

E test를 이용한 그람음성 간균의 항균제 MIC측정

마산삼성병원 임상병리과, 계명대학교 의과대학 임상병리학교실 및 의과학연구소*
김영재 · 김재룡*

The Determination of MIC of Antimicrobial Agents in Gram Negative Bacilli with E Test

Young Jae Kim, M.D. and Jae Ryong Kim, M.D.*

Department of Clinical Pathology, Masan Samsung Hospital, Masan,

Department of Clinical Pathology*, Keimyung University, School of Medicine & Institute for Medical Science, Taegu, Korea

-Abstract-

For the adequate treatment to infectious disease, it is necessary to identify the etiologic organisms and evaluate the susceptibility to antimicrobial agents. As the patterns of resistance to various antimicrobial agents is persistently changing, the significance of the antimicrobial susceptibility test is enhanced more and more. We investigated that the usefulness of the E test(AB Biodisk, Solna, Sweden) for antimicrobial susceptibility test to gram negative bacilli.

From December, 1996 to March, 1997, 118 strains of gram negative bacilli isolated from Dongsan Medical Center, Keimyung University were investigated. The minimal inhibitory concentration(MIC) was estimated by E test. Antimicrobial agents used in E test were imipenem, ceftazidime, piperacillin/tazobactam, ciprofloxacin, gentamicin, ceftriaxone, amikacin, amoxicillin/clavulanic acid, aztreonam, cefotaxime, cefuroxime, and piperacillin. The criteria for antimicrobial susceptibility was the guidelines of the National Committee for Clinical Laboratory Standards(1993).

Among the 118 strains of gram negative bacilli analyzed by E test, *A. baumannii*, *E. coli*, *P. aeruginosa* and *K. pneumoniae* were each 20, 19, 26, and 9 strains. In the cases of *A. baumannii*, all strains were sensitive to imipenem and MIC range was 0.5~2 µg/mL, MIC₅₀ was 0.5 µg/mL, and MIC₉₀ was 2 µg/mL. The half of the strains were sensitive to aztreonam, and the majority were resistant to most antimicrobial agents, except amikacin, aztreonam and imipenem. Among 19 strains of *E. coli*, all strains were sensitive to imipenem and MIC range was 0.13~2 µg/mL, MIC₅₀ was 0.5 µg/mL, and MIC₉₀ was 2 µg/mL. The majority were resistant to amoxicillin/clavulanic acid and piperacillin(9 and 12 strains). In the 26 strains of *P. aeruginosa*, 22 strains were sensitive to imipenem and each 2 strains were intermediate and resistant to imipenem. MIC range to imipenem was 0.38~64 µg/mL, MIC₅₀ was 2 µg/mL, and MIC₉₀ was 8 µg/mL. Most of strains were sensitive to ceftazidime, piperacillin/tazobactam, ciprofloxacin, amikacin, aztreonam, and piperacillin, but most of strains were resistant to gentamicin, ceftriaxone, amoxicillin/clavulanic acid, cefotaxime, cefuroxime.

The E test had been found to be valuable and to be a rapid, convenient and reliable method for estimating MIC and detecting high-resistance to various antimicrobial agents.

Key Words : E test, MIC, Gram negative bacilli

서 론

항균제 감수성 검사법에는 디스크 확산법, 한천 배지 회석법 및 액체배지 회석법 등이 있는데 후자의 경우에는 시험판법(macrodilution)과 미량액체회석법(microdilution) 등이 있으며, 상품화된 microdilution kit가 다수 사용되고 있는데, 표준법과 비교했을 때 그 정확성은 약 90~95% 전후로 알려져 있다(정윤섭 외, 1993).

최근 새로이 개발된 간편한 항균제 감수성 및 최소증식 저지농도(minimal inhibitory concentration, 이하 MIC)측정법으로 AB Biocdisk(Solna, Sweden)사의 PDM Epsilometer test(이하 E test)가 소개되었다. 이는 기존의 디스크 확산법을 응용한 것으로서 각각 분리균주의 항생제 감수성 검사를 MIC로 측정하는 것인데, plastic strip에 미리 준비된 항균제가 연속적, 단계적 농도로 발라져 있다. 균이 도말된 항생제 감수성 검사용 한천배지에 놓아 일주야 배양 후 생긴 타원형 혹은 tear-drop모양의 증식 저지대가 plastic strip을 교차하는 지점의 농도로 MIC를 측정할 수 있는 아주 간편하며, 신속한 방법이다. 그리고 이 방법은 협기성 세균(Wust 및 Hardegger, 1992) 및 증식이 까다로운 균종에도 적용할 수 있으며, 세균의 증식주기 및 접종균량의 변동 등에는 그다지 영향을 받지 않는 것으로 알려져 있다(Miles 및 Amyes, 1996).

