International Journal of Oral Biology, Vol. 38, No. 2 June 30 2013, p. 61-65
Copyright ⓒ 2013, *The Korean Academy of Oral Biology*
http://dx.doi.org/10.11620/IJOB.2013.38.2.061

International Journal of Oral Biology

Incidence of Erythromycin Resistance Genes, *erm*(B) and *mef*(A), in Streptococci Isolated from Dental Plaques of Koreans

Yeon-Hee Kim and Si-Young Lee*

Department of Oral Microbiology, College of Dentistry, Research Institute of Oral Science, Gangneung-Wonju National University, Gangneung, 210-702, Korea

(received Feburary 26, 2013; revised April 23, 2013; accepted April 29, 2013)

Erythromycin is a macrolide antibiotic and inhibits bacterial protein synthesis by stimulating the dissociation of the peptidyl-tRNA molecule from the ribosomes during elongation. The use of macrolides has increased dramatically over the last few years and has led to an increase in bacterial resistance to these antibiotics. Bacterial resistance to erythromycin is generally conferred by the ribosome methylation and/or transport (efflux) protein genes. Among the identified erythromycin-resistant genes, *erm*(B) (erythromycin methylation) and *mef*(A) (macrolide efflux) are generally detectable in erythromycin-resistant streptococcal species. The distribution of these genes in oral streptococcal isolates has been reported in studies from other countries but has not been previously examined in a Korean study. We here examined by PCR the presence of *erm*(B) and *mef*(A) in oral streptococci isolated from Korean dental plaques. Among the 57 erythromycin-resistant strains tested, 64.9% harbored *erm*(B) whereas 40.4% were positive for *mef*(A). Eleven isolates had both the *erm*(B) and *mef*(A) genes. Twenty six isolates had only *erm*(B) and 12 isolates had only *mef*(A). Eight of the 57 strains examined were negative for both genes.

Key words: Erythromycin, Resistance, Streptococci

*Correspondence to: Si Young Lee, Department of Oral Microbiology, College of Dentistry, Research Institute of Oral Science, Gangneung-Wonju National University, Gangneung, 210-702, Korea. Tel.: +82-33-640-2455, Fax: +82-33-642-6410, E-mail: siyoung@gwnu.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0) which permits unrestricted non-commercialuse, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

서 론

에리트로마이신은 *Streptomyces* 종에 의해 합성되는 14원환 macrolide계열의 항생제로서 작용기작은 리보솜의 50S 소단위 내 23S rRNA와 결합하여 단백질 합성의 전위(translocation) 단계를 차단하는 것으로 알려져 있다[1]. 최근 들어 macrolide 계열의 항생제 사용이 증가하면서 세균들이 이들 항생제에 대한 내성을 가질 수 있는 기회가 증가하고 있다. 항생제 내성이란 세균이 항생제로부터 스스로를 방어하기 위해 만들어낸 자체 방어능력으로 항생제를 견뎌낼 수 있는 기전을 만들어낸 것이다. 에리트로마이신의 항생제 내성기전은 크게 두 가지로 나뉜다. 첫째, 리보솜 RNA의 메틸화로 리보솜에 대한 항생제 결합을 방해하는 것으로 *erm*(erythromycin ribosome methylation)유전자와 연관되어있다. 둘째, 활성유출 시스템(efflux systems) 에 의한 것으로 *msr*(A)(macrolide and streptogramine B resistant), *mef*(A)(macrolide efflux), *vga*(virginiamycin factor A) 유전자와 연관이 있다[2,3].

세균의 항생제 내성은 전 세계적인 관심사이며, 한국의 경우 내성균이 다른 선진국에 비하여 많이 나타나는 것으로 알려져 있으며, 한국에서 항생제의 광범위한 사용이 항생제 내성의 증가를 가속화 시키고 있는 것으로 보고되고 있다[4]. 한국에서 항생제 내성률은 1997년 *Strep-*

*tococcus*속에서 70.3%로 미국의 28%에 비해 월등히 높게 나타났으며[5], 한국의 group B streptococci(GBS)에 대한 에리트로마이신 내성비율은 1990-1995에는 0%였으나 1996년에는 26%, 1998년에는 40%로 증가하였다[6]. 연쇄구균에서 macrolide, lincosamide 그리고 streptogramin B에 복합 내성을 나타내는 표현형은 MLS_B표현형이라고 하고, macrolide에 내성을 나타내는 표현형은 M표현형이라고 한다. MLS_B표현형의 내성은 일반적으로 *erm*(B)에 속하는 유전자에 의해 나타나며, M표현형은 *mef*(A) 유전자의 존재로 인해 내성을 가지게된다[7,8]. *mef*(A)는 streptococci [9-11] 및 기타 세균 속의 다른 종에서도 발견되고[12], *erm*(B) methylase는 거의 모든 세균 종에서 발견된다[3,13].

