



抗生素耐药基因质粒的适应性代价研究

徐燕星, 程浩, 胡小婕, 秦超, 高彦征*

南京农业大学土壤有机污染控制与修复研究所, 南京 210095

* E-mail: gaoyanzheng@njau.edu.cn

收稿日期: 2024-09-30; 接受日期: 2025-01-14; 网络版发表日期: 2025-03-26

国家重点研发计划(批准号: 2023YFC3708100, 2023YFE0110800)和国家自然科学基金(批准号: 42430703, U22A20590)资助项目

摘要 抗生素耐药性与细菌适应性密切相关, 抗生素耐药基因(antibiotic resistance genes, ARGs)质粒在全球抗生素耐药性传播中发挥着重要作用. 然而, ARGs质粒在促进宿主细菌适应多种环境的同时, 也使宿主细菌产生了适应性代价. 在抗生素选择压力下, ARGs质粒协助宿主细菌倾向于保留质粒以适应抗生素环境. 在无抗生素选择压力下, 携带ARGs质粒则使宿主细菌在整个生命周期中产生适应性代价, 表现出生长-生存效应(生长速率和存活能力降低)、垂直-水平转移效应(转移方式改变和抑制质粒转移)以及细菌毒力效应(对宿主侵袭力降低和毒素分泌减少)等适应性代价效应, 从而降低了与原始细菌的竞争力和生态位, 甚至会从群体中消失. 但宿主细菌仍可以通过一些途径(突变补偿性进化、非突变补偿进化以及接合转移)降低适应性代价, 从而使其可以稳定持留在群体中. 各种ARGs质粒适应性代价降低途径的发生, 使仅通过控制抗生素滥用逆转细菌耐药性的驱动力变慢甚至停滞. 今后应探究更多适应性代价降低途径的阻断方式以及不产生适应性代价的ARGs质粒的抗生素敏感性恢复方法, 以多角度探索耐药性传播的限制途径, 并尝试更多实际环境条件, 以期为解决抗生素耐药危机提供新思路的同时, 建立多角度的风险评估体系.

关键词 抗生素耐药基因, 质粒, 适应性代价, 降低途径

1 引言

抗生素的长期不当使用和滥用导致了全球耐药危机, 严重威胁了生态环境和人类健康. 近日学术期刊《柳叶刀》发表的一项研究表明, 2021年全球估计有114万人死于抗生素耐药性, 并预计2025~2050年这一数字将超过3900万人^[1]. 而抗生素耐药基因(antibiotic resistance genes, ARGs)质粒是扩散抗生素耐药性的重大元凶之一^[2]. 在选择压力(即抗生素环境)下, ARGs质

粒所携带的ARGs可以帮助宿主细菌获得耐药性的同时适应不同的环境, 从而为宿主细菌在生存竞争中提供显著优势. 而当环境中的抗生素选择压力消失(即无抗生素环境)时, 携带ARGs质粒便会成为宿主细菌生存的负担, 甚至降低宿主细菌的适应性^[3,4], 即产生“质粒适应性代价”.

通常, 携带ARGs的质粒需要在选择压力下, 通过垂直遗传或水平转移维持稳定^[5]. 但实际环境的抗生素残留浓度尚达不到耐药基因的选择浓度, 从而极易

引用格式: 徐燕星, 程浩, 胡小婕, 等. 抗生素耐药基因质粒的适应性代价研究. 中国科学: 技术科学, 2025, 55: 662–680

Xu Y X, Cheng H, Hu X J, et al. Fitness costs of plasmids carrying antibiotic resistance genes (in Chinese). Sci Sin Tech, 2025, 55: 662–680, doi: 10.1360/SST-2024-0258

使携带ARGs质粒的宿主细菌产生适应性代价. 在无选择压力下, 适应性代价会在宿主细菌的整个生命周期中产生^[6], 而当ARGs质粒使宿主细菌产生的这种适应性代价超过其获得的益处时, 便会使宿主细菌难以与原始细菌竞争, 从而很快被群体清除.

适应性代价的存在为停止抗生素滥用降低耐药性传播提供了依据, 而降低途径(补偿性进化、非补偿性进化和接合转移)对适应性代价的改善, 则使其逆转耐药性的驱动力变慢甚至停滞. 因此, 为了进一步寻求有效阻断耐药性传播的方法, 需要根据不同的ARGs质粒制定不同的耐药性问题策略. 然而, 此类研究所涉及的ARGs质粒种类繁多, 所揭示的质粒适应性代价效应及降低途径复杂, 目前研究尚缺乏有效的梳理与总结. 基于此, 依据当前研究, 本文综述了ARGs质粒适应性代价的产生机制、效应及降低途径, 总结了适应性代价对耐药性问题的影响及策略. 并在此基础上, 指出了现有研究尚存的不足与未来的研究方向, 以期为人们系统、全面地认识适应性代价提供科学依据, 进而提升人们对降低耐药细菌产生频率、逆转细菌耐药性等方面的认知.

2 抗生素耐药基因质粒适应性代价的产生

2.1 适应性代价的产生

细菌适应性是指细菌调节自身代谢以适应各种环境条件(温度、pH、营养、渗透压、抗生素等), 从而维持其生存以及繁殖的能力^[7]. 在选择压力下, 细菌通过自身染色体突变获得耐药性, 而当选择压力消失后, 获得耐药性的细菌适应性会明显低于种群内细菌的平均适应性(种群内的适应性下降, 图1(a)), 即获得耐药性的细菌产生了适应性代价, 其主要表现为生长速率下降、竞争力变弱、运动能力减弱等^[8]. 例如, 野生型无多黏菌素(*mcr-1*)基因使大肠杆菌可以迅速适应*mcr-1*存在环境, 而当*mcr-1*存在环境消失时, 携带*mcr-1*及其变体的大肠杆菌生长速率显著降低^[9]. Wen等人^[10]通过竞争实验对比耐药型大肠杆菌和敏感型大肠杆菌竞争能力时发现, 在无多西环素环境中, 耐药型大肠杆菌的生长会受到抑制, 并使其与敏感型菌竞争的能力减弱. Stickland等人^[11]研究发现, 铜绿假单胞菌通过突变获得氟喹诺酮类药物耐药性的同时, 也会导致其运动能力(泳动、丛动和滑行)受损, 而当突变的铜绿假单

胞菌与野生的铜绿假单胞菌混合培养生长时, 突变的铜绿假单胞菌则会被迅速淘汰. 此外, 细菌的运动能力还会使它们趋向有利于生长的环境, 以促进自身增殖. Piskovsky和Oliveira^[12]通过定量模型揭示了运动对细菌在抗生素环境中适应极限的决定性作用, 发现细胞运动会影响基因型混合和生态竞争的程度, 从而加速或减缓细菌的适应, 而在足够高的速率下, 细胞运动反而会限制细菌的生存.

此外, 质粒介导的耐药性也是细菌获得耐药基因的主要途径之一^[13]. 通常, 携带ARGs质粒的宿主细菌能够在相应的抗性条件下稳定留存, 但是当抗性条件消失, 宿主细菌便会产生适应性代价^[6]. 且与原始细菌相比, 额外增加的生理负担和能量的消耗会显著影响宿主细菌的生长状态, 降低其生长速率, 进而减弱宿主细菌与其他细菌的能量竞争以及生态位竞争能力^[14]. 质粒的这种适应性代价以及细菌繁殖分裂过程中出现的质粒丢失^[15], 阻碍了质粒在细菌群落中的生存, 并随时间推移使得宿主细菌逐步被原始细菌取代(图1(a)).

2.2 质粒在宿主细菌生命周期中适应性代价的产生机制

质粒在宿主细菌生命周期的每个过程都会产生适应性代价^[6]. 如图1(b)所示, 质粒在宿主细菌发生质粒接收、质粒重组、质粒复制、质粒编码基因表达、质粒分配以及质粒互作等过程, 产生了适应性代价, 并且产生机制也都有所不同.

2.2.1 质粒接收过程中适应性代价的产生机制

能量消耗. 水平转移时需要预先消耗能量以形成接合系统(如接合通道)和DNA摄取系统(如质粒易位), 再通过接合系统和DNA摄取系统表达以实现质粒接收, 而这些过程在运输质粒时便会产生额外的能量消耗. 如在由IV型分泌系统编码的蛋白形成接合通道的过程中, 需要三种不同的ATP酶发挥作用, 而这会引起宿主细菌耗能增加, 从而使细菌产生适应性代价^[16].

诱导应激反应产生. 获取质粒会激活宿主细菌的应激反应, 进一步加刷新质粒的代谢负担. 如含F质粒的供体细菌接合转移过程中, 性菌毛的形成会触发供体细菌的应激反应消耗大量能量^[17,18], 从而降低细菌

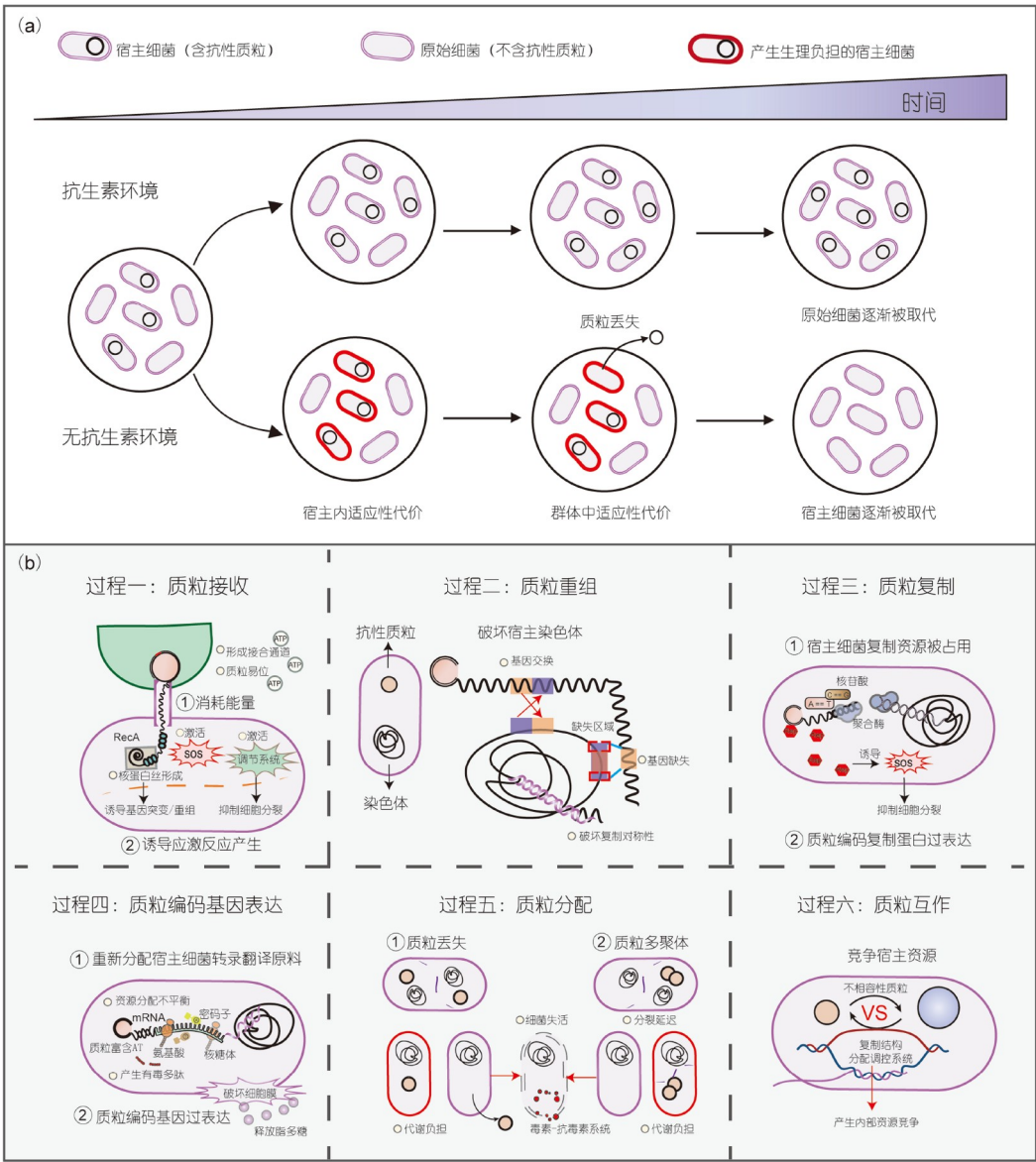


图 1 (网络版彩图)质粒适应性代价及其在宿主生命周期中适应性代价的产生机制
Figure 1 (Color online) Plasmid fitness cost and the mechanism during their life cycle in the bacterial host.

