



Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Actualización en la resistencia antibiótica en Gram positivos

Carmen Lozano^{a,b} y Carmen Torres^{a,b,*}

^aÁrea de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de La Rioja, Logroño, España

^bÁrea de Microbiología Molecular, Centro de Investigación Biomédica de La Rioja (CIBIR), Logroño, España

RESUMEN

Palabras clave:

Dalbavancina
 Glucopéptidos
 Lipoglucopeptidos
Staphylococcus aureus resistente a metilina
 Microorganismos Gram positivos
 multirresistentes
 Enterococos resistentes a la vancomicina

El problema de la resistencia a los antibióticos en general, y en concreto en las especies de bacterias Gram positivas *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis* y *Streptococcus pneumoniae*, constituye una grave amenaza para la salud pública. Estos microorganismos presentan múltiples mecanismos de resistencia frente a los agentes utilizados, hoy en día, en la práctica clínica. Muchos de estos mecanismos de resistencia son comunes y se identifican en estas 4 especies bacterianas. Otros, sin embargo, parecen ser más específicos. En cualquier caso, la prevalencia de un mecanismo de resistencia y su capacidad de diseminación varían considerablemente en función del microorganismo. En esta revisión nos centraremos en los mecanismos de resistencia a los antibióticos con mayor relevancia clínica para el tratamiento de infecciones producidas por estas especies bacterianas, haciendo especial hincapié en los nuevos mecanismos descritos tanto para antibióticos de amplio uso como para los más nuevos agentes como lipopéptidos, lipoglucopeptidos, gliciliclinas u oxazolidinonas.

© 2016 Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Update on antibiotic resistance in Gram-positive bacteria

ABSTRACT

Keywords:

Dalbavancin
 Glycopeptides
 Lipoglycopeptides
 Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*
 Multiresistant Gram-positive
 microorganisms
 Vancomycin-resistant enterococci

Antimicrobial resistance among Gram-positive bacteria, especially in *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, and *Streptococcus pneumoniae*, is a serious threat to public health. These microorganisms have multiple resistance mechanisms to agents currently used in clinical practice. Many of these resistance mechanisms are common to all 4 of these bacterial species, but other mechanisms seem to be more specific. The prevalence and dissemination of these mechanisms varies considerably, depending on the microorganism. This review discusses the resistance mechanisms to the most clinically relevant antibiotics, with particular emphasis on the new mechanisms described for widely used antibiotics and for newer agents such as lipopeptides, lipoglycopeptides, glycyliclins and oxazolidinones.

© 2016 Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

Esta revisión se centra en el estudio de la resistencia antibiótica en bacterias Gram positivas y en concreto en las especies bacterianas *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis* y *Streptococcus pneumoniae*.

Aunque muchos de los mecanismos de resistencia a antibióticos son compartidos por estas especies, otros son más específicos y la prevalencia y diseminación de estos en los distintos géneros bacterianos varía considerablemente. En los últimos años están emergiendo nuevos mecanismos de resistencia a antibióticos ampliamente utilizados o mecanismos de resistencia frente a los más nuevos agentes antimicrobianos. La manera en que se propagan estas bacterias Gram positivas resistentes a antibióticos viene, además, muy marcada por la epidemiología de los diferentes géneros bacterianos.

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: carmen.torres@unirioja.es (C. Torres).

Resistencia antibiótica en *Staphylococcus aureus*

Betalactámicos

Un elevado porcentaje de aislados clínicos de *S. aureus* son en la actualidad resistentes a la penicilina (> 90%) por la acción de betalactamasas codificadas por el gen *blaZ*, de las cuales existen 4 variantes (A, B, C y D).

La resistencia a metilicina en *S. aureus* (cepas de SARM [*S. aureus* resistente a metilicina]) se debe a la síntesis de una proteína de unión a la penicilina modificada (PBP-2a), que presenta baja afinidad por los antibióticos betalactámicos y está codificada por el gen *mecA*, integrado en el *cassete* cromosómico *SCCmec*. Estas cepas son resistentes a prácticamente todos los betalactámicos, con la excepción de las cefalosporinas de quinta generación (ceftarolina y cefbiprole). En Europa, según los últimos datos de la EARS-Net (European Antimicrobial Resistance Surveillance Network) de 2014, la prevalencia de cepas de SARM en infecciones invasivas se encuentra entre el 1 y el 50% en función de los países y se ha detectado un gradiente creciente dirección norte-sur¹. En el caso de España, los porcentajes detectados a partir de 2011 son del 10 al 25% y se ha evidenciado un descenso en relación con años anteriores, aunque siguen siendo valores elevados.

La epidemiología de SARM ha sufrido importantes cambios en las últimas décadas. Así, las cepas de SARM se identificaron primeramente en ambientes hospitalarios, pero posteriormente se empezaron a detectar también en ambientes comunitarios, en personas sin factores de riesgo típicos asociados a la infección por este microorganismo. En 2005 se describió un nuevo tipo de cepas de SARM asociadas a ganado (SARM-AG), pertenecientes a la variante genética CC398. Estas cepas de SARM CC398 se han detectado en diferentes animales de producción (especialmente en el cerdo) y también en personas en contacto con estos, tanto colonizando como causando infección. Las cepas de SARM CC398 son casi siempre resistentes a la tetraciclina (buen marcador fenotípico); suelen presentar un fenotipo de multiresistencia a antibióticos y a veces portan genes de resistencia a antibióticos inusuales (*lnuA*, *lnuB*, *vgaA*, etc.) o genes de resistencia a metales pesados^{2,3}. Aunque CC398 es todavía una línea genética de SARM minoritaria en nuestros hospitales, cada vez se detecta con más frecuencia, sobre todo en pacientes que presentan contacto con animales de granja, y recientemente también se está describiendo en pacientes sin contacto conocido con animales⁴⁻⁶.

En 2011 se describió en *S. aureus* un nuevo gen de resistencia a la metilicina (*mecC*) que presenta una identidad del 69% con *mecA*. Dicho gen codifica una proteína con un 63% de identidad con la PBP-2a, con más afinidad por oxacilina que por cefoxitina y que está integrado en el *SCCmec* tipo XI^{7,8}. El mecanismo *mecC* se ha detectado en determinadas líneas genéticas de SARM (CC130, entre otras), en cepas provenientes de ganado, animales salvajes y medio ambiente y se está encontrando también en cepas causantes de infecciones en humanos^{8,9}, aunque su frecuencia es aún muy baja. La detección de SARM-*mecC* requiere pruebas específicas adicionales a las de detección de *mecA*.

En los últimos años se han detectado cepas de SARM que presentan resistencia a la ceftarolina (concentraciones mínimas inhibitorias [CMI] > 1 µg/ml), que se ha asociado con cambios aminoacídicos en la proteína PBP-2a. Determinadas sustituciones en el dominio de unión alostérico de la PBP-2a (N146K, E150K y E239K) se han relacionado con CMI a ceftarolina en el rango 2-4 µg/ml; por otro lado, altos niveles de resistencia a ceftarolina (CMI, 8 a > 32 µg/ml) se han asociado con las mutaciones en el bolsillo de unión a ceftarolina de la región transpeptidasa de la PBP-2a (E447K y Y446N/E447K)^{10,11}. Un estudio reciente indica que mutaciones en el promotor del gen de la PBP-4 producirían la sobreexpresión de PBP-4 y se relacionaría con incrementos en la CMI a ceftarolina; se sugiere que otros mecanismos no relacionados con mutaciones en *mecA* podrían también aso-

ciarse con resistencia a la ceftarolina¹². La resistencia a la ceftarolina es todavía poco frecuente y parece estar asociada a determinados complejos clonales, fundamentalmente CC5 y CC8, aunque también se ha detectado en CC22¹¹.

