

Comparison of ATB FUNGUS 2 and VITEK-2 Antifungal Susceptibility (AST-YS01) Tests for *Candida* Species Isolated from Blood Culture

Soon Deok Park¹, Young Uh¹, In Ho Jang¹, Kap Jun Yoon¹, Jong Hee Shin²

Department of Laboratory Medicine, ¹Yonsei University Wonju College of Medicine, Wonju,
²Chonnam National University Medical School, Gwangju, Korea

Background: The VITEK-2 yeast susceptibility test (AST-YS01; bioMérieux, Hazelwood, MO, USA) has recently been introduced as a fully automated, commercial antifungal susceptibility test system that determines MIC endpoints spectrophotometrically, thereby eliminating subjective errors. We compared the ATB FUNGUS 2 (bioMérieux) and VITEK-2 (AST-YS01) systems to the CLSI M27 method for susceptibility testing of *Candida* isolates.

Methods: We tested 59 *Candida* species that were isolated from blood cultures at Wonju Christian Hospital between September 2008 and August 2009. We compared MIC results for amphotericin B, flucytosine, fluconazole and voriconazole using the ATB FUNGUS 2 and VITEK-2 (AST-YS01) tests to those obtained by the CLSI M27 broth microdilution method.

Results: Within two-fold dilutions of MICs, the agreement of the ATB FUNGUS 2 and VITEK-2 (AST-YS01) tests with the CLSI method according to anti-

fungal agents were: amphotericin B, 100% vs. 100% flucytosine, 100% vs. 100% fluconazole, 83.6% vs. 98.3% and voriconazole, 83.6% vs. 96.7%, respectively. The categorical discrepancies for fluconazole and voriconazole were 20.4% and 18.6% for ATB FUNGUS 2, and 6.8% and 0% for VITEK-2 (ASTYS01). There were no major errors for fluconazole and voriconazole in either ATB FUNGUS 2 or VITEK-2 (ASTYS01) tests.

Conclusion: The VITEK-2 system (AST-YS01) appears to be rapid and highly correlative with the CLSI method, suggesting that it is effective for antifungal susceptibility testing for *Candida* species in clinical settings. (Korean J Clin Microbiol 2010;13: 114-120)

Key Words: Antifungal susceptibility, Blood culture, *Candida* species, VITEK-2, ATB FUNGUS 2, CLSI

서 론

*Candida*에 의한 패혈증은 병원성 혈류감염 중 네 번째로 많으며 가장 사망률이 높은 원인균이다[1]. 진균 감염의 증가에 따른 항진균제 사용 증가는 항진균제에 대한 내성균 출현 문제를 야기하게 되었으며, 적절한 항진균제의 선택을 위한 감수성 검사의 필요성이 증가되고 있다[2]. 항진균제 감수성검사는 대상에 따라 효모와 사상성진균에 대한 것으로 구분된다. 효모균은 임상검체에서의 분리 빈도가 높고 증식 속도와 집락 형성이 세균과 유사하며, 표준화된 검사법이 설정되어 있는 반면, 사상성진균은 감염 빈도가 상대적으로 낮고 배양 기간이 오래 걸리

므로 대부분의 검사실에서는 효모에 대한 항진균제 감수성검사를 시행한다. 항진균제 감수성검사 방법은 여러 가지가 있으나 표준화된 검사법은 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)의 액체미량희석법에 의한 최소억제농도(minimal inhibitory concentration, MIC)의 임계점(breakpoint)을 기준으로 판독하는 방법이다[3]. 그러나 CLSI M27법은 배지와 항진균제를 제조해야 하는 근본적인 어려움이 있고, 48시간의 배양이 필요하며 균 증식의 억제 경계를 육안으로 판독해야 하므로 숙련도와 전문성이 요구된다[3,4]. 이에 많은 병원 검사실에서는 상품화된 항진균제 감수성검사 제품을 이용한다. 본원에서는 1997년부터 2004년 8월까지의 ATB FUNGUS (bioMérieux, Marcy-l'Etoile, France)를 이용하였고, 2004년 9월부터 2009년까지는 ATB FUNGUS 2 (bioMérieux)를 사용하였는데, ATB FUNGUS에서는 임상의학의 검사 결과에 대한 문의가 거의 없었으나 ATB FUNGUS 2에서 fluconazole 결과를 보고하기 시작한 시점부터는 질의가 많아지기 시작하였다. 이에 원인을 분

