



Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России

**Учредитель**

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

**Издатель**

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии  
[www.iacmac.ru](http://www.iacmac.ru)

Журнал зарегистрирован Комитетом РФ по печати 30.09.1999 г. (№019273) Тираж 3000 экз.

**Подписка на сайте издателя**  
<https://service.iacmac.ru>

**Адрес для корреспонденции**  
214019, г. Смоленск, а/я 5.  
Тел./факс: (4812)45 06 02

Электронная почта:  
[cmac@antibiotic.ru](mailto:cmac@antibiotic.ru)

Электронная версия журнала:  
<https://cmac-journal.ru>

Журнал входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук

Присланные в редакцию статьи проходят рецензирование

Мнение редакции может не совпадать с точкой зрения авторов публикуемых материалов

Ответственность за достоверность рекламных публикаций несут рекламодатели

При перепечатке ссылка на журнал обязательна

© Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2021.

## Содержание

### Болезни и возбудители

- Сацук А.В., Солопова Г.Г., Чурилова Н.С., Власенко Н.В., Панасюк Я.В., Плоскирева А.А., Акимкин В.Г.
- 340** Вирусный гепатит С у иммунокомпрометированных пациентов педиатрического профиля: эпидемиологический анализ данных центра детской гематологии, онкологии и иммунологии
- Баранова И.Б., Яременко А.И., Зубарева А.А., Карпищенко С.А., Попова М.О., Курусь А.А., Портнов Г.В., Пинегина О.Н., Лукина О.В., Маляревская М.В., Калакуцкий И.Н., Илюхина М.О., Клишко Н.Н.
- 347** Мукормикоз костей лицевого черепа, полости носа и околоносовых пазух у пациентов, перенесших COVID-19
- Степин А.В.
- 359** Структура возбудителей и основные проблемы антибиотикорезистентности при инфекции области хирургического вмешательства в кардиохирургии

### Антимикробные препараты

- Сычев И.Н., Федина Л.В., Сычев Д.А.
- 367** Антибактериальная терапия в условиях полипрагмазии: курс на безопасность

### Антибиотикорезистентность

- Гостев В.В., Пунченко О.Е., Сидоренко С.В.
- 375** Современные представления об устойчивости *Staphylococcus aureus* к бета-лактамам антибиотикам
- Садеева З.З., Новикова И.Е., Шакирзянова Р.А., Алябьева Н.М., Лазарева А.В., Мелков М.С., Карасева О.В., Вершинина М.Г., Фисенко А.П.
- 388** Молекулярно-генетическая характеристика механизмов антибиотикорезистентности штаммов *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii*, выделенных из крови и ликвора у детей

### Опыт работы

- Лёдов В.А.
- 400** Определение функциональных и антиген-специфических антител в сыворотке у мышей после иммунизации кандидатной вакциной против *Shigella flexneri* 1b, 2a, 3a, 6, Y
- Умпелева Т.В., Еремеева Н.И., Вахрушева Д.В.
- 404** Разработка технологии длительного хранения культур микобактерий туберкулеза

## Современные представления об устойчивости *Staphylococcus aureus* к бета-лактамам антибиотикам

Гостев В.В.<sup>1,2</sup>, Пунченко О.Е.<sup>2,3</sup>, Сидоренко С.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Контактный адрес:

Владимир Валерьевич Гостев  
Эл. почта: guestv11@gmail.com

Ключевые слова: *Staphylococcus aureus*, устойчивость к бета-лактамам, бета-лактамаза, метициллинорезистентные *Staphylococcus aureus*, пенициллинсвязывающие белки, ц-диАМФ.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

В обзоре рассматриваются современные представления о разных механизмах устойчивости *Staphylococcus aureus* к бета-лактамам антибиотикам, которые являются одними из основных препаратов выбора для лечения стафилококковых инфекций. На сегодняшний день можно выделить несколько механизмов устойчивости. К ним относятся синтез стафилококковой бета-лактамазы (*blaZ*), обуславливающей устойчивость к пенициллинам, аминопенициллинам, и наличие альтернативного пенициллинсвязывающего белка (ПСБ2а) – основного маркера метициллинорезистентных *S. aureus* (MRSA), ассоциированного с устойчивостью ко всем бета-лактамам (кроме цефалоспоринов с анти-MRSA активностью). В свою очередь, мутации в ПСБ2а способствуют формированию устойчивости к цефтаролину и цефтобипролу. Параллельно с этим среди MRSA можно выделить фенотипы «исключения» – это оксациллиночувствительные MRSA (OS-MRSA), которые являются чувствительными к оксациллину, несмотря на наличие гена *mecA*, кодирующего ПСБ2а. Также выделяют и *mec*-независимые пути формирования устойчивости. В частности, повышение внутриклеточной концентрации мессенджеров ц-диАМФ (за счет мутаций в гене *gdpP*) приводит к устойчивости к бета-лактамам, включая цефалоспорины с анти-MRSA активностью. Мутации в ПСБ4 или его промоторе также способствуют устойчивости. Механизм устойчивости к бета-лактамам у *mec*-отрицательных *S. aureus* (borderline oxacillin-resistant *S. aureus*, BORSA) связан с мутациями в ПСБ1, ПСБ2, ПСБ3 и ПСБ4 или с гиперэкспрессией стафилококковой бета-лактамазы. В обзоре рассматриваются эти и другие фенотипы, особенности механизмов устойчивости, клиническая значимость, а также возможности фенотипической детекции.

Review

## The current view on beta-lactam resistance in *Staphylococcus aureus*

Gostev V.V.<sup>1,2</sup>, Puchenko O.E.<sup>2,3</sup>, Sidorenko S.V.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Children Scientific Clinical Center of Infectious Diseases, Saint-Petersburg, Russia

<sup>2</sup> North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia

<sup>3</sup> Institute of Experimental Medicine, Saint-Petersburg, Russia

Contacts:

Vladimir V. Gostev  
E-mail: guestv11@gmail.com

Key words: *Staphylococcus aureus*, beta-lactam resistance, beta-lactamase, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, penicillin-binding protein, c-di-AMP.

Conflicts of interest: all authors report no conflicts of interest relevant to this article.

The review presents the current view on the different resistance mechanisms of *Staphylococcus aureus* to beta-lactams, which are ones of the main antibiotics of choice for the treatment of staphylococcal infections. Currently, there are several mechanisms of resistance such as production of staphylococcal beta-lactamase (*blaZ*), which provides resistance to penicillins and aminopenicillins. Another one is the presence of an alternative penicillin-binding protein (PBP2a), which is the main marker of methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA), virtually providing resistance to all beta-lactams, with the exception of anti-MRSA cephalosporins. Mutations in PBP2a contribute to the resistance to ceftaroline and ceftobiprol. Among the MRSA there are few exceptions with regards to the phenotypes called oxacillin-sensitive MRSA (OS-MRSA) which are susceptible to oxacillin despite the presence of the *mecA* encoding PBP2a. In addition, there are *mec*-independent pathways of beta-lactam resistance that could be found in *S. aureus*. In particular, mutations in the *gdpP* are associated with an increase in the intracellular concentration of c-di-AMP messengers that promote resistance to beta-lactams, including anti-MRSA cephalosporins. Mutations in PBP4 or its promoter also contribute to the resistance. The mechanism of resistance to beta-lactams in *mec*-negative *S. aureus* (borderline oxacillin-resistant *S. aureus*, BORSA) is associated with the mutations in PBP1, PBP2, PBP3, and PBP4 or the overexpression of staphylococcal beta-lactamase. This review describes those and other phenotypes, the features of resistance mechanisms, clinical significance, as well as the possibilities for phenotypic detection.

## Введение

*Staphylococcus aureus* относится к ведущим возбудителям широкого круга инфекций человека. До внедрения пенициллина смертность от системных инфекций, вызываемых стафилококками, достигала 80% [1]. Бета-лактамы составляют основу современной антимикробной химиотерапии, отличаются низкой токсичностью и высокой эффективностью, что обуславливает их всеобщее распространение и применение для лечения инфекций, в том числе стафилококковых. Бета-лактамы ингибируют образование клеточной стенки за счет связывания с пенициллинсвязывающими белками (ПСБ), блокируя транспептидазную, трансгликозилазную реакции, и проявляют, как правило, бактерицидный эффект. Пенициллин, первый представитель рассматриваемой группы антибиотиков, вошел в широкую клиническую практику в начале 1940-х гг., но уже в 1944 г. были описаны первые клинические изоляты *S. aureus*, продуцирующие бета-лактамазы (пенициллиназы) и благодаря этому проявляющие устойчивость к пенициллину [2]. К началу 1960-х гг. пенициллиноустойчивые стафилококки распространились по всему миру. В это же время на рынке появляется первый полусинтетический бета-лактамы антибиотик метициллин, устойчивый к гидролизу стафилококковыми бета-лактамазами. Однако уже в 1961 г. были описаны *S. aureus*, резистентные к метициллину (MRSA). Механизм их устойчивости долгое время оставался неясным [3]. Позже было показано, что устойчивость к метициллину является маркером клинической устойчивости ко всем бета-лактамам [4], и лишь в конце 1970-х гг. было выявлено, что резистентность обусловлена наличием дополнительного низкоаффинного пенициллинсвязывающего белка 2а (ПСБ2а), кодируемого геном *tesA* [5, 6]. Несмотря на то что в последующие годы метициллин был полностью вытеснен из практики менее токсичными пенициллиназостабильными пенициллинами (оксациллином и другими), термин MRSA сохранился. С клинической точки зрения подходы к лечению инфекций, вызванных MRSA и метициллиночувствительными стафилококками (MSSA), принципиально различаются, что требует проведения быстрой надежной оценки чувствительности к антибиотикам. Препараты выбора для лечения MSSA-инфекций – бета-лактамы, а MRSA – гликопептиды, оксазолидиноны, а из бета-лактамов – цефтаролин или цефтобипрол. Считается, что наиболее чувствительным и специфичным методом выявления метициллинорезистентности является детекция генов *tes*. Из фенотипических методов европейские стандарты EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) и американские стандарты CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) рекомендуют использовать диско-диффузионный метод с использованием диска с цефокситином. При использовании диска с оксациллином результаты менее чувствительны и специфичны, за исключением определения МПК оксациллина в серийных разведениях.

