

전국 10개 종합병원 중환자실 환자의 직장내 Vancomycin-resistant Enterococci (VRE) 보균율, 보균의 위험요인 및 유전적 다양성 조사

고려대학교 의과대학 내과학교실¹, 고려대학교 의과대학 구로병원 감염관리실²,
가톨릭대학교 의과대학 내과학교실³, 동아대학교 의과대학 내과학교실⁴, 인하대학교 의과대학 내과학교실⁵,
인하대학교병원 감염관리실⁶, 전남대학교 의과대학 내과학교실⁷, 충북대학교 의과대학 임상병리학교실⁸,
대전 선병원 임상병리과⁹, 한림대학교 의과대학 내과학교실¹⁰, 적십자병원 임상병리과¹¹,
연세대학교 의과대학 임상병리학교실¹², 서울대학교 의과대학 내과학교실¹³

정희진¹ · 송준영¹ · 엄중식¹ · 김우주¹ · 최선주² · 최정현³ · 이 혁⁴ · 정문현⁵ · 이광미⁶
신동현⁷ · 손보라⁸ · 최종성⁹ · 우흥정¹⁰ · 권정아¹¹ · 이경원¹² · 최강원¹³ · 박승철¹

Colonization Rate, Risk Factor for Acquisition and Genetic Diversity of Vancomycin-Resistant Enterococci (VRE) Isolated from Rectal Culture of Patients in Intensive Care Units from Ten Large Hospitals in Korea

Hee-Jin Cheong, M.D.¹, Joon-Young Song, M.D.¹, Joong-Shik Eom, M.D.¹, Woo-Joo Kim, M.D.¹
Sun Ju Choi, R.N.², Jung Hyun Choi, M.D.³, Hyuck Lee, M.D.⁴, Moon-Hyun Chung, M.D.⁵
Kwang-Mi Lee, R.N.⁶, Dong Hyeon Shin, M.D.⁷, Bo-Ra Sohn, M.D.⁸, Jong Sung Choi, M.D.⁹
Heung Jeong Woo, M.D.¹⁰, Jeong-A Kwon, M.D.¹¹, Kyung-Won Lee, M.D.¹²
Kang-Won Choe, M.D.¹³ and Seung-Chull Park, M.D.¹

Department of Internal Medicine, Korea University¹, Infection Control Unit, Korea University Guro Hospital²,
Department of Internal Medicine, Catholic University³, Department of Internal Medicine, Dong-A University⁴,
Department of Internal Medicine, Inha University⁵, Infection Control Unit, Inha University Hospital⁶,
Department of Internal Medicine, Chonnam National University⁷, Department of Internal Medicine, Hallym University¹⁰,
Department of Clinical Pathology, Choongbuk National University¹³,
Department of Clinical Pathology, Daejeon Sun General Hospital⁹,
Department of Clinical Pathology, Red-cross Hospital¹¹, Department of Clinical Pathology, Yonsei University¹²,
Department of Internal Medicine, Seoul National University¹³, Korea

Background : VRE have become an emerging nosocomial pathogen in Korea, but there has not been nationwide study on the colonization of VRE among high risk groups of hospitalized patients. The purpose of this study was to determine the prevalence of rectal colonization of VRE among patients hospitalized in the intensive care unit (ICU), to study the risk factors for nosocomial acquisition of VRE among those patients, to define the genetic diversity of VRE strains in major hospitals in Korea.

Methods : Between January the 20th and 30th of 2000, a point surveillance study was conducted in the ICU of the ten large hospitals, which were located nationwide. Surveillance rectal swab cultures for detecting VRE were obtained among 214 patients admitted to the ICU during the study period. To isolate VRE, rectal swab cultures were performed on Enterococcosel[®] agar that containing 6 µg/mL of vancomycin. Minimal inhibitory concentrations (MICs) of vancomycin and teicoplanin were determined by agar dilution

* 본 연구는 보건복지부의 보건 의료기술개발연구과제(HMP-99-M-04-0002)의 지원에 의한 결과임.

접수: 2002년 2월 20일, 승인: 2002년 10월 5일

교신저자: 김우주, 고려의대 구로병원 감염내과

Tel : 02)818-6648, Fax : 02)853-6030, E-mail : wjkim@korea.ac.kr

method. For the genotyping of VRE isolates, the detection of *vanA*, *vanB*, *vanC1* and *vanC2* gene by polymerase chain reaction was done. Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) was used for elucidating the genetic relatedness of VRE isolates. To identify the risk factors for rectal VRE colonization, patients harboring VRE were compared to patients who were not colonized with this organism.

Results : The rectal colonization rate of VRE was variable from 9.7% to 51.9% according to hospital. 64 VRE strains which were isolated from 63 patients included 37 *E. faecium*, 26 *E. gallinarum* and 1 *E. casseliflavus* isolates. Therefore the colonization rate of clinically significant *vanA* type VRE was 17.3% (37/214). 37 *E. faecium*, 26 *E. gallinarum* and 1 *E. casseliflavus* isolates were presented as *vanA*, *vanC1* and *vanC2* genotypes, respectively. Risk factors for rectal VRE colonization included the presence of chronic illness, previous use of broad spectrum antibiotics es-

pecillay vancomycin, and prolonged stay in ICU. Various PFGE patterns are noted among *vanA* type VRE isolates, so individual acquisition of VRE during stay in the majority of ICUs were suggested. But there is some evidence of focal VRE spread within the ICU and between hospitals.

