

156



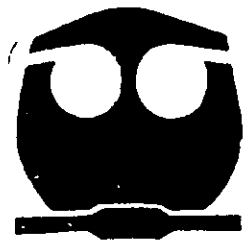
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

LA ACTUAL IMPORTANCIA DE LAS FLUOROQUINOLONAS Y LAS ESTREPTOGRAMINAS

TRABAJO MONOGRAFICO DE ACTUALIZACION QUE PARA OBTENER EL TITULO DE: QUIMICA FARMACEUTICA - BIOLOGA PRESENTA: EDITH GABRIELA VILCHIS GAONA

299338



MEXICO, D.F.

2001





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

Presidente: María Elsa Escudero García
Vocal: Raúl Garza Velasco
Secretario: Abel Gutiérrez Ramos
1er Suplente: Alejandro Camacho Cruz
2do Suplente: María del Rocío López Álvarez

Sitio donde se desarrolló el tema:

Bibliotecas de las Facultades de Química, Medicina y del Sector Salud.

Asesor


Q.F.B. Raúl Garza Velasco

Sustentante


Edith Gabriela Vilchis Gaona

Dedicatorias

A mis padres, por todo su amor, comprensión y cariño. Por apoyarme en todos mis proyectos y ser uno de los motores más importantes en mi vida. A mi mamá, por ser ante todo mi amiga y confidente. A mi papá, por enseñarme a amar la vida y a disfrutar cada instante.

A mis hermanos, por estar siempre conmigo y ayudarme a crecer. Gracias por los innumerables consejos.

A mi Jorge, por ser para mí el ser que ilumina mi vida. Por ayudarme a cambiar mi mundo y volverme una persona mejor. Hermoso, gracias por tu amor y paciencia. Ich liebe dich.

A Mig, Lulux y Nando, por todas las aventuras y desvelos de cada semestre. Por las bromas y los consejos. Cada una de las experiencias, fue un placer vivirlas juntos.

A Raúl Garza por ser un modelo a seguir. Por la infinita paciencia para con cada uno de nosotros. Gracias por ser una persona entusiasta y por apoyar en el camino a cada uno de los que emprende la aventura de la Química.

A mis amigos, a Carol, Bego, David, Poncho, Noemí, Gibrán, Iván, Edgar, Claux y al resto de los ñoños 96 por hacer de la carrera una experiencia inolvidable.

A la UNAM y especialmente a la Facultad de Química por brindarme la oportunidad de conocer lo maravilloso de la Química. Por darme las armas para salir adelante. Siempre estaré orgullosa de ser parte de la Universidad.

A todas aquellas personas que a lo largo de la carrera influenciaron mi pensamiento y me convirtieron en lo que soy ahora. Gracias por compartir conmigo su experiencia y conocimiento.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	5
I. MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS ANTIMICROBIANOS	6
i. Inhibición de la biosíntesis de la pared celular	6
ii. Interferencia de la síntesis proteica bacteriana	8
iii. Inhibición de la replicación y reparación del DNA bacteriano	10
II. MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA A LOS ANTIBIÓTICOS	13
i. Antecedentes	13
ii. Mutaciones al azar	14
iii. Conjugación y plásmidos de resistencia	17
iv. Mecanismos bacterianos de inactivación de antibióticos	33
III. QUINOLONAS	49
i. Estructura Química	50
ii. Clasificación	53
iii. Mecanismo de Acción	58
iv. Farmacocinética	71
v. Farmacodinamia	74
vi. Farmacocinética / Farmacodinamia	78
vii. Importancia clínica de las fluoroquinolonas	83

IV. ESTREPTOGRAMINAS	91
i. Estructura Química	91
ii. Productos disponibles para uso médico	93
iii. Sinergismo entre las estreptograminas de los grupos A y B	94
iv. Mecanismo de acción de las estreptograminas	95
v. Farmacocinética	102
vi. Farmacodinamia	106
vii. Importancia clínica de las estreptograminas	110
CONCLUSIONES	112
BIBLIOGRAFÍA	114

INTRODUCCIÓN

Actualmente, en buena parte de las bacterias que ocasionan enfermedades al humano, la falta de susceptibilidad a los antibióticos ha entrado en una muy peligrosa fase de multirresistencia; por ejemplo, algunas cepas de *Staphylococcus aureus*, uno de los principales agentes etiológicos de infecciones intrahospitalarias, sólo manifiestan sensibilidad a uno o dos de los antimicrobianos más usados en la terapéutica correspondiente.

Así mismo, aunque los científicos que se desempeñan en ambientes académicos o dentro de la industria farmacéutica, trabajan intensamente modificando los antibióticos actuales y buscando nuevos compuestos con aplicaciones terapéuticas (consultar la tabla 1), finalmente el hallazgo de fórmulas más potentes puede alcanzar efectos benéficos mínimos, si los fármacos implicados no son “protegidos” de ser neutralizados en corto plazo por microorganismos resistentes.

De acuerdo con esta preocupante realidad actual, en los países industrializados se han venido implementando diversas estrategias tendientes a disminuir el desarrollo de la resistencia bacteriana; entre las medidas involucradas, destacan:

a) Disminuir el consumo de antibióticos; en este sentido, es claro que el surgimiento de la resistencia correlaciona con la frecuencia del uso de los antimicrobianos, por lo que es indispensable recomendar al personal médico

evitar la prescripción de esta clase de fármacos cuando los síntomas del paciente sugieran etiologías virales.

Tabla 1. Algunos nuevos antibióticos en proceso de desarrollo.

Compuesto	Blanco	Compañía
Oxazolidinonas	Síntesis proteica	Upjohn
Gliciliclinas	Síntesis proteica	Wyeth-Ayerst
Estreptograminas	Síntesis proteica	Aventis Pharmaceuticals
Boxazomicina	Síntesis proteica	Parke-Davis
Cetolideas	Síntesis proteica	Roussel-Uclaf
Inhibidores entre bases	Síntesis proteica	Cubist-Pharm
LY 333328*	Síntesis de pared celular	Eli Lilly
Nuevos Beta-lactámicos	Síntesis de pared celular	Bristol-Myers-Squibb
2-Piridona	Replicación de DNA	Laboratorios Abbott
Nuevas fluoroquinolonas	Replicación de DNA	Pfizer

CLAVE: * = análogo semisintético de la vancomicina

b) Emplear cíclicamente los antibióticos; a este respecto, el fundamento correspondiente alude al hecho de que las clonas bacterianas resistentes no resultarán predominantes (en relación con las susceptibles) al desaparecer la presión del antibiótico homólogo sobre la población microbiana en turno.

c) Incrementar la dosificación para los antibióticos; en este caso, se considera que la selección de mutantes resistentes ocurre dentro de un rango específico

de niveles del fármaco, en donde el límite inferior corresponde a la concentración más baja que inhibe el desarrollo de la mayoría de las células susceptibles y generalmente se aproxima a la concentración mínima inhibitoria para la mitad de la población bacteriana (CMI₅₀). Por su parte, el límite superior se refiere a la concentración del fármaco que solamente permite el crecimiento de las bacterias más resistentes vía mutaciones puntuales; es decir que, por arriba del límite superior, el crecimiento bacteriano requeriría de que ocurrieran dos o más mutaciones de resistencia en la misma clona, lo cual es poco probable.

d) implementar terapias duales o de combinación de multifármacos. En tal contexto, un tratamiento de combinación que incluye dos o más de fármacos de diferente clase obligará a que ocurran al menos dos mutaciones de resistencia para que se desarrolle el patógeno; evidentemente, ello sólo sucede en poblaciones bacterianas mayores a las que infectan al humano, por lo que una terapia basada en la administración paralela de dos distintos antibióticos aporta un camino para reducir la selección de mutantes.

De acuerdo con lo anterior, el presente trabajo aborda la temática asociada a las fluoroquinolonas y las estreptograminas, ya que las primeras abarcan agentes terapéuticos cuya aplicación se ha incrementado en los años recientes, independientemente de que continúan representando los antibióticos de primera elección para el tratamiento de las numerosas infecciones del tracto urinario. Por lo que respecta a las estreptograminas, su

incorporación a la terapéutica cubre uno de los principales requisitos que se plantean para los fármacos antimicrobianos del futuro inmediato: están constituidas por al menos dos moléculas peptídicas, cada una de las cuales actúa sobre "blancos" diferentes de la maquinaria encargada de la síntesis proteica bacteriana.

OBJETIVOS

- Describir los más importantes mecanismos de acción de los antibióticos, incluyendo a los que ejercen su acción antimicrobiana a los niveles de replicación del DNA y síntesis proteica.
- Señalar los mecanismos a través de los cuales los agentes bacterianos inactivan o neutralizan a los antibióticos, particularmente a los agrupados dentro de las fluoroquinolonas y estreptograminas.
- Describir algunas de las más destacadas características clínicas y farmacológicas de los principales antimicrobianos que fungen como prototipos de los dos grupos de antibióticos antes mencionados.

I. MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS ANTIMICROBIANOS

De acuerdo con los modelos más utilizados para llevar a cabo los estudios sobre el funcionamiento de los antibióticos, es necesario establecer que los principales niveles de acción de los diversos antimicrobianos, son: 1) la inhibición de la biosíntesis de la pared celular; 2) la interferencia de la síntesis proteica bacteriana; y 3) la inhibición de la replicación y reparación del DNA bacteriano. (116)

i. Inhibición de la biosíntesis de la pared celular

La capa que le confiere resistencia a la pared celular bacteriana consiste en el peptidoglicano, correspondiente a una malla de hebras que se entrecruzan covalentemente. Es decir que, mientras más grande es la fracción de hebras adyacentes unidas mediante enlaces "amida", mayor resulta la resistencia mecánica a la lisis osmótica. Dicha unión es llevada a cabo por toda una familia de transpeptidasas, las cuales también son conocidas como PBPs (por *protein binding proteins*). Por otra parte, las transglicolasas incrementan las hebras de glicano incorporándole nuevas unidades de N-acetilglucosamina- β -1,4-N-acetilmuramil-pentapéptido-pirofosforil-undecaprenol (lípidos II). (125)

De acuerdo con lo expuesto anteriormente, los antibióticos que interfieren la síntesis de la pared celular actúan específicamente de las siguientes formas: bloqueando sitios de unión para las enzimas participantes, inhibiendo directamente a estas últimas o impidiendo el transporte de los precursores, e inclusive, secuestrando a estos últimos. (100)

En tales rubros figuran los glucopéptidos y los β -lactámicos, aunque la bacitracina, cicloserina y fosfomicina también actúan a este nivel.

(74, 100)

De hecho, los glucopéptidos tales como la vancomicina, teicoplanina, daptomicina y ramoplanina, se unen a las unidades de peptidoglicano acil-D-alanil-D-alanina, impidiendo la adición de nuevos bloques a la pared celular en formación, e inclusive, obstaculizan la transglucosilación y transpeptidación, los dos pasos finales en la síntesis del peptidoglicano.

(74, 83)

Por su parte, las penicilinas y otras β -lactaminas evitan más selectivamente la síntesis de la pared celular bacteriana: el fármaco se fija a las PFPs, provocando la inhibición de la reacción de transpeptidación, necesaria para generar los enlaces cruzados de cadenas peptídicas que confieren rigidez a la pared celular; sin embargo,

adicionalmente, dichos antibióticos estimulan a ciertas enzimas bacterianas endógenas que degradan al peptidoglicano, lo que contribuye a incrementar su poder bactericida. (100)

ii. Interferencia de la síntesis proteica bacteriana

El RNA y la maquinaria implicada en la síntesis proteica por parte de los ribosomas procarióticos suelen ser lo suficientemente distintos de sus análogos eucarióticos, lo que permite la inclusión de otros antibióticos, también trascendentales en la terapéutica humana y animal. En este rubro, destacan los macrólidos (eritromicina, etc.) (27), las tetraciclinas (producto de las rutas biosintéticas de policétidos aromáticos), los aminoglucósidos (de los cuales la estreptomina representa su miembro fundador, suplantado actualmente por variantes sintéticas tales como la kanamicina) y nuevos antibióticos como las oxazolidonas. (72)

En virtud de la gran cantidad de pasos involucrados en la iniciación, elongación y terminación del ensamble proteico en el ribosoma, existen diversas etapas de conexión o catálisis, susceptibles de ser interrumpidas por inhibidores de la síntesis proteica. (8)

Por ejemplo, los aminoglucósidos se unen a una proteína constitutiva de la subunidad 30S del ribosoma bacteriano, provocando fallas en la lectura de algunos codones de mRNA, lo que conduce a la producción de proteínas defectuosas no funcionales; además, algunas evidencias sugieren que estos antibióticos también inhiben la translocación (el traslado de la cadena peptídica, desde el sitio P al A), lo que provoca la ineficacia en la síntesis de proteínas. (106)

El cloranfenicol impide la acción de la peptidil transferasa en los ribosomas 70S, lo que impide la formación de enlaces peptídicos.

Las tetraciclinas se concentran intracitoplásmicamente a través de un proceso de transporte activo e interactúan con la subunidad ribosomal 30S, interfiriendo la unión del aminoacil tRNA al sitio A del ribosoma, lo que provoca que el péptido creciente no pueda continuar formándose. (8)

El ácido fusídico actúa previniendo el paso de translocación -en la síntesis de proteínas bacterianas-, al inhibir a una de las sustancias esenciales para esta reacción, el factor G; de esta manera, el proceso de síntesis se queda estancado al producirse un dipéptido disfuncional.

Los macrólidos ocasionan que la cadena peptídica en crecimiento se disocie del ribosoma durante el paso de translocación, lo que evita que aquélla alcance su completa formación. (27)

Las lincosamidas interfieren el proceso de elongación peptídica, si bien el mecanismo implicado aún no se ha logrado definir de manera precisa; al parecer, su sitio de unión al ribosoma bacteriano es similar al de la eritromicina.

Las estreptograminas adelgazan el canal a través del cual el péptido naciente es liberado desde el ribosoma; de este modo, la síntesis de proteínas se bloquea completamente y las consecuencias resultan letales para la célula bacteriana. (15)

iii. Inhibición de la replicación y reparación del DNA bacteriano

Las fluoroquinolonas tales como la ciprofloxacina son compuestos sintéticos que provocan la destrucción bacteriana alterando la DNA girasa (topoisomerasa tipo II), enzima responsable de desenrollar al DNA de doble cadena. (144, 180)

Las topoisomerasas se clasifican como tipo I o tipo II, dependiendo de si realizan rupturas a las cadenas simples (tipo I) o sobre la doble cadena (tipo II), para reducir el número de enlaces A-T o C-G (143). Las girasas bacterianas son del tipo II y el anclaje transitorio de ambas cadenas de DNA involucra la unión reversible de los extremos 5' del DNA anclado a los residuos de tirosil de cada una de las dos subunidades GyrA en el tetrámero activo (GyrA)₂(GyrB)₂. (126, 177)

En tal contexto, las quinolonas (la ciprofloxacina entre ellas) inhiben el mecanismo asociado a la girasa y, junto con la enzima y el DNA, forman un complejo disfuncional unido covalentemente a las subunidades GyrA. En el caso de la ciprofloxacina, la girasa acomplejada no puede volver a unir al DNA anclado y, como consecuencia, las rupturas en las dobles cadenas se acumulan y promueven que se dispare el mecanismo de reparación SOS que conduce a la muerte bacteriana. (78, 126)

Otra girasa de tipo II, conocida como topoisomerasa IV, representa otro “blanco” de acción de los antimicrobianos, principalmente en la especie *Staphylococcus aureus*. (78, 126)

En cada uno de los tres diferentes “blancos” –pared celular, biosíntesis proteica y replicación del DNA– (consultar tabla 2) la terapéutica

antimicrobiana aprovecha las diferencias bioquímicas entre las maquinarias procariótica y eucariótica para establecer acciones relativamente selectivas. (8)

	Antibiótico	Blanco	Mecanismo de Acción	Mecanismo de Resistencia
Pared Celular	β -lactámicos	Transpeptidasas/ Transglicolasas (PBPs)	Bloqueo de las enzimas que realizan las uniones transversales en las capas de peptidoglucano de las paredes celulares	β -lactamasas, PBP mutantes
	Vancomicina	Extremo D-Ala-D-Ala del peptidoglucano	Secuestro del sustrato necesario para las uniones transversales	Modificación del extremo D-Ala-D-Ala a D-Ala-D-Lac
Síntesis de proteínas	Macrólidos de la clase de las eritromicinas	Peptidil transferasa, centro del ribosoma	Bloqueo de la síntesis de proteínas	Metilación del rRNA, sistema de reflujo.
	Tetraciclinas	Peptidil transferasa	Bloqueo de la síntesis de proteínas	Sistema de reflujo
	Aminoglucósidos	Peptidil transferasa	Bloqueo de la síntesis de proteínas	Modificación enzimática del fármaco
	Oxazolidinonas	Peptidil transferasa	Bloqueo de la síntesis de proteínas	Desconocido
	Estreptograminas	Centro peptidil transferasa (50S)	Bloqueo de la síntesis de proteínas	En estudio
Replicación del DNA	Fluoroquinolonas	DNA girasa y topoisomerasa IV	Bloqueo de la replicación del DNA	Mutaciones en la girasa y topoisomerasa IV, sistema de reflujo

Tabla 2. Blancos, mecanismos de acción y de resistencia de las principales clases de fármacos antibacterianos. (8, 149)

II. MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA A LOS ANTIBIÓTICOS

i. Antecedentes

Dada la gran cantidad de bacterias participantes en un proceso infeccioso patológico, así como el corto tiempo de generación bacteriana y la velocidad intrínseca de mutación (cerca de 1 en 10^7), un pool de 10^{10} células bacterianas experimentará mutaciones en aproximadamente 1,000 loci; si además, una de las mutaciones confiere resistencia al antibiótico empleado, las células mutantes sobrevivirán y se convertirán en la variante dominante de la población infecciosa. Lógicamente, cuando el antimicrobiano es administrado en niveles subterapéuticos, el desarrollo de bacterias resistentes estará prácticamente garantizado.

(145)

Evidentemente, en cualquier población bacteriana, un factor determinante para la rápida expansión de los genes de resistencia a antibióticos, reside en la posibilidad de que el material genético involucrado se encuentre ubicado en plásmidos. Además, si algunos de estos genes plasmídicos se asocian a transposones, la recombinación ocurrirá a velocidades aún mayores, tal como se ha observado dentro del género *Enterococcus*,

particularmente, entre los enterococos sensibles y los VRE¹ (por *vancomycin resistant enterococci*). (145)

A continuación se describen las características más relevantes asociadas a las mutaciones al azar, a los plásmidos de resistencia y al principal mecanismo de transferencia de estos últimos, conocido como “conjugación”. (145)

ii. Mutaciones al azar

Cuando una bacteria aspira a reproducirse, antes transcurre un lapso, denominado fase de latencia, antes de que se establezca una velocidad constante de crecimiento. Si bien durante dicha fase de latencia el desarrollo microbiano es nulo o escaso, es claro que aquélla incluye una intensa actividad metabólica, durante la cual los microorganismos se adaptan a las condiciones imperantes, en franca preparación hacia la fase log de crecimiento; en tal sentido, la fase de latencia también se caracteriza por un considerable incremento del contenido de RNA y de proteínas totales en cada célula bacteriana, aunque la cantidad de DNA permanece casi constante. (29)

¹ Los VRE cuentan con 5 genes plasmídicos de resistencia que son segregados por transposones; éstos los “separan” escindiéndolos de manera activa -del DNA original- y los transfieren promiscuamente.

El retraso en el inicio del desarrollo corresponde, entonces, a un periodo de cambios que se traducirán en la capacidad bacteriana para crecer en un ambiente determinado, adaptación que puede ser de orden genético, o bien, fenotípico (no genético). La “adaptación genética” resulta de la selección de los organismos del inóculo que son capaces de crecer y reproducirse en el ambiente en cuestión. En una población de microorganismos se producen continuamente células mutantes que, con frecuencia, quedan en equilibrio con el resto de la población; sin embargo, en los ambientes que sólo permiten la multiplicación de las mutantes, éstas se convierten rápidamente en los integrantes predominantes, dependiendo del tamaño de la de la población original y de su velocidad de crecimiento en el medio. (29)

Por su parte, la “adaptación fenotípica” no implica alteración alguna de las características hereditarias de los microorganismos y cada uno de ellos puede crecer en el ambiente sintetizando, por ejemplo, cierta enzima inducible, necesaria para metabolizar los nutrimentos presentes. (142)

Una mutación puede definirse como el cambio brusco del genoma de una célula viva, como respuesta a factores ambientales de orden químico o físico. La gran mayoría de las mutaciones que ocurren son “mutaciones

puntuales”, es decir, que solamente afectan a una parte muy pequeña del genoma, e inclusive, a un solo nucleótido. Las dos principales clases de mutaciones son las denominadas de “cambio de trama” y las de “sustituciones de bases”. (162)

Las mutaciones de cambio de trama corresponden a la eliminación o adición de un pequeño número de pares de bases en el genoma, en tanto que, las de sustituciones de bases suelen dividirse a su vez en transiciones y transversiones; la transición equivale al reemplazo de un resto de purina por otra purina diferente o, bien, de una pirimidina por otra pirimidina distinta. Por su parte, la transversión alude a la sustitución de una purina por una pirimidina y viceversa. (162)

Los compuestos químicos que dan origen a mutaciones de los genomas microbianos son muy diversos, pero el fenómeno también puede ser inducido por varios tipos de radiación. (162)

La velocidad con la que aparece una mutación se expresa como el número de mutantes formados por generación, por unidad de población. De este modo, cuando se habla de una velocidad de mutación de 1×10^{-8} , significa que la división de 10^8 células para transformarse en 2×10^8 , reditúa una mutante como promedio (7). Evidentemente, esta velocidad

de mutación se refiere a un solo gen aunque, desde luego, el fenómeno suele manifestarse en diversos genes, por lo que en cualquier población relativamente grande siempre aparecerá una cierta proporción de mutantes de varios tipos. (28)

Las mutaciones corresponden generalmente a sucesos independientes, en cuanto a que la que ocurre en un gen determinado no aumenta ni disminuye la probabilidad de que tengan lugar mutaciones en otros genes; de hecho, si la velocidad de mutación de un gen es de 10^{-8} y, la de otro, de 10^{-9} , la probabilidad de que aparezca una mutante doble será de 10^{-17} . Por otra parte, como las mutaciones son sucesos notablemente raros, sus velocidades resultan difíciles de medir, especialmente cuando aquéllas son no selectivas; por obvio, el conocimiento acerca de las velocidades de mutación y de los factores que influyen sobre ellas proviene de estudios realizados sobre mutaciones selectivas, incluidas las relacionadas con resistencia a los fármacos y a los virus. (28)

iii. Conjugación y plásmidos de resistencia

El fenómeno de conjugación fue descubierto en 1946 por Joshua Lenderberg y Edward Tatum (108) y consiste en la transferencia de DNA

entre dos bacterias, mediante un proceso en el cual las dos cadenas de un plásmido se separan semejando la replicación de círculo rodante; una de dichas cadenas se desplaza desde la bacteria donadora (la que originalmente lo posee) a la receptora y, consecuentemente, cada hebra simple funge como templete para la obtención de moléculas de DNA de doble cadena en ambas células y la receptora recibe la denominación de "transconjugante". (105)

De manera natural, los plásmidos son autotransmisibles, o bien, movilizables., hecho que sugiere a su conjugación como ventajosa para ambas bacterias protagonistas. Los autotransmisibles codifican para todas las funciones necesarias en su transferencia, e inclusive, ocasionalmente participan en la recombinación de DNA cromosómico y de los que sólo son movilizables, ya que si bien éstos promueven la elaboración de algunas proteínas útiles en el proceso, en realidad requieren de la mediación de uno autotransmisible para concretar la transferencia. (5)

Cualquier bacteria que posee un plásmido autotransmisible se considera donadora potencial, debido a que lo puede transmitir a otra; de hecho, las bacterias Gram negativas suelen producir una estructura promotora de la conjugación, conocida genéricamente como *pilus* sexual. Por su parte,

las que no poseen plásmidos autotransmisibles, se consideran receptoras potenciales, a las que se conjugan se les denomina “padres” y, a las donadoras, se les conoce como “células macho”. (105)



Figura 1. Conjugación de *Escherichia coli*.

