

다제내성 *Acinetobacter baumannii*에 유효한 방선균 B-51의 탐색 및 이 균주가 생산하는 항생물질 발효 최적 배양 조건

이문수* · 김관필** · †방병호

*한국생명공학연구원, **롯데제과, 을지대학교 식품영양학과

Screening and Optimal Culture Conditions of Antibiotic-Producing Actinomycetes B-51 for Multidrug Resistant *Acinetobacter baumannii*

Moon-Soo Rhee*, Gwan-Pil Kim** and †Byung-Ho Bang

*Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Daejeon 305-333, Korea

**Lotte Confectionery Co., Ltd., Seoul 305-964, Korea

Dept. of Food and Nutrition Science, Eulji University, Gyeonggi-do 461-713, Korea

Abstract

With the increase of the use of antibiotics and invasive procedures, infections caused by multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*(MRAB) are increasing. We screened the antibiotic producing strain B-51 for antibacterial activity against MRAB from the soils and studied the effects of culture medium on the antibiotic production of B-51. The medium conditions for maximum antibiotic productivity of B-51 was 2% glycerol, 0.5% soybean meal, 0.01% CaCl₂, 0.01% MgSO₄ · 7H₂O and 0.01% KH₂PO₄ at an initial pH of 6.0, at 30°C for 76 h.

Key words: *Acinetobacter baumannii*, Actinomycetes, antibiotic, cultural conditions, MRAB.

서 론

1928년 Fleming이 곰팡이로부터 항균작용이 있는 penicillin을 발견한 이후부터 항생물질의 역사가 시작되었으며(Pepler & Perlman 1979), 이후 1942년에 Waksman이 방선균으로부터 결핵균, 그람 양성 및 음성 균에 유효한 항생물질인 streptomycin을 발견하였다. 항생물질은 미생물이 생성하는 2차 대사산물로서 다른 미생물을 죽이거나 생장을 억제하는 물질을 말한다(Yi 등 1997). 지금까지 수천의 항생물질이 발견되었고, 그 중 상당수는 임상적으로 실용화되어 인류 복지에 기여를 하여 왔다. 그러나 아직도 새로운 항생물질이 요구되는 것은 기존의 항생물질에 대한 내성균의 출현과 미해결 상태의 각종 질병들을 극복하고자 하는 사회적 요구 때문이다(Yi 등 1997).

Penicillin의 실용화 이후 주로 방선균을 대상으로 새로운 항생물질의 탐색이 진행되고 있고, 현재까지 알려진 항생물질은 1만 여종에 이르며, 이 중에서 60% 이상이 방선균으로부터 생산되고 있다(Umezawa 등 1982). 최근에는 암이나 바이러스에 의한 질병에 유효한 물질의 연구도 진행 중이며, 내성균이나 그람 음성균 등에 유효한 신 항생물질이나 항생물질의 유도체 연구가 활발하게 이루어지고 있다(Chauhary & Hernandez 1997; Park & Sung 1998).

그러나 항생물질의 사용 및 침습적 처치가 많아지고, 면역 억제 환자가 증가함에 따라 다제내성균이 증가하는 추세이며, 특히 항생제를 많이 사용하고 있는 중환자실 입원 환자나 악성종양 환자에서는 다제내성 *Acinetobacter baumannii*(multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*; MRAB)에 의한 유행이 발생하고 있다(Lim 등 2006; Enoch 등 2008). 현재는 A.

† Corresponding author: Byung-Ho Bang, Dept. of Food and Nutrition Science, Eulji University, 212, Yangji-dong, Sujeong-gu, Sungnam-si, Gyeonggi-do 461-713, Korea, Tel: +82-31-740-7132, Fax: +82-31-740-7370, E-mail: gunnerbh@eulji.ac.kr

*baumannii*가 *Pseudomonas aeruginosa* 이후 두 번째로 많이 발견되고 있는 항생제 내성 병원균으로 주목받고 있다(Nakamura & Takahashi 2005).

