

血液培養에서 分離된 Extended Spectrum β -Lactamase 生成菌의 特性 고찰

서충원*, 김상하**, 김영권**
건양대학교 보건복지대학원
e-mail: sangha79@hanmail.net

Evaluation of Epidemic Characteristics of Extended Spectrum β -Lactamase Producing Bacteria Isolated from Blood Cultures

Seo Choong Won*, Kim Sang Ha**, Kim Young Kwon**
*Konyang University,
Graduate school of Public Health and Welfare

요 약

본 연구는 혈액에서 분리되는 미생물의 균종과 항균제 감수성 검사 결과 양상은 환자의 일반적 특성에 따라 다르므로 혈액배양 결과를 분석한 자료는 감염증 환자의 경험적 치료를 위한 중요한 근거가 되고, 특히 ESBL을 생성하는 균주의 경우 항균제의 사용과도 밀접한 관련이 있어 이 연구를 하게 되었다. 대상은 중부지역 일개대학병원의 입원 및 외래환자의 2004-2006년 혈액배양 결과와 항균제 내성 결과를 분석하였다. 혈액배양은 Bact/Alert 3D (North Carolina, Durham, USA)를 이용하여 성인에서는 Bact/Alert S (Aerobic)(Biomerieux Brazil S.A)와 Bact/Alert SN (Anaerobic)(Biomerieux Brazil S.A) 배지를 사용하였고, 소아에서는 Bact/Alert PF (Biomerieux Brazil S.A)배지를 사용하여 5일간 배양하였고, 항균제 감수성 검사는 자동화 동정 및 감수성 장비인 VITEK (BioMerieux vitek, Hazelwood, Missori, USA)을 이용하였다.

1. 서론

균혈증은 가장 중요한 감염증 중의 하나로서 혈액에서 병원체를 신속하게 검출하는 일은 감염증의 진단, 예후판단 및 치료방침을 세우는데 매우 중요하다(고은미 등, 2007). 면역기능저하환자, 노인 환자등에서 균혈증은 증가하고 있으며, 혈액에서 분리되는 균종도 과거와는 달리 다양한 균종으로 확산되고 있다. 장기이식, 항암제 및 방사선 치료 등으로 인한 면역기능저하 환자의 경우 과거에는 비병원성으로 여겨졌던 균종들이 기회감염과 균혈증을 유발 할 수 있다. 혈액 배양 검사는 혈액내의 세균존재 유무와 그 세균의 종류를 동정하여 항균제 감수성 검사를 시행하여 감염성질환의 진단 및 치료에 도움을 줄 수 있다. 혈액에서 분리된 균종과 항균제 감수성 양

상을 분석한 자료는 환자의 경험적 항균제 치료를 위한 중요한 근거가 되며, 균혈증을 일으키는 병원균종과 항균제 내성 양상은 대상 환자에 따라 다를 수 있는데, β -lactam 항균제는 전 세계적으로 가장 흔하게 사용되는 항균제 중 하나이다(Davis J, 1994).

2. 연구방법

2.1. 조사대상

2004년 1월부터 2006년 12월 까지 3년간의 중부지역 일개대학병원 외래, 입원환자에서 시행한 혈액배양 결과 중에서 ESBL을 생성하는 환자 40명, 86건(중복 배양균주 포함)을 대상으로 하였다.

ESBL 양성 균주들의 연도별 분리 종류, 균주별 항균제 감수성을 분석하고, 진단검사의학과에서 결

과를 완료한 환자들의 기록을 토대로 하여 일반적 특성(성별, 연령 및 지역별)과 임상적 특성에 관한 조사를 시행하였다. 대상 균주들의 동정은 자동화 동정 및 감수성 시험 장비인 VITEK(BioMerieux vitek, Hazelwood, Missouri, USA)을 이용하였고, 혈액배양은 Bact/Alert 3D (North Carolina, Durham, USA)을 이용하였다.

