

## 칸디다 균종의 Caspofungin과 Micafungin에 대한 생체 외 감수성 성적

최현우 · 신종희 · 이진솔 · 조 덕 · 신명근 · 서순팔 · 양동욱

전남대학교 의과대학 진단검사의학교실

### In Vitro Susceptibilities to Caspofungin and Micafungin of Clinical Isolates of *Candida* Species

Hyun Woo Choi, M.D., Jong Hee Shin, M.D., Jin Sol Lee, M.D., Duck Cho, M.D., Myung Gun Shin, M.D., Soon Pal Suh, M.D.,  
and Dong Wook Ryang, M.D.

Department of Laboratory Medicine, Chonnam National University Medical School, Gwangju, Korea

**Background :** Caspofungin and micafungin are echinocandins with potent activities against *Candida* species. However, in vitro susceptibility to these agents of clinical *Candida* isolates in Korea has not been fully surveyed. We determined minimum inhibitory concentrations (MICs) of caspofungin and micafungin against clinical isolates of *Candida* species.

**Methods :** A total of 107 blood isolates of *Candida* species (24 *C. albicans*, 25 *C. tropicalis*, 24 *C. glabrata*, 20 *C. parapsilosis*, 8 *C. krusei*, and 6 other *Candida* species) were tested by using the National Committee for Clinical Laboratory Standards M27-A2 broth microdilution methods. The in vitro antifungal activities and spectrum of caspofungin and micafungin were compared with those of amphotericin B, fluconazole, and itraconazole.

**Results :** Caspofungin and micafungin exhibited a broad-spectrum activity against *Candida* species: caspofungin MIC ranged from 0.125 to 1  $\mu\text{g/mL}$  and micafungin MIC from  $\leq 0.03$  to 1  $\mu\text{g/mL}$ . *C. albicans*, *C. tropicalis* and *C. glabrata* showed high susceptibility to caspofungin (MIC<sub>90</sub>, 0.25 to 0.5  $\mu\text{g/mL}$ ) and micafungin (MIC<sub>90</sub>,  $\leq 0.03$   $\mu\text{g/mL}$ ), whereas *C. parapsilosis* was less susceptible to both echinocandins (MIC<sub>90</sub>, 1  $\mu\text{g/mL}$ ). The MIC<sub>50</sub> for caspofungin, micafungin, amphotericin B, fluconazole, and itraconazole were 0.25,  $\leq 0.03$ , 0.5, 1, and 0.125  $\mu\text{g/mL}$ , respectively. Caspofungin MIC<sub>50</sub> of *C. glabrata* and *C. krusei* isolates with decreased susceptibility to azoles were 0.25 and 0.5  $\mu\text{g/mL}$ , respectively, and micafungin MIC<sub>50</sub> were  $\leq 0.03$  and 0.125  $\mu\text{g/mL}$ , respectively.

**Conclusions :** These data showed an excellent in vitro activity of caspofungin and micafungin against clinical strains of *Candida* species, including isolates with reduced susceptibility to azoles. (Korean J Lab Med 2006;26:275-81)

**Key Words :** Caspofungin, Micafungin, *Candida*, Antifungal susceptibility testing

## 서 론

최근 수십 년 사이에 인체 진균감염의 빈도는 점차 증가하여,

중증 입원환자와 고위험 환자군에서 생명을 위협하는 중요한 원인으로 대두되고 있다[1-4]. 전신성 진균감염의 빈도가 증가한 이유로는 각종 악성종양의 항암치료, 장기이식 및 후천성면역결핍증 등으로 인한 면역약화 환자의 증가 뿐 아니라, 카테터 사용의 증가, 면역억제제치료와 항균제 사용의 증가, 진단법 개선으로 인한 진단율의 증가, 또한 집중치료로 인한 생존율 증가 등도 주요 요인으로 알려져 있다[3-6]. 전신성 진균감염증의 치료를 위해서는 효과적인 항진균제가 신속히 투여되어야 하는데, 아직까지 임상에서 사용이 가능한 항진균제는 polyene계(amphotericin B),

접 수 : 2006년 6월 19일      접수번호 : KJLM1960  
수정본접수 : 2006년 7월 21일  
게재승인일 : 2006년 7월 21일  
교신저자 : 신종희  
우 501-757 광주광역시 동구 학동 8  
전남대학교병원 진단검사의학과  
전화 : 062-220-5342, Fax : 062-224-2518  
E-mail : shinjh@jnu.ac.kr

flucytosine, azole계(itraconazole, fluconazole 및 voriconazole) 및 최근에 개발된 echinocandin계(caspofungin, anidulafungin 및 micafungin) 등 4가지 종류뿐으로, 그리 많지 않다. Amphotericin B는 광범위 항균력을 보이며 강력한 살균력 때문에 대부분의 진균감염의 치료에 첫 선택약제이지만, 인체 독성이 심한 것으로 알려져 있다[7, 8]. Azole계 항진균제는 amphotericin B보다 독성이 더 적으나 이들 약제에 대해 다제 내성을 보이는 칸디다 균종들이 증가되고 있다[1, 9, 10]. 최근 개발된 echinocandin계 항진균제는 기존의 다른 항진균제와는 달리 포유동물에는 존재하지 않는 진균 세포벽의 필수성분인 (1,3)- $\beta$ -D-glucan 합성을 억제함으로써 항진균 활성을 나타낸다[11-13]. 이러한 새로운 echinocandin계 항진균제는 진균에만 선택적으로 작용함으로써 인체에 대한 독성률을 낮출 수 있고, polyene계 혹은 azole계 항진균제에 대해 내성을 나타내는 진균에 대해서도 효과가 있는 장점이 있다.

