

Mechanisms of Acquiring Carbapenem-resistance in *Acinetobacter* Species

Seok Hoon Jeong

Department of Laboratory Medicine and Research Institute of Bacterial Resistance,
Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

A rapid dissemination of carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. represents a significant clinical threat. Production of OXA carbapenemases and metallo- β -lactamases (MBLs) is the most important mechanism in acquiring carbapenem resistance in *Acinetobacter* spp. Carbapenem resistance has also ascribed to non-enzymatic mechanisms, including changes in outer membrane proteins, alterations in the affinity or expression of penicillin-binding proteins, and overexpre-

ssion of efflux pumps. The most important mechanism in *A. baumannii* isolates from Korea is the production of OXA-23, while that in other species of *Acinetobacter* is the production of metallo- β -lactamases. (Korean J Clin Microbiol 2009;12:1-5)

Key Words: *Acinetobacter*, OXA carbapenemase, OXA-51, OXA-23, Metallo- β -lactamase, Outer membrane protein, AdeABC efflux pump

서 론

Acinetobacter spp.는 운동성이 없으며 catalase 양성, oxidase 음성인 편성 호기성 포도당 비발효 그람음성 구간균이다[1]. 이 세균은 흙, 물 등 자연환경과 병원환경에 두루 존재하며, 인체의 피부에도 상재한다. *Acinetobacter* spp.는 유전자적 분류에 의하여 총 31개의 genomic species 혹은 genomospecies로 분류되며, 이 중 17종에는 균종명이 부여되었다. 이 중 *A. calcoaceticus*, *A. baumannii*, *Acinetobacter* genomospecies 3 및 *Acinetobacter* genomospecies 13TU의 네 균종은 유전적 연관성이 높고 표현형만으로는 감별이 어렵기 때문에 *A. calcoaceticus*-*A. baumannii* complex로 통칭되기도 한다[2]. 그러나 인체 감염을 거의 유발하지 않는 *A. calcoaceticus*를 인체 감염을 흔히 유발하는 *A. baumannii*, *Acinetobacter* genomospecies 3 및 *Acinetobacter* genomospecies 13TU와 함께 분류하는 것을 반대하는 의견이 많다[1]. 본 논문에서는 *Acinetobacter* spp.를 이 세균에 의한 인체 감염의 대부분을 유발하는 *A. baumannii*와 드물게 감염을 유발하는 non-*baumannii* *Acinetobacter* (NBA)로 분류하여서 carbapenem 내성 현황 및 기전을 기술하고자 한다.

Acinetobacter spp.의 carbapenem 내성 현황

Carbapenem은 *Acinetobacter* spp.에 의한 감염증의 선택치료제로 널리 사용되어 왔다. 그러나 최근 carbapenem에 대한 내성을 획득한 *Acinetobacter* spp.에 의한 병원감염, 특히 중환자실에서의 집단 감염이 흔해지고 있어 임상적으로 심각한 위협이 되고 있다. Korean Nationwide Surveillance Antimicrobial Resistance (KONSAR) group은 국내 병원의 임상검체에서 분리된 *Acinetobacter* spp.의 imipenem 내성률이 2002년의 7%에서 2004년엔 17%로 증가하였다고 보고한 바 있는데[3], 이는 같은 기간 동안 *Pseudomonas aeruginosa*의 imipenem 내성률(19→24%) 증가보다 더욱 현저한 것이다. 서울에 위치한 한 대학병원의 예를 살펴보면, *Acinetobacter* spp.의 imipenem 내성률은 2000년까지 분리수를 기준으로 1~4%에 불과하였으나 2001년 이후 현저한 증가 양상을 보여서 2005년에는 40%에 달하였다[4]. 이 내성세균에 의한 병원감염 확산을 줄이기 위한 많은 노력에도 불구하고 2007년 현재 imipenem 내성률은 분리수를 기준으로 22%, 환자수를 기준으로 16%로 여전히 높은 상태이다(Fig. 1).

