

환자 혈액에서 분리한 Streptococcus viridans group의 동정

이종윤, 송병욱, 이재규, 한규섭, 박명희, 김의중

서울대학교 의과대학 검사의학교실

Identification of Streptococcus viridans group Isolated from the Blood of Patients

Jongyoun Yi, Byoung-Wook Song, -Kyu Lee, Kyu-Sub Han, Myoung-Hee Park, and Eui-Chong Kim

Department of Laboratory Medicine, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

Background: Streptococcus viridans group (SVG) is the normal flora of the upper respiratory tract, skin and genitourinary tract, and is the major causative agent isolated in 30-40% of bacterial endocarditis patients. However, SVG has not been properly identified to the species level for lack of diagnostic system which enables the accurate identification of SVG. Poyart et al. have recently described the identification of SVG to the species level by DNA sequencing of superoxide dismutase gene (*sodA_{int}*). Using this method, we report here the identification of SVG isolated from the patients in Seoul National University Hospital within recent 2 years.

Methods: According to the method by Poyart et al., a set of two oligonucleotides, D1 (5' -CCI TAY ICI TAY GAY GCI YTI GAR CC-3') and D2 (5' -ARR TAR TAI GCR TGY TCC CAI ACR TC-3') were used as PCR primers, and PCR products of 480-bp size were obtained. The PCR products purified by MicroSpin S-400 HR Column were sequenced using ABI-PRISM 3700 Sequence Analyzer. D1 and D2 were used as sequencing primers. The clinical isolates were respectively identified as the species showing the greatest sequence homology which was demonstrated by the BLAST program provided by NCBI(USA).

Results: Clinical strains isolated from 26 patients who had shown two or more positive blood cultures were analyzed by DNA sequencing of superoxide dismutase gene, which showed 6 strains of *S. salivarius*, five *S. oralis*, four *S. sanguis*, three *S. pasteurii*, three *S. equisimilis*, two *S. gordonii*, one *S. constellatus*, one *S. luteciae*, and one *S. mitis*. *S. salivarius* and *S. sanguis* were clearly discriminated, while *S. equisimilis* and *S. pyogenes* were not. Species identification results by conventional method seldom corresponded to those by DNA sequencing. Among 7 patients suspected to have bacterial endocarditis, *S. sanguis* were isolated in 4 patients, and *S. gordonii*, *S. oralis*, *S. pasteurii* in one, respectively. Among 17 patients with liver cirrhosis or cancer, *S. salivarius* were isolated in 6 patients, and *S. oralis* in four.

서 론

Streptococcus viridans group (SVG)은 정상인의 상기도, 피부와 비노생식기에 상재하는 세균이며, 환자의 혈액에서 드물지 않게 분리되는 세균으로 세균성 심내막염 환자의 30-40%에서 분리되는 주요 원인균이다[1]. 그러나

접수번호: CM 6-1-11

교신저자: 김의중

(110-744) 서울시 종로구 연건동 28

서울대학교 병원 진단검사의학과

TEL: (02) 760-3500 FAX: (02) 764-3698

E-mail: euichong@plaza.snu.ac.kr

Conclusions: In this study, we could identify the species of SVG isolated from the patients with bacteremia; *S. sanguis* were frequently isolated from patients with bacterial endocarditis, while *S. salivarius* from ones with malignancy. These results imply that a different group of underlying diseases could show correspondingly different group of SVG species which cause bacteremia, and we suggest that further pathophysiological study on the correlations between underlying disease and the species of SVG be performed. (*Korean J Clin Microbiol* 2003;6(1):12-17)

Key word: Streptococcus viridans, Bacteremia, Superoxide dismutase, Sequence analysis

혈액배양에서 SVG가 분리되는 경우 채혈과정에서 환자의 피부 상재균이 오염되었을 가능성이 있기 때문에, 일반적으로 동일한 균종이 2회 이상 분리된 경우를 균혈증의 원인균으로 판단한다. 현재까지 혈액 이외의 검체에서 분리된 SVG는 비병원성 세균으로 인식되어 왔고, 통상적인 항균제에 대해 대부분 감수성을 나타내므로, 정확한 균동정의 필요성이 적었다. 따라서 일반검사실에서 SVG를 정확하게 동정할 수 있는 검사시스템이 개발되지 않았기 때문에 균동정을 제대로 하지 못하고 있었다. 균혈증 및 심내막염의 진단과 치료를 위하여 최근 혈액에서 분리한 SVG의 정확한 균동정에 관한 중요성이 대두됨에 따라 혈액에서 분리한 SVG를 동정하고 그 분포를 파악할 필요가 있다. 최근 Poyart 등이 superoxide dismutase 유전자(*sodA_m*)의 DNA 염기서열을 이용하여 SVG를 동정할 수 있는 방법을 보고한 바 있다[2]. 본 연구는 이들의 방법에 따라 최근 2년간 서울대학교병원 환자 혈액에서 분리한 SVG를 동정하고자 하였다.

