

실험적 피부포도알균 안내염에서 가티플록사신의 유리체강내 주사의 효과

이수영¹ · 류은혜¹ · 문선경¹ · 김현진¹ · 우소연² · 조민선³ · 고흥준⁴

이화여자대학교 의학전문대학원 안과학교실¹, 이화여자대학교 의학전문대학원 미생물학교실²,
이화여자대학교 의학전문대학원 병리학교실³, 연세대학교 의과대학 안과학교실⁴

목적 : 토끼눈에 피부포도알균 안내염을 일으킨 뒤 가티플록사신과 반코마이신을 유리체강내로 주사하여 치료효과를 비교해 보고자 하였다.

대상과 방법 : 흰토끼 30마리에 피부포도알균 안내염을 유발한 뒤 24시간 후 각 10마리씩 가티플록사신 200 µg/0.1 mL, 반코마이신 1000 µg/0.1 mL 그리고 평형염액(비치료감염군)을 유리체강내로 주사하였다. 균과 항생제 주사 전 후 시간대 별로 7일간 임상검사와 망막전위도 검사 그리고 유리체 배양을 실시하였으며, 안구를 적출하여 조직검사를 하였다. 망막전위도와 임상검사는 각 10마리 중 5마리씩 세 군(I, II, III군)에서만, 균배양은 나머지 5마리씩 세 군(IV, V, VI군)에서만 시행하였다.

결과 : 가티플록사신과 반코마이신 치료군은 임상소견, 망막전위도 결과, 조직손상 정도에 차이가 없었다. 가티플록사신과 반코마이신 치료군은 균주입 후 5일째에 채취한 유리체에서 모든 눈이 균배양 음성을 보인 반면 비치료 감염군에서는 모든 눈이 균배양 양성이었다.

결론 : 실험적인 피부포도알균 안내염에서 유리체강내로 주사한 200 µg/0.1 mL의 가티플록사신은 1000 µg/0.1 mL의 반코마이신과 대등한 치료효과를 보여주었다.

〈한안지 49(4):651-660, 2008〉

감염성 안내염은 눈 외상이나 눈 수술 후에 발생하는 심각한 합병증으로 눈 수술 또는 외상 당시 세균 등의 감염원자가 눈의 후방부로 유입되어 발생한다.¹ 눈 수술 후 발생하는 세균성 안내염의 빈도는 0.05%에서 0.37%로 알려져 있고, 가장 많이 검출되는 것은 그람양성균(94.2%)인데 그 중에서도 피부포도알균(*Staphylococcus epidermidis*)이 가장 흔하다(68%).^{2,3} 감염원으로써의 피부포도알균은 환자 자신의 결막이나 눈꺼풀의 정상균총에서 유래하는 것으로 알려져 있다.^{4,5} 세균성 안내염은 발생 후 빠른 시일 안에 제대로 치료하지 않으면 영구실명에 이를 수 있을

정도로 심각한 합병증인데,⁶ 정맥이나 경구를 통한 항생제의 전신투여로는 항생제가 눈속에 고농도로 신속하게 도달하기가 어렵다. 유리체강내 항생제주사는 눈속에서 세균을 제거할 수 있을 정도의 고농도의 항생제가 일정시간 유지되도록 하는데 있어 가장 빠르고 효과적인 방법이다.^{1,5} 세균성 안내염은 균배양 검사 결과가 나오기 전에 치료가 시작되어야 하므로, 그람양성균을 제거하기 위한 반코마이신과 그람음성균을 제거하기 위한 아미카신(amikacin) 또는 세프트타지딴(ceftazidime)을 유리체강내로 직접 주사하는 방법을 쓰고 있다.² 한번의 유리체강내 주사로 감염이 치료되지 않으면 2차 혹은 3차의 유리체강내 항생제 주사를 시도해야 할 수 있고, 반코마이신과 세프트타지딴은 하나의 주사기에 혼합하여 주사할 경우 침전이 되므로 각각의 주사기에 넣어 따로 주사하는 것이 원칙이다.⁵ 따라서, 그람양성균과 그람음성균 모두를 제거할 수 있는 광범위 항생제 한 가지만을 유리체강내로 주사하여 좀 더 오랜 기간 눈 안에서 작용하도록 할 수만 있다면, 여러 가지 항생제로 인한 눈독성이나 여러 번의 눈속 주사로 인한 위험성을 줄일 수 있으므로 세균성 안내염의 치료에 큰 도움이 될 것이다.⁶

〈접수일 : 2007년 6월 27일, 심사통과일 : 2007년 11월 21일〉

통신저자 : 이 수 영

서울시 양천구 목동 911-1

이화여자대학교 목동병원 안과

Tel: 02-2650-5154, Fax: 02-2654-4334

E-mail: sylee09@ewha.ac.kr

* 본 연구는 2004학년도 이화여자대학교 교내연구비 지원에 의한 연구임.

퀴놀론계 항생제는 그람양성균과 그람음성균 모두에 항균력이 있어서 눈에 생기는 여러 가지 세균감염에 널리 사용되고 있다.⁷⁻⁹ 최근 들어 2세대와 3세대 플루오로퀴놀론에 대한 내성균주가 출현하였는데, 이런 균주들이 4세대 플루오로퀴놀론에는 감수성을 보였다고 보고되었다.^{10,11} 가티플록사신은 4세대 플루오로퀴놀론으로 최근에 개발되었고, 세균성 안내염에서 흔히 분리되는 균들에 대해서 우수한 항균효과를 보여 주었다.¹² 가티플록사신은 경구용, 정맥주사용, 그리고 점안용의 세 가지 용도로 출시되어 있는데, 경구로 투여하거나 눈에 직접 점안했을 때 이전의 다른 항생제들에 비해 유리체와 전방에 높은 농도로 도달한다고 알려졌고, 눈 수술 전 후 세균성 안내염의 예방과 치료에 유용하게 사용될 수 있다고 보고되었다.¹³⁻¹⁵

가티플록사신은 정상 토끼눈에서 유리체강내로 주사했을 때 400 µg/0.1 mL 까지 망막독성이 없었다는 보고가 있었는데,¹⁶ 안내염에 대한 유리체강내 주사의 효과에 관해서는 아직 알려지지 않았다. 이에 저자들은 토끼눈에 실험적으로 피부포도알균 안내염을 유발한 후 유리체강내로 가티플록사신과 반코마이신을 주사하여 안내염의 치료 효과를 비교해 보고자 하였다.

