

*Streptococcus pyogenes*의 erythromycin 내성 표현형

어 영^{*,**}, 황규열^{*}, 장인호^{*}, 박종선^{*}, 권오건^{*}, 윤갑준^{*}

연세대학교 원주의과대학 임상병리과학교실^{*}, 연세대학교 의과대학 세균내성연구소^{**}

Erythromycin Resistance Phenotype of *Streptococcus pyogenes*

Young Uh^{*,**}, Gyu Yel Hwang^{*}, In Ho Jang^{*}, Jong Sun Park^{*}, Oh-Gun Kwon^{*}, and Kap Jun Yoon^{*}

Department of Clinical Pathology, Yonsei University Wonju College of Medicine, Wonju^{*};
Research Institute of Bacterial Resistance, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea^{**}

Background : The erythromycin-resistance rate and phenotype distribution of *Streptococcus pyogenes* are quite different by geographical variation and study period. The aim of the present study was to determine the evolution of resistance to erythromycin and the frequency of erythromycin resistance phenotype of *S. pyogenes* isolated from Wonju Christian Hospital.

Methods : The minimal inhibitory concentrations (MICs) of erythromycin and clindamycin for 94 *S. pyogenes* isolated from clinical specimens between 1990 to 1998 were investigated. Double disk test of erythromycin (78µg) and clindamycin (25µg) were performed for 15 isolates of erythromycin-resistant *S. pyogenes* to evaluate the erythromycin resistance phenotype.

Results : The resistance rates of 94 isolates of *S. pyogenes* were 16%(15/94) to erythromycin and 4%(4/94) to clindamycin. The frequency of erythromycin resistance phenotype in decreasing order were M phenotype (47%), inducible resistance phenotype (40%), and constitutive resistance phenotype (13%). Erythromycin-resistant *S. pyogenes* did not exist until 1993, but was isolated since 1994, and ranged from 14.0% to 24.0% during the period of 1994-1998.

Conclusions : Our finding documents the emergence of high resistance rates to erythromycin in *S. pyogenes* at Wonju area since 1994. The M phenotype (47%) and inducible resistance phenotype (40%) account for the majority of erythromycin-resistant *S. pyogenes*.

(Korean J Clin Microbiol 1999;2:131-134)

Key Words : *Streptococcus pyogenes*, Erythromycin resistance, Clindamycin resistance, Resistance phenotype

서 론

*Streptococcus pyogenes*는 인후염, 농가진, 성홍열, 단독, 폐렴, 화농성 관절염, toxic-shock syndrome 및 패혈증의 다양한 감염을 일으키는 원인균으로서 류마티스열, 급성 사구체 신염 등의 심각한 합병증을 초래할

수 있다[1]. *S. pyogenes*에 의한 감염은 1940년대이후로 지속적인 감소 추세를 보였으나[1,2], 1980년대 후반부터 류마티스열 및 패혈증과 같은 심각한 감염병의 빈도가 증가하고 있는 실정이다[3,4]. 다행히도 *S. pyogenes*는 penicillin에 내성인 균주는 없으나 penicillin 과민성 환자 또는 부작용이 우려되는 경우에는 대체 약제로 erythromycin을 선택하게 된다[5]. *S. pyogenes*의 erythromycin 내성률은 보통 5%이하로 알려져 있으나[5,6] 연구시기[7], 나라와 지역[8-10] 및 혈청형의 분포[11]에 따라서도 차이가 크며 내성 표현형의 종류와 빈도 또한 연구자에 따른 차이가 있다[12].

이에 저자들은 원주기독병원의 임상검체에서 분리된

원 본 접 수 : 1999년 7월 8일 접수번호 : CM 99-2-3
수정본접수 : 1999년 8월 27일
교신저자 : 어 영
강원도 원주시 일산동 162 원주기독병원 임상병리과
전화 : 0371-741-1593 Fax : 0371-731-0506

Table 1. Phenotype frequency of erythromycin resistance of *S. pyogenes* according to years

Resistance phenotype	No.(%) of resistance strains by years								
	1990 (n=4)	1991 (n=8)	1992 (n=4)	1993 (n=2)	1994 (n=7)	1995 (n=21)	1996 (n=20)	1997 (n=14)	1998 (n=14)
CR type	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(14)
IR type	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	3(14)	0(0)	2(14)	1(7)
M type	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(14)	2(10)	3(15)	1(7)	0(0)

Abbreviations: CR, constitutive resistance; IR, inducible resistance.

