MED. DOŚW. MIKROBIOL., 2015, 67: 55 - 62

Znaczenie pomp efflux w wielolekowej oporności Gram-ujemnych bakterii

Significance of efflux pumps in multidrug resistance of Gram-negative bacteria

Olga Wiercińska[1], Agnieszka Chojecka[1], Krzysztof Kanclerski[2], Ewa Rőhm-Rodowald[2], Bożenna Jakimiak[2]

[1] Zakład Bakteriologii, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny w Warszawie
[2] Zakład Zwalczania Skażeń Biologicznych, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny w Warszawie

Zjawisko wielolekooporności bakterii stanowi poważny problem, z którym zmaga się współczesna medycyna. Ten rodzaj oporności jest w znacznym stopniu konsekwencją nadużywania i nieprawidłowego stosowania substancji antybakteryjnych, szczególnie antybiotyków i chemioterapeutyków, w warunkach szpitalnych. Wielolekooporność jest wywołana przez szereg współdziałających ze sobą mechanizmów oporności. Najnowsze badania wskazują iż pompy i systemy pomp efflux stanowią istotny element tego zjawiska. Przyczyniają się do tego szczególnie systemy efflux RND bakterii Gram-ujemnych, które charakteryzują się szerokim zakresem substratowym, aktywnie usuwając poza komórkę takie związki, jak antybiotyki, barwniki, detergenty, toksyny oraz substancje czynne środków dezynfekcyjnych i antyseptycznych. Transportery te są zwykle kodowane na chromosomach bakteryjnych. Geny kodujące białka pomp efflux mogą być również niesione na plazmidach oraz innych ruchomych elementach genetycznych. Takie pompy z reguły są specyficzne wobec wąskiej grupy substratów, jednak jako dodatkowy mechanizm mogą przyczyniać się do zjawiska wielolekooporności.

Słowa kluczowe: *wielolekooporność, pompy efflux, bakterie Gram-ujemne*

ABSTRACT

The phenomenon of multidrug resistance of bacteria is a serious problem of modern medicine. This resistance largely is a consequence of abuse and improper use of antibacte-

rial substances, especially antibiotics and chemotherapeutics in hospital settings. Multidrug resistance is caused by a number of interacting mechanisms of resistance. Recent studies have indicated that efflux pumps and systems of efflux pumps are an important determinant of this phenomenon. Contribute to this particular RND efflux systems of Gram-negative bacteria, which possess a wide range of substrates such as antibiotics, dyes, detergents, toxins and active substances of disinfectants and antiseptics. These transporters are usually encoded on bacterial chromosomes. Genes encoding efflux pumps' proteins may also be carried on plasmids and other mobile genetic elements. Such pumps are usually specific to a small group of substrates, but as an additional mechanism of resistance may contribute to the multidrug resistance.

Key words: *multidrug resistance, efflux pumps, Gram-negative bacteria*

WSTĘP

Zakażenia bakteryjne stanowią poważny problem zdrowia publicznego, szczególnie dotyczy to zakażeń wielolekoopornymi (MDR – ang. *multidrug resistant*) drobnoustrojami – opornymi na co najmniej trzy grupy antybiotyków (10). Szeroko rozpowszechniona oporność bakterii na antybiotyki znacznie zagraża użyteczności i skuteczności obecnie stosowanych leków przeciwbakteryjnych (7). Wielolekooporne bakterie Gram-ujemne, zwłaszcza *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter spp*., *Stenotrophomonas maltophilia* oraz patogeny z rodziny *Enterobacteriaceae* jako mikroorganizmy trudne do zwalczenia, są coraz częściej odpowiedzialne za występowanie zakażeń szpitalnych (22).

W zapobieganiu rozprzestrzeniania się chorób zakaźnych ważną rolę odgrywają środki dezynfekcyjne i antyseptyczne. Podobnie jak w przypadku antybiotyków, intensywna ekspozycja bakterii na substancje czynne zawarte w ich składzie może skutkować selekcją mniej wrażliwych szczepów (7). W tym kontekście termin wielolekooporność bakterii może dotyczyć zarówno oporności na antybiotyki, jak i na substancje czynne środków dezynfekcyjnych i antyseptycznych.

