

병원성미생물에 대한 Enrofloxacin과 Colistin의 배합비율에 따른 항균작용과 균의 사멸속도

김민규 · 윤효인¹ · 박승춘*
충남대학교 수의과대학
(주)대성미생물부설연구소*

Killing Rate Curve and Antibacterial Activity against Various Pathogenic Bacteria in the Presence of Enrofloxacin and Colistin

Min-kyu Kim, Hyo-in Yun¹ and Seung-chun Park*

Pharmacol & Toxicol Lab, College of Veterinary Medicine, Chungnam National University,
PO Box 107, Yusong-ku, Taejon 305-606, Korea

*Research Lab, Dae Sung Microbiologicals Co Ltd, Kyongki-do 437-764, Korea

ABSTRACT : Enrofloxacin-colistin combination, widely used in Gram negative infections in veterinary sector, was investigated in terms of MIC and initial killing rate using *E coli* k 88ab, *Salmonella typhimurium*, *Pasteurella multocida* type A, *Bordetella bronchiseptica* and *Staphylococcus aureus* as test organisms. On the basis of MICs of enrofloxacin-colistin combination against the above bacteria, killing rates of the combination of enrofloxacin and colistin at the ratio of 5:0, 4:1, 3:2, 1:1, 2:3, 1:4 and 0:5, indicated high and rapid antibacterial activities against all but *Staphylococcus aureus* R-209, with the number of bacteria reducing to less than one percent within two hours. At the MIC of enrofloxacin or colistin, both antibacterials showed the highest killing rates during 2-4 hours against Gram negatives such as *E coli* K88ab, *Pasteurella multocida* type A and *Bodetella bronchiseptica* but allowed the regrowth of the same pathogens thereafter. On the while, the combination of two antibacterials at a fourth MIC resulted in high killing rate without bacterial regrowth during 24 hours, suggesting the synergistic antibacterial effects. The combination, however, did not show favourable activity against Gram negative *S typhimurium* and Gram positive *S aureus* R-209. When considering not only the combination of enrofloxacin and colistin had synergistic antibacterial activity against Gram negative pathogens but also colistin showed LPS-neutralization, we could suggest the combination should provide clinically positive therapeutic armarium in Gram negative infections.

Key words : enrofloxacin, colistin, killing rate curve, antibacterial activity

서 론

수의 임상에서 발생하는 대부분의 질병은 세균 감염증에 의한 것이 많으며 부적절한 항균요법은 내성균의 조장 및 치료실패로 나타난다. 따라서 감염세균을 효과적으로 증식을 억제하거나 죽일 수 있는 항균제의 사용은 임상에서 가장 우선적으로 고려해야할 사항이다. 그러나 동물의 그람음성 세균 감염증에 감수성을 가진 항균제를 적용하여도 높은 치사율이 보

고되고 있는데^{2,6,10,11,14} 이러한 높은 치사율은 그람음성 세균으로부터 방출되는 내독소 (endotoxin)로 인한 쇼크가 동반될 때 더욱 높게 나타난다^{16,17,19,22}. 세균감염증으로부터 기인하는 치사율은 적절한 항균제의 사용으로 치사율을 낮출 수 있다는 사실은 오래전부터 알려져 왔다^{7,8,12,18}

국내의 수의임상에서 세균감염증에 있어서의 항생요법은 단일투여에 의한 요법보다는 대부분 복합투여로 이루어지고 있으며, 현재 국내에서 제품화되어 있는 항생제제는 상당부분이 복합제제로 이루어져 있다. 그러나, 이러한 항균제제의 복합 투여의 경우에는

¹Corresponding author.

병원성 미생물에 대한 항균력은 크게 증가될 수 있지만, 병원성 세균이 항균제에 노출되어 치사함으로써 분비되는 많은 내독소로 인하여 오히려 동물의 생존을 위협하는 부작용의 문제가 있었다^{7,8,12,18}. 그러므로 효과적으로 항균물질을 복합 투여하기 위해서는 항균 효능과 아울러 병원성 세균이 치사시 분비하는 내독소를 중화할 수 있는 항균물질에 관한 연구를 시도하여 빨리 균을 사멸하는 quinolone계의 enrofloxacin과 강력한 내독소 중화능을 갖고있는 colistin을 선별하였다. Enrofloxacin은 수의임상용으로 만들어진 전용항생제로서 강력한 살균작용과 넓은 항균범위를 갖고있는 것으로 알려져 있다^{1,3,5}. 또한 약물동태의 측면에서 이 항균제는 넓은 조직분포를 갖고 있으며, 긴 생물학적 반감기를 갖고 있다. Colistin은 그람음성세균에 강력하게 작용하는 항균물질로서 약물동태의 측면에서 장내에서 흡수가 되지 않은 것으로 알려져 있어 이 두 항균물질을 이용한 병용투여는 매우 유용한 임상결과를 얻을 수 있을 것으로 생각된다. 그러므로 본 실험에서는 수의 입상에 적용하기 전에 수의 입상에서 널리 사용되고 있는 enrofloxacin과 colistin의 시험관내에서 항균물질들의 가축 유래 병원성 미생물을 모델로 시간에 따른 살균작용에 관한 역학적 관점에서 새로운 약품개발의 가능성을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

항균물질

Enrofloxacin과 colistin의 원료를 (주)대성미생물부설연구소로부터 제공을 받아 실험에 사용하였으며, 각 항균물질들의 원료는 98~104%의 고순도 물질로서 내독소의 함량이 없는 것을 확인 후 실험에 공하였다.