Caspofungin과 micafungin은 최근의 여러 연구 결과, 식도성 칸디다증, 침습적 칸디다증과 칸디다혈증의 예방 및 치료에 유용할 것으로 기대되고 있다[12, 15-18]. 구미의 여러 기관 연구에 의하면, caspofungin과 micafungin은 칸디다에 대해 강한 생체 외 항균력을 보이며, 특히 azole계 항진균제 내성균주를 포함한 다양한 칸디다 균종에 우수한 항진균 효과를 보인다고 한다[11-15, 19]. 그러나, 한국인의 임상검체에서 분리된 다양한 칸디다 균종에 대한 caspofungin과 micafungin의 생체 외 감수성 성적은 아직까지 보고가 없다. 저자들은 국내 임상 분리 칸디다 균종을 대상으로 caspofungin과 micafungin에 대한 생체 외 항진균제 감수성검사를 시행하여, 현재 국내에서 사용중인 다른 항진균제들과의 성적을 조사해보고자 본 연구를 시행하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상 균주

대상 칸디다 균주는 총 107주였으며, 1998년 1월에서 2003년 12월 사이에 전남대학교병원의 환자 혈액 배양에서 분리된 균주로 균종별로 *Candida albicans* 24주, *Candida tropicalis* 25주, *Candida glabrata* 24주, *Candida parapsilosis* 20주, *Candida krusei* 8주, *Candida guilliermondii* 3주 및 *Candida pelliculosa* 3주 등이었다. 정도관리를 위해 표준균주 *C. parapsilosis* ATCC 22019와 *C. krusei* ATCC 6258를 매 검사마다 이용하였다[20].

### 2. 항진균제 감수성 검사

항진균제 감수성 검사는 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) 지침에 따라 M27-A2 broth microdilution법으로 시행하였다[20].

#### 1) 항진균제 준비

배지는 RPMI-MOPS 배지를 사용하였으며, 이는 L-glutamine이 든 RPMI-1640 배지(Gibco, Gaithersburg, USA) 10.4 g을 증류수 900 mL에 녹인 후 여기에 0.165M MOPS (3-N-morpholinopropanesulfonic acid) 34.53 g을 녹여 최종 양이 1,000 mL가 되도록 한 다음, 4 N NaOH로 pH를 7.0으로 맞추었다. 항진균제는 micafungin (Fuisawa, Japan), amphotericin B (Fungizone, Gibco BRL), fluconazole (Diflucan, 한국화이자, Korea), itraconazole (Janssen Pharmaceutica, Beerse, Belgium) 및 caspofungin (Merck, USA)을 사용하였다. 항진균제 중 caspofungin, micafungin과 fluconazole은 멸균증류수를 이용하여, 그리고 amphotericin B와 itraconazole은 dimethyl sulfoxide (DMSO)를 이용하여 1,600  $\mu$ g/mL의 농도로 용해시켰다. 각 항진균제는 다시 연속 배수 희석하여 microplate well상에서의 최종농도가 caspofungin, micafungin, amphotericin B 및 itraconazole은 0.03-16  $\mu$ g/mL까지, 그리고 fluconazole은 0.125-64  $\mu$ g/mL까지 각각 10개의 농도가 되도록 하였다. 희석한 각각의 항진균제 용액을 96 microwell plate (Nunc, Nalge Nunc International, Denmark)에 1번에서 10번 well까지 각 well당 100  $\mu$ L씩 분주하였다. 11번과 12번 well에는 항진균제가 들어있지 않는 RPMI 배지(caspofungin, micafungin 및 fluconazole) 혹은 RPMI 배지와 2%의 DMSO (amphotericin B와 itraconazole)를 첨가하여 100  $\mu$ L씩 분주하였다. 항진균제가 분주된 plate는 -70°C에 보관하여 검사 당일 실온에서 녹여서 사용하였다.

#### 2) 칸디다 감수성 검사

칸디다 균주는 SDA 평판배지에 35°C, 24시간 배양 후 0.85% 식염수에 균을 풀어 잘 섞은 후 0.5 McFarland 탁도(분광광도계, 530 nm)로 맞추어 균농도가 약  $1 \sim 5 \times 10^6$  CFU/mL가 되도록 하였다. 이 균액을 다시 RPMI-MOPS 배지를 이용하여 1:1,000으로 희석하였고, 1번에서 10번 well까지 각각 100  $\mu$ L (최종 균농도,  $0.5 \sim 2.5 \times 10^3$  CFU/mL)씩을 분주하였다. 11번 well은 성장대조 well로서 균액 100  $\mu$ L를, 12번 well은 배지의 대조 well로서 RPMI-MOPS 배지 100  $\mu$ L만을 분주하였다. 균 접종이 끝난 microplate는 35°C에서 48시간까지 배양하였다.

