

MACRÒLIDS: MECANISMES D'ACCIÓ I DE RESISTÈNCIA

CARMEN TORRES, YOLANDA SÁENZ I ARÁNZAZU PORTILLO

Àrea de Bioquímica y Biología Molecular, Centro Científico Tecnológico, Universitat de la Rioja.

Adreça per a la correspondència: Carmen Torres. Àrea de Bioquímica y Biología Molecular, Centro Científico Tecnológico, Universitat de la Rioja. Madre de Dios, 51. 26006 Logronyo. Adreça electrònica: *carmen.torres@daa.unirioja.es*.

RESUM

Els macròlids són agents descrits per primera vegada als anys cinquanta, molt emprats en el tractament de microorganismes grampositius. Actuen al ribosoma, unint-se de manera reversible a la subunitat 50S. Actualment se'n coneixen diferents mecanismes de resistència, que van des de la modificació de la diana fins a la desactivació de l'antibiòtic, passant per bombes d'expulsió o problemes de permeabilitat.

Paraules clau: macròlids, resistència, *erm*.

SUMMARY

Macrolides are agents described by first time in the 50s. These agents are extensively used in the infections by gram-positive microorganisms. They act in the ribosome, by means of a reversible union with the 50S subunit. Currently we know different resistance mechanisms, and those include target modification, antibiotic inactivation, efflux pumps or impermeability.

Keywords: macrolides, resistance, *erm*.

Els macròlids han estat emprats per al tractament de malalties infeccioses des de la dècada de 1950. El primer macròlid que va ser obtingut fou l'eritromicina, el 1952, provinent d'una soca de *Streptomyces erythreus*, i es va convertir en el prototipus d'agent antibacterià del grup dels macròlids. La majoria dels macròlids naturals han estat obtinguts per la fermentació de soques de *Streptomyces* i de *Micromonospora* sp., malgrat que poden ser produïts per altres gèneres bacterians. Des d'a-

quests macròlids naturals s'han desenvolupat una gran quantitat de macròlids semisintètics, per a millorar llur activitat i estabilitat.

ESTRUCTURA QUÍMICA

Els macròlids són molècules complexes, que estan formades per un gran anell bàsic lactònic, una macrolactona de dotze a vint-i-tres àtoms, on s'uneix un sucre aminat mit-

TAULA 1. Classificació dels macròlids en funció del nombre d'àtoms

Catorze àtoms		Quinze àtoms	Setze àtoms	
Naturals	Semisintètics	Semisintètics	Naturals	Semisintètics
Eritromicina	Claritromicina	Azitromicina	Espiramicina	Rokitamicina
Oleandomicina	Roxitromicina		Josamicina	Miocamicina
Sporeamicina	Diritromicina		Midecamicina	
	Fluritromicina		Tilosina	

jançant enllaços glicosídics. Malgrat que hi ha una gran quantitat de compostos que presenten aquestes característiques, en la pràctica, el nom de *macròlids* és reservat per a aquells antibiòtics que restin conformats per anells de catorze, quinze o setze àtoms, als quals s'uneixen un o més sucres neutres o bàsics.

L'eritromicina pertany al grup de macròlids de catorze àtoms de carboni. És una base feble (pKa = 8,8) d'elevat pes molecular (700 Da) que al medi àcid de l'estómac es degrada i origina diversos productes sense activitat antimicrobiana. Per a millorar la seva estabilitat, s'han sintetitzat sals, èsters, sals d'èsters i d'altres derivats amb modificacions en els grups químics que participen en la degradació. Així, la claritromicina és un derivat semisintètic de l'eritromicina que conté un grup metoxi en comptes de l'hidroxil del C-6 (és la 6-O-metil-eritromicina), cosa que la converteix en una molècula resistent a la degradació per àcid, a la vegada que millora el seu espectre antibacterià *in vitro* i *in vivo*. La roxitromicina és un altre macròlid semisintètic de catorze àtoms, en el qual l'anell principal ha estat modificat per prevenir la desactivació pel medi gàstric, i per minvar la toxicitat gastrointestinal d'altres macròlids. El representant tipus dels macròlids de quinze àtoms és l'azitromicina, que posseeix un àtom addicional (N) a l'anell lactònic, el qual li confereix característiques especials (millor farmacocinètica i activitat que l'eritromicina). Els macròlids de setze àtoms (espiramicina, josamicina i midecamicina) són més estables en medi àcid que l'eritromicina. A la taula 1 es presenten els macròlids classificats pel nombre d'àtoms i llur

naturalitat (natural o semisintètica) i a la figura 1 es mostra l'estructura química d'alguns.

ESPECTRE D'ACCIÓ

Els macròlids són antibiòtics molt emprats, sobretot en el tractament d'infeccions respiratòries. En general són actius enfront de: a) cocs i bacils grampositius, especialment cocs pertanyents als gèneres *Streptococcus* i *Staphylococcus*, i diferents bacils com *Clostridium*, *Propionibacterium*, *Corynebacterium*, *Bacillus*, *Listeria*, *Rhodococcus*, *Lactobacillus*, entre d'altres; b) alguns microorganismes gramnegatius com *Moraxella* sp., *Bordetella pertusis*, *Campylobacter jejuni*, *Neisseria* sp. i d'altres (però cal fer esment que la majoria de bacteris gramnegatius són resistents als macròlids); c) microorganismes de creixement intracel·lular o juxtacel·lular com *Mycoplasma*, *Chlamydia*, *Legionella*, *Borrelia* i *Coxiella*, i d) alguns protozoous són moderadament sensibles (*Toxoplasma gondii*, *Cryptosporidium* i *Plasmodium*) (Mensa et al., 2003).

MECANISME D'ACCIÓ

Els macròlids penetren a la cèl·lula bacteriana per difusió passiva i llur activitat antibacteriana s'incrementa a pH alcalí, ja que la forma no ionitzada es difon millor per la membrana citoplasmàtica. L'activitat antibacteriana dels macròlids es considera bacteriostàtica enfront de la majoria de microorganismes. Però cal considerar que a concentracions elevades, en medi alcalí o enfront de determinats bacteris

TAULA 2. Tipus de gens *erm*, codificants de metilases de l'rRNA 23S, relacionats amb la resistència a macròlids^a

