., Allen V.G., Dillon J.R., Cole M., Seah C., Trembizki E., Trees D.L., Kersh E.N., Abrams A.J., de Vries H.J.C., van Dam A.P., Medina I., Bharat A., Mulvey M.R., Van Domselaar G., Martin I. (2017) *Neisseria gonorrhoeae* sequence typing for antimicrobial resistance, a novel antimicrobial resistance multilocus typing scheme for tracking global dissemination of *N. gonorrhoeae* strains. *J. Clin. Microbiol.* **55**, 1454–1468.
 183. Ohnishi M., Golparian D., Shimuta K., Saika T., Hoshina S., Iwasaku K., Nakayama S., Kitawaki J., Unemo M. (2011) Is *Neisseria gonorrhoeae* initiating a future era of untreatable gonorrhea?: detailed characterization of the first strain with high-level resistance to ceftriaxone. *Antimicrob. Agents Chemother.* **55**, 3538–3545.
 184. Day M.J., Spiteri G., Jacobsson S., Woodford N., Amato-Gauci A.J., Cole M.J., Unemo M., Euro-GASP network (2018). Stably high azithromycin resistance and decreasing ceftriaxone susceptibility in *Neisseria gonorrhoeae* in 25 European countries, 2016. *BMC Infect. Dis.* **18**, 609.
 185. Muhammad I., Golparian D., Dillon J.A., Johansson A., Ohnishi M., Sethi S., Chen S.C., Nakayama S., Sundqvist M., Bala M., Unemo M. (2014) Characteri-

- sation of *blaTEM* genes and types of beta-lactamase plasmids in *Neisseria gonorrhoeae* – the prevalent and conserved *blaTEM-135* has not recently evolved and existed in the Toronto plasmid from the origin. *BMC Infect. Dis.* **14**, 454.
186. Kandinov I., Gryadunov D., Vinokurova A., Antonova O., Kubanov A., Solomka V., Shagabieva J., Deryabin D., Shaskolskiy B. (2022) *In vitro* susceptibility to beta-lactam antibiotics and viability of *Neisseria gonorrhoeae* strains producing plasmid-mediated broad- and extended-spectrum beta-lactamases. *Front. Microbiol.* **13**, 896607.
 187. WHO Guidelines for the Treatment of *Neisseria gonorrhoeae* (2016). Geneva, Switzerland: World Health Organization.
 188. Bradford P.A., Miller A.A., O'Donnell J., Mueller J.P. (2020) Zoliflodacin: an oral spiropyrimidinetrione antibiotic for the treatment of *Neisseria gonorrhoeae*, including multi-drug-resistant isolates. *ACS Infect. Dis.* **6**, 1332–1345.
 189. Chen M.Y., McNulty A., Avery A., Whiley D., Tabrizi S.N., Hardy D., Das A.F., Nenninger A., Fairley C.K., Hocking J.S., Bradshaw C.S., Donovan B., Howden B.P., Oldach D., Solitaire U.T. (2019) Solithromycin versus ceftriaxone plus azithromycin for the treatment of uncomplicated genital gonorrhoea (SOLITAIRE-U): a randomised phase 3 non-inferiority trial. *Lancet. Infect. Dis.* **19**, 833–842.
 190. Scangarella-Oman N.E., Dixon P., Koeth L.M., Di-Franco-Fisher J., Miller L.A. (2021) Analysis of antimicrobial susceptibility testing methods and variables and *in vitro* activity of gepotidacin against urogenital *Neisseria gonorrhoeae* in men. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **101**, 115484.
 191. Lewis D.A. (2019) New treatment options for *Neisseria gonorrhoeae* in the era of emerging antimicrobial resistance. *Sex. Health.* **16**, 449–456.
 192. Abdellati S., Laumen J.G.E., de Block T., De Baetselier I., Van Den Bossche D., Van Dijk C., Manoharan-Basil S.S., Kenyon C. (2024) Gonococcal resistance to zoliflodacin could emerge via transformation from commensal *Neisseria* species. An *in vitro* transformation study. *Sci. Rep.* **14**, 1179.
 193. Unemo M., Ahlstrand J., Sanchez-Buso L., Day M., Aanensen D., Golparian D., Jacobsson S., Cole M.J., European Collaborative Group (2021) High susceptibility to zoliflodacin and conserved target (GyrB) for zoliflodacin among 1209 consecutive clinical *Neisseria gonorrhoeae* isolates from 25 European countries, 2018. *J. Antimicrob. Chemother.* **76**, 1221–1228.
 194. Golparian D., Jacobsson S., Ohnishi M., Unemo M. (2023) Complete reference genome sequence of the clinical *Neisseria gonorrhoeae* strain H035, with resistance to the novel antimicrobial zoliflodacin, identified in Japan in 2000. *Microbiol. Res. Announc.* **12**, e0113022.
 195. Martin I.M., Ison C.A., Aanensen D.M., Fenton K.A., Spratt B.G. (2004) Rapid sequence-based identification of gonococcal transmission clusters in a large metropolitan area. *J. Infect. Dis.* **189**, 1497–1505.
 196. Cartee J.C., Joseph S.J., Weston E., Pham C.D., Thomas J.C., Schlanger K., St Cyr S.B., Farley M.M., Moore A.E., Tunalı A.K., Cloud C., Raphael B.H. (2022) Phylogenomic comparison of *Neisseria gonorrhoeae* causing disseminated gonococcal infections and uncomplicated gonorrhea in Georgia, United States. *Open Forum Infect. Dis.* **9**, ofac247.
 197. Sun A., Fan X., Gu Y., Du P., Tang R., Mao Y., Lin X., Yan J. (2010) Predominant *porB1A* and *porB1B* genotypes and correlation of gene mutations with drug resistance in *Neisseria gonorrhoeae* isolates in Eastern China. *BMC Infect. Dis.* **10**, 323.
