

가축 및 하천에서 분리한 대장균의 항균제내성

정규선·이연태·표석연

숙명여자대학교 제약학과, 단국대학교 의예과

(Received December 5, 1988)

Isolation and Resistance Patterns of *E. coli* from Domestic Animals and Drainage in 1987

Kyu-Sun Chung, Yeon-Tae Lee, Seog-Youn Pio

College of Pharmacy Sookmyong Women's University, College of Medicine Dankook University

Abstract—One hundred and sixteen strains of *E. coli* isolated from drainage in Seoul city in 1987 and 104 strains of *E. coli* isolated from stools of domestic animals in suburb of Seoul in 1987 were examined for susceptibilities to 10 antimicrobial agents by the agar dilution method. The susceptibilities of the two groups to each antimicrobial agent were compared and correlations in the antimicrobial susceptibility of the 220 strains of *E. coli* among the 10 antimicrobial agents were also analyzed. The frequency of resistance strains was highest to tetracycline with 77 %, and followed by chloramphenicol, streptomycin, ampicillin, kanamycin and cephalosporin in the decreasing order, ranging from 62% to 10%. Strains resistant to tobramycin, nalidixic acid, gentamicin and amikacin occupied 3 strains, 2 strains, 2 strains and 1 strain respectively.

Keywords □ *E. coli*, domestic animals, resistance, agar dilution method, tetracycline, chloramphenicol, streptomycin, ampicillin, kanamycin, cephalosporin, tobramycin, nalidixic acid, gentamicin, amikacin

항균제는 병원에서 가장 많이 사용되는 약품이며 모든 약품의 약 40%를 차지하는 귀중한 치료제이다. 이들은 항균력, 체내에서의 상태, 항균 스펙트럼 및 작용기전이 각기 다르며 다양하게 나타나서 세균의 증식을 억제시킬 뿐만 아니라 약제내성도 다양하여 늘 치료에 난제를 제기시키고 있다. 이와같은 항균제가 개발되어 세균성 질환이 치료 가능하게 되었을 뿐만 아니라 나아가서 임상에서 무절제하게 남용되어 많은 다약제 내성균이 출현하게 되었음은 주지의 사실이다.¹⁻³⁾

그래서 환자치료에 필요한 새로운 항균제 개발을 서두르게 되었고 항균제내성 기전에 관해서 연구하게 되었다. 그리고 이와같은 내성균에 대한 문제는 장내 내성균 질환을 유발시키는 각종의 병원성 장내 세균에서도 예외는 아니었다. *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella* 및 *Vibrio* 균종과 같은 병원성 장내 세균들이 점차 다약제내성 패턴을 보이는 경향은 치료를 어렵게 함으로 이들의 내성 전달방법, 전파 및

그에 따른 새로운 치료제의 필요성이 요구되어 연구해 가는 경향이 늘어가고 있는 실정이다.⁴⁻⁸⁾

특히 대장균은 장내 세균과에 속하는 균으로 인체, 동물 및 하수와 같은 자연환경에 널리 분포되어 서식하고 있으며 항원의 특성에 따라서 병원성 및 비병원성으로 구분되고 있다. 이와같은 대장균은 통상 인체에 비병원성이나 유이에 감염되어 하절기에 심한 설사증을 유발하는 경우가 허다하다. 또 어떤 경로로 장을 이탈하여 생체 각종의 조직에 침투하게 되면 다양한 질환이 유도되기도 한다. 그래서 치료 목적으로 항균제를 투여하게 되는데 정확한 감수성 검사를 실시한 후 항생물질을 투여하여 완치시켜야 할 것을 마구 항균제를 구입하여 사용하므로 내성 전달물질을 획득하여 동물체 및 자연계에서 접합을 통해 약제내성을 획득하게 된다.

따라서 본 연구는 가축 및 하천으로부터 대장균을 분리하여 약제내성의 성상을 파악하여 그 특성을 알아 본 실험으로서 앞으로 환자를 치료하는데 참고하

고자 시도되었다.

실험방법

1. 검사물 채취

하천—1987년 3월부터 동년 4월 사이에 서울시내 열개 하천(불광천, 안양천, 도림천, 탄천, 성내천, 정릉천, 석관천, 홍제천, 사당천 및 신림천)에서 멸균된 Pipett을 사용해서 각 하수 1ml씩 채수하여 1% Pepton수 9ml에 가하여 실험실로 운반해서 37°C에서 18시간 배양하였다.

