

## 접합 가능한 다제내성 녹농균의 출현

이미영\*

대전과학기술대학교 임상병리과

Received: August 16, 2023 / Revised: September 17, 2023 / Accepted: October 5, 2023

### Emergence of Conjugative Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*

Miyoung Lee\*

Department of Biomedical Laboratory Science, Daejeon Institute of Science and Technology, Daejeon 35408, Republic of Korea

The emergence and spread of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* (MRPA) have become a serious problem worldwide. The involvement of metallo- $\beta$ -lactamases (MBLs) in inducing carbapenem resistance is particularly acute. However, unlike other members of the Enterobacteriaceae genus, new clones of *P. aeruginosa* are constantly emerging and rapidly replacing previously prevalent dominant clones. Therefore, this study aimed to perform antimicrobial resistance gene analysis, integron gene cassette analysis using DNA sequencing, and plasmid transfer analysis by conjugation to investigate the antimicrobial resistance dynamics of 18 *P. aeruginosa* strains isolated from various medical samples at a general hospital in Busan from September 2017 to September 2019. All 18 strains showed extensively drug-resistant (XDR) phenotype and were resistant to most antibiotics, except colistin (100%) but were susceptible to aztreonam (22.2%) and ceftazidime (16.6%). Approximately 66.7% of the strains had Class 1 integrons showing various antimicrobial resistances. Notably, IMP-6 ST235 (66.7%), VIM-2 ST357 (16.7%), and IMP-1 ST446(16.7%) were identified. The identification of IMP-1-producing ST446, previously unreported in Korea, is noteworthy considering the emergence and prevalence of another MRPA high-risk clone.

**Keywords:** Multidrug-resistant *P. aeruginosa* (MRPA), extensively drug-resistant (XDR), metallo- $\beta$ -lactamases (MBL), imipenemase (IMP) type, Verona integron-encoded metallo- $\beta$ -lactamase (VIM) type, multi-locus sequence typing (MLST)

## 서론

*Pseudomonas aeruginosa*는 심각한 급성 감염과 만성 감염을 일으키는 광범위한 기회감염균으로 폐렴, 창상감염, 욕창, 심각한 화상 등 면역력이 저하된 환자에서의 다양한 전신감염을 일으키는 원내감염균이다[1–3]. *P. aeruginosa*의 항균제에 대해 내재된 높은 내성은 다제내성(multidrug-resistance, MDR)으로 발달할 수 있는 능력을 제공하며 *P. aeruginosa* 감염의 치료에 심각한 문제가 되고 있다. 최근, *P. aeruginosa* 감염과 관련된 사망률은 꾸준히 증가하고 있으며, 다제내성 *P. aeruginosa* (multidrug-resistant *P. aeruginosa*, MRPA)에 의한 원내감염이 전 세계적으로 증가하고 있는 추세이다[4, 5]. 다제내성은 균종별로 Magiorakos

등[6]이 제시한 대상 항균제의 내성 여부를 통해 판단되지만, 법정 감염병에서의 MRPA는 3가지 계열의 항균제인 carbapenem계, aminoglycoside계, fluoroquinolone계에 모두 내성을 나타내는 *P. aeruginosa*로 정의되며 일반적인 균주의 분류에 따르면 extremely drug resistant (XDR) 표현형을 보이는 균주가 법정 감염병에 포함된다[7]. *P. aeruginosa*의 carbapenem 내성은 외막단백질의 소실, 유출 펌프의 과발현에 의한 carbapenem 투과도 감소, 또는 carbapenemase 생성에 의한다. *P. aeruginosa*에 존재하는 carbapenemase 전사 유전자는 대부분 class 1 integron 연관 transposon에 위치하며, *aadA1*, *aacA4*, 등 aminoglycoside계 항균제 내성유전자 및 *qacE* 등 quinolone 내성유전자와 동반되어 MDR 또는 XDR 표현형을 보이는 경우가 많다[8]. 이러한 내성율의 증가는 metallo- $\beta$ -lactamase (MBLs)와 관련이 있다[9]. Metallo- $\beta$ -lactamase는 zinc ion에 의해 활성화되는 효소로서 monobactam을 제외한 모든  $\beta$ -lactam 계열의 항생제를 가수분해할 수 있다[10]. MBLs 유전자는 크게

### \*Corresponding author

Phone: +82-42-580-6291, Fax: +82-42-580-6119  
E-mail: hope@dst.ac.kr

imipenemase (IMP) type과 Verona integron-encoded metallo- $\beta$ -lactamase (VIM) type으로 분류가 되어왔으며 최근까지 각각 17개와 10개의 변이형이 보고되었다[11]. 그러나 세번째 group인 São Paulo metallo-beta-lactamase (SPM-1) type이 보고되면서[12] MBL의 전파와 변이는 항균제 내성 균주의 확산에 중요한 문제가 되었다. *Carbapenemase*-producing *P. aeruginosa* (CPPA)는 장내세균속의 다른 종들과 달리 새로운 클론들이 지속적으로 출현하고 있으며, 이전에 널리 퍼졌던 지배적인 클론들을 매우 빠르게 대체하고 있다. 전세계적으로 MBLs의 기작에 대한 이해와 획득과정에 대한 연구로 항생제 내성 전파를 막아보려는 노력이 활발히 이루어지고 있다. 이에 본 연구에서도 부산의 한 종합병원에서 분리된 MRPA를 대상으로 분자역학적 분석을 통한 내성기전을 밝혀 항생제 내성 유전자와의 연관성 및 항균제 내성 전파를 막을 수 있는 방법을 모색하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 균주의 수집과 동정

본 연구는 2017년 9월부터 2019년 9월까지 2년간 부산의 한 종합병원에 의뢰된 임상검체로부터 분리된 MRPA 18 균주를 대상으로 하였다. 이 중 동일 환자에서 중복 분리된 균주는 수집대상에서 제외하였다. 본 연구는 헬싱키선언서에 제시된 윤리기준에 따라 수행되었으며, 대전과학기술대학교의 기관생명윤리위원회(승인번호 1044342-20230516-HR-014-03)의 승인을 받았다. 모든 검체는 익명화 되었으며 환자 또는 연구 참여에 필요한 개인정보에 추가 위험이 없다.

