市販 抗結核劑의 結核菌에 대한 抗菌力 實驗

大韓結核協會 結核研究院

李 圭 正 · 金 成 鎮

—Abstract—

Inhibitory Effect in Vitro of Commercial Products of Antituberculosis Agents on the Growth of Tubercle Bacilli

Kyu Jeong Lee and Sung Chin Kim M.D.

Korean Institute of Tuberculosis, Korean National Tuberculosis Association

Three antituberculosis agents commercially available, isoniazid, streptomycin, and p-aminosalicylic acid (PAS) were tested for antituberculosis activity.

Nine samples of isoniazid, six samples of streptomycin, and three samples of PAS were tested and compared for inhibitory effect of *Mycobacterium tuberculosis*.

Test results obtained are as follows.

1. Most isoniazid samples showed minimal inhibitory concentration ranging from 0.05 μ g to 0.2 μ g.
2. Streptomycin and PAS samples showed minimal inhibitory concentration ranging from 2.5 μ g to 10 μ g and from 0.4 μ g to 1 μ g respectively.

Antibacterial activity obtained from the test results when compared with the known standard drug sample showed that the drug samples tested yielded corresponding values as those quoted for the standard.

하여 다음과 같은 要領으로 比較實驗한 것이다.

緒 言

結核의 化學療法이 우리나라에서 本格化한것은 政府 事業으로 1955年 外援에 의하여 isoniazid(INH), streptomycin(SM) 및 p-aminosalicylic acid(PAS)을 수입하여 약 100個所의 公共施療機關을 통해 始作한 것이라 하겠다¹⁾. 같은해 국내 有數製藥業所에 依해 同藥劑를 生産供給하기 始作하였고 現今에 이르러서는 2次藥劑까지 生産이 可能하게 되어 結核退治에 迫車を 加하고 있는 實情이다.

本實驗의 目的은 國內에서 生産되어 市中에서 販賣中인 各製藥會社의 抗結核製劑中 1次結核藥劑를 收集하여 이들의 結核菌에 대한 試驗管内 抗菌力を 觀察하기 爲

材料 및 方法

1. 試料 藥劑

市中에서 販賣中인 抗結核劑中 政府처방의 標準藥劑인 INH, SM 및 PAS를 製藥會社別로 蒐集하여 이들을 double-blind 方法으로 一連番號를 賦與하여 實驗比較하였다.

即 INH인 境遇 I-1, I-2, I-3...으로, SM은 S-1, S-2, S-3...으로 그리고 PAS는 P-1, P-2, P-3...으로 하고 同時에 感受性檢査用 試藥(reagent grade)으로 INH 및 PAS(共히 The British Drug Houses LTD 製品)와 SM(日本 明治製藥 製品,

Table 1. Growth Inhibitory Effect of Various Commercial Products of Isoniazid on *Mycobacterium tuberculosis*

Medium	Drug Conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Isoniazid									
		I-1	I-2	I-3	I-4	I-5	I-6	I-7	I-8	I-9	I-10
Löwenstein-	5	H 37 R v	S 2949	S 484	R 37 R v	S 2949	H 37 R v	S 484	S 2949	H 37 R v	S 484
		S 2949	R 37 R v	S 2949	S 484	H 37 R v	S 2949	S 484	S 2949	H 37 R v	S 484
Jensen egg	1	-	-	-	-	-	ne	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	ne	-	-	-	-
medium	0.2	-	-	-	-	-	ne	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	ne	-	-	-	-
	0.1	-	-	-	-	01 33	ne	-	-	-	-
		22	-	-	-	01 33	ne	-	-	-	-
	0.075	22	+	-	-	+	ne	-	20	-	-
		22	+	-	-	+	ne	-	20	-	-
	0.05	+	+	+	+	+	ne	-	24	-	1 5
		+	+	+	+	+	ne	-	24	-	1 5
	0.04	+	+	+	+	+	ne	+	+	+	+
		+	+	+	+	+	ne	+	+	+	+
	0.025	+	+	+	+	+	ne	+	+	+	+
		+	+	+	+	+	ne	+	+	+	+
	0	+	+	+	+	+	ne	+	+	+	+
		+	+	+	+	+	ne	+	+	+	+

