

## Vancomycin 의존성 장구균의 미생물학적 특성과 역학적 특성

황금록 · 성홍섭 · 남궁승 · 윤남섭 · 김미나

울산의대 서울아산병원 진단검사의학과

### Microbiological and Epidemiological Characteristics of Vancomycin-dependent Enterococci

Keumrock Hwang, M.D., Heungsung Sung, M.D., Seung Namgoong, M.T., Nam Surp Yoon, M.T., and Mi-Na Kim, M.D.

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

**Background :** Vancomycin-dependent enterococci (VDE) are clinically equivalent to vancomycin-resistant enterococci (VRE), but more difficult to detect. This study was purposed to characterize VDE microbiologically and epidemiologically.

**Methods :** The patients from whom VDE were detected from April 2007 to March 2008 were investigated. For available isolates, minimal inhibitory concentrations (MICs) of and the levels of dependence on vancomycin and teicoplanin were measured by E test (AB Biodisk, Sweden), and a test for reversion of VDE to non-dependent VRE (NDVRE) and pulsed field gel electrophoresis (PFGE) were performed. Patients' demographic and clinical findings were reviewed via electronic medical records.

**Results :** VDE were recovered from 6 (2.2%) of 272 patients carrying VRE during this study period. All patients were already colonized or infected by VRE and treated with vancomycin for 13 to 107 days. VDE were isolated from pleural fluid (one), urine (four), and stool (one). All isolates carried *vanA* with vancomycin MICs of  $>256 \mu\text{g/mL}$ , but two of them had intermediate susceptibilities to teicoplanin. Because 4 VDE isolates were reverted to NDVRE with single passage, vancomycin dependence was measurable for only two isolates as equal and above 0.064 and 0.5  $\mu\text{g/mL}$  respectively, and was reverted after 5 and 7 passages, respectively. Six VDE isolates showed no related clones in PFGE analysis, and 3 of 4 available pairs of initial VRE isolates and subsequent VDE isolates were identical clones.

**Conclusions :** VDE were not rare and seemed to emerge independently from VRE with a prolonged use of vancomycin. Vancomycin-dependence was reverted within several passages. (*Korean J Lab Med* 2009;29:299-306)

**Key Words :** *Vancomycin dependency; Vancomycin resistance; Enterococcus*

### 서론

장구균은 인체의 정상 상재균으로 비교적 약한 병원성을 가지고 있지만 외부 환경에 대한 적응력이 강하기 때문에 다른 환자나 의료인의 손, 병원 환경을 통하여 쉽게 전파될 수 있다[1]. 1980년대 후반에 이르러 vancomycin의 사용 빈도가 늘어나면서 vancomycin에 내성을 나타내는 장구균(vancomycin-resistant enterococci, VRE)이 보고되었고 1990년대 이후부터는

Received : March 11, 2009  
Revision received : April 16, 2009  
Accepted : May 20, 2009

Corresponding author : Mi-Na Kim, M.D.

Department of Laboratory Medicine, Asan Medical Center and  
University of Ulsan College of Medicine, 388-1 Pungnap 2-dong,  
Songpa-gu, Seoul 138-736, Korea  
Tel : +82-2-3010-4511, Fax : +82-2-478-0884  
E-mail : mnkim@amc.seoul.kr

Manuscript No : KJLM09-036

입원환자 사이에서 VRE의 보균율이 급격히 증가하여 병원 감염의 중요한 원인이 되었다[2, 3]. 1993년 VRE에 의한 요로 감염 환자의 소변에서 vancomycin 의존성 *Enterococcus faecalis*가 최초로 분리됨으로써[4], 세균이 항균제에 의존성을 보이는 첫 예가 되었다. 이후 *Enterococcus faecium*과 *Enterococcus avium*에서도 vancomycin 의존성 균주가 보고되었고 소변뿐만 아니라 혈액, 신농양, 대변, 복막 투석 카테터 등 다양한 임상 검체에서 vancomycin 의존성 장구균(vancomycin-dependent enterococci, VDE)이 분리되었다[4-13]. 국내에서는 2002년 일과성 VDE에 의한 균혈증 증례가 유일한 보고이다[14]. 지금까지 밝혀진 VDE의 기전은 *vanA*, *vanB*형 VRE에서 정상적인 ligase 유전자(*ddl*)의 변이에 의해 정상적인 세포벽 합성 기질인 D-Ala-D-Ala 생산이 중단되어, vancomycin에 의해 D-Ala-D-Lac 생산이 유도되어야만 세균이 생존할 수 있게 되는 것이다[4, 7, 9]. 따라서 VDE는 전형적으로 VRE가 분리되는 환자에서 vancomycin 치료를 계속할 때 발생하였다[4-10, 12]. 저자들은 2007년 4월부터 2008년 3월까지 여섯 환자의 검체에서 VDE를 분리하였기에 그 미생물학적 특성과 역학적 의미를 살펴보고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상

2007년 4월에서 2008년 3월까지 서울아산병원의 임상검체 또는 VRE 감시배양 검체에서 VDE가 분리된 환자를 대상으로 하였다. 임상검체에서 분리된 장구균은 MicroScan PosCombo 1A (Dade Behring, West Sacramento, CA, USA)로 동정과 감수성 검사를 실시하였고, 감시배양에서만 분리된 장구균은 vancomycin에 대한 내성 선별과 속 동정만 실시하였다. VDE 균주들은 15% glycerol Brain Heart Infusion 액체배지에 진하게 풀어서 -70°C에서 보관하였다. VRE와 VDE가 분리된 환자의 임상상과 검사실 소견은 전자의무기록을 검토하여 조사하였다. VRE가 분리된 환자들에서 이전에 보관된 VRE를 찾아 VDE 균주들과 함께 pulsed field gel electrophoresis (PFGE) 분석에 사용하였다.

