大韓微生物學會誌：第13卷 第1號 1978
J. Kor. Soc. Microbiol., Vol. 13, No. 1, 1978

檢查方法에 따르는 抗菌劑感受性의 比較

慶北大學校 醫科大學 細菌學敎室

朴 東 春·全 兼 基

Comparative Antimicrobial Susceptibility by the Methods of Test

Dong Choon Park and Doki Chun

Department of Bacteriology, Kyungpook National University School of Medicine, Taegu, Korea

The difference in antimicrobial susceptibility of multiply drug-resistant *Salmonella typhi* by the methods of test was tested against chloramphenicol(Cm), tetracycline(Tc), ampicillin (Ap), kanamycin(Km), and rifampicin (Rif), and the results were compared by the minimum inhibitory concentration (MIC). No appreciable difference was noted between MICs of Cm, Tc, and Rif measured by agar plate dilution (plate) method and broth dilution (broth) method. However, MICs of Km to about a half of test strains were 4 to 8-fold higher by broth method than plate method, and MICs of Ap by broth method were also a little higher than plate method in some strains. Cm and Rif were bacteriostatic rather than bactericidal to the most of test strains in high concentrations. Tc, Ap and Km were exclusively bactericidal to the test strains.

緖 論

抗菌劑에 對한 感受性檢查에는 여러가지 方法이 考案되어 있다. 그러나 各方法에는 一長一短이 있어 그 중 몇가지 方法이 主로 使用되고 있으나 그 成績이 方法에 따라 差異가 있음은 잘 알려져 있다.

手技가 簡單하고 臨床材料에서 分離한 菌을 곧 實驗할 수 있는 disk法이 標準化되어[1] 널리 使用되고 있으나 우리나라에서는 disk를 求하는데 隘路가 있으며 또 이 方法에 있어서는 使用하는 培地의 條件을 嚴密히 規定하여 같은 條件의 培地를 使用하지 않으면 正確한 成績을 얻기 어려운 短點이 있다[1,2]. 寒天平板培地에 抗菌劑를 含有시켜 여기에 菌을 接種하여 檢查하는 平板稀釋法(平板法)[3]은 많은 菌株를 同時에 檢查할 수 있는 利點이 있으나 抗菌劑含有培地를 長時日保存할 수 없고 少數의 菌을 檢查할 때는 培地가 濫費되는 缺點이 있다. Broth에 抗菌劑를 稀釋하여 檢查하는 broth 稀釋法(broth法)[4,5]은 平板法과 같은 原理이며 그 結果가 比較的 正確하고 抗菌劑의 殺菌濃度도 測定할 수 있는 利點이 있으나 broth內 抗菌劑의 稀釋 등 手技가 複雜하고 雜菌이 混入할 機會가 많은 등의 缺點이 있다.

이들 抗菌劑 檢查法의 成績의 比較評價는 disk法과 平板法 또는 disk法과 broth法 사이에는 많이 이루어졌으며 供試菌과 供試抗菌劑에 따라서 差異는 있으나 大體로 그 結果가 平行하는 것으로 報告되어 있다[3,6~8]. 그러나 平板法과 broth法의 比較에 關한 報告는 보기

Table 1. Comparison of MIC and MBC of chloramphenicol to drug-resistant *S. typhi*

Strain no.	Agar dilution	Broth dilution		
	MIC[a]	MIC	MBC[b]	MBC/MIC
72-45	400[c]	800	>1600	>2
73-40	200	200	400	2
73-67	200	400	1600	4
K50	50	200	>1600	>8
K64	400	400	>1600	>4
B8	200	200	>1600	>8
74-B62	200	200	>1600	>8
KS3	200	400	1600	4
74-D12	400	400	1600	4
74-D18	400	200	1600	8
74-D19	400	200	>1600	>8
74-D48	400	200	1600	8
75-131	400	400	800	2
76-132	400	400	>1600	>4
77-D1	400	800	>1600	>2

a Minimum inhibitory concentration.
b Minimum bactericidal concentration.
c μg/ml.

어렵다.