Conclusion : This study demonstrated the high rectal colonization rate (17.3%) of clinically significant *vanA* type VRE among patients admitted to the ICUs of ten large hospitals located nation-widely. This study suggested that practicing HICPAC guidelines, restricted vancomycin usage and periodic surveillance cultures in patients with high risk factors are important in preventing the emergence and spread of VRE infection among ICU patients. (Korean J Infect Dis 34:277~284, 2002)

Key Words : Vancomycin-Resistant Enterococci, Rectal colonization, Intensive Care Unit, Rectal Surveillance

서론

장구균(enterococci)은 광범위 항생제의 사용 증가와 함께 병원내에서 두 번째로 흔히 분리되는 중요한 원내 감염의 원인균으로 부각되었으며¹⁾ 특히 *E. faecium*에 의한 병원내 균혈증의 발생률은 미국내 일개병원에서 1990년의 10.9%에서 1992년의 34.0%까지 증가할 정도로 급증하였다²⁾. 이들 장구균은 몇몇 흔히 사용하는 항생제에 대한 내인적 내성을 가질 뿐 아니라 vancomycin 등의 glycopeptide에 대한 내성을 이차적으로 획득하여 기존의 항생제 치료에 반응하지 않는 난치성 감염을 유발하고 내성유전자를 다른 균으로 쉽게 전파시킬 수 있는 위험을 내포한다.

지금까지 알려진 바로는 vancomycin 내성 장구균 (VRE) 역시 다른 장구균 감염과 마찬가지로 병원에 입원 중인 악성종양, 호중구 감소증 등의 중증 기저 질환자에서, 이전의 항생제 사용 등의 위험요인이 있는 경우에 호발하며 이들 환자에서의 VRE에 의한 위장관계 집락화가 VRE 감염증 발생의 선행요인이 될 것이라고 믿어지고 있다³⁾. 최근까지 VRE에 의한 집락화 또는 감염은 주로 미국을 중심으로 하여 대형 병원에 입원중인 환자들에서 보고되고 있는데⁴⁻⁷⁾ 국내의 실정 역시 미국과 유사한 양상으로서⁸⁻¹⁰⁾ 지금까지의 산발적인 보고들은 모두 병원감염의 형태로 나타나 병원이 VRE 획득이 주요 장소가 되고 있으며 특히 중환자실은 VRE가 출현하고 파급되는 가장 중요한 장소가 되고 있다.

VRE는 치료를 요하는 감염증 뿐 아니라 무증상 상태의 보균상태로 존재하면서 주위 환경을 오염시키고 다른 환자나 의료진에게 전달될 수 있으므로 VRE의 출현을 초기에 감지하여 이로 인한 파급을 최소화하는 감시체계를 잘 갖추는 것이 무엇보다도 중요하다¹¹⁾. 이러한 감시체계의 기본은 고위험군을 대상으로 한 주기적인 감시배양인데, 국내에서도 VRE 획득의 고위험군인 중환자실이나 중양병동 환자들을 중심으로 한 직장내 감시배양 연구결과들이 있으나¹²⁻¹⁴⁾ 대부분의 연구가 대상 환자들이 적은 소규모의 연구들로서 국내의 전반적인 실태를 설명하기에는 어려움이 있다.

따라서 본 연구에서는 전국의 10개 병원 중환자실에 입원중인 환자들을 대상으로 일정 시점에 직장내 VRE 집락화율을 조사하는 point surveillance를 시행함으로써, 중환자실내 중환자실에서의 VRE 보균율 및 VRE 획득의 위험요인을 분석하고자 하였으며, 여기에서 분리된 VRE의 분자역학적 성상을 연구하여 병원내 유행 또는 병원간 전파 유무를 규명하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 연구대상 및 검체 채취

본 연구는 2000년 1월 20일에서 30일 사이 10일간에 걸쳐 전국에 분포하는 10개 종합병원; 서울의 3개(고려의대 구로병원, 가톨릭의대 여의도성모병원, 적십자병원), 경기도의 3개(인하대학교병원, 성남 중앙병원, 적십자병원), 충북의 1

개(충북대학교병원), 충남의 1개(대전 선병원), 경남의 1개(동아대학교병원), 전남의 1개(전남대학교병원)의 중환자실 재원환자들을 대상으로 하여 진행되었다. 각 병원의 연구자들은 연구기간 중 임의로 하루를 정하여 당일 중환자실에 재원중인 환자들로부터 직장 도말의 방법으로 육안적으로 확인될 만큼 즉, 최소 0.5 g 이상의 대변을 채취하였다.

2. VRE의 분리 및 동정

환자들로부터 채취한 대변검체를 vancomycin이 6 µg/mL의 농도로 함유된 Enterococcosel[®] agar (BBL Microbiology System, Cockeysville, Md., USA)에서 도말하여 37°C 항온기에서 48시간 배양한 후 검은색의 집락이 자란 것을 잠정적인 VRE로 판정하여 혈액천배지에 계대 배양하였다. 배양된 균을 고대구로병원에서 취합하여 이를 다시 6 µg/mL의 vancomycin이 포함된 Brain-heart infusion agar (BBL Microbiology System, Cockeysville, Md., USA)에 접종 후 24시간 배양하였고, 여기서 자란 균을 VRE로 선별하였다¹⁵⁾. 전통적인 생화학적 방법¹⁶⁾과 API 20 STREP (biomerieux, Marcy l'Etoile, France)으로 균종을 동정하였고 상용화된 방법 이외에도 운동성 검사, 색소형성 검사 및 PYR 검사 등을 부가적으로 시행하여 최종 결정하였다. VRE의 항생제 감수성 검사를 위하여 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)에서 제시한 한천 희석법으로 vancomycin과 teicoplanin의 최소억제농도(MIC)를 측정하여 반코마이신 내성의 표현형을 결정하였다¹⁷⁾. 이외에도 β-lactamase 생성 검사, aminoglycoside에 대한 고도 내성 여부를 조사하였다. Aminoglycoside 고도 내성은 streptomycin (2,000 µg/mL), gentamicin (500 µg/mL)이 농도로 함유된 BHI 한천 배지에서 24시간 배양하여 한 개 이상의 집락이 자란 경우를 양성으로 판정하였다.