### 2. VDE의 검출, 균종 동정과 항균제 감수성 검사

임상 검체에서 분리된 VDE는 일차배양 평판에서 분리된 장구균이 계대배양에서 증식하지 않고, 디스크 확산법으로 확인하

는 과정에서 vancomycin, teicoplanin 디스크 주변에만 균이 자라는 의존성을 보이는 것으로 검출하였다. VRE 감시 배양이 의뢰된 검체는 vancomycin이 6 µg/mL 포함되어 있는 Enterococcosel 액체 배지(BBL, Cockeysville, MD, USA)에 접종한 뒤 35°C에서 배양하면서 검체 변하면 혈액한천배지에 접종하고 희석 증양에 30 µg vancomycin 디스크를 올려놓고 배양하였고, 장구균에 합당한 집락에 대해 L-pyrrolidonyl-β-naphthylamide (PYR) 시험으로 장구균임을 확인하였다. Vancomycin 디스크 주변에서만 자라는 장구균 집락이 관찰되면 VDE로 확인하였다. 의존성이 바로 환원된 균주들의 균종 동정과 감수성검사는 의존성이 환원되었을 때 MicroScan PosCombo 1A로 실시하였고, 계대배양 후에도 의존성이 지속된 균주는 MicroScan의 접종액에 vancomycin 1 µg/dL를 첨가하여 검사하였다.

### 3. Glycopeptide에 대한 최소억제농도와 의존성 정량

보관되었던 VDE 균주들을 혈액한천배지에 희석한 후 증양에 vancomycin 디스크를 접종하여 35°C, 하룻밤 계대배양하였다. Vancomycin 디스크 주변에 자란 집락을 3-4개 따서 Mueller-Hinton broth에 접종하고 McFarland 0.5 탁도를 맞추어 면봉에 적셔서 Mueller-Hinton 한천배지에 펴 바른 후 vancomycin과 teicoplanin E test (AB Biodisk, Solna, Sweden) 시험봉을 올려서 16-18시간 동안 35°C에서 배양하여 균 성장이 억제되는 최소억제농도와 균이 성장하는 최소농도를 측정하였다.

### 4. Vancomycin 의존성 환원 검사

Vancomycin 의존성이 환원되는지 확인하기 위해 30 µg vancomycin 디스크 주위에 자란 집락을 따서 혈액한천배지에 촘촘히 희석하고 30 µg vancomycin 디스크를 올려놓아 배양하였다. Vancomycin에 대한 의존성이 내성으로 환원될 때까지 계대배양을 반복하여 환원될 때까지 계대배양 횟수를 측정하였다.

### 5. Vancomycin 내성 유전자형 검사

*vanA*와 *vanB*를 표적으로 하는 VRE ACE Detect (Seegene, Seoul, Korea)를 사용하여 vancomycin 내성 유전자형에 특이적인 다중중합효소연쇄반응을 실시하여 VDE 유전자형을 검출하였다.

## 6. PFGE

VDE 분리주와 VDE가 분리된 환자에서 선행했던 VRE 보관 균주들을 계대배양한 다음 기존에 보고되었던 방법으로[15] 염색체 DNA가 들어 있는 한천 플러그를 제작한 후 *Sma*I 제한효소(TaKaRa, Kyoto, Japan)로 처리하여, GenePath System (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA)의 프로그램 11 번을 이용하여 전기영동하였다.

## 결 과

### 1. VRE와 VDE가 분리된 환자의 임상적 특성

연구 기간 동안 VRE가 분리된 272명의 환자 중 6명(2.2%)에서 VDE가 검출되었다. VRE가 분리된 검체는 소변이 98검체(36.0%)로 가장 많았고, 그 외 혈액 66검체(24.3%), 창상 및 창상배액 36검체(13.2%), 담즙 20검체(7.4%) 순이었으며 기타 52검체(19.1%)였다. 감시배양검체에서 처음 VRE가 분리된 환자는 6명(2.2%)으로 모두 대변에서 분리되었다. 272명의 환자들 중 중환자실에서 치료를 받은 환자는 87명(32.0%)이었고, VRE

가 분리되기 전에 vancomycin 치료를 받은 환자는 183명(67.3%)이었다. VDE가 분리된 환자들의 연령은 7개월에서 68세로 다양하였고 남자 3명, 여자 3명이었다. 환자들은 폐암 및 뇌졸중 환자 1명, 급성골수성백혈병 환자 2명, 간이식을 받은 간세포암 환자 1명, 교통사고로 다발성 골절과 함께 소장 및 요관이 파열된 환자 1명 그리고 VACTERL (vertebral anal cardiac tracheoesophageal, renal limb) 연관 기형환자 1명이었다. VDE가 분리되었던 여섯 환자 중 두 환자는 96일간 같은 혈액종양병동에서 항암치료를 받았고, 다른 네 환자는 중환자실에 입원 중이었는데 그 중 두 환자는 41일간 같은 중환자실에 있었다. 입원 기간은 최소 147일 이상이었다. 모두 VDE가 분리되기 전에 VRE가 먼저 분리되었고 그 전에 vancomycin 치료를 받았다. 한 환자는 수술 후 염증성 복강배액에서 7주간 vancomycin 내성 *E. faecium*이 지속적으로 분리되어, vancomycin 내성 *E. faecium* 복막염으로 17일간 linezolid 치료를 받은 다음 추적배양에서 제균되었다. 나머지 다섯 환자는 VRE 요로감염이었다. 이중 한 명은 요로감염이 있기 전에 대변 감시배양에서 VRE가 분리되고 있었다. VRE가 분리된 후 네 환자는 4-79일간 vancomycin 치료를 받다가 VDE가 분리되었고, 다른 두 환자는 vancomycin 치료를 하지 않았는데 VDE가 분리되었다. 1-6번

