

## 지역사회와 병원에서 페니실린 내성 폐렴구균 감염의 임상적 특징 및 분자유전학적 성상

고려대학교 의과대학 내과학교실, 국립보건원 세균질환부 분자세균과\*

정희진 · 황병연 · 박정원 · 김우주 · 김민자 · 박승철 · 이영희\*

### Clinical and Genetic Characteristics of Infection by Penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* from Community and Hospital

Hee-Jin Cheong, M.D., Byung-Yoen Hwang, M.D., Cheong-Won Park, M.D.  
Woo-Joo Kim, M.D., Min-Ja Kim, M.D., Seung-Chull Park, M.D. and Young Hee Lee\*

Department of Internal Medicine, Korea University College of Medicine  
Laboratory of Molecular Bacteriology, Department of Bacterial Diseases,  
National Institute of Health\*, Seoul, Korea

**Background :** During the last three decades, the resistance of *S. pneumoniae* to penicillin has been rapidly increasing in many parts of the world, especially in Korea. To characterize the clinical features and epidemiology of penicillin-resistant *S. pneumoniae* (PRSP) infections in the community and hospital, as well as to investigate the possible spread of resistant clone, we performed the antimicrobial susceptibility tests, pulsed field gel electrophoresis (PFGE) and penicillin-binding protein (PBP) profile analysis of PRSP isolates.

**Methods :** A total 48 PRSP isolates from patients who visited or were admitted to Korea University Guro hospital during the period from July 1998 to June 1999 were studied. Antimicrobial susceptibility tests for 48 isolates were performed with microbroth dilution method to determine the minimal inhibitory concentration of 11 antibiotics. 39 isolates and 35 isolates were subjected to PFGE and PBP profile analysis, respectively to investigate the genetic relatedness between PRSP isolates.

**Results :** Pneumonia was most common site of infection in the community and the hospital as 50%. There were no significant differences of clinical features and prognosis between community and hospital

isolates. But, patients with serious underlying diseases had poor prognosis despite of acquisition site. High level penicillin resistance were observed in 69%, multi-drug resistance were 64.6% of isolates. PFGE showed that 13 of 29 community acquired infection were identical PFGE pattern but not that of 23F Spanish clone. There were various PFGE patterns were observed from community and hospital acquired infection isolates. Some of them were existed in both. PBP profiles showed more diverse, even if in isolates of the same PFGE pattern.

**Conclusion :** In our study, high level penicillin resistance and multi-drug resistance were observed in PRSP clinical isolates. No clinical and prognostic differences were observed between community and hospital acquired infections. Molecular epidemiology study were suggest the there were various genotypes of PRSP within our society. Some of them were observed in the hospital and community. Therefore, there was an evidence of communication of PRSP clones between the community and hospital. (Korean J Infect Dis 33:112~122, 2001)

**Key Words :** Penicillin-resistant *S. pneumoniae*, Community, Hospital

\*본 연구는 보건복지부의 보건 의료기술개발연구과제(HMP-98-M-1-0006)의 지원에 의한 결과임.

접수 : 2000년 12월 22일, 승인 : 2001년 2월 8일

교신 저자 : 김우주, 고려의대 구로병원 감염내과

Tel : 02)818-6648, Fax : 02)853-6030, E-mail : wjkim@korea.ac.kr

## 서론

폐렴 구균(*Streptococcus pneumoniae*)은 성인에서의 지역사회 획득폐렴의 가장 흔한 원인균일 뿐 아니라 부비동염, 중이염 및 수막염 등의 주요 원인균으로서 각종 지역사회 획득감염에 있어 가장 중요한 병원균 중 하나이다. 폐렴구균에 의한 각종 감염증은 페니실린이 개발 사용되면서 치료에 폐렴구균에 의한 각종 감염증은 페니실린이 개발 사용되면서 치료에 어려움이 없어왔으나 1967년 처음으로 환자의 임상 검체에서 중등도 내성을 보이는 균주가 보고된 이래<sup>1)</sup>, 지난 30년 동안 세계 각국에서 항생제 내성율이 급속도로 증가하고 있다<sup>2, 3)</sup>. 폐렴구균의 항생제 내성은 헤파리, 스페인 등에서 각각 59%, 44%의 페니실린 내성율을 보이며<sup>4, 5)</sup>, 최근 미국도 일부 지역에서 25%의 내성율이 보고된 바 있다<sup>6, 7)</sup>. 국내에서는 폐렴구균의 내성은 1995년 페니실린 내성율이 무려 70~77%에 이른다는 것이 보고된 이후<sup>8-10)</sup>, 항생제 내성의 심각성이 알려지게 되었으며 이에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 페니실린 내성뿐 아니라 3가지 이상의 약제에 동시 내성을 나타내는 다제내성 균주의 빈도 역시 증가하고 있다<sup>11)</sup>. 특히 다제내성 균주는 페니실린의 사용량이 감소하고 세팔로스포린의 사용량이 많아진 국내 실정에서는 더욱 심각한 의미를 갖는다. 국내에서 폐렴구균의 항생제 내성 문제는 최근 제기되었으나, 페니실린 내성의 빈도가 외국에 비하여 월등히 높고 비교적 단기간에 내성율이 급격히 증가한 이유에 대한 원인이 분명치 않다. 이전의 연구에서 스페인에 그 뿌리를 두고 있는 23F 혈청형의 페니실린 내성 clone이 대륙간 전파를 통하여 전세계로 확산되었음이 보고된 바 있고, 국내 연구에서도 23F 스페인 clone이 페니실린 내성 폐렴구균의 주종을 이룬다고 보고하고 있다. 그러나 이들 연구는 국내의 일부 대형병원에서 수집된 폐렴구균을 대상으로 이루어진 결과로서 국내의 전체의 실정을 그대로 반영한다고 보기는 어렵다.

또한 최근 들어서는 페니실린 내성 폐렴구균이 지역사회에서만 획득되는 병원균이 아니라 각종 면역저하 또는 노령 환자들의 입원이 많아지면서 이들 간의 전파에 의해 병원내에서도 획득되며 이러한 경우 사망률이 유의하게 높다는 연구결과도 보고된 바 있다<sup>12)</sup>.

