



Современное представление о механизмах антимикробной резистентности бактерий (аналитический обзор)

О. В. Прунтова¹, В. С. Русалеев², Н. Б. Шадрова³

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия

¹ <https://orcid.org/0000-0003-3143-7339>, e-mail: pruntova@arriah.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-4972-6326>, e-mail: rusaleev@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0001-7510-1269>, e-mail: shadrova@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Проведен анализ и обобщены сведения о механизмах резистентности к антимикробным препаратам у бактерий. Рассмотрены основные причины возникновения и распространения устойчивости у бактерий. Охарактеризовано действие механизмов естественной резистентности патогенных бактерий (неспецифические эффлюксные насосы, инактивирующие антибиотики ферменты и механизмы, которые служат барьерами проницаемости). Описаны механизмы приобретенной устойчивости: модификация или разложение антибиотика; активное выведение антимикробного препарата из бактериальной клетки – эффлюкс (отток), секвестрация, модификация мишени (байпас). Показана дискуссионность вопроса о происхождении механизмов устойчивости к антибиотикам у патогенных бактерий. Отмечено, что прямая передача генов устойчивости к антимикробным препаратам может происходить от микроорганизмов-продуцентов к патогенным бактериям, но достоверная связь между этим процессом и распространением антимикробной резистентности в настоящее время не выявлена и не доказана. Роль горизонтальной передачи генов, включающей трансформацию свободной ДНК, трансдукцию бактериофагами и конъюгацию с участием плазмид, считают важной в распространении антимикробной резистентности. Все три механизма широко распространены в природе, хотя некоторые виды бактерий используют один механизм в большей степени, чем два других. Полагают, что трансдукция играет важную роль, в частности, в переносе генов устойчивости к антибиотикам, но до настоящего времени нет ясности в вопросе о значении трансформации или трансдукции в переносе генов резистентности в условиях лаборатории или в окружающей среде из-за сложности обнаружения рекомбинаций, возникших в естественных условиях. Представлены данные о роли конъюгации в распространении генов антимикробной резистентности в природе, в частности генов устойчивости к карбапенемам и хинолонам у грамотрицательных и грамположительных бактерий. Отмечены новые тенденции в распространении генов антимикробной резистентности.

Ключевые слова: обзор, антимикробная резистентность, антимикробный препарат, механизмы антимикробной резистентности, бактерии, микроорганизмы

Для цитирования: Прунтова О. В., Русалеев В. С., Шадрова Н. Б. Современное представление о механизмах антимикробной резистентности бактерий (аналитический обзор). *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (1): 7–13. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-1-7-13.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Прунтова Ольга Владиславовна, доктор биологических наук, профессор, главный эксперт информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьево, e-mail: pruntova@arriah.ru.

Current understanding of antimicrobial resistance mechanisms in bacteria (analytical review)

O. V. Pruntova¹, V. S. Russaleyev², N. B. Shadrova³

FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH"), Vladimir, Russia

¹ <https://orcid.org/0000-0003-3143-7339>, e-mail: pruntova@arriah.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-4972-6326>, e-mail: rusaleev@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0001-7510-1269>, e-mail: shadrova@arriah.ru

SUMMARY

Data on mechanisms of resistance to antimicrobials in bacteria are reviewed and summarized. Main causes of resistance emergence and spread in bacteria are analyzed. Mechanisms of innate resistance of pathogenic bacteria (non-specific efflux pumps, antibiotic-inactivating enzymes and mechanisms serving as permeability barriers) are characterized. Mechanisms of acquired resistance are described: antibiotic modification or degradation; active removal of an antimicrobial from a bacterial cell – efflux (draining out); sequestration; target modification (bypass). The origin of antimicrobial resistance mechanisms in pathogenic bacteria is shown to be debatable. It is noted that producer microorganisms can directly transfer antimicrobial resistance genes to pathogenic bacteria, but a reliable link

between this process and antimicrobial resistance spread has not been identified and proven so far. Horizontal gene transfer, including free DNA transformation, transduction by bacteriophages and plasmid-involving conjugation, is believed to play an important role in antimicrobial resistance spread. All three mechanisms are widespread in nature, although some bacterial species use one mechanism to a great extent than the other two. Transduction is supposed to play an important role, in particular, in the antibiotic resistance gene transfer, but the significance of transformation or transduction in the resistance gene transfer under the laboratory or environmental conditions has not been clarified so far due to the difficulty of naturally emerging recombination detection. Data on the role of conjugation in the antimicrobial resistance gene spread in nature, in particular carbapenem- and quinolone-resistance genes in gram-negative and gram-positive bacteria are presented. New trends in the antimicrobial resistance gene spread are indicated.

Keywords: review, antimicrobial resistance, antibiotics, mechanisms of antimicrobial resistance, bacteria, microorganisms

For citation: Pruntova O. V., Russaleyev V. S., Shadrova N. B. Current understanding of antimicrobial resistance mechanisms in bacteria (analytical review). *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (1): 7–13. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-1-7-13.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

For correspondence: Olga V. Pruntova, Doctor of Science (Biology), Professor, Chief Expert, Information and Analysis Centre, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: pruntova@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Антимикробная резистентность (АМР) – устойчивость бактерий к антимикробным препаратам (АМП) – на сегодняшний день является одной из серьезнейших глобальных проблем во всем мире. Длительное использование антибиотиков для борьбы с возбудителями болезней животных и человека привело к тому, что некоторые бактерии стали устойчивы к лекарствам, а заболевания перестали поддаваться лечению. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), уже сегодня многие инфекции вызваны патогенными микроорганизмами, устойчивыми к противомикробным лекарственным препаратам [1, 2].

