

경북서부지역 설사자돈에서 분리한 Haemolytic *E. coli*의 생화학적 특성 및 약제 내성

조종숙, 이정아, 오강희, 박영구

경상북도가축위생시험소서부지소

Antibiotic Resistance and Biochemical properties of Pathogenic *Echerichia coli* Isolated from Piglets with Diarrhea in Kyongbuk Western Area

Jong-Suk Cho, Jeong-Ah Lee, Gang-Hee Oh, Young-Goo Park

Western Branch of Kyong-Buk Veterinary Service Laboratory

Abstract

The present study was conducted to investigate the biochemical characteristics and antibiotic resistance of pathogenic *Escherichia coli* (*E. coli*) isolated from piglets with diarrhea in Kyongbuk Western Area during the period from February to November 1992.

55 *E. coli* strains were isolated from 97 piglets with diarrhea and the biochemical and cultural reaction were compared with the classification criteria of Edwards and Ewing.

The majority of *E. coli* were susceptible to amikacin, enrofloxacin and gentamicin.

51 (92.7%) out of 55 drug resistance stains carried R factor (R+) which were transferable to the recipients by conjugation.

Key words : *Escherichia coli*, antibiotic resistance, R factor, piglets with diarrhea.

서 론

돼지의 대장균 설사증은 병원성 대장균의 감염에 의해 이유전후 자돈 손실의 큰 요인이 되는 질병으로서^{1,2)} 발병기전은 병원성 대장균이 소장 에 감염증식하여 산출하는 장독소가 소장점막을 자극함으로써, 소장점막으로부터 수분이나 전해질의 과다분비가 일어나게 되는 것이며 특히, 대

장균이 산출하는 장독소는 사람의 콜레라균의 장독소와 유사하며 작용기전도 거의 같은 것으로 보고되어 있다.^{2,3)}

한편 이의 치료를 위해 광범위 항생제의 무분별한 사용으로 많은 내성균이 출현하였고 특히 다약제 내성균이 급격히 증가하여 치료에 많은 어려움이 있는 실정이다. 또한 주로 그람 음성균의 다약제 내성의 중요한 원인으로 알려진 비염

색채성 유전자인 R plasmid는 거의 모든 약제에 대한 내성을 지배할 수 있으며, 특히 대장균, Salmonella, Shigella 등 장내세균의 약제 내성에 중요한 역할을 하고 있음이 보고 되어 있다.⁵⁻⁷⁾

경북서부지역에서도 자돈의 병원성 대장균증의 다발로 많은 양돈농가들이 경제적 손실을 보고 있으나 본병에 대한 체계적 조사가 되어있지 않다. 본병발생시 치료제의 선택 및 예방지도를 위해 양돈농가에서 설사증에 이환된 자돈으로부터 대장균을 분리하여 이들 균의 성상을 조사함과 아울러 각종 항균제에 대한 내성 및 전달성 R plasmid의 양상에 관한 시험을 실시하였다.

재료 및 방법

설사돈으로부터 대장균 분리

1992년 2월부터 11월까지 경북서부지역 68개 양돈장에서 심한 설사를 하는 자돈 97두로부터 장내용물을 재료로 채취 MacConkey agar plate와 Blood agar plate에서 원인균을 분리 배양하였다.

MacConkey agar plate의 경우 유당분해집락 2~3개를 선정하여 triple sugar iron agar(TSI agar)에 이식배양하여 5℃에 보존하면서 각종시험을 실시하였다.

공시균의 생화학적 성상검사

Cowan⁸⁾ 및 Edwards와 Ewing⁹⁾ 방법에 따라 분리균 55주에 대한 IMVIC test, H₂S 산생능, urease산생능, gelatin액화능, 운동성, decarboxylase test, phenylalanine deaminase test, malonate utilization 및 당분해시험 등 생화학적 성상을 조사하였다.

항균제 내성시험

Steers 등¹⁰⁾의 평판희석법에 따라 항균제 내성시험을 실시하였으며, 약제의 희석은 Mac-Lowry¹¹⁾ 등의 방법에 준하였고 사용약제는 Sigma제로 amikacin(Ak), gentamicin(Gm), ampicillin(Am), cephalothin(Cf), chloramphenicol(Cm), tetracycline(Tc), kanamycin(Km), Enrofloxacin(Eno), streptomycin(Sm), nalidixic acid(Na), rifampicin(Rf), sulfadimethoxin(Su) 등 12종을 사용하였으며 약제별 농도는 Gm은 12.5μg/ml, Ak, Cf, Am, Cm, Tc, Sm, Rf, Km, Eno는 25μg/ml, Su는 800μg/ml되게 brain heart infusion agar (BHI agar) 및 Mueller-Hint-on agar 평판배지를 제조하였다.

