

## 소아의 임상 검체 및 건강한 소아의 비인두에서 분리된 폐구균의 혈청형 및 페니실린 감수성

서울대학교 의과대학 소아과학교실, 이화여자대학교 의과대학 소아과학교실\*,  
성균관대학교 의과대학 강북삼성병원 소아과†

이진아 · 김남희 · 김동호 · 박기원 · 김윤경 · 김경호\* · 박진영† · 최은화 · 이환중

### Serotypes and Penicillin Susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* Isolated from Clinical Specimens and Healthy Carriers of Korean Children

Jin-A Lee, M.D., Nam-Hee Kim, M.D., Dong-Ho Kim, M.D., Ki-Won Park, M.D.  
Yun-Kyung Kim, M.D., Kyoung-Hyo Kim, M.D.\*, Jin-Young Park, M.D.†  
Eun-Hwa Choi, M.D. and Hoan-Jong Lee, M.D.

Departments of Pediatrics, Seoul National University College of Medicine;  
Ewha Women's University College of Medicine\*;  
Sungkyunkwan University College of Medicine, Kangbuk Samsung Hospital†; Seoul, Korea

**Purpose :** Pneumococcus is one of the most important causes of invasive infection through the childhood period and the prevalence of antibiotics resistance of pneumococcus is increasing worldwide. A 7-valent conjugate vaccine has been developed. It is important to know the prevalence of each serotype of pneumococci in the countries where the vaccine is used to estimate the coverage rate by the vaccine.

**Methods :** One hundred and twenty seven strains of clinical isolates and 72 strains from healthy carriers recovered from Korean children during the period from 1997 to 2002 were subjected to determination of serotype by Quellung reaction and penicillin susceptibility with oxacillin disc diffusion test.

**Results :** Forty-three per cent of clinical isolates were obtained from children under two years of age. Thirty strains(24%) were isolated from normally sterile body fluids. The frequent serotypes were 19F, 19A, 23F, 6A, 6B and 9V. Fifty-six per cent of the clinical isolates were represented in the current 7-valent protein conjugate pneumococcal vaccine, and 84% when the cross-reactive serotypes were included. Frequent serotypes of strains isolated from one to five year-old healthy children were 19F, 14, 11A, 23F, 18C, and 19A. Seventy-one per cent of the carrier strains were included in the 7-valent vaccine. Ninety-three per cent of the clinical isolates and 86% of carrier strains were not susceptible to penicilline.

**Conclusion :** Fifty-six to 84% of pneumococci recovered from Korean children are covered by the current 7-valent protein conjugate pneumococcal vaccine and the prevalence of penicillin resistance was very high. (*J Korean Pediatr Soc* 2003;46:846-853)

**Key Words :** *Streptococcus pneumoniae*, Quellung reaction, Conjugate vaccine

### 서 론

폐구균(*Streptococcus pneumoniae*: Pneumococcus)은 그람 양성 쌍구균으로 Pasteur와 Sternberg는 1880년에 사람의 타액을 토끼에게 주사하여 폐구균을 처음으로 분리하였다. Friedlander가 1882년 폐렴 환자에게서 얻은 조직에서 처음으로 폐구

본 연구는 2001년도 서울대학교병원 위탁임상연구비(연구번호: 06-2001-083-0)의 지원으로 이루어졌음.

접수: 2003년 4월 21일, 승인: 2003년 7월 9일

책임저자: 이환중, 서울대학교 어린이병원 소아과

Tel: 02)760-3633 Fax: 02)745-4703

E-mail: hoanlee@plaza.snu.ac.kr

대상 및 방법

균을 확인하였으며 1884년 처음으로 폐렴 환자의 혈액에서 폐구균을 분리하였다.

폐구균은 급성 중이염의 가장 흔한 원인균이며, 소아의 세균성 폐렴, 세균성 뇌막염 및 부비동염의 흔한 원인이다. 또 소아에서는 국소 감염증의 증거가 없는 특발성 폐구균혈증이 흔히 발생하며, 폐구균은 1-2개월 소아 균혈증의 가장 흔한 원인균이다. 폐구균 감염증의 위험도를 결정하는 요인으로 연령이 가장 중요하여<sup>1)</sup> 폐구균에 의한 질환은 영아와 어린 소아 및 고령자에서 발병 빈도가 높다. 2세 미만의 소아의 경우 폐구균 항원에 대해 적절히 반응하지 못하여 어린 연령에서 폐구균 질환의 빈도가 높고 노인층에서는 면역력의 감소 및 기저 질환 등으로 인해 폐구균 감염의 위험이 높다. 폐구균 질환의 빈도는 인종에 따라 차이가 있으며, 흑인의 경우 폐구균 뇌막염의 빈도가 높다.<sup>2)</sup> 그 이유는 아직 잘 알려져 있지 않다. 폐구균은 비인강, 구인강 등의 상재균(normal flora)으로서 비말을 통해 사람에게 전파되고, 상기도에 정착해 있던 폐구균이 혈행성 또는 직접 전파를 통해 감염을 일으키며 인두에서 분리되는 혈청형은 일반적으로 질병을 일으키는 혈청형과 비슷하다. 대부분의 폐구균성 뇌수막염은 균혈증이 선행하게 되며 중이염의 경우는 비인두로부터 중이로 Eustachian tube를 통하여 직접 균이 전파되게 된다. 약 80%의 소아가 3세경까지 적어도 1회의 중이염을 앓게 되며<sup>3)</sup> 폐구균은 세균성 중이염의 50% 정도에서 원인이 된다.

폐구균에 의한 침습성 질환은 6개월에서 2세 사이의 소아에서 가장 빈발하여 미국의 경우 전체 인구 100,000명당 연간 15-30명, 2세 이하 소아에서는 160명, 젊은 성인에서는 5명, 55세 이상에서는 50명의 빈도로 발생한다. 폐구균에 의한 뇌막염의 발생률은 전 연령에서 연간 100,000명당 1-3명이다. 폐구균에 의한 뇌막염이 가장 흔한 연령은 3-5개월이고, 중이염은 6-12개월, 폐렴은 13-18개월이다<sup>4)</sup>. 어린 소아 및 고령자 외에 호즈킨병, 선천성 또는 후천성 면역 결핍증, 신증후군, 비장 부전 또는 적출 환자, 장기 이식 등의 만성 질환을 가진 경우 폐구균 감염의 빈도가 높으며 감염시 심한 감염증을 앓을 위험이 많다. 또한 두개골 골절 등으로 뇌척수액의 누출이 있는 경우에 폐구균에 의한 뇌막염이 반복해서 올 수 있다.

