

Carbapenem Resistance Mechanisms and Molecular Epidemiology of *Acinetobacter* spp. from Four Hospitals in Seoul and Gyeonggi Province in 2006

Kyoung Ho Roh¹, Chang-Ki Kim², Jong Hwa Yum³, Dongeun Yong^{4,5}, Seok Hoon Jeong^{4,5},
Chae Seung Lim¹, Chang Kyu Lee¹, Yunjung Cho¹, Kyungwon Lee^{4,5}, Yunsop Chong^{4,5}

¹Department of Laboratory Medicine, Korea University College of Medicine,

²Korean Institute of Tuberculosis, Seoul, ³Department of Clinical Laboratory Science, Dongeui University, Busan,

⁴Department of Laboratory Medicine and ⁵Research Institute of Bacterial Resistance,

Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Background: Increasing numbers of *Acinetobacter* spp. resistant to multiple drugs, including carbapenem, has been a serious problem. The aims of this study were to determine carbapenem resistance patterns and mechanisms, as well as to study the molecular epidemiology of *Acinetobacter* spp.

Methods: Clinical isolates of *Acinetobacter* spp. were collected from May to November in 2006. Antimicrobial susceptibility testing was performed using CLSI disk diffusion and agar dilution methods. Metallo- β -lactamase- and OXA carbapenemase-producing isolates were detected by PCR. Carbapenem resistance and hydrolytic activities were compared according to OXA type and presence of IS*Aba1*. Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) was performed to determine the epidemiologic features.

Results: The imipenem non-susceptible rates were variable from 10% to 67%. Among 151 isolates carrying *bla*_{OXA-51-like}, 75 isolates carried both *bla*_{OXA-51-like} and IS*Aba1*, and 25 isolates had both *bla*_{OXA-51-like}, *bla*_{OXA-23-like}, and IS*Aba1*. Carbapenem MICs of both *bla*_{OXA-51-like} and IS*Aba1*-carrying isolates were higher

than those with *bla*_{OXA-51-like} only. Carbapenem MICs of *bla*_{OXA-23-like}-carrying isolates were higher than those with both *bla*_{OXA-51-like} and IS*Aba1*. Both *bla*_{OXA-51-like} and IS*Aba1*-carrying isolates and *bla*_{OXA-51-like}, *bla*_{OXA-23-like}, and IS*Aba1*-carrying isolates demonstrated higher hydrolysis activities in oxacillin and carbapenems. Most of the tested isolates were susceptible to tigecycline, and all of them were susceptible to colistin. Pulsed-field gel electrophoresis suggested that there had been several outbreaks of *bla*_{OXA-23-like} and *bla*_{OXA-51-like}-positive strains.

Conclusion: Carbapenem non-susceptible *Acinetobacter* isolates and OXA carbapenemase-producing isolates were prevalent. Dissemination of *bla*_{OXA}-harboring isolates may make it difficult to treat infections due to carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. Further surveillance studies are required to prevent the spread of carbapenem resistance. (Korean J Clin Microbiol 2010;13:27-33)

Key Words: OXA carbapenemase, Carbapenem, *Acinetobacter*, Outbreak

서 론

Acinetobacter spp.는 포도당 비발효 호기성 그람음성 구균으로 폐렴, 요로감염, 심내막염, 창상감염 등 원내 감염을 잘 일으키며 중환자실 및 병실 환경에서도 흔히 분리되고 있다[1].

근래 extended-spectrum β -lactamase (ESBL), AmpC β -lac-

tamase 등의 효소를 생성하는 다제 내성 *Acinetobacter* spp.의 증가로 인해 carbapenem의 사용이 증가하였고, 결국은 이 약제에 내성인 균주가 증가되기 시작하였다. 국내 분리 세균의 내성률 조사에 의하면 *Acinetobacter* spp.의 carbapenem 내성률은 2001년 6%에서 2004년 17%로 증가하였다[2,3].

