



A bakteriális efflux pumpák szerepe a multidrog rezisztenciában

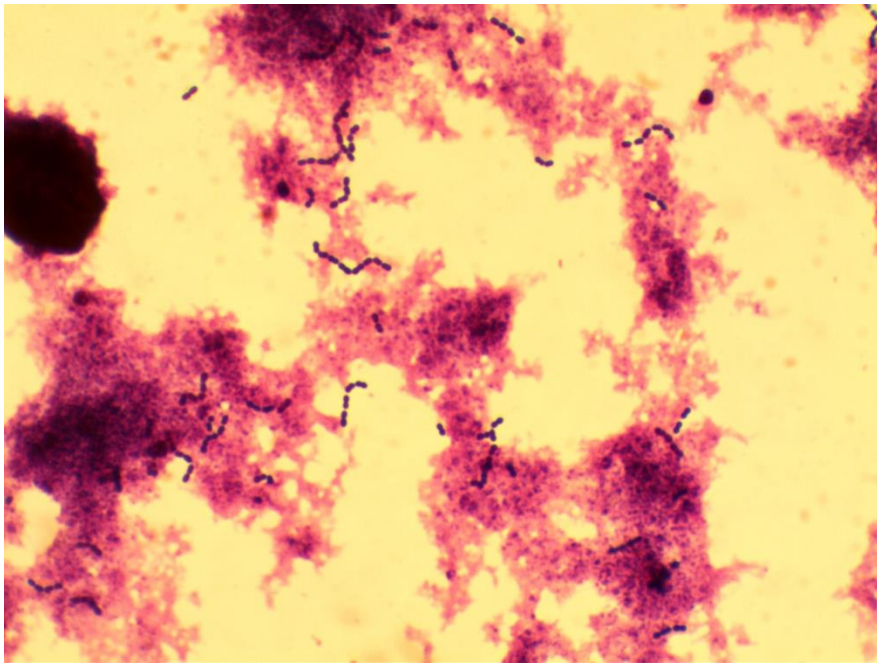


MIKROBIOLÓGIA jelentősége a mindennapokban

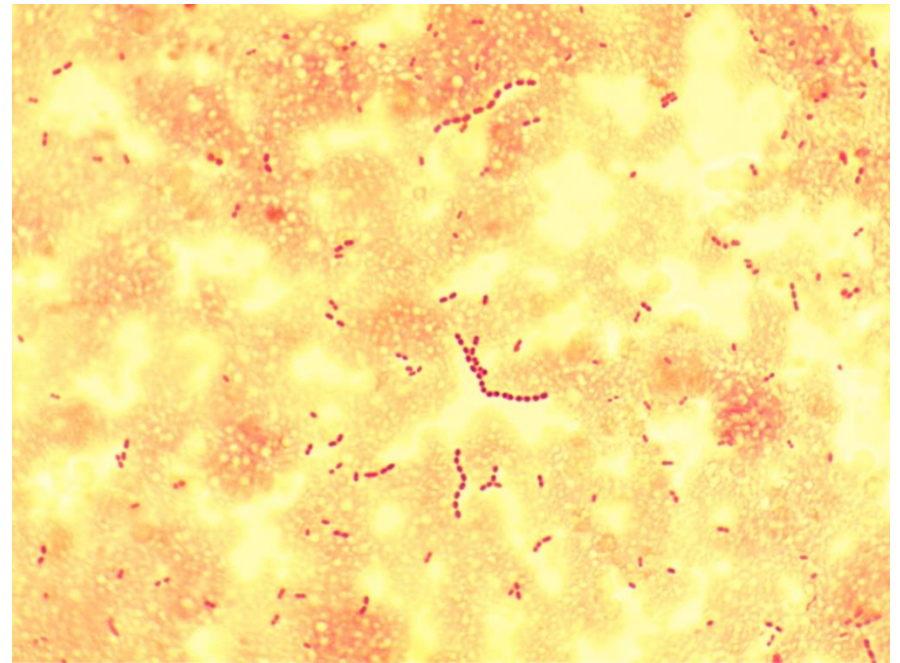


- Otthon:
 - konyhai műveletek (például kelt tészták, megfelelő hőkezelés, tartósítás)
 - kozmetikumok
- Természet
- Környezet
- Egészségügy (például fertőző megbetegedések kezelése, fertőzések prevenciója)

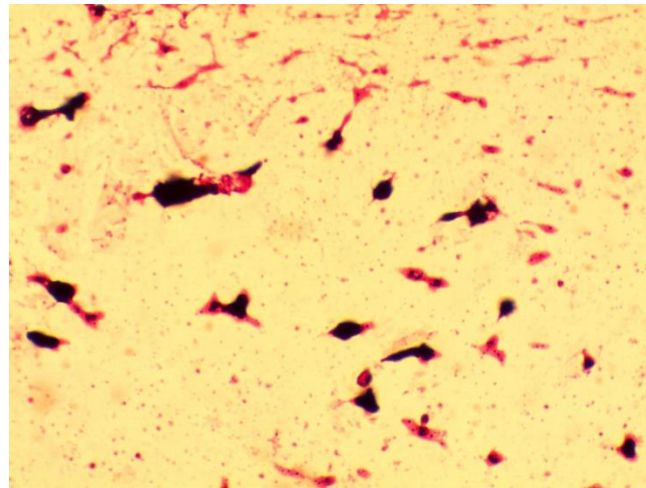




Joghurt



Kefir



Sör



BEVEZETÉS

MULTIDROG REZISZTENCIA

GRAM-NEGATÍV BAKTÉRIUMOK EFFLUX PUMPÁI

EFFLUX PUMPA GÁTLÓK

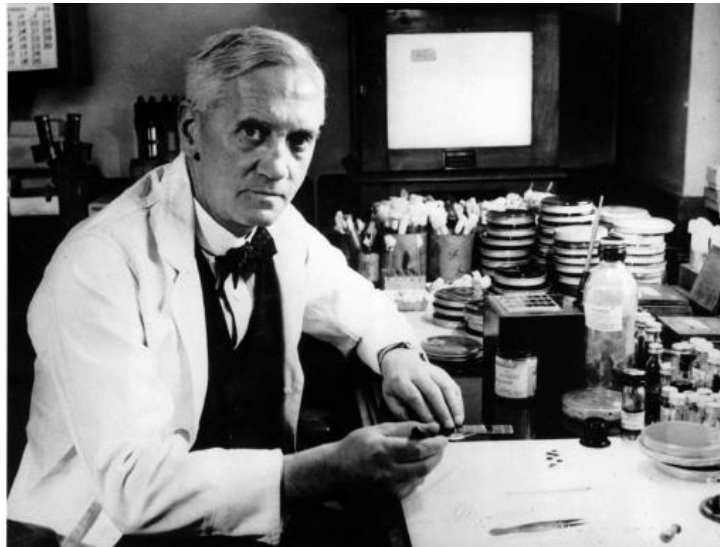
EGYÉB VIRULENCIA FAKTOROK GÁTLÁSA

ÖSSZEFOGLALÁS

1. Bevezetés

- 1945. december 11: Fleming Nobel-díjas előadása

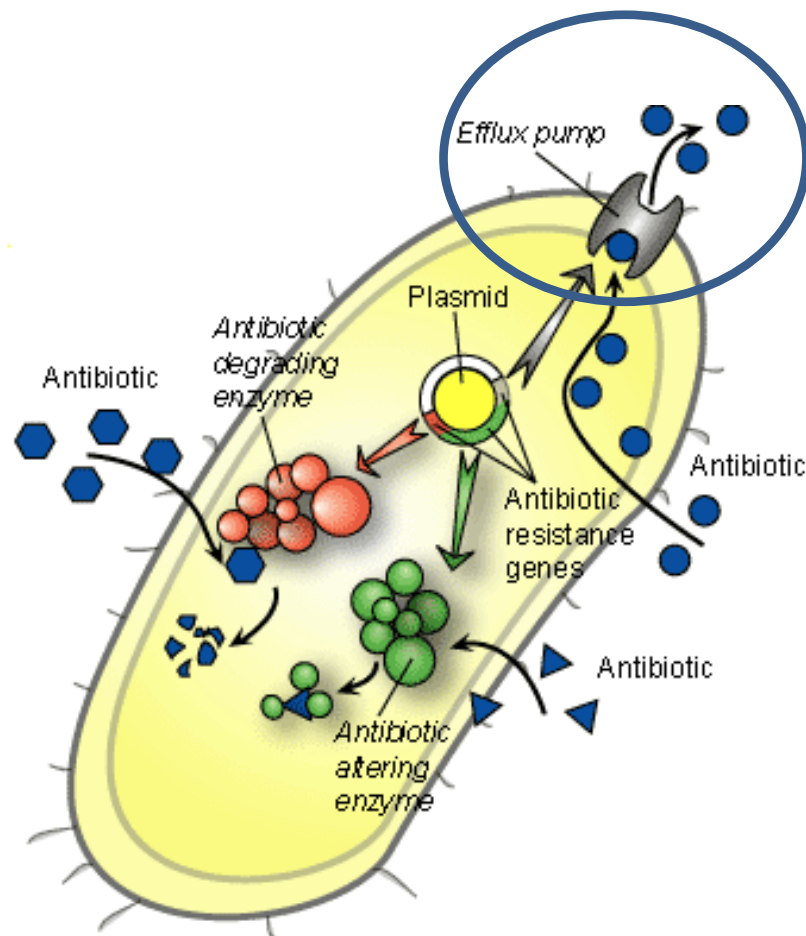
„But I would like to sound one note of warning. Penicillin is to all intents and purposes non-poisonous [...]. **It is not difficult to make microbes resistant to penicillin in the laboratory** by exposing them to concentrations not sufficient to kill them, and the same thing has occasionally happened in the body.”



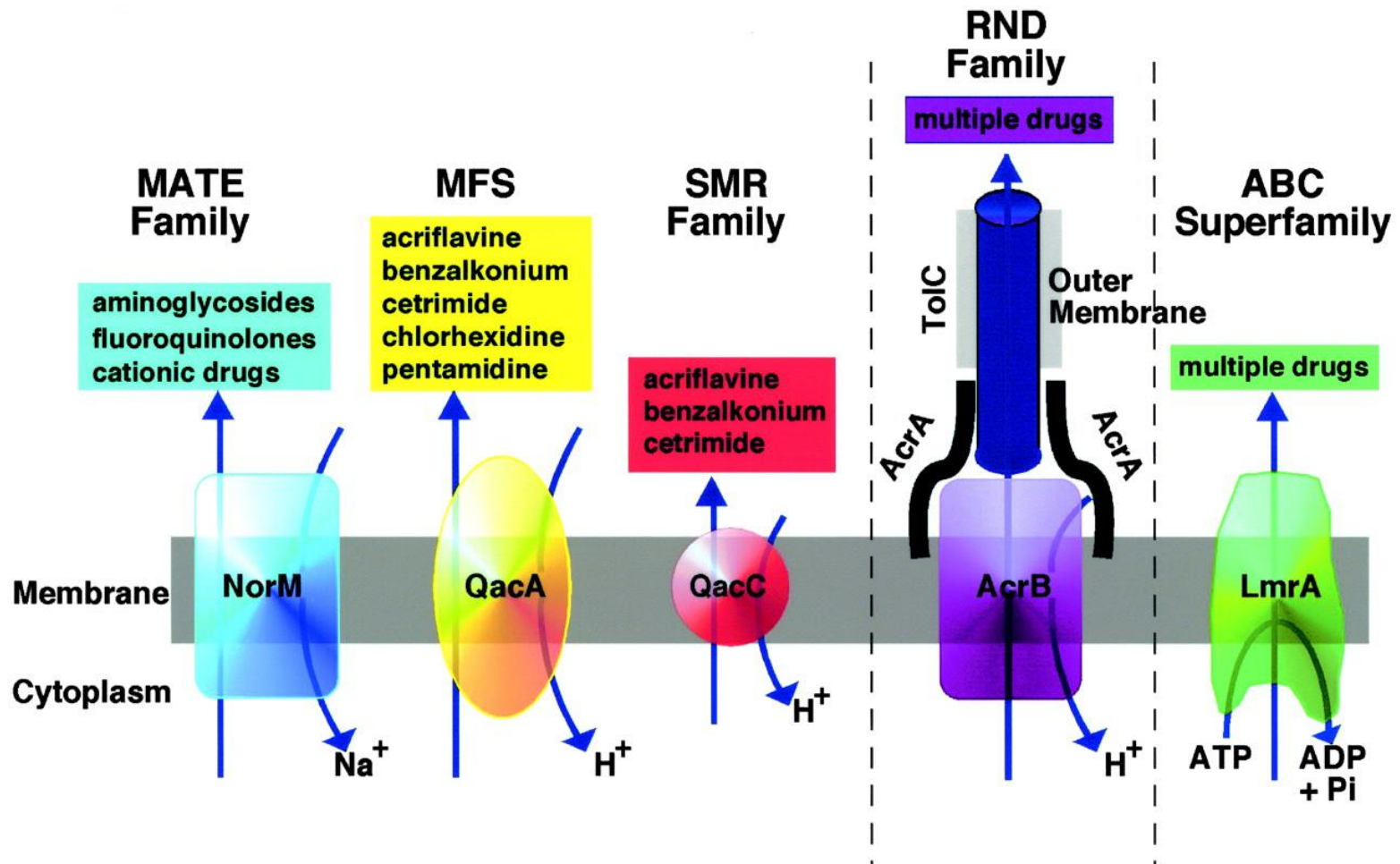
2. Multidrog rezisztencia

Az antibiotikum rezisztencia lehetséges útjai:

