

УДК 579.8.05

Микоплазмы и их устойчивость к антибиотикам: проблемы и перспективы контроля микоплазменных инфекций и контаминаций клеточных культур

О. А. Чернова^{1,2*}, Е. С. Медведева^{1,2}, А. А. Музыкантов^{1,2}, Н. Б. Баранова^{1,2}, В. М. Чернов^{1,2}

¹Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, 420111, Казань, ул. Лобачевского, 2/31

²Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18

*E-mail: chernov@mail.knc.ru

Поступила в редакцию 25.08.2015

Принята к печати 27.11.2015

РЕФЕРАТ Обзор посвящен проблеме контроля микоплазм (класс Mollicutes) – мельчайших из способных к самостоятельной репликации прокариот, паразитов высших организмов, основных контаминантов клеточных культур и вакцинных препаратов. Обсуждаются возможные механизмы быстрого развития устойчивости микоплазм к антимикробным препаратам. Появление омиксных технологий определило новые подходы к изучению молекулярно-генетических основ адаптации бактерий к стрессовым условиям и выявлению резистомов – совокупности всех генов и их продуктов, которые принимают участие в формировании резистентности микроорганизмов к антимикробным препаратам. С применением постгеномных методов получены данные, указывающие на то, что устойчивость бактерий к антимикробным препаратам может определяться более сложными процессами, чем предполагалось. Развитие резистентности микоплазм к антибактериальным препаратам ассоциировано с существенными изменениями секреции, а также геномного и протеомного профилей, которые затрагивают многие гены и белки, участвующие в различных клеточных процессах и бактериальной патогенности.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА бактериальный резистом, микоплазмы, механизмы резистентности к антибиотикам, омиксные технологии.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ МИК – минимальная ингибирующая концентрация; МЛСК – антибиотики групп макролидов, линкозамидов, стрептограмина и кетолидов; АВС – АТФ-связывающая кассета; СОГ – кластеры ортологичных групп белков; МАТЕ – семейство белков выведения антибиотиков и токсинов; MDR – множественная лекарственная устойчивость; MFS – протонзависимые множественные экспортеры семейства MFS; SMR – семейство низкомолекулярных белков, определяющих устойчивость к лекарствам; QRDR – регион, определяющий резистентность к хинолонам; RND – протонзависимые множественные экспортеры семейства RND; SNP – однонуклеотидный полиморфизм.

Большой интерес к микоплазмам (класс Mollicutes) обусловлен не только уникальностью организации этих мельчайших бактерий, лишенных клеточной стенки, но и практической необходимостью. Микоплазмы – паразиты высших эукариот, являются возбудителями социально значимых инфекций, основными контаминантами клеточных культур и вакцинных препаратов. Контроль микоплазменных инфекций представляет серьезную проблему [1–3].

На протяжении нескольких десятилетий разрабатывали различные методы подавления микоплазм, но эффективные средства пока не найдены [4, 5]. Основной способ подавления микоплазменных инфекций и контаминаций основан на использовании антибактериальных препаратов [2–4]. Существенную проблему представляет быстрое развитие устойчивости микоплазм к антимикробным препаратам, механизмы которого не вполне ясны. Предполагается, что решить проблему контроля микоплазменных

инфекций и контаминаций можно будет, изучив молекулярно-генетические механизмы адаптации микоплазм к стрессовым условиям, определяющие выживание бактерий в различных условиях [1–5]. Очевидно, что проведение таких исследований предполагает использование комплексного подхода с привлечением как классических методов, так и современных способов анализа биологического материала.

В нашем обзоре обобщены и проанализированы данные о механизмах, определяющих устойчивость микоплазм к антимикробным препаратам. Представления об этих механизмах в значительной мере сложились в период, предшествовавший пост-геномной эпохе. Между тем, успешная реализация геномных проектов и возникновение омиксных технологий привели к разработке новых подходов к изучению молекулярно-генетических основ адаптации бактерий к стрессовым условиям и выявлению резистомов – совокупности всех генов и их продуктов, принимающих участие в формировании устойчивости микроорганизмов к антимикробным препаратам [6–13]. В результате использования комплексного подхода получены данные, указывающие на то, что устойчивость бактерий к антимикробным препаратам может обеспечиваться более сложными процессами, чем это предполагалось ранее.

Поскольку у представителей класса Mollicutes отсутствует клеточная стенка, основные классы антимикробных препаратов, такие, как бета-лактамы, гликопептиды и фосфомицин, на них не влияют. Присущие микоплазмам биологические особенности определяют также неэффективность ряда других веществ (сульфонамидов, триметоприма, рифампина, полимиксинов, налидиксовой кислоты, линезолида и некоторых других). Среди препаратов, проявляющих активность в отношении микоплазм, наиболее эффективны тетрациклины, фторхинолоны и макролиды. Именно они широко используются для подавления микоплазменных инфекций и контаминаций клеточных культур [4]. Правда, в последнее время появились сообщения о новом классе бактериостатиков – ингибиторов деформилаз, активных в отношении урогенитальных микоплазмозов [5]. Однако для оценки перспективности этих антибиотиков потребуются длительные клинические испытания в разных регионах мира.

Применение антимикробных пептидов (мелиттина, выделенного из яда пчелы, глобомуцина, грамицидина С, сурфактина и валиномицина, продуцируемого бактериями, аламетицина, обнаруженного у грибов, цекропинов А и Р1, а также магаинина 2, полученного из тканей животных) для подавления микоплазм [14–20] пока не получило широкого распространения. Оказалось, что микоплазмы успешно

развивают устойчивость и к этим препаратам [19, 21]. Поскольку данные о механизмах резистентности микоплазм к антимикробным пептидам пока отсутствуют, изучение адаптации представителей класса Mollicutes к антибактериальным препаратам сосредоточено главным образом на процессах формирования устойчивости к тетрациклинам, фторхинолонам и макролидам.

Представления о механизмах возникновения устойчивости микроорганизмов к препаратам этих групп основаны в значительной мере на результатах исследования классических бактерий. Отчасти это связано с особенностями биологии Mollicutes, определяющими сложность их выделения в искусственных средах и проведение клонального анализа аксеничных культур. Данные же биоинформационного анализа [22–24] не всегда согласуются с экспериментальными результатами. Так, согласно анализу *in silico* пяти эффлюксных систем, вносящих существенный вклад в адаптацию классических бактерий к антибиотикам – MATE (Multidrug and toxic compound extrusion family), MFS (major facilitator superfamily), SMR (small multidrug resistance family), RND (resistance-nodulation-cell division superfamily) и ABC (ATP-binding cassette superfamily) [25, 26], в геномах ряда Mollicutes присутствуют гены MATE, MFS и ABC. Однако экспериментально подтвердить вклад эффлюкса в устойчивость микоплазм к антимикробным препаратам смогли пока только в отношении систем ABC-транспортеров [24, 27, 28].

Так или иначе, способы развития устойчивости к тетрациклинам, фторхинолонам и макролидам, обнаруженные у классических бактерий, в значительной мере характерны и для Mollicutes. Однако у разных видов микоплазм формирование резистентности к антибактериальным препаратам имеет свои особенности, и даже при совпадении механизмов уровень чувствительности штаммов к препарату может существенно различаться (табл. 1). При этом механизмы, определяющие резистентность к антибактериальным препаратам, у некоторых видов микоплазм установить не удастся [5]. Это может указывать на существование у Mollicutes еще неописанных путей развития устойчивости и/или более сложных, чем считалось, механизмов адаптации микроорганизмов к антибактериальным препаратам.

