

한국에서 지역에 따른 *Helicobacter pylori* 균주 내성

김재연¹, 김나영^{1,2}, 김성중³, 백광호³, 김광하⁴, 김정목⁵, 남령희², 김홍빈^{1,2}, 이동호^{1,2}, 정현재¹, 송인성¹

서울대학교 의과대학 내과학교실¹, 분당서울대학교병원 소화기내과², 한림대학교 의과대학 내과학교실³, 부산대학교 의학전문대학원 소화기내과학교실⁴, 한양대학교 의과대학 미생물학교실⁵

Regional Difference of Antibiotic Resistance of *Helicobacter pylori* Strains in Korea

Jae Yeon Kim¹, Nayoung Kim^{1,2}, Sung Jung Kim³, Gwang Ho Baik³, Gwang Ha Kim⁴, Jung Mogg Kim⁵, Ryoung Hee Nam², Hong Bin Kim^{1,2}, Dong Ho Lee^{1,2}, Hyun Chae Jung¹ and In Sung Song¹

Department of Internal Medicine and Liver Research Institute, Seoul National University College of Medicine¹, Seoul, Department of Internal Medicine, Seoul National University Bundang Hospital², Seongnam, Department of Internal Medicine, Hallym University College of Medicine³, Chuncheon, Department of Internal Medicine, Pusan National University School of Medicine⁴, Busan, Department of Microbiology, Hanyang University School of Medicine⁵, Seoul, Korea

Background/Aims: This study was performed to compare the prevalence rates of primary antibiotic resistance in *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) isolates among different regions of Korea.

Methods: *H. pylori* were isolated from gastric mucosal biopsy specimens of 99 Koreans who lived in Gyeonggi (n=40), Kangwon province (n=40) and Busan (n=19) from April to August in 2008. All the patients had no history of *H. pylori* eradication therapy. The susceptibilities of the *H. pylori* isolates to amoxicillin, clarithromycin, metronidazole, tetracycline, azithromycin, ciprofloxacin, levofloxacin, and moxifloxacin were tested according to the agar dilution method.

Results: There was a difference in resistance to clarithromycin in three institutes located among Gyeonggi (32.5%), Kangwon province (12.5%) and Busan (42.1%) by One way ANOVA test (p=0.027) and nonparametric Kruskal Wallis test (p=0.027). However, by post-hoc analysis, there was no statistically significant difference among three regions. Similarly, the other 7 antibiotics (amoxicillin, metronidazole, tetracycline, azithromycin, ciprofloxacin, levofloxacin and moxifloxacin) did not show any significant difference.

Conclusions: There was no significant regional difference of the primary antibiotic resistance of *H. pylori*. However, the included patient number might not be enough for this conclusion demanding further evaluations. (Korean J Gastroenterol 2011;57:221-229)

Key Words: *Helicobacter pylori*; Antibiotic resistance

서 론

Helicobacter pylori (*H. pylori*)는 소화성궤양 및 만성 위염, 변연부 B세포 림프종(Mucosa-associated lymphoid tissue, MALT type) 및 위암 등의 병태생리에 중요한 역할을 한다.^{1,2} 현재는 양성자펌프억제제(proton pump inhibitor, PPI)를 기

본으로 하여 clarithromycin과 amoxicillin 혹은 metronidazole을 사용하는 3제요법이 *H. pylori* 제균의 1차 치료로 인정되고 있다.³⁻⁵ 그러나 최근 여러 임상 연구와 메타분석에서 1차 3제요법 시행 시 제균율이 70-95%로 다양하게 보고되고 있어, tetracycline을 포함한 4제요법이나 fluoroquinolone을 포함한 3제요법 등이 대안으로 제시되고 있다.^{6,7} 이처럼 제균

Received October 17, 2010. Revised December 17, 2010. Accepted December 17, 2010.

© This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

교신저자: 김나영, 463-707, 경기도 성남시 분당구 구미동 300번지, 분당서울대학교병원 소화기내과

Correspondence to: Nayoung Kim, Department of Internal Medicine, Seoul National University Bundang Hospital, 300, Gumi-dong, Bundang-gu, Sungnam 463-707, Korea. Tel: +82-31-787-7008, Fax: +82-31-787-4051, E-mail: nayoungkim49@emapl.com

Financial support: This work was supported by a grant from the National Research Foundation of Korea funded by the Korean Government (2010-0006008).

Conflicts of interest: None.

율이 낮아진 것은 항생제 사용의 증가에 따른 항생제 내성의 증가때문이라 생각된다.⁷⁻¹⁰

이러한 항생제 내성의 증가, 특히 clarithromycin 내성의 증가가 *H. pylori* 제균율에 영향을 미친다고 생각되고 있고,⁹⁻¹² 항생제 내성의 지역별 차이에 대한 보고가 있는 바¹⁰⁻¹² 효과적인 *H. pylori* 제균 방법을 강구하기 위해서는 지역별 항생제 내성에 대한 분석이 필요하다. 그러나 우리나라에서는 서울, 경기 지역에 위치하는 두 기관 비교 연구 외에 현재까지 이에 대한 연구는 없었다. 즉 서울과 경기 지역에 위치하는 두 기관의 *H. pylori* 일차 항생제 내성을 비교한 결과 두 지역 간 항생제 내성에 차이가 있으며 특히 clarithromycin에 대한 내성이 제균율 결정에 중요함을 보고한 바 있다.¹³

이에 이번 연구에서는 *H. pylori* 제균에 사용되는 항생제에 대한 경기, 강원, 부산 세 지역에서의 *H. pylori*에 대한 일차 항생제 내성 차이를 알아보려고 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

2008년 4월에서 8월까지 경기도의 분당서울대학교병원, 춘천의 한림대학교 춘천성심병원 그리고 부산의 부산대학교병원을 방문한 99명의 환자를 대상으로 전정부와 체부에서 각각 1-5개의 *H. pylori* 균주를 분리하였다. 이들은 과거 *H. pylori* 제균을 받지 않은 위궤양, 십이지장궤양, 위염 환자들로, 각 병원 윤리위원회 승인 하에 모든 환자에게 동의를 받고 연구를 진행하였다.

