

# *Candida albicans*의 Amphotericin B 및 Ketoconazole에 대한 감수성과 성장기와의 상호관계

연세대학교 원주의과대학 미생물학교실

고 춘 명 · 김 수 기

=Abstract=

## Growth Phase in Relation to Amphotericin B and Ketoconazole Susceptibilities of *Candida albicans*

Choon-Myung Koh and Soo-Ki Kim

Department of Microbiology, Yonsei University, Wonju College of Medicine, Wonju,  
Kangwondo, Korea

A total of 30 strains of *Candida albicans* were examined for susceptibility to amphotericin B and ketoconazole using Sabouraud's dextrose broth, Kimmig broth and Supplemented yeast nitrogen base broth media. Furthermore, the growth curve and colony forming units were checked for use of stationary-phase cells and 2-hour incubation cells in the absence of antifungal agents. The viable counts were determined periodically during incubation by standard plate count techniques.

The minimum inhibitory concentrations of amphotericin B for use of stationary phase cells were as follows: SDB, 0.09~0.97mcg/ml (0.39mcg/ml); Kimmig broth, 0.19~0.39mcg/ml (0.42 mcg/ml) and SYNB, 0.19~0.39mcg/ml (0.23mcg/ml). In ketoconazole, MICs were value SDB, 3.12~25.0mcg/ml (12.5mcg/ml); Kimmig broth, 12.5~25.0mcg/ml (22.5mcg/ml) and SYNB, 3.12~12.5mcg/ml (6.71mcg/ml).

The MICs of amphotericin B (0.2mcg/ml conc.) for use of 2-hour incubation cells in absence of AMB were, SDB, 0.04~0.39mcg/ml (0.11mcg/ml); Kimmig broth, 0.09~0.39mcg/ml (0.18 mcg/ml) and SYNB, 0.09~0.19mcg/ml (0.14mcg/ml) and in KTZ, the value of MICs were SDB, 3.12~25.0mcg/ml (12.22mcg/ml); Kimmig broth, 0.78~25.0mcg/ml (11.01mcg/ml) and SYNB, 1.56~12.5mcg/ml (3.90mcg/ml).

The two-log reductions in CFU per milliliter observed when 2 hour preincubation cells were treated with 0.2mcg/concentrations of AMB and 25.0mcg/ml of KTZ. However, AMB treated cells were restored to growth activity, it suggested that the AMB has no active antifungal activity.

**Key Words:** Amphotericin B, Ketoconazole, CFU.

### 서 론

지금으로부터 약 150여년전 Gruby에 의하여 백선증의 원인균주가 진균에 의한다는 발표가 있는 이후 진균증의 연구가 시작되었다 할 수 있으며, 이를 시작으로 여러 가지 항진균제들

의 연구가 시작되었다고 할 수 있다. 그러나 세균과 달리 진균은 고등동물과 같이 진핵세포로서 이 양자는 대사기능 및 여러 가지 점에서 유사한 점들이 있어 항세균제의 개발보다 항진균제를 개발하는 데는 힘든 점들이 많이 있어 그 개발속도가 느린 것은 사실이다<sup>20, 21)</sup>.

과거 약 30년 사이에 많은 항진균제들이 개

발되었으며, 이중 최초의 항진균제인 nystatin과 이와 관련된 polyene계통으로서 1950년대 이래 많이 사용되고 있는 amphotericin B(AMB로 약칭)와 imidazole계통의 유도체들을 볼 수 있으며, imidazole 유도체로서는 miconazole과 clotrimazole 및 근래에 사용되고 있는 ketoconazole(KTZ라 약칭)을 들 수 있다<sup>18, 21, 22, 23, 26</sup>. 이 두 항진균제들의 작용기전을 보면 AMB의 경우 세포막의 sterol과 작용하여 antibiotic-sterol complex를 생성하여 세포막의 potassium ion에 대한 투과성을 변화시켜어 항균력을 나타내며 KTZ의 경우는 potassium ion과 phosphorus 함유물질의 누출현상으로 세포막의 투과성을 변화시켜어 진균세포의 ergosterol의 합성에 영향을 일으켜어 세포막의 변화를 가져오는 현상을 보여 AMB 및 KTZ 공히 진균세포 세포막에 대한 작용에 의하여 세포막 저해작용을 일으켜어 항진균작용이 일어난다고 알려져 있다<sup>18, 20, 21, 26, 31, 37-39</sup>.

항균작용은 접종량, 배양기의 종류, 배양기간, 온도 및 성장기(growth phase) 등에 의하여 사용 항진균제에 대한 최저균발육억제농도(MICs)가 좌우된다고 여러 학자들에 의하여 발표된 바 있으며<sup>11, 17, 19, 20</sup>, Gale 등<sup>14-16</sup>은 amphotericin methyl ester를 이용하여 *Candida albicans*의 K<sup>+</sup> ion의 분비율을 측정 amphotericin methyl ester(AME)의 감수성 농도와의 관계를 조사하였고, 아울러 성장기와의 관계에서 휴지기(stationary phase)보다 대수증식기(exponential phase)에서 감수성이 높다고 발표하였다. 또한, Cope<sup>12</sup>, Beggs<sup>7, 8</sup> 및 Kerridge 등<sup>20</sup>은 imidazole계통의 항진균제를 이용한 일련의 실험을 통하여 miconazole의 치사능이 휴지기에서 낮으며, 아울러 직접적인 세포막의 저해정도도 성장환경에 따라 큰 차이를 나타낸다고 발표한 바 있다.

