creative commons

COMMONS DEED

저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:

저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.

변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

[UCI]I804:24011-200000266573

2018년 2월

박사학위논문

국내 *Acinetobacter* 임상분리주의 *adeG, adeB, adeE, adeY, abeM* 및 *adeJ* 유출펌프 유전자의 분포

조선대학교 대학원

의 학 과

최 인 선

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

국내 *Acinetobacter* 임상분리주의 *adeG*, *adeB*, *adeE*, *adeY*, *abeM* 및 *adeJ* 유전자의 분포

Distribution of *adeG*, *adeB*, *adeE*, *adeY*, *abeM*, and *adeJ* Efflux Pump Genes in Clinical Isolates of *Acinetobacter* species from Korea

2018년 2월 23일

조선대학교 대학원

의 학 과

최 인 선

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

국내 *Acinetobacter* 임상분리주의 *adeG*, *adeB*, *adeE*, *adeY*, *abeM* 및 *adeJ* 유전자의 분포

지도교수 장 숙 진

이 논문을 의학 박사학위신청 논문으로 제출함.

2017년 10월

조선대학교 대학원

의 학 과

최 인 선

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

최인선의 박사학위논문을 인준함.

위원장	조선대학교	교수	문 대 수 인
위 원	전남대학교	교수	신 종 희 인
위 원	조선대학교	교수	박 건 인
위 원	조선대학교	교수	강 성 호 인
위 원	조선대학교	교수	장 숙 진 인

2017년 12월

조선대학교 대학원

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

ABSTRACT

Distribution of *adeG*, *adeB*, *adeE*, *adeY*, *abeM*, and *adeJ* Efflux Pump Genes in Clinical Isolates of *Acinetobacter* species from Korea

Choi, In Sun.

Advisor: Prof. Sook Jin Jang, M.D., Ph.D

Dept of Medicine

Graduate School of Chosun University

Background: *Acinetobacter* such as *Acinetobacter baumannii* has become a common opportunistic pathogen in hospital. Drug efflux is one of the major mechanisms of antimicrobial resistance in *A. baumannii*. Increased expression of chromosomal genes for efflux systems plays a major role in multidrug resistance (MDR). The aim of present study was to determine the frequency of six efflux pump genes in *Acinetobacter* clinical isolates collected from South Korean hospitals.

Materials and methods: The total of 339 *Acinetobacter* strains used in this study consisted of 279 *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* complex (ABC) and 60 non-ABC *Acinetobacter* strains. The ABC consisted of 154 *A. baumannii*, 94 *Acinetobacter nosocomialis*, 7 *Acinetobacter calcoaceticus*, and 24 *Acinetobacter pittii*. The 154 strains of *A. baumannii* consisted of 68 strains obtained from the various regions of Korea in 2012 and 86 strains obtained at Chosun University Hospital for 5 years. We identified ABC to the species level using *gyrB* multiplex PCR 1 and 2 method and *Acinetobacter* species-specific PCR method. *A. baumannii* was identified using *gyrB* multiplex 1 PCR and $bla_{\text{OXA51-like}}$PCR. The 60 non-ABC *Acinetobacter* strains were identified using *rpoB* sequencing analysis. We performed specific PCR assays to detect *adeG*, *adeB*, *adeE*, *adeY*, *abeM*, and *adeJ* which are respective transporter genes of the multidrug

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

efflux pump AdeFGH, AdeABC, AdeDE, AdeXYZ, AbeM and AdeIJK. The distribution of *adeG*, *adeB*, *adeE*, *adeY*, *abeM*, and *adeJ* was investigated according to the *Acinetobacter* species, MDR status, susceptibility to imipenem or ciprofloxacin, and collection time and region of *Acinetobacter* strains.

Results: Frequency of six efflux pump genes of *adeG*, *adeB*, *adeE*, *adeY*, *abeM*, and *adeJ* showed significant difference among 14 groups of *Acinetobacter* species. The frequency of efflux pump gene in *A. baumannii* group and *A. nosocomialis* group were 13.6% and 72.3% (p<0.0001) for *adeE*, 95.5% and 24.5% (p<0.0001) for *abeM*, and 98.1% and 79.8% (p<0.0001) for *adeJ*, respectively. The frequency of *adeB*, *adeE*, *adeY*, and *adeJ* showed significant difference among the SAB, MDRAB, and XDRAB groups of 154 strains of *A. baumannii*. Comparison pairs showing statistically significant differences (P<0.05) by Chi-square test were as follows: SAB vs. MDRAB (73.8 vs. 96.7%, respectively; p=0.003) and SAB vs. XDRAB (73.8 vs. 92.2%, respectively; p=0.040) in *adeB*; MDRAB vs. XDRAB (1.6 vs. 25.5%, respectively; p=0.001) in *adeE*; SAB vs. MDRAB (21.4 vs. 1.6%, respectively; p<0.0001) and SAB vs. XDRAB (21.4 vs. 2.0%, respectively; p<0.001) in *adeY;* SAB vs. MDRAB (92.9 vs. 100%, respectively; p=0.029) and SAB vs. XDRAB (92.9 vs. 100%, respectively; p=0.038) in *adeJ*. The frequency of efflux pump gene in imipenem-susceptible and imipenem-nonsusceptible group was significantly different for *adeE* (77.1 vs. 94.3%%, respectively; p=0.002), for *adeY* (18.8 vs. 1.9%, respectively; p<0.0001), and for *adeJ* (93.8 vs. 100%, respectively; p=0.010). The frequency of efflux pump gene in ciprofloxacin-susceptible and ciprofloxacin-nonsusceptible group were significantly different for *adeB* (75.6 vs. 93.8%, respectively; p=0.003), and for *adeY* (22.0 vs. 1.8%, respectively; p<0.0001). No significant difference was found in the frequency of all efflux pump genes among groups of collection regions of Korea of 86 strains of *A. baumannii* collected in 2012. The frequency of 6 efflux pump genes of 86 strains of *A. baumannii* collected from Chosun University Hospital was compared according to the group of the year, season, and month of collection, respectively. The frequency of *adeG* and *adeE* showed significant difference among 5 groups of collection year. The frequency of *adeY* showed significant difference among 4 groups of collection season of those strains. The frequency of *adeG*, *adeE*, *adeY*, and *abeM* efflux pump genes showed significant difference among 12 groups of collection month of those strains.

Conclusion: The frequency of six efflux pump genes of *adeG*, *adeB*, *adeE*, *adeY*, *abeM* and *adeJ* showed

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

significant difference among 14 group of *Acinetobacter* species of 339 strains of *Acinetobacter* clinical isolates from Korean hospitals. It seems to be that *adeB* and *adeJ* may be related to the antimicrobial resistance of *A. baumannii*. These findings would be beneficial for epidemiologic study of MDR *Acinetobacter* species related to efflux pump resistance mechanism in Korea.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

목 차

표 목 차 X

ABSTRACT V

Ⅰ. 서 론 ..... - 1 -

Ⅱ. 재료 및 방법 ..... - 3 -

A. 연구 대상 균주 ..... - 3 -

B. 항생제 감수성 검사 ..... - 3 -

C. 대상 균주의 배양과 genomic DNA 추출 ..... - 4 -

D. *Acinetobacter* 균종 동정 방법 ..... - 5 -

E. 유출 펌프 유전자 검출을 위한 PCR 분석 ..... - 5 -

F. 균주 군별 유출 펌프 유전자의 양성률 분석 ..... - 6 -

G. 통계적 분석 방법 ..... - 7 -

Ⅲ. 결 과 ..... - 7 -

A. *Acinetobacter* 균종별 유출펌프 유전자의 양성률 ..... - 7 -

B. 항생제 감수성검사 결과에 따라 분류한 군별 유출펌프 유전자 양성률 비교 ..... - 8 -

C. 균주 수집지역별 유출펌프 유전자 양성률 비교 ..... - 10 -

D. 균주 수집 시기별 유출펌프 유전자 양성률 비교 ..... - 10 -

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

Ⅳ. 고 찰 ..... - 12 -

Ⅴ. 결 론 ..... - 20 -

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

표 목 차

TABLE 1. Primers used in this study ..... - 26 -

TABLE 2. Frequency of six efflux pump genes of *adeG, adeB, adeE, adeY, abeM*, and *adeJ* according to various species of *Acinetobacter* of 339 *Acinetobacter* clinical isolates ..... - 27 -

TABLE 3. Frequency of six efflux pump genes of *adeG, adeB, adeE, adeY, abeM*, and *adeJ* of 154 *Acinetobacter baumannii* and 94 *Acinetobacter nosocomialis* clinical isolates ..... - 28 -

TABLE 4. Distribution of strains containing each efflux pump genes of *adeG, adeB, adeE, adeY, abeM, and adeJ* simultaneously among 154 *Acinetobacter baumannii* and 94 *Acinetobacter nosocomialis* clinical isolates ..... - 29 -

TABLE 5. Frequency of six efflux pump genes of *adeG, adeB, adeE, adeY, abeM, and adeJ* of three groups of susceptible *A. baumannii* (SAB), multidrug-resistant *A. baumannii* (MDRAB), and extensively drug-resistant *A. baumannii* (XDRAB) groups of 154 *Acinetobacter* clinical isolates ..... - 30 -

TABLE 6. Frequency of six efflux pump genes of *adeG, adeB, adeE, adeY, abeM, and adeJ* according to susceptible (S) and non-susceptible (NS) group to imipenem (IPM) or ciprofloxacin (CIP) of 154 *Acinetobacter baumannii* clinical isolates ..... - 31 -

TABLE 7. Frequency of six efflux pump genes of *adeG, adeB, adeE, adeY, abeM, and adeJ* according to seven regions of seoul, gyeonggi-

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

do, chungcheongbuk-do, chungcheongnam-do, jeollabuk-do, jeollanam-do, gyeongsangbuk-do region of 90 *Acinetobacter baumannii* clinical isolates collected in 2012 ..... - 32 -

TABLE 8. Frequency of six efflux pump genes of *adeG, adeB, adeE, adeY, abeM, and adeJ* according to the year of isolation of 86 *Acinetobacter baumannii* clinical strains collected in Chosun university hospital of Gwangju, South korea ..... - 33 -

TABLE 9. Frequency of six efflux pump genes of *adeG, adeB, adeE, adeY, abeM, and adeJ* according to the season of isolation of 86 *Acinetobacter baumannii* clinical strains collected in Chosun university hospital of Gwangju, South korea..... - 34 -

TABLE 10. Frequency of six efflux pump genes of *adeG, adeB, adeE, adeY, abeM, and adeJ* according to the month of isolation of 86 *Acinetobacter baumannii* clinical strains collected in Chosun university hospital of Gwangju, South korea ..... - 35 -

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

I. 서 론

Acinetobacter, 특히 *Acinetobacter baumannii*는 그람 음성 구간균으로 전세계적으로 폐렴과 요로감염, 혈류감염 및 피부와 연조직 감염 등의 기회감염을 일으키는 병원감염균이다. *A. baumannii*는 다양한 항생제에 내성을 나타내는 경향이 있고 전약제 내성을 나타내 치료제 선택이 어려운 균도 있어 공중보건에 있어서 주요한 문제가 되고 있다[1].

