

## 泄瀉子豚 由來 大腸菌의 抗生物質 耐性에 關하여

曹光鉉, 朴魯燦, 權憲鎰, 金二俊, 朴德相

慶尙北道家畜衛生試驗所

### Antibiotic Resistance of Pathogenic *Escherichia coli* Isolated from Piglets with Diarrhea

Kwang-Hyŏn Cho, No-Chan Park, Hun-Ill Keun, Lee-Zun Kim, Duk-Sang Park

Kyŏngbuk 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 Kyŏngbuk province during the period from February to November 1991.

368 *E. coli* strains were isolated from 382 piglets with diarrhea and the biochemical and cultural reaction were compared with the classification criteria of Edwards and Ewing.

Tetracycline and sulfadimethoxine were found to be highly ineffective at *in vitro* inhibition of the *E. coli* of piglets origin. The majority of *E. coli* were susceptible to amikacin, chloramphenicol and gentamicine.

89(89.0%) of 100 strains of *E. coli* were resistant to one or more drugs. The organisms resistant to 20 or 3 drugs were 54(60.6%) of 89 strains, whereas 16(17.9%) strains were found to be resistant to one drug.

55(61.8%) out of 89 drug resistance strains carried R factors( $R^+$ ) which were transferable to the recipients by conjugation.

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

#### 서 론

돼지에서 대장균 설사증은 병원성 대장균 (enteropathogenic *Escherichia coli*)의 감염에

의한 자돈의 대장균증(enteric colibacillosis)이 대부분이며 이유전후 자돈손실의 경제적 측면에서 매우 부담스럽고 고질적인 질병으로 알려져 있다.<sup>1,2)</sup>

대장균 설사증은 자돈의 연령과 밀접한 관계가 있으며 모돈의 초유와 젖을 통하여 받은 모체이행항체의 소장 및 자돈자신의 방어능력, 환경 또는 사양조건의 차이, 각종 스트레스 등의 복합적인 요인에 따라 병원성 대장균의 감염증식이 용이한 시기에 다발하는 질병으로 임상증세 및 발병기전에 따라 병원성 대장균 설사증과 대장균성 장독혈증(colibacillary toxæmia)으로 크게 나눌 수 있다.

병원성 대장균 설사증의 발병기전은 병원성 대장균이 장독소(enterotoxin)에 민감한 상부 소장(12지장과 공장)에 감염, 증식하여 산출하는 장독소가 이들 소장점막을 자극함으로써 장점막을 통한 수분과 전해질 대사에 이상이 생겨 조직내 수분이 장관내로 유출됨으로 설사가 일어나게 된다는 것이며 특히 대장균이 산출하는 장독소는 사람의 콜레라균의 장독소와 유사하여 작용기전도 거의 같은 것으로 보고되어 있다.<sup>2,3)</sup>

대장균성 장독혈증의 발병기전은 아직도 많은 논란의 대상이 되고 있고, 부종병의 발병기전은 균체독소에 의한 과민반응설과 부종독소(edema toxin : edema disease principle)에 의한 독소설이 있으며 여러 예에서 균체독소와 부종독소가 상호적으로 작용하는 경우가 많다.<sup>2,4)</sup>

한편, 광범위하고도 무분별한 항균제의 사용은 내성균의 출현, 특히 다약제 내성균의 출현 빈도를 급격히 증가시켜 감염증 치료에 심각한 문제로 대두되고 있는 실정으로 Gram음성균의 다약제 내성의 만연에 중요한 원인으로 알려진 비염색체성 유전자인 R plasmid는 현재 사용되는 거의 모든 약제에 대한 내성을 지배할 수 있

으며 특히 대장균, *Salmonella*, *Shigella* 등 장내세균의 약제내성에 중요한 역할을 하고 있음이 보고되고 있다.<sup>5,6,7)</sup>

경북지역에서도 자돈의 병원성 대장균증이 다발하고 있는 실정이나 아직까지 이에 대한 체계적인 조사가 이루어지지 않아 방역상 많은 문제점이 야기되고 있으며 양돈 농가에 막대한 경제적 손실을 입히고 있다. 따라서 본 실험에서는 본병 발생시 치료제의 선택 및 자돈 설사증의 예방을 위한 목적으로 경북지방의 양돈농가에서 설사증에 이환된 자돈으로부터 대장균을 분리하여 이들 균의 성상을 조사함과 아울러 각종 항균제에 대한 감수성 시험 및 전달성 R plasmid의 양상에 관한 시험을 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 설사자돈으로부터 대장균 분리

1991년 2월부터 11월까지 경북지방 203개 양돈장에서 사육되는 자돈중 심한 설사를 하는 294두의 모돈 유래 자돈 382두로부터 직장면봉법(rectal swab)으로 재료를 채취 MacConkey agar plate와 blood agar plate에서 분리, 배양하였다.

