



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.iaacmac.ru

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

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

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

Электронная почта:
info@cmac-journal.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

Журнал является научным изданием для врачей, в связи с чем на него не распространяются требования Федерального закона от 29.12.2010 436-ФЗ «О защите детей от информации, причиняющей вред их здоровью и развитию»

Иллюстрация для обложки предоставлена: Ольга Николаевна Пинегина (ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России)

© Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2024.

Содержание

Болезни и возбудители

- 4 Фёдорова А.В., Хрульнова С.А., Ветохина А.В., Молчанова И.В., Куцевалова О.Ю., Клясова Г.А.
Гены вирулентности у *Enterococcus faecium* и *Enterococcus faecalis*, выделенных из гемокультуры больных с гематологическими заболеваниями
- 14 Умпелева Т.В., Скорняков С.Н., Вахрушева Д.В.
Биопленки при микобактериальной инфекции
- 21 Исаева Г.Ш., Чумарев Н.С.
Микробиота верхних дыхательных путей при COVID-19

Антимикробные препараты

- 31 Карпова Е.В., Колчанова Н.Э., Петровская Т.А., Тапальский Д.В.
Микробиологическая активность тиамфеникола и тиамфеникола глицината ацетилцистеината в отношении клинически значимых микроорганизмов и образуемых ими биопленок
- 40 Андреева И.В., Стецюк О.У., Козлов Р.С.
Цефтаролина фосамил – цефалоспорины V поколения с анти-MRSA активностью в лечении тяжелых инфекций в педиатрической практике

Антибиотикорезистентность

- 59 Чеботарь И.В., Кулешов К.В.
Между антибиотикорезистентностью и вирулентностью: диалектика бактериального фитнеса
- 67 Эйдельштейн М.В., Шайдуллина Э.Р., Иванчик Н.В., Дехнич А.В., Микотина А.В., Склеенова Е.Ю., Сухорукова М.В., Азизов И.С., Шек Е.А., Романов А.В., Трушин И.С., Кузьменков А.Ю., Козлов Р.С.
Антибиотикорезистентность клинических изолятов *Klebsiella pneumoniae* и *Escherichia coli* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования
- 79 Вербенко Д.А., Солонько В.С., Дерябин Д.Г., Левичева Ю.Ю., Карамова А.Э., Кубанов А.А.
Определение генетических детерминант устойчивости штаммов *Mycobacterium leprae* к антимикробным препаратам методом минисеквенирования

Опыт работы

- 87 Бонцевич Р.А., Тихойванова А.А., Анненков Н.В., Батищева Г.А., Невзорова В.А., Мартыненко И.М., Биккинина Г.М., Кетова Г.Г., Богданова В.О., Лучинина Е.В.
Определение выбора режима антибактериальной терапии старших курсов медицинских вузов по антимикробной терапии (итоги проекта KANT-IV)
- 98 Лихачев И.В., Кафтырева Л.А., Самойлова А.А., Краева Л.А., Михайлов Н.В.
Разработка E-тестов для выявления потенцирующего эффекта антимикробных соединений в отношении полирезистентных штаммов *Klebsiella pneumoniae*

Описание клинических случаев

- 104 Рачина С.А., Федина Л.В., Алхлавов А.А., Гасанова Д.Р., Зайналабидова Х.Г., Коваль А.А., Бурмистрова Е.Н., Савочкина Ю.А., Сычев И.Н., Кулешов В.Г., Ларин Е.С.
Сложности выбора режима антибактериальной терапии нозокомиальной пневмонии в ОРИТ: клинические наблюдения
- 113 Довгань Е.В., Андреев В.А., Боровой В.Н., Кузьмина Е.В., Андреева И.В., Коваленко Т.Н., Овчинников Т.Г., Козырев О.А.
Риноцеребральный мукормикоз у пациентов с COVID-19: описание случаев и лечение в условиях областного стационара

Между антибиотикорезистентностью и вирулентностью: диалектика бактериального фитнеса

Чеботарь И.В.¹, Кулешов К.В.²

¹ ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия

² ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Россия

Контактный адрес:

Игорь Викторович Чеботарь
Эл. почта: nizarnn@yandex.ru

Ключевые слова: бактерии, антибиотикорезистентность, фитнес, вирулентность.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Быстрая экспансия резистентных к антибиотикам бактерий-возбудителей воспринимается как глобальная угроза для человечества, которая наносит существенный ущерб здоровью людей и приводит к огромным экономическим потерям. Антибиотикорезистентность является многоликим явлением, одна из сторон которого проявляется в виде бактериального фитнеса. Фитнес это способность оптимизировать метаболизм для определения приоритета функций, направленных на повышение способности размножаться в конкретных условиях окружающей среды, включая организм человека. Цель настоящего обзора – на основе накопленных наблюдений продемонстрировать диалектику фитнес-конкуренции двух клинически значимых свойств бактерий – антибиотикорезистентности и вирулентности. В обзоре приводятся основные методические подходы, используемые для оценки фитнеса. Анализируются варианты разнонаправленных фитнес-эффектов у резистентных к антибиотикам бактерий и обсуждаются общие принципы их генетической базы. Высказываются предложения о практическом применении оценки фитнес-способностей бактериальных патогенов.

