

RESISTÈNCIA I VIRULÈNCIA

SARA M. SOTO

Departament de Microbiologia, Hospital Clínic, IDIBAPS.

Adreça per a la correspondència: Sara M. Soto. Departament de Microbiologia, Hospital Clínic, IDIBAPS. Villarroel, 170. 08036 Barcelona. Adreça electrònica: *sarasotog@yahoo.es*.

RESUM

Avui dia, molts tractaments per a guarir les infeccions produïdes per microorganismes patògens no són eficaços. Una de les causes d'aquesta manca d'eficàcia és que l'agent o agents infecciosos a tractar són resistent a l'antimicrobià que s'empra. A més a més, el sistema immunitari de l'hoste pot no ser capaç d'eliminar el bacteri, atès que hi són presents diversos factors de virulència que els protegeixen d'aquesta defensa i que els permeten colonitzar, envair, danyar els teixits.

En aquest article s'exposen diversos exemples de com l'adquisició de resistències enfront d'antimicrobians i la capacitat de virulència d'un microorganisme poden estar relacionades, ja sigui perquè l'adquisició de resistència origina un increment o disminució de la virulència, ja sigui perquè ambdues propietats es poden transferir conjuntament mitjançant un element genètic mòbil entre microorganismes de la mateixa o diferent espècie.

Paraules clau: virulència, *E. coli* uropatogènica, resistència.

SUMMARY

Currently, a high number of infections treatments remain non-effective. One of the reasons is infectious agent being resistant to antimicrobial agents used. Besides this, the host's immunological system may be unable to clear the bacteria, due to the presence of different virulence factors that may protect the bacteria from host defences, and may allow bacteria to colonize, invade or damage tissues.

In this chapter we explain different examples showing that acquisition of antimicrobial resistance may be related with the virulence capacity of a microorganism, either because acquisition of resistance results in an increase or decrease of virulence, or because both properties might be transferred together by a mobile genetic element between microorganisms of the same of different species.

Keywords: virulence, uropathogenic *E. coli*, resistance.

QUÈ ÉS LA VIRULÈNCIA?

La patogenicitat bacteriana, o *poder patogènic*, es defineix com els mecanismes bioquímics que confereixen als microorganismes la capacitat de causar malaltia (Smith, 1984). La patogenicitat és complexa i multifactorial (Finlay i Falkow, 1989), dependent de la interacció de dos grups de factors: *a*) els relacionats amb l'hoste i la seva immunitat i *b*) els relacionats amb el microorganisme: dosi infectiva i factors de virulència, adhesines, invasives, toxines, càpsules, sideròfors, resistència al sèrum i a altres mecanismes de defensa de l'hoste.

El terme *virulència* s'empra per a indicar el grau, més o menys gran, de patogenicitat entre les diferents soques d'una mateixa espècie, i s'expressa com la dosi de cèl·lules necessàries per a provocar una resposta patològica en l'hoste. Així, dins d'una espècie patògena poden existir soques amb diferents graus de virulència.

Alguns d'aquests factors de virulència formen part de regions del genoma anomenades *illes de patogenicitat* (IPA), les quals es caracteritzen per contenir gens de virulència, ser presents en soques patògenes, i absents, o amb una distribució esporàdica, en soques de baixa patogenicitat, posseir un contingut G+C diferent en comparació amb el DNA de la cèl·lula hoste, ocupar àmplies regions del cromosoma (sovint de més de 30 kb), ser associades amb gens tRNA o seqüències d'inserció (seqüències IS) localitzades als seus extrems, presentar elements genètics relacionats amb mobilitat (seqüències IS, integrases, transposases) i orígens de replicació de plasmidis. A més, aquestes IPA sovint són inestables. Així, per exemple, s'han definit cinc IPA en diferents microorganismes del gènere *Salmonella* i en soques uropatògenes d'*Escherichia coli*, i també en d'altres espècies, com *Yersinia* sp., *Staphylococcus aureus*, etc. Alhora, existeixen petites regions del cromosoma que també contribueixen a la virulència del microorganis-

me, anomenades *illots de patogenicitat*. Altres factors de virulència es troben en plasmidis capaços de transferir-se horitzontalment entre soques de la mateixa o diferent espècie, i això afavoreix, d'aquesta manera, la disseminació de la virulència.

