

소에서 分離한 *Escherichia coli* 의 抗生物質耐性 및 傳達性耐性因자의 分布

朴 清 圭

慶北大學校 農科大學 獸醫學科

緒 論

抗生物質에 對한 細菌의 耐性獲得은 細菌이 이 物質과의 接觸에 依한 것이 主要한 原因이지만 附加해서 다른 機轉들에 依해서도 抗生物質에 對한 耐性菌이 生길 수 있다는데 주목을 끌어 왔다¹⁰. 특히 1960年 秋葉 등¹³이 痢疾菌에서 接合에 依한 藥劑耐性傳達現象을 처음 報告한 後 傳達性耐性因子(R因子)는 大腸菌 등 Gram 陰性 腸內細菌에 널리 分布해 있음이 그 후 많은 研究者들에^{1-3, 6, 7, 9} 依해서 알려졌다.

抗生物質을 飼料에 첨가해서 급여한 動物에 있어서 Mitsuhashi 등⁶은 tetracycline 1% 含有飼料을 投與한 豚群은 全部가 抗生物質에 對한 抵抗性 *Escherichia coli* 를 排除한다고 報告하였고 Mercer 등⁵은 抗生物質投與群에서 分離한 *E. coli* 의 84.8%가 R因子에 感染되어 있다고 報告하였다. 한편 우리나라에서도 1976年 卓 등¹¹에 依해 tetracycline 이 7.5 mg/kg 含有된 配合飼料로 飼育된 豚群에서 分離한 *E. coli* 의 42.3%가 多劑耐性菌이었고 耐性菌의 51.5%가 R因子를 가지고 있었다고 報告했으며 또한 卓¹²은 oxytetracycline, neomycin 및 sulfadimethoxine 등을 급여한 鷄群에서 分離한 *E. coli* 는 73.4%가 多劑耐性菌이며 耐性菌의 83%는 R因子를 가지고 있다고 報告하였다.

著者は 抗菌性物質을 疾病治療目的으로 投與한바 있는 소에서 分離한 *E. coli* 의 藥劑耐性 및 耐性菌의 R因子 分布狀況을 究明코자 抗生物質에 對한 感受性, 耐性樣相 및 耐性菌에 對해서는 耐性傳達實驗을 하여 얻은 結果를 報告하는 바이다.

材料 및 方法

對象家畜 : 疾病治療 目的으로 penicillin, streptomycin 혹은 sulfadimethoxine 을 注射한바 있는 乳牛 9頭(抗生劑群)와 抗生物質과 接觸할 機會가 없었던 一

般農家の 韓牛 9頭(非抗生劑群)를 對象으로 하였다.

供試菌 : Rectal swab에 依하여 얻은 糞을 MacConkey 寒天培地에 塗沫培養하여 lactose 를 分解한 菌集落中 5~10個를 任意로 擇하여 semi-solid nutrient agar에 各各 穿刺培養하여 保存하고 이들 菌에 對하여 生物學的 檢査를 하여 *E. coli* 로 固定된 157株(抗生劑群 69株, 非抗生劑群 88株)를 供試하였고 R因자의 被傳達菌으로는 *E. coli* ML1410NA^r를 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), chloramphenicol (CM, 鍾根堂), sulfisomidine (Su, 日本第一製藥) 및 nalidixic acid (NA, Stering-Winthrop Labs.)로서 이들 藥品을 MacLowry 등⁴의 方法에 따라 各各 適當한 溶媒에 溶解시켜 使用하였다.

培地 : Su에 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.

抗菌性物質에 對한 感受性檢査 : Steers 등⁸의 方法에 準하였다. 即 各 抗菌性物質이 1 ml 當 1.56~400 μ g 含有되게 平板培地(pH 7.2)를 調製하여 4°C에 保存하여 24時間 以內에 使用하였다. 供試菌을 nutrient broth에 18時間培養하여 生理食鹽水로 100倍稀釋한 菌液을 multiple inoculator로 抗菌性物質이 含有된 培地에 接種하고 37°C에서 24時間培養한 後 集落形成有無에 따라 判定하였다.

