

혈액에서 분리된 Extended-Spectrum Cephalosporin 내성 *Enterobacter cloacae*에서 Plasmid-Mediated Quinolone Resistance 유전자의 분포 및 Fluoroquinolone 감수성 양상

한양대학교병원 감염내과¹, 서울대학교병원 소아과²
 김연재¹ · 서미란¹ · 김지은¹ · 최은화² · 이환종² · 배현주¹

Prevalence and Characterization of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Genes among Clinical Isolates of Extended-Spectrum Cephalosporin Resistant *Enterobacter cloacae*

Yeon-Jae Kim, M.D.¹, Mi-Ran Seo¹, Jieun Kim M.D.¹, Eun-Hwa Choi M.D.², Hoan-Jong Lee, M.D.², and Hyunjoo Pai, M.D.¹
 Division of Infectious Diseases¹, Hanyang University College of Medicine,
 Department of Pediatrics², Seoul National University college of Medicine, Seoul, Korea

Background : Extended-spectrum cephalosporins (ESCs)–resistant *Enterobacter cloacae* is one of the pathogens of nosocomial infection the incidence of which is on the rise. Moreover, plasmid-mediated quinolone resistance genes (PMQR genes) that reduce quinolone sensitivity have been shown to be widely distributed among clinical isolates of *Enterobacteriaceae*. This study was carried out to observe the distribution of PMQR genes in clinical isolates of *E. cloacae* resistant to ESCs.

Materials and Methods : Forty-three ESCs–resistant *E. cloacae* strains from the blood collected during the span of 7 years, from 1994 to 2001, at Seoul National University Children's Hospital (SNUCH) were included in this study. Isoelectric focusing and enzyme specific PCR were performed to characterize β -lactamase. The presence of *qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrS*, *qepA*, and *aac(6')-Ib-cr* was determined by PCR, restriction enzyme analyses of PCR products, and DNA sequencing. Minimal inhibitory concentration (MIC) of several quinolones was measured by agar dilution method.

Results : The PMQR genes were detected in 9 (21%) of 43 ESCs–resistant *E. cloacae* isolates. Among them, five isolates were positive for *qnrB2*, and each two isolates harbored *qnrB4* or *qnrB5*, respectively. *qnrA*, *qnrC*, *qnrS* or *qepA* was not identified. *aac(6')-Ib* was detected in 27 isolates, but *aac(6')-Ib-cr* was not found. Among the 9 *qnrB*–positive isolates, 5 produced SHV-12, 3 were derepressed mutants, and 1 produced pl 7.5 β -lactamase. MIC ranges and percent resistances of nalidixic acid, ofloxacin, levofloxacin, and moxifloxacin for the PMQR genes–positive isolates were higher than PMQR genes–negative isolates.

Conclusions : In this study, ESCs–resistant *E. cloacae* showed a high prevalence of PMQR genes, and *qnrB* was the only PMQR gene identified.

Key Words : *Enterobacter cloacae*, qnr, Extended-spectrum cephalosporin resistance

서 론

*Enterobacter cloacae*는 중요한 병원 감염균으로서 extended-spectrum cephalosporins (ESCs) 내성이 큰 문제이다. 장내세균에서 ESCs 내성이 증가하는 것은 항생제의 광범위한 사용과 내성균 또는 내성 플라스미드의 환자 및 군간 전파가 원인이다(1, 2). *Enterobacter* 균주에서 ESCs

Submitted : 10 August, 2009, Accepted : 16 October, 2009
 Correspondence author : Hyunjoo Pai M.D.
 Division of Infectious Diseases, College of Medicine, Hanyang University,
 17 Heangdang-dong, Sungdong-gu, Seoul, 133-791, Korea
 Tel : +82-2-2290-8356, Fax : +82-2-2298-9183
 E-mail : paihj@hanyang.ac.kr

내성은 주로 염색체내 AmpC β -lactamase 발현 조절 유전자의 derepressed mutation 혹은 플라스미드 매개 extended-spectrum β -lactamase (ESBL) 생성에 의하여 발생한다(2).

