

요와 농 검체에서의 Vancomycin 내성 장구균 분리 2예

연세대학교 의과대학 임상병리과학교실, 내과학교실*, 재활의학교실**

정석훈 · 김문정 · 이경원 · 정윤섭 · 권오현 · 김준명* · 김성규* · 전세일**

= Abstract =

Vancomycin-Resistant Enterococci Isolated from Urine and Pus Specimens

Seok Hoon Jeong, M.D., Mun Jeong Kim, M.D., Kyungwon Lee, M.D.
Yunsop Chong, Ph.D., Oh Hun Kwon, M.D., June Myeong Kim, M.D.*
Sung-kyu Kim, M.D.* and Sae-il Chun, M.D.**

Departments of Clinical Pathology, Internal Medicine* and Rehabilitation Medicine**,
Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* and *E. faecium* were isolated from urine and decubitus ulcer discharge, respectively, from a 65-year-old woman. Prior to the transfer to this hospital in December, 1995, she had been admitted to the Chicago Rehabilitation Center in the U.S. for the treatment of olivopontocerebellar atrophy, quadriplegia, and neurogenic bladder. She was also treated with multiple antimicrobials including vancomycin for pneumonia at intensive care unit, which suggested that she acquired the organisms in the U.S. The minimal inhibitory concentrations of vancomycin and teicoplanin against the isolates were: *E. faecalis* 256 µg/mL and 0.5 µg/mL; *E. faecium* 32 µg/mL and 0.5 µg/mL, respectively. The susceptibility patterns suggest the isolates are vanB type. Although other species of vancomycin-resistant *Enterococcus* spp. were reported previously in Korea, these isolates may be the first vancomycin-resistant *E. faecalis* and *E. faecium* from clinical specimens.

Key Words : *Enterococcus*, Vancomycin resistance, Nosocomial infection

흔한 원내감염균으로 보고되었다⁴⁾.

서 론

장구균 (*Enterococcus*)은 위장관과 생식기의 정상 상재균으로¹⁾, 과거에는 연쇄구균으로 분류되었으나 1984년 새로운 속으로 재분류되었다. 현재까지 17종이 알려져 있으며²⁾, 그중 *E. faecalis*와 *E. faecium*이 가장 흔히 감염을 일으킨다. 이 세균은 그 병독성 인자가 알려져 있지 않지만 창상과 요로감염 등의 경한 감염증 뿐 아니라 균혈증, 심내막염, 수막염 등의 중증감염도 일으키며³⁾, 1993년 미국에서는 네번째로

장구균의 경한 감염증은 ampicillin, penicillin 등으로 치료가 가능하나, 중증감염은 β-lactam과 aminoglycoside 제제의 병합요법이³⁾, penicillin이나 aminoglycoside에 고도내성인 균주에 의한 감염증에는 vancomycin이 권장되고 있다. 그러나 1988년 프랑스에서 vancomycin 내성 장구균 (vancomycin-resistant *Enterococcus*, VRE)이 처음 보고된 이후⁵⁾ 세계 여러나라에서 VRE에 의한 감염이 보고되었으며⁶⁻⁹⁾, 1993년 미국 Centers for Disease Control and Prevention의 National Nosocomial Infections

Surveillance System¹⁰⁾은 미국에서 원내감염을 일으킨 장구균 중 VRE의 비율이 1989년에는 0.3%이었으나 1993년에는 7.9%로 증가하였으며, 중환자실 환자에서는 1989년의 0.4%에서 1993년에는 13.6%로 급격히 증가하였음을 보고하였다. 특히 vancomycin 내성 *E. faecium*은 다른 대부분의 항균제에도 내성이어서¹¹⁾ 임상적으로 심각한 위협이 되고 있다.

우리나라에서는 vancomycin 내성인 *E. durans* 1주와 *E. casseliflavus* 4주가 임상검체에서 분리, 보고된 바 있으나^{12, 13)}, vancomycin 내성 *E. faecalis*나 *E. faecium*에 의한 감염 예는 보고된 바 없다. 저자 등은 세브란스병원에 입원한 한 환자의 요와 천골 육창의 농 검체에서 각각 vancomycin 내성 *E. faecalis*와 *E. faecium* 1주를 분리하였기에 보고하는 바이다.

