

설사환자로부터 분리한 대장균의 형별 분포  
및 항생제 내성유형

차인호 · 진성현 · 박은희 · 조현철 · 박성아 · 이영숙

미 생 물 과

## 설사환자로부터 분리한 대장균의 형별 분포 및 항생제 내성유형

미 생 물 과

차인호 · 진성현 · 박은희 · 조현철 · 박성아 · 이영숙

## Serological Distribution and Properties of Antibiotic Resistance of *Escherichia coli* from Patients with Diarrhea

*Microbiology Division*

I.H. Cha, S.H. Jin, E.H. Park, H.C. Cho, S.A. Park, Y.S. Lee

### Abstract

As a part of investigation for basic epidemiology of diarrheogenic disease, we attempted isolation of *Escherichia coli* from patients with diarrhea. A total of 721 *E. coli* strains were isolated from 621 patients with diarrhea among 1,239 patient

with diarrhea. Seasonal distribution of patient with diarrhea was shown the most high at August(18.2%). Age group distribution of patient was shown the most high at children(54.6%, 2 to 10 years old). The serotypes of 721 *E. coli* isolates were in order of serotype O44(16.8%), O153(8.6%), O1(7.5%), O166(5.7%), O8 and O86a(4.7%), and O125(4.6%). The supernates cultured 36 strains among 721 *E. coli* isolates were indicated cytotoxicity against monolayered Vero cells. All of the isolates were resistant to antibiotics such as colistin, erythromycin and penicillin G. However, all of the isolates were susceptible to amikacin. The isolates were resistant in order of novobiocin (99.0%), moxalactam(97.1%), carbenicillin(96.1%), tetracycline(90.4%), ampicillin(85.9%), gentamicin (84.0%), streptomycin(78.4%), cephalothin(46.6%) and polymyxin B(4.2%). In the antibiotic resistant patterns, 125 kinds of multiple resistance patterns of *E. coli* isolates were detected. The highest resistant pattern was Am,Cb,Ci,CP,Em,Gm,Mx,Nb,Pg,St,Tb,Tc,Tm, type (24.3%).

**Key words** : *Escherichia coli*, serotype, antibiotics, resistance

## I. 서 론

*Escherichia coli*는 대부분이 lactose를 분해하고 indole을 생산하는 장내세균과의 gram 음성 간균으로서 다양한 생물형과 170종 이상의 O 항원이 밝혀져 있다<sup>1,2)</sup>. 또한 *E. coli*는 사람과 동물의 장내에 정상세균으로 존재하면서 유아 설사증, 성인의 위장염, 식중독 등과 같은 장관계 질환 및 요로 감염증(신우신염, 방광염), 복막염, 간농양, 폐혈증 및 수막염 등과 같은 비장관계 질환을 유발시킬 수 있는 가장 흔한 기회감염의 원인체로 알려져 있다<sup>3,4,5)</sup>. 특히 비장관계 계통의 질환증 신우신염과 방광염의 90% 이상이 *E. coli*에 의한 것으로 보고되고 있으며<sup>6)</sup>, 이와 같은 요로감염증과 관련된 pyelonephritis associated(P or Pap) pili에 관한 많은 연구가 수행되고 있다.

한편 장관계 질환의 원인체로 작용하는 *E. coli*는 혈청형, virulence, 부착인자 및 독소의 생산능력에 따라 enterotoxigenic (ETEC), enteropathogenic (EPEC), enteroinvasive (EIEC), enterohemorrhagic (EHEC), enteroaggregative (EAEC) 등으로 분류되며<sup>7)</sup>, 각 group은 서로 다른 기전으로 질병을 야기시켜 역학적으로나 임상적으로 다소 상이한 증후를 나타낸다. 이들 group중 EHEC에 속하는 혈청형 O157은 최근 집단 식중독의 원인균으로써 그 중요성이 부각되고 있어 국내에서도 이에 대한 다양한 방법의 역학조사가 이루어지고 있다.

*E. coli* O157을 포함한 EHEC group의 균주들은 Vero cells에 특이적으로 작용하는 verotoxin을 생산할 수도 있으며, 이 verotoxin은 사람에게 설사병의 중요한 원인체로 작용할 뿐만 아니라 용혈성 뇨독증후군(hemolytic uremic syndrome(HUS)), 출혈성 결장염(hemorrhagic colitis(HC)), 수종성 질환 등을 유발할 수 있다<sup>8)</sup>. Verotoxin의 종류는 현재까지 3종류로 밝혀져 있으며, 이들은 분자량 32Kd의 A subunit 하나와 7.7Kd의 B subunit 다섯 개로 구성되어 있다<sup>9,10)</sup>. 이들 중 A subunit는 N-glycosidase로 작용하여 eukaryotic 60S ribosomal subunits의 29S rRNA에서 4,323번부터 4,325까지의 염기서열인 adenine을 특이적으로 절단함으로써 세포의 단백질 합성을 저해하며, B subunit는 세포수용체와의 결합 및 항체형성에 관여한다는 것이 최근 밝혀지면서 이 독소의 진단에 대한 연구가 활발해 지고 있다<sup>11,12)</sup>.

이와 같이 병원성 대장균은 설사질환의 대표적 원인균임에도 불구하고 국내의 병·의원에서는 대장균성 설사질환에 대하여 가볍게 취급하고 있는 것이 현실적이다. 따라서 본 연구에서는 대장균성 설사에 관한 기초 역학자료의 일환으로 병원을 찾는 설사환자로부터 대장균을 분리하고 분리주에 대한 생화학적 특성, 혈청학적 분포, 독소 생산성 및 항생제 내성양상 등의 특성을 알아 보고자 하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 공시재료

1989년 1월부터 12월까지 설사증으로 지정병원(동아대학병원, 고신의료원)에 내원한 환자 1,239명의 분변을 지정병원의 임상병리 검사실에서 MacConkey agar (Difco)에 직접 도말하고 37°C에서 하룻밤 배양한 plate를 공시재료로 하였다.