本敎室에서는 많은 菌 特히 腸內細菌에 對하여 平板法에 依한 感受性檢査를 하고 있으며 이 方法과 broth 法의 結果를 比較하고 또 抗菌劑의 菌發育阻止濃度와 殺菌濃度와의 關係를 比較하고저 多藥劑耐性인 Salmonella typhi를 供試하여 實驗하였다.

方法 및 材料

供試菌株 : 本敎室에서 分離한 多藥劑耐性 S. typhi 15株이며 이들 菌株는 大部分이 chloramphenicol (Cm), tetracycline (Tc), streptomycin, sulfisomidine에 耐性이었고 4株는 ampicillin(Ap)에, 3株는 kanamycin(Km)에도 耐性이었다.

供試藥劑 : Cm (Parke Davis Co.), Tc (Lederle Labs.), Ap (Beecham Res. Labs.), Km(日本萬有製藥) 및 rifampicin(Rif, 國立保健院)을 供試하였으며 이들 藥劑는 適當한 溶媒에 溶解시킨 다음 稀釋하여 供試하였다[9,10].

藥劑感受性檢査 : 平板法 및broth法의 두가지 方法에 依하여 檢査하였다. 平板法은 Chun등[11]의 方法에 따라 brain heart infusion (BHI) agar (pH 7.2)를 供試하였다. 高濃度의 抗菌劑溶液을 만든 다음 이를 2倍順次稀釋하여 各種 濃度의 抗菌劑溶液을 만든 다음 여기에 溶解시켜 55°C에 保存한 2倍濃度의 BHI agar를 同量씩 加하여 充分히 混和한 후 平板에 分注 凝固시켜 保存한다. Broth法에 있어서는 2倍로 順次稀釋된 抗菌劑溶液에 2倍濃度의 BHI broth (pH 7.2)를 同量씩 加하여 混合한 다음 2.0ml씩 小試驗管에 分注하여 無菌試驗을 한 후 保存한다. 이 方法에 依하여 2倍로 順次稀釋된 抗菌劑를 含有하는 平板 또는 broth 培地가 調製된다.

菌接種은 平板法에 있어서는 食鹽水로 100倍 稀釋한 BHI broth 培養菌液을 Steers등[12]의 接種用具로 平板表面에 接種하였고 broth法에서는 上記 培養稀釋液을 broth培地에 0.05ml씩 接種하였다. 成績判定은 37°C에서 20~24時間 培養한 다음 菌發育 有無를 보아 最小發育阻止濃度(MIC)를 決定하였다[13]. 最小殺菌濃度(MBC)는 broth法에서 肉眼的으로 菌發育을 認定할 수 없는 抗菌劑 broth含有 內容을 白金耳로 取하여 普通寒天平板培地에 移植 培養한 다음 菌集落의 發生 有無로 보아 原接種菌의 99.9%가 殺菌되는 濃度로

表示하였다.[14]

成　　績

抗菌劑耐性인 S. typhi의 Cm感受性을 比較한 바 第1表와 같이 平板法에 依한 MIC는 50~400μg/ml 이며 broth法의 MIC는 200~800μg/ml이었다. 15株中 7株에서는 兩法의 MIC가 同一하며 5株에서는 平板法의 MIC가 broth法보다 낮았으나 그 差異는 1階段이며 1株에 있어서만 2階段이었고 3株에 있어서는 broth法의 MIC가 平板法보다 낮았다. Broth法의 MIC와 MBC를 比較하여 보면 大體로 MBC가 MIC보다 높았으며 그 中 MBC가 MIC보다 8倍 또는 그 以上 높은 것이 6株, 4倍 또는 4倍 以上 높은 것이 5株, 2倍 以上 높은 것이 4株여서 Cm은 抗菌劑耐性인 S typhi에 對하여는 高濃度에서도 靜菌的인 藥劑임을 알 수 있다.

