

Epidemiology and Molecular Characterization of Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecalis*

Joon Kim¹, Kyung Ho Choi², Young Sun Kim², Wee Gyo Lee²

¹Department of Biomedical Sciences, The Graduate School, Ajou University, ²Department of Laboratory Medicine, Ajou University College of Medicine, Suwon, Korea

Background: Vancomycin-resistant Enterococci (VRE) infections are caused by *Enterococcus faecium* in about 90% of the cases but can also be caused by *Enterococcus faecalis*. Thus, this study investigates factors that cause a low isolation rate of vancomycin-resistant *E. faecalis* (VREfs). To this end, the authors study the clinical traits, resistant gene structure, genomic classification, and molecular characteristics of the virulent factor.

Methods: From January 2001 through September 2011, 17 *vanA*-containing *E. faecalis* isolates were collected from hospitalized patients at Ajou University Hospital in Korea. Identification, antimicrobial susceptibility testing, and PCR of *van* and *esp* genes were performed. Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) was used for strain typing. PCR and sequencing of the internal regions of Tn1546 were performed for structural analysis of the *van* gene.

Results: Of 4,235 VRE infections, 3,918 (92.5%) were caused by *E. faecium*, and 95 (2.2%) were caused by *E. faecalis*. In 67% of VREfs infections, there was a preceding occurrence of *E. faecium* infection. All isolates were of genotype *vanA*. Our isolates were divided into three types according to the distribution of IS elements integrated into Tn1546 (types I to IIb). The PFGE results showed no clonal relatedness among isolates.

Conclusion: Our study found that VREfs infections affect patients who have experienced vancomycin-resistant *E. faecium* (VREfm) infection or undergo invasive procedures. The VREfs seems to involve the horizontal transfer of Tn1546 transposon from VREfm. (Ann Clin Microbiol 2015;18:76-81)

Key Words: IS1216V, IS1542, Tn1546, Vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis*

INTRODUCTION

반코마이신 내성 장알균(vancomycin-resistant enterococci, VRE)은 1986년 유럽에서 처음 보고된 이후 현재까지 전 세계적으로 분리 빈도가 증가하여 중요한 병원 감염균으로 자리잡고 있다. 국내에서는 1992년 Park 등[1]이 백혈병 환자의 가검물에서 반코마이신에 고도내성을 보이는 *Enterococcus durans*를 보고한 후 현재까지 계속 증가추세이다. 현재까지 보고된 VRE의 내성형은 9가지형(*vanA*, *vanB*, *vanC*, *vanD*, *vanE*, *vanG*, *vanL*, *vanM* 및 *vanN*)이고, 이 중 *vanA*와 *vanB*형이 전세계 유행의 대부분을 차지하고 있다[2-5]. 장알균의 병독성 인자는 cytolysin, aggregation substance, gelatinase, enterococcal surface protein (Esp) 등이 있으며, 대부분의 병독성 인자는 *Enterococcus faecium*보다 *Enterococcus faecalis*에서 흔히 존재

하므로 장알균 감염은 *E. faecalis*에 의한 경우가 대부분이었다[6]. 하지만 1980년대 이후로 대형 병원을 중심으로 *E. faecium*에 의한 감염이 증가하기 시작하였고 이는 항균제 내성을 쉽게 획득하는 능력에 의한 것으로 생각되어진다. 특히 VRE 감염의 경우는 *E. faecium*에 의한 경우가 90% 이상을 차지하고 있다[7].

이에 본 연구에서는 반코마이신 내성 *E. faecalis* 분리율이 낮은 원인이 *E. faecium*의 항균제 내성 획득력 이외의 원인이 존재하는지 여부 등을 알아보고자 반코마이신 내성 *E. faecalis* 균주를 대상으로 임상적 특성과 내성유전자 구조분석, 유전적 형별 분석 및 병독성 인자의 분자생물학적 특성을 파악하여 반코마이신 내성 *E. faecalis*의 감염 양상을 분석하고자 하였다.

