

МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2022

Иванов М.Э., Фурсова Н.К., Потапов В.Д.

СУПЕРСЕМЕЙСТВА ЭФФЛЮКСНЫХ НАСОСОВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», 142279, г. Оболensk, Россия

*Существенный рост числа антибиотикорезистентных микроорганизмов, отмечаемый в последние годы, является проблемой здравоохранения во всем мире. Одним из молекулярных механизмов формирования устойчивости к антимикробным препаратам (АМП) у бактерий является наличие у них эффлюксных насосов. Приведен анализ экспериментальных работ, связанных с исследованием эффлюксных насосов у клинических штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, одного из представителей госпитальных патогенов группы ESKAPE. Обзор предназначен для специалистов, разрабатывающих новые виды лекарственных средств против антибиотикорезистентных штаммов, научным сотрудникам, изучающим механизмы устойчивости бактерий к АМП, тяжелым металлам, биоцидам и иным противомикробным факторам.*

Ключевые слова: эффлюксные насосы; транспортёры; MFS; MATE; ABC; SMR; PACE; RND; *Pseudomonas aeruginosa*; резистентность.

Для цитирования: Иванов М.Э., Фурсова Н.К., Потапов В.Д. Суперсемейства эффлюксных насосов *Pseudomonas aeruginosa* (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67 (1): 53-58. DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-1-53-58>

Для корреспонденции: Иванов Михаил Эдуардович, стажер-исследователь отдела подготовки и усовершенствования специалистов; e-mail: neokarda@mail.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Поступила 01.07.2021

Принята к печати 19.10.2021

Опубликовано 28.01.2022

Ivanov M.E., Fursova N.K., Potapov V.D.

PSEUDOMONAS AERUGINOSA EFFLUX PUMP SUPERFAMILY (REVIEW OF LITERATURE)

Federal Budget Institution of Science «State Research Center for Applied Microbiology & Biotechnology» 142279, Obolensk, Russia

*The significant increase in the number of antibiotic-resistant microorganisms observed in recent years is a public health problem worldwide. One of the molecular mechanisms for the formation of antimicrobial resistance in bacteria is the presence of efflux pumps. The review presents an analysis of experimental studies related to the study of efflux pumps in clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*, one of the representatives of hospital pathogens of the ESKAPE group. This review is intended for specialists developing new types of drugs against antibiotic-resistant strains, as well as researchers studying the mechanisms of bacterial resistance to antibiotics, heavy metals, biocides and other antimicrobial factors.*

Key words: *efflux pumps; conveyors; MFS; MATE; ABC; SMR; PACE; RND; Pseudomonas aeruginosa; resistance.*

For citation: Ivanov M.E., Fursova N.K., Potapov V.D. *Pseudomonas aeruginosa* efflux pump superfamily (review of literature). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2022; 67 (1): 53-58. DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-1-53-58>

For correspondence: *Ivanov Mikhail Eduardovich*, intern-researcher of the Department of training and Improvement of specialists; e-mail: neokarda@mail.ru

Information about authors:

Ivanov M.E., <https://orcid.org/0000-0002-5010-3919>;

Fursova N.K., <https://orcid.org/0000-0001-6053-2621>;

Potapov V.D., <https://orcid.org/0000-0002-5336-8234>.

Conflict of interests. *The authors declare absence of conflict of interests*

Acknowledgement. *The study was done within the framework of the sectoral program of Rosпотребнадзор.*

Received 01.07.2021

Accepted 19.10.2021

Published 28.01.2022

Согласно данным Европейского центра по предотвращению и контролю заболеваний (*European Centre for Disease Prevention and Control*, ECDC), в 2018 г. в мире около 700 тыс. человек умерли от инфекций, вызванных штаммами бактерий, устойчивых к антимикробным препаратам (АМП) [1]. В докладе Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) 2021 г. отмечается, что недостаточное использование АМП в медицинских учреждениях, нарушение санитарных правил может привести к тому, что пациенты становятся резервуаром антибиотикорезистентных штаммов с повышенной вирулентностью [2]. К 2021 г. увеличению численности подобных штаммов способствовал неконтролируемый приём АМП пациентами во время пандемии COVID-19 [3].