适应性. 此外, 宿主细菌的SOS应答机制也同样在接收质粒时触发. 当质粒以单链DNA分子的形式进入宿主细菌时会激活SOS应答, 使单链DNA分子与RecA发生结合, 形成核蛋白丝并积累, 激活易错DNA聚合酶. 但由于宿主细菌的修复能力有限, 易造成宿主细菌基因突变率和重组的概率增高^[19,20]. 同时, 宿主细菌为适应SOS应答, 也会激活相应的SOS调节系统, 从而抑制细胞分裂, 使宿主细菌适应性下降^[6,21].

2.2.2 质粒整合过程中适应性代价的产生机制

破坏宿主染色体. 作为外源DNA, 质粒通常需要通过破坏染色体区域方能整合至宿主细菌染色体, 同时会诱导宿主细菌产生适应性代价. 例如, 线性质粒(SCP1)能够整合至天蓝色链霉菌染色体的中间位置, 并导致染色体中部分G残基丢失^[22]; 质粒(SLP2和pPZGIO1P)通过重组或转座等方式整合至宿主染色

体, 导致宿主染色体和质粒之间的末端发生交换^[23-25]. 此外, 宿主染色体整合的质粒基因作为染色体中的副产物, 也可能会破坏宿主细菌环状染色体复制起点的对称性, 从而降低宿主细菌的适应性, 即产生适应性代价^[26].

2.2.3 质粒复制过程中适应性代价的产生机制

宿主细菌复制资源被占用. 质粒利用宿主细菌的复制资源(核苷酸、DNA聚合酶和解旋酶等)进行复制, 会对宿主细菌产生代谢负担, 使宿主细菌产生适应性代价. 质粒在宿主细菌中复制会引起细胞内核苷酸的缺乏, 因分子途径结构的限制, 会导致有毒代谢中间体(如乙酸盐)积累^[27]. 而且碱基偏倚会诱导不同的适应性代价. Dietel等人^[28]研究发现, 在大肠杆菌中, 富含GC碱基的质粒比富含AT碱基的质粒产生的适应性代价更高, 并且由富含GC碱基的质粒产生的适应性代价会随着宿主染色体GC碱基含量的增加而降低. 此外, 宿主细菌代谢负担会受质粒拷贝数影响, 呈现出质粒拷贝数越高, 产生的适应性代价越高的趋势. Rouches等人^[29]研究了拷贝数对宿主大肠杆菌的生长和代谢的影响, 发现质粒表达产生的代谢负担与拷贝数呈线性关系, 并通过资源分配模型计算得出每个质粒会对宿主产生约0.063%的代谢负担. Yang等人^[30]则发现质粒复制时具有高拷贝数的*mcr-1*质粒会使宿主细菌产生适应性代价, 并抑制宿主细菌的生长. Jones等人^[31]也发现高拷贝数会诱导宿主细菌产生更高的代谢负担, 产生适应性代价, 从而抑制宿主细菌生长.

质粒编码的复制起始蛋白(Rep)过表达. 质粒编码的复制起始蛋白(Rep)会募集宿主细菌复制资源进行质粒复制, 一方面造成使宿主染色体复制资源被占用, 另一方面过表达的蛋白还会诱导应激反应, 从而降低宿主细菌适应性. Ingmer等人^[32]发现质粒pSC101的RepA蛋白的过表达会诱导宿主细菌发生SOS反应, 从而延迟细胞分裂和宿主DNA复制, 进而产生适应性代价.

2.2.4 质粒编码基因表达过程中适应性代价的产生机制

重新分配宿主细菌转录翻译原料. 质粒编码基因表达的过程中宿主细菌会重新分配转录翻译原料(RNA聚合酶、密码子库、氨基酸库和核糖体等), 使

正常基因表达受到影响, 从而使宿主细菌产生适应性代价. 而由于质粒碱基偏倚会影响转录翻译原料的重新分配, 造成了自然竞争过程中质粒AT碱基含量高于宿主染色体^[33], 不仅诱导了质粒复制时产生适应性代价的差异, 还可能通过改变宿主染色体转录原料的分配和利用率, 产生毒力基因表达, 进而使宿主细菌产生适应性代价^[34]. 此外, AT碱基含量不同也会造成宿主细菌密码子库和氨基酸库的使用不平衡, 导致核糖体分配效率降低甚至核糖体停滞, 而核糖体的停滞则可能会产生异常或有毒的新生多肽, 从而对宿主细菌生存造成影响^[35,36]. 并且, 富含AT碱基的质粒DNA通常易于被宿主细菌转录, 导致宿主细菌的RNA聚合酶重新分配, 并在其重新分配期间产生毒性^[37,38]. Mairhofer等人^[39]通过比较质粒与染色体整合前后的表达系统, 发现携带质粒的菌株会产生更强的应激反应, 同时, 大量的质粒编码基因转录, 会使核糖体和其他细胞资源转移, 从而对宿主细菌代谢产生负担.

质粒编码基因过表达. 质粒编码基因过量表达也会影响宿主细菌生理状态, 使其在生存竞争中失去优势, 从而产生适应性代价. Li等人^[40]分析了携带黏菌素耐药基因的ARGs质粒及其变体基因对宿主细菌产生的适应性代价和毒力, 发现质粒携带的*mcr-1~mcr-5*基因过表达, 导致宿主细菌膜损伤和细胞膜脂多糖释放, 从而降低了宿主细菌的适应性. 此外, 一些质粒基因编码的特定蛋白与宿主之间的不兼容性也可能引起质粒适应性代价的升高. 例如, 质粒编码的外排泵或接合性菌毛会破坏宿主细菌细胞膜, 从而影响宿主细菌的正常生长^[41].

2.2.5 质粒分配过程中适应性代价的产生机制

质粒丢失. 质粒在宿主细菌中的不稳定分离会导致质粒完全丢失. 并且, 质粒的毒素-抗毒素系统会在其分离后使由于复制或分离错误而丢失质粒的宿主细菌失活, 从而使无质粒宿主细菌生长停滞或死亡^[42]. S nderhauf等人^[43]系统探究了不同种间竞争中质粒丢失和适应性代价之间的关系, 发现质粒适应性代价越高的宿主细菌, 质粒丢失越快. 同时, 质粒丢失也会因宿主遗传背景而异. 例如, 大肠杆菌(Ec37和Ec38)较肺炎克雷伯菌更容易丢失多重耐药质粒pKP33, 而且pKP33在不同大肠杆菌中的丢失率也有所不同, 研究发现, 其在大肠杆菌Ec37中的丢失率是Ec38中丢失率

的2.4倍^[4]。此外,维持质粒稳定会使宿主细菌产生代谢负担,从而导致宿主细菌生长活力降低^[44]。因此,在质粒分配过程中,质粒稳定分配或是不稳定分配都会影响宿主细菌的适应性^[45]。

质粒多聚体子代形成。形成多聚体质粒的宿主细菌同样会加重生长负担,从而降低宿主适应性。以ColE1质粒为例,为了给二聚体解析留出足够的时间,在质粒二聚体形成的过程中,往往会使细胞分裂延迟。同时,二聚体的过度复制,也会增加宿主细菌的代谢负担^[46]。此外,质粒多聚体的形成和积累在协助维持质粒稳定性的同时也会对其分离单位产生影响。Wein等人^[5]通过对比发现仅由质粒单体分子组成的pCON-S质粒不会发生丢失,而由2~4个多聚体组成的质粒pCON质粒丢失率则可以达到10%±3.0%。然而,质粒多聚化会在细胞分裂过程中通过减少可遗传质粒的单位数量而介导质粒丢失,进而影响质粒在宿主细菌中的稳定性。而在具有异质粒形式的群体中,由于质粒的分离不均匀,富集多聚体质粒的细胞往往具有更高的质粒丢失率^[47]。若质粒复制过程产生的多聚体未分解成单个质粒,则它不会编码自身的复制蛋白,反而会减慢细菌生长并抑制细菌细胞分裂^[48]。

2.2.6 质粒互作过程中适应性代价的产生机制

竞争宿主资源。宿主细菌携带的与ARGs质粒不相容性的质粒(具有与ARGs质粒相同的复制结构及分配调控系统),会与ARGs质粒在宿主细菌内部产生竞争,从而导致ARGs质粒在宿主细菌内部不稳定。San Millan等人^[49]的实验便证明了可移动遗传元件间的相互作用可以通过改变基因表达来损害细菌的适应性。同时,由于质粒的不相容性,与质粒编码相关的复制或分离机制会干扰每个质粒在细胞分裂时复制或传递到子细胞的最佳能力。而与单一质粒相比,相容性质粒共存则可以增加宿主细菌适应性。例如, Lee等人^[50]利用两种不同的相容性质粒(*bla*_{NDM-1}和*bla*_{OXA-232})探究宿主大肠杆菌DH5α的适应性时,发现携带单一质粒的宿主细菌均产生了适应性代价,而且当两种相容性质粒(*bla*_{NDM-1}和*bla*_{OXA-232})共存于宿主细菌时,可以增加宿主细菌的适应性。此外,国内外研究也普遍认为具有相同的复制结构及分配调控系统的质粒不相容,会在细胞内部产生竞争,从而导致质粒在细胞内部不稳定。

2.3 适应性代价评估方法

适应性代价的评估方法主要有两种。一是基于建立的数学模型法进行适应性代价预测。然而,由于数学模型在参数选择上无法将所有因素纳入其中,而存在统计偏差,因此,目前主要的方法是基于实验建立的评估方法(图2)。

竞争实验法是指将耐药菌(自突变产生的耐药细菌或质粒介导的耐药细菌)与野生菌(无突变的原始细菌或无质粒的宿主细菌)等比例共同培养并通过平板计数(抗性平板或染色体标记)、流式细胞术(荧光标记的细菌或质粒)或者使用深度测序对DNA条形码读数进行计数^[51]。根据计数情况,利用相对适应性(relative fitness, RF)计算公式确定适应性代价的方法(图2(a))。由表1数据可知,当RF<1时表明携带质粒对于宿主细菌是负担,有适应性代价产生;当RF≥1时,表明携带质粒对于宿主细菌无负担,无适应性代价产生^[52,53]。

