

폐렴알균의 항균제 감수성검사를 위한 Phoenix System의 평가

이교관¹ · 류남희² · 김성태¹ · 채석래¹ · 허희진¹

동국대학교일산병원 진단검사의학과¹, 계명대학교 의과대학 진단검사의학교실²

Evaluation of the BD Phoenix Automated Microbiology System SMIC/ID-2 Panel for Antimicrobial Susceptibility Testing of *Streptococcus pneumoniae*

Kyo Kwan Lee, M.D.¹, Nam Hee Ryoo, M.D.², Sung Tae Kim, M.T.¹, Seok-Lae Chae, M.D.¹, and Hee Jin Huh, M.D.¹

Department of Laboratory Medicine¹, Dongguk University International Hospital, Goyang; Department of Laboratory Medicine², School of Medicine, Keimyung University, Daegu, Korea

Background : With the emergence of antimicrobial resistance among *Streptococcus pneumoniae*, a more accurate and automated antimicrobial susceptibility testing method is essential. We evaluated the BD Phoenix Automated Microbiology System (Becton Dickinson Diagnostic Systems, USA) SMIC/ID-2 panel for antimicrobial susceptibility testing of *S. pneumoniae*.

Methods : A total of 113 clinical strains of *S. pneumoniae* (88 penicillin susceptible strains, 8 intermediate strains, and 17 resistant strains by 2008 CLSI criteria) were tested. Minimum inhibitory concentrations (MICs) for penicillin, cefotaxime, clindamycin, erythromycin, levofloxacin, trimethoprim/sulfamethoxazole, tetracycline, and vancomycin were determined by Etest (AB Biodisk, Sweden) and Phoenix System. The results obtained by Phoenix system were compared to those obtained by Etest.

Results : The overall essential agreement of MICs (within one dilution of MICs) defined by the Phoenix and Etest was 92.3%. Neither very major errors nor major errors were produced, and minor errors were 6.5%. Minor errors were frequently observed in susceptibility testings for penicillin (22.1%), cefotaxime (12.4%), and trimethoprim/sulfamethoxazole (11.5%).

Conclusions : The Phoenix SMIC/ID-2 panel provided a simple and rapid susceptibility testing for *S. pneumoniae*, and the results were in a good agreement with those of Etest. The Phoenix system appears to be an effective automated system in clinical microbiology laboratories. (*Korean J Lab Med* 2009;29:212-7)

Key Words : *Streptococcus pneumoniae*, BD Phoenix, Antimicrobial susceptibility test, Etest

서 론

폐렴알균(*Streptococcus pneumoniae*)은 지역사회획득폐렴

을 일으키는 가장 흔한 원인균이며 수막염과 중이염의 주요 원인균이다[1]. Penicillin에 내성을 보이는 폐렴알균이 증가함에 따라 일차 선택약제로써 penicillin의 사용이 제한되고 있으며 macrolides, fluoroquinolones에 내성을 보이는 폐렴알균 또한 증가함에 따라 적절한 항균제 치료와 병원균의 전파를 막기 위해서는 정확하고 자동화된 항균제 감수성검사법이 필요하다[2-5].

자동화된 사슬알균의 항균제 감수성검사 장비로는 Vitek-2 (bioMérieux, Inc., Hazelwood, MO, USA) System과 Microscan MICroStrep plus panel (Dade Behring, West Sacra-

Received : February 9, 2009

Manuscript No : KJLM2226

Revision received : April 1, 2009

Accepted : April 2, 2009

Corresponding author : Hee Jin Huh, M.D.

Department of Laboratory Medicine, Dongguk University
International Hospital, 814 Siksa-dong, Ilsandong-gu, Goyang
410-773, Korea
Tel : +82-31-961-7893, Fax : +82-31-961-7902
E-mail : hjhuh@duih.org

mento, CA, USA)이 사용되고 있다. 2000년에 Becton Dickinson에서 포도알균, 장알균과 그람음성세균의 동정과 항균제 감수성검사를 위한 Phoenix Automated Microbiology system (BD Diagnostic Systems, Sparks, MD, USA)을 소개하였고, 최근에는 사슬알균의 동정과 항균제 감수성검사를 위한 SMIC/ID 2-panel (BD Diagnostic Systems, Sparks, MD, USA)이 개발되어 국내에 소개되었다. 이 방법은 16가지 항균제에 대하여 간편하게 최소억제농도(minimum inhibitory concentration, MIC) 결과를 얻을 수 있는 방법이다. 이에 저자들은 SMIC/ID-2 panel을 이용하여 폐렴알균의 항균제 감수성검사를 시행하여 그 유용성을 평가하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상 균주

