

Н. О. Вринчану

## Роль ефлюксних систем у резистентності мікроорганізмів до антибіотиків

Державна установа «Інститут фармакології та токсикології  
Національної академії медичних наук України», м. Київ

*Ключові слова:* мікроорганізми, антимікробні засоби, резистентність, ефлюксні помпи

Одним з головних досягнень медицини минулого століття є відкриття антибіотиків. Упровадження антимікробних препаратів у клінічну практику значно зменшило кількість інфекційних захворювань, дало надію на повний контроль людини над вірусними, бактеріальними інфекціями та мікозами. Але, не дивлячись на наявність у клінічній практиці достатньої кількості антимікробних препаратів, проблема профілактики та лікування захворювань, зумовлених мікроорганізмами, залишається актуальною. Практично одночасно з впровадженням антибіотиків у медичну практику були виявлені резистентні до їхньої дії штами збудників.

Поява антибіотикостійких штамів бактерій знижує терапевтичну ефективність антимікробних засобів, потребує додаткових матеріальних затрат (близько 1,5 млрд євро на один рік) та сприяє збільшенню кількості летальних випадків. Смертність від хвороб, зумовлених резистентними штамми мікроорганізмів, складає у країнах Євросоюзу, Норвегії та Ісландії близько 25 тис. осіб щорічно, у США – близько 23 тис. [1–3].

Однією з основних причин недостатньої ефективності антимікробної терапії є наявність у мікроорганізмів механізмів протидії як природних, так і набутих [4]. Природна резистентність реалізується різноманітними шляхами, зокрема, відсутністю мішені дії, ферментативною інактивацією препарату та недостатньою проникністю клітинної стінки, що сприяє зменшенню внутрішньоклітинної концентрації антимікробного препарату. Останній з наведе-

них механізмів резистентності є суттєвою перепоною для дії антибіотиків відносно грамнегативних бактерій, що зумовлено наявністю зовнішньої мембрани. Зменшення вмісту антибіотиків у клітинах бактерій досягається також завдяки гіперактивації або гіперпродукції ефлюксних помп.

Ефлюксні помпи є транспортерами білкової природи, локалізованими в цитоплазматичній мембрані всіх клітин як прокариот, так і еукариот, і відіграють важливу роль у їхній життєдіяльності, зокрема, забезпечують мікроорганізмам стійкість до дії ксенобіотиків [5–7]. Генетичні детермінанти транспортерів можуть міститись на хромосомах та плазмідах або транспозонах, що зумовлює легкість передачі цих генів. Антимікробні препарати є індукторами або регуляторами експресії генів ефлюксних систем і здатні сприяти селекційному відбору стійких штамів.

Мікроорганізми різних видів мають помпи, які можуть відрізнятися за структурою та належати до різних родин ефлюксних помп. Бактеріальні ефлюксні помпи поділяються на 2 типи: первинні транспортери (АТФ-залежні) та вторинні, які використовують енергію трансмембранного потенціалу й включають 5 родин (надродин) ефлюксних транспортерів – АВС-надродину (ATP binding cassette); MFS-надродину (major facilitator superfamily); MATE-родину (multidrug and toxic compound extrusion); SMR-родину (small multidrug resistance) та RND-надродину (resistance nodulation division) [7].

Схематичне зображення будови основних родин ефлюксних транспортерів наведено на рисунку 1, їхня структура та топологія – на рисунку 2.

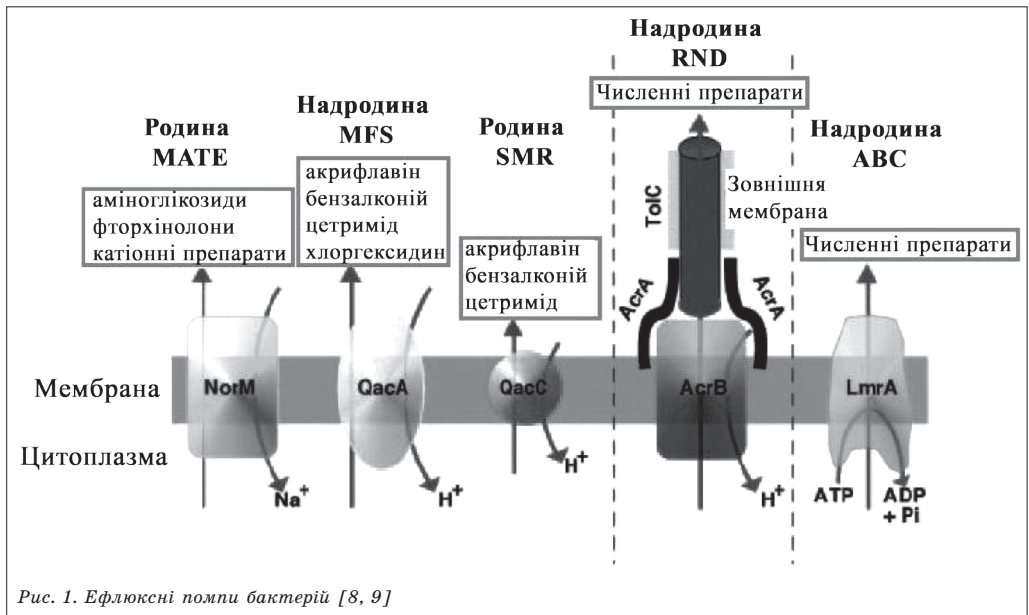


Рис. 1. Ефлюксні помпи бактерій [8, 9]

Надродина ABC відноситься до первинних транспортерів та є найпоширенішою в еукаріотів і прокаріотів. Загальною характеристикою всіх цих систем є те, що вони є консервативними АТФ-азами, використовують енергію гідролізу АТФ для екструзії цитотоксичних сполук. ABC-транспортери включають 4 домени: 2 гідрофобні, які складаються з шести трансмембранних  $\alpha$ -спіралей, та 2

гідрофільні нуклеотид-зв'язуючі домени [11–13]. ABC-транспортери виявлені в *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Helicobacter pylori*, *Mycoplasma genitalium*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus* та інших бактерій [13, 14]. У кишкової палички описано 7 транспортерів цієї надродини.

