

# CTX-M형 ESBL 생성 비장티푸스성 살모넬라의 특성

박순호·서일혜·안정열·박필환·김경희·송영희·김정은  
가천의대길병원 진단검사의학과

## Characteristics of CTX-M Type Extended Spectrum $\beta$ -lactamase Producing Non-typhoidal *Salmonella* Isolates

**Background:** Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-producing *Salmonella* have been increasingly reported worldwide. ESBL-producing *Salmonella* is of particular concern since children cannot be treated with quinolones. This study was conducted to determine the phenotypic and genetic characteristics of ESBL-producing *Salmonella* in a tertiary hospital.

**Materials and Methods:** Four clinical ESBL-producing isolates of non-typhoidal *Salmonella* were collected during 2001 to 2009. Antimicrobial susceptibility was determined by disk diffusion test and VITEK-II system. ESBL production was tested by ESBL phenotypic confirmatory test. TEM, SHV, CTX-M1, CTX-M2, CTX-M8, and CTX-M9 type ESBL genes were detected by PCR amplification, and PCR products were subjected to direct sequencing

**Results:** Phenotypic confirmatory test showed that 4 of the 300 non-typhoidal *Salmonella* isolates were ESBL-producing: 3 *S. Enteritidis* and 1 *S. Typhimurium*. All 4 isolates were recovered during the past 1 year period. All 3 *S. Enteritidis* harbored CTX-M-15, while the *S. Typhimurium* harbored CTX-M-14. All CTX-M-15-producing *S. Enteritidis* isolates showed resistance both to cefotaxime and ceftazidime, while the CTX-M-14-producing *S. Enteritidis* were resistant only to cefotaxime.

**Conclusions:** ESBL-producing nontyphoidal *Salmonella* has emerged recently and the type of ESBL has switched from TEM and SHV to CTX-M.

**Key Words:** Legionella pneumophila, Diagnosis, Biomarker, cDNA microarray

Soon-Ho Park, Yiel-Hea Seo, Jeong-Yeal Ahn,  
Pil-Hwan Park, Kyung-Hee Kim, Young-Hee Song and  
Jung-Eun Kim

Department of Laboratory Medicine, Gachon University  
Gil Hospital, Incheon, Korea

Copyright © 2010 by The Korean Society of Infectious Diseases |  
Korean Society for Chemotherapy

Submitted: December 7, 2009

Accepted: January 8, 2010

Corresponding Author : Yiel-Hea Seo, M.D.

Department of Laboratory Medicine, Gachon University  
Gil Hospital, 1198 Guwol-dong, Namdong-gu, Incheon,  
405-760, Korea

Tel: +82-32-460-3074, Fax: +82-32-460-3415

E-mail: seoyh@gilhospital.com

## 서론

비장티푸스성 살모넬라(Nontyphoidal *Salmonella*, NTS)는 전 세계적으로 식품매개 위장관염을 일으키는 중요한 원인균 중 하나이다. 단순 비장티푸스성 살모넬라장염은 항균제 투여가 필요 없으며 대부분의 환자에서 금식과 수액투여를 통한 보존적 치료로 양호한 성적을 보인다. Ampicillin이나 amoxicillin 등의 항균제로 치료하는 경우 균 배출기간이 오히려 길어지고 임상적으로 재발할 가능성이 높으므로

[www.icjournal.org](http://www.icjournal.org)

주의해야 한다. 그러나 패혈증, 뇌수막염 등 합병증이 의심되는 영아나 노인, 암, 당뇨 등 전신질환을 앓고 있는 환자, 면역억제제 치료를 받는 환자 등에서는 항균제 투여가 필요하다(1, 2). 대부분의 살모넬라균은 quinolone, 3세대 cephalosporin, trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT) 등의 항균제에 감수성이 있으나 최근에는 광범위 항균제에 대해 내성을 나타내는 균주들이 보고되었다(3, 4). Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) 생성 살모넬라는 1988년에 처음 보고된 이후 전세계적으로 점차 증가하고 있으며 우리나라에서도 2003년에 처음 보고된 이후 점차 증가 추세에 있다(5, 6). ESBL 생성 살모넬라의 증가는 공중보건학적으로 문제이며 특히 소아에서 침습적인 살모넬라 감염증의 치료제 선택에 어려움을 일으킬 수 있으므로 주의를 요한다(7).

