대한임상미생물학회지 1999:2;14-18

정상학동기 아동의 인후배양에서 기간에 따른 A군 연쇄구균의 혈청형 변화

김 윤 정·김 선 주

경상대학교 의과대학 임상병리과학교실, 경상대학교암연구소

Serial Evaluation of Serotypes of Group A Streptococci Isolated from Throat Culture of Normal School Children

Yun Jeong Kim, M.D. and Seon Ju Kim, M.D.

Department of Clinical Pathology, Gyeongsang Institute of Cancer Research, College of Medicine, Gyeongsang National University, Chinju, Korea

Background **: Group A streptococci (GAS) cause various infections in the school children. The change of isolation rate of GAS between time interval was observed by repeated throat cultures and acquisition rate of new strain was investigated by comparing the serotypes of GAS.**

Methods **: Throat cultures were taken from the school children in Chungnam and Seoul. Second throat cultures were taken from 119 children in Chungnam after 1 month and from 59 children in Seoul after 4 months, who showed GAS in the first throat culture. Serotypings such as T, M and opacity factor typing were performed and compared against 40 children in Chungnam and 26 children in Seoul who grew GAS in both throat cultures.**

Results **: GAS were isolated from 57.1% (68/119) in Chungnam and 45.8% (27/59) in Seoul in the second throat culture. Different serotypes between first and second throat culture were 5 of 40 (12.5%) in Chungnam and 4 of 26 (15.4%) in Seoul, respectively.**

Conclusions **: Almost half of children contained GAS continuously until 4 months and acquisition rate of new serotypes was 14.0% during this time. When GAS is repeatedly isolated, serotyping was very useful to recognize whether the strain is same or not.**

(Korean J Clin Microbiol 1999;2:14~18)

Key words : Group A Streptococci (GAS), Throat culture, Time interval, Serotype

서 론

세균성 인두염의 가장 흔한 원인균인 A군 연쇄구균 (group A streptococci, 이하 GAS)은 류마티스열이나 사구체신염과 같은 후유증을 유발하기 때문에 중요하다. 이러한 GAS 후유증은 항균제 사용과 경제 발전 및 위생 상태의 개선 등으로 점차 감소하여 1970년 이후에는 매우 드물어졌다[1]. 그러나 1985년 이후 미국과 유럽 여러 지역에서 류마티스열의 재유행이 보고되었고[2] 최근에는 독성쇽증후군이나 급성괴사성근막염과 같은 GAS의 침습성 감염이 증가하고 있어 GAS에 대한 관심이 다시 증가하고 있다[3,4]. 이와 같은 GAS 감염 형태의 변화는 새로운 감염을 일으키는 GAS 균종이 과거 균종과는 다르다는 것을 시사한다. 즉 과거보다

원본 접수 : 1998년 10월 접수번호 : CM99-1
수정본접수 : 1999년 1월 30일
교신저자 : 김 선 주
(660-702) 경남 진주시 칠암동 92번지
경상대학교 임상병리과
전화 : 0591-750-8239 Fax : 0591-762-2236
E-mail; sjkim@nongae.gsnu.ac.kr

더 후유증을 잘 일으키거나 독성이 강한 균이 재유행하거나 새롭게 출현한 것으로 볼 수 있다[5]. GAS의 병원성 및 감염경로 등을 밝히는데 혈청형 조사는 매우 중요하다[6]. 특히 그 지역의 정상인에서 분리된 균에 대한 혈청형 조사는 진성 감염이나 후유증 환자에서 분리된 균의 혈청형을 정확히 해석하기 위한 기초자료로 활용할 수 있다. 우리나라 학동기 아동의 GAS 분리율은 지역에 따라 8.5-18.5%까지 보고되어 비교적 높은 것으로 알려져 있다[7-9].

GAS 보균자는 수 주 또는 수 개월 동안 균을 가지고 있을 수 있다[10]. 반복해서 GAS가 분리될 경우 같은 균을 계속 가지고 있는 것인지 혹은 다른 균이 재감염된 것인지 알기 위해서는 혈청형 조사가 필요하다. GAS에 관한 많은 연구가 이루어지고 있지만 일정 기간을 두고 같은 환자에서 GAS를 연속하여 분리하고 그 혈청형을 비교한 문헌은 드물다.