- A hatóanyag elbontása, enzimatis inaktiválás (extra- vagy intracelluláris)
- A hatásos koncentráció kialakulásának megakadályozása:
 - ❖ a membrán átjárhatóságának változása
 - ❖ aktív kiáramoltatás (efflux)
- Az antibiotikum támadáspontjának védelme
 - ❖ a támadáspont módosítása
 - ❖ a biokémiai folyamatláncok módosulása



Efflux pumpákhöz köthető rezisztencia



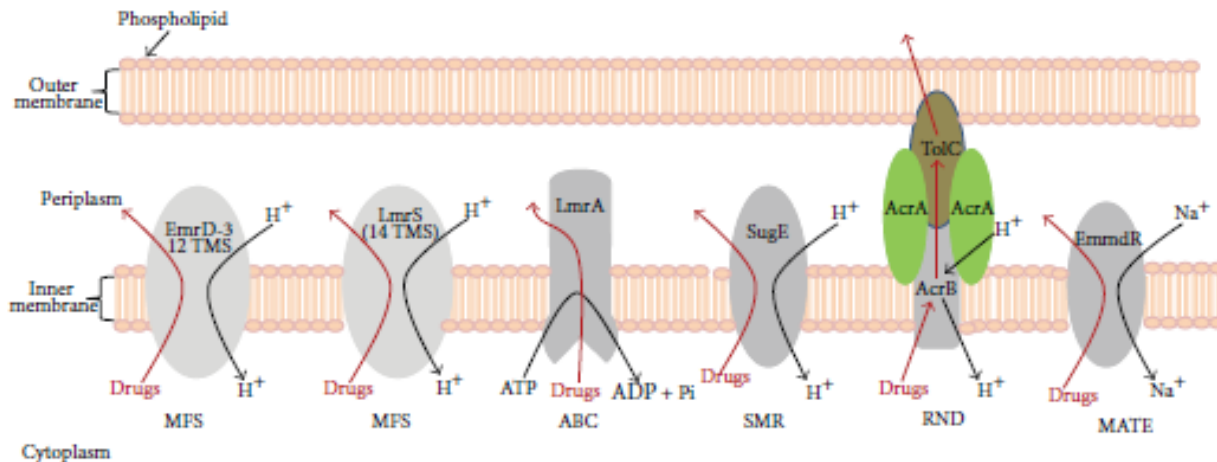
Clinical Microbiology
Reviews

Clinically Relevant Chromosomally
Encoded Multidrug Resistance Efflux
Pumps in Bacteria

Laura J. V. Piddock
Clin. Microbiol. Rev. 2006, 19(2):382. DOI:
10.1128/CMR.19.2.382-402.2006.

Efflux pumpák szupercsaládjai

- ✓ Major facilitator superfamily (MFS)
- ✓ ATP-binding cassette (ABC) superfamily
- ✓ Small multidrug resistance (SMR) superfamily
- ✓ Resistance-nodulation-cell division (RND) superfamily
- ✓ Multidrug and toxic compound extrusion superfamily (MATE)
- ✓ Proteobacterial antimicrobial compound efflux superfamily (PACE)



Hindawi Publishing Corporation
International Journal of Bacteriology
Volume 2013, Article ID 204141, 15 pages
<http://dx.doi.org/10.1155/2013/204141>

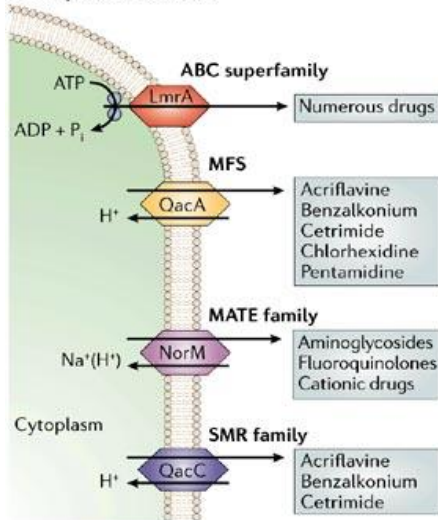


Review Article

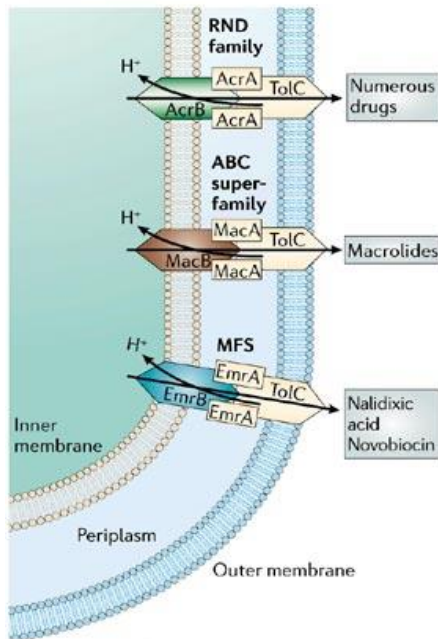
Modulation of Bacterial Multidrug Resistance Efflux Pumps of the Major Facilitator Superfamily

Sanath Kumar,¹ Mun Mun Mukherjee,² and Manuel F. Varela²

Gram-positive bacteria



3. GRAM-NEGATÍV BAKTÉRIUMOK EFFLUX PUMPÁI



Gram-negative bacteria

MINIREVIEW

Multidrug Efflux Pumps of Gram-Negative Bacteria

HIROSHI NIKAIIDO

Gram-negatív baktériumok efflux rendszerei

TABLE 1. Multidrug efflux systems in gram-negative bacteria

Transporter	Linker	Outer membrane channel	Organism	Substrates ^a	Reference(s)
Smt-type					
EmrE			<i>E. coli</i>	Lipophilic cations (TPP, EB, methylviologen)	20
MF-type					
EmrB	EmrA	TolC	<i>E. coli</i>	CCCP, nalidixic acid, thiolactomycin	24
RND-type					
AcrB	AcrA	TolC	<i>E. coli</i>	TC, CP, FQ, β -lactams, Nov, EM, FuA, Rif, EB, AF, CV, SDS, DOC	25, 26
MexB	MexA	OprM	<i>P. aeruginosa</i>	TC, CP, FQ, β -lactams (except carbapenems), Nov, EM, FuA, Rif	21-23, 42
MexD	MexC	OprJ	<i>P. aeruginosa</i>	TC, CP, FQ, "fourth-generation" cepheims ^b (but not conventional β -lactams of carbapenems)	29, 30
MexF	MexE	OprN	<i>P. aeruginosa</i>	CP, FQ, carbapenems (but not conventional β -lactams of fourth-generation cepheims)	30
MtrD	MtrC	MtrE	<i>N. gonorrhoeae</i>	TC, CP, β -lactams, EM, FuA, Rif, EB, AF, CV, TX, DOC	14, 47

^a Abbreviations: TPP, tetraphenylphosphonium; TC, tetracycline; CP, chloramphenicol; FQ, fluoroquinolones; Nov, novobiocin; EM, erythromycin; FuA, fusidic acid; Rif, rifampin; EB, ethidium bromide; AF, acriflavin; CV, crystal violet; SDS, sodium dodecyl sulfate; DOC, deoxycholate; TX, Tween X-100.

^b Fourth-generation cepheims are cephalosporins that contain aminothiazole-oxime at position 7 and a positively charged substituent at position 3 (see Fig. 2 of reference 29).

RND efflux pumpa gének hasonlósága különböző baktériumokban

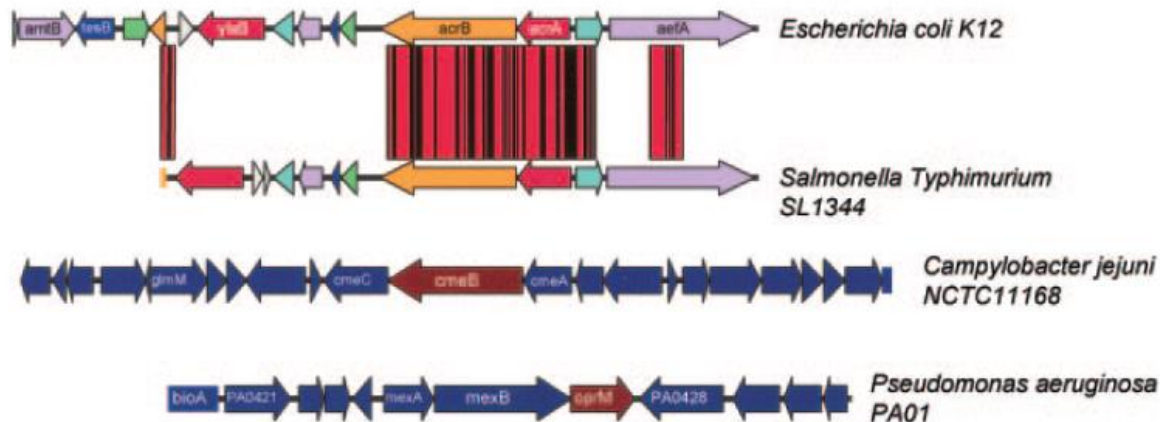
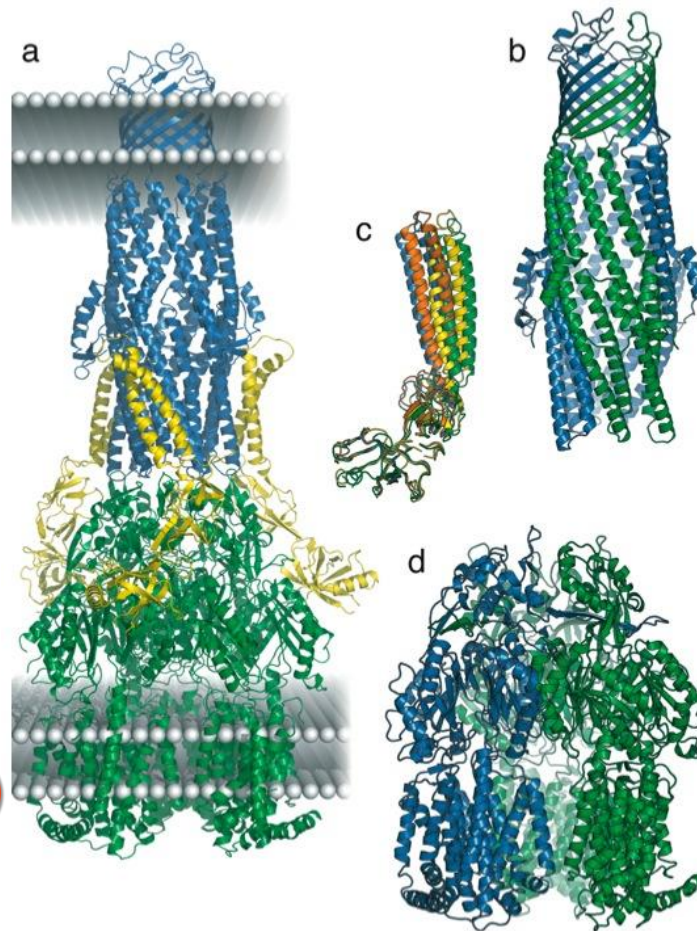


FIG. 2. Comparison of the genetic organization of *E. coli* *acrRAB* with *S. enterica* serovar Typhimurium *acrRAB*, *C. jejuni* *cmeABC*, and *P. aeruginosa* *mexAB-OprM*. This diagram shows the similarities between the RND MDR efflux pump genes of different bacterial species.

