

임상검체 및 닭에서 분리된 반코마이신 내성 장구균의 항균제 감수성과 분자역학적 성상 - 임상검체와 닭에서 분리된 반코마이신 내성 장구균의 연관성 -

이혁민 · 용동은 · 김명숙 · 염종화 · 이위교¹ · 허지영¹ · 이동건² · 김승한² · 유진홍² · 이경원 · 신완식² · 정윤섭

연세대학교 의과대학 진단검사의학교실, 세균내성연구소, 아주대학교 의과대학 진단검사의학교실¹, 가톨릭대학교 의과대학 감염내과학교실²

Antimicrobial Susceptibilities and PFGE Patterns of Vancomycin-Resistant *Enterococcus* isolated from Clinical Specimens and Chickens

Hyukmin Lee, M.D., Dongeun Yong, M.D., Myung Sook Kim, M.T., Jong Hwa Yum, M.D., Wee Gyo Lee, M.D.¹,
Ji Young Huh, M.D.¹, Dong-Gun Lee, M.D.², Seung-Han Kim, Ph.D.², Jin Hong Yu, M.D.², Kyungwon Lee, M.D.,
Wan Sik Shin, M.D.², and Yunsop Chong, M.D.

Department of Laboratory Medicine and Research Institute of Bacterial Resistance, Yonsei University College of Medicine, Seoul;
Department of Laboratory Medicine¹, Ajou University School of Medicine, Suwon; Division of Infectious Disease, Department of Internal
Medicine², The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

Background : Enterococcal infections have become extremely difficult to manage because of an increase in antibiotic resistance among enterococci. In Europe, the use of avoparcin in animals was reported to be the cause of vancomycin-resistant enterococci (VRE) transmission to humans. In this study, we performed antimicrobial susceptibility testing and pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) to characterize the genetic relatedness of VRE of human and chicken.

Methods : Ninety strains of VRE were isolated from clinical specimens in three University hospitals located in Seoul and Kyungi province in 2001-2002. Thirty isolates of VRE were collected from four chicken farms located in areas remotely distanced from each other. The isolates were identified to the species level by conventional biochemical tests and commercial kits. Antimicrobial susceptibilities were tested by the NCCLS disk diffusion and agar dilution methods. For a molecular epidemiologic analysis, PFGE was performed.

Results : Among the 90 clinical isolates were 73 vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* (VREFM) and 17 vancomycin-resistant *E. faecalis* (VREFA). The resistant rates of VREFA to ampicillin, levofloxacin and tetracycline were 0%, 100%, and 100%, respectively, and for VREFM, 100%, 96%, and 26%, respectively. However, the resistant rates of VREFM isolated from chicken were 19% to ampicillin, 0% to levofloxacin, and 100% to tetracycline. The PFGE patterns of genomic DNA of the clinical isolates were very diverse, suggesting a polyclonal spread of VRE, although some isolates had an identical PFGE pattern, indicating a mini-outbreak due to a clonal spread. The PFGE patterns of genomic DNA of the chicken isolates were very different from those of the human isolates.

Conclusions : VRE isolates from human and chicken showed very different antimicrobial susceptibilities and PFGE patterns. These results suggest that VRE isolated from human and chicken are not closely related genetically. (*Korean J Lab Med* 2005; 25: 39-45)

접 수 : 2004년 11월 1일

접수번호 : KJLM1809

수정본접수 : 2005년 1월 12일

교신저자 : 이 경 원

우 120-752 서울시 서대문구 신촌동 134

연세대학교 의과대학 진단검사의학과

전화 : 02-361-5866, Fax : 02-313-0908

E-mail : leekcp@yumc.yonsei.ac.kr

Key Words : VRE, Epidemiology, Vancomycin, Antimicrobial susceptibility, Chicken

*본 논문은 2001년도 한국학술진흥재단의 지원에 의하여 연구되었음(KRF-2001-042-F00025).

서 론

장구균은 장내의 상재균으로 과거에는 장구균에 의한 감염이 드물었으나 근래에는 원내 감염을 흔히 일으키는 세균이 되었다. 균종별로는 *Enterococcus faecalis*에 의한 것이 가장 많고 *Enterococcus faecium*이 그 다음으로 흔하다. 장구균에 의한 감염은 요로 감염이 가장 흔하고 균혈증, 심내막염, 수막염, 골수염 등의 중증 감염도 일으킨다. 장구균은 여러 항균제에 자연 내성 또는 획득 내성을 갖는 것이 특징으로 중증 감염 치료에 β -lactam과 aminoglycoside제제를 병합하여 상승작용을 얻을 수 있다[1]. 장구균이 β -lactam 또는 고농도 aminoglycoside에 내성일 때는 상승작용이 없어서 vancomycin이 치료제로 흔히 사용되고 있으나 최근에는 vancomycin 내성 장구균(vancomycin-resistant enterococci, VRE)이 급격히 증가하여 중증감염 환자 치료 시 항균제 선택은 매우 어려워졌다.