가축—서울시내 및 근교의 도살장과 양계장에서 가축의 배설물을 멸균된 면봉으로 도찰하여 1% Pepton수 5ml에 첨가시킨 후 실험실로 가져와서 37°C에서 18시간 배양하였다.

2. 균 분리

중균배양한 검사물을 MacConkey (Difco) 한천 평판배지에 도말하여 37°C에서 18시간 배양하였다. 그후 당을 분해시킨 전형적인 대장균 집락을 주의깊게 관찰하여 분리하였다. 이것을 TSI 사면배지에 식균하여 확인하였고, IMViC 시험 및 기타 당 분해시험을 통해서 확인하였다. 한편 대장균 표준균주 (ATCC 25922)를 구입해서 병행하였다.

3. 항균제 감수성 시험

항균제—총 10제의 항균제 (Amikacin : Am, Ampicillin : Ap, Cephalosporin : Cf, Chloramphenicol : Cm, Gentamicin : Gm, Kanamycin : Km, Nalidixic acid : Na, Streptomycin : Sm, Tabramycin : Tm, Tetracyclin : Tc)로서 국립보건연구원에서 분양받아 사용하였다.

배지—중균배지로써 Brain-Heart Infusion (BHI)에 실험용 균을 일정하게 식균하여 18시간 배양하여 실험에 사용하였다. 한편 농도별로 희석한 항균제를 포함한 Müller-Hinton (MH) 한천 평판 배지를 제조하였고 그 배지는 항균제의 활성을 고려해서 24시간 이내에 사용하여 Minimum Inhibitory Concentration (MIC)를 측정하였다.

MIC 측정—분리된 각 *E. coli*를 BHI 중균배지에 18시간 배양하여 항균제가 포함된 농도별 MH 한천 평판배지에 직경 0.2mm되는 규격의 loop를 사용하여 일정량을 접종하였다. 이것을 37°C의 항온

기에서 18시간 배양하였다. MH 한천 평판배지에서 배양시킨 평판을 관찰하여 균의 집락이 없는 것과 증식된 것을 표시하였고 저항성 표현은 Lenette (1985)의 표시범위에 따라 판정하였다.

실험결과 및 고찰

1. 균 분리

가축—독산동 도살장과 서울근교 도견장 및 양계장에서 총 200개의 검사물을 수집하여 *E. coli* 104주를 분리하였다.

하수—서울시내 10개 준용 하천수에서 채취한 검체 200개에서 대장균 116주를 분리하였다.

2. 약제내성 빈도

분리된 균주들의 약제별 내성 빈도는 Table I과 같이 Tc가 77%로 가장 높고, Cm(62%), Sm(42%), Ap(39%), Km(20%), Cf(10%)의 순으로 낮아지며 기타 약제에 내성인 균은 각각 3주, 2주, 2주 및 1주 뿐이었다. 가축 유래균과 하천 유래균의 약제내성 빈도를 비교하여 보면 Tc, Ap, Km 및 Cf의 4제에 대한 내성 빈도는 하천 유래균에서 상당히 높았으나 Cm 및 Sm에서는 별 차이가 없었고 기타 약제에 대해서는 내성 빈도가 적어서 비교할 수 없었다.

항균제가 임상가에서 환자치료에 지대한 역할을 해 왔음은 주지의 사실이나 내성균의 출현으로 말미암아 새로운 국면으로 남게되어 연구의 대상이 되었다. 이와같은 문제는 이질균에서 접합에 의한 전달

Table I—Isolation frequency of drug-resistant *E. coli*

Drug	Strains (%) from		
	Domestic Animals	Drainage	Total
Tc	71(68)	99(86)	170(77)
Cm	62(60)	75(65)	137(62)
Sm	50(48)	42(43)	92(42)
Ap	34(29)	52(45)	86(39)
Km	15(13)	28(24)	43(20)
Cf	2(2)	19(16)	21(10)
Na	2(2)	0	2(0.9)
Tm	0	3(3)	3(1.4)
Gm	0	2(2)	2(0.9)
Ak	0	1(1)	1(0.5)

성 R-Plasmid가 내성을 전달하는 기전을 알게됨으로서 문제의 해결을 위해서 계속 그 기전을 연구하게 되었다.^{7,14)}

특히 대장균은 장내 세균과에 속하는 세균으로서 이것의 R-Plasmid는 생체 및 자연계에서 이질균과 접합을 통해서 약제내성 인자를 전달한다.⁷⁾

이런면울 감압하여 일정한 기간에 있어 대장균의 약제내성의 평가는 대장균을 포함해서 병원성 장내 세균에 대한 항균제 감수성을 평가해서 환자치료에 이용할 수가 있다.

