1970年度 結核實態調査에서 分離된 結核菌의 Virulence 에 關한 研究

大韓結核協會 結核研究院

金成鎭 · 金尙材 · 宋達鎬 · 李圭正

가톨릭醫大 바오로病院

邊 海 元

—Abstract—

The Study on Virulence of Mycobacterium Tuberculosis Isolated from the Second National Tuberculosis Survey in 1970

Sung Chin Kim M.D. D.Sc. Sang Jae Kim D.Sc. MPH.

Dal Ho Song M.D. and Kyu Jeong Lee

Institute of Tuberculosis, KNTA

Hae Won Pyun M.D.

Catholic Medical College

Writers observed the virulence (to mice) of the strains of *M. tuberculosis* isolated during the 1970 prevalence survey. There were 114 strains of *M. tuberculosis*, of which 72 strains were sensitive to SM, INH and PAS, 38 strains were resistant to INH alone, INH and PAS or INH and SM, and 4 were resistant to PAS or SM alone.

An emulsified fine suspension of each strain was made and inoculated to Dubos liquid media, which was incubated for 12 days (at 37°C). Then using the Bauch and Lomb Spectronic 20, a suspension containing 9.0×10^5 viable units per ml (O.D. 0.16 at 660 m μ) was made. 0.2ml of the suspension was injected into the tail vein of a mouse (10 mice were inoculated for each of the 114 strains).

The results were as follows:

1. After 8 weeks of observation, the death rate of the mice inoculated with the strains sensitive to SM, INH and PAS was 72.1%. The range of death rates was very large ranging from 0% to 100%. 77.8% of the strains showed death rate more than 50%, 36.1% of the strains showed 100% death, and 8.3% of the strains showed no deaths.

The death rate among the mice inoculated with the resistant strains was 53.0%. This shows that the virulence of the resistant strains is lower than that of sensitive strains. The range of death rates caused by the resistant strains was from 0% to 100% as it was for the sensitive strains. There were several strains that were highly resistant to INH, with low catalase activity which showed

- high death rates among the mice.
2. During the 56 days of observation, the average survival time for the mice inoculated with the sensitive strains was 37 days while the average survival time for those inoculated with resistant strains was 40 days.
 3. At the time of autopsy, the degree (Aoki's standard) of macroscopic lesion in the lungs of the animals inoculated with sensitive strains was 5.9 and 4.9 for the animal inoculated with resistant strains.
 4. The lung to body weight ratio [lung weight (mgms)/body weight (gms)×10] for the animals inoculated with sensitive strains was 480 while it was 399 for the animals inoculated with resistant strains.
 5. The virulence of the bacilli to mice had no relationship to the extent of the patient's disease, from whom the bacilli were isolated.
 6. As death rate increases survival time is shorter, lung to body weight ratio and degree of macroscopic lesions of the lung is larger and catalase activity of the bacilli tends to be higher. It appears that these factors are related to the virulence of the bacilli.
 7. Among the strains resistant to INH, 14 were classified as primary resistance and 58 were classified as acquired resistance. The death rate of the mice inoculated with the strains having primary resistance was 72.9% while for the mice inoculated with the strains having acquired resistance was 41.5%. The writers feel that the difference in virulence between primary resistant strains and acquired resistant strains should be studied further.

序 論

현재 지구상에 유행하는 결핵의 주된 原因菌인 *Myc. tuberculosis*(人型結核菌)가 유행하고 지역에 따라서 또 동일유행지역이라 할지라도 군주에 따라서 실험동물에 대한 Virulence가 다르다는 사실은 이미 밝혀진지 오래다.

*Myc. tuberculosis*를 海獺이나 白鼠와 같은 실험동물의 근육이나 복강 또는 尾靜脈內에 접종했을 때 대체로 단일한 결과를 나타내어 數週 이내에 斃死시킬 수 있다고 알려져 왔다. 그러나 Mitchson 등¹⁾을 비롯한 여러 학자들이 비록 동일군종의 *Myc. tuberculosis*일지라도 그들이 분리된 지역에 따라서 각종 실험동물에 대한 Virulence가 다르다는 사실을 밝혔고 그리고 岩崎 등²⁾을 비롯한 몇몇 학자들은 동일 유행지역에서 분리된 *Myc. tuberculosis*이라도 菌株에 따라서 virulence의 強弱에 있어서 甚한 差를 나타내고 있는 사실을 밝히고 있는 것으로 보아 동일군종의 *Myc. tuberculosis*라 할지라도 宿主에 대한 Virulence가 반드시 일치하지 않는다고 볼 수 있다. 우리나라에 있어서도 著者와 李等³⁾에 의해 報告된 바 있으며 역시 菌株에 따라 크게 差를 나타냈다. 그러나 이것은 우리나라 結核菌을 代表할 수 없는 菌株였으므로 저자들은 우리나라 結核菌의 어느정도 代表株로 볼 수 있는 1970년에 실시된 제2차 전국 결핵실태조

사에서 분리배양한 *Myc. tuberculosis*의 全株를 대상으로 白鼠에 대한 Virulence를 시험하여 우리나라 結核菌의 Virulence의 경향을 아는 것이 細菌學의 興味뿐 아니라 結核의 感染과 發病에 있어서의 寄生體와 宿主와의 相關關係를 研究하는 데 基礎資料가 될 것으로 生覺되어 本試驗을 實施하였다.

