

Original

Fenotipos y mecanismos genéticos de resistencia a macrólidos y lincosamidas en estreptococos del grupo *viridans*

F. Artiles Campelo, I. Horcajada Herrera, I. Álamo Antúnez, A. Cañas Pedrosa y B. Lafarga Capuz

Servicio de Microbiología, Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín, Las Palmas de Gran Canaria

RESUMEN

Los estreptococos del grupo *viridans* forman parte de la flora orofaríngea, intestinal y genital, pero pueden causar endocarditis y bacteriemia en pacientes susceptibles. Cada vez se describen más cepas resistentes a las penicilinas y a los macrólidos. El objetivo de nuestro estudio fue conocer los mecanismos de resistencia a los macrólidos en aislamientos con significación clínica. De enero de 2004 a junio de 2006 se identificaron 85 cepas de estreptococos del grupo *viridans*. Se determinó la sensibilidad a penicilina, cefotaxima, eritromicina, clindamicina y gentamicina. Se estableció el fenotipo de resistencia a los macrólidos mediante aproximación de discos (eritromicina-clindamicina). Se detectó el mecanismo genético de resistencia mediante PCR para los genes *ermB*, *ermA*, *ermC*, *ermA* (TR) y *mefA/E*. Se identificaron 51 cepas pertenecientes a especies del grupo *anginosus*, obtenidas mayoritariamente de abscesos abdominales, y 34 cepas de otras especies, obtenidas mayoritariamente de hemocultivos. La tasa de resistencia a los macrólidos fue del 28,2% (24/85). El fenotipo MLS_B se observó en el 66,7% de las cepas, principalmente del grupo *anginosus*. El fenotipo M predominó en *S. mitis* y *S. oralis*. En las cepas con fenotipo MLS_B constitutivo se detectó el gen *ermB*, mientras que en las cepas con expresión inducible se detectó el gen *ermA*. En las cepas con fenotipo M se detectó el gen *mefA/E*. Se observó coresistencia con penicilina en el 20,8% (5/24) de las cepas. La resistencia a los macrólidos en los estreptococos del grupo *viridans* es ligeramente menor que la observada en otros estudios. Destacamos mayor resistencia y presencia del fenotipo MLS_B en cepas del grupo *anginosus*, y del fenotipo M en las restantes especies, lo cual podría estar relacionado con el origen anatómico de las cepas. La coresistencia a la penicilina fue baja. Sería recomendable vigilar periódicamente la resistencia a los macrólidos en los estreptococos del grupo *viridans*, posibles transmisores de resistencia a otras especies de estreptococos patógenos.

Palabras clave: Estreptococos del grupo *viridans* - Resistencia a macrólidos - Fenotipo - Mecanismo genético - Coresistencia

Phenotypes and genetic mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides in *viridans* group streptococci

SUMMARY

Viridans group streptococci (VGS) are part of the oropharyngeal, intestinal and genital flora, but they may cause endocarditis and bacteremia in susceptible patients. Penicillin- and macrolide-resistant strains are increasing every year. The aim of this study was to investigate genetic mechanisms of resistance to macrolides in clinically relevant isolates. We identified 85 isolates from January 2004 to June 2006. Susceptibility to penicillin, cefotaxime, erythromycin, clindamycin and gentamycin was determined. A resistance phenotype was assigned according to the disk approximation test (erythromycin-clindamycin). The mechanism of resistance was determined by PCR for the following genes: *ermB*, *ermA*, *ermC*, *ermA* (TR) and *mefA/E*. We identified 51 isolates belonging to *Streptococcus anginosus* species, most of which were obtained

from abdominal abscesses, and 34 isolates belonging to other species, most of which were obtained from blood cultures. The macrolide resistance rate was 28.2% (24/85). The MLS_B phenotype was observed in 66.7% of the isolates, primarily in the *S. anginosus* group. The *M* phenotype was predominant in *S. mitis* and *S. oralis*. Isolates that expressed the constitutive MLS_B phenotype carried the *ermB* gene, and those that expressed the inducible MLS_B phenotype carried the *ermA* gene. Isolates that expressed the *M* phenotype carried the *mefA/E* gene. There was coresistance with penicillin in 20.8% (5/24) of the isolates. Coresistance with penicillin was low. These results suggest that screening for macrolide resistance in VGS would be desirable because of the potential transmission of resistance genes to other pathogenic streptococci.