균 배양은 한림대학교 춘천성심병원과 부산대학교병원 연구원이 분당서울대학교병원을 방문하여 *H. pylori*를 배양하는 방법을 배운 다음 각 병원에서 진행하였다. 균 분리를 위하여 채취한 위점막을 무균 Petri dish에 넣고 수술용 칼을 이용하여 잘게 부순 뒤 *H. pylori* 분리용 배지(GC medium base, 0.024% yeast extract, 1% hemoglobin, 1% Iso Vitalex, 5 mg/L vancomycin, 1 mg/L mycostatin, 5% sheep blood)에 심어서 37°C 미세호기조건(5% O₂, 10% CO₂, 85% N₂)에서 배양하였다. 초기 배양에서 얻은 집락을 재배양한 뒤, 그람 염색과 생화학 방법을 이용하여 *H. pylori*임을 확인하였다. *H. pylori*로 확인된 각 균주는 15% glycerol이 포함된 Brucella 액체 배지(Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)에 넣어 -70°C에 보관하였다. 일정 균 수가 모아진 후 minimal inhibitory concentration (MIC) 검사를 시행하기 위해 각 균주를 dry ice에 보관 상태로 분당서울대학교병원 의학연구소로 이송하였다. 분당서울대학교병원에서 실험 직전에 녹인 뒤 증식시켜 실험하였는데 분리 균주가 *H. pylori*임을 재확인하기 위하여 DNA를 추출한 뒤 *H. pylori*에 특이한 *glmM*에

대한 PCR을 시행하였다. 사용한 탐침자(primer)는 sense (5'-AAG CTT TTAGGG GTG TTA GGG GTT T-3') 및 anti-sense (5'-CTTACT TTC TAA CAC TAA CGC-3')였다. PCR은 93°C (1분) -55°C (1분) -72°C (1분)로 이루어지는 과정을 총 35 cycle을 시행하였다.

2. *H. pylori* 항생제 감수성 검사

분당서울대학교병원 의학연구소에서 MIC 검사가 시행된 항생제는 *H. pylori* 제균요법에 사용되고 있는 8가지 항생제로, amoxicillin (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), clarithromycin (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA), metronidazole (Sigma), tetracycline (Sigma)과 azithromycin (Groton Laboratories, Pfizer Inc, Groton, CT, USA)과 quinolone 계열의 ciprofloxacin (Sigma), levofloxacin (Sigma)과 moxifloxacin (Sigma)이 포함되었다.

*H. pylori*에 대한 MIC 검사는 이전에 기술하였던 agar dilution법을 이용하였다.¹² 즉 Mueller-Hinton 한천배지(Difco Laboratories)를 기본으로 하여 이 배지를 고압 멸균한 뒤 50°C로 식혀서 생후 2주 이내에 채취한 양 혈액(Comed, Seoul, Korea) 5%를 첨가한 배지에 각각의 항생제를 2배 단위로 연속 희석하였다. 그 뒤 혈액배지에서 72시간 배양한 *H. pylori* 균주[1×10⁷ colony forming unit (CFU)]를 항생제가 포함된 Mueller-Hinton 한천배지에 micropipette을 이용하여 접종하였다. 균주를 접종한 배지를 37°C, 미세호기조건에서 3일 동안 배양한 뒤 균 집락 형성 여부를 관찰하였다. 매 실험마다 3배수로 시행하였고, 균주 당 최소 3회 이상 실험을 반복하였다. MIC 판정은 균 배양 집락을 전혀 형성시키지 않은 항생제의 최소 희석 배수로 정의하였다. 각종 항생제에 대한 저항성 기준은 amoxicillin의 경우는 0.5 µg/mL, clarithromycin의 경우 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)의 판정 기준에 따라 1 µg/mL 초과로 판정하였고, metronidazole은 8 µg/mL, tetracycline은 4 µg/mL, azithromycin은 1 µg/mL, ciprofloxacin, levofloxacin, moxifloxacin은 1 µg/mL 초과로 정하였다. 한 환자에서 여러 균주가 있는 경우 한 균주라도 해당 항생제 내성이 있으면 내성이 있다고 판정하였다.

다약제 내성균의 빈도를 파악하기 위해 각각의 환자에서 amoxicillin, metronidazole, tetracycline, clarithromycin이나 azithromycin과 fluoroquinolone (ciprofloxacin이나 levofloxacin, moxifloxacin) 항생제 내성을 확인하였고 2개 이상의 항생제에 내성인 경우 다약제 내성으로 정의하였다.

3. 통계적 방법

SPSS 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 데

이터를 분석하였다. 지역간 차이를 확인하기 위해 일원배치분산분석 및 Kruskal Wallis test를 시행하였고 p값이 0.05 미만일 경우를 유의한 수준으로 설정하였다.

Table 1. Characteristics of Patients in Three Institutes in Different Areas

	Gyeonggi (n=40)	Kangwon (n=40)	Busan (n=19)	p-value
Age	56.5 (52.8-60.2)	53.7 (48.9-58.3)	53.6 (48.6-58.7)	0.532 ^a
Gender (male, %)	55.0%	67.5%	52.6%	0.285 ^b
Disease				0.564 ^b
Gastric ulcer	6	11	4	
Duodenal ulcer	6	5	1	
Gastritis	28	24	14	
Strain No.	2.38	1.35	1.00	<0.001 ^c

^aone way ANOVA test, ^bchi square test, ^cKruskal Wallis test.

결 과

1. 대상 환자의 일반적 특성

이번 연구에 포함된 연구 대상 환자는 총 99명이었다. 경기 지역에서는 40명(95균주), 강원에서는 40명(54균주), 부산에서는 19명의 환자(19균주)로부터 총 168 *H. pylori* 균주의 MIC 결과를 얻을 수 있었다(Table 1). 이번 연구에 참가한 환자들의 연령, 성별, 질병의 종류는 세 지역 간에 유의한 차이가 없었다. 각 환자에서 배양한 균주 숫자는 경기 지역에서 한 환자당 평균 2.38균주, 강원 지역에서는 평균 1.35균주, 부산에서는 1.00균주로 유의한 차이가 있었다(p<0.001).

