

전국 13개 기관에서 분리된 염색체성 AmpC β -lactamase 생성 *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii* 및 *Serratia marcescens*의 항균제감수성 양상

박연준 · 이승옥 · 용동은¹ · 이경원¹ · 김병기 · 강창석

가톨릭대학교 의과대학 진단검사의학교실, 연세대학교 의과대학 진단검사의학교실¹

Antimicrobial Susceptibility of Inducible AmpC β -lactamase-producing *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, and *Serratia marcescens*: a Korean Survey

Yeon-Joon Park, M.D., Seungok Lee, M.D., Dongeun Yong, M.D.¹, Kyungwon Lee, M.D.¹, Byung Kee Kim, M.D., and Chang Suk Kang, M.D.

Department of Laboratory Medicine, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul; Department of Laboratory Medicine¹, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Background : Antimicrobial resistance to third-generation cephalosporins in gram-negative bacteria, especially *Enterobacter*, *Citrobacter*, and *Serratia* spp., is increasing. The resistance mechanism of these organisms are hyperproduction of AmpC β -lactamase and plasmid-mediated extended-spectrum β -lactamase (ESBL). This study was to determine the occurrence of AmpC hyperproduction and ESBLs in *E. cloacae*, *C. freundii*, and *S. marcescens* over a 3-month period in 2002.

Methods : We tested total of 619 consecutive, nonduplicate isolates (229 *E. cloacae*, 183 *C. freundii*, 207 *S. marcescens*) from 12 university hospitals and a commercial laboratory in Korea. Antimicrobial susceptibilities were tested using the disk diffusion method. AmpC hyperproduction was defined as nonsusceptible to cefotaxime or ceftazidime for *E. cloacae* and *C. freundii* and as nonsusceptible to cefotaxime for *S. marcescens*. ESBL production was determined by the double disk synergy test.

Results : Among the *E. cloacae*, *C. freundii* and *S. marcescens* derepressed strains were 20.5%, 30.1%, and 31.4% and ESBL producers were 23.6%, 10.9%, and 15.5%, respectively. The AmpC derepressed strains and ESBL producers revealed lower susceptibility rates for ciprofloxacin, piperacillin, piperacillin-tazobactam and aminoglycosides.

Conclusions : These data reveal that the occurrence of AmpC derepressants and ESBL producers among *E. cloacae*, *C. freundii* and *S. marcescens* is relatively high. Continued nationwide surveillance is necessary to provide information on the spread of these important mechanisms of resistance to β -lactams. (*Korean J Lab Med* 2003; 23: 251-7)

Key Words : *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, AmpC hyperproduction, Extended-spectrum β -lactamase

접 수 : 2003년 4월 20일
수정본접수 : 2003년 7월 18일
교신저자 : 박연준

접수번호 : KJCP1677

우 137-701 서울시 서초구 반포동 505
가톨릭대학교 강남성모병원 진단검사의학과
전화 : 02-590-1604, Fax : 02-592-4190
E-mail : yjpk@catholic.ac.kr

서론

그람 음성 세균에서 증가하고 있는 항균제 내성은 이들 내성균에 대처할 새로운 약제 개발이 부족한 실정이므로 심각한 문제이다[1, 2]. 그 중에서도 장내세균에서의 3세대 cephalosporins 등

*본 연구는 2002년 식품의약품안전청 국립독성연구원에서 주관한 용역연구 개발사업으로 이루어진 것임.

의 β -lactam 제제에 대한 내성이 가장 심각하다[3, 4]. 이러한 내성을 일으키는 기전 중 하나인 extended-spectrum β -lactamase (ESBL)를 흔히 생성하는 *K. pneumoniae*, *E. coli* 균주들에 대해서는 비교적 연구가 많으나[5], Bush group 1에 속하는 염색체 매개성 cephalosporinase를 변이에 의해 과량생성(hyperproduction)하는 *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia* spp.에 의한 내성에 대한 연구는 미미한 실정이다. 더욱이, 최근 이러한 AmpC β -lactamase 생성 균주에서 plasmid 매개성인 ESBL을 획득한 균주들의 보고도 증가하고 있어 AmpC β -lactamase 과량생성에 의한 내성과의 감별이 요구된다[6, 7]. 따라서 본 연구에서는 국내에서는 처음으로 전국 13개 기관에서 3개월간 분리된 *E. cloacae*, *C. freundii* 및 *S. marcescens*의 항균제 감수성 양상을 조사하고, 그 내성 기전의 분포를 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

서울, 경기, 강원, 충청, 영남 및 호남 지역에 있는 12개 대학 병원과 1개 임상병리검사 센터에서 일련으로 분리된 *E. cloacae* 229균주, *C. freundii* 183균주, *S. marcescens* 207균주를 대상으로 하였다. 균종의 동정은 전통적인 생화학적 방법, Vitek GNI card (bioMérieux Vitek Inc., Hazelwood, MO, USA), Microscan GN combo card (Dade Behring, West Sacramento, CA, USA)를 이용하였다. 항균제 감수성은 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) 디스크 확산법으로 시험하였으며[8], 항균제 디스크로는 piperacillin, piperacillin-tazobactam, cefuroxime, ceftazidime, cefotaxime, cefepime, aztreonam, imipenem, meropenem, ciprofloxacin, gentamicin, tobramycin, amikacin 및 cefoperazone 디스크(BBL, Cockeysville, MI, USA)를 사용하였다.

