

임상가검물에서 분리된 녹농균의 항균제감수성*

계명대학교 의과대학 미생물학교실, 국군중앙의무시험소¹, 국군간호사관학교²

백원기·백성덕·서성일¹·박종욱²·서민호

서 론

녹농균은 물, 토양, 하수, 대변 및 피부 등에 널리 분포하고 있으며 *E. coli*, *Serratia*, *Klebsiella*등의 Gram음성균들과 함께 원내감염(nosocomial infection)의 주요 원인균으로 알려져 있다^[2]. 녹농균은 농, 혈액, 객담, 뇨 등의 임상가검물에서 분리되고 있으며, 화상, 당뇨병, 장기 이식수술후 면역억제제 사용 등으로 개체의 면역방어 기전이 저하된 숙주에서 기회감염(opportunistic infection)을 일으키는 경우가 많으며 폐혈증, 폐렴등의 치명적인 감염을 유발하기도 한다^[4].

대부분의 녹농균은 여러가지 약제에 고도의 다양성내성을 가지고 있어, 일단 감염이 되면 그 치료에 많은 어려움을 겪는 것으로 알려져 있다^[5]. 특히 penicillin계열의 약제만을 단독으로 치료에 사용하면 곧 녹농균이 약제내성을 획득하게 된다는 것은 주지의 사실이다^[6].

이러한 다양제내성균의 발생을 방지하기 위해서는 항균제를 투약하기 전에 항균제 감수성검사를 실시한 후, 감수성인 약제를 선별하여야 하며, 이와 동시에 적정량을 충분한 기간동안 투약하여야 한다. 항균제 감수성결과 판독 이전의 투약은 그 지역의 균의 항균제 내성유형과 변천양상을 염두에 두고 이루어져야 한다.

저자들은 녹농균에 의한 감염증의 치료약제 선별에 자료를 제공하고, 항균제내성의 정도와 양상을 파악하고자, 최근에 분리한 녹농균을 대상으로 각종 항균제에 대한 감수성 검사를 시행하였다.

재료 및 방법

1. 균주분리 및 동정

계명대학교 의과대학 미생물학교실에서 각종 임상가검물로부터 분리동정한 *Pseudomonas aeruginosa* 100주를 실험에 사용하였다. 동정기준은 Lennette^[7]과 Koneman^[8]의 방법에 준하였다.

2. 항균제

nalidixic acid(Na), enoxacin(Ex), norfloxacin(Nf), ciprofloxacin(Cp), ofloxacin(Of), pefloxacin(Pf), carbenicillin(Cb), ampicillin(Ap), cephalothin(Ct), cefamandole(Cf), moxalactam(Mx), streptomycin(Sm), amikacin(Ak), kanamycin(Km), gentamicin(Gm), tobramycin(To), chloramphenicol(Cm), tetracycline(Tc), sulfisomidine(Su), trimethoprim(Tp), rifampin(Rf) 등 21종의 항균제를 사용하여 실험하였다. 각 항균제는 규정된 용매에 용해시켜 고농도의 용액을 만들어 소분하여 냉동보존하면서 필요시 1개씩 취하여 사용하였다.

3. 항균제감수성검사

항균제감수성검사는 평판희석법^[9]에 준하여 검사하였다. 감수성검사용배지는 순차적으로 회색된 소정농도의 항균제가 함유된 Mueller-Hinton agar (MHA, Difco Co.)를 사용하였고, 공시균을 tryptic soy broth(TSB, Difco Co.)에 하루 배양한 후, 생리식염수로 100배 회색하여 Steers' multiple inoculator^[10]로 접종하여 37°C에서 하루 배양시킨 다음, 균발육 유무를 보아 최소발육저지농도(Minimal

* 이 논문은 1992년도 계명대학교 윤종연구비 및 동산의료원 조사연구비로 이루어졌다.

Inhibitory Concentration : MIC)를 결정하였다. 균의 50% 및 90% MIC는 주로 Smith 등¹¹⁾ 이 제시한 방법에 따라 산출하였다. 매 실험마다 정도관리를 위하여 *E. coli* ATCC 25922와 *P. aeruginosa* ATCC 27853을 함께 공시하였다.

성 적

각종 임상가검물에서의 녹농균의 분리빈도를 표1에 나타내었다. 분리된 총 100주 중 뇨와 창상부위에서 각각 35주와 34주가 분리되어 전체 분리율의 69%를 차지하였으며 그 다음으로 sputum, ear, catheter tip 순의 분리빈도를 나타내었다.