이에 본 연구자들은 같은 세포막 저해를 나타내는 항진균제중 대표적인 것이라 할 수 있는 polyene계통의 AMB와 imidazole계통의 KTZ를 사용하여 *Candida albicans*의 배지별 최저균 발육억제농도를 측정함과 동시에 성장기 차이에 따른 항진균력의 감수성검사를 실시하였던 바 그 결과를 보고하는 바이다.

## 실험재료 및 방법

### A. 실험재료

#### 1. 실험균주

본 실험에 사용된 실험균주 *Candida albicans*는 교실에서 계대 보관중인 균주중 30주를 선택하여 사용하였다.

#### 2. 실험배지

실험배지로서는 Sabouraud's dextrose broth media(pH 5.8), Kimmig broth media(pH 6.5) 및 Supplemented yeast nitrogen base broth media(pH 7.0)를 사용하였고 이는 모두 미국 Difco회사 제품이였다.

#### 3. 항진균제

실험에 사용된 항균제는 amphotericin B(Fungizone; Squibb and Sone 회사)와 ketoconazole (Janssen Pharmaceuticals, Ins)이였다.

## B. 실험방법

### 1. 감수성 검사방법

1) 정상배양시 방법: 각 실험균주를 Sabouraud's dextrose broth media에 접종하여 35°C에서 24시간 배양한 뒤 원침하고 멸균생리 식염수로 3회 세척하여 1ml당  $2.0 \times 10^6$  세포가 되게 균수를 조정하였다.

감수성검사 배지는 각각의 항진균제를 첨가한 뒤 배지 1ml당 200mcg의 농도로부터 시작하여 배수 희석방법으로 희석, 최종 희석농도가 1ml당 0.01mcg가 되게 희석하였다. 이 각각의 농도별 항균제 함유배지 0.9ml에 균액 0.1ml씩을 접종하여 35°C 배양기에서 24시간 및 48시간 정지배양한 다음 최저균발육억제 농도를 측정하였다.

2) 전배양후 감수성 검사방법: 정상 배양법에 의한 최저균발육억제농도를 측정하기 위한 배지에 균을 접종하기 전 각각의 실험배지(SDB, Kimmig broth media, SYNB)에 균을 접종하여 2시간 동안 전배양(preincubation)을 실시한 다음 이 전배양된 균액을 각각의 항균제가 함유된 배지에 접종하여 24시간 및 48시간 배양후 이의 최저균발육억제농도를 측정하였다.

### 2. 성장곡선(Growth Curve) 측정 방법

각각의 균주중 *Candida albicans* WMC-19871주를 선택하여 정상균주의 시간별 성장곡선을 측정함과 동시에 약제함유 배지상에서의 균성장곡선 및 전배양후의 균성장곡선을 집락형성수(colony forming unit; CFU)로서 측정하였다. 이때 약제함유배지내의 항진균제 농도는 AMB의 경우 1ml당 0.2mcg 그리고 KTZ의 경우 1ml당 25mcg이였다.

## 실험성적

### A. 배지별 항균력성적

#### 1. 정상배양시 항균력 성적

각 실험배지별 항균력 성적을 보면 AMB의 경우 SDB media의 항균력 성적을 보면 최저균발육억제농도가 1ml 당 0.09mcg~0.97mcg(0.39mcg/ml)이었으며, kimmig broth media 및 S-YNB media 상에서는 공히 최저균발육억제 농도가 1ml 당 0.19mcg~0.39mcg(0.42mcg/ml 및 0.23mcg/ml)이었으며, KTZ의 경우에는 S-YNB media 상에서의 최저균발육억제농도가 가장 낮아 1ml 당 3.12mcg~12.5mcg(6.71mcg/ml)이었고, 다음 SDB media에서 1ml 당 3.12mcg~25.0mcg(12.5mcg/ml) 그리고 kimmig broth media에서 1ml 당 12.5mcg~25.0mcg(22.5mcg/ml)의 순위였다(Table 1).

#### 2. 전배양후 항균력성적

2시간 동안 항균제를 함유치 않은 일반배지에서 전배양한 후 항균제 함유배지에서 배양한 경우의 최저균발육억제 농도를 보면 AMB의 경우 SDB media 상에서 1ml 당 0.04mcg~0.39mcg

(0.11mcg/ml)로서 가장 낮았으며, 다음 SYN media 상에서 1ml 당 0.09mcg~0.19mcg(0.14mcg/ml) 그리고 kimmig broth media에서 항균력은 1ml 당 0.09mcg~0.39mcg(0.18mcg/ml)이었다. KTZ의 경우에는 최저균발육억제 농도가 SYN media 상에서 가장 우수하여 1ml 당 1.56mcg~12.5mcg(3.90mcg/ml), kimmig broth media에서 1ml 당 0.78mcg~25.0mcg(11.01mcg/ml)이었으며, SDB media 상에서는 1ml 당 3.12mcg~25.0mcg(12.22mcg/ml)의 최저균발육억제 농도를 나타내었다(Table 2).

