

## 호중구감소증 환자에서 장기간의 Cefepime 치료와 관련된 베타락탐 의존성 *Bacillus cereus*의 출현

고선영 · 정희정 · 성흥섭 · 김미나

울산의대 서울아산병원 진단검사의학과

### Emergence of $\beta$ -Lactam-Dependent *Bacillus cereus* associated with Prolonged Treatment with Cefepime in a Neutropenic Patient

Sun-Young Ko, M.D., Hee-Jung Chung, M.D., Heong-Sup Sung, M.D., and Mi-Na Kim, M.D.

Department of Laboratory Medicine, University of Ulsan College of Medicine and Asan Medical Center, Seoul, Korea

Antibiotic dependence in clinical isolates has been reported, albeit rarely, such as vancomycin-dependent enterococcus and  $\beta$ -lactam-dependent *Staphylococcus saprophyticus*. We report herein a clinical isolate of  $\beta$ -lactam-dependent *Bacillus cereus*. A 16-yr-old female was admitted on 8 September 2005 with neutropenic fever during chemotherapy following surgical removal of peripheral neuroectodermal tumor. She had had an indwelling chemoport since August 2004 and experienced *B. cereus* bacteremia three times during the recent 3-month period prior to the admission; the bacteremias were treated with cefepime-based chemotherapy. On hospital days 1 and 3, *B. cereus* was isolated from blood drawn through the chemoport. The isolates were resistant to penicillin, ceftriaxone, and erythromycin, and susceptible to vancomycin and ciprofloxacin. The isolate of hospital day 3 grew only nearby the  $\beta$ -lactam disks including penicillin and ceftriaxone on disk diffusion testing. The  $\beta$ -lactam-dependent isolate required a minimum of 0.064  $\mu$ g/mL of penicillin or 0.023  $\mu$ g/mL of cefotaxime for growth, which was demonstrated by E test (AB Biodisk, Sweden). Light microscopy and transmission electron microscopy revealed a marked elongation of the dependent strain compared with the non-dependent strain. Prolonged therapy with  $\beta$ -lactams in the patient with an indwelling intravenous catheter seemed to be a risk factor for the emergence of  $\beta$ -lactam-dependence in *B. cereus*. (*Korean J Lab Med* 2007;27:216-20)

**Key Words :**  $\beta$ -lactam-dependent, *Bacillus cereus*, Chemoport

## 서 론

*Bacillus cereus*는 다른 *Bacillus* species와 마찬가지로 자연에 흔히 존재하는 균으로 주로 흙이나 밀짚, 쌀에서 분리된다. 그람

양성 간균으로 아포를 생성하며 외독소에 의한 식중독을 일으킨다[1]. 또한 면역력이 저하된 환자에서 드물게 기회감염을 일으킬 수 있고[2] 특히 혈관 내 유치도관과 관련한 패혈증의 원인이 될 수 있다[3].

한편 항균제 사용이 증가함에 따라 항균제 내성 균주들 뿐만 아니라 항균제 의존성 균주들이 나타나고 있다. Vancomycin이나  $\beta$ -lactam으로 오랜 기간 치료한 경우 드물게 보고되고 있는데, vancomycin 의존성 장구균이 대표적으로 1994년 vancomycin 의존성 *Enterococcus faecium*이 처음 보고되었다[4]. 그 이후 vancomycin 의존성 *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. avium*이 분리

접 수 : 2007년 3월 29일                      접수번호 : KJLM2033  
수정본접수 : 2007년 4월 25일  
게재승인일 : 2007년 4월 25일  
교신저자 : 김 미 나  
우 138-736 서울시 송파구 풍납2동 388-1  
서울아산병원 진단검사의학과  
전화 : 02-3010-4511, Fax : 02-478-0884  
E-mail : mnkim@amc.seoul.kr

되었다[5]. 다른 항균제 의존성 균주로는 1999년 재발하는 요로 감염으로 인해 반복된 amoxicillin 치료를 받은 환자에서  $\beta$ -lactam 의존성 *Staphylococcus saprophyticus*가 보고된 바 있다[6].

저자들은 혈관 내 유치도관을 가진 호중구감소증 발열 환자에서 *B. cereus* 균혈증이 지속되어 장기간 cefepime 치료 후 출현한  $\beta$ -lactam 의존성 *B. cereus*를 경험하였기에 보고하는 바이다.