### 2. *E. coli*의 분리

지정병원으로부터 수거한 MacConkey agar plate에서 lactose를 분해한 집락 2~3개를 새로운 MacConkey agar plate로 계대하고 37°C에서 하룻밤 배양하여 lactose 분해를 재확인함과 동시에 균주를 활성화 하였다. 또한 *E. coli* O157의 검색을 위하여 MacConkey sorbitol agar(Difco)에도 동일 집락을 도말하고 37°C에서 하룻밤 배양한 후 sorbitol 비분해균을 확인하였다. 이들 각각의 집락에 대하여 그람 염색을 실시하고, IMViC 시험 즉, indole 시험 양성, methyl red 시험 양성, Voges-Proskauer 시험 음성 및 citrate 이용능 시험에서 음성을 나타내는 분리균주를 *E. coli*라고 잠정 동정한 후 -70°C에 동결보존하면서 실험에 사용하였다.

### 3. *E. coli*의 동정

분리균주를 Tryptic soy agar(Difco)에 도말하여 37°C, 24시간 배양하고 KIA(Difco)에서 lactose 양성, glucose 양성, gas 양성 및 H<sub>2</sub>S를 생산하지 않는 균주를 API 20E strip를 이용하여 Edward와 Ewing의 방법<sup>2)</sup>에 따라 동정하였다.

### 4. *E. coli*의 verotoxin 생산성 시험

Verotoxin 독성 시험을 위한 세포주는 수의과학 검역원으로부터 분양받은 Vero

cells(African green monkey kidney cells)을 사용하였고, 5% 우태아혈청과 100 $\mu$ g/ml의 gentamicin 및 100U/ml의 penicillin이 첨가된 minimal essential medium(MEM ; Sigma)에 계대배양하면서 공시하였다.

*E. coli* 분리주의 verotoxin에 대한 세포독성 시험은 Karmali 등<sup>13)</sup>의 방법에 따라 분리균의 배양여액을 단층배양한 Vero cells에 접종하고 37 $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub> 조건으로 3일간 배양하면서 매일 cytopathic effects(CPE)를 현미경으로 관찰하였다. 배양 3일 후 세포를 50% 사멸(CD<sub>50</sub>) 시키는 시료의 가장 높은 희석배수를 end point로하여 verotoxin 활성의 정도를 결정하였다. CD<sub>50</sub>의 판정 방법을 Mary등<sup>14)</sup>의 방법에 따라 실시하였다.

#### 4. 혈청형 시험

혈청형 시험 본 실험에 사용한 병원성 대장균의 혈청형은 Table 1과 같다. 병원성 대장균 O 항혈청(Denka Seiken Co.)을 이용하여 slide 응집반응으로 실시하였다. 분리균을 tryptic soy agar에 2회이상 활성화 시킨 후 자란 S형 집락을 항원으로 이용하여 먼저 다가 혈청과 응집반응을 실시하고 이어서 응집된 다가혈청에 포함되는 단일 O 혈청 각각과 응집반응을 실시하였다. 응집유무의 판정은 육안으로 분명하게 확인되는 응집이 30초 이내에 일어나는 경우를 양성으로 판정하고, 응집이 일어나지 않거나 늦게 일어나는 응집은 음성으로 판정하였다.

Table 1. *Escherichia coli* O antiserum used in study

<i>Escherichia coli</i> O antiserum used							
Polyvalent I	O1,	O26,	O86,	O111,	O119,	O127a,	O128
Polyvalent II	O44,	O55,	O125,	O126,	O146,	O166	
Polyvalent III	O18,	O114,	O142,	O151,	O157,	O158	
Polyvalent IV	O6,	O27,	O78,	O148,	O159,	O168	
Polyvalent V	O20,	O25,	O63,	O153,	O167		
Polyvalent VI	O8,	O15,	O115,	O169			
Polyvalent VII	O28ac,	O112ac,	O124,	O136,	O144		
Polyvalent VIII	O29,	O143,	O152,	O164,			

## 5. 항생제 감수성 시험

분리된 대장균의 약제감수성 시험은 Steers 등의 방법에 따라 한천평판회석법을 사용하였다. 약제 감수성 시험의 기초배지로는 Mueller Hinton medium(Difco)을 사용하였으며, 감수성 시험에 사용한 약제의 종류 및 농도는 Table 2와 같다. 또한 각각의 약제에 대한 발육 최소억제농도(MIC, minimal inhibitory concentration)를 구하였다. 즉, 공시균을 37℃에서 18시간 배양하여,  $3 \times 10^4$  CFU/ml로 균수를 조정한다음 각각의 항생제가 6.25, 12.5, 25, 50 및 100µg/ml의 농도로 함유된 Mueller Hinton medium에 multiple inoculator로 접종하고 37℃, 24시간 배양한 후 집락의 형성 유무로써 MIC를 구하였다.

Table 2. The kinds and concentration of antibiotics for antibiotic susceptibility test

Antibiotics	Concentration (µg/ml)	Antibiotics	Concentration (µg/ml)
Ampicillin(Am)	25.0	Moxalactam(Mx)	50.0
Amikacin(Ak)	25.0	Novobiocin(Nb)	12.5
Carbenicillin(Cb)	25.0	Penicillin G(Pg)	25.0
Chloramphenicol(Cl)	25.0	Polymyxin B(Pb)	50.0
Colistin(Co)	6.25	Streptomycin(St)	12.5
Cephalothin(Cp)	25.0	Tobramycin(Tb)	6.25
Erythromycin(Em)	6.25	Tetracycline(Tc)	12.5
Gentamicin(Gm)	6.25	Trimethoprim(Tm)	6.25

### III. 결과 및 고찰

#### 1. 대장균의 분리

부산시 관내의 지정병원 2곳에 설사질환으로 내원한 환자 1,239명의 분변으로부터 대장균을 분리한 결과는 Table 3과 같다. 대상환자 총 1,239명중 621명의 환자분변으로부터 721주의 대장균을 분리하였다.