약제내성의 효과적인 기전중 하나인 유출펌프 내성은 많은 세균종들에서 발견되어 왔다. 유출펌프계가 과다발현되면 세균내에서 항생제 축적량이 감소되므로 내성을 나타내게 된다[1]. 항생제의 경우, 유출펌프가 현재 감염질환 치료에 사용중인 약제에 대한 내인성 및 획득성 내성에서 주요한 역할을 하고 있다[2]. 유출펌프의 분포를 파악하는 것이 역학적 연구의 기본자료로서 중요하지만 국내 분리 균주를 대상으로 한 유출펌프 유전자의 양성률에 대해서는 아직 연구나 보고가 드문 실정이다.

약제내성에 연관된 5종의 유출펌프계 상과(superfamilies)에는 다음 항목들이 포함되어 있다: 즉 ATP-binding cassette (ABC) transporters, small multidrug resistance (SMR)와 multidrug and toxic compound extrusion (MATE) families, major facilitator superfamily (MFS), 및 resistance-nodulation-cell division (RND)이다[1]. 다수의 항생제에 대한 감수성이 유의하게 감소하는데 유출펌프 내성이 기여한다. 특히 RND 형 유출펌프가 과다발현되었을 때 이러한 다약제내성이 흔히 나타난다[3]. Tetracycline transporters와 같이 소수의 항생제에 대한 내성을 부여하는 단일성분의 유출펌프계와는 대조적으로 RND systems은 내막단백질(inner membrane protein, RND pump)을 외막요소(outer membrane factor, OMF)와 연결해주는 다약제 운송체(multidrug transporter)의 3성분으로 구성되어 있어서 구조적으로 관련되지 않은 넓은 범위의 기질들을 배출해낼 수 있다. 다약제 운송체가 내막과 외막을 둘다 통과하게 해주기

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

때문에 RND 유출펌프계는 그람음성세균에게 다제내성을 부여하는데 임상적으로 가장 관련성이 높은 유출펌프계이다. RND 형 유출펌프로 AdeABC와 AdeIJK, AdeFGH, AdeXYZ 및 AdeDE가 소개되어 있으며 이들 각 펌프의 다약제 운송체를 인코딩하고 있는 유전자는 각각 *adeB*와 *adeJ*, *adeG*, *adeY* 및 *adeE*이다 [1]. AbeM은 MATE family의 일원으로서 aminoglycosides와 fluoroquinolones, chloramphenicol, trimethoprim, ethidium bromide 및 염료 등을 배출한다[1]. AbeM은 fluoroquinolones과 imipenem에 대한 내성을 부여하는 것으로 보고되었다 [4]. AdeABC과 AdeIJK, AdeFGH, AbeM, 및 AdeDE와 같이 임상적 관련성이 높은 주요 유출펌프들은 기질 특이성이 넓으며 모두 *A. baumannii*에서 동정되었다[5].

본 연구의 목적은 한국에서 분리된 임상분리주가 보유하고 있는 *adeG*와 *adeB*, *adeE*, *adeY*, *abeM* 및 *adeJ*의 6가지 유전자의 빈도를 파악하고 그 빈도가 *Acinetobacter* 균종별, 항생제 감수성 유형별, 지역별, 시기별로 차이가 있는지 조사하는데 있다. *Acinetobacter* 균주들에서 나오는 유전자의 분포를 다각도로 조사한 본 연구결과는 향후 역학적 연구의 비교대상으로 유용하게 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

II. 재료 및 방법

A. 연구 대상 균주

연구대상 균주는 총 345주의 *Acinetobacter* 임상분리주로서 균종 분포는 아래와 같은 14종의 *Acinetobacter* 임상분리주로 구성되었다. 즉 *A. baumannii* 154 (46.4%)주와 *A. nosocomialis* 94 (27.2%)주, *A. pittii* 24 (7.0%)주, *A. berezinae* 21 (6.1%)주, *A. junii* 9 (2.6%)주, *A. ursingii* 9 (2.6%)주, *A. calcoaceticus* 7 (2.0%)주, *A. soli* 6 (1.7%)주, *A. gyllenbergii* 5 (1.4%)주, *A. guillouiae* 3 (0.9%)주, *A. lwoffii* 3 (0.9%)주, *A. johnsonii* 2 (0.6%)주, *A. parvus* 1 (0.3%)주, *A. radioresistens* 1 (0.3%)주이었다. 연구대상 Acinetobacter 균주중에는 이전 연구에서 rpoB 유전자 연쇄분석과 16S rRNA 유전자 연쇄분석 등 분자생물학적 방법을 사용하여 균종 수준까지 동정된 균주들도 일부 포함되었다[6]. 임상분리주 154주의 균주 구성은 조선대학병원에서 2009년부터 2013년까지 5년간 수집된 86 (57.5%)주와 전국 각 지역에서 수집한 68 (42.5%)주로 구성되었다. 각 균주들은 수집된 각 병원의 진단검사의학과 미생물검사실에 의뢰된 배양 검체에서 분리된 *Acinetobacter* 임상분리주로서 사용할 때까지 냉동보관하다가 사용시 계대배양하여 이용하였다.

B. 항생제 감수성 검사

Acinetobacter 균주의 항생제 감수성검사는 VITEK 2 (bioMérieux, Hazelwood, MO, USA)나 Microscan Walkaway (Siemens Healthcare, Sacramento, CA) 자동분석기로 측정하였다. *A. baumannii* 임상분리주 154주는 항생제 감수성 검사 결과에 따라 균주 군을 아래와 같은 3군으로 분류하였다. 즉 감수성군(susceptible *A. baumannii*, SAB), 다제내성군(multidrug-resistant *A. baumannii*, MDRAB), 광범위약제내성군(extensively drug-resistant *A. baumannii* (XDRAB)의 3군이다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

Acinetobacter 균종에서 MDR, XDR 및 PDR을 정의할 때 쓰이는 9종의 항생제 범주(aminoglycosides와 antipseudomonal carbapenems, antipseudomonal fluoroquinolones, antipseudomonal penicillins과 beta-lactamase 저해제 병합제, extended-spectrum cephalosporins, folate pathway inhibitors, penicillins과 beta-lactamase 저해제 병합제, polymyxins, tetracyclines)에 속한 항생제들에 대한 감수성 검사 결과에 따라 MDRAB와 XDRAB를 아래와 같이 구분하였다[7]. 3종 이상의 항생제 범주에 대해, 각 범주에 속해있는 1개 이상의 항생제에 대해 비감수성인 *A. baumannii* 균주를 MDRAB이라고 하였다. 2개 이하의 항생제 범주를 제외한 모든 항생제 범주에서 1개 이상의 항생제에 대해 비감수성인 *A. baumannii* 균주를 XDRAB이라고 하였다. 항생제에 대한 감수성이 높아서 MDRAB의 기준에 맞지 않는 균들은 SAB군에 넣었다. 세 군의 구성은 SAB군 48주(30.0%)와 MDRAB군 48주(38.1%), XDRAB군 48주(31.9%)로 이루어졌다.

또한 *A. baumannii* 임상분리주 154주는 imipenem이나 ciprofloxacin 항생제에 대한 VITEK 2 검사 결과에 따라 각 항생제별로 감수성군과 비감수성군을 분류하여 군별 유출펌프 유전자의 빈도 차이를 비교분석하였다.

C. 대상 균주의 배양과 genomic DNA 추출

Acinetobacter 임상분리주들의 배양을 위해 우선 혈액한천평판(BAP)에 균주를 획선 도말 후, 37℃ 배양기에서 하룻밤 배양한 후, 다음날 형성된 집락을 취해, Luria-Bertani (LB) 한천 배지에 획선 도말 방법으로 계대 배양하여 37℃ 배양기에서 하룻밤 배양하여, 단일 집락을 취했다. 균 접종을 위해 LB broth (Difco™ LB broth, Miller, BD, USA)에 단일 집락을 접종하였으며, 37℃ 진탕배양기에서 220 rpm으로 하룻밤 진탕배양을 하였다. 다음날 새로운 LB broth 10 mL에 진탕배양한 균주 100 μL (1%)를 균 접종 후, 3시간동안 추가로 진탕배양하였다. 3시간 진탕배양 후, 4,000 rpm으로 15분간 원심분리한 후에 얻은 pellet을

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

Phosphate buffer saline 200 μL에 부유하였다. 이를 genomic DNA extraction Kit (Bioneer, Daejeon, Korea)를 사용하여 시약사용설명서에 따라 genomic DNA를 추출하였다. 임상분리주 및 표준균주로부터 추출된 genomic DNA는 PCR의 template DNA로 사용하였다.

D. *Acinetobacter* 균종 동정 방법

Acinetobacter 균주의 균종을 동정하기 위해 VITEX 2 미생물자동분석기로 *Acinetobacter* 속(genus)에 속하는 균종으로 나온 균주들을 아래와 같은 분자생물학적 방법으로 검사하였다[6]. 먼저 ABC에 속한 균종들을 아래의 PCR법을 이용하여 동정하였다. gyrB 유전자 연쇄의 차이를 이용하여 *A. baumannii*와 *A. nosocomialis*를 동시에 검출할 수 있는 gyrB multiplex PCR 1과, *A. calcoaceticus*와 *A. pittii* 균을 동시에 검출할 수 있는 gyrB multiplex PCR 2 검사를 하여 ABC에 속한 균종들을 선별해냈다 [8, 9]. 그런 다음 비-ABC 균종들은 *rpoB* 연쇄분석법으로 동정하였다 [10]. ABC 중 *gyrB* Multiplex 1 PCR 검사 결과 *A. baumannii* 로 나온 균주들에 대해, *A. baumannii* 동정에 널리 사용되고 있는 $bla_{\text{OXA-51-like}}$ PCR [11]을 추가 검사하여 둘 다 양성인 경우 *A. baumannii*로 확정하였다 [6]. *A. calcoaceticus*나 *A. pittii*, *A. nosocomialis*로 동정된 균주들은 각 균종에 대한 종-특이적 PCR검사를 하여 추가확인을 하였다(Table 1)[12]. 비-ABC 균종들을 동정하기 위한 *rpoB* 연쇄분석법은 *rpoB* 유전자를 PCR법으로 증폭한 후 이 등의 방법으로 연쇄분석을 시행하였다[6, 10].

