

부산의 한 대학병원에서 분리된 *Acinetobacter baumannii*의 PER-1 Extended-Spectrum β -Lactamase 생성 현황

김정만¹, 강현경², 정석훈^{3,4}, 배일권³, 권수봉³, 조병규³, 김돌만³, 김현주⁴, 김아성¹

동아대학교 의과대학 진단검사의학교실¹, 부산대학교병원 치주과²,
고신대학교의과대학 진단검사의학교실³, 고신대학교복음병원 적정질관리실⁴

Prevalence of PER-1 Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Clinical Isolates of *Acinetobacter baumannii* in a University Hospital, Busan, Korea

Jeong Man Kim¹, Hyun Kyung Kang², Seok Hoon Jeong^{3,4}, Il Kwon Bae³, Su Bong Kwon³, Byung Kyu Cho³,
Dool Man Kim³, Hyun Joo Kim⁴, and A Sung Kim¹

Department of Laboratory Medicine, Dong-A University College of Medicine¹, Department of Periodontology, Pusan National University Hospital², Department of Laboratory Medicine, Kosin University, College of Medicine³,
Department of Quality Improvement, Kosin University Gospel Hospital⁴

Background : In recent years, *Acinetobacter baumannii* isolates acquired resistance to cefepime have increased significantly. The aim of this study was to survey the prevalence of PER-1 extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *A. baumannii* isolates in a University Hospital, Busan, Korea.

Methods : Antimicrobial susceptibilities were tested by the disk diffusion method, and double disk synergy test was performed for screening of ESBL-production. MICs were determined by agar dilution method. The isoelectric points of β -lactamases were determined by isoelectric focusing. Transferability of cefepime-resistance were tested by conjugation. *bla*_{PER-1} and *bla*_{PER-2} alleles were detected by PCR, and the DNA sequences of amplified products were determined by using the dideoxy-chain termination method.

Results : Among 51 clinical isolates of *A. baumannii* intermediate or resistant to cefepime, 10 isolates (19.6%) showed positive results in double disk synergy test. PCR-based experiments detected *bla*_{PER-1} gene in all the 10 isolates. All the isolates contained three β -lactamase bands: pI 5.3, 7.9, and 9.4. MICs of ampicillin, piperacillin, cephalothin, cefoxitin, cefoperazone, ceftazidime, cefotaxime, cefepime, and aztreonam were >256 mg/L, respectively, and them of imipenem were 8-16 mg/L.

Conclusion : The prevalence of PER-1-producing *A. baumannii* strains in Busan was less than that of in Seoul. But an outbreak of infection caused by this strain in an intensive care unit shows that spread of PER-1-producing *A. baumannii* strains can be anticipated in a near future. Prevention of hospital infection by these resistant microorganisms are needed.

(Korean J Clin Microbiol 2004;7(1):20-26)

Key words : *Acinetobacter baumannii*, PER-1, Extended-Spectrum β -Lactamase

접수번호 : CM 7-1-01

본 논문은 2002학년도 고신대학교 의과대학 연구지원으로 수행되었음

교신저자 : 정석훈

(602-702) 부산광역시 서구 암남동 34번지

고신대학교의과대학 진단검사의학교실

TEL : 051)990 - 6373 FAX : 051)990 - 3034

E-mail : kscpjsh@ns.kosinmed.or.kr

서 론

*Acinetobacter baumannii*는 호기성의 포도당 비발효 그람 음성구균이다[1]. *A. baumannii*는 자연과 병원 환경에 광범위하게 분포하고 있으며, 병원감염의 가장 흔한 원인균 중 하나이다. 이 세균은 호흡기, 요로, 창상 및 혈

류의 병원감염을 흔히 유발하며, 복막염, 심내막염, 수막염, 골수염도 일으키는 것으로 보고되었다. *A. baumannii*는 염색체성 AmpC β -lactamase를 생성하기 때문에 여러 β -lactam 항균제에 내성이지만 cefepime에는 흔히 감수성이다. 그러나 최근 서울의 한 대학병원에서 분리된 *A. baumannii*의 cefepime 내성율이 1991년의 29%에서 2000년에는 47%로 현저하게 증가하였으며, 이들 cefepime 내성균주 중 대부분이 class A extended-spectrum β -lactamase (ESBL)의 일종인 PER-1을 생성하였다는 보고가 있었다[2].

