

알킬갈레이트 유도체의 어병세균 *Edwardsiella tarda*와 *Vibrio anguillarum*에 대한 항균활성 및 항생제와의 병용효과

강소영* · 강지영 · 김수연 · 김도형 · 오명주
전남대학교 식품·수산생명의학부

Antimicrobial Activities of Alkyl Gallates Alone and in Combination with Antibiotics Against the Fish Pathogenic Bacteria *Edwardsiella tarda* and *Vibrio anguillarum*

So Young KANG*, Ji Young KANG, Su-Yeon KIM, Do-Hyung KIM and Myung-Joo OH
Division of Food Science and Aqualife Medicine, Chonnam National University, Yeosu 550-749, Korea

Methyl gallate isolated from bark of the tree *Rhus verniciflua* Stokes has significant antimicrobial activity against the fish pathogenic bacteria *Edwardsiella tarda* and *Vibrio anguillarum*. To evaluate the antimicrobial activity of gallate derivatives, eight alkyl gallates were tested. Ethyl gallate and propyl gallate had the highest activities, with MICs of 15.6-31.3 µg/mL against *E. tarda*. For *V. anguillarum*, propyl gallate and butyl gallate were highly effective, with MICs of 7.81-31.3 µg/mL. When used in combination with antibiotics, methyl gallate exhibited synergistic effects with oxytetracycline against *E. tarda* and with norfloxacin against *V. anguillarum*. These results suggest that short-chain alkyl gallates can be used as alternatives to antibiotics against the fish pathogenic bacteria.

Key words: Antimicrobial activity, *Edwardsiella tarda*, *Vibrio anguillarum*, Alkyl gallates, Synergistic effect

서 론

집약적 양식 시스템의 발달과 연안의 환경오염 등으로 인한 양식생물의 질병의 증가는 현재 우리나라의 양식산업이 직면한 심각한 문제 중의 하나이다. 이러한 질병의 증가는 수산용 항생제의 사용증가와 이의 남·오용에 따른 약제내성 발현균주의 증가를 야기시키고 있어, 전통적으로 사용되어 온 미생물유래 항생제나 합성항균제들의 사용효과가 점점 떨어지고 있는 실정이다. 뿐만 아니라, 항생제 내성인자의 인체병원균에의 수평적 전이와 항생제 사용의 증가로 인한 양식수산물 내의 항생제 잔류가능성은 양식수산물의 식품으로서의 안전성과 공중보건에 중요한 위험인자가 되고 있는 실정이다 (Defoirdt et al., 2007). 따라서, 오랫동안 임상에서 사용되어 그 안전성과 효과가 증명된 약용식물과 같은 천연물 유래의 항균활성 또는 면역증강활성물질의 개발이나 전통적으로 사용되는 항생제와 병용 시에 그 효과를 상승시킬 수 있거나 항생제 사용량을 저감할 수 있는 항생제 대체물질의 개발에 대한 요구가 더욱 높아지고 있는 실정이다 (Cowan, 1999). 근래, 우리나라에서는 어종에 따라 차이는 있으나, 비브리오병, 연쇄구균증, 에드워드병, 활주세균증 등에 의한 피해가 해마다