MacConkey agar plate의 경우 유당분해 집락 2~3개를 선정하고 blood agar plate에서는 완전용혈을 나타낸 집락과 회백색의 smooth한 집락을 2~3개 선정하여 triple sugar iron agar(TSI agar)에 배양하였다. TSI agar에서 대장균이라고 인정할 수 있는 성상을 보인 것만을 semi-solid nutrient agar에 이식배양하여 5℃에 보존하면서 생화학적 성상조사 및 항균제 감수성시험 등에 공시하였다.

### 공시균의 생화학적 성장검사

Cowan<sup>8)</sup> 및 Edwards와 Ewing<sup>9)</sup> 방법에 따라 분리균 368주에 대한 IMVIC test, H<sub>2</sub>S산생능, urease산생능, gelatin액화능, 운동성, decarboxylase test, phenylalanine deaminase test, malonate utilization 및 당 분해시험 등을 실시하여 생화학적 성상을 조사하였다.

### 항균제 감수성시험

Steers 등<sup>10)</sup>의 평판회석법에 따라 항균제 감수성시험을 실시하였으며, 약제의 회석은 Mac-Lowry 등<sup>11)</sup>의 방법에 준하였다.

사용약제는 Sigma제로 amikacin(AK), colistin(CL), gentamicin(GM), ampicillin(AP), chloramphenicol(CP), tetracycline(TC), cephalothin(CF), sulfadimethoxin(SU), streptomycin(SM), lincomycin(LM), kanamycin(KM), neomycin(NM), nalidixic acid(NA), rifampicin(RF) 등 14종을 사용하였으며 이들 약제별 농도가 GM은 12.5 ug/ml, AK, CL, AP, CP, TC, CF, SM, LM, KM, NM, NA는 25 ug/ml, RF는 50 ug/ml, SU는 800 ug/ml되게 Brain heart infusion agar(BHI agar) 및 Muller-Hinton agar에 농도가 함유되도록 평판배지를 제조하였다.

공시균은 trypticase soy broth에서 37℃ 28시간 배양하여 멸균 생리식염수로 100배 희석한 후 multiple inoculator를 사용하여 공시배지에 접종하고 37℃ 24시간 배양하여 균의 발육 유무에 따라 내성균을 판정하였다.

### 약제 내성 전달시험

AP, CP, GM, KM, SM, TC, RF, NA 등 8종의 약제에 대한 내성 전달시험은 무작위로 선정한 공시균 100주에 대하여 Ishiguro 등<sup>12)</sup>의 방법에 따라 1약제 이상에 내성인 균주를 사용하였으며 피전달균은 대장균 ML 1410을 사용하여 37℃에서 약제 내성 전달여부를 검사하였다.

### 결 과

1991년 2월부터 11월까지 경북지방 10개지역 203개 양돈장에서 설사증 증세를 나타내는 자돈에서 대장균을 분리한 성적은 표 1과 같이 294두 모돈 유래의 382자돈에서 368주의 대장균을 분리하였다.

이들 분리균 368주에 대한 생화학적 성상을 조사한 성적은 표 2, 표 3에 있는 바와 같다.

분리균은 catalase 시험, methyl-red 시험, nitrate 환원시험 등에는 모두 양성을 나타내었으며 oxidase activity, Voges-Proskauer 반응, citrate 이용시험, gelatin액화시험, H<sub>2</sub>S 산생 시험, urea 가수분해시험, phenylalanine, malonate 시험 등에서는 음성을 나타내었다.

한편, aesculin 가수분해시험에서는 44%만이 양성을 나타내었으며 운동성이 인정된 것은 368주 중 261주(71%)였고 면양혈구에 용혈성을 가진 균은 15.5%로 나타났다.

