

## 인위적으로 유도한 퀴놀론제제 내성 *Mycoplasma hominis*의 *gyrA*, *parC*, *parE* 유전자의 돌연변이 분석

박인달

고신대학교 의과대학 미생물학교실

## Analysis of *gyrA*, *parC*, and *parE* Mutations in Quinolone-Resistant Mutants of *Mycoplasma hominis* obtained In Vitro.

Indal Park

Department of Microbiology, Kosin University College of Medicine, Busan 602-703, Korea

### Abstract

**Background/Aims** : Fluoroquinolones are broad-spectrum antibacterial agents that inhibit DNA gyrase and topoisomerase IV activities. Both enzymes are encoded by the *gyrA* and *gyrB* genes for DNA gyrase and *parC* and *parE* genes for topoisomerase IV. Mutations in the quinolone resistance-determining regions (QRDRs) of GyrA and ParC mainly and GyrB and ParE less frequently have been described as the major mechanism for quinolone resistance. The aim of the study described here is to investigate the relationship between mutations in the *gyrA*, *parC*, and *parE* Gene and ciprofloxacin resistance in *M.hominis*.

**Methods** : Ciprofloxacin-resistant mutants of *M.hominis* (*Mycoplasma hominis*) were generated by stepwise selection at increasing drug concentrations. Sequence analysis of PCR products from the strains were used to examine the quinolone resistance-determining regions of the *GyrA*, *ParC*, and *ParE* proteins.

**Results** : Sixteen strains of *M.hominis* were isolated and were examined for susceptibility to ciprofloxacin, levofloxacin and moxifloxacin. The MIC range for *M.hominis* were as follows: ciprofloxacin, 0.5-8  $\mu\text{g/ml}$ ; levofloxacin, 0.13-2  $\mu\text{g/ml}$ ; moxifloxacin,  $\leq 0.06$ -0.13  $\mu\text{g/ml}$ . *M.hominis* was highly susceptible to moxifloxacin. Ciprofloxacin - resistant mutants were isolated by serial passing of *M.hominis* M30 in broth culture. Two mutants, C10-2 and C21, displaying high-level ciprofloxacin resistance (MIC > 128  $\mu\text{g/ml}$ ) were found to have a change in GyrA at Ser83 to Leu and in ParC at Ser80 to Ile or Glu84 to Lys, but no changes in ParE.

**Conclusion** : Two mutants displaying high-level ciprofloxacin resistance (MIC > 128  $\mu\text{g/ml}$ ) were isolated and the *gyrA*, *parC*, and *parE* genes were sequenced. They harbored amino acid substitution of Ser83 to Leu in the GyrA, and of Ser80 to Ile or Glu84 to Lys in the ParC. These findings indicate that resistance to ciprofloxacin may be due to amino acid substitution in the GyrA and ParC.

**Key words** : *Mycoplasma hominis*, ciprofloxacin, GyrA, ParC, mutation

### 서 론

*Mycoplasma hominis* (*M.hominis*)는 세포벽이 없는 균

교신저자 : 박 인 달  
TEL : 051-990-6423 FAX: 051-990-3081  
E-mail: microdal@ns.kosinmed.or.kr

·본 연구는 고신대학교 의과대학 연구비 일부 지원에 의해 이루어짐

으로써 에너지원으로 glucose를 사용하지 않고 arginine을 사용하는 균이고, 그람 양성균의 원형으로 알려져 있다<sup>1)</sup>. 사람의 생식기에 서식하며 세균성질염 환자에서 높은 비율로 나타나고, 자궁내막염, 난관염 등과 연관이 있으며, 신우신염, 수술 후 상처감염 등과 같이 생식기의 감염에도 연관성이 있는 균이다.<sup>2,3)</sup>

