

## BACTEC 9240에서 Resin 배지의 유용성 평가

아주대학교 의과대학 임상병리학교실

이 위 교·곽 연 식

= Abstract =

### Evaluation of BACTEC PLUS Resin Media with The BACTEC 9240 System

Wee Gyo Lee and Yun Sik Kwak

*Department of Clinical Pathology, Ajou University School of Medicine,  
Suwon, Korea*

**Background :** The rapid detection of pathogenic organisms in blood samples is essential for the diagnosis and management of septic patients. However, patients with suspected sepsis could have received an empirical antimicrobial therapy before cultures were taken. Therefore, it is of paramount importance to increase the yield of blood cultures from such patients. A new BACTEC PLUS™ Aerobic/F and PLUS™ Anaerobic/F (Becton Dickinson Diagnostic Instrument System, Sparks, Maryland, U.S.A.) containing nonionic adsorbing resin and cationic exchange resin designed for use with BACTEC 9240 blood culture system was evaluated for their improvement of the detection of microorganisms in blood culture specimens.

**Methods :** *S. aureus*(ATCC 25923) and *E. coli*(ATCC 25922) were utilized in this study. Ten different antimicrobials representing a variety of categories (vancomycin, ciprofloxacin, imipenem, aztreonam, gentamicin, ampicillin/sulbactam, cefazolin, ceftiofloxacin, cefotaxime and ceftriaxone) were tested at achievable serum levels in BACTEC PLUS/F media and in Standard/F media for adsorption of antimicrobials by resins in the media. Test medium vials were inoculated with bacterial suspensions and antimicrobials. After inoculation the growth values of the organisms were measured with the BACTEC 9240 system.

---

교신저자 : 이위교, 경기도 수원시 팔달구 원천동 산 5 아주대학병원 임상병리과(전화 : 0331-219-5785)

**Results :** All resin bottles containing the antimicrobials except aztreonam and standard anaerobic bottles containing imipenem, gentamicin and ampicillin/sulbactam showed growth. When resin vials examined for the growth values of the microorganisms, the anaerobic bottles revealed a shorter time to grow.

**Conclusions :** The use of BACTEC PLUS medium, instead of resin-free standard medium, may neutralize the antimicrobials such as cephalosporin, quinolone or glycopeptides. However its cost is more expensive. For cost-effectiveness, the resin medium should be adopted in patients receiving empirical antimicrobial treatment and/or new admissions.

**Key Words :** Blood culture, Sepsis, BACTEC PLUS media, Resin, Antimicrobial therapy

## 서 론

## 재료 및 방법

혈액 배양은 패혈증 환자의 진단과 치료에 필수적인 검사로 신속한 검출과 높은 양성율을 얻는 것이 중요하다. 그러나 최근 의학이 발달하면서 예방적 항균제 사용이 빈번하고, 항균제를 의사의 처방없이도 구할 수 있는 국내 여건으로 인하여 혈액 배양 당시 항균제가 이미 투여된 경우가 많아, 항균제가 투여되어 있는 상태의 혈액에서 균 검출율을 높이는 방법이 필요하다. 항균제가 투여된 혈액에서의 양성율을 높이는 방법으로 혈액을 희석하거나 항균제를 불활성화시키는 물질의 첨가 혹은 항균제의 물리적 제거법 등이 있으나, 이러한 방법들은 항균제 중화와 더불어 세균의 수를 감소시키는 단점을 동시에 가지고 있다[1-6]. BACTEC PLUS 배지는 항균제 흡착을 위한 비이온성 흡착수지(nonionic adsorbing resin)와 양이온 교환수지(cationic exchange resin)가 포함되어 있어 흡착수지의 배수성 구슬부분에 항균제의 배수성부위가 결합하고, 양이온 교환수지에 의해서는 양전하를 띠는 항균제가 이온 결합함으로써 배양 양성율을 높인다고 한다[7]. 수지 배지의 효과에 관하여는 환자 혈액 배양시 기존의 배지와 임상적 배양 양성율 비교 보고만이 있다[5,6,8,9]. 이에 저자들은 BACTEC PLUS 배지의 항균제 흡착 효과를 항균제 종류별로 평가하고 균 증식을 보인 배지간의 양성 검출 시간을 비교하여 보고자 하였다.

### 1. 시험 배지

수지가 포함되지 않은 기존의 BACTEC Standard Aerobic/Anaerobic 배지(Becton Dickinson Diagnostic Instrument Systems, Sparks, Maryland, U.S.A.)와 수지가 첨가된 BACTEC PLUS Aerobic/Anaerobic 배지(Becton Dickinson Diagnostic Instrument Systems)를 사용하였다.

