

국내에서 분리된 *Acinetobacter baumannii*의 Integron과 연관된 다제내성 분석

김성환 · 최지혜 · 박은진 · 서인원 · 손승렬*

단국대학교 첨단과학대학 미생물학과 및 기초과학연구소

Analysis of Integron-Associated Multi-Drug Resistance of *Acinetobacter baumannii* Isolated in Korea

Seong Hwan Kim, Ji Hye Choi, Eun Jin Park, In Won Suh, and Seung-Yeol Son*

Department of Microbiology and Institute of Basic Sciences, Dankook University, Cheonan 330-714, Republic of Korea

(Received July 30, 2010/Accepted September 16, 2010)

Acinetobacter baumannii 1625, a clinical isolate identified by Vitek and 16S rDNA sequence, showed an extended resistance to most β -lactams including imipenem, kanamycin, gentamicin, tobramycin, and cephalosporins of the third and fourth generations, and produced metallo- β -lactamase (MBL) of IMP-1 type which is rare in Korea. The isolate contained a class 1 integron of about 2.5 kb in size and the integron included *accA4* (aminoglycoside resistance gene), *bla_{IMP-1}* (carbapenem resistance gene), and *bla_{OXA-2}* (extended-spectrum β -lactam resistance gene) gene cassettes in order. The coexistence of IMP-1 type and OXA-2 type β -lactamase gene cassettes in an integron has not been reported in Korea. The transformed integron rendered the *E. coli* transformant resistant more than eight folds against imipenem, ampicillin, piperacillin, cefazolin, cefoperazone, and aztreonam comparing to the reference strain. This study clearly showed that the extended multi-drug resistance of *A. baumannii* 1625 was mainly due to the integron.

Keywords: *A. baumannii*, carbapenem-resistance, integron, MBL

*Acinetobacter*는 토양 및 물 등의 자연계에서 분리되는 호기성 포도당 비 발효, 그람 음성 구균으로 운동성은 없으며, 건강한 사람의 피부에 정상 상재세균으로 존재한다. 대부분의 *Acinetobacter* 균종은 환경미생물이지만, 인체나 동물감염의 경우 *A. baumannii* (유전종 2), *A. genospecies* 3, 및 *A. genospecies* 13TU (Tjenbergh and Ursing) 균종이 대부분을 차지하며, 특히 *A. baumannii*에 의한 감염이 대부분을 차지하고 유전종 3, 및 유전종 13TU에 의한 감염도 점차 증가하고 있다(1). *Acinetobacter*로 인하여 야기되는 감염의 중요한 문제점은 다양한 항생제에 대한 내성발생이다. *Acinetobacter*의 carbapenem 내성 기전에는 항균제의 막 투과성 감소나 유출, 그리고 다양한 β -lactamase에 의한 내성 등이 있는데, 이들에 의한 carbapenem 내성은 대부분 유도에 의하거나 미약하며, 다른 균으로의 전파가능성이 적다. 이들의 내성기전보다 중요한 것은 carbapenemase에 의한 carbapenem의 불활성화이다. 최근 carbapenem 항균제의 사용이 증가되면서 *Pseudomonas*

aeruginosa, *A. baumannii*, *Serratia marcescens* 및 *Enterobacter cloacae* 등의 carbapenemase 생성균들이 증가하고 있어 이들에 대한 감염증의 치료와 내성연구의 중요성이 부각되고 있다(13).

Carbapenem을 분해하는 carbapenemase에는 Class A, B, D 등이 있으나, 이 중에서 carbapenem을 가장 잘 분해하는 것은 class B이며 효소의 활성을 위해 zinc와 같은 metal 이온이 필요하기 때문에 metallo- β -lactamase (MBL)로 명명되었다(16). MBL 유전자는 대부분 IMP형(*bla_{IMP}*)과 VIM형(*bla_{VIM}*) family로 나뉘는데 아시아, 유럽, 북아메리카, 남아메리카를 포함하여 전 세계적으로 보고되고 있으며, 브라질의 Sao Paulo에서는 SPM-1형(17)이 보고되었다. 이 중 *bla_{IMP-1}* 유전자는 1991년 일본에서 *P. aeruginosa*로부터 처음 분리되었으며, 주로 일본, 아시아 및 유럽에서 분리되고 있다(18). *bla_{VIM-1}* type은 이태리 Verona에서 처음 분리되었으며, 이어서 프랑스에서 VIM-2형이 분리되었다(6, 15). VIM형의 MBL은 IMP형과 약 30% 정도 아미노산 유사성을 보이며, IMP형과 같이 aztreonam을 제외한 모든 β -lactam 항균제를 가수분해할 수 있다(14). 국내에