Появление и широкое распространение антибиотикорезистентных форм бактерий, нечувствительных ко многим АМП, сопровождается снижением эффективности терапии, увеличением сроков лечения и повышением летальности. Все это диктует необходимость мониторинга возбудителей бактериозов животных, их структуры и уровня лекарственной резистентности, а эмпирическая антибиотикотерапия болезни, практикуемая в настоящее время ветеринарными специалистами, должна учитывать фактические данные эпизоотологического мониторинга антибиотикорезистентности бактерий, циркулирующих в конкретных животноводческих хозяйствах.

Данная проблема из-за сложности и комплексности вышла за рамки компетенции только ВОЗ и Всемирной организации здравоохранения животных (МЭБ). Сегодня признано, что ни одна страна или организация не может самостоятельно справиться с вопросами резистентности к АМП [3, 4].

Решение проблемы АМР необходимо начинать с разработки стратегии по ее предотвращению и сдерживанию, которая должна включать в себя несколько направлений. Ключевым из которых является проведение мероприятий, направленных на ограничение и рациональное использование АМП, основанное на владении широким кругом ветеринарных специалистов знаний о механизмах антимикробной резистентности бактерий.

Российская Федерация участвовала в разработке резолюции по глобальной стратегии и плана действий по борьбе с АМР, принятых ассамблеей ВОЗ в 2015 г. Введение в действие этой резолюции обязывает все

страны проводить мониторинг лекарственно-устойчивых бактериальных инфекций и обеспечивать контроль за применением АМП в ветеринарии, медицине и сельском хозяйстве, а также укреплять международное сотрудничество и финансирование в данной сфере. Кроме того, международные организации взяли на себя обязательства ужесточить законодательное регулирование применения АМП, заняться поиском рационального их использования (совершенствование лабораторной диагностики бактериозов с учетом их чувствительности к АМП) и широко внедрять меры профилактики инфекционных заболеваний, включая вакцинацию, очистку воды, санитарно-гигиенические мероприятия [5].

В сентябре 2017 г. Правительство Российской Федерации утвердило разработанную Минздравом России «Стратегию предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 года» [6], которая определяет задачи по сдерживанию биологической угрозы, связанной с распространением АМР, и направлена на предупреждение и ограничение распространения устойчивости микроорганизмов к АМП.

В связи с актуальностью проблемы целью данной работы является анализ отечественной и зарубежной литературы, а также обсуждение вопроса о механизмах возникновения и распространения антимикробной резистентности бактерий.

ОСНОВНЫЕ ПРИЧИНЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ И РАСПРОСТРАНЕНИЯ АМР У БАКТЕРИЙ

Фенотипическое проявление АМР бактерий опосредовано генетическими свойствами, но не все генетические детерминанты резистентности и не всегда проявляются фенотипически. Причина возникновения и распространения резистентности бактерий к АМП происходит вследствие:

- появления в их генах *случайных мутаций*, которые могут, например, изменять спектр активности бактериальных ферментов, расщепляющих антибиотики;
- *обмена генетическим материалом между клетками*, то есть переноса генов от устойчивых к менее устойчивым или чувствительным микроорганизмам посредством переноса хромосом, плазмид, фагов, транслоцирующих элементов;

– селекции новых резистентных штаммов под действием избирательного давления АМП, связанного с бесконтрольностью их применения в разных сферах [7].

Традиционно механизмы АМП рассматриваются только в отношении патогенных микроорганизмов, которые вынуждены защищаться от воздействия лекарственных и дезинфицирующих препаратов. И, соответственно, основными причинами развития АМП считают антропогенное воздействие на микроорганизмы. Но в условиях окружающей среды источником генетических детерминант АМП являются в первую очередь не патогенные микроорганизмы, а микроорганизмы – продуценты антибиотиков, которые вынуждены защищаться от продуктов своей жизнедеятельности [8].

Микроорганизмы – продуценты антибиотиков имеют, как правило, не один, а множество сложных механизмов самозащиты, обеспечивающих полную защиту от производимых ими биологически активных молекул. Более того, некоторыми исследователями показано, что генетические детерминанты саморезистентности почти всегда сгруппированы с генами биосинтеза антибиотиков и их экспрессия регулируется совместно [9]. Поэтому для полного понимания развития устойчивости у патогенных микроорганизмов к антибиотикам необходимо помимо часто упоминаемых причин АМП учитывать и естественные резервуары генов устойчивости, которые могут включать детерминанты, которые определяют саморезистентность микроорганизмов, продуцирующих антибиотики. Несмотря на то что эти детерминанты устойчивости у представителей микрофлоры окружающей среды не представляют угрозы для здоровья животных, передача этих детерминант плазмидам и интегронам в патогенные бактерии в дальнейшем может привести к увеличению количества таких детерминант в популяциях патогенных бактерий и возникновению проблем огромных масштабов. То есть для предупреждения распространения АМП необходимо изучать и контролировать распределение детерминант резистентности в бактериальных популяциях, выяснять механизмы устойчивости и определять факторы окружающей среды, которые способствуют их распространению [8].

