

장내세균의 약제내성

제 1 보 대장균의 Nalidixic Acid 및 기타 항균제에 대한 내성

전남대학교 의과대학 세균학교실

河 大 有

—Abstract—

Resistance of Enterobacteriaceae to antibacterial drugs

I. Resistance of *Escherichia coli* to nalidixic acid and six other antibacterial agents.

Tai-You Ha, M. D.

*Dept. of Bacteriology, Chonnam University Medical School
Kwangju, Korea*

Nalidixic acid and six other drugs were studied for in vitro effectiveness against 200 strains of *Escherichia coli* isolated recently from healthy persons and bactericidal activity of ampicillin against one respective strain of *Escherichia coli* and *Salmonella typhi* isolated were also studied.

The results obtained by the plate dilution method showed the following percentage of resistance: kanamycin, 2.5%; streptomycin, 12.0%; ampicillin, 13.5%; tetracyclin, 15.5%; chloramphenicol, 17.5%; colistin sulfate, 19.5%. No strains were resistant to nalidixic acid, clearly indicating that nalidixic acid is the most effective drug tested.

Ampicillin, measured by test-tube dilution method, was highly bactericidal against *Salmonella typhi* at the concentration of 2.5 mcg/ml and against *Escherichia coli* at 5 mcg/ml.

서 론

대장균은 장내상주균의 하나이지만 병원성관련대장균은 위장염, 영아설사증(infantile diarrhea) 또는 식중독의 원인이 되거나 상주하고 있는 장관 밖으로 나오면 간농양, 복막염, 뇌막염, 부비강염, 난관염, 뇨도염, 신우신장염 등의 원인이 되기도 한다¹⁻³⁾. 최근에 Gram 음성감염증의 증가⁴⁻⁶⁾, 항생제내성대장균의 출현^{4, 5, 9)} 및 일종의 episome 인 약제내성전달인자(R 인자)¹²⁾의 증대에 의해서 항생제내성 대장균으로부터 감수성대장균 또는 병원성대장균에 약제내성이 감염적으로 전달됨¹¹⁻¹³⁾이 보고 되어 세균유전학 및 치료면에서 대장균은 주목을 받게 되고 이에 관한 연구가 활발하다.

세균감염증을 가장 효과적으로 치료하는데는 병소에

서 분리한 균주에 대하여 항생제내성검사를 실시하여 그 결과에 따라 적합한 약제를 선택·투여함이 좋겠지 만 어떠한 불가피한 사정으로 검사를 하지 못 하는 경우의 약제선택에 대비하고 또한 연차적 내성상황을 알기 위하여 분리균주의 항생제내성빈도를 조사하는 것도 의의가 있을 것이다.

저자는 건강인의 대변으로부터 200 주의 대장균을 분리하여 항생제내성검사를 실시하였든 바 그 결과를 보고 코쳐한다.

실험재료 및 방법

검사대상: 1969년 7월부터 1970년 4월까지 전라남도내 건강한 중·고·대학생과 주민 총 200 명의 대변에서 각란주를 분리하였다.

균주의 분리동정: Edwards¹⁶⁾ 등의 기술한 방법에 준하였다. 즉 완두콩크기의 대변을 채변하여 그 일부를 McConkey 평판배지에 37°C 일주야 배양한 후 나타난 적색집락을 순수배양하여 당분해시험, gas 산생여부, INVIC 시험, 운동성, urease 산생능, 및 KCN 배지상의 발육여부등을 검사하여 동정하였다.

배지: 항생제내성검사용배지로써는, 보통액체배지 및 보통평판천배지(pH. 7.2)를 사용하였다.

항균제내성검사: 항생제내성검사는, ampicillin(AP)의 대장균 및 장티브스균에 대한 살균력검사(시험관회석법)을 제외하고는 한천평판회석법에 의해 실시하였다.

즉 보통한천배지에 하기 항생제를 첨가하여 사용하였다. 그 농도는 streptomycin(SM, Squibb Institute), 10 mcg/ml; ampicillin(sodium salt, Beecham), 10 mg/ml; tetracycline hydrochloride(TC, Lederle Lab), 30 mcg/ml; kanamycin (KM, 동아제약), 10 mcg/ml; chloramphenicol(CP, 종근당제약), 30 mcg/ml; colistin sulfate(CN, 한일약품), 900 I.U./ml, 및 nalidixic acid (NA, Sterling-Winthrop Lab), 50 mcg/ml 등이었다. 판정은 계대배양하면서 보관한 균주를 다시 하루 간격으로 두번, 계대배양한 대수증식기의 균주를 상기한 각 항균제감수성검사용배지에 접종하여 37°C에 약 48시간 배양한 다음 번식 유무를 관찰하여 번식하면 내성, 그렇지 않으면 감수성으로 하였다.