### B. 성장곡선에 대한 성적

#### 1. 정상배양시 성장곡선

균점종후 배양시간 변화에 따른 균의 성장곡선의 변화양상을 보면 균점종 6시간 후의 CFU는 각 배지에서 공히 1ml 당  $1.0 \times 10^8$ ,  $1.1 \times 10^8$  및  $1.2 \times 10^8$  세포이었고, 12시간 후에는  $9.5 \times 10^7$ ,  $8.0 \times 10^7$  및  $7.0 \times 10^7$  세포이었고, 24시간 후에는  $3.0 \times 10^8$ ,  $2.0 \times 10^8$  및  $2.5 \times 10^8$  세포이었다. 배양 48시간 뒤의 CFU는  $3.5 \times 10^8$ ,  $3.5 \times 10^8$  및  $4.0 \times 10^8$  세포로서 24시간 배양후부터는 급속한 균의 변화를 볼 수 없었다(Table 3, Fig. 1).

**Table 1.** Ranges of minimum inhibitory concentrations(MICs) of amphotericin B(AMB) and ketoconazole(KTZ) against 30 strains of *Candida albicans*

Medium	MICs(mcg/ml)	
	AMB	KTZ
SDB	0.09~0.97 (0.39)	3.12~25.0 (12.5)
Kimmig broth	0.19~0.39 (0.42)	12.50~25.0 (12.5)
SYNB	0.19~0.39 (0.23)	3.12~12.5 (6.71)

( ): Mean, SDB: Sabouraud's dextrose broth, SYNB: Supplemented yeast nitrogen base broth.

**Table 2.** Ranges of MICs of amphotericin B and ketoconazole against 30 strains of *Candida albicans* preincubated for 2 hours

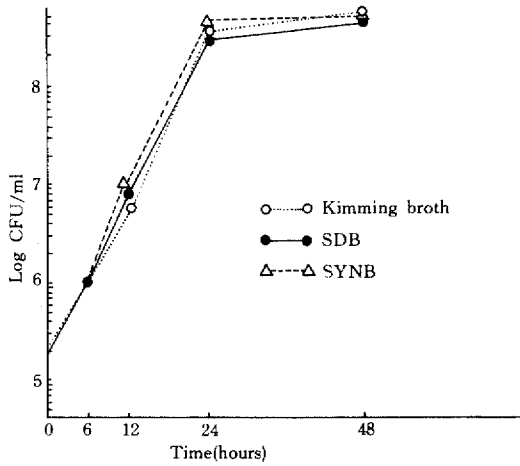
Medium	MICs(mcg/ml)	
	AMB	KTZ
SDB	0.04~0.39 (0.11)	3.12~25.0 (12.22)
Kimmig broth	0.09~0.39 (0.18)	0.78~25.0 (11.01)
SYNB	0.09~0.19 (0.14)	1.56~12.5 (3.90)

( ): Mean, SDB: Sabouraud's dextrose broth, SYNB: Supplemented yeast nitrogen base broth.

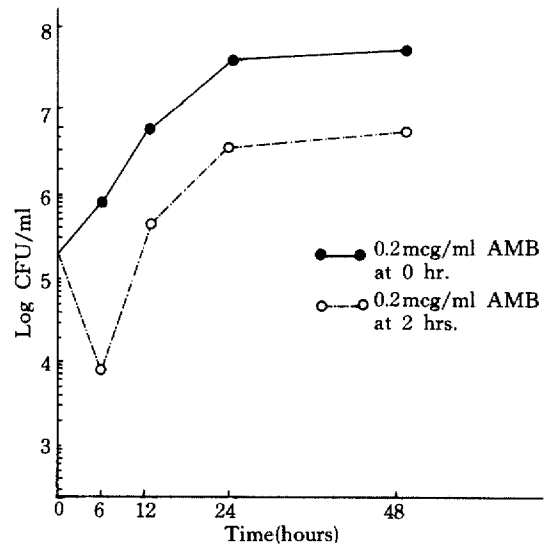
**Table 3.** Colony forming unit(CFU) of *Candida albicans* to the various culture media

Medium	Incubation time(hours)			
	6	12	24	48
SDB	$1.1 \times 10^{8*}$	$8.0 \times 10^7$	$2.0 \times 10^8$	$3.5 \times 10^8$
Kimmig broth	$1.2 \times 10^8$	$7.0 \times 10^7$	$2.5 \times 10^8$	$4.0 \times 10^8$
SYNB	$1.0 \times 10^8$	$9.5 \times 10^7$	$3.0 \times 10^8$	$3.5 \times 10^8$

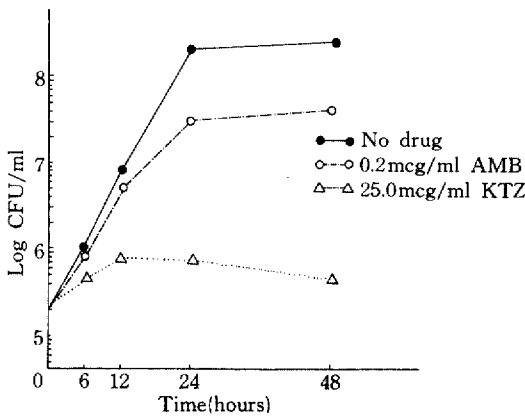
\*: No. of cells/ml, SDB: Sabouraud's dextrose broth, SYNB: Supplemented yeast nitrogen base broth.