이에 저자 등은 서울의 남서부지역에 위치하면서 남서부 서울과 경기도 환자들이 주 환자군을 이루고 있는 고대 구로병원을 중심으로 하여 페니실린 내성 폐렴구균이 분리된 환자들의 임상상을 분석하고 지역사회 획득균과 병원획득균

간의 임상상 및 예후의 차이를 비교하며 항생제 감수성 검사를 통하여 페니실린 내성 폐렴구균의 다제 내성율을 구하고, 혈청형과 PFGE 분석을 통하여 병원획득균과 지역사회 획득균간의 유전적 상관성을 서로 비교하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 대 상

1998년 7월부터 1999년 6월까지 고대 구로병원에 입원하거나 외래에 방문한 환자들 중에서 페니실린 내성 폐렴구균이 분리된 48명으로부터 수집된 균주를 대상으로 하여 임상양상(연령, 성별, 획득장소, 감염형태, 분리 검체 및 기저질환 등)을 조사하였다. 병원에 입원한 48시간 후에 채취된 검체로부터 페니실린 내성 폐렴구균이 검출되었으면서, 이전에 폐렴구균이 분리된 적이 없고 입원당시 상병명이 폐렴이나 패혈증 등 폐렴구균에 의해 유발되었을 가능성이 있는 질환이 아닌 경우를 병원 획득 감염으로 정의하였고, 그 외는 지역사회 획득성 감염으로 정의하였다. 감염형태의 정의에 있어 폐렴은 흉부 방사선 사진상에서 폐렴양 침윤이 보이면서 열과 객담, 기침 등의 호흡기 증상이 있는 경우로 하였고 그 외의 하기도 감염은 증상만으로는 폐렴과 감별이 되지 않으나 흉부 방사선 사진상에서 폐렴양 침윤이 보이지 않는 경우로 정의하였다. 감염성 병원균이 아닌 집락균으로 판정하는 경우는 호흡기 검체에서 분리되었다 하더라도 임상적으로 급성 호흡기 감염의 증거가 없는 경우로 하였다.

### 2. 방 법

#### 1) 항생제 감수성 검사

페니실린 내성 폐렴구균(PRSP)은 1 ug oxacillin 디스크(Becton Dickinson Microbiology System)를 이용하여 디스크 확산법으로 페니실린에 대한 내성 여부를 검사하여 확인된 균주들만을 포함하였으며 이 균주들을 대상으로 penicillin, erythromycin, cefuroxime, cefotaxime, trimethoprim/sulfamethoxazole, tetracycline, chloramphenicol (이상 Sigma chemical, USA), imipenem (Choong-wae pharmacy, Co., Korea), vancomycin (Eli Lilly & Co., USA), teicoplanin (Aventis, France), levofloxacin (Cheil pharmacy, Co., Korea)에 대한 최소억제농도(minimal inhibitory concentration, MIC)를 NCCLS의 기준에 의거하여 액체배지 희석법을 이용하여 시험하였다. 표준균주로는 *S. pneumoniae* ATCC 49619, *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 29213을 이용하였다.

## 2) 혈청형 검사

PRSP의 혈청형은 group-specific antisera를 이용한 Quellung 반응으로 검사하였다.

## 3) Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)

총 38 균주를 대상으로 PFGE를 시행하였다. 각 시험균주를 5mL의 brain heart infusion broth에서 배양한 후 원심분리로 침전시키고 PIV buffer (10 mM Tris HCl pH 7.6, 1 M NaCl)로 세척하였다. 세균 부유액을 동량의 1.3% 저융점 한천(FMC Bioproducts, Pockland, USA)과 혼합하여 한천 틀에 넣어 4℃에서 냉각시켜 고형화하였다. 각 한천 block을 lysis buffer (6 mM Tris HCl, 100 mM EDTA, 1 M NaCl, 0.5% brij 58, 0.2% sodium deoxycholate, 0.5% sodium lauryl sarcosine)에 넣고 37℃에서 항온보관하여 세균세포를 용해하였다. 이를 4 mL의 proteolytic buffer (0.5M EDTA pH 8.0, 10% sodium lauryl sarcosine, 2 mg/mL의 proteinase K)에 넣어 50℃에서 2일간 보관하였다. 세포 파편과 proteinase K 활성은 TE buffer (10 mL Tris HCl pH 7.6, 1 mM EDTA)로 3회 세척하여 제거하였다. 제한효소 처리를 위하여 한천 plug를 얇게 자른 후 40U의 SmaI로 처리하여 실온에서 염색체 DNA를 소화시켰다. PFGE는 contour-clamped homogenous electric field apparatus (CHEF-DR III system, BioRad Lab, USA)을 이용하여 5.4 v/cm으로 14℃에서 20시간 시행하였다. Pulse time은 1초에서 30초까지로 하였다. 절편크기 기준자로는 bacteriophage lambda에서 분리한 DNA concatemer를 이용하였다. PFGE로 절단된 DNA 절편 양상의 육안적 분석은 Tenover 등이 제시한 기준에 따라 시행하였다. 컴퓨터에 tiff file로 입력된 PFGE gel 영상을 GelCompar version 4.1 (Applied Maths, Kortrijk, Belgium) 프로그램을 이용하여 덴드로그램(dendrogram) 분석을 시도하였다. Cluster 분석은 UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic means) 방법으로 algorithm을 구성하여 균주들간의 correlation coefficient로서 분자적 친밀도를 결정하였다.

## 4) Penicillin binding protein (PBP)의 PCR-restriction fragment length polymorphism (RFLP) 분석

PFGE에 이용되었던 동일한 균주들을 PBP 유전자의 분석에도 이용하였다. High pure PCR template preparation kit (BMS, USA)를 이용하여 PRSP의 염색체 핵산을 분리하여 PBP 1A, 2X, 2B를 표적으로 하는 시발자(PBP 1A-F, 5'-GGCATTCGATTTGATTCGCTTCTATCAT-3'; PBP 1A-R, 5'-CTGAGAAGATFTCTTAGGCTTTTG-3'; PBP 2B-F, 5'-GATCCTCTAAATG ATTCTCAGGTGGCTGT-3'; PBP 2B-R,

5'-GTCAATTAGCTTAGCAATAGGTGTTGGAT-3'; PBP 2X-R, 5'-CGTGGGACTATTTATGACCGAAATGGAG-3'; PBP 2X-F, 5'-GGCGAA TTCCAGCACTGATGGAAATAA-3')를 합성한 후 중합효소 연쇄반응을 통하여 각각의 PBP 유전자 부위를 증폭하였다. 이들 primer를 이용하여 template DNA 1μg, primer 20 pmol (각각), dNTP's 200 μM, Taq polymerase (BMS, USA) 5U, 10X buffer 10 μL, 삼차 증류수를 혼합하여 총 50 μL가 되도록 하였다. 중합효소 연쇄반응은 thermal cycler (GeneAmp PCR System 9600, Perkin Elmer, USA)를 이용하여 95℃에서 5분간 반응시킨 후 95℃ denaturation 1분, 53℃ annealing 1분, 72℃ extension 3분을 30회 반복하였으며, 72℃에서 10분간 final extension을 시행하였다. 획득한 PBP 유전자의 증폭산물을 제한효소인 Hinf 로 절단한 후 3% 한천 겔에서 전기 영동 하였고 각 밴드의 분포를 확인하였다.

## 5) 임상자료의 분석

PRSP가 분리된 환자들의 임상 자료 및 경과, 예후 등을 분석하였다. SPSS 8.0을 이용하였으며 연속변수는 t-test로, 명목 변수는  $\chi^2$  test를 이용하였다.

