

Aminoglycosides 고도내성인 enterococci에 대한 항균제 병합요법의 in-vitro 효과

울산대학교 의과대학 서울중앙병원 임상병리과학 교실
김 미 나 · 배 직 현

= Abstract =

In-Vitro Effects of Antimicrobial Combination Against Enterococci with High-Level Resistance to Aminoglycosides

Mee-Na Kim, Chik-Hyun Pai

Department of Clinical Pathology, University of Ulsan College of Medicine, Asan Medical Center

For serious enterococcal infections, synergistic combination of penicillin and aminoglycosides is recommended for bactericidal therapy. However, an optimal synergistic combination for infection caused by enterococcal strains demonstrating a high-level resistance to aminoglycosides has not been established. The present study examined the in-vitro effects of combinations of penicillin plus trimethoprim/sulfamethoxazole(Sxt), ciprofloxacin, teicoplanin, vancomycin, and fosfomycin and compared with single drug therapy of ampicillin of low(5 µg/mL) and high doses(10, 20 µg/mL) in strains of *Enterococcus* with high-level resistance to gentamicin, amikacin, and streptomycin by time kill studies. The minimal bactericidal concentrations of these antibiotics were also determined. Sxt and ampicillin were most active single agents on both MIC/MBC test and time kill study, but not consistently bactericidal. Only penicillin-ciprofloxacin combination exhibited significant bactericidal synergy but the bactericidal effect was strain and inoculum-size dependent and not more significantly effective than high-dose ampicillin or Sxt only.

Key Words: *Enterococcus*, High-level resistance to aminoglycoside, Antimicrobial combination, Synergy.

I. 서 론

대부분의 *Enterococcus*는 내재적으로 다양한 항균제, β-lactam, clindamycin, 대부분의 cephalosporin, aminoglycosides등에 내성을 가지고 있어, 패혈증이

나 심내막염 등 심한 감염성 질환을 일으킨 경우 살균적인 효과를 얻기 위해서는 penicillin, ampicillin, vancomycin 등의 세균벽 합성을 저지하는 항균제와 aminoglycosides의 병합요법이 1950년대 이후 가장 효과적인 치료법으로 사용되고 있다.²⁻³ 하지만 1970년 streptomycin에 대해 MIC가 2,000 µg/mL이

상인 고도내성균주에 대해 penicillin과의 병합요법 실패가 보고된 후⁵, *Enterococcus*가 aminoglycosides를 불활성화하는 다양한 효소를 생산하는 plasmid에 의해 고도내성을 획득하는 것이 규명되었고,⁶⁻⁷ 최근 10여년간 세계적으로 aminoglycoside 고도내성균주에 의한 *Enterococcus*의 감염증의 빈도가 크게 증가하여 penicillin-aminoglycoside 병합요법을 사용하는데 제약을 받게 되었다.^{8,9} 국내에서도 1992년 저자들의 연구에 의하면 임상 검체에서 분리되는 enterococci중 한 가지 이상의 aminoiglycoside에 고도내성인 enterococci가 65.3%에 달하고 모든 aminoglycosides에 내성인 균이 35%였고,¹⁰ 연세대학교의 대 부속병원에서도 비슷한 시기에 임상검체에서 분리된 *E. faecalis* 중 20%, *E. faecium* 중 59%가 gentamicin에 고도내성균이었다고 보고하여¹¹ 적어도 국내의 3차병원급에서 혈액이나 무균적인 체액에서 enterococci가 분리되는 경우는 치료 항균제를 선택하는 것이 문제가 될 것으로 사료된다. 특히 모든 aminoglycosides에 고도내성인 경우는 고도내성을 선별한다고 해도 효과적인 항균제가 알려져 있지 않기 때문에 더욱 큰 문제가 된다. Penicillin-aminoglycoside 병합요법에 내성인 경우 세포빅 합성 저해제 즉, ampicillin, vancomycin, teicoplanin, daptomycin, fosfomycin, imipenem 등의 단독요법 또는 병합요법이 in-vitro에서도 비교적 효과가 있고, 심내막염환자 또는 동물 모델을 성공적으로 치료했다는 보고가 있어 주로 이들에 의한 대체 항균요법이 시도되고 있다.¹²⁻¹⁷ 그 외에도 Sxt의 병합요법이나, ciprofloxacin, rifampin의 유용성을 보고한 논문이 있었지만, 이상의 모든 항균제들이 penicillin-aminoglycoside의 병합요법에서 상승작용을 나타내는 경우보다는 효과가 떨어지고, 일관성있는 결과를 나타내지 못하여 아직 정립된 항균제 치료법이 없는 실정이다.¹⁸⁻²⁰

이에 본 연구에서는 aminoglycoside 고도내성 균주에 대해 효과적인 항균제 병합을 찾자 penicillin과 ciprofloxacin, fosfomycin, Sxt, teicoplanin, vancomycin 등의 in-vitro 병합의 효과를 실험하고, 여러 농도의 ampicillin 단독사용시와 비교하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 균주: 저자들의 이전 연구¹⁰에서 aminoglycoside 고도내성 선별 및 penicillin-aminoglycoside 병합의 time-kill 검사를 실시했던 *Enterococcus* 균주 중 penicillin에는 중등도 감수성이 있고, 모든 aminoglycosides에 고도내성이 있는 *E. faecalis* 2 균주와 penicillin 및 모든 aminoglycosides 둘 다에 내성인 *E. faecium* 1균주를 선택하였다. 이들 균주는 임상 검체에서 분리되었고, -70°C 에 보관되어 있었다. Penicillin 및 모든 aminoglycosides의 병합요법에 상승작용을 보이는 *E. faecalis* ATCC19433 균주를 대조균으로 하였다.

