

## 市販 乳酸菌 및 酪酸菌製劑의 抗結核劑 및 抗生物質에 대한 感受性和 耐性

金禎禹 · 金亨洙 · 李承憲 · 崔應七 · 金炳珏

서울대학교 藥學大學

(Received May 6, 1985)

### Susceptibility and Resistance of *Lactobacilli* and *Clostridia* in the Commercially Available Preparations to Antituberculosis Agents and Antibiotics

Jung Woo Kim, Hyung Soo Kim, Shung Hee Lee,  
Eung Chil Choi and Byong Kak Kim

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151, Korea

**Abstract**—To investigate the susceptibility and resistance in case of simultaneous administrations of *Lactobacilli* and *Clostridia* preparations with antituberculosis agents and antibiotics, five strains of *Lactobacilli*, i.e., *Lactobacillus bulgaricus*, *L. casei*, *L. helveticus*, *L. acidophilus*, *L. sporogenes*, and *Clostridium butyricum* were isolated from commercially available preparations. Minimal inhibitory concentrations(MIC) of nine antituberculosis agents and 21 antibiotics against these strains were determined. The results showed that these strains were very sensitive only to rifampicin among antituberculosis agents, and sensitive to other antibiotics. Since the simultaneous oral administration of rifampicin and other antibiotics with these sensitive strains is ineffective, development of new resistant mutants is desirable.

오래 전 부터 유산균 제제는 장질환에 대한 치료와 예방의 정상 효과를 목적으로 사용되어 왔으며, 이에 대한 보고도 여러 편이 나와 있다. Clock<sup>1)</sup>는 유아기 설사 증상에 유산균을 투여하여 치료효과를 보았으며, Gompertz<sup>2)</sup> 등은 설사 증세로 고통받는 환자의 70%를 치료하였다고 보고하였다. 또한, Rettger<sup>3)</sup> 등은 유산균으로 설사증상을 치료하고 대장의 유산균의 농도와 그 임상적인 치료결과는 밀접한 관계가 있다고 결론을 지었다. Polymenakos<sup>4)</sup>는 오레오마이신과 테라마이신에 의해 야기된 위장관 질환의 치료에 유산균 제제를 사용하여 좋은 효과를 보았다고 하였으며, Winkelstein<sup>5)</sup>은 설사와 점액성 대장염 및 항생제에 의한 대장염의 치료에 유산균을 사용하여 치료하였다고 보고하였다. Shapiro<sup>6)</sup>는 항생제 복용 후 생긴 설사증상을 유산균 제제로 치료하여 좋은 효과를 얻었다고 하였고, Nechelas<sup>7)</sup> 등은 항생제에 의한 설사 및 내피성 설사에 유산균으로 모두 치료하였다고 보고하였다. 또한 Tasovac<sup>8)</sup> 등은 유아들의 대장균에 의한 급성 대장염의 예방에 효과가 있다고 보고하였다. 이외에도 유산균은 장내에서 직접·간접으로 영양공급 효과가 있으며 장 점막의 재생 촉진 효과가 있으며, 장암의 예방 효과가 있다고 알려져 있다. 이들 유산균외에 낙산균도 같은 효과를 내어 같은 목적으로 사용되고 있다. 항결핵제를 장기 복용하거나 항생제를 복용하는 환자의 경우는 장내 균총이 파괴되어 흡수 부전, 소화불량등으로

\* 抗結核劑 및 抗生物質에 대한 乳酸菌 및 酪酸菌의 開發研究(I).

