

Ambler Class A Extended-Spectrum β -Lactamase 생성 *Escherichia coli*와 *Klebsiella pneumoniae*의 국내 분리 현황

강지혜¹, 배일권², 권수봉², 정석훈^{2*}, 이종욱³, 이위교⁴, 강정옥⁵, 안지영⁶, 홍성근⁷, 신종희⁸,
어영⁹, 박연준¹⁰, 김의종¹¹, 이경원¹², 용동은¹², 우건조¹³

고신의대 소아과학교실¹, 진단검사의학교실², 건양의대 진단검사의학교실³, 아주의대 진단검사의학교실⁴,
한양의대 진단검사의학교실⁵, 순천향의대 진단검사의학교실⁶, 포천중문의대 진단검사의학교실⁷,
전남의대 진단검사의학교실⁸, 원주의대 진단검사의학교실⁹, 가톨릭의대 진단검사의학교실¹⁰, 서울의대
진단검사의학교실¹¹, 연세의대 진단검사의학교실¹², 식품의약품안전청 식품안전평가부 식품미생물과¹³

배 경 : 본 연구에서는 국내에서 분리되는 *Escherichia coli*와 *Klebsiella pneumoniae*의 Ambler class A extended-spectrum β -lactamase (ESBL) 생성 현황을 알아보려고 하였다.

방 법 : 2003년 2월부터 7월까지 전국 12개 병원에서 분리된 *E. coli*와 *K. pneumoniae*를 수집하였다. 항균제 감수성은 디스크 확산법으로 시험하였고, ESBL 생성은 double-disk synergy 시험으로 확인하였다. 한천회석법으로 β -lactam 항균제의 최소억제 농도를 측정하였다. 중합연쇄반응으로 TEM형, SHV형, CTX-M형, PER-1형, VEB형, IBC형, GES형 및 TLA형 유전자를 검출하였고, 중합연쇄반응 산물의 염기서열을 양방향으로 분석하였다.

결 과 : 국내 12개 병원에서 수집한 *E. coli*와 *K. pneumoniae*의 ceftazidime에 대한 내성율은 각각 8.5%와 20.1%이었다. *E. coli*에서 가장 흔한 Ambler class A ESBL은 CTX-M-15 (4주)와 CTX-M-3 (3주)였으며, CTX-M-14, SHV-12 및 TEM-52 유전자를 지닌 균주 각 1주씩 검출되었다. *K. pneumoniae*에서 가장 흔한 ESBL은 SHV-12 (30주)와 CTX-M-3 (13주)였으며, CTX-M-14 (5주), SHV-2a (3주), SHV-5 (2주), TEM-52 (1주) 및 GES-3 (2주) 유전자를 지닌 균주도 검출되었다.

결 론 : 본 연구를 통하여 CTX-M형 ESBL을 생성하는 *E. coli*와 *K. pneumoniae*가 국내에서 확산중이며 GES-3형 ESBL의 출현을 확인할 수 있었다.

서 론

*Escherichia coli*와 *Klebsiella pneumoniae*는 장내세균 과 (family *Enterobacteriaceae*)에 속하는 그람음성간균이며 인체 장관내 정상 상재균이다[1]. 두 균종 모두 병원감염의 흔한 원인균이며 요로감염, 패혈증, 창상감염 등을 유발한다. 그람음성간균 치료에 임상적 효능이 있는 첫 penicillin계 항균제인 ampicillin이 소개된 이후, β -lactam 항균제는 이들 균종에 의한 감염증의 치료에 광범위하게 사용되어 왔다[2]. 그러나 TEM-1, TEM-2, SHV-1 등 am-

picillin에 내성을 부여하는 효소를 생성하는 균주의 증가에 따라서 1980년대 초부터 oxyimino-cephalosporin이 임상에서 사용되었으며[3], 이들 광범위 β -lactam 항균제에 대한 내성을 획득한 *E. coli*나 *K. pneumoniae*도 곧 출현하였다[4]. 이들 세균이 oxyimino-cephalosporin에 대한 내성을 획득하는 기전은 다양한데, plasmid에 매개되는 Ambler class A extended-spectrum β -lactamase (ESBL)의 생성은 가장 흔한 기전이다[5].

Ambler class A ESBL은 penicillin, 헤파범위 cephalosporin과 제 3, 4세대 cephalosporin, aztreonam 등의 광범위 β -lactam 항균제를 분해하지만, cephamycin과 carbapenem에는 활성이 없으며, clavulanic acid에 의해 활성이 억제되는 특성이 있다[6]. 가장 널리 알려진 Ambler class A ESBL인 TEM형 및 SHV형 효소는 TEM-1, TEM-2와 SHV-1의 아미노산 1개 이상의 치환에 의해 생성되었으며, 현재까지 80가지 이상의 TEM형 ESBL과 50가지 이상의 SHV형 ESBL이 보고되었다[5]. 국내에서 분리되는 *E. coli*나 *K. pneumoniae*도 이들 ESBL을 흔히 생성하며, SHV-2a,

본 연구는 2004년 식약청 위탁과제 지원에 의하여 이루어진 것임(04062항내안(673)).

접 수 일: 04/8/3 게재승인일: 05/1/20

교신저자: 정석훈

(602-702) 부산광역시 서구 암남동 34번지

고신대학교 의과대학 진단검사의학교실

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

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

SHV-12, TEM-52 등이 혼한 것으로 알려졌다[7].

CTX-M형 ESBL은 1989년 독일에서 분리된 *E. coli*에서 처음 발견되었으며[8], 현재까지 30가지 이상의 변종이 보고되었다[5]. 국내에서는 2001년 CTX-M-14가 보고되었고[9], 2003년 전국 13개 병원을 대상으로 한 조사에서 CTX-M-3, CTX-M-14 및 CTX-M-15를 생성하는 *E. coli* 및 *K. pneumoniae*가 보고되었다[10]. 이들 효소는 plasmid에 매개되며, 가수분해 기질특이성 및 억제특이성이 TEM형이나 SHV형 ESBL과 유사하지만, cefotaxime에 대한 가수분해 활성이 ceftazidime에 비해 상대적으로 강한 특성이 있다[11].

