

Original Article



최근 5년간 국내 소아청소년에서 분리된 *Haemophilus influenzae*의 항생제 감수성 분석

이은택 ,¹ 박세라 ,¹ 김미나 ,² 이진아 ¹

¹울산의대 서울아산병원 소아청소년과
²울산의대 서울아산병원 진단검사의학과

OPEN ACCESS

Received: Sep 10, 2020

Revised: Oct 27, 2020

Accepted: Oct 27, 2020

Correspondence to

Jina Lee

Department of Pediatrics, Asan Medical Center, University of Ulsan College of Medicine, 88 Olympic-ro 43 gil, Songpa-gu, Seoul 05505, the Republic of Korea.
E-mail: entier@amc.seoul.kr

Copyright © 2020 The Korean Society of Pediatric Infectious Diseases

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ORCID iDs

Euntaek Lee
<https://orcid.org/0000-0002-9095-1453>
Sera Park
<https://orcid.org/0000-0002-6163-4440>
Mina Kim
<https://orcid.org/0000-0002-4624-6925>
Jina Lee
<https://orcid.org/0000-0002-3435-251X>

Conflict of Interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

Trend of Antibiotic Susceptibility of *Haemophilus influenzae* Isolated from Children, 2014–2019

Euntaek Lee ,¹ Sera Park ,¹ Mina Kim ,² Jina Lee ¹

¹Department of Pediatrics, Asan Medical Center, University of Ulsan College of Medicine, Seoul, the Republic of Korea

²Department of Laboratory Medicine, Asan Medical Center, University of Ulsan College of Medicine, Seoul, the Republic of Korea

ABSTRACT

Purpose: We investigated the trend of antibiotic susceptibility of *Haemophilus influenzae* over 5 consecutive years.

Methods: We analyzed the antibiotic susceptibility of *H. influenzae* isolated from children aged <18 years, who were admitted to the Asan Medical Center Children's Hospital from March 2014 to April 2019. Antibiotic susceptibility of *H. influenzae* was determined by the disk diffusion test according to the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing guidelines.

Results: Excluding duplicates, 69 isolates were obtained over the past 5 years. The median age of the patients was 5 years (range, 2.8–8.6 years). The antibiotic susceptibility patterns were as follows: ampicillin (AMP)-susceptible/amoxicillin-clavulanate (AMC)-susceptible (AS/ACS; n=15 [21.7%]), AMP-resistant/AMC-susceptible (AR/ACS; n=21 [30.4%]), and AMP-resistant/AMC-resistant (AR/ACR; n=33 [47.8%]). The prevalence of isolates with AR/ACR phenotype tended to increase from 42.1% in 2014–2015 to 54.5% in 2018–2019 ($P=0.342$). Compared to 2014–2015, the resistance rates to cefuroxime and ceftriaxone in 2018–2019 increased from 31.6% to 77.3% and from 0.0% to 59.1%, respectively ($P=0.003$ and $P<0.001$, respectively).

Conclusions: Over the last 5 years, *H. influenzae* isolates with AR/ACR phenotype and ceftriaxone resistance were frequently observed at our institute. The incidence of resistance to cefuroxime and ceftriaxone has increased significantly.

Keywords: *Haemophilus influenzae*; Antibiotic resistance

Author Contributions

Conceptualization: Lee E, Kim M, Lee J; Data curation: Lee E, Park S; Formal analysis: Lee J; Investigation: Lee E, Park S, Lee J; Methodology: Lee E, Park S, Kim M, Lee J; Supervision: Lee J; Validation: Lee E; Writing - original draft: Lee E; Writing - review & editing: Lee E, Lee J.

서론

*Haemophilus influenzae*는 2세 미만의 소아에서 급성 중이염을 일으키는 주된 병원체이며,^{1,2)} 건강한 사람의 상기도에 정상 상재균으로 존재한다.^{3,4)} *H. influenzae*는 2가지로 나뉘며, 피막 다당이 있는 경우에는 피막 다당의 항원성에 따라 6개의 혈청형(a-f)으로 분류되고, 피막 다당이 없는 경우에는 혈청형을 결정할 수 없는 *H. influenzae* (non-typeable *H. influenzae*, NTHi)로 명명한다.³⁾ 1990년대 *H. influenzae* type b (Hib)에 대한 다당질-단백 결합 백신이 도입된 이후로 Hib에 의한 뇌수막염, 균혈증, 폐렴 등의 침습성 감염증은 급격히 감소하였으며,⁵⁾ 최근에 발생하는 *H. influenzae* 감염증은 주로 NTHi에 의한다.⁶⁾ 2015-2016년 동안 헝가리에서 시행된 무증상 소아의 비인두 도말 배양 검사 연구에서 *H. influenzae*의 보균율은 34.2%였으며 대부분 NTHi였다.⁷⁾ 1970년대 이후에 TEM-1 및 ROB-1 등의 β -lactamase를 생성하는 *H. influenzae*가 전 세계적으로 출현하면서 ampicillin (AMP)에 대해 내성을 보이는 *H. influenzae* 균주의 비율이 증가하였다. 최근 일본에서 발표한 연구에 따르면 2011-2012년 동안 0-3세의 급성 중이염 환자의 중이액에서 검출된 *H. influenzae*의 AMP 내성률은 68.8%에 달하며,⁸⁾ 국내에서 발표한 연구에서도 2014년에 호흡기 증상이 있는 소아의 비인두 도말 검체에서 검출된 *H. influenzae*의 AMP 내성률은 69.8%이었다.³⁾ 이에 최근에는 *H. influenzae* 감염증에 대한 경험적 항생제로서 AMP 대신 cephalosporin의 사용이 증가하였으나,⁹⁾ 2000년대 이후부터 동아시아 지역에서 2세대 및 3세대 cephalosporin에 내성을 보이는 *H. influenzae* 균주들이 증가하고 있다.¹⁰⁾ 2014년 국내 보고에 의하면, *H. influenzae* 균주의 cefaclor에 대한 내성률은 1992-1997년에 13%였으나, 2014년에 81.1%까지 급격한 상승을 보였고, cefuroxime 내성률은 77.4%, cefpodoxime 내성률은 69.8%이었다.³⁾ Extended-spectrum cephalosporin에 대한 내성이 증가한다면 *H. influenzae*에 의한 중증 침습성 감염증 발생시 경험적 항생제로서 carbapenem 등의 다른 약제로 변경이 필요할 수 있다.⁹⁾

