

## 수생조류에서 분리한 대장균의 항균제 내성 및 Tetracycline 내성인자의 분포

조재근<sup>1</sup> · 이상민<sup>2</sup> · 김기석<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>대구광역시 보건환경연구원, <sup>2</sup>경북대학교 수의과대학  
(게재승인: 2008년 6월 30일)

### Antimicrobial resistance and distribution of tetracycline resistance determinants in *Escherichia coli* isolated from aquatic birds

Jae-Keun Cho<sup>1</sup>, Sang-Min Lee<sup>2</sup>, Ki-Seuk Kim<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>Health & Environmental Research Institute, Daegu 706-732, Korea

<sup>2</sup>College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

(Accepted: June 30, 2008)

**Abstract** : One hundred and sixty nine *Escherichia (E.) coli* strains isolated from fecal samples of aquatic birds in Geumho river basin and Dalseong park were tested by agar dilution method to determine their susceptibility patterns to 14 antimicrobial agents. The distribution of tetracycline resistance determinants (*tetA*, *tetB*, *tetC*, *tetD* and *tetE*) were also examined by PCR in 76 tetracycline-resistant (TC<sup>r</sup>) *E. coli* isolates. The high resistance was observed in tetracycline, cephalothin and ampicillin (45.0~36.7%). Resistance of *E. coli* isolates derived from Dalseong park to tetracycline, cephalothin, ampicillin and streptomycin (65.7~44.8%) were significantly higher than those isolated from Geumho river basin (31.4~14.7%). About seventy percent (70.4%) of the strains isolated were resistant to one or more drugs tested. Thirty (39.5%) of 76 TC<sup>r</sup> *E. coli* isolates which were resistant to one or more drugs transferred all or a part of their resistance patterns to the recipient strain of *E. coli* J53 by conjugation. All of TC<sup>r</sup> *E. coli* isolates contained at least one or more of 5 *tet* genes examined. The most common genes found in these isolates were *tetA* (60.6%) and followed by *tetB* (7.9%) and *tetC* (1.3%). However, *tetD* and *tetE* were not found in any of the isolates tested. Twenty one (27.6%) of TC<sup>r</sup> *E. coli* isolates had two determinants, *tetA/tetB* (20 strains), *tetA/tetC* (1 strain). And two strains (2.6%) contained three determinants (*tetA/tetB/tetC*).

**Key words** : antimicrobial agents, aquatic birds, *Escherichia coli*, PCR, tetracycline resistance

## 서 론

야생조류는 활동이 용이하고 장거리를 이동하며 Avian Influenza virus, West Nile virus, Lyme병 및 장내병원성 세균과 같은 병원체의 전파에 중요한 역할을 하며 [32], 이들이 지표수 주변에 배설하는 많은 양의 배설물은 수질 오염원으로 작용할 수 있다 [13, 14, 16]. 동물원에서 전시되고 있는 사육 물새류는 야생조류에 비해 인공연못 등 약탈로부터 자유로운 서식지에서 연중 방문객으

로부터 먹이를 제공받는 등 여러 가지로 생존에 유리한 조건을 가지고 있으나, 한편으로 사육밀도가 높고, 장기간 사육되며, 많은 사람들과의 접촉 등으로 전파되어 배설물에 포함되어 있는 병원성 세균이나 기생충으로 인해 사람들에게 많은 위험이 가할 질수 있다. 이들의 분변에서 검출되는 *Salmonella* spp., *Pasteurella multocida*, *Campylobacter jejuni* 및 *Escherichia(E.) coli* 같은 병원성 세균의 일부는 수 주 또는 수 개월간 토양이나 또는 물속에서 생존할 수 있어 사람 및 가축에게 있어 향후 질

\*Corresponding author: Ki-Seuk Kim

College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea  
[Tel: +82-53-950-5962, Fax: +82-53-950-5955, E-mail: kimkiseuk@knu.ac.kr]

병전파의 중요한 매개체로 작용하게 된다 [6, 7, 31, 37].

항균제는 사람과 동물에서 질병의 치료 및 예방을 목적으로 널리 사용되어 왔으며, 또한 이들 약제 중 일부는 동물의 생산성을 증가시키기 위한 성장촉진제로도 사용되고 있다. 한편으로 이들 항균제에 대한 내성균은 사람과 동물 [4, 26, 35, 40]뿐만 아니라 항균제에 노출될 기회가 거의 없는 야생조류 [1, 14]에서도 보고되고 있다.

Tetracycline(TC)은 그람양성 및 그람음성의 세균 등에 항균력을 가지는 광범위 약제로서, 균체 내 ribosome의 30S subunit와 aminoacyl-tRNA synthetase의 결합을 방해함으로써 단백질 합성을 저해하여 항균력을 발휘한다. TC에 대한 내성은 1953년 *Shigella dysenteriae*에서 최초로 보고되었으며 이후 이 약제에 대한 내성균의 출현율은 폭발적으로 증가하고 있다 [11]. 그람음성균에서 TC 내성은 주로 efflux pump와 관련이 있고, 최근까지 30종 이상의 TC 내성 인자가 알려져 있으며 [11] 그 중에서 *tetA*, *tetB*, *tetC*, *tetD* 및 *tetE* gene이 주로 발견되고 있다 [15, 19, 23, 24, 36]. 한편 이들 내성인자의 대부분은 plasmid와 transposon에서 발견되고 있으며, 내성의 획득은 내성인자의 전파에 의해 일어나고 있다 [22, 33].