한편 ESC를 사용하면 쉽게 염색체 변이로 인한 내성이 발생하는 *Enterobacter* 균주 감염에서 퀴놀론은 중요한 치료제이다. 일반적으로 퀴놀론 내성은 염색체내 DNA gyrase와 topoisomerase IV 변성의 축적이나 유출 펌프의 발현 조절에 의해 발생하지만(3), 최근 퀴놀론의 감수성을 감소시키는 플라스미드 매개 퀴놀론 내성(plasmid-mediated quinolone resistance; PMQR) 유전자가 있음을 알게 되었다. 1987년 *Shigella dysenteriae* type1에서 플라스미드 매개 퀴놀론 내성이 처음 보고 된 이래(4) *qnr*, *aac(6')-Ib-cr*, *qepA* 등 여러 PMQR 유전자가 존재하는 것이 밝혀졌다. Qnr 결정자는 여러 퀴놀론의 최소억제농도(minimal inhibitory concentration, MIC)를 4-8배 가량 증가시키고 *aac(6')-Ib-cr*은 ciprofloxacin의 MIC를 4배 올린다. PMQR 유전자는 세계적으로 다양한 장내세균에 널리 퍼져 있고(3) 장내세균에서 ESCs 내성과 퀴놀론 내성이 서로 연관 되어 있음이 보고되었다. 이는 다양한 항생제 사용에 의한 선택압력과 PMQR 유전자가 ESCs 내성 플라스미드에 존재하기 때문으로 생각되고 있다(5).

국내에서도 다양한 균주에 대한 PMQR 유전자의 연구가 이루어지고 있으나 *E. cloacae*에서의 PMQR 유전자 분포에 대한 보고는 아직 부족하다. 이에 저자들은 ESCs 내성 *E. cloacae* 균주에서 PMQR 유전자의 빈도 및 종류를 분석하고 ESCs 내성기전과의 연관성 및 PMQR 유전자가 실제 퀴놀론의 내성에 미치는 영향에 대해 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 대상균주

1994년에서 2001년까지 8년 동안 서울대학교 어린이 병원의 균혈증 환자에게서 분리된 434주의 그람 음성 균주 중 74주의 *E. cloacae*를 동정하였고 이 중 ESCs에 내성인 46 균주에서 재연 가능한 43 균주를 대상으로 하였다. 이들의 ESCs 내성 기전은 이전 연구에서 확인하였다(6).

2. PMQR 중합효소 연쇄 반응과 염기서열 분석

qnrA, *qnrB*, *qnrC*, *qnrS*, *qepA*와 *aac(6')-Ib-cr*의 PCR 시행을 위한 primer는 Table 1에 정리하였다. PCR 성분조건은 *qnrA*, *qnrC*, *qepA*와 *qnrS*에서 2.5mM dNTP Mix, 1.5mM MgSO₄, Taq polymerase (Bio Basic Inc., Markham, Canada)이었으며 *qnrB*에서는 2.5mM dNTP Mix, 2.5mM MgSO₄, Taq polymerase (Bio Basic Inc.)이었다. 염기서열 분석은 *qnrB* 양성인 9균주의 PCR 증폭산물을 QIGEX gel extraction kit (Qiagen, Chatsworth, USA)로 정제하여 염기서열을 분석하였다.

3. 제한효소 분석을 이용한 아형분류

*aac(6')-Ib*와 *aac(6')-Ib-cr*의 분류는 AI-R, AI-F를 primer로 이용하여 시행한 PCR 증폭산물을 BclI (Promega, Madison, USA)으로 절단하여 분류하였다. BclI은 *aac(6')-Ib*를 233bp, 209bp, 40bp의 DNA 조각으로 절단하고 *aac(6')-Ib-cr*은 절단하지 못한다(7). *qnrB2*와 *qnrB5*의 아형분류를 위해 MFQ1과 MFQ2 primer를 이용하여 증폭된 산물을 ApaI (Promega) 혹은 HindIII (Pro-

