

Optochin 감수성이 저하된 *Streptococcus pneumoniae*

이승옥, 박정준, 오은지, 박연준, 김병기

가톨릭대학교 의과대학 강남성모병원 임상병리과

Streptococcus pneumoniae Isolates with Decreased Susceptibility to Optochin

Seungok Lee, Jung-Joon Park, Eun-Jee Oh, Yeon-Joon Park, and Byung Kee Kim

Department of Clinical Pathology, Kangnam St. Marys Hospital,
The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

Streptococcus pneumoniae is the most common cause of community-acquired pneumonia in adults and an important agent in other infections, including meningitis, otitis media, and conjunctivitis, etc. The optochin susceptibility test is the most widely used method to discriminate *S. pneumoniae* from other streptococci. However, 0.8-1.5% of *S. pneumoniae* contain optochin resistant population. Recently, we experienced three cases of variants of *S. pneumoniae* with decreased susceptibility to optochin. Equivocal optochin disk test should be confirmed by bile solubility, agglutination test, or DNA probe test. (Korean J Clin Microbiol 2002;5(1):59-61)

Key words: Optochin, Decreased susceptibility, *Streptococcus pneumoniae*

서 론

*Streptococcus pneumoniae*는 원외감염 폐렴, 소아 균혈증 및 중이염의 가장 빈번한 원인균이며, 수막염, 결막염, 부비동염, 유양돌기염, 심내막염, 관절염 등도 일으킨다[1]. Optochin 시험은 다른 streptococci로부터 *S. pneumoniae*를 구별하는 데 있어 가장 널리 사용되는 방법이다[2]. 그러나, optochin에 내성을 보이는 *S. pneumoniae*가 드물게 보고되고 있으며[3], 이로 인해 혼란 상재균의 하나인 viridans streptococci로 잘못 동정하는 오류를 범할 수 있다. 저자들은 임상 검체로부터 분리된 전형적인 집락형태의 *S. pneumoniae*로 optochin 감수성이 저하된 3 예를 경험하였기에 이를 간략한 문헌고찰과 함께 보고하는 바이다.

증 례

증례 1은 36세 여자환자로 열흘 전부터 시작된 콧물

을 주소로 외래를 방문하였으며, 임상적으로 만성 부비동염으로 진단되었고 비강면봉 도말검체 배양을 시행하였다. 증례 2는 62세 남자환자로 기저질환으로 알코올성 간경화를 앓고 있었고, 일주일 간의 기침, 객담 및 고열을 주소로 응급실을 방문하였으며 혈액 배양을 실시하였다. 증례 3은 55세 남자환자로 왼쪽 흉부 통증을 주소로 내원하여, 폐렴 및 좌흉막삼출을 진단받았으며, 객담 배양을 시행하였다. 배양 결과 3예 모두 면양혈액배지(아산제약주식회사, 한국)에서 1 mm 정도의 원형, 점조성, α-용혈의 편평하고 가운데가 오목한 전형적인 *S. pneumoniae*의 집락이 관찰되었다. 혈액 한천배지에 2-3개의 집락을 따서 1/4구역에 접종 후 직경 6 mm의 optochin 디스크(5 µg-ethylhydrocupreine hydrochloride/disk, BBL Sensi-Disc, Becton Dickinson Microbiology System, Cockeysville, MD, USA)를 놓고, 35 °C, CO₂ 배양기에서 하룻밤 배양 후 관찰된 억제대의 크기가 모두 7-12 mm 범위였다. Tryptic soy agar base로 만든 면양혈액배지(BBL)를 사용하여 재검한 결과 동일한 결과를 보였다. 담즙용해시험(10% deoxycholate, Sigma Chemical CO, St. Louis, MO, USA) 결과 모두 양성이었다. Vitek GPI card (bioMérieux Vitek, Hazelwood, MO, USA)를 이용한 생화학적 동정 결과 3균주 모두 *S. pneumoniae*로 동정되었고, 증례 2와 증례 3은 동일

접수번호 : CM 5-01-01

교신저자 : 박연준

(137-701)서울 서초구 반포동 505

가톨릭대학교 의과대학 강남성모병원 임상병리과

Tel: (02) 590-1604 Fax: (02) 592-1490

E-mail : yjpk@cmc.cuk.ac.kr

한 bionumber를 보였다. Etest (AB BIODISK, Sweden)를 이용한 penicillin과 cefotaxime 항균제 감수성 정도는 3예가 각각 penicillin의 경우 최소억제농도(minimal inhibitory concentration, MIC) 0.008 $\mu\text{g/mL}$, 0.75 $\mu\text{g/mL}$, 0.006 $\mu\text{g/mL}$ 였으며, cefotaxime의 경우 최소억제농도 0.008 $\mu\text{g/mL}$, 0.38 $\mu\text{g/mL}$, 0.004 $\mu\text{g/mL}$ 였다. 3 균주 모두에서 억제대로부터 optochin 디스크 주변으로 가까이 들어오는 한 두개의 집락을 계대배양하여 시행한 항균제 감수성 결과는 처음 시행한 항균제 감수성 결과와 동일하였다. Latex 법(Wellcogen Bacterial Antigen Detection Kit, Murex Biotech Limited, UK)에서도 페렴 구균 항혈청에 3예 모두 양성을 보였다(Table 1).