*A. baumannii*는 호기성 그람 음성 간균으로 다양한 환경에서 생존하며 집락을 형성한다. *A. baumannii*는 거의 모든 항생제에 내재성 혹은 획득 내성을 보일 수 있어 후기 인공 환기 연관 폐렴을 일으킬 경우 항생제 선택이 제한되며, 경험적 항생제 치료로 imipenem 또는 다른 β -lactam계 항생제와 aminoglycoside계의 병합요법이 권장되고 있으나, 최근에는 이들 항생제에도 내성을 보이는 균주가 보고되고 있다(Seifert 등 1993). 그리고 우리나라에서도 carbapenem계 항생제에 내성을 갖는 다제내성 *A. baumannii* 균주가 병원성 폐렴의 중요한 원인균이 되고 있다(Park & Hong 2003; Hong 등 2004).

방선균은 특히 2차 대사 산물에 있어서 화학구조의 다양성과 수가 풍부함으로 인하여 산업적으로 가장 중요한 미생물로서 인식되고 있다. 즉, 항생물질, 효소, 저해제 등의 2차 대사 산물을 생산하는 미생물로 널리 이용되고 있으며, 2차 대사 산물 생산은 그 배양조건 및 배지의 성분에 많은 영향을 받는다(Weinberg ED 1974; Bang & Jeong 2009). 본 연구는 광범위 항생물질에 내성을 나타내는 *A. baumannii* 균주에 유효한 항생물질을 생산하는 방선균 B-51을 토양으로부터 순수 분리하였으며, 분리된 균주의 생산조건을 최적화하여 항생물질의 생산 능력을 높이는데 목적을 두었다.

재료 및 방법

1. 방선균의 순수분리

전국 각지의 식물 뿌리, 야산 등에서 토양을 채취하여 방선균의 분리에 이용하였다. 즉, 토양 시료는 80°C 건조기에서 1시간 건조시켜 soluble starch 1%, casein 0.03%, KNO₃ 0.2%, NaCl 0.2%, K₂HPO₄ 0.2%, MgSO₄ · 7H₂O 0.005%, CaCO₃ 0.002%, agar 1.8%(pH 7.0±0.2)를 포함한 방선균 분리 배지에 이를 직접 뿌려(soil direct method) 30°C에서 4일간 배양하였다. 육안으로 보아 방선균으로 생각되는 균주를 선별하여 방선균 분리 배지에 사면 배양하여 4°C에서 냉장 보관하였다.

2. 항생물질 생산균의 선별

1) 1차 선별

분리된 균주를 soluble starch 2%, yeast extract 0.3%, peptone 0.2%, K₂HPO₄ 0.01%, MgSO₄ · 7H₂O 0.01%, agar 1.8%(pH 7.0±0.2)를 포함한 배지(이하 발효 배지)에 획선법으로 접종하여, 30°C 배양기에서 4일간 배양한 후 이 배지에 시험균주인 *A. baumannii* 균을 streaking하고 37°C 배양기에서 18시간 더 배

양하여 항균 활성이 뛰어난 12개의 균주를 1차 선별하였다.

2) 2차 선별

1차 선별된 균주를 발효 배지에서 agar을 제외한 액체배지로 하여 각각 30°C에서 4일간 진탕배양한 후 거름종이(Whatman No. 2)로 여과하였다. 배양 여액 50 μ l를 paper disc에 각각 분주해서 완전히 건조시킨 후 BHI(Brain Heart Infusion, Difco) agar plate에 시험균을 cotton tip으로 2번 cross streaking 후 각각의 paper disc를 plate에 올려 확산과 동시에 37°C 배양기에서 8~12시간 배양하여 clear zone의 크기를 측정하여 3개의 균주를 2차 선별하였다.