### 증 례

17개월 전 말초신경 외배엽종양을 제거하는 수술을 받은 16세 여자 환자가 항암치료를 받던 중 호중구감소증 발열로 2005년 9월 8일 입원하였다. 입원 후 환자는 경험적으로 cefepime과 amikacin으로 치료받았고 입원 2일째 열은 내렸다. 환자는 1년 이상 혈관 내 유치도관(chemoport)을 가지고 있었으며, 입원 6일째 제거하

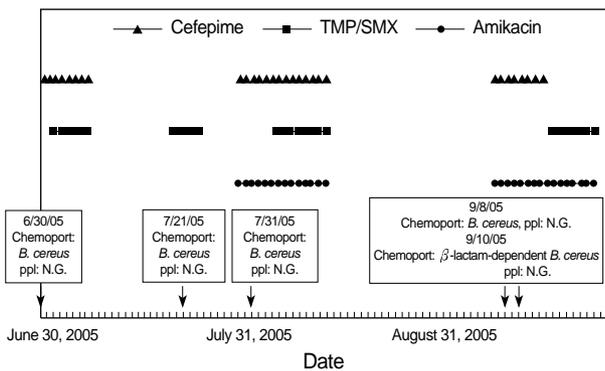


Fig. 1. Summary of blood culture results and antimicrobial treatment. *Bacillus cereus* were isolated from chemoport blood culture but not from peripheral blood culture on June 30, 2005, July 21, 2005, July 31, 2005, September 8, 2005 (hospital day 1), and September 10, 2005 (hospital day 3).  $\beta$ -lactam-dependent *B. cereus* was isolated on chemoport blood culture on Sep 10, 2005. Abbreviations: ppl, peripheral; N.G., no growth.

였다. 입원 전 3개월간 세 차례의 열이 있었으며 그때마다 혈액배양에서 *B. cereus*가 분리되어 cefepime과 amikacin이 포함된 항균제 치료를 받은 병력이 있었다(Fig. 1).

입원 1일째와 3일째 혈관 내 유치도관을 통해 채취한 혈액과 피부천자를 통해 채취한 말초혈액을 BACTEC Standard Aerobic/F와 Standard Anaerobic/F (Becton Dickinson, Sparks, MD, USA)에 각각 1쌍씩 접종하여 BACTEC 9240 (Becton Dickinson) 시스템으로 배양하였다. 피부천자를 통해 채취한 말초혈액에서는 균이 배양되지 않았다. 혈관 내 유치도관에서 채취한 혈액을 접종한 호기성과 비호기성 배양병에서 그람양성 간균이 분리되었고, catalase 양성, TSI에서 산성 사면과 산성 고층, 운동성 양성이었다. Vitek Bacillus Card (bioMerieux, Durham, NC, USA)에서 *B. cereus*가 동정되었다. 입원 6일째 제거한 혈관 내 유치도관 말단부 배양에서는 균이 분리되지 않았다. 입원 1일째와 입원 3일째 분리된 *B. cereus*는 penicillin과 ceftriaxone, erythromycin에 내성이었고 vancomycin과 ciprofloxacin에 감수성이었다(Fig. 2). Cefinase (Becton Dickinson)를 이용한  $\beta$ -lactamase 검사에서 양성이었다. 입원 3일째 분리된 균은 penicillin, oxacillin, ampicillin, piperacillin, cefazolin, cefuroxime, cefoxitin, cefotaxime, ceftizoxime, ceftriaxone, cefepime, aztreonam, imipenem, meropenem, amoxicillin-clavulanic acid, ampicillin-sulbactam, piperacillin-tazobactam, ticarcillin-clavulanic acid, cefotaxime-clavulanic acid, cefoperazone-sulbactam 등의 디스크 주변에서 자라는  $\beta$ -lactam 의존성 성장이 관찰되었다(Fig. 2).  $\beta$ -lactam 의존성 정도를 정량하기 위해 실시한 penicillin과 cefotaxime E test (AB Biodisk, Solna, Sweden)에서  $\beta$ -lactam 의존성 *B. cereus*는 성장을 위해 최소 0.064  $\mu$ g/mL 이상의 penicillin 혹은 0.023  $\mu$ g/mL 이상의 cefotaxime을 필요로 했다(Fig. 2). 광학현미경과 전자현미경상 비의존성 균주의 길이는 2.0-6.8  $\mu$ m인데 비해 의존성 균주의 길이는 2.9-29.1  $\mu$ m로 길어져 있었다(Fig. 3).

