

Triphenyletrazolium Chloride를 이용한 Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*의 Vancomycin에 대한 감수성 검사

연세대학교 의과대학 소아외과학교실¹, 고려대학교 의과대학 미생물학교실²

한 석 주¹ · 성 인 화²

Susceptibility Test of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* against Vancomycin Using Triphenyltetrazolium Chloride

Seok Joo Han, M.D. and Inwha Seong, M.D.*

Department of Pediatric Surgery¹, College of Medicine, Yonsei University,
Department of Microbiology², College of Medicine, Korea University, Seoul, Korea

Background : Abuse and inappropriate use of antibiotics have resulted in emergence of antibiotic-resistant microorganisms, increased nosocomial infections and urgency of developing new drugs effectively coping the resistant microorganisms. Recently infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains with reduced susceptibility to vancomycin (MIC=8 $\mu\text{g/mL}$) have been reported in both Japan and the United States. Micro-broth dilution method and population analysis method revealed that those strains in Japan were heterogeneously resistant to vancomycin. The aim of this study was to determine the susceptibility and minimum inhibitory concentrations (MIC) of 99 MRSA strains to vancomycin by modified microplate-broth dilution method with triphenyltetrazolium chloride.

Methods : Susceptibility and minimum inhibitory concentration of stains of MRSA collected to vancomycin were determined by micro-plate broth dilution method with triphenyltetrazolium chloride solution, one of the growth indicator of microorganisms.

Results : MICs of 99 strains of MRSA isolated from otorrhea, pus, blood, respiratory tract, tissue fluid, and sputum to vancomycin were determined with microplate-broth dilution method with triphenyltetrazolium chloride. All the 99 strains showed MIC under 8 $\mu\text{g/mL}$, there was no strain with reduced susceptibility to vancomycin. Microplate-broth dilution method with triphenyltetrazolium chloride was simple, easy to interpret the results.

Conclusion : All the strains of MRSA tested for the susceptibility to vancomycin were susceptible to vancomycin. The microplate-broth dilution method with triphenyltetrazolium chloride was simple, easy to interpret the results and economic, and it is suggested that this method could be applied to the antimicrobial susceptibility tests of the other bacteria and fungi. (Korean J Infect Dis 33:52~57, 2001)

Key Words : MRSA, Vancomycin, Microplate-broth dilution, Triphenyltetrazolium chloride

서 론

황색포도상구균은 널리 분포되어 있는 균으로 건강한 성인

접수 : 2000년 10월 15일, 승인 : 2000년 11월 23일
교신저자 : 성인화. 고려대학교 의과대학 미생물학교실
Tel : 02)920-6167, Fax : 02)923-3645
E-mail : inwha@mail.korea.ac.kr

의 약 40%의 비강내에서 발견되며 비강이나 피부 등에서 다른 사람에게 전파되며 흔히 수술부위 감염, 폐렴 등 병원내 감염증을 잘 일으키는 균으로 알려져 있으며¹⁾ 최근에는 유아에 장염을 일으키고 이로 말미암아 이차로 다발성 장 궤양과 천공을 초래한다는 보고도 있었다²⁾. 1940년대에 일부 황색포도상구균들이 페니실린에 대하여 내성을 나타내기 시작하였는데 1950년대에 들어와서는 tetracycline, chloramphenicol

및 erythromycin에 내성인 황색포도상구균이 나타났고 페니실린 내성 포도상구균에 효과적으로 작용하는 항생제인 methicillin이 등장한지 일년 후인 1961년에 methicillin에 내성을 나타내는 황색포도상구균(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA)이 보고되었다³⁾. 그 이후 MRSA의 분리율은 계속 증가하였다⁴⁻⁸⁾. 1988년에는 vancomycin에 고도의 내성을 보이는 장구균이 나타났고^{9, 10)}, 1997년에는 MRSA에 의한 감염증의 치료제로 사용하여 온 vancomycin에 저하된 감수성을 나타내는 황색포도상구균이 일본에 등장하여 세계의 의료계를 놀라게 하였는데¹¹⁾ 그 이후 여러 나라에서도 계속 보고되었다¹²⁻²⁴⁾.