2005년 12월부터 2006년 11월까지 동국대학교 일산병원과 계명대학교 동산의료원 환자의 다양한 임상 검체에서 분리된 폐렴알균 113주를 대상으로 하였다. 균주들은 객담 87주, 기관지세척액 8주, 혈액 6주, 소변 4주, 뇌척수액 2주 등에서 분리되었다. 항균제 감수성검사상 Etest 기준으로 penicillin에 대하여 감수성 88주, 중간 8주, 내성 17주였다. 단추모양의 집락 형태와 α용혈 양상으로 의심되는 집락을 선택한 후 폐렴알균을 동정하는 검사실의 전통적인 방법인 그람염색, catalase 시험, optochin 디스크 감수성, bile esculin 검사를 시행하여 폐렴알균을 확인하였다. Phoenix SMIC/ID-2 panel을 이용하여 동정과 항균제 감수성검사를 시행하였고, Phoenix 균주 동정 결과가 검사실 동정 결과와 일치하는 경우 감수성검사를 위한 대상 검체로 선택하였다.

균주들은 -70°C에 냉동 보관되었다가 계대 배양하여 사용하였고, 검사 방법의 정도관리를 위해서 penicillin에 중등도 내성을 가진 *S. pneumoniae* ATCC 49619 표준균주를 사용하였다.

2. Phoenix SMIC/ID-2 panel을 이용한 항균제 감수성검사

폐렴알균의 동정과 항균제 감수성검사는 Phoenix SMIC/ID-2 panel 이용하여 제조사의 권장방법에 따라 시행하였다. 혈액 한천 배지에서 16-24시간 동안 35°C에서 배양한 균 집락을 ID broth에 풀어서 BD PhoenixSpec 혼탁측정기로 0.5-0.6 McFarland 탁도로 맞추고, 25 μL를 취하여 항균제 감수성검사(AST-S) 지시약을 한 방울 첨가한 AST-S 액체배지로 옮긴 후,

SMIC/ID-2 panel에 분주하고 장비에 장착하여 대상 균주의 MIC를 측정하였다. 각 항균제에 대한 감수성 결과는 2008 CLSI 판정 기준에 따라 감수성, 중간, 내성으로 판정하였고, penicillin의 경우 뇌척수액에서 분리된 균주를 제외하고 비수막염 정맥 내 기준에 따라 판정하였다[6].

3. Etest를 이용한 항균제 감수성검사

Etest (AB Biodisk, Solna, Sweden)는 제조사의 지침에 따라 시행하였다. Phoenix와 비교하기 위해 사용된 항균제는 penicillin, cefotaxime, clindamycin, erythromycin, levofloxacin, trimethoprim/sulfamethoxazole, tetracycline, vancomycin으로 총 8가지였다. 혈액 한천 배지에서 16-24시간 동안 35°C에서 배양한 균 집락을 Mueller-Hinton broth에 풀어서 BD PhoenixSpec 혼탁측정기로 0.5 McFarland 탁도로 맞추고, 5%의 면양혈액을 첨가한 Mueller-Hinton agar (BBL, Sparks, MD, USA)에 접종하였다. Etest strip을 놓은 후, 35°C, 5% CO₂에서 20-24시간 배양한 후 MIC를 측정하였다. 제조사가 제시한 기준에 따라 Etest MIC가 1/2 log₂ 농도인 경우에는 Phoenix의 MIC와 비교를 위해 다음 높은 log₂ MIC값으로 올렸다. 각 항균제에 대한 감수성 결과는 2008 CLSI 판정 기준에 따라 감수성, 중간, 내성으로 판정하였고, penicillin의 경우 뇌척수액에서 분리된 균주를 제외하고 비수막염 정맥 내 기준에 따라 판정하였다[6]. 제조사가 제시한 기준에 따라 erythromycin은 MIC가 1 μg/mL 이하를 감수성, 2 μg/mL 중간 내성, 4 μg/mL 이상을 내성으로 판정하였고 clindamycin은 MIC가 0.5 μg/mL 이하를 감수성, 1 μg/mL를 중간 내성, 2 μg/mL 이상을 내성으로 판정하였다.

