

Imipenem 내성 *Acinetobacter baumannii*에서 항균제 병합요법의 시험관내 상승작용 검사

성흥섭 · 최수진 · 유수진 · 김미나

울산의대 서울아산병원 진단검사의학과

In vitro Antimicrobial Synergy against Imipenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*

Heungsup Sung, M.D., Soo Jin Choi, M.D., Soojin Yoo, M.D., and Mi-Na Kim, M.D.

Department of Laboratory Medicine, University of Ulsan College of Medicine and Asan Medical Center, Seoul, Korea

Background : Most imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* (IRAB) isolates are multiresistant, leaving few options for an effective antimicrobial therapy. We purposed to select possible candidates for the combinations of antimicrobials that are synergistic *in vitro* for inhibitory or bactericidal activities against IRAB and evaluate the usefulness of double disk synergy test (DDS) in predicting synergistic bactericidal activity.

Methods : Fifty-five IRAB isolates recovered from patients during the period from August 1999 to November 2000 were tested for susceptibilities to amikacin, gentamicin, tobramycin, piperacillin, piperacillin/tazobactam, cefotaxime, cefepime, cefoperazone/sulbactam (C/S), imipenem, meropenem, ciprofloxacin, levofloxacin, trimethoprim/sulfamethoxazole, chloramphenicol, minocycline, and colistin by the Clinical and Laboratory Standard Institute agar dilution method. Three isolates showing different susceptibility profiles were tested for antimicrobial synergy by DDS and then by time-kill study (TKS) using DDS-positive combinations.

Results : Colistin, C/S, and minocycline were active in 50 (90.9%), 50, and 44 (80.0%) isolates, respectively, and all the other drugs were active in less than 20% of isolates. Minocycline-imipenem, minocycline-C/S, minocycline-amikacin, imipenem-tobramycin, C/S-amikacin, and C/S-tobramycin combinations showed synergistic inhibitory or bactericidal activity by TKS when the same combinations were synergistic in DDS; however, C/S-imipenem was found synergistic on DDS, but not by TKS.

Conclusions : Colistin, C/S, and minocycline were relatively active against IRAB. DDS might help predict the synergistic antimicrobial effect of TKS if one of the combinations was susceptible. (*Korean J Lab Med* 2007;27:111-7)

Key Words : Imipenem-resistant, *Acinetobacter baumannii*, Antimicrobial synergy, Double disk synergy, Time kill study

접 수 : 2006년 10월 30일 접수번호 : KJLM1998
수정본접수 : 2006년 12월 5일
게재승인일 : 2006년 12월 5일
교신저자 : 김 미 나
우 138-736 서울시 송파구 풍납2동 388-1
서울아산병원 진단검사의학과
전화 : 02-3010-4511, Fax : 02-478-0884
E-mail : mnkim@amc.seoul.kr

서 론

*Acinetobacter baumannii*는 호기성 포도당 비발효 그람음성간균으로 병원감염의 주요 원인균이다. 이 균은 폐렴, 패혈증, 요로감염, 창상감염, 수막염 등의 다양한 형태의 감염증을 유발하며 중환자실 환자에서 중증 감염을 일으킨다[1, 2]. *A. baumannii*는 염색체성 AmpC β -lactamase를 생성하여 일부 β -lactam 항

*본 논문은 2001년도 아산생명과학연구소 연구비 지원(2001-229)에 의한 것임.

균제에 내성이며 다른 여러 항균제에도 내재성 혹은 획득 내성을 지니고 있기 때문에 치료 항균제 선택 범위가 매우 좁다[3, 4]. Imipenem은 세포외막의 porin을 잘 투과하고, penicillin-binding protein (PBP)과의 친화도와 β -lactamase에 대한 안정성이 높아서 항균제 다제내성 *A. baumannii*에 대해 가장 효과적인 항균제로 사용되어 왔다[5]. 서울아산병원에서는 1998년에 imipenem 내성 *A. baumannii* (imipenem-resistant *A. baumannii*, IRAB)가 처음 검출된 이래 그 비율이 계속 증가하여 2000년에는 5.6%, 2001년에는 8.7%에 달하였다. 국내의 한 2차 병원에서도 IRAB의 비율이 2000년 9%에서 2001년 22%로 현저히 증가하였다는 보고가 있으며[6], 전국적인 다기관 조사 연구에서도 1999년의 6.2%에서 2003년에는 13%로 증가하였음이 확인되었다[7, 8].