이제까지 항생제 감수성 검사에 disk diffusion susceptibility test, agar diffusion surface-streak method, agar overlay diffusion method, macrobroth dilution test, microbroth dilution test 등의 방법이 주로 사용되어 왔다²⁵⁻²⁸⁾. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)는 dilution antimicrobial susceptibility tests와 antimicrobial disk susceptibility tests 방법에 대한 새로운 기준을 제시하였으며 MRSA의 vancomycin에 대한 감수성 검사와 minimum inhibitory concentration (MIC) 검사뿐만 아니라 여러 세균들의 항생제 감수성 검사에 이 방법을 이용하고 있다²⁹⁻³³⁾. 이 지침에 따라 현재까지 많이 사용되고 있는 microbroth dilution test의 단점은 정확한 판독이 쉽지 않고 시간이 많이 소요된다는 것이다.

본 연구는 microplate와 triphenyltetrazolium chloride를 사용하는 방법이 MRSA의 vancomycin에 대한 감수성을 조사하는데 적용될 수 있는지 여부를 규명하고자 시행되었다.

재료 및 방법

1. MRSA

고려대학교 구로병원 감염내과에서 분양 받은 MRSA 균주 76주와 서울여자대학교 과학재단 지정 특수연구소재은행인 항생제 내성 균주 은행에서 분양 받은 25주를 계대 배양하여 자라난 23주, 총 99주를 대상으로 하였다. 76주 중 46주는 1994년 부터 1998년 사이에 중이수술 후 화농성 이루(otorrhea)가 발생한 환자들로부터 분리된 균주들이며, 30균주 중 17주는 농에서, 5주는 객담에서, 5주는 호흡기도에서, 1주는 혈액에서 분리된 것이나 항생제 내성균주 은행에서 분양 받은 균주들은 출처를 알 수 없었다.

2. 배 지

National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)에서 권장하는 Mueller Hinton broth를 사용하였다.

3. Triphenyltetrazolium chloride

동경화학공업주식회사에서 제조된 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyl tetrazolium chloride (triphenyltetrazolium chloride, tetrazolium red 또는 red tetrazolium로 불림)를 사용하였다.

4. Vancomycin

한국유나이티드제약(주)에서 제조한 vancomycin (500 mg/vial)을 사용하였다.

5. 감수성 검사

96개의 well이 있는 microtiter plate의 각 well에 50 μ L의 broth를 넣은 다음 32 μ g/50 μ L로 희석된 vancomycin/broth를 첫 줄 well들에 50 μ L씩 첨가한 후 2배 계단희석하고 농도를 0.5 McFarland [34]로 맞춘 각 균주 부유액을 50 μ L씩 각 well에 넣고 잘 혼합하여 moist chamber에 넣어 37°C incubator에 18시간 배양하였다. 그 후 Floff의 방법에 따라 [35] 멸균된 증류수로 2 mg/mL이 되게 희석한 triphenyltetrazolium chloride 용액을 각 well에 40 μ L씩 가하여 잘 혼합한 다음 37°C incubator에 30분간 방치한 후 붉은 색을 나타내지 않은 well을 균의 성장이 억제된 것으로 판독하여 minimum inhibitory concentration (MIC)을 정하였다.

결 과

Floff의 방법대로 triphenyltetrazolium과 microplate broth dilution방법으로 총 99주의 MRSA의 vancomycin에 대한 감수성 검사와 MIC 검사 결과 균이 triphenyltetrazolium 사용으로 MRSA가 성장된 well과 성장이 억제된 well을 맨 눈으로 쉽고 확실하게 구별할 수 있었다(Figure 1). 총 99주의 MRSA의 vancomycin에 대한 MIC를 조사한 결과 9주(9%)는 <1 μ g/mL이었으며, 63주(63.6%)는 1 μ g/mL이었고, 21주(21.2%)는 2 μ g/mL이었으며, 6주(6%)는 4 μ g/mL으로 8 μ g/mL 이상인 주는 없었다. Sample별로 보면 46개로 가장 sample수가 많았던 이루에서 분리된 MRSA들 중에 4주가 <1 μ g/mL이었고, 31주는 1 μ g/mL, 7주는 2 μ g/mL, 4주는 4 μ g/mL이었다. 농에서 분리된 17주 중 2주는 <1 μ g/mL

