

Antimicrobial Resistance and Molecular Epidemiologic Characteristics of *Neisseria gonorrhoeae* Isolated from Korea in 2013

Hyo Jin Kim¹, Younghee Seo¹, Wan Hee Kim¹, Yangsoon Lee¹,
Hyukmin Lee², Kyungwon Lee¹, Yunsop Chong¹

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

Background: Antimicrobial resistance of *Neisseria gonorrhoeae* has become a serious problem worldwide, and ceftriaxone non-susceptible isolates have been recently reported from Japan and Europe. In this study, we evaluated the antimicrobial susceptibilities and molecular epidemiological characteristics of isolates from Korea in 2013.

Methods: Sixty strains of *N. gonorrhoeae* were collected from Korean patients and prostitutes. Antimicrobial susceptibility was tested by the agar dilution and disk diffusion methods. *N. gonorrhoeae* multi-antigen sequence typing (NG-MAST) was performed in order to determine the molecular epidemiologic relatedness.

Results: All of isolates were non-susceptible to penicillin G and tetracycline, and the rate of ciprofloxacin-resistant isolates was 95% in 2013. The MICs of ceftriaxone were within the susceptible range for all isolates, but one isolate non-susceptible to cefixime (MIC=0.5 μ g/mL) was encountered. The isolates with decreased susceptibility (MIC \leq 0.12 μ g/mL) to cefix-

ime or ceftriaxone accounted for 10% and 14% of the isolates tested, respectively. In NG-MAST analysis, 40 different STs were encountered among the 59 isolates. Isolates that belonged to *tbpB*110 showed higher cefixime and ceftriaxone MICs (0.12-0.5 μ g/mL) as well as cefixime resistance.

Conclusion: Most of the *N. gonorrhoeae* isolates showed susceptibility to spectinomycin and cephalosporins. Due to the emergence of isolates that are non-susceptible to cefixime and the prevalence of isolates with the *tbpB*110 allele belonging to ST1407, which cause cefixime and ceftriaxone treatment failure in successful global clones of *N. gonorrhoeae*, a continuous nationwide antimicrobial surveillance program is required to monitor the emergence of cephalosporin resistance in *N. gonorrhoeae*. (Ann Clin Microbiol 2013;16:182-187)

Key Words: Microbial sensitivity tests, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria gonorrhoeae* multi-antigen sequence typing

INTRODUCTION

임균은 주요 성매개 감염병인 임질을 일으키는 원인균으로 사람이 유일한 숙주이며, 세균에 의한 성매개 감염질환 중 두 번째로 흔하다[1]. 임균은 대부분의 남성에서 요도염 등의 비뇨생식기 감염을 일으키며, 여성에서는 무증상 감염자로부터 골반의 염증성 질환 및 불임 등 다양한 감염과 합병증을 유발한다. 대부분의 임균 감염은 질환의 특성상 1차 의료기관에서 경험적으로 치료되므로, 항균제 내성 현황에 대한 지속적이고 효과적인 감시가 필요하다[1].

국내에서 분리되는 임균은 전통적으로 임균 감염증 치료에 사용하였던 penicillin G와 tetracycline에 모두 내성이고[2-4], fluoroquinolone에 대한 내성률도 매우 높다[5,6]. Fluoroquinolone 내성이 심각해지고 사용이 금지됨에 따라 근래에는 ceftriaxone과 cefixime 등의 cephalosporin 항균제의 사용이 증가하였고[7], 이에 따라 cephalosporin 항균제에 대해 감수성이 저하된 균주들이 보고되었다[8-11]. 경구용 cephalosporin인 cefixime에 대한 내성은 2002년 일본에서 처음 보고된 이후 세계 각국에서 보고되고 있다. 임질 치료의 마지막 보루로 생각되던 ceftriaxone에 대한 고도내성 임균도 2011년과 2012년에 일본

Received 8 November, 2013, Revised 22 November, 2013, Accepted 22 November, 2013

Correspondence: Hyukmin Lee, Department of Laboratory Medicine, Kwandong University College of Medicine, 407-1, Jakjeon-dong, Gyeongang-gu, Incheon 407-816, Korea. (Tel) 82-32-553-3797, (Fax) 82-32-553-6988, (E-mail) hmlee.labmed@gmail.com

© The Korean Society of Clinical Microbiology.