EL PROBLEMA DE LA RESISTÈNCIA ENFRONT DELS ANTIMICROBIANS

Els antibiòtics són utilitzats, no tan sols amb fins terapèutics, en clínica i veterinària, sinó que també són emprats en producció animal amb dos propòsits diferents: prevenció d'infeccions bacterianes i promotors del creixement. La majoria dels agents antimicrobians emprats habitualment en medicina humana i veterinària són substàncies de pes molecular relativament baix que inhibeixen el creixement dels bacteris o que poden matar-los a molt baixes concentracions. Com a resultat de l'exposició dels bacteris als antimicrobians, s'han seleccionat un gran nombre de gens de resistència. Aquests gens són usualment transmesos verticalment, però també horitzontalment a través d'elements genètics mòbils.

Els bacteris sensibles a un antimicrobià es poden tornar resistents mitjançant dos mecanismes genètics: mutació i adquisició de nous gens. La mutació és un mecanisme espontani que aporta l'avantatge de crear una subpoblació resistent, en ser els bacteris sensibles ràpidament eliminats per l'antimicrobià. D'aquesta manera, el mecanisme més freqüent de resistència a quinolones sembla ser degut a mutacions als gens que codifiquen les subunitats dels enzims DNA-girasa i topoisomerasa IV.

Per una altra banda, els bacteris poden adquirir gens de resistència provinents dels organismes productors d'antimicrobians, i posteriorment modificar-los per al seu benefici. Dins dels elements genètics mòbils que tenen un paper important en la transferència

horitzontal de la resistència, trobem plasmidis, transposons i *cassettes* de gens a integrans.

Resistència als antimicrobians i virulència dels microorganismes no són fets independents, del cert. Sovint, aquests conceptes o propietats estan fortament relacionats. En aquest article es comenten alguns exemples de la relació resistència-virulència en diferents microorganismes.

RELACIÓ VIRULÈNCIA-RESISTÈNCIA EN MICROORGANISMES GRAMNEGATIUS

Escherichia coli

Una de les relacions que s'han pogut demostrar al llarg de diferents estudis és que l'adquisició de resistència enfront de determinats agents antimicrobians pot dur associat un minvament dels nivells de virulència d'un microorganisme. L'exemple més clar es troba en les soques uropatògenes d'*E. coli*. És ben conegut que aquestes soques posseeixen determinats factors de virulència que els permeten colonitzar el tracte urinari, produir cistitis, pielonefritis i prostatitis i, fins i tot, arribar a la sang. Molts d'aquests factors de virulència, com l'hemolisina, factor necrotitzant, fimbries P, sistemes de sideròfors, fimbries S, yersiniobactina, autotransportadors de toxines, etc., són en regions del cromosoma anomenades *illes de patogenicitat* (Hacker *et al.*, 1997). Al llarg dels darrers anys, al nostre país s'ha observat un increment del nivell de resistència a antimicrobians com les quinolones en aquests microorganismes, possiblement degut al fet de ser considerats com a tractament d'elecció per a infeccions del tracte urinari. En aquest període de temps s'han dut a terme estudis on s'analitzaven aïllaments clínics d'*E. coli* uropatògena causants de cistitis (CT), pielonefritis (PNA) o prostatitis, per a establir-ne el patró de resistència, virulència i la possibilitat que ambdós patrons estiguessin relacionats.

Vila *et al.* (2002) realitzaren un estudi on varen analitzar ambdós patrons en quarantadós aïllaments d'*E. coli* causants de PNA i cinquanta-vuit de CT en dones. Els resultats mostraren que en les soques resistents a quinolones es produïa una disminució en l'expressió de fimbries de tipus 1, en comparació amb les soques sensibles ($p = 0,019$). Aquest resultat és similar a l'obtingut per Bagel *et al.* (1997), que varen mostrar que el percentatge d'aïllaments clínics d'*E. coli* no fimbriats era més gran en les soques resistents a quinolones que no pas en les sensibles. Cal tenir en compte que les fimbries del tipus 1 són més importants per a la colonització de l'epiteli que no pas del ronyó, mentre que les fimbries P tenen un tropisme més gran pel ronyó (Johnson, 1991). Tanmateix, ha estat observat que la producció d'hemolisina és més freqüent en aïllaments de malalts amb PNA que en malalts amb CT (Johnson, 1991). Malgrat això, un percentatge més gran de soques productores d'hemolisina fou trobat en soques sensibles a quinolones, i també va ser més freqüent en aquestes soques la presència dels gens implicats en virulència *cnf1* i *sat* (Vila *et al.*, 2002). Aquest estudi mostra que aïllaments d'*E. coli* uropatògenes resistents a quinolones posseeixen menys factors de virulència, i també presenten una disminució en l'expressió de fimbries de tipus 1. Factors de virulència cromosòmics com aerobactina i fimbries P són sovint absents en aïllaments d'*E. coli* resistents a antimicrobians (Johnson *et al.*, 1988).