**Fig. 1.** Growth curve of *Candida albicans* WMC-19871 on experimental media.



**Fig. 3.** Colony forming units of *Candida albicans* WMC-19871 against AMB when the drugs were added before inoculation with stationary phase cells and 2 hour incubation in the absence of drug.



**Fig. 2.** Comparison between AMB and KTZ against *Candida albicans* WMC-19871 when stationary phase inoculum cells and drug were added to fresh SDB at time zero.

## 2. 항균제 함유배지내에서의 성장곡선

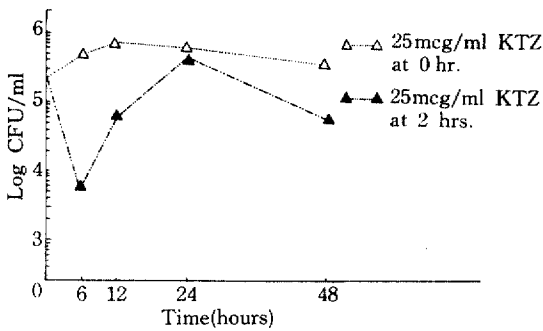
실험 항균제인 AMB와 KTZ를 각각 1ml당 0.2 mcg와 20.0mcg를 SDB media에 함유시킨 배지 내에서 배양한 경우의 성장곡선의 변화를 보면 AMB의 경우 접종 6시간 후의 CFU는 1ml당  $7.5 \times 10^5$  세포, 12시간 후  $5.2 \times 10^6$  세포, 24시간 후  $3.0 \times 10^7$  세포, 그리고 48시간 후의 CFU는  $5.5 \times 10^7$  세포로서 AMB의 농도가 0.2mcg/ml에서는 큰 항균력을 보이지 않았다. 그러나 KTZ의 경우에는 접종 6시간의 CFU가 1ml당  $4.7 \times 10^5$  세포, 12시간 후  $7.0 \times 10^5$  세포, 24시간 후

**Table 4.** Colony forming unit(CFU) of *Candida albicans* WMC-19871 treated with amphotericin B(0.2mcg/ml) and ketoconazole(25.0mcg/ml) cultured on Sabouraud's dextrose broth media

Antifungal agents	Incubation time(hours)			
	6	12	24	48
AMB	$7.5 \times 10^5$	$5.2 \times 10^6$	$3.0 \times 10^7$	$5.5 \times 10^7$
KTZ	$4.7 \times 10^5$	$7.0 \times 10^5$	$6.0 \times 10^5$	$4.0 \times 10^5$

**Table 5.** Colony forming unit(CFU) of *Candida albicans* WMC-19871 preincubated for 2 hours on Sabouraud's dextrose broth containing with amphotericin B(0.2mcg/ml) and ketoconazole(25.0mcg/ml)

Antifungal agents	Incubation time(hours)			
	6	12	24	48
AMB	$8.0 \times 10^5$	$5.0 \times 10^5$	$2.5 \times 10^5$	$5.5 \times 10^5$
KTZ	$5.5 \times 10^3$	$7.0 \times 10^4$	$5.0 \times 10^5$	$6.5 \times 10^4$



**Fig. 4.** Colony forming units of *Candida albicans* WMC-19871 against KTZ when the drugs were added before inoculation with stationary phase cells and 2 hour incubation in the absence of drug.

$3.0 \times 10^5$  세포 및 48 시간 후의 CFU는  $4.0 \times 10^5$  세포로서 점차 감소하는 경향이 있어 25.0mcg/ml에서의 항균력은 나타내고 있음을 볼 수 있었다(Table 4, Fig. 2).