3. VRE의 유전자형 분석

항생제 감수성 검사에서 VRE로 판정된 균주에 대하여 vanA-vanB 유전자에 대한 duplex PCR, vanC1, vanC2 유전자에 대한 PCR을 시행함으로써 VRE의 내성 유전자형을 결정하였다. 사용한 시발자의 염기서열 및 PCR의 조건은 이전의 연구에서와 동일하였다¹²⁾. 표준 균주로는 *E. faecalis* ATCC 29212 (vancomycin 감수성), *E. faecium* A228 (vanA), *E. faecium* V583 (vanB), *E. gallinarum* (vanC1), *E. casseliflavus* (vanC2)를 사용하였다.

4. VRE의 분자 역학적 조사

직장 도말 검사에서 분리된 van A형 VRE 37주의 분자 유전형별 분석은 pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)를 통하여 조사하였다. 이전의 연구에서와 동일한 방법으로 한천 plug를 만든 후 Sma I 제한효소로 처리하여 CHEF-DR III (Bio-Rad, USA)를 통하여 전기영동 하였다⁸⁾. 전기영동 후 얻어진 band 양상을 Tenover가 제시한 기준에 따라 육안적으로 분자형별을 구분하였다¹⁸⁾.

5. VRE 직장 보균의 위험요인 조사

중환자실 입원환자 중 직장 도말 검사에서 VRE가 분리된 환자의 위험인자를 규명하고자, 연구에 포함된 환자의 성별, 나이, 전체 병원 입원 일수 및 중환자실 재원 일수, 기저 질환(당뇨, 뇌졸중, 종양, 만성 간질환 등), 설사 유무, VRE 분리 전 치료에 사용된 항생제의 종류 및 사용기간, 각종 혈액 검사 소견 등을 의무기록을 바탕으로 조사하여 VRE 직장내 보균자와 비보균자간 위험 인자의 존재유무를 PC SPSS for windows [version 8.0]을 사용하여 chi-square test 및 t-test로 분석하였다.

결 과

1. 중환자실 환자들에서의 VRE 보균율

연구에 참여한 10개 병원 중환자실 재원환자는 총 214명이었다. 이 중 63명에서 64주의 VRE가 분리되어 연구 참여 병원의 중환자실 재원환자에서 직장내 VRE 보균율은 평균 29.4% (63/214)이었으나, 병원에 따라 직장내 VRE 보균율은 큰 차이를 보여, 적게는 9.7%부터 많게는 51.9%에 이르렀다. 그러나 임상적으로 중요한 의미를 갖는 vanA형 VRE의 보균율은 평균 17.3% (37/214)이었다. vanA형 VRE의 보균율 역시 병원별로 큰 차이를 보였는데 VRE가 전혀 검출되지 않는 2개의 병원이 있었던 반면, 48.1% (13/27)의 높은 보균율을 보이는 병원도 있었다(Table 1).

2. 분리된 VRE의 특성

본 연구에서는 VRE 분리시 직장 도말검체를 vancomycin이 6 µg/mL이 포함된 Enterococcosel[®] agar에 접종 후 배양된 집락을 다시 brain-heart infusion agar에 접종하였는데, 이 방법을 이용하여 분리한 잠정적인 VRE중 1주를 제외하고는 PCR를 이용한 유전형 검사시 모두 실제 VRE로 판명되었다. 제외되었던 1주는 *Leuconostoc* spp.이었다.

63명에서 분리된 VRE 64주의 균종은 *E. faecium* 37주, *E. gallinarum* 26주, *E. casseliflavus* 1주로 분포되었으며, 1명에서 *E. faecium*와 *E. gallinarum*이 동시에 분리되었다. 반코마이신 유전형 검사상 *vanA* VRE로 밝혀진 37주가 *E. faecium*이었고, *vanC1* 26주는 *E. gallinarum*, *vanC2* 1주는 *E. casseliflavus*로 판명되었다. 임상적으로 유의한 *vanA* VRE가 전체 분리주의 58.7% (37주)를 차지하였으며, *vanB* VRE는 1주도 없었다.

VRE의 항생제 감수성 결과, *E. faecium*은 vancomycin MIC₉₀가 512 µg/mL 이상(범위: 128~>512 µg/mL), teicoplanin MIC₉₀가 256 µg/mL 이상(범위: 16~>256 µg/mL)으로서 모두 vancomycin, teicoplanin 고도내성의 VanA 표현형을 나타내었다. 그 이외에 *E. gallinarum*은 vancomycin MIC₉₀ 8 µg/mL (범위: 4~16 µg/mL), teicoplanin MIC₉₀ 8 µg/mL (범위: 1~8 µg/mL)로서 각각 vancomycin 저도 내성과 teicoplanin 감수성을 나타내었고 *E. casseliflavus* 역시 *E. gallinarum*과 같은 VanC형의 표현형을 보였다. *E. gallinarum*과 *E. casseliflavus*는 PCR 검사상 각각 *vanC1*, *vanC2*의 유전형을 나타내어 균종과 일치하는 소견을 보였다(Table 2). 한 환자에서 *vanA*형 *E. faecium*과 *vanC*형 *E. casseliflavus*가 동시에 분리되었다

Table 1. Point Prevalence of Rectal VRE Colonization According to the Hospital

Hospital (Total=188)	<i>vanA</i> VRE	<i>vanC</i> VRE	Total VRE
K (n=17)	5.9% (1)	11.8% (2)	17.6% (3)
GSM (n=27)	48.1% (13)	3.7% (1)	51.9% (14)
C (n=22)	0.0% (0)	27.3% (6)	27.3% (6)
CB (n=11)	36.4% (4)	0.0% (0)	36.4% (4)
D (n=25)	20.0% (5)	20.0% (5)	40.0% (10)
SJ (n=12)	8.3% (1)	16.6% (2)	25.0% (3)
I (n=38)	21.1% (8)	7.9% (3)	28.9% (11)
R (n=14)	28.6% (4)	7.1% (1)	35.7% (5)
KA (n=17)	0.0% (0)	29.4% (5)	29.4% (5)
DS (n=31)	3.2% (1)	6.5% (2)	9.7% (3)