AP의 살균력검사: 시험관회석법에 의해 본교실에서 분리한 대장균(본교실균주번호 E 125) 및 장티브스균(균주번호 S-8) 각 한주에 대해서만 실험하였다. 즉 각균주를 일주야 액체배지에, 배양한 다음 이를 여러가지농도(제1도 참조) AP를 첨가한 멸균 보통 액체배지에 접종하고 37°C에 배양하면서 4, 8, 16, 및 24시간후의 생존균수를 BTB-유당배지를 사용하여 평판 중층배양에 의해 계산하였다. 생존균수는 같은 실험을 3번 반복하여 그 평균치로 하였다.

실험성적

항균제내성상태: 분리균주의 항균제에 대한 내성검사상적은 제1표와 같이 7종의 약제에 대하여 78%가 감수성이고 22%가 내성으로 감수성주가 내성주보다 많았다.

분리균주의 각항균제에 대한 내성검사상적을 보면 제1표와 같이 CN에 대하여는 19.5%가 내성이었고 CP에는 17.5%, TC에는 15.5%, AP에는 13.5%, SM에는 12%, 그리고 KM에는 2.5%가 내성이었으며 NA에 대한 내성주는 단 한주도 없었다.

Table 1. Antibiotic resistance of 200 strains of *Escherichia coli* isolated from healthy persons(plate-dilution method)

Drugs*	Sensitive strains		Resistant strains	
	No.	%	No.	%
SM	176	88.0	24	12.0
TC	169	84.5	31	15.5
AP	173	86.5	27	13.5
KM	195	97.5	5	2.5
CP	165	82.5	35	17.5
CN	161	80.5	39	19.5
NA	200	100.0	0	0
Total	156**	78	44**	22

* Abbreviations used: SM, streptomycin; TC, tetracycline; AP, ampicillin; KM, kanamycin; CP, chloramphenicol; CN, colistin sulfate; NA, nalidixic acid.

** Total of strains, sensitive or resistant, is less than the sum of sensitive or resistant strains, because many isolates were multiply sensitive or resistant.

AP의 대장균 및 장티브스균에 대한 살균력 비교: AP가 대장균을 어느정도 억제하는가를 보고서 장티브스균과 비교하여, 여러가지 농도에서 실험하였다. 그

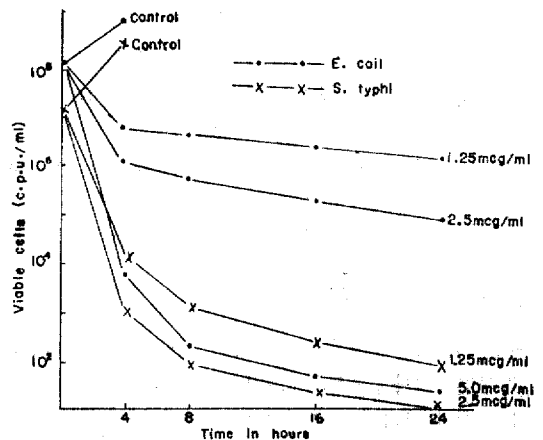


Fig. 1. Bactericidal activity of ampicillin against *Escherichia coli* and *Salmonella typhi*

결과는 제1도와 같이 8~16시간에내에 대장균은 5 mcg/ml 농도에, 장티브스균은 2.5 mcg/ml 농도에 각각 거의 대부분의 번식이 억제되었다. 장티브스균은 2.5 mcg/ml 농도에서 24시간에는 전연 검출되지 않았으며 저농도(1.25 mcg/ml)에 있어서도 비교적 살균력이 현저하였다.

고 안

본실험에서 풍시한 7종의 항균제에 대한 평균내성율은 22%이었는데 Mitsuhashi 등⁵⁾의 84.2%, Moorhouse¹¹⁾의 81%, Datta⁴⁾의 52%, Smith¹³⁾의 42.6%, Gunter¹⁴⁾의 38.1%, 및 Cooke¹⁹⁾의 37%란 그것보다 낮았으나 Mitsuhashi 등⁵⁾의 1.3% 또는 1.4% 및 Gunter¹⁴⁾의 4% 보다는 높았으며 Lewis¹⁶⁾의 24% · 강¹⁷⁾의 26.7%와는 비등하였다. 위에서 열거한 바 내성율이 본 실험의 그것보다 높다고 보고한 성적^{4), 5), 11), 13), 14), 19)}은 그 실험대상이 환자로부터 유래한 임상재료이며 Gunter¹⁴⁾의 보고에서 환자로부터 분리한 균의 내성율은 38.1%이나 건강인에서 분리한 균의 그것은 4%란 점과 본 실험대상은 건강인이었다는 점을 감안하면, 오히려 본실험에서의 내성율은 위에서 열거한 그들^{4), 5), 11), 13), 14), 19)}의 것보다 높다고 생각되었다. 뿐만 아니라 Moorhouse¹¹⁾가 지적하였듯이 내성균을 분리하는데 있어 선택방법이 내성율에 큰 영향을 미치리라고 생각되었다.