공시균은 trypticase soy broth에서 37℃, 24시간 배양하여 평균 생리식염수로 100배 희석한 후 multiple inoculator를 사용하여 공시배지를 접종하고 37℃, 24시간 배양하여 균의 발육유무에 따라 내성균을 판정하였다.

약제 내성 전달시험

Ak등 12종의 약제에 대한 내성 전달시험은 공시균 55주에 대하여 Ishiguro¹²⁾ 등의 방법에 따라 1약제 이상에 내성인 균주를 대상으로 하였으며 피전달균은 대장균 ML1410을 사용하여 내성 전달여부를 검사하였다.

결 과

1992년 2월부터 11월까지 경북서부지역 68개 양돈장에서 설사증 증세를 나타내는 자돈에서 대장균을 분리한 성적은 표 1과 같이 78두의 모든 유래 97두자돈에서 55주의 대장균을 분리하였다.

이들 분리균 55주에 대한 생화학적 성상은 표 2, 표 3과 같이 catalase시험, methyl-red시험, nitrate환원시험 등에는 모두 양성을 나타내었으며 oxidase activity, Voges-Proskauer반응, citrate이용시험, gelatin 액화시험, H₂S산생시

Table 1. The isolation frequency of *Escherichia coli* from intestinal fluid of piglets with diarrhea

No of pigfarm	No of sows	No of piglets	No of isolated(%)
68	78	97	55(56.7%)

협, urea가 수분해시험, phenylalanine, malonate 시험 등에서는 음성을 나타내었다.

한편 aesculin 가수분해시험에서는 47%만이 양성을 나타내었으며 운동성이 인정된 것은 40주(72%)였고 재래 산양혈구에 용혈성을 가진 균은 100%이었다.

시험한 모든 균은 표 3에 있는 바와 같이 산소의 유무에 관계없이 glucose를 분해하여 산과 가스를 산생하였으며 arabinose, fructose, lactose, maltose, mannose, trehalose 등은 분해하

였으나 inositol은 분해하지 못하였다.

AK 등 12종의 항균제에 대한 분리균 55주의 약제 내성은 표 4와 같이 Tc가 44주(80%)로 가장 많았으며, Sm 42주(76.4%), Su 40주(72.7%), Gm 21주(38.2%), Km 16주(29.1%), Am 12주(21.8%), Cf 6주(10.9%), Cm 4주(7.3%) 순이었고 Ak, Eno, Na, Rf에 내성균은 없었다.

표 5에는 내성패턴으로 공시균 55주 중 51주가 공시약제 1종 이상에 대하여 내성을 나타내었으며 이중 44주(80%)는 다제 내성균이었다.

Table 2. Biochemical properties of 55 *E. coli* isolated from piglets with diarrhea

Properties	No of positive strains	%
Motility	44	72
Catalase	55	100
Oxidase	0	0
Indole	49	89
Methyl-red	55	100
Voges-Proskauer	0	0
Citrate	0	0
Aesculin	26	47
Nitrate	55	100
Gelatin	0	0
Hydrogen Sulfide	0	0
Urease	0	0
Phenylalanine	0	0
Malonate	0	0
Hemolysis (goat)	55	100

Table 3. Fermentative properties of 55 *Escherichia coli* isolated from piglets with diarrhea

Properties	No of positive strains	%
CF test (F)	55	100
Gas from glucose	55	100
Arabinose	55	100
Xylose	53	96
Fructose	55	100
Lactose	55	100
Maltose	55	100
Sucrose	29	53
Trehalose	55	100
Adonitol	5	9
Inositol	0	0
Salicin	30	55

Table 4. Frequency of drug resistance of 55 *Escherichia coli* isolated from piglets with diarrhea

Drugs	No of resistant strains	%
Amikacin	0	0
Enrofloxacin	0	0
Gentamicin	21	38.2
Kanamycin	16	29.1
Sulfadimethoxin	40	72.7
Chloramphenicol	4	7.3
Cephalothin	6	10.9
Ampicillin	12	21.8
Tetracycline	44	80
Streptomycin	42	76.4
Nalidixic acid	0	0
Rifampicin	0	0

한편 ML 1410을 피전달균으로 약제별 내성전 는 44주 중 38(86.4%), Sm이 42주 중 32주(76.2%), Am이 12주 중 7주(58.3%)이었다.