Table 1. Isolation frequency of *Pseudomonas aeruginosa* from clinical specimens

Clinical specimens	No.(%) of strains isolated
Urine	35(35)
Wound	34(34)
Sputum	16(16)
Ear	6(6)
Catheter tip	3(3)
Pleural fluid	2(2)
Eye	2(2)
Throat	1(1)
Cervix	1(1)
Total	100

표2는 21종의 항균제에 대하여 각종 임상가검물로부터 분리된 실험녹농균의 항균제 내성율과 minimal inhibitory concentration (MIC)를 나타낸 표이다. 전체적으로 quinolone계열의 약제에 대해서는 26-96% 내성을 나타내었으며, β -lactam계열에는 41-100%, aminoglycoside 계열약제에는 56-94%, 기타약제에는 97-99%의 내성도를 나타내어, 전반적으로 거의 모든 실험약제에 높은 내성을 나타내었다. 가장 낮은 내성도를 나타낸 약제는 Nf로서 26% 내성을 보였으며, Cp, Of, Pf, Mx에는 32-35%의 비교적 낮은 내성도를 Ex, Cb, Ak, Gm, To, Rf에는 41-61%, 나머지 10개 약제에는 85-100% 내성을 나타내었다. MIC 범위는 Na, Ct, Tc, Su, Tp, Rf를 제외한 15약제에서 실험최소약제농도에서 실험최고약제농도까지의 범위를 나타내었다. 50%MIC는 Nf와 Cp가 <0.5 μ g/ml로 실험최소약제농도 이하를 보였으며 Ap, Ct, Cf, Sm,

Table 2. Antibacterial activity of drugs to 100 strains of *P. aeruginosa*

Drugs ^{a)}	No.(%) of resistant strains ^{b)}	MIC (μ g/ml) ^{c)}		
		Range	50%	90%
1. Quinolones				
Na	96(96)	16->256	256	>265
Ex	44(44)	<0.5->64	0.6	>64
Nf	26(26)	<0.5->64	<0.5	>64
Cp	32(32)	<0.5- 64	<0.5	25.6
Of	34(34)	<0.5->64	0.9	>64
Pf	35(35)	<0.5->64	0.9	>64
2. β-lactam antibiotics				
Cb	41(41)	<4->512	70.4	>512
Ap	99(99)	<2->256	>256	>256
Ct	100(100)	>256	>256	>256
Cf	99(99)	32->256	>256	>256
Mx	34(34)	<2->256	14.7	144
3. Aminoglycosides				
Sm	85(85)	<2->256	>256	>256
Ak	56(56)	<2->256	25.6	>256
Km	94(94)	<2->256	>256	>256
Gm	61(61)	<2->256	146.3	>256
To	59(59)	<2->256	51.2	>256
4. Others				
Cm	99(99)	<1->256	>256	>256
Tc	98(98)	8->256	52.6	>256
Su	99(99)	128->2048	>2048	>2048
Tp	98(98)	4->256	99.2	>256
Rf	47(47)	8-64	15.3	29.2

a) Abbreviation: see text.

b) Criteria of resistance were determined as described in NCCLS.

c) 50% and 90% are MICs required to inhibit 50 and 90% of the strains, respectively.

Km, Cm, Su는 실험최고약제농도 이상을 나타내었다. 균의 실질적인 내성화 정도를 파악할 수 있는 90% MIC에서 Cp이 25.6 μ g/ml로 가장 낮았으며, 그 다음이 Rf 29.2 μ g/ml, Mx 144 μ g/ml 이었으며, 나머지 18약제는 모두 실험최고약제농도 이상을 나타내었다. 표3은 실험 21종 약제에 대한 녹농균의 항균제 내성유형을 정리한 것이다. 최고 21종 약제에서 최소 3종 약제까지의 중복내성을 나타내었으며, 실험한 21종 약제 모두에 중복내성을 나타낸 균주가 10주로서 전체의 10%를 차지하였다. 내성유형을 보면 Cm, Tc, Sm, Su, Ap, Tp, Ak, Km, Gm, To, Ct, Cf, Na의 13종 약제에 내성인 균이 13주로서 가장 많았으며 그 다

Table 3. Antimicrobial resistant patterns of *Pseudomonas aeruginosa* against 21 drugs