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

에서 1주 및 유럽에서 3주가 보고되었다[8-11]. 국내에서도 cephalosporin 사용은 점차 늘어나 건강보험심사평가원 자료에 의하면 임질 치료를 위한 cephalosporin 처방률은 2002년의 10%에서 2010년에는 30%로 증가하여 내성 균주가 출현할 가능성이 높아지고 있다. 또한 전세계적인 인적 교류로 인해 cephalosporin 내성 균주가 전세계적으로 확산될 수 있으며, 한국은 일본과 지리학적으로 가까울 뿐만 아니라 인적 교류가 활발하기 때문에 cephalosporin 내성 임균이 국내에 유입될 가능성도 있다. 하지만 현재 국내 균주의 cephalosporin 내성 현황에 관한 보고는 드물다.

임균 감염의 역학적인 연관성을 규명하기 위해 혈청형 등의 표현형 방법부터 분자역학을 위한 pulsed-field gel electrophoresis 등의 다양한 방법이 사용되어 왔다. 최근에는 염기서열 분석을 통해 역학을 규명하는 *Neisseria gonorrhoeae* multi-antigen sequence typing (NG-MAST)와 multi-locus sequence typing (MLST) 등의 방법이 주로 사용되고 있다. NG-MAST는 변이가 심한 *porB*와 *tbpB* 유전자의 염기서열 분석을 통해 단기간에 발생한 임균 감염의 유전적 상관성을 규명하며, MLST는 세포의 생존에 필수적인 7개의 유전자를 염기서열 분석하여 중장기적인 역학을 조사하는 방법이다.

본 연구에서는 국내에서 최근 분리된 임균을 대상으로 cephalosporin 항균제를 포함한 주요 항균제에 대한 내성 양상과 분자역학적 특성을 알아보려고 하였다.

MATERIALS AND METHODS

1. 균주 수집 및 동정

2013년 1월부터 10월까지 전국 각 지역에 위치한 의료 기관과 특수직업여성 밀집 지역에 위치한 보건소에 내원한 환자로 부터 임균 감염이 의심되는 균주 또는 검체를 수집하였다. 검체는 임균이 죽지 않도록 transgrow 배지에 넣어 운반하였으며, modified Thayer-Martin 배지(BBL, Becton-Dickinson, Cockeysville, MD, USA)에 접종하여 35°C에서 24시간 배양하였다. 균종 동정은 그람 염색, 전통적인 생화학적 검사와 Vitek System (bioMerieux, Marcy l'Etoile, France)으로 실시하였다. 동정된 균주는 -70°C 이하의 냉동고에 보관하였다.

2. 항균제 감수성 시험

1) **디스크 확산법:** 시험 균주를 증류수에 현탁하여 McFarland제 0.5관 탁도에 맞춘 후, 세균 부유액을 GC agar base (BBL)에 1% hemoglobin과 1% IsoVitaleX (BBL)을 첨가하여 만든 한천에 접종하였다. Becton Dickinson 사(Cockeysville, MD, USA)의 penicillin G, tetracycline, ceftriaxone, spectinomycin, ciprofloxacin, nalidixic acid 디스크를 놓은 후 35°C, 5% CO₂ 항온기에 24시간 배양 후 판독하였다. Penicillin G (10 U),

ceftriaxone (30 µg), cefixime (5 µg), cefpodoxime (10 µg), cefotaxime (30 µg), spectinomycin (100 µg), tetracycline (30 µg) 및 ciprofloxacin (5 µg)은 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 기준[12]에 따라, azithromycin (15 µg)과 ceftriaxone (0.5 µg) 및 nalidixic acid (30 µg)는 호주의 Calibration Dichotomous Susceptibility (CDS) 기준[13]에 따라 판독하였다. Ceftriaxone의 경우 감수성 저하 균주의 민감한 검출을 위해 두 종류(5 µg과 30 µg)의 디스크를 사용하였다.

