

CTX-M-12, PER-1 및 OXA-30 β -Lactamase 생성 *Klebsiella pneumoniae*의 출현

배일권¹, 이유내¹, 정석훈¹, 이경원², 용동은², 이종욱³, 홍성근⁴, 김의종⁵, 박연준⁶, 최태열⁷,
어 영⁸, 신종희⁹, 이위교¹⁰, 안지영¹¹, 이성희¹², 우건조¹³, 박효선¹³

고신의대 진단검사의학교실¹, 연세의대 진단검사의학교실², 건양의대 진단검사의학교실³, 포천
중문의대 진단검사의학교실⁴, 서울의대 진단검사의학교실⁵, 가톨릭의대 진단검사의학교실⁶,
한양의대 진단검사의학교실⁷, 원주의대 진단검사의학교실⁸, 전남의대 진단검사의학교실⁹,
아주의대 진단검사의학교실¹⁰, 순천향의대 진단검사의학교실¹¹, 제주한마음병원
진단검사의학과¹², 식품의약품안전청 식품안전평가부¹³

배 경 : Ceftazidime 또는 cefotaxime 내성 *Klebsiella pneumoniae*를 대상으로 Ambler class A형 및 D형 extended-spectrum β -lactamase (ESBL)의 생성현황을 조사하고자 하였다.

방 법 : 2005년 5-6월에 전국 11개 병원에서 분리된 ceftazidime 또는 cefotaxime 내성 *K. pneumoniae*를 수집하였다. Ceftazidime 또는 cefotaxime에 대한 감수성을 디스크 확산법으로 시험하였으며, ESBL 생성은 double-disk synergy 시험으로 조사하였다. ESBL 생성균주의 ceftazidime 또는 cefotaxime 내성을 접합으로 내성 수여자인 azide 내성 *E. coli* J53으로 전달하였다. PCR로 Ambler class A형 및 D형 ESBL을 생성하는 유전자를 검출하였고, PCR 산물의 염기서열을 양방향으로 분석하였다.

결 과 : ESBL 유전자 PCR 산물의 염기서열 분석결과 *bla*_{SHV-12}를 지닌 균주가 148주로 가장 흔하였으며, 이 외에도 *bla*_{SHV-2a} (2주), *bla*_{TEM-52} (1주), *bla*_{CTX-M-3} (15주), *bla*_{CTX-M-9} (6주), *bla*_{CTX-M-12} (2주), *bla*_{CTX-M-14} (9주), *bla*_{CTX-M-15} (1주), *bla*_{GES-5} (3주), *bla*_{PER-1} (1주) 및 *bla*_{OXA-30} (2주)이 확인되었다.

결 론 : 본 연구를 통하여 PER-1, CTX-M-12, OXA-30 등 국내에서 분리되는 *K. pneumoniae*가 생성하는 ESBL의 종류가 다양해지고 있음을 확인할 수 있었다.

서 론

*Klebsiella*는 자연에 널리 분포하는 세균이다. 하수, 토양, 식물의 껍질 및 사람, 말, 돼지 등 포유류의 피부에 존재하며, 지역사회획득 폐렴, 화농성 감염증 및 알코올중독증 환자에서 폐렴의 주요 원인균으로 알려져 있다[1]. *Klebsiella* 감염증 대부분은 병원감염이고 소아당뇨나 만성폐쇄성폐질환을 앓고 있는 면역저하 환자에서 기회감염을 유발하며, 이들 대부분은 *Klebsiella pneumoniae*이다[2]. 미국 질병관리통제센터(CDC)는 병원감염증의 3-7%

가 *Klebsiella*에 의한 것이라 하였으며, 이 결과는 영국과 독일에서도 유사하다[3,4]. 이 세균은 병원감염 중 요로 감염증의 6-17%, 폐렴의 7-14%, 패혈증의 4-15%, 창상감염의 2-4%, 중환자실 환자 감염증의 4-17% 및 신생아 패혈증의 3-20%를 유발하는 것으로 보고되었다[5,6].