증례

환자는 65세의 여자로 1995년 8월부터 미국 Chicago 재활센터에서 올리브교소뇌위축 (olivoponto-cerebellar atrophy)으로 인한 사지마비와 신경원성 방광 (neurogenic bladder)의 치료를 받다가 1995년 12월 세브란스병원으로 전원되었다. 미국에서 위루술 (gastrostomy)을 시행받았으며, 폐렴 치료를 위해 중환자실에 입원하여 vancomycin, ceftazidime, ciprofloxacin, metronidazole 등의 항균제를 투여 받았다.

전원 당시 환자는 도뇨관을 삽입하고 있었으며, 말초혈액의 백혈구수는 8,400/ μL 이었고, 이 중 호중구가

50%, 단구가 19%이었다. 요 침사의 경검에서 적혈구 1+, 백혈구 2+이었고, 요배양에서 10^5 CFU/mL 이상의 *E. faecalis*가 분리되었는데, 이 균주는 vancomycin 내성이었다. 입원 제 7일에 천골 부위에 육창이 생겼고 그 농에서 vancomycin 내성 *E. faecium*과 vancomycin 감수성 *E. faecalis*가 분리되었다. 환자는 teicoplanin으로 일주일간 치료받은 후, 요와 육창의 분비물 배양이 음성으로 전환되어 퇴원하였다.

세균학적 검사 및 소견: 요 검체는 혈액한천과 MacConkey 한천에 접종하여 35°C에서 하루밤 배양하였는데, 혈액한천에서 용혈이 없는 직경 0.5-1.5 mm의 용기된 회색 접락이 10^5 CFU/mL 이상 증식되었다. 육창의 농은 혈액한천, MacConkey 한천 및 Brewer thioglycollate medium에 접종하여 35°C에서 하루밤 배양하였는데, 혈액한천에서 α-용혈성인 용기된 회색접락과 모양은 비슷하지만 용혈이 없는 접락이 증식되었다. 분리 세균은 전통적인 생화학적 시험으로 동정하였다²⁾. 즉, 요에서 분리된 균주 (95-12-697)와 농에서 분리된 용혈이 없었던 균주 (95-12-2437-2)는 mannitol에서 산을 생성하였고 potassium tellulite 배지에서 증식하여서 *E. faecalis*로 동정되었다. 한편 농에서 분리된 α-용혈성 균주 (95-12-2437-1)는 tellurite 배지에서 증식하지 않았으며, mannitol, arabinose, raffinose 및 lactose에서 산을 생성하였고, arginine dihydrolase 양성이며 운동성이 없어서 *E. faecium*으로 동정되었다. 위의 세균주 모두는 pyrrolidonylarylamidase (Carr-Scarborough Mi-

Table 1. Antimicrobial susceptibilities of *Enterococcus* isolates determined by disk diffusion and agar dilution tests

Antimicrobial agents	Disk diffusion methods ^a			Agar dilution tests (MIC, $\mu\text{g}/\text{mL}$)		
	<i>E. faecalis</i> 95-12-697	<i>E. faecium</i> 95-12-2437-1	<i>E. faecalis</i> 95-12-2437-2	<i>E. faecalis</i> 95-12-697	<i>E. faecium</i> 95-12-2437-1	<i>E. faecalis</i> 95-12-2437-2
Ampicillin	S	R	S	0.5	64	1
Vancomycin	R	R	S	256	32	1
Teicoplanin	S	S	S	0.25	0.5	0.25
Erythromycin	R	R	R	NT ^b	NT	NT
Tetracycline	R	R	R	NT	NT	NT
Ciprofloxacin	R	R	R	NT	NT	NT
Gentamicin	R	R	R	1,024	>1,024	1,024

^a S, susceptible; R, resistant.

^b NT, not tested.

Table 2. Vancomycin-resistant *Enterococcus* spp. isolated from clinical specimens in Korea

Year isolated	Species	Source or specimen	Underlying disease	MIC ($\mu\text{g/mL}$)		References
				Vancomycin	Teicoplanin	
1992	<i>E. durans</i>	Oral cavity	AML	256	32	12
1995	<i>E. casseliflavus</i>	Pus	ALL	64	4	13
1995	<i>E. casseliflavus</i>	Pus	Not mentioned	128	16	13
1995	<i>E. casseliflavus</i>	Blood	ALL	64	4	13
1995	<i>E. casseliflavus</i>	Urine	AML	128	16	13
1995	<i>E. faecalis</i>	Urine	OPCA ^a	256	0.25	Present case
1995	<i>E. faecium</i>	Pus	OPCA	32	0.5	Present case

^a OPCA, Olivopontocerebellar atrophy.

crobiologicals, Ga, U.S.A.)와 leucine aminopeptidase 디스크 (Carr-Scarborough Microbiologicals) 시험 양성이었다.