МЕХАНИЗМЫ АМП ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ

Как уже было сказано выше, микроорганизмы обладают естественной и приобретенной АМП. К механизмам естественной резистентности относятся неспецифические эффлюксные помпы (которые, вероятно, возникли как общий ответ на токсины окружающей среды), ферменты, инактивирующие антибиотики, и механизмы, которые служат барьерами проницаемости [10, 11]. Эти механизмы кодируются в основной генетической структуре – хромосоме бактериальной клетки. Примером естественной АМП является хорошо изученная система эффлюксного оттока AcrAB-TolC у *Escherichia coli*, которая имеет очень широкую субстратную специфичность и может выводить различные классы антибиотиков и дезинфицирующих средств [12]. Устойчивость к ванкомицину у *E. coli* и других грамотрицательных бактерий также является известным примером естественной резистентности, которая возникает из-за барьера проницаемости, создаваемого внешней мембраной [13]. Несмотря на то что естественные механизмы АМП обеспечивают низкий уровень устойчивости к антибиотикам, необхо-

димо учитывать, что нормальная комменсальная микрофлора животных или бактерии объектов окружающей среды (водоемов, пастбищ), которые обладают естественными механизмами резистентности, могут стать условно-патогенными микроорганизмами у животных с ослабленным иммунитетом [14]. С другой стороны, механизмы приобретенной устойчивости у бактерий обычно появляются в результате горизонтального переноса генов и включают еще и специфические эффлюксные насосы, кодируемые плазмидой, например, такие как TetK и TetL у *Staphylococcus aureus*, а также ферменты, которые могут модифицировать антибиотик или мишень антибиотика [15, 16]. Данные механизмы представляют более серьезную угрозу для здоровья человека и животных из-за транслокации детерминант АМП с хромосомы на плазмиду, потому что это приводит к их усиленной экспрессии и распространению. Таким примером является перемещение хромосомного гена β -лактамазы AmpC в плазмиду, что привело к его распространению по всему миру [17].

МЕХАНИЗМЫ ПРИОБРЕТЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К АНТИБИОТИКАМ У ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ

Биохимические механизмы устойчивости патогенных бактерий очень похожи на механизмы, обнаруженные у микроорганизмов-продуцентов. Более того, гены АМП патогенных бактерий принадлежат к тем же функциональным семействам, что и у микроорганизмов-продуцентов. Биохимические механизмы АМП подразделяют на несколько групп: модификация или разложение антибиотика; активное выведение АМП из бактериальной клетки (эффлюкс, отток); секвестрация АМП; модификация мишени, или байпас [18, 19].

МЕХАНИЗМ МОДИФИКАЦИИ/ДЕГРАДАЦИИ АНТИБИОТИКА

Данный механизм обычно используется патогенными видами бактерий для устойчивости к аминогликозидам. Цель модификации АМП – сделать его неэффективным, особенно в случае аминогликозидных антибиотиков (например, канамицина, гентамицина и стрептомицина), хлорамфеникола и β -лактамов. Большое количество аминогликозид-модифицирующих ферментов, включая *N*-ацетилтрансферазы, *O*-фосфотрансферазы и *O*-аденилтрансферазы, которые соответственно ацетилируют, фосфорилируют или аденилируют аминогликозидный антибиотик, выявлено у бактерий-продуцентов. Впервые эти ферменты были идентифицированы у представителей рода *Streptomyces* в начале 1970-х гг., а затем выявлены у патогенных бактерий других видов, устойчивых к антибиотикам [20].

Гены, кодирующие ферменты модификации и деградации АМП, обычно расположены на мобильных генетических элементах (mobile genetic elements, MGE) у патогенных бактерий, а у большинства непатогенных бактерий окружающей среды, включая представителей родов *Providencia* и *Acinetobacter*, были обнаружены и хромосомные детерминанты [20]. Эти бактерии считают источником приобретенных детерминант АМП, обнаруженных на MGE у патогенных штаммов. Из известных ферментов, модифицирующих аминогликозиды, наиболее распространенными и изученными у патогенных бактерий являются аминогликозид-*N*-ацетилтрансферазы. Кроме того, было показано, что несколько ферментов

деградации были идентифицированы как у грамположительных, так и у грамотрицательных бактерий [21]. Но наиболее распространенными ферментами модификации/деградации, используемыми патогенными бактериями, являются β -лактамазы. Хотя их роль в жизнедеятельности бактерий-продуцентов все еще остается спорной, известно, что они имеют решающее значение в устойчивости к β -лактамам у грамотрицательных бактерий. У грамположительных бактерий главную роль в механизме модификации/деградации антибиотиков играют пенициллин-связывающие ферменты и β -лактамазы, вероятно, из-за различий в структуре их клеточных стенок. У патогенных изолятов многих видов бактерий идентифицировано более 1000 β -лактамаз, и их количество продолжает увеличиваться из-за постоянно возникающих новых мутаций, позволяющих им адаптироваться к новым β -лактамам. Все известные в настоящее время β -лактамазы делятся на 4 молекулярных класса, в пределах которых ферменты характеризуются общностью свойств и определенной аминокислотной гомологией [22]. Большинство клинически значимых β -лактамаз принадлежат к классам А и С. В частности, класс А включает β -лактамазы *Klebsiella* spp., *Citrobacter diversus*, *Proteus vulgaris* и большинства *Bacteroides* spp., которые кодируются генами хромосомы, а также практически все плазмидные β -лактамазы.

