

발 간 등 루 번 호

11-1352159-000691-01

학술연구개발용역과제

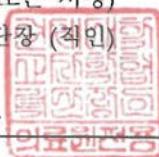
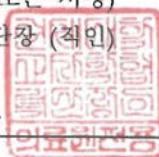
연구결과점검보고서

국내 종합병원 내 다제내성균 조사
및 특성 분석

Survey and characteristic analysis of multi-drug
resistant clinical pathogens in general
hospitals in Korea

주관연구기관 : 연세대학교 산학협력단

질병관리본부

| 학술연구개발용역과제 최종결과보고서 | | | |
|---|---------------------------|---|----------------------|
| 과제 번호 | 2016ER230100 | 발주부서 | 의료감염관리TF |
| 과제명 | 국문명 | 국내 종합병원 내 다제내성균 조사 및 특성 분석 | |
| | 영문명 | Survey and characteristic analysis of multi-drug resistant clinical pathogens in general hospitals in Korea. | |
| 보안여부 | 보안(), 일반(0) | 결과공개 여부 | 가(0), 부() |
| 총 과제기간 | 2016. 5. 25 ~ 2017. 2. 24 | 총 연구비 | 600,000천 원 |
| ()차년도 협약기간 | 2016. 5. 25 ~ 2017. 2. 24 | ()차년도 연구비 | 600,000천 원 |
| 주관 연구기관 | 기관명 연세대학교 산학협력단 | 소재지 서울 서대문구 | 대표자명 최문근 |
| 주관 연구책임자 | 성명 정석훈 | 소속/ 부서 연세의대/ 진단 검사의학교실 | 직위/ 전공 교수/ 진단검사의학 |
| | 연락처 | 이메일 | |
| | 02-2019-3532 | kscpjsh@yuhs.ac | |
| | 연구참여자 | 총 27 명 (책임연구원: 1 명, 연구원: 8명, 연구보조원: 18명 보조원: - 명) | |
| 2016 년도 학술연구개발용역과제의 연구결과최종보고서를 볼임과 같이 제출합니다. | | | |
| <p>볼임 1. 연구결과최종보고서 제본 34부 2. 연구결과최종보고서 전자파일 CD2장 (HWP, PDF, 평가의견반영대비표 포함) 3. 최종평가의견반영 대비표 출력</p> | | | |
| 2017 년 2월 24 일 | | | |
| 주관연구책임자 주관연구기관장 | | 정석훈 (인 또는 서명) 연세대학교 산학협력단장 (직인)  | |
| 질병관리본부장 귀하  | | | |

목 차

I. 연구결과 요약문

(한글)국내 종합병원 내 다제내성균 조사 및 특성 분석

(영문)Survey and characteristic analysis of multi-drug resistant clinical pathogens in general hospitals in Korea.

II. 연구용역과제 연구결과

| | |
|-------------------------------------|-----|
| 제1장 최종 목표 ----- | 5 |
| 제2장 국내외 기술 현황----- | 23 |
| 제3장 최종 연구용역과제 내용 및 방법----- | 32 |
| 제4장 최종 연구용역과제 결과----- | 54 |
| 제5장 연구결과 고찰 및 결론----- | 92 |
| 제6장 연구성과 및 활용계획----- | 93 |
| 제7장 연구용역과제 진행과정에서 수집한 해외과학기술정보----- | 98 |
| 제8장 기타 중요변경사항----- | 103 |
| 제9장 연구비 사용 내역----- | 104 |
| 제10장 참고문헌----- | 107 |
| 제11장 첨부서류----- | 109 |

연구결과최종보고서 요약문

| | | | |
|--|----------------------------|---------|-----|
| 과제명 | 국내 종합병원 내 다제내성균 조사 및 특성 분석 | | |
| 색인어 | 종합병원, 항균제 내성, 국가 감시, GLASS | | |
| 주관연구기관 | 연세대학교 | 주관연구책임자 | 정석훈 |
| 연구기간 | 2016.5.25 - 2017.2.24 | | |
| 국내의 항균제 내성문제를 해결하기 위해서는 내성균의 감시를 통한 기본 자료의 산출과 현황 파악이 무엇보다 중요하다. 본 연구에서는 WHO의 Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (GLASS)와 호환되며, 추가적인 분자역학 분석을 시행할 수 있는 종합 병원 감시체계를 구축하여 주요 내성균의 내성 양상 및 내성 기전을 규명하고자 하였다. 본 연구는 아래와 같은 내용을 포함하여 진행되었다. | | | |
| 1. 전국 6개 행정구역을 대표할 수 있는 3차 의료기관으로 감시 체계 구축 | | | |
| 2. 해당 연구기간에 감시체계에 속한 의료기관에서 분리된 감시 대상 균주 전수와 관련 임상정보 수집 | | | |
| - 혈액분리주: <i>S. aureus</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>A. baumannii</i> <i>K. pneumoniae</i> , <i>E. coli</i> | | | |
| - 뇌척수액 분리주: <i>S. pneumoniae</i> | | | |
| - 요 분리주: <i>K. pneumoniae</i> , <i>E. coli</i> | | | |
| - 비뇨 생식기 분리주: <i>N. gonorrhoeae</i> | | | |
| - 변 분리주: <i>Salmonella</i> spp., <i>Shigella</i> spp. | | | |
| 3. 수집된 균주의 항균제 내성을 시험 및 분자역학 분석 | | | |
| - <i>S. aureus</i> : SCCmec type, PVL 유전자 확인, toxin type, agr type, spa type | | | |
| - Enterococci: vanA/vanB 유전자 | | | |
| - Enterobacteriaceae : ESBL genotype, PABL genotype, CP genotype, mcr-1 | | | |
| - <i>P. aeruginosa</i> 및 <i>A. baumannii</i> : CP genotype, mcr-1 | | | |
| - <i>Salmonella</i> 및 <i>Shigella</i> spp.: ESBL genotype, QRDR sequencing | | | |
| - <i>N. gonorrhoeae</i> : penA genotype, NG-MAST | | | |
| - MLST: 혈액에서 분리된 모든 균주 | | | |
| 4. 수집한 균주와 자료의 질병관리본부 제출 (항균제 내성 균주은행 활용) | | | |
| 20016년 5-12월 사이에 총 7,819주가 수집되었으며, 매달 평균 977주의 균주가 수집되었다. 균종별로는 <i>S. aureus</i> 391주, <i>E. faecalis</i> 102주, <i>E. faecium</i> 138주, <i>S. pneumoniae</i> 14주, <i>E. coli</i> 4,746주 (혈액 분리 1,107주 및 요 분리 3,639주), <i>K. pneumoniae</i> 1,237주 (혈액 분리 422주 및 요 분리 815주), <i>P. aeruginosa</i> 101주, <i>Acinetobacter</i> 균종 169주, <i>Salmonella</i> 균종 106주가 수집되었다. | | | |
| 주요 항균제 내성균의 비율은 MRSA 53% (HA %, CA %), vancomycin-resistant <i>E. faecium</i> 28% (HA 33%, CA 11%), cefotaxime-resistant <i>E. coli</i> 32% (HA 49%, CA 28%), cefotaxime-resistant <i>K. pneumoniae</i> 35% (HA 51%, CA 26%), Carbapenem-resistant <i>P. aeruginosa</i> 19% 및 carbapenem-resistant <i>A. baumannii</i> 86% (HA 94%, CA 31%)이었다. | | | |

Summary

| | | | |
|--|--|----------------|-----------------|
| Title of Project | Survey and characteristic analysis of multi-drug resistant clinical pathogens in general hospitals in Korea. | | |
| Key Words | General hospital, Antimicrobial resistance, National surveillance, GLASS | | |
| Institute | Yonsei University | Project Leader | Seok Hoon Jeong |
| Project Period | 2016.5.25 - 2017.2.24 | | |
| <p>It is important to understand current situations of antimicrobial resistance via surveillance to overcome the problem. In this study, we aimed to establish the antimicrobial surveillance system for general hospitals which is compatible with Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (GLASS) of WHO in order to determine the current status of antimicrobial resistance and resistance mechanisms.</p> <p>This study had the following contents:</p> <ol style="list-style-type: none"> Establishment of surveillance system for 6 large cities and provinces in Korea Collection of total isolates and clinical data during study periods <ul style="list-style-type: none"> Blood: <i>S. aureus</i>, <i>E. faecalis</i>, <i>E. faecium</i>, <i>S. pneumoniae</i>, <i>P. aeruginosa</i>, <i>A. baumannii</i>, <i>K. pneumoniae</i>, <i>E. coli</i> CSF: <i>S. pneumoniae</i> Urine: <i>K. pneumoniae</i>, <i>E. coli</i> Urogenital: <i>N. gonorrhoeae</i> Stool: <i>Salmonella</i> spp., <i>Shigella</i> spp. Determination of antimicrobial susceptibility, resistant mechanisms, and molecular epidemiology <ul style="list-style-type: none"> <i>S. aureus</i>: SCCmec type, PVL gene, toxin type, <i>agr</i> type, <i>spa</i> type Enterococci: vanA/vanB Enterobacteriaceae : ESBL genotype, PABL genotype, CP genotype, mcr-1 <i>P. aeruginosa</i> 및 <i>A. baumannii</i>: CP genotype, mcr-1 <i>Salmonella</i> 및 <i>Shigella</i> spp.: ESBL genotype, QRDR sequencing <i>N. gonorrhoeae</i>: penA genotype, NG-MAST MLST: All blood isolates Transfer of all isolates and data to Korean CDC for further application <p>A total of 7,819 isolates were collected during May and December in 2016 (977 isolates per month). The number of isolates by species were <i>S. aureus</i> 391, <i>E. faecalis</i> 102, <i>E. faecium</i> 138, <i>S. pneumoniae</i> 14, <i>E. coli</i> 4,746 (Blood 1,107, urine 3,639), <i>K. pneumoniae</i> 1,237 (Blood 422, urine 815), <i>P. aeruginosa</i> 101, <i>Acinetobacter</i> spp. 169, <i>Salmonella</i> spp. 106, respectively.</p> <p>The rates of major multidrug-resistant pathogens were MRSA 53% (HA %, CA %), vancomycin-resistant <i>E. faecium</i> 28% (HA 33%, CA 11%), cefotaxime-resistant <i>E. coli</i> 32% (HA 49%, CA 28%), cefotaxime-resistant <i>K. pneumoniae</i> 35% (HA 51%, CA 26%), Carbapenem-resistant <i>P. aeruginosa</i> 19% and carbapenem-resistant <i>A. baumannii</i> 86% (HA 94%, CA 31%) during study period.</p> | | | |

학술연구개발용역과제 연구결과

제1장 최종 목표

1.1 목표

1. 연구 배경

- 항균제 내성의 역사 및 세계 현황
 - 항균제의 발견은 감염 치료의 새로운 역사를 열었으나, 항균제 사용의 증가는 내성의 발생과 확산을 유발함.
 - 항균제 내성은 감염증 치료 실패의 주요 원인 중 하나이며, 화자의 재원기간을 장기화 시켜 국민 보건에 있어 경제적 부담을 가중시키는 원인이 됨.
 - Rex 등은 다양한 감염 질환의 예후에 대한 메타 분석에서 감수성인 항균제로 적절히 치료한 경우와 내성인 항균제로 부적절하게 치료한 경우에 대한 예후를 분석한 논문에서, 내성 세균에 의한 부적절한 치료의 감염증 완치율은 60% 정도로 적절한 치료의 90% 완치율에 비해 의미 있게 치료 성공률이 낮음을 보고함.
 - 전세계적인 내성 세균의 등장 및 확산은 세계보건기구를 포함한 다양한 국가 및 단체에서 주요 쟁점으로 간주하고 있으며, 2013년에 미국의 오바마 대통령은 항균제 내성을 국가가 극복해야 할 국민 보건상의 주요 문제로 발표하였고, 세계보건기구 (WHO)도 항균제 내성의 심각함을 경고함.

Table 1. The "90-60 rule": the range of correlations between susceptibility and outcome in studies of bacterial infections.

| Reference | Type(s) of infection | Drug(s) administered | Outcome measurement | Measurement used to determine susceptibility | Cases with successful outcome, % (no. of cases/total no. of cases), by susceptibility class | | |
|-----------|---|-----------------------------|------------------------|--|---|------------------|-------|
| | | | | | Susceptible ^a | Resistant | P |
| [11] | Bacteremia and fungemia | Various | Mortality | MIC ^b | 73 (224/309) | 48 (10/21) | .02 |
| [12] | Bacteremia and fungemia | Various | Mortality | MIC ^b | 89 (594/665) | 77 (97/126) | <.001 |
| [10] | Serious bacterial infections | Various | Clinical response | MIC | 81 (219/271) | 4 (1/27) | <.001 |
| [13] | Pneumococcal otitis media | Amoxicillin/clavulanic acid | Clinical response | MIC | 80 (149/186) | 68 (15/23) | .26 |
| [14] | Pneumococcal otitis media | Cefuroxime | Clinical response | MIC | 94 (44/47) | 78 (29/37) | .05 |
| [15] | Pneumococcal otitis media ^c | Cefaclor or cefuroxime | Bacteriologic response | MIC | 95 (55/58) | 45 (9/20) | <.001 |
| [16] | Pneumococcal otitis media ^c | Cefaclor or azithromycin | Bacteriologic response | MIC | 89 (23/26) | 24 (6/25) | <.001 |
| [17] | <i>Bacteroides</i> bacteremia | Various | Bacteriologic response | MIC | 88 (60/68) | 57 (4/7) | .06 |
| [18] | Moderate-to-severe bacterial infections | Ciprofloxacin | Bacteriologic response | AUC/MIC ratio | 82 (37/45) | 26 (5/19) | <.001 |
| [19] | Bacterial infections | Aminoglycosides | Clinical response | Peak/MIC ratio | ~90 ^d | ~55 ^d | |
| [3] | Bacterial infections ^e | Cefotaxime | Bacteriologic response | Zone diameter | 92 (1464/1591) | 63 (31/49) | <.001 |
| [3] | Bacterial infections ^e | Ciprofloxacin | Bacteriologic response | Zone diameter | 91 (1652/1815) | 62 (8/13) | .004 |
| Total | — | — | — | — | 89 (4521/5081) | 59 (215/366) | <.001 |

NOTE. If a study offered multiple correlations (e.g., [3, 15]), representative data were chosen, and unequivocal end points (bacteriologic response and mortality) were given preference over clinical response. P values were determined by Fisher's exact test. AUC, area under the concentration-time curve; peak/MIC, ratio of the peak concentration to the MIC; zone diameter, diameter of the inhibition zone by disk diffusion testing.

^a The definitions of "susceptible" and "resistant" were not the same in all the reports. In some cases, the designations "susceptible" and "resistant" referred to a post hoc classification of likelihood of response based on selection of the variable that seemed most closely linked with response. For further discussion, see the section What Is the Expected Degree of Correlation between In Vitro and In Vivo Data? The "90-60 Rule."

^b A combination of susceptibility testing and clinical judgement was used to categorize therapy as appropriate or inappropriate.

^c Data on *Haemophilus influenzae* were also presented, but the authors concluded that the breakpoints they used were incorrect.

^d This study does not indicate the number of patients in the groups with higher and lower peak/MIC ratios, but it did show a clear trend favoring higher ratios. The reported success rates are for the groups with the highest (≥ 12) and lowest (≤ 2) peak/MIC ratios and were obtained by estimation from a figure in the article.

^e Taken from data submitted to the National Committee for Clinical Laboratory Standards for establishing interpretive breakpoints [3].

□ 그람양성 알균의 항균제 내성 및 세계현황

○ 황색포도알균(*S. aureus*)는 인류의 역사가 시작된 이래 가장 중요한 병원균 중 하나로, 다양한 침습적 감염을 일으키는 여러 가지 독성인자를 가지고 있으며, 항생제 내성을 용이하게 획득해서 병원환경에서 성공적으로 적응하는 능력을 갖고 있어, 다양한 지역사회 감염과 의료관련 감염의 원인균으로 작용함. 1961년에 발견된 메티실린 내성 황색포도알균 (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)은 대표적인 다제내성균으로 임상적으로 유용한 모든 β -lactam 항균제 (모든 종류의 penicillin, cephalosporin, carbaepenem, monobactam 및 β -lactam- β -lactamase 복합제제)에 치료 효과가 없으며, aminoglycoside 및 quinolone 등 다른 종류의 항균제에도 내성인 경우가 흔함. MRSA는 1980년대부터 전세계적인 확산을 하여, 국가에 따라서는 90% 이상의 분리율을 보임.

Table 7 *Staphylococcus aureus*: Resistance to beta-lactam antibacterial drugs (i.e. methicillin-resistant *S. aureus*, MRSA)

| Data sources based on at least 30 tested isolates ^a | Overall reported range of resistant proportion (%) | Reported range of resistant proportion (%) in invasive isolates ^b (no. of reports) |
|--|--|---|
| African Region – National data (n=9 countries) – Publications (n=27) from 10 additional countries | 12–80 0–100 | 52 (n=1) 33–95 (n=3) |
| Region of the Americas – National data or report to ReLAVRA (n=15 countries) – National networks (n=2) no additional country – Publications (n=17) from 7 additional countries | 21–90 21–84 2.4–90 | 43–45 (n=2) |
| Eastern Mediterranean Region – National data (n=4 countries) – Hospital network ^c (n=1) from 1 additional country – Publications (n=31) from 10 additional countries | 10–53 46 0–92 | 53 (n=1) 13–18 (n=3) |
| European Region – National data or report to EARS-Net n=36 countries) – Publications (n=5) from 2 additional countries | 0.3–60 27–80 | 0.3–6 (n=32) 27–50 (n=3) |
| South-East Asia Region – National reports (n=3 countries) – Publications (n=25) from 4 additional countries | 10–26 2–81 | 37 (n=1) |
| Western Pacific Region – National data (n=16 countries) – Institute surveillance (n=2 from one additional country) – Publications (n=1) from one additional country | 4–84 1–4 60 | |

○ 1986년 발견된 반코마이신 내성 장알균 (Vancomycin-resistant enterococci, VRE)는 지속적인 확산에 의한 분리 빈도 증가로 현재는 중요한 의료관련 감염균으로 자리잡고 있음.

VRE 대부분은 기존의 타약제에 내성을 보이는 다제내성균으로 최근에는

quinupristin-dalfopristin이나 linezolid 내성 VRE의 빈도가 증가하고 있어 치료 약제 선택에 한계가 있고, 항균제 내성을 다른 세균에 용이하게 전달할 수 있는 특성이 있어 감염관리가 중요한 세균임. 특히 MRSA 치료에 유용하던 vancomycin에 대한 고도 내성을 MRSA에 전파할 수 있으며, 1996년 및 2002년에는 각각 vancomycin에 중간 내성과 고도 내성을 보이는 MRSA가 일본 및 미국에서 발견되었으며, VRSA는 현재 6개 국가에서 20여주가 보고되었음.

□ 그람음성 막대균의 항균제 내성 및 세계현황

○ 1980년대 중반에 보고된 extended-spectrum β -lactamase (ESBL)는 주요 그람음성 막대균인 대장균 (*E. coli*)과 폐렴막대균 (*K. pneumoniae*)을 중심으로 확산되기 시작하였으며, 모든 penicillin, cephalosporin 및 monobactam 항균제에 내성을 보임. ESBL 생성을 의심할 수 있는 3세대 cephalosporin 내성 대장균의 비율은 유럽 3-82% 및 아시아태평양 지역 0-77%로 다양하였으나, 근래 들어 증가하고 있는 상황임. ESBL 생성균주의 증가는 폐렴막대균에서도 심각하여 유럽 지역 2-82% 및 아시아태평양 지역 1-72% 임.

Table 3 *Escherichia coli*: Resistance to third-generation cephalosporins^a (summary of reported or published proportions of resistance, by WHO region)

| Data sources based on at least 30 tested isolates ^b | Overall reported range of resistant proportion (%) | Reported range of resistant proportion (%) in invasive isolates ^c (no. of reports) |
|---|--|---|
| African Region - National data (n=13 countries) - Publications (n=17) from 7 additional countries | 2-70 0-87 | 28-36 (n=4) 0-17 (n=5) |
| Region of the Americas - National data or report to ReLAVRA (n=14 countries) - Publications (n=10) from 5 additional countries | 0-48 0-68 | |
| Eastern Mediterranean Region - National data (n=4 countries) - Surveillance network in 1 country ^d - Publications (n=44) from 11 additional countries | 22-63 39 (caz)-50 (cro) 2-94 | 41 (n=1) 11-33 (n=6) |
| European Region - National data or report to EARS-Net (n=35 countries) - Publications (n=5) from 2 additional countries | 3-82 0-8 | 3-43 (n=32) 0-8 (n=2) |
| South-East Asia Region - National data (n=5 countries) - Publications (n=26) from 2 additional countries | 16-68 19-95 | 20-61 (n=2) |
| Western Pacific Region - National data (n=13 countries) - Institute surveillance (data from 3 hospitals in one country) - Publications (n=4) from 2 additional countries | 0-77 4-14 8-71 | |

Table 5 *Klebsiella pneumoniae*: Resistance to third-generation cephalosporins^a (summary of reported or published proportions of resistance, by WHO region)

| Data sources based on at least 30 tested isolates ^b | Overall reported range of resistant proportion (%) | Reported range of resistant proportion (%) in invasive isolates ^c (no. of reports) |
|---|--|---|
| African Region – National data (n=13 countries) – Publications (n=4) from 1 additional country | 8–77 9–69 | 41–62 (n=3) |
| Region of the Americas – National data or report to ReLAVRA (n=17 countries) – Publications (n=3) from 3 additional countries | 4–71 15–56 | 56 (n=1) |
| Eastern Mediterranean Region – National data (n=4 countries) – Surveillance network ^d (n=1) in 1 additional country – Publications (n=16) from 7 additional countries | 22–50 72 (caz)–82 (cro) 6–75 | 48 (n=1) 17 (ctx); 43 (caz); 50 (cro) (n=1) |
| European Region – National data or report to EARS-Net (n=33 countries) – Publications (n=2) from 2 additional countries | 2–82 4–61 | 2–82 (n=31) 11 (cro); 16 (ctx); 18 (caz) (n=1) |
| South-East Asia Region – National data (n=4 countries) – Publications (n=23) from 4 additional countries | 34–81 5–100 | 53.3–100 (n=4) |
| Western Pacific Region – National data (n=14 countries) – Institute surveillance (data from 3 hospitals in 1 country) – Publications (n=3) from 2 additional countries | 1–72 17–30 27–35 | 72 (n=1) 27 (n=1) |

○ ESBL 생성 장세균의 확산에 따른 carbapenem 항균제의 사용 증가는 carbapenem 내성의 증가 (Carbapenem-resistnat Enterobacteriaceae, CRE)로 이어짐. 그램음성 막대균의 carbapenem 내성획득 기전은 class A, B 및 D형 carbapenemase 생성에 의한 항균제의 불활성화가 가장 중요하며, CRE는 tigecycline, colistin을 제외한 대부분의 항생제에 내성이고 임상적으로 치료가 매우 어려우며 감염시 높은 사망률을 보임. CRE는 수직적 클론성 전파나 수평적 플라즈미드 매개 전이를 통해 쉽게 확산되므로 적극적인 감염 관리가 필요.

Table 6 *Klebsiella pneumoniae*: Resistance to carbapenems^a (summary of reported or published proportions of resistance, by WHO region)

| Data sources based on at least 30 tested isolates ^b | Overall reported range of resistant proportion (%) | Reported range of resistant proportion (%) in invasive isolates ^c (no. of reports) |
|--|--|---|
| African Region – National data (n=4 countries) – Publications (n=0) | 0–4 | |
| Region of the Americas – National data or report to ReLAVRA (n=17 countries) – Publications (n=2) from 2 additional countries | 0–11 0–2 | |
| Eastern Mediterranean Region – National data (n=4 countries) – Surveillance network ^d (n=1) in 1 additional country – Publications (n=9) from 5 additional countries | 0–54 6 0–21 | 54 (n=1) 0 (n=1) |
| European Region – National data or report to EARS-Net (n=31 countries) – Publications (n=3) from 2 additional countries | 0–68 2–7 | 0–68 (n=30) 2 (n=1) |
| South-East Asia Region – National data (n=4 countries) – Publications (n=15) from 2 additional countries | 0–8 0–55 | 0–52 (n=3) |
| Western Pacific Region – National data (n=9 countries) – Institute surveillance (data from 2 hospitals in 1 country) – Publications (n=2) from 2 additional countries | 0–8 0–1 0–11 | |

- Class A carbapenemase는 GES, KPC, SME, IMI 및 NMC-A 등이 알려져 있는데 KPC와 GES가 가장 흔히 보고. GES 효소 중 GES-2, GES-3, GES-5 및 GES-6이 carbapenem에 대한 가수분해 활성이 있으며 국내에선 GES-5를 생성하는 *K. pneumoniae*가 분리된 적이 있음. KPC는 최근 들어 전세계적으로 가장 흔한 장세균군의 carbapenem 내성 원인으로, KPC 발생 이후 최근 10년간 *K. pneumoniae*의 카바페넴계 항생제 내성을 전세계적으로 증가하고 있음. KPC 효소는 처음에 미국과 유럽에서 분리되는 *K. pneumoniae*에서 흔히 검출되었으나, 2007년 콜롬비아에서 KPC-2를 생성하는 *P. aeruginosa*가 보고된 이후, 전 세계적으로 보고[Fig. 1].

- Metallo- β -lactamase (MBL)로 불리우는 class B효소는 penicillin, 협범위 및 광범위 cephalosporin, carbapenem 등 aztreonam을 제외한 β -lactam 대부분의 항균제에 가수분해 활성이 있으며, EDTA에 의해서 활성이 억제된다. 대표적인 효소로 IMP형, VIM형, SPM형, GIM형, SIM형, NDM형, AIM형, KHM형 및 DIM형이 있다. 최근 NDM-1을 생성하는 그람 음성간균의 세계적인 확산이 되고있으며, MBL 생성 장내세균도 급속히 확산되고 있다[Fig. 2,3].

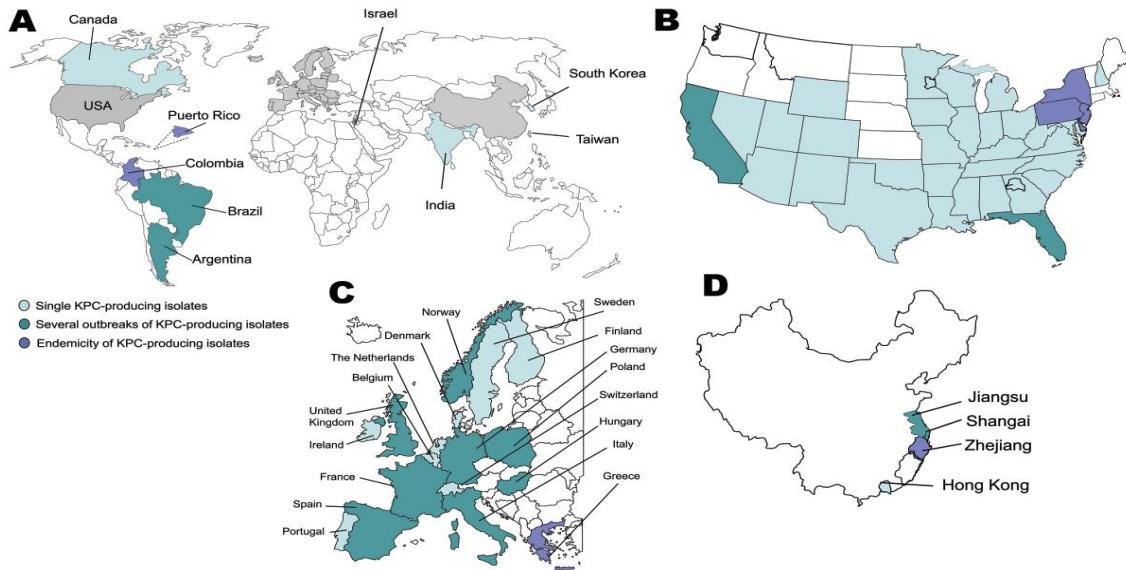


Fig. 1. A) Worldwide geographic distribution of *K. pneumoniae* carbapenemase (KPC) producers. Gray shading indicates regions shown separately: B) distribution in the United States; C) distribution in China.

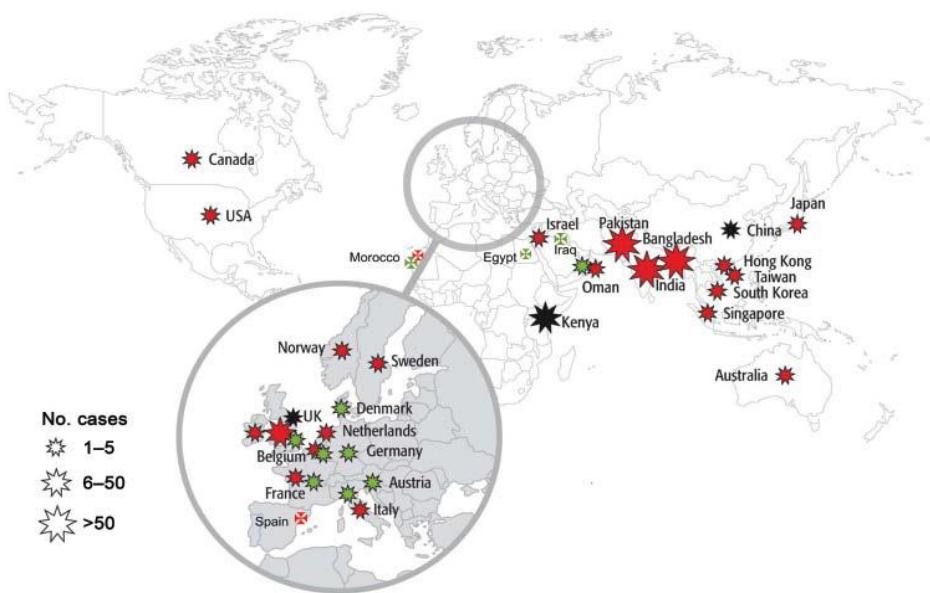


Fig. 2. Geographic distribution of New Delhi metallo- β -lactamase-1 producers, July 15, 2011. Star size indicates number of cases reported. Red stars indicate infections traced back to India, Pakistan, or Bangladesh; green stars indicate infections traced back to the Balkan states or the Middle East; and black stars indicate contaminations of unknown origin. (Most of the information corresponds to published data; other data are from P. Nordmann.)

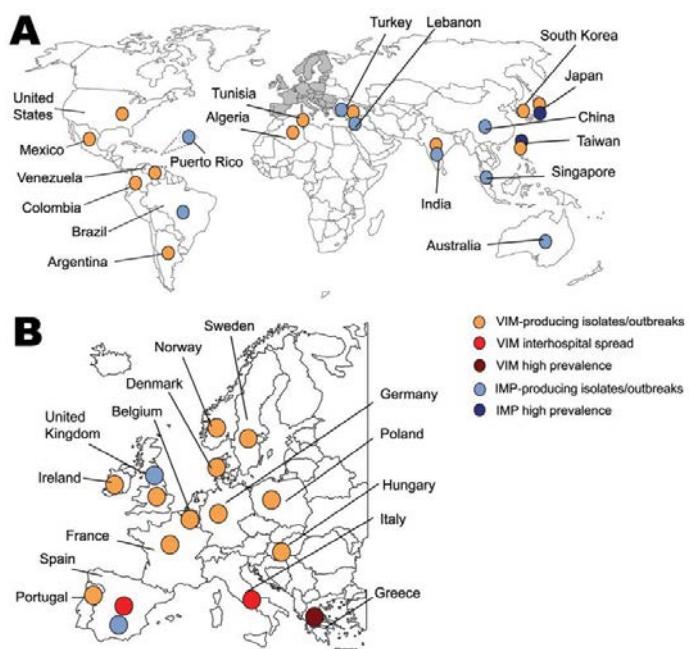


Fig. 3. Worldwide (A) and European (B) geographic distribution of VIM and IMP enterobacterial producers.

- Oxacillinase로 여기지는 class D형은 ampicillin보다 oxacillin이나 cloxacillin에 강한 활성이 있음. OXA형은 현재까지 100 종이상이 알려져 있으며 (<http://www.lahey.org/studies/webt.asp#OXA>), 이 가운데 OXA-23~27, -40, -48 등 40 종 이상이 carbapenem에 대한 활성이 있는 것으로 알려져 있다. 이들은 최근 유라시아 대륙을 중심으로 전 세계적으로 보고되고 있고 특히 OXA-23을 생성하는 *A. baumannii*의 보고는 매우 흔하다[Fig. 4]. 그리고 염색체성 OXA-51 유전자의 상류에 ISAbal의 과발현에 의한 carbapenem 내성발현의 보고도 있으며, 지중해 연안을 중심으로 유럽국가에서 OXA-48 생성 장내세균의 보고도 잇따르고 있다[Fig. 5].

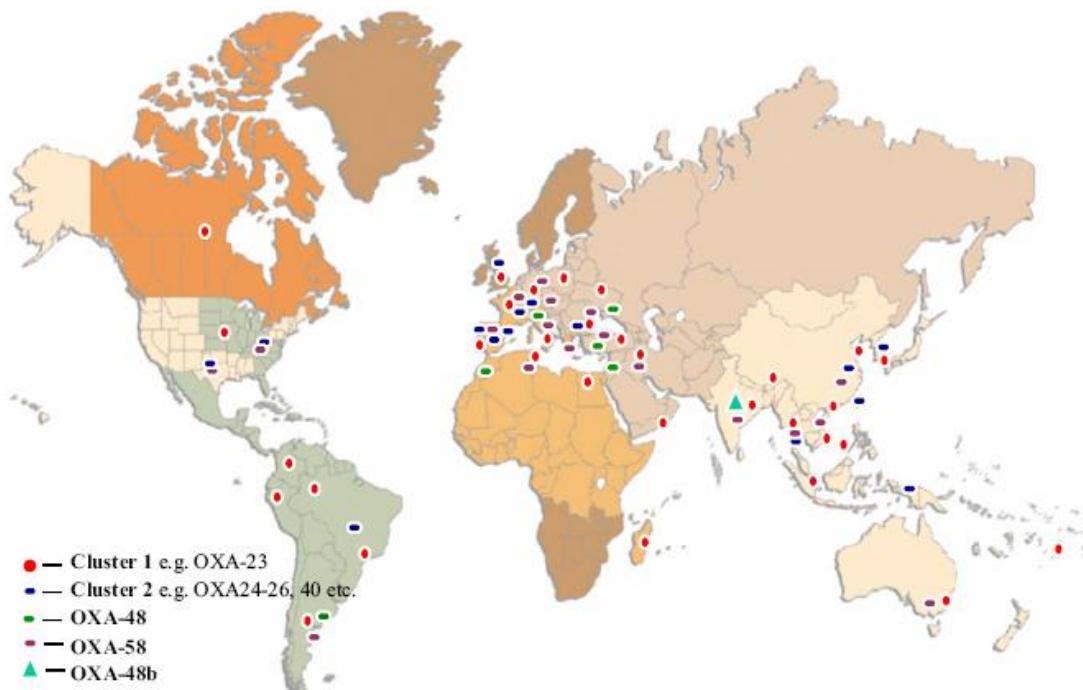


Fig. 4. Geographic distribution of OXA-48 type producers.

- ESBL 생성 장세균군의 확산에 따른 carbapenem 항균제의 사용 증가는 포도당 비발효 그람음성 막대균의 carbapenem 내성 증가도 유발. 특히 면역저하 환자에서 폐렴, 폐혈증, 심내막염, 요로감염, 창상감염, 수막염 등의 주요 감염을 일으키는 *A. baumannii*에서 carbapenem계 항균제에 대한 내성을은 심각.

□ Salmonella 균종의 항균제 내성

- 살모넬라균은 1886년 Salmon과 Smith에 의해 처음 분리 보고된 이래 우리나라뿐만 아

나라 전 세계적으로도 가장 대표적인 병원체 중의 하나로 포유동물 뿐만 아니라 인체에도 흔히 감염되어 패혈증, 설사, 폐렴 등을 야기 시키는 인수공통전염병의 원인 병원체 중 하나임. 살모넬라균은 크게 *S. enterica*와 *S. bongori* 두 개의 종으로 분류되며, *S. enterica*는 *S. enterica* subsp. *enterica*를 포함하여 *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae*, *indica*, *salamae*와 같이 6개의 아종으로 분류. 또한 균체항원(O-antigen)과 두 종류의 편모항원(H-antigen)의 항원형 조합에 의해 현재 3,400여종의 혈청형으로 분류되며, 각 혈청형에 따라 숙주 특이성, 항생제 내성형 등 다양한 특성을 보임. 식중독에 관련하여 가장 흔히 검출되는 주요 혈청형은 *S. Typhimurium* 및 *S. Enteritidis* 등이며 다양한 살모넬라 혈청형 중 *S. Typhi*는 균혈증을 유발하는 장티푸스의 원인 병원체임. 장티푸스는 감염 환자에게 급성 전신성 열성 질환을 일으키는 법정 전염병으로서 발열이나 두통과 같은 증상이 나타나며 설사나 변비 등의 위장관 증상을 보임. 전 세계 연간 약 1,700만 명이 장티푸스에 감염되며 이중 약 60만 명이 이 질병으로 인하여 사망하는 것으로 보고되고 있으며, 발병 초기에 항생제 치료를 시작하면 사망률은 1% 이하이지만 치료하지 않을 경우에는 10~20%의 환자가 사망에 이르기 때문에 조기 발견 및 치료가 필수적임.

- 국내에서도 매년 살모넬라 감염증 집단 발병이 지속적으로 보고되고 있으며 전체 설사 원인균의 분포도에서는 살모넬라균의 비율이 매년 증가하는 추세를 보임. 장티푸스의 원인균인 *S. Typhi*의 경우 매년 200-400명 정도 감염이 보고되고 있으며 2013년도에 비해 2014년도에 60.9%로 증가하는 양상을 보임이 보고됨.



Fig. 5. 국내 감염병 감시 연보 (2014년)

□ 임균 감염의 특징 및 임상적 의의

- 임균은 주요 성매개 감염병인 임질을 일으키는 원인균으로, 세균에 의한 성매개 감염 질환 중 두 번째로 흔함. 임균은 대부분의 남성에서 요도염 등의 비뇨생식기 감염을 일으키며, 여성에서는 단순 보균자로부터 골반의 염증성 질환 등 다양한 감염과 합병증을 유발.

- 국내에서 분리되는 임균은 전통적으로 임질 치료에 사용하였던 penicillin G와 tetracycline에 모두 내성이고, fluoroquinolone에 대한 내성율도 매우 높아 2007년에 이후 발간된 성매개 질환에 대한 진료 지침에서 fluoroquinolone에 대한 사용을 추천하지 않음. Fluoroquinolone 내성이 심각해지고 사용이 금지됨에 따라 근래에 cephalosporin 항균제의 사용이 증가.
- 경구용 cephalosporin인 cefixime은 임균에 감염된 333 명의 환자를 대상으로 한 연구에서 ceftriaxone과 동일한 치료 효과를 갖고 있었고 (치료율; cefixime 400 mg, 96%; cefixime 800 mg, 98%; ceftriaxone, 98%), 주사제의 불편함이 없이 1회의 경구 투여로 임균을 치료할 수 있어 널리 사용되었음.
- 여러 국가에서 경구용 cephalosporin제를 많이 사용함에 따라 내성이 보고되기 시작. 2002년에 PBP2 유전자인 penA의 mosaicism에 의해 cefixime 내성인 임균이 일본에서 처음 보고되었고, 2007년에는 cefixime 내성균주가 일본에서 분리된 임균의 20%를 넘어 임균 치료에서 cefixime을 사용하지 말 것을 권장. 2008년에는 ceftibuten에 내성인 임균과 이에 따른 치료 실패가 보고되어, 경구용 cephalosporin 항균제에 대한 내성이 점차 증가하고 다양화되는 양성을 보임.
- Ceftriaxone은 제 3세대 cephalosporin제이며 대부분의 임균 감염에 가장 강력하고 효과적인 항균제로 널리 사용되고 있으나 ceftriaxone에 고도 내성인 임균이 2011년과 2012년에 일본, 프랑스, 스페인 등지에서 보고되었으며, 고도 내성균주가 아닌 임균에서도 ceftriaxone의 최소억제농도 상승에 의한 MIC creep이 문제가 되고 있음. MIC creep은 일정 기간에 걸쳐 MIC가 상승하는 현상으로 통상적인 항균제 감수성 시험에서는 감수성으로 해석되지만, MIC의 상승에 의해 항균제가 전달되기 어려운 부위인 인두 등에 감염이 생기면 치료 실패를 일으킬 수 있는 가능성성이 있음.
- 이와 같이 임균의 항균제 내성은 점차로 심각해지고 있으며, 2013년에 미국 질병관리본부에서는 항균제 내성 임균을 carbapenem-resistant Enterobacteriaceae 및 Clostridium difficile와 함께 시급히 대응이 필요한 3개 감염질환의 원인균으로 선정함.

□ 국내 항균제 내성 현황

- 국내 환자의 임상검체에서 분리된 주요 세균의 항균제 내성률은 꾸준히 증가 (Fig. 6).

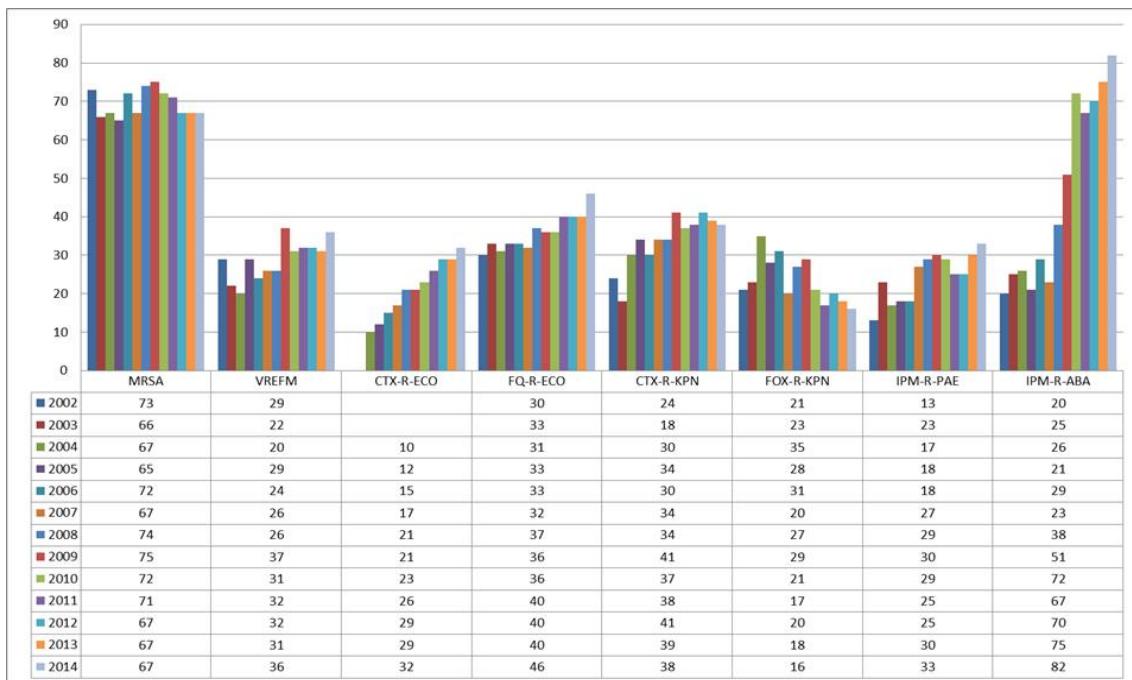


Fig. 6. Trend of antimicrobial resistance (%) of important clinical pathogens during 2002 and 2014. MRSA, Methicillin-resistant *S. aureus*; VREFM, Vancomycin-resistant *E. faecium*; FQ-R-ECO, Fluoroquinolone resistant *E. coli*; CTX-R-KPN, Cefotaxime-resistant *K. pneumoniae*; FOX-R-KPN, Cefoxitin-resistnat *K. pneumoniae*; IPM-R-PAE, Imipenem-resistant *P. aeruginosa*; IPM-R-ABA, Imipenem-resistant *A. baumannii*.

○ 대표적인 그람양성 구균 가운데 *S. aureus*의 methicillin 내성을 2002년도에 73%이었으나 2003년부터 약간 감소하여 2005년에는 65%이었음. 그러나 2006년에는 다시 증가하여 2014년 MRSA 분리 비율은 67%이며, MRSA의 높은 분리비율은 이 세균이 획득한 다양한 toxin 유전자의 역할에도 영향을 미치게 되어 감염환자의 예후에도 영향을 미칠 것으로 생각됨. Vancomycin 내성 *Enterococcus faecium*의 분리율은 2002년도에 29%이었으며, 몇 해 증가와 감소현상을 보이다가 2010년에는 약 28%로 외국에 비해서는 여전히 높음. Vancomycin 내성을 병원에 따라 차이가 많고, 중환자실 분리주의 내성을 높다. *Enterococcus faecalis*의 vancomycin 내성을 2002년부터 1-2%를 유지하여 *E. faecium*에 비해서는 현저히 낮음.

