



Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Enterococcus: resistencias fenotípicas y genotípicas y epidemiología en España

Emilia Cercenado

Servicio de Microbiología y Enfermedades Infecciosas, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, España

RESUMEN

Palabras clave:

Enterococcus
Resistencia a ampicilina
Resistencia de alto nivel a los aminoglucósidos
Resistencia a vancomicina
Resistencia a linezolid
Mecanismos de resistencia

Los enterococos son importantes patógenos nosocomiales debido a la dificultad de tratamiento condicionada por su multiresistencia intrínseca y a la adquisición de nuevos genes de resistencia. La resistencia adquirida a beta-lactámicos se debe a la hiperproducción o a alteraciones en la PBP5. La producción de beta-lactamasa es anecdótica. La resistencia de alto nivel a aminoglucósidos (RAN) se debe a la producción de enzimas inactivantes de estos antibióticos y anula el efecto sinérgico con agentes activos en la pared celular. La enzima más frecuente es la AAC(6')-APH(2''), que inactiva a todos los aminoglucósidos más frecuentemente utilizados en la práctica clínica. La resistencia adquirida a glucopéptidos se debe a la adquisición de operones de resistencia denominados *vanA*, *vanB*, *vanD*, *vanE*, *vanG*, *vanL*, *vanM* y *vanN*. La resistencia a linezolid se debe a mutaciones ribosómicas o a la adquisición del gen *cfi*. Algunas cepas presentan sensibilidad disminuida a la daptomicina. En España, la resistencia de los enterococos a los beta-lactámicos y la RAN a aminoglucósidos es elevada, y *Enterococcus faecalis* es casi uniformemente sensible a la ampicilina. La resistencia de los enterococos a los glucopéptidos es baja, con la excepción de algunos brotes, y los nuevos antimicrobianos (linezolid, daptomicina, tigeciclina) son casi uniformemente activos frente a estos microorganismos. La gran diseminación de los complejos clonales de alto riesgo como el CC2 y CC9 (*E. faecalis*) y el CC17 (*E. faecium*) hace necesario realizar estudios para vigilar la diseminación de genes de resistencia a antimicrobianos y para detectar estos CC de alto riesgo y predecir tendencias futuras en la adquisición de genes de resistencia.

© 2011 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Enterococcus: phenotype and genotype resistance and epidemiology in Spain

ABSTRACT

Keywords:

Enterococcus
Ampicillin resistance
High-level aminoglycoside resistance
Vancomycin resistance
Linezolid resistance
Mechanisms of resistance

Enterococci are major nosocomial pathogens due to their intrinsic resistance to many antimicrobials as well as to their ability to acquire new mechanisms of resistance. Acquired resistance to beta-lactams is due to PBP5 overproduction or alterations in this protein. Beta-lactamase production is anecdotal. High-level resistance (HLR) to aminoglycosides is due to the production of aminoglycoside-modifying enzymes that delete synergistic killing in association with cell wall-active agents. The most frequent enzyme is AAC(6')-APH(2''), which inactivates all the aminoglycosides most frequently used in clinical practice. Acquired resistance to glycopeptides is due to the acquisition of gene clusters called *vanA*, *vanB*, *vanD*, *vanE*, *vanG*, *vanL*, *vanM* and *vanN*. Linezolid resistance is due to ribosomal mutations or to the acquisition of the *cfi* gene. Some isolates present diminished susceptibility to daptomycin. In Spain, both enterococcal resistance to beta-lactams and HLR to aminoglycosides are high. *E. faecalis* is almost uniformly susceptible to ampicillin. Enterococcal resistance to glycopeptides is low, with the exception of occasional outbreaks. The new antimicrobials (linezolid, daptomycin, tigecycline) are almost uniformly active against these microorganisms. Because of the wide dissemination of the high-risk clonal complexes CC2 and CC9 (*E. faecalis*), and CC17 (*E. faecium*), surveillance studies are required to detect antimicrobial resistance genes as well as to identify high-risk clonal complexes in order to predict future trends in the acquisition of resistance genes.

© 2011 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

Los microorganismos del género *Enterococcus* se encuentran entre los principales patógenos nosocomiales debido a la dificultad de tratamiento condicionada por su resistencia intrínseca a la mayoría de los antibióticos. Los enterococos presentan una moderada sensibilidad a las penicilinas y son resistentes intrínsecamente a todas las cefalosporinas, a trimetoprim/sulfametoxazol, y a concentraciones terapéuticas de aminoglucósidos y clindamicina. Asimismo, a lo largo de los años han adquirido resistencia a múltiples antibióticos, bien por la adquisición de genes de resistencia en plásmidos o en transposones, o por mutaciones espontáneas que aumentan el nivel de resistencia a algunos antibióticos. La importancia clínica es mayor en el caso de los beta-lactámicos, aminoglucósidos y glucopéptidos por constituir el tratamiento de elección de las infecciones enterocócicas graves. La mayoría de las infecciones producidas por enterococo están causadas por *Enterococcus faecalis* (80%), sin embargo, la especie *Enterococcus faecium* es la que con mayor frecuencia es multirresistente y presenta mayores porcentajes de resistencia adquirida a los antimicrobianos¹⁻⁵. En las 2 últimas décadas *E. faecium* ha surgido como un importante patógeno nosocomial debido, principalmente, a la expansión del complejo clonal 17 (CC17), muy adaptado al medio hospitalario y que se disemina con mucha facilidad, a lo que se ha unido el aumento de su resistencia transferible a glucopéptidos y de la resistencia de alto nivel (RAN) a aminoglucósidos^{4,6,7}.

A continuación se describen los mecanismos de resistencia adquirida clínicamente más relevantes en los enterococos.