Por último, existen cepas de *S. aureus* que presentan resistencia de bajo nivel a la oxacilina (BORSA, *borderline-oxacillin-resistant S. aureus*), que pueden presentar el gen *mecA*, una sobreexpresión de betalactamasas o una hiperproducción o alteración de las PBP (1, 2 o 4)¹³.

Glucopéptidos y lipoglucopéptidos

Se han descrito cepas de *S. aureus* con resistencia intermedia a la vancomicina denominadas en inglés VISA (*vancomycin intermediate S. aureus*) y con alto nivel de resistencia a la vancomicina (VRSA, *vancomycin resistant S. aureus*). Estas últimas se deben a la adquisición del transposón Tn1546 de enterococos, en el cual se localiza el gen *vanA*. Hasta el momento sigue siendo muy poco frecuente encontrar este tipo de cepas, aunque ya han aparecido en Estados Unidos, América del Sur, Europa y Asia¹⁴⁻¹⁶. El gen *vanA* se ha identificado en cepas de *S. aureus* de las líneas genéticas CC5, CC8 y CC30^{14,15}. En cuanto a las cepas VISA, los mecanismos de resistencia causantes de este fenotipo de resistencia están menos definidos. Se ha evidenciado que cepas con resistencia intermedia a la vancomicina pueden surgir durante el tratamiento del paciente con este antibiótico. Posibles mecanismos que se han sugerido para explicar este hecho son mutaciones en determinantes que controlan la biosíntesis de la pared celular y/o mutaciones en el gen ribosomal *rpoB*. Hasta ahora, se han ido identificando cepas VISA de las líneas genéticas multiresistentes más prevalentes¹⁷.

Los lipoglucopéptidos (dalbavancina, telavancina y oritavancina) poseen una excelente actividad frente a SARM y frente a *S. aureus* resistentes a otros antibióticos, incluidos aislados multiresistentes. En el caso de la dalbavancina, solo se han detectado hasta la fecha cepas muy excepcionales con CMI algo incrementadas para este antibiótico (0,25-0,5 µg/ml)¹⁸.

Lipopéptidos

Se han descrito cepas de *S. aureus* resistentes a daptomicina, aún poco frecuentes, y se ha sugerido como posibles mecanismos de resistencia cambios en la membrana y en la pared celular^{19,20} y la sobreexpresión de *dltA*^{21,22}. La tolerancia a este agente se puede deber a diversas mutaciones, y recientemente se han reportado mutaciones en los genes *vraS* y *pita*^{23,24}.

Macrólidos-lincosamidas-estreptograminas

La resistencia a estos antibióticos es frecuente en *S. aureus*. El mecanismo de resistencia más habitual en cepas de *S. aureus* es el mediado por los genes *erm*, los cuales codifican metilasas y confieren resistencia a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas del grupo B. Los genes más frecuentemente detectados en esta especie son *erm(A)* y *erm(C)*, seguidos por el gen *erm(B)*. Se ha observado que estos 3 genes aparecen tanto solos como en varias combinaciones. Otros genes *erm* que también se han detectado en este género bacteriano son *erm(F)*, *erm(G)*, *erm(T)*, *erm(Q)*, *erm(Y)* y *erm(33)*. Entre ellos, y aunque su frecuencia de detección es aún baja, destaca el gen *erm(T)*, el cual se describió por primera vez en una cepa SARM CC398 de origen porcino²⁵. En la actualidad, este gen se asocia principalmente a cepas de SASM (*S. aureus* sensible a metilicina) de esta línea genética (CC398). Existen otros mecanismos de resistencia menos comunes —como son los mediados por los genes *msr(A)/msr(B)* y *mph(C)*— que codifican bombas de expulsión y una fosfotransferasa respectivamente y que confieren resistencia a macrólidos y estreptograminas. Los genes *msr(A)/msr(B)* se han asociado con la línea gené-

tica CC5-t067 la cual es, por el momento, la más predominante en los hospitales españoles²⁶. Existen otros mecanismos de resistencia que confieren fenotipos de resistencia más inusuales, pero cuya detección ha aumentado debido a la diseminación de clones asociados a ganado. Se trata de los genes *Inu* codificantes de lincosamidas nucleotidiltransferasas, *vga* e *lsa* codificantes de transportadores ABC, o *cfr* de una metiltransferasa. Durante los últimos años se han descrito muchos de estos genes y su frecuencia es por ahora baja, pero debe vigilarse su posible diseminación^{27,28}. El gen *cfr* destaca porque confiere un fenotipo de multiresistencia combinada a lincosamidas, estreptograminas, fenicóles, pleuromutilinas y oxazolidinonas²⁷.

Fluoroquinolonas

La resistencia a fluoroquinolonas se observa de manera muy frecuente en cepas de SARM clínicas. Se produce, o por mutaciones en las subunidades GrlA y GrlB (ADN topoisomerasa IV) y GyrA y GyrB (ADN-girasa), o bien por alteración en la entrada del antibiótico mediante mutaciones en el promotor o en el sistema de regulación de NorA que dan lugar a su sobreexpresión. La sobreexpresión de NorA se asocia además con resistencia a biocidas y en concreto con resistencia a sales de amonio cuaternario ampliamente utilizadas²⁹. Por norma general, las mutaciones responsables de la resistencia en *S. aureus* suelen producirse primero en la proteína GrlA (la más común S80F) y posteriormente en GyrA (normalmente S84L).

Aminoglucósidos

En *S. aureus*, la resistencia a estos antibióticos es de frecuencia moderada y se produce principalmente por la acción de enzimas modificantes codificadas por los genes *aac(6)-Ie-aph(2'')*-Ia, *ant(4')*-Ia, *aph(3')*-IIIa y *ant(6)-Ia*, *ant(3'')*-Ia y *str*. Estos genes se han detectado vehiculizados por plásmidos y transposones, lo que favorece su diseminación entre bacterias. A nivel clínico, el gen *ant(4')*-Ia es el más prevalente debido a la alta frecuencia del clon CC5-t067²⁶.

Tetraciclinas y gliciliclinas

La resistencia a la tetraciclina es relativamente poco frecuente en *S. aureus*, y especialmente en SARM. Sin embargo, la resistencia a este antibiótico se está asociando con cepas de SARM-AG, especialmente en las del complejo clonal CC398, e incluso se ha propuesto como marcador fenotípico para detectar este tipo de clones⁴⁻⁶. La resistencia a tetraciclinas puede ser debida a un aumento del eflujo activo o a una protección del ribosoma. Los 2 genes más habitualmente encontrados en *S. aureus* son *tet(K)* (resistencia a tetraciclina) y *tet(M)* (resistencia cruzada a tetraciclina, doxiciclina y minociclina). Además, en cepas de origen animal ha comenzado a detectarse el gen *tet(L)*, cuyo origen está en cepas del género *Bacillus* y que suele localizarse en plásmidos³⁰. Este gen se detecta normalmente en combinación con *tet(M)* o con *tet(M)* y *tet(K)*.

