

УДК 579.61

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКИ ИНЕРТНЫХ КЛЕТОК *Mycobacterium abscessus* ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

© 2023 г. Б. А. Мартини¹, Е. Г. Салина^{1, 2, *}

¹ Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии” Российской академии наук, Москва, 119071 Россия

² Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва, 117997 Россия

*e-mail: elenasalina@yandex.ru

Поступила в редакцию 15.06.2023 г.

После доработки 30.06.2023 г.

Принята к публикации 06.07.2023 г.

Исследовали эффективность действия антибиотиков (амикацин, бедаквилин, линезолид, моксифлоксацин, рифампицин) на метаболически инертные клетки *Mycobacterium abscessus*, полученные *in vitro* в условиях дефицита калия. Обнаружено, что бедаквилин приводил к существенному снижению способности бактерий образовывать колонии на плотных средах, но не приводил их к гибели, поскольку было показано, что при культивировании в жидкой среде наблюдалась их реверсия к состоянию активного деления и роста. Моксифлоксацин обладал бактерицидным действием в отношении метаболически инертных бактерий, необратимо и значительно снижая число жизнеспособных клеток в культуре, что подчеркивает эффективность его применения для терапии инфекций, вызываемых *M. abscessus*.

Ключевые слова: *Mycobacterium abscessus*, муковисцидоз, лекарственная устойчивость, новые лекарственные средства

DOI: 10.31857/S0555109923060089, **EDN:** SKTNEU

Бактерия *Mycobacterium abscessus* относится к нетуберкулезным быстрорастущим микобактериям, и в последнее время этот вид вызывает большие опасения в связи с ростом числа инфицированных ею людей [1]. Несмотря на то, что бактерия *M. abscessus* относится к числу условно патогенных микроорганизмов, она способна вызывать тяжелые трудноизлечимые инфекции легких у лиц, страдающих различными легочными патологиями: муковисцидозом, бронхоэктазами, хронической обструктивной болезнью легких, а также ранее перенесших туберкулез [1, 2]. Кроме того, у людей с ослабленной иммунной системой *M. abscessus* может вызывать инфекцию кожи, мягких тканей, глаз и др. [1, 3]. В настоящее время неясно, в какой степени увеличение числа случаев инфицирования связано улучшенной диагностикой *M. abscessus*, и каков фактический рост заболеваемости. Фактором, который способствует наблюдаемому росту, может выступать увеличение продолжительности жизни пациентов с муковисцидозом и другими предрасполагающими заболеваниями легких. Геном *M. abscessus* имеет значительное сходство с геномом патогенной бактерии *Mycobacterium tuberculosis*, но ис-

пользование противотуберкулезных препаратов для лечения инфекций, вызываемых *M. abscessus*, малоэффективно, поскольку эта бактерия обладает чрезвычайно высокой устойчивостью к большинству антибиотиков [1, 2]. Несмотря на значительные усилия по поиску новых препаратов для лечения инфекций, вызываемых *M. abscessus*, эффективные лекарственные средства все еще не найдены. Одной из причин этого является значительные различия условий, в которых микобактерии инкубируют *in vitro* при тестировании антибактериальной активности соединений — кандидатов в лекарственное средство (сбалансированные среды, богатые компонентами питания), и в клинических условиях “реальной” инфекции, где бактерии вынуждены адаптироваться к неоптимальным условиям окружающей среды, имеющим место во время инфекции, включая недостаток кислорода, нехватку основных компонентов питания и т.д., что приводит к снижению активности метаболических реакций *M. abscessus* и, как следствие, “выключенности” многих мишеней, что делает бактерию толерантной к антибактериальным агентам [4, 5].

Цель работы — изучение влияния дефицита калия, приводящего к переходу в состояние метаболической инертности у микобактерий [6, 7] на восприимчивость *M. abscessus* к лекарственным средствам.

