

Tc-99m Infecton과 Ciprofloxacin의 생체외 항균력 비교

전남대학교 의과대학 핵의학교실,¹ 임상병리학교실² 전남대학교 의과학연구소³

김성민¹ · 범희승^{1,3} · 송호천¹ · 정환정¹ · 김지열^{1,3} · 신종희^{2,3}

Comparison of *in vitro* Antimicrobial Activities of Tc-99m Infecton and Ciprofloxacin

Sung-Min Kim, M.D.,¹ Hee-Seung Bom, M.D.,^{1,3} Ho-Chun Song, M.D.,¹

Hwan-Jeong Jeong, M.D.,¹ Ji-Yeul Kim, Ph.D.,^{1,3} and Jong-Hee Shin, M.D.^{2,3}

Departments of Nuclear Medicine¹ and Clinical Pathology² Chonnam National University Medical School
Chonnam National University Research Institute of Medical Sciences³ Kwangju, Korea

Abstract

Purpose: There was little evidence that Tc-99m labeled ciprofloxacin (Infecton) located inside of bacteria. Antimicrobial activity of Infecton could be an indirect evidence of its location. We compared *in vitro* antimicrobial activities of Infecton and ciprofloxacin. **Materials and methods:** Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of Infecton and ciprofloxacin against three standard strains of bacteria, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 were measured using modified broth macrodilution techniques and pour plate methods, respectively. Data were expressed as mean \pm SE (range). **Results:** MICs of Infecton and ciprofloxacin were 1.12 ± 0.20 (0.8~1.6) $\mu\text{g}/\text{ml}$ and 0.36 ± 0.04 (0.2~0.4) $\mu\text{g}/\text{ml}$ for *S. aureus*, 0.03 ± 0.005 (0.025~0.05) $\mu\text{g}/\text{ml}$ and 0.011 ± 0.001 (0.006~0.012) $\mu\text{g}/\text{ml}$ for *E. coli*, and 0.96 ± 0.16 (0.8~1.6) $\mu\text{g}/\text{ml}$ and 0.56 ± 0.098 (0.4~0.8) $\mu\text{g}/\text{ml}$ for *P. aeruginosa*, respectively. MBCs of Infecton and ciprofloxacin were 2.56 ± 0.39 (1.6~3.2) $\mu\text{g}/\text{ml}$ and 0.88 ± 0.2 (0.4~1.6) $\mu\text{g}/\text{ml}$ for *S. aureus*, 0.04 ± 0.06 (0.025~0.05) $\mu\text{g}/\text{ml}$ and 0.02 ± 0.01 (0.025~0.05) $\mu\text{g}/\text{ml}$ for *E. coli*, and 2.24 ± 0.39 (1.6~3.2) $\mu\text{g}/\text{ml}$ and 1.44 ± 0.16 (0.8~1.6) $\mu\text{g}/\text{ml}$ for *P. aeruginosa*, respectively. **Conclusion:** Although both MICs and MBCs of Infecton were higher than those of ciprofloxacin, all three standard bacterial strains were sensitive to Infecton. It could be an indirect evidence that Tc-99m Infecton be a specific imaging agent for bacterial infection. (Korean J Nucl Med 2001;35:75-80)

Key Words: Key Words: Tc-99m Infecton, Ciprofloxacin, Antimicrobial activity, Infection

서 론

발열 등 감염증상을 보이는 환자에서 감염병소를 찾아야 근본적인 치료가 가능하므로 병소를 찾기 위해 X-ray나 초음파검사 또는 CT, MRI 등 해부학적 영상검사를 주로 시행하지만, 이 검사법들은 농양을 형성하기 전에는 진단율이 낮을 뿐 아니라

Received Jan. 19, 2001; revision accepted Feb. 14, 2001
Corresponding Author: Hee-Seung Bom, M.D.,
Department of Nuclear Medicine, Chonnam University
Hospital, 8 Hakdong, Kwangju 501-757, Korea
Tel: (062) 220-5641, Fax: (062) 232-0232,
E-mail: hsbom@chonnam.ac.kr