E. 유출 펌프 유전자 검출을 위한 PCR 분석

다약제 유출 시스템인 AdeFGH와 AdeABC, AdeDE, AdeXYZ, AbeM 및 AdeIJK 유출펌프의 운송(transporter) 유전자인 *adeG*와 *adeB*, *adeE*, *adeY*, *abeM* 및 *adeJ* 유전자를 각각 검출하기 위해 각 유출 유전자에 특이적인 PCR 분석을 수행하였다. 각 유전자를 증폭하기 위한 PCR 검사를 위해 본 연구에서 사용된 프라이머와 프라이머 핵산염기서열과 결합온도는 Table 1에

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

제시되어 있다 [8-10, 12-18]. 본 연구에 사용된 프라이머는 Bioneer사(Daejeon, Korea)에 의뢰하여 제작하였다. PCR 반응은 AccuPower® PCR PreMix (Bioneer)와 Veriti™ 96-Well Thermal Cycler (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)를 사용하여 수행하였다.

F. 균주 군별 유출 펌프 유전자의 양성률 분석

유출 펌프 유전자의 PCR 결과에 의거하여 연구대상 *Acinetobacter* 균주들이 *adeG*와 *adeB, adeE, adeY, abeM* 및 *adeJ*의 6가지 유출펌프유전자를 보유하고 있는지 여부를 결정하였다. *adeG*와 *adeB, adeE, adeY, abeM* 및 *adeJ*의 6 가지 유출펌프유전자의 빈도를 다각도로 살펴보기 위해 한국의 여러 병원에서 1년간 수집한 균주와 광주의 한 대학병원에서 5년간 수집한 *Acinetobacter* 균을 대상으로 6가지 유출펌프유전자를 검출한 후 여러 측면에서 군을 나눈 후, 각 군별로 각 유출펌프 유전자의 양성률에 차이가 있는지 비교분석하였다. 먼저 국내에서 분리된 *Acinetobacter* 임상분리주의 균종을 검사한 후 유출펌프 유전자의 양성률이 균종별로 차이가 있는지 조사하였다. *A. baumannii*로 동정된 균주들을 대상으로 균주들의 항생제 감수성검사 결과에 따라 군을 나눈 후 각 군별로 유출펌프 유전자의 양성률에 차이가 있는지 조사하였다. 먼저 항생제 감수성검사 결과에 따라 균주군을 SAB군과 MDRAB군, XDRAB군의 3군으로 나누어 각 군간에 유출펌프 유전자의 양성률에 차이가 있는지 조사하였다. 또한 ciprofloxacin과 imipenem 항생제에 대한 항생제 감수성검사 결과에 따라 균주군을 각 항생제에 대한 감수성군과 비감수성군으로 양분하여 각 군간에 유출펌프 유전자의 빈도에 차이가 있는지도 조사하였다. 또한 유출펌프 유전자의 빈도가 지역별로 차이를 보이는지 알기 위해, 2012년에 한국의 여러 지역에서 수집한 *A. baumannii* 균들의 지역별 빈도를 비교하였다. 그리고 한 병원에서 5년간 수집한 *A. baumannii* 균들이 연도별, 계절별, 월별로 차이를 보이는지 알기 위해 시기별 빈도도 비교하였다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

G. 통계적 분석 방법

비교 대상 군별로 *adeG*와 *adeB, adeE, adeY, abeM, adeJ*의 6가지 유출펌프 유전자의 양성률에 유의한 차이가 있는지 chi-square 분석이나 ANOVA 분석으로 평가하였다. P <0.05일 때 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 판단하였다. SPSS version 22.0(IBM SPSS Inc., New York, USA)를 이용하여 통계 분석하였다.

III. 결 과

A. *Acinetobacter* 균종별 유출펌프 유전자의 양성률

Acinetobacter 임상분리주 339주를 대상으로 *adeG*와 *adeB, adeE, adeY, abeM* 및 *adeJ*의 6가지 유출펌프 유전자의 양성률을 *Acinetobacter* 균종별로 각각 비교한 결과는 Table 2와 같다. 각 유출펌프 유전자의 양성률은 모두 균종 별로 유의한 차이(p<0.001)가 있었다. 검사한 균주 수가 10주 이상인 균종들을 대상으로 6가지 유전자의 양성률을 빈도가 높은 순서대로 보면 다음과 같다. *adeB* 유전자의 양성률이 높았던 균종들은 *A. baumannii* (89.0%), *A. nosocomialis* (89.4%), *A. pittii* (70.8%), *A. berezinae* (47.6%) 의 순이었다. *adeG* 유전자의 양성률이 높았던 균종들은 *A. baumannii* (98.7%), *A. nosocomialis* (94.7%), *A. pittii* (75.0%), *A. berezinae* (61.9%) 의 순이었다. *adeJ* 유전자의 양성률이 높았던 균종들은 *A. baumannii* (98.1%), *A. berezinae* (95.2%) , *A. nosocomialis* (79.8%) , *A. pittii* (56.5%)의 순이었다. *abeM* 유전자의 양성률이 높았던 균종들은 *A. baumannii* (95.6%), *A. pittii* (79.2%) , *A. berezinae* (57.1%), *A. nosocomialis* (24.5%)의 순이었다. *adeE* 유전자의 양성률이 높았던 균종들은 *A. pittii* (75.0%), *A. nosocomialis* (72.3%), *A. berezinae* (47.6%), *A. baumannii* (13.8%)의 순이었다. *adeY* 유전자의 양성률이 높았던 균종들은 *A. pittii* (83.3%), *A.*

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

nosocomialis (10.6%), *A. baumannii* (7.1%)의 순이었다(Table 2). 검사한 전 균주를 대상으로 6가지 유전자의 양성률을 빈도가 높은 순서대로 살펴보면 *adeG* (87.9%)가 가장 높았고 그 다음은 *adeJ* (84.4%), *adeB* (79.9%), *abeM* (64.3%), *adeE* (41.3%), *adeY* (14.2%)의 순이었다.

균종 중 가장 빈도가 높았던 *A. baumannii* 154주와 *A. nosocomialis* 94주를 합한 총 248주를 대상으로 두 균종 간에 6가지 유출펌프 유전자의 양성률에 차이가 있는지 비교해보았을 때 *adeE*와 *abeM*, *adeJ*의 양성률에는 유의한 차이가 있었으나 *adeG*와 *adeB*, *adeY*의 양성률은 두 균종 간에 차이가 없었다(Table 3). *A. baumannii* 군과 *A. nosocomialis* 군에서 *adeE*의 양성률은 각각 13.6%와 72.3% ($p<0.0001$)이었고, *abeM*의 양성률은 각각 95.5%와 24.5% ($p<0.0001$)이었으며, *adeJ*의 양성률은 각각 98.1%와 79.8% ($p<0.0001$)이었다.

A. baumannii 154주와 *A. nosocomialis* 94주가 6가지 유출펌프 유전자중 동시에 함께 보유한 유전자들의 분포 양상을 살펴보았을 때 주된 유출펌프 유전자 분포 양상이 다소 달랐다. *A. baumannii*에서는 *adeG*, *adeJ*, *adeB*, *abeM*가 함께 양성으로 나온 균주가 65.6%로 우세했던 점이 특징적이었다. 반면 *A. nosocomialis*는 *adeG*, *adeJ*, *adeB*, *adeE*가 함께 양성으로 나온 균주가 34.0%이었다. 5% 이상의 균종에서 관찰되는 양상의 종류가 *A. baumannii*에서는 3종류인데 반해 *A. nosocomialis*에서는 6종류로서 *A. baumannii*에 비해 *A. nosocomialis*에서 다양한 양상이 고루 나타났다 (Table 4).

B. 항생제 감수성검사 결과에 따라 분류한 군별 유출펌프 유전자 양성률 비교

총 154주의 *A. baumannii* 임상분리주를 항생제 감수성검사 결과에 따라 SAB군과 MDRAB군, XDRAB군의 3군으로 구분하여 6가지 유출펌프 유전자의 양성률을 비교한 결과는 Table 5와 같다. 세 군간에 *adeB*와 *adeE*, *adeY*, *adeJ* 유전자의 양성률에 유의한 차이가 있었고 *adeG*와

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

*abeM*는 군별로 유의한 차이가 없었다. 군간에 차이가 있었던 유전자를 상세히 보면 *adeB*의 양성률은 SAB군에서 73.8%, MDRAB군에서 96.7%, XDRAB군에서 92.2%로서, SAB군과 MDRAB군(p=0.003)간에, 또한 SAB군과 XDRAB (p=0.040) 군간에 유의한 차이가 있었다. *adeJ*의 양성률은 SAB군에서 92.9%, MDRAB군에서 100%, XDRAB군에서 100%로서, SAB군과 MDRAB군(p=0.029)간에, 또한 SAB군과 XDRAB군(p=0.038)간에 유의한 차이가 있었다. *adeE*의 양성률은 MDRAB군에서 1.6%, XDRAB군에서 25.5%로서, MDRAB군과 XDRAB군(p=0.001)간에만 유의한 차이가 있었다. *adeY*의 양성률은 SAB군에서 21.4%, MDRAB군에서 1.6%, XDRAB군에서 2.0%로서, SAB군과 MDRAB군 (p<0.0001) 및 SAB군과 XDRAB군 (p=0.001) 사이에 유의한 차이가 있었다(Table 5).

총 154주의 *A. baumannii* 균주들을 imipenem 항생제에 대한 감수성 결과에 따라 감수성군과 비감수성군으로 나누어 두 군 간에 6가지 유출유전자에 대한 양성률을 비교해보았을 때 *adeB*와 *adeY*, *adeJ*가 두 군간에 유의한 차이가 있었다(Table 6). imipenem-감수성군과 imipenem-비감수성군의 *adeB* 양성률은 77.1%와 94.3%로 유의한 차이(p=0.002)가 있었고, *adeY* 양성률은 18.8%와 1.9%로 유의한 차이(p<0.0001)가 있었으며, *adeJ* 양성률은 93.8%와 100%로 유의한 차이(p=0.010)가 있었다

ciprofloxacin 항생제에 대한 결과도 imipenem에 대한 결과와 유사한 양상을 보였다. 154주의 *A. baumannii* 균주들에서 ciprofloxacin 항생제에 대한 감수성 결과에 따라 ciprofloxacin-감수성군과 ciprofloxacin-비감수성군으로 나누어 6가지 유출유전자에 대한 양성률을 비교해보았을 때 *adeB*와 *adeY*가 두 군간에 유의한 차이가 있었다(Table 6). ciprofloxacin-감수성군과 ciprofloxacin-비감수성군의 *adeB* 양성률은 각각 75.6%와 93.8%로 유의한 차이(p=0.003)가 있었고, *adeY* 양성률은 각각 22.0%와 1.8%로 유의한 차이(p<0.0001)가 있었다(Table 6).