### 세균 분리 및 항균제 감수성 시험

임상검체로부터 분리 배양된 균주는 VITEK-2 (BioMérieux, France)에 의해 확인되었으며 16S rDNA 염기서열 분석을 통해 모든 균종의 동정을 재확인하였다[13]. 항균제 감수성 검사는 VITEK 2 AST N225 카드(bioMérieux Vitek Inc., USA)와 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 지침에 따라 항생제- cefotaxime, ceftazidime, cefoxitin, aztreonam, ciprofloxacin, amikacin, gentamicin, imipenem, Meropenem-에 대한 감수성을 Mueller-Hinton (MH; Becton Dickinson, USA) 한천배지를 사용하여 디스크 확산 방법으로 평가하였다[14]. Colistin은 액체미량희석법으로 최소억제농도(minimum inhibitory concentration, MIC)를 확인하였다[14]. 정도관리를 위해서 *Escherichia coli* ATCC 25922와 *P. aeruginosa* ATCC 27853을 함께 시험하여 허용범위 내에 있는지를 확인하였다.

### Carbapenemase 생성 균주의 표현형 시험 및 저항성 유전자 검출

Carbapenem 불활성화 시험은 Tsai 등의 방법에 따라 수행되었다[15]. Modified carbapenem inactivation method (mCIM) 테스트를 위해 2개의 tryptic soy broth (TSI; Difco Laboratories Inc, USA)에 10  $\mu$ l 백금이로 집락을 각각 넣어 부유액을 만든 후 하나에는 10  $\mu$ g meropenem disk를 넣고 나머지 한 튜브에는 EDTA-modified carbapenem inactivation method (eCIM) test를 위해 10  $\mu$ g meropenem disk와 5 mM의 ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) 20  $\mu$ g 첨가하여 4시간동안 35°C에 배양하였다. 디스크를 꺼내 *E. coli* ATCC 25922를 희석한 배지에 올려 실험 균주가 meropenem을 분해하는지 여부를 판단하였다. 항생제 디스크 직경은 CLSI 가이드라인에 따라 구역 직경을 측정하고 해석하였다[14].

다제내성 균주의 저항성 유전자를 확인하기 위해 중합효소연쇄반응(Polymerase Chain Reaction, PCR: Verity 96-Well; Applied Biosystems, Singapore)으로 분석하였다. *Carbapenemase* (IMP, VIM, NDM, KPC, *Guiana-extended-spectrum  $\beta$ -lactamase*, OXA-48-like)와 Extended spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)의 존재를 확인하기 위해 TEM-, *sulphydryl variant* (SHV), CTX (cefotaximase)-M-1-, CTX-M-9-형을 검출하였다[16, 17]. 또한, plasmid-mediated AmpCs (*bla<sub>ACT</sub>*, *bla<sub>ACC</sub>*, *bla<sub>CMY</sub>*, *bla<sub>DHA</sub>*), aminoglycoside resistance 결정인자(*armA*, *rmtA*, *rmtB*, *rmtD*) [17, 18], fluoroquinolone 저항 결정인자(*qepA*, *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*)의 존재를 조사하였다[19, 20]. 외막의 구멍 단백질 유전자인 *oprD*의 변이를 조사하였으며[21], 증폭 산물은 3730xl DNA analyzer (Applied Biosystems, Germany)를 이용하여 염기서열을 분석하였고, NCBI의 BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)와 비교하여 유전형을 확정하였다 (Supplementary Table S1).

### Multi Locus Sequence Typing (MLST) 분석과 Integron의 검출

7개의 housekeeping 유전자(*acsA*, *aroE*, *guaA*, *mutL*, *nuoD*, *ppsA* 및 *trpE*)에 대한 PCR 및 서열분석은 이전의 연구에서 기술한 절차대로 수행되었다[22]. 실험에 의하여 결정된 두 가닥의 뉴클레오타이드 서열을 MLST 데이터베이스의 기준 서열과 비교하여 대립유전자의 수와 sequence type (ST) (<http://pubmlst.org/paeruginosa>)를 확인하였다(Supplementary Table S2). Class 1, 2, 및 3에 대한 integron을 검출하기 위해 Dillon 등[23]이 제시한 시발체를 사용하여 PCR을 수행하였다. 증폭산물은 band의 위치를 확인하여 Class 1은 160 bp, Class 2는 788 bp 및 979 bp인 것을 Class 3

integron으로 간주하였다. Class 1 integron내에 존재하는 유전자를 확인하기 위해 기존 연구에서 수행된 시발체를 이용하여 PCR을 수행하였다[24, 25]. DNA 추출액(1.2 µl), 10x Taq buffer (3 µl), GC buffer (6 µl), 10 mM dNTP mix (3 µl), primer 각 10 pmol, 0.3 U Taq DNA polymerase (Solgent, Republic of Korea)와 증류수를 혼합하여 총 부피 30 µl의 반응용액을 94°C에서 7분간 반응시킨 후, 94°C에서 40초, 55°C에서 40초, 72°C에서 80초씩 30회 증폭 반응시킨 후, 72°C에서 10분간 연장 반응시켰다. 이렇게 생성된 증폭 산물을 ethidium bromide가 포함된 1% agarose gel에서 120V 15분간 전기영동하여 band를 확인한 후 앞서 진행한 동일한 방법으로 염기서열 분석을 수행하였다(Supplementary Table S3).

### 세균의 접합

Plasmid의 전달 가능성을 확인하기 위해서 접합 방법(conjugation)을 이용하였다. *P. aeruginosa* 18 균주를 기증균주로, sodium azide-내성 *E. coli* J53을 수령균주로 사용하였다[26, 27]. 시험균과 *E. coli* J53을 BHI (Brain-heart infusion; MB Cell, USA) 배지에서 37°C 18시간 배양한 후, 수령균주인 *E. coli* J53은 계속해서 배양하고 시험균만 5 ml BHI에 10배 희석하여 접종한다. 균주를 동일한 조건하에 4시간 배양한 후 각각의 시험균과 *E. coli* J53의 배양액을

1:4 비율로 섞어준 후 37°C 30분간 배양 후 배양액을 100 µg/ml sodium azide와 0.5 µg/ml IMP를 첨가한 BHA 배지에서 접합검사를 실시하였다. 접합된 균주는 단일 균주를 선별하여 β-lactamase, ESBLs, plasmid-mediated AmpCs, ARD, 그리고 fluoroquinolones에 대한 유전자를 PCR을 통해 확인하였다.

## 결 과

### 항생제 감수성 시험

*P. aeruginosa* 18균주에 대한 항생제 감수성 결과는 Table 1에 나타내었다. 항생제 감수성 결과는 aztreonam에 4균주(22.2%), ceftazidime에 3균주(16.6%), amikacin에 3균주(16.6%)가 일부 감수성을 보였으나 나머지 모든 항생제 - cefotaxime, ceftazidime, cefoxitin, ciprofloxacin, gentamicin, imipenem, meropenem, Tigecycline에 내성을 보여 18균주 모두 extremely drug resistant (XDR) 표현형의 균주였다. 그러나, glycopeptide계인 Colistin에 대해서는 18균주 모두 100% 감수성을 나타내었다. 접합이 된 균주 또한 동일한 항생제 감수성을 확인할 수 있었다.