VRE의 급격한 증가는 내성균 자체의 확산(clonal spread)과 내성유전자의 전파(horizontal spread) 때문인데, 이러한 확산을 막기 위해서는 VRE의 전파 경로를 추적하는 것이 매우 중요하다. 내성균 자체의 확산을 규명하기 위해서는 PFGE에 의한 VRE 염색체 DNA의 분석이, 내성유전자의 전파를 규명하기 위해서는 vancomycin 내성 유전자 구조를 분석하는 것이 필요하다.

유럽에서는 glycopeptide 제제인 avoparcin을 사용한 농가에서 유전적으로 동일한 VRE 또는 내성유전자가 가축과 사람에서 동시에 분리되어 VRE가 가축으로부터 전파되었을 가능성이 있음이 보고되었다[2]. 국내에서도 avoparcin이 1997년까지 가축의 사료에 사용되었으며 가축에서도 VRE가 분리됨이 보고되었다[3, 4].

이에 본 연구에서는 사람과 닭에서 분리된 VRE의 항균제 내성 양상과 분자역학적인 성상을 규명하여 사람과 닭 분리주의 역학적인 관계를 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상 균주

2001년-2002년에 서울, 경기도 소재 3개 대학병원에서(아주대학병원, A; 가톨릭의대 여의도성모병원, C; 세브란스병원, S) 환자의 혈액을 포함한 임상 검체와 변에서 분리된 VRE를 수집하였다(Table 1). 또한 지역적으로 떨어져 있는 4개 양계장의 닭에서 분리된 VRE 30주(*E. faecium* 27주, *E. faecalis* 3주)를 수집하였다. VRE 선별을 위해서는 vancomycin 6 μ g/mL을 넣은 Brain heart infusion (BHI) agar 혹은 bile esculin azide agar를 이용하였다. 장구균 동정은 전통적인 생화학적 방법과 상품화된 Vitek GPI kit (bioMerieux, Marcy l'Etoile, France)를 이용하였다. 전통적 방법은 1차 시험으로는 *Streptococcus Faecalis* (SF), BEAA, mannitol 및 tellulite 배지에서 증식, sorbose 및 2% methyl alpha-D-glucopyranoside에서의 산생성 시

험, pigment 생성 유무를 관찰하였다. 2차 시험으로는 arginine, arabinose, raffinose 및 sucrose에서의 산생성을 시험하였다.

2. 항균제 감수성 시험

항균제 감수성은 National Committee for Clinical Laboratory Standards 디스크 확산법과 한천희석법으로 시험하였다. 시험 항균제는 ampicillin, erythromycin, levofloxacin, tetracycline, vancomycin 및 teicoplanin이었다. 정도관리를 위해서 *E. faecalis* ATCC 29212와 *Staphylococcus aureus* ATCC 29213을 동시에 시험하였다.

3. Vancomycin 내성 유전형 시험

시험 균주를 BHI 액체 배지 1 mL에서 하룻밤 배양 후 7,000 rpm에서 5분 동안 원심 분리하여 침사를 얻었다. DNA 분리는 QIAamp DNA mini kit (Qiagen Inc., Hilden, Germany)를 이용하였다. *vanA* (F: 5'-GGGAAAACGACAATTGC-3', R: 5'-GTACAATGCGGCCGTTA-3', 732 bp), *vanB* (F: 5'-ATGGGAAGCCGATAG-3', R: 5'-GATTTTCGTTCTCGA-3', 635 bp), *vanC-1* (F: 5'-GGTATCAAGGAAACCTC-3', R: 5'-CTTCCGCATCATAG-3', 822 bp) 및 *vanC-2/C-3* (F: 5'-CTCCTACGATTCTCTTG-3', R: 5'-CGAGCAAGACCTTTA-3', 439 bp)에 대한 시발체[5]를 이용하여 다중 중합효소 연쇄반응법(multiplex polymerase chain reaction)으로 vancomycin 내성 유전형을 시험하였다. 중합효소 연쇄반응은 추출한 DNA 10-50 ng, 10X 반응완충액 2.5 μ L, dNTP (10 mM) 0.5 μ L, 각각의 시발체(100 pmol) 1 μ L씩, Taq polymerase (GIBCO-BRL, Carlsbad, CA, USA) 2.5 unit씩 혼합 후 Gene-Cycler (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 이용하여 시행하였다. 반응조건은 95°C, 1분간 denaturation, 54°C, 1분간 annealing, 72°C, 1분간 extension을 30회 반복하였다. 증폭된 산물을 전기영동하여 자외선 조명 하에서 관찰하였다.

4. Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE)

시험세균을 BHI 액체 배지에 접종하여 37°C, CO₂ 항온기에서

Table 1. Number of isolates of vancomycin-resistant *E. faecalis* and *E. faecium* from human

Specimen	A hospital		C hospital		S hospital		Total	
	EFA	EFM	EFA	EFM	EFA	EFM	EFA	EFM
Clinical specimen	1	16	1	21	10	13	12	50
Stool	0	9	2	8	3	6	5	23

Abbreviations: A hospital, Ajou university hospital; C hospital, Catholic university hospital; S hospital, Severance hospital; EFA, *E. faecalis*; EFM, *E. faecium*.

18시간 배양하였다. 세균 부유액 700 μL 을 원심 분리한 후 침사를 saline EDTA 용액에 부유하고 원심 분리하였다. 침사를 Pett IV 용액에 부유시킨 후, 세균 부유액과 50°C에 보존한 한천을 혼합하여 agarose plug을 만들었다. Plug을 lysis buffer에서 37°C에서 1시간 반응시킨 후, ESP 용액에 반응시켰다. Agarose plug을 중화시킨 후 CHEF-DR II system (Bio-Rad Laboratories, Richmond, CA, USA)으로 전기 영동하였고 염색 후 자외선 조영 하에서 관찰하였다. Molecular analyst fingerprinting software (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 사용하여 unweighted pair group method using arithmetic averages (UPGMA) 방법으로 PFGE band 형에 대한 Dice coefficients를 계산하였다. PFGE band 양상을 Tenover 등[6]의 기준과 Dice coefficient로 비교하여 80% 이상의 유사성 계수를 보이던 유전적으로 상관성이 있는 군으로 보았다.

결 과

1. VRE의 항균제 내성양상 및 내성 유전형

Vancomycin 내성 *E. faecalis* (VREFA)의 항균제 감수성은 임상분리주의 경우 vancomycin과 teicoplanin의 MIC 범위는 각각 >128 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 과 64->128 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이었고, 내성유전형은 *vanA* 형이었다. Ampicillin의 MIC 범위는 0.5-4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이었고, 모두

Table 2. Antibiotic susceptibilities of vancomycin-resistant *E. faecalis* isolated from human and chicken

Antibiotics	MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) and %R of isolates from					
	Human (17)				Chicken (3)	
	Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀	%R	Range	%R
Ampicillin	0.5-4	4	4	0	0.5-1	0
Erythromycin	>128	>128	>128	100	16->128	100
Tetracycline	16-64	32	64	100	0.5->128	67
Levofloxacin	16-128	64	128	100	0.5-32	33
Vancomycin	>128	>128	>128	100	>128	100
Teicoplanin	64->128	>128	>128	100	32-128	100

Abbreviations: MIC, minimum inhibitory concentration; %R, percent resistant.

Table 3. Antibiotic susceptibilities of vancomycin-resistant *E. faecium* isolated from human and chicken

Antibiotics	MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) and % R of isolates from											
	Clinical specimen (50)				Stool (23)				Chicken (27)			
	Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀	%R	Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀	%R	Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀	%R
Ampicillin	64->128	>128	>128	100	32->128	>128	>128	100	\leq 0.12-64	4	16	19
Erythromycin	64->128	>128	>128	100	128->128	>128	>128	100	0.12->128	128	>128	82
Tetracycline	0.12-64	0.25	32	26	0.25-128	0.5	32	21	128->128	128	>128	100
Levofloxacin	2-128	32	64	96	8-128	16	128	100	0.5-4	4	4	0
Vancomycin	64->128	>128	>128	100	64->128	>128	>128	100	64->128	>128	>128	100
Teicoplanin	16->128	32	128	100	0.5->128	64	128	88	2-128	64	128	96

Abbreviations: See Table 2.

