

## 수술창에서 분리된 균주의 항생제 감수성

오양효<sup>†</sup> · 김영부 · 박영민 · 김민정 · 차미선

부산대학교 의과대학 미생물학 교실

## Antibiotic sensitivity of the bacterial strains isolated from operating wounds

Yang-Hyo Oh<sup>†</sup>, Yung-Bu Kim, Young-Min Park, Min-Jung Kim and Mi-Sun Cha

*Department of Microbiology, College of Medicine, Pusan National University*

### Abstract

*Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* is increasingly responsible for outbreaks of nosocomial infection around the world. Because serious infections due to these organisms currently necessitate use of non-β-lactam antimicrobial therapy and because strains is often resistant to many antimicrobial agents, infections with this organism are difficult to treat.

Isolated strains from post operation wounds of PNU hospital patient were tested for the antimicrobial susceptibility, resistant pattern and combined action to the the 6 antibiotics. The minimal inhibitory concentration of each antibiotic and antibiotics combining in various ratios were measured by checkerboard dilution method. The synergism was determined through calculating the fractional inhibitory concentration index (FICI).

In case of *S. aureus*, 15 strains was shown to be highly sensitive to streptomycin and 13 strains to cephalothin. In case of *E. coli*, it is excellent sensitive 16 strains, sensitive 4 strains on cefoperazone, as like *S. aureus*, and thus the sensitive is most to be 66%. As the result of gaining MIC from *S. aureus* upon agar dilution method, MIC<sub>50</sub> was 8μg/ml, MIC<sub>90</sub> was 16μg/ml and thus the streptomycine is shown to be lowest. In case of *E. coli*, MIC<sub>50</sub> was 4μg/ml, MIC<sub>90</sub> was 16μg/ml in streptomycin and thus is shown to be lower than *S. aureus*. As the result of comparing the resistance aspect of combining the antibiotics on *S. aureus* and *E. coli*, the resistant strain can be known to be reduced to the large range more than each 40% than combining with only aminoglycoside-series or cephalosporine-series. As the result of combining aminoglycoside-series, streptomycin and cephalothin or cefuroxime sensitive to *S. aureus* and *E. coli* in the above mentioned results, the increase or improvement of effect is over 73% and 80%, respectively, thus the case of combining 2 antibiotics is shown to be better in the effect. Isolated strains from operating wounds were tested for the antimicrobial susceptibility. In case of *S. aureus* 15 strains was shown to be sensitive very much on streptomycin. In case of *E. coli* it is excellent sensitive 16 strains. As the results of combining aminoglycosides-series, streptomycin and cephalosporine series, cephalothin and cefuroxime, the increase or improvement of effect is over 73%, thus case of combining 2 antibiotics is shown to be better in the effect.

*Key words* : Minimal inhibitory concentration, Fractional inhibitory concentration index.

---

<sup>†</sup> Corresponding author

## 서 론

1910년 P. Ehrlich가 쥐에 trypanosoma를 감염시키고 tryphan red blue를 투여한 것이 화학요법의 효시이다. 1929년 Fleming이 penicillin을 발견하였으나 관심의 대상이 되지 못하다가 우리나라에서는 6. 25동란 이후 penicillin을 위시한 항생제가 소개되면서 질병치유에 많은 도움을 주었다. 그러나, 우리나라의 의료 제도적 문제점으로 인한 항생제 구입이 자유로운 실정에서 적절한 세균학적 검사 없이 투약하여 항균제의 남용 내지는 오용의 문제점을 낳게 되었다<sup>1-6)</sup>. 이러한 문제점으로 지연형과민증이나 인체의 정상균총을 변화시켜 약제 내성균의 교대 감염증으로 인한 다른 질병의 유발 뿐만아니라 임상가검물에서 분리한 균주들에서 주로 나타나는 항생물질 내성균주의 출현이 환자들에게 중증의 감염을 유발하는 경우와 다량의 염증성 삼출물이나 창상 부위 염증 등으로 세균감염이 육안적으로도 확산되는 경우가 자주 발생하는 추세이다<sup>1-4)</sup>. 이와같은 현상으로 새로운 항균제의 개발에 촉진제가 되어 항균제가 날이 갈수록 개발되고 있음은 물론이고 기존의 항생제보다 강력하고도 광범위한 살균력을 갖는 항생제가 요구됨에 따라서 환자의 상태와 관련하여 임상적인 증상들을 고려한 항생제의 개발이 시급한 실정이다. 항생제 사용은 수술이나 창상부위의 감염 예방 및 감염 질환의 치료에 널리 사용되고 있다. 이러한 치료에 사용되고 있는 항생제는 환자의 의식저하로 인하여 효과적인 객담배출이 되지 않아서 발병하는 폐렴, 욕창 등으로 인한 패혈증 및 감염성 합병증의 치료를 위하여 필수 불가결한 것이다. 항생제의 사용에 있어서는 균에 대한 항생제의 작용기전, 균의 항생제에 대한 과민성, 혈중농도와 그 지속성, 항생제 사용에 따라 야기되는 내성균의 출현, 전신 및 국소적인 부작용 뿐만아니라 특히, 외과적 영역에서의 신경계내로의 약물침입등 고려되어야 할 점이 많다<sup>7,8)</sup>. 대다수 항생제의 약제 작용기전이 완전히 규명되어 있지 않으나 대체로 세포벽 합성 저해, 세포막 기능 저해, 단백질 합성저해, 핵산합성저해, 대사물질 유사 저해 등으로 임상가가 감염환자를 치료하고 항생제를 선택할 때 주의할 점은 항생제의 작용이 여러 단계를 거쳐서 나타나고 그 작용부위도 많다는 것이다. 따라서, 숙주에 최소한의 독성을 나타내면서 정균 또는 살균효과가 가장 좋은 약제를 선택해야 한다. 그리고 약제의 투과성 억제나 항생제를 분