Wielolekooporność jest zazwyczaj skutkiem nagromadzenia się wielu mutacji i/lub genów oporności. Mogą ją powodować także pojedyncze mutacje wpływające na przepuszczalność błony wewnętrznej lub na ekspresję pomp efflux. Wielolekooporność bakterii może być również wspomagana przez specyficzny typ wzrostu bakterii np. w postaci biofilmu (22).

Mechanizm efflux jest coraz częściej uznawany za jeden z głównych czynników determinujących wrodzoną, jak i nabytą wielolekooporność Gram-ujemnych bakterii (3, 13). Geny kodujące białka pomp efflux mogą występować na chromosomie (np. geny kodujące system AcrAB-TolC) lub na ruchomych elementach genetycznych (np. geny *qac* i *tet*). Geny te są obecne zarówno u wrażliwych, jak i u opornych bakterii.

Pompy efflux wykazują zróżnicowaną specyficzność i zakres substratowy. Mogą być specyficzne tylko dla jednego substratu, lub też mogą usuwać niespecyficznie na zewnątrz wiele substratów, przyczyniając się w ten sposób do występowania zjawiska wielolekooporności (22). Niektóre pompy efflux mogą być indukowane przez specyficzne substraty, co powoduje że początkowo wrażliwe na nie bakterie stają się oporne. Oporność na substancje

antybakteryjne u takich mutantów wynika z dwóch przyczyn: zwiększonej ekspresji genów kodujących białka pomp oraz substytucji aminokwasu (-ów) w strukturze białek pomp, co sprawia, że skuteczniej eksportują właściwe dla nich substraty (20). Bakterie mogą również nabywać cechy oporności od innych drobnoustrojów w wyniku horyzontalnego transferu genów (13).

CHARAKTERYSTYKA MECHANIZMU EFFLUX

Działanie pomp efflux polega na aktywnym wypompowywaniu różnych substancji antybakteryjnych, m.in. antybiotyków i substancji czynnych preparatów dezynfekcyjnych, przez co dochodzi do zmniejszenia ich wewnątrzkomórkowego stężenia, a co za tym idzie ograniczenia ich aktywności bakteriobójczej (7). Transportery efflux o szerokiej specyficzności substratowej, nadające bakteriom cechy oporności, mogą warunkować zaistnienie innych mechanizmów oporności w komórce bakteryjnej, jak zmianę miejsca docelowego, czy wytwarzanie enzymów, które rozkładają antybiotyki. Przykładem może być system efflux AcrAB-TolC, którego ekspresja była warunkiem pojawienia się mutantów opornych na fluorochinolony ze zmodyfikowanym miejscem docelowym (kodującym gyrazę DNA) u takich patogennych Gram-ujemnych bakterii jak *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp*. (3). Wykazano, że systemy pomp efflux działają synergistycznie z niską przepuszczalnością błony zewnętrznej bakterii. MexAB-OprM łącznie z MexXY-OprM działają synergistycznie z niską przepuszczalnością błony zewnętrznej wywołując u *P. aeruginosa* wrodzoną wielolekooporność (16). Ekspresja mechanizmów efflux może być zatem istotną przyczyną inicjującą wielolekooporność bakterii patogennych, która jest zazwyczaj wynikiem współdziałania ze sobą różnych mechanizmów oporności (3).

Pompy efflux są klasyfikowane do pięciu rodzin biorąc pod uwagę ich budowę i funkcje tworzących je białek: MFS – Major Facilitator Superfamily, SMR – Small-Multidrug Resistance, ABC – ATP Binding Cassette, MATE – Multidrug and Toxic Compounds Extrusion oraz RND – Resistance-Nodulation-Cell Division. Energię do aktywnego wyrzucania substancji na zewnątrz komórki czerpią albo z gradientu jonowego – protonowego (MFS, SMR, RND) lub sodowego (MATE), albo z hydrolizy ATP przy udziale ATP-azy (ABC) (4, 11, 22, 24).