Resistencia a beta-lactámicos

Los enterococos poseen cierta resistencia natural intrínseca a los beta-lactámicos, que se debe a la baja afinidad de sus proteínas de unión a penicilinas (PBP o *penicillin-binding proteins*) por estos antibióticos. Esta resistencia intrínseca difiere según los diferentes beta-lactámicos, ya que las penicilinas generalmente tienen la mayor actividad frente a los enterococos, las carbapenemas tienen una ligera menor actividad y las cefalosporinas son las que presentan la menor actividad. Aunque entre las penicilinas, la más activa in vitro es la ampicilina, todos los enterococos sensibles a ésta lo son también al resto de las penicilinas y a las carbapenemas. La concentración mínima inhibitoria (CMI) de ampicilina frente a enterococo oscila entre 1 y 16 mg/l y las CMI de ampicilina frente a aislados clínicos de *E. faecalis* son generalmente más bajas que aquellas frente a cepas de *E. faecium*. La resistencia intrínseca a todas las cefalosporinas es de tal nivel que no se pueden utilizar para el tratamiento de pacientes con infecciones por enterococo^{8,9}. De hecho, el uso de cefalosporinas puede conducir a sobreinfecciones por este microorganismo. Sin embargo, existe un efecto sinérgico de la ampicilina con algunas cefalosporinas (como la ceftriaxona) tanto in vitro como in vivo en cepas de *E. faecalis*¹⁰.

Los aislados clínicos de enterococo, principalmente de *E. faecium* (y muy rara vez de *E. faecalis*), han desarrollado cada vez mayor resistencia a la ampicilina. Este alto nivel de resistencia se asocia con una CMI de ampicilina de 256 mg/l o superior. En algunos hospitales, más del 90% de las cepas de *E. faecium* son resistentes a la ampicilina (CMI \geq 32 mg/l)⁴. La resistencia de alto nivel a penicilinas se debe principalmente a la hiperproducción de la PBP5, que tiene una baja afinidad natural por las penicilinas y, además, capacidad para sustituir las funciones de las PBP sensibles a los beta-lactámicos, pero también a mutaciones en el gen *pbp5* que implican una todavía menor afinidad por las penicilinas^{11,12}. En este último caso no hay hiperproducción de la PBP5, pero las cepas presentan sustituciones de aminoácidos cerca del sitio activo de las PBP que son las responsables del aumento de la resistencia. En *E. faecium* es relativamente frecuente encontrar cepas con estos mecanismos que son resistentes a la penicilina, ampicilina, amoxicilina-ácido clavulánico e imipenem.

Asimismo, se han descrito escasas cepas de *E. faecalis* y de otras especies de enterococo con este fenotipo de resistencia¹³. Se ha detectado otro mecanismo de resistencia a beta-lactámicos que no involucra a las PBP (DD-transpeptidasas) en una cepa mutante de laboratorio de *E. faecium* resistente a la ampicilina (CMI > 2.000 mg/l). Al eliminar el gen *pbp5* se detectó un *bypass* de la reacción de DD-transpeptidación que se produce durante los pasos finales de la síntesis del peptidoglicano¹⁴.

Algunas cepas de enterococo producen una beta-lactamasa idéntica a la estafilocócica de tipo A codificada por el gen *blaZ*. Los enterococos productores de esta beta-lactamasa lo hacen constitutivamente, a diferencia de *Staphylococcus aureus*, en el que la producción de la beta-lactamasa es inducible. Las cepas productoras de beta-lactamasas se caracterizan por ser resistentes a penicilina, aminopenicilinas (ampicilina) y ureido-penicilinas (piperacilina), siendo sensibles a imipenem y a las combinaciones de beta-lactámicos con inhibidores de beta-lactamasas (ácido clavulánico, tazobactam, sulbactam). No obstante, estas cepas se muestran como sensibles in vitro a las penicilinas cuando se realiza un antibiograma en el laboratorio por difusión con discos o por dilución, ya que esta enzima se produce en pequeñas cantidades, por lo que en los aislados procedentes de sangre y de líquido cefalorraquídeo siempre debe realizarse la prueba de la nitrocefina, a fin de detectar la posible presencia de beta-lactamasa. Afortunadamente, las cepas de *E. faecalis* productoras de beta-lactamasa son muy raras y se han descrito casos esporádicos en Estados Unidos, Canadá, Argentina, Líbano e India, pero de momento no se han comunicado en Europa. Asimismo, se ha detectado de manera excepcional una cepa de *E. faecium* productora de beta-lactamasa en Estados Unidos y varias cepas en Italia^{8,15,16,16a}.

Resistencia a aminoglucósidos

Los enterococos poseen intrínsecamente una resistencia de bajo nivel a los aminoglucósidos por un transporte deficiente del aminoglucósido al interior de la bacteria, que se caracteriza por presentar valores de CMI que oscilan entre 4 y 64 mg/l de gentamicina y entre 16 y 256 mg/l de estreptomina, lo que hace que los aminoglucósidos no sean eficaces en monoterapia frente a los enterococos. Sin embargo, cuando se asocia un aminoglucósido con otro antibiótico que actúe en la pared celular, como un beta-lactámico o un glucopéptido, se produce un gran aumento de la captación del aminoglucósido, resultando en un efecto sinérgico bactericida necesario para el tratamiento de infecciones graves (bacteriemia, endocarditis y meningitis)¹⁸.

Pero los enterococos son capaces de evitar este efecto sinérgico bactericida mediante la adquisición de genes que codifican la producción de enzimas inactivantes de aminoglucósidos o que median resistencia a agentes activos en la pared celular. Las enzimas inactivantes pueden ser fosfotransferasas (APH), acetiltransferasas (AAC) o nucleotidiltransferasas (ANT), y al inactivar a los aminoglucósidos se produce una RAN perdiéndose el efecto sinérgico en asociación con agentes activos en la pared celular. Las APH inactivan a los aminoglucósidos transfiriendo el γ -fosfato del ATP a un grupo hidroxilo en el aminoglucósido; las AAC utilizan la acetil-coenzima A como dador y acetilan un grupo amino, y las ANT utilizan el ATP como dador y adenilan un grupo hidroxilo en la molécula del antibiótico. Cuando estas enzimas están presentes en los enterococos, la CMI de los aminoglucósidos puede aumentar hasta \geq 2.000 mg/l. No es frecuente encontrar aislados clínicos de enterococo que posean 3 o más genes distintos de resistencia a aminoglucósidos¹⁷.

