

Interpretación del Antibiograma en la práctica clínica diaria

CURSO ONLINE IBEROAMERICANO
27 DE JULIO - 14 DE SEPTIEMBRE DE 2016
web: ATBgrama.evimed.net



Manual de Mecanismos de Resistencia a Antibióticos

Macrólidos y Lincosaminas

Prof. Agdo. Dr. Rafael Vignoli^{1,2}

Prof. Adj. Dra. Lorena Pardo^{1,3}

¹Departamento de Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Uruguay.

²Integrante del Sistema Nacional de Investigadores de Uruguay (Nivel I).

³Clínica Pediátrica, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Uruguay.

Tabla de contenido

Tabla de contenido	1
Macrólidos y Lincosaminas.....	1
1. Macrólidos.....	1
2. Lincosamidas	9
3. Referencias	11

Macrólidos y Lincosaminas

1. Macrólidos

1.1. Clasificación y Estructura

Los macrólidos comprenden un conjunto de antibióticos, bacteriostáticos, compuestos por un anillo lactónico a los que se les une uno o varios azúcares mediante enlaces glucosídicos¹.

Interpretación del Antibiograma en la práctica clínica diaria

CURSO ONLINE IBEROAMERICANO
27 DE JULIO - 14 DE SEPTIEMBRE DE 2016
web: ATBgrama.evimed.net



Pueden ser clasificados de acuerdo a la cantidad de átomos que forman el anillo de lactona; 14 átomos eritromicina y claritromicina, 15 átomos azitromicina y 16 átomos espiramicina¹. Ver figura 1 y tabla 1

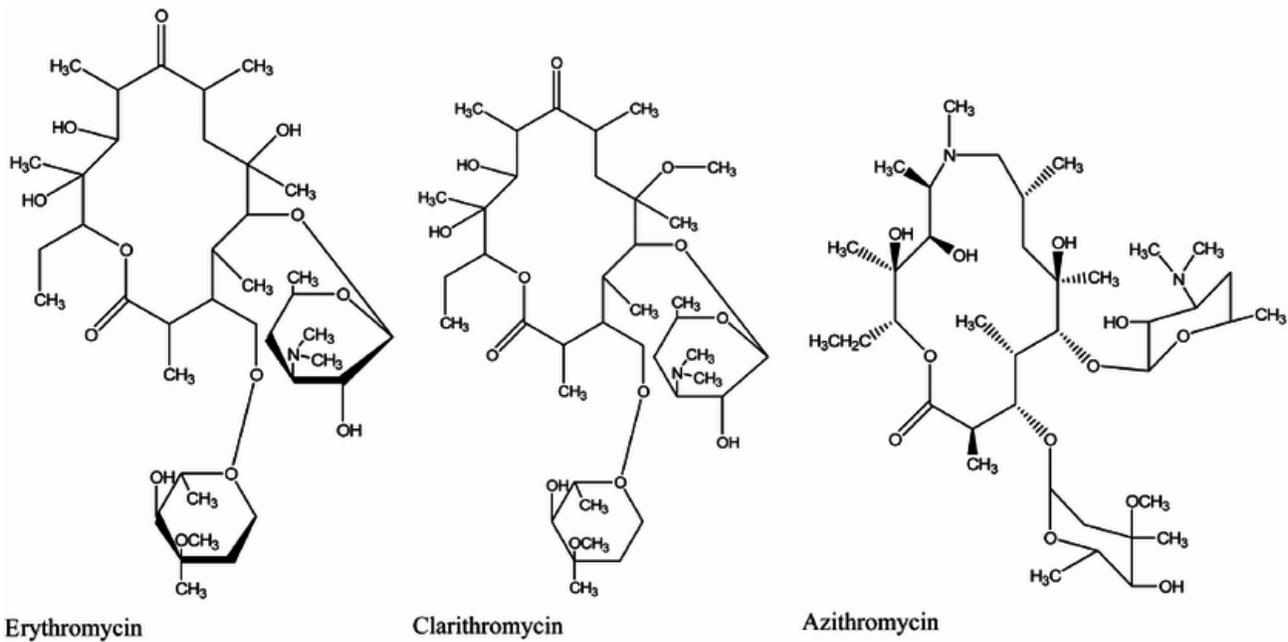


Figura 1. Estructura química de los macrólidos donde se muestra el anillo lactónico y los dos aminoazúcares presentes en la eritromicina, claritromicina y azitromicina.