Received 22 January, 2010, Revised 30 April, 2010

Accepted 18 June, 2010

Correspondence: Young Uh, Department of Laboratory Medicine, Wonju Christian Hospital, 162 Ilsan-dong, Wonju 220-701, Korea. (Tel) 82-33-741-1592, (Fax) 82-33-731-0506, (E-mail) u931018@yonsei.ac.kr

석한 결과 fluconazole의 trailing effect (끌림 효과)를 일부 간과하고 보고한 것이 가장 큰 요인이었다. 끌림 효과는 항진균제들의 항정균성(fungistatic activity) 활성으로 인해 시험관 내의 약제 농도가 계속 증가해도 균의 증식이 부분적으로 계속 관찰되는 것이다[5]. 끌림 효과를 보이는 균주는 대개 24시간 배양 후에 감수성을 보이거나 48시간 후엔 MIC가 $64 \mu\text{g/mL}$ 이상으로 증가되므로 CLSI M27법의 권장대로 48시간 후 MIC를 판정하게 되면 내성으로 잘못 판정할 수가 있다. 끌림 효과에 의한 판독 오류를 해결하기 위한 방법으로 CLSI M27법에서는 미량희석법의 MIC를 판독할 때 대조 증식 배지에 비해 성장이 50% 억제된 농도를 MIC로 판정하고, 튜브희석법에서는 대조 배지의 성장과 비교하여 균 증식이 80%까지 억제되는 가장 낮은 농도로 결정하도록 개선하였다[3,5]. 그러나 CLSI M27법의 변경된 판독법도 육안 판독에 의존하므로 MIC 경계 영역을 구분하기 어려울 때가 있다.

최근 VITEK-2 시스템을 이용하여 칸디다균의 항진균제 감수성검사를 실시할 수 있는 제품인 AST-YS01 (bioMérieux, Hazelwood, MO, USA)이 소개되었는데, 이는 자동화가 가능하고 분광광도계를 이용하여 MIC 판독을 실시함으로써 끌림 효과의 주관적 판독 오류를 최소화한 제품으로 알려져 있다. 저자들은 혈액배양에서 분리한 칸디다 균주를 대상으로 ATB FUNGUS 2와 VITEK-2 (AST-YS01)의 결과를 CLSI M27법과 비교 평가하여 보았다.

재료 및 방법

1. 대상 균주

2008년 9월부터 2009년 8월까지 원주기독병원 진단검사의학과에 혈액배양이 의뢰된 검체 중 칸디다 균종이 분리되어 보관되어 있던 59주를 대상으로 하였다. 호기성 혈액배양은 BACTEC 9240 system (Becton Dickinson, USA)과 BacT/Alert 3D system (bioMérieux, Durham, NC, USA)의 두 가지 혈액배양 자동화 장비를 이용하여 5일간 배양하였다. 칸디다 균종의 동정은 발아관 시험을 시행한 후 양성이면 *Candida albicans*로 동정하였고 발아관 음성인 균주는 ATB ID 32C (bioMérieux SA, Marcy-l'Etoile, France)를 이용하여 동정하였다. 대상 균주는 *C. parapsilosis* 25주, *C. tropicalis* 15주, *C. albicans* 12주, *Candida glabrata* 5주와 *C. haemulonii* 2주였다.

2. 항진균제 감수성검사

1) ATB FUNGUS 2: ATB FUNGUS 2는 amphotericin B, flucytosine, fluconazole, itraconazole, voriconazole의 5가지 약제에 대하여 시험하였다. 제조사의 지침서에 따라 균접종액은 칸디다 균주를 Sabouraud dextrose agar (SDA)에서 35°C , 24시간 배양한 균을 0.85% 식염수에 풀어 McFarland 2.0 탁도로 맞추