3) 3차 선별

2차 선별을 통해 분리된 3균주를 다시 3번씩 발효 배지로 액체배양하여 paper disc법을 통해 항균 활성이 우수하고, 액체배양 시 peptone가 작고, pigment 생성이 적은 균 하나를 최종 선별하여 B-51이라 명명하였다.

3. 항균 활성의 측정

항생제의 항균 활성은 *A. baumannii* 균을 시험균으로 사용하였다. 최종 선별된 균주 B-51을 1차 선별 시와 동일한 배지에서 배양하여 배양 여과액 50 μ l를 paper disc에 각각 분주해서 완전히 건조시킨 후 생산된 항생물질의 항균력은 paper disc법을 이용하여 측정하였다. 즉, BHI(Brain Heart Infusion, Difco) agar plate에 시험균을 cotton tip으로 2번 cross streaking 후 각각의 paper disc를 plate에 올려 확산과 동시에 37°C 배양기에서 8~12시간 더 배양하여 clear zone의 크기를 측정하였다. 모든 실험은 동일한 조건에서 B-51 균주를 200 μ l 삼각 플라스크에 3개씩 발효 배지에서 액체배양하여, 실험상 오차를 제외한 평균값을 취하였다. 접종량을 같게 하기 위하여 Tween 80이 소량 첨가된 멸균수에 B-51 포자를 희석하고, 이 액을 살균한 micropipet으로 0.5 ml씩 접종하였다. 그리고 항생물질의 활성은 각 시험균마다 대조균을 정하여 상대 활성(relative activity)으로 나타내었다.

4. 균체량의 측정

배양액을 거름종이로 거르고 증류수로 충분히 세척한 후 100°C에서 24시간 건조한 다음 건조중량을 측정하여 dry cell weight(DCW) mg/100 ml로 나타내었다.

5. Final pH의 측정

액체배양이 끝난 B-51의 배양액을 거른 여과액의 pH를 실온에서 측정하였다. pH meter기의 probe는 배양액을 달리할 때마다 증류수로 세척 후 pH 값의 변동이 적은 값을 취하였다.

6. 선별균과 시험균의 보존

B-51 균주는 발효 배지로 계대배양하여 4°C 냉장 보관하고 3달에 한번씩 계대 보존하였다. 시험균은 강남 성모병원에서 분양받은 다제내성 *A. baumannii* 균을 BHI broth 배지 20 ml에 항생제 cefotaxim(CTX) 50 µg을 첨가하여 37°C에서 18~24시간 진탕배양하였다. 2주일에 한번씩 계대배양하였고, 감수성 시험도 매번 행하였다. 감수성 실험 시 사용되어지는 항생제는 *Pseudomonas* sp.의 원내 감염 시 처리되는 항생제를 사용하였고, paper disc를 통하여 기존의 최소발육 억제 농도와 비교하였다.

결과 및 고찰

1. 탄소원의 영향

각종 탄소원의 영향을 검토하기 위해서 발효 배지에 soluble starch 대신 각종 탄소원을 2%로 첨가하고 100 ml 삼각 플라스크에 20 ml씩 분주하여 pH 7.0으로 조절하였다. 이 배지를 고압증기 멸균하고 B-51 포자를 접종, 30°C에서 4일간 진탕배양 후 *A. baumannii*을 시험균으로 한 paper disc법으로 항균력을 측정하였다. 그 결과, glycerol를 100으로 했을 때, soluble starch 90%, Arabinose 72%, Mannose 68%, Dextrin 62% 순으로 그 상대 활성을 나타내었다. Glucose, lactose, sucrose 등에서는 항균 활성은 전혀 나타나지 않았다. 그리고 균의 생육은 cellulose가 645 mg%로 가장 잘 자랐으나 항균 활성은 전혀 나타나지 않았으며, glycerol, soluble starch에서도 생육이 좋았는데, 각각 520 mg, 505 mg 순으로 나타났었다(data not shown). Glycerol을 농도별로 달리 첨가하여 항균 활성을 조사한 결과는 Table 1에서 보는 바와 같이 2% 첨가 시 가장 높은 항균 활성을 보였다.