시험균주

시험에 사용한 균주는 그람음성 병원성균주인 *E. coli* K88ab, *Pasteurella multocida* type A, *Salmonella typhimurium*, *Bordetella bronchiseptica*와 그람양성 병원성세균인 *Staphylococcus aureus* R-209으로 총 5균주를 (주)대성미생물연구소에서 분양받았으며, 배양 배지로는 Mueller Hinton broth (Difco, U.S.A.)로 하룻밤 진탕배양 한 후, 잘 자란 균주는 다시 Muller Hinton agar배지에 도말하여 하룻밤 배양하여 집락을 형성시킨 후 4°C에 보관하면서 종균으로 사용하였다.

Enrofloxacin과 colistin의 배합비율에 따른 MIC

Enrofloxacin과 colistin의 배합비율을 무게중량비로

0:5, 1:4, 2:3, 3:2, 4:1 그리고 5:0으로 각각 5g의 단일 혹은 복합 항생물질로 구성하여 배합비율에 따른 MIC을 *E. coli* K88ab, *P. multocida* type A, *S. typhimurium*, *B. bronchiseptica*와 *S. aureus* R-209균주를 시험균주로 microdilution 방법⁹으로 측정하였다.

Enrofloxacin과 colistin의 배합비율에 따른 균의 사멸속도

Enrofloxacin과 colistin의 배합비율에 따른 MIC를 기본으로 하여 MICx4의 농도로 균의 사멸속도를 다음과 같이 실시하였다. 먼저 전 배양된 $10^7 \sim 10^{10}$ CFU/ml의 검정균주를 생리적 식염수로 조절하여 50 ml의 conical tube에 접종하고, 각각의 배합비율로 혼합된 제제의 항균제 용액을 첨가하여 37°C에서 진탕배양하면서, 항균용액을 첨가전과 첨가 후 0.5시간, 1시간, 2시간, 4시간, 6시간째 시료를 채취하여 멸균된 생리적 시험수를 이용하여 10 배 희석법으로 희석하여 즉시 멸균된 Tryptic soybean agar(TSA) plate에 20 µl씩을 각각 도말하여 24시간 배양시킨 후 측정하였다. 한편 병원성 세균이 성장중에 enrofloxacin과 colistin의 단독 및 병용투여시 미치는 영향을 알아보기 위하여 병원성세균을 TSB배지에 희석하여 균수를 $10^5 \sim 10^7$ CFU/ml의 초기 균수로 조절한 후, 단독투여시는 MIC의 농도로 설정하였으며, 병용투여시는 MIC/4 농도로

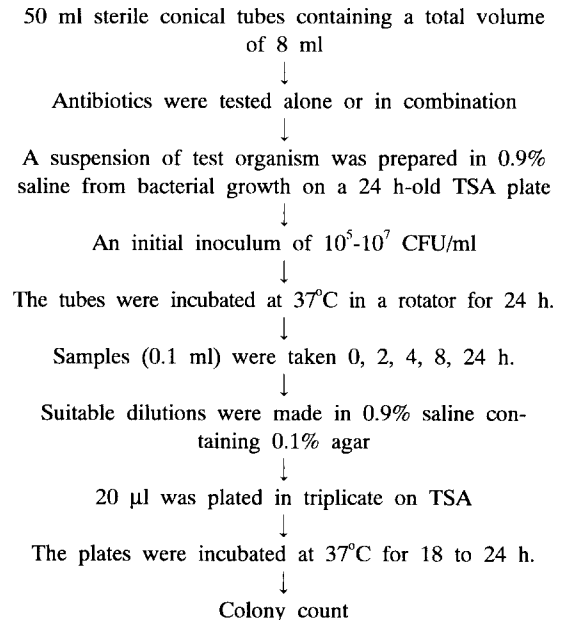


Fig 1. Procedure for killing rate of antibacterials against various microorganisms.

낮춘후 첨가전(0시간), 첨가후 2시간, 4시간, 8시간 그리고 24시간째에 균수의 변화를 Fig 1의 방법에 따라 측정하였다.

