

Ofloxacin 내성 마이코박테리아에 대한 Moxifloxacin의 항결핵 효과: Ofloxacin과 Moxifloxacin의 교차내성 연구를 중심으로

국립마산병원 임상연구소

김병주, 강영수, 박승규

Activity of Moxifloxacin Against Ofloxacin-Resistant *Mycobacterium Tuberculosis*: A Study of Cross-Resistance Between Ofloxacin and Moxifloxacin

Byoung Ju Kim, M.D., Young Soo Kang, Seung Kyu Park, M.D., Ph.D.

Clinical Research Center for Tuberculosis, National Masan Hospital, Masan, Korea

Background : Moxifloxacin is an 8-methoxyquinolone compound which has been shown to have the best activity of the quinolones against *M. tuberculosis* but there is no literature showing the rate of cross-resistance between moxifloxacin and the other quinolones such as ofloxacin. Therefore, we tested the activity of moxifloxacin against ofloxacin resistant *M. tuberculosis* by a study of cross-resistance.

Methods : We tested MIC's of moxifloxacin and ofloxacin by proportion method against 34 *M. tuberculosis* isolates showing resistance against ofloxacin at 2.5 μ g/ml concentration and 13 ofloxacin susceptible isolates from specimens submitted to clinical laboratory of National Masan Hospital from March 2003 to March 2004.

Results : For ofloxacin susceptible isolates, MIC₅₀ and MIC₉₀ of ofloxacin were all 1.25 μ g/ml, and MIC₅₀ and MIC₉₀ of moxifloxacin were 0.31 μ g/ml and 0.63 μ g/ml respectively. For ofloxacin resistant isolates, MIC₅₀ of ofloxacin was over 10 μ g/ml and MIC₅₀ of moxifloxacin was 5 μ g/ml, MIC₉₀ of ofloxacin and moxifloxacin were all over 10 μ g/ml. The rate of cross-resistance between the two was 67.6%(23/34) at 2.5 μ g/ml concentration.

Conclusions : Moxifloxacin showed activity against 82.4%(28/34) of ofloxacin resistant *M. tuberculosis* at 10 μ g/ml, but more studies are needed so that moxifloxacin will be used for patient with multi-drug resistant tuberculosis including ofloxacin resistance. (*Tuberc Respir Dis 2004; 57:405-410*)

Key words : Moxifloxacin, Ofloxacin, Quinolone, Cross-resistance, Tuberculosis.

서 론

최근 전 세계적으로 결핵의 유병률이 증가하고 있으며 다제내성 결핵의 출현은 인류에게 심각한 위협으로 대두되고 있다¹⁻⁴. 그러나 1960년대 rifampicin이 결핵 치료제로 도입되어 사용되어 온 이래로 아직까지 새로운 항결핵제가 없는 실정이다. 이에 새로운 치료 약제의 개발을 위해서 기존의 항생제에 대한 항결핵

효과 유무가 검토되어 왔고 이 중 ofloxacin, ciprofloxacin, levofloxacin 그리고 moxifloxacin을 포함하는 quinolone 제제들이 in vitro 및 in vivo상에서 마이코박테리아에 효과적이라고 보고되면서 quinolone은 현재 새로운 항결핵 치료제로 널리 사용되고 있다⁵⁻⁷.

현재 새로운 세대의 quinolone 약물들이 계속해서 개발되고 있으며 이 중 8-methoxyquinolone인 moxifloxacin(MXF)은 기존의 quinolone에 비하여 더욱 항결핵 효과가 뛰어난 것으로 알려져 있다. Gillespie 등⁸은 moxifloxacin의 *M. tuberculosis*에 대한 최저발육 억제농도(MIC)가 ciprofloxacin 보다 적어도 4배 이상 낮음을 보고한 바 있다. 이와 같은 보고에 근거하여 실제 임상에서 ofloxacin에 내성을 보이는 다제내성 결핵환자들에게 moxifloxacin을 투여하는 경우가 많다. 하지만 quinolone 계열의 약물들은 결핵 외 여러 감염증에 사용되고 있어 내성을 획득하기 쉽고 상호

본 연구는 보건복지부 보건의료기술연구개발사업의 지원에 의하여 이루어졌음. (MHP-OO-CH-03-0001)

Address for correspondence : **Seung Kyu Park, M.D., Ph.D.**
Clinical research center for tuberculosis, National Masan Hospital, 486 Kapo-dong, Masan, 631-710 Gyeongsangnam-do, Korea.