Серед ABC-транспортерів є білки, що транспортують сполуки певних класів

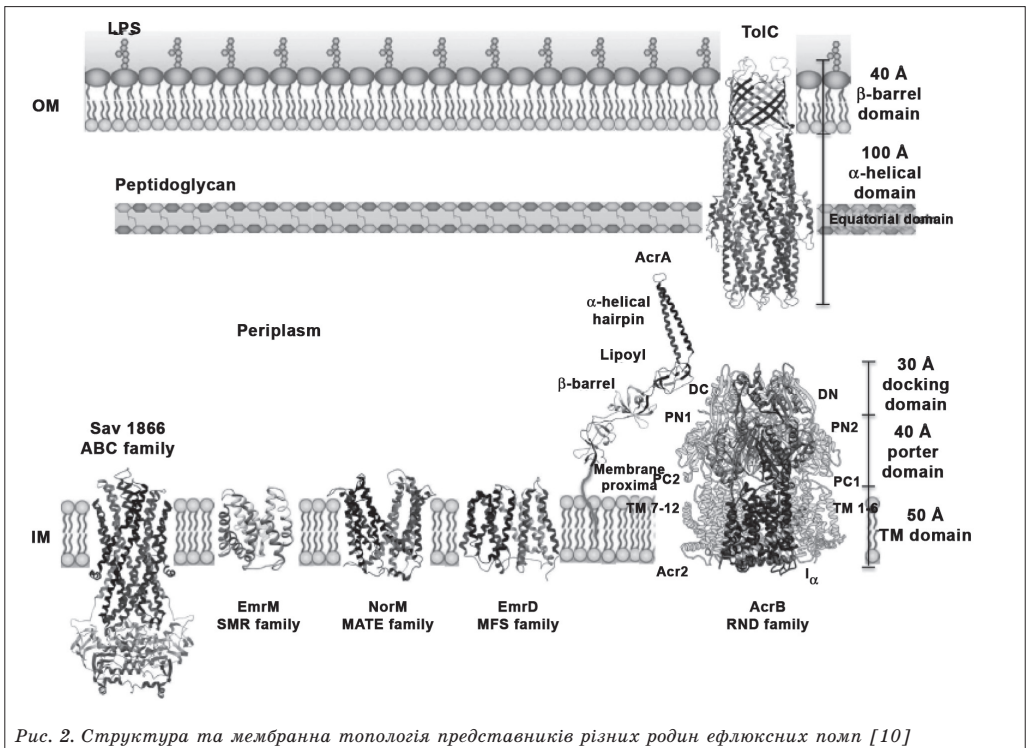


Рис. 2. Структура та мембранна топологія представників різних родин ефлюксних помп [10]

(MsrA транспортує лише макроліди в стафілококів чи стрептококів), та мультиекспортери, що забезпечують викид структурно подібних антибактеріальних сполук, флуоресцентних барвників тощо. Більшість відомих сьогодні АТФ-залежних переносників є специфічними відносно субстратів.

ABC-транспортери поділяються за функцією на 3 основні групи:

I група – забезпечує транспорт у клітину іонів, амінокислот, пептидів, цукрів й інших речовин, в основному гідрофільних. У клітинах еукаріотів така група транспортерів відсутня;

II група – видаляє з клітини токсичні речовини та лікарські препарати (присутні в клітинах прокаріотів та еукаріотів), у тому числі полісахариди, ліпополісахариди, тейхоеві кислоти, білки (гемолізину, гем-зв'язуючий білок, лужну протеазу), бактеріоцини, антибіотики, сідерофори. Крім того, вони відіграють важливу роль у біосинтезі полісахаридів [15] та цитохромів [16, 17];

III група – бере участь у процесах репарації ДНК та трансляції. Функція переносників у них відсутня [4, 18–21].

*Надродина MFS* – найчисельніша група вторинних транспортерів, включає 74 родини [8], сьогодні секвеновано понад 1000 індивідуальних представників. MFS-білки, виявлені в грамнегативних і грампозитивних бактерій та еукаріот, транспортують цукри, метаболіти, амінокислоти, пептиди, аніони тощо. До цієї групи входять помпи Bcr, EmrB і EmrD у *E. coli*; PmrA – у *Streptococcus pneumoniae*; QacA та NorA – у *S. aureus* [13, 22–24].

Транспортери цієї надродини зазвичай функціонують як однокомпонентні системи, однак у грамнегативних бактерій вони можуть функціонувати також у складі потрійного транспортного комплексу, сумісно з MFP (membrane fusion protein) та білком зовнішньої мембрани, утворюючи MDR (multi drug resistant)-системи. Трикомпонентна система складається з транспортера, локалізованого на зовнішній мембрані, білка-порина, який утворює канал у зовнішній мембрані, та допоміжного периплазматичного білка

MFP, який зв'язує зовнішню- та внутрішньомембранну частину комплексу. Цей комплекс каталізує перенос речовин через обидві мембрани грамнегативних бактерій. Зазвичай для кожного MDR транспортера існує свій MFP, а гени, які кодують ці білки, організовані в один оперон.

MDR-транспортери мають 12 або 14 трансмембранних сегментів та належать до декількох родин у складі MFS. До 12-членних MFS-транспортерів входять близько 400 амінокислот, які й формують 12 трансмембранних спіралей з великою цитоплазматичною петлею між шостою та сьомою спіралями. 12-членні транспортери виявлені в різних видів мікроорганізмів. Так, у *B. subtilis* присутні Bmr, Blt білки (гомологічні NorA), у *Lactococcus lactis* ефлюкс забезпечує lmrP транспортер, у *S. pneumoniae* – PmrA [25]. Як і помпи NorA, Bmr та LmrP, помпа PmrA пригнічується алкалоїдом резерпіном. Підвищена експресія гена, що кодує PmrA помпу, призводить до зниження чутливості бактерій до дії антимікробних засобів, у тому числі до фторхінолонів ципрофлоксацину та норфлоксацину [26]. 14-членний транспортер виявлений у різних видів бактерій, зокрема в *Vibrio cholerae*. У цього мікроорганізму присутня помпа VseAB, яка забезпечує полірезистентність до хлорамфеніколу та налідиксової кислоти [13].

Представники надродини MFS можуть бути як субстраг-специфічними, так і мультитранспортерами, що свідчить про відсутність фундаментальних відмінностей поміж помпами цих двох типів. MFS-транспортери відіграють головну роль при певних захворюваннях, зокрема, при вірусних інфекціях, оскільки ці білки здатні переносити через мембрану аналоги нуклеозидів. Мутації генів, які кодують транспортери MFS, забезпечують стійкість до противірусної терапії [27].

Транспортери родини MATE уперше виявлені в 1998 році в *Vibrio parahaemolyticus* (NorM), потім у *E. coli* (YdhE) [28, 29]. У 2005 році NorM виявлено в людини та мишей. Білки MATE-родини мають мембранну топологію, подібну до топології MFS-транспортерів,

однак, аналіз амінокислотних послідовностей не виявив гомології між членами родин MATE та MFS. Бактеріальні транспортери MATE-родини складаються з 450 амінокислотних залишків і мають 12 трансмембранних сегментів. Члени цієї родини використовують як рушійну силу транспортно-процесу електрохімічний градієнт, організований за механізмом субстрат: Na<sup>+</sup> антипорт.