결 과

배합비율에 따른 MIC

Enrofloxacin과 colistin의 배합비율을 달리하여 동물 감염증에 대표적인 병원성 세균 5 균주를 (주)대성미생물연구소에서 분양받아 시험한 결과를 Table 1에 나타내었다. 그 결과 enrofloxacin 단일 항균물질로 투여될 경우 모든 시험균주에서 0.225 µg/ml 이하의 항균력을 보여주었으나 colistin 단일 항균물질로 투여된 경우에는 *S typhimurium*과 *S aureus*는 125 µg/ml로 나타나 이 항균제에 대하여 저항성을 보여주었다. 한편 enrofloxacin과 colistin의 병용투여하였을 경우 colistin에 단독 노출시 *S typhimurim*과 *S aureus*의 MIC가 125 µg/ml에서 0.45~0.9 µg/ml, <0.225~0.9 µg/ml로 낮아

졌다. Enrofloxacin : colistin의 배합비가 1:4와 4:1에서 강한 항균활성을 보여주었다. 시험균주중 *E coli* K 88ab는 설사증을 일으키는 병원성 세균으로서 enrofloxacin의 단독투여인 경우 MIC는 0.025 µg/ml 이하로 나타났으며, colistin의 단독투여에서는 0.25 µg/ml로 enrofloxacin과 colistin의 배합비율이 1:4와 4:1인 경우를 제외하고 모든 배합비율에서 단독투여의 경우보다 높은 MIC를 나타내었다.

배합비율에 따른 균의 초기 사멸속도

Enrofloxacin과 colistin의 배합비율에 따른 항균력은 MIC 법에 의하여 측정할 시에는 24시간이 경과한 후 균의 상태를 확인하게 된다. 그러나 실제로 체내에서 항균물질은 24시간 동안 머물지 않고 생물학적 반감기라는 약물동태학적 현상에 의하여 체내밖으로 배출이 된다. 그러므로 본 실험에서는 시험균주들이 6시간 동안 복합항균제에 노출시 균의 사멸속도의 양상을 알아보기 위하여 배합비율의 MIC의 4배의 농도를 시

Table 1. Minimal inhibition concentrations against in different ratios of enrofloxacin-colistin combination

Microorganism	MIC (µg/ml)						
	Ratio of enrofloxacin and colistin						
	0:5	1:4	2:3	2.5:2.5	3:2	4:1	5:0
<i>E coli</i> k88ab	0.45	<0.225	7.81	7.81	3.6	<0.225	<0.225
<i>S typhimurium</i>	125	0.9	0.45	0.45	0.45	0.45	<0.225
<i>P multocida</i> type A	0.9	<0.225	<0.225	<0.225	<0.225	0.225	<0.225
<i>B bronchiseptica</i>	0.45	<0.225	<0.225	<0.225	<0.225	<0.225	<0.225
<i>S aureus</i>	125	0.45	<0.225	0.45	<0.225	0.45	<0.225

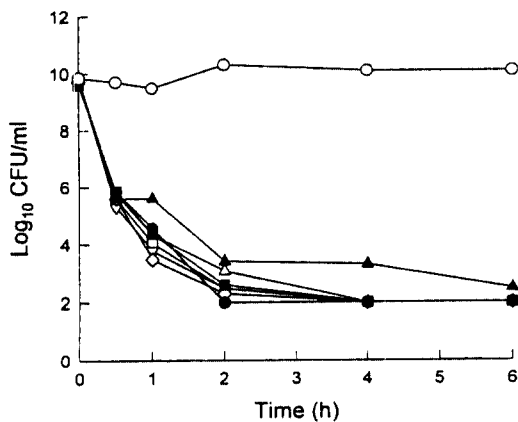


Fig 2. Killing curves against *E coli* K88ab in combination between enrofloxacin and colistin at the ratio of 0:5 (□), 1:4 (△), 2:3 (▽), 2.5:2.5 (◇), 3:2 (■), 4:1 (●) and 5:0 (▲), Growth control (○).

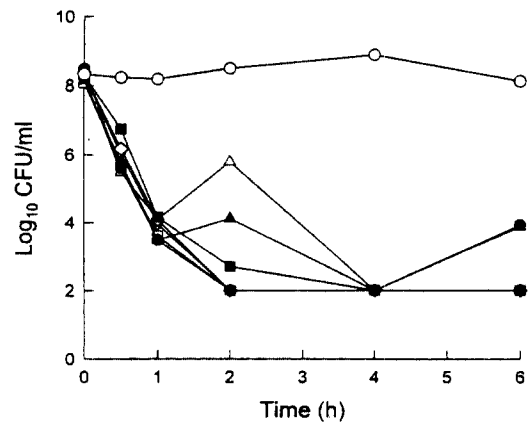


Fig 3. Killing curves against *S typhimurium* in combination between enrofloxacin and colistin at the ratio of 0:5 (□), 1:4 (△), 2:3 (▽), 2.5:2.5 (◇), 3:2 (■), 4:1 (●) and 5:0 (▲), Growth control (○).