이에 저자들은 정상 초등학생에서 인후배양을 실시하여 GAS를 분리하였고, GAS가 분리된 아동들을 대상으로 1~4개월의 시간간격을 두고 2차 인후배양을 시행하여 이 기간동안 균이 얼마나 남아있는지 살펴보았다. 한편 분리된 GAS의 T, M 및 혼탁인자(opacity factor, 이하 OF)형을 조사하여 연속해서 분리된 GAS의 혈청형을 비교하여 봄으로써 일정기간 동안 남아있는 균이 같은 균인지 혹은 다른 균인지를 조사하여 새로운 균의 획득률을 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

1차 인후배양은 1993년 3월 충남의 초등학생 980명(남아 504명, 여아 476명)과 1993년 12월 서울의 초등학생 590명(남아 324명, 여아 266명)을 대상으로 실시하였다. 대상 아동들은 모두 세균성 인두염의 병력이 없는 건강한 아동이었다. 1차 인후배양에서 충남은 980예 중 141예(14.4%)[7], 서울은 590예 중 82예(13.9%)에서 GAS가 분리되었다[8]. 1차 인후배양에서 GAS가 분리된 아동 중 추적조사가 가능했던 충남 119명, 서울 59명을 대상으로 2차 인후배양을 실시하였다. 2차 인후배양은 1차 인후배양 후 충남은 1개월, 서울은 4개월 후에 각각 시행하였다.

2. 방법

1) 균주분리

직접 학교를 방문하여 면봉으로 아동의 양쪽 편도와 후인두 부위를 문지른 후 면양혈액한천배지의 약 1/6 정도에 도말을 하였다. 1~2시간내에 loop를 이용하여 세균을 확산시킨 후 37℃ 배양기에 하룻밤 배양하였다. 면양혈액한천배지에서 완전용혈을 보이는 집락을 취하여 catalase검사, bacitracin 디스크(0.04 U)와 라텍스응집법(A Strep AD, Denka Seiken, Tokyo, Japan)을 이용하여 GAS를 동정하였다.

2) 혈청형 분류

1차 및 2차 인후배양에서 분리된 GAS 균주에 대하여 혈청형 검사를 시행하였는데 충남은 40예, 서울은 26예이었다. 혈청형 검사는 T형, M형 및 OF형 검사를 시행하였다. T형은 균주를 trypsin 처리한 후 슬라이드 응집법으로 동정하였다[11]. 사용한 항-T 항체는 1-6, 8, 9, 11-14, Imp. 19, 22, 23, 25, 27, 28, 44 및 B3264이었다. M형은 균주를 Lancefield 법에 따라 산-열 처리 후 이중면역확산법을 이용하여 동정하였는데[12] 사용한 항-M 항체는 1-6, 8, 12, 14, 15, 17-19, 23-26, 29-33, 36-41, 43, 47, 49, 51-53 및 55-57이었다. OF형은 microplate에서 OF 단백 추출액과 항-OF 혈청을 섞고 반응시킨 후 흡광도를 측정하여 동정하였다[12]. OF 동정에 사용한 항혈청은 2, 4, 9, 11, 22, 25, 28, 48, 49, 58-64, 66, 68, 73, 75-78 및 81이었다. M형과 OF형은 별도로 구분하지 않고 모두 M형으로 표시하였다.

결 과

1. 균주 분리율

1차 인후배양에서 균이 분리된 아동 중 2차 인후배양에서도 균이 분리된 아동은 충남이 119예 중 68예(57.1%), 서울은 59예 중 27예(45.8%)이었다.

