



Vibrio vulnificus에 대한 항균제의 작용과 그 병합효과

Antimicrobial Activity and Combination Effect of Drugs to Vibrio vulnificus

저자 (Authors)	하대유, 온기곤, 황희성, 박종욱 Tai You HA, Ki Kon Own, Hee-Sung Whang, Jong-Wook Park
출처 (Source)	The Journal of the Korean Society for Microbiology 26(6) , 1991.12, 519-530 (12 pages)
발행처 (Publisher)	대한미생물학회 The Korean Society For Microbiology
URL	http://www.dbpia.co.kr/Article/NODE01487026
APA Style	하대유, 온기곤, 황희성, 박종욱 (1991). Vibrio vulnificus에 대한 항균제의 작용과 그 병합효과. The Journal of the Korean Society for Microbiology, 26(6), 519-530.
이용정보 (Accessed)	계명대학교 203.247.13.27 2016/01/11 09:06 (KST)

저작권 안내

DBpia에서 제공되는 모든 저작물의 저작권은 원저작자에게 있으며, 누리미디어는 각 저작물의 내용을 보증하거나 책임을 지지 않습니다.

이 자료를 원저작자와의 협의 없이 무단게재 할 경우, 저작권법 및 관련법령에 따라 민, 형사상의 책임을 질 수 있습니다.

Copyright Information

The copyright of all works provided by DBpia belongs to the original author(s). Nurimedia is not responsible for contents of each work. Nor does it guarantee the contents.

You might take civil and criminal liabilities according to copyright and other relevant laws if you publish the contents without consultation with the original author(s).

*Vibrio vulnificus*에 대한 항균제의 작용과 그 병합효과

전북대학교 의과대학 미생물학교실* 및 계명대학교 의과대학 미생물학교실**

하대유* · 온기곤* · 황희성* · 박종욱**

= Abstract =

Antimicrobial Activity and Combination Effect of Drugs to *Vibrio vulnificus*

Tai-You Ha*, Ki-Kon Own*, Hee-Sung Whang* and Jong-Wook Park**

Department of Microbiology and Immunology, Chonbuk National University Medical School, Chonju, Korea *

Department of Microbiology, Keimyung University School of Medicine, Taegu, Korea**

Thirty eight strains of *Vibrio vulnificus* isolated from various specimen were tested for antimicrobial susceptibility to 12 drugs by microdilution broth method. Against most of the strains tested, tetracycline (Tc), moxalactam (Mx), cefamandole (Cf), chloramphenicol (Cm), gentamicin (Gm), cephalothin (Ct), and tobramycin (To) showed good antimicrobial effect, and streptomycin, ampicillin showed intermediate antibacterial effect or resistance. In order to search for combined antimicrobial activity between Tc and other drugs to *Vibrio vulnificus*, about 20 strains randomly selected were tested by checkerboard method. Most of drugs showed additive or antagonistic activity with Tc, but Ct-Tc or To-Tc showed no antagonistic activity on all of strains tested, and they showed synergistic activity against 1 and 2 strains, respectively. These results suggest that single administration of Tc, Mx, Cf, Cm and Gm, or Tc-Ct and Tc-To combined medication can be useful for the treatment of *Vibrio vulnificus* infections.

Key Words : *Vibrio vulnificus*, Antibiotics, Combination drug effect.

서 론

*Vibrio vulnificus*는 Sakazaki등²⁹⁾에 의해 *Vibrio* biotype 6330으로 최초로 연구되었으며, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio alginolyticus*와 더불어 호염성 *Vibrio*에 속하는 그람음성간균이다. 본 균은 해수나 해산물에 서식하는 해양미생물로 알려져 있으며^{13,27)}, 생화학적 성상이 *Vibrio parahaemolyticus*와 유사하여 이 균의 세균학적 성상에 대해 많은 연구가 진행되어 왔으며,^{2,6~8,10,11,17,21,22,28)} 미국의 CDC (center for disease control)에서는 이 균의 lactose분해성에 근거하여 L+ *Vibrio* 또는 *Vibrio vulnificus*라 명명하였다¹⁹⁾. 본 균은 초기에는 비병원성으로 알려졌으나, 이후 여러 증례와 연구를 통하여 이 균은 주로 구강과 상처를 통하여 패혈증^{13,15,32,35)}, 창상감염^{12,13,32)},

cellulitis^{18,36)} 및 심내막염등³⁴⁾의 여러가지 질환을 일으키며, 특히 패혈증인 경우 만성활동성 간염이나 간경화등의 간장질환이나 습관성 과음 등으로 간기능이 저하된 자 또는 백혈병이나 당뇨병환자등 저항성이 약한 사람에게서 잘 발생하며 이 경우 속발되는 쇼크로 인해 수일 내에 그 사망율이 50%이상인 되는 것으로 보고되고 있다^{1,13)}.

이러한 본균의 높은 병원성을 고려할 때, 치료시 본 세균에 우수한 항균력을 갖는 항균제를 선택하는 것이 무엇보다 중요하며, 중증인 경우 높은 항균력을 가진 약제를 병용하여 치료를 시도하는 것이 바람직하다. 본 균에 항균력이 높은 약제로는 tetracycline (Tc)이 잘 알려져 있으며^{14,25)}, 그외 chloramphenicol, gentamicin (Gm), cephalothin, tobramycin, nalidixic acid, ampicillin (Ap)등도 상당한 항균력을 보

이는 것으로 보고되고 있다.^{6,13,19,20,24)} 그러나 주등⁶⁾은 본 균이 Ap에 중등도의 감수성을 보이며, 이등⁵⁾은 aminoglycosides 항생제인 Gm과 제 3세대 cephalosporins 항생제에 대하여 내성을 보였다는 보고도 있어 아직 본 균에 대한 각항균제의 효과에 대해 더 많은 연구가 필요한 실정이다. 그리고 또한 본 세균에 대한 항균제 병용효과에 대한 보고는 이등³⁾ 및 하등⁹⁾의 보고를 제외하고는 찾아보기 힘든 실정이며, 이들의 보고에서도 대상균주 및 공시약제수가 한정되어 있어 항균제 병용효과에 대해 보다 많고 정확한 정보는 얻기 힘든 실정이다.

