

성홍열 환자로부터 분리한 *Streptococcus pyogenes*의 항균제 내성 연구

박성아[†] · 이승주 · 조경순 · 김정아 · 권영희 · 이영숙
미생물과

Study on Antibiotic Resistance to *Streptococcus pyogenes* Isolated from the Scarlet Fever Patients

Sung-Ah Park[†], Seung-Ju Lee, Kyung-Soon Cho, Jeong-A Kim,
Young-Hee Kwon and Young-Sook Lee
Microbiology Division

Abstract

We studied the antibiotic resistance profile and its coding gene among 58 strains of *Streptococcus pyogenes* isolated from pediatric hospitals in Busan from January, 2005 to September, 2008.

Most of the isolates showed inclination of susceptibility to 7 tested antibiotics such as ampicillin, chloramphenicol, cefotaxime, vancomycin, tetracyclin, erythromycin and clindamycin examined by disk diffusion method and MIC method. Especially, All of the isoaltes were absolutely susceptible to ampicillin, cefotaxime and vancomycin by both method. By comparition of each method, chloramphenicol was shown to intermediate susceptibility (5.2% and 20.7%) and tetracycline was shown to resistant (3.4% and 10.3%) and intermediate susceptibility (1.7% and 15.5%) and erythromycin was shown to resistance (1.7% and 3.4%) and intermediate susceptibility (1.7% and 0%, respectively). The results were similar by both methods

In the other hand, antibiotic resistant genes were detected by PCR as 1 *tet(M/O/S)*, 1 *tet(M)*, 1 *tet(O)* and 1 *erm(B)* in the case of tetracycline and erythromycin, respectively.

Key Words : *Streptococcus pyogenes*, Antibiotics, Erythromycin, Tetracycline, Resistance gene

서 론

연쇄구균(streptococcus)은 사람의 구강 및 호흡기도에 존재하는 그람양성세균으로 *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*를 포함한 48종으로 구성 된다¹⁾. *S. pyogenes*는 연쇄상의 그람양성구균으로 완전용혈과 catalase 음성을 나타내며 소아에게 매우 흔한 감염균으로 인후염이나 피부감염 뿐 만아니라 침습성 감염도 일으킬 수 있으며 사구체 신염, 류마티스열 등 후유증을 유발할 수도 있다.

최근 20여 년 동안 이 균의 항균제 감수성시험 문헌보고에 의하면 페니실린 내성 균주는 아직 전 세계적으로 보고된 바가 없다²⁾. 따라서 페니실린은 *S. pyogenes* 감염치료에 가장 좋은 약제일 수 있으나 과민반응을 우려해 많이 사용되지 않고 erythromycin 등 marcolide계 항생제나 clindamycin 등이 많이 사용되고 있다^{3,4)}. *S. pyogenes*의

항균제 내성은 1958년 Lowbury에 의해 erythromycin 내성이 보고된 이래 세계 여러 지역에서 산발적인 보고가 있었으나 90년대 초반부터 내성균주에 대한 보고가 증가하였다.

따라서 본 연구에서는 부산지역 성홍열환자로부터 분리한 *S. pyogenes*의 항균제 내성의 특성을 살펴보고 내성을 나타낸 경우 그 내성 유전자를 찾아보고자 한다.

재료 및 방법

1. 사용균주

표준균주로서 *S. pyogenes* (ATCC 12351), *S. pneumoniae* (ATCC 49619), *E. coli* (ATCC 25822)를 사용하였으며 실험에 사용한 균주는 2004년 1월부터

[†] Corresponding author. E-mail:stpure@korea.kr
Tel:+82-51-757-7502, Fax:+82-51-759-2879

2008년 9월까지 부산시내 소재 5개 병원 소아과로 내원한 환자 중 성홍열로 확인된 환자의 가검물을 수집 분리 동정한 총 58주를 대상으로 하였다.

2. 균주의 배양

모든 분리된 균주는 10% glycerol을 넣은 TSB broth에서 -70°C 에서 보관하였으며 항생제 감수성시험은 분리 보관된 균주를 5% sheep blood agar에 35°C 배양기 (5%CO₂)에서 24시간 배양하여 이용하였다. 또한 균주의 분리를 높이기 위해 혈액배지에 반복하여 계대하였다. 분리된 콜로니를 3ml Mueller-Hinton broth (MHB; Oxoid, England)에 넣고 colonimeter (Vitek, USA)를 이용 0.5 McFarland으로 맞춘 후 disk diffusion법과 minimal inhibitory concentration (MIC) 테스트를 실시하였다.