재료 및 방법

본 연구에서는 베타용혈을 일으키는 균종과 *S. pneumoniae*를 제외한 연쇄구균을 SVG로 정의하였다. 단, 베타용혈 연쇄구균 중 Group G의 정확한 균종명을 파악하기 위하여 이 균주를 본 연구에 포함하였다. 2000년부터 2001년까지 2년간 서울대학교병원 환자의 혈액에서 분리된 모든 SVG를 10% skim milk에 풀어 -60℃ 초저온냉동고에 보관하였다. 환자 병력지를 조사하여 2회 이상 분리된 SVG를 혈액한천배지에 배양한 다음 용혈양상을 관찰하고, catalase검사와 그람염색 등을 실시하여 SVG임을 재확인하였다.

DNA 추출은 Cartwright 등의 방법을 다소 변경하여 다음과 같이 실시하였다[3]. 혈액한천배지에 증식한 균집락을 TEN buffer (50 mM Tris-HCl, 100 mM NaCl, 1 mM EDTA, pH 8.0)에 풀어 2.0 McFarland Standard로 맞춘 다음, 그 중 1 mL을 원심 후 상층액을 흡인하여 버리고, lysozyme 5 mg이 들어 있는 TEN buffer 0.5 mL을 가하고 vortex로 혼합하였다. 37℃ 수조에서 30분간 둔 다음, 10% SDS를 0.2 mL 가하여 최종농도가 3% 되도록 한 다음 37℃ 수조에서 30분간 두었다. Phenol/chloroform/isoa-

mylcohol 0.7 mL을 가하고, 15초간 vortex한 다음 3분간 원심하였다. 상층액 0.5 mL을 새 microtube에 옮겨 담고, 차가운 100% ethanol 1 mL을 가한 다음 -20℃에 2시간 이상 두었다. 4℃에서 12,000 X g로 5분간 원심하고, 상층액을 흡인하여 버린 다음 SpeedVac (Savant)에서 20분간 원심하여 침사를 건조시키고, TE buffer (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0) 50μL로 녹여서 PCR의 DNA template로 사용하였다.

Poyart 등의 방법에 따라[2], PCR을 위한 primer로는 D1 (5' -CCI TAY ICI TAY GAY GCI YTI GAR CC-3')과 D2 (5' -ARR TAR TAI GCR TGY TCC CAI ACR TC-3')을 사용하였으며, 94℃에서 45초, 50℃에서 45초, 72℃에서 45초의 PCR cycle을 35회 반복하여, 480-bp 크기의 PCR 산물을 얻었다. MicroSpin S-400 HR Column으로 순수분리한 PCR 산물을 ABI-PRISM 3700 Sequence analyzer를 이용하여 염기서열을 분석하였다. 염기서열분석을 위한 primer로는 D1과 D2를 사용하였다. 미국 NCBI에서 제공하는 BLAST 프로그램으로 상동성이 가장 높은 염기서열을 찾아서 균명을 동정하였다.

결 과

혈액배양에서 최소한 2회 이상 균이 분리된 환자 총 26명의 균주에 대하여 superoxide dismutase 유전자 염기서열을 분석한 결과 *S. salivarius* 6주, *S. oralis* 5주, *S. sanguis* 4주, *S. pasteurii* 3주, *S. equisimilis* 3주, *S. gordonii* 2주와 그리고 *S. constellatus*, *S. luteciae*, *S. mitis*가 각각 1주씩으로 확인되었다. 각 균주의 상동성 백분율에 따른 균명을 Table 1에 표시하였다. Superoxide dismutase 유전자 염기서열의 상동성을 이용하여, *S. salivarius*와 *S. sanguis*는 명확하게 감별되었으나, *S. equisimilis*는 *S. pyogenes*와 감별하기 어려웠다. 전통적인 방법으로 동정한 결과들은 염기서열 분석에서 얻은 균명과 거의 일치하지 않았다 (Table 2). 분리된 균종에 따라 환자들의 질병명을 Table 3에 표시하였다. 세균성 심내막염이 의심되는 7명 중 4명에서 *S. sanguis*가 분리되었고, *S. gordonii*, *S. oralis*, *S. pasteurii*가 각각 한 명에서 분리되었다. 간경화를 포함한 각종 암환자 17명 중 6명에서 *S. salivarius*가 분리되었고, 4명에서 *S. oralis*가 분리되었다.