2. *H. pylori* 균주의 항생제에 대한 MIC 분포 및 내성을

1) Amoxicillin

Amoxicillin에 대한 MIC는 0.5 µg/mL 이하에 주로 분포

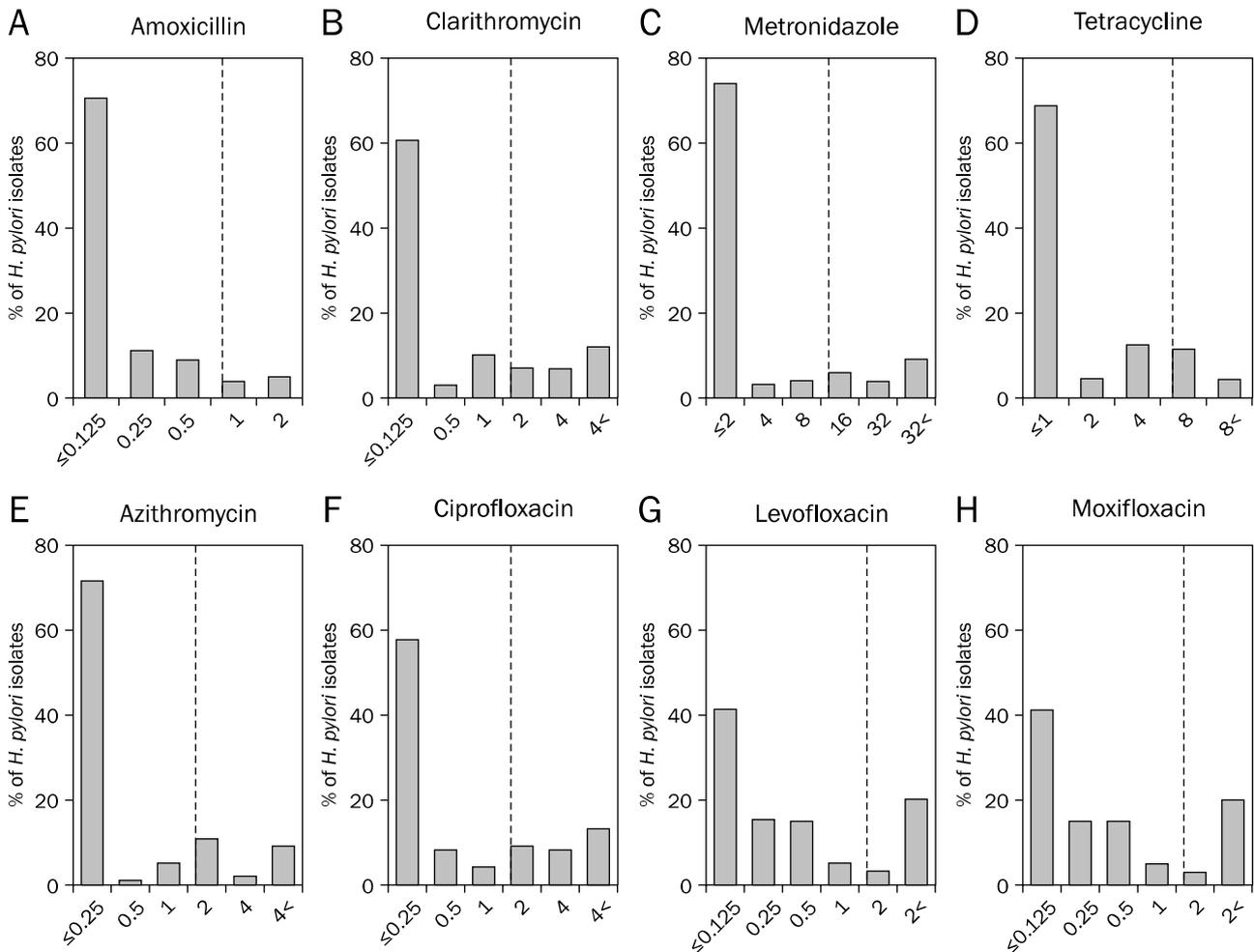


Fig. 1. Minimal inhibitory concentration (MIC) distributions of antibiotics for *H. pylori*: MICs of amoxicillin (A), clarithromycin (B), metronidazole (C), tetracycline (D), azithromycin (E), ciprofloxacin (F), levofloxacin (G) and moxifloxacin (H). The dotted line indicates the break point of each antibiotic.

하고 있었고(Fig. 1) 0.5 µg/mL 초과인 균주가 9.1%였다(Table 2). 경기 지역에서는 amoxicillin에 대한 내성률이 12.5%이었으나, 부산 지역에서는 amoxicillin 내성 균주가 전혀 없었다. 그러나 포함된 부산 지역의 환자가 적어 지역간 항생제 내성률의 차이는 유의하지 않았다.

2) Clarithromycin

Clarithromycin에 대한 MIC 분포는 0.25 µg/mL 이하에서 4 µg/mL 초과까지 다양하게 나타났고(Fig. 1) 1 µg/mL 초과인 균주가 전체 분리 균주의 26.3%였다(Table 2).

3) Metronidazole

Metronidazole에 대한 MIC는 2 µg/mL 이하부터 32 µg/mL 초과까지 다양하게 분포하였다(Fig. 1). 내성 기준을 8 µg/mL 초과로 하였을 때 전체 환자에서의 내성률은 19.2%였으며, 지역별로 경기 25.0%, 강원 10.0%, 부산 26.3%의 내성률을 보였다(Table 2).

4) Tetracycline

Tetracycline의 MIC는 주로 1 µg/mL 이하에 분포하고 있었으며, 4 µg/mL 초과인 균주가 전체의 15.2%였다(Table 2, Fig. 1).

5) Azithromycin

전체 환자를 대상으로 azithromycin의 내성률은 22.2%이었고(Table 2) azithromycin에 대해 내성이 있는 사람 중 2명을 제외한 20명(90.9%)이 clarithromycin에도 내성임을 확인할 수 있었다.

6) Quinolone

Quinolone인 ciprofloxacin, levofloxacin, moxifloxacin의 MIC 분포는 다양하였으며 내성률은 각각 30.3%, 23.2%, 23.2%로 비슷하였다(Table 2).