최소억제농도(Minimum inhibitory concentration, MIC) 판정은 검사자에 의한 오차를 방지하기 위하여 두 사람의 관찰자가 맹검으로 시행하였다. 서로 다른 결과값을 낸 경우, 동시에 다시 관찰하여 합의 하에 결과를 판정하였다. 두 관찰자가 판정한 결과값이 큰 차이는 보이지 않아 실험의 결과에 영향을 주지는 않았다. Caspofungin과 micafungin의 MIC 결과는 24시간 배양 후와 48시간 배양 후 판정을 하였으며, 성장이 완전히 억제된 지점을 MIC-0, 성장대조 well에 비해 성장이 현저히 감소된 지점을 MIC-2로 판정하였다. Amphotericin B의 경우는 48시간 배양 후 MIC-0를 최종 MIC로 판정하였다. Fluconazole과 itraconazole은 48시간 배양 후 MIC-2를 최종 MIC로 판정하였으며, breakpoint를

다음과 같이 구분하였다. Fluconazole에 대해 MIC-0가 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  이하인 경우는 감수성, 16-32  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 인 경우는 약용량 의존 감수성(dose dependent susceptible: SDD), 그리고 64  $\mu\text{g}/\text{mL}$  이상인 경우는 내성으로 판정하였으며, itraconazole에 대해서는 MIC-0가 0.125  $\mu\text{g}/\text{mL}$  이하인 경우는 감수성, 0.25-0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 인 경우는 약용량 의존 감수성, 그리고 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  이상인 경우는 내성으로 간주하였다[20]. 이와 같은 MIC breakpoint는 fluconazole에 대해 자연내성으로 알려진 *C. krusei*를 제외한, 모든 *Candida* 균종에 적용하였다[20-22].

## 성 적

### 1. Caspofungin과 micafungin MIC-0와 MIC-2 비교

칸디다 107주의 caspofungin MIC-0 (완전히 억제된 지점을

MIC로 판정)의 범위는 24시간과 48시간 배양 후 각각 0.25-1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 0.25- $\geq 16$   $\mu\text{g}/\text{mL}$  사이로 서로 차이를 보였다. 특히 24시간 배양 후 MIC-0가 각각 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 과 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이었던 2주의 *C. parapsilosis*에서 48시간 배양 후 둘 다 16  $\mu\text{g}/\text{mL}$  이상으로 크게 증가하였다. Caspofungin MIC-2 (현저히 억제된 지점을 MIC로 판정)의 범위는 24시간과 48시간 배양 후 각각 0.125-1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  및 0.125-2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  사이로 서로 유사하였다(Table 1). 전체 균주의 micafungin MIC-0는 24시간과 48시간 배양 후 각각  $\leq 0.03$ -1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  및  $\leq 0.03$ -8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  사이의 범위로 차이를 보였는데, 이러한 차이는 1주의 *C. guilliermondii*에서 24시간 배양 후 0.03  $\mu\text{g}/\text{mL}$  이하였던 micafungin MIC-0가 48시간 배양 후 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  이상으로 증가함에 기인되었다. Micafungin MIC-2는 24시간과 48시간 배양 후 둘 다  $\leq 0.03$ -1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 범위로 서로 유사하였다(Table 2). 따라서 전체적으로 caspofungin과 micafungin MIC-2는 24시간과 48시간 배양 후 서로 큰 차이가 없었으나, MIC-0는 24시간 배양 후 결과에 비해 48시간 배양 후 결과가 증가하였

Table 1. Distribution of caspofungin minimum inhibitory concentrations (MICs) for clinical isolates of *Candida* species

	End point*	Incubation time (h)	N of occurrence at MIC ( $\mu$ g/mL) of										
			$\leq 0.03$	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	>16
<i>C. albicans</i> (N=24)	MIC-0	24				20	4						
		48				16	8						
	MIC-2	24			14	10							
		48			14	10							
<i>C. tropicalis</i> (N=25)	MIC-0	24				5	19	1					
		48				2	22	1					
	MIC-2	24			1	23	1						
		48			1	22	2						
<i>C. glabrata</i> (N=24)	MIC-0	24				7	17						
		48				1	13	10					
	MIC-2	24				23	1						
		48				22	2						
<i>C. parapsilosis</i> (N=20)	MIC-0	24					2	18					
		48						15	3			2	
	MIC-2	24					15	5					
		48					13	6	1				
<i>C. krusei</i> (N=8)	MIC-0	24						8					
		48						2	6				
	MIC-2	24					6	2					
		48						8					
<i>C. guilliermondii</i> (N=3)	MIC-0	24					3						
		48						3					
	MIC-2	24				3							
		48					1	2					
<i>C. pelliculosa</i> (N=3)	MIC-0	24				1	2						
		48					3						
	MIC-2	24				3							
		48				1	2						
Total (N=107)	MIC-0	24				33	37	27					
		48				19	46	31	9			2	
	MIC-2	24			15	62	23	7					
		48			15	55	20	16	1				

\*MIC-0, the lowest drug concentration that supported no visible growth; MIC-2, the lowest drug concentrations that caused a prominent reduction of growth (>50% inhibition relative to control growth).