다 보고되고 있다. 이와 같은 어류 세균성 질병에 대하여 효과적으로 작용할 수 있는 항생제 대체제를 약용식물이나 천연물 유래 식품첨가물 등 안전성이 검증된 재료로부터 찾고자 수행된 본 연구진의 선행연구에서, 옷나무 (*Rhus verniciflua* Stokes, Anacardiaceae) 수피 추출물로부터 분리된 methyl gallate가 에드워드병 및 비브리오병의 원인세균인 *Edwardsiella tarda* 및 *Vibrio anguillarum*에 대한 우수한 항균활성을 가짐을 확인하였다 (Kang, 2005). Methyl gallate는 화학구조상 gallic acid를 모핵으로 하는 alkyl gallate 유도체로 분류된다. 현재까지 보고된 alkyl gallate 유도체의 항균활성으로는 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)와 같은 그람양성균에 대한 항균활성이 주로 보고되어 있으며, 그람 음성균에 대하여서는 *Salmonella*에 대한 성장억제활성이 보고된 바 있다 (Kubo et al., 2002; 2003; Shibata et al., 2005; Stapleton et al., 2004). Alkyl gallate 유도체는 이와 같은 직접적인 항균활성 뿐만 아니라, MRSA의 β-lactam계열 항생제에 대한 감수성을 높이는 증강제 (intensifier)로서의 작용도 하는 것으로 보고되어 있다. 그러나, 현재까지 alkyl gallate 유도체의 어병세균에 대한 항균활성이나 항생제와의 병용 시 항생제의 활성에 미치는 병용효과에 대한 연구는 이루어져 있지 않다. 따라서, 본 연구에서는 그람음성균인 *E. tarda* 및 *V. anguillarum*에

*Corresponding author: sykang1@chonnam.ac.kr

대한 우수한 항균활성을 나타낸 methyl gallate를 포함하여 식품첨가물로 사용되는 propyl gallate, dodecyl gallate 등 일련의 alkyl gallate 유도체들에 대하여 이들의 *E. tarda* 및 *V. anguillarum*에 대한 항균활성을 검색하였다. 또한, 유의적인 항균활성을 나타낸 alkyl gallate 유도체에 대해서는 Checkerboard 법을 이용하여 몇 가지 상용 항생제와의 병용효과를 알아봄으로써 단독 사용 시의 항균활성 뿐 만 아니라 항생제와의 병용제로서 작용도 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

Galic acid 및 유도체

본 연구에 사용된 8종의 alkyl gallate 유도체 중 methyl gallate는 선행연구(Kang, 2005)에서 분리·동정된 화합물을 사용하였고, 나머지 7종은 모두 시판시약을 사용하였다. 그 중 gallic acid와 methyl 3, 4, 5-trimethoxybenzoate는 Sigma-Aldrich사 (St. Louis, USA)에서, ethyl gallate와 isoamyl gallate는 Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.에서 (Tokyo, Japan), propyl gallate, butyl gallate 및 dodecyl gallate는 Wako Pure Chemical Industries, Ltd. (Osaka, Japan)에서 구입하여 사용하였다.

실험세균

본 실험에서는 2004년에 경남 남해 소재 넙치 및 조피볼락 양식장의 병어에서 분리한 *E. tarda* NHF와 *V. anguillarum* GS 및 각각의 표준균주(*E. tarda* KCTC 12267 및 *V. anguillarum* KCTC 2711)를 사용하였다. 이 균주들을 1.5% NaCl이 첨가된 50 mL의 멸균 brain heart infusion (BHI) broth에 접종하고 25°C에서 100 rpm으로 진탕하면서 18시간 배양하여 사용하였다.

최소억제농도 (MIC)의 측정

각각의 alkyl gallate 유도체들을 최소한의 dimethylsulfoxide (DMSO)에 용해시킨 후 (사용된 DMSO의 최종 농도: 0.2% 이하) 세균배양에 사용된 BHI broth 배지에 2배 단계희석하여 각각의 시료로 사용하였다. Alkyl gallate의 각각의 세균에 대한 MIC는 broth-microdilution법에 의하여 측정하였다 (Kumagai et al., 2005). 이를 간단히 기술하면 다음과 같다. 실험세균을 18시간 동안 배양하여 10^6 CFU/mL로 조정된 후 시료와 동량 (1:1)으로 96-well microplate에서 혼합하여, 25°C에서 약 20-24시간 동안 배양하였다. 이후 효과적인 육안 판단을 위하여, 배양이 완료된 96-well microplate에 0.2 mg/mL의 *p*-iodonitrotetrazolium violet (*p*-INT) 40 μ L를 가하여 2시간 동안 반응 시킨 후, INT formazan의 생성에 의한 red color가 발색되지 않은 최소농도를 MIC로 결정하였다 (Langfield et al., 2004). Positive control로는 *E. tarda*와 *V. anguillarum*이 감수성을 나타낸 oxytetracycline, flumequine 및 norfloxacin을 Sigma-Aldrich사 (St. Louis, USA)에서 구입하여 사용하였다.