고, 이 균액 $20 \mu\text{L}$ 를 ATB F2 Medium (yeast nitrogen base, glucose, asparagine, disodium phosphate, trisodium citrate, potassium nitrate)에 분주하여 잘 섞은 다음 16쌍의 well에 $135 \mu\text{L}$ 씩 분주하고 35°C 에서 24시간 동안 배양하였다. 각 well에는 flucytosine ($0.5 \sim 64 \mu\text{g/mL}$), fluconazole ($0.25 \sim 128 \mu\text{g/mL}$), amphotericin B ($0.5 \sim 16 \mu\text{g/mL}$), voriconazole ($0.125 \sim 4 \mu\text{g/mL}$)의 항진균제가 2배 희석 배율로 들어가 있고, 접종량은 3×10^4 개/mL에 해당하며 성장대조 well이 잘 자라지 않은 경우에는 하루 더 배양하여 판독하였다. 24시간 배양 후 육안으로 균 성장 유무를 판독하여 균 성장이 억제되지 않으면 4, 조금 억제되면 3, 현저히 균의 성장이 억제되면 2, 미약한 균의 성장이 관찰되면 1, 균의 성장이 완전히 억제되면 0으로 점수를 두어 flucytosine, fluconazole, voriconazole은 2인 농도를 MIC로 판정하였고, amphotericin B는 0인 농도를 MIC로 판정하였다. 항진균제에 대한 감수성 기준은 회사에서 제공하는 지침서와 CLSI M27에서 제시하고 있는 기준이 동일하였다.

2) VITEK-2 (AST-YS01): VITEK-2의 AST-YS01은 amphotericin B, flucytosine, fluconazole과 voriconazole의 4가지 약제를 시험하였다. 균접종액은 SDA에서 35°C 환경으로 24시간 배양한 후 0.45% 식염수에 균을 풀어 잘 섞은 후 2.0 McFarland 탁도로 맞추었고 이후 VITEK-2 장비에 장착하여 검사를 시행하였다.

3) 액체배지미량희석법: 액체배지미량희석법은 CLSI M27법의 지침에 따라 amphotericin B, flucytosine, fluconazole과 voriconazole의 4가지 약제를 시험하였다. 균접종액은 0.5 McFarland 탁도(분광광도계, 530 nm)로 맞추었고, 항진균제는 amphotericin B (Sigma, Saint Louis, MO, USA), flucytosine (Sigma), fluconazole (Pfizer, Inc., New York, NY, USA) 및 voriconazole (Pfizer Global Research & Development, Sandwich, UK)을 사용하였다. 35°C 에서 24시간 및 48시간 동안 배양한 후 amphotericin B MIC는 육안으로 관찰하여 균의 증식이 완전히 억제된 well의 최소 항균제 농도로 판정하였고, flucytosine, fluconazole과 voriconazole은 균 성장이 50% 억제된 well의 최소 항진균제 농도로 판정하였다[4,6].

3. 결과 판정 방법

ATB FUNGUS 2와 VITEK-2 (AST-YS01)의 검사 일치율은 CLSI M27법을 기준으로 두 검사의 MIC의 차이가 희석 2배수 이내에 있을 때 결과가 일치하는 것으로 판정하였다. 감수성 결과 판정은 flucytosine은 MIC가 $4 \mu\text{g/mL}$ 이하이면 감수성, $8 \sim 16 \mu\text{g/mL}$ 이면 중간내성, $32 \mu\text{g/mL}$ 이상이면 내성으로 판정하였고, fluconazole은 MIC가 $8 \mu\text{g/mL}$ 이하이면 감수성, $16 \sim 32 \mu\text{g/mL}$ 면 약용량 의존 감수성, $64 \mu\text{g/mL}$ 이상이면 내성으로 판정하였으며, voriconazole에 대해서는 MIC가 $1 \mu\text{g/mL}$ 이하이면 감수성, $2 \mu\text{g/mL}$ 이면 약용량 의존 감수성, $4 \mu\text{g/mL}$ 이상

이면 내성으로 간주하였다[3]. Amphotericin B는 MIC가 $1 \mu\text{g/mL}$ 이하이면 감수성이고 $2 \mu\text{g/mL}$ 이상이면 내성으로 판정하였다. 상품화된 항진균제감수성검사의 결과 판정의 범주간 일치율(categorical agreement)은 CLSI M27법으로는 내성을 보였으나 상품화된 제품에서는 감수성을 보이면 very major error (VME), 그 반대이면 major error (ME)로 정의하였고, minor error는 한 방법에서 내성 혹은 감수성 결과를 보였으나 다른 방법에서는 중등도 내성이거나 약용량 의존 감수성을 보인 경우로 정의하였다.

