

A Korean Nationwide Surveillance Study for Non-Typhoidal *Salmonella* Isolated in Humans and Food Animals from 2006 to 2008: Extended-Spectrum β -Lactamase, Plasmid-Mediated AmpC β -Lactamase, and Plasmid-Mediated Quinolone Resistance *qnr* Genes

Hae-Sun Chung¹, Hyukmin Lee², Yangsoon Lee¹, Dongeun Yong¹, Seok Hoon Jeong¹,
Bok-Kwon Lee³, Suk-Chan Jung⁴, Suk-Kyung Lim⁴, Kyungwon Lee¹, Yunsop Chong¹

¹Department of Laboratory Medicine and Research Institute of Bacterial Resistance, Yonsei University College of Medicine, Seoul, ²Department of Laboratory Medicine, Kwandong University College of Medicine, Goyang,

³Division of Enteric Bacterial Infections, Center for Infectious Diseases, Korea National Institute of Health, Cheongwon,

⁴Animal, Plant and Fisheries Quarantine and Inspection Agency, Anyang, Korea

Background: The emergence of non-typhoidal *Salmonella* (NTS) with decreased susceptibilities to fluoroquinolone, ampicillin, or ceftriaxone has been reported worldwide. However, current surveillance studies of resistance among NTS in Korea are limited. Thus, the antimicrobial susceptibilities; resistance mechanisms such as extended-spectrum β -lactamase (ESBL), plasmid-mediated AmpC β -lactamase (PABL), and plasmid-mediated quinolone resistance (PMQR); and molecular epidemiologic characteristics were investigated in the present study.

Methods: National Institute of Health and National Veterinary Research and Quarantine Service collected NTS strains from 219 clinical and 293 non-clinical specimens from 2006 to 2008. The antimicrobial susceptibilities were determined using the Clinical and Laboratory Standards Institute disk diffusion test. ESBL, PABL, and *qnr* genotyping were performed using PCR and nucleotide sequencing. Pulsed-field gel electrophoresis was used for the molecular epidemiologic study.

Results: The resistance to ampicillin in clinical and non-clinical NTS was 49% and 18 to 47%, respectively. The resistance rates to trimethoprim-sulfamethoxazole in clinical and non-clinical NTS were 8% and 0 to

41%, respectively. The rates to extended-spectrum cephalosporin were 0 to 1%. One CTX-M-15-producing isolate and four CMY-2-producing isolates were detected. Notably, PFGE analysis showed four isolates carrying *bla*_{CMY-2}, including one non-clinical strain had high clonality. Although the rate of ciprofloxacin resistance was very low, two *qnrS1*-carrying NTS strains were detected in non-clinical specimens.

Conclusion: The resistance rates to ampicillin in both clinical and non-clinical NTS were high, while those to trimethoprim-sulfamethoxazole varied depending on the specimen. NTS strains harboring CTX-M-15-type ESBL or CMY-2-type PABL were detected even though the resistance rates to cephalosporins were very low. Four NTS strains carrying the *bla*_{CMY-2}-gene implied zoonotic infection. Continuous effort to minimize transfer of resistance genes in NTS is necessary. (Korean J Clin Microbiol 2012;15:14-20)

Key Words: Antimicrobial susceptibility, Extended-spectrum β -lactamase, Korea, Non-typhoidal *Salmonella*, Plasmid-mediated AmpC β -lactamase, Plasmid-mediated quinolone resistance

서론

살모넬라균은 오염된 물이나 동물에서 유래된 음식을 섭취

하였을 때 사람에게 감염을 일으킨다. 2,400여 종의 혈청형이 존재하며 최근 비장티푸스성 살모넬라(non-typhoidal *Salmonella*, NTS) 감염이 증가하고 있다[1]. NTS는 주로 소아에서 위장관염을 일으키며 항균제 투여 없이 치료되지만 침습성 감염의 경우는 fluoroquinolone, ampicillin, ceftriaxone 투여가 필요하다. 그러나 이들 항균제에 감수성이 저하된 다제내성 NTS 균주가 세계적으로 출현하고 있어서 중대한 위협이 되고 있다[2].

Received 8 September, 2011, Revised 8 November, 2011

Accepted 11 November, 2011

Correspondence: Kyungwon Lee, Department of Laboratory Medicine and Research Institute of Bacterial Resistance, Yonsei University College of Medicine, 50 Yonsei-ro, Seodaemun-gu, Seoul 120-752, Korea. (Tel) 82-2-2228-2446, (Fax) 82-2-313-0906, (E-mail) leekcp@yuhs.ac

특히 quinolone 제제를 투여할 수 없는 16세 미만 소아에서 3세대 cephalosporin 내성 균주 감염이 발생할 경우 치료실패의 가능성이 있다[3].