RND EFFLUX PUMPA



Külső membrán (OM)

TolC

Fúziós protein

Transzporter

Belső membrán (IM)

Efflux-pump a komponensek:

a) TolC trimer (kék), AcrB trimer (zöld), AcrA molekula (sárga)

b) Trimer TolC zárt állapotban (kék, egy monomer zöld)

c) AcrA monomer, flexibilis hinge-like domén; 4 AcrA monomer (kék, zöld, narancssárga, sárga)

d) Trimer IM protein AcrB (zöld)

Forrás: Prof. Ben Luisi, Cambridge, UK
<http://www-cryst.bioc.cam.ac.uk/groups/luisi>



Available online at www.sciencedirect.com
ScienceDirect

Current Opinion in
Microbiology

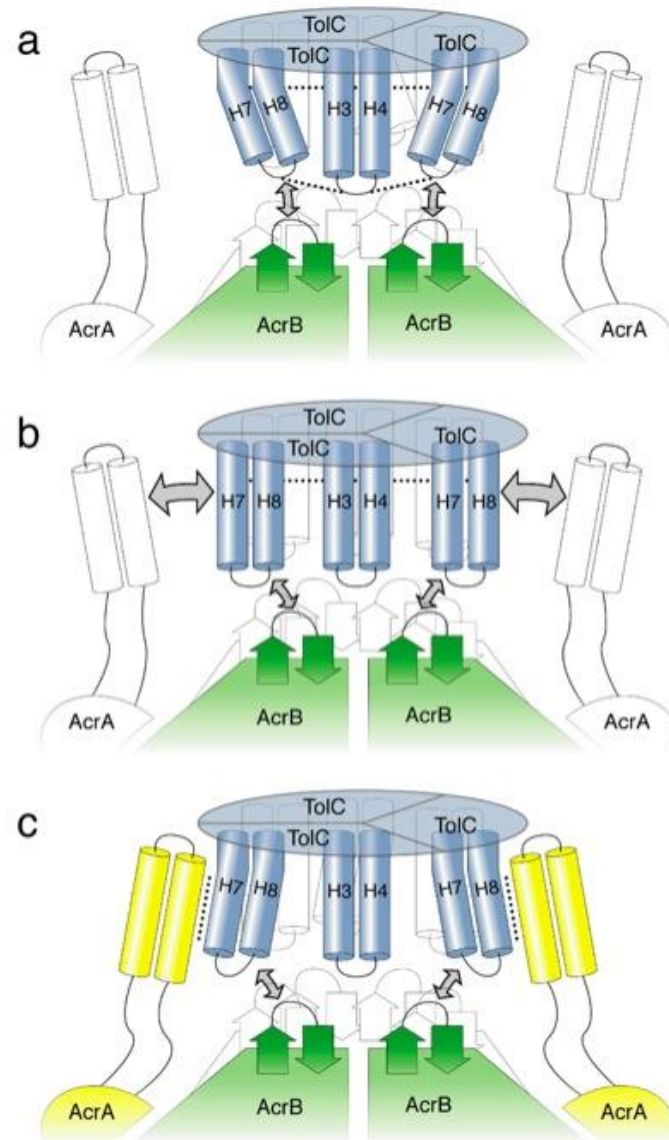
Structure, function and inhibition of RND efflux pumps in Gram-negative bacteria: an update
Jessica MA Blair and Laura JV Piddock

-Külső membrán csatorna: **TolC**
(*E. coli*)

OMF (outer membrane factor)
fehérjecsald

-**AcrB**: RND (Resistance-
Nodulation- Division)
szupercsalád

- Periplazmikus adaptor fehérje:
AcrA (*E. coli*), a MFP (membrane
fusion protein) fehérjecsald
tagja



E. coli és *Salmonella enterica* serovar Typhimurium

E. coli

AcrAB-ToIC

- chloramphenicol
- lipofil β -laktámok
- fluorokinolonok
- tetraciklin
- rifampin
- novobiocin
- nalidixsav
- fuzidinsav
- etídium-bromid
- akriflavin
- epesók
- rövidszénláncú zsírsavak
- SDS
- triclosan

AcrD: aminoglikozidok

AcrE: 80% homológia AcrA-val

AcrF: 88% homológia AcrB-vel

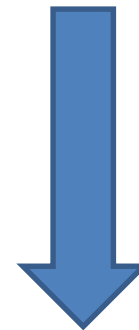
S. enterica serovar Typhimurium

AcrA: 90% homológia az *E. coli* AcrA-val

AcrB: 97% homológia az *E. coli* AcrB-vel

AcrD

AcrF



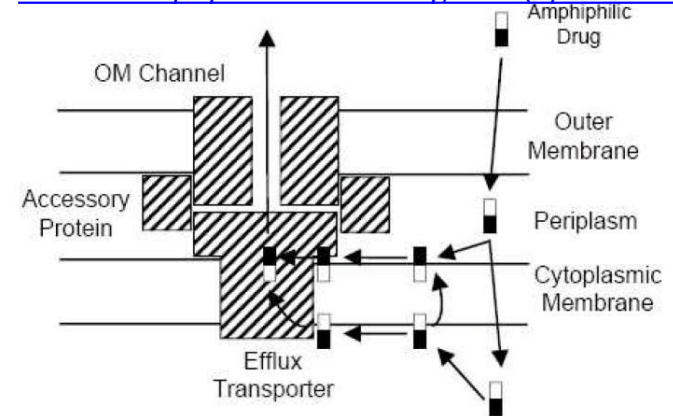
AcrAB-ToIC

SZUBSZTRÁTOK

Pump	Organism	Substrates/modulatory ligands	MFR/OMP
SMR			
Smr/QacC	<i>S. aureus</i>	EIBr, CV, QA, MV, TPP+	
EmrE	<i>E. coli</i>	EIBr, AC, MV, TPP+	
EbsAB	<i>B. subtilis</i>	EIBr, AC, PY, SO, TPP+	
YkkCD	<i>B. subtilis</i>	EIBr, PF, CV, PY, MV, CPC, CP, SM, TC, PM, TPP+	
Tbsmr	<i>M. tuberculosis</i>	AC, EIBr, MV	
Pasmr	<i>P. aeruginosa</i>	AC, EIBr, MV	
QacE	Gram-negative organisms	EIBr, QA, SU	
QacE Δ 1	Gram-negative and -positive organisms	Cip, EIBr, GM, QA, SU, TC	
MF			
TetA	<i>E. coli</i>	TC	
EmrB	<i>E. coli</i>	CCCC, NA, TL, CHH	EmrA/TolC
EmrD	<i>E. coli</i>	CCCC	
MdIA/Cmr/CmlA	<i>E. coli</i>	EIBr, PM, TC, Ery, neomycin, Nor, CP, IPTG, TPP+, R6G, DAR, DXR, QA, RP, TC, PM	
FarB	<i>N. gonorrhoeae</i>	Fatty acids	FarA/MtrE
NorA	<i>B. fragilis</i>	Ery, Nor, PM	
VceB	<i>V. cholerae</i>	CCCC, NA, Cip, Ery, PhMA, DOC	VceA/TolC
TetK	<i>S. aureus</i>	TC	
NorA	<i>S. aureus</i>	EIBr, AC, QA, FQ, R6G, TPP+, PM, CP	
QacA	<i>S. aureus</i>	EIBr, QA, CH, PI	
Bmr	<i>B. subtilis</i>	EIBr, AC, QA, FQ, R6G, TPP+, PM, CP	
LmrP	<i>L. lactis</i>	EIBr, DM, H33342, TPP+/VP, nicardipin, quinine, TX100	
MdrL	<i>L. monocytogenes</i>	EIBr, Ery, celastrol	
Tap	<i>M. tuberculosis</i>	TC	
Mmr	<i>M. tuberculosis</i>	EIBr, AC, Ery, TPP+, SD, PY	
Tap	<i>M. fortuitum</i>	TC, gentamicin, 2-N'- and 2-N'-ethylmifomicin, SM	
LtrA	<i>M. smegmatis</i>	EIBr, AC, QA, FO	
CaMDR1	<i>C. albicans</i>	FZ, NDD, benomyl, methotrexate	
RND			
AcrB	<i>E. coli</i>	EIBr, AC, CV, SDS, TX100, bile salts, β -lactams, Nov, Ery, Fus, TC, CP, MMC, FQ, NA, organic solvents, NBD-PC	AcrA/TolC
AcrB	<i>H. influenzae</i>	EIBr, CV, Ery, RP, Nov	AcrA'
MexB	<i>P. aeruginosa</i>	AZ, Cip, CV, RP, TX100	MexA/OprM
SmeE	<i>S. maltophilia</i>	EIBr, Ery, TC	
AcrB	<i>S. pyhimumium</i>	AC, DOC, Cip, Ery, Fus, NA	
AcrB	<i>P. putida</i>	Nor, Nov, RP, SDS, TC	
MtrD	<i>N. gonorrhoeae</i>	Cip, Ery, Nov, TC, Ery, TX100, β -lactams, azithromycin, vetabrola, nelfide antimicrobials, spemcidol	MtrC/E
MATE			
BexA	<i>B. thetaiaemicron</i>	AC, EIBr, MV	
NorM	<i>V. parahaemolyticus</i>	CP, EIBr, Nor	
YdhE	<i>E. coli</i>	AC, Cip, KM, Nor, SM, TPP+	
VcmA	<i>V. cholerae</i>	Nor, Cip, DAR, DXR, SM, KM, EIBr, H33342	
YdhE	<i>B. fragilis</i>	Nor, Cip, EIBr	
NorM	<i>N. gonorrhoeae</i>	AC, EIBr, berberine, Cip, Nor	
NorM	<i>N. meningitidis</i>	AC, EIBr, berberine, Cip, Nor	
ABC			
P-gp	<i>H. sapiens</i>	DAR, DXR, R6G, R123G, H33342, NBD-PE, NBD-PC, PM, VC, VB, CC, taxol, dexamethasone, steroids, VP, nicardipine, IS, antimalarials (e.g. quinine and quinidine), CA	
MRP	<i>H. sapiens</i>	Similar specificity to P-gp + LTC ₄ and other glutathione S-conjugates	

Nikaido et al.

Biochim Biophys Acta. 2009 May; 1794(5): 769–781.



Biochem. J. (2003) 376, 313–338 (Printed in Great Britain)

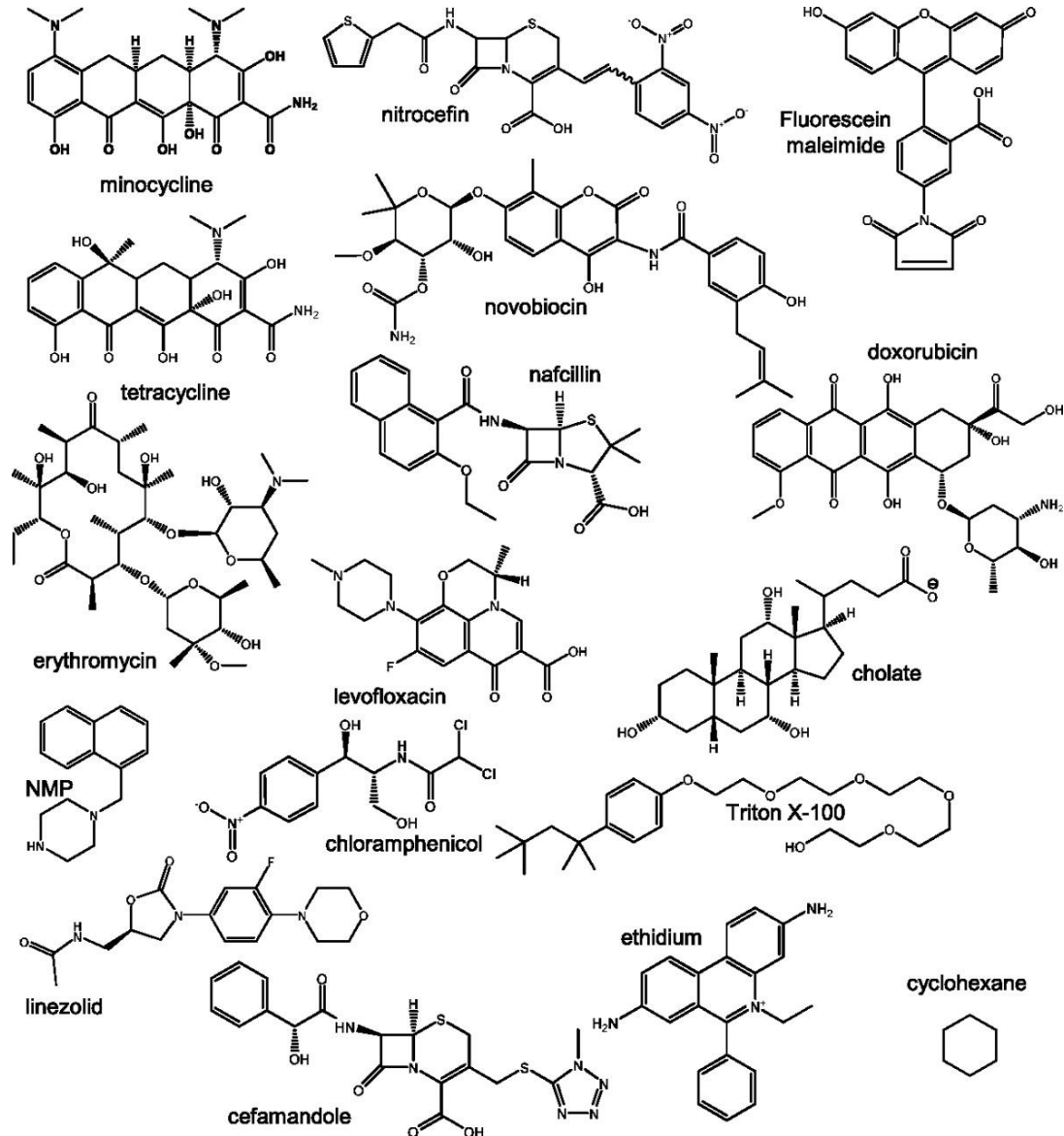
REVIEW ARTICLE

Structure and function of efflux pumps that confer resistance to drugs

M. Ines BORGES-WALMSLEY, Kenneth S. McKEEGAN and Adrian R. WALMSLEY¹

Centre for Infectious Diseases, Department of Biological Sciences, Wolfson Research Institute, University of Durham – Stockton Campus, Stockton-on-Tees TS17 6BH, U.K.