Антибиотики тетрациклиновой группы наиболее широко используются для подавления микоплазменных инфекций урогенитального и респираторного трактов у взрослых [30, 31]. Вместе с тем, они часто применяются и при микоплазменных инфекциях у сельскохозяйственных животных [5]. Бактериостатическая активность тетрациклинов основана на способности этих антибиотиков обратимо

Таблица 1. Устойчивость к антибиотикам (тетрациклинам, фторхинолонам и макролидам) у микоплазм, ассоциированная с мутациями генов мишеней [по 5]

Микоплазма	Класс антибиотиков	Резистентность		Мутации – позиции	Диапазон МИК у устойчивых изолятов, мкг/мл
		<i>in vitro</i>	<i>in vivo</i>		
<i>M. pneumoniae</i>	МЛСК ^а	+	+	23S рРНК – 2611, 2058, 2059, 2062 ^б	64 → 256 (эритромицин)
	Тетрациклины	+	-	16S рРНК – 968, 1193 (только <i>in vitro</i>)	2 (тетрациклин)
	Фторхинолоны	+	-	QRDR ^в <i>gyrA</i> – 83 ^г ; <i>gyrB</i> – 426, 447, 466; <i>parC</i> – 78, 80, 84; <i>parE</i> – 439	2–16 (левофлоксацин) 8–128 (ципрофлоксацин)
<i>M. hominis</i>	МЛСК	+	+	23S рРНК – 2610, 2611, 2057, 2059, 2062	16–64 (клиндамицин)
	Тетрациклины	+	+	tet(M)-опосредованная защита рибосом; 16S рРНК – 346, 965, 966, 967, 1054 (только <i>in vitro</i>)	8 → 64 (тетрациклин) 2–8 (тетрациклин)
	Фторхинолоны	+	+	QRDR <i>gyrA</i> – 82, 83, 87, 93; <i>gyrB</i> – 450, 453; <i>parC</i> – 73, 80; <i>parE</i> – 420, 441, 460; Эффлокс препарата (только <i>in vitro</i> увеличивает МИК ципрофлоксацина и норфлоксацина)	2–32 (левофлоксацин) 4–8 (ципрофлоксацин)
<i>M. genitalium</i>	МЛСК	-	+	23S рРНК – 2058, 2059; рибосомный белок L4	16 → 64 (эритромицин)
	Тетрациклины	-	-	гены устойчивости не определены	Н.о. ^е
	Фторхинолоны	-	+	QRDR <i>gyrA</i> – 83, 87, 96; <i>gyrB</i> – 447, 466, <i>parC</i> – 78, 79, 80, 84, 94, 100; <i>parE</i> – 419, 461	Н.о.
<i>Ureaplasma spp.</i>	МЛСК	+	+	Рибосомные белки L4; 23S рРНК – 2056, 2057, 2058. Метилирование рРНК посредством ermB ^д . Эффлокс препарата, опосредованный продуктами <i>msrA</i> , <i>msrB</i> или <i>msrD</i>	64 → 128 (эритромицин)
	Тетрациклины	+	+	tet(M)-опосредованная защита рибосом	2 → 32
	Фторхинолоны	+	+	QRDR <i>gyrA</i> – 83, 95; <i>gyrB</i> – 119; <i>parC</i> – 80, 84, 123, 134; <i>parE</i> – 151, 249, 274	4–32 (левофлоксацин)
<i>M. hyorhinis</i>	МЛСК	+	+	23S рРНК – 2059 (<i>in vivo</i>); 23S рРНК – 2059 (<i>in vitro</i>); 23S рРНК – 2597, 2611; 23S рРНК – 2597, 2611	10–100 (тилозин) 25 → 100 (линкомицин) > 100 (тилозин) 50 (линкомицин) 100 (тилозин) 50 (линкомицин)
	Тетрациклины	-	+	Н.о.	12.5 (хлортетрациклин)
	Фторхинолоны	-	+	Н.о.	1–4 (энрофлоксацин)
<i>M. hyopneumoniae</i>	МЛСК	-	+	23S рРНК – 2058	> 64 (линкомицин)
	Тетрациклины	+	+	Н.о.	12.5 → 100 (хлортетрациклин)
	Фторхинолоны	+	+	QRDR <i>gyrA</i> – 83; <i>parC</i> (<i>in vivo</i>) – 80, 84, 116	0.25 → 1 (энрофлоксацин)
<i>M. bovis</i>	МЛСК	+	+	23S рРНК – 748, 2058 (<i>in vitro</i>); 23S рРНК – 748, 752, 2058, 2059 (<i>in vivo</i>); рибосомные белки L4 и L22	> 1024 (тилозин) > 256 (тилмикозин) 8–1024 (тилозин) 32 → 256 (тилмикозин)
	Тетрациклины	+	+	Н.о.	> 32 (окситетрациклин)
	Фторхинолоны	+	+	QRDR <i>gyrA</i> – 81, 83; <i>parC</i> – 78, 80, 81, 84	2.5–32 (энрофлоксацин)
<i>M. gallisepticum</i>	МЛСК	+	+	23S рРНК – 2058, 2059 (<i>in vivo</i>); 23S рРНК – 2058, 2503 (<i>in vitro</i>)	0.63–5 (тилозин) 1.25 → 10 (тилмикозин) 256–512 (тилмикозин) 256 → 512 (эритромицин)
	Тетрациклины	+	+	Н.о.	5 → 16 (окситетрациклин)
	Фторхинолоны	+	+	QRDR <i>gyrA</i> – 81, 83, 84, 87; <i>gyrB</i> – 426, 464, 465; <i>parC</i> – 64, 80, 81, 84; <i>parE</i> (<i>in vitro</i>) – 420, 463, 467	1–32 (энрофлоксацин) 1–10 (энрофлоксацин)

^аМЛСК: антибиотики групп макролидов, линкозамидов, стрептограмина и кетолидов. ^бСистема нумерации *E. coli* (нуклеотидная последовательность).

^вQRDR: регион, определяющий резистентность к хинолонам.

^гСистема нумерации *E. coli* (аминокислотная последовательность).

^дМакролидные гены *erm* и эффлокса обнаружены только в одной работе [29] и не выявлены в других.

^еН.о. – не определены.

связываться с 30S субъединицей бактериальной рибосомы, препятствовать взаимодействию аминоацил-тРНК с акцепторным участком и предотвращать таким образом синтез белка [32]. Основными механизмами развития резистентности к тетрациклинам у классических бактерий считают активное выведение антибиотика из клетки, продукцию белков, защищающих рибосомы (Tet(M), Tet(O), Tet(S), Tet(W), Tet(32), Tet(36), TetB(P), Otr(A), Tet, Tet(Q) и Tet(T)), подавление проникновения препарата в клетку, модификацию мишеней, а также деградацию антибиотика при помощи ферментов [33, 34]. Интенсивный рост устойчивости бактерий к тетрациклинам связывают с активным обменом генов ключевых факторов, вовлеченных в соответствующие процессы в бактериальных популяциях [35–38]. Основными посредниками горизонтального переноса генетического материала считают плазмиды и мобильные генетические элементы.

Развитие устойчивости к тетрациклинам у микоплазм в ряде случаев связано с приобретением детерминант tet(M), локализованных на транспозоне Tn916 [39]. Транспозон кодирует белок TetM, защищающий рибосомы от действия тетрациклинов. Этот белок гомологичен факторам элонгации eF-Tu, а также eF-G, он может вызывать конформационные изменения в 30S субъединице рибосомы, предотвращающие связывание с ней тетрациклина. Высокий уровень устойчивости к тетрациклину (МИК \geq 8 мкг/мл), ассоциированный с присутствием tet(M)-детерминант, вызывает перекрестную устойчивость микоплазм к другим антибиотикам тетрациклиновой группы [5, 40]. Кроме того, не исключено, что устойчивость микоплазм к этим препаратам может быть связана с мутациями в тетрациклинсвязывающем блоке 16S рРНК [41, 42]. Штаммы микоплазм, проявляющие повышенную устойчивость к тетрациклинам, получены также *in vitro* в результате пошаговой селекции на средах с последовательным повышением концентрации антибиотика [5, 42]. Однако механизмы развития антибиотикоустойчивости в этих случаях определить не удалось.

Макролидные антибиотики широко применяются при микоплазменных инфекциях у детей (главным образом инфекций дыхательных путей, вызванных *Mycoplasma pneumoniae*, и неонатальных инфекций, ассоциированных с *Ureaplasma spp.*), а также для подавления микоплазмозов у животных [5, 43–47]. Эти антибиотики часто применяют, когда нельзя использовать тетрациклины и фторхинолоны.

Антибактериальная активность макролидов основана на способности этих антибиотиков обратимо связываться с 50S субъединицей рибосомы (включая 23S рРНК и некоторые рибосомные белки – L4, L22),

индуцировать отделение пептидил-тРНК от рибосомы и блокировать таким образом синтез пептидной цепи [48]. Известны три способа развития устойчивости классических бактерий к макролидам: модификация мишени (в частности, изменения структуры рибосомной 50S субъединицы), изменение выведения препарата и ферментативная инактивация антибиотика [48, 49].

Развитие устойчивости к макролидам у микоплазм связывают с подавлением проникновения антибиотика в клетку, а также со структурными изменениями 50S субъединицы рибосом [5]. В ряде случаев резистентность к макролидам у микоплазм связана с изменениями в центральной петле домена V в 23S рРНК [5, 50]. При этом мутации в соответствующей зоне гена приводят к повышению устойчивости некоторых видов микоплазм к нескольким антибиотикам этой группы и снижению или потере устойчивости к другим.