 198. Schaeffer J., Lippert K., Pleininger S., Stoger A., Hasenberger P., Stadlbauer S., Heger F., Eigentler A., Geusau A., Indra A., Allerberger F., Ruppsch W. (2022) Association of phylogenomic relatedness among *Neisseria gonorrhoeae* strains with antimicrobial resistance, Austria, 2016–2020. *Emerging Infect. Dis.* **28**, 1694–1698.
 199. Golparian D., Sanchez-Buso L., Cole M., Unemo M. (2021) *Neisseria gonorrhoeae* sequence typing for antimicrobial resistance (NG-STAR) clonal complexes are consistent with genomic phylogeny and provide simple nomenclature, rapid visualization and antimicrobial resistance (AMR) lineage predictions. *J. Antimicrob. Chemother.* **76**, 940–944.
 200. Harrison O.B., Clemence M., Dillard J.P., Tang C.M., Trees D., Grad Y.H., Maiden M.C. (2016) Genomic analyses of *Neisseria gonorrhoeae* reveal an association of the gonococcal genetic island with antimicrobial resistance. *J. Infection.* **73**, 578–587.
 201. Harrison O.B., Cehovin A., Skett J., Jolley K.A., Massari P., Genco C.A., Tang C.M., Maiden M.C. (2020) *Neisseria gonorrhoeae* population genomics: use of the gonococcal core genome to improve surveillance of antimicrobial resistance. *J. Infect. Dis.* **222**, 1816–1825.
 202. Golparian D., Dona V., Sanchez-Buso L., Foerster S., Harris S., Endimiani A., Low N., Unemo M. (2018) Antimicrobial resistance prediction and phylogenetic analysis of *Neisseria gonorrhoeae* isolates using the Oxford nanopore MinION sequencer. *Sci. Rep.* **8**, 17596.
 203. Koomey M. (1998) Competence for natural transformation in *Neisseria gonorrhoeae*: a model system for studies of horizontal gene transfer. *APMIS Suppl.* **84**, 56–61.
 204. Norlander L., Davies J., Normark S. (1979) Genetic exchange mechanisms in *Neisseria gonorrhoeae*. *J. Bacteriol.* **138**, 756–761.
 205. Hamilton H.L., Dillard J.P. (2006) Natural transformation of *Neisseria gonorrhoeae*: from DNA donation to homologous recombination. *Mol. Microbiol.* **59**, 376–385.
 206. Johnston C., Martin B., Fichant G., Polard P., Claviers J.P. (2014) Bacterial transformation: distribution, shared mechanisms and divergent control. *Nat. Rev. Microbiol.* **12**, 181–196.
 207. Lorenz M.G., Wackernagel W. (1994) Bacterial gene transfer by natural genetic transformation in the environment. *Microbiol. Rev.* **58**, 563–602.

208. Sparling P.F. (1966) Genetic transformation of *Neisseria gonorrhoeae* to streptomycin resistance. *J. Bacteriol.* **92**, 1364–1371.
209. Hamilton H.L., Domínguez N.M., Schwartz K.J., Hackett K.T., Dillard J.P. (2005) *Neisseria gonorrhoeae* secretes chromosomal DNA via a novel type IV secretion system. *Mol. Microbiol.* **55**, 1704–1721.
210. Goodman S.D., Scocca J.J. (1988) Identification and arrangement of the DNA sequence recognized in specific transformation of *Neisseria gonorrhoeae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **85**, 6982–6986.
211. Zhang Y., Heidrich N., Ampattu B.J., Gunderson C.W., Seifert H.S., Schoen C., Vogel J., Sontheimer E.J. (2013) Processing-independent CRISPR RNAs limit natural transformation in *Neisseria meningitidis*. *Mol. Cell.* **50**, 488–503.
212. Hebel B.H., Young F.E. (1975) Autolysis of *Neisseria gonorrhoeae*. *J. Bacteriol.* **122**, 385–392.
213. Morse S.A., Bartenstein L. (1974) Factors affecting autolysis of *Neisseria gonorrhoeae*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **145**, 1418–1421.
214. Morse S.A., Cacciapuoti A.F., Lysko P.G. (1979) Physiology of *Neisseria gonorrhoeae*. *Adv. Microb. Physiol.* **20**, 251–320.
215. Hebel B.H., Young F.E. (1976) Mechanism of autolysis of *Neisseria gonorrhoeae*. *J. Bacteriol.* **126**, 1186–1193.
216. Garcia D.L., Dillard J.P. (2006) AmiC functions as an N-acetylmuramyl-L-alanine amidase necessary for cell separation and can promote autolysis in *Neisseria gonorrhoeae*. *J. Bacteriol.* **188**, 7211–7221.
217. Chan Y.A., Hackett K.T., Dillard J.P. (2012) The lytic transglycosylases of *Neisseria gonorrhoeae*. *Microb. Drug Resist.* **18**, 271–279.
218. Dhital S., Deo P., Bharathwaj M., Horan K., Nickson J., Azad M., Stuart I., Chow S.H., Gunasinghe S.D., Bamert R., Li J., Lithgow T., Howden B.P., Naderer T. (2022) *Neisseria gonorrhoeae*-derived outer membrane vesicles package β -lactamases to promote antibiotic resistance. *microLife*. **3**, uqac013.
219. Dorward D.W., Garon C.F., Judd R.C. (1989) Export and intercellular transfer of DNA via membrane blebs of *Neisseria gonorrhoeae*. *J. Bacteriol.* **171**, 2499–2505.
220. Callaghan M.M., Heilers J.H., van der Does C., Dillard J.P. (2017) Secretion of chromosomal DNA by the *Neisseria gonorrhoeae* type IV secretion system. *Curr. Topics Microbiol. Immunol.* **413**, 323–345.