藥劑耐性傳達試驗 : 供試菌과 被傳達菌을 各各 5 ml 의 BHIB에 接種하여 가끔 振盪하면서 37°C에서 3~4時間 培養한 다음 1 ml 의 供試菌과 4 ml 의 被傳達菌을 混合하여 37°C에서 18時間 培養하였다. 이들 混合培養菌液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 μ g/ml) 또는 KM(12.5 μ g/ml)을 含有한 培地에 接種하여 37°C에서 24時間 培養한 다음 集落形成의 有無를 보아 耐

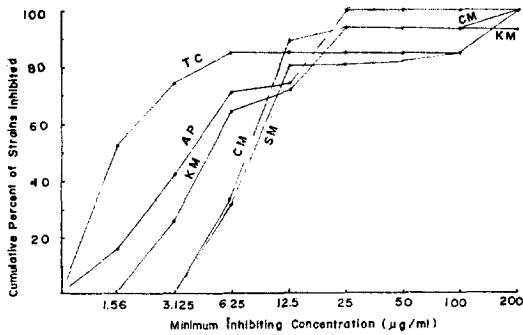


Fig. 1. Antibiotics spectra of *E. coli* isolated from cattle received antibiotics.

SM: streptomycin TC: tetracycline
 AP: ampicillin CM: chloramphenicol
 KM: kanamycin

性傳達를 判定하였다.

結果 및 考察

非抗生劑群으로부터 分離한 *E. coli* 는 88株中 1株만이 SM에 耐性을 나타내어 非抗生劑群의 耐性菌 出現率(1.1%)은 극히 낮았다. 抗生劑群으로부터 分離한 *E. coli* 69株의 各藥劑에 對한 感受性을 檢査하였던바 第一圖에서와 같이 供試菌의 20% 以上이 SM, AP 또는 KM에 耐性菌이었고 CM에 對해서는 供試菌의 約 8%가 耐性을 나타내었다.

卓 등¹¹⁾과 卓¹²⁾이 돼지 및 닭에서 TC를 投與할 경우 *E. coli* 는 TC는 물론 SM 耐性 및 Su 耐性도 같이 획득하는 경향이 있다고 報告하였는데 本實驗에서도 SM에 耐性이 강한 菌은 TC 耐性을 同伴하는 경향을 나타내어 이 두 藥劑間에는 내성 획득이 잘 이루어지는 것으로 추리된다.

耐性菌 32株에 對한 耐性樣相을 보면 第一表에서와 같이 SM, TC, KM, AP 및 Su에 耐性인 菌이 4株, SM, TC, KM 및 Su에 耐性인 菌이 1株, SM, TC, CM 및 Su에 耐性인 菌이 4株, SM, TC, 및 Su와 SM, CM, 및 Su에 耐性인 菌이 各各 1株이며, AP, KM 및 Su에 耐性인 菌이 6頭에서 12株였고 그 外 SM, CM, AP 및 KM 등에 單劑耐性인 菌도 9株(28.2%)를 차지했다. 耐性樣相別로는 AP, KM 및 Su에 耐性인 菌이 37.6%로 가장 빈번히 나타나는 耐性樣相

Table 1. Resistance Patterns of Strains Isolated

| Resistance Patterns | No. of Strains | Percent |
|---------------------|----------------|---------|
| SM TC KM AP Su | 4(1) | 12.5 |
| SM TC KM Su | 1(1) | 3.1 |
| SM TC CM Su | 4(1) | 12.5 |
| SM TC Su | 1(1) | 3.1 |
| SM CM Su | 1(1) | 3.1 |
| AP KM Su | 12(6) | 37.6 |
| SM | 3(2) | 9.4 |
| CM | 3(2) | 9.4 |
| AP | 2(2) | 6.3 |
| KM | 1(1) | 3.1 |

Su: sulfisomidine

Numerals in parentheses indicate number of cattle from which resistant strains were isolated.

