

논문발표대회

식물 추출물의 항균 효과에 관한 연구

A Study on the Antimicrobial Effect of Plants Extracts

Contents

01 다제내성균의 위협 (Threat of multi-drug resistant bacteria)

- 다제내성균이란
 - 우리나라의 현 실태
-

02 실험방법 (Experimental method)

- 추출물 조제
 - 실험 균주
 - 추출물의 항균활성 검사 (Disk diffusion test)
 - 추출물의 MIC 측정검사 (Broth dilution method)
-

03 실험결과 (Experimental result)

- 추출물별 항균활성 결과
 - 추출물별 MIC 측정 결과
 - 결론
-

04 참고문헌 (Reference)

05 질의응답 (Question and answer, Q&A)

▶ 다제내성균이란

다제내성균 : 여러 종류의 항생제가 동시에 듣지 않는 균

다제내성균이 생기는 원인이 무엇인가?

항생제의 오남용

OECD 국가 중, 항생제 사용량이 최고수준

다제내성균의 위협 (Threat of Multi-drug resistant bacteria)

▶ 우리나라의 현 실태

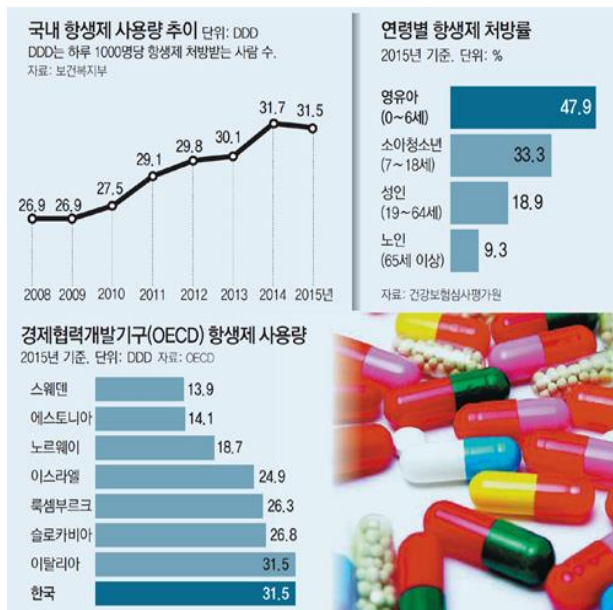
연합뉴스

특히 감기에 대한 항생제 처방률은 40.99%에 달하죠.
항생제는 세균성 질환을 치료하는 약이기 때문에
바이러스성 질환인 감기에는 불필요한데도 맞습니다.
(건강보험심사평가원)

“
감기로 병원 갔더니 항생제를 준다
- 트위터 @june****
”

YONHAP NEWS AGENCY

출처 : “한국 항생제 처방률 OECD 최고...간단한 질병에 치명적일 수도”, 연합뉴스



출처 : “항생제 사용 여전히 OECD 최고... 우리아이 복용 어떻게”, 동아일보

젖소 원유에서 '슈퍼박테리아' 검출... "감염경로 오리무중"

송고시간 | 2017/04/05 06:13

f t G+ BAND blog

농축산부·서울대 조사서 모두 MRSA 나와...축산농가 미허가 항생제 내성균
정부 “시중 우유는 멸균과정 거쳐 안전...슈퍼박테리아 대책 강화할 것”

(서울=연합뉴스) 김길원 기자 = 항생제에 잘 듣지 않아 슈퍼박테리아로 불리는 '메티실린내성황색포도알균'(MRSA)이 국내 사육 젖소의 원유에서도 검출되는 것으로 나타났다.

정부는 이에 대해 “원유에 대한 멸균과정을 거쳐 유통되기 때문에 시중 우유에는 문제가 없다”는 입장이지만, 축산농가에 허가되지 않은 항생제인 메티실린의 내성균이 어떻게 젖소에서 나오는지 대해서는 규명이 필요할 전망이다.

5일 서울대 수의대 박용호 교수팀의 연구논문에는 따르면 2011년부터 2012년까지 경기도의 47개 낙농 농장에서 채집한 총 1천222개의 원유 시료 중 유방염에 감염된 젖소에서 생산된 649개 시료를 대상으로 유전자 분석을 한 결과, 5개 농장에서 채취한 23개(13.9%) 시료에서 MRSA가 검출됐다.