따라서 이와같은 몇몇의 보고를 보면 이광호 등(1980)⁹⁾은 병원환자와 무의촌지역 주민에서 분리한 대장균에 대한 약제내성은 병원환자에서 분리한 대장균의 약제내성이 크다고 하였다. 한편 유병옥 등(1983)⁶⁾의 보고에 따르면 하천에서 분리한 대장균의 약제 내성도는 Tc 내성이 47.5%로 가장 높게 나타났고 기타는 Su, Sm, Ap, Cb, Cm의 순위였다. 그리고 지역별 돈사 유래균이 Tc, Sm 및 Su

의 약제에 높은 내성을 보였고 마을 하수가 유입되는 지역에서 분리한 대장균이 다양한 내성상을 보였다. 또 이연태·박경관(1983)³⁾이 보고한 바에 따르면 인체에서 분리한 균이 하천에서 분리한 대장균보다 항균제내성이 높았고 다제내성 또한 높고 다양하게 나타남을 알 수 있었다. 이용수 등(1987)¹⁰⁾은 노로감염을 일으키는 인체에서 분리된 64주의 대장균에 대하여 약제내성을 관찰한 바 Ap, Cb, Pi, Km, Tc 등의 약제에 높은 내성을 확인하였다.

본 연구에서는 위의 보고자들과 다소 차이는 있으나 하천에서 분리한 대장균이 가축에서 분리한 대장균보다 높은 약제내성을 가지고 있었음을 알 수 있었다.

3. 가축 및 하천 유래균의 MIC 분포

가축 및 하천에서 분리한 대장균에 대한 MIC 분포는 Table II와 같다. 즉 대체적인 경향을 보면 각 약제의 농도별 MIC의 분포가 고르지 않고, 약제에 따라 MIC가 어떤 농도를 중심으로 집중되는

Table II—Susceptibility patterns of *E. coli* strains

Drug · Source		No. of strains inhibited at MIC(ug/ml)												
		512	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25
Tc	A	64	3	0	0	2	2	0	33					
	D	38	0	15	3	2	42	0	17					
Cm	A	33	3	26	0	0	10	32						
	D	24	2	38	11	0	24	17						
Sm	A	7	7	12	20	2	2	5	5	34	10			
	D	11	1	11	13	4	4	7	3	34	29			
Ap	A	16	3	1	1	4	5	74	0	0	0	0		
	D	28	4	14	5	2	0	6	11	23	22	2		
Km	A	14	0	0	0	0	0	2	30	51	7			
	D	18	0	10	0	0	0	0	1	75	13			
Cf	A	1	0	0	1	0	1	0	6	4	35	55	1	
	D	0	0	7	4	1	6	4	0	4	15	63	13	
Na	A					1	1	6	11	17	14			
	D					0	0	0	0	32	85			
Tm	A						0	0	0	6	42	55	1	
	D						1	1	1	1	16	94	3	
Gm	A					0	0	0	0	27	42	35	0	
	D					2	0	0	0	9	94	11	1	
Ak	A					0	0	1	12	65	25	1	0	
	D					1	0	0	0	12	41	58	5	

A: Domestic Animals D: Drainage

것을 알 수 있다. 감수성이 높은 균들은 낮은 1~3 단계의 MIC의, 내성균은 높은 몇단계의 MIC에 물려있다. 이러한 경향은 Tc, Cm, Sm, Ap 및 Km 에서 뚜렷이 나타나 감수성 균주와 내성 균주의 MIC에는 현저한 차이가 있고 중간단계의 MIC를 가진 균은 그 수가 적었다.

4. 약제내성 양상

동물 및 하천에서 분리한 균에 대한 약제내성 양상은 Fig. 1, 2와 같다. 즉 90%, 75%, 50%, 30% 및 10%의 균주의 발육을 억제하는 MIC를 비교한 바 Ap, Km 및 Cf에서 하수 유래균의 MIC가 가축 유래균보다 상당히 높았고 Tc, Cm과 Sm에서는 거의 비슷하였다. Na, Tm, Gm 및 Ak에서는 내성균이 적은 탓으로 위와같은 관계를 정하기가 어려웠다.