대상과 방법

1.5~2.0 kg의 뉴질랜드 흰 토끼 30마리의 우안을 실험안으로, 좌안을 대조안으로 사용하였다. Xylazine hydrochloride (5 mg/kg)과 Tiletamine/Zolazepam (12.5 mg/kg)를 1:1로 혼합한 뒤 근육주사하여 마취시키고, 0.5% proparacaine hydrochloride로 국소마취를 하였다. 모든 눈은 2.5% phenylephrine hydrochloride와 1% tropicamide을 점안하여 동공을 산동하였다. 균을 접종하기 전에 세극등 검사와 도상검안경으로 비정상 소견의 유무를 조사하였다.

한국생명공학 연구원 유전자은행으로부터 분양받은 피부포도알균 균주(#3958)를 냉동된 상태에서 녹인 뒤 혈액현탁배지에 도말하여 37°C에서 15~18시간 동안 배양한 후 집락의 순수분리를 확인하였다. 순수집락의 균액을 20장의 평판혈액현탁배지에 도말하여 37°C에서 15~18시간 동안 배양하고 Hanks' balanced salt solution (HBSS)을 사용하여 피펫으로 균 집락을 수거하였다. 이 균액을 625 nm의 흡광도 0.15 근처가 되도록 희석하여 약 10⁷ CFU (colony forming unit)/mL으로 맞춘 뒤, 여기에 글리세롤을 15%가 되도록 첨가한 후 1 mL씩 나누어 70°C에 보관하였다. 이렇게 얼려진 균액을 녹여 계단희석 후 세균의 수를 정량하였다. 실험안에 주입한 균액은 냉동 보관된 균액

1 mL을 녹여 HBSS로 2회 세척하고, 0.9% NaCl에 부유시켜 10⁶ CFU/mL으로 농도를 맞추어 사용하였다.

1. 망막전위도 검사

토끼는 앞서 기술된 방법대로 산동을 한 뒤 암실에서 30분간 암순응 시켰다. 마찬가지로 앞서 기술된 방법으로 근육주사로 마취한 뒤 양안에 각막전극(ERG jet[®], Universo Ltd, Switzerland)을 부착하고, 이마에 불관전극을, 그리고 한쪽 귀에 접지전극을 부착한 후 Ganzfeld dome을 이용하여 광자극을 주었다.

Scotopic white 0 dB로 자극한 maximal combined response를 기록하였다. 광원은 Ganzfeld stimulator (UTAS-E 2000, LKC Technologies)를 이용하였다. 토끼에서 망막전위도의 진폭은 개체간의 차이가 크고, 같은 개체라도 마취의 깊이에 의해 차이가 있을 수 있다고 알려져 있다. 양안을 동시에 측정하면 양안은 동일한 조건에서 검사 받게 되므로 양안의 진폭 비(실험안: 대조안)를 망막기능의 지표로 삼았다.^{17,18} 망막전위도는 1분 간격으로 5회씩 측정하여 평균을 구하였다.

2. 세균 접종

30마리 토끼의 우안에 피부포도알균 균주(10⁵ CFU/0.1mL)를 1 mL 주사기에 부착된 30개이지 바늘을 이용하여 각막윤부 2 mm 뒤 모양체평면부를 통해 유리체강내에 접종시켰다. 균주입 후의 과도한 안압상승을 막기 위해 1 mL 주사기에 부착된 26개이지 바늘을 이용하여 균주입 전에 전방천자를 시행하였다.

3. 유리체강내 항생제 주사

본 실험에 사용한 피부포도알균에 대한 최저억제농도(minimal inhibitory concentration, MIC)를 구하기 위해 가티플록사신과 반코마이신을 Muller Hinton broth에 희석한 뒤 각 시험관에 5×10⁵ CFU/mL의 피부포도알균을 접종하였다. 세균의 성장을 완전히 억제하는 가장 낮은 농도를 최저억제농도로 기록하였는데, 피부포도알균에 대한 최저억제농도는 가티플록사신이 0.25 µg/mL, 반코마이신이 1.25 µg/mL 였다.

토끼 30마리를 먼저 10마리씩 세 군으로 나누어 각기 가티플록사신 치료군, 반코마이신 치료군, 비치료 감염군(비치료군)으로 정하였고, 각 군의 10마리는 다시 5마리씩 두 군으로 나누어 한 군은 임상검사와 망막전위도 검사를 하고, 나머지 한 군은 일자별로 균배양 검사를 시행하였다.

피부포도알균을 실험안에 접종한 후 24시간 뒤에 I, IV군 각 5마리에는 가티플록사신(200 µg/0.1 mL)을 유리체강내로 주사하였고, II, V군 각 5마리에는 반코마이신(1000 µg/0.1 mL)을, 그리고 III, VI군 각 5마리에는 평형염액 0.1 mL를 주사하였다. 좌안은 정상안으로 이용하였다.

4. 치료효과의 확인

30마리 중 15마리(I, II, III군)는 균 접종 전과 마지막 임상검사 후에 망막전위도 검사를 시행하였다. 균 접종 후 1, 2, 3, 그리고 6일째(항생제 주사 직전, 주사

후 1, 2, 그리고 5일째)에 세극등 현미경과 도상검안경을 이용하여 각막, 결막, 전방, 홍채, 유리체의 염증 정도를 Engelbert et al¹⁹의 분류(Table 1)에 따라 점수를 계산하여 기록하였다. 세균 접종 후 7일째에 망막전위도 검사를 시행한 뒤 세균배양을 위해 유리체를 0.1 mL 흡인하였고, 이 후 안구적출을 시행하였다.