IRAB에 의한 감염은 기존의 항균제 중에는 효과적인 약제가 없는 경우가 대부분으로 최근에는 colistin과 같이 부작용으로 인해 사용하지 않던 약제로 치료하거나 두 가지 이상의 항균제를 병합하여 치료하려는 시도가 있다[2, 5]. 이에 본 연구에서는 IRAB에 대한 항균력이 있는 약제와 IRAB 균주를 대상으로 상승효과를 보이는 항균제 병합요법을 찾고, 실험실에서 일상적으로 사용할 수 있는 이중디스크확산법(double disk synergy) 검사로 시간-살균 검사(time-kill study)의 결과를 예측할 수 있는지를 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 대상

1999년 8월부터 2000년 11월까지 동일 환자에서 반복 분리된 균주를 제외한 55주의 IRAB를 -70°C 에 냉동보관하였다가 연구에 사용하였다. 균종 동정과 항균제 감수성 검사는 MicroScan Neg Combo type 21 (Dade Behring, West Sacramento, USA)로 시행하였다.

2. 항균제 감수성 시험

Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI)의 기준 [9]에 따라서 한천희석법으로 최소억제농도(minimum inhibitory concentration, MIC)를 측정하였다. Azithromycin, amikacin, gentamicin, tobramycin, piperacillin, piperacillin/tazobactam, cefotaxime, ciprofloxacin, levofloxacin, chloramphenicol, minocycline, trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT), colistin, rifampin은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였고, imipenem (MSD, Elkton, VA, USA), arbekacin (Meiji Seika Co., Tokyo, Japan), cefepime (Bristol Myers Squibb Co., New York, NY, USA), cefoperazone/sulbactam (C/S; Pfizer Inc., New York, NY, USA), meropenem (AstraZeneca, Cheshire, UK) 등의 항균제는 제조사로부터 기증받아

사용하였다. CLSI 기준[10]이 없는 C/S는 cefoperazone의 감수성 기준을 따랐다. Azithromycin, arbekacin, rifampin, sulbactam 등은 감수성 기준이 없어 감수성 여부를 결정하지 않았다.

3. 이중디스크확산법 검사

이전 연구에서 *A. baumannii*에 상승작용을 보였던 항균제 조합들을 참조하여, C/S-imipenem, C/S-amikacin, C/S-minocycline, C/S-tobramycin, C/S-ciprofloxacin, minocycline-imipenem, minocycline-ciprofloxacin, minocycline-amikacin, minocycline-tobramycin, imipenem-tobramycin, imipenem-amikacin, imipenem-ciprofloxacin의 조합에 대해 이중디스크확산법을 실시하였다. 이중디스크확산법 검사 전 디스크확산법을 실시하여 억제대 직경을 측정하고, 디스크 주변 억제대가 서로 겹치지 않으면서 근접하도록 디스크를 배치하였다. 배지는 Mueller-Hinton 한천배지를 사용하였고, CLSI 디스크확산법 조건에 맞추어서 균액을 접종하였다[11]. 35°C 항온기에 하룻밤 배양 후 결과를 판독하였는데, 두 디스크 사이에서 상승효과에 의한 억제대의 확장 현상이 관찰되면 양성으로 판정하였다.

4. 시간-살균 검사

항균제 감수성 양상별로 균주를 하나씩 선택하여 이중디스크확산법 검사를 시행하고, 상승작용을 보이는 항균제 조합에 대해 시간-살균 검사를 시행하였다. 시간-살균 검사를 위한 항균제 농도는 시험 항균제에 대하여 감수성인 경우 MIC 농도를, 비감수성인 경우 중간내성 농도인 C/S 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$, amikacin 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$, tobramycin 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, imipenem 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 및 minocycline 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 를 선택하였다. Mueller-Hinton broth (MHB)에 조합하는 항균제와 각각의 항균제를 적절한 농도로 희석한 후, MHB에 탁도가 McFarland No. 0.5가 되도록 균을 부유하고 최종 균 농도가 10^6 CFU/mL가 되도록 균액을 첨가하였다. 시험관들을 35°C 에서 4, 8, 24시간 동안 각각 배양한 후 생균수를 측정하였다. 선택된 항균제 조합 중 균의 억제 효과가 가장 큰 항균제를 단독으로 사용했을 때보다 항균제 병합시 집락수가 $2\log_{10}$ CFU/mL 이상 감소하면 상승작용으로 판단하였다[12].

결 과

1. 검체

총 55주 중 22주(40.0%)가 호흡기검체에서 분리되었고, 창상 검체에서 8주(14.5%), 담즙에서 7주(12.7%), Jackson Pratt 배액관에서 6주(10.9%), 뇌척수액에서 3주(5.5%), 혈액, 소변, 복수에서 각 2주(3.6%), 기타 검체에서 3주(5.5%)가 분리되었다.