○ *Escherichia coli*의 제 3세대 cephalosporin에 대한 내성을 2002년 9-11%, 2005년 10-12%, 2007년 11-13%이었고 2014년에는 12-36%로 제3세대 cephalosporin 내성이 증가하는 경향을 보임. Fluoroquinolone 내성 *E. coli*의 비율은 2002년부터 2007년까지 30-33% 정도로 일정하였으나 2008년부터 증가하기 시작하여 2014년에는 46%이었음. *K.*

pneumoniae의 제 3세대 cephalosporin인 cefotaxime에 대한 내성률은 2002년 24%, 2007년 34%, 2010년에는 37%이었고, 2014년에는 38%정도로 꾸준히 증가하는 양상을 보여 광범위 β -lactam 분해효소(ESBL) 또는 plasmid 매개 AmpC β -lactamase (PABL)를 생성하는 균주의 확산을 의심할 수 있었음. 2007년엔 *E. coli*와 *K. pneumoniae*의 Imipenem 내성 비율은 0.3-2%이었으며, 전국 5개의 병원에서 분리되었으나 2014년에는 imipenem 내성 *K. pneumoniae*가 전국 대부분의 병원에서 보고됨.

- *Pseudomonas aeruginosa*의 imipenem에 대한 내성률은 2002년 13%, 2006년 18%, 2010년 31%, 2014년 33%로 지속적으로 증가하였으며 중환자실 분리주의 내성률이 대체로 높아서 2006년에 중환자실에서 분리된 *P. aeruginosa*의 imipenem 내성률은 37%이었으며, *Acinetobacter baumannii*의 2002년도 carbapenem 내성률은 20%이었으나 2006년 29%, 2014년 82%로 현저히 증가하고 있음.
- 살모넬라의 항균제 내성에 관해 국내에서 보고된 자료에 따르면 ampicillin, piperacillin, tetracycline, nalidixic acid, chloramphenicol 및 gentamicin에서 내성률이 높음. 또한 혈청형에 따라 내성률에 차이를 보이기도 했는데 국내에서 분리율이 높은 *S. Enteritidis*의 경우 쿠놀론계열인 nalidixic acid(NA)에서는 내성률이 매우 높았고, ciprofloxacin은 아직까지 내성률이 높지는 않지만 최근 점점 증가하는 추세를 보임. 또 다른 대표적인 혈청형인 *S. Typhimurium*의 경우 *S. Enteritidis*와는 다르게 쿠놀론계열 보다는 ampicillin, tetracycline 등에 전반적으로 내성률이 높음.
- 국내에서는 건강보험심사평가원의 자료에 의하면 국내에서 임균 감염증 환자에 대한 cephalosporin 항균제 처방율은 2002년에 10%로 낮았으나, 2010년에는 30%로 증가하였고, 2014년에는 47.2%의 환자가 cephalosporin 항균제로 치료받음. Cephalosporin 사용 증가에 따라 cephalosporin 내성과 연관이 있는 type X mosaicism을 가진 균주의 분리율도 최근에 급격하게 증가하여, 2004년에 1주가 분리되고 2005-2010년까지 분리되지 않았던 type X mosaicism 균주의 전체 균주에 대한 비율이 2011-2013년 2%, 2014년 15%, 2015년에는 45% 이었고, 임상검사센터에서 수집한 DNA검체에서도 2012년 1.1%, 2012년 6.7%, 2014년 9.9% 및 2015년 30.0%로 크게 증가. 국내에서 분리되는 임균의 ceftriaxone의 MIC 범위는 1997-1999년에 $\leq 0.008\text{-}0.06 \mu\text{g/mL}$ 이었고, ceftriaxone MIC가 ≥ 0.06 인 균주의 비율은 10% 미만이었으나[5], 2000년 중반부터 MIC 범위의 상한값이 감수성 breakpoint인 $0.25 \mu\text{g/mL}$ 까지 증가하였으며[7-11], ceftriaxone MIC가 $\geq 0.06 \mu\text{g/mL}$ 인 균주의 비율은 2014년에 49%까지 증가.

2. 연구의 필요성

- 항균제 내성에 의한 보건의료 부담
- 항생제 내성은 내성 기전, 내성을 가진 병원체 및 내성 항균제의 종류 등에 따라 높은 사망률, 입원 기간의 증가, 중환자실 입원 등과 연관이 있음.

Table 13 Overview of the findings addressing the question: Does the published scientific literature support that there is a difference in outcome for patients with infections caused by the selected bacteria if they are resistant or sensitive to the relevant specific antibacterial drugs?

| | <i>Escherichia coli</i> | | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | | <i>Staphylococcus aureus</i> |
|----------------------------------|---|------------------|---|----------------------------|------------------------------|
| Antibacterial resistance | | | | | |
| | 3 rd generation cephalosporins | Fluoroquinolones | 3 rd generation cephalosporins | Carbapenems | MRSA |
| Outcome parameter | | | | | |
| Bacterium-attributable mortality | Yes (n=4) | No (n=1) | Yes (n=4) | No (n=1) | Yes (n=46) |
| 30-day mortality | Yes (n=11) | Yes (n=5) | Yes (n=7) | Yes (n=3) | Yes (n=16) |
| Hospital LOS | No (n=3) | No (n=3) | No (n=9) | Unclear (n=3) ^a | Yes (n=50) |
| Admission to ICU | No (n=1) | Yes (n=1) | Yes (n=3) | ND | No (n=17) |
| Post-infection LOS | No (n=3) | ND | Yes (n=4) | No (n=1) | Yes (n=27) |

- 또한 항균제 내성에 의한 높은 사망률, 증가된 입원 기간 및 집중 치료 등은 의료비 부담과도 관련이 있으므로 항균제 내성에 대한 해결은 국민 보건 향상에 중요한 문제임.

Table 14 Overview of the findings addressing the question: Does the published scientific literature indicate that there is an excess cost due to infections caused by the selected bacteria if they are resistant to the relevant specific antibacterials?

| | Antibacterial resistance | Studies included in SR (n) | Studies reporting cost data (n) | Excess cost (n=studies reporting costs) | | | |
|------------------------------|--|----------------------------|---------------------------------|---|------------------------------------|---------------------------|--|
| | | | | Hospitalization ^a | Antibacterial therapy ^b | Medical care ^c | Additional cost variables ^d |
| <i>Escherichia coli</i> | 3 rd generation cephalosporin-resistant | 25 | 2 | Yes (n=2) | Yes (n=1) | Yes (n=1) | Yes (n=1) |
| | Fluoroquinolone-resistant | 12 | 0 | - | - | - | - |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 3 rd generation cephalosporin-resistant | 24 | 0 | - | - | - | - |
| | Carbapenem-resistant | 13 | 0 | - | - | - | - |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Methicillin-resistant | 147 | 19 | Yes (n=17) | Yes (n=6) | Yes (n=6) | Yes (n=9) |

□ 항균제 내성 극복을 위한 전략

- 국내의 항균제 내성은 전술한 바와 같이 외국에 비해 심각한 수준이며, 내성 극복을 위한 다양한 전략이 필요한 상황임.
- 항균제 내성을 극복하기 위해서는 항균제 내성 선별 및 제거 (Search and destroy), 감염 관리 (Infection control) 및 항균제 사용 제한 (Antimicrobial stewardship) 등의 다양한 전략이 필요하며, 이를 위해서는 항균제 내성 감시체계의 운영이 가장 우선시 되어야 함.

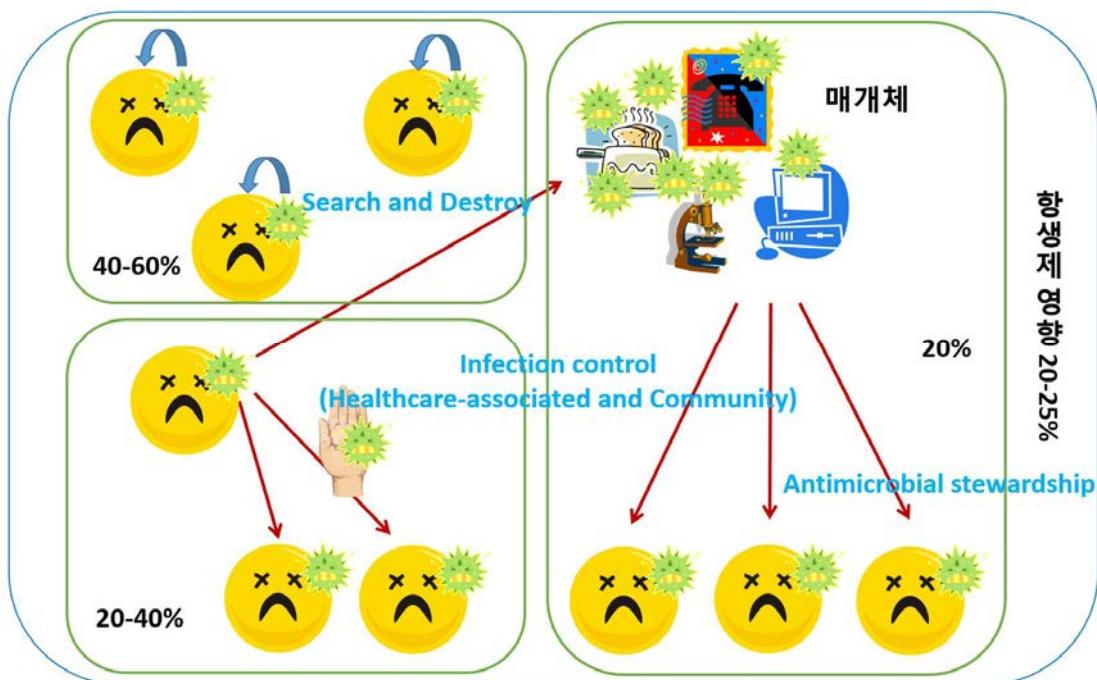


Fig. 6. 항균제 내성 감소를 위한 주요 전략

□ 항균제 내성 감시체계의 필요성

- 항균제 내성 감시체계는 현재의 내성 상황을 지속적으로 감시하고 평가함으로써 다음과 같은 목적을 갖고 있음
 - 항균제 내성 감시체계의 목적
 - 다제내성 감염의 진단
 - 새로운 내성의 발생이나 확산을 감시
 - 감염 관리를 위한 내성 군주 수집 및 특성 자료 제공
 - 항균제 내성 감소를 위한 다양한 전략의 평가를 위한 기본 자료 및 평가 자료 제공
 - 경험적 항균제 사용 지침 개정 및 수립을 위한 기본 자료 제공

Table 항균제내성 극복을 위한 필요 정보 및 감시의 목적

| 감시 목적 | 필요 정보 |
|-------------|--|
| 위험 최소화 | <ul style="list-style-type: none"> •항균제 감수성 시험 결과 (기준/신규) •내성균 감염의 임상 정보 •내성 기전 규명 |
| 신종 내성 세균 출현 | <ul style="list-style-type: none"> •일련균주를 이용한 유병률 •감수성 항균제 시험 결과 •분자역학적 분석자료 (AR 균주은행) •내성 기전 규명 (AR 균주은행) |
| 효과 판정 | <ul style="list-style-type: none"> •일련균주를 이용한 유병률 (기준치) •분자역학적 분석자료 (AR 균주은행) •내성 기전 규명 (AR 균주은행) |

3. 연구 목적

권역별로 대표적인 종합병원 6곳에서 분리된 균주를 연중 내내 전수 수집하여 균종별 항균제 감수성 및 유전자 특성을 조사하여 국내 내성을 현황 및 내성기전 특성을 확인하고자 함

4. 연구 범위

- 전국 표본감시체계 구축: **GLASS 호환 시스템**
 - 의료관련 감염 표본감시병원 중 권역별 종합병원 6곳을 대상으로 함.
 - 운영 위원회 구성 및 정기 운영
 - 균주 운송 체계 수립: 안전한 수송을 위한 적정 온도 및 조건 유지 기관 선정
 - 정도관리 시스템 구축 및 운영: 해당연도 분석에 대한 특수 균주 (유전체 자원은행 활용)
 - 결과 보고 표준화를 위한 정기 교육 워크샵 시행
 - 결과 환류를 위한 결고 보고 워크샵 시행: 대한임상미생물학회 학술대회 또는 집담회
- 병원체 (7종 등) 및 임상 정보 수집 (OCS연계)
 - 수집 대상 균종
 - GLASS 대상 균주: *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *A. baumannii*, *Salmonella* 및 *Shigella* spp., *N. gonorrhoeae*
 - 다제내성 6종 대상균주: *E. faecalis*, *E. faecium*, *P. aeruginosa*
 - 수집 대상 검체
 - 혈액 분리주: 모든 균종

- 요 검체: 모든 *E. coli* 및 *K. pneumoniae*
- 변 검체: *Salmonella* 및 *Shigella* spp.
- 뇌척수액 (CSF): *S. pneumoniae*
- 비뇨생식기 검체: *N. gonorrhoeae*

□ 균종별 분리주의 항균제 감수성 및 유전자 변이 등 특성 조사

- 수집된 병원체 확인동정 및 보존: MALDI-TOF, 16S rRNA 염기서열분석 (필요시), *rpoB* gene 염기서열분석 (필요시)
 - GLASS 기준에 맞추어 연간 1만주 이상 수집 예정
 - 2016년은 연구 기간 문제로 5,000주 예상
- 1, 2차년도로 구분하여 3종씩 격년제로 실시 (연도별 대상균종은 추후 협의)
- 균종별 주요 항균제 감수성 확인 시험: 디스크 확산법, 한천희석법 및 Etest
 - 항균제 감수성 자료: 모든 균주를 수집하여 주관 기관에서 항균제 감수성 시험 시행
 - 2-3년차: 표준 시험법의 개발과 보급 및 정도관리 시행을 통해 검사실간 표준화 달성을 후에 각 수집 기관별 항균제 감수성 검사 시행 및 결과 수집
- 병원체별 유전자 변이 조사
 - *S. aureus*: *mecA/mecC*, *SCCmec/agr* typing, *PVL* 유전자 확인, toxin type 등
 - Enterococci: *vanA*, *vanB*, *ermB*, *aac-aph*, *ant6*, *tetM* 등
 - Enterobacteriaceae: 카바페넴효소(KPC, NDM, VIM, IMP, GES 등), ESBL(CTX-M, SHV, TEM 등) plasmid mediated *ampC* β -lactamase (PABL, CMY-1, CMY-2, DHA-1 등) 유전형 확인, *mcr-1* 분포 확인 (Plasmid-mediated colistin resistance)
 - *Acinetobacter baumannii*: *rpoB*, OXA(23,24,51,58) 및 카바페넴효소 (KPC, NDM, VIM, IMP, GES 등) 유전형 확인 등
 - *P. aeruginosa*: 카바페넴효소(KPC, NDM, VIM, IMP, GES 등) 및 ESBL(CTX-M, SHV, TEM 등) 유전형 확인
 - *Salmonella* 및 *Shigella* 균종: 주요 항균제 감수성 시험, 혈청형 및 분자역학 분석
 - *N. gonorrhoeae*: 주요 항균제 감수성 시험 (Cephalosporin), *penA* 유전형 분석, 역학 분석 (NG-MAST)
 - 이외 각 균주별 다양한 변이 조사
 - 일부 내성 균주 전장유전체분석 (Whole genome sequencing) 시행: 일부 특수 균주

□ 수집된 자원 및 정보는 병원체별 특정 센터로 이송하여 재확인

1.2 목표달성도 및 관련분야에 대한 기여도

1. 연구 목표의 달성도

- 본 연구는 의료관련감염병으로 지정된 다제내성균종을 대상으로 전국적인 실험실 표본 감시체계를 구축하고 내성균의 임상 및 분자역학적 특성을 분석하여 내성균의 확산방지 및 대책 수립의 기초자료 제공한다는 목적을 100% 달성함.
- 전국 주요 지역에 위치한 6개 거점 의료기관에서 분리되는 주요 내성균을 대상으로 항균제 내성률을 조사하고, 주요 내성 세균에 대해서는 감수성 양상을 추적하며, 주요 내성 기전 및 분자역학을 규명하였음 (전체 연구기간 10,000주, 2016년 7,000주)
- 감염병 원인균종 및 환자 임상정보를 수집하고 대상균종별로 병원체를 수집 및 환자 임상정보와 검체정보를 통합적으로 분석할 수 있도록 조사함
- 다제내성균의 추이변화 및 새로운 내성균의 출현을 보다 효과적으로 추적 및 감시할 수 있도록 기초 자료 제공
- 세계보건기구에서 시작하는 GLASS에 초기부터 참여하여 항균제 내성 연구의 선도적 국가가 될 수 있으며, 수집된 모든 균주를 활용하여 다양한 연구를 활성화

2. 관련 분야 연구 기여도

- 전국적인 항균제 내성률
 - 확대된 항균제 감수성 조사 체계를 이용하여 전국적인 항균제 내성률을 모니터링하고, 국내의 내성 현황과 새로운 내성균의 출현을 감시
 - 연구 결과로 도출된 국내의 내성률은 연도별로 추이를 분석하고, 항균제 내성을 관리하기 위한 기초적인 근거 자료로 활용하며, 병원에서 환자 치료시 경험적 항균제를 선택하기 위한 자료로 사용
- 감시체계 표준화 및 정도관리
 - 참여 공동연구병원을 대상으로 워크샵을 진행하여 전년도의 결과를 환류하고 해당 연도의 균주 수집 및 연구 활성화를 도모하며, 표준화된 결과를 얻을 수 있도록 교육 및 정도 관리 수행.
 - 도출되고 공유된 정보는 유관 연구의 발전 및 진행을 활성화하고 전체적으로 국내 항균제 내성해결의 한 축으로 작용할 것으로 판단
- 의료관련 감염병 다제내성균의 감시
 - 의료관련감염병으로 지정된 다제내성세균을 대상으로 전국적인 실험실 표본 감시체계

를 구축하고 내성균의 임상 및 분자역학적 특성을 분석하여 내성균의 확산방지 및 대책 수립의 지초자료로 제공.

□ 주요 내성균의 항균제 내성 양상 및 기전 규명

- 국내에서 호발하는 주요 그람양성 및 그람음성 내성 세균의 내성 기전 및 유전적 연관성을 규명.
- 규명된 내성 기전은 국내의 심각한 항균제 내성을 극복하기 위한 기반 연구의 일환으로, 조기 검출법 및 새로운 항균제 등을 개발하는데 기초 자료로 활용

□ 주요 내성균의 역학적 연관성 규명

- 주요 내성 세균의 유전적인 연관성을 규명하여, 내성 세균의 확산 또는 내성 유전자의 확산을 방지하기 위한 기초 자료로 활용
- 임원 환자 또는 중환자실 환자에서 문제시 되는 내성 세균을 조기에 검사하여 환자를 격리하거나 적극적인 감염 관리시행에 도움 가능.

□ 수집된 균주의 자원화 가능

- 본 연구를 통해 수집된 모든 균주는 특성화 조사를 완료한 양질의 자원으로 활용할 수 있으며, 일부 새로운 내성 균주 발견 시에는 자원화를 극대화할 수 있음.

제2장 국내외 기술 현황

1. 국내 항균제내성 감시체계 현황 및 비교

- 국내에도 다양한 감시체계가 있으나 감시체계의 목적에 부합하는 통합 감시체계는 아직 없는 실정임.
- 다제내성균 감시와 의료관련감염 감시는 많은 부분에서 유사하지만 본질적으로 감염의 대상이 다르며, 대부분의 국가에서 분리하여 운영.
- 국내의 감시 체계도 크게 의료관련 감염을 감시하기 위한 KONIS (Korean Nosocomial Infections Surveillance System)과 다제내성균을 감시하기 위한 감시체계로 분리되어 운영.
- 다제내성균 감시체계는 학계에서 운영하는 KONSAR (Korean Nationwide Surveillance of Antimicrobial Resistance)과 KONSID (Korean Network for Study on Infectious Diseases)가 있으나 운영 주기 및 감시 대상, 감시 내용에서 국가를 대표하는 감시체계로서의 역할을 하기는 어려움이 있음
- 국가기관에서 지원하는 감시체계에는 다제내성균 6종 감시체계, VRSA 감시체계, CRE 감시체계 등이 있으나, 단순한 발생 건수 보고, 의료기관의 보고를 기반으로 운영되는 시스템에 따른 제한적인 정보 분석 등의 한계가 있음.
- KARMS (Korean Antimicrobial Resistance Monitoring System)은 전국 36개 대학 및 종합 병원을 대상으로 매년 정해진 기간 동안 내성을과 균주에 대한 감시 및 특성 분석을 해왔으나, 역시 지속적인 감시를 하기에는 제한적이며, 자료의 대표성에 한계가 있음.

Table 국내 주요 감시체계 비교

| 감시 대상 | 감시 체계 | 감시 내용 |
|---------|-----------|--|
| 의료관련 감염 | KONIS | CLABSI, VAP, CAUTI (ICU), SSI |
| | 다제내성균 6종 | 다제내성균 6종 유병률 (기준치) |
| | VRSA 감시체계 | VRSA 출현 |
| | CRE 감시체계 | CRE 출현, 확진 |
| | KARMS | 유병률, 임상정보, 균주 특성, 문자역학 7개 균종 (200-400주/균종/1년) |

2. 국외 항균제내성 감시체계 현황 및 비교

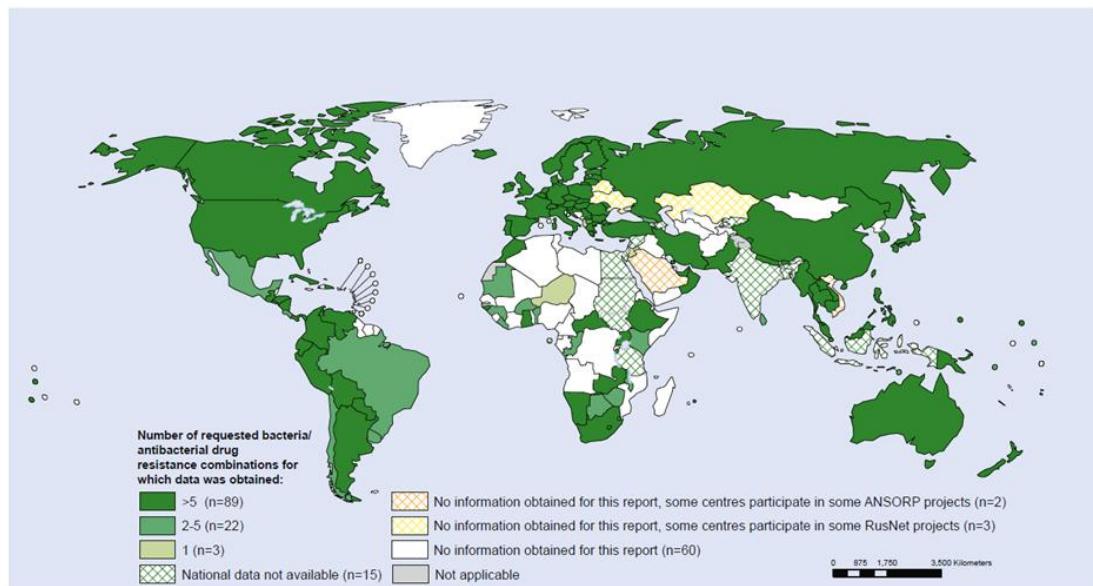
해외 감시체계 소개

- 항균제 내성의 심각성을 인식한 미국, 유럽 및 일본을 포함한 여러 국가에서도 자체적인 감시체계를 운영하고 있음
- 세계보건기구의 보고에 의하면 2013년에 전세계 국가 중에서 89개 국가에서 5종류이상

의 다제내성균주에 대한 감시를 시행하고 있었으며, 국가적인 감시체계를 운영하고 있는 국가는 114개 국가에 달함

- 가장 흔한 감시 대상은 fluoroquinolone 내성 *E. coli* 였으며, 3세대 cephalosporin 내성 *K. pneumoniae* 및 *E. coli*, carbapenem 내성 *K. pneumoniae* 및 MRSA 등이 주된 감시 대상이었음.

Figure 2 Availability of data on resistance for selected bacteria–antibacterial drug combinations, 2013



Number of reported bacteria is based on the information obtained based on request to national official sources on antibacterial susceptibility testing of at least one of the requested combinations, regardless of denominator data.
Data from United Arab Emirates originate from Abu Dhabi only.

□ 미국의 감시체계

- 미국은 감시 대상, 감시 목적 및 감시 내용에 따라 다양한 감시체계를 운영하고 있음
- 주요 내성 균주는 EIP (Emerging Infections Program)에서 감시하고 있으며, 10개 주에서 공공의료기관 (Public health)과 교육병원 (Academic hospital)을 대상으로 세균 및 진균에 대한 임상 정보와 균주를 수집하고 분석함
- EIP는 지역사회 감염을 주로 감시하는 ABC (Active bacterial Core Surveillance), 의료 관련감염을 주로 감시하는 HAIC (Healthcare-associated Infections-Community Interface) 및 식품매개 질환을 감시하는 Foodnet (Foodborne Diseases Active Surveillance Network)으로 나뉘어짐
- ABC 감시 대상: *S. pneumoniae*, Group A 및 B *Streptococcus*, MRSA
- HAIC 감시 대상: *C. difficile*, *Candida*, CRE, MDR *A. baumannii*
- Foodnet: 기존 NARMS의 감시 대상 (*Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter* 등)

- 이외에도 임균 감시를 위한 GISP (Gonococcal Isolate Surveillance Program) 및 결핵 감시를 위한 NTSS (National Tuberculosis Surveillance System) 등을 별도로 운영하고 있음

Table. National Surveillance system of USA.

| Tracking Networks | Data Collected | Resistant Bacteria/Fungus ³ | Tracking Networks | Data Collected | Resistant Bacteria/Fungus ³ |
|---|--|--|---|--|---|
| EIP Emerging Infections Program There are three main programs within the EIP: <ul style="list-style-type: none">■ ABCs: Active Bacterial Core surveillance■ HAIC: Healthcare-Associated Infections-Community Interface■ FoodNet: Foodborne Diseases Active Surveillance Network | A network of public health-academic-hospital collaborations in 10 states. It provides access to bacterial and fungal samples for testing and detailed clinical case data. The three main programs within EIP collect different types of resistance data: <ul style="list-style-type: none">■ ABCs provides clinical information and resistance data for bacteria that cause infections predominately in the community.■ The HAIC provides clinical information and resistance data for bacteria and fungi that cause infections at the intersection of healthcare and the general community.■ FoodNet supplies clinical and epidemiologic data on some human isolates in the National Antimicrobial Resistance Monitoring System (NARMS). | ABCs: <i>Streptococcus pneumoniae</i> Groups A and B <i>Streptococcus</i> Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> HAIC: <i>C. difficile</i> <i>Candida</i> (a fungus) Carbapenem-R Enterobacteriaceae MDR Acinetobacter FoodNet: (see NARMS list) | NHSN National Healthcare Safety Network | A system that collects and provides data on infections and drug-resistance in healthcare settings. Since NHSN collects data directly from healthcare facilities, it can provide facility-level information on healthcare-associated infections and antibiotic resistance (and in the future, on antibiotic use). | <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Enterococcus</i> Enterobacteriaceae <i>Acinetobacter</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Candida</i> (a fungus) |
| NARMS National Antimicrobial Resistance Monitoring System | A national public health surveillance system that tracks changes in the susceptibility of foodborne and other enteric bacteria to antibiotics of human and veterinary medical importance. NARMS is a collaboration among CDC, FDA, USDA, and state and local health departments. CDC tests bacterial isolates from humans, while FDA and USDA test isolates from retail meats and food animals. | <i>Salmonella</i> <i>Campylobacter</i> <i>Shigella</i> | GISP Gonococcal Isolate Surveillance Program | A program to track antibiotic resistance data for gonococcal isolates. Isolates are collected from sexually transmitted disease clinics in approximately 28 cities. | <i>Neisseria gonorrhoeae</i> |
| | | | NTSS National Tuberculosis Surveillance System | National Electronic Disease Surveillance System (NEDSS) reporting tuberculosis cases including resistance data. Public health departments from 50 states and the US territories contribute data. | <i>Mycobacterium tuberculosis</i> |

³ABCs also includes surveillance for *Neisseria meningitidis* and *Haemophilus influenzae*. NARMS also includes surveillance for *E. coli* O157 and *Vibrio* (non-*V. cholerae*).

□ 유럽의 감시체계

- 유럽도 미국과 마찬가지로 다양한 감시 체계를 운영하고 있음
- 유럽의 감시체계는 유럽 질병관리본부 (European CDC)의 통제를 받고 있지만 국가별 상황에 따라 감시 정도가 다르며, 항균제 내성 감시를 위해서는 EARSS (European Antimicrobial Resistance Surveillance Network)을 운영하고 있음
- EARSSnet은 항균제 내성과 밀접하고 연관이 있는 항균제 선택 압력을 분석하기 위해 ESAC (Surveillance of Antimicrobial Consumption)을 운영하고 있으며, 2개의 감시체계가 서로 연동되어 있음.

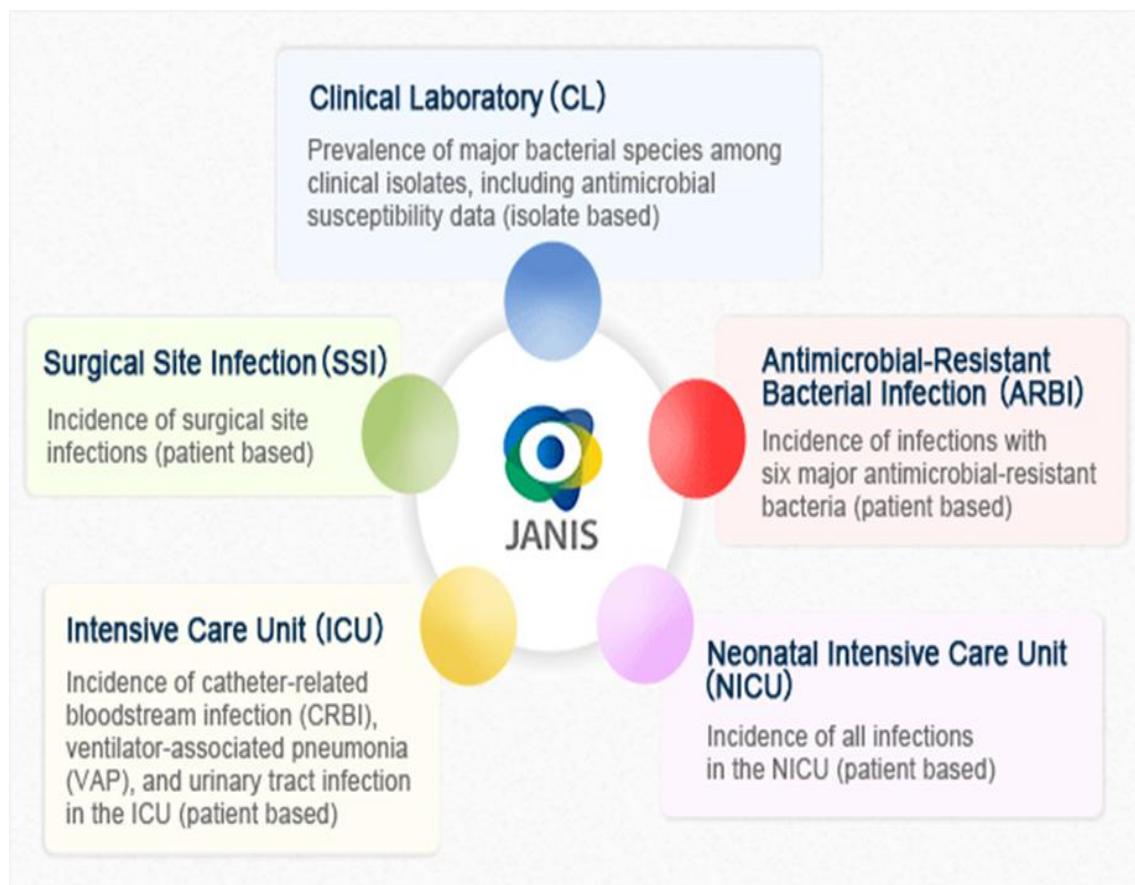
□ 일본의 감시체계

- 일본의 감시체계는 5개의 분야로 구성되어 있으며, 주요 병원균에 대한 항균제 감수성 결과를 균주 위주로 분석하는 CL (Clinical Laboratory), 환자 정보를 중심으로 6종류의 주요 내성균주를 분석하는 ARBI (Antimicrobial-Resistant Bacterial Infection), 수술 후 창상 감염을 감시하는 SSI (Surgical Site Infection), 중환자실 의료관련 감염을 감시하는 ICU (Intensive Care Unit) 및 신생아의 의료관련 감염을 감시하는 NICU (Neonatal Intensive Care Unit)으로 구성되어 있음.
- 각 기관의 데이터는 통계에 관한 법률에 의해 엄격하게 보호되고 있으며, 노출되지 않도록 방지

Table List of surveillance network operated by ECDC

| Brief name | Full name |
|------------|---|
| BSN | Basic Surveillance Network |
| EISS | European Influenza Surveillance Network |
| Enter-net | International Surveillance Network for the Enteric Infections Salmonella, Campylobacter and VTEC O157 |
| ENIVD | Network for Diagnostics of “Imported” Viral Diseases (ENIVD) |
| ESSTI | European Network for STI Surveillance |
| EU-IBIS | European Invasive Bacterial Diseases Surveillance Network |
| EnuroHIV | European HIV/AIDS Surveillance Network |
| EuroTB | European Tuberculosis Surveillance Network |
| EARSS | European Antimicrobial Resistance Surveillance Network |
| IPSE | Improving Patient Safety in Europe (hospital acquired infections) |
| DIPNET | European Diphtheria Surveillance Network |
| EWGLINET | European Legionnaires’ Disease Surveillance Network |
| ESAC | Surveillance or Antimicrobial Consumption |
| EUVACNET | European Surveillance Network for Vaccine Preventable Diseases |
| EuroCJD | European Creutzfeld Jakob Disease Surveillance |

Fig. 8. Structure of Japan Nosocomial Infection Surveillance (JANIS)



□ 각 국가별 주요 감시대상 균주 비교

- 국가별 감시체계는 각 국가의 내성 현황에 따라 다양한 체계로 운영되고 있으며 감시하는 내성의 종류 또한 다름
- 미국의 경우 가장 많은 내성 세균을 감시하고 있으며, 주요 의료관련감염 다제내성 균주와 지역사회의 다제내성 균주를 모두 감시하고 있음
- 유럽과 일본은 지역에 적합한 내성 균주에 대한 감시 체계를 운영

Table Summary of major pathogens monitored by National Surveillance System in USA, Europe, Japan and WHO.

| 분류 | 미국 | 유럽 | 일본 | WHO (2001) |
|----------|---|--------------------------------|------|-------------------------------|
| GP | Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA, Invasive) | <i>S. aureus</i> | MRSA | <i>S. aureus</i> |
| | Vancomycin-nonsusceptible <i>S. aureus</i> (VRSA, VISA) | VRSA | | |
| | Drug-resistant <i>Streptococcus pneumoniae</i> (Invasive) | <i>S. pneumoniae</i> | PRSP | <i>S. pneumoniae</i> |
| | Erythromycin-resistant <i>Streptococcus pyogenes</i> (Invasive) | | | |
| | Clindamycin-resistant <i>Streptococcus agalactiae</i> (Invasive) | | | |
| | Vancomycin-resistant enterococci (VRE) | <i>E. faecalis, E. faecium</i> | VRE | |
| GN | ESBL-producing Enterobacteriaceae | <i>E. coli, K. pneumoniae</i> | | <i>E. coli, K. pneumoniae</i> |
| | Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae(CRE) | CRE | | |
| | Drug-resistant Non-typhoidal <i>Salmonella</i> | | | Non-typhoidal SAL |
| | Drug-resistant <i>Salmonella</i> Typhi | | | |
| | Drug-resistant <i>Shigella</i> | | | <i>Shigella</i> spp. |
| | Drug-resistant <i>Campylobacter</i> | | | |
| | Multidrug-resistant <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | <i>P. aeruginosa</i> | MDRP | |
| | Multidrug-resistant <i>Acinetobacter</i> | | MDRA | |
| | Drug-resistant <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | <i>N. gonorrhoeae</i> | | <i>N. gonorrhoeae</i> |
| | Drug-resistant <i>Neisseria meningitidis</i> | | | |
| | Drug-resistant <i>Haemophilus influenza</i> | | | |
| AFB | Drug-resistant Tuberculosis | Tuberculosis | | |
| Anaerobe | <i>Clostridium difficile</i> | | | |
| | Drug-resistant Anaerobes other than <i>C. difficile</i> | | | |
| Fungus | Fluconazole-resistant <i>Candida</i> | | | |

3. 세계보건기구 (WHO) 감시체계 조사 (Global Antimicrobial Resistance Surveillance System, GLASS)

□ GLASS 정의

- GLASS는 심각한 항균제 내성 문제를 해결하기 위해 세계보건기구에서 개발하기 시작한 전 세계적인 항균제내성 감시체계로 전체 인구집단에서의 항균제 내성 현황을 파악하기 위해 임상 정보, 검사 결과 및 역학적 감시 정보를 통합하여 분석.
- 2015-2019년 사이에 시행될 예정이며, Global Action Plan on Antimicrobial Resistance의 일환으로 시작되었으나, 항균제 문제 해결을 위한 개별 국가의 action plan과도 통합되어 운영되어야 함.

□ GLASS 목적

- 국가 감시체계 조직 및 운영 활성화하고 세계 표준과 일치하도록 지원 (Harmonization)
- 정해진 지표를 중심으로 전 세계적인 항균제 내성의 정도와 부담을 평가
- 정기적인 전 세계의 항균제 내성 분석 및 보고
- 새로운 항균제 내성의 등장 및 확산 감시 (Emerging resistance)
- 특정 대상에 대한 감염 예방 및 감염 관리 프로그램 지원
- 감염관리 활동의 효과 평가

□ 통상적인 임상검체 분리주의 감시: 정기적으로 1년마다 WHO 결과 보고

- 혈액, 요, 변 및 생식기 검체 분리주를 대상으로 검체에 따른 감시 대상 군주 구분 (중복 분리주 제외)
- 검체의 종류에 따라 감염과 관련 있는 임상 분리주 감시: *E. coli*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *N. gonorrhoeae*

Table 2. Priority specimens and pathogens for surveillance of AMR

| Specimen | Laboratory case definition | Surveillance type and sampling setting | Priority pathogens for surveillance |
|-----------------------------|--|--|---|
| Blood | Isolation of pathogen from blood ^a | Selected sites or national coverage Continuous Patients in hospital and in the community | <i>E. coli</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>A. baumannii</i> <i>S. aureus</i> <i>S. pneumoniae</i> <i>Salmonella</i> spp. |
| Urine | Significant growth in urine specimen ^b | Selected sites or national coverage Continuous Patients in hospital and in the community | <i>E. coli</i> <i>K. pneumoniae</i> |
| Faeces | Isolation of <i>Salmonella</i> spp. ^c or <i>Shigella</i> spp. from stools | Selected sites or national coverage Continuous Patients in hospital and in the community | <i>Salmonella</i> spp. <i>Shigella</i> spp. |
| Urethral and cervical swabs | Isolation of <i>N. gonorrhoeae</i> | Selected sites or national coverage Continuous Patients in hospital and in the community | <i>N. gonorrhoeae</i> |

□ 특정 병원균-항균제 내성 조합 감시

○ CLSI 또는 EUCAST 기준에 따른 항균제 감수성 결과 감시

Table 3. Pathogen–antimicrobial combinations on which GLASS will gather data

| Pathogen | Antibacterial class | Antibacterial agents that may be used for AST^{a,b} |
|---------------------------------|---|---|
| <i>Escherichia coli</i> | Sulfonamides and trimethoprim Fluoroquinolones Third-generation cephalosporins Fourth-generation cephalosporins Carbapenems ^c Polymyxins Penicillins | Co-trimoxazole Ciprofloxacin or levofloxacin Ceftriaxone or cefotaxime and ceftazidime Cefepime Imipenem, meropenem, ertapenem or doripenem Colistin Ampicillin |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | Sulfonamides and trimethoprim Fluoroquinolones Third-generation cephalosporins Fourth-generation cephalosporins Carbapenems ^c Polymyxins | Co-trimoxazole Ciprofloxacin or levofloxacin Ceftriaxone or cefotaxime and ceftazidime Cefepime Imipenem, meropenem, ertapenem or doripenem Colistin |
| <i>Acinetobacter baumannii</i> | Tetracyclines Aminoglycosides Carbapenems ^c Polymyxins | Tigecycline or minocycline Gentamicin and amikacin Imipenem, meropenem, ertapenem or doripenem Colistin |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Penicillinase-stable beta-lactams | Cefoxitin ^d |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> | Penicillins Sulfonamides and trimethoprim Third-generation cephalosporins | Oxacillin ^e Penicillin G Co-trimoxazole Ceftriaxone or cefotaxime |
| <i>Salmonella</i> spp. | Fluoroquinolones Third-generation cephalosporins Carbapenems ^c | Ciprofloxacin or levofloxacin Ceftriaxone or cefotaxime and ceftazidime Imipenem, meropenem, ertapenem or doripenem |
| <i>Shigella</i> spp. | Fluoroquinolones Third-generation cephalosporins Macrolides | Ciprofloxacin or levofloxacin Ceftriaxone or cefotaxime and ceftazidime Azithromycin |
| <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | Third-generation cephalosporins Macrolides Aminocyclitols Fluoroquinolones Aminoglycosides | Cefixime Ceftriaxone Azithromycin Spectinomycin Ciprofloxacin Gentamicin |

□ 통계 분석을 위한 역학 자료 수집

- 해당 국가의 전체 인구
- 감시 기간 (1년)에 감시 기관을 방문한 전체 환자 숫자
- 검체 종류마다 배양 양성 및 음성 환자의 숫자와 분리된 병원균의 감수성 및 비감수성 균주의 숫자 (병원균-항균제 조합마다 데이터 분석)
- 환자의 기본 임상 정보: 나이, 성별, 의료관련 감염 또는 지역사회 감염 (입원일과 검체 채취일의 일간 차이 분석)

□ GLASS 주요 구성 요소

1. NCC (National coordinating center): 전체 시스템 관리

- 데이터의 수집, 관리, 분석
- 내성 전략 및 각종 지침 수립 배포
- WHO 보고
- 검사실과 역학에 대한 전문가 보유
- 동물과 식품 내성과 연계

2. NRL (National reference laboratory)

- 적어도 1개 이상 기관
- AST 시험 및 정도관리 지원
- 드문 내성균의 확인
- Outbreak 확인

3. NFP (National focal point): WHO 연락 및 자료 제공

제3장 최종 연구 내용 및 방법

3.1 연구 내용

□ 전국 표본감시체계 구축: GLASS 호환 시스템

- 의료관련 감염 표본감시병원 중 권역별 종합병원 6곳을 대상으로 함.
- 운영 위원회 구성 및 정기 운영
- 균주 운송 체계 수립: 안전한 수송을 위한 적정 온도 및 조건 유지 기관 선정
- 정도관리 시스템 구축 및 운영: 해당연도 분석에 대한 특수 균주 (유전체 자원은행 활용)
- 결과 보고 표준화를 위한 정기 교육 워크샵 시행
- 결과 환류를 위한 결고 보고 워크샵 시행: 대한임상미생물학회 학술대회 또는 집담회

□ 병원체 (7종 등) 및 임상 정보 수집 (OCS연계)

- 수집 대상 균종

- GLASS 대상 균주: *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *A. baumannii*, *Salmonella* 및 *Shigella* spp., *N. gonorrhoeae*
- 다제내성 6종 대상균주: *E. faecalis*, *E. faecium*, *P. aeruginosa*

- 수집 대상 검체

- 혈액 분리주: 모든 균종
- 요 검체: 모든 *E. coli* 및 *K. pneumoniae*
- 변 검체: *Salmonella* 및 *Shigella* spp.
- 뇌척수액 (CSF): *S. pneumoniae*
- 비뇨생식기 검체: *N. gonorrhoeae*

□ 균종별 분리주의 항균제 감수성 및 유전자 변이 등 특성 조사

- 수집된 병원체 확인동정 및 보존: MALDI-TOF, 16S rRNA 염기서열분석 (필요시), *rpoB* gene 염기서열분석 (필요시)

- GLASS 기준에 맞추어 연간 1만주 이상 수집 예정
- 2016년은 연구 기간 문제로 5,000주 예상

- 1, 2차년도로 구분하여 3종씩 격년제로 실시 (연도별 대상균종은 추후 협의)

- 균종별 주요 항균제 감수성 확인 시험: 디스크 확산법, 한천희석법 및 Etest

- 항균제 감수성 자료: 모든 균주를 수집하여 주관 기관에서 항균제 감수성 시험 시행
- 2-3년차: 표준 시험법의 개발과 보급 및 정도관리 시행을 통해 검사실간 표준화 달성을 후에 각 수집 기관별 항균제 감수성 검사 시행 및 결과 수집