Table 3. Numbers of *E. coli* isolates from patients with diarrhea

No. of total sample	No. of isolated sample	No. of isolates
1,239	621	721

\* , Sample is number of patient with diarrhea

Table 3의 결과와 같이 설사환자 총 1,239명 중 621명의 환자에서만 대장균이 분리되어 졌다는 사실은 병원을 찾는 설사환자의 절반정도가 병원성 대장균 이외의 다른 원인에 의한 설사증이라는 것을 추측해 볼 수 있다. 이러한 원인으로서는 virus성 설사, *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Yersinia enterocolitica*와 같은 식중독 원인균에 의한 설사, 기생충 및 원충성 질환에 의한 설사 및 다양한 원인으로 의한 위나 장의 전해질 불균형 등 여러 가지 요인들이 설사의 원인이 될 수 있다. 본 연구에서는 한정된 가검물 즉, 분변이 아닌 MacConkey agar에 도말된 plate를 가검물로 사용하였기 때문에 대장균 이외의 원인에 대하여는 규명해 볼 수 없었으며, 이러한 원인의 규명을 위하여는 다각적인 조사연구가 필요할 것으로 생각된다.



## 2. 분리균의 생화학적 특성

설사환자로부터 분리된 721주의 대장균에 대한 생화학적 특성은 Table 4와 같다.

Table 4. Biochemical properties of *Escherichia coli* isolates from patient with diarrhea

Biochemical test	No. of positive	%
Production of		
- catalase	721	100.0
- cytochrome-oxidase	0	0
- indole	721	100.0
- acetoin	0	0
- beta-galactosidase	712	98.8
- arginine dihydrolase	212	29.4
- lysine decarboxylase	665	92.3
- ornithine decarboxylase	526	73.0
- urease	0	0
- tryptophane desaminase	0	0
- gelatinase	0	0
- H <sub>2</sub> S	0	0
Citrate utilization	0	0
Methyl red test	721	100.0
Nitrate reduction	721	100.0
Carbohydrate fermentation		
- glucose	721	100.0
- manitol	721	100.0
- inositol	9	0.7
- sorbitol	683	94.8
- rhamnose	681	94.4
- sucrose	389	54.0
- melibiose	701	97.2
- amygdalin	9	1.2
- arabinose	625	86.7
- adonitol	29	4.0
- cellibiose	0	0
- dulcitol	394	54.7
- salicin	2	0.3

분리된 대장균 721주에 대한 생화학적 성상은 Table 4와 같이 catalase, indole, methylred, nitrate 환원시험, glucose 및 mannitol fermentation 시험에서 전 공시균주가 양성반응을 나타내었고, cytochrome-oxidase, acetoin, urease, tryptophane desaminase, gelatinase, citrate이용능 시험 및 cellibiose fermentation 시험에서 전 균주가 음성반응을 나타내었다. 또한 beta-galactosidase, arginine dihydrolase, lysine decarboxylase, ornithine decarboxylase 시험 및 inositol, sorbitol, rhamnose, sucrose, melibiose, amygdalin, arabinose, adonitol, dulcitol, salicin 등의 carbohydrate fermentation 시험에서 각각 98.8%, 29.4%, 92.3%, 73.0%, 0.7%, 94.8%, 94.4%, 54.0%, 97.2%, 1.2%, 86.7%, 4.0%, 54.7% 및 0.3%의 분리균주가 양성반응을 나타내어 Ewing 등<sup>2)</sup>의 *E. coli*에 대한 생화학적 성상검사 성적과 유사한 결과를 보였다.

### 3. 설사환자의 발생분포

1998년 월별 설사환자의 발생분포는 Fig. 1, 연령별 발생분포는 Fig. 2와 같다. 먼저 월별 설사 환자의 발생은 8월에 131명으로 가장 높은 발생율을 나타낸 반면, 1월에 59명으로 가장 낮은 발생율을 보였다. 그러나 1월에 발생한 설사환자를 제외하고는 계절에 크게 관계없이 연중 지속적으로 고른 발생 분포를 나타내었다.

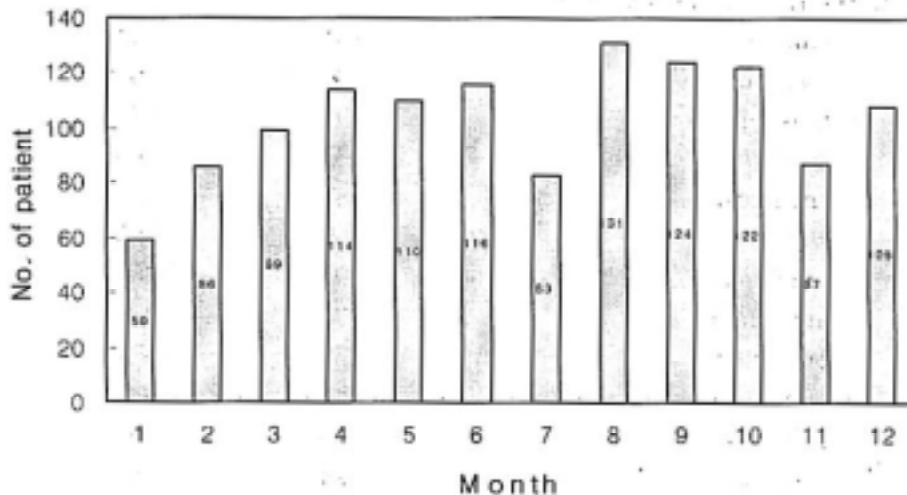


Fig. 1. Distribution of incidence of patient with diarrhea by month.

설사환자의 연령별 발생분포는 Fig. 2와 같이 1세 이하의 유아와 10세 이하의 어린이가 633명으로 전체 설사환자의 50% 이상을 나타내어 어린이들의 설사증 예방을 위한 많은 노력이 이루어져야 할 것으로 사료된다. 또한 50대의 경우 123명, 40대의 경우 114명, 60대의 경우 99명, 30대의 경우 79명, 10대의 경우 74명, 20대의 경우 63명의 순으로 높은 발생율을 나타내었으며 70세 이상의 노인들은 54명으로 가장 낮은 발생율을 보였다.