La tigeciclina es una gliciliciclina (derivado semisintético de la minociclina) que no se ve afectada por los determinantes de resistencia de tetraciclinas. No obstante, ya se han detectado cepas resistentes³¹. Se cree que la resistencia a tigeciclina en estafilococos se debe a bombas de eflujo y en especial a bombas MepA que darían resistencia tanto a tigeciclina como a fluoroquinolonas³².

Oxazolidinonas (linezolid)

Aunque la mayoría de las cepas de *S. aureus* (incluido SARM) son sensibles a linezolid, se han detectado cepas resistentes que surgen en el curso de tratamientos prolongados o por diseminación de clones hospitalarios. Esta resistencia se debe sobre todo a mutaciones en el ARNr 23 y/o en las proteínas ribosomales L3, L4 y L22. Se han encontrado varias mutaciones en el ARNr 23S, siendo la más habitual G2576T

(según la nomenclatura de *Escherichia coli*). Además, el gen *cfr* anteriormente mencionado también proporciona resistencia a este antibiótico²⁷. Este gen posee un gran potencial para su diseminación al localizarse en elementos genéticos móviles^{33,34} (muchas veces junto a otros genes de resistencia) y al suponer un bajo coste biológico³⁵. Este mecanismo de resistencia pasa a veces desapercibido en los sistemas de vigilancia al conferir bajos niveles de resistencia a linezolid³⁶. Recientemente se ha descrito un nuevo gen de resistencia a linezolid (*optrA*) que, aunque se detecta principalmente en cepas de enterococos, se ha identificado también en una cepa de *Staphylococcus sciuri* formando parte de un plásmido de multiresistencia³⁷ y cuya evolución futura y posible transferencia a *S. aureus* debe vigilarse.

Mupirocina

Se distinguen 2 mecanismos de resistencia a mupirocina, uno mediado por mutaciones en el gen nativo codificante de la enzima isoleucil-ARNt sintetasa (*ileS*) y el otro debido a la adquisición de un plásmido que contiene el gen *mupA* (también conocido como *ileS2*), que codifica una enzima isoleucil-ARNt sintetasa adicional sin afinidad por mupirocina. El primero da lugar a resistencia de bajo nivel y el segundo de alto nivel. La resistencia a este antibiótico no era muy frecuente, pero en los últimos años parece estar aumentando³⁸.

Resistencia antibiótica en enterococos

Los enterococos presentan resistencia intrínseca a penicilinas semisintéticas (bajo nivel), lincosamidas, aminoglucósidos (en bajo nivel), vancomicina (especies de *Enterococcus gallinarum*, *E. casseliflavus* y *E. faecescens*), o polimixinas y estreptograminas (*E. faecalis*).

Betalactámicos

La frecuencia de enterococos resistentes a betalactámicos ha aumentado en los últimos años, especialmente en *E. faecium*. De hecho, en algunos hospitales europeos más del 90% de las cepas de *E. faecium* son resistentes a ampicilina (Austria, Dinamarca, Grecia y Reino Unido, entre otros)¹, siendo el porcentaje detectado en España del 82%. Esta alta prevalencia se relaciona con la diseminación de cepas de *E. faecium* resistentes a ampicilina pertenecientes a la línea genética CC17¹. Los mecanismos de resistencia consisten en la hiperproducción de PBP (como la PBP-4 en *E. faecalis* o la PBP-5 en *E. faecium*) o en mutaciones que conllevan cambios aminoacídicos en su sitio activo, siendo el más común las modificaciones en la PBP-5. Los cambios en la PBP-5 se detectan mayoritariamente en cepas de *E. faecium* y confieren un alto nivel de resistencia a ampicilina³⁹. Algunas cepas producen betalactamasas similares a las de tipo A producidas por estafilococos (codificadas por el gen *blaZ*) pero se trata de un mecanismo muy infrecuente y más propio de *E. faecalis* que de *E. faecium*^{40,41}.

Glucopéptidos y lipoglucopeptidos

Enterococcus es el género en el que la resistencia a glucopéptidos ha creado mayor alarma. Según los datos de la EARS-Net de 2014, en los países europeos las tasas de *E. faecium* resistentes a vancomicina rondan entre el 0 y el 25% (en España, 2,4%), aunque en algunos países como Irlanda se observan valores superiores al 40%. En cuanto a *E. faecalis* resistentes a vancomicina, su prevalencia es menor al 10% en todos los países europeos y en la mayoría es menor al 1% (en España, 0,1%)¹. Aunque la prevalencia no es muy elevada en Europa sí que se han descrito algunos brotes⁴². La resistencia a vancomicina en enterococos se debe a la síntesis de precursores de la pared celular modificados (codificados por genes *van*) con baja afinidad por los glucopéptidos. Se han descrito diversos genes, algunos con carácter intrínseco (*vanC*), y otros con carácter adquirido (*vanA*, *vanB*, *vanD*,

vanE, *vanG*, *vanL*, *vanM* y *vanN*)³⁹. En el caso de la especie *E. faecium*, se ha observado la diseminación global de la resistencia a vancomicina gracias a un clon mayoritario: el CC17⁴¹. Entre los distintos fenotipos de resistencia conferidos por estos genes, 2 de ellos destacan debido a su relevancia clínica. Se trata de los codificados por los genes *vanA* y *vanB*, los cuales se han descrito principalmente en las especies *E. faecalis* y *E. faecium* y con frecuencia se localizan en plásmidos y transposones que favorecen su diseminación. El primero de ellos se asocia con resistencia de alto nivel a vancomicina y teicoplanina y se localiza en el transposón Tn1546. Este gen *vanA* es el responsable de la mayoría de casos de infecciones en humanos causadas por enterococos resistentes a la vancomicina en todo el mundo y principalmente se identifica en cepas de *E. faecium*. En cuanto al gen *vanB*, confiere solo resistencia a vancomicina y se localiza normalmente en transposones conjugativos como Tn1549 o Tn5382.

Los lipogluco péptidos mantienen cierta actividad frente a los enterococos con operón *van*. La actividad frente al fenotipo *vanB* se mantiene para todos los lipogluco péptidos debido a la reducida inducción e incrementada unión. Sin embargo, solo la oritavancina mantiene la actividad frente al fenotipo *vanA* por sus múltiples mecanismos de acción, algo que no ocurre con la telavancina o la dalbavancina^{43,44}.

Lipopéptidos

La resistencia a daptomicina en enterococos es, por el momento, < 5% y es más común en *E. faecium* que en *E. faecalis*⁴⁵. Los mecanismos de resistencia se han asociado con cambios en 3 proteínas (LiaF, GdpD y Cls) y con mutaciones en sistemas de regulación que controlan la envoltura celular^{46,47}. Estudios recientes sugieren que la falta de sensibilidad a la daptomicina en cepas de enterococos de humanos podría haber surgido por transferencia horizontal a partir de fuentes ambientales y animales⁴⁸.

