

Ticarcillin/clavulanic Acid의 호기성 그람음성 간균에 대한 시험관내 항균력

연세대학교 의과대학 임상병리학과교실

정윤섭 · 이경원 · 권오현

= Abstract =

In vitro Activity of Ticarcillin/clavulanic Acid Against Aerobic Gram-negative Bacilli

Yunsop Chong, Ph.D., Kyungwon Lee, M.D. and Oh Hun Kwon, M.D.

Department of Clinical Pathology, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Background: Resistance of gram-negative bacilli is mostly due to production of β -lactamases. Resistance of *Enterobacteriaceae* to ticarcillin/clavulanic acid (TICCV), reported to be rare in the United States, is not known in Korea. The aim of this study was to determine the activity of TICCV against aerobic gram-negative bacilli.

Methods: Activity of TICCV was compared with those of carbenicillin, piperacillin and ticarcillin by the NCCLS agar dilution method against aerobic gram-negative bacilli isolated from patients at a tertiary care hospital.

Results: MIC₉₀ of TICCV were low against *E. coli*, *K. oxytoca*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *Providencia* sp., *Y. enterocolitica*, *A. baumannii* and *X. maltophilia*. Resistance rates to TICCV were low, except for *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *S. marcescens* and *P. aeruginosa*.

Conclusions: The in vitro test result indicated that TICCV should be more effective than the other antimicrobial agents for the treatment of infections due to aerobic gram-negative bacilli.

Key Words: Ticarcillin/clavulanic acid, Gram-negative bacilli, susceptibility

서 론

Ticarcillin은 광범위 penicillin 제제로 그람양성 구균, *Pseudomonas aeruginosa*를 포함한 그람음성 간균에 대해 항균력이 있으나 β -lactamase에 불안정하다. β -lactamase 생성 세균에 대해서도 ticarcillin이 항균력을 유지시키기 위해 β -lactamase 억제제인 clavulanic acid를 첨가한 ticarcillin/clavulanic acid (TICCV; Timentin)가 개발되었고, 이 제제는

ticarcillin 내성 *Bacteroides fragilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *P. aeruginosa* 및 *Staphylococcus*에 의한 실험동물의 복막강내 감염, 국소조직 감염, 신우신염, 폐렴 치료에 유효함이 보고되었었으며^{1,2)}, 1981년 부터 여러가지 감염치료를 위해 이용되기 시작하였다³⁻⁸⁾.

이 항균제가 널리 사용되어 온 미국에서의 보고에 의하면 초기에는 이 항균제에 내성인 *Enterobacteriaceae* 균주는 드물었고^{9,10)} 1983-1991년 사이에 내성균주의 증가는 없었다고 하였다^{11,12)}. 그러나 병원에

따라서 내성율이 *E. coli*는 3%–12%, *K. pneumoniae*는 0%–13%로 차이가 있음이 보고되었다.

우리나라에서 ticarcillin은 오래동안 사용되어 왔으나, TICCVC는 사용되기 시작한지 수년에 불과하며, 임상연구는 있으나^{13,14)} 시험관내 항균력 시험은 드문듯하다. 이에 이 연구에서는 호기성 그람음성 간균에 대한 TICCVC의 항균력을 다른 항 *Pseudomonas* 항균제와 비교하고자 하였다.

대상 및 방법

시험균주는 세브란스병원 환자의 각종 임상검체에서 분리하였다. *Salmonella typhi*는 1992–93년에, *Shigella flexneri*는 1988–94년에, *Yersinia enterocolitica*는 1980–87년에, 다른 균종은 1994년에 분리하였으며, 시험에 사용할 때까지 냉동보존하였다. *Acinetobacter* sp. 중 포도당을 산화하는 균주는 *A. baumannii*로 균종을 동정하였다¹⁵⁾.

감수성시험은 한천회석법¹⁶⁾에 의하여었다. 항균제는 carbenicillin (한국 Pfizer, 서울), piperacillin (유한양행, 서울), ticarcillin 및 clavulanic acid (Smith Kline Beechame, Brookham Park, UK)를, 배지는 Mueller–Hinton agar (BBL)를 사용하였다. Clavulanic acid 농도는 배지 중의 ticarcillin 농도에 관계없이 배지 1 mL당 2 µg 이 되도록 하였다.