Table 1. Identification of *Streptococcus viridans* group by sequencing of the gene encoding the manganese-dependent superoxide dismutase

Strain No.	1st	2nd	3rd	No. of bases for the homology search
SVI-1	<i>S. gordonii</i> (99%)	<i>S. sanguis</i> (86%)	<i>S. mitis</i> (84%)	425
SVI-2	<i>S. mitis</i> (96%)	<i>S. pneumoniae</i> (94%)	<i>S. peroris</i> (94%)	352
SVI-3	<i>S. oralis</i> (99%)	<i>S. mitis</i> (95%)	<i>S. pneumoniae</i> (94%)	454
SVI-4	<i>S. salivarius</i> (100%)	<i>S. thermophilus</i> (90%)	<i>S. vestibularis</i> (90%)	425
SVI-5	<i>S. sanguis</i> (96%)	<i>S. gordinii</i> (87%)	<i>S. constellatus</i> (83%)	450
SVI-6	<i>S. oralis</i> (96%)	<i>S. mitis</i> (93%)	<i>S. pneumoniae</i> (92%)	456
SVI-7	<i>S. sanguis</i> (97%)	<i>S. gordinii</i> (88%)	<i>S. parasanguis</i> (83%)	428
SVI-8	<i>S. sanguis</i> (96%)	<i>S. gordonii</i> (87%)	<i>S. parasanguis</i> (84%)	402
SVI-10	<i>S. salivarius</i> (100%)	<i>S. thermophilus</i> (90%)	<i>S. vestibularis</i> (90%)	363
SVI-11	<i>S. luteciae</i> (100%)	<i>S. equinus</i> (89%)	<i>S. bovis</i> (89%)	375
SVI-12	<i>S. equisimilis</i> (99%)	<i>S. pyogenes</i> (99%)	<i>S. canis</i> (92%)	424
SVI-13	<i>S. salivarius</i> (99%)	<i>S. thermophilus</i> (90%)	<i>S. vestibularis</i> (90%)	412
SVI-14	<i>S. pasteurii</i> (100%)	<i>S. gallolyticus</i> (96%)	<i>S. caprinus</i> (96%)	406
SVI-15	<i>S. constellatus</i> (98%)	<i>S. anginosus</i> (96%)	<i>S. intermedius</i> (83%)	427
SVI-17	<i>S. salivarius</i> (99%)	<i>S. vestibularis</i> (90%)	<i>S. thermophilus</i> (90%)	392
SVI-18	<i>S. equisimilis</i> (99%)	<i>S. pyogenes</i> (99%)	<i>S. canis</i> (92%)	406
SVI-19	<i>S. oralis</i> (95%)	<i>S. mitis</i> (94%)	<i>S. pneumoniae</i> (93%)	378
SVI-20	<i>S. salivarius</i> (99%)	<i>S. thermophilus</i> (91%)	<i>S. vestibularis</i> (91%)	429
SVI-21	<i>S. gordonii</i> (99%)	<i>S. sanguis</i> (87%)	<i>S. cristatus</i> (87%)	370
SVI-22	<i>S. pasteurii</i> (100%)	<i>S. gallolyticus</i> (96%)	<i>S. caprinus</i> (96%)	434
SVI-24	<i>S. pasteurii</i> (100%)	<i>S. gallolyticus</i> (96%)	<i>S. caprinus</i> (96%)	372
SVI-25	<i>S. sanguis</i> (99%)	<i>S. gordonii</i> (87%)	<i>S. constellatus</i> (84%)	359
SVI-26	<i>S. salivarius</i> (99%)	<i>S. thermophilus</i> (91%)	<i>S. vestibularis</i> (90%)	375
SVI-27	<i>S. equisimilis</i> (99%)	<i>S. pyogenes</i> (99%)	<i>S. canis</i> (92%)	371
SVI-28	<i>S. oralis</i> (96%)	<i>S. mitis</i> (93%)	<i>S. pneumoniae</i> (92%)	401
SVI-29	<i>S. oralis</i> (100%)	<i>S. mitis</i> (95%)	<i>S. pneumoniae</i> (93%)	360

*percentages of parentheses are those of homology obtained from BLAST search.

