

Prevalence of Carbapenemase and Integrase Genes in Imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* Collected over Several Years in a University Hospital

Hye Ryong Oh¹, Sook Jin Jang^{1,2}, Feng Nan Yu^{1,2}, Geon Park¹, Xue Min Li², Sung Heui Shin², Won Yong Kim³, Dae Soo Moon¹, Young Jin Park¹

¹Departments of Laboratory Medicine, ²Research Center for Resistant Cells, Chosun University Medical School, Gwangju; ³Department of Microbiology, Chungang University Medical School, Seoul, Korea

Background: The incidence of infections with imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* (IRAB) and *Pseudomonas aeruginosa* (IRPA) is increasing worldwide, and recent molecular studies indicate that the prevalence of carbapenemases is increasing in various parts of the world. However, few long-term longitudinal studies have assessed the prevalence of IRAB- and IRPA-derived carbapenemases and integrases in a hospital setting in Korea.

Methods: The carbapenemase genes (*bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, *bla*_{OXA-58}, *bla*_{IMP-1}, *bla*_{VIM-2}, *bla*_{SIM-1}, *bla*_{SPM-1}) and integrase genes (*intl1*, *intl2*, *intl3*) produced by 46 IRAB strains and 51 IRPA strains collected at Chosun University Hospital between 2003 and 2006 were determined by PCR.

Results: The IRAB strains produced class 1 integrases more often than did the IRPA strains. However, the incidence increased steadily in both strains, reaching 100% in 2006. Carbapenemases of *bla*_{IMP-1} and *bla*_{VIM-2} types were found in 57% and 64% of the IRAB strains, respectively, in 2003. However, only

one strain with *bla*_{VIM-2} was found in 2004 and another one with *bla*_{IMP-1} in 2005. The prevalence of carbapenemases was very low in the IRPA strains, just one strain with *bla*_{VIM-2} in 2005 and another one with *bla*_{OXA-23} in 2006. No other types of carbapenemase genes were detected in both strains. Rep-PCR of IRAB strains in 2003 showed different patterns.

Conclusion: The incidence of carbapenemase varied by year but was generally low, except in 2003. The prevalence of class 1 integrases was consistently high and increased every year. The reason for the high prevalence of carbapenemases in 2003 is still unknown, but we assumed that it was not from the spread of a clone containing either *bla*_{IMP-1} or *bla*_{VIM-2} because the strains exhibited different rep-PCR patterns. (Korean J Clin Microbiol 2007;10:128-134)

Key Words: Imipenem, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, Carbapenemase, Integrase, Metallo- β -lactamase

서론

세균의 항생제에 대한 내성은 병원 내 감염이 증가함에 따라 광범위 항생제의 사용이 늘어나면서 점차 증가하여 전 세계적으로 문제가 되고 있다. 최근에는 항생제에 다제내성을 보이는 그람음성간균의 유병률이 높아지고 있는 추세이다[1]. 그람음성간균 중 *Pseudomonas aeruginosa*와 *Acinetobacter baumannii*가 대표적인 병원 내 감염을 일으키는 다제내성 세균이다[2].

이러한 균종들에서 기존의 항생제뿐만 아니라 새로운 항생제들에 대한 내성들이 보고되고 있다[3-5]. 이 중 carbapenem은 작용 범위가 넓고, extended spectrum β -lactamase (ESBL)을 포함한 대부분의 β -lactamase에 의한 가수분해에 저항성을 보이기 때문에 그람음성균의 치료에 매우 효과적인 것으로 알려져 있다[6]. 그렇기 때문에 *P. aeruginosa*와 *A. baumannii* 감염증의 치료에 carbapenem을 치료약제로 많이 사용해 왔다. 그러나 최근 carbapenem에 내성을 보이는 *P. aeruginosa*와 *A. baumannii*가 계속 증가하여 환자 치료에 어려움을 겪고 있다[2].

Carbapenem 내성은 β -lactamase에 의한 효소적 불활성화, 세균 외막에 있는 porin의 소실, penicillin-binding protein의 변화, 특이적인 drug efflux pump의 변화 중 하나 또는 그 이상의 기전에 의해 일어난다[7]. 최근 *P. aeruginosa*와 *A. baumannii*

Received 27 September, 2007, Accepted 3 October, 2007

Correspondence: Sook Jin Jang, Department of Laboratory Medicine, College of Medicine, Chosun University, 588, Seoseok-dong, Dong-gu, Gwangju 501-717, Korea. (Tel) 82-62-220-3272, (Fax) 82-62-232-2063, (E-mail) sjbjang@chosun.ac.kr