따라서 저자는 *Vibrio vulnificus* 표주균주 및 환자나 해산물 등에서 분리한 38주를 대상으로 미량액체희석법으로 항균제 12종에 대한 감수성을 측정하였으며, 균주중 임의로 선택한 20주를 대상으로 checkerboard법을 이용하여 tetracycline과 각 공시항균제와의 병용효과를 실험하여 다음의 결과를 얻었다.

재료 및 방법

1. 균주

전국 각 지역 해산물이나 환자로부터 분리된 *Vibrio vulnificus* 38주를 공시하였는데, 군산에서 11주, 서울 8주, 전주 8주, 전남 7주, 인천 2주, 그리고 서산, 부산 등에서 각 1주씩 분리된 것들이었다. 이들 공시균들은 modified salt water-yeast extract agar⁸⁾ 사면배지에 접종하여 실온에 보관하면서 사용하였으며 매 1-2주마다 한번씩 계대배양하였다.

Modified salt water-yeast extract agar는 3 salts solution (중류수 11당 KCL 0.75g, MgSO₄ 7H₂O 7.0g, NaCl 23.4g)에 proteose peptone (Difco Lab.) 0.1% 및 agar (Difco Lab.) 1.5%를 첨가하여 제조하였다.

2. 항균제

항균제는 chloramphenicol (Cm, 중근당), tetracycline (Tc, 중근당), streptomycin (Sm, 동아제약), ampicillin (Ap, 영진약품), kanamycin (Km, 동아제약), gentamicin (Gm, 국제약품), amikacin (Ak, 근화제약), tobramycin (Cf, 대웅제약), moxalactam (Mx, 일동제약), penicillin (Pc, 근화제약)을 실험에 사용하였다. 각 항균제를 Thornsberry 등³⁰⁾의 방법에 준하여 적당한 용매에 용해시킨 뒤 소분하여 -70°C에 냉

동보존하였으며, 필요에 따라 1개씩 취하여 적당히 희석하여 사용하였다.

3. 항균제감수성 검사

각 균의 항균제감수성은 미량액체배지희석법 (microdilution broth method)으로 검사하였다¹⁶⁾. 사용된 기구는 Dynadrop MR, Autodiluter II, Microshaker 등 Dynatech 회사 제품이며 microdilution용 접시는 가로 12열 (1-12), 세로 8열 (A-H) 총 96개 U자형 well을 가진 녹십자사 제품을 사용하였다.

각 균을 식염농도가 1%가 되게 조절한 triptic soy broth (TSB)에 접종하여 18-21시간 배양한 후 식염이 1% 첨가된 Mueller-Hinton broth (MHB)에 1ml당 1.0×10^6 CFU의 균농도가 되게 희석하여 접종균액을 만들었다. 항균제를 소요농도의 4배가 되게 식염이 첨가된 MHB에 희석한 후 접시의 A열에 50ul씩 분주하고 다시 접시전체에 식염이 첨가된 MHB를 Dynadrop MR로 50ul씩 넣은 뒤, autodiluter로 A열의 항균제를 순차적으로 G열까지 순차이배희석 하였다. 항균제가 희석된 접시에 균액 (1.0×10^6 CFU/ml)을 50ul씩 Dynadrop MR로 접종하고 microshaker로 혼합한 후 밀봉하여 35°C 가습한 부란기내에서 18-21시간 배양한 다음 균의 발육여부를 보아 약제의 최소발육억제농도 (MIC)를 측정하였다.

내성균의 판정은 National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS)의 규정³⁰⁾에 따랐으며 감수성 검사의 정도관리를 위하여 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27893을 대조균으로 사용하였다.

4. 항균제병용효과 실험

Tc와 기타 항균제와의 병용에 따르는 항균효과와 증감을 알아보기 위하여 항균제감수성 검사에 사용된 장비를 이용한 checkerboard법²³⁾으로 무작위로 추출한 *Vibrio vulnificus* 20주를 대상으로 항균제병용효과 실험을 하였다. 간기하면, Tc를 소요농도의 8배와 4배가 되게 식염이 첨가된 MHB에 희석한 후 8배 농도는 접시의 A-1 well에 4배 농도는 그 나머지 A열에 50ul씩 분주하고 다시 접시전체에 식염이 첨가된 MHB를 Dynadrop MR로 50ul씩 넣은 뒤, autodiluter로 A열의 항균제를 G열까지 순차이배희석 하였다. 병용할 항균제를 소요농도의 4배

Table 1. Range of MIC of each drugs on *Vibrio vulnificus*

Drug ^a	No. of organism which shows following MIC (ug/ml) of drug											
	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.13	0.063
Cm				3	3	2	3	13	9	5		
Tc									14	12	5	7 ^c
Sm		2 ^b	15	9	4	2	5	1				
Ap		2 ^b	2	2	23	5	1	1	1	1 ^c		
Km	2 ^b	4	6	15	2	2		1	6 ^c			
Gm					7	11	10	3		3	4 ^c	
Ak		4	7	8	9	3		1	2	4 ^c		
To			1	3	5	15	7			1	6 ^c	
Ct			1	10	17	1	1	5	3 ^c			
Cf				1	4	18	6	3	5	1 ^c		
Mx					4	2	2		3	15	9 ^c	
Pc	1 ^b			4	7	16	10 ^c					

^aCm, chloramphenicol ; Tc, tetracycline ; Sm, streptomycin ; Ap, ampicillin ; Km, kanamycin ; Gm, gentamicin ; Ak, amikacin ; To, tobramycin ; Ct, cephalothin ; Cf, cefamandole ; Mx, moxalactam ; Pc, penicillin.

^bNo. of organism which was susceptible to drug with the concentration or more described above.

^cNo. of organism which was susceptible to drug with the concentration or less described above.

