

## 임상검체에서 분리한 장구균의 항생제 감수성 및 유전적 다양성

광주일곡병원 진단검사의학과<sup>1</sup> · 순천성가롤로병원 진단검사의학과<sup>2</sup> · 광양보건대학 임상병리과<sup>3</sup>

임채원<sup>1</sup> · 김형락<sup>2</sup> · 김양호<sup>3</sup>

### Antibiotic Susceptibility and Genetic Diversity of *Enterococci* Isolated from Clinical Specimens

Lim, Chae Won<sup>1</sup>, Kim, Hyung Lag<sup>2</sup>, Kim, Yang Ho<sup>3</sup>

Department of Laboratory Medicine, Ilgok Hospital, Gwangju, Korea<sup>1</sup>

Department of Laboratory Medicine, St. Carollo Hospital, Suncheon, Korea<sup>2</sup>

Department of Clinical Pathology, Gwang Yang Health College, Gwang Yang, Korea<sup>3</sup>

The purpose of this study was to investigate the distribution of *Enterococci* isolated from clinical specimens, and identify the aspect of antibiotic susceptibility and analyze the genetic difference by executing Rep-PCR over the strains resistant to aminoglycoside-typed antibiotics. From an assortment of the clinical specimens, 100 strains were isolated. The collection consisted of 49 strains of *E. faecalis*, 34 strains of *E. faecium*, 9 strains of *E. avium*, 4 strains of *E. gallinarum*, 3 strains of *E. casseliflavus*, and 1 strain of *E. hirae*. Ninety five were isolated from inpatients, and five strains were isolated from outpatient. Most of the *E. faecalis* and *E. faecium* were originated from urine, pus, and sputum. Most *Enterococci* showed 80% resistance to the cephalosprin-typed antibiotics. *E. faecium* showed the high resistance to all the antibiotic substances. One tenths of *Enterococci* showed the resistance to vancomycin. And also, most *Enterococci* showed the high resistance to amikacin and gentamicin as aminoglycoside-typed antibiotics. Genetic diversity of the resistant strains to aminoglycoside estimated using Rep-PCR was not significantly different.

**Key Words** : *Enterococci*, antibiotic susceptibility, Repetitive sequence-based PCR

## I. 서 론

장구균은 그람양성의 통성 혐기성 구균이며 연쇄구균과 비슷한 형태로 인하여 D군 연쇄구균으로 분류되었으나, 그 후 새로운 균종들이 명명되어 현재 19종이 알려져 있는데 (Facklam와 Sham, 1995) 그 중 *Enterococcus faecalis* 와 *E. faecium*이 가장 흔한 감염을 일으킨다고 보고 되고 있다(Bryce 등, 1991). 장구균은 대부분이 사람과 동물의

장관 상재균으로 존재하며, 요로감염, 창상감염, 심내막염, 균혈증 등의 중증 감염을 일으키나(Schaberg 등, 1991), 그 감염은 그다지 흔하지 않았다. 그러나 장구균 감염이 최근 세계적으로 증가되고 있어 문제가 되고 있고(Murray, 1990), 우리나라에서도 이 세균의 분리가 현저히 많아졌다(정, 1993). 장구균 감염의 원인균 중에서 14%가 vancomycin resistant *Enterococcus* (VRE)이다(CDC, 1997). 이는 기존질환을 가진 환자의 증가나 광범위한 항생제, 특히 cephalosporin 제제의 사용증가와  $\beta$  lactam계 항생제의 과다사용으로 항생제 내성을 나타내는 그람 양성균주의 증가 때문으로 생각된다. 1990년대

교신저자 : 김양호(우)545-703 전남 광양시 광양읍 덕례리 223-1  
Te l: 061-760-1479 HP: 016-684-6695  
E-mail : yanghkim@kwangyang.ac.kr

들어서부터는 ampicillin내성인 균주가 많아졌고(Herman 와 Gerding, 1991),  $\beta$ -lactamase를 생성하는 균주(Coudron 등, 1992)가 출현하였다. 1984년 새로운 glycopeptide 제재인 teicoplanin이 생산됨에 따라 vancomycin이 널리 보급된 이후로 약 30년까지 내성균의 출현이 거의 없었으나, 1986년 처음으로 vancomycin 내성 장구균이 보고된 이후 (Leclercq 등, 1988) 세계 여러나라에서 VRE에 의한 감염이 보고되었다(Shales 등, 1989; Montecalvo 등, 1994). 치료를 위한 항생제의 무분별한 사용은 내성전달과 같은 직접적인 부작용 이외도 항생제의 오용 및 남용으로 인해 다제내성균이 출현하게 되어 효과적인 치료를 어렵게 함은 이차감염의 하나인 원내감염의 위험에까지 이르게 하고 있다. 따라서 본 연구에서는 병원에 내원한 환자의 모든 검체로부터 분리 동정한 장구균의 임상 분리주를 대상으로 각 검체별 분리율과 각종 생화학적 특성을 파악하고, 항생제 감수성에 대한 기초조사를 실시하여, 검체별, 균종별, 항생제 내성획득의 빈도와 추이를 파악한 후 aminoglycoside계 항생제에 대해 내성을 보이는 균종들을 Rep-PCR을 실시하여 유전자 분획유형을 분석하여 유전적 다양성 및 연관성을 조사함으로써 효율적인 항생제 치료를 돕고자 연구를 실시했다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 검체의 분리

2003년 1월 1일부터 2003년 12월 30일까지 1년동안 광주 S병원 임상병리과 미생물검사실에 의뢰된 입원 및 외래환자의 임상검체를 배양재료로 이용하였다(Table 1).

### 2. 세균분리 및 동정

*Enterococcus* sp.의 분리를 위해 혈액검체는 tryptic soy broth (BBL)를, 다른 검체는 혈액 한천을 사용하였다. 혈액 한천에 증식된 집락 중 *Enterococcus*가 의심되는 것은 Vitek system을 이용하여 분리하였으며 추가 확인 동정을 위해서는 *Streptococcus faecalis* broth (SF broth)에서의 증식, bile esculin 반응, 6.5% NaCl 내성시험을 하였고 필요에 따라서 arginine dihydrolase, arabinose, raffinose에서의 산생성 등을 추가로 시험하였다(Facklam 와 Sahn, 1995; 정 등, 1991). 분리된 균주는 15% skim milk(Oxide)

에 넣어서  $-70^{\circ}\text{C}$ 의 deep freezer에 보관하였다.

### 3. 항생제 감수성 시험

본 실험에 사용한 항생물질은 디스크확산법에는 BBL사의 12종류 ampicillin, streptomycin, ciprofloxacin, penicillin, tetracycline, teicoplanin, vancomycin, amikacin, ceftazidime, cefmetazole, gentamicin, ticarcillin/clavulanic acid와 Oxoid사의 chloramphenicol, nitrofurantoin, imipenem, rifampin, ceftriaxone, cefotaxime, cefepime 등 7종류로 총 19종류의 항생제를, 희석방법으로는 ampicillin, chloramphenicol, ciprofloxacin, gentamicin, imipenem, teicoplanin, nitrofurantoin, penicillin, streptomycin, tetracycline, vancomycin 등의 11종류 항생제를 사용하였다.