Устойчивость к бета-лактамам не ограничивается только двумя механизмами. За последние десятилетия

описаны *tes*-независимые пути резистентности у *S. aureus*. К ним можно отнести мутации в ПСБ, мутации в их генетическом окружении, ответ на стресс и изменение метаболизма, изменение метаболизма внутриклеточных вторичных мессенджеров – циклического диаденозинмонофосфата (ц-диАМФ). Экспрессия генов *tes* является сложным биологическим процессом, в который вовлечены многие системы бактериальной клетки, их регуляторные воздействия сказываются на уровне устойчивости к бета-лактамам, причем в разных направлениях – как в сторону повышения, так и снижения устойчивости. Так, формирование фенотипа чувствительности к оксациллину у MRSA (OS-MRSA) во многом зависит от систем, регулирующих экспрессию гена *tesA*.

В обзоре представлены современные данные о классических механизмах устойчивости, связанных с продукцией бета-лактамазы или наличием генов *tes*, а также новых механизмов, затрагивающих различные аспекты биологии *S. aureus*.

## Устойчивость к пенициллинам и стафилококковая бета-лактамаза

В своей публикации в 1929 г. Александр Флеминг при описании свойств пенициллина отмечал, что некоторые виды не подвержены его воздействию, в частности *Bacillus coli* (современное наименование вида – *Escherichia coli*) [7]. Позже, в 1940 г. было установлено, что пенициллин разрушается под действием специфического бактериального фермента, продуцируемого *B. coli* (*E. coli*), впоследствии названного бета-лактамазой [8]. Стафилококковая бета-лактамаза (пенициллиназа PC1) и первые пенициллиноустойчивые *S. aureus* были описаны в 1944 г. [2]. В настоящее время подавляющее большинство клинических изолятов *S. aureus* являются продуцентами бета-лактамаз. Стафилококковая пенициллиназа относится к классу А сериновых бета-лактамаз по классификации Ambler [9] и проявляет выраженную гидролитическую активность в отношении природных и большинства полусинтетических пенициллинов, очень слабую активность в отношении оксациллина, цефемов и карбапенемов. Пенициллиназа *S. aureus* инактивируется следующими ингибиторами: клавуланатом, сульбактамом и тазобактамом, при этом первый обладает более выраженным ингибирующим эффектом [10]. Серологически выделяют 4 основные группы пенициллиназ *S. aureus* (A–D), при этом ферменты группы А наиболее распространены и могут быть ассоциированы с повышенной гидролитической активностью в отношении бета-лактамы антибиотиков. Кроме того, также описаны бета-лактамазы групп Е и F. Группа Е – у *tesC*-положительного изолята LGA251 [11], группа F была описана в работе Harrison E. и соавт. [12]. Серологическая классификация основывается на аминокислотных вариантах в позициях 128 и 216 в белке PC1. Ген стафилококковой бета-лактамазы (*blaZ*) локализован в *bla*-опероне, его экспрессия является индуцибельной

и регулируется системой двух генов – *blaR1*, кодирующим сенсорный белок, и *blaI*, кодирующим белок-репрессор. В отсутствие в окружающей среде бета-лактамов экспрессия *blaZ* блокируется репрессором (*blaI*). При появлении в среде антибиотика происходит активация сенсорного белка, который, взаимодействуя с репрессором, деблокирует *blaZ*, что приводит к синтезу фермента.

Бета-лактамазы локализованы на плазидах средней длины (20–80 тыс. п.н.), исключение – ферменты группы В, которые могут локализоваться в хромосоме [13]. Уровень гидролитической активности в отношении разных бета-лактамов может зависеть от мутаций в ферменте. В частности, аминокислотные замены в положениях 128 и 216 влияют на увеличение гидролитической активности [14]. Для некоторых MSSA, продуцирующих пенициллиназу, известен феномен инокулюм-зависимой чувствительности к цефазолину, проявляющийся в увеличении МПК цефазолина при увеличении концентрации стафилококков [15]. Высокие концентрации ( $10^7$ – $10^{11}$  КОЕ/мл) патогена в очаге наблюдают при интраабдоминальных инфекциях и эндокардите. Инокулюм-эффект может быть причиной неблагоприятных клинических исходов, в частности при бактериемиях, и назначение цефазолина может не обеспечить эрадикацию MSSA [16, 17]. Инокулюм-эффект до конца не изучен, но один из механизмов связан непосредственно с уровнем экспрессии и мутациями в стафилококковой пенициллиназе (см. раздел, посвященный BORSA). В работе Carvajal L. и соавт. [18] на коллекции MSSA, включающей почти 700 изолятов, выделенных из крови у пациентов в Латинской Америке, было показано, что инокулюм-эффект проявлялся у 40% изолятов и был связан с вариантами бета-лактамазы. Авторы выявили 29 вариантов гена *blaZ*, где вариант *blaZ*-2 (серотипа А), а также аминокислотные замены в положениях A9V, E112A и G145E строго ассоциировались с инокулюм-эффектом.

Стафилококковая бета-лактамаза может быть выявлена различными фенотипическими методами. Европейские рекомендации EUCAST рекомендуют при проведении диско-диффузионного метода с пенициллином оценивать характер границы зоны подавления роста: размытая граница интерпретируется как отсутствие фермента, четкая – как наличие. Тест с гидролизом нитроцефина не рекомендуется для использования, поскольку отмечается его низкая специфичность и чувствительность [19, 20].

В настоящее время в большинстве микробиологических лабораторий при оценке чувствительности *S. aureus* к бета-лактамам ограничиваются оценкой чувствительности к цефокситину и условно рассматривают все MSSA как продуценты пенициллиназы, устойчивые к пенициллинам. Это совпадает с современной клинической практикой, основанной на предположении о высокой распространенности продукции пенициллиназы среди стафилококков и рассматривающей пеницилиназостабильные пенициллины как средства выбора для лечения MSSA-инфекций. Однако в современных

условиях неограниченного распространения резистентности в программах контроля антимикробной терапии (Antimicrobial stewardship) формируется тенденция к использованию антибиотиков более узкого спектра, например пенициллина. Так, появляются сообщения об относительно высокой распространенности пенициллиназонегативных MSSA в отдельных регионах и о возможности использования пенициллина для лечения соответствующих инфекций [21, 22].

## MRSA

Впервые MRSA были выявлены в 1960-х гг. при оценке чувствительности к метицилину большой коллекции изолятов *S. aureus* [3]. Основное свойство MRSA – устойчивость ко всем бета-лактамным антибиотикам, за исключением цефалоспоринов с анти-MRSA активностью (цефтаролина и цефтобипрола). На сегодняшний день MRSA являются одной из ведущих причин внутрибольничных инфекций (healthcare-acquired MRSA, HA-MRSA) и относятся к одной из угроз мировому здравоохранению [23]. Инфекции, вызванные MRSA, сопряжены с высоким риском летальности и большими экономическими затратами на лечение пациентов [24, 25]. Помимо HA-MRSA, выделяют также внебольничные MRSA (community-acquired MRSA, CA-MRSA), циркулирующие в популяции человека и вызывающие внебольничные инфекции, и LA-MRSA (livestock-associated MRSA), вызывающие инфекции у животных. Основой лечения инфекций, вызванных MRSA, являются гликопептиды, даптомицин, оксазолидиноны, а также цефтобипрол и цефтаролин. MRSA характеризуются наличием мобильной стафилококковой *tec*-кассеты (SCC*tec*), где локализован ген *tecA*, кодирующий альтернативный пенициллинсвязывающий белок (ПСБ2а). ПСБ2а проявляет низкую аффинность ко всем бета-лактамным антибиотикам и при этом участвует в биосинтезе клеточной стенки [1].

На сегодняшний день у *S. aureus* описано 3 аллельных гена *tec*: *tecA*, *tecB* и *tecC*. Наиболее распространенным является ген *tecA*, встречающийся среди MRSA всех эпидемических кластеров (HA-MRSA, CA-MRSA и LA-MRSA). Ген *tecB* был описан в 2018 г. в составе плазмиды в *bla*-опероне [26]. За всю историю изучения MRSA – это первая находка, когда ген *tec* локализован вне SCC*tec*. Хотя описание такого плазмидного варианта *tecB* является единичным обнаружением, это таит в себе опасность новой волны распространения MRSA посредством передачи плазмид. Третий аллельный ген – *tecC* (кодирующий белок ПСБ2с) – был впервые описан в 2011 г. у изолята MRSA LGA251, выделенного в 2007 г. из образца коровьего молока [27]. Чаще всего *tecC* ассоциирован с LA-MRSA или CA-MRSA и встречается гораздо реже по сравнению с *tecA*. Все три гена *tec* ассоциированы с устойчивостью к бета-лактамным антибиотикам.

Стафилококковые SCC*tec* кассеты имеют размер 20–70 тыс. п.н., и на сегодняшний день описано 14 вариантов (I–XIV) [1, 28]. Классификация SCC*tec*

основана на их генетическом строении: наличие разных *Csr*-рекомбиназ (*csr-complex*), регуляторного комплекса *mec* (*mec-complex*), наличия дополнительных генетических элементов – инсерций, транспозонов, встроенных плазмид и дополнительных генов устойчивости к антибиотикам.