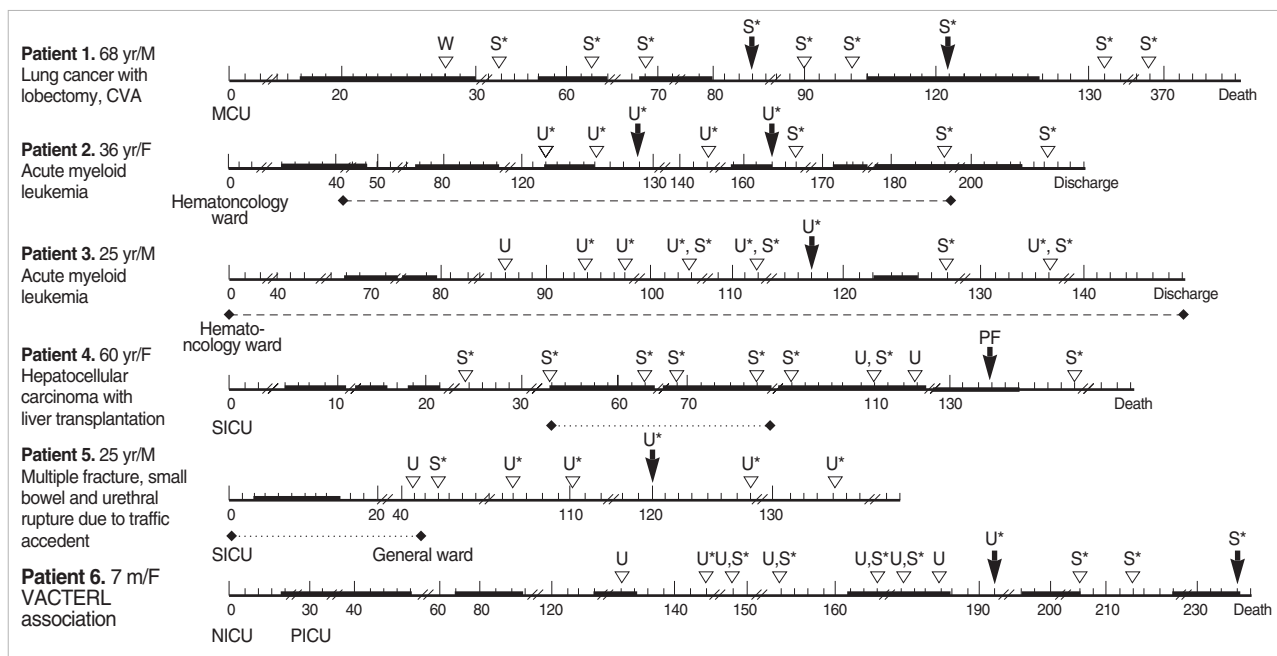


Fig. 1. Clinical features of 6 cases growing VDE.

▬, periods of hospital stay with numbers denoting hospital days; ▬, periods of vancomycin therapy; ▽, isolation of VRE; ▴, isolation of VDE. ◆—◆, periods of hospital stay of same ward for patient 2 and 3; ◆—◆, periods of hospital stay of same ward for patient 4 and 5.

\*surveillance culture.

Abbreviations: W, wound; S, stool; U, urine; PF, pleural fluid.

환자들에서 VDE가 분리되기 전 vancomycin을 사용한 기간은 각각 30일, 24일, 13일, 93일, 16일, 107일이었다. VRE 복막염 환자는 대변 감시배양에서 VDE가 분리되었고, VRE 요로감염이 있었던 다섯 명 중 네 명은 추적 소변 감시배양에서 VDE가 분리되었으며 다른 한 명은 흉관 배액에서 VDE가 분리되었다. 흉관 배액에서 VDE가 분리된 환자는 임상적인 감염의 증거가 없어서 집락화로 간주하였다. 모든 환자들에서 VDE가 한 번 분리된 후 다음 감시배양에서는 VRE가 분리되었고, VDE가 2번 분리되었던 3명의 환자에서도 VDE가 분리된 시기 사이에 2회 이상 감시배양에서 VRE가 분리되었다(Fig. 1).