* For correspondence. E-mail: syson@dankook.ac.kr; Tel: +82-41-550-3455; Fax: +82-41-550-3409

Table 1. Antibiotic resistance of *A. baumannii* 1625 by disk diffusion method

Antibiotics ($\mu\text{g/ml}$)	<i>A. baumannii</i> 1625 (mm)	<i>A. baumannii</i> ATCC 19606 (mm)	<i>E. coli</i> ATCC 25922 (mm)	Zone diameter (mm)		
				R	I	S
Ampicillin (10) ^a	0	0	0	≤ 13	14-16	≥ 17
Kanamycin (30) ^a	0	0	0	≤ 13	14-17	≥ 18
Piperacillin-tazobactam (100/10)	19	23	25	≤ 17	18-20	≥ 21
Gentamycin (10)	0	17	20	≤ 12	13-14	≥ 15
Tobramycin (10)	0	17	15	≤ 12	13-14	≥ 15
Imipenem (10)	10	22	23	≤ 13	14-15	≥ 16
Aztreonam (30) ^a	9	23	26	≤ 15	16-21	≥ 22
Ceftazidime (30)	8	20	23	≤ 14	15-17	≥ 18
Cefepime (30)	0	26	27	≤ 14	15-17	≥ 18
Cefotaxime (30)	0	26	30	≤ 14	15-22	≥ 23
Cefoperazone (75) ^a	0	18	26	≤ 15	16-20	≥ 21
Ciprofloxacin (5)	0	23	30	≤ 15	16-20	≥ 21

^a Interpretive standards for *Acinetobacter* spp. were not available in CLSI guideline, and the interpretive standards for *Enterobacteriaceae* in NCCLS (2007) are used instead.

Abbreviations: R, resistant; I, intermediate; S, susceptible.

서는 1995년 MBL을 생성하는 *P. aeruginosa*와 *P. putida* 다수를 분리하여 그것이 프랑스에서 보고된 VIM-2형과 염기서열이 같음을 보고 하였으며(8), 이어 *A. baumannii*에서도 VIM-2형이 검출되었다(19). MBL의 유전자는 일반적으로 integron내에 cassette 형식으로 삽입되어 존재한다고 알려져 있고, 이는 carbapenem 항균제를 가장 잘 분해하기 때문에 내성기전에서 매우 중요하다(2).

Integron은 Tn21 family에 속하는 이동성 DNA element로서 tyrosine recombinase에 속하는 intergrase (*intI*)를 발현시키는 gene cassette를 획득하며, 이들을 발현시키는 promoter를 5'CS (Conserved Sequence)에 가지고 있다. Integron은 *intI*의 염기서열에 의해 분류되며 지금까지 10종류의 integron이 알려져 있다. 이중 5가지 integron만 내성 유전자와 연관되어 있으며(4), 임상에서 분리되는 균주는 대부분 class 1 integron을 가지고 있다. 대부분의 *bla*_{IMP} 유전자와 *bla*_{VIM} 유전자는 class 1 integron에 존재하며 드물게 class 3 integron에 존재하는 예가 보고 되기도 하였다(2). Martinez-Frejo 등(10)은 9개국에서 분리된 균주에서 integron을 검사하였는데, integron을 갖고 있지 않은 균주 보다 integron을 갖고 있는 균주들이 서로 다른 항균제에 대한 내성이 많았다고 보고하였다. Integron은 스스로 이동(transposition) 할 수 없으며, 대부분 transposon에 위치한다. 만약 이 transposon이 전달성 plasmid에 존재한다면 내성 유전자가 genome과 genome 사이에서 쉽게 이동 할 수 있으며, MBL을 포함한 내성유전자 확산의 중요한 제공자 역할을 할 것이다.