나머지 15마리(IV, V, VI군)는 임상검사와 망막전위도를 시행하지 않았으며, 균주입 후 36시간, 3일, 5일, 7일(항생제 주사 후 12시간, 48시간, 4일, 6일) 뒤에 세균배양을 위해 유리체를 흡인하였다. 근육마취된 상태의 토끼에서 우안의 유리체평면부를 통해 1 mL 주사기에 부착된 26게이지 바늘로 0.1 mL의 유리체액

Table 1. Grading scheme for clinical observations*

Score	Cornea	Iris and anterior chamber	Vitreous and retina
0	Normal appearance	Normal appearance	Normal appearance
1	Mild stromal haze	Mild hyperemia, cells in anterior chamber	White condensation in vitreous, petechial hemorrhages along nerve-vessel-streaks
2	Moderate stromal haze	Moderate hyperemia, exudate in anterior chamber	Vitreous haze, optic disc and large vessels still visible
3	Cornea opaque	Iris vessels engorged and massive exudate in anterior chamber, or iris not visualizable because of anterior chamber inflammation	No red reflex

* Cornea, iris and anterior chamber, and vitreous and retina were assigned points according to the described features. The score for anterior chamber and iris findings was multiplied by a factor of 2, and the score for vitreous findings by a factor of 3, before being added up. This score was then divided by 6 to give a range from 0 (normal appearance) to 3 (severe inflammatory changes).

Table 2. Grading scheme for histopathologic evaluation*

Score	Cornea and limbus	Ciliary body	Vitreous base	Retina
1	Normal	Normal	Normal	Normal
2	0-1 Inflammatory cells in cornea, mild limbal infiltrate	0-50 Inflammatory cells per 40x field	0-20 Inflammatory cells per 40x field	Cystoid changes, thickness increased up to twice normal, few infiltrates
3	1-3 Corneal infiltrates, marked limbal infiltrates	50-100 Inflammatory cells per 40x field	20-50 Inflammatory cells per 40x field	Thickness increased to more than twice normal, mild infiltrate, photoreceptors recognizable
4	3-5 Infiltrates, marked limbal infiltrates	100-200 Inflammatory cells per 40x field	50-150 Inflammatory cells per 40x field	Retinal layers discernible, marked leukocytic infiltrates, no photoreceptors recognizable
5	3-5 Infiltrates, severe limbal infiltrates and swelling	>200 Inflammatory cells per 40x field	>150 Inflammatory cells per 40x field	No discernible retinal layers, massive inflammatory infiltrate

* Cornea, ciliary body, vitreous base, and retina were assigned points according to the described features. To emphasize the importance of the findings in the posterior segment, vitreous points were multiplied by 2 and retinal points by 3. Points were added up, and the mean total score calculated. The total score was then divided by 7 to give a range from 1 (no pathologic changes) to 5 (severe inflammatory changes).

을 흡인하였다. 토끼는 마지막 유리체 흡인(항생제 주사 후 6일째) 후 안구를 적출하였다. 흡인한 유리체를 HBSS으로 1×10^1 배부터 1×10^3 배까지 계단 희석한 후 각각의 희석배수에서 0.1 mL의 희석된 유리체액을 채취하여 혈액한천배지에 도말한 뒤 37°C의 배양기에서 48시간 배양하여 세균수를 측정하였다.

적출된 안구는 10% 중성포르말린에 고정하여 시신경이 포함되도록 정중양으로 자른 뒤 H & E 염색을 하였고, Engelbert et al¹⁹의 분류(Table 2)에 따라 조직학적 손상정도를 점수로 계산하여 비교하였다.

결과는 평균±SD로 표시하였고 통계는 Wilcoxon test와 Kruskal Wallis test, 그리고 Mann-Whitney U test 등을 이용하였으며 p-value는 0.05 미만인 경우에 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다(SPSS Version 11.0).

결 과

1. 임상 소견

피부포도알균 접종 후 24시간째(항생제 주사 직전, day 2)에는 모든 실험군에서 결막과 각막의 부종, 유리체혼탁 등의 소견이 관찰되었고, 홍채의 충혈과 전방 축농이 관찰되기도 하였으며, 이 시기에는 모든 실험군

의 임상소견에 유의한 차이가 없었다. 세균 접종 후 48시간째(항생제 주사 후 24시간, day 3)부터는 항생제 치료군(I, II 군)이 비치료군(III 군)에 비해 염증소견이 유의하게 호전되었고, 마지막 임상검사를 할 때까지 유의한 차이가 지속되었다($p < 0.05$).

항생제 치료군(I, II군)은 세균접종 후 3일째(day 4)에 염증 소견이 가장 심했지만 이후 호전되었는데, 비치료군(III군)은 염증이 계속 악화되었다. 가티플록사신 치료군(I군)과 반코마이신 치료군(II군) 사이에는 각 날짜 별로 임상소견의 차이가 없었다(Table 3).

2. 망막전위도

세균 접종 전의 b파 진폭 비(실험안/대조안)는 항생제 치료군(I, II군)과 비치료군(III군) 사이에 차이가 없었으나, 군 접종 후 7일 뒤(항생제 치료 후 6일 뒤)에는 비치료군(III군)의 b파 진폭 비가 항생제 치료군(I, II군)에 비해 유의하게 감소하였다($p < 0.05$). 가티플록사신 치료군(I군)과 반코마이신 치료군(II군) 사이에는 군접종 7일 뒤의 b파 진폭비에 유의한 차이가 없었다. 각각의 군 내에서 세균 접종 전과 세균 접종 7일 후의 b파 진폭비는 세 군 모두 유의한 차이가 없었다($p > 0.05$)(Table 4, Fig. 1).

Table 3. Statistical summary of the clinical scores and histopathologic results

Group	Clinical scores [§] at				Histopathologic scores
	day 2	day 3	day 4	day 7	
I, Gatifloxacin (200 µg/0.1 mL)	0.95±0.23*	1.53±0.44 [†] ‡	1.92±0.18 [†] ‡	0.81±0.22 [†] ‡	1.78±0.40 [†] ‡
II, Vancomycin (1000 µg/0.1 mL)	1.13±0.27*	1.37±0.42 [†] ‡	1.80±0.22 [†] ‡	0.87±0.40 [†] ‡	1.90±0.28 [†] ‡
III, Infected control (BSS 0.1 mL)	1.25±0.29	2.04±0.09	2.46±0.09	2.67±0.13	3.04±0.52

* $p > 0.05$, compare with infected control group (Kruskal-Wallis Test); [†] $p < 0.05$, compare with infected control group (Kruskal-Wallis Test); [‡] $p > 0.05$, compare between gatifloxacin and vancomycin treated groups (Mann-Whitney U Test); [§] Mean clinical scores are calculated on day 2, 3, 4, and 7 which corresponds to 1, 2, 3, and 6 days after bacterial inoculation, respectively.