细菌在培养基中的生长速率是评估适应性的常用模型,常作为细菌繁殖潜力的衡量标准^[52]。而生长曲线法则是将耐药菌与野生菌过夜培养后,分别稀释到相同OD₆₀₀(波长在600 nm处的光密度)值并接种到微孔板上,每间隔一段时间测一次OD₆₀₀值,最后以时间-OD₆₀₀为坐标,绘制成生长曲线(图2(b))。该方法中,细菌的最大生长率($v_{\max}$)、曲线下面积(AUC)、最大光密度(OD_{max})和滞后阶段的持续时间常被用作适应性指标,通常 $v_{\max}$, OD_{max}或AUC值越低,表明适应性代价越大。或通过比较含质粒宿主细菌与不含质粒宿主细菌各项指标比值判断是否产生适应性代价,由表2数据可知,当比值<1,表明携带质粒对于宿主细菌是负担,有适应性代价产生;当比值≥1,表明携带质粒对于宿主细菌无负担,无适应性代价产生。

3 抗生素耐药基因质粒适应性代价效应及降低途径

3.1 适应性代价效应

细菌获得ARGs质粒通常会使其适应性降低,即产生适应性代价,影响自身正常的生长、遗传及毒性。如图3所示,ARGs质粒适应性代价效应具体表现为生长-生存效应、水平-垂直转移效应和细菌毒力效应等^[70~72]。

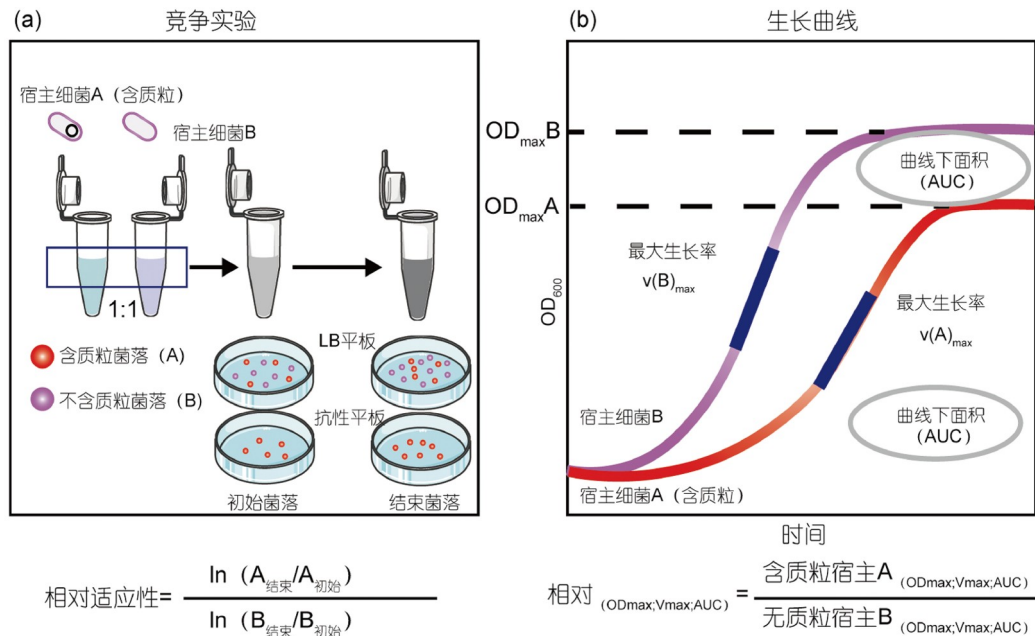


图 2 (网络版彩图)适应性代价常用评估方法. (a) 竞争实验法; (b) 生长曲线法

Figure 2 (Color online) Common assessment methods of fitness cost. (a) Competition experiment; (b) growth curve.

3.1.1 生长-生存效应

细菌的生长速率和存活能力是评价细菌适应性的关键因素。通常,在有利条件下,细菌不需要启动高适应性代价的抗胁迫机制,从而能将更多的资源分配给生长和繁殖,进而提高病原细菌的致病性;而在非抗生素环境(不利条件)下,携带ARGs质粒便成为了宿主细菌的额外负担,此时宿主细菌必须提升其抵御胁迫能力以保证自身的生存,这通常伴有生长速率降低、细胞结构改变以及资源摄入能力降低、毒性基因丢失、毒性基因表达准确度降低和有害突变的增加等^[73]。此外,ARGs质粒的存在会减少宿主细菌生长,使携带ARGs质粒的宿主细菌与无质粒细菌在生存竞争中失去优势^[67]。

生长速率降低。在非抗生素环境下,携带ARGs质粒会使宿主细菌处于不利条件,如ARGs质粒会与宿主细菌染色体争夺内部资源(复制、转录和翻译原料),从而降低宿主细菌生长速率。通常获得ARGs质粒的宿主细菌生长会受应激反应途径(双组分信号转导系统CpxAR)的影响,一旦CpxAR途径被激活,便可以通过诱导蛋白质(如周质蛋白酶和细胞膜相关蛋白)产生来缓解包膜应激,消耗能量,使获得ARGs质粒的宿主细

菌具有较高的代谢负担,从而表现出生长速率降低^[74]。Ender等人^[75]揭示了宿主细菌获得ARGs质粒与生长速率之间存在负相关关系,发现与原始细菌(倍增时间 29 ± 1 min)相比,获得甲氧西林耐药性的宿主金黄色葡萄球菌生长速度显著减慢(倍增时间为 40 ± 1 min)。并且,在无甲氧西林存在环境下,获得了ARGs质粒的金黄色葡萄球菌在与原始细菌竞争培养几天后完全消失。而除内部资源外,外部生长条件(营养、盐分、pH等)也会对获得ARGs质粒的宿主细菌生长产生影响。例如,当营养条件丰富时,获得链霉素耐药质粒的宿主细菌会因RpoS蛋白表达,而改变RNA聚合酶的 β 亚基结构,直接影响转录效率,从而产生翻译错误,增加宿主细菌的适应性代价,进而表现出生长速率下降的趋势^[76]。

存活能力降低。非抗生素环境下,由ARGs质粒编码的应激反应基因会在其被宿主细菌接收后20~40 min内瞬时表达,进而引起携带ARGs质粒的宿主细菌产生一段时间的应激期^[77]。而应激反应的激活,会使宿主细菌细胞蛋白质错误折叠和碳/氮同化困难,从而表现出生长停滞甚至存活受限^[78]。例如, Hall等人^[79]发现在荧光假单胞菌中由ARGs质粒引起的SOS反应会持续数代,甚至会增加宿主细菌细胞膜通透性

表 1 竞争实验法评估适应性代价

Table 1 The fitness cost of evaluation by competitive experiment

质粒	耐药基因	宿主细菌	相对适应性 ^{a)}	参考文献
pL53T	<i>bla</i> _{NDM-5}	<i>Escherichia coli</i> C600	0.68±0.03	[21]
RP4	<i>bla</i> _{TEM} , <i>tetA</i> , <i>aphA</i>	<i>Escherichia coli</i> K-12 MG1655	0.87±0.04~0.92±0.03	[54]
pM5-NDM1	<i>bla</i> _{NDM-1} , <i>bla</i> _{OXA-1}		~1	
pCC1410-NDM5	<i>bla</i> _{NDM-5} , <i>bla</i> _{TEM-1} , <i>ble</i> _{MBL}		~10	
pM5-CTXM15	<i>bla</i> _{CTX-M-15} , <i>bla</i> _{TEM-1}	<i>Escherichia coli</i> DH5α	~1	[55]
pDK05-KPC2	<i>bla</i> _{KPC-2}		~1	
pCC1706-OXA181	<i>bla</i> _{OXA-181}		<1	
pM5-OXA232	<i>bla</i> _{OXA-232}		<1	
pSL131-IncA/C-IncX3	<i>bla</i> _{NDM-1}	<i>Escherichia coli</i> EC600	<1	[56]
		<i>Klebsiella pneumoniae</i> YZ6	<1	
p210704-NDM-1	<i>ble</i> _{MBL}	<i>Escherichia coli</i> EC600	<1	[57]
p210744-NDM-5	<i>bla</i> _{NDM-1}		<1	
pBS228	/		0.944	
Rms149	/		0.913	
pAKD1	/	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1	1.022	[58]
pAMBL1	/		1.056	
pAMBL2	/		0.963	
pNUK73	/		<0.800	
pMCR1-1943	<i>mcr-1</i>	<i>Escherichia coli</i> J53	0.95±0.03~0.97±0.03	[59]
pG06-VIM-1	<i>bla</i> _{VIM-1}	<i>Escherichia coli</i> K56-43	0.947 ± 0.002	[60]
pK71-77-1-NDM	<i>bla</i> _{NDM-1}		0.945 ± 0.012	
pBGT			0.943 ± 0.013	
pBGT R164S			0.943 ± 0.003	
pBGT G54U	<i>bla</i> _{TEM-1}	<i>Escherichia coli</i> MG1655	0.793 ± 0.019	[2]
pBGT G55U			0.557 ± 0.116	
pBGT R164S G54U			0.762 ± 0.016	
pBGT R164S G55U			0.509 ± 0.082	
pRF14-1				
pRF14-2				
pRF55-1				
pRF173-1				
pRF25-1				
pRF65-1	<i>tet(X4)</i>	<i>Escherichia coli</i> TOP10	<1	[61]
pRF71-1				
pRF154-1				
pRS2-1				
pRW7-1				
pRS6-1				
pRS6-2				
pUUH239. 2	<i>bla</i> _{TEM-1B} , <i>bla</i> _{CTX-M-15} , <i>bla</i> _{OXA-1}	<i>Escherichia coli</i> MG1655	<1	[62]
pHN330	<i>bla</i> _{NDM-1}	<i>Escherichia coli</i> J53	0.92±0.03	[63]
		<i>Escherichia coli</i> C600	0.15±0.04	

(续表)

质粒	耐药基因	宿主细菌	相对适应性 ^{a)}	参考文献
pKP-M1144	<i>bla</i> _{BEL-1} , <i>bla</i> _{GES-5} , <i>bla</i> _{IMP-8} , <i>aac</i> (6')-Ib3	<i>Escherichia coli</i>	0.728±0.008	[64]
pCEMR	<i>bla</i> _{VEB-9} , <i>qnr</i> <i>VC-1</i> , <i>sul</i> 1, <i>tetA'</i> , <i>tetC</i> , <i>dfrA1</i> , <i>dfrA23</i>		0.757±0.007	
pCF12	<i>bla</i> _{SHV-12} , <i>qnrS1</i>		0.905±0.023	
pKA2Q	<i>bla</i> _{FOX-8}		0.802±0.017	
pKAZ3	<i>bla</i> _{VEB-9} , <i>qnr</i> _{VC-1} , <i>sul</i> 1, <i>tetA'</i> , <i>tetC</i> , <i>dfrA1</i> , <i>dfrA23</i>		0.733±0.06	
pOXA-48	<i>bla</i> _{OXA-48}		0.776±0.016	
pHNGC59	<i>oqx</i> _{AB}	<i>Escherichia coli</i> TOP10	0.873	[65]
pHNFD436			0.764	

a) 相对适应性计算为 $RF=\ln(A_{\text{结束}}/A_{\text{初始}})/\ln(B_{\text{结束}}/B_{\text{初始}})$, $A_{\text{初始}}$ 为初始时含质粒的菌落数, $A_{\text{结束}}$ 为结束时含质粒的菌落数, $B_{\text{初始}}$ 为开始时无质粒的菌落数, $B_{\text{结束}}$ 为结束时无质粒的菌落数. 当 $RF<1$ 时说明携带质粒对于宿主细菌是负担, 有适应性代价产生; 当 $RF\geq 1$ 时, 说明携带质粒对于宿主细菌无负担, 无适应性代价产生.