МЕТОДИКА

Объект исследования и условия культивирования. Клетки бактерии *M. abscessus* штамма ATCC 19977, полученного из исследовательского университета “Европейская политехническая школа Лозанны” (Швейцария) хранили при -70°C . Выращивание проводили в синтетической среде Миддлбука (7Н9) (“Himedia”, Индия) или среде Сотона с добавлением 10% ростовой добавки ADC (“Himedia”, Индия) и 0.05% твина-80 (“Neofroxx GmbH”, Германия) при 37°C с перемешиванием (200 об./мин). Состав среды Сотона (на г/л): KH_2PO_4 — 0.5 г; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 1.4; L-аспарагин — 4; глицерин — 60 мл; цитрат железа-аммония — 0.05; цитрат натрия — 2; ZnSO_4 — 0.001, pH 7.0 [8].

Получение метаболически инертных клеток. Для получения метаболически инертных клеток культуру *M. abscessus* выращивали в среде 7Н9 с добавлением 10% ADC и 0.05% твина-80. По достижении значения оптической плотности $\text{OD}_{600} = 5$ –6 культуру пересевали на модифицированную, не содержащую калия среду Сотона с добавлением 10% ростовой добавки ADC и 0.05% твина-80. Процент посевного материала 0.25%, что соответствует стартовой концентрации бактерий 5×10^6 кл. в мл. Состав среды Сотона, не содержащей калия (г/л): $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ — 8.9; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 1.4; L-аспарагин — 4; глицерин — 60 мл; цитрат железа-аммония — 0.05; цитрат натрия — 2; ZnSO_4 — 0.001, pH 7.0 (доводили 1 М NaOH).

Определение числа колониеобразующих единиц. Из суспензии бактериальных клеток последовательно готовили серию десятикратных разведений в свежей среде роста, а затем аликвоты каждого разведения высевали на агаризованную (1.5% агара) синтетическую питательную среду Сотона с добавлением ростовой добавки ADC. Чашки инкубировали при 37°C , число колониеобразующих единиц (КОЕ) *M. abscessus* подсчитывали через 6 сут после посева, определяя его как среднее из результатов подсчета, сделанного в 3 повторностях.

Определение наиболее вероятного числа жизнеспособных клеток. Аликвоты (0.1 мл) серии десятикратных разведений суспензии клеток инокулировали в лунки стерильного 48-луночного планшета (“Corning”, США), содержащие 0.9 мл “среды оживления” [9] с добавлением ростовой добавки ADC, причем каждое разведение было представлено в минимум в 3 повторностях. Планшеты инкубировали в течение 12 сут при 37°C в статическом режиме. При подсчете наиболее ве-

роятного числа (НВЧ) жизнеспособных клеток по стандартным статистическим таблицам [10] учитывали лунки с видимым бактериальным ростом.

Определение минимальной ингибирующей концентрации. Оценку величины минимальной ингибирующей концентрации (МИК) проводили в среде 7Н9 для активнорастущих клеток и среде Сотона, не содержащей калия, для метаболически инертных клеток с добавлением 10% ростовой добавки ADC. Каждая лунка стерильного 96-луночного планшета (“Corning”, США), содержала 0.2 мл среды и 5×10^5 активнорастущих клеток *M. abscessus*, взятых из логарифмической фазы роста, или метаболически инертных клеток после 24 сут их инкубации в условиях дефицита калия, а также различные концентрации антибиотиков, уменьшающихся с шагом 1/2 от максимальной (32 мг/мл) к минимальной. Часть лунок содержала только среду без клеток (отрицательный контроль) или только среду с клетками без добавления антибиотиков (положительный контроль). Планшеты инкубировали при 37°C 24 ч в статическом режиме, после чего в каждую лунку добавляли раствор окислительно-восстановительного индикатора резазурина (“Merck”, Германия) в концентрации 0.025 мг/мл и инкубировали при 37°C еще 16–18 ч. В лунках, которых наблюдалось деление бактериальных клеток (т.е. отсутствие ингибирования антибиотиками) происходило превращение резазурина в флуоресцентный продукт резазурина [11, 12], уровень флуоресценции которого регистрировали на планшетном монохроматорном спектрофлуориметре Fluostar Omega (“BMG-Labtech”, Германия) при длине волны возбуждения 544 нм (длина волны испускания 590 нм). Интенсивность флуоресценции в экспериментальных лунках с антибиотиками сравнивали с интенсивностью флуоресценции в лунках без добавления антибиотиков (положительный контроль). МИК антибиотиков определяли как концентрацию, в присутствии которой наблюдалось падение интенсивности флуоресценции, пропорциональной уменьшению числа жизнеспособных бактериальных клеток, на 80% и более по сравнению с интенсивностью флуоресценции в лунках, соответствующих положительному контролю без антибиотика [11, 12].