2.2.1 혈액배양

혈액배양은 성인에서는 오염을 피하기 위해 10 ml (소아는 0.5-4 ml)을 무균적으로 채혈하여 자동화된 혈액 배양장비 Bact/Alert 3D 를 이용하여 성인에서는 Bact/Alert SA (Aerobic)(Biomérieux Brazil S.A)와 Bact/Alert SN (Anaerobic)(Biomérieux Brazil S.A) 배지를 사용하였고, 소아에서는 Bact/Alert PF (Biomérieux Brazil S.A)배지를 사용하여 37°C에서 5일간 배양하였다. 양성으로 배양된 배지에서 미생물 증식이 의심되면 그람 염색하여 그 결과에 따라서 적절한 배지에 접종하였다.

2.2.2 VITEK을 이용한 균동정 및 항균제 감수성 검사

분리된 세균은 통상적인 방법에 의하였으며, 자동화 동정 및 감수성 장비인 VITEK은 검사 시약으로는 90 × 50 × 3 mm 크기의 플라스틱 카드를 이용하여 웰을 가진 카드는 각 웰마다 초미량의 건조배지 및 각종 29개의 생화학적 반응, 감수성 검사용 약제가 들어있다. 그람 음성 간균은 McFaland 탁도 1로 하여 GNI card에 균 현탁액이 filler module에서 카드내부로 자동접종 되고 배양조건은 35.5°C이다. 기본프로그램은 VTK와 LSN으로 구성되어 지고, 항균제 감수성 검사도 농도가 다른 약제균이 분말 형태로 들어있어 각 웰의 결과를 데이터베이스의 결과와 비교하여 표적의 Minimum inhibition Concentration(MIC)가 계산된다.

Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)의 판정기준에 따라 감수성 결과가 Susceptibility(S)/Intermediate(I)/ Resistance(R) 결정되어 진다.

사용되어진 항균제는 Ampic-sulbactam, Amikacin, Ampicillin, Aztreonam, Cefoxitin, Cefepime, Ciprofloxacin, Ceftriaxone, Cefazolin, ESBL(CTX, CTX/CA, CAZ, CAZ/CA), Gentamicin, Imipenam, Pip-tazobactam, Trimetho-sulfa, Tobramycin 으로

15가지 였다.

2.2.3 Double disk synergy(DDS) test

VITEK에서 ESBL을 생성하는 균주에 대해서는 DDS test로 확인시험을 하였다. 시험세균을 McFarland 제 0.5관의 탁도에 맞춘 후 Mueller-Hinton 배지에 접종하고, 30g의 cefotaxime, ceftazidime 및 aztreonam 디스크(Becton Dickinson Microbiology Systems, Cockeysville, MD, USA)를 amoxicillin/clavulanic acid 디스크(20/10 g, Becton Dickinson Microbiology Systems, Cockeysville, MD, USA)에서 15 mm의 거리에 놓았다. 접종한 배지는 35°C에서 하룻밤 배양한 후, amoxicillin/clavulanic acid 디스크로 인해 cefotaxime, ceftazidime 및 aztreonam 디스크 중 한 가지 이상의 억제대가 커지면 Double disk synergy(DDS) 양성으로 해석하였다.

2.3 분석방법

혈액배양 결과는 ESBL을 생성하는 균주들의 진단 검사의학과에서 결과를 완료한 환자들의 기록을 토대로 하여 일반적 특성(성별, 연령 및 지역별)과 임상적 특성을 조사 하였다. 항균제 감수성은 WHONET 프로그램을 이용하여 분석하였다.

3. 결 과

3.1 연도별 혈액배양 양성 및 양성 환자

2004년에 환자는 3,501명, 12,298건의 혈액이 배양되어 그 중에서 양성 환자 수는 715명(20.4%), 혈액배양 양성은 1,557건(12.7%), 2005년에 3,739명, 13,357건의 혈액배양이 의뢰되어 그 중에서 양성 환자 수는 750명(20.2%), 혈액배양 양성은 1,613건(12.1%), 2006년에 3,837명, 13,650건 중에서 양성 환자 수는 751명(19.6%), 혈액배양 양성은 1,628건(11.9%)이었다.

