

# МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ УСТОЙЧИВОСТИ ПАТОГЕННЫХ ДЛЯ ЧЕЛОВЕКА МИКОПЛАЗМ К ФТОРХИНОЛОНАМ

А.Н. Ваганова

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

**Резюме.** Патогенные для человека микоплазмы из-за отсутствия клеточной стенки устойчивы к ряду антибиотиков. Для лечения микоплазмозов чаще всего используют макролиды, однако распространение устойчивых к ним форм требует применения альтернативных схем лечения, в частности, назначения фторхинолонов и тетрациклинов. Из существующих противомикробных соединений только фторхинолоны обладают бактерицидным эффектом в отношении микоплазм, поэтому их применение предпочтительно при лечении пациентов в состоянии иммуносупрессии. Ограничением применения фторхинолонов может стать устойчивость возбудителя к соединениям данной группы. Наиболее частой причиной развития устойчивости к фторхинолонам как у микоплазм, так и у других бактерий являются мутации, ведущие к аминокислотным заменам в составе мишеней фторхинолонов: гиразы и топоизомеразы IV. Отмечено, что для микоплазм, относящихся к различным видам, характерны разные паттерны замен в субъединицах гиразы и топоизомеразы IV. Причиной могут быть различия в структуре этих белков, отражающиеся в видовых особенностях природной восприимчивости к фторхинолонам у микоплазм. Ряд исследований указывает на существование дополнительных механизмов резистентности, к которым, в первую очередь, относятся системы множественной резистентности. Подобные системы, относящиеся к группе ABC-транспортеров, были найдены и у микоплазм. Они описаны у *Mycoplasma hominis* и *M. pneumoniae*, причем у *M. hominis* наблюдалась их способность к выведению из клеток фторхинолонов, а у *M. pneumoniae* отмечена способность систем множественной резистентности экспортировать макролиды. Гены, кодирующие компоненты систем множественной резистентности, были найдены и в геномах других видов, в том числе *M. genitalium* и микоплазм, вызывающих заболевания животных. Также у непатогенных для человека микоплазм вида *Acholeplasma laidlawii* была обнаружена ассоциированная с устойчивостью к фторхинолонам способность к экспорту белков и генетического материала. Понимание роли мутаций, активности транспортеров и их кумулятивного эффекта в развитии устойчивости к фторхинолонам особенно важно в контексте определения устойчивости к фторхинолонам у плохо поддающихся культивированию патогенов *M. genitalium* и *M. pneumoniae*. Молекулярно-биологические методы определения устойчивости к противомикробным соединениям в настоящее время входят в клиническую практику, однако недостаток сведений о молекулярных основах устойчивости микоплазм делает результат недостаточно информативным для патогенов данной группы. В обзоре рассмотрены особенности развития устойчивости к фторхинолонам у патогенных для человека микоплазм разных видов и их проявления на молекулярном уровне.

**Ключевые слова:** микоплазмы, инфекции, фторхинолоны, устойчивость, мутации, MDR-транспортеры.

---

**Адрес для переписки:**

Ваганова Анастасия Николаевна  
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,  
ФБУН НИИЭМ имени Пастера.  
Тел.: 8 (812) 232-01-08 (служебн.).  
E-mail: van.inprogress@gmail.com

**Contacts:**

Anastasiya N. Vaganova  
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,  
St. Petersburg Pasteur Institute.  
Phone: +7 (812) 232-01-08 (office).  
E-mail: van.inprogress@gmail.com

**Библиографическое описание:**

Ваганова А.Н. Молекулярные основы устойчивости патогенных для человека микоплазм к фторхинолонам // Инфекция и иммунитет. 2017. Т. 7, № 3. С. 231–244. doi: 10.15789/2220-7619-2017-3-231-244

**Citation:**

Vaganova A.N. Molecular background of fluoroquinolone resistance in pathogenic human mycoplasmas // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2017, vol. 7, no. 3, pp. 231–244. doi: 10.15789/2220-7619-2017-3-231-244

## MOLECULAR BACKGROUND OF FLUOROQUINOLONE RESISTANCE IN PATHOGENIC HUMAN MYCOPLASMAS

Vaganova A.N.

St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

**Abstract.** Human mycoplasma pathogens are resistant to many types of antibiotics because of the lack of a cell wall. Macrolides are most often used for the treatment of mycoplasmosis, but the spread of forms resistant to these antibiotics requires the use of alternative treatment regimens, in particular, the administration of fluoroquinolones and tetracyclines. Of the existing antimicrobial compounds, only fluoroquinolones have a bactericidal effect against mycoplasmas, so use of these antimicrobials is preferable for the treatment of immunosuppressed patients. The limitation of the fluoroquinolones is the resistance of the causative agent to these antimicrobials. Mutations leading to amino acid substitutions in the composition of the targets of fluoroquinolones, gyrase and topoisomerase IV are the most common cause of resistance to fluoroquinolones both in mycoplasmas and in other bacteria. It was noted that for mycoplasmas belonging to different species have different patterns of substitutions in the subunits of gyrase and topoisomerase IV. The differences of the structure of these proteins, reflected in the natural susceptibility to fluoroquinolones in mycoplasmas, may be a reason of this heterogeneity. A number of studies indicate the existence of additional resistance mechanisms, which, first of all, include multiple-resistance systems. Such systems belonging to the ABC-transporter group were also found in mycoplasmas. They are described in *Mycoplasma hominis* and *M. pneumoniae*, in *M. hominis*, their ability to excrete fluoroquinolones from the cells was observed, and in *M. pneumoniae* the ability of multiple-resistance systems to export macrolides also was noted. Genes encoding components of multiple resistance systems have been found in genomes of other species, including *M. genitalium* and mycoplasmas, causing animal diseases. Also, in the non-pathogenic for human mycoplasmas *Acholeplasma laidlawii*, the ability to export proteins and genetic material associated with resistance to fluoroquinolones was found. Understanding the role of the mutations, the activity of transports and their cumulative effect in the development of resistance to fluoroquinolones is particularly important in the context of the determination of resistance to fluoroquinolones in difficult to culture pathogens *M. genitalium* and *M. pneumoniae*. Molecular methods for determining the resistance to antimicrobials are now included in clinical practice, but the lack of information about the molecular bases of mycoplasma resistance makes the result insufficiently informative for the pathogens of this group. In the review, the features of the development of resistance to fluoroquinolones in various species of human pathogenic mycoplasmas and their mechanisms at molecular level will be described.

**Key words:** mycoplasmas, infections, fluoroquinolone, resistance, mutations, MDR-transporters.

### Введение

Микоплазмы — лишённые клеточной стенки бактерии, относящиеся к типу *Tenericutes* [42]. Большинство видов микоплазм является комменсалами, однако некоторые могут вызывать заболевания человека, животных и растений. Повреждение тканей при микоплазмозах во многом связано с выделением продуктов метаболизма патогена, приводящих к развитию воспаления. При малом размере генома у микоплазм имеются разнообразные факторы патогенности — адгезины, белки, вызывающие перестройки цитоскелета клеток эукариот и другие. Микоплазменные инфекции обычно не представляют угрозы для жизни пациента, но иногда могут протекать и в тяжелых формах [23]. В настоящее время патогенными для человека признаны *Mycoplasma genitalium*, *M. hominis*, *M. pneumoniae*, *Ureaplasma* spp., а также менее распространенные *M. spermatophilum*, *M. penetrans*, *M. salivarium*, *M. orale* и *M. primatum* [42].

Отсутствие клеточной стенки определяет устойчивость микоплазм к бета-лактамам, гликопептидам и фосфомицину; поэтому для

лечения инфекций, вызванных патогенами данной группы, применяют макролиды, тетрациклины и фторхинолоны. Обычно препаратами первого выбора при заболеваниях, вызванных микоплазмами, служат малотоксичные макролиды, в первую очередь азитромицин и джозамицин. Фторхинолоны являются наиболее востребованными для лечения диссеминированных микоплазмозов у пациентов в состоянии иммуносупрессии, поскольку эти соединения, в отличие от макролидов и тетрациклинов, обладают бактерицидным, а не только бактериостатическим действием против патогенных микоплазм [7].

Доля устойчивых к различным противомикробным соединениям микоплазм высока. До 50% изолятов *M. genitalium* невосприимчивы к тетрациклину [10], устойчивы к макролидам — 17,2–43,4% [18, 46, 76], а около 15% — к фторхинолонам [14]. Доля устойчивых к макролидам штаммов *M. pneumoniae* может достигать 80% [37, 85]. Распространены устойчивые варианты и среди других видов микоплазм, патогенных для человека [38, 41, 87]. Частота встречаемости устойчивых форм мо-

жет различаться в разных странах, что связано с принятыми правилами применения антибиотиков [57, 87].