Table 1. Primers used for PCR Amplification

Target	Primer	Sequence	Annealing temp. (°C)	Reference
<i>qnrA</i>	QP1	5'-GATAAAGTTTTTCAGCAAGAG-3'	57°C	(30)
	QP2	5'-ATCCAGATCGGCAAAGGTTA-3'		
<i>qnrB</i>	FQ1	5'-ATGACGCCATTACTGTATAA-3'	53°C	(17)
	FQ2	5'-GATCGCAATGTGTGAAGTTT-3'		
	MFQ1	5'-GATCGTGAAAGCCAGAAAGG-3'	59°C	(31)
	MFQ2	5'-ACGATGCCTGGTAGTTGTCC-3'		
<i>qnrC</i>	<i>qnrC</i> -F	5'-GGGTTGTACATTTATTGAATCG-3'	55°C	(24)
	<i>qnrC</i> -R	5'-CACCTACCCATTTATTTTCA-3'		
<i>qnrS</i>	<i>qnrS</i> -F	5'-ACGACATTCGTCAACTGCAA-3'	57°C	(32)
	<i>qnrS</i> -R	5'-TAAATTGGCACCCCTGTAGGC-3'		
<i>qepA</i>	<i>qepA</i> -F	5'-GCAGGTCCAGCAGCGGGTAG-3'	60°C	(20)
	<i>qepA</i> -R	5'-CTTCCTGCCCGAGTATCGTG-3'		
<i>aac(6')-Ib-cr</i>	AI-R	5'-TTGCGATGCTCTATGAGTGGCTA-3'	55°C	(33)
	AI-F	5'-CTCGAATGCCTGGCGTGT-3'		

mega)로 절단하였다. *Apal*은 *qnrB2*의 증폭산물을 467bp와 95bp의 DNA 조각으로 절단하고 *HindIII*는 *qnrB5* 증폭 산물을 333bp와 229bp로 절단한다(8).

4. 최소억제농도 또는 MIC

ESCs에 내성인 *E. cloacae* 43주 중에서 PMQR 유전자가 포함된 균주를 선별하여 nalidixic acid, ciprofloxacin, levofloxacin, ofloxacin, moxifloxacin에 대해 한천희석법으로 MIC를 측정하였으며 NCCLS 가이드라인에 따른 breakpoint로 percent resistance를 측정하였다(9).

결 과

1. β -lactamase 분석

ESCs에 내성인 *E. cloacae* 43주를 대상으로 isoelectric focusing (IEF), 효소억제점사와 효소 특이 중합효소 연쇄 반응을 통해 분석한 결과, ESCs 내성 기전으로서 염색체 변이로 인한 derepressed mutant가 28주(65%, 28/43), partial derepressed mutant가 1주(2%, 1/43)이고 SHV-12가 10주(23%, 10/43), TEM-52가 6주(14%, 6/43), SHA-2a가 2주(5%, 2/43), CTX-M-14가 1주(2%, 1/43)였다(6).

2. PMQR 유전자의 분포

ESCs 내성인 *E. cloacae* 43주 중 9주에서 PMQR이 존재하였다(21%, 9/43). PMQR 양성으로 나타난 균주의 분포와 ESCs 내성 기전과의 상관관계는 Table 2에 정리하였다. PMQR 유전자 양성인 9주는 모두 *qnrB*를 가지고 있었으며

그 외 *qnrA*, *qnrC*, *qnrS* 혹은 *qepA*는 발견되지 않았다. *qnrB*의 아형을 분석한 결과 *qnrB2*가 5주(56%, 5/9), *qnrB4*가 2주(22%, 2/9), *qnrB5*가 2균주(22%, 2/9)로 나타났다. 아미노글리코사이드에 내성을 보이는 *aac(6')-Ib-cr* 변이 유전자는 발견되지 않았다. PMQR 유전자 양성인 9균주 중 5균주(56%, 5/9)가 SHV-12 ESBL을 생산하였고 3균주는(33%, 3/9)는 derepressed mutant였으며 한 균주(11%, 1/9)는 pI 7.5 β -lactamase를 생산하였다(Table 2).