본 연구에서는 최근 5년간 서울아산병원 어린이병원에서 분리된 *H. influenzae* 균주의 항생제 감수성 양상을 분석하고, 특히 최근 문제가 되고 있는 3세대 cephalosporin 계열 항생제에 대한 내성률의 정도 및 변화 추세를 확인하고자 하였다.

방법

1. 연구 대상 및 방법

2014년 3월부터 2019년 4월까지 서울아산병원 어린이병원을 내원한 18세 미만의 환자 중 검체의 종류와 무관하게 *H. influenzae*가 배양 검사에서 확인된 경우를 본 연구에 포함하였다. 동일 환자에서 한 달 이내에 여러 번 *H. influenzae*가 분리된 경우에, 최초 분리된 균주만 분석에 포함하였다. 후향적 의무기록 분석을 통해서 환자의 성별, 연령 및 기저 질환 등에 대한 자료 및 배양 양성으로 확인된 *H. influenzae* 균주의 항생제 감수성 결과 등을 수집하였으며, ceftriaxone 저항성 균주의 경우 임상 진단 및 경과 등을 추가 분석하였다. 흉부 방사선 촬영에서 새로운 폐 병변이 발생하면서, 38°C 이상의 고열이나 화농성 객담의 발생, 백혈구 증가증 또는 백혈구 감소증, 산소포화도의 감소 또는 인공 호흡기 설정의 증가 등 폐 병변이 감염원임을 시사하는 조건을 만족할 때를 폐렴으로 정의 하였다.¹¹⁾ 입원 48시간 이후에 발생하였거나, 퇴원 후 2주 이내, 또는 수술 후 30일 이내에 감염이 발생하였을 경우 의료기관 관련 감염으로 정의하였다.¹²⁾

2. H. influenzae의 동정과 항생제 감수성 검사

서울아산병원 진단검사의학과 미생물검사실에서는 그람 염색, 초코렛 배지에서 배양, catalase 검사, V 및 X 인자 요구도, API NH kit (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, France) 등의 전통적인 방법을 이용하여 *H. influenzae*를 동정한다.¹³⁾ 항생제 감수성 검사는 디스크 확산법을 통해 시행하며, European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) 기준에 따라 결과를 보고한다.¹⁴⁾ 2014년 3월부터 2017년 6월까지 Mueller Hinton agar 와 blood agar가 혼합된 배지를 사용하였고, 2017년 7월부터는 Mueller Hinton F media (Mueller Hinton agar with 5% horse blood + 20 mg/L β -NAD; bioMérieux)를 사용하여 AMP, amoxicillin/clavulanate, cefuroxime, ceftriaxone, meropenem, azithromycin, erythromycin, sulfamethoxazole/trimethoprim, ciprofloxacin에 대한 항생제 감수성 검사를 시행하였다. 연구 기간 중 본원 진단검사의학과에서는 erythromycin 및 azithromycin에 대한 감수성 검사는 일부 균주에서만 시행하였으며, ciprofloxacin에 대한 감수성 결과는 2018년 이후에 추가하여 보고하였다. 감수성 균주 외에 중등도 또는 고도 내성의 경우 모두 내성으로 간주하였다.

분리된 *H. influenzae* 균주는 AMP와 amoxicillin/clavulanate의 감수성 여부에 따라 1) AMP susceptible (AS)/amoxicillin-clavulanate susceptible (ACS), 2) AMP-resistant (AR)/ACS, 3) AR/amoxicillin-clavulanate resistant (ACR)과 같이 3종류로 분류하였다.

-70°C에서 보관되어 있던 *H. influenzae* 중 디스크 확산법에서 ceftriaxone 내성으로 확인된 균주를 선택하여 계대배양한 후 ceftriaxone E-test (bioMérieux)를 이용하여 minimal inhibitory concentration (MIC) 값을 측정하였으며, EUCAST의 뇌수막염 외의 감염증에서의 감수성 기준인 ceftriaxone \leq 0.125 mg/L에 맞추어 분석하였다.¹⁴⁾

3. 통계분석

통계는 SPSS version 25.0 (IBM, Armonk, NY, USA)을 사용하였고, 연도별 추세 분석은 선형 대 선형 결합을 이용하였다. 연구 기간을 2014–2015년, 2016–2017년 및 2018–2019년의 3 분기로 나누어 항생제 내성률 증감 여부에 대한 추세 분석을 하였다. *P*value <0.05의 경우 통계학적으로 유의하다고 판단하였다.

4. 연구윤리

본 연구는 기관 임상시험심사위원회(Institutional Review Board, IRB)의 승인을 획득하였다 (IRB No. 2020-1612).

