

Laura Calle-Miguel
Carlos Pérez-Méndez
María Dolores Miguel-
Martínez
Emma Lombraña-Álvarez
Elisa García-García
Gonzalo Solís-Sánchez

Cambios evolutivos en las tasas y fenotipos de resistencia de *Streptococcus pyogenes* en una población pediátrica de Asturias, España (2005-2015)

Servicios de Pediatría y Microbiología. Área Sanitaria V del Principado de Asturias

RESUMEN

Introducción. *Streptococcus pyogenes* es uno de los principales microorganismos causantes de infecciones bacterianas en la edad pediátrica. El objetivo es analizar la evolución de las tasas y fenotipos de resistencia de *S. pyogenes* en una población pediátrica en el Norte de España en los últimos 11 años.

Material y métodos. Estudio descriptivo retrospectivo de los aislamientos de *S. pyogenes* en muestras de pacientes pediátricos recogidas entre 2005 y 2015 en el Área Sanitaria V del Principado de Asturias (España). Se compararon las tasas de resistencia bacteriana entre los periodos 2005-2009 y 2010-2015 y se analizó la evolución de los fenotipos de los aislamientos resistentes.

Resultados. Se registraron 1.794 aislamientos (70% en el periodo 2005-2009). El 87,5% procedían de muestras de exudado faríngeo y el 0,2% de hemocultivos. Se observó una disminución de las tasas de resistencia a tetraciclina (8,8% a 4,3%, $p=0,02$), eritromicina (22% a 9,3%, $p<0,01$) y clindamicina (6% a 1,7%, $p<0,01$) entre los dos periodos de tiempo. La detección de *S. pyogenes* resistentes a eritromicina con fenotipo MLS_B fue disminuyendo de manera progresiva a lo largo del periodo de estudio.

Conclusiones. Se ha observado una importante disminución de las tasas de resistencia a eritromicina y clindamicina a lo largo del periodo de estudio y un cambio en la distribución de los fenotipos de los aislamientos resistentes.

Palabras clave: *Streptococcus pyogenes*, resistencia, eritromicina, fenotipo, pediatría.

Resistance rates and phenotypic characterization of *Streptococcus pyogenes* in a paediatric population in Northern Spain (2005-2015)

ABSTRACT

Background. *Streptococcus pyogenes* is a significant cause of bacterial infections in children. The aim of the study is to analyse resistance rates and phenotypes of *S. pyogenes* isolates in a paediatric population in Northern Spain over the last 11 years.

Methods. Descriptive retrospective study of *S. pyogenes* isolates from paediatric patients between 2005 and 2015 in a region of Asturias (Spain). Resistance rates and changes in erythromycin resistance phenotypes in two time periods (2005-2009 and 2010-2015) were studied.

Results. A total of 1,794 *S. pyogenes* isolates were registered (70% from 2005 to 2009). 87.5% were obtained from pharyngeal swabs and 0.2% from blood cultures. Resistance rates to tetracycline (8.8% to 4.3%, $p=0.02$), erythromycin (22% to 9.3%, $p<0.01$) and clindamycin (6% to 1.7%, $p<0.01$) decreased between the two study periods. A reduction in erythromycin-resistant isolates with the MLS_B phenotype was observed.

Conclusions. A decrease in *S. pyogenes* resistance rates to erythromycin and clindamycin and a change in the erythromycin resistance phenotype were observed along the study period.

Keywords: *Streptococcus pyogenes*, resistance, erythromycin, phenotype, paediatrics.

Correspondencia:
Laura Calle-Miguel
Servicio de Pediatría, Hospital de Cabueñes
6ª planta Impar
C/ Los Prados, 395, CP 33394 Gijón, Asturias
E-mail: lcallemiguel@gmail.com

INTRODUCCIÓN

Streptococcus pyogenes es el principal agente etiológico bacteriano de la faringoamigdalitis aguda; también puede causar infecciones de piel y tejidos blandos y, menos frecuentemente, infecciones invasivas graves. Hasta la fecha no se ha descrito ninguna cepa de *S. pyogenes* con resistencia o sensibilidad disminuida a penicilina. Los macrólidos y las lincosamidas constituyen una alternativa en pacientes alérgicos, con tasas de resistencia variables¹⁻⁴.

