

Résistances aux fluoroquinolones : la situation actuelle

MUYLAERT A., MAINIL J.G.

Service de Bactériologie, Département des Maladies infectieuses et parasitaires, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège, 20 Boulevard de Colonster, bâtiment 43a, 4000 Liège.

Correspondance : Adeline MUYLAERT Email : amuylaert@ulg.ac.be

RÉSUMÉ :

Au terme de six décennies d'utilisation des antimicrobiens, les bactéries pathogènes humaines et animales ont atteint des niveaux alarmants de résistance vis-à-vis de nombreux antibiotiques. Les fluoroquinolones, antibiotiques dont l'usage en derniers recours tant en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire aurait dû être privilégié, n'ont d'ailleurs pas été épargnées par ce phénomène. Deux mécanismes chromosomiques sont responsables des résistances cliniques aux fluoroquinolones : l'accumulation de mutations au sein des gènes qui codent pour l'ADN gyrase et la topoisomérase IV, et la diminution de leur concentration intracellulaire par une augmentation de l'activité de pompes à efflux et/ou la diminution de la perméabilité membranaire. Depuis quelques années, des souches sont apparues, qui présentent des niveaux sub-cliniques de résistance médiée par des gènes à localisation plasmidique nommé PMQR pour « *Plasmid-mediated quinolone resistance* ».

Ces mécanismes PMQR ne confèrent pas seulement des niveaux sub-cliniques de résistance, mais ils augmentent également la probabilité d'émergence de souches cliniquement résistantes en présence de niveaux thérapeutiques en fluoroquinolone.

Cette revue de la littérature envisagera une description des mécanismes chromosomiques et plasmidiques de résistance aux fluoroquinolones, et abordera l'épidémiologie de ces phénomènes.

1. INTRODUCTION

L'acide nalidixique fut la première quinolone à être introduite pour un usage clinique au début des années soixante (Ball, 2000). La ciprofloxacine, une fluoroquinolone, molécule bactéricide à large spectre d'activité *in vitro* et particulièrement active vis-à-vis des bactéries de la famille *Enterobacteriaceae*, fut quant à elle disponible en clinique au cours des années quatre-vingt (Paton et Reeves, 1988). Durant les décennies qui suivront l'introduction commerciale des fluoroquinolones, les résistances parmi les entérobactéries n'auront de cesse d'augmenter, pour ensuite se généraliser, avec une apparition habituellement non clonale, laissant supposer des émergences indépendantes à de multiples occasions (Garau *et al.*, 1999 ; Strahilevitz *et al.*, 2009).

Le mécanisme principal de résistance aux quinolones et fluoroquinolones implique une accumulation de mutations au sein des gènes codant pour les enzymes ADN gyrase et topoisomérase IV, les cibles principales de ces antibiotiques (Drlica et Hooper, 2003). En fait, de multiples mutations sont, en général, nécessaires pour déterminer un niveau clinique de résistance, car les bactéries sauvages sont hautement sensibles à ces molécules (Hooper, 1998). Pourtant, les doubles mutations spontanées sont des événements génétiques rares (avec une fréquence comprise entre 10^{-14} et 10^{-16} pour les fluoroquinolones) (Zhao *et al.*, 1997), ne permettant pas au phénomène mutationnel d'expliquer pleinement la fréquence élevée d'observation des résistances, plutôt compatible avec des éléments transférables hori-

zontalement et capables d'induire une réduction de sensibilité aux quinolones et fluoroquinolones telle qu'elle permette une survie en leur présence. La découverte, en 1998, d'une résistance subclinique plasmidique aux fluoroquinolones (PMQR pour *plasmid-mediated quinolone resistance*) lève le voile sur ce phénomène (Martinez-Martinez *et al.*, 1998). Depuis lors, les mécanismes PMQR se sont révélés largement répandus au sein d'une grande diversité d'environnements plasmidiques et parmi de nombreux genres bactériens, en conférant de faibles niveaux de résistance aux fluoroquinolones, tout en facilitant l'émergence de niveaux de résistance supérieurs en présence de l'antibiotique en conditions thérapeutiques (Rodriguez-Martinez *et al.*, 2010).

Cette revue de la littérature s'inscrit dans la continuité d'un article précédent reprenant une description des principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques rapportés à ce jour. Cet article envisagera une description des mécanismes chromosomiques et plasmidiques de résistance aux fluoroquinolones, antibiotiques dont l'usage en derniers recours tant en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire devrait être privilégié, et abordera l'épidémiologie de ces phénomènes.

2. RÉSISTANCES CHROMOSOMIQUES

2.1. Modification de la cible enzymatique des fluoroquinolones

Les cibles principales des fluoroquinolones sont les enzymes bactériennes ADN gyrase et ADN topoisomérase IV (Drlica et Zhao, 1997). Il s'agit de larges complexes enzymatiques constitués de deux paires de sous-unités, la protéine de 97 kDa GyrA, codée par le gène *gyrA* et la protéine de 90 kDa GyrB, codée par le gène *gyrB* pour l'ADN gyrase, et la protéine de 75 kDa ParC, codée par le gène *parC* et la protéine de 70 kDa ParE, codée par le gène *parE* pour la topoisomérase IV. Les deux enzymes interviennent au cours des processus de réplication, de transcription, de recombinaison et de réparation de l'ADN. L'ADN gyrase principalement responsable du surenroulement négatif de l'ADN, est également impliquée dans le retrait de surenroulement négatif ou positif de l'ADN et dans la liaison (caténation) ou la séparation (décaténation) de molécules circulaires d'ADN. La topoisomérase IV est, quant à elle, également impliquée dans le retrait de surenroulement négatif ou positif et possède une activité de décaténation plus puissante que celle de l'ADN gyrase (Jacoby, 2005). Les fluoroquinolones bloquent la réaction catalysée par l'enzyme en piégeant l'ADN gyrase ou la topoisomérase sur l'ADN en formant un complexe léthal antibiotique-enzyme-ADN suivi de la libération consécutive de fragments d'ADN double brin (Drlica *et al.*, 2008).

Seul un petit nombre de bactéries ne possèdent que l'ADN gyrase pour ac-

complir les activités enzymatiques décrites ci-dessus. Par contre, lorsque les bactéries disposent des deux enzymes, la sensibilité de ces dernières à l'action des fluoroquinolones est variable en fonction de l'identité du germe. Ainsi, chez les bactéries à Gram négatif, l'ADN gyrase est plus sensible à l'inhibition médiée par les fluoroquinolones et les mutations responsables de résistance surviendront d'abord au niveau de *gyrA*, alors que chez les germes Gram positifs, la topoisomérase IV représente habituellement la cible primaire de l'antibiotique, l'ADN gyrase étant intrinsèquement moins sensible, et les mutations responsables de résistance se produiront d'abord au niveau de *parC*. En fait, les mutations impliquent des substitutions en acides aminés qui apparaissent dans une région particulière des sous-unités Gyr et Par, nommée QRDR pour *quinolone resistance determining region*. Dans la structure tertiaire des topoisomérases, le domaine QRDR des sous-unités GyrA et ParC est proche de la région impliquée dans la liaison de l'ADN aux enzymes, alors que le domaine QRDR des sous-unités GyrB et ParE se trouve à proximité de la région correspondante de GyrA et ParC, suggérant la formation par les deux domaines QRDR d'une sorte de poche de liaison aux fluoroquinolones durant le cycle catalytique de l'enzyme (Berger et Wang, 1996 ; Morais Cabral *et al.*, 1997 ; Hooper, 2003 ; Jacoby, 2005). Ainsi, le domaine QRDR de la sous-unité GyrA d'*Escherichia coli* se situe entre les acides aminés 67 et 106, avec des *hot spots* de mutations au niveau des acides aminés en positions 83 et 87. Cette QRDR est proche de la tyrosine 122 impliquée dans la liaison covalente de l'enzyme aux groupements phosphate de l'ADN (Yoshida *et al.*, 1990 ; Hooper, 2003 ; Rodriguez-Martinez *et al.*, 2010). À l'inverse, les mutations initiales de la cible surviendront plus fréquemment au niveau de *parC* chez *Staphylococcus aureus* et chez *Streptococcus pneumoniae*, alors que pour les souches hautement résistantes des mutations additionnelles seront également observées au niveau de *gyrA* et *parE* (Ng *et al.*, 1996 ; Eliopoulos *et al.*, 2004 ; Jacoby, 2005).

