

## 抗生物質의 開發을 위한 國內資源 調查 研究(I)

韓國 西海岸 地方의 土壤中 抗菌性 放線菌의 分布

李敦日·金成源·高 光

朝鮮大學校 藥學大學

## Studies on the Development of Antibiotics in Korea(I)

The Distribution of Antibiotic-producing *Streptomyces* in the Western Area of Korea

Donn Yil Lee, Sung Won Kim and Kwang Ko

College of Pharmacy, Cho Sun University, Gwang Ju 500, Korea

**Abstract:** The antibiotic-producing *Streptomyces* strains were isolated from the soils of various localities in Yeang-Kwang and tested for the activity against some of gram positive and negative microorganisms, especially against *Pseudomonas aeruginosa*. The results are summarized as follows.

1. A total of 1464 *Streptomyces* strains were isolated from 336 soil samples. Of all the strains tested, 636 strains of the isolates showed antibiotic activity against either gram positive or negative test organisms. And 408 of the 636 strains were strongly active against one or all of those test-organisms. 2. Ninety-three of *Streptomyces* strains among the active isolates showed the antibiotic activity against *Pseudomonas aeruginosa*, and 24 of 93 strains showed the strong antibiotic activity against all of the test organisms *i.e.* *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* and *Shigella flexneri*. 3. Antibiotic-producing *Streptomyces* strains active against *Pseudomonas aeruginosa* were isolated from the soil samples taken from vegetable field, paddy field, sandy ground and roadway, but not isolated from the soil taken from dwelling area, grass field and piers.

### 緒 論

微生物에 依해서 일어나는 疾患의 治療에 있어 抗生物質이 功헌한바는 至大하다. 그러나 이 抗生物質을 장기간 계속적으로 사용함으로 인해서 파생되는 여러 현상, 즉 耐性菌의 出現, 菌交代현상 또는 複 감염 등 起病力의 변화때문에 일어나는 감염증도 많다 하겠다.

특히 최근에 병원내에 원내감염의 원인균으로서 주목되고 있는 *Pseudomonas aeruginosa*에 대한 연구가 활발하여 血清學的 型別 또는 phage型別을 비롯하여 면역학적 연구와 phenol killed vaccine의 응용, 生理學的 研究 및 화학요법등 많은 연구보고가 있다. (Brown 1968; Jedlickova 1969; Fajardo 1968; Donomae 1967; Masumoto 1968; Bergan 1968; Rolinson 1967)

한편으로 抗生物質 產生菌은 Fleming이 *Penicillium notatum*에서 penicillin을 얻은 이래 Schatz(1944) 등이 *Streptomyces griseus*의 발견을 비롯하여 抗生物質을 生産하는 *Streptomyces* 屬菌의 分離가 많으며 오늘날에 있어서도 계속적으로 새로운 抗菌性 微生物의 分離가 이루어지고 있다.

Routien and Finlay(1952) 및 Waksman and Lechevalier(1951)의 보고를 보면 *Streptomyces griseus*, *Streptomyces lavendulae*, 또는 *Streptomyces venezuelae* 등은 널리 分布되어 있으나, *Streptomyces aureofaciens*, *Streptomyces rimosus* 등은 일정지역에만 分布하고 있다고 하였으며 또 抗菌성이 있는 *Streptomyces* 屬菌과 抗菌성이 없는 *Streptomyces* 屬菌과의 分포물은 보고자에 따라 다르며 우리나라에서도 조(1956)의 報告를 비롯하여 抗菌作用이 있는 새로운 菌種을 分離한 報告가 수편(Waksman, 1950)이 있다.