기회 감염성 세균인 *A. baumannii*에 의한 감염증 치료에는 대부분의 항생제 내성균들이 분비하는 β -lactamase에 안정한 carbapenem 계열(imipenem, meropenem 등)의 항생제들이 사용되고 있는데, 최근 이 계열의 항생제에 내성을 지니는 *A. baumannii* 균들이 증가하고 있어 치료가 어려워지고 있으며

이에 따른 내성연구의 중요성이 부각되고 있다(3). 국내외에서 항생제 내성과 관련된 integron들이 보고된 경우는 많이 있으나, carbapenem 내성을 나타내는 *A. baumannii* 균의 integron에 관한 보고는 소수에 불과하다. 그리하여 본 연구는 새로운 내성 증가에 관여되는 요소가 무엇인지 알아보하고자 2005년 말 국내 임상 검체에서 새로이 분리되어 MBL을 생성하는 것으로 보이는 균주를 동정한 후, 항생제 내성 양상을 파악하고, 보유 내성 유전자 및 내성 유전자형을 조사 하고자 하였으며, 또한 내성에 관련된 integron의 유무와 구조를 파악하고 이해하고자 하였다.

2005년 말 국내 대학병원의 환자 검체(농)에서 분리된 균주로서, Vitek system 및 디스크 확산법에서 imipenem에 내성인 균주가 선별 되었다. 실험대상 균주는 Vitek test 결과 *A. baumannii*임을 확인하였고, 또한 16S rDNA 염기서열 분석으로 *A. baumannii*임을 다시 확인 할 수 있었다(자료 미제시). 이 실험 균주를 *A. baumannii* 1625로 명명하고 디스크 확산법(11)으로 항균제 감수성검사를 시행한 결과 사용한 항생제에 대하여 모두 내성임을 확인하였고, 미량액체배지희석법(microbroth dilution method)에 의한 최소억제농도(MIC) 측정(12) 결과도 그 결과를 뒷받침 해 주었다. Imipenem과 meropenem에 대한 MIC도 각각 64 $\mu\text{g/ml}$ 와 64 $\mu\text{g/ml}$ 이상을 나타내어 MBL 생성균주로 간주할 수 있었고, penicillin 계열은 물론, 그 외 제 3세대 및 제 4세대 cephalosporin 계열 항균제와 aminoglycoside 계열 항균제에도 모두 내성이며, monobactam 계열에도 내성임을 확인하였다(Tables 1 and 2).

Ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA)에 의해 *A. baumannii* 1625가 생산하는 MBL의 활성억제 효과를 알아보하고자 imipenem-EDTA double disk synergy test (7)를 시행하였다. MBL은 효소의 활성을 위해 zinc 이온을 필요로 하며, EDTA에 의해 zinc 이온이 제거되기 때문에 EDTA disk 주위의 *A.*

Table 2. Minimal inhibitory concentrations (MICs) of β -lactams and aminoglycosides against *A. baumannii* 1625, *E. coli* DH5 α transformant and *E. coli* DH5 α reference strain

Antibiotics	MIC (μ g/ml)		
	<i>A. baumannii</i> 1625	<i>E. coli</i> transformant	<i>E. coli</i> DH5 α
Ampicillin	>128	>128	2
Imipenem	64	1	0.06
meropenem	>64	0.125	0.06
Piperacillin	>256	>256	0.5
Cefazolin	>128	128	-
Cefotaxime	>64	0.125	0.06
Cefoperazone	>64	>64	-
Aztreonam	>64	2	0.125

baumannii 1625는 imipenem에 대해 감수성을 나타내게 된다. Imipenem disk가 단독으로 있을 때에는 억제대의 직경이 약 10 mm 정도였으나, 실험 결과 imipenem disk와 EDTA disk 사이에서 상승효과에 의한 억제대의 확장현상이 관찰되었으며, 이는 *A. baumannii* 1625의 β -lactamase는 활성에 금속이온이 필요한 MBL임을 확인할 수 있었다(자료 미제시).