고 찰

연쇄구균은 catalase 음성, 그람양성 구균으로서, 일반적으로 혈액한천배지에서 쉽게 증식한다. 그러나 베타용혈을 일으키는 균종과 *S. pneumoniae*를 제외하고는 연쇄구균을 생화학적 방법으로 동정하기가 쉽지 않으며, 대부분 항균제에 대하여 감수성이고, 병원성이나 균독성이 거의 없기 때문에 임상에서는 정확한 균동정이 크게 문제되지 않고 있다. 따라서 일반적으로 진단검사의학과에서는 베타용혈을 일으키는 균종과 *S. pneumoniae*를 제외한 연쇄구균을 *Streptococcus viridans* group (SVG)로 보고하고 있다. Vitek이나 Microscan 등의 자동화 동정기기를 사용하는 일부 검사실에서는 기기에서 동정이 된 균명을 그대로 보고하며, 기기에서 동정이 되지 않은 경우 SVG로 보고하고 있다. Koneman 등은 rRNA의 염기서열을 분

석하여 연쇄구균을 다음과 같이 크게 7개의 그룹으로 분류하였다[4]. Group I은 pyogenic group으로서 *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. equi*, *S. dysgalactiae*, Group G streptococci, *S. uberis*, *S. parauberis*, *S. iniae*, *S. canis*, *S. porcinius*, *S. intestinalis*, *S. phocae* 등이 이 그룹에 속한다. Group II는 “*S. bovis*” group으로서 *S. bovis*, *S. equinus*, *S. alactolyticus*가 있다. Group III는 “*S. mitis*” group으로 *S. mitis*, *S. gordonii*, *S. pneumoniae*, *S. oralis*, *S. sanguis*, *S. parasanguis*가 이 그룹에 속한다. Group IV는 “*S. mutans*” group으로 *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. cricetus*, *S. macacae*, *S. tatus*, *S. downei*, *S. ferus*가 있다. Group V는 “*S. salivarius*” group으로서 *S. salivarius*, *S. thermophilus*, *S. vestibularis*가 있다. Group VI는 “*S. milleri*” group으로 *S. anginosus*, *S. constellatus*, *S. intermedius*가 있다. Group VII는 기타 그룹으로서 *S. acidominimus*, *S. suis*, *S.*

Table 2. Comparison of identification results between sequence analysis and conventional method

Strain No.	Sequence analysis	Conventional method or VITEK GPI
SVI-1	<i>S. gordonii</i>	<i>S. viridans</i>
SVI-2	<i>S. mitis</i>	<i>S. viridans</i>
SVI-3	<i>S. oralis</i>	<i>S. mitis</i>
SVI-4	<i>S. salivarius</i>	<i>S. viridans</i>
SVI-5	<i>S. sanguis</i>	<i>S. viridans</i>
SVI-6	<i>S. oralis</i>	<i>S. viridans</i>
SVI-7	<i>S. sanguis</i>	<i>S. uberis</i>
SVI-8	<i>S. sanguis</i>	<i>S. viridans</i>
SVI-10	<i>S. salivarius</i>	<i>S. salivarius</i>
SVI-11	<i>S. luteciae</i>	<i>S. viridans</i>
SVI-12	<i>S. equisimilis</i>	Group G beta-haemolytic streptococci
SVI-13	<i>S. salivarius</i>	"Streptococcus, group D (non-enterococcal)"
SVI-14	<i>S. pasteurii</i>	<i>S. bovis</i> -variant
SVI-15	<i>S. constellatus</i>	"Streptococcus, group D (non-enterococcal)"
SVI-17	<i>S. salivarius</i>	<i>S. viridans</i>
SVI-18	<i>S. equisimilis</i>	Group G beta-haemolytic streptococci
SVI-19	<i>S. oralis</i>	<i>S. viridans</i>
SVI-20	<i>S. salivarius</i>	<i>S. viridans</i>
SVI-21	<i>S. gordonii</i>	<i>S. viridans</i>
SVI-22	<i>S. pasteurii</i>	<i>S. bovis</i> -variant
SVI-24	<i>S. pasteurii</i>	<i>S. equinus</i>
SVI-25	<i>S. sanguis</i>	<i>S. uberis</i>
SVI-26	<i>S. salivarius</i>	<i>S. viridans</i>
SVI-27	<i>S. equisimilis</i>	Group G beta-haemolytic streptococci
SVI-28	<i>S. oralis</i>	<i>S. viridans</i>
SVI-29	<i>S. oralis</i>	<i>S. mitis</i>