ESBL 생성 여부를 Tzelepi 등의 방법[9]에 따라 double disk synergy법으로 검사하였다. 즉, 순배양된 집락을 백금침으로 채취한 후 생리식염수에 풀어 탁도를 McFarland No. 0.5에 맞추었다. Mueller-Hinton agar에 접종한 후 amoxicillin-clavulanic acid (30/10 μ g, BBL)와 그 주위에 ceftazidime (30 μ g)과 cefepime (30 μ g) 디스크를 중심 사이의 거리가 2 cm 되도록 놓았다. 35°C 항온기에서 16-18시간 배양 후 두 디스크 사이에 억제대의 확장 현상이 관찰되면 양성으로 판정하였다.

유도성 및 변이성 AmpC β -lactamase 균주의 선별은 Livermore의 방법[10]에 따랐다. 즉, *E. cloacae* 및 *C. freundii*의 경우 ceftazidime 또는 cefotaxime에 감수성이 저하된 균주를 탈억제 변이주로, *S. marcescens*의 경우 cefotaxime에 감수성이 저하된 균주를 탈억제 변이주로 해석하였다. 단, 본 연구에서는 double disk synergy법으로 ESBL 양성인 경우는 항균제 감수성 양상에 관계없이 ESBL 생성 균주로 정의하였다.

결 과

1. 균종별 항균제 감수성률

1) *E. cloacae*의 항균제 감수성

E. cloacae 중 3세대 cephalosporin인 ceftazidime과 cefotaxime에 감수성이 저하된 균주의 비율은 각각 40.6%와 41.5%였으며, β -lactamase 억제제 병합제인 piperacillin-tazobactam에 대해 감수성이 저하된 균은 32.3%였다. Aminoglycoside에 감수성인 균주의 비율은 59.8-75.5%였으며, ciprofloxacin에 감수성인 균주의 비율은 79.0%였다. Cefepime에는 97.4%의 균주가 감수성이었고, imipenem과 meropenem에는 시험 균주 모두가 감수성이었다(Table 1).

Table 1. Antimicrobial susceptibilities (%) of *E. cloacae*, *C. freundii* and *S. marcescens* isolates to various antimicrobial agents

Antibiotics	<i>E. cloacae</i>			<i>C. freundii</i>			<i>S. marcescens</i>		
	R	I	S	R	I	S	R	I	S
Piperacillin	48.0	2.2	49.8	54.1	1.6	44.3	39.6	6.8	53.6
Piperacillin-tazobactam	21.4	10.9	67.7	23.5	12.0	64.5	24.2	14.0	61.8
Cefuroxime	53.3	6.6	40.2	47.0	4.4	48.6	94.7	2.9	2.4
Ceftazidime	35.8	4.8	59.4	31.7	5.5	62.8	15.9	1.0	83.1
Cefotaxime	31.0	10.5	58.4	31.7	6.6	61.7	29.5	17.4	53.1
Cefepime	0.9	1.7	97.4	1.1	0.5	98.4	9.7	1.9	88.4
Aztreonam	34.9	7.9	57.2	27.9	4.9	67.2	18.4	9.2	72.5
Imipenem	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0
Meropenem	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0	7.2	0.5	92.3
Ciprofloxacin	11.8	9.2	79.0	16.4	5.5	78.1	19.8	12.6	67.6
Gentamicin	33.6	2.2	64.2	30.1	1.1	68.9	38.2	2.4	59.4
Tobramycin	39.7	0.4	59.8	31.7	2.2	66.1	50.7	1.0	48.3
Amikacin	13.5	10.9	75.5	14.8	3.3	82.0	22.7	2.4	74.9
Cefoperazone	27.1	11.8	61.1	30.6	9.8	59.6	33.3	11.1	55.6

Abbreviations: R, resistant; I, intermediate; S, susceptible.