Si bien las bacterias autotransmisibles existen probablemente en todos los géneros, los más estudiados pertenecen a *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Staphylococcus* y *Streptomyces*; empero, sin duda la mayor parte de los estudios se sitúan en los dos primeros. (21, 142)

Clasificación de los plásmidos transmisibles

Los plásmidos bacterianos comúnmente se clasifican con base en grupo de incompatibilidad (Inc) y presentan alguno de los numerosos tipos de sistemas de transferencia, los cuales se encuentran codificados por los genes *tra*. De acuerdo con lo anterior, los del tipo F utilizan el sistema de transferencia *tra* de los plásmidos IncF, mientras que los RP4 emplean el sistema *tra* de los plásmidos IncP. (21, 109)

A pesar de esta nomenclatura, los sistemas de transferencia tienen muy poca relación con las funciones de replicación y fraccionamiento del plásmido. Los genes implicados en dichas funciones y en las de transferencia se localizan en diferentes regiones de la molécula y no existen razones que sugieran alguna relación entre ellos. Sin embargo, sí se detectan asociaciones entre el sistema de transferencia y el grupo Inc: ciertos productos involucrados en la transferencia de los genes del

plásmido inhiben la entrada de otros con las mismas funciones *tra*. En otras palabras, si los genes *tra* no se relacionaran con el grupo Inc, podría ocurrir la transferencia de un plásmido a una célula que contara con otro del mismo grupo, lo que ocasionaría que uno de los dos se perdiera.

Transferencia de plásmidos entre especies

Diversos plásmidos cuentan con sistemas de transferencia que les permiten transmitir su DNA a especies totalmente diferentes, por lo que se conocen como “plásmidos promiscuos” e incluyen a los de los grupos IncW (representado por el R388), IncP (como el RP4) e IncN (como el pKM101). (21, 109)

Los del grupo IncP se pueden autotransferir o movilizar a otros plásmidos, desde *E. coli* a otras especies Gram negativas, entre cianobacterias, lo mismo que de una bacteria Gram positiva a otra (*Streptomyces*), e inclusive, entre algunas células de plantas (21). Análogamente, el plásmido F, del cual se pensaba que no era promiscuo, se autotransmite de *E. coli* a células levaduriformes. (105)

La transferencia de moléculas plasmídicas entre distintas especies da lugar a importantes consecuencias para el tratamiento antimicrobiano de enfermedades en humanos y animales: numerosos plásmidos promiscuos, incluidos los del grupo IncP, (como el RP4) y el R388 (del grupo IncW), se han detectado en bacterias aisladas a partir de ambientes hospitalarios. Estas largas moléculas, comúnmente denominadas plásmidos R -por contener genes que provocan resistencia a antibióticos-, se han vuelto más abundantes en los últimos años, debido al uso indiscriminado de los antimicrobianos, tanto en la práctica médica como en la agricultura (23). La fuente de estos genes de resistencia es muy probablemente la flora bacteriana del suelo, dentro de la cual predominan los actinomicetos, relevantes productores de dichos fármacos.

No importando la fuente, el surgimiento de los plásmidos R obliga al empleo de los antibióticos únicamente cuando éstos resulten estrictamente necesarios, ya que en los humanos y los animales tratados indiscriminadamente, las bacterias resistentes -que poseen este tipo de moléculas- se van seleccionando como los predominantes constituyentes de la flora habitual y, consecuentemente, los plásmidos implicados son transmitidos a los patógenos bacterianos, lo que provoca que los

antibióticos vayan resultando obsoletos para establecer la terapéutica correspondiente. (123, 148)

Conjugación entre bacterias Gram negativas

Como se mencionó anteriormente, en la conjugación, una sola hebra de DNA es transferida, por lo que después de concretarse el proceso, tanto la bacteria donadora como la receptora poseen una copia de la molécula en cuestión. (5, 116)

Después de efectuarse el contacto entre las células donadora y receptora, la transferencia se detiene al llegar al sitio *oriT* (por origen de la transferencia) de la segunda hebra de DNA, merced a la acción de endonucleasas codificadas por el gen plasmídico *tra*. Dicha región es diferente a la del origen de replicación, denominada *oriV*, desde la cual el plásmido se replica. (105)

Posteriormente, una helicasa específica, codificada por otro gen del mismo tipo, separa la hebra escindida y otra enzima expresada por el mismo gen la transfiere a la célula receptora, mediante mecanismos aún poco claros. Una vez que toda la hebra se encuentra dentro del receptor, sus extremos vuelven a unirse para formar una molécula circular.

Aparentemente, otro producto del gen *tra* se mantiene unido al sitio *oriT* de la hebra que se ha donado, a fin de inducir la unión de las regiones inicial y final. (105)

Frecuentemente, una cadena complementaria nueva es sintetizada por la bacteria donadora, mientras la antigua es eliminada por una helicasa; dicha nueva hebra parece ser generada a partir del extremo 3' de la secuencia *oriT*, lo que sugiere que el implicado proceso de replicación es análogo al que ocurre en el modelo de círculo rodante (105). Sin embargo, durante la transferencia, la helicasa separa las dos cadenas de DNA en el lugar destinado a la replicación. Lógicamente, la separación de ambas hebras requiere de energía obtenida a partir del ATP.

La replicación de cadenas complementarias en las células donadora y receptora no resulta esencial para la transferencia; de hecho, pueden existir moléculas plasmídicas de cadena sencilla en cada célula.

La conjugación es un proceso complicado que requiere de los productos de varios genes. En principio, se requiere de genes de transferencia (*tra*), que participan en la donación del propio plásmido o de alguno otro con el cual cohabite dentro de la misma bacteria. (21)

El mapa del plásmido pKM101 contiene al menos 11 de dichos genes, tales como el *eex* (por exclusión de entrada), que previene el ingreso celular de otros plásmidos con iguales funciones *tra*.

Además de dichos genes, se requiere de un sitio *oriT* en forma *cis*, razón por la cual una gran parte de la molécula plasmídica autotransferible se desplaza junto con todas las funciones asociadas a la transferencia y, por ende, resultan de grandes dimensiones.

Los productos de la mayoría de los genes antes mencionados están destinados a la formación de los *pili* sexuales, apéndices constituidos por pilina que se anclan a la superficie celular de la bacteria potencialmente donadora y cuya función es la de lograr unir a ambas células que protagonizarán el apareamiento. (21)

La estructura del *pilus* sexual depende del tipo de plásmido transmisible involucrado; por ejemplo, en el caso del pKM101, se forman *pili* rígidos y largos; los F sintetizan uno solo largo y flexible y, los RP4, producen uno solo rígido y corto (5). Además, dicho apéndice puede desempeñar el papel de sitio de adsorción de diversos bacteriófagos, lo que eventualmente se aplica como indicador acerca del tipo de plásmido que una célula posee.

Algunos de los productos de los genes *tra* involucrados directamente en la transferencia de DNA, son: las endonucleasas -que actúan sobre la secuencia *oriT* para promover la transferencia-, las helicasas -que desenrollan el DNA- y las primasas -que originan que el RNA inicie la síntesis de una hebra de DNA complementario (DNAc).

El sitio *oriT* no sólo representa el lugar de inicio de la transferencia del plásmido sino que, además, es el punto de unión de los extremos de DNA plasmídico para que vuelva a formarse una molécula circular. La transferencia inicia específicamente en esa región, gracias a la acción de una endonucleasa codificada por uno de los genes *tra*, la cual sólo escinde el DNA en esa región. Además, la helicasa codificada por el propio plásmido sólo separa las hebras en este punto.

Función de las primasas plasmídicas en la transferencia

Numerosos plásmidos transmisibles codifican para sus propias primasas, lo cual en principio no parece significar una ventaja muy clara. Después de la transferencia, la síntesis de DNA de doble cadena únicamente requiere de *primers* de RNA, los cuales podrían ser elaborados por la célula receptora, dado que la cadena complementaria sintetizada en la donadora es probablemente iniciada por el extremo 3' de la secuencia

oriT del DNA. Sin embargo, aunque únicamente es usada por el receptor, la primasa también debe sintetizarse en el donador, puesto que –en realidad- su producción no ocurre en el receptor y éste lo requiere para que suceda la transcripción (formación de RNAm (RNA mensajero) y, secuencialmente, tenga lugar la síntesis de las proteínas implicadas, lo que requiere de DNA de doble cadena –siendo que el que se recibe es de cadena sencilla. (158)

Otra interrogante que se plantea incide en el motivo de que los plásmidos codifiquen para sus propias enzimas, en vez de utilizar las de su huésped. Una pista para responderla reside en el hecho de que las mutaciones en los genes *tra* dan lugar a primasas que evitan la conjugación del plásmido hacia ciertos huéspedes, pero no logran hacerlo con otros. En este sentido, es posible que las células receptoras hacia las cuales las mutantes no pueden realizar la transferencia, sean aquéllas cuyas enzimas no funcionan para iniciar la replicación. Por lo tanto, cuando una molécula se transfiera a una célula cuya propia enzima sea similar a la elaborada por la donadora, podrá sintetizarse una hebra complementaria y la conjugación generará un plásmido funcional. Al donarse plásmidos capaces de sintetizar sus propias enzimas, se incrementará el espectro de huéspedes funcionales. (142)

Eficacia de la transferencia

Bajo condiciones óptimas, algunos plásmidos se autotransmiten en casi el 100% de los contactos bacterianos, eficiencia que ha sido explotada en el laboratorio para el desarrollo de métodos de transferencia de genes clonados entre bacterias, así como en la mutagénesis de transposones, lo cual requiere de transferencias de alta eficiencia.

Después de haber ingresado a nuevos huéspedes, numerosos plásmidos naturales son transferidos con alta eficiencia durante lapsos cortos, después de los cuales el proceso sólo ocurre esporádicamente, ya que los genes *tra* se encuentran reprimidos y, por ende, los *pili* y otros productos implicados dejan de ser elaborados hasta que, por causas aún desconocidas, dicha represión se interrumpe y, por momentos, un pequeño porcentaje de bacterias reactiva la transferencia.

En tal contexto, se ha demostrado que los plásmidos normalmente pueden reprimir sus genes de transferencia a fin de prevenir la infección de su huésped por parte de algunos tipos de bacteriófagos. En este aspecto, es claro que si todas las células de una misma población bacteriana contaran con *pili* sexuales, los fagos que emplean a éstos

como sus receptores se multiplicarían rápidamente, destruyendo a toda la clona de bacterias que poseyeran al plásmido. (105)

Esta propiedad de sólo expresar periódicamente a los genes implicados es posible que no evite que los plásmidos se diseminen rápidamente en una población de bacterias: cuando una población potencialmente donadora interactúa con una probable receptora, en algún momento ocurrirá la transferencia y, posteriormente, las células transconjugantes originarán que, en cierto tiempo, la mayoría de la población sea ocupada por el plásmido correspondiente; ello se debe a que, cuando una molécula plasmídica entra por vez primera a su nuevo huésped, la eficiente expresión de los genes *Tra* desencadena toda una cascada de transferencia. (105)

Plásmidos movilizables

Los plásmidos movilizables son relativamente más pequeños y carecen de alrededor de 10 genes que se requieren para sintetizar los pili sexuales, por lo que su transferencia depende de la existencia, en la misma célula, de otro plásmido que sí sea autotransmitible.

Además, el plásmido movilizable requiere de la región oriT del autotransmisible, ya que los productos génicos de este último son capaces de interactuar a nivel del sitio análogo de cualquier otra molécula y movilizarla. (105)

Los plásmidos movilizables existen naturalmente y contienen genes *mob*, los cuales son análogos a los genes *tra* de los autotransmisibles, e inclusive, inducen la transferencia del DNA aunque sólo expresan una única secuencia oriT. (105)

Mecanismos moleculares de movilización

El mecanismo mediante el cual un plásmido moviliza a otro resulta muy similar al que caracteriza a la auto transferencia: inicia con el contacto de la célula donadora con una receptora potencial, lo que origina el rompimiento de una de las hebras en la secuencia oriT y, posteriormente, la hebra producida es desplazada por la helicasa y transferida hasta la célula receptora, en donde se une para recircularizarse. Finalmente, en ambas células protagonistas se lleva a cabo la síntesis de las cadenas complementarias para dar lugar a DNA de doble cadena.

Comúnmente, un plásmido que moviliza a otro también es transferido a la bacteria receptora, por lo que el proceso resulta relativamente continuo.

La región *mob*

Al igual que los genes *tra*, uno de los *mob* probablemente codifica para una endonucleasa específica que se ancla al sitio *oriT* y alguno más lo hace para la helicasa responsable de trasladar a una de las cadenas. De idéntica manera, el sitio *oriT* de los movilizables frecuentemente se localiza lejos de *oriV*, región que representa el origen normal de replicación, aunque existen importantes excepciones: por ejemplo, en el RSF1010, el sitio *oriT* se ubica cercano a *oriV*, por lo que en dicho plásmido, algunas de las funciones de replicación podrían desempeñar un doble papel en el proceso de movilización. (5)

Conjugación en bacterias Gram positivas

Los plásmidos autotransmisibles también se han detectado en numerosas bacterias Gram positivas, incluidas diversas especies de *Bacillus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* y *Streptomyces*. Sin embargo, aún se conoce muy poco acerca de los sistemas de transferencia implicados; en estos microorganismos, las regiones de transferencia suelen ser bastante más pequeñas que las observadas en Gram negativos: por ejemplo, la del plásmido pSN22 de *Streptomyces nigrifaciens* llega a presentar menos de 7000 pares de bases (pb) y sólo requiere cerca de 5 genes para transferirse; así mismo, las regiones *tra* también son menores, debido a que las bacterias Gram positivas carecen de la membrana

externa de las bacterias Gram negativas y, por lo tanto, no producen pili sexuales que garanticen el contacto célula a célula. (5)

Buena parte de los plásmidos de bacterias Gram positivas son promiscuos, como lo demuestra el hecho de que el pAM β 1, detectado originalmente en *Enterococcus faecalis*, también se puede aislar a partir de una considerable cantidad de cepas de *Staphylococcus aureus* y otras especies Gram positivas.

Feromonas y atracción de plásmidos

Diversos aislamientos de *Enterococcus faecalis* excretan unos compuestos similares a las feromonas, los cuales corresponden a péptidos pequeños que promueven el apareamiento del enterococo productor con otras células que contengan cierto(s) plásmido(s), estimulando específicamente la expresión de los genes *tra* de estas últimas. (41)

Además, las células enterocócicas que ya posean un determinado plásmido, detienen la elaboración del péptido específico homólogo, pero continúan excretando otros que estimularán su apareamiento con bacterias que cuenten con moléculas plasmídicas de las que aquéllas carecen. (39)

Las ventajas del sistema de feromonas asociado a la estimulación de los genes *tra* y a la transferencia de plásmidos son muy obvias: los genes de un plásmido no serán activados, excepto cuando exista una bacteria receptora que aún no los contenga, lo que garantiza una mayor conservación de energía en el donador y, además, dado que no se elaboran proteínas Tra inútilmente -algunas de las cuales son superficiales y pueden ser habilitadas como "blanco" de bacteriófagos-, la bacteria hospedera prolonga su viabilidad. Evidentemente, la existencia de este sistema enfatiza la importancia de la transferencia de moléculas plasmídicas entre Gram positivos, de las cuales muchas se ha comprobado su gran distribución en *E. faecalis*. (39)

iv. Mecanismos bacterianos de inactivación de antibióticos

a) Expulsión del antibiótico

Para que los antibióticos puedan manifestar su efecto antibacteriano dentro de lapsos razonables, los requisitos indispensables consisten en alcanzar concentraciones suficientes en sus respectivos sitios específicos de acción. En este sentido, puesto que la maquinaria de síntesis proteica se encuentra localizada en el citoplasma bacteriano, los fármacos que actúan a dicho nivel deberán atravesar las membranas celulares (externa

e interna en las bacterias Gram negativas, o bien, la barrera interna de las Gram positivas) y acumularse considerablemente en donde bloqueará la producción y/o ensamble de las proteínas. (158)

Las bacterias Gram positivas y Gram negativas que han adquirido resistencia a las tetraciclinas comúnmente sobreproducen proteínas de membrana (de aproximadamente 42 kDa), que funcionan como auténticas bombas de reflujo del antibiótico (consultar Fig 2); de hecho, éste es expulsado a velocidades mayores que las asociadas a su previa difusión hacia el interior, por lo que las concentraciones intramicrobianas se mantienen bajas -e ineficaces- y la síntesis proteica no se ve afectada significativamente. (110, 136)

Cabe señalar que este mecanismo sólo representa una variante de las bombas de membrana que poseen todas las bacterias para movilizar moléculas lipofílicas o anfipáticas, hacia dentro y fuera de la célula. Inclusive, algunas de ellas son empleadas por los microorganismos productores de antibióticos, para liberarlos hacia su exterior, tan rápido como los producen, y protegerse de sus propias armas químicas.

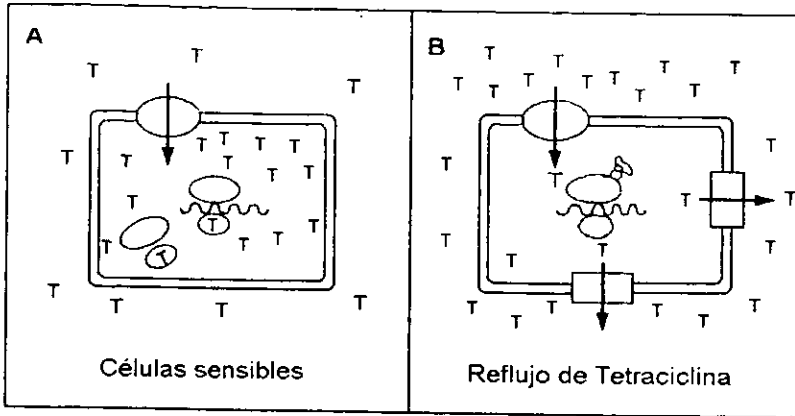


Fig 2. A, Mecanismo de acción de la tetraciclina.
 B, Mecanismo de resistencia por reflujo.

b) Inactivación (modificación) del fármaco

A pesar de que el mecanismo descrito anteriormente evita la acumulación del antimicrobiano en su respectivo "blanco" de acción, no incluye la alteración estructural del fármaco, tal como sí ocurre en una segunda estrategia de resistencia: la destrucción o modificación del sitio activo del fármaco, lo cual se traduce en su inactivación. El ejemplo clásico de este último mecanismo reside en la escisión hidrolítica del anillo β lactámico de las penicilinas y cefalosporinas, mediante la elaboración y participación de β lactamasas bacterianas. (83, 104)

A este respecto, el anillo lactámico de 4 miembros representa la parte de la molécula antimicrobiana en la que radica la actividad antibacteriana, y su modificación irreversible suele redituar una estructura abierta,

denominada ácido peniciloico, la cual no es reconocida por las PFPs.
(186)

Es decir, las cepas productoras de β lactamasas secretan estas “armas enzimáticas” hacia su propio periplasma, a fin de que inactiven a los antibióticos β lactámicos, antes de que éstos alcancen sus receptoras PFPs, situadas en la membrana citoplasmática bacteriana. Una sola molécula de β lactamasa es capaz de hidrolizar 10^3 moléculas de penicilina por segundo; por lo tanto, la secreción de 10^5 moléculas por cada célula resistente, originará la inactivación de 100 millones de moléculas de penicilina por segundo lo cual, evidentemente, representa una estrategia bacteriana muy efectiva (consultar Fig 3A). (125)

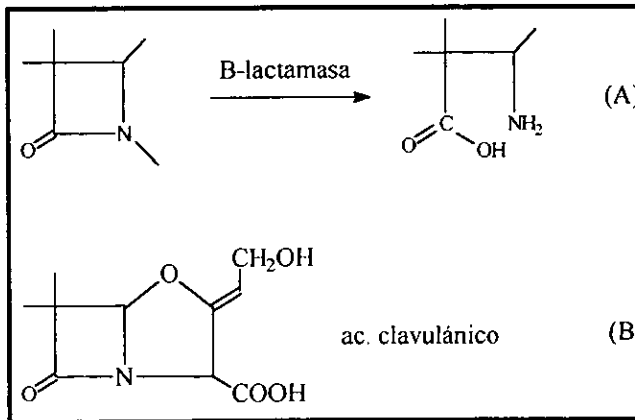


Fig 3. Modo de acción de las β lactamasas (A). Estructura del ácido clavulánico, un inhibidor de las β lactamasas (B). (80)

Por su parte, los aminoglucósidos pueden ser modificados por al menos 3 clases de enzimas, las cuales agregan diferentes sustituyentes a la molécula original, redituando estructuras incapaces de reconocer su específico sitio de acción en el rRNA (consultar Fig 4). Dichas enzimas incluyen adenil transferasas (que agregan moléculas de adenosina), fosforil transferasas (que insertan grupos fosfato) y acetil transferasas (que acetilan los grupos amino del antibiótico). (150)

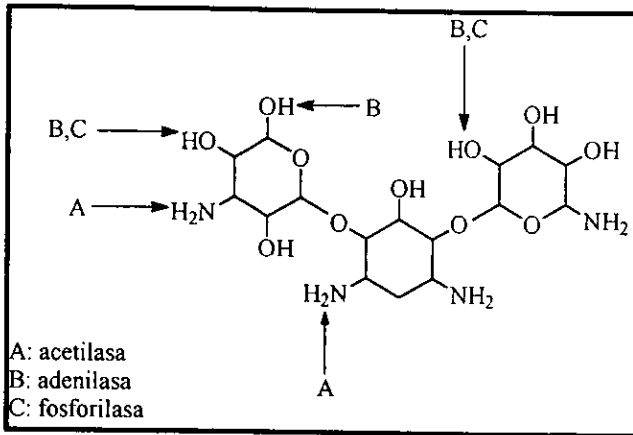


Fig 4. Sitios de acción de las enzimas modificadoras de aminoglucósidos.

c) Modificación estructural del sitio de acción

La tercera estrategia de resistencia bacteriana consiste en la alteración del sitio de acción del antibiótico; los ejemplos más conocidos sobre el particular son:

- Independientemente de que cuenten con bombas de reflujo, ciertas bacterias resistentes a eritromicina monometilan o dimetilan un residuo específico de adenina, situado en la peptidil transferasa del rRNA 23S. Dicha modificación es catalizada por la enzima Erm, una metil transferasa que no evita totalmente la afectación de la biosíntesis de proteínas, pero disminuye significativamente la afinidad por el RNA, tanto de la eritromicina y otros macrólidos, como de la pristinamicina y otras estreptograminas. (30)
- En los VRE, los genes *vanHAX* codifican para numerosas enzimas que actúan concatenadamente en las siguientes reacciones: a) reducción del piruvato a D-lactato (*vanH*); b) unión del D-lactato con D-alanina para producir moléculas de D-Ala-D-Lac (*vanA*); hidrólisis del metabolito normal D-Ala-D-Ala, mientras se continúa produciendo D-Ala-D-Lac (*vanX*). De esta manera, retiran el “blanco” de la vancomicina (D-Ala-D-Ala) y lo sustituyen por D-Ala-D-Lac, con lo cual el glucopéptido carece de un receptor eficaz² y la pared celular conserva sus características físicas y fisiológicas. (92, 173)

² En el peptidoglicano de la pared celular enterococcica, la sustitución del D,D-dipéptido (D-Ala-D-Ala) por el D,D-depsipéptido (D-Ala-D-Lac) disminuye en cerca de 1,000 veces la afinidad de la vancomicina por el receptor. Es decir, los VRE sólo resultarían sensibles al glucopéptido, si éste pudiera administrarse en dosis 1,000 veces mayores a las empleadas en la terapéutica. (173)

En esta célula, únicamente la molécula D-Ala-D-Lac se acumula y sirve como sustrato para ser elongado y presentado como extremo terminal de las cadenas de peptidoglicano. (173)

Desarrollo de nuevos antibióticos que eviten la resistencia

Atacando los mecanismos de resistencia:

En virtud de que las cepas resistentes aparecen en respuesta al uso continuo e incrementado empleo de un determinado antibiótico -lo que limita la vida útil de este último-, uno de los principales recursos con que cuenta el ser humano para resolver la problemática, radica en el conocimiento de los mecanismos de resistencia más relevantes, ya que ello puede generar ideas que permitan desarrollar nuevas estrategias terapéuticas. (92, 159)

Históricamente, ante el surgimiento de resistencia a los β lactámicos, los investigadores trabajaron animosamente para modificar la estructura de este grupo de antimicrobianos, logrando obtener una variante que resultó efectiva temporalmente. Posteriormente, al aparecer cepas cuyas β lactamasas también eran activas contra las variantes elaboradas -lo que

las convertía en serias amenazas clínicas-, se ajustaron las metas experimentales hacia la neutralización más directa de dichas enzimas y se descubrió al clavulanato, un producto natural sintetizado por el estreptomiceto *Streptomyces clavuligerus*; dicho compuesto no representa un antimicrobiano efectivo por sí mismo, aunque funge como un sustrato suicida para las β lactamasas, lo que permite actuar eficazmente al β lactámico (amoxicilina) administrado conjuntamente (99). La combinación clavulanato-amoxicilina recibió el nombre de Augmentina, ha rendido numerosos frutos en el tratamiento de enfermedades infecciosas, e inclusive, durante algún lapso fue considerada como la terapia de primera elección. (11)

Casi paralelamente, se logró el hallazgo de un análogo de la penicilina (anillo de 5 miembros con un átomo de azufre oxidado a sulfona) cuya denominación fue la de sulbactam; éste presenta un enlace débil C-S que origina la apertura del anillo de la acil-lactamasa y crea un intermediario inactivo y estable de la enzima. La combinación sulbactam-ampicilina se conoce como Unasin y también corresponde a una importante fórmula antibacteriana. (11)

Otras dos fórmulas constituidas por un inhibidor de β lactamasas y un antibiótico β lactámico son el Timentin y el Zocin, los cuales también son ampliamente utilizados.

Por otra parte, la búsqueda de procesos que neutralicen la modificación bacteriana de los sitios de acción del antibiótico -como lo efectúan los VRE-, han redituado el desarrollo de algunas moléculas activas contra cepas resistentes: el Ly333328 (25), un análogo semisintético de la vancomicina, y la pristinamicina, cuyo nombre comercial es el de Synercid. Este corresponde a un bactericida formado por la combinación de dos péptidos no ribosomales, la quinupristina y la dalfopristina, moléculas naturales que actúan inhibiendo la síntesis bacteriana de proteínas de manera sinérgica; el Synercid fue aprobado recientemente y se destina al tratamiento de las infecciones ocasionadas por VRE. (19)

Desarrollo de nuevas clases de antibióticos

El desarrollo de nuevos compuestos con actividad antibacteriana ha progresado relativamente, ya que se ha encontrado una nueva clase estructural de antibióticos sintéticos de amplio espectro con aceptable potencia: las oxazolidinonas. Éstas inhiben la biosíntesis de proteínas, debido específicamente a su interacción con el RNA ribosomal 23S o con

moléculas cercanas al centro peptidil transferasa del ribosoma. Uno de ellas, el Linezolid, apenas está siendo motivo de investigación clínica a fin de que se logre su aprobación en los Estados Unidos, y se le viene proponiendo como el primer antibiótico de una nueva clase desarrollada en tres décadas; se espera que, junto con las quinolonas, representará una importante evidencia de que es posible producir compuestos sintéticos que igualan la potencia y selectividad de los productos naturales. (32, 98)

Por último, también se encuentra en desarrollo un glicolipodepsipéptido (17 aminoácidos ciclizados en una macrolactona), la ramoplanina, que actúa eficazmente contra los VRE, vía la formación de un complejo con los intermediarios lipídicos pentapeptídicos que participan en la biosíntesis de la pared celular; es decir, su mecanismo es similar al de la vancomicina, si bien ataca a un sustrato en lugar de hacerlo sobre las enzimas participantes en la ruta de ensamble del peptidoglicano. (103)

Nuevos alcances en el desarrollo de antibióticos y en resistencia

Uso de genomas en la búsqueda de nuevos blancos bacterianos

Los genomas bacterianos han sido estudiados a un punto tal que, en los últimos años, se han logrado secuenciar completamente tres docenas de genomas bacterianos, incluidos los de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Helicobacter pylori*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Vibrio cholerae*. Así mismo, está cerca de concluirse la secuenciación del genoma del estreptomiceto prototipo *Streptomyces coelicolor*, microorganismo productor de diversos tipos de antibióticos policétidos, lo que se espera que aporte nuevas ideas y conocimientos adicionales acerca de la organización de los operones asociados a la biosíntesis de los antibióticos y a la regulación implicada.

(34)

Evidentemente, el estudio de los genomas y el aislamiento e identificación génicos, ha empezado a disminuir la lista de genes bacterianos de virulencia y de sobrevivencia a sólo unos cuantos cientos. En tal sentido, los productos de dichos genes esenciales constituyen un conjunto inicial de “blancos” para futuros fármacos, por lo cual se espera que la captura de sus características en programas computacionales optimizados reditúen la construcción de bibliotecas químicas que

permitan encontrar inhibidores "ideales" de genes específicos; por obvio, los compuestos deducidos por métodos automatizados deberán probarse *in vitro*, posteriormente en modelos animales y, posiblemente, en voluntarios humanos, antes de ser incorporados como agentes antibacterianos de uso clínico.

Incuestionablemente, este tipo de descubrimientos ofrece una promesa de expansión del actual número de "blancos" que fungen como sitios de acción de los antibióticos contemporáneos. (34)

Por ejemplo, recientemente se han descrito inhibidores de la péptido deformilasa, correspondiente a la metalopeptidasa codificada por un gen esencial de numerosas bacterias patógenas; dicha enzima elimina el radical formilo localizado en el grupo amino terminal del residuo formilmetionil que constituye a diversas proteínas bacterianas (33, 36). Análogamente, otros productos de genes esenciales, identificados como factores microbianos de virulencia, están siendo sometidos a una investigación intensiva, e incluyen péptidos implicados en las rutas de secreción proteica (18). Además, se examina a las principales formas de señalización en las bacterias, particularmente a los sistemas de dos componentes (la cinasa sensora transmembranal y el factor que regula la respuesta de transcripción génica), así como las rutas que controlan a los genes cuya expresión depende de la densidad celular. (17)

La utilización de las bibliotecas químicas contempla la realización de pruebas con moléculas sintéticas y productos naturales que puedan representar futuros bloqueadores de los "blancos" bacterianos cuyo registro se mantiene constante; hasta ahora, los compuestos sintéticos han resultado de mayor tamaño (con millones de miembros) y corresponden a farmacóforos particulares (grupos funcionales que le aportan actividad terapéutica a una molécula); no obstante, su diseño computacional considera la identidad y densidad de los grupos funcionales necesarios y la estructura tridimensional del compuesto, lo que resulta congruente con la complejidad estructural de los productos naturales. (153, 160)

Estrategias para extender la vida útil de los antibióticos

Puesto que el surgimiento de cepas bacterianas resistentes a los antibióticos continuará dependiendo directamente de la creciente administración de los antimicrobianos actuales y futuros, resulta indispensable pensar en estrategias específicas que promuevan la preservación y extensión de la vida útil de los fármacos antibacterianos (123). Además, es necesario atender los lineamientos establecidos por especialistas en enfermedades infecciosas, destinados a modificar el comportamiento de los pacientes y los médicos en el consumo y prescripción de antibióticos. (111)

En los países desarrollados, la meta inmediata consiste precisamente en reducir la prescripción inadecuada de antibióticos, ya que se estima que el 50 % de las prescripciones se asocian a infecciones virales, las cuales no responden a los fármacos antibacterianos. (53)

Por su parte, en los países del tercer mundo, la disponibilidad de antimicrobianos es intermitente, independientemente de que la calidad y potencia de los fármacos empleados son inciertas; adicionalmente, la tendencia a la automedicación (sin la intervención del médico) resulta cada vez mayor (2), lo que origina el uso de dosis subterapéuticas, que sólo reducen la intensidad de los síntomas y promueven aún más la generación de bacterias resistentes; de esta manera, los mismos agentes etiológicos provocan posteriores crisis médicas en los individuos implicados, habida cuenta de que la resistencia dificulta notablemente sus tratamientos ulteriores y termina induciendo que grandes poblaciones humanas funjan como reservorios de microorganismos resistentes a los antibióticos.

Así las cosas, entre las principales recomendaciones destacan las siguientes:

- La prescripción médica debe fundamentarse en la rotación de antibióticos, ya que ello ayuda a conservar la eficacia de los seleccionados en el último tratamiento; en este sentido, es claro que también debe cuidarse la eficacia de la vancomicina, la cual representa la mejor elección en la terapéutica de las infecciones mortales causadas por MRSA (por *methicilin resistant Staphylococcus aureus*) (41, 171).
- La más amplia utilización de combinaciones de antibióticos en la terapia primaria, sin abusar de la Augmentina y el Synercid, los cuales neutralizan a un mismo "blanco"; es decir que, resulta aún más adecuado emplear combinaciones de fármacos, cada uno de los cuales deberá actuar –al mismo tiempo- sobre diferentes sitios bacterianos. Este tipo de regímenes terapéuticos se ha venido instituyendo más extensamente contra el cáncer y, más recientemente, hacia los retrovirus, sobre todo para intentar que progresen los casos de SIDA; su principal desventaja alude a la posibilidad de que su administración incluya indebidamente dosis subterapéuticas (147).

Lógicamente, el uso de antibacterianos como promotores del crecimiento de los animales también ha representado un motivo de acaloradas discusiones en la última década, en virtud de que la profilaxis con antibióticos en reses, cerdos, pollos y peces, se ha venido incrementando a niveles tales, que el consumo animal resulta aún mayor que el relativo a los propios humanos, redituando la misma clase de problemáticas respecto a la resistencia (2, 83, 111).

Por obvio, los antibacterianos contemporáneos y futuros de mayor potencial terapéutico en humanos, deben ser sometidos a estudios muy detallados, antes de “desperdiciarlos” en la alimentación de los animales.

En conclusión, si bien la búsqueda de nuevas fórmulas mediante métodos computacionales continuará representando una de las principales acciones científicas para resolver la problemática relacionada con la resistencia bacteriana, es muy claro que el manejo de los antibióticos deberá cambiar radicalmente: aún cuando surjan fármacos exitosos, su inadecuado empleo -lo cual en la actualidad representa toda una costumbre- seguiría impactando negativamente en cuanto a la eficacia y los tiempos de vigencia que se requieren, para lograr que los padecimientos curables no se conviertan en mortales. (148)

III. QUINOLONAS

Durante los últimos 7 años se ha incrementado notablemente la investigación sobre la síntesis de nuevas quinolonas y la evaluación de sus respectivas actividades antibacterianas, interés que recuerda el provocado hace décadas cuando aparecieron los ácidos nalidíxico y oxolinico. (37)

En todo caso, los trabajos recientes han conducido al descubrimiento de un considerable número de 6-fluoro-7-piperazino-4-quinolonas, las cuales destacan por su muy amplio espectro, su particular eficacia *in vitro* contra bacilos Gram negativos y cocos, así como por su capacidad para controlar experimentalmente las infecciones sistémicas inducidas por bacterias específicas administradas por vía oral. Los representantes más activos de esta clase de fármacos se denominan fluoroquinolonas e incluyen a la norfloxacin, ofloxacin, ciprofloxacina, enoxacin y pefloxacina, entre algunos otros. (82)

Lógicamente, la promesa de las fluoroquinolonas promovió la pronta evaluación de sus propiedades farmacocinéticas en voluntarios humanos y el establecimiento de las indicaciones precautorias con respecto a su potencial terapéutico, incluyendo la tolerabilidad en pacientes seleccionados. Los alentadores resultados de estos estudios tempranos, junto con el interés en la realización de trabajos posteriores provocaron el deseo de la comunidad científica por revisar la posición de estos agentes dentro del esquema terapéutico actual. (178)

i. Estructura Química

La búsqueda de compuestos con mejores propiedades ha conducido a la síntesis de miles de estructuras de quinolonas, si bien las que presentan una adecuada actividad antimicrobiana y cumplen con los requisitos de seguridad y utilidad clínicas son realmente pocas, especialmente si se considera que su empleo depende de la previa aprobación por parte de la Food and Drug Administration (FDA). (172)

En general, las quinolonas aprobadas por la FDA poseen diversos atributos en común, aunque algunos de los nuevos agentes evidencian características únicas. En la estructura básica de estos compuestos –dos anillos heterocíclicos fusionados de 6 miembros-, una de las principales cualidades que los distingue del ácido nalidíxico -su predecesor-, consiste en la adición de una molécula de fluor en la posición 6; por lo demás, las diferencias estructurales entre estos fármacos incluyen modificaciones en las posiciones 1, 5, 7 y 8. (51, 139)

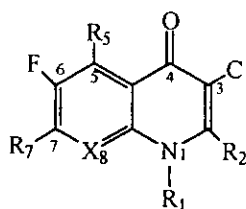
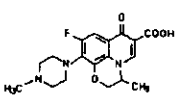
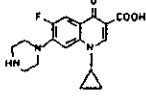
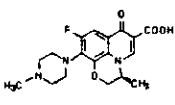
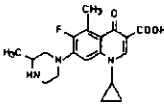
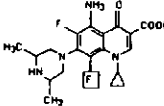
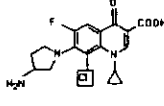
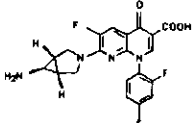


Fig 4. Estructura básica de las quinolonas (51, 115)

Por ejemplo, una de las características que distinguen a la ciprofloxacina es el grupo ciclopropil en la posición 1, el cual también se observa en compuestos de espectro más amplio tales como la esparfloxacina y la grepafloxacina. De hecho, lo que distingue a estos últimos de la ciprofloxacina -su antecesor-, implican a las posiciones 5 (la adición de grupos metilo o amino, respectivamente) y 8 (un átomo de fluor en la esparfloxacina). Otras quinolonas, como la gatifloxacina y la moxifloxacina, presentan un grupo metilo o metoxi en la posición 8. (37,51)

El fármaco más nuevo aprobado por la FDA es la trovafloxacina (una quinolona de un espectro muy extenso), la cual en la posición 7 soporta un anillo de pirrolidina de 5 miembros -en lugar del anillo de piperazina de 6 miembros que representa la característica más común de las fluoroquinolonas en desarrollo-. (76, 172)

Otro ejemplo interesante es el de la levofloxacina, el enantiómero-L puro de la ofloxacina, la cual consiste en una mezcla racémica (64). En aquella se duplica la potencia antimicrobiana de este último fármaco, ya que realmente sólo el enantiómero-L es activo.

		<i>Posición 1</i>		
		<i>Ciclo C1 a C8</i>	<i>Ciclopropil</i>	<i>2,4 Difluorofenilo</i>
<i>Posición 7</i>	<i>Piperazina</i>	2  Ofloxacin	2  Ciprofloxacin	
		3  Levofloxacin	3  Grepafloxacin	
			3  Esparfloxacin	
	<i>Pirrolidina</i>		3  Clinafloxacin	4  Trovafloxacin

Posición 8 = halógeno

Fig 5. Diferencias estructurales entre algunas fluoroquinolonas. (51, 115)

ii. Clasificación

La clasificación de las quinolonas, introducida en 1997, toma en cuenta tanto el espectro antimicrobiano como las indicaciones clínicas de los nuevos compuestos y, además, resulta útil para su prescripción y evaluación. Evidentemente, los fármacos de cada grupo poseen actividades similares y, en cada generación sucesiva, agregan un grupo significativo de patógenos a su espectro de actividad. (68)

Con algunas excepciones, las quinolonas de las 4 generaciones también pueden agruparse de acuerdo con sus indicaciones clínicas y llegan a ser diferenciadas con base en las formulaciones disponibles, requerimiento de ajustes de la dosificación en padecimientos renales o hepáticos, efectos adversos importantes e interacciones medicamentosas significativas. (68)

Primera generación

Los compuestos de esta generación incluyen a la cinoxacina y a los ácidos nalidixico y oxolínico, correspondientes a las quinolonas más antiguas y menos utilizadas; de hecho, prácticamente se han restringido al tratamiento de las infecciones no complicadas del tracto urinario, ya que alcanzan niveles séricos muy bajos y, por lo tanto, requieren de una dosificación más frecuente que las de generaciones posteriores; además, son más proclives a desarrollar resistencia

bacteriana y no son recomendables en pacientes con baja función renal, puesto que ello se asocia a muy pobres concentraciones en orina. (37)

Segunda generación

Estos antibacterianos manifiestan una incrementada actividad en contra de microorganismos Gram negativos y cierta efectividad contra Gram positivos y patógenos atípicos, lo que permite considerarlos en la terapéutica de infecciones complicadas del tracto urinario, pielonefritis, enfermedades de transmisión sexual, algunas neumonías e infecciones en la piel. (86)

Este grupo incluye a la ciprofloxacina, enoxacina, lomefloxacina, norfloxacina, ofloxacina, fleroxacina y pefloxacina. Entre las anteriores, la ciprofloxacina es la más eficaz contra *Pseudomonas aeruginosa* y, debido a su buena penetración en los huesos, su administración por vía oral representa una alternativa efectiva, para potenciar los tratamientos basados en antibióticos de aplicación intravenosa destinados al combate de osteomielitis causadas por bacterias susceptibles. (121)

Es importante señalar que si bien la FDA ha reportado que algunos de los compuestos de segunda generación pueden emplearse en la terapéutica de las infecciones del tracto respiratorio inferior de la sinusitis aguda, el hecho de que *Streptococcus pneumoniae* resulte frecuentemente resistente a ellos, los descarta

como fármacos de primera elección para el tratamiento de estos padecimientos. (119, 129)

Entre los compuestos de este grupo, la ofloxacina representa la de mayor actividad contra *Chlamydia trachomatis*. En tal sentido, dicho fármaco y la ciprofloxacina son las quinolonas de segunda generación más empleadas ya que, adicionalmente, ambas poseen una apropiada biodisponibilidad en formulaciones orales e intravenosas. (119, 129)

En cuanto a efectos secundarios, el uso tanto de la lomefloxacina implica un riesgo importante de fototoxicidad. Patología que ha sido motivo de gran interés, aunque no se ha llegado a elucidar su origen. La mejor hipótesis generada hasta el momento involucra una reacción entre la fluoroquinolona y la luz que conduce a la formación de productos de degradación capaces de dañar el tejido ocular. (156)

Tercera generación

Este grupo incluye a la levofloxacina, gatifloxacina, moxifloxacina, grepafloxacina, esparfloxacina y clinafloxacina, las cuales manifiestan una amplia actividad hacia microorganismos Gram positivos, particularmente contra las cepas de *S. pneumoniae* sensibles o resistentes a penicilina, y contra patógenos atípicos tales como *Mycoplasma pneumoniae* y *Chlamydia pneumoniae* (48, 86). Sin embargo, aunque también evidencian una amplia actividad contra microorganismos Gram

negativos, son menos activos que la ciprofloxacina en lo referente al género *Pseudomonas*.

Su amplio espectro de actividad los hace elegibles para efectuar el tratamiento de las neumonías adquiridas fuera de los hospitales, de la sinusitis aguda y de la exacerbación de la bronquitis crónica –de acuerdo con la FDA -.

En este grupo, la gatifloxacina es recomendada para instituir la terapéutica de la gonorrea y de las infecciones del tracto urinario, e inclusive, al igual que la levofloxacina (el componente más activo de la mezcla racémica que constituye a la ofloxacina) está disponible en formulaciones intravenosas. (10)

Entre los efectos secundarios asociados al uso tanto de la esparfloxacina como de la clinafloxacina se ha observado un riesgo importante de fototoxicidad. (156)

Cuarta generación

Actualmente, el único miembro de este grupo es la trovafloxacina, la cual además de combatir microorganismos Gram positivos y Gram negativos, exhibe una actividad importante contra bacterias anaerobias y resulta tan eficaz como la ciprofloxacina contra el género *Pseudomonas*.

La trovafloxacina se encuentra disponible en tabletas orales y como el pro-fármaco alatrofloxacina (Trovan IV) en una formulación intravenosa. A pesar de nuevos

estudios clínicos, este compuesto está indicado por la FDA para el tratamiento de una amplia variedad de enfermedades infecciosas (76). Sin embargo, dada su hepatotoxicidad, su uso se reserva a los casos de infecciones que pongan en peligro la vida, o bien, a cuando exista el riesgo de perder alguno de los miembros inferiores o superiores. Además, es necesario que el tratamiento se realice dentro del hospital y no debe prolongarse por más de 14 días.