Multiplicity of resistance	Resistance pattern	No. of strains
21	CmTcSmSuApTpAkKmGmToCtCfMxExNfCpOfPfNaRfCb	10
20	CmTcSmSuApTpAkKmGmToCtCfMxExNfCpOfPfNaCb	8
19	CmTcSmSuApTpAkKmGmToCtMxExNfCpOfPfNaCb CmTcSmSuApTpAkKmGmToCtCfExNfCpOfPfNaCb	1 1
	CmTcSmSuApTpKmGmToCtCfMxExNfCpOfPfNaCb	1
	CmTcSmSuApTpAkKmGmCtCfMxExNfCpOfPfNaCb	1
18	CmTcSmSuApTpAkKmGmToCtCfExCpOfPfNaCb	4
17	CmTcSmSuApTpAkKmCtCfMxExNfCpOfPfNa CmTcSuApTpAkGmToCtCfMxExNfCpOfPfCb	2 1
	CmTcSmSuApTpAkKmCtCfMxExCpOfPfNaRf	1
	CmTcSmSuApTpAkKmGmToCtOfPfNaRfCb	1
	CmTcSmSuApTpAkKmGmToCtCfExPfNaRfCb	1
16	CmTcSmSuApTpKmCtCfMxExOfPfNaRfCb CmTcSmSuApTpAkKmGmToCtCfOfPfNaCb	1 1
	CmTcSmSuApTpAkKmGmToCtCfMxNaRfCb	1
15	CmTcSmSuApTpAkKmGmToCtCfNaRfCb CmTcSuApTpAkKmToCtCfNfCpPfNaRf	2 1
14	CmTcSmSuApTpAkKmGmToCtCfExCb CmTcSmSuApTpAkKmGmToCtCfNaCb	1 1
	CmTcSmSuApTpAkKmGmToCtCfNaRf	1
	CmTcSmSuApTpKmGmToCtCfNaRfCb	1
13	CmTcSmSuApTpAkKmGmToCtCfNa CmTcSmSuApTpKmGmToCtCfNaRf	13 3
	CmTcSmSuApTpKmGmToCtCfMxNa	2
12	CmTcSmSuApTpKmGmToCtCfNa CmTcSmSuApTpAkKmCtCfNaRf CmTcSmSuApTpKmCtCfMxNaRf CmTcSmSuApTpKmCtCfOfNaRf	2 1 1 1
	CmTcSmSuApTpKmToCtCfNaRf	1
11	CmTcSmSuApTpKmCtCfNaRf CmTcSmSuApTpAkKmCtCfNa CmTcSmSuApTpKmGmCtCfNa CmTcSmSuApTpKmCtCfNaCb CmTcSuApTpAkKmCtCfNaRf CmTcSmSuApTpGmCtCfNaRf CmTcSuApTpKmGmToCtCfNa	11 1 1 1 1 1 1
10	CmTcSmSuApTpKmCtCfNa CmTcSuApTpKmCtCfNaRf CmTcSuApTpCtCfMxNaRf	7 2 1
9	CmTcSuApTpKmCtCfNa CmTcSmSuApAkKmCtCf CmTcSmSuApTpCtCfNa	3 1 1
7	SmSuApTpGmCtCf	1
3	CtCfNa	1
Total		100

음으로 많은 것이 Cm, Tc, Sm, Su, Ap, Tp, Km, Ct, Cf, Na, Rf의 11종 약제에 다약제내성인 균이었다.

고 칠

녹농균은 *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* 등과 함께 원내감염의 주요 원인균으로 알려져 있으며 특히 녹농균은 다약제에 고도의 내성을 가지는 것이 많아 치료에 어려움을 가지고 있다^[2]. 병원내에서는 빈번히 항균제가 사용되어 균의 항균제 노출의 기회가 많아 내성균의 출현빈도도 높을 뿐 아니라 새로 개발된 항균제에도 우선적으로 노출되기 때문에 내성획득도 빠른 것으로 알려져 있다. 원내감염은 입원가료중인 환자의 약 5.5% 내외에서 발생하며 이 중 녹농균에 의한 감염은 약 11%정도의 빈도를 보인다^[3]. 녹농균의 감염은 외과적 수술부위, 창상, 뇨료 및 호흡기계통을 위주로 하여 신체의 거의 모든 부위에서 발생한다^[4,5]. 이번 실험에서 각종 임상가검물에서의 녹농균 분리빈도는 뇨와 창상부위가 35%와 34%로 전체의 69%를 차지하였으며 그 다음이 객담과 이감염의 순으로 나타나 백등^[3], 서등^[4]과 유사한 결과를 보였다.

