

항균제감수성시험 결과에 미치는 요인의 실험적 고찰

김 종 만

국립수의과학검역원 질병연구부 세균과

□ 서 언

동물질병 치료를 위하여 사용하고 있는 항균제에 대한 내성문제는 어제, 오늘의 일이 아닐 정도로 늘 거론되어온 문제이나 최근들어 이에대한 심각성이 고조되고 있는 실정이다. 많은 내성증가의 원인중에서 근본적인 원인은 항균제의 오남용에 의한 것이며, 양축장별로 유용한 약제선발없이 주위의 권유나 관례에 따라 마구잡이식으로 치료제를 사용하는 것 또한 이러한 문제유발의 한 요인일 것이다. 동물의 질병을 치료하기 위하여 사용하고 있는 항균제는 제조방법 (항생제와 합성항균제), 계열 (페니실린계, 아미노글리코사이드계, 마크로라이드계, 퀴놀론계 등), 작용기전 (단백질합성억제, 세포벽합성억제 등), 항균범위(그람양성균, 그람음성균, 광범위), 살균성 및 정균성 등에 따라 다양하게 분류되며 이에 속하는 단일 및 복합항균제가 수백종에 이른다. 이렇게 다양한 항균제중에서 어떻게 효과높은 약제를 골라쓸수 있을까? 여러 가지 방법중에서 가장 광범위하고 손쉽게 사용하고 있는 것이 디스크 확산법에 의한 항균제감수성시험일 것이다. 그러나 손쉽고 간단하지만 시험수행 방법에 따라 결과는 다양하게 나타나기 때문에 표준법에 따라 정확한 시험을 실시할 것이 요구된다. 본 시험에서는 그람양성균으로는 포도상구균, 그람음성균으로는 대장균을 공시하여 항균제감수성시험 결과에 가장 많은 변수로 작용하는 것

으로 알려져 있는 균농도, 고체배지의 두께, 균배양시간 등에 대한 요인별 시험을 실시하고 균발육억제환(이하 억제환)에 미치는 영향을 실험적으로 증명하여 항균제감수성시험 수행시에 참고자료로 제시코자 하였다.

□ 시험방법

① **공시균주** ; 그람음성균은 수의과학검역원에서 보관중인 병원성대장균(B-41, O101:K99:F41)과 그람양성균은 항생제 국가검정에 사용하는 포도상구균(*Staphylococcus aureus* ATCC 6538-p.)을 감수성시험에 공시하였다.

② **배지종류** ; 물리힌톤아가(Muller Hinton agar, BBL), 뉴트리엔트아가(Nutrient agar, BBL), 면양혈액배지(Blood agar, 코리아메디아)를 공시하였고 별도의 처리가 없는 경우에는 평판의 고체배지 두께는 FAO 방법에 따라 4mm로 하였다.

③ **항균제 디스크** ; 감수성시험에 공시한 항균제디스크는 유효기간이 초과하지 않은

Amikacin(AN,30mcg), Ampicillin(AM,10mcg), Cefamandole(MA,30mcg), Cefotaxim(CTX,30mcg), Cefazolin(CZ,30mcg), Cefoperazone(CFP,75mcg), Cefuroxim(CXM,30mcg), Cefalothin(CF,30mcg), Cefoperazone/sulbactam(75/30mcg), Chloramphenicol (C,30mcg), Ciprofloxacin(CIP,5mcg), Clindamycin(CC, 2mcg), norfloxacin(ENR,5mcg), Erythromycin(E,15mcg), Gentamicin(GM, 10mcg),

Kanamycin(KM,30mcg), Lincomycin(L,2mcg), Neomycin(NM, 30mcg), Nitrofurantoin(F/M,300mcg), Penicillin(P,2Iu), Sulamethoxazole/Trimethoprim (SXT,23.75/1.25mcg), Tetracycline(Te,30mcg), Ticarcillin(TIC, 75mcg) 등 23종류를 공시하였고, 엔로푸록사신(바이엘)을 제외하고는 BBL사 제품을 사용하였고 판정도 BBL사에서 제시한 기준에 따랐다.