Table 2. Distribution of micafungin MICs for clinical isolates of *Candida* species

	End point	Incubation time (h)	N of occurrence at MIC ( $\mu\text{g/mL}$ ) of										
			$\leq 0.03$	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	$>16$
<i>C. albicans</i> (N=24)	MIC-0	24	24										
		48	24										
	MIC-2	24	24										
<i>C. tropicalis</i> (N=25)	MIC-0	48	24										
		24	25										
	MIC-2	48	25										
<i>C. glabrata</i> (N=24)	MIC-0	24	25										
		48	25										
	MIC-2	24	24										
<i>C. parapsilosis</i> (N=20)	MIC-0	48	24										
		24	24										
	MIC-2	48	24										
<i>C. krusei</i> (N=8)	MIC-0	24	24										
		48	24										
	MIC-2	24	24										
<i>C. guilliermondii</i> (N=3)	MIC-0	48	24										
		24	24										
	MIC-2	48	24										
<i>C. pelliculosa</i> (N=3)	MIC-0	24	24										
		48	24										
	MIC-2	24	24										
Total (N=107)	MIC-0	48	24										
		24	24										
	MIC-2	48	24										

고, 특히 일부 균주에서 현저히 증가되는 현상을 관찰할 수 있었다.

## 2. 칸디다 균종의 5가지 항진균제에 대한 생체 외 감수성

칸디다 107주의 caspofungin MIC-2 (24시간 배양)를 균종별로 비교해보면 *C. albicans* (24주), *C. tropicalis* (25주)와 *C. glabrata* (24주)는 각각 0.125-0.25  $\mu\text{g/mL}$ , 0.125-0.5  $\mu\text{g/mL}$  및 0.25-0.5  $\mu\text{g/mL}$ 로서 서로 유사하게 낮은 결과를 보였다. 이에 비해 *C. parapsilosis* (20주)와 *C. krusei* (8주)는 둘 다 0.5-1  $\mu\text{g/mL}$ 이었고, 나머지 *C. guilliermondii* (3주)와 *C. pelliculosa* (3주)는 모두 0.25  $\mu\text{g/mL}$ 이었다. 따라서 칸디다 균종별 caspofungin에 대한 감수성은 *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*가 가장 낮았고, *C. parapsilosis*와 *C. krusei*에서 다소 높았으나, 전체적으로 0.125-1  $\mu\text{g/mL}$ 의 범위였고, 2  $\mu\text{g/mL}$  이상인 균주는 한 주도 없었다.

Micafungin MIC-2 (24시간 배양)를 균종별로 비교해보면 *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* 및 *C. pelliculosa*는 검사한 균주 모두가 0.03  $\mu\text{g/mL}$  이하로 낮은 결과를 보였으나, *C. para-*

*psilosis*는 0.125-1  $\mu\text{g/mL}$ 로서 다른 균종에 비해 높은 결과를 보였다. 균수는 적었으나 *C. krusei*의 경우 micafungin MIC-2는 0.125  $\mu\text{g/mL}$ 이었고, *C. guilliermondii*는 0.06-0.125  $\mu\text{g/mL}$ 이었다.

전체 107주에 대한 caspofungin, micafungin, amphotericin B, fluconazole 및 itraconazole MIC<sub>50</sub>은 각각 0.25,  $\leq 0.03$ , 0.5, 1 및 0.125  $\mu\text{g/mL}$ 로 micafungin이 가장 낮았다(Table 3). 전체 칸디다의 amphotericin B MIC는 0.125-1  $\mu\text{g/mL}$  사이였다. 검사한 107주 중 fluconazole MIC가 16-32  $\mu\text{g/mL}$  (약용량 의존 감수성)인 균은 11주(10%), 64  $\mu\text{g/mL}$  이상(내성)인 균은 6주(6%)였으며, itraconazole MIC가 0.25-0.5  $\mu\text{g/mL}$  (약용량 의존 감수성)인 균과 1  $\mu\text{g/mL}$  이상(내성)인 균주는 각각 21주(20%) 및 10주(9%)였다.