해하는 효소의 생산과 길항물질을 생산하는 것 등 약제내성의 기전을 고려하여야 한다<sup>9,10)</sup>. 내성에 대한 저항성이나 높은 혈중농도의 유지 등 기존의 항생제보다 강력한 항균력을 가진 항생제의 개발이 필요하며, 적합한 치료약이 없는 기회감염균에 대해서는 서로 작용기전이 다른 약제를 동시에 사용하여 항균작용의 범위확대, 혼합감염의 치료, 약제내성의 획득 방지 또는 변이균주의 출현을 방지한다든가 상승적 작용의 기대나 중태에 빠진 감염증 환자의 응급 치료등을 이용하려는 연구가 진행되고 있다. 일반적으로  $\beta$ -lactam계와 aminoglycoside계의 항생제 사이에는 부작용이 적으면서 상승효과는 비교적 높다<sup>11)</sup>고 알려져, 현재 비노기과, 외과영역등에 있어서 중증 감염증에 대하여 aminoglycoside계의 항생제와  $\beta$ -lactam계 항생제의 병용이 때때로 행해지고 있는데 이는  $\beta$ -lactam계와 aminoglycoside계 항생제의 병용은 상승 협력작용, 내성화 방지의 기대, 부작용의 경감등이 있기 때문이다<sup>12)</sup>. 중증의 기초질환이 있고 compromised 환자들에게는 보다 안전하고 적절한 화학요법을 확립하는 것이 요망되고 있다. 이에 본 연구는 항생제 내성균의 출현에 대해 주의를 요한다는 관점에서 고도의 내성균 및 중복내성을 나타내는 감염환자의 심각한 상태 뿐만아니라 원내감염의 발생에 따른 생물학적인 특성<sup>13)</sup>이나 혈청형별 방법<sup>14)</sup>에 의한 역학조사에 합리적인 접근방법으로써 수술창에서 가검물을 채취하여 연속적인 3분 도말법<sup>15)</sup>에 의하여 colony를 관찰하여 유의하다<sup>16)</sup>고 생각되는 균주를 순수분리 및 동정하였다.  $\beta$ -lactam계와의 병합실험을 토대로하여 cephalosorin계 3종과 aminoglycoside계 항생제 3종을 대상으로 최소발육저지농도(minimal inhibitory concentration 이하 MIC로 약함)를 측정하여 감수성 검사<sup>17)</sup>와 시험관내에 있어서의 병용효과를 검토하고 항생제 단독과 병용하였을 경우의 내성 양상을 상호 비교하여 그 상관관계를 밝히고자 하였다<sup>18)</sup>.

## 재료 및 방법

### 실험대상

#### ① 시험균주

1997년 6월에서 8월사이에 부산대학병원 내원환자의 수술창에서 분리한 *Staphylococcus aureus* 30주와 *Escherichia coli* 30주를 대상으로 실험하였다.

② 사용배지 및 항생제

세균 증균용으로는 Nutrient broth(Difco. Lab., Detroit, Mich., USA)를 사용하였고, 항생제 검사와 checkerboard 시험에는 Muller-Hinton broth(Difco. Lab., Detroit, Mich., USA)와 Muller-Hinton agar(Difco. Lab., Detroit, Mich., USA)를 사용하였다. 실험에 사용된 aminoglycoside계 3종, kanamycin(KM, Difco. Lab., Detroit, Mich., USA), gentamicin(GM, 제일제당 제약), streptomycin (STM, 종근당), cephalosporine계 3종, cefoperazone(CPZ, 한국화이자), cefuroxime(CFX, 경동제약), cephalothin (BBL. Becton Dickinson Microbiology Systems Cockeysville, MD21030, USA) 등 도합 6종류의 항생제를 paper disc 법에 사용하였으며, 평판희석법에서 사용된 6종류의 항생제는 모두 Sigma사 제품을 사용하였다.

실험방법

① Paper disc법

항생제 감수성 검사를 위하여 Muller-Hinton broth에 18 내지 24시간 배양한 균액을 표준 백금이를 이용하여 일정량을 Muller-Hinton agar(Difco. Lab., Detroit, Mich., USA)표면에 균등하게 이식한 후 화염멸균된 forceps을 이용하여 paper disc를 Muller-Hinton agar 표면에 밀착시켰다. 표 1과 같이 항균제가 평판배지에 효과있게 확산하기 위하여 실온에서 약 2시간 내지 3시간 방치한 후에 배양하여 paper disc주변의 균발육저지대를 측정하여 표 1에 따라 결정하였다<sup>19)</sup>.

② 평판희석법

항생제는 규정된 phosphate buffer 또는 증류수로 희석

하여 사용하였으며, 순차적으로 배수 희석된 농도로 함유하는 평판배지에 Mueller-Hinton broth에 37°C, 24시간 배양한 균액을 생리식염수로 100배 희석하여 Steer<sup>19)</sup>의 접종용기로 접종하였다. 접종한 뒤 37°C, 24시간 배양한 후 접종부위의 균발육 유무를 보아서 항균제의 최소발육저지 농도를 결정하였다<sup>20-23)</sup>. 결과의 정도관리를 위하여 *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC, *Pseudomonas aeruginosa* 27893을 함께 사용하였다.