#### 1) 디스크 확산법 감수성 시험

Kirby and Bauer (1966) 등의 디스크 확산법에 따라 12종류의 BBL사의 디스크와 7종류의 Oxoid사의 디스크로 항생제 감수성검사를 실시하였고, 디스크 확산법에 의한 항생제 내성 검사의 결과는 NCCLS(national committee for clinical laboratory standards)를 기본으로 판정하였고 (NCCLS, 2000), 그 결과를 희석법의 항생제 농도 기준 범위를 정하는 데 사용하였다.

#### 2) 최소발육억제농도

##### (minimal inhibitory concentration, MIC)

표준 한천 희석법인 NCCLS (2000)의 술식을 토대로 하여 실험균주를 trypticase soy broth에 접종하여 3~4시간 배양한 후에 식염수를 사용하여 McFaland의 제 0.5관에 혼탁도를 맞추어 이를 다시 1/10로 희석하여 GPS-430 (gram positive susceptibility-430) card를 이용 bioMerieux Vitek에서 측정하였다. GPS-430 card에 들어있는 항생제는 ampicillin 등 11종류의 항생제로 항생제 감수성 검사를 실시하였다. 감수성 시험의 정도관리를 위해서 표준균주로는 *E. faecalis* ATCC29212와, *S. aureus* ATCC29213, *E. faecalis* ATCC51299를 이용하였다.

### 4. Repetitive sequence-based PCR

Rep-PCR을 위한 DNA 추출은  $-70^{\circ}\text{C}$ 에 보관된 균주를 녹여 혈액한천배지에  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 배양한 다음 이를  $1.5\mu\text{l}$  microcentrifuge tube에 넣고 이를 원심분리

(12,000 rpm, 5min, 4°C)하여, 상층 액은 버리고, 침전물을 잘 혼합한 후 378 $\mu$ l TE buffer (10mM tris [pH 8.0], 1mM EDTA 10% sodium dodecyl sulfate(SDS) 20 $\mu$ l, 20mg/ml proteinase K를 첨가하여 2 $\mu$ l, 37°C water bath에 1시간 반응 후 시료에 5M NaCl 66.66 $\mu$ l를 넣고 잘 혼합한 후, 53.3 $\mu$ l CTAB/NaCl을 넣고 섞은 후 heating block 65°C에서 10분간 배양 후 chloroform/isoamyl alcohol 동량 (520 $\mu$ l)을 넣어 vortex한 후, microcentrifuge로 원심분리 한 다음, 두층으로 분리되면 상층액을 다른 tube에 옮긴 후 phenol/chloroform/ isoamyl alcohol을 동량 넣어 vortex한 후, microcentrifuge로 원심분리, 상층액 300 $\mu$ l를 다시 다른 tube에 옮긴 후, 전체량의 0.6 $\times$  isopropanol을 넣고 microcentrifuge를 사용해 원심분리 후 상층액을 버리고 침전물에 70% ethanol 1ml를 넣고 microcentrifuge로 원심분리 한 후 냉동 동결건조기에서 30분 건조시킨 후, DNA strand를 증류수에 용해시키고 분광기를 이용, 260 nm에서 흡광도를 측정, 정량한 다음 -20°C deep freezer에 보관하면서 사용하였다. Rep-PCR을 위한 시발체는 BOXA1R(5'-CTACGGCAAGGCGA-CGCTGACG-3')를 사용(Versalovic 등, 1994), Taq DNA polymerase 0.4 $\mu$ l, 10 $\times$  reaction buffer 2.5 $\mu$ l, primer (BOXA1R 10 pmole/ $\mu$ l) 5.0 $\mu$ l, dNTP 2.5 $\mu$ l, 25mM MgCl<sub>2</sub> 6.7 $\mu$ l, 10% DMSO 2.5 $\mu$ l, H<sub>2</sub>O 6.1 $\mu$ l를 넣어 전체 부피가 25 $\mu$ l가 되게 하였으며, DNA 1 $\mu$ l를 가하여 잘 섞은 후, microcentrifuge로 약 5초 동안 spin-down한 후 mineral oil을 첨가하여 PCR 반응 mixture의 표면을 덮었다. PCR의 증폭은 Perkin-Elmer사(USA gene AMP)의 Gene Amp PCR system 2400을 사용하였다. 이때 PCR의 조건은 95°C에서 9분 pre- denaturation, 90°C에서 30초 denaturation, 52°C에서 1분 annealing, 65°C에서 8분 extension을 한 주기로 30회 반복하였고, 65°C에서 16분간 최종적으로 post-extension 시켰다. 증폭된 DNA가 분해되는 것을 막기 위해 증폭 후 PCR 반응은 곧 -20°C로 보관하였다. DNA fingerprint 형태의 정확한 비교 분석을 위하여 PCR의 생성물을 loading buffer 1에 DNA 추출물 2 그리고 증류수 3의 비율로 섞은 다음, 2% agarose gel에 loading 한 후 TAE buffer (40mM tris-acetate, 1mM EDTA, pH 8.0) 내에서 전기영동 장치를 이용하여 5V/cm로 전기영동을 8시간 정도 하였다. 전기영동 후 gel을 0.5  $\mu$ g/ $\mu$ l ethidium bromide로 20분 염색하고 증류수로 20분 탈색하였다. 이 gel을 UV transilluminator에 옮겨 증폭된 DNA절편을 확인하고 polaroid camera system을 이용하

여 사진을 촬영하였다.

### 5. 유사도 및 Dendrogram

본 실험에서 Rep-PCR로 얻어진 균주간의 군집분석은 DNA절편 양상을 이용하여 band가 있으면 1, 없으면 0으로 계수화하여 character matrix를 작성하였다. 작성된 정보를 통계 프로그램인 NTSYS-pc(version 1.51, Applied Biostatistics Inc, USA)에서 Dice의 coefficient법으로 유사성지수(similarity value)를 구하고 unweighted pair-group method, arithmetic average (UPGMA)법으로 시행한 다음 dendrogram(phylogenetic tree 구조)을 그려서 균주들간의 유사성 및 분자형을 구하였다. 가장 높은 유사도를 나타내는 두 균주의 평균을 대표값으로 하고 이 대표값과 가장 높은 유사도를 나타내는 균주와 군집해 나가는 방법이다. 유사성지수는 0에서 1범위로 표현되는데, 1인 경우 두 균주가 유전적으로 같음을 의미하고 0인 경우 유전적으로 상동성이 없음을 시사한다.