감수성이었으나(Table 2), erythromycin, tetracycline 및 levofloxacin에는 모두 내성이었다. 닭에서 분리된 VREFA는 3주이었는데, 모두 *vanA* 유전자를 갖고 있었다. Erythromycin에는 모두 내성이었으나, tetracycline과 levofloxacin에 대해서는 각각 2주와 1주가 내성이었다.

Vancomycin 내성 *E. faecium* (VREFM)의 항균제 감수성은 임상분리주의 경우 vancomycin과 teicoplanin의 MIC 범위는 64->128 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 과 16->128 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 모두 내성이었고(Table 3), VanA 형이었다. Ampicillin의 MIC 범위는 64->128 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이었고 모두 내성이었다. Erythromycin과 levofloxacin 내성률은 각각 100%와 96%이었으나, tetracycline에는 26%의 균주만이 내성이었다. 환자의 변에서 분리된 23주의 감수성 양상은 임상 분리주와 유사하였으나, 3주는 vancomycin에 내성, teicoplanin에 감수성이었고, 모두 *vanB* 유전자를 갖고 있었다. 닭 분리주의 vancomycin과 teicoplanin 내성률은 각각 100%와 96%이었고, 모두 *vanA* 유전자를 갖고 있었다. Ampicillin의 MIC 범위는 \leq 0.12-64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이었으며, 내성률은 19%이었다. Levofloxacin의 MIC 범위와 MIC₉₀은 각각 0.5-4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 와 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 내성인 균주는 없었으나 78%의 균주가 감수성이 저하되었다. 반면 tetracycline에는 모든 균주가 내성이었다.

2. PFGE에 의한 분자역학적 연구

분자역학적 연구에서 유전적으로 동일한 균주에 의한 감염은 VREFA에서 2주에 의한 감염 1예와 VREFM에서 각기 2주에 의한 2예가 있었고 각각은 동일 병원에서 분리된 균주이었다. VREFA의 경우 임상분리주의 PFGE 성상은 모두 9가지 형이었고, 4가지 형은 2-5개의 아형으로 분류되었다. C, E 및 K군은 S병원 환자에서 분리된 것들이었고 I군은 C병원 분리주이었고 각 병원 분리주 간에 동일한 형은 없었다. 닭 분리 3주는 각기 다른 3가지 형으로 분류되었고, 임상분리주와는 달랐다(Fig. 1).

VREFM의 경우 A병원 임상 및 변 검체 분리주의 PFGE 성상은 모두 11가지 형이었고, 그 중 A, m, q, v, α 군은 2-8개의 아형으로 분류되었다. C병원은 20가지 형이었고, 그 중 Y, a, b, c, j형은 2-4개의 아형이 있었다. S병원은 18가지형이었고, y 및

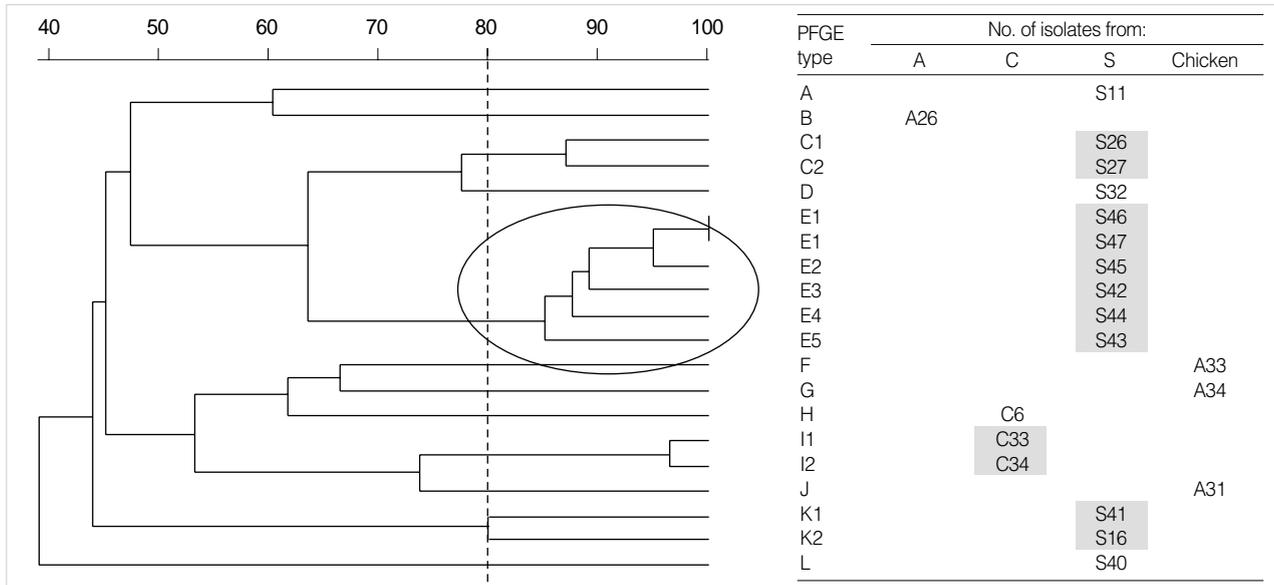


Fig. 1. Dendrogram of PFGE band pattern of vancomycin-resistant *E. faecalis*. A total of 20 strains were analyzed.