와 같은 혼한 병원 내 감염균들 중 획득된 carbapenemase가 있다는 보고들이 증가하고 있다[8]. 이들 균종들에서 발견되는 주된 carbapenemase는 metalloenzyme 과 OXA-type 효소이다. Carbapenemase 중 특히 metallo- β -lactamases (MBL)는 1990년대 초 일본에서 IMP-1이라는 획득된 내성 유전자를 발견한 이후로 VIM-1 등의 내성 유전자들이 알려져 왔다[9-11]. MBL은 그람음성균이 생성하는 β -lactamase 중 가수분해 범위가 가장 넓으며, MBL을 생성하는 IMP, VIM과 같은 내성 유전자는 대개 integron 내에 위치해 있다[12,13]. 다제내성균의 경우, 매우 높은 비율로 integron을 보유하고 있는 것으로 알려져 있다[14,15]. Integron은 항생제 내성 유전자 cassette들을 집단적으로 축적할 수 있는 효율적인 유전적 기구이기 때문에 integron에 위치한 내성 유전자들은 발현되거나 전파되기가 쉬우므로 integron을 가지고 있는 감염균들은 항생제에 더욱 강한 내성을 보이게 된다[16,17]. 국내에서는 *P. aeruginosa*와 *A. baumannii*에서 분리된 carbapenemase로 *bla*_{VIM-2}, *bla*_{IMP-1}, *bla*_{SIM-1}, *bla*_{OXA-23} 유전자 등이 보고되어 왔다[12,18-20]. 아직까지는 각 지역별로 다제내성균들에 대한 carbapenemase 유전자 보유 현황과 그 양상이 확실히 밝혀지지는 않았지만 최근 들어 이러한 연구가 점차 증가하고 있다. 이러한 연구들 중, 국내에서 carbapenemase나 integrase 유전자들을 가진 세균들의 빈도에 대해 한 병원에서 다년간 조사한 보고는 드물기 때문에 저자들은 조선대학교병원에서 4년간 분리된 carbapenem 내성 *P. aeruginosa*와 *A. baumannii* 균주를 대상으로 carbapenemase와 integrase 유전자 보유율의 현

황 및 변화 추이를 파악하기 위해 본 연구를 시행하였다.

재료 및 방법

1. 대상

2003년 1월부터 2006년 12월까지 4년간 조선대학교병원 진단검사의학과 임상미생물검사실로 세균배양이 의뢰된 전체 검체들 중, imipenem 내성 *A. baumannii* (IRAB)와 *P. aeruginosa* (IRPA) 각각 46주(2003년: 14주, 2004년: 19주, 2005년: 4주, 2006년: 9주)와 51주(2003년: 6주, 2005년: 34주, 2006년: 11주)를 선별하여 조사 대상으로 하였다. 2004년에는 IRPA 균주들을 보관하지 않아 연구 대상에 포함되지 않았다. 균주들은 10% skim milk (Difco laboratories, Detroit, MI, USA)에 넣어 -20°C에서 냉동보관하였다. 각 균주의 동정과 항생제 감수성 검사에는 VITEK 2 (bioMérieux, Marcy-l'Etoile, France)를 사용하였다.

돌발 감염의 가능성을 확인하기 위해 시행한 repetitive extragenic palindromic (rep)-PCR을 위한 검체로는 2003년에 분리된 IRAB 14주를 대상으로 하였다.

2. β -lactamase와 integrase 유전자에 대한 polymerase chain reaction (PCR)

IRAB와 IRPA 균주들에 대해 OXA-type β -lactamase 유전자(*bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, *bla*_{OXA-58}), MBL 유전자(*bla*_{IMP-1}, *bla*_{VIM-2}, *bla*_{SIM-1}, *bla*_{SPM-1}), integrase 유전자(*intI1*, *intI2*, *intI3*)를 검출하

Table 1. Sequences of the PCR primers used in this study

Primers	Sequence (5'→3')	Target gene	Reference
INT-1F	CAGTGGACATAAGCCTGTTC	<i>IntI1</i>	[14]
INT-1R	CCCGAGGCATAGACTGTA		[14]
INT-2F	TTGCGAGTATCCATAACCTG	<i>IntI2</i>	[14]
INT-2R	TTACCTCGACTGGATTAAGC		[14]
INT-3F	GCAGGGTGTGGACGAATACG	<i>IntI3</i>	[21]
INT-3R	ACAGACCGAGAAGGCTTATG		[21]
IMP-1F	GCTACCGCAGCAGAGTCTTTG	<i>bla</i> _{IMP-1}	[20]
IMP-1R	CCTTTAACCCTGCTCTAATG		[20]
VIM-2F	GTTTGGTCGCATATCGCAAC	<i>bla</i> _{VIM-2}	[20]
VIM-2R	CTACTCAACGACTGAGCGATTTGT		[20]
OXA-23F	GATGTGTCATAGTATTCGTCG	<i>bla</i> _{OXA-23}	[8]
OXA-23R	TCACAACAATAAAAGCACTG		[8]
OXA-24F	GTAATAATCAAAGTTGTGAA	<i>bla</i> _{OXA-24}	[8]
OXA-24R	TTCCCCTAACATGAATTTGT		[8]
OXA-58F	AAGTATTGGGGCTTGTGCTG	<i>bla</i> _{OXA-58}	[27]
OXA-58R	CCCCTCTGCGCTCTACATAC		[27]
SIM-1F	CGGAAGAAGCCAGCCAG	<i>bla</i> _{SIM-1}	This study
SIM-1R	ATAAACAGCCCCGAATAGGA		This study
SPM-1F	GAGAGCCCTGCTTGGATTC	<i>bla</i> _{SPM-1}	[20]
SPM-1R	GCGACCTTGATCGTCTTGT		[20]