3세대 cephalosporin을 분해할 수 있는 β -lactamase 생성 살모넬라는 전 세계적으로 보고되고 있다[4,5]. SHV, TEM, CTX-M형의 extended-spectrum β -lactamase (ESBL)는 플라스미드를 통해 내성 전파가 가능하며[5], 침습성 살모넬라증 치료에 사용되는 3, 4세대 cephalosporin을 분해할 수 있는 특징이 있다. 미국과 유럽 지역에서 CMY-2형 plasmid-mediated AmpC β -lactamase (PABL)을 생성하여 ceftriaxone을 비롯한 여러 항균제에 내성을 보이는 AmpC 생성 multidrug resistant *S. Newport* 균주가 보고되고 있다[4-6]. 이들의 출현은 동물에서 사용되었던 3세대 cephalosporin인 ceftiofur의 사용이 원인 일 것으로 추정하고 있다. Plasmid-mediated quinolone resist-

ance (PMQR)는 1994년 미국의 *Klebsiella pneumoniae*에서 최초 보고된 이래 아시아에서는 2001년 중국 상하이에서 분리된 *Escherichia coli*에서 *qnrA1*이 보고되었다[7,8]. 이들은 DNA gyrase를 quinolone의 작용으로부터 보호하여 내성을 부여한다. 국내에서 1995-1996년과 2000-2002년 분리된 NTS에서 nalidixic acid 내성률은 증가하였으나 *qnr* 유전자는 검출되지 않았다[9]. 한편 미국에서 분리된 NTS중 PMQR의 빈도는 1996-2003년 0.08%이었으나 2004-2006년 0.3%로 증가하였다[10,11]. 그러나 국내에서 다제내성 살모넬라균의 PMQR에 대한 연구는 제한되어 있다.

본 연구에서는 국내의 임상 검체 및 비임상 검체에서 분리된 NTS의 항균제 내성 양상을 비교하였다. 또한 주요 내성 유전자의 분리 빈도를 조사하고 분자역학적 분석을 시행하였다.

Table 1. Primers used in this study

Primers	Nucleotide sequence (5' to 3')	Product size (bp)	Target gene
TEM F	ATG AGT ATT CAA CAT TTC CGT	861	<i>bla</i> _{TEM}
TEM R	TTA CCA ATG CTT AAT CAG TGA		
SHV F	CCG GGT TAT TCT TAT TTG TCG CT	831	<i>bla</i> _{SHV}
SHV R	TAG CGT TGC CAG TGC TCG		
CTX-M 1F	GGA CGT ACA GCA AAA ACT TGC	624	<i>bla</i> _{CTX-M-1}
CTX-M 1R	CGG TTC GCT TTC ACT TTT CTT		
CTX-M 2F	CGG TGC TTA AAC AGA GCG AG	891	<i>bla</i> _{CTX-M-2}
CTX-M 2R	CCA TGA ATA AGC AGC TGA TTG CCC		
CTX-M 8F	ACG CTC AAC ACC GCG ATC	490	<i>bla</i> _{CTX-M-8}
CTX-M 8R	CGT GGG TTC TCG GGG ATA A		
CTX-M 9F	GAT TGA CCG TAT TGG GAG TTT	947	<i>bla</i> _{CTX-M-9}
CTX-M 9R	CGG CTG GGT AAA ATA GGT CA		
PER-1 F	GTT AAT TTG GGC TTA GGG CAG	855	<i>bla</i> _{PER-1}
PER-1 R	CAG CGC AAT CCC CAC TGT		
VEB F	ACC AGA TAG GAG TAC AGA CAT ATG A	727	<i>bla</i> _{VEB-1}
VEB R	TTC ATC ACC GCG ATA AAG CAC		
GES/IBC F	GTT AGA CGG GCG TAC AAA GAT AAT	903	<i>bla</i> _{GES-1}
GES/IBC R	TGT CCG TGC TCA GGA TGA GT		
TLA F	CGC GAA AAT TCT GAA ATG AC	992	<i>bla</i> _{TLA}
TLA R	AGG AAA TTG TAC CGA GAC CCT		
MOXMF	GCT GCT CAA GGA GCA CAG GAT	520	<i>bla</i> _{MOX-1} , <i>bla</i> _{MOX-2} , <i>bla</i> _{CMY-1} , <i>bla</i> _{CMY-8} to <i>bla</i> _{CMY-11}
MOXMR	CAC ATT GAC ATA GGT GTG GTG C		
CITMF	TGG CCA GAA CTG ACA GGC AAA	462	<i>bla</i> _{LAT-1} to <i>bla</i> _{LAT-4} , <i>bla</i> _{CMY-2} to <i>bla</i> _{CMY-7} , <i>bla</i> _{BIL-1}
CITMR	TTT CTC CTG AAC GTG GCT GGC		
DHAMF	AAC TTT CAC AGG TGT GCT GGG T	405	<i>bla</i> _{DHA-1} , <i>bla</i> _{DHA-2}
DHAMR	CCG TAC GCA TAC TGG CTT TGC		
ACCMF	AAC AGC CTC AGC AGC CGG TTA	346	<i>bla</i> _{ACC} , <i>bla</i> _{ACC}
ACCMR	TTC GCC GCA ATC ATC CCT AGC		
EBCMF	TCG GTA AAG CCG ATG TTG CGG	302	<i>bla</i> _{MIR-1} , <i>bla</i> _{ACT-1}
EBCMR	CTT CCA CTG CGG CTG CCA GTT		
FOXMF	AAC ATG GGG TAT CAG GGA GAT G	190	<i>bla</i> _{FOX-1} to <i>bla</i> _{FOX-5b}
FOXMR	CAA AGC GCG TAA CCG GAT TGG		
<i>qnrA</i> F	AGA GGA TTT CTC ACG CCA GG	580	<i>qnrA1-qnrA6</i>
<i>qnrA</i> R	TGC CAG GCA CAG ATC TTG AC		
<i>qnrB</i> F	GGA ATT GAA ATT CGC CAC TG	264	<i>qnrB1-qnrB6</i>
<i>qnrB</i> R	TTT GCC GCC CGC CAG TCG AA		
<i>qnrS</i> F	GCA AGT TCA TTG AAC AGG GT	428	<i>qnrS1-qnrS2</i>
<i>qnrS</i> R	TCT AAA CCG TCG AGT TCG GCG		