험관내에 투여하였다. 그 결과를 Fig 2에서 Fig 6에 나타내었다. *E coli* K88ab와 *B brochseptica*을 시험균주로 실험한 결과 모든 배합비율에서 항균제에 노출시 2시간 이내에 시험균주가 90%이상 사멸되는 강력한 항균력을 나타내었다(Fig 2, Fig 5). *S typhimurium*을 시험균주로 실시하였을 때 모든 배합비율에서 1시간째까지는 균이 사멸하였으나 2시간째에 enrofloxacin : colistin의 1:4와 5:0의 비율에서 균의 재성장을 보였다가 그 이후 억제되는 현상을 보였다(Fig 3). *P. multocida* type A에서 초기사멸속도는 enrofloxacin:colistin의 4:1의 비율을 제외하고 모든 배합비율의 수준에서

6시간째에 균의 재성장을 보였다(Fig 4). 그러나 그람 양성균주인 *S aureus* R-209을 시험균주로 초기사멸속도를 측정한 결과 colistin을 단독투여하였을때는 전혀 항균력을 보이지 않았으나, enrofloxacin이 첨가된 배합항균제는 서서히 균을 사멸시키는 현상을 보여주었다.

배합비율에 따른 enrofloxacin과 colistin의 상호작용

Enrofloxacin과 colistin 혼합제제의 시간에 따른 항균상호작용 측정하기 위하여, 각 항생제의 MIC 용량과 각 항생제의 MIC/4을 혼합하여 24시간 동안 *E coli* K88ab, *P multocida* type A, *S typhimurium*, *B brochiseptica*와

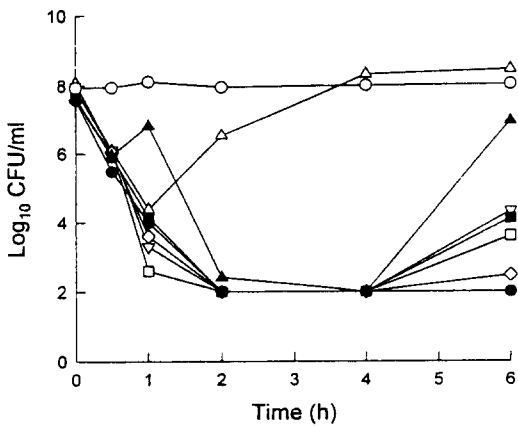


Fig 4. Killing curves against *P multocida* type A in combination between enrofloxacin and colistin at the ratio of 0:5 (□), 1:4 (△), 2:3 (▽), 2.5:2.5 (◇), 3:2 (■), 4:1 (●) and 5:0 (▲), Growth control (○).

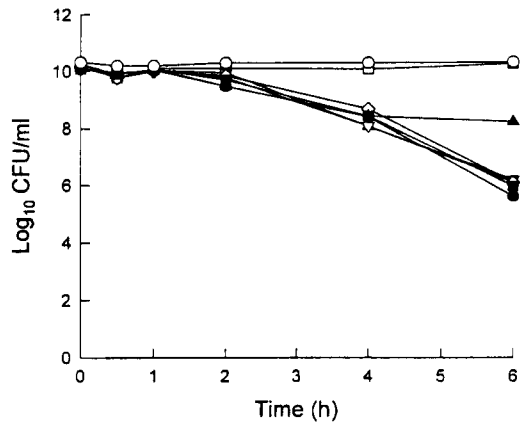


Fig 6. Killing curves against *S aureus* in combination between enrofloxacin and colistin at the ratio of 0:5 (□), 1:4 (△), 2:3 (▽), 2.5:2.5 (◇), 3:2 (■), 4:1 (●) and 5:0 (▲), Growth control (○).

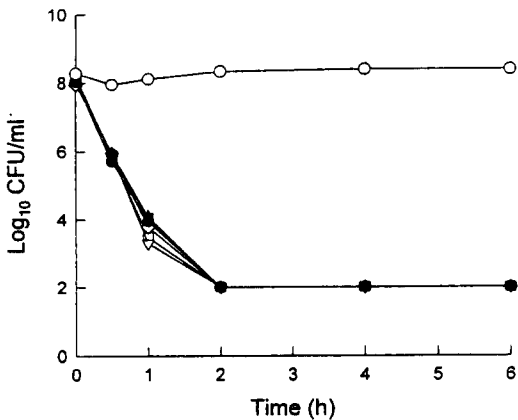


Fig 5. Killing curves against *B bronchiseptica* in combination between enrofloxacin and colistin at the ratio of 0:5 (□), 1:4 (△), 2:3 (▽), 2.5:2.5 (◇), 3:2 (■), 4:1 (●) and 5:0 (▲), Growth control (○).

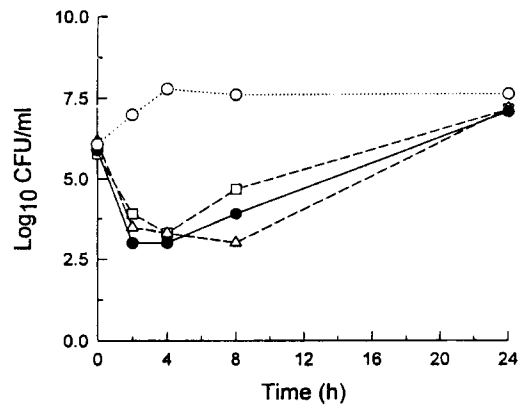


Fig 7. Killing rate curve at the MIC of enrofloxacin (□) and (△) and each one-fourth the MIC of enrofloxacin plus colistin (●) *E coli* K88ab. Growth control (○).