Tabla 1

Clasificación en relación con el número de átomos del anillo macrolactónico

14 átomos	15 átomos	16 átomos
Eritromicina Clarithromicina Roxitromicina Telitromicina (cetólido)	Azitromicina (azólido)	Diacetilmidecamicina Espiramicina Josamicina

Tomado de Cobos-Trigueros y cols¹

Interpretación del Antibiograma en la práctica clínica diaria

CURSO ONLINE IBEROAMERICANO
27 DE JULIO - 14 DE SEPTIEMBRE DE 2016
web: ATBgrama.evimed.net



Eritromicina, el primer macrólido utilizado cerca del año 1950 en la práctica clínica, procede de *Saccharopolyspora erythraea*. Son activos frente a bacterias Gram positivas como *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus sp.*, Enterococos, algunas especies Gram negativas como *N. gonorrhoeae*, *B. pertussis* y *H. influenzae*; teniendo la ventaja adicional de actuar en microorganismos intracelulares como *Legionella* y *Chlamydia* así como con *M. pneumoniae*².

Los derivados semisintéticos de eritromicina incluyen en una primera instancia azitromicina y claritromicina, constituyendo los macrólidos de segunda generación.

La tercera generación de este grupo de antibióticos está comprendido por los cetólidos.

Si bien los macrólidos son utilizados fundamentalmente para el tratamiento de infecciones por gram positivos; la azitromicina es dentro de estos, la que tienen mejor actividad sobre algunos gram negativos como ser *Haemophilus influenzae* y *Neisseria gonorrhoeae*. Adicionalmente se la ha propuesto como una opción terapéutica para el tratamiento de las diarreas con sangre.

1.2. Mecanismo de acción

Este grupo de antibióticos tiene como mecanismo de acción inhibir la elongación de la cadena proteica. Actúa en el ribosoma bacteriano, un complejo proteico, formado por dos subunidades nombradas de acuerdo a su coeficiente de sedimentación (30S y 50S).

La cadena proteica en formación se elonga en un dominio ubicado en la subunidad grande del ribosoma. Es en este “centro” donde se adicionan los aminoácidos que emergen del ribosoma a través de un sector llamado por algunos autores “túnel de salida”.

Los macrólidos se unen al ribosoma bacteriano en este sector, cerrando este túnel y bloqueando de esta forma la traducción de proteínas en la bacteria^{3,4}. Ver figura 2.

Seguramente debido al gran tamaño de la subunidad 50S del ribosoma y la variabilidad inter-especie de este complejo proteico, a pesar de ser una estructura bastante conservada en los microorganismos; no todos los macrólidos se unen exactamente en el mismo sitio. Por ejemplo azitromicina también se ubica de manera estrecha al túnel de salida de la cadena polipeptídica pero más lejana al sitio activo de esta subunidad de lo que lo hace eritromicina⁵.

Interpretación del Antibiograma en la práctica clínica diaria

CURSO ONLINE IBEROAMERICANO
27 DE JULIO - 14 DE SEPTIEMBRE DE 2016
web: ATBgrama.evimed.net