表 2 生长曲线法评估适应性代价^{a)}
Table 2 The fitness cost of evaluation by growth curve

质粒	耐药基因	宿主细菌	适应性代价	参考文献
pAZJ221	<i>bla</i> _{OXA-23}	<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC 17978	相对OD _{max} <1	[66]
pOXA-48-K8	<i>bla</i> _{OXA-48}	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ST1427	相对 $v_{\text{max}}/\text{OD}_{\text{max}}/\text{AUC}<1$	[67]
		<i>Escherichia coli</i>	相对OD _{max} /AUC<1 相对 $v_{\text{max}}>1$	
RP4	<i>bla</i> _{TEM} , <i>tetA</i> , <i>aphA</i>	<i>Escherichia coli</i> MG1655-fAYC002	相对 $v_{\text{max}}/\text{OD}_{\text{max}}/\text{AUC}<1$	[68]
pHN330	<i>bla</i> _{NDM-1}	<i>Escherichia coli</i> J53	相对 $v_{\text{max}}/\text{OD}_{\text{max}}/\text{AUC}\sim 1$	[63]
		<i>Escherichia coli</i> C600	相对 $v_{\text{max}}/\text{OD}_{\text{max}}/\text{AUC}<1$	
pUR2940	<i>cadDX</i> , <i>erm</i> (C), <i>erm</i> (T), <i>dfrK</i> , <i>tet</i> (L), <i>copA</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> MW2	相对AUC<1	[69]
pN315	<i>cadDX</i> , <i>bla</i> IRZ, <i>arsBC</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (C2940)	相对AUC<1	
		<i>Staphylococcus aureus</i> MW2	相对AUC<1	
pLAC-p03	<i>cadDX</i> , <i>msrA</i> , <i>mphC</i> , <i>bla</i> IRZ, <i>aph</i> (3')-IIIa	<i>Staphylococcus aureus</i> MW2	相对AUC<1	

a) 生长曲线、最大增长率 μ 、曲线下面积(AUC)和最大光密度(OD_{max})被用作适应性指标, v_{max} , OD_{max}或AUC值越低说明适应性代价越大. 含质粒宿主各指标与不含质粒宿主各指标比值<1, 说明携带质粒对于宿主细菌是负担, 有适应性代价产生; 比值 ≥ 1 , 说明携带质粒对于宿主细菌无负担, 无适应性代价产生.

和细胞裂解的风险, 从而降低荧光假单胞菌的生存能力.

此外, 当质粒编码基因过表达时, 一方面会引起宿主细菌代谢负担增加, 降低宿主细菌的生存能力. 另一方面则会破坏宿主细菌的结构及细胞形态, 降低其存活率. Hong等人^[80]发现, 在嗜油不动杆菌中ARGs质粒编码的基因过表达增加了宿主嗜油不动杆菌的代谢负担, 显著影响了宿主细菌的运动能力和细胞膜完整性, 从而使宿主嗜油不动杆菌的环境适应性降低. Yang等人^[81]则发现当携带耐药基因*mcr-1*的质粒在宿主大肠

杆菌TOP10中过表达, 会引起宿主大肠杆菌TOP10细胞膜结构完整性改变和细菌活力降低, 进而诱导细菌存活能力降低.

3.1.2 水平-垂直转移效应

通过自身染色体突变获得耐药性的细菌只能通过垂直转移保持耐药性, 而质粒介导的耐药性细菌, 则既可以通过垂直转移, 也可以通过水平转移(接合、转化、转导、外膜囊泡)在细菌之间保持耐药性^[82]. 而ARGs质粒在宿主细菌生命周期中产生的各种适应性

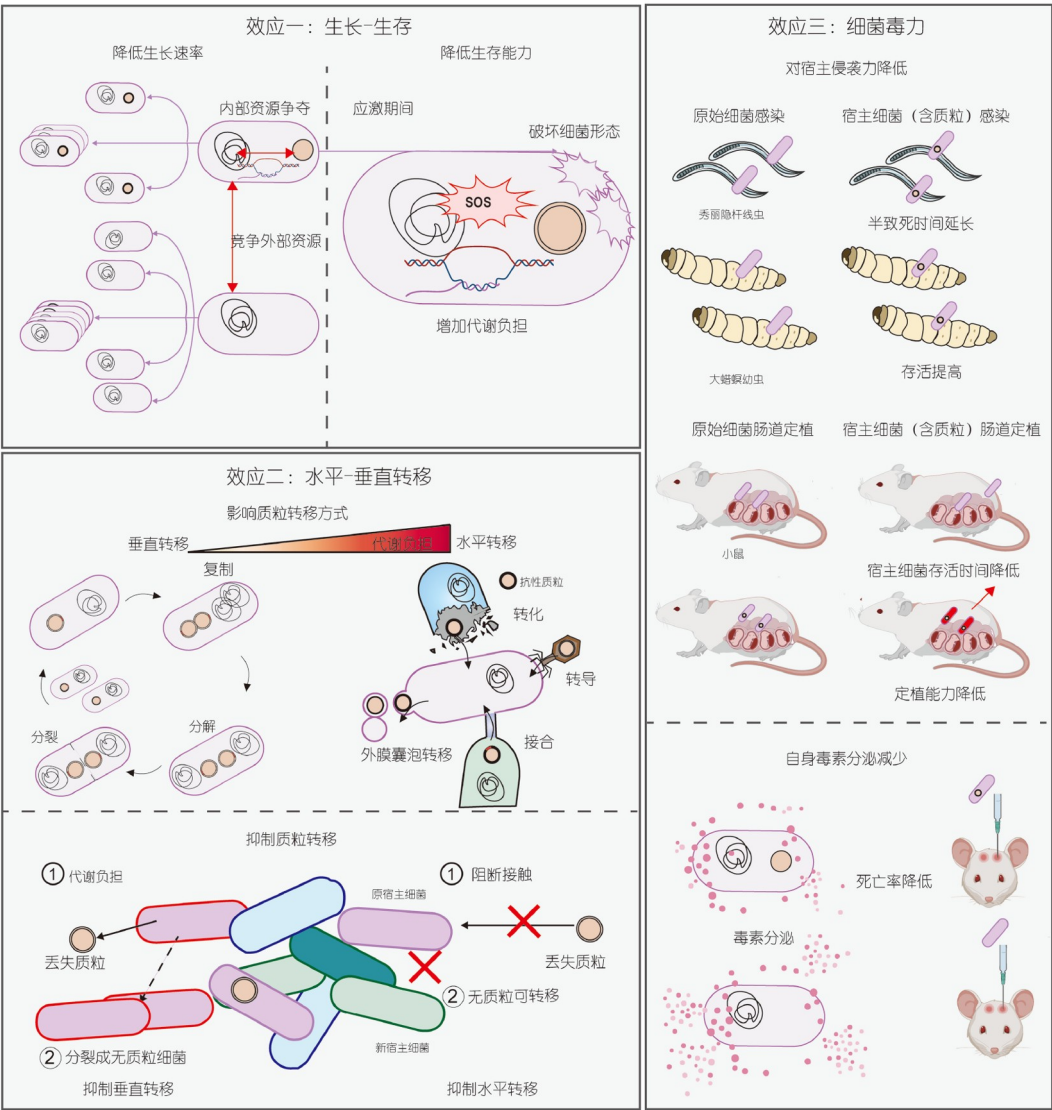


图 3 (网络版彩图) ARGs质粒适应性代价效应
Figure 3 (Color online) Effect of ARGs plasmid fitness cost.

代价则与其转移方式密切相关. 例如, 在质粒垂直转移过程中, 质粒需要发生复制和分配等; 质粒水平转移过程中, 则需要接收质粒和进行质粒重组等. 因此, 如图3效应二所示, 适应性代价的水平-垂直转移效应主要体现在两点: 一, 影响质粒转移方式; 二, 抑制质粒转移.

影响质粒转移方式. ARGs质粒适应性代价对质粒水平-垂直转移方式的影响主要取决于其对宿主细菌产生的代谢负担的大小^[68]. 通常情况下, 若ARGs质粒产生的代谢负担很小, 则ARGs质粒会与宿主细菌遗传物质共同通过细胞分裂进行传递(即发生ARGs质粒垂

直转移); 若质粒产生的代谢负担很大, 宿主细菌则会将其视为额外负担, 优先选择将其排出体外, 甚至以较高的转移速率将其转入新宿主细菌体内(即发生ARGs质粒水平转移), 以利用新宿主细菌资源^[83].

抑制质粒转移. 在非抗生素环境下, 宿主细菌持续表达耐药基因会增加代谢负担从而使其处于竞争劣势, 因此宿主细菌会通过选择性丢失质粒来减少代谢负担, 从而抑制质粒的垂直转移^[84]. 此外, 在复杂的群落结构中, 由无质粒细菌引起的“稀释效应”阻断了丢失的ARGs质粒与宿主细菌的接触机会, 从而抑制了

ARGs质粒再次通过水平转移进入原来的宿主细菌^[85]. 另一方面, 丢失了质粒的宿主细菌会因“无质粒可用”而失去其水平转移过程中作为供体菌的可能, 从而抑制质粒的接合转移^[69,86].

3.1.3 细菌毒力效应

细菌毒力是指细菌对其宿主造成损害的相对能力^[87]. 常用宿主的死亡率或宿主内细菌的繁殖率来衡量其毒力^[72]. 细菌毒力的强弱是由其侵袭力和毒素含量决定的^[88]. 而由于适应性代价的存在, 细菌在获得ARGs质粒后, 便表现出细菌毒力下降.

对宿主侵袭力降低. 细菌的侵袭力包括黏附、定植和产生侵袭性相关物质的能力. Lavigne等人^[89]利用秀丽隐杆线虫模型评估细菌毒力时, 发现 bla_{KPC-2} 耐药质粒使宿主细菌对秀丽隐杆线虫的半致死时间延长, 由此得出, 产生适应性代价的宿主细菌可以降低秀丽隐杆线虫毒力. Eger等人^[90]则发现, 携带ARGs质粒使宿主肺炎克雷伯菌铁载体分泌量显著减少, 黏度显著降低, 从而降低了细菌毒力, 使感染了宿主肺炎克雷伯菌的大蜡螟幼虫存活率显著提高. 此外, 细菌定植作为细菌侵袭宿主的主要方式, 尤其是肠道定植作为耐药菌致病的第一步^[91], 其定植能力的变化是对宿主侵袭力改变的直观表现, 而质粒适应性代价的存在会使细菌定植能力变差. 例如, 当大肠杆菌K12 MG1655细菌携带质粒RP4时, 其在小鼠胃肠道中的定植存活时间会显著降低^[54]. Bray等人^[92]也发现, 由于黏菌素耐药质粒使宿主肺炎克雷伯菌产生了适应性代价, 所以其在小鼠肠道定植的能力也变差.

自身毒素分泌减少. 细菌侵入宿主后会分泌毒素, 进而导致宿主死亡. 而质粒适应性代价的存在会引起耐药细菌自身分泌毒素减少, 从而使宿主死亡率降低. 研究发现, 获得甲氧西林耐药性的宿主金黄色葡萄球菌产生的适应性代价使其细胞活性降低, 且由于其编码基因的表达诱导了细胞壁的变化, 进而影响了群体感应系统, 导致金黄色葡萄球菌分泌溶细胞毒素的能力降低, 从而在小鼠感染模型中, 表现出小鼠死亡率显著降低^[93].

3.2 适应性代价的降低途径

如图1(a)所示, 在无抗生素环境中携带ARGs质粒理论上会造成宿主细菌产生适应性代价, 产生生理负

担并引起质粒的丢失, 进而影响宿主细菌在群体中的适应性代价. 然而, 携带了ARGs质粒的宿主细菌为缓解适应性代价的不利影响, 往往会通过调整其生物学行为(突变补偿进化、非突变补偿进化和接合转移, 图4(a)), 以此来降低适应性代价, 从而使携带ARGs质粒的宿主细菌可以长期稳定存在^[42].

