

文章编号: 1004-0374(2009)04-0584-05

aac(6')-*Ib-cr*介导的喹诺酮类新耐药机制研究进展

孙攀¹, 殷瑜², 陈代杰^{3*}

(1 上海师范大学生命与环境科学学院, 上海 200234; 2 上海来益生物药物研究开发中心, 上海 201203;
3 上海医药工业研究院, 上海 200040)

摘要: AAC(6')-Ib 是重要的氨基糖苷乙酰基转移酶, 其变异基因 *aac(6')*-*Ib-cr* 可同时作用于氨基糖苷类和氟喹诺酮类两类结构不同的抗生素, 是引起细菌耐药性的一种重要作用机制。该文主要对 *aac(6')*-*Ib-cr* 介导的喹诺酮类新耐药机制相关研究进行综述。

关键词: 细菌耐药性; *aac(6')*-*Ib-cr*; 喹诺酮类; 氨基糖苷类

中图分类号: Q555; R978.1; R961 **文献标识码:** A

Research on the new resistance mechanism of quinolones mediated by *aac(6')*-*Ib-cr*

SUN Pan¹, YIN Yu², CHEN Dai-jie^{3*}

(1 Life and Environment Science College, Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China;
2 Health Creation Center for Biopharmaceutical R&D, Shanghai 201203, China;
3 Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 200040, China)

Abstract: AAC(6')-Ib are important aminoglycoside acetyltransferases. The variable gene *aac(6')*-*Ib-cr* acts on both quinolones and aminoglycosides, which belong to different classes of antibiotics based on their chemical structures, leading to the bacteria resistance. This paper briefly reviews the new resistant mechanism of quinolones mediated by *aac(6')*-*Ib-cr*.

Key words: bacteria resistance; *aac(6')*-*Ib-cr*; quinolones; aminoglycosides

随着抗生素的广泛使用, 越来越多的细菌对其产生耐药性, 作用机制主要有三种: (1)降低抗生素在细菌体内的积累; (2)改变或保护药物作用靶点; (3)酶对抗生素的修饰和灭活^[1]。其中前两种机制包括底物外排泵的过度表达、核糖体的甲基化, 使细菌可以对两类, 甚至更多类抗生素产生抗性^[2], 这种耐药机制往往被认为是非特异性耐药。而第三种机制通常只对应一类抗生素, 甚至是一类抗生素中的几种, 如 β -内酰胺酶、氯霉素乙酰基转移酶和氨基糖苷类修饰酶的作用, 这种耐药机制往往被认为是特异性耐药。这些酶似乎随着它们所作用的抗生素一起进化, 很难出现能够作用于不同结构类别抗生素的酶。最近却发现了对氨基糖苷类和喹诺酮类抗生素都具有修饰作用的新氨基糖苷类修饰酶

AAC(6')-Ib-cr(ciprofloxacin resistance)^[3], 该酶使细菌对喹诺酮类抗生素具有耐药性。此发现推翻了之前认为的AAC(6')-Ib-cr不能水解喹诺酮类抗生素的普遍观点。本文将就细菌对喹诺酮类抗生素的新耐药机制——耐药基因*aac(6')*-*Ib-cr*的研究进展进行综述。

1 细菌对喹诺酮类抗生素的耐药机制与*aac(6')*-*Ib-cr*的发现

1.1 染色体基因突变导致的耐药性 喹诺酮类抗生

收稿日期: 2009-05-11; 修回日期: 2009-06-04

基金项目: 国家科技基础条件平台建设项目
(2005DKA21203)

*通讯作者: E-mail: hccb001@163.com

素可以和DNA、DNA促旋酶/拓扑异构酶IV形成三元复合物,使这两种酶的构型发生变化,从而阻断这两种酶断裂与再连接DNA的功能,干扰DNA超螺旋结构的解旋,使DNA复制和mRNA的转录受阻,从而导致菌体死亡。过去普遍认为的耐药机制是由于染色体基因突变而导致细菌对喹诺酮类抗生素的耐药性,如DNA促旋酶的GyrA亚单位和DNA拓扑异构酶IV的ParC亚单位发生基因变异而降低与抗生素的结合力,基因*norA*的表达增强使其编码的膜转运蛋白作用增强而将喹诺酮类抗生素泵出菌体。这些基因位于细菌染色体上,不能在细菌之间水平传播。