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

C. 균주 수집지역별 유출펌프 유전자 양성률 비교

2012년 수집된 90주의 *A. baumannii* 균주들을 대상으로 *adeG*와 *adeB, adeE, adeY, abeM, adeJ*의 6가지 유출펌프 유전자의 양성률이 균주가 수집된 한국내 지역별로 차이가 있는지 비교해 보았다. 먼저 서울, 경기도, 충북, 충남, 전북, 전남, 경북의 7지역별로 6가지 유출펌프 유전자의 양성률에 차이가 있는지 비교해보았을 때 유의한 차이가 없었다(Table 7). 지역을 서울경기 및 한남의 2지역으로 재분류하여 분석했을 때나, 서울경기와 전라도, 경상충청의 3지역으로 재분류하여 분석했을 때도 각 유출펌프 유전자의 양성률에 모두 차이가 없었다(자료 제시 안함).

D. 균주 수집 시기별 유출펌프 유전자 양성률 비교

조선대에서 5년간 수집된 86 주의 *A. baumannii* 균주를 대상으로 연도별로 *adeG*와 *adeB, adeE, adeY, abeM, adeJ*의 6가지 유전자의 양성률에 차이가 있는지 비교해보았을 때 *adeG*와 *adeE*만 유의한 차이가 있었고 다른 유전자들의 양성률에는 차이가 없었다(Table 8). *adeG*의 양성률은 2011년만 83.3%으로 다른 해들(100%)보다 낮아 유의한 차이(p=0.013)를 보였고 *adeE*의 양성률은 평균 20.9%로 매우 낮은데 2013년에 43.2%로 비교적 높아 유의한 차이(p<0.0001)를 보였다. 조선대에서 5년간 수집된 86주의 *A. baumannii* 균주를 대상으로 균이 수집된 계절별로 *adeG*와 *adeB, adeE, adeY, abeM, adeJ*의 6가지 유출펌프 유전자의 양성률을 비교해보았을 때, 양성률이 0~25.0%로 해마다 변동을 보인 *adeY*만 유의한 차이(p=0.045)가 있었고 다른 유전자들의 양성률에는 차이가 없었다(Table 9).

조선대에서 수집한 86주의 *A. baumannii* 균주를 대상으로 월별로 *adeG*와 *adeB, adeE, adeY, abeM, adeJ*의 6가지 유출펌프 유전자의 양성률에 차이가 있는지 비교해보았을 때 *adeG* (p<0.0001)와 *adeE* (p=0.013), *adeY* (p=0.037), *abeM* (p<0.0001)에 유의한 차이가 있었고 *adeB*와

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

*adeJ*의 양성률에는 차이가 없었다(Table 10).

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

IV. 고 찰

2012년 한국의 여러 지역에서 수집한 *A. baumannii* 균주와 조선대병원에서 5년간 수집한 *Acinetobacter* 균주들이 보유한 유출펌프 유전자의 빈도를 조사하기 위해 *adeG*와 *adeB, adeE, adeY, abeM, adeJ*의 6가지 유출펌프 유전자의 양성률을 조사한 후, *Acinetobacter*의 균종별, 항생제감수성검사 결과별, 지역별, 시기별로 차이가 있는지 다각도로 분석한 본 연구결과는 유출펌프에 기인한 내성을 보이는 *Acinetobacter*에 대한 역학적 연구에 유용한 기본적 자료가 되리라 본다.

본 연구에서 6가지 유출펌프 유전자의 양성률은 각 균종별로 차이를 나타냈다. 또한 유출펌프의 빈도를 조사한 이전 문헌과 본 연구의 결과를 비교해보았을 때 유출펌프의 빈도는 문헌별로 약간씩 차이를 보였다. 유출펌프 유전자의 균종별 양성률을 살펴보았을 때 *adeB* 유전자 PCR 검사에 *A. guillouiae*와 *A. johnsonii* 균종만 음성 결과를 보였고 나머지 균종들은 모두 양성 결과를 보였다. 이 결과는 *adeB* 유전자가 *A. baumannii* 에서만 나와서 그 균종의 표지(marker)로 사용할 가능성이 있겠다고 한 Chu 등의 주장과는 맞지 않는 결과였다 [16]. Lin 등은 RND 유전자가 균종별로 다르게 나오기 때문에 이를 *Acinetobacter* 균종을 감별하는 표지자로 사용할 수 있을 것 같다고 가정하였으나[19], 본 연구에서는 그의 결과와 달리 adeABC나 adeIJK에 양성인 *A. pittii* (*Acinetobacter* genomospecies 3)의 빈도가 꽤 높아서 Lin 등의 가설을 우리 나라 균주에 적용하기는 어려울 것으로 생각된다.

본 연구에서 *A. pittii* 균종의 *adeE*와 *adeY*의 빈도는 75.0%와 83.3%로서 Chu 등이 보고한 70%와 90%와 비교적 유사하였다. *A. nosocomialis*균종의 *adeY*의 빈도 역시 10.6%로서 Chu 등이 보고한 4%와 비교적 유사하였다. 그러나 *A. nosocomialis* 균종의 *adeE* 의 빈도는 72.3%로서 Chu 등이 보고한 4%와 큰 차이를 보였다 [16]. 이러한 차이가 생긴 이유는 명확치 않으나 균이 분리된 국가나 수집시점에 따라 유행하거나 토착되어 있는 균주 분포의 상이점 등이 영향을 미쳤을 가능성이 있다고 보인다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

Efflux transporter를 인코딩하고 있는 *adeB* gene이 검사된 *A. baumannii* 균주의 100%에서 나오기도 하지만 70-75%나 87%에서 검출된 연구들도 있으므로 양성률이 변동할 수도 있는 것으로 보인다 [20]. Wieczorek 등은 유전형이 서로 다른 임상 *A. baumannii* 균주들중에서도 AdeABC system이 매우 높은 빈도로 분포되어 있다고 하였다.

Nowak 등이 전 세계에서 수집된 역학적으로 특성규명이 된 *A. baumannii* 144주를 조사한 연구에서 *adeG*와 *adeJ*는 100% 양성인 반면 *adeB*는 97%가 양성이었다고 하였다[3]. 본 연구에서 조사한 A. *baumannii* 154주에서 *adeG*와 *adeJ*는 각각 98.7%와 98.1%를 나타내고 *adeB*는 89.0%가 양성이었다. Nemec 등은 유전형적 특성이나 지리학적 기원의 두 측면에서 다양하게 선택된 *A. baumannii* 116주의 82%가 *adeB*를 보유하였다고 보고하였다[21]. 홍콩의 한 병원에서 수집된 59주의 *A. baumannii* 균주로 조사했을 때는 그중 70%가 *adeB* PCR검사에 양성이었다 [16]. 이와 같이 각 연구별로 *adeG, adeB, adeJ*의 양성률이 다소 달랐던 이유는 명확하지 않으나, 검사한 clone에 따라 *adeB*의 양성률이 89%에서 100%로 달랐다는 보고를 고려해 볼 때 [3] 이러한 차이는 지역적 유행주나 클론의 차이에 기인했을 가능성도 있다. 반면 대부분 pan-European clones I 및 II (International Clones I 및 II에 해당함)로 구성 되어 있었던 *A. baumannii* 51주에서는 균주들의 클론성이나 tetracycline 내성유전자 보유 여부에 상관없이 전 균주가 모두 *adeB* 유전자를 보유하고 있었다는 보고도 있어서[3, 22] 문헌별로 서로 다른 결과를 보여주었다. 따라서 그러한 차이를 한두 가지 요인으로 설명하기 보다는 균주의 수나 특성, 지역적, 시기적 차이 등 여러 요인들을 포괄적으로 고려해 분석해볼 필요가 있으리라 본다.

연구방법의 차이 역시 이러한 빈도의 차이에 영향을 미칠 가능성이 있다. 예를 들면 시발체 결합위치의 연쇄 변이(sequence variation)로 인해 PCR이 잘 안되어 위음성으로 나올 가능성도 빈도에 영향을 미칠 수 있다. Nowak 등은 이런 문제를 차단하기 위해 첫번째 시발체쌍이 겨냥한 표적 DNA부위에 작은 유전적 변이에 의한 위음성 결과를 피하기 위해,

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

필요한 경우 각 유전자에 대해 두번째 시발체쌍을 제작하여 검사하였다. 실제로 이러한 연쇄 변이가 드물어서 본 연구를 포함한 여러 연구들에서 한쌍의 시발체로 PCR을 하였기 때문에 연구대상 균주중에 시발체 결합위치에 연쇄 변이가 있는 균주가 들어 있었다면 이런 요소들이 연구별로 유출펌프 유전자 빈도간 차이에 영향을 끼쳤을 가능성도 배제할 수 없었다.

균종 중 가장 빈도가 높았던 *A. baumannii* 154주와 *A. nosocomialis* 94주를 합한 총 248주를 대상으로 두 균종 간에 6가지 유출펌프 유전자의 양성률에 차이가 있는지 비교해보았을 때 *adeE*와 *abeM*, *adeJ*의 양성률에는 유의한 차이가 있었으나 *adeG*와 *adeB*, *adeY*의 양성률은 두 종간에 차이가 없었다. Chu 등은 *adeE*와 *adeY*의 빈도가 *A. baumannii* (genomic DNA group 2)에서는 둘다 0%이었고 *A. nosocomialis* (genomic DNA group 13TU)에서는 둘다 4%라고 하여 두 균종에서 유사한 결과를 보여주였다 [16]. 본 연구에서 *adeE*와 *adeY*의 빈도가 *A. baumannii*에서는 각각 13.6%와 7.1%였으나 *A. nosocomialis*에서는 각각 72.3%와 10.6%로서 *adeE*의 양성률은 두 종간에 현격한 차이를 보였다. Chu 등은 *adeB*의 빈도가 *A. baumannii*에서는 70%였으나 *A. nosocomialis*에서는 0%로서 두 균종간에 현격한 차이가 있었으나 [16] 본 연구에서는 89.0%와 89.4%로 유사하였다.

홍콩에서 분리된 56주의 *A. baumannii* 임상분리주에서 *adeE*와 *adeY*의 양성률이 0%이고 [16] 태국에서 분리된 *A. baumannii* 100주중 *adeE*의 양성률이 0%이었고 [23] 말레이지아의 다제내성 *A. baumannii* 임상분리주 43주중 *adeY*의 양성률이 0%이었던데 반해 [24] 본 연구에서 검사한 한국에서 분리된 *A. baumannii* 154주중 13.8%가 *adeE* 양성이고 7.1%가 *adeY* 양성으로 나타났다. Hou 등은 IRAB 50주중 6주(12%)에서 *adeE*가 양성이었는데 *adeE*가 *adeB*와 함께 나왔다고 하였다 [25]. 본 연구에서 *A. baumannii* 154주중 *adeE*가 *adeB*와 함께 나온 균주는 21주(13.6%)였으며 이들은 모두 *adeG*도 함께 보유하고 있었다. Deng 등은 한 주(1.4%)의 tigecycline-감수성 *A. baumannii* (TSAB)가 *adeB*와 *adeF*, *adeE*를 동시에 보유했다고

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

하였다 [5]. 이러한 빈도의 차이가 나온 정확한 이유는 알 수 없었지만 대상균주가 수집된 국가가 다른 점과 균의 채취 연도가 다른데 기인했을 가능성도 고려해 볼 수는 있을 것으로 생각된다.

