

Agnieszka Chojecka, Katarzyna Jakubiec, Bożenna Jakimiak, Ewa Röhm-Rodowald, Krzysztof Kanclerski

## ZNACZENIE ZJAWISKA EFFLUX JAKO MECHANIZMU OPORNOŚCI BAKTERII NA SUBSTANCJE CZYNNNE ŚRODKÓW DEZYNFEKCYJNYCH

### SIGNIFICANCE OF THE EFFLUX PHENOMENON AS A MECHANISM OF BACTERIAL RESISTANCE ON ACTIVE SUBSTANCES OF BIOCIDES

Zakład Zwalczania Skażeń Biologicznych  
Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego –Państwowego Zakładu Higieny  
w Warszawie

#### STRESZCZENIE

Zjawisko efflux, wywołane obecnością pomp błonowych, jest jednym z mechanizmów warunkujących oporność bakterii na substancje czynne środków dezynfekcyjnych. Białka będące składnikami struktur pomp i systemów pomp zlokalizowane są w osłonach komórkowych bakterii. Pompy i systemy pomp pełnią funkcje transporterów usuwających m.in. substancje czynne środków dezynfekcyjnych z komórek bakterii.

Zjawisko aktywnego usuwania substancji czynnych środków dezynfekcyjnych opisano w przypadku takich grup substancji jak: czwartorzędowe sole amoniowe, biguanidyny, fenole i diamidyny. Nie zaobserwowano oporności bakterii, wywołanej zjawiskiem efflux, na alkohole, aldehydy, związki utleniające, chlorowce i ich pochodne.

Oporność bakterii na środki dezynfekcyjne może być warunkowana przez współdziałanie m.in. zjawiska efflux i ograniczonej dyfuzji. Występowanie współdziałania mechanizmów oporności na substancje antybakteryjne wśród bakterii może przyczyniać się do utrudnionego ich zwalczania. Zjawisko to może mieć znaczenie w przypadku rozprzestrzeniania się bakterii patogennych, co może nieść ze sobą zagrożenie epidemiczne.

**Słowa kluczowe:** oporność, efflux, substancje czynne, środki dezynfekcyjne, bakterie

#### WSTĘP

Dezynfekcja z zastosowaniem substancji chemicznych jest jednym z najbardziej rozpowszechnionych sposobów zwalczania zakażeń szpitalnych. Substancje czynne środków dezynfekcyjnych stosowane do eliminacji bakterii patogennych ze środowiska szpitalnego w pewnych warunkach tj. obecność zanieczyszczeń organicznych, nieprawidłowe przygotowanie preparatów dezynfekcyjnych mogą przyczyniać się do przeżywania bakterii i powstawania oporności.

#### ABSTRACT

Efflux phenomenon induced by the presence of efflux pumps is one of the bacterial resistance mechanisms against active substances of biocides. Proteins and protein systems create efflux pumps, which are connected with the cell envelope structure of bacteria. The efflux pump's function is transportation of active substances of disinfectants outside the bacterial cell. The biocides active substances rinsed out of bacterial cell by efflux were described for quaternary ammonium compounds, biguanides, phenols and diamidine. Bacterial resistance induced by efflux was not confirmed in the presence of such active substances like: alcohols, aldehydes, peroxides and chlorine compounds and their derivatives. Bacterial resistance to active substance of biocides can be caused by two or more resistance mechanisms i.e. efflux mechanisms and reduce diffusion.

The cooperation of resistance mechanisms to biocides can result difficulties in pathogenic bacteria eradication. The spread of these bacteria can be an epidemic threat.

**Key words:** resistance, efflux, active substances, disinfectants, bacteria

Bakterie wykształciły szereg mechanizmów oporności w odpowiedzi na obecność substancji antybakteryjnych. Mechanizmy te są wciąż przedmiotem badań. Wśród nich możemy wyróżnić: modyfikację miejsca docelowego działania substancji antybakteryjnej, enzymatyczną inaktywację substancji antybakteryjnej, zmiany w przepuszczalności osłon komórkowych bakterii oraz zjawisko efflux uwarunkowane występowaniem pomp błonowych w strukturach powierzchniowych mikroorganizmów (1, 2). W przypadku substancji czyn-

nych środków dezynfekcyjnych o oporności bakterii decydują głównie mechanizmy związane ze zmianami w przepuszczalności osłon komórkowych oraz zjawisko efflux (2).