Macrólidos-lincosamidas-estreptograminas

Los enterococos son intrínsecamente resistentes a muchos de estos antibióticos y además pueden contener mecanismos adicionales de resistencia a estos. El mecanismo de resistencia a macrólidos más frecuente se debe a genes *erm* y el más común es el gen *erm(B)*. También se han detectado cepas que contienen el gen estafilocócico *msr(A)* o el gen estreptocócico *meff(A)*⁴⁹. La resistencia a estreptograminas puede deberse a modificaciones en la diana, inactivación del antibiótico o bombas de eflujo. Los genes de resistencia más habitualmente detectados son *vat(D)*, *vat(E)* y *vgb(A)*. Estos microorganismos también pueden contener genes de resistencia a lincosamidas, destacando el gen *lnu(B)*⁴¹. Como se observa en estafilococos, algunos de estos genes parecen tener su reservorio en cepas de origen animal. Muy recientemente se ha identificado un plásmido que contiene los genes *lnu(B)* y el gen *lsa(E)* junto a otros genes de resistencia en una cepa de *E. faecium* de origen porcino⁵⁰.

Fluoroquinolonas

La resistencia a fluoroquinolonas en enterococos es relativamente frecuente en clínica. Al igual que ocurría con los estafilococos, la resistencia a quinolonas en enterococos se debe principalmente a cambios aminoacídicos en las proteínas GrlA y GyrA. Lo más habitual es que aparezcan modificaciones en ambas dianas, siendo las más comunes en las posiciones S80 de GrlA (S80I, S80R o S80L, entre otros) y S83 de GyrA (S83I, S83Y, S83R o S83L, entre otros)⁴¹.

Aminoglucósidos

Según los datos de la EARS-Net de 2014, entre el 10 y el 90% de las cepas clínicas de *E. faecium* son resistentes a altos niveles de gentamicina (en España, el 35%) y en el caso de *E. faecalis* los porcentajes rondan del 10 al 70% (en España, el 39%)¹. La mayor parte de las cepas con resistencia de alto nivel a gentamicina (> 90%) contienen el gen que codifica la enzima bifuncional⁴¹. Las demás cepas pueden contener los genes *aph(2'')-Ic*, *aph(2'')-Id*, *aph(2'')-Ie* o *aph(2'')-Ib* y sus prevalencias varían en función de la región geográfica⁵¹. Otros genes encontrados con frecuencia son los genes de resistencia a estreptomina *ant(6)-Ia* y *ant(3'')-Ia* o, en menor medida, el gen de resistencia a kanamicina *aph(3'')-IIIa* o a tobramicina: *ant(4'')-Ia*. Existen también genes codificadores de enzimas inactivadoras que son intrínsecos de algunas especies: *aac(6'')-Ii* (*E. faecium*), *aac(6'')-Iid* (*E. durans*) y *aac(6'')-Iih* (*E. hirae*)⁵¹. Se han identificado además mutaciones puntuales en la proteína de la subunidad ribosómica 30S o modificaciones de la diana por medio de una metiltransferasa codificada por el gen *efmM* que también confieren resistencia a estos antibióticos^{51,52}.

micina (en España, el 35%) y en el caso de *E. faecalis* los porcentajes rondan del 10 al 70% (en España, el 39%)¹. La mayor parte de las cepas con resistencia de alto nivel a gentamicina (> 90%) contienen el gen que codifica la enzima bifuncional⁴¹. Las demás cepas pueden contener los genes *aph(2'')-Ic*, *aph(2'')-Id*, *aph(2'')-Ie* o *aph(2'')-Ib* y sus prevalencias varían en función de la región geográfica⁵¹. Otros genes encontrados con frecuencia son los genes de resistencia a estreptomina *ant(6)-Ia* y *ant(3'')-Ia* o, en menor medida, el gen de resistencia a kanamicina *aph(3'')-IIIa* o a tobramicina: *ant(4'')-Ia*. Existen también genes codificadores de enzimas inactivadoras que son intrínsecos de algunas especies: *aac(6'')-Ii* (*E. faecium*), *aac(6'')-Iid* (*E. durans*) y *aac(6'')-Iih* (*E. hirae*)⁵¹. Se han identificado además mutaciones puntuales en la proteína de la subunidad ribosómica 30S o modificaciones de la diana por medio de una metiltransferasa codificada por el gen *efmM* que también confieren resistencia a estos antibióticos^{51,52}.

Tetraciclinas y glicilciclinas

La resistencia a la tetraciclina en cepas de enterococos es bastante frecuente⁵¹. Los genes de resistencia a tetraciclina más habituales son *tet(L)* y *tet(M)*, aunque se ha descrito también de manera ocasional la presencia de otros genes como *tet(K)*, *tet(O)* y *tet(S)*⁵².

Con respecto a la tigeiclina, se han detectado algunas cepas de enterococos resistentes a este compuesto^{53,54}. Se cree que los mecanismos responsables de esta resistencia se basan en una elevada expresión de los genes *tetL* y *tetM*⁵⁴ o mutaciones en la proteína ribosomal *rpsJ*⁵⁵.

Oxazolidinonas

La resistencia a linezolid es muy rara en cepas de enterococos y se debe principalmente a mutaciones en el ARNr 23S. La mutación más común es la G2576T, aunque se han descrito otras (G2505A, U2500A, G2447U, C2534U o G2603U)⁵². Se han identificado también mutaciones en las proteínas L3 y L4⁵⁶. Además, en el año 2011, el gen *cfr* se identificó por primera vez en una cepa de *E. faecalis* aislada en una granja vacuna en China⁵⁷. Desde entonces se ha identificado también en una cepa clínica de *E. faecalis*⁵⁸ y en cepas porcinas de las especies *E. casseliflavus* y *E. gallinarum*⁵⁹. Muy recientemente, se han descrito 2 nuevos genes de resistencia a este antimicrobiano: el anteriormente mencionado *optrA* y el gen *cfr(B)*. El gen *optrA* se detectó por primera vez en cepas de *E. faecalis* y *E. faecium* aisladas a partir de humanos y animales de producción⁶⁰. Se ha encontrado por el momento en cepas de enterococos en China e Italia^{61,62} y se ha visto que forma parte de plásmidos; se cree que el elemento IS1216E desempeña un papel importante en su diseminación⁶³. En cuanto al gen *cfr(B)*, se ha descrito en cepas de *E. faecium* de humanos. Este nuevo gen es más similar al *cfr* encontrado en *Peptoclostridium difficile* que al hallado en estafilococos o en otras especies de enterococos⁶⁴.

Resistencia antibiótica en *Streptococcus pneumoniae*

La prevalencia de estreptococos resistentes a antibióticos ha aumentado globalmente, principalmente en el caso de *S. pneumoniae*, aunque existen diferencias importantes en función de las regiones geográficas y los serotipos más prevalentes. La evolución de los serotipos de *S. pneumoniae* y de determinadas resistencias a antibióticos ha estado muy ligada a la incorporación de las diferentes vacunas (PCV7, PCV10 y PCV13)^{65,66}.