3. *H. pylori* 균주의 지역에 따른 항생제 내성의 비율

부산의 환자가 적어 정규성 및 등분산성이 없었기 때문에 모수적 검정 및 비모수적 검정인 Kruskal Wallis test를 함께 시행하였다. 각 항생제에 대한 내성률을 비교하면 clarithro-

mycin에 대한 내성률은 경기에서 32.5%, 강원에서 12.5%, 부산에서는 42.1%이었고, tracycline에 대한 내성률은 경기에서 12.5%, 강원에서 7.5%, 부산에서 36.8%이었다(Table 2, Fig. 2). 일원배치분산분석을 하였을 때 clarithromycin (p=0.027), tetracycline (p=0.010)에 대한 내성률이 지역간 유의한 차이가 있었으나, 사후검정을 시행하였을 때 두 항생제 모두 지역간 내성률의 차이가 유의하지 않았다. 비모수적 검정인 Kruskal Wallis test를 시행하였을 때에도 clarithromycin (p=0.027), tetracycline (p=0.010)에 대한 지역간 항생제 내성률의 차이를 볼 수 있었으나, 사후검정을 시행하였을 때 모수적 검정과 마찬가지로 세 군 사이의 유의한 차이는 없었다. 결과적으로 이들 항생제를 포함한 8가지 항생제에 대한 일차 항생제 내성의 지역간 차이는 통계적으로 유의하지 않았다.

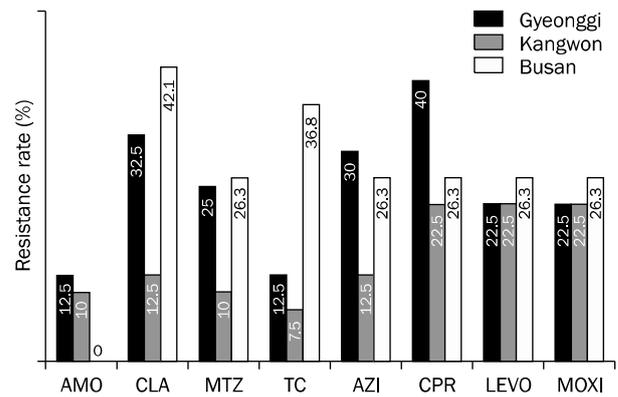


Fig. 2. Rate of antibiotics resistant *H. pylori* in three different regions. AMO, amoxicillin; CLA, clarithromycin; MTZ, metronidazole; TC, tetracycline; AZI, azithromycin; CPR, ciprofloxacin; LEVO, levofloxacin; MOXI, moxifloxacin. Resistant cut-off values were defined as >0.5 µg/mL for amoxicillin (AMO), >1 µg/mL for clarithromycin (CLA), >8 µg/mL for metronidazole (MTZ), >4 µg/mL for tetracycline (TC), >1 µg/mL for azithromycin (AZI), ciprofloxacin (CPR), levofloxacin (LEVO) and moxifloxacin (MOXI).

Table 2. Antibiotics Resistance Rates in Three Different Regions

Area	AMO	CLA ^a	MTZ	TC ^b	AZI	CPR	LEVO	MOXI
Gyeonggi No. (%)	5 (12.5)	13 (32.5)	10 (25.0)	5 (12.5)	12 (30.0)	16 (40.0)	9 (22.5)	9 (22.5)
Kangwon, No. (%)	4 (10.0)	5 (12.5)	4 (10.0)	3 (7.5)	5 (12.5)	9 (22.5)	9 (22.5)	9 (22.5)
Busan, No. (%)	0	8 (42.1)	5 (26.3)	7 (36.8)	5 (26.3)	5 (26.3)	5 (26.3)	5 (26.3)
Total No. (%)	9 (9.1)	26 (26.3)	19 (19.2)	15 (15.2)	22 (22.2)	30 (30.3)	23 (23.2)	23 (23.2)

AMO, amoxicillin; CLA, clarithromycin; MTZ, metronidazole; TC, tetracycline; AZI, azithromycin; CPR, ciprofloxacin; LEVO, levofloxacin; MOXI, moxifloxacin. Resistant cut-off values were defined as >0.5 µg/mL for AMO, >1 µg/mL for CLA, >8 µg/mL for MTZ, >4 µg/mL for TC, >1 µg/mL for AZI, CPR, LEVO and MOXI.

^ap=0.027, one way ANOVA test and Kruskal Wallis test, post-hoc analysis shows no difference.

^bp=0.010, one way ANOVA test and Kruskal Wallis test, post-hoc analysis shows no difference.

4. 다약제 내성균의 비율

Azithromycin과 clarithromycin의 교차내성이 존재한다고 판단된 바 이 둘을 한 가지로 생각하고, quinolone을 한 가지로 생각하여 5종류의 항생제 중 2종류 이상의 항생제에 내성을 나타낸 *H. pylori*가 있었던 사람은 총 28명(28.3%)이었다. 이를 각 지역별로 살펴보면 경기지역에서 2, 3, 4종류의 항생제에 내성이 있는 경우는 각각 17.5%, 15.0%, 2.5%였고, 강원지역은 각각 10.0%, 7.5%, 0%였으며, 부산지역은 각각 5.3%, 15.8%, 15.8%였다(Table 3, Fig. 3). 전체적으로 보면 2종류의 항생제에 내성인 균주가 있는 사람이 12.1%이었고, 3종류의 항생제에 내성인 균주가 있는 사람은 12.1%, 4종류의 항생제에 내성인 경우는 4.0%였으며 5종류 모두에 내성인 경우는 한 명도 없었다. 다약제 내성의 조합은 매우 다양하였으며 우리나라에서 *H. pylori* 제균 치료의 1차 약제로 사용되고 있는 amoxicillin과 clarithromycin 2가지 항생제에 대해 내성을 나타낸 경우는 모두 4명(4.0%)이었다. *H. pylori* 제균에 사용되는 5가지 항생제 중 내성을 보이는 항생제의 개수는, 경기 지역에서 평균 1.53개, 강원 0.75개 및 부산에서 1.58개였으며 경기-강원 간 한 균주 당 내성항생제 개수 차이는 통계적으로 유의하였다($p=0.029$). 다제내성 균주의 비율은 각각 35.0%, 17.5%, 36.8%로 경기, 강원, 부산 간 지역차이는 통계적으로 유의하지 않았다($p=0.145$). 3가지 이상의

항생제에 내성인 균주의 비율은 경기, 강원, 부산 각 17.5%, 7.5%, 31.6%로 지역간 유의한 차이는 없었다($p=0.061$).