Received 12 May, 2015, Revised 3 August, 2015, Accepted 5 August, 2015

Correspondence: Wee Gyo Lee, Department of Laboratory Medicine, Ajou University School of Medicine, 164 Worldcup-ro, Yeongtong-gu, Suwon 16499, Korea. (Tel) 82-31-219-5785, (Fax) 82-31-219-5778, (E-mail) weegyo@ajou.ac.kr

© The Korean Society of Clinical Microbiology.

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

MATERIALS AND METHODS

1. 대상

2001년 1월부터 2011년 9월까지 아주대학교 병원 진단검사 의학과에 세균 배양이 의뢰된 임상 검체 중에서 분리된 반코마이신 내성 *E. faecalis* 중 군주가 보관되어있었던 17군주(군주 기호명 J1-J17)를 대상으로 하였다. 각각의 군주는 반코마이신 6 μ g/mL를 함유한 brain heart infusion (BHI) agar를 이용하여 반코마이신 내성여부를 검색하였고, VRE로 검색된 모든 군주에 대하여 자동동정기기인 VitekII system (Vitek II XL; bio-Mérieux, Hazelwood, MO, USA)과 생화학적 수기법을 이용하여 동정하였다. 양성대조군주로는 *E. faecium* BM4147을, 음성대조군주로는 반코마이신 감수성 *E. faecalis* ATCC 29212를 사용하였다. 중복 배양된 경우는 첫 번째 분리된 경우만 연구에 포함하였다.

2. 분리율 및 임상 양상

2001년 1월부터 2011년 9월까지 아주대학교 병원 진단검사 의학과에 세균 배양이 의뢰된 임상 검체에서 분리된 장알균 중 반코마이신 내성 장알균의 분리율을 조사하였다. 실험 대상인 반코마이신 내성 *E. faecalis*의 임상적 특성을 알아보기 위하여 분리된 환자를 대상으로 연령, 성별, 검체 종류 및 기타 세균 검사 결과 등에 대하여 의무기록을 토대로 후향적으로 조사하였다.

3. 항균제 감수성 검사(Antimicrobial Susceptibility Test)

항균제 감수성 검사는 Clinical and Laboratory Standards Institute M100-S23에서[8] 제시하는 방법에 따라 vancomycin, ampicillin, tetracycline, teicoplanin, ciprofloxacin, linezolid, quinupristin-dalfopristin을 대상으로 디스크 확산법을 실시하였다. 반코마이신에 대한 최소억제농도(minimum inhibitory concentration, MIC)는 E-test strip (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, France)을 사용하여 측정하였다. 검사의 기준으로 사용한 각 항균제별 내성기준은 CLSI 기준을 참고로 하였다.

4. 내성 유전자형 결정 및 구조분석(Transposon typing)

VRE에 대한 내성유전자 검사는 *vanA*, *vanB* 및 *vanC*를 대상으로 multiplex PCR을 이용하였다. *vanA*형 *E. faecalis*의 유전자 구조 분석은 Willems 등[9]에 의한 방법을 사용하여 Tn1546 유전자 내부를 증폭되도록 PCR을 시행하는 PCR mapping을 하였고 prototype과 비교하여 증폭산물이 더 크게 나온 부분에 대하여서는 특정 Insertion Sequence (IS)에 대한 PCR과 염기서열분석을 시행하여 구조를 분석하였다. 표준 군주로는 prototype인 *E. faecium* BM4147을 이용하였다.

5. 병독성 인자 분석

병독성 인자인 *esp* 유전자에 대한 PCR을 시행하였다[10].

6. 유전형 분석: Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)

PFGE 분석은 제한효소 SmaI (Gibco BRL, Gaithersburg, MD, USA)을 사용하여 Murray 등의 방법에 따라 시행하였다[11]. 분석은 Bio-Gene software (Vilber Lourmat Inc., Marne-la-Vallée, France)를 이용하여 비가중평균군결합법(unweighted pair group method with arithmetic mean) 방법으로 군집 분석하여 유전적 연관성을 결정하였다.