Zmiany w przepuszczalności są związane ze zróżnicowaną strukturą osłon komórkowych bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych.

Aktywność pomp błonowych, odpowiedzialnych za mechanizm efflux, występujących w strukturach osłonowych bakterii warunkuje skuteczne usuwanie substancji antybakteryjnych: antybiotyków, barwników, substancji toksycznych, a także substancji czynnych środków dezynfekcyjnych na zewnątrz komórki (3, 4).

Mechanizmy oporności bakterii wynikają z ewolucyjnych zmian powstałych w odpowiedzi na obecność substancji antybakteryjnych w środowisku. Mechanizm oporności wywołany zjawiskiem efflux może mieć charakter wrodzony lub nabyty. Wrodzona oporność bakterii związana z występowaniem tego mechanizmu jest charakterystyczną cechą danego gatunku. Oporność nabyta nie jest charakterystyczna dla wszystkich szczepów danego gatunku (5). Występowanie mechanizmu efflux jest związane z obecnością genów oporności w chromosomie bakterii jak i z genami znajdującymi się w ruchomych elementach genetycznych, takich jak plazmidy, transpozony czy sekwencje insercyjne (6). Geny kodujące białka pomp błonowych znajdujące się w plazmidach mogą być nabywane przez bakterie i podlegać w nich replikacji. Mogą także integrować do chromosomu bakterii. Zjawisko integracji plazmidowego genu *qacA* do chromosomu zaobserwowano u bakterii z rodzaju *Staphylococcus*. Geny *qacA* warunkują występowanie pompy błonowej odpowiedzialnej za usuwanie kationowych środków dezynfekcyjnych, m.in. czwartorzędowych soli amoniowych, diamidyn i biguanidyn (6, 7).

Niniejsza praca ma na celu przedstawienie mechanizmów oporności w kontekście klasyfikacji i występowania pomp błonowych zaangażowanych w aktywne usuwanie substancji czynnych środków dezynfekcyjnych.

Poznanie mechanizmów nabywania oporności mikroorganizmów, wykształconych w wyniku obecności w obszarze stosowania substancji czynnych środków dezynfekcyjnych lub antybiotyków, może przyczynić się do skutecznego zwalczania tych patogenów, a co za tym idzie zmniejszenia ryzyka zakażenia i zwiększenia skuteczności leczenia.

## POMPY BŁONOWE I ZJAWISKO „EFFLUX”

Oporność bakterii na substancje antybakteryjne nie zawsze wynika z występowania tylko jednego mechanizmu oporności. Zjawisko współdziałania mechanizmów oporności zaobserwowano u bakterii Gram-ujemnych

(8). Współdziałanie dotyczyło mechanizmów ograniczonej dyfuzji (obniżona przepuszczalność błony zewnętrznej) i aktywnego transportu substancji na zewnątrz komórki (efflux) (8, 9).

Oporność bakterii wynikająca ze zróżnicowanej przepuszczalności osłon komórkowych związana jest z dyfuzją związków antybakteryjnych do wnętrza komórki. U bakterii Gram-dodatnich dyfuzja tych substancji odbywa się na zasadzie biernego transportu do wnętrza komórki. Miejsca docelowe dla substancji czynnych środków dezynfekcyjnych mogą znajdować się na zewnątrz komórki lub w zewnętrznej warstwie błony cytoplazmatycznej. Transport związków antybakteryjnych u bakterii Gram-ujemnych odbywa się przez kanały białek porynowych. Wynika to z obecności błony zewnętrznej w strukturach osłonowych bakterii Gram-ujemnych. Zjawisko oporności bakterii Gram-ujemnych na substancje antybakteryjne może być spowodowane zmniejszeniem liczby kanałów porynowych, co prowadzi do ograniczonej dyfuzji tych substancji do wnętrza komórki (1, 9).