Table 1. MICs of 55 *A. baumannii* isolates against common antimicrobials

Antimicrobial (s)	%S	%I	MIC ₅₀ (μ g/mL)	MIC ₉₀ (μ g/mL)
Azithromycin	NA	NA	64	128
Piperacillin	10.9	9.1	256	256
Piperacillin/tazobactam	16.3	3.6	128	256
Cefotaxime	0	0	>128	>128
Cefoperazone/sulbactam	90.9	0	16	16
Aztreonam	0	1.8	>128	>128
Cefepime	9.1	3.6	128	128
Meropenem	0	3.6	16	32
Imipenem	0	18.1	64	32
Ciprofloxacin	18.1	0	>32	>32
Levofloxacin	18.1	1.8	16	16
Gentamicin	0	1.8	>64	>64
Tobramycin	7.2	0	64	>64
Amikacin	5.4	23.6	64	128
Arbekacin	NA	NA	8	16
Minocycline	80	0	2	2
Colistin	90.9	0	0.5	1
Rifampin	NA	NA	4	8
Sulbactam	NA	NA	16	32
Trimethoprim/ sulfamethoxazole	12.7	0	32	64
Chloramphenicol	0	0	>128	>128

Abbreviations: NA, not available due to the lack of interpretative criteria; %S, percentage of susceptible isolates; %I, percentage of intermediate resistant isolates; MIC₅₀ and MIC₉₀, MICs at which 50% and 90% of isolates are inhibited, respectively.

2. 항균제 감수성

A. baumannii 55주에 대한 항균제 감수성 검사에서 colistin에 50주(90.9%), C/S에 50주, minocycline에 44주(80.0%)가 감수성으로 높은 감수성 비율을 보였다. 그 외의 항균제에 대해서는 20% 미만이 감수성을 보였으며 cefotaxime, aztreonam, meropenem, gentamicin 및 chloramphenicol에 감수성인 균주는 없었다(Table 1). Arbekacin의 MIC₅₀은 8 μ g/mL, MIC₉₀은 16 μ g/mL로 aminoglycoside계 항균제 중 MIC 분포가 가장 낮았다.

3. 항균제 병합 효과

다양한 항균제 조합에 대한 상승작용 검사를 위해 colistin, C/S, minocycline에 감수성을 보이면서 amikacin에 감수성인 3주, tobramycin에 감수성인 4주, ciprofloxacin에 감수성인 10주 중에서 각 1주씩 3주를 선택하였다. 첫 번째 균주(IRAB1)는 imipenem MIC가 32 μ g/mL로 내성이었으며, amikacin, C/S, minocycline의 MIC는 각각 16 μ g/mL, 16 μ g/mL, 2 μ g/mL로 감수성이었다. 두 번째 균주(IRAB2)는 C/S, minocycline, tobramycin MIC가 각각 8 μ g/mL, 0.12 μ g/mL, 1 μ g/mL로 감수성이었으며, imipenem, amikacin MIC가 각각 32 μ g/mL, 64 μ g/mL로 내성인 균주였다. 세 번째 균주(IRAB3)는 C/S, minocycline, ciprofloxacin MIC가 각각 16 μ g/mL, 0.12 μ g/mL, 0.25 μ g/mL로 감수성이었으며, imipenem, amikacin MIC가 각각 64 μ g/

Table 2. Antimicrobial susceptibility and synergy results of the isolates tested by double disk synergy tests and time-kill studies

Strain No.	MICs (μ g/mL)						Antimicrobial combination tested by			
	IP	C/S	AK	TM	MC	CI	Double disk synergy tests		Time-kill studies	
							Synergistic	Non-synergistic	Synergistic	Non-synergistic
IRAB1	32	16	16	16	2	4	MC+IP C/S+AK IP+C/S	MC+AK MC+C/S	MC+IP MC+AK C/S+AK	MC+C/S IP+C/S
IRAB2	32	8	64	1	0.12	4	MC+IP MC+C/S MC+AK IP+AK IP+TM IP+C/S C/S+TM C/S+AK	MC+TM	MC+IP MC+TM MC+C/S MC+AK IP+TM C/S+TM C/S+AK	IP+AK IP+C/S
IRAB3	64	16	128	16	0.12	0.25	MC+AK IP+AK IP+C/S	MC+IP MC+CI MC+C/S IP+CI C/S+AK C/S+CI	None	MC+IP MC+C/S MC+CI IP+AK IP+C/S IP+CI CS+AK CS+CI

Abbreviations: IP, imipenem; C/S, cefoperazone/sulbactam; AK, amikacin; TM, tobramycin; MC, minocycline; CI, ciprofloxacin.