По аналогии с работой *bla*-оперона, экспрессия *mecA* может осуществляться индуцибельно с помощью работы генов *mecI* и *mecR1*. *MecI* играет роль репрессора, а сенсорный белок *MecR1* при появлении в окружающей среде бета-лактамов активируется и взаимодействует с репрессором, в этом случае происходит экспрессия *mecA*. Стоит отметить, что только у II, III, VII и XI вариантов *SCCmec* присутствуют интактные регуляторные гены *mec-complex*, у остальных вариантов они отсутствуют или частично делетированы. В этом случае регуляция осуществляется системой *bla*-оперона, генами *blaI* и *blaR1*. Мобильность *SCCmec* осуществляется за счет *Csr*-рекомбиназ, передача и «вырезание» *SCCmec* были продемонстрированы во многих работах *in vitro* [29, 30]. Такая мобильность *SCCmec* подразумевает и распространение в популяции *S. aureus*, однако это относительно редкое генетическое событие, а основной механизм распространения MRSA – клональный.

Регуляция *mecA* не ограничивается работой генов комплекса *mec* и *bla*-оперона. На сегодняшний день установлено, что в регуляцию вовлечены другие факторы бактериальной клетки (Таблица 1), входящие в состав основного (ядерного) генома и рассматриваемые

как дополнительные. Важность особенностей генетических платформ для экспрессии гена *mecA* показана в экспериментах для различных генетических линий MSSA. Формирование внедрению *SCCmec* в геном резистентного фенотипа наблюдали только в тех случаях, когда реципиентами служили стафилококки генетических линий, ранее известных как ассоциированные с MRSA; если реципиентами были стафилококки других генетических линий, то формирования резистентности к бета-лактамам не наблюдали [31]. Важность генетического окружения подтверждается также и тем фактом, что в мире описано относительно небольшое количество генетических линий, ассоциированных с MRSA: из более чем 7000 клональных линий, описанных в PubMLST по состоянию на 2021 г., с MRSA генотипом ассоциировано менее 1% [32].

В 1964 г. было обнаружено, что штаммы MRSA различаются по степени гомогенности уровня резистентности отдельных клеток [33]. В настоящее время принято выделять гоморезистентные MRSA, у которых вся клеточная популяция проявляет высокий уровень устойчивости к бета-лактамам (МПК оксациллина  $\geq 1024$  мкг/мл), и гетерорезистентные, у которых основная часть популяции проявляет невысокий уровень резистентности (МПК оксациллина 0,5–16 мкг/мл) и только часть популяции проявляет высокий уровень [34]. Механизм изменения фенотипа от гетеро- к гоморезистентности у MRSA до конца не изучен, но в этот процесс вовлечены многие факторы и в первую очередь детерминанты основного

Таблица 1. Факторы основного генома, регулирующие экспрессию устойчивости к бета-лактамам у *S. aureus*

Ген/система	Описание
<b>FemABX</b>	Гены <i>fem</i> (Factors essential for methicillin resistance) – одни из первых описанных факторов хромосомы, влияющих на экспрессию <i>mecA</i> . Эта система участвует в стабилизации пептидогликана (ПГ) за счет образования пентаглициновых мостиков в структуре ПГ. Участвует в формировании гоморезистентности; сниженная экспрессия <i>fem</i> коррелирует с формированием чувствительности к бета-лактамам у MRSA [38].
<b>PrsA</b>	Шаперон, участвующий в фолдинге ПСБ2а; мутации или уровень экспрессии влияют на чувствительность к бета-лактамам [39, 40].
<b>FmtA</b>	Белок, участвующий в химической модификации тейхоевых кислот за счет присоединения остатков D-аланина; входит в состав стимулона клеточной стенки; делеции опосредуют снижение резистентности MRSA к оксациллину и формирование гетерорезистентности [41].
<b>Stp1/Stk1</b>	Сериновая-треониновая киназная/фосфатазная сигнальная система, регулирующая метаболизм, вирулентность и биосинтез клеточной стенки; делеции и мутации опосредуют устойчивость к оксациллину у MSSA [42].
<b>VraRST</b>	Многокомпонентная регуляторная система, участвующая в биосинтезе клеточной стенки; изменение экспрессии, делеции опосредуют снижение резистентности MRSA к бета-лактамам [43].
<b>ClpXP</b>	Универсальный шаперон, протеаза, участвует в биосинтезе клеточной стенки; мутации или делеции опосредуют увеличение устойчивости у MRSA, а также ассоциированы с устойчивостью MSSA к бета-лактамам [44].
<b>RpoB</b>	Глобальный регулятор; мутации опосредуют высокий уровень устойчивости к оксациллину у MRSA, переход гетерорезистентности в гоморезистентность [36].
<b>AuxAB</b>	Трансмембранные протеины с неустановленной функцией; инактивация генов приводит к снижению устойчивости MRSA к бета-лактамам [45].
<b>RelA</b>	Клеточный ответ на выраженный стресс под воздействием факторов окружающей среды (в частности, аминокислотное голодание) является триггером к изменению метаболизма гуанина и гиперэкспрессии молекул алармонов (гуанозинтетрафосфатов, ppGpp), синтезируемых RelA; изменение уровня экспрессии <i>relA</i> и увеличение концентрации алармонов приводят к увеличению экспрессии <i>mecA</i> , а также формированию гоморезистентности MRSA к оксациллину [35, 46].
<b>SucCD</b>	Изменения центрального метаболизма сукцината (в частности, мутации в генах <i>sucC</i> и <i>sucD</i> цикла Кребса) влияют на снижение устойчивости MRSA к бета-лактамам [47].

(ядерного) генома. Например, переход гетеро- в гоморезистентность может происходить под воздействием стресса при аминокислотном голодании и сопровождается формированием алармонов – гуанозинтетрафосфатов (ppGpp) [35] или появлением мутаций в глобальных регуляторных генах, в частности *groB* [36]. Такой переход из гетеро- в гоморезистентность ассоциирован с увеличением МПК бета-лактамов. В работе Gallagher L. и соавт. [37] было продемонстрировано очень редкое генетическое событие – амплификация участка *SCCmec* в хромосоме *S. aureus*, что приводило к появлению выраженной гоморезистентности.

Некоторые исследователи выдвигают концепцию генетической и фенотипической эволюции MRSA [48]. Генетическая эволюция – это появление *SCCmec* в геноме *S. aureus* посредством горизонтального переноса генов от коагулазонегативных стафилококков (*S. sciuri*, *S. vitulinus* и *S. fleuretti*) [49, 50]. Под фенотипической эволюцией, которая следует сразу после появления в геноме *SCCmec*, подразумевается постепенное увеличение уровня устойчивости MRSA к бета-лактамам через «переходные» фенотипы или pre-MRSA [48]. К числу «переходных» фенотипов можно отнести гетерорезистентные MRSA и OS-MRSA, которые, согласно рассматриваемой концепции, получили *SCCmec*, но его экспрессия осуществляется не эффективно. По сути, фенотипическая эволюция – это процесс селекции гоморезистентных MRSA при воздействии бета-лактамовых антибиотиков.

### Эволюция *mecA* и *SCCmec*

Появление и эволюция MRSA остаются до конца не изученными. В первых работах по изучению происхождения *mecA* выдвигались предположения о возможной рекомбинации генов ПСБ между *E. coli* или *Enterococcus hirae* со стафилококковой бета-лактамазой [48, 51]. Одним из подтверждений этой гипотезы является то, что обнаруженный у *S. aureus* ген *mecC* локализовался в составе *bla*-оперона, такая локализация была выявлена ранее у *S. xylosus* и *Macrococcus caseolyticus* [52, 53]. Другая концепция, которая касается вопросов про-

исхождения генов *mec*, их мобилизации и формирования *SCCmec*, связана с коагулазонегативными стафилококками группы *S. sciuri*, *S. vitulinus* и *S. fleuretti* [49, 50, 54]. Среди этих стафилококков обнаруживаются гомологи гена *mecA* (*mecA1*, *mecA2*) с разным уровнем идентичности нуклеотидных и аминокислотных последовательностей. Всего же у представителей семейства *Staphylococcaceae* описано 7 основных гомологов гена *mecA* (Таблица 2) [55]. Гены-гомологи у *S. sciuri*, *S. vitulinus* и *S. fleuretti* локализованы в хромосоме и не ассоциированы с устойчивостью к бета-лактамам. Предполагается, что в процессе вертикальной эволюции под действием селективного давления антибиотиков, происходило формирование генов *mec* хромосомной локализации от *S. sciuri* (*mecA1*) к *S. vitulinus* (*mecA2*) и затем к *S. fleuretti* (*mecA*). Эволюционное моделирование показало, что первые гомологи гена *mecA* могли появиться в конце XIX в., что говорит об эволюционной «молодости» этого гена [54]. Более того, при изучении древних природных резистомов, *mecA* и его гомологи практически не выявляются. Параллельно с эволюцией *mecA*-гомологов происходило формирование и эволюция *SCCmec*. Изначально был сформирован *mec*-комплекс хромосомной локализации у *S. fleuretti* и *S. vitulinus*. Донором генов *ccr* предположительно являлся *S. sciuri*, у которого обнаруживаются практически все варианты генов *ccr*, описанные у *S. aureus*. Финальная стадия формирования *SCCmec* происходила, по всей видимости, также в геноме *S. sciuri* с последующей передачей *S. aureus* [49].

Первые «архаичные» MRSA характеризовались наличием *SCCmec I* типа и относились к генетическим линиям (сиквенс типам) ST247 и ST250. В работе по изучению генотипических особенностей коллекции ранних изолятов *S. aureus*, включая MRSA, собранных в 1950–1960 гг., используя методы полногеномного секвенирования и молекулярного моделирования, было выявлено, что расчетное время появления MRSA было задолго до появления метициллина в клинической практике – 1946 г. (расчетный интервал: 1938–1952 гг.) [56].