이번 입원 이전의 발열 병력이 있었을 때 혈액에서 분리된 *B.*

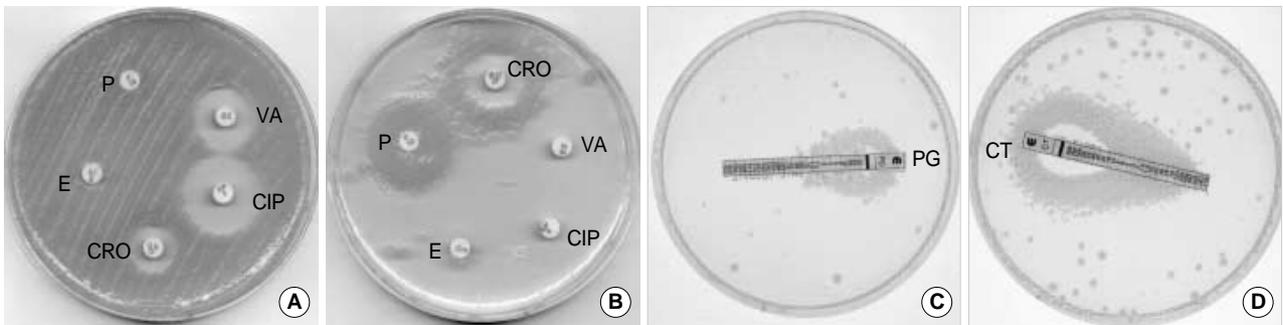


Fig. 2. Antimicrobial susceptibility tests with penicillin (P), ceftriaxone (CRO), erythromycin (E), vancomycin (VA), and ciprofloxacin (CIP) disks for  $\beta$ -lactam-independent *Bacillus cereus* isolated on hospital day 1 (A) and  $\beta$ -lactam-dependent *B. cereus* isolated on hospital day 3 (B).  $\beta$ -lactam-dependent isolates showed growth only around the penicillin or ceftriaxone disk. The results of E test with penicillin (C) and cefotaxime (D) showed the degree of  $\beta$ -lactam-dependence. The  $\beta$ -lactam-dependent isolate required a minimum of 0.064  $\mu$ g/mL of penicillin (PG) or 0.023  $\mu$ g/mL of cefotaxime (CT) for growth.

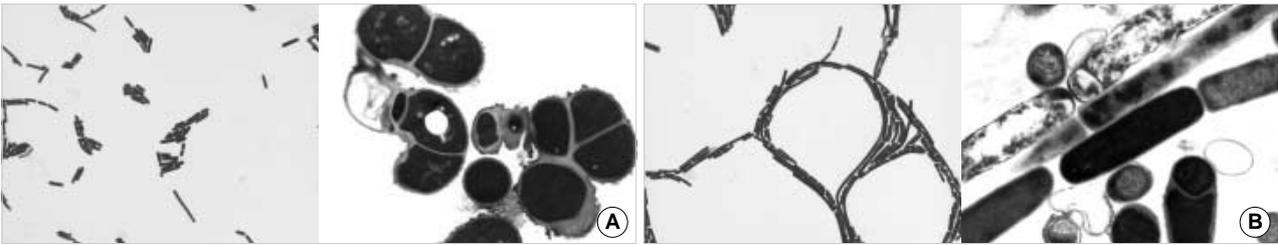


Fig. 3. Light microscopy (Gram stain, ×1,000) and electron microscopy (TEM, ×8,000) of  $\beta$ -lactam-independent (A) and  $\beta$ -lactam-dependent *B. cereus* (B). Predominance of markedly elongated rods in the  $\beta$ -lactam-dependent strain is noted.