221. Ryan M.E., Damke P.P., Shaffer C.L. (2023) DNA transport through the dynamic type IV secretion system. *Infect. Immun.* **91**, e0043622.
222. Koch B., Callaghan M.M., Tellechea-Luzardo J., Seeger A.Y., Dillard J.P., Krasnogor N. (2020) Protein interactions within and between two F-type type IV secretion systems. *Mol. Microbiol.* **114**, 823–838.
223. Bignell C., Thomas C.M. (2001) The bacterial ParA-ParB partitioning proteins. *J. Biotechnol.* **91**, 1–34.
224. Callaghan M.M., Koch B., Hackett K.T., Klimowicz A.K., Schaub R.E., Krasnogor N., Dillard J.P. (2021) Expression, localization, and protein interactions of the partitioning proteins in the gonococcal type IV secretion system. *Front. Microbiol.* **12**, 784483.
225. Heilers J.H., Reiners J., Heller E.M., Golzer A., Smits S.H.J., van der Does C. (2019) DNA processing by the MOBH family relaxase TraI encoded within the gonococcal genetic island. *Nucl. Acids Res.* **47**, 8136–8153.
226. Salgado-Pabón W., Jain S., Turner N., van der Does C., Dillard J.P. (2007) A novel relaxase homologue is involved in chromosomal DNA processing for type IV secretion in *Neisseria gonorrhoeae*. *Mol. Microbiol.* **66**, 930–947.
227. Gangel H., Hepp C., Müller S., Oldewurtel E.R., Aas F.E., Koomey M., Maier B. (2014) Concerted spatio-temporal dynamics of imported DNA and ComE DNA uptake protein during gonococcal transformation. *PLoS Pathog.* **10**, e1004043.
228. Krüger N.J., Stingl K. (2011) Two steps away from novelty – principles of bacterial DNA uptake. *Mol. Microbiol.* **80**, 860–867.
229. Mehr I.J., Seifert H.S. (1998) Differential roles of homologous recombination pathways in *Neisseria gonorrhoeae* pilin antigenic variation, DNA transformation and DNA repair. *Mol. Microbiol.* **30**, 697–710.
230. Callaghan M.M., Klimowicz A.K., Shockey A.C., Kane J., Pepperell C.S., Dillard J.P. (2021) Transcriptional and translational responsiveness of the *Neisseria gonorrhoeae* type IV secretion system to conditions of host infections. *Infect. Immun.* **89**, e0051921.
231. Rotman E., Seifert H.S. (2014) The genetics of *Neisseria* species. *Annu. Rev. Genet.* **48**, 405–431.
232. Domínguez N.M., Hackett K.T., Dillard J.P. (2011) XerCD-mediated site-specific recombination leads to loss of the 57-kilobase gonococcal genetic island. *J. Bacteriol.* **193**, 377–388.
233. Hamilton H.L., Schwartz K.J., Dillard J.P. (2001) Insertion-duplication mutagenesis of neisseria: use in characterization of DNA transfer genes in the gonococcal genetic island. *J. Bacteriol.* **183**, 4718–4726.
234. Pachulec E., Siewering K., Bender T., Heller E.M., Salgado-Pabon W., Schmoller S.K., Woodhams K.L., Dillard J.P., van der Does C. (2014) Functional analysis of the gonococcal genetic island of *Neisseria gonorrhoeae*. *PLoS One*. **9**, e109613.
235. Kohler P.L., Chan Y.A., Hackett K.T., Turner N., Hamilton H.L., Cloud-Hansen K.A., Dillard J.P. (2013) Mating pair formation homologue TraG is a variable membrane protein essential for contact-independent type IV secretion of chromosomal DNA by *Neisseria gonorrhoeae*. *J. Bacteriol.* **195**(8), 1666–1679.
236. Zhang D., Hu M., Chi S., Chen H., Lin C., Yu F., Zheng Z. (2022) Molecular characteristics and gonococcal genetic island carrying status of thirty-seven *Neisseria gonorrhoeae* isolates in Eastern China. *Infect. Drug Resist.* **15**, 6545–6553.
237. Shaskolskiy B., Kravtsov D., Kandinov I., Gorshkova S., Kubanov A., Solomka V., Deryabin D., Dementieva E., Gryadunov D. (2022) Comparative whole-genome analysis of *Neisseria gonorrhoeae*

- isolates revealed changes in the gonococcal genetic island and specific genes as a link to antimicrobial resistance. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* **12**, 831336.
238. Kravtsov D., Gryadunov D., Shaskolskiy B. (2023) Gonococcal genetic island in the global *Neisseria gonorrhoeae* population: a model of genetic diversity and association with resistance to antimicrobials. *Microorganisms*. **11**, 1547.
 239. Whitchurch C.B., Tolker-Nielsen T., Ragas P.C., Mattick J.S. (2002) Extracellular DNA required for bacterial biofilm formation. *Science*. **295**, 1487.
 240. Harmsen M., Lappann M., Knöchel S., Molin S. (2010) Role of extracellular DNA during biofilm formation by *Listeria monocytogenes*. *Appl. Environ. Microbiol.* **76**, 2271–2279.
 241. Lappann M., Claus H., van Alen T., Harmsen M., Elias J., Molin S., Vogel U. (2010) A dual role of extracellular DNA during biofilm formation of *Neisseria meningitidis*. *Mol. Microbiol.* **75**, 1355–1371.
 242. Greiner L.L., Edwards J.L., Shao J., Rabinak C., Entz D., Apicella M.A. (2005) Biofilm formation by *Neisseria gonorrhoeae*. *Infect. Immun.* **73**, 1964–1970.