2) *C. freundii*의 항균제 감수성

C. freundii 중에 ceftazidime과 cefotaxime에 감수성이 저하된 균주의 비율은 각각 37.2%와 38.3%였으며, piperacillin-tazobactam에 대해서는 35.5%였다. Aminoglycoside제에 대한 감수성은 66.1-82.0%였으며, ciprofloxacin에 대해서는 78.1%였다. Cefepime에는 98.4%의 균주가 감수성이었고, imipenem과 meropenem에는 시험 균주 모두가 감수성이었다(Table 1).

3) *S. marcescens*의 항균제 감수성

S. marcescens 중 ceftazidime과 cefotaxime에 감수성이 저하된 균은 각각 16.9%와 46.9%였으며, piperacillin-tazobactam에 대해 감수성이 저하된 균주의 비율은 36.2%였다. Aminoglycoside제에 대한 감수성은 48.3-74.9%였으며, ciprofloxacin에는 67.6%였다. Cefepime에는 88.4%가 감수성이었고, imipenem에는 시험 균주 모두가 감수성이었으나, meropenem에는 7.7%에서 감수성이 저하되었다(Table 1).

2. 항균제 내성 자료로 추정된 내성 기전

E. cloacae 중에서는 유도성 균주가 112주(48.0%)로 가장 많

Table 2. Resistance mechanisms of *E. cloacae*, *C. freundii* and *S. marcescens* isolates to β -lactam antibiotics

Resistance mechanisms	<i>E. cloacae</i>	<i>C. freundii</i>	<i>S. marcescens</i>
Classical	112 (48.9%)	87 (47.5%)	104 (50.2%)
AmpC derepressed	47 (20.5%)	55 (30.1%)	65 (31.4%)
ESBL	54 (23.6%)	20 (10.9%)	32 (15.5%)
Penicillinase	6 (2.6%)	19 (10.4%)	5 (2.4%)
Undetermined	10 (4.4%)	2 (1.1%)	1 (0.5%)
Total	229 (100%)	183 (100%)	207 (100%)

Abbreviation: ESBL, extended-spectrum β -lactamase.

았고, 그 다음은 ESBL 생성주가 54주(23.6%), 변이된 AmpC β -lactamase 과량 생성주가 47주(20.5%)였다. *C. freundii*에서는 유도성 균주가 87주(47.5%)로 가장 많았고, 그 다음은 AmpC β -lactamase 과량 생성주 55주(30.1%)이며, ESBL 생성주는 20주(10.9%)였다. *S. marcescens*중에서는 유도성 균주가 104주(50.2%)로 가장 많았고, 변이된 AmpC β -lactamase 과량 생성주가 65주(31.4%), ESBL 생성주는 32주(15.5%) 이었다(Table 2).

3. *E. cloacae*, *C. freundii* 및 *S. marcescens*의 내성 기전 별 항균제 내성 양상

탈억제 변이주 또는 ESBL 생성균주는 유도성 균주에 비해 항균제 감수성률이 낮았다. 즉, *E. cloacae*의 경우 aminoglycoside 감수성률이 유도성 균주는 96.4%였으나, 변이성 또는 ESBL 생성 균주는 38.3-57.4 및 5.6-44.4%였다. Ciprofloxacin 및 piperacillin, piperacillin-tazobactam 감수성률은 유도성 균주는 각각 95.5%, 96.4%, 98.2%였으나, 탈억제 변이주는 63.8%, 4.3%, 6.4%, ESBL 생성 균주는 51.9%, 5.6%, 59.3%였다(Table 3).

*C. freundii*의 경우 aminoglycoside 감수성률이 유도성 균주는 88.5-96.6%였으나, 탈억제 변이주는 52.7-69.1%, ESBL 생성 균주는 25.0-45.0%였다. Ciprofloxacin 및 piperacillin, piperacillin-tazobactam 감수성률은 유도성 균주는 각각 87.4%, 88.5%, 96.6%였으나, 탈억제 변이주는 67.3%, 0%, 3.6%, ESBL 생성 균주는 70.0%, 20.0%, 70.0%였다(Table 4).

*S. marcescens*의 경우 aminoglycoside 감수성률이 유도성 균주는 91.3-97.1%였으나, 탈억제 변이주는 6.2-63.1%, ESBL 생성 균주는 3.1-28.1%였다. Ciprofloxacin 및 piperacillin, piperacillin-tazobactam 감수성률은 유도성 균주는 각각 92.3%, 97.1%, 98.1%였으나, 탈억제 변이주는 41.5%, 13.8%, 26.2%, ESBL 생성 균주는 43.8%, 3.1%, 18.8%였다.