인하여 여러 가지 부작용이 생길 수 있으므로 항 결핵제 또는 항생제와 유산균 및 낙산균 제제를 병용하도록 권장되고 있다. 그런데, 이 때 사용되는 항 결핵제 및 항생제가 유산균 및 낙산균까지 사멸시킨다면, 이 제제의 복용 의의가 없게 된다. 그러므로, 본 실험에서는 유산균 및 낙산균이 항 결핵제 및 항생제에 대해 감수성인지 내성인지를 조사하기 위해 시판 중인 유산균 제제 6종 및 낙산균 약제 1종에서 각각 유산균 및 낙산균을 분리하고, 9종의 항 결핵제 및 21종의 항생제에 대한 최소 저지 농도(MIC)를 측정하여 그 감수성과 내성의 정도를 검토하였다. 그 결과로 유산균과 낙산균 제제를 항 결핵제 및 항생제와 병용하였을 때, 유산균 및 낙산균의 효과를 기대 할 수 있는가를 추정하였으며, 적절한 병용 방법도 생각해 보았다.

## 實驗方法

**實驗材料**—(1) 분리된 유산균 및 낙산균—시판 중인 유산균 음료 A, B, C 및 유산균 약제 D, E, F에서 각각 유산균을, 낙산균 약제 G에서 낙산균을 분리하여 동정하였다. 이 때 분리된 균주명은 *Lactobacillus bulgaricus*, *L. casei*, *L. helveticus*, *L. acidophilus*, *L. sporogenes* 및 *Clostridium butyricum*등이며, Table I에 종합하였다.

(2) 배지의 종류 및 조성—유산균의 분리를 위해서는 MRS-Agar 배지를 사용하였고 MIC 측정을 위해서는 MRS 배지를 사용하였다. 낙산균 분리를 위해서는 Fluid thioglycollate agar 배지를 사용하였고 MIC 측정용 배지는 agar의 양이 0.75g만을 함유하는 fluid thioglycollate 배지를 사용하였다. 균 희석은 1% peptone 수를 사용하였다.

(A) MRS 배지 : peptone 10.0g, beef extract 10.0g, yeast extract 5.0g, dextrose 20.0g, tween 80 1.0g, ammonium citrate 2.0g, sodium acetate 5.0g, magnesium sulfate 0.1g, dipotassium phosphate 2.0g를 증류수 1l에 용해시킨 후 pH 6.5로 조정하였다.

(B) Fluid thioglycollate agar 배지 : glucose 15.5g, casitone 15g, yeast extract 5.0g, sodium chloride 2.5g, sodium acetate 5.0g, ammonium citrate 2.0g, sodium thioglycollate 2.0g, L-cystine 0.5g, agar 20.75g, resazurin 0.001g, magnesium sulfate 0.1g, manganese sulfate 0.05g, dipotassium phosphate 2.0g, ferosulfate 0.034g, potassium phosphate 6.0g을 증류수 1l에 용해시킨 후 pH 7.2로 조정하였다.

(3) 항 결핵제 및 항생제—다음과 같이 분류하여 사용하였다.

(A) 항 결핵제 : Streptomycin, kanamycin, rifampicin, capreomycin, ethambutol, INAH, cycloserine, pyrazinamide, prothionamide

(B) Penicillin계 항생제 : Ampicillin, bacampicillin, talampicin, penicillin V, amoxicillin, cloxacillin, metampicillin, carbenicillin

(C) Cephalosporin계 항생제 : Cephalexin, cephalozin, cephaloridine, cephatrizine, ceftizoxime, cefamandole, cefadroxil, cefuroxime, moxalactam,

(D) 기타 항생제 : Minocyclin, chloramphenicol, erythromycin, gentamicin

**實驗方法**—(1) 유산균의 분리—유산균 음료의 경우는 1ml를 취하여 1% 무균 펩톤 수 99ml를 함유하는 병에 넣고 waring blender를 사용하여 1분간 균질화시켰다. ( $10^{-2}$ 희석액) 유산균 약제 경우는 1g취하여 1% 무균 펩톤 수 99ml를 함유하는 병에 넣고 위와 같이 균질화시킨 후( $10^{-2}$ 희석액) 다시 99ml의 1% 무균 펩톤 수를 함유하는 병에 이 희석액 1ml를 가하고 균질화시켰다. 이 조작을 반복하여  $10^{-6}$  희석액을 만들었다. 유산균 음료의 경우는  $10^{-2}$  희석액 유산균 약제 경

**Table I**—Names and preparation forms of *Lactobacilli* and *Clostridium* strains isolated from commercially available preparations.