Existen diversos fenotipos de resistencia a macrólidos en *S. pyogenes*: 1) fenotipo M, determinado por un sistema de expulsión activa del antibiótico, codificado habitualmente por el gen *mef(A)*, que confiere una resistencia selectiva a los macrólidos de 14 y 15 átomos, pero no a los de 16 átomos ni a las lincosamidas; 2) fenotipo MLS_B, determinado por la producción de metilasas que modifican el sitio de unión al antibiótico; está producida por el gen *ermB* (condiciona generalmente una resistencia constitutiva y de alto nivel a todos los macrólidos, lincosamidas y estreptograminas del grupo B; fenotipo c-MLS_B) o por el gen *ermA subclasse TR* (determina habitualmente el fenotipo MLS_B inducible o i-MLS_B, en el que los macrólidos inducen una resistencia al resto de antibióticos del grupo MLS_B)^{1,3-5}.

Se han comunicado tasas de resistencia de *S. pyogenes* a macrólidos muy variables en el mundo. En España, la primera descripción de un aislamiento resistente a la eritromicina tuvo lugar a finales de la década de 1980⁵. Las últimas guías españolas apuntan a aproximadamente un 25% de resistencias a los macrólidos de 14 y 15 átomos⁶ y entre 2-8% a los de 16 átomos⁷.

Es importante conocer la sensibilidad y los mecanismos de resistencia prevalentes de *S. pyogenes* en cada área y su repercusión en la actividad de los macrólidos. El objetivo de este estudio es analizar la evolución de las tasas de resistencia de *S. pyogenes* y de los fenotipos de resistencia en la población pediátrica de un Área Sanitaria del Principado de Asturias en los últimos 11 años.

MATERIAL Y MÉTODOS

El ámbito de estudio es el Área Sanitaria V del Principado de Asturias, que atiende a una población de 301.255 habitantes, de los cuales 31.586 pertenecen a la edad pediátrica (datos del 2014)⁸. Se llevó a cabo un estudio descriptivo retrospectivo a partir del análisis de los aislamientos de *S. pyogenes* en muestras de pacientes pediátricos (0-13 años) registrados en el Laboratorio de Microbiología del Hospital de Cabueñes (único hospital público del área con laboratorio de Microbiología) entre el 1 de Enero de 2005 y el 31 de Diciembre de 2015.

La identificación bacteriana se realizó mediante la determinación de la sensibilidad a bacitracina 0,04 unidades (BBL™Taxo™Discs, BD, New Jersey, USA) y trimetoprim-sulfametoxazol en los aislamientos de estreptococos β-hemolíticos. Los resistentes a bacitracina se confirmaron mediante la determinación del serogrupo A (Pastorex Strep Kits®, BIO-RAD,

California, USA) y con la identificación fenotípica a través del sistema Api® 20 STREP (BioMérieux, Marcy l'Etoile, Francia). La determinación de la sensibilidad antibiótica se realizó por el método de difusión con discos. Se estudiaron los siguientes antibióticos: penicilina, tetraciclina, eritromicina y clindamicina. La interpretación de los resultados se realizó según los criterios del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)⁹. Como medio de cultivo se utilizó agar Müeller-Hinton suplementado con el 5% de sangre de cordero y la incubación se realizó a 35-37°C durante 20-24 h en atmósfera aerobia con 5% de CO₂. La caracterización fenotípica de los aislamientos resistentes a eritromicina se hizo mediante la técnica del doble disco descrita por Seppälä¹⁰.

Se incluyó un aislamiento por paciente y año. Se consideró infección invasiva el aislamiento de *S. pyogenes* en sangre u otro medio estéril. Se excluyeron los valores intermedios de sensibilidad. Se dividió el tiempo de estudio en dos periodos (2005-2009 y 2010-2015).

Para el análisis estadístico se utilizó el programa informático SPSS 22.0. La comparación de variables cualitativas se realizó mediante el test de chi-cuadrado, considerando significativo un valor de p<0,05.