기 위한 PCR을 시행하였다. 검출하고자 하는 유전자들에 대한 시발체들과 이들의 염기서열은 Table 1과 같았다. 군주에서 추출한 DNA, 시발체, deoxynucleotide triphosphates (dNTP), *Taq*DNA polymerase, 10X buffer, 증류수를 혼합하여 총량 20 μ L가 되게 premix를 만들어 GeneAmp PCR System (Perkin-Elmer Centus Corp., Norwalk, CT, USA)을 사용해 PCR을 시행하였다. 증폭된 PCR 반응산물 10 μ L를 ethidium bromide 10 μ g/mL로 염색하여 2% agarose gel에서 100 volt로 30분간 전기영동하여, 이를 자외선 조사기로 관찰하였다. PCR 결과를 판독하기 위한 양성대조로 연세대학교 의과대학 진단검사의학교실 이경원 교수님과 고신대학교 의과대학 진단검사의학교실 정석훈 교수님께서 분양해 주신 내성 유전자가 검출된 임상 분리주를 사용하였고, 음성대조로 증류수를 각각 사용하였다.

3. Rep-PCR

대상 군주를 DU[®] 530 UV/VIS spectrophotometer (Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA, USA)를 사용하여 OD값이 2가 되

도록 균액량을 맞추고 *AccuPrep*[®] Genomic DNA Extraction kit (Bioneer Co., Daejeon, Korea)를 이용하여 유전체 DNA를 추출하였다. 시발체로는 5'-NNNRCGYCGNCATCMGGC-3'와 5'-RCGYCTTATCMGGCCTAC-3'을 사용하였다[21]. Rep-PCR을 위한 반응액으로 *AccuPower*[®] PCR Premix (Bioneer Co., Daejeon, Korea)에 유전체 DNA, 시발체, 증류수를 섞어 총 50 μ L를 만들어 ABI 2400 thermocycler (Perkin-Elmer Centus Corp., Norwalk, CT, USA)를 이용하여 증폭하여 전기영동하였다. 양성 대조로 2005년에 분리된 *bla*_{IMP-1} 양성 IRAB 1주와 2004년에 분리된 *bla*_{VIM-2} 양성 IRAB 1주를 사용하였다. Rep-PCR 결과를 분석해 dendrogram을 얻기 위한 소프트웨어로 Gel-Compar II (Applied Maths, Austin, TX, USA)를 사용하였다.

결 과

1. IRAB의 PCR 결과

IRAB의 integrase와 carbapenemase에 대한 PCR 검사 결과는

Table 2. Prevalence of integrase and carbapenemase genes among 46 strains of IRAB and 51 strains of IRPA

Organisms	Year	N.	N. (%) of strains with indicated gene									
			<i>Int1</i>	<i>Int2</i>	<i>Int3</i>	<i>bla</i> _{IMP-1}	<i>bla</i> _{VIM-2}	<i>bla</i> _{OXA-23}	<i>bla</i> _{OXA-24}	<i>bla</i> _{OXA-58}	<i>bla</i> _{SIM-1}	<i>bla</i> _{SPM-1}
IRAB	2003	14	12 (86)	0 (0)	0 (0)	8 (57)	9 (64)	1 (7)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	2004	19	16 (84)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (5)	1 (5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	2005	4	4 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (25)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	2006	9	9 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Total	46	41 (89)	0 (0)	0 (0)	9 (20)	10 (22)	2 (4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
IRPA	2003	6	3 (50)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	2005	34	26 (65)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	2006	11	11 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (9)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Total	51	40 (78)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (2)	1 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

Abbreviations: IRAB, imipenem-resistant *A. baumannii* IRPA, imipenem-resistant *P. aeruginosa*.