Натепер транспортери MATE виявлені в *Bacteroides thetaiotaomicron* (MexA), *H. influenzae* (HmrM), *P. aeruginosa* (PmpM), *Clostridium difficile* (CdeA). Не дивлячись на те, що MATE-транспортери є характерними для грамнегативних мікроорганізмів, вони виявлені й у грампозитивних, зокрема в *S. aureus* (MerA). MATE є найменш вивченою серед усіх 5 родин. Сьогодні детально охарактеризовано помпу NorM, яка відповідає за формування резистентності до катіонних сполук, барвників, фторхінолонів та аміноглікозидів і присутня в *V. parahaemolyticus*, *Neisseria gonorrhoeae* та *Neisseria meningitidis*. У *E. coli* описана YdhE помпа, що забезпечує кишковій паличці стійкість до катіонних антимікробних засобів.

**Родина SMR.** SMR-транспортери складаються з 100–120 амінокислотних залишків (~ 12 kDa) і містять 4 трансмембранних сегменти. SMR-транспортери є протон-залежними ефлюксними системами [30] та належать до MDR-помп, їхня субстратна специфічність обмежена ліпофільними катіонами, у тому числі антисептиками та дезінфектантами. Транспортери цієї родини виявлені в грамнегативних та грампозитивних мікроорганізмів, у тому числі в збудника туберкульозу – *Mycobacterium tuberculosis* [31].

Найдетальніше вивчені транспортери цієї родини в кишковій паличці. У *E. coli* описано 3 транспортери, найдослідженіша EmrE-помпа – мультисубстратний транспортер, зданий виводити з клітини бромистий етидій. У *M. tuberculosis* виявлений MmrG-транспортер, який забезпечує бактеріям резистентність до бромистого етидію, еритроміцину, сахарину O, піроніну Y, ізоніазиду та інших

речовин. Встановлено, що стійкість до ізоніазиду у штамів *M. tuberculosis*, яка сформувалась під впливом антибіотика, зумовлена саме гіперекспресією *mmr*-генів [32]. Гени *mmr* виявлені в інших мікобактерій, зокрема в *Mycobacterium simiae*, *Mycobacterium goodii*, *Mycobacterium marinum* та *Mycobacterium bovis*.

Практично ідентичною до EmrE-помпи *E. coli* є мультисубстратна SMR-помпа *P. aeruginosa*, яка забезпечує природну резистентність до бромистого етидію, акрифлавіну та аміноглікозидних антибіотиків.

До надродини RND входять вторинні транспортери, які взаємодіють з мембраноз'язуючим білком та білком зовнішньої мембрани й представлені 12 трансмембранними сегментами з двома великими петлями між 1 і 2 та 7 і 8 сегментами [13, 31, 33]. Представниками RND-надродини є AcrB-помпа в *E. coli*, *Salmonella spp.* і *Enterobacter aerogenes*; MexB, MexD, MexF і MexY – у *P. aeruginosa*; AmrB – у *Burkholderia pseudomallei*; MtrD – у *N. gonorrhoeae*.

Найдетальніше структура цієї помпи та функціонування досліджені в *E. coli*, така сама модель RND-помпи підтверджена структурою MexB-білка надродини RND у *P. aeruginosa* [13, 34–36].

Однією з транспортних систем, що каталізує активний ефлюкс широкого спектра антибактеріальних засобів у *E. coli* та інших представників родини *Enterobacteriaceae*, є AcrAB-TolC. Ефлюксна помпа AcrAB-TolC має складну структуру, що складається з трьох частин, представлених цитоплазматичним компонентом «насоса» AcrB, мембранним білком злиття AcrA і каналом зовнішньої мембрани – TolC.

Цей комплекс може одночасно транспортувати антибіотики як через цитоплазматичну, так і через зовнішню мембрану, що забезпечує високоефективний механізм стійкості [13, 15, 37]. Ефлюксна помпа AcrAB-TolC виявлена в різних грамнегативних бактерій. Встановлено, що субстратами цієї системи в *E. coli* є хлорамфенікол, фторхінолони, тетрациклін, рифампіцин, новобіоцин, фузидієва кислота, налідиксова кислота та β-лактамі антибіо-

тики, у *S. typhimurium* – хінолони, хлорамфенікол, тетрациклін та налідиксова кислота. У *P. aeruginosa* виявлена помпа MexAB-OprM, яка є гомологом AcrAB-TolC і здатна активно видаляти з мікробної клітини фторхінолони, тетрацикліни та хлорамфенікол.

Ефлюксні помпи надродини RND виявляють низьку субстратну специфічність і здатні здійснювати транспорт великої кількості сполук, призводячи до появи мультирезистентних штамів [38].

Таким чином, у мікроорганізмів виявлені складні транспортні системи білкової природи, функція яких – виведення з внутрішнього середовища мікробної клітини різних класів хімічних речовин, первинна функція цих транспортних систем, як і їхня специфічність у повній мірі ще не з'ясована.

У мікроорганізмів існує 2 типи адаптивних механізмів резистентності, пов'язаних з ефлюксними процесами, які реалізуються за рахунок SDR-систем (specific drug resistance transporters), що забезпечують стійкість до окремого препарату, та MDR-систем, необхідних для розвитку полірезистентності збудників (табл. 1).

Встановлено деякі особливості ефлюксу в грампозитивних та грамнегативних бактерій. Так, у клінічних штамів грамнегативних бактерій ефлюкс більшою мірою пов'язаний з

RND-надродиною, у грампозитивних – з MFS-надродиною.

Встановлено, що ефлюкс тетрациклінів забезпечують MFS-помпи. У грамнегативних мікроорганізмів ефлюкс здійснюється за допомогою транспортерів Tet(A), Tet(B), Tet(C), Tet(D), Tet(E), Tet(G), Tet(H), Tet(J), Tet(Y), Tet(Z), Tet(30), Tet(39), у грампозитивних – за участю Tet(K), Tet(L). У *S. aureus*, *M. tuberculosis*, *Mycobacterium fortuitum*, *M. bovis* присутні й транспортери Tet38, Tet(V), Rv1258/Tap, P55/Rv1410, MdfA, а в *E. coli* – MexAB-OprM [39]. Детермінанти резистентності зазвичай локалізовані на плазмідах, що забезпечує їхнє швидке розповсюдження як серед бактерій одного виду, так і серед мікроорганізмів різних видів.

