

## 국내에서 분리된 Extended-Spectrum $\beta$ -Lactamase 생성 *Escherichia coli*와 *Klebsiella pneumoniae*의 빈도 및 유형

홍성근<sup>1</sup>, 김선주<sup>2</sup>, 정석훈<sup>3</sup>, 장철훈<sup>4</sup>, 조성란<sup>5</sup>, 안지영<sup>5</sup>, 신종희<sup>6</sup>, 이해수<sup>7</sup>,  
송원근<sup>8</sup>, 어영<sup>9</sup>, 염종화<sup>10</sup>, 옹동은<sup>10</sup>, 이경원<sup>10</sup>, 정윤섭<sup>10</sup>

포천중문의대<sup>1</sup>, 경상의대<sup>2</sup>, 고신의대<sup>3</sup>, 부산의대<sup>4</sup>, 순천향의대<sup>5</sup>, 전남의대<sup>6</sup>,  
전북의대<sup>7</sup>, 한림의대<sup>8</sup>, 원주의대<sup>9</sup>, 연세의대<sup>10</sup> 진단검사의학교실

### Prevalence & Diversity of Extended-spectrum $\beta$ -Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Isolates in Korea

Seong Geun Hong<sup>1</sup>, Sunjoo Kim<sup>2</sup>, Seok Hoon Jeong<sup>3</sup>, Chulhun L. Chang<sup>4</sup>, Sung Ran Cho<sup>5</sup>, Ji Young Ahn<sup>5</sup>,  
Jong Hee Shin<sup>6</sup>, Hye Soo Lee<sup>7</sup>, Won Keun Song<sup>8</sup>, Young Uh<sup>9</sup>, Jong Hwa Yum<sup>10</sup>,  
Dongeun Yong<sup>10</sup>, Kyungwon Lee<sup>10</sup>, Yunsop Chong<sup>10</sup>

Department of Laboratory Medicine, Coll. of Med., Pochon CHA Univ.<sup>1</sup>, Gyeongsang Nat. Univ. School of Med.<sup>2</sup>, Coll. of Med. Kosin Univ.<sup>3</sup>, Pusan Nat. Univ. Coll. of Med.<sup>4</sup>, Sooncheonhyang Univ. Coll. of Med.<sup>5</sup>, Chonnam Nat. Univ. Med. School<sup>6</sup>, Chonbuk Univ. Med. School, Hanlym Univ. Coll. of Med.<sup>8</sup>, Yonsei Univ. Wonju Coll. of Med.<sup>9</sup>, Yonsei Univ. Coll. of Med.<sup>10</sup>

**Background** : Increase in extended-spectrum  $\beta$ -lactamase(ESBL)-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* have been reported in Korea. The aim of this study was to determine the nationwide prevalence of ESBL-producing *E. coli* and *K. pneumoniae*, and to investigate the types of ESBLs.

**Methods** : A total of 2,221 *E. coli* and 1,128 *K. pneumoniae* consecutive isolates were yearly collected from 12 hospitals in 1999 and 2000. ESBL production was performed by National Committee for Clinical Laboratory Standards methods and double synergy tests. The type of ESBL was determined by polymerase chain reaction (PCR), isoelectric focusing, and nucleotide sequence analysis.

**Results** : ESBL-producing *E. coli* and *K. pneumoniae* isolates were detected from all 12 hospitals participated. The proportion of ESBL-producers was 9.1%(2.0-19.6%) of the *E. coli* and 29.2%(10.0-60.8%) of the *K. pneumoniae* isolates. Among the 22 isolates sequenced, SHV-12 was found in six isolates, SHV-2a in three isolates, TEM-52 in five isolates, TEM-106 in three isolates, and each of TEM-15, TEM-20, TEM-43, and TEM-107 in one isolate. CTX-M-14 was also found in one isolate.

**Conclusion** : ESBL-producing *E. coli* and *K. pneumoniae* are widespread to all levels of Korean hospitals. The most common types of ESBLs in Korea are SHV-12, SHV-2a, and TEM-52. In addition, we also identified new TEM-derived ESBLs. (*Korean J Clin Microbiol* 2003;6(2):149-155)

**Key words** : Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL), *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*

\* 본 연구는 보건복지부 보건의료기술연구개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것임(HMP-99-M-04-0002)

접수번호 : CM 6-2-16

교신저자 : 이경원

(139-707) 서울시 서대문구 신촌동 134

연세대학교 의과대학 진단검사의학교실

TEL : (02)361-5866 FAX : (02)313-0908

E-mail : leekcp@yumc.yonsei.ac.kr

## 서 론

$\beta$ -Lactam 항균제는 감염증 치료에 흔히 사용되지만[1], 근래 이들 약제에 대한 내성균의 증가가 심각한 문제로 대두되었다.  $\beta$ -Lactam 제제에 대한 내성기전 중 가장 중요한 것은  $\beta$ -lactamase에 의한 약제의 불활화이다[2].