최근 여러 항생제에 내성을 보이는 폐구균이 전세계적으로 확산되고 있으며<sup>5)</sup> 특히 우리나라 소아에서 분리되는 폐구균의 페니실린 내성률은 70% 이상으로 매우 높다<sup>6,7)</sup>. 그러므로 폐구균 감염증의 예방이 더욱 중요하며 효과적인 백신의 개발에 초점이 맞추어지고 있다. 최근에 영아 및 어린 소아에서도 침습성 감염에 대한 예방 효과가 우수한 7가의 단백 결합 백신이 개발되었다. 이러한 백신의 효용성을 예측하기 위해서는 백신을 사용하고 자 하는 지역에서 분리되는 폐구균의 혈청형에 대한 분석이 필요하다.

1. 대상

2000년 3월부터 2002년 2월까지 2년간 서울대학교 어린이병원, 이화여자대학교 동대문병원, 성균관대학교 강북삼성병원에 내원한 15세 이하 환아에게서 혈액, 뇌척수액, 호흡기 검체, 눈 및 중이의 분비물 등 임상 검체를 배양하여 분리된 폐구균 174 균주를 -70℃에 냉동 보관하였다가 사용하였다. 한 환자에서 같은 시기에 다른 검체에서 얻어진 균주의 경우는 의무 기록지 검토를 통해 임상적 중요성이 있는 검체 한가지만 선택하여 총 129균주가 포함되었다.

이전에 두 번의 이후 도찰 배양 연구가 시행되었으며 이들 연구에 관한 자세한 내용은 이미 보고된 바 있다<sup>9,10)</sup>. 본 연구에서는 각 연구에서 분리된 일부 균주의 혈청형 및 페니실린 감수성을 분석하였다. 각 연구의 개요는 다음과 같다.

김 등<sup>9)</sup>의 연구에서는 1998년 3월부터 6월까지 4개월간 서울 지역에 위치한 5개 유아원의 1-5세의 소아 209명을 대상으로 이후 도찰을 배양하여 63명(30.1%)의 소아에서 폐구균이 분리되었다. 박과 김<sup>10)</sup>의 연구에서는 1997년 11월부터 1998년 10월까지 1년간 서울 시내에 위치한 어린이집에서 다니는 1-5세 소아 64명을 대상으로 매달 구강 이후 도찰을 시행하여 1년간 404개 검체를 얻어 105개의 검체(26%)에서 폐구균이 분리되었다. 1회 이상 폐구균이 분리된 어린이는 66%(42/64)이었으며, 동일 소아에서 2회 연속 분리된 예는 8례, 3회 연속 분리된 예는 6례, 5회 연속 분리된 예는 2례, 그리고 8회 연속 분리된 경우가 1례이었다.

김 등<sup>9)</sup>의 연구에서 얻은 폐구균중 성공적으로 재배양된 18균주가 본 연구에 포함되었다. 또한 박과 김<sup>10)</sup>의 연구에서 얻은 105균주 중 83균주를 성공적으로 재배양하였으며 같은 소아에서 2회 이상 폐구균이 분리된 경우에는 같은 혈청형이면 한 균주만 분석에 포함하였다.

2. 폐구균의 동정

용혈성과 집락 형태, Gram 염색 조건, catalase 검사, optochin(BBL Microbiology systems, Cockeysville, USA) 디스크 감수성 등으로 폐구균을 동정하였다. 폐구균으로 동정된 균주는 -70℃에 보관하였다가 시험에 사용하였다.

3. 혈청형의 결정

Quellung 반응(capsular reaction test)을 이용하여 혈청형을 결정하였다. 혈액한천배지에 자란 폐구균 5-7개 집락을 brain heart infusion broth(BHIB; Difco, Detroit, USA)에 섞어 37℃, 5% CO<sub>2</sub>에서 12-18시간 증균한 균액 1.5 μL와 폐구균 항혈청(Pneumococcal antisera, Statens Serum Institut, Copenhagen, Denmark) 1.5 μL을 유리 슬라이드에서 혼합한 후 커버

슬라이드를 덮고 위상차 현미경에서 immersion oil을 사용하여 1,000배 배율로 관찰하였다. 폐구균의 피막의 swelling이 보이면 양성으로 판독하였다.

#### 4. 페니실린 감수성 검사

Oxacillin 디스크(BBL Microbiology Systems) 확산법을 이용하여 penicillin에 대한 감수성을 검사하였다. 혈액한천배지에서 계대 배양한 시험세균의 집락을 BHIB에 접종하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub>에서 20-24시간 배양한 후, BHIB로 희석해서 탁도가 0.5 McFarland Standard에 해당하도록 하였다(10<sup>8</sup> cfu/mL). 이 현탁액을 혈액한천 배지에 면봉으로 접종하였고 1 µg oxacillin 디스크를 올려 놓은 후 같은 조건에서 배양하며 균이 자라지 않은 억제대의 지름을 측정하였다. National Committee for Clinical Laboratory Standards(NCCLS) 기준<sup>8)</sup>에 따라 억제대의 지름이 20 mm 이상의 경우 페니실린 감수성으로 판단하였다.

### 결 과

#### 1. 대상 소아의 특성

##### 1) 임상 검체

연구에 포함된 임상 검체 분리 균주 129주 중 rough strain으로 밝혀진 2균주를 제외한 총 127균주에 대하여 혈청형 분석 및 페니실린 감수성 검사를 시행하였다. 이들 균주가 분리된 127명의 연령은 2세 미만인 43%, 2-5세가 36%, 5-15세가 21%이었으며, 남녀비는 54 : 73이었다. 검체의 종류는 비인두 도찰로 얻은 상기도 검체, 객담 또는 경기관 분비물 등의 하기도 검체, 중이 분비물 및 정상적으로는 무균 상태인 체액 즉, 혈액, 뇌척수액, 복수 등이었다(Table 1).

뇌수막염 환아에서 뇌척수액, 소변, 혈액 모두에서 폐구균이 분리된 경우는 검체 종류를 뇌척수액 1가지로 하였고, 폐렴 등의 국소 감염증을 동반한 폐혈증의 경우는 검체를 혈액으로 하였다.