시험세균은 Steers replicator (Craft Machine Inc., Woodline, Pa.)로 접종하였고, 35°C에 18시간 배양한 후 결과를 판독하여 시험세균의 증식을 완전히 억제시킨 항균제의 농도를 최소억제농도로 하였다. NCCLS의 breakpoint를 적용하여¹⁶⁾ *P. aeruginosa*에 대해서는 TICCVC의 MIC가 $\leq 64/2$ µg/mL를 감수성, 128/2 µg/mL를 내성, 다른 그람음성 간균에 대해서는 $\leq 16/2$ µg/mL를 감수성, 32/2–64/2 µg/mL를 중간, $\geq 128/2$ µg/mL를 내성으로 해석하였다. 감수성 시험의 정도관리를 위해서는 *E. coli* ATCC 25922와 *P. aeruginosa* ATCC 27853를 사용하였다.

결 과

Carbenicillin, piperacillin, ticarcillin 및 TICCVC

의 MIC 범위가 *S. typhi*에 대해서는 8 µg/mL 이하, *Proteus vulgaris*에 대해서는 16 µg/mL 이하, *Morganella morganii*에 대해서는 64 µg/mL 이하이었으나, 다른 균종에 대해서는 이보다 높았다(Table 1).

시험된 네가지 항균제의 MIC₉₀는 *K. pneumoniae*, *E. cloacae* 및 *P. aeruginosa*에 대해서 모두 >256 µg/mL 이었고, *E. coli*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Providencia* sp., *S. typhi* 이외의 *Salmonella*, *S. flexneri*에 대해서는 128 µg/mL 이상이었다.

TICCVC의 MIC₉₀은 *K. oxytoca*에 대해서 8 µg/mL, *P. mirabilis*에 대해서 1 µg/mL, *P. vulgaris*에 대해서 0.5 µg/mL, *Providencia* sp.에 대해서 128 µg/mL, *A. baumannii*와 *Xanthomonas maltophilia*에 대해서 64 µg/mL로 다른 항균제에 대해서 보다 낮았다. MIC₉₀ 치가 *E. aerogenes*에 대해서는 carbenicillin과 piperacillin이 64 µg/mL, *S. marcescens*에 대해서는 piperacillin이 128 µg/mL, *M. morganii*에 대해서는 carbenicillin이 8 µg/mL로 TICCVC 보다 더 낮았으며, *Y. enterocolitica*에 대한 MIC₉₀는 TICCVC와 piperacillin이 4 µg/mL로 같았다.

Ticarcillin과 TICCVC의 MIC₉₀에 차이가 컸던 균종별 수치는 *K. oxytoca* 256 µg/mL과 8 µg/mL, *P. mirabilis* 128 µg/mL과 1 µg/mL, *P. vulgaris* 8 µg/mL과 0.5 µg/mL, *Y. enterocolitica* 256 µg/mL과 4 µg/mL, *A. baumannii* 256 µg/mL과 64 µg/mL 및 *X. maltophilia* >256 µg/mL과 64 µg/mL 이었다.

시험된 네가지 항균제에 대해 내성인 균주가 *P. vulgaris*, *S. typhi* 및 *M. morganii* 중에는 없었고, *Salmonella* serovar는 11%가 네 항균제에 내성이었다. *Y. enterocolitica*는 ticarcillin에 대해서만 87%가 내성이었다. *P. mirabilis*의 내성율은 piperacillin과 TICCVC에 대해 모두 0% 이었고, 다른 항균제보다 piperacillin에 대한 내성율이 가장 낮은 균종과 내성율은 *E. cloacae* 59%, *E. aerogenes* 0%, *S. marcescens* 33%, *P. aeruginosa* 30%이었다. TICCVC에 대해서 내성율이 가장 낮은 균종과 내성율은 *E. coli*, *Providencia* sp. 및 *S. flexneri* 각 13%, *C. freundii* 38%, *K. pneumoniae* 32%, *K. oxytoca*와 *A. baumannii* 각 0% 이었다.