El gen *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia* codifica una enzima bifuncional, la AAC(6')-APH(2''), que posee actividad acetilasa y fosforilasa. Este gen es el resultado de la fusión de 2 genes ancestrales y media resistencia a gentamicina, tobramicina, ampicilina, kanamicina, netilmicina y dibecacina, y puede estar localizado en transposones o en plásmidos. Más del 90% de los aislados clínicos de enterococos que presentan

RAN a gentamicina (generalmente ≥ 2.000 mg/l) posee este gen y menos del 10% posee los genes *aph(2'')-Ic*, *aph(2'')-Id*, *aph(2'')-Ie* o *aph(2'')-Ib*. El gen *aph(2'')-Ic* codifica una aminoglucósido fosfotransferasa que media resistencia clínica a gentamicina, tobramicina, kanamicina y dibecacina, pero no a amicacina ni netilmicina y se ha aislado con más frecuencia de enterococos procedentes de animales de granja que de humanos. En los enterococos que poseen este enzima, la CMI de gentamicina oscila entre 256 y 384 mg/l, por lo que también son resistentes al sinergismo ampicilina-gentamicina. Por tanto, los laboratorios de microbiología que utilizan la concentración de 500 mg/l como *screening* de la resistencia de alto nivel a gentamicina pueden no detectar la presencia de este gen. Los genes *aph(2'')-Id*, *aph(2'')-Ie* y *aph(2'')-Ib* median alto nivel de resistencia a gentamicina, tobramicina, kanamicina, netilmicina y dibecacina. La enzima APH(2'')-Ib puede presentar varios grados de actividad fosfotransferasa que puede afectar también a la amicacina y arbecacina. El gen *aph(3')-IIIa* codifica una fosfotransferasa que confiere alto nivel de resistencia a kanamicina y aunque confiere unas CMI de amicacina de 64 a 256 mg/l, las cepas que contienen este gen son también resistentes al sinergismo ampicilina-amicacina^{8,18,19}. El gen *aac(6')-Ii* codifica una acetiltransferasa que elimina el sinergismo entre agentes activos en la pared celular y tobramicina, kanamicina, netilmicina y sisomicina. Este gen cromosómico es constitutivo y está presente en todas las cepas de *E. faecium* y se ha encontrado también en las especies *E. durans* y *E. hirae* (genes *aac(6')-Iid* y *aac(6')-Iih*), respectivamente²⁰. El gen *ant(4')-Ia* codifica una nucleotidiltransferasa que confiere resistencia a tobramicina, amicacina, kanamicina y dibecacina, y aunque las CMI de amicacina están entre 64 y 256 mg/l, las cepas que contienen este gen son resistentes al sinergismo ampicilina-amicacina. Este gen es muy poco frecuente en cepas clínicas de enterococos.

La resistencia a estreptomycinina en los enterococos se produce por cambios en la subunidad ribosómica 30S que resulta en una disminución de la unión de la estreptomycinina. La CMI de estreptomycinina frente a estas cepas es de 128.000 mg/l. No se ha documentado resistencia a aminoglucósidos en enterococos asociada con cambios ribosómicos, excepto para la estreptomycinina. También puede haber RAN a la estreptomycinina mediada por los genes *ant(6)-Ia* y *ant(3'')-Ia* que codifican la producción de nucleotidil transferasas. Las CMI de estreptomycinina en estas cepas oscilan entre 4.000 y 16.000 mg/l^{18,17,18}.

En general, y aunque como se ha indicado anteriormente hay excepciones, la RAN a estreptomycinina implica resistencia solamente a este antimicrobiano, mientras que la RAN a gentamicina implica RAN al resto de los aminoglucósidos más frecuentemente utilizados en clínica con la excepción de la estreptomycinina.

Resistencia a glucopeptidos

En la década de los ochenta se describieron en Francia y en Reino Unido las primeras cepas de *E. faecium* resistentes a la vancomicina. Desde entonces los enterococos resistentes a los glucopeptidos (ERG) se han diseminado ampliamente por el mundo y se ha producido un importante aumento de estas cepas, principalmente en Estados Unidos, en pacientes ingresados en unidades de cuidados intensivos y en unidades clínicas donde se ha utilizado ampliamente la vancomicina^{1,3,5,21}. Una vez que el paciente está colonizado por el ERG, el microorganismo persiste en el tracto gastrointestinal y se puede diseminar horizontalmente a otros pacientes. En algunos hospitales de Estados Unidos más del 60% de los aislados de *E. faecium* son resistentes a los glucopeptidos²². Por el contrario, en Europa es frecuente la presencia de ERG en animales de granja, alimentos y aguas residuales, y como colonizadores en humanos sanos, pero es mucho menos frecuente en pacientes hospitalizados, aunque variable según los países^{4,23}, lo que probablemente haya sido debido al amplio uso que se hizo del glucopeptido avoparcina como promotor del crecimiento en animales de granja, hoy en día

prohibido en Europa^{24,25}. Aunque la emergencia y diseminación de estas cepas en humanos se puede atribuir, en parte, al amplio uso de la vancomicina en la práctica clínica y a la utilización de glucopeptidos en animales de granja, la variedad de genotipos y la variabilidad de las secuencias entre ellos sugiere que el proceso no se debió a la diseminación de un solo clon, por lo que es muy probable que los enterococos adquirieran estos genes de otros microorganismos. No obstante, es destacable el hecho de que las cepas de *E. faecium* resistentes a vancomicina y aisladas en el medio hospitalario pertenecen en su mayoría al complejo clonal de alto riesgo hospitalario 17 (CC17), que tiene una diseminación mundial.

Los glucopeptidos actúan inhibiendo la síntesis de la pared celular uniéndose a los precursores pentapeptídicos del peptidoglicano, impidiendo el entrecruzamiento de estos precursores, lo que conduce a la pérdida de integridad estructural de la pared bacteriana y a la muerte celular. El mecanismo bioquímico de resistencia a los glucopeptidos se basa en la modificación de la diana: el pentapéptido de la pared celular terminado en D-Ala-D-Ala cambia un aminoácido por otro diferente. El pentapéptido modificado puede contener D-Ala-D-lactato (D-Lac) o bien D-Ala-D-serina (D-Ser). Los residuos que contienen D-Ala-D-Lac tienen menor afinidad (1.000 veces menor) por la vancomicina que los que contienen D-Ala-D-Ala. Los residuos que contienen D-Ala-D-Ser tienen una afinidad 7 veces menor por la vancomicina que los residuos terminados en D-Ala-D-Ala. En las cepas de ERG esta capacidad para sintetizar y utilizar estos precursores alternativos puede ser constitutiva o inducible por los glucopeptidos. La expresión de estos fenotipos está codificada por múltiples y diferentes mecanismos genéticos¹⁷.