Донором *SCCmec* является также свободноживущая в природных экосистемах бактерия *M. caseolyticus*, которая является резервуаром *mec*-гомологов: *mecC*,

Таблица 2. Гомологи гена *mecA*

Ген	Первичный резервуар	Описан у <i>S. aureus</i>	Локализация	Устойчивость к оксациллину	Степень гомологии с <i>mecA</i> (нт), %
<i>mecA</i>	Группа <i>S. sciuri</i>	Да	SCC-like	Да	99,9
<i>mecA1</i>	<i>S. sciuri</i>	Нет	Хромосома	Нет	80
<i>mecA2</i>	<i>S. vitulinus</i>	Нет	Хромосома	Нет	91–94
<i>mecB</i>	<i>M. caseolyticus</i>	Да	SCC-like	Да	62
<i>mecC</i>	<i>M. caseolyticus</i>	Да	SCC-like, транспозон	Да	69
<i>mecC1</i>	<i>S. xylosus</i>	Нет	SCC-like	Да	70
<i>mecC2</i>	<i>S. saprophyticus</i>	Нет	SCC-like	Да	60
<i>mecD</i>	<i>M. caseolyticus</i>	Нет	SCC-like	Да	61

SCC-like – *SCCmec*-подобный элемент; нт – нуклеотиды.

*mecB* и *mecD*. Стоит отметить, что недавно обнаруженный у *S. aureus* ген *mecB* изначально был описан у *M. caseolyticus* в составе различных мобильных генетических элементов [26, 53]. Нельзя исключить появления в будущем у *S. aureus* другого гомолога – *mecD*, который также встречается у *M. caseolyticus* [57].

### Чувствительность MRSA к бета-лактамам, OS-MRSA

Случаи сохранения чувствительности MRSA к бета-лактамам *in vitro*, в частности к оксациллину, отмечались еще в работах 1980–1990-х гг. [58]. К OS-MRSA относят изоляты, несущие гены *mec*, но проявляющие фенотипическую чувствительность к оксациллину (МПК оксациллина  $\leq 2$  мкг/мл), при этом к цефокситину может детектироваться как устойчивость, так и чувствительность [59]. Высокая вероятность определения ложной чувствительности к бета-лактамам и как следствие назначение неадекватной антибактериальной терапии представляют главную опасность распространения OS-MRSA. В 2018 г. FDA было опубликовано предупреждение об опасности распространения MRSA, проявляющих *in vitro* чувствительность к бета-лактамам [60]. Такое предупреждение было основано на выявлении *mecA*-положительных *S. aureus*, но не детектируемых на распространенных бактериологических анализаторах Vitek 2™, MicroScan WalkAway™, и Phoenix™. Наиболее эффективный способ выявления таких фенотипов – это использование ПЦР на распространенные гены *mecA* или *mecC*. Фенотипы OS-MRSA описываются во всем мире и выделяются при различных стафилококковых инфекциях, частота встречаемости колеблется в диапазоне 1–30% [59]. Как правило, OS-MRSA ассоциированы с гетерорезистентностью и выраженной индуцибельной устойчивостью к бета-лактамам антибиотикам. В связи с этим помимо ПЦР, для корректного выявления таких фенотипов возможно использование подходов, индуцирующих устойчивость к бета-лактамам. К ним можно отнести предварительную инкубацию клеток в среде с цефокситином или другими бета-лактамами перед постановкой чувствительности к антибиотикам; использование 2–4% NaCl в среде, для повышения экспрессии *mecA*; инкубация клеток при субоптимальной температуре 30°C [59]. Факторы, влияющие на формирование фенотипа OS-MRSA, связаны не только с гетерорезистентностью. На сегодняшний день описаны мутации, приводящие к появлению OS-MRSA либо в самом гене *mecA*, либо в генах основного генома, влияющих на его экспрессию, которые обсуждались выше [38, 61].

Еще один механизм описан в работе Liu P. и соавт. [62], где была выявлена прямая корреляция между уровнем экспрессии промоторного репрессора пенициллиназы *blaI* и *mecA*. Как отмечалось ранее, регуляция *mecA* находится под контролем двух систем: *mecI-mecR1* и *bla*-оперона. Так, у некоторых изолятов отмечалось, что при гиперэкспрессии репрессора *blaI* происходило почти полное подавление экспрессии *mecA*, даже

в присутствии антибиотика в среде. Клиническое значение таких механизмов увеличения чувствительности *mecA*-положительных стафилококков к бета-лактамам не известно.

Кроме приведенных выше механизмов «ложной» чувствительности *mec*-положительных стафилококков к бета-лактамам, на сегодняшний день описано явление «истиной» чувствительности MRSA к «старым» бета-лактамам антибиотикам. Так, в работе Ва Х. и соавт. [11] на коллекции *mecC*-положительных изолятов MRSA было продемонстрировано, что они проявляют необычную чувствительность к комбинации пенициллина и клавулановой кислоты. Авторами было выдвинуто предположение, что белок ПСБ2с, аминокислотная последовательность которого только на 63% идентична ПСБ2а, имеет высокую аффинность к такой комбинации антибиотиков. Это исследование получило большое экспериментальное продолжение в работе Harrison E. и соавт. [12], результатами которого стали принципиально новые данные о чувствительности MRSA к бета-лактамам. Во-первых, авторы выяснили, что феномен чувствительности к пенициллину/клавуланату связан не только с геном *mecC* (ПСБ2с), но также широко встречается и среди разных генетических линий *mecA*-положительных MRSA. Во-вторых, механизм такой чувствительности связан с комбинацией двух генетических событий – это наличие аминокислотных замен в ПСБ2а в позициях E246G или M122I и сниженная экспрессия гена *mecA*, обусловленная мутациями в промоторной области в положениях -7 и -33. Аффинность ПСБ2а с аминокислотными заменами в позициях E246G или M122I к комбинации пенициллина/клавуланата очень высокая, при этом клавуланат выступает не как ингибитор бета-лактамазы, а как индуктор чувствительности пенициллина. Интересно отметить, что не было обнаружено никакой корреляции в отношении чувствительности к цефокситину как основному маркеру определения фенотипа MRSA. И, в-третьих, на двух экспериментальных моделях MRSA-инфекции *in vivo* авторами было показано, что использование комбинации пенициллина/клавуланата приводило к эрадикации патогена, и выживаемость животных составляла более 50%.

### Устойчивость MRSA к цефтаролину

Цефтаролин и цефтобипрол являются одними из первых представителей бета-лактамов антибиотиков, проявляющих бактерицидную активность в отношении MRSA. Аффинность молекул цефтаролина к ПСБ2а в сотни раз превосходит таковую других цефалоспоринов [63]. Цефтаролин был одобрен для клинического применения в США в 2010 г. для лечения кожных стафилококковых инфекций, а в 2015 г. разрешен для лечения бактериемий. На сегодняшний день цефтаролин рассматривается как один из альтернативных высокоэффективных препаратов для лечения инфекций, вызванных MRSA [64]. Устойчивость MRSA к цефтаролину регистрируется редко и в основном связана с распространением определенных генетических линий, например

ST228, ST239, ST5 [65]. Определение границ чувствительности и устойчивости для цефтаролина в отношении *S. aureus* является предметом обсуждения с 2017 г. EUCAST рассматривает изоляты с МПК = 2 мкг/мл в качестве промежуточных. Лечение вызванных такими изолятами инфекций (кроме респираторных) возможно при повышенной дозе – 600 мг 3 раза/сут. С 2019 г. EUCAST рассматривает промежуточные штаммы как «чувствительные при повышенных дозах антибиотика». Согласно данным международной программы AWARE, в 2010 г. только 0,6% изолятов в США продемонстрировали сниженную чувствительность к цефтаролину, тогда как в Европе в 2012 г. она составляла 7,8% [66]. По результатам другой международной программы ATLAS, включавшей изоляты из США, Европы, Азии, Океании, собранные в 2012–2016 гг., количество устойчивых изолятов *S. aureus* составляло 0,4%, а количество изолятов с промежуточной чувствительностью (МПК = 2 мкг/мл) – 6,2% [67].

Среди основных механизмов устойчивости к цефтаролину можно выделить два – это мутации в *tesA* (ПСБ2а) и мутации в *pbp4* (ПСБ4) или его промоторе. Альтернативный белок ПСБ2а (*tesA*) имеет несколько аминокислотных доменов – домен, не участвующий во взаимодействии с бета-лактамами (пРВД), и транспептидазный домен (ТД). Мутации, которые формируются в пРВД (наиболее частые – N104K, V117I, N146K, A228V и E239K), не оказывают влияния на чувствительность к цефтаролину или опосредуют промежуточную чувствительность (МПК = 2 мкг/мл) [68, 69]. Мутации в ТД-домене (H351N/Q, L357I, Y446N, E447K, I563T и S649A), напротив, ассоциированы с высоким увеличением МПК цефтаролина (4–64 мкг/мл) [70].

Другой механизм устойчивости к цефтаролину связан с мутациями в ПСБ4. У *S. aureus* описано 4 основных ПСБ, при этом ПСБ1 и ПСБ2 являются критическими

для существования стафилококка (Таблица 3), делеция этих генов вызывает гибель клетки [71, 72]. ПСБ3, помимо транспептидазной реакции, участвует в аутолизе и образовании септы при делении клетки [73]. ПСБ4 у *S. aureus* – это низкомолекулярный белок, значительно отличающийся по аминокислотному составу от остальных ПСБ, участвует в формировании пептидогликана преимущественно при делении клетки в области формирования септы [74].

