

# 微生物學的 水質 汚染度 : 漢江水에서 分難된 大腸菌群의 藥劑耐性 및 傳達性因子의 分布

朴 錫 基\* · 趙 南 俊 · 龍 萬 重  
調查指導科\* · 細菌科

## Microbiological Water Pollution: Antibiotic Resistance of Coliforms Isolated from the Han River

Seog Gee Park,\* Nam Joon Chough, and Mahn Joong Yong

*Investigation and Guidance Division\* and Bacteriology Division*

### =Abstract=

The water in the Han river, in Seoul metropolitan area, was investigated for total coliforms and coliforms with transferable resistance to streptomycin(SM), ampicillin (AM), tetracycline(TC) and kanamycin(KM).

The mean of total coliforms in the water was  $81.2 \times 10^3$  per milliliter and 12.55% of them were resistant to streptomycin. Of these organisms, about 90% of streptomycin resistants showed mutiple antibiotic resistance.

The most frequent resistant pattern was triple resistance to SM, AM and TC (37.61%), quadruple one to SM, AM, TC and KM (19.66%) and double SM and TC(19.66%). Of resistant strains 18.8% carried R factors by conjugation.

### 緒 論

漢江本流가 서울市內를 貫流하고 있는 동안 7個 水源池로 부터 市民의 上水를 供給하고 있는 同時에 서울市內 및 近郊의 大小支川을 通하여 많은 汚染源이 流入되고 있는 實情이다. 즉 支川水에 對한 下水處理 施設의 未備로 各種 有害物質은 물론 大腸菌群의 檢出 率도 每年 增加되고 있으며 病原性腸內細菌도 分難되고 있다. 1-5)

近來에는 抗生物質의 濫用으로 人畜에서 傳達性因子를 가진 藥劑耐性菌이 顯著히 增加되고 있으며 이들의 一部는 下水를 通하여 支川에 流入되므로 下水川 및 江水에 널리 分布되어 있다고 報告된 바 있다. 6-12)

우리나라에서는 抗生物質이 自由販賣되고 있으며 家畜에는 抗生物質添加劑가 給與되고 있는 바 藥劑耐性菌의 分布가 높을 것으로 推측된다.

그러므로 서울 市民의 上水源인 漢江水에서 大腸菌群

에 對한 耐性菌의 耐性樣相을 調査함은 公衆衛生上 重要한 意義가 있을 것으로 思料되는 바 本試驗을 試圖 하였기에 이를 報告코저 한다.

### 材料 및 方法

供試水 : 서울市內를 貫流하고 있는 漢江의 上中下流 (圖 1參照)에서 1978年 6月부터 12月까지 每月 1回씩 採水하여 供試하였다.

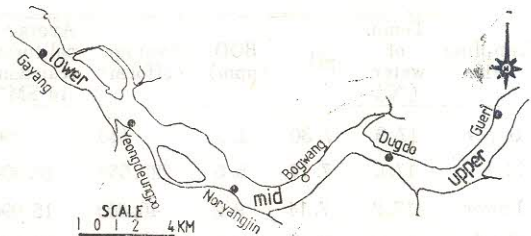


Fig. 1. Map of the Han river showing sampling sites in Seoul area.

總大腸菌群數: 生理食鹽수로 適當한 濃度가 되게 稀釋하여 1.0ml를 McConkey agar 및 streptomycin加 McConkey agar에 分注하여 37°C에서 24時間 培養한 다음 菌의 集落數를 算出하였다.

供試菌: SM添加 McConkey agar에서 乳糖分解 集落을 3~5個씩 任意로 釣菌하여 semisolid agar에 各各 穿刺培養해서 保存한 것을 供試하였으며 被傳達菌으로는 *E. coli* ML 1410NA<sup>r</sup>을 使用하였다.

供試藥劑: 抗菌性物質은 streptomycin(SM), ampicillin(AM), tetracycline(TC), kanamycin(KM), 및 nalidixic acid(NA)로서 이들을 MacLowry等<sup>13)</sup>의 方法에 따라 各各 適當한 溶媒에 溶解시켜 使用하였다.