При инфекциях, вызванных устойчивой к макролидам *M. genitalium*, используют моксифлоксацин — препарат фторхинолонового ряда [14, 80], в то время как гатифлоксацин, цiproфлоксацин, офлоксацин и левофлоксацин неэффективны при лечении подобных инфекций [53, 57]. В случае *M. pneumoniae* фторхинолоны также эффективны против инфекций, устойчивых к макролидам азитромицину и джозамицину [14, 28]. Устойчивые к доксициклину изоляты уреоплазмы часто резистентны к макролидам, норфлоксацину и цiproфлоксацину, но не к офлоксацину [87]. Благодаря тому, что случаи перекрестной устойчивости микоплазм к макролидам и фторхинолонам редки, применение фторхинолонов рекомендуется для лечения заболеваний, вызванных невосприимчивыми к макролидам микоплазмами.

Фторхинолоны являются синтетическими противомикробными соединениями. Общим структурным элементом молекул данной группы является бициклическое ароматическое ядро, образованное пиридоновым и ароматическим кольцами. У всех фторхинолонов углерод в положении 6 ароматического кольца связан с атомом фтора. В положении 3 к пиридоновому кольцу присоединен карбоксильный остаток, в положении 4 — кетогруппа, и именно они определяют антимикробную активность соединений данного ряда. В положении 7 присоединяются различные заместители в виде пяти-шестичленных диамидов, к углероду в положении 8 и азоту пиридонового кольца также могут присоединяться боковые группы [26] (рис. 1).

Эти препараты используются при лечении заболеваний респираторного тракта, в том числе туберкулеза, кишечных и кожных инфекций, инфекций мочеполовой системы, костной и соединительной ткани.

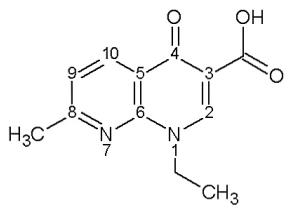
Мишенью фторхинолонов служат белки, участвующие в репликации ДНК, в частности ДНК-гираза, которая устраняет суперскрученность цепей ДНК, обеспечивая движение репликативной вилки, а также сходная с ней по структуре топоизомераза IV, которая участвует в расхождении дочерних хромосом. Фторхинолоны блокируют лигазную активность этих ферментов, что приводит к накоплению двухцепочных разрывов ДНК [26]. Таким образом, бактериостатический эффект фторхинолонов обусловлен остановкой репликации, а бактерицидный — двойными разрывами ДНК [31].

Наиболее часто используемая классификация фторхинолонов — разделение по поколениям, носящее условный характер. Препараты первого и второго поколений обладают более высоким сродством к лигирующему ДНК домену гиразы, чем к топоизомеразе IV; фторхинолоны третьего и четвертого поколения, которые также обладают сродством к лигазному домену топоизомеразы IV, более активны в отношении грамположительных бактерий [31]. К первому поколению относят нефторированные хинолоны: налидиксовую и оксолиновую кислоту, ко второму — пefлоксацин, офлоксацин, цiproфлоксацин, норфлоксацин, к третьему — левофлоксацин и спарфлоксацин. Моксифлоксацин, гемифлоксацин, гатифлоксацин и тровафлоксацин — фторхинолоны четвертого поколения. Для препаратов четвертого поколения характерна выраженная сопряженная ингибирующая активность в отношении гиразы и топоизомеразы IV (табл.). При использовании таких препаратов снижается риск развития резистентных вариантов [1, 40].

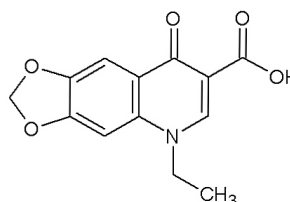
При существующих режимах антибактериальной терапии максимальная концентрация цiproфлоксацина в крови составляет 1,5 мкг/мл, офлоксацина — 4,0 мкг/мл, левофлоксацина — 6,0 мкг/мл, моксифлоксацина — 4,0 мкг/мл. Время полужизни цiproфлоксацина — 4 ч, офлоксацина — 4–5 ч, левофлоксацина — 6–8 ч, моксифлоксацина — 10–13 ч [69]. Минимальная ингибирующая концентрация (МИК) цiproфлоксацина и левофлоксацина для большинства микроорганизмов, в том числе микоплазм, составляет 1 мкг/мл. Для фторхинолонов новых поколений характерны более низкие значения МИК и длительное сохранение в крови в концентрациях выше МИК, что повышает эффективность терапии и снижает риск развития резистентных форм [61, 68].

В 1984 г., когда применение фторхинолонов еще только входило в клиническую практику, при тестировании 5994 изолятов 30 различных видов было найдено всего 37 устойчивых изолятов [4]. Спустя 30 лет доля устойчивых к фторхинолонам изолятов различных видов значительно возросла и составляет 10–25% в Европе и до 45% — в Гонконге [16]. Резистентные формы кишечной палочки, стрептококков и стафилококков появляются в организме на фоне терапии с применением фторхинолонов [15, 16]. Неконтролируемое или неадекватное применение фторхинолонов может вносить существенный вклад в увеличение доли устойчивых вариантов патогенных бактерий, в том числе микоплазм.

**I поколение – нефторированные хинолоны**  
**I generation – nonfluorinated quinolones**

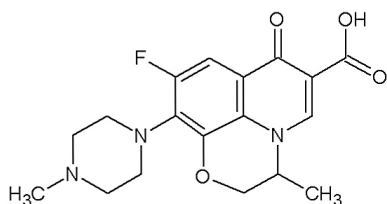


**налидиксовая кислота**  
 nalidixic acid

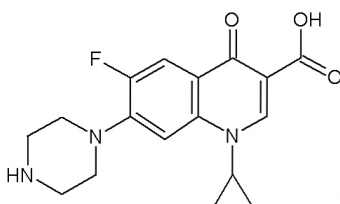


**оксолиновая кислота**  
 oxalic acid

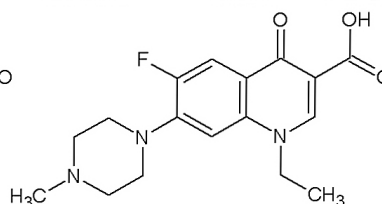
**II поколение – «грамотрицательные» фторхинолоны**  
**II generation – “gram-negative” quinolones**



**офлоксацин**  
 ofloxacin

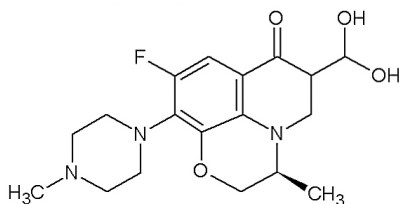


**ципрофлоксацин**  
 ciprofloxacin

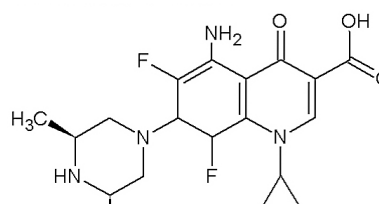


**пемфлоксацин**  
 pefloxacin

**III поколение – «респираторные» фторхинолоны**  
**III generation – “respiratory” quinolones**

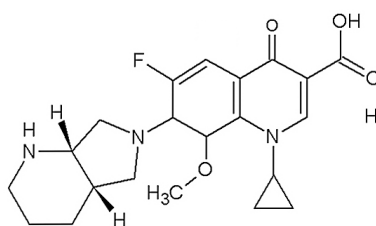


**левофлоксацин**  
 levafloxacin

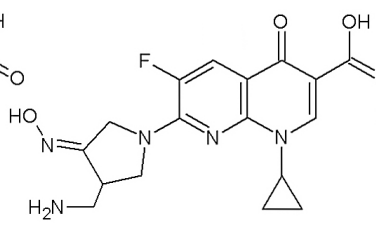


**спарфлоксацин**  
 sparfloxacin

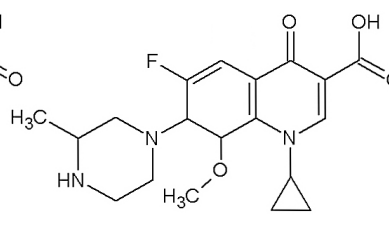
**IV поколение – «респираторные» и «анаэробные» фторхинолоны**  
**IV generation – “respiratory” and “anaerobic” quinolones**