③ 항균제 병합요법

Checkerboard식<sup>24,25)</sup>에 의한 각종 항균제 병합의 상승 효과 시험은 시험관을 종횡으로 10개 씩 도합 100개를 나열하고, 제 1항균제를 최고 농도, 즉 한천배지에 분주한 후, 그 MIC가 되는 농도를 위해서 밑쪽으로 배수 희석하면서 넣고 제 2항생제는 똑같은 방법으로 희석되도록 우측에서 좌측으로 넣었다. 각 시험관 배열 중 맨 좌측 것과 맨 밑줄 것은 각각 단일종의 희석된 항균제가 들어가게 하였다. 이 때에 사용하는 희석액은 Muller-Hinton broth로 하였다. 이렇게 실험하고자 하는 2종의 항균제를 희석 혼합한 후, 평판에 주입하였다. 균 접종 및 균 발육 유무는 MIC측정법<sup>21,22)</sup>과 동일하게 실시하였다. 이상의 결과로부터 fraction inhibitory concentration(FIC) index<sup>26)</sup>를 다음과 같이 Feldman<sup>27)</sup>이 사용한 방법에 따라 구하고, 두 항균제의 상호작용은 FIC index가 0.8미만 일 때 상승작용, 0.8부터 1.2까지를 상가 작용, 1.2 혹은 그 이상일 때 길항작용으로 판정하였다.  $FICI = A/MICa + B/MICb$  이 단, A와 B는 항생제 A 또는 B와 병합시 성장이 억제된 가장 낮은 A 또는 B의 농도이며, MICa와 MICb는 항생제 A 혹은 B만의 MIC이다.

Table 1. Zone diameter standards and approximate by paper disc method

Antibiotics	Concentrations	Inhibitor zone diameter(mm)		
		Resistant	Weakly sensitive	Sensitive
Kanamycin	30mcg	<14	14-17	>17
Gentamicin	10mcg	<13	13-14	>14
Streptomycin	10mcg	<12	12-14	>14
Cefoperazone	75mcg	<16	16-20	>20
Cefuroxime	30mcg	<15	15-22	>22
Cephalothin	30mcg	<15	15-17	>17

\*by the National Committee for Clinical Laboratory Standards

Table 2. Antibiotics sensitivity of *Staphylococcus aureus* by paper disc method

Antibiotics	Disc content ( $\mu\text{g}$ )	No. of strains			
		excellent sensitive	sensitive	weakly sensitive	resistant
Kanamycin	30	1	2	10	17
Gentamicin	10	2	4	7	17
Streptomycin	10	15	10	2	3
Cefoperazone	75	8	8	10	4
Cefuroxime	30	7	10	10	3
Cephalothin	30	13	10	5	2

Table 3. Antibiotics sensitivity of *Escherichia coli* by paper disc method

Antibiotics	Disc content ( $\mu\text{g}$ )	No. of strains			
		excellent sensitive	sensitive	weakly sensitive	resistant
Kanamycin	30	8	8	10	4
Gentamicin	10	2	4	9	15
Streptomycin	10	3	5	10	12
Cefoperazone	75	16	4	5	5
Cefuroxime	30	2	4	6	18
Cephalothin	30	2	5	6	17

## 결 과

### 항생제 감수성 검사

#### ① Paper disc법

*S. aureus*를 대상으로 한 paper disc법의 결과는 표 2와 같았다. Streptomycin에 감수성인 균주는 15균주(50%)로 가장 많았으며, cephalothin에 대하여 13균주(43%)가 감수성을 보였으며 kanamycin에 1균주(3%)가 감수성을 보였다. *E. coli*를 대상으로 한 실험결과는 표 3과 같았다. Cefoperazone에 대하여 16균주(53%)가 감수성으로 비교적 높았을 뿐 그 외의 항생제에 대하여는 감수성율이 낮았다.

#### ② 평판회석법

*Staphylococcus aureus*에 대한 MIC는 표 4와 같으며, streptomycin의 MIC<sub>50</sub>이 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ , MIC<sub>90</sub>이 16 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 가장 낮았다. 그 다음으로 cefuroxime의 MIC<sub>50</sub>이 16 $\mu\text{g}/\text{ml}$ , MIC<sub>90</sub>이 64 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 비교적 낮았다.

*E. coli*에 대한 MIC는 표 5과 같았다. Streptomycin의 MIC<sub>50</sub>이 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ , MIC<sub>90</sub>이 16 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 *S. aureus*보다 감수성 정도가 더 낮은 것으로 나타났다, 이는 *E. coli*에 대하

Table 4. MIC range( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) of Antibiotics against *Staphylococcus aureus*

Antibiotics	MIC range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
Kanamycin	0.125 ~ 512	256	512
Gentamicin	0.5 ~ 1024	512	2048
Streptomycin	0.5 ~ 1024	8	16
Cefoperazone	0.5 ~ 2048	64	512
Cefuroxime	0.25 ~ 1024	16	64
Cephalothin	0.25 ~ 1024	64	256

여 보다 더 감수성임을 의미한다. 그 외의 cephalosporine의 MIC는 뚜렷한 차이가 없었다.