5. 한 환자에서 배양한 여러 균주 내성의 다양성

한 환자에서 전정부 및 체부에서 각각 2개씩 조직을 얻었고 그 중 오염되거나 *H. pylori*가 자라지 않은 경우를 제외하고 한 환자에서 얻은 균주의 수는 1균주에서 8균주까지 다양

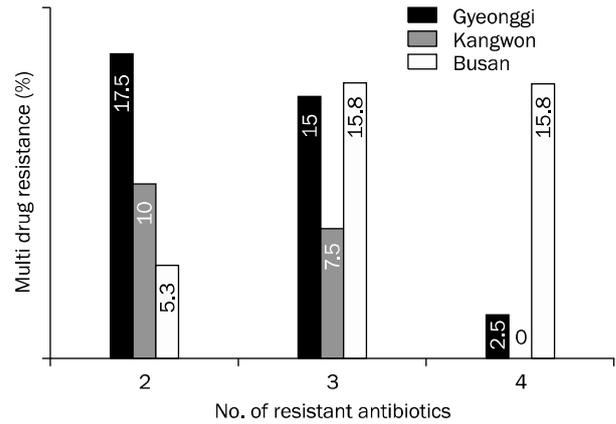


Fig. 3. Frequency of multi-drug resistance in three different regions. Five antibiotics denote amoxicillin, clarithromycin, metronidazole, tetracycline and quinolone (ciprofloxacin, levofloxacin and moxifloxacin). There was no strain resistant to all antibiotics.

Table 3. Multi-drug Resistance Distribution in Different Areas

No. of resistant antibiotics	Types of multi-drug resistance	Gyeonggi No. (%)	Kangwon No. (%)	Busan No. (%)	Total
2	AMO/CLA	0	1 (2.5)	0	1
	AMO/TC	1 (2.5)	0	0	1
	AMO/CPR	1 (2.5)	1 (2.5)	0	2
	CLA/TC	1 (2.5)	0	1 (5.3)	2
	CLA/CPR	3 (7.5)	0	0	3
	MTZ/CPR	0	2 (5.0)	0	2
	TC/CPR	1 (2.5)	0	0	1
	Total	7 (17.5)	4 (10.0)	1 (5.3)	12 (12.1)
3	AMO/CLA/CPR	1 (2.5)	0	0	1
	AMO/CLA/MTZ	0	1 (2.5)	0	1
	CLA/MTZ/TC	0	0	1 (5.3)	1
	CLA/MTZ/CPR	3 (7.5)	0	1 (5.3)	4
	CLA/TC/CPR	1 (2.5)	1 (2.5)	1 (5.3)	3
	MTZ/TC/CPR	1 (2.5)	1 (2.5)	0	2
	Total	6 (15.0)	3 (7.5)	3 (15.8)	12 (12.1)
4	AMO/CLA/MTZ/CPR	1 (2.5)	0	0	1
	CLA/MTZ/TC/CPR	0	0	3 (15.8)	3
Total	1 (2.5)	0	3 (15.8)	4 (4.0)	
Total		14 (35.0)	7 (17.5)	7 (36.8)	28/99 (28.3)

AMO, amoxicillin; CLA, clarithromycin; MTZ, metronidazole; TC, tetracycline; AZI, azithromycin; CPR, ciprofloxacin; LEVO, levofloxacin; MOXI, moxifloxacin. Resistant cut-off values were defined as >0.5 µg/mL for AMO, >1 µg/mL for CLA, >8 µg/mL for MTZ, >4 µg/mL for TC, >1 µg/mL for AZI, CPR, LEVO and MOXI.

Table 4. Number of *H. pylori* Isolates and Antibiotics Resistance Pattern in Each Patient

No. of <i>H. pylori</i> isolates	No. of Patients	Identical antibiotics resistance among isolates (%)	Different (%)
1	59		
2	29	58.6	41.4
3	5	40.0	60.0
4	1	100.0	0
5	2	50.0	50.0
6	1	100.0	0
7	0	—	—
8	2	100.0	0
Total	99	24/40 (60.0)	16/40 (40.0)

하였다(Table 4). 분리된 균주가 하나뿐인 경우는 59명(59.6%)이었고 둘 이상인 경우는 40명으로 전체의 40.4%를 차지하였다. 2개 이상의 균주가 분리된 경우 항생제 내성 특성이 모두 일치하였던 경우는 전체의 60.0%였다. 내성 분포가 하나라도 다른 경우 다른 종류의 내성 특성을 가졌다고 간주하였고 세 종류 이상의 내성 조합차이가 있었던 경우는 없었다.

고 찰

기존의 3제요법으로 치료 시 per protocol 분석에서 20% 이상이 *H. pylori* 제균에 실패한다는 보고가 있어,⁴ 효율적인 제균을 위한 연구들이 진행되어 왔다. 한국에서의 *H. pylori*의 약제 내성에 대한 연구는 주로 서울, 경기를 중심으로 이루어져 왔는데^{8,13-15} 이번 연구는 2008년도의 환자들을 대상으로 경기 지역은 물론 강원, 부산 지역을 포함하여 비교한 첫 논문이라는 점에서 의미가 있다.

우리나라에서의 amoxicillin에 대한 내성균은 1999년까지 전혀 없다는 보고가 있었으나¹³ 2003년 서울대학교병원 환자를 대상으로 한 연구에서는 18.5%까지 보고된 바 있고,⁸ 2007-2009년 경기 환자들을 대상으로 한 연구에서는 4.8%로 보고하였다.¹⁵ 이번 연구에서 amoxicillin에 대한 *H. pylori*의 내성률은 9.1%로 기존 연구보다 높은 내성률이 관찰되었다. Amoxicillin의 *H. pylori*에 대한 내성률은 주로 페니실린 결합단백의 돌연변이에 의한 것으로 알려진 바 있는데¹⁴ amoxicillin 내성이 있어도 기존 3제요법을 통해 효과적으로 *H. pylori*를 제균할 수 있다는 보고가 있다.¹⁵ 그러나 고농도의 베타 락탐 내성 *H. pylori*는 다약제 내성과 관련이 있다는 연구가 있어,¹⁶ amoxicillin의 3제요법 제균 성적에 미치는 영향에 관한 충분한 연구가 진행된 후 이에 대한 결론을 내릴 수

있을 것으로 보인다.