Zjawisko efflux polegające na aktywnym usuwaniu związków antybakteryjnych z komórki zachodzi dzięki pompom błonowym. Pompy błonowe wykazują zróżnicowaną specyficzność i zakres substratowy. Mogą uczestniczyć w usuwaniu określonych substratów (mechanizm specyficzny) lub usuwać szeroki zakres substratów (mechanizm niespecyficzny) (1,10).

Pompy błonowe aktywnie usuwające substancje antybakteryjne, w tym także substancje czynne środków dezynfekcyjnych, zostały sklasyfikowane, m.in. na podstawie budowy i funkcji tworzących je białek, do pięciu rodzin: MFS – *Major Facilitator Superfamily*, SMR – *Small-Multidrug Resistance*, ABC – *ATP Binding Cassette*, MATE – *Multidrug and Toxic Compounds Extrusion* oraz RND – *Resistance-Nodulation-Cell Division*. Pompy te zasilane są przez transmembranowy gradient protonowy (MFS, RND, SMR), lub gradient sodowy (MATE), a także przez hydrolizę ATP przy udziale ATP-azy (ABC) (4, 10).

Spośród wszystkich rodzin pomp, systemy RND bakterii Gram-ujemnych, charakteryzują się najszerszym zakresem substratowym, który obejmuje usuwanie antybiotyków, barwników, substancji czynnych środków dezynfekcyjnych i antyseptycznych. Systemy pomp bakterii Gram-ujemnych zaliczane do rodziny RND składają się z trzech elementów: białek błony cytoplazmatycznej, białek błony zewnętrznej oraz białek przestrzeni peryplazmatycznej. Białka błony cytoplazmatycznej aktywnie usuwają substancje antybakteryjne na zewnątrz komórki tylko w połączeniu z białkami błony zewnętrznej, które tworzą kanały dyfuzyjne. Połączenie to jest możliwe dzięki obecności białek adaptorowych przestrzeni peryplazmatycznej (11). Zaobserwowano, że oporność *E. coli* na akryfla-

winę i bromek etyldyny jest wynikiem współdziałania pojedynczych transporterów EmrE i MdfA oraz systemu pomp AcrAB-TolC. Białka membranowe transportują barwniki z cytoplazmy do przestrzeni peryplazmatycznej, gdzie są wychwytywane przez system AcrAB-TolC i transportowane przez błonę zewnętrzną na zewnątrz komórki (12). Współdziałanie mechanizmów ograniczonej dyfuzji i zjawiska efflux jak również synchronizacja działania pojedynczych transporterów i systemów pomp błonowych ma szczególne znaczenie w powstawaniu zjawiska wielolekooporności (MDR-*multidrug resistance*). Szeroka specyficzność substratów transporterów i systemów pomp błonowych bakterii Gram-ujemnych w odniesieniu do substancji czynnych środków dezynfekcyjnych może przyczyniać się do występowania oporności na te substancje (11).