## 고 찰

Echinocandin계 항진균제인 caspofungin은 최근 미국과 유럽

**Table 3.** In vitro susceptibilities of 107 *Candida* isolates to 5 antifungal agents

Species	Antifungal agent	MIC ( $\mu\text{g/mL}$ )			R* (%)	SDD* (%)
		Range	50%	90%		
<i>C. albicans</i> (N=24)	Caspofungin <sup>†</sup>	0.125-0.25	0.125	0.25		
	Micafungin <sup>†</sup>	$\leq 0.03$	$\leq 0.03$	$\leq 0.03$		
	Amphotericin B	0.25-0.5	0.25	0.5		
	Fluconazole	0.125-16	0.25	1		3
	Itraconazole	0.03-0.5	0.03	0.06		3
<i>C. tropicalis</i> (N=25)	Caspofungin	0.25-0.5	0.25	0.5		
	Micafungin	$\leq 0.03$	$\leq 0.03$	$\leq 0.03$		
	Amphotericin B	0.125-1	0.25	0.5		
	Fluconazole	0.125-1	0.25	0.5		
	Itraconazole	0.03-0.5	0.125	0.5		16
<i>C. glabrata</i> (N=24)	Caspofungin	0.25-0.5	0.25	0.5		
	Micafungin	$\leq 0.03$	$\leq 0.03$	$\leq 0.03$		
	Amphotericin B	0.25-1	0.5	1		
	Fluconazole	2-32	16	32	8	29
	Itraconazole	0.25-8	0.5	1	25	42
<i>C. parapsilosis</i> (N=20)	Caspofungin	0.5-1	0.5	1		
	Micafungin	0.125-1	0.25	1		
	Amphotericin B	0.125-1	0.5	0.5		
	Fluconazole	0.25-1	0.5	1		
	Itraconazole	0.03-0.125	0.06	0.25		
<i>C. krusei</i> (N=8)	Caspofungin	0.5-1	0.5	ND		
	Micafungin	0.125	0.125	ND		
	Amphotericin B	0.5-1	1	ND		
	Fluconazole	32-64	64	ND	100 <sup>†</sup>	
	Itraconazole	0.5-1	0.5	ND	50	50
Others <sup>‡</sup> (N=6)	Caspofungin	0.25	0.25	ND		
	Micafungin	$\leq 0.03$ -0.125	0.03	ND		
	Amphotericin B	0.125-0.5	0.5	ND		
	Fluconazole	0.25-4	4	ND		
	Itraconazole	0.125-0.5	0.5	ND		50
Total (N=107)	Caspofungin	0.125-1	0.25	1		
	Micafungin	$\leq 0.03$ -1	$\leq 0.03$	1		
	Amphotericin B	0.125-1	0.5	1		
	Fluconazole	0.125-32	0.25	8	9	7
	Itraconazole	0.03-1	0.125	0.5	9	19

\*Percent R (resistant) and SDD (dose dependent susceptible) according to the NCCLS breakpoints for fluconazole and itraconazole. <sup>†</sup>Data are shown for MIC-2 at 24 h. <sup>‡</sup>*C. krusei* isolates were considered to be intrinsically resistant to fluconazole regardless of the MIC. <sup>§</sup>3 *C. guilliermondii* and 3 *C. pelliculosa*.

Abbreviation: ND, not determined due to low numbers of isolates.

에서 다른 항진균제에 반응하지 않는 침습적 아스페르길루스증, 식도성 칸디다 감염증과 침습적 칸디다 감염증의 치료제로 승인되었다[17]. 동일 echinocandin계 항진균제인 micafungin도 최근 일본에서 승인되어 소아나 성인 환자의 칸디다증 및 칸디다혈증에 매우 효과적인 것으로 보고되고 있다[12]. Micafungin은 동물실험에서 파종성 칸디다증에 생체 내 활성을 나타냈으며[23, 24], 실제 사람면역바이러스(HIV) 양성 환자의 식도 칸디다증이 micafungin 치료에 의해 완치됨이 내시경적으로 증명되었다[25]. 이러한 치료 효과와 더불어 caspofungin과 micafungin을 투여 받은 경우 부작용이 거의 없으며, 치료에 비교적 잘 견딜 수 있다

는 점들이 장점으로 보고되고 있다[12, 17]. 본 연구에서는 국내 최초로 임상검체에서 분리된 칸디다 107주에 대해 caspofungin과 micafungin에 대한 감수성 검사를 실시해 본 결과, 이들이 fluconazole이나 itraconazole에 내성을 보이는 칸디다 균을 포함한 다양한 칸디다 균종에 강력한 활성을 보임을 알 수 있었다.

Echinocandin계 항진균제는 비교적 최근에 소개되었으며 감수성 검사에 대해 아직 명확한 NCCLS 기준이 없다. 약제가 소개된 직후에 시행되었던 대부분의 caspofungin의 항진균제 감수성 검사들은 48시간 배양 후 대조 well에 비해 균이 완전 억제된 농도(MIC-0)를 기준으로 MIC를 정하여 판독하였다[26]. 그러나, 48시간 배양 후 판독 시 균 성장이 확연하게 감소되기는 했으나 완전히 억제되지 않는 'trailing 효과'로 인해 MIC의 정확한 판정에 혼란을 주는 경우가 보고되었다[27]. 이는 살아있는 진균세포가 아닌 죽은 세포의 잔재 등에 의한 현상으로 확인되었으며, RPMI 배지 외에 다른 배지(antibiotic medium 3; AM3)를 사용한 경우에는 더 높은 MIC를 보일 수 있다[26, 27]. 따라서 caspofungin MIC 검사에는 RPMI 배지를 사용하며, trailing 효과로 인해 MIC가 높게 결정되는 잘못을 방지하기 위하여 MIC의 최종농도를 MIC-0로 잡는 것보다는 MIC-2로 잡는 것을 권장하고 있다[26, 27]. 본 실험에서 *C. parapsilosis* 2주가 24시간 배양 후 MIC-0가 1  $\mu\text{g/mL}$ 이었는데, 48시간 배양 후 16  $\mu\text{g/mL}$  이상으로 큰 폭으로 증가하여, trailing 효과에 의한 증가임을 알 수 있었다. 이는 이전 보고와 일치하는 소견이다[14]. 본 실험에서는 전체적으로 caspofungin과 micafungin MIC-2는 24시간과 48시간 배양 후 서로 차이가 없었으나, MIC-0는 24시간 결과에 비해 48시간 배양 후 결과가 증가하였다. 특히 *C. parapsilosis*와 *C. guilliermondii*의 일부 균주에서는 현저한 증가를 보였다. Pfaller 등[28]은 임상 칸디다 균주들과 glucan 합성 돌연변이 균주들에 대해 caspofungin 감수성 검사를 실시하고, RPMI 배지 vs. AM3 배지, MIC-0 vs. MIC-2 판독 및 24시간 vs. 48시간 배양에 따른 차이를 비교 분석하였다. 그 결과 임상균주와 내성균주간의 감별은 RPMI 배지를 사용하여 24시간 배양 후 MIC-2 판정이 가장 유용하였다고 보고하였다. Odds 등[29]도 구미의 다기관 검사실간의 caspofungin 감수성 검사 성적을 분석한 결과, 48시간 배양 결과가 검사실마다 차이가 많았고, 48시간 결과에 비해 24시간 결과가 검사실간 일치율이 높아 기술적인 차이가 적은 24시간 배양과 RPMI 배지 사용할 것을 제시하였다.