RESULTADOS

Entre los años 2005 y 2015 se registraron en el Hospital de Cabueñes 1.954 aislamientos de *S. pyogenes* procedentes de la población pediátrica del Área Sanitaria V del Principado de Asturias, de las que se excluyeron 160 (8,2%) duplicados. Se incluyeron en el estudio 1.794 aislamientos de *S. pyogenes* (1.256 en el periodo 2005-2009). El número de aislamientos en cada año del periodo de estudio puede observarse en la figura 1.

La edad media de los pacientes fue de 71,5 meses (IC 95% 1,2-141,9 meses) y la mediana se situó en 63 meses; un 50,2%

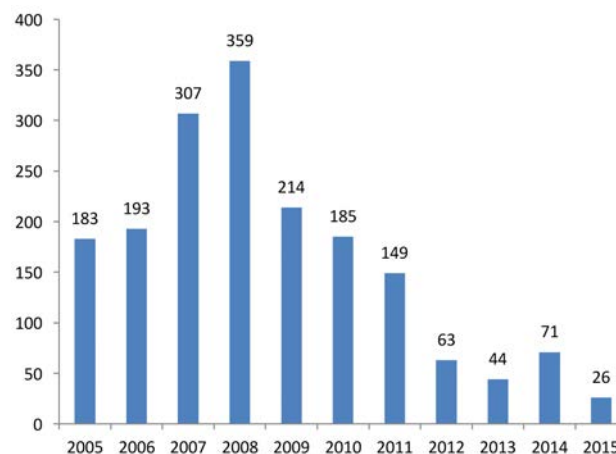


Figura 1 | Número de aislamientos anuales de *S. pyogenes* en el periodo 2005-2015

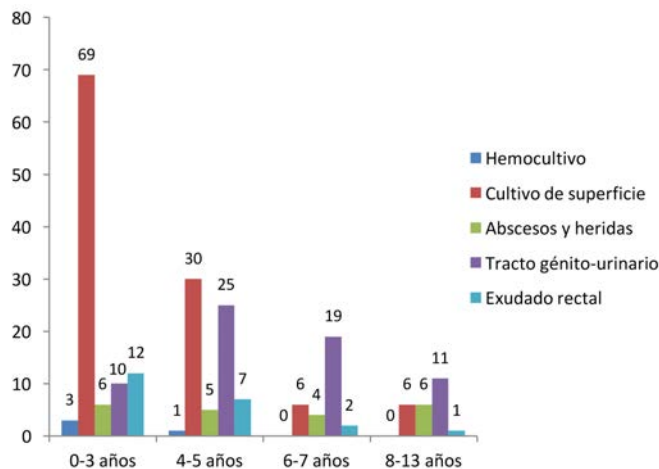


Figura 2 Distribución de tipos de muestras no faringicas por grupos de edad

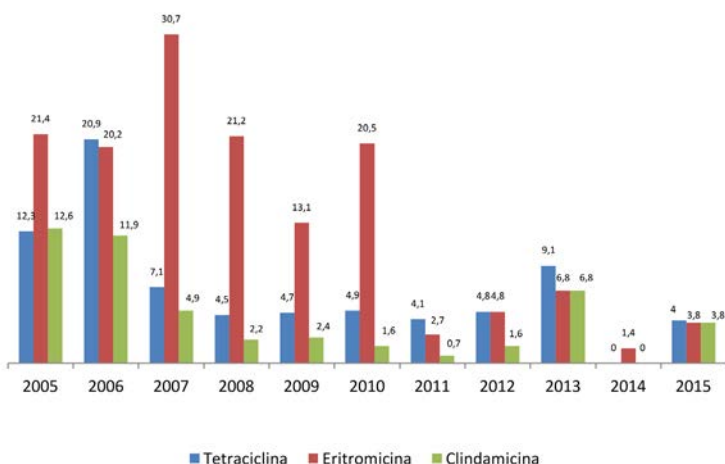


Figura 3 Evolución anual de las tasas de resistencia (%) de *S. pyogenes*

fueron varones. La mayor parte de las muestras procedieron de Urgencias (46,6%) y de Atención Primaria (46,5%). Un total de 1.570 (87,5%) fueron aisladas en exudados faríngeos y sólo cuatro (0,2%) en hemocultivos, tres de ellos en pacientes de 0-3 años (figura 2).