### 항생제 단독의 내성 양상비교

*Staphylococcus aureus*를 대상으로 6종의 항생제 각각에 대하여 내성을 검토한 결과는 표 6과 같았다. Streptomycin에 내성인 균주가 6균주(20%)로 가장 적었으며, cefuroxime, cefoperazone, cephalothin에 대하여 각각 10균주(33%), 12균주(40%), 15균주(50%)의 내성의 순으로

Table 5. MIC range( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) of antibiotics against *Escherichia coli*

Antibiotics	MIC range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
Kanamycin	0.125 ~ 64	512	1024
Gentamicin	0.5 ~ 1024	256	1024
Streptomycin	0.5 ~ 128	4	16
Cefoperazone	0.5 ~ 2048	32	64
Cefuroxime	0.25 ~ 1024	16	256
Cephalothin	0.25 ~ 1024	16	64

Table 6. Resistant strain of *Staphylococcus aureus* against 6 antibiotics

Antibiotics	Total No.(%) of resistant strains
Streptomycin	6(20%)
Gentamicin	20(66%)
Kanamycin	17(56%)
Cefoperazone	12(40%)
Cefuroxime	10(33%)
Cephalothin	15(50%)

나타났다.

*Escherichia coli*를 대상으로 6종의 항생제 각각에 대하여 내성을 검토한 결과는 표 7과 같았으며, streptomycin에 내성균주가 5균주(17%)로 가장 적었고, cephalothin 27%, cefuroxime 30%, cefoperazone 50%의 순으로 나타났다. 그 비율에는 약간의 차이가 있었으나 *Staphylococcus aureus*에서와 마찬가지로 streptomycin에 내성균주가 가장 적었다.

Table 7. Resistant strain of *Escherichia coli* against 6 antibiotics

Antibiotics	Total No.(%) of resistant strains
Streptomycin	5(17%)
Gentamicin	25(83%)
Kanamycin	20(67%)
Cefoperazone	15(50%)
Cefuroxime	9(30%)
Cephalothin	8(27%)

항생제 병합의 내성 양상비교

*Staphylococcus aureus*에 대하여 항생제 병합내성 양상의 비교 결과는 표 8과 같다. 표 8에서와 같이 aminoglycoside계만으로 병합한 것이나 cephalosporine계만으로 병합한 것의 내성 양상을 비교하면 내성균주가 각각 50%, 66%로 나타났으며, aminoglycoside계와 cephalosporine계를 서로 병합하였을 경우, 내성균주가 33%, 23%로 줄어드는 것으로 보아 병합할 경우 내성정도가 낮아짐을 알 수 있었다. 또한, 6종의 항생제를 모두 내성 양상에 첨가시킬 경우가 10%로 가장 낮은 것으로 나타났다.

*Escherichia coli*에 대한 항생제 병합내성 양상의 비교 결과는 표 9과 같다. Aminoglycoside계만으로 병합한 것이

Table 8. Antibiotics resistance patterns of *Staphylococcus aureus*

Multiplicity of resistance	Resistant patterns*	No. of strains
3	Km Gm Stp	15(50%)
3	Cpz Cfx Cpt	20(66%)
4	Km Gm Cpz Cpt	12(40%)
4	Stp Cfx Cpt Cpz	10(33%)
5	Km Gm Stp Cpz Cpt	10(33%)
5	Km Cpz Cpt Cfx Stp	7(23%)
6	Km Gm Stp Cpz Cfx Cpt	3(10%)

\*Km ; kanamycin, Gm ; gentamicin, Stp ; streptomycin, Cpz ; cefoperazone, Cfx ; cefuroxime, Cpt ; cephalothin

Table 9. Antibiotics resistance patterns of *Escherichia coli*

Multiplicity of resistance	Resistant patterns*	No. of strains
3	Km Gm Stp	20(66%)
3	Cpz Cfx Cpt	17(57%)
4	Km Gm Cpz Cpt	15(50%)
4	Stp Cfx Cpt Cpz	13(43%)
5	Km Gm Stp Cpz Cpt	14(47%)
5	Km Cpz Cpt Cfx Stp	12(40%)
6	Km Gm Stp Cpz Cfx Cpt	7(23%)

\*Km ; kanamycin, Gm ; gentamicin, Stp ; streptomycin, Cpz ; cefoperazone, Cfx ; cefuroxime, Cpt ; cephalothin

나 cephalosporine계만으로 병합한 것보다는 두 계열의 항생제를 병합할 경우 내성 양상은 각각 66%, 57%에서 47%, 40%로 내성균주가 줄어드는 것으로 나타났다. 또한, 6종의 항생제를 모두 내성 양상에 첨가 시킬 경우, 내성인 균주는 23%로 가장 낮은 것으로 나타나 *Staphylococcus aureus*와 유사한 결과를 보였다.

## 항생제 병합요법

상기의 결과에서 *Staphylococcus aureus*의 감수성이 가장 높은 aminoglycoside계인 streptomycin과 cephalosporine계인 cephalothin을 병합한 결과는 표 10에 나타나 있다. 표 10과 같이 streptomycin과 cephalothin의 병합효과를 비교해 보면 FICI 기준에 따라, FICI 0.8미만의 상승효과

Table 10. Combination effect of streptomycin and cephalothin on *Staphylococcus aureus*