 243. Diallo K., MacLennan J., Harrison O.B., Msefula C., Sow S.O., Daugla D.M., Johnson E., Trotter C., MacLennan C.A., Parkhill J., Borrow R., Greenwood B.M., Maiden M.C. (2019) Genomic characterization of novel *Neisseria* species. *Sci. Rep.* **9**, 13742.
 244. Burcham Z.M., Garneau N.L., Comstock S.S., Tucker R.M., Knight R., Metcalf J.L. (2020) Patterns of oral microbiota diversity in adults and children: a crowdsourced population study. *Sci. Rep.* **10**, 2133.
 245. Goytia M., Wadsworth C.B. (2022) Canary in the coal mine: how resistance surveillance in commensals could help curb the spread of AMR in pathogenic *Neisseria*. *mBio*. **13**, e0199122.
 246. Hanage W.P., Fraser C., Spratt B.G. (2005) Fuzzy species among recombinogenic bacteria. *BMC Biol.* **3**, 6.
 247. Grad Y.H., Harris S.R., Kirkcaldy R.D., Green A.G., Marks D.S., Bentley S.D., Trees D., Lipsitch M. (2016) Genomic epidemiology of gonococcal resistance to extended-spectrum cephalosporins, macrolides, and fluoroquinolones in the United States, 2000–2013. *J. Infect. Dis.* **214**, 1579–1587.
 248. Arnold B., Sohail M., Wadsworth C., Corander J., Hanage W.P., Sunyaev S., Grad Y.H. (2020) Fine-scale haplotype structure reveals strong signatures of positive selection in a recombining bacterial pathogen. *Mol. Biol. Evol.* **37**, 417–428.
 249. Igawa G., Yamagishi Y., Lee K.I., Dorin M., Shimuta K., Suematsu H., Nakayama S.I., Mikamo H., Unemo M., Ohnishi M. (2018) *Neisseria cinerea* with high ceftriaxone MIC is a source of ceftriaxone and cefixime resistance-mediating *penA* sequences in *Neisseria gonorrhoeae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **62**, 3.
 250. Kanesaka I., Ohno A., Katsuse A.K., Takahashi H., Kobayashi I. (2022) The emergence of the ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* FC428 clone by transfer of resistance from an oral *Neisseria subflava* reservoir of resistance. *J. Antimicrob. Chemother.* **77**, 364–373.
 251. Unitt A., Maiden M., Harrison O. (2024) Characterizing the diversity and commensal origins of *penA* mosaicism in the genus *Neisseria*. *Microb. Genom.* **10**, mgen001209.
 252. Shimuta K., Watanabe Y., Nakayama S., Morita-Ishihara T., Kuroki T., Unemo M., Ohnishi M. (2015) Emergence and evolution of internationally disseminated cephalosporin-resistant *Neisseria gonorrhoeae* clones from 1995 to 2005 in Japan. *BMC Infect. Dis.* **15**, 378.
 253. Trembizki E., Doyle C., Jennison A., Smith H., Bates J., Lahra M., Whiley D. (2014) A *Neisseria gonorrhoeae* strain with a meningococcal *mtrR* sequence. *J. Med. Microbiol.* **63**, 1113–1115.
 254. Wadsworth C.B., Arnold B.J., Sater M.R.A., Grad Y.H. (2018) Azithromycin resistance through inter-specific acquisition of an epistasis-dependent efflux pump component and transcriptional regulator in *Neisseria gonorrhoeae*. *mBio*. **9**, 4.
 255. Cehovin A., Simpson P.J., McDowell M.A., Brown D.R., Noschese R., Pallett M., Brady J., Baldwin G.S., Lea S.M., Matthews S.J., Pelicic V. (2013) Specific DNA recognition mediated by a type IV pilin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **110**, 3065–3070.
 256. Frye S.A., Nilsen M., Tønjum T., Ambur O.H. (2013) Dialects of the DNA uptake sequence in *Neisseriaceae*. *PLoS Genet.* **9**, e1003458.
 257. Roberts R.J., Vincze T., Posfai J., Macelis D. (2023) REBASE: a database for DNA restriction and modification: enzymes, genes and genomes. *Nucl. Acids Res.* **51**, D629–D630.
 258. Kim W.J., Higashi D., Goytia M., Rendón M.A., Pilligua-Lucas M., Bronnimann M., McLean J.A., Duncan J., Trees D., Jerse A.E., So M. (2019) Commensal *Neisseria* kill *Neisseria gonorrhoeae* through a DNA-dependent mechanism. *Cell Host Microbe*. **26**, 228–239.
 259. So M., Rendón M.A. (2019) Tribal warfare: commensal *Neisseria* kill pathogen *Neisseria gonorrhoeae* using its DNA. *Microb. Cell*. **6**, 54–546.
 260. Wanford J.J., Green L.R., Aidley J., Bayliss C.D. (2018) Phasome analysis of pathogenic and commensal *Neisseria* species expands the known repertoire of phase variable genes, and highlights common adaptive strategies. *PLoS One*. **13**, e0196675.
 261. Kellogg D.S., Peacock W.L., Deacon W.E., Brown L., Pirkle D.I. (1963) *Neisseria gonorrhoeae*. I. virulence genetically linked to clonal variation. *J. Bacteriol.* **85**, 1274–1279.
 262. Heckels J.E. (2019) Gonococcal colony typing. *Meth. Mol. Biol.* **1997**, 77–85.
 263. Mayer L.W. (1982) Rates *in vitro* changes of gonococcal colony opacity phenotypes. *Infect. Immun.* **37**, 481–485.
 264. Sparling P.F., Cannon J.G., So M. (1986) Phase and antigenic variation of pili and outer membrane protein II of *Neisseria gonorrhoeae*. *J. Infect. Dis.* **153**, 196–201.