Lorsqu'une première mutation au niveau de *gyrA* réduit la sensibilité d'une bactérie à Gram négatif aux fluoroquinolones, des mutations additionnelles dans le gène *gyrA* ou des mutations dans les gènes *gyrB* ou

parC augmenteront le niveau de résistance du germe. Cependant, seules, ces mutations complémentaires seraient inefficaces dans une bactérie de type sauvage. En outre, la part du phénotype de résistance apportée par une mutation donnée est déterminée par l'ampleur de la réduction de sensibilité de la topoisomérase mutée et du niveau de sensibilité à l'action inhibitrice des fluoroquinolones de l'autre enzyme (Hooper, 2003). Deux hypothèses expliquent comment ces mutations réduisent la sensibilité des bactéries vis-à-vis des fluoroquinolones. La première propose une diminution de l'affinité de l'enzyme mutée pour l'antibiotique en diminuant la liaison du composé antimicrobien sur le complexe formé par l'ADN et la topoisomérase (Willmott et Maxwell, 1993 ; Barnard et Maxwell, 2001 ; Jacoby, 2005). La seconde suggère une altération des fonctions de l'enzyme lors des mutations, réduisant la formation des complexes ADN-enzyme et la liaison subséquente des fluoroquinolones sur ces complexes, s'accompagnant toutefois d'un désavantage lors d'une multiplication rapide des bactéries (Ince et Hooper, 2003). Le tableau I présente les augmentations de la CMI vis-à-vis de différentes fluoroquinolones chez *E. coli* associées à la modification de la cible enzymatique de ces dernières.

2.2. Diminution de la concentration intracellulaire

Une diminution de la concentration intracellulaire peut également causer une résistance aux fluoroquinolones par réduction de la production de porines ou par modification de l'activité de diverses pompes à efflux.

2.2.1. Perméabilité réduite

La plupart des fluoroquinolones traversent de manière passive la membrane externe des bactéries à Gram négatif via les porines OmpF et OmpC (chez *E. coli*), bien que certaines molécules soient capables de diffuser directement au travers la bicouche phospholipidique (Jacoby, 2005 ; Walker et Dowling, 2006). La réduction de l'influx des fluoroquinolones dans la cellule, liée à une sous-expression des gènes codant pour ces porines, est habituellement responsable de résistances à bas niveau et permet d'expliquer les différences d'efficacité observées parfois entre certains composés de cette famille. Cependant, il

Tableau I : les différents mécanismes de résistance aux fluoroquinolones et les modifications de la concentration minimale inhibitrice chez *Escherichia coli* y associées.

Mécanismes de résistance		Augmentation (X) de la CMI (FQ concernée(s))	
Modification de la cible enzymatique des FQ (mutations du gène cible)	<i>gyrA</i>	4 à 32 (CIP) ^a	
	<i>gyrB</i>	4 à 16 (CIP) ^a	
	<i>parC</i>		
	<i>parE</i>		
Diminution de la concentration intracellulaire des FQ	Réduction de la production de porines	2 à 8 (NM) ^b	
	Augmentation de l'activité des pompes à efflux		
Résistances plasmidiques	Protection de la cible des FQ	Qnr	16 à 125 (NM) ^c
	Modification enzymatique des FQ	Aac(6')-Ib-cr	3 à 4 (CIP et NOR) ^d
	Pompes à efflux	QepA	32 (CIP) à 64 (NOR) ^e
		OqxAB	16 (CIP) ^f

^a: Tankovic et Soussy, 1998 - ^b: Walker et Dowling, 2006 - ^c: Wang *et al.*, 2004 - ^d: Robicsek *et al.*, 2006b - ^e: Yamane *et al.*, 2007 - ^f: Hansen *et al.*, 2007

X : facteur multiplicatif, FQ : fluoroquinolones, CIP : ciprofloxacine, NOR : norfloxacine, NM : non mentionné.

est souvent difficile de déterminer la part de la déficience en porine dans la résistance observée. En effet, les modifications de perméabilité dues à une moindre production de porines sont fréquemment la conséquence d'une réponse cellulaire coordonnée à la présence de nombreuses molécules toxiques telles que des antibiotiques et qui impliquent simultanément une sur-expression de diverses pompes à efflux. Par exemple, chez *E. coli*, la dé-répression de loci de régulation comme *marA* (pour *multiple antibiotic resistance*) conduit à une diminution de la sensibilité aux fluoroquinolones via une sur-expression de la pompe à efflux AcrAB-TolC (Okusu *et al.*, 1996) et une sous-expression des porines OmpF (Cohen *et al.*, 1988). Des loci analogues de régulation sont décrits dans diverses autres espèces bactériennes (Cohen *et al.*, 1993 ; Walker et Dowling, 2006).

2.2.2. Pompes à efflux

Les bactéries à Gram négatif et Gram positives disposent de systèmes actifs d'efflux non spécifiques, dont certains sont exprimés de façon constitutive, d'autres sont contrôlés et exprimés par différents systèmes de régulation globale, et enfin, d'autres sont encore inductibles par diverses mutations. Ainsi, chez *E. coli*, la pompe à efflux

AcrAB-TolC, sous contrôles multiples, joue un rôle majeur dans la résistance aux fluoroquinolones par efflux. Les mutations survenant dans le gène *acrR* (répresseur de *acrAB*) augmentent l'activité de la pompe (Wang *et al.*, 2001), et inversement, les mutations inactivant *marR* (répresseur de *marA*) permettent à MarA d'activer *acrAB*, *tolC* et un gène diminuant la traduction de *ompF*, aboutissant à une diminution de l'influx et une augmentation de l'efflux des fluoroquinolones (Cohen *et al.*, 1989 ; Alekshun et Levy, 1997). *E. coli* possède pas moins de vingt pompes à efflux responsables de résistances à de multiples antibiotiques dont les fluoroquinolones (Nishino et Yamaguchi, 2001) et d'autres bactéries entériques semblent équipées de façon analogue (Cohen *et al.*, 1993). *Pseudomonas aeruginosa* possède quant à elle au moins quatre pompes à efflux liées à l'expulsion des fluoroquinolones et d'autres antibiotiques, dont la plus connue, MexAB-OprM, est exprimée de façon constitutive contrairement aux autres pompes à efflux dont l'activité est inductible. Chez *S. aureus*, la résistance aux fluoroquinolones est associée à une augmentation de l'expression de *norA*, un gène qui code pour un transporteur à large spectre dont les fluoroquinolones et d'autres agents antimicrobiens. L'efflux actif est également décrit

chez d'autres bactéries à Gram positif comme *S. pneumoniae*, ainsi que chez les mycobactéries. La présence de ces pompes à efflux non spécifiques dans une cellule signifie, en outre, une possibilité d'activation par une large variété de composés, incluant des antibiotiques autres que les quinolones et fluoroquinolones, des antiseptiques, des détergents et le salicylate de sodium (un anti-inflammatoire non stéroïdien) (Alekshun et Levy, 1999 ; Jacoby, 2005).

2.2.3. Interactions entre les différents mécanismes de résistance

L'interaction entre différents mécanismes de résistance conduit généralement à des niveaux élevés de résistance aux fluoroquinolones et à d'autres antibiotiques lorsque les pompes à efflux et une diminution de la perméabilité de la membrane externe des bactéries à Gram négatif sont impliquées (Everett *et al.*, 1996 ; Lee *et al.*, 2000 ; Schwarz *et al.*, 2006). Des études *in vitro* ont ainsi montré que des souches d'*E. coli*, mutantes de premier niveau, résistantes aux fluoroquinolones présentent une mutation au sein de *gyrA*, alors qu'au deuxième niveau, celles-ci possèdent un phénotype de résistance multiple

associé à une augmentation de l'efflux. Enfin, au troisième niveau de mutation, l'efflux est d'avantage augmenté et on constate des mutations additionnelles dans les gènes codant pour les topoisomérases. De plus, la situation semble comparable parmi les souches isolées en clinique. Les altérations de la cible et l'activation de pompes à efflux sont des mécanismes généralement rencontrés ensemble au sein des souches cliniquement résistantes, et des mutations au niveau de différents loci chromosomiques sont habituellement nécessaires pour conférer un haut niveau de résistance aux fluoroquinolones (Everett *et al.*, 1996 ; Oethinger *et al.*, 2000 ; Schwarz *et al.*, 2006). Il est ainsi remarquable de constater que l'inactivation du système d'efflux AcrAB TolC dans une souche d'*E. coli* présentant des mutations dans les gènes cibles des fluoroquinolones, rend la bactérie hypersensible à cette famille d'antibiotiques. Par conséquent, en absence de pompes à efflux AcrAB TolC fonctionnelles, les mutations dans les gènes codant pour les sous-unités de l'ADN gyrase ne suffiront pas à l'induction d'un niveau clinique de résistance (Oethinger *et al.*, 2000 ; Schwarz *et al.*, 2006). Le même phénomène est observé chez *P. aeruginosa*, chez qui la délétion de la pompe à efflux MexAB-OprM, l'homologue de AcrAB TolC dans cette espèce, conduit à une diminution significative du niveau de résistance aux fluoroquinolones même en présence de mutations dans les gènes cibles (Lomovskaya *et al.*, 1999 ; Schwarz *et al.*, 2006).