3. 항균제 감수성 실험

1) 항균제 시약

항균제 감수성 실험은 7종의 항생제 즉 ampicillin, chloramphenicol, cefotaxime, vancomycin, tetracycline, erythromycin, clindamycin에 대해 실시하였다. 항생제의 종류는 기존 연구들에서 가장 자주 사용된 것들을

선택하여 연관성을 파악하고자 하였다.

디스크 확산법은 Becton Dickinson (BD; USA), MIC법은 tetracycline, chloramphenicol, vancomycin, ampicillin은 Sigma사(Italy), erythromycin, cefotaxime은 Duchefa사(Netherland), clindamycin은 Tokyo Chemical (Japan)의 시약을 각각 사용하였으며 각각의 농도는 Table 1과 같다.

2) 디스크 확산법(Disk diffusion test)

디스크 확산법은 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2006)방법⁶⁾ 및 2008 항균제 감수성 표준시험법(질병관리본부 국립보건연구원)⁷⁾에 따라 실시했다. 요약하자면 5% defibrinated sheep blood (Oxoid, England)을 넣은 Mueller Hinton agar에 균을 균일하게 도포한 후 항생제 디스크를 올리고 5% CO₂ 항온기에서 24시간 배양한다. 배양 후 electronic digital caliper를 이용 clear zone의 크기를 측정하고 CLSI의 기준에 따라 감수성 및 내성을 판독한다.

3) MIC test

본 시험은 CLSI (2006)의 방법⁶⁾ 및 2008 항균제 감수성 표준시험법(질병관리본부 국립보건연구원)⁷⁾에 따라 실시하였다. 요약하면 먼저 각각의 항생제를 1,024 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의

Table 1. The range of antimicrobial agents used in this study

Antimicrobial agents	Disk diffusion test (μg)	MIC test ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
Ampicillin(Am)	10	0.125 ~ 258
Chloramphenicol(C)	30	0.0156 ~ 1024
Cefotaxime(CTX)	30	0.125 ~ 512
Vancomycin(Va)	30	0.0156 ~ 1024
Tetracycline(Te)	30	0.0156 ~ 1024
Erythromycin(E)	15	0.0156 ~ 1024
Clindamycin(CC)	2	0.0156 ~ 1024

Table 2. Determination of susceptibility, intermediated resistance and resistance of bacteria to seven antimicrobial agents by standard CLSI - disk diffusion method.

Antimicrobial agents	Resistance	Intermediate	Susceptibility
Ampicillin(Am)	-	-	≥ 24
Chloramphenicol(C)	≤ 17	18 ~ 20	≥ 21
Cefotaxime(CTX)	-	-	≥ 24
Vancomycin(Va)	-	-	≥ 17
Tetracycline(Te)	≤ 18	19 ~ 22	≥ 23
Erythromycin(E)	≤ 15	16 ~ 20	≥ 21
Clindamycin(CC)	≤ 15	16 ~ 18	≥ 19

농도로 맞춘 후 미리 50 μ l의 lysed horse blood을 첨가한 cation-adjusted Mueller-Hinton broth로 채워둔 (마지막 well은 10 μ l) U-form 96 well microplate에 항생제를 원하는 농도의 2배 농도로 만들어 첫 번째 well에 50 μ l 넣고 단계 희석한다. 5 μ l의 균 현탁액을 각각의 well에 분주하고 35 $^{\circ}$ C에서 24시간 동안 배양한다. 마지막 well은 항생제를 넣지 않고 대조군으로 사용한다. 성장을 확인할 수 있는 최저농도는 CLSI criteria (2006)에 따른다.

4) 항생제 내성 유전자의 검출

항생제에 내성을 나타내는 유전자의 검출은 single PCR,과 multiplex PCR을 이용하였다. 분리된 균주는 TSB에 35 $^{\circ}$ C에서 24시간 배양 후 사용, 배양물에서 DNA의 추출은 AccuPrepTM Genomic DNA Extraction Kit (Bioneer, Korea)를 사용하였으며 사용된 primer들은 Table 4. 와 같다. 이들 primer 중 *erm*(A), *erm*(B), *erm*(F), *mef*(A)은 macrolide계 (erythromycin)의 내성 유전자이며 *tet*(M), *tet*(O), *tet*(S), *tet*(M/O/S), *tet*(K), *tet*(L)은 tetracycline의 내성유전자이다.