국내에서 imipenem 내성을 일으키는 유전자로 밝혀진 IMP-1형과 VIM-2형 유전자를 알아보고자, 각각에 특이적인 primer들을 사용하여 PCR을 시행한 결과, *A. baumannii* 1625는 VIM-2 특이적인 primer에 의해서는 증폭되지 않았으나, IMP-1 특이적인 primer에 의해서는 plasmid DNA를 주형으로 사용하였을 때, 약 500 bp의 크기의 증폭산물이 관찰 되었으며 (Fig. 1), 이 염기서열은 기존에 보고된 *bla*_{IMP-1}의 염기서열과 일치하였다.

순수하게 분리 및 정제된 *A. baumannii* 1625의 plasmid DNA를 주형으로 하여 5'CS와 3'CS primer로 약 2.5 kb의 integron을 증폭하였으며, 이 integron을 주형으로 사용하였을 때에도 *bla*_{IMP-1} 유전자가 증폭되었다(Fig. 1). 이 integron의 염기서열을 분석한 결과, 길이가 총 2,552 bp인 integron으로서 3개의 항생제 내성 유전자 cassette들이 존재하였고, 5'CS와 3'CS도 확인되었다. 5'CS에서 재결합 부위인 *attI1* 존재를 확인하였고, NCBI [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/]의 Database와 비교한 결과 class 1 integron임을 알 수 있었다. 3개의 gene cassette는 각 유전자 사이마다 gene cassette 특유의 59-bp (base element)가 존재하고 있었으며, core site와 inverse core site 역시 존재하는 것을 알 수 있었다. 이는 기존에 보고된 *A. baumannii*에서 발견된 integron들과 비교 했을 때 크기는 비슷하지만 내성유전자의 분포와 구조에서 차이를 보였다(Fig. 2).

Integron의 첫 번째 유전자 cassette는 *accA4* 유전자로 aminoglycoside-6'-N-acetyltransferase를 생성하여 aminoglycoside의 6번째 아미노 그룹을 가수분해 하며, aminoglycoside 변형 효소 중 가장 광범위한 내성을 보인다. 이 gene cassette는 5'CS 윗부분에 있는 integrase 바로 다음에 위치하였으므로 promoter에 의해 강하게 발현 되었을 것으로 생각된다. 실제로 *A.*

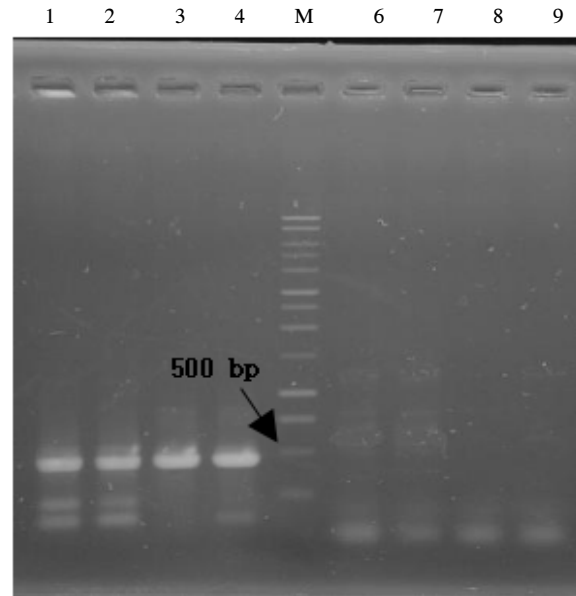


Fig. 1. Amplification of *bla*_{IMP-1} and *bla*_{VIM-2} genes in *A. baumannii* 1625 and transformants.