2) **한천 희석법:** 동결 보관 균주를 초콜릿 한천에 접종한 후 양초단지에 넣어 35°C, 24시간 배양한 후, 증류수에 현탁하여 10⁴ CFU/mL로 희석하였다. GC agar base (BBL)에 1% hemoglobin과 1% IsoVitaleX (BBL)을 첨가하고, 규정된 희석액으로 녹인 항균제를 넣어 2배수 단계 희석된 농도가 되도록 평판을 만들었다. 세균부유액을 Steers' replicator (Craft Machine Inc., Woodline, PA, USA)를 써서 배지에 접종하고 35°C, 5% CO₂ 항온기에 24시간 배양 후 판독하였다. Penicillin G, ceftriaxone, cefixime, cefpodoxime, spectinomycin, tetracycline 및 ciprofloxacin 감수성 결과는 CLSI 기준[12]에 따라 해석하였고, azithromycin은 European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) 기준[14]에 따라 해석하였다. Breakpoint가 결정되지 않은 gentamicin은 별도의 해석을 하지 않고, MIC₅₀과 MIC₉₀만 구하였다. 정도 관리를 위해 *Neisseria gonorrhoeae* ATCC 49226, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, WHO A, WHO C, WHO G, WHO K, WHO L 및 WHO P 균주를 같이 시험하였다.

3. *Neisseria gonorrhoeae* multi-antigen sequence typing (NG-MAST)

por 유전자(F-CAAGAAGACCTCGGCAA; R-CCGACAACC ACTTGGT)와 *tbpB* 유전자 (F-CGT TGTCGGCAGCGCGAAA AC; R-TTCATCGGTGCGCCGCTTG)를 PCR로 증폭하여 염기 서열을 분석하였다. 균집락을 멸균증류수에 부유시킨 후 10분간 끓여서 2분간 13,000 rpm으로 원심 분리한 상층액 1 µL를 DNA 주형으로 사용하여 PCR을 시행하였다. 증폭된 산물을 전기영동한 후, QIA quick gel extraction kit (Qiagen, Hilden, Germany)를 이용하여 DNA를 추출하였다. Bioneer (Daejeon, Korea)에 의뢰하여 염기 서열을 분석한 후에, NG-MAST 분석 data base (www.ng-mast.org)에서 *porB* 유전형과 *tbpB* 유전형을 먼저 분석한 후에, sequence type (ST)을 결정하였다.

RESULTS

2013년 1월에서 10월까지 수집한 임균은 총 60주이며, 디스크 확산법을 이용한 임균의 항균제별 감수성 비율은 Table 1과 같다. Penicillin G, tetracycline, ciprofloxacin에 감수성인 균주

Table 1. Antimicrobial susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* isolates tested by diskdiffusion

Antimicrobial agents (Dosage)	% of isolates with (N=60)			
	Susceptible	Intermediate	NS [†]	Resistant
Penicillin G (10 U)	0	42		58
Spectinomycin (100 µg)	100	0		0
Ceftriaxone (0.5 µg)*	50		50	
Ceftriaxone (30 µg)	75		25	
Cefixime (5 µg)	75		25	
Cefpodoxime (10 µg)	82		18	
Cefotaxime (30 µg)	70		30	
Tetracycline (30 µg)	0	5		95
Ciprofloxacin (5 µg)	5	2		93
Nalidixic acid (30 µg)*	7		93	
Azithromycin (15 µg)*	98		2	

*Australasiancriteria (CDS) were applied. CLSI criteria were applied for the other antimicrobial agents; [†]Not susceptible.

Table 2. Antimicrobial susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* isolates tested by agar dilution

Antimicrobial agents	MIC (µg/mL)			% of isolates with (N=59)		
	Range	50%	90%	S	I	R
Penicillin G	0.12-128	1	4	0	75	25
Ceftriaxone	≤0.008-0.25	0.015	0.12	100	0 [†]	0
Cefixime	≤0.008-0.5	0.015	0.12	98	2 [†]	0
Cefpodoxime	≤0.008-4	0.06	0.5	92	8 [†]	0
Spectinomycin	≤16-32	32	32	100	0	0
Gentamicin	≤2-8	8	8	NA	NA	NA
Tetracycline	≤0.12-64	2	16	5	44	51
Ciprofloxacin	≤0.008-32	4	16	3	2	95
Azithromycin*	≤0.06-2	0.12	0.5	85	13	2

*EUCAST breakpoints were applied; [†]Not susceptible. Abbreviations: S, susceptible; I, intermediate; R, resistant; NA, not applicable.