DNA hybridization, DNA 염기서열 분석 및 PCR 같은 분자생물학적 기법은 내성 유전자의 전파 및 내성균주의 genotype 분석을 위한 역학적 도구로 널리 사용되어지고 있다 [5, 8, 15, 38]. 이러한 기법을 이용하여 많은 연구자들이 사람과 동물 유래 병원성 및 비병원성 대장균을 대상으로 TC 내성 유전자의 특성에 관한 연구를 활발히 수행하여 왔으나 [10, 19, 36, 40] 최근까지 수생조류에서의 연구 보고는 드물다.

이 연구에서는 금호강 유역에 서식하는 철새 및 달성공원 내 사육중인 수생조류의 분변으로부터 대장균을 분리하여 이들 균의 항균성 약제내성 및 내성양상을 비교 조사하는 한편, TC 내성균에 대하여는 *tetA*, *tetB*, *tetC*, *tetD* 및 *tetE* gene 등 5종의 *tet* gene의 보유현황을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 분변 시료

2005년 11월부터 2006년 3월사이 대구근교의 금호강 유역에 서식하는 철새의 분변 451점 및 달성공원내 사육중인 물새의 분변 96점을 채취하여 대장균 분리 재료로 사용하였다. 이들 분변 시료의 대부분은 청둥오리, 흰뺨검둥오리, 쇠오리, 캐나다 기러기 및 왜가리 등 오리류가 배설한 것이다.

### 균분리 및 동정

분변 재료를 MacConkey agar(Difco, USA)에 직접 도말하여 37°C에서 18~24시간 배양한 다음 유당분해능에 의해 대장균으로 의심되는 집락을 선택하여 nutrient 반유동 한천배지에 보존하면서 실험에 공시하였다. 분리균은 Vitek GNI card(bioMerieux, France)를 이용하여 최종적으로 대장균을 확인하였다.

### 항균제 감수성 시험

약제 감수성시험을 위해 Sigma(USA)사의 ampicillin(AM), cephalothin(CF), cefoxitin(FOX), cefotaxime(CTX), ceftriaxone(CTZ), gentamicin(GM), streptomycin(SM), kanamycin(KM), amikacin(AN), nalidixic acid(NA), ciprofloxacin(CIP), chloramphenicol(CM), tetracycline(TC), trimethoprim(TMP) 등 총 14종의 항균제를 사용하였다. 각 약제는 적당한 용매에 용해시켜 인산염완충액 또는 증류수로 희석하여 사용하였다. 각 항균제의 공시균에 대한 최소발육억제농도(Minimum Inhibitory Concentration, MIC)는 Müller-Hinton agar(Difco, USA)를 사용하여 평판희석법에 의해 측정하였다. Trypticase soy broth(Difco, USA)에서 37°C로 18시간 배양한 균 부유액을 생리식염수로 100배 희석하여 multiple inoculator로 접종하고, 37°C에서 18~20시간 배양한 다음 접종부위에서 균의 발육 유무를 보아 MIC를 결정하였다. 검사방법 및 내성균의 판정은 National Committee for Clinical Laboratory Standards의 기준에 준하였다 [27, 28].

### 내성전달 시험

항균제 내성전달시험은 Bradley 등 [9]의 방법에 준하여 실시하였다. TC에 내성을 보인 76주를 공여균으로 하고, sodium azide(sigma, USA)에 내성인 *E. coli* J53을 피전달균으로 하여 이들 공여균과 피전달균을 각각 4 ml 용량의 TSB에 접종하고 37°C의 항온수조에서 3~4시간 진탕 배양한 다음 공여균과 피전달균을 1:4의 비율로 혼합하여 37°C에서 18시간 배양한 후 sodium azide(200 µg/ml)와 각각의 약제별로 8~256 µg/ml의 농도를 함유하는 배지에 접종하여 37°C에서 24시간 배양한 다음 집락형성 유무를 보아 내성전달을 판정하였다. 이때 공여균과 피전달균은 각각의 선택배지에서 발육하지 않음을 확인하였다.