- 병원체별 유전자 변이 조사

- *S. aureus*: mecA/mecC, SCCmec/agr typing, PVL 유전자 확인, toxin type 등
- Enterococci: vanA, vanB, ermB, aac-aph, ant6, tetM 등
- Enterobacteriaceae: 카바페넴효소(KPC, NDM, VIM, IMP, GES 등), ESBL(CTX-M, SHV, TEM 등) plasmid mediated ampC β -lactamase (PABL, CMY-1, CMY-2, DHA-1 등) 유전형 확인, mcr-1 분포 확인 (Plasmid-mediated colistin resistance)
- *Acinetobacter baumannii*: rpoB, OXA(23,24,51,58) 및 카바페넴효소 (KPC, NDM, VIM, IMP, GES 등) 유전형 확인 등
- *P. aeruginosa*: 카바페넴효소(KPC, NDM, VIM, IMP, GES 등) 및 ESBL(CTX-M, SHV, TEM 등) 유전형 확인
- *Salmonella* 및 *Shigella* 균종: 주요 항균제 감수성 시험, 혈청형 및 분자역학 분석
- *N. gonorrhoeae*: 주요 항균제 감수성 시험 (Cephalosporin), penA 유전형 분석, 역학 분석 (NG-MAST)
- 이외 각 균주별 다양한 변이 조사
- 일부 내성 균주 전장유전체분석 (Whole genome sequencing) 시행: 일부 특수 균주

수집된 자원 및 정보는 병원체별 특정 센터로 이송하여 재확인

| 구분 | 목표 | 주요 연구개발 내용 |
|-------------|---|---|
| | <ul style="list-style-type: none"> 전국 표본감시체계 구축 (GLASS 호환) | <ul style="list-style-type: none"> 의료관련 감염 표본감시병원 중 권역별 종합병원 이상 (6개 이상) 운영 위원회 구성 및 정기 운영 균주 운송 체계 수립: 안전한 수송을 위한 적정 온도 및 조건 유지 기관 선정 정도관리 시스템 구축 및 운영: 해당연도 분석에 대한 특수 균주 (유전체 자원은행 활용) 결과 보고 표준화를 위한 정기 교육 워크샵 시행 결과 환류를 위한 결고 보고 워크샵 시행: 대한임상미생물학회 학술대회 또는 집담회 |
| 1년차 (' 16년) | <ul style="list-style-type: none"> 병원체 (7종 등) 및 임상 정보 수집 (OCS연계) | <ul style="list-style-type: none"> 수집 대상 균종 <ul style="list-style-type: none"> - GLASS 대상 균주: <i>S. aureus</i>, <i>S. pneumoniae</i>, <i>K. pneumoniae</i>, <i>E. coli</i>, <i>A. baumannii</i>, <i>Salmonella</i> 및 <i>Shigella</i> spp., <i>N. gonorrhoeae</i> - 다제내성 6종 대상균주: <i>E. faecalis</i>, <i>E. faecium</i>, <i>P. aeruginosa</i> 수집 대상 검체 <ul style="list-style-type: none"> - 혈액 분리주: 모든 균종 - 요 검체: 모든 <i>E. coli</i> 및 <i>K. pneumoniae</i> - 변 검체: <i>Salmonella</i> 및 <i>Shigella</i> spp. - 뇌척수액 (CSF): <i>S. pneumoniae</i> - 비뇨생식기 검체: <i>N. gonorrhoeae</i> 1, 2차년도로 구분하여 3종씩 격년제로 실시 (연도별 대상균종은 추후 협의) |
| | <ul style="list-style-type: none"> 균종별 분리주의 항균제 감수성 및 유전자 변이 등 특성 조사 | <ul style="list-style-type: none"> 수집된 병원체 확인동정 및 보존: MALDI-TOF, 16S rRNA 염기서열분석 (필요시), <i>rpoB</i> gene 염기서열분석 (필요시) <ul style="list-style-type: none"> - GLASS 기준에 맞추어 연간 1만여 주 수집 예정 균종별 주요 항균제 감수성 확인 시험: 디스크 확산법, 한천희석법 및 Etest <ul style="list-style-type: none"> - 항균제 감수성 자료: WHONET 프로그램으로 모든 균주 자료 수집 및 정기적 분석 시행 <ul style="list-style-type: none"> - 2년차에 온라인 자료 전송 프로그램 구축 및 웹 분석 프로그램 개발 - 3년차에 온라인 보고 체계 활용 병원체별 유전자 변이 조사 <ul style="list-style-type: none"> - <i>S. aureus</i>: <i>mecA/mecC</i>, <i>SCCmec/agr</i> typing, PVL 유전자 확인, toxin type 등 <ul style="list-style-type: none"> - <i>Enterococci</i>: <i>vanA</i>, <i>vanB</i>, <i>ermB</i>, <i>aac-aph</i>, <i>ant6</i>, <i>tetM</i> 등 - <i>Enterobacteriaceae</i>: 카바페넴효소(KPC, NDM, VIM, IMP, GES 등), ESBL(CTX-M, SHV, TEM 등) plasmid mediated ampC β-lactamase (PABL, CMY-1, CMY-2, DHA-1 등) 유전형 확인, <u>mcr-1 분포 확인 (Plasmid-mediated colistin resistance)</u> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Acinetobacter baumannii</i>: <i>rpoB</i>, OXA(23,24,51,58) 및 카바페넴효소 (KPC, NDM, VIM, IMP, GES 등) 유전형 확인 등 - <i>P. aeruginosa</i>: 카바페넴효소(KPC, NDM, VIM, IMP, GES 등) 및 ESBL(CTX-M, SHV, TEM 등) 유전형 확인 - <i>Salmonella</i> 및 <i>Shigell</i> spp.: 주요 내성형 및 혈청형 분석 - 이외 각 균주별 다양한 변이 조사 - 일부 내성 균주 전장유전체분석 (Whole genome sequencing) 시행: 일부 특수 균주 |
| | <ul style="list-style-type: none"> 수집된 자원 및 정보는 병원체별 특정 센터로 이송하여 재확인 | <ul style="list-style-type: none"> 추가 분석 균주 |

3.2 연구 방법

1. 전국 표본감시체계 구축

- 의료관련 감염 표본감시병원 중 권역별 종합병원 이상 (6개 이상)
- 권역별 6개 감시체계 구성 병원 선정 및 감시체계 구축
- 의료관련 감염 표본감시병원 대상: 6개 권역: 서울, 경기, 강원, 경상, 전라, 충청

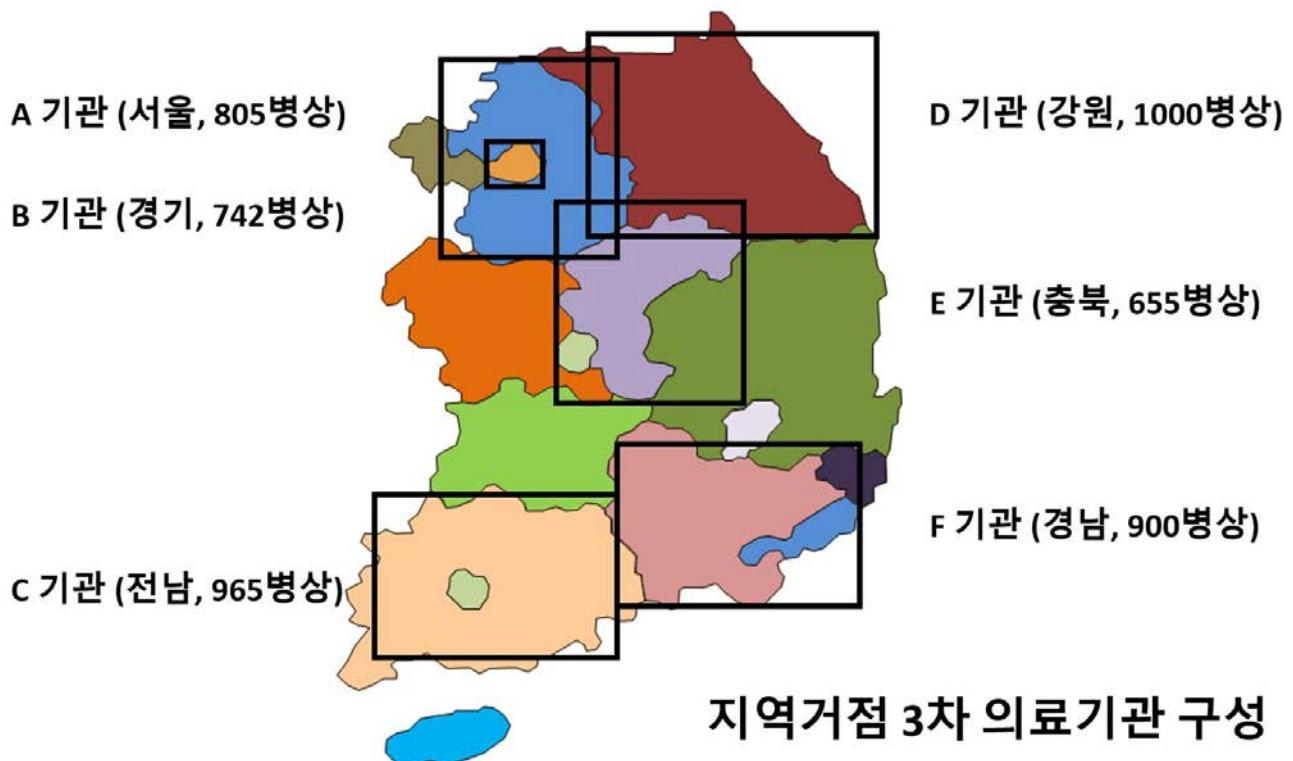


Fig. Geographic distribution of participating hospitals

- 운영 위원회 구성 및 정기 운영
 - NCC, NRL, NFP 및 참여병원, 일부 전문가로 구성된 운영 위원회 구성 및 정기 운영
 - 감시 체계의 운영, 정기적인 데이터 공동 분석
- 균주 운송 체계 수립: 안전한 수송을 위한 적정 온도 및 조건 유지 기관 선정
 - 수집한 균주의 사멸을 방지하기 위한 운송 체계 수립
 - 균주 운송을 위해 특화된 시스템을 구축한 임상검사센터의 운송망 이용
 - 적정 시스템 구축 여부 평가 후 운송 계약 체결: 운송 온도, 시간 및 GPS 추적 시스템 확인
- 정도관리 시스템 구축 및 운영: 해당연도 분석에 대한 특수 균주 (유전체 자원은행 활용)

- 일관된 결과 보고를 위한 표준화 교육 실시
- 항균제 감수성 시험의 표준화를 위한 정기적인 정도 관리 시행
- 해당 연도 분석 균종 및 주요 내성형에 적합한 정도관리 균주 사용

유전체 자원은행 개발 정도관리 참조 균주 (11주)

A. baumannii A1 (ISM201312), Wild strain, ST359

A. baumannii A2 (CS201310), OXA-23 생성, Carbapenem 내성 균주(XDR), ST191로 CC92에 속함.

A. baumannii A3 (GS2011R111), OXA-23 생성, Carbapenem/colistin에 내성(PDR). ST357로 CC92에 속함.

P. aeruginosa P4 (PSB200807), Wild strain, ST235로 CC235에 속함.

P. aeruginosa P5 (BDC200843), IMP-6/OXA-1 생성, Carbapenem 내성 균주(XDR). ST1015로 CC235에 속함.

E. coli E6 (AS201312), Wild strain.

E. coli E8 (GS2013U443), KPC-2/TEM-1 생성, ST1642

E. coli E9 (KSS201302), OXA-232 생성, ST131

K. pneumoniae K10 (KS201308), Wild strain.

K. pneumoniae K12 (MP014), KPC-2 생성, ST258

K. pneumoniae K13 (KSS201301), OXA-232 생성, ST11

- 이외에도 *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *N. gonorrhoeae* 등 주요 균종의 참조 균주 사용 가능

Table 참조 균주의 주요 항균제별 참고 범위

| | MIP | TIM | SCF | TZP | AMC | CTX | CAZ | CRO | FEP | ATM | AN | GN | TOB | CIP | LEV | TE | SXT | CO | TG | MEM | SAM | IPM | |
|-----|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| A1 | ISM201312 | 21-26 | 23-29 | 28-35 | 23-28 | 12-15 | 18-23 | 20-26 | 17-21 | 23-29 | 12-19 | 18-23 | 18-24 | 18-24 | 27-33 | 27-33 | 22-28 | 21-28 | 12-16 | 22-28 | 26-33 | 25-31 | 28-39 |
| A2 | CS201310 | 6-8 | 6 | 16-21 | 6-10 | 6 | 6 | 6-9 | 6 | 8-12 | 10-14 | 17-21 | 13-16 | 18-22 | 6 | 6-8 | 11-17 | 11-18 | 12-15 | 17-21 | 6-10 | 7-15 | 6-10 |
| A3 | GS2011R111 | 6-7 | 6-7 | 11-18 | 6-8 | 6 | 6 | 7-9 | 6 | 6-12 | 10-13 | 6 | 6 | 6-7 | 6 | 7-11 | 6 | 6 | 12-15 | 20-24 | 6-10 | 6-11 | 6-10 |
| P4 | PSB200807 | 7-12 | 6-12 | 10-15 | 8-13 | 6 | 6 | 8-14 | 6 | 11-17 | 6-13 | 17-22 | 14-20 | 19-24 | 26-32 | 19-24 | 9-14 | 6 | 13-16 | 7-11 | 26-31 | 6 | 22-27 |
| P5 | BDC200843 | 7-13 | 6 | 6 | 8-14 | 6 | 6 | 6 | 6 | 15-22 | 6 | 6 | 6-7 | 6-7 | 6 | 6-13 | 6 | 13-16 | 7-10 | 6 | 6 | 6-11 | |
| E6 | AS201312 | 27-33 | 28-33 | 32-37 | 27-32 | 21-25 | 31-38 | 28-34 | 31-37 | 32-37 | 33-39 | 20-26 | 22-25 | 20-26 | 32-38 | 30-35 | 23-27 | 25-31 | 12-15 | 22-27 | 32-37 | 20-25 | 29-33 |
| E8 | GS2013U443 | 9-12 | 6-12 | 13-16 | 10-14 | 8-10 | 14-20 | 16-20 | 11-16 | 15-20 | 10-12 | 20-24 | 6-10 | 11-15 | 6 | 6 | 6 | 12-15 | 21-26 | 16-21 | 6 | 16-22 | |
| E9 | KS201302 | 6-9 | 6 | 9-14 | 8-10 | 6 | 18-24 | 10-16 | 18-23 | 24-29 | 8-13 | 19-24 | 19-24 | 19-24 | 6 | 6 | 20-25 | 24-29 | 13-15 | 20-26 | 19-25 | 6-7 | 20-25 |
| K10 | KS201308 | 23-28 | 15-29 | 28-33 | 23-28 | 21-26 | 30-37 | 26-32 | 28-34 | 30-37 | 31-37 | 21-28 | 21-27 | 21-28 | 32-38 | 29-34 | 20-25 | 24-30 | 12-15 | 19-23 | 28-34 | 18-22 | 24-30 |
| K12 | MP014 | 6-8 | 6-9 | 9-11 | 6-9 | 6-9 | 11-15 | 9-12 | 9-12 | 12-16 | 6-8 | 10-14 | 17-22 | 8-10 | 6-7 | 6-9 | 15-19 | 6-7 | 11-16 | 15-20 | 12-18 | 6-7 | 14-21 |
| K13 | KS201301 | 6 | 6 | 9-12 | 6-8 | 6 | 14-19 | 7-10 | 13-18 | 19-25 | 6-7 | 16-22 | 19-25 | 7-16 | 6 | 6 | 18-22 | 14-20 | 11-15 | 18-22 | 17-22 | 6 | 18-23 |

- 결과 보고 표준화를 위한 정기 교육 워크샵 시행

- 정도 관리 결과 및 검사법의 일치를 위한 정기 교육 워크샵 시행

- CLSI 지침 및 EUCAST 지침 분석 및 개정된 시험법 교육

- 결과 환류를 위한 결고 보고 워크샵 시행: 대한임상미생물학회 학술대회 또는 집담회

2. 병원체 (11종 등) 및 임상 정보 수집 (OCS 연계)

□ 균주 수집

- 각 기관별 모든 혈액 분리 대상 균종 및 요에서 분리된 *E. coli*, *K. pneumoniae* 수집
- 수집 균주에 분리연도, 분리검체, 일련번호 및 기관 코드로 구성된 일련 번호 부여
- 수집 균주는 skim milk 배지에 접종하여 -70°C 이하의 냉동고에 보존하며 2주마다 분석 기관으로 운송

□ 균주 및 임상 데이터 수집

- 균주 및 임상 데이터는 별도의 엑셀 형식을 구성하여 수집 (주관부서와 협의하여 구성)
- 분석 기관에서 취합하여 통합 분석 시행
- 수집 기관의 코드명은 비밀 염수

□ 균종별 특성조사의 원칙

- 균종 동정
 - MALDI-TOF MS: 전통적인 동정으로 불가능하거나 세부 동정이 필요한 *Acinetobacter* 균종 등
 - 16S rRNA sequencing: MALDI-TOF MS로 동정이 어려운 일부 *Streptococcus* 균종 등
 - *rpoB* gene sequencing: MALDI-TOF MS로 동정이 어려운 일부 *Acinetobacter* 균종의 추가 동정

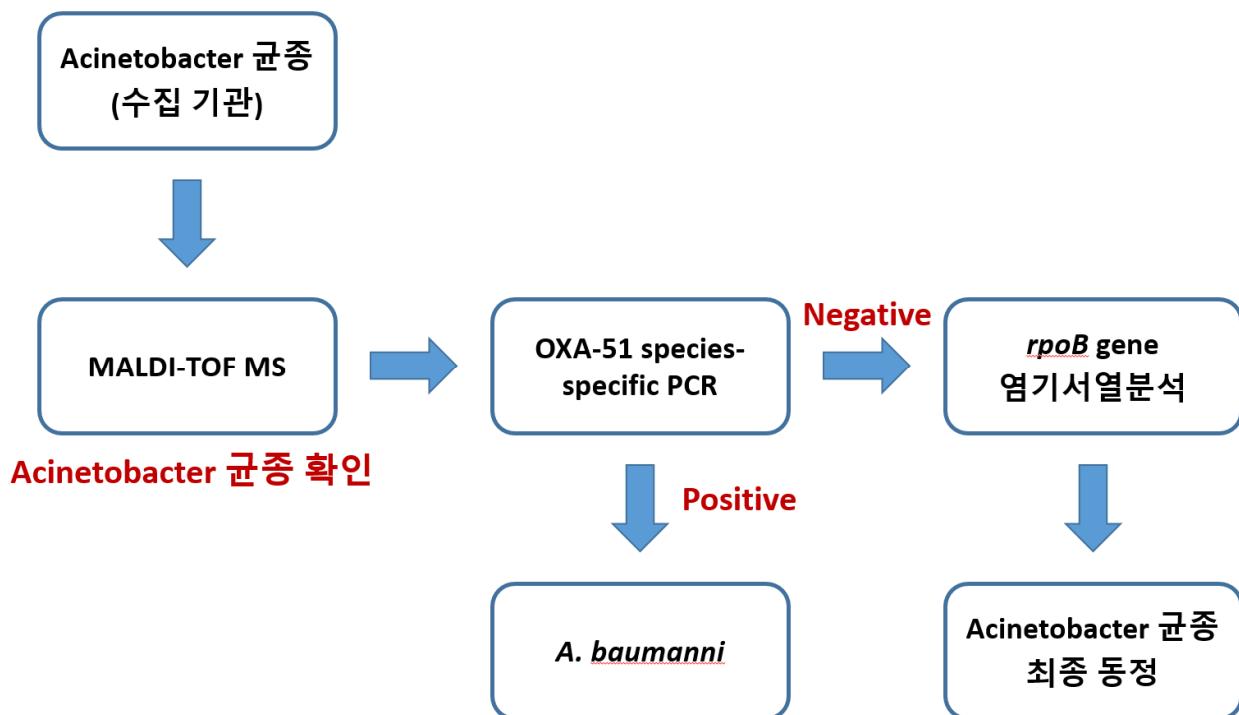


Fig. Schmatic flowsheet for identification process of *Acinetobacter* species

○ 항균제 감수성 시험

- CLSI 기준을 원칙으로 시험: A 및 B군 항균제는 필수 시험, C군 항균제는 선택적으로 시험.
- EUCAST 기준은 선별적인 항균제에 대해서 적용
- 디스크 확산법으로 감수성 선별
- 필요한 경우는 한천희석법 및 Etest법으로 MIC 측정

○ 주요 내성 기전 선별

- 주요 내성 유무를 표현형으로 1차 선별
- *S. aureus*: Methicillin 내성
- *Enterococci*: Vancomycin 내성
- *E. coli* 및 *K. pneumoniae*: 3세대 cephalosporin 및 carbapenem 내성, colistin 내성
- *P. aeruginosa*: Carbapenem 내성
- *Acinetobacter* 균종: Carbapenem 내성, colistin 내성
- *Salmonella*: 3세대 cephalosporin 내성
- *N. gonorrhoeae*: Cephalosporin 내성

○ 주요 내성 기전 규명

- 주요 내성 기전 유무를 분자진단법 및 염기서열분석법으로 확인 (Southern blot)
- *S. aureus*: *meca* 유전자 및 SCCmec 유전자 구조 분석 (18개 primer 사용), *agr* typing (5개 primer 사용)
 - *Enterococci*: *vanA* 및 *vanB* 유전자와 *Tn1546* 구조 분석 (20개 primer 사용)
 - *E. coli* 및 *K. pneumoniae*: ESBL (TEM, SHV, CTX 등), PABL (CMY, DHA, CIT 등), Carbapenemase (KPC, GES, VIM, IMP, NDM 등), *mcr-1* PCR 및 염기서열분석
 - *P. aeruginosa*: MBL (NDM, IMP, VIM), class A carbapenemase (KPC, GES)
 - *Acinetobacter* 균종: MBL, colistin 내성
 - *Salmonella*: ESBL (TEM, SHV, CTX 등), PABL (CMY, DHA, CIT 등) PCR 및 염기서열분석
 - *N. gonorrhoeae*: *penA* 유전자 mosaicism (3개 분획의 염기서열분석)

○ 분자역학적 분석: 필요한 균주에 대해서 MLST 시행 (7개의 housekeeping 유전자 염기서열분석)

○ 전장유전체 분석: 필요한 균주에 대해서 PacificBio 장비를 사용한 전장유전체 분석 시행

□ *S. aureus* 특성 조사

○ 균수 수집 및 균종 동정

본 연구의 참여병원에서 *S. aureus* 균종을 수집한다. 균주를 수집할 때, 중복 분리된 균주는 제외한다. 수집된 균주는 MALDI-TOF 장비를 사용하여 동정하고 필요한 경우는 16S rRNA 염기서열을 분석한다.

○ 항균제 감수성 시험

- 디스크 확산법

수집한 균주를 대상으로 CLSI의 기준에 따라 디스크 확산법으로 항균제 감수성을 선별한다. CLSI 지침의 A-C 군 항균제를 대상으로 하며, 정도관리를 위하여 *S. aureus* ATCC 25923균주를 동시에 시험한다.

- 한천희석법을 이용한 최소억제농도측정

디스크 확산법으로 vancomycin, teicoplanin, linezolid 및 Q/D 항균제에 중간 혹은 내성인 균주를 대상으로 CLSI 한천 희석법으로 최소억제농도를 측정한다. 균주를 M-H broth에 혼탁하여 104 CFU/mL으로 희석한다. 규정된 희석액으로 녹인 항균제를 넣어 2배수 단계의 희석된 농도가 되도록 M-H 평판배지를 만든다. 세균부유액을 Steer's replicator (Craft Machine Inc., Woodline, PA, USA)를 써서 배지에 접종하고 35°C, 5% CO₂ 항온기에 18시간 배양 후, 세균의 증식을 관찰한다. 세균의 증식을 완전히 억제시킨 최소한의 농도를 MIC로 정한다. 정도관리를 위하여 *S. aureus* ATCC 25933균주 및 *E. faecalis* ATCC 29212균주를 동시에 시험한다.

○ *agr* polymorphism typing

- *agr* polymorphism typing: 1개의 forward primer와 *agr1*, *agr2*, *agr3* 및 *agr4*에 특이적인 4개의 시발체를 이용하여 multiplex PCR 을 실시한다.

Table 3. primer set [Gilot P et al., 2002]

| Target genes | Primers | Sequence |
|--|-------------|---------------------------------------|
| Pan | | ATG CAC ATG GTG CAC ATG C |
| <i>agr1</i> | | GTC ACA AGT ACT ATA AGC TGC GAT |
| <i>agr</i> group -specific multiplex PCR | <i>agr2</i> | TAT TAC TAA TTG AAA AGT GGC CAT AGC |
| | <i>agr3</i> | GTA ATG TAA TAG CTT GTA TAA TAC CCA G |
| | <i>agr4</i> | CGA TAA TGC CGT AAT ACC CG |

○ *SCCmec* 유형분석 (Oliveira and de Lencastre, 2002)

- 순수분리된 균집락을 선택하여 Qiagen tissue kit로 DNA를 분리한다. PCR 반응은 multiplex PCR을 사용하며 반응조건은 DNA 변성: 94°C 2분, PCR cycle: 94°C 30초, 53°C 30초, 72°C 1분 30 cycle; 마지막 연장:72°C 4분으로 시행한다.

Table 4. SCCmec gene multiplex PCR primer sequence

| Primer | Target | Sequence |
|---------|---------------------|-------------------------|
| CIF2F2 | <i>pls</i> | TTCGAGTTGCTGATGAAGAAGG |
| CIF2R2 | | ATTTACCAAGGACTACCAGC |
| KDPF1 | <i>kdp</i> | AATCATCTGCCATTGGTGATGC |
| KDPR1 | | CGAACATGAAGTGAAGAAAGTGG |
| MECIP2 | <i>mecI</i> | ATCAAGACTTGCATTCAAGGC |
| MECIP3 | | GCGGTTCAATTCACTTGTC |
| DCSF2 | <i>dcs</i> | CATCCTATGATAGCTTGGTC |
| DCSR1 | | CTAAATCATAGCCATGACCG |
| RIF4F3 | <i>pl258-Tn554</i> | GTGATTGTTGAGATATGTGG |
| RIF4R9 | | CGCTTTATCTGTATCTATCGC |
| RIF5F10 | <i>Tn554-orfX</i> | TTCTTAAGTACACGCTGAATCG |
| RIF5R13 | | GTCACAGTAATTCCATCAATGC |
| IS431P4 | <i>IS431-pUB110</i> | CAGGTCTCTTCAGATCTACG |
| PUB110R | | GAGCCATAAACACCAATAGCC |
| IS431P4 | <i>IS431-pT181</i> | CAGGTCTCTTCAGATCTACG |
| PT181R1 | | GAAGAAATGGGAAAGCTTCAC |
| MECAP4 | <i>mecA</i> | TCCAGATTACAACCTCACAGG |
| MECAP7 | | CCACTTCATATCTGTAACG |

○ PVL 유전자 검출 (Lina et al., 1999)

순수분리된 균집락을 선택하여 Qiagen tissue kit로 DNA를 분리한다. PCR 반응조건은 DNA 변성: 94°C 2분; PCR cycle: 94°C 30초, 55°C 30초, 72°C 1분 30 cycle; 마지막 연장: 72°C 2분으로 시행한다.

Table 5. PVL gene detection PCR primer sequence

| Target genes | Primers | Sequence | Reference |
|--------------|----------|---------------------------------|-------------|
| PVL | luk-PV-1 | ATCATTAGGTAAAATGTCTGGACATGATCCA | Lina et al. |
| | luk-PV-2 | GCATCAASTGTATTGGATAGCAAAAGC | |

□ Enterococci 특성 조사

○ 대상균주의 수집 및 동정

본 연구의 참여병원에서 *E. faecalis*와 *E. faecium* 균종을 수집한다. 균주를 수집할 때, 중복 분리된 균주는 제외한다. 수집된 균주는 MALDI-TOF 장비를 사용하여 동정하고 필요한 경우는 16S rRNA를 염기서열분석한다.

○ 항균제 감수성 시험

- 디스크 확산법

수집한 균주를 대상으로 CLSI의 기준에 따라 디스크 확산법으로 항균제 감수성을 선별한다. 대항 항균제는 ampicillin, ciprofloxacin, gentamicin-high, streptomycin-high, tetracycline, vancomycin, linezolid 및 quinopristin-dalfopristin (Q/D, *E. faecalis* 제외)이며, 정도관리를 위하여 *S. aureus* ATCC 25923균주를 동시에 시험한다.

- 한천 희석법을 이용한 최소억제농도측정

디스크 확산법으로 vancomycin, teicoplanin, linezolid 및 Q/D 항균제에 중간 혹은 내성인 균주를 대상으로 CLSI 한천 희석법으로 최소억제농도를 측정한다. 균주를 M-H broth에 혼탁하여 104 CFU/mL으로 희석한다. 규정된 희석액으로 녹인 항균제를 넣어 2배수 단계의 희석된 농도가 되도록 M-H 평판배지를 만든다. 세균부유액을 Steer's replicator (Craft Machine Inc., Woodline, PA, USA)를 써서 배지에 접종하고 35°C, 5% CO₂ 항온기에 18시간 배양 후, 세균의 증식을 관찰한다. 세균의 증식을 완전히 억제시킨 최소한의 농도를 MIC로 정한다. 정도관리를 위하여 *S. aureus* ATCC 25933균주 및 *E. faecalis* ATCC 29212균주를 동시에 시험한다.

○ *vanA/vanB* 유전자 확인

Vancomycin 또는 *teicoplanin*에 내성이거나 중간인 균주를 대상으로 *vanA* 및 *vanB* 유전자에 대한 PCR을 시행한다. 순수 배양된 집락 2-3개를 증류수 50uL에 접촉하고, 100°C에서 5분간 가열한 후에, 4°C, 13,000 rpm으로 원심분리하여 상층액을 분리한다. 분리된 상층액은 각각의 primer와 함께, premix taq에 분주한 후에 PCR machine을 이용하여 PCR을 시행한다. 증폭산물을 10 uL을 취해 2% agarose gel에 120V, 20분간 전기영동하여 UV하에서 관찰한다.

○ Tn1546 구조 분석

vanA 반코마이신 내성 유전자가 포함된 transposon Tn1546 내부(Fig. 7)를 overlapping 되도록 시발체를 이용하여 증폭한 후 표준 균주인 *E. faecium* BM4147(prototype)과 비교하는 PCR mapping과 증폭산물 중 prototype과 비교하여 크게 나온 부분에 관하여 IS1216V, IS1542, IS1251 및 IS1476에 대한 IS-specific PCR을 시행하여 내성유전자의 구조를 분석한다. 표준 균주로는 prototype인 *E. faecium* BM4147을 이용한다. 각 시발체와 융점 온도는 OLIGO program v. 6.0 (National Biosciences, Inc., Plymouth, MN)을 이용한다. 필요한 경우는 *vanA* 유전자를 가진 플라스미드를 분리하여 NGS 장비로 전장유전체 분석을 시행 한다.

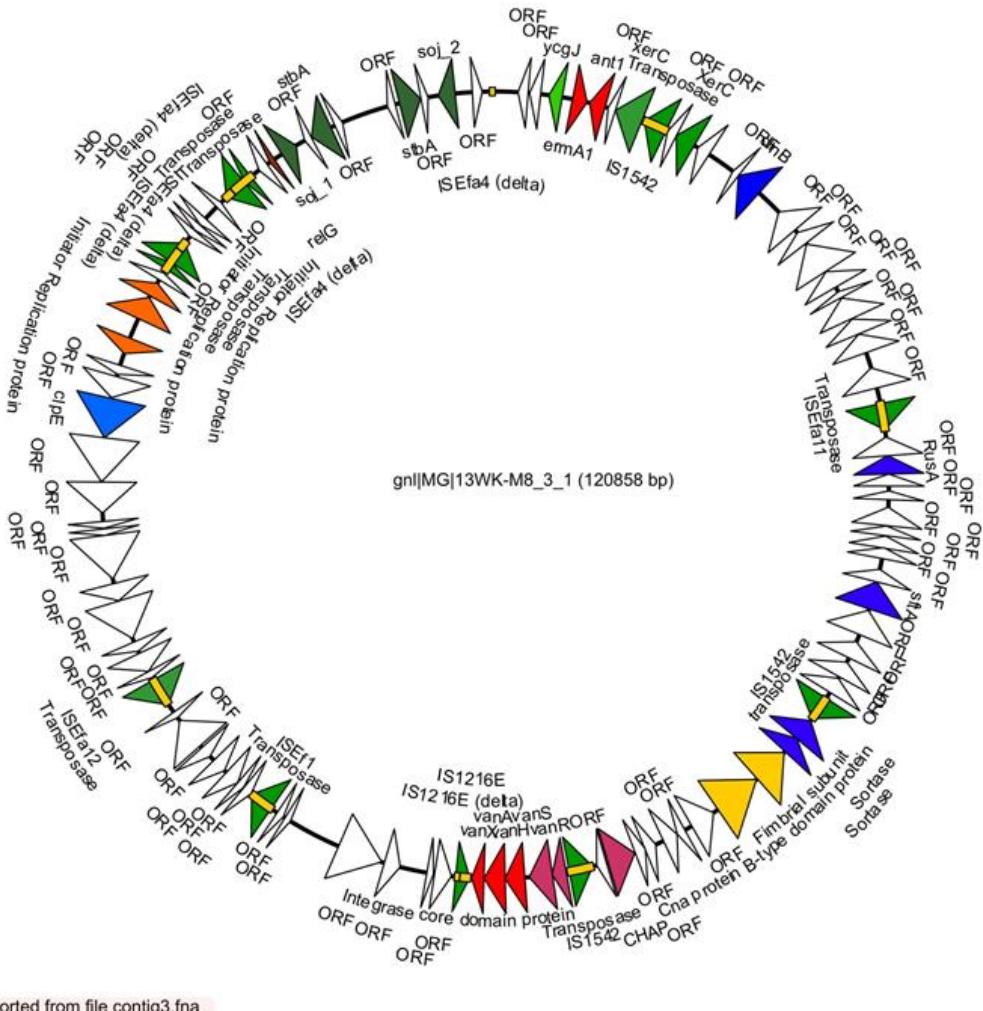


Fig. 7. 본 연구진이 수행한 *vanA* 유전자 포함 Tn1546을 지닌 R plasmid의 WGS에 의한 구조분석 예.

E. coli 및 *K. pneumoniae* 특성 조사

E. coli 와 *K. pneumoniae*의 주요 항균제에 대한 감수성과 ESBL, plasmid-mediated AmpC β -lactamase 및 carbapenemase의 생성 빈도 및 유전형에 대한 분석을 시행한다. 또한 최근 들어 중국과 유럽에서 문제가 되고 있는 plasmid-mediated colistin 내성 유전자인 *mcr-1*에 대한 분석을 추가 시행한다. 주요 내성 균주는 문자유전학적인 역할을 규명한다.

○ 항균제 감수성 시험

- 통상적인 항균제 감수성 시험

수집한 균주는 CLSI에서 권장하는 디스크 확산법으로 항균제 감수성 여부를 확인한다. 시험균주를 MacConkey 한천에 계대배양하여서 1개의 독립된 집락을 백금침으로 채취한 후, Tryptic soy broth에 접종하여 McFarland no. 0.5로 탁도를 맞춘다. 세균 부유액을 면봉으로 Mueller-Hinton 한천에 접종한 후, 항균제 디스크를 놓는다. 세균이 접종된 배지는 37°C 항온기에 18시간 배양하고, 각 항균제 디스크 주위

에 생긴 억제대의 크기를 측정한다. 결과의 정확성을 위하여 대조균주인 *E. coli* ATCC 25933의 감수성을 동시에 시험한다.

- MIC 검사법

일부 필요한 경우에 내성의 정도를 평가하기 위해 항균제의 최소억제농도(minimum inhibitory concentration, MIC)를 CLSI 한천희석법으로 측정한다. 시험 항균제는 주요 carbapenem 항균제를 사용한다. *E. coli* ATCC 25933을 표준균주로 사용한다.

○ ESBL 및 PABL screening

Cefotaxime ($0.06 \mu\text{g/ml} \sim 128 \mu\text{g/ml}$) 과 cefoxitin ($0.5 \mu\text{g/ml} \sim 512 \mu\text{g/ml}$) MIC를 한천희석법으로 시행한다. MIC 결과를 토대로 cefotaxime $2 \mu\text{g/ml}$ 이상인 균주를 대상으로 ESBL PCR을 수행한다. Cefoxitin $4 \mu\text{g/ml}$ 이상인 균주를 대상으로 pABL PCR을 시행한다.

○ ESBL 유전자형 검사

Cefotaxime $2 \mu\text{g/ml}$ 이상인 균주를 대상으로 CTX-M-multiplex PCR (Woodford et al. 2006), TEM-PCR (Mabilat et al. 1993), SHV는 PCR(Kim et al. 1998) 수행 후 *NheI* digestion (Nüesch-Inderbinen et al. 1996)으로 ESBL-type SHV와 Non-ESBL-type SHV를 구별하고, 이로 구별되지 않는 균주에 대해 sequencing을 시행한다. (primer는 Table 1 참조)

○ PABL 유전자형 검사

Cefoxitin $4 \mu\text{g/ml}$ 이상인 균주를 대상으로 MOX, CIT, DHA, ACC, EBC, FOX에 대한 multiplex PCR을 시행한다 (Pérez-Pérez et al. 2002) (Table 1).

Table 1. Primers will be used in this study.

| primer name | sequence |
|----------------|-------------------------------------|
| SHV-F | 5'-TGG TTA TGC GTT ATA TTC GCC -3' |
| SHV-R | 5'-GGT TAG CGT TGC CAG TGC T -3' |
| TEM-F | 5'- ATA AAA TTC TTG AAG ACG AAA-3' |
| TEM-R | 5'- GAC AGT TAC CAA TGC TTA ATC -3' |
| CTX-M-group1-F | 5'- AAA AAT CAC TGC GCC AGT TC -3' |
| CTX-M-group1-R | 5'- AGC TTA TTC ATC GCC ACG TT -3' |
| CTX-M-group2-F | 5'- CGA CGC TAC CCC TGC TAT T -3' |
| CTX-M-group2-R | 5'- CCA GCG TCA GAT TTT TCA GG -3' |

| | |
|----------------|--------------------------------------|
| CTX-M-group9-F | 5'- CAA AGA GAG TGC AAC GGA TG -3' |
| CTX-M-group9-R | 5'- ATT GGA AAG CGT TCA TCA CC -3' |
| ACCM-F | 5'- AAC AGC CTC AGC AGC CGG TTA -3 |
| ACCM-R | 5'- TTC GCC GCA ATC ATC CCT AGC -3' |
| EBCM-F | 5'- TCG GTA AAG CCG ATG TTG CGG -3' |
| EBCM-R | 5'- CTT CCA CTG CGG CTG CCA GTT -3' |
| FOXM-F | 5'- ACC ATG GGG TAT CAG GGA GAT -3' |
| FOXM-R | 5'- CAA AGC GCG TAA CCG GAT TGG -3' |
| CITM-F | 5'- TGG CCA GAA CTG ACA GGC AAA -3' |
| CITM-R | 5'- TTT CTC CTG AAC GTG GCT GGC -3' |
| MOXM-F | 5'- GCT GCT CAA GGA GCA CAG GAT -3' |
| MOXM-R | 5'- CAC ATT GAC ATA GGT GTG GTG -3' |
| DHAM-F | 5'- AAC TTT CAC AGG TGT GCT GGG T-3' |
| DHAM-R | 5'- CCG TAC GCA TAC TGG CTT TGC -3' |

○ 분자유전학적 방법에 의한 carbapenemase 유전형 확인시험

Carbapenemase의 유전형을 고안된 primer를 사용하여 PCR로 확인한다. 시험세균의 DNA 추출액 5 μ L, primer 각 1 μ L, deoxynucleotide triphosphates 2.5 mM (8 μ L), Taq DNA polymerase 2.5 U (0.5 μ L), 10X buffer 10 μ L 및 중류수 75.5 μ L를 혼합하여 PCR 반응액을 만든다. Gene Amp PCR System 9600 (Perkin-Elmer Centus Corp., Norwalk, Ct., USA)으로 94°C로 30초간 denaturation, 60°C로 30초간 annealing, 72°C로 30초간 extension하는 30 cycle의 PCR를 시행한다. 증폭산물 3 μ L를 2.0% agarose gel (Promega, Madison, WI, USA)에 20분간 전기영동하여 증폭산물의 band를 확인한다. PCR 증폭산물을 추출하여서 Sequenase Version 2.0 DNA sequencing kit (U.S. Biochemicals, Cleveland, OH, USA)를 이용하여서 양방향으로 염기서열을 분석한다.

○ *mcr-1* 유전자 선별

Carbapenem 내성 장세균의 치료에 유용한 colistin에 대한 내성을 현재까지 유전자 변이에 의해 세포막의 지질 구조가 변경됨으로써 생기는 것으로 알려져 있다. 염색체 변이에 의한 내성을 균주의 확산에 의한 전파만이 가능하므로 수평 전파에 의한 내성 확산에 비해 비교적 전파가 어렵다. 최근 들어 plasmid-mediated colistin 내성을 유발하는 유전자가 중국에서 발견되어 큰 문제가 되고 있다. *mcr-1*을 전달받은 장세균은 colistin MIC가 4-16배 이상 증가하면서 colistin에 비감수성을 보일 수 있다. CLR5-F (5'-CGGTCAGTCCGTTGTT-3')과 CLR5-R (5'-CTTGGTCGGTCTGTA GGG-3') 프라이머를 사용

하여, colistin MIC가 2 μ g/mL 이상인 균주를 대상으로 선별한다.

○ 내성균의 분자역학적 성상 규명: Multilocus sequence typing (MLST)

일부 다제내성 균주의 장기간에 걸친 역학적 연관성을 분석하기 위해서 시행한다. 시험 세균의 세포내 대사에 관여하는 여러개의 주요 유전자 (Housekeeping gene)를 대상으로 염기서열 분석을 시행한 후에, 인터넷을 통하여 MLST database에 자료를 입력하여 분석한다.

□ *P. aeruginosa* 및 *A. baumannii* 특성 조사

○ 균주 수집 및 균종 동정

본 연구의 참여병원에서 수집한 *A. baumannii*와 *P. aeruginosa* 균종을 수집한다. 수집한 균주는 필요한 경우에 MALDI-TOF 장비를 사용하여 재동정한다.

- *rpoB* gene의 분석을 통한 균종동정

MALDI-TOF에서 확인되지 않는 *Acinetobacter* spp.의 동정은 *rpoB* gene의 염기서열 분석을 통하여 확인한다. *Acinetobacter* spp.의 DNA 추출액 5 μ L, primer 각 1 μ L, deoxynucleotide triphosphates 2.5 mM (8 μ L), Taq DNA polymerase 2.5 U (0.5 μ L), 10X buffer 10 μ L 및 중류수 75.5 μ L를 혼합하여 PCR 반응액을 만든다. Gene Amp PCR System 9600 (Perkin-Elmer Centus Corp., Norwalk, Ct., USA)으로 94°C로 30초간 denaturation, 60°C로 30초간 annealing, 72°C로 30초간 extension하는 30 cycle의 PCR를 시행한다. 중폭산물 3 μ L를 2.0% agarose gel (Promega, Madison, WI, USA)에 20분간 전기영동하여 중폭산물을 band를 확인한다. PCR 중폭산물을 추출하여서 Sequenase Version 2.0 DNA sequencing kit (U.S. Biochemicals, Cleveland, OH, USA)를 이용하여서 양방향으로 염기서열을 분석한다.

○ 항균제 감수성 시험

- 통상적인 항균제 감수성 시험

수집한 균주는 CLSI에서 권장하는 디스크 확산법으로 amikacin, gentamicin, in, tobramycin, ciprofloxacin, piperacillin, ampicillin-sulbactam, ceftazidime, cefepime, imipenem, meropenem, colistin 및 tigecycline (*P. aeruginosa* 제외)에 대한 감수성 여부를 확인한다. 시험세균을 MacConkey 한천에 계대배양하여서 1 개의 독립된 집락을 백금침으로 채취한 후, Tryptic soy broth에 접종하여 McFarland no. 0.5로 탁도를 맞춘다. 세균 부유액을 면봉으로 Mueller-Hinton 한천에 접종한 후, 항균제 디스크를 놓는다. 세균이 접종된 배지는 37°C 항온기에 18시간 배양하고, 각 항균제 디스크 주위에 생긴 억제대의 크기를 측정한다. 항균제 디스크로는 amikacin, gentamicin, tobramycin, ciprofloxacin, piperacillin, ampicillin-sulbactam, ceftazidime, cefepime, imipenem, meropenem, colistin 및 tigecycline (*P. aeruginosa* 제외) 등이다. 결과의 정확성을 위하여 대조균주인 *E. coli* ATCC 25933의 감수성을 동시에 시험한다.

- MIC 검사법

일부 필요한 경우에 내성의 정도를 평가하기 위해 항균제의 최소억제농도(minimum inhibitory

concentration, MIC)를 CLSI 한천희석법으로 측정한다. 시험 항균제로는 amikacin, gentamicin, tobramycin, ciprofloxacin, piperacillin, ampicillin-sulbactam, ceftazidime, cefepime, imipenem, meropenem, colistin 및 tigecycline (*P. aeruginosa* 제외) 등을 사용한다. *E. coli* ATCC 25933을 표준균주로 사용한다.