임상적으로 중요한 의미를 갖는 *vanA*형 *E. faecium* 균주의 특성을 보면 ampicillin에 대한 동반내성 역시 100%에서 관찰되었는데(MIC₉₀ >512 µg/mL), 이들 균주 모두에서 β-lactamase 검사상 음성으로 나타나 페니실린 결합 단백질의 구조적 이상에 기인한 내성획득이 ampicillin 내성의 주 기전임도 확인할 수 있었다. *vanA*형 *E. faecium* 균주들의 aminoglycoside에 대한 고도 내성여부를 검사한 결과 gentamicin은 100%에서, streptomycin은 59.5% (22/37)에서 고도내성을 보였다.

3. 직장내 VRE 보균환자들의 임상적 특성

연구에 참여한 10개 병원 중환자실 환자 214명중 임상자료의 확보가 가능하였던 188명(87.9%)을 대상으로 직장내 VRE 보균의 위험요인을 분석하였다. VRE를 직장내에 보균하고 있는 것으로 확인된 63명 환자 중 37명(58.7%)에서 만성 기저질환을 보유하고 있어 VRE가 검출되지 않은 환자 125명중 50명(40%)에 비하여 유의하게 많았다($P=0.017$). VRE 보균 환자에서 기저 질환의 종류를 보면 뇌졸중이 가장 많아 14예에 달하였고 당뇨, 악성종양의 순으로 분포하였다. 직장 도말검사 당시 VRE 보균 환자의 선행질환은 폐렴이 15예(23.8%)로 가장 많았으며 수술후 상태, 패혈증 등이었다(Table 3). VRE 보균환자는 비보균환자에 비하여 분리전에 penicillin계 항생제나 aminoglycoside, vancomycin을 사용한 경우가 유의하게 많았다. 특히 vancomycin의 경우 조사 시점까지의 사용량에 있어 VRE 보균 환자에서 평균 27 g으로 비보균 환자에서의 10 g에 비하여 유의하게 많았다($P=0.03$). 그러나 비경관, 중심정맥관등의 사용이나 기관 절개의 유무, 인공호흡기의 사용 등에 있어서는 양군간에 차이가 없었다(Table 3). 한편 VRE 보균환자는 중환자실에서 평균 재원기간이 40일로서 비보균 환자에서의 27일에 비하여 유의하게 길었다($P=0.02$).

4. 분리된 VRE의 유전형 분석

직장 도말검사서 분리된 *vanA*형 VRE 37주의 PFGE

Table 2. MICs and Vancomycin Resistance Genotypes of VRE Strains Isolated from Rectal Surveillance Culture

Species (N=63)	MIC ₉₀ (range : µg/mL)		Genotype
	Vancomycin	Teicoplanin	
<i>E. faecium</i> [37*]	512 (128~>512)	256 (16~>256)	<i>vanA</i>
<i>E. gallinarum</i> [26*]	8 (4~16)	8 (1~8)	<i>vanC1</i>
<i>E. casseliflavus</i> [1]	4	1	<i>vanC2</i>

*1 patient was dual colonized with *E. faecium* and *E. gallinarum*

Table 3. Risk Factors for the Rectal VRE Colonization Among ICU Patients

Variable	Colonization status of patient		P value
	With VRE (N=63)	Without VRE (N=125)	
Chronic underlying illness	37	50	0.02
Diabetes mellitus	8	20	NS
Cerebrovascular accident	14	5	NS
Malignancy	3	1	NS
Diarrhea	12	17	NS
Central venous catheter	21	55	0.09
Tracheostomy	21	37	0.39
Nasogastric tube	32	64	0.48
Previous use of			
Penicillin-derivatives	16	2	0.02
Aminoglycosides	25	71	0.01
3rd cephalosporin	27	45	NS
Vancomycin	12	11	0.05
Amount of vancomycin use (mean : grams)	27	10	0.03
Duration of ICU stay (mean : days)	40	27	0.02

Table 4. Distributions of PFGE Types of 37 *vanA* VRE Isolates according to the Hospital

Hospital (No. of isolates)	No. of PFGE types	PFGE types (No. of isolates)
K (1)	1	3A (1)
GSM (13)	8	4B (2), 5A (2), 6A (3), 7A (2), 8A (1), 11A (1), 11C (1), 12A (1)
CB (4)	1	6B (4)
D (5)	4	6B (2), 9A (1), 10A (1), 11B (1)
SJ (1)	1	3A (1)
I (8)	4	1A (3), 2A (2), 8B (1), 10B (2)
R (4)	2	4A (1), 11A (3)
DS (1)	1	9A (1)

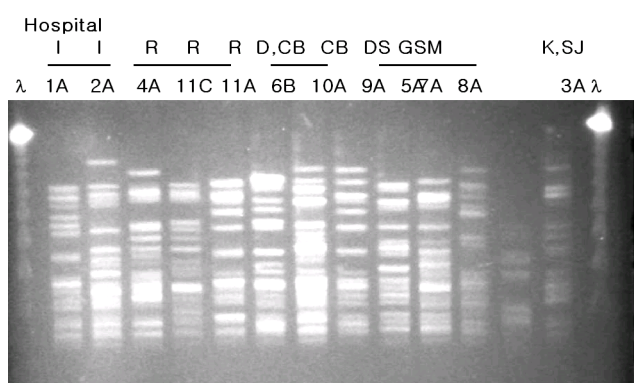


Figure 1. PFGE patterns of representative type *vanA* *E. faecium* isolates from rectal cultures of intensive care unit patients and corresponding hospitals (λ : Lambda concatamer molecular weight marker).