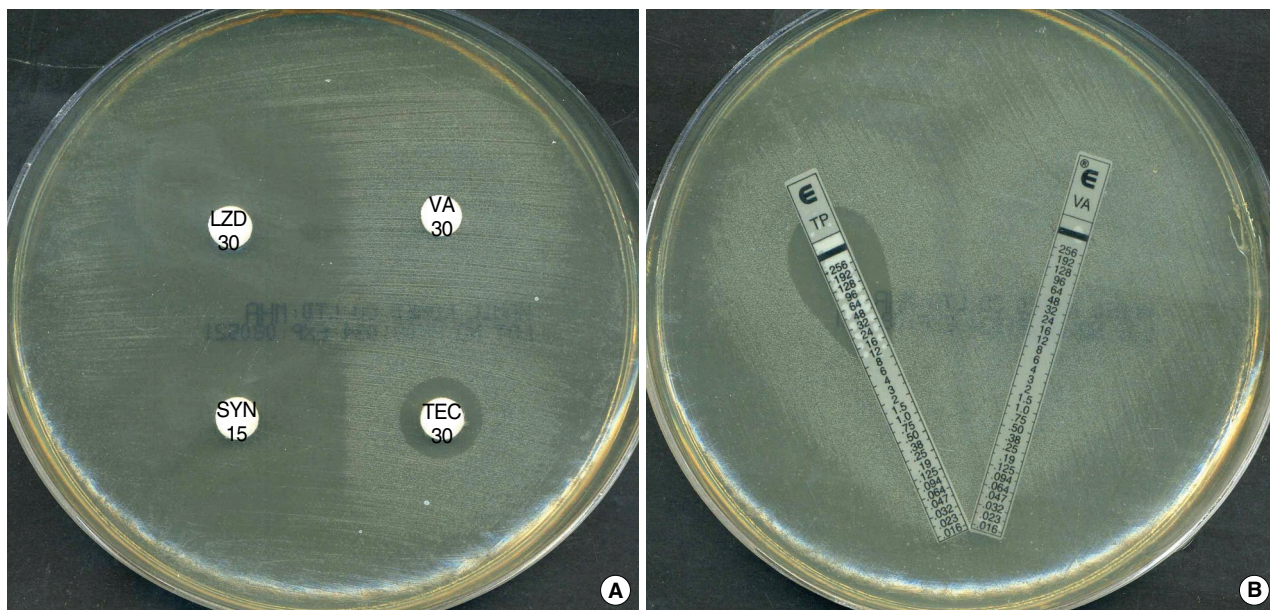
## 2. VRE와 VDE의 미생물학적 특성

272명의 환자들에서 분리된 VRE 중 266주가 중 수준까지 동정되었고, 이 중 *E. faecium*이 263주(98.8%), *E. faecalis* 2주(0.8%), *E. gallinarum* 1주(0.4%)였다. 266주 모두 *vanA*형 유전자를 가지고 있었고, vancomycin 최소억제농도는 16  $\mu\text{g}/\text{mL}$  이상이였다. Teicoplanin 최소억제농도는 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  이하가 62주(23.4%), 16  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이 44주(16.6%)로써, VanB 또는 VanD 표현형을 보이는 VRE가 106주(40.0%) 있었다. *E. faecium*의 항균제 감수성률은 chloramphenicol 98.2%, tetracycline 94.7%, quinupristin-dalfopristin 80.0%, rifampin 26.3%, eryth-

**Table 1.** Minimum inhibitory concentration (MIC) of and quantitative dependence on glycopeptides, and the other antimicrobial susceptibility patterns

Patient No.	Species	MIC ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )		Dependency ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )		Susceptibility to									
		VAN	TEC	VAN	TEC	PEN	AMP	CHL	RIF	Q-D	TET	CIP	ERY	GEH	STH
1	<i>E. avium</i>	>256	24	0.5	0.094	S	S	S	S	R	R	S	R	S	S
2	<i>E. faecium</i>	>256	32	NA	NA	R	R	S	S	S	R	R	R	R	S
3	<i>E. faecium</i>	>256	16	NA	NA	R	R	S	I	S	S	R	R	R	R
4	<i>E. faecium</i>	>256	12	0.064	0.016	R	R	S	I	S	S	R	S	S	S
5	<i>E. faecium</i>	>256	>256	NA	NA	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S
6	<i>E. faecium</i>	>256	64	NA	NA	R	R	S	R	S	S	R	R	R	R

Abbreviations: VAN, vancomycin; TEC, teicoplanin; PEN, penicillin; AMP, ampicillin; CHL, chloramphenicol; RIF, rifampin; Q-D, quinupristin-dalfopristin; TET, tetracycline; CIP, ciprofloxacin; ERY, erythromycin; GEH, gentamicin high-level resistance; STH, streptomycin high-level resistance; NA, not available; S, susceptible; I, intermediate; R, resistant.



**Fig. 2.** Disk diffusion test for vancomycin dependent enterococci isolated from patient 4 showing thick growth only in the area near by vancomycin (VA30) and teicoplanin (TEC30) disks but no growth around linezolid (LZD30) and quinupristin/dalfopristin (SYN15) disks (A). Vancomycin (VA) and teicoplanin (TP) E tests showing dependence on 0.064  $\mu\text{g}/\text{mL}$  or more and MIC of 256  $\mu\text{g}/\text{mL}$  against vancomycin and dependency of 0.016  $\mu\text{g}/\text{mL}$  or more and MIC of 12  $\mu\text{g}/\text{mL}$  against teicoplanin (B).



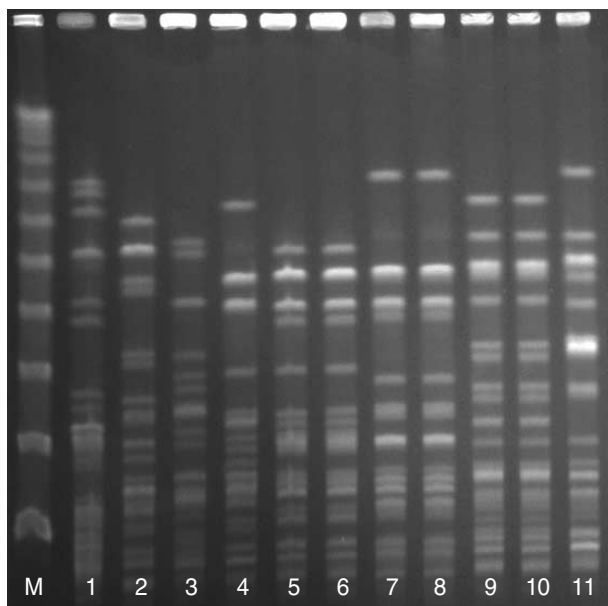


Fig. 3. Pulsed field gel electrophoretic profiles of *Smal*-digested chromosomal DNA of six vancomycin-dependent enterococci and five vancomycin-resistant enterococci. Lane M, Lambda DNA concatomer (New England Biolabs, Beverly, MA, USA); Lane 1, vancomycin-dependent *E. avium* from patient 1; Lane 2-4, initial vancomycin-resistant *E. faecium*, subsequent vancomycin-dependent *E. faecium* and post-VDE vancomycin-resistant *E. faecium* from patient 2; Lane 5 and 6, initial vancomycin-resistant *E. faecium* and subsequent vancomycin dependent *E. faecium* from patient 3; Lane 7 and 8, initial vancomycin-resistant *E. faecium* and subsequent vancomycin-dependent *E. faecium* from patient 4; Lane 9 and 10, initial vancomycin-resistant *E. faecium* and subsequent vancomycin-dependent *E. faecium* from patient 5; Lane 11, vancomycin-dependent *E. faecium* from patient 6.

