

QUINOLONES: ACCIÓ I RESISTÈNCIA

JOAQUIM RUIZ

Centre de Salut Internacional, Hospital Clínic, IDIBAPS.

Adreça per a la correspondència: Joaquim Ruiz. Centre de Salut Internacional, Hospital Clínic, IDIBAPS. Villarroel, 170. 08036 Barcelona. Adreça electrònica: jorui@clinic.ub.es.

RESUM

Les quinolones són agents sintètics amb un ampli ventall d'acció. Han estat dels agents més emprats al món, la qual cosa ha conduït a l'aparició d'alts nivells de resistència als mateixos. Actualment es coneixen diferents mecanismes de resistència: *a)* mutacions a les dianes, *b)* problemes de permeabilitat, *c)* acció de bombes d'expulsió, *d)* protecció de les dianes i *e)* nivells d'expressió dels gens codificadors de les dianes de les quinolones.

Paraules clau: quinolones, resistència, DNA-girasa, topoisomerasa IV, *efflux* actiu, *qnr*.

SUMMARY

Quinolones are synthetic agents with a wide activity spectrum. These agents have been extensively used, being considered one of the most consumed antibacterials at world wide level. This fact has resulted in the appearance of high levels of quinolone-resistance. Currently different mechanisms of resistance have been described: 1) target mutations, 2) impermeability, 3) efflux pumps, 4) target protection and 5) levels of target expression.

Keywords: quinolones, resistance, DNA gyrase, topoisomerase IV, active efflux, *qnr*.

INTRODUCCIÓ

Les quinolones són antibacterians d'origen sintètic, que deriven de l'àcid nalidíxic (NAL), agent sintetitzat l'any 1962 (Leshner *et al.*, 1962). Originalment aquests agents només eren útils davant d'infeccions urinàries, però des de la incorporació d'un àtom de fluor a la posició 6, fet que succeí a la darrera dels anys setanta, i amb el desenvolupament de la norfloxacin, agent que obrí l'era de les quinolones fluo-

rades o *fluoroquinolones* (FQ), varen ampliar considerablement llur espectre d'acció i varen abastar un ampli ventall d'aplicacions, fins al punt que a les acaballes del segle xx la ciprofloxacina, possiblement el membre més conegut d'aquest grup d'antibacterians, esdevingué l'agent antibacterià més emprat al món (Acar i Goldstein, 1997). Aquest elevat nivell d'ús amaga, no obstant això, fortes diferències geogràfiques, associades d'una manera directa al seu elevat cost econòmic, que ha fet que

en nombrosos països pobres hagin estat molt poc o gens emprades. De fet, fins no fa gaire temps, els patògens provinents d'aquestes àrees geogràfiques eren molt sensibles a les quinolones, però d'un temps ençà hi ha un constant increment de soques resistents, fet que ha estat relacionat amb problemes de control de l'ús que es fa dels antimicrobians, i amb la introducció de quinolones de primera generació, com l'àcid nalidíxic per al tractament de diverses malalties, o amb l'ús de quinolones de producció illegal que no tenen cap garantia (Hart i Kariuki, 1998).

També cal fer esment que llurs aplicacions no es limiten a la medicina humana: són emprats a bastament en veterinària. De fet, aquest ús veterinari s'ha associat en alguns casos específics, com *Campylobacter jejuni*, amb l'increment dels nivells de resistència (Endtz *et al.*, 1991).

MECANISMES D'ACCIÓ

Les quinolones actuen inhibint l'acció de les topoisomerases de tipus II. Actualment es coneixen dos enzims pertanyents a aquest grup, la DNA-girasa i la topoisomerasa IV. Ambdós són enzims tetramèrics que posseeixen una forta semblança estructural i són formats per dues subunitats A i dues subunitats B (GyrA i GyrB en el cas de la DNA-girasa, i ParC i ParE pel que fa a la topoisomerasa IV); també s'assemblen en la seqüència d'aminoàcids (existeix una forta homologia entre GyrA i ParC per una banda, i entre GyrB i ParE per l'altra), i estan relacionats amb els processos de replicació i segregació del cromòfor bacterià. Així, la funció principal de la DNA-girasa és la de catalitzar el superenrotllament negatiu del DNA, mentre que, pel que fa a la topoisomerasa IV, sembla ser la segregació dels cromosomes després de la duplicació (Ruiz, 2003).