Acinetobacter spp.의 carbapenem제 내성기전은 class B와 D형 carbapenemase에 의한 항균제의 불활화가 가장 중요하다[4]. Class B에 속하는 metallo- β -lactamase (MBL)는 Zn^{2+} 가 있어야 효소활성을 나타내며, clavulanic acid나 tazobactam과 같은 β -lactamase 억제제에 의해서도 활성이 저해되지 않는다. Class D형 β -lactamase는 oxacillinase로도 불리며, 이는 penicillin보다 oxacillin을 더 빠르게 분해하는 특성 때문에 붙여진

Received 20 July, 2009, Revised 15 January, 2010

Accepted 18 February, 2010

Correspondence: Kyungwon Lee, Department of Laboratory Medicine and Research Institute of Bacterial Resistance, Yonsei University College of Medicine, 250, Seongsanno, Seodaemun-gu, Seoul 120-752, Korea. (Tel) 82-2-2228-2446, (Fax) 82-2-313-0908, (E-mail) leekcp@yuhs.ac

이름이다[5]. 현재 121종의 class D형 β -lactamase가 발견되었으며, 그 중 45종은 carbapenem 분해 능력을 가지고 있다[6]. 염기서열 분석 비교를 통해 8개의 군으로 나눌 수 있으며, 4개의 군(OXA-23형, OXA-24형, OXA-51형 및 OXA-58)이 임상 환자에서 분리된 *Acinetobacter* spp.에서 발견되었다[6].

최근 OXA형 carbapenemase를 생성하는 *Acinetobacter* spp.가 유럽, 아시아 등 전 세계적으로 자주 보고되고 있고, 특히 OXA-23을 생성하는 *Acinetobacter baumannii*의 집단발생이 보고된 바 있다[7-9].

2005년 H  ritier 등은 OXA-51형 유전자가 *A. baumannii*에 내재적으로 존재하고 있음을 보고하였고[9], Turton 등은 OXA-51형 유전자 상부에 IS*AbaI*이 삽입될 경우, 이들 유전자를 발현시켜 carbapenem에 대한 MIC를 증가시킬 수 있음을 보고하였다[10]. 그러나 OXA형 carbapenemase의 종류와 IS*AbaI*의 carbapenem 내성 발현에 미치는 영향에 대하여는 아직 적은 수의 보고만 있고, 국내 분리주에서의 현황에 대한 보고는 2005년도 분리군주를 대상으로 한 연구가 유일하다[11].

이에 본 연구에서는 서울과 경기도에 소재하는 2차와 3차 병원 환자에서 분리된 *Acinetobacter* spp.를 대상으로 carbapenem 내성 양상, MBL과 OXA형 carbapenemase 생성과 분자역학적 성상을 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 대상 세균

2006년 5월부터 11월까지 서울 북서부, 북동부, 남서부 지역과 경기지역에 위치한 4개 병원 환자로부터 중복 분리주를 제외한 429주의 *Acinetobacter* spp.를 수집하였다. 군종 동정은 전

통적인 생화학적 방법, Vitek 2 GN 혹은 ID 32 GN system (bioM  rieux, Marcy-l'Etoile, France)를 이용하였다.

2. 항균제 감수성 시험

항균제 감수성은 CLSI 디스크 확산법 또는 Vitek 2 AST-N022 (bioM  rieux)로 시험하였고, 일부 군주(171주)는 CLSI 한천희석법으로 확인하였다[12]. 시험 항균제는 ceftazidime (Glaxo-SmithKline, Greenford, UK), cefepime (Bristol-Myers Squibb, Princeton, NJ, USA), imipenem (Merck/Sharp & Dohme, Rahway, NJ, USA), meropenem (Sumitomo, Tokyo, Japan), tigecycline (Wyeth, Madison, NY, USA)과 colistin (CJ제약, 서울, 대한민국)을 사용하였다. 항균제 감수성 시험의 정도 관리를 위하여 *Escherichia coli* ATCC 25922와 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853를 사용하였다.

3. Carbapenem 내성 기전 규명

Carbapenemase 생성 선별 시험은 carbapenem에 감수성이 저하된 139주에서 imipenem 디스크를 이용한 Hodge 변법으로 carbapenemase 생성을, imipenem-EDTA double disk synergy 시험과 MBL 다중 PCR 시험으로 MBL 생성을 선별하였다[13,14].

OXA carbapenemase 생성 군주를 검출하기 위해서 imipenem 비감수성 139주와 감수성 군주 일부(32주)를 임의로 선택하여 총 171주를 대상으로 시험하였다. *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-24}, *bla*_{OXA-51} 및 *bla*_{OXA-58}형 유전자 4종에 대하여 다중 PCR을 시행 후 염기서열을 분석하였다(Table 1) [10,15].