## III. 결 과

### 1. 장구균의 검체별 분리

본 시험에 사용된 *Enterococcus* sp. 100주 중 56주는 요 검체에서 분리되었으며, 23주는 농검체에서, 20주는 객담, 3주는 기관지흡입액, 2주는 혈액, 기타 답즙, 변, 인후, 창상에서 각각 1주씩 분리되었다(Table 1). 이 균주들 중 95 %는 입원환자에게서 분리되었다.

**Table 1.** Number of *Enterococcus* sp. strains isolated from clinical specimens

Source	No. of isolates
Urine	56
Pus	23
Sputum	12
Bronchial aspiration	3
Blood	2
Bile	1
Throat	1
Wound	1
Stool	1
Total	100

## 2. 장구균의 종별 분리

*Enterococcus* sp.의 검체별 분리 빈도율은 Table 1에서 보는바와 같다. 가장 많이 분리된 요에서는 56균주 중에서 *E. faecalis*가 24균주, *E. faecium*이 22균주로 대부분을 나타내었다. 농에서는 *E. faecalis*와 *E. faecium*이 각각 9균주씩 분리되었고, 객담에서는 *E. faecalis*가 대부분 분리되었다(Table 2).

## 3. 항생제 감수성

### 1) *Enterococcus* 항생제 감수성

*E. faecalis*는 teicoplanin과 vancomycin에 각각 98%, 96%로 가장 높은 감수성을 보였고, 이어서 86% 이상 감수성을 보인 항균제는 ampicillin, chloramphenicol, nitrofurantoin, imipenem, penicillin이었으며, streptomycin과 ticarcillin/clavulanic acid는 각각 73%와 71%의 감수성을 보였다. 다른 항균제 즉 ciprofloxacin, rifampin, tetracycline, ampicillin, gentamicin 및 cephalosporin 계열은 10-37%의 낮은 감수성을 보였다(Table 3). 한편 *E. faecium*은 teicoplanin과 vancomycin에 각각 100%, 79%로 가장 높은 감수성을 보였고, 이어서 chloramphenicol과 tetracycline은 각각 76%, 73%의 감수성이었으며, 사용된 다른 항균제 즉 ampicillin, ciprofloxacin, nitrofurantoin, imipenem, penicillin, rifampin, streptomycin, ampicillin, gentamicin, cephalosporin 계열 및 ticarcillin/clavulanic acid는 6-35%의 낮은 감수성을 보였다(Table 3).

### 2) 검체별 항생제 감수성 결과

*Enterococcus* sp.의 검체별 항생제 감수성 결과는 Table 5에 나타나 있다. 요로부터 분리된 *Enterococcus* sp.의 경우 chloramphenicol, vancomycin에 각각 89%, teicoplanin 100%의 감수성을 보였으며, ampicillin, nitrofurantoin, imipenem, penicillin, streptomycin 등에 57%이하의 감수성을 보였고 기타 다른 항생제에 있어서는 감수성이 낮았다. 요에서 분리된 *Enterococcus* sp.의 경우 chloramphenicol, teicoplanin, vancimycin에 높은 감수성을 나타내고 대부분의 항생물질에 있어서는 내성을 관찰함으로써 요로부터 분리된 *Enterococcus* sp.가 농이나 객담에서 분리된 것 보다 대부분의 항생물질에서 더 높은 내성을 보이며 요로감염의 주요 원인균으로 최근에 그 심각성이 증가됨을 알 수 있었다. 기타 담즙, 혈액, 변, 창상에서 분리된 소수 *Enterococcus* sp.는 요, 농, 객담의 항생제 감수성 결과와 비슷한 양상을 보였다. Aminoglycoside계인 streptomycin에 대해서 농에서 분리된 *Enterococcus* sp.는 69%의 감수성을 보였고, 평균치 59%보다 높게 나타났지만 요, 객담에 있어서는 각각 41%, 57%의 감수성을 보여 평균치보다 낮은 결과로 내성빈도의 점차 증가추이를 파악할 수 있었다. 이와는 대조적으로 amikacin과 gentamicin에 대해서는 요, 농, 객담 등 대부분의 검체들이 강한 내성을 보였다. 또한 vancomycin에 내성을 보이는 균집은 전체적으로 10%를 차지하였는데 이균집들은 대부분이 aminoglycoside계 항생제에 고도내성을 보인 검체와 마찬가지로 요, 농, 객담에서 분리된 *Enterococcus* sp.가 대부분을 차지하였다.

**Table 2.** Distribution of *Enterococci* sp. isolated by clinical source

Species	No.(%) of isolates									
	Urine (56) <sup>a</sup>	Sputum (12)	Pus (23)	Bronchial (3)	Blood (2)	Stool (1)	Throat (1)	Wound (1)	Bile (1)	Total
<i>E. faecalis</i>	24(43%)	10(83%)	9(39%)	2(67%)	1(50)			1(100)	1(100)	
<i>E. faecium</i>	22(39%)	1(8%)	9(39%)	1(33%)	1(50)	1(100)				
<i>E. avium</i>	4(7%)	1(8%)	3(13%)				1(100)			
<i>E. gallinarum</i>	4(7%)									
<i>E. casseliflavus</i>	2(4%)		1(4%)							
<i>E. hirae</i>			1(4%)							

a : No. of isolates

**Table 3.** Antibiotics susceptibility of *Enterococcus* sp. isolates

Antibiotics	No.(%) of susceptible isolates against <i>Enterococcus</i> sp.					
	<i>E. faecalis</i> 49(%) <sup>a</sup>	<i>E. faecium</i> 34(%)	<i>E. avium</i> 9(%)	<i>E. gallinarum</i> 4(%)	<i>E. hirae</i> 1(%)	<i>E. casseliflavus</i> 3(%)
Ampicillin	45(91)	12(35)	6(67)		1	1(33)
Chloramphenicol	42(86)	26(76)	9(100)	4(100)	1	3(100)
Ciprofloxacin	15(31)	5(14)	8(89)			1(33)
Nitrofurantoin	43(88)	11(32)	6(67)		1	1(33)
Imipenem	45(91)	8(24)	9(100)	1(25)	1	1(33)
Penicillin	44(90)	7(21)	7(78)		1	1(33)
Rifampin	12(24)	11(32)	7(78)			
Streptomycin	36(73)	12(35)	6(67)	3(75)	1	1(33)
Tetracycline	15(31)	25(73)	1(11)	4(100)		2(67)
Teicoplanin	48(98)	34(100)	9(100)	4(100)	1	3(100)
Vancomycin	47(96)	27(79)	9(100)	4(100)	1	2(67)
Amikacin	12(24)	4(12)	3(33)	1(25)	1	
Ceftazidime	6(12)	2(6)	7(78)	1(25)	1	
Cefmetazole	5(10)	3(9)	7(78)	1(25)	1	
Ceftriaxone	8(16)	3(9)	7(78)	1(25)	1	
Cefotaxime	10(20)	3(9)	7(78)	1(25)	1	
Cefepime	18(37)	4(12)	8(89)	1(25)	1	
Gentamicin	18(37)	8(24)	6(67)	1(25)	1	1(33)
Ticarcillin/Clavulanic acid	35(71)	9(26)	8(89)	1(25)	1	3(100)

