□원저 : 임상□

신생아 중환자실에서 extended spectrum β-lactamase를 생성하는 *Klebsiella pneumoniae* 집단 보균 발생의 분자 역학적 조사 및 추적관찰

울산대학교 의과대학 서울아산병원 신생아과, 진단검사의학과*, 감염관리팀†

전누리 · 김미나* · 정재심† · 김양수† · 김애란 · 김기수 · 피수영

Molecular-epidemiologic study on outbreak of colonization by extended spectrum β-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* in neonatal intensive care unit

Nu-Lee Jun, M.D., Mi-Na Kim, M.D.*, Jae-Sim Jeong, R.N.†, Yang-Soo Kim, M.D.†
Ellen Ai-Rhan Kim, M.D., Ki-Soo Kim, M.D. and Soo-Young Pi, M.D.

Division of Neonatology, Department of Pediatrics, Department of Laboratory Medicine, Department of Hospital Infection Control†, Asan Medical Center, University of Ulsan College of Medicine, Seoul, Korea*

Purpose : The aims of this study included assessment of molecular-epidemiologic features during an outbreak of colonization of extended spectrum β-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae*(ESBL-KPN) and re-evaluation of their colonized status one year later.

Methods : Rectal swab cultures for ESBL-KPN from all hospitalized infants and newly admitted infants were obtained during the outbreak of colonization from July to December, 2000. The pattern of XbaI-digested chromosomal DNA of isolates were analyzed by pulsed-field gel electrophoresis. Weekly rectal swab cultures were obtained during the outbreak until patients were either discharged or decolonized. Patients discharged after being colonized had follow up stool cultures a year later.

Results : A total of 80 patients(28.5 percent) were colonized. Of those, 53 whose pulsed-field gel electrophoresis(PFGE) was possible only once, were ESBL-KPN grouped into six cluster clones and 10 single clones : 28 patients(52.8 percent) were colonized with type A, the most common clone, followed by type B in 11 patients(20.8 percent). Of those 12 patients in whom serial PFGE was done more than twice, type A was predominant. Narrowed-down in strains occurred from types A, B, C, D and three single clones at initiation of the study into types A and type B after three months of strict infection control. Among 75 patients(93.7 percent) who were sent home after being colonized, 30 patients were re-called for stool cultures a year later : All of them were decolonized.

Conclusion : This study demonstrates the importance of infection control as the diversity of ESBL-KPN strains could be narrowed into fewer strains. Colonization of ESBL-KPN could be reversed upon return to the community. **(Korean J Pediatr 2006;49:150-156)**

Key Words : Extended spectrum β-lactamase producing *K. pneumoniae*, Pulsed-field-gel-electrophoresis, Colonization, Neonatal intensive care unit

서 론

β-lactam 항균제는 감염증 치료에 가장 흔히 사용되고 있다. 근래 분리되는 그람 음성 간균 중에는 ampicillin 등 β-lactam 항균제에 대한 내성균이 많은데[1, 2], 이들은 broad-spectrum β-lactamase를 생성하여 penicillin제제나 1세대 cephalosporin

접수 : 2005년 9월 1일, 승인 : 2005년 10월 25일
책임저자 : 김애란, 울산의대 서울아산병원 신생아과
Correspondence : Ellen Ai-Rhan Kim, M.D.
Tel : 02)3010-3382 Fax : 02)3010-6978
E-mail : arkim@amc.seoul.kr

제제에 내성을 나타낸다. 이러한 내성균에 의한 감염 치료를 위해 1980년대 초 3세대 cephalosporin제제인 cefotaxime과 plasmid-mediated β-lactamase에 안정한 항균제도 임상에서 널리 사용되어 왔다[3]. 그러나, 1980년대 중반부터 extended-spectrum β-lactamase(ESBL)를 생성함으로서 이러한 항균제에 내성인 균주가 출현하였으며 이후 여러 나라에서 3세대 cephalosporin에 내성인 그람 음성균에 의한 집단 발생이 보고된 바 있으며[4-6], 특히 *Klebsiella pneumoniae*는 신생아 병원 감염의 중요한 원인균 중 하나이다.

우리나라에서도 임상검체에서 ESBL 생성 *K. pneumoniae* 분리의 현저한 증가가 보고된 바 있으나[7] 그 감염의 역학에 대한 보고는 드물며[8, 9], 외국보고에서 ESBL 생성 *K. pneumoniae*에 의한 신생아 중환자실의 집단 감염의 보고가 있으나[10-14] 국내에서의 보고는 미약한 상태이다[9, 15]. 특히 ESBL 생성 *K. pneumoniae*는 대변내 균이 장착되어서 입원 환아들간에 집단 감염을 일으킬 수 있어서 입원 환아들의 보균상태를 파악하는 것은 감염관리에 있어서 매우 중요하나, 아직까지 ESBL 생성 *K. pneumoniae*에 의한 집단 보균 발생과 그 역학에 대해서는 보고된 바 없다.