Table 4. Average ERG ratio^{II} of each study group

Group	Preinoculation	7 days after inoculation	$p^§$
I, Gatifloxacin (200 µg/0.1 mL)	1.09±0.17 ^{*†}	0.98±0.13 [†] ‡	0.116
II, Vancomycin (1000 µg/0.1 mL)	0.99±0.13 ^{*†}	0.90±0.36 [†] ‡	0.498
III, Infected control (BSS 0.1 mL)	1.07±0.11	0.29±0.15	0.068

* $p > 0.05$, compare with infected control group (Kruskal Wallis test); [†] $p < 0.05$, compare with infected control group (Kruskal-Wallis test); [‡] $p > 0.05$, compare between gatifloxacin and vancomycin treated groups (Mann-Whitney U Test); [§] Wilcoxon signed ranks test; ^{II} b-wave amplitude ratio of eyes inoculated with *S. epidermidis* compared with contralateral control eyes.

Table 5. Average ERG ratio[§] of each study group

Group	Preinoculation	7 days after inoculation	<i>p</i> [‡]
I, Gatifloxacin (200 µg/0.1 mL)	1.01±0.11**	1.45±0.15**	0.028
II, Vancomycin (1000 µg/0.1 mL)	1.08±0.04**	1.34±0.10**	0.043
III, Infected control (BSS 0.1 mL)	1.07±0.12	1.34±0.30	0.114

* *p*>0.05, compare with infected control group (Kruskal-Wallis test); † *p*>0.05, compare between gatifloxacin and vancomycin treated groups (Mann-Whitney U Test); ‡ Wilcoxon signed ranks test; § b-wave implicit time ratio of eyes inoculated with *S. epidermidis* compared with contralateral control eyes.

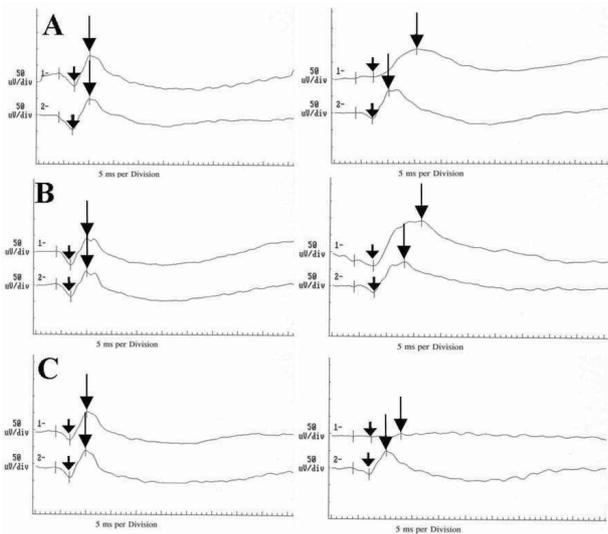


Figure 1. ERG responses obtained from eyes of groups I (A), II (B), and III (C). In each graph, the upper curves (wave 1) correspond to the ERG of experimental eyes and lower curves (wave 2) represent ERG from contralateral normal eyes. Baseline ERG before inoculation of *S. epidermidis* is on the left and the ERG of the same eyes 7 days after bacterial inoculation (6th day of antibiotics injection) is on the right. In gatifloxacin (A) and vancomycin (B) administered groups, the b-wave amplitude ratios (experimental/contralateral) are not changed, but b-wave implicit time ratios (experimental/contralateral) increase 7 days after bacterial inoculation. In infected control group (C), the wave of experimental eye is nearly extinguished. Short arrows, trough of a-waves; long arrows, peak of b-waves.

그러나, 항생제 치료군(I, II군)에서는 b파의 정점잠시(implicit time)가 세균 접종 전에 비해 세균 접종 후 7일째에는 유의하게 늘어났다(*p*<0.05). 비치료군(III군)에서도 b파의 정점잠시가 늘어나긴 했지만, 세균접종 전과 비교했을 때 유의한 수준은 아니었다(Table 5, Fig. 1).

3. 유리체흡인액의 배양결과

망막전위도를 시행했던 실험군(I, II, III군)에서는 세균접종 후 7일째에만 안구적출 전에 유리체를 흡인하여 배양했는데 모든 눈에서 균이 검출되지 않았다.

망막전위도를 시행하지 않고, 날짜별로 4회에 걸쳐 유리체를 흡인했던 실험군(IV, V, VI군)에서는 항생제 치료 후 12시간째(day 3)부터 항생제 치료군(IV, V군)과 비치료군(VI군)의 세균수에 유의한 차이가 있었다. 항생제 치료 후 4일째(day 6)부터 항생제 치료군(IV, V군)에서는 세균이 배양되지 않은 반면, 비치료군(VI군)에서는 6일째(day 8) 되는 날에 4일째(day 6)보다도 세균수가 증가하였다. 가티플록사신 치료군(IV군)과 반코마이신 치료군(V군) 사이에는 세균수에 유의한 차이가 없었다(Table 6).

세균의 평균수가 아닌 세균 배양 양성율(각 5안 중 세균배양 양성을 보인 눈의 비율)을 시간에 따라 살펴보면, 항생제 치료 후 48시간(day 3)까지의 균배양 양성율은 각 실험군 사이에 차이가 없었다. 치료 후 4일째(day 6)와 6일째(day 8)에 항생제 치료군(IV, V군)에서는 균이 배양되지 않았고, 비치료군(VI군)은 4일째(day 6)에 100%, 6일째(day 8)에는 80%로 항생제 치료군과 유의한 차이를 보였다. 가티플록사신 치료군(IV군)과 반코마이신 치료군(V군) 사이에는 각 시기별로 세균의 배양 양성율에 유의한 차이가 없었다(Table 7).