4. MIC 및 판정 결과의 비교

Phoenix SMIC/ID-2 panel의 MIC 결과를 Etest의 MIC 결과와 비교하였다. Phoenix SMIC/ID-2 panel의 MIC 결과와 Etest의 MIC 결과의 차이가 2배 이내의 희석배수를 보인 경우 일치한 결과(essential agreement)로 판정하였다.

Phoenix SMIC/ID-2 panel의 항균제 감수성검사 판정 결과를 Etest의 판정 결과와 비교하였다. 항균제 감수성검사 판정 결과가 일치하는 경우 범주 일치(categorical agreement), 한 방법에서는 내성 혹은 감수성 결과를 보였으나 다른 방법에서는 중간 내성인 경우 "minor error", Etest에서 내성인 결과를 감수성으로 판정한 경우를 "very major error"로, Etest에서 감

수성인 결과를 내성으로 판정한 경우를 “major error”로 정의하였다.

Phoenix 항균제 감수성 결과와 Etest의 감수성 결과 비교에서 “very major error”와 “major error”인 경우는 Phoenix와 Etest 모두 재검사하였고 재검사한 결과를 최종 결과로 판정하였다.

결 과

총 113균주를 대상으로 항균제 감수성검사를 시행하였다. Etest 기준으로 penicillin 비감수성은 2008 CLSI 기준으로 22.1% (이전 CLSI 기준 83.2%)였고 erythromycin 내성은 72.6%로 높았다. Cefotaxime과 levofloxacin 내성은 9.7%로 낮았으며 vancomycin 내성인 균주는 없었다(Table 1).

MIC 결과에서 Etest 결과에 대한 Phoenix SMIC/ID-2 panel 결과의 전체적인 일치율은 92.3%였다. Levofloxacin, tetracycline, vancomycin에 대해서는 각각 한 균주를 제외하고는

Table 1. Antimicrobial susceptibility of 113 *S. pneumoniae* clinical isolates as determined by Etest

	N (%) of isolates tested		
	Susceptible	Intermediate	Resistant
Cefotaxime	90 (79.7)	12 (10.6)	11 (9.7)
Clindamycin	42 (37.2)	1 (0.9)	70 (61.9)
Erythromycin	27 (23.9)	4 (3.5)	82 (72.6)
Levofloxacin	100 (88.5)	2 (1.8)	11 (9.7)
Penicillin	88 (77.9)	8 (7.1)	17 (15.0)
(Former criteria)	19 (16.8)	44 (38.9)	50 (44.3)
Tetracycline	29 (25.7)	0	84 (74.3)
Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	39 (34.5)	24 (21.2)	50 (44.3)
Vancomycin	113 (100)	0	0

모두 일치한 MIC 결과를 보인 반면, clindamycin (71.7%), penicillin (85%)에 대해서는 비교적 일치율이 낮았는데 clindamycin의 경우 전체적으로 Phoenix의 MIC 결과가 Etest의 MIC 결과보다 낮았다(Table 2). 판정 결과에서는 Phoenix SMIC/ID-2 panel의 범주 일치율은 93.5% (이전 CLSI 기준 94.7%)였다. Very major error와 major error는 관찰되지 않았으며 minor error는 6.5% (이전 CLSI 기준 5.3%)였다. Minor error는 penicillin 22.1% (이전 CLSI 기준 12.4%), cefotaxime 12.4%, trimethoprim/sulfamethoxazole 11.5%에서 관찰되었다(Table 3).

Table 3. Interpretative category errors determined by Phoenix SMIC/ID-2 panel and Etest method

	N (%) of Interpretative category errors*			
	CA	Very major	Major	Minor
Cefotaxime	99 (87.6)	0	0	14 (12.4)
Clindamycin [†]	112 (99.1)	0	0	1 (0.9)
Erythromycin [†]	109 (97.4)	0	0	4 (3.6)
Levofloxacin	111 (98.2)	0	0	2 (1.8)
Penicillin [‡]	88 (77.9)	0	0	25 (22.1)
Tetracycline	113 (100)	0	0	0
Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	100 (88.5)	0	0	13 (11.5)
Vancomycin	113 (100)	0	0	0
Total	93.5	0	0	59 (6.5)

*, Very major error, resistant by the reference method but susceptible by Phoenix; major error, susceptible by the reference method but resistant by Phoenix; minor error, intermediate by one method but resistant or susceptible by the other. [†], MICs obtained by Etest were interpreted by the manufacture's interpretative criteria. [‡], Penicillin MICs interpreted using nonmeningitis parenteral criteria except for CSF isolates. Abbreviation: CA, Categorical agreement.