2000년 6월과 7월까지 서울아산병원 신생아 중환자실에서 ESBL 생성 *K. pneumoniae*에 의한 패혈증이 집단 발생하여 전체 환아에 대한 보균 상태를 파악하고 감염 관리를 위해 감시배양을 시행하였다. 당시 집단 보균 상태임을 발견하여 보균자에 대한 격리를 시행한 결과 집단 보균을 해결할 수 있었으나 대부분의 환아가 보균 상태로 퇴원하였다. 이에 저자들은 집단 보균 발생시 분리된 ESBL 생성 *K. pneumoniae*의 분자 역학적 특징과 보균 환아들의 추적관찰 결과를 알아보고자 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

2000년 7월 28일부터 12월 30일까지 신생아 중환자실 입원 환아를 대상으로 직장내 도말법으로 감시배양검사를 시행해서 보균이 확인된 80명을 대상으로 후향적 고찰을 하였다. 감시배양검사는 재원 환아들에서 1주 간격으로 시행하였고, 신환은 입원 당일에 시행하였다.

2. *K. pneumoniae*의 분리 및 항균제 감수성 검사[9, 16]

보균자 검사는 cefotaxime 10 μg/mL을 함유한 MacConkey 배지에 직장내 도말로 채취한 검체를 접종하여 35℃에서 24-48시간 동안 배양한 후 MIO(Motility, Indole, Ornithine)배지와 TSI(Triple Sugar Iron)배지, 1 μg/mL cefpodoxime well을 포함하고 있어서 ESBL을 민감하게 선별하는 특징이 있는 Micro-scan Neg Combo Panel Type 21(Dade Behring, Sacramento, Califonia, USA)을 이용하여 균동정을 하였다.

대상균주들에 대하여 Micro-scan system을 이용하여 micro-broth dilution법에 의한 최소억제농도(minimal inhibitory concentration, MIC)를 측정하였다. 사용한 항균제로는 amikacin, ampicillin, aztreonam, cefazolin, cefotaxime, cefoxitin, ceftazidime, ceftizoxime, ceftriaxone, cefuroxime, ciprofloxacin, gentamicin, imipenem, piperacillin, ticarcillin/clavulanic acid, ticarcillin, tobramycin, trimethoprim/sulfamethoxazole으로 18가지였다.

3. Pulsed-field gel electrophoresis(PFGE)[9]

역학적 조사를 위해 혈청형, 생물형, bacteriocin형, phage형, 항균제 감수성 양상, plasmid profile, 염색체 DNA의 제한효소 절단 양상 등의 방법들이 사용되는데, 특히 제한효소에 의하여 절단된 염색체 DNA의 양상을 PFGE하여 분석하는 방법은 다른 방법에 비하여 해상도, 분별력 및 재현성이 우수한 것으로 밝혀졌다.

대상균주를 혈액 한천배지에 접종하여 계대배양한 후 한 개의 집락을 따서 brain-heart infusion(BHI) broth(Difco, Detorit, Michigan, USA) 5 mL에 접종하여 16-18시간 배양하였다. 다음날 배양액을 4℃에서 원심분리한 후, 찬 PIV buffer(10 mM Tris, 1.0 M NaCl) 5 mL을 가하고 다시 4℃에서 원심분리하여 균수가 $2-3\times10^9$/mL이 되도록 찬 PIV buffer에 재부유하였다. 1.3% InCert agarose(low melting temperature, FMC no.50121 : FMC, Hurgules, Califonia, USA)와 균 부유액을 300 μL씩 혼합한 후, 찬 plug mold에 100 μL씩 분주하여 얼음 속에서 30분간 굳혔다. Lysozyme(BM no.107255) 1 mg/mL과 RNase가 포함된 용해용액(6 mM Tris, 1 M NaCl, 100 mM EDTA, 0.5% Brij-58, 0.2% sodium deoxychlolate, 0.5% sodium lauroyl sarcosine) 10 mL 속에 굳어진 plug를 넣고 37℃에서 부드럽게 진탕하면서 24시간 방치하였다. 다음날 ESP용액[0.5 M EDTA, 10% sodium lauroyl sarcosine, proteinase K(sigma no.P-4914) 100 μg/mL] 4 mL로 교환 후 50℃에서 48시간 진탕하면서 방치하였다. 48시간 후 1×TE(10 mM Tris, 0.1 mM EDTA) 10 mL로 37℃에서 밤샘 방치한 후 다음날 2시간씩 2번 더 TE를 새로 갈아주었다. 각 plug당 제한효소 buffer 240 μL에 XbaI(Boehringer Mannheim no.674265) 20 U를 첨가하여 37℃에서 24시간 처리한 후 ES buffer(0.5 M EDTA, 10% sodium lauroyl sarcosine) 1 mL을 넣고 50℃에서 2시간 두었다. 1% SeaKerm agarose(high melting temperature; FMC no.50072)로 running gel을 만들어 미리 2시간 정도 전기영동시킨 다음, well에 plug를 넣고 GenPath system (Bio-rad, Hurgules, Califonia, USA)으로 초기 pulse 2초, 후기 pulse 17초, 전압 6 volts, 14℃에서 17시간 전기영동하였다. 크기 지표(size marker)는 lambda ladder(NEB no.340)를 사용했다. 전기영동 후 1 μg/mL ethidium bromide 용액으로 30분간 염색하고, 세척한 후, 자외선 하에 사진을 찍었다.

