

대전지역에서 분리된 *Helicobacter pylori*의 항균제 내성율

이종욱^{1*}, 김선문², 임의혁², 최용우², 김윤미³, 김범수⁴, 이재학⁵

건양대병원 진단검사의학과¹, 내과², 병리과³, 인하대병원 내과⁴, 서일대학 식품영양학과⁵

배 경 : *Helicobacter pylori*에 의한 소화성궤양은 항균제가 포함된 삼제요법 등의 적절한 약제로 완치가 가능하다. 최근 항균제에 대한 내성이 증가되고 있고, 이로 인한 치료의 실패와 재발 등이 보고되고 있다. 저자 등은 대전지역에서 분리된 *H. pylori* 균주를 대상으로 항균제 감수성 양상을 조사하였다.

방 법 : 2004년 3월부터 7월까지 건양대병원 소화기내과 환자의 위생검에서 분리된 *H. pylori* 31주를 대상으로 하였다. 항균제감수성검사는 E-test로 시행하였고, 배지는 triphenyltetrazolium이 첨가된 Egg Yolk 배지를 사용하였다. Amoxicillin, metronidazole 및 clarithromycin에 대해 감수성검사를 시행하였고 항균제 내성 기준은 각각 0.5 µg/mL, 8 µg/mL 및 1 µg/mL 이상으로 하였다.

결 과 : Amoxicillin에 대한 내성율은 7.4% (2/27), metronidazole에 대한 내성율은 25.8% (8/31), clarithromycin에 대한 내성율은 3.6% (1/28)이었다.

결 론 : Amoxicillin과 clarithromycin에 대한 내성균은 드물게 분리되어 국내에서 보고된 타지역의 항균제 내성율보다 낮았다.

서 론

*H. pylori*는 소화기성 궤양의 원인균으로 알려져 있고 [1, 2], 이 세균의 유병율은 선진국에서는 약 25%, 개발도상국에서는 약 90%정도로 보고되고 있다[3].

*H. pylori*의 제균은 amoxicillin, metronidazole 및 clarithromycin 중에서 두 가지 항균제와 proton pump inhibitor나 bismuth salt중 한가지 약물을 조합해서 사용하고 있다. 성공적인 치료에는 환자의 유순도, 약물의 조합, 치료기간, 일차 치료제에 대한 내성율 등의 요인이 작용한다. 최근 이들 항균제 내성의 증가로 *H. pylori* 감염에 의한 소화기성 궤양의 치료가 어려워 지고 있다[4-9].

한 지역에서 *H. pylori*의 항균제 내성율을 아는 것은 경험적 항균제 치료에 중요하다. *H. pylori*의 항균제 내성율은 지역분포에 따라 많은 차이가 있는 것으로 보고되고 있다[10-13].

국내에는 서울 등 대도시 종합병원을 중심으로 *H. pylori* 항균제감수성결과가 보고되고 있지만[14-18], 대전을 비롯한 국내 다른 도시에서의 *H. pylori*의 항균제감수성 결과는 없는 실정이다. 대전은 서울에서 약 180 km 떨

어져 있고, 인구는 약 100만 명의 도시이다. 본 연구의 목적은 대전지역에서 분리된 *H. pylori* 균주를 대상으로 metronidazole, clarithromycin 및 amoxicillin의 항균제 감수성 양상을 알고자 하였다.

재료 및 방법

2004년 3월부터 7월까지 건양대병원 소화기내과 환자에서 분리된 *H. pylori* 31주를 대상으로 하였다. 환자에서 채취된 위생검을 혈액천배지에 접종한 후 Campy Pouch (Becton Dickinson, San Jose, CA, USA)에 넣어 37℃ 배양기에서 3-7일 동안 미호기성 배양을 하였다. 증식된 집락이 만곡된 그람음성간균이고 oxidase, catalase, urease 양성인 경우 *H. pylori*로 동정하였다. 항균제감수성검사는 계대배양한 *H. pylori* 집락을 Muller Hinton 액체배지에 풀어 McFarland 3.0으로 맞춘 후 균부유액을 면봉에 충분히 묻힌 후 triphenyltetrazolium이 첨가된 Egg Yolk 배지에 여러 방향으로 골고루 발랐다. 물기가 배지에 흡수되도록 몇 분간 방치 후 amoxicillin, metronidazole, 및 clarithromycin 등의 E test (AB Biodisk, Solna, Sweden) strip을 올려놓았다. 37℃ 배양기에서 3일에서 최고 7일까지 미호기성 배양을 한 후 최소억제농도를 판독하였다. 항균제 각각의 내성의 기준은 0.5 µg/mL, 8 µg/mL 및 1 µg/mL 이상으로 하였다[19].

본 연구는 대한임상미생물학회의 연구비로 진행됨.

