

< Original Article >

## 반려동물에서 분리된 cefotaxime 내성 그람 음성균에서 CTX-M $\beta$ -lactamase와 plasmid 매개 퀴놀론 내성 유전자

조재근<sup>1\*</sup> · 이정우<sup>1</sup> · 김정미<sup>1</sup> · 박대현<sup>1</sup> · 정지연<sup>2</sup>

대구광역시보건환경연구원<sup>1</sup>, 농림축산검역본부 조류질병과<sup>2</sup>

### CTX-M $\beta$ -lactamase and plasmid-mediated quinolone resistance genes in cefotaxime-resistant gram-negative bacteria isolated from companion animals

Jae-Keun Cho<sup>1\*</sup>, Jung-Woo Lee<sup>1</sup>, Jeong-Mi Kim<sup>1</sup>, Dae-Hyun Park<sup>1</sup>, Ji-yeon Jeong<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Health & Environmental Research Institute of Daegu, Daegu 42183, Korea

<sup>2</sup>Avian Disease Research Division, Animal and Plant Quarantine Agency, Gimcheon 39660, Korea

(Received 9 June 2020; accepted 15 June 2020)

#### Abstract

The aim of this study was to investigate the prevalence of CTX-M  $\beta$ -lactamase and plasmid-mediated quinolone resistance (PMQR) genes, and the pattern of antibiotic resistance in cefotaxime-resistant gram-negative bacteria. A total 126 gram-negative bacteria were isolated from hospitalized dogs and cats between 2018 and 2019. The most predominant isolates were *E. coli* (n=41), followed by *Pseudomonas aeruginosa* (n=25), *Proteus mirabilis* (n=14), *Klebsiella pneumoniae* (n=9), *Sphingomonas paucimobilis* (n=7), and *Enterobacter cloacae* and *Serratia marcescens* (respectively, n=5). Cefotaxime-resistant isolates were identified in 26.2% (33 isolates) of 126 gram-negative bacteria. CTX-M type  $\beta$ -lactamase were found in 15 isolates (10 *E. coli*, 1 *Ent. cloacae* and 4 *K. pneumoniae*, respectively). Among the CTX-M producing gram-negative bacteria, CTX-M-1 and CTX-M-9 were detected in 10 (66.7%) and 5 (33.3%) isolates, respectively. While, CTX-M-2 and CTX-M-8 were not found. PMQR genes were detected in 12 (36.4%) isolates (4 *E. coli*, 2 *Ent. cloacae* and 6 *K. pneumoniae*, respectively), and the predominant PMQR gene was *aac(6)-lb-cr* (n=9), followed by *qnrB* (n=8) and *qnrS* (n=1) alone or in combination. *qnrA* and *qepA* were not found. Additionally, 9 (60%) of 12 PMQR positive isolates were co-existence with CTX-M-1 or CTX-M-9. CTX-M or PMQR producing isolates showed highly resistance to penicillins (100%), cephalosporins (100~66.7%), monobactams (72.2%), and non- $\beta$ -lactam antibiotics (94.4~61.1%) such as quinolones, trimethoprim/sulfamethoxazole, tetracycline and gentamicin. These findings showed CTX-M-1, CTX-M-9, *aac(6)-lb-cr* and *qnrB* were highly prevalent in cefotaxime-resistant *Enterobacteriaceae* isolates from companion animals in our region. Moreover, PMQR genes were closely associated with CTX-M type  $\beta$ -lactamase.

**Key words :** *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, CTX-M, PMQR

## 서 론

Ambler class A에 그룹에 속하는 CTX-M형 extended-

$\beta$ -lactamase (ESBL)는 전 세계적으로 *Enterobacteriaceae* 사이에 빠르게 확산되고 있다(Rossolini 등, 2008). CTX-M형 ESBL은 사람과 동물에서 *Escherichia coli*와 *Klebsiella pneumoniae*에서 가장 흔히 발견되고 있으나 (Paterson 등, 2003; Rossolini 등, 2008), *Enterobacter* 속,

\*Corresponding author: Jae-Keun Cho, E-mail. salmonella00@korea.kr  
ORCID <https://orcid.org/0000-0003-3498-8101>

*Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii* 및 *Morganella morganii*에서도 보고되고 있다(Shibata 등, 2006; Choi 등, 2007; Jeong 등, 2011). 더욱이 ESBL 생성균주는 cephalosporins, monobactams 같은 광범위 항생제뿐만 아니라 non- $\beta$ -lactam 항생제에 대해서도 내성을 획득하며 fluoroquinolons, trimethoprim/sulfamethoxazole 등의 항생제와 교차내성을 일으켜 다약제 내성을 나타낸다(Jacoby와 Medeiros, 1991; Tian 등, 2012).

1990년대 후반까지 *Enterobacteriaceae*에서 주로 분리되는 ESBL형은 TEM과 SHV형이었으나, 근년에는 CTX-M형이 가장 빈번히 분리되고 있다(Paterson 등, 2003; Livermore 등, 2007; Rossolini 등, 2008; Wang 등, 2013). 국내에서도 2001년 CTX-M-14를 생성하는 *K. pneumoniae*, *E. coli* 및 *Shigella sonnei*가 최초로 보고된 이후(Pai 등, 2001) 그 빈도는 계속 증가하고 있다. 최근까지 CTX-M형 ESBL은 약 50여종 이상이 보고되었는데 아미노산 서열에 기초하여 CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9 및 CTX-M-25 등 5개의 그룹으로 분류되고 있다(Poirel 등, 2002). 국내 반려동물에서는 CTX-M-15과 CTX-M-14가 가장 빈번하게 분리되고 있다(So 등, 2012; Tamang 등, 2012; Hong 등, 2019).

Quinolone계 항생제 내성은 이 약제의 표적 부위인 DNA gyrase 및 topoisomerase IV를 암호화하는 염색체 유전자의 점 돌연변이에 의한 내성이 주요 기전으로 알려져 있다(Jacoby, 2005). 그러나 최근 plasmid 내에 있는 내성 유전자(plasmid-mediated quinolone resistance, PMQR)에 의한 내성 기전이 존재함이 알려졌다(Rodríguez-Martínez 등, 2011). *Qnr* (*qnrA*, *qnrB* 및 *qnrS*), *aac(6)-Ib-cr* 그리고 *qepA* 같은 PMQR 유전자는 1998년 미국에서 분리된 *K. pneumoniae*에서 *qnrA*가 최초로 보고된(Martínez-Martínez 등, 1998) 이후, 여러 종류의 *Enterobacteriaceae*에서 빈번히 검출되고 있다(Ma 등, 2009; Jeong 등, 2011; Briales 등, 2012). 더욱이 *qnr* 유전자의 수평적 확산 기작이 ESBL 유전자 확산 기작과 유사하여 ESBL 유전자와 *qnr* 유전자를 동시에 보유하는 세균의 출현 빈도 또한 높아지고 있다(Donati 등, 2014; Timofte 등, 2016; Zogg 등, 2018). 최근까지 국내 개와 고양이에서 분리된 *Enterobacteriaceae*에서 CTX-M형 ESBL과 PMQR 유전자의 출현 빈도 및 종류에 관한 보고는 드물다(Cho 등, 2019).