재료 및 방법

1. 균주 수집

2006-2008년 질병관리본부에서 임상검체 분리 NTS 균주 219주를, 국립 수의과학 검역원에서 비임상검체(가금류, 돼지 및 음식물) 분리된 NTS 균주 293주를 각각 수집하였다. 균종 및 혈청형(serotype, serovar) 동정은 각각의 수집기관에서 시험하였다. Ampicillin, cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone, cefoxitin, streptomycin, nalidixic acid, ciprofloxacin, tetracycline, trimethoprim-sulfamethoxazole (cotrimoxazole), 그리고 chloramphenicol 디스크(Becton Dickinson, Cockeysville, MD, USA)로 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 디스크 확산법[12]에 따라서 항균제 감수성 검사를 시행하였다.

2. β -lactamase 생성 검출: ESBL과 PABL

ESBL 선별 검사와 표현형 확진 검사는 *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*와 *E. coli*에 대한 CLSI의 ESBL 선별 기준을 준용하여 시험하였다. 즉, Cefotaxime 감수성 시험 결과 ESBL 선별 양성 기준(≤ 27 mm)에 해당하는 균주에서 double-disk synergy법으로 ESBL 생성을 확인하였다[12,13]. ESBL 유전형은 PCR로 확인하였다(Table 1). DNA는 가열한 상층액 1 μ L, 20 pmol primer 각각 1 μ L와 1 U의 Taq DNA polymerase가 들어있는 PreMix (Bioneer, Daejeon, Korea)에 증류수를 첨가하여 총 20 μ L가 되게 하여 PCR을 시행하였으며, *bla*_{TEM-52}, *bla*_{SHV-12}, *bla*_{CTX-M-14} 양성 균주를 함께 시험하였다. PCR 증폭산물은 Sequenase Version 2.0 DNA sequencing kit (U.S. Biochemicals, Cleveland, OH, USA)를 이용하여 염기서열을 분석하였다.

Cefoxitin에 비감수성인 균주를 대상으로 multiplex AmpC PCR을 시행하였다(Table 1) [14]. AmpC PCR 산물은 염기서열 분석을 시행하여 유전자형을 확인하였다.

3. PMQR형 검출 및 규명

Nalidixic acid에 비감수성인 균주 115주를 임의로 선택하여 PMQR 유전자 중 *qnrA*, *qnrB*, 및 *qnrS*를 multiplex PCR법으로 검출하였다(Table 1). 양성 PCR 산물은 염기 서열을 분석하여 유전형을 확인하였다.

4. Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)

시험 균주를 Luria Broth 1 mL에 접종하여 하룻밤 배양한 후 2% InCert agarose와 혼합하여 mold에 넣고 굳혔다. Lysozyme 과 proteinase K로 cell membrane을 제거하고 제한효소 *Xba*I으로 염색체 유전자를 절단하였다. 이를 PFGE용 agarose 1% gel 과 CHEF-DR II system (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)로 최초 0.5 second, 최종 30 seconds switch time, 전압 6 V로 20시간 전기영동 후 Tenover 등의 기준으로 clonality를 판정하였다[15].