Se han descrito 8 operones distintos que median la resistencia adquirida a glucopeptidos en enterococo denominados *vanA*, *vanB*, *vanD*, *vanE*, *vanG*, *vanL*, *vanM* y *vanN*, y uno que media resistencia intrínseca, denominado *vanC*, con las variantes *vanC-1*, *vanC-2* y *vanC-3*, que es una propiedad intrínseca de los enterococos móviles (*Enterococcus casseliflavus*, *Enterococcus gallinarum* y *Enterococcus flavescens*, respectivamente). Hay subtipos de *vanB* (B1-3), *vanD* (D1-5) y *vanG* (G1-2)^{8,26-31}. Los mecanismos de resistencia son genotípicamente y fenotípicamente distintos, y hacen que la bacteria adquiera una compleja maquinaria de enzimas que son responsables de: a) detectar la presencia de glucopeptidos en el entorno; b) cambiar el precursor normal del pentapéptido (sensible a los glucopeptidos) por el alternativo (resistente), y c) eliminar los precursores normales del peptidoglicano, de modo que la célula utiliza casi exclusivamente los precursores resistentes. En los tipos VanA, VanB, VanD y VanM, el precursor alternativo es D-Ala-D-Lac, mientras que en los tipos VanC, VanE, VanG, VanL y VanN, el precursor alternativo es D-Ala-D-Ser.

El operón *vanA* codifica resistencia inducible de alto nivel a vancomicina (CMI ≥ 64 mg/l) y a teicoplanina (CMI ≥ 16 mg/l) y se adquiere generalmente a través del transposón Tn1546 o de transposones relacionados de la familia Tn3. Este operón contiene 7 genes: 3 (*vanH*, *vanA*, *vanX*) son responsables directamente de la resistencia a los glucopeptidos, 2 (*vanR* y *vanS*) son los responsables de la regulación de la resistencia, y 1 (*vanY*) es el responsable de eliminar los precursores normales de la pared celular. Se desconoce la función de un séptimo gen (*vanZ*). El operón *vanB* produce resistencia inducible de bajo o alto nivel a la vancomicina (CMI 4 a > 1.000 mg/l), pero no a teicoplanina y tampoco se induce por este antibiótico; no obstante, se ha descrito la aparición de mutantes resistentes a teicoplanina durante el tratamiento, por lo que no se aconseja utilizarlo en cepas con el fenotipo VanB. Este operón está presente, generalmente, en el cromosoma, pero también se puede diseminar por transposones conjugativos o por plásmidos. La organización de este operón es similar a la del *vanA*, así como el mecanismo de resistencia. La diseminación de esta resistencia se produce por la transferencia de elementos genéticos grandes que contienen el transposón Tn1547. La transmisión de la resistencia de tipo *vanB* junto con la resistencia a ampicilina se ha encontrado en el transposón Tn5382. El operón *vanC* es una pro-

Tabla 1
Características de la resistencia a los glucopéptidos en *Enterococcus* spp.

Fenotipo	Resistencia adquirida*								Resistencia intrínseca
	VanA	VanB	VanD	VanE	VanG	VanL	VanM	VanN	VanC
CMI vancomicina (mg/l)	16 - > 1.000	4 - > 1.000	16-128	8-32	16	8	> 256	16	2-32
CMI teicoplanina (mg/l)	16-512	0,25-2	2-4 (64)	0,5	0,5	0,5	96	0,5	0,12-2
Expresión de la resistencia	Inducible	Inducible	Constitutiva	Inducible	nd	Inducible	nd	Constitutiva	Constitutiva o inducible
Resistencia transferible	Sí	Sí	No	No	nd	nd	Sí	Sí	No
Gen responsable	<i>vanA</i>	<i>vanB</i>	<i>vanD</i>	<i>vanE</i>	<i>vanG</i>	<i>vanL</i>	<i>vanM</i>	<i>vanN</i>	<i>vanC-1, vanC-2, vanC-3</i>

CMI: concentración mínima inhibitoria; nd: no determinado.

*Existen subtipos de *vanB* (*vanB1-3*), *vanD* (*vanD1-5*) y *vanG* (*vanG1-2*).

iedad intrínseca de determinadas especies de enterococos móviles y produce bajo nivel de resistencia a la vancomicina (CMI 2-32 mg/l) y sensibilidad a teicoplanina. Como se indicó anteriormente, los genes que codifican el fenotipo de resistencia VanC son endógenos en *E. gallinarum* (*vanC-1*), *E. casseliflavus* (*vanC-2*) y *E. flavescens* (*vanC-3*). La disposición de estos genes es similar en las 3 especies, pero cada gen es específico de especie. El tipo de resistencia VanC es de codificación cromosómica y se expresa constitutivamente, y se ha comunicado que puede ser inducible en algunas cepas. Se diferencia de los *vanA* y *vanB* en la situación de los genes reguladores en el operón. El operón *vanD* codifica una resistencia de nivel moderado a vancomicina (CMI 64 a 128 mg/l) y a teicoplanina (CMI 4 a 64 mg/l), está presente en el cromosoma, es constitutivo, parece que no se transfiere y funciona como los *vanA* y *vanB*. Los operones *vanE* y *vanG* producen bajo nivel de resistencia a la vancomicina (< 16 mg/l) y sensibilidad a teicoplanina, y parece que son adquiridos e inducibles. No se ha conseguido transferir los genes *vanE* y *vanG*. El fenotipo VanE, bioquímicamente se comporta como el fenotipo de resistencia intrínseca VanC y genéticamente también presenta la misma organización que el operón *vanC*. La organización genética del operón *vanG* es distinta a todos los descritos anteriormente^{8,17}. Las características de los distintos fenotipos de resistencia a glucopéptidos de los enterococos se muestran en la tabla 1.

Se ha descrito la existencia de cepas de enterococo que requieren la presencia de vancomicina para su crecimiento. En todos los casos, estas cepas se aislaron de pacientes que habían recibido tratamiento con vancomicina durante un largo período y la mayoría de ellos presentaban el fenotipo VanB, pero también se han descrito en cepas con el fenotipo VanA. La dependencia de la vancomicina, en general, se debe a la interrupción de la vía de producción del terminal D-Ala-D-Ala normal de los precursores del peptidoglicano, debido a la pérdida de la actividad de la ligasa D-Ala:D-Ala. Por tanto, la síntesis de la pared celular en estas cepas debe realizarse a partir de precursores alternativos del peptidoglicano (D-Ala-D-Lac) que no dependen de la actividad de la ligasa anteriormente descrita. Debido a que la inducción e iniciación de esta vía que conduce a la formación de estos precursores alternativos requiere la presencia de la vancomicina, estos mutantes no crecen en ausencia de vancomicina. Las cepas dependientes de tipo VanB pueden revertir al fenotipo completamente resistente y, por ello, en pacientes infectados con cepas dependientes de vancomicina, la interrupción del tratamiento con este antibiótico no es suficiente para curar la infección³².