이번 연구에서는 대구지역 개와 고양이에서 분리된 cefotaxime 내성 그람 음성균을 대상으로 CTX-M형 ESBL 및 PMQR 유전자의 출현 빈도와 그 종류를 확인하였다. 아울러 항생제 내성 양상을 조사하여 항생

제 내성 연구를 위한 기초자료로 제공하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 균 분리 동정

2018년 9월부터 2019년 8월까지 대구지역 동물병원에서 의뢰된 개와 고양이 가검물 289점(개, n=264; 고양이, n=25)을 대상으로 실험을 실시하였다. 그람 음성균의 분리 및 동정을 위해 가검물을 Blood agar (아산제약, Korea)와 MacConkey agar plate (Oxoid, UK)에 접종하여 37°C에서 24시간 배양 후 의심되는 집락에 대해서는 순수 분리 후 VITECK 2 compac (BioMérieux, France)를 이용하여 동정하였다.

### DNA 추출

Genomic DNA 추출은 boiling법으로 실시하였다. Tryptic soy broth (Oxoid, UK)에 접종하여 37°C에서 18~24시간 진탕 배양하여 얻은 균 부유액 1.0 mL를 13,000 rpm에서 2분간 원심분리한 후 상층액을 제거한 다음 멸균 증류수 1.0 mL로 재 부유하였다. 균 부유액은 끓는 물에 10분간 가열한 다음 13,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 취하여 template DNA로 사용하였다.

### 항생제 감수성 시험

항생제 감수성 시험은 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2013)의 기준에 따라 디스크 확산법을 이용하여 실시하였다. 사용한 항생제 디스크(Oxoid, UK)는 ampicillin (10  $\mu$ g), amoxicillin-clavulanic acid (20/10  $\mu$ g), piperacillin/tazobactam (100/10  $\mu$ g), cefazolin (30  $\mu$ g), cefaclor (30  $\mu$ g), cefixime (5  $\mu$ g), ceftazidime (30  $\mu$ g), cefotaxime (30  $\mu$ g), cefepime (30  $\mu$ g), aztreonam (30  $\mu$ g), imipenem (10  $\mu$ g), amikacin (30  $\mu$ g), gentamicin (10  $\mu$ g), tetracycline (30  $\mu$ g), nalidixic acid (30  $\mu$ g), ciprofloxacin (5  $\mu$ g), norfloxacin (10  $\mu$ g), ofloxacin (5  $\mu$ g), enrofloxacin (5  $\mu$ g), trimethoprim/sulfamethoxazole (1.25/23.75  $\mu$ g) 및 chloramphenicol (30  $\mu$ g) 등 21종이었다. 항생제 감수성 시험을 위한 표준균주로 *E. coli* ATCC 25922를 사용하였다.

## CTX-M형 ESBL 및 PMQR 유전자 검출

CTX-M형 ESBL (CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8 및 CTX-M-9)과 PMQR 유전자(*qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *aac(6)-Ib-cr* 및 *qepA*)의 검출을 위해 사용된 primer는 Table 1과 같다. PCR 반응은 Maxime PCR PreMix (*i*-StarTag, Intron, Korea)에 각각의 10 pmol primer 1  $\mu$ L와 template DNA 1  $\mu$ L를 넣은 후 멸균된 증류수를 첨가하여 최종 반응량이 20  $\mu$ L 되게 하여 Tprofessional Thermal Cycler (Biometra, Germany)를 이용하여 수행하였다. CTX-M형 ESBL의 검출을 위한 PCR 반응조건으로 94°C에서 10분간 초기 denaturation시킨 후, 94°C에서 1분간 denaturation, Table 1의 온도에서 30초간 annealing, 72°C에서 1분간 extension 과정을 총 30회 반복하였으며, 마지막으로 72°C에서 10분간 final extension을 하였다. PMQR 유전자의 검출을 위한 PCR 반응조건은 94°C에서 5분간 초기 denaturation시킨 후, 94°C에서 1분간 denaturation, Table 1의 온도에서 30초간 annealing, 72°C에서 1분간 extension 과정을 총 30회 반복하였으며, 마지막으로 72°C에서 5분간 final extension을 하였다. 증폭된 산물은 1.2% agarose gel에서 100 V로 30분간 전기영동을 실시한 후 UV transilluminator (Biometra, Germany)를 이용하여 확인하였다.

## 결 과

## 그람 음성균 분리

2018년 9월부터 2019년 8월까지 동물병원에서 의뢰된 개와 고양이 가검물 289점에서 126주의 그람 음성균을 분리하였다. 균종별로는 *E. coli*가 41주(32.5%)로 가장 많이 분리되었고 다음은 *Pseudomonas aeruginosa* 25주(19.8%), *Proteus mirabilis* 14주(11.1%), *K. pneumoniae* 9주(7.1%), *Sphingomonas paucimobilis* 7주(5.6%), *Ent. cloacae* 및 *Serratia marcescens*가 각각 5주(4.0%), *Pseudomonas luteora* 4주(3.2%) 및 *Acinetobacter lwoffii*와 *K. oxytoca*가 각각 2주(1.6%)가 분리되었다. 또한 *Achromobacter dentitrificans*, *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter ursingii*, *Aeromonas caviae*, *Burkholderia cepacia*, *Citrobacter koseri*, *Ent. asburiae*, *Pasteurella canis*, *Pasteurella pneumotropica*, *Pseudomonas stutzeri*, *Raoultella planticola* 및 *Sphingobacterium spiritivorum*이 각각 1주(0.8%)가 분리되었다. 검체별로는 귀에서 가장 많은 37주(29.4%)가 분리되었으며, 다음 피부에서 26주(20.6%), 뇨에서 22주(17.5%), 생식기에서 15주(11.9%) 눈에서 10주(7.9%), 코에서 6주(4.8%), 기관과 유방에서 각각 2주(1.6%)가 분리되었다(Table 2).