	Names of Strains	Preparation Forms
A	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	yaghurt
B	<i>L. casei</i>	yaghurt
C	<i>L. helveticus</i>	yaghurt
D	<i>L. acidophilus</i>	powder in capsule
E	<i>L. acidophilus</i>	powder in capsule
F	<i>L. sporogenes</i>	powder
G	<i>Clostridium butyricum</i>	tablet

우는  $10^{-6}$ 희석액을, 각각 1ml씩 취하여 Petridish에 넣고, MRS-agar 배지를 멸균 후  $45^{\circ}\text{C}$ 로 냉각시킨 후 20ml를 취하여 앞의 petridish를 뒤집어 놓고  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 72시간 배양했다. 배양 후 생성된 독립 집락을 백금선으로 취하여 MRS-agar 배지로 된 tall에서 천자 배양 시켰다.

(2) 낙산균의 분리—유산균 약제의 경우에서처럼, 낙산균 약제 1g을 취하여  $10^{-6}$ 희석액을 만들었다. 이 희석액 1ml를 취하여 petridish에 넣고 fluid thioglycollate agar 배지를 멸균 후  $45^{\circ}\text{C}$ 로 냉각시킨 다음 20ml를 취하여 앞의 petridish에 넣고 잘 혼합시키고 배지를 고형화시켰다.  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 72시간 배양후 생성된 독립 집락을 백금선으로 취하여 fluid thioglycollate agar 배지로 된 tall상에서 천자 배양시켰다.

(3) 분리된 유산균 및 낙산균은 Bergey's Manual of Determinative Bacteriology<sup>9)</sup>에 의해 동정하였다.

(4) MIC 측정—분리된 유산균 및 낙산균을 MRS액체 배지 및 fluid thioglycollate 배지에서 흡광도(O.D.)가 0.3이 될 때까지 액내 배양하여 MIC 측정용 균액으로 하였다. MIC 측정은 액체 2배희석법을 사용하였다. 먼저, 13개의 시험관에 항생 물질 용액을 계열 희석하여 첫번째 시험관에  $100\mu\text{g/ml}$ 의 농도가 되게 하고 그 이하는 2배씩 희석되게 하였다. 마지막 시험관은 blank로 하였다. 각 시험관에 항생물질 용액의 부피와 같은 균액을 첨가시키고  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 배양한 후 균의 성장이 없는 마지막 시험관에 든 항생물질의 농도를 MIC로 하였다. 사용된 항결핵제 및 항생제의 용액은 멸균 증류수를 사용하여 만들었으며 잘 안 녹는 경우는 에탄올 소량에 넣어 용해시킨 후 멸균증류수를 가하여 만들었다.

### 實驗結果 및 考察

9종의 항결핵제에 대한 유산균 및 낙산균의 MIC 측정 결과를 Table II에 나타내었다. 대부분의 유산균 및 낙산균이 rifampicin을 제외한 8종의 항결핵제에 대해 내성을 함유하고 있었으나 특히 rifampicin의 경우에는 대부분이 강한 내성을 나타내었다. 따라서 유산균 제제와 낙산균 제제를 rifampicin을 제외한 항결핵제와는 병용이 가능하다고 생각되나 rifampicin의 경우는 병용하여 사용해도 효과를 기대할 수 없다. rifampicin에 대해 감수성인 유산균들과 낙산균은 돌연변이 등 여러가지 방법을 이용하여 rifampicin에 대한 내성균으로 변화시켜 사용한다면 좋은 효과를 얻을 수 있을 것으로 생각된다. 항결핵제들은 주로 경구로 장기 복용하는 것들이므로 특히 생각을 해야 한다. 8종의 페니실린에 대한 MIC 측정 결과는 Table III에 나타냈다. 균종류 및 제

**Table II**—MICs( $\mu\text{g/ml}$ ) of antituberculosis agents against *Lactobacilli* and *Clostridium* strains of commercial preparations.