2. Aminoglycoside 및 penicillin에 대한 고도내성 검사: Gentamicin, kanamycin, streptomycin을 $2,000\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 함유한 cation supplemented Mueller-Hinton broth(CAMHB; calcium $20\ \mu\text{g}/\text{ml}$, magnesium $10\ \mu\text{g}/\text{ml}$)를 자가제조하여 선별하였고, 한천희석법과 broth microdilution법으로 최소억제농도를 구하였다. Penicillin에 대한 감수성은 디스크 확산법으로 선별하고, broth microdilution법으로 최소억제농도를 구하였다. β -lactamase 생산여부는 rapid iodometric법으로 시행하였다.²¹

3. 항균제 감수성 검사: Penicillin, Sxt, ciprofloxacin, vancomycin, teicoplanin, fosfomycin, ampicillin에 대해 NCCLS에서 권장하는 대로 디스크 확산법을 시행하였다. 각각의 항균제에 대해 CAMHB로 broth microdilution법을 시행하여 최소정균농도(minimal inhibitory concentration; MIC)와 최소살균농도(minimal bactericidal concentration; MBC)를 측정하였다.^{21, 22}

4. Time-kill 검사: 항균제의 살균작용 및 상승작용을 검토하기 위해 time-kill 검사를 하였다. CAMHB에 각각의 항균제를 혈청도달농도가 되도록 하고 단독으로 또는 penicillin과 병합하여 넣고, enterococci를 $10^6\text{CFU}/\text{ml}$ 또는 $10^7\text{CFU}/\text{ml}$ 이 되도록 접종하여 35°C 에서 항온하면서, 0, 4, 24시간에 생존한 균 수를 측정하였다. 상승작용이 있는지 여부는 단독 사용시 가장 효과적인 항균제보다 병합시 24시간 후 생존균수가 2log이상 감소되는 것으로 정의하였다.²¹ Ampicillin은 5, 10, $20\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서 time-kill 검사를 시행하였다.

5. 통계적 유의성 검정을 위해 paired-T test를 시행하였다.

III. 결 과

Gentamicin, kanamycin, streptomycin의 고도내성 선별 결과 및 다른 항균제의 디스크 확산법에 의한 감수성 결과에 의하면 *E. faecalis* ATCC19433는 모든 aminoglycosides에 고도내성이 없었고, *E. faecalis* AMC53, AMC57과 *E. faecium* AMC40은 모든 aminoglycosides에 고도내성을 보였다. *E. faecalis* 3 균주는 penicillin, ampicillin, ciprofloxacin에 감수성이 있었고, *E. faecium* AMC40은 penicillin, ampicillin에 고도내성을, ciprofloxacin에 내성을 나타냈다. Sxt, teicoplanin, vancomycin에 내성인 균주는 없었다(Table 1).

Table 1. Antibiogram of 4 enterococcal strains used in the study

Strains	Antibiogram		
	Pen,Amp,Cip	AG	Sxt,Tei,Van
<i>E. faecalis</i>			
ATCC19433	S	LLR ^a	S
AMC53	S	HLR ^b	S
AMC57	S	HLR	S
<i>E. faecium</i>			
AMC40	R ^c	HLR	S

Abbreviation:Pen, penicillin;Amp, ampicillin;AG, aminoglycosides(gentamicin, kanamycin, streptomycin);Sxt, trimethoprim-sulfamethoxazole;Tei, teicoplanin;Van, vancomycin;Cip, ciprofloxacin;MS, moderately susceptible;R, resistant;LLR, low-level resistance;and HLR, high-level resistance.

a:Low-level resistance:susceptible to synergy of Pen-AG combination

b:High-level resistance:resistant to synergy of Pen-AG combination

MIC 및 MBC 검사 결과 *E. faecalis* AMC53에 대해서는 penicillin, ampicillin, Sxt, teicoplanin, vancomycin, ciprofloxacin 모두 정균적인 효과를 보여 주었으며, 모든 균주가 fosfomycin에는 내성이었다. Sxt, teicoplanin, ciprofloxacin는 균주에 따라 살균적

으로 작용할 수 있음을 보여 주었으나, 일관되게 단독으로 살균적인 항균제는 없었다(Table 2).