○ 분자유전학적 방법에 의한 carbapenemase 유전형 확인시험

Carbapenemase의 유전형을 고안된 primer를 사용하여 PCR로 확인한다. 시험세균의 DNA 추출액 5 μ L, primer 각 1 μ L, deoxynucleotide triphosphates 2.5 mM (8 μ L), Taq DNA polymerase 2.5 U (0.5 μ L), 10X buffer 10 μ L 및 증류수 75.5 μ L를 혼합하여 PCR 반응액을 만든다. Gene Amp PCR System 9600 (Perkin-Elmer Centus Corp., Norwalk, Ct., USA)으로 94°C로 30초간 denaturation, 60°C로 30초간 annealing, 72°C로 30초간 extension하는 30 cycle의 PCR를 시행한다. 증폭산물 3 μ L를 2.0% agarose gel (Promega, Madison, WI, USA)에 20분간 전기영동하여 증폭산물의 band를 확인한다. PCR 증폭산물을 추출하여서 Sequenase Version 2.0 DNA sequencing kit (U.S. Biochemicals, Cleveland, OH, USA)를 이용하여서 양방향으로 염기서열을 분석한다.

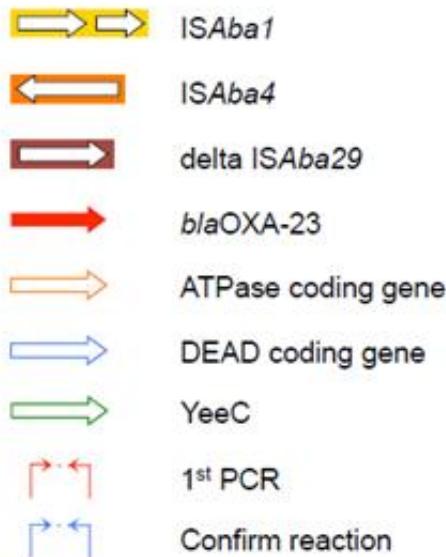
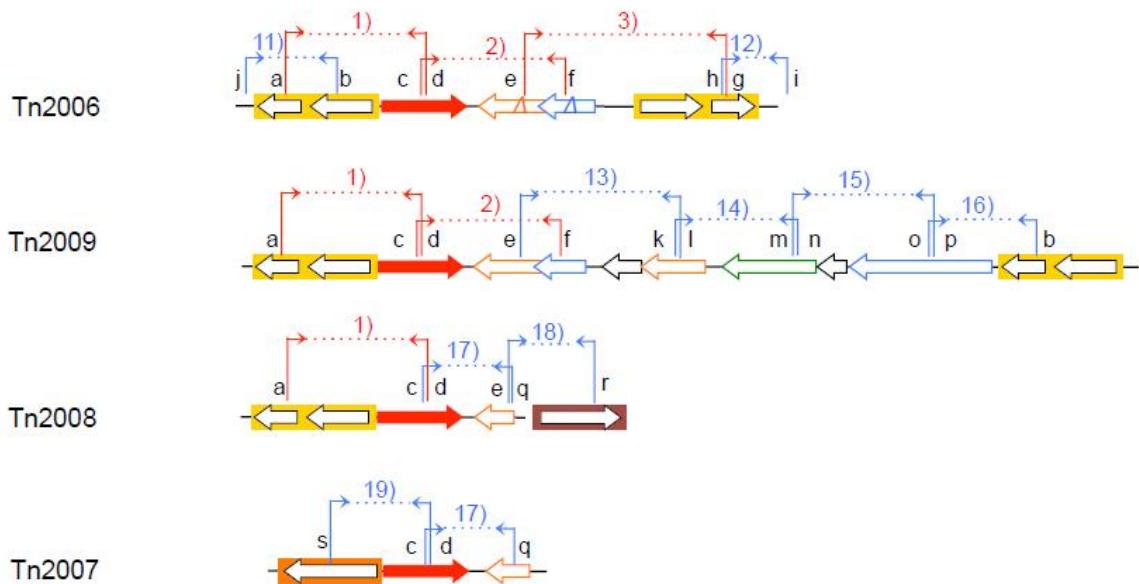
○ 내성균의 분자역학적 성상 규명: Multilocus sequence typing (MLST)

일부 다제내성 균주의 장기간에 걸친 역학적 연관성을 분석하기 위해서 시행한다. 시험 세균의 세포내 대사에 관여하는 여러개의 주요 유전자 (Housekeeping gene)를 대상으로 염기서열 분석을 시행한 후에, 인터넷을 통하여 MLST database에 자료를 입력하여 분석한다.

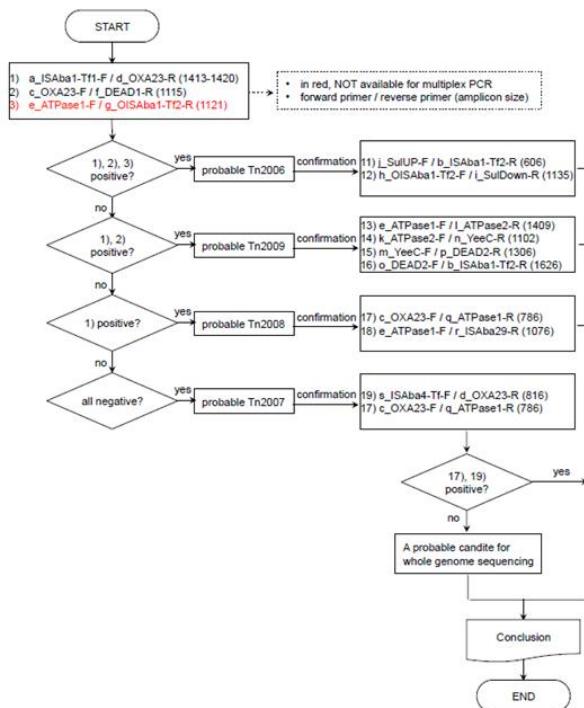
○ OXA-23 유전자를 포함하는 transposon의 검출

*A. baumannii*에서 흔히 검출되는 OXA-23 유전자의 genetic environment를 PCR mapping으로 확인한다. OXA-23 유전자를 함유하는 transposon으로는 Tn2006, Tn2007, Tn2008, Tn2009 등이 있으며, 이 중 Tn2006은 유럽 등 서구에서 흔히 검출된 반면 Tn2009는 중국에서 흔히 검출된다. 본 연구진은 효과적인 transposon 동정을 위하여 독창적인 PCR mapping scheme을 수립하였으며, 이를 바탕으로 국내에서 분리되는 OXA-23 생성 *A. baumannii*와 non-baumannii *Acinetobacter*의 OXA-23을 운반하는 transposon을 규명하고자 한다. 또한 필요한 경우는 OXA-23 유전자를 가진 염색체 혹은 플라스미드를 분리하여 NGS 장비로 전장유전체 분석을 시행한다.

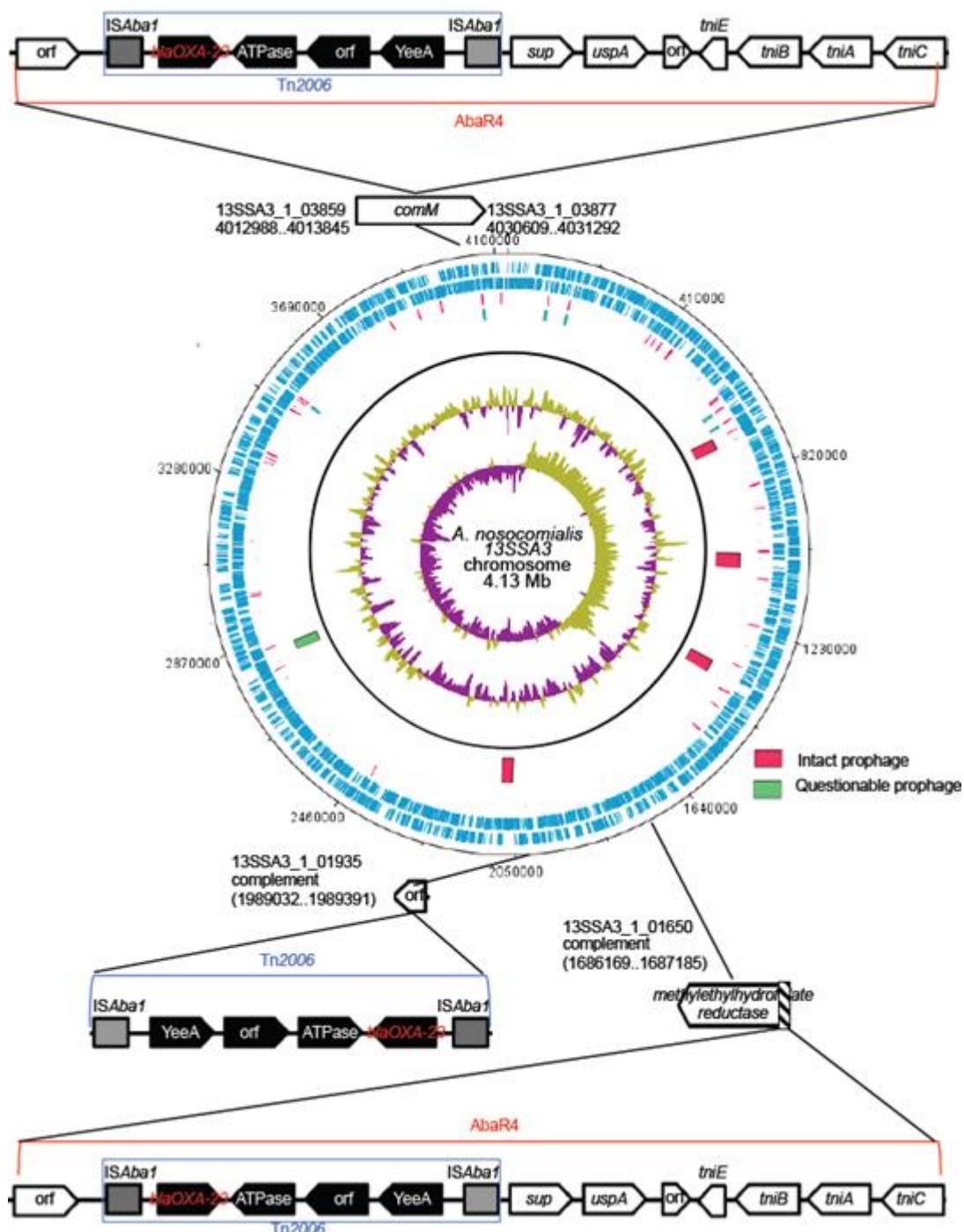
SCHEME for the PCR mapping



SCHEME for the PCR mapping



본 연구진이 수행한 OXA-23 생성 *A. nosocomialis*의 WGS 분석 예. OXA-23 유전자를 함유하는 Tn2006 3 copy가 염색체에 존재함을 확인할 수 있다.



□ *Salmonella* 및 *Shigella* 특성 분석

본 연구의 참여병원에서 *Salmonella* 및 *Shigella* 균주를 수집한다. 각 병원에서 검출된 균주의 수 및 혈청군의 지역별, 혈청군별 빈도를 조사한다. 각 균주는 디스크 확산법을 이용하여 항균제별 내성을을 확인하고 차이를 조사한다.

○ 균주 수집 및 항혈청 검사

본 연구의 참여 병원으로부터 균주를 수집한다. 선택배지인 *Salmonella-Shigella*배지, MacConkey배지, XLD 배지를 사용하여 균 선별을 시행하고 집락의 형태, 전통적인 생화학적 시험 방법 및 Vitek system(bioMerieux, France)을 이용하여 동정 한다. 살모넬라 균주의 혈청형 동정은 somatic(O) antisera와 flagella(H) antisera(Difco, Denka등)와의 각각의 응집 여부를 이용하여 분류 한다

- Somatic(O) 혈청형 결정

Salmonella O Poly antiser A, B, C1, C2, D, E 등을 이용하여 응집 반응 확인 한다

응집반응을 보인 각 group에 따른 factor를 확인하기 위하여 *Salmonella* O Factor antiser O1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14 등 이용하여 응집 반응을 확인 한다

- Flagella(H) 혈청형 결정

O 항혈청에 응집이 일어나는 균주를 대상으로 시행 한다

편모(H)항혈청 즉 a, b, c, d, e, h, g, k, l , r, y, 1.2, 1.3, 1.5, 1.6 등에 대한 시험관법으로 응집반응을 실시하여 결정 한다

- 환자 임상정보 및 검체정보 조사

검체종류, 환자의 성별, 나이 등 기본적인 사항만 수집한다

- 항균제 감수성 시험 : 디스크 확산법

- 미국의 CLSI의 기준에 따라서 디스크 확산법으로 시험한다. 시험세균을 MacConkey 배지에 계대 배양하여 단일 콜로니를 이용하여 0.5 McFarland 탁도를 맞춘다. 세균 부유액을 면봉을 이용하여 Mueller-Hinton 한천배지에 접종한 후, 항균제 디스크를 놓고 37°C 항온기에 18시간 배양한다. 각 항균제 디스크에 생긴 억제대의 크기를 측정한다.

- 항균제 디스크

amoxicillin-clavulanate, ampicillin, chloramphenicol, ciprofloxacin, imipenem, ceftriaxone, gentamicin, amikacin, tetracycline, trimethoprim-sulfamethoxazole을 이용한다.

결과의 정확성을 위하여 대조균주인 *E. coli* ATCC25933의 감수성을 동시에 시험한다.

- 내성 기전 연구

Extended-spectrum beta-lactamase(ESBLs) 생성 균주 확인을 위해 PCR 및 염기서열분석을 이용한 분자 유전학적 검사를 시행한다.

- DNA 추출

상품화된 키트를 사용하여 살모넬라 균주로부터 plasmid DNA를 추출한다. Qiagen Plasmid Purification kit (Qiagen Inc.)를 이용하여 DNA를 추출하며 분리방법은 제조사의 매뉴얼을 따른다. 추출한 DNA는 사용시까지 -70°C에 보관한다.

- PCR 반응조성

bla_{TEM}, *bla_{SHV}*, *bla_{CTX-M}*, *bla_{VEB}*를 대상으로 시험한다. Primer조성은 아래와 같으며 Primer set는 Bae IK et al., 2006, Ryoo NH et al.,을 참고로 하였다.

| Target genes | Primers | Sequences |
|--|----------|---|
| <i>bla_{CTX-M}(CTX-M-1cluster)</i> | CTX-M-1F | 5'-CCG TCA CGC TGT TGT TAG G-3' |
| | CTX-M-1R | 5'-GAC GAT TTT AGC CGC CGA C-3' |
| | BM-1F | 5'-ACT ATG GCA CCA CCA ACG AT-3' |
| | FM-1R | 5'-TTC GGT TCG CTT TCA CTT TT-3' |
| <i>bla_{CTX-M}(CTX-M-2cluster)</i> | CTX-M-2F | 5'-CGG TGC TTA AAC AGA GCG AG-3' |
| | CTX-M-2R | 5'-CCA TGA ATA AGC AGC TGA TTG CCC-3' |
| <i>bla_{CTX-M}(CTX-M-8cluster)</i> | CTX-M-8F | 5'-ACG CTC AAC ACC GCG ATC-3' |
| | CTX-M-8R | 5'-CGT GGG TTC TCG GGG ATA A-3' |
| <i>bla_{CTX-M}(CTX-M-9cluster)</i> | CTX-M-9F | 5'-GAT TGA CCG TAT TGG GAG TTT-3' |
| | CTX-M-9R | 5'-CGG CTG GGT AAA ATA GGT CA-3' |
| <i>bla_{VEB}</i> | VEB-F | 5'-ACC AGA TAG GAG TAC AGA CAT ATG A-3' |
| | VEB-R | 5' -TTC ATC ACC GCG ATA AAG CAC-3' |
| <i>bla_{TEM}</i> | TEM-F | 5'-ATG AGT ATT CAA CAT TTC CGT-3' |
| | TEM-R | 5'-TTA CCA ATG CTT AAT CAG TGA-3' |
| <i>bla_{SHV}</i> | SHV-F | 5'-CCG GGT TAT TCT TAT TTG TCG CT-3' |
| | SHV-R | 5'-TAG CGT TGC CAG TGC TCG-3' |

- 염기서열분석

PCR 반응 후 필요에 따라 염기서열분석을 시행한다. DNA sequencer (ABI 3130)를 사용하여 dideoxynucleotide chain-termination 방법을 이용하여 염기서열분석을 시행한 후 결과를 분석한다. 염기서열분석을 통하여 상기 유전자의 내성기전을 파악한다.

□ *N. gonorrhoeae* 특성 분석

○ 균주 수집

2016년에 6개 참여 기관에서 수집한 임균을 수집하여 주요 특성을 분석한다. 수집한 균주는는 modified Thayer-Martin 배지(BBL, Becton-Dickinson, Cockeysville, MD, USA)를 사용하여 배양하고, 균종 동정은 MALDI-TOF MS를 사용하고, 필요한 경우는 16s rRNA를 염기서열 분석한다. 동정된 균주는 -7 0°C 이하의 냉동고에 보존하여 한 번 분석한다.

○ 항균제 감수성 시험 및 cephalosporin 내성 균주 감시

- 디스크 확산법

시험 균주를 Mueller-Hinton broth에 혼탁하여 McFarland의 제 0.5관 탁도에 맞춘 후, 세균 부유액을 GC agar base (BBL)에 1% hemoglobin과 1% IsoVitaleX (BBL)을 첨가하여 만든 한천에 접종하고 시험 항균제 디스크 (penicillin G, tetracycline, ceftriaxone, spectinomycin, ciprofloxacin, nalidixic acid)를 놓은 후 35°C, 5% CO₂ 항온기에 24시간 배양 후 Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) 기준 및 호주의 CDS 기준에 따라 판독한다[16, 17].

- 한천 희석법

Cephalosporin 항균제인 ceftriaxone과 cefixime을 포함하여 임균 치료에 주로 사용되는 항균제와 역학적으로 내성 경향을 조사할 필요성이 있는 항균제를 선별하여 한천 희석법을 시행한다. 동결 보관 균주를 초콜릿 한천에 접종한 후 양초단지에 넣어 35°C, 24-48시간 배양한 후, Mueller-Hinton broth에 혼탁하여 104 CFU/mL으로 희석한다. GC agar base (BBL)에 1% hemoglobin과 1% IsoVitaleX (BBL)을 첨가하고, 규정된 희석액으로 녹인 항균제를 넣어 2배수 단계 희석된 농도가 되도록 평판을 만든다. 세균부유액을 Steers' replicator (Craft Machine Inc., Woodline, PA, USA)를 써서 배지에 접종하고 35°C, 5% CO₂ 항온기에 24시간 배양 후 세균의 증식을 관찰한다. 세균의 증식을 완전히 억제시킨 최소한의 농도를 최소억제농도 (minimal inhibitory concentration, MIC)로 정하였다. 결과의 정도관리를 위해서 *N. gonorrhoeae* ATCC 49226을 같이 시험한다.

- β -lactamase 생성시험

Chromogenic cephalosporin 볍인 cefinase 디스크 (BBL)로 시험하여, 노란색이 분홍색으로 변하면 양성으로 판정한다.

○ Cephalosporin 내성 기전

- penA 유전자 염기서열분석

균집락을 증류수에 혼탁하고, heat extraction 볍으로 template DNA를 추출한다. 추출한 DNA는 PBP 2의 mosaicism을 분석하기 위해 penA 유전자 전체를 3부분으로 나누어 각각의 primer set를 사용하여

PCR을 시행한다 (Table 2). PCR 산물은 전기영동한 후 각 primer set에 적합한 크기의 PCR 산물을 DNA extraction kit을 사용하여 추출한 후 염기서열을 분석한다[18].

- *mtrR*, *porB*, *ponA* 및 *pilQ* 유전자 염기서열분석 (필요한 경우)

Cephalosporin 항균제의 감수성에 영향을 미치는 유전자에 유전적 다형성을 규명하기 위해 대한 염기서열분석을 시행한다. 균집락을 종류수에 혼탁하고, heat extraction 법으로 template DNA를 추출한다. 추출한 DNA는 각각의 유전자의 promotor 부위와 유전자 부위를 분석하기 위해 각각의 primer set를 사용하여 PCR을 시행한다 (Table 2). PCR 산물은 전기영동한 후 각 primer set에 적합한 크기의 PCR 산물을 DNA extraction kit을 사용하여 추출한 후 염기서열을 분석한다[18].

Table 2. Primers used for PCR amplification and sequencing of the penA gene

| Primer | Nucleotide sequence (5' to 3') | Nucleotide Positions |
|---------|--------------------------------|----------------------|
| PenA-A1 | CGGGCAATACCTTATGGTGGAAC | 8-31 |
| PenA-B1 | AACCTTCCTGACCTTGCCGTC | 655-676 |
| PenA-A2 | AAAACGCCATTACCCGATGGG | 597-617 |
| PenA-B2 | TAATGCCGCGCACATCCAAG | 1157-1177 |
| PenA-A3 | GCGTAACCGATATGATCGA | 1003-1022 |
| PenA-B3 | CGTTGATACTCGGATTAAGACG | 1844-1865 |
| mtrR-F | GCCAATCAACAGGCATTCTTA | 2210-2191 |
| mtrR-R | GTTGGAACAAACGCGTAAAC | 190-171 |
| porB-F | CCGGCCTGCTTAAATTCTTA | 241-222 |
| porB-R | TATTAGAATTGTGGCGCAG | 1030-1049 |
| ponA-F | GAGAAAATGGGGAGGACCG | 1171-1190 |
| ponA-R | GGCTGCCGCATTGCCTGAAC | 1395-1376 |
| pilQ-F | CGTTACGCCAACATCACG | 1833-1851 |
| pilQ-R | TGACCGAAACTGAACGGACTG | 2358-2338 |

- 내성균의 분자역학적 성상 규명

- NG-MAST 시행

유전자 변이가 심한 단일 유전자의 염기 서열 분석을 통해 역학적 관계를 규명한다. 2010년에 분리된 TRNG를 대상으로 *por* 유전자 (F-CAAGAAGACCTCGCAA; R-CCGACAACCCTGGT)와 *tbpB* 유전자 (F-CGT TGTCGGCAGCGCGAAAAC; R-TTCATCGGTGCGGCCCTG)를 PCR로 증폭하고, 증폭한 산물을 전기 영동한 후, DNA를 추출한다. 추출한 DNA는 염기 서열을 분석한 후에, www.ng-mast.org에 접속하여 역학적 관계를 규명한다.

- Multilocus sequence typing (MLST)

일부 다제내성 균주의 장기간에 걸친 역학적 연관성을 분석하기 위해서 시행한다. 임균의 세포내 대사에 관여하는 여러개의 주요 유전자 (Housekeeping gene)를 대상으로 염기서열 분석을 시행한 후에, 인터넷을 통하여 MLST database에 자료를 입력하여 분석한다(Table 3)[20].

Table 3. Oligonucleotide primers used in the *N. gonorrhoeae* MLST

| Locus | Name | Sequence (5'-3') | Function |
|-------------|-----------------|------------------------|------------------------------|
| <i>abcZ</i> | <i>abcZ</i> -P1 | AATCGTTATGTACCGCAGG | Amplification and sequencing |
| <i>abcZ</i> | <i>abcZ</i> -S2 | GAGAACGAGCCGGGATAGGA | Amplification and sequencing |
| <i>adk</i> | <i>adk</i> -P1 | ATGGCAGTTGTGCAGTTGG | Amplification |
| <i>adk</i> | <i>adk</i> -P2 | GATTTAACAGCGATTGCC | Amplification |
| <i>adk</i> | <i>adk</i> -S1 | AGGCTGGCACGCCCTTGG | Sequencing |
| <i>adk</i> | <i>adk</i> -S2 | CAATACTTCGGCTTCACGG | Sequencing |
| <i>aroE</i> | <i>aroE</i> -P1 | ACGCATTGCGCCCACATC | Amplification and sequencing |
| <i>aroE</i> | <i>aroE</i> -P2 | ATCAGGGCTTTTCAGGTT | Amplification |
| <i>aroE</i> | <i>aroE</i> -S2 | ATGATGTTGCCGTACACATA | Sequencing |
| <i>fumC</i> | <i>fumC</i> -P1 | CACCGAACACGACACGATGG | Amplification |
| <i>fumC</i> | <i>fumC</i> -P2 | ACGACCAGTTCTGTCAAACTC | Amplification |
| <i>fumC</i> | <i>fumC</i> -S1 | TCCGGCTTGCCGTTTGTAG | Sequencing |
| <i>fumC</i> | <i>fumC</i> -S2 | TTGTAGGCCTTTGGCGAC | Sequencing |
| <i>gdh</i> | <i>gdh</i> -P1 | ATCAAATACCGATGTGGCGCGT | Amplification |
| <i>gdh</i> | <i>gdh</i> -P2 | GGTTTTCATCTGCGTATAGAG | Amplification and sequencing |
| <i>gdh</i> | <i>gdh</i> -S3 | CCTTGGCAAAGAACGCTGC | Sequencing |
| <i>pdhC</i> | <i>pdhC</i> -P1 | GGTTTCCAACGTATCGGCAC | Amplification |
| <i>pdhC</i> | <i>pdhC</i> -P2 | ATCGGCTTGATGCCGTATT | Amplification and sequencing |
| <i>pdhC</i> | <i>pdhC</i> -S1 | TCTACTACATCACCCGTATG | Sequencing |
| <i>pgm</i> | <i>pgm</i> -S1 | CGGCAGATGCCGACCGCTTGG | Amplification and sequencing |
| <i>pgm</i> | <i>pgm</i> -S2 | GGTGATGATTCGGTTGCGCC | Amplification and sequencing |

제4장 최종 연구 결과

4.1 감시체계 구축

1. 감시체계 구축

전국 6개 권역을 감시할 수 있도록 감시체계를 구축하였다. 감시체계는 세계보건기구의 GLASS 감시체계에 데이터를 제공할 수 있으면서, 중요한 역학 정보를 추가하는 발전된 형태로 구축하였다. 감시체계는 군주 및 임상 정보 수집 기관과 주관 기관으로 구분하였고, 수집기관은 지역거점병원이면서, 지역사회 감염 환자도 많이 이용할 수 있는 500-1,000 병상 규모의 병원으로 선정하였다. 모든 수집 기관은 진단검사의학과 임상미생물전문의가 있는 기관이며, 우수검사실 인증을 받은 기관으로 정하였다. 수집 기관은 감시 조건에 적합한 모든 군주를 수집하고, 관련 정보를 조사하여 정기적으로 주관 기관에 발송하였다. 주관 기관은 수령한 모든 군주를 재동정하고 항균제 감수성 시험을 시행하였으며, 시험 결과를 군주 수집기관에 환류하여 수집이 원활하게 이루어지도록 하였고, 분석한 모든 정보는 다시 질병관리본부에 송부하여 최종적으로 WHO에 GLASS 국가 데이터로 보고할 수 있도록 하였다.

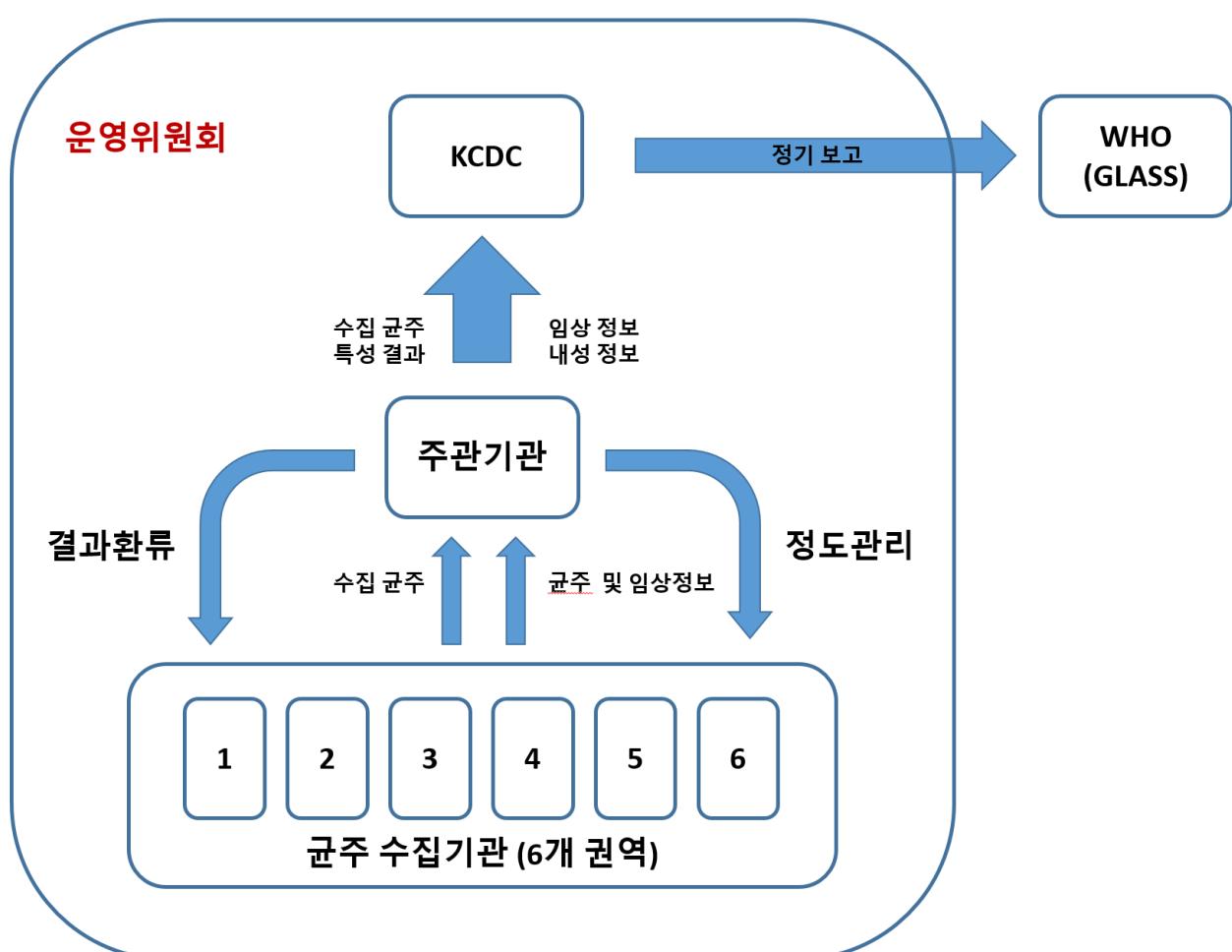


Fig. Schematic diagram of national surveillance system for antimicrobial resistance in Korea

Table 감시 지역 및 수집 기관 분포

| 거점 지역 | 인구 (%) | 수집 기관 | 병상 수 |
|------------|-------------|------------|-------|
| 서울 남부 (강남) | 993만 (19%) | 강남세브란스병원 | 805 |
| 경기 북부 (일산) | 1271만 (25%) | 보험공단 일산병원 | 742 |
| 충북 (청주) | 159만 (3%) | 충북대병원 | 655 |
| 전남 (광주) | 337만 (7%) | 전남대병원 | 965 |
| 경남 (부산) | 686만 (14%) | 부산백병원 | 900 |
| 강원 (원주) | 155만 (3%) | 원주기독세브란스병원 | 1,000 |

2. 균주 수집체계 구축

1) 균주 수집 조건

GLASS 문현 및 국내감시체계를 참고하여 11종의 세균에 대한 균주 수집 조건을 수립하였다. *E. faecalis*, *E. faecium* 및 *P. aeruginosa*는 GLASS에는 포함되어 있지 않은 균주들이지만 국내에서는 vancomycin 및 carbapenem 내성이 문제이며, 의료관련감염병으로 국가 감시에 포함되어 있어 추가하였다. 각각의 균종 특성에 따라 혈액, 뇌척수액, 요, 변, 비뇨기검체에서 분리된 세균을 대상으로 수집하도록 하였다. 균주의 수집 조건은 1) 감시 기간 내에 동일 환자의 중복 검체에서 분리된 균주는 첫번째 균주만 수집, 2) 한 환자의 중복 검체에서 분리된 다른 균종 수집, 3) 한 환자에서 다른 검체에서 분리된 동일 균종 수집의 조건을 지켜서 수집하도록 하였다.

| Specimens | Species |
|----------------------------|--|
| Blood | <i>S. aureus</i> |
| | <i>S. pneumoniae</i> |
| | <i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i> |
| | <i>E. coli</i> |
| | <i>K. pneumoniae</i> |
| | <i>P. aeruginosa</i> |
| | <i>A. baumannii</i> |
| | <i>Salmonella</i> spp. (<i>S. Typhi</i> 포함), <i>Shigella</i> spp. |
| CSF | <i>S. pneumoniae</i> |
| Urine (추가 기준 참조) | <i>E. coli</i> |
| | <i>K. pneumoniae</i> |
| Stool | <i>Salmonella</i> spp. (<i>S. Typhi</i> 포함), <i>Shigella</i> spp. |
| Urethral or Cervical swabs | <i>N. gonorrhoeae</i> |

요 분리주는 오염균이 포함될 수 있어서 미국미생물학회의 Clinical Microbiology Procedure Handbook의 병원균 선별 기준을 적용하여 수집하였다.

1개 균종 증식: $\geq 10,000$ (104) CFU/mL 이상인 경우 ECO, KPN 수집

2개 균종 증식: $\geq 100,000$ (105) CFU/mL 이상인 ECO, KPN만 수집

Ex. 1: ECO 100,000 CFU/mL, KPN 10,000 CFU/mL ECO 만 수집

Ex. 2: ECO 10,000 CFU/mL, EFM 100,000 CFU/mL 수집 균주 없음

3개 균종 이상 증식: 증식 정도에 관계 없이 수집 균주 없음

Catheter 분리 균주는 제외

Foley catheter 분리 균주 제외

Nelaton 같은 straight catheter는 포함

2) 균주 일련번호

각 기관에서 수집한 균주는 정해진 규칙에 따라 일련 번호를 부여하고, 환자의 정보 및 균주 정보를 기록하도록 하였다. 일련 번호는 기관명, 수집연도, 균종 및 수집 번호로 구성하였다.

의료기관기호- 연도- 균종-일련번호

의료기관기호: 의료기관별로 암호화하여 배정

연도: 2자리숫자

균종기호

- | | | |
|-----------------------|---------------------------|------------------------|
| a) S. aureus: SAU | b) S. pneumoniae: SPN | c) E. faecalis: EFA |
| d) E. faecium: EFM | e) E. coli: ECO | f) K. pneumoniae: KPN |
| g) P. aeruginosa: PAE | h) Acinetobacterspp.: ACI | i) Salmonellaspp.: SAL |
| j) Shigellaspp.: SHI | k) N. gonorrhoeae: NGO | |

일련번호: 4자리숫자(수집년도별로 일련번호 사용)

Ex. 강남세브란스병원에서 2016년 5월에 혈액분리된 3번째 황색포도알균: A16SAU0001

3) 임상 정보

항균제 내성 균주의 역학을 분석하기 위해 기본적인 암상 정보를 수집하도록 하였다. 환자를 식별할 수 있는 검체 번호 또는 등록 번호는 수집 항목에서 제외하였고, 성별, 연령 및 거주 행정 구역 (구 또는 군단위) 등을 포함하였고, 중복 균주에 대한 확인을 위해서 동일 환자 분리주는 수집 기관에서 임의로 부여한 환자 번호를 기록하였다. 또한 의료관련 감염과 지역사회 감염을 구분하기 위한 정보 및 구분을 추가하였고, 진료 과목 및 중환자실 입실 여부를 기록하여 향후의 분석에 대비하였다.

수집 기관, 수집년도 및 월

군주 번호, 검체 종류 및 최종 군주번호

환자 번호 (수집기관만 보관)

출생년도 및 출생월, 성별

거주지: 구 및 군까지 입력

내원 구분: 외래 또는 입원 (응급실은 외래로 분류)

내원일/입원일, 검체채취일, 전원여부 및 전원 입원기간

감염구분: 지역사회 감염 (CA), 의료관련감염 (HA)

진료과목 및 병동, 중환자실 입원 여부

각각의 군주 및 임상 정보는 엑셀로 된 자료 입력폼을 구축하여 수집하였으며, 군주와 함께 정기적으로 주관 기관으로 송부하도록 하였다.

| | A | B | C | D | E | F | G | H | I | J | K |
|----|-------|----|----|-------|---------------|----------------------|-----------------|------|-----|-----|---------|
| 1 | 수집 기관 | 연도 | 월 | 군주 번호 | 검체 종류 | 최종 군주번호 | 환자 번호(수집기관만 보관) | 출생년도 | 출생월 | 성별 | 거주지 |
| 2 | 기관코드 | YY | MM | 수집 번호 | B, C, U, F, S | 코드 YYSAU수집 번호B, C, I | 등록 번호 | YYYY | MM | M/F | 특별시, 광역 |
| 3 | A | 16 | 05 | 002 | B | A16SAU002B | | | | | |
| 4 | A | 16 | 05 | 003 | B | A16SAU003B | | | | | |
| 5 | | | | | SAU | | | | | | |
| 6 | | | | | SAU | | | | | | |
| 7 | | | | | SAU | | | | | | |
| 8 | | | | | SAU | | | | | | |
| 9 | | | | | SAU | | | | | | |
| 10 | | | | | SAU | | | | | | |
| 11 | | | | | SAU | | | | | | |
| 12 | | | | | SAU | | | | | | |
| 13 | | | | | SAU | | | | | | |
| 14 | | | | | SAU | | | | | | |
| 15 | | | | | SAU | | | | | | |
| 16 | | | | | SAU | | | | | | |
| 17 | | | | | SAU | | | | | | |
| 18 | | | | | SAU | | | | | | |

Fig. 군주 및 임상 정보 입력 형식

4) 군주의 보관

수집한 군주는 1개월에 2회씩 주관 기관으로 발송하며, 발송 전에는 2개의 skim milk 배지를 만들어서 보관하도록 하였다.

가) 2개의 skim milk 배지에 접종: 가급적 혈액한천 배지 증식 균주 보관

나) 제작한 skim milk 배지는 deep freezer에 보관하고 매월 1일과 16일에 1개를 주관기관으로 송부하고, 남은 1개는 지속적으로 보관 시행 (주말, 휴일시는 다음 근무일 발송)

3. 균주 운송체계 구축

수집기관에서 제작한 2개의 skim milk 배지 중에서 1개는 수집 기관에서 영구 보관하고, 나머지 1개는 1개월에 2회에 주관 기관으로 보내도록 하였다. 발송 전의 균주와 영구 보관용 균주는 -70°C 에 보관하도록 하였으며, 이를 위해 deep freezer를 각 기관별로 준비하였다. 매월 1일과 16일에 균주를 발송하였으며, 균주의 운송은 전문수탁기관의 운송시스템을 이용하여 균주의 생존성을 저해하지 않도록 주의하였다. 각 수집기관의 연구원과 전문수탁기관의 해당 지역 담당자를 서로 연결하여 균주 운송을 원활하게 할 수 있도록 시스템을 구성하였으며, 균주는 별도의 온도를 확인할 수 있는 별도의 냉장 박스를 구매하여 cold chain이 유지될 수 있도록 하였다. 또한 운송용 차량도 냉동고가 있는 차량을 사용하였다.



Fig. 균주 운송을 위한 온도표시 냉장박스

Table 균주 운송 시스템의 지역별 책임자

| 병원명 | 담당 지사 (SCL) | 직급 | 이름 | 휴대전화 번호 |
|-----------|-------------|----|-----|---------|
| 강남 세브란스병원 | 서울강남 | 사원 | 박OO | |
| 부산백병원 | 부산중부 | 과장 | 김OO | |
| 전남대학교병원 | 광주 | 대리 | 김OO | |
| 일산병원 | 일산 | 대리 | 윤OO | |
| 충북대학교병원 | 청주 | 소장 | 이OO | |
| 원주기독병원 | 영서2 | 주임 | 박OO | |

4. 운영위원회 및 자문위원회 구성 및 운영

국가 감시체계로서의 효율적인 운영을 위해 운영 위원회와 자문 위원회를 구성하였다. 운영위원회는 연구진 및 질병관리본부의 주관부서로 구성하였고, 자문 위원회는 진단검사의학, 감염내과, 기초미생물 및 임상병리학을 전공하는 유관학회의 전문가로 구성하였다. 운영 위원회는 감시체계 운영 전반에 걸친 운영 검토, 감시체계 운영 현황 및 데이터 분석과 감시체계의 개선 및 장기적 발전 방향 수립에 대한 내용을 논의하였다. 자문 위원회는 감시체계 운영과 감시 결과에 대한 전문가 자문을 시행하였다.

2016년 5월 18일: 1차 자문회의 (회의록 별첨)

2016년 6월 23일: 1차 운영회의 (회의록 별첨)

2016년 11월 11일: 2차 자문/운영 회의 (회의록 별첨)

Table 운영 위원회 명단

| 이름 | 소속 | 구분 |
|-----|-------------------|----------|
| 정석훈 | 연세의대 강남세브란스병원 | 연구책임자 |
| 이혁민 | 연세의대 강남세브란스병원 | 공동연구원 |
| 윤은정 | 연세의대 강남세브란스병원 | 공동연구원 |
| 신종희 | 전남의대 전남대병원 | 공동연구원 |
| 어영 | 연세원주의대 원주기독세브란스병원 | 공동연구원 |
| 신경섭 | 충북의대 충북대병원 | 공동연구원 |
| 신정환 | 인제의대 부산백병원 | 공동연구원 |
| 김영아 | 보협공단 일산병원 | 공동연구원 |
| 김종인 | 질병관리본부 약제내성과 | GLASS 담당 |
| 박소영 | 연세의대 강남세브란스병원 | 간사 |

Table 자문 위원회 명단

| 이름(가나다) | 소속 | 소속 학회 | 구분 |
|---------|----------------------------|----------------------------|-----|
| 장철훈 | 부산의대 진단검사의학과 | 대한임상미생물학회전임 편집위원장 | 위원장 |
| 노경호 | 씨젠의료재단 | 대한진단검사의학회산학연위원회 간사 | 위원 |
| 박경운 | 서울의대 진단검사의학과 | 대한감염학회특임이사 | 위원 |
| 박연준 | 가톨릭의대 진단검사의학과 | 대한임상미생물학회전임 간행이사 | 위원 |
| 박윤수 | 보협공단 일산병원 감염내과 | 대한화학요법학회 다제내성그램음성균 연구위원 | 위원 |
| 염준섭 | 성균관의대 강북삼성병원 감염내과 | 대한감염학회평의원 | 위원 |
| 송원근 | 한림의대 진단검사의학과 | 대한진단검사의학회 전임임상미생물분과위원장 | 위원 |
| 장원준 | 건국의대 미생물학과 | 대한미생물학회평의원 | 위원 |
| 장인호 | 상지대 임상병리학과 (보건과학대학교 학장) | 대한병리사협회학술부회장 | 위원 |

5. 분석체계 구축

수집한 균주는 그람양성 균주와 그람음성 균주로 나누어 분석을 시행하였고, *Salmonella* 균종, *Shigella* 균종 및 *S. pneumoniae*는 인제의대 부산백병원에서, *N. gonorrhoeae*는 신촌 세브란스병원에서 분석을 하였다.

| | | | |
|--|---|---|--|
| <div style="border: 1px solid black; padding: 10px;"> <p>주관연구책임자: 정석훈</p> <p><주요역할및책임사항></p> <ul style="list-style-type: none"> • 연구과제 총괄관리 • 연구진도 정기점검 • 연구결과 최종분석 • 감시체계 구성 및 운영 • 정도관리 시행 및 결과 분석 • 감시체계 운영위원회 개최 및 관리 </div> | <div style="border: 1px solid black; padding: 10px;"> <p>주관연구기관</p> <p>연구실무자 1: 이혁민</p> <p><주요역할및책임사항></p> <ul style="list-style-type: none"> • 그람양성 세균 및 임균 연구 총괄 • 임상 자료 취합 및 분석 • 균주 운송체계 관리 및 점검 • 진단 표준화 워크샵 진행 </div> | <div style="border: 1px solid black; padding: 10px;"> <p>주관연구기관</p> <p>연구실무자 2: 윤은정</p> <p><주요역할 및 책임사항></p> <ul style="list-style-type: none"> • 그람음성 세균 연구 총괄 • 전장유전체분석 총괄 • 감시체계 점검 • 균주 운송체계 관리 및 점검 </div> | <div style="border: 1px solid black; padding: 10px;"> <p>공동연구기관</p> <p>강남세브란스병원(정석훈); 일산병원(김영아); 원주기독병원(어영); 충북대병원(신경섭); 전남대병원(신종희); 인제대병원(신정환)</p> <p><주요역할 및 책임사항></p> <ul style="list-style-type: none"> • 균주 수집 및 보관 • 균주 정보 관리 • 임상 정보 관리 </div> |
|--|---|---|--|

수집기관에서 모인 균주는 계대 배양을 시행하여 오염 여부를 확인한다. 그람 양성 세균은 혈액한천 배지에, 그람 음성 세균은 MAC 한천 배지에 계대 배양을 하였다. 계대 배양으로 오염 여부를 확인한 후에 MALDI-TOF 장비를 사용하여 균종 동정을 시행하였다. *Acinetobacter* 균종은 MALDI-TOF로 균속을 확인한 후에 species-specific PCR (OXA-51)을 시행하여 균종을 동정하였고, OXA-51 음성인 경우는 *rpoB* gene 염기서열분석을 시행하였다. 균종 확인이 끝난 균주는 디스크 확산법, Etest 및 한천희석법으로 항균제 감수성을 시험하였고, 4개의 skim milk 배지를 제작하였다. 디스크 확산법 시험 결과는 Biomic 장비 (Giles Scientific, CA, USA)장을 사용하여 자동으로 판독하였고, Etest 시험 결과와 함께 사진을 저장하여 추가 분석에 사용할 수 있도록 저장하였다. 1개의 skim milk 배지는 특성화 분석용으로 사용하였으며, 2개는 질병관리본부로 제출하였고, 나머지 1개는 주관 기관에서 영구 보관하였다. 특성화 분석은 병독성 유전자, 내성 유전자 및 MLST 등의 분석을 시행하였다.

