

대변 감시배양에서 *vanB* PCR 양성이지만 *vanB*형 반코마이신 내성 장구균 배양 음성인 증례

Occurrence of a PCR-Positive but Culture-Negative Case for *vanB* Vancomycin-Resistant Enterococci in Stool Surveillance

원다해¹ · 홍기호² · 윤경아¹ · 성흥섭¹ · 김미나¹

Dahae Won, M.D.¹, Ki Ho Hong, M.D.², Kyungah Yun, M.T.¹, Heungsung Sung, M.D.¹, Mi-Na Kim, M.D.¹

울산대학교 의과대학 서울아산병원 진단검사의학과¹, 서울의료원 진단검사의학과²

Department of Laboratory Medicine¹, University of Ulsan College of Medicine and Asan Medical Center, Seoul; Department of Laboratory Medicine², Seoul Medical Center, Seoul, Korea

We present here occurrence of PCR-positive but culture-negative for *vanB* vancomycin-resistant enterococci (VRE) from an enrichment broth of a stool surveillance culture in a patient suffering from Parkinson's disease, who was transferred from a long-term care facility because of aspiration pneumonia. He developed VRE bacteriuria at the hospital day 42. *vanA* and *vanB* genes were detected from 6 µg/mL vancomycin-containing BBL Enterococcosel broth (BD), of which color changed to black after overnight incubation, by both Seeplex VRE detection (Seegene, Seoul, Korea) and Anyplex VanR real-time PCR (Seegene). Subculture of an aliquot of the blackened broth on blood agar plate produced only *vanA* VRE. All of the four subsequent consecutive surveillance cultures for 1 month until discharge at hospital day 75 resulted in PCR-positive but culture-negative for *vanB* VRE from the enrichment broths. Therefore, the presence of a non-enterococcal intrinsic reservoir bearing *vanB* is more likely than low burden of *vanB* VRE. Considering the rare occurrence of *vanB* VRE in Korea, *vanB*-positive PCR results from the enrichment broth requires confirmation by microbiological studies.

Key Words: Vancomycin, *Enterococcus*, *vanB*, PCR, Enrichment, Broth, Surveillance, Culture, Stool

증례소개

2008년 3월부터 파킨슨병(idiopathic Parkinson's disease)으로

Corresponding authors:

Mi-Na Kim

Department of Laboratory Medicine, Asan Medical Center, 88 Olympic-ro 43-gil, Songpa-gu, Seoul 138-736, Korea

Tel: +82-2-3010-4511, Fax: +82-2-478-0884, E-mail: mnkim@amc.seoul.kr

Heungsung Sung

Department of Laboratory Medicine, Asan Medical Center, 88 Olympic-ro 43-gil, Songpa-gu, Seoul 138-736, Korea

Tel: +82-2-3010-4499, Fax: +82-2-478-0884, E-mail: sung@amc.seoul.kr

Received: April 9, 2013

Revision received: June 21, 2013

Accepted: June 21, 2013

This article is available from <http://www.labmedonline.org>

© 2013, Laboratory Medicine Online

© 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-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

요양병원에서 누워 지내던 70세 여자 환자가 내원 일주일 전부터 발생한 가래와 내원 당일 발생한 발열을 주소로 2012년 8월 1일 응급실로 내원하였다. 흡인성폐렴 진단 하에 치료 중 9월 11일 소변에서 반코마이신 내성인 *Enterococcus faecium*이 분리되었다. 9월 15일 대변검체로 반코마이신내성장구균(vancomycin-resistant enterococci, VRE)에 대한 감시배양을 실시하였다. MicroScan PBC28 (Baxter Diagnostics, West Sacramento, CA, USA)을 이용하여 항균제감수성검사를 실시한 결과 vancomycin 및 teicoplanin의 최소억제농도(minimum inhibitory concentration, MIC)가 >16 µg/mL로 VanA 형이었다. 대변검체를 6 µg/mL vancomycin을 포함한 Enterococcosel broth (Becton Dickinson, Sparks, MD, USA)에서 증균배양한 후 검게 변한 배지를 Seeplex VRE detection (Seegene, Seoul, Korea)으로 중합효소연쇄반응(PCR) 검사를 실시한 결과 *vanA*와 *vanB* 유전자가 동시에 검출되었다. *vanB*는 동일 PCR을 재검하였을 때에도 양성이었다(Fig. 1). 하지만 혈액한천배지에 계대배양 후 시행한 PCR 검사에서는 *vanA* VRE만 양성이었고 *vanB* VRE는 관찰되지 않았다. 이 후 10월 13일까지 4회의 대변 감시배