Nomenclatura actual del gen	Gens inclosos	Gèneres bacterians ^b
<i>erm</i>(A)	<i>erm</i> (A), <i>erm</i> (TR)	<i>Staphylococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Actinobacillus</i> , <i>Peptostreptococcus</i>
<i>erm</i>(B)	<i>erm</i> (AM), <i>erm</i> (B), <i>erm</i> (AMR), <i>erm</i> (BC), <i>erm</i> (P), <i>erm</i> (BP), <i>erm</i> (IP), <i>erm</i> (Z), <i>erm</i> (BZ1), <i>erm</i> (BZ2), <i>erm</i> , <i>erm</i> (2)	<i>Streptococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Actinobacillus</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Neisseria</i> , <i>Pediococcus</i> , <i>Wolinella</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Pseudomonas</i>
<i>erm</i>(C)	<i>erm</i> (C), <i>erm</i> (IM), <i>erm</i> (M)	<i>Actinobacillus</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Eubacterium</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Neisseria</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Wolinella</i> , <i>Enterococcus</i>
<i>erm</i> (D)	<i>erm</i> (D), <i>erm</i> (J), <i>erm</i> (K)	<i>Bacillus</i>
<i>erm</i> (E)	<i>erm</i> (E), <i>erm</i> (E2)	<i>Streptomyces</i>
<i>erm</i>(F)	<i>erm</i> (F), <i>erm</i> (FS), <i>erm</i> (FU)	<i>Actinobacillus</i> , <i>Actinomyces</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Eubacterium</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Gardnerella</i> , <i>Haemophilus</i> , <i>Neisseria</i> , <i>Porphyromonas</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Peptostreptococcus</i> , <i>Selenomonas</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Treponema</i> , <i>Veillonella</i> , <i>Wolinella</i>
<i>erm</i> (G)	<i>erm</i> (G)	<i>Bacillus</i> , <i>Bacteroides</i>
<i>erm</i> (H)	<i>car</i> (B)	<i>Streptomyces</i>
<i>erm</i> (I)	<i>mdm</i> (A)	<i>Streptomyces</i>
<i>erm</i> (N)	<i>tlr</i> (D)	<i>Streptomyces</i>
<i>erm</i> (O)	<i>lrm</i> , <i>srm</i> (A)	<i>Streptomyces</i>
<i>erm</i>(Q)	<i>erm</i> (Q)	<i>Actinobacillus</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Wolinella</i>
<i>erm</i> (R)	<i>erm</i> (R)	<i>Aeromicrobium</i>
<i>erm</i> (S)	<i>erm</i> (SF), <i>tlr</i> (A)	<i>Streptomyces</i>
<i>erm</i> (T)	<i>erm</i> (GT)	<i>Lactobacillus</i>
<i>erm</i> (U)	<i>lmr</i> (B)	<i>Streptomyces</i>
<i>erm</i> (V)	<i>erm</i> (SV)	<i>Streptomyces</i>
<i>erm</i> (W)	<i>myr</i> (B)	<i>Micromonospora</i>
<i>erm</i> (X)	<i>erm</i> (CD), <i>erm</i> (CX)	<i>Corynebacterium</i>
<i>erm</i>(Y)	<i>erm</i> (GM)	<i>Staphylococcus</i>
<i>erm</i> (Z), <i>erm</i> (30), <i>erm</i> (31), <i>erm</i> (32)		<i>Streptomyces</i>
<i>erm</i>(33)		<i>Staphylococcus</i>
<i>erm</i> (34)		<i>Bacillus</i>
<i>erm</i> (35)		<i>Bacteroides</i>
<i>erm</i> (36)		<i>Micrococcus</i>
<i>erm</i> (37), <i>erm</i> (38), <i>erm</i> (39)		<i>Mycobacterium</i>

^a Classificació d'acord amb la nomenclatura de Roberts *et al.* (1999) i l'actualització publicada a <http://faculty.washington.edu/marylinr>. En negreta hi ha els gens detectats en cocs grampositius dels gèneres *Streptococcus*, *Staphylococcus* o *Enterococcus*.

^b Referències: Bozdogan *et al.*, 2004; Jensen *et al.*, 1999; Matsuoka *et al.*, 2002; Pechere, 2001; Portillo *et al.*, 2000; Rasmussen *et al.*, 1986; Reig *et al.*, 2001; Roberts *et al.*, 1999; Roberts, 2002; Schmitz *et al.*, 2000; Seppälä *et al.*, 1998; Syrogiannopoulos *et al.*, 2001, entre d'altres.

com *Streptococcus pyogenes* i *Streptococcus pneumoniae*, especialment quan es troben en fase de creixement logarímic, poden comportar-se com bactericides (Mensa *et al.*, 2003).

Els macròlids s'uneixen de manera reversible a la subunitat 50S ribosòmica i inhibeixen la síntesi de proteïnes, pel bloqueig de la funció del centre de la peptidiltransferasa

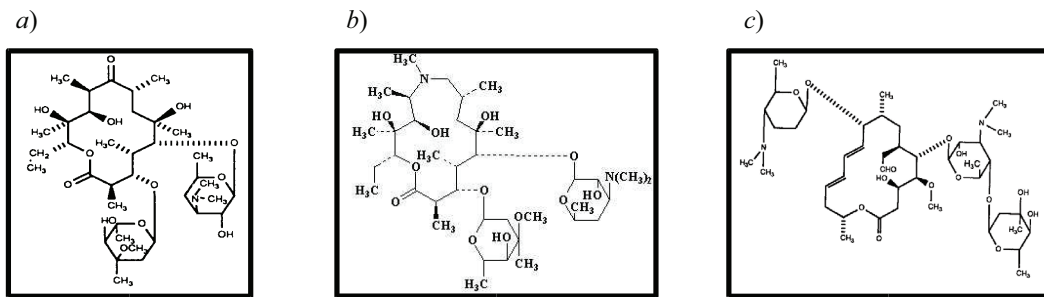


FIGURA 1. Estructura de macròlids representatius dels grups de catorze, quinze i setze àtoms: a) eritromicina, b) azitromicina i c) espiramicina, respectivament.

i, en definitiva, la formació de l'enllaç peptídic (Retsema i Fu, 2001). Els macròlids produeixen l'alliberament prematur de cadenes peptídiques incompletes, i provoquen així la mort cel·lular. Els llocs d'unió dels macròlids i d'altres antibiòtics relacionats, com les lincosamides o les estreptogramines del tipus B, es localitzen junts en dominis del centre de la peptidiltransferasa, i alguns se superposen. En estudis recents s'ha vist que, a més d'impendir l'elongació peptídica, els macròlids també afecten l'acoblament de subunitats ribosòmiques naixents 50S (Champney, 1999).

Avui dia, se sap que els macròlids s'uneixen reversiblement al domini v de l'rRNA 23S. L'esmentada unió es realitza per mitjà de ponts d'hidrogen entre diferents radicals hidroxil del macròlid (especialment entre l'OH a la posició 2' del sucre *desosamina*) i determinades bases de l'rRNA 23S (especialment A2058 i A2059, tot seguint la numeració d'*Escherichia coli*). És possible que també es produeixi una interacció feble entre la cladinosa i el domini II de l'rRNA 23S. En *E. coli* determinades mutacions al domini II són implicades en la resistència a eritromicina (Douthwaite *et al.*, 1985; Douthwaite i Champney, 2001; Weisblum, 2000).

MECANISME DE RESISTÈNCIA

La resistència intrínseca a macròlids de

bacils gramnegatius, en particular enterobacteris, *Pseudomonas* sp. i *Acinetobacter* sp., probablement és deguda a la relativa impermeabilitat de la membrana externa a aquests compostos hidrofòbics (Mao i Putterman, 1968).

S'han descrit quatre mecanismes de resistència adquirida a antibiòtics macròlids: a) modificació de la diana per l'acció de metilases, b) *efflux* actiu de l'antibiòtic, c) modificació de la diana per mutació de l'rRNA 23S o proteïnes ribosòmiques i d) desactivació enzimàtica.