Generación	Compuestos
Primera	Cinoxacina
	Acido Nalidíxico
	Acido Oxolínico
Segunda	Ciprofloxacina
	Enoxacina
	Lomefloxacina
	Norfloxacina
	Ofloxacina
	Fleroxacina
	Pefloxacina
Tercera	Levofloxacina
	Gatifloxacina
	Moxifloxacina
	Grepafloxacina
	Esparfloxacina
	Clinafloxacina
Cuarta	Trovafloxacina

Tabla 3. Clasificación de las quinolonas

iii. Mecanismo de acción

Las quinolonas son agentes antimicrobianos cuyos respectivos "blancos" bacterianos corresponden a dos enzimas bacterianas esenciales: la DNA girasa y la DNA topoisomerasa IV (44, 130). La primera controla el superenrollamiento del DNA y libera el estrés topológico causado por la translocación de los complejos de transcripción y replicación a lo largo del material genético, en tanto que, la topoisomerasa IV, ejerce una acción decatenante que separa las hebras hijas eslabonadas después de la replicación del DNA. (131)

En virtud de que ambas enzimas resultan necesarias para el crecimiento y la división bacterianos, las quinolonas son compuestos bactericidas; además, no sólo bloquean la importante función de las topoisomerasas sino que, al capturar a dichas enzimas, provocan la liberación de fragmentos de doble cadena de DNA, lo que incrementa su letalidad. (130)

Cabe señalar que, durante tres décadas, estos compuestos se han venido empleando en una gran variedad de estudios fisiológicos, en los que participan como inhibidores de la síntesis de DNA y como herramientas para analizar las interacciones topoisomerasa-DNA. Las primeras investigaciones se desarrollaron empleando una molécula prototipo, el ácido nalidíxico, la cual a mediados de los 70 fue reemplazada por un derivado más activo: el ácido oxolínico. (37)

En los años 80, las quinolonas fluorinadas tales como la norfloxacin y la ciprofloxacina, empezaron a atraer la atención a causa de su gran eficacia clínica y de su extraordinaria potencia por lo que, en la actualidad, se estima que existen miles de derivados de esta clase de fármacos. (121)

DNA girasa

La girasa es la enzima bacteriana que induce superenrollamientos negativos ³ en el DNA y se compone por cuatro subunidades: dos A y dos B, las cuales al interactuar con el DNA transforman la energía proveniente del ATP en energía de torsión. (120, 126, 131)

El proceso asociado a la girasa inicia cuando alrededor de 200 bp se enrollan alrededor de ella; posteriormente, la unión de ATP desencadena la escisión de ambas hebras del DNA. En este momento, el punto de escisión de una de las hebras se encuentra desplazado cuatro nucleótidos con respecto al de la otra y, a continuación, el extremo 5'-fosfato de cada una se une a un residuo de tirosina de las subunidades A de la enzima, ya que el anclaje de los dos extremos de un DNA escindido es indispensable para prevenir su libre rotación, misma que rápidamente se traduciría en el desenrollamiento de la molécula. (31, 44, 82)

³ Menos de un enrollamiento por cada 10.5 pares de bases (bp)

Posteriormente, la girasa desplaza un segmento de doble cadena por entre los extremos previamente fijados, exclusivamente en la dirección en la que se genera un superenrollamiento y, después, los extremos del DNA escindido se aproximan para restablecer la continuidad de las dos hebras del duplex; por último, la hidrólisis del ATP implicado provoca la liberación del segmento de DNA transportado, lo que revierte la conformación activa de la enzima y ésta puede empezar un nuevo ciclo catalítico (consultar la figura 6).

En un segundo, la girasa es capaz de introducir aproximadamente dos superenrollamientos y continúa actuando sobre el mismo sustrato sin disociarse de él. (158)

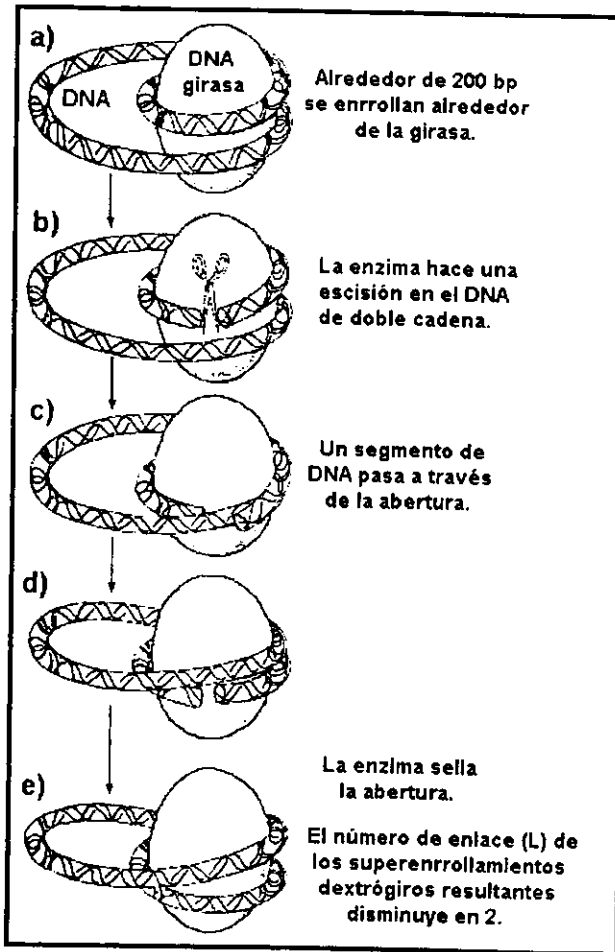


Figura 6. Mecanismo de acción de la girasa (169)

Puesto que la velocidad de hidrólisis del ATP ($\text{ATP} \rightarrow \text{ADP} + \text{P}_i$) determina el nivel de superenrollamiento en el DNA, la relación ATP/ADP representa un aspecto clave en la relación superenrollamiento-relajamiento (120). Ello origina que la girasa y el superenrollamiento sean sensibles a los cambios en la energía intracelular, la cual a su vez se ve afectada por las condiciones imperantes en el

ambiente extracelular, tales como la tensión de oxígeno y la concentración de sales. Otros factores que influyen en el proceso son la temperatura y el pH. (87, 88, 118)

Los dos tipos de subunidades que conforman a la girasa están codificadas por los genes *gyrA* y *gyrB*, los cuales se localizan, respectivamente, en los minutos 48 y 83 del mapa genético de *Escherichia coli*, si bien en otras bacterias son adyacentes y cercanos al origen de la replicación. (96, 130, 138)

La DNA girasa desempeña al menos cuatro papeles importantes en la función cromosómica: a) mantiene un nivel particular de superenrollamiento – generalmente negativo-, que activa al DNA para que ocurran los procesos que dependen de la separación de la doble cadena; b) facilita el movimiento de los mediadores de la replicación y la transcripción a través del DNA, adicionando superenrollamientos adelante de ellos; c) elimina los nudos del DNA⁴; y d) ayuda a plegar y doblar el DNA. (120, 151)

La decatenación representa una probable quinta función de la girasa. No obstante, dicha reacción es llevada a cabo principalmente por la topoisomerasa IV, la cual en tal sentido es 100 veces más activa que la girasa. (138)

⁴ El DNA plasmídico contiene 6 a 8 veces más nudos cuando la girasa de la célula huésped disminuye su actividad.

La evidencia de que la girasa constituye uno de los "blancos" de las quinolonas surgió poco tiempo después de su descubrimiento. Contrario a lo que ocurre cuando se trata de mutantes resistentes *gyrA* (*nalA*) o *gyrB*, los ácidos nalidixico y oxolinico suprimen la capacidad biológica de las enzimas puras obtenidas a partir de células silvestres. Esta acción inhibitoria involucra la formación de un complejo girasa-quinolona que promueve escisiones incontroladas en el ácido nucleico. (77)

Topoisomerasa IV

En 1990 se descubrió una molécula análoga a la girasa, a la que se asignó el nombre de topoisomerasa IV. Ésta también se conforma por 4 subunidades, dos de ellas codificadas por el gen *parC* y, las restantes, por el *parE*. (130)

Si bien tanto la girasa como la topoisomerasa IV evidencian un mecanismo de acción que involucra la escisión de la doble cadena, ambas enzimas difieren en un hecho fundamental: solamente la girasa enrolla el DNA alrededor de ella (96). Además, la característica clásica de la topoisomerasa IV reside en su capacidad para decatenar las hebras de DNA, antes de que se complete un ciclo de replicación; ello es distinto en el caso de la girasa, la cual cataliza la decatenación hasta que dicho ciclo ha finalizado. (131)

Poco tiempo después del descubrimiento de la topoisomerasa IV se esclareció que la girasa no era el único "blanco" intracelular de las quinolonas; la

investigación empezó en *E. coli*, especie de la que se construyeron cepas resistentes a norfloxacin, mediante la secuencial adición del fármaco a los subcultivos correspondientes: las clonas resistentes evidenciaban una mutación en *gyrA*, al igual que en *nfxB*, y una tercera en *nfxD*, gen que se encontró a los 67 minutos del mapa genético de la bacteria, muy cercano a la posición identificada previamente para *parC* y *parE*. (154)

Un escenario un tanto diferente surgió al analizarse la secuencia de nucleótidos en *Staphylococcus aureus*: los aislamientos clínicos cuya resistencia a la ciprofloxacina podía catalogarse como "en niveles moderados", manifestaban una mutación en cierta porción del gen *parC* (*grlA*), denominada a la postre "región de resistencia a quinolonas". Cabe subrayar que las cepas resistentes "en altos niveles" a dicho fármaco sólo evidenciaban una mutación adicional en *gyrA*, lo cual sugirió que, en *S. aureus*, la topoisomerasa IV -más que la girasa- representaba el "blanco" principal de la ciprofloxacina. (65)

La subsecuente construcción de cepas resistentes de laboratorio, obtenidas incorporando concentraciones crecientes de quinolonas a los cultivos, permitió confirmar que la resistencia de bajo nivel surge como consecuencia de mutaciones en *parC*, mientras que la de alto nivel deriva de mutaciones dobles que inciden tanto en dicho gen como en el *gyrA*.

De cualquier manera, actualmente es incuestionable que las bacterias presentan al menos dos "blancos" enzimáticos para las fluoroquinolonas. Por ejemplo, en las

especies Gram negativas *Escherichia coli* y *Neisseria gonorrhoeae*, el "blanco" principal es la girasa; contrastando con ello, la topoisomerasa IV generalmente constituye el destino predominante de dicho grupo de antimicrobianos en las bacterias Gram positivas tales como *S. aureus* y *Streptococcus pneumoniae* (129, 131). Sin embargo, es necesario señalar que ambas enzimas ejercen funciones diferentes, por lo que es probable que la magnitud de la respuesta bacteriana hacia estos compuestos dependa de cuál enzima se encuentre fungiendo como "blanco" principal.

Formación de complejos

El evento central de la interacción entre las quinolonas y la girasa o la topoisomerasa IV radica en la formación de complejos fármaco-enzima-DNA, en los cuales el ácido nucleico suele encontrarse fragmentado. Dicha fragmentación puede explicarse aludiendo al paso de las cadenas, mediado por la girasa: tal como se mencionó anteriormente, la girasa genera un par de rupturas, una en cada cadena sencilla de DNA, particularmente en las regiones envueltas alrededor de la enzima. En cierta forma, ello equivale a abrir una "puerta" a través de la cual puede pasar otra hebra del DNA, por lo que es muy probable que estos fármacos atrapen al complejo DNA-girasa después de ocurrida la escisión del DNA. (54, 85, 130)

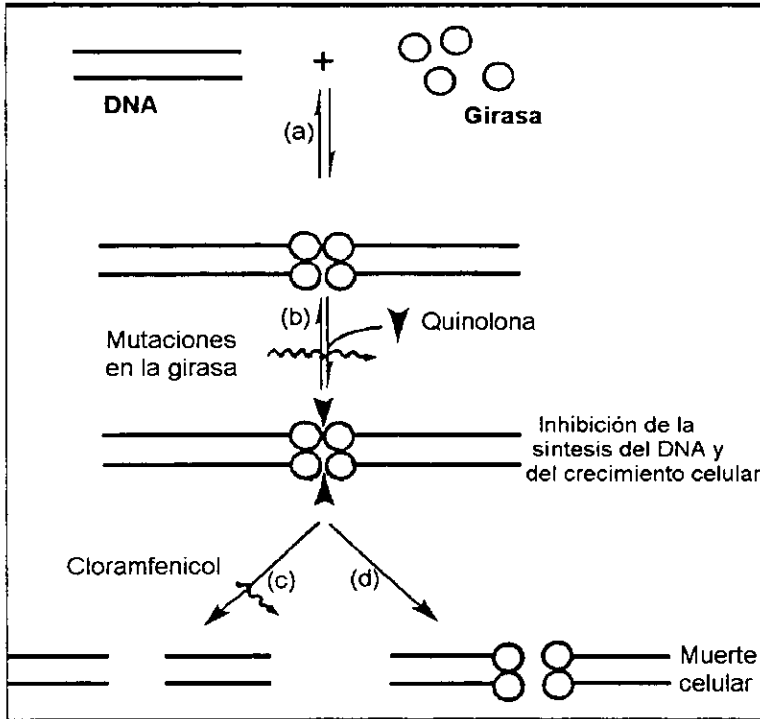


Figura 7. Acción intracelular de las quinolonas. (a) La girasa y el DNA interactúan para formar un complejo. (b) Las quinolonas atrapan al complejo (las mutaciones en la girasa evitan este evento) y los complejos atrapados bloquean la síntesis del DNA y el crecimiento celular. (c) Se liberan fragmentos de doble cadena a partir de los complejos. El cloramfenicol o la rifampicina bloquean esta reacción. (d) Altas concentraciones de la fluoroquinolona estimulan la disociación de la girasa, que libera a su vez los fragmentos de doble cadena. (130)

Al margen de la forma en que las quinolonas se unan al DNA y a la girasa, uno de los hallazgos "clave" consiste en la posibilidad de revertir los complejos implicados. Por ejemplo, cuando el ácido oxolínico es eliminado 15 minutos antes de que ocurra la lisis celular, se previene la fragmentación del cromosoma, e inclusive, dicha fragmentación puede ser revertida adicionando algún detergente

fuerte que desnaturalice a la girasa y, secuencialmente, aplicando temperaturas de 60°C. Es decir, todo parece indicar que, una vez que desaparece la quinolona, la enzima recupera su capacidad para cerrar la "puerta". (152)

Inhibición de la síntesis del DNA y bacteriostasis

Al descubrirse que el ácido nalidíxico y otras quinolonas bloqueaban la síntesis del DNA, los científicos consideraban muy poco probable que el fenómeno sólo pudiera deberse a la pérdida de la actividad de la girasa. De hecho, la frase "las quinolonas envenenan la síntesis del DNA" surgió a partir de tal escepticismo. (102)

La idea del "envenenamiento" puede entenderse más fácilmente si se consideran los efectos de la replicación en la topología del DNA. Cuando la horquilla de replicación se mueve a lo largo de un DNA circular cerrado covalentemente, el gradual desenrollamiento del duplex termina afectando los superenrollamientos negativos originales hasta detener la replicación. Sin embargo, la presencia de la girasa en esa región permite que la replicación continúe; por tal motivo, el hecho de que la enzima sea atrapada en el complejo fármaco-girasa-DNA bloqueará el movimiento de la horquilla. (152)

Puesto que la girasa se distribuye alrededor del cromosoma, a escasos intervalos de 100 kbp, el movimiento de la horquilla de replicación puede ser bloqueado en bajas concentraciones de quinolona: rápidamente, cuando ésta encuentra e

interactúa con algún complejo DNA-girasa asociado a la horquilla, o bien, lentamente, al ir avanzando junto a un complejo localizado relativamente lejos de la zona origen de replicación (*oriC* en *E. coli*). Evidentemente, el argumento asociado al bloqueo del desplazamiento de la horquilla de replicación explica de manera más convincente la inhibición quinolónica de la síntesis del DNA. (60)

Lógicamente, los efectos letales de las quinolonas se atribuyen frecuentemente a la inhibición de la síntesis del DNA proceso que, a su vez, se basa en la formación de complejos "separables" y promueve la inhibición del crecimiento. Sin embargo, no deja de resultar curioso que todos los fenómenos anteriores sean reversibles, en tanto que la acción letal no lo es, y que la concentración de quinolona necesaria para bloquear la síntesis del DNA sea menor que la requerida para provocar la muerte bacteriana. (81)

Cabe señalar que la topoisomerasa IV de *E. coli* también forma complejos separables que participan en una lenta inhibición de la síntesis del DNA. (138)

Rupturas del DNA y muerte celular

Los complejos entre la girasa y el DNA son atrapados por las quinolonas lo cual, posteriormente se traduce en el bloqueo de la síntesis del DNA y del crecimiento celular. Al parecer, esto último tiene lugar en dos formas: a) la eliminación de los complejos girasa-fármaco del DNA y la letal liberación de rupturas de doble cadena; y b) la disociación de la subunidad reactiva de la girasa, mientras ésta se

encuentra acomplejada con el DNA; este evento libera los extremos terminales del DNA -aunque las subunidades de la enzima permanezcan unidas a ellos-, es ajeno a la inhibición del RNA o de la síntesis de proteínas y ocurre predominantemente cuando las células bacterianas son tratadas con altas concentraciones de fluoroquinolonas tales como la ciprofloxacina. (35, 130)

Los efectos letales que surgen del modo de acción de las quinolonas, insensibles a reparaciones originadas por el cloranfenicol, se vuelven más prominentes a medida que aumenta la concentración del fármaco, debido probablemente a que éste participa en la disociación de la subunidad reactiva de la girasa. (35)

Aún menos se conoce sobre la muerte celular asociada al complejo fármaco-topoisomerasa IV-DNA, si bien diversos autores proponen las dos formas antes mencionadas para la girasa. En tal contexto, el apoyo para la hipótesis que alude a la dependencia de la síntesis proteica surge del hecho de que la muerte de una mutante *gyrA* (Nal^r) de *E.coli* se reduce en presencia de rifampicina o cloranfenicol. En cuanto a la posible disociación de las subunidades de la topoisomerasa IV, el fenómeno apenas se encuentra bajo estudio, empleando cepas de *S. aureus*, ya que la enzima de esta especie sí es más sensible que la girasa a la acción de las quinolonas. (35)

Inducción de la respuesta SOS

Las quinolonas son eficaces inductores del regulón SOS, un conjunto de genes involucrados en actividades diversas tales como reparación, recombinación y mutagénesis del DNA. La citada inducción se basa principalmente en la participación de tres proteínas: RecA, RecBCD y Lex A, y uno de los eventos tempranos corresponde a la generación de una señal inductora, la cual parece estar constituida por oligonucleótidos cortos y/o DNA de cadena sencilla. (42)

Aparentemente, la enzima RecBCD es la encargada de originar esta clase de señales y los fragmentos de los ácidos nucleicos implicados activan a RecA, que a su vez interactúa con LexA, promoviendo su autodigestión. En este sentido, es oportuno señalar que esta proteína corresponde al represor del regulón SOS, por lo que su hidrólisis provoca la expresión de los genes involucrados. Adicionalmente, la activación de RecA causa el desligamiento de ciertos represores asociados a diferentes fagos, lo cual a su vez podría explicar porqué se dice que las quinolonas inducen un "crecimiento lítico". (42)

Lógicamente, el papel inductor de los oligonucleótidos y del DNA de cadena sencilla representa uno de los aspectos menos comprendidos en el proceso; a tal respecto, las teorías que se manejan se fundamentan en fenómenos ampliamente demostrados: los oligonucleótidos cortos pueden transferirse fácilmente y el DNA de cadena sencilla funciona como inductor de la respuesta SOS *in vitro*. (42)

Además, la proteína RecBCD, iniciadora de la reacción, resulta necesaria para que el ácido nalidíxico lleve a cabo la inducción en cuestión, ya que cataliza cuatro reacciones trascendentales: el desenrollamiento del duplex de DNA, la degradación exonucleolítica del duplex, la degradación exonucleolítica de DNA de cadena sencilla y, finalmente, la degradación endonucleolítica del DNA de hebra simple. (122)

iv. Farmacocinética

Aunque la concentración mínima inhibitoria 90 (CMI90) contra un microorganismo representa un indicador importante de la actividad antibiótica, para poder determinar la potencia clínica de los fármacos, éstos deben ser comparados con base en las concentraciones que alcanzan *in vivo*. Por lo tanto, es preciso tomar en cuenta las características farmacocinéticas de cada fluoroquinolona, puesto que las propiedades de cada una pueden variar significativamente.

Absorción y Distribución

Estos compuestos presentan típicamente una excelente biodisponibilidad -la ciprofloxacina y la grepafloxacina poseen valores entre 70 y 80 %-, grandes volúmenes de distribución, una extensa penetración en los tejidos así como una baja unión a proteínas. (47, 49, 79, 139)

Las concentraciones séricas máximas se alcanzan comúnmente 1 a 2 h después de haberse administrado a individuos sanos, excepto en el caso de la esparfloxacina que requiere entre 4 y 5 h. Lógicamente, en lo anterior probablemente influya la baja solubilidad de estos fármacos en agua. Por otra parte, la concentración máxima (C_{max}) varía significativamente entre las nuevas fluoroquinolonas y las que aún se encuentran bajo investigación. En los estudios de rangos de dosis, la C_{max} y la ABC aumentaron de forma lineal y proporcional a la dosis y, como es de suponerse dados sus grandes volúmenes de distribución, la mayoría de estos fármacos penetran rápida y eficientemente en tejidos y fluidos, alcanzando concentraciones generalmente mayores a las plasmáticas. Además, la mayoría presenta una reducida unión a proteínas (entre 2 y 40 %), por lo que la influencia de este factor en la reducción de la actividad antimicrobiana prácticamente resulta mínima, excepto cuando se trata de la trovafloxacina, grepafloxacina y moxifloxacina ya que, en dicho rubro, ésta se asocian a cifras de 70, 50 y 55 %, respectivamente. (47, 157)

Uno de los factores que afecta la absorción de esta clase de compuestos es la administración conjunta de productos que contienen cationes divalentes (Mg²⁺, Ca²⁺ y Fe²⁺) o Al³⁺, presentes frecuentemente en antiácidos u otros medicamentos y en diversos productos lácteos. (93, 155)

Metabolismo y eliminación

La vida media de eliminación ($t_{1/2}$ *beta*) de la trovafloxacin, grepafloxacin, esparfloxacin y moxifloxacin permite que éstos sólo se administren una vez al día; además, su vida media de eliminación excede las 10 h, en tanto que la de la ciprofloxacina, ofloxacina, levofloxacina, gatifloxacina y clinafloxacina fluctúa entre 5 y 8 h. Cabe mencionar que, si bien el tiempo asociado a la levofloxacina es comparable a los de la ciprofloxacina y la ofloxacina, dicho fármaco está indicado para administrarse una vez al día. Con base en las velocidades de eliminación, los valores de ABC, y los datos clínicos en desarrollo, parece que la moxifloxacin y la gatifloxacina se pueden dosificar también una vez al día (61). La clinafloxacina presenta una CMI₉₀ adecuada con regímenes de 200 y 400 mg por vía oral o intravenosa dos veces al día. (117)

Las fluoroquinolonas son eliminadas del organismo a través de mecanismos renales y no renales; la ofloxacina, levofloxacina, gatifloxacina, y clinafloxacina sufren una limitada metabolización en humanos: más del 60 % del fármaco se localiza en la orina después de su administración. Es importante hacer notar que, cuando se trata de pacientes con una depuración de creatinina menor a 50 mL/minuto, es necesario realizar ajustes en la dosificación de levofloxacina y ofloxacina; así mismo, la dosis de clinafloxacina debe ser disminuida en 50 % si el mencionado valor es menor de 40 mL/minuto. (67, 69)

Contrastando con lo anterior, las dosis de la trovafloxacin, moxifloxacin, y grepafloxacin no requieren de ser reducidas cuando el enfermo evidencia una funci3n renal deteriorada. Sin embargo, dado que la primera es metabolizada en el h3gado reedituando un metabolito inactivo -al grado de que menos del 10 % del f3rmaco es eliminado a trav3s de la orina sin haber sido modificado-, se recomienda d3sminuir la dosis en pacientes con cirrosis leve o moderada. (161)

Por su parte, la moxifloxacin sufre un proceso de conjugaci3n a dos metabolitos, los cuales no parecen presentar actividad antimicrobiana, y aproximadamente el 20 % de la dosis administrada se excreta en la orina (157). Por 3ltimo, con respecto a la grepafloxacin, este f3rmaco es eliminado principalmente a trav3s del metabolismo hep3tico y la excreci3n biliar, por lo que debe evitarse su administraci3n en pacientes con falla hep3tica; menos del 10 % del compuesto es eliminado por la orina sin haber sido modificado. (57)

v. Farmacodinamia

El par3metro m3s utilizado para evaluar la actividad antimicrobiana de un antibi3tico corresponde a la concentraci3n m3nima inhibitoria (CMI), la cual refleja el efecto neto del f3rmaco, previa incubaci3n -durante 18 a 24 h- de un in3culo microbiano est3ndar en presencia de una concentraci3n fija y constante del f3rmaco (170). Sin embargo, dado que no registra la actividad antimicrobiana a diferentes tiempos, la CMI no caracteriza adecuadamente las propiedades farmacodin3micas del antibi3tico en turno.