이었고, 다음은 SM, TC, KM, AP 및 Su와 SM, TC, CM 및 Su에 耐性인 菌이 各各 12.5%였다.

이 實驗의 對象家畜들은 疾病治療目的으로 投藥받은 藥品의 種類 및 量이 다를뿐만 아니라 投藥받은 回數도 各各 달라서 疾病豫防 및 發育과 産卵促進 目的으로 一定量을 長期間 投藥한 集團群을 對象으로한 成績과 5,6,11,12) 比較하면 個體別로 多樣한 耐性樣相이 얻어졌고 耐性菌의 出現頻度 및 耐性菌의 MIC가 대체로 낮았다.

E. coli ML1410NA' 을 被傳達菌으로 使用하여 接合에 依한 耐性傳達를 實驗한 結果는 第2表와 같다. SM, TC, KM, AP 및 Su에 耐性인 4株中 全株가 SM 및 KM 耐性을 傳達하였으나 TC 및 AP는 모두 傳達하지 못했다. SM, TC, KM 및 Su에 耐性菌은 1株로서 SM 및 KM 耐性은 傳達하였으나 TC 耐性은 傳達하지 못하고 SM, TC, CM 및 Su에 耐性인 菌은 4株로서 全株가 SM, TC 및 CM 耐性은 傳達하였으나 그 外의 耐性菌은 耐性을 傳達하지 못했다. 藥劑別耐性の 傳達率을 比較하여 보면 四劑以上 耐性菌에서 SM 耐性, KM 耐性 및 CM 耐性은 全菌株가 그 耐性을 傳達하였으나 TC 耐性은 9株中 4株가 그 耐性을 被傳達菌에 傳達하였다.

卓 등¹¹⁾과 卓¹²⁾이 돼지 및 닭에서 由來한 藥劑耐性이 강한 *E. coli* 의 耐性傳達率(51.5% 및 83%)에 比하면 이 實驗에서는 耐性菌의 28.1%가 耐性을 傳達하여 耐性傳達率이 훨씬 낮았다. 이는 耐性菌의 耐性傳達率은 耐性的 程度와 耐性樣相 등의 差異에 依한 것으로 생각된다.

Table 2. Resistance Transfer of Isolated to *E. coli* ML 1410 NA⁷

| Resistance Patterns | No. of Strains | Transferability of Resistance to | | | | | |
|---------------------|----------------|----------------------------------|----|----|----|----|----|
| | | SM | TC | KM | AP | CM | Su |
| SM TC KM AP Su | 4 | 4 | 0 | 4 | 0 | — | — |
| SM TC KM Su | 1 | 1 | 0 | 1 | — | — | — |
| SM TC CM Su | 4 | 4 | 4 | — | — | 4 | — |
| SM TC Su | 1 | 0 | 0 | — | — | — | — |
| SM CM Su | 1 | 0 | — | — | — | 0 | — |
| AP KM Su | 12 | — | — | 0 | 0 | — | — |
| SM | 3 | 0 | — | — | — | — | — |
| CM | 3 | — | — | — | — | 0 | — |
| AP | 2 | — | — | — | 0 | — | — |
| KM | 1 | — | — | 0 | — | — | — |

—, Not tested.

結 論

抗菌性物質(penicillin, streptomycin, sulfadimethoxine)을 投藥한 乳牛 9頭 및 投藥하지 않은 韓牛 9頭로부터 分離한 *Escherichia coli* 157株를 供試하여 tetracycline (TC), chloramphenicol (CM), streptomycin (SM), ampicillin (AP), kanamycin (KM), sulfisomidine (Su) 및 nalidixic acid (NA)에 對한 感受性を 檢査하고 耐性菌에 對하여는 耐性傳達을 實驗하여 다음과 같은 成績을 얻었다.