### Tetracycline 내성 유전자의 검출

TC 내성 유전자의 확인을 위한 5종의 primers는 바이오니아(Korea)에 의뢰하여 제작하였다(Table 1). PCR을 위한 template DNA는 Blake 등 [8]의 방법에 따라 TSB에 18시간 배양한 균 부유액 1 ml을 원심 분리하여 얻

**Table 1.** Primers and PCR conditions for the detection of tetracycline resistance determinants

Gene	Primers	Annealing temperature (°C)	fragment size (bp)	Reference
<i>tet</i> (A)	5'-GGCGGTCTTCTTCATCATGC-3' 5'-CGGCAGGCAGAGCAAGTAGA-3'	64	502	17
<i>tet</i> (B)	5'-CATTAATAGGCGCATCGCTG-3' 5'-TGAAGGTCATCGATAGCAGG-3'	64	930	17
<i>tet</i> (C)	5'-GCTGTAGGCATAGGCTTGGT-3' 5'-GCCGGAAGCGAGAAGAATCA-3'	65	888	17
<i>tet</i> (D)	5'-GGATATCTCACCGCATCTGC-3' 5'-CATCCATCCGGAAGTGATAGC-3'	57	435	13
<i>tet</i> (E)	5'-GTGATGATGGCACTGGTCAT-3' 5'-CTCTGCTGTACATCGCTCTT-3'	52	1,198	33

은 균 침전물을 100 µl의 멸균증류수로 재부유시킨 후 100°C에서 5분간 가열하고 8,000 rpm에서 1분간 원심 분리한 다음 상층액을 PCR 재료로 사용하였다.

PCR 반응은 AccuPower PCR Premix(Bioneer, Korea)를 사용하여 Lanz 등 [19] 및 Sengelov 등 [36]의 방법에 준하여 실시하였다. 각각의 primer 1 µl와 template DNA 2 µl를 넣은 후 멸균된 증류수를 혼합하여 최종 반응량을 20 µl로 하였으며, UNOII thermal cycler(Biometra, Germany)를 사용하여 PCR을 수행하였다. PCR 반응조건으로 *tetA*, *tetB* 및 *tetC* gene은 94°C에서 3분간 초기 denaturation시킨 후, 94°C에서 1분간 denaturation한 후, *tetA*와 *tetB* gene은 64°C에서 1분, *tetC* gene은 65°C에서 1분 annealing을 실시하고 이들 모두에 대하여, 72°C에서 1분간 extension 과정을 35회 반복하고 72°C에서 7분간 최종 extension을 실시하였다. 반면 *tetD* gene은 94°C에서 3분간 초기 denaturation시킨 후, 94°C에서 1분, 57°C에서 1분, 72°C에서 1분을 25회 반복하였으며, *tetE* gene은 94°C에서 3분간 초기 denaturation시킨 후, 94°C에서 1분, 52°C에서 1분, 72°C에서 1분을 30회 반복하고 72°C에서 10분간 최종 extension을 실시하였다. 증폭된 PCR 산물은 1% agarose gel을 만들어 수평형 영동장치(Mupid-21; Advance Co., Japan)를 이용하여 100 V에서 20분간 전기영동한 후 EtBr(0.5 µl/ml)로 염색하여 관찰하였다. 분자량 측정을 위한 marker로는 100 bp ladder(JBI, Korea)를 사용하였다.

## 결 과

금호강 유역에 서식하고 있는 철새의 분변에서 대장균 102주와 달성공원 내 사육중인 물새로부터 대장균 67주 등 총 169주를 분리하여 AM 등 14종의 항균제에 대하여 약제감수성 시험을 실시한 결과는 Table 2와 같다. 공시 대장균 169주중 TC에 대한 내성율이 45%로

**Table 2.** Antimicrobial drug resistance of 169 *E. coli* strains isolated from Geumho river basin and Dalseong park

Antimicrobial drugs*	No. of drug resistant strains (%)		
	Geumho river basin (102) <sup>†</sup>	Dalseong park (67)	Mean (169)
AM	20 (19.6)	42 (62.7)	62 (36.7)
CF	31 (30.4)	39 (58.2)	70 (41.4)
FOX	4 (3.9)	0 (0.0)	4 (2.4)
CTX	1 (1.0)	0 (0.0)	1 (0.6)
CTZ	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
GM	1 (1.0)	4 (6.0)	5 (3.0)
SM	15 (14.7)	30 (44.8)	45 (26.6)
KM	9 (8.8)	7 (10.4)	16 (9.5)
AN	1 (1.0)	0 (0.0)	1 (0.6)
NA	13 (12.7)	12 (17.9)	25 (14.8)
CIP	5 (4.9)	8 (11.9)	13 (7.7)
CM	6 (5.9)	10 (14.9)	16 (9.5)
TC	32 (31.4)	44 (65.7)	76 (45.0)
TMP	20 (19.6)	25 (37.3)	45 (26.6)

\*AM, ampicillin; CF, cephalothin; FOX, cefoxitin; CTX, cefotaxime; CTZ, ceftriaxone; GM, gentamicin; SM, streptomycin; KM, kanamycin; AN, amikacin; NA, nalidixic acid; CIP, ciprofloxacin; CM, chloramphenicol; TC, tetracycline; TMP, trimethoprim.

<sup>†</sup>Figures in parentheses indicated the number of strains tested.