PFGE 분석은 염색체 유전자 분획의 양상을 크기 지표를 기준으로 각 균주와 상호 비교하여 분류하였다. 즉 각 균주의 염색체 DNA 분획의 위치와 수에 따라 형을 정하였는데, 가장 큰 분획의 분자량에 따라 알파벳순으로 하였다. 염색체 유전자의 제한효소 작용부위에 점돌연변이나 유전자의 삽입 또는 결손 등의 유전자 변이현상이 있으면 제한효소 처리시 2개 또는 3개의 유전자 분획이 차이가 있는데 이를 'closely related'라 하고, 두 번의 유전자 변이현상이 발생하여 4개에서 6개의 분획이 차이가 있게 되는 것을 'passively related'라고 하였다. 이러한 두 변이형은 균주를 오랜 기간동안 반복 배양하거나 동일 환자에서 여러 번 분리된 균주에서 관찰할 수 있는 현상으로 유전적으로 동일한 클론의 아형(subtype)으로 간주할 수 있다.

4. 감염관리

신생아 중환자실의 모든 입원환자와 의료진에 대한 감시배양검사를 지속적으로 시행하여 보균자를 찾도록 하였으며, 감염원을 추적하고자 신생아 중환자실내 환경 배양검사를 시행하였으며, *K. pneumoniae*에 감염된 환자, 보균환자 및 보균의료진을 신생아 중환자실내 일정 장소로 코호트 하였다. 접촉주의 등의 감염 관리 지침을 강화하여 업무 전에 베타딘으로 손씻기를 철저히 하며, 환자에게 침습적 수기를 시행하거나 기저귀와 같은 오염 가능성이 있는 검체를 취급 시에는 손을 씻은 후 장갑과 가운을 착용하도록 하였다.

결 과

1. ESBL 생성 *K. pneumoniae* 보균자 조사

2000년 7월 28일부터 12월 30일까지 감시배양기간 동안 신생아 중환자실에 입원했던 환아 280명 중 80명(28.5%) 환아에서 보균이 확인되었고, 이들 중 5명(6.3%)에서 퇴원시 음성이 확인되었다. 신생아 중환자실 의료진 62명 중에서는 한명에서 보균이 확인되었고, 추적검사상 음성이 확인되었다. 신생아 중환자실 환경배양검사를 실시하였으나 모두 음성이었다.

2. 항균제 감수성 검사

보균이 확인된 80명 중 45명에서 분리된 68균주에 대한 항균제 감수성검사가 시행되었는데 ampicillin, ampicillin/sulbactam, aztreonam, cefotaxime, cefoxitin, cefpodoxime, ceftazidime, ceftriaxone에는 모든 균주가 내성을 나타냈으며, imipenem에는 100%(68/68) 감수성을 보였다. 그 외 trimethoprim/sulfamethoxazole에는 88.2%(60/68)에서 감수성을 보였고, amikacin에는 73.5%(50/68), ciprofloxacin에는 55.6%(38/68), piperacillin/tazobactam에는 30.9%(21/68) 감수성을 보였다(Table 1).

3. PFGE에 의한 ESBL 생성 *K. pneumoniae* 균주의 염색체 유전자 분획의 양상

보균이 확인된 80명 중 65명에서 분리된 79균주에 대해 PFGE를 시행한 경과 염색체 유전자 분획은 300에서 45 kb까지 분포하였고, 분획 수는 15-25개였다. 각 균주의 염색체 DNA 분획의 위치와 수에 따라 형을 결정하였다(Fig. 1).

PFGE를 시행한 65명 중 일회의 PFGE를 시행한 53명에서 분리된 균주의 염색체 유전자 분획양상은 집단 클론(cluster clone) 6가지, 서로 다른 단독 클론(single clone) 10가지형으로 분류되었고, 집단 클론 중 A형이 28명(52.8%)으로 가장 많았고, B형이 11명(20.8%), C, D, F, G형이 각각 1명(1.9%)이었다(Fig. 2). 2회 이상 검사를 시행한 12명 중 초기검사에서는 A형의 아형인 A1을 포함해서 A형이 10명(83.3%)으로 월등히 많았고, B형은 2명(16.7%)이었으며, 추적검사에서 분획양상이 변화된 경우는 6명(50%)이었고, 이들은 A나 B로 변화된 경우가 각각 2명(33.3%)이었다. 변화되지 않은 6명(50%)은 모두 A 또는 A1형으로 남아 있어서 최종적으로 남아 있는 것 중 A형이 우세하였다(Table 2).

4. 월별 PFGE 분획 양상의 변화

월별 PFGE 양상은 2000년 7월 28일 처음 검사시 집단 클론 A, B, C, D형 4가지와 단독클론 3가지형이었고, 8월에는 집단클론 A, B, F형과 단독클론 3가지형으로 초기 검사와 비슷한 양상을 보였다. 감염관리로 보균 환아의 코호트와 손씻기 등의 접촉주의 및 표준주의(standard precaution)를 철저히 시행하여, 10월이 되면서는 집단클론 A형이 우세해지기 시작했고, 11월부터는 집단클론 A, B 두 가지형으로 나타나는 양상을 보였고, A형이 훨씬 더 우세하였다(Fig. 3).

