

세균의 약제 감수성에 관한 연구 II

정 규 신

숙명여자대학교 약학대학

(Received February 10, 1986)

Studies on the Resistance to Antibiotics

Kyu Sun Chung

College of Pharmacy, Sookmyung Women's University, Seoul 140, Korea

Abstract—A total of 130 of *Staphylococcus* strains isolated from various clinical specimens of admitted patients of a university hospital with systemic or severe cases of infection. All of these were tested for the antimicrobial susceptibility to 11 drugs of common use. The hospital strains isolated showed higher frequency of resistance against four drugs including gentamicin, penicillin, erythromycin, kanamycin but amikacin, cephalothin, streptomycin were effective. And also 47.7% of methicillin-resistant *Staphylococcus* were isolated from the clinical patients. However, isolated *Escherichia coli* strains showed higher frequency of resistance, but two drugs, tobramycin and gentamicin were effective to them.

항균제가 개발되어 치료의학에 큰 공헌을 하게 되었으나 무절제한 항균제의 남용으로 내성균이 출현하여 세균성질환을 치료하는데 새로운 어려움에 직면하게 되었다. 특히 병원은 각종 질환으로 이환된 환자들이 모인 특정한 환경이다. 이와 같은 특정한 환경에 모이는 환자를 대상으로 하여 그들로부터 균을 분리하여 항균제 감수성 정도를 알아 보는 것은 내성균의 동향을 파악하는데 큰 의의가 있다고 사료된다. 따라서 환자가 모이는 장소에서는 항상 병원감염이 문제가 되어 환자의 치유에 지대한 관심사가 되고 있는 실정이다. 이와 같은 병원감염을 일으키는 미생물 종류는 매우 다양하나 주종을 이루고 있는 균들은 포도상구균이며 기타의 균종 즉 녹농균 그람음성간균 그람양성간균 그람양성구균 진균류도 이에 포함된다.^{1,2)} 그중에서도 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*)의 감염은 여러 형태로 병원내 감염을 유발하여 임상의사에게 큰 관심거리가 되고 있다. 이러한 포도상구균은 인체상주균의 하나로 우리 주변에 광범위하게 분포되어 있는 균종이나 또한 그 황색포도상구균

에 의해서 또 감염이 성립된다. 이균에 의해서 유발되는 질병은 화농성피부질환이며 생명을 위협하는 진신질환으로는 균혈증, 폐렴, 심내막염, 골수염 및 뇌막염 등이 해당된다. 또한 황색포도상구균은 입원환자들에게 노출될 경우 심한 감염증으로 진행된다. 따라서 병원감염 및 내성균주의 출현과 증가로 황색포도상구균 감염증 치료에 어려움을 갖게 되었다. 최근 의학이 발달하여 세삼 첨단 의학분야인 장기이식, 악성종양의 화학요법 및 방사성 요법으로 면역기능이 약화된 환자의 어떤 상태에서 발생하는 기회감염에 대한 적절한 대응책이 그 치료의 성과를 좌우할 수 있게 되었다.³⁾ 현재 병원감염에서 문제되는 황색포도상구균은 모든 병원감염의 약 20%를 차지할 정도로 비중이 크다. 포도상구균의 감염증에 의한 대부분의 질환은 *Staphylococcus aureus*가 주종을 이루나 간혹 독성이 없는 *Staphylococcus epidermidis*도 감염이 성립되어 심내막염 등 다른 증상을 유발하여서 관계자들의 과제의 대상이 되고 있는 실정이다.⁴⁾ 따라서 이 같은 균종에 대한 내성균의 출현은 효과적인 치

료에 새로운 국면에 접하게 되었다. 그리고 methicillin에 내성인 황색포도상구균에 의한 병원감염은 규모가 큰 병원에서 많이 발생하므로 매우 신중하게 다루고 있고 또한 연구의 대상이 되고 있다.⁵⁻⁸⁾ 따라서 본 연구는 감염환자에서 흔히 분리되고 병원감염에 큰 몫을 차지하는 균을 환자로 부터 수집 분리하여 항균제에 대한 감수성을 평가하여 보았다.

