

Vitek System과 디스크확산법을 이용한 *Enterobacteriaceae*에 대한 Piperacillin-Tazobactam과 Methicillin 내성 황색포도구균에 대한 Trimethoprim-Sulfamethoxazole 감수성시험의 평가

송원근*, 이태재, 김택경, 김한성, 김재석, 박민정, 이규만

한림대학교 의과대학 진단검사의학교실

배 경 : Vitek system을 이용한 *Enterobacteriaceae*에 대한 piperacillin-tazobactam (TZP)과 methicillin 내성 황색포도구균(MRSA)에 대한 trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT) 감수성 시험의 정확성을 액체배지 미량 회석법을 표준방법으로 하여 디스크확산법과 함께 평가하고자 하였다.

방 법 : 96주의 *Enterobacteriaceae* (48 *Escherichia coli*, 26 *Klebsiella pneumoniae*, 8 *Serratia marcescens*, 6 *Enterobacter cloacae*, 2 *E. aerogenes*, 2 *K. oxytoca*, 2 *Citrobacter freundii*, 2 *Pantoea agglomerans*)와 61주의 MRSA를 대상으로 각각 TZP와 SXT에 대하여 Vitek system과 디스크확산법으로 감수성시험을 하였고 National Committee for Clinical Laboratory Standards의 액체배지 미량회석법을 표준검사로 시험하였다.

결 과 : *Enterobacteriaceae*에 대한 TZP 감수성시험 결과 Vitek은 10주(10%)가 minor error이었고 디스크 확산법은 한주(1%)가 very major error, 13주(14%)가 minor error이었다. MRSA에 대한 SXT 감수성시험의 범주 일치율(categorical agreement)은 Vitek과 디스크확산법 모두 100%이었다. MIC의 회석배수를 기준으로 Vitek의 결과를 액체배지 미량회석법과 비교하였을 때, 회석배수 일치율(± 1 배 회석배수 이하)은 *Enterobacteriaceae*에 대한 TZP 감수성시험에서는 93%이었고, MRSA에 대한 SXT 감수성시험에서는 98%이었다.

결 론 : Vitek system과 디스크확산법의 *Enterobacteriaceae*에 대한 TZP와 MRSA에 대한 SXT의 감수성 시험 결과는 비교적 정확하였다.

서 론

Vitek system (bioMerieux, Hazelwood, MO, USA)이나 MicroScan WalkAway System (Dade International, Inc., West Sacramento, CA, USA) 등과 같은 자동화된 항균제 감수성시험 장비들이 개발되고 이 장비들에 대한 감수성 시험의 유용성을 평가하는 많은 연구들이 보고되고 있다. Piperacillin은 그람음성세균의 Bush group 1 염색체성 β -lactamase 뿐만 아니라 플라스미드성 β -lactamase에 의해 가수분해된다[1]. Tazobactam은 *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris*, *Morganella mor-*

ganii, *Providencia stuartii*, *Citrobacter koseri*에서 생성되는 대부분의 β -lactamase들을 억제시키나 탈억제(derepressed) AmpC β -lactamase를 생성하는 *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *C. freundii*, *Pseudomonas aeruginosa*는 억제시키지 못한다[2]. Piperacillin-tazobactam (TZP)은 TEM-1, TEM-2 및 SHV-1은 물론 일부 Extended-spectrum β -lactamase 효소를 생성하는 *enterobacteriaceae*에 대해서도 시험관 내 항균력이 있다[2, 3]. 감수성시험 자동화기를 이용한 *Enterobacteriaceae*에 대한 TZP 감수성시험을 평가한 연구는 매우 드물다. Trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT)은 methicillin 내성 황색포도구균(Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)을 포함한 대부분의 황색포도구균에 항균력이 있다[4]. 따라서 SXT는 MRSA 감염의 1차약제로 많이 이용되며 저렴하고 경구 및 단독 치료가 가능하고 부작용이 거의 없는 치료제이므로 이에 대한 감수성시험을 정확히 시행하는 것이 중요하다. 그러나 자동화 장비를 이용한 포도구균에 대한 SXT 감수