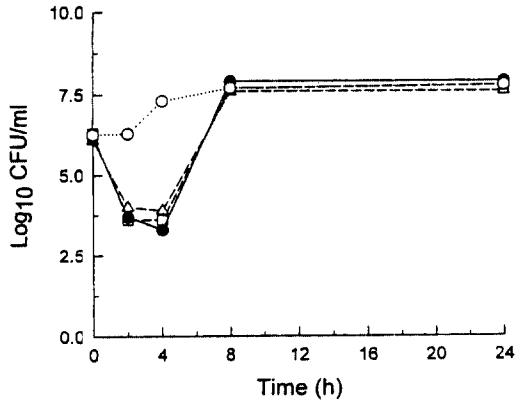


Fig 8. Killing rate curve at the MIC of enrofloxacin (□) and colistin (△) and each one-fourth the MIC of enrofloxacin plus colistin (●) against *S typhimurium*. Growth control (○).

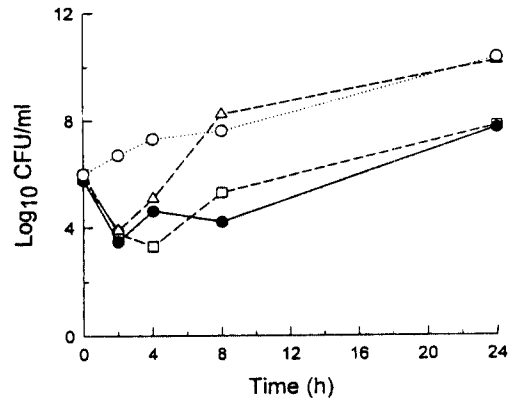


Fig 10. Killing rate curve at the MIC of enrofloxacin (□) and colistin (△) and each one-fourth the MIC of enrofloxacin plus colistin (●) against *B bronchiseptica*. Growth control (○).

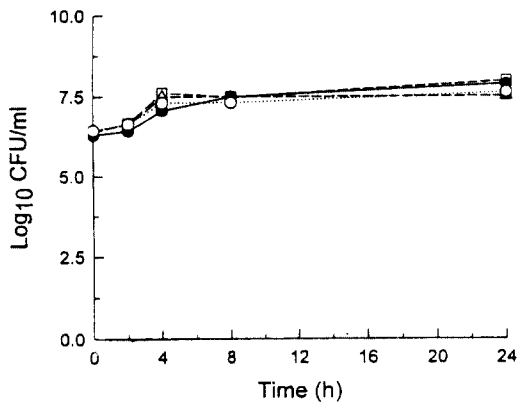


Fig 9. Killing rate curve at the MIC of enrofloxacin (□) and colistin (△) and each one-fourth the MIC of enrofloxacin plus colistin (●) against *P multocida* A. Growth control (○).

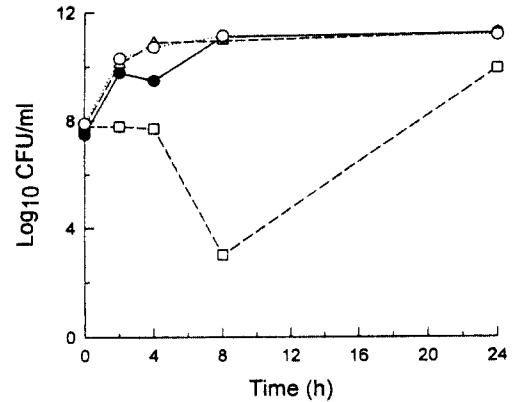


Fig 11. Killing rate curve at the MIC of enrofloxacin (□) and colistin (△) and each one-fourth the MIC of enrofloxacin plus colistin (●) against *S aureus*. Growth control (○).

S aureus R-209균주의 사멸속도를 측정하였으며, 시간의 경과에 따른 세균수의 경시적인 변화를 Fig 7-11에 표시하였다. *S typhimurium*을 제외한 모든 시험균주에서 enrofloxacin과 colistin의 MIC의 1/4농도로 합제시 각 항균제의 MIC농도로 단독투여시 보여준 항균력과 같은 현상을 보여주어 이 두 항균제의 상호작용은 상승작용 혹은 상가작용을 보여주었다. *S typhimurium*은 enrofloxacin과 colistin의 MIC 농도로 각각 단독 항균제를 투여하였을 때 그리고 이 두항균제의 MIC 1/4농도의 합제시험 모두에서 균이 저항성을 보여주었다.