항생제와의 병용효과

Alkyl gallate 유도체들의 항생제와의 병용효과는 checkerboard법에 의하여 Fractional inhibitory concentration index (FICI, FIC지수)를 구하여 결정하였다 (White et al., 1996; Pillai et al., 2005). 병용효과 시험 대상 alkyl gallate 유도체와 각 항생제의 시험 농도는 MIC 측정시험에서 결정된 각 약물의 MIC를 기준으로 $4\times$ MIC, $2\times$ MIC, $1\times$ MIC, $1/2\times$ MIC, $1/4\times$ MIC, $1/8\times$ MIC, $1/16\times$ MIC로 조정된 시험약물용액을 제조하여 96-well microplate의 가로축 방향으로는 항생제를 배치하고 세로축 방향으로는 alkyl gallate 유도체를 가하여 병용시험을 실시하였다. 이후의 실험과정은 MIC 측정법에서와 같은 방법으로 실험세균을 접종하고 균의 발육유무를 판단하였다. 각각의 병용 약물의 FIC지수 계산은 다음과 같이 하였다.

$FICI = (\text{병용 시 alkyl gallate 유도체의 MIC/단독 사용시의 alkyl gallate 유도체의 MIC}) + (\text{병용 시 항생제의 MIC/단독 사용시의 항생제의 MIC})$.

이때, FICI가 0.5 이하일 경우 synergistic effect (상협작용)로 판단한다. 0.5보다 크고 4 이하일 경우 additive/indifferent effect (상가작용)로, 4보다 클 경우 antagonistic effect (길항작용)으로 판정하였다.

결 과

Alkyl gallate 유도체들의 *E. tarda* 및 *V. anguillarum*에 대한 항균활성

Alkyl gallate 유도체들의 *E. tarda* 및 *V. anguillarum*에 대한 항균활성을 알아보기 위하여 각각의 표준균주인 *E. tarda* KCTC 12276 및 *V. anguillarum* KCTC 2711과 분리균주인 *E. tarda* NHF 및 *V. anguillarum* GS에 대하여 각 유도체들의 MIC를 측정하였고 그 결과는 Table 1에 나타내었다. Table 1에서 제시된 바와 같이, gallic acid는 4균주에 대하여 MIC가 모두 125 μ g/mL 이상의 낮은 항균활성을 나타낸 반면, gallic acid의 카르복실기에 알킬기가 치환된 형태인 methyl-, ethyl-, propyl-, butyl- 및 isoamyl gallate의 경우는 (Fig. 1) 모두 MIC가 7.81부터 125 μ g/mL 사이의 값을 나타내어 gallic acid 보다는 주로 현저히 높은 항균활성을 나타내었다. 특히, *E. tarda*에 대해서는 ethyl gallate와 propyl gallate가 15.6-31.3 μ g/mL의 MIC를 나타내며 가장 높은 항균 활성을 보였고, *V. anguillarum*에 대해서는 propyl gallate와 butyl gallate가 7.81-31.3 μ g/mL의 MIC로 가장 높은 활성을 나타내었다. 또한, methyl gallate의 3개의 수산기를 모두 methoxy기로 치환시킨 methyl 3,4,5-trimethoxybenzoate의 경우 4가지 균주에 대하여 모두 methyl gallate보다 현저히 높은 MIC (MIC > 500 μ g/mL)를 나타내었다. positive control로 사용된 광범위항생제인 tetracycline계열의 항생제인 oxytetracycline (OTC)과 플루오르퀴놀론계 항생제인 flumequine (FLQ)과 norfloxacin (NFX)의 MIC는 10 ng/mL 이상 1 μ g/mL 미만의 값을 나타내며 실험에 사용된 4 균주 모두 사용된 항생제에 대하여 감수