시험한 모든 균은 표 3에 있는 바와 같이 산소의 유무에 관계없이 glucose를 분해하여

Table 1. The isolation frequency of *Escherichia coli* from rectal swabs of piglets with diarrhea

Area	No. of pigfarm	No. of sows	No. of piglets	No. of isolated
A	7	11	11	11
B	6	11	14	14
C	35	49	68	66
D	16	25	33	30
E	32	41	57	55
F	33	48	62	61
G	33	56	70	67
H	33	42	55	52
I	7	10	11	11
J	1	1	1	1
Total	203	294	382	368

Table 2. Biochemical properties of 368 *Escherichia coli* isolated from piglets with diarrhea

Properties	No. of positive strains	%
Motility	261	71
Catalase	368	100
Oxidase	0	0
Indole	339	92
Methyl-red	368	100
Voges-Proskauer	0	0
Citrate	0	0
Aesculin	162	44
Nitrate	368	100
Gelatin	0	0
Hydrogen Sulfide	0	0
Urease	0	0
Phenylalanine	0	0
Sodium malonate	0	0
Hemolysis(sheep blood)	57	15.5

산과 가스를 산생하였으며 arabinose, fructose, lactose, maltose, mannose, trehalose 등은 분해하였으나 inositol은 분해하지 못하였다.

AK의 13종의 항균제에 대한 분리균 368주의 약제 내성을 조사한 결과는 표 4와 같이 TC 내성주가 344주(93.4%)로 가장 많았으며, SM

Table 3. Fermentative properties of 368 *Escherichia coli* isolated from piglets with diarrhea

Properties	No. of positive strains	%
CF test(F)	368	100
Gas from glucose	368	100
Arabinose	368	100
Xylose	347	94.3
Fructose	368	100
Lactose	368	100
Maltose	368	100
Mannose	368	100
Sucrose	197	53.6
Trehalose	368	100
Adonitol	31	8.4
Inositol	0	0
Salicin	201	54.6

Table 4. Frequency of drug resistance of 368 *Escherichia coli* isolated from piglets with diarrhea

Drugs	No. of resistant strains	%
Amikacin(AK)	54	14.6
Colistin(CL)	108	29.3
Gentamicin(GM)	68	18.4
Ampicillin(AP)	182	49.4
Chloramphenicol(CP)	57	15.5
Tetracycline(TC)	344	93.4
Cephalothin(CF)	75	20.4
Sulfadimethoxin(SU)	176	47.8
Streptomycin(SM)	338	92.0
Lincomycin(LM)	118	32.2
Kanamycin(KM)	209	56.8
Neomycin(NM)	197	53.5
Nalidixic acid(NA)	0	0
Rifampicin(RF)	0	0

에 338주(92.0%), KM에 209주(56.8%), NM에 197주(53.5%), AP에 182주(49.4%)로 비교적 높은 내성을 나타내었으며 NA, RF에는 내성균이 인정되지 않았다.

내성 전달성을 알아보기 위해 무작위로 선정  
한 100주의 분리균 중 AP, CP, GM, KM,  
SM, TC 등 6종의 항균제에 내성을 나타내는  
공시균을 조사한 결과는 표 5에 있는 바와  
같이 공시균 100주 중 89주가 공시약제 1종 이  
상에 대하여 내성을 나타내었으며 73주(82.

0%)는 다제 내성균 이었다. 다제 내성균 중 2  
제 내성균이 35.9%로 가장 많았으며 4제 내성  
균이 4.5%로 가장 적게 나타났으며 전체적인  
내성 양상은 SM, TC에 내성균이 가장 많이 나  
타났다.

1종 또는 그 이상의 약제에 내성을 가진 89주

Table 5. Resistance patterns of 100 strains isolated from piglets with diarrhea

Resistant to drugs of	Resistance patterns	No. of strains
6	AP, CP, GM, KM, SM, TC	6
5	AP, GM, KM, SM, TC	6
5	AP, CP, KM, SM, TC	3
4	AP, KM, SM, TC	4
3	AP, SM, TC	7
3	AP, SM, KM	4
3	KM, SM, TC	11
2	SM, TC	19
2	SM, KM	6
2	KM, TC	7
1	SM	6
1	TC	8
1	KM	2

Abbreviations : AP; ampicillin, CP; chloramphenicol, GM; gentamicin,  
KM; kanamycin, SM; streptomycin, TC; tetracycline

Table 6. Transferability of individual drug resistance in 89 *Escherichia coli* isolated from piglets with diarrhea.

Drugs	No. of resistant strains	No. of strains with transferred resistance(%)
Ampicillin	30	18(60.0)
Chloramphenicol	9	4(44.4)
Gentamicin	12	10(83.3)
Kanamycin	49	25(51.0)
Streptomycin	72	39(54.2)
Tetracycline	71	26(36.6)

에 대하여 ML 1410을 피전달균으로 한 약제 내성의 전달율은 61.8%(55주)였으며, 약제별 내성 전달빈도를 조사한 결과는 표 6에 있는 바와 같이 AP 내성균 30주 중 18주 (60.0%), CP가 9주 중 4주 (44.4%), GM이 12주 중 10주 (83.3%), KM이 49주 중 25주(51.0%), SM이 72주 중 39주(54.2%), TC가 71주 중 26주(36.6%)가 피전달균에 전달되었다.