Una possible explicació a aquests resultats seria:

a) Quan la soca és resistent a quinolones per una mutació al codó 83 de la DNA-girasa, aquesta mutació produeix una reducció del grau de superenrotllament del DNA catalitzat per aquest enzim (Bagel *et al.*, 1999). L'expressió d'alguns gens s'ha relacionat amb el superenrotllament negatiu, com és el cas de *fimA*, que codifica les fimbries de tipus 1.

b) Durant el desenvolupament de la re-

sistència a quinolones, probablement facilitada per l'exposició a aquests antimicrobians, aquests agents poden actuar, i incrementen la deleció i transposició de regions de DNA (com les IPA). Aquestes IPA comparteixen algunes característiques de bacteriòfags, i s'ha demostrat que pròfags inserits al cromosoma s'escindeixen per l'activitat del sistema SOS. Com les quinolones activen el sistema SOS, aquests antimicrobians semblen contribuir a l'escissió d'IPA per una via dependent de SOS. Una hipòtesi no exclou l'altra, i ambdós mecanismes poden ser observats concomitantment. De fet, a l'estudi de Vila *et al.* (2002), soques d'*E. coli* que no expressen *fimA* no porten els gens *hly* i *cnfI* associats a IPA.

Un altre estudi (Martínez-Martínez *et al.*, 1999) sembla confirmar la hipòtesi abans esmentada, ja que varen trobar que soques resistents a quinolones d'*E. coli* uropatògenes eren menys hemolítiques que les sensibles a quinolones. L'absència d'hemòlisi pot ser deguda a la manca del gen o a una disminució de la seva expressió.

Tanmateix, ha estat trobat (Hariharan *et al.*, 1992) que la resistència a cotrimoxazole, neomicina i tetraciclina en aïllaments d'*E. coli* procedents de porcs amb diarrea es presentava menys sovint en soques productores d'enterotoxina termolàbil (LT) i hemolisina que en soques sense aquests factors, mentre que la resistència a gentamicina era més freqüent en soques productores de LT i hemolisina que en les no productores.

Però la pregunta que sorgeix d'aquests estudis és: l'adquisició de resistència induïx la pèrdua dels factors de resistència, o les soques menys virulentes tendeixen a fer-se més resistents que les que posseeixen menys factors de virulència?

Estudis recents realitzats *in vitro* amb aïllaments d'*E. coli* uropatògenes han mostrat que els antimicrobians i, concretament, les quinolones, induïxen la pèrdua de factors de virulència continguts en determinades illes de patogenicitat; també poden induir mutacions

en gens puntuals que impedeixin la sortida a l'exterior celular o modifiquin la funcionalitat de determinats factors de virulència, com l'hemolisina (Soto, dades no publicades). Ara queda per elucidar si aquest fenomen de pèrdua de virulència com a causa de guany de resistència es produeix també *in vivo*, és a dir, que succeeix quan un malalt amb infecció urinària causada per *E. coli* és tractat amb quinolones i es continuen aïllant *E. coli* en successives anàlisis. Tindran més o menys factors de virulència?

Altres estudis han mostrat que les soques d'*E. coli* uropatògenes que presentaven fimbries P són més freqüentment resistents a tetraciclina i carbenicilina que soques en les quals les fimbries P no són detectades, i totes són resistents a amoxicilina, en contrast amb les que no posseeixen fimbries P. Aquesta relació observada entre presència de fimbries P i resistència a antimicrobians en soques de diferents serogrups d'*E. coli* suggereix la possibilitat de transferència horitzontal dels gens que codifiquen aquestes propietats (Vranes *et al.*, 1994).

Salmonella sp.

La transferència horitzontal de gens de resistència està sent estudiada arreu per molts equips de recerca, atesa la importància que té aquest mecanisme per a la dispersió de resistències a antimicrobians, no tan sols entre soques de la mateixa espècie, sinó també entre membres d'espècies distintes que tenen en comú un mateix nínxol ecològic. D'uns anys ençà, s'ha trobat la transferència de gens de resistència en combinació amb gens de virulència mitjançada per plasmidis, que solen rebre el nom de *plasmidis híbrids de resistència-virulència*.