두 균종에서 여러 유출펌프유전자가 동시에 함께 양성으로 나오는 유전자들의 분포 양상을 비교해 보았을 때 *A. baumannii*에 비해 *A. nosocomialis*가 더 다양한 양상들을 골고루 보여주었다. *A. baumannii*에서 *adeG*와 *adeJ, adeB, abeM*의 네 펌프를 함께 가진 균주들이 65.6%로 대부분을 차지했던 점을 보면 본 병원에서 분리된 *A. baumannii* 중에 우세한 균종이 클론성 전파가 되었을 가능성도 생각해 볼 수 있었다. 그러나 펌프들 중 한 펌프나 여러 펌프가 함께 양성인 펌프보유 양상과 특정 clonal lineage 사이에 연관성은 발견되지 않았다는 보고도 있었고[3] 본 연구에서는 균종의 클론성을 조사하지 않았기 때문에 그 이유를 판단할 수 없었다.

Kor 등이 말레이지아의 다제내성 *A. baumannii* 임상분리주 43주를 대상으로 *adeA, adeIJ, adeY* RND 유출펌프 유전자의 분포를 조사한 결과 62.7%의 균주들이 *adeA*와 *adeIJ* genes를 함께 보유하고 있었는데[24] 이 균주들은 모든 항생제에 대해 최고수준의 내성을 보였다. 그는 *adeA* 와 *adeIJ* genes가 함께 있다는 것은 *A. baumannii* 분리주의 항생제 내성에 대해 그들이 연관되어 있을 가능성이 있다는 것을 드러내준다고 보았다 [24]. 본 연구에서는 88.3%의 *A. baumannii* 균주들이 *adeB*와 *adeJ* genes를 함께 보유하고 있었다. *A. baumannii* 균주중 98.1%가 *adeJ* 양성이고 89.0%가 *adeB* 양성이었기에 88.3%에서 *adeB*와 *adeJ*가 함께 나온 것이 그들이 관련이 있어서 그랬다고 생각하기보다는 거의 전 균주가 *adeJ* 양성이었기에 *adeB*와 *adeJ*가 같이 나왔다고 볼 수도 있었다. 본 연구 균주의 98.7%가 *adeG* 양성이어서 *adeB*와 *adeJ, adeG* 3가지를 함께 보유한 균주가 87.7%라는 점도 이런 생각을 뒷받침해준다. 또한 Nowak 등이 검사한 다제내성 *A. baumannii* 144주 모두가 *adeJ*와 *adeG*를 포함한 5개의 efflux pump genes을 보유하였고 균주의 97%가 *AdeB*를 보유했던 점도[3]

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

감안해본다면 다제내성 *A. baumannii*가 다양한 유출펌프 유전자를 보유한 경우가 많다고 보는 것이 더 합리적인 해석일 수도 있다고 생각된다.

본 연구에서는 통상적인 PCR로 유출펌프 유전자의 보유 여부를 검사하였고, Pagdepanichkit는 실시간 정량 PCR법으로 각 유출펌프 유전자의 발현 여부를 조사했기 때문에 같이 비교하는 것이 적절하다고 할 수는 없었으나, 한 균주에서 동시에 함께 나타난 유전자의 분포를 조사한 연구가 드물어서 참고적으로 두 연구 결과도 대조해서 살펴보았다. 본 연구에서 검사한 *A. baumannii*들은 *adeG*와 *adeJ*, *adeB*의 양성률이 각각 98.7%, 98.1%, 89.0%로서 Pagdepanichkit 등이 보고한 61%, 97%, 83%에 비교해볼 때[23] *adeG* 빈도가 상당한 차이를 보였다. 그 결과 *adeG*와 *adeJ*, *adeB*가 동일한 균주에서 함께 나온 빈도가 Pagdepanichkit의 연구에서는 52%였으나[23] 본 연구에서는 87.0%로 양자가 상당한 차이를 보였다. AdeFGH는 야생형(wild-type) 균주에서 일관되게 발현되는 것이 아니므로 발현과 보유는 다르게 나타날 수 있어서 두 결과에 차이가 나왔을 가능성이 높다고 보인다. *A. baumannii* 안에 RND-type 유출펌프가 널리 존재하되 발현 수준은 균주별로 변동이 있고 발현의 조절은 복합적이라는 점이 이를 뒷받침해주는 한 설명이 될 수 있을 것이다[23].

Hou 등은 imipenem 내성 *A. baumannii* (IRAB) 50주중 6주(12%)에서 *adeE* gene 와 *adeB* gene이 공존하였다고 하였고 [25], Deng 등은 통상적인 PCR 검사로 한 주(1.4%)의 tigecycline-감수성 *A. baumannii* (TSAB)가 *adeB*와 *adeF*, 및 *adeE*를 동시에 보유했다고 하였으나 [5] 본 연구에서는 *A. baumannii*에서 *adeG*, *adeE* 유전자와 *adeB* 유전자가 공존한 경우가 21주(13.6%)로 그 빈도가 비교적 더 높은 편이었다. 유출펌프 유전자 보유 여부를 통상적인 PCR 검사로 검사한 것은 세 연구 모두 같았으나, Deng의 연구는 중국에서 수행되어서 이러한 지역적인 차이가 결과의 차이에 영향을 미쳤을 가능성이 있다고 보인다

.

A. baumannii 154주를 SAB군과 MDRAB군, XDR군의 3군으로 구분하여 6가지 유전자의

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

양성률을 비교한 결과 세 군간에 *adeB*와 *adeE*, *adeY*, *adeJ* 유전자의 양성률에 유의한 차이가 있었다. *adeB*와 *adeJ*의 양성률은 SAB군에서 낮고 MDRAB군과 XDRAB군에서 높아서 항생제 내성과 연관성이 있으리라 추측되었다. AdeDE system는 AdeAB에 45% 미만의 상동성을 보이며 aminoglycosides과 carbapenems, ceftazidime, fluoroquinolones, erythromycin, tetracycline, rifampin 및 chloramphenicol을 배출한다. *adeE*를 불활성화시키면 이들 항생제에 대해 4배 이상의 감수성 증가를 유도한다고 한다 [1]. 그러나 *adeE*의 양성률은 SAB와 XDRAB군에서 높고 MDRAB군에서 낮아서 본 연구 결과로 *adeE*와 항생제 내성과의 관련성을 언급할 수 없을 것으로 생각되었다.

AdeXYZ가 AdeIJK와 97% 이상의 상동성을 보이기 때문에 AdeIJK와 유사한 기능을 가지리라 추측하여 AdeXYZ의 과다발현에 의해 고도내성을 획득할 가능성과 내인성 내성을 나타낼 가능성이 제시되었다[1]. 그러나 *adeY*의 양성률 역시 오히려 SAB군에서 높고 MDRAB군과 XDRAB군에서는 낮아서 본 연구결과로 *adeY*와 항생제 내성과의 관련성을 언급할 수 없을 것으로 생각되었다.

154주의 *A. baumannii* 균주들에서 Imipenem 항생제에 대한 감수성 결과에 따라 감수성군과 비감수성군으로 나누어 두 군간에 6가지 유출펌프 유전자에 대한 양성률을 비교해보았을 때 *adeB*와, *adeY*, *adeJ*의 유전자에 대한 양성률이 두 군간에 유의한 차이가 있었다(Table 6).

*adeB*와 *adeJ*의 양성률은 감수성군에 비해 비감수성군에서 유의하게 높아서 이 유전자들의 보유와 imipenem에 대한 내성 사이에 관련성이 있을 것으로 생각되었다. 반면 *adeY*의 양성률은 감수성군에 비해 비감수성군에서 유의하게 낮아서 *adeY* 유전자의 보유와 imipenem에 대한 내성간 연관성을 언급할 수 없을 것으로 생각되었다.

Ciprofloxacin 항생제에 대한 감수성 결과에 따라 감수성군과 비감수성군으로 나누어 두 군간에 6가지 유출펌프유전자에 대한 양성률을 비교해보았을 때 *adeB*와 *adeY*의 유출펌프 유전자에 대한 양성률이 두 군간에 유의한 차이가 있었다. *adeJ*의 양성률은 감수성군에 비해

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

비감수성군에서 유의하게 높아서 이 유전자의 보유와 ciprofloxacin에 대한 내성 사이에 관련성이 있을 것으로 생각되었다. 반면 *adeY*의 양성률은 감수성군에 비해 비감수성군에서 유의하게 낮아서 *adeY* 유전자의 보유와 imipenem에 대한 내성 사이에 관련성을 논하기 어려웠던 점은 imipenem에 대한 결과와 마찬가지 양상이었다. 본 연구 결과들에서 항생제 감수성군에 비해 비감수성군에서 *adeE*나 *adeY*의 빈도가 더 높았던 것은 특이한 소견으로 생각되었다. 여기에 항생제 내성과 균의 fitness, 병독성, 생리적 및 대사적 연관 관계 등 여러 요인들간의 복합적인 상호작용이 연관되었을 가능성도 상정해볼 수는 있으나 본 연구에서는 이들간의 상호작용에 대해 논할 수 있는 실험을 수행한 것이 아니므로, 본 연구 결과로 *adeE*나 *adeY* 유전자의 보유와 항생제 내성 사이의 연관성을 언급할 수 없을 것으로 생각되었다. 이에 관여할 수 있는 여러 복합 인자들간의 상호작용에 대해 밝히려면 향후 그에 적합한 추가실험을 하여 더 연구할 필요가 있다고 본다.

본 실험에서 한국내 여러 지역에서 분리된 균들의 6가지 유출펌프 유전자의 빈도는 유의한 차이를 보이지 않았으나 전세계적으로는 권역이나 국가별로 그 유전자들의 빈도나 분포는 변동하리라 생각된다. 조선대병원 분리주들도 연도나 계절, 월별로 일부 유전자의 빈도나 분포는 조금씩 변동하는 양상을 보였으므로 유출펌프 유전자의 빈도나 분포는 주기적으로 조사하여 기본적인 분포를 파악할 필요가 있다고 보인다.