*K. pneumoniae*는 중 특이적 염색체성 SHV형, LEN형 혹은 OKP형 β -lactamase를 생성하므로 ampicillin, amoxicillin, carbenicillin 및 ticarcillin에 자연내성이다[7]. 따라서 *K. pneumoniae*에 의한 감염증의 치료에 이들 β -lactamase에 안정한 oxyimino-cephalosporin이 널리 사용되어 왔다. 그러나 1980년대 초 독일에서 분리된 *Klebsiella ozaenae*에서 광범위 β -lactam 항균제를 가수분해하는 extended-spectrum β -lactamase (ESBL)가 처음 확인된 이후 TEM 및 SHV형 ESBL이 전 세계적으로 확산되어 왔다. 최근에는 CTX-M형, PER형, GES형, VEB형, TLA형 등 non-TEM, non-SHV class A ESBL과 OXA-2, OXA-10, OXA-17 등 class D ESBL의 확산도 보고되었다[8]. 국내

본 논문은 2006년 식품의약품안전청 위탁과제 지원에 의하여 이루어진 것임.

접 수 일: 06 / 8 / 31 게재승인일: 06 / 9 / 13

교신저자: 정석훈

(602-702) 부산광역시 서구 압남동 34번지

고신대학교 의과대학 진단검사의학교실

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

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

에서 분리되는 *K. pneumoniae*는 SHV-12를 가장 흔히 생성하며 CTX-M-3, CTX-M-14 등 CTX-M형 ESBL도 생성하는 것으로 알려졌다. 최근에는 GES-5 등 새로운 ESBL의 출현도 보고되었다[9]. OXA-30의 출현이 보고되었지만[10], *K. pneumoniae*의 class D ESBL 생성현황에 대한 보고는 매우 드물다.

본 연구에서는 2005년에 전국 11개 병원에서 수집한 ceftazidime이나 cefotaxime에 중간 혹은 내성인 *K. pneumoniae*를 대상으로 class A형 및 D형 ESBL 생성현황을 조사하고 내성유전형을 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 균주의 수집 및 항균제 감수성 시험

전국 9개 도시의 11개 병원이 본 연구에 참여하였다. 2005년 5월에서 6월까지 분리된 *K. pneumoniae* 중 cefotaxime이나 ceftazidime에 중간 혹은 내성인 균주를 병원 당 약 20주씩 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 확인하였

다.

미국의 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 기준에 따라서 cefotaxime과 ceftazidime (BBL, Cockeysville, Mich., USA)에 대한 감수성을 디스크 확산법으로 확인하였으며, double-disk synergy (DDS)법으로 ESBL 생성균주를 검출하였다. Cefoxitin (중외, 서울, 대한민국), ceftazidime (한미, 화성, 대한민국), ceftazidime-clavulanic acid, cefotaxime (한독, 서울, 대한민국), cefotaxime-clavulanic acid, cefepime (보령, 안산, 대한민국) 및 cefepime-clavulanic acid의 최소억제농도(minimum inhibitory concentration, MIC)를 한천희석법으로 측정하였다[11]. Clavulanic acid의 농도는 4 µg/mL로 고정하였으며, *Escherichia coli* ATCC 25933을 표준균주로 사용하였다.

2. 내성전달 시험

접합에 의한 내성전달 시험은 azide 내성인 *E. coli* J53을 이용하여 filter mating법으로 시행하였다[12]. 내성 전달의 확인을 위해서 transconjugant의 ESBL 유전형을 PCR로 확인하였다.

Table 1. Oligonucleotides used for PCR amplification and sequencing of the class A and D genes