정상적으로 무균 상태인 체액의 감염 및 농흉, 골수염 등의 폐쇄성 농양의 경우를 침습적 감염으로 정의하였을 때, 전체 임상 검체에서 분리된 폐구균의 24%(30례)가 침습성 감염에서 분리되었으며, 2세 미만이 12례, 2-5세 및 5세 이상이 각각 9례였다. 이 30례 중 15례(50%)가 소아암, 신증후군, 간경화 및 장기 이식 등으로 면역이 저하된 상태의 환아에게서 분리되었으며, 연령별로는 2세 미만, 2-5세 및 5세 이상이 각각 4례, 3례 및 8례로서 각 연령군별로 침습적 감염의 33%, 33% 및 89%가 면역 저하 환자에게서 발생하였다. 국소 감염증의 증거가 없는 특발성 균혈증은 11례로 전체 감염의 9%였으며, 국소 감염에 동반된 균혈증의 경우는 폐렴에 동반된 것이 3례, 담도관염 2례, 농흉 1례, 심내막염 1례 및 피하 농양 1례로 총 8례였다. 즉 혈액에서 분리된 균주는 총 19례로 전체 감염의 15%를 차지하였다. 6균주(5%)는 뇌수막염 환아에서 분리되었다.

**Table 1.** Sources of Specimens from which *S. pneumoniae* were Isolated and Their Distribution by Patient's Age Group

Specimen source(%)	No. of isolates in each age group			Total(%)
	<2 yrs	2-<5 yrs	5-15 yrs	
Normally sterile body fluid				
Blood*	5	7	7	19(15)
Cerebrospinal fluid	4	2	0	6( 5)
Ascitic fluid	0	0	1	1( 1)
Closed pus†	3	0	1	4( 3)
Lower respiratory tract‡	13	8	4	25(20)
Throat/Nasal swab	6	16	11	33(26)
Ear	22	10	1	33(26)
Eye	2	0	0	2( 2)
Others§	0	2	2	4( 3)
Total	55	45	27	127

\* includes bacteremia without focus(11 cases), and with pneumonia(3), empyema(1), endocarditis(1), cholangitis(2), and subcutaneous abscess(1)

† includes an empyema without bacteremia(1 case), bony aspirate obtained from a patient diagnosed as osteomyelitis(1), discharge from branchial cyst(1), and joint fluid(1)

‡ includes sputum(16 cases) and transtracheal aspirates(9)

§ includes urine(3) and open pus(1 case; pus from gastrostomy site)

중이 분비물과 인두 또는 비강 도찰에서 분리된 균주가 각 33균주(26%)였다.

객담 또는 경기관지 흡인물 등의 하기도 검체에서 분리된 균주는 25균주(20%)였다. 눈 분비물, 소변 등의 검체 및 피하 농양의 개방성 농 등에서의 분리주가 6균주(5%)였다.

2세 미만의 소아에서는, 중이 분비물이 40%, 상기도 및 하기도 검체가 35%로 호흡기 검체가 대부분을 차지하였고 침습성 감염 분리주는 22%였으며, 그 중 국소 감염의 증거가 없는 특발성 균혈증은 3례로 2세 미만 폐구균 감염의 5%를 차지하였다. 뇌수막염의 경우 전체 6례 중 4례(67%)가 2세 미만에서 발생하였다. 2세 이상 5세 미만의 경우에도 상기도 검체 및 중이염 검체가 각각 53%, 22%로 전체의 75%를 차지하였다. 이 연령군에서 침습성 감염은 9례(20%)였고 특발성 균혈증은 3례로 7%였다. 5세 이상의 경우는 중이염이 4%로 그 빈도가 떨어졌으며 침습성 감염 분리주는 9례(33%)였다. 특발성 균혈증 5례(19%) 중 4례가 면역 저하 환아에게서 발생하였다.

##### 2) 인후 도찰 검체

김 등<sup>9)</sup>의 인후 도찰 연구에서 분리된 균주로서 혈청형이 결정된 18균주 중 rough strain으로 밝혀진 1균주를 분석에서 제외하였으며, 박과 김<sup>10)</sup>의 인후 도찰 연구에서 분리되어 혈청형이 결정된 83균주 중 같은 소아에서 같은 혈청형이 2회 이상 분리된 혈청형 균주는 한 균주만 포함시킴으로써 15균주가 제외되었으며, 또 rough strain으로 결정된 11균주도 제외하였다. 결국, 첫번째 연구의 17균주와 두번째 연구의 55균주가 포함되어 총

72균주의 혈청형과 페니실린 감수성을 분석하였다. 72균주가 분리된 소아의 남녀비는 30 : 42였다.

**2. 폐구균의 혈청형**

**1) 임상 검체**

임상 검체에서 분리된 127균주의 혈청형 분포는 19F(24%),

19A(17%), 23F(15%), 6A(11%), 6B(7%), 9V(6%)의 순서를 보였으며, 이 6가지 혈청형이 전체 균주의 80%를 차지하였다(Table 2). 5세 미만의 환자의 경우 혈청형 19F, 19A, 23F, 6A의 순으로 분리되었다. 5세 이상 15세 미만의 경우는 혈청형 23F가 22%로 가장 많았으며 다음으로 19F, 6A, 6B, 14가 각 11%씩 같은 정도를 차지하였고 혈청형 19A가 7%로 5세 미만 연령군에 비해 적은 부분을 차지하였다.

검체별 혈청형의 분포는 중이 분비물의 경우 19F와 19A가 82%를 차지하였고 상하기도 검체에서는 23F와 19F가 38%였다(Table 3). 혈액 분리 19균주는 혈청형 15C, 23F, 6A 및 6B가 각각 3균주(16%)씩 차지하였고 뇌척수액 분리주는 6균주 중 3균주가 혈청형 19F로서 50%를 차지하였다.

**2) 인후 도찰 검체**

건강한 소아의 인후두 도찰에서 분리된 폐구균 중 rough strain을 제외한 72균주의 혈청형은 19F(22균주; 31%), 14(15균주; 21%), 11A(9균주; 13%), 23F(8균주; 11%), 18C(4균주; 6%), 19A(3균주; 4%)의 순으로 이 6가지 혈청형이 전체의 86%를 차지하였다(Table 4).