Table 2. Susceptibilities of antimicrobial agents against 3 enterococcal strains

Strain	Test	MIC or MBC(μg/ml)						
		Pen	Amp	Sxt*	Cip	Van	Tei	
<i>E. faecalis</i> ATCC19433	MIC	2	0.5	0.004	0.5	0.125	≤0.03	32
	MBC	256	256	0.5	1	64	2	2048
<i>E. faecalis</i> AMC53	MIC	4	1	0.004	0.5	0.25	0.06	64
	MBC	256	512	>32	4	64	4	2048
<i>E. faecalis</i> AMC40	MIC	256	64	0.125	4	0.5	0.25	128
	MBC	2048	4096	>32	8	128	16	4096

* Concentration of trimethoprim(trimethoprim:sulfamethoxazole=1:19)

Abbreviations:Fos, fosfomycin. For other abbreviations, see table 1.

E. faecium AMC40에서는 디스크 확산법에서 중등도 감수성을 보인 vancomycin, teicoplanin과 Sxt이 정균적인 수준이었다. Time-kill 검사 결과를 보면 *E. faecalis* AMC 53 균주는 penicillin, Sxt, teicoplanin, vancomycin을 단독으로 사용시 정균작용을 나타냈으며, ampicillin과 Sxt가 유의한 살균 작용이 있었고, fosfomycin은 정균작용도 없었다. Penicillin과 fosfomycin, Sxt, teicoplanin, vancomycin을 병합했을 때 penicillin과 fosfomycin의 병합만이 각자 단독일 때보다 우수한 정균작용을 나타내었으나 상승작용을 나타낸다고 판단될 만큼 유의하지는 않았다(p=0.39). 또한 penicillin과 teicoplanin, vancomycin의 병합은 penicillin을 단독 사용했을 때에 비해 전혀 효과가 좋아지지 않았으며, penicillin과 Sxt의 병합은 단독 사용시에 비해 정균작용이 전혀 증가되지 않았다(Fig. 1). *E. faecalis* ATCC19433와 AMC53에서는 유일하게 penicillin과 ciprofloxacin의 병합요법이 살균적인 상승작용을 보였으나, 접종량을 10⁷CFU/ml로 했을 때는 상승효과를 보이지 않았다(Fig. 2). 또한 균주에 따른 변화를 보기 위해 *E. faecalis* AMC57에 대한 penicillin과 ciprofloxacin의 병합요법을 시행한 결과 접종량에 상관없이 모두 상승효과를 나타내지 않았다(Fig. 3). *E. faecalis* ATCC19433의 경우 penicillin과 ciprofloxacin의 병합요법에 의한 상승작용은 penicillin과 aminoglycosides

의 병합요법에 의한 효과보다는 유의하게 효과가 작았다($p=0.04$)(Fig. 4). *E. faecium* AMC40에는 Sxt가 가장 효과적인 살균작용을 보였고, teicoplanin과 vancomycin이 정균작용을 나타내었지만 penicillin과 병합했을 때 유의한 상승작용은 없었으며, penicillin과 ampicillin이 전혀 정균작용을 나타내지 않았다(Fig. 5). Ampicillin은 농도를 5, 10, 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 했을 때 *E. faecalis* AMC53에 대한 정균작용이 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 일 때보다는 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이나 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 일 때 더 증가했고, 10, 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 일 때 살균적으로 작용했다(Fig. 6).

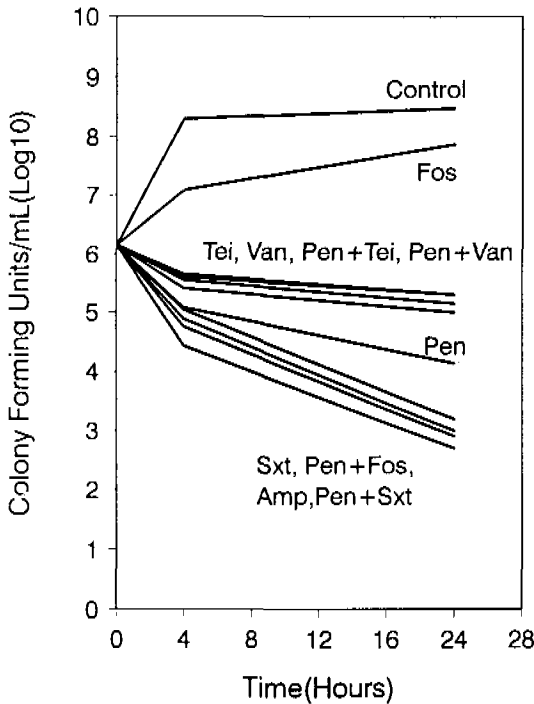


Fig. 1. Effects of various antibiotics alone and in combination on *Enterococcus faecalis* AMC53. The concentration of antibiotics used were: Control, no antibiotics; Pen, penicillin 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$; Amp, ampicillin 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$; Fos, fosfomycin 32 $\mu\text{g}/\text{ml}$; Cip, ciprofloxacin 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$; Tei, teicoplanin 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$; Van, vancomycin 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$; and Sxt, trimethoprim/sulfamethoxazole 1/19 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