GES형 ESBL은 Ambler class A에 속하는 ESBL이지만 같은 class의 다른 효소들과는 차별되는 기질특이성을 지니고 있다. 프랑스에서 분리된 *K. pneumoniae*에서 발견된 GES-1은 cefoxitin에 활성이 있으며[12], 남아프리카공화국에서 분리된 *Pseudomonas aeruginosa*에서 발견된 GES-2는 imipenem에도 활성이 있다[13]. 이들 효소는 clavulanic acid와 imipenem에 의해 활성이 억제된다. 근래에는 새로운 변종 GES형 ESBL이 그리스와 일본에서 검출되었다[14-16]. 지정학적으로 가까운 위치인 일본에서의 GES형 ESBL 생성균주의 분리는 국내에도 이 효소를 생성하는 균주의 존재 가능성을 시사하지만 아직 국내에서 이 효소가 보고된 예는 없다.

본 연구에서는 2003년 전국 12개 병원에서 분리된 *E. coli*와 *K. pneumoniae*를 대상으로 TEM형, SHV형, GES형, IBC형, PER형, VEB형 및 TLA형 효소의 생성현황을 조사하여 국내에서 분리되는 *E. coli*와 *K. pneumoniae*의 종합적인 Ambler class A ESBL 생성현황을 살펴보고자 한다.

재료 및 방법

1. 균주의 수집

서울 3개 병원, 경기도 3개 병원, 강원도 1개 병원, 대전 1개 병원, 광주 1개 병원, 경상북도 1개 병원, 부산 1개 병원, 제주 1개 병원 등 총 12개 병원이 본 조사에 참여하였다. 2003년 2월에서 7월까지 이들 12개 병원에서 분리된 *E. coli*와 *K. pneumoniae* 각 20주 가량을 수집하였는데, 항균제 내성에 상관없이 분리된 순서대로 수집하였으며, 동일 환자에서 반복 분리된 균주는 수집대상에서 제외하였다. 분리된 균주의 균종은 전통적인 생화학적 방법 및 Vitek GNI card (bioMérieux Vitek Inc., Hazelwood, Mo., USA)로 확인하였다.

2. 항균제 감수성 시험

미국의 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)의 기준에 따라서 ampicillin, ampicillin-sulbactam, cefoxitin, ceftazidime, cefotaxime, cefepime, aztreo-

nam, imipenem, amikacin, gentamicin, tobramycin, ciprofloxacin 및 trimethoprim-sulfamethoxazole에 대한 감수성을 디스크 확산법[17]으로 시험하였다. 정도관리를 위하여 표준균주 *E. coli* ATCC 25922의 감수성을 동시에 시험하였다.

3. ESBL 생성 확인

Double-disk synergy법을 사용하였다[18]. 세균 부유액을 면봉으로 Mueller-Hinton 한천(Difco, Cockeysville, Mich., USA)에 고르게 접종한 후, 배지의 중앙에는 amoxicillin-clavulanic acid 디스크(20/10 µg; BBL, Cockeysville, Mich., USA), 주위에는 30 µg의 ceftazidime, cefotaxime 및 aztreonam 디스크를 놓았다. 중앙과 주변 디스크의 가장자리 간격은 1.5 cm가 되게 하였다. 세균이 접종된 배지는 37°C 항온기에 18시간 배양 후 결과를 판독하였는데, 두 디스크 사이에서 상승효과에 의한 억제대의 확장현상이 관찰되면 양성으로 판정하였다.

4. 최소억제농도(minimum inhibitory concentration, MIC) 측정

NCCLS 한천희석법으로 시험하였다[19]. 시험 항균제로는 ceftazidime, cefotaxime, ceftazidime-clavulanic acid 및 cefotaxime-clavulanic acid를 사용하였으며, clavulanic acid의 농도는 4 µg/mL로 고정하였다. 시험균주 10⁴ colony forming unit을 시험항균제가 각각 0.06-256 µg/mL 농도로 함유된 Mueller-Hinton 한천에 Steers replicator (Craft Machine, Chester, Pa., USA)로 접종하였다. 37°C 호기성 환경에서 18시간 배양 후 항균제 농도에 따른 집락의 증식 양상을 관찰하였다. 정도관리를 위해서 참조균주 *E. coli* ATCC 25922를 사용하였다.

5. 접합에 의한 내성 전달

Filter mating법[20]으로 시험하였다. Azide에 내성인 *E. coli* J53을 내성 수여자로 사용하며, 내성 공여자와 수여자를 각각 brain heart infusion (Difco) 액체배지에 접종하여서 3시간 진탕배양 하였다. 공여자 배양액 0.2 mL와 수여자 배양액 2.2 mL를 시험관에 넣어서 37°C에서 1시간 배양 후, ceftazidime 2 µg/mL와 azide 100 µg/mL가 함유된 MacConkey 한천에 접종하였다. 37°C에서 18시간 배양 후 transconjugant를 선별하였다. 내성 전달의 확인을 위해서 transconjugant의 ceftazidime에 대한 감수성을 디스크 확산법으로 시험하였다.

6. Isoelectric focusing (IEF)에 의한 등전점(pI) 측정

세균 추출액 10 μ L와 동량의 sample buffer (TEFCO Corporation, Tokyo, Japan)를 섞어 agarose gel (pH 3-10, TEFCO Corporation)에 100V로 1시간, 200V로 1시간 및 300V로 40분간 전기영동하였다. Nitrocefin (Oxoid, Basingstoke, United Kingdom)에 적신 여과지로 gel을 덮고 20초간 염색하였다. Gel에 나타난 붉은색의 band를 관찰하여 β -lactamase의 pI를 확인하였다.

