대한임상미생물학회지 1999:2;71-76

반코마이신내성 장구균의 동정에 methyl- αD-glucopyranoside 산화검사의 유용성

김미나 성흥섭 박준석 배직현

울산의대 서울중앙병원 임상병리과학교실

Use of Methyl-αD-glucopyranoside Test for Species Identification of Vancomycin Resistant Enterococci

Mi-Na Kim, M.D., Heung-Sub Sung, M.D., Jun Seok Park, M.D. and Chik Hyun Pai, M.D.

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

Background **: The precise identification of *Enterococcus gallinarum* and *E. casseliflavus* has assumed additional importance in clinical microbiology due to the intrinsic low-level resistance to vancomycin and the difficulty in differentiating them from *E. faecium* or *E. faecalis*, which are frequently found to be clinically significant vancomycin resistant enterococci(VRE). We evaluated the usefulness of Methyl-αD-glucopyranoside(MDG) test for accurate species identification among them.**

Methods **: A total of 23 enterococci isolates including 18 clinical isolates of VRE from Nov 1997 to Aug 1998 and 5 VRE strains which had previously been reported as *E. faecalis* (2), *E. faecium*(2), *E. avium*(1) carrying *vanC* were tested for acidification of MDG. MDG test was done using 1% MDG in phenol red broth base and yellow coloration was interpreted as positive after 1 and 2 days of incubation at 35℃. MDG results were compared with species identification by MicroScan Pos Combo type 6 (Dade, USA), motility test, pigment production, and PCR results of *vanA, vanB, vanC1, vanC2/C3*.**

Results **: Vancomycin resistance of 23 strains were genotyped as 7 strains of *vanA*, 12 strains of *vanC1*, 4 strains of *vanC2/C3*. MicroScan identified 7 *vanA* VRE as *E. faecalis*(1) and *E. faecium*(6), 12 VRE carrying *vanC1* as *E. faecalis*(3), *E. faecium*(8) and *E. avium*(1), and 4 VRE carrying *vanC2/C3* as *E. faecalis*(3) and *E. avium*(1). Sixteen *vanC* VRE strains were all positive for MDG test and only 8(50%) of the 16 strains were motile. Yellow pigment were detected in all 4 *vanC2/C3* VRE but only after a careful examination with a prolonged incubation. Seven *vanA* VRE were all negative in MDG tests, motility test and pigment production.**

Conclusions **: MicroScan system plus motility and pigment production test was not able to differentiate reliably *E. gallinarum* and *E. casseliflavus* from *E. faecalis* and *E. faecium*. The MDG test was shown to be superior to motility test in differentiating those from *E. faecalis* and *E. faecium*. We conclude that the MDG test should be included for identifcation of VRE.**

(Korean J Clin Microbiol 1999;2:71~76)

Key words : Methyl-αD-glucopyranoside, Vancomycin resistant enterococci(VRE), *vanC*, Species identification

원본 접수 : 1999년 1월 21일 접수번호 : CM99-15
수정본접수 : 1999년 2월 22일
교신저자 : 김 미 나
(136-736) 서울특별시 송파구 풍납동 388-1
울산의대 서울중앙병원 임상병리과
전화 : 02-2224-4511 Fax : 02-488-0884