Ruichi 등(1994)은 MRSA에 항균력을 갖는 *Streptomyces* 속에서 분리한 aldecalmycin 생산에 2% galactose와 2% dextrin이 우수한 탄소원이라고 보고하였고, Masayuki 등(1995)은 방선균으로부터 naphthoquinone 생산에 2% dextran과 2.0% glycerol 이, 그리고 Katsuhisa 등(1995)은 *Streptomyces violaceusniger*로

부터 항생물질인 BE-24566B의 생산에 2% potato dextrin과 0.2% glucose가 가장 우수한 탄소원으로 나타났다고 하였다. 이러한 연구 등과 상이한 결과는 똑같은 방선균이라 할지라도 균주마다 적합한 탄소원이 다른 것이기 때문인 것으로 사료된다.

2. 질소원의 영향

항생물질 생산에 미치는 질소원의 영향을 조사하기 위해서 탄소원으로 glycerol 2%로 하는 발효 배지에 각종 유기 및 무기 질소원을 0.5% 첨가하여 100 ml 삼각 플라스크에 20 ml 씩 분주, pH 7.0으로 조절하고 고압증기 멸균 살균하여 30°C에서 4일간 진탕배양 후 *A. baumannii*을 시험균으로 이용한 paper disc법으로 항균력을 측정된 결과, soybean meal의 상대 활성을 100%로 하였을 때, tryptone, peptone, yeast extract가 각각 96%, 82% 및 48%의 순으로 나타났으며, 무기질소원 중에서는 어떤 것도 항균 활성이 전혀 나타나지 않았다. 균의 생육도를 보면 soybean meal 502 mg, tryptone 505 mg, yeast extract 435 mg이었다. 무기질소원으로는 (NH₄)₂HPO₄에서는 375 mg이었다(data not shown).

탄소원으로 2% glycerol과 질소원으로 soybean meal을 0~3%까지 첨가하고 같은 조건에서 paper disc법으로 항균 활성을 검토한 결과는 Table 2와 같이 0.5%에서 그 활성은 가장 좋았으나, 생육도는 soybean meal 농도가 0.5% 이상 높아감에 따라 점점 더 높아졌지만 항균 활성은 더 떨어졌다. 배양액의 pH 4.2 부근에서 항균 활성이 가장 높게 나타났으며, 생육도가 높고 항균 활성이 낮을 때는 배양액의 pH가 4.2보다 더 높게 나타났는데, 6.8이 넘으면서 그 활성은 완전히 나타나지 않았다.

Ruichi 등(1994)은 *Streptomyces* 속으로부터 aldecalmycin 생산에는 0.5% yeast extract가 좋은 질소원이라고 하였고, Masayuki 등(1995)은 방선균으로부터 naphthoquinone 생산에 유기질소원으로 1% bacto-soybean과 0.3% yeast extract가, 그리고 무기질소원으로는 0.2%(NH₄)₂SO₄가 양호하였다고 하였는데, 본 연구에서는 yeast extract에서는 48%의 항균 활성을 보였고,

Table 1. Effect of glycerol concentration on the antibiotic production of B-51

Conc. of glycerol(%)	Relative activity(%)	Cell growth(DCW, mg/100 ml)	Final pH
0	20	70	9.5
1	95	320	4.5
2	100	315	4.3
3	45	335	4.8
4	40	405	5.1
5	25	410	5.0

Each concentration of glycerol was added fermentation medium and cultivation was carried out for 4 days at 37°C with shaking.