결 과

전체 59주 칸디다 균종의 amphotericin B, flucytosine, fluco-

nazole과 voriconazole의 CLSI M27법과 ATB FUNGUS 2와의 희석 2배수 내의 일치율은 100%, 100%, 83.6% 및 83.6%였다. VITEK-2 (AST-YS01)와의 일치율은 각각 100%, 100%, 98.3% 및 96.7%였다. *C. parapsilosis*의 fluconazole과 voriconazole의 ATB FUNGUS 2와 VITEK-2 (AST-YS01)의 일치율은 모두 100%였다. *C. tropicalis*는 VITEK-2 (AST-YS01)에서 fluconazole과 voriconazole이 100% 일치하였으나 ATB FUNGUS 2와의 일치율은 모두 66.7%였다. *C. albicans*의 fluconazole과 voriconazole의 일치율은 ATB FUNGUS 2에서 66.7%와 58.3%였고, VITEK-2 (AST-YS01)에서는 각각 100%와 91.7%였다 (Table 1).

전체 59주의 칸디다 균종의 CLSI M27법을 기준으로 ATB FUNGUS 2와 VITEK-2 (AST-YS01)의 항진균제 별 판독 일치

Table 1. In vitro susceptibilities of 59 isolates of *Candida* spp. to amphotericin B, flucytosine, fluconazole and voriconazole as determined with the ATB FUNGUS 2 and VITEK-2 (AST-YS01) system, and by CLSI M27 BMD methods

Species (No. of isolates tested)	Antifungal agents	Test methods	MIC ($\mu\text{g/mL}$)			EA (%)*
			Range	50%	90%	
<i>C. parapsilosis</i> (25)	AMB	FUNGUS 2	0.5	0.5	0.5	100
	AMB	VITEK-2	≤ 0.25	≤ 0.25	≤ 0.25	100
	AMB	CLSI M27	0.5 ~ 1	0.5	1	
	5-FC	FUNGUS 2	4	4	4	100
	5-FC	VITEK-2	≤ 1	≤ 1	≤ 1	100
	5-FC	CLSI M27	≤ 1	≤ 1	≤ 1	
	FCA	FUNGUS 2	1 ~ 4	1	1	100
	FCA	VITEK-2	$\leq 1 \sim 2$	≤ 1	2	100
	FCA	CLSI M27	$\leq 1 \sim 2$	≤ 1	≤ 1	
	VRC	FUNGUS 2	0.06	0.06	0.06	100
	VRC	VITEK-2	≤ 0.125	≤ 0.125	≤ 0.125	100
	VRC	CLSI M27	≤ 0.125	≤ 0.125	≤ 0.125	
<i>C. tropicalis</i> (15)	AMB	FUNGUS 2	0.5 ~ 1	0.5	1	100
	AMB	VITEK-2	$\leq 0.125 \sim \leq 0.25$	≤ 0.25	≤ 0.25	100
	AMB	CLSI M27	$\leq 0.25 \sim 0.5$	0.5	0.5	
	5-FC	FUNGUS 2	4	4	4	100
	5-FC	VITEK-2	≤ 1	≤ 1	≤ 1	100
	5-FC	CLSI M27	≤ 1	≤ 1	≤ 1	
	FCA	FUNGUS 2	1 ~ 128	1	1	66.7
	FCA	VITEK-2	≤ 1	≤ 1	≤ 1	100
	FCA	CLSI M27	≤ 1	≤ 1	≤ 1	
	VRC	FUNGUS 2	0.06 ~ 8	0.06	8	66.7
	VRC	VITEK-2	≤ 0.125	≤ 0.125	≤ 0.125	100
	VRC	CLSI M27	≤ 0.125	≤ 0.125	≤ 0.125	
	AMB	FUNGUS 2	0.5	0.5	0.5	100
	AMB	VITEK-2	≤ 0.25	≤ 0.25	≤ 0.25	100
	AMB	CLSI M27	$\leq 0.125 \sim 1$	0.5	1	
<i>C. albicans</i> (12)	5-FC	FUNGUS 2	4 ~ 16	4	4	100
	5-FC	VITEK-2	$\leq 1 \sim \geq 64$	≤ 1	≤ 1	100
	5-FC	CLSI M27	$\leq 1 \sim \geq 64$	≤ 1	≤ 1	
	FCA	FUNGUS 2	1 ~ 128	1	128	66.7
	FCA	VITEK-2	$\leq 1 \sim 8$	≤ 1	8	100
	FCA	CLSI M27	$\leq 1 \sim 32$	≤ 1	32	
	VRC	FUNGUS 2	0.06 ~ 8	0.06	8	58.3
	VRC	VITEK-2	≤ 0.125	≤ 0.125	≤ 0.125	91.7
	VRC	CLSI M27	$\leq 0.125 \sim 1$	≤ 0.125	1	

Table 1. Continued.