PER-1은 프랑스에서 분리된 *Pseudomonas aeruginosa*에서 처음 발견되었으며[3], 이후 이태리와 터키에서도 이 효소를 생성하는 *A. baumannii*와 *P. aeruginosa*가 분리되었다[4,5]. 또한 아르헨티나에서 분리된 *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium*에서는 이 효소의 변종인 PER-2가 발견되었다[6]. PER-1을 생성하는 세균은 ceftazidime과 cefepime을 포함하는 cephalosporin 대부분과 aztreonam에 내성이기 때문에 임상적으로 매우 위협적인 존재이다. 그러나 아직 부산에서는 임상검체에서 분리되는 *A. baumannii*의 cefepime에 대한 내성 현황과 그 이전에 대한 체계적인 연구가 수행된 바 없다.

이에 본 연구에서는 부산의 한 대학병원에서 분리된 cefepime 내성 *A. baumannii*를 대상으로 PER-1 ESBL의 생성현황을 조사함으로써 이 세균의 치료지침과 내성세균의 확산 방지책을 마련하는데 필요한 기초자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 대상

2002년 1월-6월에 부산의 한 대학병원 환자에서 분리된 cefepime에 내성 혹은 중간내성인 *A. baumannii* 51주를 대상으로 하였다. 균종 동정은 전통적인 생화학적 방법으로 하였으며[1], Vitek GNI card (bioMerieux Vitek Inc, Hazelwood, MO, USA)로 동정을 확인하였다.

2. 항균제 감수성 시험

National Committee for Clinical laboratory Standards (NCCLS) 디스크 확산법으로 시험하였다[7]. 즉, 시험세균을 MacConkey 한천 (Difco, Detroit, MI, USA)에 계대배양하여서 1개의 독립된 집락을 백금침으로 채취한 후, Tryptic soy broth (TSB, Difco)에 접종하여 McFarland nephelometer No. 0.5로 탁도를 맞추었다. 세균 부유액을 면봉으로 Mueller-Hinton 한천 (Difco)에 접종한 후, 시험항균제 디스크를 놓았다. 세균이 접종된 배지는 35°C 항온기에 18시간 배양하고, 각 항균제 디스크 주위에 생긴 억제대의 크기를 측정 후 NCCLS 기준에 따라 감수성을 판정하였다. 항균제 디스크로는 ampicillin, piperacillin, am-



Fig. 1. An example of double disk synergy obtained with *A. baumannii* producing PER-1 extended-spectrum β -lactamase. Four 30 μ g-antibiotic disks (cefotaxime, ceftazidime, cefepime, and aztreonam) were placed 1cm apart (margin to margin) around a disk of 20 μ g of amoxicillin plus 10 μ g of clavulanic acid. Distortion of the zone sizes in a synergic fashion indicates production of extended-spectrum β -lactamase.

picillin-sulbactam, piperacillin-tazobactam, cephalothin, cefoxitin, cefotetan, cefotaxime, ceftazidime, aztreonam, cefepime, imipenem, amikacin, gentamicin, tobramycin 및 ciprofloxacin 디스크 (이상 BBL, Cockeysville, MI, USA)를 사용하였다. 결과의 정확성을 위하여 참조균주 *Escherichia coli* ATCC 25922의 감수성을 동시에 시험하였다.

3. Double disk synergy (DDS) 시험

Jarlier 등[8]의 방법으로 시험하였다. 즉, 순배양된 집락을 백금침으로 채취한 후, TSB에 접종하여 McFarland nephelometer No. 0.5로 탁도를 맞추었다. 세균 부유액을 면봉으로 Mueller-Hinton 한천에 고르게 접종한 후, 배지의 중앙에는 amoxicillin-clavulanic acid (20/10 μ g, BBL), 그 주위에는 30 μ g의 cefotaxime, ceftazidime, aztreonam 및 cefepime 디스크를 놓았다. 중앙과 주변 디스크의 가장자리 간격은 1 cm가 되게 하였다. 세균이 접종된 배지는 35°C 항온기에 18시간 배양 후 결과를 판독하였는데, 두 디스크 사이에서 상승효과에 의한 억제대의 확장현상이 관찰되면 양성으로 판정하였다(Fig. 1).