접 수 일: 05/1/20 게재승인일: 05/2/21

교신저자: 이종욱

(302-241) 대전광역시 서구 가수원동 685

건양병원 진단검사의학과

TEL : 042)600-9273 FAX : 042)544-9501

E-mail : lee4@kyuh.co.kr

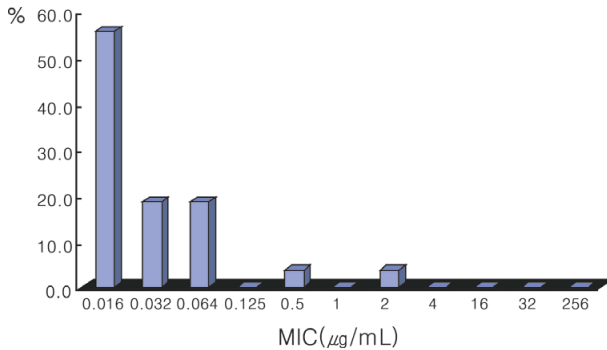


Fig. 1. Distribution of amoxicillin MICs for 27 *H. pylori* isolates.

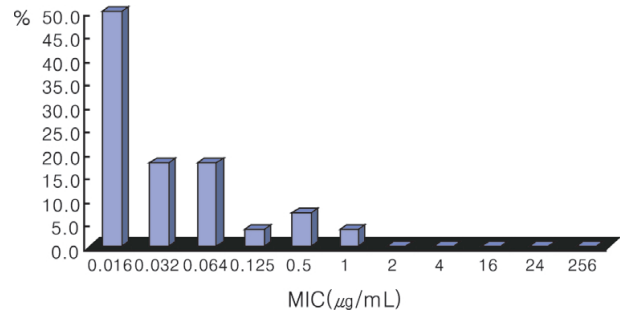


Fig. 2. Distribution of clarithromycin MICs for 28 *H. pylori* isolates.

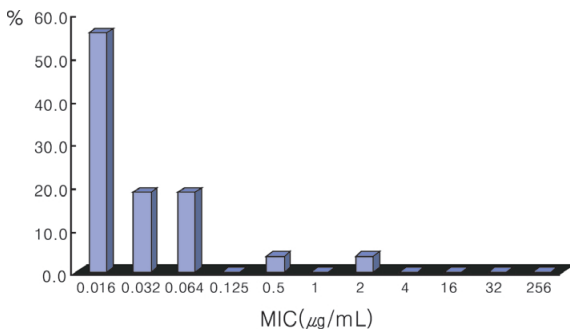


Fig. 3. Distribution of metronidazole MICs for 31 *H. pylori* isolates.

결 과

Amoxicillin에 대한 내성율은 3.7%(1/27)이었고, metronidazole에 대한 내성율은 25.8%(8/31)이었고, clarithromycin에 대한 내성율은 3.6%(1/28)였다.

Amoxicillin의 MIC는 0.016-2 μg/mL 였고, MIC₅₀ 및 MIC₉₀은 0.023 μg/mL, 0.093 μg/mL 였다(Fig. 1). Clarithromycin의 MIC는 0.016-2 μg/mL 였고 MIC₅₀ 및 MIC₉₀은 0.023 μg/mL, 0.125 μg/mL 였다. Metronidazole의 MIC는 0.019-256 μg/mL 였고, MIC₅₀ 및 MIC₉₀은 0.125 μg/mL, 256 μg/mL 였다.

Metronidazole의 MIC는 연속적인 분포를 보였고, clarithromycin에서 두봉우리 분포(bimodal distribution)은 나타나지 않았다(Fig. 2, Fig. 3).

고 찰

국내에서 *H. pylori* 감염의 유병율은 약 60-70%로 보고되고 있으며 나이가 증가함에 따라 유병율이 증가되는 것으로 알려져 있다. 최근 들어 *H. pylori*의 치료에 사용되는 항균제에 대한 내성균이 증가되고, 치료 실패율이 증가되고 있어서 이 세균의 항균제감수성검사를 통한 치료

가 제시되고 있다[19].

Metronidazole의 내성기전은 *rdxA*의 돌연변이에 의한 것으로 알려져 있다[17]. Metronidazole의 내성율은 아시아 국가가 유럽국가에 비해 높고, 남자보다는 여자에서 내성율이 높은 것으로 보고되고 있다. 여성이 높은 이유는 metronidazole이 혐기성세균감염, 기생충감염, 및 산부인과 질환 등에 쓰이는 약제로 특히 여성질환에 많이 사용되는 것으로 설명되고 있다.