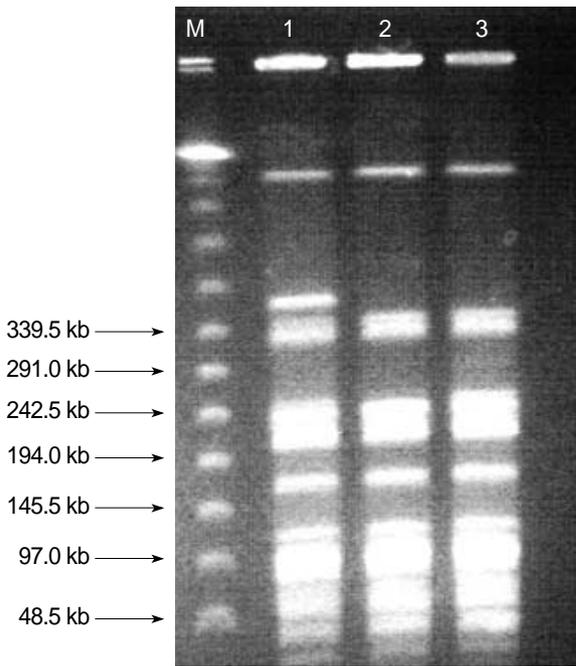


Fig. 4. PFGE analysis of *B. cereus* isolated at July 31, 2005 (lane 1), hospital day 1 (lane 2), hospital day 3 (lane 3), respectively, after restriction with *Sma*I. *B. cereus* isolated at July 31, 2005 was closely related to the subsequent two isolates recovered at hospital day 1, which was  $\beta$ -lactam-independent, and hospital day 3, which was  $\beta$ -lactam-dependent, with only one restriction band difference. Isolates on hospital day 1 and hospital day 3 were identical with each other. Lane M, a concatamer of phage  $\lambda$  DNA as a size standard (New England BioLabs Inc., Ipswich, MA, USA).

*cerus*는 입원 후 분리된 균종과 항균제감수성은 동일하였고 의존성은 없었다. 형질비교를 위해 실시한 pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)상 2005년 7월 31일과 입원 1일째 균주는 제한 밴드 차이가 1개로 동일한 클론성임을 보였고, 입원 1일째와 입원 3일째 분리된 균주는 PFGE 양상이 동일했다(Fig. 4).

$\beta$ -lactam 의존성이 회복되는지 알아보기 위해  $\beta$ -lactam 의존성 *B. cereus*를 혈액한천배지에 계대배양하면서 penicillin과 ceftriaxone 디스크 확산법을 실시하였다. 80회 이상 혈액한천배지에 계대배양하였을 때 집락이 드물게 관찰되었고, 그 집락으로 디스크 확산법을 실시하였을 때 계속하여 penicillin과 ceftriaxone 주변에만 성장대가 관찰되었다. 의존성의 회복은 없었다.

입원 8일째 환자는 cefepime 투여를 중단하였고 입원 15일째까지 amikacin 단독 항균제 치료를 7일 동안 받고 호전된 상태로 퇴원하였다. 그 이후 2006년 10월 15일 실시한 혈액배양 검사에서는 균이 분리되지 않았다.

### 고 찰

1928년 penicillin이 발견된 이래 수 많은  $\beta$ -lactam 항균제가 개발되어 사용되어 왔다. 항균제에 대한 의존성은 vancomycin 의존성 장구균에서 보고되고 그 기전이 밝혀졌지만[4, 7]  $\beta$ -lactam 의존성 균주는 *S. saprophyticus*가 한 차례 보고되었을 뿐이다[6].

그 동안 보고된 모든 vancomycin 의존성 장구균은 그 전에 vancomycin 내성, vancomycin 비의존성 균주가 분리되면서 vancomycin 치료를 받고 있었던 환자에서 분리되었다[4]. 최초의 vancomycin 의존성 균주는 요로 카테터를 가지고 있는 환자가 장기간의 vancomycin 치료를 받던 중 소변에서 발견되었고,  $\beta$ -lactam 의존성 *S. saprophyticus*가 분리되었던 환자도 반복된 요로감염으로 인해 수 차례의 ampicillin 치료를 받은 병력이 있었다[5]. 이들 증례로부터 항균제 의존성은 소변에서 농축된 vancomycin이나  $\beta$ -lactam에 오래 노출된 균주가 체내에서 항균제 의존성을 획득한 것으로 추정되었다. 본 증례에서도 환자에서  $\beta$ -lactam 의존성 균주가 분리되기 전  $\beta$ -lactam 내성,  $\beta$ -lactam 비의존성 균주가 분리되었고, 또한,  $\beta$ -lactam 의존성 균주가 분리되었을 당시  $\beta$ -lactam 항균제 치료를 받고 있었다. 이러한 사실들로 미루어 보아 *B. cereus*에 의한 균혈증 환자에서 오랜 기간  $\beta$ -lactam으로 치료한 것이  $\beta$ -lactam 의존성을 가져온 원인이라고 보여진다. 특히 본 증례에서 혈액배양 양성 결과는 모두 혈관 내 유치도관에서 채취한 혈액에서 얻었기 때문에 *B. cereus*가 혈관 내 유치도관에 집락화 되었음을 알 수 있었고, 이런 집락화로 인해 항균제 치료에도 불구하고 장기간 균혈증이 지속된 것으로 생각된다. 또한 장기간 혈관 내 유치도관을 하고 있을 때 유치도관에 집락화한 것이 항균제 의존성 획득에 기여했을 것으로 추정된다.

