

Fluconazole, amphotericin B 및 5-fluorocytosine의 *Candida albicans* 및 *Cryptococcus neoformans* 분리주에 대한 항균력

연세대학교 의과대학 임상병리학교실

정 윤 섭 · 이 삼 열

= Abstract =

Activities of fluconazole, amphotericin B and 5-fluorocytosine against *Candida albicans* and *Cryptococcus neoformans* isolates

Yunsop Chong, Ph. D. and Samuel Y. Lee, M.D.

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

Serious *Candida albicans* infection is now well recognized problem among the compromised patients. *Cryptococcus neoformans* meningitis, a rare disease previously, became more frequently encountered. For the treatment of fungal infections not many agents were available. In this study, activities of fluconazole, amphotericin B and 5-fluorocytosine against clinical isolates of *C. albicans* and *C. neoformans* were tested by the agar dilution test using high resolution medium. Against *C. albicans*, the MIC range of fluconazole was 0.4-12.5 µg/ml. MIC₅₀ and MIC₉₀ were 1.6 µg/ml and 3.1 µg/ml, respectively. The MIC range of amphotericin B was 0.2-0.8 µg/ml. MIC range of 5-fluorocytosine was 0.4->100 µg/ml and MIC₅₀ and MIC₉₀ were 1.6 and >100 µg/ml, respectively. Against *C. neoformans*, MIC range of fluconazole was 3.1-50 µg/ml. Both MIC₅₀ and MIC₉₀ were 50 µg/ml. Growth of all isolates were inhibited by 0.4 µg/ml of amphotericin B. MIC range of 5-fluorocytosine was 25->100 µg/ml and both MIC₅₀ and MIC₉₀ were 50 µg/ml. Although in vitro test results of fluconazole seldom predicts in vivo efficacy, by comparing our in vitro data to those of others, who did both in vitro test and clinical trials, it was concluded that fluconazole could be effectively used for the treatment of most of the *C. albicans* and *C. neoformans* infections in Korea.

서론

*C. albicans*는 인체의 점막에서 관찰되는 상재균이다^{1,2)}. 이 진균의 감염은 과거에도 드물지 않았다. 그러나 근년에는 기존질환을 가진 환자들의 *C. albicans* 감염이 증가되어 중요한 문제로 대두되었다^{3,4)}. *C. neoformans*는 자연계에서 관찰되며 사람의 상재균이 아니다. 이 진균의 감염은 흔하지 않지만 수막염 등 중한 감염을 일으키며, 후천성 면역결핍증(acquired immune deficiency syndrome) 환자는 흔히 이 진균감염을 일으

킴이 알려지게 되었다⁵⁾.

진균감염증 치료에 쓸수 있는 항진균제는 많지 않았다⁶⁻⁸⁾. Amphotericin B는 항진균력이 강하지만, 부작용이 문제이다. Triazole 화합물인 fluconazole은 근래 개발된 항진균제로 *C. albicans*와 *C. neoformans* 감염의 치료에 유효함이 보고되었다^{9,10)}.

Fluconazole의 시험관내 항균력 시험 성적은 시험조건에 따라서 달라지지만 high resolution medium를 쓰면 비교적 정확한 결과를 얻을 수 있다고 알려져있다¹¹⁾. Fluconazole의 시험관내 항균력과 임상효과와는 일치하지 못함이 알려져 있고 동물시험만이 확실한 결과를

보인다고 하였다. 많은 균주를 써서 동물시험을 하기는 쉽지 않다. Gagliani의 최근 보고¹²⁾에 의하면 시험관내에서 fluconazole에 내성인 균주로 감염시킨 동물은 fluconazole로 잘 치료되지 않는다.

이에 이 연구에서는 한국에서 분리한 균주의 fluconazole 감수성이 외국 균주와 비슷하다면 외국에서의 fluconazole 치료 효과와 비슷한 성적을 얻을 수 있을 것이라는 가정하에 임상검체에서 분리한 *C. albicans* 및 *C. neoformans*를 대상으로 high resolution medium을 써서 감수성을 시험하였다.

재료 및 방법

시험 대상인 *C. albicans*와 *C. neoformans* 균주는 세브란스병원 환자의 각종 검체에서 분리하였다. *C. albicans*는 1990년에 분리하였으며, chlamydospore를 형성하는 성상을 가지고 동정하였다¹³⁾. *C. neoformans*는 지난 수년간에 분리한 것이고 형태와 생화학적 성상을 근거로 동정하였다¹³⁾. 균주들은 시험에 쓰일 때 까지 냉동보존 하였다.