romycin 7.2%, ampicillin 1.1%, penicillin 0.8%, ciprofloxacin 0.4%였고, streptomycin 고도내성과 gentamicin 고도내성 군주는 각각 29.3%, 78.2%였다. 수술 후 복막염 환자에서 분리되었던 VDE는 *E. avium*이었고 나머지 환자에서 분리된 VDE는 *E. faecium*이었다. 5주의 vancomycin 의존성 *E. faecium*은 chloramphenicol, quinupristin-dalfopristin 감수성, penicillin, ampicillin, ciprofloxacin 내성이었고, 1주의 vancomycin 의존성 *E. avium*은 penicillin, ampicillin, ciprofloxacin, chloramphenicol 감수성, quinupristin-dalfopristin 내성이었다. Tetracycline, rifampin, erythromycin 감수성과 streptomycin 고도내성, gentamicin 고도내성은 군주마다 서로 달라서 동일한 항균제 감수성 양상을 보이는 군은 없었다. Vancomycin 최소억제농도는 256  $\mu\text{g/mL}$  이상, teicoplanin 최소억제농도는 12-256  $\mu\text{g/mL}$ 으로 2주는 teicoplanin에 중등도 내성이었다(Table 1). 1회의 계대배양에서 의존성을 상실한 4주를

제외하고 의존성 정량을 하였다. 1번 환자에서 분리된 VDE의 vancomycin 의존성은 0.5  $\mu\text{g/mL}$  이상, teicoplanin 의존성은 0.094  $\mu\text{g/mL}$ 이었다. 4번 환자에서 분리된 VDE의 vancomycin 의존성은 0.064  $\mu\text{g/mL}$  이상, teicoplanin 의존성은 0.016  $\mu\text{g/mL}$  이상이였다(Fig. 2). VDE 유전자형은 모두 *vanA*였다.

### 3. Vancomycin 의존성의 환원

1, 4번 환자에서 분리된 VDE는 각각 7번, 5번 계대배양 후 VRE로 환원되었고, 다른 4주의 VDE는 1회 계대배양 후 vancomycin에 대한 의존성을 잃었다.

### 4. PFGE

요로감염이었던 2, 3, 4, 5번 등 4명의 환자에서 VDE가 분리되기 15일, 30일, 22일, 21일 전에 소변에서 분리된 VRE가 보관되어 있었고, 2번 환자에서 VDE가 검출된 뒤 3개월 이후에 분리된 VRE가 보관되어 있어 이상 5주의 VRE를 포함하여 검사하였다. VDE 6주는 모두 서로 다른 PFGE 양상을 보였고, 같은 환자에서 분리된 VRE와 VDE 짝은 2번 환자를 제외하고는 동일한 양상을 보였다. 2번 환자의 VDE와 그 전후의 VRE 등 3주는 각기 다른 PFGE 양상이었다(Fig. 3).

## 고 찰

본원에서 2007년 4월부터 2008년 3월까지 VRE가 분리된 환자 중 약 2.2%에서 VDE가 출현하였다. VDE가 분리된 6명의 환자는 모두 vancomycin 치료를 받았고 VRE에 의한 감염 또는 집락화된 상황에서 VDE가 분리되었다. 이전의 국외 보고들에서 VDE는 일반병실이나 중환자실에 입원한 환자들에서 vancomycin 치료를 한 후 분리되었고, vancomycin 사용기간은 5-120일이었다[4-10]. 모두 VRE가 VDE 분리에 선행하였거나 VRE와 VDE가 동시에 분리되어[4-10], VRE가 vancomycin에 계속 노출되는 것이 VDE로 전환되는데 가장 중요한 위험요인으로 생각되고 있다. 본 증례들 또한 VRE가 선행되었고, vancomycin의 긴 사용력이 있어서 이전 보고와 유사하다. 특히 본 연구에서는 VDE가 분리된 6명 중 3명의 환자에서 21-30일 선행한 VRE 분리주가 VDE와 PFGE 분석상 동일한 클론이었기 때문에 VRE가 체내에서 VDE로 전환되었을 가능성을 지지한다. 하지만 1번 환자는 vancomycin 내성 *E. faecium*에 의한 복막염으로 7주간 *E. faecium*이 지속적으로 분리되었던 환자였는데

대변 감시배양에서는 vancomycin 의존성 *E. avium*이 분리되었고, 2번 환자는 소변검체에서 분리된 VDE와 소변검체에서 VDE 이전과 이후 분리된 VRE가 모두 *E. faecium*이었지만 PFGE 분석상 다른 클론이었다. 이는 여러 개의 클론이 함께 집락화 또는 감염되고 이중 하나가 VDE로 전환되었을 가능성 또는 *Enterococcus* 종간에 transposon이 전파되었을 가능성을 시사한다. 국내에서 첫 보고된 VDE는 VRE가 선행하지 않았고 2년간 간헐적으로 teicoplanin으로 치료받은 병력이 있었으나 vancomycin 치료력은 없었다[14]. 이처럼 VRE가 선행되지 않았는데 VDE가 분리된 경우에는 병원 내에서 교차전파되었을 가능성도 고려해야 한다[7].