의 비율은 0-5%였으며, 내성 균주의 비율은 각각 58%, 95%, 93%였다. Spectinomycin에 대해서는 모두 감수성이었으며, azithromycin은 98%가 감수성이었다. 3세대 cephalosporin제인 ceftriaxone (0.5 µg/30 µg), cefixime, cefpodoxime 및 cefotaxime에 비감수성인 균주의 비율은 각각 50%/25%, 25%, 18% 및 30%였다.

한천희석법을 이용한 임균의 감수성 비율은 Table 2와 같다. Penicillin G, tetracycline 및 ciprofloxacin에 감수성인 균주의 비율은 0-5%였으며, 내성인 균주의 비율은 각각 25%, 51% 및 95%로 높았다. Cefixime에 비감수성인 1주(MIC=0.5 µg/mL)를 제외하고, 모두 ceftriaxone과 cefixime에 감수성이었다. Spectinomycin에는 모든 균주가 감수성이었으며, gentamicin의 MIC₅₀과 MIC₉₀은 모두 8 µg/mL였다. EUCAST 기준으로 판독

Table 3. Number of isolates according to multi-antigen sequence typing

Sequence type	No. of isolates (N=59)	porB	tbpB	Region
ST6734	10	4,016	33	S, I, G, C, J
ST8043	5	206	455	I, G
ST9675*	3	4,801	33	S
ST228	2	23	27	G, J
ST2066	2	1,042	328	I, W
ST2958	2	1,785	110 [†]	S, G
ST3968	2	2,409	21	I
ST9673*	2	1,416	328	S, J
Other [†]	31			S, I, G, W, C, J

*New ST identified in this study; [†]ST205 (*porB164 tbpB4*), ST278 (*porB4 tbpB27*), ST807 (*porB37 tbpB27*), ST1670 (*porB23 tbpB1674*)*, ST3435 (*porB1053 tbpB21*), ST4502 (*porB1785 tbpB21*), ST4764 (*porB2874 tbpB21*), ST5699 (*porB580 tbpB328*), ST7132 (*porB4270 tbpB129*), ST7548 (*porB4530 tbpB21*), ST7684 (*porB4618 tbpB21*), ST7686 (*porB4620 tbpB21*), ST7688 (*porB23 tbpB21*), ST8160 (*porB4892 tbpB563*), ST8181 (*porB4872 tbpB33*), ST8561 (*porB101 tbpB29*), ST9667 (*porB4 tbpB677*)*, ST9668 (*porB5700 tbpB33*)*, ST9669 (*porB5701 tbpB110*)[†]*, ST9671 (*porB4016 tbpB862*)*, ST9672 (*porB258 tbpB862*)*, ST9674 (*porB5702 tbpB455*)*, ST9676 (*porB5703 tbpB186*)*, ST9677 (*porB5704 tbpB21*)*, ST9678 (*porB37 tbpB455*)*, ST9679 (*porB543 tbpB1692*)*, ST9680 (*porB5705 tbpB4*)*, ST9681 (*porB5706 tbpB4*)*, ST9682 (*porB5707 tbpB1336*)*, ST9683 (*porB5708 tbpB21*)*, ST9684 (*porB5709 tbpB21*)*; [†]The same *tbpB* type of ST1407.

Abbreviations: S, Seoul; I, Incheon; G, Gyeonggi; W, Wonju; C, Chungbuk; J, Junbuk.

한 결과 azithromycin의 경우 비감수성 균주의 비율이 15%였다.

NG-MAST 시험 결과, 59주의 *N. gonorrhoeae*에서 40개의 다양한 sequence type (ST)이 나왔으며, 그 중 18개 ST는 본 연구에서 새롭게 발견되어 NG-MAST 데이터베이스에 등록하였다. ST6734가 10개로 가장 흔한 ST였고, 다음으로 ST8043, ST9675이 5개, 3개 순이었다. 31주는 각각 서로 다른 ST를 보았다(Table 3). *porB* 유전자는 *porB4016*이 19% (11/59)로 가장 많았고, *tbpB* 유전자는 *tbpB33*이 25% (15/60), *tbpB21*이 20% (12/60) 순이었다. 8개 주요 ST의 지역별 분포는 다양하게 나타났다. 가장 높은 비율을 차지한 ST4016은 원주를 제외한 나머지 5개 지역에서 모두 분포하였다. ST9675은 서울에서 수집한 균주에서, ST3968은 인천에서 분리된 균주에서만 관찰되었다.