Betalactámicos

La resistencia de *S. pneumoniae* a la penicilina y la sensibilidad disminuida a otros betalactámicos, como las cefalosporinas de tercera generación, se deben a mutaciones en los genes que codifican las PBP. Las principales PBP implicadas en la resistencia a los betalactá-

micos en este microorganismo son las PBP-1a, 2b y 2x. Los genes que codifican estas proteínas tienen una estructura en mosaico como resultado de que una parte de ellos ha sido reemplazada por variantes alélicas de genes de otras cepas de *S. pneumoniae* o de estreptococos del grupo *viridans*. Las alteraciones en las PBP-2b y 2x confieren resistencia de bajo nivel a la penicilina. Los cambios en la PBP-1a confieren resistencia de alto nivel a la penicilina en aquellos aislamientos que tienen alterada la PBP-2x o ambas (PBP 2b y PBP 2x). Las cefalosporinas de tercera generación no se unen a la PBP-2b, por lo que la resistencia a estos compuestos se debe a cambios en PBP-2x y 1a. Los neumococos resistentes a la penicilina presentan menor afinidad por los otros antimicrobianos betalactámicos¹³. Según los datos de la EARS-Net de 2014, el porcentaje de cepas con baja sensibilidad o resistencia a la penicilina en aislados invasivos en España está en torno al 28%¹.

Aunque se considera que la recombinación desempeña un papel primordial en el desarrollo de resistencia a betalactámicos, en el género estreptococos se ha observado que puede también haber una diseminación clonal que podría estar favoreciendo el incremento de cepas resistentes a la penicilina. Para compensar el coste biológico que les supone a los estreptococos poseer estos mecanismos de resistencia se han propuesto varios mecanismos: por un lado, las mutaciones en la PBP-1a y la PBP-2x parecen compensar el coste debido a mutaciones en la PBP-2b; por otro lado, la presencia de subpoblaciones que dan lugar a fenotipos de heteroresistencia también disminuiría el coste biológico. Este fenómeno detectado en otros Gram positivos (como los estafilococos) se ha identificado en estreptococos, pero por el momento solo en cepas resistentes a betalactámicos⁶⁷.

En el caso de la ceftarolina, este agente presenta una buena actividad en *S. pneumoniae* y solo muy escasos aislados presentan CMI incrementadas (0,5 µg/ml)⁶⁸.

Glucopéptidos y lipogluco péptidos

Hasta el momento no se ha detectado resistencia a la vancomicina en cepas de *S. pneumoniae*; lo que sí se ha detectado son cepas que presentan tolerancia a este antibiótico. Esta tolerancia se ha asociado a fallos terapéuticos y se considera precursora de un posible fenotipo de resistencia⁶⁹. Por ello, y aunque aún es muy ocasional, debe tenerse en cuenta. Desde la descripción de la primera cepa de *S. pneumoniae* tolerante a la vancomicina, se han detectado cepas con sensibilidad disminuida en varias partes del mundo⁶⁹. Se ha sugerido que el mecanismo de tolerancia estaría relacionado con la pérdida de actividad de una de las enzimas involucradas en la regulación de la autólisis bacteriana, requiriéndose la presencia de un polisacárido capsular mutado⁷⁰. Es importante puntualizar que sí se ha detectado resistencia a la vancomicina mediada por genes *van* (*vanA*, *vanB*, o *vanG*) en otras especies de estreptococos, tanto en cepas clínicas de humanos como en cepas de animales^{71,72}.

Los lipogluco péptidos —y en concreto la dalbavancina— poseen una excelente actividad en *S. pneumoniae*, incluidas cepas multirresistentes⁷³.

Macrólidos-lincosamidas-estreptograminas

El incremento de la resistencia a la penicilina en *S. pneumoniae* parece coincidir con un aumento en la resistencia a macrólidos. Según los últimos datos de la EARS-Net de 2014, en la mayor parte de Europa los valores están entre el 4 y el 50% (en España, el 20%)¹. Existen 2 mecanismos de resistencia a macrólidos en estreptococos que se basan en la modificación de la diana o en bombas de eflujo: el primero viene codificado por genes *erm* y el segundo por genes *mef*. Entre los genes *erm* —los cuales confieren resistencia a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas B— el mayoritario en cepas de *S. pneumoniae* es el gen *erm*(B). Este gen suele localizarse en transpo-

sones de la familia Tn916, en los cuales se encuentra también el gen *tet*(M) de resistencia a tetraciclinas. Además, en estos transposones se han detectado a veces otros genes de resistencia a aminoglucósidos o estreptotricinas⁷⁴.

Otro gen de resistencia detectado raramente en *S. pneumoniae*, pero habitual en *Streptococcus pyogenes*, es el gen *erm*(TR). Se ha descrito la localización de este gen en un transposón de gran tamaño, lo que podría explicar por qué es difícil detectarlo en otras especies de estreptococos. Dentro del género estreptococo se han identificado, además, otros genes *erm*, como *erm*(F), *erm*(Q) o *erm*(T)⁷⁵.

En cuanto a los genes *mef*, estos genes codifican bombas de eflujo y confieren solo resistencia a macrólidos. Los genes más habitualmente encontrados en la especie *S. pneumoniae* son el gen *mef*(A) en Europa y el gen *mef*(E) en Estados Unidos, Asia y África⁶⁷. Existe una asociación entre estos genes y el gen *msr*(D) ya que se hallan en las mismas estructuras genéticas. El gen *msr*(D) codifica también para una bomba de eflujo de resistencia a macrólidos que difiere en regulación y especificidad con las bombas *Mef*⁷⁶. Además, se ha identificado en cepas de *S. pneumoniae*, aunque en raras ocasiones, otro gen *mef* denominado gen *mef*(1)⁷⁴.

Estos genes *mef* se suelen localizar, al igual que los genes *erm*, en transposones o en elementos denominados “mega”⁶⁷. Se están detectando, con cierta alarma, cepas que poseen tanto un gen *erm* como un gen *mef* y a las que se les llama cepas con fenotipo dual⁷⁷. Parece haber una diseminación clonal de estas cepas que poseen ambos genes de resistencia y constituyen un importante problema.

Por último, aunque de manera muy inusual, se ha observado la presencia de genes *lnu* —*lnu*(B), *lnu*(C) e *lnu*(E)— en cepas de estreptococos que confieren resistencia a lincosamidas⁷⁸⁻⁸⁰.

Fluoroquinolonas

Las cepas de estreptococos resistentes a quinolonas suponen también un problema terapéutico de gran importancia. Por el momento la tasa de resistencia a este grupo de antibióticos es mucho menor que la resistencia a betalactámicos, aunque se observa un aumento en ciertas áreas⁶⁷. En España, las tasas de *S. pneumoniae* resistentes a quinolonas entre los años 2002 y 2012 han permanecido estables (en torno al 2-3%)⁸¹. Sin embargo, sí que se han observado cambios en los serotipos y genotipos resaltando la expansión del clon CC63 y la emergencia del clon CC156⁸¹.

La resistencia a quinolonas se debe principalmente a mutaciones en *grrA* y *gyrA*. Los cambios aminoacídicos más habituales en esta especie bacteriana son en la posición S79 de *GrrA* (S79F y S79Y) y en la posición S81 de *GyrA* (S81F y S81Y). No obstante, algunos estudios indican que la resistencia a estos antibióticos en estreptococos es más heterogénea comparada con otros géneros Gram positivos. Se han identificado así modificaciones muy diversas en ambas proteínas⁸². Además se han observado también cambios en *gyrB* y *grrB* relacionados con la resistencia a quinolonas, pero son mucho menos frecuentes⁸³.