**Ефлюкс макролідів.** У видаленні препаратів цієї групи беруть участь помпи, що відносяться до MFS, ABC та RND-надродин. У представників родів *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Enterococcus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Acinetobacter*, *Bacteroides* та *Neisseria* викид макролідів забезпечують Mef(A)-транспортери MFS-надродини. З'ясовано, що окрім Mef(A)-транспортера, у видаленні антибіотиків цієї групи з клітин *S. aureus* бере участь і MdeA. Останній видалює макроліди також з клітин *Streptococcus haemolyticus*, *Bacillus cereus* та *B. subtilis*. Видалення макролідів з клітин *E. coli* забезпечують MacAB-TolC-білки, з *S. aureus* – Msr(A),

Таблиця 1

Субстрати ефлюксних систем бактерій [22]

Родина	Помпа	Мікроорганізми	Субстрат помпи
SMR	Smr/QacC	<i>S. aureus</i>	QA
SMR	EmrE	<i>E. coli</i>	AC
MFS	TetA	<i>E. coli</i>	TC
MFS	NorA	<i>S. aureus</i>	AC, CA, FQ, PM, QA
MATE	YdhE	<i>E. coli</i>	CF, KM, NF, SM
ABC	MacB	<i>E. coli</i>	AZ, CL, EM, OL
RND	AcrB/AcrA/TolC	<i>E. coli</i>	AC, BL, CA, EM, FA, FQ, MC, NA, NV, TC
RND	MexB/MexA/OprM	<i>P. aeruginosa</i>	AZ, CF, RP

Примітка. AC – акрифлавін, AZ – азитроміцин, BL – β-лактами, CA – хлорамфенікол, CF – ципрофлоксацин, CL – кларитроміцин, EM – еритроміцин, FQ – фторхінолони, FA – фузидієва кислота, KM – канаміцин, MC – мітоміцин, NA – налідиксова кислота, NF – норфлоксацин, NV – новобіоцин, OL – олеандоміцин, PM – пуроміцин, QA – сполуки четвертинного амонію (у тому числі бензалконію хлорид).

з *S. pneumonia* – Msr(D) білок, представники надродини ABC [6, 9, 14].

**Ефлюкс хінолонів/фторхінолонів.** При аналізі чутливості патогенів до хінолонів/фторхінолонів встановлено, що цей механізм резистентності виявляється як у грампозитивних, так і в грамнегативних бактерій. У грампозитивних мікроорганізмів ефлюкс забезпечується мембраноз'язаним білком NorA [1]. Дослідження показали, що гіперекспресію різних генів, які кодують білки помп, здатні зумовити як різні субстрати, так і один у різних концентраціях [40].

Фторхінолони (норфлораксацин, ципрофлоксацин) з клітин *S. aureus* видаляють NorA-, NorB-транспортери, *S. pneumonia* – PmrA, *E. faecalis* – EmeA, *Listeria monocytogenes* – Lde-білки, *B. subtilis* – Bmr, Blt, Bmr3, *M. tuberculosis* – Rv1634, MdfA, які є представниками MFS-надродини. Окрім MFS-помп, у видаленні макролідів з клітин *M. tuberculosis* беруть участь і ABC-помпи, а саме Rv2686c-Rv2687c-Rv2688c-білки. Транспортери ABC-надродини видаляють норфлораксацин та ципрофлоксацин з клітин *E. faecalis* (EfrAB), *Pseudomonas spp.* (Orf12-Orf11-Orf10) та *L. lactis* (LmrA). В ефлюксі норфлораксацину та ципрофлоксацину задіяні також SMR- та RND-помпи. Так, представник SMR-родини, транспортер Mmr, видаляє фторхінолони з *Mycobacterium smegmatis*, а представники RND-надродини SmeABC, SmeDEF та MexEF-OprNc – з *Stenotrophomonas maltophilia* та *P. aeruginosa* відповідно. З гіперактивністю RND-помп (AcrAB-TolC, MexXY-OprM, MexAB-OprM, MexCD-OprJ) пов'язане зниження вмісту фторхінолонів у *Proteus mirabilis*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii* та *P. aeruginosa*. Ці помпи також відповідають за резистентність зазначених мікроорганізмів до гліцилциклінів. В ефлюксі фтохінолонів беруть участь і MATE-помпи. Так, транспортер цієї родини видаляє фторхінолони з клітин золотистого стафілокока [9, 13, 22].

Доведено, що гіперактивність ефлюксних помп MFS- та RND-надродин призводить до зниження концентрації лінкозамідів у *B. subtilis*, *Corynebacterium glutamicum*, що забезпечується LmrB-

транспортером (MFS-надродина); у *E. coli*, *E. aerogenes*, *P. aeruginosa* та інших грамнегативних бактерій ефлюкс антибіотиків цього класу здійснюють AcrAB-TolC, Mex-транспортери (RND-надродина) [9, 13, 27].

Встановлено, що ефлюксні помпи видаляють з клітин мікроорганізмів і антибіотики інших груп, зокрема бета-лактами; транспортні білки AcrAB-TolC (*H. influenza*) і MexAB-OprM (*P. aeruginosa*) є представниками RND-надродини, LmrA (*P. aeruginosa*) – ABC-надродини [6, 9].

Резистентність бактерій до антимікробних препаратів, що пов'язана з ефлюксом, наведено в таблиці 2.

Активне виведення антибактеріального препарату з мікробної клітини є розповсюдженим механізмом стійкості мікроорганізмів до антибіотиків різних груп і є серйозною проблемою, оскільки сприяє зниженню клінічної ефективності протимікробних препаратів (табл. 3).

Дані, що наведено в таблиці 3, свідчать про зниження антибіотикочутливості мікроорганізмів у 2–32 разів за умови активації ефлюксних процесів, що в свою чергу може призводити до суттєвої втрати ефективності антимікробної хіміотерапії.

Дослідженнями останніх років встановлено основні типи ефлюксних систем, які забезпечують стійкість клінічно значущих патогенів до антибактеріальних засобів. Зокрема, резистентність *P. aeruginosa* зумовлена присутністю таких помп, як MexAB-OprM, MexXY-OprM, MexCD-OprJ та MexEF-OprN, які забезпечують викид декількох антибіотиків, зокрема, хлорамфеніколу, фторхінолонів та тетрациклінів, хоча не всі з зазначених Mex-систем одночасно експресуються.