그렇지만 지금까지 수많은 새로운 광범위 항生物質이 발견되고 또 생산되어지고 있으나 앞에 소개한 *Pseudomonas aeruginosa*에 유효한 항生物質은 *Bacillus polymyxa*가 產生하는 polymyxins이 사용되고 있으며 semisynthetic penicillin인 carbenicillin (Rolinson 1967), 및 독일에서는 gentamicin(Jedlickova, 1968) 등 각국에서 새로운 광범위 항생물질의 제조에 꾸준한 노력을 경주하고 있지만 아직 널리 사용 되이지며 흡족하게 우수한 항생물질이 없는 형편이다.

實驗者는 이 點에 흥미를 가지고 *Pseudomonas aeruginosa*에 특히 유효한 항생물질을 生産하는 菌株를 分離하고, 몇가지 菌株에도 抗菌力의 有無내지는 強度를 측정코저 우선 서해안 지방중 전남 영광지방을 중심으로 각 방면의 토양을 모아 *Streptomyces* 屬菌을 分離하였으나 그 결과를 報告코저 한다.

### 實驗材料 및 方法

#### 토양재료

우리나라 남서해안 지방중 영광지방을 중심으로 각 방면에서 비교적 건조한 토양을 채취하였으며, 토양은 표면에서부터 3cm이상의 토양을 無菌試驗管에 1g 정도씩 채취하였다.

채취장소로는 주먹가주변을 비롯 밭, 논, 잔디밭 또

는 풀밭, 모래밭 또는 자갈밭, 소나무언덕, 신작장 그리고 기타 나무언덕, 도로변등 비교적 다양하게 장소를 구분하여 채취하였다.

#### 培地

*Streptomyces*屬 分離用 培地 및 分離菌株의 保存培地로는 Krainsky's asparagin glucose agar (glucose 10g, asparagin 0.5g, dibasic potassium phosphate 0.5g, agar 20g, distilled water 1000ml, pH 6.8)를 사용하였으며 抗菌作用의 檢사용 培地로는 glucose agar (bacto-peptone 10g, beef extract 3g, sodium chloride 3g, glucose 10g, distilled water 1000ml, pH 7.0)를 사용하였다.

#### 供試菌株

抗菌力의 檢사에 사용한 균주는 경북의대 세균학교실에서 分離하여 분양된 본교실 保存菌株인 *Pseudomonas aeruginosa*(Ps. 5)와 국립보건원 미생물부에서 분양받은 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P菌과 *Escherichia coli* ATCC 25922菌, *Solmonella typhi* Ty<sub>2</sub> 菌, *Bacillus subtilis* ATCC 6633菌, *Shigella flexneri* ATCC 9380菌, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25619 菌株 등이다.

#### 分離方法

토양재료 1g정도를 멸균시험관에 채취하여 멸균생리 식염수 5ml를 무균적으로 주입하고 강하게 1분간 진탕

Table I. The distribution of the antibiotic-producing *Streptomyces* isolated from soils of various sources.

Sources	No. of samples	Isolated strains	Active strains	Percent of active strains	Active against							Strongly active strains
					<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	Both	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	Both	Those of test organisms	
Around dwelling area	51	318	93	29.2	27	71	24	9	0	—	—	29(12)*
Vegetable field	45	216	78	36.1	72	42	36	3	33	—	—	72
Paddy field	42	84	48	57.1	24	42	24	12	24	12	12	33
Grass field	21	105	39	37.1	9	39	9	30	0	—	—	30
Ground (sandy)	42	66	57	86.4	42	27	24	15	12	—	—	42
Hill (pine planted)	15	225	96	42.7	0	87	—	0	3	—	—	87(87)
Road way (not asphalted)	63	363	198	54.5	177	105	54	27	21	12	12	105(12)
Piers	57	87	27	31.0	27	15	6	15	0	—	—	0
Total	336	1,464	636	43.4	378	438	177	111	93	24	24	408
Percent	—	100.0	43.4	—	25.8	29.9	12.1	7.6	6.3	1.6	1.6	27.9
	—	—	100.0	—	59.4	68.9	27.8	17.5	14.6	(3.8)	(3.8)	64.1

\* The numbers in parenthesis indicate the numbers of active strains against only *B. subtilis*.