2. 기간에 따른 충남 아동의 혈청형 변화

충남에서 혈청형 검사를 시행한 40예 중 33예(82.5%)에서 1차와 2차 인후배양에서 같은 혈청형의 균주가 분리되었고, 5예(12.5%)에서는 다른 혈청형의 균주가 분리되었으며 2예(5.0%)에서는 1차 배양에서 두가지 서로 다른 혈청형의 GAS가 분리되었는데 2차 배양에서는 그 중 한가지 혈청형의 균주만 배양되었다. 다른 혈청형으로 바뀐 5예 중 2예에서는 T-5/27/44, M-5형이 T-1, M-1과 T-1, M-nontypable로 각각 바뀌었고, T-8, M-58형이 T-nontypable, M-nontypable로, T-nontypable, M-nontypable이 T-11, T-78로, 그리고 T-1, M-nontypable이 T-6, M-6으로 바뀐 예가 각각 1예씩 있었다(Table 1).

3. 기간에 따른 서울 아동의 혈청형 변화

서울의 경우는 26예 중 22예(84.6%)에서 같은 혈청형의 균주가 분리되었고, 4예(15.4%)에서 다른 혈청형의 균주가 분리되었다. 다른 혈청형이 분리된 4예 중 2예에서는 T-3, M-3형이 T-12, M-12로 바뀌었고, 1예는 T-12, M-12형에서 T-3, M-3형으로 바뀌었으며, 1예는 T-3, M-nontypable에서 T-nontypable, M-nontypable로 바뀌

Table 1. Serial evaluation of serotypes of group A streptococci from the school children in Chungnam

	N	1st throat culture		2nd throat culture*	
		T type	M type	T type	M type
Same serotype					
	6	1	1	1	1
	4	3	3	3	3
	1	3	3	3/B3264	3
	1	4	4	4	4
	3	5/27/44	5	5/27/44	5
	2	5/27/44	5	27/44	5
	4	11	78	11	78
	1	11	NT	11	NT
	5	12	12	12	12
	1	12	22	12	22
	2	12	62	12	NT
	1	NT	12	NT	12
	1	NT	12	12	12
	1	28	28	28	28
Different serotype					
	1	1	NT	6	6
	1	5/27/44	5	1	1
	1	5/27/44	5	1	NT
	1	8	58	NT	NT
	1	NT	NT	11	78
Combined serotypes					
	1	6	6	6	6
		3/B3264	3		
	1	12	62	12	NT
		5/27/44	5		

* Follow up after 1 month.
Abbreviation : NT, nontypable.

었다(Table 2).

고 찰

GAS는 사람에서 매우 흔한 감염균 중 하나이다. 1980년대까지 감소하던 GAS 인두염의 후유증인 류마티스열이 1985년 이후 미국에서 재유행하였을 뿐 아니라[2] 치명적인 GAS의 침습성 감염이 증가하면서[3,4] GAS에 대한 관심이 증대하였다.

상기도 감염의 증상이나 징후가 없는 사람에서 GAS가 분리되는 경우 보균자나 무증상 감염자로 생각할 수 있다. GAS 감염이 증상을 일으키지 않고 보균상태로 존재하게 되는 기전에 대해서는 정확히 밝혀지지

Table 2. Serial evaluation of serotypes of group A streptococci from the school children in Seoul

	N	1st throat culture		2nd throat culture*	
		T type	M type	T type	M type
Same serotype					
	1	1	1	1	1
	1	3	3	3	3
	1	4	NT	4	4
	1	5/27/44	5	5/27/44	5
	2	27	5	27	5
	1	11	78	11	NT
	14	12	12	12	12
	1	NT	12	12	12
Different serotype					
	1	3	3	12	12
	1	3	NT	NT	NT
	1	12	12	3	3
	1	3/B3264	3	12	12

* Follow up after 4 month.
Abbreviation : NT, nontypable.

않았지만 여러 가지 가능성이 제시되고 있다. 즉, GAS의 M단백에 대한 형특이항체의 생성과 같은 숙주반응, bacteriocin 생성 등의 균주요인[13], 그리고 상기도 상재균의 길항작용[14] 등의 요인이 GAS가 보균상태로 남아있게 되는 현상을 부분적으로 설명하고 있다.