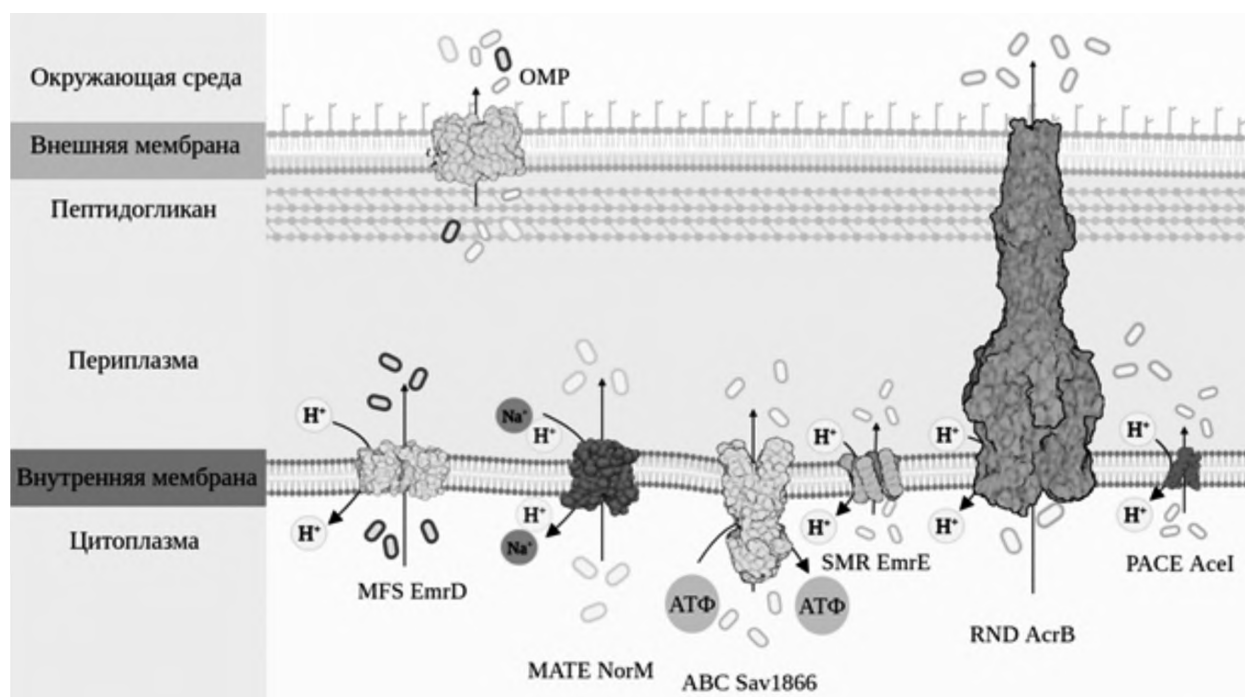
Грамотрицательные бактерии *Pseudomonas aeruginosa* относятся к числу наиболее частых возбудителей внутрибольничных инфекций. Ими обусловлено около 16% случаев внутрибольничных пневмоний [4], 12% инфекций мочевыводящих путей, 10% случаев инфекций кровотока и 8% инфекций хирургических ран [5]. *P. aeruginosa* являются возбудителями гнойно-септических инфекций у пациентов ожоговых стационаров [6], где средняя частота их встречаемости составляет приблизительно 40% от общего числа возбудителей. За 2019 г. число внутрибольничных заражений госпитальными штаммами, устойчивыми к АМП резерва, составило 6700 человек, из них число смертей – 440. Доля заражений, вызванных штаммами *P. aeruginosa*, составила приблизительно 7% от общего числа инфекций [7].

Трудности, возникающие при лечении инфекций, вызываемых *P. aeruginosa*, обусловлены высоким адаптивным

потенциалом бактерий данного вида. Повышенная устойчивость к АМП у *P. aeruginosa* обеспечивается возможностью быстро регулировать метаболизм с помощью широкого спектра эпигенетических факторов. На 6,3-6,9 млн. пар нуклеотидов генома *P. aeruginosa*, регуляторные элементы составляют 8,4%, что выше, чем данный показатель у других прокариотических организмов. Для сравнения, у *Escherichia coli* он составляет 5,8%, у *Bacillus subtilis* – 5,3% [8]. Подобная организация генома обеспечивает бактериям *P. aeruginosa* возможность быстрой адаптации к меняющимся условиям окружающей среды, в том числе – к наличию в окружающей среде антимикробных веществ. *P. aeruginosa* способны существенно повышать свою устойчивость к АМП с помощью активации эффлюксных насосов [9]. Эти мембранные структуры осуществляют эффективную избирательную транспортировку молекул лекарственных препаратов из бактериальной цитоплазмы в периплазму или во внешнюю среду.

Общепринятый подход в классификации бактериальных эффлюксных насосов основан на оценке следующих параметров: (1) источника энергии; (2) механизма транспорта субстрата; (3) размера и типа транспортируемых молекул [10]. На рисунке приведены шесть суперсемейств эффлюксных насосов [57]. Представители всех этих суперсемейств описаны у *P. aeruginosa*, которые являются идеальным модельным объектом для их изучения. Рассмотрим характеристики перечисленных суперсемейств и наличие их типичных представителей у *P. aeruginosa*.

Основное суперсемейство бактериальных мембранных транспортёров – MFS (Major Facilitator Superfamily). В суперсемейство MFS входят тысячи



Схематическое изображение эффлюксных насосов *P. aeruginosa*.