Modificació de la diana per acció de metilases

Aquest és el mecanisme més freqüent i el millor conegut. És degut a l'acció d'enzims metilases, que monometilen o dimetilen un residu d'adenina (A2058) del domini v de l'rRNA 23S a la posició N⁶ (Lai i Weisblum, 1971). La metilació provoca un canvi de conformació al ribosoma, que redueix la unió a la subunitat 50S de macròlids i d'altres antibiòtics relacionats, com les lincosamides i les estreptogramines del grup B, probablement perquè els llocs d'unió d'aquests antibiòtics als ribosomes són superposats (Fernández-Muñoz *et al.*, 1971). Aquest mecanisme no afecta les estreptogramines del tipus A, i es manté la sinergia entre estreptogramines

TAULA 3. Gens relacionats amb sistemes d'eflux que confereixen resistència a macròlids^a

Nomenclatura actual del gen	Gens inclosos	Fenotipus ^b	Transportador	Microorganismes ^c
<i>msr(A)</i>	<i>msr(A)</i> , <i>msr(B)</i>	M, MS	Primari (ABC)	<i>Staphylococcus</i> , <i>Streptococcus</i>
<i>msr(C)</i>	<i>msr(C)</i>	MS	Primari (ABC)	Intrínsec en <i>E. faecium</i>
<i>msr(D)</i>	<i>msr(D)</i>		Primari (ABC)	<i>Streptococcus</i>
<i>ole(B)</i>	<i>ole(B)</i>	M	Primari (ABC)	<i>Streptomyces</i>
<i>ole(C)</i>	<i>ole(C)</i>	M	Primari (ABC)	<i>Streptomyces</i>
<i>srm(B)</i>	<i>srm(B)</i>	M	Primari (ABC)	<i>Streptomyces</i>
<i>tlr(C)</i>	<i>tlr(C)</i>	M	Primari (ABC)	<i>Streptomyces</i>
<i>mef(A)</i>	<i>mef(A)</i> , <i>mef(E)</i>	M	Secundari (facilitador major)	<i>Streptococcus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Corynebacterium</i> , gramnegatiu (<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Stenotrophomonas</i> , <i>Neisseria</i>).

^a Nomenclatura de Roberts *et al.* (1999).

^b M: resistència a macròlids; MS: resistència a macròlids i estreptogramines; ms: sensibilitat disminuïda a macròlids i estreptogramines.

^c Referències: Daly *et al.*, 2004; Ojo *et al.*, 2004; Pechere, 2001; Portillo *et al.*, 2000; Roberts, 1999; Roberts *et al.*, 2002; Singh *et al.*, 2001, entre d'altres.

del tipus A i B enfront d'aquestes soques. L'expressió d'aquestes metilases es caracteritza per conferir resistència creuada a macròlids de catorze, quinze i setze àtoms, i a lincosamides i estreptogramines del grup B, i tot plegat dona lloc a l'anomenat *fenotipus de resistència MLS_B*.

En general, els gens que codifiquen aquestes metilases s'han denominat gens *erm* (*erythromycin resistance methylase*), encara que hi ha excepcions, especialment en organismes productors d'antibiòtics (Weisblum, 1998). S'han aïllat gens *erm* en un gran nombre de bacteris aerobis gramnegatiu (des d'*E. coli* fins a *Haemophilus influenzae*) i grampositiu (des de *S. pneumoniae* fins a *Corynebacterium* sp.), fins i tot en diferents bacteris anaerobis, tant grampositiu com gramnegatiu (Roberts *et al.*, 1999). Les seqüències aminoacídiques de les metilases codificades per aquests gens estan relacionades entre si, la qual cosa indica que deriven d'un avantpassat comú, probablement d'un microorganisme productor d'antibiòtics (Arthur *et al.*, 1987). Per mitjà de la comparació de seqüències i de la hibridació en condicions estrictes, s'han diferenciat nombrosos determinants *erm* de resistència. Da-

vant el creixent nombre de gens *erm* existent a la bibliografia, i atès que llur denominació no havia estat consistent en molts casos, Roberts *et al.* (1999) varen proposar una nova nomenclatura per a nomenar els gens de resistència a macròlids. Segons aquesta nova classificació, dos gens que codifiquen proteïnes amb una identitat d'aminoàcids superior o igual al 80 % són designats amb la mateixa lletra i són inclosos en la mateixa classe, mentre que dos gens que codifiquen proteïnes amb una identitat inferior són designats amb lletres diferents.

A la taula 2 es troben les classes de gens *erm*, i també llur nomenclatura (antiga i nova) i els gèneres bacterians on són presents (Bozdogan *et al.*, 2004; Jensen *et al.*, 1999; Matsuoka *et al.*, 2002; Ojo *et al.*, 2004; Portillo *et al.*, 2000; Reig *et al.*, 2001; Schmitz *et al.*, 2000; Syrogianopoulos *et al.*, 2001; Roberts *et al.*, 1999; Roberts, 2002; Weisblum, 2000). En lletra negreta es destaquen els gens *erm* que han estat trobats en cocs grampositiu d'interès clínic (gèneres *Streptococcus*, *Staphylococcus* o *Enterococcus*). Cal assenyalar que existeix una pàgina web, coordinada per la Dra. Roberts de la Universitat de Washington (EUA), on s'actualitzen tots els determinants de resistència a macròlids,

TAULA 4. Mutacions a l'rRNA 23S més rellevants, relacionades amb la resistència a macròlids

Mutacions en posicions de l'rRNA 23S ^a	Microorganismes ^b
U754A	<i>Escherichia coli</i>
A2057G+G2032A	<i>Helicobacter pylori</i>
G2057A	<i>Escherichia coli</i> , <i>Propionibacteria</i>
A2058 G/C/U	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Propionibacteria</i> , <i>Helicobacter pylori</i> , <i>Mycobacterium</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Micoplasma pneumoniae</i>
A2059G/C	<i>Mycobacterium</i> , <i>Propionibacteria</i> , <i>Micoplasma pneumoniae</i> , <i>Helicobacter pylori</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i>
C2452U	<i>Sulfolobus acidocaldarius</i>
C2611A/G/U	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i>

^aNumeració de les posicions segons *E. coli*.

^bReferències: Poehlsgaard i Douthwaite, 2002; Vester i Douthwaite, 2001.

inclosos els gens *erm*, seguint la nova nomenclatura (<http://faculty.washington.edu/marylinr>).

En *S. pneumoniae* i en *Enterococcus* la resistència amb fenotipus MLS_B és generalment mitjançada pel gen *erm(B)*, i en *S. pyogenes* per *erm(A)* (subtipus *erm(TR)*) o *erm(B)* (Morosini *et al.*, 2003; Portillo *et al.*, 1999a, 1999b, 2000, 2001). En soques de *Streptococcus* β-hemolítics dels grups B, C i G amb fenotipus MLS_B, sovint es detecten els gens *erm(A)* o *erm(B)* (Portillo *et al.*, 2001). En el cas de *Staphylococcus*, predominen els determinants *erm(A)* i *erm(C)*. El gen *erm(A)* és fonamentalment disseminant en soques resistents a la meticilina, i es troba sovint en transposons relacionats amb Tn554, mentre que el gen *erm(C)* és generalment el responsable de la resistència a macròlids en soques sensibles a meticilina, i es troba localitzat en plasmidis (Leclercq, 2002).

L'expressió dels gens *erm* pot ser de caràcter constitutiu o induïble, i ambdós tipus d'expressió poden ser diferenciades per mitjà del test de doble difusió de disc (Seppälä *et al.*, 1993). A la figura 2 es presenten antibiogrames representatius de soques de *Streptococcus* amb els fenotipus MLS_B constitutiu (cMLS_B) i induïble (iMLS_B). Quan l'expressió és constitutiva, les soques són resistents a tots els macròlids, i presenten també resistència a lincosamides i estreptogramines del tipus B. La inducció de l'expressió dels gens *erm* s'ha relacionat amb la presència de cladino-

sina als macròlids de catorze i quinze àtoms, mentre que els macròlids de setze àtoms o la clindamicina no indueixen l'activitat de la metilasa, perquè no tenen aquest sucre (Weisblum, 1995). Així, si l'expressió és induïble, les soques són resistents a macròlids de catorze i quinze àtoms, i queden actius els de setze àtoms, les lincosamides i estreptogramines (tret que existeixi una inducció prèvia per antibiòtics inductors). Aquest comportament és més evident en el cas de *Staphylococcus* o de *S. pyogenes*, mentre que d'altres espècies de *Streptococcus* o *Enterococcus* podrien presentar una major diversitat de fenotipus (Leclercq, 2002).