결과 및 고찰

1. 균주 특성

본 연구에서 분리된 NTS는 검체에 따라서 상이한 혈청형 분포를 보였다. 즉, 임상검체에서 분리된 NTS 219주 중 *Salmonella enterica* serovar Enteritidis (*S. Enteritidis*)가 136주(62.1%)로 *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (*S. Typhimurium*) 83주(37.9%)보다 더 많았다(Table 2). 비임상 분리균주는 돼지에서 158주가 분리 수집되어 가장 많았고 닭에서 80주, 기타 음식물에서 55균주의 빈도순서를 보였다. 돼지에서 분리된 158 균주 중에는 *S. Typhimurium*이 115주(72.8%)로 대부분을 차지하였고, *Salmonella enterica* serovar Schwarzengrund 18주(11.4%), *Salmonella enterica* serovar Rissen 16주(10.1%)이었다. 닭에서 분리된 80주 중에는 *S. Enteritidis*가 32주(40%)로 가장 흔하였고, *Salmonella enterica* serovar Virchow가 17주(21.3%), *Salmonella enterica* serovar Indiana가 9주(11.3%) 등이었다. 그 외 음식물에서 분리된 55주 중에는 *S. Enteritidis*가 22주(40%), *Salmonella enterica* serovar Blokley 19주(34.5%), 및 *S. Typhimurium* 9주(13.4%) 등이었다. 2008년 중국의 126개 병원에서 분리된 662 NTS 중에는 *S. Enteritidis*가 208주(31.4%), *S. Typhimurium*이 181주(27.3%)의 분리빈도를 보여서 본 연구와 유사하였다[16]. 일본에서는 2001-2002년 돼지에서 분리된 18주 중 *S. Typhimurium*이 9주(50%)이어서 본 연구와 유사하였으나

Table 2. Resistant rates (%) of nontyphoidal *Salmonella* species to various antimicrobial agents as a result of *in vitro* antimicrobial susceptibility test

Antibiotics	Clinical isolates* (219)	Non-clinical isolates (293)		
		Pig [†] (158)	Chicken [‡] (80)	Food [§] (55)
Ampicillin	49	47	18	38
Cefotaxime	NT	1	0	0
Ceftazidime	NT	<1	0	0
Ceftriaxone	<1	NT	NT	NT
Cefoxitin	1	1	0	0
Streptomycin	48	79	25	47
Nalidixic acid	50	66	68	60
Ciprofloxacin	<1	0	0	0
Tetracycline	37	88	25	46
Cotrimoxazole	8	41	1	0
Chloramphenicol	29	29	3	4

*Clinical isolates included *S. Typhimurium* (83, 37.9%) and *S. Enteritidis* (136, 62.1%), [†]Non-clinical isolates from pig included *S. Typhimurium* (115, 72.8%), *S. Schwarzengrund* (18, 11.4%), and *S. Rissen* (16, 10.1%), [‡]Non-clinical isolates from chicken included *S. Enteritidis* (32, 40.0%), *S. Virchow* (17, 21.3%), and *S. Indiana* (9, 11.3%), [§]Non-clinical isolates from food included *S. Enteritidis* (22, 40.0%), *S. Blokley* (19, 34.5%), and *S. Typhimurium* (9, 13.4%). Abbreviation: NT, not tested.

가금류에서 분리된 38주 중 혈청형을 알 수 없는(non-typable) NTS가 15주(39.5%), *Salmonella enterica* serovar Infantis가 11주(29%)로 *S. Enteritidis* 5주(13.2%)보다 더 많아서 본 연구와는 차이를 보였다[17]. 이로써 NTS의 혈청형은 분리된 검체, 지역 및 기간에 따라서 다양함을 알 수 있었다.

2. 항균제 내성 양상

임상 검체 분리주는 혈청형에 따라서 구분하였고 비임상 군주는 유래한 숙주에 따라서 시험관내 항균제 감수성 양상을 시험하고 분석하였다(Table 2). *Salmonella* 감염증 치료 시 1, 2세대 cephalosporin과 aminoglycoside는 시험관내 항균제 감수성 시험에서는 감수성일지라도 임상적으로 효과는 없다. NTS 감염에 주로 사용되었던 ampicillin에 대한 내성률은 임상 군주에서 49% (*S. Enteritidis*, 47%; *S. Typhimurium*, 52%)로 1996-2007년 미국의 임상검체에서 분리된 NTS에서의 ampicillin 내성률 19.8%에 비하면 현저히 높았다[18]. 비임상 군주에서는 검체에 따라 18-47%이었고, 닭에서 분리된 NTS의 ampicillin 내성률이 18%로 제일 낮았다.