Single PCR

tet(M/O/S), *tet*(K), *tet*(L), *erm*(A), *erm*(B), *erm*(F), *mef*(A)gene의 증폭은 Sapkota 등(2006)의 방법을 변용하였다^{5,8)}. 요약하자면 single PCR은 mixture (1unit의 Taq polymerase를 포함(Bioneer, Korea) - 2 μ l의 10mM dNTP (2.5mM), 1X PCR buffer) 각각의 primer (100pmol) 각각 0.15 μ l, 2 μ l의 whole-cell DNA를 넣고 최종량은 증류수로 20 μ l로 맞추고 PCR 실시하였다. 사용기기는 Thermal cycler (Bio-Rad, USA; PTC-100, MJ Research CO., MA, USA)이며 PCR 사이클 시간은 96 $^{\circ}$ C에서 3분 유지하여 DNA를 denaturation시킨 후 96 $^{\circ}$ C 30초, 55 $^{\circ}$ C 1분, 72 $^{\circ}$ C 2분을 35 cycle 반복하여 primer를 annealing하고, 72 $^{\circ}$ C 10분

을 유지해서 DNA의 polymerization조작을 완료한다. 이 PCR 산물을 1.5% agarose gel에 loading해서 전기영동한 후 BioCapt MWTM program을 이용 판독한다.

Multiplex PCR

tet(M), *tet*(O), *tet*(S)gene의 증폭은 multiplex PCR을 실시하였으며 mixture (2.5unit의 Taq polymerase를 포함(Bioneer, Korea) - 2 μ l의 10mM dNTP(2.5mM), 1X PCR buffer, 7 μ l의 20mM MgCl₂)에, *tet*(M)과 *tet*(S) primer(100pmol) 각각 0.25 μ l, *tet*(O) 0.65 μ l, 10 μ l의 bacterial DNA를 넣고 최종량은 증류수로 50 μ l로 맞추고 PCR 실시하였다. 증폭은 온도조절기가 부착된 PTC-100tm 기기를 이용하였으며 94 $^{\circ}$ C에서 1분 유지하여 DNA를 denaturation시킨 후 94 $^{\circ}$ C 1분, 55 $^{\circ}$ C 1분, 72 $^{\circ}$ C 1.5분을 35cycle 반복하여 primer를 annealing하고 72 $^{\circ}$ C 5분을 유지해서 DNA의 polymerization조작을 완료한다.

결 과

부산시내 5개 병·의원에서 수집한 성홍열환자의 성별 연령별 분포는 Table 5와 같다.

각각 남아 37명, 여아 21명이었으며 연령별 분포는 4~6세에 집중되어 있어 성홍열이 이 나이에 흔히 나타나는 질병임을 알 수 있었다.

1. 항생제 감수성 시험

1) 디스크 확산법 (Disk diffusion test)

성홍열환자 인후가검물에서 분리한 총 58건의 *S. pyogenes*에 대해 7종의 항균제(ampicillin, chloramphenicol, cefotaxime, vancomycin, tetracycline, erythromycin, clindamycin)에 대한 디스크 확산법에 의한 감수성을 조사한 결과는 Table 6과 같다. 분리된 58종

Table 3. Determination of susceptibility, intermediated resistance and resistance of bacteria to seven antimicrobial agents by standard CLSI - MIC test

Antimicrobial agents	Resistance	Intermediate	Suceptibility
Ampicillin(Am)	-	-	≤0.25
Chloramphenicol(C)	≥16	8	≤4
Cefotaxime(CTX)	-	-	≤0.5
Vancomycin(Va)	-	-	≤1
Tetracycline(Te)	≥8	-	≤2
Erythromycin(E)	≥1	0.5	≤0.25
Clindamycin(CC)	≥1	0.5	≤0.25

Table 4. Synthetic oligonucleotide primers used for PCR

Gene	Primer Sequence(5 '-3')	size(bp)	Reference
erm(A)	TCT AAA AAG CAT GTA AAA GAA CTT CGA TAG TTT ATTAAT ATT AGT	644	A.R.Sapkota (2006)
erm(B)	GAA AAG GTA CTC AAC CAA ATA AGT AAC GGT ACT TAA ATT GTT TAC	638	A.R.Sapkota (2006)
erm(F)	CGG GTC AGC ACT TTA CTA TTG GGA CCT ACC TCA TAG ACA AG	465	A.R.Sapkota (2006)
mef(A)	AGT ATC ATT AAT CAC TAG TGC TTC TTC TGG TAC TAA AAG TGG	348	A.R.Sapkota (2006)
tet(K)	TAA AGT AAT GGT ACC TGG TAA ATC AAC GCT AGC CAC TCA TAG TTG TAA AC	860	A.R.Sapkota (2006)
tet(L)	TCG TTA GCG TGC TGT CAT TCC CGG CTA CAT TGG TGG GAT AC	267	A.R.Sapkota (2006)
tet(M/O/S)	GAA GCC CAG AAA GGA TT(C/T) GGT GTT TAT CAC GGA AG(C/T)GC(A/T)A	685	A.R.Sapkota (2006)
tet(M)	GTG GAC AAA GGT ACA ACG AG CGG TAA AGT TCG TCA CAC AC	406	L.K.Ng at el (2001)
tet(O)	AAC TTA GGC ATT CTG GCT CAC TCC CAC TGT TCC ATA TCG TCA	515	L.K.Ng at el (2001)
tet(S)	CAT AGA CAA GCC GTT GAC C ATG TTT TTG GAA CGC CAG AG	667	L.K.Ng at el (2001)