국내 임상감사실에서 VRE 분리율이 25%에 이르는데도[16] VDE 보고가 드문 이유는 VDE가 일반적인 배지에서는 잘 자라지 않아서 VDE를 놓쳤기 때문일 수 있다. 본 연구에서도 VDE가 2회 이상 분리되었던 3명의 환자에서 VDE가 분리된 시기 중간에 VRE만 검출되었는데, 이는 VDE가 VRE로 바뀌었다가 다시 VDE로 전환되었다고 볼 수도 있지만, VRE와 VDE가 섞여 있었는데 VDE를 검출하지 못했을 가능성이 높다. VRE가 분리된 후 VDE가 분리될 때까지 38일, 104일간 vancomycin을 사용하지 않았던 3, 5번 환자에서도 VDE가 이전부터 존재했지만 뒤늦게 검출했을 가능성이 있다. 이 2예에서 vancomycin을 사용하지 않았던 기간 중 VDE가 검출되기 전에 동일 검체에서 동일한 PFGE 양상의 VRE가 분리된 것은 같은 클론의 VRE와 VDE를 함께 보고하고 있었을 것으로 추정할 수 있다. 6명 중 5명은 VRE 감시배양을 의뢰한 데서 VDE가 분리되었는데, 감시배양에서는 vancomycin이 포함된 선택배지를 사용하기 때문에 VDE를 더 민감하게 검출하는 것으로 추정된다. 임상검체를 vancomycin이 들어 있지 않은 배지에 일차 접종했을 때 검체 내에 포함된 vancomycin 때문에 VDE가 자랄 수 있지만[4] 계대배양하면 대부분에서 잘 자라지 않는다[4, 9]. 따라서 VDE를 민감하게 검출하기 위해서는 VRE 감시배양에서 vancomycin이 포함된 선택배지를 사용해야 하고, 임상검체에서 분리된 장구균이 계대배양에서 안 자라면 VDE를 의심해서 vancomycin 디스크 또는 vancomycin이 포함된 배지에 계대배양할 필요가 있다[5].

본원에서 분리된 VDE는 vancomycin 농도 0.064  $\mu\text{g/mL}$ , 0.5  $\mu\text{g/mL}$  이상에서 균이 자랐는데 이 결과는 0.125–0.5  $\mu\text{g/mL}$  이상의 vancomycin에 의존성을 보인 이전 보고와 유사하다[4, 5, 9, 10]. 의존성 검사가 가능했던 2주 모두 teicoplanin에도 함께 의존성을 보여서 glycopeptide 의존성이었다. *vanB* D-Ala-D-Lac ligase는 teicoplanin에 의해 활성화되지 않기

때문에 *vanB* VRE가 VDE로 전환될 때는 teicoplanin에 대한 의존성은 없다[4, 5]. 이에 비해 *vanA* VRE의 D-Ala-D-Lac ligase는 vancomycin과 teicoplanin 둘 다에 의해 유도되기 때문에 *vanA* VRE는 vancomycin과 teicoplanin 둘 다에 의존성이 있는 glycopeptide 의존성을 보이는데[13], teicoplanin 내성이 상대적으로 낮은 VanB 또는 VanD 표현형의 *vanA* VRE가 VDE로 전환될 때 teicoplanin 의존성에 대해서는 보고된 바 없다[9, 17]. 본 연구에서 teicoplanin 최소억제농도가 12  $\mu\text{g/mL}$ 로 가장 낮았던 환자 4의 균주도 vancomycin과 teicoplanin 둘 다에 의존성을 보였고, VDE일 때도 teicoplanin에 대한 최소억제농도는 여전히 12  $\mu\text{g/mL}$ 를 유지하였다. 국내에서는 2000년 이후 teicoplanin에 내성이 상대적으로 낮은 VanB 또는 VanD 표현형의 *vanA* VRE 빈도가 증가하여[18, 19], 본 연구에서 39%에 달했다. 국내의 VanD형 *vanA* VRE는 teicoplanin에 계속 노출시키면 teicoplanin에 대한 고도내성이 유발되기 때문에[19] VDE가 될 때도 teicoplanin에 대한 의존성이 함께 발생하는 것으로 추정된다.

VDE는 vancomycin 노출이 중단되면 다시 VRE로 환원된다[20]. 이는 추가적인 변이가 일어나 vancomycin에 의해 유도될 필요가 없이 D-Ala-D-Ala ligase 기능이 회복하기 때문으로 설명된다[7, 20]. 본 연구에서 6명의 환자 모두 VDE가 분리된 이후 2–12일간 vancomycin을 사용하지 않았던 기간이 있고 VRE가 다시 검출되어 생체 내에서 vancomycin 의존성이 소실됨을 보여준다. VDE 6주 모두 실험실에서도 계대배양을 통해 vancomycin 의존성이 소실되는 것을 입증할 수 있었다. VDE 3주는 첫 번째 계대배양에서 바로 VRE가 되었고 1번 환자와 4번 환자에서 분리된 VDE는 각각 5번째, 7번째 계대배양까지 의존성이 유지되었다. VDE가 한번의 계대배양에서 VRE로 복귀되는 비율에 대한 연구는 있지만[4], 몇 번의 계대배양으로 의존성이 완전히 소실되는지에 대한 보고는 없다. 국내 최초 VDE 1주와[14] 본 연구에서 보고한 3주의 VDE가 vancomycin이 없는 배지에 1회 계대배양만으로도 의존성을 상실하는 것과 같이 매우 불안정한 VDE가 있는 반면 5–7회 계대배양으로도 의존성이 유지되는 상대적으로 안정적인 VDE가 있다는 점은 새로운 사실이다. 그리고 상대적으로 안정한 VDE도 계속 반복 계대배양하면 결국 의존성을 잃고 내성으로 환원된다는 점에서 VDE는 VRE와 동등한 임상적 의미를 갖는다. 한번의 계대배양 후 VRE로 환원된 VDE가 분리된 3번 환자와 5번 환자는 VRE 분리 후 VDE가 검출될 때까지 vancomycin을 사용하지 않았던 환자들이었기 때문에 의존성이 불안정했을 수 있다. 반대로 이들은 각각 38일, 104일 동안이나 vancomycin을 사용하지 않

있는데도 VDE가 검출되어 VDE가 vancomycin 없이 오랜 기간 지속될 수 있음을 시사한다. 2002년 국내 첫 보고된 *vanA*형의 VDE도 처음 항균제 감수성 검사에서만 일과성으로 vancomycin 의존성을 보이다가 혈액하천배지에 한번 계대배양하였을 때 의존성이 사라졌다[14]. 본 연구에서 VDE는 모두 *vanA* 유전자형을 보였는데 일반적으로 *vanB*형을 갖는 VDE는  $10^{-8}$ – $10^{-6}$ 의 비율로, *vanA*형을 갖는 VDE는  $10^{-2}$ 의 비율로 VRE로 환원되는 것으로 알려져 있다[4]. 따라서 국내에서 분리된 VDE 균주들의 vancomycin 의존성이 불안정했던 것은 모두 *vanA* 유전자형이었기 때문일 수 있다.