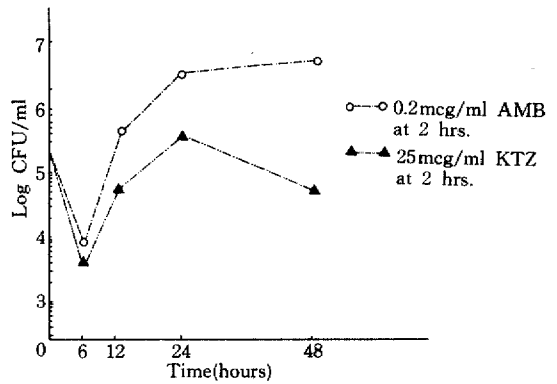
### 3. 전배양후 항진균제 함유배지에서의 성장 곡선

2 시간 동안 정상배지내에서 전배양을 한 뒤 실험농도가 함유된 항진균제 함유배지에 옮겨 성장곡선을 관찰한 성적을 보면 AMB의 경우 배양 6 시간에서 CFU가 1ml 당  $8.0 \times 10^3$  세포로서 급격한 균발육감소 현상을 나타내어 항균력이 있는 것같이 보였으나 12시간,  $5.0 \times 10^5$  세포; 24시간,  $2.5 \times 10^6$  세포 및 48시간,  $5.5 \times 10^6$  세포로서 다시 균발육 현상을 나타내었다. KTZ의 경우에서도 역시 배양 6시간,  $5.5 \times 10^3$  세포; 12시간,  $7.0 \times 10^4$  세포; 24시간,  $5.0 \times 10^5$  세포 및 48시간,  $6.5 \times 10^6$  세포로 AMB처리시와 성장곡선의 양상은 비슷하였으나 KTZ의 경우에는 AMB의 경우보다 발육억제 현상이 높았고 48시간 이후 점차 균발육이 감소하는 양상을 나타내는 것이 차이점이었다(Table 5, Fig. 3, 4, 5).

## 고 찰

세균에 대한 항세균제에 대한 연구보다 진균 감염에 대한 항진균제의 개발이 늦은 것은 진균들이 고등동물과 같이 진핵세포로서 이들의 대사기능 및 여러 가지 점에서 서로 유사하기 때문이라고 할 수 있다<sup>30, 31</sup>.

그러나 그간 많은 항진균제들이 개발되었으며, 이중 우수한 항진균제로서는 polyene 계통



**Fig. 5.** Comparison between AMB and KTZ against *Candida albicans* WMC-19871. The antifungal agents were added after 2 hour incubation in the absence of drugs.

의 항생제로 1950년대 이래 많이 사용되고 있는 amphotericin B를 비롯하여 화학 합성제로서 imidazole계통의 유도체 및 5-fluorocytosine 등이 알려져 있다. 이중 AMB와 imidazole계제들의 작용기전을 보면 두 약제 모두 세포막에 직접적인 피해를 가져 온다고 알려져 있으며, AMB의 경우 진균의 세포막에 함유된 sterol과 작용하여 antibiotic-sterol complex를 생성 potassium ion의 투과성을 변화시킨다고 알려져 있고 KTZ의 경우도 역시 세포막에 직접적인 피해를 가져와 potassium ion과 phosphorus 함유물질의 유출현상을 나타내어 항진균력을 나타낸다는 점에서 유사한 작용기전을 가지고 있다고 할 수 있다<sup>10, 20, 21, 30, 31, 37-39</sup>.

이와 같은 항진균제들의 항진균력 성장을 보면 KTZ의 *Candida* sp.에 대한 최저발균억제 농도는 대부분의 경우 0.02mcg~80mcg/ml라고 발표하였으며<sup>1-3, 7, 22, 26, 31, 35</sup>, AMB 역시 0.05mcg~37mcg/ml라 주장하였다<sup>1-3, 5, 6, 37</sup>. 이를 본 실험결과와 비교하여 보면 KTZ의 경우 항진균력이 3.12mcg~25.0mcg/ml, AMB의 경우 0.09mcg~0.97mcg/ml로서 타 연구자들의 연구결과와 별다른 차이를 볼 수 없었으며, 배지별 항균력 성적은 배지별로 차이를 나타내어 Hoeprich와 Huston<sup>25</sup>은 miconazole, amphotericin B 및 amphotericin methyl ester의 경우 miconazole은 SDB, 12.94mcg/ml; SYN, 0.36mcg/ml이라 하였고, AMB의 경우는 배지차이에 따라 별다른 항균력의 차이는 볼 수 없으며 항균력은 0.41mcg~0.25mcg/ml라 발표하였다. 그리고 Hoeprich와 Finn<sup>26</sup>은 AMB의 경우

yeast nitrogen base에서 0.7mcg/ml SDB에서 0.44mcg/ml라 발표하였으며, Hoeprieh와 Mery<sup>26)</sup>는 KTZ의 경우는 배지에 관계없이 0.07 mcg/ml에서 항균력을 나타낸다고 하기도 하였다. 또한 고와 김<sup>3)</sup>은 AMB의 경우 SDB, 0.24 mcg/ml; Kimmig broth, 0.29mcg/ml 및 SYNB, 0.21mcg/ml 그리고 KTZ의 경우 SDB, 1.83 mcg/ml; Kimmig broth, 4.08mcg/ml 및 SYNB, 1.95mcg/ml라고 발표한 바 있기도 하다. 이를 본 실험결과와 비교하여 보면 본 실험에서 AMB의 경우 SDB, 0.39mcg/ml; Kimmig broth, 0.42mcg/ml 및 SYNB, 0.23mcg/ml 그리고 KTZ의 경우 12.5mcg/ml, 22.5mcg/ml 및 6.71 mcg/ml로서 AMB의 경우는 큰 차이를 볼 수 없는 반면 KTZ의 경우에는는 타 연구자들의 결과에 비하여 감수성(항균력)이 낮은 결과를 나타내었으나 이는 균주를 비롯한 배양조건등 외부조건의 차이등으로서 나타날 수 있는 결과라 생각된다.