4. 조직병리학적 소견

항생제 치료군(I, II, IV, V군)에 비해 비치료군(III, VI군)에서 염증에 의한 조직 손상 정도가 유의하게 높은 수치를 보였다(Table 3, Table 7). 가티플록사신 치료군과 반코마이신 치료군의 조직 손상 정도에는 유의한 차이가 없었다(Table 3, Table 7). 임상검사와 망막전위도 검사를 시행하고 최종적으로 1회의

Table 6. Culture results

Group	CFU/mL [‡]			
	day 3	day 4	day 6	day 8
IV, Gatifloxacin (200 µg/0.1 mL)	6586±10521.11 ^{**}	228±487.77 ^{**}	0 ^{**}	0 ^{**}
V, Vancomycin (1000 µg/0.1 mL)	65±92.33 ^{**}	2.0±4.47 ^{**}	0 ^{**}	0 ^{**}
VI, Infected control (BSS 0.1 mL)	1.25×10 ⁷ ±1.04×10 ⁷	7.75×10 ⁷ ±1.02×10 ⁷	2.75×10 ⁵ ±5.74×10 ⁵	2.96×10 ⁶ ±5.70×10 ⁶

Day 3, 4, 6, and 8 corresponds to 36 h, 3, 5, and 7 days after inoculation, respectively; * $p < 0.05$, compare with infected control group (Kruskal Wallis Test); † $p > 0.05$, compare between gatifloxacin and vancomycin treated groups (Mann-Whitney U Test); ‡ After 36 h, 3, 5, and 7 days of inoculation, vitreous aspirates were obtained and inoculated on the blood agar plate and incubated for 48 h at 37°C. After the incubation period, surface colonies were counted and converted into CFU/mL.

Table 7. Culture results expressed as culture positivity[#] and histopathologic scores

Group	No. of eyes that shows culture positive after 48 h of incubation				Histopathologic Scores
	day 3	day 4	day 6	day 8	
IV, Gatifloxacin (200 µg/0.1 mL), N=5	4 (80%) ^{**}	2 (40%) ^{**}	0 (0%) ^{† ‡}	0 (0%) ^{† ‡}	2.02±0.39 ^{§II}
V, Vancomycin (1000 µg/0.1 mL), N=5	3 (60%) ^{**}	1 (20%) ^{**}	0 (0%) ^{† ‡}	0 (0%) ^{† ‡}	2.04±0.39 ^{§II}
VI, Infected control (BSS 0.1 mL), N=5	5 (100%)	5 (100%)	5 (100%)	4 (80%)	4.14±0.57

Day 3, 4, 6, and 8 corresponds to 36 h, 3, 5, and 7 days after inoculation, respectively; * $p > 0.05$, compare with infected control group (Chi-Square Test); † $p < 0.05$, compare with infected control group (Chi-Square Test); ‡ $p > 0.05$, compare between gatifloxacin and vancomycin treated groups (Chi-Square Test); § $p < 0.05$, compare with infected control group (Kruskal-Wallis Test); II $p > 0.05$, compare between gatifloxacin and vancomycin treated groups (Mann-Whitney U test); # After 36 h, 3, 5, and 7 days of inoculation, vitreous aspirates were obtained and inoculated on the blood agar plate and incubated for 48 h at 37°C. After the incubation period, number of eyes that shows culture positive are counted.

유리체 흡인을 했던 실험군들(I, II, III군)보다 4회의 유리체 흡인을 실시했던 실험군들(IV, V, VI군)에서 조직의 손상이 좀 더 심한 양상을 보였다(Fig. 2, 3).

고 찰

4세대 플루오로퀴놀론은 그람음성균에 대해서는 2세대나 3세대 플루오로퀴놀론과 동일한 항균효과를 보이면서 그람양성균에 대해서는 이전 세대 플루오로퀴놀론보다 항균효과가 강력하다고 알려져 있다.⁶ 또한, 4세대 플루오로퀴놀론은 세균의 DNA 복제에 필요한 2가지 중요 효소에 모두 결합하기 때문에 두 번의 변이가 일어나야 내성이 생긴다. 따라서 4세대 플루오로퀴놀론은 한가지의 효소만 저해하는 2세대나 3세대 플루오로퀴놀론보다 내성에 강하다고 할 수 있다.¹¹ 항생제 내성인 균주를 효과적으로 죽이려면 낮은 최저억제농도(MIC)와 높은 조직농도를 보여야 하는데,²⁰ 4세대 플루오로퀴놀론인 가티플록사신의 그람양성균에 대한 최저억제농도는 이전 세대 플루오로퀴놀론의 최저억제농도의 1/4에서 1/8정도 수준으로 훨씬 낮다.^{11,21} 하지만 이런 조건을 모두 갖추었다고 해도 생체에 독성이 있거나, 그람양성균 안내염의 표준치료로 여겨지는 반코마

이신보다 효과가 나쁘다면 실제로 사용하기가 어렵다. Kazi et al¹⁶은 정상 토끼눈에서 가티플록사신을 400 µg/0.1 mL 까지 유리체강내에 주사했을 때 독성이 없었다고 보고하였는데, 이들은 최대 용량을 400 µg/0.1 mL까지만 계획하여 실험한 것이었으므로 이 용량을 초과하여도 안전한지에 관해서는 후속 연구가 필요하다. 본 연구에서 안내염에 사용한 가티플록사신의 용량은 이 약물의 최저억제농도에 의거하여 정하였는데, 본 연구에 사용한 피부포도알균에 대한 최저억제농도는 반코마이신이 1.25 µg/mL 이었고, 가티플록사신은 0.25 µg/mL로 반코마이신의 1/5농도였다. 기존의 실험적 안내염에 관한 연구들^{19,22}에서 반코마이신의 유리체강내 주사 용량을 1000 µg/0.1 mL 사용하였으므로, 본 연구에서도 반코마이신은 1000 µg/0.1 mL로 하였고, 가티플록사신은 반코마이신 용량의 1/5인 200 µg/0.1 mL로 정했다. 안내염에서 원인균을 제거하기 위한 항생제의 치료농도는 그 균에 대한 항생제의 최저억제농도의 2~10배 농도 이상으로 눈속에 도달해야 한다.^{1,3} 본 연구에 사용한 반코마이신과 가티플록사신은 토끼의 유리체 용적을 1.5 mL로 가정했을 때 최저억제농도의 500배에 해당하여, 균을 제거하기에 충분한 농도였다. Ermis et al⁴은 토끼를 이용한 피부포도알