1.2 *aac(6')-Ib-cr*介导的低水平的喹诺酮类新耐药机制的发现 近年来,开始出现一些新的喹诺酮类耐药机制。1998年,在肺炎克雷伯菌中首次发现质粒介导的喹诺酮类耐药基因*qnr*(现命名为*qnrA*)^[4],可以引起抗药性的水平传播。类似的基因还有*qnrS*^[5]、*qnrB*^[6]、*qnrD*^[7]及*qepA*^[8]。

Wang等^[9]对收集的*E. coli* J53进行*qnrA*研究时发现来自同一菌株的两个接合子(分别包含质粒pHSH10-2、pHSH10-5)的MIC_{环丙沙星}差异较大(分别为1 μg/mL和0.25 μg/mL),但是接合子的*qnrA*的基因拷贝数没有差异。后来,Robicsek等^[3]对pHSH10-2及pHSH10-5进行更进一步研究,发现了一种可能介导环丙沙星耐药性升高的新型氨基糖苷转移酶基因,命名为*aac(6')-Ib-cr*。他们采用随机转座子插入至Rec⁻*E. coli* DH10B的实验方法,分析了质粒pHSH10-2和pHSH10-5中引起不同水平的氟喹诺酮抗性的遗传因素。结果显示pHSH10-5产生两种抗环丙沙星的表现型:A组(MIC_{环丙沙星}=0.094 μg/mL)和B组(MIC_{环丙沙星}=0.002 μg/mL);pHSH10-2产生三种抗环丙沙星的表现型:C组(MIC_{环丙沙星}=0.38 μg/mL)、D组(MIC_{环丙沙星}=0.094 μg/mL)和E组(MIC_{环丙沙星}=0.006 μg/mL)。发生这种差异是由于A组转座插入的是非*qnrA*位置,C组转座插入的是非*qnrA*或*aac(6')-Ib-cr*位置,它们保持了pHSH10-2和pHSH10-5未敲除时的MIC。而B组和E组转座插入的是*qnrA*区域,引起*qnrA*失活,对喹诺酮的抗药性是菌体本身具有的。D组转座插入的则是*aac(6')-Ib-cr*内部,抗药性是*qnrA*引起。为了确定*aac(6')-Ib-cr*是否可以单独引起pHSH10-2和pHSH10-5对环丙沙星MIC的差异,又将基因*aac(6')-Ib-cr*克隆至pBC SK中,发现质粒克隆在*E. coli* DH10B中对环丙沙星的

MIC增加了3—4倍(由0.002 μg/mL增至0.006 μg/mL)。将其转入包含pHSH10-2但*aac(6')-Ib-cr*插入失活的细菌时,可使MIC_{环丙沙星}升至*E. coli* DH10B/pHSH10-2的水平(由0.002 μg/mL增至0.25 μg/mL),表明*aac(6')-Ib-cr*基因可介导低水平的喹诺酮类耐药。

2 AAC(6')-Ib-cr的结构特征及其与抗生素作用的关键位点

2.1 AAC(6')-Ib-cr的结构特征 AAC(6')是自然界中重要的氨基糖苷类修饰酶,AAC(6')-Ib是其中最常见的,赋予细菌抗药性^[10]。自从1986年第一次报道*aac(6')-Ib*以来,已经相继发现了28种*aac(6')-Ib*的变异基因。将*aac(6')-Ib-cr*与*aac(6')-Ib*及*aac(6')-Ib*的八个突变体基因序列进行比较,发现*aac(6')-Ib-cr*和普通的氨基糖苷乙酰转移酶的序列相似性达到98.8%,揭示其本质也是*aac(6')-Ib*的一个突变体,可以编码一个具有172个氨基酸的蛋白质AAC(6')-Ib-cr。*aac(6')-Ib-cr*编码区5'端的12个碱基完全不一样,两处氨基酸发生取代:第一处为102位(T→C或T→A),导致Trp→Arg;第二处取代发生在179位(G→T),出现Asp→Tyr。在这个乙酰基转移酶的三级结构中,突变氨基酸Asp179位于连接β6和β7回环上,它的侧链通过水分子和氨基葡萄糖的一个或两个位点作用。Trp102则位于连接β3和β7的回环上,它与所结合的氨基葡萄糖环II、Pro178的侧链都能形成堆积作用,与Asp179的侧链之间也有同样的作用^[11]。