OMP – Outer Membrane Protein, белок внешней мембраны; АТФ – аденозин трифосфат; MFS – Major Facilitator Superfamily, основное суперсемейство бактериальных мембранных транспортёров; MATE – Multidrug and Toxic Compound Extrusion, суперсемейство экстрюзии лекарственных и токсичных соединений; ABC Sav – ATP-Binding Cassette, суперсемейство АТФ-связывающих бактериальных кассетных транспортеров; SMR EmrE – Small Multidrug Resistance, суперсемейство малых транспортеров лекарственной устойчивости; RND AcrB - Resistance-Nodulation-Division, суперсемейство бактериальных связывающе-транспортирующих протеинов; PACE AceI – Proteobacterial Antimicrobial Compound Efflux, протеобактериальная антимикробная эффлюксная структура.

бактериальных белков-транспортёров, которые имеют общее филогенетическое происхождение, схожие аминокислотные последовательности, совпадающие особенности вторичной и третичной структуры. MFS включает 74 семейства. Каждый эффлюксный насос этого семейства состоит из 12 трансмембранных α -спиралей, соединённых гидрофильными петлями [11]. Движение молекул из бактериальной клетки в периплазму осуществляется за счёт энергии протонного градиента [12]. Ген *tetA(C)*, один из представителей MFS, у *P. aeruginosa* кодирует белок, вызывающий устойчивость к тетрациклину [13]. У *P. aeruginosa* присутствует ген *tetA(R)* этого же суперсемейства, кодирующий белок, транспортирующий триамфеникол через внутреннюю мембрану [14].

Суперсемейство экстррузии лекарственных и токсичных соединений – MATE (Multidrug and Toxic Compound Extrusion). Суперсемейство MATE включает более 1000 различных белков-транспортёров, которые делятся на три семейства. Белки эффлюксных насосов MATE обычно состоят из 400-700 аминокислотных остатков, причём большинство из них находится в диапазоне 400-550. Они осуществляют транспорт молекул лекарств из цитоплазмы бактерий с помощью межмембранного градиента Na^+ и H^+ (в отличие от эффлюксных насосов суперсемейства MFS). В белках суперсемейства MATE не выявлено очевидной консервативной последовательности, они имеют только 40% гомологию аминокислотного состава внутри этого суперсемейства [15]. Данные геномного анализа бактерий *P. aeruginosa* показали, что экспрессия гена *PA1361*, кодирующего белок MATE PmpM, делает их более устойчивыми к акрифлавину, бензалкония хлориду, бромистому этидию, тетрафенилфосфония хлориду. Этот белок является уникальным для этого суперсемейства, так как, несмотря на филогенетическую принадлежность к MATE, он работает только за счёт протонного градиента, не используя ионы натрия для транспорта субстратных молекул между клеточной и наружной мембраной [16].

Суперсемейство АТФ-связывающих бактериальных кассетных транспортеров – ABC (ATP-Binding Cassette). Представители суперсемейства бактериальных транспортеров ABC состоят из ряда субъединиц, одна часть которых осуществляет межмембранный транспорт, другая встраивает молекулу транспортёра в мембрану бактериальной клетки. Микробные насосы ABC выделяются в отдельное суперсемейство, на основании сходства в организации доменов АТФ-связывающих участков. Для перемещения молекул лекарств через мембрану данные белки используют энергию гидролиза АТФ, что позволяет отнести их к группе первично-активных транспортеров. Филогенетический анализ генов ABC-транспортеров показал, что разные группы семейств внутри суперсемейства эволюционировали независимо друг от друга [17]. Некоторые бактериальные эффлюксные насосы данного суперсемейства могут выполнять репарацию ДНК и регулировать экспрессию бактериальных генов, что обычно несвойственно белкам-транспортёрам [18]. Эффлюксные насосы этого суперсемейства PA4456, PvdRT-OrpQ, PA2812 (CsmA), ndvB, PA1874-1877, активные у *P. aeruginosa*, обеспечивают устойчивость бактерий к ципрофлоксацину, гентамицину, тетрациклину, тобрамицину, пиовердин-металлическим комплексам, конъюгатам сидерофор-монобактамов [19–21].