4. 최소억제농도(minimal inhibitory concentration, MIC) 측정

NCCLS 평판희석법[9]으로 시험하였다. 시험항균제로

는 ampicillin (동화, 서울), ampicillin-sulbactam, piperacillin, piperacillin-tazobactam (일성, 안산), cephalothin, cefoperazone, cefoxitin (Merck Sharp & Dohme), cefotaxime (한독, 서울), ceftazidime (한미, 화성), aztreonam (동아, 안산), cefepime 및 imipenem (중외, 서울)을 사용하였다. 순배양된 집락을 멸균된 TSB에 풀어서 McFarland No. 0.5로 탁도를 맞춘 후, Steers replicator (Craft Machine, Chester, PA, USA)로 시험항균제가 각각 0.06-256 mg/L 농도로 함유된 Mueller-Hinton 한천에 접종하였다. 35°C로 호기성 환경에서 18시간 배양 후 집락의 증식 양상을 관찰하여 MIC를 결정하였다. 정도관리를 위하여 참조균주인 *E. coli* ATCC 25922를 동시에 시험하였다.

5. 접합에 의한 내성 전달

Yong 등[2]의 방법으로 시험하였다. DDS 양성인 균주를 대상으로 하였으며, azide-내성인 *A. baumannii* YMC-02/8/P534를 내성수여자로 사용하였다. 내성공여자와 수여자를 각각 Brain heart infusion (Difco) 액체배지에 접종하여서 3시간 진탕배양하였다. 공여자 배양액 0.2 mL와 수여자 배양액 2.2 mL를 시험관에 넣어서 37°C로 1시간 배양 후, cefepime 2 mg/L와 azide 100 mg/L가 함유된 MacConkey 한천에 접종하였다. 37°C에서 18시간 배양 후 transconjugant를 선별하였다. 내성 전달의 확인을 위해서 transconjugant의 cefepime에 대한 감수성을 디스크 확산법으로 확인하였다.

6. Isoelectric focusing (IEF)

Matthew 등[10]의 방법에 따랐다. 순수 배양된 집락에서 crude extract를 추출하였다. Crude extract를 polyacrylamide gel (pH 3.5 to 9.5; Pharmacia LKB, Piscataway, NJ, USA)에 접종하고 LKB Multiphor II apparatus (Pharmacia LKB)를 이용하여 전기 영동하였다. IEF한 Gel을 0.05% (500 µg/ml) nitrocefin 용액 (Becton Dickinson Microbiology Systems, Cockeysville, MD, USA)에 염색하여서 β-lactamase의 pI를 측정하였다.

7. Primer 고안

PER-1과 PER-2 ESBL의 염기서열은 GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)에서 취하였다. DNA Space version 3.02 (Genetic Systems, Hitachi, Japan)와 Vector NTI Suite (InforMax, Frederick, MD, USA)을 사용한 multialignment 분석 결과에 기초하여 PER-1과 PER-2 ESBL 유전자의 특이적인 부분을 primer로 고안하였다. 고안된 primer와 유전자의 염기서열 동정은 BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)로 분석하였다. *bla*_{PER-1} 및 *bla*_{PER-2} 유전자의 검출을 위해 고안한 시발체의 염기서열은 PER-1-F

(5' -GTT AAT TTG GGC TTA GGG CAG A-3'), PER-1-R (5' -CAG CGC AAT CCC CAC TGT-3') 및 PER-2-F (5' -GGA CAG TCG TAT GAA TGT CAT C-3'), PER-2-R (5' -GCT CAA TCC GGA CTC ACT-3')이었다.

8. ESBL 유전형 시험

중합연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)으로 시험하였다. 시험세균을 TSB에 접종하여 37°C로 하룻밤 진탕배양하였다. 배양액 1 mL를 취하여서 5분간 13,000 Xg로 원침 후, 상층액은 버리고, 침사는 증류수 500 µL에 부유시켰다. 이를 10분간 끓인 후, 13,000 Xg로 원침하고, 상층액을 취하여서 DNA 추출액으로 사용하였다. DNA 추출액 5 µL, primer 각 1 µL, deoxynucleotide triphosphates (dNTP) 2.5 mM (8 µL), Taq DNA polymerase 2.5 U (0.5 µL), 10X buffer 10 µL 및 증류수 75.5 µL를 혼합하여 premix를 만들었다. 이를 Gene Amp PCR System 9600 (Perkin-Elmer Centus Corp., Norwalk, CT, USA)으로 94°C로 25초간 denaturation, 54°C로 40초간 annealing, 72°C로 50초간 extension하는 30 cycle의 PCR을 시행하였다. 증폭산물 10 µL를 2% agarose gel (Promega, Madison, WI, USA)에 넣고 40분간 전기영동하여서 band를 확인하였다. 증폭산물을 DNA extraction kit (Quiagene, Hiden, Germany)로 agarose gel에서 분리 후, Sequenase Version 2.0 DNA sequencing kit (U.S. Biochemicals, Cleveland, OH, USA)를 이용하여서 dideoxy-mediated chain termination법으로 양방향으로 염기서열을 분석하였다[11].