Acinetobacter spp.의 carbapenem 내성 획득 기전

Acinetobacter spp.의 carbapenem 내성 획득에 가장 중요한 기전은 이 항균제에 대한 가수분해능이 있는 효소(carbapenemase)의 생성이며, 세포외막 단백질(outer membrane protein, OMP)의 변화, penicillin 결합 단백질(penicillin-binding protein, PBP)의

Received 8 February, 2009, Revised 17 February, 2009
Accepted 25 February, 2009

Correspondence: Seok Hoon Jeong, Department of Laboratory Medicine,
Yonsei University College of Medicine, 250, Seongsanno,
Seodaemun-gu, Seoul 120-752, Korea. (Tel) 82-2-2228-2448, (Fax)
82-2-313-0956, (E-mail) ksejsh@yuhs.ac

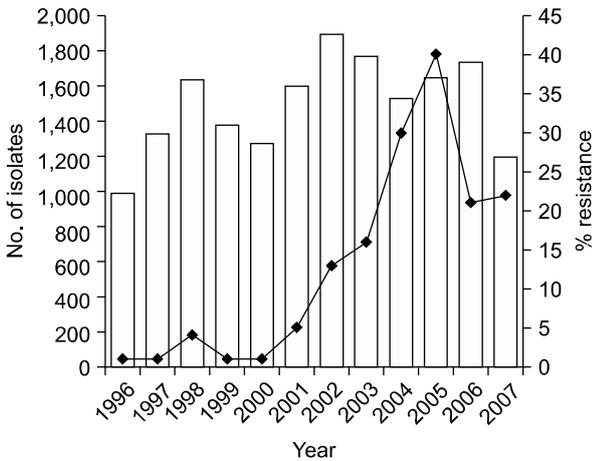


Fig. 1. The increasing trend of imipenem-resistance in clinical isolates of *A. baumannii* from a university hospital in Seoul, Korea. Resistance rates are calculated from all isolates (duplicate isolates were not excluded).

친화도 혹은 발현량의 변이, 유출 펌프(efflux pump)의 과량 발현 등 비효소적 기전도 carbapenem 내성 획득에 기여하는 것으로 알려졌다[5]. *Acinetobacter* spp.가 생성하는 carbapenemase로는 Ambler class D의 OXA carbapenemase와 Ambler class B의 metallo-β-lactamase (MBL)가 있다. Ambler class A의 KPC, GES, SME, NMC, IMI 등 carbapenemase를 생성하는 *Acinetobacter* spp.는 아직 보고된 바 없다.

Metallo-β-lactamase

Acinetobacter spp.가 생성하는 MBL로는 IMP, VIM 및 SIM이 있으며, SPM 혹은 GIM MBL을 생성하는 *Acinetobacter* spp.는 아직 보고된 바 없다. IMP-1, -2, -4, -5, -6, -11 등 6가지 IMP MBL이 *Acinetobacter* spp.에서 검출되었으며[5], 국내에서는 IMP-1을 생성하는 *Acinetobacter* spp.가 보고된 바 있다[6]. VIM-2 MBL이 *Acinetobacter* spp.에서 검출된 예는 희귀하여서 전 세계적으로 국내에만 검출되었다[7]. SIM-1 MBL 생성 *Acinetobacter* spp. 역시 국내에서만 검출되었다[8]. *Acinetobacter* spp.에서 검출된 IMP, VIM 및 SIM MBL 유전자는 plasmid에 위치하며, class 1 integron에 다른 항균제 내성 유전자와 함께 유전자 cassette 형태로 존재한다[9].

OXA carbapenemase

Acinetobacter spp.에서 검출되는 class D의 OXA carbapenemase는 OXA-23, OXA-24, OXA-58 및 OXA-51의 4개 cluster로 나뉘며, MBL에 비해서 현저하게 낮은 carbapenem 가수분해능을 지니고 있어서 검출이 쉽지 않은 경우도 많다[10].

OXA-23은 최초로 검출된 OXA carbapenemase로 처음에는 ARI-1으로 명명되었다가 OXA-23으로 개명되었다[11]. OXA-23 유전자는 첫 발견 시에는 plasmid에 위치한 것으로 보고되었으나, 이 유전자가 염색체에 위치하였다는 보고도 있었다[12]. 싱가포르에서 처음 발견된 OXA-27과 중국에서 처음 발견된 OXA-49 (GenBank no. AAP40270)는 OXA-23과 함께 동일 cluster로 분류된다[13]. OXA-23을 생성하는 *A. baumannii*에 의한 감염은 전 세계 여러 지역에서 보고되었으며, 집단감염에도 드물지 않다. OXA-23은 국내 *A. baumannii*가 carbapenem 내성을 획득하는 가장 흔한 기전 중 하나이다[14].