Table 1. Primers used for PCR amplification in this study

Primers	Sequence('5 to '3)	Annealing Tem. (°C)	Size of product (bp)	Reference
CTX-M-1-F	GCTGTTGTTAGGAAGTGTGC	56.5	516	Shibata et al, 2006
CTX-M-1-R	CCAATTGCCCGAGGTGAAG			
CTX-M-2-F	ACGCTACCCCTGCTAATT	53.5	779	Shibata et al, 2006
CTX-M-2-R	CCTTTCCGCCTTCTGCTC			
CTX-M-8-F	CGGATGATGCTAATGACAAC	55	569	Shibata et al, 2006
CTX-M-8-R	GTCAGATTGCGAAGCGTC			
CTX-M-9-F	GCAGATAATACGCAGGTG	53.5	393	Shibata et al, 2006
CTX-M-9-R	CGGCGTGGTGGTGTCTCT			
<i>qnrA</i> -F	ATTTCTCACGCCAGGATTTG	55	574	Cho et al, 2019
<i>qnrA</i> -R	TGCCAGGCACAGATCTTGAC			
<i>qnrB</i> -F	CGACCTKAGCGGCACTGAAT	55	513	Cho et al, 2019
<i>qnrB</i> -R	GAGCAACGAYGCCTGGTAGYTG			
<i>qnrS</i> -F	ACTGCAAGTTCATTGAACAG	53	431	Cho et al, 2019
<i>qnrS</i> -R	GATCTAAACCGTCGAGTTTCG			
<i>qepA</i> -F	AACTGCTTGAGCCCGTAGAT	58	596	Cho et al, 2019
<i>qepA</i> -R	GTCTACGCCATGGACCTCAC			
<i>AAC(6)-Ib-cr</i> -F	TTGCGATGCTCTATGAGTGGCTA	53	482	Cho et al, 2019
<i>AAC(6)-Ib-cr</i> -R	CTCGAATGCCTGGCGTGT			

Table 2. Isolated bacteria by the sampling sites

Isolates	ear	eye	genital	nose	skin	trachea	udder	urine	others*	Total
<i>Achromobacter dentitrificans</i>	1									1 (0.8)
<i>Acinetobacter lwoffii</i>		1			1					2 (1.6)
<i>Acinetobacter baumannii</i>				1						1 (0.8)
<i>Acinetobacter ursingii</i>								1		1 (0.8)
<i>Aeromonas caviae</i>					1					1 (0.8)
<i>Burkholderia cepacia</i>						1				1 (0.8)
<i>Citrobacter koseri</i>			1							1 (0.8)
<i>Enterobacter asburiae</i>					1					1 (0.8)
<i>Enterobacter cloacae</i>	1				2			1	1	5 (4.0)
<i>Escherichia coli</i>	6	3	8		11		1	8	4	41 (32.5)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1		1	2	1			4		9 (7.1)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2									2 (1.6)
<i>Pasteurella canis</i>	1									1 (0.8)
<i>Pasteurella pneumotropica</i>					1					1 (0.8)
<i>Proteus mirabilis</i>	5			1	2			6		14 (11.1)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14	2	3	1	2	1	1	1		25 (19.8)
<i>Pseudomonas luteora</i>		1		1	2					4 (3.2)
<i>Pseudomonas stutzeri</i>					1					1 (0.8)
<i>Raoultella planticola</i>			1							1 (0.8)
<i>Serratia marcescens</i>	3		1						1	5 (11.9)
<i>Sphingobacterium spiritivorum</i>					1					1 (0.8)
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	3	3						1		7 (5.6)
Total	37	10	15	6	26	2	2	22	6	126 (100)

\*abdomen, gallbladder, mouth.

## 항생제 감수성 시험

분리된 126주의 그람 음성균 중 cefotaxime 내성은 *E. coli* 12주, *Ent. cloacae* 4주, *K. pneumoniae* 7주 등 총 33주에서 확인되었다. Cefotaxime 내성균 중 CTX-M형 ESBL 또는 PMQR 유전자를 보유하고 있는 18주를 대상으로 항생제 감수성 시험을 실시한 결과, *E. coli*, *Ent. cloacae* 및 *K. pneumoniae*는  $\beta$ -lactam 항생제인 ampicillin, cefazolin, cefaclor, cefixime, ceftazidime, cefepime 및 aztreonam에는 100%~66.7%,  $\beta$ -lactam 억제제인 amoxicillin-clavulanic acid과 piperacillin/tazobactam에는 각각 44.4%와 11.1%의 내성률을 나타내었다. 반면 non- $\beta$ -lactam 항생제에 대해서는 nalidixic acid, ciprofloxacin, norfloxacin, ofloxacin, enrofloxacin, tetracycline, gentamicin 및 trimethoprim/sulfamethoxazole에는 94.4~61.1%의 높은 내성률을 나타내었으나, chloramphenicol과 amikacin에는 각각 33.3% 및 27.8%의 낮은 내성률을 나타내었다. 반면 imipenem에 내성인 균주는 없었다(Table 3). CTX-M형 ESBL 또는 PMQR 유전자를 보유하고 있는 18주 모두가 사용된 10종류 이상의 약제에 내성을 보인 다약제 내성균이었다(Table 4).

## CTX-M형 유전자 검출

CTX-M형 ESBL과 PMQR 유전자의 검출은 cefotaxime에 내성을 보인 그람 음성균 및 ceftazidime에 내성을 나타내는 *Pseudomonas* 속을 대상으로 실시하였다. 이번 연구에서 ceftazidime에 내성을 나타내는 *P. aeruginosa*는 한 주도 검출되지 않았다. Cefotaxime에 내성을 보인 33주를 대상으로 CTX-M형 ESBL의 생성 여부를 조사한 결과, *E. coli*에서 10주(24.4%), *Ent. cloacae*에서 1주(25%) 및 *K. pneumoniae*에서 4주(44.4%) 등 총 15주(45.5%)에서 CTX-M형 ESBL이 검출되었다(Fig. 1, Table 5). 이중 CTX-M-1형은 10주(66.7%), CTX-M-9형은 5주(33.7%)에서 검출되었다. CTX-M-2형 및 CTX-M-8형은 검출되지 않았다. 한편 CTX-M-1형은 *E. coli*에서 6주, *Ent. cloacae*에서 1주 및 *K. pneumoniae*에서 3주가 검출되었고, CTX-M-9형은 *E. coli*에서 4주 및 *K. pneumoniae*에서 1주가 검출되었다

## PMQR 유전자 검출

Cefotaxime에 내성을 보인 그람 음성균 33주를 대상으로 PMQR 유전자인 *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *aac(6')-Ib-cr*

**Table 3.** Antimicrobial resistance patterns of 18 cefotaxime-resistant gram-negative bacteria producing CTX-M or PMQR genes

Classification	Antimicrobial agents	No. (%) of resistant strains			
		<i>E. coli</i> (n=10)	<i>Ent. cloacae</i> (n=2)	<i>K. pneumoniae</i> (n=6)	Total
Penicillins	Ampicillin	10 (100)	2 (100)	6 (100)	18 (100)
$\beta$ -lactamase inhibitor	Amoxicillin-clavulanic acid	2 (20.0)	2 (0.0)	4 (50.0)	8 (44.4)
	Piperacillin/tazobactam	2 (20.0)	0 (0.0)	0 (0)	2 (11.1)
Cephems	Cefazolin	10 (100)	2 (100)	6 (100)	18 (100)
	Cefaclor	10 (100)	2 (100)	6 (100)	18 (100)
	Cefixime	10 (100)	2 (100)	6 (100)	18 (100)
	Ceftazidime	4 (40.0)	2 (100)	6 (100)	12 (66.7)
	Cefepime	10 (100)	1 (100)	3 (75.0)	14 (77.8)
	Monobactams	Aztreonam	8 (80.0)	1 (100)	4 (100)
Carbapenems	Imipenem	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Aminoglycosides	Amikacin	2 (20.0)	0 (0.0)	3 (25.0)	5 (27.8)
	Gentamicin	4 (40.0)	2 (100)	6 (100)	12 (66.7)
Tetracycline	Tetracycline	7 (70.0)	2 (100)	5 (100)	14 (77.8)
Quinolones	Nalidixic acid	10 (100)	2 (100)	5 (100)	17 (94.4)
Fluoroquinolones	Ciprofloxacin	10 (100)	2 (100)	5 (100)	17 (94.4)
	Norfloxacin	9 (90.0)	2 (100)	6 (100)	17 (94.4)
	Ofloxacin	9 (90.0)	2 (100)	6 (100)	17 (94.4)
	Enrofloxacin	9 (90.0)	2 (100)	5 (100)	16 (88.9)
Folates	Sulfamethoxazole/trimethoprim	4 (40.0)	2 (100)	5 (100)	11 (61.1)
Phenicol	Chloramphenicol	2 (20.0)	2 (100)	2 (25.0)	6 (33.3)