실 험 방 법

시료—1985년 9월 1일부터 1985년 12월말 사이에 서울시내 종합병원(인제대의대 부속병원, 경희의료원, 경찰병원, 가톨릭의대 부속병원) 임상병리과에 의뢰된 각종 검사물에서 130주의 포도상구균과 20주의 대장균을 분리하였다.

균분리 및 동정—1) 포도상구균: 균분리는 의뢰된 각종 검사물을 실험실에 운반하여 혈액한천 평판배지상에 도말 배양하여 37°C의 배양기에서 18~24시간 배양하여 황색 및 유백색으로 나타나는 집락을 선택 분리하였다. 분리된 균주를 실험실에 보관하면서 coagulase test 및 기타 생물학적 실험을 실시하였다.⁹⁾ coagulase test를 시험관법으로 실시하여 양성인 것은 mannitol분해시험, 용혈성 및 기타 시험을 실시하였다.¹⁰⁾ 이상의 실험을 실시하여 130주를 분리 동정하였다.

2) 대장균: 본 실험에 사용한 대장균은 경찰병원에 내원한 환자의 각종 검사물로부터 분리한 20주를 사용하였다.

3) 균분리 및 동정: 채취된 각종 검사물을 Nutrient broth에 식균하여 18시간 배양한 후 이를 MacConkey평판 한천배지에 도말하여 전형적인 대장균의 집락을 선택하여 api 20E kit를 사용하여 생물학적 및 생화학적 검사를 실시하여 대장균을 동정하였다.¹¹⁾

항균제 감수성 검사—본 실험에 사용한 항균제는 WHO표준품인 항균제를 국립보건원에서 분양받아 사용하였다. 사용된 항균제는 11종으로 다음과 같다. 즉 amikacin(Ak) cephalothin(Cl) erythromycin(Em) gentamicin(Gm) kana-

mycin(Km) lincomycin(Lm) methicillin(Mc) penicillin G(Pc) streptomycin(Sm) tetracycline(Tc) tobramycin(Tm)이었다. 이상의 항균제에 대하여는 Müller-Hinton agar에 포함시켜 MIC법으로 측정하였다.¹²⁻¹⁴⁾ 한편 항균제가 포함된 disc는 BBL제품을 구입 실험에 사용하였다.

실 험 결 과

균분리—Table I과 같이 인체 유래 검사물로 부터 87주의 황색포도상구균과 43주의 백색포도상구균을 분리하였으며 이들은 각종 실험을 실

Table I—*Staphylococcus* isolated from clinical specimens.

Source	No. of test	specimen	
		<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>
Pus	74	64	9
Blood	24	9	15
Urine	15	4	11
Throat	5	4	1
Spatum	4	3	1
Cervic	3	0	3
Others	5	2	3
Total	130	87	43

Table II—MIC values of various antibiotics to *Staphylococcus*.

Antibiotics	MIC (μ g/ml)	
	resistant	susceptible
Ak	≥ 32	≤ 12
Cl	≥ 32	≤ 8
Em	≥ 8	≤ 2
Gm	≥ 8	≤ 6
Km	≥ 25	≤ 6
Lm	≥ 2	≤ 1
Mc	≥ 8	≤ 3
Pc	≥ 16	≤ 0.1
Sm	≥ 15	≤ 6
Tc	≥ 16	≤ 4
Tm	≥ 8	≤ 6

Table III-MIC distribution of *Staphylococcus*.

Drug	No. of strains inhibited at MIC ($\mu\text{g}/\text{ml}$)													
	≥ 1024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25 \geq	
Ak	ND	ND	3	7	5	4	13	13	28	30	11	0	0	
Cl	1	0	2	4	11	2	1	0	11	17	44	37	0	
Em	38	5	10	3	0	7	40	8	6	10	2	1	0	
Gm	ND	ND	66	5	3	2	2	42	0	0	0	0	0	
Km	0	0	65	2	1	0	6	38	5	0	0	0	0	
Lm	27	1	18	3	4	0	0	0	28	33	16	0	0	
Mc	14	2	7	4	13	6	1	15	53	2	11	2	0	
Pc	70	18	19	7	2	6	1	1	1	0	1	4	0	
Sm	ND	ND	19	2	0	0	5	14	33	24	2	ND	ND	
Tc	ND	ND	34	44	6	1	1	3	23	0	0	ND	ND	
Tm	ND	ND	11	11	11	12	7	6	3	11	29	8	0	

ND : Not Done

시하여 균종을 확인하였다.