a : No. of isolates

**Table 4.** Antimicrobial susceptibility of *E. faecalis* and *E. faecium* by disk diffusion test

Antibiotics	No.(%) of <i>E. faecalis</i>			No.(%) of <i>E. faecium</i>		
	S	I	R	S	I	R
Ampicillin	45	0	4	12	0	22
Chloramphenicol	42	3	4	26	6	2
Ciprofloxacin	15	9	25	5	1	26
Nitrofurantoin	43	2	4	11	0	23
Imipenem	45	0	4	8	2	24
Penicillin	44	1	4	7	0	27
Rifampin	12	8	29	11	0	23
Streptomycin	36	0	13	12	0	22
Tetracycline	15	5	29	25	2	7
Teicoplanin	48	0	1	34	0	0
Vancomycin	47	0	1	27	1	6
Amikacin	12	0	37	4	1	29
Ceftazidime	6	0	43	2	0	32
Cefmetazole	5	0	44	3	1	30
Ceftriaxone	8	0	41	3	1	30
Cefotaxime	10	0	39	3	1	30
Cefepime	18	1	30	4	1	29
Gentamicin	18	0	31	8	0	26
Ticarcillin/Clavulanic acid	35	1	13	9	0	25

**Table 5.** Antimicrobial susceptibility of *Enterococcus* sp. by clinical specimens

Antimicrobial agents	No.(%) of susceptible isolates							
	Bile (1)	Blood (2)	Pus (23)	Sputum (12)	Stool (1)	Urine (56)	Throat (1)	Wound (1)
Ampicillin	1	2	17(74)	10(83)	1	31(55)		1
Chloramphenicol	1	2	17(74)	11(92)		50(89)	1	1
Ciprofloxacin	1	1	8(35)	3(25)		15(27)	1	
Nitrofurantoin	1		16(69)	10(83)	1	30(53)		1
Imipenem	1	2	19(83)	9(75)		30(53)	1	1
Penicillin	1	2	17(74)	9(75)		28(50)	1	1
Rifampin	1		10(43)	4(33)	1	11(20)	1	1
Streptomycin	1	1	16(69)	5(41)		32(57)	1	1
Tetracycline	1	2	12(52)	3(25)	1	27(48)		
Teicoplanin	1	2	23(100)	11(92)	1	56(100)	1	1
Vancomycin	1	2	21(91)	10(83)	1	50(89)	1	1
Amikacin		2	3(13)	3(25)		12(21)		
Ceftazidime			7(30)	2(17)		6(11)	1	
Cefmetazole			7(30)	2(17)		6(11)	1	
Ceftriaxone			8(35)	2(17)		8(14)	1	
Cefotaxime			7(30)	2(17)		11(20)	1	
Cefepime			11(48)	3(25)		15(27)	1	1
Gentamicin	1	2	13(57)	4(33)		12(21)	1	
Ticarcillin/Clavulanic acid	1		17(74)	11(92)		26(46)	1	1

#### 4. 항생물질의 최소억제농도(MIC)

*E. faecalis*에 대한 MIC는 ampicillin이 0.25-16  $\mu\text{g/ml}$ 이었고, MIC50와 MIC90가 모두 16  $\mu\text{g/ml}$ 으로 100%의 감수성을 나타내었다. Imipenem, tetracycline이 1-16  $\mu\text{g/ml}$ 으로 50%MIC는 각각 1  $\mu\text{g/ml}$ 과 16  $\mu\text{g/ml}$ 이었고 *E. faecalis*를 90% 억제시킨 농도는 각각 4 $\mu\text{g/ml}$ 와 16  $\mu\text{g/ml}$ 이었다. Chloramphenicol의 경우 4-32  $\mu\text{g/ml}$ 로 MIC50과 MIC90는 각각 8  $\mu\text{g/ml}$ 과 32  $\mu\text{g/ml}$ 로 84%의 감수성을 보였고, ciprofloxacin, penicillin, vancomycin의 경우 각각 0.5-4  $\mu\text{g/ml}$ , 0.5-16  $\mu\text{g/ml}$ , 0.5-8  $\mu\text{g/ml}$ 로 ciprofloxacin의 경우 57%의 내성을 보인 반면, penicillin과 vancomycin의 경우 각각 82%, 96%의 감수성 결과를 보였다(Table 6). *E. faecium*의 경우에는 Table 6, 7에서 보듯이 ampicillin, ciprofloxacin이 각각 0.12-16 $\mu\text{g/ml}$ , 0.5-4  $\mu\text{g/ml}$ 이었고, MIC50와 MIC90가 16 $\mu\text{g/ml}$ , 4  $\mu\text{g/ml}$ 으로 disk법의 결과와 유사하게 ampicillin은 *E. faecalis*의 경우 100%의 감수성을 나타낸 것과는 대조적으로 71% 정도의 내성을 나타내었고, 반대로 ciprofloxacin은 82%의 감수성을 보였다.

chloramphenicol, tetracycline, vancomycin의 경우 각각 8-32  $\mu\text{g/ml}$ , 1-16  $\mu\text{g/ml}$ , 0.5-32  $\mu\text{g/ml}$ 로 50% MIC 8  $\mu\text{g/ml}$ , 1  $\mu\text{g/ml}$ , 0.5  $\mu\text{g/ml}$ , 90%MIC는 32  $\mu\text{g/ml}$ , 16  $\mu\text{g/ml}$ , 32  $\mu\text{g/ml}$ 로 80%이상의 높은 감수성을 나타냈으나, *E. faecalis*, *E. avium*, *E. gallinarum*에 경우 높은 감수성 결과를 보인 반면, *E. faecium*과 *E. casseliflavus*의 경우 각각 20%와 33%의 내성률을 나타내 최근 VRE의 증가 추세를 알수 있었다. 고농도의 aminoglycoside계 항생제인 gentamicin, streptomycin에는 71%의 내성을, 기타 *E. avium*, *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, *E. hirae*의 경우에도 항생물질에 대한 MIC의 결과는 nitrofurantoin의 경우에만 비교적 넓은 범위인 32-128 $\mu\text{g/ml}$ 의 범위에서 나타났었고, 대부분의 항생물질이 낮은 농도의 범위에서 disk 확산법의 감수성 양상과 거의 유사하게 관찰되었다. 고농도의 aminoglycoside계 항생제인 gentamicin, streptomycin에서의 MIC결과는 분리된 *Enterococcus* sp. 대부분이 streptomycin보다는 gentamicin에 대해 높은 내성을 나타내었다.