Se estudió la resistencia de *S. pyogenes* a penicilina en 1.789 muestras (ninguna resistente), a tetraciclina en 1.769 (7,5% resistentes), a eritromicina en 1.792 (18,2% resistentes) y a clindamicina en 1.788 (4,7% resistentes). La figura 3 muestra la evolución de las tasas de resistencia de *S. pyogenes* a lo largo del periodo de estudio. Se observa un descenso significativo de la resistencia media de *S. pyogenes* a tetraciclina (8,8% a 4,3%, $p=0,02$), eritromicina (22% a 9,3%, $p<0,01$) y clindamicina (6% a 1,7%, $p<0,01$ entre los dos periodos estudiados. Los cuatro aislamientos de *S. pyogenes* en hemocultivos fueron sensibles a todos los antibióticos.

La distribución de los fenotipos de los 326 aislamientos resistentes a eritromicina fue: 243 (87,5%) con fenotipo M y 83 (25,5%) con fenotipo MLS_B (60 c-MLS_B, 16 i-MLS_B; en 7 se desconoce el patrón de inducción). A lo largo del periodo de estudio se han observado cambios en la distribución de los fenotipos de resistencia a macrólidos, como puede observarse en la tabla 1.

Sesenta y tres aislamientos (3,5%) presentaron resistencia a tetraciclina y eritromicina (4,6% en el periodo 2005-2009; 1,1% en el periodo 2010-2015, $p<0,001$). De ellas, cuatro correspondían al fenotipo M y el resto al fenotipo MLS_B (43 c-MLS_B, 13 i-MLS_B). No se observaron diferencias significativas en las tasas de resistencia y el fenotipo de resistencia en función de los grupos de edad, la procedencia del paciente y el tipo de muestra (faringea/no faringea).

DISCUSIÓN

El 70% de los aislamientos de *S. pyogenes* en los pacientes pediátricos del Área Sanitaria V del Principado de Asturias se recogieron en el primer periodo de tiempo (2005-2009). La disminución del número de cultivos solicitados se explica por la extensión del uso del test de diagnóstico rápido (TDR) de estreptococo en los últimos años para el diagnóstico de las faringoamigdalitis estreptocócicas. Tamayo et al. justifican un descenso del 44% en el diagnóstico de las faringoamigdalitis estreptocócicas por cultivo microbiológico en los últimos años por la utilización de los TDR¹¹. A pesar de que los TDR estreptocócicos tienen una especificidad muy alta (92-99%) y una sensibilidad en torno al 80-87%^{12,13}, el patrón oro para el diagnóstico de las faringoamigdalitis estreptocócicas continúa siendo el cultivo microbiológico¹⁴.

El 87,5% de los aislamientos proceden de exudados faríngeos. Cifras en torno al 80% se describen en otros estudios de ámbito nacional sobre la población pediátrica y adulta^{4,11,15,16}. En un estudio multicéntrico realizado entre quince países europeos hallan porcentajes del 64-67% de exudados faríngeos y 4-6% de hemocultivos u otros sitios estériles entre los aislamientos de *S. pyogenes*¹⁷. Desde los años 80, se describe una reemergencia de las infecciones invasivas por *S. pyogenes*¹⁸. A lo largo de los 11 años de nuestro estudio se aislaron cuatro (0,2%) aislamientos en hemocultivos (ninguna en otro sitio estéril), lo que supone una incidencia de 1,15 casos de infecciones estreptocócicas invasivas/100.000 niños/año, cifra inferior a la hallada por Montes et al (3,1 casos/100.000 pacientes/año) en la población pediátrica de Guipúzcoa y Barcelona¹⁸.

Un promedio de 7,5% de los aislamientos fueron resistentes a tetraciclina (máximo de 20,9% en 2006 y mínimos de 0%

Tabla 1 Aislamientos anuales de *S. pyogenes*, resistencia a eritromicina y distribución de los fenotipos.