Суперсемейство малых транспортеров лекарственной устойчивости – SMR (Small Multidrug Resistance). Суперсемейство малых лекарственных транспортеров SMR представляет собой группу белков внутренней мембраны бактерий, состоящих из 100-140 аминокислотных остатков, включает три семейства: малые многокомпонентные насосы (SMP), парные малые многокомпонентные насосы (PSMR) и супрессоры мутаций GroEL (SUG). Филогенетические исследования суперсемейства SMR выявили высокую частоту горизонтального переноса генов и быструю дивергенцию их последовательностей, что привело к повышению разнообразия внутри данного суперсемейства [22]. Эффлюксные насосы SMR, как и представители суперсемейства MFS, осуществляют транспорт веществ из цитоплазмы бактерий за счёт протонного градиента, но в отдельную группу их выделяют из-за их небольших размеров. Одной из характерных особенностей белков данного суперсемейства является зависимость выведения субстратов от текущего энергетического состояния клетки. Перемещение одновалентных липофильных молекул через мембрану бактерий требует участия электрогенных ионных насосов, в то время как транспорт двухвалентных липофильных катионов происходит без их участия. Это объясняет вариабельность устойчивости к лекарствам у бактерий, несущих во внутренних мембранах белки SMR [23]. У *P. aeruginosa* белки этого суперсемейства (EmrE, QacE, QacF) способны осуществлять выведение аминогликозидов, бромистого этидия, четвертичных аммониевых соединений [24].

Суперсемейство бактериальных связывающе-транспортующих протеинов – RND (Resistance-Nodulation-Division). Суперсемейство протеинов RND встречается как у грамотрицательных бактерий, так и, в виде исключения, может присутствовать у грамположительных бактерий, архей и даже эукариот. Оно включает в себя семь семейств, каждое из которых участвует в поддержании гомеостаза клетки и в удалении лекарственных и токсичных соединений.

Микробные белки RND являются самыми крупными среди эффлюксных насосов. Каждый из них представляет собой трёхкомпонентную молекулярную систему. Первый компонент – белковая молекула, обеспечивающая движение молекул лекарства внутри структуры эффлюксного насоса за счёт протонного градиента между цитоплазмой и периплазмой (MexD, MexB, MexY, MexF). Второй компонент является белком, включающим RND в наружную мембрану бактерий (OrpM, OrpJ, OrpN, OMF), третий компонент встраивает RND в периплазму бактерий (MexA, MPF, MexC, MexF). Структура их молекул позволяет белкам находиться одновременно на наружной и на цитоплазматической мембране грамотрицательных бактерий. Подобная особенность даёт возможность этим насосам экспортировать лекарственные субстраты не в периплазматическое пространство, а во внешнюю среду, что обеспечивает значительное преимущество для выживания бактерий в селективных условиях [25].

Движение субстрата внутри белковой структуры бактериального эффлюксного насоса RND происходит за счёт постоянной конформационной перестройки этих молекул, включающей в себя последовательную работу лигандов. Значительная длина эффлюксного насоса позволяет вместить внутри себя большое количество молекул выводимых субстратов [26]. Белки этого супер-

Субстраты эффлюксных насосов суперсемейства RND у *P. aeruginosa*

| Эффлюксный насос | Субстраты | Ссылки на источники |
|------------------|---|---------------------|
| MexAB-OprM | Аминогликозиды, бета-лактамы антибиотики, SHIR-090 (ингибитор LpxC), хлорамфеникол, колистин, карбапенемы, цефулин, кристаллический фиолетовый, бромистый этидий, фторхинолоны, хинолоны, эндолизины, макролиды, новобиоцин, ряд органических растворителей, пацидамицин, ингибиторы кворума, натрия додецилсульфат, тетрациклин, тиолактомицин, триметоприм, триклозан, масло чайного дерева | [28-33] |
| MexXY-OprM/A/B/D | Акрифлавин, аминогликозиды, цефтобиол, бромистый этидий, цефепим, фторхинолоны, LBM415 (ингибитор пептидной деформилазы), макролиды, тетрациклины и тигециклин | [34-37] |
| MexCD-OprJ | Азитромицин, цефтобиол, SHIR-090, хлорамфеникол, колистин, хлоргексидин, цефепим, фторхинолоны, ингибиторы топоизомеразы, органические растворители, пацидамицин, соли четвертичного аммония, хинолоны, тетрациклины, тигециклин и триклозан | [38-41] |
| MexEF-OprN | SHIR-090, хлорамфеникол, диамида, фторхинолоны, 4-гидрокси-2-гептилхинолин, тетрациклин, триметоприм, триклозан | [42, 43] |
| MexGHI-OprM/D | Акрифлавин, бромистый этидий, фторхинолоны, тетрациклин, тетрафенилфосфониум хлорид, хинолоны, Va^{2+} | [44-46] |
| MexJK-OprM | Эритромицин, тетрациклин | [47, 48] |
| MexJK-OprH | Триклозан | [47, 48] |
| MexMN-OprM | Хлорамфеникол, тиолактомицин, тетрафенилфосфониум хлорид, родамин 6G | [49] |
| MexPQ-OprE | Макролиды, хинолоны, тетрафенилфосфоний хлорид | [50] |
| MexVW-OprM | Акрифлавин, хлорамфеникол, бромистый этидий, эритромицин, фторхинолоны, хинолоны, тетрациклин | [51] |
| MuxABC-OprB | Азтреонам, колистин, макролиды, новобиоцин, тетрациклин | [52] |
| TriABC-OprH | Триклозан | [53] |
| Czc-CBA/-S/-R | Cd^{2+} , Zn^{2+} | [54, 55] |

семейства кодируются не отдельными генами, а бактериальными оперонами [27]. Эффлюксные белки этого суперсемейства, описанные у *P. aeruginosa*, приведены в таблице.

