

鷄由來 *Escherichia coli* 의 抗生物質耐性 및 R 因子의 分布

卓 鍊 斌

慶北大學校 農科大學 獸醫學科

緒 論

各種 抗生物質이 널리 使用됨에 따라 抗生物質에 對한 耐性菌이 顯著히 增加하고 있음은 周知의 事實이다^{4,7,8)}. 特히 우리나라에서는 抗生物質이 自由販賣되고 있고 養畜人들이 이를 濫用하고 있는 傾向이어서 耐性菌의 出現이 높을 것으로 생각된다. 1930年 秋葉 등¹⁶⁾이 痢疾菌에서 接合에 의하여 耐性이 傳達됨을 처음 報告하였고 그 후 많은 研究者들에^{1-3,9,10,13)} 의하여 R 因子는 大腸菌 등 gram 陰性腸內細菌에 널리 分布해 있음이 알려져 있다. 抗生劑投與 또는 接合에 의하여 耐性を 획득한 大腸菌이 常在하면 다음에 侵入한 感受性的 病原性菌에 耐性を 傳達할 것이므로 治療가 어려울뿐 아니라 이러한 耐性菌의 人體侵入의 우려를 생각할때 公衆衛生上 重要한 問題라 할 수 있다. 이와 같은 觀點에서 外國에서는 家畜由來大腸菌의 傳達性耐性因子에 關한 研究報告를 많이 볼 수 있다^{4,9,10,13)}. 우리나라에 있어서도 河¹⁴⁾는 犬由來 *Salmonella* 에서, 著者¹²⁾가 患者由來 *Salmonella typhi* 에, 그리고 著者 등¹⁵⁾은 豚由來 大腸菌에서 R 因子의 分布를 報告한바 있다.

著者は 닭에서 分離한 大腸菌의 各種抗生物質에 對한 感受性, 抗生物質의 投與와 耐性菌出現頻度와의 相關關係 및 耐性菌의 耐性樣相을 알기 위하여 實驗하였던바 그 結果를 報告하는 바이다.

材料 및 方法

對象家畜 : 비오옥시(염산 oxytetracycline 27.5 g 및 황산 neomycin 27.5 g/500g, 大韓新藥), 설파디(sulfadimethoxine 50 g/500 g, 科學飼料) 및 테라마이신 산란강화제(염산 oxytetracycline 55 g/1000 g, 한국화이자) 등을 製藥社의 指示에 따라 3個月 이상 급여하고 있는 種鷄 15月齡 12首(抗生劑群)와 抗生物質을 전혀 급여하지 않은 採卵鷄 13月齡 13首(非抗生劑群)를 對象으로 하였다.

供試菌 : 直腸綿棒法을 써서 얻은 糞을 MacConkey 寒天平板培地에 塗抹培養하여 lactose 를 分解한 菌集落中 5~10個를 任意로 擇하여 semi-solid nutrient agar 에 各各 穿刺培養하여 保存하고 이들 菌에 對하여 IMViC 試驗, 運動性, 제라틴 液化能, lysine decarboxilase 產生能등을 檢査하여 *Escherichia coli* 로 固定된 227株(抗生劑群 109株, 非抗生劑群 118株)를 供試하였고 耐性傳達試驗의 被傳達菌으로는 日本 群馬大學 三橋教授로부터 分讓받은 *E. coli* ML 1410 NA¹ 을 使用하였다.

供試藥劑 : 供試한 抗菌性物質은 tetracycline (TC, 鍾根堂), streptomycin (SM, 柳韓), kanamycin (KM, 柳韓), sulfisomidine (Su, 日本第一製藥) 및 nalidixic acid (NA, Stering-Winthrop Labs.)로서 이들 藥品을 MacLowry 등⁵⁾의 方法에 따라 各各 適當한 溶媒에 溶解시켜 使用하였다.

培 地 : Su 에 對한 感受性檢査에는 Mueller Hinton agar (MHA)를 使用하였고 Su 以外의 抗菌性物質에 對한 感受性檢査에는 nutrient agar (NA)를 使用하였으며 耐性傳達試驗에는 brain heart infusion broth (BHIB)를 使用하였다.

藥劑耐性檢査 : Steers 등¹¹⁾의 平板稀釋法에 依하여 檢査하였다. 各抗生性物質이 3.1~800 μ g/ml 含有되게 平板培地(pH 7.2)를 調製하였으며, 調製後 5日以內에 使用하였다. 供試菌을 nutrient broth 에 18時間 培養하여 生理食鹽水로 100倍 稀釋한 菌液을 multiple inoculator 로 抗菌性物質이 含有된 培地에 接種하고 37°C 에서 24時間 培養한 다음 判定하였다.