④ **평판상의 고체배지 두께에 따른 영향조사** ; 물리톤톤아가는 멸균소독후 1회용 프라스틱 샬레(직경 8.5cm, 녹십자의료공업)에 배지의 두께가 2mm(배지양:13ml), 3mm(배지양:18ml), 4mm(배지양:23ml), 5mm(배지양:28ml), 6mm(배지양:32ml)로 두께를 달리하여 준비하였고, 배지종류에 따른 변화를 조사하기 위하여 공시한 뉴트리엔트아가와 물리톤톤아가는 구입한 혈액 배지의 두께와 같이 5mm로 하여 시험하였다.

⑤ **접종균 농도에 따른 영향조사** ; 트립틱소이 부로스에서 배양한 균의 농도를 MacFarland scale No.0.5, 2, 4, 6, 8, 10으로 달리하여 비교 시험하였다.

⑥ **균발육기에 따른 영향조사** ; 균의 발육기에 따른 억제환에 미치는 영향을 조사하기 위하여 균을 트립틱소이 브로스에 배양하면서 8, 24, 48, 72시간별로 감수성시험을 실시하였다.

⑦ **배양조건에 따른 영향조사** ; 균의 배양조건에 따른 영향을 조사하기 위하여 균 도말후에 항균제 디스크를 떨어뜨리고 적용온도를 22℃와 37℃로, Incubation 환경을 5% CO₂와 일반호기 상태로 그리고 Incubation시간을 24시간과 48시간으로하여 시험을 실시하고 억제환크기를 비교 조사하였다.

⑧ **디스크적용방법에 따른 영향조사** ; 적용하는 디스크간의 간격에 따른 영향은 디스크 간격

을 1cm, 2cm로 하였고, 디스크를 배지에 떨어뜨렸다가 다른곳으로 이동함에 따른 영향은 디스크를 1, 2, 3회 배지에 떨어뜨리고 다시 옮겨 감수성시험을 실시하여 조사하였다.

❖ 시험결과 및 고찰

① **평판의 고체배지 두께에 따른 억제환의 차이** ; 배지의 두께가 두꺼우면 디스크에 있는 항균제 성분이 배지속으로 확산하는 범위가 좁아져서 억제환이 작아지고, 반대로 얇으면 확산이 많이 되어 억제환이 비정상적으로 커지기 때문에 결과에 혼선을 준다고 하였다. 따라서 WHO나 FDA 표준법에서는 평판내 배지두께를 4mm로 규정하고 반드시 피펫을 이용하여 정확한 배지양을 넣어 두께를 일정하게 하여 시험할 것을 권장하고 있다. 만약 직경이 9cm인 샬레를 쓴다면 25ml의 배지를 가하였을 때 이 두께가 되며, 우리의 시험에서와 같이 직경이 8.5cm 샬레인 경우는 23ml의 배지를 가하였을 때 이 두께가 된다. 배지의 두께를 달리하여 억제환의 차이를 조사한 결과는 표1과 같다. Amikacin 등 20종 항균제의 배지두께별 억제환 평균크기는 배지의 2mm, 3mm, 4mm, 5mm, 6mm, 두께별로 대장균이 22.3, 21.7, 21.4, 20.8, 19.8mm와 포도상구균이 29.2, 29.2, 28.5, 26.9, 26.3mm로 배지의 두께가 두꺼워 질수록 동일조건하에서 억제환의 크기가 전반적으로 감소하는 것으로 나타났다. 배지의 두께가 제일 얇은 2mm와 제일 두꺼운 6mm에서 대장균과 포도상구균의 억제환 크기의 차이가 각 2.49mm와 2.9mm로 큰 차이를 보였으며 국제표준 배지두께인 4mm에서의 억제환과도 큰 차이가 있었다. 간혹 항균제감수성용 배지를 샬레에 분주할 때 피펫을 사용하지 않고 후라스크에서 직접 적당량을 붓는 것을 볼수 있는데 앞의 성적에서와 같이 결과에 많은 영향을 미치므로 일정량의 배지 특히 두께가 표

준인 4mm가 되도록 정확하게 하여 시험을 실시하여야 할 것이다.