Año	Número de cepas	Aislamientos resistentes a eritromicina		Fenotipos de aislamientos resistentes a eritromicina					
				Fenotipo M		c-MLS _B		i-MLS _B	
		n	%	n	%	n	%	n	%
2005	183	39	21,4	18	46,2	16	41,0	4	10,3
2006	193	39	20,2	16	41,0	18	46,2	5	12,8
2007	307	94	30,7	78	83,0	12	12,8	2	2,1
2008	359	76	21,2	68	89,5	6	7,9	1	1,3
2009	214	28	13,1	22	78,6	5	17,9	1	3,6
2010	185	38	20,5	36	92,3	1	2,6	2	5,1
2011	149	4	2,7	3	75,0	1	25,0	0	0,0
2012	63	3	4,8	2	66,7	1	33,3	0	0,0
2013	44	3	6,8	0	0,0	0	0	1	33,0
2014	71	1	1,4	1	100	0	0	0	0,0
2015	26	1	3,8	0	0,0	0	0	0	0,0

en 2014 y 4% en 2015). Cifras similares y fluctuantes entre 3,5% y 25,4% han sido descritas en estudios españoles^{16,18,19}. Sin embargo, Ardanuy et al. observaron tasas del 42,2%²⁰.

Desde la descripción de las primeras cepas resistentes a la eritromicina se han comunicado tasas de resistencias muy variables en el mundo. En la tabla 2 se comparan las tasas de resistencia a eritromicina y la distribución de los fenotipos hallados en diversos estudios españoles en los últimos 25 años. Se observa un aumento progresivo de las resistencias de *S. pyogenes* a macrólidos desde 1990, llegando a superar el 40% a principios de la primera década del siglo XXI, a expensas de un aumento del fenotipo MLS_B^{21,16,22}. Hemos observado una situación similar en el Principado de Asturias en los años 2005 y 2006 (56,5% de aislados con fenotipo MLS_B). Se describe desde entonces en España un descenso progresivo de la resistencia de *S. pyogenes* a eritromicina hasta el momento actual, alcanzando cifras inferiores al 10%^{16,21}. En nuestra población, se mantuvo una tasa de resistencia alta durante toda la década, alcanzando cifras máximas entre los años 2007-2010 (30,7% en 2007), con un claro predominio del fenotipo M. Las tasas de resistencia durante los últimos cinco años del estudio fueron bajas, con una distribución equitativa de los fenotipos.

A escala mundial, estudios realizados en la última década han comunicado resultados muy dispares. Se encuentran tasas de resistencias en Grecia del 42% (54% fenotipo M)²³, en los Países Bajos 0%, en Noruega 1,2%, en Alemania 7,1%, en Francia 14,9%¹⁷, en Italia 10,7% (92% fenotipo M)²⁴, en países del Este de Europa 16% (25% fenotipo M)²⁵, en Brasil 15% (todas fenotipo MLS_B)²⁶, en Líbano 23% (82,9% fenotipo M)²⁷ o 58,1% en Japón²⁸.

Seppälä et al observaron en Finlandia una contención en la resistencia de *S. pyogenes* tras la implantación de políticas estrictas en el control del uso de antibióticos²⁹. Diversos autores han observado posteriormente una relación entre ambos factores^{17,21,28,30,31}. Las fluctuaciones de los niveles de resistencia pueden ser explicados por las variaciones de los clones circulantes^{11,16,19,20,22}, situación que puede verse favorecida por la presión que ejerce el uso de antibióticos en una determinada zona^{5,21,24,25}.

No se encontraron diferencias entre la edad de los pacientes y las tasas de resistencias de *S. pyogenes*, situación descrita por otros autores en el ámbito nacional^{15,20}, si bien Montes et al. describen niveles de resistencias más altos en pacientes adultos¹⁶.

El 3,5% de los aislamientos presentaron resistencia a eritromicina y tetraciclina (93,7% portadoras del fenotipo MLS_B), con una diferencia significativa entre los dos periodos de estudio. Rivera et al. describen en Barcelona un 11,9% de co-resistencias (100% fenotipo MLS_B)¹⁹, mientras que Montes et al. un 1,7% en Guipuzcoa¹⁶.