3. RÉSISTANCES PLASMIDIQUES

3.1. Les mécanismes Qnr

3.1.1. Découverte des gènes qnr

Les PMQR ont été découvertes en 1998 par Martinez-Martinez et ses collaborateurs, lors de l'étude d'un plasmide porteur d'un gène codant pour une bêta-lactamase, provenant d'une souche multi-résistante de *Klebsiella pneumoniae*, isolée d'un échantillon d'urine prélevé en 1994 chez un patient de l'Université d'Alabama. Ce plasmide confère une résistance sub-clinique vis-à-vis de différentes quinolones et fluoroquinolones, en produisant une augmentation

de la concentration minimale inhibitrice (CMI) vis-à-vis de l'acide nalidixique de 8 fois et vis-à-vis de différentes fluoroquinolones de 8 à 64 fois. En outre, ce plasmide facilite la sélection de souches mutantes à niveaux élevés de résistance aux fluoroquinolones (Martinez-Martinez *et al.*, 1998). Le gène de 657 paires de bases (pb) responsable de ce phénotype code pour une protéine nommée Qnr pour *quinolone resistance* (Tran et Jacoby, 2002), de la famille des pentapeptides répétés (PRP pour *pentapeptide repeat protein*), et rebaptisée plus récemment QnrA1 après l'identification de différentes protéines Qnr et de différents variants pour chacune d'entre elles. Actuellement, sept variants du gène *qnrA* sont décrits (*qnrA1* à *qnrA7*) (Cheung *et al.*, 2005 ; Nordmann et Poirel, 2005 ; Poirel *et al.*, 2005a ; Cambau *et al.*, 2006 ; Jacoby, 2012). En 2003, un clone de *Shigella flexneri* 2b causa une épidémie d'entérocolites au Japon. Parmi les huit souches isolées de ce clone, une présentait une résistance à la ciprofloxacine et possédait un unique plasmide conjugatif responsable du transfert de ce phénotype et porteur d'un gène codant pour une protéine de 218 acides aminés. Cette protéine PRP présentait 59 pourcent d'identité en acides aminés avec la protéine QnrA1 et fut nommée QnrS (Hata *et al.*, 2005). Depuis, cinq autres variants du gène *qnrS* ont été identifiés (*qnrS1* à *qnrS6*) (Gay *et al.*, 2006 ; Yue *et al.*, 2008 ; Torpdahl *et al.*, 2009 ; Han *et al.*, 2012 ; Jacoby, 2012). Jacoby et collaborateurs (2006) en étudiant des souches de *K. pneumoniae* provenant d'Inde, ont mis en évidence la présence d'une résistance transférable à bas niveau aux fluoroquinolones en excluant la présence de *qnrA*. Le gène PMQR responsable de ce phénotype code pour une protéine de 214 acides aminés désignée QnrB (Cattoir *et al.*, 2008a ; Wang *et al.*, 2009b). Cette protéine appartient également à la famille PRP et partage 43 et 44 pourcent d'identité en acides aminés avec respectivement QnrA1 et QnrS1 (Jacoby *et al.*, 2006). Aujourd'hui, 54 variants du gène *qnrB* sont décrits (*qnrB1* à *qnrB54*) (Jacoby, 2012). Le gène *qnrC*, produisant une augmentation de la CMI de la ciprofloxacine de 32 fois, a ensuite été identifié sur un plasmide conjugatif provenant d'une souche de *Proteus mirabilis* isolée à Shanghai en Chine. Le gène de 666 pb code pour une protéine de la famille des PRP, QnrC, de 221 acides aminés et qui partage 64, 41 et 59 pourcent d'identité en acides aminés avec QnrA1, QnrB1, QnrS1 et QnrD respectivement. À ce jour, un seul variant du gène est identi-

fié (Wang *et al.*, 2009a). Enfin, le gène *qnrD* a été découvert sur un petit plasmide provenant de souches de *Salmonella enterica* isolées d'humains en Chine et présentant une réduction transférable de sensibilité à la ciprofloxacine. Le gène *qnrD* responsable d'une augmentation de la CMI de la ciprofloxacine de 32 fois, code pour une protéine de type PRP de 214 acides aminés qui présente 48, 61, 32 et 43 pourcent de similarité avec respectivement QnrA1, QnrB1, QnrS1 et QnrC (Cavaco *et al.*, 2009 ; Wang *et al.*, 2009a).

3.1.2. L'origine des gènes qnr

Différentes espèces de bactéries à Gram négatif ont été analysées pour la recherche de gènes analogues aux gènes *qnr*, dans le but d'identifier le réservoir naturel de ces déterminants de résistance. De cette étude, le chromosome de la bactérie *Shewanella algae* apparaît comme une origine probable du gène *qnrA3* (Poirel *et al.*, 2005a). Ensuite, d'autres gènes de type *qnr*, non mobilisables, seront identifiés dans le chromosome de nombreuses bactéries de la famille *Shewanellaceae* ainsi que parmi des bactéries de la famille *Vibrionaceae* telles que *Vibrio vulnificus*, *Vibrio parahaemolyticus* et *Photobacterium profundum* (Poirel *et al.*, 2005b ; Sanchez *et al.*, 2008). Les protéines codées par ces gènes présentent au plus 67 pourcent d'identité avec QnrA1, et confèrent après une expression hétérologue dans une souche d'*E. coli* une augmentation de la CMI de la ciprofloxacine similaire au niveau de résistance observé en présence des variants du gène *qnrA* (Poirel *et al.*, 2005b). Un autre gène de type *qnr* a également été localisé sur le chromosome d'un clone de *Vibrio cholerae* O1 responsable d'une épidémie de choléra au Brésil. Le gène nommé *Vcqnr1* est associé à un site de recombinaison *attC* et est incorporé en tant que cassette de résistance dans un intégron de type 1 (Fonseca *et al.*, 2008). *qnrB* semble également avoir une origine chromosomique après l'identification d'un analogue de *qnrB12* dans le chromosome de souches de *Citrobacter werkmanii* isolées de volaille en Allemagne (Kehrenberg *et al.*, 2008). Le chromosome de *Stenotrophomonas maltophilia* présente également un gène codant pour une protéine de 219 acides aminés qui partage 60 pourcent d'identité avec QnrB1, soulignant le rôle potentiel de cette espèce bactérienne en tant

que source de nouveaux déterminants *qnr*. En outre, un homologue très proche du gène *qnrB* a été identifié lors de l'analyse métagénomique d'un échantillon aquatique marin. Cependant, l'origine chromosomique ou plasmidique de ce gène n'a pas pu être déterminée (Sanchez *et al.*, 2008). D'autres études ont révélé la présence du variant *qnrS2* au niveau de plasmides de souches aquatiques du genre *Aeromonas* suggérant ainsi un autre type de réservoir environnemental, cette fois secondaire, et soulignant un possible rôle de lien dans la transmission du gène entre le réservoir primaire probable que représente la famille des *Vibrionaceae* et les entérobactéries (Picao *et al.*, 2008). Le chromosome de *Serratia marcescens*, une bactérie à Gram négatif pathogène opportuniste, présente lui aussi un gène codant pour une protéine qui partage 80 pourcent d'identité avec QnrB1, suggérant l'implication de cette espèce bactérienne comme réservoir des gènes de type *qnr* (Velasco *et al.*, 2010). Enfin, l'étude du génome d'une souche de *Vibrio splendidus* a révélé la présence chromosomique d'un gène codant pour une protéine PRP de 219 paires de bases qui partage 84 et 87 pourcent d'identité avec QnrS1 et QnrS2, et qui confère après une expression hétérologue chez *E. coli* une augmentation de la CMI de l'acide nalidixique de 8 fois et de différentes fluoroquinolones de 4 à 16 fois (Cattoir *et al.*, 2007).