Fluoroquinolones는 그람 양성균이나 chlamydia,

mycoplasma 등과 같은 균에 사용되는 약제로써 DNA gyrase를 저해하여 DNA 복제가 되지 못하도록 한다. DNA gyrase는 A와 B 2개의 소단위로 이뤄져 있고, 각각 *gyrA*, *gyrB* 유전자에 의해 만들어지며<sup>4)</sup>, 다른 형태의 topoisomerase인 topoisomerase IV 역시 A, B 두개의 소단위로 되어 있는데 *parC*와 *parE* 유전자에 의해 만들어진 다. 이 유전자에 돌연변이가 생기거나, 약제를 축적시키지 않고 빨리 배출시킴으로써 quinolone에 대한 내성이 생기는 것으로 알려져 있으며<sup>5-9)</sup>, 특히 quinolone의 내성에 관여하는 유전자 부위를 quinolone resistance-determining region (QRDR)이라고 한다<sup>7)</sup>.

마이코플라스마 감염에는 tetracyclines, macrolides, fluoroquinolones 등을 주로 사용하는데 tetracycline 내성 마이코플라스마들이 많이 생겼고, *M.hominis*는 macrolides인 erythromycin에 대해서 자연내성을 갖고 있기 때문에 fluoroquinolones가 마이코플라스마에 의한 감염에 유용한 약제로 사용된다. 그러나 최근에 quinolones에 대한 내성균이 출현하고 있는 실정이기 때문에 본 실험에서는 국내에서 분리된 *M.hominis*에 대한 quinolones의 감수성 검사를 하였고, 감수성 균 중에 한 균을 선택하여 인위적으로 돌연변이를 생성 시킨 후 유전자 상에 어떠한 변화가 생기는지 관찰하여 quinolones 내성과 유전자의 돌연변이와의 관계를 알아보고자 하였다.

## 재료와 방법

### 1. 균 분리

2002년 6월에서 8월까지 고신대학교 복음병원에 내원한 환자의 소변을 채취하여 arginine이 함유된 Chanock's 액체배지에 접종하여 증식이 일어난 균은 계대배양하고, 배양된 균은 다시 각각의 평판배지에 접종하여 GasPak jar에서 2일 배양한 후 집락을 확인하였다. 집락이 확인된 균은 액체배양하여 -70℃에 보관한 후 실험에 사용하였으며, 일본 NIH의 Sasaki 박사에게서 분양받은 *M.hominis* PG21을 표준균주로 사용하였다.

### 2. 항생제

실험에 사용된 항생제는 ciprofloxacin (일동제약주식회사, 한국), levofloxacin (제일제약주식회사, 한국),

moxifloxacin (바이엘코리아, 한국)이다.

### 3. 최저발육저지농도 (minimal inhibitory concentration, MIC)의 측정

각 항생제에 대한 최저발육저지농도를 측정하기 위해 액체계단희석법을 사용하였으며, 각 항생제들의 최고농도는 64μg/ml, 최저농도는 0.06μg/ml 되도록 2배 계단희석법으로 희석하였다. 균 배양액은 각각 10<sup>4</sup>-10<sup>5</sup> color changing units (CCU)/ml가 되게 접종하였으며, 24시간마다 2일 동안 관찰하여 색깔의 변화가 일어나지 않는 가장 낮은 농도를 최저발육저지농도로 하였다.

### 4. 인공돌연변이 유도

인공돌연변이를 유도하기 위하여 환자에게서 분리된 균주 중 항생제에 대한 내성이 없고, QRDR에 돌연변이가 관찰되지 않은 균주를 택하여 ciprofloxacin의 농도를 높여가면서 ciprofloxacin에 대한 돌연변이를 유도하였다. 고농도에 증식하는 균을 선택하여 PCR 한 후 염기서열을 분석하였다.

### 5. Polymerase chain reaction (PCR)

-70℃에 보관되어 있는 실험균주를 녹여서 계대배양하면서 최종적으로 각 3ml 배양하였다. 14,000 rpm에서 20분간 원심한 후 균을 인산완충액 (pH7.2)으로 2번 세척한 후 lysis buffer(50mM KCl, 10mM Tris-Cl, pH8.0, 0.1% Triton X-100, 200μg Proteinase K/ml) 100μl를 넣고, 50℃에서 2시간 동안 반응시키고, 95℃에서 15분 동안 처리하여 PCR 반응에 사용하였다. 사용한 primers는 Table 1과 같다.