Определение бактерицидной активности. Бактерицидную активность антибиотиков в отношении метаболически инертных клеток, полученных после 24 сут инкубации в условиях недостатка калия, определяли в соответствии с протоколом [13], регистрируя динамику изменения КОЕ и НВЧ в культуре. Для этого культуру инертных клеток $\text{OD}_{600} = 6$ –7 разводили супернатантом до $\text{OD}_{600} = 0.1$ и инкубировали на качалке при 37°C и 200 об./мин в присутствии 100 мкг/мл антибиотиков. Через

определенные промежутки времени клетки отмывали свежей средой от антибиотиков и делали высевы аликвот серии десятикратных разведений на жидкую и плотную питательные среды. Значения КОЕ и НВЧ определяли как среднее из результатов эксперимента, сделанного в 3 повторностях.

Измерение дыхательной активности. Для оценки уровня дыхательной активности клеток измеряли изменение оптической плотности при 600 нм искусственного акцептора электронов 2,6-дихлорфенола-индофенолята натрия (ДФИ) ("Merck", Германия) в присутствии менадиона при 37°C [14]. Измерения проводили в планшетном монохроматорном спектрофлуориметре Fluostar Omega ("BMG-Labtech", Германия). Реакционная смесь объемом 0.2 мл содержала: 0.5 мМ 2,6-ДФИ, 0.15 мМ менадиона, 1×10^7 жизнеспособных клеток микобактерий, подсчитанных методом НВЧ, и ресуспендированных в 0.01 М фосфатном буфере pH 6.8. Дыхательную активность определяли как число моль ДФИ, превращенных 1 кл. за 1 мин, определяя ее как среднее из результатов 3 измерений, относительная погрешность при этом не превышала 5%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование динамики изменения числа КОЕ *M. abscessus* при инкубации в условиях дефицита калия. Ранее было установлено, что условия дефицита калия являются специфическим внешним сигналом для перехода бактерий *M. tuberculosis* и *Mycobacterium smegmatis* в состояние покоя и "некультивируемости" *in vitro* [6, 7]. Полученные покоящиеся "некультивируемые" клетки характеризовались существенно сниженной способностью к образованию колоний на плотных питательных средах. Используя условия дефицита калия в питательной среде, мы разработали модельную систему *in vitro* для поиска антибактериальных агентов, направленных против латентной формы туберкулеза. В этой модельной системе число КОЕ обратимо снижалось до нуля с сохранением жизнеспособности клеток и их способности ревертировать в состояние активного деления и роста [15].

В настоящей работе подход, связанный с недостатком калия в питательной среде, был также применен нами для формирования метаболически инертного состояния у *M. abscessus*, характеризующегося снижением способности клеток к делению и росту. В результате продолжительного инкубирования (24 сут) *M. abscessus* в условиях недостатка калия были получены клетки со сниженным уровнем метаболической активности, что подтверждалось снижением их дыхательной активности, определенной по способности клеток превращать искусственный акцептор электронов ДФИ. Так, дыхательная активность клеток,

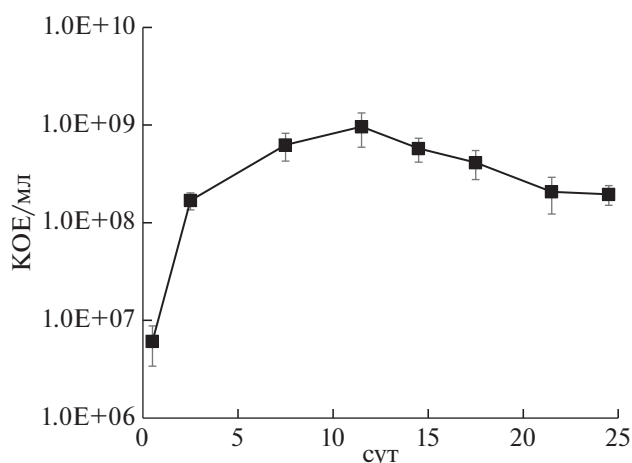


Рис. 1. Динамика КОЕ *M. abscessus* при инкубации в среде без калия.