Table 4. Summary of PFGE types and subtypes of vancomycin-resistant *E. faecium*

Type	A	C	S	Ch	Type	A	C	S	Ch
A	4				f	1			
B			1		g				1
C			(1)		h		1		
D			1		i		1		
E			1		j		2		
F				1	k		1		
G				2	l		1		
H				2	m	2			
I				1	n		1		
J				2	o			(1)	
K				1	p	1			
L				3	q	(8)	1		
M				6	r		(1)		
N				2	s		2		
O				1	t			1	
P		1			u	1			
Q				2	v	(3)			
R			(1)		w			1	
S				1	x	(1)			
T		1			y			2	
U				1	z	1		(1)	
V		1			α	2			
W			1		β	1			
X			(1)		φ		1		
Y		(2)			δ			1	
Z		(1)			ε			1	
a		(4)			∅		(1)		
b		(3)			γ			2	
c		2			η			1	
d		1			ι			(1)	
e			1						

Abbreviations: A, Aju university hospital; C, Catholic university hospital; S, Severance hospital; Ch, chicken.

γ형은 2개의 아형이 있었다. 각 병원 분리주의 PFGE의 성상은 달랐고, 2주에서만 동일한 성상(q와 z형)을 보였다. 한편 닭 분리주에서는 모두 14가지 형이었고 그 중 7가지 형은 2-6개의 아형이 있었으며, 임상분리주와 동일한 성상을 보인 균주는 없었다 (Fig. 2, Table 4).

고 찰

1988년 프랑스에서 VRE가 처음 보고된 이후[7], 미국을 포함한 세계 여러 나라에서 VRE에 의한 감염이 보고되었다. 1993년도에 미국 Centers for Disease Control and Prevention의 보고[8]에 의하면 원내감염 장구균 중 VRE의 비율이 1989년 0.3%에서 1993년 7.9%로 증가하였으며 중환자실 환자에서는 1989년의 0.4%에서 1993년에는 13.6%로 급증하였음을 보고하였다. 국내에서는 1992년 vancomycin 내성 *E. durans* 1주[9]가 처음 보고되었고, VREFA와 VREFM은 1995년에 처음 보고된 후[11], 1998년부터 급격히 증가하기 시작하여, 2002년 Korean Nationwide Surveillance of Antimicrobial Resistance (KONSAR) 조사[12]에 의하면 *E. faecium*의 29%가 VRE로, 외국에 비해서도 높았다. 원내 감염 관리에서 VRE에 의한 직접적인 감염 외에도, VRE의 내성 유전자가 플라스미드를 통해 다른 균종으로 전파가 가능하며[13], 2002년에 미국에서 VRE로부터 *vanA* 유전자를 전달받은 MRSA가 보고[14-16]되었다는 점에서 VRE의 전파 경로를 추적하는 것은 매우 중요하다.

VRE의 급격한 증가는 내성균의 확산과 내성유전자의 전파에 의한 것이다. 2003년 신 등[17]은 국내 한 대학 병원에서 급증한 VRE는 다양한 PFGE 성상을 보여 단일 클론에 의한 확산보다