### 저항성 유전자 검출 및 MLST

MRPA 18균주는 표현형 검사인 mCIM과 eCIM에서 모두

**Table 1.** Antimicrobial susceptibilities of MRPA isolates and phenotypes.

Isolate I.D (%)	<i>bla<sub>KPC</sub></i> Subtype	Susceptible antibiotics, N (%)											<i>Carbapenemase</i> differentiation test		Porin loss (%)	
		ATM	CAZ	CTX	FOX	CIP	AK	GN	IMP	MEP	TIG	CST	mCIM	eCIM		
MRPA strains (N=18)		4 (22.2)	3 (16.7)	3 (16.7)	0	0	0	0	0	0	0	0	18 (100)	18 (100)	18 (100)	18 (100)
ST235 (N=12)	<i>IMP-6</i>	4 (22.2)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18 (100)	12 (100)	12 (100)	12 (100)
ST357 (N=3)	<i>VIM-2</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18 (100)	3 (100)	3 (100)	3 (100)
ST446 (N=3)	<i>IMP-1</i>	0	3 (16.7)	3 (16.7)	0	0	0	0	0	0	0	0	18 (100)	3 (100)	3 (100)	3 (100)
Transconjugants strains (N=15)		4 (22.2)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18 (100)	15 (100)	15 (100)	15 (100)
ST235 (N=12)	<i>IMP-6</i>	4 (22.2)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18 (100)	12 (100)	12 (100)	12 (100)
ST357 (N=3)	<i>VIM-2</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18 (100)	3 (100)	3 (100)	3 (100)

Abbreviations: MRPA, multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*; ATM, Aztreonam; CAZ, Ceftazidime; CTX, Cefotaxime; FOX, Cefoxitin; CIP, ciprofloxacin; AK, amikacin; GN, gentamicin; IMP, imipenem; MEP, meropenem; TIG, tigecycline; CST, colistin; mCIM, modified carbapenem inactivation method; eCIM, EDTA-modified carbapenem inactivation method. Susceptibility test results of the antimicrobial drugs were interpreted according to the CLSI criteria. The results for colistin and tigecycline are not shown owing to the lack of suggested breakpoints.

**Table 2. Possible genes and outbreaks identified in the MRPA collection.**

Strain	ST	Carbapenemase	Cephalosporins	Aminoglycoside	Fluoroquinolone	Integron classes	Gene cassettes	Conjugants	Porin loss
Pa1	357	VIM-2	TEM171, CTX-M-9	<i>rmt B</i> , <i>rmtD</i>	<i>qnrB</i> , <i>qnrS</i>			+	+
Pa2	235	IMP-6	TEM171, CTX-M-1, CTX-M-9	<i>rmt B</i> , <i>rmt c</i>	<i>qnrB</i>	Integron 1	<i>aac(3)-I-aacCA5-aadA7</i>	+	+
Pa3	446	IMP-1	TEM171, CTX-M-9		<i>qnrS</i>				+
Pa4	235	IMP-6	TEM171, CTX-M-9	<i>rmt B</i>	<i>qnrS</i>	Integron 1	<i>aac(3)-I-aacCA5-aadA7</i>	+	+
Pa5	235	IMP-6	TEM171, CTX-M-1, CTX-M-9	<i>rmtD</i>		Integron 1	<i>aac(3)-I-aac(6')-Ib-aadA5-dfrA17</i>	+	+
Pa6	235	IMP-6	TEM171, CTX-M-1, CTX-M-9		<i>qnrS</i>	Integron 1	<i>dfrA32-ereA-aadA2-ant(2'')</i>	+	+
Pa7	235	IMP-6	TEM-1, CTX-M-9	<i>rmt B</i>	<i>qnrB</i>	Integron 1	<i>aac(3)-I-aacCA5-aadA7</i>	+	+
Pa8	235	IMP-6	TEM171, CTX-M-9	<i>rmt B</i>	<i>qnrS</i>	Integron 1	<i>dfrA32-ereA-aadA2-ant(2'')</i>	+	+
Pa9	357	VIM-2	TEM171, CTX-M-9	<i>rmt B</i> , <i>rmtD</i>	<i>qnrB</i> , <i>qnrS</i>			+	+
Pa10	357	VIM-2	TEM171, CTX-M-9	<i>rmt B</i> , <i>rmtD</i>	<i>qnrB</i> , <i>qnrS</i>			+	+
Pa11	235	IMP-6	TEM171, CTX-M-1, CTX-M-9	<i>rmt B</i> , <i>rmt c</i>	<i>qnrB</i>	Integron 1	<i>aac(3)-I-aacCA5-aadA7</i>	+	+
Pa12	446	IMP-1	TEM171, CTX-M-9		<i>qnrS</i>				+
Pa13	235	IMP-6	TEM171, CTX-M-9	<i>rmt B</i>	<i>qnrS</i>	Integron 1	<i>aac(3)-I-aacCA5-aadA7</i>	+	+
Pa14	235	IMP-6	TEM171, CTX-M-1, CTX-M-9	<i>rmtD</i>		Integron 1	<i>aac(3)-I-aacCA5-aadA7</i>	+	+
Pa15	235	IMP-6	TEM171, CTX-M-1, CTX-M-9		<i>qnrS</i>	Integron 1	<i>aac(3)-I-aacCA5-aadA7</i>	+	+
Pa16	235	IMP-6	TEM-1, CTX-M-9	<i>rmt B</i>	<i>qnrB</i>	Integron 1	<i>aac(3)-I-aacCA5-aadA7</i>	+	+
Pa17	235	IMP-6	TEM171, CTX-M-9	<i>rmt B</i>	<i>qnrS</i>	Integron 1	<i>aac(3)-I-aac(6')-Ib-aadA5-dfrA17</i>	+	+
Pa18	446	IMP-1	TEM171, CTX-M-9		<i>qnrS</i>				+

Abbreviations: MRPA, multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*; ST, sequence type; IMP, imipenemase; VIM, Verona integron-encoded metallo- $\beta$ -lactamase; TEM, Temoneira  $\beta$ -lactamase; CTX-M, cefotaximase.