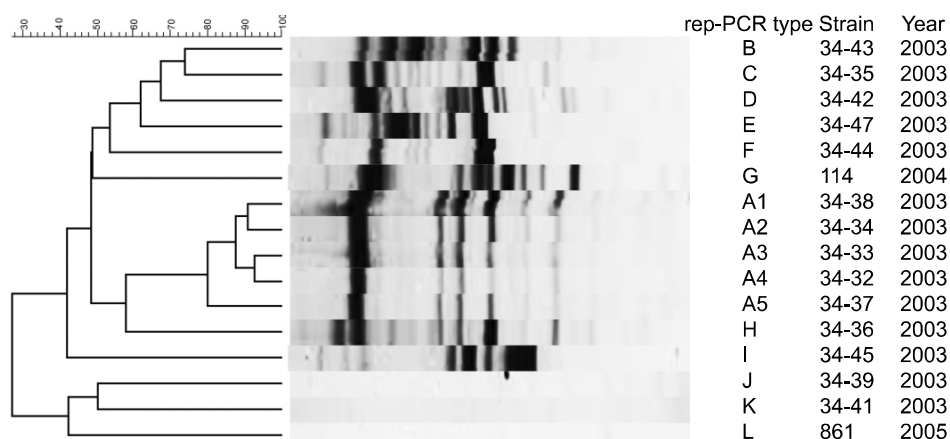


Fig. 1. Dendrogram of rep-PCR products from IRAB strains isolated in 2003, *bla*_{IMP-1}-positive IRAB strains isolated in 2005, and *bla*_{VIM-2}-positive IRAB strains isolated in 2004. Strain descriptions of IRAB strains isolated in 2003 are as presented in Table 3.

Table 2에 요약하였다. Integrase 유전자에 대한 PCR 검사에 양성인 균주 모두 class 1 integrase 유전자인 *IntI1*에 양성 소견을 보였다. 그 양성률은 2003년과 2004년에 각각 86%와 84%였는데, 2005년과 2006년에는 100%로 증가하였다. Carbapenemase 유전자에 대한 PCR 결과, 2003년에는 *bla_{IMP-1}* 유전자가 57%, *bla_{VIM-2}* 유전자가 64%의 높은 비율로 양성을 보였으나 그 이후에는 양성률이 급감하여 2004년과 2005년에 각각 1주씩만 양성이었다. *bla_{OXA-23}*은 2003년과 2004년에 각각 1주씩만 양성이었다. 그 밖에 *bla_{OXA-24}*, *bla_{OXA-58}*, *bla_{SIM-1}*, *bla_{SPM-1}* 내성 유전자의 검출을 위한 PCR은 모두 음성 결과를 보였다. Rep-PCR 결과는 14주 중 5주만 비슷한 패턴을 보였고 나머지는 서로 다른 패턴을 보였다(Fig. 1).

2. IRPA의 PCR 결과

IRPA에서 integrase 유전자의 PCR 결과는 IRAB와 마찬가지로, 양성인 모든 균주가 *IntI1* 유전자에 양성을 보였다. 그 양성률은 2003년에 50%, 2005년에 65%, 2006년에 100%로 해가 갈수록 증가하였다. Carbapenemase 유전자에 대한 PCR 결과, *bla_{VIM-2}*, *bla_{OXA-23}* 유전자는 각각 2005년에 1주(3%)와 2006년에 1주(9%)에서만 양성을 보였다. 그 밖에 *bla_{IMP-1}*, *bla_{OXA-24}*, *bla_{OXA-58}*, *bla_{SIM-1}*, *bla_{SPM-1}* 내성 유전자의 검출을 위한 PCR은 모두 음성이므로, carbapenemase 보유율은 상당히 낮았다.

고 찰

전세계적으로 Carbapenem 내성을 포함한 다제내성은 점차

증가하는 추세이다. 국내에서도 이러한 Carbapenem 내성 *P. aeruginosa* 와 *A. baumannii* 균의 분리율이 점차 증가하고 있다. 이런 균들에 효과적인 항생제들은 거의 없기 때문에 이런 균에 감염된 환자는 사망률이 매우 높다. 한국은 다른 산업화된 국가들보다 항생제 처방률이 높고 아직까지 감염관리에 대한 인식이 부족한 의료기관들이 많기 때문에 국내에서의 내성균의 종류와 빈도가 증가하는 현상은 더욱 심각한 문제이다. 최근에 이러한 내성에 관여하는 유전자들에 대한 보고가 증가하고 있지만 이러한 내성에 관여하는 유전자의 국내의 보유 현황에 대한 정보가 부족한 것이 현실이다. 조선대학교병원에서 2003년부터 2006년까지 4년간 조사한 IRAB와 IRPA 균주의 carbapenemase 유전자 보유율은 2003년을 제외하고는 낮았으며 연도별로 약간씩 차이가 있었다. Integrase 유전자 보유율은 두 균주 모두 매우 높았고 해마다 점차 증가하는 추세를 보였으며 모두 class 1 integrase였다. 본 연구의 PCR 결과를 분석해 보면, IRAB의 *bla_{IMP-1}*과 *bla_{VIM-2}* 유전자 보유율이 다른 연도에 비해 2003년에 특히 높은 점을 발견할 수 있었다. 이 시기에 돌발감염의 가능성을 확인하기 위하여 2003년에 분리된 IRAB를 대상으로 rep-PCR을 시행한 결과, 5개의 균주가 유사한 패턴을 보였다. 추가적으로 2004년과 2005년에 *bla_{VIM-2}*와 *bla_{IMP-1}*에 각각 양성 결과를 보인 IRAB와 비교해 보았을 때, 연도별로 *bla_{VIM-2}*와 *bla_{IMP-1}* 양성균주의 양상이 서로 다름을 확인할 수 있었다. Rep-PCR에서 비슷한 전기영동 패턴을 보이는 균주들끼리 각 균주가 분리된 과와 병동, 검체 수집일, 항생제 감수성 결과, *bla_{IMP-1}*과 *bla_{VIM-2}* 유전자 PCR 결과를 비교해 보았을 때