Table 1. Antibiogram of Extended-Spectrum β-lactamase Producing *Klebsiella pneumoniae*

Antibiotics	Number of isolates susceptible(%)(n=68)
Imipenem	68(100.0)
Trimethoprim/sulfamethoxazole	60(88.2)
Amikacin	50(73.5)
Ciprofloxacin	38(55.6)
Piperacillin/tazobactam	21(30.9)
Tobramycin	8(11.8)
Gentamicin	7(10.3)
Ampicillin/sulbactam	0(0.0)
Ampicillin	0(0.0)
Aztreonam	0(0.0)
Cefoxitin	0(0.0)
Cefotaxime	0(0.0)
Cefpodoxime	0(0.0)
Ceftazidime	0(0.0)
Ceftriaxone	0(0.0)

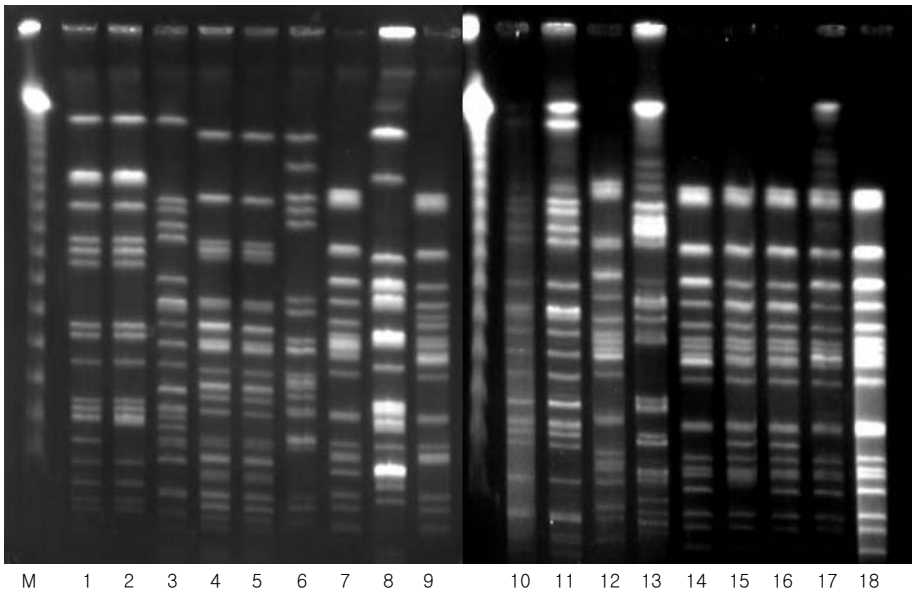

Fig. 1. Chromosomal DNA patterns of extended-spectrum β-lactamase-producing *K. pneumoniae* isolated from colonized patients. Chromosomal DNA were digested with XbaI, and were separated by pulsed-field gel electrophoresis. Lanes 1 and 2 : genotype C, Lane 3 : genotype G, Lanes 4 and 5 : genotype D, Lane 6 : genotype F, Lanes 7, 9, 12, 14 to 18 : genotype A, Lane M : molecular size marker, lambda concatemer.

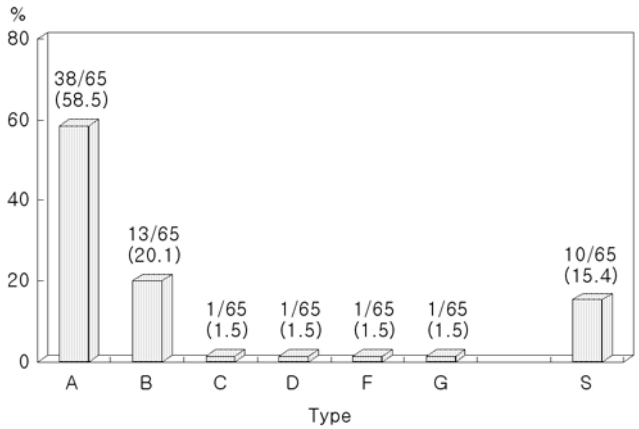

Fig. 2. Distribution of genotypes of XbaI-digested chromosomal DNA for *K. pneumoniae* isolates.

5. ESBL 생성 *K. pneumoniae* 보균자 추적검사 결과

ESBL 생성 *K. pneumoniae*가 보균된 상태로 퇴원한 75명(93.7%) 중 추적관찰이 가능했던 30명을 대상으로 퇴원 후 21.7±1.4개월째 대변 배양검사를 시행한 결과 모두 음성이 확인되었다.

고 찰

항균제의 내성을 나타내는 여러 기전 중 가장 중요한 것은 β-lactamase에 의한 약제의 가수분해이다[17]. 초기의 β-lactamase는 penicillin제제만을 가수분해하는 것이었으나 새로운 β-lactam 항균제가 사용되면서 새 항균제를 분해하는 효소들이 생겼다[18].