Table 2. Effect of soybean meal concentration on the antibiotic production of B-51

Conc. of soybean meal(%)	Relative activity(%)	Cell growth(DCW mg/100 ml)	Final pH
0	0	100	6.2
0.5	100	486	4.2
1.0	82	510	4.5
1.5	56	522	6.8
2.0	0	550	7.5
2.5	0	566	8.0
3.0	0	560	8.8

Each concentration of soybean meal was added fermentation medium and cultivation was carried out for 4 days at 37°C with shaking.

(NH₄)₂SO₄에서는 전혀 항균 활성이 나타나지 않았는데, 이는 탄소원에서와 같이 균주에 따라 질소원도 서로 다른 것으로 나타났다. 균주가 다른 세균, 즉 *Bacillus* sp.로부터 항생물질 생성에 미치는 유기질소원을 검토한 Yoo 등(1999)의 결과에서도 peptone, malt extract, tryptone, soybean meal순으로 우수하였다는 보고와도 약간 상이하였다.

3. 금속염 및 인산염의 영향

본 균주로부터 항생물질 생산에 미치는 금속염 및 인산염의 영향을 검토하기 위해 탄소원으로 2% glycerol과 질소원 soybean meal 0.5%로 하여 여기에 금속염 및 인산염을 각각 0.01%씩 첨가하여 같은 조건에서 배양한 후 항균 활성을 조사한 결과는 Table 3과 같았다. 금속염으로 CaCl₂가 무 첨가구에 비해 항균 활성에 촉진적 효과를 보였다. 그리고 Li²⁺, Mn²⁺, Na¹⁺ 등은 약간 항균 활성을 저해하였으며, Ag¹⁺, Cu²⁺, Zn²⁺ 및 Pb²⁺ 등은 항균 활성을 완전 저해하였다. 인산염으로

Table 3. Effect of inorganic salts and phosphorus sources on the antibiotic production of B-51

Inorganic salts(0.01%)	Relative activity(%)	Cell growth(DCW mg/100 ml)	Final pH
None	88	210	5.28
Na ₂ SO ₄	65	385	4.89
AgNO ₃	0	325	5.88
LiSO ₄	79	496	5.01
MgSO ₄ · 7H ₂ O	90	515	4.83
CaCl ₂	100	505	4.79
MnSO ₄ · 4H ₂ O	75	345	4.72
CuSO ₄ · H ₂ O	0	505	6.61
ZnSO ₄	0	375	6.79
Pb(NO ₂) · 2H ₂ O	0	540	6.24
BaCl ₂ · 2H ₂ O	35	625	4.44
FeSO ₄ · 7H ₂ O	32	306	4.82
Phosphorus sources(0.01%)	Relative activity(%)	Cell growth(DCW mg/100 ml)	Final pH
None	70	655	4.06
KH ₂ PO ₄	100	605	4.48
K ₂ HPO ₄	85	465	4.40
Na ₂ HPO ₄	82	530	4.99
NaH ₂ PO ₄	45	510	4.16
NH ₄ H ₂ PO ₄	48	465	3.49
(NH ₄) ₂ HPO ₄	92	515	4.97

Each concentration of inorganic salts and phosphorus sources were added fermentation medium and cultivation was carried out for 4 days at 37°C with shaking.

KH_2PO_4 가 항균 활성 촉진에 가장 효과가 좋았다.

Bang BH(1997)의 방선균 BY-019에 의한 광범위 항생물질 생산에 Mg^{2+} 이온이 비첨가구에 비해 22% 정도 항생물질 생산을 촉진시켰다는 보고와 본 연구 결과와 또한 Mg^{2+} 가 항생물질 생산을 촉진시켰다는 Bang & Ha(1999)의 보고와도 일치하지 않았다. 본 연구에서는 Ca^{2+} 이 항생물질 생산에 촉진적으로 작용하였고, 인산염으로서는 KH_2PO_4 가 효과적이었다. 따라서 다음 실험에서는 glycerol 2%, 유기질소원으로 soybean meal 0.5% 그리고 금속염 및 인산염으로 CaCl_2 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 를 각각 0.01%로 첨가하여 사용하였다.