서 론

장구균은 β-lactams, aminoglycosides, glycopeptides 등

에 대해 내인성 내성을 가지고 있어서 전신감염을 일으키면 단독 항균제로는 치료하기 어려운데, 이들 항균제에 대한 고도내성을 획득하면 기존의 표준 치료인 β-lactams 또는 glycopeptides에 aminoglycosides를 병합하는 요법조차 효과가 없어진다[1]. 최근 장구균은 획득 내성이 증가하면서 병원감염의 중요한 원인균으로 등장하여, 미국에서는 병원감염균의 2위를 차지하고 있고[2], 1992년 본 병원의 병원감염중 10%가 장구균에 의한 감염으로서 *Staphylococcus* spp., *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae* 다음으로 빈도가 높았다[3]. Glycopeptide에 내성을 획득한 장구균(vancomycin resistant enterococci; VRE)은 그 자체가 치료가 어렵다는 점 외에도 다른 그람양성구균에 내성을 전파시킬 위험 때문에 감염관리가 필요함으로 민감하게 검출해 주어야 한다. 국내에서도 VRE는 크게 증가하고 있어서 1997년, 1998년에 발표된 바로는 병원에 따라 장관에 집락한 장구균의 2-3.2%[4,5], 임상검체에서 분리된 장구균의 7.7%에 이르므로[6] 임상미생물검사실에서는 VRE를 검출하는 것이 매우 중요한 문제가 되었다. 반코마이신 내성 장구균의 내성 유전자형은 크게는 3가지로 나눌 수 있다. *vanA*은 반코마이신과 테이코플레닌에 매우 높은 내성을 나타내고, *vanB*형은 반코마이신에는 다양한 정도의 내성을 나타내는 데 비해 테이코플레닌에는 감수성을 보이는 데 이 2가지 *vanA, vanB*형은 주로 *E. faecium, E. faecalis*에서 발견되고 플라스미드를 통해 전파될 수 있고, 집단감염을 일으킬 수 있어서[7,8] 감염관리가 필요하다. 이에 비해 *vanC*형은 내인성으로 특정 균종에만 존재하는 표현형으로 반코마이신에 저도 내성을 보이고 테이코플레닌에는 감수성으로 나타난다. *vanC1* 은 *E. gallinarum*에, *vanC2/3*는 *E. casseliflavus, E. mundtii, E. flavescens* 등에만 존재하는 것으로 보고되어 있다. 지금까지의 문헌에 의하면 이들 *vanC* VRE는 임상적 역학적 의의가 없는 것으로 간주된다[9]. 하지만 VRE를 가장 민감하게 검출하는 표준선별방법인 한천선별법에서는 *vanC* VRE도 검출됨으로[10], 이들 균을 *E. faecalis*나 *E. faecium*으로부터 신속정확하고 비용효과적으로 감별하는 검사가 필요하다. *E. gallinarum, E. casseliflavus* 등은 운동성이 있는 장구균이므로 운동성 검사를 생화학적 검사에 추가적으로 많이 사용해 왔으나, 운동성이 없는 *E. gallinarum*은 *E. faecium*으로 잘못 동정될 수 있다[11]. 실제로 미국의 한 병원에서 VRE 선별검사에서 반코마이신 내성 *E. faecium*으로 동정된 33균주중 11균주는 운동성이 없는 *E. gallinarum*임이 16S rDNA의 염기서열분석에 의해 확인되었다[12]. 최근 Devriese 등은 methyl-α-D-glucopyranoside(MDG)가 *E. gallinarum*과 *E. casseliflavus*을 *E. faecalis*나 *E. faecium*으로부터 감별하는 데 매우 신뢰도가 높은 방법임을 발표한 후[13], 다른 논문에서도 입증된 바 있다[12,14]. 1996년 본 병원에서 환자들의 장관내 VRE의 집락율을 조사하여 13균주의 VRE를 검출하여 보고했을 때 *vanC* 유전자가 양성인 9균주중 운동성이 없어서 *E. faecium*(3), *E. faecalis* (2), *E. avium*(1)으로 동정된 균주가 6균주 있었고[5], 이후 임상검체 중 VRE를 선별하면서 동정한 *vanC* VRE중 운동성이 없는 균주들이 있어 장구균의 동정에 운동성 검사와 색소형성 검사보다 신뢰성 있는 검사가 필요하였다. 이에 저자들은 VRE의 종동정에 있어서 MDG 산화검사의 유용성을 검토하였다.