Table 1. MICs of eight gallate derivatives against *E. tarda* and *V. anguillarum*

Strain	<i>E. tarda</i>		<i>V. anguillarum</i>		
	Compound ($\mu\text{g/mL}$)	KCTC 12267	NHF	KCTC 2711	GS
Gallic acid		>1,000	125	125	125
Methyl gallate		31.3	62.5	62.5	62.5
Ethyl gallate		15.6	31.3	31.3	62.5
Propyl gallate		15.6	31.3	7.81	31.3
Butyl gallate		31.3	125	15.6	31.3
Isoamyl gallate		62.5	125	15.6	62.5
Dodecyl gallate		250	250	>500	500
Methyl 3,4,5-trimethoxybenzoate		>500	>500	>500	>500
Oxytetracycline		0.313	0.156	0.156	0.156
Flumequine		0.0781	0.0391	0.0098	0.0781
Norfloxacin		0.0156	0.0156	0.0313	0.0313

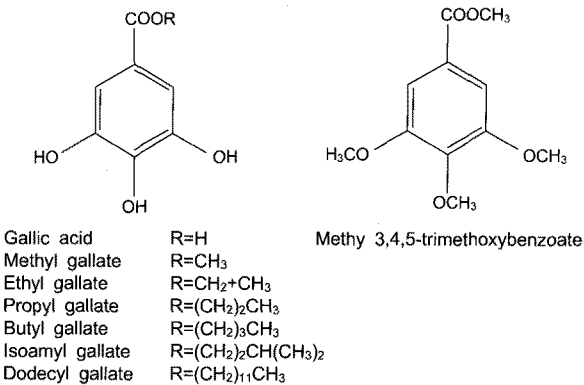


Fig. 1. Chemical structures of eight alkyl gallates used in the study.

성을 나타냄을 알 수 있었다.

Alkyl gallate 유도체들의 항생제와의 병용효과

Alkyl gallate 유도체들의 항생제와의 병용효과를 알아보기 위하여 항균활성 검색 결과 상대적으로 높은 활성을 나타낸 5종의 유도체, methyl (C₁-), ethyl (C₂-), propyl (C₃-), butyl (C₄-) 및 isoamyl (C₅) gallate에 대하여 표준균주를 이용하여 각 유도체의 OTC, FLQ 및 NFX과의 병용효과를 측정하였다. Checkerboard법에 의하여 측정된 FIC지수와 분석결과를 Table 2에 제시하였다. Methyl gallate의 경우, *E. tarda* 표준균주에 대하여 OTC와 병용시 0.5의 FIC 지수를 나타내며 항균활성에서의 상승효과 (synergistic effect)를 나타내었고 이 때 두 약물은 각각 단독 사용 시 MIC의 1/4에 해당하는 농도로서 *E. tarda* 표준균주의 성장을 억제하였다. *V. anguillarum* 표준균주에 대해서는 0.563의 FIC 지수를 나타내며 상승적인 효과 (additive effect)를 나타내었다. 이에 비하여, 플루오르퀴놀론계 항생제인 NFX와의 병용 시에는 *V. anguillarum* 표준균주에 대해서 0.375의 FIC 지수로 상승효과를 나타내었고 이 때 두 약물의 병용농도는 NFX 단독 사용 시 MIC의 1/4과 methyl gallate 단독 MIC의 1/8로 나타났다. 반면, *E. tarda* 표준균주에 대한 항균활성에서는 NFX와의 상호작용은 상승적인 것으로 나타났다. FLQ와도 두 균주 모두에서 항균활성에서의 상호작용은

상승적으로 나타났다. Methyl gallate를 제외한 나머지 4종의 alkyl gallate 유도체, ethyl-, propyl-, butyl- 및 isoamyl gallate는 OTC, FLQ 및 NFX 각각의 항생제와 병용 시 모두 0.5보다 큰 FIC 지수를 나타내며 항균활성에서 상승적으로 작용함을 보였다.