**3. 폐구균의 페니실린 감수성**

**1) 임상 검체**

임상 검체에서 분리된 총 127 폐구균 균주의 페니실린 내성률은 93%(118/127)였다. 침습성 감염에서 분리된 30균주의 폐구균의 페니실린 내성률은 90%(27/30)로서 혈액 분리균주 89%(17/19), 뇌척수액 분리균주 100%(6/6), 복수 분리균주 100%(1/1) 및 폐쇄성 농 분리균주 75%(3/4)이었다. 이외 하기도 검체 분리균주의 96%(24/25), 인두 및 비강 분리균주의 91%(30/33), 중이 분리균주의 97%(32/33), 눈 분리균주의 100%(2/2) 및 기타 100%(5/5)에서 페니실린 내성을 보였다.

혈청형별로는 19F, 19A, 23F, 6B, 9V, 18C 등 많은 빈도를

**Table 2.** Distribution of Serotypes Among 127 Clinical Isolates by Age

Serotype*	No. of isolates (% in each age group)			Total
	<2 yrs	2-<5 yrs	5-15 yrs	
19F	18(33)	10(22)	3(11)	31( 24)
19A	12(22)	7(16)	2( 7)	21( 17)
23F	7(13)	6(13)	6(22)	19( 15)
6A	5( 9)	6(13)	3(11)	14( 11)
6B	2( 4)	4( 9)	3(11)	9( 7)
9V	1( 2)	6(13)	0( 0)	7( 6)
14	0( 0)	1( 2)	3(11)	4( 3)
15C	2( 4)	2( 4)	0( 0)	4( 3)
15B	1( 2)	1( 2)	1( 0)	3( 2)
11A	3( 5)	0( 0)	0( 0)	3( 2)
35B	2( 4)	0( 0)	0( 0)	2( 2)
18C	0( 0)	1( 2)	0( 0)	1( 1)
23A	0( 0)	1( 2)	0( 0)	1( 1)
4	0( 0)	0( 0)	0( 0)	0( 0)
9N	0( 0)	0( 0)	0( 0)	0( 0)
Others	2( 4) <sup>†</sup>	0( 0)	6(22) <sup>‡</sup>	8( 6)
Total	55(43)	45(35)	27(21)	127(100)

\*Pneumococci of rough strain were excluded in the serotyping and penicillin susceptibility test

<sup>†</sup>includes 2 strains : type 15A(1), 38(1)

<sup>‡</sup>includes 6 strains : type 1(1), 3(1), 21(1), 22F(1), 24F(1), and 27(1)

**Table 3.** Distribution among Serotypes of 127 Isolates of *S. pneumoniae* Obtained from Clinical Specimens from Patients, by Indicated Specimen Sources

Sources of specimen	No. of isolates in each serotype							Total
	19F	19A	23F	6A	6B	9V	Others	
Normally sterile body fluid	5	4	6	3	4	1	7	30
Blood	1	2	3	3	3	1	6	19
CSF	3	1	1	0	1	0	0	6
Ascitic fluid	0	0	1	0	0	0	0	1
Closed pus*	1	1	1	0	0	0	1	4
Lower resp tract <sup>†</sup>	4	4	5	4	0	3	5	25
Throat/Nasal swab	6	0	5	4	5	3	10	35
Ear	15	12	1	1	0	0	4	33
Others <sup>‡</sup>	1	1	2	2	0	0	0	6
Total	31	21	19	14	9	7	26	127

\* includes an empyema without bacteremia(1), bony aspirate obtained from a patient diagnosed as osteomyelitis(1), discharge from branchial cyst(1), and joint fluid(1)

<sup>†</sup> includes sputum(16 cases) and transtracheal aspirates(9)

<sup>‡</sup> includes urine(3), eye discharge(2), and open pus(1 case; pus from gastrostomy site)

차지하는 혈청형에서 100%의 페니실린 내성률을 나타내었으며 혈청형 6A(내성률:93%), 15B(내성률:67%)는 일부에서 페니실린 감수성을 보였다(Table 4).

**2) 이후 도찰**

인후 도찰 검체의 전체적 페니실린 내성률은 86%였다. 혈청형 18C는 모두 페니실린에 감수성을 보였고 혈청형 6B도 50% 정도의 페니실린 감수성을 보였으나, 대부분을 차지하는 혈청형인 19F, 19A, 23F, 23A, 6A, 14와 11A의 경우에는 100% 페니실린 내성을 보였다(Table 4).

**Table 4.** Penicillin Susceptibility Results Tested by Oxacillin Disc Diffusion Method for 127 Clinical Isolates and 72 Strains of *S.pneumoniae* Isolated from Healthy Carriers according to Serotypes

Serotype	No. of isolates (% of resistant pneumococci in each serotype)					
	Clinical isolates			Throat swabs		
	S*	R(%) <sup>†</sup>	Subtotal	S*	R(%) <sup>†</sup>	Subtotal
19F	0	31(100)	31	0	22(100)	22
19A	0	21(100)	21	0	3(100)	3
23F	0	19(100)	19	0	8(100)	8
23A	0	1(100)	1	0	1(100)	1
6A	1	13( 93)	14	0	1(100)	1
6B	0	9(100)	9	1	1( 50)	2
9V	0	7(100)	7	0	0( 0)	0
18C	0	1(100)	1	4	0( 0)	4
15C	0	4(100)	4	0	0( 0)	0
15B	1	2( 67)	3	1	0( 0)	1
14	0	4(100)	4	0	15(100)	15
11A	0	3(100)	3	0	9(100)	9
35B	0	2(100)	2	0	1( 2)	1
Others	7	1( 13)	8 <sup>‡</sup>	4	1( 20)	5 <sup>§</sup>
Total	9	118( 93)	127	10	62( 86)	72

\* S: Pneumococci susceptible to penicillin  
<sup>†</sup>R: Pneumococci resistant to penicillin  
<sup>‡</sup>include 8 serotypes : type 1(1), 3(1), 21(1), 27(1), 38(1), 15A(1), 22F(1), and 24F(1)  
<sup>§</sup>include 5 serotypes : type 1(1), 15A(2), 15C(1), and 34(1)

**4. 7가 단백 결합 백신에 포함되는 비율**

7가 단백 결합 백신에는 혈청형 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F의 7가지 혈청형이 포함되며 교차 반응 혈청형을 고려하면 백신에 포함된 혈청형과 같은 혈청군에 속하는 6A, 9A, 9L, 9N, 18F, 18A, 18B, 19A, 19B, 19C, 23A, 및 23B 등도 포함된다.