결과

1. 연구 대상의 특성

2014년 3월부터 2019년 4월까지 서울아산병원 어린이병원을 내원한 환자 중 총 54명의 환자에게서 76개의 *H. influenzae* 균주가 분리되었다. 이 중 총 7 균주(동일 환자에서 한 달 이내에 반복해서 분리된 중복 검체 5 균주 및 전산화된 의무기록에서 항생제 감수성 결과가 없는 2 균주)를 제외한 총 69 주의 *H. influenzae*가 본 연구에 포함되었다.

Table 1. Demographic data of patients under 18 years of age with culture positive *H. influenzae* as a colonizer or true pathogen

Characteristics	Total (n=69)	Ceftriaxone-resistant <i>H. influenzae</i> (n=23)
Median age (yr)	5.0 (2.8–8.6)	5.7 (2.7–8.4)
Male (% of male)	37 (53.6)	9 (39.1)
Presence of underlying disease	63 (91.3)	21 (91.3)
Chronic respiratory disease	35	11
Congenital heart disease	14	7
Others	14*	3†
Specimens		
Expectorated sputum	26	7
Endotracheal sputum	18	7
Bronchoalveolar lavage	15	8
Blood	3‡	0
Conjunctival discharge	3	0
Ear discharge	2	1
Maxillary sinus aspirate	1	0
Tonsil biopsy tissue	1	0

Values are presented as median (interquartile range) or number (%).

*Include chronic neurological disease (n=5), Marfan syndrome (n=2), primary immune deficiency (CVID, n=2), CHARGE syndrome (n=1), Wolf-Hirschhorn syndrome (n=1), chronic renal disease (n=1), hemato-oncological disease (n=1), and congenital cholesteatoma (n=1); †Include primary immune deficiency (CVID, n=2), chronic neurological disease (n=1); ‡Each was the primary bacteremia that occurred in premature infants born at 23 weeks of gestational age, 3-month-old boy with obstructive bronchiolitis, and 7-year-old girl without specific underlying disease, and all improved without specific problems.

Abbreviations: CVID, common variable immunodeficiency.

*H. influenzae*가 분리된 환자의 연령 중앙값은 5.0세(범위: 2.8–8.6세)이었고, 63명(91.3%)이 기저 질환을 가지고 있었다(Table 1). 가장 흔한 기저질환은 만성 호흡기 질환이었으며(35명; 50.7%), 14명(20.3%)에서 선천성 심장 질환을 가지고 있었다. 총 69례 중 3례(4.3%)가 정상적으로 무균인 체액에서 분리된 균주로 모두 혈액에서 배양되었다. 나머지 66례(95.7%)가 비침습 균주로서 대부분 호흡기 검체(59례)에서 분리되었고, 결막 분비물(3례), 이루(2례), 부비동 천자(1례), 편도조직 생검(1례)에서 각각 분리되었다.

2. *H. influenzae*의 항생제 내성

총 69개의 *H. influenzae* 균주를 디스크 확산법으로 측정된 항생제 내성률은 다음과 같다(Table 2). 즉, AMP 78.3% (54/69), amoxicillin/clavulanate 47.8% (33/69), cefuroxime 63.8% (44/69), ceftriaxone 33.3% (23/69), meropenem 0% (0/69), azithromycin 17.3% (9/52), erythromycin 100% (17/17), sulfamethoxazole/trimethoprim 39.1% (27/69) 및 ciprofloxacin 4.8% (1/21)이었다. *H. influenzae*의

Table 2. Antibiotic resistance rate* of *H. influenzae* isolated from children aged <18 years, 2014–2019

Antibiotics	Year of isolation			Total (n=69)	P for trend
	2014–2015 (n=19)	2016–2017 (n=28)	2018–2019 (n=22)		
Ampicillin	63.2% (12/19)	89.3% (25/28)	77.3% (17/22)	78.3% (54/69)	0.318
Amoxicillin/clavulanate	42.1% (8/19)	46.4% (13/28)	54.5% (12/22)	47.8% (33/69)	0.425
Cefuroxime	31.6% (6/19)	75.0% (21/28)	77.3% (17/22)	63.8% (44/69)	0.003
Ceftriaxone	0.0% (0/19)	35.7% (10/28)	59.1% (13/22)	33.3% (23/69)	<0.001
Azithromycin†	15.8% (3/19)	21.4% (3/14)	15.8% (3/19)	17.3% (9/52)	1.000
Trimethoprim/sulfamethoxazole	63.2% (12/19)	28.6% (8/28)	31.8% (7/22)	39.1% (27/69)	0.049
Ciprofloxacin‡	0.0% (0/1)	0.0% (0/0)	5.0% (1/20)	4.8% (1/21)	0.823
Erythromycin†	0.0% (0/0)	100.0% (14/14)	100.0% (3/3)	100.0% (17/17)	-
Meropenem	0.0% (0/19)	0.0% (0/28)	0.0% (0/22)	0.0% (0/69)	-

*Determined by disc diffusion test; †During the study period, erythromycin and azithromycin susceptibility tests were performed only in some strains in the Department of Laboratory Medicine, and the susceptibility results to ciprofloxacin were additionally reported after 2018.

Table 3. Distribution of ceftriaxone MIC among 23 *H. influenzae* isolates which were reported as ceftriaxone resistant isolates determined by disk diffusion method

Ceftriaxone MIC* (mg/L)	No. of isolates (%)	Ceftriaxone susceptibility determined by	
		E test	Disk diffusion test
0.008	1 (4.3)	S	R
0.012	1 (4.3)	S	R
0.125	2 (8.7)	S	R
0.19	10 (43.5)	R	R
0.25	5 (21.7)	R	R
0.5	1 (4.3)	R	R
0.75	1 (4.3)	R	R
Undetermined	2 (8.7)	NA	R

*MIC was determined by ceftriaxone E-test, and *H. influenzae* with ceftriaxone MIC >0.125 mg/L was defined as resistant according to the EUCAST clinical breakpoint.