한편 성장기에 따른 감수성에 대한 연구에서는 Cope<sup>15)</sup> 그리고 Kerridge 등<sup>29)</sup>은 miconazole의 직접적인 세포막 저해능과 감수성의 관계가 성장기에 의존되어 표현형의 변화를 동반한다고 발표한 바 있으며, Beggs<sup>7, 8)</sup>는 3시간의 전 배양후  $1.9 \times 10^{-5}$  혹은  $3.8 \times 10^{-5}$  mol의 miconazole에 배양할 경우 CFU의 100배 정도의 감소 현상을 볼 수 있다고 주장하고 miconazole이 ketoconazole에서 보다 강력한 CFU의 감소현상을 보인다고 발표하였으며, 이는 전배양 시간과도 관계가 있다고 주장하였다. 그리고 이와 같은 현상등은 Cassone 등<sup>12)</sup>은 세포가 대수증식기로부터 정지기로 성장하는 동안 구조적 그리고 화학적 변화를 볼 수 있기 때문이라 하였다. 그리고 Cope<sup>15)</sup> 등에 의하여 이와 같은 현상은 miconazole에 대한 표현형의 방해(phenotypic resistance) 현상으로 나타난다고 발표하였다. 본 연구 결과에서도 AMB의 함량이 0.2mcg/ml인 배지와 KTZ의 함량이 25.0mcg/ml인 배지에서 배양되었을 경우 급속한 CFU의 감소현상이 배양초기에 나타난 점과 그 감소율이 타 연구자들의 결과와 같이 100배 정도를 나타낸 점을 일치점이라 할 수 있겠으나 시간의 경과에 따라 다시 회복되는 결과를 나타내었는데 이는 상기 농도의 배지에서 실험균주가 AMB의 경우는 큰 발육억제현상을 볼 수 없었다는 점으로 미루어 시간경과에 따라 균에 대한 약제의 항진균력이 상실되었다는 것을 나타내는 결과라 할

수 있고, 이는 실험항균제가 살균력 보다는 정균력 밖에 없다는 점을 감안할 때 가능한 결과라 할 수 있다. 그리고 AMB에 대한 타 연구 결과를 접할 수 없어 비교 검토할 수는 없었다. KTZ의 경우에는는 25.0mcg/ml 함유배지 내에서의 균발육억제 현상을 관찰할 수 있었던 점으로 미루어 2시간 전배양 결과에서 접종 6시간의 결과 현저한 CFU의 감소현상과 더불어 시간경과에 따른 일시적인 CFU의 상승현상을 볼 수 있으나 다시 감소되는 결과를 나타내었는데 이는 KTZ가 25mcg/ml의 농도에서 항진균력을 나타낸 점과 함께 생각하여 볼 때 타당한 결과라 하겠다.

이상의 연구결과를 종합하여 볼 때 분리균주의 성장기에 대한 문제는 매우 중요한 감수성 검사시 고려되어야 할 요인중의 하나라고 생각되며, 아울러 직접적인 세포막 저해능도를 조사하는 것이 실제 임상에서 혈청내에서의 항진균 작용에 대한 보다 정확한 결과를 얻는데 도움을 줄 것이라 생각된다. 또한 이에 대한 연구는 여러 항진균제들을 통하여 좀 더 체계적이고 종합적으로 진행되어야 할 것으로 사료된다.

## 결 론

*Candida albicans*를 이용하여 amphotericin B와 ketoconazole에 대한 항균력을 검사하고 아울러 성장기 차이에 따른 감수성의 변화를 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 본 실험에 사용된 실험균주는 총 30주이었으며, 3종류(Sabouraud's dextrose broth, Kimmig broth and Supplemented yeast nitrogen base media)의 배지를 사용하였고, 항진균력 검사는 시험관 회석법으로 실시하였다.

2. 항진균력 성적을 보면 AMB의 경우 SDB, 0.09~0.97 mcg/ml(0.39mcg/ml); Kimmig broth, 0.19~0.39mcg/ml(0.42mcg/ml) 그리고 SYNB, 0.19~0.39mcg/ml (0.23mcg/ml)이었고, KTZ의 경우는 SDB, 3.12~25.0mcg/ml; Kimmig broth, 12.5~25.0mcg/ml(22.5mcg/ml) 그리고 SYNB 3.12~12.5mcg/ml(6.71 mcg/ml)로서 AMB에서는 SYNB배지가 KTZ에서도 공히 SYNB배지가 타 배지를 사용하였을 때보다 항진균력이 높았다.