3.2.1 突变补偿进化

突变补偿进化是携带ARGs质粒的宿主细菌通过突变进化来降低携带质粒所产生的适应性代价的一种途径, 该降低途径包括宿主细菌染色体突变补偿、质粒突变补偿以及两者共进化突变补偿.

染色体突变补偿. 细菌染色体基因包含控制表达各种细胞功能的遗传信息. 研究表明, 宿主细菌染色体编码的解旋酶对质粒适应性代价和质粒稳定性具有一定的影响^[94]. Sota等人^[95]发现, IncP-1 β 质粒适应性代价可以通过宿主细菌中染色体解旋酶的突变来补偿. San Millan等人^[96]同样发现, 通过代偿性突变改善了不稳定质粒(pNUK73)在假单胞菌中的适应性代价, 并经全基因组深度测序发现, 代偿性突变存在于宿主细菌负责编码解旋酶和蛋白激酶的相关基因中. 此外, 遗传信息的表达在各个阶段(包括启动子识别、RNA合成和mRNA上的蛋白质合成等)还会受到RNA聚合酶突变的影响, 而RNA聚合酶突变则被认为是降低质粒适应性代价的有效途径^[97]. RNA聚合酶的突变会改变宿主细菌生长所需的条件 and 环境因素, 从而降低质粒适应性代价. 例如, Cheng等人^[98]研究发现, $rpoC$ 突变(RNA聚合酶亚 β' 基缺失27 bp片段)提高了大肠杆菌MG1655的代谢效率, 使大肠杆菌MG1655获得生长优势. 同时, 染色体上转录调节因子突变补偿也可以减少质粒翻译代价, 从而降低质粒适应性代价. Harrison等人^[99]将质粒pQBR10导入荧光假单胞菌并通过450代进化实验发现, $GacA/GacS$ 突变使大量的基因表达受到抑制, 使荧光假单胞菌原有的次生代谢调控功能丧失, 导致翻译机制所需能量下降, 从而使其宿主细菌适应性代价降低了25%. 此外, 染色体上参与调节质粒基因转录的编码基因突变也可以补偿适应性代价. Kawano等人^[100]发现, 在假单胞菌KT2440染色体上编码的sRNA的突变会降低宿主的适应性, 甚至引起参与氨基酸代谢和应激反应的基因差异转录, 从而对质粒的稳定性产生影响. Loftie-Eaton等人^[94]发现, 携带质

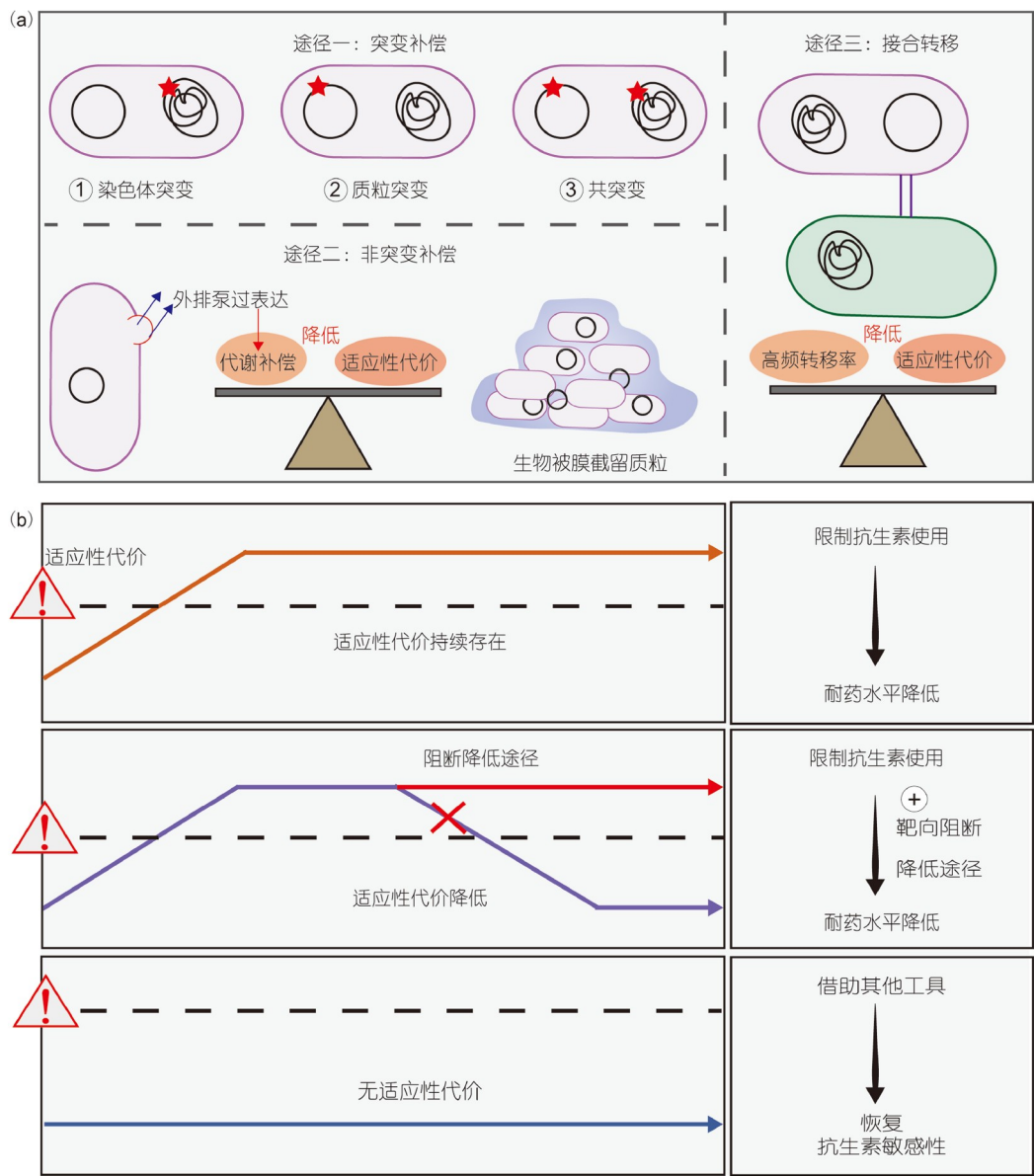


图 4 (网络版彩图) ARGs适应性代价的降低途径及其对耐药性问题的策略. (a) ARGs适应性代价的降低途径; (b) ARGs适应性代价对耐药性问题的策略

Figure 4 (Color online) Pathways to reduction of fitness cost of ARGs and their strategies for the problem of antibiotic resistance. (a) Pathways to reducing the ARGs plasmid fitness cost; (b) strategies for the problem of antibiotic resistance of ARGs within plasmid fitness cost.

粒RP4的假单胞菌染色体上*Xpd/Rad3*、*UvrD*和*RpoB*基因的突变减少了宿主细菌与质粒复制蛋白的相互作用, 促进了质粒稳定性, 从而降低了适应性代价。

质粒突变补偿. 质粒片段丢失补偿进化是降低质粒适应性代价的常见途径之一。质粒适应性代价常发生在质粒的多重耐药区域和接合转移区域, 因此这两个区域也是质粒片段缺失的多发区域^[17]。Zhang等

人^[101]研究发现, IncHI2型质粒pJXP9的多重耐药区域片段缺失后, 降低了质粒适应性代价, 使宿主细菌的生长速率提高。Dorado-Morales等人^[69]同样发现, 宿主细菌通过使包含多重耐药区域的质粒片段缺失12.8 kb发生补偿进化, 进而降低了质粒pUR2940对宿主造成的适应性代价。

此外, 质粒还可以通过增加有益片段来减少适应

性代价。通常,丢失质粒的宿主细菌中仍会包含稳定的毒素基因,而这些毒素基因已被整合在宿主细菌的染色体上,并且会使宿主细菌在与质粒分离后通过干扰复制、转录和翻译等过程降低宿主细菌的适应性,从而减少无质粒宿主细菌的数量^[102]。然而,报道发现通过在质粒片段上引入抗毒素基因片段可以抑制毒素基因的毒性并降低宿主细菌的适应性代价^[103]。例如,在不稳定质粒pSEVA644上引入毒素-抗毒素系统基因片段,可以增强pSEVA644质粒在假单胞菌和大肠杆菌中的稳定性,减少质粒丢失,从而降低适应性代价^[104]。与质粒复制相关的功能基因突变也能减少宿主细菌的适应性代价。Yano等人^[105]发现,质粒上编码复制起始蛋白的*trfA*基因发生突变后,蛋白质对宿主细菌解旋酶DnaB的亲和力下降,从而降低了质粒产生的适应性代价。Zhang等人^[54]同样发现,与质粒转移(*trbB*和*traF*)和复制(*trfA*)相关的基因发生突变可以共同降低质粒的适应性代价。最近研究发现,插入序列和整合子也会引起质粒的补偿性进化。插入序列(IS1和IS10)可以破坏质粒上有害基因的功能表达,从而降低了质粒产生的适应性代价^[106]。而插入整合子则可以诱导破坏接合转移的基因脱靶倒位来促进质粒驯化,从而与突变质粒相比具有更低的适应性代价和更高的质粒稳定性^[107]。

质粒宿主共进化突变补偿。质粒宿主共进化突变补偿也是降低适应性代价和提高质粒稳定性的重要方式。Liu等人^[21]在共整合质粒的进化实验中发现,质粒片段丢失和宿主染色体上*sspA*基因突变共同提高了宿主细菌的适应性,使其种间竞争能力、生物被膜形成能力和肠道定植能力得到增强。此外,质粒与宿主细菌的共进化还可以降低垂直转移时质粒的分离损失率。Jordt等人^[108]利用数理模型预测宿主-质粒共进化的对质粒持久性的影响时,发现在非抗生素环境下,质粒与宿主细菌共进化不仅促进了多重耐药性的发生,还会导致新型宿主-质粒组合以及多质粒宿主中质粒持久性增强。

3.2.2 非突变补偿进化

非突变补偿是一种通过调控细菌生理变化从而降低质粒适应性代价的途径。对于这一机制的探究,Olivares等人^[109-111]借助铜绿假单胞菌做了大量例证,发现过度表达药物外排泵引起的代谢补偿会导致细菌生理学的变化,并推测这可能是降低适应性代价的主要

机制。研究发现代谢补偿会引起铜绿假单胞菌能量补充途径增加,如激活硝酸盐呼吸链、增加耗氧量,从而补偿适应性代价^[110]。此外,生物被膜作为一种复杂的微生物群落结构,能显著提升细菌对抗生素的耐受性和在多变环境中的生存能力,使细菌能够更好地适应环境波动的同时也会对质粒的稳定性产生影响。例如,Röder等人^[112]研究发现,在无抗生素环境下,生物被膜的扩散会影响质粒在群体中的稳定性,而当细菌无法从生物被膜中扩散时,质粒的保留率则会更高。Metzger等人^[113]证实了在无抗生素环境下,细菌生物被膜通过截留质粒,降低了质粒丢失速度。因此,生物被膜可以规避宿主细菌因质粒适应性代价产生而被群落其他细菌取代的风险。