고찰

본 연구에서는 선행연구에서 항균활성을 확인한 methyl gallate를 포함한 8종의 alkyl gallate 유도체들의 *E. tarda* 및 *V. anguillarum*에 대한 항균활성을 비교하고 3종의 항생제, OTC, FLQ 및 NFX과의 병용 효과를 검토하였다. *E. tarda* 및 *V. anguillarum*에 대한 MIC 측정 결과, gallic acid 자체 보다는 gallic acid의 카르복실기에 alkyl기가 치환된 경우 (C₁-C₅)에서 항균활성이 높아짐을 알 수 있었다. 특히, *E. tarda*에 대해서는 C₂-C₃까지 항균활성이 높아지고 이후 탄소사슬이 길어지면서 다시 활성이 감소하는 것이 관찰되었다. 이러한 경향은 *V. anguillarum*에 대해서도 유사하게 나타나서 C₃-C₄까지는 항균활성이 증가하였고 이후 isoamyl gallate (C₅)에서부터 감소함을 알 수 있었다. 뿐만 아니라, methyl gallate의 수산기를 모두 methoxy기로 치환시킬 경우, MIC가 9-10배 이상 증가하는 것으로 나타나 완전히 항균활성을 잃게 됨을 보여주었다. 이상의 결과로부터 alkyl gallate 유도체의 *E. tarda* 및 *V. anguillarum*에 대한 항균활성은 gallic acid에 alkyl기가 추가되면서 증가되거나 항균활성을 증가시키는 탄소사슬의 길이에는 한계가 있으며, 또한 galloyl moiety의 수산기는 항균활성에 필수적임을 알 수 있었다. 이와 같은 경향은 Kubo et al. (2002; 2003)에서도 관찰할 수 있었다. Kubo et al. (2002)에서는 gallic acid와 이의 에스터 유도체들로서 C₃ (propyl gallate)부터 C₁₃ (tridecyl gallate) 등의 총 10종의 alkyl gallate 유도체를 대상으로 그람음성균인 *Salmonella choleraesuis*에 대한 항균활성을 측정하였다. 그 결과, gallic acid 및 C₃의 MIC가 모두 1,600 $\mu\text{g/mL}$ 로 나타났으며, C₆부터 항균활성이 증가하여 C₉까지 증가되는 경향을 나타내다가 C₁₀부터는 서서히 항균활성이 감소하여 C₁₃에서는 MIC가 1,600 $\mu\text{g/mL}$ 보다

Table 2. Checkerboard results for *E. tarda* and *V. anguillarum* standard strains

Drug combination		<i>E. tarda</i> KCTC 12267		<i>V. anguillarum</i> KCTC 2711	
		FIC index ^a	Outcome (the most synergistic combination) (G/A ^b , µg/mL)	FIC index	Outcome (the most synergistic combination) (G/A, µg/mL)
MG ^c	/OTC ^d	0.500-1.06	Synergistic (15.6/0.0781)	0.563-1.25	Additive
	/FLQ	1.06-1.50	Additive	1.06-2.50	Additive
	/NFX	1.06-1.50	Additive	0.375-1.13	Synergistic (7.81/0.0078)
EG	/OTC	0.750-1.25	Additive	1.06-1.25	Additive
	/FLQ	0.750-1.50	Additive	1.06-2.50	Additive
	/NFX	1.06-1.50	Additive	1.06-2.06	Additive
PG	/OTC	0.750-1.25	Additive	1.06-1.50	Additive
	/FLQ	1.06-1.50	Additive	1.06-2.50	Additive
	/NFX	1.06-1.50	Additive	0.625-1.50	Additive
BG	/OTC	1.00-1.25	Additive	0.750-1.13	Additive
	/FLQ	1.06-2.50	Additive	1.06-2.50	Additive
	/NFX	1.06-2.50	Additive	0.563-2.50	Additive
IG	/OTC	1.06-2.50	Additive	1.06-1.50	Additive
	/FLQ	1.06-2.50	Additive	0.563-1.25	Additive
	/NFX	1.06-2.50	Additive	1.00-2.06	Additive