Table 2. Changes in Pulsed-Field Gel Electrophoresis Genotype

Case	Genotype
1	A→A
2	A→A→A
3	A→A→A
4	A→A
5	A→A
6	A1→A1
7	A→B
8	A→B
9	A→D
10	A→S
11	B→A
12	B→A

1980년대 중반부터 이러한 항균제에 내성인 ESBL을 생성하는 균주가 출현하였는데, ESBL은 cefotaxime, ceftazidime을 비롯한 oxyimino-β-lactam 항생제와 aztreonam을 분해하여 내성을 일으키는 효소로서 기존의 penicillin제제와 1세대 cephalosporin에도 내성을 보인다. 이러한 ESBL은 크게 둘로 나누면 TEM 및 SHV-유형의 ESBL과 TEM 및 SHV-유형이 아닌 ESBL로 나눌 수 있다[9]. TEM 및 SHV-유형 효소들은 흔히 발

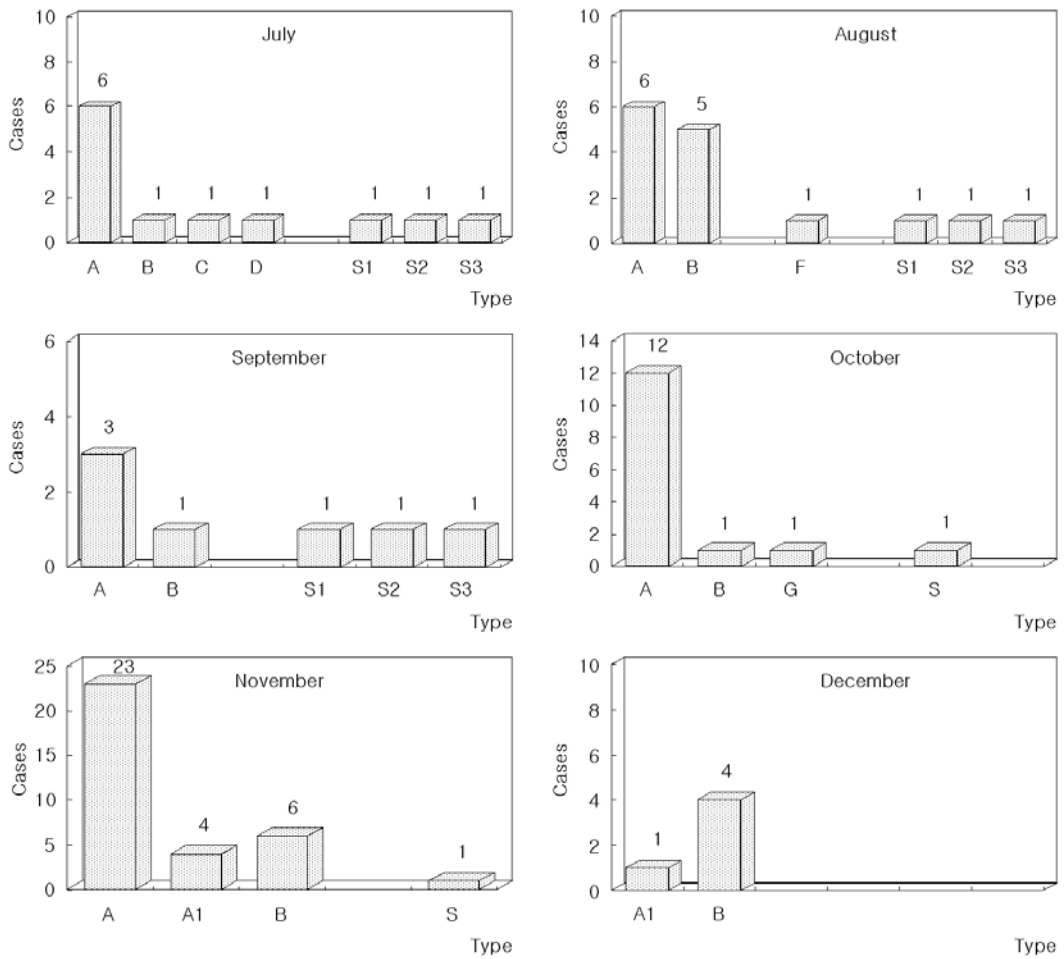

Fig. 3. Monthly distribution of pulsed-field gel electrophoresis genotypes.

견되는 plasmid-mediated β-lactamase(TEM-1 & SHV-1) 유전자의 점돌연변이(point mutation)에 의해 발생하며[19], TEM 및 SHV-유형 ESBL은 cephamycin과 imipenem은 분해하지 못하며 특징적으로 clavulanic acid, sulbactam 및 tazobactam 등의 β-lactamase 억제제에 의해 억제된다[20, 21]. TEM 및 SHV-유형이 아닌 ESBL 중 plasmid-mediated AmpC 유형 ESBL은 그람 음성 간균에 존재하는 chromosomal AmpC 유전자가 플라스미드에 옮겨져서 발생되었을 것으로 생각되고, 이러한 ESBL은 oxyimino-cephalosporin외에 cefoxitin 등 cephamycin에도 내성을 일으키며 β-lactamase 억제제에 의해 억제되지 않는다[22]. 본 연구에서 보균 균주 중 일부 균주의 항균제 감수성 결과는 imipenem에서만 모두 감수성을 보였고, tazobactam에는 일부(30.9%)에서만 감수성을 보였으며, cephamycin계열인 cefoxitin을 포함한 cephalosporin과 aztreonam, sulbactam에는 모두 내성을 보여서 유형을 확인하지는 않았지만 TEM 및 SHV-유형이 아닌 ESBL이 다수였을 것으로 추정된다.