분석결과 병원별로 분리되는 VRE는 각 병원마다 고유한 PFGE 분자형별을 나타내었다. 서로 다른 병원에서 3A형(K, SJ 병원), 6B형(CB, D 병원)과 9A형(D, DS 병원)에 해당하

는 동일 분자형별의 균주가 분리되어 부분적으로 병원간 VRE 전파가 이루어지고 있음을 확인할 수 있었다. 또한 CB 병원의 경우 중환자실에서 분리된 4주의 VRE가 모두 동일한 PFGE 양상을 보여 중환자실내에서의 동일한 클론에 의한 국소적 유행전파가 있었던 것으로 추정되었다. 반면 VRE 분리율이 높았던 GSM, D 병원에서는 각 병원별로 다양한 VRE의 PFGE 분자형별의 존재가 관찰되어 여러 가지 클론의 VRE가 출현하고 있는 것으로 판단되었다(Table 4, Figure 1).

고 찰

병원내에서 장구균의 분리 빈도가 증가함과 동시에, 최근 까지 장구균 감염의 치료에 매우 효과적으로 사용되어 왔던 vancomycin에 고도 내성을 나타내는 장구균(VRE)이 1986년 유럽에서 처음 출현하였다^{19, 20}. VRE는 vancomycin에 감수

성이 있는 기존의 장구균과 마찬가지로 장내에 서식하며 정상인에서는 별 문제를 유발하지 않으나 만성질환자 또는 병원에 입원 중인 환자를 중심으로 각종 기회감염증을 유발한다.

기존의 많은 연구들에서 이전의 광범위 항생제 사용이나 암 등의 중증 기저질환, 장기간 동안의 입원 등이 VRE 획득과 유의한 연관성이 있음이 입증되었고^{4, 5)} 심지어는 축산물에서의 VRE 오염이 사람에서의 VRE 획득과 관련이 있음도 보고되고 있다^{20, 21)}. VRE의 보고는 유럽에서 처음으로 이루어졌으나 VRE 감염증은 주로 미국에서 많이 발생되었는데, 특히 미국의 대형 병원을 중심으로 급속도로 증가하여 최근 미국에서는 중환자실에서 분리되는 장구균 중 약 15%를 차지하기에 이르렀다²³⁾. 실제로 미국내 중환자실내에서의 VRE 분리율이 수년 내 0.4%에서 23.2%까지 증가한 반면²⁴⁾ 유럽의 여러 병원들에서의 VRE 발생빈도는 10년 이상 낮은 빈도로 나타나고 있다^{25, 26)}. 또한 미국에서는 병원 내에서 VRE 전파가 흔히 발생하고 유전학적으로 동일한 군주에 의한 폭발적 유행의 양상으로 나타나고 있는데 비하여, 유럽에서의 VRE는 유전학적으로 매우 다양한 군주들에 의한 산발적 감염의 양상으로 발생하고 있고^{27, 28)} 병원내 전파라기 보다는 병원밖에서 획득한 군주가 병원내 유입되고 있는 것으로 해석되고 있다^{22, 29)}. 실제로 가축에서 avoparcin 등의 항생제를 성장촉진제로 사용하고 그 축산물과 접촉이 VRE 획득에 중요한 원인을 제공하였으리라 추정하는 유럽에서의 경우 VRE 감염된 환자들의 대부분에서 다양한 유전형의 VRE가 발견되는 반면, 축산가에서 avoparcin 등의 항생제 사용이 제한되어 있으며 VRE 감염례가 주로 병원내에서 발견되는 미국에서는 VRE의 유전형이 유사하여 환자간 전파를 강력히 의심하고 있다. 국내의 VRE 출현양상은 미국과 유사한 양상으로서 VRE가 주로 1990년대 후반부터 출현하였고 병원내에서 VRE 획득이 국내 VRE 발생의 주 유형이 되고 있으나, 전국적인 규모의 발생양상이나 병원내 또는 병원간 전파 여부에 대한 연구가 없는 실정이다.

VRE는 환자 자신의 대장 점막에 상재균으로서 집락화되어 있다가 환자의 창상이나 요로계로 유입되어 감염증을 유발하기도 하며 병원 환경이나 의료진의 손의 오염을 통하여 다른 환자에게 쉽게 전파될 수 있다. 따라서 VRE가 일단 출현한 병원에서는 VRE 획득의 고위험군에 대하여 직장내 VRE 집락화에 대한 감시배양을 하고 이를 통하여 보균자를 철저히 관리함으로써 VRE의 돌발 유행을 관리하여야 한다. 국내에서는 우선 종합병원에서 vancomycin 등 항생제가 많이 사용되고 있는 중환자실이나 이식 또는 중양환자병동을

중심으로 시행되어야 할 것으로 사료되나, 1999년 본 연구진의 설문조사에서는 전국 79개 병원 중 고위험군에 대한 정기적인 감시배양을 시행하고 있는 경우가 6개 병원에 지나지 않았고(7.6%), VRE가 이미 검출된 병원에서조차도 VRE 감시 배양을 하지 않는 경우가 대부분이었다³⁰⁾. 이에 본 저자들이 전국적으로 분포한 10개 종합병원의 중환자실을 대상으로 재원환자들의 직장내 VRE감시배양을 시행한 결과, 총 214명 중 63명에서 VRE가 분리되어 연구 참여병원의 중환자실 재원환자들에서의 VRE 직장내 보균율은 평균 29.4%로 이는 지금까지 국내에서 조사된 VRE 직장내 보균율¹²⁻¹⁴⁾보다 훨씬 높은 빈도이며, 유럽에서의 3.5%³¹⁾등에 비하여 월등히 높고 미국에서의 23.2%²⁴⁾ 등보다도 더 높은 빈도를 나타내었다. 이와 같이 우리나라에서 VRE는 전국적으로 종합병원에서 출현하고 일부 중환자실에서는 토착화의 단계에까지 이른 것으로 매우 우려가 되는 상황이다.