## 결 과

### 1. PRSP가 분리된 환자들의 임상 역학적 자료 분석

연구기간 중 PRSP이 분리된 환자들은 여자 16명, 남자 32명으로 남자에서 많았으며 평균 연령은 48세이었다. 환자들의 기저 질환의 분포를 보면 고혈압 등의 악성종양을 동반한 경우가 14예로서 29.2%를 차지하였고 그 이외에도 만성 폐쇄성 폐질환 9예, 심혈관계 질환 8예, 당뇨병 6예, 간경변 3예 등이었다. PRSP에 의해 유발된 감염질환은 폐렴이 가장 많아 50.0% (24/48예)를 차지하였고 패혈증이 3예, 뇌막염이 3예, 부비동염과 같은 상부호흡기 감염이 6예이었으며, 임상적 심각성이 없는 단순 집락화로 판명된 경우도 12예가 있었다. PRSP의 획득장소에 따라 병원 획득 감염과 지역사회 획득 감염으로 구분하여 양군에서 분리된 페니실린 내성 폐렴구균의 임상상을 비교하였다(Table 1). 양군간의 성별 및 연령의 차이는 없었으며 기저질환 또한 유사한 분포를 보였다. 폐렴이 원발병소인 경우 역시 양군에서 각각 50%로 차이가 없었으나 병원감염의 경우 집락균의 비율이 높아 43.8% (7/16예)에 달하였다. 역시 양군 모두에서 호흡기 검체로부터의 PRSP의 분리율이 가장 높았으나 병원 획득균 93.0% (15/16예)에 비하여 지역사회 획득균

62.5% (20/32예)로 지역사회에서 보다 다양한 감염질환이 유발됨을 알 수 있었다. 입원을 요하는 경우는 44예로서 양 군간의 평균 재원기간은 지역사회 획득군 10일, 병원획득군 38일로서 병원 획득군에서 PRSP의 획득후 입원기간이 유의하게 길었다( $P=0.05$ ). 질병의 중증도를 의미하는 중환자실 치료여부는 각각 26.0% (6/32예), 0.06% (1/16예)로서 지역사회 획득감염인 경우 중증 경과를 밟는 것으로 미루어 짐작할 수 있었다. PRSP 획득 2개월내에  $\beta$ -lactam 항균제의 사용력이 있는 경우는 각각에서 62.5%로서 차이는 없었으나 양군 모두 높은 사용비율을 보였다. 예후는 비교적 양호하여 페니실린 내성 폐렴구균 감염환자의 80% 이상에서 회

복이 가능하였다.

PRSP이 분리된 환자들을 감염으로 사망한 7예의 환자군과 회복되어 생존한 39명의 환자군으로 나누어 예후에 영향을 미치는 인자를 분석하였다(Table 2). 이들은 모두 PRSP 감염 환자로서 폐렴구균의 페니실린 내성여부에 따른 예후 차이는 평가되지 못하였다. 역시 생존군과 사망군간의 연령, 성별의 차이는 없었다. 병원획득군과 지역사회 획득군간의 사망률의 유의한 차이 또한 관찰되지 않았다. 그러나 PRSP 분리 당시 중환자실 치료를 요할 정도의 중증 감염이

**Table 1. Clinical Features of Patients Infected with Penicillin-resistant *S. pneumoniae* according to the Site of Acquisition**

Clinical feature	Community (n=32)	Hospital (n=16)	P value
Sex (M : F)	21 : 11	11 : 5	NS
Age (mean, yr)	45	53	NS
Address [southwest Seoul (%)]	16 (50%)	10 (62.5%)	NS
Underlying illness	20 (63%)	14 (88%)	0.05
Malignancy	7	7	
Diabetes mellitus	3	3	
COPD*	6	3	
Cardiovascular disease	2	6	
Alcoholics	2	1	
Liver cirrhosis	2	1	
Connective tissue disease	1	0	
WBC (mean No./ul)	12,015	9,012	NS
Albumin (mean, g/dl)	3.3	3.8	NS

\*COPD, chronic obstructive pulmonary disease

**Table 2. Prognostic Factors of Patients Infected with Penicillin-resistant *S. pneumoniae***

Clinical parameter	Survival (n=39)	Death (n=7)	P value
Age (mean)	46	54	
Sex (M : F)	25 : 14	4 : 3	
Hospital : community	12 : 27	3 : 4	NS
Critical initial condition	3 ( 9%)	5 (72%)	0.0001
ICU (%)	2 ( 5%)	5 (72%)	0.0001
Site of Infection			
Respiratory tract(n=35)	29 ( 85%)	5 (14%)	
Bacteremia (N=3)	1 ( 33%)	2 (66%)	
Meningitis (N=3)	3 (100%)	0 ( 0%)	
Underlying disease	13 ( 24%)	1 ( 7%)	NS
No. of underlying disease (2 or more)	10 ( 24%)	5 (72%)	0.02

**Table 3. Minimal Inhibitory Concentration (MIC) of Penicillin-resistant *S. pneumoniae***

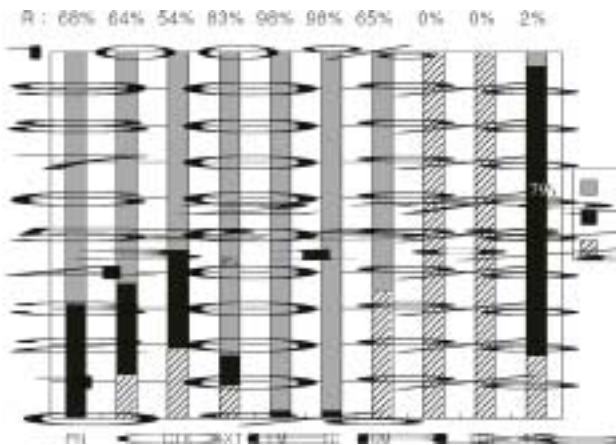
Antibiotic	Site of acquisition *	MIC range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
Penicillin	H	1~2	2	2
	C	1~4	2	4
	Total	1~4	2	4
Cefuroxime	T	0.25~4	2	4
	H	0.25~4	2	4
	Total	0.25~16	2	4
Cefotaxime	H	0.5~2	2	4
	C	0.5~8	1	4
	Total	0.5~8	1	4
TMP/SMX	H	0.25/4.75~8/152	8/152	8/152
	C	0.25/4.75~16/304	8/152	8/152
	Total	0.25~16/304	8/152	8/152
Tetracycline	H	8~16<	16<	16<
	C	2~16<	16<	16<
	Total	2~16<	16<	16<
Erythromycin	H	0.125~16<	16<	16<
	C	1~16<	16<	16<
	Total	0.125~16<	16<	16<
Chloramphenicol	C	4~16<	8	16<
	H	1~16<	8	16<
	Total	1~16<	8	16<
Levofloxacin	H	1~2	1	2
	C	1~2	1	2
	Total	1~2	1	2
Imipenem	H	0.06~1	0.25	0.5
	C	0.06~1	0.25	0.5
	Total	0.06~1	0.25	0.5
Vancomycin	H	0.25~1	0.5	0.5
	C	0.25~1	0.5	0.5
	Total	0.25~1	0.5	0.5

\*H, hospital-acquired : C, community-acquired

있던 경우 사망률이 72%로 유의하게 높았으며( $P=0.05$ ), 2가지 이상의 기저질환을 동반한 환자에서 사망률이 높았다( $P=0.02$ ).