3. 퀴놀론에 대한 MIC 측정 및 내성비율(%)

퀴놀론에 대한 MIC 측정값 및 percent resistance는 Table 3에 정리하였다. MIC range는 ciprofloxacin, levofloxacin, ofloxacin, nalidixic acid, moxifloxacin에서 PMQR 유전자 양성인 균주가 각각 <0.5–1 μ g/dL, 1–4 μ g/dL, 1–8 μ g/dL, 32–128 μ g/dL, 2–8 μ g/dL로 나타났고 PMQR 유전자 음성인 균주에서는 <0.5 μ g/dL, <0.06–1 μ g/dL, <0.06–4 μ g/dL, <4–>1024 μ g/dL, <0.06–1 μ g/dL로 PMQR 유전자 양성인 균주에서 전반적으로 높게 분포하였다. Breakpoint에 따른 내성 균주의 비율은 ciprofloxacin, levofloxacin, ofloxacin, nalidixic acid, moxifloxacin에서 PMQR 양성인 균주가 각각 0%, 0%, 11%, 100%, 56%로 0%, 0%, 0%, 26%, 0%인 PMQR 음성 균주에 비해 현저히 높았다.

Table 2. Distribution of PMQR genes in Extended-spectrum cephalosporins-resistant *E. cloacae*

β -lactamase	Number of isolates	<i>qnrA</i>	<i>qnrB</i>			<i>qnrC</i>	<i>qnrS</i>	<i>aac(6')-Ib-cr</i>	<i>qepA</i>
			<i>qnrB2</i>	<i>qnrB4</i>	<i>qnrB5</i>				
PD*	9			1					
PD+SHV-12	1		1						
D [†]	11		1	1					
D+7.5	3				1				
D+>8.2	1								
D+TEM-52	5								
D+SHV-12	6		1		1				
D+SHA-2a	2								
SHV-12	3		2						
TEM-52	1								
CTX-M-14	1								
Total	43		5	2	2				

*PD, partial derepressed mutant; [†]D, derepressed mutant

Table 3. MICs of Quinolones for Extended-spectrum cephalosporins-resistant *E. cloacae* which contains (Plasmid-Mediated Quinolone Resistance) PMQR Genes

	No. of isolates	Ciprofloxacin		Levofloxacin		Ofloxacin		Nalidixic acid		Moxifloxacin	
		MIC range	%R	MIC range	%R	MIC range	%R	MIC range	%R	MIC range	%R
<i>qnr</i> (+) isolates											
<i>qnrB2</i>	5	<0.5-1	0 (0/5)	1-2	0 (0/5)	1-8	20 (1/5)	32-128	100 (5/5)	2-4	60 (3/5)
<i>qnrB4</i>	2	1	0 (0/2)	2-4	0 (0/2)	4	0 (0/2)	32-64	100 (2/2)	4-8	100 (2/2)
<i>qnrB5</i>	2	<0.5	0 (0/2)	1	0 (0/2)	1-2	0 (0/2)	32	100 (2/2)	2	0 (0/2)
Subtotal	9	<0.5-1	0 (0/9)	1-4	0 (0/9)	1-8	11 (1/9)	32-128	100 (9/9)	2-8	56 (5/9)
<i>qnr</i> (-) isolates	34	<0.5	0 (0/34)	<0.06-1	0 (0/34)	<0.06-4	0 (0/34)	<4->1024	26 (9/34)	<0.06-1	0 (0/34)
Total	43	<0.5-1	0 (0/43)	<0.06-4	0 (0/43)	<0.06-8	2 (1/43)	<4->1024	42 (18/43)	<0.06-8	12 (5/43)

*MIC, minimal inhibitory concentration (μ g/dL)

†%R, % resistance (resistant isolates / total isolates)