항균제 감수성은 NCCLS 디스크 확산법과 한천회석법으로 시험하였으며^{14, 15)}, 한천회석법의 시험 항균제로는 ampicillin (종근당, 서울), vancomycin (Daewoong Lilly, 서울), teicoplanin (Marion Merrill Dow, 서울) 및 gentamicin (종근당, 서울)을 사용하였다. 정도관리를 위해서는 *E. faecalis* ATCC 29212를 동시에 시험하였다. 요에서 분리된 *E. faecalis*에 대한 vancomycin과 teicoplanin의 MIC는 각각 256 $\mu\text{g/mL}$ 와 0.25 $\mu\text{g/mL}$ 이었고, 농에서 분리된 *E. faecium*은 32 $\mu\text{g/mL}$ 과 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 이었으며, 농에서 분리된 *E. faecalis*는 1과 0.25 $\mu\text{g/mL}$ 이었다 (Table 1).

고 안

Glycopeptide 계열 항균제인 vancomycin과 teicoplanin은 그람양성세균에 의한 중증감염의 치료에 쓰인다¹⁶⁾. 이 항균제는 세포벽 표면에 있는 peptidoglycan 전구체의 D-alanyl-D-alanine (D-Ala-D-Ala) 말단과 복합체를 이루어, 세포벽에서의 포도당화 전이 (transglycosylation)와 웨타이드기 전이 (transpeptidation) 반응을 억제한다¹⁷⁾. Glycopeptide는 1960년대에 개발되었는데, 오랜 사용기간에도 이 항균제에 내성인 장구균에 의한 감염 예가 보고되지 않았기 때문에, VRE가 출현하지 않을 것이라는 추측도 있었다¹⁸⁾. 그러나 1988년 이후 세계 여러 나라에서 VRE에 의한 감염 예가 보고되었으며⁵⁻⁹⁾, 미국에서는 이 세균에 의한 원내감염 예가 혼란 것으로 알

려졌다¹⁰⁾.

Glycopeptide 내성 장구균에는 VanA, VanB 및 VanC의 세 가지 표현형이 있다¹⁹⁾. VanA형은 *E. faecalis*나 *E. faecium*에 흔하며, 고농도의 vancomycin (MIC 64-1,000 $\mu\text{g/mL}$)과 teicoplanin (MIC 16-512 $\mu\text{g/mL}$)에 내성이고, 유도성이다^{10, 19)}. VanB형도 *E. faecalis*나 *E. faecium*에서 흔한데, VanA형과 달리 vancomycin에 대한 내성정도가 다양하며 (MIC 4-1,000 $\mu\text{g/mL}$), teicoplanin에는 감수성 (MIC <2 $\mu\text{g/mL}$)이다. 그러나 일부 VanB형 장구균은 teicoplanin에 대한 내성도 획득할 수 있어서 감수성 시험만으로 VanA형과 감별할 수는 없다고 하였다²⁴⁾.

VanC형은 *E. gallinarum*, *E. casseliflavus* 및 *E. flavescentiae*에 흔한데, vancomycin에 대한 내성정도가 낮고 (MIC 2-32 $\mu\text{g/mL}$), teicoplanin에는 감수성이며 (MIC <2 $\mu\text{g/mL}$), 구성형 (constitutive)이다^{21, 22)}.

우리나라에서는 임상검체에서 현재까지 5주의 VRE 분리가 보고되었다. 1992년 박 등¹²⁾은 골수이식을 받은 급성골수아구성 백혈병 환자의 구강에서 vancomycin 내성 *E. durans*를, 1995년 김 등¹³⁾은 3명의 백혈병 환자 혈액, 요 및 농과 1명의 욕창성 궤양 농에서 vancomycin 내성 *E. casseliflavus* 4주를 분리 보고하였다 (Table 2). 박 등이 보고한 *E. durans*는 vancomycin과 teicoplanin에 모두 내성인 VanA형으로, 김 등이 보고한 *E. casseliflavus*는 vancomycin에 내성이며 teicoplanin에는 저농도 내성 또는 중간이어서 VanA 또는 VanB형으로 추측되었다. *E. casseliflavus*는 vanC형을 나타내는 경우가 혼하지만, 고농도의 vancomycin이나 teicoplanin

에 내성인 균주도 보고된 바 있다²³⁾. 본 증례의 요에서 분리된 *E. faecalis*와 농에서 분리된 *E. faecium*은 모두 vancomycin에는 내성이나 teicoplanin에는 감수성이어서 VanB형으로 추측되었으나, 정확한 감별을 위해서는 polymerase chain reaction 등의 분자생물학적 방법이 필요한 것으로 사료되었다.