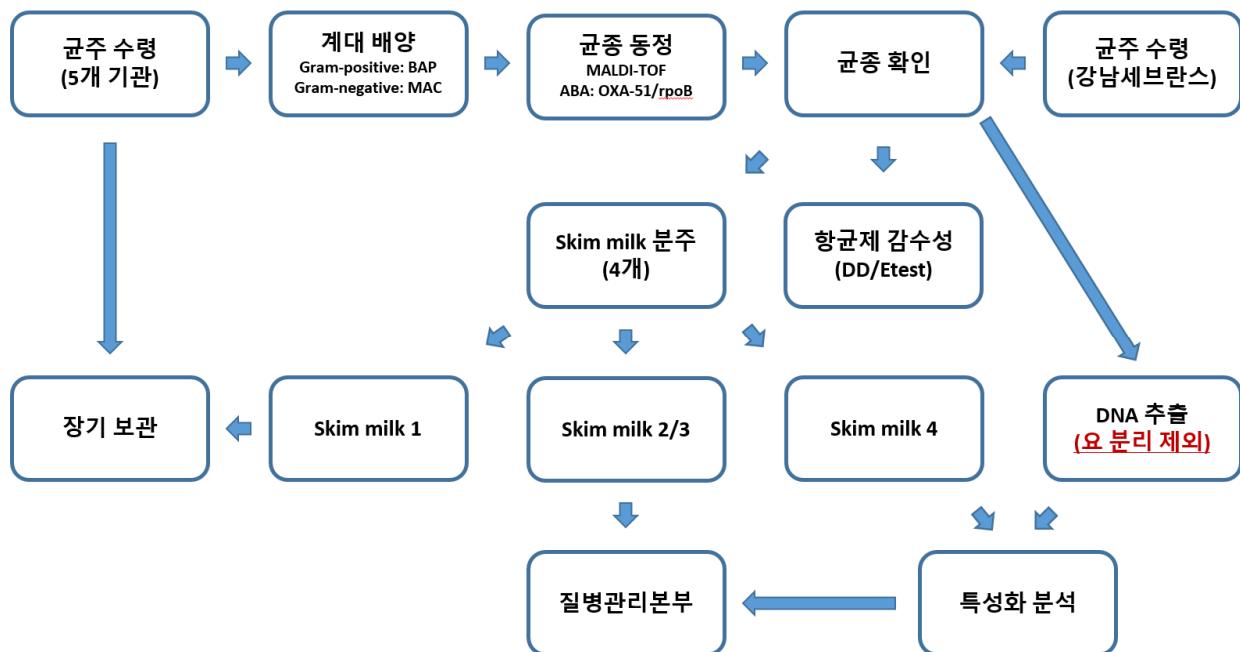


Fig. 기본 분석 과정

별도의 분석센터에서 시험한 *Salmonella* 균종, *Shigella* 균종, *S. pneumoniae* 및 *N. gonorrhoeae*는 수령한 균종의 확인 후에 4개의 skim milk 배지를 만들었고, 1개의 skim milk를 분석센터로 보내어 실험을 진행하였다. 모든 분석 결과는 균주 수집 후 2개월이 지나 기본 분석이 완료되면 질병관리본부와 무작위 균주에 대한 비교를 시행한 후에, 결과를 확인하고 균주와 기본 분석 자료를 질병관리본부로 매달 제출하였다.

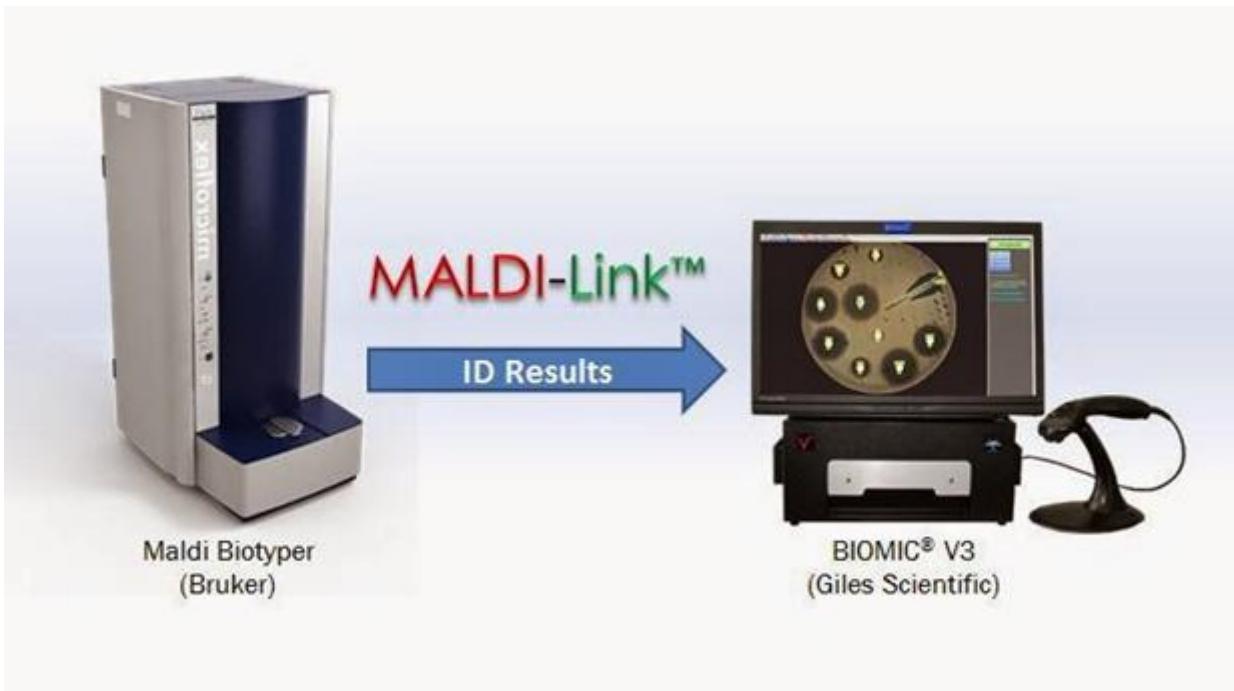


Fig. 기본 동정장비와 디스크 확산법 분석 장비

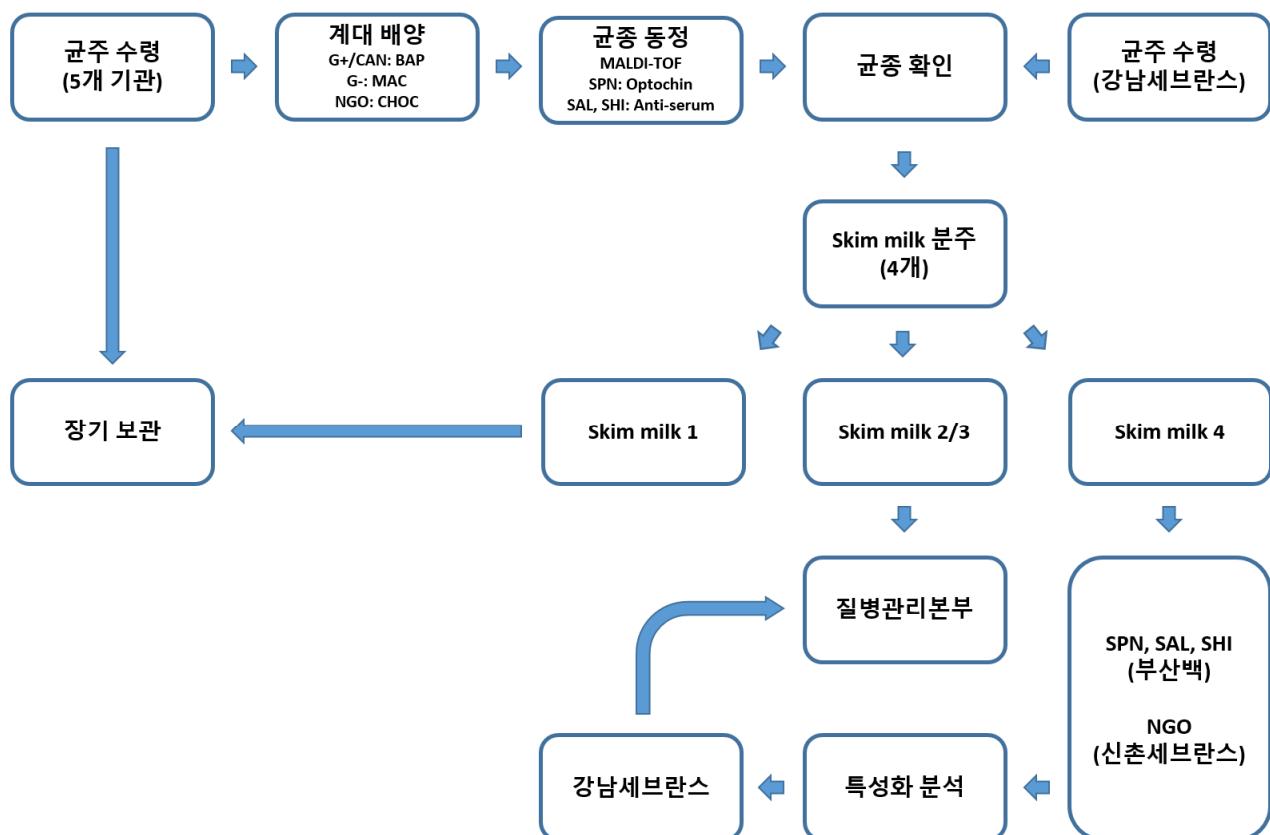


Fig. 기본 분석 과정 (Salmonella 균종, Shigella 균종, S. pneumoniae, N. gonorrhoeae)

4.2 감시 결과

1. 균주 수집 결과

본 연구의 기간은 2017년 2월까지이며, 현재까지 수집된 균주의 현황은 다음과 같다. 2016년 5월부터 2017년 1월 사이에 총 8,702주가 수집되었으며, 매달 평균 967주의 균주가 수집되었다. 가장 많은 균주가 수집된 기관은 9개월간 1,857주가 모였고, 가장 수집 균주수가 적은 기관의 균주 수자는 1,151주이었다. 월별 균주 수자는 853-1,164주로 차이가 있었다. 균종별로는 *S. aureus* 445주, *E. faecalis* 130주, *E. faecium* 161주, *S. pneumoniae* 20주, *E. coli* 6,178주 (혈액 분리 1,228주 및 요 분리 4,950주), *K. pneumoniae* 1,365주 (혈액 분리 472주 및 요 분리 893주), *P. aeruginosa* 110주, *Acinetobacter* 균종 182주, *Salmonella* 균종 113주가 수집되었다. 균이 분리된 감염 질환의 의료관련 감염 또는 지역사회 감염에 따른 비율은 *S. aureus* 50%:50%, *E. faecalis* 60%:40%, *E. faecium* 70%:30%, *S. pneumoniae* 14%:86%, *E. coli* 18%:82% (혈액 분리 20%:80% 및 요 분리 18%:82%), *K. pneumoniae* 38%:62% (혈액 분리 31%:69% 및 요 분리 42%:58%), *P. aeruginosa* 58%:42%, *Acinetobacter* 균종 84%:16%, *Salmonella* 균종 7%:93%이었다. 전형적인 의료관련감염의 기회감염균인 *Enterococcus* 균종과 *Acinetobacter* 균종은 CA 비율이 높았고, 지역사회 감염의 원인균은 *E. coli* *S. pneumoniae* 및 *Salmonella* 균종은 지역사회 비율이 매우 높았다. *S. aureus*와 *P. aeruginosa*는 의료관련 감염과 지역사회 감염의 비율이 비슷하였다.

요 검체와 혈액 검체에서 수집한 *E. coli*와 *K. pneumoniae*의 검체별 분리율은 요검체에서 분리된 균주의 비율이 높았으며, 검체에 따른 HA:CA 비율이 *E. coli*는 차이가 없었으나 *K. pneumoniae*는 10% 정도의 차이를 보였다.

Table 2016년 5월-2017년 1월 수집 균주 숫자

| Hosp. | May | June | July | August | September | October | November | December | January | Total |
|-------|-----|-------|------|--------|-----------|---------|----------|----------|---------|-------|
| A | 185 | 146 | 150 | 129 | 142 | 140 | 138 | 134 | 129 | 1,293 |
| B | 148 | 224 | 175 | 205 | 245 | 189 | 162 | 199 | 218 | 1,765 |
| C | 99 | 168 | 145 | 210 | 171 | 164 | 141 | 159 | 136 | 1,393 |
| D | 132 | 152 | 151 | 144 | 162 | 129 | 138 | 105 | 132 | 1,245 |
| E | 224 | 253 | 217 | 252 | 227 | 198 | 188 | 148 | 150 | 1,857 |
| F | 132 | 116 | 108 | 142 | 218 | 102 | 86 | 129 | 118 | 1,151 |
| Total | 920 | 1,059 | 946 | 1,082 | 1,165 | 922 | 853 | 847 | 883 | 8,702 |

Table 2016년 5월-2017년 1월 그룹 양성 균주의 수집 균주 숫자 및 감염구분에 따른 분류

| Hosp. | Type | May | June | July | August | September | October | November | December | January | Total |
|-----------|----------|-----|------|------|--------|-----------|---------|----------|----------|---------|-------|
| SAU-B | HA | 16 | 28 | 28 | 28 | 21 | 26 | 25 | 23 | 31 | 226 |
| | CA | 19 | 29 | 28 | 28 | 32 | 22 | 21 | 17 | 23 | 219 |
| | Subtotal | 35 | 57 | 56 | 56 | 53 | 48 | 46 | 40 | 54 | 445 |
| EFA-B | HA | 8 | 9 | 7 | 5 | 11 | 7 | 13 | 5 | 9 | 74 |
| | CA | 6 | 8 | 4 | 7 | 9 | 6 | 2 | 10 | 4 | 56 |
| | Subtotal | 14 | 17 | 11 | 12 | 20 | 13 | 15 | 15 | 13 | 130 |
| EFM-B | HA | 17 | 18 | 8 | 14 | 12 | 11 | 17 | 6 | 20 | 123 |
| | CA | 7 | 7 | 3 | 1 | 4 | 5 | 3 | 5 | 3 | 38 |
| | Subtotal | 24 | 25 | 11 | 15 | 16 | 16 | 20 | 11 | 23 | 161 |
| SPN-B | HA | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 3 |
| | CA | 3 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 4 | 0 | 5 | 17 |
| | Subtotal | 4 | 1 | 0 | 0 | 2 | 2 | 5 | 0 | 6 | 20 |
| Sub-total | HA | 42 | 55 | 43 | 47 | 44 | 44 | 56 | 34 | 61 | 426 |
| | CA | 35 | 45 | 35 | 36 | 47 | 35 | 30 | 32 | 35 | 330 |
| | Subtotal | 77 | 100 | 78 | 83 | 91 | 79 | 86 | 66 | 96 | 756 |

Table 2016년 5월-2017년 1월 그룹 음성 균주의 수집 균주 숫자 및 감염구분에 따른 분류

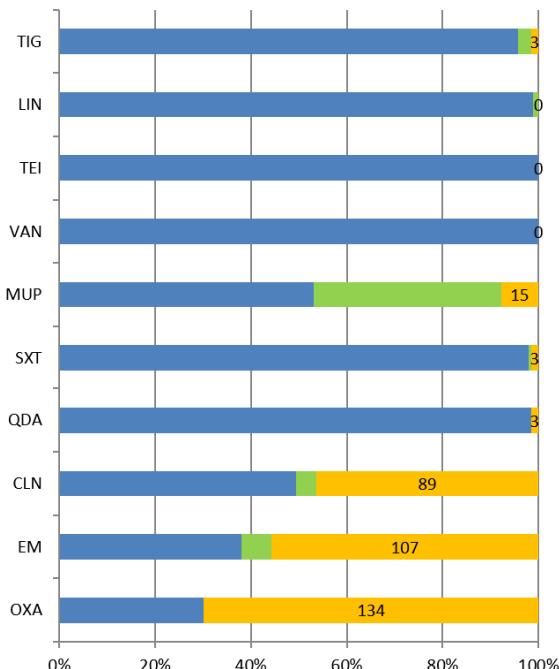
| Hosp. | Type | May | June | July | August | September | October | November | December | January | Total |
|-------|----------|-----|------|------|--------|-----------|---------|----------|----------|---------|-------|
| ECO-B | HA | 24 | 33 | 23 | 29 | 23 | 27 | 28 | 31 | 27 | 245 |
| | CA | 119 | 113 | 89 | 124 | 146 | 109 | 84 | 105 | 94 | 983 |
| | Subtotal | 143 | 146 | 112 | 153 | 169 | 136 | 112 | 136 | 121 | 1,228 |
| ECO-U | HA | 83 | 111 | 99 | 123 | 107 | 102 | 96 | 81 | 81 | 883 |
| | CA | 472 | 490 | 475 | 473 | 535 | 395 | 379 | 420 | 428 | 4,067 |
| | Subtotal | 555 | 601 | 574 | 596 | 642 | 497 | 475 | 501 | 509 | 4,950 |
| KPN-B | HA | 10 | 12 | 10 | 22 | 13 | 18 | 31 | 16 | 22 | 154 |
| | CA | 30 | 35 | 35 | 46 | 56 | 36 | 15 | 37 | 28 | 318 |
| | Subtotal | 40 | 47 | 45 | 68 | 69 | 54 | 46 | 53 | 50 | 472 |
| KPN-U | HA | 22 | 50 | 42 | 43 | 52 | 41 | 57 | 36 | 32 | 375 |
| | CA | 51 | 62 | 53 | 80 | 72 | 64 | 38 | 52 | 46 | 518 |
| | Subtotal | 73 | 112 | 95 | 123 | 124 | 105 | 95 | 88 | 78 | 893 |

Table 2016년 5-12월 그람 음성 균주의 수집 균주 숫자 및 감염구분에 따른 분류 (Continued)

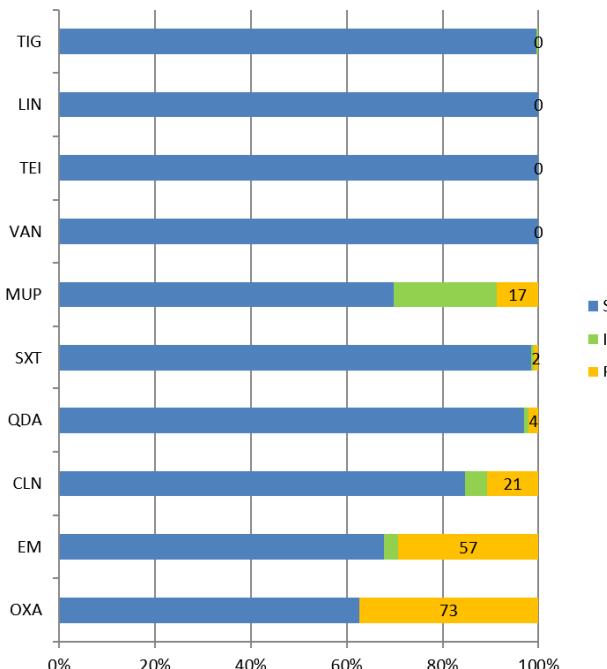
| Hosp. | Type | May | June | July | August | September | October | November | December | January | Total |
|-----------|----------|-----|------|------|--------|-----------|---------|----------|----------|---------|-------|
| PAE-B | HA | 6 | 10 | 4 | 6 | 12 | 9 | 5 | 7 | 6 | 65 |
| | CA | 2 | 6 | 8 | 8 | 5 | 5 | 4 | 4 | 3 | 45 |
| | Subtotal | 8 | 16 | 12 | 14 | 17 | 14 | 9 | 11 | 9 | 110 |
| ACI-B | HA | 15 | 19 | 21 | 18 | 19 | 16 | 20 | 14 | 11 | 153 |
| | CA | 3 | 7 | 1 | 4 | 4 | 7 | 1 | 0 | 2 | 29 |
| | Subtotal | 18 | 26 | 22 | 22 | 23 | 23 | 21 | 14 | 13 | 182 |
| SAL-B | HA | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 1 | 1 | 0 | 7 |
| | CA | 4 | 11 | 8 | 23 | 29 | 12 | 8 | 4 | 7 | 106 |
| | Subtotal | 6 | 11 | 8 | 23 | 30 | 14 | 9 | 5 | 7 | 113 |
| Sub-total | HA | 162 | 235 | 199 | 241 | 227 | 215 | 238 | 186 | 179 | 1,882 |
| | CA | 680 | 724 | 669 | 758 | 846 | 628 | 529 | 622 | 608 | 6,064 |
| | Subtotal | 842 | 959 | 868 | 999 | 1,073 | 843 | 767 | 808 | 787 | 7,946 |

2. *S. aureus* 분석 결과

*S. aureus*는 2016년 5월 2017년 1월 사이에 445주가 수집되었다. 2016년 5-12월 사이에 수집된 387주에 대한 분석에서 의료관련 감염 192주, 지역사회 감염 195주가 확인되었다. 감염 형태에 따른 항균제 내성을 명확한 차이를 보였다. MRSA 여부를 확인할 수 있는 cefoxitin 내성을 HA 군주에서 70%이었고, CA 군주에서 37%로 2배의 차이를 보였다. Erythromycin과 clindamycin의 내성을 HA 군주는 58%와 48%이었고, CA 군주는 30%와 12%로 두 군간에 차이가 명확하였다. Mupirocin 항균제에 대한 고도 내성을 HA 9% 및 CA 10%로 큰 차이가 없었으나, 저도 내성 군주의 비율이 큰 차이를 보였다.



HA (n = 192)



CA (n = 195)

Fig. Antimicrobial susceptibility of *S. aureus* according to infection types

HA와 CA 군에 따른 vancomycin, teicoplanin, linezolid 및 tigecycline 내성을 큰 차이가 없었고, MIC 분포 역시 tigecycline을 제외하고는 유사하였다. Tigecycline은 HA 군에서 MIC50과 MIC90이 모두 2-4배 정도 높았다.

Table MIC distributions of *S. aureus* against vancomycin, teicoplanin, linezolid and tigecycline according to infection types

| Antibiotics | HA | | | CA | | | Total | | |
|-------------|---------|-------|-------|-----------|-------|-------|---------|-------|-------|
| | Range | MIC50 | MIC90 | Range | MIC50 | MIC90 | Range | MIC50 | MIC90 |
| VAN | 0.25-2 | 1 | 1.5 | 0.25-1.5 | 1 | 1.5 | 0.25-2 | 1 | 1.5 |
| TEI | 0.125-4 | 1.5 | 3 | 0.125-4 | 1 | 1.5 | 0.125-4 | 1 | 3 |
| LIN | 0.125-6 | 1.5 | 2 | 0.38-4 | 1.5 | 3 | 0.125-6 | 1.5 | 3 |
| TIG | 0.023-2 | 0.12 | 0.75 | 0.016-1.5 | 0.064 | 0.125 | 0.01-2 | 0.094 | 0.75 |

MLST 분석에서는 ST와 ST72가 각각 27%로 가장 흔한 유형이었고, ST1, ST188등이 다음으로 흔하게 분리되었다. ST5는 대부분의 균주가 MRSA였고, ST72는 58%가 MRSA이었다. ST6, ST15, ST3에 속하는 *S. aureus*는 모두 methicillin에 감수성이었다.

Table Distributions of sequence types in *S. aureus*

| Allelic type | | | | | | | MLST | |
|--------------|-------------|-------------|------------|------------|------------|-------------|--------|----------|
| <i>arcC</i> | <i>aroE</i> | <i>glpF</i> | <i>gmk</i> | <i>pta</i> | <i>tpi</i> | <i>yqil</i> | ST | n |
| 1 | 4 | 1 | 4 | 12 | 1 | 10 | ST5 | 84 (27%) |
| 1 | 4 | 1 | 8 | 4 | 4 | 3 | ST72 | 84 (27%) |
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | ST1 | 16 (5%) |
| 3 | 3 | 1 | 1 | 4 | 4 | 3 | ST188 | 17 (6%) |
| 3 | 1 | 1 | 8 | 1 | 1 | 1 | ST8 | 7 (3%) |
| 13 | 13 | 1 | 1 | 12 | 11 | 13 | ST15 | 10 (3%) |
| | | | | | | | Others | 54 (17%) |
| | | | | | | | NEW | 37 (12%) |
| | | | | | | | Total | 309 |

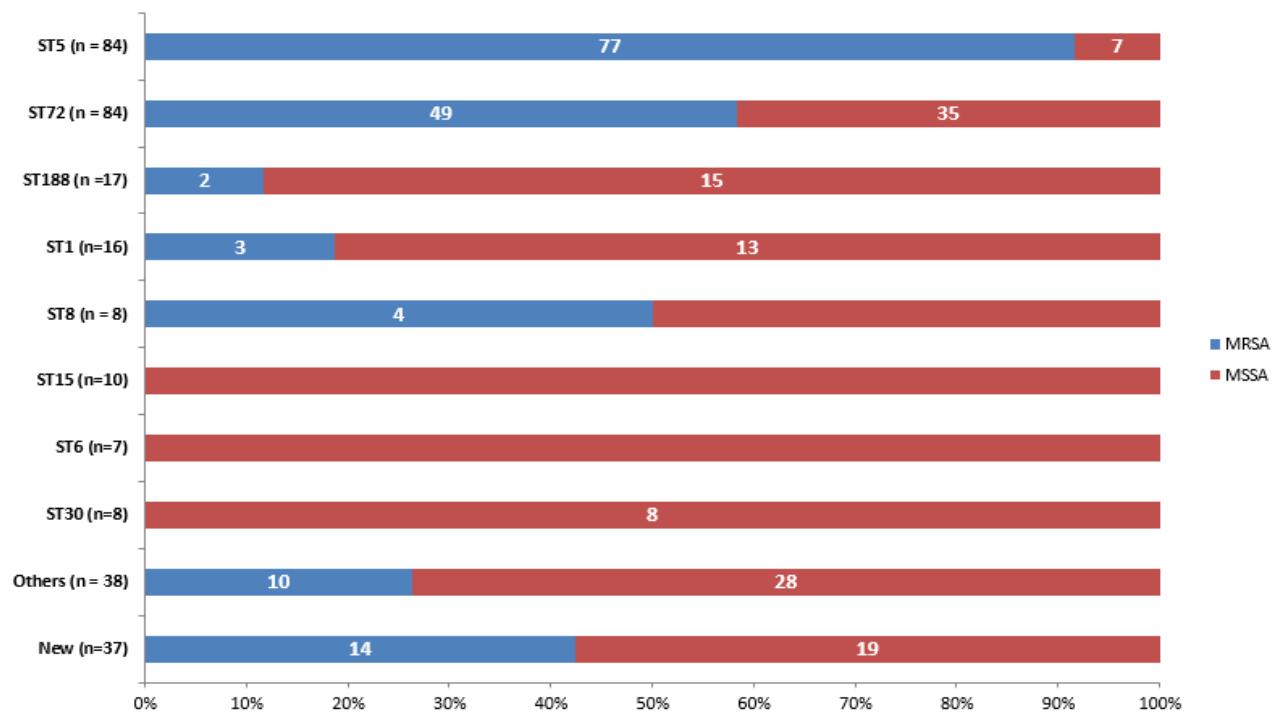


Fig. The rate of methicillin resistance according to sequence type by MLST

Table SCCmec complex 와 주요 MLST sequence type

| SCCmec | ST5 | ST72 | Other ST |
|------------|-----|------|----------|
| II (109) | 91 | 2 | 16 |
| IV (73) | 0 | 57 | 16 |
| V (2) | 0 | 0 | 2 |
| X (1) | 0 | 0 | 1 |
| MSSA (166) | 7 | 43 | 116 |

Table SCCmec complex 와 agr type

| SCCmec | agr I | agr II | agr III | agr IV |
|------------|-------|--------|---------|--------|
| II (109) | 6 | 97 | 5 | 0 |
| IV (73) | 68 | 0 | 5 | 0 |
| V (2) | 2 | 0 | 0 | 0 |
| X (1) | 1 | 0 | 0 | 0 |
| MSSA (166) | 116 | 19 | 27 | 2 |

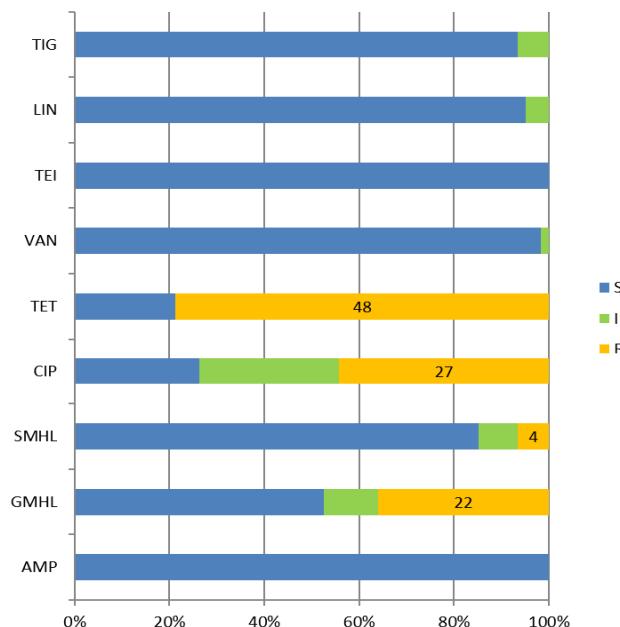
Table SCCmec complex 와 TSST-1 및 Staphylococcal enterotoxin

| SCCmec | TSST-1 | Staphylococcal enterotoxin | | | | | | | | |
|------------|--------|----------------------------|---|----|---|---|-----|----|---|---|
| | | a | b | c | d | e | g | h | i | j |
| II (109) | 82 | 1 | 0 | 85 | 6 | 0 | 103 | 0 | 3 | 4 |
| IV (73) | 6 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 58 | 3 | 0 | 0 |
| V (2) | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| X (1) | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| MSSA (166) | 16 | 33 | 0 | 5 | 1 | 0 | 83 | 15 | 4 | 1 |

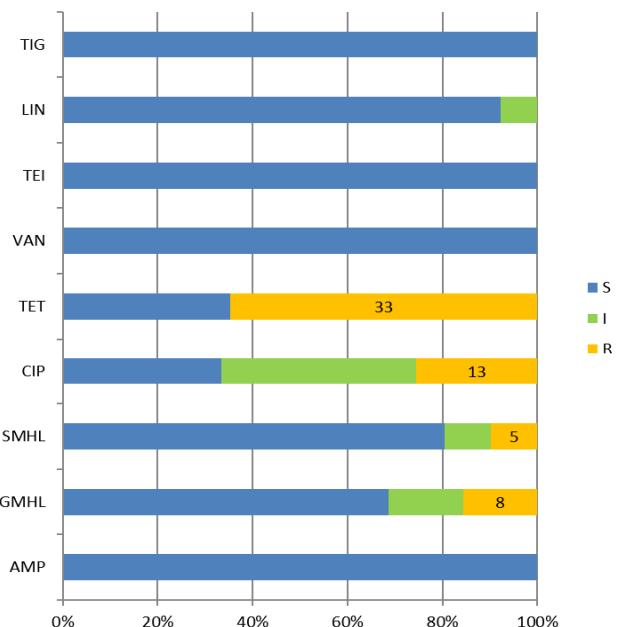
3. Enterococci 균종 결과

1) E. faecalis

E. faecalis는 2016년 5월 2017년 1월 사이에 130주가 혈액에서 분리되어 수집되었으며, 분석이 진행된 112주에서 HA 61주 및 CA 51주의 분포를 보였다. 전반적으로 HA 분리주의 내성율이 높았으며, 중증 감염에서 병합 제제로 사용되는 gentamicin 및 streptomycin 고도 내성율이 HA 분리주는 각각 43% 및 9% 이었고, CA 분리주는 18% 및 10% 이었다. 연구 기간 중에 vancomycin과 teicoplanin에 내성인 균주는 없었다. E. faecalis 중에서 가장 흔한 MLST ST은 ST28 (16%)이었으며, 매우 다양한 ST가 관찰되었고, 새로운 ST도 25주에서 확인되었다.



HA (n = 61)



CA (n = 51)

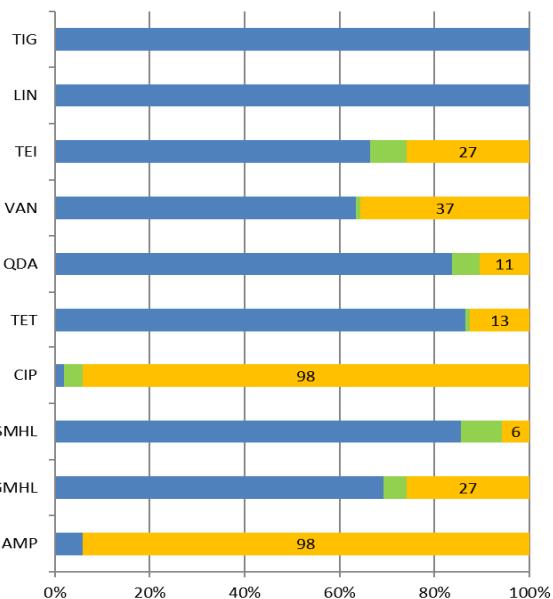
Fig. Antimicrobial susceptibility of E. faecalis according to infection types

Table Distributions of sequence types in E. faecalis

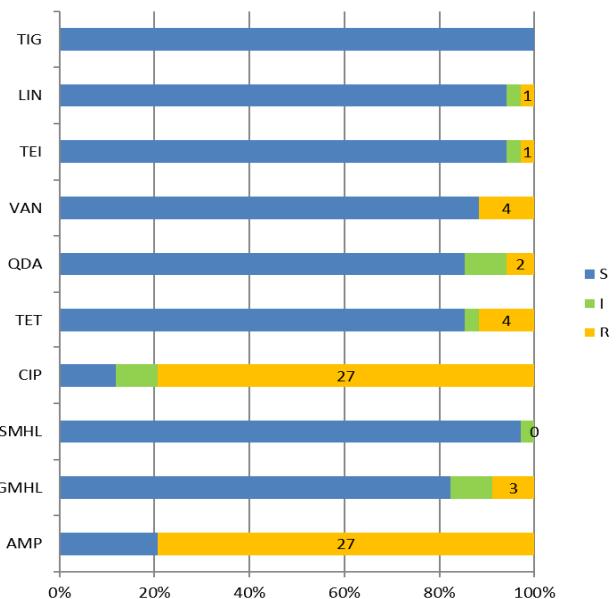
| Allelic type | | | | | | | MLST | |
|--------------|-----|------|-----|------|-----|------|--------|----------|
| gdh | gyd | pstS | gki | aroE | xpt | yigL | | n |
| 4 | 4 | 8 | 3 | 8 | 1 | 3 | ST28 | 14 (16%) |
| 5 | 1 | 1 | 3 | 7 | 1 | 6 | ST179 | 9 (10%) |
| 5 | 1 | 1 | 3 | 7 | 1 | 6 | ST16 | 12 (13%) |
| 3 | 7 | 7 | 12 | 73 | 1 | 1 | ST507 | 2 (2%) |
| | | | | | | | Others | 28 (31%) |
| | | | | | | | NEW | 25 (28%) |
| | | | | | | | Total | 90 |

2) *E. faecium*

*E. faecium*은 2016년 5월 2017년 1월 사이에 161주가 혈액에서 분리되어 수집되었으며, 분석이 진행된 138주에서 HA 104주 및 CA 34주의 분포를 보였다. 마찬가지로 HA 분리주의 내성율이 높았으며, 중증 감염에서 병합 제제로 사용되는 gentamicin 및 streptomycin 고도 내성율이 HA 분리주는 각각 26% 및 7% 이었고, CA 분리주는 11% 및 0% 이었다. Vancomycin 및 teicoplanin에 대한 내성율은 HA 분리주에서 33% 및 26%이었고, CA 분리주에서 11% 및 4%이었다. *E. faecium* 중에서 가장 흔한 MLST ST은 ST17 (24%)이었다. ST에 따른 VRE 비율은 ST17, ST981, ST230 등에서 높았다.



HA (n = 104)

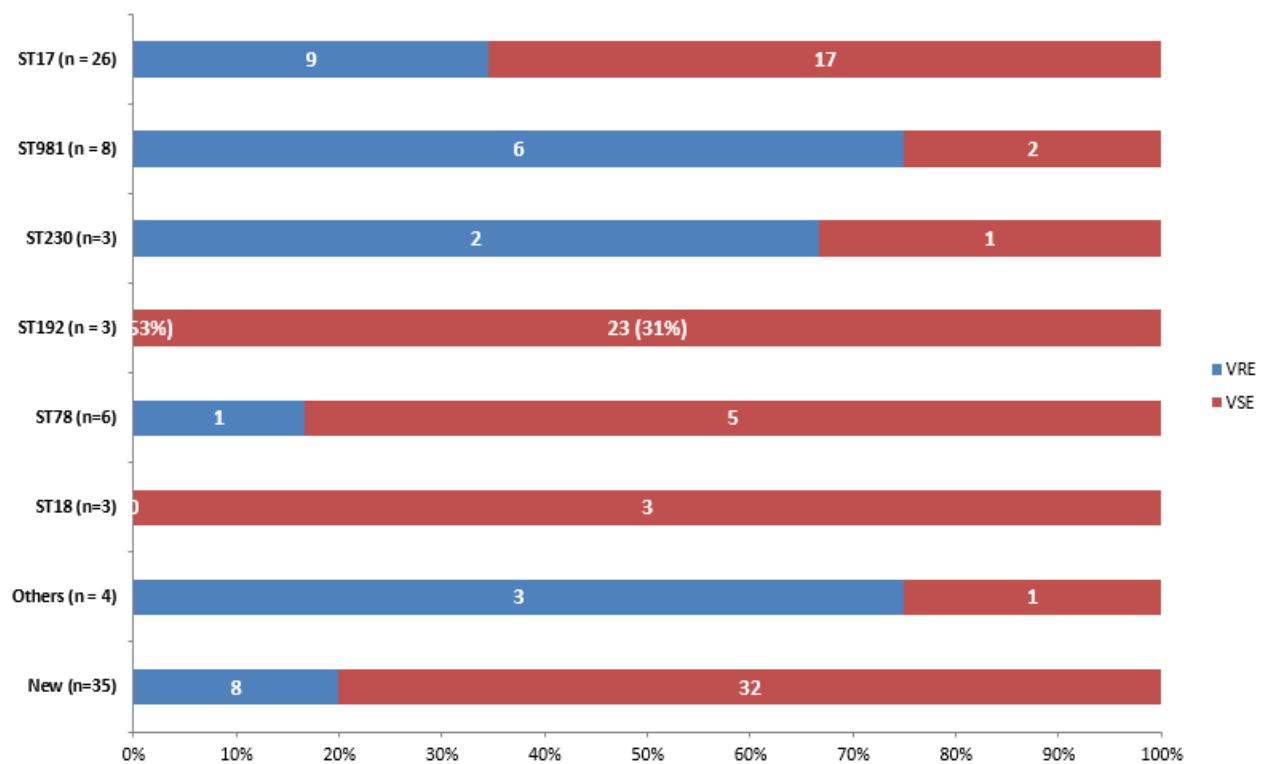


CA (n = 34)

Fig. Antimicrobial susceptibility of *E. faecalis* according to infection types

Table Distributions of sequence types in *E. faecalis*

| Allelic type | | | | | | | ST | |
|--------------|-------------|-------------|------------|------------|-------------|-------------|--------|----------|
| <i>adk</i> | <i>fumC</i> | <i>gyrB</i> | <i>icd</i> | <i>mdh</i> | <i>purA</i> | <i>recA</i> | | n |
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | ST17 | 26 (24%) |
| 15 | 5 | 1 | 1 | 1 | 7 | 3 | ST981 | 8 (7%) |
| 15 | 1 | 1 | 1 | 12 | 1 | 1 | ST230 | 3 (3%) |
| 15 | 1 | 1 | 1 | 1 | 7 | 1 | ST192 | 3 (3%) |
| 15 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | ST78 | 6 (6%) |
| 7 | 1 | 1 | 1 | 5 | 1 | 1 | ST18 | 3 (3%) |
| | | | | | | | Others | 5 (4%) |
| | | | | | | | New | 45 (46%) |
| | | | | | | | Total | 108 |



4. *S. pneumoniae* 분석 결과

2016년 5월 2017년 1월 사이에 수집된 20주의 *S. pneumoniae* 중에서 6주에 대한 항균제 감수성을 시험하였다. 균주 숫자가 적어서 정확한 통계를 산출하기는 어려우나 penicillin, amoxicillin-clavulanate, cefotaxime, crftriaxone 및 levofloxacin에 내성인 균주는 없었다. Cefuroxime 및 SXT에 대해서 2주가, erythromycin에 대해서는 4주가 내성을 보였다. Penicillin 항균제 감수성 판독에 수막염 기준을 적용하면, 절반인 3균주가 비감수성이었다.

Table Summary of MIC and suscepibilities against various antibiotics in *S. pneumoniae*

| No. isolates | DD (mm) | Broth dilution (μ g/mL) | | | | | | | | |
|--------------|---------|------------------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------|-----|
| | | OXA | PEN | AMC | CTX | CRO | CFX | SXT | EM | LEV |
| B16SPN0001 | 23 | S (≤ 0.03) | S (≤ 0.5) | S (≤ 0.25) | S (≤ 0.06) | S (1) | |
| B16SPN0002 | 24 | S (≤ 0.03) | S (≤ 0.5) | S (≤ 0.25) | S (≤ 0.06) | S (2) | |
| E16SPN0001 | 6 | S (2) | S (≤ 0.5) | S (1) | S (1) | R (>2) | I (1) | R (>0.5) | S (1) | |
| E16SPN0002 | 6 | I (4) | I (4) | I (2) | I (2) | R (>2) | R (>2) | R (>0.5) | S (1) | |
| F16SPN0001 | 6 | S (0.25) | S (≤ 0.5) | S (0.5) | S (0.5) | I (1) | R (>2) | R (>0.5) | S (1) | |
| B16SPN0004 | 24 | S (≤ 0.03) | S (≤ 0.5) | S (≤ 0.25) | S (≤ 0.25) | S (≤ 0.25) | I (1) | R (>0.5) | S (1) | |
| Total % R | 50 | 0 | 0 | 0 | 0 | 33 | 33 | 67 | 0 | |

5. E. coli 분석 결과

E. coli는 2016년 5월 2017년 1월 사이에 6,178주가 수집되었다. 5,549주에 대한 분석에서 혈액 분리주와 요 분리주는 각각 1,104주 및 4,445주이었고, 각각의 HA 분리주와 CA 분리주의 비율은 혈액 분리주가 219:885 (1:4.04), 요 분리주가 801:3644 (1:4.55)이었다. 전체 분리주의 HA:CA 비율은 1:4이었다.

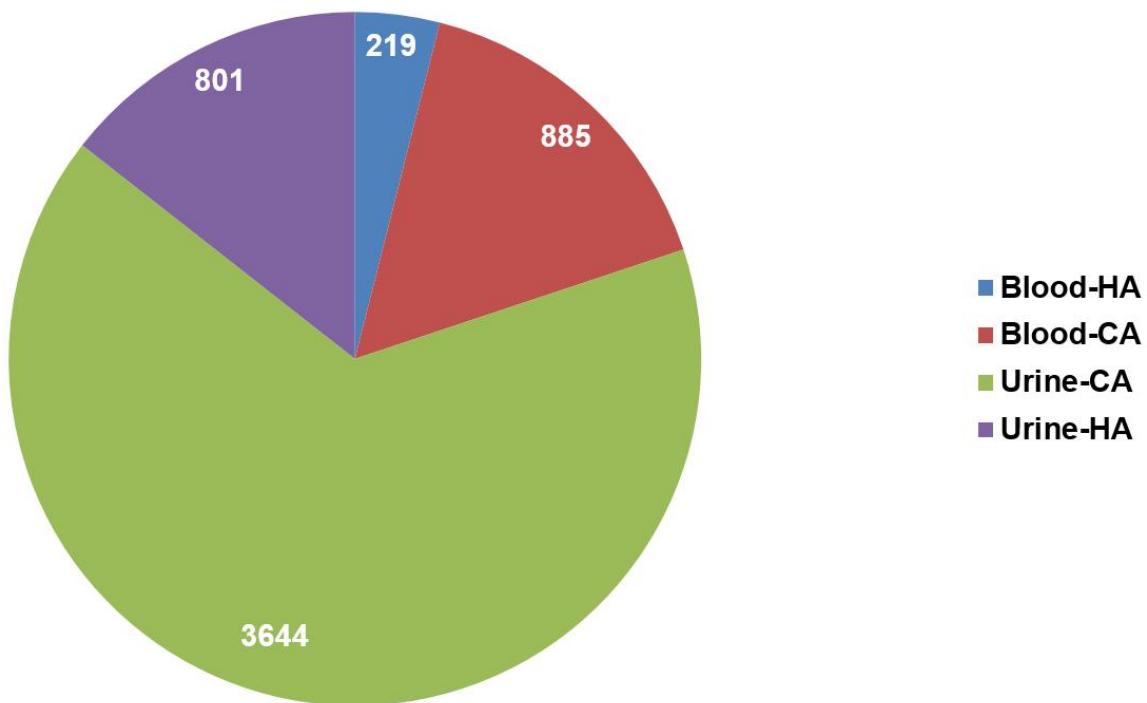


Fig. Distribution of E. coli according to specimen and infection types

수집된 균주의 항균제 내성을 ampicillin 68%, cefazolin 44%, cefotaxime 32%, cefoxitin 4%, imipenem 0.3%, ciprofloxacin 43% 및 SXT 37%이었다. 검체에 따른 항균제 내성률의 차이는 없었으며, 감염 구분에 따라서는 HA 분리주 및 CA 분리주의 내성이 ampicillin 64% 및 69%, cefazolin 43% 및 46%, cefotaxime 34% 및 32%, cefoxitin 4% 및 4%, imipenem 0.4% 및 0.4%, ciprofloxacin 39% 및 44%, SXT 32% 및 38%이었다.