Review

Antibiotic resistance vs. virulence in the context of bacterial fitness dialectics

Chebotar I.V.¹, Kuleshov K.V.²

¹ Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

² Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia

Contacts:

Igor V. Chebotar
E-mail: nizarnn@yandex.ru

Key words: bacteria, antibiotic resistance, fitness, virulence.

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

The rapid expansion of antibiotic-resistant pathogenic bacteria is perceived as a global threat to humanity, which causes significant damage to human health and leads to huge economic losses. Antibiotic resistance is a multifaceted phenomenon, one of which manifests in the form of bacterial fitness. Bacterial fitness refers to the capacity of bacteria to optimize their metabolism in order to prioritize functions that enhance their ability to reproduce, especially in specific environmental conditions. The objective of this review is to present a comprehensive analysis, based on extensive observations, of the reciprocal influence between two important characteristics of bacteria: antibiotic resistance and virulence. The review describes the main methodological approaches used to assess bacterial fitness. The analysis of various forms of multidirectional fitness effects in antibiotic-resistant bacteria is conducted, and an exploration of the fundamental principles underlying their genetic foundation is presented. Suggestions are made for the practical application of assessing the fitness abilities of bacterial pathogens.

Введение

Быстрая экспансия резистентных к антибиотикам бактерий-возбудителей воспринимается как глобальная угроза для человечества, которая наносит существенный ущерб здоровью людей и приводит к огромным экономическим потерям. В 2019 г. резистентные к антибиотикам микробы стали прямой причиной смерти более 1270000 человек [1]. Прогнозируется, что на мероприятия по борьбе с антимикробной резистентностью (АМР) к 2050 г. человечество будет расходовать до 1 трлн долларов в год [2].

Эволюция антибиотикорезистентности является сложным и многоликим явлением, ее детальное изучение открывает парадоксальные феномены. К числу самых сложных явлений, которые сопровождают формирование резистентности, можно отнести бактериальный фитнес (далее – фитнес). Корни применения термина «фитнес» в микробиологии можно найти в работе Novick A. и Szilard L. (1950), в которой авторы моделировали спонтанный мутагенез и использовали глагол «to fit» (в значении «соответствовать, приспособливаться»)

в отношении мутантов, которые эволюционировали с обретением свойств, в большей степени соответствующих изменениям питательной среды, чем свойства их предков [3]. Сейчас существует несколько определенных понятия «фитнес». В более широком смысле – это эволюционный успех организма. Более детальная трактовка говорит, что фитнес – это способность микроба размножаться в конкурентной среде в конкретных условиях, определяемых физико-химическими параметрами микроокружения, доступностью питательных веществ, присутствием антибиотиков и других антимикробных факторов [4]. Мы склонны дать иное толкование: фитнес это способность оптимизировать метаболизм для определения приоритета функций, направленных на повышение способности размножаться в конкретных условиях окружающей среды. Мерой фитнеса является скорость размножения в определенных условиях [5]. Если классическое понятие «адаптация» подразумевает процесс приспособления к изменяющимся условиям окружающей среды, то при использовании термина «фитнес» внимание акцентируется на перераспределении ресурсов микроба в процессе адаптации. Для более ясного объяснения понятия «фитнес» приведем два постулата и следующий из них вывод: (1) для выживания вида ресурсы микроба должны быть направлены на обеспечение двух основных стратегий – нейтрализации повреждающих факторов и способности обеспечивать субстратную и энергетическую базу для размножения, обе стратегии реализуются через множество шунтирующих или альтернативных биохимических каскадов; (2) объем ресурсов бактерии не является безграничным – он лимитирован естественными ограничителями, включая размеры, доступность питательных веществ, наличие природных метаболических ингибиторов (состав среды, температура, газовый состав и т.д.). Из этих постулатов следует, что микроорганизм не может равноценно и неограниченно осуществлять все возможные функции, приоритет должен быть отдан лишь тем процессам, которые обеспечат максимальную возможность успешного выживания и воспроизведения. Это означает, что часть функций не будут приоритетными и могут быть ингибированы. Подавление одних функций из-за экспрессии других в процессе адаптации к конкретным условиям получило название «плата за фитнес» или «fitness cost».

Фитнес касается любых метаболических процессов и свойств микроорганизма, включая вирулентность. Реализация вирулентных свойств микроба невозможна без размножения в организме хозяина, и это связывает вирулентность с фитнесом. Настоящий обзор не претендует на глобальное описание всех проявлений фитнеса.

Цель настоящего обзора – на основе накопленных наблюдений продемонстрировать диалектику фитнес-конкуренции двух клинически значимых свойств бактерий – антибиотикорезистентности и вирулентности.

Для беспристрастного анализа уровня угрозы антибиотикорезистентности следует привести несколько примеров, которые заставляют по-новому взглянуть на опасность резистентных возбудителей.