한 국가 내에서 *H. pylori*의 항균제 내성율이 지역에 따라 차이가 있음이 보고되고 있다. 일본의 경우 교토가 사뵈로에 비해 metronidazole항균제의 내성이 높고(23.8% vs 8.1%)[4], 네덜란드는 서쪽이 남쪽에 비해 내성율이 높다(24.3%, 11.6%)[11]. *H. pylori*의 metronidazole에 대한 내성율이 서울에서는 66.2%[14]인 것과 비하여 본 연구에서는 25.8%로 낮았다.

보통 metronidazole의 MIC분포는 연속적인 spectrum을 보이는 반면 clarithromycin의 MIC분포는 두봉우리 분포를 보인다[14]. 본 연구에서도 metronidazole의 경우 연속적인 spectrum을 보였다. 그러나 MIC가 256 μg/mL 이상 경우가 전체의 20%(6/31)였다. Metronidazole에 대해 고농도 내성일 경우 bismuth salt, metronidazole, amoxicillin 등으로 구성된 약제의 박멸률이 현저히 떨어진다는 보고가 있어[20], metronidazole의 high level resistance에 대한 연구가 있어야 될 것으로 생각된다.

Clarithromycin은 macrolide계열의 항균제로 erythromycin보다 산성에서도 안정성이 좋고 흡수율이 높다. Clarithromycin의 내성기전은 23S rRNA의 point mutation에 의한 것이다[8]. Metronidazole의 내성은 다제요법으로 극복할 수 있지만 clarithromycin 내성은 다제요법에서도 치료 실패의 원인이 된다[21]. Clarithromycin에 대한 내성율은 metronidazole에 비해 낮는데 이는 임상적으로 제한된 질환에 사용하기 때문으로 생각된다. 그러나 최근에는 clarithromycin의 사용이 증가되면서 내성율도 증가되고 있다. 본 연구에서 3.7%로 내성율은 다른 국내보고에 비해 현저히 낮은 결과이다[15, 16]. 이는 건양대병원이 대전

지역에서도 논산과 가까운 서대전 지역이 위치하여 그동안 이 곳의 clarithromycin 사용량이 대도시에 비해 적었을 것으로 생각된다.

Amoxicillin은 *H. pylori* 치료에 사용되는 유일한 beta-lactam제제이다. Amoxicillin의 내성기준은 아직 확실하게 정해져 있지 않지만, 최근에는 0.5 µg/mL를 기준으로 삼고 있다[19]. 본 연구에서 amoxicillin의 MIC가 2 µg/mL인 내성균주가 분리되었다. 국내에서 amoxicillin의 내성균주는 드문 것으로 앞으로 이 항균제에 대한 감시가 필요하겠다.