7. 분자생물학적 방법에 의한 내성유전형 확인

타 연구자의 고안에 따라 PER-1형 및 CTX-M형 ESBL 유전자 검출을 위한 primer를 제작하였고, TEM형, SHV형, VEB형, GES형, IBC형 및 TLA형 ESBL 유전자 검출을 위한 primer는 새로이 고안하였다(Table 1). Ambler class A ESBL 각 유전자의 염기서열을 GenBank (<http://www.ncbi.nlm.gov>)에서 취하였다. DNASpace version 3.02 (Genetic Systems, Hitachi, Japan)와 Vector NTI Suite (InforMax, Frederick, Md., USA)을 사용한 multialignment 분석 결과에 기초하여 각 Ambler class A ESBL 유전자에 특이적인 부분을 primer로 고안하였다. 고안된 primer와 Ambler class A ESBL 유전자 염기서열 동정은 BLAST로 분석하였다. 염기서열 상동성이 높은 GES형과 IBC형 ESBL은 한 쌍의 primer로 모두 검출할 수 있도록 고안하였다. 시험세균을 Tryptic soy broth (Difco)에 접종하여 37 $^{\circ}$ C로 하룻밤 진탕배양하였다. 배양액 1 mL를 취하여서 5분간 13,000 \times g로 원침 후, 상층액은 버리고, 침사는 증류수 500 μ L에 부유시켰다. 이를 10분간 끓인 후, 13,000 \times g로 원침하고, 상층액을 취하여서 DNA 추출액으로 사

용하였다. DNA 추출액 5 μ L, primer 각 1 μ L, deoxynucleotide triphosphates(dNTP) 2.5 mM (8 μ L), Taq DNA polymerase 2.5 U (0.5 μ L), 10X buffer 10 μ L 및 증류수 75.5 μ L를 혼합하여 premix를 만들었다. 이를 Gene Amp PCR System 9600 (Perkin-Elmer Centus Corp., Norwalk, Ct., USA)으로 94 $^{\circ}$ C로 25초간 denaturation, 58 $^{\circ}$ C로 40초간 annealing, 72 $^{\circ}$ C로 50초간 extension하는 30 cycle의 PCR을 시행하였다. 증폭산물 10 μ L를 2% agarose gel (Promega, Madison, Wi., USA)의 홈에 넣고 40분간 전기영동하여서 band를 확인하였다. 증폭산물을 DNA extraction kit (Qiagen, 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 termination 법[21]으로 양방향으로 염기서열을 분석하였다.

결 과

1. 항균제 감수성 시험

시험기간 중 국내 12개 병원에서 E. coli 246주와 K. pneumoniae 239주를 수집하였다. E. coli의 cefotaxime, ceftazidime, cefepime 및 aztreonam에 대한 내성율은 각각 11.1%, 8.5%, 7.1% 및 7.3%이었고, K. pneumoniae의 이들 광범위 β -lactam항균제에 대한 내성율은 각각 14.6%, 20.1%, 12.5% 및 19.0%이었다. Imipenem에 중간 혹은 내성인 균주는 없었다. Aminoglycoside 계열의 amikacin, gentamicin 및 tobramycin에 대한 E. coli와 K. pneumoniae의 내성율은 각각 4.0%, 26.5%, 20.0% 및 13.2%, 23.3%, 32.0%이

Table 1. Sequence of the PCR primers

Name	Nucleotide Sequence	Product size(bp)	Accession No.	Reference
TEM F	5'-atg agt att caa cat ttc cgt-3'	861	AY302260	This study
TEM R	5'-tta cca atg ctt aat cag tga-3'			
SHV F	5'-ccg ggt tat tct tat ttg tgc ct-3'	831	X98100	This study
SHV R	5'-tag cgt tgc cag tgc tgc-3'			
CTX-M 1F	5'-gga cgt aca gca aaa act tgc-3'	624	X92506	22
CTX-M 1R	5'-cgg ttc gct ttc act ttt ctt-3'			
CTX-M 2F	5'-cgg tgc tta aac aga gcg ag-3'	891	X92507	22
CTX-M 2R	5'-cca tga ata agc agc tga ttg ccc-3'			
CTX-M 8F	5'-acg ctc aac acc gcg atc-3'	490	AF189721	22
CTX-M 8R	5'-cgt ggg ttc tgc ggg ata a-3'			
CTX-M 9F	5'-gat tga ccg tat tgg gag ttt-3'	947	AJ416345	22
CTX-M 9R	5'-cgg ctg ggt aaa ata ggt ca-3'			
PER-1 F	5'-gtt aat ttg ggc tta ggg cag-3'	855	Z21957	22
PER-1 R	5'-cag cgc aat ccc cac tgt-3'			
VEB F	5'-acc aga tag gag tac aga cat atg a-3'	727	AF220758	This study
VEB R	5'-ttc atc acc gcg ata aag cac-3'			
GES/IBC F	5'-gtt aga cgg gcg tac aaa gat aat-3'	903	AY260546	This study
GES/IBC R	5'-tgt ccg tgc tca gga tga gt-3'			
TLA F	5'-cgc gaa aat tct gaa atg ac-3'	992	AF148067	This study
TLA R	5'-agg aaa ttg tac cga gac cct-3'			

Table 2. Prevalence of extended-spectrum β -lactamase-producing *E. coli* and *K. pneumoniae* isolates