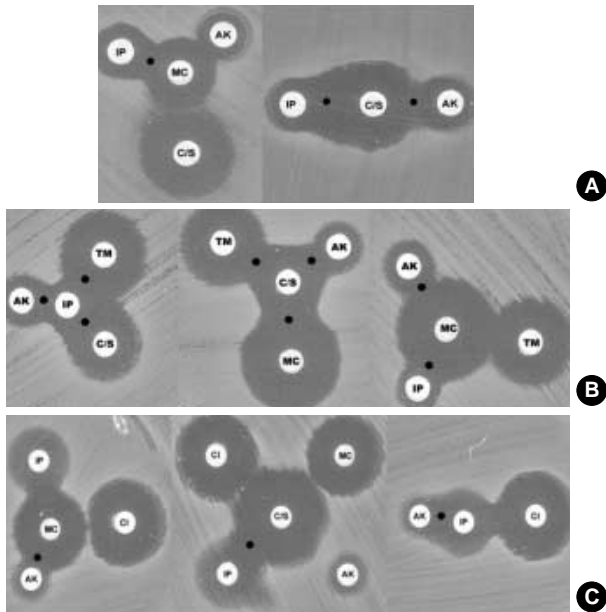


Fig. 1. Double disk synergy tests of three *A. baumannii* isolates. (A) The isolate 1 showed synergy at the combination of MC+IP, IP+C/S, and C/S+AK. (B) The isolate 2 showed synergy at the combination of MC+IP, MC+C/S, MC+AK, IP+AK, IP+TM, IP+C/S, C/S+TM, and C/S+AK. (C) The isolate3 showed synergy at the combination of MC+AK, IP+AK, and IP+C/S. The black dots denote synergy between the two drugs. Abbreviations: See Table 2.

mL, 128 µg/mL로 내성이었다(Table 2).

IRAB1은 이중디스크확산법 결과 minocycline-imipenem, C/S-amikacin, C/S-imipenem에 상승작용이 있었고, minocycline-amikacin, C/S-minocycline에는 상승작용이 없었다(Fig. 1A). 시간-살균 검사에서 minocycline-imipenem, minocycline-amikacin, C/S-amikacin은 24시간째 살균적인 상승작용이 관찰되었다(Fig. 2A). C/S-imipenem 조합은 C/S와 동일한 성장곡선을 보여서 상승작용이 없었다.

IRAB2는 이중디스크확산법 결과 minocycline-imipenem, minocycline-C/S, minocycline-amikacin, imipenem-amikacin, imipenem-tobramycin, imipenem-C/S, C/S-tobramycin, C/S-amikacin 조합에 상승작용이 있었으며, minocycline-tobramycin 사이에는 상승작용이 없었다(Fig. 1B). 시간-살균 검사에서 imipenem-tobramycin에 4, 8, 24시간 모두 상승작용이 관찰되었으며, minocycline-imipenem, minocycline-tobramycin, minocycline-C/S, C/S-tobramycin, C/S-amikacin은 24시간째 상승작용이 관찰되었다(Fig. 2B). C/S-imipenem과 imipenem-amikacin은 이중디스크확산법 결과와는 달리 상승작용이 없었다.

IRAB3은 이중디스크확산법 결과 minocycline-amikacin, imipenem-amikacin, imipenem-C/S 사이에 상승작용이 있었으며, C/S-amikacin, C/S-minocycline, C/S-ciprofloxacin, minocycline-colistin, imipenem-colistin, imipenem-minocycline 사이에