전신을 검사하기 힘들기 때문에 선별검사로 이용하는데 제한점이 있다. 감염병소를 보다 특이적으로 찾아낼 수 있는 검사법으로 백혈구에 In-111이나 Tc-99m hexamethyl prophylyene amine oxime (HMPAO)를 표지하여 촬영하는 방법이 널리 이용되고 있는데, 이 방법은 혈관의 삼출(diapedesis)과 화학주성(chemotaxis)에 의해 호중성구가 염증병소로 이동함을 이용하였다.¹⁾ 이런 백혈구 스캔은 염증병소를 찾는다는 매우 민감하여 널리 사용되지만, 감염성 염증과 비감염성 염종의 구별이 불가능하고 만성염증에서 위음성율이 높은 단점이 있다.²⁾ 그 외에도 radiolabeled antibody,³⁾ chemotactic peptides,⁴⁾ nanocolloid,⁵⁾ liposomes,⁶⁾ 그리고 streptavidin-biotin⁷⁾ 등을 이용한 여러 실험적인 검사법이 연구되고 있으나 이들 대부분의 검사가 감염 특이적이지 않았다.

Solanki 등⁸⁾은 광범위 항생제인 ciprofloxacin을 Tc-99m으로 표지하여 감염병소를 영상화하는 검사법을 소개하고 Tc-99m Infecton 스캔이라고 명명하였는데, ciprofloxacin은 4-fluoroquinolone 계의 광범위 항생제로 균 내의 DNA gyrase를 억제하며, 살아있는 균에 섭취되어 살아있는 균의 존재를 영상화하므로 특이도가 높은 검사법이라고 예측할 수 있으며 몇몇 연구에서도 진단율이 높다고 보고된 바 있다.^{9,10,11)} 또한, 최근에는 Tc-99m Infecton 스캔이 임상적으로 다양한 위치의 감염병소 진단 즉, 골반염증성 질환,¹²⁾ 척추부위의 골수염 진단^{13,14)} 등에 유용하게 사용되고 있다. 그러나 Tc-99m Infecton은 치료제로 쓰이는 ciprofloxacin과는 항균력에 차이가 있으리라고 추측할 수 있지만 아직 보고된 바 없다. 본 연구에서는 표준균주에서 Infecton의 항균력을 ciprofloxacin과 비교·분석하였다.

대상 및 방법

1. 공시균

표준 균주 3종(*Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 및 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853)을 이용하

였다. Brain-Heart Infusion (BHI) 사면배지에 저장 하였던 각 균주는 실험 전날 BHI 평판배지에서 균을 증식시킨 후 감수성검사 실험 직전에 생리식염수를 이용하여 MacFerland 탁도를 0.5 (균수: 5×10^8 CFU/ml)로 맞추어 균액을 준비하고, 이 균액을 생리식염수와 cation-adjusted Mueller Hinton broth (CAMHB)를 이용하여 2,000배 ($1 \sim 2 \times 10^5$ CFU/ml)로 희석해 사용하였다.

2. Infecton과 ciprofloxacin

병원에서 치료용으로 일반적으로 사용하는 광범위 퀴놀론계 ciprofloxacin (사이신[®], ciprofloxacin 100 mg/50 ml, 일동제약)과 Infecton을 이용하였다. Ciprofloxacin과 Infecton은 각각 125 µg/ml에서부터 0.0078 µg/ml까지 필요한 농도의 용액들을 만든 후,^{15,16)} -70℃의 급속 냉동고에 0.5 ml씩 용기에 보관하였다가 필요에 따라 적당량을 녹여 사용하였다.

3. 감수성 검사

표준 균주 3종의 ciprofloxacin과 Infecton에 대한 감수성 검사는 CAMHB를 사용하여 액체배지 희석법을 이용하였다.¹⁵⁾ 이를 위해 먼저 이미 만들어져 냉동 보관된 ciprofloxacin과 Infecton 용액을 녹여 농도별로 0.1 ml 씩 배양 시험관에 넣고, 여기에 희석된 각각의 표준 균주액($1 \sim 2 \times 10^5$ CFU/ml) 0.9 ml를 배양 시험관에 넣어 배양기에서 20~24시간 배양하였다. 그리고 20~24시간 배양한 위의 균주를 BHI 평판배지에 pour plate법으로 10 µl를 접종한 후 20~24시간 배양하였다.