재료 및 방법

1. 균주

97년 11월부터 98년 8월까지 서울중앙병원 임상미생물검사실에 의뢰된 임상검체에서 분리된 장구균을 6㎍/mL 반코마이신을 포함한 brain heart infusion(BHI) 한천배지에서 선별한 VRE 18균주와 이 등[5]이 *vanC1* 양성이면서 *E. faecalis*(2), *E. faecium*(2), *E. avium*(1)등으로 보고한 5 균주를 대상으로 하였다. 모든 균주는 20% glycerol 이 포함된 BHI 액체배지에 풀어서 -70℃ 보관였다가, 필요할 때 계대배양하여 사용하였다. 동일한 환자에서 분리된 균주는 하나만 포함시켰다.

2. 균종동정

MicroScan Pos Combo type 6(Dade, USA)에서 동정된 결과에 운동성, 색소형성능, MDG 산화검사 결과를 추가하여 재동정하였다. 운동성은 30℃에서 MIO배지에 하룻밤 배양하여 판독하였으며, 색소형성능은 혈액한천배지에 배양한 집락을 1일째와 2일째 흰 면봉으로 도말하여 면봉에 묻은 집락의 색깔을 관찰하였다.

3. MDG 산화검사

Phenol red broth base에 1% MDG(Sigma, St. Louis. Mo.)를 첨가한 배지에 균을 접종하여 35℃에서 배양하면서 1일과 2일째 관찰하여 황색으로 변하면 양성으로 판독하였다. 양성대조균으로 *E. gallinarum* VR42을, 음성대조균으로 *E. faecalis* ATCC 29212를 사용하였다.

4. 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction; PCR)

VanA, vanB, vanC1, vanC2 유전자 증폭을 위하여 multiplex PCR을 시행하였다. 시발체는 이등의 문헌[6]을 참조하여 다음과 같이 제작하여 사용하였다. 단, *vanC2* 시발체는 *vanC2*와 *vanC3*의 염기서열의 상동성이 높아 *vanC2*와 *vanC3* 둘다 증폭할 수 있다.

vanA： A1 5'-GCGGTATTGGGAAACAGTGCC-3',
A2 5'-GCGGTCAATCAGTTCGGGAAGTGC-3',
vanB： B1 5'-GTTTAGAACGATGCCGCCATCC-3',
B2 5'-GGAATGGGAAGCCGATAGTCTCC-3'

Table 1. Speciation of VRE by MicroScan, PCR analysis of the resistance gene and MDG acidification test

Identification by MicroScan	PCR	MDG	Motility	Pigment	Final Identification
E. faecium	*vanC1*	+	+	-	*E. gallinarum*
E. faecium	*vanC1*	+	+	-	*E. gallinarum*
E. faecium	*vanC1*	+	+	-	*E. gallinarum*
E. faecium	*vanC1*	+	+	-	*E. gallinarum*
E. faecium	*vanC1*	+	-	-	*E. gallinarum*
E. faecium	*vanC1*	+	-	-	*E. gallinarum*
*E. faecium**	*vanC1*	+	-	-	*E. gallinarum*
*E. faecium**	*vanC1*	+	-	-	*E. gallinarum*
E. faecalis	*vanC1*	+	+	-	*E. gallinarum*
*E. faecalis**	*vanC1*	+	+	-	*E. gallinarum*
*E. faecalis**	*vanC1*	+	-	-	*E. gallinarum*
*E. avium**	*vanC1*	+	+	-	*E. gallinarum*
E. faecalis	*vanC2/3*	+	-	+	*E. casseliflavus/flavescens*
E. faecalis	*vanC2/3*	+	-	+	*E. casseliflavus/flavescens*
E. faecalis	*vanC2/3*	+	-	+	*E. casseliflavus/flavescens*
E. avium	*vanC2/3*	+	+	+	*E. casseliflavus/flavescens*
E. faecium	*vanA*	-	-	-	*E. faecium*
E. faecium	*vanA*	-	-	-	*E. faecium*
E. faecium	*vanA*	-	-	-	*E. faecium*
E. faecium	*vanA*	-	-	-	*E. faecium*
E. faecium	*vanA*	-	-	-	*E. faecium*
E. faecium	*vanA*	-	-	-	*E. faecium*
E. faecalis	*vanA*	-	-	-	*E. faecalis*