Key words: Viridans group streptococci - Macrolide resistance - Phenotype - Genetic mechanism - Co-resistance

INTRODUCCIÓN

Los estreptococos del grupo *viridans* son un grupo heterogéneo de bacterias saprófitas de las vías respiratorias altas, del tracto intestinal y del tracto genital femenino. Aunque se suelen considerar contaminantes cuando se aíslan en hemocultivos, en ocasiones están relacionados con bacteriemias en pacientes neutropénicos, en un 20% a 40% (1), y en pacientes con neoplasias intestinales, con unas tasas de mortalidad que oscilan entre el 6% y el 30% (2). Un 30% a 40% de las endocarditis bacterianas en válvula nativa son producidas por estreptococos del grupo *viridans* (3). En colecciones purulentas de origen digestivo, los estreptococos del grupo *anginosus*, un subgrupo dentro de los estreptococos del grupo *viridans*, son una etiología frecuente de estas afecciones (4).

La eritromicina ha sido recomendada como tratamiento alternativo tanto en pacientes alérgicos a la penicilina como en infecciones por cepas de estreptococos del grupo *viridans* resistentes a la penicilina. Se utiliza como profilaxis antibiótica de la endocarditis bacteriana asociada a procesos dentales. Sin embargo, en los últimos tiempos se observa un incremento progresivo de la resistencia a los macrólidos en este grupo de bacterias, con una gran variabilidad tanto geográfica como en lo que se refiere a los mecanismos genéticos y su expresión fenotípica, aunque no queda clara su variabilidad por especies (5, 6). Dado el intercambio de material genético en las vías respiratorias altas, donde conviven estreptococos del grupo *viridans*, *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus pyogenes*, es importante conocer cuál es el estado de resistencia a los macrólidos en este grupo de bacterias.

Existen dos mecanismos principales de resistencia a los macrólidos: la metilación del RNA ribosómico (RNAr) 23S en el nucleótido de la diana ribosómica, codificada por los genes *erm* y expresada como fenotipo MLS_B (resistencia a los macrólidos, las lincosamidas y las estreptograminas B), y una bomba de expulsión, codificada por los ge-

nes *mefA/E* y expresada como fenotipo M (resistencia a los macrólidos de 14 y 15 átomos, y sensibilidad a las lincosamidas) (7).

Nuestro objetivo fue conocer el estado de resistencia a los macrólidos en aislamientos de estreptococos del grupo *viridans* con significación clínica, cuáles eran los fenotipos de resistencia y sus mecanismos genéticos, así como la co-resistencia a la penicilina y la cefotaxima.

MATERIAL Y MÉTODOS

Aislamientos

En el periodo comprendido entre enero de 2004 y junio de 2006 (30 meses) se aislaron 85 cepas de estreptococos del grupo *viridans* con significación clínica. En el caso de los aislamientos en sangre se consideraron verdaderas bacteriemias cuando se aislaban en dos o más hemocultivos.

Identificación

La identificación se realizó con métodos convencionales, según el esquema bioquímico propuesto por Ruoff y cols. (8).

Pruebas de sensibilidad antibiótica

Se realizó antibiograma por técnica de difusión en agar según normas del CLSI (9). Los antibióticos incluidos fueron penicilina G, cefotaxima, eritromicina, clindamicina y gentamicina (500 µg). En los aislamientos con resistencia o sensibilidad reducida a los antibióticos mencionados, se midió la CMI por *E-test*[®] (AB Biodisk, Solna, Suecia).

Determinación de los fenotipos de resistencia a los macrólidos

Se realizó mediante el test de inducción con discos de eritromicina (15 µg) y clindamicina (2 µg) separados 20 mm

entre sí, en medio de Mueller-Hinton sangre (10). Se determinaron cuatro fenotipos posibles de acuerdo con los resultados de la prueba: a) fenotipo S (sensibles a eritromicina y clindamicina), b) fenotipo M (resistente a eritromicina y sensible a clindamicina, sin achatamiento del halo de inhibición de la clindamicina), c) fenotipo MLS_B inducible (MLS_Bi: resistente a eritromicina y sensible a clindamicina, con achatamiento del halo de inhibición de la clindamicina), y d) fenotipo MLS_B constitutivo (MLS_Bc: resistente a eritromicina y clindamicina) (10).