 265. Criss A.K., Bonney K.M., Chang R.A., Duffin P.M., LeCuyer B.E., Seifert H.S. (2010) Mismatch correction modulates mutation frequency and pilus phase

- and antigenic variation in *Neisseria gonorrhoeae*. *J. Bacteriol.* **192**, 316–325.
266. De Bolle X., Bayliss C.D., Field D., van de Ven T., Saunders N.J., Hood D.W., Moxon E.R. (2000) The length of a tetranucleotide repeat tract in *Haemophilus influenzae* determines the phase variation rate of a gene with homology to type III DNA methyltransferases. *Mol. Microbiol.* **35**, 211–222.
 267. Zelewska M.A., Pulijala M., Spencer-Smith R., Mahmood H.A., Norman B., Churchward C.P., Calder A., Snyder L.A.S. (2016) Phase variable DNA repeats in *Neisseria gonorrhoeae* influence transcription, translation, and protein sequence variation. *Microb. Genom.* **2**, e000078.
 268. Jonsson A.B., Nyberg G., Normark S. (1991). Phase variation of gonococcal pili by frameshift mutation in *pilC*, a novel gene for pilus assembly. *EMBO J.* **10**, 477–488.
 269. Chen C.J., Elkins C., Sparling P.F. (1998) Phase variation of hemoglobin utilization in *Neisseria gonorrhoeae*. *Infect. Immun.* **66**, 987–993.
 270. Banerjee A., Wang R., Supernavage S.L., Ghosh S.K., Parker J., Ganesh N.F., Wang P.G., Gulati S., Rice P.A. (2002) Implications of phase variation of a gene (*pgtA*) encoding a pilin galactosyl transferase in gonococcal pathogenesis. *J. Exp. Med.* **196**, 147–162.
 271. Yang Q.L., Gotschlich E.C. (1996) Variation of gonococcal lipooligosaccharide structure is due to alterations in poly-G tracts in *lgt* genes encoding glycosyl transferases. *J. Exp. Med.* **183**, 323–327.
 272. Jamet A., Jousset A.B., Euphrasie D., Mukorako P., Boucharlat A., Ducouso A., Charbit A., Nassif X. (2015) A new family of secreted toxins in pathogenic *Neisseria* species. *PLoS Pathog.* **11**, e1004592.
 273. van der Ende A., Hopman C.T., Zaat S., Essink B.B., Berkhout B., Dankert J. (1995) Variable expression of class I outer membrane protein in *Neisseria meningitidis* is caused by variation in the spacing between the -10 and -35 regions of the promoter. *J. Bacteriol.* **177**, 2475–2480.
 274. Sarkari J., Pandit N., Moxon E.R., Achtman M. (1994) Variable expression of the Opc outer membrane protein in *Neisseria meningitidis* is caused by size variation of a promoter containing poly-cytidine. *Mol. Microbiol.* **13**, 207–217.
 275. Carson S.D., Stone B., Beucher M., Fu J., Sparling P.F. (2000) Phase variation of the gonococcal siderophore receptor FetA. *Mol. Microbiol.* **36**, 585–593.
 276. Snyder L.A.S., Butcher S.A., Saunders N.J. (2001) Comparative whole-genome analyses reveal over 100 putative phase-variable genes in the pathogenic *Neisseria* spp. *Microbiology.* **147**, 2321–2332.
 277. Aho E.L., Dempsey J.A., Hobbs M.M., Klapper D.G., Cannon J.G. (1991) Characterization of the *opa* (class 5) gene family of *Neisseria meningitidis*. *Mol. Microbiol.* **5**, 1429–1437.
 278. Jordan P., Snyder L.A., Saunders N.J. (2003) Diversity in coding tandem repeats in related *Neisseria* spp. *BMC Microbiol.* **3**, 23.
 279. Woods J.P., Spinola S.M., Strobel S.M., Cannon J.G. (1989) Conserved lipoprotein H.8 of pathogenic *Neisseria* consists entirely of pentapeptide repeats. *Mol. Microbiol.* **3**, 43–48.
 280. Tønjum T., Caugant D.A., Dunham S.A., Koomey M. (1998) Structure and function of repetitive sequence elements associated with a highly polymorphic domain of the *Neisseria meningitidis* PilQ protein. *Mol. Microbiol.* **29**, 111–124.
 281. Snyder L.A., Shafer W.M., Saunders N.J. (2003) Divergence and transcriptional analysis of the division cell wall (*dcw*) gene cluster in *Neisseria* spp. *Mol. Microbiol.* **47**, 431–442.
 282. Srikhanta Y.N., Dowideit S.J., Edwards J.L., Falsetta M.L., Wu H.J., Harrison O.B., Fox K.L., Seib K.L., Maguire T.L., Wang A.H., Maiden M.C., Grimmond S.M., Apicella M.A., Jennings M.P. (2009) Phasevariations mediate random switching of gene expression in pathogenic *Neisseria*. *PLoS Pathog.* **5**, e1000400.
 283. Kwiatek A., Mrozek A., Bacal P., Piekarowicz A., Adamczyk-Popławska M. (2015) Type III methyltransferase M.NgoAX from *Neisseria gonorrhoeae* FA1090 regulates biofilm formation and interactions with human cells. *Front. Microbiol.* **6**, 1426.
 284. Darmon E., Leach D.R. (2014) Bacterial genome instability. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **78**, 1–39.
 285. Hamrick T.S., Dempsey J.A.F., Cohen M.S., Cannon J.G. (2001) Antigenic variation of gonococcal pilin expression in vivo: analysis of the strain FA1090 pilin repertoire and identification of the *pilS* gene copies recombining with *pilE* during experimental human infection. *Microbiology.* **147**, 839–849.
 286. Helm R.A., Seifert H.S. (2009) Pilin antigenic variation occurs independently of the RecBCD pathway in *Neisseria gonorrhoeae*. *J. Bacteriol.* **191**, 5613–5621.