Strain No.	MIC( $\mu\text{g}/\text{m}\ell$ )				FICI <sup>*3</sup>	Effect
	Single		Combination			
	Cpt <sup>*1</sup>	Stp <sup>*2</sup>	Cpt	Stp		
1	128	4	32	1	0.5	Synergism
2	256	1	32	1	1.12	Addition
3	256	4	512	2	2.5	Antagonism
4	32	2	16	1	1.0	Addition
5	128	8	128	32	5	Antagonism
6	256	16	128	4	0.75	Synergism
7	128	8	8	1	0.18	Synergism
8	256	32	128	16	1	Addition
9	256	32	128	8	0.75	Synergism
10	256	16	128	2	0.62	Synergism
11	128	8	64	1	0.62	Synergism
12	64	8	32	4	1	Addition
13	64	16	128	8	2.5	Antagonism
14	64	8	32	1	0.37	Synergism
15	64	8	16	2	0.5	Synergism
16	32	4	8	1	0.5	Synergism
17	16	4	8	1	0.75	Synergism
18	128	4	128	8	3	Antagonism
19	128	4	64	1	0.75	Synergism
20	64	8	16	4	0.75	Synergism
21	32	4	8	2	0.75	Synergism
22	256	1	128	1	1.5	Antagonism
23	128	2	32	2	1.25	Antagonism
24	32	4	16	1	0.75	Synergism
25	64	2	16	1	0.75	Synergism
26	128	1	32	0.5	0.75	Synergism
27	64	1	16	2	0.75	Synergism
28	32	2	8	1	1.25	Antagonism
29	128	4	256	2	2.5	Antagonism
30	128	4	32	1	0.5	Synergism

\*<sup>1</sup>Cpt ; cephalothin, \*<sup>2</sup>Stp ; streptomycin, \*<sup>3</sup>FICI ; fractional inhibitory concentration index

를 보여주는 균주는 18균주(60%), 상승효과를 보여주는 것은 4 균주(13%)였으며, 길항작용은 8균주(27%)로 효과가 상승 또는 상가되는 것이 73% 이상으로 두 항생제를 병합할 경우 효과가 더 좋은 것으로 나타났다. 또한, 상기의 결과에서 *Escherichia coli*에 항균력이 큰 aminoglycoside계인 streptomycin과 cephalosporine계인 cefuroxime을 병합

한 결과는 표 11과 같다. 표 11과 같이 streptomycin과 cefuroxime의 병합효과를 비교를 FICI 기준에 따라, FICI 0.8 미만의 상승효과를 보여주는 균주는 15균주(50%), 상승효과를 보여주는 것은 9균주(30%)였으며, 길항작용은 6균주(20%)로 효과가 상승 또는 상가되는 것이 80% 이상으로 두 항생제를 병합할 경우 효과가 더 좋은 것으로

Table 11. Combination effect of streptomycin and cefuroxime on *Escherichia coli*

Strain No.	MIC( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )				FICI <sup>3</sup>	Effect
	Single		Combination			
	Stp <sup>1</sup>	Cfx <sup>2</sup>	Stp	Cfx		
1	256	4	128	2	1	Addition
2	512	8	128	8	1.25	Antagonism
3	256	8	256	8	2	Antagonism
4	512	1	128	1	1.25	Antagonism
5	128	32	64	16	1	Addition
6	128	8	32	1	0.37	Synergism
7	128	4	32	2	0.75	Synergism
8	32	2	16	1	1	Addition
9	32	2	4	0.5	0.37	Synergism
10	32	2	4	0.5	0.37	Synergism
11	8	4	4	2	1	Addition
12	512	32	256	8	0.75	Synergism
13	128	4	32	2	0.75	Synergism
14	128	16	16	8	0.62	Synergism
15	256	8	32	4	0.62	Synergism
16	128	1	16	0.5	0.62	Synergism
17	256	1	128	1	1.5	Antagonism
18	512	8	256	4	1	Addition
19	128	16	128	8	1.5	Antagonism
20	128	1	16	1	1.12	Addition
21	128	1	16	1	1.12	Addition
22	256	8	8	1	0.15	Synergism
23	128	0.25	16	0.5	0.53	Synergism
24	256	0.5	16	0.5	1.06	Addition
25	128	16	32	8	0.75	Synergism
26	128	32	64	16	1	Addition
27	64	32	2	16	0.53	Synergism
28	128	16	64	16	1.5	Antagonism
29	256	8	64	4	0.75	Synergism
30	256	8	64	4	0.75	Synergism

<sup>1</sup>Stp : streptomycin, <sup>2</sup>Cfx : cefuroxime, <sup>3</sup>FICI : fractional inhibitory concentration index

나타났다.