Este estudio presenta una serie de limitaciones. En primer lugar, no se determinó la incidencia real de las infecciones por *S. pyogenes*, sino sólo de las confirmadas por cultivo. El TDR estreptocócico es de gran ayuda para el diagnóstico *in situ* de la faringoamigdalitis bacteriana, pero ha ocasionado una disminución importante del número de cultivos solicitados, lo que puede condicionar la validez de los resultados del estudio. Los cambios epidemiológicos descritos plantean la necesidad de aumentar la recogida de muestras para cultivo microbiológico, con el fin de conocer con mayor precisión la evolución de la sensibilidad antibiótica y reducir así la posibilidad de fracaso terapéutico. No se realizaron estudios de caracterización genotípica. A día de hoy han sido descritos más de 200 genotipos *emm*. La distribución de los tipos *emm* varía cada año y algunos se comportan en picos epidémicos con importantes variaciones cada 4-5 años¹¹. Algunos autores no han podido demostrar correlación entre el genotipo *emm* y la producción de resistencias a eritromicina¹⁶. Tampoco se llevó a cabo una detección de genes de resistencia. Se ha observado que no hay relación universal entre la caracterización genética y el fenotipo demostrado en el antibiograma^{19,20,22,24}. Mediante el presente estudio queremos destacar los cambios evolutivos de la resistencia y fenotipos de *S. pyogenes* hallados por lectura interpretada del antibiograma, considerando que este tipo de estudios tienen mayor relevancia en la práctica clínica diaria del pediatra. Es importante conocer el consumo de antibióticos en la edad pediátrica de nuestro Área Sanitaria, como posible factor relacionado con la extensión de las resistencias.

La enorme variabilidad temporal y geográfica en la distri-

Periodo de estudio	Lugar de estudio	Número de cepas	Tipo de pacientes	Tipo de muestra	Tasa de resistencia a eritromicina	% fenotipo M*	c-MLS _B / i-MLS _B *	Ref
1993-2008	Barcelona	541	A	Todos los aislamientos	18,3% 1993-1994: 0% 2003-2004: 35,7% 2007-2008: 7,1%	37,4%	40,4% / 2,2%	Ardanuy et al ²⁰
1996-2003	Barcelona	480	P	Todos los aislamientos	29,8% 1996-2001: 27,4% 2002-2003: 35,8%	72,7% 1996-2001: 89,4% 2002-2003: 40,8%	23,1% / 4,2% 1996-2001: 9,6% / 1,1% 2002-2003: 49% / 10,2%	Gené et al ²²
1998	Multicéntrico nacional	486	P + A	Todos los aislamientos	23,5%	95,6%	3,5% / 0,9%	Alós et al ¹⁵
1998-2009	Guipúzcoa y Barcelona	243	P + A	Infecciones invasivas	17,0% Máx 2002: 44,4% Mín 2009: 7,7%	50%	-	Montes et al ¹⁸
1999-2003	Barcelona	126	P + A	Infecciones invasivas	27,8% Mín 1999: 16,6% Máx 2003: 38,8%	48,6%	42,8% / 8,6%	Rivera et al ¹⁹
1999-2005	Guipúzcoa y Madrid	17.232	P + A	Todos los aislamientos	21,3% Máx 2003: 28,9%	1999: 85% 2004-20005: 50%	-	Pérez-Trallero et al ²¹
2000-2001	Palencia	117 / 105	P + A	Todos los aislamientos	39,3% 41,0%	98,8% 94,3%	1,2% / 0%	Álvarez et al ⁴
2005-2012	Guipúzcoa	12.346	P + A	Todos los aislamientos	7% Máx 2006: 11,7% Mín 2012: 2,8%	58,9%	38,6% / 2,5%	Montes et al ¹⁶
2005-2015	Principado de Asturias	1.794	P	Todos los aislamientos	18,2% 2005-2009: 22% 2010-2015: 9,3%	74,6% 2005-2009: 73,2% 2010-2015: 82,4%	18,3% / 4,9% 2005-2009: 20,7% / 4,7% 2010-2015: 5,9% / 5,9%	

A: población adulta; P: población pediátrica; Ref: referencia bibliográfica; *: sobre el total de las cepas resistentes a eritromicina

bución de cepas de *S. pyogenes* resistente a macrólidos justifica la realización de estudios similares para conocer la dinámica poblacional de este microorganismo y adaptar las recomendaciones terapéuticas a la situación de cada zona.