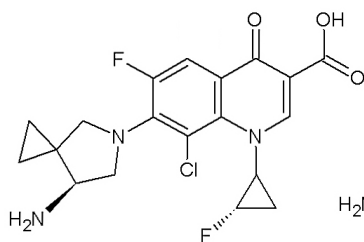
**моксифлоксацин**  
 moxifloxacin



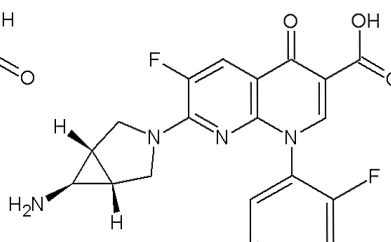
**гемифлоксацин**  
 gemifloxacin



**гатифлоксацин**  
 gatifloxacin



**ситафлоксацин**  
 sitafloxacin



**тровафлоксацин**  
 trovafloxacin

**Рисунок 1. Структура хинолонов/фторхинолонов**

Figure 1. Structure of quinolones/fluoroquinolones

**Таблица. Поколения соединений ряда хинолонов/фторхинолонов**

Table. Quinolone/fluoroquinolone generations

Поколение Generation	Показания для назначения Therapeutic indication	Молекулярные мишени Molecular targets
<b>I поколение (нефторированные хинолоны)</b> I generation (nonfluorinated quinolones)	<b>Неосложненные инфекции мочевыводящих путей, вызванные грамотрицательными бактериями (кроме <i>P. aeruginosa</i>)</b> Uncomplicated urinary tract infections caused by gram-negative pathogens (excluding <i>P. aeruginosa</i> )	<b>Гирази</b> Gyrase
<b>II поколение («граммотрицательные» фторхинолоны)</b> II generation («gram-negative» quinolones)	<b>Осложненные инфекции мочевыводящих путей и пиелонефриты; заболевания, передающиеся половым путем; простатит; инфекции кожи и мягких тканей, вызванные грамотрицательными бактериями и <i>Staphylococcus aureus</i></b> Complicated urinary tract infections and pyelonephritis; sexually transmitted diseases; prostatitis; skin and soft tissue infections caused by gram-negative pathogens and <i>Staphylococcus aureus</i>	<b>Гирази</b> Gyrase
<b>III поколение («респираторные» фторхинолоны)</b> III generation («respiratory» quinolones)	<b>Активны в отношении грамположительных патогенов; используются при пневмонии и обострениях хронического бронхита</b> Effective against gram-positive pathogens, apply for acute exacerbations of chronic bronchitis, community-acquired pneumonia	<b>Гирази и топоизомераза IV</b> Gyrase and topoisomerase IV
<b>IV поколение («респираторные» и «анаэробные» фторхинолоны)</b> IV generation («respiratory» and «anaerobic» quinolones)	<b>Сфера применения сходна с фторхинолонами II поколения; trovafloxacin также одобрен для лечения интраабдоминальных инфекций и сепсиса</b> Same application sphere as for second-generation agents; trovafloxacin is approved for complicated urinary tract infections and sepsis	<b>Гирази и топоизомераза IV</b> Gyrase and topoisomerase IV

Целью данного обзора является рассмотрение механизмов, приводящих к развитию резистентности патогенных для человека микоплазм к фторхинолонам.

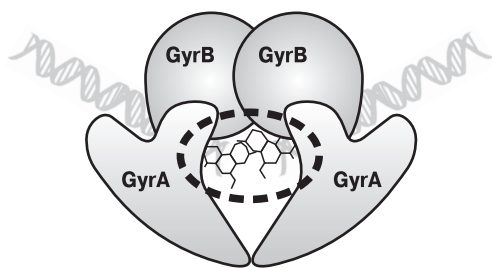
### Мутации генов гиразы и топоизомеразы IV как основная причина устойчивости микоплазм к фторхинолонам

Возникновение мутаций генов субъединиц гиразы *gyrA/gyrB* и топоизомеразы IV *parC/parE* является наиболее изученным механизмом, обеспечивающим устойчивость патогенов к фторхинолонам. В генах, кодирующих субъединицы этих ферментов, имеются «горячие точки», в которых на фоне отбора в присутствии фторхинолонов у неродственных бактерий накапливаются сходные нуклеотидные замены, обеспечивающие развитие устойчивости к этим препаратам. Такие мутации приводят к заменам в составе активного центра фермента и его окружения.

Для разных бактерий значение тех или иных аминокислотных замен в данных участ-

ках молекул для развития устойчивости может быть различным. В случае *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* достаточно единичных мутаций для развития устойчивости к отдельным соединениям фторхинолонового ряда. Для возникновения устойчивых вариантов *E. coli*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella* spp. и *N. gonorrhoeae* необходимо накопление нескольких мутаций [16, 43, 50]. Паттерн накопления мутаций отражает особенности воздействия фторхинолонов на микроорганизм конкретного вида. При накоплении мутаций, обеспечивающих устойчивость, в первую очередь возникают изменения в гене, кодирующем одну из субъединиц первичной мишени фторхинолонов, но в дальнейшем замены появляются и в генах вторичной мишени [3, 8, 39, 49, 62, 65].

Механизмы взаимодействия фторхинолонов с гиразой и топоизомеразой IV в целом идентичны и осуществляются на уровне комплекса ДНК и ДНК-связывающих доменов [52]. Субъединицы GyrA и ParC содержат N-концевой домен, обеспечивающий нанесение и репарацию двойных разрывов ДНК и C-концевой домен, через который



**Рисунок 2. Схема связывания молекул хинолонов/фторхинолонов с ДНК-гиразой (на примере налидиксовой кислоты)**

Figure 2. Quinolones/fluoroquinolones interaction with gyrase (in case of nalidixic acid)

**Примечание.** Область, замены в которой ведут к устойчивости к фторхинолонам, отмечена пунктиром.  
Note. The site where amino acid changes lead to fluoroquinolone resistance is marked by pecked line.

в образовавшийся разрыв проходят двойные нити ДНК, что приводит к снятию суперскрученности молекулы. Субъединицы GyrB/ParE содержат N-терминальный домен, обладающий АТФазной активностью, а также С-терминальный домен, ответственный за взаимодействие с ДНК. Связывание гиразы с фторхинолонами определяется первую очередь полярными аминокислотными остатками в наружной области «карманов» белковых молекул, в которых находятся активные центры субъединиц GyrA и ParC [45, 51, 69]. Аминокислотные остатки С-концевого домена субъединиц GyrB и ParE расположены в участке, локализуемом вблизи белкового «кармана» GyrA/ParC, где связываются фторхинолоны, и их замены могут снижать восприимчивость к фторхинолонам за счет изменения конформации мишени [51, 69] (рис. 2). Большинство выявляемых вариантов, устойчивых к фторхинолонам, содержит множественные сочетанные мутации генов субъединиц гиразы и топоизомеразы, приводящие к заменам участвующих во взаимодействии с фторхинолонами аминокислотных остатков.

Влияние ассоциированных с устойчивостью к фторхинолонам мутаций на жизнеспособность бактерий слабо изучено. Мутации в генах *gyrA* и *parC* в участках, соответствующих сайтам связывания фторхинолонов в аминокислотной последовательности, не влияют на жизнеспособность кишечной палочки [54]. С другой стороны, мутации в тех же локусах приводят к замедлению роста *N. gonorrhoeae* [43], *S. typhimurium* (в данном случае одновременно снижается штамма) и *P. aeruginosa* [54].

Возможно, что снижение жизнеспособности и скорости роста, связанные с возникновением мутаций в генах гиразы и топоизомеразы IV, компенсируется за счет изменений за пределами геномных локусов, связанных с развитием устойчивости к фторхинолонам [43], поскольку и для *E. coli* и *P. aeruginosa* показано снижение активности гиразы после возникновения мутаций, приводящих к резистентности [54].

Основной мишенью фторхинолонов у микоплазм является топоизомераза IV. Накопление мутаций происходит быстрее, чем у других бактерий, из-за утраты 3'-5' экзонуклеазной активности их ДНК-полимеразы [5]. Такие мутации чаще всего приводят к заменам остатков серина и других полярных аминокислот в области, окружающей активные центры (в случае субъединиц GyrA и ParC) и остатков аминокислот в областях формирующих среду, окружающую реакционные центры GyrA и ParC (в случае GyrB и ParE). В целом набор мутаций у разных видов однотипен [46], хотя отмечаются некоторые особенности. Структура субъединиц гиразы и топоизомеразы у микоплазм отдельных видов может различаться [30], чем можно объяснить значительные вариации в восприимчивости к тем или иным фторхинолонам. У всех клинически значимых видов микоплазм выявлены замены в составе субъединиц гиразы и топоизомеразы IV, ассоциированные с устойчивостью к фторхинолонам.

В ряде случаев единичные замены в аминокислотной последовательности субъединиц гиразы и топоизомеразы IV могут приводить к развитию резистентности. В частности, мутанты *M. genitalium* по ParC (характеризующиеся заменой глицина на цистеин или пролина на треонин в наружной части белкового «кармана», скрывающего реакционные центры), или по ParE (характеризующиеся заменой аспарагина на лизин в положении 466), полученные при селекции в присутствии ципрофлоксацина, обладали повышенной устойчивостью к ципрофлоксацину при МИК значительно превышающих терапевтические концентрации препарата. При тестировании устойчивости к гареноксацину, моксифлоксацину, гатифлоксацину, спарфлоксацину, тосуфлоксацину, левофлоксацину и норфлоксацину значение МИК повышалось в 44–16 раз по сравнению с исходной (что также превышает терапевтические концентрации этих препаратов в крови). В то же время все вышеуказанные мутанты были восприимчивы к сатифлоксацину [17].

### Мутации, характерные для микоплазм кластера *pneumoniae*

Большинство фторхинолонов воздействует на топоизомеразу IV *M. genitalium*, хотя первичной мишенью гареноксаина является гираза [58]. Установлено также, что при появлении мутаций по гену топоизомеразы IV фермент может частично сохранять чувствительность к гатифлоксацину и моксифлоксацину; восприимчивость к левофлоксацину, как правило, утрачивается [83].

