

항암활성을 지닌 *Streptococcus pyogenes*의 적정 살균조건 에 관한 연구

(제 2 보) 생육에 미치는 소독제와 항생물질 처리의 영향

김성욱, 신원철*, 오두환, 유주현

연세대학교 공과대학 식품공학과

* 강원대학교 공과대학 발효공학과

(1981년 11월 10일 수리)

Studies on the optimal conditions of Sterilization for *Streptococcus pyogenes*

(Part II) Effect of Disinfectant and Antibiotics on Growth

Sung Uk Kim, Won Cheol Shin,* Doo Hwan Oh and Ju Hyun Yu

Department of Food Engineering, Yonsei University,

Department of Fermentation Engineering, Kangwon National University*

(Received November 10, 1981)

Abstract

The optimal conditions of sterilization for *Streptococcus pyogenes* treated with disinfectant and antibiotics were investigated.

The survivors of *Streptococcus pyogenes* had no effect at the concentration of 0.2% hydrogen peroxide but decreased abruptly when the concentration increased from 0.4% to 1.0%.

Minimum inhibitory concentration values of 0.78, 0.39 and 3.125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ for erythromycin, tetracycline and cephalexin, respectively, were obtained for *Streptococcus pyogenes* when incubated at 37°C for 24 hrs.

Tetracycline and cephalexin showed bactericidal effect against *Streptococcus pyogenes*, whereas erythromycin did bacteriostatic effect.

서 론

전보^[1]에서는 항암활성이 높은 균주를 선정하여 균의 생존에 미치는 열처리의 영향에 대하여 검토하였다. 여기서는 전보에서 선정한 균주의 생존에 미치는 살균제 및 항생물질의 영향에 대하여 검토하였다.

실험재료 및 방법

선정 균주의 보존과 균체의 조제

전보^[1]의 실험방법에 의해 조제하였다.

과산화수소 처리

새로운 배지 1.8 ml에 균체 0.1 ml를 접종하고 시판 중인 30% 과산화수소(Wako pure chemical, Ltd.)를 0.1 ml 가하여 최종 농도를 달리하여 각 온도에서 열처리를 행한 다음 시료를 채취하여 생존율을 조사하였다.

최소 생육 저지농도의 측정

항생물질의 Minimum inhibitory concentration (MIC)는 tube dilution method^[2]를 사용하여 37°C에서 24시간 배양한 후 탁도를 육안으로 판별하여 MIC를 결정하였다.

항생물질 처리

배지에 균을 접종하여 15~16시간 배양한 균액을 1×10^6 ml 되게 조절한 후 새로운 배지 1.6 ml에 균액 0.2 ml를 접종하고 penicillin G sodium (한독약품), chloramphenicol, rifampicin, tetracycline, erythromycin(종근당), kanamycin (동아제약), cephalaxin을 각각 0.2 ml 씩 첨가하고 최종 농도가 MIC가 되게 조절하여 열 처리를 행한 후 시료를 채취하여 생존율을 조사하였다.

생균수 측정

전보^[1]의 실험방법에 따라 측정하였다.

실험결과 및 고찰

파산화수소 처리와 생존율과의 관계

Thenard에 의하여 발견된 파산화수소는 분해되어 생성하는 발생기 산소에 의한 강력한 산화 작용으로 표백, 탈취, 살균효과가 있고 사용 후 분해 잔류 생성물의 독성 문제도 없기 때문에 소독제나 첨가물로서 널리 사용되어져 왔으며^[3], 염소나 chloramine 등과 같이 효소 단백질 또는 핵 단백질의 -SH기를 파괴하여 살균효과를 일으키는 것으로 보고되어져 있다^[4].

한편, 어떤 약제가 미생물에 작용하여 살균 또는 생육 억제작용을 나타내기 위하여서는 약제의 농도, 처리온도, 작용환경의 pH, 수분 존재 유무 등에 따라 상당한 영향을 받으며^[5] 특히 약제가 가스 상태인 경우에는 수분의 존재가 필수적이라고 보고하고 있다^[6~8].