접 수 일: 05/7/12 게재승인일: 05/9/13

교신저자: 송원근

(150-950) 서울시 영등포구 대림1동 948-1

한림대학교 강남성심병원 진단검사의학과

TEL: (02)829-5259 FAX: (02)847-2403

E-mail: swonkeun@hallym.or.kr

성시험을 평가한 연구 역시 다른 항균제들에 비해 매우 드물다. 특히 한국에서 많이 사용하는 항균제들로 구성된 한국형 카드인 Vitek GNS 433과 GPS 444카드에 대한 평가는 거의 없었다. 이에 저자들은 Vitek system을 이용한 *Enterobacteriaceae*에 대한 TZP와 MRSA에 대한 SXT 감수성 시험의 정확성을 액체배지 미량희석법을 표준방법으로 하여 디스크확산법과 함께 평가하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상균주

Vitek system으로 항균제감수성시험을 시행한 96주의 *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, 48주; *Klebsiella pneumoniae*, 26주; *Serratia marcescens*, 8주; *Enterobacter cloacae*, 6주; *K. oxytoca*, 2주; *E. aerogenes*, 2주; *Citrobacter freundii*, 2주; *Pantoea agglomerans*, 2주)와 61주의 MRSA를 대상으로 디스크확산법과 액체배지 미량희석법을 시험하였다. Vitek에서 oxacillin 내성을 보인 *Staphylococcus aureus*를 MRSA로 판독하였고 SXT 감수성인 10주와 내성인 51주를 대상으로 하였다. 전통적인 생화학시험이나 Vitek system으로 균종을 동정하였다.

2. 항균제감수성시험

Vitek system을 이용한 감수성시험은 사용설명서에 따라 *Enterobacteriaceae*와 MRSA에 대하여 각각 GNS 433과 GPS 444 카드를 이용하여 실시하였다. 디스크확산법은 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)의 기준[5]에 따라 TZP (100/10 µg, BBL, Cockey-

sville, MD, USA)와 SXT (1.25/23.75 µg, BBL) 디스크를 이용하여 하룻밤 배양한 후 판독하였다. 액체배지 미량희석법은 piperacillin (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), tazobactam (Sigma), trimethoprim (Sigma), sulfamethoxazole (Sigma)을 이용하여 NCCLS의 기준[6]에 따라 실시하여 하룻밤 배양 후 TZP와 SXT의 최소억제농도 (minimal inhibitory concentration, MIC)를 측정하였다. Vitek이나 디스크확산법의 결과가 액체배지 미량희석법과 비교하여 minor error 이상의 오차를 보인 균주는 다시 한번 3가지 감수성시험을 동시에 실시하여 나온 결과를 분석에 이용하였다. 오차의 기준은 다음과 같이 정하였다. 표준시험인 액체배지 미량희석법이 내성이고 Vitek (또는 디스크확산법)은 감수성일 때를 very major error (VME); 액체배지 미량희석법이 감수성이고 Vitek (또는 디스크확산법)은 내성일 때를 major error (MAE); 액체배지 미량희석법이 중간이고 Vitek (또는 디스크확산법)은 내성이나 감수성일 때 또는 액체배지 미량희석법이 감수성이나 내성이고 Vitek (또는 디스크확산법)은 중간일 때를 minor error (MIE)로 정하였다.

결과 및 고찰

감수성시험 결과를 감수성, 중간 및 내성으로 구분한 범주 일치율(categorical agreement)은 96주의 *Enterobacteriaceae*에 대한 TZP 감수성시험 결과 Vitek과 디스크확산법이 각각 90%와 85%이었다. 일치하지 않은 것 중 Vitek은 10주(10%) 모두 MIE이었고 디스크확산법은 한주(1%)가 VME, 나머지는 13주(14%) 모두 MIE이었다(Table 1). VME를 보인 한주는 재검에서도 같은 결과를 보였으며 이러한 오차의 원인은 알 수 없었다. MIC의 희석배수를

Table 1. Comparison of piperacillin-tazobactam and trimethoprim-sulfamethoxazole susceptibility test results obtained by the Vitek system and the disk diffusion method with the broth microdilution reference method