4. 초기 pH의 영향

본 균주로부터 항생물질 생산에 미치는 초기 pH의 영향을 조사하기 위하여 탄소원으로 2% glycerol과 질소원 soybean meal 0.5% 그리고 금속염 및 인산염으로 CaCl_2 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 를 각각 0.01%로 첨가한 발효 배지로 pH를 3~11까지 조절하여 30°C에서 4일간 배양한 결과, Fig. 1과 같이 pH 6.0에서 항균 활성이 가장 우수하였다. 이때 배양액의 pH는 3.5로 나타났으며, 균의 생육은 pH 5에서 가장 잘 생육하였다. 따라서 본 균주는 약산성균으로 추정된다.

방선균은 세균으로 최적 생육 pH가 7.0 부근에서 잘 생육한다. Ruichi 등(1994), Masayuki 등(1995), Katsuhisa 등(1995) 및 Bang & Ha(1999)의 연구 등의 방선균에 의한 각 항생물질의 생산 시에 최적 pH가 7.0 부근이었다는 결과와 본 연구와의 결과가 상이하였다.

5. 배양 온도의 영향

본 균주로부터 항생물질 생산에 미치는 초기 pH의 영향을 조사하기 위하여 탄소원으로 glycerol 2%와 질소원 soybean

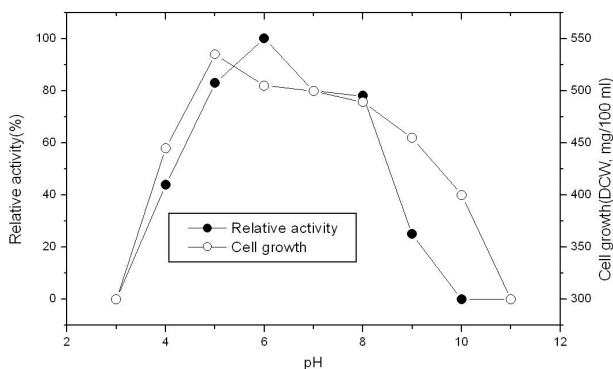


Fig. 1. Effect of initial pH on the antibiotic production of B-51. Cultivation was carried out for 4 days at 37°C with shaking in each pH and fermentation medium containing glycerol 2%, soybean meal 0.5%, CaCl_2 0.01%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01%, KH_2PO_4 0.01%.

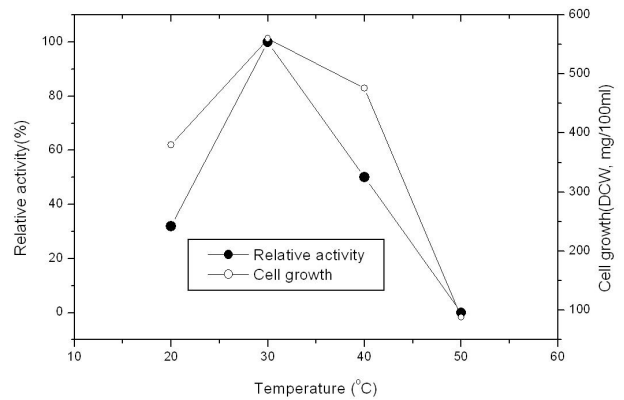


Fig. 2. Effect of temperature on the antibiotic production. Cultivation was carried out for 4 days at each temperature with shaking and fermentation medium containing glycerol 2%, soybean meal 0.5%, CaCl_2 0.01%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01%, KH_2PO_4 0.01%(pH 6.0).

meal 0.5% 그리고 금속염 및 인산염으로 CaCl_2 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 를 각각 0.01%로 첨가한 발효 배지(pH 6.0)로 온도를 20~50°C까지 조절하여 4일간 배양한 결과, Fig. 2와 같이 30°C에서 항균 활성과 생육이 가장 우수하였다.