Фторхинолоны – самая популярная группа препаратов, используемых для подавления микоплазменных инфекций и контаминаций клеточных культур [4, 5, 28]. Это обусловлено тем, что микоплазменные инфекции часто развиваются при иммунодефицитных состояниях и, как правило, являются сочетанными. В таких случаях рекомендуют применять бактерицидные препараты, среди которых широко используется цiproфлоксацин – препарат фторхинолоновой группы [51–53].

Молекулярные механизмы бактерицидного действия фторхинолонов основаны на связывании ДНК-гиразы и/или ДНК-топоизомеразы IV, что приводит к подавлению репликации бактериальной ДНК [49, 54]. Основные механизмы резистентности классических бактерий к фторхинолонам связывают с модификациями мишени в результате мутаций в области QRDR (Quinolone Resistance-Determining Region) генов-мишеней – *gyrA* (субъединица А ДНК-гиразы), *gyrB* (субъединица В ДНК-гиразы), *parC* (субъединица А топоизомеразы IV), *parE* (субъединица В топоизомеразы IV), а также со снижением накопления препаратов в клетке (в результате активного оттока или подавления проникновения) и приобретением детерминант устойчивости путем горизонтального переноса генов [55].

Развитие устойчивости микоплазм к фторхинолонам обычно ассоциировано с мутациями в области QRDR генов-мишеней (ДНК-гиразы и топоизомеразы IV). В зависимости от антибиотика значимые мутации могут находиться в генах определенного фермента [5]. Например, развитие устойчивости *Mycoplasma hominis* к перфлоксацину, офлоксацину, цiproфлоксацину и тровафлоксацину *in vitro* связано с мутациями в гене топоизомеразы IV, а к спарфлокса-

цину – в гене ДНК-гиразы [5, 41, 56]. Устойчивые к фторхинолонам клинические изоляты микоплазм обычно проявляют перекрестную устойчивость ко всем препаратам этой группы. При этом уровень устойчивости часто коррелирует с количеством мутаций и их локализацией [5, 57]. Вместе с тем, в серии длительных наблюдений адаптации микоплазм к фторхинолонам было показано, что вытеснение из культуры клеток, не мутантных по QRDR-локусу, происходит только при культивировании бактерий на средах с высокими концентрациями цiproфлоксацина [58]. При низких концентрациях цiproфлоксацина ключевую роль, по-видимому, играют другие механизмы, например, выведение из клетки. Этот способ адаптации к фторхинолонам, описанный у ряда бактерий, осуществляется с помощью эндогенных насосов типа ABC, ассоциированных с множественной лекарственной устойчивостью (MDR). Увеличение экспрессии соответствующих генов может определять MDR-фенотип. В геномах некоторых микоплазм обнаружены гены ABC-типа, аннотированные как «предположительно гены MDR» [22–24]. Согласно данным количественной конкурентной ОТ-ПЦР, в исходных штаммах эти гены экспрессируются конститутивно, а в штаммах с MDR-фенотипом уровень их экспрессии повышен [18]. Однако объяснить этим быструю адаптацию разных микоплазм к фторхинолонам все-таки не удастся.

Попытки выяснить причины роста устойчивости микроорганизмов к фторхинолонам, регистрируемого в последнее время во всех регионах мира [56, 59, 60], привели к предположению, что, помимо перечисленных механизмов, существуют и другие способы, определяющие возможность быстрой адаптации бактерий к антибактериальным препаратам в микробных сообществах [55]. Это предположение основано как на результатах экспериментальных исследований, так и на данных мониторинга в разных странах – очень быстрое повышение устойчивости к фторхинолонам наблюдается у сельскохозяйственных животных, хотя в ветеринарную практику эти препараты были введены лишь два десятилетия назад [5, 61–63].

Поскольку представителей класса Mollicutes считают тахителичными организмами, предполагается, что их быстрая адаптация к антимикробным препаратам обусловлена частыми мутационными событиями, существенными из которых являются изменения в генах целевых белков [19, 64, 65]. Однако согласно результатам анализа полных нуклеотидных последовательностей генов *gyrA*, *gyrB*, *parC* и *parE* штаммов *Ureaplasma parvum* и *U. urealyticum* значительная часть нуклеотидных замен в этих генах микоплазм представляет собой видовой полиморфизм и никак

не влияет на чувствительность к антибиотику [66]. Это заключение ставит под сомнение правильность представлений о мутационных механизмах резистентности микоплазм (и других бактерий) к антибиотикам, и диктует необходимость проверки этих данных с использованием новых подходов. Между тем, за последнее время опубликованы данные об активной роли внеклеточных везикул в адаптации бактерий к стрессовым условиям, в том числе антибиотикам [3, 67–72]. Продуцируемые клетками везикулы содержат различные соединения и участвуют в межклеточных взаимодействиях про- и эукариот [69, 73–75]. Еще в 1996 году установили, что везикулы грамотрицательных бактерий участвуют в транспорте антибиотиков и контроле антибиотикоустойчивости в бактериальной популяции [76]. Однако участие везикул в ответе бактерий на антимикробные препараты начали активно изучать только недавно в связи с «универсальностью» везикулярного транспорта, обнаруженного у всех организмов, включая мельчайших прокариот, и появлением методов высокого разрешения для их анализа [3, 6–9, 69–71, 73, 74, 76–80].

Активное участие внеклеточных везикул в развитии устойчивости бактерий к фторхинолонам впервые показали на примере *Acholeplasma laidlawii* – микоплазмы, инфицирующей человека, животных, растения, основного контаминанта клеточных культур [71, 81]. В результате пошаговой селекции получены штаммы *A. laidlawii*, различающиеся чувствительностью к цiproфлоксацину. Оказалось, что везикулы, продуцируемые клетками микоплазмы, растущей на среде с цiproфлоксацином, опосредуют выведение этого препарата из клетки, оказывают бактериостатическое действие в отношении чувствительного к антибиотику штамма *Staphylococcus aureus* и переносят мутантные гены белков – мишеней фторхинолонов. Дифференциальная экспрессия генов ABC-транспортеров, участвующих у ряда бактерий в активном выведении антибиотиков и формировании множественной лекарственной устойчивости, регистрируемая в ответ на действие цiproфлоксацина, указывает на то, что быстрое выведение цiproфлоксацина из клеток микоплазмы (в том числе посредством везикул) может быть связано и с модуляцией системы ABC-транспортеров.

Обнаружение в составе везикул генетического материала также позволяет предполагать их участие в горизонтальном переносе генов [8, 81–83]. Транспорт генов-мишеней фторхинолонов, опосредуемый везикулами *A. laidlawii*, может способствовать быстрому распространению мутантных генов в бактериальной популяции [71, 81]. Возможность таких событий показана на примере *Acinetobacter*

baumannii – внеклеточные везикулы этой бактерии обеспечивают перенос гена *OXA-24*, определяющего устойчивость к карбапенемам [84]. При этом перенос факторов устойчивости к антибиотикам, опосредованный везикулами определенной бактерии, может способствовать выживанию различных бактерий в микробном сообществе. Пример такой взаимопомощи показан на модели *S. aureus*, когда опосредованное везикулами распространение β-лактамазы этой бактерии в популяциях микроорганизмов обеспечило выживание на среде с ампициллином грамотрицательных и грамположительных бактерий, чувствительных к этому антибиотику [78]. К настоящему времени получены убедительные доказательства участия внеклеточных везикул в адаптации бактерий к разнообразным стрессовым условиям, в том числе к антимикробным препаратам. Однако очевидно, что выяснение места везикулярной компоненты в развитии устойчивости бактерий к антибиотикам

требует комплексных систематических исследований с использованием методов высокого разрешения.

Развитие постгеномных технологий открыло принципиально новые возможности определения резистомов – совокупности генов и их продуктов, которые принимают участие в формировании резистентности к антимикробным препаратам. Уже получены сведения о резистомах некоторых бактерий в отношении ряда препаратов [85–104]. Недавно такие сведения получены и для представителя класса Mollicutes – *A. laidlawii* [105]. Они основаны на анализе полных геномов *A. laidlawii*, а также клеточных и везикулярных протеомов штаммов, различающихся по чувствительности к ципрофлоксацину – лабораторного штамма PG8 (МИК 0.5 мкг/мл) и полученного от него методом пошаговой селекции устойчивого к ципрофлоксацину штамма PG8R₁₀ (МИК 20 мкг/мл).