1980년대 초반에는 extended-spectrum  $\beta$ -lactam제까지 분해하는 extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)를 생성하는 균주가 처음 보고되었다[3]. TEM 및 SHV형 ESBL은 TEM-1, TEM-2, SHV-1의 아미노산 1-5개가 점변이되어 생기므로[4], 앞으로도 계속 변이된 효소가 생길 것으로 생각되며, 최근에는 그 분리빈도가 우리나라를 포함한 세계 여러나라에서 증가하고 있어서 문제가 되고 있다[5-7].

ESBL은 주로 *Klebsiella pneumoniae*나 *Escherichia coli*에서 관찰되며[8], 유럽에서는 중환자실 환자에서 분리된 *K. pneumoniae*의 20-25%, 미국에서는 임상검체에서 분리된 장내세균의 9%가 ESBL을 생성하는 것으로 보고되었다[9]. 정 등[10]은 국내 일개 대학병원에서 분리된 *K. pneumoniae*의 cefotaxime에 대한 감수성 비율이 1988년 78%에서 1995년에는 46%로 현저히 감소하여 ESBL 생성 균주가 혼할 것임을 보고하였다. 송 등[11]은 1999년 전국 12개 병원에서 분리된 *K. pneumoniae*와 *E. coli*중 ESBL생성 비율을 보고한 바 있다. 이 보고에 의하면, 병원에 따라 차이는 있으나, 참여병원 모두 ESBL 생성주가 있어서 이미 우리나라에도 ESBL 생성 균주가 널리 퍼져 있음을 알 수 있었다. 외국의 경우 ESBL 생성 비율, 혼한 유형, 분자역학적 성상에 관한 연구가 많이 보고되었으나, 국내의 경우는 일부 병원을 대상으로 한 연구만이 소수 있을 뿐이다.

이에 본 연구에서는 1999년 전국적인 조사에 참여하였던 병원들을 대상으로 2000년에 임상 검체에서 분리된 일련의 *E. coli*와 *K. pneumoniae*를 대상으로 ESBL생성균의 균종별, 병원별 및 연도별 비율의 추이를 밝히고, ESBL 유형을 규명하고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 시험대상 균주

전국 12개 병원(서울 3개, 부산 2개, 광주, 전북, 경기, 강원, 충청, 경북 및 경남은 각 1개)을 대상으로 하였으며, 각 병원에서 1999년과 2000년에 임상검체에서 분리된 일련의 *E. coli* 약 100주와 *K. pneumoniae* 약 50주씩을 년도별로 수집하였다. 한 환자에서 중복 분리된 균주는 제외하였다. 균종동정은 전통적인 방법이나 상품화된 키트에 의하였다.

### 2. ESBL 생성 균주의 선별, 확인 및 내성전달시험

ESBL 생성균 선별은 NCCLS의 기준[12]에 따라 cefpodoxime 디스크에 의한 억제대가 22 mm 이하인 균주를 선택하였다. ESBL 생성균주의 확인은 double disk synergy (DDS) test로 시험하였다. 즉, 시험 세균을 MacFarland 0.5관에 맞추어 Mueller-Hinton 한천에 접종한 후, amoxicillin-clavulanate 디스크(20/10  $\mu$ g)를 배지에 중앙에 놓고 디스크 가장자리 사이의 거리가 1.5 cm 되도록 30  $\mu$ g의 cefotaxime, ceftazidime, aztreonam 및 cefepime 디스크를 놓았다. 35°C에서 18시간 배양한 후 4가지 항균제 디스크에 의한 억제대 크기가 한가지라도 amoxicillin-clavulanate에 의해 커지면 DDS 시험 양성, 즉 ESBL 생성균주로 판정하였다.