② 균농도에 따른 억제환의 차이 ; 감수성시험에서 결과에 가장 큰 영향을 주는 것이 접종하는 균의 농도라고 하였다. 억제환이 형성되는 것은 항균제 디스크에서 배지속으로 확산하는 항균제의 농도와 일정한 수로 발육하는 균과의 상호 역학관계에서 이루어진다. 따라서 접종균 양이 적으면 균 발육율이 낮아 약제가 넓게 확산하므로써 억제환이 커지고 지나치게 많으면 약제확산이 줄어들어 억제환이 작아진다. 또한 균농도가 높으면 그속에 항균제성분을 불활화시키는 효소가 많아져서 억제환을 감소시킨다. 일반적으로 권장하는 균농도는 McFarland standard 0.5 (3×10^8 cfu/ml)로서 standard 1을 1.175%의 $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.5ml와 1% H_2SO_4 99.5ml를 섞어 만들어서 두배로 희석하여 표준탁도로 이용한다. Gentamicin 등 22종의 항균제를 공시하여 접종균농도가 억제환크기에 미치는 영향을 조사한 결과는 표2와 같다. 균농도를 McFarland scale 0.5, 2, 4, 6, 8, 10으로 달리하여 시험한 평균 억제환은 대장균이 20.9, 20.4, 19.8, 19.6, 19.5, 18.8mm와 포도상구균이 29.7, 29.7, 30.0, 27.7, 27.1, 25.9mm로 균농도가 높을수록 억제환의 크기가 점차 감소하였으며, 균종간의 감소차는 없었으나 Cephalothin과 Penicillin에서와 같이 균농도 0.5와 10간의 억제환차이가 8-10mm로 크게 나타나는 것과 Amikacin에서처럼 1-2mm 정도의 작은 차이를 나타내는 등 항균제간의 차이는 볼 수 있었다. 종종 실험실에서 감수성시험을 위하여 증균용 액체 배지에 하루밤 배양한 것을 농도 조절없이 그대로 사용하는 것을 보게 되는데 이 조건에서 보통 균수가 1×10^9 cfu/ml가 되므로 표준균농도 3×10^8 cfu/ml의 약 10배를 사용하는 것이 되므로 반드시 농도조절을 하여 시험을 수행하여야 할 것이다. 그러나 4-5ml의 Tryptic soy broth나 Brain heart infusion broth에서 12-16시간 배양하면 일반적으로

약 10^9 cfu/ml의 균이 자라므로 이것을 10배로 희석하여 사용하여도 큰 무리는 없다.

③ 균 발육기에 따른 감수성의 차이 ; 항균제의 작용기전을 보면 균이 2분열증식하기 위하여 단백질, 세포질막, 세포벽 핵산을 합성할 때 이것을 억제하므로써 살균 또는 정균작용을 하는 것이 많다. 따라서 항균제에 가장 감수성이 높은 시기는 균이 왕성하게 분열증식하는 때이며 휴지기의 균들은 이보다는 감수성이 떨어지는 것으로 알려져 있다. 또한 균 배양 시간이 길어지면 pH가 낮아지고 균이 산생한 각종 산물에 의하여 항균제가 작용을 받아 감수성 결과에 영향을 주게 된다. 대장균과 포도상구균을 증균용 Tryptic soy broth에서 8, 24, 48, 72시간 배양하고 Lincomycin 등 16종의 항균제에 대한 감수성시험을 실시하여 얻어진 결과는 표3과 같다.

8, 24, 48, 72시간 배양균으로 탁도를 동일하게 조절하여 시험한 평균 억제환은 대장균이 23.6, 23.1, 23.3, 23.4mm였고 포도상구균이 26.7, 27.6, 27.7, 26.6mm로서 선인들이 보고한 것과는 달리 배양기간이 길어도 평균적인 감수성에는 큰 영향을 주지 않았으나 항균제별로는 포도상구균으로 시험한 Penicillin의 경우 8시간배양균의 억제환이 31mm에서 72시간 배양균이 28mm로 감소하였고, cefuroxim의 경우 대장균과 포도상구균에서 2-6mm의 억제환감소를 나타내는 등 항균제별로는 차이가 있었다. 따라서 감수성용균은 가급적 신선하게 배양한 균을 사용하는 것이 항균제에 따른 오차를 줄일 수 있을 것이다.