본 실험에서 Ap, Km 및 Cf에 대한 하천 유래균의 MIC 및 내성 빈도가 가축 유래균의 MIC와 내성 빈도보다 높은 것으로 나타나 하천 유래균과 가축 유래균 사이에 커다란 감수성의 차이가 있었다. 그리고 Tc, Cm과 Sm에서는 하천 유래균과 가축 유래균 모두 비슷한 정도의 MIC를 보였다. 그러나 Tc에서는 내성 빈도가 하수 유래균에서 가축 유래균보다 높게 나타나 두 균 사이에 감수성의 차이가 있었음을 알 수 있었다. Na, Tm, Gm 및 Ak에 대해서는 내성 균이 적은 탓으로 위와 같은 관계를 정하기가 어려웠다.

하천 유래균과 가축 유래균 사이의 약제내성 빈도도 Ap, Km 및 Cf의 3제에 대한 내성 빈도가 하천 유래균에서 높은 것으로 나타나 내성균 출현율에 있어서도 두 균 사이에 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다.

5. 다제내성 빈도

하수 및 동물로부터 분리한 대장균에 대한 다제내성 특성을 관찰한 바 Table III과 같다. 즉 하수 유래균이 77주(66.4%)였고, 가축 유래균이 66주(63.4%)로서 약간의 차이가 있었다. 또한 많은 약제에 내성인 균도 하수 유래균이 가축 유래균에 비하여 많았다. 즉 4제 이상에 내성인 것은 하수 유래균에서 42주(36%), 가축 유래균에서 30주(28.8%)로 4제 이상 내성균에서 큰 차이를 보임으로써 다약제 내성화 경향도 하수 유래균이 높다고 하겠다.

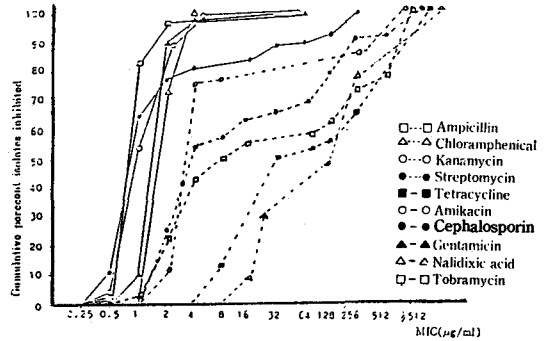


Fig. 1—Antimicrobial spectra of *E. coli* isolated from drainage.

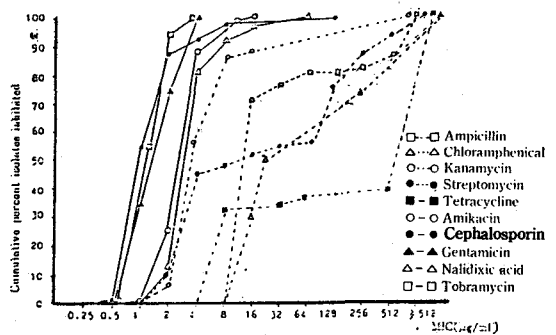


Fig. 2—Antimicrobial Spectra of *E. coli* isolated from domestic animals.

Mercer¹⁷⁾ 등은 항균제를 첨가한 사료를 먹인 가축 세균이 항균제에 대한 내성을 획득하는 기전에는 Transformation, Transduction 및 Conjugation 등의 방법이 있는 것으로 알려져 있으며^{15,16)} 이러한 방법을 통하여 형성된 내성 균주가 항균제의 반복적 사용으로 인하여 감수성이 높은 세균이 도래됨에 따라서 선택적으로 생존하여 증식, 전파하는 현상이 커다란 역할을 하고 있음이 지적되고 있다.¹⁵⁾ 과 항균제가 들어있지 않은 사료를 먹인 가축에서 *E. coli*를 분리하여 감수성 시험을 실시한 결과 항균제를 첨가한 사료를 먹인 가축에서 분리한 *E. coli*에 더 많은 내성 균주가 나타나며 다제내성 균주의 출현도 투여한 항균제의 내용과 양에 밀접한 관계를 가지고 증가한다고 보고한 바 있다.