Per a exercir aquesta inhibició, les quinolones interaccionen a la vegada amb el DNA i la

diana. En el cas de la DNA-girasa, s'ha postulat que les quinolones produeixen l'existència de forquetes de replicació obertes, atès l'ancoratge d'aquest enzim amb el DNA, que el bacteri interpreta com la presència de lesions al seu cromòfor, amb la qual cosa activa el sistema SOS, que en l'intent de reparar aquestes lesions acabaria provocant la mort bacteriana (Piddock i Walters, 1992).

MECANISMES DE RESISTÈNCIA

Actualment es coneixen cinc mecanismes de resistència a quinolones. Aquests són:

- a) Alteracions de llurs dianes.
- b) Impermeabilitat de membrana.
- c) Expulsió activa.
- d) Protecció de les dianes.
- e) Expressió de les dianes.

De tots aquests el més rellevant en soques clíniques és la presència d'alteracions en les topoisomerases de tipus II (Ruiz, 2003), malgrat que recents estudis semblen indicar que fins ara la contribució real dels sistemes d'expulsió activa al desenvolupament de resistències a quinolones ha estat menyspreada (Sáenz *et al.*, 2004).

Alteracions a les dianes

La diana primària de les quinolones depèn de dos factors: el tipus de microorganisme i la quinolona específica. De manera general, en microorganismes gramnegatius la diana principal és GyrA, mentre que en grampositius és ParC (anomenat *GrlA* en *Staphylococcus aureus*), encara que algunes quinolones, com la clinafloxacin o la moxifloxacin, posseeixen la mateixa afinitat per tots dos enzims (Takei *et al.*, 2001).

El major nombre d'estudis s'ha desenvolupat sobre *Escherichia coli*. En aquest microorganisme s'han descrit mutacions relacionades amb el desenvolupament de resistència a

quinolones als gens codificadors de les quatre subunitats (vegeu les taules 1 i 2), encara que no totes aquestes mutacions posseeixen la mateixa importància. Així, *in vivo*, les mutacions més importants són al *gyrA*, i les de *parC* són les segones en importància, mentre que són gairebé absents les mutacions en *gyrB* i no se n'han descrit en *parE* (Ruiz, 2003). *In vitro*, les mutacions en *gyrA* i *parC* continuen essent les més importants, però hi han estudis que donen la mateixa rellevància a les mutacions de *gyrB* (Nakamura *et al.*, 1989). Tanmateix, únicament *in vitro* s'ha descrit una mutació en *parE* (Breines *et al.*, 1997), i s'ha de tenir en compte que només comporta un increment en la resistència a quinolones en presència d'una mutació concomitant en *gyrA*. Aquest esquema seria extrapolable a la gran majoria de microorganismes gramnegatius, mentre que en els grampositius les mutacions en *gyrB* i *parE* es troben en més codons i més freqüentment que en gramnegatius, malgrat que el rol d'algunes com a causa de resistència a quinolones no està plenament establert i fins i tot és dubtós (Ruiz, 2003). De la mateixa manera, no totes les substitucions descrites en una mateixa subunitat tenen la mateixa importància, ni afecten igualment els nivells de resistència.

Clàssicament, en *gyrA* la regió on es detecten les mutacions implicades en el desenvolupament de resistència a quinolones ha estat anomenada amb les sigles QRDR (de l'anglès *quinolone resistant determining region*), i s'estén des del codó 67 fins al 106. No obstant això, ja s'han descrit mutacions en codons situats fora d'aquesta regió, i s'ha demostrat, almenys pel que fa a les situades al codó 51 d'*E. coli*, llur paper en el desenvolupament de resistència a quinolones (Friedman *et al.*, 2001). El mateix succeeix en d'altres microorganismes gramnegatius, on també s'han descrit mutacions fora de la QRDR, com seria el cas de les mutacions al codó 119 de *Salmonella* sp. (Griggs *et al.*, 1996).