결 과

1. 항균제 감수성 양상

대상균주 51주 중 4주는 cefepime에 중간내성이었으며, 나머지 균주 모두는 이 항균제에 내성이었다. 시험균주 대부분은 imipenem을 포함한 β-lactam 항균제 모두에 내성이었으며, aminoglycoside와 ciprofloxacin에도 내성이었다 (Table 1).

2. ESBL 생성균주 선별

대상균주 51주 중 10주 (19.6%)에서 amoxicillin-clavulanic acid와 cefepime 디스크 사이의 억제대가 확장되는 양상이 관찰되었으며, amoxicillin-clavulanic acid와 cefotaxime, ceftazidime 혹은 aztreonam 디스크 사이의 억제대가 확장되는 양상이 관찰된 균주는 없었다 (Fig. 1).

3. ESBL 유전형

대상균주 중 10주는 *bla*_{PER-1} 유전자 검출을 위한 PCR에

Table 1. Antimicrobial susceptibilities of *A. baumannii* isolates (n=51) intermediate or resistant to cefepime

| Antimicrobial agents | % | | |
|-------------------------|-------------|--------------|-----------|
| | Susceptible | Intermediate | Resistant |
| Ampicillin | 0 | 0 | 100 |
| Ampicillin-sulbactam | 2 | 8 | 90 |
| Piperacillin | 0 | 0 | 100 |
| Piperacillin-tazobactam | 0 | 2 | 98 |
| Cephalothin | 0 | 0 | 100 |
| Cefoxitin | 0 | 0 | 100 |
| Cefotetan | 0 | 0 | 100 |
| Cefotaxime | 0 | 0 | 100 |
| Ceftazidime | 0 | 2 | 98 |
| Cefepime | 0 | 8 | 92 |
| Aztreonam | 0 | 2 | 98 |
| Imipenem | 2 | 0 | 98 |
| Gentamicin | 0 | 0 | 100 |
| Tobramycin | 0 | 0 | 100 |
| Amikacin | 0 | 0 | 100 |
| Ciprofloxacin | 2 | 0 | 98 |

양성이었고, 이들 균주 모두는 중환자실 환자의 검체에서 분리된 것이었다 (Table 2). *bla*_{PER-2} 유전자 양성인 균주는 없었다. PCR 증폭산물을 이용하여서 염기서열분석을 하였으며, *A. baumannii* 10주 모두의 유전자 증폭산물의 염기서열은 *P. aeruginosa* RNL-1 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>, accession no. Z21957)에서 검출된 *bla*_{PER-1} 유전자와 100% 일치하였다.

4. IEF

*bla*_{PER-1} 유전자 양성 균주를 대상으로 pI를 측정하였으며, 대상균주 모두에서 pI 5.3, 7.9 및 9.4의 β -lactamase가 관찰되었다.

5. 접합에 의한 내성 전달

3회 이상 반복된 시험에도 불구하고 *bla*_{PER-1} 유전자 양성 *A. baumannii*의 cefepime 내성은 수여자에게 전달되지 않았다.

6. MIC

*bla*_{PER-1} 유전자 양성인 10주 모두에 대한 ampicillin과 piperacillin의 MIC는 >256 mg/L로 높았으며, ampicillin-sulbactam의 MIC는 32/16-64/32 mg/L, piperacillin-tazobactam은 256/32 mg/L로 β -lactamase 억제제를 첨가한 경우 MIC가 현저하게 낮아졌다. Cephalothin, cefoxitin, cefoperazone, ceftazidime, cefotaxime, cefepime 등 cephalosporin계

항균제 모두와 aztreonam의 이들 균주에 대한 MIC는 >256 mg/L로 높았으며, imipenem의 MIC는 9주에 대해서는 8 mg/L로 중간, 1주에 대해서는 16 mg/L로 내성이었다 (Table 2).