Antimicrobial agent	Organism (N)	No. tests yielding the following discrepancy							
		Same		Minor*		Major†		Very major‡	
		Vitek	Disk	Vitek	Disk	Vitek	Disk	Vitek	Disk
Piperacillin-tazobactam	<i>Escherichia coli</i> (48)	44	44	4	3	0	0	0	1
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (26)	21	20	5	6	0	0	0	0
	Other <i>Enterobacteriaceae</i> (22)	21	18	1	4	0	0	0	0
	Total (96)	86	82	10	13	0	0	0	1
Trimethoprim-sulfamethoxazole	Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (61)	61	61	0	0	0	0	0	0

* Minor error: Susceptible or resistant with the Vitek (or disk diffusion) and intermediate by the reference test or intermediate with the Vitek or disk diffusion and susceptible or resistant by the reference test.

† Major error: Resistant with the Vitek (or disk diffusion) and susceptible by the reference test.

‡ Very major error: Susceptible with the Vitek (or disk diffusion) and resistant by the reference test.

Other *Enterobacteriaceae*: *Serratia marcescens*, 8; *Enterobacter cloacae*, 6; *E. aerogenes*, 2; *Klebsiella oxytoca*, 2; *Citrobacter freundii*, 2; *Pantoea agglomerans*, 2.

Table 2. Comparison of piperacillin-tazobactam MIC results obtained with the Vitek system versus broth microdilution test with 96 *Enterobacteriaceae* isolates

Broth microdilution ($\mu\text{g/mL}$)	No. of isolates yielding the following MIC ($\mu\text{g/mL}$) value with the Vitek system				
	$\leq 8/4$	16/4	32/4	64/4	$\geq 128/4$
$\leq 8/4$	48	3	1		
16/4	1	2	3		
32/4	4		1	5	
64/4	1		5	1	
$\geq 128/4$			1	1	19

Table 3. Comparison of trimethoprim-sulfamethoxazole MIC results obtained with the Vitek system versus broth microdilution test with 61 methicillin-resistant *S. aureus* isolates

Broth microdilution ($\mu\text{g/mL}$)	No. of isolates which yields the following MIC ($\mu\text{g/mL}$) value with the Vitek system					
	$\leq 0.5/9.5$	1/19	2/38	4/76	8/152	$\geq 16/304$
$\leq 0.5/9.5$	9					
1/19						
2/38	1					
4/76						
8/152					1	
$\geq 16/304$					33	17

기준으로 Vitek의 결과를 액체배지 미량희석법과 비교하였을 때, 2배 희석배수 이상의 차이를 보인 경우가 *Enterobacteriaceae*에 대한 TZP 감수성시험에서는 7주(7%; 6주, 2배 희석배수 오차; 1주, 3배 희석배수 오차)이었다 (Table 2). Ling 등[7]은 228주의 그람음성세균을 대상으로 Vitek 2 system의 TZP 감수성시험의 정확성을 평가하였는데 MIC가 1배 희석배수 이내로 일치한 경우가 193건(84.7%)이었고 MIE, MAE 및 VME가 각각 2, 1 및 3건으로 보고하여 이번 연구에서 나타난 Vitek과 디스크확산법의 결과 보다 범주 일치율은 다소 높았고 Vitek의 MIC 희석배수 일치율은 유사하였다.

61주의 MRSA에 대한 SXT 감수성시험의 Vitek과 디스크확산법에 대한 범주 일치율은 두 방법 모두 100%이었고 (Table 1), MIC 희석배수 기준으로는 1주(2%)만이 2배 희석배수의 오차를 보였다 (Table 3). 이는 318주의 *Staphylococcus spp.*에 대한 Vitek 2 system의 SXT 감수성시험 결과 MIE와 MAE는 없었고 VME만 3건(0.9%)이 있었다는 보고[8]에 비해 높은 범주 일치율을 보였다.

결론적으로 *Enterobacteriaceae*에 대한 TZP와 MRSA에 대한 SXT 감수성시험에 있어서 한국형 카드를 이용한 Vitek system과 디스크확산법이 모두 유용함을 알 수 있었다.