Ambler Classes	PCR targets	Primer names	Primer sequences
A	TEM-type	TF	5'-CTTGAAGACGAAAGGGCCTC-3'
		TR	5'-TGACTCCCCGTCGTGTAGAT-3'
	SHV-type	SF	5'-CGCCGGGTTATTCTTATTTG-3'
		SR	5'-CCACGTTTATGGCGTTACCT-3'
	CTX-M1 cluster	C1F	5'-CCGTCACGCTGTTGTTAGG-3'
		C1R	5'-GACGATTTTAGCCGCCGAC-3'
	CTX-M2 cluster	C2F	5'-CGACGCTACCCCTGCTATT-3'
		C2R	5'-CCTCGCTCCATTTATTGCAT-3'
	CTX-M8 cluster	C8F	5'-GGCGCTGGAGAAAAGCAG-3'
		C8R	5'-GGTTTTATCCCCGACAACC-3'
	CTX-M9 cluster	C9F	5'-TGCAACGGATGATGTTTCG-3'
		C9R	5'-CCTTCGGCGATGATTCTC-3'
	PER-1 cluster	P1F	5'-GTTAATTTGGGCTTAGGGCAG-3'
		P1R	5'-CAGCGCAATCCCCACTGT-3'
	GES/IBC-type	IGF	5'-GTTAGACGGGCGTACAAAGATAAT-3'
		IGR	5'-TGTCCGTGCTCAGGATGAGT-3'
	VEB-type	VF	5'-ACCAGATAGGAGTACAGACATATGA-3'
		VR	5'-TTCATCACCGCGATAAAGCAC-3'
D	OXA-1 cluster	O1F	5'-GCAAATATTATCTACAGCAGCGC-3'
		O1R	5'-TGCACCAGTTTTCCTACATA-3'
	OXA-2 cluster	O2F	5'-CGATAGTTGTGGCAGACGAA-3'
		O2R	5'-CTTGACCAAGCGCTGATGT-3'
	OXA-7 cluster	O7F	5'-CAAAGAGTTCTCTGCCGAAGC-3'
		O7R	5'-CCACCAATGATGCCCTCAC-3'

Table 2. Prevalence of Ambler class A and D ESBL-producing *K. pneumoniae* isolates in 2005

Hospital	Isolates No.	No. DDS-positive isolates (%)	Conjugation (%)	No. Genotype of ESBL									
				<i>bla</i> TEM-52	<i>bla</i> SHV-2a	<i>bla</i> SHV-12	<i>bla</i> CTX-M-3	<i>bla</i> CTX-M-15	<i>bla</i> CTX-M-12	<i>bla</i> CTX-M-9	<i>bla</i> CTX-M-14	<i>bla</i> GES-5	<i>bla</i> PER-1
SN	12	8 (66.7)	2 (16.7)	1	0	6	0	0	0	0	0	0	0
SS	20	14 (70.0)	7 (35.0)	0	0	13	2	0	2	0	0	0	0
SM	17	15 (88.2)	4 (23.5)	0	0	13	1	0	0	0	0	0	0
HY	18	18 (100)	15 (83.3)	0	0	17	7	1	0	4	0	0	0
AJ	18	14 (77.8)	9 (50.0)	0	1	14	0	0	0	0	2	0	0
BD	20	19 (95.0)	4 (20.0)	0	0	17	1	0	0	0	0	1	1
WK	20	13 (65.0)	13 (65.0)	0	0	13	1	0	0	0	4	0	1
JN	19	14 (73.7)	4 (21.1)	0	0	15	0	0	0	0	0	0	0
SC	15	15 (100)	9 (60.0)	0	0	12	0	0	0	0	0	3	0
KS	20	20 (100)	4 (20.0)	0	1	18	3	0	0	2	0	0	0
JJ	10	10 (100)	8 (80.0)	0	0	10	0	0	0	0	1	0	0
Total	189	160 (84.7)	79 (41.8)	1	2	148	15	1	2	6	9	3	2

Abbreviations: SN, Seoul National University Hospital; SS, Severance Hospital; SM, Kangnam St. Mary's Hospital; HY, Hanyang University Hospital; AJ, Ajou University Hospital; BD, Bundang Cha Medical Center; WK, Wonju Christian Hospital; JN, Chonnam National University Hospital; SC, SuonChunHyang University Gumi Hospital; KS, Kosiin University Gospel Hospital; JJ, Cheju Hanmaeum Hospital.