본 연구의 제한점은 균주 수가 각 군별로 고르게 확보되지 않아서 군별 차이가 유의한지 통계처리를 할 때 건수가 5개 미만인 군에 대해서는 부분적으로 통계분석이 된 항목들도 있었던 것이 아쉬운 점이었다. 또한 항생제감수성 검사결과별로 군을 나누어 유출펌프가 항생제 내성에 영향을 미쳤을 가능성이 있는지 살펴보았으나 연구 방법이 단순한 빈도 비교를 통해 간접적으로 추정해 보는데 그쳐 뚜렷한 결론을 내리기에는 미흡하다고 본다. 향후 항생제 내성에 있어서 유출 펌프 내성기전의 역할을 밝히기 위해서는 유전자의 발현량을 정량적으로 측정하거나 유출 펌프유전자 저해제 유무에 따른 변화나 유전자의

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

과도발현을 나타내는 돌연변이주나 유출펌프 유전자를 손상시킨 균주들을 이용하는 등 더 직접적이고 다양한 연구기법을 적용하여 평가해야 할 것으로 생각된다. 또한 이번 연구에서 조사한 RND 유출 펌프유전자와 *abeM* 펌프 이외의 다른 유출펌프 유전자의 분포를 더 조사할 필요가 있다고 본다. 항생제 내성기전중 유출 펌프 내성기전에 대해서는 아직 연구가 활발하지 않은 편이므로 이러한 연구결과들은 향후 역학적 연구시 대조할 수 있는 기초 자료로 유용하게 활용할 수 있을 것으로 생각된다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

V. 결 론

Acinetobacter baumanni 와 같은 *Acinetobacter* 는 병원에서 흔한 기회감염 병원균이 되어 왔다. 약제 유출은 *A. baumannii* 의 항생제 내성에 있어서 주요한 기전중 하나이다. 유출계에 대한 염색체 유전자의 발현 증가가 다제내성에 있어서 주요한 역할을 한다. 본 연구의 목적은 국내의 병원에서 수집된 *Acinetobacter* 임상분리주가 보유한 6가지 유출펌프 유전자의 빈도를 측정하는데 있다.

본 연구에서 사용한 총 339주의 *Acinetobacter* 균주들은 *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* complex (ABC) 279주와 non-ABC *Acinetobacter* 60주로 구성되어 있었다. ABC는 *A. baumannii* 154주와 *Acinetobacter nosocomialis* 94주, *Acinetobacter calcoaceticus* 7주 및 *Acinetobacter pittii* 24주로 구성되어 있었다. *A. baumannii* 154주는 대한민국의 여러 지역에서 수집한 68주와 조선대병원에서 5년간 모은 86주로 구성되어 있었다. ABC는 *gyrB* multiplex PCR 1 및 2 검사법, 그리고 *Acinetobacter* 종-특이적 PCR 법을 이용하여 균종 수준까지 동정되었다. *A. baumannii*는 *gyrB* multiplex PCR 1 검사법과 $bla_{\text{OXA51-like}}$ PCR을 이용하여 동정하였다. non-ABC *Acinetobacter* 60주는 *rpoB* 연쇄분석을 이용하여 동정하였다. 다약제 유출 시스템인 AdeFGH와 AdeABC, AdeDE, AdeXYZ, AbeM 및 AdeIJK 유출펌프 각각의 운송(transporter) 유전자인 *adeG*와 *adeB*, *adeE*, *adeY*, *abeM* 및 *adeJ* 유전자를 검출하기 위해 각 유출 유전자에 특이적인 PCR 분석을 수행하였다. *adeG*, *adeB*, *adeE*, *adeY*, *abeM* 및 *adeJ*의 분포는 *Acinetobacter* 균종별, 항생제 감수성 군별 및 imipenem이나 ciprofloxacin에 대한 감수성 여부, 그리고 *Acinetobacter* 균주들의 수집된 시기나 지역별로 조사하였다.

*adeG*와 *adeB*, *adeE*, *adeY*, *abeM* 및 *adeJ*의 6가지 유출펌프 유전자의 빈도는 339 *Acinetobacter* strai 균주들이 속한 14군의 *Acinetobacter* 균종별로 유의한 차이를 나타냈다. *A. baumannii* 군과 *A. nosocomialis* 군에서 *adeE*의 양성률은 각각 13.6%와 72.3% ($p<0.0001$)이었고, *abeM*의

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

양성률은 각각 95.5%와 24.5% (p<0.0001)이었으며, *adeJ*의 양성률은 각각 98.1%와 79.8% (p<0.0001)이어서 두 균종 간에 유의한 차이가 있었다. *A. baumannii* 154주를 항생제 감수성 결과에 따라 SAB, MDRAB, XDRAB 군으로 나눈 후 각 군별로 유출펌프 유전자 양성률을 비교한 결과 통계적으로 유의한 차이를 보인 비교쌍은 아래와 같았다. *adeB*의 양성률은 SAB군과 MDRAB군에서 각각 73.8%, 96.7%로 유의한 차이(p=.003)가 있었고, SAB군과 XDRAB군에서도 각각 73.8%, 92.2%로 유의한 차이(p=.040)가 있었다. *adeE*의 양성률은 MDRAB군과 XDRAB군에서 각각 1.6%와 25.5%로서 유의한 차이(p=0.001)가 있었다. *adeY*의 양성률은 SAB 군과 MDRAB 군에서 21.4 %와 1.6%로서 유의한 차이가 있었고, SAB 군과 XDRAB 군에서도 각각 21.4%와 2.0% 로서 유의한 차이(p<0.001)가 있었다. *adeJ*의 양성률은 SAB군과 MDRAB군에서 각각92.9%, 100%로 유의한 차이 (p=0.029)가 있었고, SAB군과 XDRAB군에서도 각각 92.9 %, 100 %로 유의한 차이(p=0.038)가 있었다. imipenem과 ciprofloxacin에 대한 항생제 감수성 결과에 따라 감수성군과 비감수성군으로 나눈 후 각 군별로 유출펌프 유전자 양성률을 비교한 결과 통계적으로 유의한 차이를 보인 비교쌍은 아래와 같다. imipenem-감수성군과 imipenem-비감수성군의 adeE 양성률은 각각 77.1%와 94.3%로 유의한 차이(p=0.002)가 있었고, adeY 양성률은 각각 18.8%와 1.9%로 유의한 차이(p<0.0001)가 있었으며, adeJ 양성률은 각각 93.8%와 100%로 유의한 차이(p=0.010)가 있었다 ciprofloxacin-감수성군과 ciprofloxacin-비감수성군의 adeB 양성률은 각각 75.6%와 93.8%로 유의한 차이(p=0.003)가 있었고, adeY 양성률은 각각 22.0%와 1.8%로 유의한 차이(p<0.0001) 가 있었다. 2012년에 수집한 86주의 *A. baumannii*에서 수집지역별로 6가지 유출펌프 유전자의 양성률에 차이가 있는지 비교해보았을 때 모두 유의한 차이가 없었다. 조선대에서 5년간 수집된 86 주의 *A. baumannii* 균주를 대상으로 연도별, 계절별, 월별로 유출펌프 유전자 양성률을 비교했을 때 *adeG*와 *adeE* 양성률이 연도별로 유의한 차이가 있었다. 계절별 비교에서는 *adeY* 양성률만 유의한 차이가 있었고 월별 비교에서는 *adeG*와 *adeE, adeY, abeM* 양성률에 유의한 차이가 있었다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

국내 병원에서 수집한 *Acinetobacter* 임상분리주 339주에서 14군의 *Acinetobacter* 균종간에 *adeG*와 *adeB, adeE, adeY, abeM* 및 *adeJ*의 유출펌프 유전자의 빈도에 유의한 차이가 있었다. *A. baumannii*의 항생제 내성에 *adeB*와 *adeJ*가 연관될 수도 있을 것으로 여겨졌다. 이러한 소견들은 한국내 다제내성 *Acinetobacter* 균종의 유출펌프 내성기전과 관련된 역학적 연구에 도움이 될 것이다.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

참 고 문 헌

1. Coyne S, Courvalin P, Perichon B. Efflux-mediated antibiotic resistance in Acinetobacter spp. Antimicrob Agents Chemother 2011;55:947-53.
2. Hernando-Amado S, Blanco P, Alcalde-Rico M, Corona F, Reales-Calderón JA, Sánchez MB, et al. Multidrug efflux pumps as main players in intrinsic and acquired resistance to antimicrobials. Drug Resistance Updates 2016;28:13-27.
3. Nowak J, Seifert H, Higgins PG. Prevalence of eight resistance-nodulation-division efflux pump genes in epidemiologically characterized Acinetobacter baumannii of worldwide origin. J Med Microbiol 2015;64:630-5.
4. Lin MF, Lin YY, Tu CC, Lan CY. Distribution of different efflux pump genes in clinical isolates of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii and their correlation with antimicrobial resistance. Journal of Microbiology Immunology and Infection 2017;50:224-31.
5. Deng M, Zhu MH, Li JJ, Bi S, Sheng ZK, Hu FS, et al. Molecular epidemiology and mechanisms of tigecycline resistance in clinical isolates of Acinetobacter baumannii from a Chinese university hospital. Antimicrob Agents Chemother 2014;58:297-303.
6. Lee MJ, Jang SJ, Li XM, Park G, Kook JK, Kim MJ, et al. Comparison of rpoB gene sequencing, 16S rRNA gene sequencing, gyrB multiplex PCR, and the VITEK2 system for identification of Acinetobacter clinical isolates. Diagn Microbiol Infect Dis 2014;78:29-34.
7. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect 2012;18:268-81.
8. Higgins PG, Lehmann M, Wisplinghoff H, Seifert H. gyrB multiplex PCR to differentiate between Acinetobacter calcoaceticus and Acinetobacter genomic species 3. J Clin Microbiol 2010;48:4592-4.
9. Higgins PG, Wisplinghoff H, Krut O, Seifert H. A PCR-based method to differentiate between Acinetobacter baumannii and Acinetobacter genomic species 13TU. Clin Microbiol Infect 2007;13:1199-201.
10. La Scola B, Gundi VA, Khamis A, Raoult D. Sequencing of the rpoB gene and flanking spacers for molecular identification of Acinetobacter species. J Clin Microbiol 2006;44:827-32.
11. Woodford N, Ellington MJ, Coelho JM, Turton JF, Ward ME, Brown S, et al. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in Acinetobacter spp. Int J Antimicrob Agents 2006;27:351-3.
12. Li XM, Choi JA, Choi IS, Kook JK, Chang YH, Park G, et al. Development and Evaluation of

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

Species-Specific PCR for Detection of Nine Acinetobacter Species. Ann Clin Lab Sci 2016;46:270-8.