Table 1. PCR primers with PCR product sizes

| Name    | Primer sequence (5' → 3' ) | Product size (bp) |
|---------|----------------------------|-------------------|
| MgyrA-F | TATGGTATGAGTGAACCTGG       | 349               |
| MgyrA-R | AATTAGGGAACGTGATGGC        |                   |
| MparC-F | TATTCAATGTGAAATTAC         | 310               |
| MparC-R | CCAAACTTTGAGGACTCTG        |                   |
| MparE-F | CTTTCAGGAAAATTAACCTCT      | 297               |
| MparE-R | ATGACAGATGCTGACACTGAT      |                   |

PCR 반응은 추출한 염색체 DNA에 Taq polymerase (TaKaRa, Japan)와 10X PCR buffer, 200  $\mu$ M deoxynucleoside triphosphates, 1.5mM MgCl<sub>2</sub>를 첨가한 후 MiniCycler (MJ Research, USA)에서 94°C, 10분간 denaturation 시켰다. 그리고 94°C에서 45초, 55°C에서 45초, 72°C에서 45초 동안 35회 반응시켰고, 마지막 주기에 72°C로 10분간 더 반응시킨 후 그 산물을 1.5% 아가로즈 겔에서 전기영동하여 ethidium bromide 용액에서 염색하여 관찰하였다.

결과가 확인된 산물은 자동염기분석기인 ABI PRISM 3730XL Analyzer (Applied Biosystems, USA)로 염기서열을 분석하였다.

## 결 과

### 1. 항생제 감수성 검사

192명의 환자로부터 *M.hominis*는 16균주가 분리되었고, fluoroquinolone에 대한 감수성 검사 결과는 Table 2와 같았고, 각 항생제의 MIC 범위는 ciprofloxacin은 0.5-8  $\mu$ g/ml, levofloxacin은 0.13-2  $\mu$ g/ml, moxifloxacin은  $\leq$  0.06-0.13  $\mu$ g/ml이었다.

Table 2. Susceptibilities of *M.hominis* to fluoroquinolones

| Strains          | MIC ( $\mu$ g/ml) |              |              |
|------------------|-------------------|--------------|--------------|
|                  | Ciprofloxacin     | Levofloxacin | Moxifloxacin |
| <i>M.hominis</i> | 0.5               | 1            | $\leq$ 0.06  |
| M3               | 8                 | 0.5          | 0.13         |
| M9               | 0.5               | 0.5          | $\leq$ 0.06  |
| M20              | 8                 | 2            | 0.13         |
| M30              | 0.5               | 0.25         | $\leq$ 0.06  |
| M35              | 0.5               | 0.13         | $\leq$ 0.06  |
| M45              | 1                 | 1            | $\leq$ 0.06  |
| M49              | 1                 | 0.5          | $\leq$ 0.06  |
| M53              | 1                 | 1            | $\leq$ 0.06  |
| M62              | 2                 | 2            | 0.13         |
| M71              | 8                 | 0.5          | $\leq$ 0.06  |
| M76              | 1                 | 1            | $\leq$ 0.06  |
| M80              | 1                 | 0.5          | $\leq$ 0.06  |
| M82              | 0.5               | 0.25         | $\leq$ 0.06  |
| M85              | 0.5               | 0.5          | $\leq$ 0.06  |
| M96              | 0.5               | 1            | $\leq$ 0.06  |

### 2. PCR과 염기서열분석

Quinolones의 내성과 관계있는 *gyrA*, *parC*, *parE* 유전자 부위를 PCR하여 그 산물의 염기를 분석하였더니 분리된 16 균주 중 10균주 (M20, M35, M45, M49, M53, M62, M76, M80, M85, M96)의 *parC* 유전자에서 133번 위치 (*Escherichia coli*에 상응하는 아미노산 위치)의 아미노산이 lysin에서 arginine으로 돌연변이가 되어 있는 것이 관찰되었고, 나머지 유전자에서는 침묵돌연변이만 일부 관찰되었다.