고 찰

Optochin (ethylhydrocupreine hydrochloride) 검사는 1959년 Lund에 의해 고안된 이후 다른 streptococci로부터 *S. pneumoniae*를 구별하는 데 가장 널리 사용되어 왔다[3,4]. 1980년대 후반부터 0.8-1.5%에서 optochin 내성을 보이는 *S. pneumoniae*가 보고되기 시작하였고 [5,6], 그 후 이에 대한 관심이 증가하면서 내성 유전자에 대한 연구 및 유전자 탐색자(probe)를 이용한 새로운 진단 방법의 개발과 다양한 진단법의 비교에 관한 연구가 활발히 진행되어 오고 있다 [7-11]. *S. pneumoniae*의 optochin 내성은 유전자의 변화에서부터 온 것이며, F1/F0 ATPase의 C 아단위 중 α -helixes 유전자 변이에 의한[7,8]. 이들의 임상적 중요성은 아직 내성 예가 빈번하지 않기 때문에 흔히 검사실 동정시 optochin 검사 결과에만 의존할 경우 viridans streptococci로 잘못 동정하는 오류를 범할 수 있다는 점이다. Mundy 등[9]과 Borek 등[10]은 *S. pneumoniae*를 동정하

는 데 optochin 검사와 담즙용해검사가 불일치 하는 경우 DNA 탐색자법이 가장 신뢰성이 높음을 보고하였으며, Chandler 등[11]은 optochin 검사가 담즙용해검사법보다 민감도와 특이도가 높음을 보고하였다. 그러나, 일반 검사실에서 *S. pneumoniae*를 동정하는 데 DNA 탐색자법을 이용하는 것은 비용면에서 너무 고가이므로 비효율적이며, optochin 검사와 담즙용해검사를 적절히 병용한다면 매우 효과적일 것으로 생각된다. 본 증례에서는 DNA 탐색자법을 이용하지는 않았지만, 전형적인 집락 형태와 담즙용해검사 및 생화학적 동정결과로 *S. pneumoniae*를 동정하는 데 큰 무리가 없었다. 또한 추가로 시행한 latex 법에서도 같은 결과를 얻을 수 있었다. 저자들이 경험한 3예 모두 다른 antibiogram을 가지고 있었으므로 동일한 균이 아님을 알 수 있었으며, 억제대의 크기는 7-12 mm로 다양하였다. Optochin 디스크에 가까이 들어오는 한 두개의 집락을 따로 계대배양하여 시행한 항균제 감수성 결과는 전체 집락에서 무작위로 시행한 항균제 감수성 결과와 동일하여 optochin 내성이 항균제 감수성과는 관련이 거의 없다는 기존의 보고와 일치하는 소견이었다[3]. Gardam 등은 optochin 검사에 있어 혈액한천배지의 agar base의 구성성분과 배양시 CO₂ 첨가의 중요성을 주장하였는데, tryptic soy agar (trypticase, phytone, sodium chloride를 함유)를 사용해서 만든 혈액한천배지를 사용할 경우 CO₂첨가 배양시 접종되는 균 수에 따른 영향이 가장 적으며, 가장 정확한 결과를 얻음을 증명하였다[12]. 그러나, 저자들이 검사실 상용 국산 혈액한천배지(heart & muscle in infusion form, bio-thione, sodium chloride를 함유)와 tryptic soy agar로 만든 혈액한천배지(BBL)로 동시에 시행한 optochin 검사 결과 억제대의 크기는 동

Table 1. Characteristics of three cases of *S. pneumoniae* with decreased susceptibility to optochin

No Case	Age /sex	Specimen	Clinical Diagnosis	Optochin* Test	Bile† Solubility	Vitek‡ ID	Antigen Kit§	Antimicrobial Susceptibility	
								Penicillin (MIC $\mu\text{g/mL}$)	Cefotaxime (MIC $\mu\text{g/mL}$)
1	36/F	Nasal swab	Chronic sinusitis	R	P	11003130000	WP	0.008 S	0.008 S
2	62/M	Blood	Sepsis	R	P	11003132000	P	0.75 I	0.38 S
3	55/M	Sputum	Pneumonia	R	P	11003132000	P	0.006 S	0.004 S

