

VanC 표현형 장구균의 감별 동정을 위한 생화학 시험

어 영, 장인호, 황규열, 이미경, 윤갑준

연세대학교 원주의과대학 임상병리과학교실

Biochemical Tests for Differential Identification of Enterococci with VanC phenotype

Young Uh, M.D., In Ho Jang, M.D., Gyu Yel Hwang, M.D.,
Mi Kyung Lee, M.D. and Kap Jun Yoon, M.D.

Department of Clinical Pathology, Yonsei University Wonju College of Medicine, Wonju, Korea

Background : Pigment production and acidification of ribose are most frequently used biochemical tests for the differentiation of three enterococcal species carrying *vanC* genes such as *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus casseliflavus*, and *Enterococcus flavescens*. However, pigment production may occasionally be negative in *E. casseliflavus*, and some of *E. casseliflavus* may be negative or delayed reaction with ribose fermentation test. So, we performed this study to find out biochemical tests capable of distinguishing the strains possessing *vanC* genotypes.

Methods : A total of 17 enterococci composed of 14 clinical isolates with motility or pigment positive strains and three ATCC strains (*E. gallinarum* ATCC 49573, *E. casseliflavus* ATCC 25788, and *E. flavescens* ATCC 49997) were tested by multiplex PCR of the *vanC* genes (*vanC-1*, *vanC-2*, and *vanC-3*) and various biochemical tests.

Results : Among the 17 isolates including three ATCC control strains, four were genotyped as *VanC-1*, 11 were *VanC-2*, one were *vanC-2/3*, and any of *vanC* genes were not detected in one clinical isolate, respectively. Among the enterococci with *vanC* genotype, acid production from α -D-cyclodextrin and hippurate hydrolysis were positive only in *VanC-1* genotype (*E. gallinarum*), acid production from glycerol and methyl- α -D-mannopyranoside were positive only in *VanC-2* genotype (*E. casseliflavus*), and acid production from rhamnose and pigment production were negative only in *VanC-1* genotype. Acid production from α -D-cyclodextrin was negative only in *VanC-2* genotype. The positive rate of ribose fermentation of *VanC-1*, *VanC-2*, and *VanC-2/3* (*E. flavescens*) genotype were 100%, 82%, and 0%, respectively.

Conclusion : Acid production from rhamnose, α -D-cyclodextrin, β -D-cyclodextrin, glycerol and methyl- α -D-mannopyranoside, pigment production, and hippurate hydrolysis test were useful biochemical tests for differentiating *E. gallinarum* from *E. casseliflavus*. The production of acid from α -D-cyclodextrin, glycerol, methyl- α -D-mannopyranoside and ribose were suitable biochemical tests for differentiating *E. casseliflavus* from *E. flavescens*.

Key words : *VanC*, *VanC-1*, *VanC-2*, *VanC-2/3*, *Enterococcus casseliflavus*, *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus flavescens*, Biochemical test.

서 론

원 본 접 수 : 2000년 1월 13일 접수번호 : CM 3-1-4

수정본접수 : 2000년 2월 29일

교 신 저 자 : 어 영

(220-701) 강원도 원주시 일산동 162

원주기독병원 임상병리과

TEL : 0371-741-1593 FAX : 0371-731-0506

Vancomycin에 저도의 자연내성인 VanC 표현형 장구균은 유전형에 따라 *VanC-1*, *VanC-2* 및 *VanC-3*로 분류되며 각 유전형이 관찰되는 균종은 *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus casseliflavus* 및 *Enterococcus*

*flavescens*이다[1]. 이러한 VanC 표현형에 속하는 3가지 장구균은 생화학 성상이 매우 유사할 뿐만 아니라 *Enterococcus faecium*과도 감별이 어려운 경우가 있기 때문에 정확한 동정을 위해서는 운동성 시험, 색소 시험 및 ribose 당발효 시험이 필요하다[2]. 그러나, 운동성 시험은 판독이 주관적일 수 있고 배양온도가 30℃이며 일부 균주는 48시간까지 배양해야 하므로[3] 동정 업무가 복잡해지는 경향이 있고, 더욱이 운동성 음성인 비정형 *E. gallinarum*과 *E. casseliflavus* 균주는 각각 *E. faecium*과 *E. mundtii*로 동정될 가능성이 있다[4]. 색소 시험의 판독 또한 주관적일 뿐만 아니라 *E. casseliflavus* 중에도 색소 시험 음성인 균주가 있기 때문에 색소 시험과 운동성 시험만으로는 *E. gallinarum*과 *E. casseliflavus*를 정확히 동정하지 못할 가능성이 있다[5]. Ribose 당분해시험은 *E. casseliflavus*와 *E. flavescens*를 감별할 수 있는 시험으로 알려져 있으나 *E. casseliflavus*의 일부 균주는 음성이거나 반응이 늦게 나타날 수 있다[6].