항균제 의존성이 발생하는 대표적인 경우인 vancomycin 의존성 장구균에 대해서는 기전이 규명되어 있다. Vancomycin은 균의 세포벽 형성의 전구체인 D-alanyl-D-alanine에 붙어서 균이

세포벽을 만들지 못하게 하는데, vancomycin 내성은 세포가 D-ala-D-lactate와 같은 다른 전구체를 만들어 vancomycin이 붙지 못하게 하는 것이다[8]. Vancomycin 의존성은 vancomycin 내성 장구균이 D-alanyl-D-alanine ligase를 잃어 세포벽 생성에 문제가 생기고 따라서 vancomycin의 존재하에 D-alanine-D-lactate ligase가 유도되지 않으면 생존할 수 없게 되는 것을 의미한다[4, 7].  $\beta$ -lactam 의존성이 처음 보고되었던 *S. saprophyticus*의 경우 기전에 대해서 밝혀지지 않았지만, vancomycin 의존성 장구균의 기전에 비추어 볼 때 세포벽 합성에 중요한 역할을 하는 penicillin 결합단백(penicillin binding protein, PBP)과 관련이 있을 가능성이 있다. 즉,  $\beta$ -lactam 항균제가 변형된 PBP의 생성을 유도하고 정상적인 PBP가 소실됨으로써 내성을 유도하고 의존성으로 발전하는 기전을 추론해 볼 수 있다. 본 증례의 균주는  $\beta$ -lactamase가 penicillin 내성의 기전으로 추정되지만, 3세대 cephalosporin 내성에 대한 기전은 규명하지 못했다.  $\beta$ -lactam에 노출된 그람음성 간균들에서 PBP 기능의 장애로 형태학적으로 매우 길어진 모양으로 변화한 것을 보이는 경우는 종종 보고되어 왔다[9]. 본 증례에서도 의존성을 보이는 균주는 비의존성인 원균주에 비해 형태학적으로 매우 길어진 모양을 보이는 것이 특징적이었다. 하지만,  $\beta$ -lactam에 노출된 그람음성 간균이 항균제가 없는 배지에 계대배양 시 정상적인 모양으로 전환된다[9]. 본 증례에서 의존성 균주는 항균제가 없는 배지에서 계대배양하여도 계속 길어져 있어서 세포벽 합성기전에 영구적인 변화가 있는 것으로 사료된다. 이런 변화가  $\beta$ -lactam 의존성과 어떤 관련이 있는지 추후 연구가 필요할 것으로 생각된다.

항균제의존성 균에 대한 치료는 아직 확립되지 않았다. 치료 중인 균이 의존성을 보이는 항균제는 중단하는 것이 권장되는데[7] vancomycin 의존성 장구균은 이미 vancomycin 내성 장구균의 단계가 선행되고, 자연적으로 vancomycin 내성, vancomycin 비의존성으로 돌아가는 경우가 약 1/10<sup>6</sup> 정도의 확률로 일어난다[7]. 따라서, 항균제의존성 균에 의한 감염을 치료할 때도 그 항균제를 중단하는 것으로 충분하지 않고, 감수성이 있는 항균제를 투여할 필요가 있다[10]. 또한, 본 증례와 같이 유치도관을 하고 있는 환자에서는 유치도관을 제거하는 것이 궁극적인 세균학적 치유에 효과적인 것으로 생각한다.