Table 3. Characteristics of Ambler class A and D ESBL-producing *K. pneumoniae* isolates

Type of Ambler class A and D ESBLs	No. (%) of isolates	MIC (μg/mL)											
		FOX			CAZ			CAZ/CLA			CTX		
		Range	MIC ₅₀	Range	MIC ₅₀	Range	MIC ₅₀	Range	MIC ₅₀	Range	MIC ₅₀	Range	MIC ₅₀
TEM-52	1 (0.5)	2		64		2		2		0.5		16	
SHV-12	126 (66.7)	2->256	32	16->256	256	0.5->256	16	0.5->256	16	0.06-256	16	0.5-256	4
SHV-12+CTX-M-3	10 (5.3)	2-256		4->256		1->256		1->256		1->256		16->256	
SHV-12+CTX-M-3+	1 (0.5)	>256		32		2		2		1		16	
SHV-12+CTX-M-9	4 (2.1)	8-16		128-256		2-16		2-16		0.5-1		16-32	
SHV-12+CTX-M-12	1 (0.5)	256		256		32		32		4		64	
SHV-12+CTX-M-14	2 (1.1)	4-16		256->256		4-128		4-128		0.5-256		32-128	
SHV-12+CTX-M-15	1 (0.5)	2		256		2		2		1		128	
SHV-12+GES-5	2 (1.1)	8->256		>256		16-32		16-32		0.25-4		16	
SHV-12+OXA-30	1 (0.5)	32		256		16		16		4		8	
SHV-2a	1 (0.5)	2		256		2		2		8		2	
SHV-2a+CTX-M-9	1 (0.5)	4-8		>256		256->256		256->256		>256		128	
CTX-M-3	2 (1.1)	4->256		4-16		2-4		2-4		4-8		32-64	
CTX-M-3+CTX-M-14	1 (0.5)	256		128		16		16		8		32	
CTX-M-3+OXA-30	1 (0.5)	4		16		4		4		4		32	
CTX-M-12	1 (0.5)	>256		128		16		16		4		32	
CTX-M-14	6 (3.2)	4->256		4-32		0.5-32		0.5-32		4-256		32-256	
PER-1	1 (0.5)	4		>256		>256		>256		>256		>256	
GES-5	1 (0.5)	32		128		32		32		4		0.25	

Abbreviations: FOX, cefoxitin; CAZ, ceftazidime; CAZ/CLA, ceftazidime-clavulanic acid; CTX, cefotaxime; CTX/CLA, cefotaxime-clavulnic acid; FEP, cefepime; FEP/CLA, cefepime-clavulanic acid.

3. 분자생물학적 방법에 의한 내성유전형 확인

ESBL 유전자를 검출하기 위한 primer를 고안하여 PCR을 시행하였다(Table 1). 시험세균의 plasmid DNA 추출액 5 μ L, primer 각 1 μ L, 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 PCR 반응액을 만들었다. Gene Amp PCR System 9600 (Perkin-Elmer Cetus Co., Norwalk, Ct., USA)으로 94℃에서 30초간 denaturation, 60℃에서 30분간 annealing, 72℃에서 30분간 extension을 30회 시행하였다. 증폭산물 3 μ L를 1.0% agarose gel (Promega, Madison, Wi., USA)에 20분간 전기영동하여 증폭산물의 band를 확인하였다. PCR 증폭산물을 추출하여서 Sequenase Version 2.0 DNA sequencing kit (U.S. Biochemicals, Cleveland, Oh., USA)를 이용하여서 양방향으로 염기서열을 분석하였다.

결 과

1. 수집균주의 특성

전국 11개 대학병원에서 수집된 *K. pneumoniae* 189주 중 182주(96.3%)는 ceftazidime에, 130주(68.8%)는 cefotaxime에 중간 혹은 내성이었으며, 두 항균제 모두에 내성인 균주는 122주(64.6%)였다. 대상 균주 중 160주(84.7%)가 DDS 양성이었다. 이 중 69주(43.1%)에서 ceftazidime 혹은 cefotaxime 내성이 azide 내성 *E. coli* J53으로 전달되었다(Table 2).