13. Coyne S, Rosenfeld N, Lambert T, Courvalin P, Perichon B. Overexpression of resistance-nodulation-cell division pump AdeFGH confers multidrug resistance in Acinetobacter baumannii. Antimicrob Agents Chemother 2010;54:4389-93.
14. Magnet S, Courvalin P, Lambert T. Resistance-nodulation-cell division-type efflux pump involved in aminoglycoside resistance in Acinetobacter baumannii strain BM4454. Antimicrob Agents Chemother 2001;45:3375-80.
15. Chau SL, Chu YW, Houang ET. Novel resistance-nodulation-cell division efflux system AdeDE in Acinetobacter genomic DNA group 3. Antimicrob Agents Chemother 2004;48:4054-5.
16. Chu YW, Chau SL, Houang ET. Presence of active efflux systems AdeABC, AdeDE and AdeXYZ in different Acinetobacter genomic DNA groups. J Med Microbiol 2006;55:477-8.
17. Su XZ, Chen J, Mizushima T, Kuroda T, Tsuchiya T. AbeM, an H+-coupled Acinetobacter baumannii multidrug efflux pump belonging to the MATE family of transporters. Antimicrob Agents Chemother 2005;49:4362-4.
18. Damier-Piolle L, Magnet S, Bremont S, Lambert T, Courvalin P. AdeIJK, a resistance-nodulation-cell division pump effluxing multiple antibiotics in Acinetobacter baumannii. Antimicrob Agents Chemother 2008;52:557-62.
19. Lin L, Ling BD, Li XZ. Distribution of the multidrug efflux pump genes, adeABC, adeDE and adeIJK, and class 1 integron genes in multiple-antimicrobial-resistant clinical isolates of Acinetobacter baumannii-Acinetobacter calcoaceticus complex. International Journal of Antimicrobial Agents 2009;33:27-32.
20. Wieczorek P, Sacha P, Czaban S, Hauschild T, Ojdana D, Kowalczuk O, et al. Distribution of AdeABC efflux system genes in genotypically diverse strains of clinical Acinetobacter baumannii. Diagn Microbiol Infect Dis 2013;77:106-9.
21. Nemec A, Maixnerova M, van der Reijden TJK, Van den Broek PJ, Dijkshoorn L. Relationship between the AdeABC efflux system gene content, netilmicin susceptibility and multidrug resistance in a genotypically diverse collection of Acinetobacter baumannii strains. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2007;60:483-9.
22. Huys G, Cnockaert M, Vaneechoutte M, Woodford N, Nemec A, Dijkshoorn L, et al. Distribution of tetracycline resistance genes in genotypically related and unrelated multiresistant Acinetobacter baumannii strains from different European hospitals. Res Microbiol 2005;156:348-55.
23. Pagdepanichkit S, Tribuddharat C, Chuanchuen R. Distribution and expression of the Ade multidrug efflux systems in Acinetobacter baumannii clinical isolates. Canadian Journal of Microbiology 2016;62:794-801.
24. Kor S-B and Chew C-H. Distribution of the multidrug efflux pump genes adeA, adeI, adeJ, adeY

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

and integrons in clinical isolates of Acinetobacter baumannii from Malaysian hospitals. Biomedical Research 2014;25.

25. Hou PF, Chen XY, Yan GF, Wang YP, Ying CM. Study of the correlation of imipenem resistance with efflux pumps AdeABC, AdeIJK, AdeDE and AbeM in clinical isolates of Acinetobacter baumannii. Chemotherapy 2012;58:152-8.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

Table 1. Primers used in this study

Group`	Target	Primer	Nucleotide sequence (5'→3')	OAT* (℃)	Size(bp)	Reference
Efflux pump gene						
	adeG	adeG For	TTCATCTAGCCAAGCAGAAG	59℃	651	[13]
		adeG Rev	ATGTGGGCTAGCTAACGGC			
	adeB	adeB For	GCCTATTGCCTTACTCGGTACTT	55℃	1735	[14]
		adeB Rev	TCAAACTCATGCCTTCTTCTTTC			
	adeE	adeE For	GAGCTGAGGATTCTCTATGT	57℃	504	[15]
		adeE Rev	AGTGTGCTCACCATATAGTC			
	adeY	adeY For	CAATCTGCAACTGCGCTT	58℃	587	[16]
		adeY Rev	TCAACAGCTTCTGCGGTA			
	abeM	abeM For	GTAGGTGTAGGCTTATGGA	58℃	702	[17]
		abeM Rev	GTACCGAAGTGACTGAAAT			
	adeJ	adeJ For	ATTGCACCACCAACCGTAAC	59℃	462	[18]
		adeJ Rev	TAGCTGGATCAAGCCAGATA			
Identification of bacterial species						
	rpoB	rpoB-F	TAY CGY AAA GAY TTG AAA GAA G	60ºC	350	[10]
		rpoB-R	CMA CAC CYT TGT TMC CRT GA			
	A. baumannii	sp4-F	CACGCCGTAAGAGTGCATTA	60ºC	490	[9]
		sp4-R	AACGGAGCTTGTCAGGGTTA			
	A. nocosomialis	sp2-F	GTTCCTGATCCGAAATTCTCG	60ºC	294	[9]
		sp4-R	AACGGAGCTTGTCAGGGTTA			
	A. calcoaceticus	D14	GACAACAGTTATAAGGTTTCAGGTG	60ºC	428	[8]
		D19	CCGCTATCTGTATCCGCAGTA			
	A. pittii	D16	GATAACAGCTATAAAGTTTCAGGTGGT	60ºC	194	[8]
		D8	CAAAAACGTACAGTTGTACCACTGC			
	Oxa-51-like	Oxa-51-like F	TAA TGC TTT GAT CGG CCT TG	52ºC	353	[11]
		Oxa-51-like R	TGG ATT GCA CTT CAT CTT GG			
	A. calcoaceticus	Acal-F	TCGTATCTCAATTACACCGTTCACCT	68ºC	549	[12]
		Acal-R	CGCCTTCTGCCAGTTTCACCATA			
	A. pittii	Apit-F	TGGGCAGTTACCAGATTGACCTA	68ºC	147	[12]
		Apit-R	AACCAGCAGCTTCCATTTGACG			
	A. nosocomialis	Anos-F	GCCGCTCGTGAACGTGTAATC	66ºC	394	[12]
		Anos-R	CATCGTGTGGCATATCTTCAAC			

*OAT, Optimal annealing temperature

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

Table 2. Frequency of six efflux pump genes of *adeG, adeB, adeE, adeY, abeM*, and *adeJ* according to various species of *Acinetobacter* of 339 *Acinetobacter* clinical isolates

Species	No.	(%)	adeG-positive***		adeB-positive***		adeE-positive***		adeY-positive***		abeM-positive***		adeJ-positive***	
			No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)
A. nosocomialis	94	(27.7)	89	(94.7)	84	(89.4)	68	(72.3)	10	(10.6)	23	(24.5)	75	(79.8)
A. berezinae	21	(6.2)	13	(61.9)	10	(47.6)	10	(47.6)	1	(4.8)	12	(57.1)	20	(95.2)
A. parvus	1	(0.3)	1	(100.0)	1	(100.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	1	(100.0)	1	(100.0)
A. calcoaceticus	7	(2.1)	4	(57.1)	5	(71.4)	7	(100.0)	0	(0.0)	5	(71.4)	4	(57.1)
A. guillouiae	3	(0.9)	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	1	(33.3)	5	(100.0)
A. gyllenbergii	5	(1.5)	4	(80.0)	1	(20.0)	1	(20.0)	0	(0.0)	3	(60.0)	5	(100.0)
A. johnsonii	2	(0.6)	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	ND	ND
A. junii	9	(2.7)	5	(55.6)	3	(33.3)	4	(44.4)	3	(33.3)	3	(33.3)	0	(0.0)
A. lwoffii	3	(0.9)	0	(0.0)	1	(33.3)	0	(0.0)	0	(0.0)	1	(33.3)	0	(0.0)
A. radioresistens	1	(0.3)	1	(100.0)	1	(100.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	1	(33.3)	ND	ND
A. pittii	24	(7.1)	18	(75.0)	17	(70.8)	18	(75.0)	20	(83.3)	19	(79.2)	13	(56.5)
A. ursingii	9	(2.7)	6	(66.7)	5	(55.6)	7	(77.8)	1	(11.1)	2	(22.2)	2	(22.2)
A. soli	6	(1.8)	5	(83.3)	6	(100.0)	4	(66.7)	2	(33.3)	0	(0.0)	3	(50.0)
A. baumannii	154	(45.4)	152	(98.7)	137	(89.0)	21	(13.6)	11	(7.1)	147	(95.5)	151	(98.1)
Total	339	(100.0)	298	(87.9)	271	(79.9)	140	(41.3)	48	(14.2)	218	(64.3)	275	(84.4)

Asterisks indicate significant differences (Chi-square test, *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001).

Abbreviation, ND, not determined.

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

Table 3. Frequency of six efflux pump genes of *adeG, adeB, adeE, adeY, abeM,* and *adeJ* of 154 *Acinetobacter baumannii* and 94 *Acinetobacter nosocomialis* clinical isolates

Group	No. (%)	adeG-positive	adeB-positive	adeE-positive***	adeY-positive	abeM-positive***	adeJ-positive***
		No. (%)	No. (%)	No. (%)	No. (%)	No. (%)	No. (%)
A. baumannii	154 (62.1)	152 (98.7)	137 (89.0)	21 (13.6)	11 (7.1)	147 (95.5)	151 (98.1)
A. nosocomialis	94 (37.9)	89 (94.7)	84 (89.4)	68 (72.3)	10 (10.6)	23 (24.5)	75 (79.8)
Total	248 (100)	241 (97.2)	221 (89.1)	89 (35.9)	21 (8.5)	170 (68.5)	226 (91.1)

Asterisks indicate significant differences (Chi-square test, *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001).