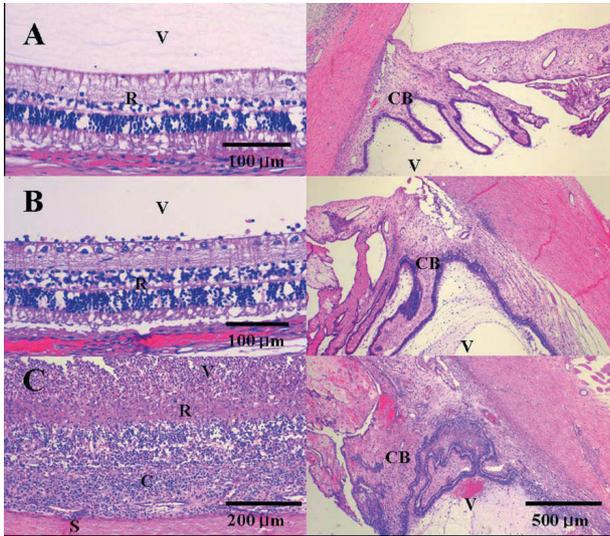


Figure 2. Histopathologic features of the retina, ciliary body, and vitreous in three eyes from each group (H & E). Gatifloxacin (A, group I) and vancomycin (B, group II) treated eyes shows relatively clear vitreous and well preserved retinal layers. In infected control group (C, group III), the retina, ciliary body, and vitreous are infiltrated with many inflammatory cells. Left column shows the retina, choroid, and sclera. $\times 200$ (A and B), $\times 100$ (C). Right column represents the ciliary body and vitreous base. $\times 40$ (A, B, and C). V, vitreous cavity; R, retina; C, choroids; S, sclera; CB, ciliary body.

균 안내염에서 또 다른 종류의 4세대 플루오로퀴놀론인 목시플록사신(moxifloxacin) 50 $\mu\text{g}/0.1\text{ mL}$ 을 유리체강내로 주사하여 주사 후 3일째에 비치료군에 비해 세균수가 유의하게 감소했다고 보고하였다. 본 연구에서는 균 주입 후 5일째(치료 후 4일째)부터 가티플록사신 치료군(IV군)의 모든 실험안들이 균배양 음성을 보여 반코마이신 치료군(V군)과 동일한 양상이었고, 날짜별로 살펴본 세균수도 반코마이신 치료군과 유의한 차이가 없었다. 또한 가티플록사신 치료군(IV군)은 비치료 감염군(VI군)에 비해 세균수가 유의하게 적게 검출되었고 균배양 양성율도 유의하게 낮았다.

실험적 안내염에서는 균의 자연소멸(autosterilization) 현상이 종종 관찰되어 왔는데, 정확한 기전은 확실히 밝혀져 있지 않다. 같은 균일지라도 세균의 균주(strain) 변이와 주입한 균의 수, 무수정체안인가 유리체절제술을 받은 눈인가 하는 눈의 상태, 균의 독성 등이 염증 정도와 균의 자연소멸(autosterilization)에 영향을 준다고 알려졌다.²³⁻²⁶ 본 연구에서도 7일째에 1회만 균 배양을 실시한 비치료군(III군)의 5안 모두와, 4회의 균배양 검사를 실시한 비치료군(VI군)의 5안 중 1안에서 균주입 후 7일째에 균배양 음성을 보여 균의 자

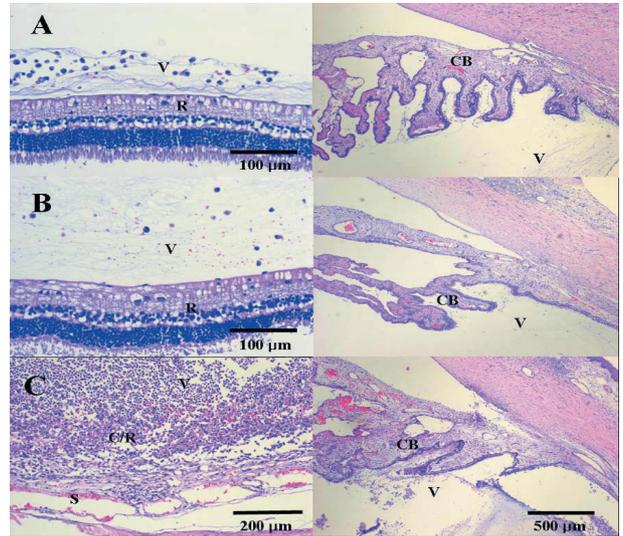


Figure 3. Histopathologic features of the retina, ciliary body, and vitreous in groups 4 (A), 5 (B), and 6 (C) (H & E). Gatifloxacin (A, group IV) and vancomycin (B, group V) treated eyes show relatively clear vitreous and well preserved retinal layers. Some inflammatory cells are observed in the vitreous cavity. In untreated infected control group (C, group VI), the retina, ciliary body, and vitreous are infiltrated with dense inflammatory cells and no retinal layer is intact. Left column shows the retina, choroids, and sclera. $\times 200$ (A and B), $\times 100$ (C). Right column represents the ciliary body and vitreous base. $\times 40$ (A, B, and C). V, vitreous cavity; R, retina; C, choroids; S, sclera; CB, ciliary body.

연소멸(autosterilization)의 가능성을 시사해 주었다.

피부포도알균을 유리체강내로 주사하여 안내염을 일으켰을 때 가티플록사신 치료군은 비치료군에 비해 임상소견이나 병리조직검사, 망막전위도 검사 등에서 유의하게 양호한 결과를 보여 주었다. 또한 반코마이신 치료군과 비교해 보았을 때에도 대등한 치료 성적을 나타냈다. 균의 배양결과에 근거한 균의 제거 속도에 있어서 반코마이신 치료군보다 균이 제거되는 속도가 가티플록사신 치료군에서 약간 느렸으나 유의한 정도는 아니었다. 그리고, 망막전위도 검사상 가티플록사신 치료군과 반코마이신 치료군에서는 치료 후 b파의 진폭비가 감소하지 않았지만 b파의 정점잠시가 연장되었는데, 항생제 치료 후 망막전위도 측정 당시 유리체 혼탁은 거의 회복되었던 시점인 것을 감안할 때, 이는 감염 및 염증반응으로 인한 망막미세구조의 손상에 기인한 것으로 추정하였다.