DISCUSSION

임균은 과거에는 대부분의 항균제에 감수성이었으나 penicillin G에 대한 내성을 시작으로 tetracycline 및 quinolone에 내성을 보이는 다제 내성 균주가 출현하고 확산됨에 따라 cephalosporin과 spectinomycin 만이 효과적인 치료제로 남아있다. 2013년에 분리된 임균의 경우 penicillin G에 감수성인 균주는 없었으며, tetracycline과 ciprofloxacin에 감수성인 균주 비율

은 각각 5%로 동일하였다. Penicillinase를 생성하는 임균 (PPNG)의 비율은 2013년 5%로 2011년 6%, 2012년 8%와 비슷한 수준이나 2000년 64%에 비해 크게 감소하였다[2]. PPNG가 저하한 명확한 이유는 불분명하나 비슷한 현상이 홍콩 등에서도 보고된바 있다[15]. 임균은 TEM-1형의 β -lactamase만을 생성하는 것으로 알려져 있으나. 최근 태국에서 TEM-135형을 생성하는 임균이 보고되었다[16]. TEM-1형 β -lactamase는 제한된 범위의 β -lactam 항균제를 분해하지만 TEM 유전자의 변이로 보다 광범위한 범위의 β -lactam 항균제를 분해하는 extended spectrum β -lactamase (ESBL)로 진화할 수 있어 이에 대한 주의가 필요하다. 반면 tetracycline 고도내성 임균(TRNG)은 2004년까지 국내에서 0.4%의 낮은 빈도를 보였으나[2]. 2012년 18% [17], 본 연구에서 2013년 14%로 증가하였다. TRNG가 증가한 이유는 확실하지 않지만 한국과 일본을 제외한 동남아 국가에서는 TRNG가 흔하므로 근접 국가로부터 유입 가능성이 있으며 이에 대한 추가 연구가 필요할 것으로 생각하였다.

2013년 수집 균주 중 1주(cefixime MIC=0.5 μ g/mL)를 제외하고 모든 균주가 cefixime과 ceftriaxone에 감수성이었다. Cefixime과 ceftriaxone에 감수성이 저하된(MIC \leq 0.12 μ g/mL) 균주는 9주(15%)였다. Ceftriaxone에 대한 감수성 판독 기준은 CLSI \leq 0.25 μ g/mL, EUCAST \leq 0.12 μ g/mL 및 CDS \leq 0.015 μ g/mL로 모두 다르며, 이에 따라 디스크 확산법 결과와 CLSI 기준에 따라 해석한 한천 희석법 결과에 차이가 발생한 것으로 생각된다. 국내에서는 대부분 CLSI 기준을 적용하고 있으나, 인도 감염에서 ceftriaxone 최소억제농도가 0.03 μ g/mL 및 0.016 μ g/mL인 임균도 치료 실패가 보고된 적이 있어[18] 감염 부위에 따라 감수성 판독 기준을 적용하는 데 주의가 필요하다. 또한 캐나다에서는 cefixime 최소억제농도가 기존의 감수성 범위인 0.12 μ g/mL 이상인 균주들의 치료 실패율이 25%로 매우 높아 감수성이 저하된 균주에서 치료 실패가 흔하다고 보고하였다[19].

임균의 cephalosporin 감수성 저하 또는 내성에 관여하는 유전자는 *penA*, *mtrR*, *ponA*, *porB1B* 및 *pilQ* 등이 알려져 있다 [20,21]. PBP2를 생성하는 *penA* 유전자가 다른 *Neisseria* 균종으로부터 유전자의 일부를 받아 mosaic 구조를 생성하거나 A501, G542, P551 부위의 아미노산 변이를 하면 cephalosporin 항균제에 대한 감수성이 저하될 수 있다. 능동적 유출(active efflux)과 관련이 있는 *mtrR* 유전자는 프로모터 또는 유전자 부위의 변이나 결손에 의해 항균제에 대한 내성을 증가시킬 수 있다. 그리고 PBP1을 생성하는 *ponA* 유전자와, 구멍단백질 (porin)과 관련이 있는 *porB* 유전자의 변이도 cephalosporin 항균제에 대한 내성과 관련이 보고되었다. 그러나 다양한 유전자의 상호 관계에 대해서는 아직 그 역할이 불분명하여, *penA*, *mtrR*, *porB*, *ponA* 및 *pilQ* 유전자 서열분석을 통해 이러한 유전자의 돌연변이가 cephalosporin 내성에 어느 정도 기여 하는지

에 대한 추가 연구가 필요할 것으로 생각된다.