Устойчивость к бета-лактамам, связанную с мутациями в ПСБ, в частности в ПСБ4, относятся к *tes*-независимым факторам. Молекулы цефтаролина имеют высокую аффинность к четырем ПСБ (ПСБ1 – ПСБ3, ПСБ2а) и низкую аффинность к ПСБ4. Мутации в ПСБ4 способствуют незначительному повышению МПК, а мутации и небольшие делеции в промоторной области, напротив, ассоциированы со значительным увеличением МПК цефтаролина посредством гиперэкспрессии ПСБ4 и увеличению поперечных швов в структуре пептидогликана [74]. Роль ПСБ4 в формировании высокого уровня устойчивости к бета-лактамам, включая цефтаролин, была продемонстрирована во многих экспериментах по селекции устойчивости *in vitro* как у MRSA, так и MSSA [75–77]. Устойчивость к бета-лактамам, опосредованная мутациями в ПСБ4, также была описана и у клинических изолятов, выделенных при различных стафилококковых инфекциях у человека [78, 79].

### Гетерогенная природа устойчивости MSSA к бета-лактамам

#### BORSA и MODSA

В 1980-х гг. впервые были описаны стафилококки, проявляющие низкий уровень устойчивости к метициллину, оксациллину, нафциллину, но не имеющие ПСБ2а, гена *tesA* и элементов SCC*tes*. Такие фенотипы были

Таблица 3. Свойства ПСБ *S. aureus* и аффинность к бета-лактамам

Характеристика	Пенициллиносвязывающие белки <i>S. aureus</i>					
	ПСБ1	ПСБ2	ПСБ3	ПСБ4	ПСБ2а	ПСБ2с
Кодирующий локус*	SACOL_RS06115	SACOL_RS07590	SACOL_RS08205	SACOL_RS03595	SACOL_RS00185	SARIGA25_00260
Локализация	Хромосома	Хромосома	Хромосома	Хромосома	SCC <i>tes</i>	SCC <i>tes</i>
Эссенциальный белок	Да	Да	Нет	Нет	Нет	Нет
Молекулярная масса, кДа	85	81	75	45	76	75
Функция 1	ТП	ТП + ТГ	ТП	ТП	ТП	ТП
Функция 2	Синтез септы	Нет	Аутолиз	Репарация пептидогликана	Нет	Нет
Аффинность:						
бета-лактамы	Да	Да	Да	Слабая	Нет	Нет
цефтаролин	Да	Да	Да	Слабая	Да	Да

ТП – транспептидазная реакция (поперечные шивки ПП); ТГ – трансгликозилазная реакция (формирование продольного полимера ПП).

\* Название локуса в референс-геноме *S. aureus* COL (NC\_002951.2) в NCBI GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/>). Для белка ПСБ2с указан локус в геноме *S. aureus* LGA251 (FR821779.1).



названы BORSA (borderline oxacillin-resistant *S. aureus*). Фенотипы BORSA характеризуются повышением МПК к пенициллиназостабильным бета-лактамам (метициллин, оксациллин, цефазолин) в пределах 2–16 мкг/мл при отсутствии генов *tes*. BORSA не могут быть классифицированы как MSSA или MRSA [80]. Один из первых описанных механизмов, ассоциированных с BORSA, – это гиперпродукция пенициллиназы PC1, приводящая к быстрому гидролизу пенициллина и медленному гидролизу пенициллиназостабильных антибиотиков (оксациллина) [81]. Такой тип BORSA можно дифференцировать от MRSA, если добавить ингибитор (сульбактам или клавуланат), в этом случае у исследуемого изолята будет наблюдаться устойчивость к оксациллину без ингибитора, но чувствительность при добавлении ингибитора. Другой вариант BORSA – это modified *S. aureus* (MODSA), которые впервые были описаны в конце 1980-х гг. [82]. Фенотипы MODSA характеризуются устойчивостью к пенициллиназостабильным бета-лактамам вне зависимости от присутствия ингибиторов. Такая устойчивость связана с мутациями в разных ПСБ, и, в частности, в ПСБ4 или его промоторе. Чаще всего описываются BORSA с гиперпродукцией пенициллиназы, но встречаются также и BORSA с различными аллельными вариантами *blaZ*, проявляющие повышенную гидролитическую активность в отношении бета-лактамов антибиотиков [18, 80].

По данным различных наблюдений, частота выявления BORSA варьирует в пределах 1–10% [80]. Однако в некоторых работах отмечается необычно высокая частота выявления (до 50%), по всей видимости, связанная с клональным распространением в конкретном стационаре [83]. Чаще всего BORSA выявляются у носителей, при внебольничных инфекциях, а также у животных. BORSA могут быть обнаружены при различных формах стафилококковых инфекций, включая эндокардит и сепсис, но наиболее часто описываются при заболеваниях кожи [84]. Использование высоких доз бета-лактамов для лечения инфекций, вызванных BORSA, при МПК оксациллина 2–16 мкг/мл нецелесообразно и приводит к неэффективной антибактериальной терапии, что подтверждается клиническими наблюдениями [85].

Главная опасность распространения BORSA – это возможная неправильная идентификация профиля чувствительности к бета-лактамам антибиотикам, что может привести к неадекватному назначению соответствующих антибиотиков. Эффективность доступных методов лабораторного выявления BORSA различается. Цефокситин в отношении выявления фенотипов BORSA характеризуется низкой чувствительностью и специфичностью. Применение селективных хромогенных сред позволяет с высокой чувствительностью выявлять фенотипы BORSA, однако специфичность при дифференциации от MRSA может составлять всего 50% [86]. Наиболее приемлемыми подходами для дифференциации фенотипов MRSA, MSSA, OS-MRSA и BORSA будут использование ПЦР или латекс-агглютинации для детекции генов *tes* или ПСБ2а в комбинации с одновременным определением чувствительности к цефокситину и оксациллину.

#### Роль высоких внутриклеточных концентраций ц-диАМФ в формировании устойчивости

Реакция бактериальных клеток на изменение условий окружающей среды опосредуется вторичными сигнальными системами. В качестве передатчика сигнала выступают внутриклеточные сигнальные молекулы (мессенджеры), как правило, производные нуклеотидов. Одним из таких передатчиков выступают молекулы циклического диаденозинмонофосфата (ц-диАМФ), обеспечивающие контроль многих биологических процессов в клетке бактерий и являющиеся эссенциальными компонентами у *Firmicutes* [87]. В клетках бактерий поддерживается определенная концентрация ц-диАМФ, изменения которой связаны с биологическим ответом на разные условия окружающей среды. У *S. aureus* поддержание гомеостаза ц-диАМФ осуществляет система *dacA-gdpP*. Синтез ц-диАМФ осуществляет диаденилатциклаза (ген *dacA*), разрушение – специфическая фосфодиэстераза (ген *gdpP*). На сегодняшний день у *S. aureus* хорошо изучена роль ц-диАМФ в обеспечении калиевого баланса и поступления в клетку осмопротекторов (бетаина, карнитина, аминокислот), однако для ц-диАМФ, скорее всего, обнаружены далеко не все рецепторы [88]. Мутации и делеции в гене *gdpP* способствуют внутриклеточному накоплению молекул ц-диАМФ, что приводит к изменению работы многих систем, а также формированию устойчивости к препаратам, действующим на клеточную стенку, включая бета-лактамы антибиотиков [89]. Устойчивость, связанная с внутриклеточным накоплением ц-диАМФ, носит универсальный характер, не зависящий от других механизмов – мутаций в ПСБ, образования пенициллиназы или наличия SCC*tes*. Такой механизм резистентности может быть обнаружен как у MRSA [90], так и MSSA [78]. Более того, мутации в гене *gdpP* ассоциированы с устойчивостью к цефтаролину и цефтобипролу как у MSSA [91], так и у MRSA [75, 92]. В ретроспективных работах на коллекциях клинических *tes*-отрицательных изолятов *S. aureus*, но проявляющих устойчивость к оксациллину и/или цефокситину, мутации в гене *gdpP* регистрируются до 90% случаев [93]. В исследовании селекции устойчивости MSSA *in vitro* к цефтаролину, оксациллину и меропенему было показано, что селекция на любом из трех антибиотиков приводила к перекрестной устойчивости ко всем бета-лактамам за счет формирования мутаций в гене *gdpP* и/или других ПСБ [76]. Напротив, мутации в эссенциальном белке DacA приводят к снижению уровня ц-диАМФ и, как следствие, восстановлению чувствительности к препаратам, действующим на клеточную стенку [94]. Без вторичных мессенджеров ц-диАМФ клетка погибает. По этой причине DacA может рассматриваться как мишень для создания новых антибактериальных препаратов [95].

Пока остается неизвестным, как высокие внутриклеточные концентрации ц-диАМФ связаны с формированием устойчивости к бета-лактамам у *S. aureus*. По всей видимости, происходит изменение биосинтеза клеточной стенки на фоне изменения тургора, что влечет за собой появления устойчивости. До конца не изучено также и взаимодействие ц-диАМФ с ПСБ.

**Таблица 4.** Чувствительность и устойчивость разных фенотипов *S. aureus* к бета-лактамам

Бета-лактамы	MSSA ( <i>blaZ</i> -)	MSSA ( <i>blaZ</i> +) )	MRSA	OS-MRSA	BORSA		Мутации в ПСБ4 и/или <i>gdpP</i>	
					Гипер- <i>blaZ</i>	MODSA	MSSA	MRSA
Цефокситин	S	S	R	S/R	S	S/R	S/R	S/R
Пенициллин	S	R	R	R	R	R	R	R
Бета-лактамы + ингибитор	S	S	R	R	S	R	R	R
Оксациллин	S	S	R	S	R	R	R	R
Цефазолин	S	S/R	R	R	R	R	R	R
Цефтаролин	S	S	S	S	S	R	R	R

S – чувствительность; R – устойчивость; S/R – возможна как чувствительность, так и устойчивость; Гипер-*blaZ* – гиперэкспрессия пенициллиназы.