Table 2. MICs ($\mu\text{g/mL}$) of erythromycin and clindamycin of 94 *S. pyogenes* isolates according to phenotype of erythromycin resistance

Antimicrobial agents	Erythromycin-resistant SPY (15)						Erythromycin-susceptible SPY (79)	
	CR (2)		IR (6)		M type (7)			
	MIC90	%R	MIC90	%R	MIC90	%R	MIC90	%R
Erythromycin	≥ 256	100	≥ 256	100	8	100	0.06	0
Clindamycin	256	100	1	33	0.06	0	0.06	0

Abbreviations: SPY, *Streptococcus pyogenes*; CR, constitutive resistance; IR, inducible resistance; %R, percent of resistance.

*S. pyogenes*를 대상으로 erythromycin 내성률을 살펴보고 erythromycin 내성 표현형의 종류와 빈도를 규명하고자 본 연구를 시행하였다.

재료 및 방법

1990년부터 1998년까지 원주기독병원 임상병리과에서 분리되어 -70°C 에 냉동 보관된 *S. pyogenes* 균주를 3회에 걸쳐 5% 혈액한천평판배지에 계대배양한 후 순수 분리된 94주를 대상으로 erythromycin (Sigma Chemical Company, St. Louis, Mo., USA)과 clindamycin (한국업존, 서울)에 대한 한천회석법[13]을 시행한 뒤 erythromycin에 내성인 15균주를 대상으로 이중 디스크 확산법(double disk test)으로 erythromycin 내성 표현형을 분석하였으며 아울러 연도별 *S. pyogenes*의 erythromycin 내성률을 살펴보았다. *S. pyogenes*는 연쇄구균의 혈청군 응집시험 (Streptex, Murex Biotech Ltd., Dartford, England)에서 A군에 양성인면서 L-pyrrolidonyl- β -naphthylamide (PYR) 시험에서 양성인 균주였다.

이중 디스크 확산법[14]은 5% 면양혈액을 첨가한 Mueller-Hinton 한천평판배지(BBL, Cockeysville, Md., USA)에 0.5 McFarland 탁도로 맞춘 *S. pyogenes* 균액을 면봉으로 골고루 바른 후 erythromycin과 clindamycin이 각각 $78\mu\text{g}$ 과 $25\mu\text{g}$ 이 함유되도록 제조한 6 mm 멸균 종이 디스크를 15-20 mm 간격으로 놓은 뒤 35°C 에서 22 시간 배양하였다. 결과 판독은 erythromycin에 인접한 clindamycin의 억제대가 무더져 D자 형태를 보이면 유도성 내성으로, 한천회석법에서 clindamycin에 내성이었으나 D 형태가 없는 경우는 구성적 내성으로,

clindamycin에 감수성이면서 D 형태가 없는 경우는 M형으로 각각 해석하였다[14].

결 과

Erythromycin 내성 *S. pyogenes*는 1993년까지는 분리되지 않았으나 1994년부터 분리되기 시작하여 1998년까지 14.0-24.0%의 내성률을 보였다(Table 1).

S. pyogenes 94 균주의 NCCLS[13] break point에 따른 erythromycin과 clindamycin 내성률은 각각 16%(15/94)와 4%(4/94)였으며, erythromycin에 내성인 15균주의 이중 디스크 확산법에서 2주(13%)는 구성형이었고 6주(40%)는 유도형이었으며 7주(47%)는 M 표현형이었다(Table 2).