녹농균은 다수의 약제에 내성을 가지는 것이 많으므로 감염증 치료시 감수성인 약제를 선별투여하는 것이 매우 중요하다. 이번 실험에서 quinolone계열의 약제를 포함한 21종의 약제로 항균제내성실험을 실시한 결과, 녹농균의 항균제내성이 심각함을 알 수 있었다. quinolone계열에는 Na를 제외한 Ex, Nf, Cp, Of, Pf에 대한 균의 내성을이 26-44%로 나타나 기타 다른 약제에 비하여 내성을이 낮은 것으로 나타났으며, 이는 서등^[5]의 보고와 유사하였다. 그러나 90% MIC는 Cp을 제외하고는 모두 실험최고항균제농도 이상을 나타내어 내성인 균은 고도의 내성을 가지고 시사하였다. β -lactam계열의 항균제 중 Ap, Ct, Cf에는 99-100%의 내성을 나타내어 약효를 전혀 기대할 수 없었으며, Cb과 Mx은 41%와 34%의 내성을 나타내어 어느 정도 약효를 기대할 수 있을 것으로 사료되었다. Gm을 비롯한 aminoglycoside 계열의 항균제는 녹농균의 치료약제로 널리 사용되어 왔으나, 최근 이들에 내성인균의 빈도가 차츰 증가되고 있는 실정이다^[2,14]. 이번 실험에서도 Gm은 61%, To은 59%, Ak은 56%를 나타내어 과거에 비해 상당히 내성이 증가했음을 알 수 있었고 특히 Ak은 임등^[6], 문등^[7], 서등^[12]에 비하여 현저한 내성균의 증가를

나타내었다. 기타약제중 Rf을 제외한 Cm, Tc등은 98-99%의 내성을 보여 거의 모든 균이 내성이었다. 균의 실질적인 내성정도를 파악할 수 있는 90% MIC는 Cp, Mx, Rf을 제외한 거의 모든 실험약제에서 실험최고농도 이상을 보였으며, 다약제내성양상에서 실험 21종 약제 모두에 내성인 균이 10%에 달하고 있어, 녹농균의 약제 내성화 정도가 매우 심각하였다. 다약제내성균이 날로 증가하는 오늘날에 있어 감염증의 치료시 항균제의 선택은 항균제 감수성검사 성적을 바탕으로하여 이루어져야 하겠으며, 최근에 개발된 약제들에도 내성균이 많이 생겨나고 있어, 항균제 자유판매등으로 약제남용이 이루어지고 있는 우리나라의 사회제도적 문제점의 개선이 이루어져야 할 것으로 생각된다. 또한 항균제내성의 본태를 파악하기 위하여 R plasmid 연구등이 활발히 이루어져야 할 것으로 사료된다.

요 약

각종 임상가검물에서 분리한 녹농균 100주를 대상으로 21종의 항균제에 대한 항균제감수성검사를 시행하였다. 각종 임상가검물에서의 녹농균의 분리빈도는 뇨와 창상부위에서 각각 35주와 34주로 분리균의 약 2/3를 차지하였으며 그 다음으로 객담과 이감염의 순이었다.

21종 항균제에 대한 감수성검사를 시행하였던 바 각 항균제 계열별로는 quinolone계열약제에는 26-96%, β -lactam계열 41-100%, aminoglycoside계열 56-94%, 기타약제 97-99%의 내성을보였으며, 각 약제별로는 Nf가 26%로 가장 낮았으며 Cp, Of, Pf, Mx 32-35%, Ex, Cb, Ak, Gm, To, Rf 41-61%, 나머지 10개 약제에서는 85-100%의 내성을 나타내었다. 90% 균주의 성장을 억제하는 90% MIC는 Cp 25.6 μ g/ml, Rf 29.2 μ g/ml, Mx 144 μ g/ml이었으며, 나머지 18약제에는 실험최고항균제농도 이상을 나타내어 내성균이 고도의 내성을 가지고 있음을 시사하였다. 다약제내성양상은 최소 3종에서 최고 21종까지 다약제내성을 가지고 있었으며, Cm, Tc, Sm, Su, Ap, Tp, Ak, Km, Gm, To, Ct, Cf, Na의 13종 약제에 내성을 보인 것이 13주로 가장 많았다.

