

Vibrio spp.에서 나타나는 새로운 type의 tet유전자 특성 분석

박신후 · 전려진 · 정준범 · 류지효 · 윤소혜 · 정현도
부경대학교 수산생명의학과

서론

양식 현장에서 발생하는 세균성 질병의 치료를 위하여 우리 나라에서는 많은 양의 항생제가 사용되고 있으며, 더구나 새로운 병원체에 의한 어류 질병 발생이 증가함에 따라 항생제의 사용 빈도도 점차 증가 추세에 있다. 그 결과 항생제에 대한 내성균의 출현이 양식 현장에서 가장 큰 현안 문제로 나타나고 있다. 해양 환경에서 가장 중요한 *Vibrio* spp.는 사람과 어류 모두에서 병원성을 나타내므로 이들 세균에서 새로운 내성 균 출현이나 내성유전자 발현에 대한 연구는 많은 관심의 대상이 되고 있다. (Twiddly *et al.*, 1994).

따라서 본 연구에서는 해수 환경 및 양식 어류에서 나타나는 Tc 내성 *Vibrio* spp.에서 최근 보고되고 있는 두개의 tet gene인 tet(34)와 tet(35)에 대한 분포를 조사하고, 그 분자적 특성을 알아보려고 했다.

재료 및 방법

1994년에서 2003년까지 우리나라에서 채집된 *Vibrio* spp. 33개 균주와 2003년 중국에서 수입된 해수 양식 어류에서 분리한 Tc 저항성 *Vibrio* spp. 18개 균주를 대상으로 tet(34), tet(35)에 특이적인 primer로 PCR 분석을 실시하였다 (Miranda *et al.*, 2003). 또 *Vibrio* spp. 이외에 Tc에 저항성을 가지는 중요 어병 세균인 *E. tarda*에 대한 tet(34)와 tet(35) 존재 유무를 조사하기 위해 1994년부터 2003년까지 채집된 *E. tarda* 균주 16개에 대해서도 동일한 방법으로 PCR 분석을 하였다.

결과 및 요약

우리 나라 및 중국의 Tc 내성 *Vibrio* spp. 에서 tet(35)의 함유 비율은 각각 약 24% 와 17% 로 나타났다. 이에 비하여 tet(34)는 중국에서 11%가 우리 나라에서는 6%정도의 비율로 Tc 내성 분석된 *Vibrio* spp.에서 나타나고 있었다.

특히 중국에서 나타난 11% (2개 균주)의 *tet(34)*의 경우에는 *tet(35)*와 함께 나타났다고 우리 나라에서는 두 개의 내성 유전자가 함께 관찰된 균주는 없었다. 우리 나라에서 채집된 Tc 저항성 *E. tarda*에 대한 분석에서는 *tet(34)*와 *tet(35)*가 나타나지 않았다. 최초 보고된 *tet(35)*와 DNA sequence를 비교 분석한 결과 *tet(35)*의 sequence는 연도 별로 특정한 유형으로 나타남이 관찰되었다. 계통도 확인을 통한 분석으로 최초 보고된 *tet(35)*, Effj gene과 94년도 균주에서 확인된 94년형, 01, 02, 03년도에서 확인된 01-03년형, 04년도에 확인된 두 가지 04-A형과 04-B형의 5가지 type *tet(35)*가 확인되었다. 이러한 분류는 nucleotide 유사성이 90%이상 확인된 균주를 상대로 계통도 확인 작업을 거친 후 각 유형별 분류를 확인하였다. 각 유형별로 sequence된 균주들에 대한 비율을 확인한 결과 총 18개의 sequence된 균주 가운데 최초 보고된 *tet(35)*와 nucleotide 유사성을 나타내는 균주는 확인되지 않았으며, 94형은 1개의 비브리오 균주에서 나타나 약 5%가, 01-03형은 10개 균주에서 약 56%, 04-A형은 3개 균주 17%, 04-B형은 4개 균주 22%정도가 확인되었다. 우리 나라와 중국에서 확인된 *tet(34)* 유전자를 sequence 확인해본 결과 우리 나라에서 나타난 *tet(34)* 유전자는 최초 보고된 *tet(34)* 유전자와 99%의 nucleotide 유사성이, 아미노산의 경우에는 100% 일치하는 결과가 관찰되어 silent mutation이 있음을 확인 하였다. 하지만 중국에서 확인된 *tet(34)*의 경우에는 약 84%의 nucleotide 유사성에 82%의 아미노산 유사성이 나타나서 매우 큰 변화 가능성이 확인되었다. 우리 나라와 중국에서 확인된 *tet(34)*의 경우에는 84%의 nucleotide 와 83%의 아미노산 유사성이 관찰되었다.

참고 문헌

- Jun, L. J., Jeong, J. B., Huh, M. D., Chung, J. K., Choi, D. L., Lee, C. H. and Jeong, H. D. (2004). Detection of tetracycline-resistance determinants by multiplex polymerase chain reaction in *Edwardsiella tarda* isolated from fish farms in Korea. *Aquaculture*, 240: 89-100.
- Miranda, C. D., Kehrenberg, C., Ulep, C., Schwarz, S. and Roberts, M. C. (2003). Diversity of Tetracycline Resistance Genes in Bacteria from Chilean Salmon Farms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47 (3): 883-888.
- Nonaka, L. and Suzuki, S. (2001) A new oxytetracycline resistant determinant Tet 34 found in strains of *Vibrio* spp. isolated from marine fish yellowtail intestinal contents. (Unpublished).
- Teo, J. W., Tan, T. M. and Poh, C. L. (2002). Genetic Determinants of tetracycline Resistance in *Vibrio harvey*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46 (4): 1038-1045.
- Twiddy, D. R. and Reilly, P. J. A. (1994). Occurrence of antibiotic resistant human pathogens in integrated fish farm. Research contributions presented at the ninth session of Indo Pacific fishery commission working party on fish technology and marketing. *Cochin, India, March, Rome, Italy. Food and*

Agriculture Organization, 514: 23-37.
김영화. (2004). 해수 어류에서 분리된 *Vibrio* spp.의 tetracycline 내성 유전자의 특징.
부경대학교 대학원 석사 논문.