Table 3. Antimicrobial susceptibilities (%) of *E. cloacae* isolates according to the resistance mechanism (total, 219 isolates)

Antibiotics	Classical			AmpC derepressed			ESBL		
	R	I	S	R	I	S	R	I	S
Piperacillin	1.8	1.8	96.4	89.4	6.4	4.2	94.4	0.0	5.6
Piperacillin/tazobactam	0.0	1.8	98.2	70.2	23.4	6.4	22.2	18.5	59.3
Cefuroxime	14.3	8.0	77.7	100.0	0.0	0.0	90.7	5.6	3.7
Ceftazidime	0.0	0.0	100.0	89.4	6.4	4.2	72.2	13.0	14.8
Cefotaxime	0.0	0.0	100.0	93.6	4.3	2.1	50.0	35.2	14.8
Cefepime	0.0	0.0	100.0	0.0	6.4	93.6	3.7	1.9	94.4
Aztreonam	0.9	0.9	98.2	74.5	14.9	10.6	77.8	16.7	5.5
Imipenem	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0
Meropenem	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0
Ciprofloxacin	2.7	1.8	95.5	19.1	17.1	63.8	27.8	20.4	51.8
Gentamicin	3.6	0.0	96.4	61.7	0.0	38.3	70.4	9.3	20.3
Tobramycin	3.6	0.0	96.4	57.4	2.2	40.4	94.4	0.0	5.6
Amikacin	3.6	0.0	96.4	29.8	12.8	57.4	22.3	33.3	44.4
Cefoperazone	0.9	0.0	99.1	63.8	23.4	12.8	50.0	27.8	22.2

Abbreviations: ESBL, extended-spectrum β -lactamase; R, resistant; I, intermediate; S, susceptible.

Table 4. Antimicrobial susceptibilities (%) of *C. freundii* isolates according to the resistance mechanism (total, 181 isolates)

Antibiotics	Classical			AmpC derepressed			ESBL		
	R	I	S	R	I	S	R	I	S
Piperacillin	9.2	2.3	88.5	100.0	0.0	0.0	80.0	0.0	20.0
Piperacillin/tazobactam	0.0	3.4	96.6	70.9	25.5	3.6	20.0	10.0	70.0
Cefuroxime	12.6	6.9	80.5	100.0	0.0	0.0	90.0	0.0	10.0
Ceftazidime	0.0	0.0	100.0	87.3	10.9	1.8	45.0	20.0	35.0
Cefotaxime	0.0	0.0	100.0	81.8	14.6	3.6	65.0	15.0	20.0
Cefepime	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0	10.0	5.0	85.0
Aztreonam	1.1	0.0	98.9	74.5	9.1	16.4	45.0	20.0	35.0
Imipenem	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0
Meropenem	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0
Ciprofloxacin	6.9	5.7	87.4	23.6	9.1	67.3	30.0	0.0	70.0
Gentamicin	9.2	1.1	89.7	38.2	0.0	61.8	70.0	0.0	30.0
Tobramycin	11.5	0.0	88.5	40.0	7.3	52.7	75.0	0.0	25.0
Amikacin	2.3	1.1	96.6	27.3	3.6	69.1	45.0	10.0	45.0
Cefoperazone	0.0	3.4	96.6	78.2	14.5	7.3	60.0	25.0	15.0

Abbreviations: ESBL, extended-spectrum β -lactamase; R, resistant; I, intermediate; S, susceptible.

Table 5. Antimicrobial susceptibilities (%) of *S. marcescens* isolates according to the resistance mechanism (total, 206 isolates)

Antibiotics	Classical			AmpC derepressed			ESBL		
	R	I	S	R	I	S	R	I	S
Piperacillin	1.9	1.0	97.1	66.2	20.0	13.8	96.9	0.0	3.1
Piperacillin/tazobactam	1.0	1.0	98.2	40.0	33.8	26.2	68.8	12.4	18.8
Ceftazixime	89.4	5.8	4.8	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0
Ceftazidime	0.0	0.0	100.0	13.8	0.0	86.2	71.9	6.3	21.8
Cefotaxime	0.0	0.0	100.0	50.8	49.2	0.0	84.4	12.5	3.1
Cefepime	0.0	1.0	99.0	4.6	4.6	90.8	50.0	0.0	50.0
Aztreonam	1.9	0.0	98.1	12.3	24.6	63.1	84.4	9.3	6.3
Imipenem	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0
Meropenem	1.0	0.0	99.0	1.5	1.5	97.0	37.5	0.0	62.5
Ciprofloxacin	3.8	3.8	92.4	46.2	12.3	41.5	21.9	34.3	43.8
Gentamicin	2.9	1.0	96.1	67.7	4.6	27.7	90.6	3.1	6.3
Tobramycin	7.7	1.0	91.3	93.8	0.0	6.2	96.9	0.0	3.1
Amikacin	2.9	0.0	97.1	36.9	0.0	63.1	59.4	12.5	28.1
Cefoperazone	1.9	1.0	97.1	56.9	30.8	12.3	90.6	6.3	3.1

Abbreviations: ESBL, extended-spectrum β -lactamase; R, resistant; I, intermediate; S, susceptible.