Table 3. Antimicrobial susceptibilities, major carbapenemase genes, and rep-PCR types of 14 strains of IRAB isolated in 2003

Strain	Department	Ward	Date	Antimicrobial susceptibility									Carbapenemase gene		Rep-PCR type
				PIP	NET	IMP	GEN	CIP	AZT	AMI	TIC	TOB	<i>bla_{IMP-1}</i>	<i>bla_{VIM-2}</i>	
34-36	NS	33	2003/8/8	R	R	R	R	S	R	R	S	R	-	-	H
34-37	NS	NCU	2003/5/6	R	R	R	R	S	R	S	R	R	-	-	A5
34-47	NS	NCU	2003/8/16	R	R	R	R	S	R	R	S	R	-	-	E
34-38	RP	NCU	2003/5/6	R	R	R	R	I	R	R	S	R	-	+	A1
34-34	RP	32	2003/7/21	R	R	R	R	S	R	R	S	R	-	+	A2
34-45	NS	NCU	2003/5/16	R	I	R	I	S	I	R	R	R	-	+	I
34-42	CS	ICU	2003/7/29	R	R	R	R	I	R	R	R	R	+	-	D
34-43	NS	NCU	2003/9/4	R	R	R	R	R	R	R	R	R	+	-	B
34-39	NS	NCU	2003/5/19	R	S	R	S	S	I	R	R	R	+	-	J
34-32	NE	ICU	2003/5/18	R	R	R	R	R	R	R	R	R	+	+	A4
34-35	NS	33	2003/7/21	R	R	R	S	S	I	I	R	R	+	+	C
34-41	HE	ICU	2003/5/27	R	S	R	S	S	I	I	R	R	+	+	K
34-44	NS	NCU	2003/7/24	R	R	R	R	S	R	R	S	R	+	+	F
34-33	NS	33	2003/7/14	R	R	R	I	S	I	R	R	R	+	+	A3

Abbreviations: PIP, piperacillin; NET, netilmicin; IMP, imipenem; GEN, gentamicin; CIP, ciprofloxacin; AZT, aztreonam; AMI, amikacin; TIC, ticarcillin; TOB, tobramycin; R, resistant; I, intermediate; S, susceptible; ICU, intensive care unit; NCU, neurosurgery intensive care unit; NS, neurosurgery; RP, respiratory medicine; CS, thoracic & cardiovascular surgery; NE, neurology; HE, hematology.

그 양상들이 조금씩 달랐다(Table 3). 많은 시간이 경과한 이 시점에서, 이런 자료들만 가지고 돌발감염 여부를 단언하기에는 난점이 있다고 보인다. *bla*_{IMP-1} 또는 *bla*_{VIM-2} 유전자 양성을 보이는 균주들끼리 rep-PCR 결과를 비교해 보았을 때 패턴이 서로 달라 2003년도에 *bla*_{IMP-1} 또는 *bla*_{VIM-2} 유전자 양성인 균주들의 클론이 다양했음을 알 수 있었다. 결론적으로 2003년도에 분리된 IRAB의 carbapenemase의 보유율이 높은 이유가 *bla*_{IMP-1} 또는 *bla*_{VIM-2} 유전자에 양성인 한 균주 클론이 급격히 전파된 데 기인한 것이 아니라는 점은 확인되었으나, 그 원인을 설명할 수 있는 특별한 이유나 기전은 찾아내기 어려웠다. 본 연구의 결과가 지역적 차이를 보이는지 확인하기 위해 국내의 타 지역에서 보고된 IRAB와 IRPA가 보유한 carbapenemase

유전자의 분리 현황을 저자들이 조사한 결과와 비교해 보았다(Table 4). 국내 다른 지역에 비해 조선대학교병원에서 2003년에 조사한 IRAB의 *bla*_{IMP-1}과 *bla*_{VIM-2} 유전자 보유율이 상대적으로 높았으나, 이 시기를 제외한 시기에 조선대학교병원에서 조사한 IRAB와 IRPA의 carbapenemase 유전자 보유율은 상대적으로 낮았다. 저자들이 조사한 integrase, OXA-type β -lactamase 유전자의 보유율과 다른 지역과의 비교는 IRAB나 IRPA의 integrase나 OXA-type β -lactamase 유전자의 보유율에 대해 한 지역 또는 여러 지역에서 조사한 문헌이 거의 없어 비교하기 힘들었다. 저자들이 4년간 조사한 조선대학교병원의 carbapenemase 유전자 보유현황은 연도별로 차이가 있었으며, 이 결과를 다른 지역과 비교해 보았을 때 *bla*_{IMP-1}과 *bla*_{VIM-2} 유