OXA-24 cluster는 OXA-24, OXA-25, OXA-26 및 OXA-40으로 구성되며, *A. baumannii*의 염색체에 이들 효소의 유전자가 존재하는 것으로 알려졌다. OXA-24와 OXA-25는 스페인, OXA-26은 벨기에에서 분리된 *A. baumannii*에서 검출되었다[13]. OXA-40은 프랑스에서 처음 분리되었으며, 스페인과 포르투갈에 이 효소를 생성하는 *A. baumannii*가 확산된 것으로 보고되었다[15]. OXA-58은 프랑스에서 분리된 *A. baumannii*에서 처음 검출되었으며[16], 이 효소를 생성하는 *A. baumannii*는 스페인, 터키, 루마니아, 아르헨티나, 쿠웨이트, 그리스 등 세계 곳곳에서 검출되고 있다. OXA-58의 유전자는 plasmid에 위치하고 있어서 균종간 수평적 전달이 가능한데, 루마니아와 호주에서 분리된 *A. junii*에서 이 효소가 검출되었으며[17], 최근에는 국내에서 분리된 *A. calcoaceticus*에서 이 유전자가 검출되었다[18].

OXA-51 cluster의 유전자는 지금까지 분리된 모든 *A. baumannii*의 염색체에 존재하며, 이 균종의 동정에도 사용된다. OXA-51, -64, -65, -66, -68, -69, -70, -71, -78, -79, -80, -82 등이 이 cluster에 속한다[1]. OXA-51의 carbapenem 분해능은 매우 미약하여서, IS*Aba1*이 OXA-51 cluster 유전자의 상류에 위치하지 않은 경우 이 유전자는 carbapenem 감수성에 영향을 거의 미치지 않는다[19]. 그러나 IS*Aba1*이 위치하는 경우 이 insertion sequence는 OXA-51 cluster 유전자에 promoter를 공급하며, OXA-51의 과량 생성을 유발한다. 하지만 OXA-51의 미약한 carbapenem 분해능 때문에 이 경우에도 *A. baumannii* 균주에 대한 carbapenem의 MIC는 3배 정도만 증가하는 것으로 알려졌다.

Outer membrane protein

*A. baumannii*의 OMP에 대한 정보는 아직 제한적이다. 2002년 Limansky 등[20]은 carbapenemase를 생성하지 않는 *A. baumannii* 임상 균주가 29-KDa의 OMP (후에 CarO로 명명됨)의 소실로 인하여 carbapenem에 대한 내성을 획득하였음을 증명하였다. 아르헨티나에선 CarO 유전자가 insertion sequence의 삽입에 의해 불활성화되어서 CarO를 소실하고, 이로 인하여

carbapenem 내성을 획득한 *A. baumannii*가 보고되었다[21]. CarO 외에도 여러 OMP가 carbapenem 내성에 관련된 것으로 보고되었다. 스페인에서는 22- 및 33-kDa OMP가 OXA-24 생성 *A. baumannii*의 carbapenem 내성에 연관이 있다는 보고가 있었다[22]. 또한 33~36-kDa의 단백질인 *P. aeruginosa*의 OprD와 유사한 43-kDa의 단백질인 *A. baumannii*의 carbapenem 내성 획득에 연관된다는 보고도 있었다[23, 24]. Carbapenem 내성 *A. baumannii*에서의 이들 OMP의 소실 빈도와 중요성에 대한 추가적인 연구가 필요한 것으로 생각된다.

Efflux pump

*A. baumannii*는 다약제 내성에 관련된 다양한 efflux pump를 지니고 있다[25]. 이 중 resistance-nodulation-division (RND) family의 AdeABC pump는 *A. baumannii*의 carbapenem 내성에 연관성이 높은 것으로 생각되는데, 최근 OXA-58을 생성하는 균주에서 AdeABC pump가 carbapenem 내성 정도를 높였다는 보고가 있었다[26]. 다른 RND family의 pump와 마찬가지로 AdeABC pump는 i) 세포내막 결합단백인 AdeA, ii) 다약제 운반 단백질인 AdeB, iii) OMP인 AdeC의 세 가지 단백질로 구성되어 있다[27]. AdeABC의 유전자는 염색체에 존재하며, AdeS (sensor kinase)와 AdeR (response regulator)에 의하여 조절되는 것으로 생각된다[28]. 저자 등은 국내에서 분리된 carbapenem 내성 *A. baumannii*를 대상으로 한 연구에서 efflux pump 억제제인 Phe-Arg- β -naphthylamide (PA β N)에 의하여 imipenem과 meropenem의 MIC가 저하되는 현상을 관찰하였으며, real time PCR을 통하여 이들 균주의 *adeB* 유전자가 과량 발현되었음을 확인한 바 있다[29].