**Total
(n = 5549)**

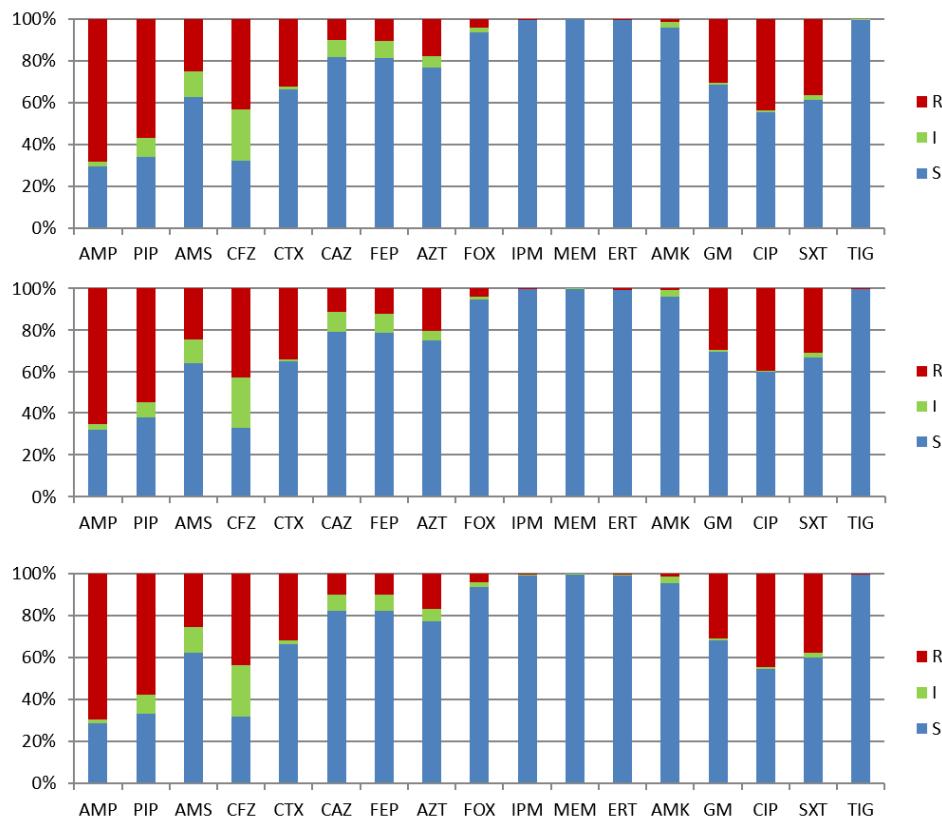


Fig. Distribution of antimicrobial susceptibilities by specimen

**HA
(n = 1020)**

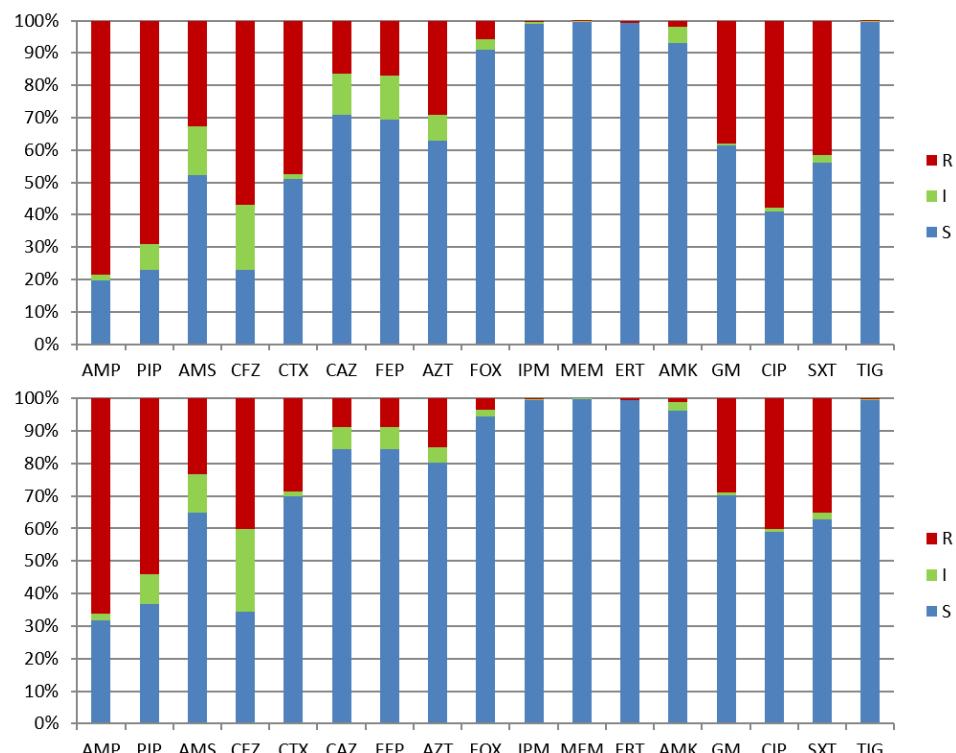


Fig. Distribution of antimicrobial susceptibilities by infection types

3세대 cephalosporin 비감수성 균주 중에서 ESBL 생성 균주의 비율은 30%이었으며, 가장 흔한 ESBL 유전형은 CTX-M-15와 CTX-M-14 형이었고, 이외에도 다양한 CTX-M 유전형이 검출되었다. PABL 양성을 5.4%이었고, DHA-1과 CMY-2가 가장 흔한 유전형이었다. 분자역학적인 분석에서는 ST131이 전체의 26%를 차지하여 가장 많은 ST였고, ST95, ST69 및 ST1193 등이 흔하게 나오는 ST였다.

Table Distributions of ESBL and PABL in E. coli

| ESBL | | AmpC | |
|---------------|-----------------|---------------|---------------|
| CTX-M-1 | 1 | DHA-1 | 9 |
| CTX-M-3 | 1 | CMY-2 | 7 |
| CTX-M-15 | 106 | CMY-42 | 1 |
| CTX-M-28 | 1 | <u>ampC-?</u> | 29 |
| CTX-M-55 | 23 | | |
| CTX-M-186 | 3 | | |
| CTX-M-1 group | 135 | | |
| CTX-M-9 | 3 | | |
| CTX-M-14 | 70 | | |
| CTX-M-21 | 1 | | |
| CTX-M-24 | 3 | | |
| CTX-M-27 | 38 | | |
| CTX-M-38 | 1 | | |
| CTX-M-65 | 4 | | |
| CTX-M-174 | 1 | | |
| CTX-M-9 group | 121+ | | |
| CTX-M-? | 43 | | |
| ESBL Total | 256/857 (29.9%) | AmpC Total | 46/857 (5.4%) |

Table Distributions of sequence type of MLST in E. coli

주요 sequence type의 ESBL 및 PABL 생성율은 ST131이 가장 높았으며, 대부분이 CTX-M 형의 ESBL을 가지고 있었고, CTX-M-1 group이 가장 많았다. ST1193도 기타 ST의 ESBL 평균 양성을 보다 높은 양성을 보여 주었다.

| Allelic type | | | | | | | ST | | | |
|--------------|-------------|-------------|------------|------------|-------------|-------------|--------|--------------|-----|-----|
| <i>adk</i> | <i>fumC</i> | <i>gyrB</i> | <i>icd</i> | <i>mdh</i> | <i>purA</i> | <i>recA</i> | | n | HA | CA |
| 53 | 40 | 47 | 13 | 36 | 28 | 29 | ST131 | 196 (27.22%) | 57 | 139 |
| 37 | 38 | 19 | 37 | 17 | 11 | 26 | ST95 | 86 (11.94%) | 10 | 76 |
| 21 | 35 | 27 | 6 | 5 | 5 | 4 | ST69 | 75 (10.42%) | 8 | 67 |
| 14 | 14 | 10 | 200 | 17 | 7 | 10 | ST1193 | 47 (6.53%) | 9 | 38 |
| | | | | | | | NEW | 50 | 8 | 42 |
| | | | | | | | Others | 403 | 67 | 336 |
| | | | | | | | Total | 857 | 159 | 698 |

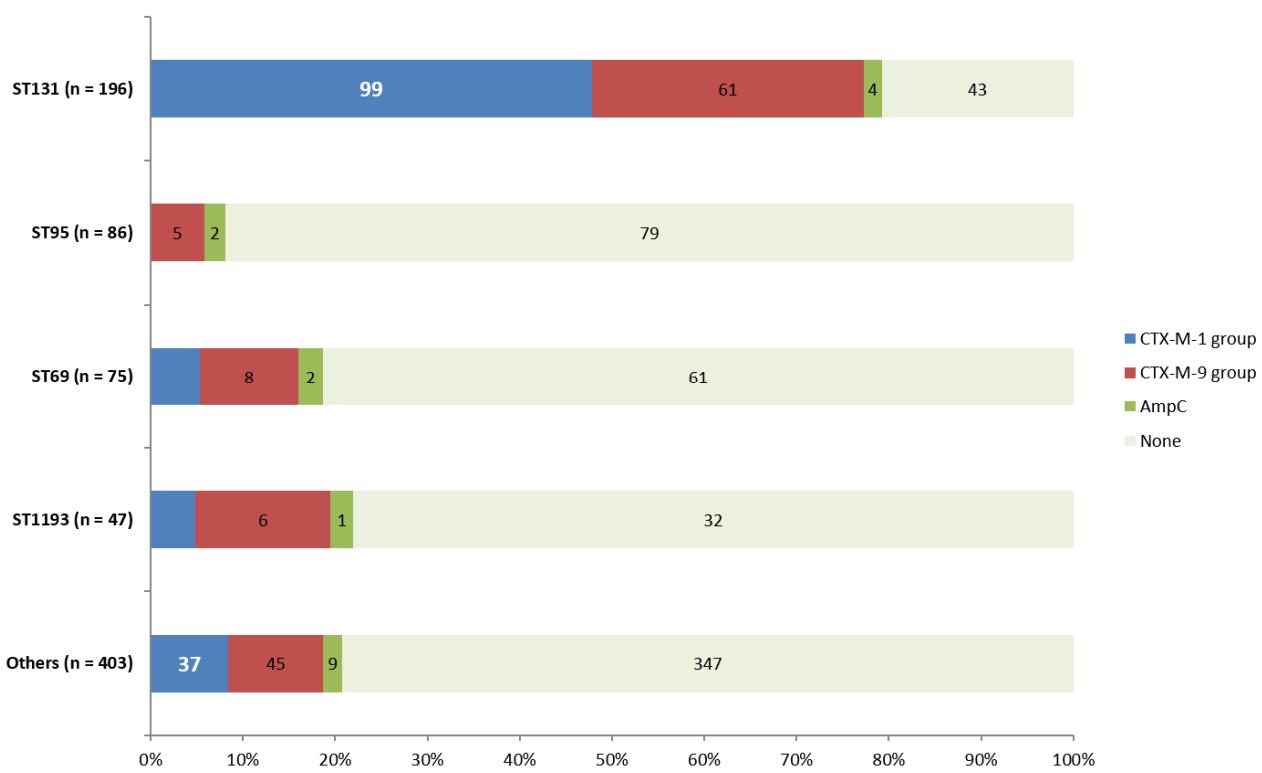


Fig. The rates of ESBL and PABL production in *E. coli* by MLST sequence type

Table Distributions of ESBL genotypes in *E. coli* ST131

| ESBL | | AmpC | |
|---------------|-----------------|------------|---------------|
| CTX-M-15 | 98 | DHA-1 | 4 |
| CTX-M-28 | 1 | | |
| CTX-M-55 | 4 | | |
| CTX-M-186 | 2 | | |
| CTX-M-1 group | 105 | | |
| CTX-M-9 | 1 | | |
| CTX-M-14 | 34 | | |
| CTX-M-24 | 1 | | |
| CTX-M-27 | 24 | | |
| CTX-M-38 | 1 | | |
| CTX-M-174 | 1 | | |
| CTX-M-9 group | 62 | | |
| ESBL Total | 167/196 (85.2%) | AmpC Total | 4/196 (2.04%) |

6. *K. pneumoniae* 분석 결과

*K. pneumoniae*는 2016년 5월 2017년 1월 사이에 1,365주가 수집되었다. 1,235주에 대한 분석에서 혈액 분리주와 요 분리주는 각각 422주 및 813주이었고, 각각의 HA 분리주와 CA 분리주의 비율은 혈액 분리주가 116:306 (1:2.64), 요 분리주가 322:491 (1:1.84)이었다. 전체 분리주의 HA:CA 비율은 1:2.01이었다.

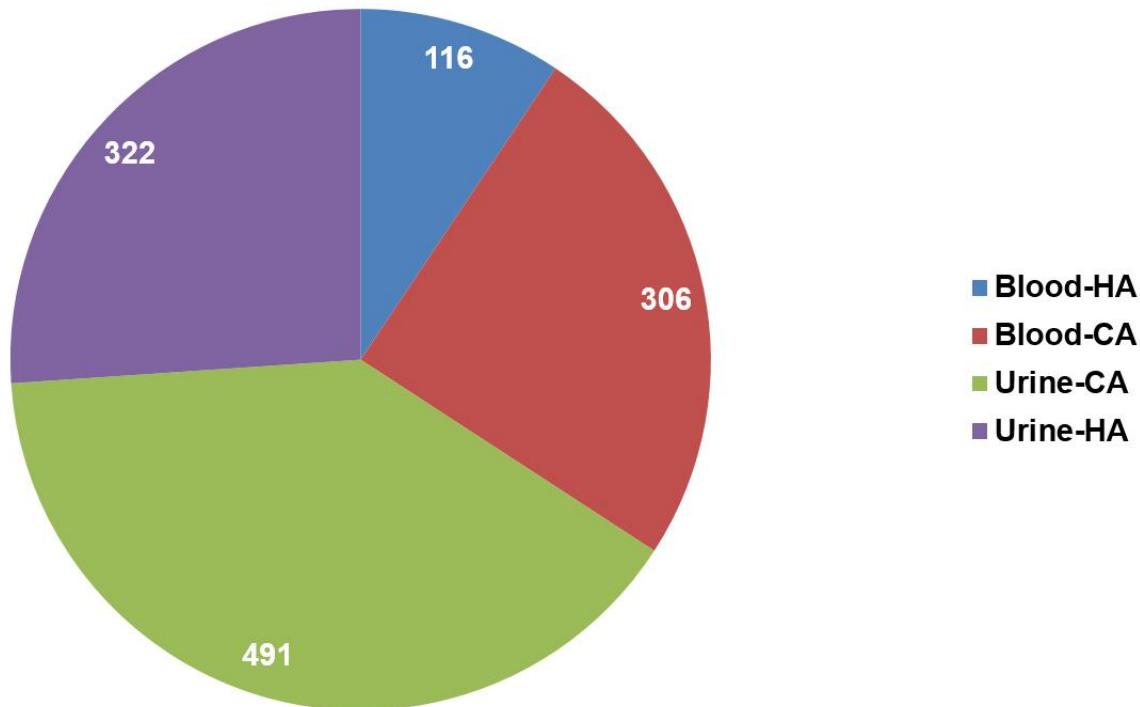


Fig. Distribution of *K. pneumoniae* according to specimen and infection types

수집된 균주의 항균제 내성을은 cefazolin 39%, cefotaxime 38%, cefoxitin 9%, imipenem 0.7%, ciprofloxacin 27% 및 SXT 27%이었다. 검체에 따른 항균제 내성을은 요 분리주가 높았서, 혈액 및 요 분리주의 각각의 항균제에 대한 내성을은 cefazolin 29% 및 44%, cefotaxime 25% 및 40%, ciprofloxacin 20% 및 34%, STX 21% 및 34%이었다. 감염 구분에 따라서는 HA 분리주 및 CA 분리주의 내성을이 cefazolin 57% 및 29%, cefotaxime 51% 및 26%, cefoxitin 14% 및 7%, ciprofloxacin 46% 및 20%, SXT 43% 및 22%이었다.



Fig. Distribution of antimicrobial susceptibilities by specimen

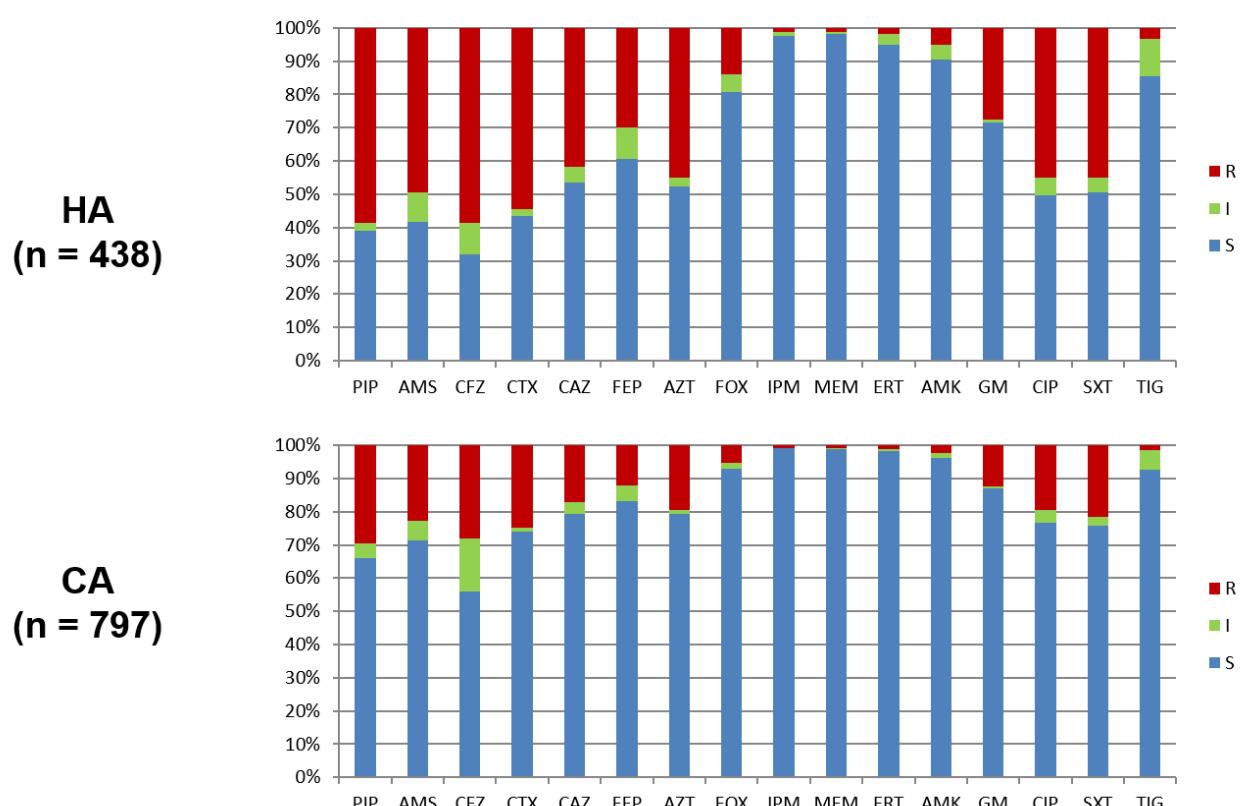


Fig. Distribution of antimicrobial susceptibilities by infection types

3세대 cephalosporin 비감수성 균주 중에서 ESBL 생성 균주의 비율은 27%이었으며, 가장 흔한 ESBL 유전형은 CTX-M-15 형이었고, 이외에도 다양한 CTX-M 유전형이 검출되었다. PABL 양성율은 2%이었고, DHA-1 만 검출되었다. 문자역학적인 분석에서는 ST23이 전체의 15%를 차지하여 가장 많은 ST였고, ST65, ST307, ST25 및 ST48 등이 흔하게 나오는 ST였다. CTX-M ESBL은 ST307, ST25 및 ST48에 흔하였다.

Table Distributions of ESBL and PABL in *K. pneumoniae*

| ESBL | | AmpC | |
|----------------|----------------|------------|---------------|
| CTX-M-3 | 2 | DHA-1 | 6 |
| CTX-M-15 | 46 | | |
| CTX-M-15+DHA-1 | 5 | | |
| CTX-M-22 | 1 | | |
| CTX-M-28 | 1 | | |
| CTX-M-55 | 1 | | |
| CTX-M-186 | 1 | | |
| CTX-M-1 group | 57 | | |
| CTX-M-9 | 1 | | |
| CTX-M-14 | 10 | | |
| CTX-M-9 group | 11 | | |
| SHV-2 | 5 | | |
| SHV-12 | 9 | | |
| 기타 SHV | 6 | | |
| SHV family | 20 | | |
| ESBL Total | 88/323 (27.2%) | AmpC Total | 6/323 (1.86%) |

Table Distributions of sequence type of MLST in *K. pneumoniae*

| Allelic type | | | | | | | ST | | | |
|--------------|-------------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|--------|-----------|----|-----|
| <i>gapA</i> | <i>infB</i> | <i>mdh</i> | <i>pgi</i> | <i>phoE</i> | <i>rpoB</i> | <i>tonB</i> | | n | HA | CA |
| 2 | 1 | 1 | 1 | 9 | 4 | 12 | ST23 | 31 (9.6%) | 2 | 29 |
| 2 | 1 | 2 | 1 | 10 | 4 | 13 | ST65 | 15 (4.6%) | 2 | 13 |
| 4 | 1 | 2 | 52 | 1 | 1 | 7 | ST307 | 13 (4.0%) | 4 | 9 |
| 9 | 4 | 2 | 1 | 1 | 1 | 27 | ST86 | 12 (3.7%) | 2 | 10 |
| 2 | 5 | 2 | 2 | 7 | 1 | 10 | ST48 | 9 (2.8%) | 4 | 5 |
| | | | | | | | Others | 243 | 71 | 172 |
| | | | | | | | Total | 323 | 85 | 238 |

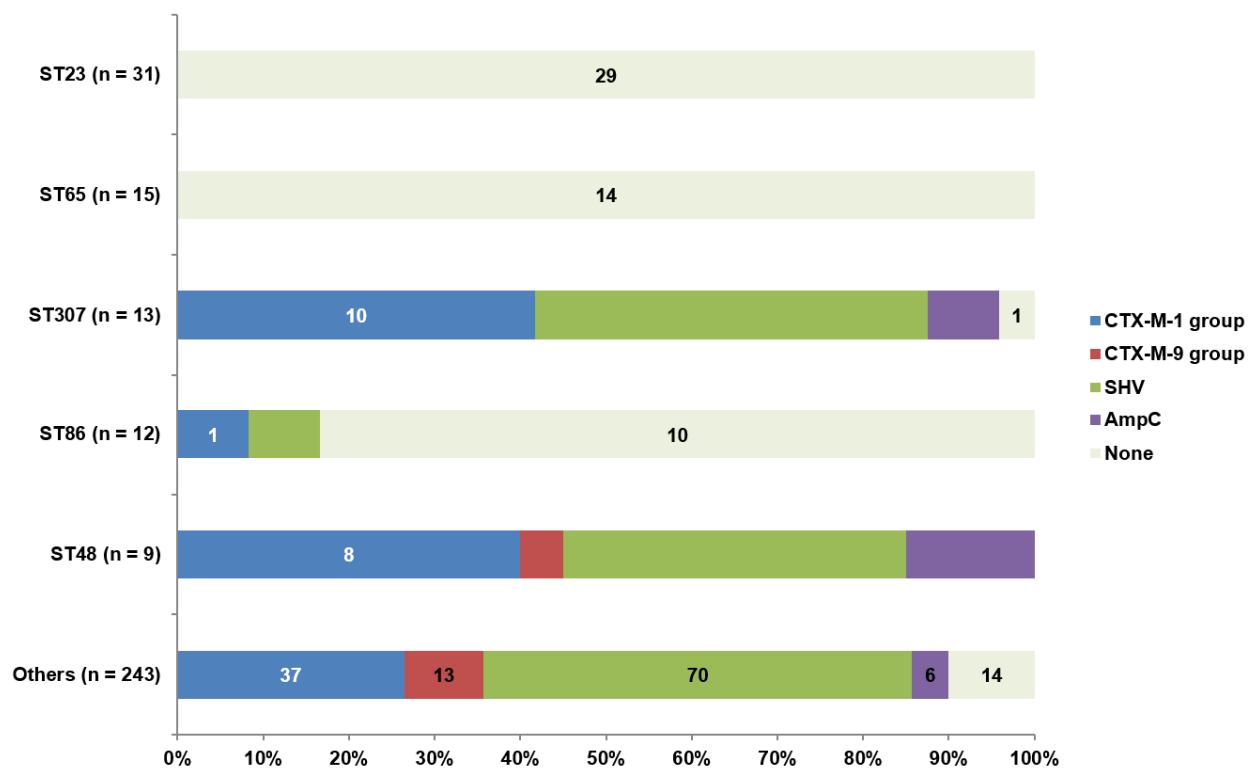


Fig. The rates of ESBL and PABL production in *K. pneumoniae* by MLST sequence type

Table Summary of KPC isolates from one hospitals

| 월 | 검체 | 감염 구분 | Antimicrobial susceptibility | | | | | | | | MLST | | | | | | | | | |
|----|----|----------|------------------------------|-----|----|-----|-----|-----|----------|-----|------|------|-----|-----|------|------|------|--|--|--|
| | | | ERT | AMK | GM | CIP | SXT | TIG | ESBL | ST | gapA | infB | mdh | pgi | phoE | rpoB | tonB | | | |
| 7 | B | CA | R | S | R | R | R | I | | ? | 3 | 3 | 1 | 1 | 1 | ? | 4 | | | |
| 8 | B | CA | R | S | S | R | R | S | | NEW | 3 | 3 | 1 | 20 | 1 | 1 | 4 | | | |
| 8 | B | CA | R | R | R | R | S | S | | 11 | 3 | 3 | 1 | 1 | 1 | 1 | 4 | | | |
| 10 | B | HA | R | S | S | R | R | S | CTX-M-15 | 분석중 | | | | | | | | | | |

* All isolates were resistant to piperacillin, ampicillin-sulbactam, cefazolin, cefotaxime, cefepime, aztreonam, cefoxitin, imipenem, meropenem and ciprofloxacin.

7. *P. aeruginosa* 분석 결과 (2016년 5-11월)

*P. aeruginosa*는 2016년 5월부터 2017년 1월 사이에 110주가 수집되었고, 의료관련 감염과 지역사회 감염의 비율은 58%:42%이었다.

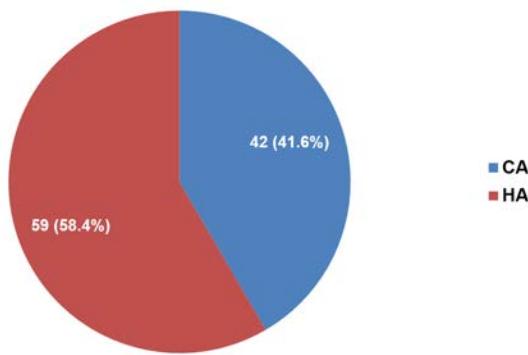


Fig. Distributions of *P. aeruginosa* by infection type (HA:CA)

2016년 12월까지 수집된 101주의 항균제 내성을은 piperacillin 13%, piperacillin-tazobactam 11%, ceftazidime 10%, cefepime 11%이었다. Carbaepenem 항균제에 대해서는 imipenem 19% 및 meropenem 16%이었다. Aminoglycoside 항균제인 amikacin, gentamicin 및 tobramycin에 대해서는 각각 6%, 11% 및 9%가 내성이었다. Ciprofloxacin 내성을은 16%이었으며, colistin에 내성인 균주는 없었다.

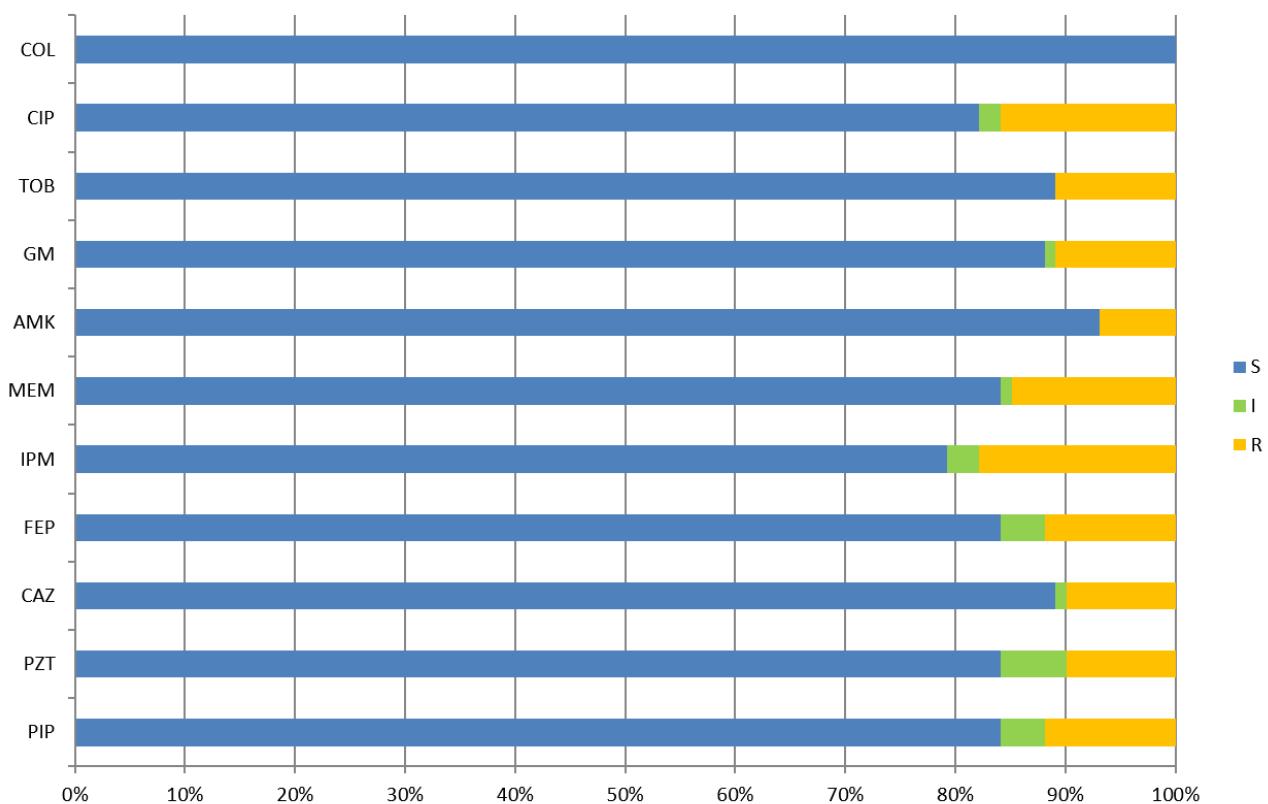


Fig. Number of isolates with antimicrobial susceptibility in *P. aeruginosa* isolated from May to

November in 2016 (n=90)

Carbapenem에 비감수성인 *P. aeruginosa* 16주에 대한 특성화 분석에서 5균주 (전체 균주의 6%, carbapenem 내성 균주의 29%)가 MBL인 IMP-6를 가지고 있었다. Carbapenem에 비감수성인 균주 중에서 MBL 생성 및 비생성 균주의 비교에서 MBL 생성 균주는 모두 amikacin 내성이었으며, MLST에서 ST235에 속하는 균주였고 5균주 중에서 4주가 동일 기관에서 분리되었다. MBL 비생성 균주는 모두 amikacin 감수성에 다양한 ST를 보이는 것이 특징이었다. MBL 비생성 균주는 1균주를 제외하고는 모두 ceftazidime에 감수성이었다.

Table Resistance mechanisms of carbapenem-resistant *P. aeruginosa*

| No. | Antimicrobial susceptibility (disk diffusion) | | | | | | | | | | | 감염구분 | ST |
|--------------|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|-----|-----|-----|------|------|
| | PIP | PZT | CAZ | FEP | IPM | MEM | AMK | GM | TOB | CIP | COL | | |
| E001 (IMP-6) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | HA | NEW |
| E010 (IMP-6) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | CA | 235 |
| E015 (IMP-6) | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | HA | 235 |
| C008 (IMP-6) | S | S | R | R | R | R | R | R | R | R | S | HA | 235 |
| E016 (IMP-6) | I | I | R | R | R | R | R | R | R | R | S | HA | 235 |
| E003 | S | S | S | S | R | I | S | S | S | S | S | HA | 1182 |
| F001 | R | R | S | I | R | R | S | R | S | R | S | HA | 446 |
| F003 | S | S | S | S | I | S | S | S | S | S | S | HA | 1665 |
| E004 | S | S | S | S | R | R | S | S | S | R | S | HA | 245 |
| F004 | R | R | R | R | R | R | S | S | S | S | S | HA | 233 |
| F008 | R | R | S | R | R | R | S | R | R | R | S | HA | 641 |
| E009 | S | S | S | S | I | S | S | S | S | S | S | HA | 207 |
| C011 | I | I | S | I | R | S | S | S | S | R | S | CA | 313 |
| D003 | S | S | S | S | R | S | S | S | S | S | S | CA | 792 |
| F017 | S | S | S | S | R | R | S | S | S | S | S | HA | 245 |
| F019 | S | S | S | I | R | R | S | S | S | S | S | HA | 639 |

8. Acinetobacter 분석 결과

1) Acinetobacter 균종의 동정

수집 기관에서 *A. baumannii*로 동정된 균주를 수집하여 시행한 재동정에서 78%만이 *A. baumannii*였고, 나머지는 *A. nosocomialis*를 포함한 Non-*baumannii*에 속하는 균종이었다. *A. baumannii*는 90%에 속하는 균주가 의료관련 감염 균주로 확인되었고, *A. nosocomialis* 및 *A. pittii*는 의료관련 감염율이 각각 78% 및 58%이었다.

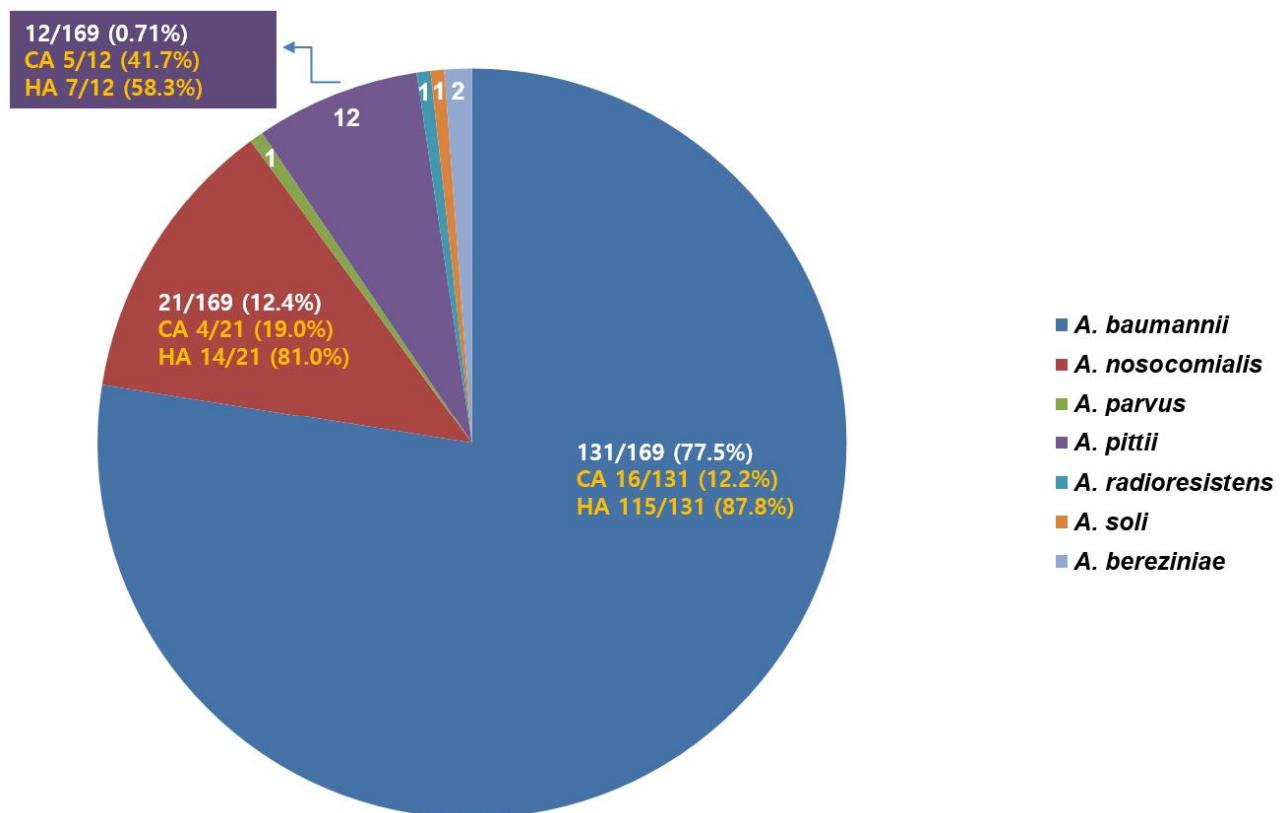


Fig. The result fo *Acinetobacter baumannii* identified with conventional identification systems.

2016년 5-12월에 수집된 131주의 *A. baumannii* 균주의 항균제 내성을은 piperacillin 87%, ampicillin-sulbactam 72%, ceftazidime 74%, cefepime 86%, imipenem 86%, meropenem 86%, amikacin 66%, gentamicin 66%, tobramycin 65%, ciprofloxacin 87% 및 minocycline 3%이었다. 지역사회 분리주로 판정된 16주의 항균제 내성을은 의료관련 감염주 105주에 비해 매우 낮았으며, 항균제 내성을은 0-38% 이었다. 의료관련 감염주의 내성을은 minocycline을 제외하면 71-94%의 내성을을 보였다.



Fig. The rate of antimicrobial resistance rates of *A. baumannii* according to infection types.

*A. baumannii*의 내성 기전을 규명하기 위해 시행한 OXA-23 및 carbapenemase 시험에서 carbapenem 내성균주의 대부분이 OXA-23 생성균주임을 확인하였고, 특이하게도 1 균주의 *A. pittii*가 NDM-1을 생성하는 것을 확인하였다. Non-*baumannii* 중에서는 OXA-23을 생성하는 균주가 없었다. MLST 분석에서 Clonal complex ST92에 속하는 균주들은 대부분이 의료관련 감염주이고 OXA-23 양성인 반면에 Non-ST92에 속하는 균주들은 ST447을 제외하고는 OXA-23을 생성하지 않는 것들이 많았다.

Table The rate of OXA-23 or carbapenemase-producing *Acinetobacter* species

| Species | | OXA-23 |
|--------------------|-------------|------------------------------|
| <i>A.baumannii</i> | CA (n = 16) | 8 |
| | HA (n = 87) | 84 |
| NBA | CA (n = 11) | 0 |
| | HA (n = 20) | 0 (<i>A.pittii</i> - NDM-1) |
| Total | N = 134 | 92 |

Table Distributions of sequence type of MLST and OXA-23 production in *A. baumannii* by infection type and major ST

| CC | ST92 | | | | | | | | Non-ST92 | | | | | | | | | |
|----------------|----------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------------|----------------------|--------------------|------------------|---------------------|---------------------|---------------------|--------------------|--------------------|-----------------------|----------------------|
| | ST | 191 | 208 | 357 | 358 | 369 | 451 | 784 | 373 | 447 | 761 | ST | new | new | new | new | new | new |
| Allelic type | 1-3-3-2-2-94-3 | 1-3-3-70-2-97-3 | 1-12-3-2-2-145-3 | 1-3-3-2-2-145-3 | 1-3-3-2-2-106-3 | 1-3-3-2-2-142-3 | 1-3-3-2-2-107-3 | 1-12-3-2-2-114-103-3 | 1-15-12-13-124-106-2 | 22-15-13-124-174-2 | 33-31-2-28-1-X-5 | 1-47-42-11-35-110-7 | 1-1-66-12-33-177-41 | 1-53-3-11-1-153-108 | 1-35-13-12-35-94-3 | 21-35-2-28-1-175-4 | 1-17-82-28-39-1-145-7 | 1-34-80-28-35-172-45 |
| No. (T=103) | 45 | 5 | 2 | 1 | 2 | 16 | 17 | 1 | 5 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| HA/CA | 42/3 | 5/0 | 1/1 | 1/0 | 2/0 | 14/2 | 16/1 | 0/1 | 3/2 | 0/1 | 1/0 | 0/1 | 1/0 | 0/1 | 1/0 | 0/1 | 1/0 | 0/1 |
| OXA-23 | 44 | 5 | 2 | 1 | 2 | 16 | 17 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| OXA-23 /HA | 42/42 | 5/5 | 1/1 | 1/1 | 2/2 | 14/14 | 16/16 | 0/0 | 3/3 | 0/0 | 0/1 | 0/0 | 0/1 | 0/0 | 1/1 | 0/0 | 0/1 | 0/0 |
| OXA-23 /CA | 2/3 | 0/0 | 1/1 | 0/0 | 0/0 | 2/2 | 1/1 | 0/1 | 2/2 | 0/1 | 0/0 | 0/1 | 0/1 | 0/1 | 0/0 | 0/1 | 0/0 | 0/1 |

9. *Salmonella* 분석 결과

2016년 5-10월 사이에 수집된 106주의 *Salmonella* 균종 중에서 91주에 대한 항균제 감수성 시험을 시행하였다. 3세대 cephalosporin 항균제인 cefotaxime과 ceftazidime에 비감수성인 균주는 각각 6% 및 4%이었고, 비감수성 6주 중에서 2주는 CTX-M-15, 1주는 CTX-M-14 양성이었으며, 3주는 CTX-M PCR 음성으로 다른 ESBL 또는 PABL 생성이 의심되었다. Ciprofloxacin에 대해서는 15%가 중간을 보였고, 중간 모든 균주가 gyrA에 변이를 보였다. 가장 흔한 gyrA 변이형은 D87N 유형이었다. Ciprofloxacin에 대해 감수성이 저하된 균주 중에서 3균주는 cefotaxime 내성이었고, 그 중에 2주가 CTX-M-15 양성이었고, 동일 변원에서 분리된 균주 이었으나 gyrA 변이형은 달랐다.

Table Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* species in Korea (n=91)

| Antibiotics | MIC ($\mu\text{g/mL}$) | | | Susceptibility (%) | | |
|---------------|------------------------------|-------------|-------------|--------------------|----|---|
| | Range | MIC50 | MIC90 | S | I | R |
| Cefotaxime | $\leq 0.25 \rightarrow 4$ | ≤ 0.25 | ≤ 0.25 | 94 | 0 | 6 |
| Ceftazidime | $\leq 0.5 \rightarrow 8$ | ≤ 0.5 | ≤ 0.5 | 96 | 1 | 3 |
| Imipenem | $\leq 0.25 \rightarrow 0.5$ | ≤ 0.25 | ≤ 0.25 | 100 | 0 | 0 |
| Ciprofloxacin | $\leq 0.015 \rightarrow 0.5$ | 0.03 | 0.12 | 85 | 15 | 0 |
| Azithromycin | 4-64 | 4 | 8 | 99 | 0 | 1 |

Azithromycin: *S. Typhi* breakpoint 적용

Table Amino acid alterations of QRDR in ciprofloxacin non-susceptible *Salmonella* species

| No. | Ciprofloxacin | | | | | Cefotaxime | |
|------------|--------------------------|-------------------|------|------|------|--------------------------|---------|
| | MIC ($\mu\text{g/mL}$) | AA alterations in | | | | MIC ($\mu\text{g/mL}$) | CTX-M |
| | | gyrA | gyrB | parC | parE | | |
| D16SAL0004 | 0.12 | D87G | = | = | = | ≤ 0.25 | |
| E16SAL0003 | 0.25 | D87N | = | = | = | >4 | CTXM-15 |
| E16SAL0004 | 0.25 | S83F | = | = | = | >4 | CTXM-15 |
| E16SAL0005 | 0.5 | S83F | = | = | = | ≤ 0.25 | |
| F16SAL0002 | 0.25 | D87N | = | = | = | ≤ 0.25 | |
| F16SAL0003 | 0.25 | D87N | = | = | = | 0.5 | |
| F16SAL0005 | 0.25 | D87N | = | = | = | ≤ 0.25 | |
| B16SAL0007 | 0.12 | D87G | = | = | = | ≤ 0.25 | |
| B16SAL0017 | 0.12 | | | | | ≤ 0.25 | |
| D16SAL0010 | 0.12 | | | | | ≤ 0.25 | |
| E16SAL0006 | 0.25 | S83F | = | = | = | >4 | = |
| E16SAL0013 | 0.12 | | | | | ≤ 0.25 | |
| E16SAL0014 | 0.12 | | | | | ≤ 0.25 | |
| F16SAL0008 | 0.12 | D87N | = | = | = | ≤ 0.25 | |

10. Mcr-1 생성 Enterobacteriaceae 전장유전체 분석 결과

2010년-2015년 사이에 수집된 총 9,396주의 *Enterobacteriaceae* 균종을 스크리닝하여 얻은, *mcr-1* 유전자를 가진 *E. coli* 2주, *Enterobacter aerogenes* 1주를 분석하였다. 해당 3주, *E. coli* USU-ECO-12704, *Enterobacter aerogenes* CRENT-301, *E. coli* CREC-257에 대해 결정된 colistin의 MIC는 아래 표와 같았으며 wild-type *E. coli* ATCC 25922와 비교하여, *mcr-1* 유전자가 발현되어 colistin에 대한 내성정도가 높아졌음을 확인할 수 있었다.