Clarithromycin은 macrolide 계열의 항생제로 현재 *H. pylori* 제균을 위해 amoxicillin과 더불어 1차 약제로 사용되고 있다. 이번 연구에서 분리 균주의 clarithromycin에 대한 내성률은 26.3%였다. 기존 연구에서 clarithromycin에 대한 내성이 2003-2005년 16.7%에서 2007-2009년 38.5%로 급격히 증가하였다고 보고한 바 있으나,¹⁵ 2008년 4월에서 8월 사이에 진행된 이번 연구에서는 2007-2009년보다 낮은 내성률을 보였는데 이는 아마도 그 전 연구¹⁵에서 제균력이 있는 환자가 포함되었을 가능성을 생각할 수 있으나 향후 자세한 관찰이 필요하다고 생각된다. Clarithromycin 내성은 23rRNA의 돌연변이, 특히 A2143 point mutation과 관련 있으며, 기존 연구에서부터 이런 돌연변이로 인해 *H. pylori* 제균율이 감소된다고 알려져 있다.^{11-13,17} 이번 연구에서는 세 지역의 내성률이 일원배치분산분석($p=0.027$) 및 비모수검정분석인 Kruskal Wallis test ($p=0.027$)에서 차이를 보였지만 사후검정 시 어느 두 지역간에도 유의한 차이가 없어 결국 세 지역 간의 통계적 유의한 차이는 없었다. 따라서 향후 환자수를 늘려 여전히 차이가 없는지 확인해 볼 필요가 있겠다.

Metronidazole은 서구에서 *H. pylori*의 1차 치료제로 사용되고 있기도 하며, 최근에는 amoxicillin과 clarithromycin을 이용한 1차 치료 실패 후 대체 항생제로 사용되고 있다.⁴ 우리나라에서 *H. pylori*의 metronidazole 내성률 보고를 보면 1994-1999년 40.5%,¹⁸ 2003년 66.2%,⁸ 2003-2005년 49.6%,¹³ 2003-2009년에는 27.5%로¹⁵ 나타나 점차 감소하는 추세를 시사하고 있다. 하지만 이러한 수치는 1998-2002년의 중부 이탈리아에서의 36.7%나¹⁹ 북동부 이탈리아에서의 14.9%보다²⁰ 여전히 높은 수치이다. 이번 연구에서 metronidazole 내성이 19.2%로 과거에 비하면 매우 낮은 수치로 나타나 다소 의외의 결과로 보이는데 향후 연구를 진행하면서 이러한 급격한 감소 추세가 맞는지 확인해 보아야 할 것이다. 그간 metronidazole 내성이 *H. pylori*의 제균에 미치는 영향은 clarithromycin 내성보다 적다고 알려져 왔다.²¹ 또한 한국에서 1차 제균요법에 실패한 사람들을 대상으로 4제요법을 시행하였을 때 제균율이 70% 정도로 낮지만²² 2주로 그 기간을 늘렸을 때에는 93.6%로 그 제균율이 유의하게 증가한 바 있다.²³ 이는 metronidazole 내성이 항생제 사용 기간을 연장함으로써 어느 정도 극복될 수 있음을 시사한다고 하겠다.

Tetracycline은 세균의 16S rRNA에 결합하여 30S 리보솜 subunit에 의한 단백질 생성을 억제하는 항생제로 최근 *H. pylori*에 대한 1차 제균 실패 후 대체 항생제로 권장되고 있다. 2003년 연구에서 tetracycline에 대한 내성균은 분리 균주의 12.3%이었다.⁸ 이번 연구에서의 tetracycline에 대한 내성률은 15.2%로 이전의 연구와 비슷한 결과를 보였는데 지역

간 차이에 대한 사후검정에서 세 지역 사이에 유의한 차이가 없는 것으로 나타남으로써 그 내성에 있어 큰 차이가 없음을 알 수 있었다.

Azithromycin은 clarithromycin과 같이 macrolide 계열의 항생제로 반감기가 길고 조직에서의 유효농도가 높아 PPI 3제요법에 포함되는 항생제의 하나로 제안되고 있다.²⁴ 그러나 이번 연구에서 azithromycin 내성 균주 중 90.9%가 clarithromycin에도 내성을 보임으로써 교차 내성을 시사하는 바, azithromycin 포함 PPI 3제요법을 도입하기 전에 이에 대한 신중한 고려가 있어야 할 것으로 보인다.

Quinolone에 대한 *H. pylori*의 내성률은 지난 2003년에 저자들이 시행한 서울과 경기 지역의 *H. pylori*의 항생제 일차 내성에 대한 비교연구에서는 서울에서 20.8%, 분당에서 5%로¹³ 두 지역 간 내성률의 차이가 있었다. 이번 연구에서는 당시에 비해 경기 지역에서의 quinolone에 대한 내성률이 증가한 것을 볼 수 있었고 이는 macrolide와 함께 quinolone 사용이 급격히 증가함으로써 나타나는 현상이라 추측되지만 이 연구에서 밝히지는 못하였다. 최근 1차 제균 실패 시에 moxifloxacin 혹은 levofloxacin을 포함한 3제요법이 제안되고 있다. 메타분석에 의하면 이러한 3제 요법이 bismuth 포함 4제요법보다 효율적이라는 보고도 있으나,^{25,26} 국내에서 이루어진 연구에서는 moxifloxacin 포함 3제요법 사용 기간을 14일로 연장했음에도 불구하고 그 제균율이 오히려 떨어지는 양상을 보임으로써 결국은 moxifloxacin 내성 증가에 기인할 것임을 시사한 바 있다.²⁷ 하지만 중국에서 이루어진 최근 연구에서는 quinolone 포함 3제요법이 여전히 효과적이라고 보고하고 있어,²⁸ 향후 1차 제균 실패 후 quinolone 포함 3제요법을 하나의 대안으로 사용해 볼 수 있다. Quinolone을 사용하기 전에 항생제 내성 검사가 바람직하다고 생각되지만 MIC 검사가 매우 어려운 실정인바 제한적으로 사용할 수 있겠다. 최근에는 quinolone 포함 3제요법이나 4제요법 외에 1차 치료 실패 후 치료에 대해서 연속요법(sequential therapy) 등의 다른 2차 치료법들에 대한 연구가 활발하다.²⁹⁻³³ 국내 보고를 보면 연속요법을 1차 치료로 사용했을 때 그 치료 성적이 좋았다는 논문과³⁴ 효과적이지 않았다는 발표가 있었는데,^{35,36} 이러한 상이한 결과를 항생제 내성으로 설명할 수 있는지에 대해서는 좀 더 많은 연구가 필요하다고 생각된다.