국내 현황

KONSAR group은 2005년 1~8월에 전국 17개 병원과 1개 수탁검사실에서 수집한 imipenem 내성 *Acinetobacter* spp. 144주 중 135주(93.8%)가 Hodge 시험에 양성 반응을 보였다고 보고하였는데, 이 결과는 carbapenemase의 생성이 *Acinetobacter* spp.가 imipenem 내성을 획득하는 가장 흔한 기전임을 시사한다[18]. Hodge 시험에 음성 반응을 보인 9주(6.2%)는 비효소적 기전에 의해서 carbapenem 내성을 획득하였을 것으로 추측된다. Hodge 양성 *Acinetobacter* spp. 135주 중 105주가 *bla*_{OXA-51} cluster의 유전자를 지니고 있어 *A. baumannii*로 생각되었으며, 나머지 30주는 NBA였다. *A. baumannii* 105주 중 49주에서 *bla*_{OXA-23} 유전자가 검출되었으나, MBL 유전자는 한 주에서도 발견되지 않았다. 이에 반하여 NBA 30주 중 28주(*bla*_{IMP-1} 11주, *bla*_{SIM-1} 9주 및 *bla*_{VIM-2} 5주)에서 MBL 유전자가 검출되었다. 이러한 결과는 국내 *A. baumannii*가 carbapenem 내성을 획득

하는 주요 기전이 OXA-23 생성인데 반하여 NBA의 주요 기전은 MBL 생성임을 시사한다. 한편 carbapenem 내성 *A. baumannii* 56주에서는 *bla*_{OXA-51} cluster 유전자의 상류에서 IS*Aba1*이 발견되었을 뿐, 여타의 carbapenemase를 검출할 수 없었다. IS*Aba1*이 *bla*_{OXA-51} cluster 유전자의 상류에 삽입되어도 carbapenem MIC를 3배 정도만 상승시킴에 미루어 이들 균주가 비효소적 내성 획득 기전을 동시에 갖고 있음을 추측할 수 있다[19].

결 언

21세기에 들어서며 시작된 carbapenem 내성 *Acinetobacter* spp.의 빠른 확산은 임상적으로 심각한 위협이 되고 있다. 그러나 최근에는 이들 세균의 내성 획득 기전이 알려지기 시작되었으며, 특히 비효소적 기전에 대한 지식은 아직 제한적이다. *Acinetobacter* spp.의 carbapenem 내성 획득 기전을 이해하기 위한 지속적인 연구가 필요한 것으로 생각한다.

감사의 말

본 연구는 연세대학교 의과대학 2008년도 교수연구비에 의하여 이루어졌음(6-2008-0111).

참 고 문 헌

1. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. Clin Microbiol Rev 2008;21: 538-82.
2. Gerner-Smidt P. Ribotyping of the *Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii* complex. J Clin Microbiol 1992;30: 2680-5.
3. Lee K, Lim CH, Cho JH, Lee WG, Uh Y, Kim HJ, et al. High prevalence of ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* and increase of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. in Korea: a KONSAR program in 2004. Yonsei Med J 2006;47:634-45.
4. WHO Network on Antimicrobial Resistance Monitoring: Korean focal point and core laboratory. Antimicrobial resistance of clinical isolates of bacteria in 2007. Antimicrobial Resistance Newsletter 2008;16:1-2.
5. Poirel L and Nordmann P. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. Clin Microbiol Infect 2006;12:826-36.
6. Lee K, Lee WG, Uh Y, Ha GY, Cho J, Chong Y, et al. VIM- and IMP-type metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. in Korean hospitals. Emerg Infect Dis 2003;9: 868-71.
7. Yum JH, Yi K, Lee H, Yong D, Lee K, Kim JM, et al. Molecular characterization of metallo- β -lactamase-producing *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter* genomospecies 3 from Korea: identification of two new integrons carrying the *bla*_{VIM-2} gene cassettes. J Antimicrob Chemother 2002;49:837-40.