본 실험에서 caspofungin은 대상 균종 모두에 대해 24시간 배양 후 MIC-2가 0.125-1  $\mu\text{g/mL}$ 를 보였으며 전체 실험 균주 107주 중 2  $\mu\text{g/mL}$  이상인 균주는 없었는데, 이 결과는 다른 성적[18, 28, 30]과 유사한 소견이었다. 칸디다 균종별 caspofungin에 대한 MIC<sub>50</sub>는 *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*가 가장 낮았고(0.125-0.25  $\mu\text{g/mL}$ ), *C. parapsilosis*와 *C. krusei*는 다소 높았는데(0.5  $\mu\text{g/mL}$ ), Pfaller 등[28]도 흔히 분리되는 균종인 *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*는 caspofungin에 대해 확실한 감수성을 나타낸 반면, *C. parapsilosis*와 보다 드물게 분리

되는 균종인 *C. krusei*, *C. lusitanae* 및 *C. guilliermondii*는 약 10배 정도 더 감수성이 약하였다고 보고하였다.

본 실험에서 micafungin은 *C. albicans*, *C. tropicalis* 및 *C. glabrata*에 대해  $\leq 0.03 \mu\text{g/mL}$ 의 매우 낮은 MIC를 보여 검사한 5가지 항진균제 중 가장 강력한 활성을 보여주었으며, 24시간과 48시간 MIC는 다른 보고들[11, 14, 15]과 같이 거의 차이가 없었다. 최근 Takakura 등[15]도 535주의 혈액분리 칸디다를 대상으로 48시간 배양 후 MIC-0를 조사한 결과, micafungin이 대부분의 칸디다 균종에 매우 강력한 활성을 보였고, *C. parapsilosis*와 *C. guilliermondii*에서는 MIC<sub>50</sub>이 각각  $1 \mu\text{g/mL}$ 과  $0.5 \mu\text{g/mL}$ 로 다소 높았다고 하였다. 본 성적에서도 48시간 배양 후 MIC-0는 *C. parapsilosis* (20주)는 0.25-2  $\mu\text{g/mL}$ , *C. guilliermondii* (3주)의 MIC는 각각 0.5, 1 및 8  $\mu\text{g/mL}$ 로서 두 칸디다 균종에서만 높은 MIC를 보임이 관찰되었다. Ostrosky-Zeichner 등[14]은 *C. parapsilosis*와 *C. guilliermondii*의 micafungin MIC는 다른 칸디다 균종에 비해 상대적으로 높은 것이지 이것이 내성을 의미한다는 생체 내 혹은 생체 외 증거는 없으며, 현재 권장되는 약용량이 MIC에 비슷할 것으로 생각하였다.

본 연구에서는 시험한 칸디다 균주 중 azole계 항진균제 내성 균주는 대부분 *C. glabrata*와 *C. krusei* 균이었으며, 이들 균종은 다른 항진균제들에 비해 상대적으로 낮은 caspofungin MIC (*C. glabrata* MIC<sub>50</sub>, 0.25  $\mu\text{g/mL}$ ; *C. krusei* MIC<sub>50</sub>, 0.5  $\mu\text{g/mL}$ )와 micafungin MIC (*C. glabrata* MIC<sub>50</sub>,  $\leq 0.03 \mu\text{g/mL}$ ; *C. krusei* MIC<sub>50</sub>, 0.125  $\mu\text{g/mL}$ )를 보였다. 이러한 성적은 caspofungin과 micafungin이 특히 azole계 항진균제 내성 *C. albicans*와 non-*C. albicans* *Candida* 균종에 대해 좋은 활성을 보인다는 성적[11]을 재확인시켜 주었다. 특히, micafungin은 fluconazole과 itraconazole에 대해 감수성이 저하된 균주에서 fluconazole의 12-85배, itraconazole의 6배 정도의 높은 활성을 보인다는 보고[31]와도 유사한 결과를 보였다. 이상의 성적은 다른 보고들과 함께 새로 개발된 caspofungin과 micafungin이 azole에 내성인 칸디다 균주나 균종에 의한 혈류감염 환자나 amphotericin B 전체 용량에 견디지 못하는 환자를 치료하는데 유망한 약제가 될 가능성을 보여주었다.