pleomorphus 등이 있다.

그러나, 1997년 26개의 균종으로 구성된 SVG를 크게 5개의 군, Mutans group, Salivarius group, Anginosus group, Sanguinis group, Mitis group으로 다시 분류하였다[5]. *S. sanguinis*는 *S. sanguis*로도 불리우며, 아급성 세균성 심내막염 환자에서 가장 흔히 분리된다. 아급성 세균성 심내막염을 일으키는 SVG로는 현재까지 *S. sanguis*, *S. oralis*, *S. gordonii*, *S. mitis*, *S. mutans*와 *S. salivarius*가 주요 원인 균이라고 알려졌다. SVG에 의한 심내막염은 심장판막질환이 있는 환자에서 가장 흔하며, 이 균들이 구강내에 존재하다가 구강내 청결상태가 나쁘거나, 치주질환이 있으면 감염을 일으킨다. 면역기능이 저하된 환자에서 SVG에 의한 균혈증의 위험인자로는 cytosine arabinoside와 같은 세포독성약물을 다량 투여하거나, 구강내 궤양병변이 있거나, 항균제로 치료받지 않고 있거나, 백혈구수가 심하게 감소한 경우이다. 이 경우에도 구강내 점막 손상으로 인해 세균이 혈관내로 침투하는 것으로 알려져 있으며, *S. oralis*, *S. mitis*, *S. salivarius* 등이 흔히 분리된다.

미국의 CDC에서는 *S. intermedius*, *S. constellatus*와 *S.*

*anginosus*를 "*S. milleri*" group에 포함시켰다. 1987년 Coykendall 등은 DNA hybridization검사를 통하여 "*S. milleri*" group이 하나의 독립된 균종임을 증명하고 *S. anginosus*라고 명명할 것을 주장하였다[6]. 그 후 1991년 Whiley와 Beighton은 표현형과 유전학적인 자료를 추가하여 다시 세 개의 균종(*S. intermedius*, *S. constellatus*, *S. anginosus*)으로 나누었다[7]. 또한 이들은 *S. intermedius*가 간농양과 뇌농양과 관련이 깊고, *S. anginosus*는 위장관 또는 비노생식기에서 유래된 감염증과 관련이 있다고 하였다[8]. 현재 *S. milleri*란 균명은 공식적으로 인정되지 않고 있다[5].

Group G beta-hemolytic streptococci에는 *S. dysgalactiae* subspecies *equisimilis*, *S. milleri*, *S. canis*와 *S. intestinalis*가 있다. Woo 등의 보고에 의하면 66명의 환자혈액에서 분리한 Group G beta-hemolytic streptococci가 16S ribosomal RNA 분석을 통하여 모두 *S. dysgalactiae* subspecies *equisimilis*이었다[9]. 본 연구에서도 3명의 환자에서 분리한 Group G beta-hemolytic streptococci는 모두 *S. dysgalactiae* subspecies *equisimilis*이었다. 그러나, 본 연구