Cefepime에 대한 감수성률은 *E. cloacae*의 경우 유도성 균주는 100%, 변이성 및 ESBL 생성 균주는 각각 93.6%, 94.4%였다. *C. freundii*의 경우 유도성 및 탈억제 변이주는 모두 100%, ESBL 생성 균주는 85.0%였다. *S. marcescens*의 경우 cefepime에 대한 감수성률은 유도성 균주는 99.0%, 탈억제 변이주는 90.8%, ESBL 생성 균주는 50.0%였다(Table 3-5).

4. ESBL 검출률 비교

Ceftazidime과 cefepime disk를 이용한 double disk synergy (DDS) 시험 결과 *E. cloacae*의 경우 DDS 양성률이 각각 75.9% (41/54), 98.1% (53/54), *C. freundii*의 경우 60% (12/20), 100% (20/20), *S. marcescens*의 경우 87.5% (28/32), 93.8% (30/32)였다.

5. 병원별, 검체별, 병동별 탈억제 변이주 및 ESBL 생성 균주 비율

탈억제 변이주의 병원별 빈도를 보면, *E. cloacae*는 0-50%, *C. freundii*는 0-55%, *S. marcescens*는 6-75%로 매우 다양하였으며, 같은 병원에서도 균종에 따라 탈억제 변이주의 비율이 다양하였다(Table 6). 병동별로는 *E. cloacae*와 *C. freundii*는 차이가 없었으나, *S. marcescens*는 중환자실 검체에서 탈억제 변이주의 비율이 높았다(Table 7).

ESBL 생성 균주의 비율은 *E. cloacae*는 5-60%였으며 13개 기관 모두에서 분리되었으며, *C. freundii*는 10개 기관에서 분리되었고 빈도는 0-25%였다. *S. marcescens*는 0-75%로 1개 병원의 경우 매우 높은 분리율을 보였다. 병동별 분포는 *E. cloacae*만이 중환자실에서 ESBL 생성 균주의 비율이 높았다.

Table 6. Proportion (%) of derepressed mutants and ESBL producers of *E. cloacae*, *C. freundii*, and *S. marcescens* in 13 laboratories

Laboratory	<i>E. cloacae</i>		<i>C. freundii</i>		<i>S. marcescens</i>	
	AmpC derepressed	ESBL	AmpC derepressed	ESBL	AmpC derepressed	ESBL
1	30	10	55	5	35	10
2	25	25	30	0	60	5
3	25	35	50	5	15	5
4	5	10	38	25	75	0
5	20	25	17	25	27	27
6	15	15	30	5	20	75
7	5	5	10	5	35	20
8	31	13	0	0	13	0
9	17	39	40	13	6	22
10	8	42	22	11	50	25
11	0	60	ND*	ND	60	20
12	50	35	20	25	10	0
13	15	23	0	25	40	0

*not determined.

Abbreviation: ESBL, extended-spectrum β -lactamase.

고 찰

E. cloacae, *C. freundii* 및 *S. marcescens*는 염색체성 AmpC β -lactamase를 생성하는 균주로 병원 감염에서 점차 그 중요성이 증가하고 있다[11]. 정상적으로는 3세대 cephalosporins, monobactam 및 carbapenem에 감수성이나 이러한 유도성 AmpC β -lactamase 생성 균주에는 탈억제 변이주가 10^{-6} - 10^{-8} 의 비율로 포함되어 있는데 AmpC β -lactamase 탈억제 변이주를 선택하는 β -lactamase 제(특히 ceftazidime, cefotaxime, ceftazidime 및 piperacillin)에 빈번히 노출되면 ampC의 전사를 조절하는 ampD, ampR 유전자에 변이가 일어나 과량의 AmpC β -lactamase를 생성하는 탈억제 변이주가 된다[3, 12, 13]. 이러한 AmpC 탈억제 변이주의 항균제 양상에 대해서 Livermore 등[14]은 *Enterobacter* spp.와 *Citrobacter* spp.의 경우 이러한 AmpC가 변이되면 4세대 cephalosporin과 imipenem을 제외한 모든 3세대 cephalosporins, monobactam, β -lactam- β -lactamase 억제제 혼합제에 내성을 보이고, *Serratia* spp의 경우는 *Enterobacter* spp.와 *Citrobacter* spp.와는 달리 ceftazidime에는 감수성을 보인다고 했다. 이에 반해 Pfaller 등[11]은 유도성 AmpC β -lactamase를 갖는 *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp. 및 *Serratia* spp.에서 AmpC β -lactamase 탈억제 변이주의 초기 표지자를 ceftazidime 내성균으로 정했으며, 3가지 균속 모두에서 ceftazidime 내성률이 cefotaxime 내성률보다 높았다[3, 4]. 그러나, 본 실험 대상 균주 중 *S. marcescens*의 경우 cefotaxime 내성률이 ceftazidime 내성률보다 현저히 높아(29.5% vs. 15.9%), Livermore의 기준에 따라 내성 기전을 추정하였다. 본 연구 결과 *E. cloacae*와 *C. freundii*의 AmpC β -lactamase 탈억제 변이주의 경우 aztreonam에 대한 감수성이