### 2. 시험 세균

항균제 감수성 검사에 표준 균주로 사용하는 *S. aureus*(ATCC 25923)와 *E. coli*(ATCC 25922)를 tryptic soy broth에 37°C에서 24시간 배양하여 실험에 사용하였다.

### 3. 항균제

항균제는 vancomycin(Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo.), ciprofloxacin(Miles, West Haven, CT, USA), imipenem(Merck Sharp & Dohme Co., Inc., Rahway, N.J.), aztreonam(Dong-A Biotech, Seoul, Korea), gentamicin(Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo.), ampicillin/sulbactam(Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo.), cefazolin(Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo.), cefoxitin(Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo.), cefotaxime(Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo.) 및 ceftriaxone(Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo.)을 각각의 해당 용매에 녹여 -20°C에 보관하였다가 멸균된 증류수로 희석하여 사용하였다.

Table 1. Growth of microorganisms in the presence of antimicrobials with or without resins

Antimicrobials	Concentration ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	Micro- organism	Growth of microorganism			
			PLUS media*		Standard media	
			Aerobic	Anaerobic	Aerobic	Anaerobic
Vancomycin	50	<i>S.aureus</i>	+	+	-	-
Ciprofloxacin	16	<i>S.aureus</i>	+	+	-	-
Cefazolin	28	<i>S.aureus</i>	+	+	-	-
Cefoxitin	25	<i>S.aureus</i>	+	+	-	-
Cefotaxime	50	<i>S.aureus</i>	+	+	-	-
Ceftriaxone	40	<i>S.aureus</i>	+	+	-	-
Gentamicin	10	<i>S.aureus</i>	+	+	-	+
Ampicillin/ sulbactam	8.5	<i>S.aureus</i>	+	+	-	+
Imipenem	40	<i>S.aureus</i>	-	+	-	+
Aztreonam	90	<i>E.coli</i>				

\* Plus media contains nonionic resin and cationic exchange resin which are known to be adsorbing antimicrobials.

#### 4. 방법

각 항균제에 대하여 vancomycin 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , ciprofloxacin 16  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , imipenem 40  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , aztreonam 90  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , gentamicin 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , ampicillin/sulbactam 8.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , cefazolin 28  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , cefoxitin 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , cefotaxime 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  및 ceftriaxone 40  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도가 되도록 희석하여 standard 배지와 PLUS 배지병에 0.1 mL씩 넣고 병을 흔들어 혼합하였다. 세균은 균수가  $10^4$ - $10^5$  CFU/mL가 되도록 조정된 후 tryptic soy broth로 10배 단계 희석하여 각 희석액( $1/10^2$ ,  $1/10^3$ ,  $1/10^4$ ,  $1/10^5$ )을 3.9 mL씩 항균제가 혼합된 배지병에 접종하였다. BACTEC 9240으로 5일간 배양하면서 양성 검출 시간을 측정하였다. 항균제를 뺀 균액과 균액을 뺀 항균제액을 각각의 배지에 접종하여 표준으로 사용하였다.

### 결 과

#### 1. 시험 균의 증식 여부

Vancomycin, ciprofloxacin, cefazolin, cefoxitin, cefotaxime, ceftriaxone에 대해서는 PLUS 배지(호기성 및 혐기성)에서만 균 증식이 있었고 gentamicin과 ampicillin/sulbactam에 대해서는 호기성과

혐기성 PLUS 배지와 혐기성 standard 배지에서 균 증식이 있었으며 imipenem의 경우는 PLUS와 standard의 혐기성 배지에서만 증식을 보였다. Aztreonam의 경우는 어떠한 배지에서도 균 증식이 관찰되지 않았다(Table 1).

#### 2. 검출 시간의 비교

각 약제에 따른 양성 검출 시간은 Fig.1과 같고, PLUS 배지의 혐기성 배지에서의 검출시간이 평균 17.4(10.3-25.2)시간으로 호기성 배지에서의 24.2(12.5-43.9)시간에 비하여 유의하게 짧았다( $p < 0.001$ , independent t-test).

