

가금병원성대장균의 항생제 내성 및 분자유전학적 역학분석

성명숙, 윤미영, 선정원, 김진현, 하중수, 설성용*, 김기석
경북대학교 수의과대학, 의과대학*

Abstract

This study was conducted to investigate O group serotyping, antimicrobial drug resistance and distribution of extended spectrum β -lactamase of 203 *Escherichia coli* (*E. coli*) isolated from poultry in Korea during the period from April in 2003 to December 2005. The serogroup of 69.4% of isolates was determined; O 78(32.5%), O88(7.9%), O15 (6.9%) and O141(6.4%) were the most common. These *E. coli* isolates showed resistance to nalidixic acid(92.6%), streptomycin (81.8%), ampicillin(77.3%), ciprofloxacin (70.9%), sulfisoxazole(66.5%) and trimethoprim(58.1%), respectively. The *bla* CTX-M-3 like(2 strains) and *bla* CMY-2(2 strains) genes producing extended spectrum β -lactamase (ESBL) were detected in four wild strains resistant to the third generation cephalosporin, respectively. The presence of the ESBL genes was confirmed in all transconjugants by PCR analysis with primers encoding CTX-M-3 like types or CMY-2.

서론

가금에 있어서 대장균 감염은 병원성 대장균에 의해 급성패혈증, 기낭염, 심낭염 등과 같은 장관의 감염과 주로 관련하여 심각한 경제적 손실을 초래하는 중요한 질병이다. 가금의 대장균증 등 각종 세균성 질병의 치료 및 예방과 성장촉진을 위해 사용한 항생제의 오·남용으로 각종 항생제에 내성을 가진 다제 내성균주의 출현이 심각한 실정이다. 또한 1980년대 이후 사람에서

ESBL 생성 세균의 감염증 치료를 위해 제3세대 cephalosporin 같은 광범위 항생제를 임상에 적용한 이후 전 세계적으로 보다 다양한 유형의 ESBL 생성균주가 분리되고 있다. 최근 일본에서는 식용동물인 육계에서 분리한 *E. coli*에서 ESBL gene을 분리 보고하였다. 이에 본 연구에서는 우리나라의 가금농장에서 대장균 감염 증상을 나타내는 가금으로부터 분리한 세균을 대상으로 생물형, 혈청형, 항균제 내성, 내성전달 및 ESBL 생성균주의 분포를 조사하고자 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

2003년 4월부터 2005년 12월 까지 경상북도, 경상남도, 경기도, 강원도, 충청북도의 80개소 가금 사육농장으로부터 병성감정 의뢰되어 대장균증으로 진단된 병계들을 대상으로 균을 분리 동정하였다. 분리균에 대한 O group 혈청형 동정은 Laboratorio de Referencia de *E. coli*(Lugo, Espana)의 항혈청용 키트를 사용하였다. 항균제 감수성검사는 16종의 항균제에 대하여 최소발육억제능을 측정하였으며, 항균제 내성전달 시험을 실시하였다. Extended-spectrum β -lactamase(ESBL) 산생주를 검색하기 위해 double-disk synergy test를 수행하였고, 이들 균주의 ESBL gene을 확인하기 위하여 multiplex PCR을 실시하였다.

결과 및 고찰

대장균증 감염이 의심되는 병계로부터 균 분리를 시도하여 육계에서 149주, 육용종계와 산란계에서 45주, 오리농장에서 9주 등 총 203주의 *E. coli*를 분리하였다. 분리 균의 O 혈청형 검사 결과 O 78이 66주 (32.5%)로 가장 많았고, 그 다음으로 O 88, O 15 및