OXA형 carbapenemase 내성 유전자가 검출된 군주를 대상으로 IS*AbaI*-F와 OXA-23-R 또는 OXA-51-R 시발체를 이용한

Table 1. Primers used for detection and sequencing of the metallo- β -lactamase, OXA carbapenemase, and IS*AbaI* genes

Target	Primer name	Primer sequence (5' to 3')	Reference
<i>bla</i> _{VIM-like}	VIM-F	GAT GGT GTT TGG TCG CAT A	[14]
	VIM-R	CGA ATG CGC AGC ACC AG	
<i>bla</i> _{IMP-like}	IMP-F	GGA ATA GAG TGG CTT AAY TCT C	[14]
	IMP-R	CCA AAC YAC TAS GTT ATC T	
<i>bla</i> _{SIM-like}	SIM-F	TAC AAG GGA TTC GGC ATC G	[14]
	SIM-R	TAA TGG CCT GTT CCC ATG TG	
IS <i>AbaI</i>	IS <i>AbaI</i> -F	CAC GAA TGC AGA AGT TG	[10]
	IS <i>AbaI</i> -R	CGA CGA ATA CTA TGA CAC	
<i>bla</i> _{OXA-23-like}	IS <i>AbaI</i> end-F	CAT TGA GAT GTG TCA TAG (Sequencing only)	[15]
	OXA-23-F	GAT CGG ATT GGA GAA CCA GA	
<i>bla</i> _{OXA-24-like}	OXA-23-R	ATT TCT GAC CGC ATT TCC AT	[15]
	OXA-24-F	GG T TAG TTG GCC CCC TTA AA	
<i>bla</i> _{OXA-51-like}	OXA-24-R	AGT TGA GCG AAA AGG GGA TT	[15]
	OXA-51-F	TAA TGC TTT GAT CGG CCT TG	
<i>bla</i> _{OXA-58}	OXA-51-R	TGG ATT GCA CTT CAT CTT GG	[15]
	OXA-58-F	AAG TAT TGG GGC TTG TGC TG	
	OXA-58-R	CCC CTC TGC GCT CTA CAT AC	

PCR로 IS*AbaI*의 존재를 확인하였다[10].

OXA형 carbapenemase 활성시험은 OXA형 carbapenemase 생성 균주를 LB broth에 18시간 배양 후 sonicator로 파쇄하고 4°C에서 12,000 rpm으로 10분간 원심분리 후 상청액을 사용하였다. 효소활성은 30°C에서 100 μ M β -lactam 제제(50 mM phosphate buffer, pH 7.0)를 UV-1601PC spectrophotometer (Shimadzu Corp., Tokyo, Japan)로 측정하였다. 사용된 파장은 benzylpenicillin (Sigma, St. Louis, MO, USA)은 235 nm, imipenem과 meropenem은 297 nm이었다. 단백질 정량은 protein assay (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 제조사의 방법에 따라 시행하였다.

4. Carbapenemase 생성 균주의 분자역학적 성상 분석을 위한 pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)

Carbapenemase 생성 균주들을 LB broth 5 mL에 접종하고 18 시간 배양한 균주를 low-melting agarose (InCert Agarose, FMC Bioproducts, Rockland, Me, USA)에 넣어 굳히고 *SmaI* 제한효

소(Takara, Kyoto, Japan)로 처리하였다. CHEF DR II (Bio-Rad)에 넣고 6 V에서 시작 3초, 마지막 10초의 switch time 조건으로 20시간 전기영동하였다. Ethidium bromide 0.5 μ L/mL로 30 분간 염색한 후 UVband/Map software (UVitech Ltd., Cambridge, UK)로 분자역학적 성상을 분석하였다.

결 과

1. *Acinetobacter* spp.의 imipenem 내성률

각 병원에서 분리된 *Acinetobacter* spp.의 imipenem 비감수성은 병원에 따라 상이하여 서울 지역의 A병원은 51% (39/77), B병원은 14% (26/191), C병원은 67% (68/102), 경기지역의 D병원은 10% (6/59)이었다(Table 2). 전체 429균주 중 139주(32%)가 imipenem에 비감수성이었다. MBL생성 imipenem-EDTA double disk synergy 시험 양성 균주는 15주였다. A병원에서 VIM-2 생성 2주와 SIM-1 생성 4주, B병원, C병원 및 경기지역에 위치한 D병원에서 IMP-1 생성 균주가 각각 7주, 1주 및 1주

Table 2. Characteristics of OXA carbapenemase-producing *Acinetobacter* spp. by hospitals