У *E. coli* клінічне значення має помпа AcrAB-TolC (надродини RND), яка відповідає за нечутливість бактерій до хлорамфеніколу, фторхінолонів, фузидієвої кислоти,  $\beta$ -лактамних антибіотиків, налідиксової кислоти, новобіоцину, рифампіцину та тетрацикліну. AcrAB-TolC-помпа *Salmonella typhimurium* подібна до такої *E. coli*,

## Ефлюкс-опосередкована резистентність до антимікробних засобів [41]

Антимікробні речовини	Ефлюксна система	Родина помп	Мікроорганізми
Хлорам-фенікол	Cml, CmlA, CmlB	MFS	<i>P. aeruginosa</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>K. pneumonia</i> , <i>S. enterica</i>
	Cml, Cmlv, Cmr, Cmx, CmrA	-	<i>Streptomyces spp.</i> , <i>Corynebacterium spp.</i> , <i>Rhodococcus spp.</i>
	MdfA	MFS	<i>E. coli</i>
	OqxAB	RND	<i>E. coli</i>
	MexEF-OprNc	RND	<i>P. aeruginosa</i> , деякі грам(-) бактерії
Хлорамфені-кол, флорфе-нікол	Flo, FloR, pp-Flo	MFS	<i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>V. cholerae</i> , <i>S. enterica</i>
	FexA	-	<i>S. lentus</i>
Макроліди	Mef(A)	MFS	<i>Streptococcus spp.</i> , <i>Corynebacterium spp.</i> , <i>Enterococcus spp.</i> , <i>Micrococcus spp.</i> , <i>Staphylococcus spp.</i> , <i>Acinetobacter spp.</i> , <i>Bacteroides spp.</i> , <i>Neisseria spp.</i>
	MacAB-ToIC	ABC	<i>E. coli</i>
	MtrCDE	RND	<i>N. gonorrhoeae</i>
Еритроміцин	Cme	MFS	<i>C. difficile</i>
Лінкозаміди	LmrB	MFS	<i>B. subtilis</i> , <i>C. glutamicum</i>
Тетрацикліни	Tet(A), Tet(B), Tet(C), Tet(D), Tet(E), Tet(G), Tet(H), Tet(J), Tet(Y), Tet(Z), Tet(30), Tet(39)	MFS	Грам(-) бактерії
	Tet(K), Tet(L)	MFS	Грам(+) бактерії
	Tet38, Tet(V), Rv1258/ Tap, P55/Rv1410	MFS	<i>S. aureus</i> , <i>M. tuberculosis</i> , <i>M. fortuitum</i> , <i>M. bovis</i> ,
	MexAB-OprM	RND	<i>E. coli</i>
Бета-лактами	AcrAB-ToIC	RND	<i>H. influenzae</i>
	MexAB-OprM	RND	<i>P. aeruginosa</i> , грам(-) бактерії
	LmrA	ABC	<i>L. lactis</i>
Аміногліко-зиди	AcrAD-ToIC	RND	<i>E. coli</i>
	MdfA	MFS	<i>E. coli</i>
	ВреAB-OprB AmrAB-OprA	RND	<i>B. pseudomallei</i>
	MexXY-OprM MexAB-OprM EmrE	RND	<i>P. aeruginosa</i>
Оксазоліди-нони	AcrAB-ToIC, AcrEF-ToIC	RND	<i>E. coli</i>

Антимікробні речовини	Ефлюксна система	Родина помп	Мікроорганізми
Фторхінолони	NorA, NorB	MFS	<i>S. aureus</i>
	PmrA	MFS	<i>S. pneumoniae</i>
	EmeA	MFS	<i>E. faecalis</i>
	Lde	MFS	<i>L. monocytogenes</i>
	EfrAB	ABC	<i>E. faecalis</i>
	Bmr, BIt, Bmr3	MFS	<i>B. subtilis</i>
	Rv1634	MFS	<i>M. tuberculosis</i>
	Rv2686c-Rv2687c-Rv2688c	ABC	<i>M. tuberculosis</i>
	Mmr	SMR	<i>M. smegmatis</i>
	SmeABC, SmeDEF	RND	<i>S. maltophilia</i>
	Orf12-Orf11-Orf-10	ABC	<i>Pseudomonas spp.</i>
Фторхінолони+ аміноглікозиди	LmrA	ABC	<i>L. lactis</i>
Фторхінолони+ еритроміцин	MdfA	MFS	<i>E. coli</i>
Макроліди + стрептограміни типу В	Msr(A)	ABC	<i>Staphylococcus spp.</i>
	Msr(C)	ABC	<i>E. faecium</i>
Макроліди + кетоліди	Msr(D)	ABC	<i>S. pneumoniae</i>
Макроліди + лінкозаміди + стрептограміни типу А	MdeA	MFS	<i>S. aureus, S. hemolyticus, B. cereus, B. subtilis</i>
	Vga(A/B)	ABC	<i>S. aureus</i>
Еритроміцин, рокситроміцин	MexCD-OprJ	RND	<i>Pseudomonas spp.</i>
Макроліди, лінкозаміди, кетоліди, фторхінолони	AcrAB-ToIC, Mex	RND	<i>E. coli, E. aerogenes, P. aeruginosa, грам(-) бактерії</i>
Гліцилцикліни, фторхінолони	AcrAB-ToIC, MexXY-OprM, MexAB-OprM, MexCD-OprJ	RND	<i>P. mirabilis, E. coli, K. pneumoniae, M. morganii P. aeruginosa</i>
	MepA	MATE	<i>S. aureus</i>



Антибіотикочутливість штамів бактерій з підвищеною експресією  
MDR-ефлюксних помп [39]

Штами бакте- рій, генотип	Ефлюксна помпа з під- вищеною експресією	Антимікробний препарат (МІК, мкг/мл)			
		ципро- флоксацин	хлорам- фенікол	тетраци- клін	β-лактами
<i>P. aeruginosa</i> PAO1 nalR-мутант	-	64,0	64,0	16,0	64,0
	MexAB-OprM	256,0	256,0	64,0	256,0
<i>S. enterica</i> SL1344 acrAB-мутант	-	0,03	4,0	2,0	4,0
	AcrB	0,5	16,0	16,0	32,0
<i>C. jejuni</i> 11168 cmeR-мутант	-	0,25	1,0	0,25	4,0
	CmeABC	8,0	16,0	8,0	32,0
<i>S. aureus</i> RN4222 norA-мутант	-	0,5	Н/д	0,12	0,25
	NorA	16,0	Н/д	Н/д	0,5
<i>S. pneumoniae</i> R6 pmrA-мутант	-	0,5	4,0	Н/д	Н/д
	PmrA	2,0	32,0	Н/д	Н/д

Примітка. Тут і в табл. 4: Н/д – не досліджено.

субстратами для неї також є антибіотики хлорамфенікол, хінолони та тетрациклін.