양성을 나타내 MBLs임을 확인하였다. 18개의 MRPA 균주 중 12균주는 IMP-6 생성 ST235 (12/18, 66.7%)였으며 VIM-2 생성 ST357와 IMP-1 생성 ST446은 3균주(3/18, 16.7%)로 동일하였다(Table 1). 실험 균주들은 ESBL의 높은 내성인자를 관찰할 수 있었다. 18개의 MRPA 균주 중 12균주는 IMP-6 생성 ST235 (12/18, 66.7%)가 확인되었고, VIM-2 생성 ST357와 IMP-1 생성 ST446은 3균주(3/18, 16.7%)로 동일하였다(Table 1). 또한 ESBL의 높은 유병률을 관찰하였다. CTX-M-1 (6/18, 33.3%), CTX-M-9 (18/18, 100%), TEM-171 (16/18, 88.9%) 및 TEM-1 (2/18, 11.1%)이 관찰되었다. 18개의 MRPA 균주에 대한 fluoroquinolone 저항성 결정 인자를 분석한 결과, 16개의 균주 88.9%가 fluoroquinolone 내성 인자를 가지고 있었다. 16개의 fluoroquinolone 내성 균주는 *qnrB* (7/18, 38.9%), *qnrS* (12/18, 66.7%)로 분리되었다. *qnrB*와 *qnrS* 두 내성 인자를 모두 가진 3개의 균주(3/18, 16.7%)도 존재하였다. 이들 균

주에서 aminoglycoside 내성을 분석한 결과, 13균주(72%)가 내성인자를 보유하고 있었으며, *rmtB* (11/18, 61%), *rmtD* (5/18, 28%), *rmtC* (2/18, 11%) 균주에서 저항성을 보였다 (Table 2). Plasmid-mediated AmpC는 관찰되지 않았다. 외막의 구멍 단백질 유전자인 *OprD*의 결실 또는 돌연변이를 조사한 결과 MRPA 18균주에서의 결실을 관찰하였다(Table 1).

### Integron의 검출

Integron의 검출을 위해 다중중합효소연쇄반응을 수행한 결과 18 균주 중 12 균주(66.7%)에서 약 160 bp 크기의 class 1 integron이 검출되었다. 반면 약 788 bp와 979 bp 크기의 PCR 산물인 class 2와 class 3 integron은 검출되지 않았다. 3종류의 class 1 integron이 확인되었으며 모두 aminoglycoside 내성에 관련된 *aac(3)-I*, *aac(6')-Ib*, *ant(2'')* 유전자 카세트를 포함하고 있었다. *aacCA5* 유전자 카세트는 gentamicin 내성에 관여한다. streptomycin 및 spectinomycin에

**Table 3. Identification of resistance determinants among the 18 MRPA isolates by PCR.**

Antibiotic class/ Resistance gene	MRPA strains N=18 (%)	Transconjugants strains N=15 (%)
<b>Carbapenems</b>		
<i>IMP-6</i>	12 (66.7)	12 (80)
<i>IMP-1</i>	3 (16.7)	0
<i>VIM-2</i>	3 (16.7)	3 (4.3)
<b>Cephalosporins</b>		
<i>TEM-1</i>	2 (11.1)	2 (13.3)
<i>TEM-171</i>	16 (88.9)	12 (80)
<i>CTX-M-1</i>	6 (33.3)	6 (40)
<i>CTX-M-9</i>	18 (100)	15 (100)
<b>Aminoglycoside</b>		
<i>rmtB</i>	11 (61.1)	11 (73.3)
<i>rmtC</i>	2 (11.1)	2 (13.3)
<i>rmtD</i>	5 (27.8)	5 (33.3)
<b>Fluoroquinolone</b>		
<i>qnrB</i>	7 (38.9)	7 (46.7)
<i>qnrS</i>	12 (66.7)	9 (60)

Abbreviations: MRPA, multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*; IMP, imipenemase; VIM, Verona integron-encoded metallo-β-lactamase; TEM, Temoneira β-lactamase; CTX-M, cefotaximase.

대한 내성을 나타내는 *aadA2*, *aadA5*, 및 *aadA7* 유전자 카세트와 trimethoprim 내성에 관여하는 *dfrA17* 및 *dfrA32* 유전자 카세트 erythromycin 내성에 관여하는 *ereA* 유전자 카세트가 class 1 integron 내에 존재하였다(Table 3).

### 세균의 접합

다제내성 저항성은 MRPA 균주에서 접합에 의해 성공적으로 *E. coli* J53으로 (15/18, 83.3%) 전달되었다. 특이하게도, IMP-1 생성 ST446은 한 균주도 접합되지 않았다. 모든 접합균주는 MRPA 분리 균주의 표현형과 유사한 XDR 표현형을 보였으며, 접합 전 monobactam계인 aztreonam에 감수성이었던 4균주(26.7%)는 접합 후에도 감수성을 보였다. 중요한 것은, 접합 시험을 통해 *bla<sub>IMP-6</sub>*, *bla<sub>VIM-2</sub>*와 ESBL 뿐만 아니라 aminoglycoside와 fluoroquinolone 저항-결정 유전자의 동시 전달이 가능함을 확인하였다(Table 2).

### 고찰

세계보건기구는 항생제가 광범위한 내성 때문에 박테리아를 죽일 수 없는 항생제 이후의 시대에 대해 경고하고 있

다. 또한, 전세계적으로 매년 약 70만명이 항생물질 내성 감염으로 인해 사망하며, 2050년까지 연간 사망자가 1000만명을 돌파할 것으로 예상했다[28]. 국제보건기구(Global Antimicrobial Resistance Surveillance System, GLASS)에 가입된 66개국의 2백만 명 이상의 환자에 대한 항생제 내성(Antimicrobial Resistance, AMR) 결과는 일반적인 세균 감염치료에 자주 사용되는 항생제의 내성이 매우 높으며, 우리나라의 주요 내성균의 현황을 다른 국가들과 비교해 보았을 때, 상대적으로 높은 내성률을 보여준다. 특히 MRSA는 내성률을 보고한 국가 중 5번째로 높았으며, 고소득 국가 중에서는 가장 높았다. Carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii*의 경우에도 35개 국가 중 12번째로 높은 편에 속하였다[29]. 본 연구는 부산의 한 병원으로부터의 광범위 내성(XDR) *P. aeruginosa* 분리 균주에서의 항균제 내성의 분포를 설명하며 몇 가지 중요한 결과를 제시하였다. *P. aeruginosa* 18균주에서 8가지 항생제 계열 중 17종의 항생제에 대하여 평가하였다. 전체적으로 polymyxin 항균제(Colistin)에 대한 감수성이 100%로 가장 높았으나 Colistin을 제외한 많은 항균제에서 내성이 나타났으며 XDR의 표현형을 보이고 있었다[30–33]. Integron의 존재 여부에 따른 항균제 내성을 분석한 결과 본 연구에서 검출된 모든 class 1 integron내에는 streptomycin 및 spectinomycin에 대한 내성을 나타내는 *aadA* 유전자 카세트가 포함되어 있었다. 국내의 연구보고에서도 강 등은[34] 사람과 동물에게서 분리된 대장균이 포함하고 있는 class 1 integron에서 *aadA* 유전자 카세트가 가장 높은 빈도로 존재하고 있으며, Wei 등[35]도 사람에서 분리된 장내세균의 유전자 카세트를 분석한 결과 *aadA* 유전자 카세트가 가장 빈번하게 존재하고 있었다고 보고하였다.