④ 배양조건에 따른 감수성의 차이 ; 배양조건 중에서 온도는 감수성 결과에 많은 영향을 준다. 온도가 낮으면 균발육을 억제하고 항균제의 배지속으로 확산율도 감소시킨다 그중에서도 균발육에 더 영향을 주어 온도가 낮으면 정상온도(35-37°C)에서 보다 억제환이 커지게 된다. 온도가 높으면 최소발육억제농도가 감소하여 억

제한이 작아지게 된다. Incubation 온도에 따른 억제환의 차이를 조사하기 위하여 대장균과 Erythromycin 등 12종의 항균제를 공시하고 Incubation 온도를 37℃와 22℃로 하여 18시간 배양하고 감수성시험을 실시한 결과는 표4의 배양온도에 따른 억제환의 차이와 같다.

22℃에서 Incubation한 샐레의 평균 억제환 직경이 19.3mm로 37℃에서 Incubation한 샐레의 평균 억제환 직경 18.6mm보다 다소 컸다.

이는 선인들의 보고와 같이 저온에 의한 균 발육 감소에 따른 영향인 것으로 사료된다. 부란기온도가 정상이라도 샐레를 여러장 쌓아 놓으면 중간에 있는 샐레의 온도는 한동안 낮은 온도를 유지하게 된다. 일반적으로 샐레를 5장 쌓아 놓으면 가운데 샐레가 37℃로 되는데 4시간이 소요되는 것으로 알려져 있다. 샐레 중첩이 억제환에 미치는 영향을 시험하기 위하여 Cephalothin 등 8종의 항균제를 공시하여 감수성시험 샐레를 16매 쌓고서 37℃, 하루밤 Incubation 한 후에 억제환을 측정할 결과는 표5와 같다. 가운데에 위치한 7,8,9,10번 샐레의 대장균과 포도상구균의 억제환 직경이 각 19.4mm와 28.8mm였고, 온도의 영향을 빨리 받는 바깥쪽의 1,2,15,16번 샐레의 평균억제환 직경은 19.5mm 와 27.9mm로서 포도상구균의 경우는 약 0.9mm가 증가하였다. 이같은 포도상구균에서의 차이는 선인들의 보고나 앞에서의 시험결과에서와 같이 가운데에 위치한 샐레의 온도상승이 늦어져서 억제환이 커진 것으로 여겨진다.

온도 이외에 Incubation 시간도 영향을 주게 되는데 억제환은 보통 Incubation 5-6시간부터 나타나며 일반적인 Incubation시간은 16-18시간이고, 배양시간이 길어 질수록 억제환은 감소하는 경향을 나타낸다고 하였다. 이에대한 영향을 시험하기 위하여 포도상구균과 Kanamycin 등 12종의 항균제를 공시하여 시험한 결과는 표4의 평판 Incubation 시간에 따른 억제환의 차이와 같다. 다른 시험에