Клинические изоляты *M. genitalium* характеризуются разным паттерном мутаций, обеспечивающих устойчивость к фторхинолонам. Возможны единичные мутации гена *gyrA*, сочетанные мутации генов *gyrA* и *parC*, а также множественные мутации гена *parC* [72].

Особенностью развития резистентности у близкородственной *M. genitalium* микоплазмы *M. pneumoniae* служит высокая частота мутаций гена *gyrB* по сравнению с *gyrA* при селекции на устойчивость к фторхинолонам. Мутации по гену *parC*, ведущие к заменам полярных аминокислот по соседству с активными центрами, приводят к появлению устойчивых к спарфлоксацину штаммов. Двойные мутанты по генам *gyrA* и *parE* устойчивы к левофлоксацину, в свою очередь двойные мутанты по генам *parC* и *gyrB* устойчивы к моксифлоксацину, гатифлоксацину и цiproфлоксацину [29]. Низкая частота мутаций по гену *gyrA* объясняется утратой гидрофильных сайтов связывания фторхинолонов у представителей дикого типа этого вида [5].

### Мутации, характерные для уреоплазм

В отличие от микоплазм кластера *pneumoniae*, у *U. urealyticum* и *U. parvum* аминокислотные замены в составе GyrB-субъединицы не выявляются, а в случае ParC-субъединицы они редки [22, 82]. Как правило, клинические изоляты, устойчивые к фторхинолонам норфлоксацину, пефлоксацину, офлоксацину и цiproфлоксацину, несут множественные точечные мутации генов *parC* и *gyrA*, в частности двойную мутацию гена *parC*, приводящие к заменам аланина на треонин в двух положениях внутри «кармана» молекулы, содержащего активные центры. При этом замены серина или глутамина на входе в «карман» ParC, характерные для большинства микоплазм, выявлялись реже. У большинства мутантов также имелись замены в области сайтов связывания фторхинолонов GyrA-субъединицы. При одинаковых профилях мутаций значения МИК фторхинолонов могут существенно различаться между штаммами [9].

### Мутации, характерные для *M. hominis*

*M. hominis* отличается от других микоплазм структурой субъединицы ParC топоизомеразы IV. Этот белок имеет на несколько десятков аминокислотных остатков больше по сравнению со средним числом за счет удлинения N-концевого и C-концевого участков [6]. Однако у данного патогена описан типичный набор мутаций с заменами глутамина на глицин и серина на пролин у входа в «карман», скрывающий активные центры ParC. Такие замены являются наиболее частыми. Аналогичные мутации выявлены для GyrA, когда глутамин заменяется на лизин, а серин — на лейцин [5, 29]. Наличие множественных мутаций приводит к развитию устойчивости к норфлоксацину, пефлоксацину, офлоксацину, цiproфлоксацину, спарфлоксацину, левофлоксацину, гемифлоксацину и моксифлоксацину [9]. Для мутантов с заменой серина на лейцин на входе в «карман», содержащий активные центры гиразы, отмечена более выраженная устойчивость к спарфлоксацину по сравнению со штаммами с другими мутациями. Как у большинства бактерий, спонтанные мутации по гену *gyrA* происходят чаще, чем по гену *gyrB* [5]. Селекция устойчивых мутантов *in vitro* приводит к выявлению разных паттернов мутаций в зависимости от используемого препарата. При селекции на фоне левофлоксацина преобладающе накапливаются варианты с аминокислотными заменами в составе ParC и ParE, на фоне гемифлоксацина и гатифлоксацина — в составе GyrA и ParE. В присутствии гатифлоксацина также накапливаются мутанты по гену *parC*, а селекция на моксифлоксацине приводит к накоплению мутантов с сочетанными мутациями во всех четырех генах [29].

### Участие систем множественной резистентности в реакции микоплазм на воздействие фторхинолонов

Системы множественной резистентности (англ. Multi Drug Resistance, MDR) широко распространены у патогенных бактерий. Хотя механизмы их действия могут быть различными, общим является удаление из клетки поступивших в нее токсичных соединений. Транспортёры данной группы характеризуют способность к экспорту через цитоплазматическую мембрану соединений широкого спектра, значительно различающихся по структуре. Бактерии, использующие для защиты от фторхинолонов такие экспортные системы, как правило, устойчивы к нескольким антибиотикам, а также к дезинфицирующим агентам [59].

Исследования устойчивых к фторхинолонам изолятов и селективированных в присутствии фторхинолонов устойчивых мутантов указывают на то, что штаммы одного вида с одним и тем же набором мутаций в генах субъединиц гиразы и топоизомеразы IV могут сильно различаться по уровням МИК, и что это во многом связано с MDR-системами [2, 60, 71]. У некоторых видов, в частности, *Mycobacterium tuberculosis*, устойчивость к фторхинолонам может зависеть только от транспортеров при отсутствии аминокислотных замен в субъединицах гиразы [31].

В экскретировании фторхинолонов участвуют системы множественной резистентности, относящиеся к семействам ABC-транспортеров (ATP Binding Cassette), RND (Resistance-Nodulation-Division), MFS (Major Facilitator Superfamily) и MATE (Multidrug and Toxin Extrusion). У разных бактерий преобладающую роль могут играть разные семейства MDR-систем.

#### **MDR-системы семейства ABC-транспортеров у патогенных микоплазм**

Семейство ABC-транспортеров обеспечивает АТФ-зависимый экспорт и импорт. Транспортеры данного типа содержат по два гидрофильных нуклеотидсвязывающих домена, которые участвуют в гидролизе АТФ для получения энергии, за счет которой осуществляется транспорт через цитоплазматическую мембрану с участием транспортных доменов. Участие ABC-транспортеров в защите микоплазм от фторхинолонов описано на примере *M. hominis*. У этого вида обнаружены изоляты, со множественной устойчивостью: тетрациклины, макролиды и офлоксацин часто оказываются менее эффективными против изолятов *M. hominis*, устойчивых к ципрофлоксацину [85].

Фторхинолоны пассивно поступают в цитоплазму, особенно в среде с низким содержанием аргинина, являющегося основным источником энергии для этих микоплазм. У некоторых устойчивых изолятов после проникновения фторхинолонов в клетку они активно выводятся MDR-системами. Такой механизм защиты эффективен в отношении гидрофильных фторхинолонов ципрофлоксацина и норфлоксацина, но не против моксифлоксацина и пефлоксацина. Помимо фторхинолонов у таких изолятов выводятся антисептик акрифлавин и связывающийся с ДНК краситель бромистый этидий, что указывает на широкий спектр веществ в отношении которых специфичны транспортеры [63].

Для штаммов с повышенной экспрессией генов ABC-транспортеров характерна устойчи-

вость к ципрофлоксацину, а также бромистому этидию; устойчивости к доксициклину, джозамицину и хлорамфениколу у этих штаммов выявлено не было. Гены ABC-транспортеров *M. hominis* обозначаются как *md1* и *md2*. Схожие гены найдены у *M. genitalium* и *M. pneumoniae*, и их продукты могут выполнять аналогичную функцию [64]. У *M. genitalium* ABC-транспортеры участвуют также в ответе на осмотический стресс и в процессах, связанных с патогенезом [79, 88]. У *M. pneumoniae* обнаружена система транспорта макролидов MacB, относящаяся к семейству ABC [48].

Системы MDR из семейства ABC со сходной специфичностью, выводящие ципрофлоксацин, норфлоксацин, акрифлавин и бромистый этидий, выявлены и у других патогенов, в том числе *S. pneumoniae* [11]. Транспортеры группы ABC у *M. tuberculosis* способны к транспорту ципрофлоксацина и, в меньшей степени, норфлоксацина, моксифлоксацина и спарфлоксацина. На устойчивость к офлоксацину и левофлоксацину присутствие транспортера не влияет [69]. Активация экспрессии генов системы ABC происходит под воздействием фторхинолонов в дозозависимом режиме в ответ на повреждение ДНК [24].

#### **Вторичные транспортеры, участвующие в экспорте фторхинолонов у бактерий и их возможное значение для лекарственной устойчивости у микоплазм**

К вторичным транспортерам относят транспортеры, использующие трансмембранный электрохимический градиент в качестве источника энергии для переноса молекул через цитоплазматическую мембрану.

Участие вторичных транспортеров семейства MFS в защите от воздействия фторхинолонов описано у грамотрицательных [75, 86] и грамположительных бактерий [31, 44]. Эти транспортеры используют градиент протонов для транспорта через цитоплазматическую мембрану, поэтому при дефиците этого источника энергии их действие блокируется [25].

У *S. pneumoniae* и *B. cereus* найдены белки семейства MFS, участвующие в экспорте норфлоксацина и ципрофлоксацина; при этом экспрессия их генов не зависит от присутствия фторхинолонов [25, 73]. У *Listeria monocytogenes*, напротив, биосинтез белка семейства MFS, обеспечивающего устойчивость к фторхинолонам, активируется в присутствии соединенной данной группы [36]. В геноме *M. suis* имеется ген транспортера семейства MFS, однако его значение для экспорта фторхинолонов не установлено [20].