Нестандартные примеры клинической и эпидемиологической опасности резистентных к антибиотикам патогенов

Boral J. и соавт. проследили парадоксальный феномен несоответствия между летальностью при инфекциях кровотока (ИК), вызванных чувствительными и антибиотикорезистентными штаммами *Acinetobacter baumannii* [6]. Оказалось, что увеличение количества случаев ИК, вызванных карбапенеморезистентными ацинетобактериями, не сопровождалось повышением летальности. Наоборот, летальность достоверно уменьшалась.

В недавнем исследовании возбудителей сальмонеллезов на территории России в 2019–2022 гг. было статистически доказано, что при групповых (вспышки) заболеваниях возбудители с фенотипом множественной лекарственной резистентности (МЛР) встречаются лишь в 4,6% случаев, что достоверно реже, чем при спорадической заболеваемости, при которой 26,7% сальмонелл несут МЛР-фенотип [7]. Все случаи закончились выздоровлением. Описанные выше парадоксы логичнее всего объяснить с позиции бактериального фитнеса: карбапенеморезистентные ацинетобактерии и сальмонеллы с МЛР-фенотипом являлись менее вирулентными, чем их чувствительные к антибиотикам аналоги.

Методические подходы исследования бактериального фитнеса

Для оценки и измерения фитнес-эффектов создана достаточная методическая база. Примеры методов, применяемых для оценки фитнеса антибиотикорезистентных штаммов, представлены в Таблице 1. Наиболее популярные способы основаны на измерении скорости размножения исследуемого штамма в условиях со-культивирования с изогенным штаммом либо взаимодействия с живыми объектами (клеточные культуры, лабораторные животные, насекомые и их личинки (восковая моль *Galleria mellonella*, нематоды *Caenorhabditis elegans* и т.п.). Все эксперименты, выполненные на современном уровне, сопровождаются анализом геномных изменений. Вероятно, для исследования фитнеса можно использовать любой тест для оценки связанной с размножением бактерий, которая интерпретируется в сравнении с изогенной бактерией-референтом.

Нужно отметить, что исследование фитнеса с применением различных методик часто показывает однонаправленные результаты. Например, штамм *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 с нарушением down-регуляции эффлюкс-помпы MexB (делеция гена *mexR*) и делецией гена порина OprD, приводящей к развитию МЛР, в разных моделях исследования фитнеса демонстрировал однотипные результаты снижения фитнеса [18]. По сравнению с изначальным штаммом PAO1 *mexR*- и *oprD*-мутанты медленнее росли в бульоне индивидуально и в условиях конкуренции (снижение скорости размножения более, чем в 4 раза), обладали сниженной способностью формировать биопленки *in vitro* и

Таблица 1. Основные методические подходы для оценки фитнеса у резистентных к антибиотикам бактерий

№	Оцениваемая функция		Способ оценки	Литература
1.	Размножение	Размножение индивидуальных изолятов	Оценка параметров кривой (максимальная скорость роста, продолжительность lag-фазы, угол наклона, площадь под кривой и т.д.), отражающей динамику роста резистентных и чувствительных культур в бульоне при раздельном культивировании штаммов	[8]
			Серийные (0, 1, 2, 3, 4, 6, 8 и 24 ч.) посева из бульонных культур резистентных и чувствительных штаммов (при раздельном культивировании) на плотные питательные среды с целью сравнения КОЕ и построения кривых роста	[9]
2.		Размножение в условиях конкуренции	Оценка количества КОЕ после совместной инкубации исследуемого (резистентного) и изогенного (чувствительного) штаммов в бульоне	[9]
3.	Подвижность		Культивирование на полужидких агарх: 0,3% агара – для плавательной подвижности, 0,6% агара – для swarming-подвижности	[10]
4.	Вирулентность	Ферментативная активность	Оценка протеолитической, эластазной, липолитической, фосфолипазной активности биохимическими методами	[11]
5.		Эффлюкс-системы	Определение эффлюкса красителей	[12]
6.		Капсула	Экстракция и количественное определение капсульных полисахаридов	[13]
7.		Захват железа	Цветная реакция с хром-азуролом, выявление генов системы захвата железа	[14, 15]
8.		Биопленкообразование	Оценка оптических характеристик окрашенных биопленок	[16]
9.		Гены вирулентности	Оценка транскрипции, поиск генов вирулентности	[17]
10.		Модели <i>in vivo</i>	Модели на животных (мыши и т.д.)	[17, 18]
			Клеточная цитотоксичность	[17]
			Личинки восковой моли <i>Galleria mellonella</i>	[19]
			Нематоды <i>Caenorhabditis elegans</i>	[20]
11.	Эпидемиологическая и/или клиническая опасность		Статистические методы сравнения заболеваемости/эпидемических вспышек/смертности, связанных с чувствительными и резистентными возбудителями	[7]

КОЕ – колониеобразующие единицы.

сниженной вирулентностью *in vivo* на модели пневмонии мышей.