*이등[5]의 논문에 실린 균주

vanC1 : C11 5'-CCCACTTTGCTTTTATCCCGC-3',
C12 5'-ACCCGTCAATCCCAAGTTTCG-3',
vanC2 : C21 5'-CCTCTCTTTGATCGGGATCGCC-3',
C22 5'-TGCAGCTTGATGCAGCAGCC-3'

세균의 DNA는 혈액한천배지에서 하룻밤 배양한 VRE 집락중 잘 분리된 집락 3-4개를 따서 100 μL의 증류수에 넣고 30분간 끓여서 세균을 용해시킨후 10,000g에서 1분간 원심분리해서 얻은 상청액을 수거하여 사용하였다. PCR 반응 혼합물 총 50 μL에는 세균의 DNA 추출액 1 μL, Taq polymerase(GenoTech Co. Korea) 2.5 unit, PCR 완충액(10mM Tris-HCl[pH8.3], 50mM KCl), 1.5mM $MgCl_2$, dNTP(dATP, dCTP, dGTP, dTTP 각각 0.2 mM), 각 시발체 50 pmol를 포함시켰다. Perkin-Elmer 9600 순환 온열기로 94℃에서 5분간 전변성 후, 94℃에서 30초간 변성, 60℃에서 1분간 결합, 72℃에서 1분간 연장반응을 30회 반복후 72℃에서 5분간 연장반응을 시행하였다. *vanA, vanB, vanC1, vanC2*의 증폭산물은 2.5% agarose gel에 전기영동하여 356bp, 741bp, 429bp, 322bp의 밴드로서 확인하였다. 양성대조군으로 *E. faecalis* A256(*vanA*), *E. faecalis* V583(vanB), *E. gallinarum* VR42(*vanC1*)등의 균주를 사용하였다. 중합효소연쇄반응검사에서 *vanC1*형은 *E. gallinarum*으로, *vanC2/C3* 형은 *E. casseliflavus/flavescens*로 균종을 확인하였다.

결 과

1. 반코마이신 내성 유전자의 PCR 결과

VRE 23균주 중 *vanA*형이 7균주, *vanC1*형이 12균주, *vanC2/C3*형이 4균주였다(Table 1).

2. MicroScan 동정결과, PCR, MDG 산화능, 운동성, 색소형성능을 종합한 동정결과와 각각의 결과 비교

임상검체에서 선별한 VRE 18균주 중 11균주(61.1%)는 *vanC*형이었다. 이 등 논문에서 발표된 5균주를 포함하여 *vanC* 형인 총 16균주 모두 MicroScan에서는 *E. faecium, E. faecalis, E. avium*등으로 잘못 동정되었다. *E. gallinarum*은 *E. faecalis*(3), *E. faecium*(8)와 *E. avium* (1)로

동정되었고, *E. casseliflavus/flavescens*는 *E. faecalis* (3)와 *E. avium*(1)으로 동정되었다. MDG 산화능 검사에 의하면 *vanA*형인 *E. faecalis*(1)와 *E. faecium*(6)는 모두 음성인데 비해, *E. gallinarum*와 *E. casseliflavus*는 하룻밤 배양 후 모두 양성으로서 PCR검사에 일치하였다. 운동성은 *E. gallinarum* 12균주중 7균주(58%), *E. casseliflavus/flavescens* 4균주 중 1균주 만이 양성이었다. *vanA*형의 균주는 운동성, 색소생성능, MDG 산화검사에서 모두 음성이었다. 색소형성은 일상검사에서는 모두 음성으로 판독되었고, PCR 검사 후 *vanC2/C3* 양성인 장구균을 배양시간을 2일로 늘리고 주의깊게 판독한 후 양성임을 발견하였다.