약제의 살균력에 영향을 미치는 농도와 온도 변화에 따른 생존균 수와 처리시간과의 관계를 Fig. 1, 2, 3, 4에 나타내었다. Fig. 1, 2에 나

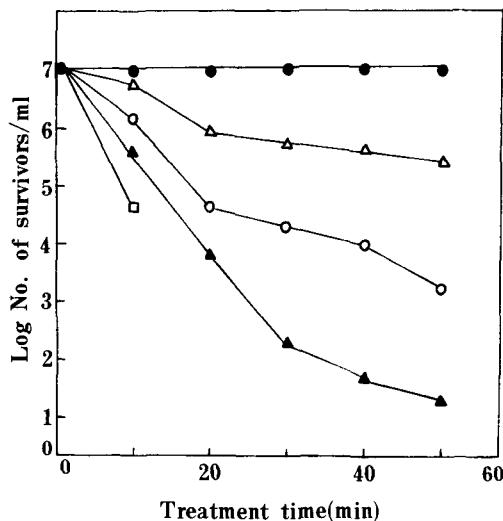


Fig. 1. Survivor Curves of *Streptococcus pyogenes* Treated with Hydrogen Peroxide at 30°C

●—● : 0.2% ▲—▲ : 0.8%
△—△ : 0.4% □—□ : 1.0%
○—○ : 0.6%

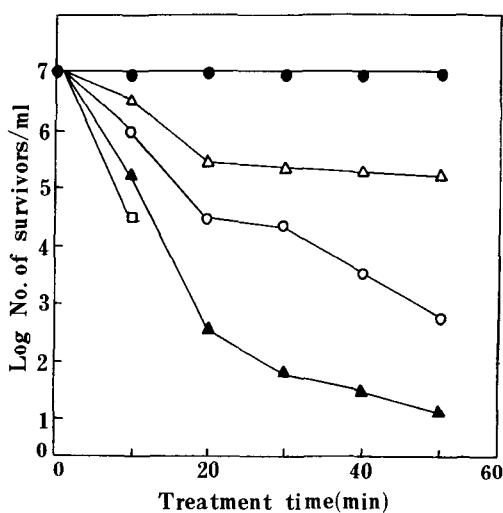


Fig. 2. Survivor Curves of *Streptococcus pyogenes* Treated with Hydrogen Peroxide at 37°C

●—● : 0.2% ▲—▲ : 0.8%
△—△ : 0.4% □—□ : 1.0%
○—○ : 0.6%

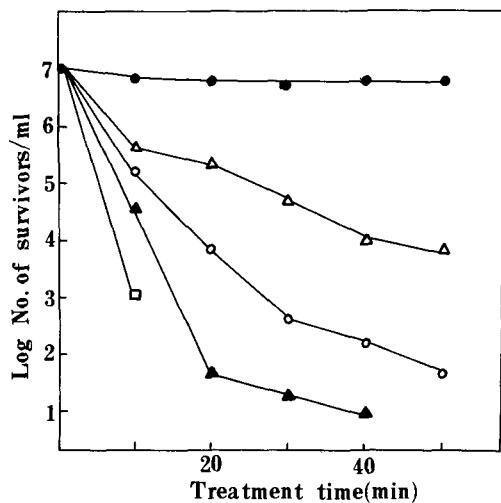


Fig. 3. Survivor Curves of *Streptococcus pyogenes* Treated with Hydrogen Peroxide at 42°C
 ●—● : 0.2% ▲—▲ : 0.8%
 △—△ : 0.4% □—□ : 1.0%
 ○—○ : 0.6%

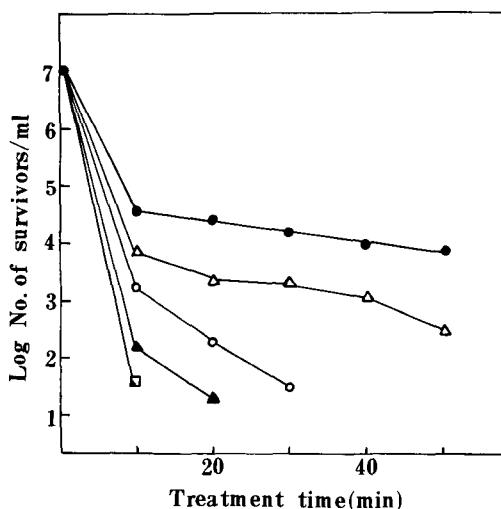


Fig. 4. Survivor Curves of *Streptococcus pyogenes* Treated with Hydrogen Peroxide at 50°C
 ●—● : 0.2% ▲—▲ : 0.8%
 △—△ : 0.4% □—□ : 1.0%
 ○—○ : 0.6%