가 되게 식염이 첨가된 MHB에 희석한 후 Tc가 희석되어 있는 접시의 1열에 50ul씩 분주하고 autodiluter로 1열의 항균제를 11열까지 순차배열희석하였다. 상기한 방법으로 접시의 12-H well은 항균제가 들어 있지 않는 대조군이 되며, 12열의 Tc만 H열은 병용될 약제만 단독으로 희석되어 있으며, 그 나머지 well들에는 Tc와 병용될 항균제가 각기 여러가지 농도로 희석되어 있게 된다. *V. vulnificus*를 식염이 첨가된 TSB에 접종하여 18-21시간 배양한 후 식염이 첨가된 MHB에 1.0×10^6 CFU/ml 농도로 희석하여 상기한 항균제가 병용된 접시에 Dynadrop MR로 50ul씩 접종하고 microshaker로 잘 혼합한 후 밀봉하여 35°C 가습된 부란기내에서 18-21시간 배양하였다. 배양후 각 약제의 MIC와 병용하였을 때의 MIC를 측정하여 다음의 공식에 의하여 fractional inhibitory concentration (FIC) index를 구하고 두 약제의 병용효과를 평가하였다.

$$\text{FIC index} = \frac{\text{MIC of A in combination}}{\text{MIC of A alone}} + \frac{\text{MIC of B in combination}}{\text{MIC of B alone}}$$

위의 등식에서 FIC index가 0.5이하일 때는 상승작용, 0.75에서 1.0일 때는 상가작용, 1이

Table 2. Drug resistant pattern of *Vibrio vulnificus*

No. of resistant drugs	Resistance pattern	No. of strains
4	Sm ^a , Km, Ak, To	3
	Sm, Km, Ak, Ct	1
3	Sm, Km To	1
2	Ap, Pc	1
1	Sm	12
	Ap	3
	Km	1

^aAbbreviation, see table 1.

상일 때는 무관작용 2이상일 때는 길항작용으로 정하였는바 FIC index가 낮을수록 두 약제의 병용효과는 상승함을 나타낸다.

실험 성적

1. 항균제감수성 검사

*Vibrio vulnificus*에 대한 항균제의 효과를 평가하기 위하여 미량액체배지희석법을 이용하여 균종들에 대한 각 항균제의 MIC를 구하고, 각 약제의 항균범위와 약제내성균의 내성양성 및 각 약제에 대한 내성 또는 감수성 비율을 Table 1, 2, 3에 나타내었다. 항균범위가 넓은

Table 3. Susceptibility (%) to drugs of *Vibrio vulnificus*

Category	Durg ^a										
	Cm	Tc	Sm	Ap	Km	Gm	Ak	To	Ct	Cf	Mx
Resistant	0 ^b (0)	0 (0)	17 (44.7)	4 (10.5)	6 (15.8)	0 (0)	4 (10.5)	4 (10.5)	1 (2.6)	0 (0)	0 (0)
Moderately susceptible	1 (2.6)	0 (0)	9 (23.7)	31 (81.6)	6 (15.8)	7 (18.4)	7 (18.4)	5 (13.2)	10 (26.3)	1 (2.6)	0 (0)
Susceptible	37 (97.4)	38 (100)	12 (31.6)	3 (7.9)	26 (68.4)	31 (81.6)	27 (71.1)	29 (76.3)	27 (71.1)	37 (97.4)	38 (100)

^aAbbreviation, see table 1, ^bNo. of organism (percent).Table 4. Combined effect of moxalactam and tetracycline on *Vibrio vulnificus*

Strain	MIC (ug/ml) of moxalactam		MIC (ug/ml) of tetracycline		FIC index
	Alone	Combination	Alone	Combination	
Wonkang 12	0.5	0.25	0.25	0.125	1.0
Yonsei 4	0.25	0.125	0.25	0.125	1.0
Yonsei 5	0.25	0.125	0.25	0.125	1.0
Yonsei 9	0.25	0.125	0.25	0.016	0.563
86-2-12-22	0.25	0.125	0.25	0.031	0.625
86-7-4-1	0.25	0.25	0.25	0.25	2.0
86-8-5565	0.25	0.125	0.5	0.25	1.0
86-9-2398	0.25	0.25	0.25	0.25	2.0
86-PTS	0.25	0.125	0.25	0.25	2.0
86-24-21	0.25	0.25	0.25	0.25	2.0
(01) 376	0.25	0.25	0.5	0.5	2.0
CHUN 6	0.063	0.063	0.25	0.25	2.0
D 8806	0.25	0.25	0.25	0.25	2.0
A 1402	0.25	0.25	0.25	0.25	2.0
80	0.25	0.063	0.25	0.125	0.75
93	0.5	0.5	0.5	0.5	2.0
94	0.5	0.5	0.5	0.5	2.0
95	0.25	0.25	0.25	0.25	2.0
96	0.25	0.125	0.25	0.125	1.0

약제는 Ap, Km, Ak등으로 나타났으며, 가장 좁은 약제는 Tc으로 1ug/ml에서 0.063ug/ml 이하로 나타났다. *V. vulnificus*의 내성양상을 본 바 (Table 2), 4제 내성이 4주 (10.5%), 3제 내성이 1주 (2.6%), 2제 내성이 1주 (2.6%), 1제 내성이 16주 (42.1%), 내성이 없는 균주가 16주 (42.1%)이었다. 각 약제에 대한 내성 또는 감수성균의 비율을 보면 (Table 3), Sm에 내성을 보이는 경우가 가장 많았으며 (17주, 44.7%), Km, Ap, Ak, To에는 4-6주 (15.9-10.5%)가 내성을 보였다. Ap의 경우 내성과 감수성 중간에 해당되는 균주가 31주 (81.6%)나 되어

실제로 이 약제에 내성을 보이는 비율은 더 높아질 수 있을 것으로 사료된다. 이에 비해 Tc, Mx, Cm, Gm, Cf에는 공시균주 모두가 감수성을 나타내었으며 특히 Tc와 Mx에는 내성과 감수성 중간에 해당되는 균주가 한주도 없었으며, Cm과 Cf는 1주 뿐인 것으로 나타났다.

2. Checkerboard법에 의한 약제병용효과 분석

항균제 병용에 따르는 항균효과의 증감을 보기 위하여 Krogstad등이 기술한 checkerboard법에 의하여 Tc와 각항균제와의 병용효과를 측정하였다.

