

大邱新川으로부터 分離된 藥劑耐性大腸菌群의 傳達性耐성에 關하여

金 基 錫·卓 鍊 斌

慶北大學校 農科大學 獸醫學科

緒 論

都市人口의 急激한 膨脹과 産業發展으로 因한 都市 公害는 最近 一大 社會問題가 되고 있다. 그 中에서도 都市河川은 下水의 排出路인 同時에 農業用水 등으로 利用되고 있기 때문에 河川水質은 都市民의 健康과 密接한 關係가 있다. 先進國家에서는 適當한 下水處理施設을 갖추어 상당한 成果를 거두고 있으나²⁾, 우리나라에서는 下水處理施設의 未備로 都市河川水로부터 各種 有害物質과 大腸菌檢出率이 높으며 Salmonella 및 Shigell 등 病原性腸系細菌도 分離되고 있다^{7,7-11,12)}.

近年 抗生物質의 廣範한 使用으로 人間 및 家畜에서 傳達性耐性因子를 가진 藥劑耐性菌이 顯著히 增加하고 있으며 이들 耐性菌의 一部는 下水와 같이 河川에 流入되어 河川水에 널리 分布하고 있다고 報告되어 있다^{4,5,10)}.

우리나라에 있어서는 사람 및 動物由來 藥劑耐性菌의 R因子에 關한 研究가 報告되어 있으나^{6,12-14,17)} 河川水에 있어서는 이에 關한 報告를 찾아볼 수 없다. 抗生物質의 自由販賣에 따른 濫用으로 耐性菌의 分布가 높을 것으로 생각되며 耐性菌의 耐性樣相을 究明하는 것은 公衆衛生上 重要한 意義를 지니고 있어 著者 등은 大邱市街地中心部를 南北으로 흐르는 新川水의 大腸菌群汚染度, 藥劑耐性菌의 出現度 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

河川水 : 1976年 4月부터 8月까지 每月 1回씩 人畜의 密度가 낮은 新川의 上流로부터 人家가 密集한 下流에

이르기까지의 4個所 및 新川水가 流入된 金호江의 八達橋附近(第 1圖)에서 오전 10시부터 12시 사이에 미리 滅菌된 容器에 流水 50 ml씩 採水하여 4°C 以下의 低溫에 維持하였으며 採水後 3~4時間內에 實驗에 供하였다.

培地 : 總大腸菌群 및 藥劑耐性大腸菌群의 檢出에는 MacConkey 寒天平板培地를 各各 使用하였고, 耐性傳達試驗에는 brain heart infusion broth (BHIB)를 使用하였다.

大腸菌群의 分布 : Sturetevant 등⁴⁾의 方法에 準하여 河川水를 生理食鹽水로 適當한 濃度가 되게 稀釋하여 0.1 ml를 MacConkey 寒天平板培地 및 streptomycin (SM)加 MacConkey 寒天平板培地에 均等히 塗布하여 37°C 및 44.5°C에서 各各 22~24時間 培養 乳糖을 分解하는 菌의 集落數를 算出하였다.

供試菌 : SM加 MacConkey 寒天培地에 形成된 乳糖菌의 集落을 3~5個씩 無作爲의으로 釣菌하여 semi-solid agar 에 保存하였으며, 耐性傳達試驗의 被傳達菌으로는 *Escherichia coli* ML 1410 NA[®] 및 *S. typhimurium* LTZ NA[®]를 使用하였다.

抗菌性物質 : 供試한 抗菌性物質은 streptomycin(柳韓), ampicillin(AP, 鍾根堂) tetracycline(TC, 鍾根堂) chloramphenicol(CM, 鍾根堂) kanamycin(KM, 柳韓) 및 nalidixic acid (NA, Stering-Winthrop Labs.)로서 이들 藥品을 Mac Lowry 등¹¹⁾의 方法에 따라 適當한 溶媒에 溶解시킨 다음 稀釋하여 使用하였다.

抗菌性物質에 對한 感受性檢査 : Steer 등³⁾의 方法에 準하여 各抗菌性物質이 12.5, 25, 50, 100, 200, 400, 800 μg/ml 含有된 MacConkey 寒天平板培地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

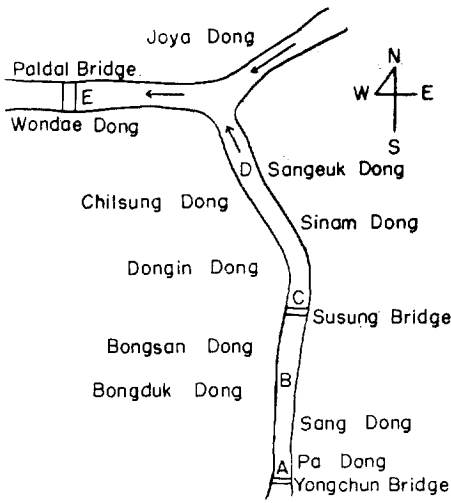


Fig. 1. The map of Shinchun Stream A, B, C, D and E: Tested areas.