De hecho, los investigadores emplean toda una variedad de métodos para definir el parámetro farmacodinámico que mejor correlaciona con la eficacia; así, las metodologías más comunes suelen ser las comparaciones directas entre los diferentes horarios de dosificación, tanto *in vitro* como en lo referente a las terapéuticas asociadas a infecciones de animales y humanos. (55, 114)

En virtud de que las fluoroquinolonas muestran una letalidad dependiente de su concentración, las cifras emanadas de las relaciones C_{max} (concentración máxima)/CMI o ABC24 (área bajo la curva de 24 h)/CMI (también conocida como ABIC) generalmente se consideran valores predictivos. (55, 114)

Los estudios efectuados en modelos dinámicos de infección *in vitro* examinan las relaciones entre la dosis y la muerte bacteriana: las bacterias son expuestas a concentraciones fluctuantes del fármaco ajustadas de modo que simulen los niveles máximos y séricos comúnmente alcanzados en humanos. Estos modelos sugieren que una relación $C_{max}/CMI \geq 10$, así como una $ABIC \geq 125$, se asocian a una muerte celular más rápida y a un muy improbable crecimiento de las subpoblaciones resistentes Gram negativas. (73, 114)

Cabe subrayar que estudios realizados en animales han confirmado dicha tesis: en dos modelos murinos, la exposición total o ABC representó la variable más

cercana al resultado real, encontrándose que una $ABIC \geq 100$, junto a una $C_{max}/CMI \geq 8$ y a niveles séricos mayores que la CMI predicen, en el total de casos, una total eficacia de las fluoroquinolonas en el tratamiento de la endocarditis. Separados los 3 parámetros, la ABIC mostró una mayor correlación lineal. (3, 73)

Aún cuando se han llevado a cabo pocos estudios en humanos, tendientes a confirmar la hipótesis generada en modelos animales e *in vitro*, las observaciones han apoyado estos planteamientos; por ejemplo, el tratamiento con levofloxacina de las infecciones respiratorias, urinarias, cutáneas y de tejidos blandos, se tradujo en altas frecuencias de curación, tanto clínica como microbiológica, cuando la relación C_{max}/CMI fue mayor de 12.2. De hecho, este parámetro y la ABIC se manifestaron altamente correlacionados: en el grupo con resultados terapéuticos exitosos la ABIC media era mayor de 100; por el contrario, en los casos de falla en el tratamiento se obtenían valores menores de 65. (141)

Es importante señalar que, de acuerdo con otro trabajo, la ABIC representa una variable menos predictiva cuando se analizan pacientes graves tratados con ciprofloxacina: las probabilidades fueron del 69 % para las ABICs de 125 ($\log_{10} = 2.1$) y ascendieron al 80 % para ABICs de 250 ($\log_{10} = 2.4$). Durante el estudio se realizaron cultivos diarios del microorganismo, con el propósito de establecer el tiempo de erradicación bacteriana, encontrándose una relación significativa entre los rangos definidos y la ABIC alcanzada en cada paciente. En general, los

valores de 125 coincidían con una efectiva muerte bacteriana que requería de aproximadamente 7 días para la total erradicación; así mismo, las cifras de 250 se asociaban a muerte celular con sólo 2 días para la erradicación, pero las ABICs mayores a 250 no disminuyeron dicho lapso. Por consiguiente, los investigadores concluyeron que los valores de 125 a 250 representa el rango más adecuado para pacientes hospitalizados graves y que, en efecto, existe una correlación directa entre el parámetro Cmax/CMI y la ABIC. (71)

Finalmente, en otra investigación en la que se estudió el efecto de seis fluoroquinolonas sobre bacterias previamente inoculadas en muslos y pulmones de ratones neutropénicos, se encontró un ABC₂₄/CMI = 25 para Gram negativas y de 53 para las Gram positivas, proponiéndose que estas últimas son más difíciles de erradicar; además, se concluyó que: a) una ABIC menor de 125 es adecuada para el tratamiento de las infecciones bacterianas en pacientes inmunocompetentes; b) cuando las cifras disminuyen entre 25 y 50 el compuesto resulta ineficaz en los enfermos graves; y c) cuando se compara directamente a esta clase de antibacterianos, deben aplicarse ABICs de 125, con los cuales se predice confiablemente la eficacia clínica de las fluoroquinolonas en humanos graves y se evitan fallas terapéuticas. (71, 141)

En resumen, los estudios clínicos han comprobado los datos obtenidos tanto *in vitro* como en modelos animales, aportando una guía razonable para optimizar la dosificación las fluoroquinolonas. (164)

vi. Farmacocinética/Farmacodinamia

Si bien la elección de un fármaco con adecuado espectro de actividad representa una meta muy importante en el tratamiento empírico de las infecciones bacterianas, la comprensión de las características farmacocinéticas y farmacodinámicas de dicho fármaco también resulta fundamental para determinar la dosis óptima. (71, 141)

En muchos casos, para diversos agentes antimicrobianos, los regímenes basados en grandes dosis administradas a intervalos irregulares suelen ser muy eficaces en términos de muerte bacteriana, tiempo de erradicación y escasa generación de cepas resistentes. Sin embargo, aún es difícil establecer cuál de los principales valores farmacodinámicos, C_{max}/CMI o ABIC, es el que predice mejor una curación clínica, en virtud de la directa correlación que existe entre ambos. (3,114)

Los datos necesarios para determinar dichos parámetros son las CMI, las concentraciones séricas máximas, y las ABCs para dosis típicas obtenidas en estudios farmacocinéticos -en estado constante- efectuados en voluntarios sanos.

Si bien las fluoroquinolonas no generan ABICs efectivas contra numerosas especies bacterianas, en ciertos casos resultan efectivas clínicamente -aún cuando los datos farmacodinámicos predigan lo contrario-. La explicación del fenómeno se sitúa en varias vertientes: a) las ABICs son mayores en los pacientes

infectados que en los voluntarios sanos; b) las ABCs de los compuestos que se excretan por el riñón suelen incrementarse en los individuos con ligera insuficiencia renal; c) para los microorganismos implicados, las CMI_s reales son menores que las CMI_s90 medias.

Por lo que se refiere a patógenos entéricos Gram negativos, los datos farmacodinámicos sugieren eficacia terapéutica de la ciprofloxacina, ofloxacina, levofloxacina, moxifloxacina, gatifloxacina y clinafloxacina, siempre que se alcancen ABCs de 125 con las dosis recomendadas. Además, la grepafloxacina, esparfloxacina y trovafloxacina también muestran una actividad farmacodinámica adecuada en contra de la mayoría de los miembros de la familia *Enterobacteriaceae*. (164)

En cuanto a cepas susceptibles de *P. aeruginosa*, las únicas fluoroquinolonas que se asocian a adecuadas relaciones C_{max}/CMI son la ciprofloxacina y la clinafloxacina. Sin embargo, las dosis normales de 400 mg, dos veces al día, no alcanzan ABCs de 125 o mayores en pacientes con función renal normal. De hecho, el aumento de la frecuencia de administración, de dos a tres veces al día, aporta pocos beneficios, dado que la ABC continúa siendo subóptima. (121, 164)

Inclusive, en condiciones de función renal normal, 400 mg del fármaco administrado cada 8 h por vía intravenosa suelen no ser suficientes para alcanzar el punto de corte de 125, en aquellas infecciones ocasionadas por cepas de *P. aeruginosa* cuyas CMI_s son de 0.5 µg/mL o mayores; por tal motivo, con

frecuencia es necesario realizar estudios complementarios tendientes a determinar si dosis mayores o alguna terapia de combinación representan mejores estrategias.

El resto de las fluoroquinolonas no parecen ser opciones aceptables para erradicar cepas susceptibles de *P. aeruginosa*, debido a sus inconvenientes en sus propiedades farmacocinéticas (bajas ABC) o en su potencia (altas CMI). (89, 129)

En otro orden de ideas y tocante a clonas de *S. aureus* sensibles a meticilina, las dosis recomendadas de ofloxacina, grepafloxacina, esparfloxacina y trovafloxacina generan valores de C_{max}/CMI y ABIC sugerentes de eficacia terapéutica (76, 79). Por su parte, la administración de levofloxacina, a razón de 500 mg/día, no resulta en una ABIC efectiva, aunque ello puede modificarse en pacientes con función renal deteriorada, ya que el 85 % del fármaco es eliminado por los riñones. Sin embargo, en pacientes cuya depuración de creatinina sea menor a la antes mencionada, se recomienda disminuir la dosis de levofloxacina, puesto que ello producirá una ABIC adecuada.

Por otro lado, datos preliminares indican que la gatifloxacina, clinafloxacina y moxifloxacina también son efectivas contra las clonas de *S. aureus* susceptibles a meticilina y que, por el contrario, la ciprofloxacina no parece ser una buena opción para el tratamiento de infecciones estafilocócicas en pacientes con función renal normal, a menos de que la CMI sea de 0.20 µg/mL o menor. (9)

Con respecto a los estreptococos de los grupos A y B, a pesar de que las CMI_s para la grepafloxacin, esparfloxacin, gatifloxacin y clinafloxacin sugieren una eficaz actividad, los datos farmacodinámicos sugieren lo contrario; en contraste, las ABICs de 125 o mayores asociadas a trovafloxacin y moxifloxacin indican que ambas son efectivas para erradicar a estos microorganismos (9, 79). Los perfiles farmacocinéticos de la ciprofloxacin, ofloxacin, y levofloxacin, en particular sus elevadas CMI_s, señalan claramente la inconveniencia de elegir a dichos fármacos para establecer tratamientos empíricos en contra de las estreptococcias.

En cuanto al género *Enterococcus*, las fluoroquinolonas no representan elecciones confiables para llevar a cabo tratamientos empíricos, puesto que la C_{max}/CMI ni la ABIC se encuentran dentro de valores que predigan una eficacia clínica aceptable.

El caso de la especie *Streptococcus pneumoniae* es muy interesante: debido a su escasa eficacia contra los principales agentes etiológicos de infecciones del tracto respiratorio, la ofloxacin y la ciprofloxacin no deben ser consideradas en el diseño del tratamiento correspondiente. Sin embargo, ello cambia radicalmente para las nuevas fluoroquinolonas; de hecho, con base en el valor de 125, los fármacos con la mejor actividad antineumocócica son la clinafloxacin, moxifloxacin, esparfloxacin y trovafloxacin. (48, 76, 79)

Además, la grepafloxacin presenta valores de un ABIC cercano a 125 y podría representar otra alternativa; empero, las cifras relacionadas con la levofloxacin y la gatifloxacin son demasiado bajas para cubrir la CMI₉₀ y evitar la resistencia bacteriana (128). No obstante, aunque los parámetros farmacodinámicos indican que estos tres compuestos no son óptimamente activos contra *S. pneumoniae*, los datos clínicos demuestran su eficacia; un argumento que podría explicar esta contradicción alude a la posibilidad de que diversas poblaciones de pacientes externos (no hospitalizados) no requieren de una ABIC de 125 –sino de 75- para alcanzar respuestas clínicas adecuadas. (70, 128)

Estos nuevos agentes fluoroquinolónicos poseen un espectro antimicrobiano cercano al ideal contra los principales patógenos respiratorios. En general, hoy en día se considera que la levofloxacin, esparfloxacin, clinafloxacin, gatifloxacin y moxifloxacin son confiables para instituir el tratamiento empírico de la neumonía adquirida en la comunidad (fuera de los nosocomios) y que la trovafloxacin sólo debe emplearse en los individuos hospitalizados, habida cuenta de su comprobada toxicidad hepática.

De hecho, esta última, una de las primeras fluoroquinolonas aprobadas como monoterapia para infecciones intraabdominales ocasionadas por una mezcla de agentes aerobios y anaerobios, no alcanza valores de ABIC de 125 o mayores en contra de las bacterias anaerobias. Desafortunadamente, ninguno de los estudios clínicos que han evaluado la farmacodinamia de las fluoroquinolonas incluyó

infecciones causadas por este tipo de microorganismos y aún se desconoce si valores menores de ABIC o de Cmax/CMI resultan suficientes. (4, 76)

vii. Importancia clínica de las fluoroquinolonas

Sin lugar a dudas, durante los últimos años ha aumentado significativamente el número de prescripciones de las fluoroquinolonas, tanto en los hospitales como en la comunidad. (4)

La potencia, amplio espectro y perfiles farmacocinéticos de este grupo de fármacos, en particular los de los compuestos de más reciente producción (tercera y cuarta generación), sustentan su utilización (vía oral en la mayor parte de los casos) para llevar a cabo el tratamiento de una amplia variedad de infecciones bacterianas, entre las cuales se cuentan las del tracto respiratorio (por ejemplo, la exacerbación de la bronquitis crónica y la neumonía), las del tracto urinario (complicadas y simples), de la piel, tejidos blandos, huesos y articulaciones, e inclusive, el de cuadros gastrointestinales debidos a *E. coli* enterotoxigénica (ECET), *Salmonella* (abarcando las fiebres tifoidea y paratifoidea, así como el estado de portador crónico), *Shigella*, *Campylobacter*, *Aeromonas*, *Vibrio* y *Plesiomonas shigelloides*. Adicionalmente, las fluoroquinolonas son eficaces contra infecciones pélvicas y algunas enfermedades de transmisión sexual (gonocócicas, clamidiales y chancroides). (52, 119, 139, 140, 165)

Las investigaciones clínicas más recientes que involucran a nuevas quinolonas, particularmente a la trovafloxacin, han demostrado que estos fármacos poseen una muy elevada eficacia para tratar las infecciones intra-abdominales, abdominales post-operatorias y ciertas patologías obstétricas/ginecológicas, lo cual se debe a su excelente actividad contra patógenos anaerobios tales como *Bacteroides fragilis*. (76)

Asimismo, la trovafloxacin ha demostrado ser muy efectiva en el tratamiento de la meningitis meningocócica. De hecho, es la primera de los nuevos agentes que evidencia una excelente penetración de la barrera hematoencefálica y una eficacia clínica muy especial contra las enfermedades más serias. (4)

Finalmente, en la última década se han venido acumulando más y mejores experiencias clínicas acerca de la utilidad de nuevas moléculas fluoroquinolónicas en la terapéutica y prevención de infecciones en pacientes inmunocomprometidos.

Infecciones respiratorias

En la actualidad, si bien alrededor del 90 % de las infecciones del tracto respiratorio son de origen viral, es claro que algunas bacterias son responsables de gran parte de los cuadros clínicos secundarios. (113)

En tal sentido, las nuevas fluoroquinolonas han probado ser muy útiles para realizar el tratamiento de las infecciones del tracto respiratorio que aparecen en la comunidad –neumonía, exacerbaciones agudas de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica y de la bronquitis crónica-, principalmente las ocasionadas por *S. pneumoniae*, uno de los agentes etiológicos más frecuentes, el cual ha venido manifestando una resistencia en aumento a los fármacos de elección: beta-lactámicos y macrólidos. (79, 129, 133)

Las fluoroquinolonas son muy activas en contra de otros agentes causales y/o agravantes comunes de las infecciones respiratorias, entre los que figuran *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, bacterias atípicas tales como *Chlamydia*, *Legionella* y *Mycoplasma*, MSSA (por *methicillin sensitive Staphylococcus aureus*) y *Enterobacteriaceae*. Además, con frecuencia eliminan cepas neumocócicas resistentes. (20, 40, 66, 97)

Una característica importante de estos compuestos consiste en su gran penetración en los tejidos respiratorios, tanto intracelulares como extracelulares, lo cual resulta esencial para su actividad contra *Legionella* y *Chlamydia*. (134)

Infecciones del tracto urinario

Evidentemente, se han obtenido excelentes resultados con las fluoroquinolonas en el tratamiento de diversas clases de infecciones del tracto urinario, especialmente contra las intranosocomiales y las complicadas. Aunque los compuestos tales

como el ácido nalidíxico y la cinoxacina están prácticamente limitados al tratamiento de este tipo de padecimientos, ello se debe a que, para tratar las patologías del tracto urinario inferior, existen otros antibióticos efectivos menos costosos; es decir, las fluoroquinolonas deben usarse en la monoterapia, únicamente cuando el cuadro se deba a microorganismos resistentes a alguno de los compuestos tradicionales. (101, 175)

Es importante hacer notar que estos fármacos no deben emplearse como agentes profilácticos en pacientes con lesiones obstructivas del tracto urinario, ni como terapia crónica en los pacientes con nefrolitiasis. (165)

Infecciones de la piel y de la estructura cutánea

El uso de estos compuestos como tratamiento de las infecciones en la piel ha atraído un gran interés hacia ellos, ya que se ha encontrado que tanto la ciprofloxacina como la ofloxacina (vía oral, o bien, vía oral e intravenosa) constituyen una opción efectiva para tratar las infecciones graves difíciles de erradicar, causadas por la familia *Enterobacteriaceae*, *P. aeruginosa* y *S. aureus*. (14, 58, 121)

Dichas fluoroquinolonas se han comparado favorablemente con antibióticos alternativos, sobre todo en los estudios que implican a las cefalosporinas de tercera generación. Sin embargo, su amplio uso en la terapéutica de las infecciones cutáneas se ha venido asociando a la aparición de clonas de MRSA

(por *methicillin resistant Staphylococcus aureus*) y MRSE (por *methicillin resistant Staphylococcus epidermidis*), por lo que es imprescindible racionalizar su empleo.

(45)

Osteomielitis

Estos fármacos son apropiados para llevar a cabo la terapéutica de la osteomielitis y otras afecciones de huesos y articulaciones, en virtud de su gran eficacia contra estafilococos, *Pseudomonas aeruginosa* y las enterobacterias pero además, debido a que alcanzan concentraciones potencialmente terapéuticas en hueso.

(45)

Otra de sus ventajas radica en el hecho de que existen formulaciones que permiten su administración por vía oral, lo que facilita el manejo de infecciones agudas y crónicas. Sin embargo, debe tomarse en cuenta la posibilidad de la inducción de resistencia entre las cepas MRSA y MRSE. (45)

Endocarditis

La mayor parte de los datos respecto al tratamiento de la endocarditis con fluoroquinolonas se derivan de modelos animales. Es decir, el número de reportes sobre el uso de estos compuestos en humanos aún es muy limitado; uno de ellos alude a dos pacientes a quienes se administró ciprofloxacina para erradicar a

S. aureus y, mientras en uno de los enfermos no se obtuvo la respuesta que se pretendía, la terapéutica resultó efectiva en el segundo. (56)

Posteriormente, se pudo tratar con éxito a diez pacientes adictos a drogas intravenosas, que padecían endocarditis del lado derecho causada por *S. aureus*; en tales casos se empleó ciprofloxacina, a razón de 300 mg por vía intravenosa durante la primera semana, seguida por 750 mg del mismo antibiótico por vía oral, en las 3 semanas siguientes, en las que la terapéutica también incluyó a la rifampicina. El resultado se calificó como óptimo, ya que no se observó desarrollo de resistencia en el agente causal, ni se presentaron recaídas en los pacientes. (56)

Infecciones entéricas y fiebre tifoidea

Como se mencionó con anterioridad, las nuevas fluoroquinolonas muestran gran actividad contra la mayoría de los patógenos que causan diarrea y/o fiebre tifoidea. En tal contexto, diversos estudios clínicos han demostrado buenos resultados en el tratamiento de la diarrea del viajero, si bien la posibilidad de que surja y/o se difunda la resistencia bacteriana hacia ellas, no las propone como agentes profilácticos antidiarreagénicos. (165)

Estos fármacos son de particular interés para llevar a cabo el tratamiento de la disentería causada por cepas resistentes de *Shigella*, e inclusive, son propuestos

como eficaces en la terapéutica de la fiebre tifoidea, dado que también se reporta que pueden eliminar el estado de portador. (165)

Enfermedades de transmisión sexual

Las fluoroquinolonas son efectivas para tratar padecimientos tales como la gonorrea (por *N. gonorrhoeae*), la uretritis y cervicitis clamidiana (por *C. trachomatis*), el chancroide (por *H. ducreyi*) y la enfermedad inflamatoria pélvica (por *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis* o ciertos microorganismos anaerobios). Sin embargo, es importante recordar que estos compuestos no pueden emplearse durante el embarazo y la lactancia, puesto que afectan a los cartilagos. (51, 80, 112, 135)

Tuberculosis

Dado que desde la introducción de la rifampicina no se han desarrollado nuevos agentes antituberculosos, algunos autores se han dado a la tarea de analizar el potencial de las fluoroquinolonas contra esta enfermedad. (91)

En general, los estudios efectuados *in vitro* han revelado que estos fármacos son activos contra *Mycobacterium tuberculosis*, en concentraciones que se alcanzan en sangre. De hecho, a pesar de los escasos trabajos realizados en humanos, al parecer la ciprofloxacina muestra una buena actividad bactericida y los regímenes que incluyen a estas moléculas podrían ser equivalentes a los estándar, por lo

cual se sugiere el uso de las fluoroquinolonas (sobre todo de la ciprofloxacina y ofloxacina) para el manejo de las infecciones en las que el microorganismo es multirresistente, o bien, cuando el paciente presenta reacciones adversas a otros agentes. (46, 75, 179, 181)

Contrastando con lo anterior, los resultados obtenidos en pacientes con SIDA o seropositivos han sido radicalmente desalentadores. (91)

IV. ESTREPTOGRAMINAS

Las estreptograminas son producidas por diversas especies de *Streptomyces* spp y constituyen un amplio conjunto de péptidos cíclicos que presentan características muy peculiares: en principio, cada miembro se conforma por una combinación de al menos 2 moléculas (grupos A y B) sin relación estructural alguna, las cuales corresponden a macrolactonas polinsaturadas y hexadepsipéptidos cíclicos, respectivamente; además, ambas inhiben síntesis proteica, actuando sobre el dominio de la peptidiltransferasa de la subunidad ribosomal 50S. (166)

Sin lugar a dudas, una de las propiedades más atractivas de estos compuestos radica en el hecho de que las moléculas de ambos grupos actúan de forma sinérgica en contra de los agentes causales; ello origina que la combinación actúe como bactericida, resultando muy eficaz contra una gran variedad de microorganismos Gram positivos y reduce la posibilidad de que sobrevivan las variantes resistentes que pudieran surgir hacia uno u otro de los componentes. (137)

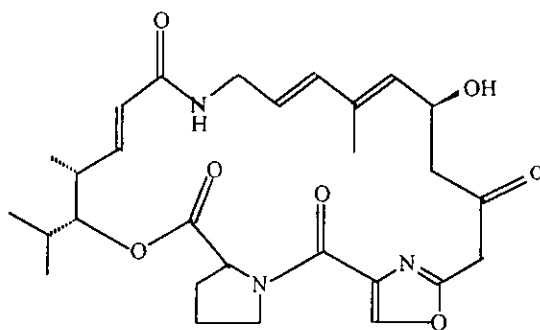
i. Estructura química

Estreptograminas del grupo A: Macrolactonas

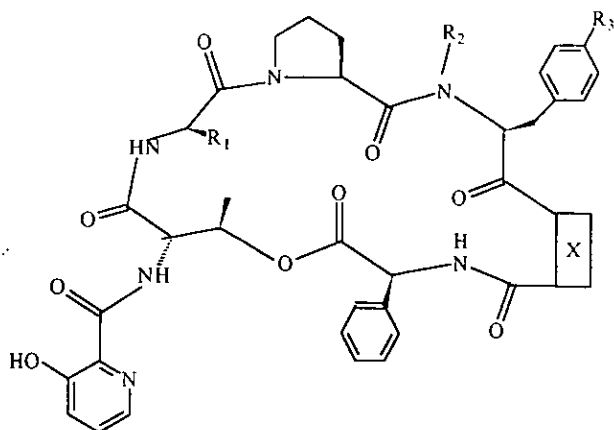
Las estreptograminas del grupo A contienen enlaces lactámicos y lactona, incluyen un anillo oxazol -tal como lo muestra la figura 8- y los principales

compuestos del grupo son la *pristinamicina IIA* y la *pristinamicina IIB*, cuyos pesos moleculares fluctúan alrededor de 500 Daltons.