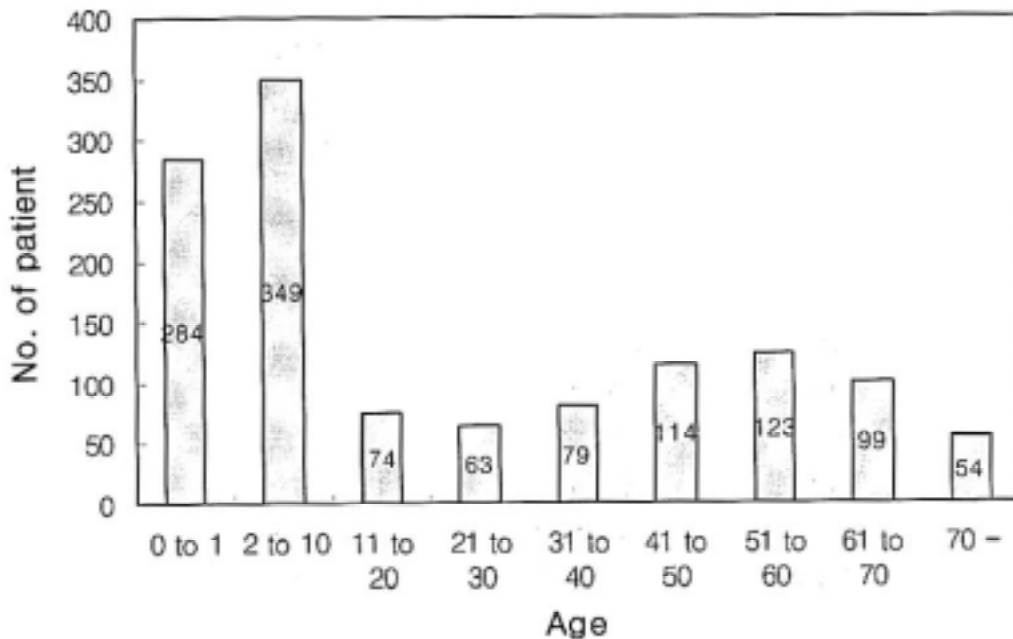


Fig. 2. Distribution of incidence of patient with diarrhea by age.

#### 4. 혈청형별 분포 및 verotoxin 생산능

분리된 대장균 721주의 혈청형별 분포 및 분리균의 verotoxin 생산능을 조사한 결과는 Table 5와 같다. 설사환자로부터 분리한 대장균 721주중 499(69.2%)주가 21종의 병원성 대장균으로 형별되었으며, 나머지 222주(30.8%)는 본 실험에서 사용한 43종의 병원성 대장균 항혈청으로 분류되지 않았다. 혈청형별 분포는 혈청형 O44가 121주(16.8%)로서 가장 높은 분포도를 나타내었으며, O153 (8.6%), O1(7.5%), O166(5.7%), O8과 O86a(각각

4.7%), O125(4.6%) 등의 순으로 높은 분포율을 나타내었다.

Table 5. Serological distribution of serotype and verotoxin producing 721 strains of *Escherichia coli* isolated from patient with diarrhea

Serotype	No. of isolates (%)	No. of verotoxin producing strain* (%)
O1	54( 7.5)	3(0.4)
O6	31( 4.3)	2(0.3)
O8	34( 4.7)	0
O18	27( 3.7)	8(1.1)
O25	2( 0.3)	0
O44	121(16.8)	0
O55	3( 0.4)	0
O86a	41( 5.7)	0
O114	4( 0.6)	0
O115	2( 0.3)	0
O125	33( 4.6)	4(0.6)
O126	5( 0.7)	0
O128	4( 0.6)	0
O142	7( 1.0)	0
O143	3( 0.4)	0
O144	4( 0.6)	0
O146	7( 1.0)	0
O148	7( 1.0)	0
O153	62( 8.6)	5(0.7)
O166	41( 5.7)	0
O167	7( 1.0)	0
ND**	222(30.8)	12(1.7)

\*, Verotoxin producing strains were detected by cytotoxicity test using Vero cells

\*\* , not detected

분리된 721주의 대장균에 대하여 Vero cells을 이용한 생물학적인 verotoxin 생산능을 조사해 본 결과 34주(4.7%)의 대장균 배양 상층액이 단층배양된 Vero cells에 세포 변성효과를 나타내었으며, 세포독성의 정도는  $10^3$  CD<sub>50</sub>/ml 이상으로 나타나 이들 균주의 verotoxin 생산성이 의심되었다. Vero cells에 세포변성효과를 나타내는 균주 대부분의 혈청형은 병원성 대장균의 EHEC (enterohemorrhagic *Escherichia coli*) 군에 속하는 O1, O6, O18, O125, O153이었으며, 이들 중 혈청형 O18에 속하는 분리균이 8주로서 가장 많았다. 또한 공시된 항혈청에 분류되지 않은 균주중 12주가 Vero cells에 세포 변성효과를 나타내어 이에 대한 계속적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

## 5. 분리균의 항생제 내성 및 내성유형

설사환자로부터 분리된 721주의 대장균을 15종의 공시 약제에 대하여 내성정도를 확인해 본 성적은 Table 6과 같다.