El caràcter induïble o constitutiu de l'expressió dels gens *erm* està relacionat amb la seqüència del domini regulador situat davant de la regió estructural que codifica la metilasa. El mecanisme d'inducció ha estat molt estudiat en *Staphylococcus*, específicament pel que fa al determinant *ermC*, fins i tot al plasmidi pE194, que és explicat per mitjà d'un mecanisme d'atenuació de la traducció (Weisblum, 1985). Un altre mecanisme proposat és el de l'atenuació de la transcripció, que explica la regulació del determinant *erm(K)*. En aquest cas, l'absència d'eritromicina impedeix la síntesi completa de l'mRNA (Choi *et al.*, 1997).

TAULA 5. Gens relacionats amb la desactivació de macròlids

Nomenclatura actual del gen	Gens inclosos	Fenotipus ^a	Enzim	Microorganismes ^b
<i>mph(A)</i>	<i>mph(A)</i> , <i>mph(K)</i>	M _d	2'-Fosfotransferasa de macròlids (de 14 i 16)	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Pantoeae</i> , <i>Stenotrophomonas</i>
<i>mph(B)</i>	<i>mph(B)</i>	M _d	2'-Fosfotransferasa de macròlids (de 14 i 16)	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pantoeae</i> , <i>Pseudomonas</i>
<i>mph(C)</i>	<i>mph(C)</i> , <i>mph(BM)</i>	M _d	Fosfotransferasa de macròlids (de 14)	<i>Staphylococcus</i>
<i>mph(D)</i>	<i>mph(D)</i>	M _d	Fosforilasa	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pantoeae</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Stenotrophomonas</i>
<i>ere(A)</i>	<i>ere(A)</i>	M _m	Esterasa d'eritromicina de tipus I	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Pseudomonas</i>
<i>ere(B)</i>	<i>ere(B)</i>	M _m	Esterasa d'eritromicina de tipus II	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pseudomonas</i>

^a M: resistència a macròlids; *d* i *m* com a subíndex representen *degradació* i *modificació*, respectivament.

^b Referències: Kim *et al.*, 2002; Ojo *et al.*, 2004; Roberts *et al.*, 1999; Roberts, 2002.

Efflux de l'antibiòtic

En cocs grampositius s'han descrit dos sistemes d'*efflux* de macròlids, que confereixen els fenotipus de resistència MS (macròlids de catorze i quinze àtoms i estreptogramines de tipus B) i M —macròlids de catorze i quinze àtoms (Pechere, 2001).

Ross *et al.* (1989) estudiaren un grup de soques de *Staphylococcus epidermidis* amb fenotipus MS i el gen responsable de la resistència fou anomenat *mrsA* (*macrolide streptogramin resistance*). Aquest gen presenta dos dominis d'unió a ATP homòlegs als d'una família de proteïnes transportadores de gramnegatius i de cèl·lules eucariotes (Ross *et al.*, 1990). El sistema és multicomponent, i abasta els gens *msr(A)*, *smp* o *stp* per a constituir una bomba d'*efflux* totalment operativa. No és gens clar el paper desenvolupat per cada proteïna en aquest sistema d'*efflux*, però sembla evident que *Msr(A)* deu ser present per a expressar el fenotipus MS (Ross *et al.*, 1995). Tanmateix, ha estat descrit un gen que sembla ser específic d'*Enterococcus faecium*, amb un 53 % d'identitat amb *msr(A)* de *Staphylococcus*, que ha rebut

el nom de *msr(C)* (Portillo *et al.*, 2000; Singh *et al.*, 2001). El bloqueig d'aquest gen ha estat associat amb una minva de 2-8 vegades la CIM de macròlids de catorze, quinze i setze àtoms, i d'estreptogramines del grup B, la qual cosa podria explicar la major resistència intrínseca a macròlids que presenta l'espècie *E. faecium* respecte als estreptococs (Singh *et al.*, 2001). De manera recent ha estat descrit un gen relacionat amb un sistema d'*efflux* en *S. pneumoniae*, homòleg al de *Staphylococcus*, i que s'ha anomenat *msr(D)* (Daly *et al.*, 2004).

El fenotipus de resistència anomenat M es caracteritza per la seva resistència a macròlids de catorze i quinze àtoms, i és sensible a macròlids de setze àtoms, lincosamides i estreptogramines, fins i tot després de la inducció amb eritromicina. Aquest fenotipus es detecta mitjançant el test de difusió de doble disc (eritromicina i clindamicina) (vegeu la figura 2). La seva expressió és deguda a la presència d'una bomba d'*efflux* dependent d'energia (Sutcliffe *et al.*, 1996). Els gens *mef(A)* (*macrolide efflux*) i *mef(E)* codifiquen proteïnes implicades amb l'*efflux* de macròlids en *S. pyogenes* i *S. pneumoniae*, respectivament. L'anàlisi

TAULA 6. Fenotipus i mecanismes de resistència a macròlids i altres antibiòtics relacionats, com la clindamicina i estreptogramines en cocs grampositius

Antibiòtic ^a						Fenotipus	Producte	Mecanisme	Frequència
14-M	15-M	16-M	L	Sb	Sa				
<i>S. pneumoniae</i>									
R	R	R	R	R	S	MLS _B ^b	<i>erm(B)</i> ^c	Modificació diana	+++
r	r	S	S	S	S	M	<i>mef(E)</i> ^d	Bomba expulsió	+
R	R	R	S	R	R	MS	<i>rplD</i> (L4)	Modificació diana	+/-
S	S	R	S	R	R	M ₁₆ S	<i>rri</i> (rRNA 23S)	Modificació diana	+/-
R	R	R	R	S	S	ML	<i>rri</i> (rRNA 23S)	Modificació diana	+/-
<i>S. pyogenes</i>									
r	r	S	S	S	S	M	<i>mef(A)</i>	Bomba expulsió	+++
R	R	R	R	R	S	MLS _B	<i>erm(B)</i>	Modificació diana	+
R	R	R	R	S	S	ML	Mutació rRNA 23S	Modificació diana	-/+
<i>Streptococcus</i> β-hemolítics dels grups B, C i G									
R	R	R	R	R	S	MLS _B	<i>erm(B)</i>	Modificació diana	++
r	r	S	S	S	S	M	<i>mef(A)</i> , <i>mef(E)</i>	Bomba expulsió	+
<i>Staphylococcus</i>									
R	R	R	R	R	S	MLS _B	<i>erm(C)</i> , <i>erm(A)</i>	Modificació diana	+++
I/R	I/R	S	S	S	R	M, MS	<i>msr(A)</i> , <i>msr(B)</i> , <i>erp(A)</i>	Bomba expulsió	++
<i>Enterococcus</i>									
R	R	R	R	R		MLS _B	<i>erm(B)</i> ^f	Modificació diana	+++
r	r	S	S	S		M	<i>mef(A)</i>	Bomba expulsió	+/-

^a 14, 15, 16-M: macròlids de catorze, quinze o setze àtoms; L: lincosamides; Sa: estreptogramines del grup A; Sb: estreptogramines del grup B; S: sensible; R: resistent; r: resistència de baix nivell.

^b L'expressió d'aquest fenotipus pot ser de caràcter constitutiu o induïble.

^c El gen *erm(TR)* també s'ha detectat ocasionalment en soques de *S. pneumoniae*.

^d El gen *mef(A)* també s'ha detectat ocasionalment en *S. pneumoniae*.