Determinación de los mecanismos genéticos de resistencia a los macrólidos

Se realizó la detección de DNA específico por técnica de PCR para los genes que codifican producción de metilasa (*ermA*, *ermB*, *ermC* y *ermA* subvariante *ermTR*) y bomba de flujo (*mefA/E* y análogo de *msrA*). Todas las mezclas de amplificación para PCR contenían 100 ng de DNA problema, MgCl₂ (1,5 nM), tampón TRIS (200 µM), Taq polimerasa (5 U) y los iniciadores correspondientes (250 nM). Los iniciadores y las condiciones de procesamiento fueron los establecidos previamente por distintos autores (11-13). Los ciclos de PCR se realizaron en un termociclador *GeneAmp PCR System 9700* (Applied Biosystems), y los productos de la PCR se detectaron por electroforesis sobre geles de agarosa, seguida de tinción con bromuro de etidio.

RESULTADOS

El 84,7% de las cepas de estreptococos del grupo *viridans* con significación clínica (72/85) se aislaron de sangre y de colecciones purulentas. Las especies del grupo *anginosus* (*S. anginosus*, *S. constellatus* y *S. intermedius*) predominaron en las colecciones purulentas (80,5%, 32/36),

mientras que en las bacteriemias fueron las especies de estreptococos de origen oral: *S. salivarius*, *S. mitis* y *S. oralis* (66,7%, 24/36) (Tabla 1).

La frecuencia de bacteriemia por estreptococos del grupo *viridans* fue de 0,81 casos por cada 1000 admisiones. Las enfermedades más frecuentemente asociadas con bacteriemia fueron hemopatía y fiebre en ocho casos (23,3%), endocarditis en cinco casos (13,3%), afecciones abdominales en cinco casos (13,3%) y cirrosis hepática en tres casos (6,7%). En las hemopatías con fiebre y en las endocarditis predominaron las especies *S. salivarius*, *S. mitis* y *S. oralis*, con el 81,8% de los casos (11/13); por el contrario, en las bacteriemias asociadas a colecciones purulentas y en las afecciones abdominales, los estreptococos del grupo *anginosus* constituyeron el 66,7% de los casos.

Los rangos de CMI para la eritromicina de las cepas de estreptococos del grupo *viridans* aisladas fueron de 0,016 a 256 mg/l, y la CMI₉₀ fue 41 mg/l. Un 28,2% (24/85) de las cepas fueron resistentes a los macrólidos: un 18,8% (16/85) con fenotipo MLS_B y un 9,4% (8/85) con fenotipo M. El 66,7% de las cepas resistentes a la eritromicina presentaron el fenotipo MLS_B, predominando *S. anginosus* y *S. constellatus*, y el 33,3% presentaron el fenotipo M, predominando *S. mitis* (Tabla 2).

Las cepas que se expresaban como fenotipo MLS_Bc (CMI ≥64 mg/l) presentaban el gen *ermB*, excepto en dos casos. Las que presentaban fenotipo MLS_Bi, tres casos, eran portadoras del gen *ermA* (CMI ≥256 mg/l). Las cepas con expresión del fenotipo M (CMI = 2-12 mg/l), todas excepto una eran portadoras del gen *mefA/E* (Tabla 2). No encontramos ninguna cepa con presencia de genes combinados para producción de metilasa y bomba de expulsión. Del mismo modo, tampoco encontramos aislamientos de estreptococos del grupo *viridans* transportando el gen *ermC* o el *ermA* (subvariante *ermTR*). Todas las cepas por-

Tabla 1. Número de cepas de estreptococos del grupo *viridans* por especie y tipo de muestra.

| Especie | Sangre | Absceso | Articular | Ascítico | Pleural | Otros | Total |
|----------------------------|--------|---------|-----------|----------|---------|-------|-------|
| <i>S. anginosus</i> | 6 | 21 | 1 | 1 | 3 | 2 | 34 |
| <i>S. constellatus</i> | 3 | 8 | | | 1 | 1 | 13 |
| <i>S. intermedius</i> | | 3 | | | 1 | | 4 |
| <i>S. mitis</i> | 8 | 2 | | | | | 10 |
| <i>S. salivarius</i> | 9 | | | | | 2 | 11 |
| <i>S. oralis</i> | 7 | | | | | | 7 |
| <i>S. cristatus</i> | 3 | | | | | | 3 |
| <i>Streptococcus</i> spp. | | 1 | | | | | 1 |
| <i>Aerococcus viridans</i> | | 1 | | | 1 | | 2 |
| Total | 36 | 36 | 1 | 1 | 6 | 5 | 85 |

Tabla 2. Relación entre las especies de estreptococos del grupo *viridans*, el fenotipo y el mecanismo genético de resistencia a los macrólidos.