고 찰

장내세균에서 다제내성균주는 점차 증가하는 추세이다 (3, 10, 11). 특히 퀴놀론 내성에 대해서는 2003년 미국의 중환자실에서 검출된 장내세균의 10% 이상이 ciprofloxacin에 내성을 보였고(12) 2006년 홍콩에서는 *E. coli*에서 퀴놀론 내성이 40%까지 보고되었으며(13), 1999년 바르셀로나에서는 일반인의 장내 균집락 중 25%에서 퀴놀론 내성 *E. coli*가 검출되기도 하였다(14). 퀴놀론에 대한 내성은 과거 염색체의 돌연변이에 의해서 발생하는 것으로 알려졌으나 최근에 퀴놀론 내성을 전달하는 다양한 플라스미드 매개 유전자들이 발견되었다. 이들을 플라스미드 매개 퀴놀론 내성 (PMQR) 유전자라 하며, 현재 *qnr*, *aac*(6')-Ib-cr, *qepA* 등이 밝혀졌다. 이 중 *qnr* 유전자의 아형에는 *qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrS*와 최근 *qnrD*가 보고되었으며(15-19), 내성기전은 fluoroquinolone으로부터 DNA gyrase를 보호함으로써 작용하고 접합을 통해 내성 플라스미드를 전달하였을 때 fluoroquinolone의 MIC를 4-8배 증가시킨다(15). 또 다른 PMQR 유전자인 *aac*(6')-Ib-cr 유전자는 aminoglycoside acetyltransferase 유전자인 *aac*(6')-Ib의 변이 유전자로서 iprofloxacin의 piperazinyl substituent의 acetylation을 유발하여 ciprofloxacin MIC를 4배정도 증가시킨다(3). Norfloxacin도 유사한 영향을 받으나 piperazinyl nitrogen이 없는 levofloxacin, moxifloxacin은 영향을 받지 않는다(20). *qepA*는 fluoroquinolone이나 norfloxacin

을 세포질에서 세균벽 밖으로 내보내는 방류 펌프(efflux pump)의 상향조절(upregulation)로 fluoroquinolone MIC를 2배정도 증가시킨다(21).

PMQR 유전자의 발현빈도는 세계적으로 점차 증가하는 추세로(3) 최근에는 병원 내 퀴놀론 내성 및 PMQR 유전자를 가진 장내세균이 집단 발병하는 사례가 보고되고 있다(22-24). 국내에서도 PMQR 유전자의 발현 빈도는 증가하는 추세이다. 최근 9년간 국내병원의 혈액에서 동정된 *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *E. cloacae*에서 PMQR 유전자의 빈도 및 ciprofloxacin의 내성 발현 비율을 조사한 결과 PMQR 유전자의 빈도 및 ciprofloxacin 내성 발현비율 모두 유의하게 증가하였으며 본 연구 결과와 유사하게 PMQR 유전자의 아형은 대부분 *qnrB*였다(25). 또한 국내에서 *K. pneumoniae*와 *E. coli*를 대상으로 시행된 다른 연구결과도 *qnr* 양성 균주 중 *qnrB*가 각각 91%, 75%로 높은 비율을 차지했다(8). 장내세균 368균주를 대상으로 한 연구에서도 *qnrB*가 36.7%로 높은 비율을 차지하였으나 7주의 *qnr* 양성 *E. cloacae* 중에서는 *qnrA1*이 4균주, *qnrB2*와 *qnrB4*가 각각 1균주, 2균주였다(26). 이 중 *qnrA1* 양성인 균주는 CTX-M-9과 SHV-12를 생산하였고 *qnrB* 양성 균주는 DHA-1이나 DHA-1과 SHV-12를 생산하였다. 한편, 국내에서 186주의 ESBL 생성 *E. cloacae*를 대상으로 시행한 연구에서는 *qnrA1*의 비율이 36.1%로 가장 높은 것으로 확인되었다(27). 그러나 이 논문에서 *qnrA1* 양성인 균주의 62.5%가 CTX-M-9을 생산하였고 SHV 아형 생산과 *qnrB*의 연관성은 64.6%로 높았다(*qnrB4* 38.5%, *qnrB2*

26.1%). 이러한 자료를 종합하면 *qnr*의 아형은 균종보다는 균주가 생산하는 베타락탐분해효소, 즉 내성 플라스미드에 따라 결정되는 것으로 추측되지만 *qnr*의 분포가 균 종 차이를 보이는데에 관해서는 자료가 충분하지 않아서 좀 더 많은 수를 대상으로 한 연구가 필요할 것이다. 본 연구에서 *qnrA1* 균주가 없는 것은 43균주 중 SHV-12 생성 균주가 10주인데 반해 CTX-M 생성 균주는 1주 밖에 없는 것에 기인하는 것으로 설명할 수 있었다.