Campylobacter 종의 경우에도 일부 검사실에서는 디스크 확산법, 액체 배지 및 한천배지 회석법 등으로 항생제 감수성 검사를 시행하며, micro-dilution법이 비교적 좋은 성적으로 이용되고 있는데, MIC측정을 위하여 E test 등의 여러 검사법을 적용한 결과 우수한 성적을 나타내었다고 한다(Teover et al, 1992). 또한 고전적인 한천회석법과 잘 일치하는 정량적인 결과를 보여 주었다고 한다. 뿐만 아니라 methicillin resistance *Staphylococcus aureus*(MRSA)의 항생제 감수성 검사

시에도 E test(Difco, USA)를 이용하여 타방법과 비교한 결과 모든 MRSA 분리균주에서 정확한 결과를 보여 주었다고 한다(Novak et al, 1993).

저자들은 그람음성 간균을 대상으로 항균제 감수성 검사 및 MIC 측정에 E test를 적용하였으며 임상적인 유용성을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 대상균주

1996년 12월부터 1997년 3월까지 계명대학교 동산의료원 임상병리과 미생물검사실에서 분리된 임상검체를 대상으로 하였다. 대상균주는 그람음성 간균으로서 *Acinetobacter baumanii*(이하 *A. baumanii*), *Escherichia coli*(이하 *E. coli*), *Klebsiella* spp., *Pseudomonas aeruginosa*(이하 *P. aeruginosa*) 등의 118 균주였다(Table 1).

2. 평가기준

항생제 감수성 검사의 판정기준은 NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1993)의 기준에 의하여 결정하였으며 MIC의 기준에 의한 감수성, 중등도 감수성, 저항성의 판정은 Table 2에 준하였다.

3. E test (AB Biocdisk, Solna, Sweden)

E test를 위한 한천배지는 Antibiotic sensitivity medium(BBL, USA)을 이용하였으며, 대형 petri dish(직경 150mm)에 두께 4mm($4 \pm 0.5\text{mm}$)정도가 되도록 하였다. 고식적인 방법으로 분리된 상기 118종의 균주를 Müller-Hinton 액체배지에 18시간 일주야 배양하여 McFarland 탁도 0.5정도로 조정하여 멸균 면봉으로 Antibiotic sensitivity medium에 균등하게 도말하였다. 균부유액의 농

Table 1. Gram negative bacilli assayed with E test

Gram negative bacilli	Number of strains
<i>Acinetobacter baumanii</i>	20
<i>Citrobacter freundii</i>	2
<i>Escherichia coli</i>	19
other <i>Escherichia</i> spp.	1
<i>Enterobacter</i> spp.	5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1
other <i>Klebsiella</i> spp.	4
<i>Morganella morganii</i>	5
<i>Providencia</i> spp.	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	26
other <i>Pseudomonas</i> spp.	2
<i>Proteus mirabilis</i>	6
<i>Proteus rettgeri</i>	1
<i>Proteus vulgaris</i>	4
<i>Salmonella</i> spp.	3
<i>Serratia</i> spp.	5
<i>Xanthomonas maltophilia</i>	4
total :	118

Table 2. Interpretive standards for susceptibility testing*

Antimicrobial agent and Organism	MIC(µg/mL)		
	Susceptible	Intermediate	Resistant
Imipenem	≤4	8	≥16
Ceftazidime	≤8	16	≥32
Piperacillin/tazobactam			
<i>P. aeruginosa</i>	≤64/4		≥128/4
Other gram-negative bacilli	≤16/4	32/4~64/4	≥128/4
Ciprofloxacin	≤1	2	≥4
Gentamicin	≤4	8	≥16
Ceftriaxone	≤8	16~32	≥64
Amikacin	≤16	32	≥64
Amoxicillin/clavulanic acid			
Aztreonam	≤8	16	≥32
Cefotaxime	≤8	16~32	≥64
Cefuroxime	≤8	16	≥32
Piperacillin			
<i>P. aeruginosa</i>	≤64		≥128
Other gram-negative bacilli	≤16	32~64	≥128

* NCCLS(National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1993)