Phone : 055-249-3730, 3791 Fax : 055-242-1135

E-mail : pulmo116@empal.com

Received : Jun. 15. 2004.

Accepted : Sep. 15. 2004.

간에 교차내성을 가지고 있기 때문에 기존의 quinolone에 내성인 균주에 대하여 새로운 quinolone 제제의 효과를 예측하기 어렵다^{9,10}.

현재 moxifloxacin과 기존의 quinolone간의 교차내성에 대한 보고가 없는 상황이며 이에 저자들은 본 연구를 통하여 moxifloxacin과 ofloxacin간의 교차내성을 알아봄으로써 ofloxacin 내성 균주에 대한 moxifloxacin의 항결핵 효과를 알아보하고자 하였다.

대상 및 방법

폐결핵 치료를 위해서 2003년 3월부터 2004년 3월까지 국립마산병원에 방문 또는 입원하였던 환자들의 객담에서 분리된 *M. tuberculosis* isolate에 대한 약물감수성 검사상 ofloxacin에 대한 본원의 내성기준 농도인 2.5µg/ml의 농도에 내성을 보인 균주 37개와 감성을 보인 균주 16개를 대상으로 하여 ofloxacin 및 moxifloxacin 각각에 대한 MIC를 알아보았다.

약물감수성 검사에 사용된 ofloxacin과 moxifloxacin 제제들은 각각 sigma(Poole, UK)와 Bayer (Newbury, UK)에서 제조된 분말형태의 약물을 사용하였다.

MIC 결정을 위해서 ofloxacin은 최고농도 10µg/ml부터 최저농도 0.08µg/ml까지 2배수로 7번 계대 희석하여 제조된 8가지 농도(10, 5, 2.5, 1.25, 0.63, 0.31, 0.16, 0.08, 단위:µg/ml)가 사용되었으며, moxifloxacin 역시 ofloxacin과 같은 8가지 농도로 감수성 검사가 시행되었다.

국립마산병원 임상 검사실에 보관된 균주들을 멸균 증류수에 0.5 MacFarland의 농도로 희석한 후 약물이 포함되지 않은 Lowenstein-Jensen(L-J) 배지와 각 8가지 농도의 약물이 포함되도록 제조된 L-J 배지에

접종하였다. 접종된 배지는 4주간 38°C에서 배양하였다. 각 균주들에 대한 두 약제의 MIC는 비율법에 의하여 각 약제가 포함되지 않은 배지에서 자란 균수의 1% 미만의 성장을 보이는 각 약제들의 최소농도로서 정의하였다. 또한 전체 균주의 50% 및 90%에서 성장 억제를 보이는 최소 농도를 MIC₅₀, MIC₉₀으로 정의하여 두 약제들의 효과를 비교하는 기준으로 사용하였으며 통계적 유의성은 χ^2 test를 이용하여 P 값이 0.05 미만일 때 통계적 의의가 있는 것으로 판단하였다.

이상의 실험은 2차례에 걸쳐 반복 실시하였으며 약물이 함유되지 않은 배지에서 자란 균수가 너무 많거나 적어서 비율법에 의한 내성 판정이 어려운 균주 및 재실험 후 일차 실험과 상이한 결과를 보인 균주들을 제외한 내성균주 34개와 감성균주 13개가 결과 분석에 사용되었다.

결 과

Table 1에서 ofloxacin과 moxifloxacin의 약물 농도가 증가함에 따라 성장 억제가 관찰되는 균주들의 누적 수를 ofloxacin 감성 및 내성에 따라 구분하여 나타내었다. Ofloxacin 감성 균주들은 ofloxacin 0.63µg/ml의 농도에서부터 성장 억제를 보여 2.5µg/ml의 농도에서 모든 균주가 성장이 억제 되었으며 moxifloxacin에 대해서는 더 낮은 0.31µg/ml에서 0.63µg/ml 사이의 농도에서 항균효과가 나타났다.