Table 2. Comparison of the MICs determined by Phoenix SMIC/ID-2 panel with those determined by Etest for *S. pneumoniae* clinical isolates

	N of MICs by Phoenix SMIC/ID-2 panel within indicated log ₂ of Etest MICs*							% Agreement (± 1 dilution)
	<-2	-2	-1	0	+1	+2	>+2	
Cefotaxime	1	5	19	80	7	1		93.8
Clindamycin	4	28	9	72				71.7
Erythromycin	3	3	6	99	2			94.7
Levofloxacin		1	32	70	10			99.1
Penicillin	4	3	14	55	27	8		85.0
Tetracycline			2	101	9		1	99.1
Trimethoprim/Sulfamethoxazole			7	93	8	5		95.6
Vancomycin			2	106	4	1		99.1

*, There were some off-scale MICs that could not be compared accurately. Abbreviation: MIC, minimum inhibitory concentration.

고 찰

국내의 폐렴알균의 penicillin 비감수성률은 70-86%로 높으며 macrolides의 내성률은 83.1%로 높다[2-5]. 2008년 CLSI에서는 폐렴알균 감염에서 penicillin에 대해 새로운 항균제 감수성 기준을 발표하였다. 이전 기준은 penicillin 투여경로와 임상 증상에 상관없이 감수성, 중간, 내성 MIC 기준이 각각 ≤ 0.06 , 0.12-1, $\geq 2 \mu\text{g/mL}$ 이었다. 새 기준은 임상적 치료 결과를 반영하여 비수막염 경구용은 변화가 없으나 비수막염 정맥 내는 MIC 기준이 각각 ≤ 2 , 4, $\geq 8 \mu\text{g/mL}$ 이고 수막염 정맥 내는 감수성과 내성 기준이 ≤ 0.06 , $\geq 2 \mu\text{g/mL}$ 로 바뀌었다[6]. 비수막염 폐렴알균 감염에서 penicillin에 대한 감수성, 중간, 내성이 이전 기준에서 각각 74.7%, 15.0%, 10.3%에서 새로운 기준을 적용하였을 때 각각 93.2%, 5.6%, 1.2%로 감수성 비율이 증가하였다는 보고가 있으며[7], 본 연구에서도 Etest에서 penicillin 비감수성은 이전 기준으로 83.2%에서 2008 CLSI 비수막염 정맥내 기준으로 22.1%로 감수성 비율이 증가하였고 erythromycin 내성은 72.6%로 높았다. 따라서 가장 효과적인 치료제 선택을 위해서는 빠르고 정확한 항균제 감수성검사 방법이 요구된다.

폐렴알균의 항균제 감수성검사서 디스크확산법은 penicillin 내성을 선별할 수 있으나, oxacillin 억제대 지름이 19 mm 이하인 경우, penicillin 이외의 beta-lactam 계열 항균제와 뇌척수액에서 분리된 폐렴알균에 대해서는 MIC를 검사해야 한다[6]. CLSI 액체배지희석법은 신뢰도는 높지만 검사 과정이 복잡하고 많은 노력이 필요하여 통상적인 검사에 이용하기 어려운 단점이 있고, Etest는 빠르고 간편하게 MIC를 측정할 수 있으나 값이 비싸다.

Phoenix SMIC/ID-2 panel은 CLSI 미량액체배지희석법을 이용하여 균의 동정은 발색반응과 형광신호를 측정하고, 항균제 감수성검사는 균의 성장을 탁도변화와 AST-S 지시약의 발색반응을 20분마다 측정하여 16가지 항균제의 MIC 측정이 가능한 검사이다. MIC 결과에서 Etest 결과와 비교하여 Phoenix SMIC/ID-2 panel 결과의 전체적인 일치율은 92.3%이고 범주 일치율은 93.5% (이전 CLSI 기준 94.7%)였다. Phoenix와 CLSI 미량액체배지희석법의 MIC와 감수성을 비교한 연구들에서는 일치율이 93.0-98.5%이고 범주 일치율이 92.4-94.9%로 모두 90%가 넘었고, 약 820 임상균주를 대상으로 13가지 항균제의 감수성을 비교한 연구한 연구에서는 항균제 모두 일치율이 96.2%가 넘었고 범주 일치율은 91.8-100%로 높았는데 penicillin, cefepime, imipenem, meropenem 등 beta-lactam계 항균제에서 상대적으로 높은 minor error율을 보였다[8-10]. 본 연구와