## 2) 항생제 감수성 양상

PRSP 48주의 항생제 감수성 양상을 보면 페니실린 MIC가 2 ug/mL 이상인 고도내성 군주가 33주(69%)이었고, 15주가 중간내성을 보였다. 10종 항생제에 대한 PRSP의 MIC 범위 및 MIC<sub>50</sub>, MIC<sub>90</sub>은 Table 3과 같다. 다른 약제에 대한 항생제 내성을 또한 높아서 페니실린 고도내성 군주 중

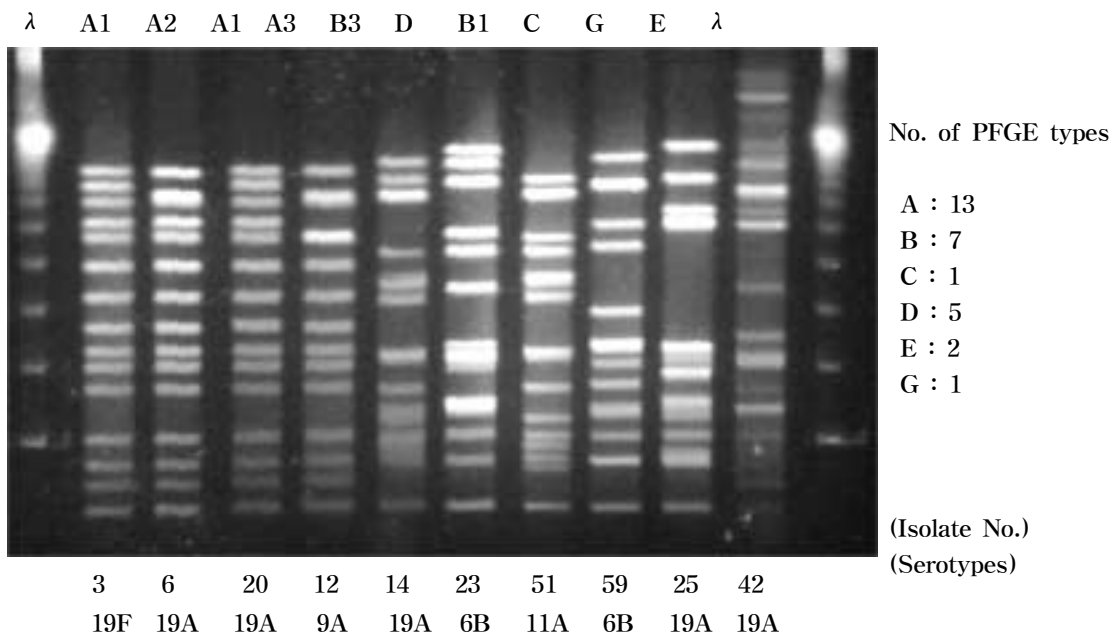


**Figure 1.** Antimicrobial susceptibility of penicillin resistant *S. pneumoniae* to 11 antibiotics (PN : penicillin, CERX : cefuroxime, CTX : cefotaxime, SXT : co-trimoxazole, EM : erythromycin, TC : tetracycline, CM : chloramphenicol, Levo : levofloxacin, VAN : vancomycin, IMP : imipenem).

cefotaxime, imipenem에 대해서는 오직 15% (5주), 12% (4주)만이 감수성을 보였으며 페니실린 중간내성 군주 중에서도 20% (3주), 26.7% (4주)만이 감수성을 보였다. 반면에 vancomycin에 대하여서는 고도내성여부에 관계없이 100% 감수성을 보였다. 페니실린 알러지가 있는 환자에서 대체제로 흔히 사용하는 erythromycin, co-trimoxazole, tetracycline에 대한 내성 역시 높아 페니실린 중간 또는 고도내성 폐렴구균의 83%, 98%와 98%가 이들 약제에 대하여 내성을 보였다. Cefuroxime에 감수성을 보인 군주는 12%에 지나지 않았으나, 새로운 quinolone인 levofloxacin에 대해서는 penicillin 고도내성 여부에 관계없이 100% 감수성을 보였다(Figure 1). PRSP이 분리된 검체별로 페니실린 내성도를 비교해보면 혈액에서 분리된 3주 중 1군주만이 고도내성이었고(33%), 뇌척수액에서 분리된 3주 중 고도내성군주는 없었다. 반면에 호흡기에 집락균으로 판명된 경우는 92% (11/12예), 상부호흡기 감염균 100% (6/6예), 객담 63% (15/24예)의 높은 고도내성율을 보여 감염부위별, 검체별로 페니실린 내성도에 차이가 있었다. 3가지 이상의 서로 다른 항균제에 내성을 보이는 군주를 다제 내성으로 정의하였을 때, 본 연구에서 분리한 PRSP의 다제 내성율은 64.6% (31/48예)이었다.

## 3) PRSP의 혈청형

48군주의 PRSP 중 가장 흔한 혈청형은 19형으로 35.4% (17주 -19F: 12주, 19A: 5주)를 차지하였고 23F형(7주: 14.6%), 6B형(10.4%), 9형(8.3%), 11A형 (6.3%), 33형과 15F형이 각각 1예로 2.1%의 순으로 분포하였다. Non-typeable 군주가



**Figure 2.** PFGE patterns of community-acquired penicillin-resistant *S. pneumoniae* isolates.

20.8% (10/48주)로 다소 높았다. 분리된 PRSP의 50%가 혈청형 19F 및 A형과 23F형에 속하였다.

#### 4) PRSP의 PFGE 양상

지역사회와 병원내에서 분리된 PRSP 각각 32주와 16주에 대한 PFGE 결과를 분석하여 보면 먼저 지역사회 획득균의 경우 29주에서 분석이 가능하였는데 *SmaI* 절편분석에서 13주(49%)가 한가지의 동일한 양상을 나타내어 이를 A형으로 명명하였고, 이들은 4주를 제외하고는 모두 혈청형 19형에 속하는 균주들이었다. 그 외에 Tenover가 제시한 기준에 의하여 서로 다른 유형으로 판단되는 B-G형에 이르는 7가

지 유형이 추가로 관찰되었다(Figure 2). 병원내 획득균 중 12주에서 PFGE 분석이 가능하였다. 병원내 획득균의 PFGE 양상은 지역사회 획득균의 경우가 상이하여 지역사회에서 가장 흔히 분리되었던 A형은 단 1주에서만 관찰되었고 B형 1주, F형 4주가 소수에서 관찰되었으며 C형이 6주로 50%를 차지하였다(Figure 3). 특히 병원획득균 중 C형, F형의 각각 5주와 2주가 같은 시기에 같은 병동에 입원 중이던 환자들의 호흡기 검체에서 모두 분리됨으로서 병원내 환자간 폐니실린 내성 폐렴구균의 전파가 있었을 가능성이 높다는 것을 알 수 있었다(Figure 4). 지역사회와 병원내에서 분리된 폐