된 培地에 接種하고 37°C에서 24時間 培養한 다음 判定하였다.

藥劑耐性傳達試驗: 供試菌과 被傳達菌을 各各 5 ml의 BHIB에 接種하여 가끔 振盪하면서 37°C에서 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°C에서 18時間 培養한 菌液을 NA(25 µg/ml)와 SM(12.5 µg/ml), TC(12.5 µg/ml), CM(12.5 µg/ml), AP(12.5 µg/ml) 또는 KM(12.5 µg/ml)를 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 耐性傳達을 判定하였다

結果 및 考察

採水時 新川의 水溫 및 pH는 第1表와 같이 4月부터 8月 사이의 地域別 平均水溫은 20.1~26.6°C였으며 上流인 龍川橋附近이 가장 낮았고 八達橋, 上洞 壽城橋, 山格洞地域의 順으로 높았으며 月別로 보면 水溫이 大體로 7月에 가장 높았고 6月, 5月, 4月 및 8月の 順으로 낮았다. pH는 平均 6.9~7.6이었으며 龍川橋附近이 가장 낮았고 山格洞, 八達橋, 上洞, 壽城橋附近의 順으로 높았으며 月別에 따른 pH의 差異는 크지 않았다. 新川의 大腸菌群 汚染度는 第2表와 같이 龍川橋附近이 平均 17.4/0.1 ml, 上洞地域 151/0.1 ml, 壽城橋附近 530/0.1 ml, 山格洞地域 923/0.1 ml로 下流에 이룰수록 顯著한 增加를 보였으나 八達橋附近에서는 오히려 減少되었다. fecal coliform 역시 上流에서 下流에 이룰수록 增加하여 山格洞地域은 總大腸菌群의 63.6%가 fecal coliform 이었는데 Sturtevan 등⁴⁾이 英國에서 調査한 2~60%보다는 顯著히 높았다.

Table 1. Water Temperature and pH of Shinchun Stream

Simpling Site	Test	Month (1976)					Mean
		April	May	June	July	August	
A	Temp. (C)	19.0	22.0	22.0	26.0	21.0	20.1
	pH	6.8	6.7	6.9	7.2	7.0	6.0
B	Temp.(C)	25.0	28.0	26.0	29.0	23.0	26.2
	pH	7.3	7.4	7.5	7.8	7.5	7.5
C	Temp. (C)	25.0	27.0	28.0	29.0	22.0	26.4
	pH	7.5	7.4	7.6	7.6	7.7	7.6
D	Temp. (C)	24.0	26.0	29.0	31.0	23.0	26.6
	pH	7.3	7.2	7.9	7.4	7.4	7.4
E	Temp. (C)	19.0	20.0	28.0	29.0	22.5	23.7
	pH	7.2	7.1	7.1	7.8	7.8	7.4

A: Area around Yongchun bridge. B: Area around Sangdong. C: Area around Susung bridge.
D: Area around Sangeuk dong. E: Area around Paldal bridge.

Air temperature was from 23°C to 32°C at the time when samples were collected.

Table 2. Coliform Population of Shinchun Stream

Sampling Site	Culture Temp.(C)	Month (1976)					Total	Mean	Fecal Coliform(%)
		April	May	June	July	August			
A	37	0 ^a	15	2	70	0	87	7.4	21.8
	44.5	0	9	0	10	0	19	3.8	
B	37	60	160	64	240	230	754	150.8	49.1
	44.5	17	98	84	116	55	370	74.0	
C	37	500	530	800	120	700	2,650	530.0	49.5
	44.5	72	210	500	100	430	1,312	262.4	
D	37	130	820	2,100	1,300	264	4,614	922.8	63.6
	44.5	53	500	1,320	900	160	2,933	586.6	
E	37	48	450	38	50	322	908	181.6	20.7
	44.5	0	80	24	10	74	188	35.6	

a. Coliform number in 0.1 ml of water.