^e El gen *erm(Y)* també s'ha detectat en soques de *Staphylococcus aureus* (Matsuoka *et al.*, 2003).

^f El gen *erm(A)* també s'ha detectat en aquest gènere (Portillo *et al.*, 2000).

Referències: Jalava *et al.*, 2004; Pechere, 2001; Torres, 2002.

de la seqüència d'aminoàcids mostrà la presència de dotze dominis transmembranosos, i els assaigs d'*efflux* en presència d'arsenat suggeriren que Mef(A) i Mef(E) depenien d'una força motriu de protons (Clancy *et al.*, 1996; Tait-Kamradt *et al.*, 1997). Segons la nomenclatura actual, ambdós es designen com a *mef(A)* (Roberts *et al.*, 1999) per posseir un 90 % d'identitat. El fenotipus M, associat a gens *mef*, és molt freqüent en *S. pyogenes* al nostre país (Portillo *et al.*, 1999a; Morosini *et al.*, 2003; Alós *et al.*, 2000), i és menys freqüent en *S. pneumo-*

niae (Morosini *et al.*, 2001; Seral *et al.*, 2001). Els gens *mef* s'han descrit en d'altres grampositius, com *Enterococcus* sp., *Micrococcus luteus*, *Streptococcus* del grup viridans i *Streptococcus agalactiae* (Arpin *et al.*, 1999a, 1999b; Luna *et al.*, 1999), i en gramnegatius (*Acinetobacter junii* i *Neisseria gonorrhoeae*) (Cousin *et al.*, 2003; Luna *et al.*, 2000; Ojo *et al.*, 2004; Pechere, 2001).

En soques de *S. pneumoniae* ha estat trobat que el gen *mef(E)* forma part d'un element d'inscripció genètica, *mega* (*macrolide efflux genetic assembly*), associat a l'augment de la re-

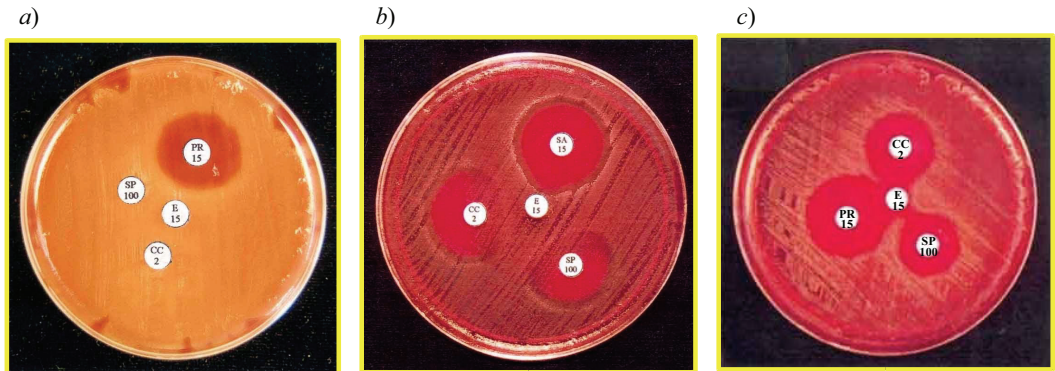


FIGURA 2. Fenotipus de resistència representatius de soques de *Streptococcus* sp.: a) fenotipus MLS_B constitutiu, b) fenotipus MLS_B induïble i c) fenotipus M.

sistència a macròlids (Gay i Stephens, 2001; Tait-Kamradt *et al.*, 1997). *Mega* conté un operó al qual dos gens (*mef* i un altre anomenat *mel*) es cotranscriuen, i són part d'un sistema d'*efflux* dual: *mef*(E) codifica un transportador dependent de protons, tal com va ser descrit per Tait-Kamradt *et al.* (1997), i *mel* ho fa amb un transportador ABC, homòleg a l'*msr*(A) d'estafilococs (Gay i Stephens, 2001). Segons aquests autors, sembla que *mega* és relacionat amb un transposó conjugatiu, hipòtesi recolzada per diversos estudis (Santagati *et al.*, 2000).

El gen *mre*(A) (*macrolide resistance efflux*) fou inicialment considerat un gen d'*efflux* de macròlids en *S. agalactiae* (Clancy *et al.*, 1997). Més tard s'ha observat que aquest gen codifica una flavocinasa, que podria posseir una funció metabòlica, i s'ha detectat el possible caràcter intrínsec del mateix en *S. agalactiae* (Clarebout *et al.*, 2001). Queda per demostrar la implicació d'aquest gen en la resistència a macròlids en *S. agalactiae*, malgrat que s'ha provat que la transferència del gen en *E. coli* li confereix resistència a macròlids per un mecanisme encara desconegut (Clarebout *et al.*, 2001). A la taula 3 hi ha els gens relacionats amb bombes d'*efflux* de macròlids i els microorganismes on han estat trobades.

Modificació de la diana per mutació de l'rRNA 23S o proteïnes ribosòmiques

Després del descobriment dels gens *erm*, s'han identificat altres mecanismes de resistència, que porten associats una modificació de l'estructura de l'rRNA 23S. Així, s'han descrit mutacions als dominis II i V de l'rRNA 23S com a responsables de la resistència a macròlids en una gran varietat d'espècies bacterianes (Canu *et al.*, 2002; Depardieu i Courvalin, 2001; Poehlsgaard i Douthwaite, 2002; Tait-Kamradt *et al.*, 2000a, 2000b; Vester i Douthwaite, 2001). A la taula 4 es presenten les mutacions a l'rRNA 23S més rellevants de la resistència als macròlids descrites tant en soques clíniques com en mutants de laboratori. Les mutacions a les posicions 2058 o 2059 del domini V de l'rRNA 23S confereixen els valors més grans de resistència per a determinats macròlids, i el canvi A2058G és el més freqüentment trobat en soques clíniques (*Helicobacter pylori*, *Mycobacterium* sp., *S. pneumoniae* i *Campylobacter* sp.). Els fenotipus de resistència que confereixen varien entre microorganismes, i les mutacions que produeixen un fenotipus MLS_B són, per exemple, A2058U en soques d'*E. coli*, A2058C/G/U en *H. pylori* o A2058G en *Propionibacterium* sp. i *Streptomyces ambofaciens* (Vester i Douthwaite, 2001). Els

microorganismes patògens que presenten resistència a macròlids per modificació de la diana per mutacions a les posicions A2058 o A2059 solen posseir d'un a tres operons de rRNA (*rrn*), com en el cas d'*H. pylori*, *Campylobacter* sp. i *Mycobacterium* sp. En microorganismes amb múltiples operons *rrn*, com *Enterococcus*, *Streptococcus* i *Staphylococcus* sp., són més freqüents altres mecanismes, com bombes d'*efflux* o metilacions per gens *erm*. A més, les posicions 2057, 2452 i 2611, malgrat que són properes a l'estructura secundària de l'rRNA 23S, es troben lleugerament allunyades del lloc d'interacció dels macròlids, raó per la qual confereixen menors nivells de resistència (Vester i Douthwaite, 2001). Actualment s'estan descrivint mutacions a l'rRNA 23S en d'altres espècies bacterianes com *S. pyogenes* (Jalava *et al.*, 2004), i en d'altres posicions de l'rRNA 23S, com seria el cas de les posicions 2144 i 2182 en *H. pylori*, que confereixen una elevada resistència a macròlids (Khan *et al.*, 2004).