출처 : “젖소 원유에서 '슈퍼박테리아' 검출... "감염경로 오리무중", 연합뉴스

실험 방법 (Experimental methods)

▶ 추출물 조제

추출대상 : 구척(狗脊, Cibotii Rhizoma), 해동피(海桐皮, Kalopanax Cortex), 두충(杜仲, Eucommia ulmoides Oliver)



분쇄



추출



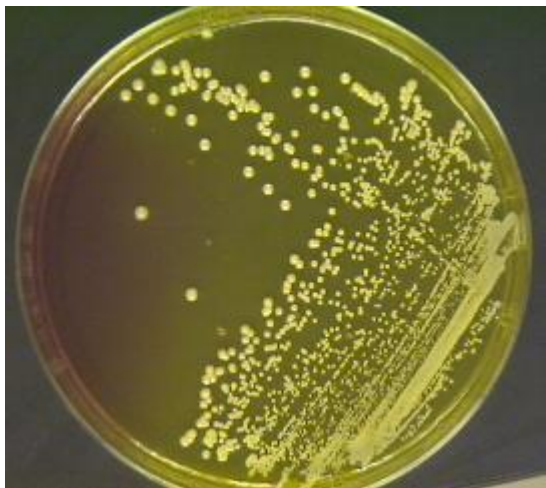
여과



농축

실험 방법 (Experimental methods)

▶ 실험 균주



Staphylococcus aureus
ATCC 25923



Methicillin resistant
Staphylococcus aureus
(MRSA)



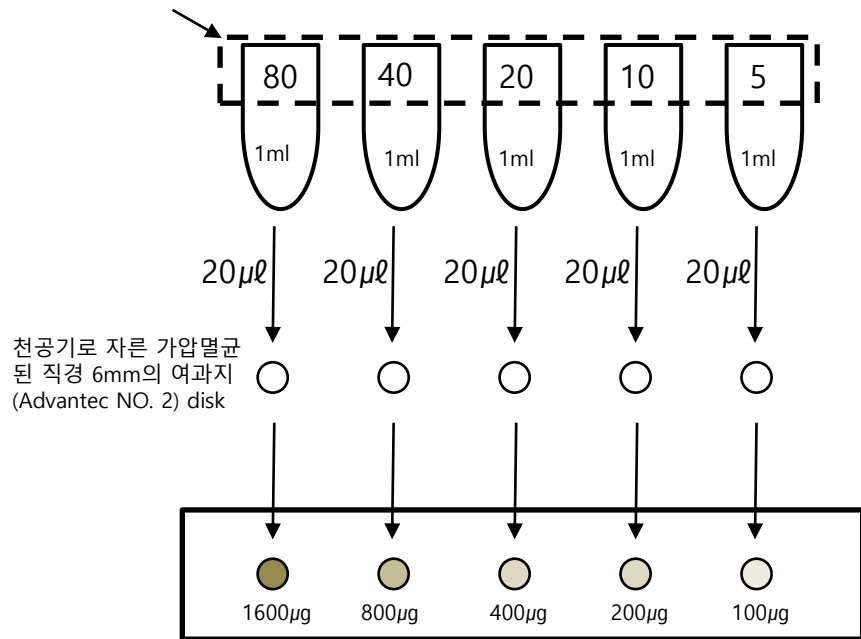
Extended-spectrum β -lactamase
producing *Escherichia coli*
(ESBL producing *E. coli*)

실험 방법 (Experimental methods)

▶ 추출물의 항균활성 검사 (Disk diffusion test)

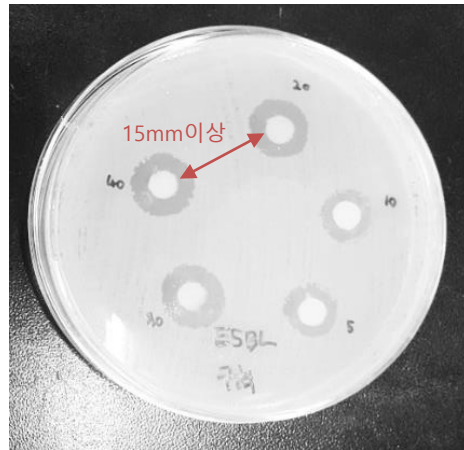
추출물 농도(mg/ml)

자가디스크 제조



Disk diffusion test

1. 균액을 0.5 McFarland 표준탁도(균수 약 1×10^8 CFU/ml)에 맞춘 후, 이 균액 0.1ml를 Mueller hinton agar에 도말
2. 그 위에 [자가 제조 디스크](#)들을 올려놓고 37°C에서 18시간 배양 후, 생성된 억제대의 직경을 측정