Table Colistin MICs in Enterobacter clinical strains harboring the *mcr-1* gene

| Strain | Colistin MIC ($\mu\text{g/mL}$) determined in | |
|---|---|---------------------------|
| | MH broth | MH broth /0.002% tween 80 |
| <i>E. coli</i> USU-ECO-12704 | 4 | 4 |
| <i>Enterobacter aerogenes</i> CRENT-301 | 32 | 32 |
| <i>E. coli</i> CREC-257 | 4 | 16 |
| <i>E. coli</i> ATCC 25922 | 0.5 | 0.25 |

Enterobacteriacea 3주의 전장유전체를 분석한 결과, 60.9 – 67.0 Mb 사이즈의 플라스미드가 해당 유전자를 가지고 있는 것이 확인되었다. Mcr-1 생성 균주로 최초 보고된 바 있는 *E. coli* 균주의 *mcr-1* plasmid, pHNSHP45와 유사한 구조의 Incl2 plasmid였으며, 그 중 *E. aerogenes*가 가지는 플라스미드 pCRENT-301는 ESBL 유전자 *blaCTX-M-55*을 함께 가지고 있었다. *E. coli* 2개 균주가 가지는 플라스미드에는 항생제 내성 유전자가 추가로 발견되지는 아니하였으나, 한 균주 안에 공존하는 다른 플라스미드가 *blaCTX-M-55* 또는 *blaNDM-9* 유전자를 가지고 있어, 세균균주 3주가 공히 3세대 세팔로스포린계 항생제에도 내성을 나타내었다.

세 플라스미드 모두 동일 플라스미드 안에 plasmid의 self-transfer를 가능하게 하는 conjugal element를 모두 갖추고 있었다. 하지만, *E. coli* USU-ECO-12704가 원활한 plasmid transfer efficiency (2.8×10^{-5} on surface, 1.1×10^{-5} in liquid)를 보인 반면 다른 두 균주는 그렇지 아니하였다. *E. aerogenes* CRENT-301 균주의 경우 prepilin peptidase PilU를 encoding하는 sequence 중간에 IS903B가 들어와 1/3 지점에서 truncation되고, 이 때문에 실제 해당 플라스미드는 liquid 또는 surface mating에서 모두 conjugation이 일어나지 않는 것으로 파악되었다. 또한 *E. coli* CREC-527은 adenine 탈락으로 인해 정상보다 짧은 prepilin 부위를 가지는 PilS를 생성하는데, 이 때문에 conjugation 효율이 떨어진 것으로 파악하였다.

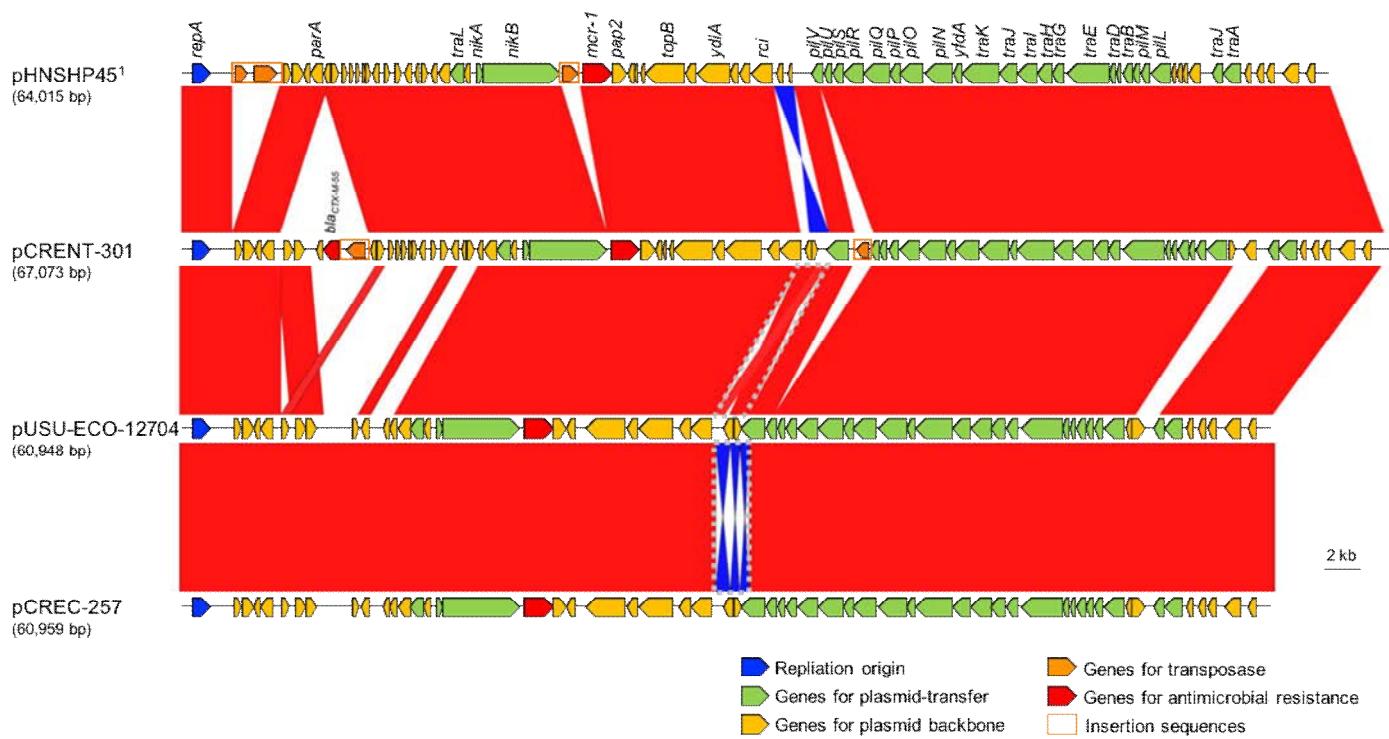


Fig. Schematic presentation of plasmid structures carrying the *mcr-1* gene compared with pHNSHP45.

제5장 연구결과 고찰 및 결론

2016년 5-12월 사이에 총 7,819주가 수집되었으며, 매달 평균 977주의 균주가 수집되었다. 가장 많은 균주가 수집된 기관은 8개월간 1,707주가 모였고, 가장 수집 균주수가 적은 기관의 균주 수자는 1,033주 이었다. 월별 균주 수자는 847-1,165주로 차이가 있었다. 균종별로는 *S. aureus* 391주, *E. faecalis* 102주, *E. faecium* 138주, *S. pneumoniae* 14주, *E. coli* 4,746주 (혈액 분리 1,107주 및 요 분리 3,639주), *K. pneumoniae* 1,237주 (혈액 분리 422주 및 요 분리 815주), *P. aeruginosa* 101주, *Acinetobacter* 균종 169주, *Salmonella* 균종 106주가 수집되었다. 균이 분리된 감염 질환의 의료관련 감염 또는 지역사회 감염에 따른 비율은 *S. aureus* 50%:50%, *E. faecalis* 60%:40%, *E. faecium* 70%:30%, *S. pneumoniae* 14%:86%, *E. coli* 18%:82% (혈액 분리 20%:80% 및 요 분리 18%:82%), *K. pneumoniae* 38%:62% (혈액 분리 31%:69% 및 요 분리 42%:58%), *P. aeruginosa* 58%:42%, *Acinetobacter* 균종 84%:16%, *Salmonella* 균종 7%:93%이었다. 전형적인 의료관련감염의 기회감염균인 *Enterococcus* 균종과 *Acinetobacter* 균종은 CA 비율이 높았고, 지역사회 감염의 원인균은 *E. coli* *S. pneumoniae* 및 *Salmonella* 균종은 지역사회 비율이 매우 높았다. *S. aureus*와 *P. aeruginosa*는 의료관련 감염과 지역사회 감염의 비율이 비슷하였다.

요 검체와 혈액 검체에서 수집한 *E. coli*와 *K. pneumoniae*의 검체별 분리율은 요검체에서 분리된 균주의 비율이 높았으며, 검체에 따른 HA:CA 비율이 *E. coli*는 차이가 없었으나 *K. pneumoniae*는 10% 정도의 차이를 보였다.

주요 항균제 내성균의 비율은 MRSA 53% (HA %, CA %), vancomycin-resistant *E. faecium* 28% (HA 33%, CA 11%), cefotaxime-resistant *E. coli* 32% (HA 49%, CA 28%), cefotaxime-resistant *K. pneumoniae* 35% (HA 51%, CA 26%), Carbapenem-resistant *P. aeruginosa* 19% 및 carbapenem-resistant *A. baumannii* 86% (HA 94%, CA 31%)이었다.

분자학적인 분석에서 MRSA 중에서는 ST5와 ST72가 major clone이었으며, MRSA의 비율도 높았고, VRE는 ST17이 가장 흔하였고, ST230, ST918도 VRE 비율이 높았다. ESBL 중에서는 CTX-M-14와 15가 가장 흔하였으며, *E. coli*에서는 ST131의 확산이 관찰되었다. Carbapenem 내성 *P. aeruginosa* 중에서 MBL 생성 균주는 모두 ST235에 속하였으며, IMP-6 생성 균주이었고, amikacin 내성을 보였다. Carbapenem 내성 *A. baumannii*는 CC92에 속하는 균주들이 대부분이었고, OXA-23 생성이 주된 기전이었다.

S. pneumoniae 중에서는 penicillin 내성인 균주는 없었으며, erythromycin, cefuroxime 및 SXT에 대해서는 각각 6주중에서 4주 및 2주씩이 내성이었다. *Salmonella* 균주 중에서는 3세대 cephalosporin 항균제인 cefotaxime과 ceftazidime에 비감수성인 균주는 각각 6% 및 4%이었고, 3균주에서 CTX-M 형의 ESBL이 확인되었다 Ciprofloxacin에 대해서는 15%가 중간을 보였고, 중간인 모든 균주가 gyrA에 변이를 보였다.

제6장 연구성과 및 활용계획

6.1 연구성과

| | | | | | | | |
|---------|---------------------------|--|--|--|--|--|--|
| 과제명 | 국내 종합병원내 다제내성균 조사 및 특성 분석 | | | | | | |
| 주관연구책임자 | 정석훈 / 연세의대 / 진단검사의학 임상미생물 | | | | | | |

가. 연구논문

| 번호 | 논문제목 | 저자명 | 저널명 | 집(권) | 페이지 | Impact factor | 국내/국외 | SCI 여부 |
|----------|------|-----|-----|------|-----|---------------|-------|--------|
| 해당 사항 없음 | | | | | | | | |

나. 학술발표

| 번호 | 발표제목 | 발표형태 | 발표자 | 학회명 | 연월일 | 발표지 | 국내/국제 |
|----|----------------------|------|-----|--|-----------|-----|-------|
| 1 | 국내 GLASS AMR site 운영 | 심포지엄 | 정석훈 | 2016년 항생제 내성 심포지엄 | 2016.9.21 | | 국내 |
| | 황색포도알균 및 임균 | 심포지엄 | 이혁민 | 2016년 항생제 내성 심포지엄 | 2016.9.21 | | 국내 |
| | 카바페넴 내성 그램 음성 세균 | 심포지엄 | 윤은정 | 2016년 항생제 내성 심포지엄 | 2016.9.21 | | 국내 |
| | 항생제 내성 살모넬라 | 심포지엄 | 신정환 | 2016년 항생제 내성 심포지엄 | 2016.9.21 | | 국내 |
| 2 | GLASS Korea | 심포지엄 | 정석훈 | French Health Care Day-Managing Public Health Challenges in France and Korea | 2016.12.9 | | 국내 |

다. 지적재산권

| 번호 | 출원/등록 | 특허명 | 출원(등록)인 | 출원(등록)국 | 출원(등록)번호 | IPC분류 |
|----------|-------|-----|---------|---------|----------|-------|
| 해당 사항 없음 | | | | | | |

라. 정책활용

- 본 연구는 의료관련감염병으로 지정된 다제내성균을 대상으로 전국적인 실험실 표본감시체계를 구축하고 내성균의 임상 및 분자역학적 특성을 분석하여 내성균의 확산방지 및 대책 수립의 기초자료 제공.
- 전국 주요 지역에 위치한 6개 거점 의료기관에서 분리되는 주요 내성균을 대상으로 항균제 내성을 조사하고, 주요 내성 세균에 대해서는 감수성 양상을 추적하며, 주요 내성 기전 및 분자역학을 규명
- 감염병 원인균종 및 환자 임상정보를 수집하고 대상균종별로 병원체를 수집 및 환자 임상정보와 검체정보를 통합적으로 분석
- 다제내성균의 추이변화 및 새로운 내성균의 출현을 보다 효과적으로 추적 및 감시
- 주요 내성균의 확산에 대한 역학적인 분석을 통해, 내성 양상 및 기전 규명을 위한 연구, 새로운 항균제 개발 등의 여러 분야에 중요한 자료 제공
- 항균제 내성 문제 해결을 위한 구체적인 실행 대책의 기본 자료로 활용
- 세계보건기구에서 시작하는 GLASS에 초기부터 참여하여 항균제 내성 연구의 선도적 국가가 될 수 있으며, 수집된 모든 균주를 활용하여 다양한 연구를 활성화**

마. 타연구/차기연구에 활용

- 전국적인 항균제 내성을
 - 확대된 항균제 감수성 조사 체계를 이용하여 전국적인 항균제 내성을 모니터링하고, 국내의 내성 현황과 새로운 내성균의 출현을 감시
 - 연구 결과로 도출된 국내의 내성을 연도별로 추이를 분석하고, 항균제 내성을 관리하기 위한 기초적인 근거 자료로 활용하며, 병원에서 환자 치료시 경험적 항균제를 선택하기 위한 자료로 사용
- 감시체계 표준화 및 정도관리
 - 참여 공동연구병원을 대상으로 워크샵을 진행하여 전년도의 결과를 환류하고 해당 연도의 균주 수집 및 연구 활성화를 도모하며, 표준화된 결과를 얻을 수 있도록 교육 및 정도 관리 수행.
 - 도출되고 공유된 정보는 유관 연구의 발전 및 진행을 활성화하고 전체적으로 국내 항균제 내성해결의 한 축으로 작용할 것으로 판단
- 의료관련 감염병 다제내성균의 감시
 - 의료관련감염병으로 지정된 다제내성세균을 대상으로 전국적인 실험실 표본 감시체계를 구축하고 내성균의 임상 및 분자역학적 특성을 분석하여 내성균의 확산방지 및 대책 수립의 기초자료로 제공.
- 주요 내성균의 항균제 내성 양상 및 기전 규명
 - 국내에서 호발하는 주요 그람양성 및 그람음성 내성 세균의 내성 기전 및 유전적 연관성을 규명.
 - 규명된 내성 기전은 국내의 심각한 항균제 내성을 극복하기 위한 기반 연구의 일환으로, 초기 검출법 및 새로운 항균제 등을 개발하는데 기초 자료로 활용
- 주요 내성균의 역학적 연관성 규명
 - 주요 내성 세균의 유전적인 연관성을 규명하여, 내성 세균의 확산 또는 내성 유전자의 확산을 방지하기 위한 기초 자료로 활용
 - 임원 환자 또는 중환자실 환자에서 문제시 되는 내성 세균을 조기에 검사하여 환자를 격리하거나 적극적인 감염 관리시행에 도움 가능.

바. 언론홍보 및 대국민교육

본 연구의 결과를 정리하여 국가 데이터로 WHO에 보고하고 국내 현황에 대한 대국민 홍보 자료로 활용 가능

사. 기타

○ 수집된 균주의 자원화 가능

- 본 연구를 통해 수집된 모든 균주는 특성화 조사를 완료한 양질의 자원으로 활용할 수 있으며, 일부 새로운 내성 균주 발견 시에는 자원화를 극대화할 수 있음. 또한 내성 균주 DB를 운영하여 관련 연자들의 연구를 활성화할 수 있음

6.2 활용계획(과제 종료 후)

| | |
|---------|---------------------------|
| 과제명 | 국내 종합병원내 다제내성균 조사 및 특성 분석 |
| 주관연구책임자 | 정석훈 / 연세의대 / 진단검사의학 임상미생물 |

가. 연구논문

| 번호 | 논문제목 | 저자명 | 저널명 | 집(권) | 페이지 | Impact factor | 국내/국외 | SCI 여부 |
|----|------------------------------------|---------------|------------------|------|-----|---------------|-------|--------|
| 1 | GLASS Korea | 이혁민, 윤은정, 정석훈 | Eurosurveillance | | | | 국외 | SCI |
| 2 | MRSA clonal change | 이혁민, 윤은정, 정석훈 | Eurosurveillance | | | | 국외 | SCI |
| 3 | ST131 E. coli | 이혁민, 윤은정, 정석훈 | JAC | | | | 국외 | SCI |
| 4 | Carbapenem-resistant P. aeruginosa | 이혁민, 윤은정, 정석훈 | JAC | | | | 국외 | SCI |

나. 학술발표

| 번호 | 발표제목 | 발표형태 | 발표자 | 학회명 | 연월일 | 발표지 | 국내/국제 |
|----|------|------|-----|-----|-----|-----|-------|
| 1 | | | | | | | |
| 2 | | | | | | | |

다. 지적재산권

| 번호 | 출원/ 등록 | 특허명 | 출원(등록)인 | 출원(등록)국 | 출원(등록)번호 | IPC분류 |
|----|-----------|-----|----------|---------|----------|-------|
| | | | 해당 사항 없음 | | | |

라. 정책 활용

- 본 연구는 의료관련감염병으로 지정된 다제내성균종을 대상으로 전국적인 실험실표본감시체계를 구축하고 내성균의 임상 및 분자역학적 특성을 분석하여 내성균의 확산방지 및 대책 수립의 기초자료 제공
- 전국 주요 지역에 위치한 6개 거점 의료기관에서 분리되는 주요 내성균을 대상으로 항균제 내성을 조사하고, 주요 내성 세균에 대해서는 감수성 양상을 추적하며, 주요 내성 기전 및 분자역학을 규명
- 감염병 원인균종 및 환자 임상정보를 수집하고 대상균종별로 병원체를 수집 및 환자 임상정보와 검체정보를 통합적으로 분석
- 다제내성균의 추이변화 및 새로운 내성균의 출현을 보다 효과적으로 추적 및 감시
- 주요 내성균의 확산에 대한 역학적인 분석을 통해, 내성 양상 및 기전 규명을 위한 연구, 새로운 항균제 개발 등의 여러 분야에 중요한 자료 제공
- 항균제 내성 문제 해결을 위한 구체적인 실행 대책의 기본 자료로 활용
- 세계보건기구에서 시작하는 GLASS에 초기부터 참여하여 항균제 내성 연구의 선도적 국가가 될 수 있으며, 수집된 모든 균주를 활용하여 다양한 연구를 활성화

마. 타연구/차기연구에 활용

○ 전국적인 항균제 내성을률

- 확대된 항균제 감수성 조사 체계를 이용하여 전국적인 항균제 내성을률을 모니터링하고, 국내의 내성 현황과 새로운 내성균의 출현을 감시

- 연구 결과로 도출된 국내의 내성률은 연도별로 추이를 분석하고, 항균제 내성을 관리하기 위한 기초적인 근거 자료로 활용하며, 병원에서 환자 치료시 경험적 항균제를 선택하기 위한 자료로 사용

○ 감시체계 표준화 및 정도관리

- 참여 공동연구병원을 대상으로 워크샵을 진행하여 전년도의 결과를 환류하고 해당 연도의 균주 수집 및 연구 활성화를 도모하며, 표준화된 결과를 얻을 수 있도록 교육 및 정도 관리 수행.

- 도출되고 공유된 정보는 유관 연구의 발전 및 진행을 활성화하고 전체적으로 국내 항균제 내성해결의 한 축으로 작용할 것으로 판단

○ 의료관련 감염병 다제내성균의 감시

- 의료관련감염병으로 지정된 다제내성세균을 대상으로 전국적인 실험실 표본 감시체계를 구축하고 내성균의 임상 및 분자역학적 특성을 분석하여 내성균의 확산방지 및 대책 수립의 지초자료로 제공.

○ 주요 내성균의 항균제 내성 양상 및 기전 규명

- 국내에서 호발하는 주요 그람양성 및 그람음성 내성 세균의 내성 기전 및 유전적 연관성을 규명.

- 규명된 내성 기전은 국내의 심각한 항균제 내성을 극복하기 위한 기반 연구의 일환으로, 조기 검출법 및 새로운 항균제 등을 개발하는데 기초 자료로 활용

○ 주요 내성균의 역학적 연관성 규명

- 주요 세균의 유전적인 연관성을 규명하여, 내성 세균의 확산 또는 내성 유전자의 확산을 방지하기 위한 기초 자료로 활용

- 임원 환자 또는 중환자실 환자에서 문제시 되는 내성 세균을 조기에 검사하여 환자를 격리하거나 적극적인 감염 관리시행에 도움 가능.

바. 언론홍보 및 대국민교육

본 연구의 결과를 정리하여 국가 데이터로 WHO에 보고하고 국내 현황에 대한 대국민 홍보 자료로 활용 가능

사. 기타

○ 수집된 균주의 자원화 가능

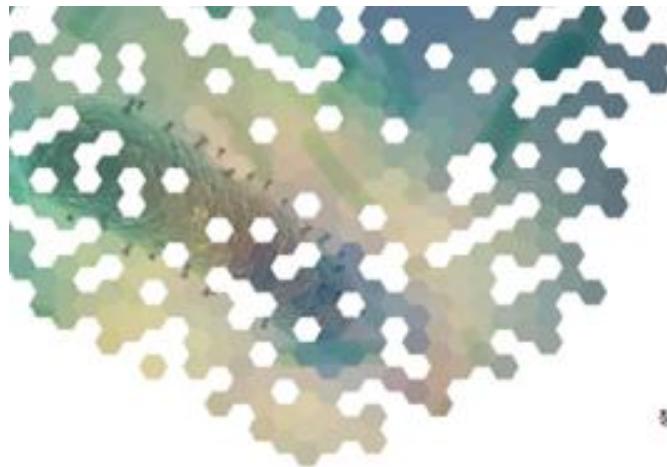
- 본 연구를 통해 수집된 모든 균주는 특성화 조사를 완료한 양질의 자원으로 활용할 수 있으며, 일부 새로운 내성 균주 발견 시에는 자원화를 극대화할 수 있음. 또한 내성 균주 DB를 운영하여 관련 연구들의 연구를 활성화할 수 있음

제7장 연구용역과제 진행과정에서 수집한 해외과학기술정보

구축한 항균제 내성 감시체계의 효율적인 운영과 자문을 위해 WHO의 GLASS 책임자인 Dr. Carmem Lucia Pessoa da Silva를 초청하여 항생제 내성 심포지엄을 개최하였다. 주요 주제로는 WHO 및 한국의 항균제 내성 문제 해결을 위한 행동 지침과 감시 체계, One Health 등을 다루었고, 관련된 전문가들을 초청하여 심포지엄을 진행하였다(초록집 별도 첨부). 또한 한국과 프랑스의 저명한 과학자들이 모여서, 양국의 공공 의료에 대해 개최한 심포지엄에서 국내의 감시 체계에 대한 내용을 소개하였다.



Fig. 2016년 GLASS 항생제 내성 심포지엄



2016년 항생제 내성 심포지엄

일시 | 2016년 9월 21일 (수)

장소 | 연세의대 강남세브란스병원 (본관 2동 3층 중강당)

주최 | 연세대학교 의과대학 세균내성연구소

후원 | 질병관리본부, 강남세브란스병원

국내 항생제 내성 감시 체계 및 대응 방안

진행: 연세대학교 이혁민 교수

| | | |
|-------------|-----|---------------------|
| 08:45~09:15 | 등록 | |
| 09:15~09:20 | 환영사 | 강남세브란스병원장 김근수 |
| 09:20~09:30 | 개회사 | 질병관리본부 국립보건연구원장 박도준 |

주제: 국내외 항생제 내성 대책 및 감시 계획

좌장: 질병관리본부 감염병센터장 성원근

| | | |
|-------------|----------------------|--------------------------------------|
| 09:20~10:10 | WHO 항생제 내성 관리 | WHO Dr. Carmem Lucia Pessoa Da Silva |
| 10:10~10:35 | 주요 국가의 국가행동계획 소개 | WHO 이중규 과장 |
| 10:35~10:50 | 기념촬영 및 coffee break | |
| 10:50~11:15 | 국가 항생제 내성 관리 대책 | 보건복지부 질병정책과 강민구 사무관 |
| 11:15~11:40 | 국가 항생제 내성 임상 감시체계 | 질병관리본부 감염병감시과 이동한 과장 |
| 11:40~12:05 | 국내 항생제 내성균 실험실 감시 | 질병관리본부 약제내성과 이광준 연구관 |
| 12:05~12:30 | 국내 GLASS AMR site 운영 | 연세대학교 정석훈 교수 |
| 12:30~13:30 | 중식 | |

진행: 연세대학교 융동은 교수

주제: One-Health

좌장: 서울대학교 박용호 교수

| | | |
|-------------|--------------------|------------------------|
| 13:30~13:55 | 반려동물의 항생제 내성 현황 | 해마루소통증임상의학연구소 황선영 박사 |
| 13:55~14:20 | 축산분야의 항생제 내성 현황 | 농림축산검역본부 세균질병과 일숙경 연구관 |
| 14:20~14:45 | 식품/환경분야의 항생제 내성 현황 | 고려대학교 우건조 교수 |
| 14:45~15:10 | coffee break | |

주제: 항생제 내성균의 특성

좌장: 연세대학교 이경원 교수

| | | |
|-------------|------------------|--------------|
| 15:10~15:35 | 황색포도알균 및 임균 | 연세대학교 이혁민 교수 |
| 15:35~16:00 | 카바페넴 내성 그룹 음성 세균 | 연세대학교 윤은정 교수 |
| 16:00~16:25 | 항생제 내성 살모넬라 | 인체대학교 신정환 교수 |
| 16:25~16:30 | 폐회 | |



프랑스 FRANCE
COREE 한국
2015 2016



FRENCH MEDICAL ALLIANCE IN KOREA

French Health Care Day - Managing Public Health Challenges in France and Korea

◎ 2016. 12. 9. Friday 9:00-18:00

◎ Institut Pasteur Korea, Auditorium, F1

Symposium organized in the framework of the Year of France in Korea



외교부
Ministry of Foreign Affairs
문화체육관광부
Ministry of Culture, Sports and Tourism



INSTITUT
FRANÇAIS



한국파스퇴르연구소
Institut Pasteur Korea



BUSINESSFRANCE
AMBASSADE DE FRANCE
EN COREE



BIO MÉRIEUX

Guerbet |

Contrast for Life

IPSEN
Innovation for patient care



French Health Care Day: Managing Public Health Challenges in France and Korea

| | |
|---|----------|
| Agenda..... | 1 |
| Health Care Associated infections; | |
| Multi drug resistant organisms (MDROs) in healthcare facilities and community..... | 2 |
| Marie-Françoise Gros, Medical Affair Director at bioMérieux..... | 3 |
| Seok-Hoon Jeong, Yonsei University..... | 4 |
| Kwang-Jun Lee, Deputy Scientific Director, Division of Antimicrobial Resistance at Korean Centers for Disease Control and Prevention (KCDC)..... | 5 |
| Soojin Jang, Head of Antibacterial Resistance Research Laboratory at Institut Pasteur Korea (IPK)..... | 6 |
| Management of Hepatocellular carcinoma (HCC); | |
| Current Status and Future Perspectives..... | 7 |
| Haengran Seo, Head of Cancer Biology Research Laboratory at IPK..... | 8 |
| Yves Menu, Saint-Antoine Hospital in Paris..... | 9 |
| Kwang-Hyub Han, Yonsei University Hospital..... | 10 |
| Kyung-Suk Suh, Seoul National University Hospital..... | 11 |
| Byung-Ihn Choi, Chung Ang University Hospital..... | 12 |
| French-Korean health alliances for Tuberculosis (TB) free Korea! 13 | |
| Vincent Delorme, Head of Tuberculosis Research Laboratory at IPK..... | 14 |
| Robert Sebbag, Vice President of Access to Medicine at Sanofi..... | 15 |
| Ok Park, Director, Division of HIV/AIDS and TB control at KCDC..... | 16 |
| Jae-Seuk Park, Planning Director of PPM at Dankook University Hospital..... | 17 |
| Joo-Yeon Lee, Sanofi-Aventis Korea Medical..... | 18 |

Seok-Hoon Jeong, Yonsei University



Education

1982 – 1989: Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea
1994 – 1996: Master of Medicine, Clinical Pathology, Yonsei University Graduate School, Seoul, Korea
2000 – 2002: Ph.D, Laboratory Medicine, Busan National University Graduate School, Busan, Korea

Present Academic & Hospital Appointments

Professor, Yonsei University College of Medicine
Director, Dept. of Laboratory Medicine, Gangnam Severance Hospital
Chairman, Research Institute of Bacterial Resistance, Yonsei University College of Medicine
Publisher, Antimicrobial Resistance Newsletter
Editor, International Journal of Antimicrobial Agents
Vice President, Korean Society of Infectious Diseases
Director of Publication Committee, Korean Society for Chemotherapy
Director of Planning Committee, Korean Society of Clinical Microbiology

GLASS Korea (Global Antimicrobial Resistance Surveillance System)

WHO have developed the Global Antimicrobial Resistance Surveillance systems (GLASS) to understand current situation of AMR surveillance globally and in turn support the implementation of the Global action plan on antimicrobial resistance.

To align this, the Korea Health authorities also have started to implement pilot project of GLASS Korea with AMR professionals in May 2016 and is planning to fully deploy it from 2017.

In this session, the lead researcher of GLASS Korea, Prof. Seok Hoon JEONG M.D. from Yonsei university College of Medicine will introduce this project and show the current status and the roadmap. Also he will present the AMR status of bacterial pathogen which was collected from the hospitals that participate this project and explain their mechanism of resistance and epidemiological characteristics

제8장 기타 중요변경사항

해당 사항 없음

제9장 연구비 사용 내역(당해년도) 및 연구원 분담표

9.1 연구비 사용 내역(작성일까지 사용내역 작성)

(단위: 원)

| 구 분 | 비 목 | 금액 | 구 성 비 | 비 고 |
|--|---------------------------------------|--|-------|-----|
| ○ 인 건 비 소 계 | | 177,511,915 | | |
| 책 임 연 구 원 연 구 원 연 구 보 조 원 보 조 | | 33,690,371 143,821,544 | | |
| ○ 경 비 소 계 | | 325,017,230 | | |
| 여 유 전 시 회 임 교 위 | 인 산 약 및 차 통 탁 정 활 관 가 가 치 산 활 동 비 (%) | 4,779,864 1,409,091 1,363,636 308,387,737 5,997,733 290,909 2,218,260 570,000 | | |
| 연 일 부 ○ | 구 활 관 가 계 | 11,578,579 30,870,000 54,545,455 599,523,179 | | |

9.2 연구분담표

| 구분 | 소속 | 직위 | 성명 | 성별 | 분담 내용 | 인건비 지급 여부 | 참여율 (%) |
|-------|----------------------|-------------|-----|----|---|-----------------|------------|
| 책임연구원 | 연세의대 | 교수 | 정석훈 | 남 | 연구과제 총괄관리 및 감시체계 구성 및 운영 | x | 5 |
| 연구원 | 연세의료원 | 임상연구조교 수 | 이혁민 | 남 | <i>Enterococcus/N. gonorrhoeae</i> 특성분석 | 0 | 5 |
| 연구원 | 연세원주의 대 | 교수 | 어영 | 남 | 균주수집 | x | 5 |
| 연구원 | 전남대병원 | 교수 | 신종희 | 여 | 균주수집 | x | 5 |
| 연구원 | 일산병원 | 과장 | 김영아 | 여 | 균주수집 | x | 5 |
| 연구원 | 충북대학교 의과대학 | 교수 | 신경섭 | 남 | 균주수집 | x | 5 |
| 연구원 | 인제의대 | 교수 | 신정환 | 남 | <i>Salmonella/Shigella</i> 특 성분석 | x | 5 |
| 연구원 | 신라대학교 | 조교수 | 배일권 | 남 | <i>S. aureus</i> 특성분석 | x | 5 |
| 연구원 | 연세대학교 세균내성연 구소 | 연구조 교수 | 윤은정 | 여 | <i>E. coli/Klebsiella</i> 특성분 석 | 0 | 5 |
| 연구보조원 | 연세대학교 산학협력단 | 연구원 | 박소영 | 여 | 행정 업무 및 내성자료 수 집 | 0 | 5 |
| 연구보조원 | 연세대학교 산학협력단 | 연구원 | 김정옥 | 여 | <i>Acinetobacter/Pseudom onas</i> 특성분석보조 | 0 | 5 |
| 연구보조원 | 연세대학교 산학협력단 | 연구원 | 이민아 | 여 | <i>Enterococcus/N. gonorrhoeae</i> 특성분석 보조 | 0 | 5 |
| 연구보조원 | 연세대학교 B.K사업단 | 대학원 생 | 홍준성 | 남 | <i>E. coli/Klebsiella</i> 특성분 석 보조 | 0 | 2 |
| 연구보조원 | 연세대학교 산학협력단 | 연구원 | 유하나 | 여 | 균주 수집 및 내성을 모 니터링 | 0 | 2 |
| 연구보조원 | 전남대병원 | 전공의 | 이현승 | 남 | 균주 수집 및 내성을 모 니터링 | 0 | 2 |
| 연구보조원 | 전남대학교 산학협력단 | 연구원 | 변승아 | 여 | 균주 수집 및 내성을 모 니터링 | 0 | 2 |
| 연구보조원 | 전남대학교 | 연구원 | 최민지 | 여 | 균주 수집 및 내성을 모 | 0 | 2 |

| | | | | | | | |
|-------|---------------------|-----------|---------|---|-----------------------------|---|------|
| | 산학협력단 | | | | 니터링 | | |
| 연구보조원 | 전남대학교 산학협력단 | 연구원 | 정지승 | 여 | 균주 수집 및 내성을 모니터링 | 0 | 2 |
| 연구보조원 | 일산병원 | 연구원 | 최유정 | 여 | 균주 수집 및 내성을 모니터링 | 0 | 5 |
| 연구보조원 | 연세대학교 산학협력단 | 연구원 | 한혜연 | 여 | 균주 수집 및 내성을 모니터링 | 0 | 1 |
| 연구보조원 | 연세대학교 산학협력단 | 연구원 | 송옥희 | 여 | 균주 수집 및 내성을 모니터링 | 0 | 1 |
| 연구보조원 | 충북대학교 산학협력단 | 연구원 | 박혜민 | 여 | 균주 수집 및 내성을 모니터링 | 0 | 5 |
| 연구보조원 | 원주연세의 대 산학협력단 | 연구원 | 최은영 | 여 | 균주 수집 및 내성을 모니터링 | 0 | 5 |
| 연구보조원 | 영남대학교 | 석사과 정생 | 정소영 | 여 | S. aureus 특성분석 보조 | 0 | 5 |
| 연구보조원 | 인제대학교 산학협력단 | 연구원 | 김시현 | 여 | Salmonella/Shigella 특성분석 보조 | 0 | 3 |
| 연구보조원 | 인제대학교 산학협력단 | 연구원 | 김나영 | 여 | 균주 수집 및 내성을 모니터링 | 0 | 1 |
| 연구보조원 | 인제대학교 산학협력단 | 연구원 | 손미 라 | 여 | 균주 수집 및 내성을 모니터링 | 0 | 2 |
| 계 | | | | | | | 100% |

제10장 참고문헌

- World Health Organization. Global Antimicrobial Resistance Surveillance System – Manual for Early Implementation. WHO Document Production Services, Geneva, Switzerland, 2015.
- World Health Organization. Antimicrobial Resistance Surveillance – Questionnaire for Assessment of National Networks. WHO Document Production Services, Geneva, Switzerland, 2003.
- World Health Organization. Antimicrobial Resistance – Global Report on Surveillance. WHO Document Production Services, Geneva, Switzerland, 2014.
- Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H. An increasing threat in the hospital: multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*. Nat Rev Microbiol 2007;5:939–51.
- Lee K, Kim MN, Choi TY, Cho SE, Lee S, Whang DH, et al. Wide dissemination of OXA-type carbapenemases in clinical *Acinetobacter* spp. isolates from South Korea. Int J Antimicrob Agents 2009;33:520–4.
- Kim C-K, Lee Y, Lee H, Woo G-J, Song W, Kim M-N, et al. Prevalence and diversity of carbapenemases among imipenem-nonsusceptible *Acinetobacter* isolates in Korea: emergence of a novel OXA-182. Diagn Microbiol Infect Dis 2010;68:432–8.
- Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. Clin Microbiol Rev 2007;20:440–58.
- Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Emerg Infect Dis. 2011;17:1791–8.
- Poirel L, Pitout JD, Nordmann P. Carbapenemases: molecular diversity and clinical consequences. Future Microbiol 2007;2:501–12.
- Bae IK, Lee YN, Jeong SH, Hong SG, Lee JH, Lee SH, et al. Genetic and biochemical characterization of GES-5, an extended-spectrum class A beta-lactamase from *Klebsiella pneumoniae*. Diagn Microbiol Infect Dis 2007;58:465–8.
- Villegas MV, Lolans K, Correa A, Kattan JN, Lopez JA, Quinn JP; Colombian Nosocomial Resistance Study Group. First identification of *Pseudomonas aeruginosa* isolates producing a KPC-type carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase. Antimicrob Agents Chemother. 2007;51:1553–5.
- Walsh TR. Emerging carbapenemases: a global perspective. Int J Antimicrob Agents 2010;36:S8–S14.
- Turton JF, Ward ME, Woodford N, Kaufmann ME, Pike R, Livermore DM, et al. The role of *ISAbal* in expression of OXA carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*. FEMS Microbiol Lett 2006;258:72–7.
- McPhee, J. B., S. Lewenza, and R. E. W. Hancock. 2003. Cationic antimicrobial peptides activate a two-component regulatory system, PmrA-PmrB, that regulates resistance to polymyxin B and cationic antimicrobial peptides in *Pseudomonas aeruginosa*. Mol. Microbiol. 50:205–217.

- Vaara, M., T. Vaara, M. Jensen, I. Helander, M. Nurminen, E. T. Rietschel, and P. H. Makela. 1981. Characterization of the lipopolysaccharide from the polymyxin-resistant *pmrA* mutants of *Salmonella typhimurium*. FEBS Lett. 129:145-149.
- Song W, Jeong SH, Kim JS et al. Use of boronic acid disk methods to detect the combined expression of plasmid-mediated AmpC beta-lactamases and extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of *Klebsiella* spp., *Salmonella* spp., and *Proteus mirabilis*. Diagn Microbiol Infect Dis 2007;57:315-318.
- Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ et al. Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother 2001;45(4):1151-1161.
- Yong D, Toleman MA, Giske CG et al. Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, (NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. Antimicrob Agents Chemother 2009;53(12):5046-2054.
- Brink AJ, Botha RF, Poswa X, Senekal M, Badal RE et al. Antimicrobial susceptibility of gram-negative pathogens isolated from patients with complicated intra-abdominal infections in south African hospitals (SMART study 2004-2009): impact of the new carbapenem breakpoints. Surg Infect (Larchmt)2012, 13:43-49.
- Lee SJ, Lee DS, Choe HS, Shim BS, Kim CS, Kim ME, Cho YJ: Antimicrobial resistance in community-acquired urinary tract infections: from the Korean antimicrobial resistnse monitoring system. J Infect Chemother 2011;17:440-446.
- Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, Swaminathan B. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. J Clin Microbiol. 1995 Sep;33(9):2233-9.
- Shibi AM, Al-Agamy MH, Khubnani H, Senok AC, Tawfik AF, Livermore DM. High prevalence of acquired quinolone-resistance genes among Enterobacteriaceae from Saudi Arabia with CTX-M-15 β -lactamase. Diagn Microbiol Infect Dis 2012;73:350-3.

제11장 첨부서류

감시체계 운영 지침서 -1

권역별 감시체계 연구지침

수집 균주 기본 분석 지침 (동정, 항균제 감수성, 분주 및 보관)

문서 번호: 3-1

작성일: 2016.04.28

1. 수집 균주의 분주 및 보관 (보관은 회색으로 표시)

1) 본원 수집 균주 (강남세브란스병원)

가) 수집 대상균주는 집락의 상단 부분만 이용하여 혈액한천 배지에 계대 배양 (생략 가능)

나) 계대 배양한 균주는 4 개의 skim milk 배지에 접종하여 분주 (균주코드 부착)

다) 계대 배양한 균주에서 DNA extraction 분주 보관 (요검체 분리균주 제외)

라) Skim milk 1-3 은 표와 같이 보관 및 발송, skim milk 4 는 균종에 따라 특성 분석 또는 발송

a) SAU, EFA, EFM, ECO, KPN, PAE, ABA: 자체 분석

b) SPN, SAL, SHI: 부산백병원 발송

c) YST: 전남대병원 발송

d) NGO: 신촌세브란스병원 발송

| 배지 | Skim milk 1 | Skim milk 2/3 | Skim milk 4 |
|----|---------------|---------------|-------------|
| 용도 | 장기 보관 (-70°C) | 질병관리본부 발송 | 특성 분석 또는 발송 |

2) 공동 연구기관 수집 균주 (5 개 의료기관)

가) 수령한 skim milk 배지에서 혈액한천배지 (SAU, SPN, FEA, EFM) 또는 MAC 한찬배지 (ECO, KPN, PAE, ABA, *Salmonella* spp. 및 *Shigella* spp.) 및 CHOC 배지 (NGO)에 계대 배양하여 순집락 확인: 오염 시는 해당 의료기관에 알리고 재발송 요청

나) 계대 배양한 균주는 MALDI-TOF MS 와 추가 검사로 동정 확인 (균종명이 다르면 수집 기관 확인 요청)

a) SPN: 혈액한천 배지 α-용혈 확인, optochin 감수성 확인

b) SAL 및 SHI: 항혈청 시험

c) ABA: OXA-51 PCR 양성 → ABA 최종 동정, OXA-51 PCR 음성 → *rpoB* 염기서열분석 추가 시행

다) 균종명이 확인된 균주는 4 개의 skim milk 배지에 접종하여 분주 (균주코드 부착)

라) 계대 배양한 균주에서 DNA extraction 분주 보관 (요검체 분리균주 제외)

마) Skim milk 1-3 은 표와 같이 보관 및 발송, skim milk 4 는 균종에 따라 특성 분석 또는 발송

a) SAU, EFA, EFM, ECO, KPN, PAE, ABA: 자체 분석

b) SPN, SAL, SHI: 부산백병원 발송

권역별 감시체계 연구지침

- c) YST: 전남대병원 발송
- d) NGO: 신촌세브란스병원 발송

| 배지 | 수령한 skim milk | Skim milk 1 | Skim milk 2/3 | Skim milk 4 |
|----|---------------|---------------|---------------|----------------|
| 용도 | 장기 보관 (-70°C) | 장기 보관 (-70°C) | 질병관리본부 발송 | 특성 분석 또는 발송 |

2. 균주 보관

- 1) Skim milk 배지 표면에 균주 번호 라벨 부착 (라벨 프린터 사용)
- 2) 균주 보관용 종이 상자에 수집 연도, 수집 월, 수집 기관 및 균종 표시
- 3) 실험용, 보관용 및 발송용 skim milk는 용도별로 다른 상자에 보관하여 관리**

3. 항균제 감수성 시험-디스크 확산법

1) 시험 방법

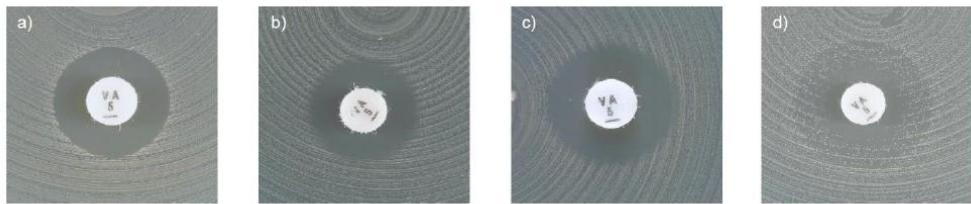
- 가) 세균 부유액 준비
- a) 시험할 접력을 Saline 에 접종 (pure culture 를 위하여 반드시 single colony 만 선택한다)
 - b) 식염수를 써서 균액의 탁도를 McFarland 의 0.5 관에 일치 (표준 탁도 시험관 비교, 구매 확인)
- 나) 배지: Mueller-Hinton 한천배지 90mm 와 150mm 크기 사용 (시기에 맞추어 구입 확인)
- 다) 접종: 면봉에 균액을 묻히고 과량의 액체는 면봉을 시험관 벽에 대고 돌리어 짜낸 후에 Retro C80 장비 (bioMerieux)를 사용하여 접종 (조건 정리 및 확인)
- 라) 디스크 놓기 (Applicator 확인): 3-5 분후에 물기가 마른 뒤에 디스크를 놓고, 떨어진 디스크는 이동 금지
- 마) 15 분 이내에 항온기를 넣고 35°C 에 16-18 시간 배양 (**Vancomycin 은 24 시간 배양**)

2) 판독

- 가) Biomic 장비를 이용하여 판독하며, 정도관리 균주부터 우선적으로 결과 점검
- 나) 육안으로 보아 증식이 완전히 억제된 곳 까지의 지름을 재는 것이 원칙이지만 cotrimoxazole 및 linezolid 등은 증식이 80% 억제된 곳까지 측정할 수 있도록 억제대 지름을 조정하고, vancomycin 은 억제대 모양과 억제대 내부의 접력을 주의 깊게 관찰

권역별 감시체계 연구지침

다) 판독이 끝난 평판배지의 사진은 재해석을 대비하여 모두 장비에 저장 (파일명은 균주명으로 저장하고 연도, 분리월 및 균종 별로 폴더를 만들어 저장). 저장한 사진은 별도의 매달 별도의 매체에 백업할 것 (외장 하드디스크 또는 DVD)



Examples of inhibition zones for *Enterococcus* spp. with vancomycin.

a) Sharp zone edge and zone diameter ≥ 12 mm. Report susceptible.

b-d) Fuzzy zone edge or colonies within zone. Perform confirmatory testing with PCR or report resistant even if the zone diameter ≥ 12 mm.

a) 깨끗한 12mm 이상의 억제대: 감수성

b-d) 불분명하거나, 내부에 집락이 증식한 12mm 이상의 억제대: PCR로 vancomycin 내성 유전자 시험 및 내성으로 보고

3) 정도관리 (중요: 매 실험마다 시행)

가) 시험하기 하루전에 표준균주 계대배양 (*S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 및 *P. aeruginosa* ATCC

27853)

나) 연구용 균주와 동일한 방법을 사용하여 시험

다) 범위를 벗어난 항균제는 즉시 보고

4) 디스크 확산법 검사시 주의사항

가) 감수성 검사의 결과는 여러가지 요소에 의해 달라지므로 원법에 충실히 따르도록 하여야 한다.