В результате сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей *A. laidlawii* PG8 и *A.*

Таблица 2. Белки, идентифицированные во внеклеточных везикулах *A. laidlawii* PG8R₁₀

№	Белок (ген)	NCBI ¹	COG ²	score ³	n ⁴	% ⁵
1	P-белок глицинрасцепляющего комплекса, субъединица 1 (ACL_1410)	162447261	E	18	2	12.1
2	Енолаза (<i>eno</i>)	162447267	G	662	6	22.7
3	Фосфоглицераткиназа (<i>pgk</i>)	162448052	G	26	2	25.3
4	S-аденозилметионин-синтаза (<i>metK1</i>)	162447194	H	23	2	15
5	50S рибосомный белок L17 (<i>rplQ</i>)	162446985	J	300	2	20.2
6	Метионил-тРНК-синтаза (<i>metG</i>)	162447002	J	19	2	13.4
7	Фактор элонгации EF-Tu (<i>tuf</i>)	162447058	J	113	3	23.3
8	Метионил-тРНК-формилтрансфераза (<i>fmt</i>)	162447191	J	17	2	23
9	РНК-метилтрансфераза (ACL_0513)	162447375	J	21	2	8.9
10	Фактор рециклизации рибосом (<i>frr</i>)	162447997	J	75	2	40.8
11	ДНК-зависимая РНК-полимераза, β-субъединица (<i>rpoB</i>)	162447041	K	17	2	24.7
12	UDP-глюкозо-пирофосфорилаза (<i>galU</i>)	162447697	M	17	2	32.9
13	Транспортная система ABC-типа, субстратсвязывающий белок (ACL_0720)	162447580	P	31	2	6.5
14	Ацилпереносящий белок (<i>acpP</i>)	162447111	Q	131	2	42.1
15	Пептидаза U35 (ACL_0611)	162447472	R	47	2	35.4
16	Белок компетентности comEC-подобный (ACL_0895)	162447752	R	295	2	21.2
17	Гипотетический белок (ACL_0450)	162447314	-	22	2	10.5

¹Идентификационный номер белка в базе NCBI.

²Классификация белков по функциональным категориям указана согласно COG (E – транспорт и метаболизм аминокислот, G – транспорт и метаболизм углеводов, H – метаболизм коэнзимов, J – трансляция, K – транскрипция, M – биогенез мембран, P – транспорт и метаболизм неорганических ионов, Q – биосинтез, транспорт и катаболизм вторичных метаболитов, R – предсказана только общая функция, «-» – нет в COG).

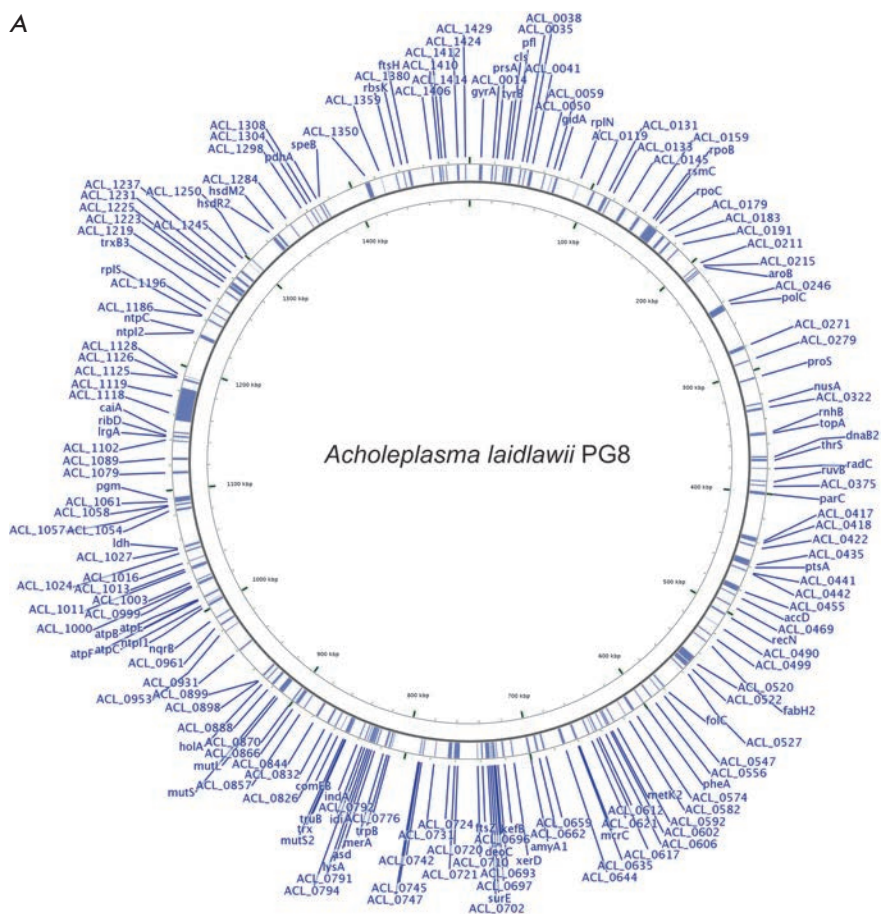
■ – факторы вирулентности бактерий.

³Достоверность поиска белков в базе данных NCBI с использованием программы Mascot.

⁴Количество разных по аминокислотной последовательности пептидов, по которым идентифицировали белок.

⁵Процент перекрытия аминокислотной последовательности.

А



Б

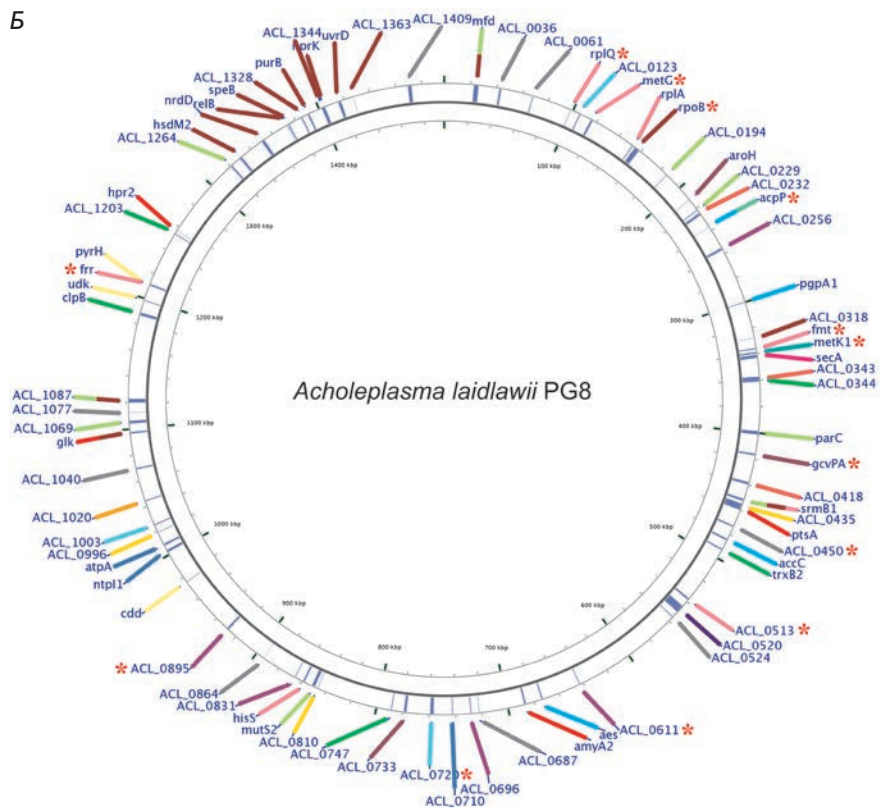


Рис. 1. Локализация на геномной карте *Acholeplasma laidlawii* генов, нуклеотидная последовательность которых отличается у штаммов PG8 и PG8₁₀ (А), и генов белков, относительное содержание которых у этих штаммов значительно различается (Б). * Гены белков в везикулах штамма *A. laidlawii* PG8₁₀, не обнаруженные в везикулах *A. laidlawii* PG8. Классификация белков по функциональным категориям представлена согласно COG: ■ – [С] энергообразование, ■ – [Е] транспорт и метаболизм аминокислот, ■ – [F] транспорт и метаболизм нуклеотидов, ■ – [G] транспорт и метаболизм углеводов, ■ – [Н] метаболизм коэнзимов, ■ – [I] транспорт и метаболизм липидов, ■ – [J] трансляция, ■ – [K] транскрипция, ■ – [L] репликация, рекомбинация и репарация, ■ – [M] биогенез мембран, ■ – [N] подвижность клетки, ■ – [O] посттрансляционные модификации, ■ – [P] транспорт и метаболизм неорганических ионов, ■ – [Q] биосинтез, транспорт и катаболизм вторичных метаболитов, ■ – [R] предсказана только общая функция, ■ – [S] функция не определена, ■ – [T] механизмы сигнальной трансдукции, ■ – [U] внутриклеточный трафик, секреция и везикулярный транспорт, ■ – [V] защитные механизмы, ■ – [-] нет в COG. Графическое изображение хромосомы получено с помощью GCView Server (http://stothard.afns.ualberta.ca/cgview_server/index.html)