Hospital	No. of isolates	No. of IMP-NS, PCR tested	No. of IMP-S, PCR tested	<i>bla</i> _{OXA-51} alleles	<i>bla</i> _{IMP-1}	<i>bla</i> _{VIM-2}	<i>bla</i> _{SIM-1}	<i>bla</i> _{OXA-51} -like without IS <i>AbaI</i> (Group I)	<i>bla</i> _{OXA-51} -like with IS <i>AbaI</i> (Group II)	<i>bla</i> _{OXA-51} -like with <i>bla</i> _{OXA-23} -like (Group III)
A	77	39	10	Pos (40) Neg (9)	— 0	— 2	— 4	5 —	34 —	1 —
B	191	26	10	Pos (29) Neg (7)	— 7	— 0	— 0	28 —	1 —	0 —
C	102	68	7	Pos (73) Neg (2)	— 1	— 0	— 0	13 —	39 —	21 —
D	59	6	5	Pos (9) Neg (2)	— 1	— 0	— 0	5 —	1 —	3 —
Total	429	139	32	Pos (151) Neg (20)	— 9	— 2	— 4	51 —	75 —	25 —

Abbreviations: IMP-NS, imipenem non-susceptible; IMP-S, imipenem susceptible; Pos, positive; Neg, negative.

Table 3. Antimicrobial susceptibility of *bla*_{OXA-51}-like-carrying *Acinetobacter* spp. isolates with or without IS*AbaI*

Antimicrobial agent	<i>bla</i> _{OXA-51} -like without IS <i>AbaI</i> (Group I)			<i>bla</i> _{OXA-51} -like with IS <i>AbaI</i> (Group II)			<i>bla</i> _{OXA-51} -like and <i>bla</i> _{OXA-23} -like with IS <i>AbaI</i> (Group III)		
	MIC (μ g/mL) range / % non-susceptible	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC (μ g/mL) range / % non-susceptible	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC (μ g/mL) range / % non-susceptible	MIC ₅₀	MIC ₉₀
Imipenem	0.25~8/25	4	8	2~16/99	8	8	8~64/100	16	32
Meropenem	0.25~64/74	8	16	4~128/99	16	32	16~64/100	32	64
Ceftazidime	2~>128/90	128	>128	64~>128/100	128	>128	128~>128/100	128	>128
Cefepime	4~>128/94	32	128	16~>128/100	32	>128	32~>128/100	128	>128
Tigecycline	0.25~4/6	2	2	0.5~4/11	2	4	1~2/0	2	2
Colistin	0.5~2/0	1	2	0.5~2/0	1	1	1~2/0	2	2

분리되었다. MBL 생성 균주 15주는 모두 *bla*_{OXA-51}형 유전자 음성주였다(Table 2).

2. OXA형 carbapenemase 생성 균주 및 IS*Aba1* 보유 균주의 비율

Acinetobacter spp. 171주(비감수성 139주, 감수성 32주) 중 *bla*_{OXA-51}형 유전자 양성군은 151주였다. IS*Aba1* 음성 *bla*_{OXA-51}형 유전자 양성주(group I)는 51주, IS*Aba1* 양성 *bla*_{OXA-51}형 유전자 양성주(group II)는 75주, IS*Aba1*, *bla*_{OXA-51}형 및 *bla*_{OXA-23}형 유전자가 동시에 양성인 균주(group III)는 25주였다(Table 2).

병원별로는 group I이 B병원에서 78% (28/36)로 가장 흔하였다. Group II는 A병원과 C병원 분리주에서 각각 69% (34/49)와 52% (39주/75주)로 높았고 B병원과 D병원은 각각 3% (1주/36주)와 9% (1주/11주)에 불과하였다. Group III는 C병원과 D병원에서 각각 28% (21주/75주)와 27% (3주/11주)로 높았고 다른 병원은 2% 및 0%였다. *bla*_{OXA-24}형 및 *bla*_{OXA-58}형 양성균주는

검출되지 않았다.

3. OXA형 carbapenemase 생성 균주의 항균제 감수성

Group I에 대한 imipenem과 meropenem의 MIC 범위는 각각 0.25~8 µg/mL와 0.25~64 µg/mL이었고, group II는 각각 2~16 µg/mL와 4~128 µg/mL이었다(Table 3). 한편 group III에 대한 imipenem과 meropenem의 MIC 범위는 각각 8~64 µg/mL와 16~64 µg/mL이었다. Imipenem과 meropenem에 대한 비감수성률은 group I에서 각각 25%와 74%, group II에서는 두 항균제 모두에서 99%, 그리고 group III에서는 두 항균제 모두에서 100%였다. Group I에 비해 IS*Aba1* 양성균인 group II, III에서 imipenem에 대한 비감수성률은 각각 74%와 75% 증가하였다.

Tigecycline에 대해서는 대부분 균주가 감수성이었으며, colistin에 대해서는 모든 균주가 감수성이었다(Table 3).