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

Table 4. Distribution of strains containing each efflux pump genes of *adeG*, *adeB*, *adeE*, *adeY*, *abeM*, and *adeJ* simultaneously among 154 *Acinetobacter baumannii* and 94 *Acinetobacter nosocomialis* clinical isolates

Species	No.	(%)	No. of positive gene	Pattern					
				adeG	adeJ	adeB	abeM	adeE	adeY
A. baumannii	104	(65.6)	4	1	1	1	1	0	0
(No.: 154)	17	(10.6)	5	1	1	1	1	1	0
	13	(8.1)	3	1	1	0	1	0	0
	6	(4.4)	5	1	1	1	1	0	1
	4	(2.5)	3	1	1	1	0	0	0
	3	(1.9)	6	1	1	1	1	1	1
	1	(0.6)	2	1	0	1	0	0	0
	1	(0.6)	3	1	0	1	1	0	0
	1	(0.6)	3	1	0	1	1	0	0
	1	(0.6)	3	0	1	1	1	0	0
	1	(0.6)	4	1	1	0	1	0	1
	1	(0.6)	5	1	1	1	1	1	0
	1	(0.6)	1	0	1	0	0	0	0
A. nosocomialis	32	(34.0)	4	1	1	1	0	1	0
(No.: 94)	12	(12.8)	3	1	1	1	0	0	0
	9	(9.6)	5	1	1	1	1	1	0
	6	(6.4)	4	1	0	1	0	1	1
	6	(6.4)	4	1	1	1	1	0	0
	5	(5.3)	3	1	1	0	0	1	0
	4	(4.3)	3	0	1	1	0	1	0
	4	(4.3)	3	1	0	1	0	1	0
	3	(3.2)	3	1	0	0	1	1	0
	3	(3.2)	2	1	0	1	0	0	0
	2	(2.1)	5	1	1	1	0	1	1
	2	(2.1)	4	1	1	1	1	0	0
	1	(1.1)	4	0	1	1	1	1	0
	1	(1.1)	2	1	0	0	0	1	0
	1	(1.1)	3	1	0	1	0	0	1
	1	(1.1)	4	1	0	1	1	1	0
	1	(1.1)	3	1	1	0	1	0	0
	1	(1.1)	4	1	1	1	0	0	1

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

Table 5. Frequency of six efflux pump genes of *adeG, adeB, adeE, adeY, abeM,* and *adeJ* of three groups of susceptible *A. baumannii* (SAB), multidrug-resistant *A. baumannii* (MDRAB), and extensively drug-resistant *A. baumannii* (XDRAB) groups of 154 *Acinetobacter* clinical isolates

Group	No.	(%)	adeG-positive		adeB-positive*		adeE-positive**		adeY-positive***		abeM-positive		adeJ-positive*	
			No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)
SAB	42	(27.3)	41	(97.6)	31	(73.8)	7	(16.7)	9	(21.4)	39	(92.9)	39	(92.9)
MDRAB	61	(39.6)	60	(98.4)	59	(96.7)	1	(1.6)	1	(1.6)	59	(96.7)	61	(100.0)
XDRAB	51	(33.1)	51	(100.0)	47	(92.2)	13	(25.5)	1	(2.0)	49	(96.1)	51	(100.0)
Total	154	(100.0)	152	(98.7)	137	(89.0)	21	(13.6)	11	(7.1)	147	(95.5)	151	(98.1)

Comparison pairs showing statistically significant differences (P<0.05) by Chi-square test were as follows: SAB vs. MDRAB (73.8 vs. 96.7%, respectively; p=0.003) and SAB vs. XDRAB (73.8 vs. 92.2%, respectively; p=0.040) in adeB; MDRAB vs. XDRAB (1.6 vs. 25.5%, respectively; p=0.001) in *adeE*; SAB vs. MDRAB (21.4 vs. 1.6%, respectively; p<0.0001) and SAB vs. XDRAB (21.4 vs. 2.0%, respectively; p<0.001) in *adeY*; SAB vs. MDRAB (92.9 vs. 100%, respectively; p=0.029) and SAB vs. XDRAB (92.9 vs. 100%, respectively; p=0.038) in *adeJ*.

Asterisks indicate significant differences (Chi-square test, *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001).

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

Table 6. Frequency of six efflux pump genes of *adeG*, *adeB*, *adeE*, *adeY*, *abeM*, and *adeJ* according to susceptible (S) and non-susceptible (NS) group to imipenem (IPM) or ciprofloxacin (CIP) of 154 *Acinetobacter baumannii* i clinical isolates

Group	No.	(%)	adeG-positive		adeB-positive		adeE-positive		adeY-positive		abeM-positive		adeJ-positive	
			No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)
IPM-S	48	(31.2)	47	(97.9)	37	(77.1)***	8	(16.7)	9	(18.8)***	44	(91.7)	45	(93.8)*
IPM-NS	106	(68.8)	105	(99.1)	100	(94.3)	13	(12.3)	2	(1.9)	103	(97.2)	106	(100.0)
CIP-S	41	(26.6)	40	(97.6)	31	(75.6)***	7	(17.1)	9	(22.0)***	39	(95.1)	39	(95.1)
CIP-NS	113	(73.4)	112	(99.1)	106	(93.8)	14	(12.4)	2	(1.8)	108	(95.6)	112	(99.1)
Total	154	(100.0)	152	(98.7)	137	(89.0)	21	(13.6)	11	(7.1)	147	(95.5)	151	(98.1)

Comparison pairs showing statistically significant differences (P<0.05) by Chi-square test were as follows: IPM-S vs. IPM-NS group for *adeB* (77.1 vs. 94.3%, respectively; p=0.002), for *adeY* (18.8 vs. 1.9%, respectively; p<0.0001), and for *adeJ*(93.8 vs. 100%, respectively; p=0.010); CIP-S vs. CIP-NS group for *adeB* (75.6 vs. 93.8%, respectively; p=0.003), and for *adeY* (22.0 vs. 1.8%, respectively; p<0.0001). Asterisks indicate significant differences (Chi-square test, *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001).

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

Table 7. Frequency of six efflux pump genes of *adeG*, *adeB*, *adeE*, *adeY*, *abeM*, and *adeJ* according to seven regions of Seoul, Gyeonggi-do, Chungcheongbuk-do, Chungcheongnam-do, Jeollabuk-do, Jeollanam-do, Gyeongsangbuk-do region of 90 Acinetobacter baumannii clinical isolates collected in 2012

Region	No.	(%)	adeG-positive		adeB-positive		adeE-positive		adeY-positive		abeM-positive		adeJ-positive	
			No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)
Seoul	35	(38.9)	35	(100.0)	31	(88.6)	2	(5.7)	2	(5.7)	34	(97.1)	35	(100.0)
Gyeonggi-do	8	(8.9)	8	(100.0)	7	(87.5)	1	(12.5)	0	(0.0)	8	(100.0)	8	(100.0)
Chungcheongbuk-do	1	(1.1)	1	(100.0)	1	(100.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	1	(100.0)	1	(100.0)
Chungcheongnam-do	3	(3.3)	3	(100.0)	3	(100.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	3	(100.0)	3	(100.0)
Jeollabuk-do	10	(11.1)	10	(100.0)	10	(100.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	10	(100.0)	10	(100.0)
Jeollanam-do	26	(28.9)	26	(100.0)	25	(96.2)	1	(3.8)	2	(7.7)	23	(88.5)	25	(96.2)
Gyeongsangbuk-do	7	(7.8)	7	(100.0)	7	(100.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	7	(100.0)	7	(100.0)
Total	90	(100.0)	90	(100.0)	84	(93.3)	4	(4.4)	4	(4.4)	86	(95.6)	89	(98.9)

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

Table 8. Frequency of six efflux pump genes of *adeG*, *adeB*, *adeE*, *adeY*, *abeM*, and *adeJ* according to the year of isolation of 86 *Acinetobacter baumannii* clinical strains collected in Chosun University Hospital of Gwangju, South Korea

Year	No.	(%)	adeG-positive*		adeB-positive		adeE-positive***		adeY-positive		abeM-positive		adeJ-positive	
			No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)
2009	8	(9.3)	8	(100.0)	8	(100.0)	1	(12.5)	0	(0.0)	8	(100.0)	8	(100.0)
2010	7	(8.1)	7	(100.0)	7	(100.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	6	(85.7)	7	(100.0)
2011	12	(14.0)	10	(83.3)	10	(83.3)	0	(0.0)	0	(0.0)	10	(83.3)	12	(100.0)
2012	22	(25.6)	22	(100.0)	21	(95.5)	1	(4.5)	2	(9.1)	19	(86.4)	21	(95.5)
2013	37	(43.0)	37	(100.0)	28	(75.7)	16	(43.2)	7	(18.9)	37	(100.0)	35	(94.6)
Total	86	(100.0)	84	(97.7)	74	(86.0)	18	(20.9)	9	(10.5)	80	(93.0)	83	(96.5)

Asterisks indicate significant differences (Chi-square test, *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001).

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

Table 9. Frequency of six efflux pump genes of *adeG*, *adeB*, *adeE*, *adeY*, *abeM*, and *adeJ* according to the season of isolation of 86 *Acinetobacter baumannii* clinical strains collected in Chosun University Hospital of Gwangju, South Korea

Season	No.	(%)	adeG-positive		adeB-positive		adeE-positive		adeY-positive*		abeM-positive		adeJ-positive	
			No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)
Spring	19	(22.1)	19	(100.0)	18	(94.7)	6	(31.6)	0	(0.0)	19	(100.0)	19	(100.0)
Summer	36	(41.9)	35	(97.2)	33	(91.7)	5	(13.9)	5	(13.9)	33	(91.7)	35	(97.2)
Autumn	16	(18.6)	16	(100.0)	11	(68.8)	2	(12.5)	4	(25.0)	15	(93.8)	14	(87.5)
Winter	15	(17.4)	14	(93.3)	12	(80.0)	5	(33.3)	0	(0.0)	13	(86.7)	15	(100.0)
Total	86	(100.0)	84	(97.7)	74	(86.0)	18	(20.9)	9	(10.5)	80	(93.0)	83	(96.5)

Asterisks indicate significant differences (Chi-square test, *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001).

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

Table 10. Frequency of six efflux pump genes of *adeG*, *adeB*, *adeE*, *adeY*, *abeM*, and *adeJ* according to the month of isolation of 86 *Acinetobacter baumannii* clinical strains collected in Chosun University Hospital of Gwangju, South Korea

Month	No.	(%)	adeG-positive***		adeB-positive		adeE-positive*		adeY-positive*		abeM-positive***		adeJ-positive	
			No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)
Jan	9	(10.5)	9	(100.0)	8	(88.9)	5	(55.6)	0	(0.0)	9	(100.0)	9	(100.0)
Feb	5	(5.8)	5	(100.0)	4	(80.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	4	(80.0)	5	(100.0)
Mar	9	(10.5)	9	(100.0)	8	(88.9)	2	(22.2)	0	(0.0)	9	(100.0)	9	(100.0)
Apr	3	(3.5)	3	(100.0)	3	(100.0)	2	(66.7)	0	(0.0)	3	(100.0)	3	(100.0)
May	7	(8.1)	7	(100.0)	7	(100.0)	2	(28.6)	0	(0.0)	7	(100.0)	7	(100.0)
Jun	18	(20.9)	18	(100.0)	16	(88.9)	5	(27.8)	0	(0.0)	18	(100.0)	18	(100.0)
Jul	11	(12.8)	11	(100.0)	10	(90.9)	0	(0.0)	4	(36.4)	11	(100.0)	11	(100.0)
Aug	7	(8.1)	6	(85.7)	7	(100.0)	0	(0.0)	1	(14.3)	4	(57.1)	6	(85.7)
Sep	6	(7.0)	6	(100.0)	4	(66.7)	0	(0.0)	1	(16.7)	6	(100.0)	5	(83.3)
Oct	6	(7.0)	6	(100.0)	4	(66.7)	2	(33.3)	3	(50.0)	5	(83.3)	5	(83.3)
Nov	4	(4.7)	4	(100.0)	3	(75.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	4	(100.0)	4	(100.0)
Dec	1	(1.2)	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	0	(0.0)	1	(100.0)
Total	86	(100)	84	(97.7)	74	(86.0)	18	(20.9)	9	(10.5)	80	(93.0)	83	(96.5)

Asterisks indicate significant differences (Chi-square test, *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001).

Collection @ chosun