### 고 찰

항균제의 유용성에도 불구하고 균혈증으로 인한 치명율은 아직도 높아 패혈증의 초기에 감염 균의 정확한 동정과 항균제 감수성 정보가 필요하다. 그러나 패혈증 환자의 혈액에서 균의 분리가 불완전한 항균제 치료로 인하여 실패하는 경우가 흔히 있는데 이는 항균제 투여를 받은 환자의 혈액에서의 항균제의 세균에 대한 억제 영향 때문이다. 최근 Wallis 등[10]은 항균제 투여 환자에서 혈액 배양 검출율을 높이기 위하여 "Antimicrobial Removal Device(ARD)"라고 불리는 혼합 수지 시스템을 개발해 낸 바 있다. 대개 혈액 배양 배지내에

-이위교 외 : BACTEC 9240에서 Resin 배지의 유용성 평가-

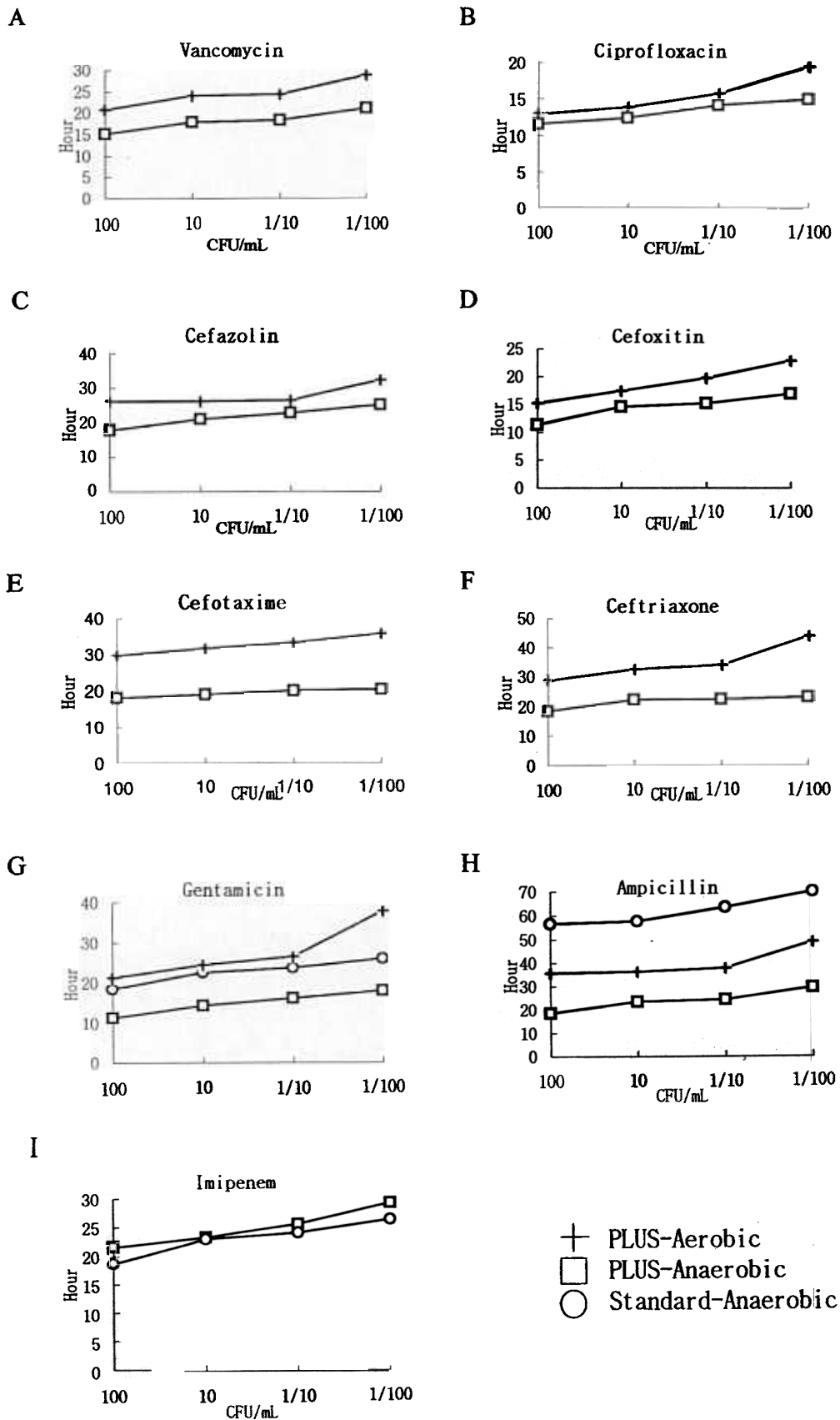


Fig. 1. Comparison of growth detection time by different antimicrobials.