4. OXA형 carbapenemase의 내성 유전자 분석

*bla*_{OXA-51}형과 *bla*_{OXA-23}형 유전자 양성 균주를 각각 6주 임의를 선택하여 정확한 유전자형을 결정하고자 염기서열을 분석하였다. 12주 모두 IS*Aba1* 양성이었으며, 전자 6주 중 4주는 *bla*_{OXA-83}이었고, 2주는 *bla*_{OXA-66}과 유사한 분석결과를 나타내었다. 후자 6주는 모두 *bla*_{OXA-23}이었다.

5. OXA형 carbapenemase에 의한 β-lactam 항균제의 가수분해 양상

Group I, II 및 III 균주에서 각 군당 1주씩을 선택하여 β-lactam 항균제에 대한 가수분해 양상을 시험하였다. OXA-23형과 OXA-51형 효소생성 K106 균주(group III)와 IS*Aba1* 양성

Table 4. Hydrolytic activities (relative %) of various OXA-carbapenemase-producing strains

Strain (Group)	K19, <i>bla</i> _{OXA-51} -like without IS <i>Aba1</i> (Group I)	K28, <i>bla</i> _{OXA-51} -like with IS <i>Aba1</i> (Group II)	K106, <i>bla</i> _{OXA-51} -like and <i>bla</i> _{OXA-23} -like with IS <i>Aba1</i> (Group III)
Penicillin	100	100	100
Oxacillin	<1	25	19
Cephalothin	62	55	35
Imipenem	1	3	2
Meropenem	<1	1	1

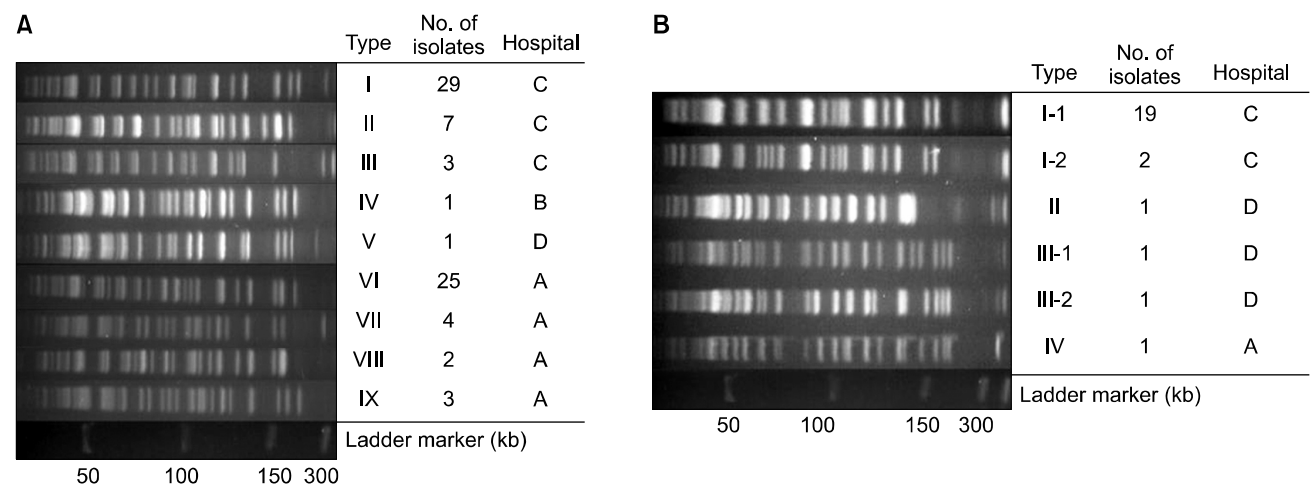


Fig. 1. Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) patterns of *SmaI*-restricted genomic DNA of *Acinetobacter* spp. isolates. (A) Isolates having *bla*_{OXA-51} and IS*Aba1*. Lane I to IX, different clones from 4 hospitals; and (B) isolates having both *bla*_{OXA-51}, *bla*_{OXA-23} and IS*Aba1*. Lane I-1 to IV, different clones from 4 hospitals; Molecular size (ladder marker) is given in kilobases.

OXA-51형 효소 생성 K28 (group II) 군주가 IS*Aba1* 음성 OXA-51형 효소 생성 K19 (group I)보다 oxacillin에 강한 분해 활성을 보였고, imipenem 및 meropenem에 대해서도 상대적인 활성도가 높았다(Table 4).