Extended-spectrum cephalosporin 항균제인 cefotaxime, ceftazidime 및 ceftriaxone에 대한 내성률은 1% 이하로 낮아서 다른 보고와 유사하였다[16-19]. Fluoroquinolone 항균제인 ciprofloxacin에 대한 내성률 역시 0-1%로 매우 낮았으나, nalidixic acid 내성률은 47-68%로 높았고, 특히 비임상 군주는 60-68%가 nalidixic acid에 내성이었다. 세계적으로 ciprofloxacin에 고도 내성을 보이는 군주는 상대적으로 드물지만 MIC 0.1-1 µg/mL의 감수성이 저하된 군은 점차 흔해지고 있으며 이들은 nalidixic acid 감수성 검사로 더 민감하게 검출할 수 있다[19]. 임상검체에서 분리된 NTS의 nalidixic acid 내성률이 미국은 2.7%에 불과하였으나[18], 중국은 67.8%이었다[16].

Tetracycline에 대한 내성률은 임상 군주에서 혈청형에 따라 *S. Typhimurium* 70% 및 *S. Enteritidis* 17%로 차이가 있었고, 비임상 군주 중 *S. Typhimurium*이 72.8%로 대부분이었던 돼지 분리주는 tetracycline 내성률이 88%이었으나, *S. Enteritidis*가 40%로 많았던 닭 분리주는 25%만이 tetracycline에 내성이었다. Trimethoprim-sulfamethoxazole 역시 임상 검체에서 분리된 *S. Typhimurium*은 21%가 내성이었으나 *S. Enteritidis*는 내성균주가 없었고, 비임상 분리 군주는 돼지에서 41%의 내성률을 보인 반면에, 닭 및 음식물에서는 0-1%의 낮은 내성률을 보였다.

3. Extended-spectrum β -lactamase 생성균과 내성형

CLSI[12]의 ESBL 선별 기준(Cefotaxime 억제대 ≤ 27 mm)에 해당하는 임상 검체 분리 57균주와 비임상 검체 분리 117균주를 선택하여 double-disk synergy법으로 ESBL 생성을 확인 시험한 결과 양성을 보인 임상 분리 *S. Enteritidis* 1주에서 *bla*_{CTX-M-14}를 검출하였다(0.5%, 1/219). 비임상 군주 중에서

ESBL 생성 세균은 없었다. TEM-52형 ESBL 생성 NTS 5예가 1995-1997년 수집된 임상검체에서 분리된 것이 국내에서 보고되었고, 이들은 *S. Enteritidis* 2주, *S. enterica* serovar Saintpaul, *S. enterica* serovar Stanley, 그리고 *S. enterica* serovar Agona 각 1주이었다[3]. 또한 CTX-M-14형 ESBL 생성 *S. enterica* serovar London에 의한 병원 내 감염도 국내에서 보고된 바 있다[20]. 2009년 국내의 비임상 검체에서 분리된 NTS 692주 중 ESBL 생성 균주는 13주(1.9%)이었는데, 이들 중 *S. Enteritidis*가 12주로 대부분이었고, 모두 CTX-M-15형 ESBL을 생성하였다. 한편 임상검체에서 분리된 ESBL 생성 *S. Enteritidis* 7주 중 5주가 CTX-M-15를, 2주가 CTX-M-14를 생성하였다[21]. 2000년대 이후 국내에서 분리되는 NTS 중 CTX-M형 ESBL의 비중이 증가하고 있음을 추정할 수 있다.

4. PABL 생성균과 내성형

Extended-spectrum β -lactamase 내성기전은 ESBL 이외에, PABL에 의해서도 여러 β -lactam 항균제에 내성을 보일 수 있다. Cefoxitin 비감수성 임상 군주 3주 및 비임상 군주 4주가 검출되었다. 이들에게서 PABL형을 결정하기 위한 multiplex PCR과 염기서열 분석을 시행한 결과, 임상 군주 3주 (1.4%, 3/219) 모두와 돼지 분리된 군주 1주(0.3%, 1/293)에서 *bla*_{CMY-2} 유전자를 확인하였다. 흥미롭게도 이들은 모두 *S. Typhimurium*이었고 PFGE 분석 결과 4 군주 간에 1 band 이하의 차이를 보여서 높은 clonality를 보였다(Fig. 1). 사람의 살모넬라 감염증 대부분은 식품 매개로 발생하기 때문에, 동물과 축산물에서의 내성균주가 사람에게 전파될 가능성이 있다. 본 연구 결과는 다제내성