Ruichi 등(1994), Masayuki 등(1995) 및 Bang & Ha(1999)의 연구에서도 방선균에 의한 각 항생물질의 생산 시에 최적 온도가 25~37°C 부근이었다는 결과와 본 연구와의 결과와 잘 일치하였다.

6. 배양 시간의 영향

이상에서 검토한 배지의 물리화학적 조성을 토대로 항생물질 생산이 최대인 시간대를 조사하기 위하여 72시간부터

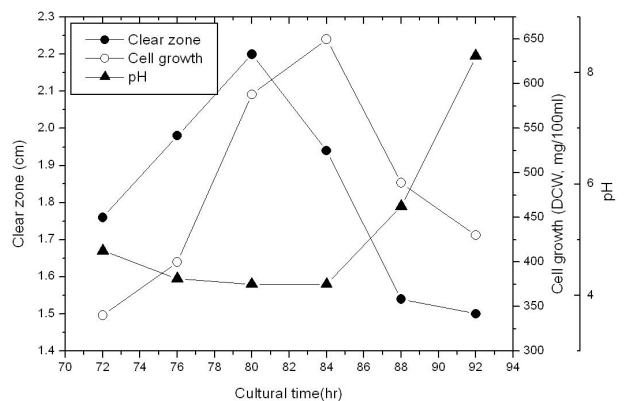


Fig. 3. Effect of culture time on the antibiotic production of B-51. Cultivation was carried out in each given time at 30°C with shaking and fermentation medium containing glycerol 2%, soybean meal 0.5%, CaCl_2 0.01%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01%, KH_2PO_4 0.01%(pH 6.0).

90시간까지 4시간 간격으로 항생물질의 생산성, 균의 증식 및 최종 pH를 측정하였다. 그 결과 72시간부터 항생물질 생산능이 증가하기 시작하여 80시간에 도달하여 최고를 이루었고, 84시간 이후부터는 점차 감소하기 시작하였다. 또한 지금까지 관찰되었던 것처럼 final pH 4.0~4.5 부근에서 항균 활성이 높게 측정되었으며, 건조 균체량은 약 550 mg/100 ml로 최고 증식량인 650 mg/100 ml보다는 약간 낮았다(Fig. 3).

Ruichi 등(1994), Masayuki 등(1995) 및 Bang & Ha(1999)의 72시간 만에 항생물질의 생산이 최고에 도달하였다는 보고보다 약간 늦은 결과를 나타내었다.

요 약

다제내성균 *A. baumannii*에 유용한 항생물질을 생산하는 방선균을 선별하기 위하여 토양에서 분리한 방선균 300여 균주를 대상으로 항균 활성을 실험하여 그 활성이 가장 뛰어난 B-51 균주를 최종적으로 선별하였다.

이 균으로부터 항생물질 생산을 위한 최적 조건을 조사하기 위하여 발효 배지를 기본배지로 하여 동일조건 하에서 탄소원, 질소원, 무기염 및 인삼염만을 다르게 하여 항균 활성을 실험한 결과 glycerol 2%, soybean meal 0.5%, CaCl₂ 0.01%, MgSO₄ · 7H₂O 0.01%, KH₂PO₄ 0.01%에서 항생물질 생산이 가장 높았다. 또한 이렇게 결정된 배지 조성에서 초기 pH 6.0, 배양온도 30℃, 배양시간 76시간 조건 하에서 항생물질 생산이 가장 많았다.

항생물질을 생산하는 대부분의 방선균이 항생물질 생산 시 배양액의 final pH가 중성 혹은 약 알칼리인 점을 비교해 볼 때 본 균주인 B-51의 경우 항생물질 생산능이 높은 경우 final pH 4.0 부근인 산성 pH를 보여 그간의 논문보고와는 상반되는 결과를 보였다.