서와 같이 항균제에 따라 차이가 있었으나 48시간 Incubation한 샐레의 평균억제환 직경이 27.9mm로서 24시간 Incubation한 샐레의 평균직경 28.4mm보다 작게 나타나 Incubation 시간이 길수록 억제환이 감소한다는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 균 발육율이 낮아 24시간 Incubation 후에도 억제환을 판별할 수 없는 경우에는 48시간까지도 배양하는 것이 권장되고 있다. 부루셀라균 등과 같이 배양시에 5% CO₂를 요구하는 균들은 감수성시험도 CO₂ 부란기에서 실시하여야 하는데 CO₂ 가스는 배지의 pH를 증가시키는 작용을 하며 이로인하여 감수성결과에 영향을 주게 된다고 하며 Tetracycline의 경우 억제환의 크기가 정상보다 감소하고, 반대로Streptomycin의 경우에는 억제환의 크기가 증가하는 것으로 알려지고 있다. 또한 배지는 항균제 감수성시험에서 매우 중요한 요소로서 배지의 성분이나 조성에 따라 균 발육과 항균제의 배지속으로 확산율에 커다란 영향을 준다. 많은 감수성용 배지가 판매되고 있으나 세계적으로 인정하는 가장 적합한 감수성용 배지는 Muller Hinton agar로 알려져 있다. 어떤 균들은 일반배지에서는 잘자라지 못하고 혈액배지에서 자라는데 감수성시험에서 혈액배지를 사용하게 되면 혈액중의 단백질성과 항생제가 결합하게 되어서 항균제의 확산이 저지되어 억제환이 비정상적으로 작아지게 된다고 한다. 이러한 영향들을 조사하기 위하여 평판용배지로 Muller Hinton agar, Blood agar, Nutrient agar 3종류의 배지를 공시하여 일반 호기성부란기와 5% CO₂ 부란기에서 37℃, 24시간 배양후에 억제환을 조사한 결과는 표6과같다. 배지별 억제환에서 Muller Hinton agar의 평균억제환이 24.0mm으로서 Muller Hinton agar의 23.2mm와 Blood agar의 23.5mm보다 약간 컸으며, 호기배양과 5% CO₂ 배양간의 차이에서 Muller Hinton agar, Nutrient agar, Blood agar에 대해 각 23.8과 24.3mm, 22.8과 23.8mm 그리

고 22.5와 23.5mm로서 일반호기배양보다 5% CO₂배양시 억제환이 보다 크게 나타나고 있어 특수균에 대한 감수성시험을 위하여 CO₂ 부란기를 이용시에는 균종과 항균제에 따라 억제환판정에 유의하여야 할 것으로 사료된다.

㉟ 디스크 적용방법에 따른 억제환의 차이 ; 항균제감수성시험에서 배지위에 적용하는 디스크는 항균제가 배지속으로 원활하게 확산할 수 있도록 샤프레 가장자리에서 최소 1.5cm는 떼어 놓아야 하고 디스크와 디스크간의 간격도 보통 1.5-2cm로 되어 있다. 이보다 간격이 좁을 때는 두 항균제 성분이 교차하게 되어 확산이 정상적으로 될 수 없으며, 때로는 두 항균제간에 서로 상승 또는 길항작용을 유발하여 감수성결과에 영향을 줄 수도 있다. 디스크간격에 따른 억제환의 크기에 미치는 영향을 조사하기 위하여 두 항생제디스크 간격을 1cm와 2cm로하여 감수성을 시험한 결과는 표7 과 같다. AM과 CL, NM과 CL은 1cm 나 2cm간격의 억제환 크기가 0.5mm 정도로 큰 영향을 나타내지 않았으나, AN 과 CL은 2cm 간격보다 1cm로 디스크 간격을 좁혔을 때 각 1mm 정도의 억제환 크기가 증가한 것으로 볼 때 두 항생제 간의 상승작용에 의한 영향으로 추정된다. 특히 CL은 억제환 직경이 작게 나오기 때문에 1mm 차이로 감수성과 내성의 판정이 달라질 수도 있기 때문에 주의를 요한다. 항균제디스크를 균을 도말한 배지위에 올려 놓을 때 종종 잘못 떨어지는 경우가 있어 핀셋으로 집어 옮겨 놓는 것을 보게 된다. 그러나 디스크가 배지와 접촉하는 순간부터 디스크에 있는 항균제가 신속하게 배지속으로 확산하기 때문에 옮겨지는 디스크의 역가 손실이 일어나게 된다. 이같이 배지와 접촉한 디스크를 옮겨졌을때의 억제환 크기변화를 Gentamicin 디스크를 공시하여 시험한 결과는 표 8 과 같다. 옮겨지 않은것(0)과 1회, 2회, 3회 옮겨

진것과의 억제환 크기에는 큰 변화가 없이 나타나 디스크가 배지와 순간적인 접촉에 의해서는 항균제가 배지속으로 확산되어 역가가 급격히 손실되지는 않는 것으로 나타났지만 배지에 일부 확산된 억제성분이 다른 디스크의 억제성분과 작용하여 억제환 크기에 영향을 줄 수도 있기 때문에 주의를 하여야 할 것으로 생각된다.