High resolution medium은 Fluconazol bioassay test kit (Pfizer Central Research, Sandwich, UK)를 가지고 만들었다. 가압멸균하여 식힌 high resolution medium에 fluconazole (Pfizer Central Research,

Sandwich, UK), 5-fluorocytosine (Sigma Chemical Co, St. Louis, Mo) 및 amphotericin B (Squibb Inc., Princeton, N. J.)의 용액을 넣어서 원하는 항진균제 농도의 평판을 만들었다.

시험 균주를 Sabourauds dextrose broth (Difco)에 접종하여 37°C에서 하루밤 배양하였다. 이 균액을 식염수를 써서 530 nm의 spectrophotometer에서 90%의 투광도가 되도록 조절하고 이를 다시 1/2로 희석하였다¹⁴⁾.

진균액은 Steers inoculator를 써서 평판배지에 접종하고 28°C에 48시간 배양하였다. 육안으로 관찰하여 진균의 증식을 완전히 억제시킨 항진균제의 최소농도를 최소 억제농도 (minimum inhibitory concentration, MIC)로 하였다.

정도관리를 위해서는 *C. albicans* (Pfizer Y0109)와 *C. pseudotropicalis* (Pfizer Y0601)를 동시에 시험하였다.

결 과

C. albicans 69주와 *C. neoformans* 17주가 시험되었다 (Table 1). *C. albicans*에 대한 fluconazole의 MIC 범위는 0.4-12.5 µg/ml, 50%의 균주를 억제시킨 MIC (MIC₅₀)는 1.6 µg/ml, 90%의 균주를 억제시킨 MIC (MIC₉₀)는 3.1 µg/ml이었다. Amphotericin B의

Table 1. Activities of Fluconazole, Amphotericin B and 5-fluorocytosine Against Clinical Isolates of *C. albicans* and *C. neoformans*

Organism (No. tested)	Antifungal agent	No. and percent of isolates inhibited at (µg/ml) :											
			0.2	0.4	0.8	1.6	3.1	6.3	12.5	25	50	100	> 100
<i>C. albicans</i> (69)	Fluconazole	No.		5	10	27	20	3	4				
		% ^a		7.2	21.7	60.9	89.9	94.2	100				
	Amphotericin B	No.	1	19	49								
		%	1.4	30.0	100								
	5-fluorocytosine	No.		3	30	11	5					1	19
		%		4.3	47.8	63.8	71.0					72.5	100
<i>C. neoformans</i> (17)	Fluconazole	No.					1		2	4	10		
		%					5.9		17.6	41.2	100		
	Amphotericin B	No.		17									
		%		100									
	5-fluorocytosine	No.								2	14		1
		%								11.8	94.1		100

^a Cumulative percent.

MIC 범위는 0.2-0.8 $\mu\text{g/ml}$ 이었다. 5-fluorocytosine의 MIC 범위는 0.4- >100 $\mu\text{g/ml}$, MIC₅₀와 MIC₉₀는 1.6 $\mu\text{g/ml}$ 과 >100 $\mu\text{g/ml}$ 이었다.

*C. neoformans*에 대한 fluconazole의 MIC 범위는 3.1-50 $\mu\text{g/ml}$, MIC₅₀와 MIC₉₀는 다 같이 50 $\mu\text{g/ml}$ 이었다. Amphotericin B의 MIC는 모든 균주에 대해서 0.4 $\mu\text{g/ml}$ 이었다. 5-fluorocytosine의 MIC 범위는 25- >100 $\mu\text{g/ml}$ 이었고, MIC₅₀과 MIC₉₀는 모두 50 $\mu\text{g/ml}$ 이었다.

고 찰

진균감염증의 현저한 증가가 근년에 보고되고 있다¹⁵⁾. 면역저하 환자에서 가장 흔히 분리되는 진균은 *Candida* sp., 특히 *C. albicans*이다⁴⁾. 또한 *C. neoformans* 감염의 증가도 보고되고 있다⁵⁾.

Amphotericin B가 전신 진균증의 치료를 위해서 쓰여왔으나, 항상 유효하지는 않았으며, 또한 비경구적으로 투여할 수 밖에 없고, 또한 부작용이 문제이었다^{9,10)}. 5-fluorocytosine도 *Candida*등 효모양 진균에 대해 항균력이 있고, 척수액으로 이행이 된다. 그러나 5-fluorocytosine에 대해서는 내성인 균주가 보고되어 있다¹⁶⁾.

Fluconazole은 여러 장기로 이행이 되고, 경구로 투여되는 장점이 있다. 또한 이 항균제는 잘 대사되지 않고, 혈청단백질과의 결합율이 낮으며, 수용성인 장점이 있다^{9,10)}. Fluconazole은 *Candida*, *Cryptococcus*, *Aspergillus*, *Blastomyces*, *Coccidioides* 등에 의한 전신성이나 표재성 감염의 치료에 유효함이 보고되었다¹⁷⁾.