3. 약제함유 배지를 이용하여 항진균력을 검사하기전 2시간 동안 약제를 함유치 않은 정상 배지내에서 전배양(pre-incubation)한 뒤의 항균

력검사 성적은 AMB의 경우 SDB, 0.04~0.39 mcg/ml(0.11mcg/ml); Kimmig broth, 0.09~0.29mcg/ml(0.18mcg/ml) 그리고 SYNB, 0.09~0.19mcg/ml(0.14mcg/ml)이었고, KTZ의 경우는 SDB, 3.12~20.0mcg/ml(12.22mcg/ml); Kimmig broth, 0.78~25.0mcg/ml (11.01mcg/ml) 그리고 SYNB, 1.56~12.5mcg/ml(3.90mcg/ml)로서 전배양치 않았을 경우보다 2 배이상의 감수성이 높음을 나타내었다.

4. 배지내에서의 성장곡선의 변화를 보면 실험배지별 성장곡선의 큰 차이를 볼 수 없었으며, 모두의 경우 24시간 배양시까지 왕성한 균의 발육을 볼 수 있었으며, 24시간 경과후 부터는 시간경과에 따라 균의 큰 증식현상을 관찰할 수 없었다.

5. AMB를 0.2mcg/ml를 함유시킨 배지에서의 성장곡선을 약제를 함유치 않은 배지내에서 성장곡선의 변화에 비하여 균의 발육정도가 낮은 감을 나타내기는 하였으나, 시간의 경과에 따라 정상배지내에서의 발육양상과 같은 모양을 나타내어 감수성을 볼 수 없었다.

2 시간 전배양후후 성장곡선의 변화를 보면 배양초기에는 급속한 균발육 감소현상( $8.0 \times 10^3$  /ml)을 나타내었으나, 배양시간의 경과와 함께 균의 발육이 왕성하여지는 것을 관찰할 수 있었다.

6. KTZ를 25.0mcg/ml 함유한 배지내에서의 균발육양상을 보면 시간 경과에 따른 균발육현상을 볼 수 없었으며, 오히려 점차 감소하였다.

2 시간 전배양의 경우에서도 역시 배양 초기에는 급속한 균발육감소 현상을 나타내었고( $5.5 \times 10^3$ /ml), 시간의 경과에 따라 균의 발육현상을 관찰할 수 없어 이는 감수성을 나타내었다.

### 참 고 문 헌

- 1) 고춘명, 주혜정, 박형식 : Candida 균주에 대한 항진균제 amphotericin B, Clotrimazole 및 5-fluorocytosine의 단독 및 복합처리에 따른 항균력 검사, 대한미생물학회지, **19** : 35, 1984.
- 2) 고춘명, 박전환 : 임상가검물에서 분리한 Candida sp.의 항진균제 ketoconazole, 5-fluorocytosine 및 amphotericin B의 단독 혹은 복합처리에 의한 항진균력에 대한 연구. 대한미생물학회지, **21**:63, 1986.
- 3) 고춘명, 김수기 : Candida albicans의 사형

관 회석법에 의한 항균력검사시 배지가 항균력에 미치는 영향. 대한미생물학회지, **22** : 301, 1987.

- 4) Abernathy RS: Treatment of systemic mycosis, Medicine, **52** :385, 1973.
- 5) Ahern DG and McGlohn MS: In vitro susceptibility of sucrose nedative *Candida tropicalis*, *Candida lusitaniae* and *Candida norvegenisis* to amphotericin B, 5-fluorocytosine, miconazole and ketoconazole, *J. Clin. Microbiol.*, **19**:412, 1984.
- 6) Bannatyne, RM and Cheung R: Comparative susceptibility of *Candida albicans* to amphotericin B and amphotericin B methyl ester, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **12**:449, 1977.
- 7) Beggs WH: Comparison of miconazole and ketoconazole activities against *Candida albicans* and *Candida parapsilosis*, *IRCS Med. Sci.*, **10** :748, 1982.
- 8) Beggs WH: Growth phase in relation to ketoconazole and miconazole susceptibilities of *Candida albicans*, *Anitmicrob. Agents Chemother.*, **25** :316, 1984.
- 9) Borcelli D Funes J, Leiderman E Resprepo MA, Bran JL, Legendre R, Levine HB and Stevens DA: Ketoconazole, an oral antifungal laboratory and clinical assessment of imidazole drugs, *Postgrad. Med. J.*, **55** :657, 1979.
- 10) Borgers M: Mechanism of action of antifungal drugs, with special reference to the imidazole derivatives, *Rev. Infect. Dis.*, **2** :520, 1980.
- 11) Brass C, Shainhouse JZ and Stevens DA: Variability of agar dilution-replicator method of yeast susceptibility testing, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **15**:763, 1979.
- 12) Cassone A, Kerridge D and Gale EF: Ultrastructural changes in the cell wall of *Candida albicans* following cessation of growth and their possible relationship to the development of polyene resistance, *J. Gen. Microbiol.*, **110** :339, 1979.
- 13) Cope JE: Mode of action of miconazole on *Candida albicans* : effect on growth, viability and K release, *J. Gen. Microbiol.*,