FINANCIACIÓN

Los autores declaran no haber recibido financiación para la realización de este estudio.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aracil B, Alós JI. *Streptococcus pyogenes* resistente a los macrólidos.

Control de calidad de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, SEIMC.[Acceso 6 de Abril de 2016]. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/fenotm.pdf>

- American Academy of Pediatrics. [Group A Streptococcal Infections]. In: Pickering LK, Baker CJ, Kimberlin DW, Long SS, eds. *Red Book: 2009 Report of the Committee on Infectious Diseases*. 28th ed. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics; 2009: 616-28.
- Torres C, Cercenado E. Lectura interpretada del antibiograma de cocos gram positivos. *Enf Infecc Microbiol Clin*. 2010; 28: 541-53.
- Álvarez E, García MA. Resistencia a antimicrobianos en *Streptococcus pyogenes* en el área de salud de Palencia. *Bol Pediat*. 2002; 42: 141-2.
- Muñoz JL, García-Sáenz JA, Alonso MA, Gutiérrez MN, García-Rodríguez JA. Resistencia a los macrólidos en *Streptococcus pyogenes*. *Rev Esp Quimioter* 1998; 11: 196-204.
- Streptococcus pyogenes* (betahemolítico del grupo A de colonia

- grande). In: Mensa J, Gatell JM, García-Sánchez JE, Letang E, López-Suñé E, Marco F, editores. Guía de terapéutica antimicrobiana 2014. Barcelona: Antares; 2014. p.422-3.
7. Rodrigo C. Uso de los antimicrobianos en la población pediátrica. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2010; 28: 310-20.
 8. Memoria 2014 Servicio de Salud del Principado de Asturias. [Acceso 12 Abril 2016]. Disponible en <https://www.asturias.es/portal/site/astursalud>.
 9. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement. CLSI document M100-S24. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.
 10. Seppälä H, Nissinen A, Yu Q, Huovinen P. Three different phenotypes of erythromycin-resistant *Streptococcus pyogenes* in Finland. *J Antimicrob Chemother.* 1993; 32: 885-91.
 11. Tamayo E, Montes M, García-Arenzana JM, Pérez-Trallero E. *Streptococcus pyogenes emm*-types in Northern Spain; population dynamics over a 7-year period. *J Infect* 2014; 68: 50-57.
 12. Esparza MJ, García C. ¿Qué utilidad tiene el test rápido de detección del estreptococo en la consulta de Pediatría? *Evid Pediatr.* 2016; 12: 3.
 13. Ruiz-Aragón J, Rodríguez R, Molina JM. Evaluación de los métodos rápidos para la detección de *Streptococcus pyogenes*. Revisión sistemática y metaanálisis. *An Pediatr (Barc).* 2010; 72: 391-402.
 14. Piñeiro R, Hijano F, Álvarez F, Fernández A, Silva JC, Pérez C *et al*. Documento de consenso sobre el diagnóstico y tratamiento de la faringoamigdalitis aguda. *An Pediatr (Barc).* 2011; 75: 342.e1-342.e13.
 15. Alós JI, Aracil B, Oteo J, Torres C, Gómez-Garcés JL and the Spanish group for the study of infection in the primary health care setting. High prevalence of erythromycin-resistant and miocamycin-susceptible (M phenotype) *Streptococcus pyogenes*: results of a multicenter study performed in 1998 in Spain. *J Antimicrob Chemother* 2000; 45: 605-9.
 16. Montes M, Tamayo E, Mojica C, García-Arenzana JM, Esnal O, Pérez-Trallero E. What causes decreased erythromycin resistance in *Streptococcus pyogenes*? Dynamics of four clones in a southern European region from 2005 to 2012 *J Antimicrob Chemother* 2014; 69: 1474-82.
 17. Richter SS, Heilmann K, Dohrn CL, Beekmann SE, Riahi F, Garcia-de-Lomas J *et al*. Increasing telithromycin resistance among *Streptococcus pyogenes* in Europe. *J Antimicrob Chemother.* 2008; 61: 603-11.