Hospitals	Species(No. isolates)	No.(%) DDS positive-isolates	Genotypes(No. isolates)
Seoul A	<i>E. coli</i> (24)	6 (25.0)	TEM-52 only(1), CTX-M-3 only(1), None of ESBL(4)
	<i>K. pneumoniae</i> (24)	2 (8.3)	SHV-12 only(2)
Seoul B	<i>E. coli</i> (20)	3 (15.0)	None of ESBL(3)
	<i>K. pneumoniae</i> (20)	6 (30.0)	SHV-12 only(3), CTX-M-14 only(1), SHV-5 only(1), None of ESBL(1)
Seoul C	<i>E. coli</i> (20)	1 (5.0)	None of ESBL(1)
	<i>K. pneumoniae</i> (20)	1 (5.0)	None of ESBL(1)
Kyonggi A	<i>E. coli</i> (20)	5 (25.0)	CTX-M-3 only(2), CTX-M-15 only(1), None of ESBL(2)
	<i>K. pneumoniae</i> (20)	9 (45.0)	CTX-M-3 only(8), None of ESBL(1)
Kyonggi B	<i>E. coli</i> (20)	1 (5.0)	None of ESBL(1)
	<i>K. pneumoniae</i> (20)	6 (30.0)	SHV-12+GES-3(2), SHV-12 only(1), SHV-2a only(3)
Kyonggi C	<i>E. coli</i> (20)	2 (10.0)	CTX-M-15 only(2)
	<i>K. pneumoniae</i> (20)	7 (35.0)	SHV-12 only(6), CTX-M-3 only(1)
Gangwon A	<i>E. coli</i> (20)	0 (0)	SHV-12 only(2), CTX-M-14 only(1), CTX-M-3 only(1), SHV 12+CTX-M-3(1)
	<i>K. pneumoniae</i> (20)	6 (30.0)	TEM-52+SHV-12+CTX-M-3(1)
Daejeon A	<i>E. coli</i> (20)	0 (0)	
	<i>K. pneumoniae</i> (21)	5 (23.8)	CTX-M-3 only(1), SHV-12 only(2), SHV-12+CTX-M-14(2)
Jeonnam A	<i>E. coli</i> (20)	0 (0)	
	<i>K. pneumoniae</i> (20)	1 (5.0)	None of ESBL(1)
Gyeongbuk A	<i>E. coli</i> (20)	1 (5.0)	CTX-M-14 only(1)
	<i>K. pneumoniae</i> (20)	6 (30.0)	SHV-12 only(3), SHV-5 only(1), CTX-M-14 only(1), None of ESBL(1)
Busan A	<i>E. coli</i> (20)	3 (15.0)	SHV-12+CTX-M-15(1), None of ESBL(2)
	<i>K. pneumoniae</i> (20)	4 (20.0)	SHV-12 only(3), None of ESBL(1)
Jeju A	<i>E. coli</i> (22)	1 (4.5)	None of ESBL(1)
	<i>K. pneumoniae</i> (14)	2 (14.3)	SHV-12 only(2)
Total	<i>E. coli</i> (246)	23 (9.3)	
	<i>K. pneumoniae</i> (239)	55 (23.0)	

Abbreviations: DDS, double-disk synergy; ESBL, extended-spectrum β -lactamase.

었다.

2. ESBL 생성 현황

E. coli 246주 중 23주 (9.3%)와 *K. pneumoniae* 239주 중 55주 (23.0%)가 double disk synergy 양성 소견을 보였다. *E. coli*의 경우 강원 A, 대전 A 및 전남 A 병원을 제외한 전국 9개 병원에서 double disk synergy 양성인 균주가 검출되었으며, *K. pneumoniae*는 12개 병원 모두에서 double

disk synergy 양성인 균주가 검출되었다(Table 2). Double disk synergy 양성인 *E. coli* 23주 중 11주와 *K. pneumoniae* 55주 중 33주의 ceftazidime 내성이 azide 내성인 *E. coli* J53으로 전달되었다.

3. ESBL 유전형

TEM형, SHV형, CTX-M-1형, CTX-M-9형 및 GES형 혹은 IBC형 ESBL검출을 위한 PCR에 double disk synergy 양

Table 3. Genotypes of extended-spectrum β -lactamase in *E. coli* and *K. pneumoniae* isolates

Genotype	Species (No. double-disk synergy-positive isolates)		
	<i>E. coli</i> (23)	<i>K. pneumoniae</i> (55)	Total (78)
TEM-52 only	1 (4.3%)		1 (1.3%)
SHV-12 only		24(43.6%)	24(30.8%)
SHV-2a only		3 (5.5%)	3 (3.9%)
SHV-5 only	2 (3.6%)	2 (2.6%)	
CTX-M-3 only	3(13.0%)	11(20.0%)	14(18.0%)
CTX-M-14 only	1 (4.3%)	3 (5.5%)	4 (5.1%)
CTX-M-15 only	3(13.0%)		3 (3.9%)
SHV-12 + CTX-M-3		1 (1.8%)	1 (1.3%)
SHV-12 + CTX-M-14		2 (3.6%)	2 (2.6%)
SHV-12 + CTX-M-15	1 (4.3%)		1 (1.3%)
SHV-12 + GES-3		2 (3.6%)	2 (2.6%)
TEM-52 + SHV-12 + CTX-M-3		1 (1.8%)	1 (1.3%)
Total	9(39.1%)	49(89.1%)	58(74.4%)

Table 4. Characteristics of SHV-type extended-spectrum- β lactamase-producing *E. coli* and *K. pneumoniae* isolates

Isolates	Species	Genotypes of ESBL	MICs(μ g/mL)			
			CAZ	CAZ/CA*	CTX	CTX/CA*
BC7	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-2a only	16	8	4	0.25
BC9	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-2a only	64	128	128	16
BC19	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-2a only	128	32	16	4
SC9	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-5 only	32	2	4	0.25
SE10	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-5 only	256	16	8	1
KY11	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12 only	64	16	8	2
KY12	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12 only	64	8	8	4
KS1	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12 only	>256	128	64	4
KS6	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12 only	128	8	16	0.5
KS7	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12 only	128	16	16	0.25
SC15	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12 only	128	8	64	4
SC16	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12 only	>256	64	32	1
SC18	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12 only	128	8	16	0.25
BC12	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12 only	256	8	16	0.25
SN4	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12 only	128	32	16	4
SN14	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12 only	>256	16	16	0.25
SE2	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12 only	128	32	8	4
SE3	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12 only	>256	64	16	8
SE17	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12 only	128	32	8	4
WK3	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12 only	256	16	16	0.5
WK5	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12 only	128	32	8	4
JJ9	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12 only	64	2	8	0.5
JJ10	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12 only	256	16	16	0.25
HY4	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12 only	64	2	8	0.25
HY5	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12 only	64	8	16	0.25
HY8	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12 only	128	16	16	2
HY10	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12 only	64	4	4	1
HY16	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12 only	>256	32	64	0.5
HY18	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12 only	128	8	16	0.25
BC6	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12+GES-3	256	128	64	16
BC8	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12+GES-3	>256	>256	64	64
WK14	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12+CTX-M-3	>256	>256	>256	>256
KY7	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12+CTX-M-14	>256	>256	256	256
KY8	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12+CTX-M-14	>256	>256	>256	>256
KS10	<i>E. coli</i>	SHV-12+CTX-M-15	>256	>256	>256	>256
WK15	<i>K. pneumoniae</i>	SHV-12+CTX-M-3+TEM-52	>256	>256	>256	>256