Lanes 1 and 6 : Total DNA of *A. baumannii* 1625 was used as a template.
 Lanes 2 and 7 : Plasmid DNA of *A. baumannii* 1625 was used as a template.
 Lanes 3 and 8 : Amplified integron DNA of *A. baumannii* 1625 was used as a template.
 Lanes 4 and 9 : Plasmid DNA of a transformant was used as a template.
 Lane M : DNA size marker.
*bla*_{IMP-1} gene specific primers were used in lanes 1-4 and *bla*_{VIM-2} gene specific primers were used in lanes 6-9.

baumannii 1625는 kanamycin은 물론 항균제 감수성 검사 시 사용되었던 gentamicin, tobramycin에 내성을 보였는데(Table 1), 이 유전자에 의해 감수성이 저하된 것으로 보인다. 두 번째 위치한 *bla*_{IMP-1} gene은 MBL을 생성하는 유전자로 한국에서 많이 분리되는 VIM-2형과는 달리 잘 발견되지 않았으나, 2002년에 Yum 등(19)이 국내에서 IMP-1형을 가진 *A. baumannii*를 보고하였다. 이 연구에서 밝혀진 *bla*_{IMP-1} 유전자의 염기서열은 Yum 등(19)이 보고한 유전자의 염기서열과 98% 일치하였다. 이 유전자가 생산하는 MBL은 cabapenem계열인 imipenem에 내성을 갖도록 하는 주요 요인이며, 실험결과에서도 내성을 나타내었다(Table 1). 마지막에 위치하는 *bla*_{OXA-2} 유전자는 extended spectrum β -lactamase의 한 종류인 oxacillinase를 암호화하고 있다. 이 효소가 과형성 되면 aztreonam, cefotaxime 등에 내성을 나타낼 수 있다. 항균제 감수성 검사 시 사용했던 cefazolin, cefotaxime, cefoperazone 등에 내성을 보여 준 것으로 보아 이 유전자에 의해 감수성이 저하된 것으로 생각된다. 이 integron은 유전자 cassette가 3개 이므로 gene cassette들이 많이 삽입되어 있는 다른 integron보다는 유전자 모두가 잘 발현될 것으로 사료되며, 앞서 시행한 항균제 감수성 시험 결과처럼 다제내성을 나타내는 것이 integron의 분석과 일치함을

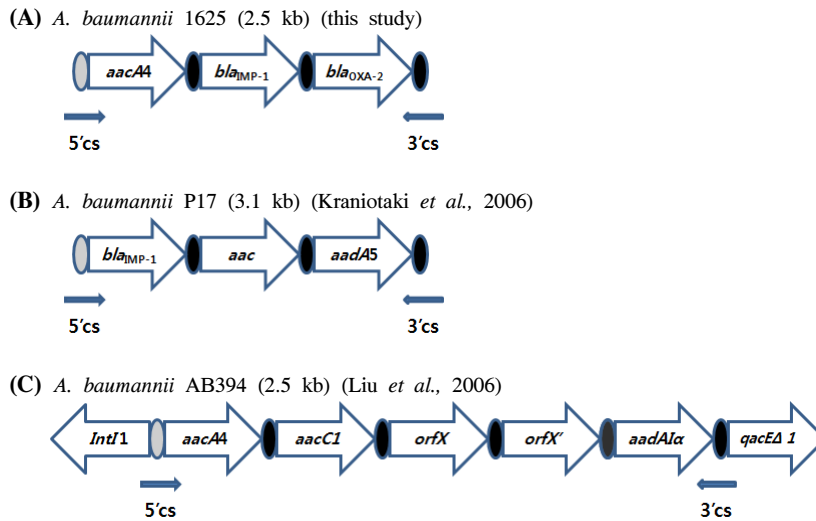


Fig. 2. Comparison of structures of integrons found in *A. baumannii* 1625 and other *A. baumannii*.

Coding sequences are indicated by block arrows with corresponding names, and transcriptional orientations. Black filled arrows indicate the position and direction of primers 5'CS and 3'CS used for amplification.

알 수 있다.