Ферменты класса В относятся к металлоэнзимам, поскольку в качестве кофермента в них присутствует атом цинка, они широко распространены в плазидах представителей семейства *Enterobacteriaceae*. Представители этой группы эффективны в отношении пенициллинов, цефалоспоринов и карбапенемов. Для клинической практики имеют значение β -лактамазы нескольких групп: β -лактамазы расширенного спектра грамотрицательных бактерий, цефалоспориназы грамотрицательных бактерий, металло- β -лактамазы грамотрицательных бактерий [23]. В качестве примера можно привести β -лактамазу TEM-3, которая помещена в категорию β -лактамаз расширенного спектра и может разрушать цефалоспорины 3-го поколения [24], что свидетельствует о быстрой эволюции генов β -лактамаз у патогенных бактерий. Большинство генов β -лактамаз транслоцируются на MGE, что способствует их быстрому распространению в популяциях; но некоторые гены β -лактамаз могут находиться в хромосомах, например, у представителей семейства *Enterobacteriaceae*, где они почти не экспрессируются и представляют собой молчащие гены. Можно предположить, что, как и в случае с ферментами, модифицирующими аминогликозиды, β -лактамазы также могут выполнять двойную функцию, включая обеспечение внутриклеточных потребностей бактерий и устойчивость к антибиотикам [25]. Кроме того, предполагают, что биологическая функция β -лактамаз в бактериальной клетке может заключаться в восстановлении пептидогликана клеточной стенки, но при транслокации их генов в плазмиду происходит их гиперэкспрессия, что приводит к высокой устойчивости к антибиотикам [17].

АКТИВНОЕ ВЫВЕДЕНИЕ АНТИБИОТИКА ИЗ МИКРОБНОЙ КЛЕТКИ (ЭФФЛЮКС, ОТТОК)

Широко распространенным механизмом устойчивости грамположительных и грамотрицательных бактерий к различным АМП, таким как β -лактамы, фторхинолоны, макролиды, линкозамиды, тетрациклины, является

эффлюкс. Этот механизм реализуется различными системами. Первой из них является *нарушение проницаемости оболочки микробной клетки*, этот механизм распространен в основном среди грамотрицательных бактерий, обладающих внешней мембраной, и является наименее специфичным в отношении АМП разных групп. Второй системой активного выведения антибиотика из микробной клетки является *снижение проницаемости и/или оттока антибиотика из бактериальной клетки*. Снижение проницаемости имеет большое значение для грамотрицательных бактерий из-за наличия внешней мембраны, которая образует барьер проницаемости и обеспечивает внутренний механизм защиты от гидрофильных антибиотиков и других антимикробных агентов, таких как ванкомицин [12]. Было показано, что мутации в генах *porina* и изменение их экспрессии дополнительно влияют на восприимчивость грамотрицательных бактерий к гидрофильным антибиотикам [26].

Кроме этих двух механизмов было описано много типов активных эффлюксных насосов как у грамположительных, так и у грамотрицательных бактерий, работу которых обеспечивают белки-транспортеры. Обычно транспортные белки осуществляют импорт или экспорт только одного определенного субстрата. Но в естественных микробных сообществах были обнаружены мультилекарственные или полиспецифические экспортеры, и это позволило предположить, что полиспецифичность широко распространена в естественных микробных сообществах и имеет древнее происхождение [27].

Гены, кодирующие эффлюксные насосы, могут быть как естественными (природными), так и приобретенными. Примеры естественных генов включают *AcrAB-ToIC* у *E. coli*, *NorA* у *St. aureus* и *LmrA* у *Lactococcus lactis*. Из них наиболее изученной системой является трехкомпонентный насос RND *AcrAB-ToIC*. Хотя эта система осуществляет отток очень широкого спектра соединений, ее биологическая функция, как полагают, заключается в экспорте солей желчных кислот у представителей семейства *Enterobacteriaceae* [28]. Приобретенные детерминанты оттока АМП, часто обнаруживаемые на MGE у патогенных бактерий, представлены многими различными типами генов *Tet* (идентифицировано около 22), расположенных на плазидах как у грамотрицательных, так и у грамположительных бактерий [29].

СЕКВЕСТРАЦИЯ АМП

Секвестрация включает функцию белков, связывающих АМП и не позволяющих ему достичь своей цели. Этот механизм в большей степени характерен для микроорганизмов-продуцентов, например, продуцентов блеомицина – представителей видов *Streptoalloteichus hindustanus*, *Streptomyces verticillus* и *Streptomyces flavoviridis*, у которых первичный механизм устойчивости включает секвестрацию связанного с металлами или не содержащего металлов антибиотика [30].

МОДИФИКАЦИЯ МИШЕНИ ДЕЙСТВИЯ, БАЙПАС

Этот механизм обеспечивает выработку дополнительных мишеней или субъединиц у АМП, которые предотвращают его связывание, например, метилирование [18, 19]. Модификация мишени действует как механизм саморезистентности к нескольким классам антибиотиков, включая β -лактамы, гликопептиды, ма-

кролиды, линкозамиды, стрептограммины и аминогликозиды. Большое количество этих механизмов обнаружено у патогенных бактерий. Классическим примером модификации мишени можно рассматривать штаммы метициллин-резистентного золотистого стафилококка, где устойчивость к β -лактамам обеспечивается экзогенным пенициллин-связывающим протеином, у которого транспептидазный домен нечувствителен к действию нескольких различных β -лактамов. Например, β -лактаманый антибиотик имеет структуру, аналогичную субстратам – предшественникам пептидогликана, что позволяет антибиотику связываться и вызывать ацилирование серина в активном центре, и это приводит к его ингибированию [31]. Другим примером модификации мишени является устойчивость к ванкомицину, которая возникает в результате приобретения кластера генов *Van* и обычно является причиной АМР энтерококков [32]. Из многих известных генов данного кластера гены *VanA* и *VanB*, в частности, определяют АМР у патогенных бактерий, поскольку они встречаются на МГЕ [33].