Resistencia a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas A y B

Los macrólidos y las lincosamidas no se utilizan para el tratamiento de las infecciones enterocócicas debido a que los enterococos son intrínsecamente resistentes a la clindamicina y frecuentemente resistentes a los macrólidos. Además, se han descrito varios mecanis-

mos de resistencia adquiridos a estos antimicrobianos que se indican a continuación.

En los enterococos, el mecanismo de resistencia a los macrólidos más frecuente es la producción de una enzima que metila un residuo adenina en la subunidad 23S del ARN ribosómico, lo que se traduce en una reducción de la unión al ribosoma no solamente de la eritromicina y otros macrólidos (azitromicina y claritromicina), sino también de las lincosamidas y las estreptograminas B. Este mecanismo está mediado generalmente por el gen *erm(B)* y en muy pocas ocasiones por el gen *erm(A)*. Este fenotipo se denomina MLS_B (macrólidos-lincosamidas-estreptograminas B) y produce RAN (CMI > 32 mg/l) a todos los macrólidos. Además, los enterococos también pueden adquirir por conjugación el gen *mef(A)*, que codifica una bomba de expulsión activa y que conduce a una resistencia de bajo nivel a la eritromicina (CMI de 2 a 16 mg/l) y a otros macrólidos de 14 y 15 átomos de carbono. Finalmente, también se ha descrito en enterococos el gen *msr(A)*, que confiere resistencia a los macrólidos y a las estreptograminas B^{8,17,33}.

La resistencia adquirida a las lincosamidas (lincomicina y clindamicina) en los enterococos se debe a la expresión del gen *lnu(B)*, al producir una nucleotidiltransferasa que adenila un grupo hidroxilo en estos antibióticos.

En las infecciones producidas por enterococos multirresistentes se ha utilizado en ocasiones la combinación de quinupristina y dal-fopristina (Q/D), una estreptogramina de tipo B y otra de tipo A, respectivamente, que actúan sinérgicamente en el ribosoma. Todas las cepas de *E. faecalis* son intrínsecamente resistentes a esta combinación por serlo a la estreptogramina A. La resistencia adquirida a esta combinación en cepas de *E. faecium* puede ser debida a un único gen que media la resistencia a la estreptogramina A, como los genes *vat(A)*, *vat(D)* y *vat(E)*, o a la combinación de estos genes con otros que median resistencia a la estreptogramina B, como el gen *vgb(A)*. La resistencia total a la Q/D se produce cuando están presentes ambos genes de resistencia. Es frecuente el desarrollo de resistencia de *E. faecium* a Q/D durante el tratamiento de infecciones con Q/D^{3,8,17,33,34}.

Resistencia a fluoroquinolonas

La actividad de ciprofloxacino frente a enterococo es moderada y la RAN a fluoroquinolonas es frecuente entre los aislados clínicos de enterococo. Las nuevas fluoroquinolonas, moxifloxacino y gatifloxacino, tienen una ligera superior actividad frente a enterococo, pero las cepas resistentes a ciprofloxacino son también generalmente resistentes a moxifloxacino y gatifloxacino.

Las mutaciones en el gen *parC*, que codifica la subunidad ParC de la topoisomerasa IV, son el primer paso que se produce para la adquisición de resistencia a quinolonas en los enterococos, a los que pueden seguir mutaciones adicionales en el gen *gyrA*, que codifica la

subunidad GyrA de la ADN girasa, con lo que se aumenta el nivel de resistencia a las quinolonas. En general, la mayoría de las cepas resistentes presenta mutaciones en los 2 genes. Estas mutaciones se relacionan con cambios aminoacídicos, casi siempre en la posición Ser83 de la ADN girasa y en la posición Ser80 de la topoisomerasa IV. La resistencia de bajo nivel a las fluoroquinolonas también puede ser debida a alteraciones en la captación de estos antimicrobianos al interior de la célula bacteriana^{8,17,35}.

Resistencia a oxazolidinonas

En general, esta resistencia es poco frecuente, se ha descrito en *E. faecium* y en *E. faecalis* y se debe a la mutación G2576T en la subunidad 23S del ARN ribosómico. Los enterococos poseen múltiples copias del gen que codifica el 23S ARN ribosómico y se produce mayor nivel de resistencia a mayor número de alelos mutados en este gen (con un solo alelo mutado la CMI de linezolid es de 4-8 mg/l, mientras que con 5 alelos mutados la CMI sube a 64 mg/l). La mayoría de los casos comunicados procedía de pacientes que habían recibido linezolid durante largos períodos y se seleccionaron en presencia del antibiótico, aunque también se ha descrito la diseminación clonal. Asimismo, también existen cepas de enterococo que poseen un mecanismo de resistencia transferible a linezolid mediado por el gen *cfz*, que codifica una metilasa ribosómica^{36,37}.

Sensibilidad disminuida a la daptomicina

La daptomicina es un antimicrobiano con actividad bactericida *in vitro* frente a los ERG y hay pocos datos sobre la potencial emergencia de cepas de enterococo con sensibilidad disminuida a este lipopéptido. Se han descrito aislados de *E. faecium* y *E. faecalis* que desarrollaron resistencia a daptomicina durante el tratamiento con este antimicrobiano, alcanzando CMI de hasta 16 mg/l³⁸. En *S. aureus* se ha demostrado que esta sensibilidad disminuida se debe a mutaciones en los genes *mprF*, *yycG*, *rpoB* y *rpoC* que conducen a alteraciones en la membrana celular impidiendo la acción de la daptomicina; sin embargo, en los enterococos parece ser que el mecanismo genético es distinto y que las mutaciones en uno de los genes implicados en esta resistencia que codifica una cardiolipina sintetasa (el gen *cls*) conducen a alteraciones en la permeabilidad de la membrana y a resistencia^{39,40}. Actualmente, la prevalencia de cepas con sensibilidad disminuida a la daptomicina puede estar sobrestimada debido a la diseminación clonal de determinadas cepas en algunas instituciones sanitarias³⁸.