포함되는 수지의 기능은 항균제에 결합함으로써 배지 내에서의 항균제의 농도를 낮춰 세균이 증식할 수 있도록 하는 것이다. BACTEC PLUS 배지 내에는 2 종류의 수지가 들어있는데 하나는 강한 산성 양이온 교환수지로 주로 aminoglycoside 제제와 같이 양전하를 띠는 항균제에 이온 결합을 한다. 이 수지는 구조상 sulfonated polystyrene으로 구성된 작고 검은 구슬로 다른 종류의 수지와는 1:16의 비율로 배지내에 포함되어 있다. 두 번째 수지는 polydivinylbenzene 연결 고리를 가지는 polystyrene으로 구성된 비이온성 다형태 흡착수지로 배수성이어서 항균제에서의 배수성인 부위와 반 델반스 힘에 의해 결합하며 흰색을 띤다. 이 흰색 구슬은 많은 구멍으로 이루어져 있는데 구멍의 반지름은 대개 세균이 들어가기에는 작은 0.4-0.5  $\mu\text{m}$  정도이다. 수지의 효과에 관하여는 항균제 제거 뿐 아니라 자동 배양 기기내에서 배지병의 진동시 수지가 백혈구를 깨뜨림으로써 백혈구내에 탐식되어 있던 생존 세균을 유리시키거나 수지의 표면이 바이오필름의 역할을 하여 세균 증식을 촉진시키는 부가 효과가 있다고도 한다[8-10].

본 연구에서 시험한 항균제 중 vancomycin, cephalosporin 제제 및 quinolone 제제가 혼합된 경우는 수지가 포함된 PLUS 배지에서만 균 증식이 있었고 수지가 들어있지 않은 standard 배지에서는 모두 균 증식이 없었던 것으로 보아 상기 제제들은 수지에 의해 결합되어 중화될 수 있는 것으로 사료되어 glycopeptide, cephalosporin 및 quinolone 제제를 투여 받은 환자의 혈액 배양시는 수지 포함 배지를 사용하는 것이 양성율을 높일 수 있는 방법이라 생각된다.

Gentamicin과 ampicillin/sulbactam의 경우는 수지 포함 배지와 함께 standard 혐기성 배지에서 증식을 보였는데 이는 혐기성 배지에 포함된 thiols 성분에 의해 항균제가 중화된 때문으로 추정되며, 또한 gentamicin의 경우는 세균 체내로 들어가야 항균 효과를 나타낼 수 있는데 gentamicin의 세균 내 투과 방법인 산소의존성 활성 수송계가 혐기적 환경하에서는 없는 원인으로 작용한 것으로 생각된다. Carbapenem 제제인 imipenem의 경우는 두 종류의 배지 중 혐기성 배지에서만 증식을 보여 수지에 의한 중화 효과는 없고 thiols에 의한 중화 효과만이 있다고 생각된다. Monobactam 제제인

aztreonam의 경우는 모든 배지에서 균 증식이 없어 수지의 항균제 중화 효과가 없는 것으로 사료되어 향후 좀더 효과적인 중화나 흡착 방법을 강구하여야 할 것으로 여겨진다.

상기의 결과로 볼 때 혈액 배양시 수지 함유 배지를 사용하는 것이 기존의 배지를 사용하는 것보다는 양성율을 높일 것으로 사료되나 배지 가격이 기존 배지는 1개당 2,772원인데 반하여 수지 배지는 3,696원으로 대략 1000원 정도의 차이가 나므로 모든 혈액 배양에 적용하는 것보다는 예방적 항균 요법을 주로 시행하는 혈액 종양 병동, 이식 병동, 장기 환자가 많아 항균제 노출 경우가 많은 신경외과 병동, 다제 약제 치료를 주로 받는 중환자 병동 및 신환 등의 혈액 배양에 차등 적용하는 것이 경비면에서 볼 때 효과적이라 생각된다.

균 증식을 보인 배지간의 양성 검출 시간은 PLUS 배지의 혐기성 배지에서의 검출시간이 평균 17.4(10.3-25.2)시간으로 PLUS 배지의 호기성 배지에서의 24.2(12.5-43.9)시간에 비하여 유의하게 짧아( $p < 0.001$ ) 혐기성 배지의 사용이 혐기성 세균의 분리 뿐만 아니라 통성 혐기성 세균의 검출 시간의 단축에도 기여할 것으로 사료된다.

양성 검출 시간 비교에서 thiols의 중화 효과가 작용한 gentamicin, ampicillin/sulbactam 및 imipenem의 경우 수지의 효과를 함께 보인 gentamicin과 ampicillin/sulbactam의 경우는 standard 혐기성 배지에서의 검출 시간이 가장 느려서 수지의 첨가가 검출 시간을 단축시켜줄을 시사하였으나 수지의 효과가 전혀 없었던 imipenem의 경우는 PLUS 배지와 standard 배지간의 검출 시간의 차이가 없어서 수지의 첨가가 항균제 중화 작용이외의 세균 증식을 위한 부가 효과는 없는 것으로 사료된다.