Otro mecanismo de resistencia que genera sensibilidad disminuida a quinolonas consiste en la presencia o sobreexpresión de las bombas de eflujo *PmrA*, *PatA* y *PatB*⁸⁴. Por sí solas no generan elevados niveles de resistencia, pero algunos estudios sugieren que son necesarias para aumentar la probabilidad de que se den las mutaciones en las dianas anteriormente mencionadas⁸⁵. Además estas bombas confieren resistencia a otros compuestos antibacterianos como tintes, detergentes o desinfectantes⁸⁶. Posibles nuevos tratamientos podrían consistir en el uso de inhibidores de estas bombas que reduzcan la selección de mutantes resistentes a quinolonas. Los genes que codifican estas bombas se hallan normalmente en el cromosoma. Varios estudios han sugerido que el grupo *viridans* de estreptococos es el reservorio de cepas de *S. pneumoniae* resistentes a estos compuestos, aunque los fenómenos de recombinación entre ambas especies parecen ser muy poco frecuentes⁶⁷.

Conviene señalar que, desde el año 2004, se ha detectado en España el clon ST63-serotipo 8 como causa de infecciones invasivas, el cual se caracteriza por presentar multirresistencia a antibióticos (eritromicina, clindamicina, tetraciclina y ciprofloxacino) con un genotipo que alberga los genes *ermB* y *tetM*, así como la modificación aminoacídica GrIA-S79F, con una prevalencia que oscila entre el 0,5 y el 2,0% de los aislamientos invasivos⁸⁷.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- ECDC, 2014. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2014. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm.
- Wendlandt S, Lozano C, Kadlec, Gómez-Sanz E, Zarazaga M, Torres C, et al. The enterococcal ABC transporter gene *lsa(E)* confers combined resistance to lincosamides, pleuromutilins and streptogramin A antibiotics in methicillin-susceptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68:473-5.
- Gómez-Sanz E, Kadlec K, Feßler AT, Zarazaga M, Torres C, Schwarz S. Novel *erm(T)*-carrying multiresistance plasmids from porcine and human isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 that also harbor cadmium and copper resistance determinants. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57:3275-82.
- Lozano C, Rezusta A, Gómez P, Gómez-Sanz E, Báez N, Martín-Saco G, et al. High prevalence of *spa* types associated with the clonal lineage CC398 among tetracycline-resistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains in a Spanish hospital. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67:330-4.
- Benito D, Lozano C, Rezusta A, Ferrer I, Vasquez MA, Ceballos S, et al. Characterization of tetracycline and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains in a Spanish hospital: is livestock-contact a risk factor in infections caused by MRSA CC398? *Int J Med Microbiol.* 2014;304:1226-32.
- Cameoz M, Sierra JM, Pujol M, Hornero A, Martín R, Domínguez MA. Prevalence and molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 resistant to tetracycline at a Spanish hospital over 12 Years. *PLoS One.* 2013;8:e72828.
- Shore AC, Deasy EC, Slickers P, Brennan G, O'Connell B, Monecke S, et al. Detection of staphylococcal cassette chromosome *mec* type XI carrying highly divergent *mecA*, *mecI*, *mecR1*, *blaZ*, and *ccr* genes in human clinical isolates of clonal complex 130 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55:3765-73.
- Paterson GK, Harrison EM, Holmes MA. The emergence of *mecC* methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol.* 2014;22:42-7.
- García-Garrote F, Cercenado E, Marín M, Bal M, Trincado P, Corredoira J, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying the *mecC* gene: emergence in Spain and report of a fatal case of bacteraemia. *J Antimicrob Chemother.* 2014;69:45-50.
- Alm RA, McLaughlin RE, Kos VN, Sader HS, Laconis JP, Lahiri SD. Analysis of *Staphylococcus aureus* clinical isolates with reduced susceptibility to ceftaroline: an epidemiological and structural perspective. *J Antimicrob Chemother.* 2014;69:2065-75.
- Harrison EM, Ba X, Blane B, Ellington MJ, Loeffler A, Hill RL, et al. PBP2a substitutions linked to ceftaroline resistance in MRSA isolates from the UK. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71:268-9.
- Greninger AL, Chatterjee SS, Chan LC, Hamilton SM, Chambers HF, Chiu CY. Whole-genome sequencing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* resistant to fifth-generation cephalosporins reveals potential non-*mecA* mechanisms of resistance. *PLoS ONE.* 2016;11:e0149541.
- Morosini MI, Cercenado E, Ardanuy C, Torres C. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos grampositivos. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2012;30:325-32.
- Rossi F, Diaz L, Wollam A, Panesso D, Zhou Y, Rincon S, et al. Transferable vancomycin resistance in a community-associated MRSA lineage. *N Engl J Med.* 2014;370:1524-31.
- Limbago BM, Kallen AJ, Zhu W, Eggers P, McDougal LK, Albrecht VS. Report of the 13th Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* from the United States. *J Clin Microbiol.* 2014;52:998-1002.
- Melo-Cristino J, Resina C, Manuel V, Lito L, Ramirez M. First case of infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *Lancet.* 2013;382:205.
- Gardete S, Tomasz A. Mechanisms of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest.* 2014;124:2836-40.
- McCurdy SP, Jones RN, Mendes RE, Puttagunta S, Dunne MW. In Vitro activity of dalbavancin against drug-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from a global surveillance program. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59:5007-9.
- Bayer AS, Schneider T, Sahl HG. Mechanisms of daptomycin resistance in *Staphylococcus aureus*: role of the cell membrane and cell wall. *Ann N Y Acad Sci.* 2013;1277:139-58.
- Tran TT, Munita JM, Arias CA. Mechanisms of drug resistance: daptomycin resistance. *Ann N Y Acad Sci.* 2015;1354:32-53.