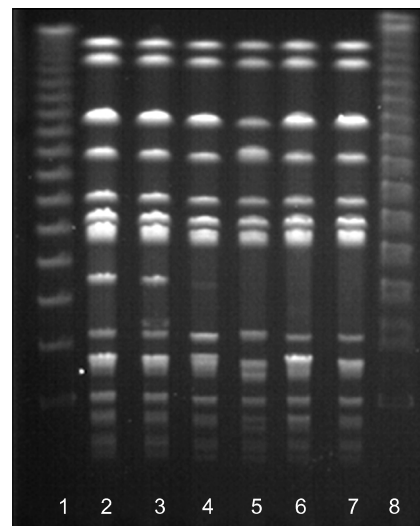


Fig. 1. PFGE band patterns of non-typhoidal *Salmonella* strains. Lane 1 and 8, size marker; lane 2-3, *bla*_{CMY-2}-negative non-clinical isolates from swine; lane 4, *bla*_{CMY-2}-positive non-clinical isolates from swine; lane 5-7, *bla*_{CMY-2}-positive clinical isolates. All the isolates were *S. Typhimurium*.

NTS에 의한 인수공통 감염을 시사하는 소견이라고 판단된다.

국내에서는 Song 등이 2000-2003년에 국내 병원에서 수집된 *Salmonella* 176균주 중 *Salmonella seterica* serovar Rissen 2주에서 CMY-2 생성을 보고하였다[22]. CMY-2는 특히 30종 이상의 다양한 혈청형을 보이는 NTS에서 발견되어 cephalosporinase 중 가장 흔하나 DHA 혹은 ACC 형도 보고되었다[4]. 본 연구에서는 DHA 혹은 ACC형 AmpC β -lactamase 생성 NTS는 검출되지 않았다.

5. PMQR 빈도 및 유전형

Nalidixic acid에 내성인 임상 균주 57주와 비임상 균주 58주를 임의로 선택하여 *qnr* 유전자에 대한 multiplex PCR을 시행하였다. 시험한 균주 중에서 *qnrA* 유전자 양성인 균주는 없었으며, 2주의 비임상 균주가 *qnrS* 양성이었다. *qnrS* PCR 산물의 염기 서열 분석 결과 mutation 없이 기존 *qnrSI* (GeneBank accession no. NC_009807)과 동일하였다. *qnrS* 양성인 2균주 중, 1주는 식품에서 분리된 *S. Enteritidis*이었고, 다른 1주는 돼지에서 분리된 *S. Typhimurium*이었다. 본 연구 결과는 동물과 축산물에서의 내성 균주와 사람 간에 *qnrS*가 상호 전파될 수 있는 가능성을 시사하고 있다.

국내의 1995-1999년 임상 및 비임상 검체에서 분리된 NTS 1,279 균주 중 20주가 nalidixic acid에 MIC 128 μ g/mL 이상의 고도내성을 보였으나 PMQR 유전자는 검출되지 않고 염색체 상에 위치하는 *gyrA* 유전자 변이만 존재하였다[21]. 2007년 미국의 임상검체에서 분리된 NTS 2,165주와 비임상 검체에서 분리된 2,235주 중 임상검체에서 분리된 6주에서만 PMQR 유전자가 검출되었고 3균주 (2 *S. Typhimurium*, 1 *Salmonella enterica* serovar Corvallis)에서 *qnrSI*이 검출되어서 PMQR 중에서 가장 흔하였다[23]. 또한 Portugal에서 2002-2004년 분리된 NTS 1,511주 중 임상검체에서 분리된 *S. Enteritidis* 1주에서 *qnrSI*이 보고되었다[24]. 이로 보아 국내 외의 NTS 중에서 *qnr* 유전자를 비롯한 PMQR 유전자는 아직까지는 매우 드물며 이들 중에는 *qnrSI*가 제일 흔하였다.

결론적으로 국내 NTS의 ampicillin 내성률은 임상 균주에서 47-52%, 비임상 균주에서 18-47%로 높았다. 그러나 1차 치료 약제인 trimethoprim-sulfamethoxazole 내성률은 0-41%로 다양하였다. Extended-spectrum cephalosporin 내성률은 <1%로 낮았으나, CTX-M-15형 ESBL 생성 균주 1주와 CMY-2형 PABL 생성 균주 4주를 검출하였다. 특히 비임상 분리균주 1주를 포함한 *bla*_{CMY-2}형 유전자 양성인 *S. Typhimurium* 4균주는 높은 유전적 연관성을 보여서 인수공통 감염의 가능성을 시사하였다. Fluoroquinolone계 항균제에 대해서는 낮은 내성률을 보여서 다른 나라와 유사하였다. 그렇지만 비임상 검체에서 분리된 NTS 2균주에서 *qnrSI*형 유전자를 검출하였다. 이들 내성 유전자들 전파를 막기 위한 지속적인 주의가 국내에서도 필요한 것

으로 판단하였다.