고 찰

*S. pyogenes*의 erythromycin 내성률은 일반적으로 5% 이하로 알려져 있으나 내성 균주의 유행과 전파 정도 및 새로운 내성형의 출현[8,11,14,15], erythromycin 사용 빈도[16] 등의 여러 가지 요인에 의해 달라질 수 있다. 일본의 경우 1970년대 중반에서 1980년대 초반까지 폭발적인 내성 균주의 유행으로 이 기간동안 12%에서 60%사이의 내성률을 보였으나 1980년대 후반부터는 1%이하로 급격히 감소하였다[8,11]. Bass 등[8]은 이러한 내성률의 급격한 감소 원인은 정확히 알 수는 없으나 1970년대 후반부터 1980년까지 일본에서의 macrolide 계열 약물의 사용 감소가 주요한 역할을 했을 것으로 추측하였다. 또한 스페인 Gipuzkoa 지방의 *S. pyogenes*의 erythromycin 내성률은 1988년까지

1.1%였으나 1995년에는 34.8%로 증가하였고[7], 이태리의 한 병원에서도 *S. pyogenes*의 erythromycin 내성률은 1990년부터 1993년까지 10%이하였으나 1994년과 1995년에는 각각 16.2%와 30.7%로 급격히 증가함을 보고하였다[17]. 국내의 정 등[18]은 1989-1992년 사이에 분리된 *S. pyogenes*의 erythromycin 내성률은 2%로 보고하였으나 본 연구에서는 16%로서 최근 들어 국내에서도 erythromycin 내성 균주가 증가하고 있는 것으로 추측되었다. 앞으로 국내 여러 지역에서 *S. pyogenes*의 erythromycin 내성률에 대한 연구가 필요하다고 생각되었다.

Erythromycin은 macrolide 계열의 대표적인 약물이다. Macrolide는 다원환 lactone 고리와 당의 구조를 가진 항균제의 총칭으로서 lactone 고리 수에 따라 14, 15 및 16원환 macrolide로 분류되며 각각은 약리학적 특성 및 내성 기전의 차이가 있다. Clindamycin은 proline 유도체로서 lactone 고리가 없는 lincosamide 계열의 대표적인 약물로서 erythromycin과 화학 구조는 다르지만 ribosome에 작용하여 단백질 합성을 저해함으로써 항균 작용을 나타낸다. 유럽의 일부 지역에서 사용하고 있는 peptide 구조의 streptogramin계 약물도 작용 기전 및 내성 기전이 macrolide와 유사하므로 이들 세 가지 계열 약물을 MLS 항균제로 부른다[12].

*S. pyogenes*의 erythromycin 내성 기전은 1990년대 초기까지만 해도 대부분이 *ermAM* (*ermB*) 부류의 erythromycin resistance methylase (*erm*)에 의한 50S rRNA의 표적 부위 변화이며 이러한 내성인자가 lincosamide와 streptogramin B 항균제에 대하여 교차내성, 구성적 또는 유도성 내성을 유발하는 것으로 알려져 있었다[19,20]. 그러나 1993년 Seppälä 등[14]은 erythromycin에는 내성이지만 clindamycin에 감수성인 새로운 내성형(NR type)을 보고하였고, 1996년 Sutcliffe 등[21]은 새로운 내성형(NR type)인 M 표현형은 efflux pump를 가지고 있음을 규명하였으며, Clancy 등[22]은 efflux pump는 *mefA*라는 새로운 macrolide-efflux 유전자에 의해 조절됨을 밝혔다. 또한 1998년 Seppälä 등[23]은 유도형 내성인 *S. pyogenes* 균주는 새로운 종류의 *erm* 유전자인 *ermTR*에 의해 조절됨을 보고하였다.

*S. pyogenes*의 내성 표현형의 분포는 나라와 시기에 따라 차이가 있다. 핀란드의 경우 M 표현형은 1990년의 38%[14]에서 1994년에는 82%[15]로 증가함을 보고하였으며, 1996년 Sutcliffe 등[21]은 아일랜드에서 분리한 *S. pyogenes*의 75%가 M 표현형이었고, Cocuzza 등[24]은 이탈리아에서 분리한 erythromycin 내성 *S. pyogenes*의 유도형, M형 및 구성형의 빈도는 각각 53%, 35% 및 12%로 보고하였다. 본 연구에서 *S. pyogenes*의 erythromycin 내성 표현형은 M형과 유도형이 각각 47%와 40%로 비슷하였고 구성형은 13%로서 1998년에만 분리된 균주들이었다.