Quinn 등[15]은 1953년부터 14개월 동안 초등학생을 대상으로 1-2주 간격으로 인후배양을 실시하여 시기에 따라 흔히 분리되는 GAS의 혈청형이 다르다고 보고하였다. Quinn 등의 보고에서 GAS가 계속 분리되었던 4명 중 1명에서만 같은 혈청형의 GAS가 분리되었다. Quinn[16]은 41명의 초등학생에서 5년간 연속적으로 인후배양을 실시하여 38예에서 새로운 GAS 균종을 획득하였다고 보고하였다. Kuttner 등[17]에 의하면 2개월 이상 보균하는 만성보균자가 50% 정도라고 보고하였는데 저자들도 기간별 인후배양 결과 지역과 대상이 다르기는 하지만 1개월 후에는 57.1%, 4개월 후에는 45.8%에서 GAS를 계속 보균하고 있어 Kuttner 등[17]의 연구와 비슷한 결과를 얻었다. 하지만 실제로 같은 균을 계속 보균하고 있는지 다른 GAS 균종을 새롭게 획득한 것인지를 확인하기 위해서는 분리된 균에 대한 혈청형 조사가 반드시 필요하다. 2차 인후배양에서 1차 인후배양시와 다른 혈청형이 분리된 경우는 새로운 균을 획득하였음을 의미한다. 저자들의 연구에서 1개월 후에는 12.5%, 4개월 후에는 15.4%에서 다른 혈청형의 GAS가 분리되었는데 이를 새로운 균의 획득률로 볼 수 있다.

GAS의 혈청형은 항혈청을 이용하여 GAS 세포벽을 구성하고 있는 단백성분에 따라 분류하게 되는데 T형, M형 및 OF형으로 분류한다[12,18]. 혈청형을 조사하는 목적은 GAS의 집단발생을 감시하고 균의 유행변화를 알아보며 병태생리학적 연구에 이용하기 위해서이다. 뿐만아니라 병독력을 연구하여 백신개발에 이용할 수도 있다. T단백은 GAS의 거의 모든 균주가 가지고 있는 단백으로 역학적조사나 선별검사에 이용할 수 있다. T항원 검사는 교차반응이 많고, 독성과는 별로 관련이 없다는 단점이 있지만 항-T 항체가 상품화되어있기 때문에 손쉽게 이용할 수가 있다[11]. 한편 M단백은 GAS의 병독력과 밀접한 관계가 있는 세포벽 성분으로 특이성이 있어, 세균의 병인론을 이해하는 데는 T형 분류보다 M형 분류가 더 유용하다고 알려져 있다. 그러나 일부 GAS에서는 M단백을 보유하지 않고 항체를 제조하기가 어렵기 때문에 일반 실험실에서 이용하는 데는 어려움이 따른다[6,12]. OF단백은 M단백과 관련되는 세포벽 성분으로 M단백과 마찬가지로 독성인자와 관련이 있으면서 항체를 얻는 것도 어렵지 않아 M형 분류 대신 OF형을 이용하면 편리하다. 그러나 OF형 동정은 결과 판정이 M형 보다 어렵다는 단점이 있다[6]. 혈청형은 질환과도 관련이 있다고 알려져 있는데 류마티스열은 M-1, 3, 5, 6 및 18이 잘 일으키고[19] 급성사구체 신염을 잘 일으키는 혈청형은 주로 M-1, 3, 4, 5, 12, 25, 49, 55, 57 및 60으로 밝혀졌으며[20], 연쇄구균성 독성쇽증후군에서 분리된 균주의 M형은 대개 M-1, 3, 12 및 28이었다[21]. 저자들은 연속해서 분리된 GAS의 혈청형 조사를 통하여 기간에 따른 균주의 혈청형 변화를 살펴보았다. 본 연구를 통하여 보균자에서 아무 처치를 하지 않은 후 1~4개월이 지나면 약 절반정도에서는 균이 자연적으로 소실되며, 새로운 균에 의해 감염될 확률은 약 15% 정도임을 알 수 있었다. 환자에서 균이 계속해서 분리될 경우 그 균이 치료 실패로 인해 계속 분리되는 균인지, 아니면 치료 후 새로운 균이 감염된 것인지 여부를 판정할 때 혈청형 조사가 유용할 것으로 사료된다.