Tc의 MIC를 比較하여 보면 第2表와 같이 平板法의 MIC가 broth法보다 높은 것이 8株였고 그 中 1株는 板平法의 MIC가 broth法보다 4倍 높았으며 殘餘菌株에 있어서는 broth 法이 多少 높으게 나타나거나 同一하였다. MIC와 MBC를 比較하여 보면 3株를 除外한 12株에서 結果가 同一하였으며 이는 Tc가 殺菌

Table 2. Comparison of MIC and MBC of tetracycline to drug-resistant *S. typhi*

Strain no.	Agar dilution	Broth dilution	
	MIC	MIC	MBC
72-45	200	200	200
73-40	100	50	50
73-67	200	50	50
K50	50	100	100
K64	200	100	200
B8	200	100	200
74-B62	400	800	800
KS3	100	100	200
74-D12	200	200	200
74-D18	200	100	100
74-D19	200	200	200
74-D48	400	800	800
75-131	200	100	100
76-132	400	200	200
77-D1	400	100	100

Table 3. Comparison of MIC and MBC of ampicillin to drug-resistant *S. typhi*

Strain no.	Agar dilution	Broth dilution	
	MIC	MIC	MBC
72-45	0.4	0.8	0.8
73-40	0.2	0.2	0.2
73-67	0.2	1.6	1.6
K50	50	100	100
K64	0.4	0.4	0.4
B8	0.4	0.4	0.4
74-B62	25	200	200
KS3	100	200	200
74-D12	0.4	0.4	0.4
74-D18	0.4	0.8	0.8
74-D19	0.4	0.4	0.4
74-D48	25	50	100
75-1311	.6	1.6	1.6
76-132	0.8	1.6	3.1
77-D1	0.8	1.6	3.1

Table 4. Comparison of MIC and MBC of kanamycin to drug-resistant *S. typhi*

Strain no.	Agar dilution	Broth dilution	
	MIC	MIC	MBC
72-45	3.1	6.3	12.5
73-40	3.1	6.3	6.3
73-67	3.1	12.5	12.5
K50	12.5	12.5	12.5
K64	3.1	12.5	12.5
B8	3.1	6.3	6.3
74-B62	25	200	200
KS3	12.5	12.5	25
74-D12	3.1	12.5	12.5
74-D18	3.1	12.5	12.5
74-D19	3.1	12.5	12.5
74-D48	25	200	400
75-131	12.5	12.5	12.5
76-132	3.1	12.5	25
77-D1	6.3	12.5	25

Table 5. Comparison of MIC and MBC of rifanpicin to drug-resistant *S. typhi*

Strain no.	Agar dilution	Broth dilution		
	MIC	MIC	MBC	MBC/MIC
72-45	25	25	800	32
73-40	25	25	200	8
73-97	25	25	400	16
K50	25	25	1600	64
K64	25	25	1600	64
B8	12.5	25	100	4
74-B62	25	50	50	0
KS3	25	25	400	16
74-D12	25	25	400	16
74-D18	25	50	200	4
74-D19	25	50	200	4
74-D48	25	50	800	16
75-131	12.5	25	25	0
76-132	25	50	50	0
77-D1	25	25	50	2

的으로 作用함을 表示한다.

Ap의 MIC(第3表)를 보면 9株에서 broth法의 MIC가 平板法보다 높았으며 그 中 2株는 8倍나 높았으나 殘餘 菌株에서는 兩法이 같은 成績을 나타냈고 平板法이 broth法보다 높은 것은 없었다. MIC와 MBC를 比較하여 보면 3株에서 MBC가 MIC보다 1階段 높았을 뿐 殘餘 12株에서는 같은 數値를 나타내었다.

Km의 MIC를 比較하면 第4表와 같이 平板法의 MIC가 broth法보다 높은 것은 없고 兩法의 MIC가 同一한 것이 3株 있었다. 殘餘 12株에 있어서는 broth法의 MIC가 平板法보다 높으며 그 中 8倍나 높은 것이 2株, 4倍 높은 것이 5株 있었다. MIC와 MIC를 比較하면 兩者가 同一한 것이 10株였고 5株에서는 MBC가 MIC보다 1階段 높았다.