본 연구의 PMQR 유전자의 빈도는 21%로 높게 나타났으며, 그 아형은 모두 *qnrB*였으나 *qnrA*, *qnrC*, *qnrS*, *qepA*, *aac(6')-Ib-cr*은 검출되지 않았다. 본 연구의 대상 균주 중 1995, 1996, 1998년에 각각 1균주, 1999년에 2균주 및 2000년에 4균주가 *qnr* 유전자 양성이어서 *qnr* 유전자는 1995년에도 이미 존재하고 있었다는 것을 알 수 있다. 이를 연도별 *qnr* 양성균주/총 균주의 비율로 계산해 보면 1995년, 1996년, 1998년, 1999년 및 2000년에 각각 16% (1/6), 20% (1/5), 16% (1/6), 40% (2/5), 67% (4/6)이었다. 비록 연구에 포함된 균주의 수가 적으나 매년 혈액에서 분리된 전 균주를 수집한 것을 고려한다면 *qnr* 양성이 증가하고 있음을 제시한다.

ESCs 내성균주에서 퀴놀론 내성이 높은 이유는 여러 약제에 의한 내성균의 선택의 영향이외에도 같은 내성 플라스미드 내에 베타락탐분해효소 유전자와 PMQR 유전자가 같이 존재하기 때문이다(5). 한 연구에서는 *bla_{VEB-1}*를 가진 23균주 중 11주(48%)에서 *qnrA*가 확인되었으나 그렇지 않은 22균주에서는 *qnr*이 확인되지 않았으며(28), *bla_{DHA-1}*을 포함하는 *K. pneumoniae*의 내성 플라스미드 pTN60013내 *qnrB4*가 존재하였다(29). 하지만 본 연구에서는 PMQR이나 ESBL의 유전자 위치에 대하여는 분석을 시도하지 않았다.

본 연구에서 *qnrB* 양성 균주 중에서 가장 흔한 ESBL은 SHV-12임을 알 수 있었다. *qnrB*와 SHV-12와의 연관성은 이전 연구를 통해 알려져 있으며(18) 국내에서 시행된 한 연구에서 SHV type의 ESBL은 *qnrB2*나 *qnrB4*와 연관이 있는 것으로 나타났다(27). 또한 *qnrB*와 SHV-12에 의한 내성의 발생은 앞으로 늘어날 것으로 생각되어 주의가 필요하다(8).

일반적으로 PMQR 유전자는 퀴놀론의 MIC를 증가시키지만 다른 내성기전 없이 PMQR 보유만으로는 균은 여전히 퀴놀론 감수성이다. 그러나 PMQR이 있는 균주는 gyrase나 topoisomerase의 유전자 변이를 보다 용이하게 하여서 쉽게 퀴놀론 고도내성을 일으킬 수 있는 것으로 알려져 있다(11). 본 연구에서는 PMQR 유전자의 전이에 의한 퀴놀론

MIC 변화를 관찰하지 않았으나 야생균주만으로도 levofloxacin, ofloxacin, nalidixic acid와 moxifloxacin에서 MIC가 2배에서 4배 증가하였고 내성비율도 ofloxacin과 nalidixic acid 그리고 moxifloxacin에서 증가하는 것을 관찰할 수 있었다. 이는 아마도 균주들이 플루오로퀴놀론을 거의 사용하지 않는 소아에서 분리되었으므로 퀴놀론 내성을 유발하는 염색체성 유전자 변이가 비교적 적기 때문에 PMQR 유전자의 영향을 보다 뚜렷하게 보여주기 때문으로 생각되었다 이상의 결과를 통해 혈액에서 분리된 ESCs 내성 *E. cloacae*에서 PMQR 유전자는 21%로 모두 *qnrB* 유전형이었으며, PMQR이 발견된 균주에서 가장 흔한 β -lactamase는 SHV-12이었다(56%). *E. cloacae*의 감염 발생 빈도는 다른 장내세균에 비해 낮으나 cephalosporin을 포함한 다제항생제와 퀴놀론에도 내성이 증가하고 있고 PMQR 유전자의 빈도도 증가하고 있어 향후 *E. cloacae*에서의 PMQR 유전자의 아형 분류 및 빈도, ESBL이나 AmpC β -lactamase와의 연관성 및 내성발현에 관한 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