고 찰

최근 국내에서 광범위 항생제인 퀴놀론계통의 항생제를 많이 사용하고 있으며 이 항생제에 대한 많은 내성균주 출현이 우려되고 있다. 퀴놀론 항균물질이 세균에 대한 작용기전은 세균의 DNA gyrase의 작용을 억제함으로써 세균이 생육하는 데 필요한 단백합성을 저해하여 항균효력을 나타내는 강력한 살균성 항생물질이다. 이 항균물질의 특성은 plasmid에 의하여 항생제 내성을 획득하는 것이 아니므로 내성균의 출현이 상당히 어려운 것으로 보고되어있다^{1,3,21}. 최근에 퀴놀

론 항생물질과 다른 계열의 항균물질들을 이용하여 병용투여를 실시한 결과 효과가 더욱 높아지는 것으로 알려져 있다. Enrofloxacin은 특히 수의임상용으로 개발되어진 최초의 불소함유 퀴놀론 항생물질로서 국내외적으로 많이 사용되고 있으며 병용투여 요법이 실행되고 있다. Colistin은 강력한 내독소 중화작용이 알려져 있으며^{12,18}, 가축에서 오랫동안 사용하여 이미 안전성은 확보되어 있다고 볼 수 있다. 그러므로 본 실험에서는 이점에 착안하여 내독소 중화능을 가진 항균제와 빠르게 균을 죽이는 enrofloxacin을 병용투여할 경우 일어날 수 있는 상호작용에 관하여 실험을 실시하였다.

Enrofloxacin과 colistin의 배합비율을 달리하여 병원성 세균 5 균주에서 배합비율에 따른 MIC의 비교실험(Table 1)에서 enrofloxacin 단일 항균물질로 투여될 경우 모든 시험균주에서 0.225 µg/ml 이하의 항균력을 보여주어 enrofloxacin은 강력한 항균력을 보여주었다. Colistin 단일 항균물질로 투여된 경우에는 *S typhimurium*과 *S aureus*는 125 µg/ml로 나타나 이 두균주는 항균제에 대하여 저항성을 보여주었다. Enrofloxacin과 colistin의 병용투여하였을 경우 colistin에 단독 노출시 *S. typhimurim*과 *S. aureus*의 MIC가 125 µg/ml에서 0.45~0.9 µg/ml, <0.225~0.9 µg/ml로 낮아졌다. 이러한 사실은 enrofloxacin이 항균작용을 하는데 있어서 주된 항균제임을 알 수 있었다. 이러한 결과는 단순히 병원성세균을 항균물질에 노출시켜 24시간 후에 측정된 값이므로 항균작용을 받는 세균의 상태를 연속적으로 관찰 할 수 없으므로 항균제와 세균의 시간 개념^{13,20}으로 연구되어야 할 것으로 생각된다. Enrofloxacin과 colistin의 배합비율에 따른 항균력은 MIC법에 의하여 측정할 시에는 24시간이 경과한 후 균의 상태를 확인하게 된다. 그러나 실제로 체내에서 항균물질은 24시간동안 머물지 않고 생물학적 반감기라는 약물동태학적 현상에 의하여 체내밖으로 배출이 된다⁴. 이러한 사실은 항균물질이 초기에 균을 사멸하여야 좋은 효과를 거둘 수 있다는 사실을 암시하고 있다. 그러므로 본 실험에서는 여러 산업동물에서 enrofloxacin의 생물학 적반감기가 4~7시간으로 보고되어 있고³, 최고혈중농도는 경구 및 근육투여시 0.8~2.0 µg/ml로 알려져 있으므로³ 이러한 사실로부터 항균물질 노출 초기 6시간까지의 초기 사멸속도는 매우 중요하므로 이에 대한 실험을 실시하였다. *E coli* K88ab을 시험균주로 초기사멸속도를 배합비율을 달리하여 MIC의 4배 농도로 노출시킨 결과 모든 배합비율수준에서 1%이내의 억제효과를 보였다(Fig 2). MIC의 4배

농도는 안전계수로서 흔히 생체내에서 항균물질이 항균력을 발휘하기 위해서는 MIC의 4배 농도가 혈중에 존재해야한다고 알려져있다. 그러나 24시간의 관찰시위의 배합비율의 MIC의 1/4농도로 노출시 6시간 이후에 재성장을 보여주므로서(Fig 7) 연속투여에 의한 항균효력과 PAE(post antibiotic effect)에 관한 연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다. *S typhimurium*에 대한 MIC의 4배 농도에서 초기 6시간 동안 노출시 enrofloxacin:colistin의 1:4와 5:0의 비율에서 2시간째에 약간의 재성장을 보이다가 그 이후 억제되는 현상을 보여주었다(Fig 3). 이러한 결과는 단일 균주라 하더라도 중등도 내성의 균주와 감수성균주의 차이 혹은 균주 성장기의 차이에 따라 저항이 다르게 나타난 결과로 생각되어진다. 이러한 사실은 MIC의 1/4 농도의 모든 배합비율의 수준에서 균주의 감수성을 보이지 않는다는 사실로 유추할 수가 있다. *P multocida* type A을 7개의 배합비율수준에서 MIC의 4배농도로 노출시 1시간째에 enrofloxacin의 단독투여시에만 약간의 재성장을 보이다가 2시간째에 다시 균의 성장을 다른 배합비율의 항생제 수준으로 균의 성장을 억제하였다. Enrofloxacin:colistin의 배합비율이 4:1의 수준에서만 6시간동안 완전한 균의 억제를 보였다(Fig 4). 위의 균주에 대하여 enrofloxacin과 colistin의 MIC의 농도로 24시간동안 노출시에 각각의 항생제에 내성을 보였으나 두 항균제를 각각의 항균제의 MIC의 1/4 농도로 하였을 경우에 이 균을 억제시키다가 8시간이후에 재성장을 보였다(Fig 9). 이러한 사실로 이 균주에 대하여 이 두항균제는 상승효과가 있음을 알 수 있었다. *B bronchiseptica*을 시험균주로 MIC의 4배농도로 조절하여 초기사멸속도를 측정된 결과 모든 배합비율의 수준에서 강력한 항균력을 발휘하였다(Fig 5). 그러나 enrofloxacin과 colistin을 MIC농도 수준에서 24시간 동안 노출시 초기 2시간까지 억제경향을 보이다가 그 이후에 재성장을 보여주었다. 위의 결과로 추측할 때 단독의 enrofloxacin과 colistin을 단독으로 임상적 적용할 경우 위의 세균이 서식하고 있는 부위에는 이들 항균제의 4배농도로 도달해야 효력이 있다는 것을 암시하고 있다. Enrofloxacin과 colistin의 병용투여시 1/4의 농도로 혼합하여 투여시 상당한 상가작용을 보여주고 있어 병용투여도 고려될 수 있으리라 사료된다. 그람양성균주의 대표적인 모델인 *S aureus* R-209에 대한 enrofloxacin과 colistin을 배합비율로 조절한 후 MIC의 4배농도로 6시간내에서 이루어지는 사멸속도를 측정된 결과 colistin의 단독투여시에는 저항성을 보였으나 enrofloxacin이 첨가된 배합비율에서는 느린