fluoroquinolone계열의 항균제는 인간과 동물의 감염을 치료하는 데 사용되는 중요한 항균제이다[36]. 1980년대 후반부터 사람에게 사용되어진 fluoroquinolone [37, 38]은 사람에게는 복잡한 요로, 위장, 호흡기 감염뿐만 아니라 성병을 치료할 수 있었으며[39], 동물에서는 장 감염 및 호흡기 질환을 치료하는 데 효과적인 치료제로 사용되었다[40]. 다양한 종류의 병원성 세균에 대한 항균 활성, 유리한 약동학적 특성 및 저독성으로 인해 fluoroquinolone은 가축에게 사용하기에 매우 매력적인 항균제였다[41, 42]. 그러나, 가축에게 fluoroquinolone을 사용하면 동물 내에서 부분적으로 대사되며 먹이사슬을 통해 인간에게 전달되어 항균제 내성이 발생할 수 있으며 이것은, 동물 농장에서 흔히 사용되는 제제인 fluoroquinolone과 enrofloxacin 사이의 교차 저항으로 설명할 수 있다[43, 44]. 항생제에 대한 내성은 먹이 사슬에 지속적으로 남아 있으며 영구적일 수 있다. 따라서 원 헬스(One Health)의 다학제적 접근 및 긴밀한 관리와 제한이 요구된다.

본 연구에서는 모든 균주에서의 외막 단백질의 소실과 함께 carbapenem 내성의 중요한 기전 중 하나인 MBL 유전자를 확인하였다. Neyestanaki 등[45]의 연구에서도 이란에서 분리된 *P. aeruginosa*의 carbapenem에 대한 주요 내성 기전이 MBLs의 생성임을 보고하였다. MBL 유전자 중 IMP와 VIM 유전자는 전 세계적으로 가장 확산되어 있는 유전자로 보고되고 있다[46, 47]. 미국에서는 KPC, VIM, NDM, 및 IMP, 남미에서는 KPC, GES, IMP, VIM, NDM, 및 SPM, 중동 지역에서는 VIM, IMP, 및 NDM 등이 흔히 관찰된다[48]. 유럽에서는 VIM이 가장 흔한 carbapenemase 유전형이며, VIM-2-생성 ST111 *P. aeruginosa* 클론의 확산이 이탈리아, 그리스 등에서 보고되었다[8]. 특히 우리나라에서는 IMP-6와 VIM-2가 우세유전자로 보고되고 있으며 *P. aeruginosa*의 carbapenem에 대한 획득 내성의 주요 기전임을 보고하였다[49]. 국내에서는 1997년 VIM-2-생성 *P. aeruginosa*가 처음 보고되었으며, *aacA4*와 *qacE* 등의 내성 유전자가 integron내에 동반된 대부분의 항균제에 대한 내성 표현형을 보이는 XDR 표현형 균주였다[50]. 2000년대 초반 imipenem 비감수성 *P. aeruginosa*는 모두 *bla<sub>VIM-2</sub>*를 가지고 있었으며[51], 2005년 KONSAR의 보고에 따르면, 수집된 *P. aeruginosa* 균주 중 carbapenemase 생성 균주는 약 10%였고, 대부분은 *bla<sub>VIM</sub>*이었으며, *bla<sub>IMP</sub>*를 가진 균주도 일부 확인되었다[52]. 2015년에 이르러 IMP-6-생성 *P. aeruginosa*는 가장 흔한 MBL이 되었으며, ST235는 PAGI-15, PAGI-16 등의 내성유전자 섬(resistance genomic island)을 가진 클론이 보고되었다[53-55]. 전 세계적으로 다제내성으로 보고되고 있는 ST235는 CC235의 대표적인 클론이다. CC235는 MBLs와 함께 다양한 광범위  $\beta$ -lactamases를 아시아, 유럽, 남아메리카 등에 확산시키고 있는 것으로 알려져 있다[49, 56, 57]. 본 연구에서는 *P. aeruginosa* 12균주(66.7%)가 IMP-6-생성 ST235로 확인되었으며, 이전에 언급한 연구들과 동일하게 우리나라에서의 우세 클론의 양상을 보이고 있다. 또한, VIM-2 유전자 생성 3균주는 모두 ST357이었고, 나머지 3균주는 IMP-1 생성 ST446로 확인되었다. 이전의 다수의 연구에 의하면, MBL를 생성하는 *P. aeruginosa*는 ST235, ST357, ST244 및 ST175와 같은 국제적인 클론으로써, 심각한 우려를 낳고 있으며, 이는 본 연구 결과와 같이 광범위 내성으로 확인되고 있기 때문이다[58-60]. 흥미롭게도, 국내에서는 아직까지 보고된 바가 없는 IMP-1 생성 광범위 내성 ST446이 본 연구에서 확인되었다. ST446은 CC446의 대표적인 클론으로 전 세계적으로 분포하고 있으며, CC446 분리주는 높은 항균제 내성 비율을 보인다. 계통학적분석에 따르면 대부분의 MDR/XDR 균주는 ST298의 하위 계통에 속한다고 보고하였다[61]. 또한 본 연구에서 관찰된 ESBL의 CTX-M-9과 CTX-M-1의 높은 분포

는 고위험 클론의 출현의 확산과 위험을 예고하며 carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* (CPE)와 CTX-M-15를 공동 생산하는 클론으로 최근 이탈리아[62]과 덴마크[63]에서 확인되었다. 접합에 의한 수평 전달 용이성은 2010년 Smillie 등의 보고에 의하면 접합 성공률은 18.3%였으며[64] 2020년 Lee 등의 연구에서는 57.5%로 4.3배 증가하였다[65]. 본 연구에서는 2020년의 접합에 의한 전달 용이성보다 25.8% 상향한 것으로 공중보건에 대한 심각한 역학관점의 고찰을 필요로 한다. 고위험 클론은 전 세계적으로 분포되어 있으며, 전달 용이성, 숙주에서의 지속성, 숙주 간의 효과적인 전달과 같은 다양한 항균 내성 결정 요인과 관련이 있다. 이러한 고위험 클론은 병원성이 증가하며 재발하는 경향이 있다.