이전의 연구들에서 몇몇 나라의 연쇄구균에 대한 에리트로마이신내성과 관련된 유전자를 연구한 결과가 보고 되었으나[14-16] 한국에서의 연쇄구균에 대한 에리트로마이신 내성관련 유전자의 분포에 대해서는 알려져 있지 않다. 본 연구에서는 한국인에서 분리한 에리트로마이신 내성 구강연쇄구균을 대상으로 에리트로마이신 내성 유전자인 *erm*(B)와 *mef*(A)의 분포를 조사하였다.

재료 및 방법

세균의 동정 및 배양 조건

본 연구에는 최근 2달 동안 항생제를 복용하지 않은 건강한 사람으로부터 제공받은 치태에서 분리한 구강연쇄구균을 사용하였다. 구강연쇄구균의 분리를 위하여 기부자로부터 치태를 제공 받았으며, 기부자는 이 연구의 목적과 과정에 대한 설명을 듣고 연구에 참여한다는 동의서를 제출하였다. 이 연구는 강릉원주대학교 치과병원의 임상시험심사위원회의 승인을 받았다(IRB2011-2). 채취한 Sample은 멸균증류수에 현탁 후 멸균된 면봉을 이용하여 Mitis Salivarius Agar (MSA) (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)에 도말하고 37℃ CO_2배양기에서 72시간 배양하였다. 분리한 세균은 Rapid ID-32 strep system과 Mini API reader (bioMerieux, Marcy-l'Etoile, France)를 이용하여 9개의 특정 균종(*Streptococcus anginosus, Streptococcus constellatus, Streptococcus gordonii, Streptococcus intermedius, Streptococcus mitis, Streptococcus mutans, Streptococcus oralis, Streptococcus salivarius, Streptococcus sanguinis*)으로 동정하였다.

항생제 감수성 검사

에리트로마이신(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)에 대한 분리균주의 감수성을 조사하기 위하여 액체배지 희석법으로 최소억제농도(minimum inhibitory concentration; MIC)를 측정하였다[17]. 감수성 여부 농도는 Clinical and Laboratory Standards Institute(CLSI) 에서 권고하는 연쇄구균의 해석표준에 따랐다. 에리트로마이신을 20 mg/ml로 만든 후, 필터(0.22 ㎛)를 사용하여 여과하고 -70℃에 보관하며 실험에 사용하였다. 에리트로마이신은 2.5% laked horseblood (Oxoid limited, Basingstoke, England)를 첨가한 Mueller Hinton II Broth (Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)에 1,024 ㎍/㎖이 되도록 희석한 뒤 96-well plate에 200 ㎕씩 분주하였다. 항생제 농도가 0.0002 ㎍/㎖이 될 때까지 2배씩 순차적으로 단계희석하였다. 세균은 혈액한천배지에 도말하여 24시간 배양하고 0.5 McFaland (1×10^8 CFU/ml)로 현탁하여 각 well에 세균용액을 5×10^5 CFU/㎖이 되도록 접종하였다. 96-well plate는 37℃ 일반배양기에서 24시간 배양한 후 MIC를 측정하였다.

Genomic DNA 추출

에리트로마이신에 내성을 나타내는 균주의 genomic DNA추출은 *Accuprep*® Genomic DNA Extraction Kit (Bioneer, Daejeon, South Korea)를 사용하였으며 추출한 DNA는 -70℃에 보관하였다.

PCR 분석

PCR 분석을 위해서 *HotStart* Taq DNA polymerase (Bioneer, Daejeon, South Korea)를 사용하였다. 사용한 PCR primers의 염기서열과 PCR조건은 Table 1에 나열되어 있으며 각각 유전자의 cycle은 *erm*(B)는 40 cycles이고 *mef*(A)는 35 cycles이었다. DNA는 1% agarose gel에 전기 영동하고 ethidium bromide로 염색 후 ultraviolet (UV) transilluminator로 관찰하였다. 증폭된 유전자 중 각각의 유전자에 대하여 PCR 증폭된 DNA 한 개씩을 *AccuPrep*® PCR purification kit (Bioneer, Daejeon, Korea)을 사용하여 정