임상 검체에서 얻은 폐구균 127군주 중 56%가 7가 백신에 포함되었으며 교차 반응 혈청형을 고려하면 84%가 포함되었다. 침습성 감염과 중이 분리주의 경우 각각 57%(교차 반응 혈청형 포함시 80%), 48%(교차 반응 혈청형 포함시 88%)가 7가 백신에 포함되었다(Table 5). 페니실린 내성균의 60%(교차 반응 혈청형 포함시 90%)가 7가 백신에 포함되었다.

2세 미만 환자의 경우 분리된 전체 폐구균 55군주 중 51%(28/55)가, 교차 반응 혈청형을 고려하면 82%(45/55)가 7가 백신에 포함되었으며, 침습성 감염의 경우 50%(6/12)(교차 반응 혈청형 포함시 83%), 중이염의 경우 50%(11/22)(교차 반응 혈청형 포함시 86%)가 7가 백신에 포함되었다. 2세 미만의 페니실린 내성균의 54%(교차 반응 혈청형 포함시 85%)가 7가 백신에 포함되었다.

인후두 도찰 검체의 경우 7가 백신에 71%(교차 반응 혈청형 포함시 78%)가 포함되었으며, 페니실린 내성균의 74%(교차 반응 혈청형 포함시 82%)가 7가 백신에 포함되었다.

**고 찰**

1910년에 Neufeld와 Haendel이 Quellung reaction, 즉 capsular swelling 양상을 보고 폐구균의 혈청형을 나누기 시작하였다<sup>11)</sup>. 1913년 Cole 등은 특이 항폐구균 혈청을 폐구균 감염증 치료에 이용하기 시작하였고 이로써 폐구균 폐렴의 사망률을 25-30%에서 10.5%까지 감소시켰으나 뇌수막염 또는 심내막염 등의 국소 감염증에는 효과가 없었다<sup>11)</sup>. 페니실린 등의 항생제의 개발은 이런 국소 감염에도 효과를 나타내었으며 항생제의 개발과 함께 폐구균 백신의 개발도 진행되었다. Ekwurzel 등이 1933-1937년에 걸쳐 폐구균 피막다당질 백신을 개발하였으며 1945년 MacLeod 등의 임상 시험에서 폐구균 백신의 유용성을

**Table 5.** Serotypes of 127 Clinical Isolates and 72 Strains from Healthy Carriers in Relation to 7-Valent Conjugate Vaccine

Vaccine type*	Clinical isolates			Isolates from carriers
	Normally sterile body fluid <sup>†</sup>	Other clinical isolates <sup>§</sup>	Total	
Vaccine type*	17	54	71( 56%)	51( 71%)
Serologically related <sup>†</sup>	7	29	36( 28%)	5( 7%)
Non-vaccine type	6	14	20( 16%)	16( 22%)
Total	30	97	127(100%)	72(100%)

\* includes type 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F and 23F  
<sup>†</sup>includes type 6A, 9A, 9L, 9N, 18F, 18A, 18B, 19A, 19B, 19C, 23A, and 23B  
<sup>‡</sup>from blood, CSF, ascites and other closed pus(joint fluid, bony aspirate, empyema and discharge from branchial cyst)  
<sup>§</sup>from sputum, transtracheal aspirates(TTA), ear discharge, throat/nasal swab, eye discharge, open pus, and urine

입증하였다<sup>11)</sup>. 최근에는 영아 및 어린 소아에게도 유효한 단백 결합 백신이 개발되었다.

폐구균은 전 세계적으로 아무런 증상이 없는 사람의 인두에서 정상 균총으로 흔히 분리되며 인두에서 분리되는 빈도는 성인의 5-10%, 소아의 25-50%이며, 대부분의 소아에서 연중 어느 시기엔가 분리된다<sup>11)</sup>. 인두에서 분리되는 혈청형은 일반적으로 질병을 일으키는 혈청형과 비슷하다. 폐구균은 호흡기 분비물을 통해 사람에서 사람으로 전파되며 상기도 감염시 균의 전파가 많아 겨울과 봄에 폐구균 질환의 빈도와 집락화(colonization)의 정도가 높게 된다. 폐구균의 보유율(carriage rate)의 정도는 연령, 인종 등 대상에 따라 많은 차이가 있으며 단체 생활을 하는 어린 소아에서 그 빈도가 가장 높다. 특히 유아원, 어린이집 등에 있는 어린이의 경우 폐구균 보유율이 높을 뿐 아니라 페니실린 내성 폐구균의 보유율도 높다고 알려져 있다<sup>9)</sup>. 97%의 높은 폐구균 보유율을 보인다든 보고도 있으나 대부분의 연구에서는 25-50% 정도의 보유율을 보였으며 어린이와 접촉의 기회가 없는 성인의 경우 폐구균 보유율이 가장 낮아 5% 정도로 보고되었다<sup>11)</sup>. 건강한 소아의 폐구균 구인두 보유율은 검체 채취 방법, 대상 소아의 연령, 형제 관계와 어린이집 생활 여부 등과 관련이 있다. 어린이 집을 대상으로 한 연구에서 평균 폐구균 보유율은 26% 정도였고 국내에서 병원 내원 환아를 대상으로 9-10월에 비인강 검체에서 시행한 연구에서는 폐구균 보유율이 19.8%, 유치원 어린이를 대상으로 4월에 구인강 검체에서 시행한 연구에서는 보유율이 38%로 대상 어린이와 계절에 따라 폐구균 보유율에 차이를 보였다<sup>12, 13)</sup>. 보균 상태를 치료하는 것은 상호 전파에 의한 집단 감염이 발생하기 전에 집단에서 시행하는 것으로 제한되나 다제 내성 폐구균 보균자의 효과적 치료는 매우 힘들며 치료 후 일정 기간이 지나면 발견되지 않았던 보균자 또는 가족구성원과의 접촉을 통해 다시 내성균의 집락화가 일어난다.

폐구균이 호흡기 점막을 통해서 침습성 폐구균 감염을 일으키며 점막이 침습성 질환의 첫 방어 기전으로 작용하고 폐구균 단백 결합백신이 점막 면역을 유발한다는 여러 보고가 있다. 실제로 단백 결합 백신 접종 후 비인두에 폐구균의 보유율을 조사한 연구에서도 백신에 포함된 혈청형의 보유율이 감소하였다.