이에 저자들은 2001년부터 2009년 7월까지 한 3차 병원에서 분리된 비장티푸스성 살모넬라를 대상으로 항균제 감수성 결과를 분석하였으며 이 중 ESBL 생성이 의심되는 균주에 대해 ESBL 표현형 및 유전형 특징을 살펴보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 대상 균주

2001년 1월부터 2009년 7월까지 한 3차 병원에서 분리된 300주의 비장티푸스성 살모넬라를 대상으로 후향적으로 연구하였다.

### 2. 균 동정 및 항균제 감수성 검사

균 동정은 전통적인 생화학적 방법 및 Vitek-II GN card (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, France)로 시행하였으며 혈청형은 보건환경연구원(인천, 한국)에서 시행하였다. 디스크 확산법은 Mueller-Hinton (M-H) 한천배지에 Clinical and laboratory standards institute (CLSI)의 지침에 따라 시행하였고(8, 9), 최소억제농도(minimal inhibitory concentrations, MIC)는 미량액체배지희석법을 이용한 자동화기기인 Vitek-II AST-N056 card (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, France)를 사용하였다.

### 3. ESBL 표현형

ESBL 표현형은 대상 균주 중 디스크 확산법에서 ceftazidime  $\leq 22$  mm, aztreonam  $\leq 27$  mm이거나 cefotaxime  $\leq 27$  mm인 경우를 선별하여, cefotaxime 30  $\mu$ g, ceftazidime 30  $\mu$ g, cefotaxime/clavulanic acid 30/10  $\mu$ g, ceftazidime/clavulanic acid 30/10  $\mu$ g를 이용하여 CLSI의 표현형 확인검사를 시행하였다(8, 9).

### 4. 데이터 분석

시험세균을 tryptic soy broth (TSB)에 접종하여 37°C에서 16시간 진탕 배양한 후 배양액 1 mL를 취하여 Accuprep Plasmid Mini Extraction Kit (Bioneer, Alameda, USA)를 사용하여 plasmid를 얻었다. Park 등(10)이 고안한 primer를 이용하여 PCR을 시행하였으며 전기영동으로 PCR 산물을 확인한 후에 코스모(서울, 한국)에 의뢰해 DNA 염기서열을 규명하였고 이를 GenBank 자료와 비교 분석하였다.

## 결과

### 1. 임상적 특징

2001년부터 2009년 7월까지 분리된 비장티푸스성 살모넬라 300 균주 중 4 균주가 ESBL생성 비장티푸스성 살모넬라였으며 모두 2008년 7월 이후에 동정 분리 되었다. 그 중 3 균주는 5세 이하의 소아에서 분리하였고 1 균주는 52세 성인에서 분리하였다. 각 환자의 임상적 특징을 살펴보면 3예의 소아환자는 모두 설사 등의 소화기 증상과 함께 발열이 동반되었으며 특히 1예에서는 대변을 비롯한 혈액과 소변에서도 동일한 살모넬라균이 분리되어 균혈증을 나타냈다. 1예의 성인환자는 알코올 금단증상으로 내원하여 입원 9병일째 처음 시행한 대변 검체에서 비장티푸스성 살모넬라가 동정되었으나 특별한 소화기 증상은 동반되지 않았다. 환자 4예 중 3예에서 10일간 입원하였으며 증상이 호전되어 퇴원하였고 나머지 1예는 외래치료를 호전되었다(Table 1).

### 2. 항균제 감수성 검사 및 ESBL 검사 결과

디스크 확산법을 이용한 항균제 감수성 검사와 MIC 검사에서 4 균주 모두 cefotetan 혹은 ceftaxitin에 감수성을 보이면서 한 개 이상의 3세대 cephalosporin에는 내성을 보였다. 이 중 3 균주는 동일한 항균제 감수성 양상을 나타냈는데 cefotaxime, ceftazidime과 aztreonam의 MIC가 모두의 최소억제농도가 64  $\mu$ g/mL 이상인데 비하여 1 균주는 cefotaxime과 aztreonam은 64  $\mu$ g/mL 이상이였으나 ceftazidime의 MIC는 4  $\mu$ g/mL로 감수성이었다. 4 균주 모두 CLSI의 ESBL 표현형 확인검사에 5 mm 이상의 차이를 보여 양성으로 판정하였다(Table 2).