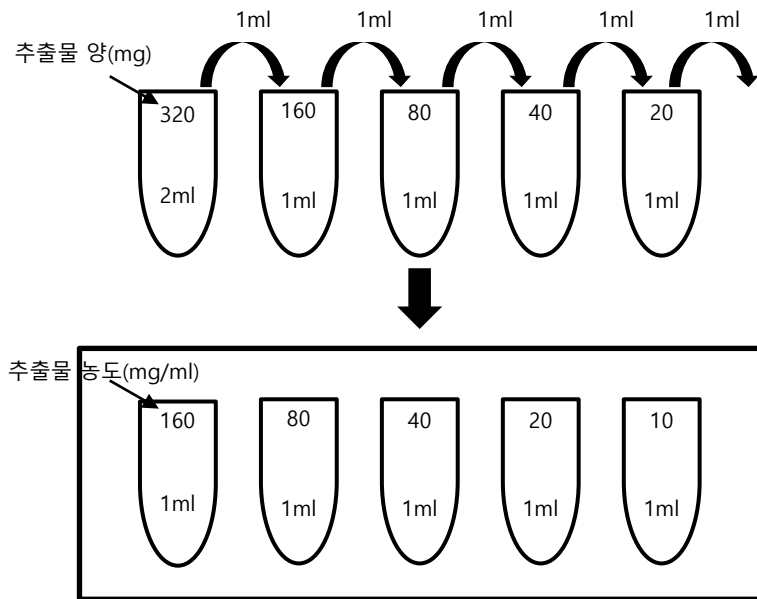


실험 방법 (Experimental methods)

▶ 추출물의 MIC 측정검사 (Broth dilution method)

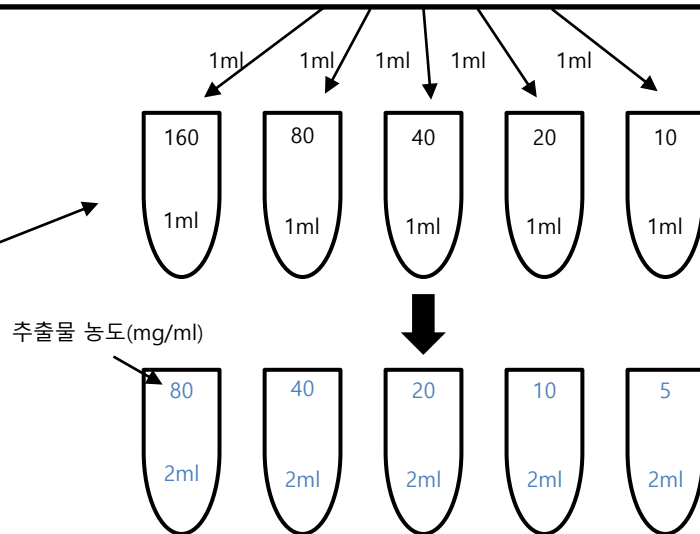
※MIC(Minimal inhibitory concentration) : 최소억제농도

배지의 준비(BHI broth)



균액의 준비

1. brain heart infusion broth에서 37°C, 24시간 배양
2. 0.5 McFarland 표준탁도(균수 약 1×10^8 CFU/ml)에 맞춘다.
3. 이 균액을 다시 액체배지를 써서 1:100으로 희석한 후, 각각의 broth에 1ml씩 접종한다.
4. 균액이 접종되면서 broth에 가해진 추출물의 농도는 반으로 줄게 되고, 각 시험관별 최종 접종 균수는 5×10^5 CFU/ml가 된다.