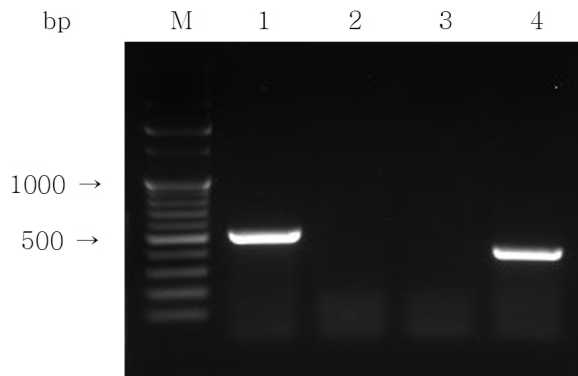
**Table 4.** Phenotypes of antimicrobial resistance of 18 cefotaxime-resistant gram-negative bacteria producing CTX-M or PMQR genes

Isolates	Antimicrobial resistance patterns*
<i>E. coli</i> 18-221	AM,CZ,CEC,CFM,CFP,TC,NA,CIP,ENR,NOR,OFX,CM
<i>E. coli</i> 18-234	AM,CZ,CEC,CFM,CFP,ATM,NA,CIP,ENR,NOR,OFX
<i>E. coli</i> 19-32	AM,AMC,TZP,CZ,CEC,CAZ,CFM,CFP,ATM,NA,CIP,ENR,NOR,OFX
<i>E. coli</i> 19-44	AM,AMC,TZP,CZ,CEC,CAZ,CFM,CFP,ATM,GM,TC,NA,CIP,ENR,NOR,OFX,SXT
<i>E. coli</i> 19-49	AM,CZ,CEC,CFM,TC,NA,CIP,ENR,NOR,OFX
<i>E. coli</i> 19-148	AM,CZ,CEC,CFM,ATM,GM,TC,NA,CIP,ENR,NOR,OFX,SXT
<i>E. coli</i> 19-154	AM,CZ,CEC,CFM,ATM,TC,NA,CIP,ENR,NOR,OFX,SXT
<i>E. coli</i> 19-158	AM,CZ,CEC,CFM,CFP,ATM,GM,AN,TC,NA,CIP,ENR,NOR,OFX,SXT,CM
<i>E. coli</i> 19-194	AM,CZ,CEC,CAZ,CFM,CFP,ATM,TC,NA,CIP
<i>E. coli</i> 19-212	AM,CZ,CEC,CAZ,CFM,CFP,ATM,GM,AN,NA,CIP,ENR,NOR,OFX
<i>Ent. cloacae</i> 19-39	AM,AMC,CZ,CEC,CAZ,CFM,CFP,ATM,GM,TC,NA,CIP,ENR,NOR,OFX,SXT,CM
<i>Ent. cloacae</i> 19-61	AM,AMC,CZ,CEC,CAZ,CFM,GM,TC,NA,CIP,ENR,NOR,OFX,SXT
<i>K. pneumoniae</i> 19-54	AM,AMC,CZ,CEC,CAZ,CFM,GM,AN,TC,NOR,OFX,SXT
<i>K. pneumoniae</i> 18-202	AM,CZ,CEC,CAZ,CFM,CFP,ATM,GM,TC,NA,CIP,ENR,NOR,OFX,SXT
<i>K. pneumoniae</i> 19-125	AM,CZ,CEC,CAZ,CFM,CFP,ATM,GM,TC,NA,CIP,ENR,NOR,OFX,SXT
<i>K. pneumoniae</i> 19-136	AM,AMC,CZ,CEC,CAZ,CFM,CFP,ATM,GM,TC,NA,CIP,ENR,NOR,OFX,SXT
<i>K. pneumoniae</i> 19-190	AM,AMC,CZ,CEC,CAZ,CFM,ATM,GM,AN,NA,CIP,ENR,NOR,OFX,SXT,CM
<i>K. pneumoniae</i> 19-247	AM,AMC,CZ,CEC,CAZ,CFMGM,AN,NA,CIP,ENR,NOR,OFX,CM

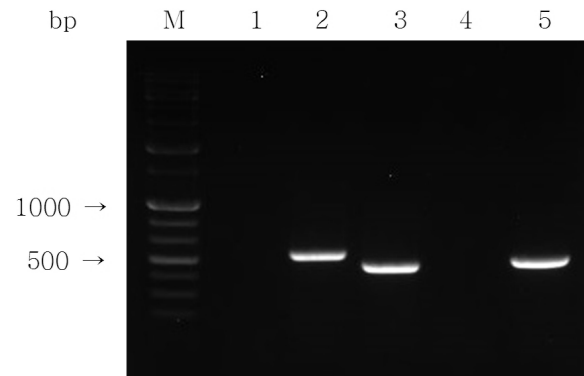
\*AM, ampicillin; AMC, amoxicillin-clavulanic acid; TZP, piperacillin/tazobactam; CZ, cefazolin; CEC, cefaclor; CAZ, ceftazidime; CTX, cefotaxime; CFM, cefepime; CFP, cefepime; ATM, aztreonam; GM, gentamicin; AN, amikacin; TC, tetracycline; NA, nalidixic acid; CIP, ciprofloxacin; ENR, enrofloxacin; NOR, norfloxacin; OFX, ofloxacin; SXT, sulfamethoxazole/trimethoprim; CM, chloramphenicol.

및 *qepA*의 출현빈도를 조사한 결과 *E. coli*에서 4주, *Ent. cloacae*에서 2주 및 *K. pneumoniae*에서 6주 등 총 12주(36.4%)에서 PMQR 유전자가 단독 또는 조합하여

검출되었다(Fig. 2, Table 5). PMQR 유전자 중 *aac(6')*-*lb-cr*가 9주로 가장 많았고 다음 *qnrB* 8주 및 *qnrS* 1주였다. *E. coli* 4주는 *aac(6')*-*lb-cr* 단독으로, *K. pneumo-*



**Fig. 1.** Detection of CTX-M type ESBL. Lanes: M, 100 bp DNA marker; 1, CTX-M-1 (516 bp); 2, CTX-M-2 (not detected); 3, CTX-M-8 (not detected); 4, CTX-M-9 (393 bp).