Системы МАТЕ характерны для грамотрицательных бактерий и вносят незначительный вклад в экспорт фторхинолонов по сравнению с системами других семейств [33, 86]. Как исключение, в геноме *M. meleagridis* выявлен ген белка этого семейства [67]. Функция продукта данного гена в настоящее время не выяснена. Системы множественной устойчивости семейства RND участвуют в выведении фторхинолонов из цитоплазмы у грамотрицательных бактерий, тогда как у микоплазм транспортеры этого типа отсутствуют [74].

Изменчивость по степени устойчивости к фторхинолонам, опосредованной работой транспортеров, может быть связана как с наличием или отсутствием соответствующих генов, так и с их полиморфизмом и полиморфизмом генов, продуктами которых являются регуляторные белки [12, 48]. Что именно служит причиной различий в уровне экспрессии генов *md1* и *md2* у резистентных и восприимчивых к фторхинолонам штаммов *M. hominis* и какова роль продуктов генов, сходных с генами MDR, найденных у других микоплазм, предстоит установить.

## Роль дополнительных механизмов в развитии устойчивости к фторхинолонам у микоплазм

Помимо мутантных аллелей генов гиразы и топоизомеразы IV и MDR-систем у ряда бактерий обнаружены дополнительные механизмы, определяющие устойчивость к фторхинолонам. Прежде всего для многих бактерий альтернативой устойчивости является способность адаптации к фторхинолонам, связанная с замедлением метаболизма, репликации ДНК и деления клеток, а также формированием биопленок [13, 21, 70, 84].

Поскольку действие фторхинолонов направлено на ДНК, активация систем репарации важна для сохранения жизнеспособности [13, 21, 84]. Это было показано при исследовании влияния мутаций по гену *ncr*, продукт которого является репрессором системы репарации RecSBD, на устойчивость *Acinetobacter baumannii* к ципрофлоксацину. Описанные мутанты обладали повышенной устойчивостью к воздействию этого фторхинолона [34].

Изменение проницаемости под воздействием фторхинолонов снижает интенсивность поступления антимикробных соединений в клетку [19, 27, 76]. Например, повышенное содержание кардиолипидов, фосфатидилхолина и жирных кислот с разветвленными цепями у *S. aureus* при-

водит к снижению восприимчивости к ципрофлоксацину [77], а у *Coxiella burnetii* под действием фторхинолонов активируется 3-гидроксимиристоилдегидрогеназа, участвующая в биосинтезе жирных кислот, что также может быть связано с изменением состава мембраны [78]. Наиболее изученным механизмом изменения проницаемости мембраны под воздействием фторхинолонов является изменение количественного и качественного состава поринов наружной мембраны [13, 32], однако данный механизм реализуется только у грамотрицательных бактерий.

Единственным описанным у микоплазм дополнительным механизмом устойчивости к фторхинолонам при отсутствии мутаций является поступление в клетку извне мутантных аллелей генов субъединиц гиразы и топоизомеразы IV, а также их продуктов, содержащих аминокислотные замены. Эти молекулы содержатся в мембранных пузырьках, отделяющихся от мембраны устойчивых микоплазм. Полученный путем селекции на фоне повышенных концентраций ципрофлоксацина вариант фитопатогена *Acholeplasma laidlawii* отличался повышенной способностью к формированию мембранных пузырьков, отделяющихся от цитоплазматической мембраны во внешнюю среду. У него также имелась отсутствующая у исходного штамма замена серина на лейцин в 91-м положении субъединицы ParC топоизомеразы IV. Мембранные пузырьки содержали ДНК и белковые молекулы и, возможно, участвовали в горизонтальном переносе мутантной аллели гена *parC*, а также мутантной формы ParC-субъединицы гиразы [55]. При селекции резистентных к ципрофлоксацину вариантов данного вида были получены и другие мутанты с заменами в генах субъединиц гиразы, топоизомеразы, а также в генах, участвующих в репарации ДНК; отмечалось изменение уровня экспрессии белков, участвующих в транскрипции, репликации, рекомбинации, репарации; фолдинге белка; транспорте и метаболизме аминокислот, нуклеотидов и неорганических ионов, а также вирулентности. Ряд этих белков также был выявлен внутри мембранных пузырьков [56].

Других дополнительных механизмов устойчивости к фторхинолонам у микоплазм в настоящее время не описано. Внутриклеточная локализация некоторых бактерий этого рода может обеспечивать более высокую устойчивость к фторхинолонам. Из-за снижения эффективности фторхинолонов при повышенной кислотности возможна более слабая восприимчивость микоплазм, заселяющих органы выделительной и половой системы, к препаратам данного типа [13, 66].

## Заключение

Как правило, инфекции, вызванные *M. hominis*, *M. genitalium*, *M. pneumoniae* и *Ureaplasma* spp. не несут угрозы жизни пациента, однако при заражении новорожденных и развитии заболеваний у пациентов с иммунодефицитами они могут представлять серьезную опасность и требуют своевременного и грамотного назначения терапии с учетом лекарственной восприимчивости патогена. В случае, когда пациент находится в состоянии иммуносупрессии, основными препаратами выбора являются фторхинолоны, поскольку только они обладают бактерицидным эффектом в отношении микоплазм.

Приобретение резистентности к фторхинолонам происходит в несколько стадий. При этом задействуются разные механизмы, в том числе накопление мутаций генов, продуктами которых являются белки-мишени фторхинолонов; изменение биосинтеза транспортеров, а также разнообразные, малоизученные у микоплазм дополнительные механизмы. У микоплазм приобретение резистентности подчиняется тем же закономерностям, что и у бактерий из других групп, хотя оно имеет индивидуальные черты у микоплазм разных видов. Для микоплазм основным механизмом являются аминокислотные замены в субъединицах гиразы и топоизомеразы IV. Ассоциированные с резистентностью к фторхинолонам мутации изучены и подробно описаны у патогенных для человека микоплазм. Это позволило в случае *M. genitalium* признать применимость молекулярных методов для оценки резистентности патогена к терапии, что отражено в рекомендациях по лечению вызванных этим микроорганизмом инфекций (2016 European guideline on *Mycoplasma genitalium* infections [35]).

Как у многих других бактерий, у микоплазм описано участие транспортеров в развитии устойчивости к фторхинолонам. Высокая устойчивость связана с повышенным биосинтезом транспортеров, однако конкретные факторы, влияющие на изменение содержания этих белков у микоплазм, в настоящее время не описаны. Вероятно, причиной являются мутации генов регуляторных белков или промоторных областей, как это показано у других микроорганизмов.

Понимание молекулярных основ устойчивости к фторхинолонам у микоплазм важно с практической точки зрения. Представители таких видов, как *M. genitalium* и *M. pneumoniae* практически не выделяются в культуру, и характеристика их устойчивости к противомикробным соединениям затруднена. В случае *M. genitalium* применимость молекулярных методов для оценки резистентности к терапии поддерживается рекомендациями профессионального сообщества, однако следует помнить, что согласно рекомендациям ВОЗ результат подобных тестов имеет силу только при выявлении мутации (отсутствие мутаций не указывает на восприимчивость штаммов). Поэтому ценность подобных диагностических исследований повышается при учете максимального количества факторов, связанных с резистентностью патогена.

Исследование дополнительных механизмов, обеспечивающих наряду с изменениями структуры гиразы и топоизомеразы устойчивость к фторхинолонам, позволит получать информативный результат при проведении молекулярно-биологических диагностических тестов, а также разработать эффективные схемы сочетанной терапии.

## Список литературы/References

1. Чарушин В.Н., Носова Э.В., Липунова Г.Н., Чупахин О.Н. Фторхинолоны: синтез и применение. М.: Физматиздат, 2014. 318 с. [Charushin V.N., Nosova E.V., Lipunova G.N., Chupahin O.N. Ftorkhinolony: sintez i primeneniye [Fluoroquinolones: synthesis and application]. Moscow: Pharmizdat, 2014, 318 p.]
2. Aathithan S., French G.L. Prevalence and role of efflux pump activity in ciprofloxacin resistance in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2011, vol. 30, no. 6, pp. 745–752. doi: 10.1007/s10096-010-1147-0
3. Almahmoud I., Kay E., Schneider D., Maurin M. Mutational paths towards increased fluoroquinolone resistance in *Legionella pneumophila*. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2009, vol. 64, no. 2, pp. 284–293. doi: 10.1093/jac/dkp173
4. Barry A.L., Jones R.N., Thornsberry C., Ayers L.W., Gerlach E.H., Sommers H.M. Antibacterial activities of ciprofloxacin, norfloxacin, oxolinic acid, cinoxacin, and nalidixic acid. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1984, vol. 25, no. 5, pp. 633–637.
5. Bebear C.M., Bové J.M., Bebear C., Renaudin J. Characterization of *Mycoplasma hominis* mutations involved in resistance to fluoroquinolones. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1997, vol. 41, no. 2, pp. 269–273.
6. Bébéar C.M., Charron A., Bové J.M., Bébéar C., Renaudin J. Cloning and nucleotide sequences of the topoisomerase IV parC and parE genes of *Mycoplasma hominis*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1998, vol. 42, no. 8, pp. 2024–2031.
7. Bébéar C., Pereyre S., Peuchant O. *Mycoplasma pneumoniae*: susceptibility and resistance to antibiotics. *Future Microbiol.*, 2011, vol. 6, no. 4, pp. 423–431. doi: 10.2217/fmb.11.18
8. Bébéar C.M., Renaudin H., Charron A., Bové J.M., Bébéar C., Renaudin J. Alterations in topoisomerase IV and DNA gyrase in quinolone-resistant mutants of *Mycoplasma hominis* obtained in vitro. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1998, vol. 42, no. 9, pp. 2304–2311.