## 고 찰

우리나라의 양돈장별 질병발생경향을 분석해 보면 소화기 질병의 발생이 여러농장에서 크게 문제시 되고 있고 이들 소화기 질병의 발생률도 높아 전체 질병발생 건수의 약 22%를 차지하는 것으로 밝혀져 있다.

특히, 계절에 관계없이 발생하고 있는 돼지의 대장균 설사증은 생후 2~4주령에 다발하는데 이것은 모체이행항체의 소멸시기인 2~3주령에 농장에 상재해 있는 병원균의 침입으로 인한 것이며 이러한 질병을 앓은 자돈은 폐사 또는 성장지연등 경제적으로 큰 피해를 가져온다. 따라서 철저한 이유전후의 위생관리가 수반되어야 함은 물론 병원성 대장균에 대한 모체면역을 증강시켜 자돈의 저항성을 높여주어야 할 것이다.

또한 자돈의 병원성 대장균증은 병원성 대장균이 소장점막에 감염 증식하면서 산출한 장독소(enterotoxin)의 작용으로 발병하며 이균의 병원성은 장독소 산생능과 소장점막에 부착하여 서식할 수 있는 부착항원(adhesive antigen)의 유무에 좌우된다고 보고되고 있으므로 모든의 병원성 대장균에 대한 면역항체 수준을 높이기 위해서는 백신중의 장독소와 부착항원

이 항원물질로 포함되어야 하며 병원성 대장균이 침입하는 소장점막도 항체의 보호를 받아야 하므로 국소면역도 중요시 되어야 할 것이다.<sup>13, 14, 15)</sup>

공시균의 생화학적 성상은 Cowan<sup>8)</sup>, Edwards와 Ewing<sup>9)</sup>의 분류기준과 거의 일치하였으며 병원성 대장균은 용혈성을 가진 것이 많은 것으로 알려져 있으나 본 실험에서는 15.5%만이 용혈성을 나타내었으며 김등<sup>16)</sup>, 윤등<sup>17)</sup>은 병원성 대장균중 용혈성을 가진 균을 각각 12.9%, 19.9%로 보고한 바 있다.

분리균 368주에 대한 항균제 내성검사에서는 TC, SM에 내성인 균이 각각 93.4%, 92.0%로 가장 많았으며 KM에 내성인 균이 56.8%, NM 및 AP에 내성인 균이 각각 53.5%, 49.4% 등으로 나타났는데 이들 성적은 김등<sup>18)</sup>이 TC, SM에 각각 93.6%, 82.6%의 내성균이 존재한다는 보고와 유사하였으며, 외국의 경우에는 Das<sup>19)</sup>, Coates와 Hoops<sup>20)</sup> 등이 TC, SM내성의 삼각성을 보고한 바 있다.

한편, 내성균 출현율이 AK는 14.6%, CP는 15.5%, GM은 18.4%로 타약제에 비해 비교적 낮게 나타났으나 김등<sup>16)</sup>, Coates와 Hoops<sup>20)</sup>, Libal과 Gates<sup>21)</sup> 등의 성적과 비교해 보면 다소 높은 성적이었다. 이것은 수년간 대장균 설사증의 예방 및 치료에 GM 등이 널리 응용되어 이들 약제에 대한 내성균이 증가하고 있는 것으로 사료된다.

약제별 내성 양상을 알아보기 위한 공시균 100주에 대한 내성균 조사에서는 단체 내성균 보다는 다제 내성균의 출현이 높았고 전체적인 약제 내성의 전달율은 61.8%로 나타났으며 각 약제별 내성 전달빈도는 GM이 83.3%로 가장

높게 나타난 반면 TC는 36.6%로 가장 낮게 나타났다. GM의 경우 내성균 출현율이 낮은 반면 내성 전달빈도가 높았으며 TC는 내성균 출현율이 높았지만 내성 전달빈도가 낮게 나타나 이 와 최<sup>22)</sup>의 성적과 유사하였으며 전체적으로 SM, TC에서 약제 내성균이 가장 많이 출현하였는데 이는 SM과 TC를 사료첨가제 또는 치료 약제로 널리 사용하여 왔기 때문인 것으로 생각된다. 탁 과 정<sup>23)</sup>, Dey 등<sup>24)</sup>은 사료첨가제에 의한 다제 내성균의 출현이 크게 문제시 되고 있음을 입증한 바 있으며 특히 복합 항균제의 무분별한 사용은 내성균의 출현을 가속화시켜 약제 내성 병원성 대장균에 의한 자돈 설사증의 예방과 치료에 커다란 영향을 미칠 것으로 생각되며 향후 더 많은 연구와 적절한 대책이 강구되어야 할 것으로 사료된다.