2. ESBL 유전형

ESBL 유전자 PCR 산물의 염기서열 분석결과 *bla*_{SHV-12}를 지닌 균주가 148주로 가장 흔하였으며, 이 외에도 *bla*_{SHV-2a} (2주), *bla*_{TEM-52} (1주), *bla*_{CTX-M-3} (15주), *bla*_{CTX-M-9} (6주), *bla*_{CTX-M-12} (2주), *bla*_{CTX-M-14} (9주), *bla*_{CTX-M-15} (1주), *bla*_{GES-5} (3주), *bla*_{PER-1} (1주) 및 *bla*_{OXA-30} (2주)이 확인되었다. 20주는 SHV형과 CTX-M형 ESBL 유전자를 동시에 지니고 있었고, *bla*_{GES-5} 유전자를 지닌 3주 중 2주는 *bla*_{SHV-12}를 동시에 지니고 있었으며, *bla*_{OXA-30}을 지닌 2주는 각각 *bla*_{CTX-M-3}와 *bla*_{SHV-12}를 함께 지니고 있었다(Table 2). CTX-M-2 및 CTX-M-8 cluster, VEB형, TLA형 및 OXA-7 cluster PCR에 양성을 보인 균주는 없었다. DDS 양성인 균주 160주 중 11주에서 ESBL 유전자가 검출되지 않았으며, DDS 음성인 31주 중 14주에서 ESBL 유전자가 검출되었다.

3. ESBL 생성균주의 특성

SHV-12 생성균주에 대한 ceftazidime의 MIC₅₀은 256 μ g/mL

로 cefotaxime의 16 μ g/mL보다 높았고, CTX-M형 ESBL을 생성하는 균주에 대한 cefotaxime의 MIC₅₀은 128 μ g/mL로 ceftazidime의 64 μ g/mL보다 약간 높았다(Table 3).

서울의 한 대학병원에서 분리된 CTX-M-12 생성균주 2주 중 1주는 SHV-12를 동시에 생성하였으며, 이 균주에 대한 ceftazidime과 cefotaxime의 MIC는 CTX-M-12만을 생성하는 균주보다 상대적으로 높았다. 이들 균주의 *bla*_{CTX-M-12} 유전자는 모두 접합에 의해 azide 내성 *E. coli* J53으로 전달되었다. 성남에 위치한 대학병원의 호흡기 검체에서 분리된 PER-1 생성균주는 뇌경색을 앓고 있는 81세 남성 환자에서 검출된 것으로 cefoxitin (MIC, 4 μ g/mL)을 제외한 시험 항균제 모두에 고도내성을 보였다. 이 균주에 대한 imipenem의 MIC는 2 μ g/mL로 감수성이 저하된 양상을 보였다. *bla*_{PER-1} 유전자는 접합에 의해서 azide 내성 *E. coli* J53으로 전달되지 않았다. 구미의 대학병원에서 GES-5 생성 *K. pneumoniae*가 3주 검출되었는데 이들 가운데 2주는 SHV-12를 동시에 생성하였다. GES-5를 생성하는 균주에 대한 ceftazidime의 MIC (128->256 μ g/mL)는 cefotaxime의 MIC (4-30 μ g/mL)보다 상대적으로 높았다. OXA-30을 생성하는 2주 중 성남에 위치한 대학병원의 호흡기 검체에서 분리된 균주는 CTX-M-3, 원주에 위치한 대학병원의 요 검체에서 분리된 균주는 SHV-12를 동시에 생성하였다. 이들 균주에 대한 cefepime의 MIC는 각각 32 μ g/mL와 8 μ g/mL이었다.

고 찰

본 연구의 결과는 국내분리 *K. pneumoniae*가 가장 흔히 생성하는 ESBL은 강력한 ceftazidimase인 SHV-12이며, CTX-M-14와 CTX-M-3도 혼합을 보여주며, 이는 2004년에 시행된 조사와 유사한 것이다[13]. SHV-12 생성균주의 다수는 CTX-M형, GES-5, OXA-30 등 타 ESBL을 동시에 생성하여 cefotaxime에도 강한 내성을 획득하고 있었다. 두 종류 이상의 ESBL을 동시에 생성하는 균주의 확산은 임상에서의 감염증 치료에 어려움을 더할 것으로 우려된다.