Table 4. Prevalence of the major carbapenemase genes among IRAB and IRPA by region

Organisms	Year	Region	N.	N. (%) of strains with indicated gene			Reference
				<i>bla</i> _{IMP-1}	<i>bla</i> _{VIM-2}	<i>bla</i> _{SIM-1}	
IRAB	2000~2003	Seoul, Korea	116	0 (0)	19 (16)	NT	[12]
	2000.8~2001.7	Seoul, Korea	6	0 (0)	2 (33)	NT	[18]
	2000~2001	Korea	267	11 (4)	27 (10)	NT	[24]
	2003	Korea	194	21 (17)	27 (22)	3 (2)	[25]
	2003	Seoul, Korea	92	5 (5)	6 (7)	NT	[26]
	2003	Gyeonggi, Korea	12	0 (0)	1 (8)	NT	[26]
	2003	Gangwon, Korea	32	0 (0)	0 (0)	NT	[26]
	2003	Chungcheong, Korea	6	1 (17)	1 (17)	NT	[26]
	2003	Jeolla, Korea	47	11 (23)	5 (11)	NT	[26]
	2003	Gyeongsang, Korea	26	1 (4)	2 (8)	NT	[26]
	2003	Jeju, Korea	3	0 (0)	0 (0)	NT	[26]
	2003	CSUH	14	8 (57)	9 (64)	0 (0)	This study
	2004	Korea	319	25 (8)	54 (17)	6 (2)	[25]
	2004	CSUH	19	0 (0)	1 (5)	0 (0)	This study
	2005	CSUH	4	1 (25)	0 (0)	0 (0)	This study
	2006	CSUH	9	0 (0)	0 (0)	0 (0)	This study
	Total		1,166	84 (7)	154 (13)	9 (2)	
IRPA	2000.8~2001.7	Seoul, Korea	84	2 (2)	29 (35)	NT	[18]
	2000~2001	Korea	387	0 (0)	44 (11)	NT	[24]
	2003	Korea	243	0 (0)	16 (7)	0 (0)	[25]
	2003	Seoul, Korea	92	5 (5)	6 (7)	NT	[26]
	2003	Gyeonggi, Korea	12	0 (0)	1 (8)	NT	[26]
	2003	Gangwon, Korea	32	0 (0)	0 (0)	NT	[26]
	2003	Chungcheong, Korea	6	1 (17)	1 (17)	NT	[26]
	2003	Jeolla, Korea	47	11 (23)	5 (11)	NT	[26]
	2003	Gyeongsang, Korea	26	1 (4)	2 (8)	NT	[26]
	2003	CSUH	6	0 (0)	0 (0)	0 (0)	This study
	2004	Korea	338	2 (1)	18 (5)	0 (0)	[25]
	2005	CSUH	34	1 (3)	0 (0)	0 (0)	This study
	2006	CSUH	11	0 (0)	1 (9)	0 (0)	This study
	Total		1,318	23 (2)	123 (9)	0 (0)	

Abbreviations: IRAB, imipenem-resistant *A. baumannii*; IRPA, imipenem-resistant *P. aeruginosa*; NT, not tested; CSUH, Chosun University Hospital.

전자 보유율에 있어서 약간의 차이를 보여주었다.

다제내성균은, 특히 integron을 가지고 있거나 MBL을 생성하는 다제내성균은 광범위 베타락탐제를 포함한 다양한 약제에 광범위한 저항성을 보여준다. 그리고 항생제감수성 검사로는 알 수 없지만, carbapenem 등에 노출되면 내성 발현이 증강되는 특성을 보이는 IMP와 같은 내성유전자를 가지고 있을 수 있다[22]. 그렇기 때문에 이러한 MBL에 관여하는 유전자와 이런 유전자의 발현이나 전파를 쉽게 해주는 integron을 조기에 찾아내는 것이 다제내성균의 감염예방에 매우 중요하다. 어떤 내성유전자가 증가하거나 감소한다거나 어떤 지역에서 특정 내성유전자의 비율이 높거나 낮은지에 대한 현황을 파악하는 등의 carbapenemase 유전자에 대한 꾸준한 연구를 통해 그 지역의 주요 유행균이 보유한 내성유전자를 조기에 파악하여 그에 맞춰 보건활동을 계획하거나 수행하는 데 유용하게 이용할 수 있을 것이다. 그리고, 항생제 내성유전자의 보유 현황에 대한 조사를 통해 내성유전자 보유양상이 같은 군주들의 병원내 돌발감염에 대해서 파악할 수 있는 실마리를 제공해 줄 수도 있을 것이다[23]. 하지만 국내에서는 다양한 내성유전자의 보유현황에 대한 보고가 충분하게 이루어지지 않았기 때문에 국내의 많은 병원에서 다제내성세균들의 내성유전자 보유현황에 대한 지속적인 추적관찰을 하는 것이 유용할 것으로 생각한다.