2.2 AAC(6')-Ib-cr与抗生素作用的关键位点 根据AAC(6')-Ib的三维复合体的结构相关数据可以模拟出*aac(6')-Ib-cr*与环丙沙星的作用(图1)^[11]。AAC(6')-Ib-cr与氟喹诺酮类结合时,氟喹诺酮的哌嗪基团上的氨基氮作用于AcCoA乙酰基团*re*面的同时又能作为广义碱接近Asp115,同时氟喹诺酮结构的平面性使氟喹诺酮环几乎垂直于AcCoA乙酰基团的*re*面,所以在AAC(6')-Ib-cr和环丙沙星结合的模型中,哌嗪基团的氨基氮与Asp115、乙酰基团*re*面的距离为2.7 Å。β6/β7回环、α1'-α2回环和氟喹诺酮平面之间形成堆积作用,氟喹诺酮的环丙基部分伸入至溶液中,氟基、羰基、羧基部分则面对氨基糖苷接合口袋。在α1'-α2回环上,Trp49与哌嗪基团或喹诺酮环的氟苄基相互作用,类似于Trp49和氨基糖苷类的环I的作用。Gly50-Ala54是一个具有高度柔性的区域,Gly50、Gly51可以和氟喹诺酮的吡啶酮面之间形成有效的范德瓦尔斯交互作用。

AAC(6')-Ib-cr 的双重酶活性与 102 位、179 位的突变有着很大的关系,使其保持了本身所具有的对氨基糖苷类抗生素的活性的同时还可以和氟喹诺酮类抗生素接合。研究发现突变侧链的构象不会影响与氨基糖苷类的结合。这是因为突变后的 Tyr179 的侧链能够填充氨基糖苷附近的空隙, Arg102 占据与 Trp102 相同的空间并能与氨基糖苷结构中的环 II 之间形成堆积作用。而在连接 $\beta 6$ 和 $\beta 7$ 回环上, Asp179 的侧链不太可能对喹诺酮环提供正相互作用。如果在相同部位上发生 Tyr 突变,则 Tyr 就可以和喹诺酮环 p 轨道发生 $\pi - \pi$ 堆积而发挥作用,由此推测 Asp179 的突变导致了 AAC(6')-Ib-cr 对氟喹诺酮类亲和性的增加。

Maurice 等^[12]同样认为 Asp179 Tyr 突变和氟喹诺酮结合有关的。Robicsek 等^[3]的实验表明,缺乏突变的氨基糖苷转移酶 AAC(6')-Ib 并不能使细菌对环丙沙星的 MIC 发生改变;单点突变(179 位)则可使 MIC 升高 2 倍;而两个氨基酸同时突变后环丙沙星 MIC 较单点突变时升高 3 - 4 倍。

3 AAC(6')-Ib-cr 的底物特异性

新的氨基糖苷类修饰酶 AAC(6')-Ib-cr 保持了本身具有的乙酰基转移酶活性。作为一种钝化酶,它可以连接到氨基糖苷类抗生素的氨基上,使抗生素不能与核糖体小亚基的 16S rRNA 结合而无法发挥杀菌作用。同样, AAC(6')-Ib-cr 还可以作用于喹诺酮类抗生素哌嗪环上的氨基氮。所以 AAC(6')-Ib-cr 仅能乙酰化含有哌嗪环的喹诺酮类抗生素,如环丙沙星和诺氟沙星。对萘啶酸、左氧氟沙星、莫替沙星这些在合成时哌嗪环的氨基已经被氨基取代的