나) 냉동된 병에서 디스크를 꺼낼 때는 유효기간이 가까운 것부터 꺼낼 것

다) 항균제 디스크를 꺼내고 나서는 병마개를 쑥 막아서 습기가 안들어가게 할 것(흡습제를 넣는다)

라) 사용중의 디스크는 용기에 넣고 뚜껑을 닫아서 습기가 들어가지 않게 할 것

마) 사용중의 디스크가 정도관리 범위를 벗어난 경우에는 결과를 빨리 보고

바) 같은 세균이라고 확신할 경우가 아니면 여러 집락을 섞어서 시험하지 말 것

5) 균종별 시험 항균제

| 균종 | 항균제 | 배지 | 용량 (μg) | 판독기준 (mm) | | |
|-----|--------------|------|-------------------------|-----------|-------|----------|
| | | | | $\geq S$ | I | $\leq R$ |
| SAU | Cefoxitin | 90mm | 30 | 22 | | 21 |
| | Erythromycin | | 15 | 23 | 14-22 | 13 |
| | Clindamycin | | 2 | 21 | 15-20 | 14 |

권역별 감시체계 연구지침

| | | | | | | |
|-----|-------------------------------|---------------|------------|----|-------|----|
| | Trimethoprim-sulfamethoxazole | | 1.25/23.75 | 16 | 11-15 | 10 |
| | Quinupristin-dalfopristin | | 15 | 19 | 16-18 | 15 |
| | Mupirocin | | 200 | 30 | 18-29 | 17 |
| EFA | Ampicillin | 90mm | 10 | 17 | | 16 |
| | Gentamicin (High level) | | 120 | 10 | 7-9 | 6 |
| | Streptomycin (High level) | | 300 | 10 | 7-9 | 6 |
| | Ciprofloxacin | | 5 | 21 | 16-20 | 15 |
| | Tetracycline | | 30 | 19 | 15-18 | 14 |
| EFM | Ampicillin | 90mm | 10 | 17 | | 16 |
| | Gentamicin (High level) | | 120 | 10 | 7-9 | 6 |
| | Streptomycin (High level) | | 300 | 10 | 7-9 | 6 |
| | Ciprofloxacin | | 5 | 21 | 16-20 | 15 |
| | Tetracycline | | 30 | 19 | 15-18 | 14 |
| | Quinupristin-dalfopristin | | 15 | 19 | 16-18 | 15 |
| ECO | Ampicillin | 150mm 90mm | 10 | 17 | 14-16 | 13 |
| | Piperacillin | | 100 | 21 | 18-20 | 17 |
| | Ampicillin-sulbactam | | 10/10 | 15 | 12-14 | 11 |
| | Cefazolin | | 30 | 23 | 20-22 | 19 |
| | Cefotaxime | | 30 | 26 | 23-25 | 22 |
| | Ceftazidime | | 30 | 21 | 18-20 | 17 |
| | Cefepime | | 5 | 19 | 16-18 | 15 |
| | Aztreonam | | 30 | 21 | 18-20 | 17 |
| | Cefoxitin | | 30 | 18 | 15-17 | 14 |
| | Imipenem | | 10 | 23 | 20-22 | 19 |
| | Meropenem | | 10 | 23 | 20-22 | 19 |
| | Ertapenem | | 10 | 22 | 19-21 | 18 |
| | Amikacin | | 30 | 17 | 15-16 | 14 |
| | Gentamicin | | 10 | 15 | 13-14 | 12 |
| | Ciprofloxacin | | 5 | 21 | 16-20 | 15 |
| | Trimethoprim-sulfamethoxazole | | 1.25/23.75 | 16 | 11-15 | 10 |
| KPN | Tigecycline (EUCAST) | 150mm 90mm | 15 | 18 | 17-15 | 14 |
| | Colistin | | | | | |
| | Piperacillin | | 100 | 21 | 18-20 | 17 |
| | Ampicillin-sulbactam | | 10/10 | 15 | 12-14 | 11 |
| | Cefazolin | | 30 | 23 | 20-22 | 19 |
| | Cefotaxime | | 30 | 26 | 23-25 | 22 |
| | Ceftazidime | | 30 | 21 | 18-20 | 17 |
| | Cefepime | | 5 | 19 | 16-18 | 15 |
| | Aztreonam | | 30 | 21 | 18-20 | 17 |
| | Cefoxitin | | 30 | 18 | 15-17 | 14 |
| | Imipenem | | 10 | 23 | 20-22 | 19 |
| | Meropenem | | 10 | 23 | 20-22 | 19 |

권역별 감시체계 연구지침

| | | | | | | |
|-----|-------------------------------|-------|------------|----|-------|----|
| | Gentamicin | 150mm | 10 | 15 | 13-14 | 12 |
| | Ciprofloxacin | | 5 | 21 | 16-20 | 15 |
| | Trimethoprim-sulfamethoxazole | | 1.25/23.75 | 16 | 11-15 | 10 |
| | Tigecycline | | 15 | 18 | 17-15 | 14 |
| | Colistin | | | | | |
| PAE | Piperacillin | 150mm | 100 | 21 | 15-20 | 14 |
| | Piperacillin-tazobactam | | 100/10 | 21 | 15-20 | 14 |
| | Ceftazidime | | 30 | 18 | 15-17 | 14 |
| | Cefepime | | 30 | 18 | 15-17 | 14 |
| | Imipenem | | 10 | 19 | 16-18 | 15 |
| | Meropenem | | 10 | 19 | 16-18 | 15 |
| | Amikacin | | 30 | 17 | 15-16 | 14 |
| | Gentamicin | | 10 | 15 | 13-14 | 12 |
| | Tobramycin | | 10 | 15 | 13-14 | 12 |
| | Ciprofloxacin | | 5 | 21 | 16-20 | 15 |
| | Colistin | | 10 | 11 | | 10 |
| | Piperacillin | | 100 | 21 | 18-20 | 17 |
| ABA | Ampicillin-sulbactam | 150mm | 10/10 | 15 | 12-14 | 11 |
| | Ceftazidime | | 30 | 18 | 15-17 | 14 |
| | Cefepime | | 30 | 18 | 15-17 | 14 |
| | Imipenem | | 10 | 22 | 19-21 | 18 |
| | Meropenem | | 10 | 18 | 15-17 | 14 |
| | Ertapenem | | | | | |
| | Amikacin | | 30 | 17 | 15-16 | 14 |
| | Gentamicin | | 10 | 15 | 13-14 | 12 |
| | Tobramycin | | 10 | 15 | 13-14 | 12 |
| | Ciprofloxacin | | 5 | 21 | 16-20 | 15 |
| | Minocycline | | 30 | 16 | 13-15 | 12 |
| | Tigecycline | | | | | |
| | Colistin | | | | | |

4. 항균제 감수성 시험-Etest

1) 시험 방법: 디스크 확산법과 동일

가) 세균 부유액 준비

a) 시험할 접종을 Saline 에 접종 (pure culture 를 위하여 반드시 single colony 만 선택한다)

b) 식염수를 써서 균액의 탁도를 McFarland 의 0.5 관에 일치 (표준 탁도 시험관 비교, 구매 확인)

나) 배지: Mueller-Hinton 한천배지 90mm 와 150mm 크기 사용 (시기에 맞추어 구입 확인)

다) 접종: 면봉에 균액을 묻히고 과량의 액체는 면봉을 시험관 벽에 대고 돌리어 짜낸 후에 Retro C80 장비 (bioMerieux)를 사용하여 접종 (조건 정리 및 확인)

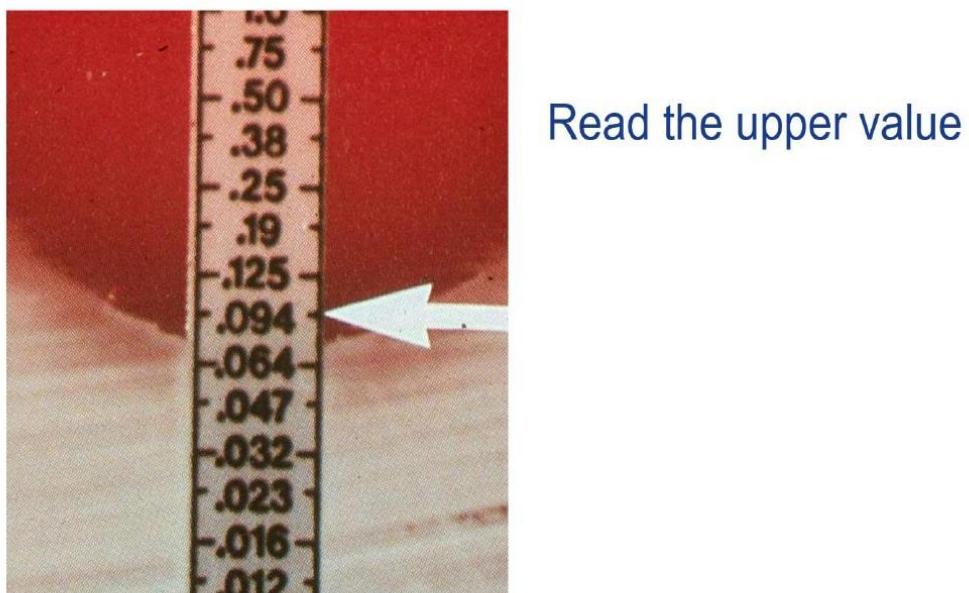
라) Etest 스트립 놓기: 3-5 분후에 물기가 마른 뒤에 스트립을 놓고, 한 번 떨어진 스트립은 절대 이동 금지

권역별 감시체계 연구지침

마) 15 분 이내에 항온기를 넣고 35°C 에 16-18 시간 배양 (Vancomycin 은 24 시간 배양)

2) 판독

가) 항균제 스트립과 억제대가 만나는 지점의 농도를 최소억제농도로 판정하며, 2 개의 농도 사이에 억제대가 있으면 높은 농도로 판독



나) Linezolid, tigecycline 같은 bacteriostatic antibiotic 은 증식 억제가 처음 관찰되는 80% 억제대를 판독

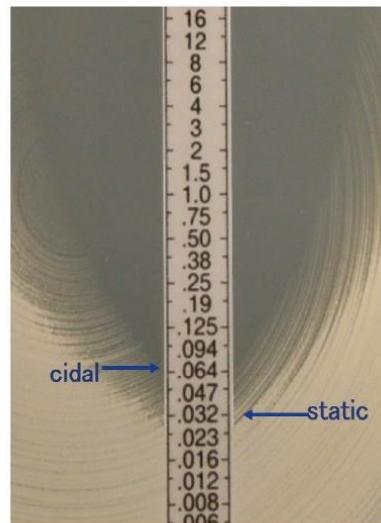
권역별 감시체계 연구지침

Is it a sharp endpoint?

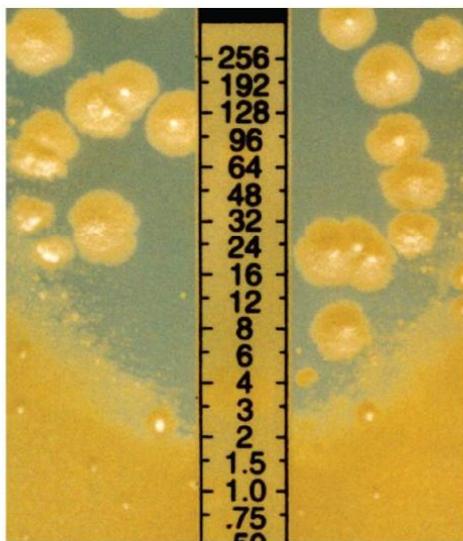
- ▶ NO: Is the drug bacteriostatic or bactericidal?

Rule:

- ▶ CIDAL DRUGS: Read at complete inhibition of ALL GROWTH (haze, micro- and macrocolonies), Read 100% inhibition. MIC 0.064 µg/mL
- ▶ STATIC DRUGS: Read at the first significant inhibition of growth, Ignore trailing and microcolonies, Read so-called 80% inhibition. MIC 0.032 µg/mL



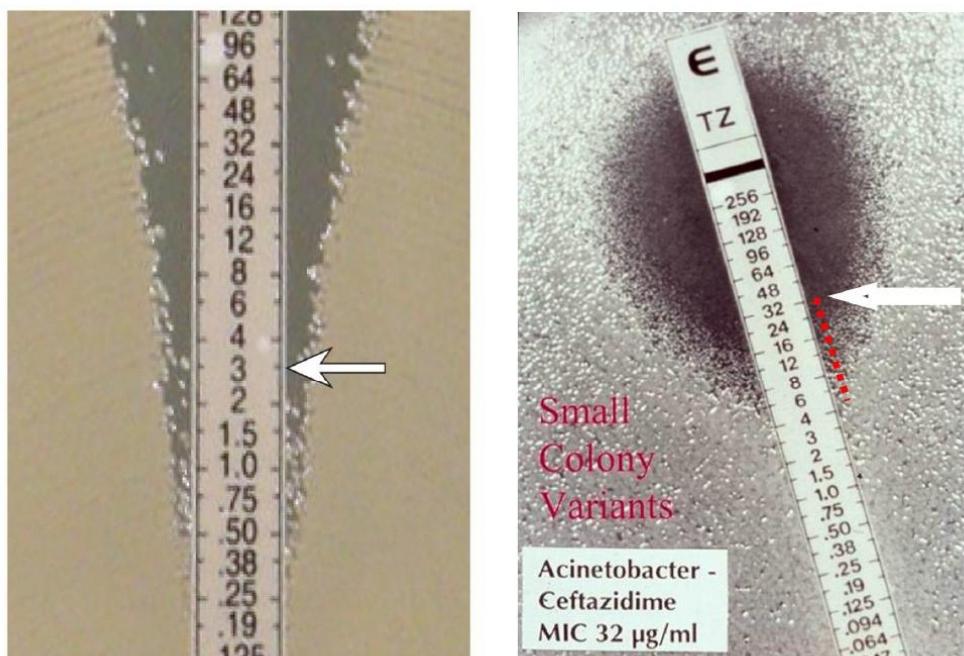
다) 억제대 안에 집락이 있으면 집락이 있는 지점까지 농도를 올려서 판독



Always read
macrocolonies for both
static and cidal drugs.

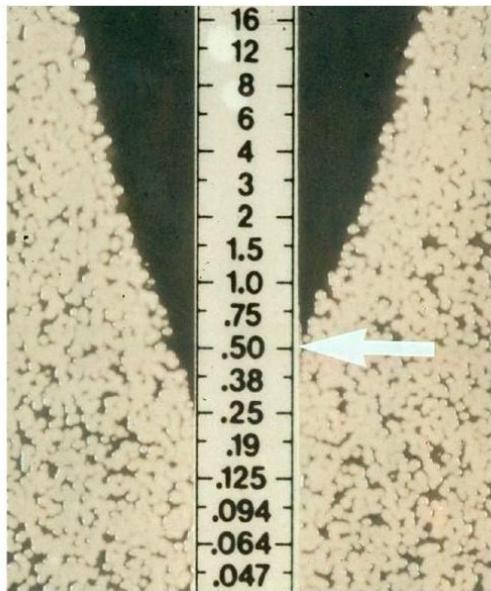
$\text{MIC} \geq 256 \mu\text{g/mL}$

권역별 감시체계 연구지침



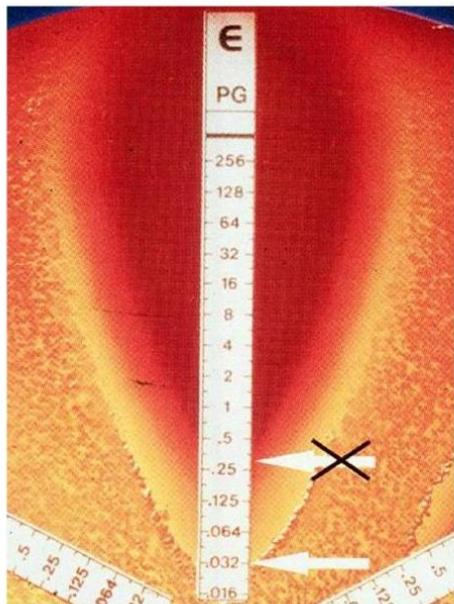
라) 좌우의 농도가 다른 경우는 높은 농도로 판독하고 2 단계 이상 차이나는 경우는 재시험

권역별 감시체계 연구지침



If > 1 dilution, test must be repeated

마) 용혈이 있는 경우는 용혈대를 판독하지 않도록 주의



Don't read haemolysis

3) 정도관리 (중요: 매 실험마다 시행)

권역별 감시체계 연구지침

가) 시험하기 하루전에 표준균주 계대배양 (*S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 및 *P. aeruginosa* ATCC 27853)

나) 연구용 균주와 동일한 방법을 사용하여 시험

다) 범위를 벗어난 항균제는 즉시 보고

4) 균종별 시험 항균제

| 균종 | 항균제 | 판독기준 ($\mu\text{g/mL}$) | | |
|------------|------------------------------|---------------------------|------|----------|
| | | $\leq S$ | I | $\geq R$ |
| SAU | Vancomycin | 2 | 4-8 | 16 |
| | Teicoplanin | 8 | 16 | 32 |
| | Linezolid | 4 | | 8 |
| | Tigecycline (EUCAST, BMD) | 0.5 | | 1 |
| EFA EFM | Vancomycin (24hr incubation) | 4 | 8-16 | 32 |
| | Teicoplanin | 8 | 16 | 32 |
| | Linezolid | 2 | 4 | 8 |
| | Tigecycline (EUCAST, BMD) | 0.25 | 0.5 | 1 |

감시체계 운영 지침서 -2

권역별 감시체계 연구지침

균주 수집 및 보관 지침

문서 번호: 1-2

작성일: 2016.05.04

1. 대상 수집 균주

1) 균주 수집 원칙 (중복 분리주 제외)

가) 감시 기간 내에 동일 환자의 중복 검체에서 분리된 균주는 첫번째 균주만 수집: 2016년 5월-12월

사이에 A 환자가 5회의 혈액 배양을 시행하여 *E. coli* 가 2번 나온 경우는 첫번째 균주만 수집

나) 한 환자의 중복 검체에서 다른 균종이 분리되는 경우: 균주 수집

다) 한 환자에서 동일 균주가 다른 검체에서 각각 배양될 경우: 균주 수집

2) 대상 검체 및 균종

| 균종 | 검체 |
|----------------------------|--|
| Blood | <i>S. aureus</i> |
| | <i>S. pneumoniae</i> |
| | <i>E. faecalis, E. faecium</i> |
| | <i>E. coli</i> |
| | <i>K. pneumoniae</i> |
| | <i>P. aeruginosa</i> |
| | <i>A. baumannii</i> |
| | <i>Salmonella</i> spp. (<i>S. Typhi</i> 포함), <i>Shigella</i> spp. |
| CSF | <i>Yeast</i> (모든 효모형 진균, 중복 분리주 포함) |
| | <i>S. pneumoniae</i> |
| Urine (추가 기준 참조) | <i>E. coli</i> |
| | <i>K. pneumoniae</i> |
| Stool | <i>Salmonella</i> spp. (<i>S. Typhi</i> 포함), <i>Shigella</i> spp. |
| Urethral or Cervical swabs | <i>N. gonorrhoeae</i> |

3) Urine 수집 기준

가) 1개 균종 증식: $\geq 10,000 (10^4)$ CFU/mL 이상인 경우 *E. coli*, *K. pneumoniae* 수집

나) 2개 균종 증식: $\geq 100,000 (10^5)$ CFU/mL 이상인 *E. coli*, *K. pneumoniae* 만 수집

Ex. 1: *E. coli* 100,000 CFU/mL, *K. pneumoniae* 10,000 CFU/mL → *E. coli* 만 수집

EX. 2: *E. coli* 10,000 CFU/mL, *E. faecium* 100,000 CFU/mL → 수집 균주 없음

다) 3개 균종 이상 증식: 증식 정도에 관계 없이 수집 균주 없음

라) Catheter 분리 균주는 제외: Foley catheter 분리 균주 제외 (Nelaton 같은 straight catheter 는 포함)

권역별 감시체계 연구지침

2. 균주 보관

1) 균주별 일련번호 부여

| 의료기관 기호 - 연도 - 월 - 균종 - 일련번호-검체 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|-----------------------------------|--------------------------------|-------------|-------------------------|---------------------------|-------------------------------|-----------------------------|----------------------------|-------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|------------------------------|--------------------------------|---------------|-------------|-----------|-------------|-------------|-------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> • 의료기관 기호: 의료기관 별로 암호화하여 재 배정 예정 • 연도: 2 자리 숫자 • 균종 기호 <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td>a) <i>S. aureus</i>: SAU</td> <td>b) <i>S. pneumoniae</i>: SPN</td> <td>c) <i>E. faecalis</i>: EFA</td> </tr> <tr> <td>d) <i>E. faecium</i>: EFM</td> <td>e) <i>E. coli</i>: ECO</td> <td>f) <i>K. pneumoniae</i>: KPN</td> </tr> <tr> <td>g) <i>P. aeruginosa</i>: PAE</td> <td>h) <i>Acinetobacter</i> spp.: ACI</td> <td>i) <i>Salmonella</i> spp.: SAL</td> </tr> <tr> <td>j) <i>Shigella</i> spp.: SHI</td> <td>k) <i>N. gonorrhoeae</i>: NGO</td> <td>l) Yeast: YST</td> </tr> </table> • 일련번호: 3 자리 숫자 (<u>수집년도별로 일련번호 사용</u>) • 검체 기호 <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td>a) Blood: B</td> <td>b) CSF: C</td> <td>c) Urine: U</td> <td>d) Stool: F</td> <td>e) Urethral/cervical: S</td> </tr> </table> • Ex. 강남세브란스병원에서 2016년 5월에 혈액 분리된 3 번째 황색포도알균: A16SAU001B | | | | | a) <i>S. aureus</i> : SAU | b) <i>S. pneumoniae</i> : SPN | c) <i>E. faecalis</i> : EFA | d) <i>E. faecium</i> : EFM | e) <i>E. coli</i> : ECO | f) <i>K. pneumoniae</i> : KPN | g) <i>P. aeruginosa</i> : PAE | h) <i>Acinetobacter</i> spp.: ACI | i) <i>Salmonella</i> spp.: SAL | j) <i>Shigella</i> spp.: SHI | k) <i>N. gonorrhoeae</i> : NGO | l) Yeast: YST | a) Blood: B | b) CSF: C | c) Urine: U | d) Stool: F | e) Urethral/cervical: S |
| a) <i>S. aureus</i> : SAU | b) <i>S. pneumoniae</i> : SPN | c) <i>E. faecalis</i> : EFA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| d) <i>E. faecium</i> : EFM | e) <i>E. coli</i> : ECO | f) <i>K. pneumoniae</i> : KPN | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| g) <i>P. aeruginosa</i> : PAE | h) <i>Acinetobacter</i> spp.: ACI | i) <i>Salmonella</i> spp.: SAL | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| j) <i>Shigella</i> spp.: SHI | k) <i>N. gonorrhoeae</i> : NGO | l) Yeast: YST | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| a) Blood: B | b) CSF: C | c) Urine: U | d) Stool: F | e) Urethral/cervical: S | | | | | | | | | | | | | | | | | |

2) 보관방법

가) 2 개의 skim milk 배지에 접종: 가급적 혈액한천 배지 증식 균주 보관

나) 제작한 skim milk 배지는 deep freezer에 보관하고 매월 1 일과 16 일에 1 개를 주관기관으로 송부하고, 남은 1 개는 지속적으로 보관 시행(주말, 휴일시는 다음 근무일 발송)

3. 균주 운송

1) 시기: 매월 1 일과 16 일에 주관 기관으로 발송(주말, 휴일시는 다음 근무일 발송)

2) 주소: 서울특별시 역삼 2 동 786-18 강남의생명연구센터 301 호 유하나 연구원 |

3) 방법: 감염성 물질의 운송 기준에 적합하게 3 중 포장하여 드라이아이스 박스에 넣어서 운송 (SCL, 담당자

연락처)

권역별 감시체계 연구지침

| 병원명 | 실무자 이름 | 실무자 연락처 | 담당 지사 (SCL) | 직급 | 이름 | 휴대전화 번호 |
|-----------|--------|---------|-------------|----|-----|---------|
| 강남 세브란스병원 | | | 서울강남 | 사원 | 박희조 | ***** |
| 부산백병원 | | | 부산중부 | 과장 | 김동규 | |
| 전남대학교병원 | | | 광주 | 대리 | 김소빈 | |
| 일산병원 | | | 일산 | 대리 | 윤순현 | |
| 충북대학교병원 | | | 청주 | 소장 | 이영호 | |
| 원주기독병원 | | | 영서 2 | 주임 | 박원희 | |

감시체계 운영 지침서 -3

권역별 감시체계 연구지침

정도 관리 지침 (동정, 항균제 감수성, 분주 및 보관)

문서 번호: 3-1

작성일: 2016.04.28

1. 정도관리의 기본 원칙

- 1) 정도 관리는 실험이 올바로 이루어졌는지를 확인할 수 있는 가장 기본적인 방법
- 2) 정도 관리는 모든 실험에서 필요 (항균제 감수성 시험, PCR 등)
- 3) 실험에 필요한 구성 요소 중 변경이 있으면 정도 관리로 확인 (시약 회사 변경, lot 번호 변경 등)
- 4) 정도 관리 결과가 예상되는 결과와 다를 경우는 즉시 보고
- 5) 모든 정도 관리 결과는 기록하여 남김

2. Mueller-Hinton 한천 배지 정도 관리

- 1) 시행 시기: 새로운 MHT 배지 입고
- 2) 시행 방법
 - 가) 기본적인 시행 방법은 일반 세균의 디스크 확산법과 동일하며, 정도 관리 균주를 일반 시험균주처럼 시험
나) 정도관리 균주: *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 2592
다) 억제대 지름이 해당 범위에 들지 않으면 즉시 보고

3. 디스크 확산법의 정도관리

- 1) 시행 시기
 - 가) 항균제 디스크 또는 Etest 스트립이 새로 입고되는 경우
나) Muller-Hinton 한천 배지가 새로 입고되는 경우
- 2) 시행 방법
 - 가) 기본적인 시행 방법은 일반 세균의 디스크 확산법과 동일하며, 디스크 확산법 검사 시에 정도 관리 균주를 일반 시험균주처럼 포함시켜 시험
나) 정도관리 균주
 - 가) *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*: *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853
 - 나) *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. faecium*: *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212
 - 다) 억제대 지름 또는 MIC 가 해당 범위에 들지 않으면 즉시 보고

권역별 감시체계 연구지침

4. 한천 희석법의 정도관리

1) 시행 시기: 모든 시험

2) 시행 방법

가) 한천 희석법 시험 균주에 정도 관리 균주를 시험 균주처럼 포함시키고 한천 희석법 수행

나) 정도 관리 균주: *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853

다) 억제대 지름 또는 MIC 가 해당 범위에 들지 않으면 즉시 보고

4. PCR/Real time PCR 정도 관리

1) 시행 시기: 모든 실행 시기 (Every run)

2) 시행 방법: 양성 대조 및 음성 대조를 실험 검체처럼 포함시켜 검사 수행

가) 양성 대조: 해당 유전자 양성 균주 DNA

나) 음성 대조: 종류수

다) 양성 대조가 음성이거나 음성 대조가 양성이면 즉시 보고

권역별 감시체계 연구지침

| Antibiotics | Range | | | |
|-------------------------|------------|-----------|------------|-----------|
| | ECO 25922 | PAE 27853 | SAU 25923 | EFA 29212 |
| Amikacin | 19-26 | 18-26 | 20-26 | |
| Ampicillin | 15-22 | | 27-35 | |
| Ampicillin-sulbactam | 32-38 | 24-30 | | |
| Aztreonam | 28-36 | 23-29 | | |
| Cefazolin | 21-27 | | 29-35 | |
| Cefepime | 31-37 | 24-30 | 23-29 | |
| Cefotaxime | 29-35 | 18-22 | 25-31 | |
| Cefoxitin | 23-29 | | 23-29 | |
| Ceftazidime | 25-32 | 22-29 | 16-20 | |
| Ciprofloxacin | 30-40 | 25-33 | 22-30 | |
| Clindamycin | | | 24-30 | |
| Colistin | 11-17 | 11-17 | | |
| Ertapenem | 29-36 | 13-21 | 24-31 | |
| Erythromycin | | | 22-30 | |
| Gentamicin | 19-26 | 17-23 | 19-27 | |
| Gentamicin-HL | | | | 16-23 |
| Imipenem | 26-32 | 20-28 | | |
| Meropenem | 28-34 | 27-33 | 29-37 | |
| Minocycline | 19-25 | | 25-30 | |
| Mupirocin (200ug) | | | 29-38 | |
| Piperacillin | 24-30 | 25-33 | | |
| Piperacillin-tazobactam | 24-30 | 25-33 | 27-36 | |
| QDA | | | 21-28 | |
| Streptomycin-HL | | | | 14-20 |
| SXT | 23-29 | | 24-32 | |
| Tetracycline | 18-25 | | 24-30 | |
| Tigecycline (EUCAST) | 20-27 | 9-13 | 20-25 | |
| Tobramycin | 18-26 | 20-26 | 19-29 | |
| Vancomycin (Etest) | | | 0.5-2 | 1-4 |
| Teicoplanin (Etest) | | | 0.25-1 | 0.25-1 |
| Linezolid (Etest) | | | 1-4 | 1-4 |
| Tigecycline (Etest) | 0.03-0.25 | | 0.03-0.25 | 0.03-0.12 |
| Imipenem (AD) | 0.06-0.25 | 1-4 | 0.015-0.06 | 0.5-2 |
| Meropenem (AD) | 0.008-0.06 | 0.25-1 | 0.03-0.12 | 2-8 |
| Colistin (AD) | 0.25-2 | 0.5-4 | | |

감시체계 운영 지침서 -4

균주 점검 양식 (20 년 월 1 / 2 차)

| 균종 | 1 차 수집완료 | 기본분석 완료 | 기본분석 제외 | 특성화분석 완료 | 특성화분석 제외 | 발송 완료 |
|------------------------|----------|---------|---------|----------|----------|-------|
| <i>S. aureus</i> | | | | | | |
| <i>E. faecalis</i> | | | | | | |
| <i>E. faecium</i> | | | | | | |
| <i>E. coli</i> | | | | | | |
| <i>K. pneumoniae</i> | | | | | | |
| <i>P. aeruginosa</i> | | | | | | |
| <i>A. baumannii</i> | | | | | | |
| <i>Salmonella spp.</i> | | | | | | |
| <i>Shigella spp.</i> | | | | | | |
| <i>S. pneumoniae</i> | | | | | | |
| <i>N. gonorrhoeae</i> | | | | | | |
| Total | | | | | | |

수집 군주 제외 사유 (20 년 월 1 / 2 차)

| 번호 | 군주 번호 | 제외 사유 | | | | 수집 기관 feedback 확인 | 수집기관 연락일 |
|----|-------|-----------|----|-------|----|----------------------|-------------|
| | | No growth | 오염 | 동정 오류 | 기타 | | |
| 1 | | | | | | | |
| 2 | | | | | | | |
| 3 | | | | | | | |
| 4 | | | | | | | |
| 5 | | | | | | | |
| 6 | | | | | | | |
| 7 | | | | | | | |
| 8 | | | | | | | |
| 9 | | | | | | | |
| 10 | | | | | | | |
| 11 | | | | | | | |
| 12 | | | | | | | |
| 13 | | | | | | | |
| 14 | | | | | | | |
| 15 | | | | | | | |
| 16 | | | | | | | |
| 17 | | | | | | | |
| 18 | | | | | | | |
| 19 | | | | | | | |
| 20 | | | | | | | |

운영 위원회 회의록-2016.06.23

종합병원 항균제내성 내성 감시체계 (GLASS Korea) 1 차 운영회의

일시: 2016년 6월 23일 (목) 오후 6시

장소: 서울역 회의실

참석자: 정석훈, 이혁민, 윤은정, 박소영, 신정환, 원은정, 신경섭, 어영, 김종인

1. 보고 사항

- 1) 2016년 5월 결과 보고 및 검토
- 2) 균주 수집 문제 점검
 - 가) 균주의 오염: 10 균주 오염
 - a. 다른 균종 오염: 수집 대상 균종으로 실험 진행
 - b. 동일 균종 도염: 수집 기관에 재 발송 요청 (수집기관 보관 균주), 일부 기관 수집 균주 소실
 - 나) 균주의 동정 오류: 8 균주 동정오류

| 수집 기관 동정 결과 | MALDI-TOF 동정 결과 | 16S rRNA 동정 결과 |
|-------------|---|----------------|
| ECO | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (2.307) | |
| | <i>Morganella morganii</i> (2.339) | |
| | <i>Acinetobacter baumannii</i> (2.191) | |
| | <i>Citrobacter amalonaticus</i> (2.337) | |
| | KPN (2.434) | |
| KPN | <i>Raoultella ornithinolytica</i> (2.158) | |
| | <i>Klebsiella oxytoca</i> (2.349) | |
| | ECO (2.05) | |

1. HA/CA 구분: WHO 기준이 간단하여 재입원 환자의 HA/CA 구분이 어려움
→ 감염관리의 통상적인 기준보다 간단하여 문제가 있을 수 있지만, WHO 기준을 지속적으로 적용하는 것이 중요하므로 현재의 기준을 유지
2. 균종 통정의 문제: MALDI-TOF 통정과 Vitek2 등의 전통적인 통정이 다른 경우
→ 확인을 위해 필요한 경우는 16S rRNA sequencing 등으로 추가 통정하여 수집 병원에 결과 제공

2. 논의 사항

- 1) 국내 항생제 내성 감시체계 대응방안 심포지엄
→ 계획대로 진행하기로 결정함
- 2) 균주 보관용 초저온 냉동고 문제
→ 현재 3개 병원 모두 냉동고에 문제가 있으며, 강력하게 항의하여 AS를 받을 수 있도록 조치를 취할 예정임
- 3) 향후 운영 방안: 2017년 사업 소개
→ 2017년 사업은 3년과제로 11월에 공고되어 2월에 계약을 완료하여 사업의 공백은 없을 예정

→ 2017년에는 12억의 사업으로 확대되어 전국 11/12개 병원을 대상으로 사업 시행 예정.

→ 공동연구 네트워크로 발전시켜서 필요한 균주의 수집 및 공동연구 활성화 도모

4) 기타 문제점: 수집 기관

국내 항생제 내성 감시 체계 및 대응 방안 심포지엄

일시: 2016년 9월 21일 (수)

장소: 서울 강남세브란스 병원 (본관 2동 3층 중강당)

08:45 - 09:15 등록

09:15 - 09:30 개회식 국립보건연구원장

주제: 국내외 항생제 내성 대책 및 감시 계획 좌장:()

09:30 - 10:00 WHO 항생제 내성 관리 WHO 연자

10:00 - 10:30 주요 국가의 국가행동계획 소개 WHO 연자

10:30 - 11:00 국가 항생제 내성 관리 대책 질병관리본부 간염병관리과

11:00 - 11:20 (기념촬영 및 coffee break)

주제: 국내 항생제 내성 감시체계 현황 좌장:()

11:20 - 11:45 KONIS 소개 질병관리본부 감염병감시과

11:45 - 12:10 항생제 내성균 실험실 감시 (KARMS, 종합병원, 요양병원 등) 약제내성과

12:10 - 12:35 종합병원 내성 감시 연세대 정석훈 교수

12:35 - 13:30 (중식)

주제: One-Health 좌장: 박용호 교수

13:30 - 14:00 반려동물의 항생제 내성 현황 (박용호 교수님 추천)

14:00 - 14:30 축산분야의 항생제 내성 현황 농림축산검역본부 임숙경 연구관

14:30 - 15:00 환경/식품분야의 항생제 내성 현황 고려대 우건조 교수

15:00 - 15:20 (Coffee break)

주제: 항생제 내성균의 특성 좌장: 이경원 교수

15:20 - 15:50 항생제 내성 황색포도알균 서울내 김홍빈 교수

15:50 - 16:20 카바페넴 내성 ABA/PAE 연세대 윤은정 박사

16:20 - 16:50 카바페넴 내성 장내세균 질병관리본부 약제내성과

16:50 - 17:20 항생제 내성 살모넬라 인제대 신정환 교수

17:20 - 17:50 국내 임균 내성 실태 및 특성 연세대 이혁민 교수

17:50 - 18:00 폐회

* 각 순서 5분 질의 포함

* 한국어 발표, 슬라이드 자료는 영어

운영 위원회 회의록-2016.11.11

2016년 다제내성균 감시사업 자문&운영 회의록

일시: 2016.11.11.(금) 16:00~18:00

장소: 부산 씨클라우드호텔 25층 회의실

참석자: 별첨

I. 보고 내용: 별첨된 파일 참조

1. 국내 종합병원 다제내성균 조사 및 특성분석 사업내용 검토
 - 1) 2016년 5-8월 데이터 중간 분석 검토
 - 2) 균주수집 (2016년 5-9월)
 - 가) 그람양성 알균: SAU 257주, EFA 74주, EFM 91주, SPN 7주
 - 나) 그람음성 막대균: ECO 3691주 (Blood 723주, urine 2968주), KPN 796주 (Blood 269주, urine 527주), PAE 67주, ACI 111주, SAL 78주
 - 3) 그람양성 알균
 - 가) SAU: CA:HA=1.08:1, MRSA 비율 (CA, 39%; HA 70%), PVL 양성을 6주, ST5 (28%)
 - 나) EFA: CA:HA=0.93:1, VRE 분리 음성, ST28 (19%)
 - 다) EFM: CA:HA=0.32:1, VRE (CA, 17%; HA 39%), ST17 (27%)
 - 4) 그람음성 막대균
 - 가) ECO: CA:HA=4.49:1, ESBL 양성을 31.9%, PABL 양성을 3.8%, ST131 (26%)
 - 나) KPN: CA:HA=1.89:1, ESBL 양성을 23.3%, PABL 양성을 4.7%, ST23 (15%)
 - 다) PAE: CA:HA=1.08:1, IPM 내성을 24%, IMP-6 ST235
 - 라) ACI: CA:HA=0.14:1, ST92

2. 결과 Data 요약하여 11월 18일 차기년도 사업 선정발표- 15분 분량으로 압축 제안

II. 논의 및 결정 사항

1. GLASS 사업 차기년도 진행
 - 1) 다년도 과제로 진행
 - 2) 참여 병원6개병원-> 8개 병원 확대
2. 균주수집병원 참여병원 확대
 - 1) 기존 6개병원
 - 2) 추가 2개 병원: 평촌성심병원 (경기남부), 제주대학병원 (제주)

-> 자문&운영위원: 적절하다고 판단
3. 내성기전에 대한 분석센터 추가
 - 1) EFA/EFM: 분당서울대병원 (박경운)
 - 2) PAE: 한림의대 동탄성심병원 (김현수), 자문위원회 건의 (송원근)
 - 3) 1차년도는 기존대로 주관기관 시행, 2차년부터 추가기관 시행
4. 홈페이지 구축 및 운영 (GLASS Korea)

2016년 질병관리본부 전국 대형병원 다제내성감시체계 자문&운영위원회

일시 : 2016년 11월 11일 (금) PM 16:00~

장소 : 부산 씨클라우드 호텔

자문 위원회 회의록

2016년 GLASS Korea (종합병원 다제내성균 감시체계) 1차 자문회의 논의 사항

2016.05.18

참석자

운영위원: 정석훈, 김영아, 박소영, 신경섭, 신종희, 신정환, 유길성, 윤은정, 이혁민

주관부서: 박찬, 이광준, 김화수, 김종인

자문위원: 노경호, 박연준, 박윤수, 송원근, 염준섭, 이광준, 장원종, 장인호

장소: 서울역 지하 2층 명가의 뜰

1. 연구 공백 방지 대안 필요

- 1) GLASS에서는 1년간의 자료를 요구하는데 매년 연구계약을 하게되면 계약 종료 시점에 수집된 균주들은 분석이 불가능
- 2) 2016년 연구 과제가 5월에 계약이 되어 9개월간 진행 예정이며, 2017년 초반에 연구 공백이 예상됨
- 3) 지속적인 국가 자료 산출을 위해서는 다년도 연속 과제로 진행이 되어야 함

2. 특성 분석 대상 조정

- 1) 예상 연구비 분석 결과: 1주에 15만원이 소요되는 MLST를 모든 수집 균주를 대상으로 시행하게 되면 14억원의 연구비가 필요함.
- 2) 현재의 연구비로는 모든 균주에 대한 특성 분석은 불가능하여 다음과 같이 대상 균주를 정리함
 - 가) 혈액 분리주: 전수
 - 나) 요분리주: Carbapenem 내성 또는 colistin 내성 균주

3. 균주의 전수 확인 검증 필요

- 1) 수집 기관에서 누락된 균주 없이 전수를 수집하였는지에 대한 확인 필요
- 2) 결과 보고서에 수집기관의 연간 분리균주 숫자와 분리 환자 숫자를 포함하여 보고하고, 사례 등으로 연구에서 누락된 균주에 대해서는 사유 및 근거를 기록

4. 균주 수집기관과 주관의 균종 동정 불일치

- 1) 수집 기관에서 보낸 균주와 주관 기관에서 최종 동정한 균주의 균종명이 다를 경우 대책 필요
- 2) 현재의 운영 지침에서는 동정 불일치 균주에 대해서 수집 기관에 문의를 하도록 규정하고 있으며, 불일치 균주에 대해서는 수집 기관에서도 재동정하여 상호 자료를 비교하도록 함
- 3) 불일치 균주는 운영 위원회에서 평가하여 데이터 포함 여부를 결정하거나 균주를 기록은 하되 데이터에서는 제외하기로 함

5. 균주 운송

- 1) 운송 과정 중의 온도 기록 필요
- 2) 온도 기록지를 포함하여 균주를 발송하고, 인수인계할 때마다 박스 상단의 온도를 온도 기록지에 표기

WHO 심포지엄 초록집 1권 (책자 추후제출)

질병관리본부 제출 월간 데이터 (원본 추후 제출)

※ 주의 내용

주 의

1. 이 보고서는 질병관리본부에서 시행한 학술연구개발용역과제의 연구 결과점검보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 질병관리본부에서 시행한 학술연구개발용역과제의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.