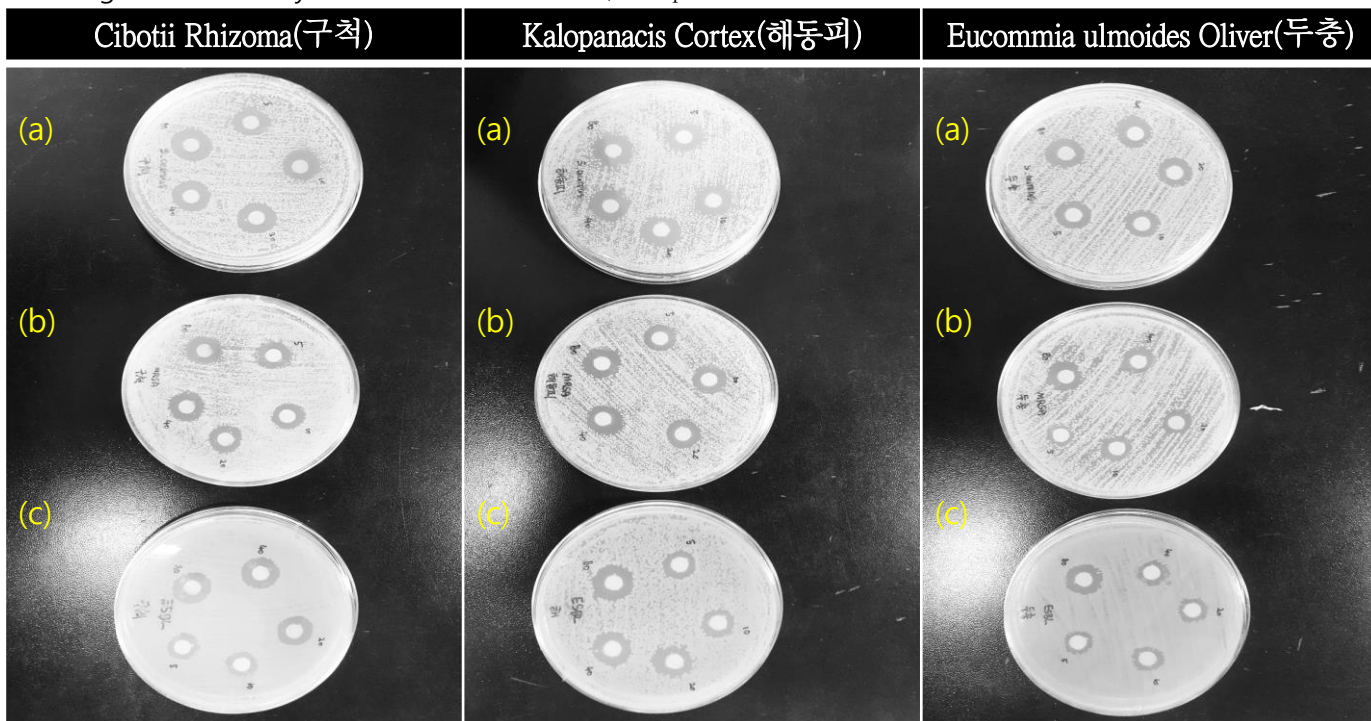


37°C, 18시간 배양 후, 배양액 0.1ml를 평판배지에 접종

실험결과 (Experimental results)

▶ 추출물별 항균활성 결과

Fig. 1. Results of growth inhibitory effects of Cibotii Rhizoma, Kalopanax Cortex and Eucommia ulmoides Oliver on three different bacteria.



(a = *S. aureus*) : (b = MRSA) : (c = ESBL producing *E. coli*)

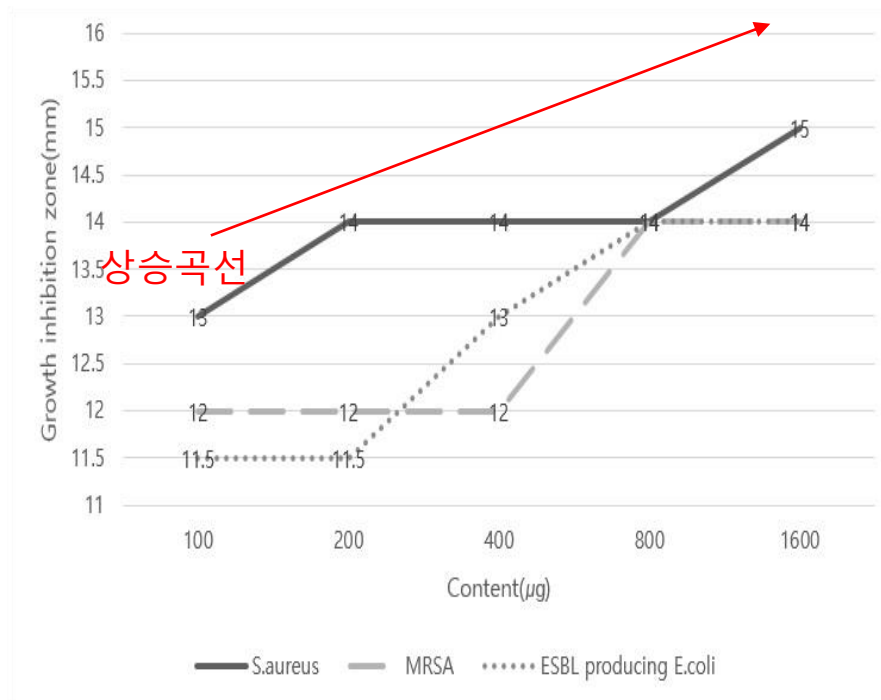
실험결과 (Experimental results)

▶ 추출물별 항균활성 결과

Table 1. Antimicrobial activities of Ciboitii Rhizoma extracts

Microorganism	Growth inhibition zone(mm) / content(μ g)				
	100	200	400	800	1600
<i>S.aureus</i>	13	14	14	14	15
MRSA	12	12	12	14	14
ESBL producing <i>E.coli</i>	11.5	11.5	13	14	14

Fig. 2. Variation of antimicrobial activities of Ciboitii Rhizoma extracts.