9. Bébéar C.M., Renaudin H., Charron A., Clerc M., Pereyre S., Bébéar C. DNA gyrase and topoisomerase IV mutations in clinical isolates of *Ureaplasma* spp. and *Mycoplasma hominis* resistant to fluoroquinolones. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2003, vol. 47, no. 10, pp. 3323–3325. doi: 10.1128/AAC.47.10.3323-3325.2003
10. Blanchard A., Bébéar C. The evolution of *Mycoplasma genitalium*. *Ann. NY Acad. Sci.*, 2011, Iss.: *The evolution of infectious agents in relation to sex*, pp. 61–64. doi: 10.1111/j.1749-6632.2011.06418.x
11. Boncoeur E., Durmort C., Bernay B., Ebel C., Di Guilmi A.M., Croizé J., Vernet T., Jault J.M. PatA and PatB form a functional heterodimeric ABC multidrug efflux transporter responsible for the resistance of *Streptococcus pneumoniae* to fluoroquinolones. *Biochemistry*, 2012, vol. 51, no. 39, pp. 7755–7765. doi: 10.1021/bi300762p
12. Chen P.E., Willner K.M., Butani A., Dorsey S., George M., Stewart A., Lentz S.M., Cook C.E., Akmal A., Price L.B., Keim P.S., Mateczun A., Brahmhatt T.N., Bishop-Lilly K.A., Zwick M.E., Read T.D., Sozhamannan S. Rapid identification of genetic modifications in *Bacillus anthracis* using whole genome draft sequences generated by 454 pyrosequencing. *PLoS One*, 2010, vol. 5, no. 8:12397. doi: 10.1371/journal.pone.0012397
13. Cirz R.T., O’Neill B.M., Hammond J.A., Head S.R., Romesberg F.E. Defining the *Pseudomonas aeruginosa* SOS response and its role in the global response to the antibiotic ciprofloxacin. *J. Bacteriol.*, 2006, vol. 188, no. 20, pp. 7101–7110. doi: 10.1128/JB.00807-06
14. Couldwell D.L., Tagg K.A., Jeffreys N.J., Gilbert G.L. Failure of moxifloxacin treatment in *Mycoplasma genitalium* infections due to macrolide and fluoroquinolone resistance. *Int. J. STD AIDS*, 2013, vol. 24, no. 10, pp. 822–828. doi: 10.1177/0956462413502008
15. De Lastours V., Cambau E., Guillard T., Marcade G., Chau F., Fantin B. Diversity of individual dynamic patterns of emergence of resistance to quinolones in *Escherichia coli* from the fecal flora of healthy volunteers exposed to ciprofloxacin. *J. Infect. Dis.*, 2012, vol. 206, no. 9, pp. 1399–1406. doi: 10.1093/infdis/jis511
16. De Lastours V., Fantin B. Impact of fluoroquinolones on human microbiota. Focus on the emergence of antibiotic resistance. *Future Microbiol.*, 2015, vol. 10, no. 7, pp. 1241–1255. doi: 10.2217/fmb.15.40
17. Deguchi T., Kikuchi M., Yasuda M., Ito S. Sitafoxacin: antimicrobial activity against ciprofloxacin-selected laboratory mutants of *Mycoplasma genitalium* and inhibitory activity against its DNA gyrase and topoisomerase IV. *J. Infect. Chemother.*, 2015, vol. 21, no. 1, pp. 74–75. doi: 10.1016/j.jiac.2014.08.021
18. Deguchi T., Yasuda M., Horie K., Seike K., Kikuchi M., Mizutani K., Tsuchiya T., Yokoi S., Nakano M., Hoshina S. Drug resistance-associated mutations in *Mycoplasma genitalium* in female sex workers, Japan. *Emerg. Infect. Dis.*, 2015, vol. 21, no. 6, pp. 1062–1064. doi: 10.3201/eid2106.142013
19. Daikos G.L., Lolans V.T., Jackson G.G. Alterations in outer membrane proteins of *Pseudomonas aeruginosa* associated with selective resistance to quinolones. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1988, vol. 32, no. 5, pp. 785–787.
20. Dietz S., Lassek C., Mack S.L., Ritzmann M., Stadler J., Becher D., Hoelzle K., Riedel K., Hoelzle L.E. Updating the proteome of the uncultivable hemotrophic *Mycoplasma suis* in experimentally infected pigs. *Proteomics*, 2016, vol. 16, no. 4, pp. 609–613. doi: 10.1002/pmic.201500238
21. Dörr T., Lewis K., Vulić M. SOS response induces persistence to fluoroquinolones in *Escherichia coli*. *PLoS Genet.*, 2009, vol. 5, no. 12, e. 1000760. doi: 10.1371/journal.pgen.1000760
22. Duffy L., Glass J., Hall G., Avery R., Rackley R., Peterson S., Waites K. Fluoroquinolone resistance in *Ureaplasma parvum* in the United States. *J. Clin. Microbiol.*, 2006, vol. 44, no. 4, pp. 1590–1591. doi: 10.1128/JCM.44.4.1590-1591.2006
23. Dybvig K., Voelker L.L. Molecular biology of mycoplasmas. *Annu. Rev. Microbiol.*, 1996, vol. 50, pp. 25–57. doi: 10.1146/annurev.micro.50.1.25
24. El Garch F., Lismond A., Piddock L.J., Courvalin P., Tulkens P.M., Van Bambeke F. Fluoroquinolones induce the expression of patA and patB, which encode ABC efflux pumps in *Streptococcus pneumoniae*. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2010, vol. 65, no. 10, pp. 2076–2082. doi: 10.1093/jac/dkq287
25. Escudero J.A., San Millan A., Gutierrez B., Hidalgo L., La Ragione R.M., AbuOun M., Galimand M., Ferrándiz M.J., Domínguez L., De la Campa A.G., Gonzalez-Zorn B. Fluoroquinolone efflux in *Streptococcus suis* is mediated by SatAB and not by SmrA. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2011, vol. 55, no. 12, pp. 5850–5860. doi: 10.1128/AAC.00498-11
26. Feio M.J., Sousa I., Ferreira M., Cunha-Silva L., Saraiva R.G., Queirós C., Alexandre J.G., Claro V., Mendes A., Ortiz R., Lopes S., Amaral A.L., Lino J., Fernandes P., Silva A.J., Moutinho L., De Castro B., Pereira E., Perelló L., Gameiro P. Fluoroquinolone-metal complexes: a route to counteract bacterial resistance? *J. Inorg. Biochem.*, 2014, no. 138, pp. 129–143. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2014.05.007
27. Fukuda H., Hosaka M., Hirai K., Iyobe S. New norfloxacin resistance gene in *Pseudomonas aeruginosa* PAO. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1990, vol. 34, no. 9, pp. 1757–1761.
28. Gohara Y., Arai S., Akashi A., Kuwano K., Tseng C.C., Matsubara S., Matumoto M., Furudera T. In vitro and in vivo activities of Q-35, a new fluoroquinolone, against *Mycoplasma pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1993, vol. 37, no. 9, pp. 1826–1830.
29. Gruson D., Pereyre S., Renaudin H., Charron A., Bébéar C., Bébéar C.M. In vitro development of resistance to six and four fluoroquinolones in *Mycoplasma pneumoniae* and *Mycoplasma hominis*, respectively. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2005, vol. 49, no. 3, pp. 1190–1193. doi: 10.1128/AAC.49.3.1190-1193.2005
30. Hirose K., Kawasaki Y., Kotani K., Abiko K., Sato H. Characterization of a point mutation in the parC gene of *Mycoplasma bovirhinis* associated with fluoroquinolone resistance. *J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health*, 2004, vol. 51, no. 4, pp. 169–175. doi: 10.1111/j.1439-0450.2004.00748.x
31. Hooper D.C. Mechanisms of fluoroquinolone resistance. *Drug Resist. Updat.*, 1999, vol. 2, no. 1, pp. 238–255. doi: 10.1054/drup.1998.0068
32. Hooper D.C., Wolfson J.S., Souza K.S., Ng E.Y., McHugh G.L., Swartz M.N. Mechanisms of quinolone resistance in *Escherichia coli*: characterization of nfxB and cfxB, two mutant resistance loci decreasing norfloxacin accumulation. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1989, vol. 33, no. 3, pp. 283–290.