實驗材料 및 方法

實驗材料 :

1970년 제2차결핵실태조사에서 분리배양된 *Myc. tuberculosis* 중 INH 單獨 및 INH+PAS, SM 내성균 38주, PAS 單獨耐性菌 2주, SM 單獨耐性菌 2주 및 약제 감수성균 72주, 總 114株의 人型結核菌을 試供菌으로 使用했고 參考菌株로써 표준인형결핵균주 H₃₇R_v를 使用하여 본실험을 실시하였다.

實驗方法 :

1. 使用動物 : SM系 雄性白鼠(체중 14±1gm)를 각 군주당 10수씩 사용하였다.

2. 菌接種 : Löwenstein-Jensen 배양기에 제대배양한 菌塊를 무균적으로 均等化한 菌액을 Dubos액체배양기(Tween 80 含有)에 접종하여 12일간 배양한 다음 粗大한 菌塊를 제거한 균배양액을 Spectronic 20 (Bausch and Lomb Co.)로 660mμ에서 OD, 0.16으로 濁度を 調整한 후 0.2ml씩 白鼠尾靜脈內에 接種하였다. 그리

고 점중에 사용한 균액은 모두 생균수를 희석배양법에 따라 측정하였다.

3. 觀 察

① 균접종한 白鼠는 매주 체중을 측정하여 8주까지 그 변화를 관찰하였다.

② 균접종한 白鼠는 8주까지 死亡狀態를 관찰하고 死亡率을 算出하였다.

③ 死亡白鼠와 8주까지 생존하여 도살한 白鼠는 剖檢時에 폐의 肉眼의 病變度를 青木等의 方法⁴⁾에 따라 관찰하고 그리고 肺重量을 측정하여 아래의 式에 따라 比肺重을 구하였다.

$$\text{比肺重} = \frac{\text{肺重(mg)}}{\text{體重(gm)}} \times 10$$

4. 接種菌株의 Catalase 活性 : US. CDC⁵⁾의 方法에 따라 20×150mm 시험관에 5ml의 L-J 배양기를 上位置로 응고 멸균시킨 다음 菌液 0.1ml를 접종하여 37°C에 2주간 배양한 후 10% Tween 80 및 30% H₂O₂ 1:1 혼합액 1ml를 가하여 5분간 靜置한 다음 泡沫의 높이를 측정하여 catalase 活性으로 나타내었다.

實 驗 結 果

1) 接種生菌單位

본실험에 이용된 균주의 白鼠 1首당 接種生菌單位의 평균치는 9.0×10⁶인데 그 분포상태를 圖示하면 그림 1

Fig. 1. Infected dose of Myc. tuberculosis into mice.

과 같다. 대체로 0.1~10.0×10⁵에 집중되어 있다.

2) 藥劑耐性菌의 白鼠에 대한 virulence.

INH 耐性菌의 白鼠에 대한 Virulence를 보면 Table 1에서 보는 바와 같이 死亡率은 평균 53.0%이고 56일 관찰에서의 평균생존일수는 40일이었다. 剖檢所見을 그 평균치로 보면 比肺重이 399이며 肉眼의 病變度는 4.9였다. 死亡白鼠와 生存白鼠의 剖檢所見을 그 평균치로 비교해 보면 肉眼의 病變度는 사망白鼠가 5.7인데 비해 생존白鼠는 4.0이고 比肺重은 사망白鼠가 627인데 비해 생존白鼠는 252였다. Catalase 活性은 그 평균치가

Table 2. Virulence of M. tuberculosis by extent of disease.

Extent of Dis.	Death rate	Aoki's degree	L/B w't. ratio
Min.	68.0*	5.8	494
M. A	70.7*	5.9	499
F. A	77.7*	6.0	530

*p>0.1 (Not significant)

Table 3. Virulence of M. tuberculosis resistant to INH by primary and acquired resistance.

Strains Resistant to	Primary resistance		Acquired resistance		Total No. of strains
	No. of tested strains	Death rates (%)	No. of tested strains	Death rates (%)	
INH 5r/ml	3	59.1	7	27.5	10
INH 1r/ml	5	60.0	9	51.3	14
INH 0.2r/ml	6	91.1	8	40.7	14
Total	14	72.9*	24	41.5*	38