가장 높았고 다음으로 CF, AM, SM 및 TMP에 대하여 각각 공시 균의 41.4%, 36.7%, 26.6% 및 26.6%가 내성을 나타내어 이들 약제에 대한 내성을 또한 높은 것으로 나타났다. 한편 NA, KM, CM, CIP, GM, FOX, CTX 및 AN에 대해서는 각각 14.8~0.6%의 낮은 내성율을 나타내었으며 CTZ에 내성인 균주는 한주도 없었다. 달성공원과 금호강 유역 분리균은 TC에 대한 내성율이 각

**Table 3.** Transfer of drug resistance of 76 tetracycline-resistant *E. coli* strains

Resistance pattern*	No. of strains	Resistance pattern transferred	No. of strains transferred resistance
TC·CF·AM·SM·TMP·NA·CM·KM	1	—†	0
TC·CF·AM·SM·TMP·NA·CM·CIP	1	TC·CF·AM·SM·TMP·NA·CM	1
TC·CF·AM·TMP·NA·CM·KM·FOX	1	SM·TMP·KM	1
TC·AM·SM·TMP·NA·CM·KM·FOX	1	CF	1
TC·AM·TMP·NA·CM·CIP·KM·CTX	1	CF·GM	1
TC·CF·AM·SM·TMP·CM·KM	1	—	0
TC·CF·AM·SM·TMP·NA·CIP	1	CF	1
TC·CF·AM·SM·NA·CIP·KM	1	TC·CF·AM·SM	1
TC·CF·AM·TMP·NA·CIP·GM	1	—	0
TC·CF·SM·TMP·NA·CM·CIP	1	CF	1
TC·AM·SM·TMP·NA·CM·KM	1	—	0
TC·AM·SM·TMP·NA·CIP·KM	3	TC·CF·SM	1
TC·AM·TMP·NA·CM·KM·FOX	1	—	0
TC·CF·AM·SM·TMP·NA	1	—	0
TC·CF·AM·SM·TMP·CM	3	CF	1
TC·CF·AM·SM·TMP·KM	1	—	0
TC·CF·AM·SM·TMP·GM	1	—	0
TC·CF·AM·SM·NA·CM	1	CF	1
TC·AM·SM·TMP·NA·GM	1	—	0
TC·AM·TMP·NA·CM·FOX	1	—	0
TC·CF·AM·SM·TMP	2	—	0
TC·CF·AM·SM·CM	1	—	0
TC·CF·AM·SM·KM	1	—	0
TC·CF·AM·SM·GM	1	—	0
TC·CF·AM·TMP·NA	1	CF	1
TC·AM·SM·TMP·KM	1	—	0
TC·AM·TMP·NA·KM	1	—	0
TC·AM·TMP·NA·CIP	1	—	0
TC·CF·AM·SM	6	TC·CF·AM·SM	3
		TC·CF·SM	1
TC·CF·AM·TMP	2	CF	1
TC·AM·SM·TMP	2	TC·AM·SM	1
TC·TMP·NA·KM	1	TC·CF	1
TC·CF·AM	4	TC·CF·AM·SM	1
		CF·AM·KM	1
TC·CF·CIP	1	—	0
TC·AM·SM	1	—	0
TC·AM·TMP	1	—	0
TC·AM·NA	1	TC	1
TC·CF	4	TC·CF	1
		TC	1
		CF	1
TC·AM	3	TC·CF	1
		TC	1
TC·SM	2	TC	1
TC·TMP	4	CF	1
		AM	1
TC	11	TC·CF·SM	1

\*See the footnote of Table 2.

†Not transferred.

각 65.7% 및 31.4%로 가장 높게 나타났다. 달성공원 유래 분리균은 금호강 유래 분리균에 비해 사용된 대부분의 약제에 높은 내성을 보였으며, 이들 약제 중 TC, AM, CF 및 SM에 대하여는 각각 65.7~44.8%와 31.4~14.7%로 상당한 내성율의 차이가 인정되었다.

이들 공시균에 대한 다제내성 유형은 Fig. 1과 같다. 공시균 169주 중 금호강 유래 분리균은 63주(61.8%)가 한 종류 이상의 약제에 내성을 보였으며, 39주(38.2%)는 공시한 약제에 전부 감수성을 나타내었다. 반면 달성공원 유래 분리균은 56주(83.6%)가 한 종류 이상의 약제에 내성을 보였으며, 11주(16.4%)는 공시한 약제에 전부 감수성을 보였다. 한편 3종 이상의 약제에 대한 다제내성은 달성공원 유래 분리균이 59.7%로 금호강 유래 분리균의 17.9% 보다 훨씬 높게 나타났다.

금호강 및 달성공원 유래 분리균 중 TC에 내성을 보인 76주를 대상으로 *E.coli* J53을 피전달균으로 하여 접합에 의한 내성전달시험을 실시한 결과는 Table 3과 같다. 공시균 76주 중 30주(39.5%)가 내성유형의 전부 또는 일부를 피전달균에게 전달하였으며, 약제별 내성 전달 빈도는 CF에 대한 것이 23주(30.3%)로 가장 많이 전달되었으며 다음으로 TC 17주(22.4%), SM 11주(14.5%), AM 9주(11.8%), TMP와 KM이 각각 2주(2.6%), NA, CM 및 GM에 각각 1주(1.3%)의 순으로 나타났다.