이에 저자들은 VanC 표현형에 속하는 장구균을 신속하고 정확하게 감별할 수 있는 생화학 시험을 찾고자 본 연구를 시행하였다.

재료 및 방법

대상균주

VanC 표현형에 속하는 장구균으로 동정되어 보관하였던 임상분리주 14주와 표준균주 3주를 대상으로 연구를 시행하였다. 임상분리주 14균주는 원주기독병원 9균주와 서울의 두 병원에서 분양받은 5균주였고 표준균주는 *E. gallinarum* ATCC 49573, *E. casseliflavus* ATCC 25788 및 *E. flavescens* ATCC 49997이었다.

2. 생화학적 동정시험

VanC 표현형 장구균의 감별 동정에 사용할 생화학 시험은 사람 및 면양혈액 한천배지에서의 용혈 양상과 색소 생성 시험[3], 운동성 시험[3], CAMP 시험[7], hippurate 가수분해 시험[7], arginine dihydrolase 시험[8]과 mannitol (Hayashi pure chemical, Japan), sorbitol

(Yacuri pure chemical, Japan), arabinose (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo., USA), raffinose (Junsei chemical Co., Japan), sucrose (Junsei), methyl- α -D-glucopyranoside (Sigma), methyl- α -D-mannopyranoside (Sigma), ribose (Sigma), α -D-cyclodextrin (Sigma), β -D-cyclodextrin (Sigma), glycerol (대정화학, 인천), rhamnose (Sigma) 및 erythritol (Sigma)의 산 생성 시험이었다. 산생성 시험은 phenol red base agar (BBL Microbiology Systems, Cockeysville, MD., USA; 이하 PRBA로 약함), cystine trypticase agar (BBL; 이하 CTA로 약함) 및 cystine tryptic agar (Difco, Detroit, Mich. USA; 이하 CTA로 약함)의 세 종류의 기초배지에 각각의 당을 멸균증류수에 녹여 filter로 멸균한 용액을 1% 농도로 첨가한 뒤 96 well micrplate에 300 μ L씩 분주하였다. 산생성 시험은 배양 후 24시간과 48시간에 결과를 판독하였다.

3. PCR 반응

장구균의 DNA는 proteinase K와 페놀/클로로포름법을 이용한 상용화된 제품(Easy-DNA™ kit, Invitrogen Co., USA)을 사용하여 순수분리된 1-2개의 장구균 집락에서 추출하였다. *VanC-1*, *VanC-2*, *VanC-3* 유전자 증폭을 위한 oligonucleotide 시발체의 염기서열은 Table 1과 같다[6,9,10]. PCR 반응 혼합물은 장구균의 DNA 추출액 5 μ L, PCR 완충액(10 mM tris-HCl pH 8.3, 50 mM KCl, 15 mM MgCl₂) 5 μ L, Taq DNA polymerase (Behringer Mannheim, Germany) 2.5 U, 각각의 dNTP 200 M 및 *VanC1-1*, *VanC1-2*, *VanC2-1*, *VanC2-2* 시발체는 각각 5 pM, *VanC3-1*과 *VanC3-2* 시발체는 15 pM을 첨가한 후 탈이온 증류수(DDW)를 가하여 총 부피가 50 μ L 되게 한 후 multiplex PCR을 시행하였고, multiplex PCR에서 *VanC-2* 분획이 관찰된 경우에는 *VanC-2*와 *VanC-3* 각각에 대한 PCR을 시행하였다. PCR 반응은 Thermocycler (Mastercycler 5330, Eppendorf, Hamburg, Germany)를 이용하여 predenaturation으로 94℃에서 5분간 가온한 후 main cycle로 94℃ 30초, 58℃ 30초, 72℃ 30초를 30회 반복하고 끝으로 72℃에서 10분간 연장반응시켰다. PCR 반응 산물은 agarose gel에서 전기영동(100V, 30분)한 후 자외선하에서 DNA 분획을 확인하였고 marker는 100 bp DNA ladder (Gibco/BRL, LifeTechnologies Inc.,