Concentration of vancomycin

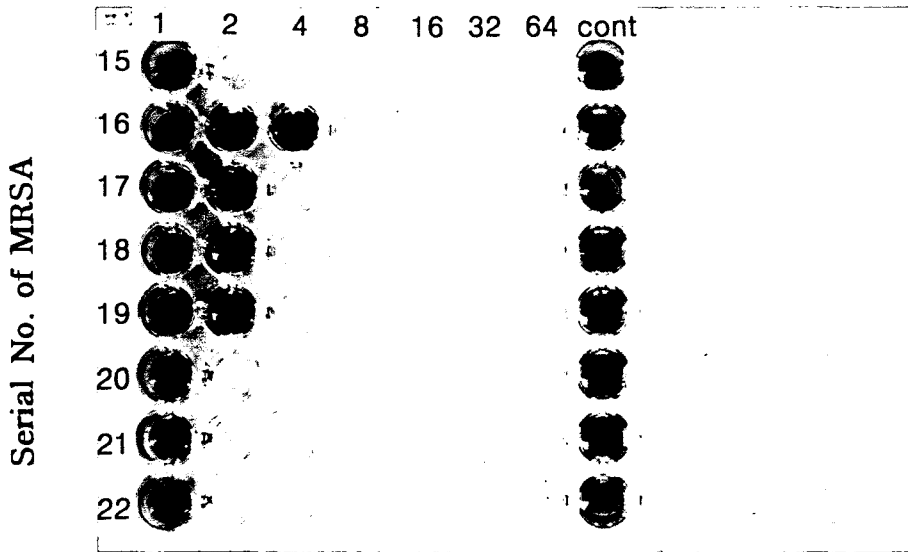


Figure 1. MIC of MRSA to vancomycin with microplate-broth dilution method with triphenyltetrazolium chloride.

Table 1. Minimum Inhibitory Concentration of MRSA against Vancomycin

MRSA		MIC ($\mu\text{g/mL}$) and Number of MRSA					
Source	Number	<1	1	2	4	6	8
Otorrhea	46	4	31	7	4	0	0
Pus	17	2	12	3	0	0	0
Resp. tr.	5	0	3	2	0	0	0
Tissue fl.	1	0	0	0	1	0	0
Sputum	5	0	2	2	1	0	0
Blood	2	1	0	1	0	0	0
Unknown	23	2	15	6	0	0	0
Total(%)	99	9(9.1)	63(63.6)	21(21.2)	6(6.1)	0	0

mL, 12주는 1 $\mu\text{g/mL}$, 나머지 3주는 2 $\mu\text{g/mL}$ 이었다. 호흡기도에서 분리된 5주 중에 3주는 1 $\mu\text{g/mL}$, 2주는 2 $\mu\text{g/mL}$ 이었다. 조직액에서 분리된 1주의 MIC는 4 $\mu\text{g/mL}$ 이었으며, 객담에서 분리된 5중 2주는 1 $\mu\text{g/mL}$, 다른 2주는 2 $\mu\text{g/mL}$, 나머지 1주는 4 $\mu\text{g/mL}$ 이었고, 혈액에서 분리된 2주는 각각 <1 $\mu\text{g/mL}$ 과 2 $\mu\text{g/mL}$ 이었다. MRSA의 분리 출처를 알 수 없었던 23주 중 2주는 <1 $\mu\text{g/mL}$ 이었고, 15주는 1 $\mu\text{g/mL}$, 나머지 6주의 MIC는 2 $\mu\text{g/mL}$ 이었다(Table 1).

고 찰

Sulfonamide와 penicillin의 도입으로 감염질환의 치료에

새로운 장이 열려 감염질환의 치료가 낙관적인 것으로 생각하였으나 1940년대에 penicillin에 내성을 나타내는 포도상구균이 등장한 이후 새로이 개발되는 항생제들에 대하여 내성을 나타내는 균들이 속속 출현하여 감염질환의 치료에 큰 어려움을 겪게되었다. 이런 항생제 내성균들에 대처하기 위하여 많은 시간과 비용을 드려 새로운 항생제들이 개발되어 왔지만 세균들은 새로운 항생제에 대하여 수개월 내에 내성을 획득하고 있는 실정이다. 1986년에는 vancomycin에 고도 내성을 나타내는 장구균이 등장하였고³⁷⁾, 1997년에는 MRSA에 의한 감염증의 치료에 사용되어 온 vancomycin에 저하된 감수성을 나타내는 황색포도상구균이 일본에 등장하여 세계를 놀라게 하였고 앞으로의 감염질환의 치료에 어두운 그림자를 드리우고 있는 것이 현실이다. 새로운 항생제의 개발이 끊임없이 진행되고 있지만 균들이 워낙 빠르게 내성을 획득하므로 내성균과 사람과의 싸움은 낙관하기 어려운 쪽으로 가는 것 같이 보인다.