금호강 및 달성공원 유래 분리균 중 TC에 내성을 보인 76주를 대상으로 *tetA*, *tetB*, *tetC*, *tetD* 및 *tetE* gene 등 5종의 *tet* gene의 보유 현황 및 이들 *tet* gene과 MIC와의 상관관계를 알아보기 위하여 PCR을 수행한 결과는 Fig. 2 및 Table 4와 같다. TC에 내성을 보인 공시균 76주 모두(100%)가 적어도 한 가지 이상의 *tet* gene을 보유하고 있는 것으로 나타났다. 공시균 중 46주(60.6%)

는 *tetA* gene을 보유하고 있어 가장 높은 분포를 보였고, *tetB*와 *tetC* gene은 각각 6주(7.9%) 및 1주(1.3%)가 발견되었으며, *tetD* 또는 *tetE* gene을 보유한 공시균은 한 주도 없었다. 두 종류 이상의 *tet* gene을 보유한 공시균은 23주이었으며, 이들 중 *tetA*와 *tetB* gene 및 *tetA*와 *tetC* gene을 동시에 보유한 공시균은 각각 20주(26.3%) 및 1주(1.3%)로 나타났다. 또한 *tetA*와 더불어 *tetB*와 *tetC* 등 세 종류의 gene을 동시에 보유한 균주도 2주(2.6%)가 발견되었다. 한편 이들 *tet* gene을 보유한 공시균의 MIC는 16~512 µg/ml의 범위로 다양하게 나타났다. *tetA* gene을 보유한 공시균은 MIC가 64~512 µg/ml의 범위였고, *tetB* gene은 32~512 µg/ml, *tetC* gene은 16 µg/ml, *tetA*와 *tetB* gene을 동시에 보유한 균주는 128~512 µg/ml, *tetA*와 *tetC* gene을 보유한 공시균은 32 µg/ml, *tetA*, *tetB* 및 *tetC* gene 등 세 종류의 내성인자를 동시에 보유한 공시균은 MIC가 256 µg/ml으로 나타났다.

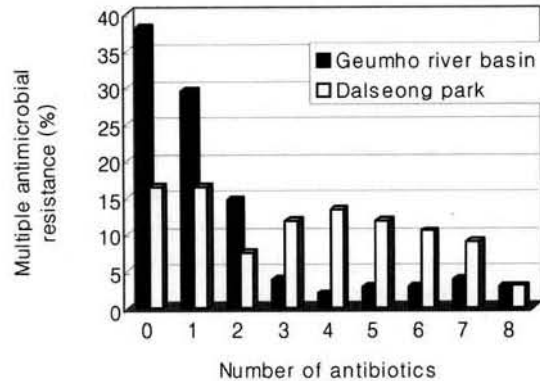


Fig. 1. Multiple antimicrobial resistance (%) of 169 *E. coli* strains isolated from Geumho river basin and Dalseong park.

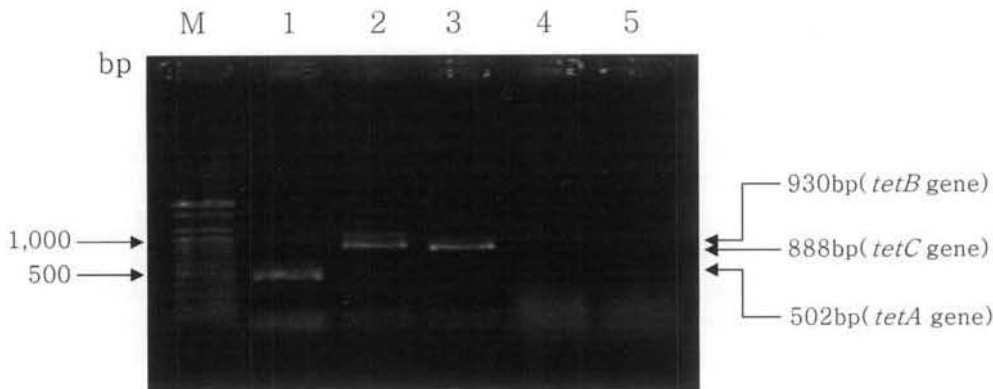


Fig. 2. Detection of tetracycline resistance determinants from tetracycline resistant *E. coli* isolates. Lanes : M, 100 bp DNA marker; 1, *tetA* gene; 2, *tetB* gene; 3, *tetC* gene; 4, *tetD* gene; 5, *tetE* gene. No DNAs was detected for *tetD* and *tetE* gene (Lane 4 and 5).