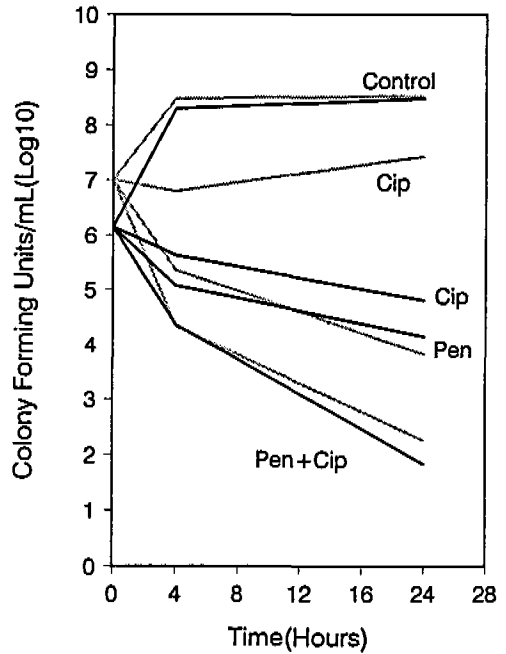


Fig. 2. Effects of inoculum size on the bactericidal activity of penicillin-ciprofloxacin combination against *Enterococcus faecalis* AMC53. Concentration of antibiotics used were: Pen, penicillin 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and Cip, ciprofloxacin 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Inoculum sizes of 1.4×10^6 CFU/ml (solid line) and 1.0×10^7 CFU/ml (shaded line) were used.

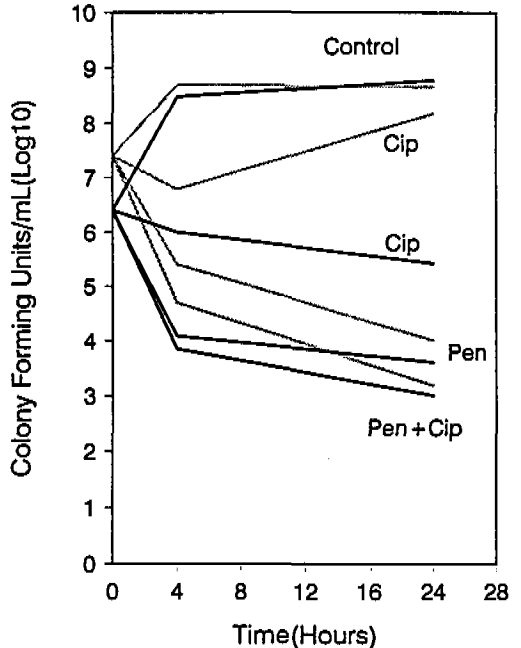


Fig. 3. Effects of penicillin and ciprofloxacin combination on *Enterococcus faecalis* AMC57. Concentration of antibiotics used were: Pen, penicillin 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and Cip, ciprofloxacin 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Inoculum sizes of $1.4 \times 10^7 \text{CFU}/\text{mL}$ (solid line) and $1.0 \times 10^7 \text{CFU}/\text{mL}$ (shaded line) were used.

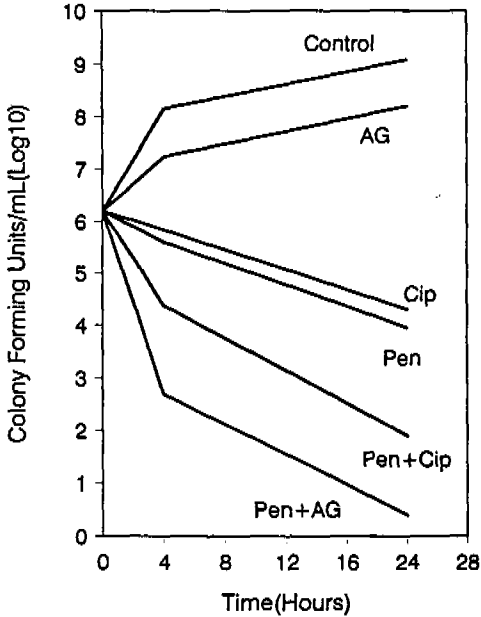


Fig. 4. Comparison of penicillin-ciprofloxacin and penicillin-gentamicin combination on *E. faecalis* ATCC19433. Concentration of antibiotics used were: Pen, penicillin 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and Cip, ciprofloxacin 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

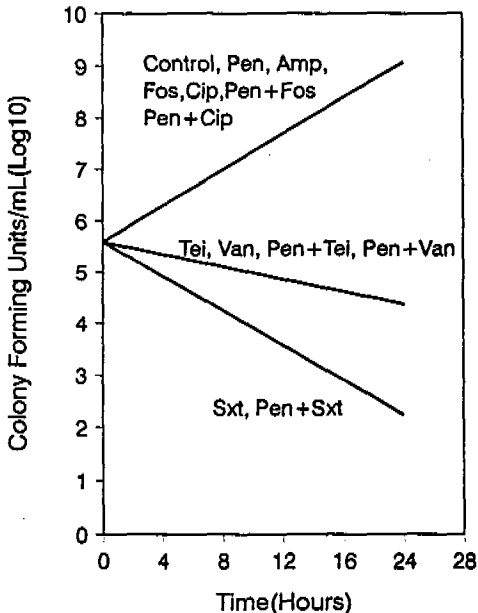


Fig. 5. Effects of various antibiotics alone and in combination against *Enterococcus faecium* strain40. The concentrations of antibiotics used were: Control, no antibiotics; Pen, penicillin 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$; Amp, ampicillin 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$; Fos, fosfomycin 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$; Cip, ciprofloxacin 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$; Tei, teicoplanin 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$; Van, vancomycin 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$; and Sxt, trimethoprim/sulfamethoxazole 1/19 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