Table 1. Activity of Ticarcillin/clavulanic Acid Against Aerobic Gram-negative Bacilli

Species (No. tested)	Antimicrobial agent	MIC (μ g/mL)			% of isolates:		
		Range	50 %	90 %	S	I	R
<i>E. coli</i> (31)	Carbenicillin	1->256	64	>256	19	19	61
	Piperacillin	0.5->256	64	>256	19	32	49
	Ticarcillin	2->256	>256	>256	19	0	81
	TICCV*	2-128	32	128	39	48	13
<i>C. freundii</i> (16)	Carbenicillin	4->256	32	256	31	19	50
	Piperacillin	2->256	64	256	31	25	44
	Ticarcillin	2->256	256	>256	31	0	69
	TICCV	2->256	32	256	31	31	38
<i>K. pneumoniae</i> (31)	Carbenicillin	4->256	128	>256	29	0	71
	Piperacillin	2->256	128	>256	29	6	65
	Ticarcillin	8->256	>256	>256	3	3	94
	TICCV	2->256	64	>256	36	32	32
<i>K. oxytoca</i> (15)	Carbenicillin	8-64	64	64	20	27	53
	Piperacillin	2-128	8	16	93	0	7
	Ticarcillin	64->256	128	256	0	20	80
	TICCV	2-32	2	8	93	7	0
<i>E. cloacae</i> (32)	Carbenicillin	8->256	256	>256	13	0	87
	Piperacillin	2->256	128	>256	16	25	59
	Ticarcillin	2->256	>256	>256	9	0	91
	TICCV	2->256	>256	>256	9	0	91
<i>E. aerogenes</i> (13)	Carbenicillin	2-64	8	64	85	0	15
	Piperacillin	1-64	2	64	85	15	0
	Ticarcillin	1-128	2	128	85	0	15
	TICCV	1-128	2	128	85	0	15
<i>S. marcescens</i> (15)	Carbenicillin	8->256	64	>256	27	20	53
	Piperacillin	1->256	8	128	54	13	33
	Ticarcillin	4->256	128	>256	33	7	60
	TICCV	4->256	32	>256	33	27	40
<i>P. mirabilis</i> (20)	Carbenicillin	1-64	1	16	90	5	5
	Piperacillin	0.12-16	0.25	8	100	0	0
	Ticarcillin	0.25-128	0.5	128	85	0	15
	TICCV	0.25-1	0.5	1	100	0	0
<i>P. vulgaris</i> (10)	Carbenicillin	2-4	4	8	100	0	0
	Piperacillin	0.25-2	0.5	1	100	0	0
	Ticarcillin	1-16	2	8	100	0	0
	TICCV	0.25-0.5	0.5	0.5	100	0	0
<i>M. morganii</i> (13)	Carbenicillin	1-16	1	8	100	0	0
	Piperacillin	0.25-64	0.5	32	85	15	0
	Ticarcillin	0.5-32	0.5	32	85	15	0
	TICCV	0.5-32	2	32	85	15	0
<i>Providencia</i> sp (10)	Carbenicillin	1-256	2	256	60	7	33
	Piperacillin	0.25-256	2	256	67	13	20
	Ticarcillin	0.25->256	2	>256	53	0	47
	TICCV	0.25-128	2	128	74	13	13