Ofloxacin 감성 균주에 대한 moxifloxacin의 MIC₅₀과 MIC₉₀은 각각 0.31µg/ml과 0.63µg/ml으로 모두 1.25µg/ml의 MIC₅₀과 MIC₉₀ 값을 보인 ofloxacin보다 항균 효과가 좋았다. Ofloxacin 내성 균주들에 대한 moxifloxacin의 MIC₅₀은 5µg/ml, MIC₉₀은 10µg/ml 이상으로 나타났으며 ofloxacin의 MIC₅₀과 MIC₉₀은 모두 10

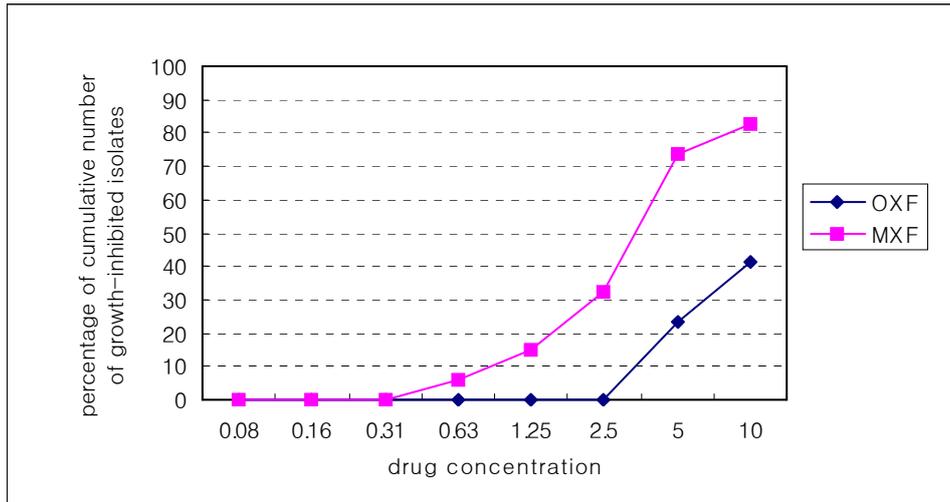
Table 1. Cumulative number of isolates of *M. tuberculosis* showing growth inhibition at the following concentrations

Organism	Drug	drug concentrations(µg/ml)							
		0.08	0.16	0.31	0.63	1.25	2.5	5	10
ofloxacin-susceptible	ofloxacin	0	0	0	1	12	13	13	13
<i>M. tuberculosis</i> (n=13)	moxifloxacin	0	0	10	13	13	13	13	13
ofloxacin-resistant	ofloxacin	0	0	0	0	0	0	8	14
<i>M. tuberculosis</i> (n=34)	moxifloxacin	0	0	0	2	5	11	25	28*

*P<0.01 vs. ofloxacin at 10µg/ml

Table 2. MICs($\mu\text{g}/\text{ml}$) of ofloxacin and moxifloxacin for clinical isolates of *M. tuberculosis*

Organism	MICs	Ofloxacin	Moxifloxacin
ofloxacin-susceptible <i>M. tuberculosis</i> (n=13)	MIC ₅₀ MIC ₉₀ range	1.25 1.25 0.63 - 2.5	0.31 0.63 0.31 - 0.63
ofloxacin-resistant <i>M. tuberculosis</i> (n=34)	MIC ₅₀ MIC ₉₀ range	>10 >10 5 - >10	5 >10 0.63 - >10

Figure 1. Percentage of cumulative number of isolates of *M. tuberculosis* showing growth inhibition at the following concentrations.

$\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상의 값을 보였다(Table 2). 두 약제 모두 MIC₉₀이 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상의 값을 보였으나 본 실험의 최대농도인 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 82.4%(28/34)의 균주가 moxifloxacin에 의해 성장억제가 나타났던 반면 ofloxacin에서는 절반인 41.2%(14/34)의 균주만이 성장이 억제되었다($p < 0.01$)(Fig. 1).

약물 농도 $2.5\mu\text{g}/\text{ml}$ 을 기준으로 한 moxifloxacin의 ofloxacin에 대한 교차 내성률은 67.6%(23/34)로 나타났다.