6. IS*Aba1* 양성 OXA-51형 carbapenemase 생성 군주(Group II)의 PFGE 성상

OXA-51형 유전자가 양성인 75군주의 PFGE를 시행하여 비교한 결과, 9가지 형이 관찰되었다(Fig. 1A). C병원 분리 39주는 3가지 형, A병원 분리 34주는 4가지 형이었으며, B와 D병원 분리 각 1주는 상기 병원과 다른 IV형과 V형이었다. C병원과 A병원 분리주 중에는 각각 I형과 VI형이 가장 많아서 동일 군주에 의한 집단발생이 혼함을 추정할 수 있었다.

7. IS*Aba1* 양성 OXA-23형과 OXA-51형 carbapenemase 생성 군주(Group III)의 PFGE 성상과 집단발생

OXA-23형 carbapenemase 생성 군주는 25주였는데 A병원에서 1주, C병원에서 21주 및 D병원에서 3주가 분리되었다(Fig. 1B). 이들 군주의 PFGE 성상은 병원에 따라 달랐다. 즉, A병원 분리 1주는 IV형, D병원에서 분리된 3주는 II와 III형이었다. 반면에, C병원에서 분리된 21주는 모두 I형으로 동일 군주에 의한 집단발생으로 판단되었고, 11주(52%, 11주/21주)가 중환자실 환자에서 분리되었다.

고 찰

본 연구에서는 국내 임상환자에서 분리되는 *Acinetobacter* spp.의 OXA 형 carbapenemase 생성 군주의 비율을 조사하고, 국내 전파상황, OXA형 carbapenemase 내성 유전자의 종류 및 내성 유전자 보유 군주의 분자역학적 성상을 규명하고자 하였다.

Acinetobacter spp.의 imipenem 비감수성률은 병원마다 달라서 D병원이 10%로 가장 낮았으며, A병원 51%, B병원 14%, C병원 67%였다(Table 2). B병원과 C병원의 병상수는 약 800병상으로 비슷하였지만 비감수성률은 4배나 차이를 보였으며, 이는 병원 내 정착 세균의 원내 감염 확산의 차이가 있을 것으로 생각되었다. Carbapenem 내성률은 A병원은 38%로 타병원의 내성률(4~22%)보다 현저히 높았는데, 이는 상대적으로 중환자 및 암환자 등 장기입원 환자가 많은 병원 특성을 반영한 것으로 생각되었다. 국내 분리 군주의 내성률 자료와 비교하였을 때 2004년 Korean Nationwide Surveillance of Antimicrobial Resistance (KONSAR) 조사연구에서 전국 병원 분리주의 내성률은 17%였으며, 이는 C병원의 내성률과 비슷하였다[2].

본 연구에서 4개 병원에서 분리된 *Acinetobacter* spp. 171주 중 151주가 bla_{OXA-51}형 유전자 양성이었으며, 그 중에는 bla_{OXA-51}형 유전자와 IS*Aba1* 동시 양성인 군주(Group II)가 75주

(75/151, 49.7%)로 가장 많았다(Table 2). 이들의 비율은 병원에 따라 달랐는데 carbapenem 비감수성률이 높은 A병원과 C병원에서 각각 85%, 52%로 가장 높았다. 이는 특정 병원 내 집단발생 가능성을 시사하는 것으로 판단된다. 2005년도 분리 imipenem 내성 *Acinetobacter* spp.을 대상으로 시행한 KONSAR 연구에서는 144주 중 105주(74.3%)에서 bla_{OXA}형 유전자 양성 있었고, 그 중 47주(44.8%)가 bla_{OXA-23}형이었다[11]. 2006년 분리 군주가 대상인 본 연구에서 bla_{OXA}형 유전자 양성률은 88.3% (151주/171주)로 KONSAR 연구결과보다 높았고 bla_{OXA-23}형 유전자 양성률은 16.5% (25주/151주)로 낮았다. 이 역시 특정 병원 내 group II 군주의 집단발생 때문인 것으로 판단되었다.

Merkier 등은 OXA-51은 모든 *A. baumannii*에 존재한다고 하였으며 *Acinetobacter haemolyticus*, *Acinetobacter genomic species 10* 또는 *Acinetobacter lwoffii*에서는 음성 결과를 보였다고 했으며 OXA-51 자체가 carbapenem에 내성을 나타내는 것인지는 불확실하다고 하였다[16]. 본 연구에서 MBL 생성 군주 15주는 모두 OXA-51이 존재하지 않았고, 다른 국외연구와 마찬가지로 이 군주들은 non-baumannii *Acinetobacter* spp.의 가능성이 크다고 판단되었다. 다른 연구 결과도 OXA-51이 아닌 OXA-58 또는 OXA-23이 존재해야 carbapenem에 내성을 나타낸다고 하였으며 IS*Aba1*이 bla_{OXA-51}의 상부에 존재해야 내성을 나타낸다고 하였다[17,18].