### 3. ESBL 유전자 PCR 및 염기서열분석 결과

Cefotaxime과 ceftazidime에 모두 내성인 3 균주는 CTX-M-1 cluster 검출을 위한 PCR에 양성이었고, cefotaxime은 내성이나 ceftazidime은 감수성인 1 균주는 CTX-M-9 cluster 유전자 양성이었다. TEM, SHV, CTX-M-2 및 CTX-M-8 PCR에 양성 반응을 보이는 균주는 없었다.

**Table 1.** Clinical Features of the Patients Infected with ESBL-producing Non-typhoidal *Salmonella*

Case No.	Sex/age (years)	Underlying disease	Present illness	Specimens	Hospital day	Serotype
1	M/1.6	None	Fever, diarrhea	st, bl, ur	10days	Enteritidis
2	M/5	None	Fever, diarrhea	st	10 days	Enteritidis
3	M/2	None	Fever, diarrhea	st	OPD	Enteritidis
4	M/52	Alcoholism	None	st	10 days	Typhimurium

M, male; st, stool; bl, blood; ur, urine

**Table 2.** Minimal Inhibitory Concentrations ( $\mu\text{g/mL}$ ) of ESBL Producing Non-typhoidal *Salmonella* Isolates by Vitek-II AST-N056 Card

Case No.	AM	ATM	FEP	CTX	CTT	IPM	CAZ	CIP	PIP	PIP/TAZ	SXT	Bla gene
1	$\geq 32$	$\geq 64$	32	$\geq 64$	$\leq 4$	$\leq 1$	$\geq 64$	$\leq 0.25$	$\geq 128$	$\leq 4$	$\leq 20$	CTX-M-15
2	$\geq 32$	$\geq 64$	32	$\geq 64$	$\leq 4$	$\leq 1$	$\geq 64$	$\leq 0.25$	$\geq 128$	$\leq 4$	$\leq 20$	CTX-M-15
3	$\geq 32$	$\geq 64$	32	$\geq 64$	$\leq 4$	$\leq 1$	$\geq 64$	$\leq 0.25$	$\geq 128$	$\leq 4$	$\leq 20$	CTX-M-15
4	$\geq 32$	$\geq 64$	32	$\geq 64$	$\leq 4$	$\leq 1$	4	$\leq 0.25$	$\geq 128$	$\leq 4$	$\leq 20$	CTX-M-14

AM, ampicillin; ATM, aztreonam; FEP, cefepime; CTX, cefotaxime; CTT, cefotetan; IPM, imipenem; CAZ, ceftazidime; CIP, ciprofloxacin; PIP, piperacillin; PIP/TAZ, piperacillin/tazobactam; SXT, trimethoprim/sulfamethoxazole

3 균주에서 검출된 CTX-M-1 cluster 유전자 모두는 CTX-M-15, 1 균주에서 검출된 CTX-M-9 cluster 유전자는 CTX-M-14와 염기서열이 일치하였다.

## 고찰

살모넬라속 세균은 위장염, 장티푸스, 파라티푸스, 균혈증, 국소 감염증 등 다양한 감염증을 일으킨다. 과거에는 *Salmonella* Typhi가 중요한 병원균이었지만 환경 및 위생상태가 좋아짐에 따라 선진국에서는 거의 박멸되었다. 1980년 이후 비장티푸스성 살모넬라가 증가하고 있다(2, 3).

일반적으로 살모넬라는 다른 장내세균에 비해 항균제 내성률이 낮는데 우리나라의 경우 2004년 발표된 자료에 의하면 ampicillin 내성 28.0%, SXT 내성 4.1%, ciprofloxacin 내성 0.7%, ceftriaxone 내성 0.2%로 보고되었다(3). 그러나 Arlet et al(11)은 1999-2004년 사이에  $\beta$ -lactam 항균제에 대한 내성이 급격하게 증가하였고 2004년까지 광범위 cephalosporin 내성 살모넬라가 동정된 나라는 전세계적으로 43개국에 이른다고 보고하였다. 우리나라에서는 2003년 Lee et al(5)이 TEM-52형 ESBL 생성 비장티푸스성 살모넬라 5예를 보고하였고, 2004년에는 Kim et al(12)이 AmpC  $\beta$ -lactamase 일종인 DHA-1 생성 *Salmonella enterica* serotype Montevideo를, 2005년에는 Yong et al(6)이 CTX-M-14형 *Salmonella enterica* serovar London에 의한 병원 내 감염을 보고하여 우리나라에서도 점차 광범위 cephalosporin에 내성을 나타내는 살모넬라균 분리가 증가하고 있음을 알 수 있다.