**Fig. 2.** Detection of PMQR genes. Lanes: M, 100 bp DNA marker; 1, *qnrA* (not detected); *qnrB* (513 bp); *qnrS* (431 bp); 4, *qepA* (not detected); 5, *aac(6)-Ib-cr* (596 bp).

**Table 5.** Distribution of CTX-M and PMQR genes in 33 cefotaxime-resistant gram-negative bacteria

Isolates	species	CTX-M genes	PMQR genes
<i>E. coli</i> 18-221	dog	CTX-9	-
<i>E. coli</i> 18-234	dog	CTX-1	-
<i>E. coli</i> 19-32	dog	CTX-9	<i>aac(6')-Ib-cr</i>
<i>E. coli</i> 19-44	dog	CTX-1	<i>aac(6')-Ib-cr</i>
<i>E. coli</i> 19-49	dog	CTX-9	-
<i>E. coli</i> 19-148	dog	CTX-1	<i>aac(6')-Ib-cr</i>
<i>E. coli</i> 19-154	dog	CTX-9	-
<i>E. coli</i> 19-158	dog	CTX-1	-
<i>E. coli</i> 19-194	dog	CTX-1	-
<i>E. coli</i> 19-212	cat	CTX-1	<i>aac(6')-Ib-cr</i>
<i>Ent. cloacae</i> 19-39	cat	-	<i>aac(6')-Ib-cr</i> ; <i>qnrB</i>
<i>Ent. cloacae</i> 19-61	cat	CTX-1	<i>aac(6')-Ib-cr</i> ; <i>qnrB</i>
<i>K. pneumoniae</i> 18-202	dog	CTX-1	<i>aac(6')-Ib-cr</i> ; <i>qnrB</i>
<i>K. pneumoniae</i> 19-54	cat	-	<i>qnrB</i>
<i>K. pneumoniae</i> 19-125	dog	CTX-1	<i>aac(6')-Ib-cr</i> ; <i>qnrB</i>
<i>K. pneumoniae</i> 19-136	dog	CTX-1	<i>aac(6')-Ib-cr</i> ; <i>qnrB</i>
<i>K. pneumoniae</i> 19-190	dog	CTX-9	<i>qnrB</i> ; <i>qnrS</i>
<i>K. pneumoniae</i> 19-247	dog	-	<i>qnrB</i>

*niae* 2주는 *qnrB* 단독으로, *Ent. cloacae* 2주와 *K. pneumoniae* 3주는 *aac(6')-Ib-cr*와 *qnrB* 조합으로, *K. pneumoniae* 1주는 *qnrB*와 *qnrS* 조합으로 나타났다. 반면 *qnrA*와 *qepA*는 검출되지 않았다. 한편 PMQR 유전자가 검출된 9주(75%)는 CTX-M형 ESBL과 동시에 검출되었다.

## 고 찰

이번 연구에서 개와 고양이 임상 가검물에서 총 126주의 그람 음성균이 분리되었다. 이중 *E. coli*가 가

장 많이 분리되었고 다음 *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* 및 *K. pneumoniae*가 많이 분리되었다. 이는 다른 연구자들의 결과와 유사하였다(Park 등, 2004; Kim 등, 2011; Awosilee 등, 2018). 우리의 이전 연구 결과 2009년부터 2011년에는 *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* 및 *K. pneumoniae*, 2016년부터 2017년에는 *E. coli*, *Ent. cloacae*, *K. pneumoniae* 및 *Proteus mirabilis*가 많이 분리되어 이들 균종이 대구지역 개와 고양지에서 흔히 분리되는 그람 음성균임을 알 수 있었다(Cho 등, 2013; Cho 등, 2019). 검체별로는 귀, 피부, 뇨, 생식기, 눈 및 코 등에서 많이 분리되었는데 이는 실험에 사용된 가검물의 수 및 질병의 유무와 관련이 있는 것으로 생각된다. 더욱이 이번 연구에서 검출된 그람 음성균들은 개와 고양이에서 요도, 피부, 귀, 연조직 및 호흡기 감염의 원인균으로 알려져 있다(Koenig, 2012).

CTX-M형 ESBL은 반려동물 유래 *Enterobacteriaceae*에서 가장 빈번히 검출되고 있고 빠르게 확산되고 있는 추세에 있다(Bonnet, 2004). 국내 개에서 CTX-M형 ESBL은 2009년 *E. coli*에서 최초로 보고되었다(Lim 등, 2009). 이번 연구에서 cefotaxime 내성 그람 음성균 33주 중 45.5%에서 CTX-M형 ESBL이 검출되었고, 이중 *E. coli*가 83.3%로 가장 많이 검출되었고 다음 *K. pneumoniae*에서 57.1% 및 *Ent. cloacae*에서 25%이었다. 이는 국내 반려동물에서 분리된 *E. coli*에서 1.9%(Tamang 등, 2012)와 33.3%(So 등, 2012), 미국의 16.7%(O'Keefe 등, 2010) 및 73.5%(Liu 등, 2016b), 중국의 40%(Sun 등, 2010) 및 이탈리아의 76.2%(Carattoli 등, 2005)의 성적보다 높았으나, 중국의 87.5%(Liu 등, 2016a) 보다는 낮았다. 반면 Hong 등(2019)이 국내

반려동물에서 분리한 cephalosporin 내성 *E. coli*의 58%, *K. pneumoniae*에서 69%의 성적보다는 *E. coli*에서는 높았으나 *K. pneumoniae*에서는 낮았다. 이러한 CTX-M형 ESBL 출현률의 차이는 ESBL 검출방법, 국가별, 지역별 항생제 사용량의 차이에 기인한 것을 생각된다. 한편 국내 개와 고양이에서 분리된 *Ent. cloacae*에서 CTX-M형 ESBL의 출현에 대한 보고는 거의 없다 (Cho 등, 2019). 우리의 이전 연구에서 개와 고양이 유래 ampicillin 내성 장내세균 26주에서 CTX-M형 ESBL을 생성하는 균주는 한 주도 없었다(Cho 등, 2013). 그러나 이후 ampicillin 내성 *E. coli*의 39.3% (Cho 등, 2017), PMQR 유전자가 검출된 *Enterobacteriaceae*의 90% (Cho 등, 2019)에서 CTX-M 유전자가 검출되어 대구 지역에서도 CTX-M형 ESBL은 빠른 속도로 확산되고 있음을 알 수 있었다.