국내에서 ESBL 생성균주는 1990년대 후반에 급증하여, 1988년 *K. pneumoniae*의 78%가 cefotaxime에 감수성이 있었으나, 1995년에는 46%만이 감수성을 나타내었으며 특히 중환자실에서 분리되는 균주 중에서 감수성 비율이 현저히 낮았다고 보고하였다[8]. 본원에서도 1996년 1월부터 7월까지 혈액배양에서 분리된 *K. pneumoniae*의 40.4%가 ESBL 생성 균주이며 그 대부분이(91.7%) 병원감염의 원인균이었다[23].

ESBL 생성 *K. pneumoniae*에 의한 신생아 중환자실의 집단 발생의 보고가 1990년대 초반부터 보고되고 있고[10-14], 국내에서는 1996년에 처음 보고된 후[9] 1997년에 Hwang 등[15]에 의해 집단 발생이 보고되어서 이시기에 국내 신생아 중환자실에 ESBL 생성 *K. pneumoniae*가 출현하기 시작하였음을 알 수 있다.

*K. pneumoniae*는 신생아 중환자실에서 흔한 병원균으로 주된 감염원은 신생아의 체내 균집락화로 알려져 있다[13, 24]. 가장 흔한 균집락 부위는 위장관내의 직장이고, 무균적 처치 및 장관내 오염 제거 등을 이용하여 다제내성 *K. pneumoniae*에 의한 집단 발생을 예방하고 치료하기 위해서는 장관 내 보균자를 찾아내는 것이 필요하다. ESBL 생성 *K. pneumoniae*의 집단 발생의 감염원을 추적하고자 입원환아에서 보균을 확인한 보고[9]가 있으나 한시적인 검사였고, 지속적인 감시배양을 통해서 집단 보

균을 보고한 경우는 없었다. 본 연구에서 2000년 6월 11일부터 7월24일까지 ESBL 생성 *K. pneumoniae*에 의한 패혈증이 5례에서 발생했고 감염원을 찾고자 지속적으로 의료진 및 전체 입원환아의 감시 배양과 환경 배양검사를 한 결과 전체 입원 환아 중 80례(28.5%)에서 보균이 확인되었고, 이들 중 두 명에서 ESBL 생성 *K. pneumoniae*에 의한 패혈증이 발생했는데 한 명은 기관내 흡인물에서 균이 분리되다가 패혈증이 생겼고, 패혈증이 치료된 후에도 지속적으로 직장 도말 검체에서 보균이 확인된 경우이고, 다른 한 명은 보균이 먼저 확인되었고 후에 패혈증이 발생한 경우였다. 신생아 중환자실의 특성상 의료진의 손을 통해 전파 될 가능성이 크다고 되어있는데[24] 본 연구에서도 환경 배양검사에서는 모두 음성이 확인되었고, 의료진에서는 62명 중 한 명에서 보균이 확인되었으나, 보균자의 대변에 오염된 손을 통해서 주변의 기기 및 다른 환아로 전파된 것으로 생각된다.

ESBL 균주의 확산은 항균제의 사용을 어렵게 할 뿐 아니라 내성균주의 병원내 감염의 가능성으로 인해 역학적 조사를 필요로 하게 되지만 실제로 일부 집단 발생에 대한 역학적 조사[9, 15]나 다년간 ESBL 생성 *K. pneumoniae*의 분리 추이를 보기 위한 역학적 분석[8]외에는 집단 감염의 주 감염원인 보균자에 대한 분자 역학적 조사는 없는 상태이다. 본 연구에서는 역학적 조사를 위해 혈청형, 생물형, 박테리오신형, 파아지형, 항균제 감수성 양상, 플라스미드 윤곽(profile) 등의 방법에 비해 해상도, 분별력 및 재현성이 우수한 것으로 밝혀진[25] 제한효소에 의하여 절단된 염색체 DNA의 양상을 PFGE하여 분석하였다. 다년간 ESBL 생성 *K. pneumoniae*의 분리 추이를 PFGE 방법으로 분석했을 때[8] 대부분의 중환자실 환자의 감염은 소수의 클론에 의함을 알 수 있었다고 하였는데, 본 연구에서도 일회의 PFGE를 시행했던 경우에도 집단 클론 중 A형이 가장 많았고, 2회 이상 PFGE를 추적 검사했던 경우에도 최종적으로 남아 있는 RUT 중에는 A형이 가장 많았으며, 월별 양상에서도 초기 검사에서 다양한 유형의 균주가 보균되었다가 후기 검사에서는 A형이 우세했던 것으로 보아 집단 보균을 일으킨 유형 중 주 집단 클론은 A형이었음을 알 수 있었다.

ESBL 생성 *K. pneumoniae*의 신생아 중환자실내에서의 보균 상태를 파악하고 교차 감염을 예방하기 위해서 지속적인 감염 관리 정책의 필요성을 주장해왔는데[26] 균주의 전파가 주로 기구나 사람의 손을 오염시키므로 이루어지므로 손씻기를 강화하고 가운 입기 및 코호트를 시행하면 감염의 전파를 막을 수 있을 것으로 보았다. 본 연구에서도 감염된 환아 및 보균환아를 다른 곳으로 코호트하고 의료진의 손씻기 및 가운 입기 등 접촉주의를 철저히 시행하였다. 이러한 감염관리를 하면서 다양한 클론의 균주에 의한 집단 보균 상태는 단일 클론으로 좁혀지기는 했으나, 대부분의 환아(93.7%)가 보균된 상태로 퇴원을 하였고, 보균 상태가 지역사회에서는 어떻게 변화하는지 추적 검사한 보고가 없는데, 본 연구에서 추적 관찰이 가능한 환아를 대상으로 대변 배양검사를 실시했을 때 모두 음성으로 나왔으며, ESBL 생성 *K. pneumoniae*에 의한 보균 상태는 신생아 중환자실내에 입원기간 중에는 거의 지속되지만, 지역 사회로 복귀하면 전부 해제되는 것으로 보이므로, 보균 환아들의 입·퇴원 관리에 더 큰 주의가 필요할 것으로 생각되었다.