4. 최소발육억제농도와 최소살균농도

표준균주 3종의 최소발육억제농도(minimum inhibitory concentration, MIC)는 배양기에서 20~24시간 배양한 배양액의 탁도를 기준으로, 균을 넣지 않은 control tube와 같은 탁도를 보이는 최소농도로 결정하였다. 그리고, 최소 살균 농도(minimum bactericidal concentration, MBC)는 BHI 평판배지에 접종한 후 20~24시간 배양하여 균이 자라지 않

는 최소농도로 결정하였다. 이렇게 해서 표준균주 3종에 대한 ciprofloxacin과 Infecton의 MIC와 MBC를 구하고 이를 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 1999)의 ciprofloxacin MIC 정도관리범위¹⁷⁾와 비교하였다. Ciprofloxacin과 Infecton의 MIC와 MBC는 표준균주에서 5회 검사하여 결과를 평균±표준오차(범위)로 나타내었다.

5. 통계분석

표준균주 3종에 대한 Infecton과 ciprofloxacin의 MIC와 MBC 결과를 비교하기 위해 student t-test를 이용하였으며, 통계적 유의성은 p값이 0.05 보다 작을 때를 기준으로 하였다.

결 과

1. 표준균주의 최소발육억제농도(MIC)

5회 실험에서 얻은 Infecton과 ciprofloxacin의 MIC 결과는 *S. aureus* ATCC 29213에서 각각 1.12 ± 0.2 (0.8~1.6) $\mu\text{g/ml}$, 0.36 ± 0.04 (0.2~0.4) $\mu\text{g/ml}$ 이었으며($p=0.016$), *E. coli* ATCC 25922에서는 각각 0.03 ± 0.005 (0.025~0.05) $\mu\text{g/ml}$, 0.011 ± 0.001 (0.006~0.012) $\mu\text{g/ml}$ 이었으며($p=0.007$), *P. aeruginosa* ATCC 27853에 대해서는 각각 0.96 ± 0.16 (0.8~1.6) $\mu\text{g/ml}$, 0.56 ± 0.1 (0.4~0.8) $\mu\text{g/ml}$ 였다($p=0.66$). Ciprofloxacin의 MIC는 모든 균주에서 NCCLS (1999)의 MIC 정도관리범위¹⁶⁾ 내의 농도였다(Fig. 1).

2. 표준균주의 최소살균농도(MBC)

Infecton과 ciprofloxacin의 MBC 결과는 *S. aureus* ATCC 29213에서 각각 2.6 ± 0.4 (1.6~3.2) $\mu\text{g/ml}$, 0.88 ± 0.19 (0.4~1.6) $\mu\text{g/ml}$ 였으며($p=0.009$), *E. coli* ATCC 25922에서는 각각 0.035 ± 0.006 (0.025~0.05) $\mu\text{g/ml}$, 0.02 ± 0.008 (0.025~0.05) $\mu\text{g/ml}$ 였으며($p=0.114$), *P. aeruginosa* ATCC 27853에서는 각각 2.2 ± 0.4 (1.6~3.2) $\mu\text{g/ml}$ 와 1.4 ± 0.2 (0.8~1.6) $\mu\text{g/ml}$ 였다($p=0.16$)(Fig. 1).