耐性傳達實驗 : 供試菌과 被傳達菌을 各各 5 ml 의 BHIB 에 接種하여 가금 진탕하면서 37°C 에서 3~4時間 培養한 다음 供試菌과 被傳達菌을 1 : 4의 比率로 混合하여 37°C 18時間 培養한 菌液을 NA(25 μ g/ml)와 SM(12.5 μ g/ml), TC(12.5 μ g/ml), CM(12.5 μ g/ml), AP(12.5 g/ml) 또는 KM(12.5 μ g/ml)을 含有한 培地에 接種하여 37°C 에서 24時間 培養한 다음 集落形成의 無有를 보아 耐性傳達를 判定하였다.

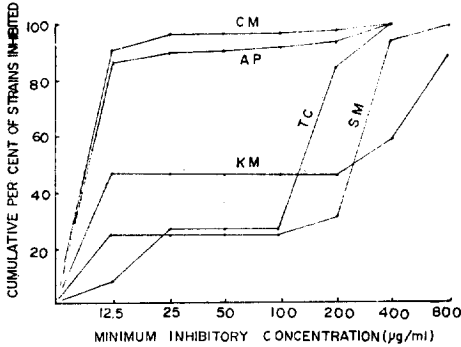


Fig. 1. Antibiotics spectra of *E. coli* isolated from hens fed with antibiotics-containing feeds.
 SM: streptomycin TC: tetracycline
 AP: ampicillin CM: chloramphenicol
 KM: kanamycin

結果 및 考察

항생劑群으로부터 分離한 *E. coli* 109株를 供試하여 各藥劑에 對한 感受性を 檢査하였던바 第1圖에서와 같이 供試菌의 85%以上이 CM 및 AP에 感受性を 나타내어 耐性菌의 出現率이 낮았으나 KM에는 供試菌의 54%가 耐性菌이었으며, 最低發育阻止濃度(MIC) 400µg/ml以上の 強한 耐性を 나타내었다. SM 및 TC에 대하여는 각각 供試菌의 85%, 93%가 耐性を 나타내어 이들 藥劑에 대한 耐性菌의 出現率이 극히 높았다.

항생劑群으로부터 分離한 *E. coli* 109株中 82株(74.4%)가 耐性を 나타내어 Mercer 등⁶⁾이 소 및 돼지를 對象으로 報告한 84.8%의 耐性菌出現 및 著者 등¹⁵⁾이 우리나라의 돼지를 對象으로 한 42.3%의 耐性菌出現率과 相異한 分布를 나타내고 있는데 이는 投藥된 藥劑의 種類, 量 및 投藥期間 등의 差異에 依한 것으로 생각된다.

非抗生劑群으로부터 分離한 *E. coli* 118株中 1首로부터 分離된 5株만이 耐性を 나타내어 非抗生劑群의 耐性菌出現率(4.2%)은 극히 낮았다.

耐性菌 87株에 對한 耐性樣相을 보면 第1表와 같이 SM, TC, KM, AP, CM 및 Su에 耐性인 菌이 5株, SM, TC, KM, AP 및 Su 耐性인 菌이 7株, SM, TC, KM 및 Su에 耐性인 菌이 25株, SM, TC 및 KM에 耐性인 菌이 21株, SM, TC 및 Su에 耐性인 菌이 22株, SM, KM 및 Su에 耐性인 菌이 1株, SM

Table 1. Resistance Patterns of Strains Isolated

Resistance Patterns	No. of Strains	Percent
SM TC KM AP CM Su	5(3) ^b	5.7
SM TC KM AP Su	7(1)	8.0
SM TC KM Su	25(6)	28.7
SM TC KM	21(3)	24.1
SM TC Su	22(5)	25.3
SM KM Su	1(1)	1.2
SM TC	6 ^a (2)	6.9

a: 5 strains are isolated from hens not fed antibiotics.

b: Numerals in parentheses indicate number of hens from which resistant strains were isolated.

및 TC에 耐性인 菌이 6株로서 全菌株가 多劑耐性を 나타내었다. 耐性樣相別 分布를 보면 SM, TC, KM 및 Su에 耐性인 菌이 28.7%로서 가장 많았고 다음은 SM, TC 및 Su에 耐性인 菌이 25.3%, SM, TC 및 KM에 耐性인 菌 24.1%의 順으로 抗生劑群은 耐性菌株를 排泄하지 않은 個體는 없었으며, 抗生劑群으로 부터 分離한 耐性群 82株中 1株를 除外하고는 全菌株가 3劑以上の 多劑耐性菌이었으나 非抗生劑群 13首中 1首에서만 耐性菌 5株가 分離되었으며, 모두 2劑耐性菌이었다. 著者 등¹⁵⁾과 Mercer 등⁶⁾의 돼지를 對象으로 한 成績과 比較하여 보면 SM, TC 및 Su에 耐性인 菌이 많은 點은 一致하나 이 實驗에서는 KM 耐性を 同伴한 菌株도 상당수 出現하였는데 이는 投藥한 藥劑의 種類의 差異에 依한 것으로 생각되며 著者 등¹⁵⁾은 豚由來 *E. coli*에서, Mitsuhashi 등⁸⁾은 患者由來 *E. coli*中 CM 耐性は 극히 稀少하다고 報告하였는데 이 實驗結果와 같은 경향이어서 CM 耐性は 잘 획득되지 않은 것으로 생각된다.