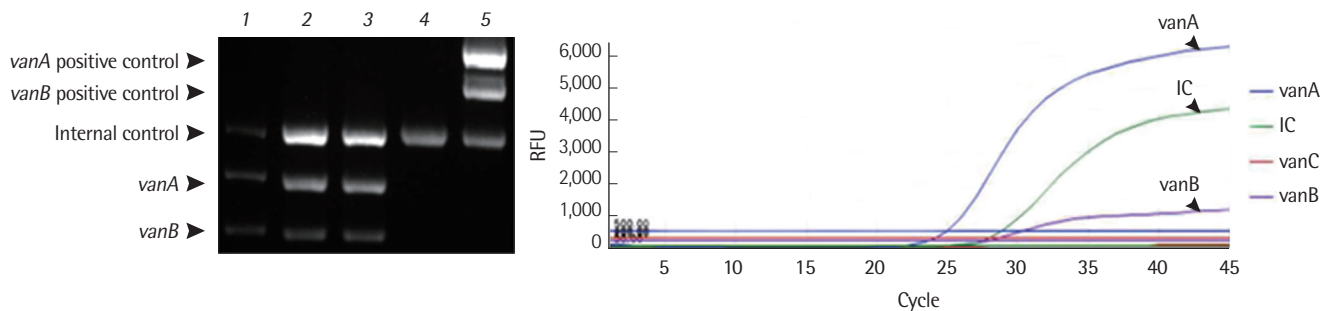


Fig. 1. PCR results for *vanA* and *vanB* on enrichment broth culture. (A) Agarose gel electrophoresis of PCR products using Seeplex VRE Detection kit (Seegene). Lane 1, synthetic marker included in the Seeplex kit; 2 and 3, positive for both *vanA* and *vanB* at the first PCR and the second PCR; 4, negative control; 5, synthetic positive control for *vanA* and *vanB* included in the Seeplex kit. (B) Amplification curve of real-time PCR using Anyplex VanR Real-Time PCR (Seegene). The tested sample showed the curves positive for *vanA* with Ct of 24.93 and *vanB* with Ct of 27.67.

Table 1. PCR results for *vanA* and *vanB* on the culture isolates and the enrichment broth

Hospital day	Urine culture	Stool surveillance culture	
42	<i>vanA E. faecium</i>		
44	<i>vanA E. faecium</i>		
46	<i>vanA</i> VRE	Broth	<i>vanA+vanB</i> VRE
		BAP	<i>vanA</i> VRE
		PEA	<i>vanA+vanB</i> VRE
49	<i>vanA E. faecium</i>		
51	<i>vanA</i> VRE		
53	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Broth	<i>vanA+vanB</i> VRE
		BAP	<i>vanA</i> VRE
56	<i>K. pneumoniae</i>	Broth	<i>vanA+vanB</i> VRE
		BAP	<i>vanA</i> VRE
58	VRE not isolated		
62	No growth		
66	<i>vanA</i> VRE	Broth	<i>vanA+vanB</i> VRE
		BAP	<i>vanA</i> VRE
71	No growth		
72	<i>vanA</i> VRE	Broth	<i>vanA+vanB</i> VRE
		BAP	<i>vanA</i> VRE

Abbreviations: Broth, BBL Enterococcosel Broth +6 µg/mL vancomycin; BAP, blood agar plate +30 µg vancomycin disk; PEA, phenylethylalcohol agar.

양을 추적 실시하여 증균 PCR에서 *vanA*와 *vanB* 유전자가 검출되었다(Table 1). 또한 소변 검체는 같은 기간 11회의 배양검사를 실시하여 6회에서 VanA 형 *E. faecium*이 분리되었다(Table 1). 소변 배양에서는 VanB 형 VRE가 검출되지 않았다. 환자는 흡인성폐렴이 호전되어 10월 17일 타 의료기관으로 전원되었다.