bla_{OXA-51-like} 양성 군주의 IS*Aba1* 존재 유무에 따른 항균제 감수성 시험에서 *Acinetobacter* spp.의 ceftazidime, cefepime, tigecycline 및 colistin에 대한 내성률은 IS*Aba1* 음성군(Group I)과 양성군(Group II)에서 모두 비슷하였다(Table 3). 그러나 imipenem과 meropenem의 MIC 범위는 Group II 군주에서 각각 2~16 µg/mL와 4~128 µg/mL로 group I 군주보다 2~8배 높았으며, imipenem과 meropenem에 대한 비감수성률이 모두 99%로 group I 군주보다 높았다. 이러한 결과는 IS*Aba1* 양성인 *Acinetobacter*의 carbapenem MIC가 더 높다는 Turton 등의 보고와 일치하였다[10]. bla_{OXA-23}형 유전자 양성군주(Group III)에 대한 imipenem과 meropenem의 MIC₉₀은 각각 32 µg/mL 및 64 µg/mL로 Group II의 8 µg/mL 및 32 µg/mL보다 각각 4배와 2배 높았으며, imipenem, meropenem, ceftazidime 및 cefepime에 대한 감수성 군주는 없었다. 이 결과는 carbapenem에 대한 내성에 OXA-23이 OXA-51보다 더 기여한다는 보고와 일치하는 소견이었다[15]. 항균제들에 대한 가수분해 시험결과 group I에 비해 group II와 group III 군주가 oxacillin, imipenem 및 meropenem에 높은 가수분해 능력을 보였다. 이 가수분해 결과는 각 군에 대한 항균제 내성률과 상관관계가 있는 것으로 판단하였다(Table 4). 최근에 개발된 약제인 tigecycline과 colistin에는 대부분 혹은 모두 감수성이어서 OXA carbapenemase를 가지고 있는 다제내성 *Acinetobacter* spp. 치료에 이들 약제가 유용할 것으로 생각되었다.

근래 OXA carbapenemase 생성 균주에 의한 집단발생이 국내외에서 보고된 바 있다. 본 연구에서도 서울지역 한 병원에서 분리된 *bla*_{OXA-23}형 유전자 양성 균주는 모두 같은 PFGE 성상을 보였다. 또한 *bla*_{OXA-51}과 *ISAbal* 동시 양성(Group II) 균주는 서울지역 두 개 병원에서 집단발생하였음을 알 수 있었다.

결론적으로 본 연구 대상인 4개 병원에서 *Acinetobacter* spp. 의 carbapenem 내성률은 다양하였고 OXA carbapenemase 생성 균주가 매우 흔하였으며 이들에 의한 병원 내 집단발생 역시 흔함을 추정할 수 있었다.

참 고 문 헌

- Bergogne-Bérézin E and Towner KJ. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. Clin Microbiol Rev 1996;9:148-65.
- 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.
- Lee K, Jang SJ, Lee HJ, Ryoo N, Kim M, Hong SG, et al. Increasing prevalence of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*, expanded-spectrum cephalosporin-resistant *Klebsiella pneumoniae*, and imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Korea: KONSAR study in 2001. J Korean Med Sci 2004;19:8-14.
- Poirel L and Nordmann P. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. Clin Microbiol Infect 2006;12:826-36.
- Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrob Agents Chemother 1995;39:1211-33.
- Walther-Rasmussen J and Høiby N. OXA-type carbapenemases. J Antimicrob Chemother 2006;57:373-83.
- Naas T, Levy M, Hirschauer C, Marchandin H, Nordmann P. Outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the carbapenemase OXA-23 in a tertiary care hospital of Papeete, French Polynesia. J Clin Microbiol 2005;43:4826-9.
- Jeon BC, Jeong SH, Bae IK, Kwon SB, Lee K, Young D, et al. Investigation of a nosocomial outbreak of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the OXA-23 β -lactamase in Korea. J Clin Microbiol 2005;43:2241-5.
- Héritier C, Dubouix A, Poirel L, Marty N, Nordmann P. A nosocomial outbreak of *Acinetobacter baumannii* isolates expressing the carbapenem-hydrolysing oxacillinase OXA-58. J Antimicrob Chemother 2005;55:115-8.
- Turton JF, Ward ME, Woodford N, Kaufmann ME, Pike R, Livermore DM, et al. The role of *ISAbal* in expression of OXA carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*. FEMS Microbiol Lett 2006;258:72-7.
- 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 2009;33:520-4.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Sixteenth ed. Wayne, PA: CLSI, 2006.
- Lee K, Chong Y, Shin HB, Kim YA, 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.
- 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.
- Woodford N, Ellington MJ, Coelho JM, Turton JF, Ward ME, Brown S, et al. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. Int J Antimicrob Agents 2006;27:351-3.
- Merkier AK and Centrón D. *bla*_{OXA-51}-type β -lactamase genes are ubiquitous and vary within a strain in *Acinetobacter baumannii*. Int J Antimicrob Agents 2006;28:110-3.
- Tsakris A, Ikonomidis A, Pournaras S, Spanakis N, Markogiannakis A. Carriage of OXA-58 but not of OXA-51 β -lactamase gene correlates with carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. J Antimicrob Chemother 2006;58:1097-9.
- Segal H, Garry S, Elisha BG. Is *ISAbal* customized for *Acinetobacter*? FEMS Microbiol Lett 2005;243:425-9.