Les bactéries à Gram positif ne sont pas en reste. En effet, de nombreuses protéines PRP de type Qnr sont codées par des gènes présents dans le chromosome de bactéries telles que *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*, *Bacillus cereus* et *Bacillus subtilis*. Cependant, ces protéines partagent seulement 16 à 22 pourcent d'identité de séquence en acides aminés avec QnrA1, QnrB1 et QnrS1 (Arsène *et al.*, 2007 ; Rodriguez-Martinez *et al.*, 2008). Toutefois, après un clonage dans une souche d'*E. coli*, les plasmides recombinants créés et porteurs des gènes codant pour ces protéines confèrent également une réduction de sensibilité vis-à-vis de nombreuses quinolones et fluoroquinolones. Tous ces éléments suggèrent que les gènes *qnr* plasmidiques tels que nous les connaissons aujourd'hui trouvent leur origine au sein de bactéries aquatiques et d'autres microorga-

nismes environnementaux (Strahilevitz *et al.*, 2009 ; Rodriguez-Martinez *et al.*, 2010).

3.1.3. Structure, mode d'action des protéines Qnr et fonctions naturelles

Les protéines Qnr appartiennent à la famille des pentapeptides répétés qui se définit comme un groupe de plus de mille protéines aux fonctions naturelles bien souvent inconnues et constituées de tandem de cinq acides aminés répétés de façon semi-conservative [Ser, Thr, Ala ou Val] [Asp ou Asn] [Leu ou Phe] [Ser, Thr ou Arg] [Gly] (Vetting *et al.*, 2006). En termes de mécanisme d'action exploité par les protéines PRP pour conférer une résistance aux fluoroquinolones, deux protéines retiennent notre attention. MfpA, une protéine PRP qui partage 18,6 pourcent d'identité en acides aminés avec QnrA a été largement étudiée. Le gène *mfpA* identifié initialement sur le chromosome de *Mycobacterium smegmatis*, est, lorsqu'il est exprimé sur un plasmide multi-copies, responsable d'une augmentation de la CMI de la ciprofloxacine de 4 à 8 fois, alors que son inactivation est associée à une augmentation de la sensibilité du germe à cette même fluoroquinolone (Montero *et al.*, 2001). En outre, un variant de ce gène identifié dans le génome de *Mycobacterium tuberculosis* est quant à lui capable d'inhiber l'activité de l'ADN gyrase en interagissant directement avec celle-ci (Hegde *et al.*, 2005). En fait, la structure tridimensionnelle de la protéine de même que la répartition de ses charges électrostatiques ressemblent étroitement à celles observées au niveau d'une molécule d'ADN, suggérant pour MfpA un rôle inhibiteur de l'ADN gyrase par compétition avec l'ADN pour la liaison sur cette enzyme. De plus, le complexe formé par la protéine PRP et l'ADN gyrase rend l'enzyme indisponible pour la formation ultérieure du complexe clivé et létal fluoroquinolone-ADN-gyrase. La microcine B17 est un pentapeptide naturel et un poison bactérien au mécanisme d'action similaire à celui des fluoroquinolones, à savoir une inhibition de l'ADN gyrase (Hedde *et al.*, 2001). La protéine McbG, une PRP qui partage 19,6 pourcent d'identité avec QnrA, est quant à elle produite par les microorganismes synthétisant la microcine afin de protéger l'ADN gyrase de

l'effet toxique de B17 (Garrido *et al.*, 1988 ; Jacoby *et al.*, 2003).

Le mécanisme par lequel les protéines Qnr exercent un effet protecteur sur l'ADN gyrase et la topoisomérase IV contre l'action inhibitrice des fluoroquinolones n'est pas complètement élucidé. La protéine QnrA, modèle le plus souvent utilisé, est capable de se lier à l'ADN gyrase et à la topoisomérase IV au niveau de leurs deux sous-unités et en l'absence du complexe ternaire composé de la fluoroquinolone, de l'ADN et de l'enzyme (Tran *et al.*, 2005). Par conséquent, la protection exercée par QnrA est le résultat d'une liaison de cette protéine au niveau d'une des deux enzymes sur un site chevauchant le site de liaison de l'ADN, et contrairement à MfpA, QnrA entre en compétition avec l'ADN pour la liaison au niveau de l'enzyme sans inhiber l'action de celle-ci *in vitro* (Strahilevitz *et al.*, 2009).

La fonction biologique première et naturelle des gènes *qnr* n'est par contre pas claire, mais trois hypothèses ont ainsi été proposées. Selon la première théorie, les protéines Qnr sont en quelque sorte des antitoxines protégeant l'ADN gyrase et la topoisomérase IV de l'action délétère de toxines naturelles non identifiées à ce jour (Ellington et Woodford, 2006). La seconde hypothèse reconnaît aux protéines Qnr un rôle similaire à la protéine GyrI, un régulateur de l'ADN gyrase également capable d'exercer un certain effet « antiquinolone » (Chatterji et Nagaraja, 2002 ; Chatterji *et al.*, 2003). Enfin, la troisième suggestion attribue aux protéines Qnr un rôle naturel dans la protection des bactéries contre des agents naturels occasionnant des dommages à l'ADN. En effet, certains plasmides porteurs de différents allèles du gène *qnrB* présentent un site de liaison de la protéine LexA impliquée dans la réponse SOS (Wang *et al.*, 2009b).

3.1.4. L'activité de résistance de Qnr

L'acquisition d'un plasmide porteur d'un gène *qnr* n'est pas suffisante pour transformer une bactérie de type sauvage sensible aux fluoroquinolones en souche résistante selon les normes standards de sensibilité fixées par des comités scientifiques internationaux

tels que le CLSI (pour *Clinical and Laboratory Standards Institute*). On détermine l'effet de la présence d'un tel plasmide sur la sensibilité d'une souche vis-à-vis d'une fluoroquinolone particulière en déterminant et en comparant les CMI de cette molécule pour une souche porteuse ou non du dit plasmide (Strahilevitz *et al.*, 2009). Pour la plupart des composés de cette famille, on observe une augmentation de la CMI de 16 à 125 fois (tableau I). La CMI de l'acide naladixique est, quant à elle, augmentée de 2 à 8 fois, mais cette augmentation est suffisante pour exprimer un phénotype de résistance vis-à-vis de cet antibiotique (Wang *et al.*, 2004).

La modification apportée à la concentration de prévention des mutants (CPM) est une autre façon d'exprimer l'effet sur la résistance conféré lors de l'acquisition d'un gène *qnr*. Ainsi, les protéines Qnr en augmentant la CPM facilitent l'apparition de souches mutantes présentant des niveaux élevés de résistance aux fluoroquinolones. En conclusion, le faible niveau de résistance associé à la présence des gènes *qnr* n'assure donc pas la survie totale d'une population bactérienne en présence de fluoroquinolones à dose thérapeutique, mais il accroît substantiellement le nombre de bactéries mutées sélectionnées dans cette population (Martinez-Martinez *et al.*, 1998 ; Jacoby, 2005 ; Robicsek *et al.*, 2005 ; Rodriguez-Martinez *et al.*, 2007). Par ailleurs, les gènes *qnr* sont fréquemment observés en présence d'autres mécanismes de résistance avec lesquels ils agissent en synergie au sein de souches cliniques, et de nombreuses études ont également identifié des bactéries porteuses de plusieurs gènes *qnr* possédant dès lors un effet additif sur la CMI (Strahilevitz *et al.*, 2009).

3.1.5. Les plasmides *Qnr* et l'environnement génétique des gènes *qnr*

Les gènes *qnr* ont été identifiés sur des plasmides de taille allant de 2,7 à 340 kilobases et de groupes d'incompatibilité très différents. Cette grande variabilité de localisation suggère qu'une dispersion de nombreux plasmides est probablement responsable de la dissémination de ces déterminants de résistance à travers le monde. Toutefois, l'environnement génétique immédiat de chacun de ces gènes est suffisamment similaire

pour suggérer un nombre limité d'événements d'acquisition, suivis ensuite de multiples réarrangements génétiques à la base de la diversité de structure plasmidique observée actuellement (Strahilevitz *et al.*, 2009 ; Rodriguez-Martinez *et al.*, 2010).