喹诺酮类抗生素无作用。

但是研究发现 AAC(6')-Ib-cr 对氨基糖苷类和喹诺酮类抗生素的作用是不同的^[11]。AcCoA 是最佳的酰基供体,其他辅酶 A 的衍生物活性很低,甚至没有活性。在比较 AAC(6')-Ib 和 AAC(6')-Ib-cr 作用于氨基糖苷类和氟喹诺酮类差异的实验中, AAC(6')-Ib-cr 的存在使 K_{cat} 值增大和 K_m 值减小, AcCoA 的 V/K 值增加了 15 倍, AcCoA 乙酰氨基糖苷类的 V/K 是乙酰化氟喹诺酮类的 100 倍。AAC(6')-Ib-cr 较 AAC(6')-Ib 对卡那霉素 B 的底物特异性降低了 90%, 作用于新霉素 B 的活性更低,甚至不能显示出来。在所有的氟喹诺酮实验中,环丙沙星和诺氟沙星显示出乙酰化活性,诺氟沙星具有活性但是很低。 K_m 可以反映酶与底物亲和力的大小,即 K_m 值越小,则酶与底物的亲和力越大;反之,则越小。从表中可以看出 AAC(6')-Ib-cr 对氨基糖苷类的亲和力远远大于氟喹诺酮类。这样 *aac(6')-Ib-cr* 介导了细菌对喹诺酮类的低水平抗药性,并且对氨基糖苷类的乙酰化作用强于喹诺酮类。

4 AAC(6')-Ib-cr 的酶促反应动力学

Vetting 等^[11]根据 [Acetyl-CoA] 和 [环丙沙星] 的双倒数作图结果是交叉于一点的,认为 AAC(6')-Ib-cr 这个双底物酶促反应动力学是序列机制的,即两个底物必须都和酶结合后才能发生反应。为了进一步确定序列反应动力学是通过有序反应还是随机反应进行的,根据终端抑制剂是决定底物结合顺序的有力工具,使用氟喹诺酮(培氟沙星)和氨基糖苷类(利维霉素 A)抑制剂进行终端抑制实验。实验结果显示,利维霉素 A 和卡那霉素、环丙沙星是线性竞争

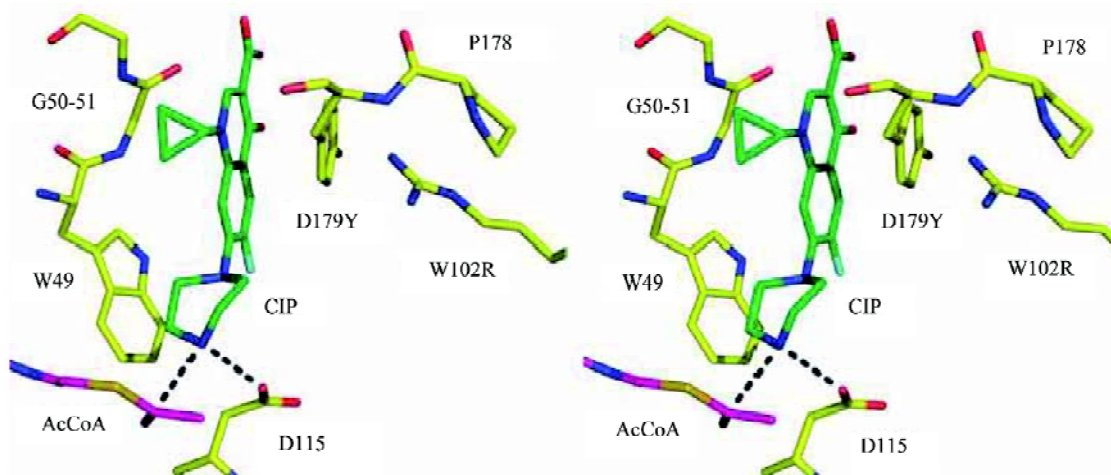


图1 *aac(6')-Ib-cr*与环丙沙星作用结构示意图

性抑制,和AcCoA是非竞争性抑制。培氟沙星具有和利维霉素A相同的抑制作用。这些数据符合先结合氨基糖苷类或氟喹诺酮类再结合AcCoA的顺序。Kim等^[13]报道的AAC(6′)-Ib′也是有序结合动力学机制。迄今从细菌中共获得了50种氨基糖苷乙酰转移酶,其中的大部分是随机序列动力学机制。