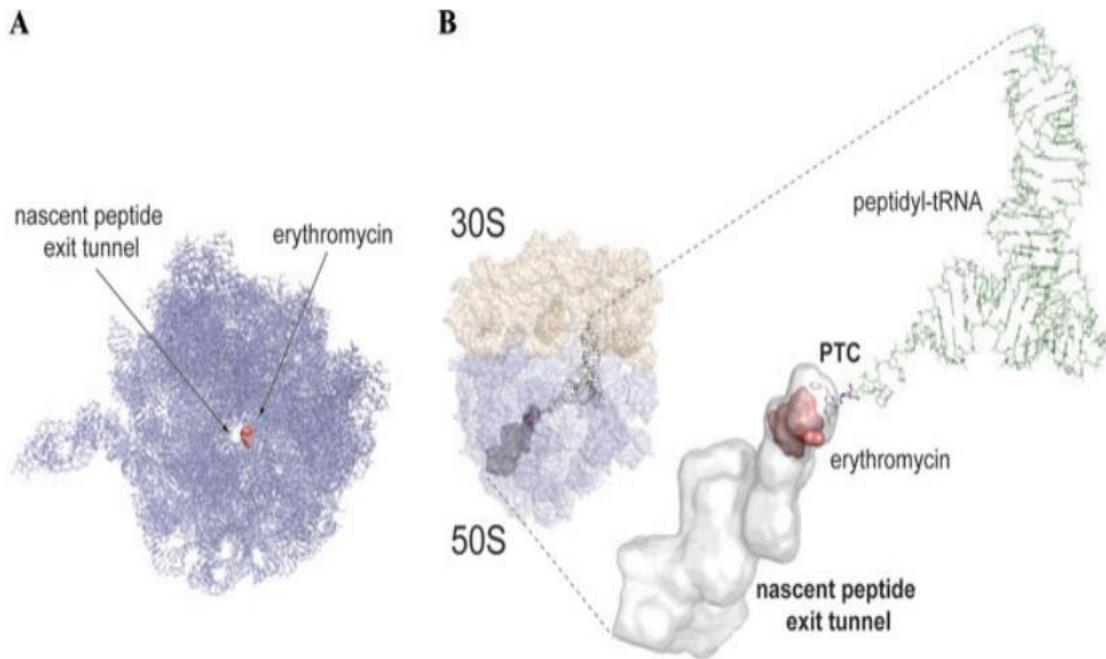


Figura 2. Representación del mecanismo de acción de los macrólidos por obstrucción del túnel de salida. Tomada de Kannan y cols³.

Estudios basados en metagenómica mostraron que la inhibición de la síntesis proteica se produce para determinadas proteínas, no el total de las mismas. Estos estudios apoyan la teoría que eritromicina actúa fundamentalmente en el sitio activo de esta subunidad (peptidil transferasa) y que inhibiría algunos motivos tanto de sustratos donadores como aceptores, más que la acción directa en la salida del túnel que se postuló en un inicio⁶.

Los macrólidos son compuestos básicos capaces de atravesar las membranas lipídicas, confiriéndole la particularidad de concentrarse adecuadamente dentro de las células eucariotas y atravesar la membrana externa de los bacilos Gram negativos.

Azitromicina se caracteriza por acumularse mejor que el resto de los macrólidos en las células fagocíticas, por lo tanto aumentaría su concentración en la localización de la infección⁷.



1.3. Mecanismos de resistencia

Bomba de eflujo:

La expulsión del antibiótico de la bacteria en los Cocos Gram positivos puede estar relacionada a los siguientes genes: *mefA*, *mefE* en *S. xyloso* y *msrA* y *msrB* en *S. aureus*, *erpB*.

Las bombas de eflujo son transportadores transmembrana que funcionan acoplados a una ATPasa. Son activas frente a macrólidos de 14-15 átomos, mientras que no lo son frente a 16 macrólidos, lincosamidas y estreptogramidas b. Por esta razón se le llama fenotipo M a este tipo de resistencia. De cada gen que codifica para este conjunto de proteínas que expulsa en antibiótico fuera de la célula puede haber variantes (por ejemplo *mefA* y *mefE*, menos frecuentemente *mefI* y *mefO*) con una conservación de la secuencia entre ellas cercanas al 90%. Los genes *mef* están insertos en un transposón ubicado en un profago que le permite la transferencia a otras especies⁸.

Estos transportadores están relacionados con los sistemas ABC acoplados a hidrólisis de ATP con diversas funciones celulares que no solo incluyen el transporte transmembrana, función más que reconocida, sino que también podrían intervenir en procesos celulares como la elongación de proteínas en la traducción y reparación del ADN⁹.

Cambio del sitio blanco de acción:

Los cambios en las secuencias que codifican la subunidad ribosomal pueden ser secundarios a mutaciones puntuales. Si bien este mecanismo se ha descrito (tanto en *S. pyogenes*, *S. pneumoniae* y *H. influenzae* es infrecuente), suele ser infrecuente en aislamientos clínicos. La mayoría de estas mutaciones ocurren en los dominios V del rARN y en las proteínas L4 y L22^{10,11}.

Otro tipo de variabilidad en el sitio blanco de acción lo constituyen los cambios post-transcripcionales, en particular la metilación de esta subunidad, en la posición A2058, sin alterar la secuencia de la proteína.

Este tipo de cambios en el ribosoma, genera resistencia a macrólidos, lincosamidas y estreptogramidas tipo b, denominada MLSb.

El gen *erm* con sus diferentes variantes es el responsable de esta resistencia al codificar una metilasa que altera el sitio blanco de unión del antibiótico al ribosoma bacteriano. Dado que este grupo de antibióticos comparten el mecanismo de acción: la unión al ribosoma bacteriano y la posterior inhibición de la síntesis proteica, el

Interpretación del Antibiograma en la práctica clínica diaria

CURSO ONLINE IBEROAMERICANO
27 DE JULIO - 14 DE SEPTIEMBRE DE 2016
web: ATBgrama.evimed.net



producto del gen *erm* determina resistencia a los tres grupos de antibióticos: macrólidos, lincosamidas y estreptograminas B¹².