RESULTS

1. 분리율 및 임상 양상

2001년 1월부터 2011년 9월까지 128개월간 세균 배양이 의뢰된 임상검체에서 분리된 전체 장알균 32,320주 중 VRE는 4,235주로 13.1%였다. 이 중 반코마이신 내성 *E. faecium*이 3,918주로 전체 VRE 분리건수의 92.5%를 차지하였고, 반코마이신 내성 *E. faecalis*가 95주(2.2%)였다(Fig. 1). 반코마이신 내성 *E. faecalis*가 분리된 환자 중 반코마이신 내성 *E. faecium*이 함께 분리된 경우가 64례로 67%를 차지하였다. 군주가 보관되어 연구에 이용된 군주는 17군주였다. 이들 군주가 분리된 검체는 창상 8례, 소변 6례, 카테터 2례 및 혈액 1례였다. 이 중 반코마이신 내성 *E. faecium*이 함께 분리된 경우는 7례로 41%였고, 반코마이신 내성 *E. faecalis* 단독 감염이 10례였다. 단독 감염된 10례는 나이가 33세-90세였고 모두 3회 이상 입퇴원을 반복하고 침습적 시술을 받은 만성 질환자였다.

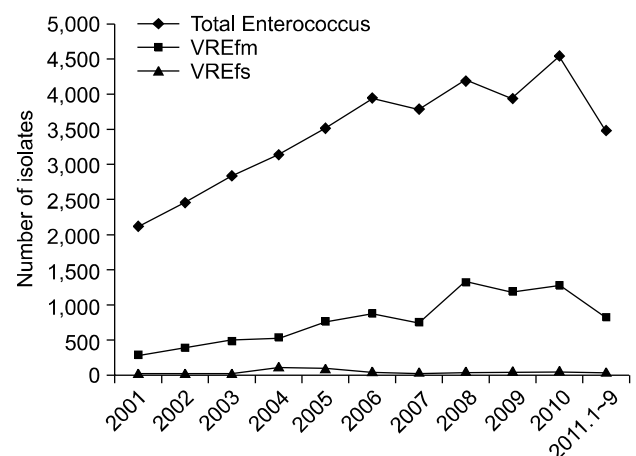


Fig. 1. The number of isolated enterococcal species according to 11 years. Abbreviations: VREfm, vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*; VREfs, vancomycin resistant-*Enterococcus faecalis*.

2. 항균제 감수성검사

CLSI기준에 따라 시행한 항균제 감수성 검사는 반코마이신 MIC값이 모두 $\geq 256 \mu\text{g/mL}$ 로 고도 내성을 나타내었다. 디스크 확산법으로 시행한 항균제 감수성 검사 결과는 ampicillin $10 \mu\text{g}$ 과 linezolid $30 \mu\text{g}$ 에는 모든 균주가 감수성을 보였고 ciprofloxacin $5 \mu\text{g}$ 에 대해 2균주가 각각 내성, 중간내성을 보였고, tetracyclin $30 \mu\text{g}$, teicoplanin $30 \mu\text{g}$, vancomycin $30 \mu\text{g}$, quinupristin-dalfopristin $15 \mu\text{g}$ 에는 모든 균주가 내성을 보였다.