### 3. 돌연변이의 유도와 염기서열분석

QRDR 부위에서 돌연변이가 관찰되지 않았고, fluoroquinolones에 대한 감수성이 높은 균주인 M30을 선택하여 ciprofloxacin의 농도를 높여가며 돌연변이를 유도하였고, 그 결과  $\geq 128$   $\mu$ g/ml에서도 증식하는 4개의 돌연변이 균주를 유도할 수 있었다. 그리고 이 균주들의 levofloxacin, moxifloxacin에 대한 MIC 시험을 하였더니 levofloxacin, moxifloxacin 각각에 대해 C10-1은 16  $\mu$ g/ml, 8  $\mu$ g/ml의 MIC 농도를 보였고, C10-2는 16  $\mu$ g/ml, 16  $\mu$ g/ml, C10-3는 8  $\mu$ g/ml, 8  $\mu$ g/ml, C21은 4  $\mu$ g/ml, 8  $\mu$ g/ml의 MIC 농도를 나타내었다 (Table 3). 그 중 C10-2와 C21을 선택하여 증식시킨 후 DNA를 추출하여 PCR하여 (Fig. 1) 염기서열을 분석하였더니 GyrA 단백질에서 2 균주 모두 83번째 아미노산이 serine에서 leucine으로 변화되었고, ParC 단백질에서는 C10-2는 84번째 아미노산이 glutamate에서 lysine으로, C21은 80번째 아미노산이 serine에서 isoleucine으로 변화된 것이 관찰되었으며, ParE에서는 돌연변이가 관찰되지 않았다 (Table 4)

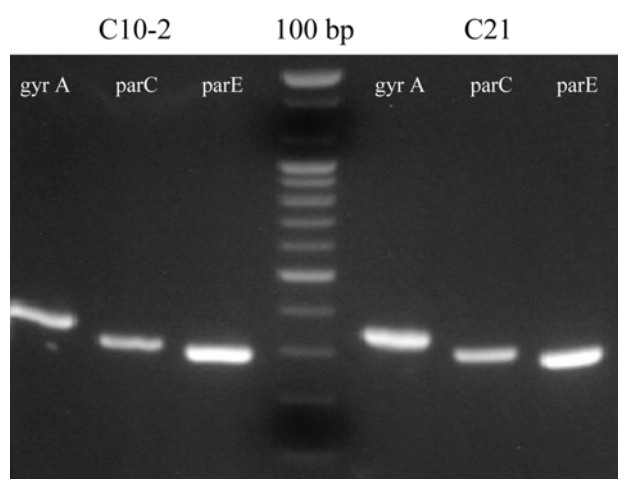
Table 3. Susceptibility to fluoroquinolones of M30 and the mutants selected with ciprofloxacin

| M30                            | Mutant | MIC ( $\mu$ g/ml) |      |             |
|--------------------------------|--------|-------------------|------|-------------|
|                                |        | CFX               | LFX  | MFx         |
| Before passage                 |        | 0.5               | 0.25 | $\leq$ 0.06 |
| After passage in Ciprofloxacin | C10-1  | $\geq 128$        | 16   | 8           |
|                                | C10-2  | $\geq 128$        | 16   | 16          |
|                                | C10-3  | $\geq 128$        | 8    | 8           |
|                                | C21    | $\geq 128$        | 4    | 8           |

CFX: ciprofloxacin, LFX: levofloxacin, MFx: moxifloxacin

Table 4. Mutations in genes *gyrA*, *parC* and *parE*

| M.hominis strain | <i>gyrA</i> mutation |                     | <i>parC</i> mutation |                     | <i>parE</i> mutation |                     |
|------------------|----------------------|---------------------|----------------------|---------------------|----------------------|---------------------|
|                  | Nucleotide exchange  | Amino Acid Exchange | Nucleotide exchange  | Amino Acid Exchange | Nucleotide exchange  | Amino Acid Exchange |
| C10-2            | TCA→TTA              | Ser83Leu            | GAA→AAA              | Glu84Lys            | None                 | None                |
| C21              | TCA→TTA              | Ser83Leu            | AGT→ATT              | Ser80Ile            | None                 | None                |

Fig. 1 PCR of the *gyrA*, *parC*, and *parE* gene in *M.hominis* strains C10-2, C21. Lane: 100bp, 100bp molecular marker

고 찰

*M. hominis*는 세포벽이 없는 균으로써 주로 비노생식 기에서 질병을 일으키며, 치료에는 주로 tetracycline을 사용하였지만 tetracycline에 대한 내성균이 증가하면서 quinolones나 macrolides들을 사용하고 있다<sup>10, 11)</sup>.