Table 3. The results of antimicrobial susceptibility by E test

Organisms		IP	TZ	PTc	CI	GM	TX	AK	XL	AT	CT	XM	PP
<i>A. baumanii</i>	S	20	1	2	1	1	1	8 5	1	10	1	10	1
	I		18	17	19	19	9	7	9	10	9	10	9
<i>E. coli</i>	S	19	16	16	18	15 1	14	17	4 6	14	14	10 5	5
	I		3	3	1	3	5	2	9	5	5	5	12
<i>Escherichia</i> spp.	S	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	R												
<i>Enterobacter</i> spp.	S	5	3	3	4	5	3	5	3	3	3	2 1	3
	I		2	1	1		2		2	2	2	2	2
<i>K. pneumonia</i>	S	9	8	9	9	8	7 1	8	7 1	7 1	7 1	6 1	3
	I		1			1	1	1	1	1	1	2	5
<i>Klebsiella</i> spp.	S	4	4	4	4	3	4	4	2 1	4	4	4	2
	I					1			1				2
<i>K. oxytoca</i>	S	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	R												
<i>M. morganii</i>	S	2 2	3 2	4 1	3 1	2 3	4 1	5	5	3 1	2 1	2	3
	I		2	1	1	1				1	1	5	2
<i>P. aeruginosa</i>	S	22 22	21 3	20	16 9	9 3	3 12	15 7		15 4	8 7		18
	I	2	2	6	9	14	11	4	26	7	11	26	6
<i>Pseudomonas</i> spp.	S	2	2	2	2	2		2		1 1	2		2
	I						1		2	1			
<i>P. mirabilis</i>	S	5	5	5	5	3 1	4	5	3 1	5	4 1	4	3
	I	1	1	1	1	2	2	1	2	1	1	2	3
<i>P. rettgeri</i>	S	1	1	1	1		1	1		1	1		1
	I						1			1			
<i>P. vulgaris</i>	S	4	3	4	4	4	2	4	1 1	3	2	1	2
	I		1				2		1	1	2	3	2
<i>Salmonella</i> spp.	S	3	2 1	3	3	3	2 1	3	2 1	2 1	2 1	2	3
	I		1	2	1	2	2	1	5	1	2	5	2
<i>Serratia</i> spp.	S	4 1	4	3	4	3	2 1	4		3 1	2 1		3
	I	1	1	2	1	2	2	1		1	2		
<i>X. maltophilia</i>	S	1	2 1	1 2	1	1		1	1				1
	I	3	1	2	3	3	4	3	3	4	4	4	3
<i>C. freundii</i>	S	1	2	2	2	2	2	2		2	2	2	2
	I	1							2				
<i>Providencia</i> spp.	S	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	R					1							

S; susceptable, I; intermediate susceptable, R; resistant

IP; imipenem, TZ; ceftazidime, PTc; piperacillin/tazobactam, CI; ciprofloxacin,
GM; gentamicin, TX; ceftriaxone, AK; amikacin, XL; amoxicillin/clavulanic acid,
AT; aztreonam, CT; cefotaxime, XM; cefuroxime, PP;piperacillin

Table 4. Antimicrobial susceptibility of *A. baumannii* by E-test

Antimicrobial agents	MIC(µg/mL)		
	Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
Imipenem	0.5~2	0.5	2
Ceftazidime	8~≥256	137	256
Piperacillin/Tazobactam	8~≥256	256	≥256
Ciprofloxacin	0.25~256	64	64
Gentamicin	0.5~≥256	64	64
Ceftriaxone	16~≥256	≥256	≥256
Amikacin	1~≥256	24	256
Amoxicillin/Clavulanic acid	8~≥256	256	≥256
Aztreonam	32~≥256	≥256	≥256
Cefotaxime	16~≥256	256	≥256
Cefuroxime	64~≥256	≥256	≥256
Piperacillin	8~≥256	256	≥256

Table 5. Antimicrobial susceptibility of *E. coli* by E-test

Antimicrobial agents	MIC(µg/mL)		
	Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
Imipenem	0.13~2	0.25	2
Ceftazidime	0.25~≥256	0.5	256
Piperacillin/Tazobactam	1~≥256	4	256
Ciprofloxacin	0.03~64	0.25	1
Gentamicin	1~≥256	2	64
Ceftriaxone	0.03~≥256	0.25	256
Amikacin	1~≥256	4	16
Amoxicillin/Clavulanic acid	4~≥256	16	64
Aztreonam	0.03~≥256	0.13	≥256
Cefotaxime	0.03~≥256	0.13	128
Cefuroxime	4~≥256	4	≥256
Piperacillin	2~≥256	≥256	≥256

Table 6. Antimicrobial susceptibility of *P. aeruginosa* by E-test

Antimicrobial agents	MIC(µg/mL)		
	Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀
Imipenem	0.38~64	2	8
Ceftazidime	1~≥256	3	24
Piperacillin/Tazobactam	2~≥256	8	256
Ciprofloxacin	0.13~64	0.25	64
Gentamicin	1~≥256	8	256
Ceftriaxone	8~≥256	32	≥256
Amikacin	0.25~≥256	16	256
Amoxicillin/Clavulanic acid	64~≥256	≥256	≥256
Aztreonam	2~≥256	16	256
Cefotaxime	4~≥256	32	≥256
Cefuroxime	256~≥256	≥256	≥256
Piperacillin	2~≥256	8	256