*P<0.001

Table 1. Virulence to mice of *M. tuberculosis*

Strain No.	Resistant to:				Infected dose x 10 ⁵	Dead mice	
	INH	PAS	SM	others		Aoki's degree	L/B w't. ratio
01014	5	—	—	—	4.2	3.0	393
14088	5	—	—	—	2.0	0	0
50001	5	—	—	—	2.1	6.8	702
62198	5	—	—	—	0.7	0	0
65021	5	—	—	—	2.4	0	0
74093	5	—	—	—	1.1	6.0	783
48004	5	4	—	—	8.5	6.0	759
13080	5	4	10	TB ₁	3.0	6.2	581
20254	5	2	20	TB ₁	14.6	5.5	629
19165	5	2	10	—	2.2	6.5	648
Sub-total (average)					2.1	6.1	667
02046	1	—	—	—	6.0	5.0	246
04047	1	—	—	—	8.3	6.2	483
16104	1	4	—	—	7.1	6.1	751
78204	1	4	40	—	5.1	6.9	753
82293	1	4	40	—	3.2	6.6	693
65012	1	2	—	—	4.4	5.7	543
85006	1	2	—	—	13.8	5.9	554
66095	1	2	40	EMB	0.9	0	0
74038	1	1	—	—	14.6	6.0	593
51323	1	1	40	—	1.6	7.0	713
07182	1	—	40	—	1.1	6.0	623
76024	1	—	20	—	4.6	5.7	512
64093	1	—	10	—	4.0	6.0	591
82194	1	—	10	—	5.4	6.0	695
Sub-total (average)					5.7	5.6	639
02231	0.2	—	—	—	0.9	5.2	371
07175	0.2	—	—	—	1.7	0	0
61014	0.2	—	—	—	8.0	6.7	711
82289	0.2	4	40	—	0.3	6.0	730
53492	0.2	4	40	—	5.4	5.8	328
65226	0.2	4	40	—	1.4	6.0	576
53132	0.2	4	40	TB ₁	12.0	7.0	638
62376	0.2	4	20	—	0.2	5.5	450
77124	0.2	2	—	—	28.2	6.8	640
54267	0.2	2	40	—	14.3	6.0	776
69214	0.2	2	40	EMB	65.0	6.9	582
14224	0.2	2	20	—	98.5	5.0	452
37187	0.2	—	20	—	2.2	6.8	756
16087	0.2	—	—	—	0.8	6.0	720
Sub-total (average)					17.1	5.4	588
Total (average)					8.9	5.7	627
72087	—	1	—	—	6.0	5.9	588
78006	—	2	—	—	5.4	5.8	469
Total (average)					5.7	5.8	534
84155	—	—	40	—	2.2	6.2	573
63107	—	—	20	—	20.2	5.7	541
Total (average)					11.2	5.9	554
H ₃₇ R _v					7.0	6.0	723

resistant to one or more drugs. (42 Strains)

Sacrificed mice		Death rate (%)	Survival time (days)	L/B w't. ratio (average)	Aoki's degree (average)	Catalase activity (mm)
Aoki's degree	L/B w't. ratio					
4.6	648	14.2	56	592	4.3	1.0
4.9	114	0	56	114	4.9	0
4.3	441	80.0	33	631	6.3	1.0
4.5	110	0	56	110	4.5	0
4.6	316	0	56	316	4.6	2.0
4.7	291	28.6	50	388	5.1	3.0
3.7	272	70.0	40	559	5.3	0
4.4	375	62.5	42	489	5.5	4.0
4.6	196	28.6	52	266	4.9	3.0
5.0	269	75.0	37	506	6.4	0
4.6	257	37.0	48	365	5.1	1.4
3.9	237	22.2	56	238	4.1	0
1.0	177	55.6	46	287	3.9	1.0
4.6	359	12.5	53	382	4.7	3.0
0	0	100.0	27	753	6.9	8.0
0	0	100.0	29	693	6.6	10.0
4.1	414	42.9	47	463	4.7	2.0
4.6	232	87.5	38	493	5.7	5.0
4.7	134	0	56	134	4.7	1.0
4.8	275	12.5	54	307	5.0	1.0
0	0	100.0	23	713	7.0	4.0
4.4	281	16.7	52	318	4.7	2.0
4.5	348	37.5	48	404	4.9	1.0
3.7	406	71.4	41	534	5.3	3.0
4.7	290	75.0	39	543	5.7	5.0
4.1	263	54.7	40	410	4.9	3.3
0	0	100.0	37	371	5.2	3.0
4.4	260	0	56	260	4.4	4.0
4.3	360	85.7	31	651	6.3	3.0
4.6	214	14.3	53	253	4.8	3.0
5.0	305	75.0	41	321	5.6	5.0
5.0	246	57.1	43	381	5.6	3.0
0	0	100.0	23	638	7.0	8.0
4.7	141	33.3	52	194	5.0	5.0
0	0	100.0	26	640	6.8	6.0
4.6	359	87.5	35	707	5.8	6.0
0	0	100.0	23	582	6.9	8.0
2.9	241	33.3	52	222	3.6	4.0
0	0	100.0	23	756	6.8	10.0
4.3	251	14.3	53	285	4.5	2.0
3.5	237	62.7	33	412	4.7	5.0
4.0	252	53.0	40	399	4.9	3.4
0	0	100.0	35	588	5.9	12.0
4.8	257	75.0	42	400	5.5	10.0
4.8	257	86.7	39	482	5.7	11.0
4.5	334	62.5	40	461	5.6	8.0
0	0	100.0	37	541	5.7	24.0
4.5	334	80.0	38	498	5.6	16.0
4.0	256	62.5	40	548	5.3	10.0

3.4mm 었다.

表 2는 菌分離原因 患者의 肺病變의 크기와 Virulence (死亡率)의 相關關係를 본 것이다. 結核病變의 輕重과 Virulenc의 強弱에 있어서 有意의差를 認定할 수 없었다.

INH 耐性菌을 耐性程度에 따라 나누어 그 Virulence 를 비교해 보면 다음과 같다. 먼저 5 μ g/ml 또는 그 이상의 농도에 내성을 나타내는 군은 사망율이 평균 37.0 %이고 56일 관찰에서의 평균생존일수는 48일이었으며 剖檢所見은 肉眼의病變도가 평균 5.1이고 比肺重은 평균 365였다. Catalase 活性은 그 평균치가 1.4mm 었다.