항균제 내성—인체로 부터 분리한 포도상구균에 대하여 11종의 항균제에 내성실험을 실시하여 Table II와 같은 판정기준에 따라 내성여부를 분석하였다. Table III은 포도상구균에 대한 MIC 분포이며 각 항균제에 대한 내성은 다양하였다. 이를 이해하기 쉽게 한 것이 Fig. 1(a) 및 (b)이다. 분리된 포도상구균은 높은 비율로 Gm, Em, Pc, Lm에 대하여 저항성을 보였으나 Ak, Cl, Sm에서는 감수성이었으며 기타는 그 중간으로 Table IV와 같았다.

Table IV-Isolation frequency of drug resistant *Staphylococcus*.

Drug	MIC criteria	No. of resistant strains
Ak	≥ 32	19 (16.7%) 114
Cl	≥ 32	20 (15.4%) 130
Em	≥ 8	111 (85.4%) 130
Gm	≥ 8	120 (100%) 120
Km	≥ 25	68 (58.1%) 68
Lm	≥ 2	114 (87.7%) 130
Mc	≥ 4	62 (47.7%) 130
Pc	≥ 16	123 (94.6%) 130
Sm	≥ 15	26 (26.3%) 99
Tc	≥ 16	86 (76.8%) 112
Tm	≥ 8	58 (53.2%) 109

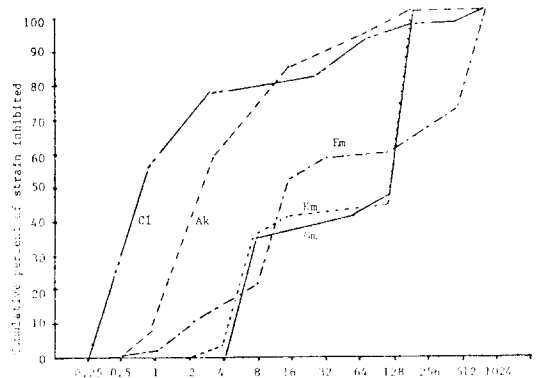


Fig. 1(a)-Antimicrobial spectrum of various antibiotics to *Staphylococcus*.

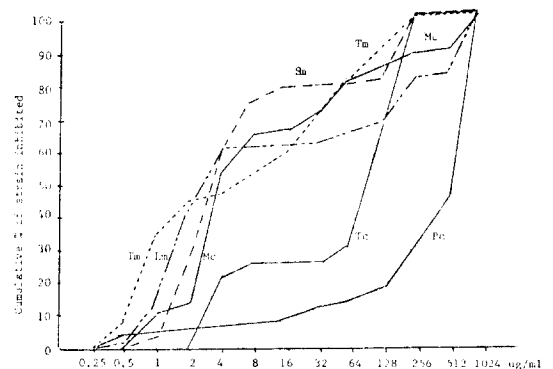


Fig. 1(b)-Antimicrobial spectrum of various antibiotics to *Staphylococcus*.

Table V-Drug resistance pattern of *Staphylococcus* isolated in hospital.

Multiplicity of resistance	Resistance Pattern
8	Ak Cm Gm Km Lm Pc Tc Tm
7	Cm Gm Km Lm Pc Tc Tm Ak Cm Gm Km Lm Pc Tm Ak Cm Gm Lm Pc Tc Tm Ak Cm Gm Km Lm Pc Tc Ak Gm Km Lm Pc Tc Tm
6	Cm Gm Km Lm Pc Tc Cm Gm Km Lm Pc Tm Ak Cm Lm Pc Tc Tm Gm Km Lm Tc Tm Ak Gm Km Pc Tc Tm
5	Cm Km Lm Pc Tc Ak Cm Km Lm Tc Cm Gm Km Pc Tc Gm Km Lm Pc Tc Gm Km Lm Pc Tm Ak Cm Gm Km Pc Cm Km Pc Tc Tm Gm Km Pc Tc Tm Cm Gm Km Tc Tm Ak Cm Pc Tc Tm
4	Cm Km Lm Tc Gm Km Pc Tc Cm Gm Lm Tc Ak Cm Lm Tm Km Lm Pc Tc Cm Gm Km Lm Lm Pc Tc Tm Cm Pc Tc Tm
3	Lm Pc Tc Gm Lm Tc Km Pc Tc Gm Km Pc Cm Tc Tm Cm Km Lm Cm Lm Tc
2	Lm Tc Ak Km Lm Pc Lm Tm