내성전달시험은 ESBL 생성 세균을 대상으로 agar mating 법으로 시험하였다. Recipient로는 *E. coli* RG 488와 RG 176을 사용하였다. 내성 전달이 안된 경우는 균주에

Table 1. Prevalence of ESBL-producing *E. coli* and *K. pneumoniae* isolates in 1999 and 2000

Location of hospital	<i>E. coli</i>				<i>K. pneumoniae</i>			
	No. tested		No. (%) of ESBL-producer		No. tested		No. (%) of ESBL-producer	
	1999	2000	1999	2000	1999	2000	1999	2000
Seoul A	105	114	9 (8.6)	4 (3.6)	53	57	16 (30.2)	15 (26.3)
B	97	100	19 (19.6)	12 (12.0)	50	50	5 (10.0)	9 (18.0)
C	50	35	3 (6.0)	6 (17.1)	36	30	11 (30.6)	5 (16.7)
Kyungki	100	104	6 (6.0)	6 (5.8)	50	53	19 (38.0)	18 (34.0)
Kangwon	100	96	9 (9.0)	9 (9.4)	46	52	19 (41.3)	27 (51.9)
Chungbuk	100	100	17 (17.0)	8 (8.0)	49	50	13 (26.5)	15 (30.0)
Chonbuk	100	100	8 (8.0)	9 (9.0)	50	50	14 (28.0)	11 (22.0)
Kwangju	102	100	6 (5.9)	6 (6.0)	53	50	6 (11.3)	24 (48.0)
Kyungbuk	104	102	19 (18.3)	18 (17.6)	50	51	15 (30.0)	31 (60.8)
Kyungnam	99	ND	8 (8.0)	-	50	ND	10 (20.0)	-
Pusan A	99	99	7 (7.1)	7 (7.1)	48	50	13 (27.1)	9 (18.0)
B	114	100	4 (3.5)	2 (2.0)	50	50	9 (18.0)	15 (30.0)
Total	1171	1050	115 (9.8)	87 (8.3)	585	543	150 (25.6)	179 (33.0)

Abbreviation: ND, Not detected.

Table 2. ESBL types and isoelectric points of  $\beta$ -lactamases

Location of hospital	Species	TEM		SHV		TEM+SHV		CTX-M ±TEM ±SHV		
		PI	No.	pI	No.	PI	No.	pI	No.	
Seoul A	<i>E. coli</i>	5.4	1			5.4, 6-7, >8, >8	1			
		6.0	1			5.4, 7.6, >8	1			
		5.4, 6.0	3			1				
	<i>K. pneumoniae</i>					5.4, 7.6	1	5.4, 7.6	1	
						6.0, 7.6	2			
						5.4, 6.0, 7.0	1			
						5.4, 7.6, >8	2			
Seoul B	<i>E. coli</i>	5.4, 6.0	2			5.4, >8	1	5.4, >8	5	
						5.4, 7-7.6	1	7.0, 7.6, 7.8, 8, >8	1	
						5.4, 6.0, 7.0	1	5.4, 7.6, >8	1	
	<i>K. pneumoniae</i>			7.6, >8	1	5.4, 6.0, 8.0	1	5.4, 7.6, >8	1	
Seoul C	<i>E. coli</i>					5.4, >8	1	5.4, 7.6	1	
						5.4, 6.0, 8.0	1			
						5.4, 7.6, >8	2			
Kyungki	<i>E. coli</i>	5.4, 6.0	3	8.2	1			>8	2	
		5.4, 6.0	1	5.4, 7.6	1					
		6.0	1	5.4, 6.0, 7.6	2					
				5.4, 6.0, 7.8	1					
				5.4, 7.6, 8.0	2					
				5.4, 7.8, 8.0	1					
				6.0, 7.6, 8.0, >8	1					
5.4, 6-7, 7-7.6, 7.8, >8	1									
Kangwon	<i>E. coli</i>	5.4	2	5.4, 7.6	1	5.4, >8	3			
		6.0	1			5.4, >8	1			
		5.4, 6.0	1							
	<i>K. pneumoniae</i>			5.4, 7.6	4	5.4, 7.6, >8	1			
				5.4, 6.0, 7.6, 8.0	1					
Chungbuk	<i>E. coli</i>	5.4	1			5.4, 7.6	1	5.4, >8	2	
		6.0	1							
		5.4, 6.0	1							
	<i>K. pneumoniae</i>			7.6	1	6.0, 7.6	1			
				7.8	1	5.4, 7.0, >8	1			
				7.8, >8	1					
Chonbuk	<i>E. coli</i>	6.0	1			5.4, 7.8	1			
		5.4, 6.0	3			5.4, 6.0, 8.0	1			
						5.4, 6.0, 7.6, 8.0	1			
	<i>K. pneumoniae</i>	5.4	1	7.6	1	5.4, 7.6	4			
		6.0	1			5.4, >8	2			
						6.0, 7.8	1			
						5.4, 6.0, >8	1			
Kwangju	<i>E. coli</i>	6.0	2			5.4, >8	1	5.4, 8.0, >8	1	
		5.4, 6.0	1			6.0, 8.0, >8	1	5.4, 6.0, 8.0, >8	1	
		6.0	1			5.4, 7-7.6	1	5.4, 7.0, 7-7.6, >8	1	
	<i>K. pneumoniae</i>					5.4, 6.0, 7.0	1			
Kyungbuk	<i>E. coli</i>	5.4, 6.0	2			5.4, 7-7.6	2	5.4, >8	1	
						5.4, 6.0, >8	2	5.4, 6-7, 8.0, >8	1	
						5.4, 8.0, >8	1			
	<i>K. pneumoniae</i>					5.4, 7.6	3	5.4, 6.0, 7.61		
Kyungnam	<i>E. coli</i>	6.0	1					5.4, 7.6, >8	1	
		5.4, 6.0	2							
				7.6	1	5.4, 7-7.6	1	5.4, 7.6	1	
	<i>K. pneumoniae</i>					5.4, 6.0, 7.6	1	5.4, >8	1	
Pusan A	<i>E. coli</i>	5.4	1			5.4, 7.6	1	5.4, >8	1	
		5.4, 6.0	2			5.4, 7.8	1			
						5.4, 7.8	1			
	<i>K. pneumoniae</i>			7.6	2	5.4, 7.8	1			
				>8	1	5.4, 7.0, 7.6, >8	1			
Pusan B	<i>E. coli</i>	5.4, 6.0	1			5.4, 7.8	1	5.4, >8	2	
								5.4, 6.0, >8	1	
								5.4, 7.0, 7.6, 8.0	1	
	<i>K. pneumoniae</i>					5.4, 7-7.6	1	5.4, 7.6, >8	1	
						6.0, 7-7.6, 7.6	1			
						6.0, 7.8, >8	1			
Total			38		10		68		32	