1 μ g/ml 耐性群의 평균 사망율과 56일 관찰에서의 평균생존일수는 각각 54.7% 및 40일이었고 剖檢所見은 肉眼의病變도가 평균 4.9이고 比肺重이 평균 410이었다. Catalase 活性은 그 평균치가 3.3mm 었다.

0.2 μ g/ml 耐性菌의 평균 사망율과 56일 관찰에서의 평균생존일수는 각각 62.7% 및 33일이었고 그리고 剖檢所見을 그 평균치로 보면 肉眼의病變도는 4.7이며 比肺重은 412였다. Catalase 活性은 그 평균치가 5.0mm 었다.

PAS 耐性菌은 白鼠死亡率이 평균 86.7%이고 56일 관찰에서의 평균생존일수는 39일이었고 그리고 剖檢所見을 그 평균치로 보면 肉眼의病變도는 5.7이고 比肺重은 482였다. Catalase 活性은 그 평균치가 11.0mm 었다.

SM 耐性菌은 白鼠死亡率이 평균 80.0%이고 56일 관찰에서의 평균생존일수는 38일이었고 그리고 剖檢所見은 肉眼의病變도가 평균 5.6이고 比肺重은 평균 498이었다. Catalase 活性은 그 평균치가 16.0mm 었다.

INH 耐性菌을 一次耐性菌과 獲得耐性菌으로 나누어 白鼠에 대한 virulence 를 비교해 보면 Table 3에서 보는 바와 같이 白鼠死亡率이 一次耐性菌은 평균 72.9%인데 비해 獲得耐性은 평균 41.5%로써 有意의差를 認定하였다($p < 0.001$). 耐性程度別로 비교해 보면 5 μ g/ml 또는 그 이상의 농도에 耐性을 나타내는 군은 그 평균치가 一次耐性인 경우에는 白鼠死亡率이 59.1%인데 비하여 獲得耐性인 경우에는 27.5%였다. 1 μ g/ml 耐性菌은 一次耐性인 경우에는 평균 60.0%이고 獲得耐性인 경우에는 평균 51.3%이었고 그리고 0.2 μ g/ml 耐性菌은 一次耐性에서는 평균 91.1%의 白鼠死亡率을 나타내는 데 비하여 獲得耐性인 경우에는 평균 40.7%($p < 0.001$)로 역시 크게 差를 나타내고 있다.

3) 藥劑感受性菌의 白鼠에 대한 Virulence

약제감수성군 72주의 白鼠에 대한 Virulence 를 보면 Table 4에서 보는 바와 같이 白鼠死亡率은 평균 72.1%

이고 56일 관찰에서의 평균생존일수는 37일이었다. 剖檢所見을 보면 肉眼의病變도와 比重이 그 평균치가 각각 5.9 및 48.0이었다. Catalase 活性은 그 평균치가 11.1mm 었다.

사망白鼠와 생존白鼠의 剖檢所見을 그 평균치로 비교해 보면 肉眼의病變도는 사망白鼠가 6.4인데 비하여 생존白鼠는 4.6이고 그리고 比肺重은 사망白鼠가 598인데 비하여 생존白鼠는 289였다.

藥劑感受性菌 72주를 毒力의 정도에 따라 구분해보면 白鼠死亡率이 100%인 군은 26株로 36.1%이었고 그리고 사망율이 1株라도 死亡한 菌株에서 99%까지를 보면 55.6%이었고, 50% 이상 死亡率은 77.8% 그리고 56일 관찰에서 사망이 전혀 없는 군주는 6주로 8.3%였다.

4) 菌接種白鼠의 體重變化

INH 耐性菌과 藥劑感受性菌을 접종한 白鼠중에서 매우 생존白鼠에 대해서만 체중을 측정하여 8주동안 관찰에서의 그 변화를 평균치로 非接種群과 비교해 보면 그림 2와 같다. 대체로 4주이후에서는 INH 耐性菌보다 약제감수성군을 접종한 群에서 體重이 낮은 경향을 보여 주고 있다.

Fig. 2. Body weight changes in mice infected with Myc. tuberculosis

考察 및 總括

結核菌의 Virulence 를 測定하는 것은 技術의으로 매우 어려운 일이다. 試驗菌의 狀態가 分離前 病巢內의 Virulence 와 同一하지 않을 可能性, 接種菌液의 均等性 및 試驗動物의 種類 및 系統, 同一種系라 하더라도 動物 個體의 防禦能力, 그리고 觀察方法等에 따라 成績의 差

를 크게 가져올 가능성이 많은 것이다. 또한 近來 化學療法の 廣範圍한 普及으로 因하여 特히 INH 耐性菌은 Virulence 가 低下되어 있다는 것이 알려져 本來의 순수한 結核菌의 Virulence 를 알 수 없는 것도 考慮하지 않으면 안되게 되었다.

Virulence 를 測定하는 方法으로서 많이 檢討되어 왔으나 最近 認定받고 있는 것으로서 Michison¹⁾의 Guinea pig 에 있어서의 Spleen Root Index 를 測定하는 方法과 Middlebrook⁶⁾의 mouse 尾靜脈感染으로의 死亡率 및 肺臟內生菌數의 消長을 그리고 青木⁴⁾는 Mouse 에 있어서의 剖檢所見을 肉眼的病變度 및 比肺重 그리고 脾重 등이 Virulence 의 強弱과 一致한다고 하였고 Collins⁸⁾도 最近 結核菌의 Virulence 측정에 있어서 Mouse 靜脈內感染으로 Guinea pig 와 比較할만하다고 報告한 것 등을 보아 Mouse 를 使用하는 것도 큰 差가 나지 않을 것으로 본다.