Table 6. Resistant rate of *Escherichia coli* isolates against 16 antibiotics

Antibiotics	No. of resistant strain (%)	Antibiotics	No. of resistant strain (%)
Ampicillin	619( 85.9)	Moxalactam	700( 97.1)
Amikacin	0	Novobiocin	714( 99.0)
Carbenicillin	693( 96.1)	Penicillin G	721(100.0)
Chloramphenicol	336( 46.6)	Polymyxin B	30( 4.2)
Colistin	721(100.0)	Streptomycin	565( 78.4)
Cephalothin	557( 77.3)	Tobramycin	501( 69.5)
Erythromycin	721(100.0)	Tetracycline	652( 90.4)
Gentamicin	605( 84.0)	Trimethoprim	488( 67.7)

항균제 내성시험 결과 Ak에는 분리균 모두 감수성을 나타내어 설 등<sup>16)</sup> 이 각종 병원성 검체로부터 분리한 대장균의 항균제 감수성 성적과 동일하였고, Ak, Pb 및 Cl을 제외한 13종의 항균제에 대하여 분리균의 50% 이상이 내성을 나타내었으며, 특히 Co, Em, Pg 등에는 721주의 분리균 모두 내성을 나타내어 항균제에 대한 병원성 대장균의 내성 정도가 심각하다는 것을 추측할 수 있다. 또한 16종의 공시약제에 대한 분리균의 최소발육억제농도(MIC)를 검정한 결과 Am, Cb, Em, Mx, Pg 등의 약제에 대하여 분리균의 80% 이상이 100 $\mu$ g/ml 이상의 높은 농도에서 MIC에 포함될 것으로 예측되어 치료약제로서의 이용성이 제고되어야 할 것으로 나타났다(결과 미제시).

공시약제에 대한 분리주의 내성유형은 모든 균주가 최소 5종류 이상의 약제에 대하여, 최고 14종류의 약제에 대하여 내성을 나타내는 다양한 다제 내성형을 나타내었으며, 14제 내성형(26.1%), 13제 내성형(22.3%), 12제 내성형(17.3%), 11제 내성형(14.8%), 10제 내성형(8.5%), 9제 내성형(6.0%) 등의 순으로 높은 분포를 보였다. 특히 4종류의 14제 내성형 중 Am Cb Cl Co Cp Em Gm Mx Nb Pg St Tb Tc Tm의 내성형이 전체 분리균주의 24.3%로 가장 높은 내성유형을 나타내어 설사환자에서 분리되는 대장균의 항균제에 대한 내성이 심각하다는 것을 알 수 있다. 다제 내성형의 종류는 14제 내성이 4종류, 13제 내성이 15종류, 12제 내성형이 20종류, 11제 내성형이 32종류, 10제 내성형이 25종류, 9제 내성형이 16종류, 8제 내성형이 7종류로 분류되었으며, 7제 내성형과 6제 내성형 및 5제 내성형은 각각 2종류로 나타나 본 실험에 공시된 16종의 항생제에 대한 설사환자 유래 대장균의 내성유형은 총 125종류로 분류되었다.

많은 선행 연구자들에 따르면 주로 항균제 내성을 야기시키는 Gram 음성 세균의 대부분이 *Enterobacteriaceae*에 속하는 몇몇 균종들과 비발효균인 *Pseudomonas* 및 *Acinetobacter* 들이라고 보고되고 있다<sup>17,18)</sup> 임상적으로 문제가 되어온 항균제 내성은 처음에는 아미노페당체 항균제에 내성을 나타내는 균주로부터 시작하여 최근에는 확장된 항균범위를 가지는 3세대 cephalosporin계 항균제를 포함하는 다양한  $\beta$ -lactam 항균제에도 내성을 나타내게 되었으며, 이 모든 항균제에 내성을 나타내는 균주도 나타나고 있다<sup>19)</sup>.

이러한 항균제내성 특히 다제 내성균은 이들 균에 의한 감염의 치료시 항균제 선택의 어려움 뿐만아니라 그 일부는 병원내 환경에서 서식하면서 흔히 병원내 감염의 원인이 되기도 하며, 약제 내성을 지배하는 유전인자인 전달성 plasmid의 작용으로 동일한 균종 간 또는 전혀 다른 균종간에도 내성이 쉽게 확산될 수 있다는 점에서 역학적으로 큰 문제점이 있을 수 있다<sup>30)</sup>.

Table 7. Resistant pattern of antibiotics against the isolated 721 *Escherichia coli*

Resistant patterns	No. of resistant strain(%)	Sub-total (%)
Am Cb Cl Co Cp Em Gm Mx Nb Pg St Tb Tc Tm	175(24.3)	
Am Cb Co Cp Em Gm Mx Nb Pb Pg St Tb Tc Tm	7( 1.0)	
Am Cb Cl Co Cp Em Gm Mx Nb Pb St Tb Tc Tm	4( 0.6)	
Am Cb Co Cp Em Gm Mx Nb Pb Pg St Tb Tc Tm	2( 0.3)	188(26.1)
Am Cb Co Cp Em Gm Mx Nb Pg St Tb Tc Tm	76(10.5)	
Am Cb Cl Co Cp Em Gm Mx Nb Pg St Tc Tm	29( 4.0)	
Am Cb Cl Co Cp Em Gm Mx Nb Pg St Tb Tc	22( 3.1)	
Am Cb Cl Co Em Gm Mx Nb Pg St Tb Tc Tm	9( 1.2)	
Am Cb Cl Co Cp Em Gm Mx Nb Pg Tb Tc Tm	9( 1.2)	
Am Cb Cl Co Cp Em Gm Nb Pg St Tb Tc Tm	3( 0.4)	
Am Cb Cl Co Cp Em Mx Nb Pg St Tb Tc Tm	3( 0.4)	
Am Cb Cl Co Cp Em Gm Mx Pg St Tb Tc Tm	3( 0.4)	
Am Cb Cl Co Cp Em Gm Mx Nb Pg St Tb Tm	1( 0.1)	
Am Cb Cl Co Em Gm Mx Nb Pg St Tb Tc Tm	1( 0.1)	
Cb Cl Co Cp Em Gm Mx Nb Pb Pg St Tb Tc	1( 0.1)	
Am Cb Cl Co Cp Em Mx Nb Pb Pg St Tc Tm	1( 0.1)	
Am Cb Co Cp Em Gm Nb Pb Pg St Tb Tc Tm	1( 0.1)	
Am Cl Co Cp Em Gm Mx Nb Pg St Tb Tc Tm	1( 0.1)	
Cb Co Cp Em Gm Mx Nb Pb Pg St Tb Tc Tm	1( 0.1)	161(22.3)
Am Cb Co Cp Em Gm Mx Nb Pg St Tb Tc	46( 6.4)	
Am Cb Co Cp Em Gm Mx Nb Pg St Tc Tm	27( 3.7)	
Am Cb Co Em Gm Mx Nb Pg St Tb Tc Tm	13( 1.8)	
Am Cb Cl Co Cp Em Mx Nb Pg St Tc Tm	10( 1.4)	
Am Cb Co Cp Em Gm Mx Nb Pg Tb Tc Tm	7( 1.0)	
Am Cb Cl Co Cp Em Gm Nb Pg St Tb Tc	5( 0.7)	
Am Cb Cl Co Em Gm Mx Nb Pg St Tc Tm	4( 0.6)	
Am Cb Cl Co Cp Em Gm Mx Nb Pg Tb Tm	2( 0.3)	