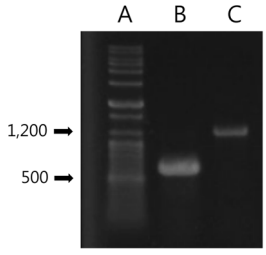
Table 1. Primers and PCR conditions for amplification of *erm*(B) and *mef*(A)

Gene	Primer sequence (5'-3')	PCR condition	Reference
erm (B)	GAA AAG GTA CTC AAC CAA ATA AGT AAC GGT ACT TAA ATT GTT TAC	94°C 5 min, (94°C 1 min, 52°C 30 sec, 72°C 1 min) × 40, 72°C 10 min	[31]
mef (A)	ATGGAA AAT ACA ACA ATT GGA AAC TTA TTT AAA TCT AAT TTT CTA ACC TC	94°C 5 min, (94°C 1 min, 50°C 1 min, 72°C 1 min) × 35, 72°C 10 min	[32]

제하고 마크로젠(Seoul, Korea)에 의뢰하여 염기서열을 얻었다. 염기서열은 Blastn 프로그램(genome database of the National Center for Biotechnology Information)을 이용하여 분석하였다.

결 과

각각의 primer에 의해 증폭된 에리트로마이신 내성유전자인 *erm*(B)와 *mef*(A) 유전자의 전기영동 결과는 Fig. 1에 보였다. 실험에 사용한 637개의 분리균주 중에서 57개(9%)가 에리트로마이신 내성을 보였다. 전체 57종의 에리트로마이신 내성 구강연쇄구균 분리균주 중 37종(64.9%)은 *erm*(B)를 가지고, 23종(40.4%)은 *mef*(A)를 가지고 있었다. *S. mitis*는 17종 중 12종(70.6%)에서 *erm*(B)가 나타났고, 5종(29.4%)에서 *mef*(A)를 확인하였다. *S. oralis* 23종 중 16종(69.6%)은 *erm*(B)를 가지고, 11종(47.8%)에서는 *mef*(A)가 확인되었다(Table 2). *erm*(B)만을 가지는 균주는 26종(45.6%)으로 *S. mitis* 9종, *S. oralis* 11종, *S. salivarius* 2종, *S. sanguinis* 4종으로 나타났으며, *mef*(A)만을 가지는 균주는 12종(21.1%)으로 *S. anginosus* 1종, *S. mitis* 2종, *S. oralis* 6종, *S. salivarius* 2종, *S. sanguinis* 1종으로 조사되었다. 11종의 분류 균주가 *erm*(B)와 *mef*(A) 유전자를 둘 다 가지고 있었으며 이것은 전체 57종 중 19.3%에 해당되었다. *erm*(B)와 *mef*(A)유전자가 관찰되지 않은 균주는 8종(14%)으로 나타났다. 각각의 PCR primers에 의해 증폭된 유전자의 염기서열은 Blastn탐색 결과 *erm*(B)와 *mef*(A)로 확인되었다.



A. 100bp DNA ladder
B. *erm*(B)
C. *mef*(A)

Fig. 1. Detection of *erm*(B) and *mef*(A) with specific primers in erythromycin resistant oral streptococci *S. mitis* KN10 and *S. anginosus* KN296, respectively. PCR products were stained with ethidium bromide and visualized by ultraviolet (UV) transillumination.

Table 2. Incidence of *erm*(B) and *mef*(A) in erythromycin resistant oral streptococci

Species	Number of isolates with erythromycin resistance gene	
	erm(B)	*mef*(A)
S. anginosus (n=1)	0	1
S. intermedius (n=1)	1	1
S. mitis (n=17)	12	5
S. oralis (n=23)	16	11
S. salivarius (n=5)	2	2
S. sanguinis (n=10)	6	3
Total (n=57)	37 (64.9)	23 (40.4)