## 요 약

**목적** : Caspofungin과 micafungin은 생체 내 및 생체 외에서 칸디다 균주에 대해 강한 활성을 보이는 새로운 echinocandin계 항진균제이다. 그러나, 아직까지 한국인의 임상검체에서 분리된 진균을 대상으로 한 caspofungin과 micafungin 감수성에 대한 연구 결과는 보고되지 않았다. 저자들은 국내 환자의 임상 검체에서 분리된 칸디다 균주를 대상으로 caspofungin과 micafungin에 대한 생체 외 감수성 검사를 실시하여 minimum inhibitory concentration (MIC)을 조사하여 보았다.

**방법** : 임상 검체에서 분리된 칸디다 107주(*C. albicans* 24주, *C. tropicalis* 25주, *C. glabrata* 24주, *C. parapsilosis* 20주, *C. krusei* 8주, 그 외 *Candida* spp. 6주)를 대상으로 하였다. Caspofungin과 micafungin에 대한 생체의 감수성 검사는 NCCLS broth microdilution법에 준하여 실시하였고 동일 균주에 대한 amphotericin B, fluconazole 및 itraconazole 성적과 비교하여 보았다.

**성적** : Caspofungin과 micafungin의 전체 칸디다에 대한 MIC는 각각 0.125-1  $\mu\text{g/mL}$ 와  $\leq 0.03$ -1  $\mu\text{g/mL}$ 로 넓은 범위의 항진균력을 보였다. 흔히 분리되는 4가지 칸디다 균종 중 *C. albicans*, *C. tropicalis* 및 *C. glabrata*의 caspofungin과 micafungin MIC<sub>90</sub>는 각각 0.125-0.25  $\mu\text{g/mL}$ 와  $\leq 0.03 \mu\text{g/mL}$ 이었으나, *C. parapsilosis*의 MIC<sub>90</sub>은 두 약제 모두 1  $\mu\text{g/mL}$  더 높았다. 전체 칸디다 균주에 대한 caspofungin, micafungin, amphotericin B, fluconazole 및 itraconazole MIC<sub>50</sub>은 각각 0.25,  $\leq 0.03$ , 0.5, 1 및 0.125  $\mu\text{g/mL}$ 로 micafungin이 가장 낮았다. Azole계 항진균제에 감수성이 저하된 *C. glabrata*와 *C. krusei* 균주에 대한 caspofungin MIC<sub>50</sub>은 각각 0.25와 0.5  $\mu\text{g/mL}$ 였으며, micafungin MIC<sub>50</sub>은 각각  $\leq 0.03$ 과 0.125  $\mu\text{g/mL}$ 였다.

**결론** : Caspofungin과 micafungin은 azole계 항진균제에 대해 감수성이 감소된 *C. glabrata*와 *C. krusei* 균종을 포함한 여러 칸디다 균종들에 대해 매우 우수한 항진균력을 보임을 알 수 있었다.

## 참고문헌

1. Chae MJ, Shin JH, Cho D, Kee SJ, Kim SH, Shin MG, et al. Antifungal susceptibilities and distribution of *Candida* species recovered from blood cultures over an 8-year period. *Korean J Lab Med* 2003; 23:329-35. (채명중, 신종희, 조덕, 기승정, 김수현, 신명근 등. 최근 8년간 혈액에서 분리된 *Candida* 균종과 항진균제 감수성. 대한진단검사의학회지 2003;23:329-35.)
2. Kao AS, Brandt ME, Pruitt WR, Conn LA, Perkins BA, Stephens DS, et al. The epidemiology of candidemia in two United States cities: results of a population-based active surveillance. *Clin Infect Dis* 1999;29:1164-70.
3. Jarvis WR. Epidemiology of nosocomial fungal infections, with emphasis on *Candida* species. *Clin Infect Dis* 1995;20:1526-30.
4. Pfaller MA. Nosocomial candidiasis: emerging species, reservoirs, and modes of transmission. *Clin Infect Dis* 1996;22:S89-94.
5. Verduyn Lunel FM, Meis JF, Voss A. Nosocomial fungal infections: candidemia. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999;34:213-20.
6. Shin JH, Kee SJ, Shin MG, Kim SH, Shin DH, Lee SK, et al. Biofilm production by isolates of *Candida* species recovered from nonneutropenic patients: comparison of bloodstream isolates with isolates from other sources. *J Clin Microbiol* 2002;40:1244-8.