En *S. aureus* y *S. pneumoniae*, así como en otras especies, la metilasa está codificada por los genes *erm* (*erythromycin ribosome metylation*) y constituye el mecanismo más relevante de resistencia de estos microorganismos a este antibiótico.

Se describen variantes entre distintas especies de las que se encuentran: *ermA*, *ermC*, *ermB*, *ermAM*, *ermF*, *ermD*, *ermG*, *ermE*, *ermA'*, y *ermTR*^{12,13}.

Se han encontrado genes relacionados con *ermAM* en *Clostridium* y enterobacterias, que se denominaron *ermP*, *ermZ* y *ermBC*^{14,15}.

En *S. aureus* los genes *erm* (en particular el gen *ermC*) se encuentran en un plásmido pequeño, multicopia, aunque en *S. aureus* también se lo puede encontrar en el cromosoma bacteriano.

Cuando se realiza el D test con oleandomicina en lugar de eritromicina, se observó que para el gen *ermC* este macrólido no funciona como inductor y que los bajos niveles de resistencia se asocian con el gen *ermA* en *Staphylococcus*¹⁶.

Menos frecuentemente se han encontrado este tipo de genes en plásmidos más grandes, conjugativos en general asociado resistencia a penicilina (portando *ermB*).

Luego de las primeras descripciones se han encontrado estos plásmidos en múltiples especies de *Streptococcus*, *Staphylococcus* y *Enterococos*^{17,18}.

La resistencia a clindamicina por este mecanismo puede ser inducible (iMLS) o constitutiva (cMLS). En *S. aureus* son inductores los macrólidos de 14 y 15 átomos. In vitro, suele utilizarse eritromicina, ya que es un buen inductor de la expresión de esta resistencia, evidenciado en el antibiograma convencional por un aplanamiento en el halo de inhibición para clindamicina cuando se colocan cerca los discos con estos antibióticos (efecto D).

Esta característica no está relacionada con el tipo de gen *erm* involucrado en un principio.

En *Streptococcus* spp la resistencia inducible puede ser clasificada según el fenotipo de resistencia a los macrólidos de 16 átomos en 3 fenotipos realizando un test con tres discos, eritromicina (colocada en el centro de la placa) con clindamicina y josamicina.

iMLS-A, resistencia a la josamicina, eritromicina e inducible a clindamicina.

Interpretación del Antibiograma en la práctica clínica diaria

CURSO ONLINE IBEROAMERICANO
27 DE JULIO - 14 DE SEPTIEMBRE DE 2016
web: ATBgrama.evimed.net



iMLS-B, resistencia inducible a josamicina y clindamicina con alto nivel de resistencia a eritromicina.

iMLS-C, resistencia inducible a josamicina y clindamicina con bajo nivel de resistencia a eritromicina¹⁹. Ver figura 3.

Las lincosamidas no funcionan in vitro como inductores del gen *erm*. Dosis sub-inhibitorias de eritromicina ofician como inductoras del mismo.

Los genes *ermC* fueron los responsables de forma predominante en los MSSA²⁰.