O 141이 각각 16주(7.9%), 14주(6.9%), 13주(6.4%)씩 동정되었으며 그 외 16종의 혈청형이 각각 1~6주씩 동정되었다. 국내에서 김 등(1)이 1987년에 O 78의 출현율을 2.5%로 보고한 성적은 본 실험 성적보다는 상당히 낮아 분리시기 및 지역에 따른 차이를 보였으며, 세계적으로는 Vandikerchove 등(2)이 33.8%로 가장 많은 분리율을 보고하여 본 실험의 결과와 일치하였다. 분리균에 대해 항균제에 대한 내성 검사 결과 tetracycline에 내성을 나타내는 균이 93.6%로 가장 많았으며, 다음으로 nalidixic acid, streptomycin, ampicillin, ciprofloxacin에 대하여 각각 공시균의 92.6%, 81.8%, 77.3%, 70.9%가 내성을 가져 이들 약제에 대한 내성율이 높은 것으로 나타났다. chloramphenicol, kanamycine, gentamicin은 20.7~14.8%가 내성을 가져 상당히 낮은 내성율을 나타내었고, 특히 β -lactam계 중 Ap를 제외한 cefoxitin(Cx), cefotaxime(Ct), cefepime(Cf), aztreonam(Az), ceftazidime(Cd)에 대해서는 각각 공시균의 0.5~1.5%만이 내성을 나타내었으며, Ak에 대해서는 전 균주가 감수성을 나타내었다. 1종 이상의 항균제에 내성을 나타내는 분리균에 대해 접합에 의한 내성전달시험을 실시한 결과 공시균 203주중 68주(33.5%)가 내성유형의 전부 또는 일부를 피전달균에 전달하여 이들 내성균이 R plasmid를 보유하고 있음을 알 수 있었다. 분리된 균중 Cx, Ct, Az 및 Cd 등에 내성인 4주와 이들에 대한 transconjugant 4주에 대해서 ESBL gene을 검출한 결과 육계와 육용종계에서 분리된 2주는 모두 CTX-M-3 like gene를 보유하고 있었으며, 이들의 transconjugant 2주도 야외분리주와 동일한 CTX-M-3 like gene을 보유하고 있었다. 나머지 육계에서 분리된 2주는 CMY-2 gene을 보유하고 있었으며, 이들의 transconjugant 2주도 야외분리주와 동일한 ESBL gene을 보유하고 있었다. 최근 일본에서 Akemi Kojima 등(3)이 건강한 식용동물에서 분리한 *E. coli*에 대한 ESBL 생산 균주 현황을 조사한 결과 육계 유래 분리균에서 CTX-M-type(6주)과 CMY-2 type(8주)의 ESBL을 생산하는 것으로 보고하여 본 실험의 성적과 유사한 결과를 얻었다. 또한 본 실험의 transconjugant에서 야외분리주와 동일한 ESBL gene이 확인된 것은 ESBL gene이 접합에 의해 쉽게 균 간에 전달 되는 것을 의미한다. 이는 가금의 병원성 대장균이 사람의 질병과는 직접적인 연관성은 없다 할지라도 대부분의 ESBL 유전자가 다제내성을 나타내는 plasmid에 존재하는 경우가 있기 때문에 plasmid를 매개로 한 유전자 전달현상에 의해 내성유전자가 다른

질병에 관련된 균주에 옮겨가게 되는 경우에 사람의 치료약 선택이 매우 제한되기 때문에 심각한 상황이 초래하게 된다.

요약

2003년 4월부터 2005년 12월 까지 국내 가금농장에서 분리한 203주의 가금병원성대장균의 O 혈청형, 항균제내성, 내성전달시험, extended spectrum β -lactamase gene(ESBL) 분포조사를 실시하였다.

분리균의 69.4%가 O 혈청형 확인되었다. : 가장 빈번한 혈청형은 O 78(32.5%), O88(7.9%), O15(6.9%), O141(6.4%)이었다. 항균제 내성검사 결과는 nalidixic acid(92.6%), streptomycin (81.8%), ampicillin(77.3%), ciprofloxacin(70.9%), sulfisoxazole(66.5%) 및 trimethoprim (58.1%) 등에 높은 내성을 나타내었다. 3세대 cephalosporin계에 내성인 분리균 4주에서 *bla* CTX-M-3 like (2주), *bla* CMY-2(2주) gene이 검출되었고, 이들의 transconjugant에서도 분리균에서와 동일한 ESBL 생산 gene이 확인되었다.

참고문헌

1. Kim K. S., Namgoong S., 1987, Studies on characterization of Avian *Escherichia coli* : 1. Serotypes and Antimicrobial Drug Resistance, Kor. J. Vet. Publ. Hlth., 11(2)13-20.
2. Vandemaele F., Vereecken M., Derijcke J., Goddeeris B. M., 2002, Incidence and antibiotic resistance of pathogenic *Escherichia coli* among poultry in Belgium. Vet. Rec. 151:355-356.
3. Akemi Kojima, Yoshikazu Ishii, Kanako Ishihara, Hidetate Esaki, Tetsuo Asai, Chitose Oda, Yutaca Tamura, Toshio Takahashi, and Keizo Yamaguchi, 2005, Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* Strains Isolated from Farm Animals from 1999 to 2002 : Report from the Monitoring Program, Antimicrobial agents and chemotherapy, 3533-3537.