참 고 문 헌

1. Sherertz RT, Sarubbi FA: A three-year study

- of nosocomial infections associated with *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clin Microbiol* 1983; 18: 160-164.
2. Joklik WK, Willett HP, Amos DB, et al: *Zinsser microbiology*, ed 19. Connecticut, Appleton & Lange, 1988, pp 341-342, 487-492.
 3. Flick MR, Cluff LE: *Pseudomonas* bacteremia: review of 108 cases. *Am J Med* 1976; 60: 501-508.
 4. Pennington JE, Reynolds HY, Carbone PP: *Pseudomonas pneumonia*: a retrospective study of 36 cases. *Am J Med* 1973; 55: 155-160.
 5. 박광서, 이유철, 서민호, 설성용, 조동택, 전도기: 병원재료에서 분리한 Gram음성간균의 항균제내성 및 R plasmid. *대한화학요법학회지* 1983; 1: 83-94.
 6. Ma MY, Goldstein EJC, Friedman MH, et al: Resistance of gram-negative bacilli as related to hospital use of antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 1983; 24: 347-352.
 7. Lennette EH, Balows A, Hausler WJ Jr, et al: *Manual of clinical microbiology*, ed 4. Washington DC, American Society for Microbiology, 1985, pp 350-372.
 8. Koneman EW, Allen SD, Dowell VR Jr, et al: *Color atlas and textbook of diagnostic microbiology*, ed 2. Philadelphia, JB Lippincott Co, 1988, pp 9.
 9. National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Standard methods of dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically*. Villanova, NCCLS, 1983, pp 67-71.
 10. Steers E, Glotz EL, Graves BS: Inocula replication apparatus for routine testing of bacterial susceptibility to antibiotics. *Antimicrob Chemother* 1959; 9: 307-311.
 11. Smith JA, Henry D, Ngui-Yen J, et al: Comparison of agar dilution, microdilution, and disc elution methods for measuring the synergy of cefotaxime and its metabolite against anaerobes. *J Clin Microbiol* 1986; 23: 1104-1108.
 12. 서성일, 박종욱, 전도기: 임상재료에서 분리한 각종 세균의 항균제 내성. *대한미생물학회지* 1987; 22: 283-294.
 13. 백태원, 이유철, 조동택, 전도기: 1983년에 분리된 *Pseudomonas aeruginosa*의 항균제 내성 및 pyocin형. *대한화학요법학회지* 1984; 2: 115-123.
 14. 서성일, 박종욱, 서민호: 녹농균의 항균제내성 및 pyocin형. 계명의대논문집 1989; 8(2): 248-254.
 15. 서병우, 차영범, 박철희, 이성준, 백원기, 서성일, 서민호: 요분리 그람음성간균의 quinolone계 및 기타 항균제의 내성. *대한비뇨기학회지* 1991; 32 (2): 264-273.
 16. 임영수, 이유철, 서민호, 설성용, 조동택, 전도기: *Pseudomonas aeruginosa*의 pyocin형 및 항균제 내성. *대한화학요법학회지* 1983; 1: 270-279.
 17. 문충렬, 이유철, 설성용: 동 유래 Gram음성균의 항균제 내성. *대한화학요법학회지* 1984; 2(2): 134-144.

=Abstract=

Antimicrobial Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Clinical Specimens

Won Ki Baek, MD; Sung Duck Paik, MS; Seong Il Suh, MD¹;
Jong Wook Park, MD²; Min Ho Suh, MD

*Department of Microbiology, Keimyung University
School of Medicine, Korean military general laboratory¹ and
Armed forces nursing academy², Taegu, Korea*

A total of 100 strains of *Pseudomonas aeruginosa* were isolated from urine(35), wound(34), sputum(16), and other clinical specimens, and tested for antimicrobial susceptibility to 21 drugs including 6 drugs of quinolones, 5 of β -lactam antibiotics, 5 of aminoglycosides, and 5 other drugs.

Among the 100 strains of *P. aeruginosa*, 26% of the strains were resistant to norfloxacin, 32-35% to ciprofloxacin, ofloxacin, pefloxacin, and moxalactam, 41-61% to enoxacin, carbenicillin, gentamicin, tobramycin, and rifampin, and 85-100% to the other 10 drugs.

MIC 90% of the majority of drugs tested were higher than tested antimicrobial concentration except ciprofloxacin, rifampin, and moxalactam. All strains were found to be resistant to more than 3 drugs and 83 strains were resistant to more than 10 drugs.

Key Words: Antimicrobial resistance, *Pseudomonas aeruginosa*