7. Thomas AH. Suggested mechanisms for the antimycotic activity of the polyene antibiotics and the N-substituted imidazoles. *J Antimicrob Chemother* 1986;17:269-79.
8. Ellis D. Amphotericin B: spectrum and resistance. *J Antimicrob Chemother* 2002;49:S7-10.
9. Hitchcock CA, Pye GW, Troke PF, Johnson EM, Warnock DW. Fluconazole resistance in *Candida glabrata*. *Antimicrob Agents Chemother* 1993;37:1962-5.
10. Rex JH, Rinaldi MG, Pfaller MA. Resistance of *Candida* species to fluconazole. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:1-8.
11. Tawara S, Ikeda F, Maki K, Morishita Y, Otomo K, Teratani N, et al. In vitro activities of a new lipopeptide antifungal agent, FK463, against a variety of clinically important fungi. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:57-62.
12. Denning DW. Echinocandin antifungal drugs. *Lancet* 2003;362:1142-51.
13. Onishi J, Meinz M, Thompson J, Curotto J, Dreikorn S, Rosenbach M, et al. Discovery of novel antifungal (1,3)-beta-D-glucan synthase inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:368-77.
14. Ostrosky-Zeichner L, Rex JH, Pappas PG, Hamill RJ, Larsen RA, Horowitz HW, et al. Antifungal susceptibility survey of 2,000 bloodstream *Candida* isolates in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:3149-54.
15. Takakura S, Fujihara N, Saito T, Kudo T, Iinuma Y, Ichiyama S. National surveillance of species distribution in blood isolates of *Candida* species in Japan and their susceptibility to six antifungal agents including voriconazole and micafungin. *J Antimicrob Chemother* 2004;53:283-9.
16. Higashiyama Y and Kohno S. Micafungin: a therapeutic review. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2004;2:345-55.
17. Keating GM and Jarvis B. Caspofungin. *Drugs* 2001;61:1121-9.
18. Kartsonis N, Killar J, Mixson L, Hoe CM, Sable C, Bartizal K, et al. Caspofungin susceptibility testing of isolates from patients with esophageal candidiasis or invasive candidiasis: Relationship of MIC to Treatment Outcome. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49:3616-23.
19. Pfaller MA, Diekema DJ, Messer SA, Hollis RJ, Jones RN. In vitro activities of caspofungin compared with those of fluconazole and itraconazole against 3,959 clinical isolates of *Candida* spp., Including 157 fluconazole-resistant isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:1068-71.
20. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard M27-A2. Villanova, Pa: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2002.
21. Arthington-Skaggs BA, Lee-Yang W, Ciblak MA, Frade JP, Brandt ME, Hajjeh RA, et al. Comparison of visual and spectrophotometric methods of broth microdilution MIC end point determination and evaluation of a sterol quantitation method for in vitro susceptibility testing of fluconazole and itraconazole against trailing and nontrailing *Candida* isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46:2477-81.
22. Samra Z, Yardeni M, Peled N, Bishara J. Species distribution and antifungal susceptibility of *Candida* bloodstream isolates in a tertiary medical center in Israel. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005; 24:592-5.
23. Ikeda F, Wakai Y, Matsumoto S, Maki K, Watabe E, Tawara S, et al. Efficacy of FK463, a new lipopeptide antifungal agent, in mouse models of disseminated candidiasis and aspergillosis. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:614-8.
24. Petraitis V, Petraitiene R, Groll AH, Roussillon K, Hemmings M, Lyman CA, et al. Comparative antifungal activities and plasma pharmacokinetics of micafungin (FK463) against disseminated candidiasis and invasive pulmonary aspergillosis in persistently neutropenic rabbits. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:1857-69.
25. Pettengell K, Mynhardt J, Kluyts T, Lau W, Facklam D, Buell D; FK463 South African Study Group. Successful treatment of oesophageal candidiasis by micafungin: a novel systemic antifungal agent. *Aliment Pharmacol Ther* 2004;20:475-81.
26. Bartizal C and Odds FC. Influences of methodological variables on susceptibility testing of caspofungin against *Candida* species and *Aspergillus fumigatus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47: 2100-7.
27. Klepser ME, Ernst EJ, Ernst ME, Messer SA, Pfaller MA. Evaluation of end points for antifungal susceptibility determinations with LY303366. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:1387-91.
28. Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, Rice C, Tendolkar S, Hollis RJ, et al. Further standardization of broth microdilution methodology for in vitro susceptibility testing of caspofungin against *Candida* species by use of an international collection of more than 3,000 clinical isolates. *J Clin Microbiol* 2004;42:3117-9.
29. Odds FC, Motyl M, Andrade R, Bille J, Canton E, Cuenca-Estrella M, et al. Interlaboratory comparison of results of susceptibility testing with caspofungin against *Candida* and *Aspergillus* species. *J Clin Microbiol* 2004;42:3475-82.
30. Cuenca-Estrella M, Rodriguez D, Almirante B, Morgan J, Planes AM, Almela M, et al. In vitro susceptibilities of bloodstream isolates of *Candida* species to six antifungal agents: results from a population-based active surveillance programme, Barcelona, Spain, 2002-2003. *J Antimicrob Chemother* 2005;55:194-9.
31. Laverdiere M, Hoban D, Restieri C, Habel F. In vitro activity of three new triazoles and one echinocandin against *Candida* bloodstream isolates from cancer patients. *J Antimicrob Chemother* 2002;50:119-23.