Table 5. Combined effect of cefamandole and tetracycline on *Vibrio vulnificus*

Strain	MIC (ug/ml) of cefamandole		MIC (ug/ml) of tetracycline		FIC index
	Alone	Combination	Alone	Combination	
Wonkang 12	2.0	2.0	0.25	0.25	2.0
Yonsei 4	4.0	2.0	0.25	0.125	1.0
Yonsei 5	4.0	2.0	0.25	0.125	1.0
Yonsei 9	4.0	2.0	0.25	0.125	0.75
86-2-12-22	8.0	4.0	0.25	0.125	0.625
86-7-4-1	4.0	4.0	0.25	0.25	2.0
86-8-5565	4.0	0.5	0.5	0.25	0.625
86-9-2398	4.0	4.0	0.25	0.25	2.0
86-2-3	8.0	8.0	0.25	0.25	2.0
86-PTS	0.25	0.25	0.25	0.25	2.0
86-24-21	4.0	2.0	0.25	0.125	1.0
(01) 376	8.0	8.0	0.5	0.5	1.0
CHUN 6	2.0	0.5	0.25	0.125	0.75
D 8806	4.0	4.0	2.0	2.0	2.0
A 1402	4.0	4.0	4.0	0.25	2.0
80	2.0	0.25	0.25	0.125	0.625
93	2.0	1.0	0.5	0.25	1.0
94	4.0	2.0	0.25	0.031	0.625
95	2.0	1.0	0.25	0.031	0.625
96	4.0	2.0	0.25	0.031	0.625

Table 6. Combined effect of gentamicin and tetracycline on *Vibrio vulnificus*

Strain	MIC (ug/ml) of gentamicin		MIC (ug/ml) of tetracycline		FIC index
	Alone	Combination	Alone	Combination	
Wonkang 12	2.0	1.0	0.25	0.125	1.0
Yonsei 4	4.0	2.0	0.25	0.063	0.75
Yonsei 5	4.0	2.0	0.25	0.031	0.625
Yonsei 9	4.0	2.0	0.25	0.063	0.75
86-2-12-22	8.0	4.0	0.25	0.125	1.0
86-7-4-1	2.0	0.5	0.25	0.125	0.75
96-9-2398	2.0	0.5	0.25	0.125	0.75
86-2-3	2.0	0.25	0.25	0.125	0.625
86-PTS	4.0	2.0	0.25	0.063	0.75
85-24-21	2.0	2.0	0.25	0.25	2.0
(01) 376	2.0	1.0	0.5	0.25	2.0
CHUN 6	1.0	0.5	0.25	0.125	1.0
D 8806	4.0	2.0	0.25	0.063	0.75
A 1402	4.0	2.0	0.25	0.063	0.75
80	8.0	4.0	0.125	0.031	0.75
93	4.0	2.0	0.5	0.125	0.75
94	4.0	2.0	0.5	0.25	1.0
95	4.0	2.0	0.25	0.125	0.75
96	4.0	2.0	0.25	0.031	0.625

Table 7. Combined effect of chloramphenicol and tetracycline on *Vibrio vulnificus*

Strain	MIC (ug/ml) of chloramphenicol		MIC (ug/ml) of tetracycline		FIC index
	Alone	Combination	Alone	Combination	
Wonkang 12	1.0	0.5	0.25	0.125	1.0
Yonsei 4	0.5	0.25	0.25	0.125	1.0
Yonsei 5	0.5	0.25	0.25	0.125	1.0
Yonsei 9	0.5	0.5	0.25	0.25	2.0
86-2-12-22	0.25	0.125	0.25	0.125	1.0
86-7-4-1	0.5	0.25	0.25	0.125	1.0
86-9-2398	1.0	0.5	0.25	0.125	1.0
86-2-3	2.0	1.0	0.25	0.063	0.75
86-PTS	0.5	0.25	0.25	0.125	1.0
86-24-21	0.5	0.25	0.25	0.125	1.0
(01) 376	1.0	0.5	0.5	0.25	1.0
CHUN 6	0.25	0.063	0.25	0.125	0.75
D 8806	0.5	0.125	0.25	0.125	0.75
A 1402	0.5	0.25	0.25	0.125	1.0
80	0.25	0.063	0.125	0.063	0.75
93	1.0	0.5	0.5	0.25	1.0
94	1.0	0.5	0.5	0.25	1.0
95	1.0	0.25	0.25	0.125	0.75
96	1.0	0.5	0.25	0.031	0.625

Table 8. Combined effect of cephalothin and tetracycline on *Vibrio vulnificus*

Strain	MIC (ug/ml) of cephalothin		MIC (ug/ml) of tetracycline		FIC index
	Alone	Combination	Alone	Combination	
Wonkang 21	2.0	1.0	0.25	0.016	0.563
Yonsei 4	16.0	8.0	0.25	0.063	0.75
Yonsei 5	16.0	8.0	0.25	0.032	0.625
Yonsei 9	16.0	8.0	0.25	0.063	0.75
86-2-12-22	8.0	1.0	0.25	0.125	0.625
86-7-4-1	8.0	4.0	0.25	0.125	1.0
86-8-5565	16.0	4.0	0.25	0.125	0.75
86-9-2398	16.0	4.0	0.25	0.063	0.5
86-2-3	16.0	2.0	0.25	0.125	0.625
86-PTS	8.0	0.5	0.25	0.125	0.563
86-24-21	16.0	8.0	0.25	0.032	0.563
(01) 376	32.0	16.0	0.5	0.032	0.563
D 8806	8.0	4.0	0.25	0.125	1.0
A 1402	8.0	4.0	0.25	0.125	1.0
80	8.0	4.0	0.125	0.016	0.625
93	16.0	8.0	0.5	0.125	0.75
94	16.0	8.0	0.5	0.125	0.75
95	16.0	8.0	0.25	0.032	0.625
96	16.0	2.0	0.25	0.125	0.625

1) Tc와 Mx의 상호작용

항균효과가 좋은 Mx와 Tc의 병용효과는 Table 4에서 보는 바와 같이 상승작용을 보이는 균주는 한주도 없었으며, 9주 (47.4%)에서 FIC index가 0.563-1.0사이로 상가작용을 보였으며, 10주 (52.6%)에서는 길항작용을 보였다.