증례 해결 과정

*vanA*와 *vanB* PCR이 양성인 증균배지를 Anyplex VanR Real-Time PCR (Seegene)로 실시간 PCR을 실시했을 때 *vanA*와 *vanB*에 특이적인 반응곡선을 보여 둘 다 양성이었다. *vanA*에 대한 Ct

값은 24.93, *vanB*에 대한 Ct 값은 27.67이었다(Fig. 1). Seeplex VRE detection kit의 증폭산물로 염기서열분석을 시행하였고, BLAST (Genbank) 검색에서 증폭산물은 *vanA*와 *vanB* 유전자 염기서열과 100% 일치하였는데, *vanA* 유전자 염기서열은 VRE에 특이적이었지만, *vanB* 유전자 염기서열은 내인성으로 *vanB*를 가진 *Atopobium minutum*, *Clostridium clostridioforme*, *Clostridium* sp., *Eggertella lenta* 등의 유전자와도 100% 일치하여 구분할 수 없었다. *vanA*와 *vanB* 유전자 양성인 증균배지를 혈액한천배지에 계대배양 후 얻은 장구균 집락 중 다수를 선택하여 PCR하였으나 모두 *vanA*만 양성이고 *vanB*는 음성이었다. Phenylethyl alcohol 한천배지로 혐기성 배양을 시도한 검체에서는 집락이 몽친테를 긁어서 PCR을 했을 때 *vanA*와 *vanB* 모두 양성이었지만, *vanB*만 양성인 집락을 순수분리 하는데는 실패하였다.

검사의학적 진단

vanB 유전자는 양성이지만 *vanB* VRE를 배양검사에서 검출할 수 없었다.

상호 토론

원다해(서울아산병원 진단검사의학과): 한국에서 VanA 형 *Enterococcus durans* 1주가 최초의 VRE로 보고된 이래[1] VRE 빈도가 급속히 증가하였다. 1996년 4월부터 1997년 3월까지 국내 한 대학병원의 임상검체에서 분리된 장구균 790주를 대상으로 VRE 검색을 시행하여 36주(4.6%)의 VRE가 분리되었다[2]. Korean Nationwide Surveillance of Antimicrobial Resistance (KONSAR)의 전국 진단검사의학과 항균제 감수성 자료를 모아서 분석한 자료에 의하면 *E. faecium*의 vancomycin 내성률이 1997년 2.9%에서 2001년은 16%로, 2003년도에는 20%로 증가하여 2000년도 초반 급증하였다

[3, 4]. 국내에서 VRE가 증가하는데 있어서 *vanB* VRE는 어떻게 기여했는가?

홍기호(서울의료원 진단검사의학과): *vanB* VRE가 처음 보고된 것은 앞서 언급한 국내 대학병원으로 36주의 VRE에 대해 *vanA*, *vanB*, *vanC* 유전자 PCR을 시행한 결과 *vanB* VRE가 13주, *vanC* 이 10주 있었다[2]. 그 병원에서 *vanB* VRE가 집중적으로 분리된 것은 *vanB* 유전자의 수평적 전파에 의한 유행으로 추정되었다[5]. 같은 시기에 국내 다른 병원의 연구 중에는 VRE 장보균율이 4.1% 였다는 보고가 있는데 *vanA*가 3주, *vanC*가 9주로 *vanB* VRE는 없었다[6]. 1998년에 5개 대학병원에서 분리된 42주(21주의 *E. faecium*, 6주의 *Enterococcus faecalis*, 2주의 *Enterococcus avium*, 13주의 *Enterococcus casseliflavus*)의 VRE를 대상으로 분자역학 조사를 시행한 연구에서는 *vanA* 12주, *vanB* 9주, *vanC* 16주였다 [7]. *vanB* 9주 중 7주는 모두 처음 *vanB* VRE를 보고하였던 대학병원에서 분리된 균주였다. 1999년에서 2000년도에 6개 대학병원에서 모은 VRE 중 유전형 분석이 된 70주는 모두 *vanA*로 *vanB*는 없었다[8]. 또한 2004년 8개 대학병원에서 2개월간 모은 245개의 *E. faecium*을 대상으로 한 연구에서는 vancomycin-resistant *E. faecium* (VREF)이 59균주로 23.2%였으며 모두 *vanA*를 가지는 균주 였다[3]. 2005년 12개 병원에서 혈액투석을 받는 외래환자를 대상으로 대변검체에서 시행된 연구에서는 위장관에서 4.5%의 VRE가 분리되었으며, 1차 또는 2차 병원에서의 보균율은 2% 이하였으나 3차 병원에서는 평균 13.3%의 보균율을 보여 대형병원의 VRE 보균율이 훨씬 높았다. 대부분이 *vanA* 형이었고(15/18) 나머지는 *VanC* 형이었다[9]. 결론적으로 *vanB* VRE는 1997년에서 1998년 사이 국내 한 대학병원에서 유행을 일으킨 이 후 국내에서는 보고 되지 않고 있다.