Table 5. Sample distribution by sex and age

sex	ages	total	age									
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10 ~
male		37	1	-	-	26	5	1	-	2	1	1
female		21	-	-	-	9	4	7	-	1	-	-

의 균주는 대부분의 항균제에서 감수성을 나타내었다. 구체적으로 살펴보면 ampicillin, cefotaxime, vancomycin은 모든 균주에서 감수성을 나타내었고, chloramphenicol은 3주에서 중간내성(5.2%)을, 나머지는 감수성을 나타내었으며, 또한 tetracycline은 내성 2주(3.4%), 중간내성 1주(1.7%), erythromycin은 내성 1주(1.7%), 중간내성 1주(1.7%), clindamycin은 총 7주에서 중간내성(12.1%)을 나타내었다.

2) 액체배지희석법 (MIC test)

성홍열환자 인후가검물에서 분리한 총 58건의 *S.pyo*-genes에 대해 7종의 항생제(ampicillin, chloramphenicol, gentamycin, cefotaxime, vancomycin, tetracycline, erythromycin, clindamycin)에 대한 MIC법에 의한 감수성을 조사한 결과는 Table 7과 같다. 분리된 58종의 균주는 대부분의 항생제에서 감수성을 나타내었다. 구체적으로 살펴보면 ampicillin, cefotaxime, vancomycin은 모든 균주에서 감수성을 나타내었고, chloramphenicol은 12주에서 중간내성(20.7%)을 나머지는 감수성을 나타내었으며, 또

한 tetracycline은 내성6주(10.3%), 중간내성 9주(15.5%), erythromycin은 내성 2주(3.4%), clindamycin은 2주에서 내성(3.4%), 3주에서 중간내성(5.2%)을 나타내었다. 이러한 결과는 앞에서 기술한 디스크확산법의 결과와 상당 부분 일치하는 것으로 두 시험사이에 상관관계는 입증되었다고 할 수 있을 것이다. 다만 MIC test 결과에서 내성 및 중간내성이 더 많은 것은 MIC test가 실험방법 상 단계별 희석농도에 따라 실험이 이루어져 판정이 더 세밀하게 이루어지기 때문으로 사료된다.

3. 항균제 내성 유전자의 확인

최근의 연구논문들을 살펴보면 항균제 중 특히 tetracycline과 erythromycin에 관련된 내성유전자에 대한 연구가 활발함을 알 수 있다^{18,19,20,21,22,23}.

본 연구에서도 tetracycline과 erythromycin에 내성 및 중간내성을 나타낸 주들을 대상으로 PCR을 실시하여 그 내성 유전자들은 알아보고자 하였다. tetracycline의 내성 및 중간내성을 나타낸 15주에 대해 single PCR을 실시한 결과 1주에서 *tet(M/O/S)*gene이 검출 되었으며

*tet(L)*과 *tet(K)* gene은 검출되지 않았다(Fig. 1, 2, 3). 한편 *tet(M)*, *tet(O)*, *tet(S)* gene에 대해 실시한 multiplex PCR의 결과 *tet(M)* 1주, *tet(O)*가 1주의 균에서 각각 나타났다(Fig. 4, 5, 6). 또, Erythromycine에 내

성 및 중간내성을 나타낸 2주에 대해 single PCR을 실시한 결과 1주에서 *erm(B)* gene이 검출 되었으며 *erm(A)*, *erm(F)*, *mef(A)* gene은 검출되지 않았다(Fig. 7).

Table 6. The results of antimicrobial susceptibility test by disk diffusion method.