Species (No. of isolates tested)	Antifungal agents	Test methods	MIC ($\mu\text{g/mL}$)			EA (%)*
			Range	50%	90%	
<i>C. glabrata</i> (5)	AMB	FUNGUS 2	0.5	0.5	0.5	100
	AMB	VITEK-2	≤ 0.25	≤ 0.25	≤ 0.25	100
	AMB	CLSI M27	0.5~1	1	1	
	5-FC	FUNGUS 2	4	4	4	100
	5-FC	VITEK-2	≤ 1	≤ 1	≤ 1	100
	5-FC	CLSI M27	≤ 1	≤ 1	≤ 1	
	FCA	FUNGUS 2	1~128	1	2	40
	FCA	VITEK-2	8~16	8	16	80
	FCA	CLSI M27	$\leq 1 \sim 16$	1	8	
	VRC	FUNGUS 2	0.06~8	0.06	8	80
	VRC	VITEK-2	$\leq 0.125 \sim 1$	0.25	1	80
	VRC	CLSI M27	$\leq 0.125 \sim 0.25$	≤ 0.125	0.25	
<i>C. haemulonii</i> (2)	AMB	FUNGUS 2	0.5	0.5	0.5	100
	AMB	VITEK-2	≤ 0.25	≤ 0.25	≤ 0.25	100
	AMB	CLSI M27	0.5	0.5	0.5	
	5-FC	FUNGUS 2	16	16	16	100
	5-FC	VITEK-2	≥ 64	≥ 64	≥ 64	100
	5-FC	CLSI M27	≥ 64	≥ 64	≥ 64	
	FCA	FUNGUS 2	1	1	1	100
	FCA	VITEK-2	2	2	2	100
	FCA	CLSI M27	2	2	2	
	VRC	FUNGUS 2	0.06	0.06	0.06	100
	VRC	VITEK-2	≤ 0.125	≤ 0.125	≤ 0.125	100
	VRC	CLSI M27	≤ 0.125	≤ 0.125	≤ 0.125	
Total (59)	AMB	FUNGUS 2	0.5~1	0.5	1	100
	AMB	VITEK-2	$\leq 0.125 \sim \leq 0.25$	≤ 0.25	≤ 0.25	100
	AMB	CLSI M27	$\leq 0.125 \sim 1$	1	1	
	5-FC	FUNGUS 2	4~16	4	4	100
	5-FC	VITEK-2	$\leq 1 \sim \geq 64$	≤ 1	≤ 1	100
	5-FC	CLSI M27	$\leq 1 \sim \geq 64$	≤ 1	≤ 1	
	FCA	FUNGUS 2	1~128	1	128	83.6
	FCA	VITEK-2	$\leq 1 \sim 16$	≤ 1	8	98.3
	FCA	CLSI M27	$\leq 1 \sim 32$	≤ 1	8	
	VRC	FUNGUS 2	0.06~8	0.06	8	83.6
	VRC	VITEK-2	$\leq 0.125 \sim 1$	≤ 0.125	≤ 0.125	96.7
	VRC	CLSI M27	$\leq 0.125 \sim 1$	≤ 0.125	≤ 0.125	

*EA (Essential agreement, $\pm 2\log_2$ dilutions) between commercial antifungal tests and CLSI M27 MICs.

Abbreviations: BMD, broth microdilution method; AMB, amphotericin B; 5-FC, flucytosine; FCA, fluconazole; VRC, voriconazole.

율은 amphotericin B는 두 방법 모두 100%였고, flucytosine은 ATB FUNGUS 2에서만 minor error가 5.1%였으며, fluconazole은 ATB FUNGUS 2에서 VME와 minor error가 각각 13.6%와 6.8%였고 VITEK-2 (AST-YS01)에서는 minor error만 6.8%였으며, voriconazole은 ATB FUNGUS 2에서만 VME가 18.6%였다(Table 2). Fluconazole과 voriconazole의 CLSI M27법과의 판독 일치율은 *C. parapsilosis*는 ATB FUNGUS 2와 VITEK-2 (AST-YS01) 모두가 100% 일치하였고, *C. tropicalis*는 VITEK-2 (AST-YS01)와는 두 약제가 100% 일치하였으나 ATB FUNGUS 2와의 일치율은 두 약제 모두 66.7%로서 VME가 33.3%였으며, *C. albicans*는 ATB FUNGUS 2에서 50%와 58.3%였고, VITEK-2 (AST-YS01)에서는 각각 83.3%와 100%였다(Table

2).