고 찰

이전 연구에서 한국의 *Streptococcus pyogenes* 분리균주에서 에리트로마이신에 대한 내성율은 27%로 일본의 2.7%보다 훨씬 높으며, *Streptococcus agalactiae*의 에리트로마이신에 대한 내성율은 일본 1.2%, 한국 26%로 한국이 높게 나타났다[4]. 에리트로마이신에 내성을 가지는 유전자의 분포는 지역마다 차이를 나타내는 것으로 알려져 있다. 터키의 *S. pneumoniae* 분리균주에 대한 연구에서 *erm*(B) 유전자가 지배적으로 나타났고 *mef*(A)는 일부의 분리균에서 확인되었다[8]. 유럽의 *S. pneumoniae* 분리균주에 대한 연구에서 *erm*(B)가 더 자주 분리되고 북미에서는 *mef*(A)가 더 많은 경향이 있는 것으로 보고되고 있다[18-21]. 영국에서 낭성섬유증 환자에게서 분리한 구강연쇄구균에 대한 에리트로마이신의 내성 관련 유전자인 *erm*(B)와 *mef*(A)에 대한 연구결과 *erm*(B)는 25.3%, *mef*(A)는 75.8%, 두 유전자를 모두 가지는 비율은 11.1%로 나타났다[22]. *mef*(A)와 *erm*(B)를 모두 가지는 기전은 아직 밝혀지지 않았다. 우리 연구의 결과 *erm*(B)가 발견된 비율은 64.9%, *mef*(A)가 발견된 비율은 40.4%로 나타났으며, 모두 발견되는 비율은 19.1%로 터키와 영국과는 차이가 있었다.

본래 *S. pyogenes*에서 발견된 *mef*(A) [23]와 *S. pneumoniae*에서 발견된 *mef*(E) [24]는 PCR방법으로 탐색되지만 두 변종 사이를 식별할 수 없고[25], 두 유전자는 90%의 DNA가 일치함을 보여 *mef*(A) 단일 유전자로 여겨지고 있다[24]. *erm*(B) 유전자는 처음에 *S. sanguinis*의 플라스미드에서 발견되었고 이후 다른 streptococci에서도 발견이 되었다[26]. 이전연구에서 *erm*(AM)과 *erm*(B)이라는 유전자 이름이 함께 사용되어 왔으나[7,11], Roberts 등[3]에 의하면 *erm*(AM)은 *erm*(B)에 포함되는 유전자로 99-100%의 DNA상동을 나타내고 있어 *erm*(AM) 유전자를 *erm*(B)로 표기하기를 권장하고 있다[3].

터키와 일부 유럽국가에서 에리트로마이신과 페니실린 내성 사이의 연관성을 확인할 수 있었는데[27,28], 본 연구에서는 에리트로마이신과 다른 항생제 사이의 내성에 관

Table 3. Streptococcal strains with erm(B) and mef(A)

Genes	Species	Strains
erm(B) (+) *mef*(A) (+)	*S. anginosus* (n=0)	
	S. intermedius (n=1)	KN433
	S. mitis (n=3)	KN28, KN520, KN582
	S. oralis (n=5)	KN63, KN284, KN362, KN598, KN603
	S. salivarius (n=0)	
	S. sanguinis (n=2)	KN24, KN461
erm(B) (+) *mef*(A) (-)	*S. anginosus* (n=0)	
	S. intermedius (n=0)	
	S. mitis (n=9)	KN10, KN29, KN62, KN278, KN514, KN526, KN610, KN629, KN646
	S. oralis (n=11)	KN20, KN74, KN152, KN235, KN247, KN359, KN365, KN483, KN616, KN645, KN651
	S. salivarius (n=2)	KN261, KN460
	S. sanguinis (n=4)	KN25, KN35, KN223, KN457
erm(B) (-) *mef*(A) (+)	*S. anginosus* (n=1)	KN296
	S. intermedius (n=0)	
	S. mitis (n=2)	KN366, KN609
	S. oralis (n=6)	KN32, KN75, KN153, KN515, KN564, KN628
	S. salivarius (n=2)	KN178, KN451
	S. sanguinis (n=1)	KN635
erm(B) (-) *mef*(A) (-)	*S. anginosus* (n=0)	
	S. intermedius (n=0)	
	S. mitis (n=3)	KN513, KN555, KN560
	S. oralis (n=1)	KN595
	S. salivarius (n=1)	KN448
	S. sanguinis (n=3)	KN250, KN305, KN420

한 연관성은 조사하지 못하였다. 우리 실험실에서 실시한 9개 균종에 대한 실험결과 *S. anginosus, S. intermedius, S. mitis, S. oralis, S. salivarius, S. sanguinis* 6개 균종에서만 에리트로마이신에 내성을 관찰 할 수 있었다. 이는 특정 세균이 에리트로마이신의 내성을 보인다는 것을 나타내지만 분리한 세균의 비율 차이에 의한 결과 일 수 있어서 이후에 분리균종의 수를 늘려 추가적인 실험이 필요할 것으로 생각된다.