Uważa się, że zjawisko oporności wynikające tylko z ograniczonej dyfuzji ma niewielkie znaczenie kliniczne i epidemiologiczne. Natomiast w połączeniu z innymi mechanizmami oporności, m.in. takimi jak aktywność pomp błonowych może znacząco przyczyniać się do podwyższenia oporności bakterii wobec substancji antibakteryjnych (1). W przypadku pomp błonowych zjawisko efflux przyczynia się do znacznego zwiększenia oporności u bakterii tylko wówczas, gdy jest spowodowane zwiększoną aktywnością pomp (1, 8). Zjawisko nadekspresji pomp może być wywołane przez mutacje w genach białek regulatorowych (mutacje punktowe, delecje, inwersje, insercje itp.), co prowadzi do zwiększonej aktywności pomp i tym samym do zwiększonej oporności bakterii na antibiotyki i środki dezynfekcyjne (4). Współdziałanie mechanizmów oporności zaobserwowano u *Enterobacter* spp. Oporność na ceftriakson i cefotaksym była wywołana nadekspresją genu *ampC* zlokalizowanego w chromosomie, odpowiadającego za produkcję  $\beta$ -laktamaz. Występowanie oporności na cefepim zależało od nadekspresji genu *ampC*, ograniczenia liczby kanałów porynowych (Omp 39-40) i mechanizmu efflux (13, 14). Podobnie w przypadku izolatów klinicznych *P. aeruginosa* opornych na karbapenemy dochodziło do współdziałania mechanizmów oporności: nadprodukcji  $\beta$ -laktamaz, ograniczenia liczby kanałów porynowych OprD i aktywacji systemu MexAB-OprM (14). Zjawisko współdziałania mechanizmów oporności zaobserwowano u szczepu *E. coli* w przypadku triklosanu szeroko stosowanego jako środek antyseptyczny. Oporność była wywołana zmianami w przepuszczalności błony komórkowej i zjawiskiem efflux (15). Obserwowano także zmiany w ekspresji białka błony zewnętrznej (OprR) *P. aeruginosa* w odpowiedzi na obecność czwartorzędowych soli amoniowych. (9). Zjawisko współdziałania mechanizmów oporności może mieć znaczenie w przypadku substancji

czynnych środków dezynfekcyjnych zwłaszcza, że uważa się, że mechanizm działania substancji czynnych środków dezynfekcyjnych nie jest specyficzny i polega na jednoczesnym oddziaływaniu substancji czynnych z wieloma miejscami docelowymi w komórce bakteryjnej (15).

## ŚRODKI DEZYNFEKCYJNE A MECHANIZM EFFLUX, SPOSÓB NABYWANIA OPORNOŚCI BAKTERII

Środki dezynfekcyjne i antyseptyczne są szeroko wykorzystywane w różnych obszarach: medycznym, weterynaryjnym oraz spożywczym, przemysłowym, domowym i instytucjonalnym. Znalazły one zastosowanie we wszystkich obszarach publicznych, gdzie do dezynfekcji nie ma wskazań medycznych oraz do produktów używanych w przemyśle biotechnologicznym, farmaceutycznym i kosmetycznym. Środki dezynfekcyjne i antyseptyczne stosuje się w produkcji i konserwacji żywności oraz produkcji zwierzęcej (16). O ich skuteczności biobójczej decyduje obecność i rodzaj substancji czynnych oraz ich stężenie. Dopuszczenie substancji czynnych do zastosowania w produkcji środków biobójczych reguluje Dyrektywa 98/8/EC (17). Jednak w odróżnieniu od antibiotyków zużycie środków dezynfekcyjnych nie jest regularnie monitorowane i ilości zużywanych substancji czynnych środków biobójczych w poszczególnych obszarach pozostają nieznanne. W związku ze wzrastającym wykorzystaniem środków dezynfekcyjnych zużycie substancji czynnych wykazuje tendencje wzrostowe (16). Taki stan rzeczy oraz stosowanie środków dezynfekcyjnych w niskich stężeniach lub środków o niskiej aktywności bakterio-bójczej może sprzyjać występowaniu oporności bakterii w odpowiedzi na obecność substancji czynnych w środowisku. Występowanie mechanizmów oporności bakterii stwierdzono w przypadku takich substancji czynnych jak: czwartorzędowe sole amoniowe m.in. chlorek benzalkoniowy; biguanidyny m.in. chlorheksydyna oraz diamidyny, triklosan i inne związki fenolowe (18). W obszarze medycznym substancje te są stosowane głównie do dezynfekcji powierzchni i narzędzi oraz w antyseptyce i do dezynfekcji rąk. W niskich stężeniach znalazły również zastosowanie jako substancje konserwujące o działaniu antibakteryjnym w przemyśle kosmetycznym i farmaceutycznym (16).