инкубировавшихся в K^+ -лимитированной среде в течение 24 сут, составила $0.27 \pm 0.03 \times 10^{-15}$ моль ДФИ/(кл. · мин), тогда как для клеток логарифмической фазы роста, растущих в стандартной среде Сотона, дыхательная активность соответствовала $1.91 \pm 0.23 \times 10^{-15}$ моль ДФИ/(кл. · мин), что указывало на снижение дыхательной активности более чем в 7 раз. При этом у *M. abscessus* не было обнаружено драматического снижения числа КОЕ до нуля при ограничении доступности калия, как это наблюдалось у *M. smegmatis* и *M. tuberculosis* в K^+ -лимитированной среде [6, 7]. Через 24 сут инкубирования в условиях дефицита калия число КОЕ у *M. abscessus* уменьшалось всего на 79.7% (рис. 1).

Изучение эффективности антибиотиков в отношении активных и инертных клеток. Известно, что ввиду отсутствия специфических лекарственных средств, эффективных в отношении *M. abscessus*, для лечения инфекций, вызываемых этой бактерией, часто рекомендуются такие препараты, как амикацин, линезолид, моксифлоксацин и др., однако данные об их эффективности являются неполными и иногда противоречивыми. Мы определили значения МИК амикацина, бедаквилина, линезолида, моксифлоксацина, рифампицина в отношении активно делящихся клеток *M. abscessus* логарифмической фазы роста, растущих без дефицита калия, и обнаружили, что они находятся в интервале 2–16 мкг/мл (табл. 1). Далее мы определили МИК для указанных антибиотиков в отношении метаболически инертных клеток, полученных после 24 сут инкубации в условиях дефицита калия, и получили примерно такой же интервал значений (табл. 1). Полученные значения МИК являются хотя и достаточно высокими, но, тем не менее, позволяют рассматривать данные антибиотики

Таблица 1. Значения МИК антибиотиков в отношении *M. abscessus*

Антибиотики	МИК, мкг/мл	
	Активные клетки	Инертные клетки
Амикацин	16	16
Бедаквилин	2	2
Линезолид	2–4	4
Моксифлоксацин	2–4	4
Рифампицин	4	8

Таблица 2. Значения КОЕ, НВЧ и индекса реверсии для метаболически инертных клеток *M. abscessus*, полученных в условиях дефицита калия, после 12 сут инкубации в присутствии антибиотиков в концентрации 100 мкг/мл

Антибиотик	КОЕ/мл	НВЧ/мл	Индекс реверсии, НВЧ/КОЕ
Контроль	1.13×10^6	1.10×10^8	97
Амикацин	9.75×10^5	1.50×10^7	15
Бедаквилин	1.05×10^4	1.10×10^8	10476
Линезолид	1.45×10^5	1.50×10^7	103
Моксифлоксацин	4.25×10^3	4.60×10^5	108
Рифампицин	1.25×10^6	1.10×10^8	88

как перспективные для лечения инфекций, вызываемых *M. abscessus*.

Изучение бактерицидной активности антибиотиков в отношении метаболически инертных клеток, полученных в условиях дефицита калия. Принимая во внимание снижение активности метаболических процессов и возможную толерантность *M. abscessus* к антибактериальным агентам при инфекции, на следующем этапе мы изучали бактерицидную активность антибиотиков в отношении метаболически инертных клеток, полученных в условиях дефицита калия. Для этого мы регистрировали изменение числа КОЕ клеток *M. abscessus*, полученных после 24 сут инкубации в калий-дефицитной среде, под действием 100 мкг/мл исследуемых антибиотиков в динамике, делая высеvy на плотные питательные среды через 4, 8 и 12 сут инкубации с антибиотиками (рис. 2). В контрольном образце клеток *M. abscessus* без дополнительного внесения антибиотиков, которые продолжали инкубироваться в калий-дефицитной среде, происходило дальнейшее постепенное снижение числа КОЕ, и присутствие рифампицина и амикацина в концентрации 100 мкг/мл в культуре клеток не приводило к дополнительному его снижению

(рис. 2). Внесение линезолида в концентрации 100 мкг/мл незначительно влияло на изменение числа КОЕ через 4 и 8 сут инкубации, однако через 12 сут число КОЕ снижалось в 10 раз по сравнению с контрольным образцом без антибиотика (рис. 2). Добавление моксифлоксацина и бедаквилина вызывало максимальное — на 2 и более порядка по сравнению с контрольным образцом клеток — снижение числа КОЕ через 12 сут инкубации (рис. 2).