고 찰

MDG 산화능은 본 검사실에서 분리된 23균주의 VRE에 대해 실험해본 결과 *E. faecium, E. faecalis*은 모두 음성이고, *E. gallinarum, E. casseliflavus*는 모두 양성으로서 PCR 결과와 잘 일치하였다. MDG 산화능 검사는 Devriese 등[13]에 의해 *E. gallinarum, E. casseliflavus*를 *E. faecium*으로부터 감별하는데 우수한 생화학적 검사임이 소개되었다. MDG는 *E. gallinarum, E. casseliflavus*외에 *E. avium* species군(*E. avium, E. pseudoavium, E. raffinosus, E. malodoratus*)와 *E. columbae, E. sulfureus, E. dispar, E. saccharolyticus* 등에는 양성반응을 보이고, *E. faecium, E. faecalis, E. mundtii, E. durans, E. hirae*에서는 음성이므로 다른 종을 동정할 때도 유용하게 사용할 수 있다[13]. MDG 산화능의 시약은 기존의 탄수화물 발효능을 검사할 때 사용하는 phenol red broth base에 methyl-α-D-glucopyranoside를 1%가 되게 첨가하면 되므로 간편하고 경제적이며, 하룻밤 배양후 판독하는 것으로 충분하여 일상검사에서 장구균의 동정에 추가할 수 있을 것으로 사료된다.

본 연구에서 MicroScan은 *vanC* VRE는 전혀 동정할 수 없었다. 하지만 이 연구기간 후 MicroScan의 데이터베이스를 개선한 후로는 *vanC* VRE가 동정되고 있어 새로운 평가가 필요하다. *vanC* VRE 중 운동성은 *E. gallinarum* 12균주중 7균주(58%), *E. casseliflavus/flavescens* 4균주중 1균주만이 양성이었다. 운동성이 있는 장구균에 속하는 *E. gallinarum*과 *E. casseliflavus/flavescens*는 내인성 반코마이신 저도내성을 나타내므로 VRE 선별검사에서 VRE로 검출되지만 내성을 전파하거나 집단감염을 일으킨 예가 없고, 이들 균이 군집하거나 감염을 일으키는데 위험요소도 발견된 바 없다[9]. 따라서 *vanC* VRE에 의해 군집되거나 감염을 일으킨 환자를 *vanA, vanB* VRE 와 같이 격리조치를 할 필요가 없기 때문에 *vanA, vanB* VRE와 감별해 주는 것이 중요하다. 하지만 *vanA, vanB* VRE의 대부분을 차지하는 *E. faecium*은 다양한 생화학적 성상을 나타내므로 비전형적인 *E. gallinarum, E. casseliflavus*와 감별하기 어려울 수 있다[10]. 본 연구에서도 *E. gallinarum* 12균주를 MicroScan으로 동정한 결과는 8균주가 *E. faecium*이고, 3균주는 *E. faecalis* 로서 이들이 Facklam 등[15]에 의하면 groupII에 속하는 균종으로서 생화학적 성상이 비슷하여 잘못 동정되기 쉬움을 보여준다. 분자역학적인 방법으로 *vanC* 형을 감별해주는 것이 가장 정확한 방법이지만[16], 현재 국내 대부분의 검사실은 PCR을 장구균의 동정을 위해 일상검사로 사용하기 어려운 실정이다. 기존의 생화학적인 검사에 운동성 검사와 색소형성능을 추가하면 유용하다는 보고가 있었지만[17], 그 이전부터 운동성이나 색소형성능을 감별기준으로 사용해도 여전히 잘못 동정될 가능성이 있음이 이미 지적된 바 있었다[18]. 최근에 운동성이 없는 *E. gallinarum, E. casseliflavus*가 상당수에 달해서 이들 균을 동정할 때 운동성 검사가 신뢰할 수 없음이 지적되고, xylose 신속산화능, MDG 산화능 등이 대안으로 제시되었다[12,19]. *E. gallinarum*이 xylose를 신속하게 산화할 수 있는 능력을 검사하는 방법은 본 검사실에서 예비실험을 한 바로는 신뢰할 수 없었고, *E. casseliflaus/flavescens*의 황색 색소를 형성하는 능력은 해석이 주관적이어서 경험을 요하는데 비해 MDG 산화능 검사는 판독에 어려움이 없었다. 따라서 임상검체에 대해 일상적으로 VRE 선별검사를 하는 검사실에서는 MDG 산화능 검사를 추가하면 PCR 결과가 나오기 전에 불필요하게 *vanC* VRE가 분리된 환자를 격리조치하는 번거로움을 피할 수 있을 것이다.