Abbreviation: pI, isoelectric point

따라 2회 반복하였다.

### 3. ESBL 형의 결정

ESBL 형의 결정은 분리 지역과 내성 양상을 고려하여 ESBL 생성 세균 일부를 선택하여  $\beta$ -lactamase의 등전점 시험, 중합효소 연쇄반응 및  $\beta$ -lactamase 유전자 DNA의 염기서열 분석을 하였다.

$\beta$ -Lactamase의 등전점 시험을 위해 시험세균을 증류수로 부유하여 sonicator (Vibra Cell, Sonics & Materials Inc., Danbury, CT, USA)로 분쇄하였다. 그 상청을 ThermoFlow ETC unit (Novex Experimental Technology, San Diego, DA, USA)로 전기영동한 후 nitrocefin으로 발색시켜 판독하였다[13].

중합효소 연쇄반응에 의한 ESBL 형 감별 시험 중 TEM과 SHV형에 대한 시험은 이전에 보고한 방법을 따랐으며[14], CTX형의 감별을 위해서는 시발체로 sense 5'-C-(AGC)ATGTGCAG(CT)ACCAGTAA-3'과 antisense 5'-A-(AG)GT(GC)ACCAGAA(CT)(AC)AGCGG-3'을 이용하여, 94℃ 5분 pre-denaturation, 94℃ 30초 denaturation, 55℃ 30초 annealing, 72℃ 45초 extension, 72℃ 7분 post-extension으로 반응시켰다. 각각의 반응 후, Mupid-2 (COSMO BIO, Co., Ltd., Tokyo, Japan)로 전기 영동하여 1080 bp의 TEM, 870 bp의 SHV 및 584 bp의 CTX-M 산물을 확인하였다.

TEM과 SHV형  $\beta$ -lactamase 유전자 DNA의 염기서열 결정은 이전에 보고한 방법을 따랐으며[14], CTX-M형의 염기서열 결정을 위해서 시발체는 sense 5'-AAAAATGATTGAAAGGTGGTTGT-3'과 antisense 5'-TTACAGCCCTTCGCGATGA-3'을 사용하였고, 반응 조건은 extension을 1분으로 연장한 것 이외에 반응시약 및 기기는 위에 기술한 것과 동일하였다.