=국문초록=

2006년 서울과 경기지역 4개 병원에서 분리된 Carbapenem 내성 *Acinetobacter* spp.의 내성 기전과 분자역학

¹고려대학교 의과대학 진단검사의학교실, ²결핵연구원, ³동의대학교 자연과학대학 임상병리학과, ⁴연세대학교 의과대학 진단검사의학교실, ⁵세균내성연구소

노경호¹, 김창기², 염종화³, 용동은^{4,5}, 정석훈^{4,5}, 임채승¹, 이창규¹, 조윤정¹, 이경원^{4,5}, 정윤섭^{4,5}

배경: 최근 carbapenem을 포함한 다약제 내성 *Acinetobacter* spp.가 증가하고 있어 심각한 문제가 되고 있다. 본 연구에서는 국내 4개 병원에서 분리되는 *Acinetobacter* spp.의 항균제 내성 양상과 carbapenem 내성 기전 및 분자역학적 성상을 규명하고자 하였다.

방법: 2006년 5월에서 11월까지 서울의 세 지역과 경기의 한 지역에 위치한 4개 중대형병원 환자에서 분리된 *Acinetobacter* spp. 균주를 수집하였다. CLSI 디스크 확산법과 한천희석법으로 항균제 감수성을 시험하였고, PCR 검사로 metallo- β -lactamase와 OXA형 carbapenemase 생성균을 검출하였다. OXA형과 ISAbal의 유무에 따른 carbapenem 내성과 가수분해능을 비교하였고, OXA형 carbapenemase 생성균의 염색체 DNA의 pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) 성상을 분석하였다.

결과: *Acinetobacter* spp.의 carbapenem 비감수성률은 10~67%로 일부 병원에서는 이미 높았다. OXA carbapenemase를 생성하는 151주는 ISAbal이 없는 bla_{OXA-51}형 51주, ISAbal 동시양성인 bla_{OXA-51}형 75주, ISAbal, bla_{OXA-51}과 bla_{OXA-23} 동시 양성인 균주 25주로 구성되어 있었다. bla_{OXA-51}형 중 ISAbal이 존재하는 균주가 carbapenem MIC가 높았으며, bla_{OXA-51} 단독 존재보다 bla_{OXA-23} 동시 존재 균주가 carbapenem MIC가 높았다. 가수분해 활성도 측정에서도 bla_{OXA-51}형 중 ISAbal이 존재하는 균주와 bla_{OXA-23}가 동시 존재 균주가 oxacillin에 강한 분해활성을 보였고, carbapenem에 대해서도 상대적인 활성도가 높았다. Tigecycline에는 대부분의 시험균주가, colistin에는 시험 균주 모두가 감수성이었다. PFGE분석으로 bla_{OXA-23}형과 bla_{OXA-51}형 유전자 양성 균주에 의한 집단발생이 혼함을 알 수 있었다.

결론: 국내 분리 *Acinetobacter* spp. 중에 carbapenem 내성균주와 OXA형 carbapenemase 생성 균주는 매우 흔하였고 병원 내 집단 발생이 종종 있음을 추정할 수 있었다. OXA형 carbapenemase 생성 균주의 확산은 carbapenem 내성 *Acinetobacter* spp.에 의한 감염증 치료를 어렵게 할 것이므로 이에 대한 향후 대책이 시급할 것으로 생각한다. [대한임상미생물학회지 2010;13:27-33]

교신저자 : 이경원, 120-752, 서울시 서대문구 성산로 250
연세대학교 의과대학 진단검사의학교실, 세균내성연구소
Tel: 02-2228-2446, Fax: 02-313-0908
E-mail: leekcp@yuhs.ac