Białka tworzące pompy efflux mogą występować pojedynczo lub w systemach. Przykładem pomp zbudowanych z pojedynczego białka są pompy NorA u *Staphylococcus aureus* (12) czy Lmr u *Lactobacillus* (13). U Gram-ujemnych bakterii systemy efflux zazwyczaj składają się z trzech białek: białka transportowego w błonie wewnętrznej (RND), peryplazmatycznego białka łączącego (MFP – ang. Membrane Fusion Protein) oraz białka porynowego błony zewnętrznej (OMP – ang. Outer Membrane Protein). Taka organizacja jest charakterystyczna dla pomp z rodziny RND, jednak może również występować wśród pomp z rodzin MFS (np. EmrAB-TolC) i ABC (np. MacAB-TolC) (22). Trójskładnikowa konstrukcja systemów pomp zapewnia transport substancji bezpośrednio poza komórkę, nie tylko do przestrzeni peryplazmatycznej, co czyni taki system wydajniejszy w zapewnianiu oporności na substancje antybakteryjne (20). Pierwotnie ten system (RND-MFP-OMF) został zidentyfikowany jako czynnik oporności na fluorochinolony u licznych Gram-ujemnych patogenów. Obecnie systemy RND-MFP-OMF są powszechnie znane jako systemy usuwa-

jące na zewnątrz komórki szerokie spektrum strukturalnie niepowiązanych związków, takich jak antybiotyki, substancje czynne środków dezynfekcyjnych i antyseptycznych, barwniki, detergenty, rozpuszczalniki organiczne, kationowe peptydy antybakteryjne czy sole kwasów żółciowych (22). Taka szeroka specyficzność substratowa umożliwia przeżywanie bakterii w niekorzystnym środowisku i staje się czynnikiem pozwalającym wykształcić się kolejnym mechanizmom oporności, od których współdziałania zależy zjawisko wielolekooporności (3).

CHROMOSOMALNIE KODOWANE POMPY EFFLUX U BAKTERII GRAM-UJEMNYCH

Geny chromosomalne kodujące białka pomp efflux u bakterii Gram-ujemnych są aktywowane przez indukcję substratową lub mutacjami spowodowanymi stresem środowiskowym. Mogą także podlegać ekspresji na stałym, konstytutywnym poziomie (13, 23). Ekspozycja drobnoustrojów na substancje antybakteryjne może prowadzić do zmniejszonej wrażliwości tych drobnoustrojów nie tylko na te substancje, lecz również na inne, niepowiązane strukturalnie związki chemiczne (23).

Regulon *mar* zawarty w *locus* wielolekooporności *mar* u *Escherichia coli* oraz u innych bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* kontroluje, poprzez regulację ekspresji pomp i systemów pomp efflux, oporność na wiele strukturalnie niepowiązanych związków (antybiotyki, środki dezynfekcyjne, rozpuszczalniki organiczne i substancje toksyczne) (1, 13). Najlepiej zbadanym systemem pomp kodowanym w tym regionie jest system AcrAB-TolC u *E. coli* należący do rodziny pomp RND. Substratami dla tej pompy są takie substancje, jak: chloramfenikol, lipofilne beta-laktamy, fluorochinolony, tetracyklina, ryfampicyna, nowobiocyna, kwas fusydowy, kwas nalidyksowy, bromek etydyny, akryflawina, triklosan (21), chlorheksydyna, czwartorzędowe sole amoniowe (13). Gen *acrD* oraz operon *acrEF* u *E. coli* również kodują pompy o szerokim zakresie substratowym. Ponadto wykazano, że białko AcrD odpowiada za aktywne wypompowywanie takich substancji wielkocząsteczkowych jak aminoglikozydy. Homologi systemu AcrAB-TolC związane z opornością na substancje antybakteryjne wykryto także u innych bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*, m.in. u *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella spp*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Morganella morganii*, *Haemophilus influenzae*, *Helicobacter pylori*, *Salmonella enterica* (20).

Stwierdzono, że oporność na fluorochinolony u *S. enterica* jest wywołana zmianą miejsca docelowego, jak również nadekspresją pomp efflux (2). Badania *Zheng* i in. (25) wykazały, że zwiększona ekspresja pomp AcrAB i AcrEF była odpowiedzialna za uzyskanie opornych na fluorochinolony szczepów *Salmonella* Typhimurium, które były również mniej podatne na kwas nalidyksowy, tetracyklinę i chloramfenikol (25).