고 찰

β -lactam 제제는 가장 널리 사용되고 있는 항균제의 하나로, penicillin, cephem, monobactam, carbapenem 등 다양한 계열로 분류되는 150가지 이상의 β -lactam 항균제가 임상에서 사용되고 있다[12]. β -lactam 항균제는 peptidoglycan의 생성에 필수 효소인 penicillin binding protein을 불활성화하여서 세포벽 합성을 억제함으로써 그람 음성간균을 살균한다[13]. 장내세균 감염증에 임상적 효용성이 있는 첫 penicillin계 항균제인 ampicillin이 소개된 이후, β -lactam 항균제는 장내세균에 의한 감염증의 치료에 광범위하게 사용되어 왔다[14]. 그러나 항균제 사용의 증가는 내성세균을 양산하는 부작용을 동반하였으며, 이들 내성세균의 치료를 위해서 새로운 항균제를 개발하여야 하는 악순환이 되풀이 되어왔다.

광범위 cephalosporin과 aztreonam은 세균의 세포외막 투과도가 높고 TEM-1, SHV-1 등 broad-spectrum β -lactamase에 안정하기 때문에 *Acinetobacter*에 의한 감염증의 치료제로 널리 사용되어 왔다[15]. 그러나 근래 이들 광범위 β -lactam 항균제에 대한 내성을 획득한 *Acinetobacter*가 현저히 증가하고 있으며, class A ESBL인 PER-1의 생성은 그 내성의 중요한 기전으로 간주되고 있다[2].

본 연구에서 확인된 *bla*_{PER-1} 양성 10주 모두는 DDS 시험에서 cefepime과 amoxicillin-clavulanic acid 디스크 사이에 억제대가 확장되는 양상을 보였기에 class A의 ESBL을 생성함을 추측할 수 있었다[8]. 또한 이들 균주에 대한 ampicillin의 MIC는 >256 mg/L인데 반하여 ampicillin-sulbactam의 MIC는 32/16-64/32 mg/L로 β -lactamase 억제제가 첨가된 경우 MIC가 현저하게 감소하는 class A ESBL 생성균주의 특징적인 양상을 보였다[16].

*bla*_{PER-1} 양성 10주 모두는 pI 5.3, 7.9 및 9.4의 β -lactamase를 생성함을 IEF으로 확인할 수 있었는데, 이 중 pI 5.3 β -lactamase는 PER-1, pI 9.4 β -lactamase는 *A. baumannii*의 종특이적 염색체성 cephalosporinase로 추측된다[5,17]. 본 연구의 대상균주 10주에 대한 imipenem의 MIC는 8-16 mg/L로 중간내성 혹은 내성이었는데, PER-1 ESBL이나 염색체성 cephalosporinase는 imipenem에 대한 활성이 없으므로 다른 내성 기전이 존재하는 것으로 추측된다. Carbapenemase의 존재를 확인하기 위해 Hodge 변법[18]으로 시험하였으나 대상균주 모두 음성반응을 보였으므로 (data not shown), 이들 균주의 imipenem 내성은 세포외막의 투과도 저하에 의한 것으로 생각되었다[17]. 따라서 pI 7.9의 β -lactamase는 imipenem에 대한 활성이 없는 효소로 추측되며, 이 효소의 특성을 규명하기 위한 추가적인