**Table 6.** Antimicrobial susceptibility of *E. faecalis* and *E. faecium* isolates by agar dilution method

Species	Antimicrobial agent	MIC ( $\mu\text{g}/\text{m}$ )			% of isolates		
		Range	50%	90%	S	I	R
<i>E. faecalis</i> (49) <sup>a</sup>	Ampicillin	0.25-16	16	16	49		0
	Chloramphenicol	4-32	8	32	41	3	5
	Ciprofloxacin	0.5-4	4	4	18	3	28
	Gentamicin 500	$\geq 500 \leq$			20		29
	Imipenem	1-16	1	4	48		1
	Nitrofurantoin	32-128	32	128	48		1
	Penicillin-G	0.5-16	16	16	40		9
	Streptomycin 2000	$\geq 2000 \leq$			41		8
	Teicoplanin	4	4	4	49		
	Tetracycline	1-16	16	16	33	2	14
	Vancomycin	0.5-8	2	8	47	2	
<i>E. faecium</i> (34)	Ampicillin	0.12-16	16	16	10		24
	Chloramphenicol	1-32	8	32	29	5	1
	Ciprofloxacin	0.5-4	4	4	28		6
	Gentamicin 500	$\geq 500 \leq$			10		24
	Imipenem	1-32	16	32	8	3	23
	Nitrofurantoin	32-128	128	128	10		18
	Penicillin-G	0.12-16	16	16	7		27
	Streptomycin 2000	$\geq 2000 \leq$			10		24
	Teicoplanin	4	4	4	34		
	Tetracycline	1-16	1	16	27		7
	Vancomycin	0.5-32	0.5	32	27	1	6

a : No. of isolates tested

S, susceptible; I, intermediate; R, resistant

## 5. Aminoglycoside계 항생제 내성 장구균의 repetitive sequence-based PCR에 의한 분석

### 1) 양상

Aminoglycoside계의 항생제에 내성을 나타낸 30주의 *Enterococcus* sp. 사이의 유전적 관련성을 알기 위하여 BOXA1R primer를 사용한 Rep-PCR을 실시한 결과 PCR 생성물의 띠는 6-13개이었고, a-d의 4개의 띠는(Fig. 1) 모든 균주에서 관찰되었다. Versalovic 등(1991)은 Rep-PCR의 primer에는 ERIC(enterobacterial repetitive intergenic consensus), REP(repetitive extragenic palinddrome)와 Pneumococcal BOX가 분자형의 분석을 위해 있다고 보고한 바 있다. 김 (2003)은 Versalovic 등 (1991)이 보고한 위의 3가지 primer 모두를 이용하여 MRSA의 Rep-PCR을 실시하였는데 BOX primer가 MRSA의 Rep-PCR에 가장

적합한 primer라고 보고하였다. 이에 본 연구에서는 김 (2003)의 보고를 토대로 BOX primer를 사용하여 Rep-PCR을 실시하였는데 *Enterococcus* sp.에 또한 적합한 primer라고 사료되었다.

### 2) 아형의 분류 및 해석

Baron 등(1995)의 세균분류에 의해 Rep-PCR은 dendrogram상에서 유사도 76%이상 일 때 동일 균주로 판정하여 유전적 연관성이 높은 집단으로 분류하였다. Aminoglycoside계의 항생제에 내성을 나타낸 30주의 *Enterococcus* sp.의 Rep-PCR을 분석한 결과 84%의 유사도 수준에서 5개의 군으로 분리되었다(Fig. 2). 30개의 *Enterococcus* sp.의 균주에서 가장 흔한 Rep-PCR pattern은 A 군집이 15균주 (50%)로 전체 균주 중 높은 비중을 나타냈고, 요로부터 분리한 균주들이 대부분을 구성하였다.

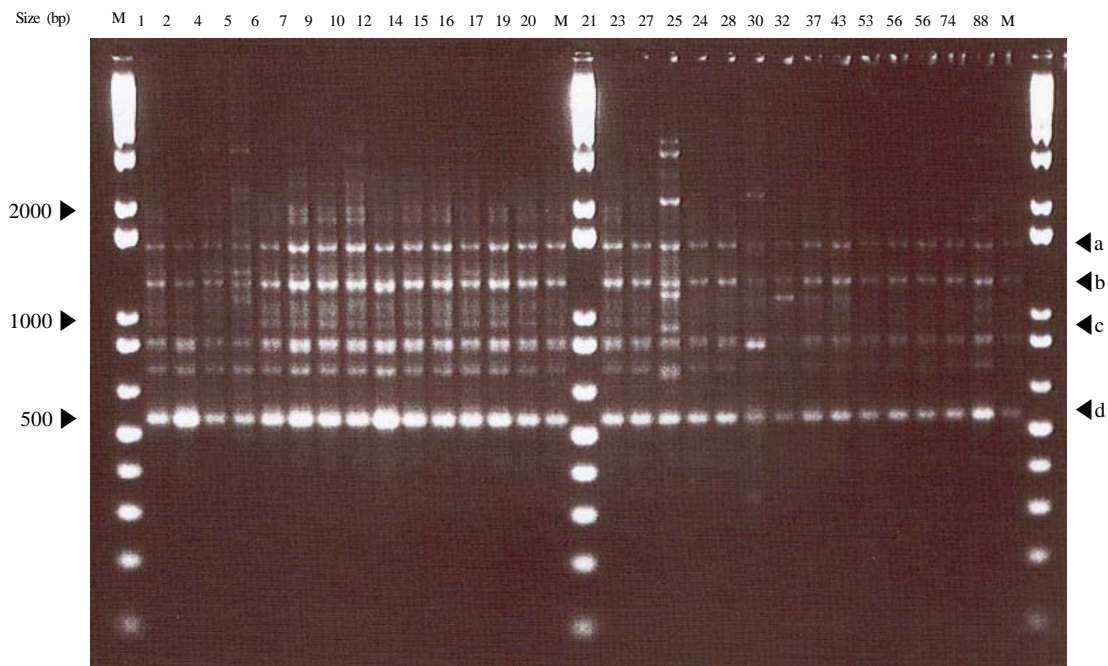
**Table 7.** MIC of 11 antibiotics against *E. faecalis*

Antimicrobial agents	No. (cumulative %) of isolates inhibited at( $\mu\text{g}/\text{m}\ell$ )													
	0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256~	SYN-R	SYN-S
Ampicillin		6(12)	15(43)	17(78)	5(88)	1(90)	4(98)	1(100)						
Chloramphenicol					1(2.0)	5(12)	34(81)	3(7)	5(100)					
Ciprofloxacin			5(10)	23(57)	3(63)	18(100)								
Gentamicin 500													29(60)	20(100)
Imipenem				40(82)	4(90)	4(98)		1(100)						
Nitrofurantoin										48(98)	1(100)			
Penicillin-G	1(2.0)	1(4.0)	3(10)	23(57)	9(75)	3(81)	9(100)							
Streptomycin 2000													40(82)	9(100)
Teicoplanin					4(100)									
Tetracycline				12(24)		2(28)	2(32)	33(100)						
Vancomycin			22(45)	1(47)	25(98)		1(100)							