3. 내성유전자형 및 내성유전자 구조분석

내성유전자형은 대상 균주 17균주 모두가 *vanA*형이었다. 내성 유전자 구조 분석에 따른 유형은 3가지로 구분되었다. I형 1균주(6%), IIa형 12균주(70%), IIb형 4균주(24%)로 분류하였다(Table 1). 모든 균주에서 IS1542와 IS1216V가 삽입되어 있었다. Prototype인 BM4147과 동일한 구조로 내성유전자 구조의 변화가 없는 형은 한 균주도 없었다. I형(J6)은 Tn1546의 좌측 말단에 *orf1* 유전자 결실과 함께 IS1542가 삽입되고 *vanX*와 *vanY-Z* intergenic region에 IS1216V가 삽입되면서 삽입 부위 이후의 유전자가 결실된 형이다. IIa형(J2-5, 7-8, 12-17)은 Tn1546의 좌측 말단에 *orf1* 유전자 결실과 함께 IS1216V-IS1542가 동반 삽입되고 *vanX*와 *vanY* intergenic region에 IS1216V가 삽입된 형이다. IIb형(J1, 9, 10-11)은 IIa형과 유사하나 *vanX*와 *vanY-Z* intergenic region에 IS1216V가 삽입되면서 삽입 부위

이후의 유전자가 결실된 형이다(Fig. 2).

4. 병독성 인자 분석

병독성 인자인 *esp* 유전자의 N-말단과 A- 및 C-반복서열의 구조에 대한 PCR 분석 결과는 총 17균주 중 10균주(58.8%)에서 양성이었다(Table 1).

5. 유전형 분석: Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)

17균주의 PFGE분석 결과는 Tenover 등이 제시한 기준에 따라, 2-3개의 밴드 차이를 보일 경우 근접하게 연관된 균주로, 4-6개의 차이가 있을 경우 연관 가능성이 있는 균주로, 7개 이상의 차이를 보일 경우 유전적 연관성이 없는 균주로 판정하였다[12]. 분석 결과 대상 균주는 모두 유전적 연관성이 없는 것으로 나타났다(Table 1).

DISCUSSION

대상 균주의 내성 유전자형은 모두 *vanA*형이었다. *vanA* 내성 유전자는 *vanS*, *vanR*, *vanH*, *vanA*, *vanX*와 *vanY* 구조 유전자들로 구성되어 있는 Tn1546에 위치하는데[13,14], 현재까지 보고된 대부분의 *vanA*형 VRE는 prototype인 *E. faecium* BM4147의 Tn1546을 원형으로 하여 point mutations, IS 삽입 및 유전자 결실 등 다양한 양상의 유전자 재조합을 보인다[14,15]. 본 연구에서도 대상균주들은 모두 Tn1546 구조의 유

Table 1. Characteristics of 17 vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* isolates

Strain	Specimen	<i>esp</i> gene analysis	Tn 1546 type	PFGE based dendrogram					
				100%	80%	60%	40%	20%	0%
J1	Catheter	Neg*	IIb						
J3	Wound	Pos†	IIa						
J12	Wound	Pos†	IIa						
J2	Wound	Neg*	IIa						
J4	Urine	Pos†	IIa						
J5	Urine	Pos†	IIa						
J8	Blood	Neg*	IIa						
J6	Wound	Pos†	I						
J9	Urine	Neg*	IIb						
J10	Catheter	Neg*	IIb						
J13	Wound	Pos†	IIa						
J17	Urine	Neg*	IIa						
J15	Wound	Pos†	IIa						
J14	Pus	Neg*	IIa						
J16	Wound	Pos†	IIa						
J7	Urine	Pos†	IIa						
J11	Urine	Pos†	IIb						

*No presence of the *esp* gene; †Presence of the *esp* gene.

Abbreviation: PFGE, pulsed field gel electrophoresis.