Table 7. Isolation pattern of derepressed AmpC β -lactamase and ESBL-producing strains by patients' location

Species	Number and percent isolates					
	Outpatient	Inpatient	Intensive care patient	ND*	Total	
<i>E. cloacae</i>	Isolates	36	109	62	22	229
	Derepressed					
	Strains (%)	25	28	11	5	21
	ESBL (%)	22	21	35	5	24
<i>C. freundii</i>	Isolates	49	99	15	20	183
	Derepressed					
	Strains (%)	29	34	33	10	30
	ESBL (%)	8	13	13	5	11
<i>S. marcescens</i>	Isolates	33	89	59	26	207
	Derepressed	12	27	51	27	31
	Strains (%)					
	ESBL (%)	9	20	12	15	15

*not determined.

10.6%, 16.4%, piperacillin-tazobactam에 대한 감수성은 6.4%, 3.6%로 Livermore 등의 보고와 비교적 잘 일치하였다. 또한, *Serratia* spp.의 AmpC β -lactamase 탈억제 변이주의 경우 ceftazidime에는 감수성이고 monobactam에는 내성, piperacillin-tazobactam에는 감수성이 저하된다고 했는데[14], 본 실험 결과 *S. marcescens*의 AmpC 탈억제 변이주를 cefotaxime에 내성 또는 중간인 균주로 정의했을 때 불일치를 보인 균주의 비율은 ceftazidime에 내성인 균주가 13.8%, aztreonam에 감수성인 균주가 63.1%였으며, piperacillin-tazobactam에 감수성인 균주는 26.2%였다. Piperacillin-tazobactam에 대해서는 감수성을 보인 균주의 비율은 ceftazidime에 내성을 보인 균주를 AmpC 탈억제 변이주로 정한 보고[11]에서도 26.5%였으므로, 모든 AmpC β -lactamase 탈억제 변이주에서 piperacillin-tazobactam에 대한 감수성이 저하되지는 않는 것으로 사료된다. AmpC β -lactamase 탈억제 변이주에서 cefepime에 중간 또는 내성인 균주의 비율은 *E. cloacae*에서 6.4%, *C. freundii*에서 0%, *S. marcescens*에서 9.2%였다. Cefepime은 AmpC 탈억제 변이주에 대해서도 항균력이 있는 약제이므로 이러한 균주에서는 porin의 결함으로 인해 내성을 보이는 것으로 추정된다[15, 16]. 또한, ESBL 생성 균주일 경우 cefepime에 대해서도 임상적으로 내성을 보이거나, 본 실험 결과 ESBL을 생성하는 균주들은 cefepime 감수성률이 *E. cloacae*에서 94.4%, *C. freundii*에서 85.0%, *S. marcescens*에서 50.0%에 이르므로 이러한 균종들에서 ESBL 생성 검사를 정확히 하지 않을 경우 치료 실패가 우려된다. 이러한 AmpC β -lactamase 탈억제 변이주는 주로 입원 환자, 특히 중환자실 환자에서 흔히 분리된다고 하나[17], 본 연구결과에서는 *S. marcescens*만이 중환자실 분리 균주 중에 탈억제 변이주의 비율이 높았으며, *E. cloacae*와 *C. freundii*는 분리 병동에 따른 차이는 없었다.

본 연구에서 전국에서 분리된 *E. cloacae*, *C. freundii* 및 *S.*

*marcescens*의 탈억제 변이주의 비율은 27.5-47.3%로 유럽의 보고 (11-34%)[11]보다 높았고, *E. cloacae*와 *S. marcescens*의 경우 ESBL 생성 균주의 비율(23.6%, 15.5%)이 외국의 보고(2.9%, 4.9%)[18]에 비해 현저히 높았고, *C. freundii*에서의 ESBL 생성 균주의 비율(10.9%)도 외국의 보고(6.0%)[18]에 비해 높음을 알 수 있었다. 또한, 본 연구 결과 ESBL 생성 균주 중 *E. cloacae*와 *C. freundii*의 대다수(80.0-94.4%)에서 piperacillin에 내성을 보이나, piperacillin-tazobactam에 대한 감수성률은 59.3-70.0%로 tazobactam이 비교적 효율적인 ESBL의 억제제임을 시사하는 소견이었으나, *S. marcescens*의 경우에는 piperacillin-tazobactam에 대한 감수성이 18.8%로 매우 낮았다.