본 연구에서 VDE 중 4예가 소변에서 분리된 *vanA E. faecium*인 점은 교차전파를 의심하게 한다. 특히 여섯 환자 중 두 환자가 96일간 같은 혈액종양병동의 다른 병실에서 입원 치료를 받았고 다른 두 환자는 41일간 외과계 중환자실에서 함께 치료를 받았던 병력이 있어서 가능성을 높여준다. 하지만, 본 연구기간 중 전체 VRE가 *vanA*형이었고, 98.8%가 *E. faecium*이었는데, 국내 VRE는 대부분 *E. faecium*이며[3, 15] 과거 본원에서 분리되는 VRE는 모두 *vanA*형이고, 93%가 *E. faecium*라는 보고[15]와 일치한다. VDE가 VRE로부터 진화하기 때문에 분리된 VDE 균종은 대부분 *E. faecium*이 될 것이다. *E. faecium* VDE 모두 항균제감수성이 본원에서 출현하는 전형적인 *E. faecium* VRE의 범주를 벗어나지 않으면서 동일한 균주는 없고, PFGE에서 모두 상이한 결과를 보여 클론성 전파는 배제할 수 있었다. 1999년 골수이식환자에서 VDE에 의한 소변감염 유행이 있었던 보고가 있지만[7], 통상적으로 소변검체는 *Enterococcus* 종이 가장 흔하게 분리되는 검체로 본 연구에서도 VRE의 36%가 소변에서 분리되었다. 지금까지 보고된 VDE가 소변, 혈액, 신농양, 대변, 복막 투석 카테터 등 다양한 검체에서 분리되었지만[4–10, 12, 14], 소변에서 가장 흔히 분리된 점은[4–10] VRE가 소변에서 지속적으로 고농도의 vancomycin에 노출되는 것으로 설명될 수 있다[4, 10]. 하지만, VRE의 원내전파에 transposon의 수평전파가 중요하며[15], 1, 2번 환자처럼 선행하는 VRE와 다른 중, 다른 클론의 VDE가 검출되었으므로 이들 VDE 균주가 특정 transposon 전파에 의해 확산되었을 가능성을 배제할 수 없다.

VDE의 임상적인 중요성은 아직 명확히 밝혀지지 않았다. 본 연구에서 VDE가 분리된 6명의 환자들은 VDE가 집락화된 상태였고, 반복 분리되는 경우가 있었지만 임상적인 경과에 영향을 주지 못했다. 이전 국외 보고에서는 치료에 반응하지 않는 요로 감염을 일으키거나[4, 9], 신이식 환자에서 패혈성 쇼크를 일으켜 사망의 원인이 된 경우도 있었다[6, 9]. 따라서 장기 이식을

받은 환자나 혈액 종양 환자와 같이 면역력이 저하된 환자들은 VDE에 의한 심각한 감염이 발생할 가능성도 염두에 두어야 한다[9]. 본원의 여섯 환자들 중 두 환자는 인공호흡기 연관 폐렴이나 패혈증으로, 다른 두 환자는 호중구 감소성 발열의 경험적 항균제로 vancomycin을 사용하였다. 본 증례들처럼 VRE가 분리되더라도 다른 감염이나 경험적 치료를 위해 vancomycin을 사용할 수 밖에 없는 경우가 많아서 VRE가 분리됨에도 불구하고 vancomycin을 계속 사용하는 것이 VDE 발생의 원인이 된다[10]. 또한 VDE 감염일 때 vancomycin을 중단하면 VRE로 환원되기 때문에 vancomycin을 중단하는 것만으로는 충분한 치료가 되지 못한다[10]. 따라서 VRE나 VDE가 분리되는 환자에서 항균제치료가 필요할 때 vancomycin을 사용하는 것은 피하고 VRE나 VDE에도 효과가 있는 항균제를 사용해야 할 것이다[9].

결론적으로 국내 VRE의 높은 발생률로 볼 때 VDE 또한 드물지 않을 것으로 추정되며, VDE는 VRE가 분리되고, 장기간 vancomycin을 사용한 환자에서 분리될 위험이 높다. VRE가 분리되어 감시배양을 하거나, 임상검체에서 분리된 장구균이 계대배양에서 자라지 않는다면 VDE를 검출할 수 있는 검사법을 사용할 필요가 있다.

## 요 약

**배경 :** Vancomycin-dependent enterococci (VDE)는 vancomycin-resistant enterococci (VRE)와 유사한 임상상을 보이지만 검출하기 더 어렵다. 본 연구에서는 VDE의 미생물학적 특성과 역학적 특성을 살펴보았다.

**방법 :** 2007년 4월부터 2008년 3월까지 VDE가 분리된 환자를 대상으로 하였다. E test (AB Biodisk, Sweden)법으로 vancomycin과 teicoplanin에 대한 최소억제농도와 의존성을 정량적으로 측정하였고, 의존성 환원검사와 pulsed field gel electrophoresis (PFGE)를 시행하였다. 전자의무기록을 통해 환자의 임상 소견을 확인하였다.