感受性 試驗: 平板稀釋法에 따라 各抗菌性物質이 1.56, 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200, 및 400 $\mu$ g/ml含有된 平板培地를 使用하였다(調製後 3日以內 使用) 供試菌을 nutrient broth에 18時間 培養시킨 다음 生理食鹽수로 100倍 稀釋한 菌液을 Steers等의 方法<sup>14)</sup>에 따라 multiple inoculator로 抗菌性物質이 含有된 培地에 接種하고 37°C에서 24時間 培養하여 集落形我 有無로서 供試菌의 抗菌性 物質에 對한 最低發育抑制濃度를 調査하고 抗生物質이 12.5 $\mu$ g/ml 以上 添加된 培地에서 集落을 形成한 菌株에 對하여 耐性菌株로 判定하였다.

藥劑耐性 傳達試驗: 供試菌과 被傳達菌을 各各 5.0ml의 brain heart infusion broth에 接種하여 가끔 振盪시키면서 37°C에서 3~4時間 培養시킨 다음 供試菌과 被傳達菌을 1:4의 比率로 混合하여 37°C에서 18時間 培養한 菌液을 NA (25 $\mu$ g/ml)와 SM, TC, AM 및 KM (12.5 $\mu$ g/ml)을 含有한 培地에 接種하여 37°C에서 24時間 培養시킨 다음 集落形成 有無로서 耐性傳達를 判定하였다. 集落中 任意로 10個를 選擇하여 McConkey agar에서 分離한 후 生化學的 實驗으로 被傳達 *E. coli*를 同定하였고 NA 25 $\mu$ g/ml 培地에서 供試菌의 發育抑制로서 被傳達菌임을 確認하였다.

## 結果 및 考察

食水源으로 使用되고 있는 漢江水로 부터 分離된 SM耐性大腸菌群 153株를 供試하여 各藥劑에 對한 感受性을 調査한 바 圖 2에서와 같이 NA와 KM에서는 높은 感受性을 나타내어 耐性菌의 出現率이 낮았으나 TC, AM 및 SM에서는 各各 42.8%, 29.4% 그리고 26.8%가 感受性을 나타내어 耐性菌의 出現率이 높았다.

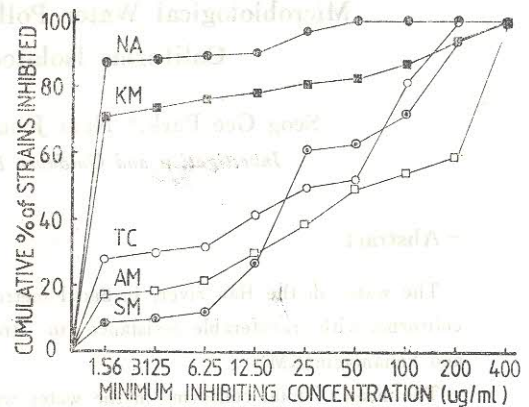


Fig. 2. Antibiotic spectra of SM-resistant coliforms isolated from Han-river.

NA: Nalidixic acid, KM: Kanamycin, TC: Tetracycline, AM: Ampicillin, SM: Streptomycin.

採水時의 水溫, pH 및 生物化學的 酸素要求量(BOD)은 表 1,2에서와 같이 平均 水溫은 17.8°C로서 地點別로는 큰 差異가 없었으나 月別로는 6月이 24.0°C로 가장 높았다가 계속 減少하여 12月에는 5.3°C로 가장 낮은 水溫을 나타내었다. pH는 平均 7.20으로서 地域間에는 큰 差異가 認定되지 않았으나 月別로는 8月의 7.43에서 11月의 6.98의 變動範圍를 나타내었고 BOD는

Table. 1. Incidence of Coliforms showing SM Resistance and Donor Activity at Three Sites on the Han River

Sampling site	Temp. of water (°C)	pH	BOD (ppm)	Average coliform*	Average coliform resistant to SM*	Total resistant to SM (%)	No. of isolates tested for donor activity	No. of isolates showing donor activity	Per cent tested showing donor activity
Upper	17.9	7.30	1.8	440	50	11.36	24	8	33.33
Mid	17.6	7.17	5.5	222,550	16,300	7.32	38	6	15.79
Lower	17.8	7.14	9.2	40,800	15,090	36.99	55	8	14.55
Total	17.8	7.20	5.5	81,200	10,190	12.55	117	22	18.80

\* Average counts per 1.0ml of sample. Concentration of streptomycin: 12.5 $\mu$ g/ml.