또한 후에 시행한 transformants의 MIC 실험에서도 대조 균주보다 대부분의 항생제에서 내성이 증가 한 것으로 보아 cloning된 integron내의 내성 유전자 cassette의 발현이 이루어진 것으로 볼 수 있다. MIC실험에 사용한 항균제 중 내성이 없는 *E. coli* DH5 α 보다 8배 이상 증가한 항목이 imipenem, ampicillin, piperacillin, cefazolin, cefoperazone, aztreonam인 것은 이 integron내의 gene cassette들의 영향 인 것으로 사료된다(Table 2). 특히 IMP-1형의 MBL은 aztreonam을 가수분해하지 못하나, integron내에 함께 연결된 OXA-2형 β -lactamase에 의해 carbapenem계열의 항생제에 모두 내성을 보인 것으로 생각되며, 동시에 존재하는 경우 광범위한 다제내성을 보여줌을 확인 할 수 있었다.

A. baumannii 1625는 integron이 가진 3종류의 내성 유전자 cassette에 의해 다양한 종류와 넓은 범위의 항생제에 내성을 보이는 것으로 본 연구에서 확인하였다. 이전에 보고된 연구들과 비교 했을 때, IMP-1형과 OXA-2형 β -lactamase가 동시에 존재하는 *A. baumannii*는 국내에서 보고된 바 없었고, 이 균주가 분리된 이후에도 carbapenemase를 생산하는 *A. baumannii*가 더욱 확산되고 있으며, 내성 유전자의 종류도 다양해지고 있다. 만약 *A. baumannii* 1625의 integron이 전달성 plasmid에 위치하였다면 conjugation에 의해 항생제 내성 유전자들은 쉽게 다른 병원균들로 전파될 수 있을 것이므로 이에 대한 많은 연구가 필요하다고 판단된다.

적요

임상분리 균주인 *A. baumannii* 1625는 imipenem (carbapenem 계열)을 포함한 대부분의 β -lactam계열의 항생제들과 kanamycin, gentamicin, tobramycin 및 제 3세대와 4세대 cephalosporin

계열의 항생제들에 광범위한 내성을 나타내었고, 한국에서는 드문 IMP-1형 metallo- β -lactamase (MBL) 를 생성하는 균주임이 확인되었다. *A. baumannii* 1625는 약 2.5 kb 크기의 class 1 integron을 갖고 있었으며, 이 integron내에 aminoglycoside계열 내성 유전자인 *accA4*, carbapenem 계열 내성 유전자인 *bla_{IMP-1}*, 광범위한 β -lactam 내성 유전자인 *bla_{OXA-2}* 유전자 cassette들이 차례대로 위치해 있음을 확인하였는데, 이것은 IMP-1형과 OXA-2형 β -lactamase의 유전자를 같은 integron내에 동시에 갖는 새로운 배열 및 구조로서 이전에 국내에서 보고된 바 없는 것이다. 이 2.5 kb 크기의 integron을 항생제 내성이 없는 *E. coli*에 형질전환 시켰을 때, imipenem, ampicillin, piperacillin, cefazolin, cefoperazone, aztreonam 등의 항생제들에 대하여 8배 이상 증가된 내성정도를 보였다. 이는 *A. baumannii* 1625의 integron이 다제내성을 부여하는 기능을 하고 있음을 보여준다.

참고문헌

- Bergogne-Bérézín, E. and K.J. Towner. 1996. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens : microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clin. Microbiol. Rev.* 9, 148-165.
- Collis, C.M., M.J. Kim, S.R. Partridge, H.W. Stokes, and R.M. Hall. 2002. Characterization of the class 3 integron and the site-specific recombination system it determines. *J. Bacteriol.* 184, 3017-3026.
- Corbella, X., A. Montero, M. Pujol, M.A. Domínguez, J. Ayats, and M.J. Argerich. 2000. Emergence and rapid spread of carbapenem resistance during a large and sustained hospital outbreak of multiresistant *Acinetobacter baumannii*. *J. Clin. Microbiol.* 38, 4086-4095.
- Correia, M., F. Boavida, F. Grosso, M.J. Salgado, L.M. Lito, J.M., Cristiano, S. Mendo, and A. Duarte. 2003. Molecular characterization of a new class 3 integron in *Klebsiella pneumoniae*.