### 결 과

1999-2000년에 전국 12개 병원 환자의 임상 검체에서 분리한 *E. coli* 2,221주와 *K. pneumoniae* 1,128주 중에 ESBL 생성 균주는 각각 202주(9.1%)와 329주(29.2%)이었다(Table 1). ESBL 생성 균주의 비율은 연구 1차년도인 1999년에는 15.1%이었으나, 2차년도인 2000년에는 16.7%이었다. ESBL 생성 균주는 시험 대상 모든 병원에 있었으나, 그 비율은 병원에 따라 달랐다. 비율이 특히 높았던 곳은 *E. coli*의 경우 서울 1개 병원(15.7%)과 경북의 1개 병원(18.0%)이었고, 가장 낮았던 곳은 부산의 1개 병원(2.8%)이었다. *K. pneumoniae* 중 ESBL 생성균주의 비율이 높았던 곳은 강원도의 1개 병원(46.9%)과 경북의 1개 병원(45.5%)이었다(Table 1). 대부분의 병원에서 ESBL 생성균주의 비율은 *K. pneumoniae*가 *E. coli*보다 높았다. 500병상 미만의 소형 병원 2군데의 ESBL 생성균주의 비율은 *E. coli*의 경우 15.8%이었고, *K. pneumoniae*는

37.1%이었다.

내성전달 시험은 1999-2000년에 검출한 ESBL 생성균주 531주 중에 364주를 대상으로 하였으며, 이 중 204주(56.0%)에서 내성이 전달되었다.

ESBL형 결정 시험을 시행한 *E. coli* 79주 중에 TEM형만을 가진 균주가 33주, SHV형만을 가진 균주는 1주, TEM과 SHV형을 동시에 가진 균주는 21주이었고, CTX-M형을 가진 균주는 24주이었다. *K. pneumoniae* 69주 중에는 TEM형만을 가진 균주가 5주, SHV형만을 가진 균주는 9주, TEM과 SHV형을 동시에 가진 균주는 47주이었고, CTX-M형을 가진 균주는 8주이었다(Table 2). *E. coli*와 *K. pneumoniae*의 두 균종에서 TEM형을 가진 균주의 등전점은 대부분 5.4와 6.0이었고, SHV형에서는 7.6과 >8이, CTX-M형에서는 >8이 두 균종에서 모두 많았다.

염기서열 분석은 병원, 등전점, 중합효소 연쇄반응 결과 등을 고려하여 32주를 선택하여 시험하였고, 그 중 염기서열이 완전히 분석된 것은 22주이었다. 분석된 ESBL 유전자형은 TEM형 12주, SHV형 9주 및 CTX-M형 1주이었다. SHV형은 SHV-12가 6주로 가장 많았고, SHV-2a는 3주이었다. TEM형은 TEM-52가 5주, TEM-106이 3주이었고, TEM-15, TEM-20, TEM-43 및 TEM-107이 각각 1주씩이었다. 즉, TEM-106은 아미노산 104번 부위의 glutamic acid가 lysine으로, 182번 부위의 methionine이 threonine으로 치환되었다. TEM-107은 104번 아미노산 glutamic acid가 lysine으로, 164번 arginine이 histidine으로, 182번 methionine이 threonine으로, 238번 glycine이 serine으로 치환되었다(Table 3). CTX-M형은 염기서열 분석결과 CTX-M-14로 확인되었다.

### 고 찰

그람음성 간균은 임상검체에서 흔히 분리되는 균속인데, 이들에 의한 감염증 치료에는 흔히  $\beta$ -lactam제가 이용되어 왔다. 그러나 근래 중증감염을 일으키는 *E. coli*와 *K. pneumoniae* 중에 ESBL 생성균이 증가하고 있으며, ESBL 유전자는 plasmid에 의해 다른 균종으로 전달될 수 있고 원내감염을 일으킬 수 있기 때문에 심각한 문제가 되고 있다[9]. 송 등[11]은 전국적인 조사로 우리나라의 ESBL 생성 *E. coli*와 *K. pneumoniae*도 중환자실 환자에서 비율이 높았고, 다른 항균제에 대한 내성율이 ESBL 비생성 균주에 비해 높다고 하였다.

ESBL 생성균의 내성유전자는 plasmid에 의해 다른 세균으로 전달되기 쉬운 것으로 알려져 있다. 본 연구에서도 1999-2000년에 분리한 ESBL 생성균 531주 중에 364주에 대하여 내성전달을 시험하였는데, 이 중 204주(56.0%)에서 내성이 전달되었다.