폐구균 단백 결합백신을 12-18개월의 소아에게 접종시, 1년 뒤에 접종아의 4%, 대조군의 14%가 백신에 포함된 혈청형의 항생제 내성 폐구균을 보유하고 있었다<sup>14)</sup>. 또 다른 연구에 의하면 어린 영아에게 단백 결합백신을 접종하고 생후 13개월에 비인두의 백신에 포함된 혈청형의 폐구균 보균율이 백신군은 2-10%, 대조군은 27%였다<sup>15)</sup>. Dagan 등<sup>14)</sup>은 12-18개월의 소아에게 폐구균 단백 결합백신을 투여시 vaccine-type 폐구균의 보유율은 1회와 2회 접종 시 각각 25%에서 9%, 7%로 유의하게 감소하였으나 non vaccine-type 폐구균의 경우는 보유율의 감소를 보이지 않았다고 하였다. 하지만 피막 다당질 백신의 경우는 두 군 모두에서 보유율을 감소시키지 못하였다. 또한 항생제 내성 vaccine-type 폐구균의 보유빈도도 다당질 백신을 투여 받은

환아보다 단백 결합백신 투여군에서 낮게 나타났다. 본 연구에서는 인후두 도말 검사에서 얻은 폐구균의 71-78%가 7가 백신에 포함되었으며 인후두 검체 중 페니실린 내성균의 74-82%가 7가 백신에 포함되었다. 이는 적절한 백신의 사용으로 폐구균 보유율 및 항생제 내성 폐구균의 보유율을 감소시킬 수 있을 것이며 이는 질병을 일으키는 혈청형의 전파를 막을 뿐만 아니라 내성의 전파도 막을 수 있을 것을 시사한다.

1965년 미국의 Boston에서 페니실린에 대한 감수성이 저하된다는 것이 처음 보고 된 이후, 1967년 Australia에서 페니실린 중등도 내성 폐구균이 분리되었다. 최근 페니실린 내성 폐구균의 감염 빈도는 전세계적으로 증가 추세에 있는 바, 그 빈도는 지역에 따라 다소 차이가 있다<sup>5)</sup>. 국내에서는 1985년 이전에는 폐구균 내성이 보고된 바가 없었으나 1985-1986년에 페니실린 내성률 1.7%<sup>16)</sup>, 1995년 70-77%로서<sup>6, 17)</sup> 최근 그 빈도가 급격히 증가하였다.

1991-1993년까지 국내의 한 연구<sup>6)</sup>에 의하면 임상 검체에서 얻은 폐구균의 70%가 페니실린 내성을 보였고 침습성 폐구균 감염의 경우는 59%가 페니실린 내성을 보였으며, 페니실린 내성률은 최근 입원 병력, 15세 미만의 연령, 지속적인 항생제 치료, 병원 감염 및 혈청형 6, 14, 19F, 23F의 경우 그 정도가 증가하였다.

본 연구에서는 oxacillin 디스크를 이용하여 페니실린 내성률을 검사하였으며 임상 검체에서 분리된 폐구균 127균주의 페니실린 내성 빈도는 93%였고 침습성 감염의 경우도 90%의 높은 페니실린 내성률을 보였다. 또한 19F, 19A, 23F, 6B, 9V, 18C 등 대부분을 차지하는 혈청형에서 100%의 페니실린 내성률을 나타내었다. 인후 도찰 검체의 경우도 86%의 페니실린 내성률을 보여 주었으며 흔히 분리되는 혈청형 19F, 19A, 23F, 23A, 6A, 14와 11A의 경우 100% 페니실린 내성률을 보였다. 최근 수년간에도 폐구균의 페니실린 내성 빈도는 더욱 증가하였음을 알 수 있으며, 항생제의 오남용과 병원 및 단체 생활에서의 페니실린 내성균의 전파가 그 원인의 많은 부분을 차지하였을 것으로 생각된다.

폐구균은 피막 다당질의 혈청학적 특성에 의하여 현재까지 90여 가지의 혈청형이 알려져 있다. 이중 일부 혈청형의 다당질 상호간에 물리 화학적 성질 및 항원성의 유사성이 있다. 혈청군 6, 14, 18, 19와 23에 속하는 혈청형들이 임상 검체 분리주의 대부분을 차지하는 것으로 알려져 있으나 각 혈청형의 분포는 시기 및 장소에 따라 다르다. 한 예로 미국의 Boston City Hospital에서의 경우<sup>18)</sup> 1970년대 이전에는 혈청형 1이 폐구균성 폐렴의 50% 이상을 차지하였으나 1978년 이후에는 혈청형 1에 의한 폐렴은 거의 없었다. 이 병원에서는 혈청군 6, 14, 18, 19, 23이 분리된 균주의 대부분을 차지하였으며 폐구균성 중이염의 경우가 5가지 혈청군에 속하는 혈청형이 63% 정도를 차지하였고, 폐구균성 균혈증의 76%를 차지하였다<sup>19)</sup>. 1984년부터 1993년까지 Connecticut에 있는 소아들에게서 침습성 감염을 유발한 폐

구균의 혈청형 분석에 대한 전향적 연구<sup>20)</sup>에 의하면 혈청형 14가 전체의 29%를 차지하였고 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F와 23F의 7가지 혈청형이 침습성 감염의 84% 및 2세 미만의 침습 감염의 86%를 차지하였다.

또한 1985-1989년까지 Alabama의 어린이들을 대상으로 한 폐구균 혈청형 연구<sup>21)</sup>에서는 혈청군 6, 14, 19 및 23이 높은 빈도를 보이지만 혈청군 9가 증가 추세에 있음을 보여 주었으며 상대적으로 이전에 비해 혈청군 3과 18이 감소함을 보여 주었다.