일반적으로 세균은 MLS의 내성 기전에 따라 구성적 내성인 균주는 모든 macrolide에 내성일 뿐 아니라 lincosamide와 streptogramin B 항균제에도 내성이며, 유도형 내성은 14원환 및 15원환 macrolide에 내성이고 16원환 macrolide, lincosamide 및 streptogramin B 항균제에는 감수성으로 알려져 있었다[12]. 그러나 Kataja 등[10]에 의하면 *S. pyogenes*의 erythromycin 내성 균주 중 M형은 14원환과 15원환 macrolide에 내성이면서 16원환 macrolide에는 감수성이었으나 유도형은 16원환 macrolide인 spiramycin과 josamycin에 각각 63%와 60%가 내성이었고 구성형은 16원환에 모두 내성이면서 clindamycin에 고도 내성이었다.

결론적으로 *S. pyogenes*의 erythromycin 내성률은 16%로 높고, 내성표현형은 M형(47%)과 유도형(40%)이 대부분을 차지하였다. 또한 erythromycin과 clindamycin의 이중 디스크확산법은 *S. pyogenes*의 MLS 내성형을 규명할 수 있을 뿐만 아니라 환자의 항균제 치료 방침을 결정하는데도 도움을 줄 수 있을 것으로 생각되었다.

요 약

배 경 : *Streptococcus pyogenes*의 erythromycin 내성률과 내성 표현형의 분포는 나라와 지역 및 연구시기에 따라 차이가 크다. 본 연구에서는 원주기독병원에서 분리된 *S. pyogenes*를 대상으로 erythromycin 내성률과 내성 표현형의 분포를 규명하고자 하였다.

방 법 : 1990년부터 1998년까지 임상검체에서 분리된 *S. pyogenes* 94균주를 대상으로 erythromycin과 clindamycin에 대한 최소억제농도를 측정 한 후 erythromycin에 내성인 15균주를 대상으로 erythromycin 디스크(78μg)와 clindamycin 디스크(25μg)로 이중 디스크 확산법을 시행하였다.

결 과 : *S. pyogenes* 94 균주의 erythromycin과 clindamycin 내성률은 각각 16% (15/94)와 4% (4/94)였으며, erythromycin 내성 표현형의 빈도는 M 표현형(47%), 유도형(40%) 및 구성형(13%)의 순이었다. Erythromycin 내성 *S. pyogenes*는 1993년까지는 분리되지 않았으나 1994년부터 분리되기 시작하여 1998년까지 14.0-24.0%의 내성률을 보였다.

결 론 : 원주지역에서 분리되는 *S. pyogenes*는 1994년 이후로 erythromycin 내성률이 급격히 증가하였고 내성 표현형은 M형(47%)과 유도형(40%)이 대부분을 차지하였다.

참 고 문 헌

Bisno AL. Group A streptococcal infections and acute rheumatic fever. *N Engl J Med* 1991;325:783-93.