ESBL 생성균주에 의한 감염증이 우리나라를 포함한 세계 여러 나라에서 적지 않음이 여러 연구자들에 의해 보고된 바 있으나, 그 비율에 대한 보고는 많지 않으며,

Table 3. Amino acid substitutions in TEM-type  $\beta$ -lactamases

$\beta$ -lactamase	pI	Amino acid at position*:					
		9	104	164	182	196	238
TEM-1	5.4	Arg	Glu	Arg	Met	Gly	Gly
TEM-15	6.0		Lys				Ser
TEM-20	5.4				Thr		Ser
TEM-106	6.0		Lys		Thr		
TEM-43	6.0		Lys	His	Thr		
TEM-52	5.9		Lys		Thr		Ser
TEM-88	5.6		Lys		Thr	Asp	Ser
TEM-107	6.0		Lys	His	Thr	Ser	

Abbreviation: Arg, arginine; Glu, glutamic acid; Met, methionine; Gly, glycine; Lys, lysine; Ser, serine; Thr, threonine; His, histidine; Asp, aspartic acid.

\*Amino acid numbers are in accordance with Ambler et al.[15]

국내의 경우는 ESBL 내성 기전이나 분자유전학적 성상에 대한 연구도 미미한 실정이다.

임상 분리주에서 ESBL 생성율과 유형은 나라 및 조사 기관에 따라 다르다. 네덜란드의 경우 1999년도의 발표에 의하면 *E. coli*와 *K. pneumoniae*의 1%만이 ESBL 유전자를 가지고 있었고[16], 미국은 기관에 따라 0-25%로 다양하나 전체적으로 3%의 장내세균이 ESBL을 생성하였으며[17-18], 반면에, 프랑스의 경우는 분리된 *K. pneumoniae*의 약 40%가 ceftazidime에 내성을 보인다고 하였다[19]. 인접한 일본은 *E. coli*의 0.1%, *K. pneumoniae*의 0.3%만이 ESBL을 생산하였다고 보고하였다[20]. 본 연구에서는 참여한 우리나라 12개 병원 모두에서 ESBL 생성 *E. coli*와 *K. pneumoniae*가 있었고, 그 비율은 균종, 병원 및 분리연도에 따라 달랐지만, *E. coli*는 9.1%(2.0-19.6%), *K. pneumoniae*는 29.2%(10.0-60.8%)로 적지 않았다. 병원의 규모가 크거나 대학병원일수록 ESBL 생성균주의 분리율이 높다는 보고가 있으나[21] 본 연구에서는 500병상 미만의 2개 병원 환자에서 분리된 ESBL 생성균주의 비율이 *E. coli* 중 15.8%와 *K. pneumoniae* 중 37.1%로 전국 평균보다 높아, 우리나라의 경우는 비교적 병상수가 적은 병원에서도 항균제 사용으로 인한 압력이나 원내감염 등으로 인해 ESBL 생성균주가 흔하다고 생각되었다. 나라에 따른 ESBL 형은 미국에서 TEM-10, TEM-12 및 TEM-26이, 독일은 SHV-2와 SHV-5가, 프랑스는 TEM-3, SHV-3 및 SHV-4가 흔한 반면에 일본은 TOHO형이 흔한 것으로 알려져 있다[20, 22-23]. 우리나라에서는 일부 대학병원의 분리주 중에 TEM-52, SHV-2a 및 SHV-12가 흔하다는 보고가 있다[14, 24]. 본 연구에서도 일부 균주를 선택하여 염기서열을 분석한 결과, SHV-12와 SHV-2a는 여전히 흔한 것으로 생각되나, TEM 형은 TEM-52이외에도 TEM-106, TEM-15, TEM-20, TEM-43 및 TEM-107이 관찰되었다. TEM 및 SHV형 ESBL은 TEM-1, TEM-2, SHV-1의 아미노산 1-5개가 점변이 되어 계속 변이된 효

소가 생기며, 시기에 따라 계속 진화함이 알려져 있다. Chang 등[25]은 SHV-1 또는 SHV-11에서 SHV-2, SHV-5 및 SHV-12으로 점차 변이하였으며, SHV-25와 SHV-26은 각각 SHV-11과 SHV-1에서 변이 되었다고 추정하였다. Pai 등[26]은 우리나라에서 분리되는 ESBL 생성균주의 TEM형 유전자를 조사하여 TEM-15에서 TEM-52로, 그 다음은 TEM-88로 점차 변이한 것으로 추정하였다. 본 연구에서 새로운 TEM형의 변이효소가 관찰됨에 따라, 앞으로 이에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다. Pai 등[27]은 국내에서 분리된 *Shigella sonnei*, *E. coli* 및 *K. pneumoniae*에서 CTX-M-14 형의 ESBL을 보고한 바 있는데 본 연구에서도 CTX-M형 ESBL생성균주가 적지 않았고, 이 중 한 주는 CTX-M-14형으로 확인되었다. 따라서 이에 대한 연구도 앞으로 수행해야 할 것으로 생각된다. 본 연구에서 중합효소연쇄반응에 의한 ESBL 형별시험과 등전점이 잘 맞지 않는 것이 있는데, 이것은 OXA 형의 ESBL도 있을 것으로 생각된다[28].