현재까지 알려진 ESBL은 150여 가지 이상으로 그 중 살모넬라에서는 CMY-2, TEM, SHV, CTX-M-1 등이 전세계적으로 흔한 것으로 알려졌다. 그러나 특정 국가나 대륙에 따라 좀 더 많이 발생하는 ESBL이 있는데 유럽에는 TEM-52, 아시아에는 CTX-M-14, 아르헨티나에는 CTX-M-2, PER-2, 터키에는 PER-1, 남아프리카에는 TEM-63, 131이 주로 보고되고 있다(11). 예전에는 살모넬라를 비롯한 장내세균에서 TEM과 SHV 형이 전 세계적으로 가장 많았지만, 최근에는 CTX-M형이 현저하게 증가하여 TEM, SHV보다 많이 보고되고 있다(13, 14).

CTX-M형 ESBL은 플라스미드나 염색체의 bla<sub>CTX-M</sub> 유전자에 위치하여 SHV나 TEM 형과 마찬가지로 플라스미드가 매개 하며, 가수분해 기질특이성 및 억제특이성이 TEM 형이나 SHV 형 ESBL과 유사하지만 ceftazidime에 비해 cefotaxime에 대한 가수분해 활성이 상대적으로 강하다(15). 특히, CTX-M-14 생성 균주는 ceftazidime이 cefotaxime에 비해 MIC가 현저하게 낮지만, CTX-M-15 생성

균주는 상대적으로 높은 특성을 보인다(16). CTX-M형은 CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-9, CTX-M-8, CTX-M-25 등 아형으로 5종류가 있으며 이중 살모넬라에서는 앞의 3개 아형이 확인되었다.

살모넬라의 ESBL 효소 아형은 주위환경의 플라스미드나 이동유전요소(mobile genetic element)의 전파에 의해 생성 결정된다고 알려져 있다. 우리나라에서 1999년에 대장균을 대상으로 한 ESBL 조사에서 TEM-52가 가장 흔하였고(17). 2003년 처음 살모넬라에서 검출된 ESBL 역시 TEM-52였다(5). 하지만, 2004년 국내에서 *E. coli*를 대상으로 한 ESBL 조사에서는 과거 가장 흔한 ESBL로 알려진 TEM-52와 SHV-12에 비해 CTX-M형이 현저히 많았는데 CTX-M-15형이 가장 흔하고 그 다음은 CTX-M-14형이라고 하였다(16). 따라서 최근에 분리되는 ESBL 생성 살모넬라는 기존의 TEM, SHV보다는 CTX-M형이 증가할 것으로 생각된다. 본 연구에서도 과거에 많았던 SHV나 TEM 형은 검출되지 않은 반면 최근 증가하고 있는 CTX-M형이 검출되었으며, 그 중에서 3 균주는 CTX-M-15, 1 균주는 CTX-M-14였다. 본 연구에서 검출된 ESBL 살모넬라는 2008년과 2009년 사이에 분리된 것으로 역시 요즘 우리나라에서 주로 분리되고 CTX-M형 ESBL 생성 장내세균과 연관이 있다고 한다.

본 연구에서 분리된 4 균주 중 3 균주는 CTX-M-15 생성 균주로서 cefotaxime과 ceftazidime 모두에서 MIC  $\geq 64 \mu\text{g/mL}$ 를 보인 반면 나머지 1 균주는 CTX-M-14 생성 균주로 cefotaxime은 MIC  $\geq 64 \mu\text{g/mL}$ 였지만 ceftazidime은 MIC  $4 \mu\text{g/mL}$ 로 현저하게 낮은 양상을 보여 이전의 CTX-M형의 아형에 따른 감수성 보고 결과와 일치하는 소견을 보였다(16). CTX-M-14 생성 *Salmonella* Thyphimurium은 국내에서는 첫 번째 보고로 생각된다.