Epidemiología de la resistencia de los enterococos en España

Como se indicó anteriormente, la mayoría de las infecciones por enterococo en humanos están causadas por *E. faecalis*, pero *E. faecium* es el responsable de la mayoría de las infecciones por enterococos multirresistentes. Las infecciones producidas por otras especies de enterococo son poco frecuentes y, generalmente, son debidas a cepas que no presentan problemas de multirresistencia.

Según los datos de vigilancia de la resistencia en Europa recogidos en el informe EARS-Net de 2009 (<http://ecdc.europa.eu>), en las 2 últimas décadas se ha producido un aumento de las infecciones por enterococo en los hospitales europeos y en particular las debidas a *E. faecium* por la expansión del CC17, pero también debido a la diseminación de los complejos clonales de alto riesgo CC2 y CC9 de *E. faecalis*⁴¹. Paralelamente al aumento de estos complejos clonales se ha producido un aumento de la resistencia a glucopéptidos y de la RAN a aminoglucósidos. En el caso de *E. faecium* hay que añadir además el aumento de la resistencia a ampicilina². En Estados Unidos, ya en el año 2000, el 90% de las cepas de *E. faecium* eran resistentes a este antimicrobiano en algunas instituciones^{1,3}. En Europa se ha producido un aumento similar con una década de desfase, de modo que

el informe del EARS-Net refleja tasas de *E. faecium* resistentes a ampicilina superiores al 90% en infecciones invasivas en muchos países⁴. En España, en un estudio realizado con 3.469 cepas de enterococo aisladas de sangre durante el período 2001-2006 (el 80,3% *E. faecalis* y el 19,7% *E. faecium*), el porcentaje de resistencia a la ampicilina fue del 65,1% para *E. faecium* (el 49,2% en 2001 y el 75,4% en 2006) y el 1,3% para *E. faecalis*. La inmensa mayoría de los aislados de *E. faecium* resistentes a ampicilina (con RAN a aminoglucósidos o sin ella) eran también resistentes a quinolonas y a eritromicina².

La RAN a aminoglucósidos, y en particular la RAN a gentamicina, es más frecuente en *E. faecalis* que en *E. faecium*. La RAN a gentamicina (CMI > 256-500 mg/l), que implica RAN a todos los aminoglucósidos más frecuentemente utilizados en la práctica clínica, anula el efecto sinérgico bactericida de su asociación con un agente activo en la pared bacteriana y el tratamiento no se va a beneficiar con esta asociación que, por tanto, no debe utilizarse^{1,3,5}. En España, los porcentajes de RAN a gentamicina varían, del 26-47% para *E. faecalis* y el 12-26% para *E. faecium*, según las series. Los porcentajes de RAN a estreptomina generalmente son más elevados, si bien este fármaco ha dejado de utilizarse casi completamente²⁻⁵. En Europa, el informe del EARS-Net ha documentado que la RAN a gentamicina, tanto de *E. faecium* como de *E. faecalis*, es elevada, aunque en los últimos años parece haberse estabilizado en torno al 30-50%, según los países. No obstante, la proporción de cepas con RAN a aminoglucósidos puede sufrir grandes variaciones con el tiempo debido a la existencia de brotes⁴.

Tras la aparición de enterococos resistentes a ampicilina y con RAN a aminoglucósidos en los ochenta, la vancomicina representaba la única opción terapéutica para las infecciones enterocócicas graves. Debido a la gran utilización de la vancomicina, la prevalencia de ERG aumentó, principalmente en Estados Unidos, en unidades de cuidados intensivos, y sobre todo en la especie *E. faecium*, cuya prevalencia está en torno al 50-70% en este país⁴². En Europa, aunque se documentaron brotes epidémicos de ERG en diversos países en la década de los ochenta, y a diferencia de Estados Unidos, producidos la mayoría en unidades de nefrología y hematología, las tasas de resistencia en general permanecieron inferiores al 5% hasta finales de la década de los noventa. Actualmente se han estabilizado en torno al 5-10%. La mayoría de las cepas de ERG descritas en Europa pertenecen a la especie *E. faecium* con el fenotipo VanA. Estas cepas, además son con frecuencia resistentes a ampicilina y presentan RAN a gentamicina y estreptomina^{4,23,43}. En los estudios en los que se ha analizado la prevalencia de colonización gastrointestinal con ERG ésta es mayor que la incidencia de infección por estos organismos. Según los datos del EARS-Net de 2009, las tasas de *E. faecium* resistente a vancomicina oscilan entre la ausencia de estas cepas en 5 países y cifras superiores al 25% en Grecia, Irlanda y Luxemburgo, probablemente debidas a la existencia de brotes. Según este informe, en España la resistencia de *E. faecium* a la vancomicina fue del 2,6%⁴. Aunque en nuestro país se han descrito ocasionalmente brotes epidémicos de ERG en prácticamente todas las áreas geográficas, en general, los porcentajes de resistencia han permanecido inferiores al 5%^{5,6,44-47}. La mayoría de estos brotes se han debido a cepas tanto de *E. faecium* como de *E. faecalis* con el fenotipo VanB, y ocasionalmente también con el fenotipo VanA. En un estudio multicéntrico reciente el porcentaje de resistencia a la vancomicina en aislados productores de bacteriemia fue del 3,9% en *E. faecium* y del 0,4% en *E. faecalis*². Otros antibióticos como quinupristina-dalfopristina, linezolid, daptomicina y tigeciclina presentan buena actividad frente a los enterococos multirresistentes, incluyendo los resistentes a glucopéptidos. No obstante, hay que destacar que quinupristina-dalfopristina presenta actividad sólo frente a *E. faecium* (nunca frente a *E. faecalis*) y que es frecuente el desarrollo de resistencias durante el tratamiento con este antimicrobiano. Además, España es uno de los países con los índices más elevados de resistencia de *E. faecium* a quinupristina-dalfopristina (23-45%)³. Por el contrario, linezolid, daptomicina y ti-

geciclina siguen siendo opciones terapéuticas adecuadas para el tratamiento de infecciones causadas por enterococos multirresistentes. No obstante, se han descrito casos puntuales, generalmente durante tratamientos prolongados con linezolid, y brotes de infecciones por cepas tanto de *E. faecalis* como de *E. faecium* resistentes a linezolid en algunos hospitales españoles^{37,48,49}.