Per una altra banda, s'han identificat mutacions, insercions o delecions als gens codificadors de les proteïnes ribosòmiques L4 o L22 de soques de *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, i *Staphylococcus aureus* resistents a macròlids, malgrat que és un mecanisme de resistència poc freqüent en aquestes espècies bacterianes (Malbruny *et al.*, 2002; Pérez-Trallero *et al.*, 2003; Prunier *et al.*, 2002; Tait-Kamradt *et al.*, 2000b). Aquestes mutacions modifiquen l'estructura de l'rRNA 23S i permeten que una molècula d'eritromicina contacti alhora amb els dominis II i V (Gregory i Dahlberg, 1999).

Desactivació enzimàtica

Un altre mecanisme de resistència, poc freqüent en soques clíniques, és el constituït per gens que desactiven antibiòtics macròlids mitjançant la modificació de la seva estructura. Wondrack *et al.* (1996) varen descriure una soca de *S. aureus*, productora d'esterases, que podia desactivar macròlids de catorze i set-

ze àtoms (a diferència de les esterases trobades en *E. coli*, que desactiven macròlids de catorze i quinze àtoms), i que a més posseïa un determinant d'*efflux msr(A)*. Posteriors estudis varen identificar en aquesta soca el gen *mph(C)* (*macrolide phosphotransferase*), codificador d'una fosforilasa que pot desactivar macròlids de catorze àtoms i que és al mateix operó que *msr(A)* (Cheng *et al.*, 1999). Per una altra banda, Matsuoka *et al.* (1998) descriueren, en una soca de *S. aureus*, la presència d'un plasmidi que duia tres gens de resistència a macròlids: *mph(BM)*, actualment designat com a *mph(C)* (Roberts *et al.*, 1999), que codifica una fosfotransferasa; *msr(SA)*, actualment anomenat *msr(A)* (Roberts *et al.*, 1999), que codifica una proteïna d'*efflux* de macròlids de tipus ABC i un gen *erm*, que encara roman sense caracteritzar. Anys ençà, els mateixos autors identificaren aquest darrer gen, i el varen situar darrere de *mph(C)*, el suau esmentat plasmidi, com *erm(Y)* (Matsuoka *et al.*, 2002). Posteriors estudis suggeriren que el gen *msr(A)* és necessari per a l'expressió del gen *mph(C)* (Matsuoka *et al.*, 2003). Molt recentment s'han descrit enzims desactivadors de macròlids en dotze nous gèneres de bacteris gramnegatius aïllats de nens sans amb poca exposició a antibiòtics (Ojo *et al.*, 2004), però de moment no s'han descrit en enterococs ni estreptococs. Tots els gens relacionats amb aquest mecanisme són descrits en detall a la taula 5.

La taula 6 presenta els fenotipus i els mecanismes de resistència a antibiòtics macròlids, i a lincosamides i estreptogramines, i també la freqüència de detecció dels mateixos en diferents espècies de *Streptococcus*, *Staphylococcus* i *Enterococcus*.

BIBLIOGRAFIA

- ALÓS, J. I.; ARACIL, B.; OTEO, J.; TORRES, C.; GÓMEZ-GARCÉS, J. L. (2000). «High prevalence of erythromycin-resistant, clindamycin/miocomycin-susceptible (M phe-

- notype) *Streptococcus pyogenes*: results of a Spanish multicentre study in 1998. Spanish Group for the Study of Infection in the Primary Health Care Setting». *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 45, pàg. 605-609.
- ARPIN, C.; CANRON, M. H.; MAUGEIN, J.; QUENTIN, C. (1999a). «Incidence of *mefA* and *mefE* genes in viridans group streptococci». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 43, pàg. 2335-2336.
- ARPIN, C.; DAUBE, H.; TESSIER, F.; QUENTIN, C. (1999b). «Presence of *mefA* and *mefE* genes in *Streptococcus agalactiae*». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 43, pàg. 944-946.
- ARTHUR, M.; BRISSON-NOËL, A.; COURVALIN, P. (1987). «Origin and evolution of genes specifying resistance to macrolides, lincosamide and streptogramin antibiotics: data and hypotheses». *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 20, pàg. 783-802.
- BOZDOGAN, B.; GALOPIN, S.; LECLERCQ, R. (2004). «Characterization of a new *erm*-related macrolide resistance gene present in probiotic strains of *Bacillus clausii*». *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 70, pàg. 280-284.
- CANU, A.; MALBRUNY, B.; COQUEMONT, M.; DAVIES, T. A.; APPELBAUM, P. C.; LECLERC, R. (2002). «Diversity of ribosomal mutations conferring resistance to macrolides, clindamycin, streptogramin, and telithromycin in *Streptococcus pneumoniae*». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 46, pàg. 125-131.
- CHAMPNEY, W. S. (1999). «Macrolide antibiotic inhibition of 50S ribosomal subunit formation in bacterial cells». *Recent Res. Devel. in Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 3, pàg. 39-58.
- CHENG, J.; GREBE, T.; WONDRAK, L.; COURVALIN, P.; SUTCLIFFE, J. (1999). «Characterization of genes involved in erythromycin resistance in a clinical strain of *Staphylococcus aureus*». *39th Intersci. Conf. Antimicrob. Agents Chemother.*, resum núm. 837.
- CHOI, S. S.; KIMN, S. K.; OH, T. G.; CHOI, E. C. (1997). «Role of mRNA termination in regulation of *ermK*». *J. Bacteriol.*, vol. 179, pàg. 2065-2067.
- CLANCY, J.; DIB-HAJJ, F.; PETITPAS, J.; YUAN, W. (1997). «Cloning and characterization of a novel macrolide efflux gene, *mreA*, from *Streptococcus agalactiae*». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 41, pàg. 2719-2723.
- CLANCY, J.; PETITPAS, J.; DIB-HAJJ, F.; YUAN, W.; CROGAN, M.; KAMATH, A. V.; BERGERON, J.; RETSEMA, J. A. (1996). «Molecular cloning and functional analysis of a novel macrolide-resistant determinant, *mefA*, from *Streptococcus pyogenes*». *Mol. Microbiol.*, vol. 22, pàg. 867-879.
- CLAREBOUT, G.; VILLERS, C.; LECLERCQ, R. (2001). «Macrolide resistance gene *mreA* of *Streptococcus agalactiae* encodes a flavokinase». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 45, pàg. 2280-2286.
- COUSIN JR, S.; WHITTINGTON, W. L.; ROBERTS, M. C. (2003). «Acquired macrolide resistance genes in pathogenic *Neisseria* spp. isolated between 1940 and 1987». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 47, pàg. 3877-3880.
- DALY, M.; DOKTOR, S.; FLAMM, R.; SHORTRIDGE, D. (2004). «Characterization and prevalence of *MefA*, *MefE*, and the associated *msr(D)* gene in *Streptococcus pneumoniae* clinical isolates». *J. Clin. Microbiol.*, vol. 42, pàg. 3570-3574.
- DEPARDIEU, F.; COURVALIN, P. (2001). «Mutation in 23S rRNA responsible for resistance to 16-membered macrolides and streptogramins in *Streptococcus pneumoniae*». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 45, pàg. 319-323.
- DOUTHWAITE, S.; CHAMPNEY, W. S. (2001). «Structures of ketolides and macrolides determine their mode of interaction with the ribosomal target site». *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 48, pàg. 1-8.
- DOUTHWAITE, S.; PRINCE, J. B.; NOLLER, H. F. (1985). «Evidence for functional interaction between domains II and V of 23S ribosomal RNA from an erythromycin resistant mutant». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 82, pàg. 8330-8334.
- FERNÁNDEZ-MUÑOZ, R.; MONRO, R. E.; TORRES-PINEDO, R.; VASQUEZ, D. (1971). «Substrate- and antibiotic-binding sites at the peptidyl-transferase centre of *Escherichia coli* ribosomes. Studies on the cloramphenicol, lincomycin and erythromycin sites». *Eur. J. Biochem.*, vol. 23, pàg. 185-193.
- GAY, K.; STEPHENS, D. S. (2001). «Structure and dissemination of a chromosomal insertion element encoding macrolide efflux in *Streptococcus pneumoniae*». *J. Infect. Dis.*, vol. 184, pàg. 56-65.
- GREGORY, S. T.; DAHLBERG, A. E. (1999). «Erythromycin resistance mutations in ribosomal proteins L22 and L4 perturb the higher order structure of 23S ribosomal RNA». *J. Mol. Biol.*, vol. 289, pàg. 827-834.
- JALAVA, J.; VAARA, M.; HOUVINEN, P. (2004). «Mutation at the position 2058 of the 23S rRNA as a cause of macrolide resistance in *Streptococcus pyogenes*». *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.*, vol. 3, pàg. 5.
- JENSEN, L. B.; FRIMODT-MOLLER, N.; AARESTRUP, F. M. (1999). «Presence of *erm* gene classes in Gram-positive bacteria of animal and human origin in Denmark». *FEMS Microbiol. Lett.*, vol. 170, pàg. 151-158.
- KHAN, R.; NAHAR, S.; SULTANA, J.; AHMAD, M. M.; RAHMAN, M. (2004). «T2182C mutation in 23S rRNA is associated with clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori* isolates obtained in Bangladesh». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 48, pàg. 3567-3569.
- KIM, Y. H.; CHA, C. J.; CERNIGLIA, C. E. (2002). «Purification and characterization of an erythromycin esterase from an erythromycin-resistant *Pseudomonas* sp.» *FEMS Microbiol. Lett.*, vol. 210, pàg. 239-244.
- LAI, C. J.; WEISBLUM, B. (1971). «Altered methylation of ribosomal RNA in an erythromycin-resistant strain of *Staphylococcus aureus*». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 68, pàg. 856-860.
- LECLERCQ, R. (2002). «Staphylococci resistant to antibiotic therapy». *Ann. Fr. Anesth. Reanim.*, vol. 21, pàg. 375-383.
- LUNA, V. A.; COATES, P.; EADY, E. A.; COVE, J. H.; NGUYEN, T. H. T.; ROBERTS, M. C. (1999). «A variety of Gram-pos-