**Table 4.** Association between tetracycline MIC and the presence of tetracycline resistance determinants in 76 tetracycline-resistant *E. coli* isolates

tetracycline resistance determinants	No. (%) of isolates	MIC of tetracycline resistance isolates ( $\mu\text{g/ml}$ )					
		16	32	64	128	256	512
<i>tetA</i>	46 (60.6)	0	0	10	18	15	3
<i>tetB</i>	6 (7.9)	0	1	0	0	3	2
<i>tetC</i>	1 (1.3)	1	0	0	0	0	0
<i>tetD</i>	0 (0.0)	0	0	0	0	0	0
<i>tetE</i>	0 (0.0)	0	0	0	0	0	0
<i>tetA</i> + B	20 (26.3)	0	0	0	1	10	9
<i>tetA</i> + C	1 (1.3)	0	1	0	0	0	0
<i>tetA</i> + B + C	2 (2.6)	0	0	0	0	2	0

## 고 찰

수생조류에서 분리한 대장균 169주를 공시하여 14종의 항균제에 대한 내성율을 조사한 결과 TC에 대하여 가장 높은 내성율을 나타내었다. 이러한 성적은 사람 및 가축을 비롯하여 여러 가지 환경유래 대장균에서 TC에 가장 높은 내성을 보고한 여러 연구자들의 결과와 일치하였다 [4, 26, 40]. TC 내성은 여러 종류의 유전인자를 가진 plasmid에 의하여 전달되며, 이들 내성인자들은 감수성 균이 접합이나 형질전환에 의해 내성을 획득하게 하는 것을 가능하게 한다 [28]. 이번 연구에서는 CF, AM, SM과 TMP에 대하여도 62.7%~37.3%에 이르는 높은 내성율을 보였다. 팍 등 [1]은 낙동강 하류에 서식중인 야생조류 유래 대장균에서 CF에 3.8%, AM에 8.9% 및 SM에 5.1%의 내성을, Sayah 등 [35]의 CF에 11.1%, SM 및 AM에 각각 100%의 감수성을 보고하여 본 성적보다 내성율이 상당히 낮았으나, Middleton 등 [25]은 캐나다 기러기 유래 대장균에서 CF 및 AM에 95% 이상의 내성율을, Fallacara 등 [14]은 CF에 대하여 68.5%가 내성인 것으로 보고하여 본 성적 보다 높았다. 이러한 내성율의 차이는 야생조류의 종류, 주변 환경, 서식지의 오염 수준 등의 역학적인 요소와 관련이 있을 거라고 생각된다. KM, CM, GM, CIP, FOX, CTX 및 CTZ에 대하여는 10% 미만의 낮은 내성율을 보여 다른 연구자들의 결과와 유사하였다 [14, 39].

한편 윤 등 [3]은 2001년에 대구지역 야생조류로부터 분리한 *Salmonella* 속균은 nitrofurantoin을 제외한 대부분 약제에 감수성을 보고하였으며, 박 등 [2]은 1987년과 1988년 사이 공원내 사육중인 비둘기 및 수생조류 유래 *Salmonella typhimurium* 166주 중 단지 13주만이 사용된 항균제에 내성을 나타내었다고 보고하여, 본 성적과 비교해 볼 때 비록 야생조류의 종류 및 분리균종은 다르지만 항균제 내성양상은 과거에 비하여 크게 증

가되었음을 알 수 있었다.

본 조사에 나타난 결과를 조 등 [4]이 보고한 소, 돼지, 닭으로부터 분리한 대장균의 항균제 내성율과 비교해 볼 때 아직까지는 수생조류에서의 내성율은 가축에서 보다는 낮은 수준을 보였다. 이들 소, 돼지 및 닭 등 가축유래 분리균에서의 높은 항균제 내성율은 이들 약제의 직접적인 사용과 연관성이 있다고 하겠으나, 항균제에 직접 노출될 기회가 드문 야생조류에서 상당한 정도의 내성율을 보이는 이유는 야생조류의 먹이, 지표수 및 주위환경 등이 항균제 내성균으로 오염되었을 가능성이 있는 것으로 생각된다. Cole 등 [12]은 축산폐수에 노출된 지역에 서식하는 야생동물에서 대장균의 내성율은 이들과 직접적으로 접촉하지 않는 지역에 서식하는 야생동물에서의 내성율 보다 상당히 높다고 하였다. 이번 연구에서 달성공원 유래 분리균이 TC, AM, CF 및 SM 등의 약제에 대해 금호강 유래 분리균의 내성율 보다 상당히 높았다. 이는 공원 내 사육중인 물새들은 인공사육을 하는 관계로 사육 환경상 항균제가 첨가된 사료를 급여 받고 있을 뿐만 아니라, 성장촉진제, 구충제 및 면역촉진제 같은 약제의 사용과도 관련이 있을 것으로 생각된다. 한편 달성공원 유래 대장균의 59.7%, 금호강 유래 대장균의 17.9%가 3종 이상의 약제에 다제내성을 보여 수생조류가 내성균의 전파에 중요한 역할을 한다는 것을 고려할 때 가축에서와 마찬가지로 야생조류에서 다제내성균의 출현은 향후 문제가 될 수 있을 것으로 생각된다.

야생조류 유래 대장균에서 R plasmid의 존재를 증명 한 보고가 있으며 이중 Sato 등 [34]은 야생 까마귀 유래 대장균의 77%가 약제내성을 전달하였으며, Tsubokura 등 [39]은 물새 유래 대장균의 55%, Kanai 등 [18]은 야생조류의 9~15%가 R plasmid를 보유하고 있다고 보고하였다. 본 실험에서는 공시한 TC 내성 대장균 76주중 30주(39.5%)가 내성 양상의 전부 또는 일부를 피전달균

에게 전달하여 이들 내성균의 R plasmid 보유율은 이전 연구자들의 결과 보다는 다소 낮은 경향을 나타내었다. R plasmid에 의한 내성의 전달은 동종의 세균 간에는 물론 이종의 세균 간에도 쉽게 이루어질 수 있으며, 생체 내 실험에서도 이들 R plasmid에 의한 감수성 균의 내성화가 이루어지고 있음이 증명되고 있어 [30], 항균제의 오용이나 남용에 의한 질병예방 및 치료효과의 저하는 물론 공중위생학적인 견지에서도 중요시되고 있다.