^aFICI ≤ 0.5: synergistic effect, 0.5 < FICI ≤ 4: additive/indifferent effect, 4 < FICI: antagonistic effect. ^bG, alkyl gallates; A, antibiotics; ^cMG, methyl gallate; EG, ethyl gallate; PG, propyl gallate; BG, butyl gallate; IG, isoamyl gallate; ^dOTC, oxytetracycline; FLQ, flumequine; NFX, norfloxacin.

큰 것으로 나타나 이는 알킬기의 추가로 인한 항균활성의 변화로 판단하였다. 이와 유사한 결과는 Shibata et al. (2005)에서도 확인되었다. 이에 따르면, MRSA와 methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA)에 대하여 C₁ (methyl gallate, MIC=250 µg/mL)부터 C₉ (nonyl gallate, MIC=15.6 µg/mL)까지는 항균활성이 점점 증가하나 C₁₀ (decyl gallate, 31.3 µg/mL)에서부터는 항균활성이 감소하기 시작하여 C₁₈ (stearyl gallate)에서는 MIC가 250 µg/mL보다 크게 나타났다고 보고하였다. 뿐만 아니라, Kubo et al. (2003)에서는 dodecyl gallate의 galloyl moiety의 수산기를 제거한 유도체 5종으로 그람양성균에 대한 항균활성을 시험한 결과 수산기의 존재가 항균활성에 중요하며 특히, 수산기가 ortho 위치에 존재할 경우 항균활성이 극대화됨을 확인하였다. 본 연구에서 높은 항균활성을 나타낸 alkyl gallate 유도체 중 methyl gallate는 시험된 alkyl gallate 유도체 중 유일하게 OTC 및 NFX와의 병용 시 각각 *E. tarda* 및 *V. anguillarum*에 대한 항균활성에서 상승효과를 나타내었다. 단독 사용 시에는 *E. tarda* 및 *V. anguillarum*에 대한 MIC가 31.3-62.5 µg/mL로 나타나 나머지 유도체들에 비하여 직접적인 항균활성은 상대적으로 낮은 편으로 나타났으나 빈용항생제인 OTC와의 병용 시에는 각각의 단독 MIC의 1/4의 용량으로 같은 효과를 얻을 수 있었고, NFX와의 병용 시에는 NFX의 단독 사용시의 MIC의 1/4과 methyl gallate의 단독 MIC의 1/8로도 세균의 성장을 억제할 수 있었다. 이에 비하여, MRSA에 대한 항균활성에서는 oxacillin과의 병용 시 모두 0.5 보다 큰 FIC지수를 보이며 상가적으로 작용하는 것으로 나타났다 (Shibata et al., 2005; Stapleton et al., 2004). 본 연구에서 methyl gallate보다 주로 높은 항균활성을 나타낸

ethyl-, propyl- 및 butyl gallate의 경우는 MRSA에 대하여 oxacillin과의 병용 시 모두 상승적 항균활성을 나타내었다 (Stapleton et al., 2004). 지금까지 알려진 methyl gallate의 항균활성으로는 *Clostridium perfringens*, *Cl. paraputrificum*과 같은 유해한 장내세균에 대한 항균활성 (Ahn et al., 1998)과 *Pseudomonas aeruginosa*에 대한 항균활성 (Saxena et al., 1994)이 보고되어 있고, MRSA 및 MSSA에 대한 항균활성은 균주에 따라 차이는 있으나, 200-400 µg/mL의 MIC로 (Saxena et al., 1994; Shibata et al., 2005; Stapleton et al., 2004) 비교적 낮은 항균활성이 보고되어 있다. 이는 methyl gallate가 그람양성균 보다는 그람음성균에 대한 성장억제작용에 더 효과적임을 보여준다. 이와같은 결과는 본 연구에서 밝혀진 methyl gallate의 *E. tarda* 및 *V. anguillarum*에 대한 빈용항생제와의 상승적 항균활성과 함께 alkyl gallate 유도체의 어류 세균성 질병의 치료 및 예방을 위한 항생제 대체물질로서의 이용가능성을 더욱 높여 줄 수 있을 것으로 사료된다.