Vancomycin 내성 유전인자는 대부분 plasmid에 의하여 전달되는 것으로 알려져 있다^{6, 24)}. 최근에는 transposon도 내성에 관여하는 것으로 생각되고 있는데²⁵⁾, 특히 plasmid에 transposon이 전위 (transposition)되어 vancomycin 내성 유전인자가 *Staphylococcus aureus*나 *Streptococcus pneumoniae*로 전달될 가능성도 있으며, 실제로 *E. faecalis*의 glycopeptide 내성이 접합 (conjugation)에 의하여 *S. aureus*로 전달될 수 있음이 실험에 의하여 증명된 바 있다²⁶⁾.

미국에서는 VRE가 500 병상 이상의 대형 병원에 혼한 것으로 알려져 있으며¹⁰⁾, 종종 선행질환이 있거나, 장기간 입원했거나, vancomycin 등 여러 항균제 치료를 받은 환자에 정착 (colonization)하거나 감염을 잘 일으키는 것으로 보고되었다²⁷⁾. 본 증례의 환자도 미국에서 중환자실에 장기간 입원하였고, vancomycin, ceftazidime, ciprofloxacin, metronidazole 등의 항균제 치료를 받은 바 있어서, 미국에서 정착된 세균에 의하여 감염되었을 것으로 생각되었다.

과거에는 대부분 장구균이 내인성 감염만을 일으키는 것으로 생각되었으나, 근래에는 주요 원내감염균의 하나로 대두되었다. 이미 국내에서도 VRE가 감염을 일으킨 소수의 예가 보고되었고, 장내상재균 조사에서도 분리된 보고가 있어²⁸⁾, 우리나라에서 VRE가 확산될 가능성을 배제할 수 없으며, 이를 예방하기 위한 조치가 필요한 것으로 생각된다. 따라서 의사를 포함한 병원 직원에게 VRE 감염증의 심각성을 홍보하여야 하며, 미생물검사실에서는 가능하면 임상검체에서 분리된 모든 장구균에 대하여 vancomycin 감수성을 시험하거나, 정기적으로 환자의 변에서 장구균을 분리하여 vancomycin 감수성을 시험하는 것이¹⁰⁾ 바람직하다고 사료된다.

요 약

65세 여자 환자의 요 검체에서 vancomycin 내성 *E. faecalis*를, 욕창의 농에서 vancomycin 내성 *E.*

*faecium*을 분리하였는데, 환자의 병력으로 미루어 미국에서 정착된 세균에 의하여 감염되었을 것으로 생각되었다. 분리 균주에 대한 vancomycin의 MIC는 각각 258과 32 µg/mL, teicoplanin은 0.25, 0.5 µg/mL 이어서 VanB 표현형으로 추측되었다. 우리나라에서의 VRE 확산을 예방하기 위한 조치의 일환으로서 의사와 포함한 병원 직원에게 VRE 감염증의 심각성을 홍보하여야 하며, 미생물검사실에서는 임상검체에서 분리된 장구균의 vancomycin 내성을 시험하고 장내 VRE 보균자의 주기적 검색이 필요하다고 사료되었다.

REFERENCES

- 1) Kaye D: *Enterococci. Biologic and epidemiologic characteristics and in vitro susceptibility*. Arch Intern Med 142:2006-2009, 1982
- 2) Facklam RR, Sahm DF: *Enterococcus*. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaffer MA, Tenover FC, Yolken RH, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. 6th ed. p 308-314, Amer Soc Microbiol, Washington, D.C., 1995
- 3) Murray BE: *The life and times of the Enterococcus*. Clin Microbiol Rev 3:46-65, 1990
- 4) Emori TG, Gaynes RP: *An overview of nosocomial infections, including the role of the microbial laboratory*. Clin Microbiol Rev 6:428-442, 1993
- 5) Uttley AHC, Collins CH, Naidoo J, George RC: Letter. Lancet ii:57-58, 1988
- 6) Leclercq R, Derlot E, Duval J, Courvalin P: *Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in Enterococcus faecium*. N Engl J Med 319:157-161, 1988
- 7) Shales DM, Bouvet A, Devine C, Shales JH, Al-Obeid S, Williamson R: *Inducible, transferable resistance to vancomycin in Enterococcus faecalis A256*. Antimicrob Agents Chemother 33:198-203, 1989
- 8) Sahm DF, Kissinger J, Gilmore MS, Murray PR, Mulder R, Solliday J, et al.: *In vitro susceptibility studies of vancomycin-resistant Enterococcus faecalis*. Antimicrob Agents Chemother 33:1588-1591, 1989
- 9) Green M, Wadowsky RM, Barbadora K: *Recovery of vancomycin-resistant Gram-positive cocci from children*. J Clin Microbiol 28:484-488, 1990
- 10) Centers for Disease Control and Prevention: *Nosocomial enterococci resistant to vanco-*