Oporność bakterii na ww. substancje czynne środków dezynfekcyjnych była wywołana przez zjawisko ich aktywnego usuwania z komórki (efflux). Został opisany cały szereg pomp, dla których substratami były substancje czynne środków dezynfekcyjnych i/lub antibiotyki (2, 18).

Oporność bakterii na czwartorzędowe sole amoniowe zależała m.in. od występowania pomp błonowych zaliczanych do rodziny SMR, (podklasa białek SMP - small multidrug pumps), a kodowanych przez geny *qac* (A, B, C, E, E $\Delta$ 1, F, G, H, J). Geny te były zidentyfikowane w plazmidach lub w integronach szczepów antybiotykoopornych. Oporność na czwartorzędowe sole amoniowe u szczepów z rodzaju *Staphylococcus* wynikała z obecności białek błonowych: SmrEbr/QacC/QacD (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pasteurii*, *S. warneri*) i QacJ (*S. simulans*, *S. intermedius*, *S. aureus*) (19). Oporność na czwartorzędowe sole amoniowe związaną z występowaniem pomp błonowych Qac (E, E $\Delta$ 1, F, G) stwierdzono u wielu gatunków bakterii Gram-ujemnych m.in. *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. enterica* serowar Typhimurium, *Aeromonas* spp., *P. vulgaris*, *E. aerogenes*, *Campylobacter* spp., *H. pylori* i innych (18). W przypadku chlorku benzalkoniowego oporność bakterii wywołaną mechanizmem efflux odnotowano u *P. aeruginosa* w obecności pompy błonowej – PmpM zaliczanej do rodziny MATE oraz u *E. coli*, u której stwierdzono obecność pompy błonowej EmrE z rodziny SMR (19, 20). Geny kodujące pompy PmpM i EmrE znajdowały się w chromosomie ww. bakterii. Oporność Gram-dodatniej bakterii *E. faecalis* na chlorek benzalkoniowy była uwarunkowana obecnością transportera EmeA, zaliczanego do rodziny MFS (21).

Oporność na diamidyny u *S. aureus* była spowodowana występowaniem pompy błonowej MepA zaliczanej do rodziny transporterów MATE (18). Geny kodujące białka tej pompy zostały zlokalizowane w chromosomie *S. aureus*. Pompa MepA warunkowała oporność na tetracykliny, antybiotyki makrolidowe i fluorochinolony, a także na takie substancje czynne jak chlorek benzalkoniowy i zaliczaną do biguanidyn chlorheksydynę (4, 22).

Chlorheksydyna jest szeroko stosowana do dezynfekcji skóry, higienicznego mycia rąk i w higienie jamy ustnej. Oporność na chlorheksydynę zaobserwowano u *K. pneumoniae* posiadającej pompę błonową determinowaną występowaniem genów *cepA*. Oporność na tą substancję czynną jest rozpowszechniona wśród innych patogennych szczepów bakterii Gram-ujemnych: *S. flexneri*, *Y. pestis*, *S. enterica*, *V. cholerae*. W przypadku tych bakterii była ona determinowana przez białko „CepA-like protein” (18). Zróżnicowaną oporność na chlorheksydynę stwierdzono u Gram-ujemnej bakterii *Burkholderia cenocepacia* tworzącej błonę biologiczną u pacjentów chorych na mukowiscydozę. Oporność *B. cenocepacia* na chlorheksydynę była większa w błonie biologicznej niż w zawiesinie tych bakterii i wynikała z obecności odmiennych systemów pomp zaliczanych do rodziny RND (23).

Oporność na związki fenolowe w tym triklosan stwierdzono u *E. coli* posiadającej system transporto-