Другие примеры модификации мишени у патогенных бактерий включают точечные мутации или ферментативные изменения мишени [34]. Ферментативное изменение мишени наиболее полно изучено на примере резистентности к макролидам, обусловленной большой группой генов рибосомного метилирования эритромицина (*Erm*). Эти ферменты метилируют специфический аденин в 23S рРНК [35]. У патогенных бактерий гены *Erm* присутствуют на МГЕ и распространены как среди грамположительных, так и грамотрицательных бактерий [35, 36]. Самые известные примеры защиты мишеней у патогенных микроорганизмов включают белки Tet(M) и Tet(O), которые кодируют гены, расположенные на МГЕ у *St. aureus*. Было показано, что эти белки гомологичны факторам элонгации EF-G и EF-Tu, и их связывание с рибосомой облегчает удаление тетрациклина из бактериальной клетки в зависимости от активности GTP-азы [37]. Таким образом, можно сделать вывод, что большинство механизмов АМР бактерий, по-видимому, возникли из внутриклеточных механизмов устойчивости к условиям окружающей среды, и именно включение генетических детерминант АМР в МГЕ патогенных бактерий представляет серьезную угрозу для здоровья животных и человека.

ПРОИСХОЖДЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ К АНТИБИОТИКАМ У ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ

Вопрос о том, каким образом у патогенных бактерий появляются гены устойчивости к АМП, продолжает оставаться дискуссионным. Идея о том, что гены устойчивости патогенов могут быть получены от микроорганизмов – продуцентов антибиотиков путем горизонтального переноса была первоначально предложена в 1970-х гг. [38]. Несмотря на убедительные доказательства того, что их передача может происходить от организмов-продуцентов к патогенным видам, прямая связь в этом процессе между продуцентами и патогенами в настоящее время не выявлена и не доказана. Это связано в первую очередь с тем фактом, что гены устойчивости у продуцентов демонстрируют высокую дивергенцию последовательностей и очень разное содержание G + C по сравнению с детерминантами патогенов, даже когда они используют аналогичные механизмы. Но при этом эволюционную связь между генетическими детерминан-

тами АМР продуцентов и патогенов не отрицают [39]. На основании анализа данных, представленных в доступной литературе, можно предполагать, что передача этих детерминант от продуцентов к патогенным бактериям могла произойти через ряд тесно связанных близкородственных непродуцирующих актиномицет в почве и только потом – к протеобактериям и отдаленным (неродственным) патогенным видам [18].

РОЛЬ ГОРИЗОНТАЛЬНОЙ ПЕРЕДАЧИ ГЕНОВ (HORIZONTAL GENE TRANSFER, HGT) В АМР БАКТЕРИЙ

Передача генетических детерминант АМР между популяциями бактерий осуществляется с помощью механизмов, включающих трансформацию свободной ДНК, трансдукцию бактериофагами или конъюгацию с участием плазмид [14], которые в совокупности называются механизмами HGT. Все три механизма HGT широко используются в природе, хотя некоторые виды бактерий используют один механизм в большей степени, чем два других [40]. Стрептококки, например, используют для обмена генетической информацией трансформацию, тогда как энтеробактерии – конъюгативные плазмиды. Трансформация наиболее хорошо изучена у грамположительных *Streptococcus pneumoniae* и *Bacillus subtilis*, хотя она имеет место и у многих грамотрицательных бактерий. В то же время роль трансформации в физиологии бактерий остается дискуссионной, ее главной целью считают восстановление ДНК или генетическую диверсификацию для повышения адаптации бактерий [41]. Предполагают, что именно трансформация сыграла важную роль в эволюции устойчивых к антибиотикам представителей родов *Streptococcus* и *Neisseria*. Общепринятым считается мнение о том, что трансдукция также играет важную роль в эволюции АМР *St. aureus*, хотя было показано, что она встречается у многих бактерий с низкой частотой в диапазоне от 10^{-6} до 10^{-9} трансдуктантов/бляшкообразующих единиц [42]. Представители вида *St. aureus* являются высоковариабельными бактериями и имеют большой дополнительный геном, состоящий из фагов, плазмид, транспозонов, геномных островов и др. Традиционно полагают, что HGT в целом и трансдукция в частности играют важную роль в переносе генов устойчивости к антибиотикам [43], но из-за сложности обнаружения событий рекомбинации в естественных условиях (вне лаборатории) вклад трансформации или трансдукции в перенос генов АМР в клинических условиях или в окружающей среде остается неясным. Конъюгацию, опосредованную плазмидами, по-прежнему считают более важным механизмом в распространении генов АМР в природе, чем трансформацию или трансдукцию, ввиду того что плазмиды способны к автономной передаче как в окружающей среде, так и в лабораторных условиях [44]. Подтверждением этого являются наиболее известные плазмиды, которые привели к распространению генов устойчивости к карбапенемам и хинолонам у грамотрицательных бактерий на очень большие географические расстояния [45]. Другие элементы ДНК грамположительных бактерий, известные как конъюгативные транспозоны или интегративные конъюгативные элементы, также могут опосредовать конъюгацию. Эти элементы могут как интегрироваться в хромосому, так и вырезаться из нее и передаваться посредством конъюгации другим

бактериям [46]. Для переноса генов устойчивости посредством конъюгации необходима высокая концентрация бактерий, например, как в кишечнике животных и человека, биопленках на объектах окружающей среды, в условиях животноводческих помещений [45, 46]. Исходя из общепринятой концепции, некоторые детерминанты устойчивости были ассоциированы с плазмидами в течение длительного времени, в то время как другие мобилизуются в плазмиды из хромосом, и скорость, с которой эти гены мобилизуются, увеличилась в последние 70 лет, что связывают с широким применением антибиотиков [47].