Для того, чтобы оценить, являлось ли наблюдаемое снижение КОЕ необратимым, то есть следствием гибели клеток под действием тестируемых антибиотиков (и свидетельством их “истинной” бактерицидной активности в отношении инертных бактерий), или же имел место частичный обратимый переход *M. abscessus* в состояние сниженной культивируемости под действием высоких концентраций антибиотиков без потери их жизнеспособности, параллельно с высевом на плотные среды и подсчетом КОЕ через 12 сут инкубации нами был проведен высеv культуры на жидкую синтетическую среду “оживления” с применением метода конечных разведений [7]. Культивирование на указанной среде предполагает выявление и учет форм с возможной сниженной способностью к делению и росту. Подсчет числа жизнеспособных бактерий производился методом НВЧ исходя из числа лунок с видимым бактериальным ростом. Оказалось, что после 12 сут инкубации с исследуемыми антибиотиками только присутствие моксифлоксацина приводило к выраженному снижению числа как КОЕ (4.30×10^3 /мл), так и НВЧ (4.60×10^5 /мл) по сравнению с контрольным образцом клеток (табл. 2), что свидетельствовало об их гибели. То есть, моксифлоксацин проявлял “истинную” бактерицидную активность в отношении клеток *M. abscessus* со сниженной дыхательной активностью, полученным в условиях недостатка калия, с незначительной реверсией к состоянию активного деления и роста при отмывке клеток от антибиотика и перенесении их в сбалансированную жидкую среду “оживления”. Бедаквилин, который также вызывал заметное снижение числа КОЕ после 12 сут инкубирования с *M. abscessus* (более чем на 4 порядка по сравнению с начальной точкой, рис. 2), не вызывал снижения НВЧ жизнеспособных клеток (оно совпадало со значением НВЧ контрольного образца, табл. 2). Таким образом, инкубация метаболически инертных *M. abscessus* с бедаквилином в концентрации 100 мкг/мл не приводила к их гибели, поскольку при переносе клеток в жидкую сбалансированную среду “оживления” наблюдался высокий (свыше 10000) индекс реверсии к состоянию активного роста и деления (табл. 2).

Проблема поиска лекарственных средств для лечения инфекций, вызываемых *M. abscessus*, стоит очень остро, поскольку данная бактерия явля-