著者 등은 그中 死亡率, 比肺重, 病變度를 重要視하고 重點으로 試驗하였고 이 結果를 藥劑耐性菌과 感受性菌을 各各 區分하여 觀察하였다. 全體적으로 보아 耐性群이 感性群보다 Virulence 가 低下되어 있다는 것은 本實驗에 있어서도 明白해졌으며 特히 INH 耐性菌의 경우 他藥劑耐性菌보다 뚜렷하게 나타나고 있다. 그中 INH 高度耐性이고 Catalase 陰性과 弱陽性인 群에서 死亡率 100%는 한株도 없고 平均 37%로써 藥劑 感性菌의 平均死亡率 72.1%에 比하여 매우 낮은 것을 볼 수 있다. 이것은 오래 전부터 알려져 있는 事實을 再確認한 것이 되겠으나 表 1에서 보는 바와 같이 INH 高度耐性菌의 경우 菌株에 따라서는 死亡率이 한首度 없는 것이 있는 反面에 80%, 75%, 70% 등 매우 높은 菌株도 있다. Catalase 活性과의 相關關係도 死亡率이 높은 菌株인 데도 Catalase 活性이 陰성이거나 弱한 것이 證明됐다. 이것은 INH 耐性 Catalase 活性陰性菌이라도 相當한 數에 있어서 Virulence 가 強毒한 株菌도 있다는 것을 意味하는 것이다. 이事實은 村田⁹⁾의 研究에서도 同一한 傾向을 證明하고 氏는 또한 아무리 動物에 Virulence 가 弱화했다하더라도 人體에 對한 Virulence 는 그렇지 않을 것이라고 하였다.

한편 表 3에서 보는 바와 같이 一次耐性菌과 獲得耐性菌間에 INH 耐性菌의 경우 一次耐性이 獲得耐性보다 Virulence 가 높은 것을 볼 수 있는 데 이것은 처음 證明된 일이며 文獻에도 찾아볼 수 없으므로 注目を 끌고 있다. 이것은 著者の 結核菌의 一次耐성에 關한 研究¹⁰⁾에서도 밝혔듯이 INH 高度耐性菌도 사람에게 感染病을 일으킨 證據가 많은 것으로 보아 有力한 證據가 되는 것이

라고 믿는다.

한편 各藥劑에 對해 感受性を 보이는 菌株를 檢討해 보면 死亡率 0~100%로써 菌株間에 Virulence 의 強弱의 差가 매우 甚한 것을 表 4에서 볼 수 있다. 100% 死亡한 強毒이라고 볼 수 있는 菌株는 36.1%이며 反面에 1首度 死亡치 않은 弱毒菌이라 볼 수 있는 것이 8.3%이다. Mouse 死亡率이 50% 以上으로써 猛毒菌이라고 볼 수 있는 菌株는 77.8%이고, 1首의 死亡이라도 있는 所謂 岩崎等²⁾의 High Virulence 群에 屬하는 菌株는 91.7%로써 매우 높게 나타났다.

著者와 李等³⁾의 1968年度 우리나라에서 實施한 Virulence 는 100% 死亡이 20.5%, 한首度 死亡치 않은 것이 15.6%로써 本實驗에 있어서와 若干의 差를 보여주고 있다. 日本의 岸崎等²⁾의 成績을 보면 100% 死亡率은 2.3%로써 約 10배나 낮고 한首度 死亡치 않은 菌株는 39.5%로써 우리나라의 結核菌은 Virulence 가 日本것보다 強한 것으로 比較된다. 이것은 엄격한 意味에서 比較되기 어렵다. 即 使用 Mouse 의 系統이 다르고 衛者가 다르기 때문이다. 그러나 方法과 基準은 大體 同一한 點으로 보아 大體의인 傾向은 알 수 있으리라 生覺된다.

1960年 Mitchison¹⁾은 結核菌의 Virulence 가 英國것보다 “인도”가 弱하다고 證明하고 地域적으로 差가 있다고 報告한 以後 佐藤⁷⁾는 結核菌의 毒力이 日本에 比하여 香港이나 싱가포르의 것이 弱하다고 報告하여 역시 地域의인 差를 認定하였다. 大體로 지금까지의 結核菌에 對한 Virulence 를 여러 地域의 研究者別로 觀察해보면 溫度가 높은 地域일수록 弱한 것으로 볼 수 있는 데 熱帶地方이 亞熱帶地方보다 結核菌의 Virulence 가 낮은 것은 紫外線照射量이 關係가 있지 않나? 도 生覺할 수 있을 것 같다. 室橋¹¹⁾는 結核菌에 紫外線을 一定量照射하면 抗酸性이 消失되고 또한 Virulence 도 弱해진다고 하였는데 이러한 地域의인 差가 생길 수 있는 原因中의 하나일 可能性을 暗示해주고 있는 것이다.

藥劑感受性菌과 藥劑耐性菌을 接種한 白鼠의 比肺重과 肉眼的 病變度의 相關關係를 보면 그림 3과 같이 毒力이 강할수록 肉眼的病變도와 比肺重이 크므로 INH 耐性菌의 毒力이 약제감수성균보다 비교적 약한 傾向을 보여주고 있다. 그리고 56일 관찰에서 死亡白鼠와 생존白鼠의 剖檢所見을 그 평균치로 비교해 보면 그림 4와 같이 INH 耐性菌이나 약제감수성균 모두 사망 白鼠와 생존白鼠 사이의 剖檢所見에 큰 차이가 있음을 볼 수 있었다.