Néhány ismert AcrB efflux pumpa szubsztrát

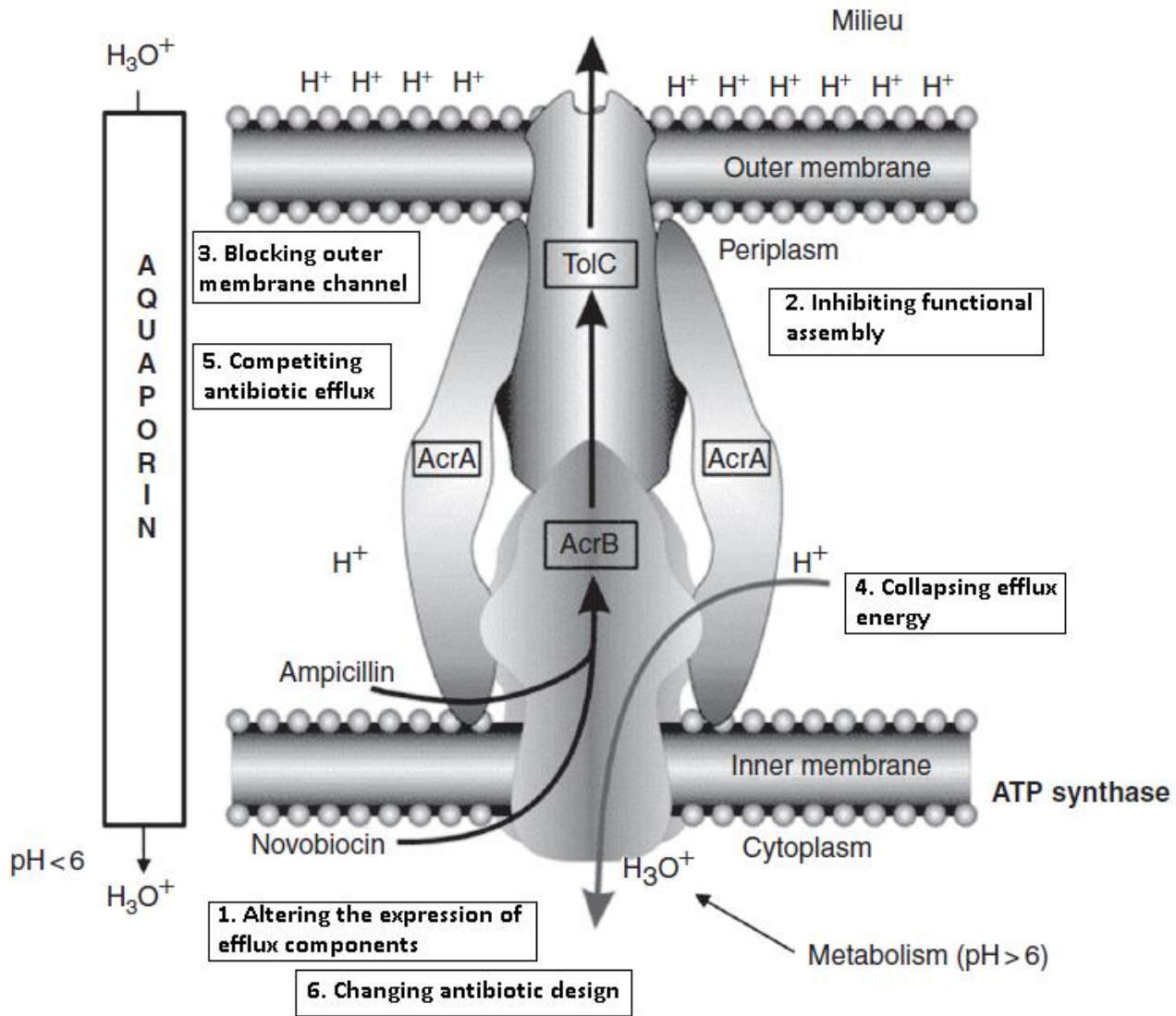


Takatsuka Y et al. PNAS 2010;107:6559-6565

4. EFFLUX PUMPA GÁTLÓK

- Cél: antibiotikumok hatékonyságának növelése
- Efflux pumpa gátlók támadáspontjai:
 - 1) az MDR-t előidéző gének expressziójának szintjén
 - 2) a membrán transzporter fehérje alegységeinek összerendezése szintjén
 - 3) a transzporter működéséhez szükséges energiaforrás szintjén
 - 4) a transzporter fehérjén belül, az efflux csatornában, kompetíció vagy gátlás révén

Az AcrAB-TolC efflux pumpa rendszer támadási pontjai

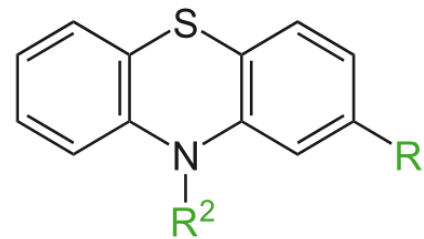


(forrás: A. Martins és L. Amaral, a szerzők engedélyével)

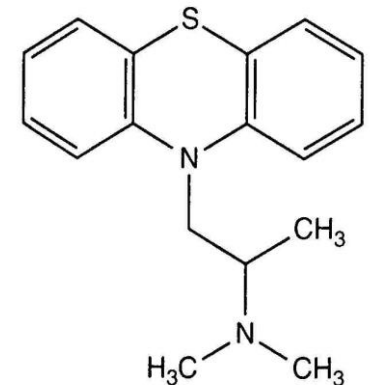
Efflux pump gátlók (EPIs)

Fenotiazinok

- Triciklusos vegyületek
- Neuroleptikumok
- Multidrog-rezisztencia (MDR) visszafordítása
- Elektron donor
 - Membrán depolarizáció
 - Membrán hiperpolarizáció
- Példa: promethazin (PMZ),
tioridazin (TZ)

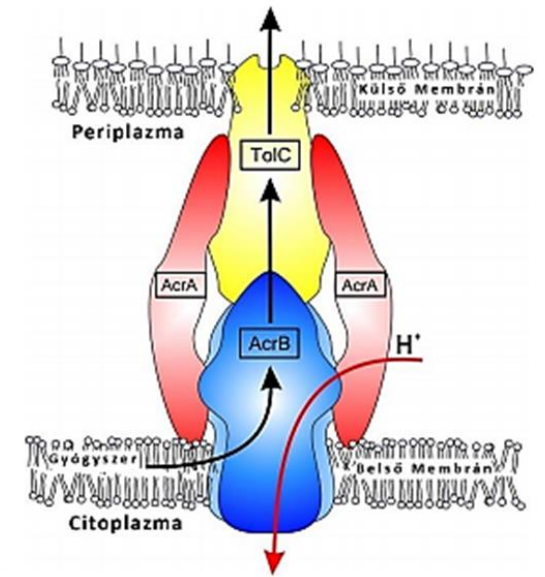
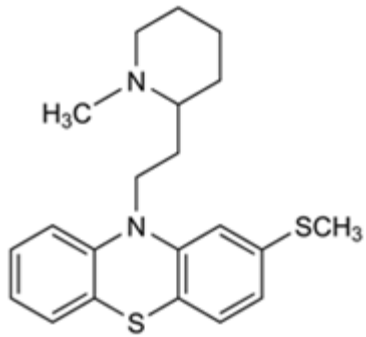