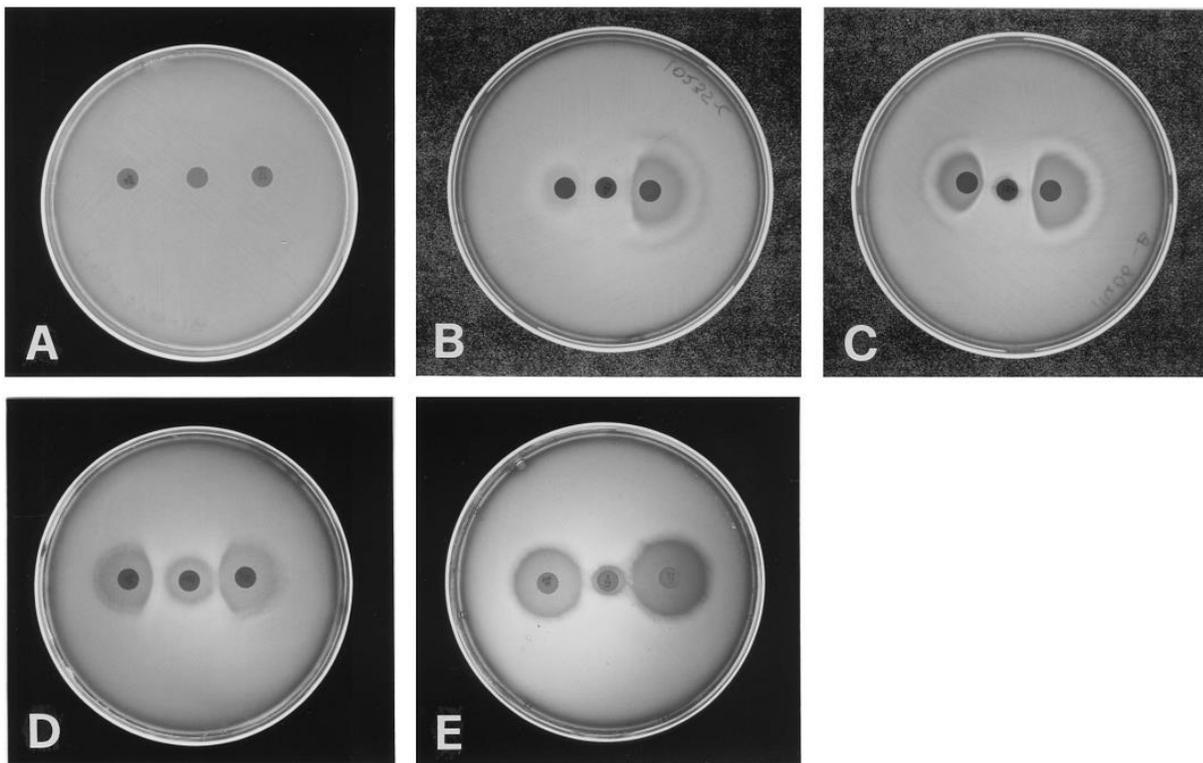


Figura 3. Fenotipos de resistencia iMLSb tomado de Giovenetti et al.¹⁹ Triple-test de disco. Se coloca un disco de eritromicina al centro (30 ug), con un disco de clindamicina (10ug) a la derecha y uno de josamicina (30uf) a la izquierda. (A) fenotipo cMLS (B)fenotipo iMLS (subtipo iMLS-A). (C)fenotipo iMLS (subtipo iMLS-B). (D)fenotipo iMLS (subtipoiMLS-C). (E) fenotipo M.

El mecanismo de la inducción de la resistencia a clindamicina, tiene que ver con cambios conformacionales del ARNm de la metilasa. En ausencia de eritromicina, dicho ARNm se encuentra en una conformación que esconde

Interpretación del Antibiograma en la práctica clínica diaria

CURSO ONLINE IBEROAMERICANO
27 DE JULIO - 14 DE SEPTIEMBRE DE 2016
web: ATBgrama.evimed.net



la secuencia de reconocimiento del ribosoma (secuencia de Shine-Dalgarno o SD). La unión de la eritromicina al ribosoma, generaría un cambio conformacional en el RNAm de la metilasa, que ahora liberaría la SD, lo cual permitiría que fuera leída por el ribosoma y se sintetizara la proteína correspondiente²¹.

La expresión de resistencia a clindamicina en forma constitutiva es sencilla de obtener a partir de cepas con iMLSb, en condiciones experimentales. Las cepas que presentan cMLSb son frecuentemente aquellos seleccionados de infecciones con alto inóculo.

Se describe que los aislamientos que presentan *ermC*, presentan una tasa de mutación 14 veces mayor que los que portan el gen *ermA*. Esta observación fue realizada en cepas provenientes de aislamientos clínicos y se reprodujo en cepas clonadas con estos genes.

Daurel y col observaron que los cambios genéticos se debían fundamentalmente a la pérdida de un sector de ADN en la región reguladora que se encuentra entre las regiones que codifican las 2 subunidades del ribosoma, que preceden en el genoma al gen *ermC*²².

En cepas portadoras de genes *ermC* que se expresan de forma constitutiva en *S. aureus*, se observaron tres tipos diferentes de mutaciones en la región reguladora *ermC*, que corresponden a deleciones, duplicaciones, mutaciones puntuales múltiples y supresiones²³.

Que un paciente con una infección por un *S. aureus*, portador de la resistencia MLSb inducible durante el tratamiento desarrolle la misma de forma constitutiva está reportado desde hace 40 años. Los primeros reportes, carecen de estudios que permitan afirmar se trate de la cepa portadora de resistencia inducible que en la evolución cambió a fenotipo constitutivo²⁴.

Los métodos de tipificación molecular como la electroforesis en campos pulsantes entre otras, disponibles en muchos laboratorios de referencia, son herramientas fundamentales para profundizar en este tipo de hallazgos²⁵.