wy AcrAB-TolC. Oporność *P. aeruginosa* na triklosan była spowodowana występowaniem systemów pomp błonowych: MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN. Uzyskano mutanty *P. aeruginosa* PAO 200, których oporność na triklosan była spowodowana obecnością tych systemów pomp. Wszystkie mutanty charakteryzowały się wielolekoopornością. Wymienione systemy pomp zaliczane są do rodziny RND (4, 24). Jako wielosubstratowe systemy pomp, wykazujące powinowactwo zarówno do antybiotyków jak i do substancji czynnych środków dezynfekcyjnych, mogą przyczyniać się do występowania oporności krzyżowej (cross-resistance) czyli jednoczesnej oporności na substancje czynne środków dezynfekcyjnych i antybiotyki. Zjawisko cross-resistance wywołane mechanizmem efflux obserwowano również u *Campylobacter* spp. i *Salmonella* spp. w przypadku triclosanu oraz u *P. stutzerii* w odniesieniu do chlorheksydyny (18, 25). Uważa się, że u bakterii Gram-dodatnich zjawisko to nie stanowi klinicznego problemu. Obserwowano, że metycylinooporny szczep *S. aureus* był skutecznie zwalczany z zastosowaniem triklosanu. Oporność na triklosan uzyskana w warunkach laboratoryjnych nie powodowała równoczesnej oporności na antybiotyki (26). Istnieją jednak doniesienia na temat istnienia korelacji pomiędzy zwiększonym poziomem oporności (MIC) szczepów *S. aureus* na oksacylinę, a opornością na niektóre antyseptyki (chlorheksydyna, chlorek benzalkoniowy, akryflawina) (27). W przypadku *S. aureus* występowała oporność na antybiotyki  $\beta$ -laktamowe i czwartorzędowe sole amoniowe. Oporność na czwartorzędowe sole amoniowe była wywołana obecnością genów *qac* (A, B, C/smr), natomiast oporność na antybiotyki  $\beta$ -laktamowe była spowodowana obecnością genu *blaZ* odpowiedzialnego za produkcję  $\beta$ -laktamaz oraz genów regulatorowych *blaI* i *blaR*. Zarówno geny *qac* jak i geny *blaZ*, *blaI* i *blaR* były zidentyfikowane w jednym plazmidzie, co powodowało jednoczesną oporność gronkowców na czwartorzędowe sole amoniowe i antybiotyki  $\beta$ -laktamowe. Geny *blaZ* oraz *blaI*, i *blaR* odpowiedzialne za produkcję  $\beta$ -laktamaz były zidentyfikowane w plazmidach i w transpozonach (7, 28). Pompa błonowa QacA została zidentyfikowana w klinicznym szczepie *S. aureus* MRSA. Nie stwierdzono jednak związku pomiędzy obniżoną wrażliwością tego szczepu na antybiotyki i substancje czynne środków dezynfekcyjnych (29).

Oporności bakterii na dany środek dezynfekcyjny jest związana z siłą jego działania uzależnioną od charakteru substancji czynnej i jej stężenia. W praktyce dezynfekcyjnej polegającej na stosowaniu środków dezynfekcyjnych w stężeniach bójczych występowanie oporności bakterii wynika z oporności wrodzonej związanej z budową osłon komórkowych (*Mycobacterium* spp.), wytwarzaniem zarodników (*Bacillus* spp.), czy

zdolnością bakterii do tworzenia błony biologicznej. Siła działania środka dezynfekcyjnego i odpowiednio wyznaczone parametry użytkowe (stężenie i czas kontaktu) zapobiegają przeżyciu tych mikroorganizmów, a tym samym występowaniu oporności na daną substancję czynną (30, 31).

Oporność bakterii wywołaną zjawiskiem efflux obserwowano głównie w przypadku substancji czynnych środków dezynfekcyjnych o niskim poziomie dezynfekcji, wykazujących skuteczność bójczą głównie wobec wegetatywnych form bakterii. Nie odnotowano występowania oporności bakterii wywołanej mechanizmem efflux wobec substancji czynnych środków dezynfekcyjnych o wysokiej skuteczności bójczej takich jak: alkohole, aldehydy, chlorowce i ich pochodne oraz związki utleniające (31, 32). Nie mniej jednak występowanie oporności bakterii wykształconej w warunkach stosowania subletalnych stężeń substancji czynnych środków dezynfekcyjnych, wywołanej mechanizmem efflux, może mieć wpływ na jakość procesów dezynfekcji i zwalczanie bakterii patogennych (32).