fenotiazin váz

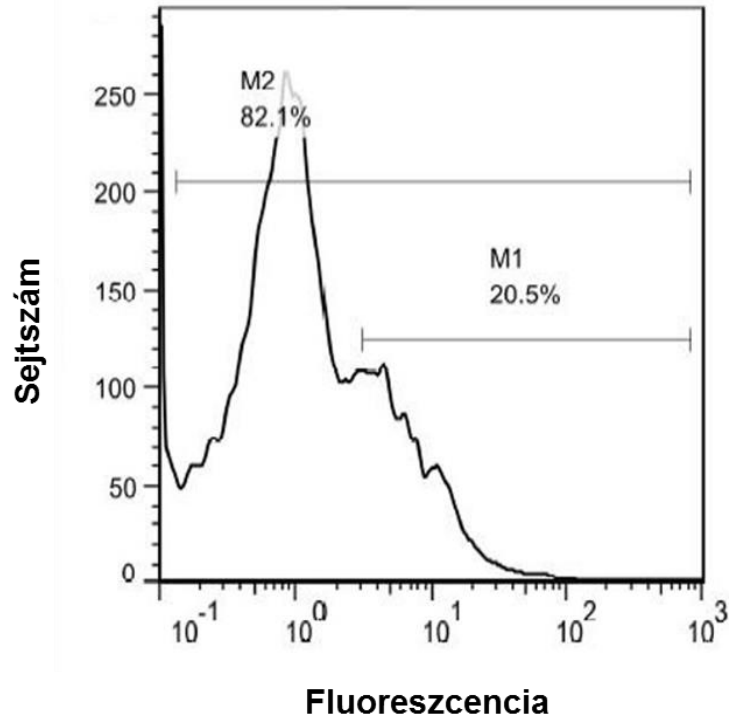


promethazin

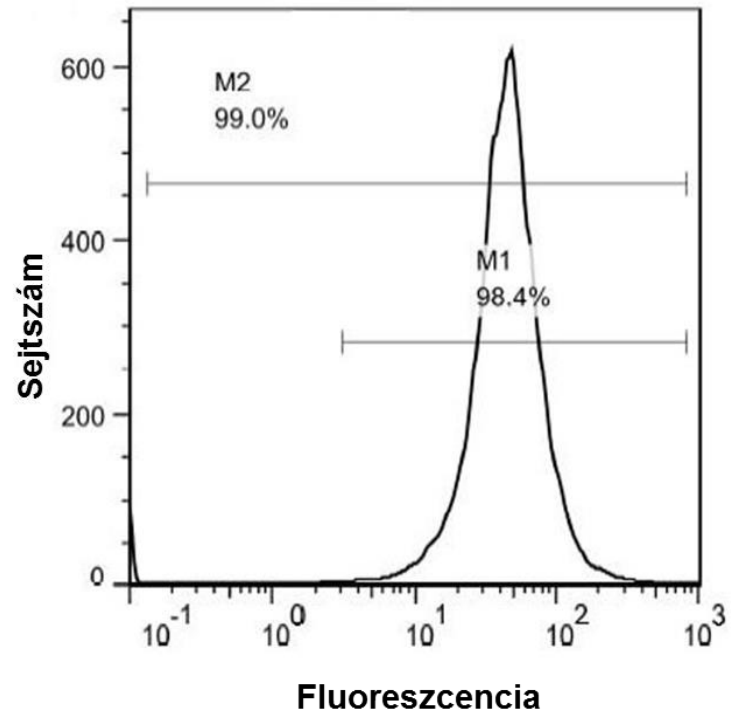
Tioridazin



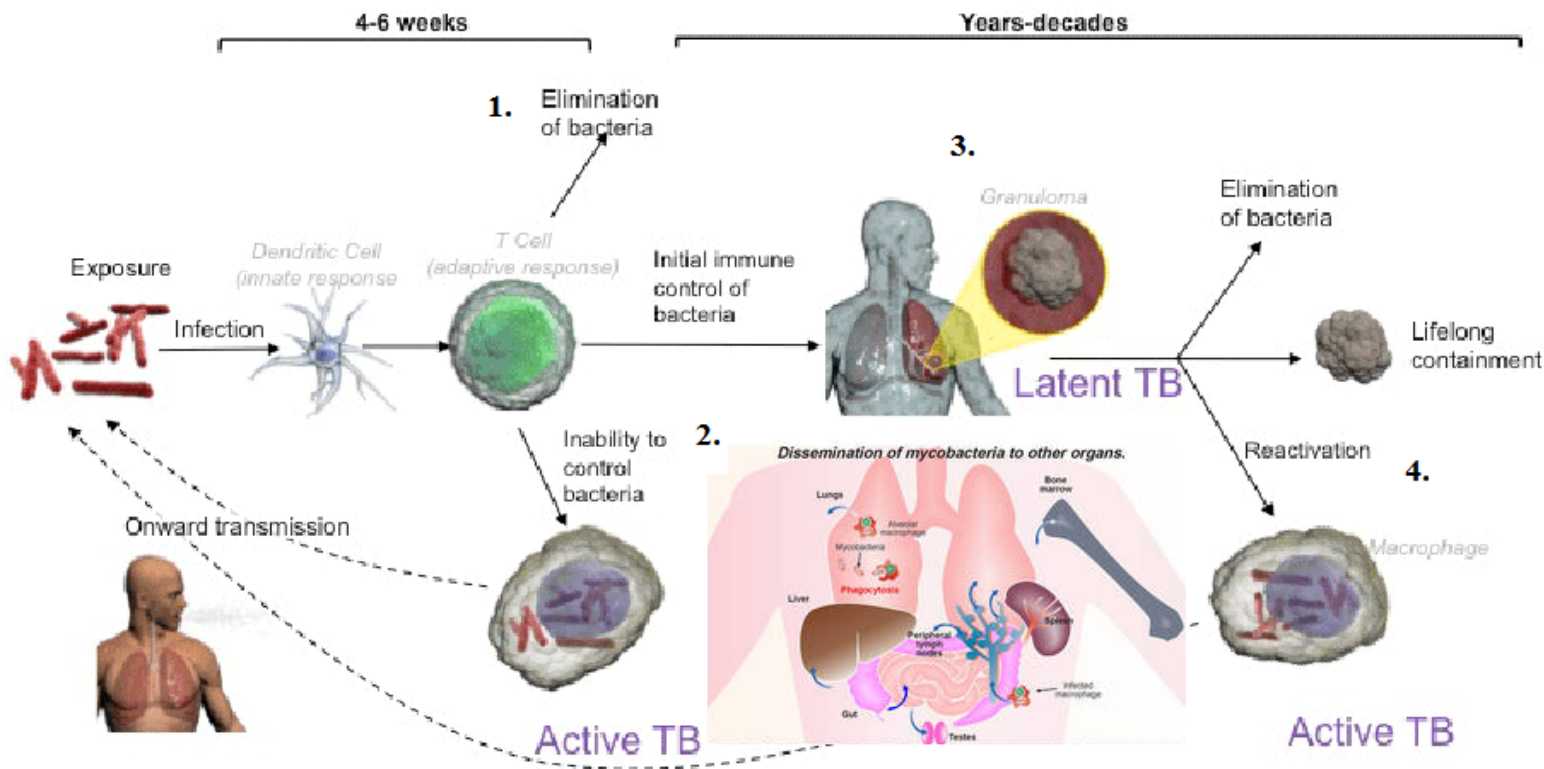
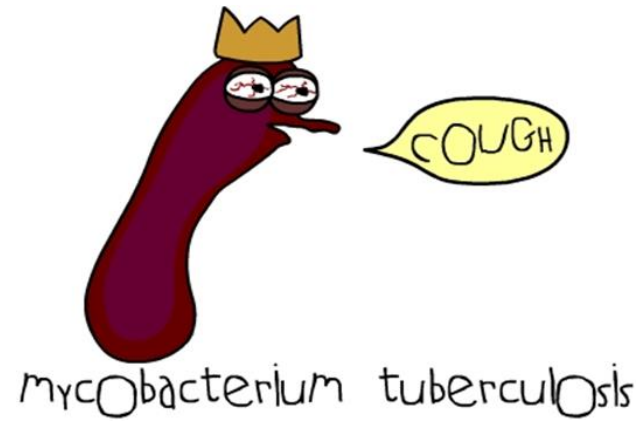
A



B



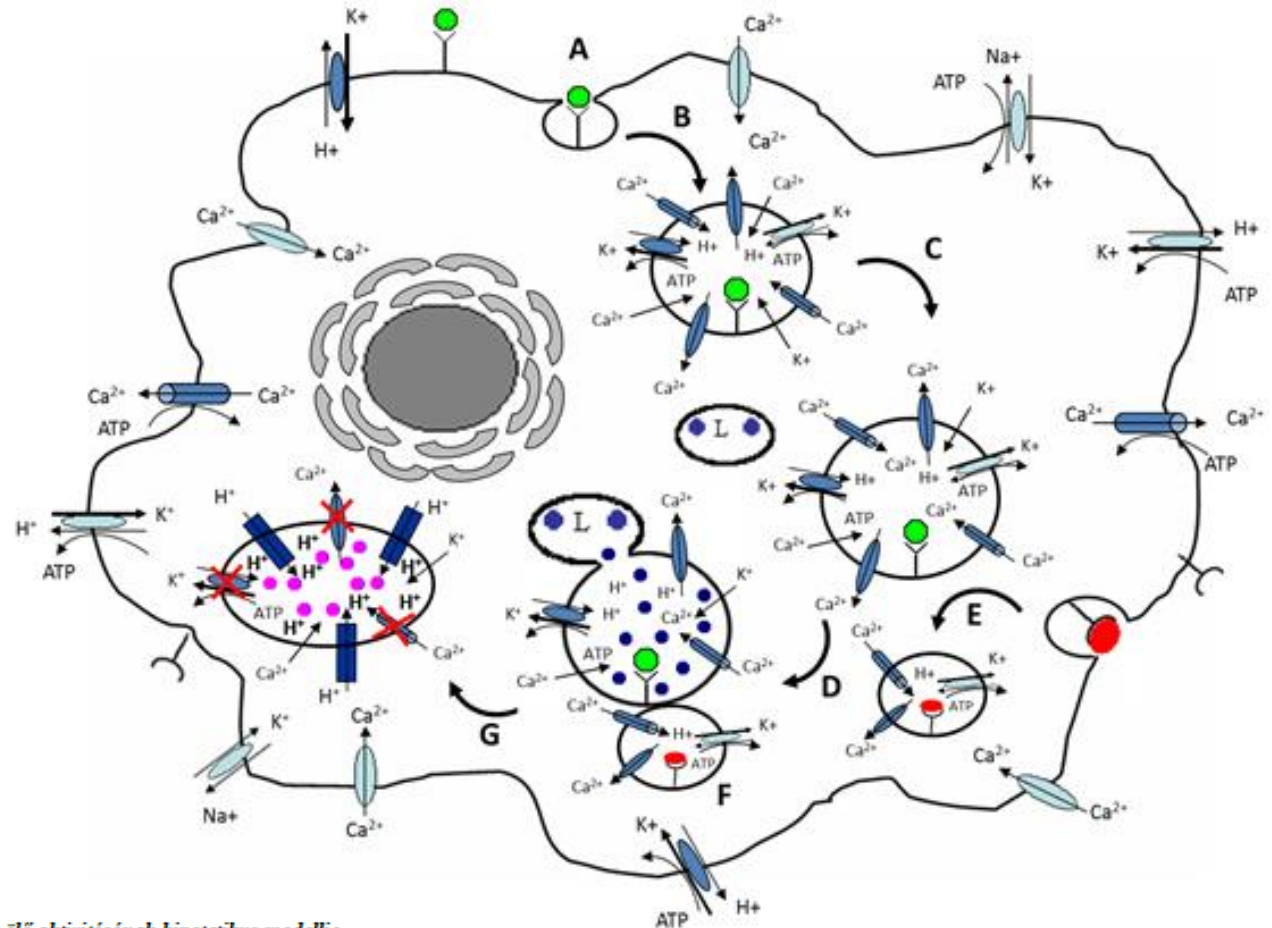
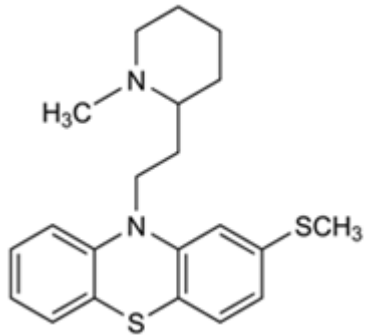
TBC



- Caverna képződés, bronchusba tör: a baktérium a köpöccel ürül
- Hetekig tartó hőemelkedés
- Éjszakai izzadás

Efflux pumpa gátló vegyületek

Tioridazin

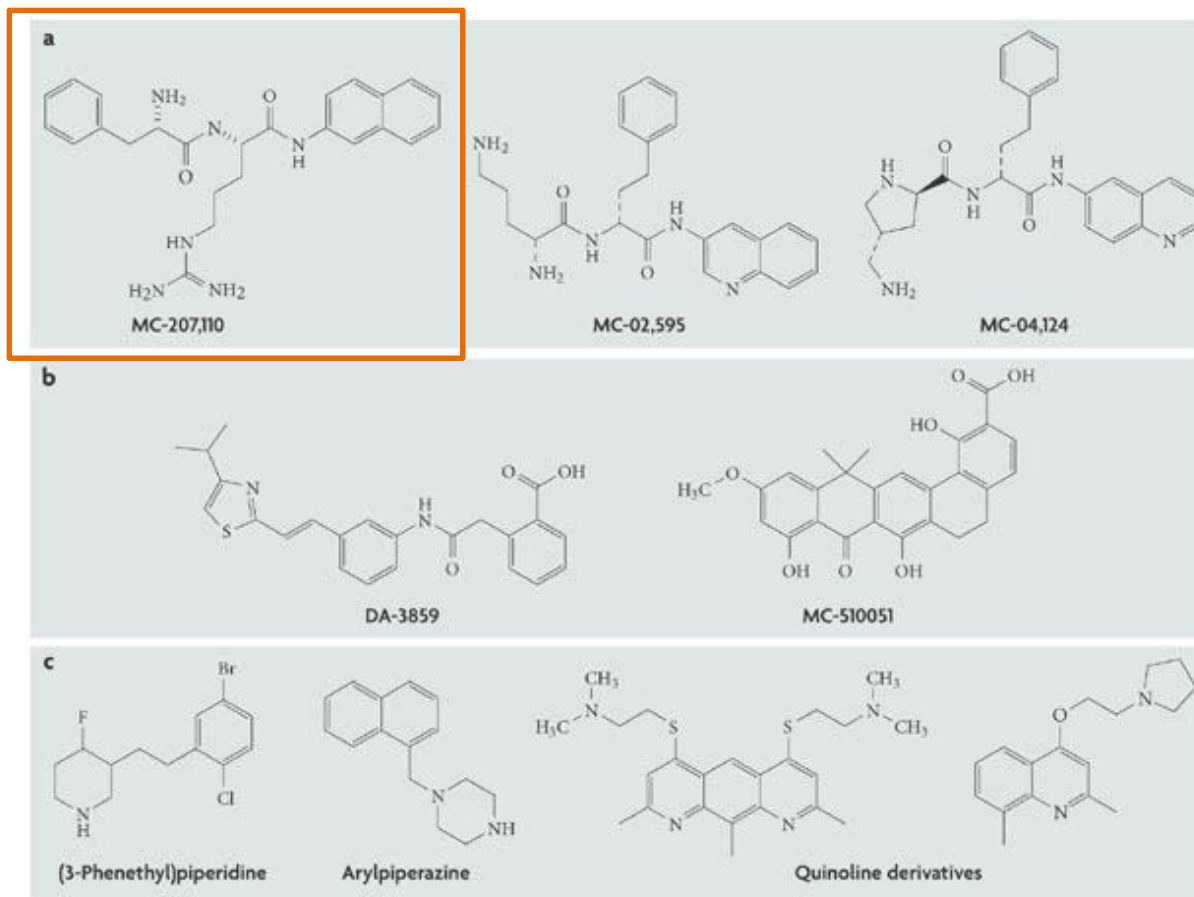


11. ábra: Makrofágok tioridazin által kiváltott fokozott ölü aktivitásának hipotetikus modellje
 Jelmagyarázat: Baktérium: ●, Membrán receptor: √ Efflux pumpa gátló vegyület (tioridazin): ●
 Lizoszóma: ⊕, Efflux pumpa gátlás: ✗

Lépések: A) Baktérium kötődése B) Fagoszóma kialakulása C-D) Fagoszóma maturációja és a lizoszóma-fagoszóma fúzió E) Efflux pumpa gátló vegyület kötődése, vezikulum kialakulása F) Az efflux pumpa gátlót tartalmazó vezikulum és a fagolizoszóma fúziója G) Ca^{2+} és K^+ efflux gátlása efflux pumpa gátló vegyülettel; K^+ beáramlása a fagolizoszóma, ATP-az fokozott aktivációja, fagoszóma savasodása, hidrolázok aktiválódása, illetve magának a gátló vegyületek a felhalmozódása baktericid koncentrációban és így a baktérium eliminálása (Amaral és mtsai. 2007)

Efflux pumpa gátló vegyületek

Phenylalanine-Arginine Beta-Naphthylamide (PAβN)



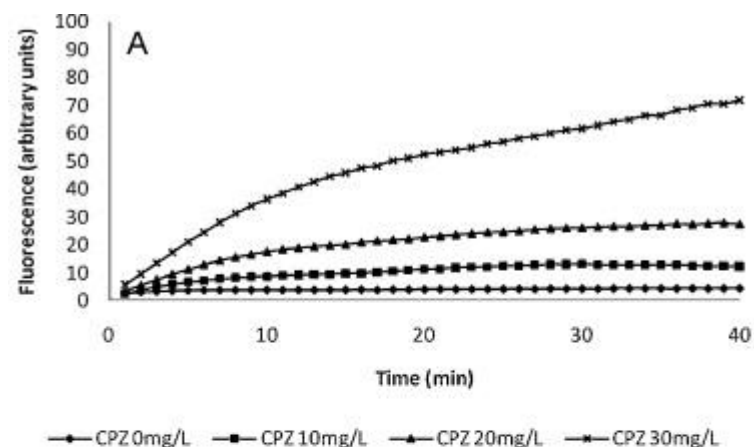
Nature Reviews | Drug Discovery

Lomovskaya *et al.* *Nature Reviews Drug Discovery* **6**, 56–65 (January 2007) | doi:10.1038/nrd2200

Phenothiazines and Thioxanthenes Inhibit Multidrug Efflux Pump Activity in *Staphylococcus aureus*

Glenn W. Kaatz,^{1,2*} Varsha V. Moudgal,² Susan M. Seo,² and Jette E. Kristiansen³

The mechanism(s) by which phenothiazines and thioxanthenes exert their antimicrobial effect and/or potentiate the activity of such a vast array of other antimicrobial agents against bacteria is not completely understood. It has been suggested that some of the potentiation of activity may be the result of inhibition of efflux pumps. Chlorpromazine has been shown to affect potassium flux across the membrane in both *S. aureus* and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* and to alter the transmembrane potential in *Leishmania donovani* (6, 21, 42). Either of these actions may affect the function of transport proteins that depend upon the PMF to energize substrate translocation.