살균작용 혹은 균의 증식억제작용을 보여주어 enrofloxacin이 주된 항균효력을 발휘하는 것으로 생각이 되었다(Fig 6). 그러나 enrofloxacin과 colistin에 대한 MIC농도에서 각각 단독투여시 빠른 균의 억제현상 혹은 살균작용을 보여주어 초기 MIC의 4배농도에서 관찰된 느린 살균작용과는 상반되는 실험결과를 얻었다. 이러한 현상에 대해서는 현재 결과로 정확하게 알 수 없으나 퀴놀론계의 항균작용은 이분상의 항균력을 발휘하는 것으로 알려져 있어 농도에 따른 살균현상에 대한 연구가 뒤따라야 할 것으로 생각된다. 본 실험에 대한 전체적인 내용을 요약하면, enrofloxacin과 colistin은 시험균주들에 대하여 상승 혹은 상가작용이 있다는 것을 알 수 있었으며, 이러한 두 항생제의 상호작용은 균주와 두 항균제의 배합비율의 수준에 따라 사멸속도가 다르게 나타나, enrofloxacin의 빠른 살균의 속도에 colistin의 내독소중화능으로 이루어지는 복합제제의 개발은 새로운 개념의 항균제개발이 될 것으로 생각되며, 앞으로는 동물에서 이 두 항균제의 체내거동에 대한 연구가 지속적으로 이루어져야 할 것으로 생각된다.

결 론

그람음성세균 감염증의 치료에 있어 수의임상에서 널리 사용되고 있는 enrofloxacin과 colistin에 대하여 시험균주인 *E. coli* k88ab, *Salmonella typhimurium*, *Pasteurella multocida* type A, *Bordetella bronchiseptica* 그리고 *Staphylococcus aureus*에 대하여 병용투여시 배합비율에 따른 MIC, FIC, 초기사멸속도 및 이들 배합제제에 노출하였을 때 24시간동안의 균수의 변화를 약역학적인 관점에서 조사하였다. Enrofloxacin과 colistin의 배합비율에 따른 병원성세균에 대하여 초기 사멸속도를 측정할 결과, enrofloxacin과 colistin을 5:0, 4:1, 3:2, 1:1, 2:3, 1:4 0:5의 비율의 조건 하에서 *S aureus* R-209를 제외한 모든 시험균주에서 2시간 이내에 세균수가 현저하게(1% 이하) 감소됨으로써 항균력이 신속함을 알 수 있었다. Enrofloxacin과 colistin의 여러 배합비율로 적용하여 24시간 동안의 사멸속도 변화를 측정하였는 바, 이들 항생제의 단일 MIC 용량에서는 그람음성균주 중 *E coli* K88ab, *Pasteurella multocida* typeA, *Bodetella bronchiseptica*에 대하여 노출 후 첫 2~4시간 사이에 가장 높은 사멸속도를 보였고 그 후 재성장되었다. 그러나 두 항균물질 각각의 MIC용량의 1/4 용량을 배합하였을 경우 높은 사멸속도를 나타냄으로써 이들 상호간 항균 상승작용이 있음을 관찰