감사의 글

본 연구는 2008년도 식품의약품안전청 연구 과제(과제번호 08072항생제134)로 지원 받은 논문입니다.

참 고 문 헌

1. Lee HJ. Salmonellosis. Korean J Clin Microbiol 2001;4:5-10.
2. Parry CM and Threlfall EJ. Antimicrobial resistance in typhoidal and nontyphoidal salmonellae. Curr Opin Infect Dis 2008;21:531-8.
3. Lee K, Yong D, Yum JH, Kim HH, Chong Y. Diversity of TEM-52 extended-spectrum beta-lactamase-producing non-typhoidal *Salmonella* isolates in Korea. J Antimicrob Chemother 2003;52:493-6.
4. Arlet G, Barrett TJ, Butaye P, Cloeckaert A, Mulvey MR, White DG. *Salmonella* resistant to extended-spectrum cephalosporins: prevalence and epidemiology. Microbes Infect 2006;8:1945-54.
5. Miriagou V, Tassios PT, Legakis NJ, Tzouveleakis LS. Expanded-spectrum cephalosporin resistance in non-typhoid *Salmonella*. Int J Antimicrob Agents 2004;23:547-55.
6. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Outbreak of multidrug-resistant *Salmonella* Newport--United States, January-April 2002. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2002;51:545-8.
7. Robicsek A, Jacoby GA, Hooper DC. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. Lancet Infect Dis 2006;6:629-40.
8. Wang M, Tran JH, Jacoby GA, Zhang Y, Wang F, Hooper DC. Plasmid-mediated quinolone resistance in clinical isolates of *Escherichia coli* from Shanghai, China. Antimicrob Agents Chemother 2003;47:2242-8.
9. Choi SH, Woo JH, Lee JE, Park SJ, Choo EJ, Kwak YG, et al. Increasing incidence of quinolone resistance in human non-typhoid *Salmonella enterica* isolates in Korea and mechanisms involved in quinolone resistance. J Antimicrob Chemother 2005;56:1111-4.
10. Gay K, Robicsek A, Strahilevitz J, Park CH, Jacoby G, Barrett TJ, et al. Plasmid-mediated quinolone resistance in non-Typhi serotypes of *Salmonella enterica*. Clin Infect Dis 2006;43:297-304.
11. Sjölund-Karlsson M, Folster JP, Pecic G, Joyce K, Medalla F, Rickert R, et al. Emergence of plasmid-mediated quinolone resistance among non-Typhi *Salmonella enterica* isolates from humans in the United States. Antimicrob Agents Chemother 2009;53:2142-4.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; nineteenth informational supplement. Document M100-S19. Wayne, PA; CLSI 2009.
13. Drieux L, Brossier F, Sougakoff W, Jarlier V. Phenotypic detection of extended-spectrum beta-lactamase production in Enterobacteriaceae: review and bench guide. Clin Microbiol Infect 2008;14 Suppl 1:90-103.
14. Pérez-Pérez FJ and Hanson ND. Detection of plasmid-mediated AmpC beta-lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. J Clin Microbiol 2002;40:2153-62.
15. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. J Clin Microbiol 1995;33:2233-9.
16. Ran L, Wu S, Gao Y, Zhang X, Feng Z, Wang Z, et al. Laboratory-based surveillance of nontyphoidal *Salmonella*

- infections in China. Foodborne Pathog Dis 2011;8:921-7.
17. Esaki H, Morioka A, Ishihara K, Kojima A, Shiroki S, Tamura Y, et al. Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* isolated from cattle, swine and poultry (2001-2002): report from the Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Program. J Antimicrob Chemother 2004;53:266-70.
 18. Crump JA, Medalla FM, Joyce KW, Krueger AL, Hoekstra RM, Whichard JM, et al. Emerging Infections Program NARMS Working Group. Antimicrobial resistance among invasive nontyphoidal *Salmonella enterica* isolates in the United States: National Antimicrobial Resistance Monitoring System, 1996 to 2007. Antimicrob Agents Chemother 2011;55:1148-54.
 19. Al-Mashhadani M, Hewson R, Vivancos R, Keenan A, Beeching NJ, Wain J, et al. Foreign travel and decreased ciprofloxacin susceptibility in *Salmonella enterica* infections. Emerg Infect Dis 2011;17:123-5.
 20. Yong D, Lim YS, Yum JH, Lee H, Lee K, Kim EC, et al. Nosocomial outbreak of pediatric gastroenteritis caused by CTX-M-14-type extended-spectrum beta-lactamase-producing strains of *Salmonella enterica* serovar London. J Clin Microbiol 2005;43:3519-21.
 21. Tamang MD, Nam HM, Kim TS, Jang GC, Jung SC, Lim SK. Emergence of extended-spectrum beta-lactamase (CTX-M-15 and CTX-M-14)-producing nontyphoid *Salmonella* with reduced susceptibility to ciprofloxacin among food animals and humans in Korea. J Clin Microbiol 2011;49:2671-5.
 22. Song W, Kim JS, Kim HS, Park MJ, Lee KM. Appearance of *Salmonella enterica* isolates producing plasmid-mediated AmpC beta-lactamase, CMY-2, in South Korea. Diagn Microbiol Infect Dis 2005;52:281-4.
 23. Sjölund-Karlsson M, Howie R, Rickert R, Krueger A, Tran TT, Zhao S, et al. Plasmid-mediated quinolone resistance among non-Typhi *Salmonella enterica* isolates, USA. Emerg Infect Dis 2010;16:1789-91.
 24. Antunes P, Mourão J, Machado J, Peixe L. First description of *qnrS1*-IncN plasmid in a ST11 *Salmonella* Enteritidis clinical isolate from Portugal. Diagn Microbiol Infect Dis 2011;69:463-5.