Wiele genów odpowiedzialnych za fenotyp wielolekooporności wykryto w genomie *Klebsiella pneumoniae*. Zidentyfikowane przez *Ogawa* i wsp. (18) białko KexD pełniące funkcje białka transportowego w błonie wewnętrznej komórki wraz z białkiem peryplazmatycznym AcrA oraz białkiem KocC tworzą pompę RND, która wpływa na zmniejszenie wrażliwości bakterii na erytromycynę, nowobiocynę, rodaminę 6G, chlorek tetrafenylofosfonowy oraz bromek etydyny. Wielolekooporność mogą również powodować inne pompy niż z klasy RND. Wykryta w genomie szczepu *K. pneumoniae* NTUH-K2044 pompa KpnEF należąca do klasy SMR, warunkuje zmniejszoną wrażliwość na cefepim, ceftriakson,

kolistynę, erytromycynę, rifampicynę, tetracyklinę i streptomycynę oraz na substancje czynne preparatów dezynfekcyjnych i antyseptycznych, takie jak chlorek benzalkoniowy, chlorheksydynę, triklosan (24).

U *P. aeruginosa* zidentyfikowano kilka systemów pomp należących do rodziny RND: MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN, MexXY, MexJK, MexGHI-OprD, MexVW, MexPQ-OpmE, Mex MN. Substratami tych systemów są zarówno antybiotyki, jak również substancje czynne produktów biobójczych (15). MexAB-OprM jest jedyną pompą Mex, która ulega ekspresji na stałym poziomie odgrywając znaczącą rolę we wrodzonej oporności *P. aeruginosa* na substancje antybakteryjne. Z kolei MexCD-OprJ oraz MexXY-OprM mają znaczenie w nabytej oporności podlegając indukcji przez niektóre ze swoich substratów (20). Chlorheksydyna – substancja czynna wchodząca w skład powszechnie stosowanych środków dezynfekcyjnych i antyseptycznych, wywołuje indukcję operonu mexCD-oprJ w mechanizmie zależnym od czynnika odpowiedzi na stres Sigma AlgU (8).

Oporność na triklosan u dzikich szczepów *P. aeruginosa* jest uwarunkowana szeregiem homologicznych pomp. Wykazano, że szczepy te są oporne na triklosan w wyniku ekspresji pompy MexAB-OprM. Z kolei u mutantów pozbawionych genów kodujących MexAB-OprM ulega nadekspresji pompa MexCD-OprJ w wyniku mutacji w genie regulatorowym *nfxB*. Triklosan jest również substratem dla pompy MexEF-OprN, natomiast nie stwierdzono, aby był substratem dla MexCD-OprJ (5). Ponadto, pompy te eksportują szereg antybiotyków, takich jak: fluorochinolony, tetracykliny, chloramfenikol, niektóre beta-laktamy (20).

U *P. aeruginosa* odkryto również transporter z klasy MATE - PmpA, który odpowiada za aktywny transport na zewnątrz fluorochinolonów, a także takich substancji antybakteryjnych jak: chlorek benzalkoniowy, bromek etydyny, akryflawina oraz chlorek tetrafenylofosfoniowy (20).

Coraz częściej pompy i systemy pomp efflux, głównie te należące do rodziny RND, opisywane są jako mechanizm oporności na antybiotyki i inne substancje antybakteryjne u pałeczek *S. maltophilia*. Dotyczy to przede wszystkim takich systemów, jak SmeABC i SmeDEF (10), których nadekspresja, jak wykazały badania *Liaw* i wsp. (14), występowała znacznie częściej u szczepów MDR *S. maltophilia* niż u szczepów wrażliwych.

Początkowo sądzono, iż oporność *Acinetobacter baumannii* na wiele różnych substancji antybakteryjnych jest głównie skutkiem nabywania genów oporności przez te bakterie wskutek horyzontalnego transferu genów. Wykazano jednak, że zwiększona ekspresja genów chromosomalnych kodujących pompy i systemy pomp efflux odgrywa istotną rolę w oporności wielolekowej. Nadekspresja genów kodujących system AdeABC, która następuje w wyniku mutacji w genach regulatorowych *adeRS*, stanowi główny mechanizm wielolekooporności tego mikroorganizmu. System AdeIJK warunkuje wrodzoną, naturalną oporność, jednak jego zwiększona ekspresja powyżej pewnego progu jest toksyczna dla gospodarza, więc jego wkład w nabytą oporność jest niewielki. U rodzaju *Acinetobacter* wykryto również takie systemy pomp o szerokiej specyficzności substratowej z rodziny RND, jak AdeFGH, AdeXYZ, AdeDE, a także z innych rodzin, również kodowane chromosomalnie - CraA, AmvA, AbeM czy AbeS (6).