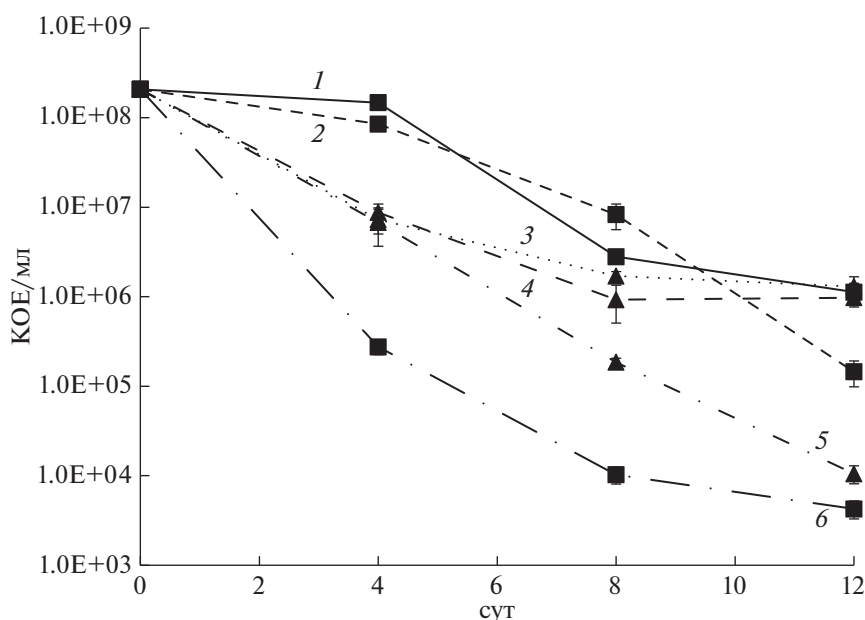


Рис. 2. Динамика снижения числа КОЕ метаболчески инертных *M. abscessus* под действием антибиотиков в концентрации 100 мкг/мл: 1 – контроль, 2 – линезолид, 3 – амикацин, 4 – рифампицин, 5 – бекваклин, 6 – моксифлоксацин.

ется мультирезистентным микроорганизмом и обладает устойчивостью к большинству антибиотиков [1–3]. Необычайно широкий арсенал ферментов-деактиваторов антибактериальных агентов и эффлюксных насосов, что является одной из особенностей *M. abscessus*, служит существенным препятствием в разработке эффективных терапевтических схем лечения инфекций [1, 2]. Кроме того, большое значение имеет принципиальное различие условий, в которых *M. abscessus* находится в процессе тестирования антибактериальной активности соединений-кандидатов в лекарственное средство в условиях лаборатории, и в клинической практике, где они испытывают давление со стороны инфицированного макроорганизма и подвергаются воздействию многих стрессовых факторов, адаптируя свои метаболесические реакции с целью повысить толерантность к неблагоприятным внешним условиям [4, 5].

Подход к анализу эффективности лекарственных средств *in vitro*, связанный с использованием в качестве модели для тестирования клеток со сниженной метаболесической активностью, полученных в условиях дефицита калия, подтвердил неэффективность применения рифампицина при терапии инфекций, вызываемых *M. abscessus*; механизм устойчивости бактерии к рифампицину был выявлен и описан ранее [1, 16]. Однако мы обнаружили, что активно используемые в настоящее время в клинической практике для лечения инфекций, вызываемых *M. abscessus*, линезолид и особенно амикацин, имели низкую эффективность

в модельной системе *in vitro* с использованием метаболесически инертных клеток. Моксифлоксацин – один из антибиотиков для лечения инфекций, вызываемых *M. abscessus* [2], характеризовался максимальной эффективностью в модельной системе с применением клеток со сниженной метаболесической активностью. Необходимо отметить, что бекваклин, который в настоящее время не применяется для лечения инфекций, вызываемых *M. abscessus*, может также обладать существенным терапевтическим потенциалом, поскольку он эффективно снижал число КОЕ метаболесически инертных клеток. Реверсия клеток, обработанных бекваклином, в активное, делящееся состояние при переносе в жидкую сбалансированную среду “оживления”, установленная методом конечных разведений с подсчетом НВЧ жизнеспособных клеток, исключающим возобновление роста за счет персистеров, могла быть связана с непродолжительным временем воздействия антибиотика, используемого в эксперименте. О потенциальной возможности применения бекваклина как альтернативного агента для борьбы с инфекциями, вызываемыми *M. abscessus*, ранее уже сообщалось в работе [17].

Таким образом, изучение эффективности лекарственных препаратов в отношении клеток *M. abscessus* со сниженной метаболесической активностью, которые по своим характеристикам ближе к клеткам *in vivo* при инфекции, чем активно делящиеся *M. abscessus*, в будущем может выявить перспективные антимикобактериальные агенты с

бактерицидной активностью в отношении *M. abscessus*, увеличить эффективность проводимой терапии и сократить ее сроки.