같이 Phoenix SMIC/ID-2 panel을 사용하여 Etest와 비교한 연구에서는 일치율이 91.9%, 범주 일치율이 95.0%로 본 연구결과와 비슷하였다[11]. 본 연구에서 일치율을 비교했을 때 clindamycin이 71.7%로 가장 낮았고 전체적으로 Phoenix의 MIC결과가 Etest의 MIC결과보다 낮았다. 이는 CLSI 미량액체배지희석법이 대기 배양인데 비해 Etest는 한천배지에 5% CO₂ 배양을 하고 pH가 낮아져 penicillin, cefotaxime에서는 큰 영향을 미치지 못했지만 macrolides와 lincosamides 계열의 항균제 활성에 영향을 미쳐서 Etest의 MIC값이 높아졌기 때문이다[12-14]. 그러나 항균제 감수성 판정 결과에서는 minor error 한 균주를 제외하고는 모두 감수성 결과가 일치해서 불일치로 인한 임상적 문제는 적을 것으로 판단된다.

판정 결과에서는 Phoenix SMIC/ID-2 panel 은 very major error와 major error는 없었고 minor error는 6.5% (이전 CLSI 기준 5.3%)였다. Minor error는 penicillin 22.1% (이전 CLSI 기준 12.4%), cefotaxime 12.4%, trimethoprim/sulfamethoxazole 11.5%에서 빈번하게 관찰되었는데, minor errors 중 71.2% (42/59)는 번곡점 경계에서 두 희석배수 이내 차이였다. Penicillin과 cefotaxime의 경우 Etest의 MIC가 CLSI의 미량액체배지희석법이나 배지희석법에 비해 더 낮게 측정되는 경향이 있다고 보고되었고[15, 16], penicillin의 경우 Phoenix의 MIC가 미량액체배지희석법보다 높게 측정된다고 보고되었는데[8], 본 연구에서는 penicillin에서는 Phoenix의 MIC가 Etest의 MIC보다 높은 경우가 더 많았고 cefotaxime에서는 낮은 경우가 더 많았다. Trimethoprim/sulfamethoxazole의 경우 Etest의 결과와 CLSI 미량액체배지희석법의 MIC 결과의 일치율이 낮고, minor error가 다소 많다고 보고되었는데 본 연구에서도 그런 경향을 보였다[17].

일차 비교에서 very major error가 7균주, major error가 2균주 나왔지만 재검사 결과 감수성이 일치하였는데, 불일치 원인은 Phoenix가 7균주이고 Etest가 2균주였다. 균주의 희석 과정이 Phoenix의 MIC 결과에 영향을 주었을 가능성이 있기 때문에 정확한 균농도 측정이 필요하다. Etest의 항균제 감수성 판정시 clindamycin과 erythromycin의 경우에는 제조사의 기준에 따라 CLSI 기준보다 각각 1 희석배수와 2 희석배수씩 올려서 판정하였고, 그 결과 clindamycin의 경우 한 균주에서 very major error가 minor error로 바뀌었지만, erythromycin의 경우 4균주에서 minor error가 생겼다. 아직까지 폐렴알균을 대상으로 자동화 장비들을 직접 비교한 연구는 없지만 Vitek-2 System의 경우 폐렴알균 100균주에 대해 미량액체배지희석법과 비교하였을 때 일치율이 93.0%이고 very major error 1.9%, major

error 2.0%, minor error 8.6%로 cefotaxime과 penicillin에서 minor error율이 높았다고 보고하였고, MicroScan MICro-STREP plus panel (Dade Behring)의 경우 폐렴알균 75 균주에 대해 미량액체배지희석법과 비교하여 일치율이 93.0%이고 very major error 0.7%, major error 0.7%, minor error 11.7%로 meropenem (33.3%), ceftriaxone (29.3%), cefotaxime (16.0%), penicillin (12.0%)에서 minor error율이 높았다고 보고하였다[18, 19]. Vitek-2와 MicroScan은 Phoenix system과 비교하여 전체적인 일치율, very major error와 major error율은 비슷하였고 meropenem, ceftriaxone, cefotaxime 항균제에서 minor error율이 더 높았다.