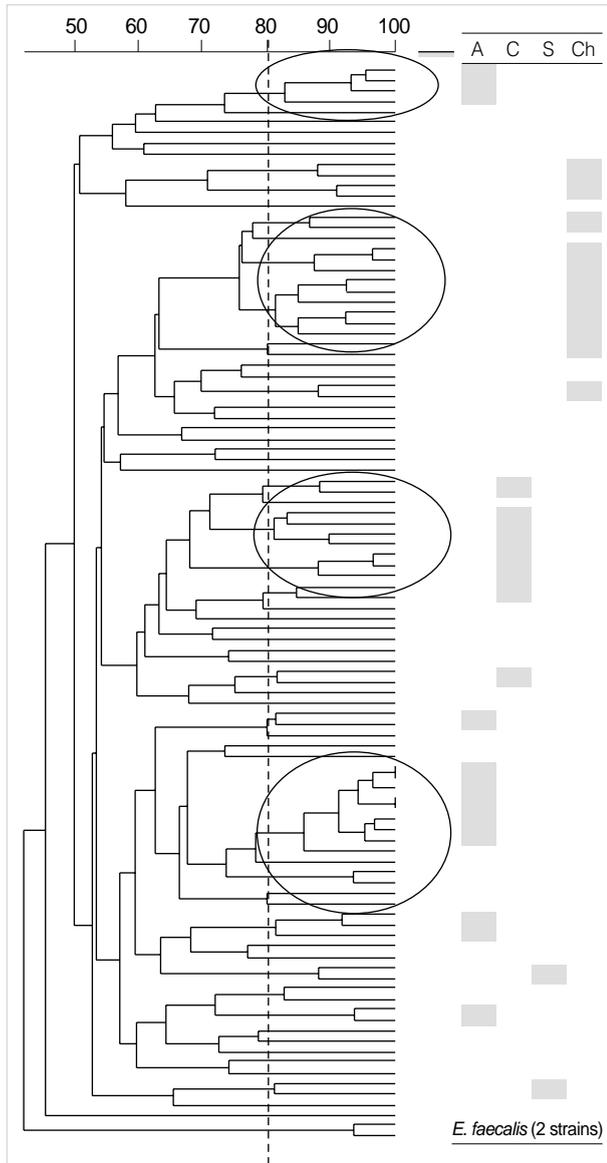


Fig. 2. Dendrogram of PFGE band pattern of VRE. The band differences of *Sma*I-digested genomic DNAs of 100 strains of Vancomycin-resistant *E. faecium* and 2 strains of vancomycin-resistant *E. faecalis* were analyzed using the Dice coefficients and unweighted pair group method using arithmetic averages (UPGMA) clustering method using Molecular analyst fingerprinting software. Abbreviations: A, Ajou university hospital; C, Catholic university hospital; S, Severance hospital; Ch, chicken.

는 다양한 클론에 의한 다발적인 발생임을 보고하였다. 유럽에서는 가축과 건강인에서도 VRE가 분리되는데[2] 이는 가축 사료에 첨가된 glycopeptide제인 avoparcin이 선택 압력으로 작용하여 glycopeptide 내성 장구균의 분리가 증가하고 사람이 가축의 VRE에 직접 감염되거나 가축의 VRE가 사람의 상재 장구균에 VRE 내성 유전자를 전달하는 것으로 알려졌다. 내성균의 역할을 규명하기 위해서는 항균제 감수성 양상, PFGE 성상 및 Tn1546

유전형 조사 등을 이용할 수 있다. 본 연구에서는 VRE의 급격한 증가 원인을 규명하고자 임상검체와 닭에서 분리된 VRE의 항균제 감수성 양상과 PFGE 성상을 비교하였다.

본 연구에서 임상 분리 VREFA는 ampicillin에는 모두 감수성이었으나, tetracycline과 levofloxacin에는 모두 내성이었다. 닭 분리 VREFA는 단지 3주이었으나, tetracycline에는 2주가, levofloxacin에는 1주 내성이어서 임상 분리주의 내성 양상과는 달랐다. 임상 분리 VREFM은 ampicillin 및 levofloxacin에 대한 내성률이 각각 100%와 96%로 높았고 tetracycline에 대한 내성률은 26%로 낮은 반면, 닭 분리 VREFM은 ampicillin 및 levofloxacin에 대한 내성률이 각각 19%와 0%로 낮으며 tetracycline에 대한 내성률은 100%로 높아 임상 분리주와 닭 분리주의 내성 양상이 매우 달랐다. Yoshimura 등[18]은 일본의 양계장에서 분리된 장구균의 내성을 조사에서 *E. faecalis* 중 ampicillin과 ofloxacin에 내성인 균주는 없었고, erythromycin 및 tetracycline에 대해서 각각 90%와 94%가 내성이었고, *E. faecium* 중 ofloxacin에 1%만이 내성이었으며 ampicillin, erythromycin 및 tetracycline에 대해서 64%, 65% 및 95%가 내성이었다고 보고하였다. Aarestrup 등[19]에 따르면 사람에서 분리된 *E. faecalis*의 erythromycin과 tetracycline 내성률은 각각 22%와 37%이었고 가금류는 각각 44%와 59%이었다. *E. faecium*은 erythromycin과 tetracycline 내성률이 임상 분리주에서 각각 20%와 12%이었고 가금류 분리주에서는 각각 74%와 32%이어서 가금류 분리주의 내성률이 더욱 높음을 보고하였다. 한편 Chen 등[20]은 가금류에서 분리된 VREFM에서 erythromycin 내성률은 낮으나 tetracycline 내성률은 높음을 보고하여 가금류 분리주의 항균제 내성 양상이 지역마다 차이를 알 수 있었다.