Les gènes *qnrA* et *qnrB* sont souvent associés à la recombinase d'une structure du type ISCR (pour *insertion sequence common region*) et localisés à l'intérieur d'un intégro complexe contenant de nombreuses cassettes de résistance sans toutefois y être apparentés (Robicsek *et al.*, 2006a). En outre, les allèles de *qnrB* sont parfois associés à un autre de type de transposase et à des gènes chromosomiques de bactéries marines non liés à des résistances aux antibiotiques, ou encore retrouvés dans divers types de transposons (Jacoby *et al.*, 2006). Contrairement aux gènes *qnrA* et *qnrB*, les gènes *qnrS* ne sont ni associés à une ISCR ni à un intégro complexe. La plupart des plasmides porteurs des différents allèles de *qnrS* sont relativement plus petits, non conjugatifs, souvent identifiés au sein de divers sérovars de *S. enterica* (Bonemann *et al.*, 2006 ; Kehrenberg *et al.*, 2007 ; Wu *et al.*, 2007 ; Wu *et al.*, 2008 ; Garcia-Fernandez *et al.*, 2009 ; Strahilevitz *et al.*, 2009). Des allèles du gène *qnrS* ont été identifiés à proximité de séquences d'insertion (Gay *et al.*, 2006 ; Poirer *et al.*, 2006a ; 2006b ; Kehrenberg *et al.*, 2007 ; Poirer *et al.*, 2007) ou à l'intérieur d'une structure ressemblant à un transposon (Cattoir *et al.*, 2008b). De plus, les plasmides porteurs des gènes *qnrA* et *qnrB* sont fréquemment porteurs de gènes de résistance aux bêta-lactames, au chloramphénicol, aux aminoglycosides, aux tétracyclines, aux sulfamidés, au triméthoprime, et à la rifampicine, alors que ce n'est pas le cas des plasmides porteurs du gène *qnrS* probablement à cause de leur taille plus petite (Rodriguez-Martinez *et al.*, 2010).

3.2. Le mécanisme *Aac(6')-Ib-cr*

En 2006, plusieurs années après la découverte des gènes *qnr*, l'existence de plasmides porteurs du gène *qnrA*, isolés de souches cliniques d'*E. coli* collectées à Shangai et conférant une augmentation de la CMI de la ciprofloxacine à 1mg/L non liée à une augmentation du niveau d'expression de *qnrA*, fut révélée par Robicsek et

collaborateurs. Le gène *aac(6')-Ib* qui code pour une aminoglycosideacétyl-transférase, une enzyme produisant une résistance à la kanamycine, à la tobramycine et à l'amikacine, fut découvert responsable de ce phénotype particulier. Cependant l'allèle du gène *aac(6')-Ib* alors identifié se révéla unique par la présence de deux mutations, au niveau du codon 102 (Trp→Arg) et au niveau du codon 179 (Asp→Tyr), nécessaires et suffisantes à la production du phénotype de résistance vis-à-vis de la ciprofloxacine. Le variant du gène *aac(6')-Ib*, nommé *aac(6')-Ib-cr* pour *ciprofloxacin resistant*, est ainsi capable d'acétyler l'azote amine d'un groupement pipérazine en position 7 du noyau des fluoroquinolones. La haute spécificité de cette réaction enzymatique pour ce substitut particulier explique pourquoi seules la ciprofloxacine et la norfloxacine sont affectées, les autres fluoroquinolones ne possédant pas ce type de groupement (Rodriguez-Martinez *et al.*, 2010). Bien que l'augmentation de la CMI produite soit modeste (environ trois à quatre fois la CMI d'une souche sauvage) (tableau I), la présence du gène *aac(6')-Ib-cr* affecte plus la CPM. Ainsi, à une concentration de 1,6 mg/L, approximativement le pic de concentration plasmatique en ciprofloxacine libre atteint au cours d'une thérapie, on identifie déjà des clones résistants d'une souche sauvage d'*E. coli* (Robicsek *et al.*, 2006b). Aujourd'hui, le variant *-cr* se révèle largement répandu à travers le monde, et bien souvent en association à d'autres gènes PMQR incluant *qepA*, de nombreux allèles des gènes *qnrA*, *qnrB* et *qnrS*, et à d'autres gènes de résistance tels que de nombreuses bêta-lactamases *aac(6')-Ib-cr*, tout comme *aac(6')-Ib* font partie d'une cassette d'intégration en association à un site *attC*, et sont souvent identifiés dans différents intégro complexes et plus spécifiquement sur des plasmides du groupe d'incompatibilité IncFII exprimant une bêta-lactamase à large spectre, CTX-M-15, dont la prévalence est la plus élevée dans de nombreux pays à travers le monde (Strahilevitz *et al.*, 2009).

3.3. Les pompes à efflux plasmidiques

3.3.1. La pompe à efflux *QepA*

En 2002, au Japon, une nouvelle pompe à efflux, nommée *QepA*, est

découverte. Elle est codée par un gène situé sur un plasmide de résistance d'une souche clinique d'*E. coli* isolée d'urine. Ce plasmide confère un profil de résistance multiple vis-à-vis des aminoglycosides, des fluoroquinolones et des bêta-lactames à large spectre. Le gène *qepA* code pour une protéine de 511 acides aminés qui est une pompe à efflux du type 14-TMS (pour *transmembrane segment*) de la famille des transporteurs MFS (pour *major facilitator superfamily*). Cette pompe à efflux présente une importante homologie de séquence avec les transporteurs membranaires de type MFS, codés au niveau du chromosome de microorganismes environnementaux tels que les bactéries à Gram positif de l'ordre des Actinomycetales. Cette pompe à efflux confère une résistance à bas niveau en produisant une augmentation de la CMI de fluoroquinolones hydrophiles comme la ciprofloxacine, l'enrofloxacine et la norfloxacine de 32 à 64 fois (tableau I). Une augmentation modeste de la CMI (deux fois) de l'érythromycine, de l'acriflavine et du bromure d'éthidium a également été observée. Par contre la CMI de substrats habituels des pompes à efflux et d'autres familles d'antibiotiques reste inchangée (Yamane *et al.*, 2007). Depuis la découverte du gène *qepA*, un variant de ce gène, nommé *qepA2*, qui présente deux substitutions en acides aminés a été mis en évidence. Ce variant confère un phénotype de résistance similaire à *qepA*, renommé depuis *qepA1* (Cattoir *et al.*, 2008c). Le gène *qepA1*, localisé sur un plasmide conjugatif du groupe IncFI, se trouve sur un transposon composite encadré de deux séquences d'insertion IS26 et comprenant le gène *rmtB*, codant pour une résistance à haut niveau aux aminoglycosides d'usage thérapeutique (Yamane *et al.*, 2007 ; Périchon *et al.*, 2008 ; Yamane *et al.*, 2008 ; Park *et al.*, 2009). Le gène *qepA2*, localisé sur un plasmide mobilisable mais non conjugatif et encadré par une séquence d'insertion du type ISCR, n'est quant à lui pas associé au gène *rmtB* (Cattoir *et al.*, 2008c).

3.3.2. La pompe à efflux OqxAB

Un plasmide conjugatif porteur d'une résistance à l'olaquinox, un antibiotique dérivé de la quinoxaline, utilisé en agriculture dans certains pays du monde comme promoteur de croissance, a été identifié parmi

des souches d'*E. coli* provenant d'élevages de porcs (Sorensen *et al.*, 2003). Le mécanisme de résistance impliqué est une pompe à efflux non spécifique nommée OqxAB (Hansen *et al.*, 2004). Le gène qui code pour ce déterminant a également été trouvé sur le chromosome de *K. pneumoniae* où il présente différents niveaux d'expression corrélés à des différences de sensibilité à l'antibiotique (Kim *et al.*, 2009). En outre, un plasmide porteur de *oqxAB* a été mis en évidence récemment en Corée du sud dans une souche clinique d'*E. coli* provenant d'un homme (Kim *et al.*, 2009). Ce mécanisme rare confère aussi une résistance aux fluoroquinolones à bas niveau, en augmentant la CMI d'une souche d'*E. coli* vis-à-vis de l'acide nalidixique et de la ciprofloxacine de 8 à 16 fois respectivement (Hansen *et al.*, 2007) (tableau I).

4. CONCLUSIONS

Au cours de la décennie suivant la découverte du gène *qnrA*, on a pu assister à une explosion des connaissances concernant un phénomène dont on était jusqu'alors convaincu qu'il n'existait pas, à savoir les résistances plasmidiques aux fluoroquinolones. Nous avons lancé un défi aux bactéries, en les exposant à une classe d'antibiotiques totalement synthétique contre laquelle le développement de résistance par mutation au cours d'un traitement était peu probable. Et pourtant, les résistances aux fluoroquinolones ont bel et bien émergé d'innombrables fois et indépendamment, partout à travers le monde, sur les cinq continents et même dans les océans les séparant. En parallèle au développement de l'usage de ces antibiotiques à large spectre d'action, les bactéries à Gram négatif organisaient et assemblaient un arsenal d'éléments génétiques préexistants, tout en leur attribuant des propriétés de transfert horizontal, qui faciliteraient ensuite leur dissémination ainsi que l'émergence mutationnelle de résistance vis-à-vis de ces composés. C'est ainsi que des gènes chromosomiques, initialement inexistantes parmi les *Enterobacteriaceae*, ont été recrutés et mobilisés au sein de cette famille de bactéries, pour protéger leurs topoisomérases des effets inhibiteurs des quinolones et des fluoroquinolones, ou encore

de médier l'efflux de ces composés à l'extérieur des microorganismes ; alors qu'un gène de résistance naturellement existant s'est vu adapté par mutation et code maintenant pour une nouvelle enzyme au spectre catalytique élargi. À ce stade, il est encore impossible de déterminer si ces événements ont joué un rôle déterminant, ou ont simplement contribué secondairement à l'émergence des résistances aux fluoroquinolones. Cependant, il apparaît évident que ces gènes PMQR ont progressé de façon extensive, pour envahir de nombreux germes pathogènes humains et animaux, partout où cette famille de composés antimicrobiens est ou a été utilisée.