В целом стоит отметить, что природа устойчивости к бета-лактамам у MSSA гетерогенна. В формировании устойчивости, кроме мутаций в ПСБ4 (особенно в ПСБ4) и гене *gdpP*, принимают участие и другие мутации [96]. К ним можно отнести мутации в шаперонах ClpXP, в регуляторных системах биосинтеза клеточной стенки *VraSR*/*GraSR* и мутации в других хромосомных генах, регулирующих экспрессию устойчивости у MRSA (Таблица 1). Устойчивость к бета-лактамам может формироваться под влиянием субингибирующих концентраций дезинфектантов. Так, в работе Speck S. и соавт. [97] после воздействия гипохлорита натрия на полностью чувствительный к бета-лактамам референс-штамм ATCC 29213 был получен фенотип BORSA с мутациями в гене *gdpP*. В Таблице 4 суммированы данные о фенотипах с различными механизмами резистентности и спектр перекрестной устойчивости в отношении разных бета-лактамов.

## Заключение

Два прошедших десятилетия изучения резистентности *S. aureus* к бета-лактамам антибиотикам показали, что этот механизм достаточно сложный и не ограничивается только синтезом пенициллиназы или наличием ПСБ2а. В последнее время все большую значимость приобретают механизмы, связанные с мутациями

в основном (ядерном) геноме, затрагивающие как центральный метаболизм, так и биосинтез клеточной стенки *S. aureus*. Пенициллиназостабильные бета-лактамы и цефазолин являются препаратами выбора для лечения инфекций, вызванных MSSA, в том числе сепсиса и бактериемии. В последнее время частота выявления MSSA по сравнению с MRSA увеличивается. В связи с этим изучение и выявление механизмов устойчивости, не связанных с наличием генов *tes*, является важной научно-практической задачей. Немаловажным также является правильная идентификация фенотипов резистентности. Наиболее точным подходом будет оценка чувствительности одновременно к нескольким бета-лактамам с определением наличия генов *tes*. Феномен чувствительности MRSA к бета-лактамам позволяет по-другому взглянуть на «старые» антибиотики. Возможность использования «старых» антибиотиков для лечения инфекций – одно из динамично развивающихся направлений в области антимикробной химиотерапии. Наблюдения и детальная расшифровка механизмов резистентности у бактерий способствует более глубокому пониманию действия антимикробных препаратов и возможности максимального эффективного использования их в клинической практике.

*Исследование поддержано грантом Российского научного фонда № 18-75-10114-П.*

## Литература

- Lakhundi S., Zhang K. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: molecular characterization, evolution, and epidemiology. Clin Microbiol Rev. 2018;31(4). DOI: 10.1128/CMR.00020-18
- Kirby W.M. Extraction of a Highly potent penicillin inactivator from penicillin resistant *Staphylococci*. Science. 1944;99(2579):452-453. DOI: 10.1126/science.99.2579.452
- Jevons M.P. "Celbenin" – resistant *Staphylococci*. Br Med J. 1961;1(5219)(14):124-125. PMID: 13697147
- Acar J.F., Courvalin P., Chabbert Y.A. Methicillin-resistant staphylococemia: bacteriological failure of treatment with cephalosporins. Antimicrob Agents Chemother (Bethesda). 1970;10:280-285. PMID: 4939735
- Kuhl S.A., Pattee P.A., Baldwin J.N. Chromosomal map location of the methicillin resistance determinant in *Staphylococcus aureus*. J Bacteriol. 1978;135(2):460-465. DOI: 10.1128/jb.135.2.460-465.1978
- Brown D.F.J., Reynolds P.E. Intrinsic resistance to  $\beta$ -lactam antibiotics in *Staphylococcus aureus*. FEBS

- Letters. 1980;122(2):275-278. DOI: 10.1016/0014-5793(80)80455-8
7. Fleming A. On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. Br J Exp Pathol. 1929;10(3):226-236.
  8. Abraham E.P., Chain E. An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. 1940. Rev Infect Dis. 1988;10(4):677-678. PMID: 3055168
  9. Ambler R.P. The structure of beta-lactamases. Philosophical transactions of the Royal Society of London Series B, Biological sciences. 1980;289(1036):321-331. DOI: 10.1098/rstb.1980.0049
  10. Bush K., Bradford P.A. beta-Lactams and beta-Lactamase inhibitors: an overview. Cold Spring Harb Perspect Med. 2016; 6(8):a025247. DOI: 10.1101/cshperspect.a025247
  11. Ba X., Harrison E.M., Lovering A.L., Gleadall N., Zadoks R., Parkhill J., et al. Old drugs to treat resistant bugs: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates with *mecC* are susceptible to a combination of penicillin and clavulanic acid. Antimicrob Agents Chemother. 2015;59(12):7396-7404. DOI: 10.1128/AAC.01469-15
  12. Harrison E.M., Ba X., Coll F., Blane B., Restif O., Carvell H., et al. Genomic identification of cryptic susceptibility to penicillins and beta-lactamase inhibitors in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Nat Microbiol. 2019;4(10):1680-1691. DOI: 10.1038/s41564-019-0471-0
  13. Voladri R.K., Kernodle D.S. Characterization of a chromosomal gene encoding type B beta-lactamase in phage group II isolates of *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother. 1998;42(12):3163-3168. DOI: 10.1128/AAC.42.12.3163
  14. Voladri R.K., Tummuru M.K., Kernodle D.S. Structure-function relationships among wild-type variants of *Staphylococcus aureus* beta-lactamase: importance of amino acids 128 and 216. J Bacteriol. 1996;178(24):7248-7253. DOI: 10.1128/jb.178.24.7248-7253.1996
  15. Lenhard J.R., Bulman Z.P. Inoculum effect of beta-lactam antibiotics. J Antimicrob Chemother. 2019;74(10):2825-2843. DOI: 10.1093/jac/dkz226
  16. Song K.H., Jung S.I., Lee S., Park S., Kiem S.M., Lee S.H., et al. Characteristics of cefazolin inoculum effect-positive methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* infection in a multicentre bacteraemia cohort. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2017;36(2):285-294. DOI: 10.1007/s10096-016-2799-1
  17. Chong Y.P., Park S.J., Kim E.S., Bang K.M., Kim M.N., Kim S.H., et al. Prevalence of *blaZ* gene types and the cefazolin inoculum effect among methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* blood isolates and their association with multilocus sequence types and clinical outcome. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2015;34(2):349-355. DOI: 10.1007/s10096-014-2241-5
  18. Carvajal L.P., Rincon S., Echeverri A.M., Porras J., Rios R., Ordonez K.M., et al. Novel insights into the classification of staphylococcal beta-lactamases in relation to the cefazolin inoculum effect. Antimicrob Agents Chemother. 2020;64(5). DOI: 10.1128/AAC.02511-19
  19. Kaase M., Lenga S., Friedrich S., Szabados F., Sakinc T., Kleine B., et al. Comparison of phenotypic methods for penicillinase detection in *Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Infect. 2008;14(6):614-616. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2008.01997.x
  20. El Feghaly R.E., Stamm J.E., Fritz S.A., Burnham C.A. Presence of the *blaZ* beta-lactamase gene in isolates of *Staphylococcus aureus* that appear penicillin susceptible by conventional phenotypic methods. Diagn Microbiol Infect Dis. 2012;74(4):388-393. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2012.07.013
  21. Mama O.M., Aspiroz C., Lozano C., Ruiz-Ripa L., Azcona J.M., Seral C., et al. Penicillin susceptibility among invasive MSSA infections: a multicentre study in 16 Spanish hospitals. J Antimicrob Chemother. 2021;76(10):2519-2527. DOI: 10.1093/jac/dkab208
  22. Henderson A., Harris P., Hartel G., Paterson D., Turnidge J., Davis J.S., et al. Benzylpenicillin versus flucloxacillin for penicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bloodstream infections from a large retrospective cohort study. Int J Antimicrob Agents. 2019;54(4):491-495. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2019.05.020
  23. Lee A.S., de Lencastre H., Garau J., Kluytmans J., Malhotra-Kumar S., Peschel A., et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Nat Rev Dis Primers. 2018;4:18033. DOI: 10.1038/nrdp.2018.33
  24. Itani K.M., Merchant S., Lin S.J., Akhras K., Alandete J.C., Hatoum H.T. Outcomes and management costs in patients hospitalized for skin and skin-structure infections. Am J Infect Control. 2011;39(1):42-49. DOI: 10.1016/j.ajic.2010.03.018
  25. Nelson R.E., Samore M.H., Jones M., Greene T., Stevens V.W., Liu C.F., et al. Reducing time-dependent bias in estimates of the attributable cost of health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections: a comparison of three estimation strategies. Med Care. 2015;53(9):827-834. DOI: 10.1097/MLR.0000000000000403
  26. Becker K., van Alen S., Idelevich E.A., Schleimer N., Seggewiss J., Mellmann A., et al. Plasmid-encoded transferable *mecB*-mediated methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. Emerg Infect Dis. 2018;24(2):242-248. DOI: 10.3201/eid2402.171074
  27. Garcia-Alvarez L., Holden M.T., Lindsay H., Webb C.R., Brown D.F., Curran M.D., et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. Lancet Infect Dis. 2011;11(8):595-603. DOI: 10.1016/S1473-3099(11)70126-8
  28. Urushibara N., Aung M.S., Kawaguchiya M., Kobayashi N. Novel staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) type XIV (5A) and a truncated SCC*mec* element in SCC composite islands carrying *speG* in ST5 MRSA in Japan. J Antimicrob Chemother. 2020;75(1):46-50. DOI: 10.1093/jac/dkz406
  29. Maslanova I., Doskar J., Varga M., Kuntova L., Muzik J., Maluskova D., et al. Bacteriophages of *Staphylococcus*