*6mm-optochin disk (BBL Sensi-Disc, Becton Dickinson Microbiology System, Cockeysville, MD, USA)

†10% deoxycholate (Sigma Chemical CO, St. Louis, MO, USA)‡ Vitek GPI card (bioMérieux Vitek, Hazelwood, MO, USA)

§ Wellcogen Bacterial Antigen detection Kit (Murex Biotech Limited, Dartford, DA1, 5LR, UK)

Abbreviations : R, resistant; I, intermediate; S, susceptible ; P, positive; WP, weakly positive.

일하여 이들 보고와는 차이가 있었다. *S. pneumoniae*는 원외감염 폐렴, 소아중이염 등 일상 생활에서 쉽게 감염될 수 있는 흔한 원인균이기에 그만큼 동정도 신속, 정확해야 한다. 그러므로, *S. pneumoniae*를 동정하는 데 있어, 특히 전형적인 형태의 집락일 경우, optochin 검사가 내성이라면, 쉽게 할 수 있는 담즙용해시험을 병행하고, latex 응집검사 및 상품화된 kit를 이용한 생화학적 동정검사 등 추가검사가 시행되어야 할 것으로 사료된다.

요 약

*S. pneumoniae*는 원외 폐렴, 중이염 등의 흔한 원인균의 하나이다. Optochin 검사는 다른 streptococci로부터 *S. pneumoniae*를 감별하기 위해 가장 널리 사용되는 방법이다. 그러나, 드물게 optochin 내성을 보이는 *S. pneumoniae*가 보고되고 있으며, 저자들은 최근 optochin 감수성 저하를 보이는 *S. pneumoniae* 3 예를 경험하였다. *S. pneumoniae* 형태의 집락을 보이는 균주가 optochin 감수성 저하를 보일 경우, 반드시 확인을 위한 추가 검사가 시행되어야 할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. 정운섭, 이경원 등. *Streptococcus, Enterococcus* 및 기타 Catalase 음성 그람양성구균. 정운섭, 이경원 등. 최신 진단미생물학. 제3개정판. 서울: 서흥출판사, 2000:127
2. Ruoff KL, Wiley RA, et al. *Streptococcus*. In : Murray PR, Baron EJ et al. eds. *Manual of clinical Microbiology*. 7th ed. Washington DC: ASM Press, 1999:2883.
3. Mu oz R, Fenoll A, Vicioso D, Casal J. *Optochin-resistant variants of Streptococcus pneumoniae*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1990;13:63-6.
4. Lund E. *Diagnosis of pneumococci by optochin and bile tests*. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1959;47:308.
5. Kontiainen S and Sivonen A. *Optochin resistance in Streptococcus pneumoniae strains isolated from blood and middle ear fluid*. *Eur J Clin Microbiol* 1987;6:422.
6. Phillips G, Barker R, Brogan O. *Optochin-resistant Streptococcus pneumoniae*. *Lancet* 1988;2:281.
7. Mu oz R, Garc a E, Campa AG. *Quinine specifically inhibits the proteolipid subunit of the F0F1 H⁺-ATPase of Streptococcus pneumoniae*. *J Bacteriol* 1996;178:2455-8.
8. Cogn N, Claverys JP, Denis F, Martin C. *A novel mutation in the -helix 1 of the C subunit of the F0F1ATPase responsible for optochin resistance of a Streptococcus pneumoniae clinical isolate*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2000;38:119-21.
9. Mundy LS, Janoff EN, Schwebke KE, Shanholtzer CJ, Willard KE. *Ambiguity in the identification of Streptococcus pneumoniae optochin, bile solubility, quelling, and the AccuProbe DNA probe tests*. *Am J Clin Pathol* 1998;109:55-61.
10. Borek AP, Dressel DC, Hussong J, Peterson LR. *Evolving clinical problems with Streptococcus pneumoniae: Increasing resistance to antimicrobial agents, and failure of traditional optochin identification in Chicago, Illinois, between 1993 and 1996*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1997;29:209-14.
11. Chandler LJ, Reisner BS, Woods GL, Jafri AK. *Comparison of four methods for identifying Streptococcus pneumoniae*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2000;37:258-87.
12. Gardam MA and Miller MA. *Optochin revisited: Defining the optimal type of blood agar for presumptive identification of Streptococcus pneumoniae*. *J Clin Microbiol* 1998;36:833-4.