	Cm Tc
	Pc Tc
	Km Pc
	Gm Tm
	Gc Tm
1	Pc
	Tc
	Lm

Table VI-Susceptibility test against *Staphylococcus* (N:130) by disc method.

Drug Sus.	Drug											
	Ak	Cl	Cm	Ct	Em	Gm	Km	Lm	Pc	Tc	Tm	
S	63	86	55	87	44	49	37	20	12	92	39	
I	40	16	23	27	43	22	31	36	14	18	36	
R	27	28	52	16	43	58	72	73	104	20	55	

S : susceptible I : intermediate R : resistant

Table VII-Susceptibility test against *E. coli* (N:20) by disc method.

Drug Sus.	Drug									
	Ak	Am	Cb	Cl	Cm	Gm	Km	Tc	Tm	
S	3	1	3	1	3	20	12	2	19	
I	17	0	1	10	12	0	0	1	1	
R	0	19	16	8	5	0	8	17	0	

Table VIII-Drug resistance pattern of *E. coli* isolated in hospital by disc method.

Multiplicity of resistance	Resistance pattern
5	Am Cb Cm Cp Tc Am Cb Cm Km Tc Ap Cb Cp Km Tc
4	Am Cb Cp Tc Am Cb Km Tc Ap Cb Cp Tc Ap Cb Km Tc
3	Am Cm Tc Ap Cb Tc
2	Am Km
1	Ap

한편 사용한 항균제에 대한 단제 및 다제내성을 관찰한바 Table V와 같았다. 분리한 포도상

구균은 disc평판법으로 측정한바 2~5종의 항균제에 내성을 보였고 단제 내성도 있긴하였으나 대부분 다제내성을 Table VI에서와 같이 보여주었다.

대장균의 항균제 내성—각종 임상재료에서 분리한 *Escherichia coli*종에 대하여 disc법에 의한 항균제 검사결과는 Table VII과 같았다. 이에 사용된 균주는 780주로 MIC에 사용한 균주에 추가한 것이다. 한편 분리한 대장균에 대한 다제내성에 관한 성적은 Table VIII과 같았다. 이도 단제부터 5제의 항균제에 내성을 갖고 있었다.

고 찰

항균제의 개발로 세균성질환을 정복하게 된것 같으나 다제 및 단제 내성균의 출현으로 효과적인 환자의 치료에 또 다른 어려움에 접하게 되었다. 특히 우리나라와 같은 여건하에서는 누구나 어느곳에서나 항제를 쉽게 구입할 수 있다는 사실과 임상의사들의 항균제 남용으로 인해서 내성균의 출현빈도는 더해가고 있는 실정이다. 이와 같은 내성진달기전은 R-plasmid를 통해서 전달된다는 사실을 알게 되었다.¹⁵⁾ 따라서 환자에서 분리된 균종이나 병원환경에서 분리한 균에 대하여 항균제 내성빈도를 추적하는 것은 효과적인 치료를 위해서 바람직한 연구과제이다. 특히 포도상구균은 인체에 상재하는 균이며 어떤 경우 입원환자에게 흔히 노출되어 심한 감염증으로 되기 쉽고 항생제를 많이 사용할수록 항균제에 대한 내성 및 내성균주의 출현빈도가 증가되어 치료에 큰 문제가 되는 형편이다.¹⁶⁻¹⁸⁾ 따라서 과거에 감수성이었던 항균제를 남용함으로써 더욱 내성을 획득하여 높은 저항성이 나타나게 되었고 이것이 Pc이었는데 1950년 후반에는 병원에서 분리된 *Staphylococcus aureus*의 50%가 내성이었다. 그래서 1959년에 반합성 penicillin인 Mc이 생산되어 치료효과를 볼수 있었으나 1961년에 영국에서 Mc에 대한 내성균이 다시 출현하여 1970년대에는 세계적으로 문제가 된 바 있었고 1979년에는 미국의 병원에서 37%에서 Mc 내성균주가 발생하여 유행하게 되었다.^{19,20)}