## 요 약

배 경 : 혈액 배양의 빠른 검출과 양성율을 높이는 것은 패혈증 환자의 진단과 치료에 필수적이거나 항균제가 이미 투여된 경우가 허다하여 항균제가 투여되어 있는 상태의 혈액 배양에서 검출율을 높이는 방법을 강구하는 것이 시급하다. 이에 저자들은 항균제 흡착을 위한 비이온성 흡착수지와 양이온 교환수지가 포함되어 있는 BACTEC PLUS 배지의 유용성을 평가하여 보았다.

**방 법** : 시험 배지는 수지가 포함되지 않은 기존의 standard 배지(Aerobic and Anaerobic)와 수지가 첨가된 PLUS 배지(Aerobic and Anaerobic)를 사용하였고 시험 세균은 *S. aureus*(ATCC 25923)와 *E. coli*(ATCC 25922)로 하였으며 항균제는 vancomycin, ciprofloxacin, imipenem, aztreonam, gentamicin, ampicillin/sulbactam, cefazolin, cefoxitin, cetotaxime, ceftriaxone을 대상으로 하였다. 시험 방법은 세균을 tryptic soy broth로 10배 단계 희석하여 각 희석액과 혈중 농도로 희석된 각 항균제를 standard 배지와 PLUS 배지에 접종하고 BACTEC 9240으로 배양하여 양성 검출 시간을 측정하였고 항균제를 뺀 균액과 균액을 뺀 항균제액을 각각의 배지에 접종하여 control로 사용하였다.

**결 과 :**

1. 시험 균의 증식 여부-Imipenem, gentamicin, ampicillin/sulbactam, aztreonam을 제외한 항균제에서 PLUS 배지(호기성 및 혐기성)에서만 균 증식이 있었다.

2. 검출 시간의 비교-PLUS 배지의 혐기성 배지에서의 검출시간은 평균 17.4(10.3-25.2)시간으로 호기성 배지에서의 24.2(12.5-43.9)시간에 비하여 유의하게 짧았다( $p < 0.001$ ).

**결 론** : 수지가 포함된 PLUS 배지는 임상에서 흔히 사용되는 cephalosporin제제, quinolone제제 및 vancomycin등을 효과적으로 흡착하지만 기존의 배지보다는 고가이므로 예방적 항균제를 사용하는 혈액 종양 병동, 이식 병동 환자 및 신환의 혈액 배양시 사용이 권장되며, PLUS 혐기성 배지는 호기성 배지에 비하여 검출시간을 단축시켜주므로 혐기성 세균뿐만 아니라 통성 혐기성 세균의 분리에도 기여할 것으로 사료된다.

**참 고 문 헌**

Reller LB, Murray PR, MacLowry JD. Blood cultures II. In Cumitech 1. Ed, JA Washington II. Washington, DC: American Society for

Microbiology 1982.

2. Wicher K, Koscinski D. Laboratory experience with radiometric detection of bacteremia with three culture media. J Clin Microbiol 1982;20:668-71.
3. Smith SM, Eng RH. Effectiveness of antibiotic removal by the antibiotic-binding blood culture systems. Diagn Microbiol Infect Dis 1985;3:201-12.
4. Pierce G, Murray PR. Current controversies in the detection of septicemia. Eur J Clin Microbiol 1986;5:487-91.
5. Koontz FP, Flint KK, Reynolds JK, Allen SD. Multicenter comparison of the high volume(10 ml) NR BACTEC PLUS system and the Standard(5 ml) NR BACTEC system. Diagn Microbiol Infect Dis 1991;14:111-8.
6. Wajsbort RR, Walters BA, Bellamy AL, Sturmman K, Strand CL. A blood culture study comparing the new BACTEC high-volume resin media with hypertonic media. Am J Clin Pathol 1992;97:850-3.
7. Goldenbaum PE. Efficacy of resins in blood culture media. '95 BACTEC user's group meeting 1995.
8. Kern W, Kirchner S, Vanek E. Resin versus standard blood culture media used with the new BACTEC automated infrared system: an evaluation in febrile granulocytopenic patients. Int J Med Microbiol 1990;273:156-63.
9. Marcelis L, Verhaegen J, Vandeven J, Bosmans A, Verbist L. Evaluation of BACTEC high blood volume resin media. Diagn Microbiol Infect Dis 1992;15:385-91.
10. Wallis C, Melnick JL, Wende RD, Riely PE. Rapid isolation of bacteria from septicemic patients by use of an antimicrobial agent removal device. J Clin Microbiol 1980;11:462-4.