 18. Montes M, Ardanuy C, Tamayo E, Domenech A, Liñares J, Pérez-Trallero E. Epidemiological and molecular analysis of *Streptococcus pyogenes* isolates causing invasive disease in Spain (1999-2009): comparison with non-invasive isolates. *Eur J Microbiol Infect Dis.* 2011; 30: 1295-302.
 19. Rivera A, Rebollo M, Miró E, Mateo M, Navarro F, Gurguí M, *et al*. Superantigen gene profile, *emm* type and antibiotic resistance genes among group A streptococcal isolates from Barcelona, Spain. *J Med Microbiol* 2006; 55: 1115-23.
 20. Ardanuy C, Domenech A, Rolo D, Calatayud L, Tubau F, Ayats J, *et al*. Molecular characterization of macrolide- and multidrug-resistant *Streptococcus pyogenes* isolated from adult patients in Barcelona, Spain (1993-2008). *J Antimicrob Chemother* 2010; 65: 634-43.
 21. Pérez-Trallero E, Montes M, Orden B, Tamayo E, García-Arenzana JM, Marimón JM. Phenotypic and genotypic characterization of *Streptococcus pyogenes* isolates displaying the MLS_B phenotype of macrolide resistance in Spain, 1999 to 2005. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007; 51: 1228-33.
 22. Gené A, Ardanuy C, Palacín E, García-García JJ. Aumento de la resistencia a macrólidos mediada por metilasas en *Streptococcus pyogenes* en un hospital pediátrico de Barcelona. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2006; 24: 26-8.
 23. Syrogiannopoulos GA, Grivea IN, Fitoussi F, Doit C, Katapodis G, Bingen E, *et al*. High prevalence of erythromycin resistance of *Streptococcus pyogenes* in Greek children. *Pediatr Infect Dis J.* 2001; 20: 863-8.
 24. Olivieri R, Morandi M, Zanchi A, Tordini G, Pozzi G, De Luca A, *et al*. Evolution of macrolide resistance in *Streptococcus pyogenes* over 14 years in an area of central Italy. *J Med Microbiol.* 2015; 64: 1186-95.
 25. Gracia M, Díaz C, Coronel P, Gimeno M, García-Rodas R, Rodríguez-Cerrato V *et al*. Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pyogenes* in Central, Eastern and Baltic European Countries, 2005 to 2006: the cefditoren surveillance program. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2009; 64: 52-56.
 26. Arêas GP, Schuab R, Neves F, Barros R. Antimicrobial susceptibility patterns, *emm*-type distribution and genetic diversity of *Streptococcus pyogenes* recovered in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2014; 109: 935-9.
 27. Karaky NM, Araj GF, Tokajian ST. Molecular characterization of *Streptococcus pyogenes* group A isolates from a tertiary hospital in Lebanon. *J Med Microbiol.* 2014; 63: 1197-204.
 28. Wajima T, Chiba N, Morozumi M, Shouji M, Sunaoshi K, Sugita K *et al*. Prevalence of macrolide resistance among group A Streptococci isolated from pharyngotonsillitis. *Microb Drug Resist* 2014; 20: 431-35.
 29. Seppälä H, Klaukka T, Vuopio-Varkila J, Muotiala A, Helenius H, Lager K *et al*. The effect of changes in the consumption of macrolide antibiotics on erythromycin resistance in group A Streptococci in Finland. *N Engl J Med.* 1997; 337: 441-6.
 30. Sakata H. The change of macrolide resistance rates in group A *Streptococcus* isolates from children between 2002 and 2013 in Asahikawa city. *J Infect Chemother.* 2015; 21: 398-401.
 31. Díaz A, Ochoa C, Brezmes MF, López-Urrutia L, Rivas N. Correlación entre la prescripción de antibióticos y el descenso de las resistencias a antimicrobianos en el área de salud de Zamora. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2009; 27: 153-59.