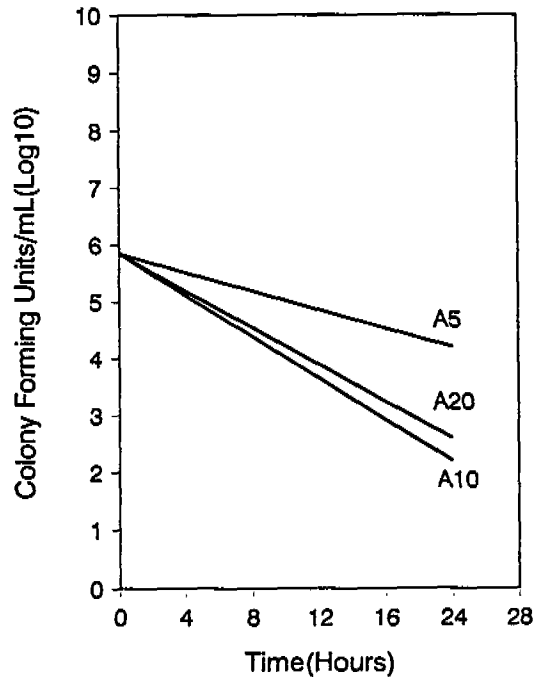


Fig. 6. Effects of increasing concentrations of ampicillin of 5, 10, 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ on *Enterococcus faecalis* A MC53. Concentration of ampicillin used were: 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (A5), 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (A10), and 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (A20)

IV. 고 찰

최근 빈도가 증가하고 있는 모든 aminoglycosides에 고도내성인 *Enterococcus*에 의한 감염증, 특히 심내막염의 경우는 항균제 치료에 있어 큰 난관이 되고 있다. 이 경우 aminoglycosides를 세포벽 합성 저해제에 병합하여 치료에 사용한다고 해도 전혀 도움이 되지 못하고, 오히려 부작용만이 증가한다.⁶ 근래에는 이들에 대해 과거부터 사용되었던 세포벽 합성 저해제의 단독요법의 유용성에 대해 다시 연구하게 되었다.

본 연구에서는 *E. faecalis* AMC53에 대해 ampicillin은 penicillin에 비해 MIC, MBC가 더 낮았고, time-kill 곡선에서 ampicillin이 다른 정균적인 약제에 비해 더 효과적인 살균작용을 나타내었다. 기존의 여러 발표에서 ampicillin은 penicillin에 비해 MIC나 MBC에 비추어 볼 때 *Enterococcus*에 좀 더 살균적으로 작용한다는 결과와 함께^{12,13} 실제 *Enterococcus* 심내막염 환자에서 성공적인 치료 경험을 발표한 보고로 볼 때 놀라운 일은 아니라고 사료된다.¹³ Thauvin 등²³에 의하면 ampicillin의 지속적인 정주가 *Enterococcus*에 의한 쥐의 심내막염 치료에 효과적이었다고 하였다. 하지만, 상기 쥐 모델에서는 ampicillin의 MIC와 MBC가 동일하게 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ 인 균주만을 사용하였으므로, 실제로 본 연구에서의 *E. faecalis* 균주와 같이 ampicillin에 관용적인 균주에 대한 효과에는 의문이 있고, 실제 심내막염 환자의 치료에서 고농도 ampicillin 치료를 하여 실패한 보고도 있어²⁴ ampicillin 단독요법의 효과를 일반화하기는 힘들다고 사료된다. *E. faecalis* AMC53에 대해 ampicillin을 보통 환자에 사용하는 $5\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도와 고농도인 10, $20\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 time-kill 곡선을 구하여 본 결과 $5\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에 비해 고농도인 10, $20\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 살균적인 효과를 나타내었다. 그러나 Thauvin²³ 등이 ampicillin을 고농도로 사용하는 것이 in-vitro time-kill 검사에서는 저농도에 비해 더 효과적인 데 비해 쥐의 심내막염 모델에서는 육아종내의 균농도의 감소에 유의한 차이를 보이지 않았다고 하였으므로 고농도의 ampicillin의 생체내 효과는 더 연구되어야 할 것이다.