진균에 대한 항진균제의 MIC는 시험조건에 따라서 달라짐이 알려져 있다^{18,19)}. 특히 fluconazole의 MIC는 시험조건에 따라서 크게 달라지므로 MIC를 근거로 임상효과를 예측하기는 어렵다고 알려져 있다. 시험관내에서는 fluconazole의 MIC가 ketoconazole의 MIC보다 10-100배가 높지만, 전신성 *Candida*증의 치료에 있어서의 항균력은 30-100배가 됨이 보고 되었다¹¹⁾.

또한 실험적으로 중추신경계나 폐를 *C. neoformans*로 감염시킨 마우스에 있어서도 fluconazole의 항균력은 ketoconazole의 5-20배로 보고되었다²⁰⁾.

우리나라에서 분리되는 *C. albicans*와 *C. neoformans*가 fluconazole에 감수성이 있는지를 보기 위해서

는, 분리된 균주를 동물에 접종하여 시험하는 것이 가장 정확한 성적을 얻을 수 있겠지만¹⁷⁾, 다수의 균주를 대상으로 동물시험을 하기는 어려우므로 부득이 시험관내 시험을 하였다. 시험관내 시험은 high resolution medium을 써서 한천회석법으로 시험하였다. High resolution medium은 다른 배지를 쓸 때 보다 재현성이 높다. 점종균액의 진균수는 hemocytometer로 세어서 그 수를 조정하기도 하지만, 여러 균주의 시험을 위해서는 장시간을 필요로하는 방법이므로, 이 시험에서는 spectrophotometer를 써서 균액의 탁도를 조정하였다¹⁴⁾.

이 연구에서 정도관리 균주에 대한 fluconazole의 MIC는 *C. albicans* (Y0109)에 대해서 1.6-3.1 $\mu\text{g/ml}$ 이고 *C. pseudotropicalis* (Y0106)에 대해서는 0.4 $\mu\text{g/ml}$ 이었다. 이 MIC 치는 각각의 기준치 1.56 $\mu\text{g/ml}$ 및 0.2 $\mu\text{g/ml}$ 보다는 약간 높았다.

이 연구에서 *C. albicans*에 대해 가장 낮은 MIC를 보인 항진균제는 amphotericin B이었다(Table 1). Fluconazole의 MIC는 amphotericin B보다는 높았으나 5-fluorocytosine 보다는 낮았다. MIC 범위는 Rogers 및 Galgani²¹⁾의 보고인 0.067-4.0 $\mu\text{g/ml}$ 보다는 약간 높았으나, Perfect 등²²⁾의 25-100 $\mu\text{g/ml}$ 보다는 낮았다. MIC 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 를 내성 기준으로 한다면 시험된 균주는 대부분이 감수성이라고 하겠으며, 따라서 우리나라에서의 *C. albicans* 감염의 대부분은 fluconazole로 치료가 가능할 것으로 생각된다.

*C. neoformans*에 대해서 가장 낮은 MIC를 보인 것도 amphotericin B 이었다. Fluconazole과 5-fluorocytosine의 MIC₅₀와 MIC₉₀는 모두 50 $\mu\text{g/ml}$ 이었으나 두 항균제의 MIC 범위는 현저한 차이가 있었다. 즉 MIC 범위는 fluconazole이 3.1-50 $\mu\text{g/ml}$ 인 반면에 5-fluorocytosine은 25- >100 $\mu\text{g/ml}$ 이었다. 이 연구에서의 fluconazole의 MIC 범위는 Dupont²³⁾의 성적보다 2배 높았다. Dupont의 실험에서 *C. neoformans* 균주에 대한 fluconazole의 MIC 범위는 *C. albicans* 균주에 대한치 0.36-0.78 $\mu\text{g/ml}$ 보다는 현저히 높은 것이었음에도 불구하고 *C. neoformans* 감염치료에 유효하였다. 따라서 우리나라 *C. neoformans* 감염의 대부분은 fluconazole로 치료가 가능할 것으로 생각된다. Robinson 등²⁴⁾은 종종 *C. neoformans* 감염 치료에 fluconazole이 유효함을 보고 하였다. 즉, 치료대상이 된 151명의 *C. neoformans* 감염환자중 85%는 human

immunodeficiency virus 감염 환자이었다.

결론

이 연구에서 *C. albicans*는 fluconazole의 낮은 농도에 의해 증식이 억제되었다. *C. neoformans*는 비교적 높은 농도에 의해서 증식이 억제되었지만 다른 연구자의 성적과 크게 다르지 않음을 고려할 때, 우리나라에서의 *C. albicans*나 *C. neoformans* 감염치료에 fluconazole은 유효할 것이라는 결론을 얻었다.