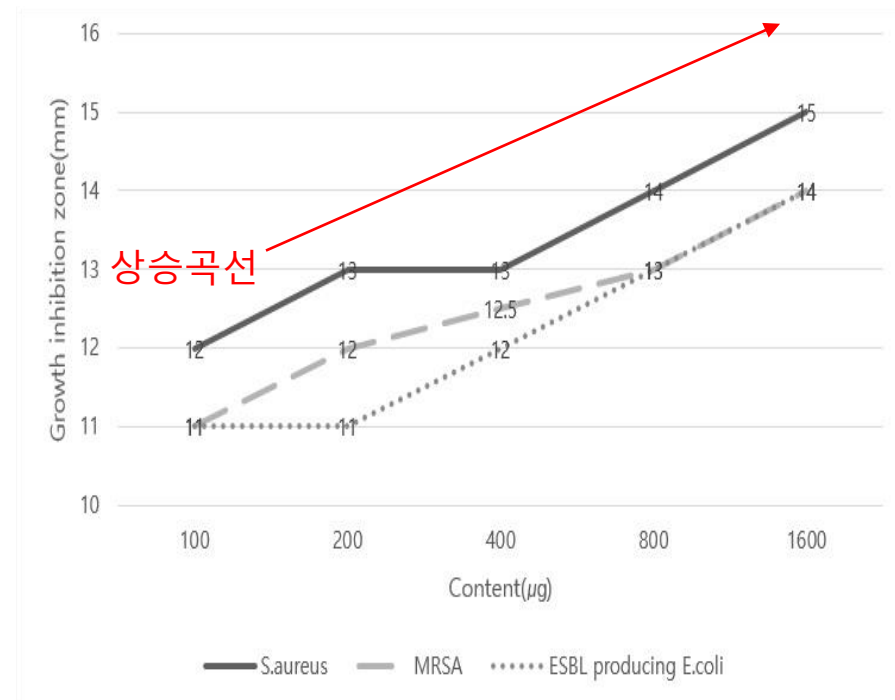
실험결과 (Experimental results)

▶ 추출물별 항균활성 결과

Table 2. Antimicrobial activities of Kalopanax Cortex extracts

Microorganism	Growth inhibition zone(mm) / content(μ g)				
	100	200	400	800	1600
<i>S.aureus</i>	12	13	13	14	15
MRSA	11	12	12.5	13	14
ESBL producing <i>E.coli</i>	11	11	12	13	14

Fig. 2. Variation of antimicrobial activities of Kalopanax Cortex extracts.



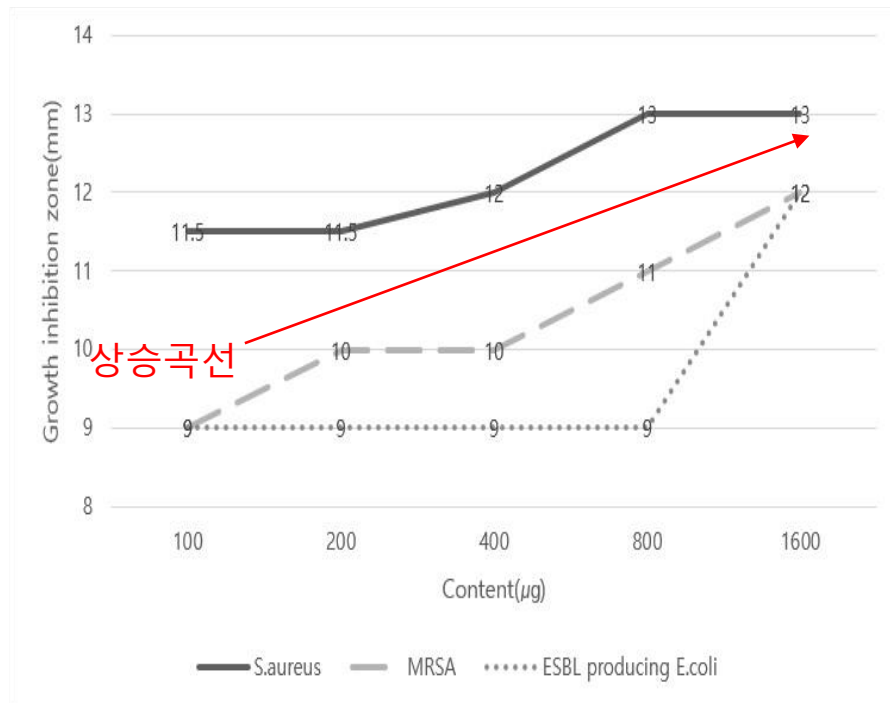
실험결과 (Experimental results)