3.2.3 接合转移

在One Health框架中,质粒作为基因水平转移的基本载体,在抗生素耐药性的传播中起着重要作用,而质粒的接合转移则被视为是维持细菌抗性的一种重要方式。过去研究认为,质粒的稳定性和持久性与质粒的适应性代价和分离率密切相关,并且由于质粒接合率低,使其无法在接合转移中维持质粒的稳定,而认为接合转移通常不是质粒维持的主要因素^[15,45]。然而,最近的研究表明,高频的接合转移率能够提升质粒的稳定性。例如,Lopatkin等人^[45]利用构建的动力学模型研究接合转移对质粒维持的作用时,发现即使存在适应性代价,但只要质粒的接合转移率足够高,便能使9种质粒(属于6个不相容组)始终在宿主细菌中稳定存在。此外,高频接合转移率也能够降低质粒分离丢失率,从而使质粒稳定存在。Bahl等人^[114]在评估无抗生素选择压力的大肠杆菌和克鲁维菌种群中IncP-1型质粒pKJK5的稳定性时,发现质粒的接合能力在维持两个物种的稳定中起着重要作用,并且质粒pMIB4(pKJK5衍生物)的接合能力可以补偿由分离不稳定性引起的质粒损失和质粒维持存在所引起的适应性代价。高频接合转移率还可以克服高代谢负担,降低适应性代价,从而使质粒稳定存在。Yi等人^[115]研究发现,激活质粒接合转移的关键因子(PixR)对质粒在细菌种群中的传播和持久性具有重要意义。例如,缺乏pixR的pHNSHP23质粒对宿主大肠杆菌产生了适应性代价,使其丧失了侵袭能力,从而难以在细菌群体中稳定存在,与之相反的是,pixR的存在提高了IncX4质粒的转移能力,从而有

效抵消了质粒产生的适应性代价。此外, 研究还发现质粒的运输代价和接合转移率之间存在正相关关系^[116]。产生这一现象的原因, 在于接合转移中宿主细菌需要为菌毛形成和质粒复制提供能量, 进而产生适应性代价。然而, Prenskey等人^[117]发现与质粒相关的适应性代价在接合转移后会呈现先升高后下降的趋势。这种趋势可能与接合质粒中一种抑制SOS反应的调节因子(*psiB*)表达有关。例如, *psiB*会在质粒进入受体细菌时表达, 并与RecA直接结合以中断由RecA蛋白和质粒单链DNA引发的SOS反应, 从而避免受体细菌生长停滞甚至死亡来降低适应性代价^[118,119]。

4 适应性代价对耐药性问题的影响及策略

近年来, 研究人员围绕质粒介导的抗生素耐药性问题开展了系列研究, 普遍认为, 细菌获得ARGs质粒会获得耐药优势, 但也伴随着适应性代价。适应性代价可以反映细菌耐药性发生和传播的原因及趋势, 为更好地控制细菌耐药性提供依据。例如, 适应性代价的存在使人们认为可以通过减少抗生素使用降低耐药细菌的产生频率, 从而逆转细菌耐药性。因此, 适应性代价被认为是限制耐药细菌持续生存以及在新宿主细菌中传播及致病的主要障碍, 并可能成为逆转耐药性的有效策略(图4(b))。

目前, ARGs质粒产生的适应性代价对细菌耐药性问题的影响主要体现在两方面: 一, 由于适应性代价的存在, 当限制抗生素使用时, 即无抗生素选择压力下, 宿主细菌会在种群中失去竞争优势, 从而表现出耐药性降低的现象。Guo等人^[9]在评估耐药可逆性与适应性代价之间的关系时, 发现在无*mcr-1*存在环境下, 当*mcr-1*耐药基因具有高适应性代价且难以通过简单突变缓解时, 停用抗生素*mcr-1*会导致耐药性的迅速降低。此外, 自中国政府2017年明令禁止将*mcr-1*作为动物促生长剂使用以来, 动物粪便中黏菌素残留浓度和*mcr-1*丰度以及动物和人源性大肠杆菌黏菌素耐药性均显著降低^[120]。另一方面, 尽管适应性代价可以使耐药性降低, 但补偿进化和水平转移等降低途径的出现, 使适应性代价逆转耐药性的驱动力变慢甚至停滞^[121], 从而使耐药性问题持续存在^[122]。因此, 国内外学者试图探索阻断适应性代价降低途径的方法, 以期通过适应性代价来有效逆转细菌耐药性的发展趋势。例如,

尽管在无抗生素环境下, 宿主细菌通过高频的接合转移缓解代谢负担, 从而使ARGs质粒可以持留在宿主细菌体内, 但仍可以借助抑制接合转移剂(亚麻油酸)和促进质粒丢失剂(吩噻嗪)实现耐药性逆转^[45]。因此, 除了从源头控制抗生素使用外, 针对各种降低途径实现靶向阻断联用, 也是一种重要的策略。

值得注意的是, 并非所有的ARGs质粒都会产生适应性代价, 有些ARGs质粒反而会赋予宿主细菌适应性优势^[123]。例如, 在无磺胺类抗生素条件下, 大肠杆菌在获得了*sul2*编码质粒(p9123)后, 反而增加了自身的适应性并在群体中迅速繁殖^[124]。这也进一步佐证了当英国临床磺胺使用量减少97%, 临床大肠杆菌磺胺耐药性的患病率仍保持不变的原因^[125]。这种不产生适应性代价且依然可以保持高水平耐药性的质粒解释了临床上治疗相关耐药菌失败的原因。因此, 后续应重点关注这类质粒, 并尝试恢复携带该类ARGs质粒的细菌对抗生素的敏感性, 如利用CRISPR-Cas9系统特异性切割抗性基因恢复其对抗生素的敏感性^[126], 以期有效降低耐药性的传播提供新途径。

5 展望

抗生素耐药性对生态环境和人体健康构成威胁, 而ARGs质粒是传播抗生素耐药性的重要载体。ARGs质粒让宿主细菌在抗生素环境下快速适应的同时, 也在其生命周期各过程中(质粒接收、质粒整合、质粒复制以及质粒编码基因表达等)产生了适应性代价。使其在非抗生素环境下, 表现出生长-生存效应(生长速率和存活能力降低)、垂直-水平转移效应(质粒转移方式改变和抑制质粒转移)以及细菌毒力效应(对宿主侵袭力降低和毒素分泌减少)等适应性代价效应, 而被迫从群体中消失。但降低途径(突变补偿性进化、非突变补偿以及接合转移)的出现, 为宿主细菌稳定持留在群体中提供了机会。

ARGs质粒适应性代价的存在, 使控制抗生素滥用逆转细菌耐药性成为可能的同时, 仍会因降低途径的出现导致耐药细菌的普遍存在。因此, 仅仅依靠停止抗生素的滥用, 无法达到消除耐药细菌的目的。今后应探究各种降低途径的靶向阻断联用以及不产生适应性代价的ARGs质粒的抗生素敏感性恢复方法, 以多角度探索耐药性传播限制途径, 为解决当前面临的抗生

素耐药危机提供新的视角和思路。再者, ARGs质粒适应性代价的评估方法尚不统一, 以致在抗生素的风险评估方面有偏差, 未来应开展质粒适应性代价多视角

研究, 以此建立多角度的风险评估。此外, 目前研究仍多基于实验室理想条件开展, 缺乏实际意义, 未来应在更多的实际环境中去探究。

参考文献

- 1 Naghavi M, Vollset S E, Ikuta K S, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: A systematic analysis with forecasts to 2050. *Lancet*, 2024, 404: 1199–1226
- 2 San Millan A, Escudero J A, Gifford D R, et al. Multicopy plasmids potentiate the evolution of antibiotic resistance in bacteria. *Nat Ecol Evol*, 2016, 1: 10
- 3 San Millan A, Heilbron K, MacLean R C. Positive epistasis between co-infecting plasmids promotes plasmid survival in bacterial populations. *ISME J*, 2014, 8: 601–612
- 4 Porse A, Schønning K, Munck C, et al. Survival and evolution of a large multidrug resistance plasmid in new clinical bacterial hosts. *Mol Biol Evol*, 2016, 33: 2860–2873
- 5 Wein T, Wang Y, Hülter N F, et al. Antibiotics interfere with the evolution of plasmid stability. *Curr Biol*, 2020, 30: 3841–3847
- 6 San Millan A, MacLean R C, Baquero F, et al. Fitness costs of plasmids: A limit to plasmid transmission. *Microbiol Spectr*, 2017, 5: 10
- 7 Erickson D W, Schink S J, Patsalo V, et al. A global resource allocation strategy governs growth transition kinetics of *Escherichia coli*. *Nature*, 2017, 551: 119–123
- 8 Roux D, Danilchanka O, Guillard T, et al. Fitness cost of antibiotic susceptibility during bacterial infection. *Sci Transl Med*, 2015, 7: 114r–297r
- 9 Guo Z, Feng S, Liang L, et al. Assessment of the reversibility of resistance in the absence of antibiotics and its relationship with the resistance gene's fitness cost: A genetic study with *mcr-1*. *Lancet Microbe*, 2024, 5: 100846
- 10 Wen X, Cao J, Mi J, et al. Metabonomics reveals an alleviation of fitness cost in resistant *E. coli* competing against susceptible *E. coli* at sub-MIC doxycycline. *J Hazard Mater*, 2021, 405: 124215
- 11 Stickland H G, Davenport P W, Lilley K S, et al. Mutation of *nfxB* causes global changes in the physiology and metabolism of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Proteome Res*, 2010, 9: 2957–2967
- 12 Piskovsky V, Oliveira N M. Bacterial motility can govern the dynamics of antibiotic resistance evolution. *Nat Commun*, 2023, 14: 5584
- 13 Castañeda-Barba S, Top E M, Stalder T. Plasmids, a molecular cornerstone of antimicrobial resistance in the One Health era. *Nat Rev Microbiol*, 2024, 22: 18–32
- 14 Letten A D, Hall A R, Levine J M. Using ecological coexistence theory to understand antibiotic resistance and microbial competition. *Nat Ecol Evol*, 2021, 5: 431–441
- 15 Bergstrom C T, Lipsitch M, Levin B R. Natural selection, infectious transfer and the existence conditions for bacterial plasmids. *Genetics*, 2000, 155: 1505–1519
- 16 Ilangovan A, Connery S, Waksman G. Structural biology of the Gram-negative bacterial conjugation systems. *Trends Microbiol*, 2015, 23: 301–310
- 17 Zahrl D, Wagner M, Bischof K, et al. Expression and assembly of a functional type IV secretion system elicit extracytoplasmic and cytoplasmic stress responses in *Escherichia coli*. *J Bacteriol*, 2006, 188: 6611–6621
- 18 Bidlack J E, Silverman P M. An active type IV secretion system encoded by the F plasmid sensitizes *Escherichia coli* to bile salts. *J Bacteriol*, 2004, 186: 5202–5209
- 19 Arnold B J, Huang I T, Hanage W P. Horizontal gene transfer and adaptive evolution in bacteria. *Nat Rev Microbiol*, 2022, 20: 206–218
- 20 Belov O V, Chuluunbaatar O, Kapralov M I, et al. The role of the bacterial mismatch repair system in SOS-induced mutagenesis: A theoretical background. *J Theor Biol*, 2013, 332: 30–41
- 21 Liu Z, Gao Y, Wang M, et al. Adaptive evolution of plasmid and chromosome contributes to the fitness of a *bla_{NDM}*-bearing cointegrate plasmid in *Escherichia coli*. *ISME J*, 2024, 18: wrac037
- 22 Hanafusa T, Kinashi H. The structure of an integrated copy of the giant linear plasmid SCP1 in the chromosome of *Streptomyces coelicolor* 2612. *Molec Gen Genet*, 1992, 231: 363–368