*Enterobacter species*에서의 ESBL 검출을 위해 Tzelepi 등[9]은 ceftazidime, cefotaxime, ceftriaxone, aztreonam, cefepime, ceftazidime disk를 각각 amoxicillin-clavulanate 디스크로부터 디스크 중심간의 간격이 30 mm, 20 mm가 되도록 거리에서 시험한 결과 AmpC 탈억제 변이주에 대해 항균력이 있는 cefepime disk를 20 mm 간격에서 DDST를 함으로써 예민도를 90%로 올릴 수 있다고 하였다. 본 실험에서도 cefepime 디스크를 사용하는 것이 예민도를 높이는 것을 알 수 있었다. 또한 ESBL을 생성하는 *E. cloacae*의 ceftazidime, cefotaxime 및 aztreonam 감수성률이 각각 14.8%, 14.8%, 5.6%, *C. freundii*는 각각 35.0%, 20.0%, 35.0%였다. *S. marcescens*는 ceftazidime, cefotaxime 및 aztreonam 감수성률이 각각 21.9%, 3.1%, 6.3%로 cefotaxime에 대한 감수성률이 가장 낮았다. 최근 Navon-Venezia 등[19]은 장내세균의 ESBL 선별 기준으로 cefuroxime 내성을 제안했으며, 우리나라의 경우 AmpC β -lactamase 생성 균주(*E. cloacae*, *C. freundii*, *S. marcescens*)의 cefuroxime 내성률이 47.0-94.7%에 이르므로 선별 기준으로 부적절할 것으로 생각된다.

이상의 결과에서 국내에서 분리되는 AmpC β -lactamase 생성 *E. cloacae*, *C. freundii* 및 *S. marcescens*에서 탈억제 변이주의 비율이 높으며, 대다수의 병원에서 ESBL을 획득한 균주가 분리되므로 이들에 대한 역학 조사 및 확산 방지를 위한 조치가 필요할 것으로 생각된다. *S. marcescens*의 경우 meropenem에 내성을 보이는 균주의 내성 기전에 대한 연구도 진행되어야 할 것으로 생각된다. 또한, 탈억제 변이주의 비율이 병원에 따라 현저한 차이를 보이므로 병원별 항균제 사용 양상과의 상관 관계에 대한 연구도 추후 시행되어야 할 것으로 생각된다.

감 사

본 연구에 사용된 균주 수집 등에 도움을 주신 건양외대 이종욱 교수님, 고신외대 정석훈 교수님, 네오딘 의학연구소 이선화 박사님, 서울외대 김의중 교수님, 순천향 구미병원 안지영 교수님, 아주외대 이위교 교수님, 울산외대 김미나 교수님, 연세원주의대 어영 교수님, 전남외대 신종희 교수님, 포천중문의대 홍성근 교수님,

한림외대 김재석, 송원근 교수님께 감사드립니다.

요 약

배경 : 유도성 AmpC β -lactamase를 생성하는 *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii* 및 *Serratia marcescens*에서 3세대 cephalosporin에 대한 내성이 점차 증가하고 있다. 이러한 내성의 기전으로는 AmpC β -lactamase의 과량생성에 의한 것과 extended-spectrum β -lactamase (ESBL)에 의한 획득 내성에 의한 것이 있으나, 우리나라에서는 이들 균주의 내성 기전에 관한 연구가 거의 없는 실정이다. 따라서, 본 연구에서는 전국 13개 기관에서 분리된 균주들을 대상으로 내성 현황 및 그 기전을 알아보고자 하였다.

방법 : *E. cloacae* 229균주, *C. freundii* 183균주 및 *S. marcescens* 207균주를 대상으로 항균제 감수성 시험, double disk synergy 시험을 실시하여 AmpC β -lactamase 과량생성균과 ESBL 생성균을 구별하였다. 균종별 AmpC 과량생성균과 ESBL 생성균의 비율 및 분포를 조사하고 내성 기전에 따른 항균제 감수성 양상을 비교하였다.

결과 : 탈억제 변이된 AmpC β -lactamase 과량 생성주는 *E. cloacae*, *C. freundii* 및 *S. marcescens* 중에서 각각 20.5%, 30.1%, 31.4%였다. ESBL 생성주는 *E. cloacae*, *C. freundii* 및 *S. marcescens* 중에서 23.6%, 10.9%, 15.5% 있었다. 또한, AmpC β -lactamase 탈억제 변이주나 ESBL 생성주는 유도성 균주에 비하여 ciprofloxacin, piperacillin, piperacillin-tazobactam 및 aminoglycoside에 대해서도 감수성률이 낮았다.