Новые тенденции в распространении генов AMP:

– увеличение скорости мобилизации детерминанты устойчивости из хромосом в плазмиды;

– кластеризация генов устойчивости к антибиотикам в плазмидах, возможно, в ответ на селективное давление окружающей среды. Хорошо охарактеризованный механизм кластеризации обеспечивается конъюгированной плазмидой pSK41 *St. aureus*, содержащей инсерционную последовательность IS 257, которая способствует захвату небольших плазмид устойчивости [43].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При рассмотрении проблем, связанных с возникновением и распространением AMP бактерий, в качестве одной из основных причин этого явления указывают использование АМП в качестве лекарственных, дезинфицирующих средств и кормовых добавок в разных отраслях народного хозяйства. Естественные (природные) источники происхождения AMP, как правило, во внимание не принимают.

Анализ отечественной и зарубежной литературы позволяет заключить, что:

1. Первоисточниками генетических детерминант AMP были и остаются природные микроорганизмы – продуценты антимикробных веществ. Несмотря на препятствия для обмена генетической информацией между различными родами бактерий, произошел широко распространенный перенос генов AMP от хромосом бактерий окружающей среды к мобилизуемым элементам патогенных бактерий.

2. Микроорганизмы – продуценты антибиотиков имеют, как правило, не один, а множество сложных механизмов самозащиты, обеспечивающих полную защиту от производимых ими биологически активных молекул, и генетические детерминанты саморезистентности почти всегда сгруппированы с генами биосинтеза антибиотиков, и их экспрессия регулируется совместно. Поэтому для полного понимания развития AMP необходимо помимо часто упоминаемых причин AMP учитывать и естественные резервуары генов устойчивости, которые могут включать детерминанты, определяющие саморезистентность микроорганизмов, продуцирующих антибиотики, ввиду того что эти детерминанты устойчивости у представителей микрофлоры окружающей среды в дальнейшем могут привести к увеличению количества подобных детерминант в популяциях патогенных бактерий и возникновению проблем огромных масштабов. То есть для предупреждения распространения AMP необходимо изучать и контролировать распределение детерминант AMP в бактериальных популяциях, выяснять механизмы устойчивости и определять факторы окружающей среды, которые способствуют их распространению [8].

3. Большинство механизмов AMP бактерий, по-видимому, возникли из внутриклеточных механизмов устойчивости к условиям окружающей среды, и именно включение генетических детерминант AMP в MGE патогенных бактерий представляет серьезную угрозу для здоровья животных и человека. На основании анализа данных доступной литературы можно предполагать, что передача этих детерминант от продуцентов к патогенным бактериям могла произойти через ряд тесно связанных близкородственных непродуцирующих актиномицет в почве и только потом – к протеобактериям и отдаленным (неродственным) патогенным видам бактерий.

4. Новые тенденции в распространении генов AMP: увеличение скорости мобилизации детерминанты устойчивости из хромосом в плазмиды наблюдают в последние 70 лет; кластеризация генов устойчивости к антибиотикам в плазмидах, возможно, в ответ на селективное давление окружающей среды. Хорошо охарактеризованный механизм кластеризации обеспечивается конъюгированной плазмидой pSK41 *St. aureus*, которая содержит инсерционную последовательность IS 257, способствующую захвату небольших плазмид устойчивости.

Своевременное выявление изменений в распространении резистентности бактерий к антибиотикам имеет важное практическое и теоретическое значение, так как позволяет корректировать рекомендации по антибактериальной терапии в животноводстве, разрабатывать экспрессные молекулярные методы детекции антибактериальной резистентности, дает важную информацию для создания новых препаратов, преодолевающих резистентность.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. WHO Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance. WHO/CDS/CSR/DRS/2001.2. Geneva; 2001. Available at: https://www.who.int/drugresistance/WHO_Global_Strategy_English.pdf.
2. WHO's first global report on antibiotic resistance reveals serious, worldwide threat to public health. Available at: <https://www.who.int/news/item/30-04-2014-who-s-first-global-report-on-antibiotic-resistance-reveals-serious-worldwide-threat-to-public-health> (date of access: 29.11.2021).
3. European Food Safety Authority; European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union Summary Report on Antimicrobial Resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2018/2019. *EFSAJ*. 2021; 19 (4):e06490. DOI: 10.2903/j.efsa.2021.6490.
4. Bellini C., Troilet N. Résistance aux antibiotiques: état des lieux en Europe et en Suisse et impact pour le praticien = Antibiotic resistance: situation in Europe and Switzerland, and impact for the physician. *Rev. Med. Suisse*. 2016; 12 (534): 1699–1702. PMID: 28686394. (in French)
5. Глобальная стратегия ВОЗ по сдерживанию устойчивости к противомикробным препаратам. WHO/CDS/CSR/DRS/2001.2. Режим доступа: https://www.who.int/drugresistance/WHO_Global_Strategy_Russian.pdf (дата обращения: 29.11.2021).
6. Global'naya strategiya VOZ po sderzhivaniyu ustoichivosti k protivomikrobnym preparatam = WHO global strategy for containment of antimicrobial resistance. WHO/CDS/CSR/DRS/2001.2. Available at: https://www.who.int/drugresistance/WHO_Global_Strategy_Russian.pdf (date of access: 29.11.2021). (in Russ.)
7. Стратегия предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 года: утв. распоряжением Правительства РФ от 25.09.2017 № 2045-р (с изменениями на 11.09.2021). Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/436775118> (дата обращения: 29.11.2021).
8. Strategiya preduprezhdeniya rasprostraneniya antimikrobnoi rezistentnosti v Rossiiskoi Federatsii na period do 2030 goda = Strategy for preventing the spread of antimicrobial resistance in the Russia Federation for the period to 2030 approved by Order of the Russian Federation Government No. 2045-r of 25.09.2017 (as amended on 11.09.2021). Available at: <https://docs.cntd.ru/document/436775118> (date of access: 29.11.2021). (in Russ.)
9. Abbanat D., Morrow B., Bush K. New agents in development for the treatment of bacterial infections. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2008; 8 (5): 582–592. DOI: 10.1016/j.coph.2008.08.001.