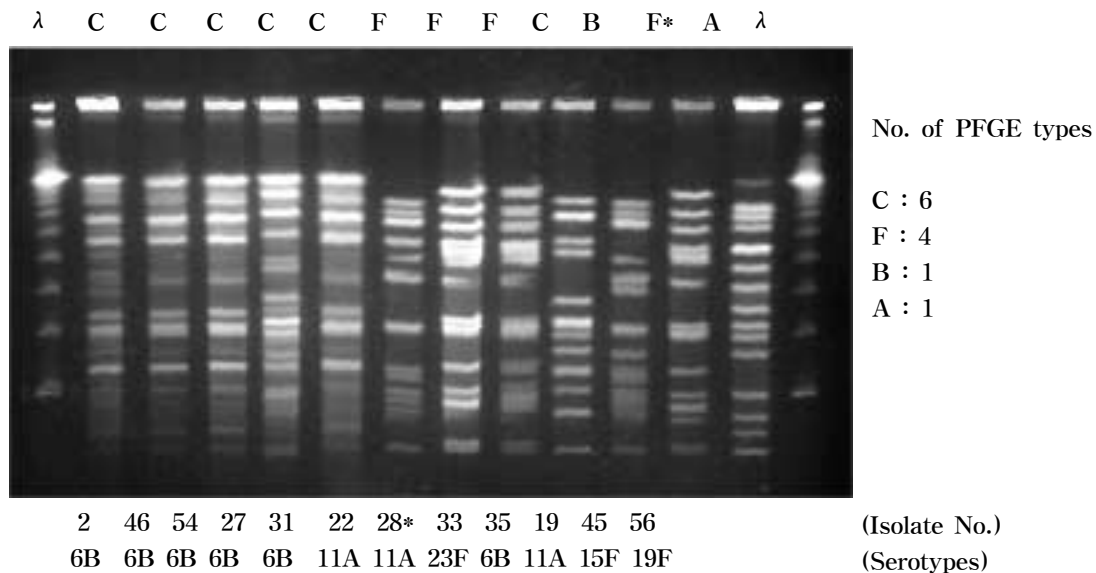


Figure 3. PFGE patterns of hospital-acquired penicillin-resistant *S. pneumoniae* isolates.

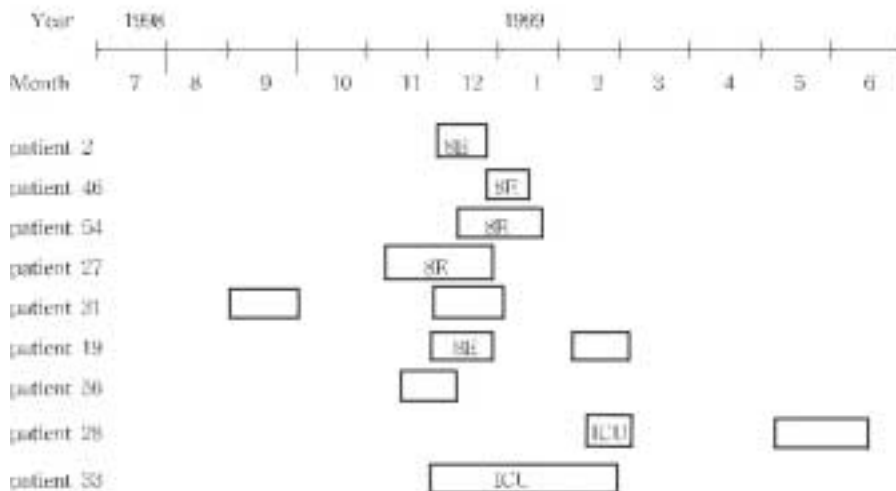
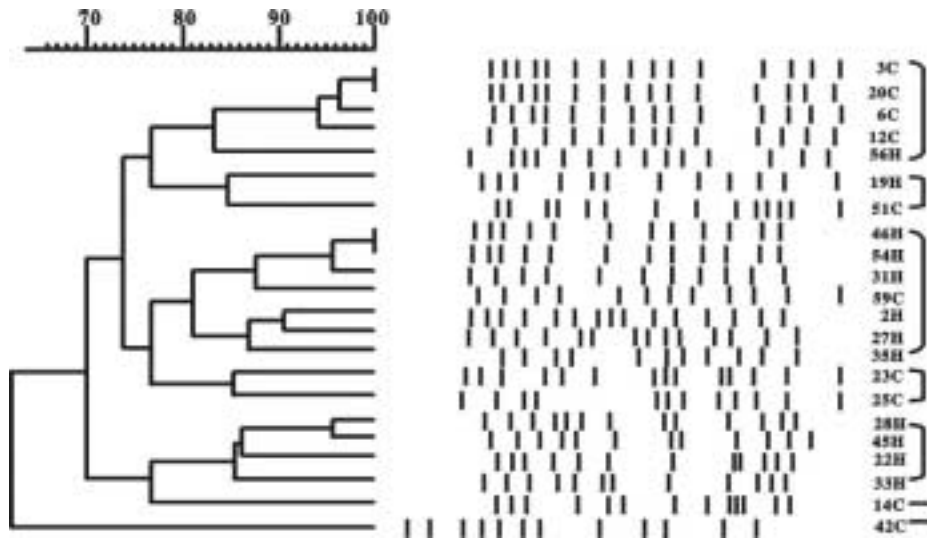


Figure 4. Schematic drawing of indicating nosocomial transmission of penicillin-resistant *S. pneumoniae* in hospital (8E: east ward of 8th floor, ICU: intensive care unit). \*Boxes indicate duration of admission in that ward.



**Figure 5.** Dendrogram analysis revealed the 7 types of PFGE patterns and relations between community-acquired and hospital-acquired PRSP isolates (C, community-acquired : H, hospital-acquired)

니실린 내성 폐렴구균의 PFGE 유형을 dendrogram 분석을 한 결과 총 7가지 유형으로 구분할 수 있었으며, 각각의 동일 유형내에서 지역사회와 병원내 페니실린 내성 폐렴구균이 같이 분포함을 확인할 수 있었다(Figure 5). 따라서 고대 구로병원을 중심으로 한 서울의 강서지역에서는 페니실린 내성 폐렴구균이 지역사회와 병원간에 빈번히 교류되고 있음을 확인할 수 있었다.

##### 5) 페니실린 내성 폐렴구균의 PBP 유전자 분석

PFGE 확인이 가능하였던 39주를 대상으로 페니실린 고도 내성에 중요한 역할을 하는 PBP1a의 PCR-RFLP 결과 5가지 유형이 관찰되었으며 세팔로스포린 동시 내성에 중요한 역할을 하는 PBP2b, PBP2x의 PCR-RFLP 결과 역시 5가지 유형이 관찰되었다. 이들 결과를 종합하여 볼 때 총 13가지 유형의 PBP 절편양상을 보였는데 이중 2-1-1 형이 가장 많아 25.6% (10주)를 차지하였으며 1-2-3형, 1-4-2형이 각각 5주로 12.8%를 차지하였다. 가장 많이 관찰된 2-1-1형의 경우 PFGE 분석결과 B형 5주, C형 1주, D형 2주, F형 2주로서 B형에서 가장 흔하기는 하나 PFGE 양상과 완전히 일치하지는 않았으며 지역사회에서 가장 흔한 PFGE 유전형질을 보인 A형 13주의 PBP 유전자의 분석 양상은 1-2-3 형이 4주, 1-4-2형이 5주로 주종을 이룰 뿐 기타 다양한 PBP 유전자의 분석 양상이 관찰되었다(Table 4).