도가 너무 높을 경우에는 성장대의 경계가 분명하지 않고 광범위한 농도에 걸쳐 성장대의 경계가 퍼져 나타날 수 있으므로 가능한 McFarland 탁도 0.5를 맞추었다. 한천배지의 표면이 마르기 전에 E test strip을 놓을 경우는 경계선이 고르지 않고 불규칙 할 수 있기 때문에 약 15분간 방치하여 과다한 수분이 건조되게 한 다음 E test strip을 핀셋과 E test applicator로 주형에 맞추어 한천배지 표면에 놓는다. 일단 접종에 된 strip은 항생제가 배지로 스며 들 수 있기 때문에 옮기지 않고 두었다. 한천배지를 35°C에서 18~24시간 배양한 후 E test strip과 타원형의 성장억제대가 만나는 교차점을 MIC라고 판정하였으며(Fig. 1), 타원형의 중심 저지대안에 소수의 균이 존재할 때는 내성이 있는 것으로 간주하고 중심이 억제된 가장 높은 농도의 결과를 MIC로 보고하였다. 그리고 판정의 정확성을 위하여 2명의 관찰자가 E test 결과를 동시에 판독하여 일치를 보이는 농도를 최종 MIC로 판정하였다. 본 연구에 이용된 E test 항생제는 imipenem, ceftazidime, piperacillin/tazobactam, ciprofloxacin, gentamicin, ceftriaxone, amikacin, amoxicillin/clavulanic acid, aztreonam, cefotaxime, cefuroxime, piperacillin 등 12종이였다.

4. 감수성 검사의 정도관리

항균제 감수성검사의 정도관리를 위한 표준균주로는 *E. coli* ATCC 25922와 ATCC 35218 및 *P. aeruginosa* ATCC 27853 등 3균주를 이용하였다.

동일한 조건하에서 시험하여 그 결과가 허용범위내에 포함될 때 시험균주에 대한 검사가 정확하게 된 것으로 판정하였다.

결 과

E test에 이용된 118종의 그람음성 간균종 *A. baumannii*가 20균주, *E. coli* 19균주, *P. aeruginosa* 26균주, *K. pneumoniae* 9균주 및 기타균주들로 구성되어 있었다(Table 1). NCCLS(1993)의 규정에 의하여 MIC로 분석한 각기 균종별 항균제에 대한 감수성의 결과는 다양하게 나타났다(Table 2, 3). 병원내 오염균이나 원내감염의 주 원인이

될 수 있는 *E. coli*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *X. maltophilia* 등의 경우에는 여러 항생제, 특히 cepha계 및 beta-lactam계에는 대다수의 균주가 저항성을 보이고 있었다.

*A. baumannii*의 경우 imipenem만이 모든 균주에 감수성을 나타내어 MIC 범위는 0.5~2 µg/mL였고, MIC₅₀은 0.5 µg/mL, MIC₉₀은 2 µg/mL이었다. Aztreonam에만 반수의 균주가 감수성이었고, amikacin, aztreonam, imipenem을 제외한 기타 항생제에 과반수 이상이 저항성균주로 판정되었다(Table 2, 3).

E. coli 19균주는 imipenem에 모두 감수성이었고 MIC 범위는 0.13~2 µg/mL였고, MIC₅₀은 0.5 µg/mL, MIC₉₀은 2 µg/mL이었다. 18균주에서 ciprofloxacin에 감수성을 나타내며, MIC 범위는 0.03~64 µg/mL였고, MIC₅₀은 0.25 µg/mL, MIC₉₀은 1 µg/mL이었다. 17균주에서 amikacin에 감수성을 나타내며, MIC₅₀은 4 µg/mL, MIC₉₀은 16 µg/mL이었다. Amoxicillin/clavulanic acid 및 piperacillin의 경우는 과반수 이상이 저항성(각각 9 및 12례)으로 판정되었다. Piperacillin은 단독으로 사용되었을 경우보다는 tazobactam 등의 beta-l actamase inhibitor와 혼합된 PTc(piperacillin/ tazobactam 4)에 감수성이 증가되어 나타났다(Table 2, 3).

P. aeruginosa 26균주중 imipenem에 22균주가 감수성이 있었고, 각각 2균주가 중등도 감수성 및 저항성을 보였다. Imepenem에 대한 MIC 범위는 0.3 8~64 µg/mL였고, MIC₅₀은 2 µg/mL, MIC₉₀은 8 µg/mL이었다. Ceftazidime, piperacillin/ tazobactam, ciprofloxacin, amikacin, aztreonam, piperacillin 등에 대다수의 균주가 감수성을 나타낸 반면 gentamicin, ceftriaxone, amoxicillin/ clavulanic acid, cefotaxime, cefuroxime 등에는 대다수의 균주가 저항성을 보였다(Table 2, 3).