한후 약 10분간 정치하여 침전시킨후 상등액에서 1~2 백금이씩 分離培地인 asparagin-glucose agar 평판배지 상에 도달하여 28°C에 4일간 배양한후 *Streptomyces* 屬 菌을 임의로 선택하여 항균력검사에 사용하였으며 colony의 형태를 보아서 Bergey's Manual of Determinative Bacteriology의 기술과 일치하는 colony만을 시험하였으며 colony의 성상이 相異한 것은 各各 따로 검사하였으며 同一 colony도 2~3개씩 취하여 시험에 사용하였다.

#### 抗菌力の 검사

抗菌作用의 有無는 Waksman(1950)이 기술한 方法과 같이 agar cross streak method에 의하여 分離한 *Streptomyces*의 colony를 glucose agar 평판배지상에 약 1cm 정도의 두께로 도달하여 28°C에서 4일간 배양하고 test organism을 broth medium에 18~24시간 배양한 것을 1白金耳씩 *Streptomyces* 측면에 교차로 劃線塗抹하여 37°C에 1~2일간 배양하였으며 抗菌力の 정도는 test organism의 발육저지대의 길이를 측정하여 판단하였으며 發育阻止帶의 길이를 mm로 표시하였다.

### 實驗結果

#### 抗菌性 *Streptomyces* 屬菌의 分布

전남영광지방을 중심으로한 各地方으로 부터 채취한 토양은 Table I에서 보는바와같이 주춧가 주변에서 51例를 비롯한 여러곳의 장소로부터 336例이었으며, *Streptomyces* 屬菌 1464株 分離하였고 그중 抗菌作用이 있는 菌株는 636株로서 抗菌性菌株의 分離율은 43.4%였다.

항균성균주의 재료별 분리율을 보면 모래밭에서 얻은 재료중에서의 분리율이 86.4%로 가장 높고 논과 밭에서 각각 57.1%, 54.5%로 다음을 차지하는 분리율이었으며 언덕에서 42.7%이고 주춧가 주변에서 29.2%로 가장 낮았다.

*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* 및 *Pseudomonas aeruginosa*에 대한 항균성 방사선 상균의 分布를 보면 *B. subtilis*에 항균성인 균주가 438株, 29.9%(68.9%)[분리균주에 대한 %(항균성 균주에 대한 %)]로 가장 많고 *S. aureus*에 대한 항균성 *Streptomyces*는 378株, 25.8%(59.4%)이고 *E. coli* 및 *P. aeruginosa*에서는 각각 111株, 7.6%(17.5%) 및 93株 6.3%(14.6%)로서 gram 양성균에 대한 항균성 *Streptomyces*가 gram음성균에서 보다 훨씬 많았다.

그리고 *S. aureus*와 *B. subtilis*에 共に 抗菌性인 *Stre-*

*ptomyces*가 177株, 12.1%(27.8%)이고 *E. coli*와 *P. aeruginosa*에 共に 抗菌性인 菌株는 24株, 1.6%(3.8%) 뿐이었으며 전시험균주에 항균성인 *Streptomyces* 屬 菌株는 24株, 1.6%(3.8%) 뿐이었다.

抗菌性 *Streptomyces*의 材料別 分布를 보면 test organism 전부에 항균성인 *Streptomyces*는 논과 도로에서 얻은 재료에서만 各各 12株이었으며 *S. aureus*와 *B. subtilis* 즉 gram 양성균에 항균성인 *Streptomyces*는 도로변과 밭에서 각각 54株와 36株로 제일 많았고 주춧가 및 논과 모래밭에서 24株씩이고 언덕에서는 1株도 分離되지 않았다.

*E. coli*와 *P. aeruginosa*에 共に 抗菌性인 *Streptomyces*는 논과 도로변에서 각각 12株씩 分離되었을 뿐 다른 재료에서는 분리되지 않았다.