원: 이 환자의 대변검체에서 *vanB* VRE는 양성이라고 할 수 있는가? 확인하기 위하여 시행할 수 있는 검사실적 방법은?

홍: 지난 10년간 국내에서 *vanB* VRE가 보고되지 않고 있어 증균 PCR에서 *vanB* 유전자 양성인 것만으로 VRE 양성이라고 보기는 어렵다. 특히 이 증례에서 임상검체인 소변배양에서는 *vanA* VRE만 분리되며, 감시배양 검체인 대변검체에서만 *vanB*가 지속적으로 출현한 것은 위양성의 가능성을 시사한다. 감시배양 검체에 대하여 증균 PCR은 감시배양에서 가장 민감한 검사법이다. 감시배양 검체에서 VRE의 선별을 위한 PCR 성능평가에 대한 이전 연구들을 살펴보면 *vanA* 유전자의 검출에 대해서는 민감도 73.3-99.4%, 특이도 96.3-99.6%였으며 양성예측도는 68.5-91.3%, 음성예측도는 97.7-99.7%로 비교적 좋은 결과를 보였다. 반면 *vanB* 유전자의 검출에 대해서는 민감도 85.4-100%, 특이도 83.9-90.7%, 양성예측도는 1.4-7.9%, 음성예측도는 99.9-100%로 특이도와 양성예측도가 낮았다[10, 11]. 따라서 대변이나 직장도말로부터 직접 PCR을

해서 *vanB*가 양성이라는 것만으로 *vanB* VRE가 있다고 할 수는 없다고 생각한다. 서울의료원에서 대변검체로 *vanA*, *vanB*에 대해 직접 PCR을 한 결과 3건의 *vanB* PCR양성 사례가 있었으나 VRE는 아니었을 것이다(미발표 자료).

원: 싱가포르에서 2005년 *vanB2/B3* VRE 유행 당시 시행된 연구에서도 총 695개의 대변검체를 증균배양 후 PCR을 시행하여 53개 검체에서 *vanB2/B3* 양성결과를 얻었으나 계대배양 결과 이 중 19 검체만 VRE 양성이어서 양성예측도가 36%였다[12]. 이렇게 *vanB* 위양성률이 높은 이유는 장구균 뿐만 아니라 혐기성 세균인 *Clostridium* spp., *Eggerthella lenta*, *Ruminococcus* spp. 등이 *vanB* 유전자를 포함한 Tn5382 또는 Tn1549 transposon을 가지고 있기 때문이다[13-15]. 이 증례의 *vanB* PCR 산물을 Genbank BLAST 검색을 한데서도 이들 균종의 유전자와 100% 일치도를 보여 역시 감별할 수 없었다. 이상을 종합해 볼 때 국내에서 직접검체 뿐 아니라 증균한 액체배지에 PCR을 해서 *vanB* 검출 시 위양성 위험이 높을 것으로 생각된다.