En *E. coli*, actualment, s'han descrit mutaci-

TAULA 1. Substitucions associades amb resistència a quinolones en *GyrA* i *GyrB* d'*E. coli*

Codó	Aminoàcid salvatge	Substitucions descrites
a) Substitucions descrites en <i>GyrA</i>		
51	Ala	Val
67	Ala	Ser
81	Gly	Cys, Asp
82	Asp	Gly
83	Ser	Leu, Trp, Ala, Val
84	Ala	Pro, Val
87	Asp	Asn, Gly, Val, Tyr, His
106	Gln	Arg, His
b) Substitucions descrites en <i>GyrB</i>		
426	Asp	Asn
447	Lys	Glu

ons als codons 51, 67, 81, 82, 83, 84, 87 i 106, encara que les mutacions als codons 51, 67, 82 i 106 només s'han trobat en mutants de laboratori (vegeu la taula 1). De totes les mutacions suara esmentades les més freqüentment descrites tant en *E. coli* com en la gran majoria de microorganismes gramnegatius són les que afecten el codó 83. Aquest, de fet, es podria considerar el primer punt de mutació en aquests microorganismes (Ruiz, 2003). Una de les possibles i escasses excepcions seria *Salmonella* sp., microorganisme on semblen ser més freqüents les mutacions que ocupen el codó 87 (Cabrera *et al.*, 2004; Piddock *et al.*, 1998).

La presència de només una d'aquestes mutacions al *gyrA* s'associa amb un alt nivell de resistència a NAL, però tan sols amb una sensibilitat disminuïda a les fluoroquinolones, i és necessari el concurs d'altres mutacions al *gyrA* o en altres dianes (normalment *parC*) per a assolir resistència plena a fluoroquinolones. Cal fer esment que, com veurem més endavant quan parlem de bombes d'expulsió, aquest fet, malgrat que és plenament considerat arreu, fins al punt que en alguns microorganismes es considera el NAL com a marcador de resistència del grup de les quinolones (Hakanen *et al.*, 1999; Ruiz *et al.*, 2002), cosa

que en clínica és plenament vàlida, no és estrictament veritat.

L'ús dels nivells de resistència a l'àcid nalidíxic per a determinar la viabilitat dels tractaments amb fluoroquinolones es deu al fet que s'ha descrit un major nombre de fallides terapèutiques amb fluoroquinolones en soques NAL^R sensibles a fluoroquinolones (Wain *et al.*, 1997); tanmateix, estudis *in vitro* han mostrat que aquestes soques esdevenen més fàcilment resistents a fluoroquinolones que soques sense cap mutació a les dianes (Ruiz *et al.*, 2002), ja que veuen facilitada la possibilitat d'adquirir una nova mutació.

Com s'ha dit, diferents substitucions en un mateix codó donen lloc a diferents nivells de resistència; així, a tall d'exemple, diferents estudis han mostrat que les substitucions al codó 83 que donen com a resultat un residu Ala donen nivells de resistència més minsos que quan la substitució és Leu o Val, per exemple. En aquest sentit és notable que a partir d'una soca resistent a NAL (MIC de 32 µg/ml) que posseïa una Ala al codó 83 es varen obtenir, fent-la créixer en presència de lomefloxacina, una soca mutant *in vitro* amb una MIC de NAL de 2.048 µg/ml, on només variava el fet que el codó 83 havia mutat i en comptes d'una Ala hi havia una Val (Tavio *et al.*, 1999). Aquestes soques amb Ala al codó 83 semblen ser més freqüents en treballs desenvolupats amb soques provinents de països de baixa renda (Vila *et al.*, 2000, 2001), possiblement pel fet que en aquests països la quinolona més emprada és el NAL, la menys potent de les quinolones comercialitzades. Aquests fets s'han associat amb els mecanismes d'interacció entre les quinolones i llurs dianes. Actualment el més acceptat és el que considera que l'aminoàcid 83 és el punt d'interacció del radical que les quinolones posseeixen en posició 1, mentre que l'aminoàcid 87 seria on interaccionaria el radical en posició 7 de les quinolones. Així, diferents substitucions afectarien de manera diferent aquestes interaccions, afavorint o interferint amb la unió de les quinolones.