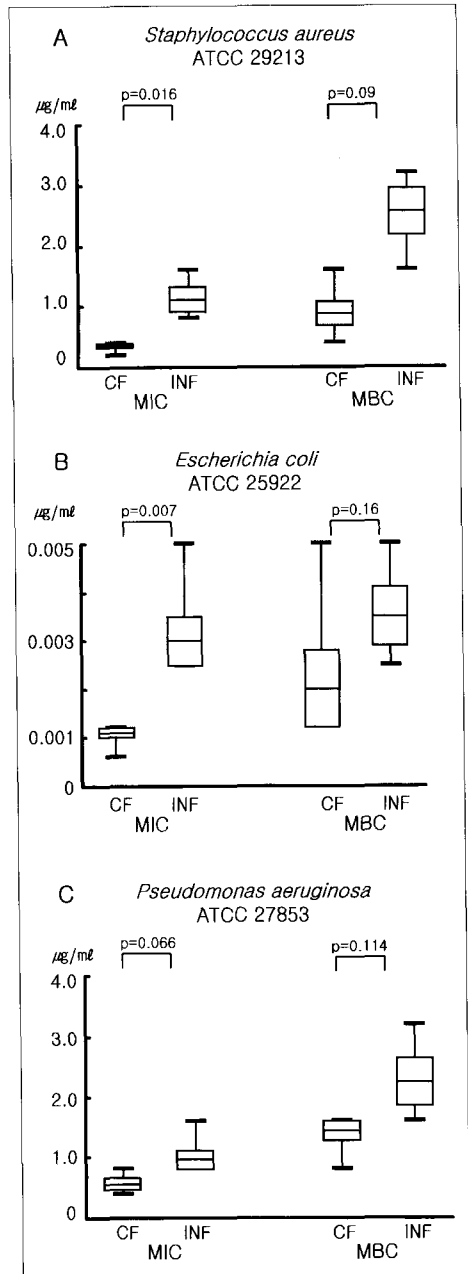


Fig. 1. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of Infecton (INF) and ciprofloxacin (CF) against three standard ATCC strains (A: *Staphylococcus aureus* ATCC* 29213, B: *Escherichia coli* ATCC 25922, C: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) were compared. Boxes with central lines indicate mean \pm standard error and vertical lines indicate ranges. * ATCC: American Type Culture Collection

고 찰

Ciprofloxacin은 4-fluoroquinolone 계열의 광범위 항생제로 정맥주사 후 몸 전체에 널리 분포하며 신장을 통해 배설된다. 그리고 다양한 균주에서 살아있는 균에서만 세포 내로 섭취되어 균의 DNA gyrase를 억제함으로써 살균작용을 하는 것으로 알려져 있다. Solanki 등⁸⁾에 의해 고안된 Tc-99m Infecton 스캔은 이러한 ciprofloxacin의 특성을 이용하여 Tc-99m Infecton이 균에 섭취 되어 감염병소를 영상화 할 수 있다고 알려져 있다.^{8,9,11)}

실제 Tc-99m Infecton이 세균 내부에 들어간다는 사실을 자가방사기록법(autoradiography)이나 전자현미경적으로 밝힐 수 있다면 세균감염 진단에 특이적인 방사성의약품이라고 증명할 수 있는 직접적인 증거가 되겠으나 아직 이에 대한 보고는 접할 수 없다. 본 연구자들도 자가방사기록법을 시도하였으나 Tc-99m Infecton을 처리한 세균이 모두 파괴되어 성공할 수 없었다(자료는 나타내지 않음). Tc-99m Infecton의 항균력을 측정하는 것이 간접적으로나마 Tc-99m Infecton이 세균 내부에 들어간다는 사실을 증명하는 방법이 될 수 있을 것으로 가정하여 본 연구에서는 Tc-99m Infecton의 항균력을 측정하고 이를 ciprofloxacin의 항균력과 비교하였다. 표준 균주 3종(*S. aureus* ATCC 29213, *E. coli* ATCC 25922 및 *P. aeruginosa* ATCC 27853)을 이용하여 Tc-99m Infecton과 ciprofloxacin의 MIC와 MBC를 측정 비교하였는데, 전반적으로 Infecton의 MIC와 MBC가 ciprofloxacin보다 2~4배 높았다. NCCLS에서는 위 세 가지 균주에 대해 ciprofloxacin에 대한 MIC가 1 µg/ml 이하인 경우 감수성, 1~4 µg/ml 인 경우 중간 그리고 4 µg/ml 이상인 경우를 내성으로 규정하고 있는데,¹⁵⁾ 이에 의하면 Infecton은 *E. coli*에 감수성을 보이고 *S. aureus*와 *P. aeruginosa* 두 균주에 대해서는 감수성 내지 중간 내성을 보였다. Infecton과 ciprofloxacin의 감수성을 비교해보면 *S. aureus*와 *E. coli*에 대해서는 ciprofloxacin의 감수성이 Infecton에 비해 유의하게 높았으나, *P. aeruginosa*

에 대해서는 서로간에 차이가 없었다. 즉, Infecton의 항균력이 *P. aeruginosa*에 대해서는 ciprofloxacin과 견줄만큼 강하고, *S. aureus*와 *E. coli*에 대해서는 더 약한 항균력을 가지고 있다고 해석할 수 있다. 이상을 종합하면 Tc-99m Infecton이 ciprofloxacin보다는 약하지만 항균력이 있다고 인정할 수 있고, 따라서 Tc-99m Infecton이 세균감염에 특이적인 방사성의약품이라고 판단할 수 있겠다.