본 연구에서는 참고 방법으로 Phoenix와 비교하기 위해 Etest를 이용하였는데 일치율이나 감수성 결과에 차이가 있을 수 있기 때문에 정확한 비교를 위해서는 CLSI 미량액체배지희석법과의 비교를 고려해볼 수 있다.

Phoenix SMIC/ID-2 panel을 이용한 폐렴알균 항균제 감수성검사는 빠르고 간편하게 MIC를 얻을 수 있을 뿐만 아니라, Etest와 비교하여 대부분의 항균제에서 높은 일치율을 보여 임상미생물검사실에서 유용하게 쓰일 수 있는 자동화 검사법으로 생각된다.

요 약

배경 : 항균제에 내성을 보이는 폐렴알균(*Streptococcus pneumoniae*)이 증가함에 따라 적절한 항균제 치료를 위해서는 정확하고 자동화된 항균제 감수성검사법이 필요하다. 본 연구에서는 BD Phoenix Automated Microbiology system (Beckton Dickinson Diagnostic Systems, USA)의 SMIC/ID-2 panel을 이용하여 폐렴알균의 항균제 감수성검사를 시행하여 그 유용성을 평가하고자 하였다.

방법 : 다양한 임상 검체에서 분리된 폐렴알균 113주(2008 CLSI 판정 기준으로 penicillin 감수성 88주, 중간 8주, 내성 17주)를 대상으로 하였다. Penicillin, cefotaxime, clindamycin, erythromycin, levofloxacin, trimethoprim/sulfamethoxazole, tetracycline, vancomycin의 8가지 항균제에 대해 Etest (AB Biodisk, Sweden)와 Phoenix를 이용한 항균제 감수성검사를 시행한 후 두 방법에 의해 얻어진 최소억제농도(Minimum inhibitory concentration, MIC)를 비교 분석하였다.

결과 : Etest와 비교하여 Phoenix system의 MIC의 전체적인 일치율은 92.3%이었다. Very major error와 major error는 관찰되지 않았으며 minor error는 6.5%였다. Minor error

는 penicillin (22.1%), cefotaxime (12.4%), trimethoprim/sulfamethoxazole (11.5%)에서 빈번하게 관찰되었다.

결론 : Phoenix SMIC/ID-2 panel을 이용한 폐렴알균 항균제 감수성검사는 빠르고 간편하게 MIC를 얻을 수 있을 뿐만 아니라, Etest와 비교하여 대부분의 항균제에서 높은 일치율을 보여 임상미생물검사실에서 유용하게 쓰일 수 있는 자동화 검사법으로 생각된다.

REFERENCES

1. Spellerberg B and Brandt C. Streptococcus. In: Murray PR, Baron EJ, et al., eds. Manual of clinical microbiology. 9th ed. Washington DC: ASM press, 2007: 412-25.
2. Kang ES, Kim KH, Lee SY, Hong KS. Surveillance for antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* among children of attending day Care Centers in Seoul. Korean J Clin Pathol 2000;20:171-7. (강은숙, 김정호, 이수연, 홍기숙. 서울지역 유아원 어린이들에서 분리된 *Streptococcus pneumoniae*의 항균제 내성 조사. 대한임상병리학회지 2000;20: 171-7.)
3. Lee NY, Song JH, Kim S, Peck KR, Ahn KM, Lee SI, et al. Carriage of antibiotic-resistant pneumococci among Asian children: a multinational surveillance by the Asian Network for Surveillance of Resistant Pathogens (ANSORP). Clin Infect Dis 2001;32:1463-9.
4. Waites KB, Jones KE, Kim KH, Moser SA, Johnson CN, Hollingshead SK, et al. Dissemination of macrolide-resistant *Streptococcus pneumoniae* isolates containing both *erm(B)* and *mef(A)* in South Korea. J Clin Microbiol 2003;41:5787-91.
5. Lee H, Yong D, Lee K, Hong SG, Kim EC, Jeong SH, et al. Antimicrobial resistance of clinically important bacteria isolated from 12 hospitals in Korea in 2004. Korean J Clin Microbiol 2005;8:66-73. (이혁민, 용동은, 이경원, 홍성근, 김의중, 정석훈 등. 2004년도 국내 12개 병원에서 분리된 주요 세균의 항균제 내성율. 대한임상미생물학회지 2005; 8:66-73.)
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Eighteenth informational supplement, M100-S18. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.
7. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Effects of new penicillin susceptibility breakpoints for *Streptococcus pneumoniae*--United States, 2006-2007. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2008;57: 1353-5.