Antimicrobial agent	Resistance(%)	Intermediate(%)	Susceptibility(%)
Ampicillin (Am)	0(0)	0(0)	58(100)
Chloramphenicol (C)	0(0)	3(5.2)	55(94.8)
Cefotaxime (CTX)	0(0)	0(0)	58(100)
Vancomycin (Va)	0(0)	0(0)	58(100)
Tetracycline (Te)	2(3.4)	1(1.7)	55(94.8)
Erythromycin (E)	1(1.7)	1(1.7)	56(96.6)
Clindamycin (CC)	0(0)	7(12.1)	51(87.9)

Table 7. The results of antimicrobial susceptibility test by MIC method

Antimicrobial agent	Resistance(%)	Intermediate(%)	Susceptibility(%)
Ampicillin (Am)	0(0)	0(0)	58(100)
Chloramphenicol (C)	0(0)	12(20.7)	46(79.3)
Cefotaxime (CTX)	0(0)	0(0)	58(100)
Vancomycin (Va)	0(0)	0(0)	58(100)
Tetracycline (Te)	6(10.3)	9(15.5)	43(74.1)
Erythromycin (E)	2(3.4)	0(0)	56(96.6)
Clindamycin (CC)	0(0)	3(5.2)	55(94.8)

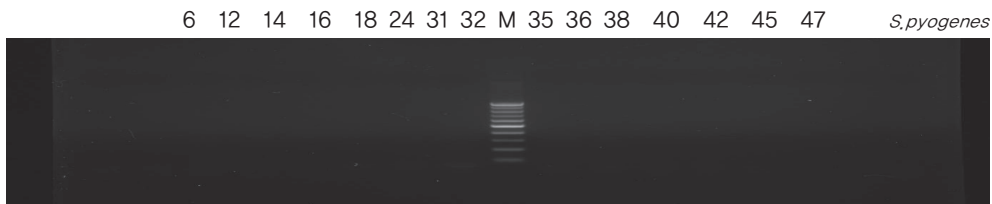


Fig. 1. PCR analysis of *tet-L* gene (267bp) from tetracycline resistant *S. pyogenes*.

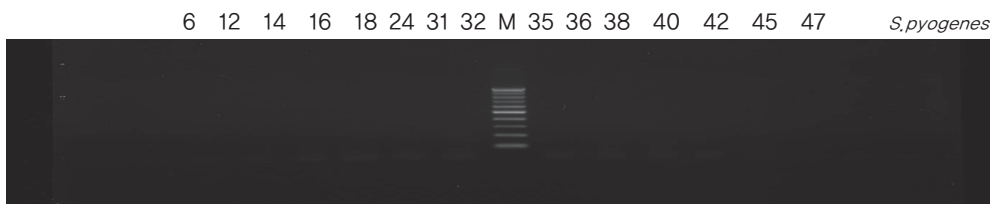


Fig. 2 . PCR analysis of *tet-K* gene (860bp) from tetracycline resistant *S. pyogenes*.

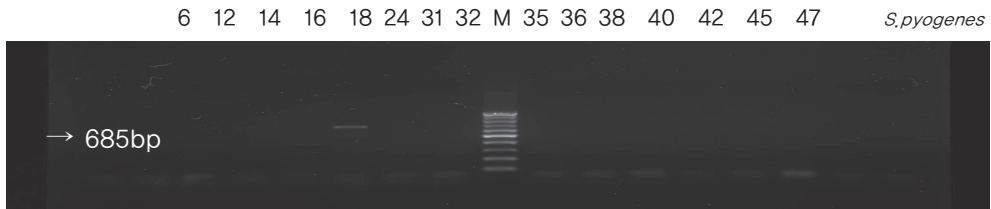


Fig. 3. PCR analysis of *tet-M/O/S* gene (685bp) from tetracycline resistant *S. pyogenes*.

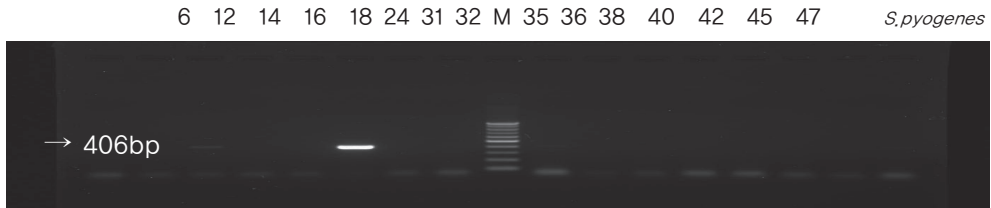


Fig. 4. PCR analysis of *tet-M* gene (406bp) from tetracycline resistant *S. pyogenes*.