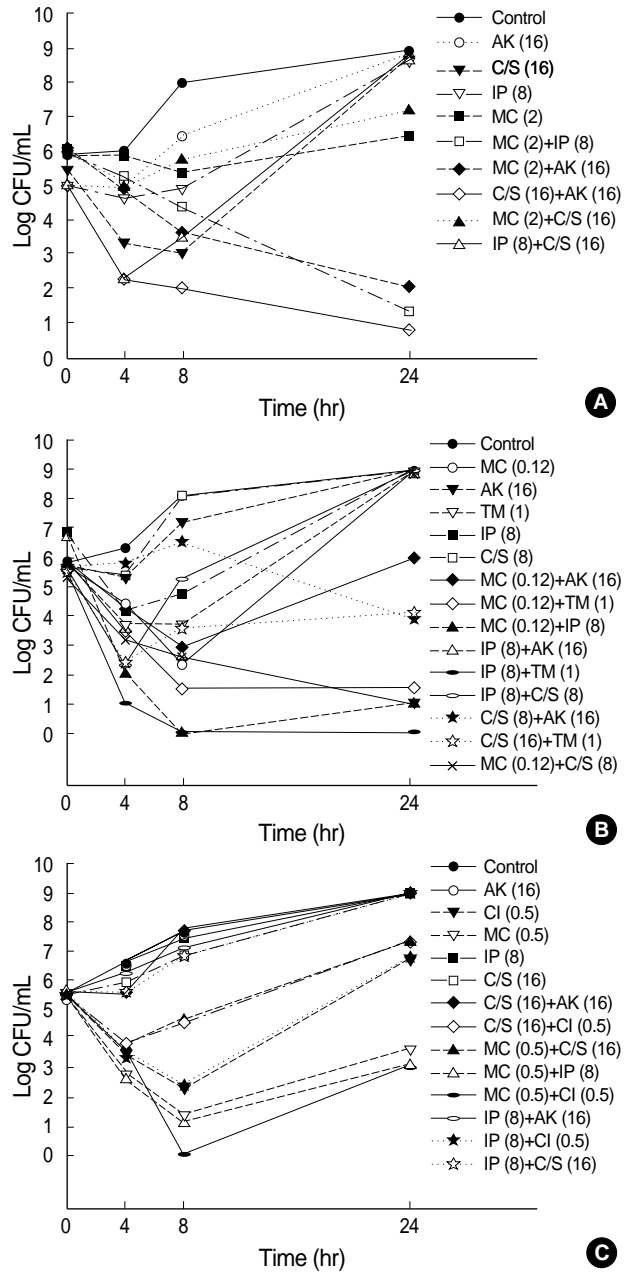


Fig. 2. Time-kill tests for three *A. baumannii* isolates. (A) IRAB1 showed synergistic killing at the combination of MC+IP, MC+AK, and C/S+AK. (B) IRAB2 showed synergistic killing at the combination of MC+IP, MC+TM, MC+C/S, MC+AK, IP+TM, C/S+TM, and C/S+AK. (C) IRAB3 showed no synergistic killing at any combination of antimicrobials. The number in parentheses denotes the concentration (µg/mL) of antimicrobials tested. Abbreviations: See Table 2.

는 상승작용이 없었다(Fig. 1C). 시간-살균 검사에서는 상승작용이 있는 조합이 없었다(Fig. 2C).

고찰

본 연구의 IRAB 55주는 colistin과 minocycline에 각각 90.9%와 80%의 감수성을 보여 대체 약제의 가능성을 보였다. Colistin은 1949년 소개되었던 polymyxin 계열의 항균제로 신장독성과 신경독성으로 인해 정주용으로는 사용되지 않았으나 최근 다제내성 *A. baumannii*와 *Pseudomonas aeruginosa*의 치료에 사용되고 있다[5, 13-15]. 다제내성 또는 colistin에만 감수성인 *P. aeruginosa*와 *A. baumannii* 감염을 치료하기 위해 colistimethate sodium을 정주한 결과 패혈증의 경우 60-100% (평균 69.7%, 23/33), 폐렴의 경우 25-76% (평균 59.8%, 79/132), 복부 감염의 경우 50-83% (평균 75%, 12/16)에서 치료에 성공하였음이 보고된 바 있다[16-20]. 본 연구에서는 5균주의 colistin 내성 *A. baumannii*가 관찰되었으며, 모두 colistin 치료를 받은 적이 없는 환자에서 분리되었다. 최근예야 산발적으로 colistin 내성 *A. baumannii*가 보고[21, 22]되었으며, *rpoB* 유전자 염기서열로 구분한 *A. baumannii* subgroup에 따라 colistin 내성률에 차이가 있어[23], colistin 사용 전에 감수성 검사가 필요할 것으로 판단되었다. Imipenem과 sulbactam에 내성인 다제내성 *A. baumannii*에 감염된 7명의 인공호흡기관련폐렴 환자에서 minocycline이나 doxycycline으로 치료시 6명이 치료되었다는 보고가 있어[24], minocycline도 감수성 검사 결과에 따라 IRAB 인공호흡기관련폐렴에서 단독으로 사용이 가능할 것이다.

CLSI에서는 C/S에 대한 *A. baumannii*의 판독 기준을 제시하지 않았다. 본 연구에서 cefoperazone의 항균제 감수성 기준을 적용했을 때 90.9%의 IRAB가 C/S에 감수성이었다. Sulbactam은 다제내성 *A. baumannii*에 대해 시험관내 살균작용이 있으며[25], 호중성 백혈구감소 쥐의 전신감염 모델과 폐렴 모델에서 생체내 항균 작용이 있음[26, 27]이 알려졌다. 또한 cefoperazone과 ampicillin 등과 같은 β -lactam 제제의 항균력을 증가시키므로, IRAB 중 ampicillin/sulbactam (A/S) 또는 C/S에 감수성인 경우 sulbactam 함유 제제의 사용을 고려할 수 있겠다[28]. IRAB에 의한 인공호흡기관련폐렴이나 하기도감염에서 A/S가 효과적이었다[25, 27]는 보고와 함께 패혈증 환자에서도 C/S가 imipenem/cilastin과 비교하여 치료 성적과 사망률에서 차이가 없었다는 보고가 있어 폐렴뿐만 아니라 패혈증에도 사용이 가능할 것으로 판단된다[28].

Minocycline-imipenem, minocycline-C/S, minocycline-amikacin, imipenem-tobramycin, C/S-amikacin, C/S-tobramycin 항균제 조합에서 감수성인 항균제들의 조합인 경우 이중디스크확산법에서 상승작용을 보이면 시간-살균 검사에서도 상승작용을 관찰할 수 있었다. 내성인 항균제가 포함된 조합을 사용할 때는 살균적인 상승작용을 관찰할 수 없었다. 이런 결과는 sulbactam을 이용한 연구에서 sulbactam에 감수성인 *A. baumannii* 균주는 $4 \times \text{MIC}$ 에서 살균작용을 보인 반면, 중간내성인 균주는 살균작용이 없었다는 보고와 유사한 결과이다[29]. 본 연구에서 IRAB1

과 IRAB2는 C/S-amikacin, minocycline-imipenem, minocycline-amikacin에 살균적인 상승작용을 보였고, IRAB3는 이중디스크확산법에서 상승작용을 보이는 항균제 조합이 있었지만 시간-살균 검사에서 상승작용을 나타내는 조합은 없었다. 이는 IRAB3는 imipenem과 amikacin의 MIC가 $128 \mu\text{g/mL}$ 로 고도내성이었기 때문으로 판단된다.