최근 유럽과 일본 등에서는 IMP-7을 생성하는 ST357과 ST235이 확산되고 있고 우리나라에서는 GES-생성 또는 NDM-1-생성 *P. aeruginosa*의 유행이 보고되고 있다[55, 66]. carbapenemase 생성 *P. aeruginosa*는 장내세균속 균종과는 다르게, 기존의 우세 클론을 대체하는 새로운 클론들이 나타나는 과정이 매우 빠르게 진행되고 있다. 따라서 내성균의 유행감시를 위한 분자역학적 분석은 매우 중요하다고 생각된다. 정부의 여러 가지 노력에도 불구하고 중요 항균제 내성균의 확산은 지속적으로 증가되고 있는 실정이다. 항균제 내성률에 대한 감시체계뿐만 아니라 항균제 사용량에 대한 적절하고 체계적인 감시체계 구축, 원 헬스의 다학제적 접근, 스튜어드십 강화를 통한 적절한 항균제 사용, 병원내에서의 개인 보호구 사용 등의 인식 개선, 다제내성균의 발현을 억제하거나 조절할 수 있는 물질, 전파 및 확산 방지를 위한 새로운 기술 개발 등을 통해 항균제 후 시대의 도래를 막아야 할 것이다. 본 연구에서 관찰된 MRPA의 수평 전달 용이성은 심각한 공중보건과 역학적 함의를 가지고 있으나, IMP-1 생성 다제 내성 ST446에 대한 내성기전을 밝히기 위해서는 더 많은 검체에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

## 요 약

다제내성 *P. aeruginosa* (MRPA)의 출현과 확산은 전 세계적으로 심각한 문제가 되었다. 특히 metallo- $\beta$ -lactamases (MBLs)의 carbapenem 고도내성 관여 정도는 심각한 수준이며, 특히 *P. aeruginosa*는 장내세균 속 균종과는 달리 새로운 클론들이 지속적으로 나타나고 기존에 확산되었던 우세 클론을 대체하는 과정이 매우 빠르게 진행되고 있다. 이에 본 연구에서는 2017년 9월부터 2019년 9월까지 부산의 한 종합병원에서 다양한 의료용 시료로부터 분리된 18균주의 *P. aeruginosa* 균주에 대한 항균제 내성 유전자 분석과 DNA 염기서열 분석을 통한 Integron의 유전자 카세트 분석

및 접합에 의한 Plasmid 전달 분석을 수행하며 이에 대한 역학관계를 조사하고자 하였다. 18균주 모두 XDR 표현형을 보이는 균주였으며, Colistin(100%)을 제외한 대부분의 항생제에 내성을 나타냈으나, aztreonam(22.2%), ceftazidime(16.6%)에 일부 감수성을 보였다. 균주의 66.7%는 다양한 항균제 내성을 나타내는 Class1 integron을 가지고 있었으며, 접합에 의한 Plasmid 전달도 성공적으로 이루어졌다(83.3%). 이는 이전의 장내세균에 대한 연구결과보다 25.8% 상향한 결과를 보여 공중보건에 대한 심각한 역학관점의 고찰을 필요로 한다. 특히, IMP-6 ST235 (66.7%)가 주를 이루며, VIM-2 ST357 (16.7), IMP-1 ST446 (16.7)이 확인되었다. 흥미롭게도, 국내에서는 아직까지 보고된 바가 없는 IMP-1 생성 ST446의 확인은 또 다른 MRPA 고위험 클론의 생성과 유행이라는 관점에서 주목할 만하다.

## Acknowledgment

This research was supported by the Daejeon Institute of Science and Technology.

## Conflict of Interest

The authors have no financial conflicts of interest to declare.

## References

- Kumari H, Balasubramanian D, Zincke D, Mathee K. 2014. Role of *Pseudomonas aeruginosa* AmpR on  $\beta$ -lactam and non- $\beta$ -lactam transient cross-resistance upon pre-exposure to subinhibitory concentrations of antibiotics. *J. Med. Microbiol.* **63**: 544-555.
- Fazeli N, Momtaz H. 2014. Virulence gene profiles of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from Iranian hospital infections. *Iran Red. Crescent Med. J.* **16**: e15722.
- Strateva T, Yordanov D. 2009. *Pseudomonas aeruginosa* - a phenomenon of bacterial resistance. *J. Med. Microbiol.* **58**: 1133-1148.
- Yoo JS, Yang JW, Kim HM, Byeon J, Kim HS, Yoo JI, et al. 2012. Dissemination of genetically related IMP-6-producing multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* ST235 in South Korea. *Int. J. Antimicrob. Agents.* **39**: 300-304.
- Wright LL, Turton JF, Livermore DM, Hopkins KL, Woodford N. 2015. Dominance of international 'high-risk clones' among metallo- $\beta$ -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in the UK. *J. Antimicrob. Chemother.* **70**: 103-110.
- Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. 2012. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin. Microbiol. Infect.* **18**: 268-281.
- Kim D, Jeong SH. 2022. Current status of multidrug-resistant bacteria. *J. Korean Med. Assoc.* **65**: 468-477.
- Yoon EJ, Jeong SH. 2021. Mobile carbapenemase genes in *Pseudomonas aeruginosa*. *Front. Microbiol.* **12**: 614058.
- Choi JY, Kwak YG, Yoo H, Lee SO, Kim HB, Han SH, et al. 2016. Trends in the distribution and antimicrobial susceptibility of causative pathogens of device-associated infection in Korean intensive care units from 2006 to 2013: results from the Korean Nosocomial Infections Surveillance System (KONIS). *J. Hosp. Infect.* **92**: 363-371.
- Rasmussen B, Gluzman Y, Tally F. 1990. Cloning and sequencing of the class B  $\beta$ -lactamase gene (ccrA) from bacteroides fragilis TAL3636. *Antimicrob. Agents Chemother.* **34**: 1590-1592.
- Crespo MP, Woodford N, Sinclair A, Kaufmann ME, Turton J, Glover J, et al. 2004. Outbreak of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing VIM-8, a novel metallo- $\beta$ -lactamase, in a tertiary care center in Cali, Colombia. *J. Clin. Microbiol.* **42**: 5094-5101.
- Toleman MA, Simm AM, Murphy TA, Gales AC, Biedenbach DJ, Jones RN, et al. 2002. Molecular characterization of SPM-1, a novel metallo- $\beta$ -lactamase isolated in Latin America: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme. *J. Antimicrob. Chemother.* **50**: 673-679.
- Cicek AC, Duzgun AO, Saral A, Sandalli C. 2014. Determination of a novel integron-located variant (blaOXA-320) of Class D  $\beta$ -lactamase in *Proteus mirabilis*. *J. Basic Microbiol.* **54**: 1030-1035.
- Weinstein MP. 2018. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically.
- Tsai YM, Wang S, Chiu HC, Kao CY, Wen LL. 2020. Combination of modified carbapenem inactivation method (mCIM) and EDTA-CIM (eCIM) for phenotypic detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *BMC Microbiol.* **20**: 315.
- Jeong S, Kim JO, Jeong SH, Bae IK, Song W. 2015. Evaluation of peptide nucleic acid-mediated multiplex real-time PCR kits for rapid detection of carbapenemase genes in gram-negative clinical isolates. *J. Microbiol. Methods* **113**: 4-9.
- Lee M, Choi TJ. 2021. Antimicrobial resistance caused by KPC-2 encoded by promiscuous plasmids of the *Klebsiella pneumoniae* ST307 strain. *Ann. Lab Med.* **41**: 86-94.
- Pérez-Pérez FJ, Hanson ND. 2002. Detection of plasmid-mediated AmpC  $\beta$ -lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. *J. Clin. Microbiol.* **40**: 2153-2162.
- Ryoo NH, Kim EC, Hong SG, Park YJ, Lee K, Bae IK, et al. 2005. Dissemination of SHV-12 and CTX-M-type extended-spectrum  $\beta$ -lactamases among clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* and emergence of GES-3 in Korea. *J. Antimicrob. Chemother.* **56**: 698-702.
- Yamane K, Wachino J, Suzuki S, Arakawa Y. 2008. Plasmid-mediated qepA gene among *Escherichia coli* clinical isolates from Japan. *Antimicrob. Agents Chemother.* **52**: 1564-1566.
- Edalucci E, Spinelli R, Dolzani L, Riccio ML, Dubois V, Tonin EA, et al. 2008. Acquisition of different carbapenem resistance mechanisms by an epidemic clonal lineage of *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin. Microbiol. Infect.* **14**: 88-90.