Abbreviations: CTX, cefotaxime; CTX/CA, cefotaxime-clavulanic acid; CAZ, ceftazidime; CAZ/CLA, ceftazidime-clavulanic acid; SN, Seoul A; SE, Seoul B; AJ, Kyonggi A; HY, Kyonggi C; WK, Gangwon A; KY, Daejeon A; SC, Gyeongbuk A; KS, Busan A; BC, Kyonggi B; JJ, Jeju A.

* Clavulanic acid at a fixed concentration of 4 μ g/mL.

성인 *E. coli* 23주 중 각각 18주, 1주, 7주, 1주 및 0주, *K. pneumoniae* 55주 중 각각 33주, 35주, 13주, 5주 및 2주가 양성 반응을 보였다. TEM형 PCR에 양성인 *E. coli* 18주와 *K. pneumoniae* 33주의 증폭 산물 중 *E. coli*와 *K. pneumoniae* 각 1주의 증폭 산물만이 *bla*_{TEM-52}와 염기서열이 일치하였고 나머지 모두는 ESBL이 아닌 *bla*_{TEM-1}이었다. SHV형 PCR에 양성인 *E. coli* 1주와 *K. pneumoniae* 30주의 증폭 산물은 *bla*_{SHV-12}, *K. pneumoniae* 3주의 증폭 산물은 *bla*_{SHV-2a}, *K. pneumoniae* 2주의 증폭 산물은 *bla*_{SHV-5}와 염기서열이 일치하였다. CTX-M-1형 PCR에 양성인 *E. coli* 3주와 *K. pneumoniae* 13주의 증폭 산물은 *bla*_{CTX-M-3}, *E. coli* 4주의 증폭 산물은 *bla*_{CTX-M-15}와 일치하였다. 또한 CTX-M-9형 PCR에 양성인 *E. coli* 1주와 *K. pneumoniae* 5주의 증폭 산물 모두는 *bla*_{CTX-M-14}와 일치하였다(Table 3). GES형 혹은 IBC형 ESBL 검출을 위한 PCR에서는 *K. pneumoniae* 2주만이 양성 반응을 보였는데, 그 증폭 산물의 염기서열은 *bla*_{GES-1}의 170번째 아미노산인 glycine이 serine으로 치환된 *bla*_{GES-3}와 일치하였다[14]. Isoelectric focusing을 통하여 SHV-5, SHV-12, TEM-52, CTX-M-3, CTX-M-14, CTX-M-15 및 GES-3에 해당하는 pI 7.6, 8.2, 6.0, 8.4, 8.1, 8.6 및 6.1의 band를 확인할 수 있었다.

4. ESBL 생성균주의 MIC 특성

SHV-12를 생성하는 *E. coli*나 *K. pneumoniae*에 대한 ceftazidime과 cefotaxime의 MIC 범위는 64-256 µg/mL 이상 및 4-256 µg/mL 이상이었고, MIC₅₀은 각각 128 µg/mL 및 16 µg/mL였다. Ceftazidime-clavulanic acid와 cefotaxime-clavulanic acid의 MIC 범위는 2-256 µg/mL 이상 및 0.25-256 µg/mL 이상이었고 MIC₅₀은 각각 16 µg/mL 및 2 µg/mL였다. SHV-2a를 생성하는 균주에 대한 ceftazidime 혹은 cefotaxime의 MIC는 SHV-12를 생성하는 균주에 비해서 낮은 분포를 보였다. SHV-12와 CTX-M형 ESBL을 동시에 생성하는 균주에 대한 ceftazidime과 cefotaxime의 MIC 범위 모두는 256 µg/mL 이상으로 높았다. SHV-12와 GES형 ESBL을 동시에 생성하는 균주에 대한 ceftazidime의 MIC는 256 µg/mL 이상이었고, cefotaxime의 MIC는 64 µg/mL로 상대적으로 낮았다(Table 4). CTX-M형 ESBL을 생성하는 *E. coli* 혹은 *K. pneumoniae*에 대한 cefotaxime의 MIC는 256 µg/mL 이상으로 ceftazidime의 16-256 µg/mL 이상보다 높은 분포를 보였다. CTX-M-15를 생성하는 *E. coli*에 대한 ceftazidime의 MIC는 128 µg/mL 이상으로 CTX-M-3 혹은 CTX-M-14를 생성하는 균주에 비해 높은

Table 5. Characteristics of CTX-M-type β-lactamase-producing *E. coli* and *K. pneumoniae* isolates