한편 저자들은 혈청형 검사를 시행했던 66예 중 2예에서 두가지 서로 다른 혈청형의 GAS를 분리하였다. 같은 아동의 인후배양에서 다른 형태의 베타용혈성 연쇄구균 집락을 관찰하였고 혈청형 검사로 두 집락이 서로 다른 균임을 증명할 수 있었다. 즉 두 가지 서로 다른 혈청형에 의한 중복감염 혹은 동시 보균상태로 설명할 수 있다. 이러한 경우 두가지 균의 항균제 감수성 양상이 다를 수 있고 두 혈청형 간에 병독력이 다르게 나타날 수 있다. 따라서 환자 검체의 배양 결과를 해석할 때는 혈액한천배지에서 집락을 주의 깊게 관찰하여야 할 것이다. GAS 집락은 보통 크기가 작고 넓고 투명한 완전 용혈대를 보이지만 경우에 따라서는 크기가 크고 점액성이며 좁은 용혈대를 보이거나, 크기는 작으면서 보통 크기의 완전용혈대 주위로 다시 부분용혈을 보이는 등 여러 가지 다양한 형태의 베타용혈을 보인다. 특히 hyaluronic acid 캡슐이 있는 균주는 점액성인 집락을 형성하는데 이러한 균주는 병독력이 높고 최근 구미에서 류마티스열의 재유행을 일으키는 균주에서 많이 관찰되었으므로[22] 이러한 집락이 보이는지 잘 관찰할 필요가 있다.

결론적으로 보균자 혹은 무증상 감염자에서 GAS 분리율이 1개월 후에는 57.1%, 4개월 후에는 45.8%로 낮아졌고, 새로운 혈청형의 GAS는 1개월 후에는 12.5%, 4개월 후에는 15.4%에서 획득됨을 알 수 있었다. 반복해서 GAS가 분리되는 경우 혈청형 조사를 통하여 그 균이 같은 균인지 다른 균인지를 감별할 수 있었다.

요 약

배 경 : A군 연쇄구균(group A streptococci, GAS)은 학동기 아동에서 다양한 감염을 일으킨다. 인후배양을 반복해서 실시하여 일정기간 후 균이 얼마나 남아있는지 조사하고, 분리된 GAS의 혈청형을 비교함으로써 새로운 균의 획득률을 알아보았다.

방 법 : 충남과 서울의 건강한 초등학생을 대상으로 1차 인후배양을 실시하였고, GAS가 분리된 아동 중 충남은 1개월 후 119명, 서울은 4개월 후 59명을 대상으로 2차 인후배양을 시행하였다. 분리된 GAS 중 충남은 40예, 서울은 26예에 대하여 T형, M형 및 OF형 검사를 시행하여 1차와 2차 인후배양에서 분리된 GAS의 혈청형을 비교하였다.

결 과 : 2차 인후배양에서는 충남 57.1% (68/119), 서울 45.8% (27/59)에서 GAS가 분리되었다. 충남에서는 혈청형 검사를 시행한 12.5% (5/40)에서 1차와 2차 인후배양에서 서로 다른 혈청형의 GAS가 분리되었고, 서울에서는 15.4% (4/26)에서 다른 혈청형의 균주가 분리되었다.

결 론 : 추적조사했던 4개월까지 대상 아동의 약 절반에서 GAS가 계속해서 분리되었다. 1차에서 분리된 GAS의 혈청형과는 다른 혈청형 균주의 획득율은 14.0%이었다. 반복해서 GAS가 분리되는 경우 그 균이 같은 균인지 여부를 판정하는데 혈청형 조사는 매우 유용하였다.