- 119:245, 1980.
- 14) Gale, EF: The release of potassium ions from *Candida albicans* in the presence of polyene antibiotics, *J. Gen. Microbiol.*, **80**: 451, 1974.
  - 15) Gale EF, Johnson AM, Kerridge D and Koh TY: Factors affecting the changes in amphotericin sensitivity of *Candida albicans* during growth, *J. Gen. Microbiol.*, **87**:20, 1975.
  - 16) Gale EF, Ingram J, Kerridge D, Notario V and Wayman F: Reduction of amphotericin resistance in stationary phase cultures of *Candida albicans* by treatment with enzymes, *J. Gen. Microbiol.*, **117**: 383, 1980.
  - 17) Galgiani JN and Stevens DA: Antimicrobial susceptibility testing of yeasts: a turbidimetric technique independent of inoculum size, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **10**:721, 1976.
  - 18) Godefroi EG, Heeres J, Van Cutsem JH and Janseen PAJ: The preparation and antimycotic properties of derivatives of 1-phenylethylimidazole, *J. Med. Chem.*, **12**: 784, 1969.
  - 19) Granade TC and Artis WM: Antimycotic susceptibility testing of dermatophytes in microcultures with a standardized fragmented mycelial inoculum, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **17**:725, 1980.
  - 20) Hanifin JM: Ketoconazole-an oral antifungal with activity against superficial and deep mycoses, *J. Amer. Acad. Dermatol.*, **2**:537, 1980.
  - 21) Heeres J and Van den Bossche H: Antifungal chemotherapy; in Hess et al.(Eds.) Annual Reports in Medicinal Chemistry, p. 139, *Academic Press, New York*, 1980.
  - 22) Heeres J, Backx LJJ, Mostmans JH and Van Cutsem J: The synthesis and antifungal activity of ketoconazole, a new potent orally active broadspectrum antifungal agent, *J. Med. Chem.*, **22**:1003, 1979.
  - 23) Hamilton-Miller JMT: Chemistry and biology of the polyene macrolide antibiotics, *Bacteriol. Rev.*, **37**:166, 1973.
  - 24) Hoepfich PD and Finn PD: Obfuscation of the activity of antifungal antimicrobics by culture media, *J. Infect. Dis.*, **126**:553, 1972.
  - 25) Hoepfich PD and Huston AC: Effect of culture media on the antifungal activity of miconazole and amphotericin B methyl ester, *J. Infect. Dis.*, **134**:336, 1976.
  - 26) Hoepfich PD and Merry JM: Influence of culture medium on susceptibility testing with BAY n7133 and ketoconazole, *J. Clin. Microbiol.*, **24**:269, 1986.
  - 27) Hoepfich PD and Huston AC: Susceptibility of *Coccidioides immitis*, *Candida albicans* and *Cryptococcus neoformans* to amphotericin B, fluorocytosine and clotrimazole, *J. Infect. Dis.*, **132**:133, 1975.
  - 28) Holbrook WP and Kippax R: Sensitivity of *Candida albicans* from patients with chronic oral candidiasis, *Postgrad. Med. J.*, **55**:692, 1979.
  - 29) Kerridge D, Koh TY, Marriott MS and Gale EF: The production and properties of protoplasts from the dimorphic yeast *Candida albicans*, In Peberdy et al.(Eds.) Microbial and Plant Protoplasts, p. 23, *Academic Press, London*, 1976.
  - 30) Joklik UK, Willett HP and Amos DB: Zinsser Microbiology, 18th Eds., *Appleton-Century-Crofts*, 1984.
  - 31) Levine HB: Ketoconazole in the management of fungal disease, 1st Ed., *ADIS Press, Auckland*, 1982.
  - 32) Marriott MS: Inhibition of sterol biosynthesis in *Candida albicans* by imidazole-containing antifungals, *J. Gen. Microbiol.*, **117**:253, 1980.
  - 33) Plempel M, Bartmann K, Buchel KH and Regel E: BAY b5097, a new orally applicable antifungal substance with broadspectrum activity, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **4**:271, 1969.
  - 34) Sub IJ and Feingold DS: Mechanisms of action of the antimycotic imidazoles, *J. Invest. Dermatol.*, **76**:438, 1981.
  - 35) Sub IJ and Feingold DS: Effect of ketoconazole on the fungicidal action of am-



- photericin B in *Candida albicans*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **23**:185, 1983.
- 36) Thienpont D, Van Cutsem J, Van Gerven F, Heeres J and Janssen PAJ: Ketoconazole, a broad-spectrum orally active antimycotic, *Experientia*, **35**:606, 1979. .
- 37) Van den Bossche H, Wilemsens G, Cools W, Cornelissen F, Lauwere WF and Van Cutsem JM: Effects of the antimycotic drug, ketoconazole, on sterol synthesis. An in vitro and in vivo study, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **17**:922, 1980.
- 38) Van den Bossche H, Wilemsens G, Cools W and Cornelissen F: Inhibition of ergosterol synthesis in *Candida albicans* by ketoconazole, *Arch. Internat. Physiol. Biochem.*, **87**:849, 1979.
- 39) Wilemsens G, Cools W and Van den Bossche H: Effects of miconazole and ketoconazole on sterol synthesis in a subcellular fraction of yeast and mammalian cells, In Van den Bossche(Ed.) *The Host Invader-Interplay*, p. 691, Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam, 1980.