고 칠

항균제 감수성 검사의 방법으로는 고식적인 디스크 확산법 및 액체배지 회석법과 한천배지회석법이 있는데 후자의 두가지 방법은 항균제의 최소증식저지 농도(MIC) 및 최소 살균 농도(MBC)까지 구할 수 있다는 점에서 감수성 유무만을 확인

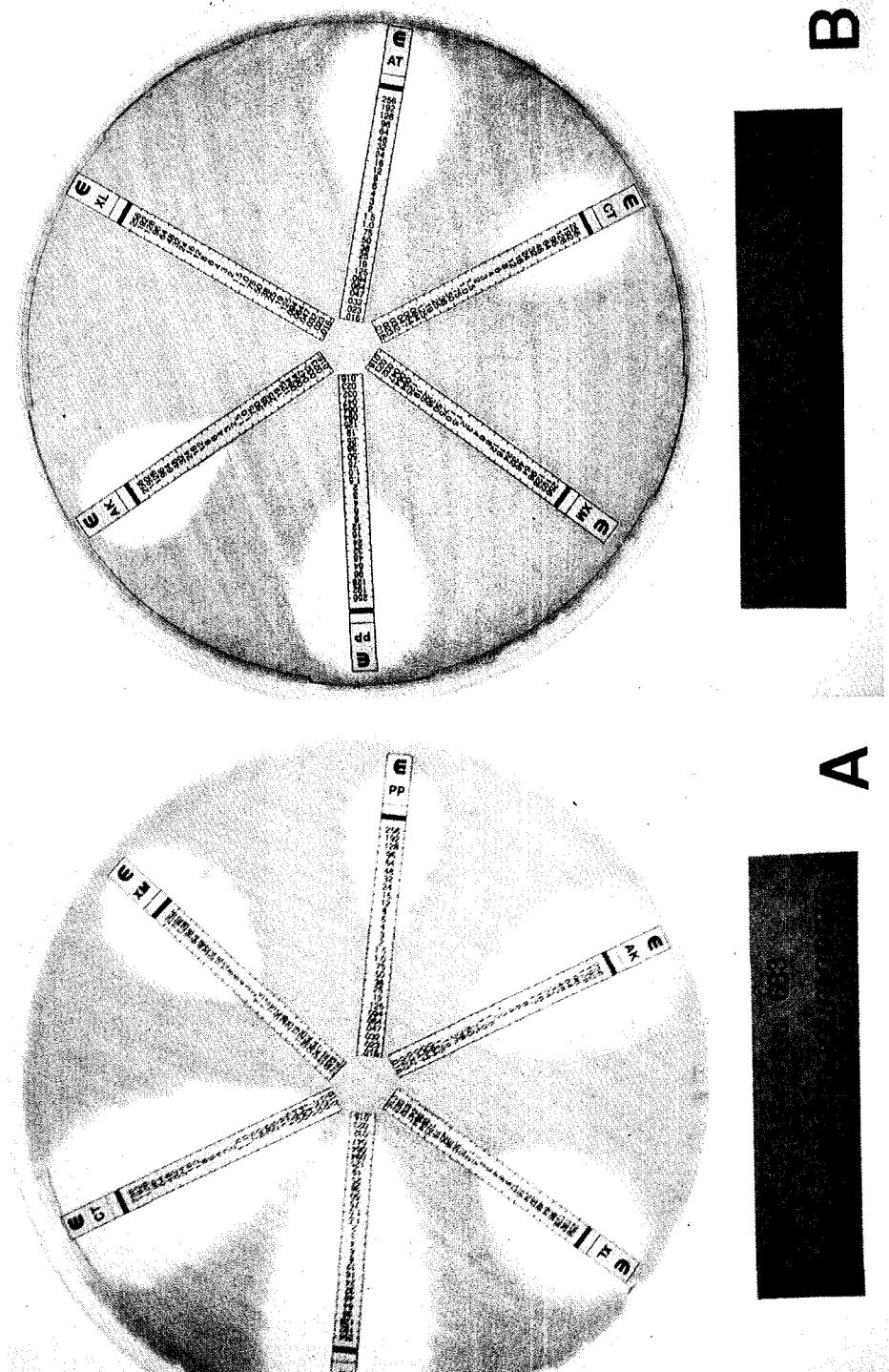


Fig. 1. Quantitative gradient susceptibility agar diffusion test(E test) of *K. pneumoniae*(A) and *P. aeruginosa*(B) against six separate antibiotics(One on each E test strip) on a large antibiotic sensitivity test agar plate(diameter 150mm).

할 수 있는 디스크 확산법과 차이가 있다.