International Journal of Antimicrobial Agents 37 (2011) 410-414



Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Antimicrobial Agents

journal homepage: <http://www.elsevier.com/locate/ijantimicag>



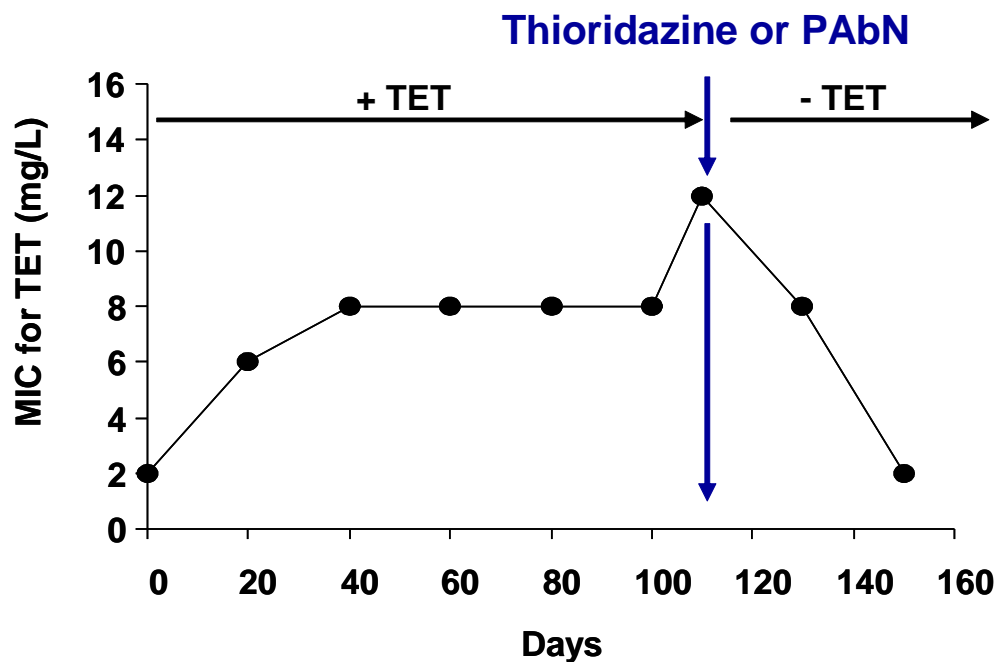
Role of calcium in the efflux system of *Escherichia coli*

Ana Martins^{a,b,1}, Lisa Machado^{a,b}, Susana Costa^{a,b}, Pedro Cerca^{a,b}, Gabriella Spengler^{a,b}, Miguel Viveiros^{a,c}, Leonard Amaral^{a,b,c,*}

Inducement and Reversal of Tetracycline Resistance in *Escherichia coli* K-12 and Expression of Proton Gradient-Dependent Multidrug Efflux Pump Genes

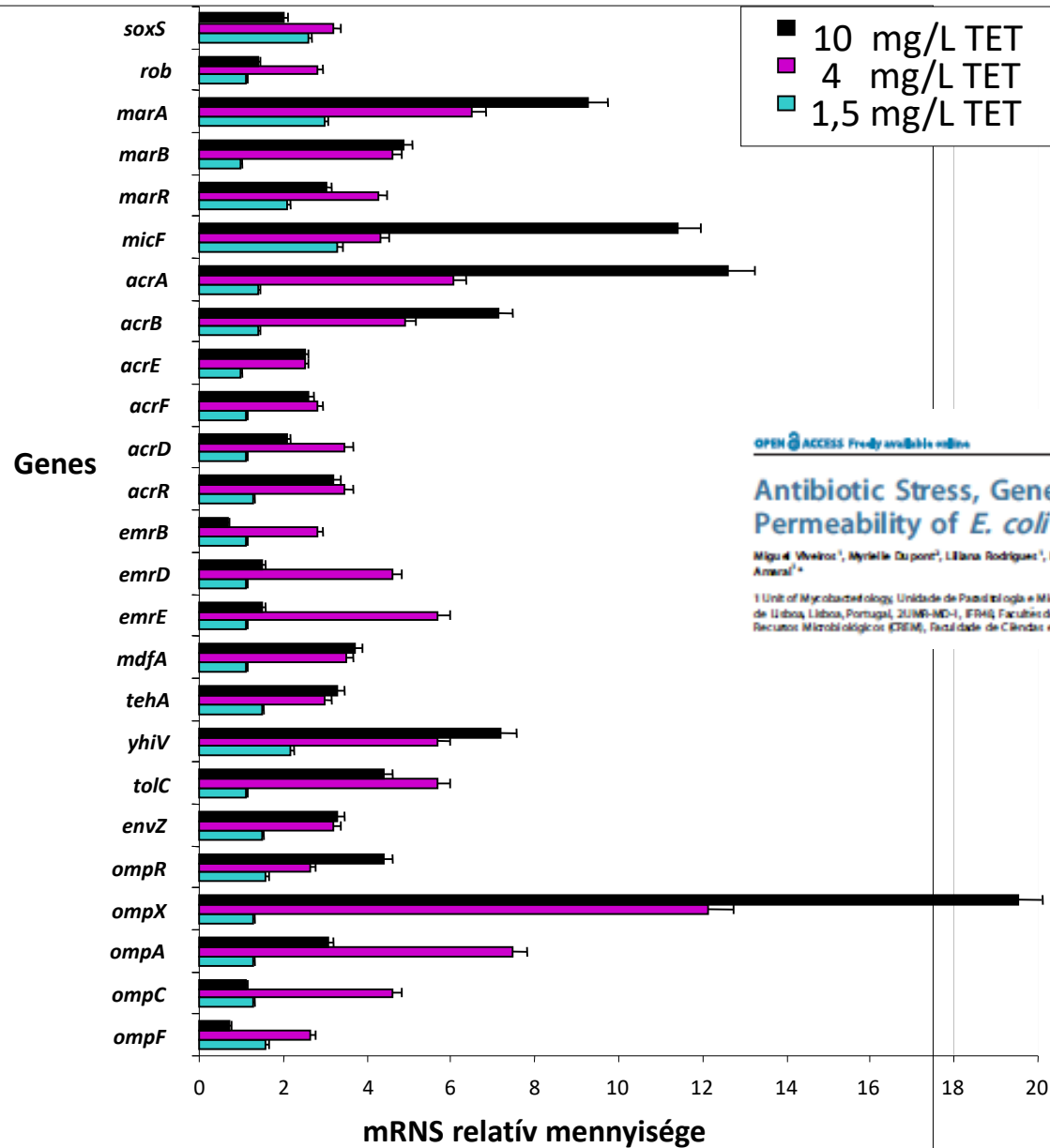
Miguel Viveiros,¹ Ana Jesus,¹ Mafalda Brito,¹ Clara Leandro,¹ Marta Martins,¹ Diane Ordway,^{1†}
Ana Maria Molnar,² Joseph Molnar,² and Leonard Amaral^{1*}

***E. coli*: indukált tetraciklin rezisztencia**



Az MDR fenotípus efflux pumpa gátlókkal visszafordítható

Génexpressziós változások indukált tetraciklin rezisztencia esetén



Kezdő tetraciklin MIC:
2.0 mg/L

OPEN ACCESS Freely available online




PLoS one

Antibiotic Stress, Genetic Response and Altered Permeability of *E. coli*

Miguel Viveiros¹, Myrielle Dupont², Liliana Rodrigues¹, Isabel Couto^{1,3}, Anne Devin-Régi², Maria Martins², Jean-Marie Pagès², Leonard Amaral^{2*}

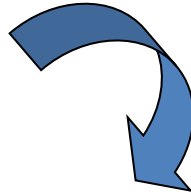
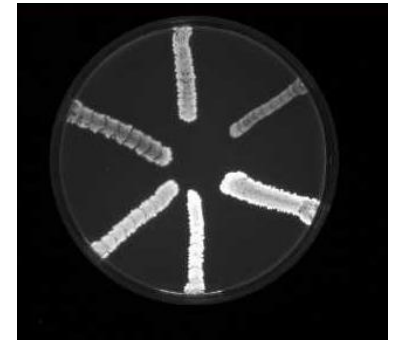
1 Unit of Mycobacteriology, Unidade de Parasitologia e Microbiologia Médica (UPMM), Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, Portugal, **2**UMR-MD-1, FRM3 Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université de la Méditerranée, Marseille, France, **3** Centro de Recursos Microbiológicos (CREM), Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, Portugal

KORÁBBI VIZSGÁLATOK

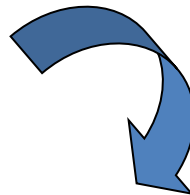
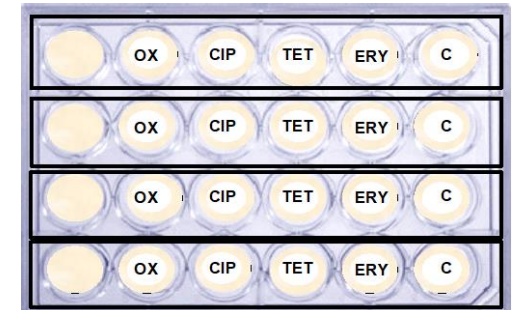
- **Multidrog rezisztens, efflux pumpával rendelkező Gram-negatív baktériumok azonosítása**

- **Efflux pumpa (EP) aktivitás jellemzése MDR Gram-negatív baktériumokban**

- **Efflux pumpa gátló vegyületek screenelése és jellemzése MDR Gram-negatív baktériumokban**

- **Az efflux pumpákat reguláló és kódoló gének jellemzése**

Módszerek

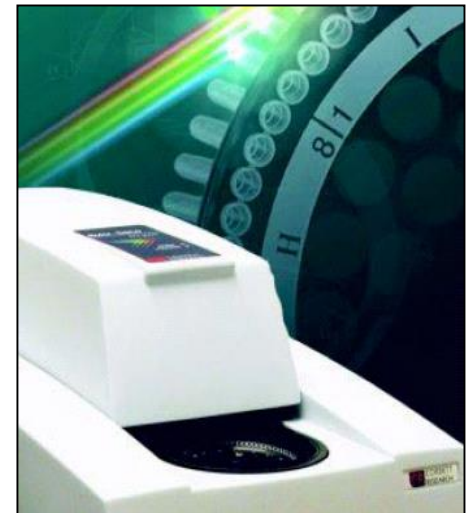
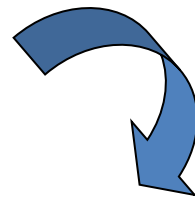
- **Etídium-bromid (EB)-agar kocsikerék módszer**



- **Screening módszer efflux pumpa gátlók vizsgálatára**

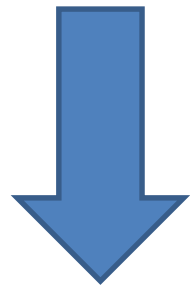


- **Automatizált, etídium-bromid akkumuláció alapuló módszer**

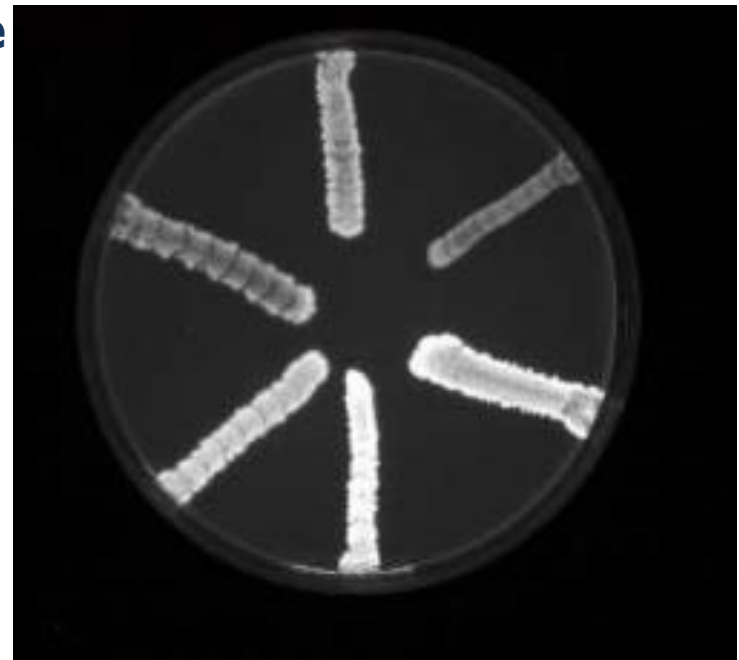


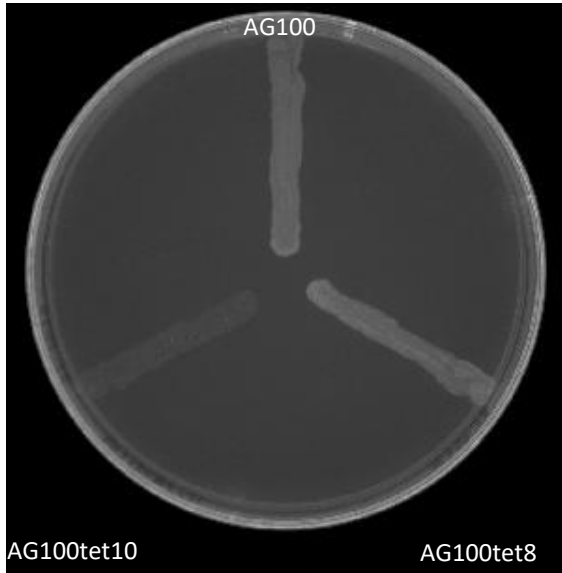
Etídium-bromid kocsikerék (cartwheel) módszer