POMPY EFFLUX KODOWANE NA RUCHOMYCH ELEMENTACH GENETYCZNYCH

Mechanizmy efflux promujące wielolekooporność u bakterii są wysoce konserwatywne, prawie niezmiennie kodowane na chromosomie, a ich ekspresja w wielu przypadkach jest spowodowana mutacjami w genach regulatorowych. W przeciwieństwie do tego, substratowo specyficzne mechanizmy efflux są przeważnie kodowane na plazmidach i/lub innych ruchomych elementach genetycznych (transpozonach, integronach), które niosą dodatkowe geny oporności. Obecność ruchomych elementów genetycznych zawierających geny kodujące oporność na antybiotyki i środki dezynfekcyjne jest dodatkowym czynnikiem sprzyjającym oporności MDR (7).

Zdolność plazmidów do kodowania zmniejszonej wrażliwości na substancje bakteriobójcze po raz pierwszy zaobserwowano w stosunku do metali ciężkich, takich jak rtęć, srebro, miedź, związki organiczne rtęci. Jony srebra, które są powszechnie stosowane jako środek antyseptyczny w kremach i maściach, są substratami dla dwóch pomp, kodowanych na plazmidach. Są one szczególnie powszechne u Gram-ujemnych bakterii – SilP należący do klasy ABC i SilABC do klasy RND. Ponadto, homologii systemu SilABC zostały zidentyfikowane w chromosomie *E. coli* K-12 i *E. coli* O157: H7, co wpływało na oporność tych szczepów na jony srebra (9).

Białka pomp efflux kodowane na plazmidach QacE, QacF, QacG, QacH, QacI i OqxAB są szczególnie ważnymi mechanizmami oporności na czwartorzędowe sole amoniowe. Zmniejszają one wrażliwość na te substancje czynne wchodzące często w skład środków dezynfekcyjnych u takich bakterii Gram-ujemnych jak *E. coli*, *Klebsiella spp.*, *Kluyvera spp*., *Enterobacter spp.*, *Pseudomonas spp*., *S. enterica*, *Serratia marcescens*, *Vibrio spp*., *S. maltophilia* (21).

PODSUMOWANIE

Wielolekooporne bakterie Gram-ujemne są poważnym zagrożeniem zdrowia publicznego ze względu na trudny przebieg leczenia zakażonych nimi pacjentów oraz trudności w ich zwalczaniu w środowisku szpitalnym. Najnowsze badania wskazują, że w pojawianiu się zjawiska wielolekooporności duże znaczenie odgrywają kodowane chromosomalnie pompy i systemy pomp efflux o szerokim zakresie substratowym, aktywnie wypompowujące z komórki bakteryjnej wiele różnych, niepowiązanych chemicznie związków antybakteryjnych. Sugeruje się, że mogą one promować wykształcanie się u bakterii dodatkowych mechanizmów oporności, co może zwiększyć szanse bakterii na przeżycie w niekorzystnych warunkach środowiskowych np. ekspozycję na produkty biobójcze.

PIŚMIENNICTWO

1. *Alekshun MN, Levy SB*. The mar regulon: multiple resistance to antibiotics and other toxic chemicals. Trends Microbiol 1999; 7: 410-3.
2. *Chen S, Cui S, McDermott PF i inni*. Contribution of Target Gene Mutations and Efflux to Decreased Susceptibility of Salmonella enterica Serovar Typhimurium to Fluoroquinolones and Other Antimicrobials. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51: 535–42.