Malgrat tot, cal assenyalar que el fenotipus NAL^S FQ^R ha estat descrit de manera puntual tant *in vitro* com *in vivo*. *In vitro* ha estat descrit en *E. coli*, i és degut a les mutacions Gly-81 en Asp o Asp-82 en Gly. Tanmateix, s'ha descrit en algunes soques esporàdiques de *Campylobacter jejuni*, sense que s'hagi aclarit el mecanisme responsable (Ruiz, 2003). L'únic microorganisme d'interès clínic en què sembla que aquest fenotipus sigui la norma habitual és *Stenotrophomonas maltophilia*, microorganisme en què, de manera interessant, les mutacions a les dianes de les quinolones sembla que no tenen cap paper en la resistència a quinolones, i s'ha suggerit la presència de potents bombes d'expulsió (Ribera *et al.*, 2002b; Ruiz, 2003).

La forta semblança estructural que hi ha entre les dues dianes fa que les principals mutacions descrites en *parC* siguin ubicades en punts equivalents als descrits per a *gyrA*. Així, en *E. coli*, s'han descrit mutacions als codons 78, 80 i 84 (que equivalen als 81, 83 i 87 de *gyrA*) (vegeu la taula 2); en altres microorganismes s'han descrit mutacions en d'altres codons, com al 79 —descrites en *Shigella flexneri*, *Haemophilus influenzae* o *Streptococcus pneumoniae* (Ruiz, 2003). Una mutació descrita tan sols en *S. aureus* afecta el codó 116 (Ala a Glu o Pro); aquesta mutació seria a l'aminoàcid anàleg al 119 de *gyrA* de *Salmonella* sp.

Les mutacions a les subunitats *gyrB* i *parE* gaudeixen de molta menys importància, especialment pel que pertoca a gramnegatius. En *E. coli* s'han descrit mutacions als codons 426 i 447 de *gyrB* i al 445 de *parE* (vegeu les taules 1 i 2). Tanmateix, en *Salmonella* sp. s'ha associat la presència de mutacions al codó 463 de *gyrB* (Ser a Tyr) amb el desenvolupament de resistència a quinolones (Gensber *et al.*, 1995). En grampositius la rellevància de les mutacions en aquestes subunitats sembla més gran, encara que normalment hi són presents en companyia de mutacions en *gyrA* o *parC*.

En microorganismes grampositius s'ha descrit la capacitat d'adquirir per transformació natural fragments dels gens *gyrA* o *parC* d'es-

TAULA 2. Substitucions associades amb resistència a quinolones en ParC i ParE d'*E. coli*

Codó	Aminoàcid salvatge	Substitucions descrites
a) Substitucions descrites en ParC		
78	Gly	Asp
80	Ser	Ile, Arg
84	Glu	Lys, Val, Gly
b) Substitucions descrites en ParE		
445	Leu	His

pècies properes i incorporar-los en llur genoma. Si aquests fragments estan mutats, amb aquests s'adquireix la resistència a quinolones. A hores d'ara s'ha descrit aquest fenomen en *Streptococcus pneumoniae* i en *Streptococcus* del grup viridans (Janoir *et al.*, 1999; Ruiz, 2003)

Impermeabilitat de membrana

Els problemes de permeabilitat afecten desigualment les quinolones en funció de llur grau d'hidrofòbia. Així, totes les quinolones poden penetrar als bacteris per porines, però només aquelles més hidrofòbiques poden passar pel mig de la bicapa lipídica.