분자역학적 연구를 위한 PFGE 성상은 동일 병원에서 분리된 소수의 VREFA와 VREFM 중에 동일한 양상이었고, 각 병원 분리주의 대부분에서는 유전적인 상관성이 없었으나 소수에서 병원별로 유전적인 상관성이 있었고 소규모의 집단 발생이 있음을 알 수 있었다. 또한 닭 분리주는 임상 검체에서 분리된 VRE와는 유전적으로 다르나 닭 분리주 사이에는 상관성이 있음을 알 수 있었다.

최근 Tn1546에서 insertion sequence (IS)를 이용한 VRE 간의 유전적 상관성에 대한 연구가 보고되고 있다. 삽입되는 IS의 종류에 따라 지역적인 차이가 있으며 역학 연구에서 유전적인 상관성을 나타내는 지표로 사용될 수 있다. 허 등[21]은 국내 닭에서 분리된 VRE의 92%에서 IS가 삽입되지 않은 prototype의 Tn1546 유전자 구조를 갖고 있으나 환자에서 분리된 VRE는 IS1542, IS1216V 및 IS19 등이 삽입되어 유전적 재조합이 있으며 prototype은 없어[22] 사람 분리주와 닭 분리주간에 내성 양상이나 유전형 분석을 통하여 직접적인 연관성은 없는 것으로 보고하였다.

결론적으로 임상분리주와 닭 분리주는 항균제 내성 양상과 유전형에서 매우 상이하여 직접적인 연관성은 없는 것으로 판단되었다. 사람에서 분리된 VRE 역시 유전적으로 다양성을 보여 동

일 내성균주의 전파에 의한 감염은 아닌 것으로 생각되어졌으나 각 병원별 분리주의 일부가 같은 군에 속하여 유전적인 상관성을 보였다.

요 약

배경 : 최근 반코마이신 내성 장구균(VRE)의 분리가 많아짐에 따라 일부 감염증의 치료가 어려워졌다. VRE는 임상검체 외에도 닭의 변에서 흔히 분리된다. 본 연구에서는 임상 검체와 닭의 변에서 분리된 VRE의 상관성을 규명하고자 항균제 감수성과 분자역학적 성상을 비교하였다.

방법 : 2001년-2002년에 서울과 경기도 소재 3개 대학병원 환자의 임상검체와 변에서 분리된 VRE를 각 병원별로 약 30주씩 수집하였다. 또한 지역적으로 떨어진 4개 양계장 닭의 변에서 분리된 VRE 30주를 수집하였다. 균종 동정은 전통적 방법과 Vitek GPI (bioMerieux, Marcy l'Etoile, France)를 이용하였고, 항균제 감수성은 NCCLS 디스크 확산법과 한천 희석법으로 시험하였다. 또한 VRE의 염색체 DNA를 *Sma* I으로 절단 후 pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)하여 그 양상을 분석하였다.

결과 : 임상 검체에서 분리한 VRE는 90주이었고, 이중 *E. faecium* (VREFM)은 73주, *E. faecalis* (VREFA)는 17주이었다. Ampicillin, levofloxacin 및 tetracycline 내성률은 VREFA가 각각 0%, 100% 및 100%이었고, VREFM은 각각 100%, 96% 및 26%이었다. 반면 닭에서 분리된 VREFM의 내성률은 ampicillin 19%, levofloxacin 0% 및 tetracycline 100%이었다. 임상 분리주의 PFGE형은 다양하였으나, 각 병원의 일부 균주의 양상은 비슷하여 국소적인 작은 집단 발생이 있었음을 알 수 있었고, 대부분 닭 분리주의 PFGE형은 임상 분리주와는 현저히 달랐다.

결론 : 임상 검체와 닭에서 분리된 VREFM은 항균제 감수성 양상과 분자역학적 양상이 현저히 달라서 상관성이 없는 것으로 판단되었다.