##### 고 찰

폐렴구균의 항생제 내성은 최근 30년간 세계 각지에서

문제가 되어왔으나 국내에서의 내성은 큰 주목을 받지 못하고 있다가, 1995년도의 일련의 보고에서 페니실린 내성율이 70%를 넘는다는 사실이 알려지면서 문제의 심각성이 처음으로 드러나게 되었다. 1990년대 후반 대부분의 보고에서 국내 분리 폐렴구균의 70~77%가 페니실린 내성을 보이며 이 중 33~48%가 MIC 2 ug/mL이상의 고도내성을 보인다고 알려져 있다<sup>8,9)</sup>. 본 연구에서는 전체 페니실린 내성균주의 69%가 고도 내성을 보여 이전의 연구보다도 훨씬 높은 고도 내성율을 보였고 구로구를 중심으로 한 남서부 서울지역에서의 폐렴구균의 페니실린 내성이 심각함을 알 수 있었다. 이와 같은 고도 내성균이 대부분을 이루는 PRSP에 감염된 환자들의 임상상을 보면 이전 보고와 같이 폐렴이 가장 많아 50%를 차지하였고 패혈증, 뇌막염, 상부호흡기 감염이 주종을 이루었다. 환자들의 29%에서 기저질환을 갖고 있었으며 이 중에서는 대표적으로 불량한 예후를 시사하는 고혈압 등의 악성증상을 동반한 경우가 29.2 %를 차지하였다.

폐렴구균은 대부분 지역사회에서 유래하는 각종의 중증 감염증을 유발하며 병원내에서 발생은 별 문제가 안되는 것으로 알려져 왔다. 그러나 항생제가 많이 사용되는 중증 환자들이 다수 분포하는 병원 환경은 PRSP과 같은 항생제 내성균이 전파되는 중요한 장소로 다시 부각되었고, 몇몇 보고에서 내성 폐렴구균의 전파에 의한 원내 감염의 증가가 보고되기도 하였고 이런 경우 노령, 기저 질환의 중증도 등의 위험인자에 의해 폐렴구균 감염에 의한 치명율이 증가함이 보고되었다. 따라서 본 연구에서는 PRSP에 감염된 환자들을 획득장소에 따라 병원성 감염과 지역사회 획득성 감염

**Table 4. Antimicrobial Susceptibility, RFLP Profile of Penicillin-binding Protein (PBP), and Serotypes by PFGE Genotypes of Penicillin-resistant *S. pneumoniae* Isolates**

Isolate No.	MIC (ug/mL)				PBP RFLP profile			PFGE No.	Serotypes type
	PEN	CEF	ERY	TMP/SMX	pbp1a	pbp2b	pbp2x		
3	2	2	>16	8/152	1	2	3	A1	19F
6	1	1	8	0.25/4.75	1	2	3	A2	19A
24	1	2	0.125	0.25/4.75	1	2	3	A2	NOT
37	2	1	4	4/76	1	2	3	A1	19F
26	2	2	>16	0.25/4.75	1	3	2	A1	19F
34	2	2	>16	8/152	1	1	3	A1	9A
12	4	2	>16	0.25/4.75	1	4	2	A3	19A
30	2	2	>16	0.25/4.75	1	4	2	A1	19F
39	2	1	>16	1/19	1	4	2	A1	NOT
49	1	1	16	>16/304	1	4	2	A1	19F
19	2	1	>16	>16/304	1	4	2	A1	19F
20	1	1	>16	8/152	1	4	4	A1	NOT
11	2	2	>16	0.25/4.75	2	3	1	A1	19F
56	2	2	>16	0.25/4.75	2	3	1	A1	19F
51	1	1	>16	4/76	2	1	1	B1	11A
43	2	0.5	>16	8/152	2	1	1	B1	9V
44	2	1	>16	4/76	1	1	3	B2	19F
1	2	0.5	>16	8/152	2	1	1	B3	NOT
52	2	0.5	4	8/152	2	1	1	B3	9V
57	2	0.5	4	8/152	2	1	1	B3	9V
14	2	2	>16	1/19	2	3	1	B3	NOT
2	2	1	>16	4/76	4	1	1	C	6B
46	2	2	>16	8/152	2	1	1	C	NOT
54	2	2	>16	4/76	4	1	1	C	NOT
27	2	2	>16	8/152	1	3	4	C	NOT
31	2	8	>16	8/152	4	1	1	C	NOT
35	1	2	>16	4/76	4	1	1	C	6B
59	2	1	>16	8/152	1	1	2	C	6B
7	2	4	>16	8/152	1	1	2	D	23F
10	1	2	2	8/152	2	1	1	D	19F
32	2	1	1	4/76	2	1	1	D	NOT
23	1	0.5	0.5	8/152	2	5	5	D	6B
55	1	0.5	0.5	8/152	3	1	2	D	6B
42	2	2	2	4/76	1	1	3	E	NOT
13	1	1	1	8/152	1	2	3	E	23F
45	1	2	2	0.25/4.75	2	1	1	F	15F
33	2	2	>16	8/152	4	1	2	F	23F
22	2	1	1	>16/304	2	1	1	F	11A
28	2	1	>16	8/152	4	1	2	F	23F
25	2	2	2	8/152	1	3	2	G	19A

으로 구분하여 양군에서 분리된 PRSP의 임상상 및 항생제 감수성, PFGE 등의 유전적 양상을 분석하였다. 양군간의 성별 및 연령의 차이는 없었으며 기저질환 또한 유사한 분포를 보였다. 병소별로는 병원 획득군에서는 객담을 비롯한

호흡기 가검물에서의 분리율이 93%로 월등히 높았으며 호흡기에 집락군으로서 분리되는 비율도 높아 임상적으로는 문제가 없다 하더라도 다른 환자들에게 내성균을 전달할 수 있는 중요한 병원소가 될 수 있음을 알 수 있었다. 양군 모



두에서  $\beta$ -lactam 항균제의 과거 사용력이 있는 경우가 62.5%로서 높아 항균제의 사용으로 인한 선택적 압력, 특히 지역사회와 병원내에서의 세팔로스포린 항생제의 과다 사용이 PRSP의 발생과 밀접한 연관이 있음을 미루어 짐작하게 하는 결과이었다. 병원획득군에서 PRSP에 이환된 후 입원기간의 연장이 지역사회에서 획득한 경우에 비하여 유의하게 길었으나, 이는 보다 중증 기저질환으로 인한 입원기간의 연장에 의한 것이었으며 획득 장소에 무관하게 PRSP 감염환자의 80% 이상에서 회복되어 이전의 연구결과와는 다른 결과를 보였다. PRSP 감염환자의 예후는 감염 당시 질환의 중증도와 다수의 기저질환의 존재가 유의한 연관성이 있었다.