Continued

Resistant patterns												No. of resistant strain(%)	Sub-total (%)
Am	Cb	Cl	Co	Cp	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	St	Tc	2( 0.3)	
Am	Cb	Cl	Co	Cp	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	St	Tm	1( 0.1)	
Am	Cb	Cl	Co	Cp	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	Tb	Tc	1( 0.1)	
Am	Cb	Cl	Co	Cp	Em	Nb	Pg	St	Tb	Tc	Tm	1( 0.1)	
Am	Cb	Cl	Co	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	St	Tb	Tm	1( 0.1)	
Am	Cb	Cl	Co	Em	Mx	Nb	Pg	St	Tb	Tc	Tm	1( 0.1)	
Am	Cb	Co	Cp	Em	Gm	Mx	Nb	Pb	Pg	Tb	Tc	1( 0.1)	
Am	Cb	Co	Cp	Em	Mx	Nb	Pb	Pg	St	Tc	Tm	1( 0.1)	
Am	Cb	Co	Cp	Em	Mx	Nb	Pg	St	Tb	Tc	Tm	1( 0.1)	
Cb	Cl	Co	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	St	Tb	Tc	Tm	1( 0.1)	
Cb	Cl	Co	Cp	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	St	Tb	Tc	1( 0.1)	
Cb	Cl	Co	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	St	Tb	Tc	Tm	1( 0.1)	125(17.3)
Am	Cb	Co	Cp	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	St	Tc	17( 2.4)		
Am	Cb	Cl	Co	Cp	Em	Mx	Nb	Pg	St	Tc	10( 1.4)		
Am	Cb	Co	Cp	Em	Mx	Nb	Pg	St	Tc	Tm	9( 1.2)		
Am	Cb	Co	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	St	Tc	Tm	9( 1.2)		
Am	Cb	Co	Cp	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	Tb	Tc	9( 1.2)		
Am	Cb	Co	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	St	Tb	Tc	6( 0.8)		
Am	Cb	Co	Cp	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	St	Tm	4( 0.6)		
Am	Cb	Cl	Co	Cp	Em	Mx	Nb	Pg	Tc	Tm	4( 0.6)		
Am	Cb	Cl	Co	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	St	Tc	4( 0.6)		
Am	Cb	Co	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	Tb	Tc	Tm	4( 0.6)		
Cb	Cl	Co	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	St	Tc	Tm	4( 0.6)		
Cb	Co	Em	Gm	Mx	Nb	Pb	Pg	St	Tb	Tc	4( 0.6)		
Am	Cb	Cl	Co	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	Tb	Tc	2( 0.3)		
Am	Cb	Cl	Co	Cp	Em	Mx	Nb	Pg	St	Tm	2( 0.3)		
Am	Cl	Co	Cp	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	Tb	Tc	2( 0.3)		
Am	Cb	Cl	Co	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	Tc	Tm	1( 0.1)		
Cb	Cl	Co	Cp	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	Tb	Tc	1( 0.1)		
Am	Cb	Cl	Co	Em	Gm	Nb	Pg	St	Tb	Tc	1( 0.1)		
Am	Cb	Cl	Co	Em	Mx	Nb	Pb	Pg	St	Tc	1( 0.1)		
Am	Cb	Co	Cp	Em	Gm	Mx	Nb	Pb	Pg	Tc	1( 0.1)		
Am	Cb	Co	Cp	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	St	Tb	1( 0.1)		
Am	Cb	Co	Cp	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	Tb	Tm	1( 0.1)		
Am	Cb	Co	Cp	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	Tc	Tm	1( 0.1)		