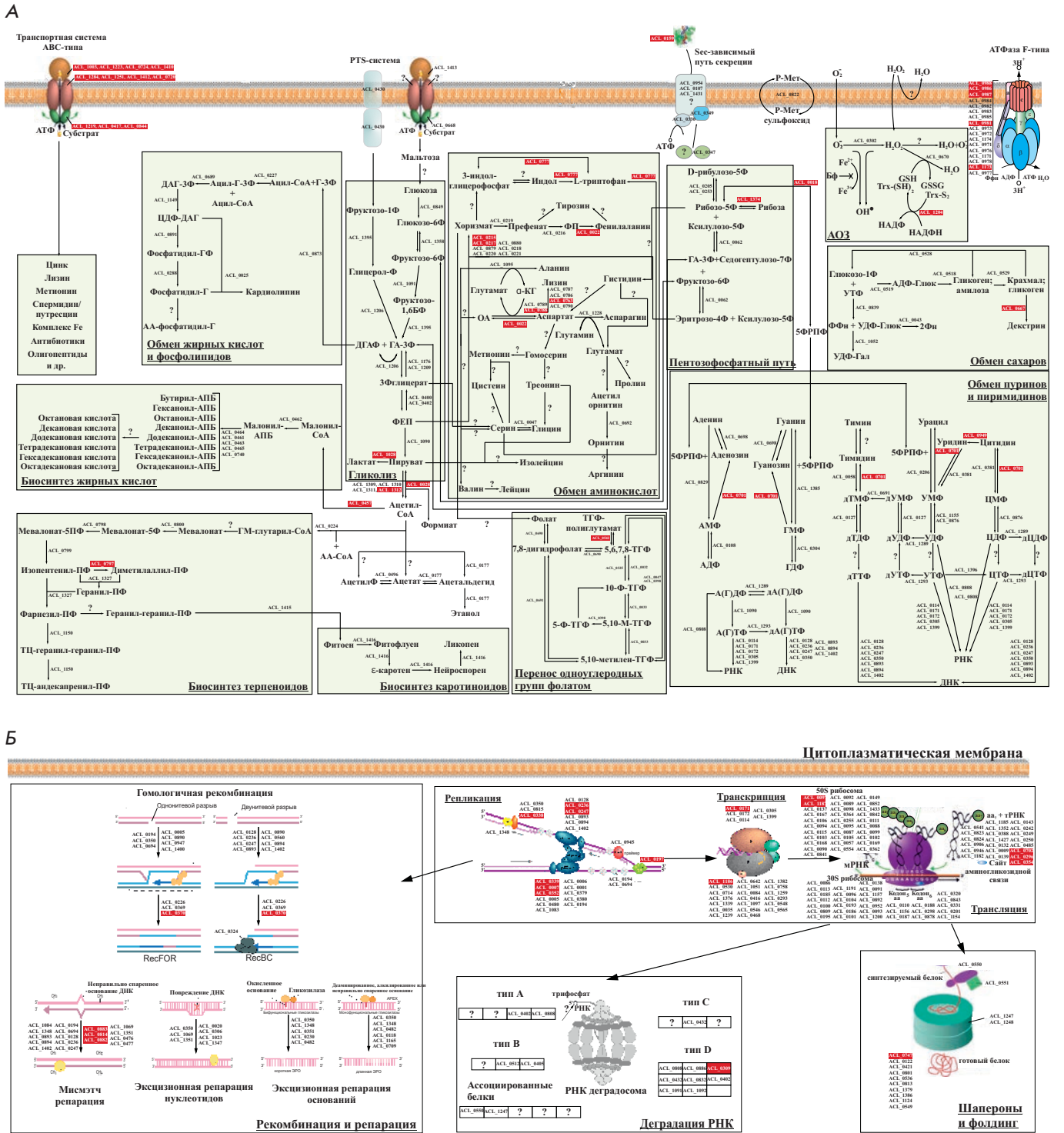


Рис. 2. Схемы метаболических путей (А) и клеточных процессов (Б) у *Acholeplasma laidlawii* PG8 (согласно [108], NCBI (accession number NC_010163) и KEGG). ■ – продукты генов, в которых выявлены значимые SNP и инсерции/делеции у штамма *A. laidlawii* PG8R₁₀; PTS – фосфоенолпируват-углевод-трансферазная система; Фруктозо-1Ф – фруктозо-1-фосфат; Глюкозо-6Ф – глюкозо-6-фосфат; Фруктозо-6Ф – фруктозо-6-фосфат; Фруктозо-1,6БФ – фруктозо-1,6-бифосфат; ДГАФ – дицидральдегид-3-фосфат; 3Фглицерат – 3-фосфоглицерат; ФЕП – фосфоенолпируват; D-рибулозо-5Ф – D-рибулозо-5-фосфат; Рибозо-5Ф – рибозо-5-фосфат; Ксилулозо-5Ф – ксилулозо-5-фосфат; Седогептулозо-7Ф – седогептулозо-7-фосфат; Эритрозо-4Ф – эритрозо-4-фосфат; Глюкозо-1Ф – глюкозо-1-фосфат; АДФ-Глюк – адено-

зиндифосфат-глюкоза; УДФ-Глюк – уридиндифосфат-глюкоза; УДФ-Гал – уридиндифосфатгалактоза; Ацетил-СоА – ацетил-коэнзим А; АцетилФ – ацетилфосфат; Малонил-СоА – малонил-коэнзим А; Малонил-АПБ – малонил-ацилпереносящий белок; Бутирил-АПБ – бутирил-ацилпереносящий белок; Гексаноил-АПБ – гексаноил-ацилпереносящий белок; Октаноил-АПБ – октаноил-ацилпереносящий белок; Деканоил-АПБ – деканоил-ацилпереносящий белок; Додеcanoил-АПБ – додеcanoил-ацилпереносящий белок; Тетрадеcanoил-АПБ – тетрадеcanoил-ацилпереносящий белок; Гексадеcanoил-АПБ – гексадеcanoил-ацилпереносящий белок; Октадеcanoил-АПБ – октадеcanoил-ацилпереносящий белок; Г-3Ф – глицеро-3-фосфат; Ацил-СоА – ацил-коэнзим А; Ацил-Г-3Ф – ацилглицерол-3-фосфат; ДАГ-3Ф – диацилглицерол-3-фосфат; ЦДФ-ДАГ – цитидиндифосфат-диацилглицерол; Фосфатидил-ГФ – фосфатидилглицеролфосфат; Фосфатидил-Г – фосфатидилглицерол; АА-СоА – ацетоацетил-коэнзим А; ГМ-глутарил-СоА – 3-гидрокси-3-метилглутарил-коэнзим А; Мевалонат-5Ф – мевалонат-5-фосфат; Мевалонат-5ПФ – мевалонат-5-пирофосфат; Изопентенил-ПФ – изопентенил-пирофосфат; Геранил-ПФ – геранил-пирофосфат; Фарнезил-ПФ – фарнезил-пирофосфат; ТЦ-геранил-геранил-ПФ – дитранс, полицис-геранил-геранил-пирофосфат; ТЦ-андекапренил-ПФ – дитранс, полицис-андекапренил-пирофосфат; Геранил-геранил-ПФ – геранил-геранил-пирофосфат; 5,6,7,8-ТГФ – 5,6,7,8-тетрагидрофолат; 5,10-М-ТГФ – 5,10-метенил-тетрагидрофолат; 10-Ф-ТГФ – 10-формил-тетрагидрофолат; ФП – фенилпируват; α -КГ – α -кетоглутаровая кислота; ОА – оксалоацетат; 5ФРПФ – 5-фосфорибозилпирофосфат; АМФ – аденозинмонофосфат; АДФ – аденозиндифосфат; АТФ – аденозинтрифосфат; дАДФ – дезоксиаденозиндифосфат; дАТФ – дезоксиаденозинтрифосфат; ГМФ – гуанозинмонофосфат; ГДФ – гуанозиндифосфат; ГТФ – гуанозинтрифосфат; дГДФ – дезоксигуанозиндифосфат; дГТФ – дезоксигуанозинтрифосфат; дТМФ – дезокситимидинмонофосфат; дТДФ – дезокситимидиндифосфат; дТТФ – дезокситимидинтрифосфат; дУМФ – дезоксиуридинмонофосфат; дУДФ – дезоксиуридиндифосфат; дУТФ – дезоксиуридинтрифосфат; УМФ – уридинмонофосфат; УДФ – уридиндифосфат; УТФ – уридинтрифосфат; ЦМФ – цитидинмонофосфат; ЦДФ – цитидиндифосфат; ЦТФ – цитидинтрифосфат; дЦМФ – дезоксицитидинмонофосфат; дЦДФ – дезоксицитидиндифосфат; дЦТФ – дезоксицитидинтрифосфат; РНК – рибонуклеиновая кислота; ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота; мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота; тРНК – транспортная рибонуклеиновая кислота; А – аденин; Г – гуанин; С – цитозин; У – урацил; O_2^- – супероксид; H_2O_2 – перекись водорода; H_2O – вода; GSH – восстановленный глутатион; GSSG – окисленный глутатион; Trx- S_2 – окисленный тиоредоксин; Trx-(SH) $_2$ – восстановленный тиоредоксин; НАДФН – никотинамидаденин-динуклеотидфосфат восстановленный; НАДФ – никотинамидаденин-динуклеотидфосфат; ФФн – пирофосфат неорганический; Фн – фосфат неорганический; H^+ – протон; P-Met – метионин; Fe – железо