Существуют и противоположные наблюдения, в которых зарегистрировано снижение у антибиотикорезистентных бактерий фитнеса только при помощи избирательных методов. У резистентных к ципрофлоксацину мутантов *P. aeruginosa* (мутации в генах *mexR* (репрессор эффлюкс-системы *mexCD-oprJ*), *gyrA* (гиразы А) и *parC* (топоизомеразы)) было ингибировано размножение в конкурентных условиях с изогенным чувствительным штаммом, но сохранена вирулентность в отношении нематод *C. elegans* [20]. Другой эксперимент с технически противоположными, но аналогичными по смыслу результатами был проведен с резистентными к стрептомицину и фузидинам штаммами *Salmonella typhimurium* (современное название *Salmonella enterica* subsp. *enterica* серотип Typhimurium) [21]. Устойчивость к стрептомицину была детерминирована мутацией в гене *rpsL*, кодирующем рибосомальный протеин S12, резистентность к фузидовой кислоте – мутацией в гене *fusA*, кодирующем фактор элонгации EF-G. Было показано, что подавляющее большинство производных от этого штамма мутантов сохраняли способность размножаться в бульоне, но

теряли вирулентность в отношении мышей. С теоретической точки зрения такие примеры не противоречат основной идее фитнеса – перераспределению ресурсов с одного функционала на другой. В данном случае страдали функции, обеспечивающие внутривидовую борьбу, но сохранялись вирулентные инструменты, обеспечивающие размножение в многоклеточном эукариотическом организме. С практической точки зрения такие примеры заставляют экспериментатора не ограничиваться использованием одного способа оценки фитнес-способностей, а применять несколько разных методов.

Варианты реализации бактериального фитнеса

Взаимосвязь фитнеса с приобретением антибиотикорезистентности рассматривается не только с позиции отрицательной корреляции. Уже к началу XXI в. были сделаны наблюдения о возможности сохранения вирулентных свойств у резистентных изолятов. В 2000 г. в мире было опубликовано 6 экспериментальных работ [21–26], в которых обсуждались вопросы взаимоотношений между резистентностью и фитнесом (поиск производился на основе ресурсов базы PubMed

Таблица 2. Примеры разнонаправленных вариантов фитнес-эффектов у резистентных к антибиотикам бактерий

№	Резистентный фенотип	Бактерия	Фитнес-эффект АМР	Молекулярные механизмы резистентности	Литература
1.	MRSA	<i>S. aureus</i>	Снижение скорости размножения при индивидуальном росте и в конкурентных условиях с изогенным штаммом Повышенная вирулентность и скорость размножения	SCCmec-элементы I типа SCCmec-элементы IV типа	[27] [28, 29]
2.	Карбапенеморезистентность	<i>K. pneumoniae</i>	Негативная корреляция между фенотипами/ генами карбапенеморезистентности и генами вирулентности Замедление скорости размножения в конкурентных условиях и снижение вирулентности на модели <i>in vivo</i> (мыши) Приобретение плазмид, несущих гены карбапенеморезистентности, не оказывало влияние на кинетику размножения и биопленкообразование	<i>bla_{KPC}</i> , <i>bla_{NDM}</i> , <i>bla_{OXA-48}</i> и др. Поломка поринов OmpK35/36 <i>bla_{NDM-1}</i>	[30] [31] [32]
3.	Резистентность к фторхинолонам (ципрофлоксацину)	<i>P. aeruginosa</i>	Замедление роста в конкурентных условиях, ослабление вирулентности в экспериментах с <i>C. elegans</i> Сохранение роста в конкурентных условиях, сохранение вирулентности в экспериментах с <i>C. elegans</i> Замедление роста в конкурентных условиях, сохранение вирулентности в экспериментах с <i>C. elegans</i>	Мутации в гене репрессора эффлюкс-системы mexCD- <i>oprJ</i> (<i>nfxB_{nt59Δ1}</i>) и гиразы A (<i>gyrA_{E153K}</i>) Мутации в гене репрессора эффлюкс-системы mexCD- <i>oprJ</i> (<i>nfxB_{W115X}</i>), гиразы A (<i>gyrA_{T83I}</i>) и топоизомеразы (<i>parC_{S87L}</i>) Мутации в гене репрессора эффлюкс-системы mexCD- <i>oprJ</i> (<i>mexR_{R83H}</i>), гиразы A (<i>gyrA_{T83I}</i>) и топоизомеразы (<i>parC_{S87L}</i>)	[20] [20] [20]
4.	Колистинорезистентность	<i>E. coli</i>	Снижение скорости размножения Сохранение ростовых свойств	<i>mcr-1</i> , локализованные в плазмиде Хромосомно-интегрированные гены <i>mcr-1</i>	[33] [34]
5.	МЛР	<i>K. pneumoniae</i>	Низкая вирулентность МЛР-изолятов в опытах <i>in vitro</i> и на животных (мышях) Потеря гипемukoидности и ингибирование синтеза капсульных полисахаридов Сохранение ростовых свойств у носителей суперплазмид, несущих гены вирулентности и МЛР Сочетание богатого набора генов резистентности и вирулентности, локализованных в двухрепликонной плазмиде ncFIB/IncHI1B	Не определены Делеции генов <i>phoQ</i> и <i>pmrB</i> Суперплазида pSZS1280-Hv-MDR Суперплазида (гибридная плазида) ncFIB/IncHI1B	[16] [35] [36] [37]

МЛР – множественная лекарственная резистентность.