Abbreviations: MIC, minimum inhibitory concentration; S, susceptible; R, resistant; NA, not applicable.

cefuroxime에 대한 내성률은 2014–2015년 31.6% (6/19), 2016–2017년 75.0% (21/28), 2018–2019년 77.3% (17/22)로 유의하게 증가하였고(*P* for trend=0.003), ceftriaxone 내성률 또한 2014–2015년 0% (0/19), 2016–2017년 35.7% (10/28), 2018–2019년 59.1% (13/22)로 유의하게 증가하였다(*P* for trend <0.001).

본원 진단검사의학과 디스크 확산법 보고에서 ceftriaxone 내성으로 보고된 23개의 *H. influenzae* 균주의 ceftriaxone MIC를 구하기 위해 추가 E-test를 시행하였고, 그 중 21개의 균주에서 ceftriaxone MIC를 구할 수 있었다. ceftriaxone MIC >0.125 mg/L인 내성 균주는 총 17주이었으며, 디스크 확산법과 E-test 결과의 일치률은 81.0% (17/21)이었다(**Table 3**). 디스크 확산법과 E test 결과가 불일치하였던 4균주 중 2균주는 감수성 기준의 기준치인 0.125 mg/L이었다. Ceftriaxone MIC >0.125 mg/L인 17 균주 중 58.8% (10 균주)가 ceftriaxone MIC=0.19 mg/L이었다.

3. AMP과 amoxicillin/clavulanate의 감수성 여부에 따른 분류

총 69개의 *H. influenzae* 균주를 AMP과 amoxicillin/clavulanate의 감수성 여부에 따라 분류하였을 때 AS/ACS 15례(21.7%), AR/ACS 21례(30.4%), AR/ACR 33례(47.8%)였다.

총 15개의 AS/ACS 균주 모두 ceftriaxone에 대해서는 감수성이었으나, 2018년 및 2019년에 각각 1례씩 분리된 총 2주는 cefuroxime에 내성이었다. AR/ACS 균주의 57.1% (12/21)에서 cefuroxime에 내성이었으며 이 중 5례(2017년 4례, 2018년 1례)는 ceftriaxone에도 내성이었다. 총 33개의 AR/ACR균주 중 30례는 cefuroxime에 내성이었고, 18례(2017년 6례, 2018년 9례, 2019년 3례)는 ceftriaxone에 대해서도 내성이었다. AR/ACR 균주의 비율은 통계적으로 유의하지는 않았으나 본 연구기간 동안 증가하는 경향을 보여, 2014–2015년 42.1% (8/19), 2016–2017년 46.4% (13/28), 2018–2019년 54.5% (12/22)이었다(*P* for trend=0.342) (**Fig. 1**).

4. Ceftriaxone 내성 H. influenzae 균주가 분리된 환자의 특성 및 임상 경과

디스크 확산법 검사상 ceftriaxone에 내성을 보이는 총 23개의 *H. influenzae* 균주 중 혈액 및 뇌척수액 등 정상적으로 무균인 체액에서 분리된 경우는 없었으며, 이로부터 검출된 1례를 제외한 22례는 호흡기 검체에서 검출되었다. Ceftriaxone 내성 *H. influenzae*가 분리된 환자 중 단순 보균 상태가 아닌 임상적으로 유의한 감염이 동반된 경우는 8례(34.8%; 8/23)로서 폐렴 7례 및 급성 중이염 1례이었으며, 나머지 15례는 단순 집락 균주로 간주되었다. 폐렴으로 진단된

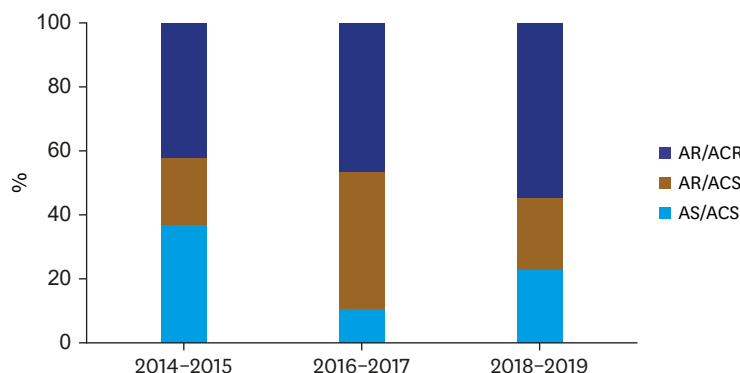


Fig. 1. Classification of *H. influenzae* based on resistance to ampicillin and amoxicillin-clavulanate.

*P for trend: AS/ACS, 0.285; AR/ACS, 0.942; AR/ACR, 0.342.

Abbreviations: AS, ampicillin susceptible; ACS, amoxicillin-clavulanate susceptible; AR, ampicillin-resistant; ACR, amoxicillin-clavulanate resistant.

7명의 환자에게서 분리된 ceftriaxone 내성 균주는 기관내 객담(5례), 기관지 폐포 세척액(1례) 및 유도 객담(1례)에서 분리되었으며, 폐렴이 동반된 7례 중 5례는 의료기관관련 감염증이었다. 폐렴 7례 중 4례에서는 항생제 감수성 결과를 확인한 후 감수성 약제로 최종 항생제를 변경하였고(meropenem 단독 1례, ertapenem 단독 1례, azithromycin 과 amoxicillin/clavulanate 병합 1례, sulfamethoxazole/trimethoprim 1례), 모두 임상적으로 호전되었다. 나머지 3례의 경우 디스크 확산법 결과에서 내성으로 보고된 항생제만으로 치료하였으나(cefotaxime 단독 2례, cefotaxime과 azithromycin 병합 1례) 모두 임상적으로 호전되었으며, 이들의 ceftriaxone MIC는 0.19 mg/L (1례) 및 0.25 mg/L (2례)이었다.