Table 5. Resistance patterns of 55 strains isolated from piglets with diarrhea

Resistant to drugs of	Resistance patterns	No of strains
7	Tc, Sm, Su, Gm, Am, Cm, Cf	2
7	Tc, Sm, Su, Gm, Km, Cm, Cf	2
7	Tc, Sm, Su, Gm, Km, Am, Cf	2
6	Tc, Sm, Su, Gm, Km, Am	3
5	Tc, Sm, Su, Gm, Am	3
5	Tc, Sm, Su, Km, Am	2
5	Tc, Sm, Su, Gm, Km	5
4	Tc, Sm, Su, Km	2
4	Tc, Sm, Su, Gm	4
3	Tc, Sm, Su	6
2	Tc, Sm	7
2	Tc, Su	3
2	Sm, Su	3
1	Tc	3
1	Sm	1
1	Su	3
Total		51

Abbreviation ; Am : ampicillin, Cm : chloramphenicol, Km : kanamycin, Sm : streptomycin
Su : sulfadimethoxin, Tc : tetracycline, Cf : cephalothin, Gm : gentamicin

Table 6. Transferability of individual drug resistance in 55 *Escherichia coli* isolated from diarrheal piglets

Drugs	No of resistant strains	No of strains with transferred resistance (%)
Tc	44	38 (86.4%)
Sm	42	32 (76.2%)
Am	12	7 (58.3%)

Abbreviations : Tc : tetracycline, Sm : streptomycin, Am : ampicillin

고 찰

자돈의 대장균증은 병원성 대장균이 소장점막에 감염 증식되어 산출한 독소(enterotoxin)의 작용으로 발생하여 이유전후 자돈에서 폐사 또는 성장지연 등으로 양돈농가에 많은 경제적 피해를 주는 질병이다.^{4,13-15)}

본시험에서 공시균의 생화학적 성상은 분리균 전부가 용혈성을 나타내었으며 김¹⁶⁾ 등, 윤¹⁷⁾ 등의 용혈성 대장균 분리율 12.9%, 19.9%와는 많은 차이가 있었다.

분리균 55주에 대한 항균제 내성검사에서는 Tc, Sm에 내성인 균이 각각 80.0%, 76.4%로 가장 많았으며, 이들 성적은 김¹⁸⁾ 등이 Tc, Sm에 각각 93.6%, 82.6%의 내성균이 존재한다는 보고와 Das¹⁹⁾, Coates와 Hoops²⁰⁾ 등이 Tc, Sm내성의 심각성을 보고한 것과는 다소 차이가 있었다.

약제별 내성 양상을 보면 단제 내성균 보다는 다제 내성균이 많았고, 약제별 내성전달율은 Tc가 86.4%, Sm이 76.2%로 높게 나타나 이와 최²³⁾의 성적과 유사하였으며, 전체적으로는 Tc, Sm과 Tc, Sm, Su에 대한 내성균이 많이 출현하였는데 이는 Tc와 Sm을 사료첨가제 또는 치료 약제로 널리 사용하여 왔기 때문인 것으로 생각된다.

탁과 정²¹⁾, Dey 등²²⁾은 사료첨가제에 의한 다제 내성균의 출현이 크게 문제시 되고 있음을 입증한 바 있다. 특히 항균제의 오·남용은 내성균의 출현을 가속화시켜 약제내성 대장균에 의한 자돈 설사증의 예방과 치료에 커다란 장애를 미칠 것으로 생각되며 향후 더 많은 연구와 적절한 대책이 강구되어야 할 것으로 사료된다.

결 론

1992년 2월부터 11월사이 경북서부지방 68개 양돈장의 자돈에서 대장균을 분리하여 각종 생

화학적 성장조사와 항균제 감수성시험 및 약제 내성 전달시험을 실시하였다.

총 68개 양돈장 중 설사증세를 나타내는 97두의 자돈에서 55주의 대장균을 분리하였으며 12종의 항균제에 대한 내성은 tetracycline 80%, streptomycin 76.4%, sulfadimethoxin 72.7%로 이었고 amikacin, enrofloxacin, nalidixic acid, rifampicin 100%의 감수성을 나타내었다.

공시균 55주에 대하여 ampicillin등과 12종의 항균제에 대한 내성은 92.7%이었으며 2제이상 다제내성균은 80%를 차지하였다.