Vancomycin은 여러 종류의 그람 양성균에 살균작용을 나타내는 항균 범위가 좁은 항생제로 신경독성이나 신독성 때문에 사용에 한계가 있지만 베타 락탐제에 알러지가 있거나 Methicillin 내성 포도상구균 또는 여러 가지 항생제에 내성을 가진 폐렴구균에 의한 여러 가지 심한 감염증에 효과적으로 사용되어 온 항생제로 타 항생제와의 교차내성도 없는 항생제이나 최근 이 항생제에 대해서도 내성을 보이는 장구균과 포도상구균이 등장하여 문제가 되고 있다.

Vancomycin에 대한 감수성 뿐만 아니라 모든 항생제에 대한 세균의 감수성은 검사하는 방법은 여러 가지가 사용되어 왔는데 오랫동안 많이 사용된 방법은 균을 도말한 배지 위에 일정량의 항생제가 들어 있는 disk를 올려놓고 배양하여 성장이 억제된 직경을 측정하는 single disk method, disk diffusion method 또는 agar diffusion method라고 부르던 방법이다. 그 이후 agar overlay diffusion method, macrobroth dilution method 및 microbroth dilution method 등이 개발되어 사용되어 왔지만 아직도 disk diffusion method를 사용하는 사람들도 많고 MIC를 결정하기 위해 tube dilution method를 사용하는 사람들도 있다²⁵⁻²⁸⁾.

NCCLS는 항균제의 감수성 검사에 관한 여러 가지 지침을 만들어 공표하였고 이 지침들은 널리 사용되고 있다²⁹⁻³³⁾. 최근에 MRSA의 vancomycin에 대한 내성에 대한 연구는 거의 모두 NCCLS가 제안한 MIC-broth dilution method를 사용하거나 약간씩 변형시켜 실시되었다. 이 방법은 간편하고 경제적인 장점이 있으나 정확한 판독에 숙련된 사람을 필요로 하는 것이 문제이다. 그러나 본 연구에서는 똑 같이 MIC-broth microdilution method를 사용하였지만 다른 점은 판독 전에 triphenyltetrazolium chloride라는 시약을 첨가함으로써 살아있는 균과 죽은 균을 예민한 발색반응을 통하여 구별할 수 있는 방법으로 누구나 맨 눈으로 판독이 짧은 시간 안에 가능한 점이다. Eloff³⁵⁾는 MIC를 측정하기 위하여 발색제로 세가지 시약을 사용하였는데 그 중 하나는 본 실험에 사용된 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride [TTC, tetrazolium red]이고 나머지는 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide [MTT, thiazolyl blue]와 p-iodonitro-tetrazolium violet [INT]로 TTC는 적색, MTT는 청색, INT는 자색으로 발색이 되는 차이점이 있고 TTC의 발색 최소농도는 2 mg/mL이지만 MTT와 INT는 0.2 mg/mL로 1/10의 적은 양에서도 발색 반응이 나타나 이 들을 사용하려 하였으나 시약을 구할 수 없어 TTC 한가지만 사용하였다. 이 방법은 균과 항생제의 종류에 관계없이 다 적용될 수 있으므로 널리 사용될 수 있을 것으로 생각된다. Pfaller 등은 일본 Kyokuto Pharmaceutical Industrial Co.에서 제조된 ASTY Colorimetric Microdilution trays를 사용하여 진균들의 항진균제들에 대한 감수성 검사를 하였다고 보고하였으나 colorimetric indicator로 어떤 시약을 사용하였는지 명기하지 않았다³⁷⁾. 최근 김홍빈 등은 disk dilution method와 균집단분석 방법 등을 사용하여 235주의 MRSA를 검사한 결과 vancomycin에 대한 감수성이 저하된 균주는 없었다고 보고하였는데 본 연구에서 검사한 99의 MRSA들도 모두 vancomycin에 감

수성이 있음을 알 수 있었다.

요 약

목 적 : Vancomycin에 대한 감수성이 저하되거나 내성을 나타내는 MRSA가 등장하여 의료계를 놀라게 하였고 여러 가지 방법을 사용하여 감수성 검사들이 실시되었으나 결과를 보다 정확하고 간편하게 판독하기 위한 방법을 개발하기 위하여 Triphenyltetrazolium chloride를 사용하는 Micro-broth dilution 방법을 가지고 MRSA의 vancomycin에 대한 감수성을 조사하였다.