Ceftriaxone 내성 *H. influenzae*에 의한 급성 중이염 1례는 지역사회 감염증으로서 이루에서 균이 자랐으며, E-test상 ceftriaxone MIC는 0.25 mg/L였다. 경구 cefditoren을 복용하였으나 증상의 호전이 없었으며, 항생제 감수성 결과를 확인한 이후 감수성 약제인 azithromycin으로 변경하였으나 이후 재내원하지 않아 증상의 호전 여부를 확인할 수 없었다.

2014-2016년 기간 동안에는 ceftriaxone 내성 *H. influenzae*는 분리되지 않았으며, 2017년 및 2018년에 각 10주씩 ceftriaxone내성 *H. influenzae*가 분리되었다. 총 23례의 ceftriaxone 내성 *H. influenzae* 균주 중 18례(78.3%)가 AR/ACR이었고 나머지 5례(21.7%)는 AR/ACS이었다. 항생제별 내성률은 amoxicillin/clavulanate 78.3% (18/23), meropenem 0% (0/23), azithromycin 15.4% (2/13), erythromycin 100% (10/10), sulfamethoxazole/trimethoprim 26.1% (6/23), ciprofloxacin 0% (0/13)이었다.

고찰

최근 5년간 서울아산병원 어린이병원에서 분리된 *H. influenzae* 균주를 대상으로 항생제 감수성 양상을 분석시 2017년 이후로 ceftriaxone에 대해 내성을 보이는 *H. influenzae* 균주가 출현하여 약 1/3의 균주가 ceftriaxone에 내성으로 보고되었다. 한편 연구 기간 중 AR/ACR 균주의 비율이 증가하여, 최근 분리된 *H. influenzae* 균주의 β-lactam 항생제에 대한 주된 내성은 PBP3의 변이에 의한 것으로 보인다.

*H. influenzae*의 항생제 내성률은 시기, 지역 및 연령군에 따라서 차이가 있다. 국내에서 2000–2005년 기간 동안 분리된 NTHi 균주의 AMP에 대한 내성 기전 분석시 β -lactamase생성이 40% 정도로 주된 원인이었으나, 이외 PBP3 변이 단독 또는 β -lactamase생성과 PBP3 변이가 동시에 존재하는 것이 각각 33% 및 8%를 차지하였다.¹⁵⁾ 국내에서 2005–2006년에 분리된 *H. influenzae* 균주의 분석에서도 β -lactamase생성 단독 기전으로 인한 AMP 내성 양상이 47.2%를 차지하였으며, PBP3 변이로 인한 내성 균주는 11.3%였다.¹⁶⁾ 하지만 2010년에 5세 미만의 국내 소아에게서 분리된 NTHi 균주에 대한 분석 연구에서 AMP 내성의 기전으로서 β -lactamase생성은 9.0%에 불과하였고 β -lactamase 동반 유무와 관계 없이 PBP3 변이가 64.8%를 차지하여 최근 국내의 AMP 내성 *H. influenzae*의 주된 내성 기전은 PBP3변이로 인함을 알 수 있다.¹⁷⁾ 이러한 현상은 국내 뿐 아니라 외국에서도 비슷한 양상을 보이고 있다. 2001–2008년의 기간 동안 프랑스의 5세 이하의 소아에게서 분리된 *H. influenzae*의 β -lactamase 생성에 의해 β -lactam 항생제에 내성을 보이는 비율은 2001–2002년에 41.0%에서 2007–2008년에 15.3%로 감소하였으며, PBP3 변이를 통한 β -lactamase-negative AR *H. influenzae* 균주는 증가하였다.¹⁸⁾

본 연구에 포함된 *H. influenzae* 균주의 AMP에 대한 내성률은 78% (54/69)였으며, AMP 내성 *H. influenzae* 균주의 61% (33/54)는 amoxicillin/clavulanate에도 내성으로서(AR/ACR), 이는 β -lactamase 생성이 아닌 PBP3 변이가 주된 내성 기전임을 알 수 있으며, 본 연구기간 동안 AR/ACR의 빈도가 증가하는 양상이었다. PBP3는 *ftsL* 유전자가 암호화하는 단백질로서, 이의 변이를 통해 β -lactam계 항생제에 덜 민감한 세포벽을 형성하여 내성을 보이게 된다. 특히 PBP3 변이와 β -lactamase 생성이 모두 있는 균주의 경우 더 높은 MIC 값을 보이기 때문에,¹⁷⁾ 항생제의 감수성 여부 뿐 아니라 고도 내성 여부의 파악 및 PBP3의 변이와 β -lactamase 생성 유무에 대한 추가 분석이 내성의 기전 규명 뿐 아니라 적절한 항생제 요법 결정에 도움이 될 수 있겠다.