(<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>), с использованием поискового запроса «(((resistance)) AND (fitness)) AND (antibiotic) NOT (sport)» с последующим исключением из анализа обзоров литературы и не соответствующих тематике работ. В 2 из 6 работ авторы обратили внимание на возможность сохранения уровня фитнеса *in vitro* или *in vivo* у некоторых резистентных штаммов [21, 23]. Спустя 20 лет количество ежегодно публикуемых ориги-

нальных исследований, обсуждающих фитнес, увеличилось более, чем в 30 раз. Соответственно увеличилась доля наблюдений о различающихся фитнес-последствиях формирования устойчивости к антибиотикам. В Таблице 2 представлены наиболее яркие примеры разнонаправленных фитнес-эффектов у бактерий с одинаковым резистентным фенотипом. Анализ приведенных примеров позволяет сформулировать три основных пра-

вила. Во-первых, приобретение резистентного фенотипа в ряде случаев может приводить к снижению фитнес-характеристик изолята, включая его вирулентность.

Во-вторых, наличие резистентного фенотипа не может быть достоверным свидетельством снижения вирулентных свойств изолята, вирулентность может не изменяться и даже возрастать. Это не означает, что бактерия не платит за приобретение нового свойства – антибиотикорезистентности. Снижение фитнеса может не затрагивать вирулентность, но проявляться в виде других реакций – невозможности расти в голодных средах, ослаблении во внутривидовой борьбе, повышении чувствительности к бактериофагам, физико-химическим ингибиторам и т.д. Кроме этого, для поддержания фитнеса бактерии могут включать компенсаторные механизмы, которые реализуются через мутации в генах преимущественно регуляторных белков. В контексте фитнеса компенсаторными называют вторичные мутации, которые компенсируют нарушенные функции и частично или полностью восстанавливают утраченные способности [38]. Хотя в литературе имеется описание множества конкретных вариантов компенсаторных мутаций, предсказание их возникновения для клинических изолятов считается невозможным. Парадоксально, что возникновение компенсаторных мутаций может не коррелировать с величиной фитнес-потерь: они могут возникать даже при крайне незначительных снижениях бактериальных функций [38]. Например, устойчивость штамма *Neisseria gonorrhoeae* к цефтриаксону была детерминирована нарушением аллелей гена *repA*, кодирующем пенициллин-связывающий белок PBP2, штамм демонстрировал снижение роста в условиях конкуренции и на модели *in vivo* (мыши) [39]. Результатом эволюции этого штамма стал мутант, у которого оказались увеличены показатели фитнеса благодаря мутации в гене *asnB* (кодирует бифункциональную аконитатгидратазу – 2-метилизоцитрат-дегидратазу). Исследование транскриптома мутантного изолята выявило повышение экспрессии множества регуляторных генов, активирующих углеродный и энергетический метаболизм. Диалектика компенсации фитнеса наглядно иллюстрируется на примере резистентных бактерий с гипермутаторным фенотипом. Одним из самых сильных драйверов мутаций, компенсирующих потери от приобретения антибиотикорезистентности [40, 41], являются гены-мутаторы. Количество вариантов генов-мутаторов увеличивается под воздействием антибиотиков [42], применение которых может ослабить фитнес. Таким образом формируется кольцо обратных связей, которые гармонизируют фитнес-процессы.

В-третьих, причиной одинаковых резистентных фенотипов могут быть различные генетические детерминанты, которые по-разному влияют на метаболизм бактерии. Фитнес-последствия резистентности, включая изменение вирулентности, зависят только от варианта генетической адаптации к антибиотику. Например, фитнес резистентности, обусловленной хромосомными мутациями, существенно отличается от фитнеса устойчивости, связанной с плазмидными генами. Метаанализ

фенотипических и геномных свойств 783 штаммов *Escherichia coli* с лекарственной устойчивостью из 46 исследований доказал, что накопление АМР-свойств в результате мутаций хромосомных генов влечет за собой в 3 раза более высокие затраты на приспособленность, чем накопление генов плазмидной резистентности [43]. На основании этих расчетов авторы делают смелый вывод о возможности глобального преобладания «плазмидных» форм резистентности над «хромосомными» из-за различий их фитнес-последствий для бактерии.

С клинической точки зрения наиболее опасными являются бактерии, несущие суперплазмиды, которые одновременно располагают наборами генов вирулентности и резистентности [36, 37]. Описаны случаи, когда суперплазмиды являются естественным продуктом слияния плазмид различных классов в один гибрид [37].

Вышеизложенное позволяет сделать важный вывод: для корректной оценки бактериального фитнеса фенотипические методы исследования следует дополнять анализом генетических детерминант антибиотикорезистентности, вирулентности и компенсаторных мутаций. К сожалению, на сегодняшний день уровень наших знаний не позволяет аннотировать значимость многих обнаруженных мутаций. Следовательно, мы не можем предсказывать изменения фенотипических и вирулентных способностей бактерий в процессе обретения АМР-свойств лишь по данным геномного анализа. Лишь комплексное исследование генотипа и фенотипа позволяет корректно оценить взаимодействие между резистентностью и вирулентностью.