laidlawii PG8R₁₀ в геноме устойчивого к ципрофлоксацину штамма обнаружены множественные мутации (инсерции, делеции, однонуклеотидные замены (SNP)), локализованные как в генах мишеней фторхинолонов (ДНК-гираза и ДНК-топоизомераза), так и во многих других генах, продукты которых участвуют в различных клеточных процессах и бактериальной патогенности. Всего в геноме *A. laidlawii* PG8R₁₀ обнаружено 225 мутаций в 188 генах (рис. 1). Некоторые из этих мутаций были идентифицированы ранее у других микроорганизмов в связи с развитием устойчивости к тем или иным антибиотикам (например, у *S. aureus* к даптомицину, у *A. baumannii* при множественной лекарственной устойчивости – к ципрофлоксацину, имипенему, амикацину, миноциклину, левофлоксацину, пиперациллину, тазобактаму, цефтазидиму, цефотаксиму, цефепиму, цефоперазону, сульфбактаму и меропенему [95, 102]).

В результате протеомного анализа клеток *A. laidlawii* PG8 и PG8R₁₀ идентифицированы белки, относительное содержание которых в этих штаммах существенно различалось. Всего выявлено 64 таких белка, из них только четыре оказались продуктами мутантных генов (ACL_0380, ACL_0418, ACL_0435,

ACL_0436). Многие из этих белков участвуют в фундаментальных клеточных процессах (энергообразование, трансляция, транскрипция, репликация, биогенез мембран, фолдинг белков, транспорт и метаболизм аминокислот, нуклеотидов, углеводов, липидов, неорганических ионов, трансдукции сигналов, защитные механизмы) и бактериальной патогенности; некоторые вовлечены в развитие резистентности к антибиотикам у других бактерий (например, у *A. baumannii* к карбапенему, *S. aureus* – к оксациллину [106, 107]).

У штаммов, различающихся чувствительностью к ципрофлоксацину, обнаружены существенные отличия в протеомном профиле внеклеточных везикул (табл. 2). Так, в везикулах *A. laidlawii* PG8 идентифицированы 97 белков, а в везикулах *A. laidlawii* PG8R₁₀ – 17, из которых 13 отсутствуют в везикулах исходного штамма [105]. При этом в везикулах *A. laidlawii* PG8 найден белок семейства металло- β -лактамаз, обеспечивающий гидролиз антибиотиков β -лактаманного ряда. Поскольку действие антибиотиков β -лактаманного ряда направлено на клеточную стенку бактерий, которая отсутствует у представителей класса Mollicutes, назначение этого фермен-

та у *A. laidlawii* PG8 остается загадкой. Не исключено, что таким образом *A. laidlawii* PG8, подобно *S. aureus* [78], может оказывать помощь в адаптации к антибиотикам β-лактамного ряда другим бактериям, обладающим клеточной стенкой, и необходимым для выживания этой микоплазмы в микробиоценозе [6].

Вклад каждого реагирующего на стресс белка и гена микоплазмы в развитие резистентности к ципрофлоксацину еще предстоит выяснить. Вместе с тем, очевидно, что множественные изменения в геномных профилях, а также в клеточных и везикулярных протеомах у устойчивого к ципрофлоксацину штамма *A. laidlawii* могут определять существенную перестройку биохимических процессов в клетке микоплазмы (рис. 2). Такие данные получены для *Pseudomonas aeruginosa* в связи с развитием устойчивости к тем или иным антибиотикам, в том числе ципрофлоксацину [87, 96, 109]. Формирование устойчивости у разных видов бактерий к антимикробным препаратам оказалось ассоциированным с изменениями не только мишеней этих препаратов, но также многих генов и белков, вовлеченных в процессы энергообеспечения, транспорта и защитные механизмы, а также в реализацию вирулентности. Эти результаты требуют особого внимания исследователей, занимающихся разработкой средств контроля патогенных бактерий, поиском новых мишеней антимикробных препаратов, кандидатами на роль которых являются как раз факторы вирулентности.

Изучение адаптации микроорганизмов к антимикробным препаратам с использованием омических технологий только начинается. Однако полученные результаты позволяют заключить, что формирование устойчивости бактерий к антибактериальным препаратам, по-видимому, обеспечивается более

сложными механизмами, чем предполагалось ранее. Развитие резистентности оказалось связанным со значительными изменениями в их геномном, транскриптомном, протеомном и секретомном профилях микроорганизмов, которые могут определять существенную перестройку клеточных процессов и патогенности. Элементы резистомов, общие для разных бактерий, могут указывать на существование универсальных модулей регуляции клеточного репрограммирования, обеспечивающего выживание в условиях стресса. Идентификация и выяснение закономерности их работы представляют значительный интерес для понимания «логики жизни» микоплазм, быстрой адаптации бактерий к стрессу в микробиоценозах и поиска путей решения проблемы контроля микоплазменных инфекций и контаминаций клеточных культур. Для получения соответствующей информации потребуются крупномасштабные исследования микроорганизмов как в аксеничных культурах, так и в ассоциатах в разных условиях среды, основанные на высокотехнологических методических платформах с применением метаомических подходов. ●

Работа выполнена в рамках Программы повышения конкурентоспособности Казанского (Приволжского) федерального университета Министерства образования и науки РФ. Данное исследование выполнено с использованием оборудования Междисциплинарного центра коллективного пользования Казанского федерального университета при финансовой поддержке государства в лице Минобрнауки России (ID RFMEFI59414X0003), а также РФФИ (гранты № 14-04-00883а, 15-44-02594).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Nikfarjam L., Farzaneh P. // Cell J. (Yakhteh). 2012. V. 13. P. 203–212.
- Rottem S., Kornspan J.D., Kosower N.S. Biomedical Tissue Culture. InTech, 2012. P. 248. <http://www.intechopen.com/books/biomedical-tissue-culture>
- Чернов В.М., Чернова О.А., Санчес-Бера Х.Т., Колпаков А.И., Ильинская О.Н. // Acta Naturae. 2014. Т. 6. № 3. С. 43–54.
- Uphoff C.C., Drexler H.G. // Curr. Protoc. Mol. Biol. 2014. V. 106. P. 28.5.1–28.5.12.
- Waites K.B., Lysnyansky I., Bebear C.M. Emerging antimicrobial resistance in mycoplasmas of humans and animals. In: Mollicutes: molecular biology and pathogenesis. UK: Caister Acad. Press, 2014. P. 350.
- Музыкантова А.А., Баранова Н.Б., Медведева Е.С., Григорьева Т.Ю., Чернова О.А., Чернов В.М. // ДАН. 2014. Т. 455. № 1. С. 99–104.
- Chernov V.M., Chernova O.A., Medvedeva E.S., Mouzykantov A.A., Ponomareva A.A., Shaymardanova G.F., Gorshkov O.V., Trushin M.V. // J. Proteomics. 2011. V. 4. P. 2920–2936.
- Chernov V.M., Chernova O.A., Mouzykantov A.A., Efimova I.R., Shaymardanova G.F., Medvedeva E.S., Trushin M.V. // ScientificWorldJournal. 2011. V. 11. P. 1120–1130.
- Chernov V.M., Chernova O.A., Mouzykantov A.A., Baranova N.B., Gorshkov O.V., Trushin M.V., Nesterova T.N., Ponomareva A.A. // ScientificWorldJournal. 2012. Article ID 315474. P. 6.
- Vanyushkina A.A., Fisunov G.Y., Gorbachev A.Y., Kamashev D.E., Govorun V.M. // PLoS One. 2014. V. 9(3). e89312.
- Mazin P.V., Fisunov G.Y., Gorbachev A.Y., Kapitskaya K.Y., Altukhov I.A., Semashko T.A., Alexeev D.G., Govorun V.M. // Nucl. Acids Res. 2014. V. 42(21). P. 13254–13268.
- Citti C., Blanchard A. // Trends Microbiol. 2013. V. 21. P. 196–203.
- Güell O., Sagués F., Serrano M.Á. // Sci. Rep. 2012. V. 2. P. 621.