본 연구에서는 한국인에게서 분리한 에리트로마이신 내성 구강연쇄구균을 대상으로 에리트로마이신 내성과 관련 유전자인 *erm*(B)와 *mef*(A)에 대한 분포를 조사하였다. 이번 실험에서 *erm*(B)와 *mef*(A)를 모두 나타내지 않은 종은 8종(14%)으로 조사되었으며 이들 세균종은 *erm*(B)와 *mef*(A) 이외의 내성 기전을 지니고 있을 것으로 추정되며 해당 기전을 밝히기 위해서는 추가적인 실험이 필요할 것으로 생각된다. 리보좀 RNA의 메틸화와 활성 유출 시스템과 관련된 *erm*(B)와 *mef*(A) 이외의 유전자가 관련되었을 가능성도 있으며, 이 두가지 기전 이외에 보고되고 있는 다른 에리트로마이신 내성기전으로 플라스미드를 매개로 작용하여 아세틸 그룹을 항생제에 추가해 구조를 수정하는 유전자들[3,29,30]의 관여 여부는 추가 실험으로 밝혀져야 할 것이다.

감사의 글

이 논문은 2010년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임(2010-0025532)

참고문헌

1. Jorro G, Morales C, Braso JV, Pelaez A. Anaphylaxis to erythromycin. Ann Allergy Asthma Immunol. 1996;77: 456-8.
2. Allignet J, Loncle V, el Sohl N. Sequence of a staphylococcal plasmid gene, vga, encoding a putative ATP- binding protein involved in resistance to virginiamycin A-like antibiotics. Gene. 1992;117:45-51.
3. Roberts MC, Sutcliffe J, Courvalin P, Jensen LB, Rood J, Seppala H. Nomenclature for macrolide and macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance determinants. Antimicrob Agents Chemother. 1999;43:2823-30.
4. Chong Y, Lee K. Present situation of antimicrobial resistance in Korea. J Infect Chemother. 2000;6:189-95.
5. Song Y, Lee HK, Ji E, Oh JM. Patterns of antibiotic usage in clinics and pharmacy after separation of dispensary from medical practice. Kor J Clin Pharm. 2011;21:332-8.
6. Uh Y, Jang IH, Hwang GY, Yoon KJ, Song W. Emerging