방 법 : 1994년부터 1998년까지 고려대학교 구로병원에서 분양 받은 MRSA 76주와 서울여자대학교 과학재단이 지정한 항생제 내성 균주 은행에서 분양 받은 MRSA 23주, 총 99주를 대상으로 triphenyltetrazolium chloride를 사용하여 Micro-broth dilution 방법으로 vancomycin에 대한 감수성 여부 및 MIC를 측정하였다.

결 과 : 검사한 99주 모두 vancomycin에 감수성이 있었으며 triphenyltetrazolium chloride를 균의 성장의 indicator로 사용하는 방법은 결과를 빠르고 정확하게 판독할 수 있게 하였다.

결 론 : 검사한 모든 MRSA균주들은 vancomycin에 감수성이 있었고 triphenyltetrazolium chloride를 사용하는 방법은 다른 세균들과 진균들의 항균제 감수성 검사에 적용될 수 있을 것으로 생각된다.

감사의 글

MRSA균주들을 분양해 주신 고려대학교 구로병원 감염내과 정희진교수님과 서울여자대학항생제 내성균주 은행의 이연희 교수님께 감사합니다.

참 고 문 헌

- 1) Francis A, Waldvogel : *Staphylococcus aureus(including toxic shock syndrome)*. In: Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Infectious Diseases. 4th ed., p1754-1755, Churchill Livingstone, 1995
- 2) Seok Joo Han, Poong Man Jung, Hoguen Kim, Jai-Eok, Jeong Hong, Eui Ho Hwang, and Inwha Seong : *Multiple intestinal ulcerations and perforations secondary to methicillin-resistant Staphylococcus aureus enteritis in infants*. J Pediatr Surg 34:381-386, 1999