결론적으로 전국 주요 병원 환자에서 분리되는 *E. coli*와 *K. pneumoniae* 중에는 ESBL 생성균주가 흔하며, 그 비율은 최근 2년동안 증가하고 있으며, 다른 항균제에 대한 내성율은 ESBL 비생성주에 비하여 현저히 높으며, 우리나라에 흔한 ESBL형은 TEM-52, SHV-12 및 SHV-2a이지만, TEM형 중에는 새로운 변이 효소가 있음을 알 수 있었다.

## 요 약

**목적** : 근래 우리나라의 일부 병원에서 ESBL생성균주가 증가하고 있음이 보고되고 있다. 본 연구에서는 전국 주요 병원에서 전국에서 분리된 *E. coli*와 *K. pneumoniae*를 대상으로 extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) 생성균의 비율을 밝히고, 흔한 ESBL유형을 규명하고자 하였다.

**방법** : 전국 12개 병원에서 1999년과 2000년에 임상

검체에서 분리된 일련의 *E. coli* 약 100주와 *K. pneumoniae* 약 50주씩을 년도별로 수집하였다. ESBL 생성균 선별 및 확인 시험은 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)의 기준에 따랐고 확인은 double disk synergy법으로 시험하였다. ESBL형 결정은 중합효소 연쇄반응, 등전점 시험 및 염기서열 분석을 이용하였다.

**결 과 :** 연구에 참여한 우리나라 12개 병원 모두에서 ESBL 생성 *E. coli*와 *K. pneumoniae*가 있었고, 그 비율은 균종, 병원 및 분리연도에 따라 달랐지만, *E. coli*는 9.1%(2.0-19.6%), *K. pneumoniae*는 29.2%(10.0-60.8%)이었다. ESBL 형별을 시험한 148주 중에 TEM 형만을 가진 균주가 38주, SHV형은 10주, TEM과 SHV형을 동시에 가진 것은 68주이었다. TEM과 SHV형 외에 CTX-M형 ESBL을 가진 균주도 32주이었다. 염기서열이 완전히 분석된 것은 22주로 TEM형 12주, SHV형 9주 및 CTX-M형 1주이었다. SHV형은 SHV-12가 6주로 가장 많았고, SHV-2a는 3주이었다. TEM형 중에는 TEM-52가 5주, TEM-106이 3주이었고, TEM-15, TEM-20, TEM-43 및 TEM-107이 각각 1주씩이었다.

**결 론 :** 전국 주요 병원 환자에서 분리되는 *E. coli*와 *K. pneumoniae* 중에는 ESBL 생성균주가 흔하며, 그 비율은 최근 2년 동안 증가하고 있으며, 우리나라에 흔한 ESBL형은 TEM-52, SHV-12 및 SHV-2a이지만, TEM형 중에는 TEM-52이외에도 TEM-106 및 TEM-107의 새로운 변이 효소가 있음을 알 수 있었다.