㉠ 결 론

약은 잘쓰면 약이요 못쓰면 독이라는 말이 있다. 이러한 약을 고르는 방법 즉 항균제감수성시험도 잘하면 유용한 방법이지만 잘못하면 엉뚱한 약을 선발하게 되어 치료가 되지않아 막대한 경제적 손실을 초래함은 물론 내성균을 양산하게 되므로서 오히려 감수성시험을 하지 않은 것 보다 못한 경우도 있을 것이다. 항균제감수성시험에서 앞에서 언급한 것 이외에 실험실간에 차이가 나는 것 중에서 사용하는 디스크의 역가가 큰 요인으로 지목되고 있다. 한 연구보고에 의하면 조사한 디스크 역가가 표시양의 67-150%로 매우 다양하다고 하였다. 보존기간이 경과할수록 역가가 감소하게 되며 보존방법이 나쁜 경우에는 유효기간 내에서도 사용할 수 없을 정도로 역가가 떨어지게 된다. 역가가 50% 감소하면 억제환 직경이 2-3mm감소하는 것으로 알려져 있다. 감수성시험방법 이외에 중요한 것이 정확한 병의 원인균을 분리, 동정하여 시험하는 일이다. 예를 들어 분변에서 대장균을 분리하면 100%로 나오게 되는데 이것이 병원성대장균인지 장관내 정상세균총인 비병원성대장균인지 구별하는 일이 쉬운일이 아니다. 만약 잘못하여 정상세균총에 대한 약제가 선발된다면 병이 치료되기는 커녕 유익세균을 억제하여 질병을 악화 시키게 될 것이다. 따라서 실험실에서 항균제감수성시험을 실시할 때에는 표준법에 따라 정확한 시험을 실시하여 효과높은 치료제를 선발하여 사용하여야 할 것이다.

표1. 평판배지(Muller Hinton agar) 두께에 따른 억제환의 차이

항균제 디스크	평판배지 두께별 억제환(mm)									
	2mm		3mm		4mm		5mm		6mm	
	E	S	E	S	E	S	E	S	E	S
AN	23	24	23	24	23	23	21	21	20	21
L	-	22	-	23	-	22	-	21	-	20
GM	24	25	24	23	23	22	22	23	22	23
P	-	35	-	35	-	34	-	32	-	31
Te	24	30	24	29	23	29	22	30	21	29
CC	-	29	-	28	-	29	-	26	-	25
TIC	17	39	16	40	15	40	15	39	13	38
E	12	29	12	29	12	30	11	28	10	27
CTX	14	30	13	30	13	26	11	25	9	23
F/M	24	24	23	23	24	22	24	19	24	19
ENR	29	31	28	32	29	32	29	29	28	29
CZ	-	36	-	36	-	36	-	34	-	35
CFP	15	35	15	35	14	35	13	32	12	32
SXT	27	30	25	30	24	29	24	27	23	27
K	26	23	25	24	24	24	24	21	23	22
MA	-	34	-	35	-	35	-	33	-	32
NM	21	22	20	22	20	22	20	20	19	20
CIP	28	31	28	30	28	30	28	29	26	29
CXM	-	29	-	29	-	24	-	24	-	20
C	29	27	28	28	28	26	27	25	28	25
평균	22.3	29.2	21.7	29.2	21.4	28.5	20.8	26.9	19.8	26.3