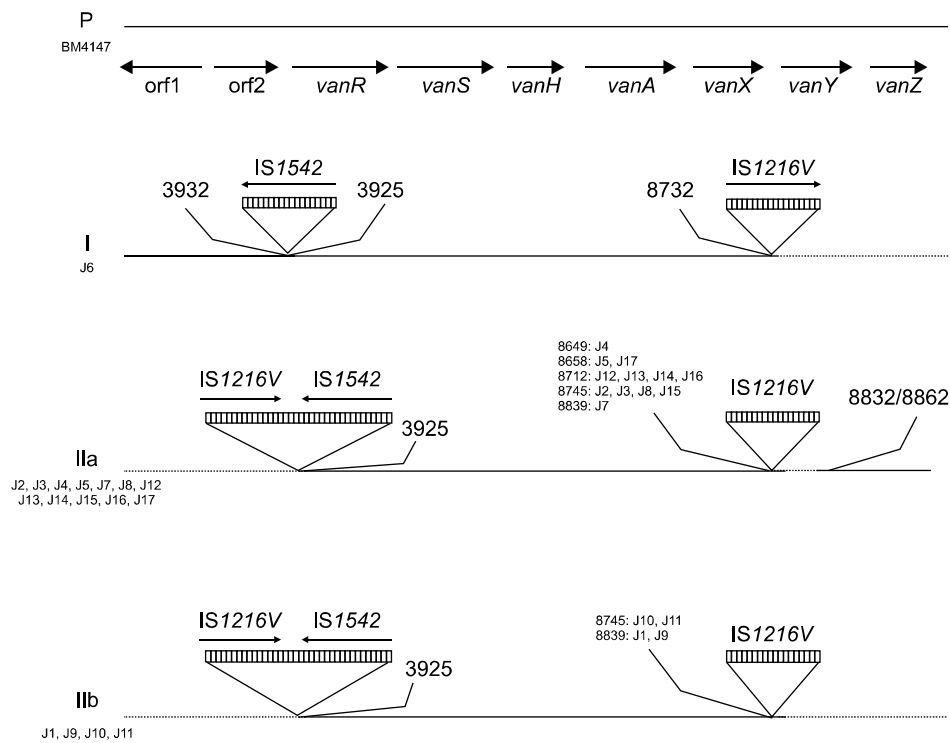


Fig. 2. Tn1546 type of 17 *vanA* positive *E. faecalis* isolates. The positions of the genes and open reading frames (orf1 and orf2) and the direction of transcription are marked by big arrows at the top. Inverted triangles represent IS elements. The position of the first nucleotide upstream and the first nucleotide downstream from the IS insertion sites are depicted. Small arrows indicate the transcriptional orientation of the inserted IS elements. Deletions are indicated by dotted lines. Adapted from “Genetic rearrangements of Tn1546-like elements in vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolates collected from hospitalized patients over a seven-year period,” by Park IJ, Lee WG, Lim YA and Cho SR, J Clin Microbiol 2007;45:3903-8. Adapted with permission.

전자 재조합을 보였다. 국내에서는 Yu 등[16]이 대상 균주의 17%에서 IS1542의 삽입이 관찰되었음을 보고한 바 있는데 삽입 위치는 모두 *orf2-vanR* intergenic region이었다. 본 연구에서도 IS1542의 삽입은 모두 그 위치가 *orf2-vanR* intergenic region으로 Tn1546내 *orf2-vanR* intergenic region 이외의 부위에서 IS1542의 삽입이 관찰되는 외국의 보고들[14,15]과는 차이가 있었다. 국내에서 분리되는 VRE의 경우 대부분의 *vanA* 내성 유전자는 이미 유전자 재조합을 거친 상태로, 양쪽 말단 부위에 결실이 있거나, IS가 삽입된 경우가 많아 overlapping PCR을 통한 분석이 내성 유전자의 구조 비교에 유용하다[17]. 대상 균주들의 내성유전자 구조 분석 결과 IS의 삽입과 염기의 결실 여부에 따라 3가지 형으로 구분되었는데, I형 1균주, IIa형 12균주, IIb형 4균주로 분류하였다. 대상 균주의 내성유전자 구조형은 1998년부터 2004년까지 동일기관에서 분리된 반코마이신 내성 *E. faecium*의 내성유전자 구조형 Ib와 II형과 유사한 유형을 보였는데 삽입된 IS의 종류와 삽입 형태는 동일하였고 삽입 위치만 차이를 보였다[18]. 이러한 결과로 미루어 볼 때 반코마이신 내성 *E. faecalis*와 반코마이신 내성 *E. faecium* 사이에 내성유전자의 수평전이가 일어났음을 추정할 수 있었다. 이는 대상 균주의 40%에서 반코마이신 내성 *E. faecium* 감염이 함께