Isolates	Species	Genotypes of ESBL	MICs(µg/mL)							
			Wild strains				Transconjugants			
			CTX	CX/CA*	CAZ	CZ/CA*	CTX	CX/CA*	CAZ	CZ/CA*
SN8	<i>E. coli</i>	CTX-M-3 only	>256	>256	>256	>256	>256	32	16	16
AJ4	<i>E. coli</i>	CTX-M-3 only	>256	128	16	16	256	32	16	16
AJ18	<i>E. coli</i>	CTX-M-3 only	>256	>256	>256	>256				
AJ2	<i>K. pneumoniae</i>	CTX-M-3 only	>256	>256	>256	>256				
AJ3	<i>K. pneumoniae</i>	CTX-M-3 only	>256	>256	256	128	64	2	4	0.5
AJ5	<i>K. pneumoniae</i>	CTX-M-3 only	>256	>256	>256	>256	64	2	4	0.5
AJ8	<i>K. pneumoniae</i>	CTX-M-3 only	>256	>256	>256	>256				
AJ14	<i>K. pneumoniae</i>	CTX-M-3 only	>256	>256	256	128	64	16	2	1
AJ15	<i>K. pneumoniae</i>	CTX-M-3 only	>256	>256	256	256	64	16	2	1
AJ18	<i>K. pneumoniae</i>	CTX-M-3 only	>256	>256	>256	>256	256	32	16	16
AJ20	<i>K. pneumoniae</i>	CTX-M-3 only	>256	>256	>256	>256	64	32	2	2
WK7	<i>K. pneumoniae</i>	CTX-M-3 only	>256	>256	>256	>256	256	256	128	4
HY12	<i>K. pneumoniae</i>	CTX-M-3 only	>256	>256	>256	>256				
KY2	<i>K. pneumoniae</i>	CTX-M-3 only	256	32	>256	64	8	2	64	8
WK14	<i>K. pneumoniae</i>	CTX-M-3+SHV-12	>256	>256	>256	>256	256	256	16	4
WK15	<i>K. pneumoniae</i>	CTX-M-3+TEM-52+SHV-12	>256	>256	>256	>256	64	32	2	1
SC6	<i>E. coli</i>	CTX-M-14 only	>256	>256	64	64	256	256	16	16
SC14	<i>K. pneumoniae</i>	CTX-M-14 only	>256	256	64	64	64	32	4	1
SE18	<i>K. pneumoniae</i>	CTX-M-14 only	>256	256	64	64	64	16	4	1
WK6	<i>K. pneumoniae</i>	CTX-M-14 only	256	64	16	8	128	32	2	2
KY7	<i>K. pneumoniae</i>	CTX-M-14+SHV-12	>256	>256	256	256	128	256	4	4
KY8	<i>K. pneumoniae</i>	CTX-M-14+SHV-12	>256	>256	>256	>256	128	32	1	2
AJ16	<i>E. coli</i>	CTX-M-15 only	>256	>256	128	64	>256	>256	64	64
HY1	<i>E. coli</i>	CTX-M-15 only	>256	128	>256	64				
HY2	<i>E. coli</i>	CTX-M-15 only	>256	>256	>256	128	128	4	32	1
KS10	<i>E. coli</i>	CTX-M-15+SHV-12	>256	>256	>256	>256	128	2	32	2

Abbreviations: CTX, cefotaxime; CX/CA, cefotaxime-clavulanic acid; CAZ, ceftazidime; CZ/CA, ceftazidime-clavulanic acid; SN, Seoul A; SE, Seoul B; AJ, Kyonggi A; HY, Kyonggi C; WK, Gangwon A; KY, Daejeon A; SC, Gyeongbuk A; KS, Busan A.

* Clavulanic acid at a fixed concentration of 4 µg/mL.

분포를 보였다(Table 5).

고 찰

시험기간 중 분리된 *K. pneumoniae*의 cefotaxime, ceftazidime 및 aztreonam에 대한 내성율은 각각 14.6%, 20.1% 및 19.0%로 *E. coli*의 11.1%, 8.5% 및 7.3%에 비해 높은 분포를 보였다. 이는 *K. pneumoniae*가 *E. coli*보다 더 흔히 ESBL을 생성한다는 다른 보고들과 일치하는 결과이다 [7]. 시험균주 중 *E. coli*의 9.3%(23/246)와 *K. pneumoniae*의 23.0%(55/239)가 double disk synergy 시험에 양성이었다. 이는 2002년에 전국 13개 병원에서 수집한 *E. coli*의 double disk synergy 양성율 9%와는 유사하지만 *K. pneumoniae*의 양성율 30%에 비해서 낮은 수치다[22]. 수집균주의 double disk synergy 양성율은 병원에 따라서 *E. coli*는 0%-25%, *K. pneumoniae*는 5%-45%로 다양하였는데, 이는 병원별 ESBL 생성율의 차이를 반영하지만, 수집기간 중 특정 ESBL 생성균주에 의한 감염의 집단발생이 있어서 양성율 차이를 크게 한 것으로 생각한다.

*E. coli*가 생성하는 가장 흔한 Ambler Class A ESBL은 CTX-M-15(4주)와 CTX-M-3(3주)였으며, *K. pneumoniae*의 가장 흔한 Ambler Class A ESBL은 SHV-12(30주)와 CTX-M-3(13주)이었다. SHV-12를 생성하는 장내세균이 국내에서 흔히 분리됨은 이미 알려졌다[23,24], CTX-M형 ESBL의 존재는 최근에야 보고되었다[9]. 2002년 전국 13개 병원에서 수집한 *K. pneumoniae*를 대상으로한 조사와 비교하면 CTX-M-3 생성균주는 3주(0.6%)에서 16주(3.3%), CTX-M-14 생성균주는 4주(0.8%)에서 6주(1.2%), CTX-M-15 생성균주는 2주(0.4%)에서 4주(0.8%)로 증가하였다[10]. 또한 CTX-M-3 생성균주가 분리된 병원은 2002년의 3개 병원에서 5개 병원, CTX-M-14는 3개 병원, CTX-M-15는 1개 병원, CTX-M-3은 3개 병원으로 증가하여서, CTX-M형 ESBL 생성균주가 확산 일로에 있음을 확인할 수 있었다.

CTX-M형 ESBL을 생성하는 균주에 대한 cefotaxime의 MIC는 256 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상으로 ceftazidime에 비해 높은 분포를 보였으며, transconjugant의 경우 이러한 경향이 더욱 강하여서 cefotaxime의 MIC₅₀이 128 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 인데 반하여 ceftazidime의 MIC₅₀은 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에 불과하였다. CTX-M-15는 CTX-M-3에 비하여 1개의 아미노산이 치환된 (Asp240Gly) 효소로, 이 치환은 효소의 ceftazidime에 대한 활성을 강화시킨다고 한다[25]. 본 연구에서 분리된 CTX-M-15 생성 *E. coli* 4주에 대한 MIC도 128 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상으로 높았으며, transconjugant에 대한 MIC도 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상으로 다른 종류의 CTX-M형 ESBL *K. pneumoniae*의 생성균주보다 높았다.