Перспективы практического использования оценки бактериального фитнеса

Мы видим развитие исследований фитнес-явлений в трех направлениях. Первое направление может быть реализовано в виде совершенствования доступных для широкого практического использования способов оценки вирулентности. С нашей точки зрения наиболее перспективным является разработка хромогенных систем для оценки вирулентных свойств. В качестве отдаленных прототипов таких сред можно рассматривать среды, которые использовались для рутинной идентификации бактерий – желточно-солевой агар (определение фосфолипазной, или лецитиназной, активности), сред для выявления ДНКазной активности, плазмокоагулазы и т.д. Еще одним аналогом является CAS-агар, который применяется для определения сидерофоров [44]. В качестве более близкого аналога можно рассматривать продукт компании CHROMagar (Франция) – хромогенный агар CHROMagar™ STEC для детекции шига-токсина, продуцируемого энтерогеморрагическими штаммами *E. coli* [45]. Современные технологии хромогенов позволяют создать доступные для практического здравоохранения системы для количественной оценки факторов вирулентности.

Второе направление касается внедрения в клиническую микробиологию тестирования, направленного

на оценку вирулентности изолированных патогенов, по аналогии с протоколами оценки чувствительности бактерий к антимикробным препаратам. Получение вирулентного профиля может помочь рационализировать антибиотикотерапию в отношении группы бактерий, которые интерпретируются сейчас как «чувствительные при повышенной экспозиции антибиотика».

Третье направление подразумевает совершенствование базы данных для аннотации мутаций, позволяющей предсказать фенотипические и вирулентные свойства антибиотикорезистентных изолятов.

Заключение

Концепция бактериального фитнеса опровергает представление о том, что возникновение АМР является исключительно полезным для патогена свойством. Важнейшими выводами из проделанного анализа литературы, посвященной проблеме бактериального фитнеса, являются: 1) бактериальный фитнес это сложное явление, которое может иметь разнообразные проявления; 2) фитнес может затрагивать или не затрагивать вирулентные свойства патогена; 3) не существует

универсального способа «измерения» фитнеса, оценка фитнес-характеристик АМР-патогенов должна проводиться при помощи комплекса фенотипических и генетических методов, которые оценивают бактериальные функции, связанные с размножением и вирулентностью; 4) направление фитнес-эффектов зависит от варианта генетических детерминант АМР; 5) фитнес-потери вирулентности от приобретения АМР-свойств могут нивелироваться за счет компенсаторных мутаций; 6) исследование молекулярно-генетических механизмов бактериального фитнеса, а также разработка новых технологий оценки фитнес-статуса патогенов являются перспективными направлениями медицинской микробиологии.

Благодарность

Мы благодарим Центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России за поддержку с методической частью работы.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 20-15-00235).

Литература

1. Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet*. 2022;399(10325):629-655. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)02724-0
2. Ahmad M., Khan A.U. Global economic impact of antibiotic resistance: A review. *J Glob Antimicrob Resist*. 2019;19:313-316. DOI: 10.1016/j.jgar.2019.05.024
3. Novick A., Szilard L. Experiments with the Chemostat on spontaneous mutations of bacteria. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1950;36(12):708-719. DOI: 10.1073/pnas.36.12.708
4. Botelho J., Grosso F., Peixe L. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* – mechanisms, epidemiology and evolution. *Drug Resist Updat*. 2019;44:100640. DOI: 10.1016/j.drug.2019.07.002
5. Fitness or Bacterial fitness. Available at: <https://revive.gardp.org/resource/fitness-or-bacterial-fitness/?cf=encyclopaedia>. Accessed December 10, 2023.
6. Boral J., Pınarlık F., Ekinci G., Can F., Ergönül Ö. Does emerging carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* increase the case fatality rate? Systematic review and meta-analysis. *Infect Dis Rep*. 2023;15(5):564-575. DOI: 10.3390/idr15050055
7. Pavlova A.S., Kuleshov K.V., Krutova N.E., Guseva A.N., Podkolzin A.T. Characteristics of antibiotic resistance of non-typhoidal *Salmonella* circulating in the Russian Federation in the period from 2019 to 2022. *J Microbiol Epidemiol Immunobiol*. 2023;100(5):287-301. DOI: 10.36233/0372-9311-451
8. Ramadhan A.A., Hegedus E. Survivability of vancomycin resistant enterococci and fitness cost of vancomycin resistance acquisition. *J Clin Pathol*. 2005;58(7):744-746. DOI: 10.1136/jcp.2004.024091
9. Guo B., Abdelraouf K., Ledesma K.R., Nikolaou M., Tam V.H. Predicting bacterial fitness cost associated with drug resistance. *J Antimicrob Chemother*. 2012;67(4):928-932. DOI: 10.1093/jac/dkr560
10. Déziel E., Comeau Y., Villemur R. Initiation of biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* 57RP correlates with emergence of hyperpiliated and highly adherent phenotypic variants deficient in swimming, swarming, and twitching motilities. *J Bacteriol*. 2001;183(4):1195-1204. DOI: 10.1128/JB.183.4.1195-1204.2001
11. Deptuła A., Gospodarek E. Reduced expression of virulence factors in multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains. *Arch Microbiol*. 2010;192(1):79-84. DOI: 10.1007/s00203-009-0528-1
12. Bhattacharyya S., Bhattacharyya M., Pfannenstiel D., Nandi A.K., Hwang Y., Ho K., Harshey R.M. Efflux-linked accelerated evolution of antibiotic resistance at a population edge. *Mol Cell*. 2022;82(22):4368-4385.e6. DOI: 10.1016/j.molcel.2022.10.024
13. Wang S., Ding Q., Zhang Y., Zhang A., Wang Q., Wang R., et al. Evolution of virulence, fitness, and carbapenem resistance transmission in ST23 hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* with the capsular polysaccharide synthesis gene *wcaI* inserted via insertion sequence elements. *Microbiol Spectr*. 2022;10(6):e0240022. DOI: 10.1128/spectrum.02400-22