=국문초록=

2006-2008년 국내 임상검체 및 동물에서 분리된 Non-Typhoidal *Salmonella* 균주에서의 Extended-Spectrum β -Lactamase, Plasmid-Mediated AmpC β -Lactamase와 Plasmid-Mediated Quinolone 내성 *qnr* 유전자의 빈도

¹연세대학교 의과대학 진단검사의학교실, 세균내성연구소, ²관동대학교 의과대학 진단검사의학교실,
³국립보건연구원 장내세균과, ⁴국립수의과학검역원

정혜선¹, 이혁민², 이양순¹, 용동은¹, 정석훈¹, 이복권³, 정석찬⁴, 임숙경⁴, 이경원¹, 정윤섭¹

배경: 침습성 비장티푸스성 살모넬라(non-typhoidal *Salmonella*, NTS) 감염에 사용되는 fluoroquinolone, ampicillin 및 ceftriaxone에 감수성이 저하된 균주가 세계적으로 출현하고 있으나 국내에서 이에 대한 연구는 제한되어 있다. 본 연구에서는 국내의 임상 및 비임상 검체에서 분리된 NTS의 항균제 내성 양상, 주요 내성 유전자의 분리 빈도와 분자역학적 분석을 시행하였다.

방법: 2006-2008년 질병관리본부와 국립 수의과학 검역원에서 임상 NTS 균주 219주 및 비임상검체 분리 NTS 균주 293주를 수집하였다. 항균제 감수성 시험은 Clinical and Laboratory Standards Institute 디스크 확산법으로 시행하였다. Extended-spectrum β -lactamase (ESBL), plasmid-mediated AmpC β -lactamase (PABL), 그리고 plasmid-mediated quinolone resistance는 항균제 내성형으로 선별하여 PCR, 염기서열 분석을 통하여 확인하였다. Pulsed-field gel electrophoresis를 이용하여 분자역학적 관계를 규명하였다.

결과: Ampicillin 내성률은 임상 균주에서 49%, 비임상 균주에서 18-47%이었다. 한편 1차 치료 약제인 trimethoprim-sulfamethoxazole 내성률은 임상 균주에서 8%, 비임상 균주에서 0-41%이었다. Extended-spectrum cephalosporin 내성률은 0-1%이었다. CTX-M-15형 ESBL 생성 균주 1주와 CMY-2형 PABL 생성 균주 4주를 검출하였다. 특히 비임상 분리균주 1주를 포함한 *bla*_{CMY-2}형 유전자 양성인 *S. Typhimurium* 4주는 높은 유전적 연관성을 보였다. Ciprofloxacin에 낮은 내성률을 보였지만 비임상 검체에서 분리된 NTS 2균주에서 *qnrSI*형 유전자를 검출하였다.

결론: 국내 NTS의 ampicillin 내성률은 임상 균주와 비임상 균주 모두 높았으나 trimethoprim-sulfamethoxazole 내성률은 분리된 검체에 따라서 다양하였다. Extended-spectrum cephalosporin 내성률은 낮았으나, CTX-M-15형 ESBL 생성 균주와 CMY-2형 PABL 생성 균주가 검출되었다. *bla*_{CMY-2}형 유전자 양성인 *S. Typhimurium* 4균주는 인수공통 감염의 가능성을 시사하였다. NTS에서 내성 유전자들이 전파하는 것을 막기 위한 지속적인 노력이 필요할 것으로 판단하였다. [대한임상미생물학회지 2012;15:14-20]

교신저자 : 이경원, 120-752, 서울시 서대문구 연세로 50
 연세대학교 의과대학 진단검사의학교실, 세균내성연구소
 Tel: 02-2228-2446, Fax: 02-313-0908
 E-mail: leekcp@yuhs.ac