| Especie | Nº cepas | MLS _B c* | MLS _B i** | M*** | Nº cepas resistentes (%) |
|----------------------------|----------|---------------------|----------------------|------|--------------------------|
| <i>S. anginosus</i> | 34 | 7 | 2 | | 9 (21,5) |
| <i>S. constellatus</i> | 13 | 3 | | | 3 (23,1) |
| <i>S. salivarius</i> | 11 | | 1 | | 1 (9,1) |
| <i>S. mitis</i> | 10 | 1 | | 4 | 5 (50) |
| <i>S. oralis</i> | 7 | | | 2 | 2 (28,6) |
| <i>S. intermedius</i> | 4 | 1 | | | 1 (25) |
| <i>S. cristatus</i> | 3 | 1 | | 2 | 3 (100) |
| <i>Streptococcus</i> spp. | 1 | | | | 0 (0) |
| <i>Aerococcus viridans</i> | 2 | | | | 0 (0) |
| Total | 85 | 13 | 3 | 8 | 24 (28,2) |

*Todas, excepto dos, presentaban el gen *ermB*.

**Todas presentaban el gen *ermA*.

***Todas, excepto una, presentaban el gen *mefA/E*.

tadoras del gen *mefA/E* transportaban también el gen análogo de *msrA*.

Los rangos de CMI de la penicilina para las cepas de estreptococos del grupo *viridans* aisladas fueron de 0,016 a 4 mg/l. El 17,6% (15/85) fueron resistentes a la penicilina, 13 (15,3%) con resistencia de bajo grado y 2 (2,3%) con resistencia de alto grado. La CMI₉₀ fue de 0,234 mg/l. Sólo dos cepas (2,3%) fueron resistentes a la cefotaxima, las mismas que presentaban resistencia de alto grado a la penicilina.

De las 24 cepas resistentes a los macrólidos, cinco tenían asociada resistencia a la penicilina (20,8%), todas con resistencia de bajo grado (CMI=0,12-1 mg/l), y correspondían a dos *S. oralis* con fenotipo M, un *S. cristatus* con fenotipo M, un *S. constellatus* con fenotipo M y un *S. anginosus* con fenotipo MLS_Bc. De las cepas sensibles a los macrólidos, el 16,4% presentaron resistencia a la penicilina.

DISCUSIÓN

Desde la década de 1970 presenciamos un incremento progresivo de la resistencia a la penicilina y los macrólidos en los estreptococos del grupo *viridans*. Los últimos datos (1) indican unas tasas de resistencia a la eritromicina del 40% al 44% y a la clindamicina del 4% al 10%, lo que limita el valor de los macrólidos tanto en el tratamiento de la endocarditis como en su profilaxis en pacientes de alto riesgo. Nuestros datos de resistencia (28,2% a la eritromicina y 18,8% a la clindamicina) son algo menores, y constatamos un predominio de la producción de metilasa por los genes *erm* (66,7%), lo que implica una resistencia de

alto grado a los macrólidos (CMI \geq 64 mg/l). Sin embargo, si analizamos nuestros resultados por especies, observamos que en los estreptococos del grupo *viridans* de origen oral con resistencia a los macrólidos (*S. salivarius*, *S. mitis*, *S. oralis*, *S. cristatus*) hay un predominio del fenotipo M (72,7%), lo que implica sensibilidad a la clindamicina y resistencia de grado medio a los macrólidos. El predominio de la resistencia a los macrólidos con fenotipo M en los estreptococos del grupo *viridans* aislados en la faringe de personas sanas (50,7% a 80,1%) se repite en la bibliografía (2, 15, 16). Sin embargo, Pérez-Trallero y cols. encuentran un porcentaje similar para ambos mecanismos (17).

En las cepas del grupo *anginosus*, su localización saprófita habitual es más amplia, incluyendo no sólo las vías respiratorias altas sino también el tracto intestinal y el genital femenino. Este grupo presenta una tendencia especial a producir abscesos, por lo que está relacionado con colecciones purulentas y patología abdominal. En nuestras cepas resistentes a la eritromicina de este grupo, el 100% se trataba de fenotipo MLS_B y, excepto dos, todas eran portadoras del gen *ermB* o del gen *ermA*. Es posible que el predominio de la resistencia por producción de metilasa (genes *erm*) en este grupo se relacione con la combinación de varios factores: alta concentración de los macrólidos en el tracto intestinal después de la administración por vía oral, presencia de otras especies de estreptococos en las que es habitual este mecanismo de resistencia (*Streptococcus agalactiae*) y la posible transmisión horizontal de material genético. En sintonía con nuestros hallazgos, Jacobs y cols. (18) encontraron resultados similares para los estreptococos del grupo *anginosus*, con un 77,3% de resistencias por