각약제에 대한 약제내성검사결과는 제 1 표에서와 같이 NA 및 KM에 내성주가 가장 소수이고 특히 전자에 대한 내성주는 단 한주도 없었는데, NA는 Leshner 등²⁰⁾이 처음으로 합성할 항균제로서 sulfonamide, nitrofurans 또는 항생제가 아닌 화학적 합성체인 naphthyridine 유도체(Neg Gram®, Winthrop Lab.)이며, 소변 또는 대변에서, 분리한 대장균의 NA에 대한 감수성율은, Barlow²¹⁾는 90%, Datta⁴⁾ 및 Moorhouse 등¹¹⁾은 100%, Ward-McQuaid 등¹⁸⁾은 87.2~93.5%, 강¹⁹⁾은 97.1%라고 보고하였다. 본 실험결과에 있어서는 Datta⁴⁾ 및 Moorhouse 등¹¹⁾이 보고한 100%란 감수성율과 일치하였으며 위의 다른 보고^{17), 21), 22)}와는 NA가 가장 감수성이란 점에서 일치하였다. Ward-McQuaid 등²²⁾ 및 Barlow²¹⁾ 등은 신부전(renal failure)으로 인한 중증환자에게도 안전하게 NA를 투여할 수 있다고 보고하면서 Gram 음성균에 의한 노로감염증의 치료에 이의 사용을 추천하고 있다.

KM에 대한 대장균의 내성율에 관하여는 Datta⁴⁾는 1%, Gunter 등¹⁴⁾은 7.8%, 강¹⁷⁾은 2.9%가 내성이었다고 보고하였는데 내성율 2.5%는 본 실험결과와 비등하였다.

CP는 우리나라에서 상당히 남용되고 있는 경향이어서 실험결과가 흥미있었는데 분리균주의 17.5%가 내성이었다. 이와 같은 결과는 8%⁴⁾ 또는 10%¹⁴⁾란 보고보다는 다소 높으나 강¹⁷⁾의 14.6% 및 Moorhouse 등¹¹⁾의 16%란 내성율과는 근사한 것이었다.

TC에 대한 내성율에 관한 보고는 34%⁴⁾, 60%¹¹⁾,

25.6%¹⁴⁾, 및 18.5%¹⁷⁾란 여러보고가 있는데 본실험에서의 15.5%란 성적은 위의 여러 보고보다 낮았다.