1990년대 후반까지는 장내세균에서 주로 분리되는 ESBL형은 TEM과 SHV형이었으나, 근년에는 CTX-M형 ESBL이 그중에서도 CTX-M-1형에 속하는 CTX-M-15가 가장 빈번하게 분리되고 있다(Harada 등, 2016; Aslantas와 Yilmaz, 2017; Harada 등, 2017). CTX-M-1형에는 CTX-M-1, -3, -10, -11, -12, -15, -28 및 FEC-1, CTX-M-9형에는 CTX-M-9, -13, -14, -16, -17, -19, -21, -24, -27 및 TOHO-2 유전자가 포함되어 있다(Poirel 등, 2002). 한편 다른 연구자들은 개와 고양이 유래 *E. coli*에서 CTX-M-1, CTX-M-14 및 CTX-M-55가 가장 많이 분리되었다고 보고하였다(Carattoli 등, 2005; So 등, 2012; Hong 등, 2019). 이번 연구에서 공시균의 수는 적었지만 *E. coli*, *Ent. cloacae* 및 *K. pneumoniae*에서 CTX-M-1형이 가장 많이 검출되었지만 유전형은 확인하지 않았다. 추가적으로 이번 연구에서 검출된 CTX-M형 ESBL에 대한 유전형을 결정하기 위한 염기서열 분석이 필요하다.

PMQR의 존재는 ESBL 또는 AmpC  $\beta$ -lactamase의 산생과 밀접한 관련이 있다. 이번 연구에서 PMQR 유전자는 cefotaxime 내성 그람 음성균의 36.4%에서 확인되었고, 이들 *qnrB*, *qnrS* 및 *aac(6')-Ib-cr* 유전자는 단독 또는 조합하여 검출되었다. 균종별로는 *K. pneumoniae*에서 85.7%, *Ent. cloacae*에서 50%, *E. coli*에서 33.3%가 검출되었다. 이는 중국의 cephalosporin 내성 *E. coli*에서 80% (Liu 등, 2016a), 중국의 ceftiofur 내성 *Enterobacteriaceae*에서 66.7% (Ma 등, 2009), 미국의 ESBL 산생 *E. coli*에서 48.5% (Liu 등, 2016b), 터키의 ciprofloxacin 내성 *E. coli*에서 62.9% (Aslantas와 Yilmaz, 2017), 일본의 cephalosporin 내성 *Ent. cloacae*에서

100% (Harada 등, 2017) 보다는 낮았고, 이탈리아의 cephalosporin 내성 *K. pneumoniae*에서 63.2% (Donati 등, 2014) 보다는 높았지만, 영국의 cephalosporin 내성 *E. coli*에서 34% (Timofte 등, 2014), 독일의 ESBL 산생 *Enterobacteriaceae*에서 36.9% (Schmiedel 등, 2014)와는 유사하였다.

이번 연구에서 PMQR 생성 균주의 75%에서 PMQR 유전자는 CTX-M-1형 또는 CTX-M-9형 ESBL과 공존하여 나타났다. 이는 PMQR 유전자와 ESBL 유전자는 동일 plasmid 내에 존재하고 있는 것으로 생각된다 (Briales 등, 2012; Poirel 등, 2012). *aac(6')-Ib-cr*은 사람과 반려동물에서 가장 많이 검출되는 PMQR 유전자로 이번 연구에서도 *aac(6')-Ib-cr*이 가장 많이 검출되어 유사한 결과를 얻었다(Ma 등, 2009; Shaheen 등, 2013; Schmiedel 등, 2014). *aac(6')-Ib-cr*은 quinolone 계열의 항균제를 변형시켜 항균제의 기능을 못하게 하는 유전자이다(Rodríguez-Martínez 등, 2011). 더욱이 *aac(6')-Ib-cr*은 *E. coli*에서는 단독으로 검출되었지만 (Liu 등, 2016a), *Ent. cloacae*와 *K. pneumoniae*에서 *aac(6')-Ib-cr*는 *qnrB* 유전자와 조합하여 나타났다 (Donati 등, 2014; Harada 등, 2017). 이번 연구에서 *qnrB*는 *Ent. cloacae*와 *K. pneumoniae*에서만 검출되어 *qnrB*는 *Ent. cloacae*와 *K. pneumoniae* 사이에서 널리 유행함을 알 수 있었다(Harada 등, 2016; Harada 등, 2017). *qnrS*는 단독 또는 다른 PMQR 유전자와 조합하여 *Enterobacteriaceae*에서 보고되고 있다(Donati 등, 2014; Liu 등, 2016a; Aslantas와 Yilmaz, 2017; Zogg 등, 2018) 이번 연구에서도 *qnrS*는 *qnrB*와 함께 *K. pneumoniae* 1주에서 확인되었다. 한편 개와 고양이 유래 *Enterobacteriaceae*에서 *qnrA*와 *qepA*의 출현에 대한 보고는 드물다(Zogg 등, 2018; Ma 등, 2009; Cho 등, 2019). 이번 연구에서도 이들 유전자는 검출되지 않았다. 특히 PMQR 유전자의 출현은 quinolone에 의해 일어나는 선택적 압력과는 관련이 없으며 이들 유전자의 존재는 quinolone계 항생제보다는 cephalosporin계 항생제의 사용과 더 관련이 있는 것으로 알려져 있다 (Liao 등, 2013).

이번 조사에서 CTX-M형 ESBL을 생성하는 *Ent. cloacae*와 *K. pneumoniae*에서 ceftazidime에 대한 내성률은 각각 100%로 cefotaxime에 대한 내성률과 같았다. 그러나 *E. coli*의 경우 cefotaxime과 ceftazidime에 대한 내성률은 100%와 40%로 ceftazidime보다 cefotaxime에 대한 가수분해 활성이 크다는 것을 알 수 있었다. 일반적으로 CTX-M형 ESBL은 ceftazidime보다 cefotax-

ime를 더 효과적으로 분해하는 것으로 알려져 있다 (Bonnet, 2004). ESBL은 penicillin, 협범위 cephalosporin 뿐만 아니라 제 3, 4세대 cephalosporin, aztreonam 등 광범위 항균제도 가수분해하지만, cephamycin과 carbapenem에는 활성이 없으며, clavulanic acid, sulbactam 등  $\beta$ -lactamase inhibitor에 의해서 활성이 억제되는 특징이 있다 (Jacoby와 Medeiros, 1991). 이번 연구에서도 CTX-M형 ESBL 생성 균주는 penicillins, cephalosporins 및 monobactams 같은  $\beta$ -lactam계 항생제뿐만 아니라 fluoroquinolones, tetracycline 그리고 gentamicin 같은 항생제에 대해서도 높은 내성을 나타내었다. 반면  $\beta$ -lactamase 억제제인 amoxicillin-clavulanic acid와 piperacillin/tazobactam에는 낮은 내성을 나타내었다. 놀랍게도 이번 연구에서 CTX-M형 ESBL과 PMQR 유전자를 생성 균주는 모두 사용된 10~17종 이상의 약제에 내성을 보인 다약제 내성균으로 이들 균주에서 항생제 내성은 매우 심각한 수준에 있음을 확인 할 수 있었다.

이번 연구 결과 나타난 항생제 내성 세균과 내성 유전자의 출현은 항생제의 사용과 밀접한 관련이 있는 것으로 생각된다. 따라서 동물병원에서 질병치료 시 항생제의 신중한 사용이 요구된다.