SHV-12는 스위스에서 분리된 *E. coli*와 *K. pneumoniae*에서 처음 검출되었다[26]. 이 효소는 SHV-1의 아미노산 3개가 치환된(Leu35Gln, Gly238Ser 및 Glu240Lys) 것이며, SHV-2a 혹은 SHV-5와는 각각 아미노산 1개(Glu240-

Lys 및 Leu35Gln)의 차이가 있다. SHV-12를 생성하는 *E. coli*나 *K. pneumoniae*에 대한 ceftazidime의 MIC₅₀은 128 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 cefotaxime의 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 보다 현저하게 높았는데, 이는 SHV-12가 ceftazidime에 대한 활성이 강한 효소이기 때문으로 생각한다. 또한 SHV-12의 활성은 SHV-2a보다 높기 때문에 이 효소를 생성하는 균주에 대한 ceftazidime과 cefotaxime의 MIC도 상대적으로 높은 분포를 보였다. SHV-12와 함께 CTX-M형 ESBL 혹은 TEM-52를 동시에 생성하는 균주에 대한 ceftazidime과 cefotaxime의 MIC는 SHV-12만을 생성하는 균주에 비해 높았다.

한편 경기 B 병원에서 분리된 *K. pneumoniae* 2주는 SHV-12와 함께 GES-3를 동시에 생성하였다. 이 GES형 효소는 GES-1에 비하여 Ω loop의 1개 아미노산이 치환되어 있었는데(Gly170Ser), 이 아미노산 치환은 효소의 cephamycin에 대한 가수분해 활성을 높이고 clavulanic acid에 의한 억제 정도를 낮춘다고 한다. 본 연구에서 분리된 *K. pneumoniae* 2주에 대한 ceftazidime과 ceftazidime-clavulanic acid의 MIC는 각각 256 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상 및 128 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상, cefotaxime과 cefotaxime-clavulanic acid의 MIC는 각각 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 및 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 와 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 clavulanic acid가 첨가된 경우에도 MIC가 현저하게 감소하지 않는 현상을 보였다.

본 연구를 통하여 국내에서 분리되는 *E. coli*의 9.3%와 *K. pneumoniae*의 23.0%가 Ambler class A ESBL을 생성하며, *E. coli*는 CTX-M-15와 CTX-M-3, *K. pneumoniae*는 SHV-12와 CTX-M-3을 가장 흔히 생성함을 확인할 수 있었다. 또한 GES-3를 생성하는 *K. pneumoniae* 2주를 검출하였는데, GES형 ESBL은 본 연구를 통해서 국내에서 최초로 발견된 것이다.

참 고 문 헌

1. Abbott S. *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, and *Serratia*. In : Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, and Tenover RH, eds. Manual of Clinical Microbiology. 7th ed. Washington: American Society for Microbiology, 1999:475-82.
2. Quintiliani R, Sahm DF, Courvalin P. Mechanisms of resistance to antimicrobial agents. In : Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, and Tenover RH, eds. Manual of Clinical Microbiology. 7th ed. Washington: American Society for Microbiology, 1999:1505-25.
3. Livermore DM. β -Lactamase in laboratory and clinical resistance. Clin Microbiol Rev 1995;8:557-84.
4. Knothe H, Shah P, Krcmery V, Antal M, Mitsuhashi S. Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. Infection 1983;11: 315-7.
5. Bradford PA. Extended-spectrum β -lactamases in the 21st

- century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev* 2001;14:933-51.
6. Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A. Extended broad-spectrum β -lactamases conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis* 1988;10:867-78.
 7. Jeong SH, Bae IK, Lee JH, Sohn SG, Kang GH, Jeon GJ, et al. Molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamase produced by clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* from a Korean nationwide survey. *J Clin Microbiol* 2004;42:2902-6.
 8. Bauernfeind A, Stemmlinger I, Jungwirth R, Ernst S, Cassellas JM. Sequences of beta-lactamase genes encoding CTX-M-1(MEN-1) and CTX-M-2 and relationship of their amino acid sequences with those of other beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:509-13.
 9. Pai H, Choi EH, Lee HJ, Hong JY, Jacoby GA. Identification of CTX-M-14 extended-spectrum β -lactamase in clinical isolates of *Shigella sonnei*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Korea. *J Clin Microbiol* 2001;39:3747-9.
 10. Bae IK, Woo GJ, Jeong SH, Park KO, Jo BG, Kim DM, et al. Prevalence of CTX-M type extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates in Korea. *Korean J Clin Microbiol* 2004;7:48-54.
 11. Tzouvelekis LS, Tzelepi E, Tassios PT, Legakis NJ. CTX-M-type β -lactamases: an emerging group of extended-spectrum enzymes. *Int J Antimicrob Agents* 2000;14:137-42.
 12. Poirel L, Le Thomas I, Naas T, Karim A, Nordmann P. Biochemical sequence analyses of GES-1, a novel class A extended-spectrum β -lactamase, and the class 1 integron In52 from *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:622-32.
 13. Poirel L, Weldhagen GF, Naas T, De Champs C, Dove MG, Nordmann P. GES-2, a class A β -lactamase from *Pseudomonas aeruginosa* with increased hydrolysis of imipenem. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:2598-603.
 14. Vourli S, Giakkoupi P, Miriagou V, Tzelepi E, Vatopoulos AC, Tzouvelekis LS. Novel GES/IBC extended-spectrum β -lactamase variants with carbapenemase activity in clinical enterobacteria. *FEMS Microbiol Letters* 2004;234:209-13.
 15. Wachino J, Doi Y, Yamane K, Shibata N, Yagi T, Kubota T, et al. Nosocomial spread of ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains producing a novel class A β -lactamase, GES-3, in a neonatal intensive care unit in Japan. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48:1960-7.
 16. Wachino J, Doi Y, Yamane K, Shibata N, Yagi T, Kubota T, et al. Molecular characterization of a cephamycin-hydrolyzing and inhibitor-resistant class A β -lactamase, GES-4, possessing a single G170S substitution in the Ω -loop. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48:2905-10.
 17. National Committee for Clinical Laboratory Standards. ed. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Tenth informational supplement. Wayne: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2000:M100-S10.
 18. Weldhagen GF, Poirel L, Nordmann P. Ambler class A extended-spectrum β -lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*: novel developments and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:2385-92.
 19. National Committee for Clinical Laboratory Standards. ed. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically-5th edition: approved standards. Wayne: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2000:M7-A5.
 20. Miller J. ed. Experiments in molecular genetics. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory, 1992:82-5.
 21. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977;74:5463-7.
 22. Park JH, Lee SH, Jeong SH, Kim BN, Kim KB, Yoon JD, et al. Characterization and prevalence of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates producing an extended-spectrum β -lactamase from Korean hospitals. *Korean J Lab Med* 2003;23:18-24.
 23. Hong SG, Kim S, Jeong SH, Chang CH, Cho SR, Ahn JY, et al. Prevalence and diversity of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates in Korea. *Korean J Clin Microbiol* 2003;6:149-55.
 24. Lee SH, Kim JY, Shin SH, An YJ, Choi YW, Jung YC, et al. Dissemination of SHV-12 and characterization of new AmpC-type beta-lactamase genes among clinical isolates of *Enterobacter* species in Korea. *J Clin Microbiol* 2003;41:2477-82.
 25. Poirel L, Gniadkowski M, Nordmann P. Biochemical analysis of the ceftazidime-hydrolysing extended-spectrum β -lactamase CTX-M-15 and of its structurally related β -lactamase CTX-M-3. *J Antimicrob Chemother* 2002;50:1031-4.
 26. Nuesch-Inderbinen MT, Kayser FH, Hachler H. Survey and molecular genetics of SHV β -lactamases in *Enterobacteriaceae* in Switzerland: two novel enzymes, SHV-11 and SHV-12. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41: 943-9.