Table 1. Primers used in PCR amplification of *VanC* resistance genes

Gene	Primers (5'→3')	Product (bp)	Reference
<i>VanC-1</i>	GAA AGA CAA CAG GAA GAC CGC ATC GCA TCA CAA GCA CCA ATC	796	10
<i>VanC-2</i>	CGG GGA AGA TGG CAG TAT CGC AGG GAC GGT GAT TTT	484	
<i>VanC-3</i>	GCC TTT ACT TAT TGT TCC GCT TGT TCT TTG ACC TTA	224	

Gaithersburg, USA)를 사용하였다.

결 과

임상검체에서 분리된 14주의 장구균 중 *VanC* multiplex PCR에서 *VanC-1*과 *VanC-2*는 각각 3주와 10주에서 검출되었고 표준균주인 *E. gallinarum* ATCC 49573과 *E. casseliflavus* ATCC 25788는 각각 *VanC-1*, *VanC-2*에 해당하는 DNA 분획을 보였으며 *E. flavescens* ATCC 49997은 *VanC-2*와 *VanC-3*를 모두 가지고 있었다(Fig. 1). Multiplex PCR에서 *VanC-2* 분획이 관찰된 11주의 *E. casseliflavus*와 1주의 *E. flavescens*의 *VanC-3*에 대한 PCR에서는 *E. flavescens*만이 *VanC-3* 분획을 보였다. 임상검체에서 yellow pigment를 보였던 1균주는 PCR에서 음성 반응이었다.

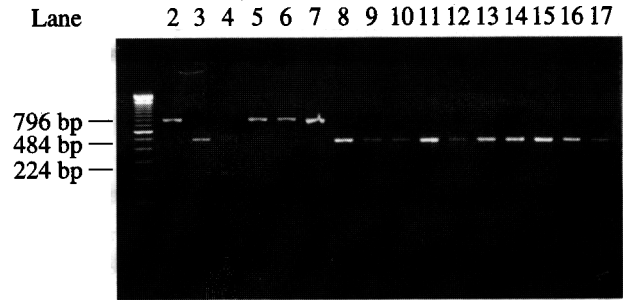


Fig. 1. Multiplex PCR of the *VanC* genes of enterococcal strains with the *VanC* phenotype. The standard in lane 1 is the DNA ladder. Lane 2 to 4 are *E. gallinarum* ATCC 49573, *E. casseliflavus* ATCC 25788, and *E. flavescens* ATCC 49997, respectively. Lane 5 to 7 are clinical isolates of *E. gallinarum*, and lane 8 to 17 are clinical isolates of *E. casseliflavus*.

Table 2. Biochemical reactions of 16 enterococci with *VanC* phenotype and 1 isolate of yellow pigmented *Enterococcus*

ORG (No.)	Media type	Incubation time (hr)	% of biochemical reactions by incubation time													% of other BCs			
			MAN	SBL	ARA	RAF	SUC	MGP	RIB	ACD	BCD	GLY	MMP	RHA	ERY	ADH	PIG	MOT	HIP
EGA (4)	CTA (BBL)	24	100	0	100	100	100	100	100	100	75	0	0	0	0	100	0	100	100
		48	100	0	100	100	100	100	100	100	75	0	0	0	0				
	CTA (Difco)	24	100	0	0	75	100	100	0	100	0	0	0	0	0				
		48	100	0	25	100	100	100	50	100	75	0	0	0	0				
	PRBA (BBL)	24	100	0	100	100	100	100	100	100	100	0	0	0	0				
		48	100	0	100	100	100	100	100	100	100	0	0	0	0				
ECA (11)	CTA (BBL)	24	100	18	100	82	100	100	82	0	0	100	91	100	0	91	100	91	0
		48	100	18	100	100	100	100	82	0	0	100	91	100	0				
	CTA (Difco)	24	100	18	0	82	100	91	27	0	0	55	82	27	0				
		48	100	18	36	91	100	91	45	9	0	100	91	82	0				
	PRBA (BBL)	24	100	18	100	100	100	100	91	0	0	100	91	82	0				
		48	100	18	100	100	100	100	91	0	0	100	91	100	0				
EFL (1)	CTA (BBL)	24	100	0	100	100	100	100	0	0	0	0	0	100	0	100	100	100	0
		48	100	0	100	100	100	100	0	0	0	100	0	100	0				
	CTA (Difco)	24	100	0	0	100	100	100	0	100	0	0	0	100	0				
		48	100	0	100	100	100	100	0	100	0	100	0	100	0				
	PRBA (BBL)	24	100	0	100	100	100	100	100	100	0	0	0	100	0				
		48	100	0	100	100	100	100	100	100	100	100	0	100	0				
YPE (1)	CTA (BBL)	24	100	100	100	100	100	100	0	100	100	100	100	100	0	0	100	0	0
		48	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	0				
	CTA (Difco)	24	100	0	100	100	100	100	0	100	0	100	0	0	0				
		48	100	0	100	100	100	100	0	100	0	100	100	100	0				
	PRBA (BBL)	24	100	100	100	100	100	100	0	100	0	100	100	100	0				
		48	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	0				