Inoculum Size: 10^{-3}mg

Incubation Time: 3-4 weeks at 37°C

Growth: #, confluent; +, innumerable, but distinct; +, less than 200 colonies; actual count, less than 50 colonies
ne, not examined

Table 2. Growth Inhibitory Effect of Various Commercial Products of Streptomycin on *Mycobacterium tuberculosis*

Medium	Drug Conc. ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	Streptomycin																				
		S-1			S-2			S-3			S-4			S-5			S-6			S-7		
		H37R _v	S 2949	S 484	H37R _v	S 2949	S 484	H37R _v	S 2949	S 484	H37R _v	S 2949	S 484	H37R _v	S 2949	S 484	H37R _v	S 2949	S 484	H37R _v	S 2949	S 484
Löwenstein-Jensen egg medium	40	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	20	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	5	—	—	+	—	—	+	—	—	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+
	2.5	—	+	+	—	+	+	—	+	+	—	+	+	—	+	+	—	+	+	—	+	+
		pp																				
	1.25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kirchner's semi-liquid medium with 10% horse serum	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	1.25	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0.62	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0.31	+	+	—	+	—	—	+	—	—	+	—	—	+	—	—	+	—	—	+	—	—
	0.15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0.07	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Inoculum Size: 10^{-3}mg

Incubation Time: 3-4 weeks at 37°C

Growth: +, confluent; ++, innumerable, but distinct; +, less than 200 colonies; actual count, less than 50 colonies

pp, pin point

力價 780mcg/mg)을 包含시켜 對照實驗을 行하였다.

2. 細菌學的 檢查

ㄱ. 培地 : 주로 Löwenstein-Jensen 卵培地(以下 L-J 培地)를 使用하였으며 SM은 10% 馬血清加 Kirchner 半液體培地를 併用하였다. 各藥劑를 秤量하여 培地內에 다음과 같은 濃度가 되도록 添加調製하였다.

Isoniazid: 5 1 0.2 0.1 0.075 0.05 0.04 0.025 $0\mu\text{g}/\text{ml}$

Streptomycin: 40 20 10 5 2.5 1.25 $0\mu\text{g}/\text{ml}$ (L-J); 2.5 1.25 0.62 0.31 0.15 0.07 $0\mu\text{g}/\text{ml}$ (Kirchner's)

PAS: 4 2 1 0.75 0.5 0.4 0.25 0.125 $0\mu\text{g}/\text{ml}$

ㄴ. 菌株 및 接種 : 保存中인 人型結核菌 標準株 H37R_v (#TMC 102)와 本研究院에서 分離한 S 2949株 및 S 484株等 3株를 사용했는데 接種菌液은 L-J 배지에 3週間 繼代培養 發育한 菌集落으로 菌液을 만들어 滅菌蒸溜水를 加하여 $1\text{mg}/\text{ml}$ 이 되게끔 濁度를 맞춘 다음 다시 100倍 稀釋한 것을 $0.1\text{ml}(10^{-2}\text{mg}/\text{ml})$ 을 接種하였다. (V. U.-H37R_v: 4.0×10^3 , S2949: 5.3×10^3 , S484: 4.1×10^3)

ㄷ. 判定 : 37°C 에서 2~5週間 培養하며 發育與否와 함께 各藥劑의 最小發育抑制濃度(Minimal Inhibitory Concentration: MIC)를 觀察하였다.