Table 2. Characteristics of *A. baumannii* isolates harboring *bla_{IMP-1}* gene

| No. | Patient | | | Specimen | Minimal inhibitory concentrations (mg/L) of: | | | | | | | | | | | | |
|-----|---------|-----|------------------------------|----------|--|------|------------------|------|------------------|------|------|------|------|------|------|------|-----|
| | Age | Sex | Underlying disease | | Ward | AMP | A/S ¹ | PIP | P/T ² | CEP | FOX | CFP | CAZ | CTX | FEP | AZT | IMP |
| 1 | 41 | M | Cerebral concussion | ICU | Sputum | >256 | 64/32 | >256 | 256/32 | >256 | >256 | >256 | >256 | >256 | >256 | >256 | 8 |
| 2 | 64 | F | Cerebral infarction | ICU | Tip of subclavian vein catheter | >256 | 64/32 | >256 | 256/32 | >256 | >256 | >256 | >256 | >256 | >256 | >256 | 8 |
| 3 | 77 | M | Fracture, thoracic vertebrae | ICU | Sputum | >256 | 64/32 | >256 | 256/32 | >256 | >256 | >256 | >256 | >256 | >256 | >256 | 8 |
| 4 | 61 | F | Cerebral infarction | ICU | Sputum | >256 | 32/16 | >256 | 256/32 | >256 | >256 | >256 | >256 | >256 | >256 | >256 | 8 |
| 5 | 73 | M | Malignant neoplasm of kidney | ICU | Sputum | >256 | 64/32 | >256 | 256/32 | >256 | >256 | >256 | >256 | >256 | >256 | >256 | 8 |
| 6 | 43 | M | Malignant neoplasm of brain | ICU | Sputum | >256 | 64/32 | >256 | 256/32 | >256 | >256 | >256 | >256 | >256 | >256 | >256 | 8 |
| 7 | 70 | F | Subarachnoid hemorrhage | ICU | Sputum | >256 | 64/32 | >256 | 256/32 | >256 | >256 | >256 | >256 | >256 | >256 | >256 | 8 |
| 8 | 62 | F | Obstructive hydrocephalus | ICU | Sputum | >256 | 64/32 | >256 | 256/32 | >256 | >256 | >256 | >256 | >256 | >256 | >256 | 8 |
| 9 | 64 | M | Intracerebral hemorrhage | ICU | Tip of endotracheal tube | >256 | 32/16 | >256 | 256/32 | >256 | >256 | >256 | >256 | >256 | >256 | >256 | 8 |
| 10 | 51 | M | Intracerebral hemorrhage | ICU | Sputum | >256 | 32/16 | >256 | 256/32 | >256 | >256 | >256 | >256 | >256 | >256 | >256 | 16 |

Abbreviations: AMP, ampicillin; A/S, ampicillin-sulbactam; PIP, piperacillin; P/T, piperacillin-tazobactam; CEP, ceftiofloxacin; FOX, ceftiofloxacin; CFP, ceftiofloxacin; CAZ, ceftazidime; CTX, cefotaxime; FEP, cefepime; AZT, aztreonam; IMP, imipenem; ICU, intensive care unit.

¹Ampicillin-sulbactam: Fixed ratio 2:1.

²Piperacillin-tazobactam: Fixed ratio 2:0.25.

연구가 필요한 것으로 생각된다.

본 연구에서는 cefepime 내성 *A. baumannii* 중 19.6% (10/51)만이 PER-1을 생성하였는데, 이는 서울의 한 대학병원에서 분리된 cefepime 내성 *Acinetobacter* 중 86.9% (53/61)가 PER-1을 생성하였다는 Yong 등[2]의 보고보다 현저하게 낮은 빈도였다. 본 연구에서 확인된 PER-1 생성 *A. baumannii* 10주 모두는 2003년 2월-6월에 중환자실 환자의 검체에서 분리된 것으로 (Table 2), 이 기간 중 PER-1 생성 *A. baumannii*에 의한 감염이 집단발생한 것으로 추측된다. 본 연구의 결과는 서울에 비해 부산의 PER-1 생성 *A. baumannii*의 만연정도가 낮으며, 감염의 집단발생을 통해 확산하는 초기단계에 있음을 시사한다. 이들 내성균주의 확산을 방지하기 위한 감염관리 대책의 마련이 시급한 것으로 생각된다.

요 약

배 경 : 최근 임상검체에서 분리된 *Acinetobacter baumannii*의 cefepime 내성율이 현저하게 증가하였음이 보고되었다. 본 연구에서는 부산의 한 대학병원에서 분리된 cefepime 내성 *A. baumannii*를 대상으로 PER-1 extended-spectrum β -lactamase (ESBL)의 생성현황을 조사하고자 하였다.

재료 및 방법 : 2003년 1월-6월에 부산의 한 대학병원에서 분리된 cefepime 내성 *A. baumannii*를 대상으로 하였다. 항균제 감수성은 디스크 확산법으로 시험하였으며, double disk synergy (DDS)법으로 ESBL 생성균주를 선별하였다. 평판희석법으로 항균제의 MIC를 측정하였으며, isoelectric focusing으로 β -lactamase의 pI를 확인하였다. 또한 cefepime 내성 전달성을 접합으로 시험하였다. bla_{PER-1} 과 bla_{PER-2} 유전자를 PCR로 검출하였으며, 증폭산물의 염기서열 분석을 통하여 유전형을 확인하였다.