Table. 2. Incidence of Coliforms showing SM Resistance and Donor Activity in Samples by Month

Date of sample	Temp. of water (°C)	pH	BOD (ppm)	Average coliform*	Average coliform resistance to SM*	Total resistance to SM (%)	No. of isolates tested for donor activity	No. of isolates showing donor activity	Per cent tested showing donor activity
Jun.	24.0	7.18	14.7	353,350	32,110	9.09	19	5	26.32
Jul.	23.3	7.25	3.1	2,150	195	9.07	11	1	9.09
Aug.	23.3	7.43	4.8	121,230	16,500	13.61	13	3	23.08
Sep.	20.2	7.25	3.1	16,810	3,690	21.95	17	2	11.76
Oct.	17.2	7.15	4.3	55,700	16,030	28.78	16	3	18.75
Nov.	11.2	6.98	3.9	15,090	1,750	11.59	27	8	29.63
Dec.	5.3	7.09	4.8	4,070	1,050	25.79	14	0	—

See the footnote of Table 1.

平均 5.5ppm으로서 上流의 1.8ppm에서 下流의 9.2ppm 까지 上流로 부터 下流로 내려 갈수록 增加하였으며 月別로는 6월이 14.7ppm으로 가장 높았고 그 外에는 3.1~4.8ppm의 變動範圍를 나타내어 供試된 물의 水溫, pH 및 BOD는 1977년의 調査成績<sup>15)</sup>과 大同小異하였다.

總大腸菌數는 平均  $81.2 \times 10^3$ /ml로서 上流는  $4.4 \times 10^2$ /ml로 가장 적었으나 中流에 이르러서는  $222.55 \times 10^3$ /ml로 急激히 增加하다가 下流에서는  $40.8 \times 10^3$ /ml로 減少하였다. 이는 中流地點에 流入되는 中浪川과 淸溪川이 上流와 混合되지 않고 편류되기 때문이며 月別에 따른 큰 差異는 아마도 降雨量과 流量에 緣由된 것 같다.

總大腸菌群에 對한 SM耐性菌의 出現率은 平均 12.55%로서 上流에서는 11.36%, 中流에서는 7.32%로 耐性菌의 出現率이 減少하였으나 下流에 이르러서는 36.99%로 急增하였으며 月別로는 6,7월이 各各 約 9.1%로 比較的 낮았으나 8월(13.61%)부터 上昇하여 10월(28.78%)에 最高出現率을 나타내었다.

Grabow等<sup>16)</sup>은 Apies江에서 SM耐性菌의 出現率이 25.2%, Feary等<sup>12)</sup>은 Warriar-Tambigbee江에서 採水地點에 따라 0~50%의 範圍를, 그리고 우리나라 大邱地方의 新川에서는 39.2%<sup>1)</sup>라고 報告한 바에 의하면 서울市內 漢江에서는 下流를 除外하고 比較的 낮은 出現率을 보였다.

이와같이 藥劑耐性菌이 물에 널리 分布되어 있음은 抗生物質의 영향이 自然界 全般에 미치고 있음을 反映하고 있는 것으로 이는 各支川에서 流入되는 家庭下水 및 産業場의 廢水 流入量에 따라 多少 差異가 있을 것으로 생각된다.

SM耐性菌을 供試한 各抗生劑의 耐性樣狀을 表 3에서와 같이 供試菌 117株中 106株(90.6%)가 SM以外의

他藥劑耐性을 隨伴한 多劑耐性菌이었으며 耐性型別로는 SM, AM, 및 TC에 耐性인 것이 44株(37.61%)로 가장 빈번히 나타나는 耐性樣狀을 보였고 SM, AM, TC 및 KM과 SM 및 AM에 耐性인 것이 各各 23株(19.66%), SM 및 TC에 耐性인 것이 13株(11.11%)이었으며 SM, TC 및 KM에 耐性인 것은 2株(1.71%) 그리고 SM, AM 및 KM에 耐性인 것은 1株(0.85%)이었다.

이는 大邱 新川에서 分離된 SM 耐性大腸菌群에서 SM, AM 및 TC에 耐性인 菌이 23.8%<sup>6)</sup>로 가장 많았다고 한바에 의하면 漢江水의 境遇보다 낮았으나 가장 많이 나타나는 耐性樣狀은 一致되고 있다.