Lactic Acid Preparations Antituberculosis Agents	A	B	C	D	E	F	G
Streptomycin	100	12.5	25	100	25	12.5	100<
Kanamycin	100<	1.56	3.12	100	100<	6.25	100<
Rifampicin	3.12	1.56	0.39	0.09	0.39	0.09	0.048
Capreomycin	100<	100	100<	100<	100<	12.5	50
Ethambutol	100<	100<	100<	100<	100<	0.39	100<
INAH	100<	25	100<	100<	100<	3.12	100<
Cycloserine	100<	100<	100	100	6.25	0.28	100<
Pyrazinamide	100<	100<	100<	100<	100<	100<	100<
Prothionamide	100<	100<	100<	100<	100<	100<	100<

**Table III**—MICs( $\mu\text{g/ml}$ ) of penicillins against *Lactobacilli* and *Clostridium* strains of commercial preparations.

Lactic Acid Preparations Penicillins	A	B	C	D	E	F	G
Ampicillin	0.09	6.25	0.09	1.56	3.12	0.39	0.048
Bacampicillin	1.56	6.25	0.19	50	25	0.19	1.56
Talampicillin	0.09	50	100	3.12	12.5	6.25	0.19
Penicillin V	0.78	0.78	0.78	50	50	0.09	0.19
Amoxicillin	6.25	6.25	0.78	12.5	12.5	0.09	0.09
Cloxacillin	6.25	25	3.12	100	50	0.78	3.12
Mefampicillin	1.56	6.25	1.56	3.12	25	1.56	0.05
Carbenicillin	25	100	50	100	100	100	1.56

**Table IV**—MICs( $\mu\text{g/ml}$ ) of cephalosporins against *Lactobacilli* and *Clostridium* strains of commercial preparations.

Lactic Acid Preparations Cephalosporins	A	B	C	D	E	F	G
Cephalexin	1.56	100<	6.2	100	25	12.5	3.12
Cephazoline	0.78	0.39	0.09	0.09	0.09	0.09	0.39
Cephaloridine	0.09	25	1.56	100<	0.78	0.09	6.25
Cephadrine	1.56	3.12	0.09	3.12	0.78	0.09	1.56
Ceptizoxime	0.09	12.5	0.09	25	6.25	0.09	1.56
Cefamandole	25	25	100	100	100	25	0.78
Cefadroxil	6.25	100	12.5	100	100	12.5	3.12
Cefuroxime	0.78	25	0.78	50	100	50	3.12
Moxalactam	100	100	100	100	100	100	3.12

니실린 종류에 따라 차이가 있으나 많은 경우에서 감수성을 나타내었으며 특히 낙산균과 유산균 일부는 거의 대부분의 케니실린계 항생제에 대해 감수성을 나타내었다. 따라서 이 계열 항생제

**Table V**—MICs( $\mu\text{g/ml}$ ) of general antibiotics against *Lactobacilli* and *Clostridium* strains of commercial preparations.

Lactic Acid Preparations General Antibiotics	A	B	C	D	E	F	G
Minocyclin	0.09	0.39	0.09	0.78	0.78	0.09	0.05
Chloramphenicol	3.12	3.12	0.09	50	1.56	0.09	0.09
Erythromycin	0.09	12.5	100	0.09	0.09	0.09	0.05
Gentamicin	12.5	25	6.25	1.56	0.39	1.56	100