2) Tc와 Cf의 상호작용

Tc와 Cf의 병용효과는 Table 5에서 보는 바와 같이 상승작용을 보이는 균주는 한주도 없었

으며, 12주 (60%)에서 FIC index가 0.625-1.0사이의 상가작용을 보였으며, 8주 (40%)에서는 길항작용을 나타내었다.

3) Tc와 Gm의 상호작용

Tc와 Gm의 병용효과는 Table 6에서 보는 바와 같이 상승작용을 보이는 균주는 한주도 없었으며, 19주 (95%)에서 FIC index가 0.625-1.0사이의 상가작용을 보였으며, 1주 (5%)에서는 길항작용을 나타내었다.

Table 9. Combined effect of cephalothin and tetracycline on *Vibrio vulnificus* 86-9-2398

Tetracycline (ug/ml)	Cephalothin (ug/ml)									
	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.00
1.0	— ^a	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.25	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.125	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+
0.063	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+
0.031	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+
0.016	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+
0.000	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+

^aSymbols ; —, no growth ; +, growth.

Table 10. Combined effect of tobramycin and tetracycline on *Vibrio vulnificus*

Strain	MIC (ug/ml) of tobramycin		MIC (ug/ml) of tetracycline		FIC index
	Alone	Combination	Alone	Combination	
Wonkang 12	4.0	2.0	0.25	0.125	1.0
Yonsei 4	8.0	2.0	0.25	0.063	0.5
Yonsei 5	8.0	4.0	0.25	0.031	0.625
Yonsei 9	4.0	2.0	0.25	0.125	1.0
86-2-12-22	32.0	16.0	0.25	0.031	0.625
86-7-4-1	4.0	2.0	0.25	0.031	0.625
86-8-5565	4.0	2.0	0.25	0.125	1.0
86-9-2398	8.0	4.0	0.25	0.031	0.625
86-2-3	4.0	0.25	0.25	0.125	0.563
86-PTS	8.0	0.5	0.25	0.125	1.0
86-24-21	4.0	1.0	0.25	0.125	0.75
(01) 376	2.0	1.0	0.5	0.25	1.0
CHUN 6	2.0	0.25	0.25	0.125	0.625
D 8806	8.0	1.0	0.25	0.125	0.625
A 1402	4.0	2.0	0.25	0.125	1.0
80	32.0	8.0	0.125	0.031	0.5
93	8.0	4.0	0.5	0.063	0.625
94	8.0	4.0	0.5	0.063	0.625
95	8.0	2.0	0.25	0.125	0.75
96	8.0	0.5	0.25	0.125	0.563

4) Tc와 Cm의 상호작용

Tc와 Cm의 병용효과는 Table 7에서 보는 바와 같이 상승작용을 보이는 균주는 한주도 없었으며, 19주 (95%)에서 FIC index가 0.625-1.0사이의 상가작용을 보였으며, 1주 (5%)에서는 길항작용을 나타내었다.

5) Tc와 Ct의 상호작용

Tc와 Ct의 병용효과는 Table 8에서 보는 바와 같이 1주 (5.3%)에서 상승작용을 보였으며, 18주 (94.7%)에서는 FIC index가 0.563-1.0사이의 상가작용을 보였고, 길항작용을 보인 것은 한예도 없었다. 상승작용을 보인 균주는 *V. vulnificus* 86-2-2398로 Table 9에서 보는 바와 같이 Tc와 Ct를 단독인 경우에는 MIC가 각각 0.25, 16 ug/ml이었으나, 병용하였을 때는 MIC가 각각 0.063, 4 ug/ml였으며 FIC index는 0.5

로 나타났다.

6) Tc와 To의 상호작용

Tc와 To의 병용효과는 Table 10에서 보는 바와 같이 2주 (10%)에서 상승작용을 보였으며, 18주에서는 FIC index가 0.563-1.0사이의 상가작용을 보였고, 길항작용을 보인 예는 하나도 없었다. 상승작용을 보인 균주는 *V. vulnificus* Yonsei 4와 *V. vulnificus* 80으로 *V. vulnificus* Yonsei 4의 경우 Table 11에서 보는 바와 같이 Tc와 To를 단독으로 사용하였을 때는 MIC가 각각 0.25, 8 ug/ml이었으나 병용하였을 때는 MIC가 각각 0.063, 2 ug/ml였으며 FIC index는 0.5로 나타났다. *V. vulnificus* 80의 FIC index도 0.5로 나타났다.

7) 각 항균제의 FIC index범위

V. vulnificus 15-20주를 대상으로 Tc와 각

Table 11. Combined effect of tobramycin and tetracycline on *Vibrio vulnificus* Yonsei 4

Tetracycline (ug/ml)	Tobramycin (ug/ml)									
	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.00
0.5	— ^a	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.25	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.125	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+
0.063	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+
0.031	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+
0.016	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+
0.008	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+
0.000	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+

^aSymbols ; —, no growth ; +, groth.

Table 12. Range of FIC index of each drugs combined with tetracycline

Drug ^a	No. of strains test	FIC index						Mean of FIC index
		2.0	1.0	0.75	0.625	0.56	0.5	
Mx	19	10 (52.7) ^b	6 (31.8)	1 (5.3)	1 (5.3)	1 (5.3)	—	1.470
Cf	20	8 (40)	6 (30)	2 (20)	4 (20)	—	—	1.300
Ct	19	—	3 (15.8)	5 (26.4)	7 (36.8)	3 (15.8)	1 (5.3)	0.700
To	20	—	6 (30)	2 (10)	8 (40)	2 (10)	2 (10)	0.731
Ak	20	3 (15)	5 (25)	7 (35)	4 (20)	—	1 (5)	0.962
Gm	20	1 (5)	6 (30)	10 (50)	3 (15)	—	—	0.868
Km	20	2 (10)	7 (35)	5 (25)	6 (30)	—	—	0.925
Ap	20	7 (35)	9 (45)	2 (10)	1 (5)	1 (5)	—	1.284
Sm	20	4 (20)	7 (35)	3 (15)	5 (25)	1 (5)	—	0.996
Cm	20	1 (5)	13 (65)	5 (25)	1 (5)	—	—	0.969
Pc	15	4 (26.7)	4 (26.7)	5 (33.3)	2 (13.3)	—	—	1.133

^aAbbreviation, see table 1. ^bNo. (%) of strain which reveals each FIC index.