그람염성균에 의한 감염성 안내염에 사용되는 세프타지딴은 반코마이신이나 평형염액과 혼합했을 때 침전(precipitation)현상이 생겨 세균을 제거할 유효농도

에 미치지 못한다는 문제점이 제기된 후, 2세대 플루오로퀴놀론인 싸이프로플록사신(ciprofloxacin)을 그람 음성균 안내염에 세프타지딴을 대신하여 사용하는 것이 유용하다는 보고가 있었다.^{27,28} 가티플록사신은 그람 양성균에 대해 싸이프로플록사신과 동일한 항균력을 보이면서 그람양성균에 대해서는 항균력이 더 우수하다고 알려져 있다.⁶ 따라서 향후의 연구 결과에 따라 두 가지 항생제를 유리체강내에 따로 주사하는 치료의 불편함과 부작용을 줄이기 위해 광범위 항생제인 가티플록사신을 유리체강내로 단독 주사하는 치료가 세균성안내염의 일차치료로 사용될 수도 있을 것이다. 가티플록사신은 경구 투여한 후에 눈 속에 도달하는 농도가 다른 항생제들보다 우수하다고 알려져 있으므로^{13,14} 경구투여와 유리체강내주사의 병합 효과 또한 연구해 볼 필요가 있겠다.

본 연구에 사용된 피부포도알균이 세균성 안내염의 가장 흔한 원인균이기는 하나, 안내염의 원인균 중 비교적 약독성(low virulence)이고 병의 진행이 느린 경우가 많다. Choi et al²⁹에 의하면 외상성 안내염의 가장 흔한 원인균이며 빠른 조직손상을 보이고 강한 독성을 가진 *B. cereus*안내염에서 2세대 플루오로퀴놀론인 싸이프로플록사신은 유리체강내로 주사하였을 때 반코마이신과 동등한 치료효과를 보였다고 하므로, 다른 그람양성균에 대한 가티플록사신의 치료 효과 또한 기대해 볼 만하다고 생각한다. 안내염에서 분리되는 그람양성균에 대해서 반코마이신만큼 감수성이 높은 항생제는 현재까지 없다고 최근에 보고되기도 했지만,³⁰ 반코마이신에 내성을 가진 균주가 속속 출현하고 있고,³¹⁻³³ 반코마이신에 과민반응(allergy)을 보이는 환자에게는 부득이하게 반코마이신을 쓰기 어려울 수 있다. 본 연구에서 피부포도알균에 의한 안내염의 치료에 있어서 가티플록사신은 반코마이신과 대등한 효과를 보여 주었으므로 향후 반코마이신을 대체할 약물로 고려해 볼 수 있을 것이다. 다만, 본 실험에서 균배양 검사와 망막전위도 검사를 따로 시행하기 위해 각 군에 각기 다섯 마리라는 비교적 적은 수의 토끼를 사용한 것은 본 연구의 제한점이라고 볼 수 있을 것이다. 가티플록사신을 유리체강내 주사제로서 안전하고 효과적으로 사용하기 위해서는 추후 유리체강내에서의 가티플록사신의 약동학(pharmacokinetics) 연구와 더불어 좀 더 많은 수의 대상안과 다양한 농도의 가티플록사신을 이용한 실험이 필요할 것으로 생각한다.

참고문헌

1) O'Day DM, Jones DB, Patrinely J, Elliott JH. Staphylococcus epidermidis endophthalmitis. Visual outcome following

noninvasive therapy. Ophthalmology 1982;89:354-60.
 2) Results of the Endophthalmitis Vitrectomy Study. A randomized trial of immediate vitrectomy and of intravenous antibiotics for the treatment of postoperative bacterial endophthalmitis. Endophthalmitis Vitrectomy Study Group. Arch Ophthalmol 1995;113:1479-96.
 3) Aydin E, Kazi AA, Peyman GA, Esfahani MR. Intravitreal toxicity of moxifloxacin. Retina 2006;26:187-90.
 4) Ermis SS, Cetinkaya Z, Kiyici H, Ozturk F. Treatment of Staphylococcus epidermidis endophthalmitis with intravitreal moxifloxacin in a rabbit model. Tohoku J Exp Med 2005;205:223-9.
 5) Roth DB, Flynn HW Jr. Antibiotic selection in the treatment of endophthalmitis: the significance of drug combinations and synergy. Surv Ophthalmol 1997;41:395-401.
 6) Gao H, Pennesi ME, Qiao X, et al. Intravitreal moxifloxacin: retinal safety study with electroretinography and histopathology in animal models. Invest Ophthalmol Vis Sci 2006;47:1606-11.
 7) Bower KS, Kowalski RP, Gordon YJ. Fluoroquinolones in the treatment of bacterial keratitis. Am J Ophthalmol 1996;121:712-5.
 8) Donnenfeld ED, Schrier A, Perry HD, et al. Penetration of topically applied ciprofloxacin, norfloxacin, and ofloxacin into the aqueous humor. Ophthalmology 1994;101:902-5.
 9) Rowen S. Preoperative and postoperative medications used for cataract surgery. Curr Opin Ophthalmol 1999;10:29-35.
 10) Goldstein MH, Kowalski RP, Gordon YJ. Emerging fluoroquinolone resistance in bacterial keratitis: a 5 year review. Ophthalmology 1999;106:1313-8.
 11) Mather R, Karenchak LM, Romanowski EG, Kowalski RP. Fourth generation fluoroquinolones: new weapons in the arsenal of ophthalmic antibiotics. Am J Ophthalmol 2002;133:463-6.
 12) Ednie LM, Jacobs MR, Appelbaum PC. Activities of gatifloxacin compared to those of seven other agents against anaerobic organisms. Antimicrob Agents Chemother 1998;42:2459-62.
 13) Hariprasad SM, Mieler WF, Holz ER. Vitreous penetration of orally administered gatifloxacin in humans. Trans Am Ophthalmol Soc 2002;100:153-9.
 14) Hariprasad SM, Mieler WF, Holz ER. Vitreous and aqueous penetration of orally administered gatifloxacin in humans. Arch Ophthalmol 2003;121:345-50.
 15) Solomon R, Donnenfeld ED, Perry HD, et al. Penetration of topically applied gatifloxacin 0.3%, moxifloxacin 0.5%, and ciprofloxacin 0.3% into the aqueous humor. Ophthalmology 2005;112:466-9.
 16) Kazi AA, Jermak CM, Peyman GA, et al. Intravitreal toxicity of levofloxacin and gatifloxacin. Ophthalmic Surg Lasers Imaging 2006;37:224-9.
 17) Loewenstein A, Zemel E, Lazar M, Perlman I. Drug induced retinal toxicity in albino rabbits: the effects of imipenem and aztreonam. Invest Ophthalmol Vis Sci 1993;34:3466-76.