사 사

이 논문은 2005년도 정부재원 (교육인적자원부 학술연구조성사업비)으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 연구되었음 (KRF-2005-003-F00021).

참 고 문 헌

- Ahn, Y.J., C.O. Lee, J.H. Kwon, J.W. Ahn and J.H. Park. 1998. Growth-inhibitory effects of *Galla rhois*-derived tannins on intestinal bacteria. *J. Appl.*

- Microbiol., 84, 439-443.
- Cowan, M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol. Rev., 12, 564-582.
- Defoirdt, T., N. Boon, P. Sorgeloos, W. Verstraete and P. Bossier. 2007. Alternatives to antibiotics to control bacterial infections: luminescent vibriosis in aquaculture as an example. Trend. Biotechnol., 25, 472-479.
- Kang, S.Y. 2005. The antimicrobial compound of *Rhus verniciflua* barks against fish pathogenic gram-negative bacteria, *Edwardsiella tarda* and *Vibrio anguillarum*. J. Fish Pathol., 18, 227-237.
- Kubo, I., K.I. Fujita and K.I. Nihei. 2002. Anti-*Salmonella* activity of alkyl gallates. J. Agric. Food Chem., 50, 6692-6696.
- Kubo, I., K.I. Fujita, K.I. Nihei and N. Masuoka. 2003. Non-antibiotic antibacterial activity of dodecyl gallate. Bioorg. Med. Chem., 11, 573-580.
- Kumagai, H., Y. Kawai, R. Sawano, H. Kurihara, K. Yamazaki and N. Inoue. 2005. Antimicrobial substances from rhizomes of the giant knotweed *Polygonum sachalinense* against the fish pathogen *Photobacterium damsela* subsp. piscicida. Z. Naturforsch., 60C, 39-44.
- Langfield, R.D., F.J. Scarano and M.E. Heitzman. 2004. Use of a modified microplate bioassay method to investigate antibacterial activity in the Peruvian medicinal plant *Peperomia galioides*. J. Ethnopharmacol., 94, 279-281.
- Pillai, S.K., R.C. Moellering and G.M. Eliopoulos. 2005. Antimicrobial combinations. In: Antibiotics in Laboratory Medicine. Lorian, V., ed. Lippincott Williams & Wilkins, PA, USA, 365-440.
- Saxena, G., A.R. McCutcheon, S. Farmer, G.H.N. Towers and R.E.W. Hancock. 1994. Antimicrobial constituents of *Rhus glabra*. J. Ethnopharmacol., 42, 95-99.
- Shibata, H., K. Kondo, R. Katsuyama, K. Kawazoe, Y. Sato, K. Murakami, Y. Takaishi, N. Arakaki and T. Higuti. 2005. Alkyl gallates, intensifiers of β -lactam susceptibility in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob. Agent. Chemother., VOL, 549-555.
- Stapleton, P.D., S. Shah, J.C. Anderson, Y. Hara, J.M.T. Hamilton-Miller and P.W. Taylor. 2004. Modulation of β -lactam resistance in *Staphylococcus aureus* by catechins and gallates. Int. J. Antimicrob. Agent., 23, 462-467.
- White, R.L., D.S. Burgess, M. Manduru and J.A. Bosso. 1996. Comparison of three different in vitro methods of detecting synergy: time-kill, checkerboard, and E test. Antimicrob. Agent. Chemother., 40, 1914-1918.

2008년 5월 21일 접수

2008년 6월 30일 수리