8. Peterson E., Kaur P. Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: Relationships between resistance determinants of antibiotic producers, environmental bacteria, and clinical pathogens. *Front. Microbiol.* 2018; 9:2928. DOI: 10.3389/fmicb.2018.02928.
9. Mak S., Xu Y., Nodwell J. R. The expression of antibiotic resistance genes in antibiotic-producing bacteria. *Mol. Microbiol.* 2014; 93 (3): 391–402. DOI: 10.1111/mmi.12689.
10. Fajardo A., Martínez-Martín N., Mercadillo M., Galán J. C., Ghysels B., Matthijs S., et al. The neglected intrinsic resistance of bacterial pathogens. *PLoS One.* 2008; 3 (2): e1619. DOI: 10.1371/journal.pone.0001619.
11. Cox G., Wright G. D. Intrinsic antibiotic resistance: mechanisms, origins, challenges and solutions. *Int. J. Med. Microbiol.* 2013; 303 (6–7): 287–292. DOI: 10.1016/j.ijmm.2013.02.009.
12. Nikaido H., Takatsuka Y. Mechanisms of RND multidrug efflux pumps. *Biochim. Biophys. Acta.* 2009; 1794 (5): 769–781. DOI: 10.1016/j.bbapap.2008.10.004.
13. Arthur M., Courvalin P. Genetics and mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1993; 37 (8): 1563–1571. DOI: 10.1128/AAC.37.8.1563.
14. Wright G. D. The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity. *Nat. Rev. Microbiol.* 2007; 5 (3): 175–186. DOI: 10.1038/nrmicro1614.
15. Bismuth R., Zilhao R., Sakamoto H., Guesdon J. L., Courvalin P. Gene heterogeneity for tetracycline resistance in *Staphylococcus* spp. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1990; 34 (8): 1611–1614. DOI: 10.1128/AAC.34.8.1611.
16. Van Hoek A. H., Mevius D., Guerra B., Mullany P., Roberts A. P., Aarts H. J. Acquired antibiotic resistance genes: an overview. *Front. Microbiol.* 2011; 2:203. DOI: 10.3389/fmicb.2011.00203.
17. Dantas G., Sommer M. O. Context matters – the complex interplay between resistance genotypes and resistance phenotypes. *Curr. Opin. Microbiol.* 2012; 15 (5): 577–582. DOI: 10.1016/j.mib.2012.07.004.
18. Marshall C. G., Wright G. D. DdIN from vancomycin-producing *Amycolatopsis orientalis* C329.2 is a VanA homologue with D-alanyl-D-lactate ligase activity. *J. Bacteriol.* 1998; 180 (21): 5792–5795. DOI: 10.1128/JB.180.21.5792-5795.1998.
19. Benveniste R., Davies J. Aminoglycoside antibiotic-inactivating enzymes in actinomycetes similar to those present in clinical isolates of antibiotic-resistant bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1973; 70 (8): 2276–2280. DOI: 10.1073/pnas.70.8.2276.
20. Yoon E. J., Goussard S., Touchon M., Krizova L., Cerqueira G., Murphy C., et al. Origin in *Acinetobacter guillouiae* and dissemination of the aminoglycoside-modifying enzyme Aph(3)-VI. *mBio.* 2014; 5 (5): e01972-14. DOI: 10.1128/mBio.01972-14.
21. Schwarz S., Kehrenberg C., Doublet B., Cloeckaert A. Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol. *FEMS Microbiol. Rev.* 2004; 28 (5): 519–542. DOI: 10.1016/j.femsre.2004.04.001.
22. Ambler R. P., Coulson A. F., Frère J. M., Ghuysen J. M., Joris B., Forsman M., et al. A standard numbering scheme for the class A beta-lactamases. *Biochem. J.* 1991; 276 (Pt 1): 269–270. DOI: 10.1042/bj2760269.
23. Lukac P. J., Bonomo R. A., Logan L. K. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in children: old foe, emerging threat. *Clin. Infect. Dis.* 2015; 60 (9): 1389–1397. DOI: 10.1093/cid/civ020.
24. Paterson D. L., Bonomo R. A. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin. Microbiol. Rev.* 2005; 18 (4): 657–686. DOI: 10.1128/CMR.18.4.657-686.2005.
25. Martínez J. L. Ecology and evolution of chromosomal gene transfer between environmental microorganisms and pathogens. *Microbiol. Spectr.* 2018; 6 (1). DOI: 10.1128/microbiolspec.MTBP-0006-2016.
26. Li H., Luo Y. F., Williams B. J., Blackwell T. S., Xie C. M. Structure and function of OprD protein in *Pseudomonas aeruginosa*: from antibiotic resistance to novel therapies. *Int. J. Med. Microbiol.* 2012; 302 (2): 63–68. DOI: 10.1016/j.ijmm.2011.10.001.
27. Schindler B. D., Kaatz G. W. Multidrug efflux pumps of Gram-positive bacteria. *Drug Resist. Updat.* 2016; 27: 1–13. DOI: 10.1016/j.drup.2016.04.003.
28. Thanassi D. G., Cheng L. W., Nikaido H. Active efflux of bile salts by *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 1997; 179 (8): 2512–2518. DOI: 10.1128/jb.179.8.2512-2518.1997.
29. Roberts M. C. Update on acquired tetracycline resistance genes. *FEMS Microbiol. Lett.* 2005; 245 (2): 195–203. DOI: 10.1016/j.femsle.2005.02.034.
30. Rudolf J. D., Bigelow L., Chang C., Cuff M. E., Lohman J. R., Chang C. Y., et al. Crystal structure of the zorbamycin-binding protein ZbmA, the primary self-resistance element in *Streptomyces flavoviridis* ATCC21892. *Biochemistry.* 2015; 54 (45): 6842–6851. DOI: 10.1021/acs.biochem.5b01008.