 287. Criss A.K., Kline K.A., Seifert H.S. (2005) The frequency and rate of pilin antigenic variation in *Neisseria gonorrhoeae*. *Mol. Microbiol.* **58**, 510–519.
 288. Mushegian A.R., Koonin E.V. (1996) Gene order is not conserved in bacterial evolution. *Trends Genet.* **12**, 289–290.
 289. Itoh T., Takemoto K., Mori H., Gojobori T. (1999) Evolutionary instability of operon structures disclosed by sequence comparisons of complete microbial genomes. *Mol. Biol. Evol.* **16**, 332–346.
 290. Wolf Y.I., Rogozin I.B., Kondrashov A.S., Koonin E.V. (2001) Genome alignment, evolution of prokaryotic genome organization, and prediction of gene function using genomic context. *Genome Res.* **11**, 356–372.
 291. Novichkov P.S., Wolf Y.I., Dubchak I., Koonin E.V. (2009) Trends in prokaryotic evolution revealed by comparison of closely related bacterial and archaeal genomes. *J. Bacteriol.* **191**, 65–73.
 292. Rocha E.P. (2003) DNA repeats lead to the accelerated loss of gene order in bacteria. *Trends Genet.* **19**, 600–603.
 293. Spencer-Smith R., Varkey E.M., Fielder M.D., Snyder L.A. (2012) Sequence features contributing to

- chromosomal rearrangements in *Neisseria gonorrhoeae*. *PLoS One*. **7**, e46023.
294. Spencer-Smith R., Gould S.W., Pulijala M., Snyder L.A.S. (2018) Investigating potential chromosomal rearrangements during laboratory culture of *Neisseria gonorrhoeae*. *Microorganisms*. **6**, 10.
 295. Shaskolskiy B., Kravtsov D., Kandinov I., Dementieva E., Gryadunov D. (2022) Genomic diversity and chromosomal rearrangements in *Neisseria gonorrhoeae* and *Neisseria meningitidis*. *Internat. J. Mol. Sci.* **23**, 15644.
 296. Prentki P., Teter B., Chandler M., Galas D.J. (1986) Functional promoters created by the insertion of transposable element IS1. *J. Mol. Biol.* **191**, 383–393.
 297. Elbeyioglu F., Roberts S.B., Spencer-Smith R., Pulijala M., Zelewska M.A., Nebel J.C., Snyder L.A.S. (2017) Inversion of Correia repeat enclosed elements in *Neisseria gonorrhoeae*. *Microbiology*. **163**, 3–36.
 298. Rouquette-Loughlin C.E., Balthazar J.T., Hill S.A., Shafer W.M. (2004) Modulation of the *mtrCDE*-encoded efflux pump gene complex of *Neisseria meningitidis* due to a Correia element insertion sequence. *Mol. Microbiol.* **54**, 731–741.
 299. Дмитриев Г.А. (2007) *Лабораторная диагностика бактериальных урогенитальных инфекций*. Москва: Медицинская книга.
 300. Кубанова А.А., Кубанов А.А., Фриго Н.В., Полевщикова С.А., Соломка В.С., Лесная И.Н., Ротанов С.В. (2008) *Стандартные операционные процедуры по проведению видовой идентификации возбудителя гонореи*. Москва: ООО “ДЭКС-ПРЕСС”.
 301. Домейка М., Савичева А.М., Соколовский Е., Баллард Р., Унемо М. (2012) *Руководство по лабораторной диагностике инфекций урогенитального тракта*. Санкт-Петербург: ООО “Издательство Н-Л”.
 302. Olsen B., Lan P.T., Golparian D., Johansson E., Khang T.H., Unemo M. (2013) Antimicrobial susceptibility and genetic characteristics of *Neisseria gonorrhoeae* isolates from Vietnam, 2011. *BMC Infect. Dis.* **13**, 40.
 303. Carannante A., De Carolis E., Vacca P., Vella A., Vocale C., De Francesco M.A., Cusini M., Del Re S., Dal Conte I., Cristaudo A., Ober P., Sanguinetti M., Stefanelli P. (2015) Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) for identification and clustering of *Neisseria gonorrhoeae*. *BMC Microbiol.* **15**, 142.
 304. Buchanan R., Ball D., Dolphin H., Dave J. (2016) Matrix-assisted laser desorption-ionization time-of-flight mass spectrometry for the identification of *Neisseria gonorrhoeae*. *Clin. Microbiol. Infect.* **22**, 815.e5–815.e7.
 305. Meyer T., Buder S. (2020) The laboratory diagnosis of *Neisseria gonorrhoeae*: current testing and future demands. *Pathogens*. **9**, 91.
 306. Whiley D.M., Limnios A., Moon N.J., Gehrig N., Goire N., Hogan T., Lam A., Jacob K., Lambert S.B., Nissen M.D., Sloots T.P. (2011) False-negative results using *Neisseria gonorrhoeae* *porA* pseudogene PCR – a clinical gonococcal isolate with an *N. meningitidis* *porA* sequence, Australia, March 2011. *Euro Surveill.* **16**, 19874.
 307. Ison C.A., Golparian D., Saunders P., Chisholm S., Unemo M. (2013) Evolution of *Neisseria gonorrhoeae* is a continuing challenge for molecular detection of gonorrhoea: false negative gonococcal *porA* mutants are spreading internationally. *Sex. Transm. Infect.* **89**, 197–201.
 308. Upton A., Bromhead C., Whiley D.M. (2013) *Neisseria gonorrhoeae* false-positive result obtained from a pharyngeal swab by using the Roche cobas 4800 CT/NG assay in New Zealand in 2012. *J. Clin. Microbiol.* **51**, 1609–1610.
 309. Frosch M., Meyer T.F. (1992) Transformation-mediated exchange of virulence determinants by co-cultivation of pathogenic *Neisseriae*. *FEMS Microbiol. Lett.* **100**, 345–349.