erythromycin resistance among group B streptococci in Korea. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2001;20:52-4.
7. Seppala H, Skurnik M, Soini H, Roberts MC, Huovinen P. A novel erythromycin resistance methylase gene (*erm*TR) in *Streptococcus pyogenes*. Antimicrob Agents Chemother. 1998;42:257-62.
8. Gulay Z, Ozbek OA, Bicmen M, Gur D. Macrolide resistance determinants in erythromycin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in turkey. Jpn J Infect Dis. 2008;61:490-3.
9. Kataja J, Seppala H, Skurnik M, Sarkkinen H, Huovinen P. Different erythromycin resistance mechanisms in group C and group G streptococci. Antimicrob Agents Chemother. 1998;42:1493-4.
10. Seppala 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. Sutcliffe J, Tait-Kamradt A, Wondrack L. *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* resistant to macrolides but sensitive to clindamycin: A common resistance pattern mediated by an efflux system. Antimicrob Agents Chemother. 1996;40:1817-24.
12. Luna VA, Coates P, Eady EA, Cove JH, Nguyen TT, Roberts MC. A variety of gram-positive bacteria carry mobile *mef* genes. J Antimicrob Chemother. 1999;44:19-25.
13. Leclercq R, Courvalin P. Bacterial resistance to macrolide, lincosamide, and streptogramin antibiotics by target modification. Antimicrob Agents Chemother. 1991;35:1267-72.
14. Ardanuy C, Tubau F, Linares J, Dominguez MA, Pallares R, Martin R, Spanish Pneumococcal Infection Study Network (G03/103). Distribution of subclasses *mef*A and *mef*E of the *mef*A gene among clinical isolates of macrolide-resistant (M-phenotype) Streptococcus pneumoniae, viridans group streptococci, and Streptococcus pyogenes. Antimicrob Agents Chemother. 2005;49:827-9.
15. Ono T, Shiota S, Hirota K, Nemoto K, Tsuchiya T, Miyake Y. Susceptibilities of oral and nasal isolates of *Streptococcus mitis* and *Streptococcus oralis* to macrolides and PCR detection of resistance genes. Antimicrob Agents Chemother. 2000;44:1078-80.
16. Arpin C, Canron MH, Maugein J, Quentin C. Incidence of *mef*A and *mef*E genes in viridans group streptococci. Antimicrob Agents Chemother. 1999;43:2335-6.
17. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, M07-A8, vol. 29, no. 2, 8th ed., CLSI. Wayne, PA, 2009.
18. Klugman KP, Capper T, Widdowson CA, Koornhof HJ, Moser W. Increased activity of 16-membered lactone ring macrolides against erythromycin-resistant *Streptococcus pyogenes* and *Streptococcus pneumoniae*: Characterization of south african isolates. J Antimicrob Chemother. 1998;42: 729-34.
19. Latini L, Ronchetti MP, Merolla R, Merolla R, Guglielmi F, Bajaksouzian S, Villa MP, Jacobs MR, Ronchetti R. Prevalence of *mef*E, erm and *tet*(M) genes in *Streptococcus pneumoniae* strains from central italy. Int J Antimicrob Agents. 1999;13:29-33.
20. Setchanova L, Tomasz A. Molecular characterization of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* isolates from Bulgaria. J Clin Microbiol. 1999;37:638-48.
21. Shortridge VD, Doern GV, Brueggemann AB, Beyer JM, Flamm RK. Prevalence of macrolide resistance mechanisms in *Streptococcus pneumoniae* isolates from a multicenter antibiotic resistance surveillance study conducted in the united states in 1994-1995. Clin Infect Dis. 1999;29: 1186-8.
22. Tazumi A, Maeda Y, Goldsmith CE, Coulter WA, Mason C, Millar BC, McCalmont M, Rendall J, Elborn JS, Matsuda M, Moore JE. Molecular characterization of macrolide resistance determinants [*erm*(B) and *mef*(A)] in Streptococcus pneumoniae and viridans group streptococci (VGS) isolated from adult patients with cystic fibrosis (CF). J Antimicrob Chemother. 2009;64:501-6.
23. Clancy J, Petitpas J, Dib-Hajj F, Yuan W, Cronan M, Kamath AV, Bergeron J, Retsema JA. Molecular cloning and functional analysis of a novel macrolide-resistance determinant, *mef*A, from *Streptococcus pyogenes*. Mol Microbiol. 1996;22:867-79.
24. Tait-Kamradt A, Clancy J, Cronan M, Dib-Hajj F, Wondrack L, Yuan W, Sutcliffe J. mefE is necessary for the erythromycin-resistant M phenotype in *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother. 1997;41:2251-5.
25. Sutcliffe J, Grebe T, Tait-Kamradt A, Wondrack L. Detection of erythromycin-resistant determinants by PCR. Antimicrob Agents Chemother. 1996;40:2562-6.
26. Horinouchi S, Byeon WH, Weisblum B. A complex attenuator regulates inducible resistance to macrolides, lincosamides, and streptogramin type B antibiotics in *Streptococcus sanguis*. J Bacteriol. 1983;154:1252-62.
27. Schmitz FJ, Perdikouli M, Beeck A, Verhoef J, Fluit AC. Molecular surveillance of macrolide, tetracycline and quinolone resistance mechanisms in 1191 clinical european *Streptococcus pneumoniae* isolates. Int J Antimicrob Agents. 2001;18:433-6.
28. Nagai K, Appelbaum PC, Davies TA, Kelly LM, Hoellman DB, Andrasevic AT, Drukalska L, Hryniewicz W, Jacobs MR, Kolman J, Miciuleviciene J, Pana M, Setchanova L, Thege MK, Hupkova H, Trupl J, Urbaskova P. Susceptibilities to telithromycin and six other agents and prevalence of macrolide resistance due to L4 ribosomal protein mutation among 992 pneumococci from 10 central and eastern european countries. Antimicrob Agents Chemother. 2002;46: 371-7.
29. Weisblum B. Macrolide resistance. Drug Resist Updat. 1998;1:29-41.
30. Allignet J, Liassine N, el Solh N. Characterization of a staphylococcal plasmid related to pUB110 and carrying two novel genes, *vat*C and *vgb*B, encoding resistance to streptogramins A and B and similar antibiotics. Antimicrob Agents Chemother. 1998;42:1794-8.
31. Ergin A, Eser OK, Hascelik G. Erythromycin and penicillin resistance mechanisms among viridans group streptococci isolated from blood cultures of adult patients with underlying diseases. New Microbiol. 2011;34:187-93.
32. Arpin C, Daube H, Tessier F, Quentin C. Presence of *mef*A and *mef*E genes in *Streptococcus agalactiae*. Antimicrob Agents Chemother. 1999;43:944-6.