Species (No. tested)	Antimicrobial agent	MIC ($\mu\text{g/mL}$)			% of isolates:		
		Range	50%	90%	S	I	R
<i>S. typhi</i> (10)	Carbenicillin	2-8	4	8	100	0	0
	Piperacillin	1-2	1	2	100	0	0
	Ticarcillin	1-4	1	2	100	0	0
	TICCV	1-4	1	2	100	0	0
Other <i>Salmonella</i> serovar (19)	Carbenicillin	4-256	8	256	89	0	11
	Piperacillin	2-128	2	128	89	0	11
	Ticarcillin	2->256	2	>256	89	0	11
	TICCV	2-128	2	128	89	0	11
<i>Shigella flexneri</i> (15)	Carbenicillin	32-256	128	256	0	7	93
	Piperacillin	8-128	64	128	13	40	47
	Ticarcillin	256->256	>256	>256	0	0	100
	TICCV	32-128	64	128	0	87	13
<i>Y. enterocolitica</i> (15)	Carbenicillin	2-8	8	8	100	0	0
	Piperacillin	1-8	4	4	100	0	0
	Ticarcillin	1-256	256	256	13	0	87
	TICCV	1-16	4	4	100	0	0
<i>A. baumannii</i> (27)	Carbenicillin	8-128	64	128	19	19	62
	Piperacillin	4->256	128	256	44	4	52
	Ticarcillin	2->256	32	256	26	59	15
	TICCV	2-64	32	64	33	67	0
<i>X. maltophilia</i> (30)	Carbenicillin	4->256	256	>256	10	3	87
	Piperacillin	32->256	128	>256	0	33	67
	Ticarcillin	2->256	128	>256	10	17	73
	TICCV	1-256	16	64	77	13	10
<i>P. aeruginosa</i> (30)	Carbenicillin	64->256	256	>256	43	23	33
	Piperacillin	4->256	16	>256	70	- ^b	30
	Ticarcillin	16->256	64	>256	60	-	40
	TICCV	16->256	32	>256	60	-	40

^aTICCV, ticarcillin/clavulanic acid. (Figure shows ticarcillin Concentration. ^{*}Clavulanic acid concentration was $2\mu\text{g/mL}$.)

^bNo intermediate category.

Ticarcillin과 TICCV에 대한 내성율이 현저히 달랐던 균종과 내성율은 *E. coli* 81%와 13%, *C. freundii* 69%와 38%, *K. pneumoniae* 94%와 32%, *K. oxytoca* 80%와 0%, *P. mirabilis* 15%와 0%, *Providencia* sp. 47%와 13%, *S. flexneri* 100%와 13%, *Y. enterocolitica* 87%와 0%, *A. baumannii* 15%와 0%, *X. maltophilia* 73%와 10% 이었다.

고 찰

세균은 penicillin binding protein (PBP)의 변화, 세포막 투과성의 변화, 혹은 β -lactamase 생성으로 β -lactam 항균제에 내성을 나타내게 된다. β -lactamase 생성은 그람양성과 음성 여러 균종에서 흔히 볼 수 있는 내성기전이다^(17,18).

본 실험 결과를 캐나다에서 1985년에 보고한 결과와 비교할때¹⁹⁾, ticarcillin의 MIC₉₀이 *K. oxytoca*, *P. mirabilis*, *M. morgani*, *A. baumannii*에 대해서는 비슷하였으나, 다른 균종에 대해서는 현저히 높았고, 이러한 경향은 piperacillin에 대해서도 같았다.

β -lactamase 생성주에 대한 항균력을 회복시키기 위해서 β -lactam 항균제에 clavulanic acid, sulbactam 혹은 tazobactam 등 β -lactamase 억제제를 병합시킨 제제는 대부분의 *Enterobacteriaceae*, *Haemophilus influenzae*, *Bacteroides fragilis*, *P. aeruginosa*에 대해 항균력이 있고, 하부기도 감염, 호중구감소증환자의 감염, 요로감염, 폐렴, 골수염의 치료를 위해 이용되어 왔다^{4, 20)}.

그러나 Sanders 등²¹⁾이 TICCVC 내성 *Enterobacteriaceae*를 1988년에 미국에서 보고함에 따라, 이 항균제에 내성인 세균에 관한 연구가 잇따르게 되었다. TICCVC에 대한 내성율은 미국에서 1983-91년에 분리된 균주의 7-8%에 지나지 않았고 변화가 없었다고 하였다¹¹⁾. 미국 연구에서는 연속 분리주에 대해서 시험하였으므로 비교적 내성율이 낮은 *E. coli*와 *K. pneumoniae*가 많은 비율을 차지하기는 하였으나 다른 균종에 있어서도 내성율은 본 연구 보다 현저히 낮았다. 그러나 미국에 있어서도 병원에 따라서 내성율에 차이가 있었으며, 우리나라에 있어서도 3차진료병원 이외의 환자에서 분리되는 세균의 내성율은 더 낮을 것으로 추측된다.