## 결 론

Cefotaxime 내성 그람 음성균에서 CTX-M형 ESBL 및 PMQR 유전자의 출현빈도 및 항생제 내성 양상을 조사한 결과는 다음과 같다. 개와 고양이 가검물에서 총 126주의 그람 음성균을 분리하였다. *E. coli*가 41주로 가장 많았고 다음 *Pseudomonas aeruginosa* 25주, *Proteus mirabilis* 14주, *Klebsiella pneumoniae* 9주, *Sphingomonas paucimobilis* 7주, *Enterobacter cloacae* 및 *Serratia marcescens* 각각 5주 등의 순이었다. Cefotaxime에 내성을 보인 그람 음성균 33주 중 CTX-M형 ESBL은 *E. coli*에서 10주, *Ent. cloacae*에서 1주 및 *K. pneumoniae*에서 4주 등 총 15주(45.5%)에서 검출되었다. 유전자형별로는 CTX-M-1형이 10주(66.7%), CTX-M-9형이 5주(33.3%) 검출되었다. 그러나 CTX-M-2형 및 CTX-M-8형은 검출되지 않았다. 또한 PMQR 유전자는 *E. coli*에서 4주, *Ent. cloacae*에서 2주 및 *K. pneumoniae*에서 6주 등 총 12주(36.4%)에서 검출되었다. PMQR 유전자 중 *aac(6)-Ib-cr*가 9주로 가장 많았고 다음 *qnrB* 8주 및 *qnrS* 1주순이었으며, 이들 PMQR

유전자는 단독 또는 조합하여 나타났다. 반면 *qnrA*와 *qepA* 유전자는 검출되지 않았다. CTX-M형 ESBL 또는 PMQR 생성균주는 penicillins, cephalosporins, monobactams 및 fluoroquinolones 항생제뿐만 아니라 tetracycline, gentamicin, trimethoprim/sulfamethoxazole 등의 항생제에도 높은 내성률을 나타내었다(94.4~61.1%). 더욱이 이들 균주는 모두 다약제 내성균이었다.

## CONFLICT OF INTEREST

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

## ORCID

Jae-Keun Cho, <https://orcid.org/0000-0003-3498-8101>

Jung-Woo Lee, <https://orcid.org/0000-0002-1808-6407>

Jeong-Mi Kim, <https://orcid.org/0000-0002-1654-2192>

Dae-Hyun Park, <https://orcid.org/0000-0003-3732-0238>

Ji-yeon Jeong, <https://orcid.org/0000-0001-6228-7164>

## REFERENCES

- Aslantaş Ö, Yılmaz EŞ. 2017. Prevalence and molecular characterization of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) and plasmidic AmpC  $\beta$ -lactamase (pAmpC) producing *Escherichia coli* in dogs. *J Vet Med Sci* 79: 1024-1030.
- Awosile BB, McClure JT, Saab ME, Heider LC. 2018. Antimicrobial resistance in bacteria isolated from cats and dogs from the Atlantic provinces, Canada From 1994-2013. *Can Vet J* 59: 885-893.
- Bonnet R. 2004. Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother* 48: 1-14.
- Briales A, Rodríguez-Martínez JM, Velasco C, de Alba PD, Rodríguez-Baño J, Martínez-Martínez L, Pascual A. 2012. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants *qnr* and *aac(6)-Ib-cr* in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in Spain. *Int J Antimicrob Agents* 39: 431-434.
- Carattoli A, Lovari S, Franco A, Cordaro G, Di Matteo P, Battisti A. 2005. Extended-spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli* isolated from dogs and cats in Rome, Italy, from 2001 to 2003. *Antimicrob Agents Chemother* 49: 833-835.



- Cho JK, Kim JH, Kim JM, Park CK, Kim KS. 2013. Antimicrobial resistance and distribution of resistance gene in *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa* isolated from dogs and cats. *Korean J Vet Res* 36: 171-180.
- Cho JK, Kim JM, Kim HD, Kim KH. 2017. Antimicrobial-resistant *Escherichia coli* isolated from dogs and cats at animal hospitals in Daegu. *Korean J Vet Res* 40: 193-200.
- Cho JK, Kim JM, Kim HD, Kim KH, Lim HS, Yang CR. 2019. Characterization of plasmid-mediated quinolone resistance genes in *Enterobacteriaceae* isolated from companion animals. *Korean J Vet Res* 42: 17-24.
- Choi SH, Lee JE, Park SJ, Kim MN, Choo EJ, Kwak, YG, Jeong JY, Woo JH, Kim NJ, Kim YS. 2007. Prevalence, microbiology, and clinical characteristics of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Enterobacter* spp., *Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii* and *Morganella morganii* in Korea. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 26: 557-561.
- CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2013. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacterial isolated from animals; approved standard. fourth edition and supplement, CLSI document VET01-A4 (standard) and VET01-S2 (supplement), in Clinical and Laboratory Standards Institute (Wayne, PA).
- Donati V, Feltrin F, Hendriksen RS, vendsen CA, Cordaro G, Garcia-Fernández A, Lorenzetti S, Lorenzetti R, Battisti A, Franco A. 2014. Extended-spectrum beta-lactamases, AmpC beta-lactamases and plasmid mediated quinolone resistance in *Klebsiella* spp. from companion animals in Italy. *PLoS One* 9: e90564.
- Harada K, Shimizu T, Mukai Y, Kuwajima K, Sato T, Kajino A, Usui M, Tamura Y, Kimura Y, Miyamoto T, Tsuyuki Y, Ohki A, Kataoka Y. 2016. Phenotypic and Molecular Characterization of Antimicrobial Resistance in *Klebsiella* spp. isolates from companion animals in Japan: Clonal dissemination of multidrug-resistant extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Front Microbiol* 7: 1021.
- Harada K, Shimizu T, Mukai Y, Kuwajima K, Sato T, Kajino A, Usui M, Tamura Y, Kimura Y, Miyamoto T, Tsuyuki Y, Ohki A, Kataoka Y. 2017. Phenotypic and molecular characterization of antimicrobial resistance in *Enterobacter* spp. isolates from companion animals in Japan. *PLoS One* 12: e0174178.
- Hong JS, Song W, Park HM, Oh JY, Chae JC, Shin S, Jeong SH. 2019. Clonal Spread of Extended-spectrum cephalosporin-resistant *Enterobacteriaceae* between companion animals and humans in South Korea. *Front Microbiol* 10: 1371.
- Jacoby GA. 2005. Mechanisms of resistance to quinolones. *Clin Infect Dis* 41: S120-126.
- Jacoby GA and Medeiros AA. 1991. More extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 35: 1697-1704.
- Jeong HS, Bae IK, Shin JH, Jung HJ, Kim SH, Lee JY, Oh SH, Kim HR, Chang CL, Kho WG, Lee JN. 2011. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance and its association with extended-spectrum beta-lactamase and AmpC beta-lactamase in *Enterobacteriaceae* *Korean J Lab Med* 31: 257-264.
- Kim DK, Shin DH, Kim HY, Byun JW, Lee KH, Lee OS, Jung BY. 2011. Antimicrobial susceptibility of gram-negative bacteria from dogs and cats. *J Vet Clin* 28: 348-351.
- Koenig A. 2012. Gram-negative bacterial infection. In: Greene CE, editor. *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. p.349-359. St Louis: Elsevier Saunders.
- Liao CH, Hsueh PR, Jacoby GA, Hooper DC. 2013. Risk factors and clinical characteristics of patients with *qnr*-positive *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia. *J Antimicrob Chemother* 68: 2907-2914.
- Lim SK, Lee HS, Nam HM, Jung SC, Bae YC. 2009. CTX-M-type beta-lactamase in *Escherichia coli* isolated from sick animals in Korea. *Microb Drug Resist* 15: 139-142.
- Liu X, Liu H, Li Y, Hao C. 2016a. High prevalence of  $\beta$ -lactamase and plasmid-mediated quinolone resistance genes in extended-spectrum cephalosporin-resistant *Escherichia coli* from dogs in Shaanxi, China. *Front Microbiol* 16: 1843.
- Liu X, Thungat K, Boothe DM. 2016b. Occurrence of OXA-48 carbapenemase and other  $\beta$ -lactamase genes in ESBL-producing multidrug resistant *Escherichia coli* from dogs and cats in the United States, 2009-2013. *Front Microbiol* 7: 1057.
- Livermore DM, Canton R, Gniadkowski M, Nordmann P, Rossolini GM, Arlet G, Ayala J, Coque TM, Kern-Zdanowicz I, Luzzaro F, Poirel L, Woodford N. 2007. CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *J Antimicrob Chemother* 59: 165-174.
- Ma J, Zeng Z, Chen Z, Xu X, Wang X, Deng Y, Lü D, Huang L, Zhang Y, Liu J, Wang M. 2009. 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* 53: 519-524.
- Martínez-Martínez, Pascual LA, Jacoby GA. 1998. Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet*. 351: 797-799.
- O'Keefe A, Hutton TA, Schifferli DM, Rankin SC. 2010. First detection of CTX-M and SHV extended-spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli* urinary tract isolates from dogs and cats in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 54: 3489-3492.
- Pai H, Choi EH, Lee HJ, Hong JY, Jacoby GA. 2001. Identification of CTX-M-14 extended-spectrum  $\beta$ -lactamase in clinical isolates of *Shigella sonnei*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* in Korea. *J Clin Microbiol* 39: 3747-3749.
- Park SW, Seo KW, Hwang CY, Youn HW, Han HY. 2004. Isolation of bacteria from clinical specimens in veterinary medical teaching hospital and trend of antimicrobial