在确定AAC(6′)-Ib-cr是稳态机制还是快速平衡机制而进行的溶剂动力学同位素效应试验中,卡那霉素B和环丙沙星的溶剂动力学同位素效应的V/K值为1.28±0.05(pH 6.0)和1.17±0.04(pH 7.7),V值是1.38±0.031(pH 6.0)和78±0.05(pH 7.7)。V/K值很小,说明在卡那霉素/环丙沙星结合与第一个不可逆的步骤之间没有溶剂同位素敏感步骤发生。V值比较大可能反映在反应步骤中的溶剂同位素置换作用,这种作用可以通过产物的释放或构象变化发生。溶剂动力学同位素效应的强度、V(D₂O)和V/K(D₂O)不相等说明AAC(6′)-Ib-cr是稳态酶动力学机制。

5 *aac(6′)-Ib-cr*耐药菌中的其他耐药机制

*aac(6′)-Ib-cr*可增加染色体选择性突变的频率,介导低水平的喹诺酮类抗性^[14]。临床上经常发现*aac(6′)-Ib-cr*和质粒介导的耐药基因同时存在的菌株,促使喹诺酮类的MIC进一步上升。*qnrA*编码由218个氨基酸组成,属于五肽重复家族蛋白Qnr。*qnrS*基因与*qnrA*有59%的氨基酸同源性^[5],位于可转移的大小为47kb的质粒上。*qnrB*、*qnrD*同样编码五肽重复家族蛋白,与*qnrA*有不同程度的氨基酸同源性^[6,7]。这些蛋白能够与DNA旋转酶及拓扑异构酶IV结合,对喹诺酮类作用靶位具有保护作用,从而引起细菌对喹诺酮类的MIC值的增加。QepA蛋白属于主要异化家族的主动外排泵蛋白,具有14次跨膜的二级结构,G+C含量很高(72%)。它通过质子驱动力为能量,并形成质子与抗生素的反转运体,将抗生素由胞内泵至胞外,使达到作用靶位的药物浓度明显降低而导致耐药^[8]。Park等^[15]除得到*aac(6′)-Ib-cr*的传播与患者的年龄、性别及地位无关的结论之外,还发现*qnrA*、*qnrB*、*qnrS*与*aac(6′)-Ib-cr*共存。在313株肠杆菌科细菌中,*aac(6′)-Ib-cr*阳性(44株)和阴性(269株)菌株中分别有7株和66株检出*qnr*基因。分离自动物的101株菌中,34.7%是质粒介导的喹诺酮耐药。19株(18.8%)检出*aac(6′)-Ib-cr*,8株(7.9%)检出*qnr*,16株(15.8%)检出*qepA*。*aac(6′)-Ib-cr*和*qepA*同时存在于5株

菌中^[16]。因此,可以推测这些基因的出现是独立的,可能存在于同一个质粒或整合子上、分别作用,共同参与质粒介导的喹诺酮类抗生素的耐药机制。

*aac(6′)-Ib-cr*基因与编码超广谱β-内酰胺酶和其他β-内酰胺酶的基因也有着密切的联系,促使*aac(6′)-Ib-cr*耐药菌具更广泛的多重耐药性。β-内酰胺类抗生素竞争性地抑制了细菌细胞壁合成过程中的酶,如抑制转肽酶对D-丙氨酰-D-丙氨酸的转肽作用,破坏了细菌细胞壁合成的最后一步交叉连接,使之不能形成细胞壁的基本结构,引起细菌形态的改变,最终导致细菌被杀灭而发挥抗菌作用。β-内酰胺酶是引起细菌对β-内酰胺类抗生素耐药性的主要原因。β-内酰胺类抗生素在这类酶的作用下,β-内酰胺环由于水解为开环被破坏,从而失去干扰细胞壁合成的功能。葡萄牙发现同时含有*bla_{CTX-M-15}*、*bla_{OXA-1}*、*bla_{TEM-1}*和*aac(6′)-Ib-cr*的*E. coli*和*K. pneumoniae*。尽管没有检测到第一类整合子、*ISCR1*、*qnrA*和*qnrB*,但是产生CTX-M-15和OXA-1的菌株含有序列为*aac(6′)-Ib-cr-bla_{OXA-1}*的基因盒^[17]。产CTX-M-15、OXA-1和*aac(6′)-Ib-cr*的*E. coli*菌株A和*E. coli*菌株B已经在英国分离得到^[18]。这两种菌株分别有70 kb(含有FII和FIA复制子)和170 kb(非相容群FII)的质粒。2008年4月,Fihman等^[19]报道在产β-内酰胺酶肠杆菌中发现了*aac(6′)-Ib-cr*基因。