Работа частично поддержана Российским научным фондом, грант 23-15-00173 (изучение условий получения метаболически инертных форм *M. abscessus*).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Johansen M.D., Herrmann J.L., Kremer L. // Nat. Rev. Microbiol. 2020. V. 18. № 1. P. 392–407. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0331-1>
2. Recchia D., Stelitano G., Stamilla A., Gutierrez D.L., Degiacomi G., Chiarelli L.R., Pasca M.R. // Int. J. Mol. Sci. 2023. V. 24. № 5. P. 4635. <https://doi.org/10.3390/ijms24054635>
3. Sepulcri C., Vena A., Bassetti M. // Curr. Opin. Infect. Dis. 2023. V. 36. № 2. P. 74–80. <https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000905>
4. Berube B.J., Castro L., Russell D., Ovechkina Y., Parish T. // Front Microbiol. 2018. V. 9. P. 2417. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02417>
5. Yam Y.K., Alvarez N., Go M.L., Dick T. // Front Microbiol. 2020. V. 11. P. 359. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00359>
6. Shleeva M., Mukamolova G.V., Young M., Williams H.D., Kaprelyants A.S. // Microbiology. 2004. V. 150. P. 1687–1697. <https://doi.org/10.1099/mic.0.26893-0>
7. Salina E.G., Waddell S.J., Hoffmann N., Rosenkrands I., Butcher P.D., Kaprelyants A.S. // Open Biol. 2014. V. 4. P. 140106. <https://doi.org/10.1098/rsob.140106>
8. Connell N. // Methods Cell Biol. 1994. V. 45. P. 107–125. [https://doi.org/10.1016/s0091-679x\(08\)61848-8](https://doi.org/10.1016/s0091-679x(08)61848-8)
9. Shleeva M.O., Kudykina Y.K., Vostroknutova G.N., Suzina N.E., Mulyukin A.L., Kaprelyants A.S. // Tuberculosis (Edinb). 2011. V. 91. P. 146–154. <https://doi.org/10.1016/j.tube.2010.12.006>
10. de Man J.C. // J. Appl. Microbiol. 1975. V. 1. P. 67–78. <https://doi.org/10.1007/BF01880621>
11. Palomino J.C., Martin A., Camacho M., Guerra H., Swings J., Portaels F. // Antimicrob. Agents Chemother. 2002. V. 46. № 8. P. 2720–2722. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.8.2720-2722.2002>
12. Coban A.Y., Deveci A., Sunter A.T., Palomino J.C., Martin A. // Int J Mycobacteriol. 2014. V. 3. № 4. P. 230–241. <https://doi.org/10.1016/j.ijmyco.2014.09.002>
13. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. // Clinical and Laboratory Standard Institute Wayne, V. 27(1). 17th Information Supplement.
14. Myers A. // J. Biol. Educ. 1990. V. 24. № 2. P. 123–127. <https://doi.org/10.1080/00219266.1990.9655123>
15. Salina E., Ryabova O., Kaprelyants A., Makarov V. // Antimicrob. Agents Chemother. 2014. V. 58. № 1. P. 55–60. <https://doi.org/10.1128/AAC.01308-13>
16. Hurst-Hess K.R., Saxena A., Rudra P., Yang Y., Ghosh P. // Mol. Cell. 2022. V. 82. № 17. P. 3166–3177. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2022.06.034>
17. Vesenbeckh S., Schönfeld N., Roth A., Bettermann G., Krieger D., Bauer T.T., Rüssmann H., Mauch H. // Eur. Respir. J. 2017. V. 49. № 5. P. 1700083. <https://doi.org/10.1183/13993003.000083-2017>

Use of Metabolic Inert *Mycobacterium abscessus* Cells to Study the Efficiency Of Drugs

B. A. Martini^a and E. G. Salina^{a, b, *}

^aA.N. Bach Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnologies Russian Academy of Sciences, Moscow, 119071 Russia

^bShemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, 117997 Russia

*e-mail: elenasalina@yandex.ru

We investigated the effectiveness of antibiotics (amikacin, bedaquiline, linezolid, moxifloxacin, rifampicin) on metabolically inert *M. abscessus* obtained under conditions of potassium deficiency *in vitro*. It was found that bedaquiline led to a significant decrease in the ability of bacteria to form colonies on solid media, but did not lead to their death, since it was shown that during cultivation in a liquid medium, they reverted to a state of active division and growth. Moxifloxacin had a bactericidal effect against metabolically inert bacteria, irreversibly and significantly reducing the number of viable cells in culture, which emphasizes the effectiveness of its use for the treatment of infections caused by *M. abscessus*.

Keywords: *Mycobacterium abscessus*, cystic fibrosis, drug tolerance, new drugs