Table 3. Distribution of Total Coliforms and Streptomycin Resistant Coliforms in Shinchun Stream

Sampling Site	Month (1976)					Total	Resistant Coliform (%)
	April	May	June	July	August		
A	0 ^a /0	2/15	0/2	4/70	0/0	6/87	6.9
B	35/60	60/160	12/64	31/240	36/230	174/754	24.7
C	90/500	32/530	150/800	47/120	150/700	757/2,650	28.6
D	90/130	430/820	1,070/2,100	380/1,300	126/263	2,094/4,614	45.4
E	30/48	170/450	4/38	9/50	291/322	504/908	55.5

a. Number of streptomycin-resistant coliforms-total coliforms in 0.1 ml of water.

孔⁹⁾은 下水에서 *E. coli*, *Salmonella* 및 *Shigella* 등이 增殖할 수 있다고 報告하였고 平均 水溫이 20.1~26.6 °C 임을 미루어 볼때 下流일수록 大腸菌群의 分布가 높은 것은 家庭下水의 流入量의 增加와 아울러 流水中에서도 菌이 多少增殖하는 것으로 생각된다. 八達橋附近에서 菌數가 減少된 것은 第三工團의 有毒廢水가 流入되기 때문이거나 금호江의 물에 의하여 稀釋되기 때문이라고 볼 수 있다. 이 成績은 權등¹⁰⁾이 報告한 서울地域河川에서 보다 높은 汚染度를 나타내고 있는데 이는 大邱市 下水道施設의 未備 및 糞尿의 農肥利用 또는 放流에 의한 것으로 생각된다¹⁰⁾.

Streptomycin에 對한 耐性菌을 調査하였던 바(第3表) 上流인 龍川橋附近은 耐性菌出現率이 낮았으나(6.9%), 上洞地域에 이르러 急激히 增加하였으며(24.7

%), 壽城橋, 山格洞 八達橋附近의 順으로 下流에 이를수록 계속 增加하는 傾向이었으며 總大腸菌群의 39.2%가 SM 耐性菌이었다. Smith²⁾, Sturtevant⁵⁾, 그리고 飯島 등¹⁰⁾이 報告한 外國河川에 있어서의 成績보다 新川은 耐性菌出現率이 높았다. 이같이 藥劑耐性菌이 河川水에 널리 分布되어 있음은 抗生物質의 濫用을 反映한 것이며 抗生物質의 影響이 自然界 全般에 미치고 있음을 示唆해 주고 있다.

SM 耐性菌 80株에 對하여 IMVIC 試驗, 運動性, gelatin 消化能, mannitol, sorbitol, arabinose, inositol의 分解能, lysine decarboxylase 產生能 등을 檢査하여 同定하였던바 *E. coli*가 46株(57.5%)였으며 *Citrobacter-Klebsiella-Enterobacter* 群이 34株(42.5%)였다.

SM 耐性菌을 供試하여 TC, CM, AP 및 KM에 對

Table 4. Resistance Patterns of Streptomycin-Resistant Strains Isolated from Shinchun Stream

Resistance Pattern	No. of Strains	Percent
SM, TC, CM, AP, KM	5	6.3
SM, TC, CM, AP	14	17.5
SM, TC, AP, KM	3	3.8
SM, TC, CM,	3	3.8
SM, TC, AP	19	23.8
SM, CM, AP	3	3.8
SM, TC	12	15.0
SM, CM	5	6.3
SM, AP	4	5.0
SM, KM	1	1.3
SM	11	13.8
Total	80	100.0

SM, streptomycin. TC, tetracycline.
 CM, chloramphenicol. AP, ampicillin.
 KM, kanamycin.

한 感受性檢査를 하였던바(第 4 表) 供試菌 80 株中 68 株(86.3%)가 SM 以外的 他藥劑耐性を 隨伴한 多劑耐性菌이었으며 耐性 Pattern 別로는 SM, TC 및 AP 에 耐性인 菌이 19 株(23.8%)로 가장 많았고 다음은 SM, TC, CM 및 AP 에 耐性인 菌(17.5%), SM 및 TC 에 耐性인 菌(15.0%)의 順이었다. 또 藥劑耐性度를 測定

한 結果 供試菌 80 株中 42 株(52.5%)가 한 藥劑以上에서 最少發育阻止濃度가 400 $\mu\text{g/ml}$ 以上の 強한 抵抗性を 나타내었다. 飯島 등¹⁹⁾에 의하면 東京의 河川水에서 分離한 SM 耐性菌은 KM 耐性を 隨伴한 菌株가 많았는데 本成績에서는 SM 耐性菌이 TC 耐成 혹은 耐性を 隨伴한 菌株가 많았다.