감사의 글

이 논문은 정부(과학기술부)의 재원으로 한국과학재단의 지원을 받아 수행된 연구임(R13-2003-1009).

참 고 문 헌

1. D'Agata EM. Rapidly rising prevalence of nosocomial multidrug-resistant, Gram-negative bacilli: a 9-year surveillance study. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2004;25:842-6.
2. Karlowsky JA, Draghi DC, Jones ME, Thornsberry C, Friedland IR, Sahn DF. Surveillance for antimicrobial susceptibility among clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* from hospitalized patients in the United States, 1998 to 2001. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:1681-8.
3. Bergogne-Berezin E and Towner KJ. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev* 1996;9:148-65.
4. Doubouay J, Tzouveleakis LS, Tsakris A. In-vitro activity of ampicillin/sulbactam against multiresistant *Acinetobacter calcoaceticus* var. *anitratus* clinical isolates. *J Antimicrob Chemother* 1994;34:298-300.
5. Nemec A, Janda L, Melter O, Dijkshoorn L. Genotypic and phenotypic similarity of multiresistant *Acinetobacter baumannii* isolates in the Czech Republic. *J Med Microbiol* 1999;48:287-96.
6. Jacoby GA and Medeiros AA. More extended-spectrum beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1991;35:1697-704.
7. Bonomo RA and Szabo D. Mechanisms of multidrug resistance in *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis* 2006;43:S49-56.
8. Yu YS, Yang Q, Xu XW, Kong HS, Xu GY, Zhong BY. Typing and characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex in a Chinese hospital. *J Med Microbiol* 2004;53:653-6.
9. Osano E, Arakawa Y, Wacharotayankun R, Ohta M, Horii T, Ito H, et al. Molecular characterization of an enterobacterial metallo- β -lactamase found in a clinical isolate of *Serratia marcescens* that shows imipenem resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 1994;38:71-8.
10. Gibb AP, Tribuddharat C, Moore RA, Louie TJ, Krulicki W, Livermore DM, et al. Nosocomial outbreak of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* with a new *bla*_{IMP} allele, *bla*_{IMP-7}. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:255-8.
11. Lauretti L, Riccio ML, Mazzariol A, Cornaglia G, Amicosante G, Fontana R, et al. Cloning and characterization of *bla*_{VIM}, a new integron-borne metallo- β -lactamase gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:1584-90.
12. Kim IS, Oh WI, Song JH, Lee NY. Screening and identification of metallo- β -lactamase gene in clinical isolates of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Korean J Lab Med* 2004;24:177-82.
13. Poirel L, Naas T, Nicolas D, Collet L, Bellais S, Cavallo JD, et al. Characterization of VIM-2, a carbapenem-hydrolyzing metallo- β -lactamase and its plasmid- and integron-borne gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate in France. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:891-7.
14. Koeleman JG, Stoof J, Van Der Bijl MW, Vandenbroucke-Grauls CM, Savelkoul PH. Identification of epidemic strains of *Acinetobacter baumannii* by integrase gene PCR. *J Clin Microbiol* 2001;39:8-13.
15. Martinez-Freijo P, Fluit AC, Schmitz FJ, Grek VS, Verhoef J, Jones ME. Class I integrons in Gram-negative isolates from different European hospitals and association with decreased susceptibility to multiple antibiotic compounds. *J Antimicrob Chemother* 1998;42:689-96.
16. Recchia GD and Hall RM. Gene cassettes: a new class of mobile element. *Microbiology* 1995;141:3015-27.
17. Richet HM, Mohammed J, McDonald LC, Jarvis WR. Building communication networks: international network for the study and prevention of emerging antimicrobial resistance. *Emerg Infect Dis* 2001;7:319-22.
18. Oh EJ, Lee S, Park YJ, Park JJ, Park K, Kim SI, et al. Prevalence of metallo- β -lactamase among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in a Korean university hospital and comparison of screening methods for detecting metallo- β -lactamase. *J Microbiol Methods* 2003;54:411-8.
19. Lee K, Yum JH, Yong D, Lee HM, Kim HD, Docquier JD, et al. Novel acquired metallo- β -lactamase gene, *bla*_{SIM-1}, in a class 1 integron from *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from Korea. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:4485-91.
20. Jeong SH, Bae IK, Park KO, An YJ, Sohn SG, Jang SJ, et al. Outbreaks of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing carbapenemases in Korea. *J Microbiol* 2006;44:423-31.
21. Wong HC and Lin CH. Evaluation of typing of *Vibrio parahaemolyticus* by three PCR methods using specific primers. *J Clin Microbiol* 2001;39:4233-40.
22. Senda K, Arakawa Y, Ichihama S, Nakashima K, Ito H, Ohsuka S, et al. PCR detection of metallo- β -lactamase gene (*bla*_{IMP}) in gram-negative rods resistant to broad-spectrum β -lactams. *J Clin*