Abbreviations : ORG, organism(s); BCs, biochemical reactions; MAN, mannitol; SBL, sorbitol; ARA, arabinose; RAF, raffinose; SUC, sucrose; MGP, methyl- α -D-glucopyranoside; RIB, ribose; ACD, α -D-cyclodextrin; BCD, β -D-cyclodextrin; GLY, glycerol; MMP, methyl- α -D-mannopyranoside; RHA, rhamnose; ERY, erythritol; ADH, arginine dihydrolase; PIG, pigment; MOT, motility; HIP, hippurate hydrolysis; EGA, *E. gallinarum* ATCC 49573; CTA (BBL), cysteine trypticase agar manufactured by BBL; CTA (Difco), cysteine trypticase agar manufactured by Difco; PRBA (BBL), phenol red base agar manufactured by BBL; ECA, *E. casseliflavus* ATCC 25788; EFL, *E. flavescens* ATCC 49997; YPE, yellow pigmented *Enterococcus*.

Table 3. Results of biochemical tests for the differentiation of enterococci with *VanC* genotype

<i>VanC</i> genotype	% of positive reaction of biochemical test by media							
	CTA*		PRBA*		CTA* or PRBA*		PIG	HIP
	RIB	RHA	ACD	BCD	GLY	MMP		
<i>VanC-1</i>	100	0	100	100	0	0	0	100
<i>VanC-2</i>	82	100	0	0	100	90	100	0
<i>VanC-3</i>	0	100	100	0	0	0	100	0

Abbreviations: See table 2.

*Manufactured by BBL.

17균주의 생화학 시험에서 CAMP 시험은 모두 음성 이었고, 사람과 면역혈액에서의 색소 시험의 결과는 동일하였으며, 두 혈액천배지에서 β -용혈성인 균주는 없었고 arginine dihydrolase, 색소 시험, 운동성 및 hippurate 가수분해 시험은 배양시간에 따른 결과의 차이는 없었다.

VanC-1 장구균의 BBL회사의 CTA와 PRBA 배지를 이용한 당분해시험은 배양기간에 따른 차이가 없었으나 Difco의 CTA는 48시간 배양에서 arabinose와 raffinose는 한 균주씩, ribose와 β -D-cyclodextrin은 각각 2주와 3주가 양성으로 바뀌었다(Table 2). *VanC-2* 장구균의 당분해시험은 BBL의 CTA와 PRBA의 경우에 raffinose, ribose 및 rhamnose를 제외하곤 기초배지성분 또는 배양기간에 따른 차이가 없었으나 Difco의 CTA는 배양기간에 따라 arabinose, raffinose, ribose, α -D-cyclodextrin, glycerol, methyl- α -D-mannopyranoside 및 rhamnose 양성률의 차이가 있었다(Table 2).

VanC 유전자를 가지고 있는 장구균의 생화학 시험을 24시간 배양후 판독할 때 β -D-cyclodextrin 당분해 시험과 hippurate 가수분해 시험은 *VanC-1* 유전형(*E. gallinarum*)에서만 양성 이었고, glycerol과 methyl- α -D-mannopyranoside 당분해 시험은 *VanC-2* 유전형(*E. casseliflavus*)에서만 양성 이었으며, rhamnose와 pigment 생성은 *VanC-1* 유전형에서만 음성 이었고 α -D-cyclodextrin 당분해 시험은 *VanC-2* 유전형에서만 음성 이었다. 또한 *VanC-1*, *VanC-2* 및 *VanC-2/3* (*E. flavescens*)의 ribose 당분해 양성률은 각각 100%, 82% 및 0%였다(Table 3).