AP *E. coli* ML 1410 또는 *S. typhimurium* LT 2 를 被傳達菌으로 使用하여 接合에 의한 耐性傳達을 實驗한 成績은 第 5 表 및 第 6 表와 같다. 耐性 pattern 別 耐性菌의 傳達樣相을 보면 SM, TC, CM, AP 및 KM 에 耐性인 菌株와 SM, TC, AP 및 KM 에 耐性인 菌株가 傳達率이 높았고, 被傳達菌에 따른 傳達率은 *S. typhimurium* LT 2 에 보다 *E. coli* ML 1410 에의 傳達率이 높았다.

藥劑別耐性的 被傳達菌에 따른 傳達率을 比較해 보면 SM 耐性은 供試菌의 56.3%가 *E. coli* ML 1410 에 53.8%가 *S. typhimurium* LT 2 에 耐性を 傳達하여 被傳達菌에 따른 傳達率의 差異가 없었으나 TC 耐性, CM 耐性, AP 耐性 및 KM 耐性은 *E. coli* ML 1410 에의 傳達率이 높아서 被傳達菌에 따른 耐性傳達樣相이 다름을 알 수 있었다.

供試한 被傳達菌 2 株中 1 株以上에 耐性を 傳達한 藥劑別耐性的 傳達率은 耐性的 SM 傳達率(76.3%)이 가장 높았고 AP 耐性(58.3%), TC 耐性(51.8%), KM (44.4%) 耐性 및 CM 耐性(43.43%)의 順이었다.

菌種에 따른 耐性 pattern 및 耐性傳達率의 差異는

Table 5. Resistance Transfer of Isolates to *E. coli* ML 1410 and *S. typhimurium* LT 2*

Resistance Pattern	No. of Strains	Resistance Transferred to									
		<i>E. coli</i> ML 1410					<i>S. typhimurium</i> LT 2				
		SM ^b	TC	CM	AP	KM	SM	TC	CM	AP	KM
SM, TC, CM, AP, KM	5	4	4	4	5	3	5	2	3	5	1
SM, TC, CM, AP	14	5	8	5	6	— ^c	6	3	3	4	—
SM, TC, AP, KM	3	2	1	—	2	1	3	1	—	2	1
SM, TC, CM	3	2	1	1	—	—	1	0	0	—	—
SM, TC, AP	19	16	9	—	13	—	11	0	—	8	—
SM, CM, AP	3	1	—	0	1	—	1	—	1	0	—
SM, TC	12	4	2	—	—	—	3	2	—	—	—
SM, CM	5	2	—	1	—	—	4	—	0	—	—
SM, AP	4	3	—	—	1	—	3	—	—	0	—
SM, KM	1	1	—	—	—	0	1	—	—	—	0
SM	11	5	—	—	—	—	5	—	—	—	—

a. Na⁺, SM⁺, TC⁺, CM⁺, AP⁺ KM⁺.

b. Selecting drug.

c. Not tested.

Table 6. Resistance Transfer of Isoates to Recipients^a

Resistant to	No. of Resistant Strains	Transfer ability of Resistance to		
		<i>E. coli</i> ML 1410	<i>S. typhimurium</i> LT 2	<i>E. coli</i> ML 1410 or <i>S. typhimurium</i>
SM	80	45(56.3) ^b	43(53.8)	61(76.3) [†]
TC	56	28(50.0)	9(16.1)	29(51.8)
CM	30	11(36.7)	7(23.3)	13(43.3)
P	48	28(58.3)	19(39.6)	28(58.3)
KM	9	4(44.4)	2(22.2)	4(44.4)

a. *E. coli* ML 1410 and *S. typhimurium* LT 2 are nelidixic acid-resistant.

b. No. of strains (%)

없었으며, 耐性菌의 87.5%가 R 因子를 가지고 있어 Sturtevant⁹⁾에 의한 英國下水에서의 調査成績(48%)에 比하여 R 因子에 感染된菌의 分離率이 높았다.

結 論

1976年 4월부터 8월까지 每月 1회씩 大邱新川의 4個 所와 金호江의 八達橋附近에서 採水하여 大腸菌群汚染度, 藥劑耐性菌의 出現度 및 耐性菌의 耐性 樣相을 檢討하였던 바 河川水의 大腸菌群은 平均 361/0.1 ml 이었고, 總大腸菌群의 53.5%가 fecal coliform 이었다.

SM 耐性菌은 總大腸菌群의 39.2%였으며 SM 耐性菌의 86.3%가 多劑耐性菌으로서 主로 TC 耐性 또는 AP耐性을 隨伴하였으며 많이 볼 수 있는 耐性 pattern 은 TC, AP 耐性, SM, TC, CM, AP 耐性 및 SM, TC 耐性이었다.