Ampicillin 외의 세포벽 합성 저해제인 penicillin, vancomycin, teicoplanin, fosfomycin 등은 디스크 확산법이나, MIC, MBC 검사에서 중등도 감수성의 경우에는 time-kill 검사에서 비슷한 정균작용을 나타내었고, penicillin과 나머지 세포벽 합성 저해제를 병합하는 경우 상승작용을 나타내지는 않았다. 이전의 여러 연구들에서 새로운 세포벽 합성 저해제인 glycopeptide제의 vancomycin이나 teicoplanin은 penicillin이나 ampicillin에 비해 MIC, MBC가 낮다고 하였다.^{25,26} 하지만 vancomycin이나 teicoplanin을 단독으로 또는 aminoglycoside와 병합요법의 효과를 평가한 보고에서 penicillin에 내성인 경우에 유용하게 사

용할 수 있다고 하였지만, penicillin에 내성이 없는 균주에서는 penicillin 보다 효과적이지는 못하다고 하였다.²⁷ 본 연구에서도 penicillin과 ampicillin에 내성인 *E. faecium* 균주는 vancomycin, teicoplanin이 유일하게 정균적인 효과를 나타내었다. β -lactamase를 생산하면서 gentamicin에 고도내성인 *E. faecalis* 균주에 의한 쥐의 심내막염 모델에서 vancomycin과 teicoplanin의 단독요법을 사용한 결과 teicoplanin은 92%, vancomycin은 43%에서 미생물학적으로 완치되었고, 농도를 높인다고 해도 효과가 증가하지는 않았다는 연구 결과가 있었다.¹⁶ 하지만 본 연구에서는 teicoplanin, vancomycin 둘 다 penicillin에 비해 더 효과적이지도 않았고, penicillin과 병합시에 상승작용을 나타낸 경우도 없었다. 따라서 근래에는 penicillin, ampicillin에 고도내성균주가 *Enterococcus* 감염증에서 penicillin-aminoglycoside 병합요법의 실패를 가져오는 중요한 요인으로 문제가 되므로²⁸ 이들에서 penicillin에 대체해서 aminoglycoside와 병합할 수 있는 약물로서 사용하는 데 가장 큰 유용성이 있다고 하겠다.

Fosfomycin은 phosphoevolpyruvate 효소를 불활성화하므로써 세포벽 합성의 초기 단계를 저해하는 항균제로서 그람양성균에 penicillin이나 cephalosporin 등 다른 단계의 세포벽 합성 저해제와 병합하여 사용하므로써 상승작용을 얻을 수 있다고 알려져 있으나²⁹ 본 연구에서는 penicillin과 병합시 enterococci에 대해 상승적인 효과를 나타내지는 못했다. 이는 *Enterococcus* 균주들이 fosfomycin의 MIC가 높아서 time-kill 검사에서 사용한 혈청도달농도 이상인 데 기인할 수도 있겠지만 81 균주의 enterococci로 실험한 Debbia 등의 논문에서는 $\text{MIC} \geq 32\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 내성 균주가 많았지만 imipenem과 상승작용을 보였다고 보고하였다.¹⁷ 아직 임상실험 단계로서 국내에서는 구할 수 없어서 본 연구에 포함되지는 않았지만 cyclic lipopeptide로서 새로운 세포벽 합성 저해제인 daptomycin이 단독으로도 생체의 실험에서 β -lactam이나 vancomycin에 비해 더 살균적인 것으로 알려져 있다.¹⁵ 하지만 토끼의 심내막염 모델의 치료효과는 daptomycin이 penicillin이나 vancomycin보다 더 효과적이지는 못했는데 이는 이 약물이 생체내에서 단백질 결합율이 높은 데 기인

하는 것으로 보이거나³⁰, fosfomycin과 병합시는 살균력이 증가하고 혈청을 50% 배지에 포함시킨 경우에도 살균력이 감소하지 않았다는 보고가 있었다.³¹ 국내에서도 이들 새로운 세포벽 합성 저해제에 대한 연구가 필요하다고 생각된다.

Sxt의 경우 time-kill 검사에서 *E. faecalis* AMC53, ATCC19433와 *E. faecium* AMC40에서 살균작용을 나타내었으나 접종량을 10⁷CFU/ml로 하는 경우 살균 작용이 소실되었으며(결과를 제시하지는 않음), penicillin과 병합시 상승작용은 없었다. Crider 등이 126균주의 *E. faecalis*와 5균주의 *E. faecium*에서 Sxt의 MIC, MBC를 구하여 살균적인 상승작용이 있어 aminoglycoside 고도내성균에 대해 유용하게 사용할 수 있을 것이라는 보고를 하였다.¹⁸ 그러나 Najjar 등은 그 효과가 접종량, 계대배양 시간에 의존하고 반복 검사시 일관된 결과를 얻을 수 없어 신뢰성 있는 살균 요법이 못된다고 하였다.¹⁹ 특히 생체내에서 enterococci는 전형적으로 세포 외부의 염산을 흡수하여 이용하여 Sxt에 의해 핵산 합성대사가 저지되는 단계를 우회하므로써 생체의 감수성 결과와는 별도로 내성을 갖는다는 데 비추어 보면³² 생체 실험을 하여 증명되지 않는 한 enterococci 감염증에 사용하기는 부적절하다고 사료된다.

Ciprofloxacin은 자체의 MIC나 MBC로 보아 중등도 감수성이 있을 때는 penicillin과 비교되는 정균작용을 나타내었고, *E. faecalis* AMC53과 ATCC 19433에서는 penicillin과 병합시 살균적인 상승작용을 나타내었으나, 접종량을 10⁷ µg/ml로 높이면 상승작용이 소실되었다. 또한 AMC 57에서는 접종량에 상관없이 상승작용이 없었다. Fernandez-Guerrero 등²⁰의 연구에 의하면 접종량에 따라 ciprofloxacin의 MBC가 변하고, ciprofloxacin-gentamicin의 병합에 의한 상승작용이 time-kill 검사나 토끼의 심내막염 모델에서 균주나 접종량에 의존적이었다. 이는 ciprofloxacin이 심내막염 환자의 육아종내의 높은 균 농도에서는 효과를 나타내지 못하는 원인이 될 수 있다고 하였다.²⁰ 따라서 ciprofloxacin의 효과는 동물실험을 통해 더 연구되어야 할 것이며, 심내막염외의 전신 감염증에 사용하는 것이 더 적절할 것으로 사료되었다.