따라서 본 실험에서 Tc, Ap, Km 및 Cf에 있어서 하천 유래균과 가축 유래균이 유의한 감수성의 차이를 나타낸 것은 하천 유래균과 가축 유래균이 각각의 항균제에 노출된 회수와 양에 차이가 있었기

Table III—Multiple drug resistance patterns of *E. coli*

No. of drugs	Domestic animals		Drainage		Total		
	Resistance pattern	No. of strains	Resistance pattern	No. of strains			
8		0	Ak Ap Cm Gm Km Sm Tc Tm	1(0.86)	1(0.45)		
7		0	Ap Cm Gm Km Sm Tc Tm	1(0.86)	1(0.45)		
6		0	Ap Cf Gm Km Sm Tc	6(5.2)	6(2.7)		
5	Ap Cm Km Sm Tc	4					
	Ap Cf Cm Na Tc	1	6(5.8)	Ap Cm Km Sm Tc	10(8.6)	16(7.3)	
	Ap Cf Cm Sm Tc	1					
4			Ap Cm Sm Tc	16			
	Ap Cm Sm Tc	14	Ap Cm Km Tc	4			
	Cm Km Sm Tc	8	24(23)	Cm Km Sm Tc	2	24(20.7)	48(21.8)
	Ap Cm Km Tc	2		Ap Cf Cm Tc	1		
				Ap Cm Km Tc	1		
3	Cm Sm Tc	17	Ap Cm Tc	10			
	Ap Cm Sm	1	19(18.2)	Cm Sm Tc	4	15(12.9)	34(15.5)
	Ap Cm Tc	1		Ap Cf Tc	1		
2			Cm Tc	14			
	Cm Tc	13					
	Sm Tc	3	17(16.3)	Sm Tc	4		
	Ap Cm	1		Ap Cm	1	20(17.2)	37(16.8)
1			Km Tc	1			
	Tc	7	9(8.7)	Tc	26		
	Sm	2		Cm	2	29(25)	38(17.3)
0		29(27.9)	Cf	1			
Total		66(63.4)		77(66.4)	143(65.0)		
Grand total		104(100)		116(100)	220(100)		

때문인 것으로 해석되며, 일부 다른 항균제에 의해 발생한 교차내성 및 감수성이 높은 균의 도태에 원인이 있을 것으로 추측된다. 비교적 최근에 개발되어 임상에 쓰여진 양이 적은 Gm, Na, Ak 및 Tm에서는 하천 유래균과 가축 유래균 모두에 내성균 출현율이 거의 없는 것은 그만큼 노출된 회수가 적었기 때문이라 사료된다.

결 론

1987년 3월부터 4월말까지 서울시내 주요 10개 하천 및 가축 사육장, 도살장에서 채취한 하수 및 가축의 변으로부터 분리한 전형적인 *E. coli* 총 220주를 10제의 항균제에 대해서 감수성 패턴을 알아보고자 항균제내성 검사를 실시하였다. 내성 검사

법은 MIC 회석법으로 하였고 사용한 배지는 Müller-Hinton 평판 한천배지를 사용하였으며, 시험결과는 다음과 같다.

1. 약제내성 빈도를 보면 tetracyclin에 대한 내성균이 77%로 가장 많았고, chloramphenicol 62%, streptomycin 42%, ampicillin 39%, kanamycin 20%, cephalosporin 10%의 순으로 낮아졌고 tobramycin, nalidixic acid, gentamicin 및 amikacin에 대한 내성균은 각각 3주, 2주, 2주 및 1주 뿐이었다.

2. 하수 유래균과 가축 유래균을 비교하여 보면 tetracyclin ampicillin, kanamycin 및 cephalosporin 내성은 하수 유래균에서 가축 유래균보다 상당히 많았으며 기타 항균제에 대한 내성균에서는 차이를 볼 수 없었다.

3. 내성균과 감수성균에 대한 각 항균제의 최소 발육저지 농도에는 큰 차이가 있었다.

4. 2제 이상의 항균제에 대한 내성인 균도 하수 유래균이 66.4%이고 가축 유래균이 63.4%로 하수 유래균에서 높게 나타났다.