3.2 연도별 세균 분리 환자 수

2004년 1월부터 2006년 12월 까지 총 11,077명의 환자에서 이중에서 양성 환자 수는 2,216명(20.0%) 이었고, 39,305건의 혈액배양이 의뢰되어 4,798건(12.2%)이 혈액배양 양성이었다. E. faecalis는 2004년 2.5%, 2006년 3.1%가 분리되었고, A. baumani는 2004년 1.5%, 2006년 2.3%가 분리되었고, C. freundii는 2004년 0.1%, 2006년 0.9%가 분리되었다.

*E. coli*는 2004년 16.4%, 2005년 15.4%, 2006년 15.4%가 분리되었다. *E. cloacae*와 *Serratia spp.*의 분리율은 각각 2004년 2.1%와 0.6%에서, 2006년 1.1%와 0.3%로 나타났다.

3.3 연도별 세균 분리 환자 수

2004년 1월부터 2006년 12월 까지 총 11,077명의 환자에서 이중에서 양성 환자 수는 2,216명(20.0%) 이었고, 39,305건의 혈액배양이 의뢰되어 4,798건(12.2%)이 혈액배양 양성이었다. *E. faecalis*는 2004년 2.5%, 2006년 3.1%가 분리되었고, *A. baumani*는 2004년 1.5%, 2006년 2.3%가 분리되었고, *C. freundii*는 2004년 0.1%, 2006년 0.9%가 분리되었다. *E. coli*는 2004년 16.4%, 2005년 15.4%, 2006년 15.4%가 분리되었다. *E. cloacae*와 *Serratia spp.*의 분리율은 각각 2004년 2.1%와 0.6%에서, 2006년 1.1%와 0.3%로 나타났다.

3.4 Extended spectrum β -lactamase 양성 환자의 일반적 특성

ESBL 양성 환자의 성별은 여자가 21명(52.5%), 남자가 19명(47.5%) 이었고, 연령별 분포는 0세부터 81세까지 다양하였다. 특히 50세 이상의 성인에서 혈액배양 양성율이 높았다.

지역적인 분리도는 충청남도 부여군 6명, 논산시 6명, 공주시 4명, 계룡시 2명, 서천군 1명, 연기군 1명, 청양군 1명 등 충청남도 지역에서의 환자는 21명, 비율은 52.5%, 대전광역시 서구 9명, 대덕구 2명, 유성구 1명, 동구 1명 등 대전광역시 지역에서 환자는 13명, 비율은 32.5%, 서울특별시 강남구 1명, 경기도 광명시 1명, 성남시 1명, 전라북도 군산시 1명, 무주군 1명, 충청북도 영동군 1명 등 기타 지역에서 환자는 6명, 비율은 15.0% 이었다.

3.5 항균제 감수성 검사 결과

ESBL 생성 균주 중 *E. coli*는 Imipenem에 65건(100.0%) 모두 감수성을 보였고, ESBL 생성 균주에 감수성을 보인다고 감수성을 보인다고 알려진 Cepharmycin 계열의 cefoxitin 64건(98.5%)에서 높은 감수성을 보였고, Cefoxitin에서 64건(98.5%), Amikacin 61건(93.8%), Trimethoprim/sulfamethoxazol 44건(51.2%)이 감수성을 보였으며, ampicillin과 Cefazolin 등의 3세대 Cephalosporin에서는 모두 내성을 나타내었다. *K.*

*pneumoniae*의 경우도 Imipenem에 16건(100.0%) 모두 감수성을 보였고, Amikacin 15건(93.8%), Cefoxitin 에는 14건(87.5%)에서 감수성을 보였고, Trimethoprim/sulfamethoxazol 12건(75.0%)가 감수성을 보였으며, Ceftriaxone에 내성인 균주는 8건(50.0%)이었다. *K. oxitoca*의 경우는 Imipenem, Cefepime, Cefoxitin 5건(100.0%)에서는 감수성을 나타내었고, Ceftriaxone, Cefazolin에 내성 균주는 3건(60.0%)이었다.