*E; E. coli, S; Staphylococcus aureus

표2. 균 농도에 따른 억제환의 차이

항균제 디스크	평판배지 두께별 억제환(mm)												감수성 기준	
	0.5		2		4		6		8		10			
	E	S	E	S	E	S	E	S	E	S	E	S	E	S
AN	21	22	22	21	22	21	22	19	21	20	21	20	>20	>17
L	-	25	-	23	-	22	-	22	-	21	-	21	-	-
CF	-	40	-	39	-	36	-	34	-	32	-	30	>18	>18
GM	22	25	22	24	21	22	21	22	22	20	22	21	>15	>15
P	-	35	-	34	-	34	-	32	-	31	-	27	>15	>15
Te	22	32	22	30	21	28	21	28	21	28	21	27	>19	>19
AM	-	39	-	38	-	39	-	40	-	39	-	36	>17	>29
CC	-	30	-	30	-	30	-	29	-	28	-	26	>21	>21
TIC	15	40	15	40	15	40	14	38	13	38	13	37	>20	-
E	-	30	-	29	-	27	-	26	-	26	-	24	>23	>23
CTX	11	-	10	-	10	-	9	-	9	-	9	-	>23	>23
F/M	23	22	23	23	21	22	20	20	20	19	20	18	>17	>17
ENR	28	32	28	32	27	30	28	29	28	28	28	27	>22	>22
CZ	-	36	-	36	-	35	-	35	-	34	-	34	>18	>18
CFP	13	34	13	34	12	33	12	33	12	32	12	30	>21	>21
SXT	22	29	22	29	22	27	21	27	21	27	21	25	>16	>16
K	24	24	23	24	23	23	23	23	23	21	23	20	>18	>18
N	24	22	19	22	18	20	18	19	18	19	18	19	>17	>17
CIP	27	30	27	30	26	28	26	26	25	26	25	25	>21	>21
CXM	-	28	-	29	-	26	-	25	-	25	-	24	>18	>18
C	13	26	13	26	12	25	13	24	13	24	13	22	>18	>18
75/30	28	32	27	32	27	32	27	32	27	31	27	31	-	-
평균	20.9	29.7	20.4	29.7	19.8	30.0	19.6	27.7	19.5	27.1	18.8	25.9		

*E; E. coli, S; Staphylococcus aureus

표3. 증균용배지(Tryptic soy broth)에서 균 배양시간에 따른 억제환의 차이

항균제 디스크	균 배양시간별 억제환(mm)							
	8시간 배양		24시간 배양		48시간 배양		72시간 배양	
	E	S	E	S	E	S	E	S
AN	18	22	18	24	18	23	19	23
L	-	22	-	23	-	22	-	20
GM	22	23	22	24	21	25	22	24
P	-	31	-	32	-	32	-	28
Te	23	29	22	30	23	34	23	33
AM	-	28	-	28	-	28	-	27
CTX	26	-	26	-	25	-	23	-
F/M	20	20	21	22	21	22	21	21
ENR	34	30	33	30	34	31	35	29
CZ	19	33	19	36	20	35	19	34
CFP	28	32	26	33	28	34	28	32
NM	17	19	18	22	18	22	18	20
CIP	32	28	32	29	32	30	32	28
CXM	15	27	13	23	13	21	13	21
C	25	26	24	26	24	25	-	-
75/30	28	30	26	32	26	32	28	32
평균	23.6	26.6	23.1	27.6	23.3	27.7	23.4	26.5

*E; E. coli, S; Staphylococcus aureus

표4. 디스크 적용후 평판배지 Incubation 시간과 배양온도에 따른 억제환의 차이

항균제 디스크	평판배지 Incubation 시간		배양 온도	
	24시간	48시간	37℃	22℃
	E	S	E	S
AN	21	21	21	20
GM	24	21	21	20
Te	32	30	-	-
TIC	41	42	15	14
E	28	27	11	12
CTX	28	28	16	16
ENR	32	32	28	31
CFP	34	34	13	15
SXT	27	28	-	-
K	22	22	20	22
NM	22	21	19	18
CIP	30	29	22	25
평균	28.4	27.9	18.6	19.3

*E; E. coli, S; Staphylococcus aureus

표5. 배지중첩이 억제환의 크기에 미치는 영향

항균제 디스크	배지중첩과 억제환 크기(mm)							
	1-2/15-16번샤레		3-4/13-14번샤레		5-6/11-12번샤레		7-8/9-10번샤레	
	E	S	E	S	E	S	E	S
CF	-	36	-	37	-	38	-	39
GM	21	24	22	25	22	23	23	26
AN	22	23	23	24	22	24	21	23
C	10	26	11	26	9	26	9	26
Te	22	32	22	33	22	33	22	33
K	22	24	22	23	22	24	22	24
N	19	23	19	23	19	23	19	23
CZ	-	35	-	35	-	36	-	36
평균	19.5	27.9	19.8	28.3	19.3	28.4	19.3	28.7