여러 연구에서 vancomycin이나 cephalosporin 등의 사용력, 장기간의 입원 등이 VRE 획득에 있어 중요한 위험인자로 밝혀진 바 있으며^{2, 32)}, 최근에는 항형기효과가 있는 metronidazole이나 clindamycin 등의 사용이 VRE의 과성장을 촉진시키는 것으로 보고되고 있다^{33, 34)}. 본 연구에서도 vancomycin 사용력 및 사용량이 VRE 획득에의 중요한 결정인자로 나타났으며, vancomycin 뿐 아니라 penicillin계 항생제나 aminoglycoside 사용, 장기간의 중환자실 재원 역시 VRE 획득의 위험을 증가시킴을 알 수 있었다. 그러나 본 연구의 결과 병원에 따라 낮게는 9.7%부터 높게는 51.9%로 보균율에 큰 차이를 보였다. 병원별로 VRE 보균율에 차이가 큰 이유는 여러 가지로 추측할 수 있겠다. 먼저 병원특성에 따라 위험 인자를 가진 환자의 분포 및 환자의 평균 재원일수 인데, 실제로 VRE 상재화율이 높은 병원의 경우 이전 저자들의 연구³⁰⁾에서 조사된 바와 같이 전체 환자구성상 면역저하자환자의 비율이 높고 vancomycin 사용량이 높은 병원임을 감안할 때 본 연구에서 직장내 VRE 보균에 유의한 상관관계가 있는 것으로 확인된 만성 기저질환의 보유율, 항균제 사용력 및 사용기간 등의 차이 때문일 것으로 추정된다.

VRE의 검출에 있어 디스크 확산법은 중등도 또는 저도 내성 VRE의 검출에는 그 민감도에 한계가 있고 병원내 확산에 가장 중요한 역할을 하는 고도내성 VRE 즉 *vanA*형 유전자를 가진 VRE를 검출하는 것이 가장 중요하므로 직장내 집락화율을 조사하는데에는 vancomycin이 6 µg/mL로 함유된 선택배지에서 선별 한 후 하나의 집락을 선택하여 유전형 조사를 하는 것이 가장 표준적 방법이다. 본 연구에

서의 결과 분리된 VRE 중 58.7% (37주)가 *vanA* VRE로서 전체 분리 VRE의 반 이상을 차지하고 있었고 균종을 확인한 결과 모두 *E. faecium*이었다. *vanA* *E. faecium*은 gentamicin에 대해서는 100%에서, streptomycin에 대해서는 59.5% (22/37)에서 고도내성을 보여 실제 이들 균에 대한 중증 감염(특히 감염성 심내막염)시 치료 항생제의 선택에 많은 어려움이 있으리라는 것을 예측할 수 있다.

이미 알려진 바와 같이 *vanA* 유전자는 대부분의 경우 장구균의 plasmid에 있으므로 다른 균으로의 내성전달이 용이하여 폭발적 유행을 일으킬 가능성이 높으므로 환자 또는 보균자의 발생시 역학조사가 필수적인데 특히 고위험군이 밀집해 있는 중환자실에서 집락화된 VRE의 유전학적 역학조사는 내성균의 기원이 환자 자신이 가지고 있던 장내의 장구균이 vancomycin 내성을 획득하여 발생한 것인지 아니면 다른 환자나 환경의 오염원으로부터 전파된 것인지를 파악하는데 있어 매우 중요하다. 본 연구에서 시행한 VRE의 PFGE 결과 병원별로 분리된 VRE는 대부분 각 병원마다 고유한 PFGE 유형을 나타내었다. 따라서 전국적으로 유행하는 VRE의 대표적인 유형은 찾아볼 수 없었으며, 비록 서로 다른 병원에서 3A형, 6B형과 9A형에 해당하는 동일형의 균주가 동시에 분리되어 이미 VRE가 부분적으로 병원간에 전파되고 있음을 추정할 수 있었다. 대부분의 병원에서는 다양한 VRE의 PFGE 유형이 관찰되어 단일 클론에 의한 전파의 가능성은 찾아볼 수 없었으나, 한 병원의 경우 중환자실에서 분리된 4균주의 VRE가 모두 동일한 PFGE 양상을 보여 중환자실내에서의 국소적인 VRE 유행 전파가 있었던 것으로 추정할 수 있었다.

VRE가 장관내 집락화되어 있었던 환자들 중에서 타 부위의 VRE 감염이 동반되어 있던 경우는 불과 9.5% (6/63)에 지나지 않아 대부분의 환자들은 증상이 없는 무증상 보균자들이었다. 그러나 이들 환자들은 자신이 보유하고 있는 VRE에 의해 다른 부위의 감염증이 유발될 위험이 높은 경우이며, 환자 자신의 감염뿐 아니라 감염원으로서 다른 환자나 의료진, 주변 환경을 오염시킴으로서 병원내 VRE 확산의 중요한 역할을 할 수 있다. 몇몇 요소가 VRE의 전파에 중요한 역할을 하는데 Goossens 등의 발표에 의하면 항생제의 선택적 압력이 병원내 VRE의 전파에 가장 중요한 역할을 한다고 하였다³⁵⁾. 따라서 병원내에서의 VRE의 출현 및 파급을 막기 위해서는 광범위 항생제의 사용을 모니터하고 과도한 사용이 이루어지지 않도록 하는 예방적 조치가 필요하다. 아울러 정기적인 감시배양을 통하여 VRE 발생여부를 확인하고 환자나 보균자가 발생시 접촉격리들을 통하여 병

원내에서 파급되지 않도록 하는 노력이 필요하다 하겠다.