- aureus* efficiently package various bacterial genes and mobile genetic elements including SCCmec with different frequencies. *Environ Microbiol Rep.* 2013;5(1):66-73. DOI: 10.1111/j.1758-2229.2012.00378.x
30. Ray M.D., Boundy S., Archer G.L. Transfer of the methicillin resistance genomic island among staphylococci by conjugation. *Mol Microbiol.* 2016;100(4):675-685. DOI: 10.1111/mmi.13340
  31. Katayama Y., Zhang H.Z., Hong D., Chambers H.F. Jumping the barrier to beta-lactam resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol.* 2003;185(18):5465-5472. DOI: 10.1128/JB.185.18.5465-5472.2003
  32. Jolley K.A., Bray J.E., Maiden M.C.J. Open-access bacterial population genomics: BIGSdb software, the PubMLST.org website and their applications. *Wellcome Open Res.* 2018;3:124. DOI: 10.12688/wellcomeopenres.14826.1
  33. Sutherland R., Rolinson G.N. Characteristics of methicillin-resistant staphylococci. *J Bacteriol.* 1964;87:887-899. DOI: 10.1128/jb.87.4.887-899.1964
  34. Tomasz A., Nachman S., Leaf H. Stable classes of phenotypic expression in methicillin-resistant clinical isolates of staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother.* 1991;35(1):124-129. DOI: 10.1128/AAC.35.1.124
  35. Pardos de la Gandara M., Borges V., Chung M., Milheirico C., Gomes J.P., de Lencastre H., et al. Genetic Determinants of high-level oxacillin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2018;62(6). DOI: 10.1128/AAC.00206-18
  36. Aiba Y., Katayama Y., Hishinuma T., Murakami-Kuroda H., Cui L., Hiramatsu K. Mutation of RNA polymerase beta-subunit gene promotes heterogeneous-to-homogeneous conversion of beta-lactam resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(10):4861-4871. DOI: 10.1128/AAC.00720-13
  37. Gallagher L.A., Coughlan S., Black N.S., Lalor P., Waters E.M., Wee B., et al. Tandem amplification of the staphylococcal cassette chromosome mec element can drive high-level methicillin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61(9). DOI: 10.1128/AAC.00869-17
  38. Giannouli S., Labrou M., Kyritsis A., Ikonomidis A., Pournaras S., Stathopoulos C., et al. Detection of mutations in the FemXAB protein family in oxacillin-susceptible mecA-positive *Staphylococcus aureus* clinical isolates. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65(4):626-633. DOI: 10.1093/jac/dkq039
  39. Jouselin A., Manzano C., Biette A., Reed P., Pinho M.G., Rosato A.E., et al. The *Staphylococcus aureus* chaperone PrsA is a new auxiliary factor of oxacillin resistance affecting penicillin-binding protein 2A. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;60(3):1656-1666. DOI: 10.1128/AAC.02333-15
  40. Jouselin A., Renzoni A., Andrey D.O., Monod A., Lew D.P., Kelley W.L. The posttranslocational chaperone lipoprotein PrsA is involved in both glycopeptide and oxacillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(7):3629-3640. DOI: 10.1128/AAC.06264-11
  41. Rahman M.M., Hunter H.N., Prova S., Verma V., Qamar A., Golemi-Kotra D. The *Staphylococcus aureus* methicillin resistance factor FmtA is a d-Amino esterase that acts on teichoic acids. *mBio.* 2016;7(1):e02070-02015. DOI: 10.1128/mBio.02070-15
  42. Chatterjee A., Poon R., Chatterjee S.S. Stp1 loss of function promotes beta-Lactam resistance in *Staphylococcus aureus* that is independent of classical genes. *Antimicrob Agents Chemother.* 2020;64(6). DOI: 10.1128/AAC.02222-19
  43. Boyle-Vavra S., Yin S., Jo D.S., Montgomery C.P., Daum R.S. VraT/YvqF is required for methicillin resistance and activation of the VraSR regulon in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(1):83-95. DOI: 10.1128/AAC.01651-12
  44. Baek K.T., Grundling A., Mogensen R.G., Thogersen L., Petersen A., Paulander W., et al. beta-Lactam resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 is increased by inactivation of the ClpXP protease. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(8):4593-4603. DOI: 10.1128/AAC.02802-14
  45. Mikkelsen K., Sirisarn W., Alharbi O., Alharbi M., Liu H., Nohr-Meldgaard K., et al. The novel membrane-associated auxiliary factors AuxA and AuxB modulate beta-lactam resistance in MRSA by stabilizing lipoteichoic acids. *Int J Antimicrob Agents.* 2021;57(3):106283. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2021.106283
  46. Dordel J., Kim C., Chung M., Pardos de la Gandara M., Holden M.T., Parkhill J., et al. Novel determinants of antibiotic resistance: identification of mutated loci in highly methicillin-resistant subpopulations of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *mBio.* 2014;5(2):e01000. DOI: 10.1128/mBio.01000-13
  47. Campbell C., Fingleton C., Zeden M.S., Bueno E., Gallagher L.A., Shinde D., et al. Accumulation of succinyl coenzyme a perturbs the methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) succinylome and is associated with increased susceptibility to beta-lactam antibiotics. *mBio.* 2021;12(3):e0053021. DOI: 10.1128/mBio.00530-21
  48. Miragaia M. Factors contributing to the evolution of mecA-mediated beta-lactam resistance in staphylococci: update and new insights from whole genome sequencing (WGS). *Front Microbiol.* 2018;9:2723. DOI: 10.3389/fmicb.2018.02723
  49. Rolo J., Worning P., Nielsen J.B., Bowden R., Bouchami O., Damborg P., et al. Evolutionary origin of the staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec). *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61(6). DOI: 10.1128/AAC.02302-16
  50. Tsubakishita S., Kuwahara-Arai K., Sasaki T., Hiramatsu K. Origin and molecular evolution of the determinant of methicillin resistance in staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(10):4352-4359. DOI: 10.1128/AAC.00356-10
  51. Archer G.L., Niemeyer D.M. Origin and evolution of DNA associated with resistance to methicillin in staphylococci. *Trends Microbiol.* 1994;2(10):343-347. DOI: 10.1016/0966-842x(94)90608-4
  52. Harrison E.M., Paterson G.K., Holden M.T., Morgan F.J., Larsen A.R., Petersen A., et al. A *Staphylococcus xylosum*

- isolate with a new mecC allotype. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(3):1524-1528. DOI: 10.1128/AAC.01882-12
53. Tsubakishita S., Kuwahara-Arai K., Baba T., Hiramatsu K. Staphylococcal cassette chromosome mec-like element in *Macrococcus caseolyticus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(4):1469-1475. DOI: 10.1128/AAC.00575-09
54. Rolo J., Worning P., Boye Nielsen J., Sobral R., Bowden R., Bouchami O., et al. Evidence for the evolutionary steps leading to mecA-mediated beta-lactam resistance in staphylococci. *PLoS genetics.* 2017;13(4):e1006674. DOI: 10.1371/journal.pgen.1006674
55. Becker K., Ballhausen B., Kock R., Kriegeskorte A. Methicillin resistance in *Staphylococcus* isolates: the "mec alphabet" with specific consideration of mecC, a mec homolog associated with zoonotic *S. aureus* lineages. *Int J Med Microbiol.* 2014;304(7):794-804. DOI: 10.1016/j.ijmm.2014.06.007
56. Harkins C.P., Pichon B., Doumith M., Parkhill J., Westh H., Tomasz A., et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* emerged long before the introduction of methicillin into clinical practice. *Genome Biol.* 2017;18(1):130. DOI: 10.1186/s13059-017-1252-9
57. Schwendener S., Cotting K., Perreten V. Novel methicillin resistance gene mecD in clinical *Macrococcus caseolyticus* strains from bovine and canine sources. *Sci Rep.* 2017;7:43797. DOI: 10.1038/srep43797
58. Bignardi G.E., Woodford N., Chapman A., Johnson A.P., Speller D.C. Detection of the mec-A gene and phenotypic detection of resistance in *Staphylococcus aureus* isolates with borderline or low-level methicillin resistance. *J Antimicrob Chemother.* 1996;37(1):53-63. DOI: 10.1093/jac/37.1.53
59. Tenover F.C., Tickler I.A. Is that *Staphylococcus aureus* isolate really methicillin susceptible? *Clin Microbiol Newsl.* 2015;37(10):79-84. DOI: 10.1016/j.clinmicnews.2015.04.004
60. Gargis A.S., Yoo B.B., Lonsway D.R., Anderson K., Campbell D., Ewing T.O., et al. Difficult-to-detect *Staphylococcus aureus*: mecA-positive isolates associated with oxacillin and cefoxitin false-susceptible results. *J Clin Microbiol.* 2020;58(4). DOI: 10.1128/JCM.02038-19
61. Goering R.V., Swartzendruber E.A., Obradovich A.E., Tickler I.A., Tenover F.C. Emergence of oxacillin resistance in stealth methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* due to mecA sequence instability. *Antimicrob Agents Chemother.* 2019;63(8). DOI: 10.1128/AAC.00558-19
62. Liu P., Xue H., Wu Z., Ma J., Zhao X. Effect of bla regulators on the susceptible phenotype and phenotypic conversion for oxacillin-susceptible mecA-positive staphylococcal isolates. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71(8):2105-2112. DOI: 10.1093/jac/dkw123
63. Biek D., Critchley I.A., Riccobene T.A., Thye D.A. Ceftaroline fosamil: a novel broad-spectrum cephalosporin with expanded anti-Gram-positive activity. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65(Suppl 4):iv9-16. DOI: 10.1093/jac/dkq251
64. Cosimi R.A., Beik N., Kubiak D.W., Johnson J.A. Ceftaroline for severe methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections: a systematic review. *Open Forum Infect Dis.* 2017;4(2):ofx084. DOI: 10.1093/ofid/ofx084
65. Lee H., Yoon E.J., Kim D., Kim J.W., Lee K.J., Kim H.S., et al. Ceftaroline resistance by clone-specific polymorphism in penicillin-binding protein 2a of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2018;62(9). DOI: 10.1128/AAC.00485-18
66. Farrell D.J., Castanheira M., Mendes R.E., Sader H.S., Jones R.N. *In vitro* activity of ceftaroline against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae*: a review of published studies and the AWARE Surveillance Program (2008-2010). *Clin Infect Dis.* 2012;55(Suppl 3):S206-214. DOI: 10.1093/cid/cis563
67. Zhang H., Xu Y., Jia P., Zhu Y., Zhang G., Zhang J., et al. Global trends of antimicrobial susceptibility to ceftaroline and ceftazidime-avibactam: a surveillance study from the ATLAS program (2012-2016). *Antimicrob Resist Infect Control.* 2020;9(1):166. DOI: 10.1186/s13756-020-00829-z
68. Watkins R.R., Holubar M., David M.Z. Antimicrobial resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to newer antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother.* 2019;63(12):e01216-19. DOI: 10.1128/AAC.01216-19
69. Gostev V., Kalinogorskaya O., Kruglov A., Lobzin Y., Sidorenko S. Characterisation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to ceftaroline collected in Russia during 2010-2014. *J Glob Antimicrob Resist.* 2018;12:21-23. DOI: 10.1016/j.jgar.2017.11.013
70. Lahiri S.D., Alm R.A. Potential of *Staphylococcus aureus* isolates carrying different PBP2a alleles to develop resistance to ceftaroline. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71(1):34-40. DOI: 10.1093/jac/dkv329
71. Pereira S.F., Henriques A.O., Pinho M.G., de Lencastre H., Tomasz A. Evidence for a dual role of PBP1 in the cell division and cell separation of *Staphylococcus aureus*. *Mol Microbiol.* 2009;72(4):895-904. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2009.06687.x
72. Leski T.A., Tomasz A. Role of penicillin-binding protein 2 (PBP2) in the antibiotic susceptibility and cell wall cross-linking of *Staphylococcus aureus*: evidence for the cooperative functioning of PBP2, PBP4, and PBP2A. *J Bacteriol.* 2005;187(5):1815-1824. DOI: 10.1128/JB.187.5.1815-1824.2005
73. Pinho M.G., de Lencastre H., Tomasz A. Cloning, characterization, and inactivation of the gene pbpC, encoding penicillin-binding protein 3 of *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol.* 2000;182(4):1074-1079. DOI: 10.1128/JB.182.4.1074-1079.2000
74. da Costa T.M., de Oliveira C.R., Chambers H.F., Chatterjee S.S. PBP4: A new perspective on *Staphylococcus aureus* beta-lactam resistance. *Microorganisms.* 2018;6(3). DOI: 10.3390/microorganisms6030057
75. Gostev V., Sopova J., Kalinogorskaya O., Tsvetkova I., Lobzin Y., Klotchenko S., et al. *In vitro* ceftaroline resistance selection of methicillin-resistant *Staphylococcus*