항균제를 병용했을 때의 FIC index범위와 평균을 종합하여 Table 12에서 비교하였다. Mx와 Cf, Ap를 제외한 나머지 약제들은 Tc와 병용했을 때 대개 상가작용을 나타내었으며, Mx나 Cf 또는 Ap를 Tc와 병용했을 때는 각각 공시균주의 52.7%, 40% 및 35%에서 길항작용을 나타내었다. 상승작용을 보인 것은 Tc와 To 또는 Ct 또는 Ak를 병용했을 때로 각각 2주(10%), 1주(5.3%), 1주(5%)에 대해서 병용효과를 보였으며, Ct와 To의 경우 FIC index의 범위가 0.5-1.0으로 가장 낮았으며, FIC index 평균 또한 각각 0.700, 0.731로 매우 낮게 나타나 이들 약제들이 Tc와 병용하였을 때 항균효과를 가장 증가시키는 것으로 나타났다.

고 안

*Vibrio vulnificus*는 창상감염, cellulitis, 폐렴, 심내막염 등을 일으키며^{12,13,15,18,32,34~36)} 특히 간장질환이나 면역기능이 저하된 환자에 감염되면 치명적인 패혈증을 일으켜 높은 사망율을 초래하는 병원성이 강한 세균으로서^{1,13)}, 해수 또는 해산물에 서식하기 때문에 해산물을 생식하는 습성을 가진 우리나라에서도 최근 수년간에 걸쳐 본 균에 의한 감염예와 본 균에 대한 생화학적 특성 및 치료대책에 대하여 많은 연구가 진행되어 왔다.

본 균에 의한 감염이 예견되는 환자의 치료대책으로는 증상치료와 패혈증으로의 급속한 진행을 차단하기 위해 항균력이 뛰어난 항균제를 초기에 가능한 범위내에서 충분한 양을 투여하면서 적절한 수액요법등의 보조요법을 실시하여야 하므로¹⁾ 기왕의 보고들을 종합하여 우수한 항균력을 가진 항균제를 선택하는 것이 무엇보다도 중요하다고 사료된다. 본 균의 각종 항균제에 대한 감수성을 연구한 기왕의 보고들을 살펴보면 이등⁵⁾은 Tc, Cm, Ap이 본 균에 우수한 항균력을 나타낸다고 보고하였으며, 주등⁵⁾은 Tc, Gm, To, Ak, Ap, Km, Sm, clindamycin, erythromycin (Em)등이 효과적이라고 보고하였으며, 하등⁹⁾은 Tc, Cm, Gm, Ap, Mx, Pc, Em, cefotaxime이 좋은 항균력을 나타낸다고 보고하였고, 박등²⁾은 Tc, Cm, Ap, nalidixic acid가 본 균에 100% 감수성을 보인다고 보고하였으며, V. Lorian²⁵⁾도 *Vibrio vulnificus* 119주가 모두 Tc에 감수성을 보인다고 보고하였다. 이상의 보고들을 종합하여 볼 때 공통적으

로 항균력이 높은 약제는 Tc임을 알 수 있으며, 그외 Cm Gm, Ap등도 대개의 보고에서 본 균에 대해 항균력이 높은 것으로 나타나고 있다. 저자의 결과에서도 Tc에는 공시균 전체가 감수성을 보이고 있으며, Cm과 Gm에도 내성을 보인 균주가 한주도 없으며 중등도감수성을 보인 균주가 각각 1주(2.6%)와 7주(18.4%)로 나타난 상기한 결과와 일치함을 보이고 있다. Ap의 경우는 내성균이 4주(10.5%)로 본 균에 대해 상당히 항균력이 좋으나 중등도내감수성을 보인 균주가 31주(81.6%)나 되어 공시한 Cf나 Mx등의 다른 항균제에 비해 상대적으로 본 균에 대한 항균력이 낮은 것으로 사료된다.

저자의 결과에서 상기한 약제외에 본 균에 높은 항균력을 보인다고 평가되는 약제는 cephalosporin제제인 Ct, Cf, Mx과 To, Ak, Km등으로 본 약제에 내성균이 0주에서 6주(15.8%) 이내로 나타났다. 상기한 약제들에 대한 다른 연구자들의 보고를 보면, Mx의 경우 하등⁹⁾은 본 균의 97.4%가 Mx에 감수성을 보이거나 이등⁵⁾은 대다수가 내성을 보인다고 보고하였으며, To의 경우 Mertens등²⁶⁾ Kelly등²⁴⁾, 주등⁶⁾과 박등²⁾은 감수성을, 하등⁹⁾과 Tison등³³⁾은 중등도감수성을, 이등⁵⁾은 내성을 보인다고 보고하였으며, Ak의 경우 주등⁶⁾, Tison등³³⁾과 박등²⁾은 감수성을, 이등⁵⁾은 내성을 보인다고 보고하였으며, Km의 경우 Mertens등²²⁾, Trackett등³¹⁾, 주등⁶⁾과 Tison등³³⁾은 감수성을, Zide등³⁷⁾은 중등도감수성을, Hollis등²⁰⁾과 이등⁵⁾은 내성을 보인다고 보고하고 있다. 상기한 보고들과 저자의 결과를 비교해 볼 때 서로 상충하는 부분이 많으나 그렇지 않은 부분도 있어 *Vibrio vulnificus*에 대한 이들 약제의 항균효과는 추후 더 논의되어야 할 것으로 사료된다.

*Vibrio vulnificus*패혈증 환자의 치료과정을 살펴보면 질병의 급속한 진행을 차단하기 위하여 세균학적 진단이 나오기 전은 물론 나온 후에도 두가지 이상의 항균제를 동시에 병용하여 치료에 사용하는 경우가 대다수이다. 그러나 실제로 이들 약제의 상호작용을 실험하여 그 타당성을 규명한 자료가 거의 없기 때문에 아무런 근거없이 약제의 병용을 남용하고 있는 실정이며 따라서 본 균에 대한 각 약제의 항균력은 물론 이들의 병용에 따르는 항균효과의 증감에 대한 자료를 마련하는 것이 시급한 일이라 사료된다.