Un dels casos millor estudiats el trobem en soques de *Salmonella enterica* serotip Typhimurium (Guerra *et al.*, 2004). *S. enterica* és una espècie zoonòtica que pot adquirir resis-

tència al medi. Els productes d'origen animal són vectors importants per a la transferència de bacteris resistents als antimicrobians des dels animals cap a l'ésser humà. *S. typhimurium* (fórmula antigènica [4,5,12:1:1,2]) és un dels serotipus més freqüents com a causa de salmonel·losi, tant en animals com en humans. Moltes soques d'aquest serotipus són multiresistents a quatre o més antimicrobians, i s'han dut a terme nombroses investigacions sobre la seva emergència i prevalença. Els darrers anys, un llinatge d'aquest serotipus, que comprèn soques dels fagotips DT104b, DT120, PNR i NT, caracteritzats per presentar el mateix fenotipus de resistència (ampicil·lina [Amp], cloramfenicol [Cm], estreptomicina [Str], sulfadiazina [Sd] i tetraciclina [Tc]) associat a un plasmidi conjugatiu de 140 kb, s'ha aïllat al nostre país. Aquest perfil de resistència està codificat per gens diferents dels presentats pel llinatge pandèmic DT104. Aquests gens de resistència són: *oxa1* (Amp), *catA1* (Cm), *aadA1a* (Str), *sul1* (Sd), i *tet(B)* (Tc). El gen *oxa1* només ha estat trobat en aquest grup genòmic i en la configuració de *cassette* de gens (*oxa1-aadA1a*), contingut en un integró de classe 1. Aquest integró apareix associat al transposó *Tn2603* (derivat del *Tn21*), que, tanmateix, conté l'operó *mer*, que confereix resistència al mercuri.

Aquestes soques de *S. typhimurium* no presenten el plasmidi de virulència específic de serotipus (pLT90), i al seu lloc presenten un plasmidi de 140 kb (denominat *pUO-StVR2*: plasmidi de la Universitat d'Oviedo-Salmonella typhimurium virulència resistència 2), capaç de transferir-se (en posseir l'operó *tra*), i que du gens de virulència i de resistència. Com també porten gens de virulència els gens *spv* (*salmonella virulence plasmid*), que incrementen la taxa de creixement de les salmonelles a les cèl·lules de l'hoste i afecten la interacció del bacteri amb el sistema immunitari del mateix i el gen *rck*, que confereix resistència al complement. Com a gens de resistència con-

té l'integró abans esmentat, i també els gens *catA1* i *tet(B)*, i el *Tn2602*.

La hipòtesi de la generació d'aquest inusual plasmidi podria ser que al reservori animal, una *S. typhimurium* amb el seu plasmidi de virulència guanyaria dos o més plasmidis de resistència; després hi hauria un procés de recombinació-transposició entre el plasmidi de virulència i els de resistència que generaria el plasmidi híbrid pUO-StVR2. Aquest plasmidi pertany a la família del pLT90, ja que porta els gens *repII*, *traT*, *spv* i *rck*, però és més gran per haver incorporat set gens de resistència, cinc dels quals són al *Tn2602*, i presumiblement també una part important de material críptic. Finalment, aquest plasmidi s'hauria mantingut al reservori animal, i hauria passat de manera esporàdica a humans per mitjà de la cadena alimentària. El darrer està recolzat pel fet d'haver estat aïllat en femtes humanes des de 1993 ençà.

RELACIÓ RESISTÈNCIA-VIRULÈNCIA EN MICROORGANISMES GRAMPOSITIUS

Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus és la causa més comuna d'infecció adquirida a l'hospital i contribueix significativament a la morbiditat i mortalitat del malalt. L'any 1960, dos anys després de la introducció de la meticil·lina, va ser detectada la primera resistència a aquest antimicrobià. Els següents trenta anys, les soques de *S. aureus* resistents a meticil·lina (MRSA) varen establir la seva distribució mundial. La incidència de MRSA com una important causa d'infecció nosocomial continua en increment en nombrosos països (Schmitz *et al.*, 1997). El patró de resistències de MRSA inclou resistència enfront de molts no- β -lactàmics, i redueix les opcions terapèutiques. MRSA pot ocasionar infeccions severes en malalts hospitalitzats, especialment en immunodeprimits, i

pot ser fatal. El risc d'adquisició de MRSA està relacionat amb la duració de l'hospitalització, tipus de diagnòstic invasiu i procediments terapèutics, i la dosi i durada de l'administració de l'antimicrobià. *S. aureus* suposa, aproximadament, el 12 % de les infeccions nosocomials.