본 연구를 포함해서 현재까지 연구에서는 일부

균주에서 효과가 있었다고 해도 실험을 반복할 때 결과의 변이가 넓고, 균주 또는 접종량에 따라 일관된 결과를 얻지 못하는 경우가 많아 일반적으로 받아들여질 만한 효과적인 대체 항균제 요법은 정립되어 있지 못하다고 할 수 있다. 이 연구의 결과로 미루어 볼 때 *Enterococcus* 감염증에는 역시 penicillin-aminoglycoside 병합요법이 가장 효과적이므로, 전신감염증의 치료시 penicillin 또는 ampicillin의 감수성과 aminoglycosides의 고도내성을 선별해서 penicillin-aminoglycoside의 병합요법을 시행할 수 있는지를 결정해 주는 것이 중요하다고 하겠다. 모든 aminoglycosides에 고도내성인 경우에는 세포벽 합성 저해제를 단독으로 또는 ciprofloxacin과 병합으로 사용하면서 혈청 살균 역가(serum bactericidal titer)로서 감시하여 약 용량의 조절 또는 다른 약물로의 변환을 시도할 수 있겠다. 특히 심내막염의 경우는 육아종 내부의 높은 균 농도에 의해 세포벽 합성 저해제만으로는 치료의 실패가 올 수 있으므로 외과적인 육아종 제거가 함께 이루어져야 하리라고 본다.²⁴ 또한 penicillin, ampicillin에 고도내성인 enterococci는 glycopeptide 등 다른 세포벽 합성 저해제와 aminoglycoside의 병합요법을 사용하는 것이 최선의 방법으로 사료된다. 1992년 본 저자들의 연구¹⁰나 이 등¹¹의 연구에서 볼 때 국내에서도 aminoglycoside 고도내성균의 빈도가 상당한 수준이었고, penicillin이나 ampicillin에 고도내성인 경우가 저자들의 검사실에서 분리된 *E. faecium*의 20%를 차지했으며(보고되지 않은 자료), 이 등¹¹의 논문에서는 50%가 ampicillin의 MIC가 16-128 µg/ml였다고 보고하고 있어 *Enterococcus* 항균요법에 대해서는 앞으로 더욱 연구가 필요하리라고 사료된다.

V. 결 론

1. Sxt, teicoplanin, vancomycin, fosfomycin은 penicillin과 병합시 상승작용이 없었다.
2. *E. faecalis* AMC53, ATCC19433에서 penicillin-ciprofloxacin병합이 유일하게 상승작용을 보였다. 단, 균주에 따라, 접종량에 따라 영향을 받았으며, *E. faecalis* ATCC19433에서 penicillin-aminoglycoside 병합요법보다 효과적이지는 못했다.

3. Penicillin에 고도내성인 *E. faecium*에서 상승작용을 나타내는 병합은 없었다.
4. Ampicillin과 Sxt는 *E. faecalis*과 *E. faecium*에 다른 정균적인 약제에 비해 우수한 효과를 나타내었다.

참 고 문 헌

1. Murray BE: The life and times of the *Enterococcus*. Clin Microbiol Rev 1990;3:46-65.
2. Hunter TH: Use of streptomycin in the treatment of bacterial endocarditis. Am J Med 1947;2:436-442.
3. Geraci JE, Martin WJ: Antibiotic therapy of bacterial endocarditis VI. Subacute enterococcal endocarditis: clinical, pathologic and therapeutic consideration of 33 cases. Circulation 1954;10:173-194.
4. Mandell GL, Kaye D, Levison ME, Hook EW: Enterococcal endocarditis. Arch Intern Med 1970;125:253-264.
5. Standiford HD, de Manie JB, Kirby WMM: Antibiotic synergism of enterococci. Arch Intern Med 1970;120:255-259.
6. Calderwood SA, Wennersten C, Moellering RC, Kunz LJ, Krogstad DJ: Resistance to six aminoglycoside aminocyclitol antibiotics among enterococci: prevalence, evolution, and relationship to synergism with penicillin. Antimicrob Agents Chemother 1977;12:401-405.
7. Krogstad DJ, Korfhagen TR, Moellering RC, Wennersten C, Swartz MN: Aminoglycoside-inactivating enzymes in clinical isolates of *Streptococcus faecalis*. An explanation for resistance to antibiotic synergism. J Clin Invest 1978;62:480-486.
8. Medereski-Samoraj BD, Murray BE: High-level resistance to gentamicin in clinical isolates of enterococci. J Infect Dis 1983;147:751-757.
9. Zervos MJ, Kauffman CA, Therasse PM, Bergman AG, Miesell TS, Schaberg DR: Nosocomial infection by gentamicin-resistant *Strepto-*