6 结语

抗生素耐药菌的耐药问题已成为全球关注的热点。自从2003年在中国上海第一次发现*aac(6′)-Ib-cr*,之后其他地区不断地有分离得到这个基因的报道,如四川^[20]、武汉^[21]和镇江^[22]。越来越多的国家和地区也相继出现*aac(6′)-Ib-cr*介导的耐药性,这种耐药性已经在全球广泛流行,特别是在欧洲(如法国^[23]、丹麦^[24])、亚洲(如中国)和北美洲(如美国、加拿大^[25])。*aac(6′)-Ib-cr*的出现补充了细菌对喹诺酮的耐药机制,为细菌耐药的分子机制的研究开辟了一条崭新的途径。*aac(6′)-Ib-cr*作为质粒可以在细菌间进行水平转移,如果环境中再存在有利于耐药性诱导及耐药基因转移的条件,耐药性就会迅速扩散,必将加重细菌的耐药性传播。*aac(6′)-Ib-cr*和其他抗药基因以整合子、转座子的形式存在还会介导细菌的多重抗药性。变异的氨基糖苷乙酰基转移酶AAC(6′)-Ib-cr的出现使我们认识到了微生物的

强适应能力。AAC(6')-Ib-cr能很好地利用抗生素选择压力,特变是在临床环境中。食用动物中的抗性决定因子可以通过食物链传递给人类^[26]。因此,我们应该开阔思路,考虑现存耐药基因的进化趋势,防止这类抗性决定因子向人类扩散。

[参 考 文 献]