본 실험에 사용된 fluoroquinolones들은 ciprofloxacin, levofloxacin, moxifloxacin이었으며, MIC 범위는 ciprofloxacin 0.5-8  $\mu\text{g/ml}$ , levofloxacin 0.13-2  $\mu\text{g/ml}$ , moxifloxacin  $\leq 0.06$ -0.13  $\mu\text{g/ml}$ 이었고, moxifloxacin이 가장 효과적이었다. 이러한 결과는 *M.hominis*에 대한 MIC 범위를 Kenny 등<sup>12)</sup>이 ciprofloxacin 0.25-1  $\mu\text{g/ml}$ , levofloxacin 0.25-2  $\mu\text{g/ml}$ , moxifloxacin 0.015-0.06  $\mu\text{g/ml}$ 으로, Waites 등<sup>13)</sup>이 ciprofloxacin 0.016-2  $\mu\text{g/ml}$ , levofloxacin 0.016-2  $\mu\text{g/ml}$ , moxifloxacin  $\leq 0.008$ -0.063  $\mu\text{g/ml}$ , Pereyre 등<sup>14)</sup>이 ciprofloxacin 0.5-2  $\mu\text{g/ml}$ ,

levofloxacin 0.25-2  $\mu\text{g/ml}$ , moxifloxacin 0.06-0.12  $\mu\text{g/ml}$  등으로 보고한 결과와 큰 차이가 없었으며, 이들의 결과 역시 moxifloxacin이 가장 효과적임을 보여주고 있었다.

Wang 등<sup>15)</sup>이 *E.coli*에서 qnr plasmid, Kehrenberg 등<sup>16)</sup>이 *Salmonella enterica*에서 qnrS plasmid에 의한 quinolones 내성기전을 보고 한 경우가 있으나, 마이코플라스마에서는 아직 plasmid가 발견되지 않았으며, quinolones에 대한 내성은 주로 DNA 복제와 재조합, 전사 등에 관여하는 효소인 topoisomerases II (GyrA와 GyrB)와 topoisomerases IV (ParC와 ParE)를 만드는 QRDR 부위에서 일어나는 돌연변이에 의해 아미노산이 변화되므로 발생한다고 알려져 있다<sup>17)</sup>. Bébear 등<sup>18, 19)</sup>은 quinolones 내성 *M.hominis*에서 GyrA 단백질에서 87번째 (*E.coli*의 아미노산 순서) 아미노산이 Glu에서 Lys으로, 83번 위치의 Ser이 Leu으로, ParC 단백질에서는 81번 위치의 Ser이 Pro으로, 84번 위치의 Glu가 Gly으로, ParE 단백질에서는 420번 위치의 Asp가 Asn으로 변화되어 있었다고 보고 하였다. Reinhardt 등<sup>20)</sup>은 동물 마이코플라스마인 *Mycoplasma gallisepticum*에서 인위적인 돌연변이를 일으켜 GyrA 단백질의 Gly81 (*E.coli*의 아미노산 순서), Ser83, Ala84, Glu87번의 아미노산에서, GyrB 단백질의 Asp426, Asn464, Glu465, ParC의 Ala64, Ser80, Ser81, Glu84, ParE의 Asp420, Ser463, Cys467 아미노산의 변화가 관찰되었다고 보고 하였고, Dessus-Babus 등<sup>21)</sup>은 인위적으로 만들어진 *Chlamydia trachomatis*의 GyrA 단백질의 83번째 (*E.coli*의 아미노산 순서) Ser이 Ile으로 바뀐 것이 관찰되었고, GyrB, ParC, ParE 단백질에서는 변화가 관찰되지 않았다고 보고 하였다. 이러한 보고들과 본 실험에서 관찰된 GyrA 단백질의 Ser83Leu 돌연변이, ParC 단백질의 Glu84Lys, Ser80Ile 돌연변이와는 큰 차이가 없었다. Pan 등<sup>6)</sup>은 *Streptococcus pneumoniae*를 시프로플로사신의 농도를 높여가며 돌연변이주를 만든 결과 초기의 낮은 농도에서는 ParC에서 Ser-79, Ala-84의 돌연변이가 관찰된 반면 농도를 계속 높여 고농도 돌연변이주에서는 ParC 변화외에 추가로 GyrA Ser-83, Asp-87 또는 GyrB Asp-435가 관찰되었고, ParE에서는 변이가 없었다고 하면서 *S. pneumoniae*에서는 ciprofloxacin이 topoisomerase IV에 우선적으로 작용하고, 다음으로 gyrase에 작용하는 것으로 보고하였다. 그러나 Heisig<sup>22)</sup>는 *E.coli*에서