En resumen, si bien en España la resistencia de los enterococos a los beta-lactámicos y la RAN a aminoglucósidos es elevada, en los últimos años éstas parecen haberse estabilizado y *E. faecalis* permanece casi uniformemente sensible a la ampicilina. Por otra parte, salvo la aparición de brotes, en general, la resistencia de los enterococos a los glucopéptidos es baja, y los nuevos antimicrobianos son casi uniformemente activos frente a estos microorganismos. No obstante, la gran diseminación de los complejos clonales de alto riesgo como el CC2 y CC9 en el caso de *E. faecalis* y el CC17 en *E. faecium* hace necesario continuar realizando estudios de vigilancia en los hospitales no solamente de la resistencia a los diferentes antimicrobianos utilizados para el tratamiento de las infecciones por enterococo, sino también encaminados a detectar estos CC de alto riesgo, como forma de predecir tendencias futuras en cuanto a la adquisición de determinados genes de resistencia⁴¹.

Conflicto de intereses

La autora declara no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Murray BE. The life and times of the *Enterococcus*. Clin Microbiol Rev. 1990;3:46-65.
- Oteo J, Cuevas O, Navarro C, Aracil B, Campos J. Trends in antimicrobial resistance in 3469 enterococci isolated from blood (EARSS experience 2001-06, Spain): increasing ampicillin-resistance in *Enterococcus faecium*. J Antimicrob Chemother. 2007;59:1044-5.
- Cercenado E, Coque MT. Epidemiología de la resistencia a los antimicrobianos en microorganismos grampositivos. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2006;5:14-26.
- Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2009. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Surveillance reports [consultado 24-11-2010]. Disponible en: <http://ecdc.europa.eu>
- Cercenado E. Actualización de las resistencias en las bacterias grampositivas. Med Clin (Barc). 2010;135 Supl 3:10-5.
- Valdezate S, Labayru C, Navarro A, Mantecón MA, Ortega M, Coque TM, et al. Large clonal outbreak of multidrug-resistant CC17 ST17 *Enterococcus faecium* containing Tn5382 in a Spanish hospital. J Antimicrob Chemother. 2009;63:17-20.
- Top J, Willems R, Van der Velden S, Asbroek M, Bonten M. Emergence of clonal complex 17 *Enterococcus faecium* in the Netherlands. J Clin Microbiol. 2008;46:214-9.
- Torres C, Cercenado E. Lectura interpretada del antibiograma de cocos grampositivos. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2010;28:541-53.
- Zhou Q, Moore C, Eden S, Tong A, McGeer A. Factors associated with acquisition of vancomycin-resistant enterococci (VRE) in roommate contacts of patients colonized or infected with VRE in a tertiary care hospital. Infect Control Hosp Epidemiol. 2008;29:398-403.
- Gavaldá J, Torres C, Tenorio C, López P, Zarazaga M, Capdevilla JA, et al. Efficacy of ampicillin plus ceftriaxone in the treatment of experimental endocarditis due to *Enterococcus faecalis* highly-resistant to aminoglycosides. Antimicrob Agents Chemother. 1999;43:639-46.
- Klibi N, Sáenz Y, Zarazaga M, Ben Slama K, Ruiz-Larrea F, Boudabous A, et al. Polymorphism in *pbp5* gene detected in clinical *Enterococcus faecium* strains with different ampicillin MICs from a Tunisian hospital. J Chemother. 2008;20:436-40.
- Fontana R, Bertolini G, Amalfitano G, Canepari P. Characterization of penicillin-resistant *Streptococcus faecium* mutants. FEMS Microbiol Lett. 1984;25:21-5.
- Cercenado E, Vicente MF, Díaz MD, Sánchez-Carrillo C, Sánchez-Rubiales M. Characterization of clinical isolates of beta-lactamase negative highly-ampicillin-resistant *Enterococcus faecalis*. Antimicrob Agents Chemother. 1996;40:2420-2.
- Mainardi JL, Legrand R, Arthur M, Schoot B, Van Heijenoort, Gutmann L. Novel mechanism of beta-lactam resistance due to bypass of DD-transpeptidation in *Enterococcus faecium*. J Biol Chem. 2000;275:16490-6.
- Tomayko JF, Zscheck KK, Singh KV, Murray BE. Comparison of the beta-lactamase gene cluster in clonally distinct strains of *Enterococcus faecalis*. Antimicrob Agents Chemother. 1996;40:1170-4.
- Coudron PE, Markowitz SM, Wong ES. Isolation of a beta-lactamase producing strain of *Enterococcus faecium*. Antimicrob Agents Chemother. 1992;36:1125-6.
- Sarti M, Campanile F, Sabia C, Santagati M, Scuderi C, Gargiulo R, Stefani S. Isolation and identification of a beta-lactamase in polyclonal clinical isolates of *Enterococcus faecium*. Abstract C1-1785. 51st Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Chicago, Ill. USA. American Society for Microbiology 2011.
- Chow JW, Kak V. Acquired antibiotic resistances in enterococci. En: MS Gilmore, et al, editors. The enterococci: pathogenesis, molecular biology and antibiotic resistance. Washington DC: ASM Press; 2002.
- Chow JW. Aminoglycoside resistance in enterococci. Clin Infect Dis. 2001;31:586-9.
- Del Campo R, Tenorio C, Rubio C, Castillo J, Torres C, Gómez-Lus R. Aminoglycoside-modifying enzymes in high-level streptomycin and gentamicin resistant *Enterococcus* spp. in Spain. Intern J Antimicrob Agents. 2000;15:221-6.
- Del Campo R, Galán JC, Tenorio C, Ruiz-Garbajosa P, Zarazaga M, Torres C, et al. New *aac(6)-I* genes in *Enterococcus hirae* and *Enterococcus durans*: effect on beta-lactam/aminoglycoside synergy. J Antimicrob Chemother. 2005;55:1053-5.
- Cetinkaya Y, Falk P, Mayhall CG. Vancomycin-resistant enterococci. Clin Microbiol Rev. 2000;13:686-707.
- Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. Clin Infect Dis. 2004;39:309-17.
- Goossens H, Jabes D, Rossi R, Lammens C, Privitera G, Courvalin P. European survey of vancomycin-resistant enterococci in at-risk hospital wards and in vitro susceptibility testing of ramoplanin against these isolates. J Antimicrob Chemother. 2003;51 Suppl 3:5-12.
- Phillips I, Casewell M, Cox T, De Groot B, Friis C, Jones R, et al. Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. J Antimicrob Chemother. 2004;53:28-52.
- Kühn I, Iversen A, Finn M, Greko C, Burman LG, Blanch AR, et al. Occurrence and relatedness of vancomycin-resistant enterococci in animals, humans, and the environment in different European regions. Appl Environ Microbiol. 2005;71:5383-90.
- Abadía-Patiño L, Christiansen K, Bell J, Courvalin P, Périchosn B. VanE-type vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* clinical isolates from Australia. Antimicrob Agents Chemother. 2004;48:4882-5.
- Boyd DA, Willey BM, Fawcett D, Gillani N, Mulvey MR. Molecular characterization of *Enterococcus faecalis* N06-0364 with low-level vancomycin resistance harboring a novel D-Ala-D-Ser gene cluster, *vanL*. Antimicrob Agents Chemother. 2008;52:2667-72.
- Xu X, Lin D, Yan G, Ye X, Wu S, Guo Y, et al. *vanM*, a new glycopeptide resistance gene cluster found in *Enterococcus faecium*. Antimicrob Agents Chemother. 2010;54:4643-7.
- Lebreton F, Depardieu F, Bourdon N, Fines-Guyon M, Berger P, Camiade S, et al. D-Ala-D-Ser VanN-type transferable vancomycin resistance in *Enterococcus faecium*. Antimicrob Agents Chemother. 2011;55:4606-12.
- Depardieu F, Foucault ML, Bell J, Dubouix A, Guibert M, Lavigne JP, et al. New combinations of mutations in VanD-type vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, and *Enterococcus avium* strains. Antimicrob Agents Chemother. 2009;53:1952-63.
- Boyd DA, Du T, Hizon R, Kaplen B, Murphy T, Tyler S, et al. VanG-type vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* strains isolated in Canada. Antimicrob Agents Chemother. 2006;50:2217-21.
- Van Bambeke F, Chauvel M, Reynolds PE, Fraimow HS, Courvalin P. Vancomycin-dependent *Enterococcus faecalis* clinical isolates and revertant mutants. Antimicrob Agents Chemother. 1999;43:41-7.
- Portillo A, Ruiz-Larrea F, Zarazaga M, Alonso A, Martínez JL, Torres C. Macrolide resistance genes in *Enterococcus* spp. Antimicrob Agents Chemother. 2000;44:967-71.
- Soltani M, Beighton D, Philpott-Howard J, Woodford N. Mechanisms of resistance to quinupristin-dalfopristin among isolates of *Enterococcus faecium* from animals, raw meat, and hospital patients in western Europe. Antimicrob Agents Chemother. 2000;44:433-6.
- Kanematsu E, Deguchi T, Yasuda M, Kawamura T, Nishino Y, Kawada Y. Alterations in the GyrA subunit of DNA gyrase and the ParC subunit of DNA topoisomerase IV associated with quinolone resistance in *Enterococcus faecalis*. Antimicrob Agents Chemother. 1998;42:433-5.
- Meka VG, Gold HS. Antimicrobial resistance to linezolid. Clin Infect Dis. 2004;39:1010-5.
- Cercenado E, Marín M, Insa R, Bouza E. Emerging linezolid resistance: dissemination of the *cfi* gene among *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* and inability of the Etest method for detection. Abstract C2-1490. 50th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Boston, MA. USA. American Society for Microbiology 2010.
- Kelesidis T, Humphries R, Uslan DZ, Pegues DA. Daptomycin nonsusceptible enterococci: an emerging challenge for clinicians. Clin Infect Dis. 2011;52:228-34.
- Montero CI, Stock F, Murray PR. Mechanisms of resistance to daptomycin in *Enterococcus faecium*. Antimicrob Agents Chemother. 2008;52:1167-70.
- Palmer KL, Daniel A, Ardí C, Silverman J, Gilmore MS. Genetic basis for daptomycin resistance in enterococci. Antimicrob Agents Chemother. 2011;55:3345-56.
- Ruiz-Garbajosa P, Coque TM, Cantón R, Willems R, Baquero F, Del Campo R. Los complejos clonales de alto riesgo CC2 y CC9 están ampliamente representados en cepas hospitalarias de *Enterococcus faecalis* aisladas en España. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2007;25:513-8.
- Moellering RC Jr. Vancomycin-resistant enterococci. Clin Infect Dis. 1998;26:1996-9.
- Francia MV. *Enterococcus* resistentes a glucopéptidos en Europa: un problema hospitalario creciente. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2005;23:457-9.