- Agar lemez eltérő koncentrációjú etídium-bromiddal (EP szubsztrát)
- Baktériumok leoltása sugarasan (maximum 12 törzs)
- Inkubáció: 37°C, 16 óra
- Fluoreszcencia mennyiségének értékelése

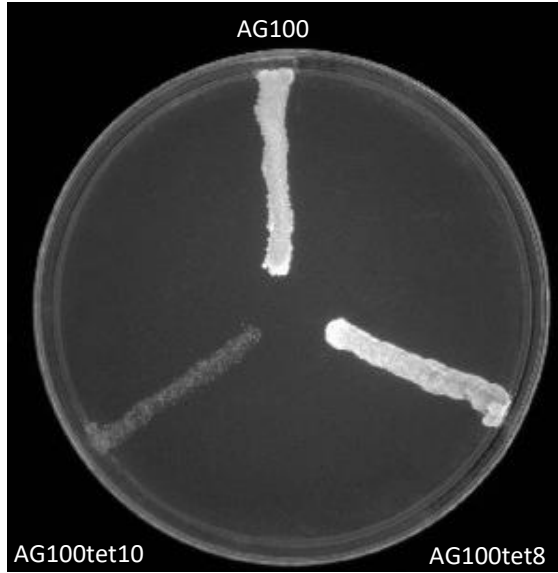


**Efflux pumpa aktivitás
értékelésére**

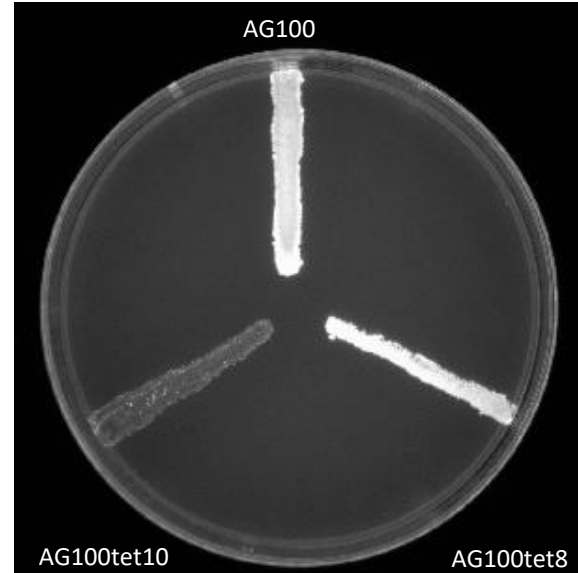




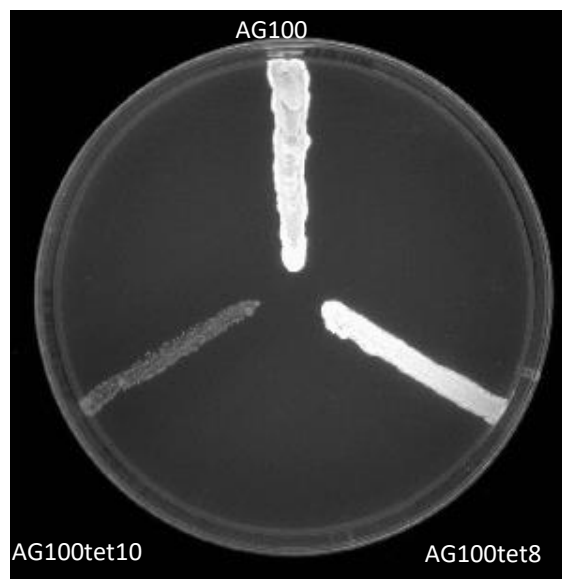
0,5 µg/ml EtBr



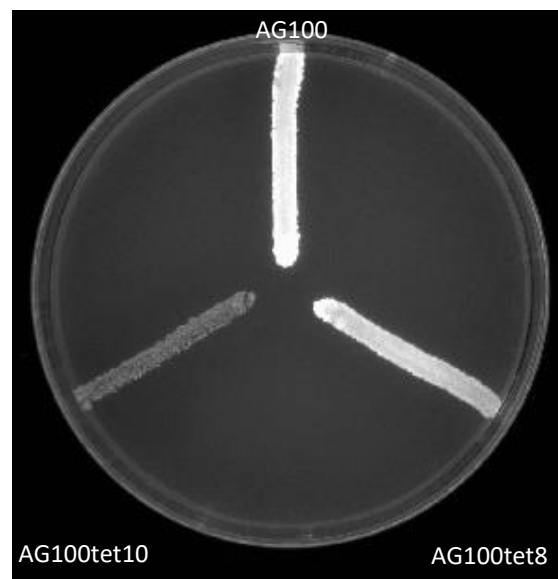
1,0 µg/ml EtBr



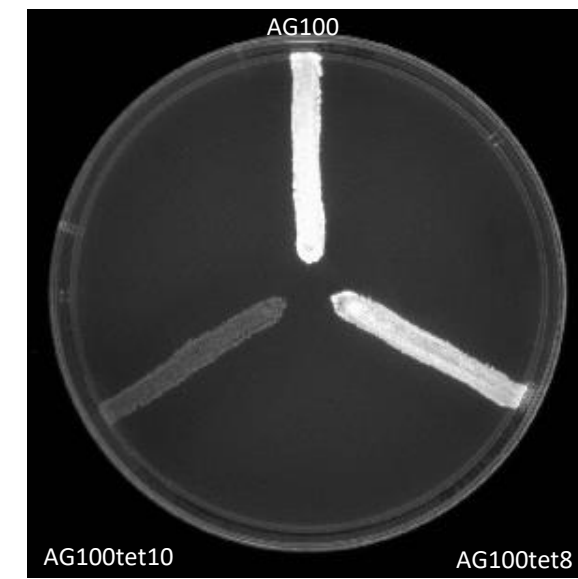
1,5 µg/ml EtBr



2,0 µg/ml EtBr



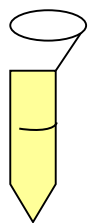
2,5 µg/ml EtBr



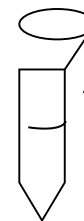
3,0 µg/ml EtBr

SCREENING: AUTOMATIZÁLT EB-MÓDSZER

Protokoll: áttekintés



Felülúszó
eltávolítása



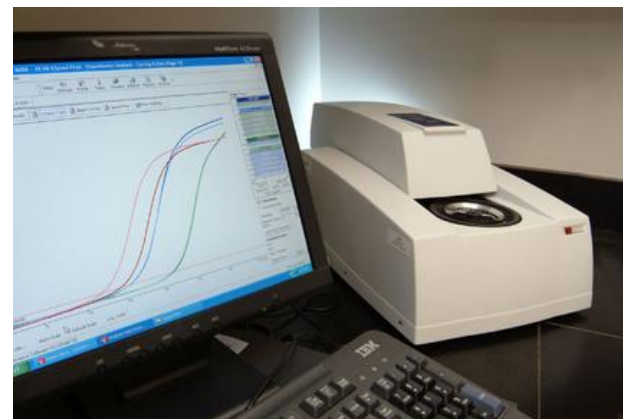
Mosás PBS-sel

1 mL baktérium szuszpenzió
LB-ben (OD: 600 nm)



EB (1 μ g vagy 0.5 μ / mL)
EPI vegyület vagy kontroll
Baktérium szuszpenzió

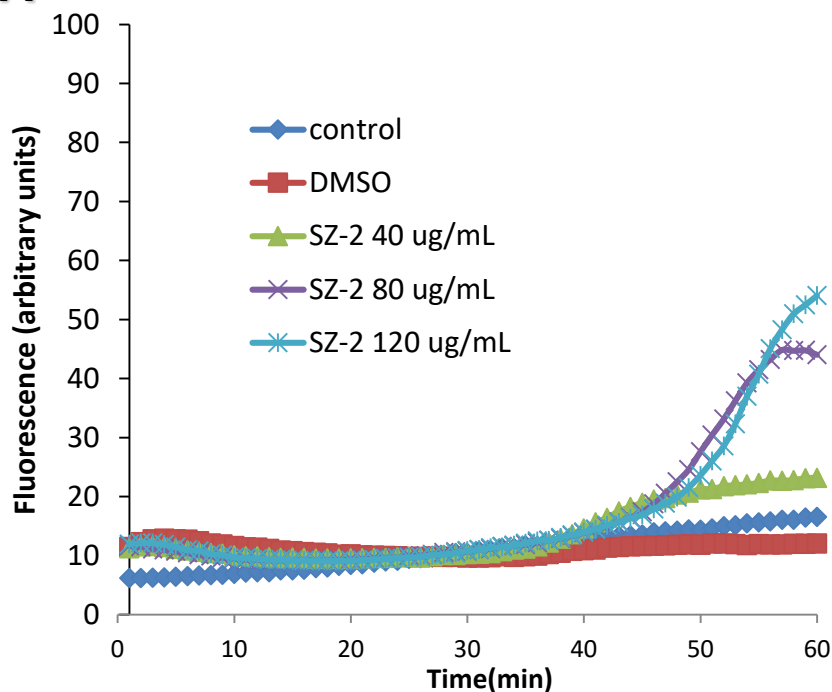
100 μ L PCR-csőbe



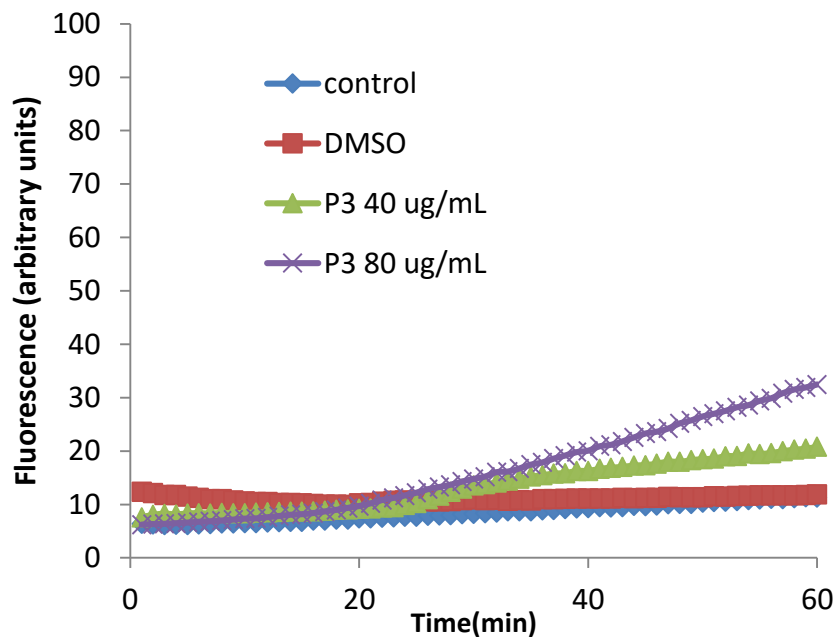
530-585 hp, fluoreszcencia mérése percenként

EB akumuláció (1 mg/L) *Salmonella* Enteritidis törzsön **SZ-2** (A) és **P3** (B) jelenlétében