고 찰

전신성 진균 감염 환자의 증가와 다양한 항진균제가 치료에 사용됨에 따라 검사실에서는 항진균제 감수성검사의 필요성이 높아지게 되었으며, 이에 NCCLS (현재는 CLSI)에서는 1982년에 항진균제감수성검사 소위원회를 구성한 후 수차례에 걸친 개선과정을 거쳐 1997년에 NCCLS M27-A를 발표하였다. M27-A에서는 항진균제감수성검사의 표준방법을 액체배지희석법으로 결정하였고, 표준 효모균을 대상으로 각 균의 최소억제농도, 약물역동학과 임상적 결과와의 관계를 분석하여 flucy-

Table 2. Categorical agreement of flucytosine, fluconazole and voriconazole MICs determined by two commercial antifungal tests and CLSI M27 BMD method for 59 isolates of *Candida* spp.

Species (No. of isolates tested)	Antifungal agents	Test methods	CA (%)	% errors		
				VME	ME	Minor
<i>C. parapsilosis</i> (25)	5-FC	FUNGUS 2	100	0	0	0
	5-FC	VITEK-2	100	0	0	0
	FCA	FUNGUS 2	100	0	0	0
	FCA	VITEK-2	100	0	0	0
	VRC	FUNGUS 2	100	0	0	0
	VRC	VITEK-2	100	0	0	0
<i>C. tropicalis</i> (15)	5-FC	FUNGUS 2	100	0	0	0
	5-FC	VITEK-2	100	0	0	0
	FCA	FUNGUS 2	66.7	33.3	0	0
	FCA	VITEK-2	100	0	0	0
	VRC	FUNGUS 2	66.7	33.3	0	0
	VRC	VITEK-2	100	0	0	0
<i>C. albicans</i> (12)	5-FC	FUNGUS 2	83.3	0	0	16.7
	5-FC	VITEK-2	100	0	0	0
	FCA	FUNGUS 2	50	25	0	25
	FCA	VITEK-2	83.3	0	0	16.7
	VRC	FUNGUS 2	58.3	41.7	0	0
	VRC	VITEK-2	100	0	0	0
<i>C. glabrata</i> (5)	5-FC	FUNGUS 2	100	0	0	0
	5-FC	VITEK-2	100	0	0	0
	FCA	FUNGUS 2	80	0	0	20
	FCA	VITEK-2	80	0	0	20
	VRC	FUNGUS 2	80	20	0	0
	VRC	VITEK-2	100	0	0	0
<i>C. haemulonii</i> (2)	5-FC	FUNGUS 2	0	0	0	100
	5-FC	VITEK-2	100	0	0	0
	FCA	FUNGUS 2	100	0	0	0
	FCA	VITEK-2	100	0	0	0
	VRC	FUNGUS 2	100	0	0	0
	VRC	VITEK-2	100	0	0	0
Total (59)	5-FC	FUNGUS 2	94.9	0	0	5.1
	5-FC	VITEK-2	100	0	0	0
	FCA	FUNGUS 2	79.6	13.6	0	6.8
	FCA	VITEK-2	93.2	0	0	6.8
	VRC	FUNGUS 2	81.4	18.6	0	0
	VRC	VITEK-2	100	0	0	0

Abbreviations: CA, categorical agreement; VME, very major error; ME, major error; Minor, minor error.

Other Abbreviations: See Table 1.

tosine, fluconazole, itraconazole에 대한 MIC breakpoint (임계점)를 제시하였다. 그러나 M27-A법에 의한 대부분의 효모균의 amphotericin B MICs는 0.25~1 µg/mL의 좁은 범위이며, 감수성과 내성 효모균을 구분하기가 어려운 문제점이 있고, 칸디다증의 amphotericin B 치료 실패는 항진균제 내성보다는 숙주 요인에 의해 좌우되는 경우가 더 빈번하므로 amphotericin B에 대한 임계점 기준은 설정하지 않았으나 MIC가 1 µg/mL을 초과하면 내성일 가능성이 있다[3]. CLSI는 2008년에는 M27-A3을 발표하였고 voriconazole에 대한 MIC 임계점 기준을 추가하였다.