고 찰

현재 quinolone 제제들은 항결핵 효과가 뛰어난 것으로 보고되면서 기존의 항결핵제 치료에 대한 부작용으로 표준치료를 감당하기 힘들어하던 HIV 양성 환자 및 난치성 결핵환자들에게 다른 항결핵제들과 병합하여 사용되어 왔다¹¹. 하지만 80년대 이후로 임상에 사용되어온 quinolone 제제들은 호흡기 감염증

및 요로 감염증 등의 여러 감염증에 널리 사용되고 있으며 특히 호흡기 감염균에 대한 뛰어난 효과로 인하여 지역사회폐렴의 일차 항생제로 사용되면서 사용빈도가 늘어나고 있는 실정이다. 따라서 결핵 환자들이 결핵을 진단받기 까지 quinolone 제제들에 노출될 기회가 많으며 이는 항결핵제의 단독치료와 같은 결과가 되어 quinolone에 대한 내성 균주를 발생시킬 수 있다. 또한 1-2주의 짧은 치료에 의해서도 내성을 유발할 수 있다는 보고들이 있어 면역이 저하되어 있는 결핵환자들은 더욱 quinolone에 의한 내성을 획득하기 쉬워 보인다¹². 이러한 quinolone에 대한 내성은 마이코박테리아 DNA gyrase의 A와 B subunit의 변이에 의한 것으로 잘 알려져 있으며 따라서 같은 quinolone 제제들은 서로 상호 교차내성을 갖는 것으로 보고되고 있다¹³.

최근 개발된 새로운 세대의 quinolone 제제들은 기존의 제제들과 비교하여 항결핵 효과가 뛰어난 것으로 보고되고 있다. 그 중 moxifloxacin은 여러 연구에

서 ofloxacin, ciprofloxacin, levofloxacin, sparfloxacin 등에 비하여 항결핵 효과가 큰 것으로 보고되어 왔다^{8,14-16}. 19개의 *M. tuberculosis* 균주들을 대상으로 한 Gillespie 등⁸의 연구에 의하면 moxifloxacin의 MIC₅₀은 0.12µg/ml, MIC₉₀은 0.25µg/ml로 각각 0.5µg/ml의 값을 보인 ciprofloxacin, >0.25µg/ml, 0.5µg/ml를 보인 levofloxacin, 그리고 0.12µg/ml, >0.25µg/ml를 보인 sparfloxacin에 비하여 MICs 값이 더 낮았다. 또한 1차 항결핵제에 대한 내성 및 감성균주들을 대상으로 실험한 Ruiz-Serrano 등¹⁷의 보고에 의하면 ofloxacin, ciprofloxacin, 그리고 grepafloxacin의 MIC₅₀ 및 MIC₉₀은 감성 균주 206개에서 모두 1µg/ml이었고, levofloxacin에서는 각각 0.5µg/ml, 1µg/ml, 그리고 gemifloxacin에서는 4µg/ml, 8µg/ml의 값을 보였다. 내성 균주 44개에 대해서 ofloxacin, ciprofloxacin 그리고 grepafloxacin의 MIC₅₀과 MIC₉₀은 각각 1µg/ml, 2µg/ml로 같았고 levofloxacin은 0.5µg/ml, 1µg/ml, 그리고 gemifloxacin은 모두 8µg/ml의 값을 보였다. 이 연구에서는 moxifloxacin이 빠져있지만 앞서 소개한 Gillespie 등⁸의 연구에서는 moxifloxacin이 levofloxacin보다 항결핵효과가 우수한 것으로 보고하고 있다.

이러한 사실에 근거하여 ofloxacin 내성을 포함하는 다제내성 결핵의 치료에 moxifloxacin을 종종 사용하여 왔지만 현재 in vivo에서는 물론이고 in vitro 상에서 ofloxacin에 대한 moxifloxacin의 교차내성률을 포함한 ofloxacin의 내성 균주에 대한 moxifloxacin의 효과를 연구한 문헌이 없기 때문에 실제 ofloxacin 내성균에 대한 moxifloxacin의 항결핵 작용에 관하여 의문이 있어 왔다.