참 고 문 헌

1. Baron EJ and Jones RN. National survey of the in vitro

spectrum of piperacillin-tazobactam tested against more than 40,000 aerobic clinical isolates from 236 medical centres. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1995;21:141-51.

- Livermore DM. β -Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995;8:557-84.
- Kuck NA, Jacobus NV, Petersen PJ, Weiss WJ, Testa RT. Comparative in vitro and in vivo activities of piperacillin combined with the β -lactamase inhibitors tazobactam, clavulanic acid, and sulbactam. *Antimicrob Agents Chemother* 1989;33:1964-9.
- Markowitz N, Quinn EL, Saravolatz LD. Trimethoprim-sulfamethoxazole compared with vancomycin for treatment of *Staphylococcus aureus* infection. *Ann Intern Med* 1992;117:390-8.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing. 8th informational supplement, Approved standards M2-A7. Wayne, PA; National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2003.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 5th ed, Approved standards M7-A6, Wayne, PA; National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2003.
- Ling TKW, Tam PC, Liu ZK, Cheng AFB. Evaluation of VITEK 2 rapid identification and susceptibility testing

system against gram-negative clinical isolates. J Clin Microbiol 2001;39:2964-6.

8. Nonhoff C, Rottiers S, Struelens MJ. Evaluation of the

Vitek 2 system for identification and antimicrobial susceptibility testing of *Staphylococcus* spp. Clin Microbiol Infect 2005;11:150-3

Evaluation of Vitek and Disk Diffusion Susceptibility Testing of *Enterobacteriaceae* against Piperacillin-Tazobactam and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* against Trimethoprim-Sulfamethoxazole

Wonkeun Song*, Tae Jae Lee, Taek-Kyung Kim, Han-Sung Kim,
Jae-Seok Kim, Min-Jeong Park, and Kyu Man Lee

Department of Laboratory Medicine, Hallym University College of Medicine, Seoul, Korea

Background: The aim of this study was to evaluate the Vitek system and the disk diffusion method for susceptibility testing of *Enterobacteriaceae* against piperacillin-tazobactam (TZP) and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) against trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT) using the broth microdilution method as the reference.

Methods: Using the Vitek system and the disk diffusion method, we tested 96 isolates of *Enterobacteriaceae* (48 *Escherichia coli*, 26 *Klebsiella pneumoniae*, 8 *Serratia marcescens*, 6 *Enterobacter cloacae*, 2 *E. aerogenes*, 2 *K. oxytoca*, 2 *Citrobacter freundii*, 2 *Pantoea agglomerans*) and 61 isolates of MRSA for susceptibility against TZP and SXT, respectively; the broth microdilution of National Committee for Clinical Laboratory Standards was used as the reference method.

Results: In the susceptibility testing of *Enterobacteriaceae* against TZP, Vitek system yielded 10 (10%) minor errors, and the disk diffusion method one (1%) very major and 13 (14%) minor errors. For the MRSA against SXT, the rate of categorical agreement between the reference method and the Vitek or the disk diffusion method was both 100%. The rates of agreement between the reference method and the Vitek system in term of MICs (within ± 1 dilution) were 93% and 98% in the susceptibility testing of *Enterobacteriaceae* against TZP and MRSA against SXT, respectively.

Conclusion: Both Vitek system and disk diffusion method showed an acceptable level of accuracy for the susceptibility test of *Enterobacteriaceae* against TZP and MRSA against SXT.

(*Korean J Clin Microbiol* 2005;8(2):160-164)

Keywords: *Enterobacteriaceae*, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Piperacillin-tazobactam, Trimethoprim-sulfamethoxazole, Vitek, Disk diffusion

Address reprint requests to : Wonkeun Song, M.D., Department of Laboratory Medicine, Hallym University College of Medicine, Kangnam Sacred Heart Hospital, 948-1 Daelim-dong, Youngdeungpo-gu, Seoul 150-950, Korea.
Tel. +82-2-829-5259 Fax. +82-2-847-2403 E-mail: swonkeun@hallym.or.kr