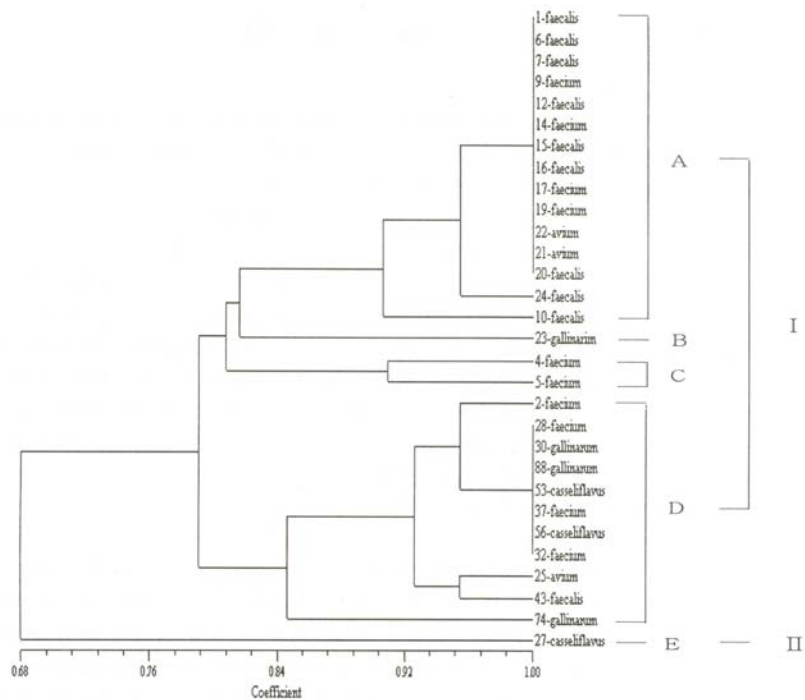
**Table 8.** MIC of 11 antibiotics against *E. faecium*

Antimicrobial agents	No. (cumulative %) of isolates inhibited at( $\mu\text{g}/\text{m}\ell$ )													
	0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	256~	SYN-R	SYN-S
Ampicillin	1(3)		2(8)	1(11)	5(26)		1(29)	24(100)						
Chloramphenicol				1(3)	2(9)	5(24)	20(83)	5(97)	1(100)					
Ciprofloxacin			2(6)	4(18)				28(100)						
Gentamicin 500													24(71)	20(100)
Imipenem				6(18)	1(21)	1(24)	3(33)	22(97)	1(100)					
Nitrofurantoin									10(29)	6(47)	18(100)			
Penicillin-G	1(3)			1(6)	2(12)	1(19)	2(6)	27(100)						
Streptomycin 2000													24(71)	20(100)
Teicoplanin						34(100)								
Tetracycline				25(74)		2(80)		7(100)						
Vancomycin			24(71)		3(80)		1(83)		6(100)					





**Fig. 1.** Rep-PCR pattern of aminoglycoside antimicrobial-resistant *Enterococcus* sp.(BOXA1). M, size marker; lane 1, 6, 7, 10, 12, 15, 16, 20, 24, 43, *E. faecalis*; lane 2, 4, 5, 9, 14, 19, 28, 32, 37, *E. faecium*; lane 23, 30, 74, 88, *E. gallinarum*; lane 22, 25, 31, *E. avium*; lane 27, 53, 56, *E. casseliflavus*



**Fig. 2.** Dendrogram analysis of aminoglycoside antimicrobial-resistant *Enterococcus* isolated by Rep-PCR.

D 군집 또한 11군주 (37%)로 pus, stool, sputum에서 분리된 군주가 각각 1군주씩, 나머지는 요로부터 분리된 군주들이 대부분을 구성하였다. B, C, E의 군집도 1, 2, 1의 군주로 구성되었으며, 모두가 요로부터 분리된 군주였다. A, B, C, D군집도 76%의 유사도 수준에서 I 군집군에 속했으며, E군집도 역시 하나의 군집군 II를 형성하였다. 장구균의 항생제와 유전적 연관성은 디스크 확산법에 따른 aminoglycoside계의 항생제에 내성의 표현형과 Rep-PCR의 유사도 84%로 분류된 군집으로 조사되었다. Rep-PCR을 실시한 30개의 군주 모두가 aminoglycoside계의 항생제에 내성을 보인 군주들로 21군주가 urine에서 분리된 균이었고, 9군주는 pus, sputum, stool, bronchial aspiration에서 각각 분리되었다. Rep-PCR의 군집 또한 유사도로 분류된 84%의 군집에서 가장 많은 군들이 속해 있는 A(50%), E(37%) 군집 모두 요에서 분리된 *Enterococcus* sp.가 속해 항생제에 내성양상과 상동성을 나타내었다. PCR 생성물의 분석으로 볼 때 유전적으로 크게 차이를 보이지는 않았다. 위의 결과로 볼 때 이는 요 검체의 유전적 배경이 같음을 알 수 있어 최근에 심각성이 대두되고 있는 요로감염증에 있어서 *Enterococcus* sp.가 중요한 원인균임을 알 수 있었다. 본 실험의 내용으로 볼 때 *Enterococcus* sp.의 감염원이 다양한 외부감염보다는 요에 의한 내부 감염일 가능성이 크다고 사료되었다.

#### IV. 고 찰

원인 세균종의 동정과 항생제 감수성 검사의 시험 결과는 수시로 임상외에게 알려지고 또한 환자의 치료의 지침이 되어야 함이 당연하다(김, 1996). 병원에서 분리되는 세균의 군종과 항생제 감수성 결과는 국내에서 자주 보고 되고 있다 (김, 1996). 장구균은 최근에 사람과 동물의 장관 상재 균으로 존재하며 요로감염, 창상감염, 심내막염, 균혈증 등의 중증감염을 일으키는 빈도가 증가되어 문제가 되고 있고(Murray, 1990; Herman와 Gerding, 1991), 우리나라에서도 장구균의 분리가 현저히 많아졌다(정, 1993). 최근 병원 감염의 원인균 중에서 10%가 장구균으로 4번째로 많이 분리되며, 요로 감염증의 16%정도를 차지하고 있다(CDC, 1997). 이는 기존질환을 가진 환자의 증가나 광범위한 항생제, 특히 cephalosporin 제제의 사용증가와 beta lactam계 항생제의 과다사용으로 항생제 내성을 나타내는 그람 양성균주의 증가 때문으로 생각된