이에 대하여 ofloxacin과 moxifloxacin의 교차내성률 조사를 기본으로 한 본 연구에서 본원 임상 검사실의 ofloxacin 내성기준인 2.5µg/ml의 농도에서 moxifloxacin의 교차내성은 67.6%인 것으로 나타났다. 이는 두 약물이 같은 내성기전을 가지고 있는 동일계열의 약제이기 때문에 어느 정도 예측할 수 있는 수준으로 사료된다. 하지만 ofloxacin 내성 균주에 대한 ofloxacin의 MIC₅₀은 10µg/ml이상으로 본 연구의 최대

농도 이상이었던 반면 moxifloxacin의 MIC₅₀은 5µg/ml의 값을 보였다. 또한 ofloxacin 내성균주에 대한 moxifloxacin과 ofloxacin의 MIC₉₀은 모두 10µg/ml 이상의 값을 보였지만 10µg/ml에서 82.4%(28/34)의 균주가 moxifloxacin에 의해 성장억제가 나타났던 반면 ofloxacin에서는 절반인 41.2%(14/34)의 균주만이 성장이 억제되는 것이 관찰되었다($p < 0.01$). 이는 ofloxacin 내성 균주에 대해서 ofloxacin은 고농도에서도 효과가 없었던 반면 고농도에서의 moxifloxacin에서는 항결핵 효과가 있는 것으로 해석할 수 있겠다. 결핵의 감염증에 대한 치료로 moxifloxacin을 투여하였을 때 혈중농도가 0.5µg/ml - 5µg/ml인 것으로 알려져 있으나 약물이 폐조직에서는 좀 더 고농도로 축적되는 점으로 미루어 ofloxacin 내성 균주의 치료에 moxifloxacin이 어느 정도 효과가 있을 것으로 생각된다¹⁸. 하지만 67.6%의 교차내성률 결과로 미루어 ofloxacin내성 결핵환자에게 moxifloxacin을 투여하기 위해서는 좀 더 신중할 필요가 있다.

앞으로 ofloxacin에 내성을 보이는 다제내성 결핵환자들에게 불필요한 사용을 피하며 보다 효과적으로 moxifloxacin을 사용하기 위해서는 더 많은 ofloxacin 내성 균주들을 대상으로 한 moxifloxacin의 MICs 조사와 함께, 기존의 항결핵제와의 병합효과, 그리고 ofloxacin내성 결핵환자의 객담 내 early bactericidal activity 같은 in vivo 연구 등이 추가로 필요할 것으로 사료된다.

요 약

배 경 :

현재 moxifloxacin은 기존의 quinolone 제제들에 비하여 항결핵효과가 크다고 알려지면서 다제내성 결핵에 많이 사용되어 왔지만 moxifloxacin과 기존의 quinolone간의 교차내성에 대한 보고가 없는 상황에서 기존의 quinolone에 내성인 균주에 대한 moxifloxacin의 효과를 예측하기 어려웠다. 이에 본 연구를 통하여 moxifloxacin과 ofloxacin간의 교차내성을 알아봄으로써 ofloxacin 내성 균주에 대한 moxifloxacin의 항

결핵 효과를 알아보고자 하였다.

방 법 :

2003년 3월부터 2004년 3월까지 폐결핵 치료를 위해 서 국립마산병원에 방문 또는 입원하였던 환자들의 객담에서 분리된 *M. tuberculosis* isolate에 대한 약물 감수성 검사상 ofloxacin에 대한 본원 임상 검사실의 내성기준 농도인 2.5µg/ml의 농도에 내성을 보인 균주 37개와 감성을 보인 균주 16개를 대상으로 하여 ofloxacin 및 moxifloxacin 각각에 대한 MIC를 비례법을 이용하여 조사하였다.

결 과 :

Ofloxacin 감성균주들에 대한 MIC₅₀과 MIC₉₀은 ofloxacin에서 모두 1.25µg/ml, moxifloxacin에서는 각각 0.31µg/ml과 0.63µg/ml였다. ofloxacin 내성균주들에 대한 MIC₅₀은 ofloxacin에서 10µg/ml 이상, moxifloxacin에서 5µg/ml였으며 MIC₉₀은 ofloxacin과 moxifloxacin 모두에서 10µg/ml이상의 값을 보였다. 약물 농도 2.5µg/ml을 기준으로 한 moxifloxacin의 ofloxacin에 대한 교차 내성률은 67.6%로 나타났다.