최근 들어 미국에서는 cephalosporin 내성 임균이 출현되고 확산됨에 따라 cephalosporin과 azithromycin 병합요법을 사용하도록 권장하고 있다. 2013년 국내에서 분리된 임균의 2%가 azithromycin에 내성이다. Azithromycin의 내성기전은 리보솜 RNA의 돌연변이 또는 methylation과 리보솜 단백질의 돌연변이 등이 알려져 있으며, 외국에서도 아직 azithromycin 내성은 흔하지 않다[22-24]. Azithromycin 내성 균주의 경우는 cephalosporin 항균제와의 병합 요법에 의한 상승 효과가 불분명하여 이에 대한 추가 연구가 필요하다.

국내에서 분리된 임균의 NG-MAST ST은 40개로 매우 다양하였다. ST는 *porB* 유전자와 *tbpB* 유전자의 대립유전자 번호에 의해 결정된다. 국내에서 분리된 임균의 ST는 *porB*의 차이에 의해 다양한 ST를 보이나, *tbpB*는 *tbpB21* *tbpB33*이 각각 12주와 15주로 나와 유전적 연관성이 있을 것으로 생각되었다. 2011-2012 국내 분리 임균 또한 다양한 NG-MAST ST 결과를 보였다. 151주의 *N. gonorrhoeae*에서 95개의 서로 다른 ST이 나왔으며, 그 중 55개는 새로운 ST였다[17]. Cefixime과 ceftriaxone에 감수성이 저하된 9주는 각각 서로 다른 NG-MAST ST를 가지고 있었고, *tbpB*와 *porB* 유전자형은 모두 다양하여, NG-MAST ST와 cephalosporin제 감수성 간의 직접적인 상관관계는 보이지 않았다. 그러나 *tbpB110*을 가진 3개 균주에서 cefixime MIC가 0.25-0.5 μ g/mL 그리고 ceftriaxone MIC값이 0.12-0.25 μ g/mL로 높았으며, cefixime 내성 한 주도 이에 속했다. *tbpB110*은 전세계적으로 확산된 cefixime 및 ceftriaxone 치료 실패와 관련 있는 clone인 ST1407의 *tbpB* 유전자형[10, 25-27]으로 국내 분리 임균과 유전적 연관성이 있을 것으로 생각된다.

2013년에 국내에서 분리된 임균은 과거 임균치료를 사용되었던 penicillin G, tetracycline 그리고 quinolone에 대해서 대부분이 다제 내성을 보였지만, 아직까지 spectinomycin과 cephalosporin 제에는 감수성이었다. 그러나 국내에서도 cefixime 내성 균주가 분리되었고, cephalosporin제 내성과 관련된 ST1407과 동일한 *tbpB110* 유전자형을 가진 균주가 관찰되므로, *N. gonorrhoeae*의 cephalosporin 내성 출현을 모니터링 하기 위한 지속적인 감시 시스템이 필요하다고 판단된다.

ACKNOWLEDGMENTS

본 연구과제는 질병관리본부에서 주관한 연구용역 개발사업의 지원으로 수행되었음.