약제별 내성 전달율은 tetracycline이 86.3%, streptomycin 76.2% ampicillin 58.3%이었다.

참 고 문 헌

1. Dunne HW, Leman AD : 1975. Disease of swine. 4ed. Iowa State Univ Press, Ames. p. 650.
2. Kim BH. 1978. Enteric colibacillosis in pigs. A review. Korean J Vet Publ Hlth. 2 : 80
3. Gyles CL, Stevens JB, Craven JA. 1971. A study of Escherichia coli stains isolated from pigs with gastrointestinal disease. Can J Comp Med, 35 : 258.
4. Svendsen J. 1979. Escherichia coli infections in suckling pigs and in pigs at weaning. Aspects of pathogenesis, prevention and control. ph. D. thesis. The Swedish University of Agricultural Science, Upsala. p. 6.
5. Anderson ES. 1968. Drug resistance in Salmonella typhimurium and its implication. Brit Med J. 3 : 333-339.
6. Hards K. 1981. Bacterial plasmids. Thomas Nelson Ltd. Hong Kong. p. 50-74.
7. Watanabe T. 1963. Infective heredity of

- multiple drug resistance in bacteria. *Bacteriol Rev.* 27 : 87-115.
8. Cowan ST. 1974. Cowan and Steels manual for identification of medical bacteria. 2ed. Cambridge Univ Press, Cambridge. p. 166.
 9. Edwards PK, Ewing WH. 1972. Identification of enterobacteriaceae. 3rd. Burgess Publishing Co, Minneapolis, Minnesota.
 10. Steers E, Folts FL, Graves BS. 1959. An inocula replicating apparatus for routine testing of bacterial sesceptibility to antibiotics. *Antibiotic Chemother*, 9 : 307.
 11. MacLowry JD, Jaqua MJ, Selepak ST. 1970. Detailed methodology and implimentation of a semiautomated serial dilution microtechnique for antimicrobial susceptibility testing. *Appl Microbial*. 20 : 46.
 12. Ishiguro N, Gato J, Sato G. 1980. Genetical relationship between R plasmid derived from *Salmomella* and *Escherichia coli* obtained from pig farm and it epidemiological significance. *J Hyg Camb*, 84 : 365.
 13. Moon HW, Isaacson RE, Polentz J. 1979. Mechanisms of association of enteropathogenic *Escherichia coli* with intesinal epithelium. *Am J Clin Nutr*, 32 : 119.
 14. Rutter JM. 1975. *Escherichia coli* infections in piglets : pathgenesis, virulenece and vaccination. *Vet Rec*, 96 : 171.
 15. Porter P. 1973. Intestinal defence in the young pig-A review of the secretory antibody systems and their possible role in oral immunization. *Vet Rec*. 92 : 658.
 16. 김봉환, 김동성, 이창구 . 1981. 자돈의 대장균에 관한 연구. 1. 양돈농가 실태 및 설사자돈에서 분리한 대장균의 성장조사. *대한수의사학회지*. 21 : 81.
 17. 윤용덕, 김종만, 김동성 . 1984. 자돈의 대장균성 설사증에 관한 연구. 1. 설사자돈으로부터 분리된 병원성 대장균의 혈청형 분포조사. *농사시험연구*. 26 : 66-71.
 18. 김봉환, 김동성, 이창구. 1979. 1977년과 1978년동안 설사자돈에서 분리한 *E.Coli*의 실험실내 약제내성. *농사시험연구*, 21 : 97.
 19. Das NK. 1984. In vitro susceptibility of *Escherichia coli* of swine origin to carbarbox and other antibiotics. *Am J Vet Res*. 45 : 252.
 20. Coates SR, Hoops KH. 1980. Sensitivity of *Escherichia coli* isolated from bovine and porcine enteric infections to antimicrobial antibiotics. *Am J Vet Res*. 41 : 1882.
 21. 탁연빈, 정길택. 1976. 돈 유래 *Escherichia coli*의 항생물질 내성 및 전달성 인자에 관하여. *대한수의사학회지*. 16 : 159-163.
 22. Dey BP, Blenden DC, Burto GC. 1977. Therapeutic responses of piglets to experimentally induced colibacillosis. *Res Vet sci*. 23 : 340.
 23. 이강록, 최원필. 1986. 우 유래 장독소 산생 대장균에 대하여. *대한수의사학회지*. 26 : 66-77.