Sengeløv 등 [36]이 식용동물 유래 병원성 및 비병원성 대장균에서 TC 내성인자의 분포를 조사한 결과 *tetA* gene이 71%, *tetB* gene이 25%, *tetC* gene은 닭유래 대장균에서 1주만이 검출되어 *tetA* gene이 가장 흔히 발견되었다고 하였고, Lanz 등 [19]은 소와 돼지 유래 대장균에서, Guillaume 등 [15]은 병원과 도시 폐수처리장 유래 *Salmonella*에서 *tetA* gene이 가장 많이 발견되었다고 보고를 하였다. 반면 Bryan 등 [10]은 사람과 동물로부터 분리한 대장균의 97%가 적어도 한 종류 이상의 *tet* gene을 보유하고 있었으며, *tetB* gene이 63%로 가장 많이 발견되었다고 보고하였다. Marshall 등 [24]은 동물 분변유래 유당분해 대장균에서, Lanz 등 [19]은 닭, 개 및 고양이 유래 대장균에서 *tetB* gene이 가장 많이 발견되었다고 하였으며, Blake 등 [8]은 TC 내성 대장균의 80%에서 *tetB* gene이 검출되었으며, *tetC* gene은 시료에 따라 40~20%에 이르는 매우 다양한 분포를 보였다고 보고를 하였다. 본 연구에서도 TC에 내성을 보인 76주 모두가 한 종류 이상의 *tet* gene을 보유하고 있었으며, 그 중 *tetA* gene이 가장 많이 검출되었다. 이는 TC에 내성을 가지는 대장균은 *tetA* 또는 *tetB* gene을 가장 많이 보유하고 있다고 보고한 이전 연구자들의 결과와 일치하였다 [15, 19, 36].

Marshall 등 [23]은 215주의 *Enterobacteriaceae* 중 1주에서만 *tetE* gene을 보고하였으며, Marshall 등 [24]은 lactose-fermenting bacteria에서 *tetD* gene은 거의 발견되지 않음을 보고하여 그람음성세균에서 *tetD* 및 *tetE* gene은 잘 발견되지 않음을 알 수 있었다 [40]. 본 조사에서도 공시균의 유래는 달랐지만 유사한 결과를 얻었다. 반면 Andersen 등 [5]은 marine sediment 유래 429주의 그람음성 세균에서 *tetA-E* gene의 분포를 조사를 한 결과 *tetE* gene이 가장 많이 발견됨을 보고하여 양식장 및 해양환경 유래에서 분리한 어류 병원체인 *Aeromonas hydrophila*에서는 *tetD*와 *tetE* gene은 흔히 발견되고 있는 것으로 알려져 있다 [38]. 이와 같이 세균의 종에 따라 유행하는 *tet* gene의 분포에 차이를 보인 것에 대하여는 더 많은 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다. 한편 일부 TC 내성균들은 두 종류 이상의 *tet* gene을 보유하고 있는 것으로 알려져 있다. Sengeløv 등 [36]은 분

리균의 5.4%가 두 종류의 *tet* gene을, Bryan 등 [10]은 분리균의 22.2%가 두 종류의 *tet* gene을, 1.9%는 세 종류의 *tet* gene을 보유하고 있다고 하였으며, Marshall 등 [24]은 분리균의 3.5%가 두 종류 *tet* gene을 보유하고 있음을 보고하여 본 실험의 결과와는 다소간의 차이가 인정되었다. 이는 공시균의 유래, 공시균의 수 및 조사한 *tet* gene의 종류와 관련이 있을 것으로 생각된다.

Blake 등 [8]은 *tetB* gene을 보유하는 공시균은 *tetA* 또는 *tetC* gene을 보유하는 공시균 보다 높은 MIC를 보였다고 하였으며, Lee 등 [21]은 공시균에서 높은 MIC는 *tetB* gene의 보유와 관련이 있다고 하였다. Marshall 등 [23]은 plasmid 내 *tetC* gene을 전달하는 균은 MIC가 8-64 µg/ml의 범위로 *tetA*와 *tetB* gene을 전달하는 균의 MIC인 128 µg/ml 보다 낮음을 보고하였으며, Johansson 등 [17]은 *tetA* gene만을 가진 분리주와 *tetA*와 *tetB* gene을 동시에 가진 분리주간의 MIC는 큰 차이가 없다고 하였다. 본 조사에서도 *tetA* 또는 *tetB* gene을 보유한 공시균의 MIC는 *tetC* gene을 보유한 공시균에 비해 높게 나타나 이전 연구자들의 결과와 유사한 경향을 나타내었다.