한국을 포함한 일본에서는 2000년대부터 3세대 cephalosporin 에 내성을 보이는 *H. influenzae* 균주가 출현하였으며,^{3,19)} 최근에는 아시아 이외 지역에서도 유럽 등지에서도 이러한 내성이 보고되고 있다.^{20,21)} PBP3의 transpeptidase 부위의 Met377Ile, Ser385Thr, Leu389Phe, Arg517His, Asn526Lys 등의 아미노산 배열 변화가 3세대 cephalosporin 계열 항생제의 내성과 관련이 있다.^{22–24)} 이러한 변이에 따라 3세대 cephalosporin에 대해 고도 내성을 보이거나 낮은 정도의 내성을 보일 수 있는데, PBP3의 첫번째 변이는 R517H 또는 N526K로서 이로 인해 AMP에 대해 낮은 정도의 내성이 생기며, 여기에 S385T변이가 추가로 발생하면 group III (S385T+N526K) 및 group III-like (S385T+R517H)의 고도 내성 양상으로 발현된다. 여기에 L389F 변이가 추가되면 좀 더 높은 고도 내성을 보일 수 있다.²⁵⁾ 이러한 고도 내성을 보이는 PBP3는 일본에서 1990년대 후반에, 한국에서는 2000년대에 유행하기 시작하였다.^{10,17)} 본 연구에서 디스크 확산법으로 ceftriaxone에 대해 내성이라고 보고된 균주가 전체의 33.3%를 차지하였고, 보고된 균주의 ceftriaxone MIC 값은 모두 0.75 mg/L 이하였다. 약동학적인 면을 고려한 *H. influenzae*의 임상적 감수성 기준이 ceftriaxone MIC \leq 2.0 mg/L인 점을 고려하면,⁹⁾ 입원을 요하는 *H. influenzae*에 의한 침습성 감염증의 경우 ceftriaxone을 일차적 치료 약제로 사용하는 것이 적절할 수 있다. 실제 본 연구에서도 ceftriaxone내성 균주에 의한 감염증에서 실험실적으로 내성으로 보고된 항생제를 사용하였음에도 양호한 임상 경과를 보였다.

*H. influenzae*는 상기도에서 흔히 분리되는 상재균이므로 호흡기 검체에서 검출된 것만으로 항생제 치료가 모두 필요하지는 않고, 실제 임상적인 감염증의 경우라도 병독성이 낮은 균

주이고 대부분 점막 감염증으로 발현되므로 *H. influenzae*의 개별 항생제에 대한 감수성 결과는 개개인을 치료함에 있어 필수적이지 않은 경우가 흔하여, 일반적으로 임상 경과에 맞추어 치료하게 된다.²⁶⁾ 미국에서 2009–2018년 기간 동안 분리된 *H. influenzae* 균주의 99.6% 이상이 quinolone 및 azithromycin에 대해서 감수성이었으나,²⁷⁾ 본 연구에 포함된 *H. influenzae* 균주의 quinolone 및 azithromycin에 대한 감수성 비율은 각각 95.2% (20/21), 82.7% (43/52)로 상대적으로 낮았다. Ceftriaxone 내성 균주 감염증의 경우도 항생제 선택과 무관하게 양호한 임상 경과를 보였지만, 최근 3세대 cephalosporin 계열 항생제에 내성을 보이는 균주의 비율이 증가하고 있으며 azithromycin 등의 약제에도 내성을 보이는 균주가 증가하고 있기 때문에 이의 확산을 최소화하고 적절한 항생제 선택을 위한 주의를 지속할 필요가 있다.

본 연구는 국내 단일 3차 의료기관에서 수집된 *H. influenzae* 균주만을 포함하였기 때문에 국내 전체 소아에서의 *H. influenzae* 균주의 감수성 결과로 일반화할 수는 없다. 또한 본 연구에 포함된 *H. influenzae* 균주는 대부분 기저질환을 가지고 있는 환자의 호흡기 검체에서 분리된 균주로서, 환자의 임상 증상의 원인이 되는 병원체로 역할을 했는지 아니면 단순 보균 균주인지에 대해서는 논란이 있을 수 있다. 하지만 상기도 내의 단순 보균 상태의 세균도 상황에 따라서 잠재적인 병원체가 될 수 있기 때문에,²⁸⁾ 보균 균주로서의 *H. influenzae*의 항생제 감수성 양상을 파악하는 것도 중요한 의미가 있다. 한편 AMP에 대한 내성 여부는 추가적인 MIC 측정 없이 원내 미생물 검사실의 결과치로 보고되는 디스크 확산법 결과를 통한 감수성 유무로 분석하였기 때문에 AMP에 대한 고도 내성 여부는 확인하지 못하였다. 일부 균주는 디스크 확산법 및 E-test로 확인한 ceftriaxone 감수성 여부가 다른 경우가 있었는데, 이는 디스크 확산법에 비하여 E-test로 항생제 감수성 분석을 하였을 때 내성률이 낮게 나오는 경향이 있으며,^{29,30)} aminopenicillin 계열 항생제에 대한 감수성 결과에서 E-test의 성능이 좋지 않았다는 보고가 있고,³⁰⁻³²⁾ *H. influenzae*의 항생제 감수성 분석을 하는 데 있어 디스크 확산법이 E-test에 비하여 열등하지 않기 때문에,³³⁾ 디스크 확산법으로 항생제 감수성 결과를 해석한 본 연구에서의 결과로 전반적인 항생제 내성 추세를 파악하는 데에 무리는 없겠다.

결론적으로 최근 5년간 국내 3차 의료기관에 입원한 소아청소년에서 분리된 *H. influenzae* 균주는 AR/ACR이 주된 양상으로서 PBP3 변이가 내성의 주된 원인이 되고 있으며, 최근 ceftriaxone 내성 균주가 출현한 이후 지속적으로 증가하고 있음을 확인하였다. 하지만 ceftriaxone에 대해서 고도 내성을 보이는 균주는 없었으며, 실험실 검사에서 내성으로 확인된 항생제로 치료한 경우도 양호한 임상 경과를 보였다. 따라서 현재까지 본 의료기관에서 ceftriaxone 내성 *H. influenzae* 감염증의 임상적 중요성은 높지 않을 수 있으나, 추후 ceftriaxone에 대한 고도 내성을 보이는 균주가 증가할 경우에는 적절한 항생제 선택이 제한될 수 있기 때문에 ceftriaxone을 포함한 항생제에 대한 내성률의 변화 및 고도 내성 균주의 증가 여부에 대한 지속적인 모니터링이 필수적이다. 또한 *H. influenzae* 균주의 내성 기전 및 내성 획득의 위험 인자를 파악함으로써 원내에 내성균의 출현과 확산을 막는 노력이 필요하겠다.