본 연구에서 사용한 ATB FUNGUS 2는 액체배지 미량희석

법으로서 amphotericin B, flucytosine, fluconazole, itraconazole과 voriconazole에 대하여 CLSI M27의 판독 기준과 동일한 임계점을 적용할 뿐만 아니라 사용이 간편하며, amphotericin B와 flucytosine은 표준방법과의 감수성검사의 판정 일치율이 매우 높은 것으로 알려져 있는데[7,8] 본 연구에서도 표준방법과 100% 일치하였다. 그러나 ATB FUNGUS 2에서의 fluconazole과 voriconazole의 표준방법과의 판정 일치율은 79.6%와 81.4%로 낮았고, 특히 *C. albicans*에서는 50%와 58.3%로 매우 낮았으며, 끌림 현상이 원인이었다. Azoles 계열 약물은 항진균제감수성검사서 끌림 현상이 발생할 수 있으므로 검사자의 숙련도에 따른 주관적인 판독 오류가 발생할 가능성이 높다[3-5].

특히, 신입 직원이 판독을 하거나 검사실 전체 직원이 순환교대하는 체계일 경우에는 이러한 문제점이 발생할 확률이 높아진다. 또한, fluconazole은 선택적 사용에 따라 내성을 획득할 수 있는 대표적인 약제로서 국내에서도 칸디다 균종별로 높게는 16~66%의 내성률이 보고되고 있으며, 동일 계열의 azoles 약물에 교차내성을 보이는 경우가 많아서[9-11] azoles 계열 약물들에 내성을 보여도 무심히 넘어갈 수 있다. 그러므로 새로운 검사자가 항진균제감수성검사 업무를 시작하기 전에는 충분한 판독 방법에 대한 업무의 인수 인계와 함께 감수성 결과를 알고 있는 표준균주를 이용하여 판독 교육을 시행하는 것이 권장된다. 이에 반해 VITEK-2 시스템을 이용한 AST-YS01 항진균제감수성검사는 자동화 장비를 이용하므로 사용자에게 의한 판독 오류가 없으며, 외국의 다기관 연구와 국내의 보고에 CLSI M27법과의 일치율이 매우 높다고 보고되었다[4,12,13]. 일반적으로 상품화된 감수성 검사를 평가할 때 CLSI 법과 비교하여 검사 일치율 90% 이상, 범주 일치율 90% 이상, VME 1.5% 이하 및 ME 3% 이하이면 항진균제감수성검사로 적합하다고 판정한다[14]. 본 연구에서 VITEK-2 (AST-YS01)의 표준 방법과의 희석 2배수 이내의 검사 일치율은 항진균제별로 96.7~100% 사이였고, 범주 일치율은 amphotericin B, flucytosine과 voriconazole은 100%였으며 fluconazole도 minor error만 6.8%였다. VITEK-2 (AST-YS01)는 사용하기 간편할 뿐만 아니라 24시간 배양 후에 결과를 보고할 수 있고 끌림 현상에 의한 판정 오류가 없기 때문에 임상검사실에서 사용하는 항진균제 감수성검사로 생각되었다.