- 18) Mino De Kaspar H, Hoepfner AS, Engelbert M, et al. Antibiotic resistance pattern and visual outcome in experimentally-induced *Staphylococcus epidermidis* endophthalmitis in a rabbit model. *Ophthalmology* 2001;108:470-8.
- 19) Engelbert M, Mino de Kaspar H, Thiel M, et al. Intravitreal vancomycin and amikacin versus intravenous imipenem in the treatment of experimental *Staphylococcus aureus* endophthalmitis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2004;242:313-20.
- 20) Domagala JM. Structure activity and structure side effect relationships for the quinolone antibacterials. *J Antimicrob Chemother* 1994;33:685-706.
- 21) Hwang DG. Fluoroquinolone resistance in ophthalmology and the potential role for newer ophthalmic fluoroquinolones. *Surv Ophthalmol* 2004;49:79-83.
- 22) Ozkiris A, Evereklioglu C, Esel D, et al. The efficacy of intravitreal piperacillin/tazobactam in rabbits with experimental *Staphylococcus epidermidis* endophthalmitis: a comparison with vancomycin. *Ophthalmic Res* 2005;37:168-74.
- 23) Maxwell DP Jr, Brent BD, Orillac R, et al. A natural history study of experimental *Staphylococcus epidermidis* endophthalmitis. *Curr Eye Res* 1993;12:907-12.
- 24) Meredith TA, Aguilar HE, Miller MJ, et al. Comparative treatment of experimental *Staphylococcus epidermidis* endophthalmitis. *Arch Ophthalmol* 1990;108:857-60.
- 25) Meredith TA, Trabelsi A, Miller MJ, et al. Spontaneous sterilization in experimental *Staphylococcus epidermidis* endophthalmitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990;31:181-6.
- 26) Chung KH, Shin JP, Kim IT. Spontaneous sterilization in experimental *Staphylococcus* and *Pseudomonas* endophthalmitis. *J Korean Ophthalmol Soc* 1995;36:1895-902.
- 27) Kwok AK, Hui M, Pang CP, et al. An in vitro study of ceftazidime and vancomycin concentrations in various fluid media: implications for use in treating endophthalmitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43:1182-8.
- 28) Hui M, Kwok AK, Pang CP, et al. An in vitro study on the compatibility and precipitation of ciprofloxacin and vancomycin in human vitreous. *Br J Ophthalmol* 2004;88:218-22.
- 29) Choi KS, Kim JS, Nam KR. Effect of intravitreal ciprofloxacin in the treatment of experimental *Bacillus* endophthalmitis. *J Korean Ophthalmol Soc* 2002;43:890-7.
- 30) Recchia FM, Busbee BG, Pearlman RB, et al. Changing trends in the microbiologic aspects of postcataract endophthalmitis. *Arch Ophthalmol* 2005;123:341-6.
- 31) Esmaeli B, Holz ER, Ahmadi MA, et al. Endogenous endophthalmitis secondary to vancomycin-resistant enterococci infection. *Retina* 2003;23:118-9.
- 32) Saenz Gonzalez MC, Valero Juan LF. [Enterococcus sp. resistance, a growing problem. Epidemiologic study (1987-1993)]. *Med Clin (Barc)* 1994;103:485-9.
- 33) Schwalbe RS, Stapleton JT, Gilligan PH. Emergence of vancomycin resistance in coagulase negative staphylococci. *N Engl J Med* 1987;316:927-31.

=ABSTRACT=

The Efficacy of Intravitreal Gatifloxacin in Experimental *S. epidermidis* Endophthalmitis

Soo Young Lee, M.D.¹, Eun Hye Ryu, M.D.¹, Sun Kyung Moon, M.D.¹, Hyun Jin Kim, M.D.¹,
So-Youn Woo, M.D.², Min-Sun Cho, M.D.³, Hyoung Jun Koh, M.D.⁴

Department of Ophthalmology, Ewha Womans University School of Medicine¹, Seoul, Korea

Department of Microbiology, Ewha Womans University School of Medicine², Seoul, Korea

Department of Pathology, Ewha Womans University School of Medicine³, Seoul, Korea

Department of Ophthalmology, Yonsei University College of Medicine⁴, Seoul, Korea

Purpose: To compare the efficacy of intravitreal gatifloxacin with intravitreal vancomycin in the treatment of *Staphylococcus epidermidis* endophthalmitis in a rabbit model.

Methods: Albino rabbits (n=30), infected with an intravitreal inoculum of *S. epidermidis* (10^5 colony forming unit/0.1 mL), were divided into 6 groups (n=5). Groups I and IV received 200 µg/0.1 mL of intravitreal gatifloxacin, and groups II and V were injected 1000 µg/0.1 mL of vancomycin intravitreally. Intravitreal balanced salt solutions (untreated control) were given to Groups III and VI. Intravitreal antibiotic therapy commenced 24 hours after bacterial inoculation. The bactericidal efficacy was determined by electroretinography (ERG), clinical grading, bacterial culture of vitreous aspirates and histopathologic grading. ERGs and clinical gradings were performed only for groups I, II, and III and bacterial cultures were done only for groups IV, V, and VI.

Results: Eyes in the gatifloxacin groups showed similar appearance to those in the vancomycin treated groups clinically, histologically, and functionally as proved with ERG. All aspirates from the gatifloxacin and vancomycin groups were culture negative at 5 days after bacterial inoculation, whereas all eyes in the untreated control group were culture positive.

Conclusions: This study demonstrated that intravitreal injection of 200 µg /0.1mL gatifloxacin appeared to be equally effective compared to intravitreal 1000 µg /0.1 mL vancomycin in the treatment of *S. epidermidis* endophthalmitis. If proven safe and efficacious after further study in humans, intravitreal injection of gatifloxacin could be considered an effective alternative to vancomycin for the treatment of *S. epidermidis* endophthalmitis.

J Korean Ophthalmol Soc 49(4):651-660, 2008

Key Words: Endophthalmitis, Gatifloxacin, Intravitreal antibiotics, *Staphylococcus epidermidis*, Vancomycin

Address reprint requests to **Soo Young Lee, M.D.**

Department of Ophthalmology, Ewha Womans University School of Medicine, Mokdong Hospital

#911-1 Mok-dong, Yangcheon-gu, Seoul 158-710, Korea

Tel: 82-2-2650-5154, Fax: 82-2-2654-4334, E-mail: sylee09@ewha.ac.kr