고 찰

Enterococcus gallinarum, *Enterococcus casseliflavus* 및 *Enterococcus flavescens*는 glycopeptides에 저농도의 자연내성을 보이는 *VanC* 표현형의 장구균으로서 임상 검체에서의 분리빈도가 낮고 임상적 의의가 적으므로 이들 균종에 대한 정확한 감별 동정에 관심이 적었다. 그러나 최근 Coombs 등[11]은 닭고기 처리공장에서 분리된 *E. gallinarum* 한 주에서 *VanC* 유전자 뿐만 아니라 *VanA* 유전자도 검출하였고 이 균종에서 전이성

인 vancomycin 획득 내성이 관찰된 것은 앞으로 *VanC* 표현형에 속하는 장구균에서도 고농도의 vancomycin 내성균이 분리될 가능성을 시사하는 것이므로 임상적으로 중요한 의의가 있다고 하였다. 또한 *VanC* 유전형 장구균에 의한 패혈증 또는 심내막염은 vancomycin 저도내성으로 인한 vancomycin 치료 실패로 사망을 초래할 수 있기 때문에 vancomycin 감수성 장구균과 vancomycin 저도내성인 *VanC* 표현형 장구균의 정확하고 신속한 감별 동정이 필요하다[10].

원주기독병원에서는 1999년 4월경부터 장구균의 감별 동정의 정확성을 높이기 위하여 기존의 간략동정법[8]에 L-pyrrolidonyl- β -naphthylamide (PYR) 시험과 CTA (BBL) 기초배지에서의 mannitol, sorbitol, sucrose 및 ribose 당분해 시험을 추가하여 사용하고 있으나 *VanC* 표현형 장구균에 속하는 *E. casseliflavus*와 *E. gallinarum*은 색소 시험, *E. casseliflavus*와 *E. flavescens*는 ribose 시험만으로 감별하므로 잘못된 동정을 할 가능성이 있었다. 이에 *VanC* 표현형 장구균을 신속하고 정확하게 감별 동정할 수 있는 생화학 시험을 찾고자 *VanC* 표현형 장구균의 감별 동정에 유용한 것으로 보고된[3,13,14] 시험을 추린 후 일반 검사실에서 쉽게 사용할 수 있고 시약 가격이 저렴한 것들을 시험 대상으로 선택하였으며 당분해 시험은 기초배지에 따른 생화학 성상의 차이를 평가하였다.

본 연구 결과에 의하면 *E. gallinarum*과 *E. casseliflavus*를 감별하는데는 색소시험 이외에도 rhamnose, α -D-cyclodextrin, β -D-cyclodextrin, glycerol 및 methyl- α -D-mannopyranoside 당 분해와 hippurate 가수분해 시험등이 매우 유용한 생화학 시험이었다.

*E. casseliflavus*와 *E. flavescens*는 대부분의 생화학 성상이 유사하며 ribose 시험으로 감별이 가능한 것으로 알려져 있다[2]. 그러나 Clark 등[6]은 12주의 *VanC-2/3* 장구균(*E. casseliflavus*-*E. flavescens*)의 ribose 반응은 일주일간 배양하면 5균주만이 음성 이었고 한달이상 배양하면 12주 모두가 양성임을 보고하였다. 본 연구에서는 11주의 *E. casseliflavus* 균주 중 2주(18%)가 ribose 음성이었다. 이러한 결과들로 볼 때 ribose 시험만으로는 *E. casseliflavus*와 *E. flavescens*를 정확히 감별할 수 없는 균주가 있기 때문에 두 균종의 감별을 위