Si la présence des gènes plasmidiques de résistance aux fluoroquinolones est peu importante à ce jour sur le plan clinique comparé aux mutations identifiées dans les gènes codant pour les enzymes ciblées par ces antibiotiques, elle représente par contre un danger potentiel en augmentant d'un facteur 10 la probabilité d'apparition de souches à haut niveau de résistance lors de croissance en présence de fluoroquinolones. En outre, la localisation plasmidique de ces gènes leur assure une transmission horizontale souvent efficace, et leur accumulation sur un même support peut conduire à des niveaux cliniques de résistance aux fluoroquinolones. Soulignons également l'existence fréquente sur les plasmides porteurs de gènes PMQR, de gènes codant pour des résistances à d'autres antimicrobiens tels que des bêta-lactames, des macrolides et des aminosides, laissant craindre des phénomènes de co-sélection de résistances et une accélération de l'émergence de bactéries multi-résistantes. Aujourd'hui plus que jamais, l'utilisation des fluoroquinolones doit donc s'appuyer sur les résultats de laboratoire démontrant non seulement leur efficacité sur le pathogène isolé responsable du problème clinique observé, mais aussi sur la sensibilité du germe aux autres antibiotiques envisageables. Dès maintenant, le praticien doit être conscient qu'un usage raisonné et raisonnable des fluoroquinolones et de tout autre composé antibactérien assurera la pérennité de leur efficacité clinique face aux pathogènes humains et animaux ainsi que le maintien de leur autorisation pour la profession vétérinaire.

FLUOROQUINOLONES RESISTANCES: THE CURRENT SITUATION

After six decades of antimicrobial use, pathogenic bacteria of human and animal origin have reached alarming levels of antibiotics resistances. Fluoroquinolones, antibiotics whose use of last resort both in human and veterinary medicine should be preferred, have also not been spared by this phenomenon. Two chromosomal mecha-

nisms are responsible for clinical fluoroquinolones resistances: the accumulation of mutations within genes either encoding the DNA gyrase and/or the topoisomerase IV, or regulating the expression of efflux pumps and decreasing the membrane permeability. Recently, strains with sub-clinical levels of fluoroquinolones resistance mediated by plasmid-located genes, the so-called PMQR genes for "plasmid-mediated quinolone resistance", have emerged.

These mechanisms do not only confer sub-clinical levels, but they also increase the likelihood of clinically resistant strains emergence in the presence of therapeutic levels of fluoroquinolone.

This literature review will present a description and the epidemiology of plasmidic and chromosomal fluoroquinolone resistances and will consider the epidemiology of these phenomena.

BIBLIOGRAPHIE

- ALEKSHUN M.N., LEVY S.B. Regulation of chromosomally mediated multiple antibiotic resistance: the mar regulon. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1997, **41**, 2067-2075.
- ALEKSHUN M.N., LEVY S.B. Alteration of the repressor activity of MarR, the negative regulator of the *Escherichia coli* marRAB locus, by multiple chemicals in vitro. *J.Bacteriol.*, 1999, **181**, 4669-4672.
- ARSENE S., LECLERCQ R. Role of a qnr-like gene in the intrinsic resistance of *Enterococcus faecalis* to fluoroquinolones. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2007, **51**, 3254-3258.
- BALL P. Quinolone generations: natural history or natural selection? *J. Antimicrob. Chemother.*, 2000, **46** : Suppl T1, 17-24.
- BARNARD F.M., MAXWELL A. Interaction between DNA gyrase and quinolones: effects of alanine mutations at GyrA subunit residues Ser(83) and Asp(87). *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2001, **45**, 1994-2000.
- BERGER J.M., WANG J.C. Recent developments in DNA topoisomerase II structure and mechanism. *Curr.Opin.Struct. Biol.*, 1996, **6**, 84-90.
- BONEMANN G., STIENS M., PUHLER A., SCHLUTER A. Mobilizable IncQ-related plasmid carrying a new quinolone resistance gene, qnrS2, isolated from the bacterial community of a wastewater treatment plant. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2006, **50**, 3075-3080.
- CAMBAU E., LASCOLS C., SOUGAKOFF W., BEBEAR C., BONNET R., CAVALLO J.D., GUTMANN L., PLOY M.C., JARLIER V., SOUSSY C.J., ROBERT J. Occurrence of qnrA-positive clinical isolates in French teaching hospitals during 2002-2005. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2006, **12**, 1013-1020.
- CATTOIR V., POIREL L., MAZEL D., SOUSSY C.J., NORDMANN P. *Vibrio splendidus* as the source of plasmid-mediated QnrS-like quinolone resistance determinants. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2007, **51**, 2650-2651.
- CATTOIR V., NORDMANN P., SILVA-SANCHEZ J., ESPINAL P., POIREL L. ISEcp1-mediated transposition of qnrB-like gene in *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2008a, **52**, 2929-2932.
- CATTOIR V., POIREL L., AUBERT C., SOUSSY C.J., NORDMANN P. Unexpected occurrence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants in environmental *Aeromonas spp.* *Emerg. Infect. Dis.*, 2008b, **14**, 231-237.
- CATTOIR V., POIREL L., NORDMANN P. Plasmid-mediated quinolone resistance pump QepA2 in an *Escherichia coli* isolate from France. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2008c, **52**, 3801-3804.
- CAVACO L.M., HASMAN H., XIA S., AARESTRUP F.M. qnrD, a novel gene conferring transferable quinolone resistance in *Salmonella enterica* serovar Kentucky and *Bovis morbilicans* strains of human origin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2009, **53**, 603-608.
- CHATTERJI M., NAGARAJA V. GyrI: a counter-defensive strategy against proteinaceous inhibitors of DNA gyrase. *EMBO Rep.*, 2002, **3**, 261-267.
- CHATTERJI M., SENGUPTA S., NAGARAJA V. Chromosomally encoded gyrase inhibitor GyrI protects *Escherichia coli* against DNA-damaging agents. *Arch. Microbiol.*, 2003, **180**, 339-346.
- CHEUNG T.K., CHU Y.W., CHU M.Y., MA C.H., YUNG R.W., KAM K.M. Plasmid-mediated resistance to ciprofloxacin and cefotaxime in clinical isolates of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis in Hong Kong. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2005, **56**, 586-589.