Por su parte, las del grupo B son hexadepsipéptidos cíclicos, su peso molecular es de aproximadamente 800 Daltons y sus representantes más destacadas son la *pristinamicina IA* y la *virginamicina S1*, las cuales presentan varias similitudes entre sí. Además, los microorganismos que presentan resistencia a macrólidos y lincosamidas tampoco son susceptibles a este grupo. Dicha resistencia se denomina MLSb (de macrolides – lincosamides – B streptogramins).



Streptogramina del Grupo A



Estreptogramina del Grupo B

Figura 8. Estructuras químicas de las estreptograminas: Grupo A (pristinamicina IIA) y Grupo B (R1, R2, R3 y X varían dependiendo de cada compuesto). (137)

ii. Productos disponibles para uso médico

Diversos laboratorios de investigación han logrado aislar numerosas estreptograminas, encontrando que éstas en realidad corresponden a un grupo poco homogéneo; de hecho, sólo se han obtenido algunas preparaciones comerciales, entre las que destacan la pristinamicina y la virginamicina. La primera es un antibacteriano natural producido por *Streptomyces pristinaespiralis*, integrado por dos componentes principales: la pristinamicina IA (30 a 40 %) y la pristinamicina IIA (60 a 70 %). Por su parte, la virginamicina es elaborada por *S. virginiae* y también es un antibacteriano natural, incluso similar al antes mencionado. (43, 137)

Cabe comentar que uno de los problemas que los investigadores han venido tratando de superar consiste en la baja solubilidad de estas moléculas en agua; inicialmente, ello sólo permitía su administración mediante vías no parenterales y, por ende, impedía su prescripción para el tratamiento de las enfermedades graves. (15)

Sin embargo, tiempo después se lograron sintetizar derivados hidrosolubles de ambos grupos, e inclusive, se desarrolló una estreptogramina semisintética inyectable, la quinupristina/dalfopristina (RP 59500 ⁵), constituida por una mezcla 30+70 de los compuestos puros implicados: la pristinamicina IA (quinupristina) y la II B (dalfopristina). (15, 174)

iii. Sinergismo entre las estreptograminas de los grupos A y B

De acuerdo con trabajos realizados *in vitro*, la actividad antibacteriana de la combinación de los grupos A y B resulta cuando menos 10 veces mayor que la esperada de la suma de los efectos de cada uno de los componentes. Evidentemente, tal sinergia amplía el espectro antibacteriano correspondiente a microorganismos tales como *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina (MRSA), *Listeria monocytogenes*, *Bacteroides fragilis*, *Clostridium perfringens*, y *Neisseria gonorrhoeae* (124). Además, cada componente resulta esencialmente

⁵ Nombre asignado a la mezcla en fase experimental.

bacteriostático, pero la combinación de ambos ejerce un efecto claramente bactericida. (133)

De hecho, la quinupristina/dalfopristina se manifiesta como un rápido bactericida contra neumococos susceptibles y resistentes a penicilina, e inclusive, resulta muy efectiva contra los estafilococos, exceptuando algunas cepas de *S. epidermidis* que logran reiniciar su desarrollo *in vitro* 12 a 24 h después de haber empezado a interactuar con el fármaco. (84)

La importancia de las estreptograminas en la medicina actual reside en que representan una alternativa adicional para instituir la terapéutica de diversas enfermedades graves; las principales razones involucradas son las siguientes:
(166)

- a) La resistencia a los compuestos del grupo A es poco frecuente, comparada con la que se detecta hacia el grupo MLSb y otros inhibidores similares.
- b) La actividad sinérgica de las mezclas de ambas clases de fármacos hace menos probable el surgimiento de cepas insensibles.
- c) El sinergismo se manifiesta aún en cepas resistentes al grupo MLSb.

iv. Mecanismo de acción de las estreptograminas

Como es sabido, la síntesis proteica es catalizada por algunas proteínas citoplásmicas y por los ribosomas (70S), los últimos de los cuales se encuentran

constituidos por una subunidad pequeña (30S) y otra grande (50S). Ambas subunidades constan de un núcleo de RNA y de una capa proteica –prácticamente en todas se detectan cerca de 50 proteínas ribosomales y 3 RNAs ribosomales (rRNA)-; empero, las subunidades 30S contienen rRNA 16S y algunas proteínas 20S, mientras las 50S constan de rRNA 23S y 5S, así como de proteínas 30L. (166)

Tabla 4. Las estreptograminas (43, 137)

ESTREPTOGRAMINAS	OBSERVACIONES
Mezclas naturales	
Pristinamicina	Producido por <i>Streptomyces pristinaespiralis</i> y constituida por proporciones irregulares de diferentes moléculas
Virginamicina	Elaborado por <i>Streptomyces virginiae</i> y ligeramente diferente de la pristinamicina. Sinónimo: estafilomicina
Moléculas naturales ya definidas químicamente	
Estreptograminas del grupo A:	
Pristinamicina IIA	Sinónimos: estreptogramina A, mikamicina A, PA114 A, vernamicina A, osteogricina A, virginamicina M1 y estafilomicina M
Pristinamicina IIB	Sinónimos: osteogricina G y virginamicina M2
Estreptograminas del grupo B:	
Pristinamicina IA	Sinónimos: estreptogramina, mikamicina B, PA114 B, vernamicina Ba, osteogricina B y sinergistina B
Pristinamicina IC	Sinónimos: vernamicina By y osteogricina B1
Derivados semisintéticos	
Quinupristina o RP 57669	Derivado del compuesto natural pristinamicina IA
Dalfopristina o RP 54476	Derivado del compuesto natural pristinamicina IIB
Synercid o RP 59500	Mezcla 30+70 de las moléculas RP 57669 y RP 54476

La función del ribosoma implica la traducción del mensaje genético, transportado por el RNA mensajero (mRNA) y que culmina en la elaboración de las proteínas involucradas. Durante dicho proceso, los ribosomas sufren la periódica disociación de sus respectivas subunidades y la reestructuración de las partículas completas 70S, proceso al cual se conoce con el nombre de ciclo ribosómico. (166)

Al empezar este ciclo (iniciación), la subunidad 30S se une al mRNA, pero también al RNA de transferencia (tRNA) que transporta a una molécula de formil metionina (complejo al que se conoce como formilmetionil-tRNA). Este primer evento es promovido por tres factores de iniciación (IF1, IF2 y IF3) y conduce a la formación del complejo de iniciación completo; éste presenta -en el centro catalítico de la subunidad 50S- dos sitios de unión: A y P (de aminoacilo y peptidilo), para los derivados aminoacil-tRNA. (158)

Durante la segunda fase de la síntesis proteica (elongación), la unión ordenada de los aminoácidos produce una cadena peptídica. En este sentido, la adición de cada aminoácido implica tres pasos: i) la unión de la forma activa del aminoácido (aminoacil-tRNA) al sitio A; ii) la formación del enlace peptídico entre el grupo amino del aminoacil-tRNA recién incorporado y el grupo carboxilo de la formilmetionina-tRNA (lo que da lugar a un grupo peptidil-tRNA); y iii) el

desplazamiento (translocación) del peptidil-tRNA desde el sitio A hacia el P ⁶.
(158)

Por obvio, el número de veces que se repiten los 3 pasos anteriores coincide con la cantidad de aminoácidos que constituyen a la proteína en turno. Además, la unión del aminoacil-tRNA, el movimiento del peptidil-tRNA y el desplazamiento del ribosoma hacia el siguiente codón, requieren de la hidrólisis de GTP. (158)

Una vez terminada la cadena peptídica, ésta se libera junto con el tRNA, mRNA y los ribosomas, evento que recibe el nombre de terminación. Las partículas 70S se disocian en sus dos subunidades, en preparación para dar inicio a otro ciclo. (158)

Lógicamente, el conocimiento de los eventos asociados a la síntesis proteica bacteriana ha dado lugar a la exitosa búsqueda de inhibidores de cada uno; sin embargo, hasta el momento únicamente un pequeño número de dichos agentes inhibidores evidencia propiedades terapéuticas. (166)

El paso "clave": la formación del enlace peptídico, es promovido por el centro catalítico 50S (el centro peptidiltransferasa). En contra-sentido, el grupo MLSB y los antibióticos relacionados, tales como las estreptograminas A y el cloranfenicol, inhiben la síntesis de proteínas al bloquear precisamente la función de dicho centro. (15, 49)

⁶ Los factores de elongación EF-Tu y EF-Ts promueven la unión aminoacil-tRNA al sitio A, y los EF-G catalizan la translocación.

No obstante, cada uno de estos inhibidores cuenta con un distinto "sitio de unión" en la subunidad 50S, localizado en el dominio del centro de la peptidiltransferasa, generalmente vecino al de otro, e inclusive, algunos se sobreponen. El nivel de afinidad de cada antibiótico por su "receptor" está definido por la constante cinética de la reacción de formación del complejo ribosoma-antibiótico. (38)

Por otra parte, existen dos fenómenos que contribuyen a la acción de larga duración de estos fármacos: i) el establecimiento de un enlace frecuentemente fuerte, de naturaleza no covalente, con los ribosomas; y ii) un cambio conformacional inducido por la colisión de los compuestos tipo A con las subunidades 50S. (15)

A pesar de la proximidad de sus "sitios de unión", los antibióticos MLSb interfieren la función del centro de la peptidiltransferasa en diferentes formas. Por su parte, las estreptograminas tipo A bloquean la unión del sustrato a los "sitios" que actúan como donador y aceptor en dicho centro, evitando así el evento más temprano de la elongación: la unión del aminoacil-tRNA al sitio A y la formación del enlace peptídico con el peptidil-tRNA en el sitio P. Lo anterior es ocasionado parcialmente por la presencia del antibacteriano en el ribosoma y por las alteraciones conformacionales derivadas de su unión. (49)

A diferencia de los compuestos del grupo A, las estreptograminas tipo B interfieren la correcta colocación del peptidil-tRNA en el sitio P, lo que impide la formación del

enlace peptídico; ello suele traducirse en la liberación de cadenas peptídicas incompletas. (49)

En comparación con el bloqueo asociado a las moléculas tipo A, el inducido por el grupo B se ubica en una etapa tardía de la síntesis proteica. Además, el efecto inhibitorio en la etapa de terminación de las cadenas es proporcional a la longitud de las mismas. (50)

Por otra parte, los compuestos tipo A únicamente se pueden unir a los sitios A y P libres de moléculas aminoacil-tRNA, puesto que éstas evitan que los antibióticos se puedan fijar. En contraste, las estreptograminas tipo B se unen a los ribosomas en cualquier paso del ciclo. (167)

En resumen, la inhibición de los pasos iniciales (como la debida a la pristinamicina II) se suma a la que ocurre en etapas más avanzadas (tal como lo origina la pristinamicina I), tiene lugar un bloqueo doble, mucho más eficaz del que se esperaría; ello se puede demostrar fácilmente *in vitro*, incubando microorganismos con una mezcla de ambos tipos de compuestos.

Adicionalmente, al afectar el centro peptidiltransferasa, ambos grupos alteran también a las proteínas L10, L11 y L24, componentes esenciales del canal de salida de las cadena polipeptídicas. Esto se traduce en una constricción del mencionado canal, evitando así la salida de nuevos polipéptidos (consultar la figura 9). (15)

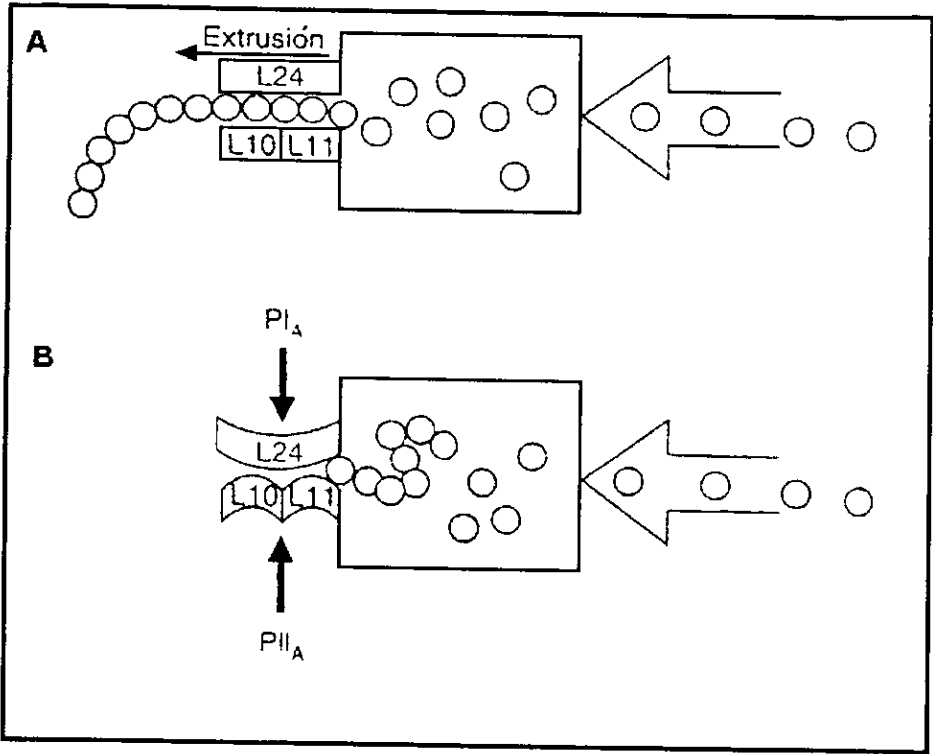


Figura 9. Mecanismo de acción de las estreptograminas.

v. Farmacocinética

Absorción. Los perfiles de concentración plasmática contra tiempo de quinupristina/dalfopristina, después de la administración única por vía intravenosa de una dosis de 7.5 mg/Kg en voluntarios sanos, se enumeran a continuación. Es importante mencionar que cuando se emplean concentraciones del fármaco por arriba del rango de 1.4 – 29.4 mg/kg se observa una proporcionalidad de la dosis con respecto a la concentración plasmática máxima (C_{max}). (62)

En los estudios de dosis únicas de Synercid, los valores de C_{max} en voluntarios sanos variaron entre 2.60 y 2.82 mg/L para la quinupristina y de 7.09 a 7.24 mg/L para la dalfopristina. Los valores correspondientes a la mezcla, administrada cada 8 h, fueron de 2.39 y 2.79 mg/L y de 6.20 y 7.22 mg/L, respectivamente, durante los primeros 4 días. El estado estacionario se alcanzó después de dos días.

El incremento de la C_{max} y del área bajo la curva de concentración plasmática contra tiempo (ABC) entre los días 1 y 4 parece ser resultado de una disminución de aproximadamente 20 % en la depuración del fármaco.

Metabolismo y distribución. Los datos presentados en un reporte preliminar muestran que los dos componentes principales del fármaco conocido como Synercid muestran una cinética casi paralela en plasma. A continuación se señalan los resultados obtenidos para infusiones -cada 8 h- con una dosis de 7.5 mg/kg. (16)

Entre las estreptograminas, la quinupristina y la dalfopristina representan los principales componentes activos circulantes en plasma. Sin embargo, ambos son convertidos a diversos metabolitos activos, de los cuales la quinupristina tiene dos metabolitos conjugados (un conjugado con el glutatión, RP 69012 y uno con cisteína RPR 100391) y uno no conjugado para la dalfopristina (RP 12536, formado por la hidrólisis del fármaco) principalmente (16, 24). Evidentemente, aún no se ha elucidado la contribución de estos metabolitos a la actividad *in vivo* del fármaco, si bien en un estudio realizado en ocho voluntarios sanos pudo determinarse que la C_{max} de cada uno de los tres compuestos secundarios casi se alcanza al mismo tiempo (entre 1 y 1.17 h), respecto a las moléculas originales, siendo de 0.41 para el RP 69012, de 0.29 para el RP 100391 y, finalmente, de 1.1 mg/L para el RP 12536. (94)

Adicionalmente, no se encontró evidencia alguna que sugiriera la liberación de histamina durante la infusión, lo cual representa un punto importante, puesto que las estreptograminas incluyen agentes peptídicos bien conocidos por su capacidad para inducir la liberación de dicha amina vasoactiva después de administrarse mediante infusión rápida. (94)

La unión de estos compuestos a proteínas plasmáticas es moderada y varía entre 55 y 78 % para la quinupristina y entre 11 y 26 % para la dalfopristina (16). Con respecto a su distribución, un estudio realizado en monos que recibieron 10 mg/kg de quinupristina/dalfopristina marcada radioactivamente, reveló que la mezcla se

distribuye extensamente en fluidos y tejidos, alcanzando –inclusive- hígado, riñones y tracto gastrointestinal; no obstante, no se observaron marcas radiactivas en el sistema hematopoyético o en los tejidos glandulares ni en los que contienen melanina. (24)

Por otra parte, en un modelo animal de endocarditis, se comprobó que estos compuestos manifiestan una distribución diferente en las vegetaciones cardíacas: mientras la quinupristina se reparte de manera más uniforme, la dalfopristina se concentra principalmente en el núcleo de dichas vegetaciones. (63)

Finalmente, en otro trabajo en el cual se empleó un modelo de meningitis en conejos, se encontró que las concentraciones de los fármacos en el líquido cefalorraquídeo (LCR) alcanzan valores de 1.3 mg/L durante 20 h, previa infusión continua por 12 h, a dosis de 7.5 mg/kg de Synercid. (163)

Eliminación. En individuos sanos, los tiempos medios de eliminación ($t_{1/2\beta}$) para estas moléculas varían entre 0.9 y 1.14 h en el caso de la quinupristina, y entre 0.45 a 0.71 h para la dalfopristina. Según un estudio de dosis múltiples (7.5 mg/kg cada 8 a 12 h) efectuado en voluntarios sanos, la eliminación de los compuestos originales presentó un comportamiento bioexponencial, con valores medios de 0.75 y 0.45 h en el grupo de 8 h y de 0.82 y 0.61 h en el de 12 h, respectivamente.

Después de una sola infusión de la mezcla, la depuración plasmática resulta muy importante para ambos compuestos: de 0.82 a 0.87 L/h•kg en voluntarios sanos. Evidentemente, pasado el cuarto día de administraciones continuas del fármaco, cada 8 h, dichas cifras disminuyen en 21 y 16 %, respectivamente.