해서는 *VanC* 유전형 검사 또는 다른 생화학 시험이 필요하다. 본 연구에서는 ribose 시험이외에도 α -D-cyclodextrin, glycerol 및 methyl- α -D-mannopyranoside가 *E. casseliflavus*와 *E. flavescens*의 감별에 도움을 줄 수 있는 생화학 시험으로서 α -D-cyclodextrin 및 glycerol 시험은 당발효에 사용하는 기초배지와 배양시간에 따라 판독 결과의 차이가 있었으나 methyl- α -D-mannopyranoside는 ribose에 음성이었던 *E. casseliflavus*에서도 양성이고 기초배지 또는 배양시간에 따른 판독의 변화가 없었다. *E. flavescens*가 새로운 장구균인지에 대해서는 연구자에 따라 다소의 논란이 있다. 1991년 Pompei 등[14]은 외과적 치료를 시행하였던 4명의 환자에서 운동성과 노란 색소 양성이지만 *E. casseliflavus*와는 plasmid DNA 양상이 다르며, ribose, methyl- α -D-mannoside 및 D-turanose를 분해하지 못하는 4주의 장구균을 분리하였고, 1992년에는 DNA-DNA hybridization을 포함한 여러 시험을 통하여 이들 4균주는 새로운 장구균인 *E. flavescens*임을 보고하였다[2]. 그러나 Descheemaeker 등[15]은 pulsed-field gel electrophoresis 또는 oligonucleotide D11344-primed PCR에서 *E. casseliflavus*와 *E. flavescens*를 감별할 수 없었고, Clark 등[6]은 21균주의 *E. casseliflavus* 또는 *E. casseliflavus*-*E. flavescens* 모두가 *VanC*-2 유전자를 가지고 있고 이 가운데 10주는 *VanC*-3 유전자를 함께 가지고 있으므로 *E. flavescens*는 새로운 균종이 아니라 *VanC*-3 유전형을 동시에 가지고 있는 *E. casseliflavus*의 변이종일 가능성이 높기 때문에 이러한 변이종은 *E. casseliflavus*-*E. flavescens*로 균종명이 변경되어야 함을 주장하였다. 본 연구에서 11주의 *E. casseliflavus*는 *VanC*-2만을 가지고 있었으며 *E. flavescens* 표준균주는 *VanC*-2와 *VanC*-3를 동시에 가지고 있었다.

본 연구에서 *E. flavescens*로 동정되어 보관하였던 한 균주(YPE)는 *VanC* PCR 음성으로서 sorbitol, α -D-cyclodextrin과 B-D-cyclodextrin 양성이면서 arginine dihydrolase 음성인 점이 전형적인 *E. casseliflavus*와의 차이점이었으며 API 20 Strep에서는 *Leuconostoc* spp. (profile No.; 5014551, %ID; 63.9, T-index; 0.60)이었고 BBL crystal Gram-Positive ID system에서는 *Enterococcus raffinosus* (profile No.; 2650777636; biotype validity; 943, confidence; 0.8093)였다.

요 약

배 경 : *VanC* 유전자를 갖고 있는 *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus casseliflavus* 및 *Enterococcus flavescens*의 감별 동정에 가장 흔히 사용하는 생화학 시험은 색소 생성과 ribose 당발효 시험이다. 그러나, 색소 시험은 *E. casseliflavus*에서 음성일 수 있으며, *E. casseliflavus*의 일부 균주는 ribose 당분해 시험이 음성

또는 반응이 늦게 나타날 수 있다. 이에 저자들은 *VanC* 유전자를 가지고 있는 장구균을 감별할 수 있는 생화학 시험을 찾고자 본 연구를 시행하였다.

방 법 : 임상검체에서 분리된 장구균 중 운동성 또는 색소 생성 양성이었던 14주의 장구균과 *E. gallinarum* ATCC 49573, *E. casseliflavus* ATCC 25788 및 *E. flavescens* ATCC 49997의 3주를 포함한 17주의 장구균을 대상으로 *VanC*-1, *VanC*-2 및 *VanC*-3에 대한 PCR과 여러 가지 생화학 동정 시험을 시행하였다.

결 과 : 장구균 표준균주 3주를 포함한 17주의 장구균 중 *VanC*-1, *VanC*-2, *VanC*-3는 각각 4주, 11주 및 1주였고 임상검체에서 분리된 1주는 *VanC* PCR에서 음성이었다. *VanC* 유전자를 가지고 있는 장구균 중 B-D-cyclodextrin 당분해 시험과 hippurate 가수분해 시험은 *VanC*-1 유전형(*E. gallinarum*)에서만 양성이고, glycerol과 methyl- α -D-mannopyranoside 당분해 시험은 *VanC*-2 유전형(*E. casseliflavus*)에서만 양성이었다. Rhamnose와 pigment 생성은 *VanC*-1 유전형에서만 음성이었고 α -D-cyclodextrin 당분해 시험은 *VanC*-2 유전형에서만 음성이었다. *VanC*-1, *VanC*-2 및 *VanC*-2/3(*E. flavescens*)의 ribose 당분해 양성률은 각각 100%, 82% 및 0%였다.