비장티푸스성 살모넬라는 다른 장내세균에 비해 비교적 항생제 내성이 낮았으나 2000년대에 들어서면서부터 광범위 cephalosporin에 내성을 나타내는 균주들이 보고되기 시작하였다. 본 연구에서는 2001년부터 2009년 7월까지 비장티푸스성 살모넬라를 대상으로 분석하여 4 균주의 ESBL 균주를 얻었는데 이 4 균주 모두 최근 1년 사이에 분리된 균주였다. 또한 ESBL 유전형은 과거에 주로 분리되었던 TEM, SHV형은 한 균주도 없었으며 4 균주 모두 전 세계적으로 증가하고 있는 CTX-M형이었다. 따라서 임상미생물 검사실은 기존의 ESBL 생성 장내세균뿐만 아니라 비장티푸스성 살모넬라에서도 ESBL 생성 균주가 분리될 수 있음을 인지하고 이의 검출에 노력해야 하겠다.

## References

1. Hohmann EL. Nontyphoidal salmonellosis. Clin Infect Dis

- 2001;32:263-9.
2. Lee HJ. Salmonellosis. Korean J Clin Microbiol 2001;4:5-10.
  3. Seo S, Lee MA. The serogroup and antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. isolated from the clinical specimens during 6 years in a tertiary university hospital. Korean J Clin Microbiol 2004;7:72-6.
  4. Biedenbach DJ, Toleman M, Walsh TR, Jones RN. Analysis of *Salmonella* spp. with resistance to extended-spectrum cephalosporins and fluoroquinolones isolated in North America and Latin America: report from the SENTRY antimicrobial surveillance program (1997-2004). Diagn Microbiol Infect Dis 2006;54:13-21.
  5. 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.
  6. Yong D, Lim YS, Yum JH, Lee H, Lee K, Kim EC, Lee BK, Chong Y. 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.
  7. Leibovitz E. The use of fluoroquinolones in children. Curr Opin Pediatr 2006;18:64-70.
  8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 18th informational supplement. CLSI Document M100-S18. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008
  9. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 19th informational supplement. CLSI Document M100-S19. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2009
  10. Park Y, Kang HK, Bae IK, Kim J, Kim JS, Uh Y, Jeong SH, Lee K. Prevalence of the extended-spectrum beta-Lactamase and qnr genes in clinical Isolates of *Escherichia coli*. Korean J Lab Med 2009;29:218-23.
  11. 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.
  12. Kim JY, Park YJ, Lee SO, Song W, Jeong SH, Yoo YA, Lee KY. Case report bacteremia due to *Salmonella* enterica serotype Montevideo producing plasmid-mediated AmpC beta-lactamase (DHA-1). Ann Clin Lab Sci 2004;34:214-7.
  13. Coque TM, Baquero F, Canton R. Increasing prevalence of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* in Europe. Euro Surveill 2008;13:pii=19051.
  14. Hawkey PM. Prevalence and clonality of extended-spectrum beta-lactamases in Asia. Clin Microbiol Infect 2008;14 Suppl 1:159-65.
  15. Rotimi VO, Jamal W, Pal T, Sovenned A, Albert MJ. Emergence of CTX-M-15 type extended-spectrum beta-lactamase-producing *Salmonella* spp. in Kuwait and the United Arab Emirates. J Med Microbiol 2008;57:881-6.
  16. Oh CE, Hong JS, Bae IK, Song EH, Jeong SH, Lee KW, Yong DE, Lee JW, Lee WG, Kang JO, Ahn JY, Hong SG, Shin JH, Uh Y, Park YJ, Kim EC, Kwak HS, Woo GJ. Dissemination of CTX-M type extended-spectrum beta-lactamases and emergence of CTX-M-12 in *Escherichia coli*. Korean J Lab Med 2005;25:252-8.
  17. Pai H, Lyu S, Lee JH, Kim J, Kwon Y, Kim JW, Choe KW. Survey of extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: prevalence of TEM-52 in Korea. J Clin Microbiol 1999;37: 1758-63.