La excreción fecal constituye la principal vía de eliminación, tanto para los compuestos inalterados como para sus respectivos metabolitos: 75 a 77 % de la dosis se elimina de esta manera; es decir, la excreción urinaria únicamente representa el 15 % para la quinupristina y el 19 % para la dalfopristina. De hecho, datos preclínicos obtenidos en ratas han demostrado que aproximadamente el 80% de la dosis es excretada por la bilis, lo que sugiere que la excreción biliar en el humano es la principal vía para la eliminación fecal. (16)

Poblaciones especiales. La farmacocinética asociada a esta mezcla de antibacterianos se ha estudiado en individuos obesos y de edad avanzada, así como en pacientes con falla renal severa crónica o con insuficiencia hepática, e inclusive, en quienes reciben diálisis intraperitoneal continua ambulatoria (DPCA o CAPD, de *continuous ambulatory peritoneal dialysis*). En tal contexto, se ha encontrado que la depuración de este antibacteriano se puede alterar relativamente en los pacientes con falla renal crónica de tipo severo y en quienes se encuentran en terapéuticas con DPCA. (94)

Por otra parte, en comparación con voluntarios sanos, no se observan problemáticas evidentes de depuración en las personas con cirrosis hepática, si bien en éstos últimos, los valores medios de ABC de las moléculas originales (sumadas a sus respectivos metabolitos) resultaron aproximadamente 2.8 y 1.5 veces más altos. Lo anterior implica la necesidad de realizar ciertos ajustes en la dosificación destinada a los enfermos con insuficiencia hepática.

vi. Farmacodinamia

La quinupristina/dalfopristina corresponde a un compuesto semisintético que, tanto *in vitro* como *in vivo*, presenta una eficaz actividad contra microorganismos Gram-positivos tales como enterococos (particularmente contra las cepas de *E. faecium* resistentes a vancomicina), estafilococos (especialmente contra *S. aureus*, incluyendo a las clonas resistentes a metilicina) y estreptococos (abarcando a las cepas más virulentas de *S. pneumoniae*). Dicha actividad antimicrobiana aparece cuando estos fármacos se unen de forma irreversible a los ribosomas bacterianos, inhibiendo así la síntesis proteica. (84, 95, 146)

En la última década, la prevalencia de las infecciones causadas por las bacterias antes señaladas se ha incrementado notablemente: el último estudio nacional de infecciones nosocomiales reportó que estos microorganismos son precisamente los agentes causales aislados más comúnmente dentro de los hospitales. Por lo anterior, el estudio de los parámetros farmacodinámicos de los diferentes

antimicrobianos resulta de gran importancia para optimizar el tratamiento de infecciones serias causadas por los mencionados microorganismos. (1)

De hecho, el análisis de parámetros tales como los efectos de la concentración y el tiempo de exposición en la muerte de las bacterias, el área bajo la curva de concentración contra tiempo (ABC), la concentración mínima inhibitoria (CMI), la concentración mínima bactericida (CMB) y el efecto post-antibiótico (PAE) han sustentado el desarrollo de regímenes de dosificación más eficaces. (1)

En términos generales, la mayoría de las investigaciones sobre farmacodinamia se ha centrado en el efecto de las estreptograminas sobre los estafilococos, aunque también existen trabajos acerca de los enterococos y estreptococos (1). En tal contexto, los estudios realizados en voluntarios sanos revelaron que las dosis de 7.0 a 12.6 mg/kg, administradas como infusiones de una hora, se asociaban a concentraciones máximas en suero de aproximadamente 5.0 a 11.0 mg/kg, respectivamente. (132)

Con respecto a la CMI, se encontró que ésta es de 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para los neumococos, y de 0.125 a 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para algunos grupos de estafilococos. En cuanto a los enterococos, para las cepas de *E. faecium* susceptibles a vancomicina el valor observado fue de 2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, contrastando con el de 0.25 a 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ que se obtuvo para las cepas vancomicina-resistentes (132). Cabe

agregar que las CMBs de estos últimos microorganismos abarcaron un amplio rango de 0.25 a 64.0 µg/mL. (1)

Además, diversas investigaciones han sugerido que existen relaciones significativas entre la reducción del inóculo inicial y la CMI de la quinupristina, e inclusive, entre la proporción CMB/CMI de la quinupristina/dalfopristina y, desde luego, entre la concentración de esta mezcla y la CMB. Evidentemente, entre más cercana sea la concentración de un cierto fármaco a la CMB para un microorganismo específico, mayor resultará su actividad bactericida. (1)

En resumen, ocurre una clara correlación entre la actividad *in vitro* de este fármaco y los parámetros farmacodinámicos que incorporan, ya sea la CMI para la quinupristina, o bien, la concentración de quinupristina/dalfopristina en relación con la CMB, especialmente en los enterococos resistentes a vancomicina (VRE). Con base en lo anterior, es muy probable que la CMI de la quinupristina sea el parámetro más útil para predecir la actividad farmacodinámica contra *E. faecium* o *S. aureus*, debido a la facilidad y rapidez con que se puede determinar en el laboratorio clínico, en comparación con el tiempo requerido para estimar la CMB. (1)

Adicionalmente, este antibacteriano también demostró un importante efecto post-antibiótico (PAE, de *post-antibiotic effect*), término usado para referirse a la inhibición continua del crecimiento microbiano que permanece después de una

corta exposición al fármaco. La trascendencia clínica de este parámetro se refleja en los regímenes de dosificación: una patología debida a un microorganismo susceptible a un antimicrobiano que posee un PAE significativo, suele requerir una menor frecuencia de dosificación del agente terapéutico en cuestión (26, 95, 127).

El PAE medio para *Staphylococcus* fue de 4.7 h, lapso que contrasta con el de 2.4h que se obtuvo para las cepas resistentes constitutivas del género, y con el de 5.6 h para los aislamientos resistentes inducibles. En general, los PAEs manejados por la literatura reciente son de 2 a 8 h contra *S. aureus*, de 7.5 a más de 9 h para *S. pneumoniae* y de más de 18 h contra *Streptococcus pyogenes*. (132, 146)

Por lo que se refiere a los enterococos, se han encontrado PAEs más cortos para las cepas de *E. faecium* resistentes a vancomicina que para las susceptibles a este glucopéptido: el PAE medio para las cepas resistentes se ha calculado en 2.6h y, para las susceptibles, en 8.5 h, previa exposición de los microorganismos al fármaco. (132)

Finalmente, el efecto post-antibiótico resultó aproximadamente de 2.8 h para algunas cepas neumocócicas que se expusieron durante 1 hora a la acción de la quinupristina/dalfopristina, a razón de 0.5 veces la CMI. (132)

vii. Importancia clínica de las estreptograminas

La quinupristina-dalfopristina, el fármaco representativo de este grupo de antimicrobianos, es activo en contra de la mayoría de las bacterias Gram positivas, particularmente contra *S. aureus* y los estafilococos coagulasa negativa, incluidas las cepas resistentes a meticilina. De igual forma, afecta a los patógenos respiratorios tales como neumococos, *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila* y *Chlamydia pneumoniae*, además de resultar eficaz contra *Enterococcus faecium*, en especial sobre las clonas resistentes a ampicilina, gentamicina y vancomicina, aunque no contra *Enterococcus faecalis*, probablemente a causa de la resistencia de esta especie a la dalfopristina. (12, 20, 41, 59, 90)

Con base en su actividad clínica e *in vitro*, este fármaco está indicado en el tratamiento de infecciones serias, incluyendo las complicadas de la piel y su estructura (causadas por *Staphylococcus aureus* susceptible a meticilina y *Streptococcus pyogenes*), la neumonía nosocomial, la bacteremia, así como las infecciones causadas por cepas de *E. faecium* resistentes a los glucopéptidos (consultar la tabla 5). (107)

Tabla 5. Utilidad clínica de las estreptograminas. (16, 174)

Indicación	Dosis (mg/Kg)	Frecuencia	Duración recomendada del tratamiento
Infecciones serias o que atenten la vida asociadas a bacteremia por VREF ¹	7.5	Cada 8 horas	Depende de la severidad y sitio de la infección
Infecciones complicadas de la piel y de su estructura causadas por <i>S. aureus</i> ² o <i>S. pyogenes</i> ³	7.5	Cada 12 horas	Al menos 7 días

¹ *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina.

² *Staphylococcus aureus* susceptible a metilicina.

³ *Streptococcus pyogenes*.

CONCLUSIONES:

1. Los agentes etiológicos de índole bacteriano han desarrollado diferentes mecanismos de resistencia, con base en los cuales neutralizan la acción de los antimicrobianos, lo que provoca que hoy en día hayan disminuido las opciones terapéuticas contra numerosos padecimientos infecciosos.

2. La conjugación representa el principal mecanismo por medio del cual se propaga la resistencia a fármacos y, si bien generalmente aquélla ocurre entre bacterias de la misma especie, cada vez se detecta un mayor número de microorganismos capaces de transferir su material genético a otros géneros y especies.

3. Con respecto a las fluoroquinolonas:

- Pese a que han aparecido cepas bacterianas resistentes a ellas, estos fármacos continúan representando una opción muy importante en el tratamiento de enfermedades infecciosas graves.

- Sus blancos enzimáticos de acción son tanto la girasa, en las bacterias Gram negativas, como la topoisomerasa IV, en las Gram positivas.

- La trovafloxacinina presenta tales características que la constituyen como una herramienta clave en la terapéutica de numerosas enfermedades incluidas las ocasionadas por microorganismos anaerobios.

4. Con respecto a las estreptograminas:

- Su acción molecular consiste en la inhibición de la síntesis protéica bacteriana, vía la afectación del centro peptidiltransferasa o 50S.
- La quinupristina/dalfopristina representa la mejor opción para tratar las infecciones intrahospitalarias causadas por numerosas cepas de *E. faecium* que resultan resistentes a vancomicina.

5. Es vital aprender a emplear los antimicrobianos de manera racional para así conservar el "arsenal" actual y evitar en un futuro el surgimiento de padecimientos incurables.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aeschlimann R.J. and Rybak J.M.: Pharmacodynamic Analysis of the Activity of Quinupristin-Dalfopristin against Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium* with Differing MBCs via Time-Kill-Curve and Postantibiotic Effect Methods; *Antimicrob Agents Chemother*; 1998; 42(9): 2188 – 92.
2. Anderson M.R.: The pandemic of antibiotic resistance; *Nature Med*, 1999; 5 (2): 147 – 9.
3. Andes DR, Craig WA. Pharmacodynamics of fluoroquinolones in experimental models of endocarditis. *Clin Infect Dis* 1998;27:47 – 50.
4. Andriole T.V. : The Future of the Quinolones ; *Drugs*, 1999; 58 Suppl 2 : 1 – 5.
5. Andrup L.: Conjugation in Gram-positive Bacteria and Kinetics of Plasmid Transfer; *APMIS*, 1998; 106: 47 – 55.
6. Anonymus; *Bacterial Genetics*; Mar 1998, 210: 307 – 328; <http://www.cbs.dtu.dk/dave/roanoke/genetics980309.html>
7. Anonymus: *Bacterial Resistance to Antibiotics*; Kenneth Todar University of Wisconsin Department of Biology, 1996; <http://www.bact.wisc.edu/Bact330/lecturebactres>.
8. Anonymus: *Bacteriology 330 Lecture Topics: Antimicrobial Agents*; Kenneth Todar University of Wisconsin Department of Biology, 1996; <http://www.bact.wisc.edu/Bact330/lectureama>.
9. Anonymus: *Gatifloxacin and moxifloxacin: Two new fluoroquinolones*; *Med Letter Drugs Ther*, 2000; 42 (1072): 15 – 7.
10. Anonymus: *Sparfloxacin and levofloxacin*; *Med Lett Drugs Ther*; 1997; 39: 41 – 4.
11. Anonymus: *The choice of antibacterial drugs*; *Med Lett*, 1999; 41: 95 – 104.
12. Appelbaum C. P.: *Emerging Resistance to Antimicrobial Agents in Gram-Positive Bacteria. Pneumococci*; *Drugs*, 1996; 51 Suppl 1: 1 – 5.
13. Arthur M., Brisson-Noël A. And Courvalin P.: *Origin and evolution of genes specifying resistance to macrolide, lincosamide and streptogramin antibiotics: data and hypotheses*; *J Antimicrob Chemother*, 1987; 20: 783 – 802.
14. Auckenthaler R., Michéa-Hamzehpour M. and Pechère C.J.: *In-vitro activity of newer quinolones against anaerobic bacteria*; *J Antimicrob Chemother*, 1986; 17 Suppl B: 29 – 39.
15. Aumercier M, Bouhallab S., Capmau ML. and Le Goffic F.: *RP 59500: a proposed mechanism for its bactericidal activity*; *J Antimicrob Chemother*, 1992; 30 Suppl A: 9 – 14.

16. Aventis Pharmaceuticals Products Inc. : Summary of product characteristics. Synercid (quinupristin/dalfopristin). IN – 1300 – Rev. 7 / 99; Collegetown, PA 19426 U.S.A; 2000.
17. Barret J.F. and Hoch J.A.: Two component signal transduction as a target for microbial anti-infective therapy; *Antimicrob Agents Chemother*, 1998; 42: 1529 – 36.
18. Barret J.F. and Isaacson R.E.: Bacterial virulence as a potential target for therapeutic intervention; *Annu Rep Med Chem*; 1995; 30: 111 – 8.
19. Barry A.L. and Fuchs P.C.: In vitro activities of a streptogramin (RP 59500), three macrolides, and an azolide against four respiratory tract pathogens; *Agents Chemother*, 1995; 39: 238 – 40.
20. Barry L.A., Fuchs C. and Brown D.S.: Antipneumococcal Activities of a Ketolide (HMR 3647), a Streptogramin (Quinupristin-Dalfopristin), a Macrolide (Erythromycin), and a Lincosamide (Clindamycin); *Antimicrob Agents Chemother*, 1998; 42 (4): 945 – 6.
21. Bates S., Cashmore M.A. and Wilkins M.B.: IncP Plasmids Are Unusually Effective in Mediating Conjugation of *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae*: Involvement of the Tra2 Mating System; *J Bacteriol*, 1998; 180 (24): 6538 – 43.
22. Bébéar M.C., Renaudin H., Boudjadja A. and Bébéar C.: In Vitro Activity of BAY 12 – 8039, a New Fluoroquinolone, against Mycoplasmas; *Antimicrob Agents Chemother*, 1998; 42 (3): 703 – 4.
23. Bennett M.P., Heritage J. and Hawkey M.P.: An ultra-rapid method for the study of antibiotic resistance plasmids; *J Antimicrob Chemother*, 1986; 18: 421 – 4.
24. Bergeron M., Montay G.: The pharmacokinetics of quinupristin/dalfopristin in laboratory animals and in humans; *J Antimicrob Chemother*, 1997; 39 Suppl A: 129 – 38.
25. Biavasco F.: In vitro antibacterial activity of LY333328, a new semisynthetic glycopeptide; *Antimicrob Agents Chemother*, 1997; 41: 2165 – 72.
26. Boswell J.F., Andrews M.J. and Wise R.: The postantibiotic effect of RP 59500 on *Staphylococcus aureus* including strains with a raised MBC; *J Antimicrob Chemother*, 1994; 33: 1219 – 22.
27. Brisson-N.A., Trieu-Cuot P. and Courvalin P.: Mechanism of action of spiramycin and other macrolides; *J Antimicrob Chemother*, 1988; 22 Suppl B: 13 – 23.
28. Brock D.T.: *BIOLOGÍA DE LOS MICROORGANISMOS*, Ediciones Omega, 1a Edición, Barcelona, 1973.
29. Brock D.T., Smith W.D. and Madigan T.M.: *MICROBIOLOGIA*, Editorial Prentice Hall Hispanoamericana S.A., 4a Edición, México, 1987.
30. Bussiere D.: Crystal structure of ErmC', an rRNA methyltransferase which mediates antibiotic resistance in bacteria; *Biochemistry*, 1998; 37: 7103 – 12.

31. Cabral M.H.J., Jackson P.A., Smith V.C., Shikotra N., Maxwell A. and Liddington C.R.: Crystal structure of the breakage-reunion domain of DNA gyrase; *Nature*, 1997; 388: 903 – 6.
32. Casadevall A.: Crisis in Infectious Diseases: Time for a New Paradigm?; *Clin Infect Dis*, 1996; 23: 790 – 4.
33. Chan M.K.: Crystal structure of *E. coli* peptide deformylase; *Biochemistry*, 1997; 36: 13904 – 9.
34. Chapra I., Hodgson J., Metcalf B. and Poste G.: The search of antimicrobial agents effective against bacteria resistant to multiple antibiotics; *Antimicrob Agents Chemother*, 1997; 41: 497 – 503.
35. Chen C-R., Malik M., Snyder M. and Drlica K.: DNA gyrase and topoisomerase IV on the bacterial chromosome: quinolone-induced DNA cleavage; *J Mol Biol*, 1996; 258: 627 – 37.
36. Chen D.Z.: Actinonin, a naturally occurring antibacterial agent is a potent peptide deformylase inhibitor; *Biochemistry*, 2000; 39: 1256 – 62.
37. Childs J.S.: Safety of the Fluoroquinolone Antibiotics: Focus on Molecular Structure; *Infect Urol*, 2000; 13 (1): 3 – 10.
38. Chinali G., Vanlinden F., Cocito C.: Action of virginiamycin M on the stability of different ribosomal complexes to ultracentrifugation; *Biochim Biophys Acta*, 1988; 950: 67 – 74.
39. Clewell D.B.: Bacterial sex pheromone-induced plasmid transfer; *Cell*, 1993; 73: 9 – 12.
40. Cooper A.M., Andrews M.J., Ashby P.J., Matthews S.R. and Wise R.: In-vitro activity of sparfloxacin, a new quinolone antimicrobial agent; *J Antimicrob Chemother*, 1990; 26: 667 – 76.
41. Cormican G.M. and Jones N.R.: Emerging Resistance to Antimicrobial Agents in Gram-Positive Bacteria. Enterococci, Staphylococci and Nonpneumococcal Streptococci; *Drugs*, 1996; 51 Suppl 1: 6 – 12.
42. Craig N.L. and Roberts W.J.: *E. coli* RecA protein-directed cleavage of phage lambda repressor requires polynucleotide; *Nature*, 1980; 283: 26 – 30.
43. Crécy-Lagard V., Saurin W., Thibaut D., Gil P., Naudin L., Crouzet J. and Blanc V.: Streptogramin B Biosynthesis in *Streptomyces pristinaespiralis* and *Streptomyces virginiae*: Molecular Characterization of the Last Structural Peptide Synthetase Gene; *Antimicrob Agents Chemother*, 1997; 41 (9): 1904 – 9.
44. Critchlow ES and Maxwell A: DNA Cleavage Is Not for the Binding of Quinolone Drugs to the DNA Gyrase – DNA Complex; *Biochemistry*, 1996; 35: 7387 – 93.
45. Cruciani M. and Bassetti D.: The fluoroquinolones as treatment for infections caused by Gram-positive bacteria; *J Antimicrob Chemother*, 1994; 33: 403 – 17.

46. Davies S., Sparham D.P., Spencer C.R.: Comparative in-vitro activity of five fluoroquinolones against mycobacteria; *J Antimicrob Chemother*, 1987; 19: 605 – 9.
47. Decr e D. And Bergogne-B er zin E.: Pharmacokinetics of quinolones with special reference to the respiratory tree; *J Antimicrob Chemother*, 1993; 31: 331 – 43.
48. Denis A. and Moreau J.N.: Mechanisms of quinolone resistance in clinical isolates: accumulation of sparflloxacin and of fluoroquinolones of various hydrophobicity, and analysis of membrane composition; *J Antimicrob Chemother*, 1993; 32: 379 – 92.
49. Di Giambattista M., Chinali G. and Cocito C.: The molecular basis of the inhibitory activities of type A and type B synergimycins and related antibiotics on ribosomes; *J Antimicrob Chemother*, 1989; 24: 485 – 507.
50. Di Giambattista M., Thielen A. Maassen J.: Localisation of virginiamycin S binding site on bacterial ribosome by fluorescence energy transfer; *Biochemistry*, 1986; 25: 3540 – 7.
51. Domagala M.J.: Structure-activity and structure-side-effects relationships for the quinolone antibacterials; *J Antimicrob Chemother*, 1994; 33: 685 – 706.
52. Dorian M., Grellet J. and Saux C.M.: Uptake of Fluoroquinolones in Human Monocytes Isolated from Peripheral Blood; *J Pharm Pharmacol*, 1998; 50: 783 – 8.
53. Drica K.: A Strategy for Fighting Antibiotic Resistance; *ASM News*, 2001; 67 (1): 27 – 33.
54. Drica K: Refining the Fluoroquinolones. Basic Efforts to understand quinolone biology may prolong the public health value of these widely used antibacterial agents; *ASM News*, 1999; 65 (6): 410 – 5.
55. Drusano GL, Johnson DE, Rosen M, Standiford HC. Pharmacodynamics of a fluoroquinolone antimicrobial agent in a neutropenic rat model of *Pseudomonas* sepsis. *Antimicrob Agents Chemother* 1993;37:483 – 90.
56. Dworkin R.J., Lee B.L., Sande M.A. and Chambers H.F.: Treatment of right-sided *Staphylococcus aureus* endocarditis in intravenous drug users with ciprofloxacin and rifampicin; *The Lancet*, 1989: 1071 – 3.
57. Efthymiopoulos C, Bramer SL, Maroli A. Effect of age and gender on the pharmacokinetics of grepafloxacin. *Clin Pharmacokinet* 1997;33(suppl 1):9 – 17.
58. Eliopoulos M.G.: Activity of Newer Fluoroquinolones *In Vitro* Against Gram-Positive Bacteria; *Drugs*, 1999; 58 Suppl 2: 23 – 8.
59. Eliopoulos M.G., Wennersten B.C., Gold S.H., Sch ulin T., Souli M., Farris G.M., Cerwinka S., Nadler L.H., Dowzicky M., Talbot H.G. and Moellering Jr. C.R.: Characterization of Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium* Isolates from the United States and Their Susceptibility *In Vitro* to Dalfopristin-Quinupristin; *Antimicrob Agents Chemother*, 1998; 42 (5): 1088 – 92.

60. Engle E.C., Manes H.S. and Drlica K. : Differential effects of antibiotic inhibiting gyrase; J Bacteriol, 1982; 149: 92 – 8.
61. Entenza M.J., Vouillamoz J., Glauser P.M. and Moreillon P.: Efficacy of Trovafloxacin in Treatment of Experimental Staphylococcal or Streptococcal Endocarditis; Antimicrob Agents Chemother, 1999; 43 (1): 77 – 84.
62. Ettiène S.D., Montay G., Le Liboux A., Frydman A., and Garaud J.J.: A phase I, double-blind, placebo-controlled study of the tolerance and pharmacokinetic behaviour of RP 59500; J Antimicrob Chemother, 1992, 30 Suppl A: 123 – 31.
63. Fantin B., Leclercq R., Ottaviani M., Vallois J-M., Maziere B., Duval J., Pocardalo J-J. and Carbon C. : In Vivo Activities and Penetration of the Two Components of the Streptogramin RP 59500 in Cardiac Vegetations of Experimental Endocarditis; Antimicrob Agents Chemother, 1994; 38 (3): 432 – 7.
64. Fernandez J., Barrett F.J., Licata L., Amaratunga D. and Frosco M.: Comparison of Efficacies of Oral Ciprofloxacin in a Rabbit Model of a Staphylococcal Abscess; Antimicrob Agents Chemother, 1999; 43 (3): 667 – 71.
65. Ferrero L., Cameron B., Manse B., Lagneaux D., Crouzet J., Famechon A. and Blanche F.: Cloning and primary structure of *Staphylococcus aureus* DNA topoisomerase IV: a primary target of fluoroquinolones; Mol Microbiol, 1994; 13: 641 – 53.
66. File M.T. and Siama G.T.: Fluoroquinolones: Today and Into the Future; Infect Dis Treat Updates, 2000; <http://www.medscape.com/Medscape/ID/Treatment Update/2000/tu01/pnt-tu01.html>
67. Fish DN, Chow AT. The clinical pharmacokinetics of levofloxacin. Clin Pharmacokinet 1997;32:101-19.
68. Fitton A.: The quinolones. An overview of their pharmacology; Clin Pharmacokinet, 1992; 22 Suppl 1: 1 – 11.
69. Flor S. Pharmacokinetics of ofloxacin. Am J Med 1989; 87(suppl 6C):24 – 30.
70. Forrest A, Chodosh S, Amantea MA, Collins DA, Schentag JJ. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of oral grepafloxacin in patients with acute bacterial exacerbations of chronic bronchitis. J Antimicrob Chemother 1997;40(suppl A):45 – 57.
71. Forrest A, Nix DE, Ballow CH, Goss TF, Birmingham MC, Schentag JJ. Pharmacodynamics of intravenous ciprofloxacin in seriously ill patients. Antimicrob Agents Chemother 1993;37:1073 – 81.
72. Fourmy D., Recht M.L., Blanchard S.C. and Puglisi J.D.: Structure of the A site of the *Escherichia coli* 16S ribosomal RNA complexed with an aminoglycoside antibiotic; Science, 1996; 274: 1371 – 6.