14. Лазарев В.Н. // *Acta Naturae*. 2009. Т. 1. № 1. С. 121–123.
15. Béven L., Wróblewski H. // *Res. Microbiol.* 1997. V. 148. № 2. P. 163–175.
16. Borth W.B., Jones V.P., Ullman D.E., Hu J.S. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2001. V. 45. № 6. P. 1894–1895.
17. Béven L., Castano S., Dufourcq J., Wieslander A., Wróblewski H. // *Eur. J. Biochem.* 2003. V. 270. № 10. P. 2207–2217.
18. Lazarev V.N., Stipkovits L., Biro J., Miklodi D., Shkarupeta M.M., Titova G.A., Akopian T.A., Govorun V.M. // *Microbes Infect.* 2004. V. 6. № 6. P. 536–541.
19. Fehri L.F., Sirand-Pugnet P., Gourgues G., Jan G., Wróblewski H., Blanchard A. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2005. V. 49. № 10. P. 4154–4165.
20. Park H.J., Kang K.M., Dybvig K., Lee B.L., Jung Y.W., Lee I.H. // *FEBS Lett.* 2013. V. 587. № 20. P. 3321–3326.
21. Shelton C.L., Raffel F.K., Beatty W.L., Johnson S.M., Mason K.M. // *PLoS Pathog.* 2011. V. 7. e1002360.
22. van Veen H.W., Konings W.N. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1998. V. 1365. P. 31–36.
23. Paulsen I.T., Nguyen L., Sliwinski M.K., Rabus R., Saier M.H. // *J. Mol. Biol.* 2000. V. 301. P. 75–100.
24. Raheison S., Gonzalez P., Renaudin H., Charron A., Bébéar C., Bébéar C.M. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2005. V. 49. P. 421–424.
25. Piddock L.J. // *Clin. Microbiol. Rev.* 2006. V. 19. P. 382–402.
26. Martínez J.L., Sánchez M.B., Martínez-Solano L., Hernandez A., Garmendia L., Fajardo A., Alvarez-Ortega C. // *FEMS Microbiol. Rev.* 2009. V. 33. P. 430–449.
27. Pereyre S., Gonzalez P., De Barbeyrac B., Darnige A., Renaudin H., Charron A., Raheison S., Bébéar C., Bébéar C.M. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2002. V. 46. P. 3142–3150.
28. Antunes N.T., Assunção P., Poveda J.B., Tavio M.M. // *Vet. J.* 2015. V. 204. P. 327–332.
29. Lu C., Ye T., Zhu G., Feng P., Ma H., Lu R., Lai W. // *Curr. Microbiol.* 2010. V. 61. P. 44–49.
30. Duffy L.B., Crabb D., Searcey K., Kempf M.C., Duffy L. // *J. Antimicrob. Chemother.* 2000. V. 45. P. 29–33.
31. Bartlett J.G. // *Clin. Infect. Dis.* 2008. V. 47. Suppl 3. P. S232–S236.
32. Nguyen F., Starosta A.L., Arenz S., Sohmen D., Dönhöfer A., Wilson D.N. // *Biol. Chem.* 2014. V. 395. P. 559–575.
33. Chopra I., Roberts M. // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2001. V. 65. № 2. P. 232–260.
34. Thaker M., Spanogiannopoulos P., Wright G.D. // *Cell Mol. Life Sci.* 2010. V. 67. P. 419–431.
35. Dai M., Lu J., Wang Y., Liu Z., Yuan Z. // *J. Microbiol.* 2012. V. 50. № 5. P. 807–812.
36. Sullivan B.A., Gentry T., Karthikeyan R. // *J. Appl. Microbiol.* 2013. V. 115. P. 774–785.
37. Pinto T.C., Costa N.S., Corrêa A.B., de Oliveira I.C., de Mattos M.C., Rosado A.S., Benchetrit L.C. // *Braz. J. Microbiol.* 2014. V. 45. № 3. P. 785–789.
38. Jahan M., Zhanel G.G., Sparling R., Holley R.A. // *Int. J. Food Microbiol.* 2015. V. 199. P. 78–85.
39. Taraskina A.E., Savicheva A.M., Akopian T.A., Soroka A.E., Momynaliev K.T., Govorun V.M. // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2002. V. 134. № 1. P. 60–63.
40. Shen X., Yang H., Yu S., Yao K., Wang Y., Yuan L., Yang Y. // *Microb. Drug Resist.* 2008. V. 14. P. 155–161.
41. Bebear C.M., Kempf I. *Mycoplasmas: molecular biology pathogenicity and strategies for control*. UK: Horizon Bioscience, 2005. P. 535–569.
42. Dégrange S., Renaudin H., Charron A., Pereyre S., Bébéar C., Bébéar C.M. // *J. Antimicrob. Chemother.* 2008. V. 61. № 6. P. 1390–1392.
43. Schelonka R.L., Waites K.B. // *Semin. Perinatol.* 2007. V. 31. P. 2–9.
44. Lerner U., Amrama E., Ayling R.D., Mikula I., Gerchman I., Harrus S., Teff D., Yogev D., Lysnyansky I. // *Vet. Microbiol.* 2013. V. 168. P. 365–371.
45. Meyer Sautteur P.M., van Rossum A.M., Vink C. // *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2014. V. 27. P. 220–227.
46. Spuesens E.B., Meyer Sautteur P.M., Vink C., van Rossum A.M. // *J. Infect.* 2014. V. 69. Suppl 1. P. S42–S46.
47. Gautier-Bouchardon A.V., Ferré S., Le Grand D., Paoli A., Gay E., Poumarat F. // *PLoS One.* 2014. V. 9. e87672.
48. Leclercq R. // *Clin. Infect. Dis.* 2002. V. 34. № 4. P. 482–492.
49. Alekshun M.N., Levy S.B. // *Cell.* 2007. V. 128. № 6. P. 1037–1050.
50. Lysnyansky I., Gerchman I., Flaminio B., Catania S. // *Microb. Drug Resist.* 2015. V. 3. [Epub ahead of print].
51. Paterna A., Sánchez A., Gómez-Martín A., Corrales J.C., De la Fe C., Contreras A., Amores J. // *J. Dairy Sci.* 2013. V. 96. № 11. P. 7073–7076.
52. Wang Q.Y., Li R.H., Zheng L.Q., Shang X.H. // *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 2014. pii: S1684-1182(14)00118-2.
53. Couldwell D.L., Lewis D.A. // *Infect. Drug Resist.* 2015. V. 8. P. 147–161.
54. Fàbrega A., Madurga S., Giralt E., Vila J. // *Microb. Biotechnol.* 2009. V. 2. P. 40–61.
55. Redgrave L.S., Sutton S.B., Webber M.A., Piddock L.J.V. // *Trends Microbiol.* 2014. V. 22. P. 438–445.
56. Meng D.-Y., Sun C.-J., Yu J.-B., Ma J., Xue W.-C. // *Braz. J. Microbiol.* 2014. V. 45. P. 239–242.
57. Bébéar C.M., de Barbeyrac B., Pereyre S., Renaudin H., Clerc M., Bébéar C. // *Clin. Microbiol. Infect.* 2008. V. 14. P. 801–805.
58. Говорун В.М., Гуцин А.Е., Ладыгина В.Г., Абрамычева Н.Ю., Тополь Ю.Ю. // *Молекул. генет. микробиол. вирусол.* 1998. № 3. С. 16–19.
59. Li L., Weimin S., Zhang K., Tang X., Guo N., Shen F., Xing M., Liua L., Yuan P., Shi Q., Liang J., Yu L. // *Iranian J. Pharm. Res.* 2012. V. 11. P. 1111–1119.
60. Kikuchi M., Ito S., Yasuda M., Tsuchiya T., Hatazaki K., Takanashi M., Ezaki T., Deguchi T. // *J. Antimicrob. Chemother.* 2014. V. 69. P. 2376–2382.
61. Engberg J., Aarestrup F.M., Taylor D.E., Gerner-Smidt P., Nachamkin I. // *Emerging Infect. Dis.* 2001. V. 7. № 1. P. 24–34.
62. de Jong A., Stephan B., Silley P. // *J. Appl. Microbiol.* 2011. V. 112. P. 239–245.
63. Kong L.-C., Gao D., Gao Y.-H., Liu S.-M., Ma H.-X. // *J. Vet. Med. Sci.* 2014. V. 76. № 12. P. 1655–1657.
64. Dybvig K., Voelker L.L. // *Annu. Rev. Microbiol.* 1996. V. 50. P. 25–57.
65. Delaney N.F., Balenger S., Bonneaud C., Marx C.J., Hill G.E., Ferguson-Noe N., Tsai P., Rodrigo A., Edwards S.V. // *PLoS Genet.* 2012. V. 8(2). e1002511.
66. Beeton M.L., Chalker V.J., Kotecha S., Spiller O.B. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009. V. 64. P. 529–538.
67. Manning A.J., Kuehn M.J. // *BMC Microbiol.* 2011. V. 11. P. 258.
68. Schrempf H., Koebisch I., Walter S., Engelhardt H., Meschke H. // *Microb. Biotechnol.* 2011. V. 4. P. 286–299.
69. Schertzer J.W., Whiteley M. // *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 2013. V. 23. P. 118–130.
70. Kulkarni H.M., Swamy Ch.V.B., Jagannadham M.V. // *J. Proteome Res.* 2014. V. 13. P. 1345–1358.
71. Medvedeva E.S., Baranova N.B., Mouzykantov A.A., Grigorieva T.Y., Davydova M.N., Trushin M.V., Chernova O.A., Chernov V.M. // *ScientificWorldJournal.* 2014. Article ID 150615.
72. Chattopadhyay M.K., Jagannadham M.V. // *Front. Microbiol.* 2015. V. 6. P. 758.