INH 耐性株나 感受性菌 모두 死亡 Mouse 보다 生存 Mouse 에 있어서 病變도와 比肺重이 共に 낮고 死亡

Table 4. Virulence to mice of *M. tuberculosis*

Serial strain No.	Drug resistance to:				Infected dose $\times 10^5$	Dead mice	
	INH	PAS	SM	others		Aoki's degree	L/B w't. ratio
07049	—	—	—	—	9.6	0	0
42029	—	—	—	—	1.7	0	0
46013	—	—	—	—	3.4	0	0
48052	—	—	—	—	2.7	0	0
50089	—	—	—	—	0.4	0	0
68059	—	—	—	—	1.7	0	0
42222	—	—	—	—	6.2	6.0	592
54068	—	—	—	—	3.2	6.0	683
17160	—	—	—	—	0.9	6.0	640
39225	—	—	—	—	0.3	5.0	195
35271	—	—	—	—	1.2	7.0	725
53347	—	—	—	—	1.2	7.0	725
47077	—	—	—	—	0.5	5.0	644
61065	—	—	—	—	2.0	6.0	640
58093	—	—	—	—	18.0	5.7	628
59253	—	—	—	—	6.2	5.0	584
01055	—	—	—	—	5.4	5.5	591
12068	—	—	—	—	2.9	5.7	686
42215	—	—	—	—	0.9	6.3	480
75195	—	—	—	—	2.6	6.0	687
54081	—	—	—	—	5.4	5.2	467
03263	—	—	—	—	7.5	6.6	713
36057	—	—	—	—	6.1	6.3	502
41126	—	—	—	—	5.6	5.8	633
42114	—	—	—	—	10.0	6.5	498
59227	—	—	—	—	0.5	6.0	721
07099	—	—	—	—	3.2	6.4	632
43033	—	—	—	—	80.0	6.0	583
67128	—	—	—	—	12.2	5.9	505
75151	—	—	—	—	7.0	5.6	591
68227	—	—	—	—	5.4	5.7	490
77138	—	—	—	—	1.1	6.7	651

sensitive to all drugs. (72 strains)

Sacrificed mice		Death rate (%)	Survival time (days)	L/B w't. ratio (average)	Aoki's degree (average)	Catalase activity (mm)
Aoki's degree	L/B w't. ratio					
4.7	285	0	56	285	4.7	11.0
4.4	260	0	56	260	4.4	8.0
4.7	317	0	56	317	4.7	10.0
4.5	354	0	56	354	4.5	9.0
4.9	117	0	56	117	4.9	11.0
4.7	279	0	56	279	4.7	13.0
4.7	304	12.5	54	325	4.9	16.0
5.0	213	12.5	54	252	5.1	18.0
4.9	284	14.3	52	323	5.0	7.0
4.6	311	14.3	56	289	4.6	23.0
4.4	226	25.0	49	306	5.1	10.0
4.4	226	25.0	49	306	5.1	11.0
4.5	248	28.6	54	324	4.6	17.0
4.8	301	28.6	50	379	5.1	12.0
4.6	386	42.9	49	465	5.1	9.0
4.5	392	42.9	53	459	4.7	12.0
4.8	324	50.0	46	455	5.2	8.0
4.6	289	50.0	46	401	5.2	11.0
4.7	257	50.0	44	334	5.5	7.0
4.6	275	57.1	43	470	5.4	11.0
5.0	313	57.1	50	393	5.9	8.0
3.2	267	62.5	41	358	5.3	10.0
5.0	336	66.7	42	430	5.8	15.0
4.3	364	66.7	43	505	5.3	5.0
4.6	282	66.7	38	428	5.9	13.0
4.7	377	66.7	38	588	5.6	8.0
4.6	297	71.4	36	514	5.9	12.0
4.6	210	75.0	39	446	5.7	17.0
5.0	236	75.0	41	411	5.7	10.0
4.8	335	75.0	41	512	5.4	11.0
4.3	437	75.0	45	473	5.3	12.0
4.6	338	75.0	35	562	6.2	7.0