**결과 :** 연구 기간 동안 VRE가 분리된 환자 272명 중 6명(2.2%)에서 VDE가 검출되었다. 모두 VDE가 분리되기 전에 VRE에 의한 감염이 있거나 집락화되어 있었고 13–107일간 vancomycin 치료를 받았다. VDE는 흉수 1검체와 소변 4검체, 대변 1검체에서 분리되었고 모두 *vanA*형이었다. Vancomycin 최소억제농도는 모두  $256 \mu\text{g/mL}$  이상이었고 2주는 teicoplanin에 중등도 감수성이었다. 2주의 VDE에서 vancomycin 의존성은 0.064,  $0.5 \mu\text{g/mL}$ 로 측정되고 각각 5번, 7번의 계대배양 후 내

성으로 전환되었다. 다른 4주는 한 번의 계대배양 후 vancomycin 의존성이 환원되었다. VDE 6주는 모두 서로 다른 PFGE 양상을 보였으며, 4명의 환자에서 이전에 분리된 VRE와 VDE 쌍 중 3쌍의 VRE와 VDE 쌍은 각각 동일한 클론이었다.

**결론 :** VDE의 발생빈도는 드물지 않았고, VRE가 분리되는 환자에서 장기간 vancomycin에 노출되었을 때 독립적으로 발생하였다. Vancomycin 의존성은 수 차례의 계대배양 후 내성으로 환원되었다.

### 참고문헌

- Pai CH, Kim MN, et al. eds. Clinical Microbiology for Infection Control. Seoul: Hanmi, 2007;96-9. (배직현, 김미나 등 편저. 감염관리를 위한 임상미생물학. 서울: 한미의학, 2007;96-9.)
- Lee WG. Resistance mechanism and epidemiology of vancomycin-resistant enterococci. Korean J Clin Microbiol 2008;11:71-7. (이위교. Vancomycin-resistant Enterococci의 내성 기전 및 역학. 대한임상미생물학회지 2008;11:71-7.)
- Lee WG, Jung MK, Kwak YS. Vancomycin-resistant enterococci: incidence, antimicrobial susceptibility and resistance genotype. Korean J Clin Pathol 1998;18:51-6. (이위교, 정민권, 곽연식. Vancomycin 내성 장구균의 분리율, 항균제 감수성 및 내성형에 관한 연구. 대한임상병리학회지 1998;18:51-6.)
- Fraimow HS, Jungkind DL, Lander DW, Delso DR, Dean JL. Urinary tract infection with *Enterococcus faecalis* isolate that requires vancomycin for growth. Ann Intern Med 1994;121:22-6.
- Dever LL, Smith SM, Handwerger S, Eng RH. Vancomycin-dependent *Enterococcus faecium* isolated from stool following oral vancomycin therapy. J Clin Microbiol 1995;33:2770-3.
- Green M, Shlaes JH, Barbadora K, Shlaes DM. Bacteremia due to vancomycin-dependent *Enterococcus faecium*. Clin Infect Dis 1995;20:712-4.
- Kirkpatrick BD, Harrington SM, Smith D, Marcellus D, Miller C, Dick J, et al. An outbreak of vancomycin-dependent *Enterococcus faecium* in a bone marrow transplant unit. Clin Infect Dis 1999;29:1268-73.
- Majumdar A, Lipkin GW, Elliott TS, Wheeler DC. Vancomycin-dependent enterococci in a uremic patient with sclerosing peritonitis. Nephrol Dial Transplant 1999;14:765-7.
- Tambyah PA, Marx JA, Maki DG. Nosocomial infection with vancomycin-dependent enterococci. Emerg Infect Dis 2004;10:1277-81.
- Yowler CJ, Blinkhorn RJ, Fratianne RB. Vancomycin-dependent enterococcal strains: case report and review. J Trauma 2000;48:783-5.
- Rosato A, Pierre J, Billot-Klein D, Buu-Hoi A, Gutmann L. Inducible and constitutive expression of resistance to glycopeptides and vancomycin dependence in glycopeptide-resistant *Enterococcus avium*. Antimicrob Agent Chemother 1995;39:830-3.
- Bert F, Leflon-Guibout V, Grand J, Bourdon N, Nicholas-Chanoine MH. Emergence of vancomycin-dependent enterococci following glycopeptide therapy: case report and review. Pathol Biol 2009;57:56-60.
- Sifaoui F and Gutmann L. Vancomycin dependence in a *vanA*-producing *Enterococcus avium* strain with a nonsense mutation in the natural D-ala-D-ala ligase gene. Antimicrob Agents Chemother 1997;41:1409.
- Kim SY, Kang SJ, Lee SO, Lee WG, Park YJ, Kim BK. A case of septicemia by transient glycopeptide-dependent *Enterococcus faecium*. Korean J Infect Dis 2002;34:69-72. (김수영, 강석진, 이승옥, 이위교, 박연준, 김병기. 일과성의 glycopeptide 의존성을 보인 *Enterococcus faecium*에 의한 패혈증 1예. 감염 2002;34:69-72.)
- Yoo SJ, Sung H, Cho YU, Kim MN, Pai CH, Kim YS. Role of horizontal transfer of the transposon Tn1546 in the nosocomial spread of *vanA* vancomycin-resistant enterococci at a tertiary care hospital in Korea. Infect Control Hosp Epidemiol 2006;27:1081-7.
- Lee K, Lim CH, Cho JH, Lee WG, Uh Y, Kim HJ, et al. High prevalence of ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* and increase of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. in Korea: a KONSAR program in 2004. Yonsei Med J 2006;47:634-45.
- Tanimoto K, Nomura T, Hamatani H, Xiao YH, Ike Y. A vancomycin-dependent *VanA*-type *Enterococcus faecalis* strain isolated in Japan from chicken imported from China. Lett Appl Microbiol 2005;41:157-62.
- 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.
- Song JH, Ko KS, Suh JY, Oh WS, Kang CI, Chung DR, et al. Clinical implications of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* (VRE) with *VanD* phenotype and *vanA* genotype. J Antimicrob Chemother 2008;61:838-44.
- Van Bambeke F, Chauvel M, Reynolds PE, Fraimow HS, Courvalin P. Vancomycin-dependent *Enterococcus faecalis* clinical isolates and revertant mutants. Antimicrob Agent Chemother 1999;43:41-7.