- 3) De Lencastre H, Chung M, Westh H: *Archaic strains of methicillin-resistant Staphylococcus aureus: Molecular and microbiological properties of isolates from the 1960s in Denmark. Microb Drug Resist* 6:1-10, 2000
- 4) Barber M: *Naturally occurring methicillin-resistant staphylococci. J Gen Microbiol* 35:183-190, 1964
- 5) Berger-Bachi B, Strassle A, Kayser FH: *Characterization of an isogenic set of methicillin-resistant and susceptible mutants of Staphylococcus aureus. Eur J Microbiol* 5:697-701, 1986
- 6) Beck WD, Berger-Bachi B, Katser FH: *Additional DNA in methicillin-resistant Staphylococcus aureus and molecular cloning of mec-specific DNA. J Bacteriol* 165:373-378, 1986
- 7) Chambers H: *Methicillin-resistant staphylococci. Clin Microbiol Rev* 1:173-186, 1988
- 8) Mainardi JL, Shlaes DM, Goering RV, Acar JF, Goldstein FW: *Decreased teicoplanin susceptibility of methicillin-resistant strains of Staphylococcus aureus. J Infect Dis* 171:1646-1650, 1995
- 9) Tanaka y, Okuzumi K, iwamoto A, Hiramatsu K: *A retrospective study of methicillin resistant Staphylococcus aureus in Yokyo University hospital. J Infect Chemother* 1:40-49, 1995
- 10) Moellering RC Jr.: *The enterococcus: A classical example of the impact of antimicrobial resistance on therapeutic options. J Antimicrob Chemother* 18:1-12, 1991
- 11) Hiramatsu K, Aritaka N, Hanaki H, Kawasaki S, Hosoda Y, Hori S, et al.: *Vancomycin-resistant Staphylococcus aureus: Dissemination of heterogeneously resistant strains in Japanese hospital. Lancet* 350:1670-1673, 1997
- 12) Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, and Tenover FC.: *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. J Antimicrob Chemother* 40:135-136, 1997
- 13) Centers for Disease Control and Prevention: *Reduced susceptibility of Staphylococcus aureus to vancomycin-Japan. MMWR* 46:624-626, 1997
- 14) Centers for Disease Control and Prevention: *Staphylococcus with reduced susceptibility to vancomycin-United States. MMWR* 46:765-766, 1997
- 15) Hiramatsu K: *The emergence of Staphylococcus aureus with reduced susceptibility to vancomycin in Japan. Am J Med* 104(Suppl 1):7S-11S, 1998
- 16) Poly MC, Grelaud C, Martin C, De Lumpley L, Dennis F: *First clinical isolate of vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus in a French hospital [letter]. Lancet* 351:1212, 1998
- 17) Hanaki H, Ohkawa S, Yoko Y, Hashimoto T, Hiramatsu K: *Development of a medium (Mu-3) for detection of hetero-vancomycin resistant MRSA (hetero-MRSA). Abstract No C-132 38th Interscience Conference of Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Diego, California, 1998*
- 18) Smith TL, Pearson ML, Wilcox KR, Cruz C, Lancaster MV, Robinson-Dunn B, et al.: *Emergence of vancomycin resistance in Staphylococcus aureus. N Engl J Med* 340:493-501, 1999
- 19) Sieradzki K, Robrts RB, Haber SW, Tomsz A: *The development of vancomycin-resistant Staphylococcus aureus in a French hospital [letter]. Lancet* 351:1212, 1998
- 20) Centers for Disease Control and Prevention: *Staphylococcus aureus with reduced susceptibility to vancomycin-Illinois, 1999. MMWR* 48:1165-1167, 2000
- 21) Geisel R, Schmitz FJ, Thomas L, Berns G, Zetsche O, Urich B, et al.: *Emergence of heterogenous intermediate vancomycin resistance in Staphylococcus aureus isolates in the Dusseldorf area. J Antimicrob Chemother* 43:846-848, 1999
- 22) Woodford N, Warner m, Aucken HM: *Vancomycin resistance among epidemic strains of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in England and Wales. J Antimicrob Chemother* 45:258-259, 2000
- 23) Wong SSy, Ng TK, Yam WC, Tsang DNC, Woo PCY, Fung SKS, et al.: *Bacteremia due to Staphylococcus aureus with reduced susceptibility to vancomycin. Diag Microbiol Infect Dis* 36:261-268, 2000
- 24) Tenover FC, Lancaster MV, Hill BC, Steward CD, Stocker SA, Hancock GA, et al.: *Characterization of staphylococci with reduced susceptibilities to vancomycin and other glycopeptides. J Clin Microbiol* 36:1010-1027, 1998
- 25) Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC: *Antibiotic susceptibility testing by a standard single disk method. Am J Clin Pathol* 45:493-496, 1966
- 26) Bryant MC: *Chemotherapy and laboratory tests. In: Antibiotics and their Laboratory control. 2nd ed., p34-65, Butterworths, 1972*
- 27) Matsen JM: *Antimicrobial susceptibility tests: Laboratory testing in support of antimicrobial therapy. In: Gra-wohl's Clinical Laboratory method and Therpy. 8th ed., p1937-1970, The C.V. Mosby Company, 1980*
- 28) Koneman LW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC: *Antimicrobial susceptibility testing. In: Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 4th ed., p609-668, JB Lippincott Company, 1992*
- 29) National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents. Tentative guideline. NCCLS Document M26-T. Villanova, Pa: NCCLS; 1992*

- 30) National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Dilution procedures for procedures for susceptibility testing of aerobic bacteria. Approved Standard. NCCLS Publication M7-A3. Villanova, Pa : NCCLS; 1993*
- 31) National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria. Approved Standard. NCCLS Document M11-A3. Villanova, Pa : NCCLS; 1993*
- 32) National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Performance standard for standards for antimicrobial disk susceptibility tests, 6th ed. vol 17, No. 1. Approved Standard M2-M6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Wayne, Pa. 1997*
- 33) National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 4th ed. vol 17, No. 2. Approved standard M7-A4. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa, 1997*
- 34) Alex C. Sonnenwirth: *Bacteriologic methods. In : Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis. 8th ed. p1363. St. Louis, Missouri. The C.V. Mosby Company, 1980*
- 35) Floff JN: *A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. Planta Medica 64:711-713, 1998*
- 36) Moellering RC: *Vancomycin-resistant enterococci. Clin Infect Dis 26:1196-1199, 1998*
- 37) Pfaller MA, Arikan S, lozano-Chiu M, Chen YS, Coffman S, Messer SA, Rennie R, et al. : *Clinical evaluation of the ASTY colorimetric microdilution panel for antifungal susceptibility testing. J Clin Microbiol 36: 2609-2612, 1998*
- 38) 김홍빈, 김남중, 이선희, 김도마, 김의석, 오명돈, 김의종, 최강원 : 반코마이신에 대한 감수성이 저하된 황색 포도상구균의 분리빈도. *감염 32:294-300, 2000*