### WNIOSKI

1. Mechanizm efflux odpowiada za występowanie oporności bakterii na substancje czynne środków dezynfekcyjnych o niskim poziomie dezynfekcji.
2. Współdziałanie mechanizmów efflux i ograniczonej dyfuzji oraz zjawisko oporności krzyżowej decyduje o występowaniu oporności bakterii Gram-ujemnych na antybiotyki i substancje czynne środków dezynfekcyjnych.
3. Stosowanie preparatów dezynfekcyjnych zgodnie z zalecanymi stężeniami użytkowymi warunkuje skuteczne zwalczanie bakterii patogennych i zapobiega występowaniu oporności bakterii na substancje czynne środków dezynfekcyjnych.
4. Poznanie mechanizmu efflux w kontekście oporności bakterii na substancje czynne środków dezynfekcyjnych może być pomocne w opracowywaniu nowych metod skutecznej dezynfekcji opornych szczepów bakterii oraz postępowania higienicznego służącego zapobieganiu rozprzestrzeniania się tych bakterii.

### PIŚMIENNICTWO

1. Hooper DC. Efflux Pumps and Nosocomial Antibiotic Resistance: A Primer for Hospital Epidemiologists. *Healthcare Epidemiol* 2005; 40: 1811-1817.
2. Poole K. Mechanisms of bacterial biocide and antibiotic resistance. *J Appl Microbiol Symp Suppl* 2002; 92: 55S-64S.
3. Levy SB. Active efflux, a common mechanisms for biocide and antibiotic resistance. *J Appl Microbiol Symp Suppl* 2002; 92:65S-71S.
4. Wasążnik A., Grinholc M., Bielawski KP. Czynne usuwanie leku z komórki jako jeden z mechanizmów oporności bakterii na środki przeciwdrobnoustrojowe i metody jego zwalczania. *Post Hig Med Dośw* 2009; 63: 123-133.
5. Saier M.H., Plausen I.T., Sliwinski M.K., Pao S.S., Skurray R.A., Nikaido H. Evolutionary origins of multidrug and drug specific efflux pumps in bacteria. *FASEB* 1998; 12: 265-74.
6. Russell A.D. Plasmids and bacterial resistance to biocide. *J Appl Microbiol* 1997; 82: 155-165.
7. Sidhu MS., Heir E., Leegaard T., i in. Frequency of disinfectant resistance genes and genetic linkage with  $\beta$ -lactamase transpozon Tn552 among Clinical *Staphylococci*. *Antimicrob Agents and Chemother* 2002; 46: 2797-2803.
8. Zgurskaya HI. Nikaido H. Multidrug resistance mechanisms: drug efflux across two membranes. *Mol Microbiol* 2000; 37: 219-225.
9. Tabata A., Nagamune H., Maeda T. i in. Corelation between resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to quaternary ammonium compounds and expression of outer membrane protein OprR. *Antimicrob Agents and Chemother* 2003; 47:2093-2099.
10. Kumar A, Schweizer H.P. Bacterial resistance to antibiotics: Active efflux and reduced uptake. *Advanced Drug Delivery Rev* 2005; 57: 1486-1513.
11. Blair JMA., Piddock JV. Structure, function and inhibition of RND efflux pumps in Gram-negative bacteria: an update. *Current Opinion in Microbiology* 2009; 12: 512-519.
12. Tal N, Schuldiner S. A coordinated network of transporters with overlapping specificities a robust survival strategy. *Proc Natl Acad Sci* 2009; 106: 9051-9056.
13. Fung-Tomc J.C., Gradelski E., Huczko E., Dougherty T.J., Kessler R.E., Bonner D.P. Differences in the resistant variants of *Enterobacter cloacae* selected by extended-spectrum cephalosporins. *Antimicrob Agents and Chemother* 1996; 40:1289-24.
14. Jacoby GA. AmpC  $\beta$ -Lactamases. *Clin Microbiol Rev* 2009; 22: 161-182.
15. Gomez Escalada M., Russell A.D., Maillard J-Y., Ochs D. Triclosan-bacteria interactions: single or multiple target sites? *Lett Appl Microbiol* 2005; 41: 476-481.
16. Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks Assessment of the Antibiotic Resistance Effects of Biocide. 2009; [http://ec.europa.eu/health/ph\\_risk/committees/04\\_scenihp/docs/scenihp\\_o\\_021.pdf](http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_scenihp/docs/scenihp_o_021.pdf).
17. Directive 98/8/EC of the European parliament and of the council of 16 Febuary 1998 concerning the placing of biocidal products on the market. *Official Journal of the European Communities* 24.4.98.
18. Poole K. Efflux-mediated antimicrobial resistance. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56: 20-51.
19. Bay DC., Rommens KL., Turner RJ. Small multidrug resistance proteins: A multidrug transporter family that continues to grow. *Bioch et Bioph Acta* 2008; 1814-1838.