Usualment, els problemes de permeabilitat s'associen amb un minvament en l'expressió d'alguna porina. En *E. coli* s'ha associat un descens en el nivell de la porina OmpF amb un increment en els nivells de resistència de determinades quinolones (Ruiz, 2003). Aquest és un mecanisme de resistència múltiple que afecta altres antibiòtics no emparentats, ja que aquesta porina és la porta d'entrada de diversos antimicrobians (Cohen *et al.*, 1989). La regulació de la síntesi d'OmpF està mitjançada per *micF*, un regulador antisentit, que produiria una repressió posttranscripcional de la síntesi d'OmpF. La presència d'aquest regulador, a la vegada, estaria controlada pels sistemes MarRAB o SoxRS, sistemes de regulació induïbles per diferents substrats, incloses les

quinolones, que estan sota el control de diferents gens i afavoreixen alhora el descens de la presència de determinades porines (p. ex.: OmpF) i la sobreexpressió d'algunes bombes d'expulsió.

Cal fer esment que la composició particular de la membrana externa de diferents bacteris ha estat associada amb nivells més grans de resistència basal a quinolones, com seria el cas d'*Acinetobacter baumannii* i *Pseudomonas aeruginosa* (Ruiz, 2003).

Expulsió activa

L'expulsió de quinolones ha estat considerada durant molt de temps com un sistema complementari, capaç de modular els nivells de resistència deguts a la presència de mutacions a les dianes, i que només en casos excepcionals de sobreexpressió podria donar lloc a resistència a aquests antimicrobians.

Estudis recents han demostrat que la realitat és més complexa, i d'aquesta manera s'ha mostrat la presència de trenta-set sistemes putatius d'expulsió activa en *E. coli* amb un rol encara desconegut en la resistència a aquests i d'altres agents (Nishino i Yamaguchi, 2001). Així mateix, com s'ha esmentat abans, existeixen microorganismes, com *S. maltophilia* amb potents bombes d'expulsió, que per si mateixes poden donar lloc a elevats nivells de resistència (Ribera *et al.*, 2002a; Ruiz, 2003).

De la mateixa manera, s'ha descrit en *E. coli* que en presència de determinats inhibidors de bombes d'expulsió, com la Phe-Arg- β -nafilamida, una mutació al codó 83 de *gyrA* no pot per si mateixa produir resistència a NAL (Sáenz *et al.*, 2004). D'aquesta manera, soques amb una mutació en *gyrA* i amb nivells de resistència a NAL de 64-1.024 $\mu\text{g/ml}$ presenten nivells de resistència de 4-16 $\mu\text{g/ml}$ quan s'afegeix al medi aquest inhibidor. El mateix efecte es detecta amb soques sensibles, sense cap mutació en llurs dianes; en aquestes el nivell basal de resistència a NAL cau des

de 2-4 µg/ml en absència de l'inhibidor fins a < 0,25-0,5 µg/ml. Aquests resultats suggereixen la presència constitutiva d'una bomba d'expulsió amb la capacitat de reenviar NAL al medi. En aquest mateix estudi s'observa que la resistència a ciprofloxacina només es veu afectada quan és més elevada del que caldria esperar pel nombre i tipus de mutacions en les seves dianes, la qual cosa fa pensar que aquesta hipotètica bomba capaç de reenviar NAL al medi podria —a causa de petites alteracions estructurals que augmentessin la seva afinitat per la ciprofloxacina o d'una sobre-expressió—, encara que amb baixa eficiència, reenviar al medi ciprofloxacina i modular els nivells de resistència a aquest antimicrobià. Encara que menor, aquest inhibidor també ha mostrat posseir un cert efecte en els nivells de resistència de NAL en altres microorganismes gramnegatius, com per exemple *A. baumannii* (Ribera *et al.*, 2002b).

En els microorganismes grampositius s'han descrit sistemes d'expulsió que poden reenviar al medi quinolones; el millor estudiat és el sistema NorA, de *S. aureus*. Aquest sistema és dependent d'ATP, i és capaç de reenviar al medi quinolones hidrofíliques, com norfloxacina, però no afecta les més hidrofòbiques (Ruiz, 2003). Actualment es coneixen diferents bombes d'expulsió relacionades amb NorA en altres microorganismes grampositius.