第5表는 Rif의 MIC를 比較한 것인데 兩法의 MIC가 同一한 것이 8株있었고 broth法의 MIC가 平板法보다 높은 것이 7株였으나 그 差異는 1階段이었다. MBC와 MIC를 比較해 보면 MBC가 MIC보다 64倍 높은 것이 2株, 32倍가 1株, 16倍가 4株, 8倍가 1株, 4倍가 3株로서 S. typhi에 靜菌的으로 作用하는 것으로 생각되나 MBC와 MIC사이에 差異가 없거나 1階段의 差異가 있은 것이 4株나 있었다.

考　　察

S. typhi의 抗菌劑耐性菌이 問題視되어 있기 때문에[11] 이들 菌의 耐性을 評價하는데 檢査方法이 어떤 影響을 주는가를 보기 위하여 우리가 常用하고 있는 平板法의 成績을 broth法의 結果와 比較하였다. Cm, Tc 및 Rif의 MIC는 兩檢査法에 있어서 同一하거나 1階段稀釋의 差異밖에 없고 4倍의 差異가 있는 것은 1株 程度여서 大體로 同一하다고 생각된다. 다만 Ap와 Km에 있어서는 broth法의 MIC가 平板法보다 높은 것이 많으며 特히 兩法사이에 8倍~4倍의 差異가 있는 것이 있어서 broth法의 MIC가 平板法보다 多少 높이 나타나는 傾向이 있는 것으로 생각된다. 感受性菌에 있어서는 微量의 抗菌劑를 使用하기 때문에 여러가지 誤差가 實驗過程에 介入할 可能性이 있어 評價하기가 困難하므로 本實驗에서 抗菌劑感受性菌에 對하여는 實驗하지 않았다.

平板法에서는 MBC를 實驗하기 困難하기 때문에 broth法에 依하여 MIC와 MBC를 比較하였다. Cm과 Tc는 低濃度에서는 靜菌的이나 高濃度에서는 殺菌的인 藥劑로 알려져 있다[16]. 本實驗의 結果를 보면 Cm은 15株中 11株의 供試菌에 對하여 高濃度에서도

靜菌的으로 作用하며 殺菌濃度는 大體로 1600μg/ml以上이었다. 이에 反하여 Tc는 50μg/ml 以上의 濃度에서는 殺菌的으로 作用하여 MIC와 MBC사이에 別 差異를 보지 못하였다. 抗菌劑의 靜菌 또는 殺菌作用은 菌에 따라서 다름은 잘 알려져 있으니[17~19] 本實驗의 結果는 抗菌劑耐性 S. typhi에 對하여만 말할 수 있는 것이며 다른 菌에 對한 結果는 別途를 實驗하여야 할 것이다. Ap와 Km에 있어서는 MIC와 MBC사이에 別 差異가 없어서 이들 抗菌劑는 殺菌的인 것임을 表示하였다[19,20]. Rif은 元來 殺菌性 抗菌劑로 發表되었으나[20] 本實驗의 結果를 보면 抗菌劑耐性 S. typhi에 對하여는 靜菌的인 作用을 主로 나타내는 것으로 생각된다.

要 約

抗菌劑耐性인 Salmonella typhi를 供試하여 chloramphenicol (Cm), tetracycline (Tc), ampicillin (Ap), kanamycin (Km) 및 rifampicin (Rif)의 抗菌作用을 寒天平板稀釋法(平板法)과 broth 稀釋法(broth法)으로 比較하였다. 供試菌의 最少發育阻止濃度(MIC)를 보면 Cm, Tc 및 Rif에 있어서는 平板法과 broth法 사이에 留意할만한 差異는 없었으나 Km에 있어서는 broth法의 MIC가 平板法보다 높은 것이 約 半數 있었고 Ap에 있어서도 少數 있었다.

Cm과 Rif는 大部分의 供試菌에 對하여 靜菌的으로 作用하였으나 Tc, Ap 및 Km은 殺菌的으로 作用하였고 그 作用은 菌株에 따라 差異가 있었다.