 310. Bachmann L.H., Desmond R.A., Stephens J., Hughes A., Hook E.W. (2002) Duration of persistence of gonococcal DNA detected by ligase chain reaction in men and women following recommended therapy for uncomplicated gonorrhea. *J. Clin. Microbiol.* **40**, 3596–3601.
 311. Shaskolskiy B., Kandinov I., Kravtsov D., Filippova M., Chestkov A., Solomka V., Kubanov A., Deryabin D., Dementieva E., Gryadunov D. (2021) Prediction of ceftriaxone MIC in *Neisseria gonorrhoeae* using DNA microarray technology and regression analysis. *J. Antimicrob. Chemother.* **76**, 3151–3158.
 312. Phillips L.T., Witney A.A., Furegato M., Laing K.G., Zhou L., Sadiq S.T. (2023) Time required for nanopore whole-genome sequencing of *Neisseria gonorrhoeae* for identification of phylogenetic relationships. *J. Infect. Dis.* **228**, 1179–1188.
 313. Street T.L., Sanderson N.D., Barker L., Kavanagh J., Cole K., The GonFast Investigators Group, Llewelyn M., Eyre D.W. (2024) Target enrichment improves culture-independent detection of *Neisseria gonorrhoeae* direct from sample with nanopore sequencing. *Microb. Genomics*. **10**, mgen001208.
 314. Sánchez-Busó L., Yeats C.A., Taylor B., Goater R.J., Underwood A., Abudahab K., Argimón S., Ma K.C., Mortimer T.D., Golparian D., Cole M.J., Grad Y.H., Martin I., Raphael B.H., Shafer W.M., Town K., Wi T., Harris S.R., Unemo M., Aanensen D.M. (2021) A community-driven resource for genomic epidemiology and antimicrobial resistance prediction of *Neisseria gonorrhoeae* at pathogen-watch. *Genome Med.* **13**, 61.
 315. Lin E.Y., Adamson P.C., Ha S.-M., Klausner J.D. (2022) Reliability of genetic alterations in predicting ceftriaxone resistance in *Neisseria gonorrhoeae* globally. *Microbiol. Spectr.* **10**, 2.
 316. Demczuk W., Martin I., Sawatzky P., Allen V., Lefebvre B., Hoang L., Naidu P., Minion J., VanCaeseele P., Haldane D., Eyre D.W., Mulvey M.R. (2020) Equations to predict antimicrobial MICs in *Neisseria gonorrhoeae* using molecular antimicrobial resistance determinants. *Antimicrob. Agents Chemother.* **64**, 3.
 317. Eyre D.W., De Silva D., Cole K., Peters J., Cole M.J., Grad Y.H., Demczuk W., Martin I., Mulvey M.R., Crook D.W., Walker A.S., Peto T.E.A., Paul J.

- (2017) WGS to predict antibiotic MICs for *Neisseria gonorrhoeae*. *J. Antimicrob. Chemother.* **72**, 1937–1947.
318. Ha S.M., Lin E.Y., Klausner J.D., Adamson P.C. (2023) Machine learning to predict ceftriaxone resistance using single nucleotide polymorphisms within a global database of *Neisseria gonorrhoeae* genomes. *Microbiol. Spectr.* **11**, 6.
319. Hicks A.L., Wheeler N., Sánchez-Busó L., Rake-man J.L., Harris S.R., Grad Y.H. (2019) Evaluation of parameters affecting performance and reliability of machine learning-based antibiotic susceptibility testing from whole genome sequencing data. *PLoS Comp. Biol.* **15**, e1007349.
320. Yasir M., Karim A.M., Malik S.K., Bajaffer A.A., Azhar E.I. (2022) Prediction of antimicrobial minimal inhibitory concentrations for *Neisseria gonorrhoeae* using machine learning models. *Saudi J. Biol. Sci.* **29**, 3687–3693.
321. Greenberg L. (1975) Field trials of a gonococcal vaccine. *J. Reprod. Med.* **14**, 34–36.
322. McChesney D., Tramont E.C., Boslego J.W., Ciak J., Sadoff J., Brinton C.C. (1982) Genital antibody response to a parenteral gonococcal pilus vaccine. *Infect. Immun.* **36**, 1006–1012.
323. Eloise W., Seib K.L., Fairley C.K., Pollock G.L., Hocking J.S., McCarthy J.S., Williamson D.A. (2024) *Neisseria gonorrhoeae* vaccines: a contemporary overview. *Clin. Microbiol. Rev.* **37**, e0009423.
324. Waltmann A., Chen J.S., Duncan J.A. (2024) Promising developments in gonococcal vaccines. *Curr. Opin. Infect. Dis.* **37**, 63–69.
325. Frasch C.E., van Alphen L., Holst J., Poolman J.T., Rosenqvist E. (2001) Outer membrane protein vesicle vaccines for meningococcal disease. *Meth. Mol. Med.* **66**, 81–107.
326. Petousis-Harris H., Paynter J., Morgan J., Saxton P., McArdle B., Goodyear-Smith F., Black S. (2017) Effectiveness of a group B outer membrane vesicle meningococcal vaccine against gonorrhoea in New Zealand: a retrospective case-control study. *Lancet.* **390**, 1603–1610.
327. Oster P., Lennon D., O'Hallahan J., Mulholland K., Reid S., Martin D. (2005) MeNZB: a safe and highly immunogenic tailor-made vaccine against the New Zealand *Neisseria meningitidis* serogroup B disease epidemic strain. *Vaccine.* **23**, 2191–2196.
328. Looker K.J., Booton R., Begum N., Beck E., Shen J., Turner K.M.E., Christensen H. (2023) The potential public health impact of adolescent 4CMenB vaccination on *Neisseria gonorrhoeae* infection in England: a modelling study. *BMC Public Health.* **23**, 1.