31. Yeats C., Finn R. D., Bateman A. The PASTA domain: a beta-lactam-binding domain. *Trends Biochem. Sci.* 2002; 27 (9): 438. DOI: 10.1016/s0968-0004(02)02164-3.
32. Miller W. R., Munita J. M., Arias C. A. Mechanisms of antibiotic resistance in enterococci. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 2014; 12 (10): 1221–1236. DOI: 10.1586/14787210.2014.956092.
33. Li W., Sharma M., Kaur P. The DrrAB efflux system of *Streptomyces peucetius* is a multidrug transporter of broad substrate specificity. *J. Biol. Chem.* 2014; 289 (18): 12633–12646. DOI: 10.1074/jbc.M113.536136.
34. Munita J. M., Arias C. A. Mechanisms of antibiotic resistance. *Microbiol. Spectr.* 2016; 4 (2). DOI: 10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015.
35. Weisblum B. Erythromycin resistance by ribosome modification. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1995; 39 (3): 577–585. DOI: 10.1128/AAC.39.3.577.
36. Roberts M. C. Update on macrolide-lincosamide-streptogramin, ketolide, and oxazolidinone resistance genes. *FEMS Microbiol. Lett.* 2008; 282 (2): 147–159. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2008.01145.x.
37. Burdett V. Tet(M)-promoted release of tetracycline from ribosomes is GTP dependent. *J. Bacteriol.* 1996; 178 (11): 3246–3251. DOI: 10.1128/jb.178.11.3246-3251.1996.
38. Andersson D. I., Hughes D. Selection and transmission of antibiotic-resistant bacteria. *Microbiol. Spectr.* 2017; 5 (4). DOI: 10.1128/microbiolspec.MTBP-0013-2016.
39. Forsman M., Häggström B., Lindgren L., Jaurin B. Molecular analysis of beta-lactamases from four species of *Streptomyces*: comparison of amino acid sequences with those of other beta-lactamases. *J. Gen. Microbiol.* 1990; 136 (3): 589–598. DOI: 10.1099/00221287-136-3-589.
40. Barlow M., Reik R. A., Jacobs S. D., Medina M., Meyer M. P., McGowan J. E. Jr., Tenover F. C. High rate of mobilization for blaCTX-Ms. *Emerg. Infect. Dis.* 2008; 14 (3): 423–428. DOI: 10.3201/eid1403.070405.
41. Johnston C., Martin B., Fichant G., Polard P., Claverys J. P. Bacterial transformation: distribution, shared mechanisms and divergent control. *Nat. Rev. Microbiol.* 2014; 12 (3): 181–196. DOI: 10.1038/nrmicro3199.
42. Varga M., Kuntová L., Pantůček R., Mašláňová I., Růžičková V., Doškař J. Efficient transfer of antibiotic resistance plasmids by transduction within methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 clone. *FEMS Microbiol. Lett.* 2012; 332 (2): 146–152. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2012.02589.x.
43. Haaber J., Penadés J. R., Ingmer H. Transfer of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol.* 2017; 25 (11): 893–905. DOI: 10.1016/j.tim.2017.05.011.
44. Carattoli A. Plasmids and the spread of resistance. *Int. J. Med. Microbiol.* 2013; 303 (6–7): 298–304. DOI: 10.1016/j.ijmm.2013.02.001.
45. Roberts A. P., Mullany P. Tn916-like genetic elements: a diverse group of modular mobile elements conferring antibiotic resistance. *FEMS Microbiol. Rev.* 2011; 35 (5): 856–871. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2011.00283.x.
46. Thomas C. M., Nielsen K. M. Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene transfer between bacteria. *Nat. Rev. Microbiol.* 2005; 3 (9): 711–721. DOI: 10.1038/nrmicro1234.
47. Domingues S., da Silva G. J., Nielsen K. M. Integrons: Vehicles and pathways for horizontal dissemination in bacteria. *Mob. Genet. Elements.* 2012; 2 (5): 211–223. DOI: 10.4161/mge.22967.

Поступила в редакцию / Received 24.12.2021

Доработана после рецензирования / Revised 11.02.2022

Принята к публикации / Accepted 03.03.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Прунтова Ольга Владиславовна, доктор биологических наук, профессор, главный эксперт информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Русалеев Владимир Сергеевич, доктор ветеринарных наук, профессор, научный секретарь ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Шадрова Наталья Борисовна, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией микробиологических исследований ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Olga V. Pruntova, Doctor of Science (Biology), Professor, Chief Expert, Information and Analysis Centre, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Vladimir S. Russaleyev, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Scientific Secretary, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Natalya B. Shadrova, Candidate of Science (Biology), Head of Laboratory for Microbiological Testing, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.