요 약

목 적 : 국내에서도 VRE의 분리빈도가 늘어나고 있으나 VRE 파급의 가장 위험지역인 병원 중환자실에서의 VRE 보균율에 대한 전국적인 연구는 없는 실정이다. 저자들은 전국 10개 종합병원의 중환자실 환자를 대상으로 직장내 감시 배양을 시행하여 VRE의 보균율을 조사하고, 분리된 VRE의 균종, 항생제 감수성 및 반코마이신 내성 유전형 등을 파악하고, VRE 보균 획득에 관여하는 위험 인자를 규명하며, 각 병원간 또는 병원내 VRE 전파의 유전적 연관성을 파악하기 위하여 본 연구를 수행하였다.

방 법 : 2000년 1월 20일에서 30일 사이 10일 동안 전국에 분포하는 10개 종합병원 중환자실에 입원한 환자들을 대상으로 직장내 감시 배양을 시행하여 VRE의 보균율을 조사하였다. 직장 도말을 vancomycin 6 µg/mL이 포함된 Enterococcosel® agar에 접종하여 VRE를 일차 검색하였다. 한천 희석법으로 vancomycin과 teicoplanin의 MIC를 측정하여 표현형을 결정하였고, PCR을 이용하여 *vanA*, *vanB*, *vanC1*, *vanC2*에 대한 유전형을 결정하였으며 PFGE 분석을 통하여 유전적 연관성을 조사하였다. VRE 직장내 보균자와 비보균자간 임상 자료를 비교하여 VRE 보균율의 위험 인자들을 조사하였다.

결 과 : 214명의 대상 환자 중 63명에서 64주의 VRE가 분리되어 중환자실 재원환자들에서의 VRE 직장내 보균율은 평균 29.4%(63/214)이었고, 임상적으로 유의한 *vanA*형 VRE의 보균율은 17.3% (37/214)이었다. 그러나 병원에 따라 직장내 VRE 보균율은 큰 차이를 보여, 낮게는 9.7%부터 높게는 51.9%에 이르렀다. 분리주중 *vanA*형 VRE로 밝혀진 37주가 *E. faecium*이었고, *vanC1*형 VRE 26주는 *E. gallinarum*, *vanC2*형 VRE 1주는 *E. casseliflavus*로서 *E. faecalis*는 한 주도 없었다. VRE 보균환자들은 비보균자에 비하여 만성 기저질환의 동반, 이전의 penicillin 항생제나 aminoglycoside, vancomycin을 사용력이 의미있게 많았고, 조사 시점까지의 vancomycin 사용량 및 중환자실 평균 재원기간이 유의하게 길었다. PFGE 분석결과 병원별로 분리된 VRE는 대부분의 경우 각 병원마다 고유한 PFGE 유형을 나타내었다. 일부 병원내 또는 일부 병원간에 동일한 유전형의 VRE가 관찰되어 동일 클론에 의한 중환자실내 국소적 유행전파 또는 병원간 전파도 이루어지고 있음을 확인할 수 있었다.

결론: 전국 10개 병원 중환자실에서 직장내 감시 배양 연구 결과 VRE의 직장내 보균율은 9.7%에서 51.9%(평균 29.4%)까지 다양하였고 임상적으로 중요한 의미를 갖는 *vanA*형 VRE의 보균율은 17.3% (37/214)이었다. 장기간의 중환자실 입원, 광범위 항생제의 장기간 사용 특히 *vancomycin* 사용여부 및 사용량이 VRE 획득의 위험인자이었다. 본 연구에서 분자역학적 분석결과 국내 종합병원의 중환자실간에 VRE가 교차 전파되고 있고, 중환자실내에 유행적으로 발생하고 있어서 매우 우려할만한 상황이라는 것을 입증하였다. 일부병원에서는 VRE의 보균율이 매우 높고 이미 토착화되고 있는 양상을 나타내고 있었다. 결론적으로 VRE의 출현 및 전파 예방을 위해서는 항생제의 합리적 사용을 통한 남용의 예방, 전국적인 VRE 감시체계의 수립 및 VRE 관리대책의 교육 등 다방면의 대책이 시급한 실정이다.

감사의 글

본 연구에 많은 도움을 주신 감염병 연구실의 이경미, 배정연 연구원께 감사 드립니다.