Continued

Resistant patterns											No. of resistant strain(%)	Sub-total (%)
Am	Cb	Co	Cp	Em	Gm	Nb	Pg	Tb	Tc	Tm	1(0.1)	
Am	Cb	Co	Cp	Em	Mx	Nb	Pg	St	Tb	Tc	1(0.1)	
Am	Cb	Co	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	St	Tc	Tm	1(0.1)	
Am	Cb	Co	Em	Mx	Nb	Pg	St	Tb	Tc	Tm	1(0.1)	
Cb	Cl	Co	Cp	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	Tc	Tm	1(0.1)	
Cb	Cl	Co	Cp	Em	Mx	Nb	Pb	Pg	St	Tc	1(0.1)	
Cb	Co	Cp	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	St	Tb	Tc	1(0.1)	
Cb	Co	Cp	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	St	Tc	Tm	1(0.1)	
Cb	Co	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	St	Tb	Tc	Tm	1(0.1)	107(14.8)
Am	Cb	Co	Cp	Em	Mx	Nb	Pg	Tc	Tm	12(1.7)		
Am	Cb	Co	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	St	Tc	8(1.1)		
Am	Cb	Co	Cp	Em	Mx	Nb	Pg	Tb	Tc	6(0.8)		
Am	Cb	Co	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	Tc	Tm	6(0.8)		
Cb	Co	Cp	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	St	Tc	5(0.7)		
Cb	Co	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	St	Tb	Tc	4(0.6)		
Cb	Co	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	St	Tc	Tm	2(0.3)		
Co	Cp	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	St	Tc	Tm	2(0.3)		
Am	Cb	Co	Cp	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	Tb	1(0.1)		
Am	Cb	Cl	Co	Em	Mx	Nb	Pg	St	Tc	1(0.1)		
Am	Cb	Co	Cp	Em	Gm	Nb	Pb	Pg	Tb	1(0.1)		
Am	Cb	Cl	Co	Em	Mx	Nb	Pg	Tb	Tc	1(0.1)		
Am	Cb	Co	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	Tb	Tc	1(0.1)		
Am	Cb	Co	Cp	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	Tb	1(0.1)		
Am	Cb	Co	Em	Mx	Nb	Pg	St	Tb	Tc	1(0.1)		
Am	Cb	Co	Cp	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	Tc	1(0.1)		
Am	Cb	Co	Cp	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	Tm	1(0.1)		
Am	Cb	Co	Cp	Em	Mx	Nb	Pg	St	Tc	1(0.1)		
Am	Cb	Co	Cp	Em	Nb	Pg	St	Tb	Tc	1(0.1)		
Am	Cb	Co	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	St	Tm	1(0.1)		
Am	Cb	co	Em	Mx	Nb	Pb	Pg	Tc	Tm	1(0.1)		
Am	Cb	Co	Em	Mx	Nb	Pg	St	Tc	Tm	1(0.1)		
Cb	Co	Cp	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	Tc	Tm	1(0.1)		
Cb	Co	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	Tb	Tc	Tm	1(0.1)		
Co	Cp	Em	Mx	Nb	Pg	St	Tb	Tc	Tm	1(0.1)	61( 8.5)	

Continued

Resistant patterns									No. of resistant strain(%)	Sub-total (%)
Cb	Co	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	Tb	Tc	9(1.2)	
Cb	Co	Cp	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	Tc	9(1.2)	
Am	Cb	Co	Cp	Em	Mx	Nb	Pg	Tm	8(1.1)	
Am	Cb	Co	Cp	Em	Gm	Nb	Pg	Tc	2(0.3)	
Am	Cb	Co	Em	Mx	Nb	Pg	St	Tc	2(0.3)	
Am	Cb	Co	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	Tb	2(0.3)	
Am	Cb	Co	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	Tc	2(0.3)	
Am	Co	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	Tc	Tm	1(0.1)	
Cb	Co	Cp	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	Tb	1(0.1)	
Cb	Co	Cp	Em	Mx	Nb	Pg	St	Tc	1(0.1)	
Cb	Co	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	Tc	Tm	1(0.1)	
Cb	Co	Em	Gm	Nb	Pb	Pg	Tb	Tc	1(0.1)	
Cb	Co	Em	Mx	Nb	Pg	St	Tb	Tc	1(0.1)	
Cb	Co	Em	Mx	Nb	Pg	St	Tc	Tm	1(0.1)	
Co	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	St	Tb	Tc	1(0.1)	
Co	Em	Mx	Nb	Pg	St	Tb	Tc	Tm	1(0.1)	43( 6.0)
Cb	Co	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	Tb		6(0.8)	
Cb	Co	Em	Mx	Nb	Pg	Tc	Tm		6(0.8)	
Am	Cb	Co	Em	Mx	Nb	Pg	St		2(0.3)	
Am	Cb	Co	Em	Mx	Nb	Pg	Tc		1(0.1)	
Am	Co	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	Tb		1(0.1)	
Cb	Co	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	Tc		1(0.1)	
Cb	Co	Em	Mx	Nb	Pg	St	Tm		1(0.1)	18( 2.5)
Co	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	Tb			2(0.3)	
Co	Em	Gm	Mx	Nb	Pg	Tc			1(0.1)	3( 0.4)
Cb	Co	Em	Mx	Nb	Pg				2(0.3)	
Co	Em	Mx	Nb	Pg	Tc				1(0.1)	3( 0.4)
Co	Em	Mx	Nb	Pg					11(1.5)	
Cb	Co	Em	Mx	Pg					1(0.1)	12( 1.7)

이러한 점에서 본 연구의 결과는 항균제의 오용이나 남용에 경각심을 줄 수 있는 홍보자료로서 뿐만아니라, 병원성 대장균에 의한 설사환자의 치료시에 항균제 선택의 유용한 자료가 될 수 있을 것으로 사료된다.

## IV. 결 론

설사환자에 대한 기초 역학자료의 일환으로 부산지역의 설사환자로부터 분리한 대장균의 혈청형별 분포와 항생제 내성유형을 확인한 결과 다음과 같은 성적을 얻었다.

1. 부산시 관내의 설사환자 1,239명의 분변으로부터 대장균을 분리한 결과 1,239명중 621명의 환자분변으로부터 721주의 대장균을 분리 동정하였다.
2. 설사 환자의 월별 발생 분포는 8월에 131명으로 가장 높은 발생율을 나타낸 반면, 1월에 59명으로 가장 낮은 발생율을 보였다. 그러나 1월에 발생한 설사환자를 제외하고는 계절에 크게 관계없이 연중 지속적으로 고른 발생 분포를 나타내었다. 연령별 발생분포는 1세 이하의 유아와 10세 이하의 어린이가 633명으로 전체 설사환자의 50% 이상을 나타내었고, 50대의 경우 123명, 40대의 경우 114명, 60대의 경우 99명, 30대의 경우 79명, 10대의 경우 74명, 20대의 경우 63명의 순으로 높은 발생율을 나타내었으며 70세 이상의 노인들은 54명으로 가장 낮은 발생율을 보였다.
3. 혈청형별 분포는 혈청형 O44가 121주(16.8%)로서 가장 높은 분포도를 나타내었으며, O153 (8.6%), O1(7.5%), O166(5.7%), O8과 O86a(각각 4.7%), O125(4.6%) 등의 순으로 높은 분포율을 나타내었다.
4. 분리된 721주의 대장균에 대하여 Vero cells을 이용한 생물학적인 verotoxin 생산능을 조사해 본 결과 36주(5.0%)의 대장균 배양 상층액이 단층배양된 Vero cells에 세포변성효과를 나타내어 verotoxin 생산성이 의심되었다. Vero cells에

세포변성효과를 나타내는 균주 대부분의 혈청 형은 병원성 대장균의 EHEC (enteropathogenic hemorrhagic *Escherichia coli*) 군에 속하는 O1, O6, O18, O125, O153이었으며, 이들 중 혈청형 O18에 속하는 분리균이 8주로서 가장 많았다.