El aumento de los casos CA-MRSA en algunos países, llevó a modificar las recomendaciones de antibioterapia empírica, donde clindamicina surgía como propuesta para el tratamiento empírico de algunas infecciones. Si bien esto no fue universal, se observó en algunos medios una frecuencia aumentada del fenotipo iMLSb que habitualmente se describía cercana al 5-10%²⁶. Telechea y col. observaron que a pesar del aumento del consumo de este antibiótico no se observó un aumento concomitante en esta resistencia²⁷.

Es discutida la significancia clínica del hallazgo del fenotipo iMLSb en *S. aureus* ya que la mayoría de las infecciones por este microorganismo requiere un curso corto de antibiótico y muchas de ellas con medidas locales, como lo son el drenaje, la limpieza de la infección y el uso de antibiótico tópicos son suficientes para el tratamiento.

Parece prudente y es recomendado que en infecciones severas, en pacientes inmunodeprimidos, tratamientos prolongados o con mala evolución clínica, no utilizar este antibiótico si presenta *S. aureus* iMLSb. Del mismo modo las recomendaciones tanto de CLSI como de EUCAST recomiendan informar este fenotipo como resistente o con una nota donde se aclare que cepas resistentes pueden emerger durante el tratamiento.

Por lo tanto, informar este fenómeno desde el laboratorio y buscar esta resistencia realizando el test D, debe formar parte de la rutina en estos microorganismos. El mismo se realiza colocando discos de eritromicina y clindamicina a una distancia de 15-20 mm. Se muestra a continuación el aplanamiento en el halo de inhibición.



Figura 4. Test de D donde se muestra el efecto inductor de eritromicina.

2. Lincosamidas

2.1. Mecanismo de acción

En este grupo se encuentran dos antibióticos de importancia, lincomicina y clindamicina, siendo este último el más utilizado en la práctica clínica. La lincomicina es un producto natural de algunas especies entre las que se



encuentran *Streptomyces lincolnensis*, *S. espinosus* y *Actinomyces roseolus*, siendo clindamicina un derivado semisintético.

Compite con macrólidos y cloranfenicol por el sitio activo, la subunidad 50 s del ribosoma.

Los ribosomas contienen dos subunidades de acuerdo a su coeficiente de sedimentación, siendo el grande (50S) formado por 30 proteínas y 2 cadenas de ARN (23S ARN y 5S ARN). Clindamicina se une a la cadena 23S. Bloquea la síntesis de proteínas, al inhibir de forma temprana la elongación de la cadena aminoacídica interfiriendo en la unidad peptidil-transferasa²⁸. Es un antibiótico bacteriostático, activo sobre microorganismos Gram positivos, anaerobios (incluido *Bacteroides fragilis*). Carece de actividad frente a bacterias Gram negativas a excepción de *Capnocytophaga canimorsus*²⁹.

Se ha estudiado el efecto de este antibiótico en inhibir algunos factores de virulencia al inhibir la síntesis proteica, lo que se plantea una ventaja adicional en el uso de algunas infecciones^{30,31}.

2.2. Mecanismos de Resistencia

Los genes *erm* y la modificación del sitio blanco de acción, fueron abordados previamente. Este mecanismo ya sea en su fenotipo inducible o constitutivo resulta el más relevante por frecuencia encontrado en aislamientos clínicos.

Inactivación enzimática:

Algunas enzimas modificadoras de lincominas (más concretamente nucleotidiltransferasas) fueron identificadas:

Staphylococcus haemolyticus: *linA*

Staphylococcus aureus: *linA'*

Enterococcus faecium: *linB*

Este poco frecuente mecanismo de resistencia a este grupo de antibióticos, se sospecha cuando se observa un fenotipo de resistencia a clindamicina aislada, sin compartir la resistencia con el grupo MLS.

Se han descrito en Bacilos Gram negativos, dentro de integrones de clase 1, secuencias que podrían corresponderse con proteínas hipotéticas con una homología de aproximadamente 35% de la nucleotidil-transferasa codificada por *linB* en *Enterococcus faecium*³².



Existen algunas secuencias *Lnu* (actualmente conocidas como *lin*) depositada en las bases de datos. Estos genes se encuentran en plásmidos, el primero extraído de una cepa de *S. aureus* bovina, secuenciada de forma completa. Se trataba de un plásmido pequeño, como los observados generalmente en las bacterias Gram positivas. La replicación de este plásmidos está compuesta por una proteína iniciadora de la replicación, su sitio dentro del ADN del origen de replicación³³.