각각의 test organism別로 보면은 *S. aureus*의 경우에 길에서 177株로 가장 많고, 그 다음이 밭에서 72株이며 언덕에서는 分離株가 없었다.

*B. subtilis*의 경우는 도로변과 언덕 및 주춧가 주변에서 각각 105, 87 및 71株로 가장 많고, 선착장에서 15株로 가장 적었다.

*E. coli*의 경우는 잔디밭과 도로변에서 각각 30株, 27株로 가장 많고 밭에서 3株, 언덕에서는 분리주가 없었다.

*P. aeruginosa*의 경우는 93株가 항균성이 있었고 밭, 논, 도로변, 모래밭의 순서로 33, 24, 21, 12株이었으며 주춧가 주변 잔디밭(풀밭), 선착장의 재료에서는 항균성 균주가 분리되지 않았다.

이와같이 test organism 전부에 항균력이 있는 *Streptomyces* 屬 菌株는 24株를 分離할 수가 있었으며 gram 음성균에 항균력이 있는 菌株가 gram 양성균에 항균력이 있는 *Streptomyces* 菌株보다 훨씬 적었다.

분리된 *Streptomyces* 屬 菌株 전체중 glucose agar 평판 배지상에서 test organism의 발육저지대의 길이가 10mm 이상인 張抗菌性菌株는 408株로 전체 分離菌株 1464株에 對한 27.9%이었고, 항균성 菌株636株에 대해서는 64.1%의 비율을 나타냈다.

각재료별로 볼것 같으면 도로변에서 105株로 제일 많고 그 다음이 언덕의 87株, 밭의 72株이고 모래밭, 주춧가가 각각 42株, 29株이며 논과 잔디밭(풀밭)이 각각 33, 30株이고 선착장에서는 강력한 항균성 균주가 분리되지 않았다.

이들 强抗菌性 *Streptomyces* 屬 菌株중 언덕에서의 87株는 모두 *B. subtilis*에만 항균성을 나타내었으며 길과 주춧가주변에서 분리한 各 12株도 모두 같았다.

**Table II.** The antibacterial spectra of several *Streptomyces* strains, strongly active against the tested microorganisms.

Strain	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>Sal. typhi</i>	<i>Shig. flexneri</i>	<i>P. aeruginosa</i> 5.	<i>P. aeruginosa</i> ATCC, 25619	No. of Strains
S-57*	—	26**	—	—	—	—	—	72
S-105	14	12	—	—	—	—	—	18
S-171	17	12	—	—	—	—	—	18
S-78	—	—	24	23	—	—	—	9
S-29	—	11	—	12	12	—	—	9
S-23	8	6	7	22	25	—	—	3
S-7	33	27	20	11	11	9	2	3
S-251	20	19	18	22	18	—	6	3
S-303	19	14	15	19	15	—	7	6
S-230	43	23	14	16	13	—	5	3
S-297	48	29	20	26	27	10	7	6
S-156	10	21	—	10	14	—	13	3
S-39	23	—	4	12	4	—	—	57
S-327	17	25	11	11	10	—	—	15

\*: S-number indicates the number of strongly active isolated strains.

\*\* : Length of inhibitory zone in diameters (mm).

**强抗菌性 *Streptomyces* 株의 抗菌 스펙트럼**

强抗菌性 *Streptomyces*의 항균 스펙트럼을 보면 Table II와 같이 S-57은 *B. subtilis*에만 항균성을 나타내고 S-105와 S-171은 *S. aureus*와 *B. subtilis*등 gram 양성 균에만, S-78은 *E. coli*와 *Sal. typhi*에는 항균성을 나타내나 *Shig. flexneri*와 *P. aeruginosa*에는 항균성이 없었으며 S-7, S-230, 및 S-297은 매우 强抗菌作用을 가질뿐 아니라 test organism 전부에 항균성을 가지는 broad spectrum의 항균작용이 있었다.