ciprofloxacin 4 $\mu$ g/ml이하인 경우 주로 *gyrA* 유전자의 돌연변이로 인해 83번째 Ser이 다른 아미노산으로 변화하였고, ciprofloxacin 4 $\mu$ g/ml이상인 경우는 *gyrA* 유전자 이외에 *parC* 유전자에서의 돌연변이가 추가되어 있다고 보고하였다. 이러한 항생제의 농도에 따른 아미노산의 변화도 더 연구되어야 할 부분으로 생각된다.

## 결론

사람의 생식기에 서식하며 세균성 질염 등의 질병을 일으키는 *M.hominis*의 치료제로 많이 사용되는 ciprofloxacin에 감수성인 균을 이용하여 인위적인 내성을 갖게 한 결과 *gyrA*, *gyrC* 유전자에 돌연변이가 생겼고, 그 산물인 GyrA, GyrC 효소의 아미노산에 변화가 생겼음을 알 수 있었다. 따라서 본 연구는 *M.hominis*의 ciprofloxacin 내성과 유전자의 돌연변이와의 관계를 밝혔으며, 항생제의 농도를 높여가며 인위적으로 돌연변이를 유도했을 때 고농도 항생제 내성균이 출현하는 것을 밝힘으로써 균을 제거할 수 있는 농도 이하의 항생제를 사용하거나 장기간 같은 농도를 사용할 경우 내성균이 생길 수 있으므로 항생제의 사용에 주의를 해야 할 것으로 생각된다.

## References

1. Pollack JD : Carbohydrate metabolism and energy conservation, In Maniloff J, McElhaney RN, Finch LR, Baseman JB (ed), *Mycoplasmas: Molecular biology and pathogenesis*. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1992, 181-200
2. Taylor-Robinson D, Munday PE : *Mycoplasmal infection of the female genital tract and its complications*, Edinburgh, United Kingdom, Churchill Livingstone, 1988, 228-247
3. Sielaff TD, Everett JE, Shumway SJ, Wahoff DC, Bolman III RM, Dunn DL : *Mycoplasma hominis* infections occurring in cardiovascular surgical patients. *Ann Thorac Surg* 61:93-98, 1996
4. Reece R, Maxwell A : DNA gyrase: structure and function. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 26:335-375, 1991
5. Cullen ME, Wyke AW, Kuroda R, Fisher LM : Cloning and characterization of a DNA gyrase A gene from *Escherichia coli* that confers clinical resistance to 4-quinolones. *Antimicrob Agents Chemother* 33:886-894, 1989
6. Pan XS, Ambler J, Mehttar S, Fisher LM : Involvement of topoisomerase IV and DNA gyrase as ciprofloxacin targets in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 40:2321-2326, 1996
7. Yoshida H, Bogaki M, Nakamura M, and Nakamura S : Quinolone resistance-determining region in the DNA gyrase *gyrA* gene of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 34:1271-1272, 1990
8. Yoshida H, Bogaki M, Nakamura M, Yamanaka LM, Nakamura S : Quinolone resistance-determining region in the DNA gyrase *gyrB* gene of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 35:1647-1650, 1991
9. Raherison S, Gonzalez P, Renaudin H, Charron A, Bébéar C, Bébéar CM : Evidence of active efflux in resistance to ciprofloxacin and to ethidium bromide by *Mycoplasma hominis*. *Antimicrob Agents Chemother* 46:672-679, 2002
10. Blanchard A, Bébéar CM. *Mycoplasmas of Humans*. In S. Razin and R. Herrmann (ed.). *Molecular Biology and Pathogenicity of Mycoplasmas*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, London, United Kingdom, 2002, 45-71
11. Phillips I, Dimian C, Barlow D, Moi H, Stolz E, Weiner W, Perea E : A comparative study of two different regimens of sparfloxacin versus doxycycline in the treatment of non-gonococcal urethritis in men. *J Antimicrob Chemother* 37: Suppl. A:123-124, 1996
12. Kenny GE, Cartwright FD : Susceptibilities of *Mycoplasma hominis*, *M. pneumoniae*, and *Ureaplasma urealyticum* to GAR-936, dalfopristin, dirithromycin, evernimicin, gatifloxacin, linezolid, moxifloxacin, quinupristin-dalfopristin, and telithromycin compared to their susceptibilities to reference macrolides,