- [1] Nikaido H. Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux. *Science*, 1994, 264(5157): 382-8
- [2] Peche're JC. Macrolide resistance mechanisms in gram-positive cocci. *Int Antimicrob Agents*, 2001, 18 Suppl 1: S25-8
- [3] Robicsek A, Strahilevitz J, Jacoby GA, et al. Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase. *Nat Med*, 2006, 12(1): 83-8
- [4] Martínez-Martínez L, Pascual A, Jacoby GA. Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet*, 1998, 351(9105): 797-9
- [5] Hata M, Suzuki M, Matsumoto M, et al. Cloning of a novel gene for quinolone resistance from a transferable plasmid in *Shigella flexneri* 2b. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005, 49(2): 801-3
- [6] Jacoby GA, Walsh KE, Mills DM, et al. *qnrB*, another plasmid-mediated gene for quinolone resistance. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, 50(4): 1178-82
- [7] Cavaco LM, Hasman H, Xia S, et al. A novel gene conferring transferable quinolone resistance in *Salmonella enterica* serovar kentucky and bovis morbificans strains of human origin. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53(2): 603-8
- [8] Yamane K, Wachino J, Suzuki S, et al. New plasmid-mediated fluoroquinolone efflux pump, QepA, found in an *Escherichia coli* clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007, 51(9): 3354-60
- [9] Wang MG, Tran JH, Jacoby GA, et al. Plasmid-mediated quinolone resistance in clinical isolates of *Escherichia coli* from Shanghai, China. *Antimicrob Agents Chemother*, 2003, 47(7): 2242-8
- [10] Vakulenko SB, Mobashery S. Versatility of aminoglycosides and prospects for their future. *Clin Microbiol Rev*, 2003, 16(3): 430-50
- [11] Vetting MW, Prak CH, Heged SS, et al. Mechanistic and structural analysis of aminoglycoside *N*-acetyltransferase AAC(6')-Ib and its bifunctional, fluoroquinolone-active AAC(6')-Ib-cr variant. *Biochemistry*, 2008, 47(37): 9825-35
- [12] Maurice F, Broutin I, Podglajen I, et al. Enzyme structural plasticity and the emergence of broad-spectrum antibiotic resistance. *EMBO Rep*, 2008, 9(4): 344-9
- [13] Kim C, Villegas-Estrada A, Heseck D, et al. Mechanistic characterization of the bifunctional aminoglycoside-modifying enzyme AAC(3)-Ib/AAC(6')-Ib' from *Pseudomonas aeruginosa*. *Biochemistry*, 2007, 46(17): 5270-82
- [14] Robicsek A, Jacoby GA, Hooper DC. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Lancet Infect Dis*, 2006, 6(10): 6629-40
- [15] Park CH, Robicsek A, Jacoby GA, et al. Prevalence in the United States of *aac(6')-Ib-cr* encoding aciprofloxacin-modifying enzyme. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, 50(11): 3953-5
- [16] Ma JY, Zeng ZL, Chen ZG, et al. High prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants *qnr*; *aac(6')-Ib-cr*; and *qepA* among ceftiofur-resistant *Enterobacteriaceae* isolates from companion and food-producing animals. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53(2): 519-24
- [17] Machado E, Coque TM, Cantón R, et al. Portuguese resistance study group. dissemination in Portugal of CTX-M-15-, OXA-1-, and TEM-1-producing *Enterobacteriaceae* strains containing the *aac(6')-Ib-cr* gene, which encodes an aminoglycoside- and fluoroquinolone-modifying enzyme. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, 50(9): 3220-1
- [18] Karisik E, Ellington MJ, Pike R, et al. Molecular characterization of plasmids encoding CTX-M-15 β -lactamases from *Escherichia coli* strains in the United Kingdom. *J Antimicrob Chemother*, 2006, 58(3): 665-8
- [19] Fihman V, Lartigue MF, Jacquier H, et al. Appearance of *aac(6')-Ib-cr* gene among extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in a French hospital. *Infect*, 2008, 56(6): 454-7
- [20] Wu CM, Wang Y, Cao XY, et al. Emergence of plasmid-mediated quinolone resistance genes in *Enterobacteriaceae* isolated from chickens in China. *J Antimicrob Chemother*, 2009, 63(2): 408-11
- [21] Cui SH, Li JY, Sun ZY, et al. Characterization of *Salmonella enterica* isolates from infants and toddlers in Wuhan, China. *J Antimicrob Chemother*, 2009, 63(1): 87-94
- [22] Shen P, Jiang Y, Zhou ZH, et al. Complete nucleotide sequence of pKP96, a 67 850 bp multiresistance plasmid encoding *qnrA1*, *aac(6')-Ib-cr* and bla_{CTX-M-24} from *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother*, 2008, 62(6): 1252-6
- [23] Fihman V, Lartigue MF, Jacquier H, et al. Appearance of *aac(6')-Ib-cr* gene among extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in a French hospital. *Infect*, 2008, 56(6): 454-9
- [24] Cavaco LM, Hendriksen RS, Aarestrup FM. Plasmid-mediated quinolone resistance determinant *qnrSI* detected in *Salmonella enterica* serovar Corvallis strains isolated in Denmark and Thailand. *J Antimicrob Chemother*, 2007, 60(3): 704-6
- [25] Pitout JD, Wei Y, Church DL, et al. Surveillance for plasmid-mediated quinolone resistance determinants in *Enterobacteriaceae* within the Calgary Health Region, Canada: the emergence of *aac(6')-Ib-cr*. *J Antimicrob Chemother*, 2008, 61(5): 999-1002
- [26] Liu JH, Deng YT, Zeng ZL, et al. Coprevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants QepA, Qnr, and AAC(6')-Ib-cr among 16S rRNA methylase RmtB-producing *Escherichia coli* isolates from pigs. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008, 52(8): 2992-3