5. 항균제 내성시험 결과 amikacin에는 분리균 모두 감수성을 나타내었으며, colistin, erythromycin, penicillin G 등에는 분리균 모두 내성을 나타내었다. 공시약제에 대한 분리주의 내성유형은 14제 내성형(26.1%), 13제 내성형(22.3%), 12제 내성형(17.3%), 11제 내성형(14.8%), 10제 내성형(8.5%), 9제 내성형(6.0%) 등의 순으로 높은 분포를 보였으며, 본 실험에 공시된 16종의 항생제에 대한 설사환자 유래 대장균의 내성유형은 총 125종류로 분류되었다. 특히 Am Cb Cl Co Cp Em Gm Mx Nb Pg St Tb Tc Tm의 14제 내성형이 전체 분리균주의 24.3%로 가장 높은 내성유형을 나타내었다.

## V. 참고 문헌

1. Bettelheim, K.A. 1994. Biochemical characteristics of *Escherichia coli*, p.30-33. In C.L. Gyles(ed.), *Escherichia coli* in domestic animals and humans. CAB International, Wallingford, United Kingdom.
2. Edwards, P.R., and W.H. Ewing. 1972. Identification of Enterobacteriaceae. Burgess Publishing Co., Minneapolis, Minn.
3. Katherine, H. and A.H. Linton. 1976. The distribution of O-antigen types of *E. coli* in normal calves.
4. DoPont, H.L., S.B. Formal, R.B. Hornick, M.J. Snyder, J.P. Libonati, D.G. heaham, E.H. Labrec, and J.P. Kalas. 1971. Pathogenesis of *Escherichia coli* diarrhea. N. Engl. J. Med. 258 : 1-9.
5. Griffin, P.M. 1995. *Escherichia coli* O157 : H7 and other enterohemorrhagic *Escherichia coli*, p.739-761. In M.J. Blaser, P.D. Smith, J.I. Ravdin, H.B. Greenberg and R.L. Guerrant(ed.), Infections of the gastrointestinal tract. Raven Press, New York.

6. Boscia, J.A., W.D. Kobasa, R.A. Knight, E. Abrutyn, M.E. Levison and D. Kaye. 1986. Epidemiology of bacteriuria in an elderly ambulatory population. *Am. J. Med.* 80 : 208-214.
7. Albert, B., J.H.Jr. William, D.I. Henry and M.J. Shadomy. 1991. Manual of clinical microbiology, p.360-383. In J.J. Farmer III and M.T. Kelly(ed.), *Enterobacteriaceae*. American Society for Microbiology, Washington D.C.
8. Karmali, M.A. 1985. Infection by Verotoxin-producing *Escherichia coli*. *J. Infect. Dis.* 151 : 775-782.
9. Konowalchuk, J., N. Dickie, S. Stavric and J.L. Speirs. 1978. Comparative studies of five heat-labile toxic products of *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 22 : 644-648.
10. Jacson, M.P., R.L. Deresiewicz and S.B. Calderwood. 1990. Mutation analysis of the Shiga toxin and Shiga-like toxinII enzymatic subunits. *J. Bacteriol.* 172 : 3346-3350.
11. Hovde, C.J., S.B. Calderwood, J.J. Mekalanos and R.J. Collier. 1988. Evidence that glutamic acid 167 is an active-site residue of Shiga-like toxin I . *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 85 : 2568-2572.
12. Endo, T., K. Tsurugi, T. Yutsudo, et al. 1988. Site of action of Verotoxin(VT2) from *Escherichia coli* O157 : H7 and of Shiga toxin on eukaryotic ribosomes. RNA N-glycosidase activity of the toxins. *Eur. J. Biochem.* 171 : 45-50.
13. Karmali, M.A., M. Petric, C. Lim, et al. 1985. The association between hemolytic uremic syndrome and infection by Verotoxin-producing *Escherichia coli*. *J. Infect. Dis.* 151 : 775-782.
14. Mary, G.K. and M.D. Joel. 1980. Quantitative microtiter cytotoxicity assay for *Shigella* toxin. *J. Clin. Microbiol.* 12 : 361-366.
15. Steers, E., E.L. Flotz and B.S. Grabes. 1969. An inocula replicating apparatus for routine testing of bacterial susceptibility to antibiotics. *Antibiot. Chemother.* 2 : 307.
16. 설성용, 장희경, 김정민, 신행섭, 이재철, 이유철, 조동택, 김경숙. 1997. 원내감염

- 대장균의 역학조사를 위한 분자유전적 분석. 대한미생물학회지. 32 : 1-14.
17. Chow, J.W. and Shales, D.M. 1991. Imipenem resistance associated with loss of a 40KDa outer membrane protein in *Enterobacter aerogenes*. J. Antimicrob. Chemother. 28 : 499-504.
  18. Johson, M.P. and Ramphal, R. 1990.  $\beta$ -lactam-resistant *Enterobacter* bacteremia in febrile neutropenic patients receiving monotherapy. J. Infect. Dis. 162 : 981-983.
  19. Totzis, P. and J.L. Blumer. 1995. Antibiotic-resistant Gram-negative bacteria in the critical care setting. Antimicrob. Resist. Pediat. 42 : 687-701.
  20. Meyer, K.S., C. Urban, J.A. Eagan, B.J. Berger and J.J. Rahal. 1993. Nosocomial outbreak of *Klebsiella* infection resistant to late-generation cephalosporins. Ann. Intern. Med. 119 : 353-359.