33. Huguet A., Pensec J., Soumet C. Resistance in *Escherichia coli*: variable contribution of efflux pumps with respect to different fluoroquinolones. *J. Appl. Microbiol.*, 2013, vol. 114, no. 5, pp. 1294–1299. doi: 10.1111/jam.12156
34. Jacoby G.A. Mechanisms of resistance to quinolones. *Clin. Infect. Dis.*, 2005, vol. 41, pp. 120–126. doi: 10.1086/428052
35. Jensen J.S., Cusini M., Gomberg M., Moi H. 2016 European guideline on *Mycoplasma genitalium* infections. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, 2016, vol. 30, no. 10, pp. 1650–1656. doi: 10.1111/jdv.13849
36. Jiang X., Zhou L., Gao D., Wang Y., Wang D., Zhang Z., Chen M., Su Y., Li L., Yan H., Shi L. Expression of efflux pump gene *lde* in ciprofloxacin-resistant foodborne isolates of *Listeria monocytogenes*. *Microbiol. Immunol.*, 2012, vol. 56, no. 12, pp. 843–846. doi: 10.1111/j.1348-0421.2012.00506.x
37. Kawai Y., Miyashita N., Kubo M., Akaike H., Kato A., Nishizawa Y., Saito A., Kondo E., Teranishi H., Ogita S., Tanaka T., Kawasaki K., Nakano T., Terada K., Ouchi K. Therapeutic efficacy of macrolides, minocycline, and tosufloxacin against macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in pediatric patients. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2013, vol. 57, no. 5, pp. 2252–2258. doi: 10.1128/AAC.00048-13
38. Kenny G.E., Hooton T.M., Roberts M.C., Cartwright F.D., Hoyt J. Susceptibilities of genital mycoplasmas to the newer quinolones as determined by the agar dilution method. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1989, vol. 33, no. 1, pp. 103–107.
39. Kenny G.E., Young P.A., Cartwright F.D., Sjöström K.E., Huang W.M. Sparfloxacin selects gyrase mutations in first-step *Mycoplasma hominis* mutants, whereas ofloxacin selects topoisomerase IV mutations. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1999, vol. 43, no. 10, pp. 2493–2496.
40. King D.E., Malone R., Lilley S.H. New classification and update on the quinolone antibiotics. *Am. Fam. Physician*, 2000, vol. 61, no. 9, pp. 2741–2748.
41. Krausse R., Schubert S. In vitro activities of tetracyclines, macrolides, fluoroquinolones and clindamycin against *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma ssp.* isolated in Germany over 20 years. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2010, vol. 16, no. 11, pp. 1649–1655. doi: 10.1111/j.1469-0691.2009.03155.x
42. Krieg N.R., Staley J.T., Brown D.R., Hedlund B.P., Paster B.J., Ward N.L., Ludwig W., Whitman W.B. (eds.) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 4. 2<sup>nd</sup> Edition. NY: Springer-Verlag, 2011, 949 p.
43. Kunz A.N., Begum A.A., Wu H., D'Ambrozio J.A., Robinson J.M., Shafer W.M., Bash M.C., Jerse A.E. Impact of fluoroquinolone resistance mutations on gonococcal fitness and in vivo selection for compensatory mutations. *J. Infect. Dis.*, 2012, vol. 205, no. 12, pp. 1821–1829. doi: 10.1093/infdis/jis277
44. Kwak Y.G., Truong-Bolduc Q.C., Bin Kim H., Song K.H., Kim E.S., Hooper D.C. Association of *norB* overexpression and fluoroquinolone resistance in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* from Korea. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2013, vol. 68, no. 12, pp. 2766–2772. doi: 10.1093/jac/dkt286
45. Laponogov I., Sohi M.K., Veselkov D.A., Pan X.S., Sawhney R., Thompson A.W., McAuley K.E., Fisher L.M., Sanderson M.R. Structural insight into the quinolone-DNA cleavage complex of type IIA topoisomerases. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2009, vol. 16, no. 6, pp. 667–669. doi: 10.1038/nsmb.1604
46. Le Roy C., Hélin N., Pereyre S., Bébéar C. Fluoroquinolone-resistant *Mycoplasma genitalium*, Southwestern France. *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 22, no. 9, pp. 1677–1679. doi: 10.3201/eid2209.160446
47. Legakis N.J., Tzouveleki L.S., Makris A., Kotsifaki H. Outer membrane alterations in multidrug-resistant mutants of *Pseudomonas aeruginosa* selected by ciprofloxacin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1989, vol. 33, no. 1, pp. 124–127.
48. Li S., Sun H., Liu F., Zhao H., Zhu B., Lv N. Complete genome sequence of the macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* strain C267 in China. *Genome Announc.*, 2016, vol. 4, no. 2: e00236-16. doi: 10.1128/genomeA.00236-16
49. Li X.Z. Quinolone resistance in bacteria: emphasis on plasmid-mediated mechanisms. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2005, vol. 25, no. 6, pp. 453–463. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2005.04.002
50. Liu X., Boothe D.M., Thungrat K., Aly S. Mechanisms accounting for fluoroquinolone multidrug resistance *Escherichia coli* isolated from companion animals. *Vet. Microbiol.*, 2012, vol. 161, no. 1–2, pp. 159–168. doi: 10.1016/j.vetmic.2012.07.019
51. Lupala C.S., Gomez-Gutierrez P., Perez J.J. Molecular determinants of the bacterial resistance to fluoroquinolones: a computational study. *Curr. Comput. Aided. Drug Des.*, 2013, vol. 9, no. 2, pp. 281–288. doi: 10.2174/15734099113099990004
52. Madurga S., Sánchez-Céspedes J., Belda I., Vila J., Giralt E. Mechanism of binding of fluoroquinolones to the quinolone resistance-determining region of DNA gyrase: towards an understanding of the molecular basis of quinolone resistance. *Chembiochem.*, 2008, vol. 9, no. 13, pp. 2081–2086. doi: 10.1002/cbic.200800041
53. Manhart L.E., Broad J.M., Golden M.R. *Mycoplasma genitalium*: should we treat and how? *Clin. Infect. Dis.*, 2011, no. 53, pp. 129–142. doi: 10.1093/cid/cir702
54. Marcusson L.L., Frimodt-Møller N., Hughes D. Interplay in the selection of fluoroquinolone resistance and bacterial fitness. *PLoS Pathog.*, 2009, vol. 5, no. 8:1000541. doi: 10.1371/journal.ppat.1000541
55. Medvedeva E.S., Baranova N.B., Mouzykantov A.A., Grigorieva T.Y., Davydova M.N., Trushin M.V., Chernova O.A., Chernov V.M. Adaptation of mycoplasmas to antimicrobial agents: *Acholeplasma laidlawii* extracellular vesicles mediate the export of ciprofloxacin and a mutant gene related to the antibiotic target. *Scientific World J.*, 2014, vol. 2014:150615. doi: 10.1155/2014/150615
56. Medvedeva E.S., Davydova M.N., Mouzykantov A.A., Baranova N.B., Grigoreva T.Y., Siniagina M.N., Boulygina E.A., Chernova O.A., Chernov V.M. Genomic and proteomic profiles of *Acholeplasma laidlawii* strains differing in sensitivity to ciprofloxacin. *Dokl. Biochem. Biophys.*, 2016, vol. 466, pp. 23–27. doi: 10.1134/S1607672916010075
57. Mihai M., Valentin N., Bogdan D., Carmen C.M., Coralia B., Demetra S. Antibiotic susceptibility profiles of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* isolated during a population-based study concerning women infertility in northeast Romania. *Braz. J. Microbiol.*, 2011, vol. 42, no. 1, pp. 256–260. doi: 10.1590/S1517-83822011000100032
58. Nakatani M., Mizunaga S., Takahata M., Nomura N. Inhibitory activity of garenoxacin against DNA gyrase of *Mycoplasma pneumoniae*. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2012, vol. 67, no. 8, pp. 1850–1852. doi: 10.1093/jac/dks140
59. Pagedar A., Singh J., Batish V.K. Efflux mediated adaptive and cross resistance to ciprofloxacin and benzalkonium chloride in *Pseudomonas aeruginosa* of dairy origin. *J. Basic Microbiol.*, 2011, vol. 51, no. 3, pp. 289–295. doi: 10.1002/jobm.201000292