참 고 문 헌

- Graham DY. *Helicobacter pylori* infection in the pathogenesis of duodenal ulcer and gastric cancer: a model. Gastroenterology 1997;113:1983-91.
- National Institutes of Health Consensus Conference. *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. NIH Consensus Delevopment Panel on Helicobacter pylori in Peptic Ulcer Disease. JAMA 1994;272:65-9.
- Blaser MJ. Ecology of *Helicobacter pylori* in the human stomach. J Clin Invest 1997;100:759-62.
- Megraud F. Epidemiology and mechanism of antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*. Gastroenterology 1998;115:1278-82.
- Bardhan K, Bayerdorffer E, Vendhuyzen van Zanten SJ, Lind T, Megraud F, Delchier JC, et al. The HOMER study: the effect of increasing the dose of metronidazole when given with omeprazole and amoxicillin to cure *Helicobacter pylori* infection. Helicobacter 2000;5:196-201.
- Fallone CA, Loo V, Joseph L, Barkun J, Kostyk R, Barkun AN. Predictors of failure of *Helicobacter pylori* eradication and predictors of ulcer recurrence: a randomized controlled trial. Clin Invest Med 1999;22:185-94.
- Heep M, Kist M, Strobel S, Beck D, Lehn N. Secondary resistance among 554 isolates of *Helicobacter pylori* after failure of therapy. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2000;19:538-41.
- Hunt RH, Smaill FM, Fallone CA, Sherman PM, Veldhuyzen van Zanten SJ, Thomson AB. Implications of antibiotic resistance in the management of *Helicobacter pylori* infection. Can J Gastroenterol 2000;14:862-8.
- Perri F, Villani MR, Festa V, Quitadamo M, Andriulli A. Predictors of failure of *Helicobacter pylori* eradication with the standard 'Maastricht triple therapy'. Aliment Pharmacol Ther 2001;15:1023-9.
- Kato M, Yamaoka Y, Kim JJ, Reddy R, Asaka M, Kashima K, et al. Regional differences in metronidazole resistance and increasing clarithromycin resistance among *Helicobacter pylori* isolates from Japan. Antimicrob Agents chemother 2000;44:2214-6.
- Debets-Ossenkopp YJ, Herscheid AJ, Pot RG, Kuipers EJ, Kusters JG, Vandenbroucke-Grauls CM. Prevalence of *Helicobacter pylori* resistance to metronidazole, clarithromycin, amoxycillin, tetracycline and trovafloxacin in the Netherlands. J Antimicrob Chemother 1999;43:511-5.
- Wolle K, Nilius M, Leodolter A, Muller WA, Malfertheiner P, Konig W. Prevalence of *Helicobacter pylori* resistance to several antimicrobial agents in a region of Germany. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1998;17:519-21.
- Glupczynski Y, Megraud F, Lopez-Brea M, Andersen LP. European multicentre survey of in vitro antimicrobial resistance in *Helicobacter pylori*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2001;20:820-3.
- Kim JM, Kim JS, Jung HC, Kim N, Song IS. Antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* isolated from Korea patients in 2003. Korean J Gastroenterol 2004;44:126-35.
- Lee DH. Current status and treatment of *Helicobacter pylori* infection in Korea. Korean J Gastroenterol 2002;39:153-60.
- Eun CS, Han DS, Park JY, Jeon YC, Hahm JS, Kim KS, et al. Changing pattern of antimicrobial resistance of *Helicobacter pylori* in Korean patients with peptic ulcer disease. J Gastroenterol 2003;38:436-441.
- Kim KS, Kang JO, Han DS, Chin SJ, Choi TY. Association between mutation of rdxA gene and metronidazole resistance in *Helicobacter pylori* isolates from Korea. Korean J Clin Microbiol 2004;7:77-83.
- Kim JJ, Reddy R, Lee M, Kim JG, El-Zaatari FA, Osato MS, et al. Analysis of metronidazole, clarithromycin, and tetracycline resistance of *Helicobacter pylori* isolates from Korea. J Antimicrob Chemother 2001;47:459-61.
- Megraud F, Lehn N, Lind T, Bayerdorffer E, O'Morain C, Spiller R, et al. Antimicrobial susceptibility testing of *Helicobacter pylori* in a large multicenter trial: the MACH 2 study. Antimicrob Agents Chemother 1999;43:2747-52.
- Yoo HM, Lee YC, Park HJ, Kim WH, Lee K, Park IS. Clinical characteristics of patients with failed eradication of *Helicobacter pylori* and antibiotic resistance. Korean J Gastroenterol 1999;33:311-20.
- Graham DY, de Boer WA, Tytgat GN. Choosing the best anti-*Helicobacter pylori* therapy: effect of antimicrobial resistance. Am J Gastroenterol 1996;91:1072-6.

The Prevalence of Antimicrobial Resistance in *Helicobacter pylori* Isolated in Daejeon

Jongwook Lee^{1*}, Sun Moon Kim², Euyi Hyeog Im², Young Woo Choi²,
Yoon Mee Kim³, Pum Soo Kim⁴, and Jae Hag Lee⁵

*Departments of Laboratory medicine¹, Internal Medicine², and Pathology³, Keonyang University Hospital, Daejeon;
Department of Internal Medicine⁴, Inha University Hospital, Incheon; Department of Food and Nutrition⁵, Seoil College,
Seoul, Korea*

Background: The most commonly used regimen for the eradication of *Helicobacter pylori* is combination of a proton pump inhibitor, clarithromycin, and two other antibiotics, metronidazole and amoxicillin. The increase in resistance to antibiotics seems to result in a decrease in eradication efficacy for *H. pylori*. We investigated the prevalence of antibiotic resistance in *H. pylori* isolated in Daejeon area.

Methods: A total of 31 clinical isolates of *H. pylori* were collected from the patients who underwent upper gastrointestinal endoscopy in Keonyang University Hospital during the period from March to July 2004. Antibiotic susceptibility tests for metronidazole, amoxicillin, and clarithromycin were performed by the E test (AB Biodisk, Sweden) on an egg yolk medium containing triphenyltetrazolium. The resistance break points for amoxicillin, metronidazole, and clarithromycin were defined as 0.5 µg/mL, 8 µg/mL, 1 µg/mL, respectively.

Results: Resistance to amoxicillin, metronidazole, and clarithromycin was detected in 7.4% (2/27), 25.8% (8/31), 3.6% (1/28), respectively.

Conclusion: The resistance to amoxicillin and clarithromycin was uncommon in Daejeon area.
(*Korean J Clin Microbiol* 2005;8(1):47-50)

Keywords: *Helicobacter pylori*, Antimicrobial resistance, Amoxicillin, Metronidazole, Clarithromycin

Address reprint requests to : Jongwook Lee, M.D., Department of Laboratory Medicine, Keonyang University Hospital 685 Gasuwon-Dong,
Seo-Gu, Daejeon, 302-241, Korea.
Tel. 82-42-600-9273 Fax. 82-42-544-9501 E-mail: lee4@kyuh.co.kr