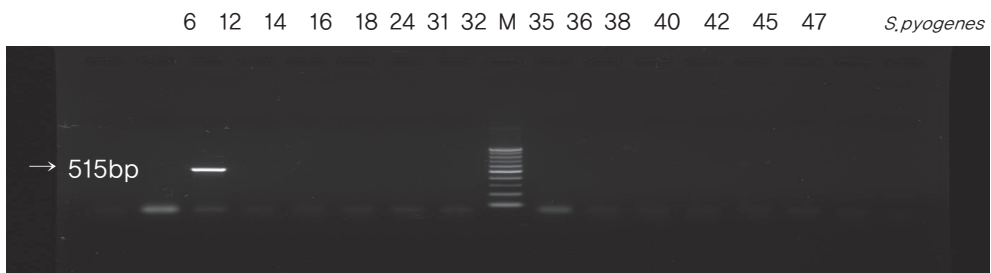


Fig. 5. PCR analysis of *tet-O* gene (515bp) from tetracycline resistant *S. pyogenes*.

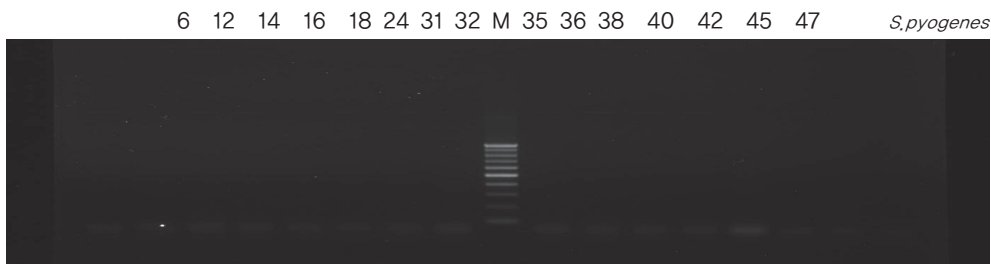


Fig. 6. PCR analysis of *tet-S* gene (667bp) from tetracycline resistant *S. pyogenes*.

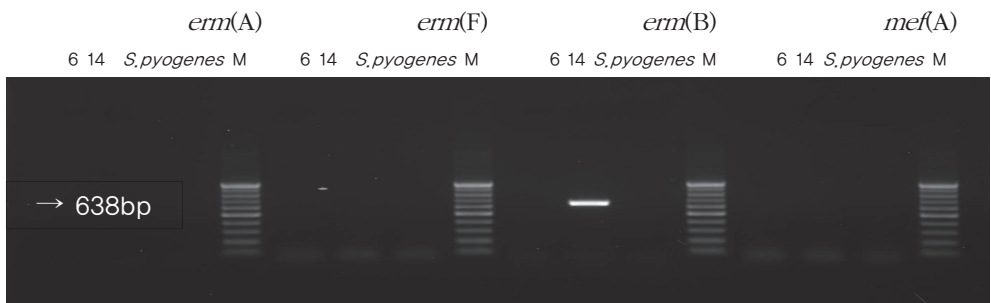


Fig. 7. PCR analysis of *erm(A)*, *erm(F)*, *erm(B)*, *mef(A)* gene from Erythromycin resistant *S. pyogenes*.

고 찰

*S. pyogenes*의 erythromycin 내성률은 국가, 연구시기, 항생제 사용량에 따라서 차이가 크게 나타나며, 국내 보고에서는 1994년 2%로 낮았지만 1998년에는 16%로 증가하였고 1999년에는 46%로 내성률이 급격히 증가하는 추세(10,11)인 것 같으나, 본 연구에서는 58주 중 단 2주(3.2%)만이 내성을 나타내어 선행 논문들과 다른 결과를 나타내었다. 이는 물론 지역적 편차는 있겠으나 실험에 사용된 균주들만의 특징인지 아니면 부산지역 균주들의 일반적 양상인지 좀더 광범위한 대상을 연구해 봐야 할 과제이다.

일본의 경우 1971년 2%이던 내성율이 1975년에는 62%까지 증가하였고, 이러한 내성균의 증가는 erythromycin의 사용량 증가와 일치하였다¹²⁾. 또한, 1980년대에는 erythromycin 내성율이 현저히 감소하는데 이는 macrolide계 항균제 사용량 감소가 중요한 역할을 한 것으로 사료된다¹³⁾. 핀란드에서도 *S. pyogenes*의 erythromycin에 대한 내성율이 1990년대 초에는 20%였지만 macrolide계 항균제 사용을 줄인 결과 1996년에는 8.5%로 감소하였다¹⁴⁾. 우리나라에서도 erythromycin의 사용량은 최근 감소하고 있으나 azithromycin, clarithromycin 등 새로운 macrolide계 항균제 사용량이 증가하고 있는 바¹⁵⁾ 이들 항균제가 남용되지 않도록 사용 원칙을 지키는 것이 매우 중요하다고 할 수 있다¹⁶⁾.