Lee 등<sup>6)</sup>에 의한 1991년부터 1993년까지 폐구균 131균주에 대한 혈청형 분석에서는 혈청형 6A, 6B, 14, 19F와 23F가 전체의 67%를 차지하였고 이외 9V, 11A, 15B 및 24F가 10%를 차지하였다. 1991년부터 1998년까지 서울대학교 소아병원에서 분리된 폐구균 175균주에 대한 혈청형 분석에서는 19F(30%), 23F(21%), 14(13%), 6B(7%), 9V(4%), 6A(4%), 19A(2%)의 빈도를 보였으며 이 7가지 혈청형이 전체의 81%를 차지하였다. 본 연구에서는 19F(24%), 19A(16%), 23F(15%), 6A(11%), 6B(7%), 9V(5%)의 순서를 보였고 이 6가지 혈청형이 전체 균주의 78%를 차지하였다. 서양에서 흔히 분리되는 혈청형 4, 14, 18C 등이 적었으며, 우리나라의 경우도 1990년대에는 혈청형 14가 13%로 많은 빈도를 보였으나 2000년대에 들어서는 3% 정도로 그 분리 빈도가 감소되었다. 한편 혈청형 19A의 경우 국내에서 1998년 이전에는 2%를 차지하였으나 최근 들어 16% 정도로 그 빈도가 높아졌다.

인후두 도찰에서 분리된 폐구균의 경우 혈청형 19F(31%)가 가장 많았으며 이후 14(21%), 11A(13%), 23F(11%), 18C(6%), 19A(4%)의 분포를 보였다. 이는 임상 검체에서의 혈청형의 분포와 비슷하였으나 상대적으로 혈청형 14가 높은 빈도를 차지하였고 혈청형 19A가 적은 부분을 차지하였다. 이는 질병을 일으키는 혈청형과 무증상 보균자에서 분리된 혈청형 자체의 차이일 수도 있으나 인후 도찰 검체가 임상 검체보다 2-3년 전에 얻어졌음을 고려하면 시기적 변수도 중요한 영향을 미쳤으리라 생각된다. 상기한 바와 같이 지역과 시기에 따라 폐구균의 혈청형 분포가 다를 수 있으므로, 백신의 개발시 특정 지역과 시기에 따른 혈청형의 파악은 필수적이다.

미국에서 1977년 처음으로 14가 폐구균 백신이 인가되었고 1983년부터는 새로운 23가 백신이 사용되고 있으며 이 백신은 다당질 항원에 잘 반응하는 백신 접종자에서는 안전하며 침습성 질환에 대한 예방 효과가 비교적 우수하다. 그러나, 폐구균 다당질 백신은 침습성 폐구균 감염의 위험이 가장 높은 영아 및 2세 이하 소아에서는 면역원성 및 예방 효과가 낮기 때문에 사용할 수 없으며 또한 면역 결핍 질환, 악성 종양 등의 기저 질환이 있는 환자에서는 효과가 낮다. 또한 다당질 백신은 점막의 분비형 항체를 유발하지 않기 때문에 점막에 보균자가 되는 것을 감소시키지 못한다. 따라서 중이염 등의 점막 감염을 예방하지 못하며 사람간의 균의 전파를 막지 못한다. 피막다당질 항원은 약한 면역원이기 때문에 T helper cell을 자극하지 못하며, 이러한

면역원성은 단백질 운반체와 결합시 향상되므로, 폐구균의 다당질과 운반체 단백을 결합시킨 백신에 대한 연구가 진행되어 왔다. PncCRM 7가 백신<sup>4)</sup>은 2000년 2월에 미국에서 영아에서의 사용이 인가되었다.

영아 및 어린 소아에게 결합 백신을 접종하면 면역원성이 낮은 혈청형에 대해서도 항체 반응이 나타나 항체가가 증가하며 호즈킨병, 골수 이식 환자 등과 고연령군에서와 같이 다당질 백신의 면역원성이 좋지 않은 군에서도 비교적 우수한 항체 반응을 유발하며 나중에 다당질 백신으로 재접종시 기왕 반응이 일어날 수 있도록 초회항원자극(priming)이 일어난다<sup>22)</sup>.

폐구균 7가 결합 백신에는 혈청형 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F 및 23F 등이 포함되어 있다. 질병을 일으키는 혈청형은 연령, 지역에 따라서 다소 차이가 있어 7가 백신에 포함된 혈청형들은 미국 및 서구 소아의 침습성 질환을 일으키는 혈청형의 80% 정도를 포함하며 그 이외의 지역에서는 50-70%를 포함한다. 본 연구에 의하면 7가 단백질결합 백신은 교차반응을 고려할 때 우리나라 소아에서 침습성 감염 및 중이염을 일으키는 폐구균의 각각 57-80%와 47-85%를 포함하였다. 2세 미만 환자의 경우에도 분리된 전체 폐구균의 48-78%가 7가 백신에 포함되었고 2세 미만의 페니실린 내성균의 52-81%가 7가 백신에 포함되었다. 9가 백신에는 혈청형 1과 5가 추가되며, 11가 백신에는 혈청형 3과 7V가 추가된다. Fedson 등은 11가 백신이 소아 연령의 침습성 감염을 유발하는 폐구균의 73-92%를 포함한다고 하였다<sup>23)</sup>. 하지만 본 연구에서 상기 4가지 혈청형이 전체 임상 검체에서 차지하는 부분은 1.5% 정도로 11가 백신이 도입된다 하여도 국내에서의 추가적 효과는 미미할 것이다. 최근 그 빈도가 증가한 혈청형 19A가 7가 백신에 포함되지 않았으며 국내에서는 서양에 비해 혈청형 4, 14, 18C 등이 적어 7가 백신에 포함된 혈청형의 비율이 다소 낮다. 또한 교차 혈청형들에 의한 백신 효과에 대해서는 추가적인 임상 연구가 필요하리라 생각되나 19A와 19F간의 혈청학적 유사성을 고려시 혈청형 19A에 대한 효과를 다소 기대할 수 있을 것이다.

## 요 약

**목적 :** 폐구균은 건강한 소아의 비인두에서 분리될 수 있는 정상 균종이지만, 다양한 종류의 침습성 감염과 국소 감염을 일으킨다. 최근에 영아 및 어린 소아에서도 침습성 감염에 대한 예방 효과가 우수한 7가의 단백질 결합 백신이 개발되었다. 백신의 적절한 사용을 위해서는 백신을 사용하고자 하는 지역에서 분리되는 폐구균의 혈청형에 대한 분석이 필요하다.

**방법 :** 2000년 3월부터 2002년 2월까지 2년간 서울대학교 어린이병원, 이화여자대학교 동대문병원, 성균관대학교 강북삼성병원에 내원한 15세 미만의 환자의 임상 검체에서 분리된 폐구균 127 균주와 1997년 11월부터 1998년 10월까지 1-5세 사이의 건강한 소아의 인후 도찰 검체에서 분리된 폐구균 72균주를 대상

으로 Quellung reaction을 이용하여 혈청형을 결정하였으며, oxacillin 디스크 확산법을 이용하여 penicillin에 대한 감수성을 검사하였다.