A



B



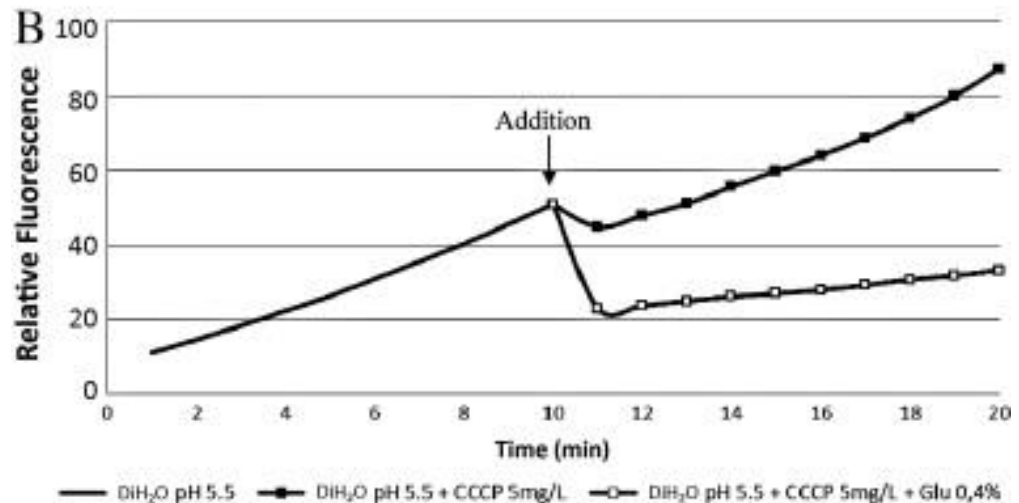
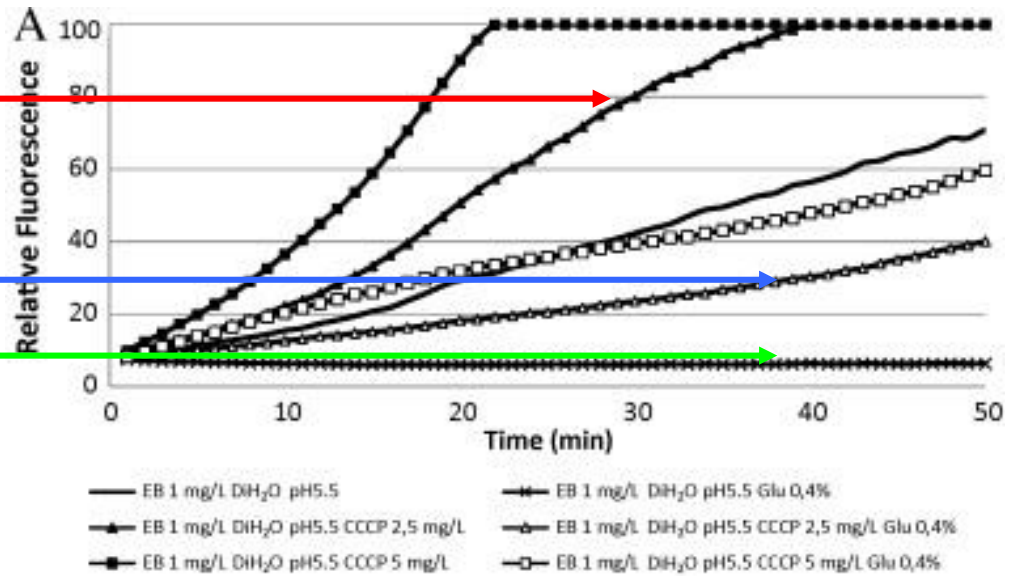
Akkumulációs vizsgálatok a fiziológiás paraméterek tükrében

CCCP

CCCP+glükóz

kontroll

pH 5: CCCP, glükóz



Carbonyl Cyanide m-Chlorophenylhydrazine (CCCP)

International Journal of Antimicrobial Agents 38 (2011) 140–145

Contents lists available at ScienceDirect

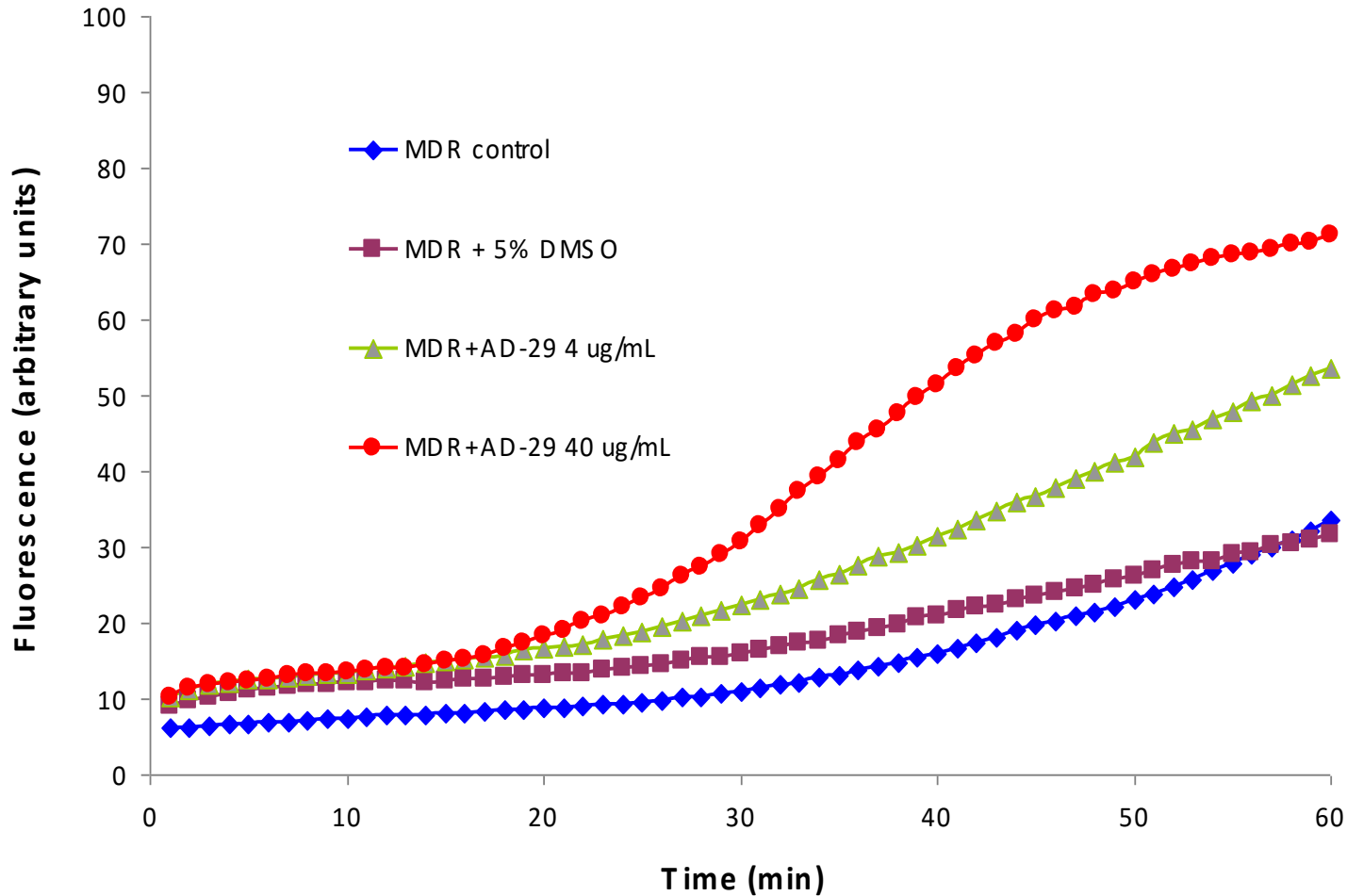
International Journal of Antimicrobial Agents

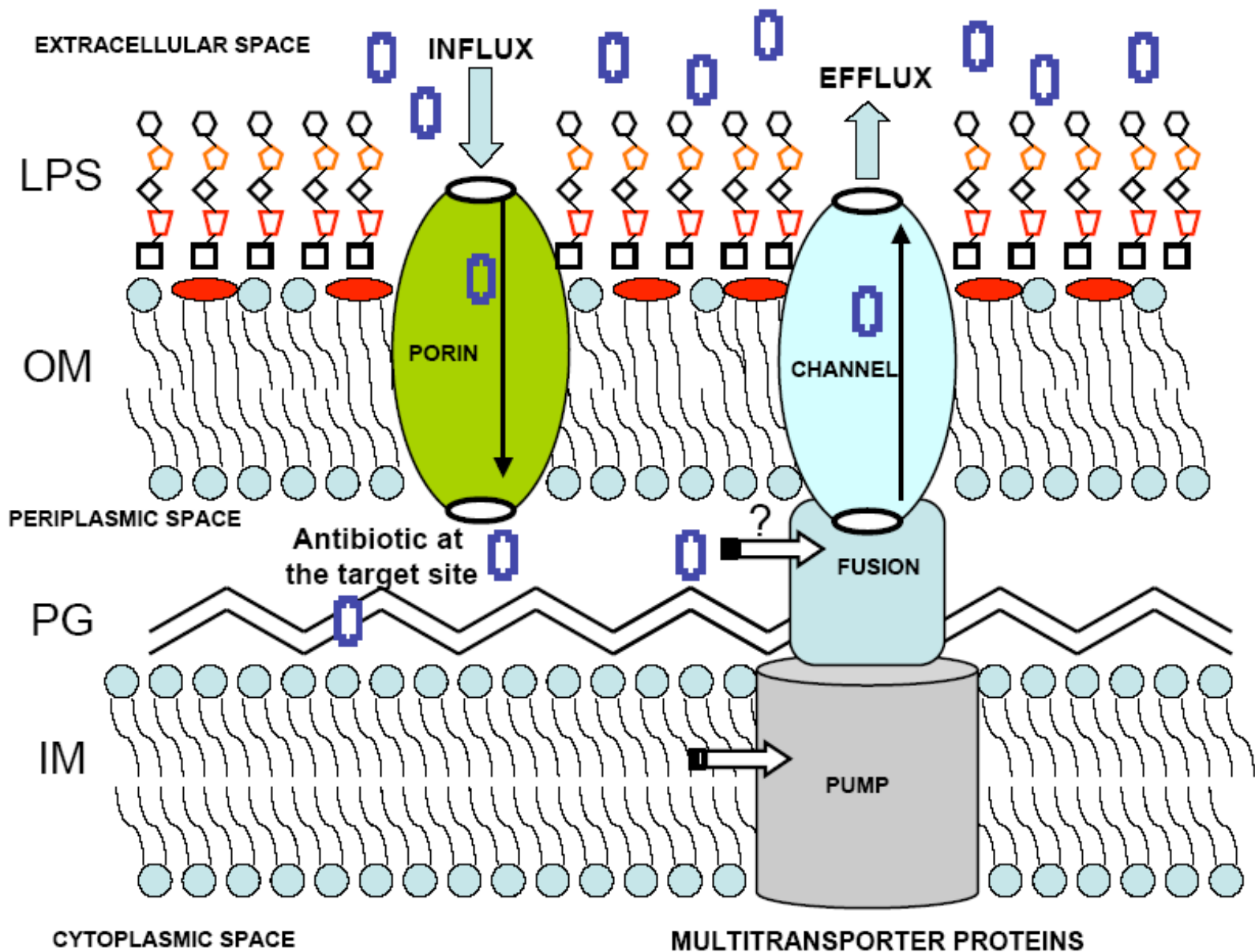
journal homepage: <http://www.elsevier.com/locate/ijantimicag>

Ethidium bromide efflux by *Salmonella*: modulation by metabolic energy, pH, ions and phenothiazines

Leonard Amaral^{a,b,c,*}, Pedro Cerca^{a,b}, Gabriella Spengler^{a,b}, Lisa Machado^{a,b}, Ana Martins^a, Isabel Couto^{a,d}, Miguel Viveiros^{a,e}, Séamus Fanning^{c,f}, Jean-Marie Pagès^{c,f}

Hatásos anyagok kiválasztása EB módszerrel: tumorsejtek





5. ÖSSZEFOGLALÁS

- efflux pumpák működésének tanulmányozása
- efflux pumpa gátlók alkalmazása az antibiotikumok aktivitásának növelésére
- efflux pumpa gátlók: nemcsak baktériumokban, hanem eukarióta sejtekben is → tumorsejtek
 - Fenotiazinok
 - Hydantoinok
 - Trifluorometil-ke-tonok
 - Szilícium-vegyületek

ANTICANCER RESEARCH 32: 2947-2958 (2012)

Review

Inhibitors of Bacterial Efflux Pumps that also Inhibit Efflux Pumps of Cancer Cells

LEONARD AMARAL^{1,2,3,4}, GABRIELLA SPENGLER⁵, ANA MARTINS^{1,3,4,5}, ANA ARMADA^{1,2}, JADWIGA HANDZLIK⁶, KATARZYNA KIEC-KONONOWICZ⁶ and JOSEPH MOLNAR^{4,5}

¹Group of Mycobacteriology, Unit of Medical Microbiology, ²Centre for Malaria and other Tropical Diseases and

³Unit of Parasitology and Medical Microbiology, Institute of Hygiene and Tropical Medicine, Universidade Nova de Lisboa, Lisbon, Portugal;

⁴Cost Action BM0701 of the European Commission/European Science Foundation;

⁵Department of Medical Microbiology and Immunobiology, University of Szeged, Szeged, Hungary;

⁶Department of Technology and Biotechnology of Drugs, Jagiellonian University, Medical College, Krakow, Poland



KÖZIGAZGATÁSI ÉS IGAZSÁGÜGYI HIVATAL



Nemzeti
Kiválóság
Program



ÚJ SZÉCHENYI TERV

TÁMOP 4.2.4.A

Támogatók:

- TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 Nemzeti Kiválóság Program
- Bolyai János Kutatási Ösztöndíj
- MTA Tantárgy-pedagógiai Kutatási Program, MTA-SZTE Mikrobiológia és Egészségnevelés Szakmódszertani Kutatócsoport



**Magyar Tudományos
Akadémia**

MTA SZAKMÓDSZERTANI
PÁLYÁZAT
2016



MIKROKOZMOSZ

Köszönöm a figyelmet!



Forrás:

<http://www.economist.com/node/18483671>