Насосы суперсемейства RND у *P. aeruginosa* выводят значительно больше бактерицидных веществ, чем эффлюксные насосы остальных суперсемейств. Данное свойство этих мембранных белков-транспортёров обеспечивает высокий уровень лекарственной устойчивости *P. aeruginosa*. Эффлюксный насос MexAB-OprM способен выводить из клеток бактерий молекулы-ингибиторы кворума, тем самым увеличивая взаимодействие между бактериями в биоплёнках.

Протеобактериальная антимикробная эффлюксная структура – PACE (Proteobacterial Antimicrobial Compound Efflux). Представители бактериального эффлюксного суперсемейства PACE являются транспортными мембранными белками, которые определяют устойчивость микроорганизмов к ряду низкомолекулярных биоцидов. Анализ экспериментальных работ позволяет сделать предположение о функционировании белков-транспортёров в олигомерной форме. Исследования показали, что данный тип эффлюксных насосов увеличивает резистентность *P. aeruginosa* к хлоргексидину [56].

Заключение. *P. aeruginosa* является патогеном, обладающим одной из самых сложно организованных систем защиты бактериальных клеток от токсичных для них молекул, включающей множество различных эффлюксных насосов. Эти структуры обеспечивают *P. aeruginosa* возможность быстро адаптироваться к воздействию новых АМП. Сложная молекулярная организация эффлюксных насосов обеспечивает их большое функциональное разнообразие. Представители суперсемейств MFS, SMR, RND и MATE используют протонный градиент между цитоплазмой и периплазмой бактериальной клетки для транспорта субстрата. У MATE дополнительный

механизм транспорта лекарств идёт за счёт градиента ионов Na^+ . Белки суперсемейства ABC способны осуществлять перенос субстрата за счёт энергии АТФ. Из вышеперечисленных суперсемейств особую роль в устойчивости *P. aeruginosa* к АМП играют эффлюксные насосы суперсемейства RND, выводящие молекулы субстратов из цитоплазмы сразу во внешнюю среду.

В будущем эффективные методы лечения инфекций, вызванных антибиотикорезистентными бактериями, будут связаны с комбинированной терапией, учитывающей молекулярные механизмы лекарственной устойчивости. Представляется актуальной задачей разработка тест-систем для оценки наличия и экспрессии генетических детерминант эффлюксных насосов у клинических штаммов *P. aeruginosa*.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2018. Stockholm: ECDC; 2019. Stockholm, November 2019. ISBN 978-92-9498-387-9.
2. Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS) Report [Электронный ресурс] // World Health Organization: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240027336> дата обращения: 10.08.2021).
3. Preventing the COVID-19 pandemic from causing an antibiotic resistance catastrophe [Electronic resource]. World Health Organization: <https://www.euro.who.int/ru/health-topics/disease-prevention/antimicrobial-resistance/news/news/2020/11/preventing-the-covid-19-pandemic-from-causing-an-antibiotic-resistance-catastrophe> (access date: 10.08.2021).
4. Alonso B., Fernández-Barat L., Di Domenico E.G., Marín M., Cercenado E., Merino I. et al. Characterization of the virulence of *Pseudomonas aeruginosa* strains causing ventilator-associated pneumonia. *BMC Infect.* 2020; 20(1): 909. DOI: 10.1186/s12879-020-05534-1.
5. What is *Pseudomonas aeruginosa*? [Electronic resource]. EHA Consulting Group: Public Health Consulting, Epidemiology, & Food Safety Consultants. <https://www.ehagroup.com/resources/pathogens/pseudomonas-aeruginosa/> (access date 26.04.2021).