- COHEN S.P., MCMURRY L.M., LEVY S.B. marA locus causes decreased expression of OmpF porin in multiple-antibiotic-resistant (Mar) mutants of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, 1988, **170**, 5416-5422.
- COHEN S.P., MCMURRY L.M., HOOPER D.C., WOLFSON J.S., LEVY S.B. Cross-resistance to fluoroquinolones in multiple-antibiotic-resistant (Mar) *Escherichia coli* selected by tetracycline or chloramphenicol: decreased drug accumulation associated with membrane changes in addition to OmpF reduction. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1989, **33**, 1318-1325.
- COHEN S.P., YAN W., LEVY S.B. A multidrug resistance regulatory chromosomal locus is widespread among enteric bacteria. *J. Infect. Dis.*, 1993, **168**, 484-488.
- DRLICA K., ZHAO X. DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 1997, **61**, 377-392.
- DRLICA K., HOOPER D.C. Mechanisms of quinolone action. In : Hooper D.C., Rubinstein, E. (Eds), Quinolone antimicrobial agents. 3rd edition. ASM Press : Washington, 2003, 19-40.
- DRLICA K., MALIK M., KERNS R.J., ZHAO X. Quinolone-mediated bacterial death. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2008, **52**, 385-392.
- ELIOPOULOS G.M. Quinolone resistance mechanisms in pneumococci. *Clin. Infect. Dis.*, 2004, **38** : Suppl 4, S350-356.
- ELLINGTON M.J., WOODFORD N. Fluoroquinolone resistance and plasmid addiction systems: self-imposed selection pressure? *J. Antimicrob. Chemother.*, 2006, **57**, 1026-1029.
- EVERETT M.J., JIN Y.F., RICCI V., PIDDOCK L.J. Contributions of individual mechanisms to fluoroquinolone resistance in 36 *Escherichia coli* strains isolated from humans and animals. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1996, **40**, 2380-2386.
- FONSECA E.L., DOS SANTOS FREITAS F., VIEIRA V.V., VICENTE A.C. New qnr gene cassettes associated with superintegron repeats in *Vibrio cholerae* O1. *Emerg. Infect. Dis.*, 2008, **14**, 1129-1131.
- GARAU J., XERCAVINS M., RODRIGUEZ-CARBALLEIRA M., GOMEZ-VERA J.R., COLL I., VIDAL D., LLOVET T., RUIZ-BREMON A. Emergence and dissemination of quinolone-resistant *Escherichia coli* in the community. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1999, **43**, 2736-2741.
- GARCIA-FERNANDEZ A., FORTINI D., VELDMAN K., MEVIUS D., CARATTOLI A. Characterization of plasmids harbouring qnrS1, qnrB2 and qnrB19 genes in *Salmonella*. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2009, **63**, 274-281.
- GARRIDO M.C., HERRERO M., KOLTER R., MORENO F. The export of the DNA replication inhibitor microcin B17 provides immunity for the host cell. *EMBO J.*, 1988, **7**, 1853-1862.
- GAY K., ROBICSEK A., STRAHILEVITZ J., PARK C.H., JACOBY G., BARRETT T.J., MEDALLA F., CHILLER T.M., HOOPER D.C. Plasmid-mediated quinolone resistance in non-Typhi serotypes of *Salmonella enterica*. *Clin. Infect. Dis.*, 2006, **43**, 297-304.
- HAN J.E., KIM J.H., CHERESCA C.H. Jr., SHIN S.P., JUN J.W., CHAI J.Y., HAN S.Y., PARK S.C. First description of the qnrS-like (qnrS5) gene and analysis of quinolone resistance-determining regions in motile *Aeromonas* spp. from diseased fish and water. *Res. Microbiol.*, 2012, **163**, 73-79.
- HANSEN L.H., JENSEN L.B., SORENSEN H.I., SORENSEN S.J. Substrate specificity of the OqxAB multidrug resistance pump in *Escherichia coli* and selected enteric bacteria. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2007, **60**, 145-147.
- HANSEN L.H., JOHANNESSEN E., BURMOLLE M., SORENSEN A.H., SORENSEN S.J. Plasmid-encoded multidrug efflux pump conferring resistance to olaquinox in *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2004, **48**, 3332-3337.
- HATA M., SUZUKI M., MATSUMOTO M., TAKAHASHI M., SATO K., IBE S., SAKAE K. Cloning of a novel gene for quinolone resistance from a transferable plasmid in *Shigella flexneri* 2b. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2005, **49**, 801-803.
- HEDDLE J.G., BLANCE S.J., ZAMBLE D.B., HOLLFELDER F., MILLER D.A., WENTZELL L.M., WALSH C.T., MAXWELL A. The antibiotic microcin B17 is a DNA gyrase poison: characterisation of the mode of inhibition. *J. Mol. Biol.*, 2001, **307**, 1223-1234.
- HEGDE S.S., VETTING M.W., RODERICKS L., MITCHENALL L.A., MAXWELL A., TAKIFF H.E., BLANCHARD J.S. A fluoroquinolone resistance protein from *Mycobacterium tuberculosis* that mimics DNA. *Science*, 2005, **308**, 1480-1483.
- HOOPER D.C. Bacterial topoisomerases, anti-topoisomerases, and anti-topoisomerase resistance. *Clin. Infect. Dis.*, 1998, **27** :Suppl 1, S54-63.
- HOOPER D.C. Mechanisms of quinolone resistance. In : Hooper D.C., Rubinstein, E. (Eds), Quinolone antimicrobial agents. 3rd edition. ASM Press : Washington, 2003, 41-67.
- INCE D., HOOPER D.C. Quinolone resistance due to reduced target enzyme expression. *J. Bacteriol.*, 2003, **185**, 6883-6892.
- JACOBY G.A., CHOW N., WAITES K.B. Prevalence of plasmid-

- mediated quinolone resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2003, **47**, 559-562.
- JACOBY G.A. Mechanisms of resistance to quinolones. *Clin. Infect. Dis.*, 2005, **41** : Suppl 2, S120-126.
- JACOBY G.A., WALSH K.E., MILLS D.M., WALKER V.J., OH H., ROBICSEK A., HOOPER D.C. qnrB, another plasmid-mediated gene for quinolone resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2006, **50**, 1178-1182.
- JACOBY G.A. qnr numbering and sequence [en ligne] (30/05/12) Adresse URL : <http://www.lahey.org/qnrStudies/>, consulté le 31/05/12.
- KEHRENBERG C., HOPKINS K.L., THRELFALL E.J., SCHWARZ S. Complete nucleotide sequence of a small qnrS1-carrying plasmid from *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* Typhimurium DT193. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2007, **60**, 903-905.
- KEHRENBERG C., FRIEDERICHS S., DE JONG A., SCHWARZ S. Novel variant of the qnrB gene, qnrB12, in *Citrobacter werkmanii*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2008, **52**, 1206-1207.
- KIM H.B., WANG M., PARK C.H., KIM E.C., JACOBY G.A., HOOPER D.C. oqxAB encoding a multidrug efflux pump in human clinical isolates of *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2009, **53**, 3582-3584.
- LEE A., MAO W., WARREN M.S., MISTRY A., HOSHINO K., OKUMURA R., ISHIDA H., LOMOVSKAYA O. Interplay between efflux pumps may provide either additive or multiplicative effects on drug resistance. *J. Bacteriol.*, 2000, **182**, 3142-3150.
- LOMOVSKAYA O., LEE A., HOSHINO K., ISHIDA H., MISTRY A., WARREN M.S., BOYER E., CHAMBERLAND S., LEE V.J. Use of a genetic approach to evaluate the consequences of inhibition of efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1999, **43**, 1340-1346.
- MARTINEZ-MARTINEZ L., PASCUAL A., JACOBY G.A. Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet*, 1998, **351**, 797-799.
- MONTERO C., MATEU G., RODRIGUEZ R., TAKIFF H. Intrinsic resistance of *Mycobacterium smegmatis* to fluoroquinolones may be influenced by new pentapeptide protein MfpA. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2001, **45**, 3387-3392.
- MORAIS CABRAL J.H., JACKSON A.P., SMITH C.V., SHIKOTRA N., MAXWELL A., LIDDINGTON R.C. Crystal structure of the breakage-reunion domain of DNA gyrase. *Nature*, 1997, **388**, 903-906.
- NG E.Y., TRUCKSIS M., HOOPER D.C. Quinolone resistance mutations in topoisomerase IV: relationship 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**, 1881-1888.
- NISHINO K., YAMAGUCHI A. Analysis of a complete library of putative drug transporter genes in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, 2001, **183**, 5803-5812.
- NORDMANN P., POIREL L. Emergence of plasmid-mediated resistance to quinolones in *Enterobacteriaceae*. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2005, **56**, 463-469.
- OETHINGER M., KERN W.V., JELLEN-RITTER A.S., MCMURRY L.M., LEVY S.B. Ineffectiveness of topoisomerase mutations in mediating clinically significant fluoroquinolone resistance in *Escherichia coli* in the absence of the AcrAB efflux pump. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2000, **44**, 10-13.
- OKUSU H., MA D., NIKAIDO H. AcrAB efflux pump plays a major role in the antibiotic resistance phenotype of *Escherichia coli* multiple-antibiotic-resistance (Mar) mutants. *J. Bacteriol.*, 1996, **178**, 306-308.
- PARK Y.J., YU J.K., KIM S.I., LEE K., ARAKAWA Y. Accumulation of plasmid-mediated fluoroquinolone resistance genes, qepA and qnrS1, in *Enterobacter aerogenes* co-producing RmtB and class A beta-lactamase LAP-1. *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 2009, **39**, 55-59.
- PATON J.H., REEVES D.S. Fluoroquinolone antibiotics: microbiology, pharmacokinetics and clinical use. *Drugs*, 1988, **36**, 193-228.
- PERICHON B., BOGAERTS P., LAMBERT T., FRANGEUL L., COURVALIN P., GALIMAND M. Sequence of conjugative plasmid pIP1206 mediating resistance to aminoglycosides by 16S rRNA methylation and to hydrophilic fluoroquinolones by efflux. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2008, **52**, 2581-2592.
- PICAO R.C., POIREL L., DEMARTA A., SILVA C.S., CORVAGLIA A.R., PETRINI O., NORDMANN P. Plasmid-mediated quinolone resistance in *Aeromonas allosaccharophila* recovered from a Swiss lake. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2008, **62**, 948-950.
- POIREL L., RODRIGUEZ-MARTINEZ J.M., MAMMERI H., LIARD A., NORDMANN P. Origin of plasmid-mediated quinolone resistance determinant QnrA. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2005a, **49**, 3523-3525.
- POIREL L., LIARDA., RODRIGUEZ-MARTINEZ J.M., NORDMANN P. *Vibrionaceae* as a possible source of Qnr-like quinolone