결론적으로 본 연구는 신생아 중환자실에서의 ESBL 생성 *K. pneumoniae*에 의한 집단 보균 발생의 분자 역학 조사 및 이들의 추적 검사를 한 처음 보고이고, 역학조사 결과 다양한 클론의 균주에 의한 집단 보균상태는 감염관리를 하면서 단일 클론으로 좁혀지는 양상을 보였고, 집단 보균과 관련된 주 유형은 A형이었음을 알 수 있었다. ESBL 생성 *K. pneumoniae*에 의한 보균상태는 중환자실내에 입원하는 동안에는 거의 지속되는 것으로 보이고, 지역사회로 복귀한 뒤 주변 구성원으로 균의 전파가 이루어지는지 확인할 수는 없었으나 보균자들의 보균상태는 모두 해제되는 것으로 보인다.

요 약

목 적 : 2000년 6월과 7월에 본원 신생아 중환자실에서는 ESBL 생성 *K. pneumoniae*에 의한 패혈증이 집단 발생하여 전체 환아에 대한 보균 상태를 파악하고 감염관리를 위해 감시배양을 실시하였다. 당시 집단 보균 상태임을 발견하여 보균자에 대한 격리를 실시한 결과 집단보균을 해결할 수 있었으나 대부분의 환아가 보균 상태로 퇴원하였다. ESBL 생성 *K. pneumoniae*는 대변 내 균이 장착되어서 입원 환아들간에 집단 감염을 일으킬 수 있으며, 이러한 균주에 의한 집단감염은 치료와 예후에 중요한 인자로 작용될 것으로 생각된다. 이에 저자들은 집단보균 발생시 분리된 ESBL 생성 *K. pneumoniae*의 분자 역학적 특징과 보균 환아들의 추적관찰 결과를 알아보고자 본 연구를 시행하였다.

방 법 : 2000년 7월 28일부터 12월 30일까지 입원환아를 대상으로 직장내 도말법으로 감시배양검사를 시행하였다. 감시배양검사는 재원환아들에서 1주 간격으로 시행하였고, 신환은 입원 당일에 시행하였다. 균주의 형별 검사를 위해서 Pulsed-field gel electrophoresis(PFGE)를 시행하였고, 보균 상태로 퇴원했던 환아들은 외래에서 대변 배양검사로 추적 관찰하였다.

결 과 : 감시 배양기간 중 총 80명(28.5%)의 환아에서 보균이 확인되었고, 퇴원시 5명(6.3%)에서 음성이 확인되었다. PFGE를 시행한 65명의 타이핑 결과, 일회의 PFGE를 시행한 53명에서 분리된 균주의 염색체 유전자 분획양상은 집단클론 6가지, 단독클론 10가지형으로 분류되었고, 집단 클론 중 A형이 28명(52.8%)으로 가장 많았고, B형이 11명(20.8%), C, D, F, G형이 각각 1명(1.9%)이었다. 2회 이상 검사를 시행한 12명 중 초기검사에서는 A형이 10명(83.3%)으로 월등히 많았고 B형은 2명(16.7%)이었으며, 추적검사에서 분획 양상이 변화된 경우는 6명(50%)이었고, 이들은 A나 B로 변화된 경우가 각각 2명(33.3%)이었다. 변화되지 않은 6명(50%)은 모두 A형으로 남아 있었다. 월별 PFGE 양상은 처음 배양시 집단클론 A, B, C, D형 4가지와 단

독클론 세 가지형이었으나 감염 관리를 하면서 11월부터 집단클론 A, B 두 가지형으로 나타나는 양상을 보였고, A형이 더 우세하였다. 보균된 상태로 퇴원한 75명 중 외래 추적관찰이 가능했던 30명을 대상으로 대변 배양검사를 시행한 결과 모두 음성이 확인되었다.

결 론 : 다양한 클론의 균주에 의한 집단보균 상태는 감염 관리를 하면서 단일 클론으로 변화하는 양상을 보였고, A형이 우세한 것으로 보아 집단 보균을 일으킨 유형 중 주 집단 클론은 A형이었음을 알 수 있었다. ESBL 생성 *K. pneumoniae* 보균 상태는 중환자실내에 입원기간 중에는 거의 지속되지만, 지역사회로 복귀하면 전부 해제되는 것으로 보인다.