- Gonzalez-Ruiz A, Seaton RA, Hamed K. Daptomycin: an evidence-based review of its role in the treatment of Gram-positive infections. *Infect Drug Resist.* 2016;9:47-58.
- Stefani S, Campanile F, Santagati M, Mezzatesta ML, Cafiso V, Pacini G. Insights and clinical perspectives of daptomycin resistance in *Staphylococcus aureus*: a review of the available evidence. *Int J Antimicrob Agents.* 2015;46:278-89.
- Mechler L, Herbig A, Paprotka K, Fraunholz M, Nieselt K, Bertram R. A novel point mutation promotes growth phase-dependent daptomycin tolerance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59:5366-76.
- Su J, Iehara M, Yasukawa J, Matsumoto Y, Hamamoto H, Sekimizu K. A novel mutation in the *vraS* gene of *Staphylococcus aureus* contributes to reduce susceptibility against daptomycin. *J Antibiot (Tokyo).* 2015;68:646-8.
- Kadlec K, Schwarz S. Identification of a plasmid-borne resistance gene cluster comprising the resistance genes *erm(T)*, *dfcK*, and *tet(L)* in a porcine methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 strain. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54:915-8.
- Pérez-Vázquez M, Vindel A, Marcos C, Oteo J, Cuevas O, Trincado P, et al. Spread of invasive Spanish *Staphylococcus aureus spa*-type t067 associated with a high prevalence of the aminoglycoside-modifying enzyme gene *ant(4')-Ia* and the efflux pump genes *msrA/msrB*. *J Antimicrob Chemother.* 2009;63:21-31.
- Kehrenberg C, Schwarz S. Distribution of florfenicol resistance genes *fexA* and *cfr* among chloramphenicol-resistant *Staphylococcus* isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50:1156-63.
- Li J, Li B, Wendlandt S, Schwarz S, Wang Y, Wu C, et al. Identification of a novel *vga(E)* gene variant that confers resistance to pleuromutilins, lincosamides and streptogramin A antibiotics in staphylococci of porcine origin. *J Antimicrob Chemother.* 2014;69:919-23.
- Costa SS, Viveiros M, Amaral L, Couto I. Multidrug efflux pumps in *Staphylococcus aureus*: an update. *Open Microbiol J.* 2013;7:59-71.
- Kadlec K, Fessler AT, Hauschild T, Schwarz S. Novel and uncommon antimicrobial resistance genes in livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18:745-55.
- Dabul AN, Camargo IL. Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* resistant to tigecycline and daptomycin isolated in a hospital in Brazil. *Epidemiol Infect.* 2014;142:479-83.
- Fernández L, Hancock RE. Adaptive and mutational resistance: role of porins and efflux pumps in drug resistance. *Clin Microbiol Rev.* 2012;25:661-81.
- Shen J, Wang Y, Schwarz S. Presence and dissemination of the multiresistance gene *cfr* in Gram-positive and Gram-negative bacteria. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68:1697-1706.
- Shore AC, Lazaris A, Kinnevey PM, Brennan OM, Brennan GI, O'Connell B, et al. First report of *cfr*-carrying plasmids in the pandemic sequence type 22 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* Type IV clone. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60:3007-15.
- LaMarre JM, Locke JB, Shaw KJ, Mankin AS. Low fitness cost of the multidrug resistance gene *cfr*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55:3714-19.
- Mendes RE, Deshpande LM, Jones RN. Linezolid update: stable in vitro activity following more than a decade of clinical use and summary of associated resistance mechanisms. *Drug Resist Updat.* 2014;17:1-12.
- Li D, Wang Y, Schwarz S, Cai J, Fan R, Li J, et al. Co-location of the oxazolidinone resistance genes *optrA* and *cfr* on a multiresistance plasmid from *Staphylococcus sciuri*. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71:1474-8.
- Poovelikunnel T, Gethin G, Humphreys H. Mupirocin resistance: clinical implications and potential alternatives for the eradication of MRSA. *J Antimicrob Chemother.* 2015;70:2681-92.
- Cattoir V, Leclercq R. Twenty-five years of shared life with vancomycin-resistant enterococci: is it time to divorce? *J Antimicrob Chemother.* 2013;68:731-42.
- O'Driscoll T, Crank CW. Vancomycin-resistant enterococcal infections: epidemiology, clinical manifestations, and optimal management. *Infect Drug Resist.* 2015;8:217-30.
- Cercenado E. *Enterococcus*: resistencias fenotípicas y genotípicas y epidemiología en España. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2011;29:59-65.
- López M, Rezusta A, Seral C, Aspiroz C, Marne C, Aldea MJ, et al. Detection and characterization of a ST6 clone of *vanB2-Enterococcus faecalis* from three different hospitals in Spain. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2012;31:257-60.
- Jones RN, Sader HS, Flamm RK. Update of dalbavancin spectrum and potency in the USA: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2011). *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2013;75:304-7.
- Klinker KP, Borgert SJ. Beyond vancomycin: the tail of the lipoglycopeptides. *Clin Ther.* 2015;37:2619-36.
- Edelsberg J, Weycker D, Barron R, Li X, Wu H, Oster G, et al. Prevalence of antibiotic resistance in US hospitals. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2014;78:255-62.
- Palmer KL, Daniel A, Hardy C, Silverman J, Gilmore MS. Genetic basis for daptomycin resistance in enterococci. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55:3345-56.
- Diaz L, Tran TT, Munita JM, Miller WR, Rincon S, Carvajal LP, et al. Whole-genome analyses of *Enterococcus faecium* isolates with diverse daptomycin MICs. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58:4527-34.
- Kelesidis T. The zoonotic potential of daptomycin non-susceptible enterococci. *Zoonoses Public Health.* 2015;62:1-6.
- Roberts MC. Update on macrolide-lincosamide-streptogramin, ketolide, and oxazolidinone resistance genes. *FEMS Microbiol Lett.* 2008;282:147-59.
- Si H, Zhang WJ, Chu S, Wang XM, Dai L, Hua X, et al. Novel plasmid-borne multidrug resistance gene cluster including *lsa(E)* from a linezolid-resistant *Enterococcus faecium* of swine origin. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59:7113-6.