- coccus faecalis*. Ann Int Med 1987;106:687-691.
10. 김미나, 배직현, 송재훈: *Enterococcus*의 Amioglycoside에 대한 고도내성. 대한임상병리학회지 1992;12:355-367.
11. 이희주, 정윤섭, 권오현: 임상검체에서 분리된 *Enterococcus*의 균종과 항균제 감수성. 감염 1992;24:115-120.
12. Tofte RW, Solliday J, Crossley KB: Susceptibilities of enterococci to twelve antibiotics. Antimicrob Agents Chemother 1984;25:532-533.
13. Beaty HN, Turck M, Retersdorf RG: Ampicillin in the treatment of enterococcal endocarditis. Ann Int Med 1966;65:701-707.
14. Hindes RG, Willey SH, Eliopoulos GM et al: Treatment of experimental endocarditis caused by β -lactamase producing strain of *Enterococcus faecalis* with high-level resistance to gentamicin. Antimicrob Agents Chemother 1989;33:1019-1022.
15. Stratton CW, Liu C, Ratner HB, Weeks LS: Bactericidal activity of daptomycin(LY146032) compared with those of ciprofloxacin, vancomycin, and ampicillin against enterococci as determined by time-kinetic studies. Antimicrob Agents Chemother 1987;1014-1016.
16. Yao JDC, Eliopoulos CT, Eliopoulos GM, Moellering RC: Efficacy of teicoplanin in two dosage regimens for experimental endocarditis caused by a β -lactamase producing strain of *Enterococcus faecalis* with high-level resistance to gentamicin. Antimicrob Agents Chemother 1990;34:827-830.
17. Debbia E, Valardo PE, Schito GC: In vitro activity of imipenem against enterococci and staphylococci and evidence for high rates of synergism with teicoplanin, fosfomycin, and rifampin. Antimicrob Agents Chemother 1986;30:813-815.
18. Crider SR, Colby SD: Susceptibility of enterococci to trimethoprim and trimethoprim-sulfamethoxazole. Antimicrob Agents Chemother 1985;27:

- 71-75.
19. Najjar A, Murray BE: Failure to demonstrate a consistent in vitro bactericidal effect of trimethoprim-sulfamethoxazole against enterococci. *Antimicrob Agents Chemother* 1987;31:808-810.
 20. Fernandez-Guerrero M, Rouse MS, Henry NK, Geraci JE, Wilson WR: In vitro and in vivo activity of ciprofloxacin against enterococci isolated from patients with infective endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother* 1987;430-433.
 21. Schaenknecht FD, Sabath LD, Thornberry C: Susceptibility test: special test. In: Lennette EH ed. *Manual of Clinical Microbiology*. 4th ed. Washington, D.C.: American Society for Microbiology, 1985:1005-1008.
 22. Sahn DF, Washington JA II: Antibacterial susceptibility tests: Dilution methods. In: Barlow A et al ed. *Manual of Clinical Microbiology*. 5th ed. Washington, D.C.: American Society for Microbiology, 1991:1153-1165.
 23. Thauvin C, Eliopoulos GM, Willey S, Wennersten C, Moellering RC: Continuous-infusion ampicillin therapy of enterococcal endocarditis in rats. *Antimicrob Agents Chemother* 1987;139-143.
 24. Fernandez-Guerrero ML, Barros C, Rodriguez-Tudela JL, Roblas RF, Soriano F: Aortic endocarditis caused by gentamicin resistant *Enterococcus faecalis*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1988;7:525-527.
 25. Yamane N, Jones RN: In vitro activity of 43 antimicrobial agents tested against ampicillin-resistant enterococci and gram-positive species resistant to vancomycin. *Diag Microb Infect Dis* 1991;14:337-345.
 26. Gordon S, Swenson JM, Hill BC et al: Antimicrobial susceptibility patterns of common and unusual species of enterococci causing infections in the United States. *J Clin Microbiol* 1992;30:2373-2378.
 27. Bush LM, Calmon J, Cherney CL et al: High-level penicillin resistance among isolates of enterococci: Implications for treatment of enterococcal infections. *Ann Int Med* 1989;515-520.
 28. Sapico FL, Canawati HN, Ginunas VJ et al: Enterococci highly resistant to penicillin and ampicillin: an emerging clinical problem? *J Clin Microbiol* 1989;27:2091-2095.
 29. Neu HC. Bacterial resistance to other agents In: Lorian V ed. *Antibiotics in Laboratory Medicine*. 3rd ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1991:714-722.
 30. Bush LM, Bosca JA, Kaya D: Daptomycin (LY 146032) treatment of experimental enterococcal endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother* 1988;32:877-881.
 31. Rice LB, Eliopoulos GM, Moellering RC Jr: In vitro synergism between daptomycin and fosfomycin against *Enterococcus faecalis* isolates with high-level gentamicin resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 1989;33:470-473.
 32. Eliopoulos GM, Moellering RC Jr: Antimicrobial combination In: Lorian V ed. *Antibiotics in Laboratory Medicine*. 3rd ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1991:432-492.