**결 과 :** 임상 검체에서 폐구균이 분리된 소아의 연령은 2세 미만이 43%, 2-5세가 35%, 5-15세가 21%였다. 균혈증, 뇌수막염, 복막염 등의 침습성 감염은 전체 감염의 24%를 차지하였으며 이러한 경우 폐구균의 페니실린 내성률은 90%였다. 2세 미만의 경우는 전체 폐구균 감염의 22%가 침습적 감염이었고 호흡기계 검체 및 중이염은 각각 46%, 26%를 차지하였다. 폐구균의 혈청형 분포는 19F(24%), 19A(17%), 23F(15%), 6A(11%), 6B(7%), 9V (6%)의 순이었으며, 페니실린 내성빈도는 94%였다. 임상 검체에서 분리된 폐구균 중 56%(교차반응 혈청형 포함 시 84%), 침습성 감염과 중이염의 경우 각각 57%(80%), 48%(88%)가 7가 백신에 포함되었다. 건강한 소아의 인후두 도찰 검사의 폐구균 혈청형은 19F(31%), 14(21%), 11A(13%), 23F(11%), 18C(6%), 19A(4%)의 순으로 이 6가지 혈청형이 전체의 86%를 차지하였고 페니실린 내성률은 86%였으며 7가 백신에 71%(78%)가 포함되었다. 임상 검체 및 건강한 소아에서 분리된 폐구균 중 페니실린 내성균의 60%(90%)가 7가 백신에 포함되었다.

**결 론 :** 우리나라 소아의 임상 검체 및 건강한 소아의 비인두에서 분리되는 폐구균의 혈청형은 6A, 6B, 14, 19A, 19F, 23F 등이 대부분을 차지하였으며, 분리된 균주의 56-84%가 7가 단백 결합 백신에 포함되었다.

**참 고 문 헌**

- 1) Sutliff WD, Filand M. Antipneumococcal immunity reactions in individuals of different ages. J Exp Med 1932;55: 837-52.
- 2) Fraser DW, Darby CP, Koehler RE. Risk factors in bacterial meningitis; Charleston County, South Carolina. J Infect Dis 1973;127:271-7.
- 3) Teele DW, Klein JO, Rosner B. Epidemiology of otitis media during the first seven years of life in children in greater Boston: A prospective, cohort study. J Infect Dis 1990; 162:685-94.
- 4) 이환중. 폐구균 단백 결합 백신. 소아감염 2000;7:20-30.
- 5) Klugman KP. Pneumococcal resistance to antibiotics. Clin Microbiol Rev 1990;3:171-96.
- 6) Lee HJ, Park JY, Jang SH, Kim JH, Kim EC, Choi KW. High incidence of resistance to multiple antimicrobials in clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* from a university hospital in Korea. Clin Infect Dis 1995;20:826-35.
- 7) Choi EH, Lee HJ. Clinical outcomes of invasive infections by penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in Korean children. Clin Infect Dis 1998;26:1346-54.

- 8) Mary JF, William AC, Michael ND, George E, David WH, Janet FH, et al. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twelfth international supplement. P66-7, Villanova, PA, National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2002.
- 9) 김경효, 이종은, 황일태, 유경하, 홍영미, 김경희 등. 유아원 소아의 구인강에서 분리된 폐구균의 혈청군과 항균제 내성에 관한 연구. 소아과 2002;45:346-53.
- 10) 박진영, 김제학. 어린이집 소아에서의 연중 폐구균의 구인강 집락 양상 및 항균제 감수성. 감염 1999;31:122-8.
- 11) Ralph DF, James DC. Textbook of pediatric infectious diseases. 4th ed. Philadelphia: WB Saunders Co, 1998:1129-36.
- 12) Song JH, Jin JH, Yang JW, Lee H, Kim SW, Peck KR, et al. High rate of nasopharyngeal colonization of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* among Korean children. Program and abstract of 38th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. San Diego, American Society for Microbiology, 1998.
- 13) 김영기, 이창규. 서울 지역 소아의 구인강에서 폐구균 보균율과 항균제 내성. 소아감염 1997;4:218-24.
- 14) Dagan R, Melamed R, Muallem M, Piglansky L, Greeberg D, Abramson O, et al. Reduction of nasopharyngeal carriage of pneumococci during the second year of life by a heptavalent conjugate pneumococcal vaccine. J Infect Dis 1996;174:1271-8.
- 15) Dagan R, Muallem M, Melamed R, Leroy O, Yagupsky P. Reduction of pneumococcal nasopharyngeal carriage in early infancy after immunization with tetravalent pneumococcal vaccines conjugated to either tetanus toxoid or diphtheria toxoid. Pediatr Infect Dis J 1997;16:1060-4.
- 16) 이삼열, 정윤섭. Penicillin G 내성 *Streptococcus pneumoniae*의 분리 현황과 용혈성 연쇄구균 및 장구균의 항생제 감수성. 대한화학요법학회지 1986;4:444-51.
- 17) Chong Y, Lee K, Kwon OH, Henrichsen J. Capsular types and antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* isolated in Korea. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1995;14: 528-31.
- 18) Filand M, Barnes M. Changes in occurrence of capsular serotypes of *Streptococcus pneumoniae* in Boston City Hospital during selected years between 1935 and 1974. J Clin Microbiol 1977;5:154-66.
- 19) Austrian R, Howie VM, Ploussard JH. The bacteriology of pneumococcal otitis media. Johns Hopkins Med J 1977;141: 104-11.
- 20) Shapiro ED, Austrian R. Serotypes responsible for invasive *Streptococcus pneumoniae* infections among children in Connecticut. J Infect Dis 1994;169:212-4.
- 21) Orange M, Gray BM. Pneumococcal serotypes causing disease in children in Alabama. Pediatr Infect Dis J 1993;12: 244-6.
- 22) Kayhty H, Eskola J. New vaccines for the prevention of pneumococcal infections. Emerg Infect Dis 1996;2:289-98.
- 23) Fedson DS, Musher DM, Eskola J. Pneumococcal vaccine. In: Plotkin S, Orenstein W, editors. Vaccine. Philadelphia: WB Saunders Co, 1999:553-6-7.