14. Schwyn B., Neilands J.B. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Anal Biochem.* 1987;160(1):47-56. DOI: 10.1016/0003-2697(87)90612-9
15. Pérez-Miranda S., Cabirol N., George-Téllez R., Zamudio-Rivera L.S., Fernández F.J. O-CAS, a fast and universal method for siderophore detection. *J Microbiol Methods.* 2007;70(1):127-131. DOI: 10.1016/j.mimet.2007.03.023
16. El Fertas-Aissani R., Messai Y., Alouache S., Bakour R. Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from different clinical specimens. *Pathol Biol (Paris).* 2013;61(5):209-216. DOI: 10.1016/j.patbio.2012.10.004
17. Dewan K.K., Skarlpka A.L., Rivera I., Cuff L.E., Gestal M.C., Taylor-Mulneix D.L., et al. Development of macrolide resistance in *Bordetella bronchiseptica* is associated with the loss of virulence. *J Antimicrob Chemother.* 2018;73(10):2797-2805. DOI: 10.1093/jac/dky264
18. Abdelraouf K., Kabbara S., Ledesma K.R., Poole K., Tam V.H. Effect of multidrug resistance-conferring mutations on the fitness and virulence of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66(6):1311-1317. DOI: 10.1093/jac/dkr105
19. Zhou C., Zhang H., Xu M., Liu Y., Yuan B., Lin Y., Shen F. Within-host resistance and virulence evolution of a hypervirulent carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* ST11 under antibiotic pressure. *Infect Drug Resist.* 2023;16:7255-7270. DOI: 10.2147/IDR.S436128
20. Cabot G., Zamorano L., Moyà B., Juan C., Navas A., Blázquez J., Oliver A. Evolution of *Pseudomonas aeruginosa* antimicrobial resistance and fitness under low and high mutation rates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60(3):1767-1778. DOI: 10.1128/AAC.02676-15
21. Björkman J., Nagaev I., Berg O.G., Hughes D., Andersson D.I. Effects of environment on compensatory mutations to ameliorate costs of antibiotic resistance. *Science.* 2000;287(5457):1479-1482. DOI: 10.1126/science.287.5457.1479
22. Bertrand X., Thouverez M., Talon D. Antibiotic susceptibility and genotypic characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains in eastern France. *J Hosp Infect.* 2000;46(4):280-287. DOI: 10.1053/jhin.2000.0841
23. Reynolds M.G. Compensatory evolution in rifampin-resistant *Escherichia coli*. *Genetics.* 2000;156(4):1471-1481. DOI: 10.1093/genetics/156.4.1471
24. Davies A.P., Billington O.J., Bannister B.A., Weir W.R., McHugh T.D., Gillespie S.H. Comparison of fitness of two isolates of *Mycobacterium tuberculosis*, one of which had developed multi-drug resistance during the course of treatment. *J Infect.* 2000;41(2):184-187. DOI: 10.1053/jinf.2000.0711
25. Simpson A.E., Skurray R.A., Firth N. An IS257-derived hybrid promoter directs transcription of a tetA(K) tetracycline resistance gene in the *Staphylococcus aureus* chromosomal *mec* region. *J Bacteriol.* 2000;182(12):3345-3352. DOI: 10.1128/JB.182.12.3345-3352.2000
26. Levin B.R., Perrot V., Walker N. Compensatory mutations, antibiotic resistance and the population genetics of adaptive evolution in bacteria. *Genetics.* 2000;154(3):985-997. DOI: 10.1093/genetics/154.3.985
27. Ender M., McCallum N., Adhikari R., Berger-Bächli B. Fitness cost of SCC_{mec} and methicillin resistance levels in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004;48(6):2295-2297. DOI: 10.1128/AAC.48.6.2295-2297.2004
28. Lee S.M., Ender M., Adhikari R., Smith J.M.B., Berger-Bächli B., Cook G.M. Fitness cost of staphylococcal cassette chromosome *mec* in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by way of continuous culture. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51(4):1497-1499. DOI: 10.1128/AAC.01239-06
29. Otto M. Community-associated MRSA: what makes them special? *Int J Med Microbiol UMM.* 2013;303(6-7):324-330. DOI: 10.1016/j.ijmm.2013.02.007
30. Elmanakhly A.R., Bendary M.M., Safwat N.A., Awad E.A.E., Alhomrani M., Alamri A.S., et al. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: diversity, virulence, and antimicrobial resistance. *Infect Drug Resist.* 2022;15:6177-6187. DOI: 10.2147/IDR.S387742
31. García-Sureda L., Doménech-Sánchez A., Barbier M., Juan C., Gascó J., Albertí S. OmpK26, a novel porin associated with carbapenem resistance in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55(10):4742-4747. DOI: 10.1128/AAC.00309-11
32. Element S.J., Moran R.A., Beattie E., Hall R.J., van Schaik W., Buckner M.M.C. Growth in a biofilm promotes conjugation of a *bla*_{NDM-1}-bearing plasmid between *Klebsiella pneumoniae* strains. *mSphere.* 2023;8(4):e0017023. DOI: 10.1128/msphere.00170-23
33. Yang Q., Li M., Spiller O.B., Andrey D.O., Hinchliffe P., Li H., Walsh T. Balancing *mcr-1* expression and bacterial survival is a delicate equilibrium between essential cellular defence mechanisms. *Nat Commun.* 2017;8(1):2054. DOI: 10.1038/s41467-017-02149-0
34. Ogunlana L., Kaur D., Shaw L.P., Jangir P., Walsh T., Uphoff S., MacLean R.C. Regulatory fine-tuning of *mcr-1* increases bacterial fitness and stabilises antibiotic resistance in agricultural settings. *ISME J.* 2023;17(11):2058-2069. DOI: 10.1038/s41396-023-01509-7
35. Choi M.J., Ko K.S. Loss of hypermucoviscosity and increased fitness cost in colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae* sequence type 23 strains. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(11):6763-6773. DOI: 10.1128/AAC.00952-15
36. Jia X., Zhu Y., Jia P., Liu X., Yu W., Li X., et al. Emergence of a superplasmid coharboring hypervirulence and multidrug resistance genes in *Klebsiella pneumoniae* poses new challenges to public health. *Microbiol Spectr.* 2022;10(6):e0263422. DOI: 10.1128/spectrum.02634-22
37. Shaidullina E.R., Schwabe M., Rohde T., Shapovalova V.V.,