본 실험에서는 대부분의 항균제에 대하여 내성을 보였으며 특히 Mc에 대하여도 내성을 보였다. 한편 대장균에 대한 항균제 감수성 패턴도 다제내성의 경향이 증가되어 가고 있는 실정이다. 현재 병원에 내원한 환자의 대변, 농, 혈액, 소변 등에서 분리한 대장균은 항균제에 내성을 보이고 있었으므로 치료전에 반드시 항균제에 대한 정확한 감수성 검사를 실시하여 근치할 수 있는 약제를 선택하여 투여해야 할 것이다. 황색포도상구균은 성서에 병원성인 것으로 되어 있고 백색포도상구균은 비병원성으로 보고되었으나 반드시 그렇지 않고 백색포도상구균의 감염으로 이물질의 nidus가 있을 경우에는 심내막염 등의 다른 질환을 유발하는 사례가 있어 관심사가 된다.^{21,22)} 따라서 백색포도상구균의 항균제 내성여부를 파악하는 것은 환자치료에 알아야 할 중요한 점이라 할 수 있다. 본 연구에서도 황색포도상구균과 백색포도상구균을 구별하여 항균제에 대한 내성정도를 파악하는 것이 원칙이나 구분하지 않고 저항성 여부를 추적했으므로 앞으로 계속해야 할 과제로 생각된다. Mc의 감수성 breakpoint는 $\leq 8\mu\text{g/ml}$ 가 권장되었으나 $\leq 4\mu\text{g/ml}$ 를 사용하는 사람도 있다. 정등(1985)²³⁾은 disc법으로 측정한 결과 Mc내성 황색포도상구균주가 증가하였고 이는 1981년부터이며 호흡기나 뇨도 검체에서 분리된 것은 44.2%였다고 한다.

본 연구에서도 정들의 연구와 유사하게 나타나서 44.7%였다. 따라서 Mc에 대한 내성균이 점차 증가해가고 있는 것을 알 수 있었다.

결 론

1985년 9월 1일부터 1985년 12월말 사이에 시내종합병원에 내원한 환자로 부터 분리한 각종의 검사물로부터 130주의 *Staphylococcus*와 20주의 *Escherichia coli*를 분리하였다.

이 분리한 균을 11종(amikacin, cephalothin, erythromycin, gentamicin, kanamycin, lincomycin, methicillin, penicillin G, streptomycin, tetracyclin, tobramycin)의 항균제에 대해 저항성

을 실시하였다. 분리된 포도상구균에서는 한천
●평판배지를 사용한 MIC법과 disc법(BBL제품)을
사용하였으나 대장균은 disc법으로만 항균제 내
성을 평가하였다.

환자의 각종 검사물로 부터 130주의 포도상구
균을 분리하였으며 87주는 *Staphylococcus aureus*
이고 43주는 *Staphylococcus epidermidis*였다. 또
*Escherichia coli*는 20주였으며 이는 뇨도 혈액
및 대변에서 분리된 균주이다.

포도상구균은 항균제 내성실험 결과 lincom-
ycin, erythromycin, gentamicin 및 penicillin G
에 대하여 현저한 저항성을 보였으나 amikacin,
cephalothin, streptomycin에 대하여는 감수성을
보였다.

한편 사용한 항균제는 대장균에 대하여 대부
분 내성을 보였으나 tobramycin 및 gentamicin
에 대하여는 감수성이 있었다.

감사의 말씀

이 연구에 쓰인 시료 수집과 항균시험에 적극
협조해 주신 단국대학교 이연태 박사님께 깊이
감사드리는 바이다.

본 연구는 1985년도 문교부 학술연구조성비의
지원으로 수행되었으며 이에 감사하는 바이다.