참 고 문 헌

1. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. Clin Infect Dis 2004;39:309-17.
2. Rex JH, Pfaller MA, Walsh TJ, Chaturvedi V, Espinel-Ingroff A, Ghannoum MA, et al. Antifungal susceptibility testing: practical aspects and current challenges. Clin Microbiol Rev 2001;14: 643-58.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: approved standard, Third ed., M27-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA 2008.
4. Kim DW, Shin JH, Kee SJ, Kim SH, Shin MG, Suh SP, et al. Evaluation of VITEK-2 antifungal susceptibility test (AST-YS01) for *Candida* species isolates in Korea. Korean J Clin Microbiol 2009;12:122-8.
5. Uh Y, Kim HY, Yoon KJ. Antimicrobial agents and antimicrobial susceptibility test. 1st ed. Paju; KIS, 2007;596-611.
6. Lee JS, Shin JH, Lee K, Kim MN, Shin BM, Uh Y, et al. Species distribution and susceptibility to azole antifungals of *Candida* bloodstream isolates from eight university hospitals in Korea. Yonsei Med J 2007;48:779-86.
7. Quindós G, Salesa R, Carrillo-Muñoz AJ, Lipperheide V, Jáudenes L, San Millán R, et al. Multicenter evaluation of ATB fungus: a standardized micromethod for yeast susceptibility testing. Chemotherapy 1994;40:245-51.
8. Philpot CM and Charles D. Determination of sensitivity to antifungal drugs: evaluation of an API kit. Br J Biomed Sci 1993;50: 27-30.
9. Shin JH, Lim WH, Shin DH, Suh SP, Ryang DW. Antifungal susceptibilities to fluconazole and itraconazole for *Candida* species recovered from blood cultures over a 5-year period. Korean J Infect Dis 2000;32:179-85.
10. Chae JD, Kang JO, Eom JI, Park IK, Choi TY. Amphotericin B and fluconazole susceptibility test of *Candida* species: comparison of broth microdilution method and agar dilution method. Korean J Clin Pathol 2000;20:392-9.
11. Kim YS, Lee HJ, Lee JR, Kang BK, Lee WI, Kil YC, et al. Comparative evaluation of fluconazole susceptibility methods for *Candida* species: broth microdilution test, E test and disk diffusion test. Korean J Clin Pathol 2000;20:36-40.
12. Pfaller MA, Diekema DJ, Procop GW, Rinaldi MG. Multicenter comparison of the VITEK 2 yeast susceptibility test with the CLSI broth microdilution reference method for testing fluconazole against *Candida* spp. J Clin Microbiol 2007;45:796-802.
13. Pfaller MA, Diekema DJ, Procop GW, Rinaldi MG. Multicenter comparison of the VITEK 2 antifungal susceptibility test with the CLSI broth microdilution reference method for testing amphotericin B, flucytosine, and voriconazole against *Candida* spp. J Clin Microbiol 2007;45:3522-8.
14. Food and Drug Administration. Class II special controls guidance document: antimicrobial susceptibility test (AST) systems; guidance for industry and FDA. Food and Drug Administration, Rockville, MD 2007.

=국문초록=

혈액에서 분리되는 칸디다 균주에 대한 ATB FUNGUS 2와 VITEK-2 항진균제감수성검사(AST-YS01)의 비교

¹연세대학교 원주의과대학 진단검사의학교실, ²전남대학교 의과대학 진단검사의학교실

박순덕¹, 어 영¹, 장인호¹, 윤갑준¹, 신종희²

배경: 최근 VITEK-2 시스템에서 항진균제감수성검사를 실시하는 제품인 AST-YS01 (bioMerieux, Hazelwood, MO, USA) 이 소개되었는데, 이는 자동화된 분광광도계를 이용하여 MIC 판독을 실시함으로써 주관적 오류를 최소화한 제품이다. 저자들은 혈액배양에서 분리된 칸디다 균주를 대상으로 ATB FUNGUS 2와 VITEK-2 항진균제 감수성 검사를 실시하고 이 성적을 CLSI M27법과 비교 평가하여 보았다.

방법: 2008년 9월부터 2009년 8월까지 원주기독병원의 혈액배양에서 분리된 칸디다 59주를 대상으로 하였다. 각 균주는 ATB FUNGUS 2, VITEK-2를 이용한 AST-YS01, CLSI M27법의 액체배지 미량희석법으로 amphotericin B, flucytosine, fluconazole, voriconazole을 검사하여 MIC 성적을 비교하였다.

결과: 희석 2배수 내에서 ATB FUNGUS 2와 VITEK-2 (AST-YS01)의 CLSI M27법과의 항진균제별 일치율은 amphotericin B와 flucytosine은 모두 100%였고, fluconazole은 83.6%와 98.3%였으며, voriconazole은 83.6%와 96.7%였다. Fluconazole과 voriconazole의 판정 범주 오차는 ATB FUNGUS 2에서 20.4%와 18.6%였고, VITEK-2 (AST-YS01)에서는 6.8%와 0%였다. Fluconazole과 voriconazole은 모두 very major error와 major error가 없었다.

결론: VITEK-2 시스템을 이용한 자동화된 항진균제 감수성 검사인 AST-YS01은 신속하게 결과를 얻을 수 있으며 CLSI 표준방법과의 일치율이 높아 일반검사실에서 유용하게 사용될 수 있을 것으로 생각된다. [대한임상미생물학회지 2010;13:114-120]

교신저자 : 어 영, 220-701, 강원도 원주시 일산동 162
원주기독병원 진단검사의학과
Tel: 033-741-1592, Fax: 033-731-0506
E-mail: u931018@yonsei.ac.kr