PRSP은 페니실린의 대체 항생제에 대해서도 동시 내성을 갖는 경우가 많은데 국내 연구에서는 전체 PRSP의 30% 이상이 다제 내성으로<sup>13)</sup> 스페인의 13.6%<sup>14)</sup>, 홍콩의 32.4%<sup>15)</sup>에 비하여 높은 수준을 보여 주었다. 본 연구에서 PRSP 중에서의 다제 내성율은 64.6%로서 일단 페니실린 내성을 획득한 폐렴구균은 동시에 여러 약제에 다제 내성을 동반할 가능성이 높음을 시사하였다. 본 연구에서 페니실린 고도내성 균주 중 cefotaxime, imipenem에 대해서는 오직 15%, 12%의 균주만이 감수성을 보였고 심지어는 페니실린 중간내성 균주 중에서도 20%, 26.7% 만이 감수성을 보였을 뿐 이어서 이와 같은 결과는 PRSP에 의한 뇌막염 또는 패혈증과 같은 중증 감염의 경우 선택할 수 있는 항균제의 선택의 폭이 매우 좁아질 수밖에 없음을 의미한다고 하겠다. Imipenem의 경우는 79%라는 다수의 균주가 중간내성을 보였는데 NCCLS의 MIC breakpoint 기준의 문제라는 지적도 있어 실제로 임상에서의 의미는 좀 더 관찰이 필요하겠다. 그러나 다행스럽게도 페니실린 고도내성여부에 관계없이 vancomycin, levofloxacin에 대하여서는 100% 감수성을 보여 이들 약제가 중증의 PRSP 감염증의 치료에 효과적으로 사용될 수 있을 것으로 기대된다. 본 연구에서는 시행하지 않았으나 곧 임상 사용이 예견되는 gemifloxacin, gatifloxacin 등의 새로운 퀴놀론 항생제나 linezolid 등의 항균제에 대한 시험관내, 생체내 연구가 현재 활발히 이루어지고 있어 향후 치료 전망은 밝다고 할 수 있겠으나 항생제 오남용의 문제가 해결되지 않는다면 더 강력한 내성 폐렴구균이 출현할 지도 모를 일이다.

본 연구에서의 실험균주의 혈청형으로는 총 7개 혈청군에 8개 혈청형이 분포하여 송 등의 4가지 혈청군 보고<sup>16)</sup>에 비하여 다양하였다. 혈청형 분류상 19, 23형은 다른 혈청형에 비하여 페니실린 및 다제내성과 더 많이 관련됨이 알려져 있는데<sup>16)</sup> 본 연구에서도 19형과 23F형이 가장 흔하여 50

%를 차지하였고, 이 결과는 이전의 국내보고<sup>8, 9)</sup> 보다는 다소 적지만 주종을 이루는 혈청형임은 의심의 여지가 없었다.

PFGE는 앞에서 언급한 바와 같은 지역사회와 병원에서의 PRSP의 급격한 증가를 설명하는 데에 있어 가장 중요한 연구 수단으로 이용될 수 있다. 즉, 한가지의 우세한 유전형이 공기 전파 또는 직접 접촉에 의하여 지역사회내에서 또는 병원내에서 파급되는 것인지 아니면 별개의 유전형의 폐렴구균이 항생제의 선택적 압력에 의해 개별적으로 페니실린 내성을 이차적으로 획득하였는지 아니면 내성 유전자가 서로 다른 유전형의 폐렴구균으로 수평 전파되었는지를 감별할 수 있다. 이미 세계적으로 스페인의 23F 혈청형이 미국의 한 보육원에서 발견됨으로서 PRSP의 대륙간 전파가 설명되었었고 송 등의 연구에서도<sup>13, 17, 18)</sup> 국내분리 PRSP의 유전적 상관성이 매우 높아 80%이상의 균주가 스페인의 23F형의 PFGE 형과 일치함을 보고한 바 있다. 이러한 주장은 정 등의 보고에서 국내의 페니실린 내성이 불과 5년만에 1988년의 29%에서 1993년의 77%로 증가한 사실이 개별적 내성획득이나 내성유전자의 수평전파로는 설명하기 어렵다는 고려에서 출발한 것으로 상당한 설득력을 갖는다고 할 수 있겠다. 그러나 본 연구의 결과는 이전의 국내 연구결과와는 사뭇 달라 주 유형 균주가 전체 분석 균주의 34.1%에 지나지 않았고, 이들의 PFGE 양상 역시 스페인의 23F형과는 달랐다. 주 유형인 PFGE A형의 균주들이 대부분은 혈청형 19형이었으나 반드시 동일한 것은 아니었는데 이는 유전적으로 상관성이 있는 균주간에 capsular polysaccharide biosynthesis 유전자가 재조합되어 전혀 다른 새로운 혈청형으로 나타날 수 있다는 설명으로 가능하겠다<sup>19)</sup>. 본 연구가 서울의 남서지역에 거주하는 환자들에서 분리된 폐렴구균이라는 지정학적 특수성을 감안하더라도 스페인 23F clone의 전국적 전파만으로 국내의 높은 PRSP 분리율을 전적으로 설명할 수는 없을 것으로 사료된다. 또한 본 연구가 비교적 최근에 수집된 PRSP으로 수행된 분석이므로 90년대 초반부터 균주로 시작하는 시기별 분석을 병행함으로써 시기별로 주 유형의 균주가 변화하는지를 살펴보는 것도 유의있는 일이 될 것으로 생각된다. 또한 병원획득군과 지역사회 획득균간의 PFGE를 통한 유전형의 차이를 살펴보면 주 유형에는 많은 차이를 보였으나 유전형간의 교차가 있음을 확인하였고, 따라서 지역사회와 병원간의 환자의 입퇴원에 따라서 PRSP의 교환이 빈번히 이루어짐을 알 수 있었다. 따라서 병원내에서 뿐 아니라 지역사회내에서의 항생제의 합리적 사용관리가 내성균의 병원-지역사회간 전파의 차단에 중요한 역할을 할 것으로 생각된다. 2000년 후반기에 시작된 전

면적인 의약분업의 실시로 약국에서 손쉽게 항생제를 구매할 수 없게 된 점이 지역사회내 항생제 남용을 줄여 폐렴균군의 항생제 내성율을 감소시킬 수 있을 것으로 추정된다.

PBP의 변화는 페니실린을 포함한  $\beta$ -lactam 제제에 대한 내성 획득의 기본 기전이므로 PBP 구조의 분석은 폐렴균군의 내성 획득 기전의 규명에 자주 이용되고 있으며 내성 균주의 clonality를 확인하기 위해서도 많이 이용된다. 이전의 연구에서는 국내 분리 다제 내성 균주의 경우 PBP profile은 거의 동일하며 PFGE와 마찬가지로 내성 균주간의 유전적 상관성이 있음이 보고된 바 있으나 본 연구의 결과 총 13가지 유형의 PBP 절편양상을 보였고 이중 2-1-1 형이 가장 많아 20% (7주)를 차지하였으나 PFGE 분석결과는 B형 6주, D형 2주, F형 2주로서 PBP 유전형과 PFGE 양상과 일치하지 않는 양상을 보였는데 이는 우세한 한가지의 clone의 전파만이 아니라 페니실린 내성 유전자가 수평전파에 의해 폐렴 균주간에 전파되었을 가능성 또한 높음을 시사한다고 하겠다.