References

- 1) Graffunder EM, Preston KE, Evans AM, Venezia RA. Risk factors associated with extended-spectrum beta-lactamase-producing organisms at a tertiary care hospital. *J Antimicrob Chemother* 56:139-45, 2005
- 2) Paterson DL. Resistance in gram-negative bacteria: Enterobacteriaceae. *Am J Infect Control* 34 Suppl 1:S20-8, 2006
- 3) Robicsek A, Jacoby GA, Hooper DC. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Lancet Infect Dis* 6:629-40, 2006
- 4) Munshi MH, Sack DA, Haider K, Ahmed ZU, Rahaman MM, Morshed MG. Plasmid-mediated resistance to nalidixic acid in *Shigella dysenteriae* type 1. *Lancet* 2:419-21, 1987
- 5) Nordmann P, Poirel L. Emergence of plasmid-mediated resistance to quinolones in Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother* 56:463-9, 2005
- 6) Pai H, Hong JY, Byeon JH, Kim YK, Lee HJ. High prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing strains among blood isolates of *Enterobacter* spp. collected in a tertiary hospital during an 8-year period and their antimicrobial susceptibility patterns. *Antimicrob Agents Chemother* 48:3159-61, 2004
- 7) Seo MR, Park YS, Pai H. Characteristics of plasmid-mediated quinolone resistance genes in extended-spectrum cephalosporin-resistant isolates of *Kleb-*