AP는 반합성페니실린(semi-synthetic penicillin)으로 대장균 뿐만아니라 장내병원성균등 Gram 음성간균에 대하여 살균적인 광역항생제이다²³⁾ Smith²⁴⁾는 항생제시대 이전 즉 1946년에 냉동건조하여 보관한 30주의 대장균중 단 한주가 AP에 내성이었다고 보고하였다. Rolinsen 등²⁵⁾은 분리한 대장균 341주가운데 277주(81%)의 AP에 대한 최소저지농도는 5mcg/ml 또는 그 이하였다고 보고하면서 대장균에 대한 AP의 최소저지농도는 장티브스균에 대한 그것보다 높으나 AP는 대장균에 대하여 매우 살균적이었다고 보고하였다. 이외에도, 대장균의 AP에 대한 내성율이 13.1%,¹⁷⁾ 17%⁴⁾, 18.8%¹⁴⁾, 33.3%¹⁰⁾, 및 47%⁹⁾라고 한 보고가 있다. 또한 Moorhouse 등¹¹⁾은 62%가 AP뿐만 아니라 SM과 TC에 내성이었다고 보고하면서 위에 열거한 내성율이 47% 이하란 여러 보고성적보다 그의 내성율이 높은 것은 가검물로부터의 내성균의 선택방법이 그들의 방법과 다르기 때문이라고 지적하였다. 본 실험결과에서 AP에 대한 내성율은 13.5%이었는데 항생제가 발견된 이전의 Smith²⁴⁾의 보고 보다는 훨씬 높고 강¹⁷⁾, Datta⁴⁾ 및 Gunter 등¹⁴⁾의 13.1~18.8%란 성적과는 거의 비등하였으며 Kennedy 등¹⁰⁾, Stewart 등⁹⁾ 및 Moorhouse¹¹⁾ 등의 33.3%~62% 보다는 저율이었다. 항균제에 대한 감수성 또는 내성율에 관하여는 보고자에 따라 종종 그 성적에 다소 차이가 있는 수가 있는데 이는 실험대상 및 여러가지 실험조건등이 다르기 때문에 오는 당연한 결과라 하겠다. Gunter 등¹⁴⁾도 환자와 건강인에서 분리한 대장균의 내성율은 큰 차이(감수성균이 환자에서는 61.9%, 건강인에서는 96%)가 있었다고 보고하고 검사 대상에 따라 내성율 또는 감수성율이 다르다는 점을 지적하였다. Rolinson 등²⁵⁾은 대부분의 대장균에 대한 AP의 최소저지농도가 5~8mcg/ml 또는 그 이하라고 하였으며 이에 반하여 Stewart 등⁹⁾은 5~50mcg/ml라고 하였다. 본 실험에서는 제 1 도에서와 같이 대장균은 AP의 농도 5mcg/ml에서 4시간내에 약 50%가 발육이 억제되고 24시간내에는 거의 균의 번식이 억제되었으며 장티브스균은 AP의 농도 2.5mcg/ml에서 4시간내에 약 60%, 24시간내에는 완전히 억제되었다. 그리고 각 분리균주에 대한 최소저지농도는 검사하지 않았으나 본실험결과는 AP의 대장균에 대한 살균력이 있음을 증명하는 것이라고 사료되었다. 뿐만 아니라 위에서 인용한 비교적 많은 문헌과 본 실험결과로 미루어, 대장균은 원래는 AP에 감수성이었으나 항생제의 사용으로 균의 항생제에 대한 적응 또는 유전학적기전에 의해서 내성이 획득되어지고 있는 것을 엿 볼 수 있

있으며 AP가 현재 우리나라에서 점차 애용되고 있고 또한 우리나라에서도 R 인자가 상당히 광범위하게 분포^{17), 20)}되어 있어 이로 인해서 앞으로 다른 항생제와 마찬가지로 보다 많은 내성균이 출현하리라고 생각된다. 그리고 대장균에 의해서 생성된 penicillinase^{26), 27)}도 AP 내성에 관련되고 있으리라고 생각된다.

SM 내성율은 본 실험에서 12% 이었는데 27%⁴⁾, 28.9%¹⁴⁾, 및 62%¹⁶⁾의 보고들 보다 저율이었다.

Mond⁶⁾ 및 Ormonde⁷⁾은 여성의 만성뇨도염환자 중 대부분 또는 82%가 대장균에 감염되었다고 보고 하였으며 Barlow²¹⁾는 뇨도염에 NA 사용을 권장하고 있는데, 본 실험결과를 우리나라에 분포된 대장균도 NA 또는 KMI에 가장 감수성임을 보여 주었고 따라서 치료시의 약제선택에 다소 참고가 되리라고 사료된다.

결 론

저자는 건강인으로부터 200주의 대장균을 분리하여 nalidixic acid 및 기타 6종의 항균제에 대한 내성검사와 대장균 및 장티브스균의 각 한주에 대한 AP의 살균력을 검사하였다.

평판회석법에 의한 내성검사결과, 각항균제에 대하여 다음과 같은 내성율을 나타냈다. 즉 kamamycin, 2.5%; streptomycin, 12.0%; ampicillin, 13.5%; tetracycline, 15.5%; chloramphenicol, 17.5%; colistin sulfate, 19.5%이었다. nalidixic acid에 대한 내성균주는 한주도 없었으며 분리균은 이에 대하여 가장 감수성이었다.

Ampicillin은 2.5 mcg/ml 농도에서 장티브스균 그리고 5 mcg/ml 농도에서 대장균을 현저히 억제하였다.

(빛음에 있어 nalidixic acid를 분양하여 주신 Winthrop Lab.와 격려하여 주신 Montana 대학의 Dr. N.D. Reed 에게 감사한다.)