REFERENCES

- Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted

- diseases surveillance 2011. <http://www.cdc.gov/std/stats11/Surv2011.pdf> [Online] (last visited on 29 October 2013).
2. Lee H, Hong SG, Soe Y, Yong D, Jeong SH, Lee K, et al. Trends in antimicrobial resistance of *Neisseria gonorrhoeae* isolated from Korean patients from 2000 to 2006. *Sex Transm Dis* 2011;38:1082-6.
 3. Lee H, Suh Y, Kim HM, Lee Y, Chung KT, Lee YS, et al. Antimicrobial susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* isolated in Korea in 2008. *Korean J Clin Microbiol* 2009;12(S1):S115.
 4. Antimicrobial susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* isolated in Korea in 2009. *Korean J Clin Microbiol* 2010;13(S1):S88.
 5. Korea Centers for Disease Control and Prevention, Management guidelines for sexually transmitted disease. Seoul; Korea Centers for Disease Control and Prevention, 2007.
 6. Korea Centers for Disease Control and Prevention, and Korean Association of Urogenital Tract Infection and Inflammation, Korean guideline for sexually transmitted disease. Seoul; Inomax Co., 2011.
 7. Yong D, Kim TS, Choi JR, Yum JH, Lee K, Chong Y, et al. Epidemiological characteristics and molecular basis of fluoroquinolone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* strains isolated in Korea and nearby countries. *J Antimicrob Chemother* 2004;54:451-5.
 8. Ohnishi M, Saika T, Hoshina S, Iwasaku K, Nakayama S, Watanabe H, et al. Ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae*, Japan. *Emerg Infect Dis* 2011;17:148-9.
 9. Ohnishi M, Golparian D, Shimuta K, Saika T, Hoshina S, Iwasaku K, et al. Is *Neisseria gonorrhoeae* initiating a future era of untreatable gonorrhea?: detailed characterization of the first strain with high-level resistance to ceftriaxone. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55:3538-45.
 10. Unemo M, Golparian D, Nicholas R, Ohnishi M, Gallay A, Sednaoui P. High-level cefixime- and ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* in France: novel *penA* mosaic allele in a successful international clone causes treatment failure. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56:1273-80.
 11. Cámara J, Serra J, Ayats J, Bastida T, Carnicer-Pont D, Andreu A, et al. Molecular characterization of two high-level ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* isolates detected in Catalonia, Spain. *J Antimicrob Chemother* 2012;67:1858-60.
 12. Cockerill FR. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-third Informational Supplement. Document M100-S23. Wayne, PA; Clinical and Laboratory Standards Institute, 2013.
 13. Bell SM, ed. Antibiotic Susceptibility Testing by the CDS Method. A Manual for Medical and Veterinary Laboratories 2009. 5th ed. Randwick; The Antibiotic Reference Laboratory, 2009.
 14. EUCAST. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - EUCAST 2013. <http://www.eucast.org/> [Online] (last visited on 29 October 2013).
 15. Kam KM, Lo KK, Ho NK, Cheung MM. Rapid decline in penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae* in Hong Kong associated with emerging 4-fluoroquinolone resistance. *Genitourin Med* 1995;71:141-4.
 16. Nakayama S, Tribuddharat C, Prombhul S, Shimuta K, Srifuengfong S, Unemo M, et al. Molecular analyses of TEM genes and their corresponding penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae* isolates in Bangkok, Thailand. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56:916-20.
 17. Kim HJ, Soe YH, Lee HM, Lee KW, Chong YS. Antimicrobial resistance and molecular epidemiologic characteristics of *Neisseria gonorrhoeae* recently isolated from Korea. Poster Presentation E-152. International Interscience Conference on Infection and Chemotherapy 2013:94.
 18. Tapsall J, Read P, Carmody C, Bourne C, Ray S, Linnios A, et al. Two cases of failed ceftriaxone treatment in pharyngeal gonorrhoea verified by molecular microbiological methods. *J Med Microbiol* 2009;58:683-7.
 19. Allen VG, Mitterni L, Seah C, Rebbapragada A, Martin IE, Lee C, et al. *Neisseria gonorrhoeae* treatment failure and susceptibility to cefixime in Toronto, Canada. *JAMA* 2013;309:163-70.
 20. Ameyama S, Onodera S, Takahata M, Minami S, Maki N, Endo K, et al. Mosaic-like structure of penicillin-binding protein 2 Gene (*penA*) in clinical isolates of *Neisseria gonorrhoeae* with reduced susceptibility to cefixime. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:3744-9.
 21. Lindberg R, Fredlund H, Nicholas R, Unemo M. *Neisseria gonorrhoeae* isolates with reduced susceptibility to cefixime and ceftriaxone: association with genetic polymorphisms in *penA*, *mtrR*, *porB1b*, and *ponA*. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51:2117-22.
 22. Singh AE, Gratrix J, Read R, Lovgren M, Drews SJ, Romanowski B, et al. *Neisseria gonorrhoeae* multiantigen sequence typing is beneficial in further characterizing gonococcal populations in Alberta, Canada. *Sex Transm Dis* 2013;40:744-50.
 23. Shimuta K, Unemo M, Nakayama S, Morita-Ishihara T, Dorin M, Kawahata T, et al Antibiotic-Resistant Gonorrhea Study Group. Antimicrobial resistance and molecular typing of *Neisseria gonorrhoeae* isolates in Kyoto and Osaka, Japan, 2010 to 2012: intensified surveillance after identification of the first strain (H041) with high-level ceftriaxone resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2013;57:5225-32.
 24. Kirkcaldy RD, Zaidi A, Hook EW 3rd, Holmes KK, Soge O, del Rio C, et al. *Neisseria gonorrhoeae* antimicrobial resistance among men who have sex with men and men who have sex exclusively with women: the Gonococcal Isolate Surveillance Project, 2005-2010. *Ann Intern Med* 2013;158:321-8.
 25. Ison CA, Hussey J, Sankar KN, Evans J, Alexander S. Gonorrhoea treatment failures to cefixime and azithromycin in England, 2010. *Euro Surveill* 2011;16. pii: 19833.
 26. Allen VG, Mitterni L, Seah C, Rebbapragada A, Martin IE, Lee C, et al. *Neisseria gonorrhoeae* treatment failure and susceptibility to cefixime in Toronto, Canada. *JAMA* 2013;309:163-70.
 27. Unemo M, Golparian D, Hestner A. Ceftriaxone treatment failure of pharyngeal gonorrhoea verified by international recommendations, Sweden, July 2010. *Euro Surveill* 2011;16. pii: 19792.