타낸 바와 같이 일정한 농도에서는 처리 시간이 길어짐에 따라 균의 생존율은 급속히 감소하였고, 0.2% 농도에서는 영향이 없었으나 1% 농도에서는 10분 처리에 단지 0.5% 미만이 생존하였고 그 이후 처리에서는 생존균이 나타나지 않았다.

그러나 Fig. 3, 4에 나타낸 바와 같이 42, 50°C에서는 0.2% 농도에서도 생존율의 감소를 나타냈으며 처리 시간이 길어짐에 따라 사멸이 더 빠르게 일어났다. 이처럼 생존균 수에 미치는 농도의 영향이 크기 때문에 혼탁액을 각 온도에서 10분간 처리한 후 생존율과 농도와의 관계를 Fig. 5에 나타내었다. 그림에 나타낸 바와 같이 파산화수소의 농도가 증가함에 따라 생존율은 급격히 감소하였으며 특히 1% 농도에서는 살균 효과가 현저하였다. 30, 37°C에서는 각 농도에 따라 생존율에 큰 차이를 나타내지 않았으나 50°C에서는 커다란 차이를 나타내고 있으며 이러한 온도 증가에 따른 영향을 Fig. 6에 나타내었다.

Fig. 6을 보면 30, 37°C에서는 생존균의 감소가 완만하게 일어나는 반면 42, 50°C에서는 균의 사멸이 급격하게 일어나고 있는 데 이러한 사실은 온도 상승에 따라 파산화수소의 분해를

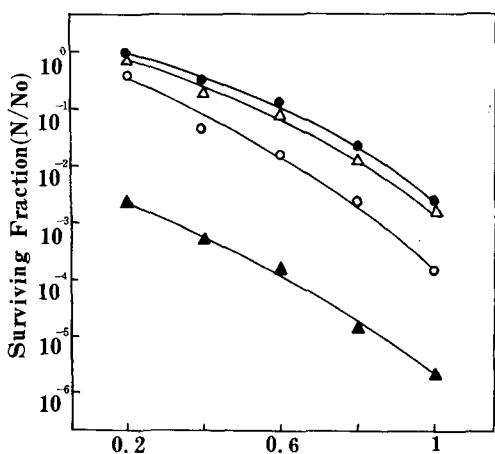


Fig. 5. Effect of Hydrogen Peroxide Concentration on Typical Death Rate after Heat Treatment for 10 min.
 ●—● : 30°C △—△ : 37°C
 ○—○ : 42°C ▲—▲ : 50°C

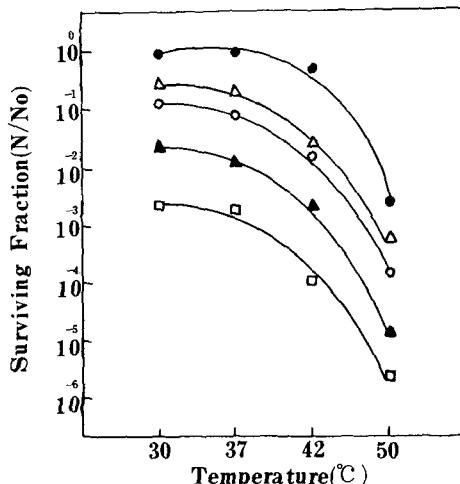


Fig. 6. Effect of Temperature on Typical Death Rate after Heat Treatment for 10 min.

●—● : 0.2% ▲—▲ : 0.8%
 △—△ : 0.4% □—□ : 1.0%
 ○—○ : 0.6%

더욱 촉진시켜서 균의 사멸이 빠르게 일어나는 것으로 생각되어지며, 특히 50°C에서는 과산화수소를 첨가한 것이 control보다 빨리 사멸되어 1/10만이 생존하였는데 이것은 온도와 과산화수소의 사멸 상승효과로 인하여 균의 감소가 급격하게 일어나는 것으로 생각된다.