Резистентність до антибіотиків *Campylobacter jejuni*, що зумовлює гастроентерити, зумовлена іншою помпою RND-надродини – CmeABC, з якою пов'язана резистентність бактерій до дії ципрофлоксацину та еритроміцину [42].

Як зазначено раніше, у грамнегативних бактерій резистентність шляхом активації ефлюксних помп пов'язана переважно з помпами надродини MFS. Так, експресія в клітинах *S. aureus* помпи NorA забезпечує мікроорганізмам стійкість до хлорамфеніколу та фторхінолонів. У той самий час чутливість збудників до дії ванкоміцину та лінезоліду не змінюється. Встановлено, що резистентність *S. pneumoniae* до ципрофлоксацину та норфлоксацину забезпечується ефлюксною помпою PmrA [9, 17].

Натепер з'ясовано, що з ефлюксними помпами пов'язаний не лише викид антибіотиків з клітини назовні, але й виділення факторів патогенності, аде-

зинів, токсинів, сигналів міжклітинної взаємодії, що забезпечує мікроорганізмам існування в певних екологічних нішах, зокрема, макроорганізмі (табл. 4).

У декількох дослідженнях доведено, що експресія ефлюксних помп грамнегативних бактерій пов'язана з патогенністю останніх. Так, ефлюксна помпа AcrAB-TolC є важливою для здатності *S. typhimurium* викликати інфекції в мишей BALB/c або курчат. Доведено також, що ефлюксні помпи RND-надродини забезпечують патогенність різним видам бактерій, зокрема збудникам хвороб рослин [39, 43].

Таким чином, наведені дані свідчать про досить складну систему ефлюксу в прокаріотів, яка забезпечує мікроорганізмам здатність до колонізації макроорганізму та стійкість до антибіотиків. Гіперактивність ефлюксних помп є одним з основних механізмів протидії антимікробним препаратам та створює серйозну проблему в разі лікування пацієнтів з гнійно-запальними процесами, зумовленими резистентними штамми збудників.

**MDR-ефлюксні помпи, необхідні для виживання бактерій  
в їхніх екологічних нішах [39]**

Помпа	Родина	Вид бактерій	Властивості, які забезпечує експресія помпи	Субстрат помпи
AcrAB-TolC	RND	<i>S. enterica</i>	Адгезія, інвазія, колонізація та персистенція у клітинах макроорганізму (курчата)	Жовч
AcrAB-TolC	RND	<i>E. coli</i>	Н/д	Жовч та стероїди (ссавці)
AcrAB-TolC	RND	<i>Erwinia amylovora</i>	Колонізація тканин рослини	Ізофлавоноїди, ізопреноїди та алкалоїди рослин
MexAB-OprM	RND	<i>P. aeruginosa</i>	Інвазія клітин макроорганізму (щури, миші)	Н/д
Cme ABC	RND	<i>C. jejuni</i>	Колонізація та персистенція (курчата)	Жовч
Mtr CDE	RND	<i>N. gonorrhoeae</i>	Колонізація сечо-статевого тракту в мишей-самиць	Статеві гормони, протегрин-1, пептид LL-37

1. Алев И. А. Апокалипсис от ВОЗ: бактерии, панрезистентные к антибиотикам, как реальная угроза человечеству [Электронный ресурс] / И. А. Алев // Здоров'я України. – 2015. – Режим доступу: [http://health-ua.com/stati/inf\\_zabolevaniya/apokalipsis-ot-voz-bakterii-panrezistentnyie-k-antibiotikam-kak-realnaya-ugroza-chelovechestvu.html](http://health-ua.com/stati/inf_zabolevaniya/apokalipsis-ot-voz-bakterii-panrezistentnyie-k-antibiotikam-kak-realnaya-ugroza-chelovechestvu.html).
2. ECDC/EMA Joint Technical Report: The bacterial challenge: time to react. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: [http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/0909\\_TER\\_The\\_Bacterial\\_Challenge\\_Time\\_to\\_React.pdf](http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/0909_TER_The_Bacterial_Challenge_Time_to_React.pdf).
3. Antibiotic resistance threats in the United States. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013>
4. Практическое руководство по антиинфекционной терапии / [под ред. Л. С. Страчунского, Ю. Б. Белоусова, С. Н. Козлова]. – Москва : Боргес, 2002. – 375 с.
5. Сидоренко С. В. Молекулярные механизмы резистентности к антибиотикам / С. В. Сидоренко, В. И. Тишков // Успехи биологической химии. – 2004. – Т. 44. – С. 263–306.
6. Vambeke V. F. Antibiotic efflux pumps / V. F. Vambeke, E. Balzi, P. M. Tulkens // Biochemical Pharmacology. – 2000. – № 60. – P. 457–470.
7. Marquez B. Bacterial efflux systems and efflux pumps inhibitors / B. Marquez // Biochimie. – 2005. – V. 87, № 12. – P. 1137–1147.
8. Zechini B. Inhibitors of multidrug resistant efflux systems in bacteria / B. Zechini, I. Versace // Recent Pat Antiinfect Drug Discov. – 2009. – № 4. – P. 37–50.
9. Piddock L. J. Clinically relevant chromosomally encoded multidrug resistance efflux pumps in bacteria / L. J. Piddock // Clin Microbiol Rev. – 2006. – V. 19, № 2. – P. 382–402.
10. Du D. Assembly and operation of bacterial tripartite multidrug efflux pumps / D. Du, H. W. van Veen, B. F. Luisi // Trends Microbiol. – 2015. – V. 23, № 5. – P. 311–319.
11. Distantly related sequences in the  $\alpha$ - and  $\beta$ -subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP requiring enzymes and a common nucleotide binding fold / J. E. Walker, M. Saraste, M. J. Runswick [et al.] // EMBO J. – 1982. – № 1. – P. 945–951.
12. Structural model of ATP-binding proteins associated with cystic fibrosis, multidrug resistance and bacterial transport / S. C. Hyde, P. Emsley, M. J. Hartshorn [et al.] // Nature. – 1990. – № 346. – P. 362–365.
13. Putman M. Molecular properties of bacterial multidrug transporters / M. Putman, H. W. van Veen, W. N. Konings // Microbiology and Molecular Biology Reviews. – 2000. – V. 64, № 4 – P. 672–693.
14. ABC transporters and multidrug resistance / [Ed. by A. Boumendjel, J. Boutonnat, J. Robert]. – New Jersey : Wiley, 2009. – 459 p.
15. Function of Escherichia coli MsbA, an essential ABC family transporter, in lipid A and phospholipid biosynthesis / Z. M. Zhou, K. A. White, A. Polissi [et al.] // J. Biol Chem. – 1998. – V. 273, № 20. – P. 12466–12475.