문 헌

- 1) 김진복, 병원감염의 문제점, 녹십자의보, 4, 133~138 (1967).
- 2) 이연태, 엄순옥, 병원감염, 서울 간호대 잡지(백의), 17, 69-71 (1984).
- 3) 조동택, 이유철, 김진모, 서식환경에 따른 황색포도구균의 항균제 감수성 및 Phage형법의 차이, 대한미생물학회지, 20, 1-11 (1985).
- 4) Wise. R.L.: Modern management of severe Staphylococcal disease, *Medicine*, 52, 295-299 (1973).
- 5) Mitchell. R.G.: Classification of Staphylococcus albus strains isolated from the urinary tract. *J. Clin. Path.* 21, 93-100 (1968).
- 6) Barret, F.F. Mcgehee. R.F. and Finland, M.: Methicillin resistance Staphylococcus aureus at Boston City hospital. *N. Engl. J. Med.*, 279, 441-449 (1968).
- 7) 석성익, 박승철, 황색포도구균, 감염, 17, 115-122 (1985).
- 8) Crossley K, Landersman B. Zaske D; An outbreak of infections caused by strains of Staphylococcus aureus resistant to methicillin and aminoglycosides II. Epidemiologic studies. *J. Infect. Dis.*, 139, 280-289 (1979).
- 9) Lennette E.M. et al., Manual of clinical microbiology 3rd. *American society for Microbiology*, Washington D.C., 83-87 (1980).
- 10) Koneman. E.W.: *Diagnostic Microbiology* 2nd. J.B. Lippincott Co. Philadelphia, 259-300 (1983).
- 11) Ewing. W.H.: Differentiation of Enterobacteriaceae by Biochemical reactions Revised. *Centers for disease control*. Atlanta. Ga. (1973).
- 12) Barry. A.L., Coyle. M.B., Thornsberrry. C, Gerlach. E.H, and Hawkinson. R.W.: Method of measuring zones of inhibition with the Bauer-Kirby disksusceptibility test, *J. Clin. Microbiology*, 10, 885-889 (1979).
- 13) Thornsberrry, C.: Dilution methods for antimicrobial susceptibility test. U.S. Dept. Health, Education and Welfare, Public Healsh Service, *Center for disease Control*. Atlanta, Georgia 30333 (1977).
- 14) Lyon, B.R., May, J. W and Skurray, R.K.: Analysis of Plasmids in nosocomial strains of multiple antibiotic resistant Stsphylococcus aureus, *Antimicrobial. Agent Chemother*, 23, 817-826 (1983).
- 15) Schaberg, D.R, Power, G, and Betzold, J.; Conjugative R-plasmid in antimicrobial resistance of Staphylococcus aureus causing Nosocomial infections, *J. Infect. Dis*, 152, 43-49 (1985).
- 16) 진중휘, 경희영, 감염병, 서울퇴생의학사, 176-181 (1971).
- 17) 석종성, 김상인, 조환익, 이삼연, 경윤섭, 김기홍, 김춘원, 김중병, 김제식, 1983년에 분리한 병원성 세균의 항균제에 대한 감수성, 대한의학협회지, 28, 59-65 (1985).
- 18) 석성익, 박승철, 황색포도구균감염, 감염, 17, 115-122 (1985).

- 19) Neu, H.C.: Antistaphylococcal penicillins. *Med. Clin. N. Am.*, **66**, 51-57 (1982).
- 20) 이연태, 박경란, 대장균 및 이질균의 전달성 R-plasmid에 관한 연구, *감염학회지*, **15**, 77-88 (1983).
- 21) Mickelsem, P.A., and Plord³, J.J.; Instability of antibiotic resistance in a strain of *Staphylococcus epidermidis* isolated from an outbreak of prosthetic valve endocarditis, *J. infect. dise.*, **152**, 50-58 (1985).
- 22) Mc Dougal, L.K., and Thornsherry, C.; new recommendation for methicillin-resistant *Staphylococci*, *J. Clin. Microbiol.*, **19**, 482-488 (1984).
- 23) 정윤섭, 이미경, 이삼열, Methicillin내성 *Staphylococcus aureus*의 분리 빈도와 fusidic acid에 대한 감수성, *감염*, **17**, 141-147 (1985).