항생물질 처리와 생존율과의 관계

항생물질에 대한 감수성 : 7종의 항생물질에 대한 *Streptococcus pyogenes*의 감수성과 MIC를 조사하여 Table 1에 나타내었다.

이 결과로부터 *Streptococcus pyogenes*에 효과적인 cephalexin, erythromycin, tetracycline를 사용하였으며 각각의 MIC는 3.125, 0.78, 0.39μg/ml이었다.

한편, 같은 β-lactam계열의 항생물질인 penicillin과 cephalexin이 50μg/ml에서 커다란 감수성의 차이를 나타낸다는 것은 흥미로운 점인데 이러한 사실은 Koh 등⁽⁹⁾이 보고한 연구 결과와 일치하였으며 erythromycin과 cephalexin에 높은 감수성을 나타낸다는 Rantz 등⁽¹⁰⁾과 Breeze⁽¹¹⁾의 연구 결과와도 일치하였다.

Table 1. Sensitivity of *Streptococcus pyogenes* against Various Antibiotics.

Antibiotics	Sensitivity(50μg/ml)	MIC(μg/ml)
Penicillin G	+	
Kanamycin	-	≥ 50
Chloramphenicol	-	≥ 125
Rifampicin	-	≥ 3.125
Cephalexin	-	≥ 3.125
Erythromycin	-	≥ 0.78
Tetracycline	-	≥ 0.39

+: Resistant

-: Sensitive

생존에 미치는 항생물질의 영향

*Streptococcus pyogenes*에 각각의 항생물질을 MIC에서 처리한 후 생존균 수와 처리시간과의 관계를 Fig. 7, 8, 9, 10에 나타내었다. Fig. 7에 나타낸 바와 같이 erythromycin으로 처리하였을 때는 생존균의 감소가 일어나지 않고 증