成績 및 考察

以上과 같은 實驗에서 나타난 成績은 使用菌株에 따

Table 3. Growth Inhibitory Effect of Various Commercial Products of PAS on *Mycobacterium tuberculosis*

Medium	Drug Conc. ($\mu\text{g/ml}$)	P A S											
		P-1			P-2			P-3			P-4		
		H37Rv	S 2949	S 484	H37Rv	S 2949	S 484	H37Rv	S 2949	S 484	H37Rv	S 2949	S 484
Löwenstein-Jensen egg medium	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	1	—	—	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0.75	—	—	27	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0.5	—	—	+	1	—	+	—	—	+	—	—	10
	0.4	2	—	+	1	—	+	15	—	+	—	—	+
	0.25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0.125	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Inoculum: 10^{-8} mg

Incubation Time: 3-4 weeks at 37°C

Growth: +, confluent; ++, innumerable, but distinct;

+, less than 200 colonies; actual count, less than 50 colonies

라 若干의 差異가 있으나 INH(表 1)의 最小發育抑制濃度の 範圍는 $0.04\sim 0.2\mu\text{g}$ 으로 I-1 ($0.1\mu\text{g}$) 및 I-5 ($0.2\mu\text{g}$) 등이 若干 떨어진 抗菌力을 보였고 SM(表 2)은 L-J 培地에서나 Kirchner 培地에서 明確한 菌發育抑制力을 보여주었는데 L-J에서는 $2.5\sim 5\mu\text{g}$, Kirchner에서는 $0.31\sim 0.62\mu\text{g}$ 에서 菌發育阻止域을 보여주었고 PAS(表 3)는 $0.4\sim 1\mu\text{g}$ 에서 菌發育抑制效果를 보여 주었다. 위의 實驗에서 INH, PAS 및 SM의 各社製劑는全體적으로 菌株에 따라 僅少한 差는 있으나 大體로 隔差있는 藥劑濃度域에서 抗菌效果를 보여주었는데 이는 通常 結核菌發育阻止力의 尺度인 最小發育抑制濃度(MIC)值를 基準으로 觀察해 보았을 때 現行 藥劑感受性 檢査時 臨床의 有意判定濃度(critical concentration)^{2,3)}에 잘 副應한다 하겠다.

이번 國內에서 生産供給되고 있는 抗結核藥劑中 INH, PAS 및 SM을 對象으로 比較實驗했던 것은 本 藥品들의 抗菌作用(力)이 어느 程度인가를 파악함에 있고 이는 結核化學療法의 成敗에도 直接的인 原因이 되는 것이기 때문에 本試驗의 意義가 크다고 보겠다.

結 論

1973年 7月부터 1974年 12月까지 市中販賣中인 1次抗

結核製劑 3種 18劑를 蒐集하여 double-blind 法에 依해 一連番號를 賦與하여 結核菌에 對한 抗菌力을 比較實驗하여 다음과 같은 結果를 얻었다

1. INH는 試料가 9劑로 菌抑制濃度域은 $0.05\mu\text{g}$ 에서 $0.2\mu\text{g}$ 까지였다.
2. PAS는 試料가 3劑로 菌抑制濃度域은 $0.4\mu\text{g}$ 에서 $1\mu\text{g}$ 까지였다.
3. SM은 試料가 6劑로 菌抑制濃度域은 $2.5\mu\text{g}$ 에서 $10\mu\text{g}$ 까지였다.

以上的 實驗成績에서 관찰해볼때 大體적으로 通常抗核核劑의 最小發育抑制濃度(MIC)는 對照藥劑와 一致하는 抗菌作用을 보여주었다.

參 考 文 獻

- 1) 宋達鎬: 政府指針에 依한 保健所 結核化學療法, 結核 및 호흡기질환 18(3):17, 1971.
- 2) 大韓結核學會・大韓結核協會: 結核 p. 65, 1974.
- 3) 日本財團法人結核豫防會: 結核菌의 臨床細菌學 p. 170, 1970.
- 4) 日本財團法人結核豫防會: 結核菌의 臨床細菌學 追補. p. 3 및 p. 4, 1973.