Table 4-1. Virulence to mice of *M. tuberculosis*

Serial stain No.	Drug resistance to:				Infected dose $\times 10^5$	Dead mice	
	INH	PAS	SM	others		Aoki's degree	L/B w't. ratio
44186	—	—	—	—	13.8	6.6	695
43010	—	—	—	—	0.5	5.6	515
42109	—	—	—	—	3.2	5.7	506
67026	—	—	—	—	14.2	6.5	501
79137	—	—	—	—	3.2	5.7	506
79175	—	—	—	—	3.2	5.7	506
80023	—	—	—	—	9.6	6.0	585
14220	—	—	—	—	32.0	6.0	683
60191	—	—	—	—	14.0	6.3	521
73197	—	—	—	—	3.8	6.6	596
75155	—	—	—	—	19.2	7.0	634
45097	—	—	—	—	9.7	6.4	599
46023	—	—	—	—	46.3	6.6	595
48059	—	—	—	—	4.3	6.0	618
01108	—	—	—	—	10.0	6.4	440
03079	—	—	—	—	16.0	6.4	520
06220	—	—	—	—	2.8	7.0	754
07017	—	—	—	—	3.0	6.6	744
10052	—	—	—	—	2.8	7.0	754
10084	—	—	—	—	20.0	7.0	584
10191	—	—	—	—	32.0	7.0	621
17034	—	—	—	—	0.4	6.8	422
20174	—	—	—	—	17.9	6.9	687
24216	—	—	—	—	6.3	6.5	607
26087	—	—	—	—	7.0	6.9	658
26102	—	—	—	—	0.4	6.6	611
35088	—	—	—	—	5.5	6.8	589
40253	—	—	—	—	5.8	6.8	663
43157	—	—	—	—	2.8	7.0	754
44169	—	—	—	—	3.2	6.1	537
48156	—	—	—	—	23.4	6.8	697
51322	—	—	—	—	6.8	6.6	589
60217	—	—	—	—	32.6	7.0	609
65019	—	—	—	—	23.6	7.0	630
66011	—	—	—	—	2.3	7.0	640
66122	—	—	—	—	5.8	7.0	588
68186	—	—	—	—	4.0	5.4	539
74046	—	—	—	—	2.8	7.0	716
81214	—	—	—	—	4.8	6.6	583
85211	—	—	—	—	23.0	6.6	593
Total (average)					9.1	6.4	598

sensitive to all drugs. (72 Strains)

Sacrificed mice		Death rate (%)	Survival time (days)	L/B w't. ratio * (average)	Aoki's degree (average)	Catalase activity (mm)
Aoki's degree	L/B w't. ratio					
5.0	382	83.3	35	630	6.3	
4.6	300	85.7	41	479	5.5	28.0
4.0	483	85.7	44	502	5.5	9.0
5.0	388	85.7	34	486	6.3	8.0
4.0	483	85.7	44	502	5.5	4.0
4.0	483	85.7	44	502	5.5	10.0
4.6	338	86.7	39	545	5.5	14.0
4.6	400	87.5	36	641	5.8	9.0
4.6	305	87.5	35	486	6.1	13.0
4.6	320	87.5	32	563	6.3	12.0
5.0	275	87.5	26	572	6.8	16.0
2.0	286	90.0	31	550	6.0	8.0
3.0	464	90.0	33	578	6.2	9.0
3.0	350	90.0	36	575	5.7	10.0
0	0	100.0	29	440	6.4	7.0
0	0	100.0	29	520	6.4	18.0
0	0	100.0	25	754	7.0	12.0
0	0	100.0	27	744	6.6	10.0
0	0	100.0	25	754	7.0	11.0
0	0	100.0	23	584	7.0	7.0
0	0	100.0	23	621	7.0	8.0
0	0	100.0	21	422	6.8	11.0
0	0	100.0	24	687	6.9	8.0
0	0	100.0	29	607	6.5	9.0
0	0	100.0	25	658	6.9	13.0
0	0	100.0	29	611	6.6	5.0
0	0	100.0	27	589	6.8	10.0
0	0	100.0	25	663	6.8	18.0
0	0	100.0	25	754	7.0	11.0
0	0	100.0	21	537	6.1	6.0
0	0	100.0	25	697	6.8	21.0
0	0	100.0	27	589	6.6	13.0
0	0	100.0	23	609	7.0	15.0
0	0	100.0	21	630	7.0	7.0
0	0	100.0	22	640	7.0	8.0
0	0	100.0	21	588	7.0	17.0
0	0	100.0	42	539	5.4	16.0
0	0	100.0	24	716	7.0	13.0
0	0	100.0	28	583	6.6	9.0
0	0	100.0	30	593	6.6	7.0
4.6	289	72.1	37	480	5.9	11.1

Fig. 3. Correlation between Aoki's degree and lung-body weight ratio of infected mice with Myc. tuberculosis showing different sensitivities to anti-TB drugs.

Fig. 4. Correlation between the lung-body weight ratio and Aoki's degree of dead or sacrificed mice after inoculation with Myc. tuberculosis resistant to INH or sensitive to all drugs.

Fig. 5. Correlation between Aoki's degree and death rate of infected mice with Myc. tuberculosis having different sensitivities to the anti TB drugs.

Mouse는 共히 높은 것으로 보아 相互密接한 關係가 있는 것이 그림 4에서 나타나고 있다.

藥劑感受性菌과 耐性菌의 Mouse 死亡率과 病變度의 相關關係를 보면 그림 5와 같이 INH 耐性菌의 毒力이 PAS 또는 SM 내성균이나 약제감수성균보다 약한 경향을 보여 주고 있으며 INH 耐性的 程度가 높을수록 死亡率은 낮은 것을 보여주고 있다. 그러나 肉眼的인 病變度는 死亡率과 큰 相關關係가 成立되지 않는 것은 再

三 研究해야 할 問題이며 이는 觀察者의 主觀이 많이 作用되는 結果라 볼 수 있다.

藥劑感受性菌과 藥劑耐性菌을 接種한 白鼠의 平均生存日數와 比肺重의 相關關係를 觀察해 보면 그림 6과 같다. 亦是 INH 高濃度耐性菌이 低濃度菌에 비해 Mouse의 生存日數가 길고, INH 耐性菌보다 感性菌이나 SM, PAS 耐性菌은 比肺重이 무겁다. INH 高濃度耐性菌과 感性菌(SM, PAS 耐性包含)은 Mouse 生

Fig. 6. Correlation between survival time and lung/body weight ratio of infected mice with *Myc. tuberculosis* having different sensitivities to the anti-TB drugs.