2. Massell BF, Chute CG, Walker AM, Kurland GS. *Penicillin and the marked decreased in morbidity and mortality from rheumatic fever in the United States. N Engl J Med* 1988;318:280-6.
3. Stevens DL. *Invasive group A streptococcal infections. Clin Infect Dis* 1992;14:2-11.
4. Dermers B, Simor AE, Vellend H, Schlievert PM, Byrne S, Jamieson F, et al. *Severe invasive group A streptococcal infections in Ontario, Canada: 1987-1991. Clin Infect Dis* 1993;16:792-800.
5. Betriu C, Sanchez A, Gomez M, Cruceyra A, Picazo JJ. *Antibiotic susceptibility of group A streptococci: a 6-year follow-up study. Antimicrob Agents Chemother* 1993;37:1717-9.
6. Kaplan EL. *Recent evaluation of antimicrobial resistance in beta-hemolytic streptococci. Clin Infect Dis* 1997;24(S1):S89-92.
7. Perez-Trallero E, Urbietta M, Montes M, Ayestaran I, Marimon JM. *Emergence of Streptococcus pyogenes strains resistant to erythromycin in Gipuzkoa, Spain. Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1998;16:25-31.
8. Bass JW, Weisse ME, Plymyer MR, Murphy S, Eberly BJ. *Decline of erythromycin resistance of group A beta-hemolytic streptococci in Japan. Comparison with worldwide reports. Arch Pediatr Adolesc Med* 1994;148:67-71.
9. Baquero F, Garc a-Rodr guez JA, de Lomas JG, Aguilar L. *The Spanish Surveillance Group for Respiratory Pathogens. Antimicrobial resistance of 914 beta-hemolytic streptococci isolated from pharyngeal swabs in Spain: results of a 1-year (1996-1997) multicenter surveillance study. Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:178-80.
10. Kataja J, Huovinen P, Skurnik M, the Finnish Study Group for Antimicrobial Resistance, Seppaa H. *Erythromycin resistance genes in group A streptococci in Finland. Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:48-52.
11. Fujita K, Murono K, Yoshikawa M, Murai T. *Decline of erythromycin resistance of group A streptococci in Japan. Pediatr Infect Dis J* 1994;13:1075-8.
12. 정윤섭 및 이경원. 그람양성 세균과 그람음성 구균의 항균제 내성. 서울:서홍출판사, 1998:108-9.
13. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 4th ed., Approved standard M7-A4. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa., 1997.*
14. Seppälä H, Nissinen A, Yu Q, Huovinen P. *Three different phenotypes of erythromycin-resistant Streptococcus pyogenes in Finland. J Antimicrob Chemother* 1993;32:885-91.
15. Kataja J, Huovinen P, Muotiala A, Vuopio-Varkila J, Efstratiou A, Hallas G, et al. *Clonal spread of group A streptococcus with the new type of erythromycin resistance. J Infect Dis* 1998;177:786-9.
16. Seppälä H, Klaukka T, Vuopio-Varkila J, Muotiala A, Helenius H, Lager K, et al. *The effect of changes in the consumption of macrolide antibiotics on erythromycin resistance in group A streptococci in Finland. N Engl J Med* 1997;337:441-6.
17. Borzani M, De Luca M, Varotto F. *A survey of susceptibility to erythromycin amongst Streptococcus pyogenes isolates in Italy. J Antimicrob Chemother* 1997;40:457-8.
18. 정윤섭, 이경원, 권오현, 박향숙. *Streptococcus pyogenes와 Streptococcus agalactiae의 항균제 감수성. 대한화학요법학회지* 1994;12:111-5.
19. Leclercq R, Courvalin P. *Intrinsic and unusual resistance to macrolide, lincosamide, and streptogramin antibiotics in bacteria. Antimicrob Agents Chemother* 1991;35:1273-6.
20. Weisblum B. *Inducible resistance to macrolides, lincosamides and streptogramin type B antibiotics: the resistance phenotype, its biological diversity, and structural elements that regulate expression - a review. J Antimicrob Chemother* 1985;16(SA):S63-90.
21. Sutcliffe J, Tait-Kamradt A, Wondrack L. *Streptococcus pneumoniae and Streptococcus pyogenes resistant to macrolides but sensitive to clindamycin: a common resistance pattern mediated by an efflux system. Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:1817-24.
22. Clancy J, Petitpas J, Dib-Hajj F, Yuan W, Cronan M, Kamath AV, et al. *Molecular cloning and functional analysis of a novel macrolide-resistance determinant, mefA, from Streptococcus pyogenes. Mol Microbiol* 1996;22:867-79.
23. Seppälä H, Skurnik M, Soini H, Roberts MC, Huovinen P. *A novel erythromycin resistance methylase gene (ermTR) in Streptococcus pyogenes. Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:257-62.
24. Cocuzza CE, Mattina R, Mazzariol A, Orefici G, Rescaldani R, Primavera A, et al. *High incidence of erythromycin-resistant Streptococcus pyogenes in Monza (North Italy) in untreated children with symptoms of acute pharyngo-tonsillitis: an epidemiological and molecular study. Microb Drug Resist* 1997;3:371-8.