- resistance determinants. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2005b, **56**, 1118-1121.
- POIREL L., LEVIANDIER C., NORDMANN P. Prevalence and genetic analysis of plasmid-mediated quinolone resistance determinants QnrA and QnrS in *Enterobacteriaceae* isolates from a French university hospital. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2006a, **50**, 3992-3997.
- POIREL L., NGUYEN T.V., WEINTRAUB A., LEVIANDIER C., NORDMANN P. Plasmid-mediated quinolone resistance determinant qnrS in *Enterobacter cloacae*. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2006b, **12**, 1021-1023.
- POIREL L., CATTOIR V., SOARES A., SOUSSY C.J., NORDMANN P. Novel Ambler class A beta-lactamase LAP-1 and its association with the plasmid-mediated quinolone resistance determinant QnrS1. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2007, **51**, 631-637.
- ROBICSEK A., SAHM D.F., STRAHILEVITZ J., JACOBY G.A., HOOPER D.C. Broader distribution of plasmid-mediated quinolone resistance in the United States. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2005, **49**, 3001-3003.
- ROBICSEK A., JACOBY G.A., HOOPER D.C. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Lancet Infect. Dis.*, 2006a, **6**, 629-640.
- ROBICSEK A., STRAHILEVITZ J., JACOBY G.A., MACIELAG M., ABBANAT D., PARK C.H., BUSH K., HOOPER D.C. Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase. *Nat. Med.*, 2006b, **12**, 83-88.
- RODRIGUEZ-MARTINEZ J.M., VELASCO C., GARCIA I., CANO M.E., MARTINEZ-MARTINEZ L., PASCUAL A. Mutant prevention concentrations of fluoroquinolones for *Enterobacteriaceae* expressing the plasmid-carried quinolone resistance determinant qnrA1. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2007, **51**, 2236-2239.
- RODRIGUEZ-MARTINEZ J.M., VELASCO C., BRIALES A., GARCIA I., CONEJO M.C., PASCUAL A. Qnr-like pentapeptide repeat proteins in gram-positive bacteria. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2008, **61**, 1240-1243.
- RODRIGUEZ-MARTINEZ J.M., CANO M.E., VELASCO C., MARTINEZ-MARTINEZ L., PASCUAL A. Plasmid-mediated quinolone resistance: an update. *J. Infect. Chemother.*, 2010, **17**, 149-182.
- SANCHEZ M.B., HERNANDEZ A., RODRIGUEZ-MARTINEZ J.M., MARTINEZ-MARTINEZ L., MARTINEZ J.L. Predictive analysis of transmissible quinolone resistance indicates *Stenotrophomonas maltophilia* as a potential source of a novel family of Qnr determinants. *BMC Microbiol.*, 2008, **8**, 148.
- SCHWARZ S., CLOECKAERT A., ROBERTS M.C. Mechanisms and spread of bacterial resistance to antimicrobial agents. In : Aarestrup F.M. (Ed.), *Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin*. ASM Press : Washington, 2006, 73-98.
- SORENSEN A.H., HANSEN L.H., JOHANNESSEN E., SORENSEN S.J. Conjugative plasmid conferring resistance to olaquinox. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2003, **47**, 798-799.
- STRAHILEVITZ J., JACOBY G.A., HOOPER D.C., ROBICSEK A. Plasmid-mediated quinolone resistance: a multifaceted threat. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2009, **22**, 664-689.
- TANKOVIC J., SOUSSY C.J. Mécanismes de résistance aux fluoroquinolones: données récentes. *Lett. Infect.*, 1998, **13**, 195-202.
- TORPDAHL M., HAMMERUM A.M., ZACHARIASEN C., NIELSEN E.M. Detection of qnr genes in *Salmonella* isolated from humans in Denmark. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2009, **63**, 406-408.
- TRAN J.H., JACOBY G.A. Mechanism of plasmid-mediated quinolone resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, **99**, 5638-5642.
- TRAN J.H., JACOBY G.A., HOOPER D.C. Interaction of the plasmid-encoded quinolone resistance protein Qnr with *Escherichia coli* DNA gyrase. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2005, **49**, 118-125.
- VELASCO C., RODRIGUEZ-MARTINEZ J.M., BRIALES A., DIAZ DE ALBA P., CALVO J., PASCUAL A. Smaqnr, a new chromosome-encoded quinolone resistance determinant in *Serratia marcescens*. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2010, **65**, 239-242.
- VETTING M.W., HEGDE S.S., FAJARDO J.E., FISER A., RODERICK S.L., TAKIFF H.E., BLANCHARD J.S. Pentapeptide repeat proteins. *Biochemistry*, 2006, **45**, 1-10.
- WALKER R.D., DOWLING P.M. Fluoroquinolones. In : Giguère S., Prescott J.F., Baggot J.D., Walker R.D., Dowling P.M. (Eds), *Antimicrobial therapy in veterinary medicine*. 4th edition. Blackwell publishing : Ames, 2006, 263-284.
- WANG H., DZINK-FOX J.L., CHEN M., LEVY S.B. Genetic characterization of highly fluoroquinolone-resistant clinical *Escherichia coli* strains from China: role of *acrR* mutations. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2001, **45**, 1515-1521.
- WANG M., SAHM D.F., JACOBY G.A., ZHANG Y., HOOPER D.C. Activities of newer quinolones against *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* containing the plasmid-mediated quinolone resistance determinant qnr.

- Antimicrob. Agents Chemother.*, 2004, **48**, 1400-1401.
- WANG M., GUO Q., XU X., WANG X., YE X., WU S., HOOPER D.C. New plasmid-mediated quinolone resistance gene, qnrC, found in a clinical isolate of *Proteus mirabilis*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2009a, **53**, 1892-1897.
- WANG M., JACOBY G.A., MILLS D.M., HOOPER D.C. SOS regulation of qnrB expression. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2009b, **53**, 821-823.
- WILLMOTT C.J., MAXWELL A. A single point mutation in the DNA gyraseA protein greatly reduces binding of fluoroquinolones to the gyrase-DNA complex. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1993, **37**, 126-127.
- WU J.J., KO W.C., TSAI S.H., YAN J.J. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants QnrA, QnrB, and QnrS among clinical isolates of *Enterobacter cloacae* in a Taiwanese hospital. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2007, **51**, 1223-1227.
- WU J.J., KO W.C., WU H.M., YAN J.J. Prevalence of Qnr determinants among bloodstream isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in a Taiwanese hospital, 1999-2005. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2008, **61**, 1234-1239.
- YAMANEK., WACHINOJ., SUZUKI S., KIMURA K., SHIBATA N., KATO H., SHIBAYAMA K., KONDA T., ARAKAWA Y. New plasmid-mediated fluoroquinolone efflux pump, QepA, found in an *Escherichia coli* clinical isolate. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2007, **51**, 3354-3360.
- YAMANE K., WACHINO J., SUZUKI S., ARAKAWA Y. Plasmid-mediated qepA gene among *Escherichia coli* clinical isolates from Japan. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2008, **52**, 1564-1566.
- YOSHIDA H., BOGAKI M., NAKAMURA M., NAKAMURA S. Quinolone resistance-determining region in the DNA gyrasegyrA gene of *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1990, **34**, 1271-1272.
- YUE L., JIANG H.X., LIAO X.P., LIU J.H., LI S.J., CHEN X.Y., CHEN C.X., LU D.H., LIU Y.H. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance qnr genes in poultry and swine clinical isolates of *Escherichia coli*. *Vet. Microbiol.*, 2008, **132**, 414-420.
- ZHAO X., XU C., DOMAGALA J., DRLICA K. DNA topoisomerase targets of the fluoroquinolones: a strategy for avoiding bacterial resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997, **94**, 13991-13996.