73. Kulp A., Kuehn M.J. // *Annu. Rev. Microbiol.* 2010. V. 64. P. 163–184.
74. Deatherage B.L., Cookson B.T. // *Infect. Immun.* 2012. V. 80. P. 1948–1957.
75. Kim J.H., Lee J., Park J., Gho Y.S. // *Semin. Cell. Dev. Biol.* 2015. V. 40. P. 97–104.
76. Kadurugamuwa J.L., Beveridge T.J. // *J. Bacteriol.* 1996. V. 178. P. 2767–2774.
77. Manning A.J., Kuehn M.J. // *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 2013. V. 23. P. 131–141.
78. Lee J., Lee E.Y., Kim S.H., Kim D.K., Park K.S., Kim K.P., Kim Y.K., Roh T.Y., Gho Y.S. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2013. V. 57. P. 2589–2595.
79. Bonnington K.E., Kuehn M.J. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2014. V. 1843. P. 1612–1619.
80. Park A.J., Suretteand M.D., Khursigara C.M. // *Front. Microbiol.* 2014. V. 5. P. 464.
81. Медведева Е.С., Баранова Н.Б., Музыкантов А.А., Григорьева Т.Ю., Давыдова М.Н., Чернова О.А., Чернов В.М. // *ДАН.* 2014. Т. 454. № 6. С. 725–728.
82. Mashburn-Warren L., Howe J., Brandenburg K., Whiteley M. // *J. Bacteriol.* 2009. V. 191. P. 3411–3414.
83. Vidakovics M.L., Jendholm J., Mörgelin M., Månsson A., Larsson C., Cardell L.O., Riesbeck K. // *PLoS Pathog.* 2010. V. 6. e1000724.
84. Rumbo C., Fernández-Moreira E., Merino M., Poza M., Mendez J.A., Soares N.C., Mosquera A., Chaves F., Bou G. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2011. V. 55. P. 3084–3090.
85. D'Costa V.M., McGrann K.M., Hughes D.W., Wright G.D. // *Science.* 2006. V. 311. № 5759. P. 374–377.
86. Wright G.D. // *Handb. Exp. Pharmacol.* 2012. V. 211. P. 13–30.
87. Cox G., Wright G.D. // *Int. J. Med. Microbiol.* 2013. V. 303. P. 287–292.
88. Gillings M.R. // *Front. Microbiol.* 2013. V. 4. P. 4.
89. Perry J.A., Westman E.L., Wright G.D. // *Curr. Opin. Microbiol.* 2014. V. 21. P. 45–50.
90. Breidenstein E.B.M., Khaira B.K., Wiegand I., Overhage J., Hancock R.E.W. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2008. V. 52. № 12. P. 4486–4491.
91. Fajardo A., Martínez-Martín N., Mercadillo M., Galán J.C., Ghysels B., Matthijs S., Cornelis P., Wiehlmann L., Tümmler B., Baquero F., et al. // *PLoS One.* 2008. V. 3. e1619.
92. Girgis H.S., Hottes A.K., Tavazoie S. // *PLoS One.* 2009. V. 4. e5629.
93. Alvarez-Ortega C., Wiegand I., Olivares J., Hancock R.E., Martínez J.L. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2010. V. 54. № 10. P. 4159–4167.
94. Poirel L., Bonnin R.A., Nordmann P. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2011. V. 55. P. 4224–4229.
95. Peleg A.Y., Miyakis S., Ward D.V., Earl A.M., Rubio A., Cameron D.R., Pillai S., Moellering Jr. R.C., Eliopoulos G.M. // *PLoS One.* 2012. V. 7. e28316.
96. Su H.-C., Khatun J., Kanavy D.M., Giddings M.C. // *Microbial. Drug Resistance.* 2013. V. 19. P. 428–436.
97. Tan S.Y., Chua S.L., Liu Y., Høiby N., Andersen L.P., Givskov M., Song Z., Yang L. // *Genome Biol. Evol.* 2013. V. 5. P. 807–818.
98. Hu Y., Zhu Y., Ma Y., Liu F., Lu N., Yang X., Luan C., Yi Y., Zhu B. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2015. V. 59. P. 1152–1161.
99. Sánchez M.B. // *Front. Microbiol.* 2015. V. 6. P. 658.
100. Ilina E.N., Shitikov E.A., Ikryannikova L.N., Alekseev D.G., Kamashev D.E., Malakhova M.V., Parfenova T.V., Afanas'ev M.V., Ischenko D.S., Bazaleev N.A., et al. // *PLoS One.* 2013. V. 8. e56577.
101. Zhu L., Yan Z., Zhang Z., Zhou Q., Zhou J., Wakeland E.K., Fang X., Xuan Z., Shen D., Li Q.Z. // *PLoS One.* 2013. V. 8. e66584.
102. Petty N.K., Ben Zakour N.L., Stanton-Cook M., Skippington E., Totsika M., Forde B.M., Phan M.D., Gomes Moriel D., Peters K.M., Davies M., et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2014. V. 111. P. 5694–5699.
103. Coldham N.G., Randall L.P., Piddock L.J., Woodward M.J. // *J. Antimicrob. Chemother.* 2006. V. 58. № 6. P. 1145–1153.
104. Madeira A., Santos P.M., Coutinho C.P., Pinto-de-Oliveira A., Sá-Correia I. // *Proteomics.* 2011. V. 11. P. 1313–1328.
105. Медведева Е.С., Давыдова М.Н., Музыкантов А.А., Баранова Н.Б., Григорьева Т.Ю., Синягина М.Н., Бульгина Е.А., Чернова О.А., Чернов В.М. // *ДАН.* 2016. Т. 466. № 2. С. 228–232.
106. Tiwari V., Vashist J., Kapil A., Moganty R.R. // *PLoS One.* 2012. V. 7. e39451.
107. Liu X., Hu Y., Pai P.J., Chen D., Lam H. // *J. Proteome Res.* 2014. V. 13. № 3. P. 1223–1233.
108. Himmelreich R., Hilbert H., Plagens H., Pirkl E., Li B.C., Herrmann R. // *Nucl. Acids Res.* 1996. V. 24. P. 4420–4449.
109. Perry J.A., Wright G.D. // *Bioessays.* 2014. V. 36. P. 1179–1184.