metilasa (genes *erm*). Un dato a destacar en nuestra serie es la detección de tres cepas con fenotipo MLS_B i: dos *S. anginosus* y un *S. salivarius*, todos portadores del gen *ermA*. En las series de Cerdá-Zolezzi y Seppälä de los años 2003 y 2004, respectivamente (14, 16), no se detectan cepas con este mecanismo de resistencia. Los estreptococos del grupo *viridans* orales resistentes a los macrólidos pueden plantearse como reservorio específico de genes que codifican bomba de flujo (genes *mefA/E*). Estos genes, en las vías respiratorias altas, podrían ser transmitidos a cepas de *S. pneumoniae* y *S. pyogenes*.

Se podría especular que, para considerar la utilidad de los macrólidos o de las lincosamidas en el tratamiento o la profilaxis de pacientes susceptibles a sufrir infección por estreptococos del grupo *viridans*, habría que tener en cuenta si se trata de especies orales o del grupo *anginosus*, tener conocimiento de los mecanismos genéticos de resistencia en una zona determinada, y considerar el tipo de enfermedad asociada.

El mayor obstáculo al conocimiento de la sensibilidad a los antimicrobianos en relación con la especie de estreptococos del grupo *viridans* son las manifiestas dificultades de su identificación fenotípica y la diversidad de criterios taxonómicos empleados a lo largo del tiempo. Por otro lado, existe cierta disparidad de criterios clínicos en cuanto a la necesidad de diferenciar las especies de estreptococos del grupo *viridans*, en particular en lo que se refiere al grupo *anginosus* (19). Actualmente la técnica de referencia para la identificación de las especies de estreptococos del grupo *viridans* es la secuenciación del RNAr 16S. A pesar de ello, existen algunas dificultades para diferenciar las especies *S. oralis*, *S. mitis* y *S. pneumoniae*, que presentan una homología genética superior al 99% (20).

Al contrario de lo que sucede habitualmente en *S. pneumoniae*, no encontramos predominio de resistencia a los macrólidos en las cepas de estreptococos del grupo *viridans* resistentes a la penicilina (20,8% frente a 16,4%), circunstancia probablemente relacionada con su escaso número en nuestra serie.

Como conclusión, en nuestro trabajo encontramos, en los estreptococos del grupo *viridans* con significación clínica que hemos aislado, un 28,2% de resistencia a los macrólidos, con predominio del fenotipo MLS_B c, asociado mayoritariamente al gen *ermB*. Encontramos diferencias entre las especies orales, con predominio del fenotipo M (gen *mefA/E*), y el grupo *anginosus*, todos con fenotipo MLS_B (genes *erm*). Es recomendable que los laboratorios de microbiología realicen una vigilancia periódica de la sensibilidad y de los mecanismos de resistencia en los estreptococos del grupo *viridans*.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la inestimable colaboración de los técnicos de laboratorio Laura Cardona Reyes y Dunia Montesdeoca Molina para la realización de este trabajo.

Correspondencia: Dr. Fernando Artiles Campelo, Servicio de Microbiología, Hospital Universitario de Gran Canaria. Dr. Negrín, Barranco de la Ballena s/n, 35010 Las Palmas de Gran Canaria.