329. Padeniya T.N., Hui B.B., Wood J.G., Seib K.L., Regan D.G. (2023) The potential impact of a vaccine on *Neisseria gonorrhoeae* prevalence among heterosexuals living in a high prevalence setting. *Vaccine.* **41**, 5553–5561.
330. Morriss D.M., Lawson J.W., Rogolsky M. (1978) Effect of a staphylococcin on *Neisseria gonorrhoeae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **14**, 218–223.
331. Morse S.A., Jones B.V., Lysko P.G. (1980) Pyocin inhibition of *Neisseria gonorrhoeae*: mechanism of action. *Antimicrob. Agents Chemother.* **18**, 416–423.
332. John C.M., Griffiss J.M., Apicella M.A., Mandrell R.E., Gibson B.W. (1991) The structural basis for pyocin resistance in *Neisseria gonorrhoeae* lipooligosaccharides. *J. Biol. Chem.* **266**, 19303–19311.
333. Kaye D., Levison M.E. (1977) *In vitro* inhibition of growth of *Neisseria gonorrhoeae* by genital microorganisms. *Sex. Transm. Dis.* **4**, 1–3.
334. Bolton M., van der Straten A., Cohen C.R. (2008) Probiotics: potential to prevent HIV and sexually transmitted infections in women. *Sex. Transm. Dis.* **35**, 214–225.
335. Custodio R., Johnson E., Liu G., Tang C.M., Exley R.M. (2020) Commensal *Neisseria cinerea* impairs *Neisseria meningitidis* microcolony development and reduces pathogen colonisation of epithelial cells. *PLoS Pathog.* **16**, e1008372.
336. Aho E.L., Ogle J.M., Finck A.M. (2020) The human microbiome as a focus of antibiotic discovery: *Neisseria mucosa* displays activity against *Neisseria gonorrhoeae*. *Front. Microbiol.* **11**, 577762.
337. Abdellati S., Laumen J., Gonzalez N., Manoharan-Basil S.S., Van Dijck C., De Baetselier I., Martiny D., de Block T., Kenyon C. (2022) *Neisseria mucosa* does not inhibit the growth of *Neisseria gonorrhoeae*. *Sci.* **4**, 8. <https://doi.org/10.3390/sci4010008>
338. Custodio R., Ford R.M., Ellison C.J., Liu G., Mikute G., Tang C.M., Exley R.M. (2021) Type VI secretion system killing by commensal *Neisseria* is influenced by expression of type four pili. *eLife.* **10**, e63755.
339. Allsopp L.P., Bernal P., Nolan L.M., Filloux A. (2020) Causalities of war: the connection between type VI secretion system and microbiota. *Cell. Microbiol.* **22**, e13153.
340. Cater K., Międzybrodzki R., Morozova V., Letkiewicz S., Łusiak-Szelachowska M., Rękas J., Weber-Dąbrowska B., Górski A. (2021) Potential for phages in the treatment of bacterial sexually transmitted infections. *Antibiotics.* **10**, 1030.
341. Adamczyk-Popławska M., Golec P., Piekarowicz A., Kwiatek A. (2023) The potential for bacteriophages and prophage elements in fighting and preventing the gonorrhea. *Crit. Rev. Microbiol.* 1–16.
342. González-Villalobos E., Molina-López J., Balcázar J.L. (2022) Phage therapy for urinary tract infections: does it really work? *Int. Microbiol.* **25**, 665–667.
343. Stone R.L., Culbertson C.G., Powell H.M. (1956) Studies of a bacteriophage active against a chromogenic *Neisseria*. *J. Bacteriol.* **71**, 516–520.
344. Phelps L.N. (1967) Isolation and characterization of bacteriophages for *Neisseria*. *J. Gen. Virol.* **1**, 529–536.
345. Laumen J., Abdellati S., Manoharan-Basil S.S., Van Dijck C., Van den Bossche D., De Baetselier I., De Block T., Malhotra-Kumar S., Soentjens P., Pirnay J., Kenyon C., Merabishvili M. (2022) Screening of anorectal and oropharyngeal samples fails to detect bacteriophages infecting *Neisseria gonorrhoeae*. *Antibiotics.* **11**, 268.

Unveiling *Neisseria gonorrhoeae* Survival: Genetic Variability, Pathogenesis, and Antimicrobial Resistance

B. L. Shaskolskiy^{1,*}, I. D. Kandinov¹, D. A. Gryadunov¹, D. V. Kravtsov¹

¹*Center for Precision Genome Editing and Genetic Technologies for Biomedicine,
Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia*

**e-mail: bls@shaskolskiy.ru*

Despite nearly a century of therapy for gonococcal infection with a variety of antimicrobials, more than 80 million cases of this disease are reported annually worldwide. The gonorrhea pathogen, *Neisseria gonorrhoeae*, exhibits an exceptional ability to develop resistance to antibiotics due to its high genetic flexibility. As an obligate pathogen, the gonococcus has evolved mechanisms to evade host defenses, engaging with the innate and adaptive immune responses in both men and women. The bacterium can establish residence within epithelial cells, macrophages, and neutrophils. Through genetic variability and horizontal gene transfer, strains resistant to each of the drugs used in gonorrhea therapy have emerged. The type IV secretion system plays a critical role in horizontal gene transfer, driving the development of antimicrobial resistance. This review explores the pathogenesis and immune evasion mechanisms, antibiotic resistance formation, genetic variability, laboratory analysis methods for the pathogen, and emerging trends in the diagnosis and treatment of gonococcal infections.

Keywords: *Neisseria gonorrhoeae*, horizontal gene transfer, T4SS, antimicrobial resistance, bacterial pathogenesis