Fig. 7. Correlation between the death rate and survival time of infected mice with *Myc. tuberculosis* having different sensitivities to the anti TB drugs.

存日數와 比腫重에 있어서 약간의 相關關係가 成立된다. 藥劑感受性菌과 藥劑耐性菌을 接種한 白鼠의 平均生存日數와 死亡率의 相關關係는 그림 7과 같이 INH 耐性菌에 있어서의 耐性의 濃度間 그리고 感性菌과 INH 高濃度耐性菌間의 Mouse 生存日數와 死亡率의 相關關係는 若干 成立된다고 볼 수 있다.

藥劑感受性菌과 藥劑耐性菌을 接種한 白鼠의 死亡率과 菌의 Catalase 活性의 相關關係를 그림 8에 나타냈다.

Catalase 活性이 낮을수록 사망율이 낮음을 나타내고 있고 따라서 INH 耐性菌에 있어서 高濃度和 低濃度 그리고 耐性과 感性菌間에 Catalase 活性과 死亡率이 明白한 相關關係를 나타내고 있어서 INH 高濃度耐性 Catalase 活性이 陰性인 結核菌은 Mouse 에 對한 Virulence

Fig. 8. Correlation between death rate and catalase activity of *Myc. tuberculosis* having different sensitivities to the anti TB drugs.

가 弱한 事實을 認定하고 있다.

以上の 諸相關關係에 있어서 大體的인 傾向은 認定되나 菌株全體에 있어서 必然的인 것은 決코 아님을 再言해 둔다.

한편 結核菌의 Virulence 의 強弱과 分離原因 患者의 病變의 輕重의 相關關係는 本試驗에서도 認定키 困難했으며 Ramakrishnam¹²⁾ 등은 治療前結核菌의 Virulence 는 患者의 豫後에 影響을 미치지 않으며 病의 輕重과도 相關關係가 없다고 하여 一致된 所見을 나타내고 있다

結 論

1, mouse 의 8週間에 있어서의 死亡率은 藥劑 감수성 株에 있어서 平均 72.1%이었고, 그 격차는 0~100%로써 菌株間에 差가 매우 甚하며 100%死亡率을 보인 菌株는 36.1%이고 50% 이상 死亡率이 77.8%, 그리고 死亡率 0% 菌株는 8.3%였다.

藥劑 내성균의 사망율은 平均 53.0%로써 감수성균에 比하여 Virulence 가 낮은 것을 확인했고 내성균의 사망율 역시 0~100%의 격차로써 菌株別 Virulence 의 差가 甚했고 INH 高度耐性이고 Catalase activity 음성인 菌株도 높은 사망율을 나타내는 예가 있었다.

2, Mouse 의 56日 관찰의 平均 生存日數은 藥劑 감수성 菌에 있어서 37日이었고 藥劑 내성균에 있어서 40日이었다.

3, Mouse 剖檢所見으로 Aoki 氏의 肉眼的의 肺病變度로 보면 藥劑 감수성균은 5.9 내성균은 4.9이었다.

4, Mouse 의 比肺重은 藥劑 감수성 菌이 平均 480이었

고 약제 내성균은 399이었다.

5. 結核菌의 Virulence 는 分離患者의 肺病變의 輕重과 서로 상관없는 것으로 나타났다.

6. 大體로 Mouse 의 사망율이 높으면 높을수록 平均生存日數은 짧고, 比肺重과 肉眼의病變度는 크며 Catalase 活性이 높은 경향을 나타내 Virulence 와 서로 相關關係를 나타내고 있다.

7. INH 耐性菌中 一次耐性菌의 平均 Mouse 사망율은 72.9%이고 획득내성균은 41.5%로써 一次耐性菌의 Virulence 는 획득내성균보다 강한 것을 本實驗을 通해 새로 증명되어 앞으로 더욱 究明해 볼 問題라 생각한다.

References

1. Mitchison, D. A: *Bull int. Un. Tuberc.*, 1964, 35, 287.
2. 岩崎龍龍外: *Kekkaku*, Vol. 40, No. 9, 1965.
3. 李在珪外: 結핵 및 호흡기질환 제41호, Vol. 17,

結핵 및 호흡기질환 Vol. 20, No. 2, April. 1973

No. 4, 1970.

4. 青木正和: *Kekkaku*, 36, 355, 1961. *Kekkaku* 41, 67, 1966.
5. U.S. Dept. of Health, Education and Welfare, C.D.C. *procedure for the isolation and identification of mycobacteria*. 1969.
6. Middle-brook et al: *Am. Rev. Tuberc. Resp. Dis.*, Vol. 69, 471, 1954.
7. 佐藤直行: *Kekkaku* Vol. 42, No. 3, 1967.
8. Collins Frank M. et al: *Am. Rev. Resp. Dis. Vol. 100*, 631, 1969.
9. 村田彰: *Kekkaku* 42, 343, 1967. *ibid* 43, 61 1968, 43, 129, 1968.
10. 金成鎮: *Kekkaku* 46, 165. 1971.
11. 室橋豐穗: 日本細菌學雜誌 第20卷 5號 1965.
12. Ramakrishnam C.V. et al: *Bull. of W.H.O.* 1961. 25, 323-328.