성홍섭 교수(서울아산병원 진단검사의학과): 혈액에서 검출된 *Streptococcus mitis* [16]와 *Streptococcus bovis* [17]에서도 *vanB*가 분리된 바 있다. PCR 위양성일 가능성을 생각하여 액체증균배지로 시행한 Anyplex VanR Real-Time PCR (Seegene, Seoul)에서도 *vanB* 양성이었으며 증폭산물로 시행한 염기서열분석에서도 *vanB* 염기서열과 일치하여 *vanB*를 확인할 수 있었지만 계대배양하여 얻은 VRE 집락에서는 *vanB*가 검출되지 않았다. 이때 생각할 수 있는 것은 생존할 수 없는 VRE, 생존가능 배양불능(viable but nonculturable, VBNC) VRE, *vanB* VRE가 소수로 존재할 가능성, 장구균이 아닌 다른 세균에 의한 *vanB* 양성이다. VBNC VRE는 척박한 환경에서 VRE의 생존전략으로 배지에서 집락을 형성할 수 있는 능력을 잃었지만 아직 살아있으며 대사활성과 유전자 발현도 할 수 있고[18], 다시 분열하는 증식형으로 회복해서 반코마이신 내성을 나타낼 수 있다[19]. 반코마이신 의존성 장구균이 통상적인 배양 조건에서 자라지 않는 것은 이와 유사한 상황이지만, 우리 검사실은 반코마이신 의존성장구균을 여러 번 분리한 적이 있어서 [20] 반코마이신 의존성 장구균의 가능성은 배제할 수 있다. 증균배지 PCR을 해보면 *vanB* PCR 산물은 *vanA* PCR산물 보다는 훨씬 밴드 강도가 약했고, real time PCR에서도 Ct 값이 2.7차이가 나서 10배 정도 정량적 차이가 있는 것을 고려할 때 *vanB* VRE가 소수로 존재할 가능성을 생각해볼 수 있다. 하지만, 감시배양을 반복적으로 실시해도 동일하게 증균배지에서는 *vanB* PCR 양성이고, 배양에 실패하였고, 소변에서만 *vanA* VRE만 지속적으로 출현하여 VRE 외의 다른 균종에 의한 *vanB* PCR 위양성의 위험이 높다. 혐기성배양에서 집락들을 모아서 PCR 한데서는 *vanB* PCR 양성이었기 때문에 *vanB*를 가진 균종을 순수분리하지는 못했지만, 배양이 잘

되지 않는 혐기성 세균에 의한 *vanB* 양성 가능성이 가장 높다고 판단할 수 있다. 이들 혐기성세균이 가진 *vanB*의 임상적 의의는 불분명하지만 *vanB* transposon이 장구균으로 이동할 수 있기 때문에[21, 22] *vanB*를 가진 혐기성세균의 감염관리적 의의는 더 연구가 필요하다.

원: 이처럼 PCR 검사 시 *vanB* 위양성 가능성이 문제가 된다면 VRE 보균자 검사를 위해 직접 검체에 적용하는 PCR 검사가 국내에 도입될 때 *vanB*에 대한 특이도를 검증할 필요가 있다고 생각된다. 최근 국내에서도 LG AdvanSure, Seegene에서 실시간 PCR 검사를 출시하였고 비급여검사로 등재되었다. 앞으로 임상검사실에 이 검사들이 도입된다면 어떤 주의가 필요할 것인가?

김미나 교수(서울아산병원 진단검사의학과): PCR을 이용한 반코마이신 내성유전자의 검출을 임상검체에서 직접 뽑은 DNA에 적용할 경우 24시간 이내로 VRE 검출 시간을 단축시킬 수 있는 장점이 있다. 그러나 이때 생각해야 할 점은 이러한 방식은 VRE의 검출이 아닌 반코마이신 내성 유전자의 검출이라는 것이다. 50개의 대변 검체에서 직접 뽑은 DNA로 GeneOhm VanR Assay (BD Diagnostics, Erembodegem, Belgium)와 Xpert *vanA/vanB* (Cepheid, Bouwel, Belgium)를 이용하여 VRE 검출을 시도한 연구의 결과를 보면 *vanA*에 대해서는 매우 특이적(93.3% vs. 83.3%)이었으나 민감도가 떨어졌고(40% vs. 70%), *vanB*에 대해서는 민감도는 다양했으나(100% vs. 66.7%) 일관되게 매우 낮은 특이도를 보였다(14.9% vs. 12.8%). PCR 음성 결과의 경우 VRE 보균가능성을 배제하는데 유용하며 *vanA* 양성이라면 격리기준으로 사용할 수 있을 것이다. 하지만 국내의 *vanB* VRE는 극히 빈도가 낮기 때문에 *vanB* 양성은 계대배양 결과를 확인하여 위양성을 감별할 필요가 있다. 국내 실시간 PCR 시약들은 직접검체에 적용하는 목적이 아닌 증균 PCR에 적용하도록 안정성과 유효성이 검증되었다. 따라서 직접검체에 적용할 때 보다는 *vanB* 위양성 위험이 적지만 이 증균에서 보듯이 증균 PCR에 적용할 때도 *vanB* 위양성의 위험이 있다. 국내에서 증균 PCR에서 *vanB* 양성시 반드시 계대배양하여 VRE인지 확인해야 할 것이다.