Este mecanismo de resistencia a la lincomicina por la inactivación ha sido detectado en numerosos cepas provenientes de muestras clínicas tanto de *Staphylococcus aureus* como de estafilococos coagulasa negativos. Para la inactivación enzimática del antimicrobiano clindamicina se requiere (ATP, GTP, CTP o UTP) como donador nucleotidyl y Mg²⁺ como cofactor.

El mecanismo bioquímico de la inactivación de la lincosamida fue elucidado por un grupo de investigadores Franceses, que determinaron la estructura de la lincomicina y clindamicina inactivada mediante técnicas fisicoquímicas, dando paso a la formación de clindamicina 4- (5'-ciclasa). Esta enzima fue secuenciada e ingresada en la base de datos, cuenta con una longitud de 161 aminoácidos y generalmente difiere de los encontrados en coagulasas negativos en 14 aminoácidos únicamente³⁴.

Se ha descrito también una bomba de eflujo en *S. lincolnensis*, codificada por el gen *ImrA*.

Esta proteína presentó como único sustrato lincomicina, no describiéndose hasta el momento este mecanismo de resistencia en otras lincosamidas como clindamicina y macrólidos³⁵.

3. Referencias

1. Cobos-Trigueros N, Ateka O, Pitart C et al. [Macrolides and ketolides]. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2009; 27: 412-8.
2. McGuire JM, Bunch RL, Anderson RC et al. [Ilotycin, a new antibiotic]. *Schweiz Med Wochenschr* 1952; 82: 1064-5.
3. Kannan K, Mankin AS. Macrolide antibiotics in the ribosome exit tunnel: species-specific binding and action. *Ann N Y Acad Sci* 2011; 1241: 33-47.
4. Poulsen SM, Kofoed C, Vester B. Inhibition of the ribosomal peptidyl transferase reaction by the mycarose moiety of the antibiotics carbomycin, spiramycin and tylosin. *J Mol Biol* 2000; 304: 471-81.

Interpretación del Antibiograma en la práctica clínica diaria

CURSO ONLINE IBEROAMERICANO
27 DE JULIO - 14 DE SEPTIEMBRE DE 2016
web: ATBgrama.evimed.net



5. Schlunzen F, Harms JM, Franceschi F et al. Structural basis for the antibiotic activity of ketolides and azalides. *Structure* 2003; 11: 329-38.
6. Kannan K, Kanabar P, Schryer D et al. The general mode of translation inhibition by macrolide antibiotics. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014; 111: 15958-63.
7. Wilms EB, Touw DJ, Heijerman HG. Pharmacokinetics of azithromycin in plasma, blood, polymorphonuclear neutrophils and sputum during long-term therapy in patients with cystic fibrosis. *Ther Drug Monit* 2006; 28: 219-25.
8. Iannelli F, Santagati M, Santoro F et al. Nucleotide sequence of conjugative prophage Phi1207.3 (formerly Tn1207.3) carrying the *mef(A)/msr(D)* genes for *efl* *ux* resistance to macrolides in *Streptococcus pyogenes*. *Front Microbiol* 2014; 5: 687.
9. Davidson AL, Dassa E, Orelle C et al. Structure, function, and evolution of bacterial ATP-binding cassette systems. *Microbiol Mol Biol Rev* 2008; 72: 317-64, table of contents.
10. Weisblum B. Erythromycin resistance by ribosome modification. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 577-85.
11. Tait-Kamradt A, Davies T, Cronan M et al. Mutations in 23S rRNA and ribosomal protein L4 account for resistance in pneumococcal strains selected in vitro by macrolide passage. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 2118-25.
12. Seppala H, Skurnik M, Soini H et al. A novel erythromycin resistance methylase gene (*ermTR*) in *Streptococcus pyogenes*. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 257-62.
13. Leclercq R, Courvalin P. Bacterial resistance to macrolide, lincosamide, and streptogramin antibiotics by target modification. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 1267-72.
14. Berryman DI, Rood JI. The closely related *ermB-ermAM* genes from *Clostridium perfringens*, *Enterococcus faecalis* (pAM beta 1), and *Streptococcus agalactiae* (pIP501) are flanked by variants of a directly repeated sequence. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1995; 39: 1830-4.
15. Brisson-Noël A, Arthur M, Courvalin P. Evidence for natural gene transfer from gram-positive cocci to *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology* 1988; 170: 1739-45.
16. Di Modugno V, Guerrini M, Shah S et al. Low level resistance to oleandomycin as a marker of *ermA* in staphylococci. *J Antimicrob Chemother* 2002; 49: 425-7.