Malgrat que els pacients rarament moren de bacterièmia nosocomial per *S. aureus*, ja siguin MRSA o sensibles a meticilina (MSSA), aquest organisme posseeix una varietat de factors de virulència, incloent-hi molècules d'adhesió, peptidoglicà de la paret celular, enzims extracel·lulars i toxines. Amb l'excepció de la malaltia mitjançada per toxina, la importància relativa d'aquests factors de virulència i el seu paper patogènic queda sense aclarir. MRSA i MSSA són capaces de produir una varietat de productes extracel·lulars, com coagulasa, leucocidina, hemolisina, toxina exfoliativa, enterotoxina, TSST-1, lipases, nucleases i proteases. La virulència d'una soca de *S. aureus* és el resultat de la suma d'un nombre d'aquests factors biològics, i no depèn de manera exclusiva de cap d'aquests. Amb l'ajut d'aquestes substàncies, *S. aureus* és capaç de penetrar al teixit i multiplicar-se localment i parcialment, malgrat el sistema immunitari de l'hoste.

Estudis recents (Melzer *et al.*, 2003) demostren un augment de la taxa relativa de mort deguda a infecció bacterièmica per MRSA. La possible explicació de la diferent virulència entre MRSA i MSSA podria raure en la gran tendència de MRSA per a disseminar-se en llocs secundaris. Malalts amb infecció disseminada presentaven taxes de mortalitat més grans que pacients sense infecció o disseminació ($p < 0,001$). Si MRSA és més virulent que MSSA i els seus factors d'adherència són importants factors de virulència, aleshores MRSA tindrà una alta tendència a adherir-se i causar infeccions en llocs secundaris.

S'ha estudiat la correlació entre producció de toxina i sensibilitat a mucopirocina o aminoglucòsids en *S. aureus* (Schmitz *et al.*, 1997). Així, varen observar que MRSA resistents a mucopirocina s'associaven més freqüentment

a infeccions agudes o cròniques que els sensibles. Això pot ser degut al fet que la mucopirocina sembla inhibir la isoleucina tRNA-sintasa.

Enterococcus sp.

Els enterococs són part de la microbiota intestinal normal. En les darreres dues dècades, els enterococs han estat identificats com a agents causants d'infeccions nosocomials amb alta freqüència, paral·lelament a l'adquisició de resistència a antimicrobians d'ús habitual. Emergències d'enterococs resistents a vancomicina (VRE) han alarmat la comunitat per diverses raons:

- Aquesta emergència deixa poques opcions per al tractament de la malaltia.

- Aquesta resistència s'ha transferit des d'enterococs a *S. aureus*.

- Estudis epidemiològics desenvolupats als EUA i Europa han identificat diferents pressions de selecció per a la proliferació i expansió de VRE.

- Un cop establerta la població resistent és difícil eliminar-la.

Les infeccions enterocòcciques poden ser degudes, almenys, a dotze espècies, i les més freqüents són *E. faecalis* i *E. faecium*. Emergències de llinatges genètics dins d'aquest gènere amb una més gran virulència resulten de l'adquisició de noves marques per intercanvi genètic

Aquest fenomen implica una diversitat d'elements genètics, com l'Acme, un element genètic de 52 kb que codifica resistència a meticilina en *S. aureus*, illes de patogenicitat que codifiquen toxines, adhesines i d'altres factors de virulència associats, conversions de fags per a producció de toxines i adquisició de factors de virulència en plasmidis i transposons.

En enterococs, les marques que han estat adquirides per alguns llinatges continuen relacionades amb la capacitat de causar malaltia, incloent-hi determinants de resistència a

antimicrobians, una toxina citolítica, gelatina-sa, sistema d'agregació, producció extracel·lular de superòxid i proteïnes de la superfície enterocòccica. Totes aquestes marques fan que l'enterococ més resistent i més virulent elimini els seus competidors a l'hora de causar malalties (Mundy *et al.*, 2000).