1. 抗菌性物質을 投藥하지 않은 韓牛 9頭로부터 分離한 *E. coli* 88株中 1頭에서 分離한 1株(1.4%)만이 SM에 耐性菌이었으며, 抗菌性物質을 投藥한 乳牛 9頭로부터 分離한 69株에 있어서는 SM, TC, CM, AP, KM, 또는 Su에 耐性인 菌이 32株로서 分離菌株의 46.4%가 耐性菌이었다.

2. 耐性菌 32株中 單劑耐性菌 9株(8.2%) 三劑耐性菌 14株(43.8%) 四劑耐性菌 5株(15.6%) 五劑耐性菌 4株(12.5%)로서 多劑耐性菌은 71.8%였으며 耐性樣相은 AP, KM 및 Su 耐性菌이 12株(37.6%)로서 가장 많았고, 다음은 SM, TC, KM, AP 및 Su 와 SM, TC, CM 및 Su 耐性菌이 各各 4株(12.5%)의 順이었다.

3. 耐性菌 32株中 9株가 接合에 依하여 *E. coli* ML 1410 NA⁷에 耐性이 傳達되었으며, 耐性菌의 28.1%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) 20 : 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 tetracyclines: Change in permeability to tetracycline in *Escherichia coli* bearing transferable resistance factors. *Biochem. J.*(1967) 105 : 371.
4. MacLowry, J.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.
5. 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 agent. *Appl. Microbiol.* (1971) 22 : 80.
6. Mitsuhashi, S., Hashimoto, H. and Suzuki, K.: Drug resistance of enteric bacteria. XIII. Distr-

- tribution of R factors in *Escherichia coli* strains isolated from livestock, J. Bact. (1967) 94 : 1166.
7. Smith, H.W. and Halls, S.: Observations on infective drug resistance in Britain. Vet. Rec. (1966) 78 : 415.
 8. Steers, E., Flotz, E.L. and Graves, B.S.: An inocula-replicating apparatus for routine testing of bacterial susceptibility to antibiotics. Antibiot. Chemoth. (1959) 2 : 307.
 9. Walton, J.E.: Infectious drug resistance in *Escherichia coli* isolated from healthy farm animals. Lancet (1966) 2 : 1300.
 10. Wilson, G.S. and Miles, A.: Principles of bacteriology, virology and immunity. 6 ed., Edward Arnold, London (1975) p. 203.
 11. 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 (1975) 16 : 159.
 12. 卓鍊斌: 鷄由來 *Escherichia coli* 의 抗生物質耐性 및 R因子의 分布. 大韓獸醫學會誌 (1977) 17 : 1.
 13. 秋葉朝一郎, 小山恒太郎, 一色義人, 木村貞夫, 福島敏雄: 多劑耐性赤痢菌の發生機序に關する研究. 日本醫事新報 (1960) 1866 : 46.

Susceptibility of *Escherichia coli* Isolated from Cattle to Some Antimicrobial Agents

Cheong Kyu Park, D.V.M., M.S.

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

Abstract

One hundred and fifty seven *Escherichia coli* strains isolated from 18 cattle (9 dairy cattle received penicillin, streptomycin (SM) or sulfadimethoxine for treatment of diseases and 9 Korean native cattle not received antibiotics) were studied for the drug resistance and distribution of R factors.

Of 88 *E. coli* strains isolated from cattle not received antibiotics, only 1 strain was resistant to SM, but about 46 per cent of 69 *E. coli* strains isolated from cattle received antibiotics were resistant to SM, tetracycline (TC), ampicillin (AP), kanamycin (KM), chloramphenicol (CM), and sulfisomidine (Su), alone or in combination thereof. Of resistant strains, about 72% were resistant to three or more antibiotics, but 28% were found to singly resistant.

The most frequent resistant pattern was triple resistance to AP, KM and Su (37.6%), and quadruple one to SM, TC, CM and Su (12.5%). About 28% of resistant strains carried R factors which were transferable to *E. coli* ML 1410 NA^r by conjugation.