6. Manuel R., Gonzalez, Betty F., Leonardo L., Paris J., Lee A. A., Wassim R., Yok-Ai Q., Karl P. Effect of Human Burn Wound Exudate on *Pseudomonas aeruginosa* Virulence. *ASM Journals/ mSphere*. 27 April 2016; 1 (2). DOI: 10.1128/mSphere.00111-15.
7. Antibiotic resistance threats in the United States. [Электронный ресурс] U.S. Department of Agriculture. (access date 26.04.2021).
8. Stover C.K., Pham X.Q., Olson M.V. Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen. *Nature*. 2000; 406:959. DOI: 10.1038/35023079.
9. Mulcahy L.R., Isabella V.M., Lewis K. *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms in Disease. *Microb. Ecol.* 2014; 68: 1–12. DOI: 10.1007/s00248-013-0297-x.
10. Saier M.H. Jr. A Functional-Phylogenetic Classification System for Transmembrane Solute Transporters. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2000; 64(2): 354–411. DOI: 10.1128/MMBR.64.2.354-411.2000.
11. Vamsee S.R., Maksim A.S., Rostislav C., Eric I.S., Milton H., Saier M.H. Jr. The major facilitator superfamily (MFS) revisited. *FEBS Journal*. 28 March 2012; 35: 2022. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2012.08588.x.
12. Sanath K., Manjusha L., Ammini P., Manisha O., Nicholas W., Varela M.F. Functional and Structural Roles of the Major Facilitator Superfamily Bacterial Multidrug Efflux Pumps. *Microorganisms*. 2020; 8(2): 266. DOI: 10.3390/microorganisms8020266.
13. Punyawee D., Naphat S., Matthew B.A., Nisanart C., Paiboon V., Skorn M. Over-Expression of Hypochlorite Inducible Major Facilitator Superfamily (MFS) Pumps Reduces Antimicrobial Drug Susceptibility by Increasing the Production of MexXY Mediated by ArmZ in *Pseudomonas aeruginosa*. *Front Microbiol.* 2021; 11: 3376. DOI: 10.3389/fmicb.2020.592153.
14. Céline C., Dominique J., Elisabeth B., Gian M.R., Benoit C., Sylvie N. Genetic analyses of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from healthy captive snakes: evidence of high interand intrasite dissemination and occurrence of antibiotic resistance genes. *Environ Microbiol.* 2010; 12(3): 716–29. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2009.02115.x.
15. Hiroshi O., Miki H., Takuya M., Masato O., Yoshinori M. The MATE proteins as fundamental transporters of metabolic and xenobiotic organic cations. *Trends Pharmacol Sci.* 2006; 27 (11): 587–93. DOI: 10.1016/j.tips.2006.09.001.
16. Gui-Xin H., Teruo K., Takehiko M., Yuji M., Tohru M., Tomofusa T. An H⁺-Coupled Multidrug Efflux Pump, PmpM, a Member of the MATE Family of Transporters, from *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.* 2004; 186(1): 262–5. DOI: 10.1128/JB.186.1.262-265.2004.
17. Amy L.D., Elie D., Cedric O., Jue C. Structure, Function, and Evolution of Bacterial ATP-Binding Cassette Systems. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2008 Jun; 72(2): 317–64. DOI: 10.1128/MMBR.00031-07.
18. Li Z., Thien-Fah M. Involvement of a Novel Efflux System in Biofilm-Specific Resistance to Antibiotics. *ACS Omega*. 2008; 190(13): 4447–52. DOI: 10.1128/JB.01655-07.
19. Lin C., Kangmin D. A PhoPQ-Regulated ABC Transporter System Exports Tetracycline in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2016; 60 (5): 3016-24. DOI: https://doi.org/10.1128/AAC.02986-15.
20. Andrew P.T., Jared L.C., McPherson J.C., David P.N. Potentiation of Antibacterial Activity of the MB-1 Siderophore-Monobactam Conjugate Using an Efflux Pump Inhibitor. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2015; 59 (4): 2439–42. DOI: https://doi.org/10.1128/AAC.04172-14.
21. Mélissa H., Armelle B., Françoise H., Pascale R., Anne B., Isabelle J.S. The PvdRT-OpmQ efflux pump controls the metal selectivity of the iron uptake pathway mediated by the siderophore pyoverdine in *Pseudomonas aeruginosa*. *Environ Microbiol.* 2012; 14(7): 1696–1708. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02674.x.
22. Denice C.B., Kenton L.R., Raymond J.T. Small multidrug resistance proteins: A multidrug transporter family that continues to grow. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. September 2008; 1778(9): 1814-38. DOI: 10.1016/j.bbmem.2007.08.015.
23. Li X.Z., Keith P., Hiroshi N. Contributions of MexAB-OprM and an EmrE Homolog to Intrinsic Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to Aminoglycosides and Dyes. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2003; 47(1): 27-33. DOI: 10.1128/AAC.47.1.27-33.2003.