- Dyachkova M.S., Matsvay A.D., et al. Genomic analysis of the international high-risk clonal lineage *Klebsiella pneumoniae* sequence type 395. *Genome Med.* 2023;15(1):9. DOI: 10.1186/s13073-023-01159-6
38. Emane A.K.A., Guo X., Takiff H.E., Liu S. Drug resistance, fitness and compensatory mutations in *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberc Edinb Scotl.* 2021;129:102091. DOI: 10.1016/j.tube.2021.102091
39. Vincent L.R., Kerr S.R., Tan Y., Tomberg J., Raterman E.L., Hotopp J.C.D., et al. *In vivo*-selected compensatory mutations restore the fitness cost of mosaic *penA* alleles that confer ceftriaxone resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *mBio.* 2018;9(2):e01905-17. DOI: 10.1128/mBio.01905-17
40. Alcalá-Franco B., Montanari S., Cigana C., Bertoni G., Oliver A., Bragonzi A. Antibiotic pressure compensates the biological cost associated with *Pseudomonas aeruginosa* hypermutable phenotypes *in vitro* and in a murine model of chronic airways infection. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67(4):962-969. DOI: 10.1093/jac/dkr587
41. Perron G.G., Hall A.R., Buckling A. Hypermutability and compensatory adaptation in antibiotic-resistant bacteria. *Am Nat.* 2010;176(3):303-311. DOI: 10.1086/655217
42. Maciá M.D., Blanquer D., Togores B., Sauleda J., Pérez J.L., Oliver A. Hypermutation is a key factor in development of multiple-antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* strains causing chronic lung infections. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49(8):3382-3386. DOI: 10.1128/AAC.49.8.3382-3386.2005
43. Vanacker M., Lenuzza N., Rasigade J.P. The fitness cost of horizontally transferred and mutational antimicrobial resistance in *Escherichia coli*. *Front Microbiol.* 2023;14:1186920. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1186920
44. Shin S.H., Lim Y., Lee S.E., Yang N.W., Rhee J.H. CAS agar diffusion assay for the measurement of siderophores in biological fluids. *J Microbiol Methods.* 2001;44(1):89-95. DOI: 10.1016/s0167-7012(00)00229-3
45. Uyanik T., Gücükoğlu A., Gürler H., Kanat S., Bölükbaş A., Çadirci Ö. Clonal spread of non-O157 Shiga toxigenic *Escherichia coli* O21:H25 in raw water buffalo milks. *J Appl Microbiol.* 2023;134(11):lxad277. DOI: 10.1093/jambio/lxad277