있는 것으로도 추정할 수 있는데 장내 보균과정에서 *E. faecium*으로부터 내성유전자가 수평전이 되었음을 추정할 수 있었다. 대상 균주의 임상 양상 조사 결과 반코마이신 내성 *E. faecalis*와 반코마이신 내성 *E. faecium*이 같이 감염된 경우뿐만 아니라 반코마이신 내성 *E. faecium* 감염 없이 단독으로 감염된 경우에서도 입퇴원을 반복하거나 침습적 시술을 받은 바가 확인되어 이러한 과정을 통해 병원 내에 존재하는 반코마이신 내성유전자를 획득한 것으로 생각된다.

장알균의 병독성 인자의 하나인 Esp 단백질은 장알균의 표면 단백질로 세균의 병독성을 높이고 장내 집락화와 biofilm 형성에 관여한다[19-22]. *esp* 유전자는 *E. faecalis* 균혈증의 41%, 십내막염의 42%에서 양성이나 일반인의 변 분리주에서는 양성율이 3% 이하이다[22]. 하지만 지역유행 반코마이신 내성 *E. faecium* 감염과는 밀접한 연관성이 있다고 보고되었다[23]. 본 연구의 대상 균주 중에서는 58.8%에서 *esp* 양성으로 이는 반코마이신 내성 *E. faecium*에서의 양성율과 크게 다를 바가 없어 *esp*의 빈도가 반코마이신 내성 *E. faecalis* 감염이 낮은 원인과 상관성은 없었다. 이는 Comerlato 등의 연구 결과와 유사하였다[24].

VRE 감염에서 반코마이신 내성 *E. faecium*이 대부분을 차지

하는 이유는 기존에 병원내에 토착형으로 존재하던 ampicillin 내성, *esp* 양성 *E. faecium* 군주가 반코마이신 내성을 추후에 획득한 것으로 알려져 있다[23]. 하지만 *E. faecalis*의 경우 아직 ampicillin 내성 주가 드물고 병원내 특정 군주가 토착화되어 있는 경우가 알려진 바가 없다. 본 연구에서도 대상 군주 모두 ampicillin 감수성이었고 *esp* 양성률도 다른 보고와 다를 바가 없어, 반코마이신 내성 *E. faecalis* 분리율이 낮은 원인은 기존에 알려진 바와 같이 이미 병원 환경내에 존재하던 ampicillin 내성, *esp* 양성 *E. faecium* 군주가 반코마이신 내성을 용이하게 획득하는 것이 주 원인이고 그 외의 다른 원인은 없는 것으로 추정되며, 병원내 반코마이신 내성 *E. faecalis* 감염은 기존의 반코마이신 내성 *E. faecium* 감염이 있거나 입퇴원의 반복 및 침습적 시술을 자주 받는 환자에서 주로 발생하며 내성유전자는 반코마이신 내성 *E. faecium*으로부터 수평전이 되었음을 알 수 있었다. 향후 감염관리에서도 VRE 환자나 보균자의 경우 장내에서 반코마이신 내성유전자가 용이하게 중간 수평전이 될 수 있음을 인지하고 이에 관한 주의를 기울여야 하겠다.