또한 tetracycline의 내성률은 중간내성을 포함 13주(25.8%)로 나타나 erythromycin보다 높게 나타났다. Sauer mann 등은 tetracycline 내성률은 erythromycin 내성균주에서는 18.0%, 감수성균주에서는 16.0%로 거의 같다고 했으나¹⁷⁾, 본 시험에서는 각각 50%, 92.3%로 나타났으나 erythromycin 내성 공시균주가 적은(2주) 관계로 연관성을 입증하기는 어려웠다.

선행된 많은 항균제 내성과 그 유전자와의 상관관계를 규명한 연구논문^{18,19,20,21,22,23)}을 참고하여, 본 연구에서도 내성유전자 관련시험을 실시하였다. 그 결과 tetracycline에 내성(중간내성 포함)인 분리주 15주에서 *tet(M/O/S)* gene 1주, *tet(M)* 1주, *tet(O)* 1주가 각각 검출되었다. 또한 erythromycin에 내성인 분리주 2주에서는 *erm(B)* gene이 1주에서 검출되었다. 아쉽게도 본 연구에 사용된 공시균주의 수가 한정적이라 항생제 내성과 내성유전자와는 유의할만한 연관관계를 규명하는 데에는 한계가 있었으나, 앞으로 좀 더 많은 균주에 대한 포괄적인 조사가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

결 론

2004. 1월~2008. 9월 부산시내 5개 소아과 병·의원 성홍열 환자로부터 분리된 58주의 *Streptococcus pyogenes*에 대해 항균제 감수성 시험과 항균제 내성 유전자 검사를 실시하였다.

총 7종의 항균제(ampicillin, chloramphenicol, cefotaxime, vancomycin, tetracycline, erythromycin, clindamycin)에 대해 디스크 확산법(disk diffusion method)와 액체배지희석법(MIC test)으로 감수성 시험을 한 결과 분리된 58종의 균주는 대부분의 항균제에 대하여 감수성을 나타내었다. 양 시험법 모두에서 ampicillin, cefotaxime, vancomycin에 대하여는 모든 분리균주가 감수성을 나타내었다. 한편, 디스크확산법 시험결과 chloramphenicol의 경우 3주에서 중간내성(5.2%)을, 나머지는 감수성을 나타내었으며, 또한 tetracycline은 내성 2주(3.4%), 중간내성 1주(1.7%), erythromycin은 내성 1주(1.7%), 중간내성 1주(1.7%), clindamycin은 총 7주에서 중간내성(12.1%)을 나타내었다. 또 MIC법 시험결과, chloramphenicol은 12주에서 중간내성(20.7%)을, 나머지는 감수성을 나타내었으며, 또한 tetracycline은 내성 6주(10.3%), 중간내성 9주(15.5%), erythromycin은 내성 2주(3.4%), clindamycin은 2주에서 내성(3.4%), 3주에서 중간내성(5.2%)을 나타내어 디스크 확산법의 결과와 상당 부분 일치하였다.

마지막으로 MIC test에서 tetracycline에 내성(중간내성 포함)을 나타내는 분리주 15주에 대하여 내성유전자의 존재 유무를 조사한 결과 *tet(M/O/S)* gene 1주 *tet(M)* 1주, *tet(O)* 1주가 각각 검출되었다. 또한 erythromycin에 내성을 나타낸 2주에 대해 내성유전자의 존재 유무를 조사한 결과 *erm(B)* gene이 1주에서 검출되었다. 따라서 이들 유전자가 항생제 내성에 관련된 유전자임을 알 수 있었다.