다약제 내성을 나타내는 *H. pylori* 균주는 지난 2003년 보고에서는 47.7%였으나⁸ 이번 연구에서는 예상과 달리 34.3%로 다소 낮게 나타났는데 2003년 보고에 과거 *H. pylori* 제균력이 있는 환자가 일부 포함된 것으로 추측되지만 이에 대해서는 추후 분석이 좀 더 진행되어야 할 것으로 보인다. 이에 더하여 azithromycin과 clarithromycin간의 교차 내성을 확인하고 azithromycin내성을 제외하고 분석하였을 때 다제내

성을 보이는 균주는 28.3%로 더 낮아지는 바 향후 분석에서는 교차내성에 대한 고려가 필요할 것으로 생각된다. 내성을 나타내는 항생제의 조합은 이전 연구의 결과에서처럼 매우 다양하였고 amoxicillin과 clarithromycin 모두에 대해 내성을 나타낸 균주는 4.0%로 이전의 6.2%와⁸ 비슷한 결과를 보여주었다. 2가지 이상의 항생제에 내성인 균주를 가진 사람 수나, 3가지 이상의 항생제에 내성인 균주를 가진 사람 수는 세 지역간 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 경기 지역의 내성률이 비교적 높게 나타난 이유 중 하나는 한 환자에서의 분리 균주가 많았고, 한 균주라도 항생제 내성이 있는 경우 내성으로 처리한 방법적인 원인에 기인했을 가능성이 있겠다. 하지만 부산 지역의 경우 19명 모두에서 한 균주에서 내성 검사를 시행하였음에도 경기지역의 35.0%와 비슷한 36.8%를 보이는 바 경기 지역에서의 3가지 종류 이상의 항생제 내성 비율이 높은 이유를 이것만으로 설명하기는 어려워 보인다.

이번 연구에서 한 환자에서 2개 이상의 균주가 분리된 경우 항생제 내성 특성이 모두 일치하였던 경우가 전체의 60.0%에 불과하여 혼합 감염을 시사하였는데 이는 기존 보고들과도 일치한다.^{37,38} 또한 43명의 환자에서의 *cagA*, *vacA*, *iceA*, *oipA* 유전적 다양성에 대한 국내 보고를 보면 총 58.1%의 환자에게서 다른 종류의 유전형을 가진 균주가 배양된 바 있다.³⁹ 이는 향후 항생제 내성 연구에 있어 그 정확성을 기하기 위해서는 여러 개의 조직을 배양하고 균주 수를 많이 하는 것이 필요함을 시사하는 소견이라 생각된다. 따라서 예수가 적었던 이번 연구의 한계를 극복하기 위해서는 향후 더 많은 예수의 환자를 대상으로 한 환자당 적어도 2개 이상의 균주를 배양하여 항생제 내성을 비교하는 전국적 규모의 연구가 필요하다 하겠다.

요 약

목적: 이 연구는 한국에서 세 지역간 *Helicobacter pylori* (*H. pylori*)의 일차 항생제 내성률을 평가하기 위해 시행되었다.

대상 및 방법: 2008년 4월에서 8월 사이에 이전에 *H. pylori* 제균치료를 받지 않았던 경기, 강원, 부산 지역의 한국인 99명의 위 조직에서 *H. pylori*를 분리하였다. 한 기관에서 *H. pylori* 균주의 amoxicillin, clarithromycin, metronidazole, tetracycline, azithromycin, ciprofloxacin, levofloxacin, moxifloxacin에 대한 내성을 agar dilution 방법으로 평가하였다.

결과: 경기, 강원, 부산 세 지역 간의 clarithromycin에 대한 내성률은 각각 32.5%, 12.5%, 42.1%였으며 일원배치분산분석($p=0.027$) 및 비모수검정분석인 Kruskal Wallis test ($p=0.027$)에서 차이를 보였지만 사후검정 시 어느 두 지역

간에도 유의한 차이가 없어 결국 세 지역간의 통계적 유의한 차이는 없었다. 나머지 7가지 항생제(amoxicillin, metronidazole, tetracycline, azithromycin, ciprofloxacin, levofloxacin, moxifloxacin)에 대한 내성률도 세 지역 간에 유의한 차이는 없었다.

결론: 2008년에 분리한 *H. pylori*의 지역 내지 기관 간의 일차 항생제 내성률에 차이는 없었다. 하지만 예수가 다소 적어 결론에 한계가 있으리라 생각되는 바 향후 그 예수를 늘려 추가 연구를 시행할 필요가 있다 하겠다.