- siella pneumonia* and *Escherichia coli* in Korea. *Chemotherapy* (in press)
- 8) Pai H, Seo MR, Choi TY. Association of QnrB determinants and production of extended-spectrum beta-lactamases or plasmid-mediated AmpC beta-lactamases in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 51:366–8, 2007
 - 9) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI; formerly National committee for Clinical Laboratory Standard). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically—6th ed.: Approved Standard M7–A6, Wayne, PA, USA, NCCLS, 2003
 - 10) Lautenbach E, Strom BL, Bilker WB, Patel JB, Edelstein PH, Fishman NO. Epidemiological investigation of fluoroquinolone resistance in infections due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Clin Infect Dis* 33:1288–94, 2001
 - 11) Hooper DC. Emerging mechanism of fluoroquinolone resistance. *Emerg Infect Dis* 7:337–41, 2001
 - 12) Neuhauser MM, Weinstein RA, Rydman R, Danziger LH, Karam G, Quinn JP. Antibiotic resistance among gram-negative bacilli in US intensive care units: implications for fluoroquinolone use. *JAMA* 289: 885–8, 2003
 - 13) Ling TK, Xiong J, Yu Y, Lee CC, Ye H, Hawkey PM. Multicenter antimicrobial susceptibility survey of gram-negative bacteria isolated from patients with community-acquired infections in the People's Republic of China. *Antimicrob Agents Chemother* 50:374–8, 2006
 - 14) Garau J, Xercavins M, Rodríguez-Carballeira M, Gómez-Vera JR, Coll I, Vidal D, Llovet T, Ruiz-Bremón A. Emergence and dissemination of quinolone-resistant *Escherichia coli* in the community. *Antimicrob Agents Chemother* 43:2736–41, 1999
 - 15) Martínez-Martínez L, Pascual A, Jacoby GA. Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet* 351:797–9, 1998
 - 16) Cavaco LM, Hasman H, Xia S, Aarestrup FM. qnrD, a novel gene conferring transferable quinolone resistance in *Salmonella enterica* serovar Kentucky and Bovismorbificans strains of human origin. *Antimicrob Agents Chemother* 53:603–8, 2009
 - 17) Hata M, Suzuki M, Matsumoto M, Takahashi M, Sato K, Ibe S, Sakae K. Cloning of a novel gene for quinolone resistance from a transferable plasmid in *Shigella flexneri* 2b. *Antimicrob Agents Chemother* 49:801–3, 2005
 - 18) Jacoby GA, Walsh KE, Mills DM, Walker VJ, Oh H, Robicsek A, Hooper DC. qnrB, another plasmid-mediated gene for quinolone resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 50:1178–82, 2006
 - 19) Wang M, Guo Q, Xu X, Wang X, Ye X, Wu S, Hooper DC, Wang M. New plasmid-mediated quinolone resistance gene, qnrC, found in a clinical isolate of *Proteus mirabilis*. *Antimicrob Agents Chemother* 53:1892–7, 2009
 - 20) Robicsek A, Strahilevitz J, Jacoby GA, Macielag M, Abbanat D, Park CH, Bush K, Hooper DC. Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase. *Nat Med* 12:83–8, 2006
 - 21) Yamane K, Wachino J, Suzuki S, Kimura K, Shibata N, Kato H, Shibayama K, Konda T, Arakawa Y. New plasmid-mediated fluoroquinolone efflux pump, QepA, found in an *Escherichia coli* clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemother* 51:3354–60, 2007
 - 22) Potron A, Poirel L, Bernabeu S, Monnet X, Richard C, Nordmann P. Nosocomial spread of ESBL-positive *Enterobacter cloacae* co-expressing plasmid-mediated quinolone resistance Qnr determinants in one hospital in France. *J Antimicrob Chemother* 64:543–4, 2009
 - 23) Poirel L, Nordmann P, De Champs C, Eloy C. Nosocomial spread of QnrA-mediated quinolone resistance in *Enterobacter sakazakii*. *Int J Antimicrob Agents* 29:223–4, 2007
 - 24) Naqvi SM, Jenkins C, McHugh TD, Balakrishnan I. Identification of the qnr family in *Enterobacteriaceae* in clinical practice. *J Antimicrob Chemother* 63: 830–2, 2009
 - 25) Kim HB, Park CH, Kim CJ, Kim EC, Jacoby GA, Hooper DC. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants over a 9-year period. *Antimicrob Agents Chemother* 53:639–45, 2009
 - 26) Tamang MD, Seol SY, Oh JY, Kang HY, Lee JC, Lee YC, Cho DT, Kim J. Plasmid-mediated quinolone resistance determinants qnrA, qnrB, and qnrS among clinical isolates of *Enterobacteriaceae* in a Korean hospital. *Antimicrob Agents Chemother* 52:4159–62, 2008
 - 27) Park YJ, Yu JK, Lee S, Oh EJ, Woo GJ. Prevalence and diversity of qnr alleles in AmpC-producing *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii* and *Serratia marcescens*: a multicentre study from Korea. *J Antimicrob Chemother* 60:868–71, 2007
 - 28) Poirel L, Van De Loo M, Mammeri H, Nordmann P. Association of plasmid-mediated quinolone resistance with extended-spectrum beta-lactamase VEB-1. *Antimicrob Agents Chemother* 49:3091–4, 2005
 - 29) Verdet C, Benzerara Y, Gautier V, Adam O, Ould-

- Hocine Z, Arlet G. Emergence of DHA-1-producing *Klebsiella* spp. in the Parisian region: genetic organization of the ampC and ampR genes originating from *Morganella morganii*. *Antimicrob Agents Chemother* 50:607-17, 2006
- 30) Jacoby GA, Chow N, Waites KB. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 47:559-62, 2003
- 31) Robicsek A, Strahilevitz J, Sahm DF, Jacoby GA, Hooper DC. *qnr* prevalence in ceftazidime-resistant *Enterobacteriaceae* isolates from the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 50:2872-4, 2006
- 32) Wang A, Yang Y, Lu Q, Wang Y, Chen Y, Deng L, Ding H, Deng Q, Zhang H, Wang C, Liu L, Xu X, Wang L, Shen X. Presence of *qnr* gene in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* resistance to ciprofloxacin isolated from pediatric patients in China. *BMC Infect Dis* 8:68, 2008
- 33) Park CH, Robicsek A, Jacoby GA, Sahm D, Hooper DC. Prevalence in the United States of *aac(6')-Ib-cr* encoding a ciprofloxacin-modifying enzyme. *Antimicrob Agents Chemother* 50:3953-5, 2006