44. Montesinos I, Campos S, Ramos MJ, Ruiz-Garbajosa P, Riverol D, Batista N, et al. Estudio del primer brote por *Enterococcus faecium vanA* en Canarias. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2010;28:430-4.
45. Maciá MD, Juan C, Oliver A, Hidalgo O, Pérez JL. Molecular characterization of a glycopeptide-resistant *Enterococcus faecalis* outbreak in an intensive unit. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2005;23:460-3.
46. Nebreda T, Oteo J, Aldea C, García-Estébanez C, Gastelu-Iturri J, Bautista V, et al. Hospital dissemination of clonal complex 17 vanB2-containing *Enterococcus faecium*. *J Antimicrob Chemother.* 2007;59:806-7.
47. Torres C, Escobar S, Portillo A, Torres L, Rezusta A, Ruiz-Larrea R, et al. Detection of clonally related vanB2-containing *Enterococcus faecium* strains in two Spanish hospitals. *J Med Microbiol.* 2006;55:1237-43.
48. Kainer MA, Devasia RA, Jones TF, Simmons BP, Meltouk K, Chow S, et al. Response to emerging infection leading to outbreak of linezolid-resistant enterococci. *Emerg Infect Dis.* 2007;13:1024-30.
49. Gómez-Gil R, Romero-Gómez MP, García-Arias A, Ubeda MG, Busselo MS, Cisterna R, et al. Nosocomial outbreak of linezolid-resistant *Enterococcus faecalis* infection in a tertiary care hospital. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2009;65:175-9.