Table 3. Underlying disorders of patients according to the species

	Strain No.	Sex/age	Underlying disorder
<i>S. constellatus</i>	SVI-15	F/59	Pancreatic cancer
<i>S. equisimilis</i>	SVI-12	M/13	Aplastic anemia
	SVI-18	M/65	Gastric cancer
	SVI-27	M/66	Pharyngitis
	SVI-1	M/60	Hepatocellular carcinoma
<i>S. gordonii</i>	SVI-21	F/77	Rheumatic mitral valve disease
<i>S. luteciae</i>	SVI-11	M/47	Liver cirrhosis
<i>S. mitis</i>	SVI-2	M/41	Hepatocellular carcinoma
<i>S. oralis</i>	SVI-3	M/38	Renal cell carcinoma
	SVI-6	F/45	Mitral regurgitation
	SVI-19	M/31	Malignant lymphoma
	SVI-28	F/68	Multiple myeloma
	SVI-29	F/68	Intestinal obstruction
	SVI-14	M/48	Liver cirrhosis
<i>S. pasteurii</i>	SVI-22	F/58	Ventricular septal defect
	SVI-24	M/62	Liver cirrhosis
	SVI-4	M/57	Klatskin's tumor
<i>S. salivarius</i>	SVI-10	M/4	Acute biphenotypic leukemia
	SVI-13	F/42	Acute lymphocytic leukemia
	SVI-17	F/3	Neuroblastoma
	SVI-20	M/7	Acute lymphocytic leukemia
	SVI-26	M/49	Liver cirrhosis
	<i>S. sanguis</i>	SVI-5	F/27
SVI-7		M/12	Subacute bacterial endocarditis
SVI-8		F/68	Infective endocarditis
SVI-25		F/51	Aortic regurgitation

에서 지적해야 할 사항은 Table 1에서와 같이 superoxide dismutase 유전자 분석에 의하여, *S. dysgalactiae* subspecies *equisimilis* 세 균주 모두 *S. pyogenes*와 감별이 되지 않았다는 점이다. 이 균주들은 라텍스응집검사를 통하여 Group G라는 것을 확인하였다.

Table 2에서와 같이, 전통적인 방법이나 자동화 기기에 의하여 동정된 결과가 염기서열분석을 통한 결과와 크게 달랐기 때문에, 전통적인 방법이나 자동화 기기를 사용하여 SVG를 정확하게 동정하는 것은 매우 힘들다는 것을 본 연구를 통하여 알게 되었다. 자동화 기기를 사용하더라도 균명이 밝혀지지 않아서 SVG로 보고하는 경우가 많았다. 일반 병원검사실에서 SVG를 정확하게 동정하기 위하여 Ruoff 등이 제안한 전통적인 방법을 실시하기란 거의 불가능하다[10]. 따라서 정확한 균동정이 절실히 요구되지 않는 상황에서는 더 이상 동정하지 않고, SVG로 보고하는 것이 타당하다고 생각한다. 현재까지 SVG의 균동정을 위하여 가장 믿을 만한 방법은 superoxide dismutase 유전자(*sodA_{int}*)의 DNA 염기서열분석이므로, 균동정이 필요한 경우에는 전통적인 방법으로 동정하려

고 노력하지 말고, 처음부터 *sodA_{int}*의 DNA 염기서열을 분석하는 것을 권장하고 싶다.

본 연구를 통하여 균혈증 환자에서 분리된 SVG의 균종을 정확하게 파악할 수 있었으며, 세균성 심내막염 환자에서는 *S. sanguis*가 많이 분리되었고, 악성종양환자에서는 *S. salivarius*가 많이 분리되었다. 이는 기저질환에 따라 균혈증을 일으키는 SVG의 균종이 다를 수 있음을 제시하며, 앞으로 기저질환과 SVG 균종의 인과관계에 대한 병태생리학적 연구가 추가되어야 할 것으로 생각한다.

요 약

배 경 : Streptococcus viridans group (SVG)은 정상인의 상기도, 피부와 비노생식기에 상재하는 세균이며, 세균성 심내막염 환자의 30-40%에서 분리되는 주요 원인균이다. 그러나 SVG를 정확하게 동정할 수 있는 검사시스템이 개발되지 않았기 때문에 균동정을 제대로 하지 못하고 있었다. 최근 Poyart 등이 superoxide dismutase 유전자(*sodA_{int}*)의 DNA 염기서열을 이용하여 SVG를 동정

할 수 있는 방법을 보고한 바 있다. 본 연구는 이들의 방법에 따라 최근 2년간 서울대학교병원 환자 혈액에서 분리한 SVG를 동정하고자 하였다.