3.6 Extended Spectrum β -Lactamase 시험 양성균의 혈액배양 특성

ESBL 시험 양성 균주의 혈액배양 배지에서의 특성은 *E. coli*는 Aerobic에서 6건(7.0%), Anaerobic에서 9건(12.5%), Aerobic + Anaerobic에서 50건(58.1%)이 배양되었다. *K. pneumoniae*는 PF에서 4건(4.6%), Aerobic에서 1건(1.2%), Aerobic + Anaerobic에서 11건(12.8%) 이 배양 되었다. *K. oxitoca*는 PF에서 2건(2.3%), Aerobic + Anaerobic에서 3건(3.5%) 이 배양 되었다.

4. 고찰

약제의 내성을 나타내는 여러 기전 중 가장 중요한 것은 β -lactamase에 의한 항균제의 가수분해이다(Davis J, 1994). 그람 음성 간균은 β -lactamase를 생성하여 항균제에 대해 내성을 나타내므로 β -lactamase에 안정한 새로운 cephalosporin이나 β -lactamase 억제제가 개발되어 왔다. 그러나 1980년대 중반부터 이러한 항균제에 내성 ESBL을 생성하는 균주가 출현하였는데, 내성기전으로 혼한 플라스미드 매개성 기전에 의해 cefotaxime, ceftazidime을 비롯한 oxyimino- β -lactamase 항균제와 aztreonam을 분해하여 내성을 일으키는 효소로서 기존의 penicillin계제와 1세대 cephalosporin에도 광범위하게 내성을 보인다. 이러한 ESBL을 크게 둘로 나누면 TEM 및 SHV-유형의 ESBL과 TEM 및 SHV-유형이 아닌 ESBL로 나눌 수 있다(Leiza MG etc, 1994). TEM 및 SHV-유형 효소들은 흔히 발견되는 플라스미드 매개성 β -lactamase (TEM-1, SHV-1) 유전자의 점 돌연변이(point mutation)에 의해 발생하며, TEM 및 SHV-유형 ESBL은 cephamycin과 Imipenem은 분해하지 못하며 특징적으로 clavulanic acid, sulbactam 및 tazobactam 등의 β -lactamase 억제제에 의해 억제된다(Pillay T etc, 1998; Royle J

etc, 1999). TEM 및 SHV-유형이 아닌 ESBL 중 플라스미드 매개성 AmpC 유형 ESBL은 그람 음성 간균에 존재하는 염색체성 AmpC 유전자가 플라스미드 획득 혹은 유전자의 부가적 돌연변이를 일으키는 것으로 생각되고, CMY-1, MIR-1, MOX-1 등이 보고되고 있다. 이러한 ESBL은 oxyimino-cephalosporin 외에 ceftazidime 등 cephamycin에도 내성을 일으키며 β -lactamase 억제제에 의해 억제되지 않는다(Leizaola MG etc, 1994).

참고문헌

- [1] 홍성근, 김선주, 정석훈, 장철훈, 조성란, 안지영 등. 국내에서 분리된 Extended-Spectrum-Lactamase 생성 *Escherichia coli*와 *Klebsiella pneumoniae*의 빈도 및 유형. 대한임상미생물학회지 2003;6:149-55.
- [2] Arlet G, Sanson-le Pors MJ, Rouveau M, Fournier G, Marie O, Schlemmer B, et al. Outbreak of nosocomial infections due to *Klebsiella pneumoniae* producing SHV-4 β -lactamase. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1990;9:797-803.
- [3] Davis J. Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. Science 1994;264:375-82.
- [4] Du Bois SK, Marriott MS, Amyes SGB. TEM- and SHV-derived extended spectrum β -lactamase :Relationship between selection, structure and function. J Antimicrob Chemother 1995;35:7-22.