서울의 한 대학병원에서 2주의 CTX-M-12 생성 *K. pneumoniae*가 검출되었다. 이 유전자는 CTX-M-3의 12번 threonine이 alanine, 89번 aspartic acid가 serine, 278번 valine이 isoleucine으로 치환된 것이다. 이 유전자는 2000년 케냐에서 최초로 보고되었으며[14], 국내에서는 2004년에 *E. coli* 3주와 *K. pneumoniae*에서 1주가 분리된 이후 본 연구에서도 분리되어서, 이 효소가 국내에 정착하고 있음을 확인할 수 있었다[15,16].

성남의 한 대학병원의 호흡기검체에서 분리된 *K. pneumoniae*에서 PER-1 생성 균주가 검출되었다. PER-1은 터키에서 분리된 *Acinetobacter baumannii*와 *Pseudomonas aeruginosa*가 높은 빈도로 생성하는 것으로 보고되었으며[17], 국내에서 분리된 *A. baumannii*도 이 효소를

흔히 생성하는 것으로 알려졌다[18]. 그러나 장내세균이 효소를 생성하는 예가 보고된 바는 아직 없으며, 본 연구에서 세계 최초로 PER-1 생성 *K. pneumoniae*를 분리한 것으로 생각된다. 이 균주의 DDS 시험에서 cefepime과 clavulanic acid 디스크 사이에서만 억제대가 관찰되었다. 이 균주에 대한 ceftazidime, cefotaxime 및 cefepime의 MIC는 모두 $>256 \mu\text{g/mL}$ 로 고도내성이었고, clavulanic acid를 첨가해도 MIC가 감소되지 않는 양상을 보였다. 또한 imipenem의 MIC가 $2 \mu\text{g/mL}$ 로 감수성이 저하된 양상을 보였기에 PER-1 생성 이외에도 부가적인 내성기전이 있을 것으로 추측되었다. 이 균주의 내성기전의 규명을 위한 연구가 현재 진행 중이다.

GES-5 생성 *K. pneumoniae* 3주가 구미의 대학병원에서 검출되었다. GES-5 생성균주는 2003년 분당의 대학병원에서 국내 최초로 분리되었으며[19], 본 연구의 결과는 GES-5가 국내에 확산되고 있음을 보여준다. 이들 균주 중 2주는 GES-5와 SHV-12 이외에도 DHA-1을 동시에 생성하여(data not shown) 3세대 cephalosporin, aztreonam 뿐만 아니라 cefoxitin에도 내성을 획득하였고, imipenem에 대한 감수성도 저하(MIC, $4 \mu\text{g/mL}$)된 것으로 생각된다.

성남과 원주의 대학병원의 호흡기 및 요 검체에서 분리된 OXA-30은 각각 CTX-M-3과 SHV-12를 동시에 생성하였다. OXA-30형 ESBL은 1999년 중국 상하이와 홍콩의 ampicillin 내성 *Shigella flexneri*에서 처음 분리되었으며 OXA-1의 131번 Arginine이 Glycine으로 치환된 것이다[20]. 국내에서는 OXA-30과 CTX-M-15를 동시에 생성하는 *E. coli*가 보고된 바 있지만[10], 이 효소를 생성하는 *K. pneumoniae*는 본 연구를 통해 처음 확인된 것으로 생각된다. 프랑스의 임상검체에서 분리된 OXA-30 생성 *E. coli*는 cefotaxime이나 ceftazidime보다 cefepime, cefpirome 등 제 4세대 cephalosporin에 대한 가수분해 활성이 높았다[21]. 본 연구에서 분리된 2주에 대한 cefepime의 MIC는 $8-32 \mu\text{g/mL}$ 이었다. 이들 2주에 대한 ceftazidime과 cefotaxime의 MIC도 높은 양상을 보였는데, 이는 이들 균주가 CTX-M-3 혹은 SHV-12를 동시에 생성하기 때문인 것으로 생각된다.