24. Jae H.J., Kyeong S.S., Lee W.J., Eun J.P., Son S.Y. Analysis of a novel class 1 integron containing metallo-β-lactamase gene VIM-2 in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Microbiology*. 04 February 2010; 47: 753–9. DOI: 10.1007/s12275-008-0272-2.
25. Nakashima R., Sakurai K., Yamasaki S., Nishino K., Yamaguchi A. Structures of the multidrug exporter AcrB reveal a proximal multi-site drug-binding pocket. *Nature*. 2011; 480: 565–569. DOI: https://doi.org/10.1038/nature10641.
26. Anes J., McCusker M.P., Séamus F., Marta M. The ins and outs of RND efflux pumps in *Escherichia coli*. *Front. Microbiol.* 2015; 6: 587. DOI: https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00587.
27. Li X.Z., Nikaido H., Poole K. Role of MexA-MexB-OprM in antibiotic efflux in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1995; 39: 1948–53. DOI: 10.1128/aac.39.9.1948.
28. Masuda N., Sakagawa E., Ohya S., Gotoh N., Tsujimoto H., Nishino T. Substrate specificities of MexAB-OprM, MexCD-OprJ, and MexXY-OprM efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2000; 44: 3322–37. DOI: 10.1128/aac.44.12.3322-3327.2000.
29. Poole K., Tetro K., Zhao Q., Neshat S., Heinrichs D.E., Bianco N. Expression of the multidrug resistance operon mexA-mexB-oprM in *Pseudomonas aeruginosa*: mexR encodes a regulator of operon expression. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1996; 40: 2021–8. DOI: 10.1128/AAC.40.9.2021.
30. Cao L., Srikumar R., Poole K. MexAB-OprM hyperexpression in NalC-type multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: identification and characterization of the *nalC* gene encoding a repressor of PA3720–PA3719. *Mol. Microbiol.* 2004; 53:1423–36. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2004.04210.x.
31. Caughlan E.R., Jones A.K., Delucia A.M., Woods A.L., Lili X., Bing M., Barnes S.W., Walker J.R., Sprague E.R., Xia Y., Dean C.R. Mechanisms decreasing in vitro susceptibility to the LpxC inhibitor CHIR-090 in the Gram-negative pathogen *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2012; 56: 17–27. DOI: 10.1128/AAC.05417-11.
32. Muller J.F., Stevens A.M., Craig J., Love N.G. Transcriptome analysis reveals that multidrug efflux genes are upregulated to protect *Pseudomonas aeruginosa* from pentachlorophenol stress. *Appl Environ Microbiol.* 2007; 73: 4550–8. DOI: 10.1128/AEM.00169-07.
33. Aires J.R., Köhler T., Nikaido H., Plésiat P. Involvement of an active efflux system in the natural resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to aminoglycosides. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1999; 43: 2624–8. DOI: 10.1128/AAC.43.11.2624.
34. Mine T., Morita Y., Kataoka A., Mizushima T., Tsuchiya T. Expression in *Escherichia coli* of a new multidrug efflux pump, MexXY, from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1999; 43:415–7. DOI: https://doi.org/10.1128/AAC.43.2.415.
35. Murata T., Gotoh N., Nishino T. Characterization of outer membrane efflux proteins OpmE, OpmD and OpmB of *Pseudomonas aeruginosa*: molecular cloning and development of specific antisera. *FEMS Microbiol Lett.* 2002; 217:57–63. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2002.tb11456.x.
36. Baum E.Z., Crespo-Carbone S.M., Morrow B.J., Davies T.A., Foleno B.D., He W., Queenan A.M., Bush K. Effect of MexXY overexpression on ceftobiprole susceptibility in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009; 53:2785–90. DOI: https://doi.org/10.1128/AAC.00018-09.
37. Morita Y., Gilmour C., Metcalf D., Poole K. Translational control of the antibiotic inducibility of the PA5471 gene required for mexXY multidrug efflux gene expression in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.* 2009; 191:4966–75. DOI: https://doi.org/10.1128/JB.00073-09.
38. Poole K., Gotoh N., Tsujimoto H., Zhao Q., Wada A., Yamasaki T., Neshat S., Yamagishi J., Li X.Z., Nishino T. Overexpression of the mexC-mexD-oprJ efflux operon in nfxB-type multidrug-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol. Microbiol.* 2000; 21:713–24.
39. Masuda N., Sakagawa E., Ohya S., Gotoh N., Tsujimoto H., Nishino T. Substrate specificities of MexAB-OprM, MexCD-OprJ, and MexXY-OprM efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2000; 44: 3322–37. DOI: 10.1128/aac.44.12.3322-3327.2000.