- 23 Chen C W, Yu T, Lin Y, et al. The conjugative plasmid SLP2 of *Streptomyces lividans* is a 50 kb linear molecule. *Mol Microbiol*, 1993, 7: 925–932
- 24 Pandza S, Biuković G, Paravić A, et al. Recombination between the linear plasmid pPZG101 and the linear chromosome of *Streptomyces rimosus* can lead to exchange of ends. *Mol Microbiol*, 1998, 28: 1165–1176
- 25 Lin Y, Kieser H M, Hopwood D A, et al. The chromosomal DNA of *Streptomyces lividans* 66 is linear. *Mol Microbiol*, 1993, 10: 923–933
- 26 Baltrus D A. Exploring the costs of horizontal gene transfer. *Trends Ecol Evol*, 2013, 28: 489–495
- 27 Gonçalves G A L, Bower D M, Prazeres D M F, et al. Rational engineering of *Escherichia coli* strains for plasmid biopharmaceutical manufacturing. *Biotechnol J*, 2012, 7: 251–261
- 28 Dietel A K, Merker H, Kaltenpoth M, et al. Selective advantages favour high genomic AT-contents in intracellular elements. *PLoS Genet*, 2019, 15: e1007778
- 29 Rouches M V, Xu Y, Cortes L B G, et al. A plasmid system with tunable copy number. *Nat Commun*, 2022, 13: 3908
- 30 Yang J, Wang H H, Lu Y, et al. A ProQ/FinO family protein involved in plasmid copy number control favours fitness of bacteria carrying *mcr-1*-bearing IncI2 plasmids. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49: 3981–3996
- 31 Jones K L, Kim S W, Keasling J D. Low-copy plasmids can perform as well as or better than high-copy plasmids for metabolic engineering of bacteria. *Metab Eng*, 2000, 2: 328–338
- 32 Ingmer H, Miller C, Cohen S N. The RepA protein of plasmid pSC101 controls *Escherichia coli* cell division through the SOS response. *Mol Microbiol*, 2001, 42: 519–526
- 33 Rocha E P C, Danchin A. Base composition bias might result from competition for metabolic resources. *Trends Genet*, 2002, 18: 291–294
- 34 Ali S S, Soo J, Rao C, et al. Silencing by H-NS potentiated the evolution of *Salmonella*. *PLoS Pathog*, 2014, 10: e1004500
- 35 Plotkin J B, Kudla G. Synonymous but not the same: The causes and consequences of codon bias. *Nat Rev Genet*, 2011, 12: 32–42
- 36 Cerullo F, Filbeck S, Patil P R, et al. Bacterial ribosome collision sensing by a MutS DNA repair ATPase paralogue. *Nature*, 2022, 603: 509–514
- 37 Sorek R, Zhu Y, Creevey C J, et al. Genome-wide experimental determination of barriers to horizontal gene transfer. *Science*, 2007, 318: 1449–1452
- 38 Warman E A, Singh S S, Gubieda A G, et al. A non-canonical promoter element drives spurious transcription of horizontally acquired bacterial genes. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48: 4891–4901
- 39 Mairhofer J, Scharl T, Marisch K, et al. Comparative transcription profiling and in-depth characterization of plasmid-based and plasmid-free *Escherichia coli* expression systems under production conditions. *Appl Environ Microbiol*, 2013, 79: 3802–3812
- 40 Li W, Liu Z, Yin W, et al. MCR expression conferring varied fitness costs on host bacteria and affecting bacteria virulence. *Antibiotics*, 2021, 10: 872
- 41 Bottery M J, Wood A J, Brockhurst M A. Adaptive modulation of antibiotic resistance through intragenomic coevolution. *Nat Ecol Evol*, 2017, 1: 1364–1369
- 42 Harrison E, Brockhurst M A. Plasmid-mediated horizontal gene transfer is a coevolutionary process. *Trends Microbiol*, 2012, 20: 262–267
- 43 Sünderhauf D, Klümper U, Gaze W H, et al. Interspecific competition can drive plasmid loss from a focal species in a microbial community. *ISME J*, 2023, 17: 1765–1773
- 44 Ow D S W, Nissom P M, Philp R, et al. Global transcriptional analysis of metabolic burden due to plasmid maintenance in *Escherichia coli* DH5 α during batch fermentation. *Enzyme Microb Tech*, 2006, 39: 391–398
- 45 Lopatkin A J, Meredith H R, Srimani J K, et al. Persistence and reversal of plasmid-mediated antibiotic resistance. *Nat Commun*, 2017, 8: 1689
- 46 Field C M, Summers D K. Multicopy plasmid stability: Revisiting the dimer catastrophe. *J Theor Biol*, 2011, 291: 119–127
- 47 Summers D K, Beton C W H, Withers H L. Multicopy plasmid instability: The dimer catastrophe hypothesis. *Mol Microbiol*, 1993, 8: 1031–1038
- 48 Patient M E, Summers D K. ColE1 multimer formation triggers inhibition of *Escherichia coli* cell division. *Mol Microbiol*, 1993, 9: 1089–1095
- 49 San Millan A, Toll-Riera M, Qi Q, et al. Interactions between horizontally acquired genes create a fitness cost in *Pseudomonas aeruginosa*. *Nat Commun*, 2015, 6: 6845
- 50 Lee H, Shin J, Chung Y J, et al. Co-introduction of plasmids harbouring the carbapenemase genes, *bla*_{NDM-1} and *bla*_{OXA-232}, increases fitness and virulence of bacterial host. *J Biomed Sci*, 2020, 27: 8
- 51 Ram Y, Dellus-Gur E, Bibi M, et al. Predicting microbial growth in a mixed culture from growth curve data. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019,

- 116: 14698–14707
- 52 San Millan A. Evolution of plasmid-mediated antibiotic resistance in the clinical context. [Trends Microbiol](#), 2018, 26: 978–985
 - 53 Delafuente J, Rodriguez-Beltran J, San Millan A. Methods to study fitness and compensatory adaptation in plasmid-carrying bacteria. [Methods Mol Biol](#), 2020, 2075: 371–382
 - 54 Zhang P, Mao D, Gao H, et al. Colonization of gut microbiota by plasmid-carrying bacteria is facilitated by evolutionary adaptation to antibiotic treatment. [ISME J](#), 2022, 16: 1284–1293
 - 55 Lee H, Ko K S. Effect of multiple, compatible plasmids on the fitness of the bacterial host by inducing transcriptional changes. [J AntiMicrob ChemoTher](#), 2021, 76: 2528–2537
 - 56 Liu Z, Wang Z, Lu X, et al. Structural diversity, fitness cost, and stability of a *Bla*_{NDM-1}-bearing cointegrate plasmid in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. [Microorganisms](#), 2021, 9: 2435
 - 57 Zhang Y, Xu D, He Z, et al. Characterization and fitness cost analysis of two plasmids carrying different subtypes of *bla*_{NDM} in aquaculture farming. [Food Microbiol](#), 2023, 115: 104327
 - 58 San Millan A, Toll-Riera M, Qi Q, et al. Integrative analysis of fitness and metabolic effects of plasmids in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. [ISME J](#), 2018, 12: 3014–3024
 - 59 Ma K, Feng Y, Zong Z, et al. Fitness cost of a *mcr-1*-carrying IncHI2 plasmid. [PLoS ONE](#), 2018, 13: e0209706
 - 60 Kloos J, Gama J A, Hegstad J, et al. Piggybacking on niche adaptation improves the maintenance of multidrug-resistance plasmids. [Mol Biol Evol](#), 2021, 38: 3188–3201
 - 61 Tang F, Cai W, Jiang L, et al. Large-scale analysis of fitness cost of *tet*(X4)-positive plasmids in *Escherichia coli*. [Front Cell Infect Microbiol](#), 2022, 12: 798802
 - 62 Rajer F, Sandegren L, Cooper V S. The role of antibiotic resistance genes in the fitness cost of multiresistance plasmids. [mBio](#), 2022, 13: e03552-21
 - 63 Li F, Wang J, Jiang Y, et al. Adaptive evolution compensated for the plasmid fitness costs brought by specific genetic conflicts. [Pathogens](#), 2023, 12: 137
 - 64 Herencias C, Rodríguez-Beltrán J, León-Sampedro R, et al. Collateral sensitivity associated with antibiotic resistance plasmids. [eLife](#), 2021, 10: e65130
 - 65 Wang J, Guo Z W, Zhi C P, et al. Impact of plasmid-borne *oqxAB* on the development of fluoroquinolone resistance and bacterial fitness in *Escherichia coli*. [J AntiMicrob ChemoTher](#), 2017, 72: 1293–1302
 - 66 Zhang L, Fu Y, Zhang L, et al. Co-evolutionary adaptations of *Acinetobacter baumannii* and a clinical carbapenemase-encoding plasmid during carbapenem exposure. [Evolary Appl](#), 2022, 15: 1045–1061
 - 67 Alonso-del Valle A, León-Sampedro R, Rodríguez-Beltrán J, et al. Variability of plasmid fitness effects contributes to plasmid persistence in bacterial communities. [Nat Commun](#), 2021, 12: 2653
 - 68 Bethke J H, Ma H R, Tsoi R, et al. Vertical and horizontal gene transfer tradeoffs direct plasmid fitness. [Mol Syst Biol](#), 2023, 19: e11300
 - 69 Dorado-Morales P, Garcillán-Barcia M P, Lasa I, et al. Fitness cost evolution of natural plasmids of *Staphylococcus aureus*. [mBio](#), 2021, 12: e03094-20
 - 70 Andersson D I. The biological cost of mutational antibiotic resistance: Any practical conclusions? [Curr Opin Microbiol](#), 2006, 9: 461–465
 - 71 Zhu M, Wang Q, Mu H, et al. A fitness trade-off between growth and survival governed by Spo0A-mediated proteome allocation constraints in *Bacillus subtilis*. [Sci Adv](#), 2023, 9: eadg9733
 - 72 Wang Y, Luo Q, Xiao T, et al. Impact of polymyxin resistance on virulence and fitness among clinically important Gram-negative bacteria. [Engineering](#), 2022, 13: 178–185
 - 73 Zhu M, Dai X. Shaping of microbial phenotypes by trade-offs. [Nat Commun](#), 2024, 15: 4238
 - 74 Kurabayashi K, Hirakawa Y, Tanimoto K, et al. Role of the CpxAR two-component signal transduction system in control of fosfomycin resistance and carbon substrate uptake. [J Bacteriology](#), 2014, 196: 248–256
 - 75 Ender M, McCallum N, Adhikari R, et al. Fitness cost of SCCmec and methicillin resistance levels in *Staphylococcus aureus*. [Antimicrob Agents ChemoTher](#), 2004, 48: 2295–2297
 - 76 Paulander W, Maisnier-Patin S, Andersson D I. The fitness cost of streptomycin resistance depends on *rpsL* mutation, carbon source and RpoS (σ^S). [Genetics](#), 2009, 183: 539–546