Protecció de les dianes

El 1998 Martínez-Martínez *et al.* (1998) varen fer la primera demostració ferma de la transferència plasmídica de la resistència a quinolones, assumpte que havia estat centre d'àmplies discussions i que, malgrat que s'havien fet diverses descripcions al llarg de la història d'aquests agents, mai no havia estat plenament establert (Ruiz, 2003). Posteriors anàlisis d'aquests plasmidi varen demostrar que carregava un gen, que va ser anomenat *qnr*, el producte del qual interaccionava

amb les dianes de les quinolones i minvava la seva afinitat per les quinolones (Tran i Jacoby, 2002), encara que el mecanisme exacte d'interacció roman sense identificar.

Aquest gen es troba flanquejat per l'ORF513, ORF que ha estat descrit com a part dels anomenats *integrons complexos*, cosa que fa pensar que aquest gen es troba dins d'un integró complex de classe 1.

Aquest gen només ha estat descrit en *E. coli* i en *Klebsiella pneumoniae*, però la seva localització plasmídica i el fet que estigui, probablement, en un integró de classe 1, són motius prou suficients per a pressuposar-li una certa facilitat per a estendre's no tan sols dins d'aquestes espècies, sinó a d'altres. Actualment el gen *qnr* ja ha estat descrit en països tan llunyans com la Xina i els Estats Units, i s'han trobat en el primer d'aquests països prevalences de més del 7 %, i de l'11 % als Estats Units. (Wang *et al.*, 2003, 2004).

Expressió de les dianes

Recentment, l'any 2003, es va descriure per primer cop un increment en la resistència a quinolones mitjançant un minvament en els nivells d'expressió de la topoisomerasa IV (raonablement, el mateix efecte s'hauria d'aconseguir amb un descens en els nivells d'expressió de la DNA-girasa). Aquest alentiment s'associa amb la presència de mutacions al promotor del gen que feien minvar el seu nivell de transcripció (Ince i Hooper, 2003).

Aquest fenomen es podria associar amb observacions dels anys noranta en les quals es veia que un alentiment de la velocitat de creixement d'*E. coli* es traduïa en uns nivells més grans de resistència a les quinolones (Dalhoff *et al.*, 1995).

El fenomen roman sense explicar, malgrat que es podria explicar per la presència d'un menor nombre de lesions al DNA, i un temps més gran perquè l'actuació del sistema SOS pugui acabar reparant-les.