60. Park S., Lee K.M., Yoo Y.S., Yoo J.S., Yoo J.I., Kim H.S., Lee Y.S., Chung G.T. Alterations of gyrA, gyrB, and parC and activity of efflux pump in fluoroquinolone-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Osong Public Health Res. Perspect.*, 2011, vol. 2, no. 3, pp. 164–170. doi: 10.1016/j.phrp.2011.11.040
61. Poirel L., Cattoir V., Nordmann P. Plasmid-mediated quinolone resistance; interactions between human, animal, and environmental ecologies. *Front Microbiol.*, 2012, vol. 3:24. doi: 10.3389/fmicb.2012.00024
62. Puig C., Tirado-Vélez J.M., Calatayud L., Tubau F., Garmendia J., Ardanuy C., Marti S., de la Campa A.G., Liñares J. Molecular characterization of fluoroquinolone resistance in nontypeable *Haemophilus influenzae* clinical isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2015, vol. 59, no. 1, pp. 461–466. doi: 10.1128/AAC.04005-14
63. Raheison S., Gonzalez P., Renaudin H., Charron A., Bébéar C., Bébéar C.M. Evidence of active efflux in resistance to ciprofloxacin and to ethidium bromide by *Mycoplasma hominis*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2002, vol. 46, no. 3, pp. 672–679. doi: 10.1128/AAC.46.3.672-679.2002
64. Raheison S., Gonzalez P., Renaudin H., Charron A., Bébéar C., Bébéar C.M. Increased expression of two multidrug transporter-like genes is associated with ethidium bromide and ciprofloxacin resistance in *Mycoplasma hominis*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2005, vol. 49, no. 1, pp. 421–424. doi: 10.1128/AAC.49.1.421-424.2005
65. Reinhardt A.K., Kempf I., Kobisch M., Gautier-Bouchardon A.V. Fluoroquinolone resistance in *Mycoplasma gallisepticum*: DNA gyrase as primary target of enrofloxacin and impact of mutations in topoisomerases on resistance level. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2002, vol. 50, no. 4, pp. 589–592. doi: https://doi.org/10.1093/jac/dkf158
66. Rice L.B. Mechanisms of resistance and clinical relevance of resistance to  $\beta$ -lactams, glycopeptides, and fluoroquinolones. *Mayo Clin. Proc.*, 2012, vol. 87, no. 2, pp. 198–208. doi: 10.1016/j.mayocp.2011.12.003
67. Rocha T.S., Bertolotti L., Catania S., Pourquier P., Rosati S. Genome sequence of a *Mycoplasma meleagridis* field strain. *Genome Announc.*, 2016, vol. 4, no. 2, pp. 16–17. doi: 10.1128/genomeA.00017-16
68. Rybak M.J. Pharmacodynamics: relation to antimicrobial resistance. *Am. J. Med.*, 2006, vol. 119, no. 6, pp. 62–70. doi: 10.1016/j.ajic.2006.05.227
69. Sahn D.F., Thornsberry C., Jones M.E., Karlowsky J.A. Factors influencing fluoroquinolone resistance. *Emerg. Infect. Dis.*, 2003, vol. 9, no. 12, pp. 1651–1654. doi: 10.3201/eid0912.030168
70. Saroj S.D., Clemmer K.M., Bonomo R.A., Rather P.N. Novel mechanism for fluoroquinolone resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2012, vol. 56, no. 9, pp. 4955–4957. doi: 10.1128/AAC.00739-12
71. Sato T., Yokota S., Okubo T., Ishihara K., Ueno H., Muramatsu Y., Fujii N., Tamura Y. Contribution of the AcrAB-TolC efflux pump to high-level fluoroquinolone resistance in *Escherichia coli* isolated from dogs and humans. *J. Vet. Med. Sci.*, 2013, vol. 75, no. 4, pp. 407–414.
72. Shimada Y., Deguchi T., Nakane K., Masue T., Yasuda M., Yokoi S., Ito S., Nakano M., Ito S., Ishiko H. Emergence of clinical strains of *Mycoplasma genitalium* harbouring alterations in ParC associated with fluoroquinolone resistance. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2010, vol. 36, no. 3, pp. 255–258. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2010.05.011
73. Simm R., Vörös A., Ekman J.V., Södring M., Nes I., Kroeger J.K., Saidijam M., Bettaney K.E., Henderson P.J., Salkinoja-Salonen M., Kolstø A.B. BC4707 is a major facilitator superfamily multidrug resistance transport protein from *Bacillus cereus* implicated in fluoroquinolone tolerance. *PLoS One*, 2012, vol. 7, no. 5:36720. doi: 10.1371/journal.pone.0036720
74. Smith J.L., Fratamico P.M. Fluoroquinolone resistance in campylobacter. *J. Food Prot.*, 2010, vol. 73, no. 6, pp. 1141–1152.
75. Swick M.C., Morgan-Linnell S.K., Carlson K.M., Zechiedrich L. Expression of multidrug efflux pump genes acrAB-tolC, mdfA, and norE in *Escherichia coli* clinical isolates as a function of fluoroquinolone and multidrug resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2011, vol. 55, no. 2, pp. 921–924. doi: 10.1128/AAC.00996-10
76. Tagg K.A., Jeffreys N.J., Couldwell D.L., Donald J.A., Gilbert G.L. Fluoroquinolone and macrolide resistance-associated mutations in *Mycoplasma genitalium*. *J. Clin. Microbiol.*, 2013, vol. 51, no. 7, pp. 2245–2249. doi: 10.1128/JCM.00495-13
77. Tkachenko O., Shepard J., Aris V.M., Joy A., Bello A., Londono I., Marku J., Soteropoulos P., Peteroy-Kelly M.A. A triclosan-ciprofloxacin cross-resistant mutant strain of *Staphylococcus aureus* displays an alteration in the expression of several cell membrane structural and functional genes. *Res. Microbiol.*, 2007, vol. 158, no. 8–9, pp. 651–658. doi: 10.1016/j.resmic.2007.09.003
78. Vranakis I., De Bock P.J., Papadioti A., Tselentis Y., Gevaert K., Tsiotis G., Psaroulaki A. Identification of potentially involved proteins in levofloxacin resistance mechanisms in *Coxiella burnetii*. *J. Proteome Res.*, 2011, vol. 10, no. 2, pp. 756–762. doi: 10.1021/pr100906v
79. Wasinger V.C., Pollack J.D., Humphery-Smith I. The proteome of *Mycoplasma genitalium*. Chaps-soluble component. *Eur. J. Biochem.*, 2000, vol. 267, no. 6, pp. 1571–1582. doi: 10.1046/j.1432-1327.2000.01183.x
80. Weinstein S.A., Stiles B.G. Recent perspectives in the diagnosis and evidence-based treatment of *Mycoplasma genitalium*. *Expert Rev. Anti. Infect. Ther.*, 2012, vol. 10, no. 4, pp. 487–499. doi: 10.1586/eri.12.20
81. Wolfson J.S., Hooper D.C. The fluoroquinolones: structures, mechanisms of action and resistance, and spectra of activity in vitro. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1985, vol. 28, no. 4, pp. 581–586.
82. Xie X., Zhang J. Trends in the rates of resistance of *Ureaplasma urealyticum* to antibiotics and identification of the mutation site in the quinolone resistance-determining region in Chinese patients. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2006, vol. 259, no. 2, pp. 181–186. doi: 10.1111/j.1574-6968.2006.00239.x
83. Yamaguchi Y., Takei M., Kishii R., Yasuda M., Deguchi T. Contribution of topoisomerase IV mutation to quinolone resistance in *Mycoplasma genitalium*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 57, no. 4, pp. 1772–1776. doi: 10.1128/AAC.01956-12
84. Yamane T., Enokida H., Hayami H., Kawahara M., Nakagawa M. Genome-wide transcriptome analysis of fluoroquinolone resistance in clinical isolates of *Escherichia coli*. *Int. J. Urol.*, 2012, vol. 19, no. 4, pp. 360–368. doi: 10.1111/j.1442-2042.2011.02933.x
85. Yamazaki T., Sasaki T., Takahata M. Activity of Garenoxacin against Macrolide-Susceptible and -Resistant *Mycoplasma pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2007, vol. 51, no. 6, pp. 2278–2279. doi: 10.1128/AAC.01561-06
86. Yang S., Clayton S.R., Zechiedrich E.L. Relative contributions of the AcrAB, MdfA and NorE efflux pumps to quinolone resistance in *Escherichia coli*. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2003, vol. 51, no. 3, pp. 545–556. doi: https://doi.org/10.1093/jac/dkg126

87. Ye G., Jiang Z., Wang M., Huang J., Jin G., Lu S. The resistance analysis of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in female reproductive tract specimens. *Cell Biochem. Biophys.*, 2014, vol. 68, no. 1, pp. 207–210. doi: 10.1007/s12013-013-9691-8
88. Zhang W., Baseman J.B. Transcriptional response of *Mycoplasma genitalium* to osmotic stress. *Microbiology*, 2011, vol. 157, no. 2, pp. 548–556. doi: 10.1099/mic.0.043984-0

---

**Автор:**

**Ваганова А.Н.**, младший научный сотрудник лаборатории молекулярно-биологических технологий отдела новых технологий ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, Санкт-Петербург, Россия.

**Author:**

**Vaganova A.N.**, Junior Researcher, Laboratory of Biomolecular Technologies, Department of New Technologies, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation.

---

Поступила в редакцию 05.05.2017  
Отправлена на доработку 15.05.2017  
Принята к печати 20.06.2017

---

Received 05.05.2017  
Revision received 15.05.2017  
Accepted 20.06.2017