결 론 : *E. gallinarum*과 *E. casseliflavus*의 감별 동정에 유용한 생화학 시험으로는 rhamnose, α -D-cyclodextrin, B-D-cyclodextrin, glycerol 및 methyl- α -D-mannopyranoside의 당분해 시험과 색소 시험 및 hippurate 분해시험이었고, *E. casseliflavus*와 *E. flavescens*의 감별 동정에는 α -D-cyclodextrin, glycerol, methyl- α -D-mannopyranoside와 ribose 당분해 시험이 적합하였다.

참 고 문 헌

1. 정윤섭 및 이경원. 그람양성 세균과 그람음성 구균의 항균제 내성. 서울, 서흥출판사, 1998, 141-70.
2. Pompei R, Berlutti F, Thaller MC, Ingiani A, Cortis G, Dainelli B. *Enterococcus flavescens* sp. nov., a new species of enterococci of clinical origin. *Int J Syst Bacteriol* 1992;42:365-9.
3. Facklam RR and Elliott JA. *Identification, classification, and clinical relevance of catalase-negative gram-positive cocci, excluding the streptococci and enterococci*. *Clin Microbiol Rev* 1995;8:479-95.
4. Carvalho MG, Teixeira LM, Facklam RR. Use of tests for acidification of methyl-alpha-D-glucopyranoside and susceptibility to efrotomycin for differentiation of strains of *Enterococcus* and some related genera. *J Clin Microbiol* 1998;36:1584-7.
5. Vincent S, Knight RG, Green M, Sahm DF, Shlaes DM.

- Vancomycin susceptibility and identification of motile enterococci. J Clin Microbiol* 1991;29:2335-7.
6. Clark NC, Teixeira LM, Facklam RR, Tenover FC. *Detection and differentiation of VanC-1, VanC-2, and VanC-3 glycopeptide resistance genes in enterococci. J Clin Microbiol* 1998;36:2294-7.
 7. 어 영, 장인호, 황규열, 윤갑준. Group B streptococci의 혈청형과 생화학 성상. 대한임상병리 학회지, 1998; 18:386-90.
 8. 어 영, 장인호, 윤갑준. 장구균의 간략 동정법 개발. 대한임상병리학회지 1999;19:57-61.
 9. Clark NC, Cooksey RC, Hill BC, Swenson JM, Tenover FC. *Characterization of glycopeptide-resistant enterococci from U.S. hospitals. Antimicrob Agents Chemother* 1993;37:2311-7.
 10. Satake S, Clark N, Rimland D, Nolte FS, Tenover FC. *Detection of vancomycin-resistant enterococci in fecal samples by PCR. J Clin Microbiol* 1997;35:2325-30.
 11. Coombs GW, Kay ID, Steven RA, Pearman JW, Bertolatti D, Grubb WB. *Should genotypic testing be done on all phenotypically vancomycin-resistant enterococci detected in hospitals? J Clin Microbiol* 1999;37:1229-30.
 12. Patel R, Piper KE, Rouse MS, Steckelberg JM, Uhl JR, Kohner P, Hopkins MK, Cockerill FR III, Kline BC. *Determination of 16S rRNA sequences of enterococci and application to species identification of nonmotile Enterococcus gallinarum isolates. J Clin Microbiol* 1998;36:3399-407.
 13. Devriese LA, Pot B, Collins MD. *Phenotypic identification of the genus Enterococcus and differentiation of phylogenetically distinct enterococcal species and species group. J Appl Microbiol* 1993;75:399-408.
 14. Pompei R, Lampis G, Berlutti F, Thaller MC. *Characterization of yellow-pigmented enterococci from severe human infections. J Clin Microbiol* 1991;29:2884-6.
 15. Descheemaeker P, Lammens C, Pot B, Vandamme P, Goossens H. *Evaluation of arbitrarily primed PCR analysis and pulsed-field gel electrophoresis of large genomic DNA fragments for identification of enterococci important in human medicine. Int J Syst Bacteriol* 1997;47:555-61.