REFERENCES

1. Ubukata K, Morozumi M, Sakuma M, Adachi Y, Mokuno E, Tajima T, et al. Genetic characteristics and antibiotic resistance of *Haemophilus influenzae* isolates from pediatric patients with acute otitis media after introduction of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in Japan. *J Infect Chemother* 2019;25:720-6.

[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)

2. Van Dyke MK, Pirçon JY, Cohen R, Madhi SA, Rosenblüt A, Macias Parra M, et al. Etiology of acute otitis media in children less than 5 years of age: a pooled analysis of 10 similarly designed observational studies. *Pediatr Infect Dis J* 2017;36:274-81.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
3. Han MS, Jung HJ, Lee HJ, Choi EH. Increasing prevalence of group iii penicillin-binding protein 3 mutations conferring high-level resistance to beta-lactams among nontypeable *Haemophilus influenzae* isolates from children in Korea. *Microb Drug Resist* 2019;25:567-76.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
4. Schotte L, Wautier M, Martiny D, Piérard D, Depyere M. Detection of beta-lactamase-negative ampicillin resistance in *Haemophilus influenzae* in Belgium. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2019;93:243-9.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
5. Ben-Shimol S, Givon-Lavi N, Leibovitz E, Raiz S, Greenberg D, Dagan R. Impact of widespread introduction of pneumococcal conjugate vaccines on pneumococcal and nonpneumococcal otitis media. *Clin Infect Dis* 2016;63:611-8.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
6. Pichichero ME. Ten-year study of the stringently defined otitis-prone child in Rochester, NY. *Pediatr Infect Dis J* 2016;35:1033-9.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
7. Kovács E, Sahin-Tóth J, Tóthpál A, van der Linden M, Tirczka T, Dobay O. Co-carriage of *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* among three different age categories of children in Hungary. *PLoS One* 2020;15:e0229021.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
8. Kakuta R, Yano H, Hidaka H, Kanamori H, Endo S, Ichimura S, et al. Molecular epidemiology of ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* causing acute otitis media in Japanese infants and young children. *Pediatr Infect Dis J* 2016;35:501-6.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
9. Tristram S, Jacobs MR, Appelbaum PC. Antimicrobial resistance in *Haemophilus influenzae*. *Clin Microbiol Rev* 2007;20:368-89.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
10. Ubukata K. Problems associated with high prevalence of multidrug-resistant bacteria in patients with community-acquired infections. *J Infect Chemother* 2003;9:285-91.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
11. Vacas-Córdoba M, Cardozo-Espinola C, Puerta-Alcalde P, Cilloniz C, Torres A, García-Vidal C. Empirical treatment of adults with hospital-acquired pneumonia: lights and shadows of the 2016 clinical practice ATS/IDSA guidelines. *Rev Esp Quimioter* 2017;30 Suppl 1:30-3.
[PUBMED](#)
12. Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM. CDC definitions for nosocomial infections, 1988. *Am J Infect Control* 1988;16:128-40.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
13. Bae SM, Lee JH, Lee SK, Yu JY, Lee SH, Kang YH. High prevalence of nasal carriage of β -lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* in healthy children in Korea. *Epidemiol Infect* 2013;141:481-9.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
14. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters, version 10.0. Växjö: EUCAST, 2020.
15. Kim IS, Ki CS, Kim S, Oh WS, Peck KR, Song JH, et al. Diversity of ampicillin resistance genes and antimicrobial susceptibility patterns in *Haemophilus influenzae* strains isolated in Korea. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51:453-60.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
16. Bae S, Lee J, Lee J, Kim E, Lee S, Yu J, et al. Antimicrobial resistance in *Haemophilus influenzae* respiratory tract isolates in Korea: results of a nationwide acute respiratory infections surveillance. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54:65-71.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
17. Park C, Kim KH, Shin NY, Byun JH, Kwon EY, Lee JW, et al. Genetic diversity of the *ftsI* gene in β -lactamase-nonproducing ampicillin-resistant and β -lactamase-producing amoxicillin-/clavulanic acid-resistant nasopharyngeal *Haemophilus influenzae* strains isolated from children in South Korea. *Microb Drug Resist* 2013;19:224-30.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
18. Dabernat H, Delmas C. Epidemiology and evolution of antibiotic resistance of *Haemophilus influenzae* in children 5 years of age or less in France, 2001–2008: a retrospective database analysis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012;31:2745-53.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)