E. coli ML 1410 NA'를 被傳達群으로 使用하여 接合에 依한 耐性傳達을 實驗한 結果는 第2表와 같다. SM, TC, KM, AP, CM 및 Su에 耐性인 5株中 2株가 SM 耐性を 傳達하였으나 TC 耐性, KM 耐性 AP 耐性과 CM 耐性は 5株 모두 傳達하였다. SM, TC, KM, AP 및 Su에 耐性인 7株中 2株가 TC 耐性を 傳達하였고 5株가 SM 耐성과 AP 耐성을 傳達하였으며 KM 耐성은 7株 모두 傳達하였다. SM, TC, KM 및 Su에 耐性인 25株中 13株가 TC 耐성을 傳達하였고 SM 耐성과 KM 耐성은 25株 모두 傳達하였다. SM, TC 및 KM에 耐性인 21株中 16株가 TC 耐성을 傳達하였고 SM 耐성과

Table 2. Resistance Transfer of Isolates to *E. coli* ML 1410 NA^r

Resistance Pattern	No. of Strains	Transferability of Resistance to					
		SM	TC	KM	AP	CM	Su
SM TC KM AP CM Su	5	2	5	5	5	5	—
SM TC KM AP Su	7	5	2	7	5	—	—
SM TC KM Su	25	25	13	25	—	—	—
SM TC KM	21	21	16	21	—	—	—
SM TC Su	22	11	12	—	—	—	—
SM KM Su	1	1	—	1	—	—	—
SM TC	6	2	2	—	—	—	—

—: Not tested

KM 耐性은 21株 모두 傳達하였다. SM, TC 및 Su 에 耐性인 22株中 11株가 SM 耐性을, 12株가 TC 耐性을 傳達하였다. SM, KM 및 Su 에 耐性인 1株는 SM 耐性과 KM 耐性을 傳達하였다. SM 및 TC 에 耐性인 6株中 2株가 SM 耐性과 TC 耐性을 傳達하였고 全然 耐性을 傳達하지 못하는 것이 4株였다. 藥劑別耐性の 傳達率을 比較하여 보면 KM 耐性 및 CM 耐性은 全菌株가 그 耐性을 傳達하였으나 AP 耐性은 12株中 10株가, SM 耐性은 87株中 67株가, TC 耐性은 87株中 55株가 그 耐性을 被傳達菌에 各各 傳達하여 藥劑別耐性에 따라 傳達率의 差異가 있었다.

이와 같이 抗生劑를 投藥한 닭이 全部多劑耐性菌을 排泄하고 있으므로 養畜人들이 無分別하게 抗生劑를 濫용하는 것은 公衆衛生學的 또는 獸醫臨床面에서 불매 再考되어야 할 것이며, 이에 關한 研究가 더욱 進行되어야 할 것으로 생각된다.

結 論

抗菌性物質(oxytetracycline, neomycin, sulfadimethoxine)을 抗藥한 成鷄12首 및 投藥하지 않은 成鷄 13首로부터 分離한 *Escherichia coli* 227株를 供試하여 tetracycline(TC), chloramphenicol(CM), streptomycin(SM), ampicillin(AP), Kanamycin(KM), sulfisomidine(Su) 및 nalidixic acid(NA)에 對한 感受性을 檢査하고 耐性菌에 對하여는 耐性傳達를 實驗하여 다음과 같은 成績을 얻었다.

1. 抗菌性物質을 投藥하지 않은 成鷄13首로부터 分離한 *E. coli* 118株中 1首에서 分離한 5株만이 SM 및 TC 에 耐性菌이었으나 抗菌性物質을 投藥한 成鷄12首로부터 分離한 109株에 있어서는 SM, TC, CM, AP,

KM 또는 Su 에 耐性인 菌이 82株로서 分離菌株의 74.4%가 耐性을 갖고 있었다.

2. 耐性菌 87株는 六劑耐性菌 5株(5.7%), 五劑耐性菌 7株(8.0%), 四劑耐性菌 25株(28.7%), 三劑耐性菌 44株(50.6%) 및 二劑耐性菌 6株(6.9%)였으며 耐性樣相은 SM, TC, KM 및 Su 耐性菌이 25株(28.7%)로서 가장 많았고 다음은 SM, TC 및 Su 耐性菌 22株(25.3%), SM, TC 및 KM 耐性菌 21株(24.1%)의 順이었다.