▶ 추출물별 항균활성 결과

Table 3. Antimicrobial activities of *Eucommia ulmoides* Oliver extracts

Microorganism	Growth inhibition zone(mm) / content(μ g)				
	100	200	400	800	1600
<i>S.aureus</i>	11.5	11.5	12	13	13
MRSA	9	10	10	11	12
ESBL producing <i>E.coli</i>	9	9	9	9	12

Fig. 4. Variation of antimicrobial activities of *Eucommia ulmoides* Oliver extracts.



실험결과 (Experimental results)

▶ 추출물별 MIC 측정 결과

※MIC(Minimum inhibitory concentration) : 최소억제농도

Table 1. MIC(minimum inhibitory concentration) of each extracts

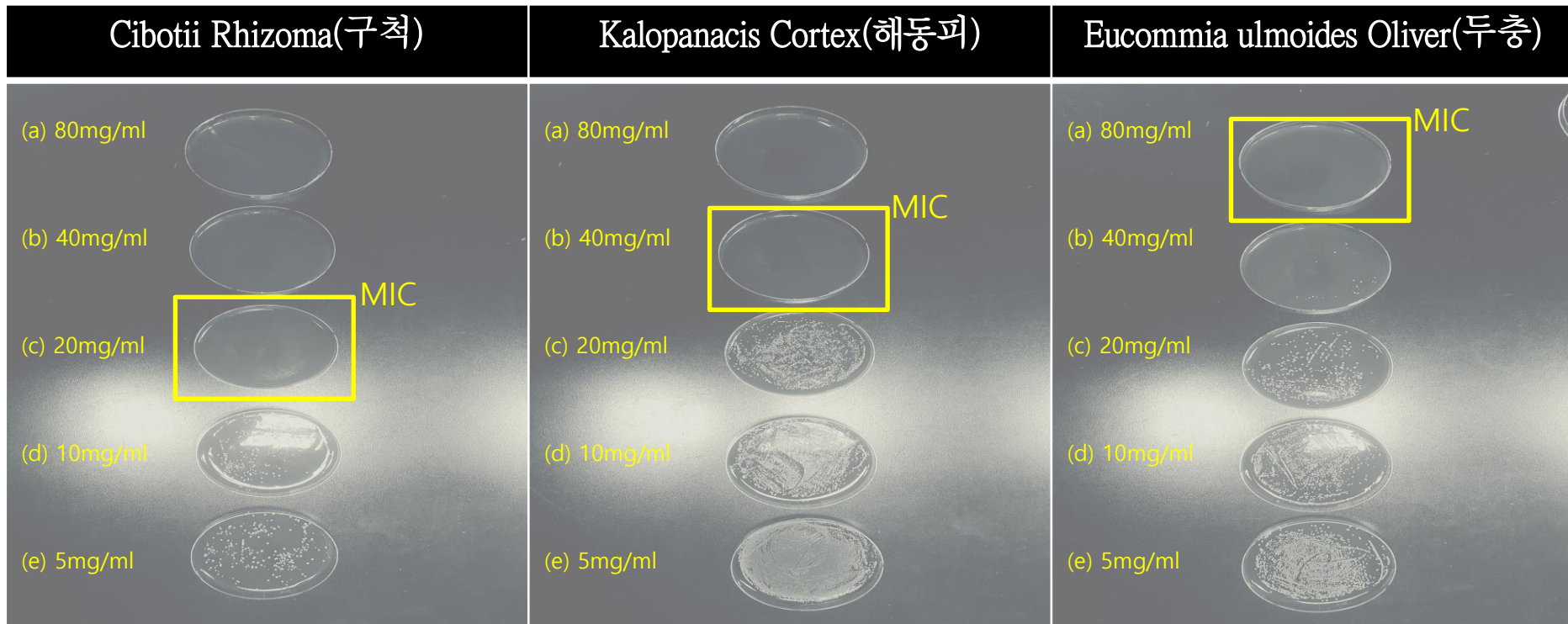
Microorganism	Minimum inhibitory concentration(mg/ml) / extract		
	Cibotii Rhizoma(구척)	Kalopanax Cortex(해동피)	Eucommia ulmoides Oliver(두충)
<i>S.aureus</i>	20	40	80
MRSA	20	40	80
ESBL producing <i>E.coli</i>	40	80	80

실험결과 (Experimental results)

▶ 추출물별 MIC 측정 결과

※MIC(Minimum inhibitory concentration) : 최소억제농도

Fig. 5. Results of MIC measurement on *S.aureus*.