- timicrob. Agents Chemother.* 2000; 44:3322–37. DOI: 10.1128/aac.44.12.3322-3327.2000.
40. Zhang L., Li X.Z., Poole K. Fluoroquinolone susceptibilities of efflux-mediated multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* and *Burkholderia cepacia*. *J. Antimicrob. Chemother.* 2001; 48:549–52. DOI: https://doi.org/10.1093/jac/48.4.549.
 41. Fraud S., Campigotto A.J., Chen Z., Poole K. 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. DOI: 10.1128/AAC.01072-08.
 42. Köhler T., Michea-Hamzeshpour M., Henze U., Gotoh N., Curty L.K., Pechère J.C. Characterization of MexE-MexF-OprN, a positively regulated multidrug efflux system of *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol. Microbiol.* 1997; 23:345–54. DOI: 10.1046/j.1365-2958.1997.2281594.x.
 43. Wang D., Seeve C., Pierson L.S., Pierson E.A. Transcriptome profiling reveals links between ParS/ParR, MexEF-OprN, and quorum sensing in the regulation of adaptation and virulence in *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC Genomics.* 2013; 14:618. DOI: 10.1186/1471-2164-14-618.
 44. Aendekerk S., Diggle S.P., Song Z., Hoiby N., Cornelis P., Williams P., Camara M. The MexGHI-OpmD multidrug efflux pump controls growth, antibiotic susceptibility and virulence in *Pseudomonas aeruginosa* via 4-quinolone-dependent cell-to-cell communication. *Microbiology.* 2005; 151:1113–25. DOI: 10.1099/mic.0.27631-0.
 45. Palma M., Zurita J., Ferreras J.A., Worgall S., Larone D.H., Shi L., Campagne F., Luis E.N. Quadri. *Pseudomonas aeruginosa* SoxR does not conform to the archetypal paradigm for SoxR-dependent regulation of the bacterial oxidative stress adaptive response. *Infect. Immun.* 2005; 73:2958–66. DOI: 10.1128/IAI.73.5.2958-2966.2005.
 46. Lars E.P. Dietrich, Price-Whelan A., Petersen A., Whiteley M., Newman D.K. The phenazine pyocyanin is a terminal signaling factor in the quorum sensing network of *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol. Microbiol.* 2006; 61:1308–21. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2006.05306.x.
 47. Chuanchuen R., Narasaki C.T., Schweizer H.P. The Mex J.K. efflux pump of *Pseudomonas aeruginosa* requires OprM for antibiotic efflux but not for efflux of triclosan. *J. Bacteriol.* 2002; 184:5036–44. DOI: 10.1128/JB.184.18.5036-5044.2002.
 48. Chuanchuen R., Gaynor J.B., Karkhoff-Schweizer R., Schweizer H.P. Molecular characterization of MexL. The transcriptional repressor of the mexJK multidrug efflux operon in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2005; 49:1844–51. DOI: 10.1128/AAC.49.5.1844-1851.2005.
 49. Mima T., Sekiya H., Mizushima T., Kuroda T., Tsuchiya T. Gene cloning and properties of the RND-type multidrug efflux pumps MexPQ-OpmE and MexMN-OprM from *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiol Immunol.* 2005; 49:999–1002. DOI: 10.1111/j.1348-0421.2005.tb03696.x.
 50. Li Y., Mima T., Komori Y., Morita Y., Kuroda T., Mizushima T., Tsuchiya T. A new member of the tripartite multidrug efflux pumps, MexVW-OprM, in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Antimicrob. Chemother.* 2011; 52:572–5. DOI: 10.1093/jac/dkg390.
 51. Chiang W.C., Pamp S.J., Nilsson M., Givskov M., Tolker-Nielsen T. The metabolically active subpopulation in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms survives exposure to membrane-targeting antimicrobials via distinct molecular mechanisms. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2019; 10: 913. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2012.00929.x.
 52. Yang L., Chen L., Shen L., Surette M., Duan K. Inactivation of MuxABC-OpmB transporter system in *Pseudomonas aeruginosa* leads to increased ampicillin and carbenicillin resistance and decreased virulence. *J. Microbiol.* 2011; 49:107–14.
 53. Mima T., Kohira N., Li Y., Sekiya H., Ogawa W., Kuroda T., Tsuchiya T. Gene cloning and characteristics of the RND-type multidrug efflux pump MuxABC-OpmB possessing two RND components in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology.* 2009 Nov; 155(Pt 11):3509–17. DOI: 10.1099/mic.0.031260-0.
 54. Mima T., Joshi S., Gomez-Escalada M., Schweizer HP. Identification and characterization of TriABC-OpmH, a triclosan efflux pump of *Pseudomonas aeruginosa* requiring two membrane fusion proteins. *J. Bacteriol.* 2007 Nov; 189(21): 7600–9. DOI: 10.1128/JB.00850-07.
 55. Perron K., Caille O., Rossier C., Van Delden C., Dumas J., Köhler T. CzcR-CzcS, a two-component system involved in heavy metal and carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Biol. Chem.* 2004; 279:8761–8. DOI: 10.1074/jbc.M312080200.
 56. Hassan K.A., Liu Q., Elbourne L.D.H., Ahmad I., Sharples D., Naidu V., Chan C.L., Li L., Harborne S.P.D., Pokhrel A., Postis V.L.G., Goldman A., Henderson P.J.F., Paulsen I.T. Pacing across the membrane: the novel PACE family of efflux pumps is widespread in Gram-negative pathogens. *Research in Microbiology.* 2018; 169 (7–8): 450-4. DOI: 10.1016/j.resmic.2018.01.001.
 57. Tegos G.P., Haynes M., Strouse J.J., Khan M.M.T., Bologna C.G., Oprea T.I., Sklar L.A. Microbial Efflux Pump Inhibition: Tactics and Strategies. *Curr. Pharm. Des.* 2011; 17(13): 1291–1302. DOI: 10.2174/138161211795703726.