β -lactamase의 종류는 많으며, 모든 β -lactamase의 작용이 clavulanic acid에 의해 억제되지는 않지만²²⁾, 대체적인 내성율을 낮은 것 부터 보면 TICCVC, piperacillin, carbenicillin, ticarcillin의 순이었다. 특히 *K. oxytoca*, *P. mirabilis*, *Y. enterocolitica*, *A. baumannii* 중에 ticarcillin 내성 균주는 있었으나 TICCVC 내성 균주는 없었다. Ticarcillin에 대한 내성율 보다 TICCVC에 대한 내성율이 현저히 낮았던 균종은 *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Providencia* sp., *S. flexneri*, *X. maltophilia*이었다. 그러나 ticarcillin과 TICCVC에 대해 *E. cloacae*는 대부분이, *S. marcescens*는 각각 60%와 40%가, *C. freundii*는 69%와 38%가 내성이었으며, *P. aeruginosa*는 각각 40%가 내성이어서 이 두 항균제에 대한 내성율에 차이가 크지 않았다. 이들 균종은 각종 penicillin 제제나,

cephalosporin 제제에 내성인 균주가 많은 것이 특징인 원내감염균이다. Fass는 clavulanic acid가 *X. maltophilia*에 대한 ticarcillin의 항균력을 증가시키나, *P. aeruginosa*에 대한 항균력은 증가시키지 않는다고 하였다²³⁾.

이 시험관내 성적에서, 시험된 항균제 중에서 가장 항균력이 큰 것은 TICCVC이었으므로, 이 항균제는 비교된 세 항균제 보다 *Enterobacteriaceae*나 포도당발효 그람음성 간균에 의한 여러 감염 치료에 더 유용할 것으로 생각되었다.

요 약

목 적 : Ticarcillin/clavulanic acid (TICCVC)는 β -lactamase에 안정한 광범위 penicillin제제이다. 외국에서는 이 항균제에 내성인 *Enterobacteriaceae*가 드물다고 하나 우리나라 균주의 내성은 연구 보고된 바 없다. 이 연구에서는 우리나라에서 분리되는 그람음성 간균에 대한 항균력을 시험하고자 하였다.

방 법 : 세브란스병원 환자 검체에서 분리된 호기성 그람음성 간균에 대한 TICCVC의 항균력을 carbenicillin, piperacillin 및 ticarcillin과 NCCLS 한천회석법으로 비교하였다.

결 과 : *E. coli*, *K. oxytoca*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *Providencia* sp., *Y. enterocolitica*, *A. baumannii*, *X. maltophilia*에 대한 TICCVC의 MIC₉₀은 carbenicillin, piperacillin 및 ticarcillin 보다 낮았다. *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *S. marcescens*, *P. aeruginosa* 이외의 모든 균종은 TICCVC에 대한 내성율이 다른 항균제에 대한 내성율 보다 낮았다.

결 론 : TICCVC의 시험관내 항균력 시험결과로 미루어 볼 때, 이 항균제는 carbenicillin, piperacillin 혹은 ticarcillin 보다 호기성 그람음성 간균에 의한 감염 치료에 더 유용할 것이라는 결론을 얻었다.

REFERENCES

- 1) Boon RJ, Beale AS, Sutherland R: Bactericidal effect of ticarcillin/clavulanic acid against β -lactamase-producing bacteria in vivo. *Antimicrob Agents Chemother* 29:838-844, 1986