## 참 고 문 헌

- Livermore DM.  $\beta$ -Lactamase-mediated resistance and opportunities for its control. *J Antimicrob Chemother* 1998;41(Suppl D):25-41.
- Davies J. Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. *Science* 1994;264:375-82.
- Knothe H, Shah P, Krcmery V, Antal M, Mitsuhashi S. Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection* 1983;11:315-17.
- Du Bois SK, Marriott MS, Amyes SG. TEM- and SHV-derived extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: relationship between selection, structure and function. *J Antimicrob Chemother* 1995; 35:7-22.
- 정윤섭, 이경원, 오카모도 료이찌, 이노우에 마쓰히사. 임상검체에서 분리된 extended-spectrum  $\beta$ -lactam 항균제 분해 *Klebsiella pneumoniae*와 *Escherichia coli*의 성장. *감염* 1997;29:477-85.
- Coudron PE, Moland ES, Sanders CC. Occurrence and detection of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in members of the family Enterobacteriaceae at a veterans medical center: seek and you may find. *J Clin Microbiol* 1997;35:2593-7.
- Kim J, Kwon Y, Pai H, Kim JW, Cho DT. Survey of *Klebsiella pneumoniae* strains producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: prevalence of SHV-12 and SHV-2a in Korea. *J Clin Microbiol* 1998;36:1446-9.
- Jacoby GA, Medeiros AA. More extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1991;35:1697-1704.
- Livermore DM.  $\beta$ -Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995;8:557-84.
- 정석훈, 서설송, 신희봉, 이경원, 정윤섭, 권오현 등. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase 생성 *Klebsiella pneumoniae* 감염의 pulsed-field gel electrophoresis를 이용한 역학적 분석. *감염* 1996;28:405-12.
- 송원근, 이경원, 김선주, 정석훈, 장철훈, 신혜정 등. 전국 12개 병원에서 분리된 Extended-spectrum beta-lactamase 생성 *Escherichia coli*와 *Klebsiella pneumoniae*. *대한화학요법학회지* 2000;18:401-10.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing; Eight informational supplement M100-S11. Wayne, PA: NCCLS, 1998
- Mathew A, Harris AM, Marshall MJ, Ross GW. The use of analytical isoelectric focusing for detection and identification of beta-lactamases. *J Gen Microbiol* 1975;88:169-78.
- 홍성근, 강명서, 최종락, 이경원, 정윤섭, 권오현. 임상 검체에서 분리된 Enterobacteriaceae 균종의 extended-spectrum  $\beta$ -lactamase 유형 및 분자유전학적 특성. *대한임상병리학회지* 2001;21:495-504.
- Ambler RP, Coulson AF, Frere JM, Ghuysen JM, Joris B, Forsman M, et al. A standard numbering scheme for the class A  $\beta$ -lactamases. *Biochem J* 1991;276: 269-70.
- Stobberingh EE, Arends J, Hoogkamp-Korstanje JA, Goessens WH, Visser MR, Buiting AG, et al. Occurrence of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBL) in Dutch hospitals. *Infection* 1999;27:348-54.
- Jones RN, Pfaller MA, Doern GV, Erwin ME, Hollis RJ. Antimicrobial activity and spectrum investigation of eight broad-spectrum  $\beta$ -lactam drugs: a 1997 surveillance trial in 102 medical centers in the United States. Cefepime Study Group. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1998;30:215-28.
- Bradford PA. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev* 2001;14:933-51.

19. Branger C, Lesimple AL, Bruneu B, Berry P, Lambert-Zechovsky. Long-term investigation of the clonal dissemination of *Klebsiella pneumoniae* isolates producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in a university hospital. *J Med Microbiol* 1998;47:201-9.
20. Yagi T, Kruokawa H, Shibata N, Shibayama K, Arakawa Y. A preliminary survey of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase(ESBLs) in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Japan. *FEMS Microbiol Lett* 2000;184:53-6.
21. Itokazu GS, Quinn JP, Bell-Dixon C, Kahan FM, Weinstein RA. Antimicrobial resistance rates among aerobic gram-negative bacilli recovered from patients in intensive care units: evaluation of a national postmarketing surveillance program. *Clin Infect Dis* 1996;23:779-84.
22. Nordmann P. Trends in  $\beta$ -lactam resistance among *Enterobacteriaceae*. *Clin Infect Dis* 1998;27(Suppl 1):S100-6.
23. Ma L, Matsuo H, Ishii Y, Yamaguchi K. Characterization of cefotaxime-resistant *Escherichia coli* isolates from a nosocomial outbreak at three geriatric hospitals. *J Infect Chemother* 2002;8:155-62.
24. Epai H. The characteristics of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in Korean isolates of *Enterobacteriaceae*. *Yonsei Med J* 1998;39:514-9.
25. Chang FY, Siu LK, Fung CP, Huang MH, Ho M. Diversity of SHV and TEM  $\beta$ -lactamases in *Klebsiella pneumoniae*: gene evolution in Northern Taiwan and two novel  $\beta$ -lactamases, SHV-25 and SHV-26. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:2407-13.
26. Pai H, Lee HJ, Choi EH, Kim J, Jacoby GA. Evolution of TEM-related extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in Korea. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45:3651-3.
27. Pai H, Choi EH, Lee HJ, Hong JY, Jacoby GA. Identification of CTX-M-14 extended-spectrum  $\beta$ -lactamase in clinical isolates of *Shigella sonnei*, *Escherichia coli*, and *Klebsiella pneumoniae* in Korea. *J Clin Microbiol* 2001; 339:3747-9.
28. Steward CD, Rasheed JK, Hubert SK, Biddle JW, Raney PM, Anderson GJ, et al. Characterization of clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* from 19 laboratories using the national committee for clinical laboratory standards extended-spectrum  $\beta$ -lactamase detection methods. *J Clin Microbiol* 2001;39: 2864-2.