16. *Poole R. K.* The *cydD* gene product, component of a heterodimeric ABC transporter, is required for assembly of periplasmic cytochrome-c and of cytochrome-bd in *Escherichia coli* / R. K. Poole, F. Gibson, G. H. Wu // *FEMS Microbiol. Lett.* – 1994. – V. 117, № 2. – P. 217–224.
17. *Gill M. J.* Identification of an efflux pump gene *pmrA*, associated with fluoroquinolone resistance in *Streptococcus pneumoniae* / M. J. Gill, N. P. Brenwald, R. Wise // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* – 1999. – № 43. – P. 187–189.
18. Structure, function, and evolution of bacterial ATP-binding cassette systems / A. L. Davidson, E. Dassa, C. Orelle [et al.] // *Microbiol Mol Biol Rev.* – 2008. – V. 72, № 2. – P. 317–364.
19. *Davidson A. L.* ATP-binding cassette transporters in bacteria / A. L. Davidson, J. Chen // *Annu Rev Biochem.* – 2004. – № 73. – P. 241–268.
20. *Webber M. A.* The importance of efflux pumps in bacterial antibiotic resistance // M. A. Webber, L. J. V. Piddock // *J. Antimicrob Chemother.* – 2003. – V. 51, № 1. – P. 9–11.
21. *Dassa E.* The ABC of ABCs: a phylogenetic and functional classification of ABC systems in living organisms / E. Dassa, P. Bouige // *Res Microbiol.* – 2001. – № 152. – P. 211–229.
22. *Poole K.* Efflux-mediated resistance to fluoroquinolones in Gram-negative bacteria / K. Poole // *Antimicrob Agents Chemother.* – 2000. – № 44. – P. 2233–2241.
23. Physical and biochemical characterization of the *qacA* gene encoding antiseptic and disinfectant resistance in *Staphylococcus aureus* / J. M. Tennent, B. R. Lyon, M. Midgley [et al.] // *J. Gen Microbiol.* – 1989. – № 135. – P. 1–10.
24. *Saier M. H.* Phylogeny of multidrug transporters / M. H. Saier, I. T. Paulsen // *Seminars in cellular and developmental biology.* – 2001. – № 12. – P. 205–213.
25. The secondary multidrug transporter *LmrP* contains multiple drug interaction sites / M. Putman, L. A. Koole, H. W. van Veen [et al.] // *Biochemistry.* – 1999. – № 38. – P. 13900–13905.
26. *Gill M. J.* Identification of an efflux pump gene, *pmrA*, associated with fluoroquinolone resistance in *Streptococcus pneumoniae* / M. J. Gill, N. P. Brenwald, R. Wise // *Antimicrob Agents Chemother.* – 1999. – № 43. – P. 187–189.
27. *Pao S. S.* Major facilitator superfamily / S. S. Pao, I. T. Paulsen, M. H. Saier // *Microbiol Mol Biol Rev.* – 1998. – V. 62, № 1. – P. 1–34.
28. A human transporter protein that mediates the final excretion step for toxic organic cations / M. Otsuka, T. Matsumoto, R. Morimoto [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2005. – V. 102, № 50. – P. 17923–17928.
29. The MATE proteins as fundamental transporters of metabolic and xenobiotic organic cations / H. Omote, M. Hiasa, T. Matsumoto [et al.] // *Trends Pharmacol Sci.* – 2006. – V. 27, № 11. – P. 587–593.
30. Two highly similar multidrug transporters of *Bacillus subtilis* whose expression is differentially regulated / M. Ahmed, L. Lyass, P. N. Markham [et al.] // *J. Bacteriol.* – 1995. – V. 177, № 14. – P. 3904–3910.
31. *Paulsen I. T.* Proton-dependent multidrug efflux systems / I. T. Paulsen, M. H. Brown, R. A. Skurray // *Microbiol Rev.* – 1996. – № 60. – P. 575–608.
32. Role of the *Mmr* efflux pump in drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* / L. Rodrigues, C. Villellas, R. Bailo [et al.] // *Antimicrob Agents Chemother.* – 2013. – V. 57, № 2. – P. 751–757.
33. Two novel families of bacterial membrane proteins concerned with nodulation, cell division and transport / M. H. Saier, R. Tam, A. Reizer [et al.] // *Mol Microbiol.* – 1994. – № 11. – P. 841–847.
34. Membrane topology of the xenobiotic-exporting subunit, *MexB*, of the *MexA,B-OprM* extrusion pump in *Pseudomonas aeruginosa* / L. Guan, M. Ehrmann, H. Yoneyama [et al.] // *J. Biol Chem.* – 1999. – № 274. – P. 10517–10522.
35. *Zgurskaya H. I.* *AcrA* is a highly asymmetric protein capable of spanning the periplasm / H. I. Zgurskaya, H. Nikaido // *J. Mol Biol.* – 1999. – № 285. – P. 409–420.
36. *Sun J.* Bacterial multidrug efflux pumps: mechanisms, physiology and pharmacological exploitations / J. Sun, Z. Deng, A. Yan // *Biochemical and Biophysical Research Communications.* – 2014. – V. 453, № 2. – P. 254–267.
37. *Yu E. W.* *AcrB* Multidrug efflux pump of *Escherichia coli*: composite substrate-binding cavity of exceptional flexibility generates its extremely wide substrate specificity / E. W. Yu., J. R. Aires., H. Nikaido // *Journal of bacteriology.* – 2003. – V. 185, № 19. – P. 5657–5664.
38. Predicting transcriptional regulatory interactions with artificial neural networks applied to *E. coli* multidrug resistance efflux pumps [Електронний ресурс] / D. F. T. Veiga, F. F. R. Vicente, M. F. Nicolás [et al.] // *BMC Microbiology.* – 2008. – V. 8, № 1. – Режим доступу: <https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2180-8-101>.
39. *Piddock L. J. V.* Multidrug-resistance efflux pumps — not just for resistance / L. J. V. Piddock // *Nat Rev Microbiol.* – 2006. – V. 4. – P. 629–636.
40. Exploring the contribution of efflux on the resistance to fluoroquinolones in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* [Електронний ресурс] / S. S. Costa, C. Falcão, M. Viveiros [et al.] // *BMC Microbiol.* – 2011. – V. 11. – Режим доступу: <https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2180-11-241>.
41. *Poole K.* Efflux-mediated antimicrobial resistance / K. Poole // *J. Antimicrob Chemother.* – 2005. – № 56. – P. 20–51.