Vinjamuri 등⁹⁾은 감염병소 진단에 있어 백혈구 스캔의 민감도와 특이도가 81%, 77%였는데 Tc-99m Infecton의 민감도와 특이도가 각각 84%, 96%로 더 우수하였다고 보고하였으며, Hall 등¹¹⁾은 감염병소 진단에 Infecton 스캔의 민감도, 특이도, 양성예측도, 음성예측도가 각각 70.3%, 93.1%, 92.6%, 71.9%라고 보고하였다. Hall 등¹¹⁾의 연구에서 민감도가 낮은 것은 검사당시 대부분 환자에게 항생제가 이미 상당기간 투여되었고 임상적으로 상태가 호전되어 검사를 시행하였기 때문에, T-99m Infecton을 세포내로 섭취할 살아있는 균의 수가 적거나 없어진 것이 한가지 이유가 될 수 있을 것이다. 하지만 Infecton 스캔은 백혈구 스캔과 비교하여 혈액을 다루지 않기 때문에 혈액에 의한 감염(B형 간염, HIV)의 위험이 적고, Tc-99m Infecton은 키트로 제작할 수 있어 백혈구스캔에 비해 기술적으로 쉽고 간편하기 때문에 시간과 비용을 절감할 수 있으며, 백혈구의 숫자와 무관하게 검사를 할 수 있어 백혈구 감소가 심한 환자에게도 사용할 수 있고, 골수에 섭취가 되지 않기 때문에 척추, 골반뼈 등에 발생한 감염증의 진단에 유리하며, 환자에게서 채혈을 하지 않기 때문에 환자의 거부감을 줄일 수 있을 것으로 판단된다.^{9,10,11)}

본 연구에서는 Tc-99m Infecton이 실제 균에 섭취되는 양을 계산하지 못하였으나, 동일 농도의 ciprofloxacin에 비해 MIC가 2~4배 높은 것으로 보아 ciprofloxacin 보다는 세포내로 덜 섭취될 것으로 추측되었다. 그러나 Tc-99m Infecton이 생체 외에서 표준 균주에 항균력이 있었으므로, Tc-99m Infecton이 감염 특이적 방사성의약품으로서 감염병소의 진단에 사용할 수 있는 근거가 될 것으로 사료된다.

요 약

목적: 새로운 감염영상법인 Tc-99m Infecton 스캔은 4-fluoroquinolone 계열의 광범위 항생제인 ciprofloxacin의 유도체를 이용한 것인데 이에 사용되는 Infecton의 항균력에 대한 연구는 접하기 어렵다. 저자들은 표준 균주에서의 Infecton의 항균력을 ciprofloxacin과 비교 분석하고자 본 연구를 시행하였다. **대상 및 방법:** Infecton의 표준 균주 3종 (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922, 및 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853)에 대한 최소발육억제농도(minimum inhibitory concentration, MIC)와 최소살균농도(minimum bactericidal concentration, MBC)를 검사하여, ciprofloxacin과 비교하였다. Ciprofloxacin과 Infecton의 MIC와 MBC는 표준균주에서 5회 검사하여 결과를 평균±표준오차(범위)로 나타내었다. **결과:** Infecton과 ciprofloxacin의 MIC 결과는 *S. aureus* ATCC 29213에서 각각 1.12 ± 0.2 (0.8~1.6) $\mu\text{g/ml}$, 0.36 ± 0.04 (0.2~0.4) $\mu\text{g/ml}$ 이었으며 ($p=0.016$), *E. coli* ATCC 25922에서는 각각 0.03 ± 0.005 (0.025~0.05) $\mu\text{g/ml}$, 0.011 ± 0.001 (0.006~0.012) $\mu\text{g/ml}$ 이었고($p=0.007$), *P. aeruginosa* ATCC 27853에 대해서는 각각 0.96 ± 0.16 (0.8~1.6) $\mu\text{g/ml}$, 0.56 ± 0.1 (0.4~0.8) $\mu\text{g/ml}$ 로($p=0.66$), 표준 균주 3종 모두에서 Infecton의 MIC가 ciprofloxacin 보다 2~4배 더 높았으나, 미국 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)가 정한 바에 의한 MIC 정도관리범위 내의 농도를 보이고 있었다. 또한, Infecton과 ciprofloxacin의 MBC 결과는 *S. aureus* ATCC 29213에서 각각 2.6 ± 0.4 (1.6~3.2) $\mu\text{g/ml}$, 0.88 ± 0.19 (0.4~1.6) $\mu\text{g/ml}$ 였고($p=0.009$), *E. coli* ATCC 25922에서는 각각 0.035 ± 0.006 (0.025~0.05) $\mu\text{g/ml}$, 0.02 ± 0.008 (0.025~0.05) $\mu\text{g/ml}$ 였으며 ($p=0.114$), *P. aeruginosa* ATCC 27853에서는 각각 2.2 ± 0.4 (1.6~3.2) $\mu\text{g/ml}$ 와 1.4 ± 0.2 (0.8~1.6) $\mu\text{g/ml}$ 로서($p=0.16$), 표준균주 3종 모두에서 Infecton의 MBC 또한 ciprofloxacin에 비해 2~4배가 높았다.