- 2) Mizen L, Woodnutt G, Kernutt I, Catherall EJ: Simulation of human serum pharmacokinetics of ticarcillin-clavulanic acid and ceftazidime in rabbits, and efficacy against experimental *Klebsiella pneumoniae meningitis*. *Antimicrob Agents Chemother* 33:693-699, 1989
- 3) Bennett S, Wise R, Weston D, Dent J: Pharmacokinetics and tissue penetration of ticarcillin combined with clavulanic acid. *Antimicrob Agents Chemother* 23:831-834, 1983
- 4) Bush K: β -lactamase inhibitors from laboratory to clinic. *Clin Microbiol Rev* 1:109-123, 1988
- 5) File TM, Tan JS: Ticarcillin-clavulanate therapy for bacterial skin and soft tissue infections. *Rev Infect Dis* 13:S733-736, 1991
- 6) Finegold SM: Aspiration pneumonia. *Rev Infect Dis* 13:S737-742, 1991
- 7) Pastorek JG II, Sanders CV Jr: Antibiotic therapy for postcesarean endometritis. *Rev Infect Dis* 13:S752-757, 1991
- 8) Tan JS, Wishnow RM, Talan DA, Duncanson FP, Norden CW: The piperacillin/tazobactam skin and skin structure study group. *Antimicrob Agents Chemother* 37:1580-1586, 1993
- 9) Fuchs PC, Barry AL, Thornsbery C, Jones RN: In vitro activity and ticarcillin plus clavulanic acid against 632 clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 25:392-394, 1984
- 10) Fuchs PC, Barry AL, Jones RN: In vitro activity and disk susceptibility of Timentin: current status. *Am J Med Suppl* 5B:25-32, 1985
- 11) Barry AL: Prevalence of ticarcillin/clavulanic acid-resistant *Enterobacteriaceae* in nine separate medical centers during the years 1983, 1989, and 1991. in Poupard JA, Walsh LR, Kleger B (ed). *Antimicrobial susceptibility testing. Critical issues for 90s*. Plenum Pub Co. 1994, p 163
- 12) Barry AL, Fuchs PC, Gerlach EH, Hardy DJ, McLaughlin JC, Pfaller MA: Ticarcillin and ticarcillin-clavulanic acid susceptibility tests: Error rates for disk tests with consecutively isolated members of the Family *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob Agents Chemother* 36:137-143, 1992
- 13) 우홍정, 지종대, 신현재, 김우주, 인광호, 김민자, 유세화, 박승철: 하루 호흡기 감염증에 있어서 Timentin의 효과. *감염* 25:369-374, 1993
- 14) 남용진, 박영규, 장미경, 최철원, 정희진, 신상완, 김우주, 김준석: 과립구 감소성 발열 환자에서 Timentin과 tobramycin 병합요법의 임상효과. *감염* 26:263-269, 1994
- 15) Weaver RE: Problems with identification of *Acinetobacter* species. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 13:832, 1994
- 16) NCCLS: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically-third ed., NCCLS, Villanova, Pa., 1993
- 17) Moellering RC: β -lactamase inhibition: Therapeutic implications in infectious diseases-an overview. *Rev Infect Dis* 13:S723-726, 1991
- 18) Neu HC: The crisis in antibiotic resistance. *Science* 257:1064-1073, 1992
- 19) Henry D, Skidmore AG, Ngui-Yen J, Smith A, Smith JA: In vitro activities of enoxacin, ticarcillin plus clavulanic acid, aztreonam, piperacillin, and imipenem and comparison with commonly used antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 28:259-264, 1985
- 20) Robinson GN: Evolution of β -lactamase inhibitors. *Rev Infect Dis* 13:S727-732, 1991
- 21) Sanders CC, Iasonis JP, Bodey GP, Samonis G: Resistance to ticarcillin-potassium clavulanate among clinical isolates of the Family *Enterobacteriaceae*: Role of PSE-1 β -lactamase and high level of TEM-1 and SHV-1 and problems with false susceptibility in disk diffusion tests. *Antimicrob Agents Chemother* 32:1365-1369, 1988
- 22) Thomson KS, Weber DA, Sanders CC, Sanders WE Jr: β -lactamase production in members of *Enterobacteriaceae* and resistance to β -lactamase inhibitor combinations. *Antimicrob Agents Chemother* 34:622-627, 1990
- 23) Fass RJ, Prior RB: Comparative in vitro activities of piperacillin-tazobactam and ticarcillin-clavulanic acid. *Antimicrob Agents Chemother* 33:1268-1274, 1989