참고문헌

1. Neumann MA, Sham DF, et al. New developments in antimicrobial agents susceptibility testing: a practical guide. Cumitech 6A. American Society for Microbiology, Washington, DC, 1991.
2. Simonsen GS, Haaheim H, Dahl KH, Kruse H, Lovseth A, Olsvik Ø, et al. Transmission of VanA-type vancomycin-resistant enterococci and vanA resistance elements between chicken and humans at avoparcin-exposed farms. *Microb Drug Resist* 1998; 4: 313-8.
3. Park YH, Seo KS, Yoo HS, Development of multiplex PCR for detection of vancomycin resistant enterococci and epidemiological application in Korea. *J Korean Soc Chemother* 1999; 17: 369-84.
4. 최연화, 이영선, 이점규, 유재일, 김치경, 김봉수. 환자와 가축에서 분리된 *vanA*형 VRE의 분자유전학적 연관성. *감염* 2001; 33: 383-91.
5. Dutka-Malen S, Evers S, Courvalin P. Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant enterococci by PCR. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 24-7.
6. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2233-9.
7. Uttley AHC, Collins CH, Naidoo J, George RC. Vancomycin-resistant enterococci. *Lancet* 1988; 9: 57-8.
8. Centers for Disease Control and Prevention: Nosocomial enterococci resistant to vancomycin-United States, 1989-1993. *Morbidity and Mortality Weekly Rep* 1993; 42: 597-9.
9. 박지원, 김압리, 신완식, 강문원, 한경자, 심상인. Vancomycin 내성 enterococci에 대한 감수성 검사. *감염* 1992; 24: 133-8.
10. 김수현, 김세찬, 구석봉, 신중희, 서순팔, 양동욱. Vancomycin 내성 enterococci 감염 4예. 대한임상병리학회지 1995; 15(부록2): S265.
11. 정석훈, 김문정, 이경원, 정윤섭, 권오현, 김준명 등. 요와 농 검체에서의 vancomycin 내성 장구균 분리 2예. *감염* 1996; 28: 373-7.
12. 홍성근, 용동은, 이경원, 김의중, 이위교, 정석훈 등. 국내 여러 지역 병원의 임상검체에서 분리된 주요 세균의 항균제 내성률. *대한임상미생물학회지* 2003; 6: 29-36.
13. Noble WC, Virani Z, Cree RG. Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from *Enterococcus faecalis* NCTC 12201 to *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol Lett* 1992; 72: 195-8.
14. Centers for Disease Control and Prevention 2002. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*-Pennsylvania, 2002. *Morbidity and Mortality Weekly Rep* 2002; 51: 902.
15. Chang S, Sievert DM, Hageman JC, Boulton ML, Tenover FC, Downes FP, et al. Infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the *vanA* resistance gene. *N Engl J Med* 2003; 348: 1342-7.
16. Weigel LM, Clewell DB, Gill SR, Clark NC, McDougal LK, Flannagan SE, et al. Genetic analysis of a high-level vancomycin-resistant isolate of *Staphylococcus aureus*. *Science* 2003; 302: 1569-71.
17. Shin JW, Yong D, Kim MS, Chang KH, Lee K, Kim JM, et al. Sudden increase of vancomycin-resistant enterococcal infections in a Korean tertiary care hospital: possible consequences of increased use of oral vancomycin. *J Infect Chemother* 2003; 9: 62-7.
18. Yoshimura H, Ishimaru M, Endoh YS, Kojima A. Antimicrobial susceptibilities of enterococci isolated from faeces of broiler and layer chickens. *Lett Appl Microbiol* 2000; 31: 427-32.
19. Aarestrup FM, Agerso Y, Gerner-Smidt P, Madsen M, Jensen LB. Comparison of antimicrobial resistance phenotypes and resistance genes in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from humans in the community, broilers, and pigs in Denmark. *Diagn Microbiol*

- Infect Dis 2000; 37: 127-37.
20. Chen HY, Hill RL, Kirk M, Casewell MW, Beighton D. Differential antimicrobial susceptibility between human and chicken isolates of vancomycin-resistant and sensitive *Enterococcus faecium*. Int J Antimicrob Agents 2002; 19: 39-46
21. 허지영, 이선민, 이석호, 이위교, 용동은, 이경원 등. 가축에서 분리된 vancomycin 내성 장구균의 내성유전자 구조 분석을 통한 분자생물학적 역학 연구. 대한임상미생물학회지 2003; 6: 114-8.
22. Huh JY, Lee WG, Lee K, Shin WS, Yoo JH. Distribution of insertion sequences associated with Tn1546-Like elements among *Enterococcus faecium* isolates from patients in Korea. J Clin Microb 2004; 42: 1897-902.