BIBLIOGRAFIA

- ACAR, J. F.; GOLDSTEIN, F. W. (1997). «Trends in bacterial resistance to fluoroquinolones». *Clin. Infect. Dis.*, vol. 24 (supl. 1), pàg. 67-73.
- BREINES, D. V.; OUABDESSELAM, S.; NG, E. Y.; TANKOVIC, J.; SHAH, S.; SOUSSY, C. J.; HOOPER, D. C. (1997). «Quinolone resistance locus *nfxD* of *Escherichia coli* is a mutant allele of the *parE* gene encoding a subunit of topoisomerase IV». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 41, pàg. 175-179.
- CABRERA, R.; RUIZ, J.; ARROYO, M.; MARCO, F.; OLIVEIRA, I.; ALADUEÑA, A.; USERA, M. A.; JIMÉNEZ DE ANTA, M. T.; GASCÓN, J.; VILA, J. (2004). «Mechanisms of resistance to several antimicrobial agents in *Salmonella* clinical isolates causing of traveler's diarrhea». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 48, pàg. 3934-3939.
- COHEN, S. P.; McMURRY, L.; HOOPER, D. C.; WOLFSON, J. S.; LEVY, S. B. (1989). «Cross resistance to fluoroquinolones in multiple-antibiotic-resistance (Mar) *Escherichia coli* selected by tetracycline or chloramphenicol: decreased drug accumulation associated with membrane changes in addition to OmpF reduction». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 33, pàg. 1318-1325.
- DALHOFF, A.; MATUTAT, S.; ULLMANN, U. (1995). «Effect of quinolones against slowly growing bacteria». *Chemotherapy*, vol. 41, pàg. 92-99.
- ENDTZ, H. P.; RUIJS, G. J.; KLINGEREN, B. VAN; JANSEN, W. H.; REYDEN, T. VAN DER; MOUTON, R. P. (1991). «Quinolone resistance in campylobacter isolated from man and poultry following the introduction of fluoroquinolones in veterinary medicine». *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 27, pàg. 199-208.
- FRIEDMAN, S.; LU, T.; DRLICA, K. (2001). «Mutation in the DNA gyrase A gene of *Escherichia coli* that expands the quinolone resistance-determining region». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 45, pàg. 2378-2380.
- GENSBER, K.; YIN, Y. F.; PIDDOCK, L. J. V. (1995). «A novel *gyrB* mutation in a fluoroquinolone-resistant clinical isolate of *Salmonella typhimurium*». *FEMS Microbiol. Lett.*, vol. 132, pàg. 57-60.
- GRIGGS, D.; GENSBER, K.; PIDDOCK, L. J. V. (1996). «Mutations in *gyrA* gene of quinolone-resistant *Salmonella* serotypes isolated from human and animals». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 40, pàg. 1009-1013.
- HAKANEN, A.; KOTILAINEN, P.; JALAVA, A.; SIITONEN, A.; HUOVINEN, P. (1999). «Detection of decreased fluoroquinolone susceptibility in *Salmonellas* and validation of nalidixic acid screening test». *J. Clin. Microbiol.*, vol. 37, pàg. 3572-3577.
- HART, C. A.; KARIUKI, S. (1998). «Antimicrobial resistance in developing countries». *BMJ*, vol. 317, pàg. 647-650.
- INCE, D.; HOOPER, D. C. (2003). «Quinolone resistance due to reduced target enzyme expression». *J. Bacteriol.*, vol. 23, pàg. 6883-6892.
- JANOIR, C.; PODGLAJEN, I.; KITZIS, M. D.; POYART, C.; GUTMANN, L. (1999). «*In vitro* exchange of fluoroquinolone resistance determinants between *Streptococcus pneumoniae* and viridans streptococci and genomic organization of the *parE-parC* region in *S. mitis*». *J. Infect. Dis.*, vol. 180, pàg. 555-558.
- LESHER, G. Y.; FROELICH, E. J.; GRUETT, M. D.; BAILEY, J. H.; BRUNDAGE, R. P. (1962). «1,8-naphthyridine derivatives: a new class of chemotherapy agents». *J. Med. Pharm. Chem.*, vol. 5, pàg. 1063-1065.
- MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, L.; PASCUAL, A.; JACOBY, G. A. (1998). «Quinolone resistance from a transferable plasmid». *Lancet*, vol. 351, pàg. 797-799.
- NAKAMURA, S.; NAKAMURA, M.; KOJIMA, T.; YOSHIDA, H. (1989). «*gyrA* and *gyrB* mutations in quinolone-resistant strains of *Escherichia coli*». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 33, pàg. 254-255.
- NISHINO, K.; YAMAGUCHI, A. (2001). «Analysis of a complete library of putative drug transporter genes in *Escherichia coli*». *J. Bacteriol.*, vol. 183, pàg. 5803-5812.
- PIDDOCK, L. J. V.; RICCI, V.; McLAREN, I.; GRIGGS, D. J. (1998). «Role of mutation in the *gyrA* and *parC* genes of nalidixic-acid-resistant *Salmonella* serotypes isolated from animals in the United Kingdom». *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 41, pàg. 635-641.
- PIDDOCK, L. J. V.; WALTERS, R. N. (1992). «Bactericidal activities of five quinolones for *Escherichia coli* strains with mutations in genes encoding the SOS response or cell division». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 36, pàg. 819-825.
- RIBERA, A.; DOMÈNECH-SÁNCHEZ, A.; RUIZ, J.; BENEDÍ, V. J.; JIMÉNEZ DE ANTA, M. T.; VILA, J. (2002a). «Mutations in *gyrA* and *parC* QRDs are not relevant for quinolone resistance in epidemiological unrelated *Stenotrophomonas maltophilia* clinical isolates». *Microb. Drug Resist.*, vol. 8, pàg. 245-252.
- RIBERA, A.; RUIZ, J.; JIMÉNEZ DE ANTA, M. T.; VILA, J. (2002b). «Effect of an efflux pump inhibitor in the MIC of nalidixic acid for *Acinetobacter baumannii* and *Stenotrophomonas maltophilia* clinical isolates». *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 49, pàg. 697-698.
- RUIZ, J. (2003). «Mechanisms of resistance to quinolones: target alterations, decreased accumulation and DNA gyrase protection». *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 51, pàg. 1109-1117.
- RUIZ, J.; GÓMEZ, J.; NAVIA, M. M.; RIBERA, A.; SIERRA, J. M.; MARCO, F.; MENSA, J.; VILA, J. (2002). «High prevalence of nalidixic acid resistant, ciprofloxacin susceptible phenotype among clinical isolates of *Escherichia coli* and other Enterobacteriaceae». *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 42, pàg. 257-261.
- SÁENZ, Y.; RUIZ, J.; ZARAZAGA, M.; TEIXIDÓ, M.; TORRES, C.; VILA, J. (2004). «Effect of the efflux pump inhibitor Phe-Arg- β -naphthylamide on the MIC values of the quinolones, tetracycline and chloramphenicol, in *Escherichia coli* isolates of different origin». *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 53, pàg. 544-545.