En conclusió, virulència i resistència dels microorganismes són dues característiques que estan íntimament relacionades, i ofereixen als bacteris els avantatges de sobreviure malgrat les defenses de l'hoste i els tractaments amb antimicrobians, i de causar malalties més severes o cròniques.

BIBLIOGRAFIA

- BAGEL, S.; HEISIG, P.; WIEDEMANN, B. (1997). «Fluoroquinolone resistance of *Escherichia coli* frequently is associated with decreased expression of type 1 fimbriae». A: *Program and abstracts of the 37th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (Toronto)*. Washington DC: American Society for Microbiology, pàg. 52.
- BAGEL, S.; HÜLLEN, V.; WIEDEMANN, B.; HEISIG, P. (1999). «Impact of *gyrA* and *parC* mutations on quinolone resistance, doubling time, and supercoiling degree of *Escherichia coli*». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 43, pàg. 868-875.
- FINLAY, B. B.; FALKOW, S. (1989). «Common themes in microbial pathogenicity». *Microbiol. Rev.*, vol. 53, pàg. 210-230.
- GUERRA, B.; JUNKER, E.; MIKO, A.; HELMUTH, R.; MENDOZA, M. C. (2004). «Characterization and localization of drug resistance determinants in multidrug-resistant, integron-carrying *Salmonella enterica* serotype Typhimurium strains». *Microbiol. Drug Resist.*, vol. 2, pàg. 83-91.
- HACKER, J.; BLUM-OEHLER, G.; MÜHLENDORFER, I.; TSCHÄPE, H. (1997). «Pathogenicity islands of virulent bacteria: structure, function and impact on microbial evolution». *Mol. Microbiol.*, vol. 23, pàg. 1089-1097.
- HARIHARAN, H.; HEANEY, S.; BRYENTON, J.; DALEY, J. (1992). «Observations on production of hemolysin, heat-labile enterotoxin and antimicrobial drug resistance among enterotoxigenic *Escherichia coli* from pigs». *Comparative Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 15, pàg. 229-234.
- JOHNSON, J. R. (1991). «Virulence factors of *Escherichia coli* urinary tract infections». *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 4, pàg. 80-128.
- JOHNSON, J. R.; MOSELEY, S. L.; ROBERTS, P. L.; STAMM, W. E. (1988). «Aerobactin and other virulence factors genes among strains of *Escherichia coli* causing urosepsis: association with patient characteristics». *Infect. Immun.*, vol. 56, pàg. 405-412.
- MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, L.; FERNÁNDEZ, F.; PEREA, E. (1999). «Relationship between haemolysis production and resistance to fluoroquinolones among clinical isolates of *Escherichia coli*». *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 43, pàg. 277-279.
- MELZER, M.; EYKYN, S. J.; GRANSDEN, W. R.; CHINN, S. (2003). «Is methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* more virulent than methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*? A comparative cohort study of british patients with nosocomial infection and bacteremia». *Clin. Infect. Dis.*, vol. 37, pàg. 1453-1460.
- MUNDY, L. M.; SAHM, D. F.; GILMORE, M. (2000). «Relationships between enterococcal virulence and antimicrobial resistance». *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 13, pàg. 513-522.
- SCHMITZ, F. J.; MACKENZIE, C. R.; GEISEL, R.; WAGNER, S.; IDEL, H.; VERHOEF, J.; HADDING, U.; HEINZ, H. P. (1997). «Enterotoxin and toxic shock syndrome toxin-1 production of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strains». *Eur. J. Epid.*, vol. 13, pàg. 699-708.
- SMITH, H. (1984). «The biochemical challenge of microbial pathogenicity». *J. Appl. Bacteriol.*, vol. 57, pàg. 395-404.
- VILA, J.; SIMON, K.; RUIZ, J.; HORCAJADA, J. P.; VELASCO, M.; BARRANCO, M.; MORENO, A.; MENSA, J. (2002). «Are quinolone-resistant uropathogenic *Escherichia coli* less virulent?» *J. Infect. Dis.*, vol. 186, pàg. 1039-1042.
- VRANES, J.; SCHONWALD, S.; ZAGAR, Z. (1994). «Relation between P-fimbriae and resistance to amoxicillin, carbenicillin and tetracycline in uropathogenic strains of *Escherichia coli*». *Lijec. Vjesn.*, vol. 116, pàg. 178-181.