References

1) Neu HC. The crisisin antibiotic resistance. Science 1992;257:1064-73.
2) Lee KW, Chong YS, Kwon OH, Park HS, Kim JM. Antibiogram of bacteria isolated from clinical specimens(1988-1992). J Korean Soc Chemotheraphy 1993;11:158-68.
3) 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.
4) Johnson AP, Weinbren MJ, Ayling-Smith B, Du Bois SK, Amyes SGB, George RC. Outbreak of infection in two UK hospitals caused by a strain of Klebsiella pneumoniae resistant to cefotaxime, and ceftazidime. J Hosp Infect 1992;20:97-103.
5) 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 beta-lactamase. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1990;9:797-803.
6) Quinn JP, Miyashiro D, Sahm D, Flamm R, Bush K. Novel plasmid-mediated β-lactamase(TEM-10) conferring selective resistance to ceftazidime and aztreonam in clinical isolates of Klebsiella pneumoniae. Antimicro Agent Chemoth 1989;33:1451-6.
7) Lee KW, Cho SR, Lee CS, Chong YS, Kwon OH. Extended broad-spectrum β-lactamase producing Escherichia coli and klebsiella pneumoniae. Infection 1994;26:341-8.
8) Jeong SH, Song XX, Shin HB, Lee KW, Chong YS, Kwon OH, et al. Epidemiological study on extended-spectrum β-lactamase producing klebsiella pneumoniae infections by pulsed-field gel electrophoresis. Infection 1996;28:405-12.
9) Lee SH, Jeong JS, Pai HJ, Nah J, Park SJ, et al. Outbreak of nosocomial infection caused by klebsiella pneumoniae producing extended spectrum β-lactamase in a neonatal intensive care unit. J Korean Soc Nosocomial Inf Control 1997;2:13-28.
10) Bauernfeind A, Rosenthal E, Eberlein E, Holley M, Schweighart S. Spread of Klebsiella pneumoniae producing SHV-5 beta-lactamase among hospitalized patients. Infection 1993;21:18-22.
11) Meyer KS, Urban C, Eagan JA, Berger BJ, Rahal J. Nosocomial outbreak of Klebsiella infection resistant to late-generation cephalosporins. Am Intern Med 1993;119:353-8.
12) Brostrom C, Sonnerborg A, Sallberg M. International inter and intrahospital patient spread of a multiple antibiotic resistant strain of Klebsiella. J Infect Dis 1995;171:511-3.
13) Jennifer R, Sharon H, Gillian E, Gwendolyn G, Dianne D, Peter J, et al. Outbreak of extended spectrum β-lactamase producing Klebsiella pneumoniae in a neonatal unit. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 1999;80:F64-8.
14) Macrae MB, Shannon KP, Rayner DM, Kaiser AM, Hoffman PN, French GL. A simultaneous outbreak on a neonatal unit of two strains of multiple antibiotic resistant Klebsiella pneumoniae controllable only by ward closure. J Hosp Infect 2001;49:183-92.
15) Hwang MH, Lee HK, Kim HJ, Min YS, Park KB, Park JS, et al. Clinical and molecular-biologic study of extended spectrum β-lactamase producing Klebsiella pneumoniae in a neonatal intensive care unit. J Korean Soc Neonatol 2001;8:25-32.
16) Kang YH, Choi SJ, Hwang SH, Cho YW, Kim DH, Kim MN, et al. Evaluation of MicroScan Neg Combo Panel Type 21 to detect ESBL. J Korean Clin Microbiol 1999;2:158-66.
17) Davis J. Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. Science 1994;264:375-82.
18) Bush K. Characterization of β-lactamases. Antimicrob Agents Chemother 1989;33:259-63.
19) Livermore DM. β-lactamases in laboratory and clinical resistance. Clin Microbiol Rev 1995;8:557-84.
20) Jarlier V, Nicolas M-H, Fournier G, Philippon A. Extended broad-spectrum β-lactamase conferring transferable resistance to newer β-lactam agents in Enterobacteriaceae : hospital prevalence and susceptibility pattern. Rev Infect Dis 1988;10:867-78.
21) Fantin B, Pangon B, Potel G. Activity of sulbactam in combination with ceftriaxone in vitro and in experimental endocarditis caused by Escherichia coli producing SHV-2-like β-lactamase. Antimicrob Agents Chemother 1990;34:581-6.
22) Bauernfeind A, Stemplinger I, Jungwirth R, Wilhelm R, Chung Y. Comparative characterization of the cephamycinase blaCMY-1 gene and its relationship with other β-lactamase genes. Antimicrob Agents Chemother 1996;40:1926-30.
23) Lee SY, Lee SH, Pai CH. Detection of extended-spectrum β-lactamase in Klebsiella pneumoniae. J Korean Clin Pathol 1997;17:1076-88.
24) French GL, Shannon KP, Simmons N. Hospital outbreak of Klebsiella pneumoniae resistant to broad-spectrum cephalosporins and beta-lactam-beta-lactamase inhibitor combinations by hyperproduction of SHV-5 beta-lactamase. J Clin Microbiol 1996;34:358-63.
25) Poh CL, Yap SC, Yeo M. Pulsed-field gel electrophoresis for differentiation of hospital isolates of Klebsiella pneumoniae. J Hosp Infect 1993;24:123-8.
26) Coovadia YM, Johnson AP, Bhana RH, Hutchinson GR, George RC, Hafferjee IE. Multiresistant Klebsiella pneumoniae in a neonatal nursery : the importance of maintenance of infection control policies and procedures in the prevention of outbreak. J Hosp Infect 1992;22:107-205.