최근에 새로이 개발된 E test(AB Biodisk, North America, Inc., Piscataway, NJ)는 디스크 확산법을 응용한 것으로서 MIC를 측정할 수 있어 그 유용성이 증가하고 있는 추세이다(Finegold, 1988). 항균제가 함유된 여파지 strip은 보통 5 x 50 mm 정도로서 strip의 양 측면에 단계적으로 농도구배를 갖는 항균제가 발라져 있다(0.002~32 µg/mL, 0.016~256 µg/mL). 배양 후 증식 저지대의 모양은 디스크 확산법의 원형과는 다르게 타원형 혹은 tear-drop형을 나타내게 되고 strip을 가로지르는 증식 저지대에 해당하는 항균제의 농도가 MIC가 되게 된다. E test는 고식적인 미량 액체회석법과 비교하였을 때 95% 정도의 일치율을 보이고 있으며, 아직 FDA의 승인을 받지는 않았지만 술식의 간단함과 편리성의 이유로 유럽 등지에서는 임상적으로 점차 이용되고 있는 추세이다. 디스크 확산법을 시행하고 있는 검사실에서 쉽게 적용할 수 있으며, 또한 디스크 확산법으로는 구할 수 없는 MIC를 측정할 수 있을 뿐만 아니라 손쉽게 여러 가지 항균제에 대해서도 MIC를 구할 수 있다.

E test의 신뢰성 및 재현성은 *P. aeruginosa*를 대상으로 MIC를 측정하였을 때 매우 우수하였으며(Marley et al, 1995), 다양한 균종의 세균과 진균류에서 E test와 기존의 액체, 한천회석법 및 미량회석법 등과 상당히 일치된 결과를 보여 주고 있다(Baker et al, 1991; Douglas et al, 1994; Hoffner et al, 1994; Van Dyck et al, 1994; Colombo et al, 1995). 또한 E test는 *Enterococcus*중에서 amino-glycosides에 고 수준의 내성을 보이는 균주를 검출(Schulz 및 Sahm, 1993)하거나 혐기성 세균(Wust 및 Hardegger, 1992)과 *Pneumococcus* 균종 중 cephalosporin 저항성(Jorgensen et al, 1994; Macias et al, 1994) 등을 손쉽고 간편하며 신빙성 있게 측정을 할 수 있다고 하였다. 그러나 *Pneumococcus*에 대한 quinolones 감수성 검사 판독시에는 주의를 요하는데, 일부 예에서 위 감수성을 보일 수도 있기 때문이라고 하였다(Andrews et al, 1993).

저자들이 본 연구에서 E test strip을 사용해본 결과 디스크 확산법을 시행하고 있는 검사실이라

면 별다른 술식의 변화없이 쉽게 E test를 시행할 수 있는 것으로 생각되었으며, 보다 정확한 검사 결과를 얻기 위해서는 다음과 같은 몇가지 주의점이 필요하다고 사료되었다. 첫째, 균부유액의 농도가 너무 높을 경우에는 증식 저지대의 경계가 분명하지 않고 광범위한 농도에 걸쳐 증식대의 경계가 퍼져 나타날 수 있으므로 가능한 McFarland 탁도 0.5를 맞추어 균주간 농도의 표준화가 필요 하리라고 사료되었다. 둘째, 한천배지의 표면이 완전히 마르기 전에 E test strip을 놓을 경우는 경계선이 고르지 않고 불규칙 할 수 있다. 그러므로 약 15분간 방치하여 과다한 수분이 건조되게 한 다음 조심스럽게 E test strip을 편셋과 E test applicator로 주형에 맞추어 한천배지 표면에 놓고 일단 접종에 된 strip은 항균제가 배지로 스며 들 수 있기 때문에 옮기지 않고 두었다. 이때 E test 접종을 위하여 고안된 vacuum devices를 이용할 경우 보다 쉽게 시행 수 있다. 또한 세 번째로 판정의 정확성을 얻기 위하여 여러명의 관찰자가 E test 결과를 동시에 판독하여 일치를 보이는 농도를 최종 MIC로 판정할 필요도 있다고 사료된다. 뿐만 아니라 E test strip의 보관과 제습도 주의하여야 한다고 생각되는데 이상의 사항들은 공통적으로 디스크 확산법의 경우에도 주의하여야 할 요소라고 생각된다.