3. *Chevalier J, Mulfinger C, Garnotel E i inni*. Identification and Evolution of Drug Efflux Pump in Clinical Enterobacter aerogenes Strains Isolated in 1995 and 2003. PLoS One 2008; 3: 1-8.
4. *Chojecka A, Jakubiec K, Jakimiak B i inni*. Znaczenie zjawiska efflux jako mechanizmu oporności bakterii na substancje czynne środków dezynfekcyjnych. Przegl Epidemiol 2012; 66: 39-44.
5. *Chuanchuen R, Beinlich K, Hoang TT i inni*. Cross-Resistance between Triclosan and Antibiotics in Pseudomonas aeruginosa Is Mediated by Multidrug Efflux Pumps: Exposure of a Susceptible Mutant Strain to Triclosan Selects nfxB Mutants Overexpressing MexCD-OprJ. Antimicrob Agents Chemother 2001; 45: 428–32.
6. *Coyne S, Courvalin P, Perichon B*. Efflux-Mediated Antibiotic Resistance in *Acinetobacter* spp. Antimicrob Agents Chemother 2011; 55: 947–53.
7. *Davin-Regli A, Pages J-M*. Cross-resistance between biocides and antimicrobials: an emerging question. Rev sci tech Off int Epiz 2012; 31: 89-104.
8. *Fraud S, Campigotto JA, Chen Z, i inni*. MexCD-OprJ Multidrug Efflux System of Pseudomonas aeruginosa: Involvement in Chlorhexidine Resistance and Induction by Membrane-Damaging Agents Dependent upon the AlgU Stress Response Sigma Factor. Antimicrob Agents Chemother 2008; 52: 4478–82.
9. *Gilbert P, McBain AJ*. Potential impact of increased use of biocides in consumer products on prevalence of antibiotic resistance. Clin Microbiol Rev 2003; 16: 189-208.
10. *Hankiewicz-Ziołkowska K, Gospodarek E*. Mechanizmy oporności na antybiotyki i chemioterapeutyki pałeczek Stenotrophomonas maltophilia. Post Mikrobiol 2014; 53: 135-40.
11. *Kumar A, Schweizer HP*. Bacterial resistance to antibiotics: Active efflux and reduced uptake. Adv Drug Deliv Rev 2005; 57: 1486– 1513.
12. *Kumar S, Mukherjee MM, Varela MF*. Modulation of Bacterial Multidrug Resistance Efflux Pumps of the Major Facilitator Superfamily. Int J Bacteriol 2013; 2013: 1-15.
13. *Levy SB*. Active efflux, a common mechanism for biocide and antibiotic resistance. Symp Ser Soc Appl Microbiol. 2002; 31:65S-71S.
14. *Liaw SJ, Lee YL, Hsueh PR*. Multidrug resistance in clinical isolates of Stenotrophomonas maltophilia: roles of integrons, efflux pumps, phosphoglucomutase (SpgM), and melanin and biofilm formation. Int J Ag 2010; 35, 126-30.
15. *Lister PD, Wolter DJ, Hanson ND*. Antibacterial-resistant Pseudomonas aeruginosa: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. Clin Microbiol Rev 2009; 22: 582-610.
16. *Meletis G, Exindari M, Vavatsi N i inni*. Mechanisms responsible for the emergence of carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Hippokratia 2012; 16: 303–7.
17. *Ogawa W, Li DW, Yu P i inni*. Multidrug resistance in Klebsiella pneumoniae MGH78578 and cloning of genes responsible for the resistance. Biol Pharm Bull 2005; 28: 1505-8.
18. *Ogawa W, Onishi M, Ni R i inni*. Functional study of the novel multidrug efflux pump KexD from Klebsiella pneumoniae. Gene 2012; 498: 177-82.
19. *Olivares J, Bernardini A, Garcia-Leon G i inni*. The intrinsic resistome of bacterial pathogens. Front Microbiol 2013; 4: 1-15.
20. *Piddock LJV*. Clinically Relevant Chromosomally Encoded Multidrug Resistance Efflux Pumps in Bacteria. Clin Microbiol Rev 2006; 19: 382–402.
21. *Poole K*. Efflux-mediated antimicrobial resistance. J Antimicrob Chemother 2005; 56: 20-51.
22. *Poole K*. Efflux-mediated multiresistance in Gram-negative bacteria. Clin Microbiol Infect 2004; 10: 12-26.
23. *Russell AD*. Do biocides select for antibiotic resistance? J Pharm Pharmacol. 2000; 52: 227-33.
24. *Srinivasan VB, Rajamohan G*. KpnEF, a new member of the Klebsiella pneumoniae cell envelope stress response regulon, is an SMR-type efflux pump involved in broad- spectrum antimicrobial resistance. Antimicrob Agents Chemother. 2013; 57: 4449-62.

25. *Zheng J, Cui S, Meng J*. Effect of transcriptional activators RamA and SoxS on expression of multidrug efflux pumps AcrAB and AcrEF in fluoroquinolone-resistant Salmonella Typhimurium. J Antimicrob Chemother 2009; 63: 95-102.

Otrzymano: 2 III 2015 r.
Adres Autora: 00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24, Zakład Bakteriologii NIZP-PZH