3. 耐性菌 87株中 73株가 接合에 依하여 *E. coli* ML 1410 NA^r에 耐性이 傳達되어 耐性菌의 83.9%가 R 因子를 가지고 있었다.

參 考 文 獻

1. Anderdon, E.S. and Lewis, M.J.: Characterization of a transfer factor associated with drug resistance in *Salmonella typhimurium*. *Nature* (1965) 208: 843.
2. Datta, N.: Transferable drug resistance in an epidemic strain of *Salmonella typhimurium*. *J. Hyg.* (1962) 60: 301.
3. Franklin, T.J.: Resistance of *Escherichia coli* to tetracycline: Change in permeability *Escherichia coli* bearing transferable resistance factors. *Biochem. J.* (1967) 105: 371.
4. Ikeda, A.: Types and drug sensitivity of bacterial enteropathogens isolated in neighboring countries of Japan. *Trop. Med.* (1960) 11: 91.
5. MacLowry D., Jaqua, M.J. and Selepak, S.T.:

- Detailed methodology and implementation of a semi-automated serial dilution microtechnique for antimicrobial susceptibility testing. *Appl. Microbiol.* (1970) 20 : 46.
6. Mercer, H.D., Pocerull, D., Gaines, S., Wilson, S. and Bennett, J.V.: Characteristics of antimicrobial resistance of *Escherichia coli* from animals: Relationship to veterinary and management uses of antimicrobial resistance of *Escherichia coli* from animals. *Appl. Microbiol.* (1971) 22 : 700.
 7. Mitsuhashi, S., Harada, K., Hashimoto, H. and Egawa, R.: Drug-resistance of Shigella prevalent in Japan. *J. Exp. Med.* (1961) 31 : 47.
 8. Mitsuhashi, S., Hashimoto, H., Egawa, R., Tanaka, T. and Nagai, Y.: Drug-resistance of enteric bacteria. IX. Distribution of R factors in gram negative bacteria from clinical source. *J. Bact.* (1967) 93 : 1242.
 9. Mitsuhashi, S., Hashimoto, H. and Suzuki, K.: Drug-resistance of enteric bacteria. XIII. Distribution of R factors in *Escherichia coli* strains isolated from livestock. *J. Bact.* (1967) 94 : 1166.
 10. Smith, H.W. and Halls, S.: Observations on infective drug resistance in Britain. *Vet. Rec.* (1966) 78 : 415.
 11. Steers, E., Flotz, E.L. and Graves, B.S.: An inocula replicating apparatus for routine testing of bacterial susceptibility to antibiotics. *Antibiot. Chemother.* (1959) 2 : 307.
 12. Tak, R.: Susceptibility to antimicrobial drug and transferable resistance of in Korea. *Kor. Cent. J. Med.* (1975) 29 : 241.
 13. Walton, J.E.: Infectious drug resistance in *Escherichia coli* isolated from healthy farm animals. *Lancet* (1966) 2 : 1300.
 14. 河大有 : 개에서 분리한 Salmonella 의 藥劑耐性과 R 因子. *大韓微生物學會誌* (1975) 10 : 70.
 15. 卓鍊斌, 鄭吉澤 : 豚由來 *Escherichia coli* 의 抗生物質耐性 및 傳達性耐性因子에 關하여. *大韓獸醫學會誌* (1976) 16 : 159.
 16. 秋葉朝一郎, 小山恒太郎, 一色義人, 太村貞夫, 福島敏雄 : 多劑耐性赤痢菌의 發生機序에 關する研究. *日本醫師新報* (1960) 1866 : 46.

Antibiotic Resistance of *Escherichia coli* Isolated from Hens

Ryunbin Tak, D.V.M., M.S., Ph.D.,

Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture, Gyeongju National University

Abstract

Two hundred and twenty-seven strains of *Escherichia coli* isolated from 25 hens (12 hens received tetracycline neomycin and sulfadimethoxine, and 13 hens not received antibiotics) were studied for the drug resistance and distribution of R factors.

About 74 per cent of *E. coli* strains isolated from hens of a herd received antibiotics were resistance to tetracycline (TC) streptomycin (SM), chloramphenicol (CM), kanamycin (KM), ampicillin (AP) and sulfisomidine (Su), alone or in combination thereof, but only a hen among a herd not received antibiotics excreted *E. coli* resistant to TC and SM. Among resistant strains, about 7% were found to be resistant to TC and SM, whereas 93% were resistant to three or more antibiotics.

The most common pattern was the quadruple resistant to SM, TC, KM and Su (28.7%), and followed by triple ones to SM, TC and Su (25.3%), and SM, TC and KM (24.7%).

About 84% of resistant strains carried R factors which were transferable to the recipient by conjugation.