## 요 약

**목 적 :** 국내에서 폐렴균군의 페니실린 내성율은 70%를 상회하고 있다. 폐렴균군은 지역사회획득 감염에서의 주요 원인균이나 최근에 들어서는 지역사회뿐 아니라 병원내에서도 획득되고 있어 이들간의 교류가 내성균의 확산에 중요한 역할을 할 것으로 여겨지고 있다. 본 연구는 서울의 남서지역에서 PRSP의 지역사회 획득균과 병원획득균간의 임상상 및 예후의 차이를 비교하며 PRSP의 다제 내성율, 혈청형과 PFGE 분석을 통하여 병원획득균과 지역사회 획득균간의 유전적 상관성을 비교하고자 하였다.

**방 법 :** 1998년 7월부터 1999년 6월까지 고대 구로병원에 입원하거나 외래에 방문한 환자들 중에서 PRSP이 분리된 48명으로부터 수집된 균주를 대상으로 하여 임상양상(연령, 성별, 획득장소, 감염형태, 분리 검체 및 기저질환 등)을 조사하였다. 분리균주를 대상으로 액체희석법을 통하여 10종 항생제에 대한 최소억제농도를 구하였으며 PFGE와 PBP 분석을 시행하였다.

**결 과 :** PRSP이 분리된 환자들의 임상상을 보면 지역사회 획득 또는 병원획득여부에 무관하게 폐렴이 원인질환이 경우가 가장 많았고(50%) 중증 경과를 밟는 경우는 지역사회 획득성인 경우가 많았으나 예후에는 의미있는 차이가 없었다. 단, 중증의 기저질환을 갖는 경우에 사망률이 높았다. 페니실린 내성 균주 48주 중 고도내성 균주는 69%로 2/3이

상을 차지하였고 다제내성율 또한 64.6%로 높았다. 가장 흔한 혈청형은 19형으로 35.4%였으며 PFGE 결과 지역사회내에서는 A형이 49%로 가장 우세하였으나 6가지 유형이 추가로 존재하였고 병원내에서는 C형이 6주로 50%를 차지하였을 뿐 A형은 단 1주에 지나지 않았다. PBP 분석상에서 13형태가 관찰되었으며 PFGE 양상과 일치하지 않았다.

**결 론 :** 본 연구는 이전의 연구에서와 같이 국내의 PRSP의 고도내성율, 다제내성율이 높음을 확인하였으나 23형 스페인 클론이 대다수를 차지한다는 기존의 혈청형 및 PFGE 연구결과와는 다른 우세형이 존재하였으며 보다 다양한 유전형이 지역사회와 병원내에 존재하며 일부 균주간의 교류가 이루어지고 있음을 확인할 수 있었다. 또한 동일한 PFGE 형이더라도 PBP 형이 다양하게 관찰되기도 하여 단일 클론에 의한 전파 이외에도 내성유전자의 전파가 PRSP이 확산에 또 하나의 역할을 하고 있음을 확인할 수 있었다.

## 참 고 문 헌

- 1) Hansman D, Bullen MM : A resistant pneumococcus. *Lancet* 2:264-265, 1967
- 2) Appelbaum PC : Antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae*: An overview. *Clin Infect Dis* 15:77-83, 1992
- 3) Schutze GE, Kaplan SL, Jacobs RF : Resistant pneumococcus: a worldwide problem. *Infection* 22:233-237, 1994
- 4) Marton A, Gulyaas M, Munoz R, Tomasz A : Extremely high incidence of antibiotic resistance in clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* in Hungary. *J Infect Dis* 163:542-548, 1991
- 5) Koornhof HJ, Wasas A, Klugman KP : Antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae*: A South African perspective. *Clin Infect Dis* 15:84-94, 1992
- 6) Hofman J, Cetron MS, Farley MM, Baughman WS, Facklam RR, Elliot JA, Deaver KA, Breiman RF : The prevalence of drug-resistant *Streptococcus pneumoniae* in Atlanta. *N Engl J Med* 333:481-486, 1995
- 7) Doern GV, Brueggemann A, Holley HP, Rauch AM : Antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* recovered from outpatients in the United States during the winter months of 1994 to 1995: Results of a 30-center national surveillance study. *Antimicrob Agents Chemother* 40:1208-1213, 1996
- 8) Lee HJ, Park JY, Jang SH, Kim JH, Kim EC, Choi KW : High incidence of resistance to multiple antimicrobials in clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* from a university hospital in Korea. *Clin Infect Dis*

- 20:826-835, 1995
- 9) Chong Y, Lee K, Kwon OH, Henrichsen J : *Capsular types and antimicrobial resistance of Streptococcus pneumoniae isolated in Korea*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 14:528-531, 1995
- 10) Song JH, Chung DR, Peck KR, Yang JW, Pai CH : *Clinical characteristics of penicillin-resistant Streptococcus pneumoniae (PRSP)*. 35th ICAAC abstract No. C3. p 40, 1995
- 11) Jacobs MR, Hoornhof HJ, Robins-Browne RM, Stevenson CM, Vermaak ZA, Freiman I, et al. : *Emergence of multiply resistant pneumococci*. *N Engl J Med* 299:735-740, 1978
- 12) Margaret IP, Donald JL, Raymond WH, Yung-Colin C, Augustine FB : *Evidence of clonal dissemination of multidrug-resistant Streptococcus pneumoniae in Hong Kong*. *J Clin Microbiol* 37:2834-2839, 1999
- 13) Song IH, Yang JW, Peck KR, Kim S, Lee NY, Jacobs MR, et al. : *Spread of multidrug-resistant Streptococcus pneumoniae in South Korea*. *Clin Infect Dis* 25:747-749, 1997
- 14) Linares J, Pallares R, Alonso T, Peres JL, Ayats J, Gudiol F, Viladrich PF, Martin R : *Trend in antimicrobial resistance of clinical isolates Streptococcus pneumoniae in Bellvitge Hospital, Barcelona, Spain (1979-1990)*. *Clin Infect Dis* 15:95-98, 1992
- 15) Kam KM, Luey KY, Fung SM, Yiu PP, Harden TJ, Cheung MM : *Emergence of multiple-antibiotic-resistant Streptococcus pneumoniae in Hong Kong*. *Antimicrob Agents Chemother* 39:2667-2670, 1995
- 16) Klugman KP : *Pneumococcal resistance and antibiotics*. *Clin Microbiol Rev* 3:171-196, 1990
- 17) 송재훈, 양지원, 이남용, 백경란, 김성민, 배직현 : 국내 분리 폐렴 구균의 항균제 내성 현황 및 분자 역학 조사를 통한 내성 전파의 규명. *감염*. 28:393-404, 1996
- 18) 송재훈, 양지원, 진정화, 백경란, 김성민 이 혁, 이남용 : *Ribotyping*을 이용한 다제 내성 폐렴구균의 유전적 상관성 규명. *감염* 29:469-476, 1997
- 19) Coffey TJ, Enright MC, Daniels M, Morona JK, Morona R, Hryniewicz W, Paton JC, Spratt BG : *Recombinational exchanges at the capsular polysaccharide biosynthetic locus lead to frequent serotype changes among nature isolates of Streptococcus pneumoniae*. *Mol Microbiol* 27:73-83, 1998