51. Hollenbeck BL, Rice LB. Intrinsic and acquired resistance mechanisms in *enterococcus*. *Virulence*. 2012;3:421-33.
52. Miller WR, Munita JM, Arias CA. Mechanisms of antibiotic resistance in enterococci. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2014;12:1221-36.
53. Tsai HY, Liao CH, Chen YH, Lu PL, Huang CH, Lu CT, et al. Trends in susceptibility of vancomycin resistant *Enterococcus faecium* to tigecycline, daptomycin, and linezolid and molecular epidemiology of the isolates: results from the Tigecycline In Vitro Surveillance in Taiwan (TIST) study, 2006 to 2010. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56:3402-5.
54. Fiedler S, Bender JK, Klare I, Halbedel S, Grohmann E, Szewczyk U, et al. Tigecycline resistance in clinical isolates of *Enterococcus faecium* is mediated by an upregulation of plasmid-encoded tetracycline determinants *tet(L)* and *tet(M)*. *J Antimicrob Chemother*. 2016;71:871-81.
55. Cattoir V, Isnard C, Cosquer T, Odhiambo A, Bucquet F, Guérin F, et al. Genomic analysis of reduced susceptibility to tigecycline in *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59:239-44.
56. Chen H, Wu W, Ni M, Liu Y, Zhang J, Xia F, et al. Linezolid-resistant clinical isolates of enterococci and *Staphylococcus cohnii* from a multicentre study in China: molecular epidemiology and resistance mechanisms. *Int J Antimicrob Agents*. 2013;42:317-21.
57. Liu Y, Wang Y, Wu C, Shen Z, Schwarz S, Du X, et al. First Report of the Multidrug Resistance gene *cfr* in *Enterococcus faecalis* of Animal origin. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56:1650-4.
58. Diaz L, Kiratisin P, Mendes RE, Panesso D, Singh KV, Arias CA. Transferable plasmid-mediated resistance to linezolid due to *cfr* in a human clinical isolate of *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56:3917-22.
59. Liu Y, Wang Y, Dai L, Wu C, Shen J. First report of multiresistance gene *cfr* in *Enterococcus* species *casseliflavus* and *gallinarum* of swine origin. *Vet Microbiol*. 2014;170:352-7.
60. Wang Y, Lv Y, Cai J, Schwarz S, Cui L, Hu Z, et al. A novel gene, *optrA*, that confers transferable resistance to oxazolidinones and phenicols and its presence in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* of human and animal origin. *J Antimicrob Chemother*. 2015;70:2182-90.
61. Cai J, Wang Y, Schwarz S, Lv H, Li Y, Liao K, et al. Enterococcal isolates carrying the novel oxazolidinone resistance gene *optrA* from hospitals in Zhejiang, Guangdong, and Henan, China, 2010-2014. *Clin Microbiol Infect*. 2015;21:1095.e1-4.
62. Brenciani A, Morroni G, Vincenzi C, Manso E, Mingoia M, Giovanetti E, et al. Detection in Italy of two clinical *Enterococcus faecium* isolates carrying both the oxazolidinone and phenicol resistance gene *optrA* and a silent multiresistance gene *cfr*. *J Antimicrob Chemother*. 2016;71:1118-9.
63. He T, Shen Y, Schwarz S, Cai J, Lv Y, Li J, et al. Genetic environment of the transferable oxazolidinone/phenicol resistance gene *optrA* in *Enterococcus faecalis* isolates of human and animal origin. *J Antimicrob Chemother*. 2016;71:1466-73.
64. Deshpande LM, Ashcraft DS, Kahn HP, Pankey G, Jones RN, Farrell DJ, et al. Detection of a new *cfr*-like gene, *cfr(B)*, in *Enterococcus faecium* recovered from human specimens in the United States: report from The SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59:6256-61.
65. Liñares J, Ardanuy C, Pallares R, Fenoll A. Changes in antimicrobial resistance, serotypes and genotypes in *Streptococcus pneumoniae* over a 30-year period. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16:402-10.
66. Song JH, Dagan R, Klugman KP, Fritzell B. The relationship between pneumococcal serotypes and antibiotic resistance. *Vaccine*. 2012;30:2728-37.
67. Cornick JE, Bentley SD. *Streptococcus pneumoniae*: the evolution of antimicrobial resistance to beta-lactams, fluorquinolones and macrolides. *Microbes Infect*. 2012;14:573-83.
68. Farrell DJ, Castanheira M, Mendes RE, Sader HS, Jones RN. In vitro activity of ceftaroline against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae*: a review of published studies and the AWARE Surveillance Program (2008-2010). *Clin Infect Dis*. 2012;55 Suppl 3:S206-14.
69. Sujatha S, Prahraj I. Glycopeptide resistance in Gram-positive cocci: a review. *Interdiscip Perspect Infect Dis*. 2012;2012:781679.
70. Moscoso M, Domenech M, García E. Vancomycin tolerance in clinical and laboratory *Streptococcus pneumoniae* isolates depends on reduced enzyme activity of the major LytA autolysin or cooperation between CiaH histidine kinase and capsular polysaccharide. *Mol Microbiol*. 2010;77:1052-64.
71. Park C, Nichols M, Schrag SJ. Two cases of invasive vancomycin-resistant group B *Streptococcus* infection. *N Engl J Med* 2014;370:885-6.
72. Romero-Hernández B, Tedim AP, Sánchez-Herrero JF, Librado P, Rozas J, Muñoz G, et al. *Streptococcus galloyticus* subsp. *galloyticus* from human and animal origins: genetic diversity, antimicrobial susceptibility, and characterization of a vancomycin-resistant calf isolate carrying a *vanA-Tn1546*-like element. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59:2006-15.
73. Jones RN, Schuchert JE, Mendes RE. Dalbavancin activity when tested against *Streptococcus pneumoniae* isolated in medical centers on six continents (2011 to 2014). *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;60:3419-25.
74. Cochetti I, Tili E, Mingoia M, Varaldo PE, Montanari MP. *erm(B)*-carrying elements in tetracycline-resistant pneumococci and correspondence between Tn1545 and Tn6003. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008;52:1285-90.
75. Compain F, Hays C, Touak G, Dmytruk N, Trieu-Cuot P, Joubrel C, et al. Molecular characterization of *Streptococcus agalactiae* isolates harboring small *erm(T)*-carrying plasmids. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58:6928-30.
76. Daly MM, Doktor S, Flamm R, Shortridge D. Characterization and prevalence of MefA, MefE, and the associated *msr(D)* gene in *Streptococcus pneumoniae* clinical isolates. *J Clin Microbiol*. 2004;42:3570-4.
77. De la Pedrosa EG, Morosini MI, Van der Linden M, Ruiz-Garbajosa P, Galán JC, Baquero F, et al. Polyclonal population structure of *Streptococcus pneumoniae* isolates in Spain carrying *mef* and *mef* plus *erm(B)*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008;52:1964-9.
78. Arana DM, Rojo-Bezares B, Torres C, Alós JI. First clinical isolate in Europe of clindamycin-resistant group B *Streptococcus* mediated by the *lnu(B)* gene. *Rev Esp Quimioter*. 2014;27:106-9.
79. Zhao Q, Wendlandt S, Li H, Li J, Wu C, Shen J, et al. Identification of the novel lincosamide resistance gene *lnu(E)* truncated by ISEnfa5-cfr-ISEnfa5 insertion in *Streptococcus suis*: de novo synthesis and confirmation of functional activity in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58:1785-8.
80. Gravey F, Galopin S, Grall N, Auzou M, Andremont A, Leclercq R, et al. Lincosamide resistance mediated by *lnu(C)* (L phenotype) in a *Streptococcus anginosus* clinical isolate. *J Antimicrob Chemother*. 2013;68:2464-7.
81. Domenech A, Tirado-Vélez JM, Fenoll A, Ardanuy C, Yuste J, Liñares J, et al. Fluoroquinolone-resistant pneumococci: dynamics of serotypes and clones in Spain in 2012 compared with those from 2002 and 2006. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58:2393-9.
82. Osawa M, Ito Y, Ishida T, Imai S, Ichiyama S, Mishima M, et al. Molecular characterization of quinolone resistance-determining regions and their correlation with serotypes and genotypes among *Streptococcus pneumoniae* isolates in Japan. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2010;29:245-8.
83. Pletz MW, McGee L, Jorgensen J, Beall B, Facklam RR, Whitney CG, et al. Levofloxacin-resistant invasive *Streptococcus pneumoniae* in the United States: evidence for clonal spread and the impact of conjugate pneumococcal vaccine. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:3491e3497.
84. Garvey MI, Baylay AJ, Wong RL, Piddock LJ. Overexpression of *patA* and *patB*, which encode ABC transporters, is associated with fluorquinolone resistance in clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55:190-6.
85. Jumbe NL, Louie A, Miller MH, Liu W, Deziel MR, Tam VH, et al. Quinolone efflux pumps play a central role in emergence of fluorquinolone resistance in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50:310-7.
86. Piddock LJ. Multidrug-resistance efflux pumps—not just for resistance. *Nat Rev Microbiol*. 2006;4:629-36.
87. Ardanuy C, De la Campa AG, García E, Fenoll A, Calatayud L, Cercenado E, et al. Spread of *Streptococcus pneumoniae* Serotype 8-ST63 multidrug-resistant recombinant clone, Spain. *Emerg Infect Dis*. 2014;20:1848-56.