이에 대한 일환으로 저자는 *Vibrio vulnificus* 20주에 대한 Tc와 각 항균제와의 상호작용을 checkerboard법으로 검사한 바, 대개의 병용결과가 상가작용을 보였으나 일부 본 균에 항균력이 높았던 약제중에서 Tc와 병용함으로써 약효의 증가가 없거나 오히려 감소하는 경우도 있었다. Table 4, 5, 12에서 보는 바와 같이 Mx나 Cf 또는 Ap를 Tc와 병용할 경우 각각 본균의 52.7%, 40%, 35%에서 길항작용을 나타내었으며, 이등⁵⁾도 Ap-Tc병용이 길항작용을 보인다고 보고한 바 이러한 약제들은 단독으로 사용하는 것이 효과적이라 사료된다. 저자의 결과에서 Gm-Tc, Cm-Tc간의 상호작용은 대개 상가작용으로 나타났으며 각각 1주(5%)에 대해서는 길항작용을 보여, 이들은 Tc와 병용하여 사용하더라도 무방하나 두 약제의 상호작용에 의한 항균효과의 큰 증가는 없는 것으로 사료된다. *Vibrio vulnificus* 대한 Gm-Tc의 상호작용에 대하여 하등⁹⁾은 이 병용이 본 균 모두에 상승작용을 보인 바가 있다고 보고하였으나 이들의 보고에서 Gm-Tc병용시의 FIC index를 보면 0.75-0.53사이로 Krogstad등²³⁾의 평가기준으로 볼 때 모두 상가작용으로 나타나 본 실험의 결과와 큰 차이가 없는 것으로 사료된다. 저자는 항균제병용 실험결과에서 Tc와 병용하여 씹으로써 보다 높은 항균효과를 기대할 수 있는 약제로는 Ct와 To라고 사료된다. 비록 이 약제들과 Tc와의 병용효과에 대한 보고는 찾기보기 힘들지만, 이들 각각이 본 균에 대한 FIC index range와 평균이 가장 낮았으며 각각 공시균의 10%, 5%에는 항균작용의 상승효과를 보였으며, 반대로 본 균에 길항작용을 보인 경우는 1건도 없었기 때문이다.

이상의 본 결과와 기왕의 결과를 종합해 볼 때 *Vibrio vulnificus*에 대한 치료제로서 Tc, Gm 또는 Cm을 단독으로 사용하거나 또는 Tc-To나 Tc-Ct의 병용요법이 효과적일 것으로 사료되며, 추후 본 실험에서 높은 항균력을 보인 기타항균제에 대한 고찰과, 항균제 병용에 따르는 항균효과에 대한 자료가 더 축적되어야 할 것으로 사료된다.

결 론

*Vibrio vulnificus*감염증에 대한 치료대책을 마련하기 위하여 *Vibrio vulnificus* 38주를 대상으로 미량액체희석법을 이용하여 임상에서 널

리 쓰이는 12종의 항균제의 최소발육저지농도(MIC)를 측정하고, 임의로 선택된 균주 20주를 대상으로 tetracycline(Tc)과 기타 공시항균제들간의 병용효과를 checkerboard법으로 실험 분석하여 다음의 결과를 얻었다.

항균제감수성 검사에서 공시균주들에게 높은 항균효과를 보인 약제는 Tc와 moxalactam(Mx), cefamandole(Cf), chloramphenicol(Cm) 및 gentamicin등으로 이들 약제에 내성을 보인 균주는 한주도 없었으며, cephalothin(Ct), tobramycin(To), amikacin, kanamycin에도 각각 1(2.6%), 4(10.5%), 4(10.5%), 6(15.8%)주의 균주만이 내성을 보였다. 그러나 streptomycin과 ampicillin에는 각각 17(44.7%), 4(10.5%)주가 내성을 보였으며, 9(23.7%)주 및 31(81.6%)주가 중등도감수성을 보여 이들 약제는 *Vibrio vulnificus*감염증 치료에 적합치 않은 것으로 나타났다. Tc와 공시약제간의 병용효과분석 실험에서는 대개의 약제간 병용결과는 상가작용 또는 길항작용을 나타내었으나, Tc와 Cf 또는 Tc와 To병용의 경우에는 각각 공시균의 94.7% 및 90%에서 *Vibrio vulnificus*감염증 치료에는 Tc, Mx, Cf, Cm등 항균효과가 높은 약제를 단독으로 쓰거나 Tc를 쓸 경우 단독 또는 Ct나 To를 병용하여 쓰는 것이 효과적일 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- 1) 김영표, 전인기, 이재준 : *Vibrio vulnificus*감염증-임상적 및 역학적 관찰. 대한의학협회지 28:773-780, 1985.
- 2) 박철희, 이연태 : *Vibrio*균속의 생물학적 성상 및 약제내성에 관하여. 대한미생물학회지 22:413-425, 1987.
- 3) 이준행, 구승룡, 김세종, 정선식 : *Vibrio vulnificus*에 대한 ampicillin, chloramphenicol, tetracycline의 병용효과. 대한화학요법학회지 4:113-117, 1986.
- 4) 이준행, 김영표, 정선식 : *Vibrio vulnificus*의 항생제감수성. 대한미생물학회 제 55차 춘계 학술대회 초록. 1985.
- 5) 이준행, 최소남, 정선식 : *Vibrio vulnificus*에 대한 tetracycline의 세균활성에 관한 연구. 대한의학협회지 30:769-777, 1987.
- 6) 주진우, 김 일 : 한국 남해안 일대의 해수 및 해산물에서 *Vibrio vulnificus*의 분리 연