와 낙산균 및 유산균을 병용했을 때는 그 효과를 기대할 수 없으므로 사용시기를 질병 치료 후로 하는 것이 바람직하다. 다만 carbenicillin 경우처럼 주사제로 사용할 경우는 장내 균총에 영향을 적게 미치므로 상관없다. 9종의 세파로스포린계 항생물질에 대한 MIC 측정결과를 Table IV에 나타냈다. 이 중 경구 투여로 많이 사용되는 cephalixin, cephatrizine, cefadroxil을 비교해 보면, cephatrizine 경우가 강한 감수성을 나타내고 있으므로 이 경우도 역시 유산균 및 낙산균을 병용해도 그 효과를 기대할 수 없다. 그러나, 주사제로 쓰이는 세파로스포린계 항생물질 경우는 예외로 간주할 수 있다. Table V에는 chloramphenicol과 tetracycline계, macrolide계, aminoglycoside계 항생제에서 각각 하나씩의 항생제를 선택하여 유산균 및 낙산균에 대한 MIC의 측정결과를 나타냈다. 이 경우에 있어서도 균주에 따라 차이는 있으나 대체로 감수성을 나타냈으므로 경구 투여 시에 유산균 및 낙산균의 병용은 불필요한 일로 생각된다. 유산균 제제가 처음 시판되어 사용될 당시는 많은 항생제에 대해 내성을 나타내고 있다고 보고하고 있었으나, 새로운 항생물질이 많이 개발되어 널리 쓰이게 됨에 따라 이런 보고는 무의미한 것이 되었으므로 항생제와 유산균 및 낙산균의 병용을 적절하게 결정해야 하며, 또는 시판 중인 유산균 제제 및 낙산균 제제를 개량하여 항결핵제나 항생제에 내성을 갖게 하여 사용한다면 좋은 효과를 얻을 수 있다고 생각된다. 특히 경구로 장기 복용하는 항결핵제의 경우는 장내 세균의 파괴와 같은 부작용을 줄이기 위해서라도 사용되는 항결핵제에 내성을 갖는 유산균이나 낙산균을 병용하는 것이 바람직하므로 이들에 내성을 나타내는 유산균이나 낙산균의 개발은 시급한 것으로 사료된다.

**結 論**

시판 중인 유산균 제제 6종 및 낙산균 제제 1종에서 각각 유산균 및 낙산균을 분리하였다. 분리한 유산균 및 낙산균의 항결핵제 및 항생 물질에 대한 MIC 측정 결과, 항결핵제 경우는 이들 균주들이 리팜피신에 대해서만 특이적으로 감수성을 나타냈고 페니실린계, 세파로스포린계 및 기타 항생물질 경우는 상당수에 대해 감수성을 나타냈다. 이들 항결핵제 및 항생 물질에 대해 감수성을 나타내는 유산균 및 낙산균들은 내성 균주로 변이 시키는 것이 필요하다.

**文 獻**

1. R.O. Clock, 117 Cases of infantile diarrhea treated by intestinal implantation of the *Bacillus lactic bulgaricus* at the Babies Hospital of the City of New York, *J.A.M.A.* **61**, 164 (1913).
2. L.M. Gornpertz and M.Y. Vorhauss, Bacteriological and Clinical experience with *Bacillus acidophilus*, *J.A.M.A.* **80**, 90 (1923).
3. L.F. Rettger, M.N. Levy, L. Weinstein and J.E. Weiss, *Lactobacillus acidophilus and its therapeutic applications*, New Haven, Yale University Press, (1935).

4. L.G. Polymenakos, Antibiotic enterocolitis, *Lancet* 266, 732 (1954).
5. A. Winkelstein, Lactobacillus acidophilus tablets in the therapy of various intestinal disorders; a preliminary report, *Amer. Prac. and Dig. Treat.* 6, 1022 (1955).
6. S. Shapiro, Control of antibiotic-induced gastrointestinal symptoms with yoghurt, *Clinical Medecine* 7, 295 (1960).
7. H. Necheles and C. Beck, Lactobacillus and intestinal flora, *Applied Therapeutics* June 1965, 465 (1965).
8. B. Tasovac and A. Kocic, Lactobacillus bifidus flora and its effect in preventing infant enterocolitis, *Srp. Arh. Celok. Lek.* 98, 219 (1970).
9. R.E. Buchanan and N.E. Gibbons, *Bergey' Manual of Determinative Bacteriology*, 8th ed. Williams and Wilkins Company, Baltimore, (1974).