- aureus* involves different genetic pathways. *Microb Drug Resist.* 2019;25(10):1401-1409. DOI: 10.1089/mdr.2019.0130
76. Gostev V., Kalinogorskaya O., Ivanova K., Kalisnikova E., Lazareva I., Starkova P., et al. *In vitro* selection of high-level beta-lactam resistance in methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*. *Antibiotics.* 2021;10(6). DOI: 10.3390/antibiotics10060637
  77. Basuino L., Jousselin A., Alexander J.A.N., Strynadka N.C.J., Pinho M.G., Chambers H.F., et al. PBP4 activity and its overexpression are necessary for PBP4-mediated high-level beta-lactam resistance. *J Antimicrob Chemother.* 2018;73(5):1177-1180. DOI: 10.1093/jac/dkx531
  78. Argudin M.A., Dodemont M., Taguemont M., Roisin S., de Mendonca R., Deplano A., et al. *In vitro* activity of ceftaroline against clinical *Staphylococcus aureus* isolates collected during a national survey conducted in Belgian hospitals. *J Antimicrob Chemother.* 2017;72(1):56-59. DOI: 10.1093/jac/dkw380
  79. Argudin M.A., Roisin S., Nienhaus L., Dodemont M., de Mendonca R., Nonhoff C., et al. Genetic diversity among *Staphylococcus aureus* isolates showing oxacillin and/or ceftaxime resistance not linked to the presence of *mec* genes. *Antimicrob Agents Chemother.* 2018;62(7). DOI: 10.1128/AAC.00091-18
  80. Hryniewicz M.M., Garbacz K. Borderline oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* (BORSA) – a more common problem than expected? *J Med Microbiol.* 2017;66(10):1367-1373. DOI: 10.1099/jmm.0.000585
  81. McDougal L.K., Thornsberry C. The role of beta-lactamase in staphylococcal resistance to penicillinase-resistant penicillins and cephalosporins. *J Clin Microbiol.* 1986;23(5):832-839. DOI: 10.1128/jcm.23.5.832-839.1986
  82. Jorgensen J.H. Mechanisms of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* and methods for laboratory detection. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1991;12(1):14-19. DOI: 10.1086/646233
  83. Leahy T.R., Yau Y.C., Atenafu E., Corey M., Ratjen F., Waters V. Epidemiology of borderline oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pediatric cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol.* 2011;46(5):489-496. DOI: 10.1002/ppul.21383
  84. Balslev U., Bremmelgaard A., Svejgaard E., Havstrem J., Westh H. An outbreak of borderline oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* (BORSA) in a dermatological unit. *Microb Drug Resist.* 2005;11(1):78-81. DOI: 10.1089/mdr.2005.11.78
  85. Skinner S., Murray M., Walus T., Karlowicz J.A. Failure of cloxacillin in treatment of a patient with borderline oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* endocarditis. *J Clin Microbiol.* 2009;47(3):859-861. DOI: 10.1128/JCM.00571-08
  86. Brennan G.I., Herra C., Coleman D.C., O'Connell B., Shore A.C. Evaluation of commercial chromogenic media for the detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Hosp Infect.* 2016;92(3):287-292. DOI: 10.1016/j.jhin.2015.10.019
  87. Yin W., Cai X., Ma H., Zhu L., Zhang Y., Chou S.H., et al. A decade of research on the second messenger c-di-AMP. *FEMS Microbiol Rev.* 2020;44(6):701-724. DOI: 10.1093/femsre/fuaa019
  88. Corrigan R.M., Campeotto I., Jeganathan T., Roelofs K.G., Lee V.T., Grundling A. Systematic identification of conserved bacterial c-di-AMP receptor proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110(22):9084-9089. DOI: 10.1073/pnas.1300595110
  89. Corrigan R.M., Abbott J.C., Burhenne H., Kaever V., Grundling A. c-di-AMP is a new second messenger in *Staphylococcus aureus* with a role in controlling cell size and envelope stress. *PLoS Pathog.* 2011;7(9):e1002217. DOI: 10.1371/journal.ppat.1002217
  90. Ba X., Kalmar L., Hadjirin N.F., Kerschner H., Apfalter P., Morgan F.J., et al. Truncation of GdpP mediates beta-lactam resistance in clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother.* 2019;74(5):1182-1191. DOI: 10.1093/jac/dkz013
  91. Banerjee R., Gretes M., Harlem C., Basuino L., Chambers H.F. A *mecA*-negative strain of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with high-level beta-lactam resistance contains mutations in three genes. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(11):4900-4902. DOI: 10.1128/AAC.00594-10
  92. Greninger A.L., Chatterjee S.S., Chan L.C., Hamilton S.M., Chambers H.F., Chiu C.Y. Whole-genome sequencing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* resistant to fifth-generation cephalosporins reveals potential non-*mecA* mechanisms of resistance. *PLoS One.* 2016;11(2):e0149541. DOI: 10.1371/journal.pone.0149541
  93. Sommer A., Fuchs S., Layer F., Schaudinn C., Weber R.E., Richard H., et al. Mutations in the *gdpP* gene are a clinically relevant mechanism for beta-lactam resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* lacking *mec* determinants. *Microb Genom.* 2021;7(9). DOI: 10.1099/mgen.0.000623
  94. Dengler V., McCallum N., Kiefer P., Christen P., Patrignani A., Vorholt J.A., et al. Mutation in the C-di-AMP cyclase *dacA* affects fitness and resistance of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *PLoS One.* 2013;8(8):e73512. DOI: 10.1371/journal.pone.0073512
  95. Commichau F.M., Heidemann J.L., Ficner R., Stulke J. Making and breaking of an essential poison: the cyclases and phosphodiesterases that produce and degrade the essential second messenger cyclic di-AMP in bacteria. *J Bacteriol.* 2019;201(1). DOI: 10.1128/JB.00462-18
  96. Giulieri S.G., Guerillot R., Kwong J.C., Monk I.R., Hayes A.S., Daniel D., et al. Comprehensive genomic investigation of adaptive mutations driving the low-level oxacillin resistance phenotype in *Staphylococcus aureus*. *mBio.* 2020;11(6). DOI: 10.1128/mBio.02882-20
  97. Speck S., Wenke C., Fessler A.T., Kacza J., Geber F., Scholtzek A.D., et al. Borderline resistance to oxacillin in *Staphylococcus aureus* after treatment with sub-lethal sodium hypochlorite concentrations. *Heliyon.* 2020;6(6):e04070. DOI: 10.1016/j.heliyon.2020.e04070