## 결 론

1991년 2월부터 11월사이 경북지방 203개 양돈장의 자돈에서 대장균을 분리하여 각종 생화학적 성장조사와 항균제 감수성시험 및 약제 내성 전달시험을 실시하였다.

총 203개 양돈장 중 설사증세를 나타내는 모돈 294두 유래 382두의 자돈에서 368주의 대장균을 분리하였으며 생화학적 성상은 Edwards와 Ewing의 대장균 분류기준과 일치하였다.

14종의 항균제에 대한 내성균은 tetracycline에 93.4%, streptomycin에 92.0%, kanamycin에 56.8%, neomycin에 53.5%, ampicillin에 49.4%로 나타났으며 비교적 감수성이 있는 약제는 amikacin, chloramphenicol, gentamicin 순이었다.

공시균 100주의 ampicillin, chloramphenicol, gentamicin, kanamycin, streptomycin, tetracycline에 대한 내성 양상은 내성 균주가 89%이었으며 2제 및 3제 내성균이 전체 내성 균주의 60.6%를 차지하였다.

ampicillin의 5종에 대한 전체적인 약제 내성의 전달율은 61.8%였으며 각 약제별 내성 전달율은 gentamicin이 83.3%로 가장 높았고 내성균 출현율이 높은 streptomycin, tetracycline에서는 각각 54.2%, 36.6%의 내성 전달율을 나타내었다.

## 참 고 문 헌

1. Dunne HW, Leman AD. 1975. Disease of swine. 4th ed. Iowa State Univ Press, Ames. :650.
2. Kim BH. 1978. Enteric colibacillosis in pigs. A review. Korean J Vet Publ, HIth. 2:80.
3. Gyles CL, Stevens JB, Craven JA. 1971. A study of *Escherichia coli* strains 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. :6.
5. Anderson ES. 1968. Drug resistance in *Salmonella typhimurium* and its implications. Brit Med J, 3:333~339.



6. Hardy K. 1981. Bacterial plasmids. Thomas Nelson Ltd, Hong Kong.: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 the identification of medical bacteria. 2nd ed. Cambridge Univ Press, Cambridge.:166.
9. Edwards PK, Ewing WH. 1972. Identification of enterobacteriaceae. 3rd ed. Burgess Publishing Co, Minneapolis, Minnesota. : 93~134.
10. Steers E, Foltz FL, Graves BS. 1959. An inocula replicating apparatus for routine testing of bacterial susceptibility to antibiotics. *Antibiotic Chemother*, 9:307.
11. MacLowry JD, Jaqua MJ, Selepak. 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 *Salmonella* 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 intestinal epithelium. *Am J Clin Nutr*, 32:119.
14. Rutter JM. 1975. *Escherichia coli* infections in piglets; pathogenesis, virulence 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 병원성 대장균에 관한 연구. 1. 양돈농가실태 및 설사자돈에서 분리한 대장균의 성장조사. *대한수의학회지*, 21:81.
17. 윤용덕, 김종만, 김동성. 1984. 자돈의 대장균성 설사증에 관한 연구. 1. 설사자돈으로부터 분리된 병원성 대장균의 혈청형 분포 조사. *농사시험연구*, 26:66~71.
18. 김봉환, 김동성, 이창구. 1979. The in vitro drug resistance of *Escherichia coli* isolated from scouring piglets during 1977 and 1978. *농사시험연구*. 21:57.
19. Das NK. 1984. *In vitro* susceptibility of *Escherichia coli* of swine origin to carbarodox 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. Libal MC, Gates CE. 1982. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* strains isolated from pigs with diarrhea. *J A V M A*, 180:908.
22. 이강록, 최원필. 1986. 우 유래 장독소산생 대장균에 대하여. *대한수의학회지*, 26:66~77.

23. 탁연빈, 정길택, 1976. 돈 유래 *Escherichia coli*의 항생물질 내성 및 전달성인자에 관하여. 대한수의학회지, 16:159~163.
24. Dey BP, Blendon DC, Burton GC. 1977. Therapeutic responses of piglets to experimentally induced colibacillosis. Res Vet Sci, 23:340.