## 고 찰

항생물질이 임상치료제로 1940년대에 등장한 이후에 세균성 감염질환의 치유에 변혁을 가져왔으나, 1950년대 부터 이들 항생물질에 노출되어 내성화된 균의 출현으로 새로운 문제가 야기되었다. 특히, 병원이라는 특수환경 즉 환자들이 모여 치료를 받는 곳에는 다른 환자들에 대해 전염원이 될 가능성이 있어 감염병에 대한 감수성이 높은 노약자, 신생아, 유아, 심장병 및 당뇨병환자들에게는 병원감염(nosocomial infection)의 높은 위험을 주게 되었다. 외과적 영역에서의 항생제 사용은 수술이나 창상부위의 감염 예방 및 감염질환의 치료에 널리 사용되고 있는 실정이다<sup>28,29)</sup>. 임상가검물에서 분리되는 그람 음성간균중에서 요로감염, 균혈증, 폐혈증 등의 원인균에는 대장균을 위시하여, 장내세균의 혼합감염의 빈도가 높고 그 외 폐렴 간균, *Enterobacter*, *Serratia* 및 녹농균은 많은 약제들에 대하여 내성이 있으며, 이러한 내성균주의 증가가 주목되며 원내감염에 관한 보고<sup>30-34)</sup>가 많은 추세이다. 최근  $\beta$ -lactam계 항생제의 연구는 괄목할 만하며 그 항균력도 확대되었다. 특히, 제 3세대 cephem계 항생제는 포도당 비발효성 그람 음성간균 및 녹농균에까지 감수성이 높은 약제라 할 수 있다. 현재 임상 사용가능한 제 3세대 cephalosporin계 항생제로 시판되고 있는 약제는 일반적으로 cefotaxime, ceftizoxime, ceftriaxone, cefmenoxime, ceftazidime, cefsulodine 및 cefoperazone 등이 있다. 현재 임상에서는 주로 cefotaxime과 ceftizoxime이 사용되고 있다. 이들 약제의 항균력이 세균의 약제내성인자(R-plasmid)와는 무관하며 어느 정도 치료에 유효하였으나 최근에는 이 약제들에 대한 내성이 증가하고 있어 문제점이 제시되었다. 따라서 내성화에 대한 대책수립의 기본적 자료를 확보하고, 외과 수술 창상부위나 절개부위에서 분리 배양된 균주를 대상으로 기존 항생제와 신 항생제의 감수성 정도와 내성화 기전을 조사하고 작용기전이 서로 다른 약제를 동시에 사용하여 그 상승작용에 의한 효과를 이용하는 물질이 늘어나고 있는 추세이다<sup>35,36)</sup>. 주로 aminoglycoside계 약제와 cephalosporin계 약제의 병용효과에 대해서 여러가지 연구 결과가 보고<sup>37,38)</sup>되어 왔다. 본 시험은 공시균 60주에 대하여 cephalosporin계 3종, ami-

noglycoside계 3종의 MIC를 측정하여 전반적인 감수성 검사를 실시한 다음, 각 약제를 특성에 따라 cephalosporin계 1종과 aminoglycoside계 1종을 병합하여 단일 약제에 비해 어떠한 효과를 갖는가를 검사함으로써 수술부위나 원내감염의 치료에 효과적으로 대처하고자 하였다. 항생제 감수성 검사는 paper disc법과 평판희석법으로 행하였다. *S. aureus*의 경우, streptomycin에 대하여 50%, *E. coli*의 경우, cefoperazone 53%가 감수성으로 높게 나타났다. 그 외 항생제들에 대하여는 뚜렷한 차이는 없었다. 평판희석법의 결과도 streptomycin에 대하여 *S. aureus*의 경우, MIC<sub>50</sub>이 8  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , MIC<sub>90</sub>은 16  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었으며 *E. coli*의 경우, MIC<sub>50</sub>이 4  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , MIC<sub>90</sub>은 16  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 가장 낮게 나타났으며 그 외 약제들에는 높은 MIC를 보여주었다. 내성균주도 *S. aureus*는 20%, *E. coli*는 17%로 streptomycin에 대하여 가장 낮은 것으로 나타났다. 병합내성의 양상도 같은 계열의 항생제만을 병합한 것보다 aminoglycoside계와 cephalosporin계가 병합내성 양상에 있을 경우에 23%이하로 떨어짐을 알 수 있었다. 또한, FIC index기준에 따른 병합작용도 aminoglycoside계와 cephalosporin계중에서 가장 감수성이 높은 streptomycin과 *S. aureus*의 경우, cephalothin을, *E. coli*의 경우 cefuroxime을 병합할 경우, 항균력은 상승 또는 상가효과가 있는 균주가 길항작용을 보이는 균주보다 73% 이상 월등히 많은 것으로 나타났다. 이상의 결과에서 항생제 감수성의 경향을 위해서는 약제 내성기전이  $\beta$ -lactamase와 그 외의 약제분해효소의 생성, penicillin-binding protein의 수식 및 세포 표층구조의 변화에 기인하는 약물 투과성의 저하 등의 여러가지 기전이 특정의 시험균 또는 다수의 시험균에 관여한다<sup>39-41)</sup>고 생각된다. 이러한 내성기전을 규명하기 위한 plasmid 연관성, 약제내성 인자와의 상관성을 등을 먼저 밝히는 것이 중요하다고 사료된다.

## 요 약

환자의 수술창에서 분리 배양된 균주를 대상으로 항생제 감수성 검사와 시험관내에 있어서의 병용효과를 검토하고 항생제 단독과 병용하였을 경우의 내성양상을 상호비교하여 원내 감염의 예방을 위한 역학 조사에 이용하고자 하였다.