***P. aeruginosa*에 對한 抗菌性 *Streptomyces*의 分布**

Table I에서 보는 바와같이 *Streptomyces* 93株 6.3% (14.6%)가 *P. aeruginosa*에 항균작용이 있었으며, 발에서 33株로 제일 많이 分離되었고 논, 도로변, 모래밭의 순서로 각각 24, 21, 12株씩이고 주택가 주변, 잔디밭(골밭), 선착장에서는 分離되지 않았으며 논과 도로변에서 分離한 菌株로서 *P. aeruginosa*에 抗菌性 *Streptomyces*는 test organism 모두에 항균작용을 가지는 것이 대부분이었다.

**考 察**

최근에와서 *P. aeruginosa*에 관한 많은 연구발표가 있으며 특히 치료법에 있어서는 각국에서 새로운 항생 물질을 제조하여 임상실험에 사용하고 있어 좋은 결과를 얻고 있다.

*P. aeruginosa* 감염증치료에 있어서 polymyxin B에 polysorbate 80을 병용하므로서 상승작용을 한다하며 (Brown, 1968) carbenicillin, 및 gentamicin 등을 사용하여 좋은 효과를 얻고 있다고 한다.

또한 *in vitro*에서는 *Bacillus polymyxa* var. *colistinus*에서 얻은 colistin도 항균작용을 나타낸다고 한다.

*Streptomyces* 屬菌中 抗生物質 產生菌株의 分布에 관한 보고는 全(1956)을 비롯 文(1963)등 및 Routien 등 (1961)이 있고 金(1968)은 whagmamycin이란 이름을 붙여 항균성 및 그 성상에 관해 보고하였다. 그러나 모두 *P. aeruginosa*에 對한 항균성 *Streptomyces*의 分布에 관해서는 실험한바가 없는 것으로 안다.

소는 광범위 항생물질을 生産할 수 있는 *Streptomyces*가 토양중에 많이 存在할 것이라고 고찰한바가 있으며 저자의 성적에 의하면 비록 적은 숫자이나 발육

저지대의 길이가 48mm나 되는 강력한 *Streptomyces*와 gram 음, 양성균 모두에 抗菌性을 가진 菌株를 分離할 수 있었다. 이는 *P. aeruginosa*에 抗菌性이 있는 광범위 항생물질을 생산하는 菌株를 얻을 수 있음을 의미하여 매우 흥미있는 일이라고 생각된다.

재료별 *Streptomyces*의 分布에서 stream bed나 논에서는 *Streptomyces*가 성장하는데 필요한 영양소가 물의 흐름에 따라 적어지므로 많이 존재하지 않는다고 하므로 저자는 stream bed는 생략하고 논에서 채취하여 실험하였든바 밭이나 잔디밭 등과 같이 좋은 분리율을 나타내었으며 畵, Waksman(1942) 등, Dubose(1939)의 기술과는 다른 성적이었다.

또 *Streptomyces* 屬菌의 분류를 내성균이나 각종 test organism에 對한 *Streptomyces*의 항균 스펙트럼이나 항균물질의 스펙트럼에 의해 가능하다고 하나 항균력이 약한균은 곤란하다하며 본실험에서는 *P. aeruginosa*에 항균력이 있는 *Streptomyces*를 우선 分離함을 목적으로 하였으므로 분류는 시도 하지는 않았다.

抗菌力과 재료채취장소와의 상관성이 있는것 같이 생각되는데 사람의 왕래가 없는 언덕에서는 narrow spectrum antibiotic *Streptomyces*가 分離되고 사람의 왕래가 많은 도로변에서는 broad spectrum antibiotic *Streptomyces*가 分離되는 사실은 흥미있는 일이며 어떤인자가 스펙트럼에 영향을 미치는 지는 알 수가 없으며 더욱 많은 재료를 채취하여 실험해보아야 될 것이라고 생각된다.