22. Curran B, Jonas D, Grundmann H, Pitt T, Dowson CG. 2004. Development of a multilocus sequence typing scheme for the opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Clin. Microbiol.* **42**: 5644-5649.
23. Dillon B, Thomas L, Mohmand G, Zelynski A, Iredell J. 2005. Multiplex PCR for screening of integrons in bacterial lysates. *J. Microbiol. Methods* **62**: 221-232.
24. Zhang XX, Zhang T, Zhang M, Fang HH, Cheng SP. 2009. Characterization and quantification of class 1 integrons and associated gene cassettes in sewage treatment plants. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **82**: 1169-1177.
25. Lévesque C, Piché L, Larose C, Roy PH. 1995. PCR mapping of integrons reveals several novel combinations of resistance genes. *Antimicrob. Agents Chemother.* **39**: 185-191.
26. Jeong SH, Lee KM, Lee J, Bae IK, Kim JS, Kim HS, et al. 2015. Clonal and horizontal spread of the blaOXA-232 gene among Enterobacteriaceae in a Korean hospital. *Dia. Microbiol. Infect. Dis.* **82**: 70-72.
27. Lee M, Choi TJ. 2020. Species Transferability of *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-2 isolated from a high-risk clone of *Escherichia coli* ST410. *J. Microbiol. Biotechnol.* **30**: 974-981.
28. O'Neill J. 2014. Antimicrobial resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations. Review of antimicrobial resistance. Available from [https://amr-review.org/sites/default/files/AMR%20Review%20Paper%20-%20Tackling%20a%20crisis%20for%20the%20health%20and%20wealth%20of%20nations\\_1.pdf](https://amr-review.org/sites/default/files/AMR%20Review%20Paper%20-%20Tackling%20a%20crisis%20for%20the%20health%20and%20wealth%20of%20nations_1.pdf). Accessed Nov. 20, 2019.
29. World Health Organization. GLASS report: early implementation 2017-2018 [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2019 [cited 2022 Jul 15]. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241515061>.
30. Bonomo RA, Szabo D. 2006. Mechanisms of multidrug resistance in Acinetobacter species and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin. Infect. Dis.* **43**: 549-556.
31. Kim J, Lee KH, Yoo S, Pai H. 2009. Clinical characteristics and risk factors of colistin-induced nephrotoxicity. *Int. J. Antimicrob. Agents* **34**: 434-438.
32. Zavascki AP, Goldani LZ, Li J, Nation RL. 2007. Polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant pathogens: a critical review. *J. Antimicrob. Chemother.* **60**: 1206-1215.
33. Lister PD, Gardner VM, Sanders CC. 1999. Clavulanate induces expression of the *Pseudomonas aeruginosa* AmpC cephalosporinase at physiologically relevant concentrations and antagonizes the antibacterial activity of ticarcillin. *Antimicrob. Agents Chemother.* **43**: 882-889.
34. Kang HY, Jeong YS, Oh JY, Tae SH, Choi CH, Moon DC, et al. 2005. Characterization of antimicrobial resistance and class 1 integrons found in *Escherichia coli* isolates from humans and animals in Korea. *J. Antimicrob. Chemother.* **55**: 639-644.
35. Wei Q, Hu Q, Li S, Lu H, Chen G, Shen B, et al. 2014. A novel functional class 2 integron in clinical *Proteus mirabilis* isolates. *J. Antimicrob. Chemother.* **69**: 973-976.
36. Schulz J, Kemper N, Hartung J, Janusch F, Mohring SAI, Ham-scher G. 2019. Analysis of fluoroquinolones in dusts from intensive livestock farming and the co-occurrence of fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli*. *Sci. Rep.* **9**: 5117.
37. Hopkins KL, Davies RH, Threlfall EJ. 2005. Mechanisms of quinolone resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella*: recent developments. *Int. J. Antimicrob. Agents* **25**: 358-373.
38. Endtz HP, Ruijs GJ, van Klingeren B, Jansen WH, van der Reyden T, Mouton RP. 1991. Quinolone resistance in campylobacter isolated from man and poultry following the introduction of fluoroquinolones in veterinary medicine. *J. Antimicrob. Chemother.* **27**: 199-208.
39. Dalhoff A. 2012. Global fluoroquinolone resistance epidemiology and implications for clinical use. *Interdiscip. Perspect. Infect. Dis.* **2012**: 976273.
40. Sarkoezy G. 2001. Quinolones: a class of antimicrobial agents. *Vet. Med.* **46**: 257-274.
41. Grobbel M, Lübke-Becker A, Wieler LH, Froyman R, Friederichs S, Filios S. 2007. Comparative quantification of the in vitro activity of veterinary fluoroquinolones. *Vet. Microbiol.* **124**: 73-81.
42. Frye JG, Jackson CR. 2013. Genetic mechanisms of antimicrobial resistance identified in *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, and *Enterococcus* spp. isolated from U.S. food animals. *Front. Microbiol.* **4**: 135.
43. García Ovando H, Gorla N, Luders C, Poloni G, Errecalde C, Prieto G, et al. 1999. Comparative pharmacokinetics of enrofloxacin and ciprofloxacin in chickens. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* **22**: 209-212.
44. Van den Bogaard AE, London N, Driessen C, Stobberingh EE. 2001. Antibiotic resistance of faecal *Escherichia coli* in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers. *J. Antimicrob. Chemother.* **47**: 763-771.
45. Neyestanaki DK, Mirsalehian A, Rezagholizadeh F, Jabalameli F, Taherikalani M, Emaneini M. 2014. Determination of extended spectrum  $\beta$ -lactamases, metallo- $\beta$ -lactamases and AmpC- $\beta$ -lactamases among carbapenem resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients. *Burns* **40**: 1556-1561.
46. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. 2005. Metallo- $\beta$ -lactamases: the quiet before the storm? *Clin. Microbiol. Rev.* **18**: 306-325.
47. Queenan AM, Bush K. 2007. Carbapenemases: the versatile  $\beta$ -lactamases. *Clin. Microbiol. Rev.* **20**: 440-458.
48. Tenover FC, Nicolau DP, Gill CM. 2022. Carbapenemase-producing. *Emerg. Microbes Infect.* **11**: 811-814.
49. Seok Y, Bae IK, Jeong SH, Kim SH, Lee H, Lee K. 2011. Dissemination of IMP-6 metallo- $\beta$ -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* sequence type 235 in Korea. *J. Antimicrob. Chemother.* **66**: 2791-2796.
50. Lee K, Lim JB, Yum JH, Yong D, Chong Y, Kim JM, et al. 2002. bla(VIM-2) cassette-containing novel integrons in metallo- $\beta$ -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas putida* isolates disseminated in a Korean hospital. *Antimicrob. Agents Chemother.* **46**: 1053-1058.
51. Chong Y, Lee K, Park YJ, Jeon DS, Lee MH, Kim MY, et al. 1997.