병합요법은 내성균의 발생을 감소시키고 항균제의 독성을 감소시키며 항균력의 상승효과를 목적으로 이용한다[30]. 내성인 항균제도 MIC까지 항균제 농도를 높이면 상승작용이 나타날 수 있을 것이다. 하지만 항균제를 안전한 범위 내에서 사용해서 효과가 있어야 진정한 의미에서 상승작용이 있다고 할 수 있기 때문에 본 연구에서는 내성인 항균제의 경우 시간-살균 검사에서 중간내성에 해당하는 농도를 사용하였다. 이 등[31]은 imipenem 내성 또는 중간내성인 29균주의 *A. baumannii* 균주를 대상으로 checkerboard법으로 항균제 상승작용을 검사한 결과 A/S와 tobramycin, A/S와 meropenem, colistin과 rifampin에 각 1균주 및 colistin과 ceftazidime에 대해 2균주에서만 부가 효과를 보였다고 하였다. 이 연구에 사용한 균주들이 이들 항균제에 내성이었기 때문에 해석하였는데, 내성인 항균제를 조합하는 것은 효과가 떨어짐을 알 수 있다.

본 연구에서 서로 다른 감수성 양상을 보이는 세 균주의 항균제 병합효과 검사에서 균마다 항균제 병합의 조합이나 결과가 달라서 균주별로 검사가 필요한 것을 알 수 있었다. 특히 C/S-imipenem 조합은 비록 디스크확산법에서 상승작용을 보인다고 해도 시간-살균 검사에서 24시간에는 재성장을 보여 IRAB 치료에 적합하지 않을 것으로 판단된다. 시간-살균 검사로 sulbactam과 imipenem을 병합하였을 때 IRAB 두 균주를 포함한 4균주 모두에서 상승효과가 있었다는 보고[32]와 checkerboard법으로 meropenem과 sulbactam을 병합하였을 때 48균주 중 37균주에서 상승효과 또는 부분적인 상승효과가 있었다는 보고[33]들을 고려할 때 C/S-imipenem 조합이 이중디스크확산법에서 상승작용을 보인 것은 sulbactam과 imipenem 사이의 상승작용으로 판단된다. 그러나 imipenem과 cefoperazone은 둘 다 β -lactam 제제로서 C/S-imipenem을 병합하는 것은 C/S 단독요법에 비해 상승작용을 보일 수 없을 것으로 판단된다. 이처럼 IRAB에 의한 감염이 문제가 되는 병원에서는 환자들의 항균제 치료를 결정하는데 현재로서는 기존 항균제들의 상승작용을 기대하는 수밖에 없기 때문에 실시간 상승작용 검사가 필요하다. 시간-살균 검사는 생체 내 조건을 더 잘 반영한다고 해도 임상검사실에서 통상적으로 실시하기에는 시간과 인적 소모가 크다. 이중디스크확산법 결과는 시간-살균 검사의 결과를 예측하는데 도움이 되기 때문에 임상검사실에서 실시간 상승작용검사를 할 때 이용할 수 있을 것으로 판단되었다.

결론적으로 colistin, C/S, minocycline은 대부분의 IRAB에 대해 감수성을 유지하고 있어 대체약제의 가능성이 있었다. IRAB에 의한 심각한 감염이 발생했을 때 여러 대체 약제에 대해 광범위한 디스크확산법을 통해 감수성이 있는 항균제를 검색하고, 이들 항

균제를 포함하여 이중디스크확산법으로 상승작용을 보이는 조합을 찾아서 항균제 병합요법에 사용하는 것이 도움을 줄 수 있겠다.

요 약

목적 : Imipenem 내성 *Acinetobacter baumannii* (IRAB)는 다른 항균제에도 내성을 지닌 경우가 많아서 기존의 항균제 중에는 효과적인 약제를 찾을 수 없는 경우가 대부분이다. 본 연구에서는 시간-살균 검사를 이용하여 IRAB에 유용한 항균제 병합을 찾고 이중디스크확산법 검사로 시간-살균 검사의 결과를 예측할 수 있는지를 알아보고자 하였다.

재료 및 방법 : 1999년 8월부터 2000년 11월까지 본원에서 55명의 환자에서 분리된 IRAB 균주를 대상으로 하였다. Amikacin, gentamicin, tobramycin, piperacillin, piperacillin/tazobactam, cefotaxime, cefepime, cefoperazone/sulbactam (C/S), imipenem, meropenem, ciprofloxacin, levofloxacin, trimethoprim/famethoxazole, chloramphenicol, minocycline, colistin 등에 대해 한천희석법에 의한 최소억제농도검사를 실시하였다. 항균제 감수성 양상별로 3균주를 선별하여 이중디스크확산법에서 상승작용을 보이는 항균제 조합으로 시간-살균 검사를 시행하였다.