- Antimicrob. Agents Chemother.* 47, 2838-2843.
5. Kraniotaki, E., R. Manganeli, E. Platsouka, A. Grossato, O. Paniara, and G. Palù. 2006. Molecular investigation of an outbreak of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*, with characterisation of class 1 integrons. *J. Antimicrob. Agents.* 28, 193-199.
 6. Lauretti, L., M.I. Ricco, A. Mazzriol, G. Cornaglia, G. Amicosante, R. Fontana, and M. Rossolini. 1999. Cloning and characterization of *bla_{VIM}*, a new intergron-borne metallo- β -lactamase gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. *Antibicrob. Agents Chemother.* 43, 1584-1590.
 7. Lee, K., Y. Chong, H.B. Shin, Y.A. Kim, D. Yong, and J.H. Yum. 2001. Modified hodge and EDTA-disk synergy tests to screen metallo- β -lactamase-producing strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species. *Clin. Microbiol. Infect.* 7, 88-102.
 8. Lee, K., J.B. Lim, J.H. Yum, D. Yong, Y. Chong, J.M. Kim, and D.M. Livermore. 2002. *bla_{VIM-2}* cassette containing novel integrons in metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas putida* isolates disseminated in a Korean hospital. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46, 1053-1058.
 9. Liu, S.Y., J.Y. Lin, C. Chu, L.H. Su, T.Y. Lin, and C.H. Chiu. 2006. Integron-associated imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii* isolated from a regional hospital in Taiwan. *J. Antimicrob. Agents Chemother.* 27, 81-84.
 10. Martinez-Freijo, P., A.C. Fluit, F.J. Schmitz, V.S.C. Grek, J. Verhouf, and N.E. Jones. 1998. Class 1 integrons in Gram-negative isolates from different European hospitals and association with decreased susceptibility to multiple antibiotic compounds. *J. Antimicrob. Chemother.* 42, 689-696.
 11. National Committee for Clinical laboratory Standards. 1998. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 6th informational supplement. Pennsylvania: NCCLS, 1998:M100-S6.
 12. National Committee for Clinical laboratory Standards. 2000. Method for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically-5th editions: approved standard. Wayne: NCCLS, 2000;M7-A5.
 13. Nemec, A., L. Janda, O. Melter, and L. Dijkshoorn. 1999. Genotypic similarity of multiresistant *Acinetobacter baumannii* isolates in the Czech Republic. *J. Med. Microbiol.* 48, 287-296.
 14. Nordmann, P. and L. Poirel. 2002. Emerging carbapenemases in Gram-negative aerobes. *Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 8, 321-331.
 15. Poirel, L., T. Nass, D. Nicolas, L. Collet, S. Bellais, J.D. Cavallo, and P. Nordmann. 2000. Characterization of VIM-2, a carbapenem-hydrolyzing metallo- β -lactamase and its plasmid and integron-borne gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate in France. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44, 891-897.
 16. Rasmussen, B.A., Y. Gluzman, and E.P. Tally. 1990. Cloning and sequencing of the class B β -lactamase gene(ccrA) from *Bacteroides fragilis* TAL3636. *Antimicrob. Agents Chemother.* 34, 1590-1592.
 17. Toleman, M.A., A.M. Simm, T.A. Murphy, A.C. Gales, D.J. Biedenbach, R.N. Jones, and T.R. Walsh. 2002. Molecular Characterization of SPM-1, a novel metallo- β -lactamase isolated in Latin America: report from the SENTRY antimicrobial program. *J. Antimicrob. Chemother.* 50, 673-679.
 18. Watanabe, N., S. Iyobe, M. Inoue, and S. Nitsuhashi. 1991. Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 35, 147-151.
 19. Yum, J.H., K. Yi, H. Lee, D. Yong, K. Lee, J.M. Lim, G.M. Rossolini, and Y. Chong. 2002. Molecular characterization of metallo- β -lactamase-producing *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter* genospecies 3 from Korea; identification of two new integrons carrying the *bla_{VIM-2}* gene cassettes. *J. Antimicrob. Chemother.* 49, 837-840.