결론: Tc-99m Infecton은 ciprofloxacin 보다는 약하였지만 표준균주에 대해 생체의 항균력을 보였다.

참 고 문 헌

- 1) Chianelli M, Mather SJ, Martin-Comin J, Singnore A. Radiopharmaceuticals for the study of inflammatory processes: a review. *Nucl Med Commun* 1997;18: 437-55.
- 2) Datz FL. Indium-111-labeled leukocytes for the detection of infection: current status. *Semin Nucl Med* 1994;24:92-109.
- 3) Fischman AJ, Rubin RH, White JA, Locke E, Wilkinson RA, Nedelman M, et al. Localization of Fc and Fab fragments of nonspecific polyclonal IgG at focal sites of inflammation. *J Nucl Med* 1990;31:1199-205.
- 4) Fischman AJ, Pike MC, Kroon D, Fucello AJ, Rexinger D, ten Kate C, et al. Imaging focal sites of bacterial infection in rats with Indium-111. labelled chemotactic peptide analogs. *J Nucl Med* 1991;32:483-91.
- 5) Streule K, de Schrijver M, Fridrich R. ^{99m}Tc -labelled HSA-nanocolloid versus ^{111}In oxine-labelled granulocytes in detecting skeletal septic process. *Nucl Med Commun* 1988;9:59-67.
- 6) Morgan JR, Williams LA, Howard CB. Technetium-labelled liposome imaging for deep-seated infection. *Br J Radiol* 1985;58:35-9.
- 7) Rusckowski M, Paganelli G, Hnatowich DJ, Magnani P, Virzi F, Fogarasi M, et al. Imaging infection/inflammation in patients with streptavidin and radiolabelled biotin. Preliminary observations. (abstract) *J Nucl Med* 1992;33:924.
- 8) Solanki KK, Bomanji J, Siraj Q, Small M, Britton KE. Tc-99m Infecton: a new class of radiopharmaceutical for infection imaging. (abstract) *J Nucl Med* 1993;34:119.
- 9) Vinjamuri S, Hall AV, Solanki KK, Bomanji J, Siraj Q, O'Shaughnessy E, et al. Comparison of ^{99m}Tc Infecton imaging with radiolabelled white-cell imaging in the evaluation of bacterial infection. *Lancet* 1996;347:233-5.
- 10) Britton KE, Vinjamuri S, Hall AV, Solanki K, Siraj QH, Bomanji J, et al. Clinical evaluation of technetium-99m infecton for the localization of

- bacterial infection. *Eur J Nucl Med* 1997;24:553-6.
- 11) Hall AV, Solanki KK, Vinjamuri S, Britton KE, Das SS. Evaluation of the efficacy of ^{99m}Tc-Infecton, a novel agent for detecting sites of infection. *J Clin Pathol* 1998;51:215-9.
 - 12) Choi W, Im MW, Chung JK, Jeong JM. Imaging pelvic inflammatory disease with Tc-99m ciprofloxacin. *Clin Nucl Med* 2000;25:842-4.
 - 13) Amaral H, Morales B, Pruzzo R, Britton KE. Cold-hot mismatch between Tc-99m HMPAO-labeled leukocytes and Tc-99m ciprofloxacin in axial skeleton infections: A report of three cases. *Clin Nucl Med* 1999;24:855-8.
 - 14) Jayaraman S, Al-Nahhas AM, Vivian G, Gilbert TJ, Hughes PM. Demonstration of spinal osteomyelitis with Ga-67 citrate, Tc-99m MDP, and Tc-99m ciprofloxacin with provisionally negative results on MRI. *Clin Nucl Med* 2000;25:224-6.
 - 15) Wayne. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. NCCLS document (supplement). NCCLS 1999:M7.A4.
 - 16) Ericsson HM, Sherris JC. Antibiotic sensitivity testing. Report of an international collaborative study. *Acta Pathol Microbiol Scand [B] Microbiol Immunol* 1971;217:Suppl:1-90.
 - 17) Ferraro MJ, Craig WA, Dudley MN, Eliopoulos G, Hecht DW, Hindler J, et al. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Ninth international supplement. NCCLS 1999;19:96-8.
-