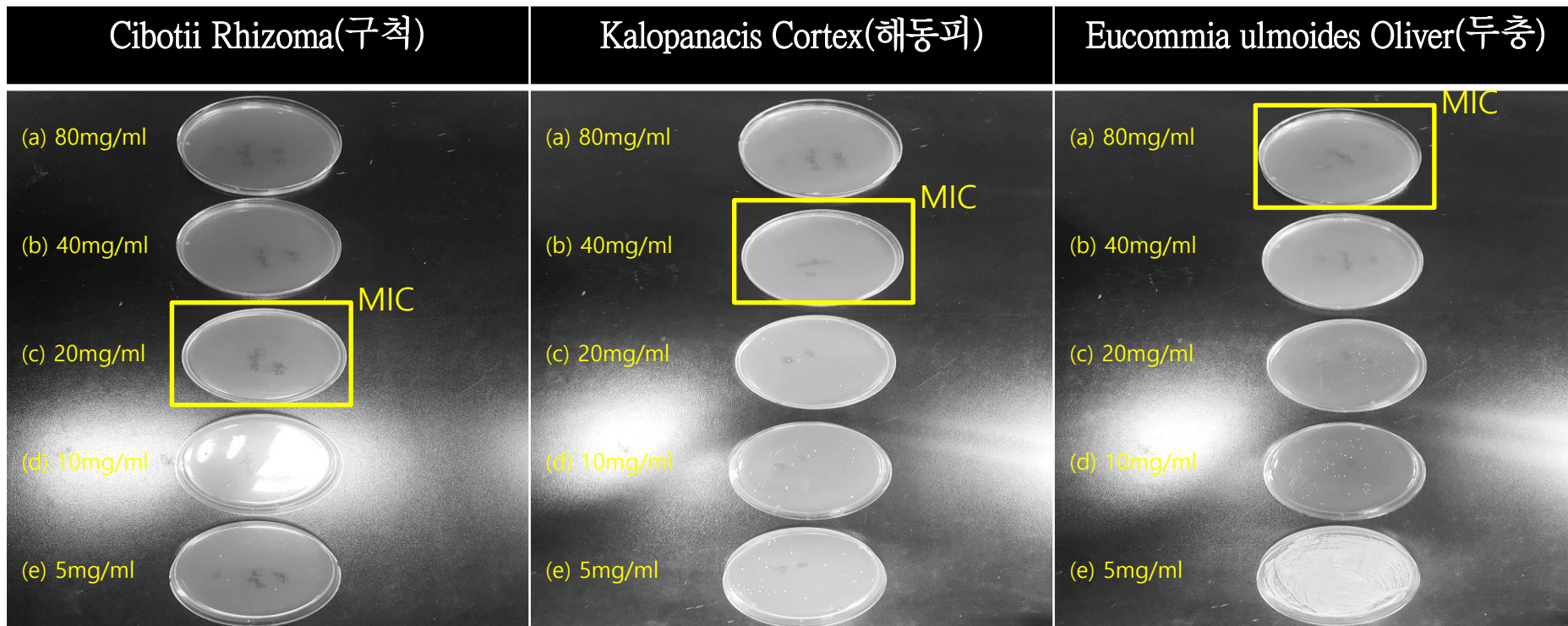


실험결과 (Experimental results)

▶ 추출물별 MIC 측정 결과

※MIC(Minimum inhibitory concentration) : 최소억제농도

Fig. 6. Results of MIC measurement on MRSA.