결과 : Colistin에 50균주(90.9%), C/S에 50균주, minocycline에 44균주(80.0%)가 감수성이었다. 다른 항균제에 대해서는 20% 미만의 감수성을 보였다. 감수성이 있는 항균제를 조합하여 Minocycline-imipenem, minocycline-C/S, minocycline-amikacin, imipenem-tobramycin, C/S-amikacin, C/S-tobramycin 등의 이중디스크확산법에서 상승작용을 보이면, 시간-살균 검사에서도 상승작용을 관찰할 수 있었다. C/S-imipenem 조합은 이중디스크확산법에서는 상승작용을 보였지만 시간-살균 검사에서는 상승작용을 관찰할 수 없었다.

결론 : Colistin, C/S, minocycline은 대부분의 IRAB에 대해 감수성을 유지하고 있어 대체약제의 가능성이 있었다. 감수성인 항균제의 조합으로 이중디스크확산법 검사를 하는 것으로 시간-살균 검사의 결과를 예측할 수 있었다.

참고문헌

1. Afzal-Shah M and Livermore DM. Worldwide emergence of carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. J Antimicrob Chemother 1998; 41:576-7.
2. Appleman MD, Belzberg H, Citron DM, Heseltine PN, Yellin AE, Murray J, et al. In vitro activities of nontraditional antimicrobials against multiresistant *Acinetobacter baumannii* strains isolated in an intensive care unit outbreak. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44:1035-40.
3. Henwood CJ, Gatward T, Warner M, James D, Stockdale MW, Spence RP, et al. Antibiotic resistance among clinical isolates of *Acinetobacter* in the UK, and in vitro evaluation of tigecycline (GAR-936). J Antimicrob Chemother 2002;49:479-87.
4. Oh SJ, Lee SU, Hwang HY, Bae IK, Jo HS, Lee BH, et al. Prevalence of class A extended-spectrum β -lactamases in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. Korean J Lab Med 2006;26:14-20. (오세진, 이상욱, 황현용, 배일권, 조현수, 이병호 등. 임상검체에서 분리된 *Acinetobacter baumannii*와 *Pseudomonas aeruginosa*의 class A extended-spectrum β -lactamase 생성 현황. 대한진단검사의학회지 2006;26:14-20.)
5. Murray CK and Hospenthal DR. Treatment of multidrug resistant *Acinetobacter*. Curr Opin Infect Dis 2005;18:502-6.
6. Park AJ and Hong HR. Evaluation of methods for detection of antimicrobial resistance of *Acinetobacter baumannii* to imipenem. Korean J Lab Med 2003;23:388-94. (박애자 및 홍혜림. Imipenem내성을 보이는 *Acinetobacter baumannii*의 항균제 감수성검사의 신빙도 조사. 대한진단검사의학회지 2003;23:388-94.)
7. Lee K, Lee HS, Jang SJ, Park AJ, Lee MH, Song WK, et al. Antimicrobial resistance surveillance of bacteria in 1999 in Korea with a special reference to resistance of enterococci to vancomycin and gram-negative bacilli to third generation cephalosporin, imipenem, and fluoroquinolone. J Korean Med Sci 2001;16:262-70.
8. Hong SG, Yong DE, Lee KW, Kim EJ, Lee WK, Jeung SH, et al. Antimicrobial resistance of clinically important bacteria isolated from hospitals located in representative provinces of Korea. Korean J Clin Microbiol 2003;6:29-36. (홍성근, 용동은, 이경원, 김의중, 이위교, 정석훈 등. 국내 여러 지역 병원의 임상검체에서 분리된 주요 세균의 항균제 내성율. 대한임상미생물학회지 2003;6:29-36.)
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard-sixth edition, M7-A6. Wayne, Pa: National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2003.
10. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; thirteen informational supplement, M100-S13 (M7). Wayne, Pa: National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2003.
11. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard-eighth edition, M2-A8. Wayne, Pa: National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2003.
12. Bonapace CR, White RL, Friedrich LV, Bosso JA. Evaluation of antibiotic synergy against *Acinetobacter baumannii*: a comparison with Etest, time-kill, and checkerboard methods. Diagn Microbiol Infect Dis 2000;38:43-50.
13. Falagas ME and Kasiakou SK. Colistin: the revival of polymyxins