방 법 : Poyart 등의 방법에 따라 PCR을 위한 primer로는 D1 (5'-CCI TAY ICI TAY GAY GCI YTI GAR CC-3')과 D2 (5'-ARR TAR TAI GCR TGY TCC CAI ACR TC-3')을 사용하였으며, 480-bp 크기의 PCR 산물을 얻었다. MicroSpin S-400 HR Column으로 순수분리한 PCR 산물을 ABI-PRISM 3700 Sequence analyzer를 이용하여 염기서열을 분석하였다. 염기서열분석을 위한 primer로는 D1과 D2를 사용하였다. 미국 NCBI에서 제공하는 BLAST 프로그램으로 상동성이 가장 높은 염기서열을 찾아서 균명을 동정하였다.

결 과 : 혈액배양에서 최소한 2회 이상 균이 분리된 환자 총 26명의 균주에 대하여 superoxide dismutase 유전자 염기서열을 분석한 결과 *S. salivarius* 6주, *S. oralis* 5주, *S. sanguis* 4주, *S. pasteurii* 3주, *S. equisimilis* 3주, *S. gordonii* 2주와 그리고 *S. constellatus*, *S. luteciae*, *S. mitis*가 각각 1주씩으로 확인되었다. *S. salivarius*와 *S. sanguis*는 명확하게 감별되었으나, *S. equisimilis*는 *S. pyogenes*와 감별하기 어려웠다. 전통적인 방법으로 동정한 결과들은 염기서열 분석에서 얻은 균명과 거의 일치하지 않았다. 세균성 심내막염이 의심되는 7명 중 4명에서 *S. sanguis*가 분리되었고, *S. gordonii*, *S. oralis*, *S. pasteurii*가 각각 한 명에서 분리되었다. 간경화를 포함한 각종 암환자 17명 중 6명에서 *S. salivarius*가 분리되었고, 4명에서 *S. oralis*가 분리되었다.

결 론 : 본 연구를 통하여 균혈증 환자에서 분리된 SVG의 균종을 정확하게 파악할 수 있었으며, 세균성 심내막염 환자에서는 *S. sanguis*가 많이 분리되었고, 악성종양환자에서는 *S. salivarius*가 많이 분리되었다. 이는 기저질환에 따라 균혈증을 일으키는 SVG의 균종이 다를 수 있음을 제시하며, 앞으로 기저질환과 SVG 균종의 인과관계에 대한 병태생리학적 연구가 추가되어야 할 것으로 생각한다.

참 고 문 헌

1. Bayer AS, Scheld WM. *Endocarditis and intravascular*

- infections*. In : Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, ed. *Principle and practice of infectious diseases*. 5th ed. Philadelphia, Churchill Livingstone, 2000:857-902.
2. Poyart C, Quesne G, Coulon S, Berche P, Trieu-Cuot P. *Identification of streptococci to species level by sequencing the gene encoding the manganese-dependent superoxide dismutase*. *J Clin Microbiol* 1998;36:41-7.
3. Cartwright CP, Stock F, Beekmann SE, Williams EC, Gill VJ. *PCR amplification of rRNA intergenic spacer regions as a method for epidemiologic typing of Clostridium difficile*. *J Clin Microbiol* 1995;33:184-7.
4. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn, Jr. WC. *Color atlas and textbook of diagnostic microbiology*. 5th ed. New York: Lippincott. 1997;577-649.
5. Facklam R. *What happened to the streptococci: Overview of taxonomic and nomenclature changes*. *Clin Microbiol Rev* 2002;15:613-30.
6. Coykendall AL. *Classification and identification of the viridans streptococci*. *Clin Microbiol Rev* 1989;2:315-28.
7. Whiley RA, Beighton D. *Amended description and recognition of Streptococcus constellatus, Streptococcus intermedius, and Streptococcus anginosus as distinct species*. *Int J Syst Bacteriol* 1991;41:1-5.
8. Whiley RA, Beighton D, Winstenley TG, Frayser HY, Hardie JM. *Streptococcus constellatus, Streptococcus intermedius, and Streptococcus anginosus (the Streptococcus milleri group): association with different body sites and clinical infections*. *J Clin Microbiol* 1992;30:243-4.
9. Woo PCY, Fung AMY, Lau SKP, Wong SSY, Yuen KY. *Group G beta-hemolytic streptococcal bacteremia characterized by 16S ribosomal RNA gene sequencing*. *J Clin Microbiol* 2001;39:3147-55.
10. Ruoff KL, Whiley RA, Beighton D. *Streptococcus*. In : Murray PR, Barron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH. ed. *Manual of Clinical Microbiology*, 7th ed. ASM Press, Washington DC, 1999:283-8.