*E; E. coli, S; Staphylococcus aureus

**1번샤레는 맨아래쪽, 16번 샤레는 맨 위쪽에 위치하도록하여 번호대로 샤레를 쌓아서 Incubation 시킴.

표6. 평판배지 종류 및 디스크 적용후 배양조건에 따른 억제환의 차이

항균제 디스크	배지 및 배양조건에 따른 억제환(mm)											
	플러헌톤 아가				뉴트리엔트 아가				브리드 아가			
	호기성배양		CO ₂ 배양		호기성배양		CO ₂ 배양		호기성배양		CO ₂ 배양	
	E	S	E	S	E	S	E	S	E	S	E	S
AN	21	22	18	-	18	20	15	16	20	21	22	18
CXM	-	26	-	28	-	-	30	34	-	23	-	30
GM	21	22	13	-	13	16	11	13	20	20	-	15
Te	20	30	25	-	21	34	28	38	13	26	-	32
CC	-	24	-	14	-	30	-	-	-	28	-	30
TIC	13	39	11	40	13	-	18	24	13	43	15	44
E	14	28	13	28	16	26	12	-	10	26	-	28
CTX	14	22	8	28	-	24	8	-	9	26	12	26
ENR	26	31	30	33	24	30	29	30	25	27	30	30
CZ	-	36	-	38	-	36	-	40	-	38	-	36
CFP	11	33	10	36	9	32	11	36	13	35	11	34
SXT	21	27	22	30	16	25	15	22	15	20	15	20
K	22	23	21	24	18	20	17	18	21	20	20	19
MA	-	36	-	39	-	-	39	42	-	36	-	38
NM	19	21	15	20	14	15	10	13	15	18	15	20
CIP	25	29	24	30	24	33	23	32	25	30	22	30
C	12	26	-	29	9	27	-	26	12	25	-	25
75/30	24	30	28	34	26	34	28	36	25	30	27	38
평균	18.8	28.8	18.3	30.3	17.0	28.3	19.6	28.1	16.8	28.1	18.9	30.2

*E; E. coli, S; Staphylococcus aureus

표7. 디스크 간격에 따른 억제환 크기의 비교

항생제	디스크 간격에 따른 억제환 크기		균억제환 직경의 차이
	1 cm 간격	2 cm 간격	
Ampicillin	19.5mm	20.0mm	0.5mm
Colistin	13.0	13.0	0
Neomycin	19.0	19.0	0
Colistin	12.5	13.0	0.5
Amikacin	13.0	12.0	1.0
Colistin	24.0	23.0	1.0

표8. 디스크의 배치면 접촉후 이동한 회수에 따른 억제환 크기

디스크 이동회수	억 제 환 크 기	
	대 장 균	살 모 넬 라 균
0	24mm	24mm
1 회	25mm	24mm
2 회	25mm	24mm
3 회	25mm	24mm

참고문헌

1. Victor Lorian. Antibiotics in Laboratory Medicine. Williams & Wilkins, 1991, Third Edition.
2. William B. Pratt and Robert Fekety. The Antimicrobial Drugs. Oxford University Press, 1986.
3. Joseph S. Spinelli and L. Reed Enos. Drugs in Veterinary Practice. The C.V. Mosby Company 1978.
4. Paul Actor, Lolita Dan대-Moore, Michael L. Higgins, Milton R. J. Salton and Gerald D. Shockman. Antibiotic Inhibition of Bacterial Cell Surface Assembly and Function. America Society for Microbiology, 1988.
5. Peterson P. K. and Verhoef J. The Antimicrobial Agents Annual 1. Elsevier Amsterdam-New York-Oxford, 1986.
6. Jimmy L. Howard. Current Veterinary Therapy ; Food Animal Practice 2. W.B. Saunders Company, 1986.