본 실험의 결과 임상분리균주의 종류에 따라서 각종 항균제에 대한 저항성이 다양하게 나타났으므로 다음과 같은 사항을 고려하여 각종 원인균에 대한 항균제를 적절하게 선택하여야 한다고 생각된다. 고무적인 사항은 imipenem제제에 저항성을 나타내는 균주가 일부 균종에서 나타났다는 사실인데, 본 실험의 결과 *Pseudomonas*, *Morganella* 및 *Proteus* 등에서 소수지만 저항성을 나타내었고, 특히 *X. maltophilia* 4 균주 중 3균주에서 imipenem에 저항성을 보였다. *A. baumannii* 균주는 cephalothin 및 β -lactam계 및 β -lactamase inhibitor제에 저항성을 나타내는 경우가 많았고 imipenem만이 모든 균주에 감수성을 나타내어 MIC 범위는 0.5~2 µg/mL였다. Aztreonam 및 amikacin에만 약 반수의 균주가 감수성이었을 뿐 기타 항균제에 과반수 이상이 저항성 균주로 판정되어 *A. baumannii*를 위한 항균제 선정에 유의하여야 할 것으로 사

료되었다. *E. coli* 19균주는 imipenem에 모두 감수성이 있었고, piperacillin은 단독으로 사용되었을 경우보다는 tazobactam 등의 beta-lactamase inhibitor와 혼합된 piperacillin/tazobactam에 감수성이 증가되어 나타났으므로 항균제 선정에 고려하여야 할 것으로 사료되었다. *P. aeruginosa* 26균주 중 imipenem에 22균주가 감수성이었고, 각각 2균주가 중등도 감수성 및 저항성을 보였다.

Ceftazidime, piperacillin/tazobactam, ciprofloxacin, amikacin, aztreonam, piperacillin 등에 대다수의 균주가 감수성을 나타낸 반면 gentamicin, ceftriaxone, amoxicillin/clavulanic acid, cefotaxime, cefuroxime 등에는 대다수의 균주가 저항성을 보였다. 이상의 결과를 통해 분리균주마다 항균제 감수성 유형이 다양하게 나타나므로 적절한 항균제 치료를 위해서는 감수성 검사가 필수적이며, 여러 임상분석자료를 토대로하여 항균제를 선정하여야 할 것으로 생각된다. 각종 임상분리균주에 대한 항균제 감수성 검사가 정기적으로 보고되면 임상의들도 이를 바탕으로 감수성 및 저항성의 경향을 파악하여 항균제를 선정하여야 항균제 남용 및 오용을 방지할 수 있을 것이다.

이상의 결과를 통하여 E test가 술식이 간편하고 조작 및 처리에 시간이 단축되며, 판정에 어려움이 별로 없는 점 등의 장점이 있어 임상미생물 검사실에 적용이 유용하리라고 생각된다. 또한 기존의 액체배지 및 한천배지 희석법, 혹은 미량 액체희석법으로 측정하였던 MIC를 손쉽게 측정 할 수 있을 뿐만 아니라 실제 항균제의 치료시 혈중 항균제 농도의 결정이나 저항균주의 발견에 큰 도움이 될 수 있다고 사료된다.

요약

감염성 질환의 적절한 치료를 위해서는 원인균의 분리동정과 함께 항균제에 대한 감수성 여부가 중요한 요소가 된다. 항균제에 대한 내성의 유형이 끊임없이 변화되고 있어 항균제 감수성 검사가 날로 중요성이 증대되고 있다. 저자들은 그람음성 간균을 대상으로 항균제 감수성 검사에 E test를 적용하였으며 임상적인 유용성을 알아보고자 하였다.

1996년 12월부터 1997년 3월까지 계명대학교 동산 의료원 임상병리과에서 분리된 그람음성 간균 118균주를 대상으로 하였다. E test(AB Biodisk, Solna, Sweden)를 이용하여 최소 증식 저지농도(MIC)를 측정하였다. E test에 이용된 항균제는 imipenem, ceftazidime, piperacillin/tazobactam, ciprofloxacin, gentamicin, ceftriaxone, amikacin, amoxicillin/clavulanic acid, aztreonam, cefotaxime, cefuroxime, piperacillin 등 12종이었다. 항균제 감수성 검사의 판정기준은 National Committee for Clinical Laboratory Standards(1993)의 기준에 의하여 결정하였다.

E test에 이용된 118종의 그람음성 간균 중 *A. baumannii*가 20균주, *E. coli* 19균주, *P. aeruginosa* 26균주, *K. pneumoniae* 9균주 및 기타균주들로 구성되어 있었다. *A. baumannii*의 경우 imipenem 만이 모든 균주에 감수성을 나타내어 MIC 범위는 0.5~2 µg/mL였고, MIC₅₀은 0.5 µg/mL, MIC₉₀은 2 µg/mL이었다. Aztreonam에만 반수의 균주가 감수성이 있었고, amikacin, aztreonam, imipenem 을 제외한 기타 항균제에 과반수 이상이 저항성 균주였다. *E. coli* 19균주는 imipenem에 모두 감수성이었고 MIC 범위는 0.13~2 µg/mL 였고, MIC₅₀은 0.5 µg/mL, MIC₉₀은 2 µg/mL이었다.