결론 : 국내에서 분리되는 AmpC β -lactamase 생성 *E. cloacae*, *C. freundii* 및 *S. marcescens*에서 탈억제 변이주의 비율이 높으며, 대다수의 병원에서 ESBL을 획득한 균주가 분리되므로 이들에 대한 역학 조사 및 확산 방지를 위한 조치가 필요할 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Jones RN. The emergent needs for basic research, education, and surveillance of antimicrobial resistance. Problems facing the report from the American Society for Microbiology Task Force of Antibiotic Resistance. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1996; 25: 153-61.
2. Jones RN and Pfaller MA. Bacterial resistance: a worldwide problem. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1998; 31: 379-88.
3. Burwen DR, Banerjee SN, Gaynes RP. The National Nosocomial Infections Surveillance System. Ceftazidime resistance among selected nosocomial Gram-negative bacilli in the United States. *J Infect Dis* 1994; 170: 1622-5.

4. Pitout JD, Moland ES, Sanders CC, Thomson KS, Fitzsimmons SR. β -lactamases and detection of β -lactam resistance in *Enterobacter* spp. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41: 35-9.
5. Winokur PL, Canton R, Casellas JM, Legakis N. Variations in the prevalence of strains expressing an extended-spectrum β -lactamase phenotype and characterization of isolates from Europe, the Americas, and the Western Pacific Region. *Clin Infect Dis* 2001; 32 (S2): S94-103.
6. Durmaz R, Durmaz B, Koroglu M, Tekerekoglu MS. Detection and typing of extended-sepectrum β -lactamases in clinical isolates of the family Enterobacteriaceae in a medical center in Turkey. *Microb Drug Resist* 2001; 7: 171-5.
7. She D and Liu Y. The expression of AmpC and extended-spectrum β -lactamases among clinical isolates of *Enterobacter cloacae* and its impact on antibiotics susceptibility *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2002; 82: 1355-8.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: approved standard M2-A7 7th ed., NCCLS, 2000.
9. Tzelepi E, Giakkoupi P, Sofianou D, Loukova V, Kemeroglou A, Tsakris A. Detection of extended-spectrum β -lactamases in clinical isolates of *Enterobacter cloacae* and *Enterobacter aerogenes*. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 542-6.
10. Livermore DM. β -lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8: 557-84.
11. Pfaller MA, Jones RN, MYSTIC Study Group (Europe). Antimicrobial susceptibility of inducible AmpC β -lactamase-producing Enterobacteriaceae from the Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection (MYSTIC) Programme, Europe 1997-2000. *Int J Antimicrob Agents* 2002; 19: 383-8.
12. Archibald L, Phillips D, Monnet D, McGowan JE Jr, Tenover FC, Gaynes R. Antimicrobial resistance in isolates from inpatients and outpatients in the United States: increasing importance of the intensive care unit. *Clin Infect Dis* 1997; 24: 211-5.
13. Diekema DJ, Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Kugler KC, Beach ML, et al. Trends in antimicrobial susceptibility of bacterial pathogens isolated from patients with bloodstream infections in the USA, Canada, and Latin America. SENTRY Participants Group. *Int J Antimicrob Agents* 2000; 13: 257-71.
14. Livermore DM, Winstanley TG, Shannon KP. Interpretative reading: recognizing the unusual and inferring resistance mechanisms from resistance phenotypes. *J Antimicrob Chemother* 2001; 48 (S1): S87-102.
15. Lee EH, Nicolas MH, Kitzis MD, Pialoux G, Collatz E, Gutmann L. Association of two resistance mechanism in a clinical isolate of *Enterobacter cloacae* with high-level resistance to imipenem. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 1093-8.
16. Raimondi A, Traverso A, Nikaido H. Imipenem- and meropenem-resistant mutants of *Enterobacter cloacae* and *Proteus rettgeri* lack porins. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 1174-80.
17. Chow JW, Fine MJ, Shlaes DM, Quinn JP, Hooper DC, Johnson MP, et al. *Enterobacter* bacteremia: clinical features and emergence of antibiotic resistance during therapy. *Ann Intern Med* 1991; 115: 585-90.
18. Bonfiglio G, Perilli M, Stefani S, Amicosante G, Nicoletti G. Prevalence of extended spectrum β -lactamases among Enterobacteriaceae: an Italian survey. *Int J Antimicrob Agents* 2002; 19: 213-7.
19. Navon-Venezia S, Hammer-Munz O, Schwartz D, Turner D, Kuzmenko B, Carmeli Y. Occurrence and phenotypic characteristics of extended-spectrum beta-lactamases among members of the family Enterobacteriaceae at the Tel-Aviv Medical Center (Israel) and evaluation of diagnostic tests. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 155-8.