- mycin-United States, 1989-1993. *Morbid Mortal Weekly Rep* 42:597-599, 1993
- 11) Chow JW, Kuritza A, Shlaes DM, Green M, Sahm DF, Zervos MJ: Clonal spread of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* between patients in three hospitals in two states. *J Clin Microbiol* 31:1609-1611, 1993
 - 12) 박지원, 김양리, 신완식, 강문원, 한경자, 심상인: Vancomycin 내성 enterococci에 대한 감수성 검사. *감염* 24:133-137, 1992
 - 13) 김수현, 김세찬, 구석봉, 신종희, 서순팔, 양동우: Vancomycin 내성 enterococci 감염 4례. 대한임상병리학회지 15(부록2):S265, 1995
 - 14) National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. 5th ed. Publication M2-A5. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa, 1993
 - 15) National Committee for Clinical Laboratory Standards: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 3rd ed. Publication M7-A3. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa, 1993
 - 16) Courvalin P: Resistance of enterococci to glycopeptides. *Antimicrob Agents Chemother* 34: 2291-2296, 1990
 - 17) Nagarajan R: Antibacterial activities and modes of action of vancomycin and related glycopeptides. *Antimicrob Agents Chemother* 35:605-609, 1991
 - 18) Murray BE: Editorial response: What can we do about vancomycin-resistant enterococci? *Clin Infect Dis* 20:1134-1136, 1995
 - 19) Arthur M, Courvalin P: Genetics and mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci. *Antimicrob Agents Chemother* 37:1563-1571, 1993
 - 20) Hayden MK, Trenholme GM, Schultz JE, Sahm DF: In vivo development of teicoplanin resistance in a VanB *Enterococcus faecium* isolate. *J Infect Dis* 167:1224-1227, 1993
 - 21) Leclercq R, Dutka-Malen S, Duval J, Courvalin P: Vancomycin resistance gene *vanC* is specific to *Enterococcus gallinarum*. *Antimicrob Agents Chemother* 36:2005-2008, 1992
 - 22) Navarro F, Courvalin P: Analysis of genes encoding D-alanine-D-alanine ligase-related enzymes in *Enterococcus casseliflavus* and *Enterococcus flavescent*. *Antimicrob Agents Chemother* 38:1788-1793, 1994
 - 23) Dutka-Malen S, Blaimont B, Wauters G, Courvalin P: Emergence of high-level resistance to glycopeptides in *Enterococcus gallinarum* and *Enterococcus casseliflavus*. *Antimicrob Agents Chemother* 38:1675-1677, 1994
 - 24) Leclercq R, Derlot E, Weber M, Duval J, Courvalin P: Transferable vancomycin and teicoplanin resistance in *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemother* 33:10-15, 1989
 - 25) Arthur M, Molinas C, Depardieu F, Courvalin P: Characterization of *Tn1546*, a *Tn3*-related transposon conferring glycopeptide resistance by synthesis of depsipeptide peptidoglycan precursors in *Enterococcus faecium* BM4247. *J Bacteriol* 175:117-127, 1993
 - 26) Noble WC, Virani Z, Cree RGA: Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from *Enterococcus faecalis* NCTC 12201 to *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol Lett* 93:195-198, 1992
 - 27) Edmond MB, Ober JF, Weinbaum DL, Pfaffer MA, Hwang T, Sanford MD, et al.: Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* Bacteremia: Risk factors for infection. *Clin Infect Dis* 20: 1126-1133, 1995
 - 28) 백경란, 이남용, 송재훈: Vancomycin 내성 장구균의 소화관내 집락 양상과 한국에서의 출현 가능성에 대한 조사. *감염* 27:641, 1995