다(Chenoweth와 Schaberg, 1990). 병원 감염 증가 뿐만 아니라 전반적인 내성의 증가 때문에 VRE에 대한 관심이 집중되고 있고(Murray, 1990; CDC, 1993; 정과 이, 1998), *Enterococcus* sp.는 자연적으로 저농도 aminoglycoside계 항생제에 내성이지만,  $\beta$ -lactam계 항생제가 공존할 때는, aminoglycoside계 항생제의 균체 내 이행이 촉진되므로 두 항생제의 상승작용을 나타내게 된다(Eliopoulos와 Eliopoulos, 1990). 이러한 병합요법은 *Enterococcus* sp.로 인한 감염질환에 널리 이용되어 왔다. Gryson 등은 1969에서 1988년 사이에 분리한 *E. faecium* 중에는 gentamicin 고도 내성균이 없었으나 1989년에서 1990년에 분리한 군주 중에는 61%가 gentamicin에 83%가 streptomycin에 고도내성임을 보고하였다. 이희주 등은 1991에서 1992년에 분리된 *E. faecalis* 중 20%가, *E. faecium*에서는 59%가 gentamicin에 고도내성임을 보고하였고, 권경란은 1993년에 *E. faecalis*에서 60%의 고도내성임을 보고하였다 본 연구에서는 검체로부터 분리된 전체 군주의 대부분을 차지하고 있는 *E. faecalis*와 *E. faecium*의 두 군종의 경우 *E. faecalis*의 경우 다수의 항생물질에 감수성을 보인 반면에 *E. faecium*이 대부분의 항생물질에 대해서 보편적으로 높은 내성을 나타냈다. Aminoglycoside계 항생제인 amikacin, gentamicin, streptomycin에 대해서는 amikacin, gentamicin 두 항생제의 경우 전체적으로 70% 이상의 높은 내성을 나타낸 반면에 streptomycin의 경우에는 59%의 감수성을 나타내었다. 이 결과를 볼 때 *Enterococcus* sp.에 의한 심한 감염증이나 요로감염 등 중증염증의 치료에는 저농도의 aminoglycoside계 항생제요법을 시행 시 효과적이라 알려져 있었으나 최근에 *Enterococcus* sp.가 다양한 aminoglycoside계 항생제에 대한 내성을 획득함으로써 상승작용이 소실되고 있다는 보고와 일치함을 알 수 있었고, 또한 aminoglycoside는 단독사용보다는 복합사용을 해야 하겠다고 생각된다 (Markowitz, 1992). MIC의 경우 *E. faecalis*에서는 gentamicin에 40%, streptomycin에 87%의 고도내성임을 관찰할 수 있었다. *E. faecium*에서는 gentamicin, streptomycin에 모두 71%의 내성양상을 나타내 과거보다는 현저하게 증가 되었음을 알 수 있었다. Vancomycin의 경우 사용되기 시작한 후로 약 30년까지 내성균의 출현이 거의 없었으나, 1986년 처음으로 vancimycin 내성 장구균(VRE)이 보고된 이후(Leclercq 등, 1988), 세계 여러 나라에서 VRE에 의한 감염이 보고되었으며(Frieden 등, 1993; Montecalvo 등, 1994;), 근래 미국에서의 VRE확산

은 큰 문제가 되고 있다. 미국의 질병통제센터(Center for Disease Control and Prevention, CDC, 1993)의 국내 원격 감시체계(National Nosocomial Infection Surveillance System, NNIS)는 미국에서 원내감염을 일으킨 장구균 중 VRE균주 비율이 1989년에 0.3%이었던 것이 1993년에는 7.9%로 증가하였으며, 중환자실 환자에서는 1989년의 0.4% 구균에서 1993년에는 13.6%로 20배가 급격히 증가하였음을 보고하였고, 국내에서는 박 등(1992)이 vancomycin 내성 *E. durans* 1균주를 첫 보고한 이래, 김 등 (1995)이 vancimycin 내성 *E. casseliflavus* 4균주를, 정 등 (1998)이 VRE 2균주를, 정 등(1996)이 VRE 2균주를, 김 (1998)은 아주대학 병원 환자에서 1996년 3월부터 1년간에 분리된 1,286균주의 장구균 중에 41균주 (3.2%)의 VRE를 보고하였고, 최 (2001)는 서울의 한 대학병원에서 장구균의 vancomycin 내성률이 1989년의 8%에서 1996년에는 32%로 현저히 증가하였음을 보고하였다. 본 연구에서도 임상검체로부터 분리한 100균주 중에서 VRE가 차지하는 비율은 전체적으로 10%를 차지하였는데 *E. faecalis*, *E. avium*, *E. gallinarum*에 경우에 높은 감수성 결과를 보인 반면 *E. faecium*과 *E. casseliflavus*의 경우 각각 20%와 33%의 내성률을 나타내 최근 VRE의 증가 추세를 알 수 있었다. 검체별로는 aminoglycoside계 항생제에 고도내성을 보인 검체는 요, 농, 객담에서 분리된 *Enterococcus* sp.가 대부분을 차지하였으나, VRE는 요에서 모두 검출되었다. *E. faecalis*는 vancomycin의 경우 0.5-8 $\mu$ g/m로 96%가 감수성을 나타냈으며, *E. faecium*은 0.5-32  $\mu$ g/ml로 50% MIC는 0.5  $\mu$ g/ml, 90% MIC는 32  $\mu$ g/ml로 80%가 감수성을 나타내 *E. faecalis*에 비해 높은 내성을 나타내었다. 이와 같이 VRE의 보균율은 증가추세에 있고, vancomycin 내성은 다른 그람양성균에 시험관 내에서 전파될 수 있으며 (Noble 등, 1992) 다른 대부분의 항생제에서도 내성이어서 임상적으로 심각한 위협이 되고 있다. 이에 vancomycin 내성 장구균의 확산을 막으려면 감염원을 차단하고, 감염환자를 신속하게 알아낼 수 있어야 하며, 이 균종을 정확히 동정하기 위해서는 디스크 확산법이나 자동화 방법에 의한 균종 동정에만 의존하지 말고, 전통적인 방법과 PCR법에 의한 유전자형 시험을 병행함으로써 전파를 억제하기 위한 감시체계의 구축이 필요할 것으로 사료되었다.