수술창에서 분리한 60종의 균주를 대상으로 6종의 항생제에 대한 paper disc법과 발육최소농도(MIC : minimal



inhibitory concentration)를 측정하여 평판회석법으로 항생제 감수성 여부를 판정하였다. 항생제 감수성 검사 결과, 매우 감수성으로 나타난 aminoglycoside계인 streptomycin과 cephalosporin계인 cephalothin과 cefuroxime을 이용하여 checkerboard 식의 항균제의 병합효과를 실시하였다. *S. aureus*의 경우 paper disc법의 결과, aminoglycoside계인 streptomycin에 대하여 15균주(50%), cephalosporine계인 cephalothin에 대하여 13균주(43%)가 매우 감수성인 것으로 나타났으며, *E. coli*의 경우 cefoperazone에 대하여 excellent sensitive한 것은 16균주(53%), sensitive인 것은 4균주(13%)로 감수성인 것이 66%로 가장 많았으며, kanamycin에 대하여 비교적 감수성인 것으로 나타났다. 평판회석법에 의하여 *S. aureus*에서 MIC를 구한 결과, streptomycin이 MIC<sub>50</sub>이 8µg/ml, MIC<sub>90</sub>이 16µg/ml로 가장 낮은 것으로 나타났다. 발육최소농도가 낮은 것으로 보아 매우 감수성인 것을 알 수 있었다. 그 다음으로 cefuroxime의 MIC<sub>50</sub>이 16µg/ml, MIC<sub>90</sub>이 64µg/ml으로 비교적 감수성임을 보였다. *E. coli*의 경우에서 streptomycin이 MIC<sub>50</sub>이 4µg/ml, MIC<sub>90</sub>이 16µg/ml으로 *S. aureus*보다 더 낮은 것으로 나타났으며, *E. coli*에 대하여 보다 더 감수성임을 알 수 있었다. 그 외의 항생제에 대하여는 뚜렷한 차이가 없이 비교적 내성임을 알 수 있었다. 6종의 항생제 각각에 대하여 내성을 검토한 결과, *S. aureus*와 *E. coli*에서 각각 내성균주가 6균주(20%), 5균주(17%)로 가장 적은 것은 streptomycin이었다. 이는 streptomycin에 대하여 모두 강한 감수성 균주들임을 의미하며 그 외의 항생제에 대하여는 비교적 내성임을 알 수 있었다. *S. aureus*와 *E. coli*에 대하여 항생제 병합내성 양상의 비교 결과 aminoglycoside계열이나 cephalosporine계열의 항생제로만 병합한 것 보다는 aminoglycoside계열이나 cephalosporine계열의 항생제가 서로 병합되어 있는 것이 내성 양상에 있을 경우 내성균주가 각각 40% 이상의 큰 폭으로 줄어드는 것을 알 수 있었다. 상기의 결과에서 *S. aureus*에 민감한 항생제 streptomycin과 cephalothin을 병합한 결과, 효과가 상승 또는 상가되는 것이 각각 60%와 13%이상으로 약제의 효과가 더 좋아짐을 알 수 있었다. 또한, *E. coli*의 경우도 마찬가지로 streptomycin과 cefuroxime을 병합한 결과, 효과가 상승 또는 상가되는 것이 50%이상과 30%이상으로 두 항생제를 병합할 경우 효과가 더 좋은 것으로 나타났다.

수술장에서 검출된 60주를 대상으로 한 항생제 감수성 검사에서 *S. aureus*의 경우 streptomycin에 대하여 50% 정도의 감수성을, *E. coli*의 경우 cefoperazone에 대하여 53%의 감수성을 보였다. 병합실험에서는 항생제 단독 보다는 병합하였을 경우가 항균력이 약 73% 이상 상승하는 것이 입증되었다.

## 참 고 문 헌

- O'Brein, T. F., Ross, D. G., Gutzman, M. A., Medeiros, A. A., Hedges, R. W. and Bostein, D. : Dissemination of an antibiotic resistance plasmid in hospital patients flora. *Antimicro. Agents. Chemother.*, 17, 537-543(1980).
- Lennette, E. M. : Manual of Clinical Microbiology. 3 ed American Society for Microbiology, Washington, D.C., 2, 83-87(1980).
- Koneman, E. W. et al. : Diagnostic Microbiology. 2 ed J. B. Lippincott. Co., Philadelphia., 2, 257-300(1983).
- Jawetz, E., Melnick, J. L. and Adelberg, E. A. : Review of medical microbiology, 16th ed. *Lange. medical. publication.*, Los Altos., 21, 152-160(1984).
- Hashimoto, H. and Satake, S. : Present and future of chemotherapy against bacterial infections Development of antibiotics other than β-lactams. *Modern. Media.*, 33(12), 1-3(1987).
- Jawetz, E., Brooks, G. F., Melnick, J. L., Butel, J. S., Adelberg, E. A. and Orston, L. N. : Medical microbiology. 19th ed, A12/Appleton. Lange. East. Norwalk., 3, 187-192(1991).
- Koneman, E. W., Allen, S. D., Dowell, V. R. Jr. and Sommers, H. M. : Color atlas textbook of diagnostic microbiology. 3rd ed, Philadelphia, J. B. Lippincott. Co., 11, 311-353(1988).
- Weinstein, A. J. : Treatment and management of nosocomial infection. *J. Infect. Dis.*, 13(31), 265-268(1981).
- Richard, E. D., George, F. M. : Nosocomial infections : In Maxcy-Resenau public health and prevention medicine(ED. JM Last). *Appleton-Century. Crofts.*, 11, 290-306(1980).
- Kasyser, F. H., Benner, E. J., Troy, R. and Hoepflich, P. D. : Mode of resistance against B-lactam antibiotics in Staphylococci. *Ann. NY. Acad. Sci.*, 182, 106-117(1971).
- Lorian, V. : Antibiotics in laboratory medicine. 2nd