Table. 3. Resistance Patterns of Streptomycin-Resistant Coliforms Isolated from Han-River

Resistance pattern	No. of strains	Per cent
SM AM TC KM	23	19.66
SM AM TC	44	37.61
SM AM KM	1	0.85
SM TC KM	2	1.71
SM AM	23	19.66
SM TC	13	11.11
SM	11	9.40
Total	117	100.000

SM: Streptomycin, AM: Ampicillin, TC: Tetracycline, KM: Kanamycin.

SM耐性菌 117株中 AM耐性을 隨伴한 菌株는 91株(77.78%)로 가장 많았고 TC耐性 경우는 82株(70.09%) 그리고 KM耐性 경우는 26株(22.22%)로서 가장 적었다. 飯島等<sup>7)</sup>은 河川水에서 分離된 SM耐性菌은 KM耐性을 隨伴한 菌株가 많았다고 하였으나 金과 卓<sup>8)</sup>은 SM耐性菌이 TC耐性 혹은 AP 耐性을 隨伴한 菌株가

많은 反面 KM耐性を 隨伴한 菌株은 가장 적었다고 하였다.

供試菌 117株中 22株(18.8%)가 藥劑耐性傳達을 보였으며 上流에서 下流로 내려 갈수록 傳達率은 減少하는 傾向을 나타내었고 月別로는 9.09%에서 29.63%까지 보였으나 12月中에는 耐性傳達菌株가 檢出되지 않았다.

물이 低溫일때 fecal coliform은 減少하지만 藥劑耐性菌과 耐性因子傳達菌에는 영향이 없었다고 한<sup>8)</sup> 바에 의하면 12月중의 低溫時 同一條件下에서 追究할 必要가 있다고 생각된다.

金과 卓<sup>9)</sup>은 新川에서 耐性菌의 87.5%가, Sturtevant<sup>11)</sup>는 下水에서 48.0%가 R因子를 가지고 있다고 하였다. 이에 비하여 漢江水에서 分離된 SM耐性菌은 R因子의 分離率이 낮았다.

*E. coli* ML 1410 NA\*을 被傳達菌으로 使用하여 接合에 의한 耐性傳達에 있어서는 表 4에서와 같이 4劑耐性(SM, AM, TC 및 KM)인 23株中 6株가, 3劑耐性(SM, AM 및 TC)인 44株中에서는 13株가, 2劑耐性인 SM 및 TC의 경우 13株中 2株 그리고 SM 및 AM의 23株中 1株가 各各 耐性傳達을 보였으며 이중 SM, AM 및 TC에 16.7%, AM 및 TC에 15.8%, KM 및 TC에 16.7%, SM 및 AM과 SM 및 TC에 各各 7.7% 그리고 AM에 50.0%, TC에 20.0%, SM에는 10.5%가 耐性因子를 나타 내었다. 故로 多劑耐性因子를 보인 것은 22株中 7株로서 31.8%이었으며 單劑耐性因子는 68.2%이었다.

Table. 4. Transferred Resistance Patterns of Multiply Resistant Coliforms

Resistance pattern	No. of strain	Resistance pattern transferred	No. of strain
SM AM TC KM	6	SM AM TC	1
		AM TC	1
		KM TC	1
		AM	2
		SM	1
SM AM TC	13	SM AM	1
		SM TC	1
		AM TC	2
		TC	1
		AM	7
		SM	1
SM TC	2	TC	2
SM AM	1	AM	1

Sturtevant等<sup>10)</sup>은 原下水中에서 SM 및 TC에 23%, AM, SM 및 TC에 20% 그리고 AM 혹은 AM 및 TC에 15%가 耐性因子를 나타 내었다고 하였으며, Sturtevant와 Feary<sup>17)</sup>는 原下水와 處理下水에서 SM과 TC에 對한 耐性を 주는 R因子는 19%, 그리고 SM, AM 및 TC에 15%로서 都市腸內細菌에 對한 藥劑耐性の 有意値를 나타내 준다고 하였다. 그러므로 下水와 강물에서 各己 稀釋程度와 地域的으로 抗生劑의 使用頻度 또는 耐性菌의 耐性頻度 그리고 耐性樣相의 差異에 따라 耐性因子의 出現率은 크게 다를 것으로 思料되는 바이다.