본 연구에서는 임상검체에서의 *Enterococcus* sp.의 균종별 분리현황을 조사하고, 분리균의 항생제 감수성 양상을 알아보는 한편, aminoglycoside계 항생제에 내성을 나타내는 균주를 대상으로 Rep-PCR을 실시하여 유전적인 다양성을 알아보려고 하였다. 각종 임상검체로부터 *E. faecalis* 49주, *E. faecium* 34주, *E. avium* 9주, *E. gallinarum* 4주, *E. casseliflavus* 3주, *E. hirae* 1주 등 총 100주를 분리하였다. 대부분 외래를 통하기보다는 입원 환자의 검체로부터 분리됨을 관찰하면서 원내감염의 원인균 중의 하나임을 알 수 있었다. Urine과 pus, sputum에서 대부분의 균들이 분리되었고 *E. faecalis*와 *E. faecium*이 주종을 이루었다. 항생제 감수성양상으로는 disk법과 ViteK GPS-430의 MIC결과와 유사하게 관찰 되었으며, 대부분의 *Enterococcus* sp.가 cephalosporin계 항생제에는 80% 정도의 내성을 보였다. *E. faecalis*의 경우 항생물질에 대해 고른 감수성양상을 볼 수 있었고, *E. faecium*의 경우 다른 *Enterococcus* sp.와는 차별적으로 항생물질에 대해 높은 내성 양상을 볼 수 있었다. 또한 vancomycin에 대한 내성을 보이는 *Enterococcus* sp.는 전체 10%정도를 차지하였고 aminoglycoside계 항생제인 amikacin과 gentamicin에 대해서 높은 고도내성을 나타냈었고, streptomycin의 경우에는 50% 정도의 내성률을 나타내었다. Aminoglycoside계 항생제에 내성을 보이는 *Enterococcus* sp.를 대상으로 Rep-PCR을 실시하여 유전자 분획 유형을 분석하였으나 유전적 다양성에 있어 크게 차이를 보이지 않아 DNA양상의 기원이 크게 다르지 않다는 것으로 생각되었다.

참고 문헌

1. Baron EJ, Weissfeld AS, Fuselier PA, Brenner DJ. Classification and identification of bacteria. In Murray, PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tnnover FC, Volken, R H(eds.), Manual of Clinical Microbiology 6th ed. p249-264, Am Soc. Microbiol, Washington D.C, 1995

2. Boyce JM, Opal SM, Chow JW, Zervos MJ, Potter-Bynoe G, Sherman CB, Romulo RLC, Fortna S, Medeiros AA. Outbreak of multi-resistant *Enterococcus faecium* with transferable van B class vancomycin resistance. *J Clin Microbiol* 32:1148-1153, 1994
3. Center for Disease Control and Prevention. Nosocomial enterococci resistant to vancomycin-United states, 1989-1993. *Morbid. Mortal. Weekly Rep.* 42:587-599, 1993
4. Chenoweth C, Schaberg D. The epidemiology of enterococci. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 9:80-89, 1990
5. Coudron PE, Markowitz Sm, wong ES Isolation of lactamase-producing aminoglycoside-resistant strain of *E. faecium*. *Antimicro Agent Chemother* 36: 1125-1126, 1992
6. Eliopoulos GM, Eliopoulos CT. Therapy of enterococci infection. *Eur J Clin Microbiol infect Dis* 9:118-126, 1990
7. Fackman RR, Sham DF. *Enterococcus*. In : Murray PR, Baron EJ, Phaller MA, Tenover FC, Tenover FC, eds. *Manual of Clinical Microbiology*, 6th ed. p308-314, Amer Soc Microbiol Washington D.C, 1995
8. Fackman RR, Collins MD. Identification of *Streptococcus* species isolated from human infected by a conventional test Scheme. *J Clin Microbiol*, 27: 731-734, 1989
9. Frieden TR, Munsiff SS, low DE, Willey BM, williams G, Faur Y, Eisner W, Warren S, Kreiswirth B. Emergence of vancomycin-resistant *enterococci* in New York City. *Lancet* 342:76-79, 1993
10. Herman BJ, Gerding DN. Antimicrobial resistance among *enterococci*. *Antimicrob Agent Chemother* 35: 1-4, 1991
11. Leclercq R, Derlot E, Duval I, Courvalin P. Plasmid-mediated resistant to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. *Engel J Med* 319:157-161, 1988
12. MarKowiz N, Quonn L, Saravolatz L. Trimethoprim /sulfamethoxazole compared with vancomycin for the treatment of *Staphylococcus aureus* infection. *Ann Intern Med* 117:390-398. 1992
13. Murray BE. The life and times of *Enterococcus*. *Clin Microbiol Rev* 3:46-65, 1990
14. Montecalvo MA, Horowitz H, Gedris C, Carbonoro C, Tenover FC, Issah A, Cook P, Wormser GP. Outbreak of vancomycin, ampicillin, and aminoglycoside-resistant *Enterococcus faecium* bacteremia in an adult oncology unit. *Antimicrob. Agent Chemother* 38:1363-1367, 1994
15. NCCLS. MIC testing supplemental tables, M100-S100(M7) National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa, 2000
16. NCCLS. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, (6th ed.,) M2-A6. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa, 1997
17. Noble WC, Virani Z, other resistance genes from *Enterococcus faecalis* NCTC 12201 to *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol Lett* 93:195-198
18. Shale DM, Bouvet A, Devine C, Shales JH, Aobeid S, Williamson R. Inducible, transferable resistant to vancomycin in *Enterococcus faecalis* A256, *Antimicrob Agent Chemother* 33:198-23-03, 1989
19. Versalovic J, Schneider M, Bruijijn FJ, Lupsi JR. Genomic fingerprinting of bacteria using repetitive sequence-based polymerase chain reaction. *Methods Mol Cell Bio* 5:25-40, 1994
20. 김양호. 환자검체로부터 분리한 각종 세균 및 *Pseudomonas aeruginosa* and *P. cepacia*의 항생제 감수성. 석사학위논문, 순천대학교 대학원, 1996
21. 김신무, 정수진, 정재옥, 신용섭, 이규식, 정운섭. Vancomycin 내성 및 감수성 *Enterococcus faecalis*에 대한 여러 항균제의 시험관내 항균력. *임상병리검사 과학회지* 29:163-173, 1997
22. 김수현, 김세찬, 구석봉, 신종희, 서순팔, 양동욱. Vancomycin 내 *Enterococci*감염 4예, *대한임상병리학 회지* 15 (부록2):S265, 1995
23. 김승아. 환자검체로부터 분리한 메티실린 내성 포도상구균의 항균제 감수성 및 유전자형. 석사학위논문, 순천대학교 대학원, 2003
24. 김활웅. Vancomycin 내성 장구균의 분포 및 항균제

- 병용효과에 관한 연구. 석사학위 논문, 아주대학교 대학원, 1988
25. 박지원, 김양리, 신완식, 강문원, 한경자, 심상인. Vancomycin 내성 *Enterococci*에 대한 감수성 검사. 감염 4:315-324, 1992
26. 정운섭. *Streptococcus pneumoniae*와 *Enterococcus*의 항균제 내성. 대한화학요법학회지 11:48-56, 1993
27. 정운섭, 이경원. 그람양성세균과 그람 음성 구균의 항균제 내성. 서흥출판사, p141-170, 서울 1998
28. 최해곤. 신생아 중환자실에서 분리된 vancomycin 내성 장구균의 분자역학적 분석. 석사학위논문, 고신대학교 대학원, 2001