본 병원에서 지난 20개월동안 18명의 환자에서 분리된 VRE 균주중 11균주가 *vanC* VRE로 대다수를 차지하였다. 결국 이 기간동안 병원감염관리가 필요한 VRE 환자는 *vanA* VRE가 분리된 7명으로서 전체 분리된 장구균의 0.5%정도의 비율이다. 이처럼 vanA, vanB VRE와 같은 획득 내성에 의한 VRE가 적기 때문에 *vanC* VRE가 상대적으로 많았다고 해석된다. 본 병원과 같이 VRE에 의한 감염이 적고 VRE 격리지침을 엄격히 지키는 병원일수록 *vanC* VRE 균종을 정확히 감별해주는 것이 효과적인 병원감염관리를 위해 유용하리라고 생각된다. 현재까지 *vanC*형 내성이 항균제치료에 어떤 영향을 미치는 지는 확실하지는 않다. 일반적으로 이들 균주가 인체에 감염을 일으키는 경우가 드물고 집단감염을 일으킨 예가 없어서 임상적 의의에 대해서 연구가 부족하다[9]. *VanC1*이 내인성이지만 내성표현이 항시적이기만 한 것이 아니고, 반코마이신에 유도될 수 있다고 되어 있는데[20] 이런 내성 표현이 반코마이신의 치료효과에 어떤 영향을 미치는지는 확실하지 않다. 또한 동물실험에서는 반코마이신 저도내성인 *E. faecium*에 의한 심내막염이 반코마이신이나 테이코플레닌의 치료에 반응하지 않았다는 보고가 있다[21]. 현재까지 *vanC* 유전자가 다른 균에 전이됨을 증명한 보고는 없지만, PCR로 확인한 *vanC1* 양성인 장구

균중 *E. faecium*이나 *E. faecalis*가 있음이 보고된 바 있는데, 그 논문에서는 생화학적 검사뿐 아니라 Dutka-Malen 등이 발표한 D-ala-D-ala ligase 유전자의 종특이적 염기서열을 사발체로 이용한 PCR을 하여 *E. faecium*이나 *E. faecalis*임을 입증하였다고 한다[22]. 하지만 *vanC* VRE인 *E. faecium*이나 *E. faecalis*가 있다면 *vanC*가 다른 종으로 전이되었음을 의미하고 결국 이 두 균주에서 다른 균으로 *vanC*가 전이될 수 있음을 의미하는데 전이력을 검사하지는 않았고, 이 균주들에 대한 더 이상의 연구보고는 없었다. 또한 저자들은 Dutka-Malen 등[16]에 의해 발표된 시발체로 *E. faecalis, E. faecium*의 표준균주에 대해 동일한 PCR 실험을 해보았으나 양성결과를 얻지 못했다. 향후 *vanC* VRE의 임상적인 의의를 규명하기 위해서는 임상미생물검사실에서 이들 균주를 정확히 동정해줌으로써 임상적인 자료를 수집하고, 역학적 조사를 가능하게 하는 것이 필수적이다.

결론적으로 MicroScan은 *E. gallinarum, E. casseliflavus*를 *E. faecalis*나 *E. faecium*으로부터 감별할 수 없었고, 운동성 검사를 추가해도 50%의 *vanC* VRE를 놓치는데 비해 MDG 산화능은 *E. gallinarum, E. casseliflavus* 모두를 *E. faecalis*나 *E. faecium*으로부터 정확하게 감별할 수 있어서, 임상미생물검사실에서 장구균의 동정 특히 VRE의 동정에 일상검사로서 추가해야 한다고 사료되었다.