증례 중요점

VRE 감시배양에서 증균 PCR 또는 직접 PCR 검사를 이용하면 *vanB* 양성 결과는 특이성이 떨어지므로 배양결과를 확인해야 함.

요 약

저자들은 파킨슨병 환자의 대변으로 반코마이신내성장구균(*vancomycin-resistant enterococci*, VRE) 감시배양 중 대변 증균

PCR에서는 *vanB* VRE가 검출되었으나 배양음성이었던 증례를 보고한다. 환자는 요양병원에 입원 중이던 환자로 흡인성 폐렴 때문에 본원으로 전원되었다. 재원 42일째 VRE 세균뇨가 발생하였다. 대변검체를 6 µg/mL vancomycin을 포함한 Enterococcosel broth (Becton Dickinson, Sparks, MD, USA)에서 증균배양한 후 검체 변환 배지에서 Seeplex VRE detection (Seegene, Seoul, Korea)와 Anyplex VanR Real-Time PCR (Seegene)으로 중합효소연쇄반응(PCR) 검사를 실시한 결과 *vanA*와 *vanB* 유전자가 동시에 검출되었다. 증균배지를 혈액한천배지에 계대배양 후 얻은 장구균 집락 중 다수를 선택하여 PCR하였으나 모두 *vanA*만 양성되었고 *vanB*는 음성이었다. 이 후 퇴원할 때까지 한 달간 시행된 4번의 보균검사에서 증균 PCR은 *vanB* VRE 양성, 배양음성이었고 재원 75일에 타원으로 전원되었다. 최종적으로 *vanB* VRE가 소수로 존재할 가능성 보다는 배양이 되지 않는 타 균종이 *vanB* 유전자를 가지고 있어서 발생한 위양성으로 생각되었다. 국내에서 *vanB* VRE의 빈도가 극히 낮기 때문에 *vanB* 양성은 계대배양 결과를 확인하여 위양성을 감별할 필요가 있다.

REFERENCES

1. Park JW, Kim YR, Shin WS, Kang MW, Han KJ, Shim SI. Susceptibility tests of vancomycin-resistant enterococci. Korean J Infect Dis 1992; 24:133-7.
2. Lee WG, Jung MK, Kwak YS. Vancomycin-resistant Enterococci: Incidence, antimicrobial susceptibility, and resistance genotypes. Korean J Clin Pathol 1998;18:51-6.
3. Lee K, Jang SJ, Lee HJ, Ryoo N, Kim M, Hong SG, et al. Increasing prevalence of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*, expanded-spectrum cephalosporin-resistant *Klebsiella pneumoniae*, and imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Korea: KONSAR study in 2001. J Korean Med Sci 2004;19:8-14.
4. Lee K, Park KH, Jeong SH, Lim HS, Shin JH, Yong D, et al. Further increase of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*, amikacin- and fluoroquinolone-resistant *Klebsiella pneumoniae*, and imipenem-resistant *Acinetobacter* spp. in Korea: 2003 KONSAR surveillance. Yonsei Med J 2006;47:43-54.
5. Lee WG, Jernigan JA, Rasheed JK, Anderson GJ, Tenover FC. Possible horizontal transfer of the *vanB2* gene among genetically diverse strains of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in a Korean hospital. J Clin Microbiol 2001;39:1165-8.
6. Lee SY and Pai CH. Fecal Colonization with vancomycin-resistant Enterococci (VRE) : clinical and epidemiologic features. Korean J Clin