- itive bacteria carry the mobile *mef* genes». *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 44, pàg. 19-25.
- LUNA, V. A.; COUSIN, S.; WHITTINGTON, W. L. H.; ROBERTS, M. C. (2000). «Identification of the conjugative *mef* gene in clinical *Acinetobacter junii* and *Neisseria gonorrhoeae* isolates». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 44, pàg. 2503-2506.
- MALBRUNY, B.; NAGAI, K.; COQUEMONT, M.; BOZDOGAN, B.; ANDRASEVIC, A. T.; HUPKOVA, H.; LECLERCQ, R.; APPELBAUM, P. C. (2002). «Resistance to macrolides in clinical isolates of *Streptococcus pyogenes* due to ribosomal mutations». *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 49, pàg. 935-939.
- MAO, J. C. H.; PUTTERMAN, M. (1968). «Accumulation in Gram-positive and Gram-negative bacteria as a mechanism of resistance to erythromycin». *J. Bacteriol.*, vol. 96, pàg. 111-117.
- MATSUOKA, M.; ENDOU, K.; KOBAYASHI, H.; INOUE, M.; NAKAJIMA, Y. (1998). «A plasmid that encodes three genes for resistance to macrolide antibiotics in *Staphylococcus aureus*». *FEMS Microbiol. Lett.*, vol. 167, pàg. 221-227.
- MATSUOKA, M.; INOUE, M.; ENDO, Y.; NAKAJIMA, Y. (2003). «Characteristic expression of three genes, *msr(A)*, *mph(C)* and *erm(Y)*, that confer resistance to macrolide antibiotics on *Staphylococcus aureus*». *FEMS Microbiol. Lett.*, vol. 220, pàg. 287-293.
- MATSUOKA, M.; INOUE, M.; NAKAJIMA, Y.; ENDO, Y. (2002). «New *erm* gene in *Staphylococcus aureus* clinical isolates». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 46, pàg. 211-215.
- MENSA, J.; GARCÍA-VAZQUEZ, E.; VILA, J. (2003). «Macrólidos, ketólidos y estreptograminas». *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, vol. 21, pàg. 200-207.
- MOROSINI, M. I.; CANTÓN, R.; LOZA, E.; CAMPO, R. DEL; ALMARAZ, F.; BAQUERO, F. (2003). «*Streptococcus pyogenes* isolates with characterized macrolide resistance mechanisms in Spain: *in vitro* activities of telithromycin and cethromycin». *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 52, pàg. 50-55.
- MOROSINI, M. I.; CANTÓN, R.; LOZA, E.; NEGRI, M. C.; GALÁN, J. C.; ALMARAZ, F.; BAQUERO, F. (2001). «*In vitro* activity of telithromycin against Spanish *Streptococcus pneumoniae* isolates with characterized macrolide resistance mechanisms». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 45, pàg. 2427-2431.
- OJO, K. K.; ULEP, C.; KIRK, N. VAN; LUIS, H.; BERNARDO, M.; LEITAO, J.; ROBERTS, M. C. (2004). «The *mef(A)* gene predominates among seven macrolide resistance genes identified in Gram-negative strains representing 13 genera, isolated from healthy Portuguese children». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 48, pàg. 3451-3456.
- PECHERE, J. C. (2001). «Macrolide resistance mechanisms in Gram-positive cocci». *Int. J. Antimicrob. Agents*, vol. 18, pàg. S25-S28.
- PÉREZ-TRALLERO, E.; MARIMÓN, J. M.; IGLESIAS, L.; LARRUSKAIN, J. (2003). «Fluoroquinolone and macrolide treatment failure in pneumococcal pneumonia and selection of multi-drug resistant isolates». *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 9, pàg. 1159-1162.
- POEHLGAARD, J.; DOUTHWAITE, S. (2002). «The macrolide binding site on the bacterial ribosome». *Curr. Drug Targets Infect. Disord.*, vol. 2, pàg. 67-78.
- PORTILLO, A.; LANTERO, M.; GASTAÑARES, M. J.; RUIZ-LARREA, F.; TORRES, C. (1999a). «Macrolide resistance phenotypes and mechanisms of resistance in *Streptococcus pyogenes* in La Rioja, Spain». *Int. J. Antimicrob. Agents*, vol. 13, pàg. 137-140.
- PORTILLO, A.; LANTERO, M.; GASTAÑARES, M. J.; RUIZ-LARREA, F.; ZARAZAGA, M.; OLARTE, I.; TORRES, C. (1999b). «MLS phenotypes and mechanisms of resistance in *Streptococcus pneumoniae*». A: ZINNER, S. H.; YOUNG, L. S.; ACAR, J. F.; NEU, H. C. [ed.] *New considerations for macrolides, azalides, streptogramins, and ketolidés*. Nova York: Marcel Dekker, pàg. 237-242.
- PORTILLO, A.; LANTERO, M.; OLARTE, I.; RUIZ-LARREA, F.; TORRES, C. (2001). «MLS resistance phenotypes and mechanisms in β -haemolytic group B, C and G *Streptococcus* isolates in La Rioja, Spain». *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 47, pàg. 113-114.
- PORTILLO, A.; RUIZ-LARREA, F.; ZARAZAGA, M.; ALONSO, A.; MARTÍNEZ, J. L.; TORRES, C. (2000). «Macrolide resistance genes in *Enterococcus* spp.». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 44, pàg. 967-971.
- PRUNIER, A. L.; MALBRUNY, B.; TANDE, D.; PICARD, B.; LECLERCQ, R. (2002). «Clinical isolates of *Staphylococcus aureus* with ribosomal mutations conferring resistance to macrolides». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 46, pàg. 3054-3056.
- RASMUSSEN, J. L.; ODELSON, D. A.; MACRINA, F. L. (1986). «Complete nucleotide sequence and transcription of *ermF*, a macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance determinant from *Bacteroides fragilis*». *J. Bacteriol.*, vol. 168, pàg. 523-533.
- REIG, M.; GALÁN, J. C.; BAQUERO, F.; PÉREZ-DÍAZ, J. C. (2001). «Macrolide resistance in *Peptostreptococcus* spp. mediated by *ermTR*: possible source of macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance in *Streptococcus pyogenes*». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 45, pàg. 630-632.
- RETSEMA, J.; FU, W. (2001). «Macrolides: structures and microbial targets». *Int. J. Antimicrob. Agents*, vol. 18 (supl. 1), pàg. S3-S10.
- ROBERTS, M. C. (2002). «Resistance to tetracycline, macrolide-lincosamide-streptogramin, trimethoprim, and sulfonamide drug classes». *Mol. Biotechnol.*, vol. 20, pàg. 261-283.
- ROBERTS, M. C.; SUTCLIFFE, J.; COURVALIN, P.; JENSEN, L. B.; ROOD, J.; SEPPÄLÄ, H. (1999). «Nomenclature for macrolide and macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance determinants». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 43, pàg. 2823-2830.
- ROSS, J. I.; EADY, E. A.; COVE, J. H.; BAUMBERG, S. (1995). «Identification of a chromosomally encoded ABC-trans-