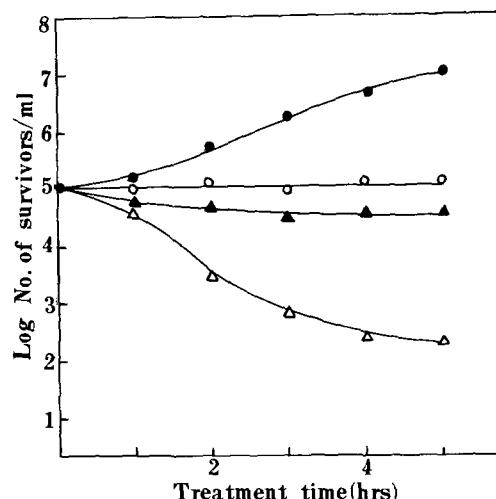


Fig. 7. Effect of Various Antibiotics on Growth at 30°C

- : Control
- : Erythromycin
- ▲—▲ : Tetracycline
- △—△ : Cephalexin

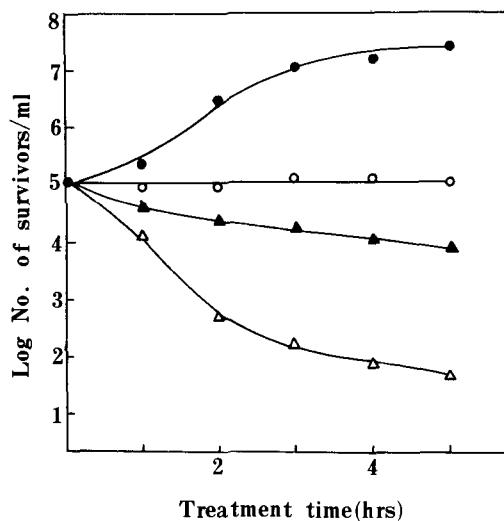


Fig. 8. Effect of Various Antibiotics on Growth at 37°C

- : Control
- : Erythromycin
- ▲—▲ : Tetracycline
- △—△ : Cephalexin

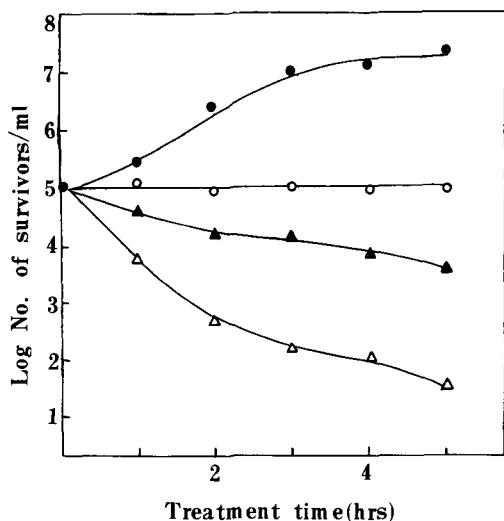


Fig. 9. Effect of Various Antibiotics on Growth at 42°C

- : Control
- : Erythromycin
- ▲—▲ : Tetracycline
- △—△ : Cephalexin

식을 저해하는 정균적인 작용을 나타내고 있으나 tetracycline과 cephalexin에서는 처리시간이 길어짐에 따라 생존율이 감소하였으며, Fig. 8, 9에서도 Fig. 7에서와 같은 경향을 나타내었는데 Fig. 10에서는 20분까지는 비교적 생존율 수의 감소가 완만하였으나 30분 이후에는 생존율 수의 감소가 급격하게 일어나 50분 처리 후에는 단지 생존율 수가 0.5% 미만인 것으로 보아 처리시간에 따라 사멸이 가속화되는 것으로 생각된다.

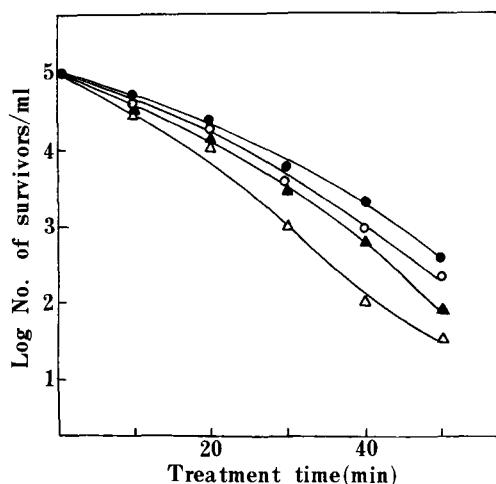


Fig. 10. Effect of Various Antibiotics on Growth at 50°C

- : Control
- : Erythromycin
- ▲—▲ : Tetracycline
- △—△ : Cephalexin

요약

전보에서 선정한 *Streptococcus pyogenes*의 살균제, 항생물질 처리에 따른 적정 살균조건을 검토하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

파산화수소 농도가 0.2%일 때는 생존율의 감소에 영향이 없었으나 0.4, 0.6, 0.8, 1%로 농도를 증가함에 따라 생존율의 감소가 급격하게 일어났으며 1% 농도 처리시 10분만에 생존율은 0.5% 미만이었다.

Erythromycin, tetracycline, cephalexin 각각의 MIC (Minimum inhibitory concentration)는 0.78, 0.39, 3.125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었다.

Reference

- 1) 유주현, 김성욱, 신원철, 변 유량 : *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.*, **9**, 231 (1981)
- 2) Pelczar, M. J. and P. D. Reid : *Microbiology*, McGraw Hill, P. 350 (1965).
- 3) Shibasaki, I. : 食品殺菌工学, 光林書院, P. 165 (1969).
- 4) Wyss, O. : *Adv. Food Research*, **1**, 373 (1948).
- 5) Shibasaki, I. : 食品殺菌工学, 光林書院, P. 159 (1969).
- 6) Tawaratani, T., Y. Hirana and I., Shibasaki : *醸酵工学* **59** (2), 111 (1981)
- 7) Himmelfard, P., H. M. Elbisi, and R. B. Read : *Appl. Microbiol.*, **10**, 431 (1962).
- 8) Tawaratani, T., Y. Inui and I. Shibasaki : *醸酵工学*, **58** (2), 85 (1980),
- 9) Koh, C. M. and J. Lew : *Kor. Jour. Microbiol.*, **18** (2), 67 (1980).
- 10) Rantz, L. A. and H. H. Rantz : *Arch. Int. Med.*, **81**, 694 (1956).
- 11) Breese, B. B. : *Amer. J. Dis. child.*, **119**, 18 (1970).