- 구. 대한미생물학회지 21 : 97-106, 1986.
- 7) 정선식, 박종호, 이준행 : *Vibrio vulnificus*의 세균학적 성상에 관한 연구. 감염학회지 18 : 55-62, 1986.
- 8) 하대유, 박영민, 김문중 : 한국 연안해수 및 어류에 있어서의 *Vibrio vulnificus* 분포와 분리균의 생물학적 성상. II. *Vibrio vulnificus*의 세포독소의 생물학적 성상. 대한미생물학회지 23 : 1988.
- 10) 하대유, 임선영, 김용관 : *Vibrio vulnificus*, *Vibrio parahaemolyticus* 및 콜레라균의 인혈성 살균작용에 대한 감수성과 비브리오 감염이 마우스의 hematocrit치에 미치는 영향. 대한미생물학회지 20 : 133, 1985.
- 11) 하대유, 임선영, 전상남, 김철기 : *Vibrio vulnificus*의 인혈청 살균력에 대한 감수성과 vibrio 감염이 마우스의 hematocrit치에 미치는 영향. 대한미생물학회지 21 : 355, 1986.
- 12) Beckman EN, Leonard GL, Castillo, LE, Genre CF and Pankey GA : Histopathology of marine vibrio wound infections. *Am. J. Clin. Pathol.* 76 : 765-772, 1981.
- 13) Blake PA, Merson RE, Weaver RE and Hollis DG : Disease caused by a marine vibrio : Clinical characteristics and epidemiology. *N. Engl. J. Med.* 300 : 1-5, 1979.
- 14) Bowdre JH, Hull JH and Cocchetto DM : Antibiotic efficacy against *Vibrio vulnificus* in the mouse : superiority of tetracycline. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 225 : 595-598, 1983.
- 15) Chin KP, Lowe MA, Tong MJ and Koehler AL : *Vibrio vulnificus* infection after raw oyster ingestion in a patient with liver disease and acquired immune deficiency syndrome-related complex. *Gastroenterology* 92 : 796-799, 1987.
- 16) Conrath TB and Coupe NB : Handbook of manual microtiter procedures. Whitefriars Press Ltd, London, P 28-34, 1978.
- 17) Desmond EP, Janda JM, Adams FI and Bottone EJ : Comparative studies and laboratory diagnosis of *Vibrio vulnificus*, an invasive vibrio sp. *J. Clin. Microbiol.* 19 : 122-125, 1984.
- 18) Fonde EC, Britton J and Pollock H : Marine vibrio sepsis manifesting as necrotizing fasciitis. *South Med. J.* 77 : 933-934, 1984.
- 19) Farmer III JJ, Hickman-brenner FW and Kelly MT : *Vibrio*. In Manual of clinical microbiology (Lennette EH, Balos A, Hausler Jr WJ, Jean Shadomy H, ed.). American society for microbiology, Washington, D.C., p 282, 1985.
- 20) Hollis DG, Weaver RE, Baker CN and Thornsberry C : Halophilic vibrio species isolated from blood cultures. *J. Microbiol.* 3 : 425-431, 1976.
- 21) Johnson DE and Calia FM : Hemolytic reaction of clinical and environmental strains of *Vibrio vulnificus*. *J. Clin. Microbiol.* 14 : 457-459, 1981.
- 22) Kreger A and Lockwood D : Detection of extracellular toxin(s) produced by *Vibrio vulnificus*. *Infect. Immun.* 33 : 583, 1981.
- 23) Krogstad DJ and Moellering RC : Antimicrobial combinations. In Antibiotics in laboratory medicine (Lorian, V. ed.). Baltimore and London, Williams and Wilkins, p 537-595, 1986.
- 24) Kelly MT and Avery DM : Lactose-positive vibrio in sea water : a case of pneumonia and septicemia in a drowning victim. *J. Clin. Microbiol.* 11 : 278-280, 1980.
- 25) Lorian V (Ed) : Antibiotics in laboratory medicine. Baltimore and London, Williams and Wilkins, p 1039, 1986.
- 26) Mertens A, Nagler J, Hansen W, Gepts-Friedenreich : Halophilic, lactose-positive vibrio in a case of fatal septicemia. *J. Clin. Microbiol.* 9 : 233-235, 1979.
- 27) Oliver JD, Warner RA and Cleland DR : Distribution of *Vibrio vulnificus* and other lactose-fermenting vibrios in the marine environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 45 : 985-998, 1983.
- 28) Smith GC and Merkel JR : Collagenolytic activity of *Vibrio vulnificus* : potential contribution to its invasiveness. *Infect. Immun.* 35 : 1155-1156, 1982.
- 29) Sakazaki R, Tamura K, Ikura K and Sebald M : Taxonomical studies on marine vibrios. Iizuka H and Hasegawa T (ed), Proceedings of the First Conference on Culture Collections, University of Tokoy Press, Tokoy, 0

- 538, 1970.
 - 30) Thornsberry C, Anhalt J, Barry AL, Gerlach EH, Hossom J, Jones RN, Matsen JM, Moellering RC and Norton R : Method for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, p 36-71, 1983.
 - 31) Tacket CO, Barret TJ, Mann JM, Roberts MA and Blake PA : Wound infections caused by *Vibrio vulnificus*, a marine vibrio, in inland areas of the United States. *J. Clin. Microbiol.* **19** : 197-199, 1984.
 - 32) Tacket CO, Brenner F and Blake PA : Clinical features and an epidemiological study of *Vibrio vulnificus* infection. *J. Infect. Dis.* **149** : 558-561, 1984.
 - 33) Tison DL and Kelly MT : Virulence of *Vibrio vulnificus* strains from marine environments. *Appl. Environ. Microbiol.* **51** : 1004-1006, 1986.
 - 34) Tison DL and Kelly MT : *Vibrio vulnificus* endometritis. *J. Clin. Microbiol.* **20** : 185-186, 1984.
 - 35) Trying SK and Lee PC : Hemorrhagic bullae associated with *Vibrio vulnificus* septicemia. *Arch. Dermatol.* **122** : 818-820, 1986.
 - 36) Woo ML, Patrick WGD, Simon MTP and French GL : Necrotizing fasciitis caused by *Vibrio vulnificus*. *J. Clin. Pathol.* **37** : 1301-1304, 1984.
 - 37) Zide N, Davis J and Ehrenkrantz NJ : Fulminating *Vibrio parahaemolyticus* septicemia. *Arch. Intern. Med.* **133** : 479-481, 1974.
-