- TAKEI, M.; FUKUDA, H.; KISHII, R.; HOSAKA, M. (2001). «Target preference of 15 quinolones against *Staphylococcus aureus* based on antibacterial activities and target inhibition». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 45, pàg. 3544-3547.
- TAVIO, M. M.; VILA, J.; RUIZ, J.; RUIZ, J.; MARTÍN-SÁNCHEZ, A. M.; JIMÉNEZ DE ANTA, M. T. (1999). «Mechanisms involved in the development of resistance to fluoroquinolones in *Escherichia coli* strains». *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 44, pàg. 735-742.
- TRAN, J. H.; JACOBY, G. A. (2002). «Mechanisms of plasmid mediated quinolone resistance». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 99, pàg. 5638-5642.
- VILA, J.; VARGAS, M.; RUIZ, J.; CORACHAN, M.; JIMÉNEZ DE ANTA, M. T.; GASCÓN, J. (2000). «Quinolone resistance in enterotoxigenic *Escherichia coli* causing diarrhea in travelers to India in comparison with travelers to other geographical areas». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 44, pàg. 1731-1733.
- VILA, J.; VARGAS, M.; RUIZ, J.; ESPASA, M.; PUJOL, M.; CORACHAN, M.; JIMÉNEZ DE ANTA, M. T.; GASCÓN, J. (2001). «Susceptibility patterns of enteroaggregative *Escherichia coli* associated to traveller's diarrhoea. Emergence of quinolone resistance». *J. Med. Microbiol.*, vol. 50, pàg. 996-1000.
- WAIN, J.; HOA, N. T. T.; CHINH, N. T.; VINH, H.; EVERETT, M. J.; DIEP, T. S.; DAY, N. P.; SOLOMON, T.; WHITE, N. J.; PIDDOCK, L. J.; PARRY, C. M. (1997). «Quinolone-resistant *Salmonella typhi* in Viet Nam: molecular basis of resistance and clinical response to treatment». *Clin. Infect. Dis.*, vol. 25, pàg. 1404-1410.
- WANG, M.; SAHM, D. F.; JACOBY, G. A.; HOOPER, D. C. (2004). «Emerging plasmid-mediated quinolone resistance associated with the *qnr* gene in *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in the United States». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 48, pàg. 1295-1299.
- WANG, M.; TRAN, J. H.; JACOBY, G. A.; ZHANG, Y.; WANG, F.; HOOPER, D. C. (2003). «Plasmid-mediated quinolone resistance in clinical isolates of *Escherichia coli* from Shanghai, China». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 47, pàg. 2242-2248.