- tetracyclines, and quinolones. Antimicrob Agents Chemother 45:2604-2608, 2001
13. Waites KB, Crabb DM, Bing X, Duffy LB : In vitro susceptibilities to and bactericidal activities of garenoxacin (BMS-284756) and other antimicrobial agents against human Mycoplasmas and Ureaplasmas. Antimicrob Agents Chemother 47: 161-165, 2003
14. Pereyre S, Renaudin H, Bébéar C, Bébéar CM : In vitro activities of the newer quinolones garenoxacin, gatifloxacin, and gemifloxacin against human mycoplasmas. Antimicrob Agents Chemother 48:3165-3168, 2004
15. Wang M, Tran JH, Jacoby GA, Zhang Y, Wang F, Hooper DC : Plasmid-mediated quinolone resistance in clinical isolates of *Escherichia coli* from Shanghai, China. Antimicrob Agents Chemother 47:2242-2248, 2003
16. Kehrenberg C, Friederichs S, de Jong A, Michael GB, Schwarz S : Identification of the plasmid-borne quinolone resistance gene *qnrS* in *Salmonella enterica* serovar Infantis. J Antimicrob Chemother 58:18-22, 2006
17. Hooper DC : Mechanisms of fluoroquinolone resistance. Drug Resist Update 2:38-55, 1999
18. Bébéar CM, Renaudin J, Charron A, Renaudin H, Barbeyrac B, Schaefferbeke T, Bébéar C : Mutations in the *gyrA*, *parC*, and *parE* genes associated with fluoroquinolone resistance in clinical isolates of *Mycoplasma hominis*. Antimicrob Agents Chemother 43:954-956, 1999
19. Bébéar CM, Bove JM, Bébéar C, Renaudin J : Characterization of *Mycoplasma hominis* mutations involved in resistance to fluoroquinolones. Antimicrob Agents Chemother 41:269-273, 1997
20. Reinhardt AK, Bébéar CM, Kobisch M, Kempf I, Gautier-Bouchardon AV : Characterization of mutations in DNA gyrase and topoisomerase IV involved in quinolone resistance of *Mycoplasma gallisepticum* mutants obtained in vitro. Antimicrob Agents Chemother 46:590-593, 2002
21. Dessus-Babus S, Bébéar CM, Charron A, Bébéar C, de Barbeyrac B : Sequencing of gyrase and topoisomerase IV Quinolone-Resistance-Determining Regions of *Chlamydia trachomatis* and characterization of quinolone-resistant mutants obtained in vitro. Antimicrob Agents Chemother 42:2474-2481, 1998
22. Heisig P : Genetic evidence for a role of *parC* mutations in development of high-level fluoroquinolone resistance in *Escherichia coli*. Antimicrob Agents Chemother 40:879-885, 1996