8. Hirakata Y, Matsuda J, Nakano M, Hayashi T, Tozaka S, Takezawa T, et al. Evaluation of the BD Phoenix Automated Microbiology System SMIC/ID panel for identification and antimicrobial susceptibility testing of *Streptococcus* spp. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; 53:169-73.
9. Kanemitsu K, Kunishima H, Inden K, Hatta M, Harigae H, Ishizawa K, et al. Evaluation of the BD Phoenix SMIC/ID, a new streptococci identification and antimicrobial susceptibility panel, for potential routine use in a university-based clinical microbiology laboratory. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005;53:101-5.
10. Richter SS, Howard WJ, Weinstein MP, Bruckner DA, Hindler JF, Saubolle M, et al. Multicenter evaluation of the BD Phoenix Automated Microbiology System for antimicrobial susceptibility testing of *Streptococcus* species. *J Clin Microbiol* 2007;45:2863-71.
11. Brigante GR, Luzzaro FA, Pini B, Lombardi G, Sokeng G, Toniolo AQ. Drug susceptibility testing of clinical isolates of streptococci and enterococci by the Phoenix automated microbiology system. *BMC Microbiol* 2007;7:46.
12. Macias EA, Mason EO Jr, Ocera HY, LaRocco MT. Comparison of E test with standard broth microdilution for determining antibiotic susceptibilities of penicillin-resistant strains of *Streptococcus pneumoniae*. *J Clin Microbiol* 1994;32:430-2.
13. Johnson MM, Hill SL, Piddock LJ. Effect of carbon dioxide on testing of susceptibilities of respiratory tract pathogens to macrolide and azalide antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43:1862-5.
14. Fasola EL, Bajaksouzian S, Appelbaum PC, Jacobs MR. Variation in erythromycin and clindamycin susceptibilities of *Streptococcus pneumoniae* by four test methods. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41:129-34.
15. Jorgensen JH, Ferraro MJ, McElmeel ML, Spargo J, Swenson JM, Tenover FC. Detection of penicillin and extended-spectrum cephalosporin resistance among *Streptococcus pneumoniae* clinical isolates by use of the E test. *J Clin Microbiol* 1994;32:159-63.
16. Huh JW, Nah J, Lee SH, Pai CH. Evaluation of the E test for Penicillin and Cefotaxime Susceptibility Testing of *Streptococcus pneumoniae*. *Korean J Clin Pathol* 1996;16:330-9. (허정원, 나준, 이성희, 배직현. *Streptococcus pneumoniae*의 penicillin과 cefotaxime 감수성 검사에 있어서 E test의 유용성. 대한임상병리학회지 1996;16:330-9.)
17. Lovgren M, Dell'Acqua L, Palacio R, Echaniz-Aviles G, Soto-Nogueron A, Castaneda E, et al. Determination of trimethoprim-sulfamethoxazole resistance in *Streptococcus pneumoniae* by using the E test with Mueller-Hinton agar supplemented with sheep or horse blood may be unreliable. The Pneumococcal Study Group. *J Clin Microbiol* 1999;37:215-7.
18. Woo HY, Nam MH, Lee NY. Evaluation of VITEK-2 system for antibiotic susceptibility test of *Streptococcus pneumoniae*. *Korean J Clin Pathol* 2001;21:129-34. (우희연, 남명현, 이남용. 폐렴구균의 항균제 감수성검사를 위한 VITEK-2 System의 평가. 대한임상병리학회지 2001; 21:129-34.)
19. Kim HS, Kim JS, Ha CK, Song W, Lee KM. Evaluation of MicroScan MICroSTREP Plus Antimicrobial susceptibility panel for testing *Streptococcus pneumoniae*. *Korean J Clin Microbiol* 2008;11:18-22. (김한성, 김재석, 하채욱, 송원근, 이규만. 폐렴연쇄구균에 대한 MicroScan MICroSTREP Plus Panel 항균제 감수성검사의 평가. 대한임상미생물학회지 2008;11:18-22.)