- susceptibility. *J Vet Clin* 21: 7-14.
- Paterson DL, Hujer KM, Hujer AM, Yeiser B, Bonomo MD, Rice LB, Bonomo RA; International Klebsiella Study Group. 2003. Extended-spectrum beta-lactamases in *Klebsiella pneumoniae* bloodstream isolates from seven countries: dominance and widespread prevalence of SHV- and CTX-M-type beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 47: 3554-3360.
- Poirel L, Cattoir V, Nordmann P. 2012. Plasmid-mediated quinolone resistance; interactions between human, animal, and environmental ecologies. *Front Microbiol* 3: 24.
- Poirel L, Kämpfer P, Nordmann P. 2002. Chromosome-encoded Ambler class A beta-lactamase of *Kluyvera georgiana*, a probable progenitor of a subgroup of CTX-M extended-spectrum beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 46: 4038-4040.
- Rodríguez-Martínez JM, Cano ME, Velasco C, Martínez-Martínez L, Pascual A. 2011. Plasmid-mediated quinolone resistance: an update. *J Infect Chemother* 17: 149-182.
- Rossolini GM, D'Andrea MM, Mugnaioli C. 2008. The spread of CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamases. *Clin Microbiol Infect* 14: 33-41.
- Schmiedel J, Falgenhauer L, Domann E, Bauerfeind R, Prenger-Berninghoff E, Imirzalioglu C, Chakraborty T. 2014. Multiresistant extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* from humans, companion animals and horses in Central Hesse, Germany. *BMC Microbiol* 14: 187.
- Shaheen BW, Nayak R, Foley SL, Boothe DM. 2013. Chromosomal and plasmid-mediated fluoroquinolone resistance mechanisms among broad-spectrum-cephalosporin-resistant *Escherichia coli* isolates recovered from companion animals in the USA. *J Antimicrob Chemother* 68: 1019-1024.
- Shibata N, Kurokawa H, Doi Y, Yagi T, Yamane K, Wachino J, Suzuki S, Kimura K, Ishikawa S, Kato H, Ozawa Y, Shibayama K, Kai K, Konda T, Arakawa Y. 2006. PCR classification of CTX-M-type beta-lactamase genes identified in clinically isolated gram-negative bacilli in Japan. *Antimicrob Agents Chemother* 50: 791-795.
- So JH, Kim J, Bae IK, Jeong SH, Kim SH, Lim SK, Park YH, Lee K. 2012. Dissemination of multidrug-resistant *Escherichia coli* in Korean veterinary hospitals. *Diagn Microbiol Infect Dis* 73: 195-199.
- Sun Y, Zeng Z, Chen S, Ma J, He L, Liu Y, Deng Y, Lei T, Zhao J, Liu JH. 2010. High prevalence of bla (CTX-M) extended-spectrum  $\beta$ -lactamase genes in *Escherichia coli* isolates from pets and emergence of CTX-M-64 in China. *Clin Microbiol Infect* 16: 1475-1481.
- Tamang MD, Nam HM, Jang GC, Kim SR, Chae MH, Jung SC, Byun JW, Park YH, Lim SK. 2012. Molecular characterization of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing and plasmid-mediated AmpC  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* isolated from stray dogs in South Korea. *Antimicrob Agents Chemother* 56: 2705-2712.
- Tian GB, Wang HN, Zhang AY, Zhang Y, Fan WQ, Xu CW, Zeng B, Guan ZB, Zou LK. 2012. Detection of clinically important  $\beta$ -lactamases in commensal *Escherichia coli* of human and swine origin in western China. *J Med Microbiol* 61: 233-238.
- Timofte D, Maciucă IE, Williams NJ, Wattret A, Schmidt V. 2016. Veterinary hospital dissemination of CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* ST410 in the United Kingdom. *Microb Drug Resist* 22: 609-615.
- Wang G, Huang T, Surendraiah PK, Wang K, Komal R, Zhuge J, Chern CR, Kryszuk AA, King C, Wormser GP. 2013. CTX-M  $\beta$ -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in suburban New York City, New York, USA. *Emerg Infect Dis* 19: 1803-1810.
- Zogg AL, Simmen S, Zurfluh K, Stephan R, Schmitt SN, Nüesch-Inderbinen M. 2018. High prevalence of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Enterobacteriaceae* among clinical isolates from cats and dogs admitted to a veterinary hospital in Switzerland. *Front Vet Sci* 5: 62.