耐性菌의 87.5%는 R 因子에 의한 傳達性耐性을 가진 菌이었으며 被傳達菌에 따라 耐性傳達樣相에 相異하였고 *S. typhimurium* LT 2에보다 *E. coli* ML 1410에의 耐性傳達率이 높았다.

參 考 文 獻

1. 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.
2. Smith, H.W.: Incidence in river water of *Escherichia coli* containing R factors. *Nature* (1970) 228 : 1286.
3. Steers, E., Flotz, F.L. and Graves, B.S.: An

inocula replicating apparatus for routine testing of bacterial susceptibility to antibiotics. *Antibiot. Chemother.* (1959) 2 : 302.

4. Sturtevant, A.B., Cassel, G.H. and Feary, T.W.: Incidence of infectious drug resistance among fecal coliforms isolated from raw sewage. *Appl. Microbiol.* (1971) 21 : 487.
5. Sturtevant, A.B.: Incidence of infectious drug resistance among lactose fermenting bacteria isolated from raw and treated sewage. *Appl. Microbiol.* (1969) 18 : 918.
6. Tak, R.: Susceptibility to antimicrobial drugs and transferable resistance of *Salmonella typhi* in Korea. *Korean Cent. J. Med.* (1975) 29 : 241.
7. 高光均, 金命淑, 李淵台, 李鍾訓: 1972年 8月 서울市 浸水地域에 對한 腸內病原菌 調査分離. 大韓微生物學會 第30次 學術大會報告 (1972).
8. 孔仁貴: 下水中 몇가지 腸內病原菌의 生存狀態에 關한 研究. 淑明女子大學校大學院 碩士學位論文 (1973).
9. 權肅杓, 沈吉淳, 李裁熙, 安成勳: 서울市周邊遊園地 河川汚染에 關한 衛生學的 調査研究. *最新醫學* (1968) 11 : 165
10. 權肅杓, 盧晶培, 李仁宰, 尹燁重, 崔淑衡, 愼亨發: 漢江水泳場의 衛生學的 調査報告. 中央醫學研究所報告 (1956) 5 : 68.
11. 權肅杓, 沈吉淳, 李裁熙, 安成勳: 서울市 漢江遊園地 河川汚染에 關한 衛生學的 調査研究(第1報). *最新醫學* (1968) 11 : 155.
12. 朴清圭: 소에서 分離한 *Escherichia coli*의 抗生物質耐性 및 傳達性耐性因子의 分布. 大韓微生物學會誌 (1977) 17 : 5.

13. 薛益用, 권옥진, 全熹基: 人系大腸菌의 抗生物質耐性 및 R因子的 分布. 大韓微生物學會 第38次 學術大會報告 (1976).
14. 薛益用, 吳相琰: 痢疾菌의 抗生物質耐性 및 R因子的 分布. 大韓微生物學會 第38次 學術大會報告 (1976).
15. 尹麒炳: 大邱市內 下水의 汚染에 關한 細菌學的 研究. 現代醫學 (1968) 9: 137.
16. 卓鍊斌, 鄭吉澤: 豚由來 *Escherichia coli* 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.
17. 卓鍊斌: 鷄由來 *Escherichia coli* 의 抗生物質耐性 및 R因子的 分布. 大韓獸醫學會誌(1977) 17: 1.
18. 1974年度 大邱市統計年報. 大邱市發行 (1974).
19. 飯島肇, 新井俊彦, 青木宙: 東京郡の河川かう分離された藥劑耐性菌及びR因子の研究. 日本細菌學會 第47次 學術大會報告 47 (1974).

Drug Resistant Coliform Organisms in Shinchun Stream (Daegu)

Ki Seuk Kim, D.V.M., M.S. and Ryunbin Tak, D.V.M., M.S., Ph.D.

*Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture
Gyeongbug National University*

Abstract

The distribution of coliform population and drug-resistant coliforms in Shinchun water during April to August in 1976 and R factors in resistant strains were studied.

The mean coliform population in the stream water was 361 organisms per 0.1ml and 53.5% of total coliforms were fecal coliforms. Thirtynine and a half percent of total coliforms were streptomycin (SM) resistant to one or more of following antibiotics; tetracycline (TC), chloramphenicol (CM), ampicillin (AP) and kanamycin (KM).

The most frequent resistant pattern was triple resistance to SM, TC and AP (23.8%) and followed by quadruple one to SM, TC, CM and AP (17.5%).

About 87 percent strains carried R factors which were transferable by conjugation to *E. coli* ML 1410 or *S. typhimurium* LT 2.