이상의 결과에서 국내에서 분리되는 *K. pneumoniae*가 흔히 생성하는 ESBL은 SHV-12, CTX-M-14, CTX-M-3 등으로 2004년과 유사하지만, CTX-M-12, PER-1, GES-5, OXA-30 등 새로운 유형의 ESBL이 출현 혹은 확산하고 있음을 확인할 수 있었다. ESBL 생성 양상의 변화를 감시하기 위한 지속적인 연구가 필요한 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

- Carpenter JL. *Klebsiella* pulmonary infections: occurrence at one medical center and review. Rev Infect Dis 1990;12:672-82.
- Podschun R and Ullmann U. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. Clin Microbiol Rev 1998;11:589-603.
- Schaberg DR, Culver DH, Gaynes RP. Major trends in the microbial etiology of nosocomial infection. Am J Med 1991;91:72S-75S.
- Bergogne-Berezin E. Nosocomial pathogens: new pathogens, incidence, prevention. Presse Med 1995;24:89-97.
- Bennett CJ, Young MN, Darrington H. Differences in urinary tract infection in male and female spinal cord injury patients on intermittent catheterization. Paraplegia 1995;33:69-72.
- Lye WC, Chan RKT, Lee EJC, Kumarasinghe G. Urinary tract infections in patients with diabetes mellitus. J Infect 1992;24:169-74.
- Lee YH, Cho B, Bae IK, Chang CL, Jeong SH. *Klebsiella pneumoniae* strains carrying the chromosomal SHV-11 β -lactamase gene produce the plasmid-mediated SHV-12 extended-spectrum β -lactamase more frequently than those carrying the chromosomal SHV-1 β -lactamase gene. J Antimicrob Chemother 2006;57:1259-61.
- Paterson DL and Bonomo RA. Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev 2005;18:657-86.
- Ryoo NH, Kim EC, Hong SG, Park YJ, Lee K, Bae IK, et al. Dissemination of SHV-12 and CTX-M-type extended-spectrum β -lactamases among clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* and emergence of GES-3 in Korea. J Antimicrob Chemother 2005;56:698-702.
- Pai H, Kim MR, Seo MR, Choi TY, Oh SH. A nosocomial outbreak of *Escherichia coli* producing CTX-M-15 and OXA-30 beta-lactamase. Infect Control Hosp Epidemiol 2006;27:312-4.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 16th ed, M100-S16. CLSI, Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2006.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual. 2nd ed, Cold Spring Harbor, NY; Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
- Bae IK, Jeong SH, Lee K, Yong D, Lee J, Hong SG, et al. Emergence of CTX-M-12 and a novel CTX-M-type extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. Korean J Lab Med 2006;26:21-6.
- Kariuki S, Corkill JE, Revathi G, Musoke R, Hart CA. Molecular characterization of a novel plasmid-encoded cefotaximase (CTX-M-12) found in clinical *Klebsiella*

- pneumoniae* isolates from Kenya. Antimicrob Agents Chemother 2001;45:2141-3.
15. Oh CE, Hong JS, Bae IK, Song EH, Jeong SH, Lee K, et al. Dissemination of CTX-M type extended-spectrum β -lactamases and emergence of CTX-M-12 in *Escherichia coli*. Korean J Med 2005;25:252-8.
 16. Bae IK, Jeong SH, Lee K, Yong D, Lee J, Hong SG, et al. Emergence of CTX-M-12 and a novel CTX-M type extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. Korean J Med 2006;26:21-6.
 17. Vahaboglu H, Ozturk R, Aygun G, Coskunkan 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 Nationwide multicenter study. Antimicrob Agents Chemother 1997;41:2265-9.
 18. 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.
 19. Jeong SH, Bae IK, Kim D, Hong SG, Song JS, Lee JH, et al. First outbreak of *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates producing GES-5 and SHV-12 extended-spectrum β -lactamases in Korea. Antimicrob Agents Chemother 2005;49:4809-10.
 20. Siu LK, Lo JYC, Yuen KY, Chau PY, Ng MH, Ho PL. β -Lactamases in *Shigella flexneri* isolates from Hong Kong and Shanghai and a novel OXA-1-like β -lactamase, OXA-30. Antimicrob Agents Chemother 2000;44:2034-8.
 21. Dubois V, Arpin C, Quentin C, Texier-Maugein J, Poirel L, Nordman P. Decreased susceptibility to cefepime in a clinical strain of *Escherichia coli* related to plasmid- and integron-encoded OXA-30 β -lactamase. Antimicrob Agents Chemother 2003;47:2380-1.