- 
42. Bacterial multidrug efflux pumps: much more than antibiotic resistance determinants [Електронний ресурс] / P. Blanco, S. Hernando-Amado, J. A. Reales-Calderon [et al.] // Microorganisms. – 2016. – V. 4, № 1. – Режим доступу: <http://www.mdpi.com/2076-2607/4/1/14>.
43. Lin J. Сме ABC functions as a multidrug efflux system in *Campylobacter jejuni* / J. Lin, L.O. Michel, Q. Zhang // Antimicrob Agents Chemother. – 2002. – V. 46, № 7. – P. 2124–2131.

**Н. О. Вринчану**

### **Роль еффлюксних систем у резистентності мікроорганізмів до антибіотиків**

Огляд літератури узагальнює сучасні дані щодо класифікації, структури та функцій еффлюксних помп, їхньої ролі в життєдіяльності бактерій, зокрема, у розвитку резистентності до антимікробних препаратів. Генетичні детермінанти транспортерів можуть міститися на хромосомах та плазмідах або транспозонах, що зумовлює легкість передачі цих генів, а отже й появу нових стійких штамів патогенів. Слід зазначити, що резистентність, що пов'язана з еффлюксом, на тепер виявлена практично для всіх відомих класів антибактеріальних препаратів.

Еффлюксні помпи, що присутні в клітинах прокариот та еукариот, поділяються на 2 типи: первинні (АТФ-залежні) транспортери та вторинні, які використовують енергію електрохімічного градієнта. Згідно з класифікацією за молекулярною структурою, виділяють 5 родин (надродин) еффлюксних помп – ABC (ATP binding cassette), MFS (major facilitator superfamily), MATE (multidrug and toxic compound extrusion), SMR (small multidrug resistance) та RND (resistance-nodulation-division). Встановлено, що в клінічних штамів грамнегативних бактерій еффлюкс більшою мірою пов'язаний з RND-надродиною, у грампозитивних – з MFS-надродиною.

Сьогодні з'ясовано, що з еффлюксними помпами пов'язаний не лише викид антибіотиків з клітини назовні, але й виділення факторів патогенності, адгезинів, токсинів, сигналів міжклітинної взаємодії, що забезпечує мікроорганізмам існування в певних екологічних нішах, зокрема, в організмі людини, тварин і рослин.

Надана інформація свідчить про досить складну систему еффлюксу в прокариотів, яка забезпечує їм здатність до колонізації макроорганізму та стійкість до антибіотиків. Гіперактивність еффлюксних помп є одним з основних механізмів протидії антимікробним препаратам і створює серйозну проблему в разі лікування пацієнтів з гнійно-запальними процесами, зумовленими резистентними штамми збудників.

*Ключові слова: мікроорганізми, антимікробні засоби, резистентність, еффлюксні помпи*

**Н. А. Вринчану**

### **Роль эффлюксных систем в резистентности микроорганизмов к антибиотикам**

Обзор литературы обобщает современные данные о классификации, структуре и функциях эффлюксных помп, их роли в жизнедеятельности бактерий, в частности, в развитии резистентности к антимикробным препаратам. Генетические детерминанты транспортеров могут содержаться на хромосомах и плазмидах или транспозонах, что обуславливает легкость передачи этих генов, а значит и появление новых устойчивых штаммов патогенов. Следует отметить, что резистентность, связанная с эффлюксом, в настоящее время обнаружена практически у всех известных классов антибактериальных препаратов.

Эффлюксные помпы, присутствующие в клетках прокариот и эукариот, делятся на 2 типа: первичные (АТФ-зависимые) транспортеры и вторичные, использующие энергию электрохимического градиента. Согласно классификации по молекулярной структуре, выделяют 5 семейств (суперсемейств) эффлюксных насосов – ABC (ATP binding cassette), MFS (major facilitator superfamily), MATE (multidrug and toxic compound extrusion), SMR (small multidrug resistance) и RND (resistance nodulation division). Установлено, что у клинических штаммов грамотрицательных бактерий эффлюкс в большей степени связан с помпами RND-суперсемейства, у грамположительных – MFS-суперсемейства.

В настоящее время установлено, что с эффлюксными насосами связан не только выброс антибиотиков из клетки наружу, но и выделение факторов патогенности, адгезинов, токсинов, сигналов межклеточного взаимодействия, обеспечивающее микроорганизмам существование в определенных экологических нишах, в частности, в организме человека, животных и растений.

Представленная информация свидетельствует о наличии достаточно сложной системы эффлюкса у прокариот, которая обеспечивает им способность к колонизации макроорганизма и устойчивость к антибиотикам. Гиперактивность эффлюксных насосов является одним из основных механизмов противодействия антимикробным препаратам и создает серьезную проблему при лечении пациентов с гнойно-воспалительными процессами, обусловленными резистентными штаммами возбудителей.

*Ключевые слова: микроорганизмы, антимикробные средства, резистентность, эффлюксные помпы*

---

---

**N. O. Vrynchanu**

## **Role of efflux systems in microbial resistance to antibiotics**

The review summarizes current data about classification, structure, and functions of efflux pumps, their role in microorganism survival and resistance. Genetic determinants of transporters are located on chromosomes, plasmids or transposons, contributing in fast gene transfer, and, therefore – in the appearance of new resistant pathogens. It is important to remark, that efflux-mediated resistance had been already identified for all known classes of antibiotics.

Prokaryotic and eukaryotic efflux pumps are divided into two types: primary (ATP-depending) and secondary transporters (using an electrochemical gradient energy). The molecular structure of efflux systems was the basis for their classification into 5 families (superfamilies) – ABC (ATP binding cassette), MFS (major facilitator superfamily), MATE (multidrug and toxic compound extrusion), SMR (small multidrug resistance) and RND (resistance-nodulation-division). It is currently established, that clinically relevant antibiotic resistance in Gram-negative and Gram-positive pathogens is mostly caused by RND- and MFS-pumps, respectively.

In addition to the role in resistance, efflux pumps are involved in extrusion of virulence factors, adhesins, toxins, signals of intercellular interactions, ensuring the microorganism survival in certain ecological niches, particularly – in human, animal or plant organism.

The presented data underline a complexity of efflux systems in prokaryotes and its significant role in antibiotic resistance and colonization of macroorganism. Hyperactivation of efflux pumps is one of the key resistance mechanisms, resulting in a serious challenge in the treatment of patients with inflammatory diseases, caused by resistant strains of pathogens.

*Key words: microorganisms, antimicrobial agents, resistance, efflux pumps*

---

*Надійшла: 16 квітня 2017 р.*

**Контактна особа:** Вринчану Ніна Олексіївна, доктор медичних наук, відділ фармакології протимікробних засобів, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ, вул. Е. Потьє, 14, 03057. Тел.: +38 0 44 456 78 62.  
Електронна пошта: ninaoleks@yandex.ua