REFERENCES

- 張世洪, 薛盛用, 趙東澤, 全燕基: 口腔內 *Candida*의 분포 및 抗真菌劑에 對한 感受性. 대한화학요법학회지 3:45, 1985
- 고춘명, 박진환: 임상검사에서 분리한 *Candida* sp.의 항진균제 ketoconazole, 5-fluorocytosine 및 amphotericin B의 단독 혹은 복합처리에 의한 항진균력에 대한 연구. 대한미생물학회지 21:63, 1986
- Bodey G (ed): *Candidiasis: A growing concern*. Am J Med 77:1, 1984
- Meunier F: *Candidiasis*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 8:438, 1989
- Patterson TF, Andriole VT: *Current concepts in cryptococcosis*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 8:457, 1989
- 鄭在奎: *Candida albicans*에 對한 miconazole nitrate, nystatin 및 rifampin의 單獨 및 併合 抗菌作用에 關하여. 대한화학요법학회지 1:68, 1983
- 곽창훈, 양인섭, 전장원, 김재원, 김중환: 칸디다증에 대한 ketoconazole의 치료효과. 대한화학요법학회지 3:166, 1985
- 고춘명, 김수기: *Candida albicans*의 ketoconazole, miconazole 및 rifampicin 복합처리에 의한 항진균력 검사. 대한미생물학회지 23:535, 1988
- Frompting RA: *Overview of medically important antifungal azole derivatives*. Clin Microbiol Rev 1:187, 1988
- Graybill JR: *New antifungal agents*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 8:402, 1989
- Troke PF, Marriot MS, Richardson K, Tarbit MH: *In vitro potency and in vivo activity of azoles*. N Y Acad Sci 544:284, 1988
- Galgiani JN: *Susceptibility of C. albicans and other yeasts to fluconazole: relation between in vitro and in vivo studies*. Rev Infect Dis 12:S272, 1990
- Cooper BH, Silva-Hutner M: *Yeasts of medical importance*. in *Manual of clinical microbiology*. 4th ed, edited by Lennette EH, Balow A, Housler WJ Jr, Shadomy HJ. Am Soc Microbiol, Washington, DC, 1985, p 526
- McGinnis MR, Rinaldi MG: *Antifungal drugs: Mechanism of action, drug resistance, susceptibility testing, and assays of activity in biological fluids*. in *Antibiotics in laboratory medicine*. edited by Lorian V. Williams & Wilkins, Baltimore, 1986, p 223
- Fraser DW, Ward JI, Ajellow L, Plikaytis BD: *Aspergillosis and other systemic mycosis—the growing problem*. J Am Med Assoc 242:1631, 1979
- Stiller RL, Bennett J, Scholer H, Wall M, Polar A, Stevens DA: *Susceptibility of 5-fluorocytosine and prevalence of serotype in 402 Candida albicans isolates in the United States*. Antimicrob Agents Chemother 22:482, 1982
- Saag MS, Dismukes WE: *Azole antifungal agents: Emphasis on new triazoles*. Antimicrob Agent Chemother 32:1, 1988
- 고춘명, 김수기: *Candida albicans*의 시험관회석법에 의한 항진균력 검사시 배지가 항진균력에 미치는 영향. 대한미생물학회지 22:301, 1987
- 정복숙, 김희선, 김성광: 질강에서 분리한 *Candida* species의 항진균제에 대한 감수성. 대한미생물학회지 24:523, 1989
- Troke PF, Andrew RJ, Marriot MS, Richardson K: *Efficacy of fluconazole (UK-49,858) against experimental aspergillosis and cryptococcosis in mice*. J Antimicrob Chemother 19:633, 1987
- Rogers TE, Galgiani JN: *Activity of fluconazole (UK 49,858) and ketoconazole against Candida albicans in vitro and in vivo*. Antimicrob Agents Chemother 30:418, 1986
- Perfect JR, Savani DV, Durack DT: *Comparison of itraconazole and fluconazole in treatment of cryptococcal meningitis and candida pyelonephritis in rabbits*. Antimicrob Agents Chemother 29:579, 1986
- Dupont B: *Fluconazole: a new therapeutic alternative in the treatment of cryptococcal meningitis*. in *Fungal infections in AIDS and immunodeficient patients*. Pfizer Publication Flu-87-11-03-187 sp, Pfizer Intern Ltd, New York, 1988, p 12
- Robinson PA, Knirsch AK., Joseph JA: *Fluconazole for life-threatening fungal infections in patients who cannot be treated with conventional antifungal agents*. Rev Infect Dis 12:S349, 1990