REFERENCES

1. Park JW, Kim YR, Shin WS, Kang MW, Han KJ, Shim SI. Susceptibility tests of vancomycin-resistant enterococci. Korean J Infect Dis 1992;24:133-7.
2. Boyd DA, Willey BM, Fawcett D, Gillani N, Mulvey MR. Molecular characterization of *Enterococcus faecalis* N06-0364 with low-level vancomycin resistance harboring a novel D-Ala-D-Ser gene cluster, *vanL*. Antimicrob Agents Chemother 2008;52:2667-72.
3. McKessar SJ, Berry AM, Bell JM, Turnidge JD, Paton JC. Genetic characterization of *vanG*, a novel vancomycin resistance locus of *Enterococcus faecalis*. Antimicrob Agents Chemother 2000;44:3224-8.
4. Xu X, Lin D, Yan G, Ye X, Wu S, Guo Y, et al. *vanM*, a new glycopeptide resistance gene cluster found in *Enterococcus faecium*. Antimicrob Agents Chemother 2010;54:4643-7.
5. Lebreton F, Depardieu F, Bourdon N, Fines-Guyon M, Berger P, Camiade S, et al. D-Ala-d-Ser VanN-type transferable vancomycin resistance in *Enterococcus faecium*. Antimicrob Agents Chemother 2011;55:4606-12.
6. Toledo-Arana A, Valle J, Solano C, Arrizubieta MJ, Cucarella C, Lamata M, et al. The enterococcal surface protein, Esp, is involved in *Enterococcus faecalis* biofilm formation. Appl Environ Microbiol 2001;67:4538-45.
7. Deshpande LM, Fritsche TR, Moet GJ, Biedenbach DJ, Jones RN. Antimicrobial resistance and molecular epidemiology of vancomycin-resistant enterococci from North America and Europe: a report from the SENTRY antimicrobial surveillance program. Diagn Microbiol Infect Dis 2007;58:163-70.
8. Cockerill FR. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Twenty-third informational supplement M100-S23. Wayne, PA: CLSI; 2013.
9. Willems RJ, Top J, van den Braak N, van Belkum A, Mevius DJ, Hendriks G, et al. Molecular diversity and evolutionary relationships of Tn1546-like elements in enterococci from humans and animals. Antimicrob Agents Chemother 1999;43:483-91.
10. Leavis H, Top J, Shankar N, Borgen K, Bonten M, van Embden J, et al. A novel putative enterococcal pathogenicity island linked to the *esp* virulence gene of *Enterococcus faecium* and associated with epidemicity. J Bacteriol 2004;186:672-82.
11. Murray BE, Singh KV, Heath JD, Sharma BR, Weinstock GM. Comparison of genomic DNAs of different enterococcal isolates using restriction endonucleases with infrequent recognition sites. J Clin Microbiol 1990;28:2059-63.
12. Tenover FC, Weigel LM, Appelbaum PC, McDougal LK, Chaitram J, McAllister S, et al. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolate from a patient in Pennsylvania. Antimicrob Agents Chemother 2004;48:275-80.
13. 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* BM4147. J Bacteriol 1993;175:117-27.
14. Palepou MF, Adebisi AM, Tremlett CH, Jensen LB, Woodford N. Molecular analysis of diverse elements mediating VanA glycopeptide resistance in enterococci. J Antimicrob Chemother 1998;42:605-12.
15. Darini AL, Palepou MF, Woodford N. Nucleotide sequence of IS1542, an insertion sequence identified within VanA glycopeptide resistance elements of enterococci. FEMS Microbiol Lett 1999;173:341-6.
16. Yu HS, Seol SY, Cho DT. Diversity of tn1546-like elements in vancomycin-resistant enterococci isolated from humans and poultry in Korea. J Clin Microbiol 2003;41:2641-3.
17. Lee WG, Huh JY, Cho SR, Lim YA. Reduction in glycopeptide resistance in vancomycin-resistant enterococci as a result of *vanA* cluster rearrangements. Antimicrob Agents Chemother 2004;48:1379-81.
18. Park IJ, Lee WG, Lim YA, Cho SR. Genetic rearrangements of TN1546-like elements in vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolates collected from hospitalized patients over a seven-year period. J Clin Microbiol 2007;45:3903-8.
19. Sava IG, Heikens E, Kropec A, Theilacker C, Willems R, Huebner J. Enterococcal surface protein contributes to persistence in the host but is not a target of opsonic and protective antibodies in *Enterococcus faecium* infection. J Med Microbiol 2010;59:1001-4.
20. Tendolkar PM, Baghdayan AS, Gilmore MS, Shankar N. Enterococcal surface protein, Esp, enhances biofilm formation by *Enterococcus faecalis*. Infect Immun 2004;72:6032-9.
21. Heikens E, Bonten MJ, Willems RJ. Enterococcal surface protein Esp is important for biofilm formation of *Enterococcus faecium* E1162. J Bacteriol 2007;189:8233-40.
22. Shankar V, Baghdayan AS, Huycke MM, Lindahl G, Gilmore MS. Infection-derived *Enterococcus faecalis* strains are enriched in *esp*, a gene encoding a novel surface protein. Infect Immun 1999;67:193-200.
23. Top J, Willems R, Bonten M. Emergence of CC17 *Enterococcus faecium*: from commensal to hospital-adapted pathogen. FEMS Immunol Med Microbiol 2008;52:297-308.
24. Comerlato CB, Resende MC, Caierão J, d'Azevedo PA. Presence of virulence factors in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* susceptible and resistant to vancomycin. Mem Inst Oswaldo Cruz 2013;108:590-5.