- Pathol 1997;17:743-56.
7. Kim SJ, Lee NY, Song JH, Kim S, Peck KR, Choi MS, et al. A study on molecular epidemiology of vancomycin-resistant Enterococci isolated from hospitals in Korea. Korean J Infect Dis 1998;30:1-9.
8. Cheong HJ, Park CW, Eom JS, Ha KI, Shin JH, Kim CM, et al. Clinical features of VRE infection, microbiologic characteristics and genetic relatedness of VRE isolates from six university hospitals. Korean J Infect Dis 2002;34:285-92.
9. Kee SY, Park CW, Lee JE, Kwon YJ, Pyo HJ, Kim WJ, et al. Healthcare-associated risk factors of vancomycin-resistant Enterococci colonization among outpatients undergoing hemodialysis. Jpn J Infect Dis 2012; 65:57-60.
10. Mak A, Miller MA, Chong G, Monczak Y. Comparison of PCR and culture for screening of vancomycin-resistant Enterococci: highly disparate results for vanA and vanB. J Clin Microbiol 2009;47:4136-7.
11. Stamper PD, Cai M, Lema C, Eskey K, Carroll KC. Comparison of the BD GeneOhm VanR assay to culture for identification of vancomycin-resistant enterococci in rectal and stool specimens. J Clin Microbiol 2007;45:3360-5.
12. Koh TH, Deepak RN, Se-Thoe SY, Lin RV, Koay ES. Experience with the Roche LightCycler VRE detection kit during a large outbreak of vanB2/B3 vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. J Antimicrob Chemother 2007;60:182-3.
13. Ballard SA, Pertile KK, Lim M, Johnson PD, Grayson ML. Molecular characterization of vanB elements in naturally occurring gut anaerobes. Antimicrob Agents Chemother 2005;49:1688-94.
14. Domingo MC, Huletsky A, Bernal A, Giroux R, Boudreau DK, Picard FJ, et al. Characterization of a Tn5382-like transposon containing the vanB2 gene cluster in a *Clostridium* strain isolated from human faeces. J Antimicrob Chemother 2005;55:466-74.
15. Ballard SA, Grabsch EA, Johnson PD, Grayson ML. Comparison of three PCR primer sets for identification of vanB gene carriage in feces and correlation with carriage of vancomycin-resistant enterococci: interference by vanB-containing anaerobic bacilli. Antimicrob Agents Chemother 2005;49:77-81.
16. Krcmery V Jr, Spanik S, Trupl J. First report of vancomycin-resistant *Streptococcus mitis* bacteremia in a leukemic patient after prophylaxis with quinolones and during treatment with vancomycin. J Chemother 1996;8:325-6.
17. Poyart C, Pierre C, Quesne G, Pron B, Berche P, Trieu-Cuot P. Emergence of vancomycin resistance in the genus *Streptococcus*: characterization of a vanB transferable determinant in *Streptococcus bovis*. Antimicrob Agents Chemother 1997;41:24-9.
18. Lleó MM, Tafi MC, Canepari P. Nonculturable *Enterococcus faecalis* cells are metabolically active and capable of resuming active growth. Syst Appl Microbiol 1998;21:333-9.
19. Lleó MM, Bonato B, Signoretto C, Canepari P. Vancomycin resistance is maintained in enterococci in the viable but nonculturable state and after division is resumed. Antimicrob Agents Chemother 2003;47:1154-6.
20. Hwang K, Sung H, Namgoong S, Yoon NS, Kim MN. Microbiological and epidemiological characteristics of vancomycin-dependent enterococci. Korean J Lab Med 2009;29:299-306.
21. Dahl KH, Røkenes TP, Lundblad EW, Sundsfjord A. Nonconjugative transposition of the vanB-containing Tn5382-like element in *Enterococcus faecium*. Antimicrob Agents Chemother 2003;47:786-9.
22. Launay A, Ballard SA, Johnson PD, Grayson ML, Lambert T. Transfer of vancomycin resistance transposon Tn1549 from *Clostridium symbiosum* to Enterococcus spp. in the gut of gnotobiotic mice. Antimicrob Agents Chemother 2006;50:1054-62.