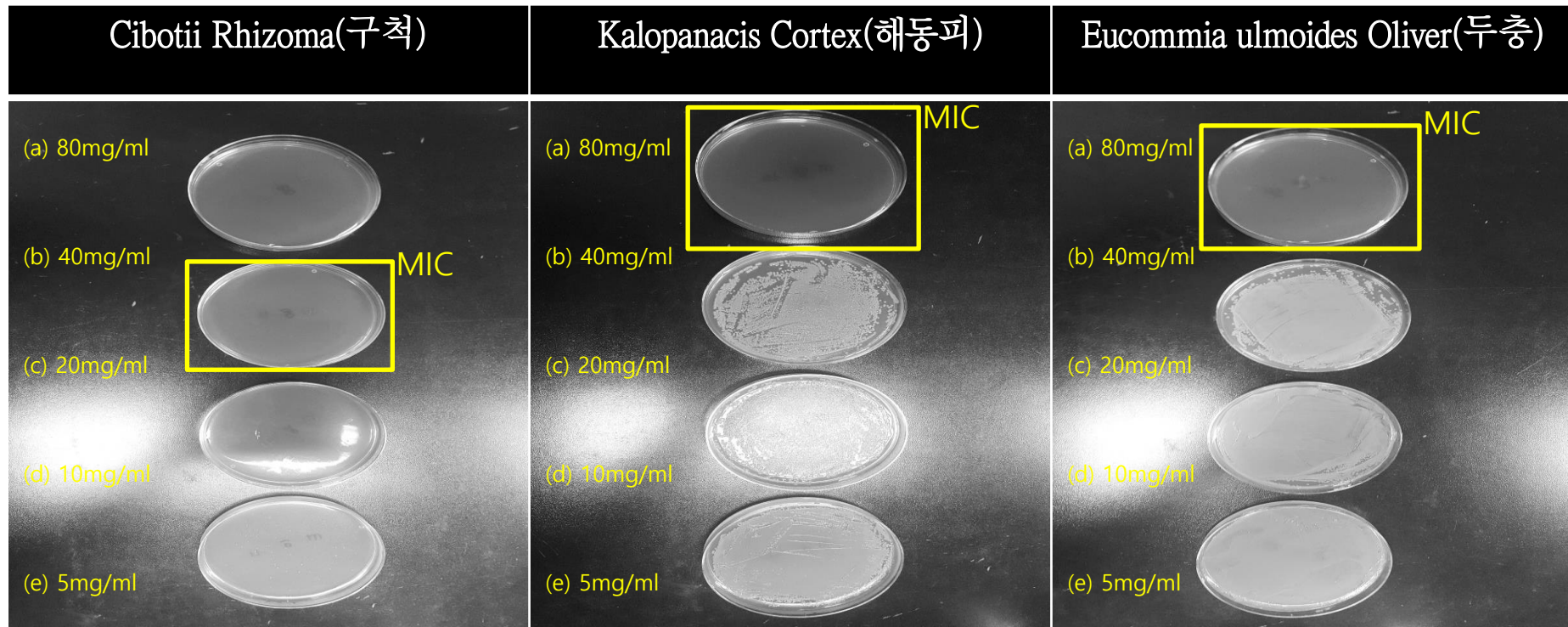


실험결과 (Experimental results)

▶ 추출물별 MIC 측정 결과

※MIC(Minimum inhibitory concentration) : 최소억제농도

Fig. 7. Results of MIC measurement on ESBL producing *E.coli*.



실험결과 (Experimental results)

▶ 결론

- 구척(狗脊, Cibotii Rhizoma), 해동피(海桐皮, Kalopanax Cortex), 두충(杜仲, Eucommia ulmoides Oliver) 세 가지 95% ethanol추출물에 대한 항균활성 진행
- 항균활성 검사로 자가제조디스크를 통한 Disk diffusion test와 Broth dilution method(MIC측정)를 병행하여 측정
- 실험결과 구척, 해동피, 두충 세 가지 추출물 중 구척 추출물이 세 추출물 중 가장 높은 항균활성 결과를 나타내었다.
- 의학적인 면에서 천연항균제로서, 식품학적인 면에서 천연보존료로서 개발의 가능성을 제시
- 항균물질의 세 부적 분리동정, 항균활성기전, 세포독성 검사, 기존 항생제와 보존제와의 비교실험 및 더 다양한 균종에 대한 항균활성검사 등에 대한 추출물 관련 연구에 기초자료로서 도움이 되었으면 하는 바이다.

참고문헌(Reference)

▶ 참고문헌

- 박연준. “광범위베타락탐아제생성 장내세균 및 카바페넴 내성 장내세균의 보균 현황 연구” . 질병관리본부(학술용역과제). 2012.
- 성원근, 송원근. 의료관련감염균 검사실 표준진단법. 질병관리본부 국립보건연구원. 2012.
- 한의학대사전 편찬위원회. 한의학대사전. 정담. 2001.
- Seon Hee Shin, In Hwa Seong. “Antimicrobial Activity or the extracts from *Paeonia japonica* against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*” . Korean Journal of Microbiology. 2006.
- Sung Ryul Kim, M.D., Joseph Jeong, M.D., Jeong Hwan Shin, M.D., Hyung Hoi Kim, M.D., Seon Ho Lee, M.D., Chulhun L. Chang, M.D., Han Chul Son, M.D.. “Evaluating Home-Made Disks for the Detection of the Aminoglycoside High-Level Resistance of *Enterococci*” . Korean J Clin Pathol. 2000.

질의응답 (Question and Answer, Q&A)

Q&A