- Microbiol 1996;34:2909-13.
23. Pournaras S, Markogiannakis A, Ikonomidis A, Kondyli L, Bethimouti K, Maniatis AN, et al. Outbreak of multiple clones of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates expressing OXA-58 carbapenemase in an intensive care unit. J Antimicrob Chemother 2006;57:557-61.
 24. Lee K, Lee WG, Uh Y, Ha GY, Cho J, Chong Y. VIM- and IMP-type metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. in Korean hospitals. Emerg Infect Dis 2003;9: 868-71.
 25. Yong D, Choi YS, Roh KH, Kim CK, Park YH, Yum JH, et al. Increasing prevalence and diversity of metallo- β -lactamases in *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., and *Enterobacteriaceae* from Korea. Antimicrob Agents Chemother 2006;50:1884-6.
 26. Lee K, Ha GY, Shin BM, Kim JJ, Kang JO, Jang SJ, et al. Metallo- β -lactamase-producing gram-negative bacilli in Korean Nationwide Surveillance of Antimicrobial Resistance group hospitals in 2003: continued prevalence of VIM-producing *Pseudomonas* spp. and increase of IMP-producing *Acinetobacter* spp. Diagn Microbiol Infect Dis 2004;50:51-8.
 27. Zhou H, Pi BR, Yang Q, Yu YS, Chen YG, Li LJ, et al. Dissemination of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* strains carrying the ISAbal *bla*_{OXA-23} genes in a Chinese hospital. J Med Microbiol 2007;56:1076-80.

=국문초록=

한 대학병원에서 다년간 수집된 Imipenem 내성 *Acinetobacter baumannii*와 *Pseudomonas aeruginosa*의 Carbapenemase와 Integrase 내성유전자 보유율

¹조선대학교 의과대학 진단검사의학교실, ²내성세포연구센터, ³중앙대학교 의과대학 미생물학교실
오혜룡¹, 장숙진^{1,2}, 유봉남^{1,2}, 박 건¹, 이학민², 신성희², 김원용³, 문대수¹, 박영진¹

배경: Imipenem 내성 *Acinetobacter baumannii* (IRAB)와 imipenem 내성 *Pseudomonas aeruginosa* (IRPA)가 전세계적으로 증가하고 있다. 최근 분자생물학적 연구에 의하면 carbapenemase의 보유율도 증가하고 있다. 그러나, 국내에서 carbapenemase와 integrase 유전자를 가진 IRAB와 IRPA의 빈도에 대해 한 병원에서 다년간 조사한 보고는 드물기 때문에 본 연구를 시행하였다.

방법: 2003년부터 2006년까지 4년간 조선대학교병원 진단검사의학과에서 수집한 IRAB 46주와 IRPA 51주에 대해서 carbapenemase 유전자(*bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, *bla*_{OXA-58}, *bla*_{IMP-1}, *bla*_{VIM-2}, *bla*_{SIM-1}, *bla*_{SPM-1})와 integrase 유전자(*intI1*, *intI2*, *intI3*)를 PCR법으로 조사하였다.

결과: Integrase 유전자는 모두 class 1이었고, 보유율은 IRPA보다 IRAB가 더 높았는데 두 균종에서 모두 매년 증가하여 2006년에는 100%에 달했다. IRAB는 2003년에 *bla*_{IMP-1}과 *bla*_{VIM-2}의 보유율이 각각 57%와 64%로 다른 연도에 비해 높았으나, 2004년과 2005년에는 각각 1주에서만 *bla*_{VIM-2}와 *bla*_{IMP-1}이 양성이었다. IRPA는 2005년과 2006년에 각각 *bla*_{VIM-2}와 *bla*_{OXA-23} 1주씩만 양성으로 carbapenemase 보유율이 매우 낮았다. 그 밖에 다른 carbapenemase 유전자는 IRAB와 IRPA 모두에서 음성이었다. Rep-PCR 결과는 서로 패턴이 다르게 나타났다.

결론: Carbapenemase 유전자 보유율은 2003년을 제외하고는 비교적 낮았으며 연도별 차이를 보였다. IRAB와 IRPA의 class 1 integrase의 보유율은 매우 높았고 해가 갈수록 증가하였다. 2003년에 *bla*_{IMP-1}, *bla*_{VIM-2}의 보유율이 매우 높은 이유를 알 수 없었지만, rep-PCR을 시행한 결과 서로 패턴이 달랐기 때문에 *bla*_{IMP-1}이나 *bla*_{VIM-2}를 보유한 동일한 클론이 퍼진 결과는 아님을 알 수 있었다. [대한임상미생물학회지 2007;10:128-134]

교신저자 : 장숙진, 501-717, 광주광역시 동구 서석동 588번지
조선대학교병원 진단검사의학과
Tel: 062-220-3272, Fax: 062-232-2063
E-mail: sjbjang@chosun.ac.kr