17. Gupta A, Vlamakis H, Shoemaker N et al. A New Bacteroides Conjugative Transposon That Carries an ermB Gene. *Applied and Environmental Microbiology* 2003; 69: 6455-63.
18. Teuber M, Schwarz F, Perreten V. Molecular structure and evolution of the conjugative multiresistance plasmid pRE25 of Enterococcus faecalis isolated from a raw-fermented sausage. *International Journal of Food Microbiology* 2003; 88: 325-9.
19. Giovanetti E, Montanari MP, Mingoia M et al. Phenotypes and Genotypes of Erythromycin-Resistant Streptococcus pyogenes Strains in Italy and Heterogeneity of Inducibly Resistant Strains. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1999; 43: 1935-40.
20. Leclercq R. Mechanisms of Resistance to Macrolides and Lincosamides: Nature of the Resistance Elements and Their Clinical Implications. *Clinical Infectious Diseases* 2002; 34: 482-92.
21. Leclercq R, Courvalin P. Bacterial resistance to macrolide, lincosamide, and streptogramin antibiotics by target modification. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1991; 35: 1267-72.
22. Daurel C, Huet C, Dhalluin A et al. Differences in potential for selection of clindamycin-resistant mutants between inducible erm(A) and erm(C) Staphylococcus aureus genes. *J Clin Microbiol* 2008; 46: 546-50.
23. Werckenthin C, Schwarz S, Westh H. Structural alterations in the translational attenuator of constitutively expressed ermC genes. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 1681-5.
24. Watanakunakorn C. Clindamycin therapy of Staphylococcus aureus endocarditis. Clinical relapse and development of resistance to clindamycin, lincomycin and erythromycin. *Am J Med* 1976; 60: 419-25.
25. Fines M, Gueudin M, Ramon A et al. In vitro selection of resistance to clindamycin related to alterations in the attenuator of the erm(TR) gene of Streptococcus pyogenes UCN1 inducibly resistant to erythromycin. *J Antimicrob Chemother* 2001; 48: 411-6.
26. Pardo L, Vola M, Macedo-Vinas M et al. Community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus in children treated in Uruguay. *J Infect Dev Ctries* 2013; 7: 10-6.
27. Telechea H, Speranza N, Lucas L et al. [Antibiotic consumption and antimicrobial susceptibility evolution in the Centro Hospitalario Pereira Rossell in methicillin resistant Staphylococcus aureus era]. *Rev Chilena Infectol* 2009; 26: 413-9.



28. Verdier L, Bertho G, Gharbi-Benarous J et al. Lincomycin and clindamycin conformations. A fragment shared by macrolides, ketolides and lincosamides determined from TRNOE ribosome-bound conformations. *Bioorg Med Chem* 2000; 8: 1225-43.
29. Spizek J, Rezanka T. Lincomycin, clindamycin and their applications. *Appl Microbiol Biotechnol* 2004; 64: 455-64.
30. Dumitrescu O, Badiou C, Bes M et al. Effect of antibiotics, alone and in combination, on Panton-Valentine leukocidin production by a *Staphylococcus aureus* reference strain. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14: 384-8.
31. Stevens DL, Ma Y, Salmi DB et al. Impact of antibiotics on expression of virulence-associated exotoxin genes in methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Infect Dis* 2007; 195: 202-11.
32. Heir E, Lindstedt BA, Leegaard TM et al. Prevalence and characterization of integrons in blood culture Enterobacteriaceae and gastrointestinal *Escherichia coli* in Norway and reporting of a novel class 1 integron-located lincosamide resistance gene. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2004; 3: 12.
33. Luthje P, von Kockritz-Blickwede M, Schwarz S. Identification and characterization of nine novel types of small staphylococcal plasmids carrying the lincosamide nucleotidyltransferase gene *lnu(A)*. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59: 600-6.
34. Brisson-Noel A, Delrieu P, Samain D et al. Inactivation of lincosaminide antibiotics in *Staphylococcus*. Identification of lincosaminide O-nucleotidyltransferases and comparison of the corresponding resistance genes. *J Biol Chem* 1988; 263: 15880-7.
35. Zhang HZ, Schmidt H, Piepersberg W. Molecular cloning and characterization of two lincomycin-resistance genes, *lmrA* and *lmrB*, from *Streptomyces lincolnensis* 78-11. *Mol Microbiol* 1992; 6: 2147-57.