Amoxicillin/clavulanic acid 및 piperacillin의 경우는 과반수 이상이 저항성(각각 9 및 12례)으로 판정되었다. *P. aeruginosa* 26균주 중 imipenem에 22균주가 감수성이 있었고, 각각 2균주가 중등도 감수성 및 저항성을 보였다. Imipenem에 대한 MIC 범위는 0.38~64 µg/mL였고, MIC₅₀은 2 µg/mL, MIC₉₀은 8 µg/mL이었다. Ceftazidime, piperacillin/tazobactam, ciprofloxacin, amikacin, aztreonam, piperacillin 등에 대다수의 균주가 감수성을 나타낸 반면 gentamicin, ceftriaxone, amoxicillin/clavulanic acid, cefotaxime, cefuroxime 등에는 대다수의 균주가 저항성을 보였다.

E test는 MIC를 간편하고, 신속하게 측정 할 수 있을 뿐만 아니라 실제 항균제의 치료시 혈중 항균제 농도의 결정이나 각종 항균제에 대한 저항균주의 신속한 발견에 큰 도움이 될 수 있다고 사료된다.

참 고 문 헌

- 정윤섭, 이경원, 이삼열 : *최신 진단미생물학*, 제 2 판, 서울, 서홍출판사, 1993, pp313-345.
- Andrews JM, Bradley JE, Wise R : Comparision of 'E' test with conventional agar MIC. *J Antimicrobial Chemotherapy* 1993;31:802-803.
- Baker CN, Stocker SA, Culver DH, Thornsberry C : Comparision of the E test to agar diffusion, broth microdilution, and agar diffusion susceptibility testing techniques by using a special challenge set of bacteria. *J Clin Microbiol* 1991;29:533-538.
- Colombo AL, Barchiesi F, McGough DA, Rinaldi MG : Comparision of the E test and reference agar dilution method for susceptibility of gram-negative anaerobic organisms. *Am J Clin Pathol* 1993;100:301-303.
- Douglas CP, Siarakas S, Gottlieb T : Evaluation of E test as a rapid method for determining MICs for nutritionally variant *streptococci*. *J Clin Microbiol* 1994;32:2318-2320.
- Finegold SM : Susceptibility testing of anaerobic bacteria. *J Clin Microbiol* 1988;26:1253-1256.
- Hoffner SE, Klintz BOL, Bolmstrom A : Evaluation of E test for rapid susceptibility testing of *Mycobacterium cheloneae* and *M. fortuitum*. *J Clin Microbiol* 1994;32:1846- 1849.
- Jorgensen JH, Ferraro MJ, McElmeel ML, Spargo J, Swenson JM, Tenover FC. Detection of penicillin and extended-spectrum cephalosporin resistance among *Streptococcus pneumoniae* clinical isolates by use of the E test. *J Clin Microbiol* 1994;32:159-163.
- Macias EA, Mason EO, Ocera HY, LaRocco MT : Comparision of E test with standard broth microdilution for determining antibiotic susceptibilities of penicillin-resistant strains of *Streptococcus pneumoniae*. *J Clin Microbiol* 1994;32:430-432.
- Marley EF, Mohla C, Campos JM : Evaluation of E test for determination of antimicrobial MICs for *Pseudomonas aeruginosa* isolates from cystic fibrosis patients. *J Clin Microbiol* 1995;33:3191-3193.
- Miles RS, Amyes SGB : Laboratory control of antimicrobial therapy. In : Collee JG, Fraser AG, Marmion BP, Simmons A(eds) : *Practical medical microbiology*. 4th Ed. London, Churchill Livingstone, 1996, pp 151-178.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards : Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests fir bacteria that grow aerobically. National Committee for Clinicla Laboratory Standards, Villanova, Pa. 1993. Approved standard M7-A3.
- Novak SM, Hindler J, Bruckner DA : Reliability of two novel methods, Alamer and E test, for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 1993;31: 3056-3057.
- Schulz JE, Sahm DF : Reliability of the E test for detection of ampicillin, vancomycin, and high-level aminoglycoside resistance in *Enterococcus* spp. *J Clin Microbiol* 1993 ;31:3336-3339.
- Tenover FC, Baker CN, Fennell CL, Ryan CA : Antimicrobial resistance in *Campylobacter* species. In : Nachamkin I, Blaser MJ, Tompkins LS(eds), *Campylobacter jejuni* : Current status and future trends. American Society for Microbiology, Washington DC. ch 8, pp66-73.
- Wust J, Hardegger U : Comparision of the E test and a reference agar dilution method for susceptibility testing of anaerobic bacteria. *Eur J Clin Microbiol* 1992;11: 1169-1173.