Emergence of CTX-M-12, PER-1 and OXA-30 β -Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae*

Il Kwon Bae¹, Yu Nae Lee¹, Seok Hoon Jeong¹, Kyungwon Lee², Dongeun Yong², Jongwook Lee³,
Seong Geun Hong⁴, Eui-Chong Kim⁵, Yeon Jun Park⁶, Tae Yeal Choi⁷, Young Uh⁸, Jong Hee Shin⁹,
Wee Gyo Lee¹⁰, Ji young Ahn¹¹, Sung-Hee Lee¹², Gun-Jo Woo¹³, and Hyo-Sun Kwak¹³

Department of Laboratory Medicine¹, Kosin University College of Medicine, Busan; Department of Laboratory Medicine², Yonsei University College of Medicine, Seoul; Department of Laboratory Medicine³, Keonyang University College of Medicine, Daejeon; Department of Laboratory Medicine⁴, Pochon Cha University College of Medicine, Sunnam; Department of Laboratory Medicine⁵, Seoul National University College of Medicine; Department of Laboratory Medicine⁶, The Catholic University College of Medicine; Department of Laboratory Medicine⁷, Hanyang University College of Medicine, Seoul; Department of Laboratory Medicine⁸, Yonsei University Wonju College of Medicine, Wonju; Department of Laboratory Medicine⁹, Chonnam National University College of Medicine, Gwangju; Department of Laboratory Medicine¹⁰, Ajou University College of Medicine, Suwon; Department of Laboratory Medicine¹¹, Sooncheonhyang University College of Medicine, Gumi; Department of Laboratory Medicine¹², Cheju Hanmaeum Hospital, Cheju; and Center for Food Safety Evaluation¹³, Korea Food and Drug Administration, Seoul, Korea

Background: The aim of this study was to determine a nation-wide prevalence of Ambler class A and D extended-spectrum β -lactamases (ESBL) in *Klebsiella pneumoniae* isolates in Korea.

Methods: During the period of April to May 2005, 189 isolates of *K. pneumoniae* were collected from 11 Korean hospitals. Antimicrobial susceptibilities to ceftazidime and cefotaxime were tested by the disk diffusion method, and ESBL production was determined by double-disk synergy test. Determinants of ceftazidime or cefotaxime-resistance were transferred to *Escherichia coli* J53 (azide-resistant) by transconjugation. Genotypes of class A and D ESBL genes were determined by PCR amplification and sequencing.

Results: One hundred-sixty isolates of *K. pneumoniae* showed positive results in double-disk synergy test. The most prevalent ESBL was SHV-12 (n=148). Also detected were genes encoding ESBLs including TEM-52 (n=1), SHV-2a (n=2), CTX-M-3 (n=15), CTX-M-9 (n=6), CTX-M-12 (n=2), CTX-M-14 (n=9), CTX-M-15 (n=1), PER-1 (n=1), GES-5 (n=3), and OXA-30 (n=2) β -lactamases.

Conclusion: With the emergence of CTX-M-12, PER-1, and OXA-30 β -lactamases, the ESBLs in *K. pneumoniae* isolates are becoming more diverse in Korea.

(*Korean J Clin Microbiol* 2006;9(2):102-109)

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*, CTX-M-12, PER-1, OXA-30, Extended-Spectrum β -lactamase

Address reprint requests to : Seok Hoon Jeong, M.D., Department of Laboratory Medicine, Kosin University College of Medicine,
34 Amnam Dong, Suh Gu, Busan, 602-030, Korea.
TEL. +82-51-990-6373 FAX. +82-51-990-3034 E-mail: kscpjsh@ns.kosinmed.or.kr