19. Yokota S, Ohkoshi Y, Sato K, Fujii N. High prevalence of beta-lactam-resistant *Haemophilus influenzae* type b isolates derived from respiratory tract specimens in Japanese patients. *Int J Infect Dis* 2009;13:584-8.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
20. Thomas E, Guillouzeouic A, Juvin ME, Chene AL, Caillon J, Bémer P, et al. Prevalence of *Haemophilus influenzae* with alteration of PBP 3 sequence over a 1-year period in a French hospital: focus on a clinical failure after ceftriaxone treatment. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2019;93:89-91.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
21. Ferjani S, Sassi I, Saidani M, Mhiri E, Ghariani A, Boutiba Ben Boubaker I, et al. Polymorphism of *ftsI* gene in *Haemophilus influenzae* and emergence of cefotaxime resistance in two Tunisian hospitals. *New Microbes New Infect* 2020;36:100690.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
22. Osaki Y, Sanbongi Y, Ishikawa M, Kataoka H, Suzuki T, Maeda K, et al. Genetic approach to study the relationship between penicillin-binding protein 3 mutations and *Haemophilus influenzae* beta-lactam resistance by using site-directed mutagenesis and gene recombinants. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:2834-9.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
23. García-Cobos S, Campos J, Lázaro E, Román F, Cercenado E, García-Rey C, et al. Ampicillin-resistant non-beta-lactamase-producing *Haemophilus influenzae* in Spain: recent emergence of clonal isolates with increased resistance to cefotaxime and cefixime. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51:2564-73.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
24. Ubukata K, Shibasaki Y, Yamamoto K, Chiba N, Hasegawa K, Takeuchi Y, et al. Association of amino acid substitutions in penicillin-binding protein 3 with beta-lactam resistance in beta-lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:1693-9.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
25. Skaare D, Anthonisen IL, Kahlmeter G, Matuschek E, Natås OB, Steinbakk M, et al. Emergence of clonally related multidrug resistant *Haemophilus influenzae* with penicillin-binding protein 3-mediated resistance to extended-spectrum cephalosporins, Norway, 2006 to 2013. *Euro Surveill* 2014;19:20986.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
26. Stephen J. *Haemophilus influenzae*. In: Feigin RD, Cherry JD, editors. *Textbook of pediatric infectious diseases*. 8th ed. Amsterdam: Elsevier, 2019:1199-1211.
27. Asbell PA, Sanfilippo CM, Sahn DF, DeCory HH. Trends in antibiotic resistance among ocular microorganisms in the United States from 2009 to 2018. *JAMA Ophthalmol* 2020;138:439-50.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
28. Jung J, Seo E, Yoo RN, Sung H, Lee J. Clinical significance of viral-bacterial codetection among young children with respiratory tract infections: findings of RSV, influenza, adenoviral infections. *Medicine (Baltimore)* 2020;99:e18504.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
29. Manoharan A, Pai R, Shankar V, Thomas K, Lalitha MK. Comparison of disc diffusion & E test methods with agar dilution for antimicrobial susceptibility testing of *Haemophilus influenzae*. *Indian J Med Res* 2003;117:81-7.
[PUBMED](#)
30. Barry AL, Fuchs PC, Brown SD. Identification of beta-lactamase-negative, ampicillin-resistant strains of *Haemophilus influenzae* with four methods and eight media. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:1585-8.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
31. Billal DS, Hotomi M, Yamanaka N. Can the Etest correctly determine the MICs of beta-lactam and cephalosporin antibiotics for beta-lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*? *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51:3463-4.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
32. Tristram SG. A comparison of Etest, M.I.C.Evaluator strips and CLSI broth microdilution for determining {beta}-lactam antimicrobial susceptibility in *Haemophilus influenzae*. *J Antimicrob Chemother* 2008;62:1464-6.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
33. Skaare D, Lia A, Hannisdal A, Tveten Y, Matuschek E, Kahlmeter G, et al. *Haemophilus influenzae* with non-beta-lactamase-mediated beta-lactam resistance: easy to find but hard to categorize. *J Clin Microbiol* 2015;53:3589-95.
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)

요약

목적: 최근 β -lactam 계 항생제에 대한 내성을 보이는 *Haemophilus influenzae*가 증가하고 있다. 본 연구는 최근 5년간 서울아산 병원 어린이 병원에서 분리된 *H. influenzae* 균주의 항생제 내성 양상을 분석하고자 한다.

방법: 2014년 3월부터 2019년 4월까지 서울아산병원 어린이병원을 내원한 18세 미만의 소아청소년 환자의 임상 검체에서 분리된 *H. influenzae* 균주를 대상으로 항생제 내성 양상을 분석하였다.

결과: 최근 5년간 총 69례의 *H. influenzae*가 분리되었으며 이들 환자의 연령 중앙값은 5.0 (2.8–8.6)세였다. 총 69례 중 3례 (4.3%)가 혈액 배양에서 분리되었으며, 66례(95.7%)가 비침습성 균주로서 대부분 호흡기 검체(59례)에서 분리되었다. 항생제 감수성 분포는 ampicillin (AMP) 감수성/amoxicillin-clavulanate (AMC) 감수성 균주 15례(21.7%), AMP 내성/AMC 감수성 21례(30.4%), AMP 내성/AMC 내성 33례(47.8%)였으며, 최근 5년에 걸쳐 AMP 내성/AMC 내성 균주는 지속적으로 증가하는 경향을 보였다 (2014–2015: 42.1% [8/19], 2016–2017: 46.4% [13/28], 2018–2019: 54.5% [12/22], P for trend=0.342). 2014–2015년에 비해 2018–2019년 기간에는 cefuroxime과 ceftriaxone에 대한 내성률은 각각 31.6%에서 77.3% 및 0.0%에서 59.1%로 유의하게 증가하였다(P for trend 0.003 및 <0.001).

결론: 최근 국내의 3차 의료기관에 입원한 소아에서 분리되는 *H. influenzae* 균주는 AMP및 AMC에 대해 모두 내성인 경우가 흔하며, cefuroxime 및 ceftriaxone에 대한 내성률이 유의하게 증가하였다. 이러한 균주의 내성 기전 분석과 함께 이의 출현과 확산을 최소화하기 위한 노력이 필수적이다.