=국문초록=

Vancomycin 내성 *Enterococcus faecalis*의 분자생물학적 특성과 전파 양상

¹아주대학교 의과대학 대학원 의학과, ²아주대학교 의과대학 진단검사의학교실

김 준¹, 최경호², 김영선², 이위교²

배경: 반코마이신 내성 장알균(vancomycin-resistant enterococci, VRE) 감염은 *Enterococcus faecium*에 의한 경우가 90% 이상인 반면 *Enterococcus faecalis*에 의한 경우는 드물다. 이에 본 연구에서는 반코마이신 내성 *E. faecalis* 분리율이 낮은 원인이 *E. faecium*의 항균제 내성 획득력 이외의 요인이 존재하는지 여부를 알아보고자 반코마이신 내성 *E. faecalis* 균주를 대상으로 임상적 특성과 내성유전자 구조분석, 유전적 형별 분석 및 병독성 인자의 분자생물학적 특성을 분석하였다. **방법:** 2001년부터 2011년까지 아주대학교 병원 진단검사의학과에서 분리된 반코마이신 내성 *E. faecalis* 17균주를 대상으로 항균제 감수성 검사, 내성 유전자형, 내성 유전자 구조분석, 병독성 인자 및 pulsed-field gel electrophoresis를 이용한 유전적 연관성을 조사하였다.

결과: 연구기간 동안 분리된 4,235 VRE 균주 중 *E. faecium*의 균주수는 3,918 (92.5%), *E. faecalis* 균주수는 95 (2.2%)였다. *E. faecalis*가 분리된 환자의 경우 *E. faecium* 감염이 선행된 경우가 67%였다. 내성 유전자형은 모두 *vanA*형이었다. 내성 유전자 구조 분석에 따른 유형은 3가지로 분류되었고(I형, IIa형 및 IIb형), 모든 균주에서 IS1542와 IS12161가 삽입되어 있었다. 병독성 인자 *esp* 유전자 분석 결과 58.8%에서 양성하였고, PFGE를 이용한 군형 분석에서 대상 균주 모두 유전적 연관성은 없었다.

결론: 반코마이신 내성 *E. faecalis* 감염은 기존의 반코마이신 내성 *E. faecium* 감염이 있거나 입퇴원의 반복 및 침습적 시술을 자주 받는 환자에서 주로 발생하며 내성유전자는 반코마이신 내성 *E. faecium*으로부터 수평전이 되었음을 알 수 있었다. [Ann Clin Microbiol 2015;18:76-81]

교신저자 : 이위교, 16499, 경기도 수원시 영통구 월드컵로 164
아주대학교 의과대학 진단검사의학교실
Tel: 031-219-5785, Fax: 031-219-5788
E-mail: weegyo@ajou.ac.kr