요 약

배 경 : 반코마이신 내성을 획득한 장구균(VRE)는 다른 그람양성구균에 내성을 전파시킬 위험이 있어서 민감하게 검출하는것이 중요하지만, VRE를 가장 민감하게 검출하는 한천선별법을 사용하면 내인성 반코마이신 저도내성인 *E. gallinarum, E. casseliflavus* 등도 VRE로 검출되는 문제점이 있다. 이들 균을 *E. faecalis*나 *E. faecium*으로부터 신속정확하고 비용효과적으로 감별하는 검사가 필요하다. 저자들은 VRE의 동정에 MDG 산화검사의 유용성을 검토하였다.

방 법 : 97년 11월부터 98년 8월까지 서울중앙병원 임상미생물검사실에 의뢰된 임상검체에서 분리된 VRE 18균주와 *vanC1*이 양성이면서 *E. faecalis*(2), *E. faecium*(2), *E. avium*(1)등으로 보고한 5 균주를 대상으로 하였다. MDG 산화검사는 phenol red broth base에 1% MDG를 첨가한 배지에 균을 접종하여 35℃에서 배양하면서 1일과 2일째 관찰하여 황색으로 변하면 양성으로 판독하였다. MDG 결과를 MicroScan Combo type 6(Dade, USA)의 동정결과, 운동성, 색소형성능, *vanA, vanB, vanC1, vanC2/C3* 등의 중합효소연쇄반응검사(PCR) 결과와 비교하였다.

결 과 : VRE 24균주는 *vanA*형이 7균주, *vanC1*형이 12균주, *vanC2/C3*형이 4균주였고, MicroScan에서 *vanA*형은 *E. faecalis*(1)와 *E. faecium*(6), *vanC1*형은 *E. faecalis* (3), *E. faecium*(8)와 *E. avium*(1), *vanC2/C3*형은 *E. faecalis* (3)와 *E. avium*(1)으로 동정되었다. *vanC1*형 12균주와 *vanC2/C3*형 4균주 모두 MDG 산화검사에 양성이었다. 운동성은 *vanC1*형 7균주(58%)와 *vanC2/C3*형 중 1균주에서만 양성이었다. 색소능은 *vanC2/C3*형 모두에서 양성이었지만 배양시간을 2일정도로 연장하고 주의깊은 판독이 필요하였다. *vanA*형의 균주는 운동성, 색소생성능, MDG 산화검사에서 모두 음성이었다.

결 론 : MicroScan에 운동성과 색소형성능 검사를 추가해도 내인성 저도내성 균주인 *E. gallinarum, E. casseliflavus*를 신뢰성 있게 동정할 수 없었는데 비해 MDG 검사는 매우 우수하였다. 향후 VRE의 동정에 MDG검사가 포함되어야 할 것이다.

참 고 문 헌

1. Krogstad DJ, Korfhagen TR, Moellering RC Jr, Wennersten C, Swartz MN. *Aminoglycoside-inactivating enzymes in clinical isolates of Streptococcus faecalis: an explanation for resistance to antibiotic synergism. J Clin Invest 1978;62:480-6.*
2. Schaberg DR, Culver DH, Gaynes RP. *Major trends in the microbial etiology of nosocomial infection. Am J Med 1991;91:72S-75S.*
3. 김미나, 정재심, 김봉철, 송재훈, 배직현. 원내감염과 원외감염에서 분리된 원인균의 항균제 감수성 비교. 감염 *1993;25:333-42.*
4. 정석훈, 이덕희, 정태전, 정정해, 김미향, 구자영 등. 장관내 vancomycin 내성 장구균 집락화 양상. 병원감염관리 *1998;3:41-7.*
5. 이수연, 배직현. 반코마이신 내성 장구균 장내 군집의 임상적 및 역학적 특성. 대한임상병리학회지 *1997; 17:743-56.*
6. 이위교, 정민권, 곽연식. *Vancomycin* 내성 장구균의 분리율, 항균제 감수성 및 내성형에 관한 연구. 대한 임상병리학회지 *1998;18:51-6.*
7. Chow JW, Kuritza A, Shlaea DM, Green M, Sahm DF, Zervos MJ. *Clonal spread of vancomycin-resistant Enterococcus faecium between patients in three hospitals in two states. J Clin Microbiol 1993;31:1609-11.*
8. Pegues DA, Pegues CF, Hibberd PL, Ford DS, Hooper DC. *Emergence and dissemination of a highly vancomycin-resistant vanA strain of Enterococcus faecium at a large teaching hospital. J Clin Microbiol 1997;35: 1565-70.*
9. Toye B, Shymanski J, Bobrowska M, Woods W, Ramotar K. *Clinical and epidemiologic significance of enterococci intrinsically resistant to vancomycin(Possessing the vanC genotype). J Clin Microbiol 1997;35: 3166-70.*
10. Swenson JM, Clark NC, Ferraro MJ, Sahm DF, Doern G,