分離 *Streptomyces* S-297과 S-230, S-7株 등은 발육 저지대의 길이가 48mm나 되는 強力한 抗菌作用이 있고 또 test organism 전부에 대해서도 抗菌力이 강하므로 광범위 항생물질을 生産할 수 있는 菌株로 생각되어지며 더욱 많은 재료와 더욱 많은 test organism에 대해 실험을 해보면 새로운 강력한 抗生物質을 產生하는 菌株의 分離가 가능할 것같은 생각이 되어진다.

## 結 論

전라남도 영광군 해안지방을 중심으로해서 각지방에서 채취한 토양재료중의 항균성 *Streptomyces*의 分布 및 *P. aeruginosa*를 비롯한 몇가지 시험균주에 대한 항균력 검사를 하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 336예의 토양재료에서 1464株의 *Streptomyces*를 分離하였고 그중 항균성 *Streptomyces*가 636株로 43.4% 이었고 그중 강항균성 *Streptomyces*屬 菌株는 408株로 27.9%이었다.

2. *Pseudomonas aeruginosa*에 항균력이 있는 *Streptomyces*는 93株이고 그중 *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* 및 *Shigella flexneri* 등 진시형 균주에도 항균력을 가지는 菌株는 24株이었다.

3. *Pseudomonas aeruginosa*에 항균성 *Streptomyces*는 밭, 논, 모래밭 및 도로변에서 分離되고 주택가 주변 잔디밭 및 선착장에서는 분리되지 않았다.

## 감사의 말씀

本研究는 1980年度 文敎部 學術研究助成費에 의해 이루어진 것이며 이에 대하여 당국에 깊이 감사하는 바이다.

한편 세균분양을 해주신 국립보건원 미생물부 조민기 과장님께 심심한 감사의 말씀을 올린다.

## References

- Bergan, T. (1968): *Acta Path. Microbiol. Scand*, 72: 401.
- Breed, R.S., Murrage, E.G.D., and Smith, N.R. (1957): *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 7th ed. Baltimore, The Williams and Wilkins Co.
- Brown, M.R., et al. (1968): *J. Gen. Microbiol*, 50: 90.
- Chun, D. (1956): *Antibiotic Ag. Chemother.*, 6:324.
- Donomae, I., et al. (1967): *J. Antibiot.* 20:175.
- Dubos, R.L.: (1939): *J. Exp. Med.* 70:1.
- Fajardo, C.L. and Carborde, H.F. (1968): *J. Bact.* 95, 1968.
- Jedlickova, Z., et al. (1968): *Arzneimittel Forschung*, 18:202.
- Kim, T.: (1968): *J.K.M.A.*, 11:141.
- Matsumoto, H., et al. (1968): *Jap. J. Microbiol.*, 12:111.
- Moon, Yong-suk, Park, Uh-sun and Kim, Yee-sang (1963): *Korean Choong-ang Med. J.*, 4:351.
- Rolinson, G.N., et al. (1967): *Antibiotic Ag. Chemother.*, 7:609.
- Routien, J.B. and Finlay, A.C. (1952): *Bact. Rev.* 16:51.
- Routien, J.B. (1961): *J. Bact.*, 81:218.

- Schatz, A., Bugic, E., and Waksman, S.A. (1944):  
*Proc. Soc. Exp. Biol and Med.* 55:66.  
Mass., Chronica Co.
- Waksman, S.A. (1950): *The Actinomycetes*. Waltham,  
Waksman, S.A. and Lechevalier, H.A. (1951): *Antib.*  
*and Chemo*, 1:125.
- Waksman, S.A. and Starkey, R.L.: *The Soil and  
Microbe*. New York, John Wiley and Sons.
- Waksman, S.A., Horning, E.S. Welsch, M., and  
Woodruff, H.B. (1942): *Soil Sci.*, 54:281.

<Received August 10, 1981>