REFERENCES

1. 金相泰 大腸菌抗原에 관한 研究(小兒泄瀉關聯大腸菌), 國立防疫研究所報 4: 1-25, 1961.
2. 金東烈 韓國小兒에 있어서의 病原大腸菌에 관한 研究, 全南醫大雜誌, 3: 125-155, 1967.
3. Smith, D. T. et al. *Zinsser Microbiology, Appleton-Century-Crofts, Inc. New York, 13th ed. p. 613-624, 1964.*
4. Datta, N.: *Drug resistance and R factors in the bowel bacteria of London patients before and after admission to hospital, Brit. Med. J., 2: 407-411, 1969.*
5. 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 sources, J. Bacteriol., 93: 1242-1245, 1967.*
6. Mond, N. C., Percival, A., Williams, J. D., and Brumfitt, W.: *Presentation, diagnosis, and treatment of urinary-tract infections in general practice, Lancet, 1: 514-516, 1969.*
7. Ormonde, N. W. H., Gray, J. A., Murdoch, J. McC., Wallace, E., Brumfitt, W., Pursell, R., and Regan, J. W.: *Chronic bacteriuria due to Escherichia coli. J. Inf. Dis., 120: 82-86, 1969.*
8. Turck, M. et al.: *Studies on the epidemiology of Escherichia coli, 1960-1968., J. Inf. Dis., 120: 13-16, 1969.*
9. Stewart, G. T., Colles, H. M. T., Nixon, H. H., and Holt, R. J.: *"Penbritin": an oral penicillin with broad-spectrum activity, Brit. Med. J., 2: 200-206, 1961.*
10. Kennedy, W. P. U., Wallace, A. T., and Murdoch, J. McC.: *Ampicillin in treatment of certain Gram-negative bacterial infections, Brit. Med. J., No. 5363: 962-965, 1963.*
11. Moorhouse, E. C.: *Transferable drug resistance in Enterobacteria isolated from urban infants, Brit. Med. J., 2: 405-407, 1969.*
12. Watanabe, T., and Fukasawa, T.: *Resistance transfer factor episome in Enterobacteriaceae, Biochem, Biophys. Res. Commun., 3: 660-668, 1960.*
13. Smith, H.: *The incidence of infective drug resistance in strains of Escheria coli isolated from diseased human beings and domestic animals, J. Hyg., 64: 465-474, 1966.*
14. Gunter, A. C., and Feary, T. W.: *Infectious resistance among clinically isolated Escherichia coli, J. Bacteriol., 96: 1556-1561, 1968.*
15. Mitsuhashi, S., Harada, K., Hashimoto, H., and Egawa, R.: *Drug resistance of Escherichia coli isolated from human being, Japan, J. Exp. Med., 31: 53-60, 1961.*
16. Lewis, M. J.: *Transferable drug resistances and other transferable agents in strain of Escherichia coli from two human populations, Lancet, 1: 1389-1393, 1963.*

17. 姜尙遠 : 韓國에서 分離한 大腸菌의 藥劑耐性傳達因子 및 Colicin 型別, 韓國의 現代의학, 2: 227-241, 1970.
18. Edwards, P. R., and Ewing, W. H. : *Identification of Enterobacteriaceae*, Burges Publishing Co., Mineapolis, Minnesota, p. 61-89, 1968.
19. Cooke, E. M. : *Properties of strains of Escherichia coli isolated from the feces of patients with acute diarrhea and normal persons*, J. Pathol. Bacteriol., 95: 101-103, 1968.
20. Leshner, G. Y. et al. : *1,8-naphthyridine derivatives: a new class of chemotherapeutic agents*, J. Med. Pharm. Chem., 5: 1063-1068, 1963.
21. Barlow, A. M. : *Nalidixic acid in infections of urinary tract*, Brit. Med. J., No. 5368: 1308-1310, 1963.
22. Ward-McQualid, J. F. N. C., Jichlinshki, D., and Macis, R. : *Nalidixic acid in urinary infections*. Brit. Med. J., No. 5368: 1311-1314, 1963.
23. Rolinson, G. N., and Stevens, S. : *Microbiological studies on a new broad-spectrum penicillin, "penbritin"*, Brit. Med. J., 2: 191-206, 1961.
24. Smith, D. H. : *R factor infection of Escherichia coli lyophilized in 1946*, J. Bacteriol., 94: 2071-2072, 1967.
25. 河大有 : 全南에서 분리한 Salmonella 의 耐性傳達因子 및 Colicin 感受性, 第24次 大韓微生物學會學術大會 席上에서 發表, 1969.
26. Datta, N., and Richmond, M. H. : *The purification and properties of a penicillinase whose synthesis is mediated by an R-factor in Escherichia coli*, Biochem. J., 98: 204-209, 1966.
27. Smith, J. T. : *Penicillinase and ampicillin resistance in a strain of Escherichia coli*, J. Gen. Microbiol. 30: 299-306, 1963.