- ed, USA, Willams & Wikins, pp. 669-809(1986).
12. Balows, A., William, J. H., Kenneth, L. H. and Henry, D. I. : Mannual of clinical microbiology. 5th ed, American Society for Microbiology, Washington, DC, pp. 1105-1172(1991).
  13. Bauer, A.W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C. and Turck, M. : Technical section. *Amer J. Clin. Pathol.*, **345**, 4-12(1966).
  14. Rutala, W. A., Katz, E. B. S. and Sarubbi, F. Z. : Environmental study of a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* epidemic in a burn unit. *J. Clin. Microbiology.*, **18**, 663-668(1983).
  15. Gillespie, M. T., May, J. W. and Skurray, R. A. : Antibiotic susceptibility and plasmid profiles of nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* : A retrospective study. *J. Med. Microbiol.*, **17**, 295-310(1984).
  16. Tennent, J. M., May, J. W. and Skurray, R. A. : Multiple antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* : Plasmids in Strains associated with nosocomial infections. *Pathology.*, **16**, 250-255(1984).
  17. Joklik, W. K., Willet, H. P. and Amos, D. B. : Zinsser Microbiology, 18ed *Appleton-Century Crofts, New Jersey*, pp. 443-462(1984).
  18. Cole, F. S., Daum, R. S., Teller, L., Goldman, D. A. and Smith, A. L. : Effect of ampicillin and chloramphenicol alone and in combination on ampicillin-susceptible and resistant *Hamophilus influenzae* type B. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, **15**, 415-419(1979).
  19. Steers, E. and Graves, B. S. : Inocular replicating apparatus for routine testing of bacterial susceptibility to antibiotics. *Antibiol. Chemother.*, **9**, 307-311(1959).
  20. Thornsbery, G. : Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria, National Committee for Clinical Laboratory Standards. Villanova, pp. 1-91(1983).
  21. Krisa, P. J. and Flournoy, D. J. : Infrequency of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on the skin of hospitalized patients. *IRCS. Med. Sci.* **12**, 877-878(1984).
  22. Stamm, W. E., Martin, S. M., Bennett, J. V. : Epidemiology of nosocomial infection due to gram-negative bacilli: Aspect relevant to development and use of vaccines. *J. Infect. Dis. Suppl.* **136**, S151-S160(1977).
  23. NCCLS. : Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Villanova, Pa. (1984).
  24. King, J. W. and Penn, R. L. : Activity of ceftizoxime combined with gentamicin against 100 clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, **25**(6), 770-776(1984).
  25. Bayer, A. S., Eisenstadt, R. and Morrison, J. O. : Enhanced in vitro bacterial activity of amikacin or gentamicin combined with three new extended spectrum cephalosporins against cephalothin-resistant members of the family Enterobacteriaceae. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, **25**(6), 725(1984).
  26. Cooper, M. D., Keeney, R. W., Lyons, S. F. and Cheattle, E. L. : Synergistic effects of ampicillin-aminoglycoside combination on group B Streptococci. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, **15**, 484-486(1979).
  27. Feldman, W. E. and Zweighaft, T. : Effect of ampicillin and chloramphenicol against *Streptococcus pneumoniae* and *Nesseria meningitidis*. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, **15**, 240-242(1979).
  28. Feingold, D. S. : Hospital acquired infections. *New Eng. J. Med.*, **283**, 2384-2391(1970).
  29. Kim, Y. B. : Identification of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical specimens. *J. Busan. Med. Assoc.*, **20**(2), 13-19(1984).
  30. Kim, Y. B. : The study of disinfectant effects various bacteria isolated from a hospital environment. *J. Busan. Med. Assoc.*, **2**(2) 217-223(1982).
  31. Kim, Y. B. : Studies on the isolation of the *Pseudomonas aeruginosa* from a hospital environment. *J. Busan. Med. College.*, **21**(2), 49-56(1981).
  32. Kropinski, A. M., Auzio, J., Angus. B. L., Hancock, R. E. W. : Chemical and chromatographic analysis of lipopolysaccharide from an antibiotic-supersusceptible mutant of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, **21**, 310-319(1982).
  33. Legakis, N. J., Aliferopoulou, M., Papapertropoulou, M. : Serotypes of *Pseudomonas aeruginosa* in clinical specimens in relation to antibiotic susceptibility. *J. Clin. Microb.*, **16**, 458-463(1982).
  34. Lyon, B. R., Jhon, W. M. and Skurray, R. A. : Analysis of plasmids in nosocomial strains of multiple-antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, **23**, 817-826(1983).
  35. Bouanchaud, D. H., Scavizzi, M. R. and Chabbert, Y. A. : Elimination by ethidium bromide of antibiotic resistance in Enterobacteria and *Staphylococci*. *J. Gen. Microbiol.*, **54**, 417-425(1969).

36. Holmberg, S. D. and Cohen, M. L. : Comparison of plasmid profile analysis phage, and antimicrobial susceptibility testing in characterizing *Salmonella typhimurium* isolated from outbreaks. *J. Clin. Microbiol.*, **19**, 110-114(1984).
37. Wilits, R. S., Hare, R. : The mechanism of cross infection of wounds in hospital by hemolytic Streptococci. *Can. Med. Asso. J.*, **45**, 279(1941).
38. Hallander, H. O., Dornbusch, K., Gezelius, L., Jacobson, K. and Karlsson, I. : Synergism between aminoglycoside and cephalosporins with antipseudomonal activity. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, **22**(5), 743 (1982).
39. Workman, R. G. and Farrar, W. E. Jr. : Activity of penicillinase in *Staphylococcus aureus* as studied by the idometric method. *J. Infect. Dis.*, **121**, 433-437 (1970).
40. Livemore, D. M. : Penicillin-binding proteins, porins and outer-membrane permeability and carbenicillin-resistant and carbenicillin-susceptible strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Med. Microb.*, **18**, 261-270(1984).
41. Livemore, D. M., Pitt, T. L. : Dissociation of surface properties and "intrinsic" resistance to lactams in *Staphylococcus aureus*. *J. Med. Microb.*, **22**, 217-224(1986).