20. He GX., Kuroda T., Mima T., Morita Y., i in. An H<sup>+</sup>-Coupled multidrug efflux pump, PmpM, a member of the MATE family of transporters, from *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* 2004; 186: 262-265.
21. Jonas BM., Murray BE., Weinstock GM. Characterization of emeA, norA homolog and multidrug resistance efflux pump, in *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents and Chemother* 2001; 45:3574-3479.
22. Kuroda T., Tsuchiya T. Multidrug efflux transporters in the MATE family. *Bioch et Bioph Acta* 2009; 1794: 763-768.
23. Coenye T., Acker VH., Peters E., i in. Molecular mechanisms of chlorhexidine tolerance in *Burkholderia cenocepacia* biofilms. *Antimicrob Agents and Chemother* 2011: 1912-1919.
24. Chuanchuen R., Beinlich K., Hoang TT. i in. Cross-resistance between triclosan and antibiotics in *Pseudomonas aeruginosa* is mediated by multidrug efflux pumps: exposure of a susceptible mutant strain to triclosan selects nfxB mutants overexpressing MexCd-OprJ. *Antimicrob Agents and Chemother* 2001; 45: 428-432.
25. Fraud S., Campigotto AJ., Chen Z., Poole K. MexCD-OprJ Multidrug Efflux System of *Pseudomonas aeruginosa*: Involvement in Chlorhexidine Resistance and Induction by Membrane-Damaging Agents Dependent upon the AlgU Stress Response Sigma Factor. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52: 4478-4482.
26. Suller MTE., Russell AD. Triclosan and antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 2000; 46: 11-18.
27. Stefańska J. Oporność gronkowców złocistych na środki przeciwbakteryjne. *Biul. Wydz..Farm. AMW* 2003; 3: 18-24.
28. Ciric L., Multany P., Roberts AP. Antibiotic and antiseptic resistance genes are linked on a novel mobile genetic element: Tn6087. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66: 2235-2239.
29. Costa SS., Ntokou E., Martins A., Viveiros M. i in. Identification of the plasmide-encoded qucA efflux pump gene in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strain HPV107, a representative of the MRSA Iberian clone. *Inter J of Antimicrob Agents* 2010; 36: 557-561.
30. McDonnell G., Russell D. Antiseptics and disinfectant: Activity, Actions, and Resistance. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12: 147-179.
31. Rodowald-Röhm E., Jakimiak B., Chojecka A., Podgórska M. Biobójcze substancje czynne w preparatach dezynfekcyjnych. *Zakażenia* 2009; 9: 10-16.
32. Maillard J-Y. Bacterial resistance to biocides in the healthcare environment: should it be of genuine concern? *J Hosp Infect* 2007; 65: 60-72.

Otrzymano: 13.10.2011 r.

Zaakceptowano do druku: 2.03.2012 r.

**Adres do korespondencji:**

Dr Agnieszka Chojecka  
Zakład Zwalczania Skazań Biologicznych  
Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego-Państwowy  
Zakład Higieny  
ul. Chocimska 24  
00-791 Warszawa  
e-mail: achojecka@pzh.gov.pl