참고문헌

1. Flankam R. "What happened to the streptococci : Overview of taxonomic and nomenclature changes". Clin microbiol Rev 15, pp613~630 (2002)
2. Kataja J, P Huovinen, A Moutiala, J vuopio-var-kila, A Efstratio, G Hallas, H Seppala "Clonal spread of group A streptococcus with the new type of Erythromycin resistance" J infect Dis 177, pp786~789(1998)

3. 정혜선, 박수은, 이환중, 김의중, 김제학 "Streptococcus pyogenes의 소아에서의 감염양상 및 항균제 감수성" 감염, 30, pp419~425(1998)
4. Veclercq R and Courvalin P "Bacterial resistance to macrolide, lincosamide, and streptogramin antibiotics by target modification" Antimicrob Agents Chemother 35: pp1267~1272(1991)
5. Y.K.Park "Exploring of Streptococcosis Agents in Olive Flounder (Paralicthys olivaceus) and Study of its Antibiotic Resistance". Gyeongsang National Univ. pp42~57(2007)
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2006. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; approved Standard—ninth Edition. Clinical and Laboratory Standards Institute
7. 질병관리본부 국립보건연구원 "항균제 감수성 표준시험법" : pp110~116(2008)
8. Sapkota, ar. OJO, K.K., Roberts, M.C. and Schwab, K.J. 2006. Antibiotic resistance genes in multidrug-resistant Enterococcus spp. and Streptococcus spp. recovered from the indoor air of a large-scale swine-feeding operation. Lett Appl Microbiology. 43(5):534-540
9. NG, L.K., martin, I., Alfa, M. and Mulvey, M. 2001. Multiplex PCR for the detection of Tetracycline resistance genes. Mol Cell Probes. 15:209-215
10. 정운섭, 이경원, 권오현, 박향숙, "streptococcus pyogenes와 Streptococcus agalactiae의 항균제 감수성", 대한화학요법학회지, 12, pp111~115(1994)
11. 정혜선, 박수은, 이환중, 김의중, 김제학, "Streptococcus pyogenes의 소아에서의 감염양상 및 항균제 감수성", 감염학회지, 30, pp419~425(1998)
12. Nakae M, Murai T, Kaneko Y, Mitsuhashi S, "Drug resistance in Streptococcus pyogenes isolated in japan(1974~1975)", Antimicrob Agents Chemother, 12, pp427~428(1977)
13. Bass JW, Weisse ME, Plymyer MR, Murphy S, Eberly BJ, "Decline of Erythromycin resistance of group A beta-hemolytic streptococci in Japan", Arch Pediatr Adolesc Med, 148, pp67~71(1994)
14. Seppala 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, Finish Study Group for Antimicrobial Resistance", N 뚜히 J Med, 337, pp441~446(1997)
15. 구희경 백성철, 마상혁, 이희주, 차성호, "1998~2002년에 한국에서 분리된 A군 연쇄구균의 Erythromycin 내성추이", 감염과 화학요법, 36, pp75~82(2004)
16. 고은하, 맹국영, 김선주, 이남용, "Streptococcus pyogenes의 항균제별 감수성양상 및 Erythromycin 내성 표현형과 Tetracycline의 연관성, 대한진단검사의학회지, 제24권 제5호, pp297~300(2004)
17. Sauer mann R, Gattringer R. Greanninger W, Buxbaum A, Georgopoulos A. Phenotypes of macrolide resistance of group A streptococci isolated from outpatients in Bavaria and susceptibility to 16 antibiotics", J antimicrob Chemother, 51, pp53~57(2003)
18. Esther C, Iciar RA, Carmen B, et al., "Macrolide and Tetracycline Resistance and Molecular Relationship of Clinical Strains of Streptococcus agalactiae", Antimicrobial Agents and Chemotherapy, May, pp1574-1576(2002)
19. Joyce S, Thorsten G, Amelia TK, Lillian W, "Detection of Erythromycin-Resistant Determinants by PCR", Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Nov, pp2562~2566(1996)
20. 이영희, 황규잠, 이광준, 배송미, 김기상, "임상양상과 관련된 Streptococcus pyogenes의 발열 외독소 및 emm 유전형 분석", Journal of Bacteriology and Virology, vol.33, No. 4, pp277~283(2003)
21. Neil D, Krzysztof T, Paul P, Piotr Z, Christopher GD, "Genetic Diversity of the tet(M) Gene in Tetracycline-Resistant Clonal Lineages of Streptococcus pneumoniae", Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Nov, pp2979~2984(2000)
22. 이영희, 황규잠, 이광준, 박강수, 최영실, 성화영, 김기상, "국내분리 Streptococcus pyogenes에 대한 표현형 및 유전형 분석", Journal of Bacteriology and Virology, vol.31, No. 3, pp259~268(2001)
23. 이영희, 주영란, 황규잠, 이광준, 박강수, 배송미, 엄영길, 차성호, 이종삼, "국내분리 Streptococcus pyogenes 균주에 대한 rRNA Gene Restriction 양상 및 항균제 감수성", 대한미생물학회지, 제34호, 제3호, pp221~231(1999)