- Korean nationwide surveillance of antimicrobial resistance of bacteria in 1997. *Yonsei Med. J.* **39**: 569-577.
52. Lee K, Lee MA, Lee CH, Lee J, Roh KH, Kim S, *et al.* 2010. Increase of ceftazidime- and fluoroquinolone-resistant *Klebsiella pneumoniae* and imipenem-resistant *Acinetobacter* spp. in Korea: analysis of KONSAR study data from 2005 and 2007. *Yonsei Med. J.* **51**: 901-911.
53. Hong JS, Yoon EJ, Lee H, Jeong SH, Lee K. 2016. Clonal dissemination of *Pseudomonas aeruginosa* sequence type 235 isolates carrying *bla*<sub>IMP-6</sub> and emergence of *bla*<sub>GES-24</sub> and *bla*<sub>IMP-10</sub> on novel genomic islands PAGI-15 and -16 in South Korea. *Antimicrob. Agents Chemother.* **60**: 7216-7223.
54. Hong JS, Kim JO, Lee H, Bae IK, Jeong SH, Lee K. 2015. Characteristics of metallo- $\beta$ -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in Korea. *Infect. Chemother.* **47**: 33-40.
55. Hong JS, Choi N, Kim SJ, Choi KH, Roh KH, Lee S. 2020. Molecular characteristics of GES-type carbapenemase-producing. *Microb. Drug Resist.* **26**: 605-610.
56. Samuelsen O, Toleman MA, Sundsfjord A, Rydberg J, Leegaard TM, Walder M, *et al.* 2010. Molecular epidemiology of metallo- $\beta$ -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Norway and Sweden shows import of international clones and local clonal expansion. *Antimicrob. Agents Chemother.* **54**: 346-352.
57. Cholley P, Thouverez M, Hocquet D, van der Mee-Marquet N, Talon D, Bertrand X. 2011. Most multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates from hospitals in eastern France belong to a few clonal types. *J. Clin. Microbiol.* **49**: 2578-2583.
58. Maatallah M, Cheriaa J, Backhrouf A, Iversen A, Grundmann H, Do T, *et al.* 2011. Population structure of *Pseudomonas aeruginosa* from five Mediterranean countries: evidence for frequent recombination and epidemic occurrence of CC235. *PLoS One* **6**: e25617.
59. Giske CG, Libisch B, Colinon C, Scoulica E, Pagani L, Füzi M, *et al.* 2006. Establishing clonal relationships between VIM-1-like metallo- $\beta$ -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* strains from four European countries by multilocus sequence typing. *J. Clin. Microbiol.* **44**: 4309-4315.
60. Pournaras S, Köck R, Mossialos D, Mellmann A, Sakellaris V, Stathopoulos C, *et al.* 2013. Detection of a phylogenetically distinct IMP-type metallo- $\beta$ -lactamase, IMP-35, in a CC235 *Pseudomonas aeruginosa* from the Dutch-German border region (Euregio). *J. Antimicrob. Chemother.* **68**: 1271-1276.
61. Pincus NB, Bachta KER, Ozer EA, Allen JP, Pura ON, Qi C, *et al.* 2020. Long-term persistence of an extensively drug-resistant subclade of globally distributed *Pseudomonas aeruginosa* clonal complex 446 in an academic medical center. *Clin. Infect. Dis.* **71**: 1524-1531.
62. Geraci DM, Bonura C, Giuffrè M, Saporito L, Graziano G, Aleo A, *et al.* 2015. Is the monoclonal spread of the ST258, KPC-3-producing clone being replaced in southern Italy by the dissemination of multiple clones of carbapenem-nonsusceptible, KPC-3-producing *Klebsiella pneumoniae*? *Clin. Microbiol. Infect.* **21**: e15-e17.
63. Roer L, Overballe-Petersen S, Hansen F, Schønning K, Wang M, Røder BL, *et al.* 2018. *Escherichia coli* sequence type 410 is causing new international high-risk clones. *mSphere*. **3**: e00337-18.
64. Smillie C, Garcillan-Barcia MP, Francia MV, Rocha EP, de la Cruz F. 2010. Mobility of plasmids. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **74**: 434-452.
65. Lee M, Choi T-J. 2020. Molecular analysis of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae at a South Korean Hospital. pp. 389-398.
66. Hong JS, Song W, Park MJ, Jeong S, Lee N, Jeong SH. 2021. Molecular characterization of the first emerged NDM-1-producing. *Microb. Drug Resist.* **27**:1063-1070.