문 헌

- 1) 정규선 : 세균의 약제 감수성에 관한 연구II, 약학회지 **2**, 55(1986).
 - 2) 정규선, 이연태, 김순분 : 환자 및 하수로부터 분리한 대장균의 약제내성에 관하여, 숙대 약학연구소 논문집 **4**, 53(1988).
 - 3) 이연태, 박경란 : 대장균 및 이질균의 전달성 R-Plasmid에 관한 연구, 감염, **15**, 77(1983).
 - 4) 정규선 : 한국 일부지역에서 분리된 *Salmonella* 균주의 약제 감수성에 관한 조사, 최신의학 **3**, 61(1976).
 - 5) 정태화, 이연태, 이명원 : 장티프스균 및 장내 세균의 R-Plasmid 내성 전달에 관한 연구, 국립보건보 **23**, 263(1986).
 - 6) 유병욱, 조동택, 설설용 : 상·하수 대장균의 최적 획수 및 항균제 내성, 대한화학요법학회지 **1**, 239(1983).
 - 7) 조동택 : 항균제 내성 기전, 대한화학요법학회지 **1**, 190(1983).
 - 8) 정희영 : 항생제 감성의 변화 추이, 감염, **18**, 1(1986).
 - 9) 이광호, 김익상, 신희섭, 차창용, 이승훈, 장우현 : 무의촌 균주 및 병원균주의 항균제내성 양상에 관한 연구, 대한미생물학회지 **15**, 19(1980).
 - 10) 이용수, 이상화, 김정완, 설성용, 조동택(1987) : 노분리 대장균의 병원성과 관계된 특성, 대한미생물학회지, **22**, 241(1987).
- Edwin, H.L.: Laboratory tests in Chemotherapy p. 446, manual of clinical microbiology 3rd ed. American Society for microbiology, Washington, D.C. (1980).
- 12) Linian, V.: Susceptibility of antibiotics in liquid media the characterization of plasmids that carry antibiotic resistance Seres p. 73 p. 433, Antibiotics in Laboratory Medicine, Williams & Wilkins Baltimore/London(1980).
 - 13) Lennette, E.H.: Manual of Clinical Microbiology,

Fourth ed. 195, 446, 959, 978. A.S.M.: Washington, D.C. (1985).

- 14) Watanabe, T. Ogata, C. and Sato, S. Episome mediated transfer of drug resistance in enterobacteriaceae, VIII, six drug resistance R-factor, *J. Bacteriol.*, **881**, 922 (1964).
- 15) Goodman, L.S. and Gilman, A.: Chemotherapy of Microbial Diseases, The Pharmacological Basis of Therapeutics, 4th ed., The Macmillan Co, New York (1970).
- 16) Wilson, G.S. and Milles, A.: Topley and Wilsons Principles of Bacteriology, Virology, and Immunity 6th ed, Edward (publinshers) Ltd, (1975).
- 17) Mercer, H.D. Pocurull, 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 Agents. *Appl. Microbiol.* **22**, 700 (1971).
- 18) Joklik, K.W. and Smith, T.D.: Zinsser Microbiology, 15th ed., Meredith Corporation, New York (1972).
- 19) Krantz, C.J., Jr. and Carr, C.: J. Pharmacologic Principles of Medical Practice, 7th ed., The Williams and Wilkins Company, Baltimore (1969).
- 20) Finland, M., Jones, W.F., Jr and Barnes, M.W.: Occurrence of serious bacterial infections since introduction of antibacterial agents. *J.A.M.A.*, **170**, 2188 (1959).
- 21) Finland, M.: Treatment of pneumonia and other serious infections. *New England J. Med.* **263**, 207 (1960).
- 22) Rogers, D.E.: The changing Pattern of lifethreatening microbial diseases. *New England J. Med.* **261**, 677 (1959).
- 23) Akiba, T.: Mechanism of development of resistances in *Shigella*, *Medicine in 1959, Proceedings of 15th General Meeting of the Japan Medical Association*, vol 5, p. 299 (1959).
- 24) Watanabe, T.: Infective heredity of multiple drug resistance in bacteria. *Bact. Rev.*, **27**, 87 (1963).
- 25) Edwards, P.R. and Ewing, W.H.: Identification of Enterobacteriaceae, 2nd ed., Burgess publishing Company, Minnesota (1962).
- 26) Ericsson, H.M. Land, J.C. Sherris: Antibiotic Sensitivity Testing. *Acta Pathol. Microbiol. Scandinav.*, Section B. Supplement No. 217 (1971).

- 27) Otake, H., Machihara, S., Yoshimura, M. and Yamamoto, M.: Sensitivity of staphylococcus aureus and *Escherichia coli* to Antibiotics. *Journall of Antibiotics*, 27, 696 (1974).
- 28) Vaccaro, H., Paredes, L. and Valenzuela, E.: Bacteriologic Study and Sensitivity of Three Hundred and Twenty-four Strains of Coliform Bacilli to Seven Antibiotics. *Antibiotics Annual*, 470 (1957).