결 론 :

moxifloxacin은 10µg/ml의 농도에서 ofloxacin 내성균주의 82.4%(28/34)에서 항결핵 효과가 있었으나 ofloxacin 내성을 포함하는 다제내성 결핵환자에게 사용하기 위해서 좀 더 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Raviglione MC, Snider DE Jr, Kochi A. Global epidemiology of tuberculosis: morbidity and mortality of a worldwide epidemic. *JAMA* 1995;273:220-6.
2. Culliton BJ. Drug-resistant TB may bring epidemic. *Nature* 1992;356:473.
3. Frieden TR, Sterling T, Pablos-Mendez A, Kilburn JO, Cauthen GM, Dooley SW. The emergence of drug-resistant tuberculosis in New York City. *N Engl J Med* 1993;328:521-6.
4. Goble M, Iseman MD, Madsen LA, Waite D, Ackerson L, Horsbergh CR Jr. Treatment of 171 patients with pulmonary tuberculosis resistant to isoniazid and rifampin. *N Engl J Med* 1993;328:527-32.
5. Yew WW, Piddock LJ, Li MS, Lyon D, Chan CY, Cheng AF. In-vitro activity of quinolones and macro-

6. Yamane N, Chilima BZ, Tosaka M, Okazawa Y, Tanno K. Determination of antimycobacterial activities of fluoroquinolones against clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*: comparative determination with egg-based Ogawa and agar-based Middlebrook 7H10 media. *Kekkaku* 1996;71:453-8.
7. Hoffner SE, Gezelius L, Olsson-Liljegaist B. In-vitro activity of fluorinated quinolones and macrolides against drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *J Antimicrob Chemother* 1997;40:885-8.
8. Gillespie SH, Billington O. Activity of moxifloxacin against mycobacteria. *J Antimicrob Chemother* 1999;44:393-5.
9. Lee HS, Kang YA, Oh JY, Lee JH, Yoo CG, Lee CT, et al. A case of pulmonary tuberculosis with delayed diagnosis due to the temporary clinical improvement after use of levofloxacin and amikacin under the impression of community acquired pneumonia. *Tuberc Respir Dis* 2003;55:395-401.
10. Sullivan EA, Kreiswirth BN, Palumbo L, Kapur V, Musser JM, Ebrahimzadeh A, et al. Emergence of fluoroquinolone-resistant tuberculosis in New York City. *Lancet* 1995;345:1148-50.
11. Gillespie SH, Kennedy N. Fluoroquinolones: a new treatment for tuberculosis? *Int J Tuberc Lung Dis* 1998;2:265-71.
12. Ginsburg AS, Woolwine SC, Hooper N, Benjamin WH Jr, Bishai WR, Dorman SE, et al. The rapid development of fluoroquinolone resistance in *M. tuberculosis*. *N Engl J Med* 2003;349:1977-8.
13. Xa C, Kreiswirth BN, Sreevatsan S, Musser JM, Drlica K. Fluoroquinolone resistance associated with specific gyrase mutations in clinical isolates of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *J Infect Dis* 1996;174:1127-30.
14. Ji B, Lounis N, Maslo C, Truffot-Pernot C, Bonnafous P, Grosset J. In vitro and in vivo activities of moxifloxacin and cinafloxacin against *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:2066-9.
15. Rodriguez JC, Ruiz M, Lopez M, Royo G. In vitro activity of moxifloxacin, levofloxacin, gatifloxacin and linezolid against *Mycobacterium tuberculosis*. *Int J Antimicrob Agents* 2002;20:464-7.
16. Hu Y, Coates AR, Mitchison DA. Sterilizing activities of fluoroquinolones against rifampin-tolerant populations of *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:653-7.
17. Ruiz-Serrano MJ, Alcalá L, Martínez L, Díaz M,

Marin M, Gonzalez-Abad MJ, et al. In vitro activities of six fluoroquinolones against 250 clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* susceptible or resistant to first-line antituberculosis drugs. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:2567-8

18. Wise R. A review of the clinical pharmacology of moxifloxacin, a new 8-methoxyquinolone and its potential relation to therapeutic efficacy. *Clin Drug Invest* 1999;17:365-87