Pfaller MA, et al. *Development of a standardized screening method for detection of vancomycin-resistant enterococci. J Clin Microbiol 1994;32:1700-4.*

11. Carvalho MDGS, Teixeira LM, Facklam R. *Use of tests for acidifiaction of methyl-αD-Glucopyranoside and susceptibility to efrotomycin for differentiation of strains of Enterococcus and some related genera. J Clin Microbiol 1998;36:1584-7.*
12. Turenne CY. Hoban DJ, Karlowsky JA, Zhanel. GG, Kabani AM. *Screening of Stool samples for identification of vancomycin-resistant Enterococcus isolates should include the methyl-αD-glucopyranoside test to differentiate nonmotile Enterococcus gallinarum from E. faecium. J Clin Microbiol 1998;36:2333-5.*
13. Devriese LA, Pot B, Kersters K, Lauwers S, Haesebrouck F. *Acidification of methyl-αD-glucopyranoside: a useful test to differentiate Enterococcus casseliflavus and Enterococcus gallinarum from Enterococcus faecium species group and from Enterococcus faecalis.*
14. Gl ria MD, Carvalho S, Teixeira LM, Facklam RR. *Use of tests for acidification of methyl-αD-glucopyranoside and susceptibility to efrotomycin for differentiation of strains of Enterococcus and some related genera. J Clin Microbiol 1998;36:1584-7.*
15. Facklam RR, CollinsMD. *Identification of Enterococcus species isolated from human infection by a conventional test scheme. J Clin Microbiol 1989;27:731-4.*
16. Dutka-Malen S, Evers S, Courvalin P. *Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant enterococci by PCR. J Clin Microbiol 1995;33:24-7.*
17. Cartwright CP, Stock F, Fahle G, Gill VJ. *Comparison of pigment production and motility tests with PCR for reliable identification of intrinsically vancomycin-resistant enterococci. J Clin Microbiol 1995;33:1931-3.*
18. Vincent S, Knight RG, Green M, Sham DF, Shlaes DM. *Vancomycin susceptibility and identification of motile enterococci. J Clin Microbiol 1991;29:2335-7.*
19. Willey BM, Blacklock A, McGeer A, Low DE. *Evaluation of rapid xylose fermentation(RapXyl) for distinguishing intrinsically vancomycin-resistant(VR) Enterococcus gallinarum(Egal) from VR E. faecium(VREFE). Abstracts of the 37th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1997*
20. Sham DF, Free L, Handwerger. *Inducible and constitutive expression of vanC-1-encoded resistance to vancomycin in Enterococcus gallinarum. Antimicrob Agents Chemother 1995;39:1480-4.*
21. Fantin B, Leclercq R, Arthur M, Duval J, Carbon C. *Influence of low-level resistance to vancomycin on efficacy of teicoplanin and vancomycin for treatment of experimental endocarditis due to Enterococcus faecium. Antimicrob Agents Chemother 1991;35:1570-5.*
22. Patel R, UHL JR, Kohner P, Hopkins MK, Cockerrill FR III. *Multiplex PCR detection of vanA, vanB, vanC- 1, and vanC2/3 genes in enterococci. J Clin Microbiol 1997;35:703-7.*