결 과 : Cefepime에 중간 혹은 내성인 균주 51주 중 10주 (19.6%)가 DDS 양성이었으며, 10주 모두는 bla_{PER-1} 유전자 양성이었고, pI 5.3, 7.9 및 9.4의 β -lactamase를 생성하였다. 이들 균주 모두에 대한 ampicillin, piperacillin, cephalothin, cefoxitin, cefoperazone, ceftazidime, cefotaxime, cefepime 및 aztreonam의 MIC는 >256 mg/L로 높았으며, imipenem의 MIC는 8-16 mg/L이었다.

결 론 : 본 연구의 결과로 부산의 PER-1 생성 *A. baumannii* 만연 정도는 서울에 비해서 낮음을 확인할 수 있었다. 그러나 중환자실에서 이 세균에 의한 감염의 집단발생은 적절한 대책이 마련되지 않는 한 부산에도 PER-1 생성 *A. baumannii*가 만연될 가능성이 있음을 시사한다. 이들 내성균주의 확산을 방지하기 위한 감염관리 대책의 마련이 시급한 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

- Schreckenberger PC and von Graevenitz A. *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Moraxella*, *Methylobacterium*, and other nonfermentative gram-negative rods. In : Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH, eds. Manual of Clinical Microbiology. 7th ed. Washington: American Society for Microbiology, 1999:539-60.
- Yong D, Shin JH, Kim S, Lim Y, Yum JH, Lee K, et al. High prevalence of PER-1 extended-spectrum β -lactamase-producing *Acinetobacter* spp. in Korea. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:1749-51.
- Nordmann P, Ronco E, Naas T, Duport C, Michel-Briand Y, Labia R. Characterization of a novel extended-spectrum β -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1993;37:962-9.
- Luzzaro F, Mantengoli E, Perilli M, Lombardi G, Orlandi V, Orsatti A, et al. Dynamics of a nosocomial outbreak of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing the PER-1 extended-spectrum β -lactamase. *J Clin Microbiol* 2001;39:1865-70.
- Vahavoglu H, Ozturk R, Aygun G, Coskuncan F, Yaman A, Kaygusuz A, et al. Widespread detection of PER-1-type extended spectrum β -lactamases among nosocomial *Acinetobacter* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Turkey: a nation-wide multicenter study. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41:2265-9.
- Bauernfeind A, Stemplinger I, Jungwirth R, Mangold P, Amann S, Akalin E, et al. Characterization of β -lactamase gene bla_{PER-2} , which encodes an extended-spectrum class A β -lactamase. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:616-20.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing. Eleventh informational supplement. M100-S11. Wayne, PA: NCCLS, 2001.
- Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A. Extended broad-spectrum β -lactamase conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis* 1988;10:867-78.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically-5th edition: approved standards. M7-A5. Wayne, PA: NCCLS, 2000.
- Matthew M, Harris AM, Marshall MJ, Ross GW. The use of analytical isoelectric focusing for detection and

- identification of β -lactamases. J Gen Microbiol 1975;88:169-78.
11. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-termination inhibitors. Proc Natl Acad Sci USA 1977;74:5463-7.
 12. Livermore DM. β -lactamase-mediated resistance and opportunities for its control. J Antimicrob Chemother 1998; 41(S):25-41.
 13. Waxman DJ and Strominger JL. Penicillin-binding proteins and the mechanism of action of beta-lactam antibiotics. Annu Rev Biochem 1983;52:825-69.
 14. 정운섭 및 이경원. 그람양성세균과 그람음성구균의 항균제 내성. 제 1판. 서울: 서흥출판사, 1998:141-70.
 15. Jacoby GA and Mederios AA. More expanded-spectrum β -lactamases. Antimicrob Agents Chemother 1991;35: 1697-704.
 16. Bush K, Jacoby GA, Mederios AA. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrob Agents Chemother 1995;39:1211-33.
 17. Bou G, Cervero G, Dominguez MA, Quereda C, Martinez-beltran J. Characterization of a nosocomial outbreak caused by a multiresistant *Acinetobacter baumannii* strain with a carbapenem-hydrolyzing enzyme: high-level carbapenem resistance in *A. baumannii* is not due solely to the presence of β -lactamases. J Clin Microbiol 2000;38:3299-05.
 18. Lee K, Chong Y, Shin HB, Yong D, Yum JH. Modified Hodge and EDTA disk synergy tests to screen metallo β lactamase-producing strains of *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species. Clin Microbiol Infect 2001;7:88-91.