- 77 Baharoglu Z, Bikard D, Mazel D, et al. Conjugative DNA transfer induces the bacterial SOS response and promotes antibiotic resistance development through integron activation. *PLoS Genet*, 2010, 6: e1001165
- 78 Harcum S W, Haddadin F A T. Global transcriptome response of recombinant *Escherichia coli* to heat-shock and dual heat-shock recombinant protein induction. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2006, 33: 801–814
- 79 Hall J P J, Wright R C T, Harrison E, et al. Plasmid fitness costs are caused by specific genetic conflicts enabling resolution by compensatory mutation. *PLoS Biol*, 2021, 19: e3001225
- 80 Hong H, Jung J, Park W, et al. Plasmid-encoded tetracycline efflux pump protein alters bacterial stress responses and ecological fitness of *Acinetobacter oleivorans*. *PLoS ONE*, 2014, 9: e107716
- 81 Yang Q, Li M, Spiller O B, et al. Balancing *mcr-1* expression and bacterial survival is a delicate equilibrium between essential cellular defence mechanisms. *Nat Commun*, 2017, 8: 2054
- 82 Wein T, Dagan T. Plasmid evolution. *Curr Biol*, 2020, 30: R1158–R1163
- 83 Dimitriu T, Matthews A C, Buckling A. Increased copy number couples the evolution of plasmid horizontal transmission and plasmid-encoded antibiotic resistance. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, 118: e2107818118
- 84 Kim M, Park J, Kang M, et al. Gain and loss of antibiotic resistant genes in multidrug resistant bacteria: One health perspective. *J Microbiol*, 2021, 59: 535–545
- 85 Brockhurst M A, Harrison E, Hall J P J, et al. The ecology and evolution of pangenomes. *Curr Biol*, 2019, 29: R1094–R1103
- 86 Kottara A, Carrilero L, Harrison E, et al. The dilution effect limits plasmid horizontal transmission in multispecies bacterial communities. *Microbiology*, 2021, 167: 001086
- 87 Diard M, Hardt W D. Evolution of bacterial virulence. *FEMS Microbiol Rev*, 2017, 41: 679–697
- 88 Ernst C M, Braxton J R, Rodriguez-Orsio C A, et al. Adaptive evolution of virulence and persistence in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Nat Med*, 2020, 26: 705–711
- 89 Lavigne J P, Cuzon G, Combescure C, et al. Virulence of *Klebsiella pneumoniae* isolates harboring *bla_{KPC-2}* carbapenemase gene in a *Caenorhabditis elegans* model. *PLoS ONE*, 2013, 8: e67847
- 90 Eger E, Schwabe M, Schulig L, et al. Extensively drug-resistant *Klebsiella pneumoniae* counteracts fitness and virulence costs that accompanied Ceftazidime-avibactam resistance acquisition. *Microbiol Spectr*, 2022, 10: e00148-22
- 91 Cai S, Wang Z, Han X, et al. The correlation between intestinal colonization and infection of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: A systematic review. *J Glob AntiMicrob Resist*, 2024, 38: 187–193
- 92 Bray A S, Smith R D, Hudson A W, et al. MgrB-dependent colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae* is associated with an increase in host-to-host transmission. *mBio*, 2022, 13: e03595–21
- 93 Rudkin J K, Edwards A M, Bowden M G, et al. Methicillin resistance reduces the virulence of healthcare-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by interfering with the *agr* quorum sensing system. *J Infect Dis*, 2012, 205: 798–806
- 94 Loftie-Eaton W, Bashford K, Quinn H, et al. Compensatory mutations improve general permissiveness to antibiotic resistance plasmids. *Nat Ecol Evol*, 2017, 1: 1354–1363
- 95 Sota M, Yano H, M Hughes J, et al. Shifts in the host range of a promiscuous plasmid through parallel evolution of its replication initiation protein. *ISME J*, 2010, 4: 1568–1580
- 96 Millan A S, Peña-Miller R, Toll-Riera M, et al. Positive selection and compensatory adaptation interact to stabilize non-transmissible plasmids. *Nat Commun*, 2014, 5: 5208
- 97 Liu Z, Zhao Q, Xu C, et al. Compensatory evolution of chromosomes and plasmids counteracts the plasmid fitness cost. *Ecol Evol*, 2024, 14: e70121
- 98 Cheng K K, Lee B S, Masuda T, et al. Global metabolic network reorganization by adaptive mutations allows fast growth of *Escherichia coli* on glycerol. *Nat Commun*, 2014, 5: 3233
- 99 Harrison E, Guymier D, Spiers A J, et al. Parallel compensatory evolution stabilizes plasmids across the parasitism-mutualism continuum. *Curr Biol*, 2015, 25: 2034–2039
- 100 Kawano H, Suzuki-Minakuchi C, Sugiyama D, et al. A novel small RNA on the *Pseudomonas putida* KT2440 chromosome is involved in the fitness cost imposed by IncP-1 plasmid RP4. *Front Microbiol*, 2020, 11: 1328
- 101 Zhang J F, Fang L X, Chang M X, et al. A trade-off for maintenance of multidrug-resistant IncHI2 plasmids in *Salmonella enterica* serovar

- typhimurium through adaptive evolution. *mSystems*, 2022, 7: e00248-22
- 102 Hernández-Arriaga A M, Chan W T, Espinosa M, et al. Conditional activation of toxin-antitoxin systems: Postsegregational killing and beyond. *Microbiol Spectr*, 2014, doi: 10.1128/microbiolspec.PLAS-0009-2013
- 103 Lin J, Guo Y, Yao J, et al. Applications of toxin-antitoxin systems in synthetic biology. *Eng Microbiol*, 2023, 3: 100069
- 104 Takashima A, Kawano H, Ueda T, et al. A toxin-antitoxin system confers stability to the IncP-7 plasmid pCAR1. *Gene*, 2022, 812: 146068
- 105 Yano H, Węgrzyn K, Loftie-Eaton W, et al. Evolved plasmid-host interactions reduce plasmid interference cost. *Mol Microbiol*, 2016, 101: 743–756
- 106 Wedel E, Bernabe-Balas C, Ares-Arroyo M, et al. Insertion sequences determine plasmid adaptation to new bacterial hosts. *mBio*, 2023, 14: e03158-22
- 107 Souque C, Escudero J A, MacLean R C, et al. Off-target integron activity leads to rapid plasmid compensatory evolution in response to antibiotic selection pressure. *mBio*, 2023, 14: e02537-22
- 108 Jordt H, Stalder T, Kosterlitz O, et al. Coevolution of host–plasmid pairs facilitates the emergence of novel multidrug resistance. *Nat Ecol Evol*, 2020, 4: 863–869
- 109 Olivares J, Alvarez-Ortega C, Linares J F, et al. Overproduction of the multidrug efflux pump MexEF-OprN does not impair *Pseudomonas aeruginosa* fitness in competition tests, but produces specific changes in bacterial regulatory networks. *Environ Microbiol*, 2012, 14: 1968–1981
- 110 Olivares Pacheco J, Alvarez-Ortega C, Alcalde Rico M, et al. Metabolic compensation of fitness costs is a general outcome for antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* mutants overexpressing efflux pumps. *mBio*, 2017, 8: e00500-17
- 111 Olivares J, Álvarez-Ortega C, Martínez J L. Metabolic compensation of fitness costs associated with overexpression of the multidrug efflux pump MexEF-OprN in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014, 58: 3904–3913
- 112 Röder H L, Trivedi U, Russel J, et al. Biofilms can act as plasmid reserves in the absence of plasmid specific selection. *NPJ Biofilms Microbiomes*, 2021, 7: 78
- 113 Metzger G A, Ridenhour B J, France M, et al. Biofilms preserve the transmissibility of a multi-drug resistance plasmid. *NPJ Biofilms Microbiomes*, 2022, 8: 95
- 114 Bahl M I, Hansen L H, Sørensen S J. Impact of conjugal transfer on the stability of IncP-1 plasmid pKJK5 in bacterial populations. *FEMS Microbiol Lett*, 2007, 266: 250–256
- 115 Yi L, Durand R, Grenier F, et al. PixR, a novel activator of conjugative transfer of IncX4 resistance plasmids, mitigates the fitness cost of *mcr-1* carriage in *Escherichia coli*. *mBio*, 2022, 13: e03209-21
- 116 Turner P E, Cooper V S, Lenski R E. Tradeoff between horizontal and vertical modes of transmission in bacterial plasmids. *Evolution*, 1998, 52: 315–329
- 117 Prenskey H, Gomez-Simmonds A, Uhlemann A C, et al. Conjugation dynamics depend on both the plasmid acquisition cost and the fitness cost. *Mol Syst Biol*, 2021, 17: e9913
- 118 Shen Z, Tang C M, Liu G Y. Towards a better understanding of antimicrobial resistance dissemination: What can be learnt from studying model conjugative plasmids? *Military Med Res*, 2022, 9: 3
- 119 Petrova V, Chitteni-Pattu S, Drees J C, et al. An SOS inhibitor that binds to free RecA protein: The PsiB protein. *Mol Cell*, 2009, 36: 121–130
- 120 Wang Y, Xu C, Zhang R, et al. Changes in colistin resistance and *mcr-1* abundance in *Escherichia coli* of animal and human origins following the ban of colistin-positive additives in China: An epidemiological comparative study. *Lancet Infect Dis*, 2020, 20: 1161–1171
- 121 Jangir P K, Ogunlana L, Szili P, et al. The evolution of colistin resistance increases bacterial resistance to host antimicrobial peptides and virulence. *eLife*, 2023, 12: e84395
- 122 Cao Y P, Lin Q Q, He W Y, et al. Co-selection may explain the unexpectedly high prevalence of plasmid-mediated colistin resistance gene *mcr-1* in a Chinese broiler farm. *Zool Res*, 2020, 41: 569–575
- 123 Bermudez T A, Brannon J R, Dudipala N, et al. Raising the alarm: Fosfomycin resistance associated with non-susceptible inner colonies imparts no fitness cost to the primary bacterial uropathogen. *Antimicrob Agents Chemother*, 2024, 68: e00803-23
- 124 Enne V I, Bennett P M, Livermore M D, et al. Enhancement of host fitness by the *sul2*-coding plasmid p9123 in the absence of selective pressure. *J Antimicrob Chemother*, 2004, 53: 958–963
- 125 Enne V I, Livermore M D, Stephens P, et al. Persistence of sulphonamide resistance in *Escherichia coli* in the UK despite national prescribing restriction. *Lancet*, 2001, 357: 1325–1328

- 126 He Y Z, Yan J R, He B, et al. A transposon-associated CRISPR/Cas9 system specifically eliminates both chromosomal and plasmid-borne *mcr-1* in *Escherichia coli*. [Antimicrob Agents Chemother](#), 2021, 65: e01054-21

Fitness costs of plasmids carrying antibiotic resistance genes

XU YanXing, CHENG Hao, HU XiaoJie, QIN Chao & GAO YanZheng

Institute of Organic Contaminant Control and Soil Remediation, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

Antibiotic resistance is linked to bacterial adaptability. Aside from that, antibiotic resistance genes (ARGs) carried by plasmids contribute tremendously to the global spread of antibiotic resistance. Nevertheless, while ARG plasmids facilitate the adaptation of host bacteria to various environments, they also impose a fitness cost on host bacteria. Under antibiotic selection pressure, ARG plasmids are advantageous to host bacteria as they increase their survival rate in the presence of antibiotics. In contrast, in the absence of antibiotic selection pressure, ARG plasmids cause fitness costs to the bacterial host. The fitness costs include growth-survival effects (lowered growth rate and viability), vertical-horizontal transfer effects (changes in the transfer mode and inhibition of ARGs plasmid transfer), and bacterial virulence effects (low host invasiveness and toxin secretion). Under such circumstances, this can not only lower the competitiveness and narrow the ecological niches of the host bacteria but can also eliminate them from the bacterial populations. Host bacteria can lessen fitness costs through several mechanisms (mutation-compensating evolution, nonmutational compensation, and conjugation transfer), which can help retain them in the population. Notably, the various reduction mechanisms of ARG plasmid fitness cost have impeded or even halted the reversal of bacterial resistance by controlling antibiotic misuse. Therefore, it is imperative to conduct research into mechanisms by which fitness cost reduction pathways can be blocked, and antibiotic susceptibility in bacteria with ARGs plasmids can be restored. This can limit the spread of antibiotic resistance. Additionally, it is essential to conduct experiments under a wide range of real-world environmental conditions. This will help to develop a novel approach for effectively addressing the antibiotic resistance crisis and the establishment of an all-around risk assessment system.

antibiotic resistance gene, plasmid, fitness cost, reduction pathway

doi: [10.1360/SST-2024-0258](https://doi.org/10.1360/SST-2024-0258)