## 結 論

서울市內를 貫流하고 있는 漢江原水를 對象으로 1978年 6月부터 12月까지 每月 1回씩 上中下流에서 採水하여 大腸菌群汚染度, 藥劑耐性菌의 出現度 및 耐性菌의 耐性樣相을 調査한 바 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 總大腸菌群은 平均  $81.2 \times 10^3$ /ml이었으며 SM耐性菌은 12.55%이었다.
2. SM耐性菌의 90.6%가 多劑耐性菌으로서 AM耐性과 TC耐性を 主로 하였다.
3. 耐性型別로는 SM, AM 및 TC耐性和 SM, AM, TC 및 KM耐性が 많았다.
4. SM 耐性菌 117株中 22株가 接合에 의하여 *E. coli* ML 1410 NA\*에 耐성이 傳達되어 耐性菌의 18.8%가 R因子를 가지고 있었다.

## 參 考 文 獻

1. 龍萬重, 林鳳澤, 趙南俊, 崔秉玄, 朴基, 申明德: 1977年 漢江原水 및 支川水의 細菌學的 汚染度調査. 서울特別市保健研究所報, 13:219, (1977).
2. 龍萬重, 趙南俊, 崔秉玄, 朴基, 申明德: 1978年 漢江原水 및 主要支川水의 微生物學的 汚染度調査. 서울特別市保健研究所報, 14:127, (1978).
3. 閔昌泓, 金光辰, 金東漢, 金舜姬: 서울近郊의 上水道水源의 細菌學的 調査研究. 國立保健院報, 6:85, (1969)
4. 權肅杓, 沈吉淳, 李載熙, 安成勳: 서울市 周邊遊園地河川汚染度에 關한 衛生學的 調査研究. 最新醫學, 11:165, (1968).
5. 權肅杓, 盧品培, 李仁宰, 尹樺重, 權淑衡, 慎亨撥: 漢江水泳場의 衛生學的 調査研究. 中央化學研究所報告, 5:68, (1956).

6. 金基錫, 卓鍊斌: 大邱新川으로부터 分離된 藥劑耐性 大腸菌群의 傳達性耐性에 關하여. 大韓獸醫學會誌, 17:73. (1977).
7. 飯島肇, 新井俊彦, 青木宙: 東京郡の河川から分離をれた藥劑耐性菌及び R 因子の研究. 日本細菌學會第47次 學術大會報告, 47, (1974).
8. Koditschek, L.K. and Guyre, P.: Resistance transfer fecal coliforms isolated from the Whippany river. *Water Res.* 8:747, (1974).
9. Kelch, W.J. and Lee, J.S.: Antibiotic resistance patterns of Gram-negative bacteria isolated from environmental sources. *Appl. Environ. Microbiol.* 36:450, (1978).
10. Sturtevant, A.B., Jr., CasseI, G.H. and Feary, T.W.: Incidence of infectious drug resistance among fecal coliforms isolated from raw sewage. *Appl. Microbiol.* 21:487, (1971).
11. Sturtevant, A. B., Jr.: Incidence of infectious drug resistance among lactose fermenting bacteria isolated from raw and treated sewage. *Appl. Microbiol.* 18:918, (1969).
12. Feary. T.W., Sturtevant, A.B., Jr. and Lankford, J.: Antibiotic-resistance coliforms in fresh and salt water. *Arch. Environ. Health* 25:215, (1972).
13. MacLowry, D., Jaqua, M.J. and Selepak, S.T.: Detailed methodology and implementation of a semi-automated serial dilution microtechnique for antimicrobial susceptibility testing. *Appl. Microbiol.* 20:46, (1970).
14. Steers, E., Flotz, E.L. and Graves, B.S.: An inocula replicating apparatus for routine testing of bacterial susceptibility to antibiotics. *Antibiot. Chemother.* 2:307, (1959).
15. 吳英根, 李圭男, 申正植, 金德仁 全亨一, 柳邦烈, 申蓮姬, 朴在柱: 漢江原水 및 支川水의 汚染度. 서울特別市保健研究所報, 13:175, (1977).
16. Grabow, W.O.K., Proszeky, O.W. and Burger, J.S.: Behaviour in a river and dam of coliform bacteria with transferable or non-transferable drug resistance. *Water Res.* 9:777, (1975).
17. Sturtevant A.B., Jr. and Feary, T.W.: Incidence of infectious drug resistance among lactose-fermenting bacteria isolated from raw and treated sewage. *Appl. Microbiol.* 18:918, (1969).