參考文獻

1. Bauer, A.W., W.M.M. Kirby, J.L. Sherris, and M. Turk. 1966. Antibiotic susceptibilty testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol. **45** : 483—496.
2. Barry, A.L., G.D. Fay, and F. W. Atchison. 1972. Quality control of antimicrobial disc susceptibility testing with a rapid method compared to standard methods. Antimicrob. Agents Chemother. **2** : 419—422.
3. Williams, R.B., andW. H. Ewing. 1964. The susceptililty of *Shigella* and *Escherichia* to antimicrobial agents. Communicable Disease Center, Atlanta, Ga., US.A.
4. Rammelkamp, D.H. 1942. A method for determining the concentration of penicillin in body fluid and exudates. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. LI: 95—97.
5. Tilton, R.C., Lieberman, L., and E.H. Gerlach. 1973. Microdilution antibiotic suseeptibility test: Examination of certain variables. Appl. Microbiol. **26** : 658—665.
6. Waitz, J.A. 1973. Interelationships between disk and tube dilution sensitivity tests for the aminoglycoside antibiotics gentamicin, kananycin, sisomicin, and tobramycin. Antimicrob. Agents Chemother. **4** : 445—454.
7. Garner, C., B. Rosner, and M. Finland. 1975. Disk diffusion and serial dilution tests of susceptilility of some pathogenic gram-negative bacilli and enterococei to carbenicillin. and ampicillin. Antimicrob. Agents Chemother. **8** : 172—186.
8. Louie, T.J., F.P. Tally, J.G. Bartlett, and S.L. Gorbach. 1976. Rapid microbiological assay for chloramphenicol and tetracycline. Antimicrob. Agents Chemother. **9** : 874—878.
9. MacLowry, J.D., M.D., M.J. Jaqua, and S.T. Selepak. 1970. Detailed methodslogy and implementation of a semiautomated serial dilution microtechnique for antimicrobial susceptibility testing. Appl. Microfiol. 20 : 46—53.
10. Rudoy, R.C., J.D. Nelson, and K.C. Haltalin 1974. In vitro susceptibility of *Shigella* strains to trimethoprim and sulfamethoxazole. Antimicrob. Agents Chemother. **5** : 439—443.
11. Chun, D., S.Y. Seol, D.T. Cho, and R. Tak. 1977. Drug resistance and R. plasmids in Salmonella typhi isolated in Korea. Antimicrob. Agents Chemother. **11** : 209—213.
12. Steers, E., E.L. Flotz, and B.S. Graves. 1959. Inocula replicating apparatus for routine testing of bacterial susceptifility to antibitics. Antifiot. Chemother. **9** : 307—311.
13. Mark, M.I., M. Kazemi, and E. MacKay.

1973. In vitro sensitivity of *Salmoaella* to ten antimicrobial agents including sulfamethoxazole and trimethopsim, alone and in combination. Antimicrob. Agents ehemother. 4 : 555—559.

14. Zinner, S.H., R.B. Provonchee, K.S. Elias, and G. Peter. Effect of clindamycin on the in vitro activity of amikacin and gentamicin against gram-negative bacilli. Antimicrob. Agents Chemother 9 : 661—664.
15. Jawetz, E., J.I. Melnik, and E.A. Aderberg. 1976. Review of Medical Microbiology. Lange Med. Publ., Los Altos, Calf., U. S.A.
16. Walter, A.M., and L. Heilmeyer. 1969. Antibiotica. G. Thieme Verlag, Sfuttgast, Germany.
17. Weinstein, M.J. 1967. Experimental backgr-ound and bacteriology of gentamicin. Gentamicin, First Internat'l Symposium. paris, Schwabe and Co., Basel, Switzerland.
18. Jorgensen, J.H., and P.M. Jones. 1975. Simplified medium for ampicillin susceptibility testing of *Haemophilus influcnzae*. Antimicrob. Agents Chemother. 7 : 186—190.
19. Iannini, P.B., J. Ehret, and T.C. Eickhoff. 1976. Effects of ampici. llin-amikacin and ampicillin-rifampin on enterococci. Antimicrof. Agents Chemother. 9 : 448—451.
20. Kurytowicz, W. 1976. Antibiotics. Polish Med. Publishers, Warsaw, Poland.