본 증례는 혈관 내 유치도관을 하고 있는 환자에서 오랜 기간 중심정맥관 관련 *B. cereus*의 균혈증이 반복적으로 있어서 cefepime으로 치료를 하던 중  $\beta$ -lactam 의존성 *B. cereus*가 처음으로 출현하였던 경우였다. 항균제 의존성 균주가 출현할 때는 치료를 위해 의존성 항균제의 중단, 관련 장치의 제거, 감수성인 항균제 투여 등을 고려해야 할 것이다.

### 요 약

임상 검체에서 항균제 의존성 균주는 vancomycin 의존성 장구

균이나  $\beta$ -lactam 의존성 *Staphylococcus saprophyticus*와 같이 vancomycin이나  $\beta$ -lactam으로 오랜 기간 치료를 하는 경우 드물게 보고되어 왔다. 저자들은 임상 검체에서 처음으로 분리된  $\beta$ -lactam 의존성 *Bacillus cereus*를 경험하였기에 이에 대해 보고하는 바이다. 16세 여아가 말초 신경 외배엽 증양을 제거한 이후 항암치료를 받던 중 호중구감소성 발열로 2005년 9월 8일 입원하였다. 환자는 2004년 8월부터 혈관 내 유치도관을 가지고 있었다. 입원 전 3개월 동안 세 차례의 열이 있었는데 그때마다 혈액 배양에서 *B. cereus*가 분리되었고 cefepime 항균제 치료를 받았다. 입원 1일째와 3일째 혈관 내 유치도관을 통해 채취한 혈액에서 *B. cereus*가 분리되었다. 입원 1일째와 3일째 혈액 배양을 통해 얻어진 *B. cereus*는 penicillin, ceftriaxone, erythromycin에 내성이었고 vancomycin과 ciprofloxacin에는 감수성이었다. 입원 1일째 분리된 *B. cereus*는 항균제 의존성이 없었지만 입원 3일째 분리된 *B. cereus*는 penicillin과 cefepime과 같은  $\beta$ -lactam 디스크 주변에서만 자랐다. E test로  $\beta$ -lactam 의존성 검사한 결과  $\beta$ -lactam 의존성 *B. cereus*는 성장을 위해 최소 0.064  $\mu$ g/mL 이상의 penicillin 또는 0.023  $\mu$ g/mL의 cefotaxime을 필요로 하였다. 광학현미경과 전자현미경상 의존성 균주는 비의존성 균주에 비해 길이가 길어져 있었다. 중심정맥관을 가진 환자에서 오랜 기간  $\beta$ -lactam으로 치료한 것이  $\beta$ -lactam 의존성을 가져온 위험 요인일 것이다.

### 참고문헌

1. Winn WC, Allen SD, et al. eds. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 6th ed. Philadelphia: J.B. Lippincott 2005:778-81.
2. Christenson JC, Byington C, Korgenski EK, Adderson EE, Bruggers C, Adams RH, et al. *Bacillus cereus* infections among oncology patients at a children's hospital. Am J Infect Control 1999;27:543-6.
3. Srivaths PR, Rozans MK, Kelly E Jr, Venkateswaran L. *Bacillus cereus* central line infection in an immunocompetent child with hemophilia. J Pediatr Hematol Oncol 2004;26:194-6.
4. Framow HS, Jungkind DL, Lander DW, Delso DR, Dean JL. Urinary tract infection with an *Enterococcus faecalis* isolate that requires vancomycin for growth. Ann Intern Med 1994;121:22-6.
5. Yowler CJ, Blinkhorn RJ, Fratianne RB. Vancomycin-dependent enterococcal strains: case report and review. J Trauma 2000;48:783-5.
6. Worthington T, White J, Lambert P, Adlakhia S, Elliott T.  $\beta$ -lactam-dependent coagulase-negative staphylococcus associated with urinary-tract infection. Lancet 1999;354:1097.
7. Green M, Shlaes JH, Barbadora K, Shlaes DM. Bacteremia due to vancomycin-dependent *Enterococcus faecium*. Clin Infect Dis 1995; 20:712-4.
8. Murray BE. Vancomycin-resistant enterococci. AM J Med 1997;102:

284-93.

9. Lorian V. Antibiotics in laboratory medicine. 4th ed. New York: Williams and Wilkins 1996: 397-414.
10. Tambyah PA, Marx JA, Maki DG. Nosocomial infection with vancomycin-dependent enterococci. *Emerg Infect Dis* 2004;10:1277-81.