참 고 문 헌

1. Massell BF, Chute CG, Walker AM, Kurland GS. *Penicillin and the marked decrease in morbidity and mortality from rheumatic fever in the United States. N Engl J Med 1988;318:280-6.*
2. Congeni B, Rizzo C, Congeni J, Sreenivasan VV. *Outbreak of acute rheumatic fever in northeast Ohio. J Pediatr 1987;111:177-9.*

3. Givner LB, Abramson JS, Wasilauskas B. *Apparent increase in the incidence of invasive group A beta-hemolytic streptococcal disease in children. J Pediatr 1991;118:341-6.*
4. Stevens DL. *Streptococcal toxic-shock syndrome: Spectrum of disease, pathogenesis, and new concepts in treatment. Emerg Infect Dis 1995;1:69-78.*
5. Carapetis J, Robins-Browne R, Martin D, Shelby- James T, Hogg G. *Increasing severity of invasive group A streptococcal disease in Australia: Clinical and molecular epidemiological features and identification of a new virulent M-nontypeable clone. Clin Infect Dis 1995;21:1220-7.*
6. Maxted WR, Widdowson JP. *The protein antigens of group A streptococci. In: Wannamaker LW, Matsen JM, eds. Streptococci and streptococcal disease. New York: Academic Press, 1972:251-66.*
7. **김선주, 차성호, 김의종. 충청남도 국민학생 인두에서의 베타용혈성 연쇄구균 분리. 대한임상병리학회지** *1993;13:395-401.*
8. **김선주. 서울 국민학생 인두에서 베타용혈성 연쇄구균 분리: 강원도, 충남 국민학생의 분리율과 비교. 감염** *1994;26:133-8.*
9. **김선주, 맹국영, 이향임, 조윤경, 윤희상. 진주지방 국민학생 인두에서 베타용혈성 연쇄구균 분리: 강원도, 충남 및 서울 국민학생의 분리율과 비교. 소아과** *1996;39:238-45.*
10. Krause RM, Rammelkamp CH Jr., Denny FW Jr., Wannamaker LW. *Studies of the carrier state following infection with group A streptococci. I. Effect of climate. J Clin Invest 1962:41:568.*
11. Ivarsson R, Christensen P. *T-typing of group A streptococci from clinical specimens: Restriction of the number if implied M types in each T-pattern by tests for glycohydrolase. Acta Pathol Micobiol Scand 1977;85:235-7.*
12. Johnson DR, Kaplan EL. *Microtechnique for serum opacity factor characterization of group A streptococci adaptable to the use of human sera. J Clin Microbiol 1988;26:2025-30.*
13. Kaplan EL. *The group A streptococcal upper respiratory tract carrier state: An enigma. J Pediatr 1980;97:337- 45.*
14. Sanders CC, Nelson GE, Sanders WE Jr. *Bacterial interference. IV. Epidemiological determinants of the antagonistic activity of the normal throat flora against group A streptococci. Infect Immun 1977;16:599-603.*
15. Quinn RW, Denny FW, Riley HD. *Natural occurrence of hemolytic streptococci in normal school children. Am J Public Health 1957;47:995-1008.*
16. Quinn RW. *Carrier rates for hemolytic streptococci in school children. A six-year study. Am J Epidemiol 1965;82:1-23.*
17. Kuttner AG and Krumwiede E. *Observation on the epidemiology of streptococcal pharyngitis and the relation of streptococcal carriers to the occurrence of outbreaks. J Clin Invest 1944;23:139-50.*
18. Moody MD, Padula J, Lizana D, Hall T. *Epidemiologic characterization of group A streptococci by T-agglutination and M-precipitation tests in the public health laboratory. Health Lab Sci 1965;2:149-62.*
19. Kaplan EL, Johnson DR, Cleary PP. *Group A streptococcal serotypes isolated from patients and sibling contacts during the resurgence of rheumatic fever in the United States in the mid-1980s. Rev Infect Dis 1989;159:101-3.*
20. Rodriguez-Iturbe B, Castillo L, Valbuena R, Cuenca L. *Acute post-streptococcal glomerulonephritis: A review of recent developments. Pediatrician 1979;8:307.*
21. Stevens DL. *Invasive group A streptococcus infections. Clin Infect Dis 1992;14:2-13.*
22. Johnson DR, Stevens DL, Kaplan EL. *Epidemiologic analysis of group A streptococcal serotypes associated with severe systemic infections, rheumatic fever, or uncomplicated pharyngitis. J Infect Dis 1992;166:374-82.*