참고 문헌

- 1) Moellering RC Jr: *Emergence of Enterococcus as a significant pathogen*. Clin Infect Dis 14:1173-1176, 1992
- 2) Boyle JF, Soumakis SA, Rendo A: *Epidemiologic analysis and genotypic characterization of a nosocomial outbreak of vancomycin-resistant enterococci*. J Clin Microbiol 31:1280-1285, 1993
- 3) Noskin GA, Peterson LR, Warren JR: *Enterococcus faecium and Enterococcus faecalis bacteremia: acquisition and outcome*. Clin Infect Dis 20:296-301, 1995
- 4) Juhana P, Suppola, Liisa Volin, Ville V. Valtonen, Martti Vaara: *Overgrowth of Enterococcus faecium in the feces of patients with hematologic malignancies*. Clin Infect Dis 23:694-697, 1996
- 5) Balinda EO, Lata V, Erlka D'Agata, Howard G, Paola CD, Matthew HS: *Vancomycin-resistant enterococci in intensive care units*. Arch Intern Med 159: 1467-1472, 1999
- 6) Nicole BM, Alewijn O, Alex Belkum, Jan K. Johannes K, Lodewijk S, Andreas V, Annemarie W, Christina VG, Anton B, Henri AV, Hubert PE: *Prevalence and determinants of fecal colonization with vancomycin-resistant enterococcus in hospitalized patients in the Netherlands*. Infect Control Hosp Epidemiol 21:520-524, 2000
- 7) Mellmann AD, Orth MP, Dierich FA, Klare L, Witte W: *Nosocomial cross transmission as a primary cause of vancomycin-resistant enterococci in Austria*. J Hosp Infect 44:281-287, 2000
- 8) 정희진, 김우주, 우홍정, 김민자, 박승철: *VanA형 vancomycin 내성 enterococci 감염에 관한 연구*. 감염 30:10-18, 1998
- 9) 김수정, 이남용, 송재훈, 김성민, 백경란, 최명식, 김의중, 이위교, 이경원, 배직현: *국내에서 분리된 vancomycin 내성 장구균에 대한 분자역학적 연구*. 감염 1: 1-9, 1998
- 10) 이위교, 정민권, 곽연식: *Vancomycin 내성 장구균의 분리율, 항균제 감수성 및 내성형에 관한 연구*. 대한 임상병리학회지 18:51-56, 1998
- 11) Hospital Infection Control Practice Advisory Committee (HICPAC): *Recommendations for preventing the spread of vancomycin resistance*. Infect Contral Hosp Epidemiol 10:105-113, 1995
- 12) 김동림, 유철웅, 정희진, 우홍정, 김우주, 김민자, 박승철, 최선주: *중환자실 입원환자에서 vancomycin 내성 장구균의 직장내 감시배양 연구*. 감염 30:203-209, 1999
- 13) 백경란, 김성민, 이남용, 송재훈: *Vancomycin 내성 장구균의 소화관 집락 양상*. 감염 28:245-251, 1996
- 14) 정석훈, 이덕희, 정태진, 정정해, 김미향, 구자영, 박선자: *장관내 Vancomycin 내성 장구균의 집락화 양상*. 병원감염관리 3:41-47, 1998
- 15) Swenson JM, Clark NC, Ferraro MJ, Sahm DF, Doern G, Pfaller MA: *Development of a standardized screening method for detection of vancomycin resistant enterococci*. J Clin Microbiol 32:1700-1704, 1994
- 16) Facklam RR, Collins MD: *Identification of enterococcus species isolated from human infections by a conventional test scheme*. J Clin Microbiol 27:731-734, 1989
- 17) National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically*, 3rd ed. Approved standard M7-A3. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa. 1991
- 18) Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickeson PA, Murray BE, Persing DH: *Interpreting chromosomal restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing*. J Clin Microbiol 33:2233-2239, 1995
- 19) Leclercq R, Derlot E, Duval J, Courvalin P: *Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin*. N Engl J Med 319:157-161, 1998
- 20) Uttley AH, Collins CH, Naidoo J, George RC: *Vancomycin-resistant enterococci(letter)*. Lancet 1:57-58, 1998

- 21) Aarestrup FM : Occurrence of glycopeptide resistance among *Enterococcus faecium* isolates from conventional and ecological poultry farms. *Microb Drug Resist* 1:255-257, 1995
- 22) Klare I, Badstubner D, Konstabel C, Bohme G, Claus H, Witte W : Decreased incidence of VanA-type vancomycin-resistant enterococci isolated from poultry meat and from faecal samples of humans in the community after discontinuation of avoparcin usage in animal husbandry. *Microb Drug Resist* 5:45-52, 1999
- 23) Gold HS, Moellering RC Jr : Drug therapy : antimicrobial-drug resistance. *N Engl J Med* 167:1220-1223, 1993
- 24) Martone WJ : Spread of vancomycin-resistant enterococci : why did it happen in the United States? *Infect Control Hosp Epidemiol* 19:539-545, 1998
- 25) Reinert RR, Conrads G, Schlaeger JJ, Werner G, Witte W, Lutticken R : Survey of antibiotic resistance among enterococci in North Rhine-Westphalia, Germany. *J Clin Microbiol* 37:1638-1641, 1999
- 26) Simonsen GS, Andersen BM, Digraanes A, Harthug S, Jacobsen T, Lingass E : Low fecal carrier rate of vancomycin resistant enterococci in Norwegian hospital patients. *Scand J Infect Dis* 30:465-468, 1998
- 27) Gordts B, Van Landuyt H, Ieven M, Vandamme P, Goossens H : Vancomycin-resistant enterococci colonizing the intestinal tracts of hospitalized patients. *J Clin Microbiol* 33:2842-2846, 1995
- 28) Boisivon A, Thibault M, Leclercq R : Colonization by vancomycin resistant enterococci of the intestinal tract of patients in intensive care units from French general hospitals. *Clin Microbiol Infect* 3:175-179, 1997
- 29) Bates J, Jordens JZ, Griffiths DT : Farm animals as a putative reservoir for vancomycin-resistant enterococcal infection in man. *J Antimicrob Chemother* 34:507-516, 1994
- 30) 정희진, 김우주, 최선주, 이경원, 최강원, 박승철 : Vancomycin-resistant enterococci (VRE) 빈도, 검사법 및 감염관리대책에 관한 전국 병원 설문조사. *감염* 33:78-97, 2001
- 31) Gordts B, Van-Landuyt H, Ieven M, Vandamme P, Goossens H : Vancomycin-resistant enterococci colonizing the intestinal tracts of hospitalized patients. *J Clin Microbiol* 33:2842-2846, 1995
- 32) Rao GG, Ojo F, Kolokithas D : Vancomycin-resistant gram-positive cocci : risk factors for faecal carriage. *J Hosp Infect* 35:63-69, 1997
- 33) Klare I, Badstubner D, Konatbel C, Bohme G, Claus H, Witte W : Decreased incidence of vanA type vancomycin-resistant enterococci isolated from poultry meat and from fecal samples of humans in the community after discontinuation of avoparcin usage in animal husbandry. *Microb Drug Resist* 5:45-52, 1999
- 34) Willems RJL, Top J, van den Braak N, van Belkum A, Mevius DJ, Hendriks G : Molecular diversity and evolutionary relationships of Tn 1546-like elements in enterococci from humans and animals. *Antimicrob Agents Chemother* 43:483-491, 1999
- 35) Goossens H : Spread of vancomycin-resistant enterococci : differences between the United States and Europe. *Infect Control Hosp Epidemiol* 19:546-551, 1998