색인단어: *Helicobacter pylori*, 항생제 내성

REFERENCES

1. NIH Consensus Conference. *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. NIH consensus development panel on *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. JAMA 1994;272:65-69.
2. Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter pylori* infection. N Engl J Med 2002;347:1175-1186.
3. Malfertheiner P, Mégraud F, O'Morain C, et al. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection--the Maastricht 2-2000 Consensus Report. Aliment Pharmacol Ther 2002;16:167-180.
4. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, et al. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III Consensus Report. Gut 2007;56:772-781.
5. Laheij RJ, Rossum LG, Jansen JB, Straatman H, Verbeek AL. Evaluation of treatment regimens to cure *Helicobacter pylori* infection--a meta-analysis. Aliment Pharmacol Ther 1999;13:857-864.
6. Cho EJ, Lee DH, Chun JY, et al. Recent trends in the eradication rates of second-line quadruple therapy for *Helicobacter pylori* and the clinical factors that potentially affect the treatment outcome. Korean J Gastrointest Endosc 2009;38:14-19.
7. Kobayashi I, Murakami K, Kato M, et al. Changing antimicrobial susceptibility epidemiology of *Helicobacter pylori* strains in Japan between 2002 and 2005. J Clin Microbiol 2007;45:4006-4010.
8. Kim JM, Kim JS, Jung HC, Kim N, Kim YJ, Song IS. Distribution of antibiotic MICs for *Helicobacter pylori* strains over a 16-year period in patients from Seoul, South Korea. Antimicrob Agents Chemother 2004;48:4843-4847.
9. Graham DY, Shiotani A. New concepts of resistance in the treatment of *Helicobacter pylori* infections. Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol 2008;5:321-331.
10. Kato M, Yamaoka Y, Kim JJ, et al. Regional differences in metronidazole resistance and increasing clarithromycin resistance among *Helicobacter pylori* isolates from Japan. Antimicrob Agents Chemother 2000;44:2214-2216.
11. Queiroz DM, Dani R, Silva LD, et al. Factors associated with treatment failure of *Helicobacter pylori* infection in a developing country. J Clin Gastroenterol 2002;35:315-320.
12. Mégraud F. *H. pylori* antibiotic resistance: prevalence, importance, and advances in testing. Gut 2004;53:1374-1384.
13. Kim N, Kim JM, Kim CH, et al. Institutional difference of antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* strains in Korea. J Clin Gastroenterol 2006;40:683-687.
14. Gerrits MM, Schuijffel D, van Zwet AA, Kuipers EJ, Vandenbroucke-Grauls CM, Kusters JG. Alterations in penicillin-binding protein 1A confer resistance to beta-lactam antibiotics in *Helicobacter pylori*. Antimicrob Agents Chemother 2002;46:2229-2233.
15. Hwang TJ, Kim N, Kim HB, et al. Change in antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* strains and the effect of A2143G point mutation of 23S rRNA on the eradication of *H. pylori* in a single center of Korea. J Clin Gastroenterol 2010;44:536-543.
16. Kwon DH, Dore MP, Kim JJ, et al. High-level beta-lactam resistance associated with acquired multidrug resistance in *Helicobacter pylori*. Antimicrob Agents Chemother 2003;47:2169-2178.
17. Occhialini A, Urdaci M, Doucet-Populaire F, Bébéar CM, Lamouliatte H, Mégraud F. Macrolide resistance in *Helicobacter pylori*: rapid detection of point mutations and assays of macrolide binding to ribosomes. Antimicrob Agents Chemother 1997;41:2724-2728.
18. Kim JJ, Reddy R, Lee M, et al. Analysis of metronidazole, clarithromycin and tetracycline resistance of *Helicobacter pylori* isolates from Korea. J Antimicrob Chemother 2001;47:459-461.
19. Toracchio S, Marzio L. Primary and secondary antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* strains isolated in central Italy during the years 1998-2002. Dig Liver Dis 2003;35:541-545.
20. Pilotto A, Rassu M, Leandro G, Franceschi M, Di Mario F; Interdisciplinary Group for the Study of Ulcer. Prevalence of *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics in Northeast Italy: a multicentre study. GISU. Interdisciplinary Group for the Study of Ulcer. Dig Liver Dis 2000;32:763-768.
21. Mégraud F. Basis for the management of drug-resistant *Helicobacter pylori* infection. Drugs 2004;64:1893-1904.
22. Park MJ, Choi IJ, Kim JS, et al. Efficacy of quadruple therapy as retreatment regimen in *Helicobacter pylori*-positive peptic ulcer disease. Korean J Gastroenterol 2000;36:457-464.
23. Lee BH, Kim N, Hwang TJ, et al. Bismuth-containing quadruple therapy as second-line treatment for *Helicobacter pylori* infection: effect of treatment duration and antibiotic resistance on the eradication rate in Korea. Helicobacter 2010;15:38-45.
24. Ivashkin VT, Lapina TL, Bondarenko OY, et al. Azithromycin in a triple therapy for *H. pylori* eradication in active duodenal ulcer. World J Gastroenterol 2002;8:879-882.
25. Gisbert JP, Morena F. Systematic review and meta-analysis: levofloxacin-based rescue regimens after *Helicobacter pylori* treatment failure. Aliment Pharmacol Ther 2006;23:35-44.
26. Li Y, Huang X, Yao L, Shi R, Zhang G. Advantages of Moxifloxacin and Levofloxacin-based triple therapy for second-line treatments of persistent *Helicobacter pylori* infection: a meta analysis. Wien Klin Wochenschr 2010;122:413-422.
27. Yoon H, Kim N, Lee BH, et al. Moxifloxacin-containing triple therapy as second-line treatment for *Helicobacter pylori* infection: effect of treatment duration and antibiotic resistance on the eradication rate. Helicobacter 2009;14:77-85.
28. Chen LW, Chien RN, Chang JJ, Fang KM, Chang LC. Comparison

- of the once-daily levofloxacin-containing triple therapy with the twice-daily standard triple therapy for first-line *Helicobacter pylori* eradication: a prospective randomised study. *Int J Clin Pract* 2010;64:1530-1534.
29. Zullo A, Vaira D, Vakil N, et al. High eradication rates of *Helicobacter pylori* with a new sequential treatment. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;17:719-726.
 30. Scaccianoce G, Hassan C, Panarese A, Piglionica D, Morini S, Zullo A. *Helicobacter pylori* eradication with either 7-day or 10-day triple therapies, and with a 10-day sequential regimen. *Can J Gastroenterol* 2006;20:113-117.
 31. Vaira D, Zullo A, Vakil N, et al. Sequential therapy versus standard triple-drug therapy for *Helicobacter pylori* eradication: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2007;146:556-563.
 32. Paoluzi OA, Visconti E, Andrei F, et al. Ten and eight-day sequential therapy in comparison to standard triple therapy for eradicating *Helicobacter pylori* infection: a randomized controlled study on efficacy and tolerability. *J Clin Gastroenterol* 2010;44:261-266.
 33. Jafri NS, Hornung CA, Howden CW. Meta-analysis: sequential therapy appears superior to standard therapy for *Helicobacter pylori* infection in patients naive to treatment. *Ann Intern Med* 2008;148:923-931.
 34. Kwon JH, Lee DH, Song BJ, et al. Ten-day sequential therapy as first-line treatment for *Helicobacter pylori* infection in Korea: a retrospective study. *Helicobacter* 2010;15:148-153.
 35. Choi WH, Park DI, Oh SJ, et al. Effectiveness of 10 day-sequential therapy for *Helicobacter pylori* eradication in Korea. *Korean J Gastroenterol* 2008;51:280-284.
 36. Park S, Chun HJ, Kim ES, et al. The 10-day sequential therapy for *Helicobacter pylori* eradication in Korea: less effective than expected. *Gastroenterology* 2009;136:A-339-A-340.
 37. Kim YS, Kim N, Kim JM, et al. *Helicobacter pylori* genotyping findings from multiple cultured isolates and mucosal biopsy specimens: strain diversities of *Helicobacter pylori* isolates in individual hosts. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009;21:522-528.
 38. Kim JM. Antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* isolated from Korean patients. *Korean J Gastroenterol* 2006;47:337-349.
 39. Kim JJ, Kim JG, Kwon DH. Mixed-infection of antibiotic susceptible and resistant *Helicobacter pylori* isolates in a single patient and underestimation of antimicrobial susceptibility testing. *Helicobacter* 2003;8:202-206.