- for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. *Clin Infect Dis* 2005;40:1333-41.
14. Falagas ME, Kasiakou SK, Tsiodras S, Michalopoulos A. The use of intravenous and aerosolized polymyxins for the treatment of infections in critically ill patients: a review of the recent literature. *Clin Med Res* 2006;4:138-46.
 15. Linden PK, Kusne S, Coley K, Fontes P, Kramer DJ, Paterson D. Use of parenteral colistin for the treatment of serious infection due to antimicrobial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis* 2003; 37:154-60.
 16. Markou N, Apostolakis H, Koumoudiou C, Athanasiou M, Koutsoukou A, Alamanos I, et al. Intravenous colistin in the treatment of sepsis from multiresistant Gram-negative bacilli in critically ill patients. *Crit Care* 2003;7:R78-83.
 17. Levin AS, Barone AA, Penco J, Santos MV, Marinho IS, Arruda EA, et al. Intravenous colistin as therapy for nosocomial infections caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *Clin Infect Dis* 1999;28:1008-11.
 18. Garnacho-Montero J, Ortiz-Leyba C, Jimenez-Jimenez FJ, Barrero-Almodovar AE, Garcia-Garmendia JL, Bernabeu-Wittell M, et al. Treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia (VAP) with intravenous colistin: a comparison with imipenem-susceptible VAP. *Clin Infect Dis* 2003;36:1111-8.
 19. Kasiakou SK, Michalopoulos A, Soteriades ES, Samonis G, Sermadides GJ, Falagas ME. Combination therapy with intravenous colistin for management of infections due to multidrug-resistant Gram-negative bacteria in patients without cystic fibrosis. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:3136-46.
 20. Michalopoulos AS, Tsiodras S, Rellos K, Mentzelopoulos S, Falagas ME. Colistin treatment in patients with ICU-acquired infections caused by multiresistant Gram-negative bacteria: the renaissance of an old antibiotic. *Clin Microbiol Infect* 2005;11:115-21.
 21. Reis AO, Luz DA, Tognim MC, Sader HS, Gales AC. Polymyxin-resistant *Acinetobacter* spp. isolates: what is next? *Emerg Infect Dis* 2003;9:1025-7.
 22. Saugar JM, Rodriguez-Hernandez MJ, de la Torre BG, Pachon-Ibanez ME, Fernandez-Reyes M, Andreu D, et al. Activity of cecropin A-melittin hybrid peptides against colistin-resistant clinical strains of *Acinetobacter baumannii*: molecular basis for the differential mechanisms of action. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:1251-6.
 23. Suh JY, Ko KS, Jung SI, Park KH, Kwon KT, Park CH, et al. Comparison of antimicrobial resistance among subgroups of *Acinetobacter baumannii*. *Infect Chemother* 2006;38:323.
 24. Wood GC, Hanes SD, Boucher BA, Croce MA, Fabian TC. Tetracyclines for treating multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Med* 2003;29:2072-6.
 25. Urban C, Go E, Mariano N, Berger BJ, Avraham I, Rubin D, et al. Effect of sulbactam on infections caused by imipenem-resistant *Acinetobacter calcoaceticus* biotype *anitratus*. *J Infect Dis* 1993;167:448-51.
 26. Obana Y and Nishino T. In-vitro and in-vivo activities of sulbactam and YTR830H against *Acinetobacter calcoaceticus*. *J Antimicrob Chemother* 1990;26:677-82.
 27. Wolff M, Joly-Guillou ML, Farinotti R, Carbon C. In vivo efficacies of combinations of beta-lactams, beta-lactamase inhibitors, and rifampin against *Acinetobacter baumannii* in a mouse pneumonia model. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:1406-11.
 28. Choi JY, Kim CO, Park YS, Yoon HJ, Shin SY, Kim YK, et al. Comparison of efficacy of cefoperazone/sulbactam and imipenem/cilastatin for treatment of *Acinetobacter* bacteremia. *Yonsei Med J* 2006; 47:63-9.
 29. Jimenez-Mejias ME, Pachon J, Becerril B, Palomino-Nicas J, Rodriguez-Cobacho A, Revuelta M. Treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* meningitis with ampicillin/sulbactam. *Clin Infect Dis* 1997;24:932-5.
 30. Pillai SK, Moellering RC, et al. eds. Antimicrobial combinations. In: Lorian V, ed. *Antibiotics in laboratory medicine*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2005;365-440.
 31. Lee MA and Moon HW. In vitro activity of antimicrobial combination against multidrug-resistant strains of *Acinetobacter baumannii*. *Korean J Lab Med* 2005;25:312-6. (이미에 및 문희원. 다제내성 *Acinetobacter baumannii* 균주의 항균제 병합 효과. 대한진단검사의학회지 2005; 25:312-6.)
 32. Choi JY, Park YS, Cho CH, Park YS, Shin SY, Song YG, et al. Synergic in-vitro activity of imipenem and sulbactam against *Acinetobacter baumannii*. *Clin Microbiol Infect* 2004;10:1098-101.
 33. Kiffer CR, Sampaio JL, Sinto S, Oplustil CP, Koga PC, Arruda AC, et al. In vitro synergy test of meropenem and sulbactam against clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005;52:317-22.