- port system with which the staphylococcal erythromycin exporter MsrA may interact». *Gene*, vol. 153, pàg. 93-98.
- ROSS, J. I.; EADY, E. A.; COVE, J. H.; CUNLIFFE, W. J.; BAUMBERG, S.; WOOTTON, J. C. (1990). «Inducible erythromycin resistance in staphylococci is encoded by a member of the ATP-binding transport supergene family». *Mol. Microbiol.*, vol. 4, pàg. 1207-1214.
- ROSS, J. I.; FARELL, M. A.; EADY, E. A.; COVE, J. H.; CUNLIFFE, W. J. (1989). «Characterisation and molecular cloning of the novel macrolide-streptogramin B resistance determinant from *Staphylococcus epidermidis*». *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 24, pàg. 851-862.
- SANTAGATI, M.; IANNELLI, F.; OGGIONI, M. R.; STEFANI, S.; POZZI, G. (2000). «Characterization of a genetic element carrying the macrolide efflux gene *mef(A)* in *Streptococcus pneumoniae*». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 44, pàg. 2585-2587.
- SCHMITZ, F. J.; SADURSKI, R.; KRAY, A.; BOOS, M.; GEISEL, R.; KOHRER, K.; VERHOEF, J.; FLUIT, A. C. (2000). «Prevalence of macrolide-resistance genes in *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecium* isolates from 24 European university hospitals». *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 45, pàg. 891-984.
- SEPPÄLÄ, H.; NISSINEN, A.; YU, Q.; HUOVINEN, P. (1993). «Three different phenotypes of erythromycin-resistant *Streptococcus pyogenes* in Finland». *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 32, pàg. 885-891.
- SEPPÄLÄ, H.; SKURNIK, M.; SOINI, H.; ROBERTS, M. C.; HUOVINEN, P. (1998). «A novel erythromycin resistance methylase gene (*ermTR*) in *Streptococcus pyogenes*». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 42, pàg. 257-262.
- SERAL, C.; CASTILLO, F. J.; RUBIO-CALVO, M. C.; FENOLL, A.; GARCÍA, C.; GÓMEZ-LUS, R. (2001). «Distribution of resistance genes *tet(M)*, *aph3'-III*, *catpC194* and the integrase gene of Tn1545 in clinical *Streptococcus pneumoniae* harbouring *erm(B)* and *mef(A)* genes in Spain». *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 47, pàg. 863-866.
- SINGH, K. V.; MALATHUM, K.; MURRAY, B. E. (2001). «Disruption of an *Enterococcus faecium* species-specific gene, a homologue of acquired macrolide resistance genes of staphylococci, is associated with an increase in macrolide susceptibility». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 45, pàg. 263-266.
- SUTCLIFFE, J.; TAIT-KAMRADT, A.; WONDRACK, L. (1996). «*Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* resistant to macrolides but sensitive to clindamycin: a common resistance pattern mediated by an efflux system». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 40, pàg. 1817-1824.
- SYROGIANNOPOULOS, G. A.; GRIVEA, I. O.; TAIT-KAMRADT, A.; KATOPODIS, G. D.; BERATIS, N. G.; SUTCLIFFE, J.; APPELBAUM, P. C.; DAVIES, T. A. (2001). «Identification of an *erm(A)* erythromycin resistance methylase gene in *Streptococcus pneumoniae* isolated in Greece». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 45, pàg. 342-344.
- TAIT-KAMRADT, A.; CLANCY, J.; CRONAN, M.; DIB-HAJJ, F.; WONDRACK, L.; YUAN, W.; SUTCLIFFE, J. (1997). «*mefE* is necessary for the erythromycin-resistant M phenotype in *Streptococcus pneumoniae*». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 41, pàg. 2251-2255.
- TAIT-KAMRADT, A.; DAVIES, T.; APPELBAUM, P. C.; DEPARDIEU, F.; COURVALIN, P.; PETITPAS, J.; WONDRACK, L.; WALKER, A.; JACOBS, M. R.; SUTCLIFFE, J. (2000a). «Two new mechanisms of macrolide resistance in clinical strains of *Streptococcus pneumoniae* from Eastern Europe and North America». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 44, pàg. 3395-3401.
- TAIT-KAMRADT, A.; DAVIES, T.; CRONAN, M.; JACOBS, M. R.; APPELBAUM, P. C.; SUTCLIFFE, J. (2000b). «Mutations in 23S rRNA and ribosomal protein L4 account for resistance in pneumococcal strains selected *in vitro* by macrolide passage». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 44, pàg. 2118-2125.
- TORRES, C. (2002). «Lectura interpretada del antibiograma de cocos Gram-positivos». *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, vol. 20, pàg. 354-364.
- VESTER, B.; DOUTHWAITE, S. (2001). «Macrolide resistance conferred by base substitutions in 23S rRNA». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 45, pàg. 1-12.
- WEISBLUM, B. (1985). «Inducible resistance to macrolides, lincosamides and streptogramin type B antibiotics: the resistance phenotype, its biological diversity, and structural element that regulate expression – a review». *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 16, pàg. 63-90.
- (1995). «Insights into erythromycin action from studies of its activity as inducer of resistance». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 39, pàg. 797-805.
- (1998). «Macrolide resistance». *Drug Resist. Update*, vol. 1, pàg. 29-41.
- (2000). «Resistance to the macrolide-lincosamide-streptogramin antibiotics». A: FISCHETTI, V. A. [ed.] *Gram positive pathogens*. Washington: ASM.
- WONDRACK, L.; MASSA, M.; YANG, B. V.; SUTCLIFFE, J. (1996). «Clinical strain of *Staphylococcus aureus* inactivates and causes efflux of macrolides». *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 40, pàg. 992-998.