하였다. 그러나 *Salmonella typhimurium*과 그람양성균인 *Staphylococcus aureus* R-209에서 두 항균물질의 병용투여는 상승 혹은 상가작용의 효과를 나타내지 않았다. 결론적으로 enrofloxacin과 colistin의 병용투여는 그람음성균에 대하여 상승된 항균력과 colistin이 가지고 있는 내독소 중화능의 효과로 그람음성균 감염증에 우수한 치료효과를 나타낼 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Anadon A, Martinez-Larranaga MR, Diaz MJ. Pharmacokinetics and residues of enrofloxacin in chickens. *Am J Vet Res*, 1995; 56: 501-506.
2. Anthonius MD, Nijland GV, Hilly OM, Paula JW. Effect of different type and combinations of antimicrobial agent on endotoxin release from gram-negative bacteria: An *in-vitro* and *in-vivo* study. *Scand J Infect Dis* 1991; 23: 745-754.
3. Babish JW, Davidson J. The comparative of a new quinolone, enrofloxacin in dogs, horses, calves, chickens, and turkeys. *J Vet Pharma Therap*, 1990; 13: 190-197.
4. Baggot JD. General principles governing translocation of drugs. In Baggot JD, ed, *Principles of Drug Disposition in Domestic Animals*. 2nd ed, WB. Saunders Co., Philadelphia: 1-21, 1977.
5. Broome RL, Brooks DL, Babish JG. Pharmacokinetic properties of enrofloxacin in rabbits. *Am J Vet Res*, 1991; 52: 1835-1841, 1991.
6. Bucklin SE, Fujihara MC Leeson DC. Differential antibiotic-induced release of endotoxin from gram-negative bacteria. *Eur J Microbiol Infect Dis* 1994; 13: 43-51.
7. David CM, Diane MJ. Inhibition of lipopolysaccharide-initiated activation of serum complement by polymyxin B. *Antimicrob Agent Chemothera*, 1974; 13: 298-301.
8. David R, John DP. Neutralization of endotoxin toxicity in chick embryo by antibiotics. *J. Bacteriol*. 1966; 92: 815-819.
9. Diane MC, Michael JR. Comparison of methodologies for synergism testing of drug combinations against resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agent Chemothera*. 1996; 40: 677-683.
10. Edward EI, Desiree V, Kusser W. Control of lipopolysaccharide biosynthesis and release by *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. *J. Bacteriol* 1986; 168: 328-333.
11. Heather AC, Bion JF, Penn CW, Elliott TSJ. Antibiotic-induced release of endotoxin from bacteria *in vitro*. *J Med Microbiol*, 1994; 40: 23-30.
12. Hirohiko AK, Masashi T, Tohru HK. Treatment of

- sepsis by extracorporeal elimination of endotoxin using polymyxin B-immobilized fiber. *Am J surgery*. 1994; 167: 412-417.
13. Hooper DC, Wolfson JS. Mechanism of quinolone action and bacterial killing. In Hooper DC, ed. *Quinolone Antimicrobial Agents*. 2nd ed., American Society for Microbiology, Washington: 3, 53-76, 1993
 14. Hurley JC, Louis WJ, Tosolini FA, Carlin JB. Antibiotic-induced release of endotoxin in chronically bacteriuric patients. *Antimicrob Agent Chemothera* 1991; 35: 2388-2394.
 15. Itzhak OC, Soppie R, Rita K, Kisra T, Dove H, Yaacov RE. Antibacterial synergism of polymyxin B nonapeptide and hydrophobic antibiotics in experimental gram-negative infections in mice. *Antimicrob Agent Chemothera* 1994; 38: 374-377
 16. Milis PC, Sawright AA, Auer DE. Kinetics of endotoxin, complement and platelet-activating factor(PAF) induced vascular permeability in greyhounds. *J Vet Pharmacol Therap*, 1994; 17: 470-472.
 17. Passlick B, Labeta MO, Izbicki JR, Ostertag P, Loffler T, Siebeck M. Prevention of experimental endotoxin shock by a monocyte activator. *Antimicrob Agent Chemothera*. 1995; 39: 2535-2540.
 18. Robert LD, Keith AJ, Marc R, William HP, Nelson J, Kenneth MA, Joseph EP. Purification, toxicity, and antiendotoxin activity of polymyxin B nonapeptide. *Antimicrob Agent Chemothera*, 1989; 33: 1428-1434.
 19. Rose ML, Semrad SD, Putnam SL, Brown SA. Effect of endotoxin on tirilazad mesylate (U74006F) pharmacokinetic parameters in neonatal calves. *J Vet Pharmacol Therap*, 1993; 16: 438-445.
 20. Shyamal P, Michael LM, Cass KN, Mcnamara JJ. Pharmacokinetics of endotoxin in a rhesus macaque septic shock model. *J Surgical Research*. 1995; 59: 428-432.
 21. Vancutsem PM, Babish JG, Schwark WS. The fluoroquinolone antimicrobials: structure, antimicrobial activity, pharmacokinetics, clinical use in domestic animals and toxicity. *Cornell Vet*, 1989; 80: 173-186.
 22. Veronique JB, Yves GB, Michel CC. Endotoxin-tobramycin additive toxicity on renal proximal tubular cells in culture. *Antimicrob Agent Chemotherapy* 1991; 35: 351-357.
 23. Warren HS, Sthephen AK, George RS. Binding and neutralization of bacterial lipopolysaccharide by colistin nonapeptide. *Antimicrob Agent Chemothera*, 1985; 28: 107-112