73. Fuchs PC, Barry AL, Pfaller MA, Allen SD, Gerlach EH. Multicenter evaluation of the in vitro activities of 3 new quinolones, sparfloxacin, CI-960, and PD 131-628, compared with the activity of ciprofloxacin against 5,252 clinical bacterial isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 1991;35:764 – 6.
74. Fujita N., Yoshimura M, Komori T., Tamimoto K., Ike Y.: First Report of the Isolation of High-Level Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium* from a Patient in Japan; *Antimicrob Agents Chemother*; 1998; 42 (8): 2150.
75. Garcia-Rodriguez A.J. and Garcia G.C.A.: In-vitro activities of quinolones against mycobacteria; *J Antimicrob Chemother*, 1993; 32: 797 – 808.
76. Garey W.K., Amsden W.G.: Trovafloxacin. An Overview; *Pharmacotherapy*, 1999; 19 (1): 21 – 34.
77. Gellert M., O'Dea H.M., Mizuuchi K. and Nash H.: DNA gyrase: an enzyme that introduces superhelical turns into DNA; *Proc Natl Acad Sci*, 1976; 73: 3872 – 6.
78. Georgiou M., Muñoz R., Roman F., Cantón R., Gómez-Lus R., Campos J. and De la Campa A.: Ciprofloxacin-Resistant *Haemophilus influenzae* Strains Possess Mutations in Analogous Positions of GyrA and ParC; *Antimicrob Agents Chemother*, 1996; 40 (7): 1741 – 4.
79. Goa L.K., Bryson M.H. and Markham A.: Sparfloxacin. A Review of its Antibacterial Activity, Pharmacokinetic Properties, Clinical Efficacy and Tolerability in Lower Respiratory Tract Infections; *Drugs*, 1997; 53 (4): 700 – 25.
80. Goodman & Gilman's CD-ROM: THE PHARMACOLOGICAL BASIS OF THERAPEUTICS, McGraw-Hill Co, 9th Edition, U.S.A., 1996.
81. Gos W., Deitz W. And Cook T.: Mechanism of action of nalidixic acid on *Escherichia coli*. Inhibition of deoxyribonucleic acid synthesis; *J Bacteriol*, 1965; 89: 1068 – 74.
82. Hallett P. and Maxwell A.: Novel Quinolone Resistance Mutations of the *Escherichia coli* DNA Gyrase A Protein: Enzymatic Analysis of the Mutant Proteins; *Antimicrob Agents Chemother*, 1991; 35 (2): 335 – 40.
83. Hawkey P. M.: The origins and molecular basis of antibiotic resistance; *BMJ*, 1998; 317 (7159): 657 – 60.
84. Hoban J.D., Weshnoweski B., Palatnick L., Zhanel G.C. and Davidson J.R.: In-vitro activity of streptogramin RP 59500 against staphylococci, including bactericidal kinetic studies; *J Antimicrob Chemother*, 1992; 30 Suppl A: 59 – 66.
85. Hooper CD: Mode of Action of Fluoroquinolones; *Drugs*, 1999; 58 Suppl 2: 6 – 10.
86. Horiuchi S., Inagaki Y., Yamamoto N., Okamura N., Imagawa Y. And Nakaya R.: Reduced Susceptibilities of *Shigella sonnei* Strains Isolated from Patients with Dysentery to Fluoroquinolones; *Antimicrob Agents Chemother*, 1993; 37 (11): 2486 – 9.

87. Hsieh L-S., Burger M.R. and Drlica K.: Bacterial DNA supercoiling and [ATP]/[ADP] changes associated with a transition to anaerobic growth; *J Mol Biol*, 1991; 219: 443 – 50.
88. Hsieh L-S., Rouviere-Yaniv J. And Drlica K.: Bacterial DNA supercoiling and [ATP]/[ADP] changes associated with salt shock; *J Bacteriol*, 1991; 173: 3914 – 7.
89. Hyatt JM, Nix DE, Schentag JJ. Pharmacokinetic and pharmacodynamic activities of ciprofloxacin against strains of *S. pneumoniae*, *S. aureus*, and *P. aeruginosa* for which MICs are similar. *Antimicrob Agents Chemother* 1994;38:2730 – 7.
90. Izumikawa K., Hirakata Y., Yamaguchi T., Yoshida R., Tanaka H., Takemura H., Maesaki S., Tomono K., Kaku M., Izumikawa K-I., Kamihira S. and Kohno S.: In Vitro Activities of Quinupristin-Dalfopristin and the Streptogramin RPR 106972 against *Mycoplasma pneumoniae*; *Antimicrob Agents Chemother*. 1998; 42 (3): 698 – 9.
91. Jacobs R.M.: Activity of Quinolones Against Mycobacteria; *Drugs*, 1999; 58 Suppl 2: 19 – 22.
92. Jacoby A.G. and Archer L.G.: Mechanisms of Disease. New Mechanisms of Bacterial Resistance to Antimicrobial Agents; *N Engl J Med*, 1991; 324 (9):601 – 12.
93. Janknegt R: Drug interactions with quinolones; *J Antimicrob Chemother*, 1990; 26 Suppl D: 7 – 29.
94. Johnson A.C., Taylor III A.C., Zimmerman W.S., Bridson E.W., Chevalier P., Pasquier O. and Baybutt I.R.: Pharmacokinetics of Quinupristin-Dalfopristin in Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis Patients; *Antimicrob Agents Chemother*, 1999; 43 (1): 152 – 6.
95. Kang L.S. and Rybak J.M.: Pharmacodynamics of RP 59500 Alone and in Combination with Vancomycin against *Staphylococcus aureus* in an In Vitro-Infected Fibrin Clot Model; *Antimicrob Agents Chemother*, 1995; 39 (7): 1505 – 11.
96. Kato J, Suzuki H and Ikeda H: Purification and Characterization of DNA topoisomerase IV in *Escherichia coli*; *J of Biol Chem*, 1992; 267 (36): 25676 – 84.
97. Kenny E.G., Hooton M.T., Roberts C.M., Cartwright D.F. and Hoyt J.: Susceptibilities of Genital Mycoplasmas to the Newer Quinolones as Determined by the Agar Dilution Method; *Antimicrob Agents Chemother*, 1989; 33 (1): 103 – 7.
98. Kloss P., Xiong L., Shinabarger D.L. and Mankin A.S.: Resistance of mutations in 23S rRNA identify the site of action of the protein synthesis inhibitor linezolid in the ribosomal peptidyltransferase center; *J Mol Biol*, 1999; 294: 93 – 101.
99. Knowles J.R.: Penicillin resistance: the chemistry of beta-lactamase inhibition; *Acc Chem Res*, 1985; 18: 97 – 105.
100. Kotra L.P., Mobashery S.: Mechanistic and clinical aspects of beta-lactam antibiotics and beta-lactamases; *Arch Immunol Ther Exp*, 1999; 47 (4): 211 – 6.

101. Krcméry S., Hromec J., Tvrđiková M., Hassan M. and Gulla D.: Newer Quinolones in the Long Term Prophylaxis of Recurrent Urinary Tract Infections (UTI); *Drugs*, 1999; 58 Suppl 2: 99 – 102.
102. Kruezer K.N. and Cozzarelli N.R.: *Escherichia coli* mutants thermosensitive for deoxyribonucleic acid gyrase subunit A: effects on deoxyribonucleic acid replication, transcription, and bacteriophage growth; *J Bacteriol*, 1979; 140: 424 – 35.
103. Kurz M. and Guba W.: 3D structure of ramoplanin: a potent inhibitor of bacterial cell wall biosynthesis; *Biochemistry*, 1996; 35: 12570 – 5.
104. Lamotte-Brasseur J., Lounnas V., Raquet X., Wade R.C.: pk(a) calculations for A class beta-lactamases : influence of substrate binding ; *Prot Sci*, 1999; 8 (2): 404 – 9.
105. Lanka E. and Wilkins M.B.: DNA processing reactions in bacterial conjugation; *Annu Rev Biochemistry*, 1995; 64: 141 – 69.
106. Leclercq M.P.M., Glupczynski Y. and Tulkens P.M.: Aminoglycosides: Activity and Resistance; *Antimicrob Agents Chemother*, 1999; 43 (4): 727 – 37.
107. Leclercq R. and Courvalin P.: Streptogramins: An answer to antibiotic resistance in gram-positive bacteria; *The Lancet*, 1998; 352 (9128): 591 – 2.
108. Lederberg J. and Tatum L.E.: Gene recombination in *Escherichia coli*; *Nature*, 1946; 158: 558.
109. Lessi M., Lanka E.: Common Mechanisms in Bacterial Conjugation and Ti-Mediated T-DNA Transfer to Plant Cells ; *Cell*, 1994; 77: 321 – 4.
110. Levy B.S.: Active efflux mechanisms for antimicrobial resistance; *Antimicrob Agents Chemother*, 1992; 36: 695 – 703.
111. Levy B.S.: The Challenge of Antibiotic Resistance; *Sci Am*, Mar 1998: 12 – 22.
112. Lietman S.P.: Fluoroquinolone Toxicities. An Update; *Drugs*, 1995; 49 Suppl 2: 159 – 63.
113. Lim V.D.: MICROBIOLOGY, West Publishing Co, U.S.A., 1989.
114. Madaras-Kelly KJ, Ostergaard BE, Hovde LB, Rotschafer JC. Twenty-four-hour area under the concentration-time curve/MIC ratio as a generic predictor of fluoroquinolone antimicrobial effect by using three strains of *Pseudomonas aeruginosa* and an in vitro pharmacodynamic model. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:627 – 32.
115. Maxwell A.: The molecular basis of quinolone action; *J Antimicrob Chemother*, 1992; 30: 409 – 16.
116. McManus C.M.: Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents; *Am J Health-Syst Pharm*, 1997; 54 (12): 1420 – 33.

117. Miyazaki E., Miyazaki M., Chen M.J., Chaisson E.R. and Bishai R.W.: Moxifloxacin (BAY12 – 8039), a New 8 – Methoxyquinolone, Is Active in a Mouse Model of Tuberculosis; *Antimicrob Agents Chemother*, 1999; 43 (1): 85 – 9.
118. Mojica F., Charbonnier F., Juez G., Rodriguez-Valera F. And Forterre P.: Effects of salt and temperature on plasmid topology in the halophilic archaeon *Haloferax volcanii*; *J Bacteriol*, 1994; 176: 4968 – 73.
119. Momméja-Marin H. and Carbon C.: What is the Place of Fluoroquinolones in the Treatment of Community - Acquired Respiratory Tract Infections?; *Drugs*, 1999; 57 (6): 851 – 3.
120. Morrison A, Higgins PN and Cozzarelli RN: Interaction between DNA Gyrase and Its Cleavage Site on DNA; *J Biol Chem*, 1980; 255 (5): 2211 – 9.
121. Mouneimné H., Robert J., Jarlier V. and Cambau E.: Type II Topoisomerase Mutations in Ciprofloxacin-Resistant Strains of *Pseudomonas aeruginosa*; *Antimicrob Agents Chemother*, 1999; 43 (1): 62 – 6.
122. Muskavitch K.M.T. and Linn S.: *recBC*-like enzymes: exonucleases V deoxy ribonucleases; *Enzymes*, 1981; 14: 233 – 50.
123. Nemecek S.: Beating Bacteria. New Ways to fend off antibiotic-resistant pathogens; *Sci Am*, Feb 1997: 38 – 39.
124. Neu C.H., Chin X.N., Gu W.J.: The *in vitro* activity of new streptogramins RP 59500, RP 57669 and RP 54476, alone and in combination; *J Antimicrob Chemother*, 1992; 30 Suppl A: 83 – 94.
125. Neu C.H., Gootz D.T.: MEDICAL MICROBIOLOGY TEXTBOOK ON LINE; <http://gsbs.utmb.edu/microbook/toc.htm>
126. NG Y.E., Trucksis M. and Hooper C.D.: Quinolone Resistance Mutations in Topoisomerase IV: Relationships to the *flqA* Locus and Genetic Evidence that Topoisomerase IV Is the Primary Target and DNA Gyrase Is the Secondary Target of Fluoroquinolones in *Staphylococcus aureus*; *Antimicrob Agents Chemother*, 1996; 40 (8): 1881 – 8.
127. Nougayrede A., Berthaud N. and Bouanchaud H.D.: Post-antibiotic effects of RP 59500 with *Staphylococcus aureus*; *J Antimicrob Chemother*, 1992; 30 Suppl A: 101 – 6.
128. O'Doherty B, Dutchman DA, Pettit R, Maroli A. Randomized, double-blind, comparative study of grepafloxacin and amoxycillin in the treatment of patients with community-acquired pneumonia. *J Antimicrob Chemother* 1997;40(suppl A):73 – 81.
129. Pan SX and Fisher ML: DNA Gyrase and Topoisomerase IV Are Dual Targets of Clinafloxacin Action in *Streptococcus pneumoniae*; *Antimicrob Agents Chemother*, 1998; 42 (11): 2810 – 6.

130. Pan SX and Fisher ML: *Streptococcus pneumoniae* DNA Gyrase and Topoisomerase IV: Overexpression, Purification, and Differential Inhibition by Fluoroquinolones; Antimicrob Agents Chemother, 1999; 43 (5): 1129 – 36.
131. Pan SX and Fisher ML: Targeting of DNA Gyrase in *Streptococcus pneumoniae* by Sparfloxacin: Selective Targeting of Gyrase or Topoisomerase IV by Quinolones; Antimicrob Agents Chemother, 1997; 41 (2): 471 – 4.
132. Pankuch A.G., Jacobs R.M. and Appelbaum C.P.: Postantibiotic Effect and Postantibiotic Sub-MIC Effect of Quinupristin-Dalfopristin against Gram-Positive and -Negative Organisms; Antimicrob Agents Chemother, 1998; 42 (11): 3028 – 31.
133. Pankuch A.G., Jacobs R.M., Appelbaum C.P.: Study of Comparative Antipneumococcal Activities of Penicillin G, RP 59500, Erythromycin, Sparfloxacin, Ciprofloxacin, and Vancomycin by Using Time-Kill Methodology; Antimicrob Agents Chemother, 1994; 38 (9): 2065 – 72.
134. Pascual A., García I., Ballesta S. and Perea E.: Uptake and Intracellular Activity of Moxifloxacin in Human Neutrophils and Tissue-Cultured Epithelial Cells; Antimicrob Agents Chemother, 1999; 43 (1): 12 – 5.
135. Paton J.H. and Reeves D.S.: Fluoroquinolone antibiotics. Microbiology, pharmacokinetics and clinical use; Drugs, 1988; 36 (2): 193 – 228.
136. Paulsen I.T., Brown M.H. and Skurray R.A.: Proton-dependent multidrug efflux systems; Microbiol Rev, 1996; 60: 575 – 608.
137. Pechère J-C.: Streptogramins. A Unique Class of Antibiotics; Drugs, 1996; 51 Suppl 1: 13 – 19.
138. Peng H, Mariani JK: *Escherichia coli* Topoisomerase IV. Purification, Characterization, Subunit Structure, and Subunit Interactions; J Biol Chem, 1993; 268 (32): 24481 – 90.
139. Percival A: Impact of chemical structure on quinolone potency, spectrum and side effects; J Antimicrob Chemother, 1991; 28 Suppl C: 1 – 8.
140. Piddock V.J.L., Johnson M., Ricci V. and Hill L.S.: Activities of New Fluoroquinolones against Fluoroquinolones-Resistant Pathogens of the Lower Respiratory Tract; Antimicrob Agents Chemother; 1998; 42 (11): 2956 – 60.
141. Preston SL, Drusano GL, Berman AL, et al. Pharmacodynamics of levofloxacin: a new paradigm for early clinical trials. JAMA 1998;279:125 – 9.
142. Radicella P.J., Park U.P. and Fox S.M.: Adaptive Mutation in *Escherichia coli*: A Role for Conjugation; Science, 1995; 268: 418 – 20.
143. Roca J.: The mechanisms of DNA topoisomerases; Trends Biochem Sci, 1995; 20: 156 – 60.

144. Rohner P., Peebo M., Lew P.D., Auckenthaler R. and Pechère C.J.: Comparative in-vitro activity of new quinolones against clinical isolates and resistant mutants; *J Antimicrob Chemother*, 1992; 29: 41 – 8.
145. Rose A.H.; MICROBIOLOGÍA QUÍMICA. INTRODUCCIÓN A LA FISIOLOGÍA MICROBIANA; Editorial Alhambra, 2a Edición, España, 1977.
146. Rybak J.M., Houlihan H.H., Mercier R-C. and Kaatz W.G.: Pharmacodynamics of RP 59500 (Quinupristin-Dalfopristin) Administered by Intermittent versus Continuous Infusion against *Staphylococcus aureus*-Infected Fibrin-Platelet Clots in an In Vitro Infection Model; *Antimicrob Agents Chemother*, 1997; 41 (6): 1359 – 63.
147. Schlaes D.M.: Guidelines for the prevention of antimicrobial resistance in hospitals; *Clin Infect Dis*, 1997; 25: 583 – 599.
148. Schrag J.S.: Reducing antibiotic resistance; *Nature*, 1996; 381: 120 – 1.
149. Service F.R.: Antibiotics that resist Resistance; *Science*, 1995; 270: 724 – 7.
150. Shaw K.J., Rather P.N., Hare S.R. and Miller G.H.: Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes; *Cell*, 1993; 57 : 138 – 63.
151. Shishido K., Komiya N. and Ikawa S.: Increased production of a knotted form of plasmid pBR 322 DNA in *Escherichia coli* DNA topoisomerase mutants; *J Mol Biol*, 1987; 195: 215 – 8.
152. Snyder M. and Drlica K. : DNA gyrase on the bacterial chromosome: DNA cleavage induced by oxolinic acid; *J Mol Biol*, 1979; 131: 287 – 302.
153. Sofia M.J.: Discovery of novel disaccharide antibacterial agents using a combinatorial library approach; *J Med Chem*, 1999; 42: 8194 – 8.
154. Soussy C., Wolfson J., Ng E. and Hooper D. : Limitations of plasmid complementation test for determination of quinolone resistance due to changes in gyrase A protein and identification of conditional quinolone resistance locus; *Antimicrob Agents Chemother*, 1993; 37: 2588 – 92.
155. Stahlmann R.: Safety profile of the quinolones; *J Antimicrob Chemother*, 1990; 26 Suppl D: 31 – 44.
156. Stahlmann R. and Lode H.: Toxicity of Quinolones; *Drugs*, 1999; 58 Suppl 2: 37 – 42.
157. Stass H, Dalhoff A, Kubitzka D, Shuhly U. Pharmacokinetics, safety, and tolerability of ascending single doses of moxifloxacin, a new 8-methoxy quinolone, administered to healthy subjects. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:2060 – 5.
158. Stryer L : BIOQUÍMICA, Volumen 2, Editorial Reverté, 4a edición, España, 1995.
159. Swartz N. M.: Use of Antimicrobial Agents and Drug Resistance; *N Engl J Med*, 1997; 337 (7): 491 – 2.

160. Tan D.S., Foley M.A., Shair M.D. and Schreiber S.L.: Stereoselective synthesis of over two million compounds having structural features both reminiscent of natural products and compatible with miniaturized cell-based assays; *J Am Chem Soc*, 1998; 120: 8565 – 6.
161. Teng R, Harris SC, Nix DE, et al. Pharmacokinetics and safety of trovafloxacin (CP-99,219), a new quinolone antibiotic, following administration of single oral doses to healthy male volunteers. *J Antimicrob Chemother* 1995;36:385 – 94.
162. Tórtora J.G, Funke R.B., Case L.C.: MICROBIOLOGY. AN INTRODUCTION, Editorial Benjamin/Cummings Publishing Co, 4th Edition, U.S.A., 1992.
163. Trostorf F., Reinert R.R, Schmidt H.: Quinupristin / dalbopristin attenuates the inflammatory response and reduces the concentration of neuron-specific enolase in the cerebrospinal fluid of rabbits with experimental *Streptococcus pneumoniae* meningitis; *J Antimicrob Chemother*, 1999; 43: 87 – 94.
164. Turnidge J: Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Fluroquinolones; *Drugs*, 1999; 58 Suppl 2: 29 – 36.
165. Van Landuyt H.W., Magerman K. and Gordts B; The importance of the quinolones in antibacterial therapy; *Journal of Antimicrob Chemother*; 1990; 26, Suppl D: 1 – 6.
166. Vannuffel P. and Cocito C.: Mechanism of Action of Streptogramins and Macrolides; *Drugs*, 1996; 51 Suppl 1: 20 – 30.
167. Vannuffel P., Di Giambattista M., Morgan E.A.: Identification of a single base change in ribosomal RNA leading to erythromycin resistance; *J Biol Chem*, 1992; 267: 8377 – 82.
168. Visalli A.M., Bajaksouzian S., Jacobs R.M. and Appelbaum C.P.: Comparative Activity of Trovafloxacin, Alone and in Combination with other Agents, against Gram-Negative Nonfermentative Rods; *Antimicrob Agents Chemother*, 1997; 41 (7): 1475 – 81.
169. Voet D. and Voet G.J.: BIOCHEMISTRY, John Wiley and Sons, Inc, 2nd Edition, U.S.A., 1995.
170. Vogelman B, Craig WA. Kinetics of antimicrobial activity. *J Pediatr* 1986;108:835 – 40.
171. Waldvogel F.A.: New resistance in *Staphylococcus aureus*; *N Engl J Med*, 1999; 340: 556 – 7.
172. Walker CR: The fluoroquinolones; *Mayo Clin Proc*, 1999; 74 (10): 1030 – 7.
173. Walsh C., Fisher S.L., Park I.S., Prahalad M. and Wu Z.: Bacterial resistance to vancomycin: five genes and one missing hydrogen bond tell the story; *Chem Biol*, 1996; 3: 21 – 8.
174. Wang G. and Taylor E.D.: Site-Specific Mutations in the 23S rRNA Gene of *Helicobacter pylori* Confer Two Types of Resistance to Macrolide-Lincosamide-Streptogramin B Antibiotics; *Antimicrob Agents Chemother*, 1998; 42 (8): 1952 – 8.

175. Willems C.Th.F., Boerema J.B.J. and Summeren M.K.R.T.: The in-vitro comparative activity of quinolones against bacteria from urinary tract infections in general practice; *J Antimicrob Chemother*, 1986; 17: 69 – 73.
176. Williams J.D.: Beta-lactamases and beta-lactamases inhibitors; *Int J Antimicrob Agents*, 1999; 12 Suppl 1: S3 – 7.
177. Willmott R.J.C. and Maxwell A.: A Single Point Mutation in the DNA Gyrase A Protein Greatly Reduces Binding of Fluoroquinolones to the Gyrase-DNA Complex; *Antimicrob Agents Chemother*, 1993; 37 (1): 126 – 7.
178. Wolfson SJ and Hooper CD: The Fluoroquinolones: Structures, Mechanisms of Action and Resistance, and Spectra of Activity In Vitro; *Antimicrob Agents Chemother*; 1985; 28 (4): 581 – 6.
179. Yew W.W., Piddock V.J.L., Lyon D.M.S.K.Li., Chan Y.C. and Cheng B.A.F.: In-vitro activity of quinolones and macrolides against mycobacteria; *J Antimicrob Chemother*, 1994; 34: 343 – 51.
180. Yoshida H., Bogaki M., Nakamura M. and Nakamura S.: Quinolone Resistance-Determining Region in the DNA Gyrase *gyrA* Gene of *Escherichia coli*; *Antimicrob Agents Chemother*, 1990; 34 (6): 1271 – 2.
181. Young S.L., Berlin W.G.O. and Inderlied B.C.: Activity of Ciprofloxacin and Other Fluorinated Quinolones against Mycobacteria; *Am J Med*, 1987; 82 Suppl 4A: 23 – 6.