참고문헌

- Bang BH. 1997. A study on the production of broad spectrum antibiotic by Actinomycetes BY-019. *Annual Bulletin of the Bum-Suk Scholarship Foundation* 1:287-295
- Bang BH, Ha BJ. 1999. An antibiotic from Actinomycetes becoming effective for Cephalosporin resistant pathogenic *Pseudomonas* sp. *Korean J Food & Nutr* 12:271-278
- Bang BH, Jeong EJ. 2009. Isolation and optimal producing conditions of broad spectrum antibiotics from *Streptomyces* sp. Y-88. *Korean J Food & Nutr* 22:103-109
- Chauhary SK, Hernandez O. 1997. A simplified procedure for the preparation of triphenylmethylethers. *Tetrahedron Lett* 23:95-98
- Enoch DA, Summers C, Brown NM, Moor L, Gillham MI, Burnstein RM, Thaxter R, Enoch LM, Matta B, Sule O. 2008. Investigation and management of an outbreak of multidrug-carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Cambridge, UK. *J Hosp Infect* 70:109-118
- Hong SG, Lee J, Yon D, Kim EC, Jeong SH, Park YJ. 2004. Antimicrobial resistance of clinically important bacteria isolated from 12 hospitals in Korea. *Korean J Clin Microbiol* 7: 171-177
- Katsuhisa K, Nakajima S, Fuse A, Suzuki H, Suda H. 1995. A new antibiotic produced by *Streptomyces violaceusniger*. *J Antibiotics* 45:599-605
- Lim YM, Choi TS, Kim JM. 2006. Determination of genospecies and characterization of antimicrobial resistance of multi-drug resistant *Acinetobacter* spp. isolates. *Korean J Bacteriol Virol* 36:21-30
- Masayuki I, Chen W, Tsuchida T, Umekita M, Sawa T, Naganawa H, Hamada M, Takeuchi T. 1995. New naphthoquinon antibiotics from Actinomycetes. *J Antibiotics* 48:1506-1508
- Nakamura T, Takahashi H. 2005. Screening of antibiotics resistance to Enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter baumannii* by an advanced expert system. *J Infect Chemother* 11:288-292
- Park AJ, Hong HR. 2003. Evaluation of methods for detection of antimicrobial resistance of *Acinetobacter baumannii* to imipenem. *Korean J Lab Med* 23:388-394
- Park HJ, Sung ND. 1998. Synthesis and antimicrobial activities of a new tetrayneol compounds. *Agri Chem Biotech* 42:258-263
- Peppler HJ, Perlman D. 1979. *Microbial Technology*, Vol. 1, Academic Press New York
- Ruichi S, Takahashi Y, Itoh S, Shmanaka K, Kinoshita N, Homma Y, Hamada M, Naganawa H, Sawa T. 1994. Aldecalmycin, a new antimicrobial antibiotic from *Streptomyces*. *J Antibiotics* 47:1266-1272
- Seifert H, Baginski R, Schulze A, Pulverer G. 1993. Antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter baumannii* species. *Antimicrob Agents Chemother* 37:750-753
- Umezawa H, Demain AL, Hata H. 1982. Trends antibiotic research, Japan Antibiotics Research Association, Tokyo
- Weinberg, ED. 1974. Secondary metabolism : Control by temperature and inorganic phosphate. *Dev Ind Microbiol* 15: 70-81

Yi DH, Kwon TJ, Choi TB, Kang SM, Jeong SH. 1997. Partial purification and properties of a broad-spectrum antibiotic from *Streptomyces* sp. LAM 90-2. *Konkuk Technology Research Symposium* 22:265-274

Yoo JH, Yoon SH, Koo BS, Koo YS, Park IC, Lee BM, Ryu

JC. 1999. Isolation, identification and culture conditions of the strain producing antibacterial antibiotic. *Korean J Pesticide Science* 3:1-7

(2010년 2월 18일 접수; 2010년 3월 5일 채택)