Prevalence of Ambler Class A Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Isolates in Korea

Ji Hae Kang¹, Il Kwon Bae², Su Bong Kwon², Seok Hoon Jeong^{2*}, Jongwook Lee³, Wee Gyo Lee⁴, Jung Oak Kang⁵, Ji Young Ahn⁶, Seong Geun Hong⁷, Jong Hee Shin⁸, Young Uh⁹, Yeon Jun Park¹⁰, Eui-Chong Kim¹¹, Kyungwon Lee¹², Dongeun Yong¹², and Gun Jo Woo¹³

Departments of Pediatrics¹ and Laboratory Medicine², Kosin University College of Medicine, Busan; Department of Laboratory Medicine³, Keonyang University College of Medicine, Daejeon; Department of Laboratory Medicine⁴, Ajou University College of Medicine, Suwon; Department of Laboratory Medicine⁵, Hanyang University College of Medicine, Guri; Department of Laboratory Medicine⁶, Sooncheonhyang University College of Medicine, Gumi; Department of Laboratory Medicine⁷, Pochon Cha University College of Medicine, Sungnam; Department of Laboratory Medicine⁸, Chonnam National University Medical School, Gwangju; Department of Laboratory Medicine⁹, Yonsei University Wonju College of Medicine, Wonju; Department of Laboratory Medicine¹⁰, The Catholic University of Korea College of Medicine, Seoul; Department of Laboratory Medicine¹¹, Seoul National University College of Medicine, Seoul; Department of Laboratory Medicine¹², Yonsei University College of Medicine, Seoul; Division of Food Microbiology¹³, Center for Food Safety Evaluation, Korea Food and Drug Administration, Seoul, Korea

Background: The aim of this study is to determine the nationwide prevalence of Ambler class A extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* and to characterize genotypes of ESBLs.

Methods: During the period of February through July, 2003, *E. coli* and *K. pneumoniae* isolates were collected from 12 hospitals in Korea. Antimicrobial susceptibilities were tested by disk diffusion method, and ESBL-production was determined by the double-disk synergy test. MICs of β -lactam antibiotics were tested by agar dilution method. Searches for bla_{TEM} , bla_{SHV} , bla_{CTX-M} , bla_{PER-1} , bla_{VEB} , bla_{IBC} , bla_{GES} and bla_{TLA} genes were performed by PCR amplification, and the genotypes of ESBLs were determined by direct nucleotide sequence analysis of amplified products.

Results: Resistance rates of *E. coli* (n=246) and *K. pneumoniae* (n=239) isolates to ceftazidime were 8.5% and 20.1%, respectively. Most prevalent Ambler class A ESBL genotypes in *E. coli* isolates were $bla_{CTX-M-15}$ (n=4) and $bla_{CTX-M-3}$ (n=3), and each of $bla_{CTX-M-14}$, bla_{SHV-12} , and bla_{TEM-52} gene was also found in one isolate. Most prevalent ESBL genotypes in *K. pneumoniae* were bla_{SHV-12} (n=30) and $bla_{CTX-M-3}$ (n=13), and $bla_{CTX-M-14}$ (n=5), bla_{SHV-2a} (n=3), bla_{SHV-5} (n=2), bla_{TEM-52} (n=1), bla_{GES-3} (n=2) genes were also found.

Conclusion: CTX-M-type ESBL-producing *E. coli* and *K. pneumoniae* isolates are spreading, and a GES-type ESBL has emerged in Korea.

(*Korean J Clin Microbiol* 2005;8(1):17-25)

Keywords: Extended-spectrum β -lactamase, CTX-M, GES-3, *E. coli*, *K. pneumoniae*

Address reprint requests to : Seok Hoon Jeong, M.D., Department of Laboratory Medicine, Kosin University College of Medicine, 34 Amnam-Dong, Suh-Gu, Busan 602-702, Korea.
Tel. 82-51-990-6373 Fax. 82-51-990-3034 E-mail: kscpjsh@ns.kosinmed.or.kr