BIBLIOGRAFÍA

1. Prabhu, R.M., Piper, K.E., Baddour, L.M. y cols. *Antimicrobial susceptibility patterns among viridans group streptococcal isolates from infective endocarditis patients from 1971 to 1986 and 1994 to 2002*. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48: 4463-4465.
2. Wisplinghoff, H., Reinert, R.R., Cornely, O., Seifert, H. *Molecular relationships and antimicrobial susceptibilities of viridans group streptococci isolated from blood of neutropenic cancer patients*. J Clin Microbiol 1999; 37: 1876-1880.
3. Bayer, A.S., Scheld, W.M. *Endocarditis and intravascular infections*. En: Mandell, G.L., Bennett, J.E., Dolin, R. (Eds.). Principles and practice of infectious diseases. Churchill Livingstone, Inc., New York 2000; 857-884.
4. Aracil, B., Gómez-Garcés, J.L., Alós, J.I. *A study of susceptibility of 100 clinical isolates belonging to the Streptococcus milleri group to 16 cephalosporins*. J Antimicrob Chemother 1999; 43: 399-402.
5. Rodríguez-Avial, C., Rodríguez-Avial, I., Picazo, J.J. *Estreptococos del grupo viridans: Resistencia antimicrobiana e impacto clínico*. En: Bouza, E., Picazo, J.J. (Eds.). Infección. Servisistem 2000, Bilbao 2003; 145-176.
6. Razonable, R.R., Litzow, M.R., Khaliq, Y. y cols. *Bacteremia due to viridans group streptococci with diminished susceptibility to levofloxacin among neutropenic patients receiving levofloxacin prophylaxis*. Clin Infect Dis 2002; 34: 1469-1474.
7. Farrell, D.J., Morrissey, I., Bakker, S., Buckridge, S., Felmingham, D. *In vitro activities of telithromycin, linezolid, and quinupristin-dalfopristin against Streptococcus pneumoniae with macrolide resistance due to ribosomal mutations*. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48: 3169-3171.
8. Ruoff, K.L., Whiley, R.A., Beighton, D. *Streptococcus*. En: Murray, P.R., Baron, E.J., Jorgensen, J.H., Tenover, M.A., Tenover, R.H. (Eds.). Manual of clinical microbiology. ASM Press, Washington, D.C., 2003; 405-421.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 16th informational supplement. CLSI Document M100-S16. CLSI, Wayne, Pennsylvania, 2006.
10. Farrell, D.J., Morrissey, I., Bakker, S., Felmingham, D. *Molecular characterization of macrolide resistance mechanisms among Streptococcus pneumoniae and Streptococcus pyogenes isolated from the PROTEKT 1999-2000 study*. J Antimicrob Chemother 2002; 50 (Suppl. S1): 39-47.
11. Sutcliffe, J., Grebe, T., Tait-Kamradt, A., Wondrack, L. *Detection of erythromycin-resistant determinants by PCR*. Antimicrob Agents Chemother 1996; 44: 2562-2566.
12. Amezcua, M.R., Carter, P.E., Cash, P., McKenzie, H. *Molecular epidemiology of erythromycin resistance in Streptococcus pneumoniae*

- isolates from blood and noninvasive sites.* J Clin Microbiol 2002; 40: 3313-3318.
13. Tait-Kamradt, A., Davies, T., Cronan, M. y cols. *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: 2118-2125.
 14. Cerdá-Zolezzi, P., Millán-Laplana, L., Rubio-Calvo, C. y cols. *Molecular basis of resistance to macrolides and other antibiotics in commensal viridans group streptococci and Gemella spp. and transfer of resistance genes to Streptococcus pneumoniae.* Antimicrob Agents Chemother 2004; 48: 3462-3467.
 15. Aracil, B., Miñambres, M., Oteo, J. y cols. *High prevalence of erythromycin-resistant and clindamycin-susceptible (M phenotype) viridans group streptococci from pharyngeal samples: A reservoir of mef genes in commensal bacteria.* J Antimicrob Chemother 2001; 48: 587-595.
 16. Seppälä, H., Haanperä, M., Al-Juhaish, M. y cols. *Antimicrobial susceptibility patterns and macrolide resistance genes of viridans group streptococci from normal flora.* J Antimicrob Chemother 2003; 52: 636-644.
 17. Pérez-Trallero, E., Vicente, D., Montes, M., Marimón, J.M., Piñeiro, L. *High proportion of pharyngeal carriers of commensal streptococci resistant to erythromycin in Spanish adults.* J Antimicrob Chemother 2001; 48: 225-229.
 18. Jacobs, J.A., Van Baar, G.J., London, N.H. y cols. *Prevalence of macrolide resistance genes in clinical isolates of the Streptococcus anginosus ("S. milleri") group.* Antimicrob Agents Chemother 2001; 45: 2375-2377.
 19. Clarridge III, J.E., Attorri, S., Musher, D.M., Hebert, J., Dunbar, S. *Streptococcus intermedius, Streptococcus constellatus, and Streptococcus anginosus ("Streptococcus milleri group") are of different clinical importance and are not equally associated with abscess.* Clin Infect Dis 2001; 32: 1511-1515.
 20. Facklam, R. *What happened to the Streptococci: Overview of taxonomic and nomenclature changes.* Clin Microbiol Rev 2002; 15: 613-630.