=국문초록=

2013년 국내 분리 임균의 항균제 내성 현황과 분자역학적 특성

¹연세대학교 의과대학 진단검사의학교실, 세균내성연구소, ²관동대학교 의과대학 진단검사의학교실
김효진¹, 서영희¹, 김완희¹, 이양순¹, 이혁민², 이경원¹, 정윤섭¹

배경: 임균의 항균제 내성은 심각하며, 최근 3세대 cephalosporins제에 비감수성인 균주가 일본과 유럽에서 보고되었다. 본 연구에서는 2013년 국내 환자에서 분리된 임균의 항균제 내성 현황과 분자 역학적 특성을 평가하였다.

방법: 국내 환자와 특수직업여성으로부터 총 60균주가 수집되었다. 모든 균주를 대상으로 디스크 확산법과 한천희석법으로 항균제 감수성 시험을 하였다. 분자역학적 조사를 위해 *Neisseria gonorrhoeae* multi-antigen sequence typing (NG-MAST)을 시행하였다.

결과: 한천희석법을 이용한 감수성 검사에서 penicillin G 및 tetracycline에 감수성인 균주는 없었으며, ciprofloxacin에 내성인 균주의 비율은 95%로 높았다. Cefixime에 1주가 내성이었고, ceftriaxone에 모두 감수성이었으며, 감수성저하 균주 (MIC \geq 0.12 μ g/mL)의 비율은 각각 10%와 14%였다. NG-MAST 분석 결과 59 균주에서 40개의 서로 다른 sequence type이 나왔으며 그 중 18개는 본 연구에서 새로 발견된 ST였다. *tbpB110* 유전자형을 가진 균주의 경우 cefixime과 ceftriaxone에 비교적 높은 MIC (0.12-0.5 μ g/mL)를 보였다.

결론: 2013년에 국내에서 분리된 임균은 penicillin G, tetracycline 및 quinolone에는 대부분 내성을 보였지만, spectinomycin과 cephalosporin에는 감수성이었다. 그러나 cefixime 비감수성 균주가 분리되었고, cephalosporin 내성과 관련 있는 ST1407과 동일한 *tbpB110* 유전자형을 가진 균주가 관찰되어, *N. gonorrhoeae*의 cephalosporin 내성 출현을 모니터링 하기 위한 지속적인 감시 시스템이 필요하다고 판단된다. [Ann Clin Microbiol 2013;16:182-187]

교신저자 : 이혁민, 407-816, 인천시 계양구 작전동 407-1
관동대학교 의과대학 진단검사의학교실
Tel: 032-553-3797, Fax: 032-553-6988
E-mail: hmlee.labmed@gmail.com