8. 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.
9. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? *Clin Microbiol Rev* 2005;18:306-25.
10. Walsh TR. Clinically significant carbapenemases: an update. *Curr Opin Infect Dis* 2008;21:367-71.
11. Donald HM, Scaife W, Amyes SG, Young HK. Sequence analysis of ARI-1, a novel OXA β -lactamase, responsible for imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii* 6B92. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:196-9.
12. Zhou H, Pi BR, Yang Q, Yu YS, Chen YG, Li LJ, et al. Dissemination of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* strains carrying the IS*Aba1* *bla*_{OXA-23} genes in a Chinese hospital. *J Med Microbiol* 2007;56:1076-80.
13. Afzal-Shah M, Woodford N, Livermore DM. Characterization of OXA-25, OXA-26, and OXA-27, molecular class D β -lactamases associated with carbapenem resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:583-8.
14. 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.
15. Bou G, Oliver A, Martinez-Beltrán A. OXA-24, a novel class D β -lactamase with carbapenemase activity in an *Acinetobacter baumannii* clinical strain. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:1556-61.
16. Poirel L, Marqué S, Héritier C, Segonds C, Chabanon G, Nordmann P. OXA-58, a novel class D β -lactamase involved in resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:202-8.
17. Marqué S, Poirel L, Héritier C, Brisse S, Blasco MD, Filip R, et al. Regional occurrence of plasmid-mediated carbapenem-hydrolyzing oxacillinase OXA-58 in *Acinetobacter* spp. in Europe. *J Clin Microbiol* 2005;43:4885-8.
18. Lee K, Kim MN, Choi TY, Cho SE, Lee S, Whang DH, et al. Wide dissemination of OXA-type carbapenemases in clinical *Acinetobacter* spp. isolates from South Korea. *Int J Antimicrob Agents* (2008).
19. Turton JF, Ward ME, Woodford N, Kaufmann ME, Pike R, Livermore DM, et al. The role of IS*Aba1* in expression of OXA carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*. *FEMS Microbiol Lett* 2006;258:72-7.
20. Limansky AS, Mussi MA, Viale AM. Loss of a 29-kilodalton outer membrane protein in *Acinetobacter baumannii* is associated with imipenem resistance. *J Clin Microbiol* 2002;40:4776-8.
21. Mussi MA, Limansky AS, Viale AM. Acquisition of resistance to carbapenems in multidrug-resistant clinical strains of *Acinetobacter baumannii*: natural insertional inactivation of a gene encoding a member of a novel family of β -barrel outer membrane proteins. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:1432-40.
22. Bou G, Cerveró G, Dominguez MA, Quereda C, Martínez-Beltrán 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 beta-lactamases. *J Clin Microbiol* 2000;38:3299-305.
23. del Mar Tomás M, Beceiro A, Pérez A, Velasco D, Moure R, Villanueva R, et al. Cloning and functional analysis of the gene encoding the 33- to 36-kilodalton outer membrane protein associated with carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:5172-5.
24. Dupont M, Pagès JM, Lafitte D, Siroy A, Bollet C. Identification of an OprD homologue in *Acinetobacter baumannii*. *J Proteome Res* 2005;4:2386-90.
25. Wiczorek P, Sacha P, Hauschild T, Zórawski M, Krawczyk M, Tryniszewska E. Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* - the role of AdeABC (RND family) efflux pump in resistance to antibiotics. *Folia Histochem Cytobiol* 2008;46:257-67.
26. Héritier C, Poirel L, Lambert T, Nordmann P. Contribution of acquired carbapenem-hydrolyzing oxacillinases to carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:3198-202.
27. Magnet S, Courvalin P, Lambert T. Resistance-nodulation-cell division-type efflux pump involved in aminoglycoside resistance in *Acinetobacter baumannii* strain BM4454. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:3375-80.
28. Marchand I, Damier-Piolle L, Courvalin P, Lambert T. Expression of the RND-type efflux pump AdeABC in *Acinetobacter baumannii* is regulated by the AdeRS two-component system. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48:3298-304.
29. Lee Y, Ahn JY, Jeon E, Lee K, Jeong SH. Inactivation of *bla*_{OXA-51}-like gene expression by a novel insertion sequence in *Acinetobacter baumannii*. *Korean J Lab Med* 2008;28:388S.

=국문초록=

Carbapenem 내성 *Acinetobacter* spp.의 내성 기전

연세대학교 의과대학 진단검사의학교실, 세균내성연구소

정석훈

Carbapenem 내성 *Acinetobacter* spp.의 빠른 확산은 임상적으로 심각한 위협이 되고 있다. *Acinetobacter* spp.의 carbapenem 내성 획득에 가장 중요한 기전은 carbapenemase의 생성이며, 세포외막 단백질의 변화, penicillin 결합 단백질의 친화도 혹은 발현량의 변이, 유출 펌프의 과량 발현 등 비효소적 기전도 carbapenem 내성 획득에 기여한다. 국내 *A. baumannii*가 carbapenem 내성을 획득하는 주요 기전은 OXA-23 생성인데 반하여 non-*baumannii* *Acinetobacter*의 주요 기전은 metallo- β -lactamase 생성이다. [대한임상미생물학회지 2009;12:1-5]

교신저자 : 정석훈, 120-752, 서울시 서대문구 성산로 250
연세대학교 의과대학 진단검사의학교실
Tel: 02-2228-2448, Fax: 02-313-0956
E-mail: kscpjsh@yuhs.ac