본 조사의 결과 수생조류가 서식지 주변에 다량의 분변을 배설하고 이들 배설물과 접촉한 사람과 가축에게도 내성균이 전파 될 수 있다는 사실을 고려해 볼 때, 식용동물이나 축산물의 경우와 마찬가지로 앞으로 수생조류와 주변 환경에 서식하는 세균에 대해서도 지속적인 항생제 내성 모니터링이 실시되어야 할 것으로 사료된다.

## 결 론

금호강 유역에 서식하고 있는 철새 및 달성공원 내 사육중인 물새에서 대장균 169주를 분리하여 AM 등 14종의 항균제에 대하여 항균성 약제 내성 및 내성양상을 비교 조사하는 한편 TC 내성균에 대하여는 *tetA*, *tetB*, *tetC*, *tetD* 및 *tetE* gene 등 5종의 *tet* gene의 보유현황을 조사한 결과 다음과 같은 성적을 얻었다.

달성공원 유래 분리균과 금호강 유래 분리균은 TC에 대하여 각각 65.7% 및 31.4%로 가장 높은 내성율을 보였다. 특히, TC, AM, CF 및 SM에 대한 달성공원 유래 분리균의 내성율(65.7-44.8%)은 금호강 유래 분리균의 내성율(31.4-14.7%) 보다 상당히 높게 나타났다. TC에 내성을 보인 76주 중 30주(39.5%)가 내성유형의 전부 또는 일부를 피전달균에게 전달하였다. TC에 내성을 나타낸 공시균 모두가 하나 또는 그 이상의 *tet* gene을 보유하고 있었고, 이들 중 *tetA* gene이 60.6%로 가장 많이 발견되었으며, 30.2%는 두 종류 이상의 *tet* gene을 보유하고 있는 것으로 나타났다. 수생조류가 내성균의 전파

에 중요한 역할을 한다는 것을 고려할 때 이들 서식지 주변 환경에 대한 철저한 위생관리가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

### 참고문헌

1. **곽현정, 이우원, 김삼환, 정경태, 우병길, 이강록, 이동수.** 야생조류 유래 대장균의 항생제 감수성 및 plasmid profile. 한국가축위생학회지 2006, **29**, 37-46.
2. **박노찬, 최원필.** 비둘기 및 수생조류 유래 *Salmonella typhimurium*의 생물화학적 특성과 plasmid profile에 관한 연구. 대한수의학회지 1990, **30**, 203-214.
3. **윤가리, 이영주, 김기석, 탁연빈.** 대구지역 야생조류로부터 분리한 *Salmonella*속 균의 생물화학적 특성과 Plasmid Profile. 한국수의공중보건학회지 2003, **27**, 59-67.
4. **조재근, 하중수, 김기석.** 소, 돼지 및 닭으로부터 분리한 대장균의 항균제 내성. 한국수의공중보건학회지 2006, **30**, 9-18.
5. **Andersen SR, Sandaa RA.** Distribution of tetracycline resistance determinants among gram-negative bacteria isolated from polluted and unpolluted marine sediments. Appl Environ Microbiol 1994, **60**, 908-912.
6. **Arvanitidou M, Stathopoulos GA, Constantinidis TC, Katsouyannopoulos V.** The occurrence of *Salmonella*, *Campylobacter* and *Yersinia* spp. in river and lake waters. Microbiol Res 1995, **150**, 153-158.
7. **Backstrand JM, Botzler RG.** Survival of *Pasteurella multocida* in soil and water in an area where avian cholera is enzootic. J Wildl Dis 1986, **22**, 257-259.
8. **Blake DP, Humphry RW, Scott KP, Hillman K, Fenlon DR, Low JC.** Influence of tetracycline exposure on tetracycline resistance and the carriage of tetracycline resistance genes within commensal *Escherichia coli* populations. J Appl Microbiol 2003, **94**, 1087-1097.
9. **Bradley DE, Taylor DE, Cohen DR.** Specification of surface mating systems among conjugative drug resistance plasmids in *Escherichia coli* K-12. J Bacteriol 1980, **143**, 1466-1470.
10. **Bryan A, Shapir N, Sadowsky MJ.** Frequency and distribution of tetracycline resistance genes in genetically diverse, nonselected, and nonclinical *Escherichia coli* strains isolated from diverse human and animal sources. Appl Environ Microbiol 2004, **70**, 2503-2507.
11. **Chopra I, Roberts M.** Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. Microbiol Mol Biol Rev 2001, **65**, 232-260.
12. **Cole D, Drum DJ, Stalknecht DE, White DG, Lee MD, Ayers S, Sobsey M, Maurer JJ.** Free-living Canada geese and antimicrobial resistance. Emerg Infect Dis 2005, **11**, 935-938.
13. **Conover MR, Chasko GG.** Nuisance Canada goose problems in the eastern United States. Wild Soc Bull 1985, **13**, 228-233.
14. **Fallacara DM, Monahan CM, Morishita TY, Wack RF.** Fecal shedding and antimicrobial susceptibility of selected bacterial pathogens and a survey of intestinal parasites in free-living waterfowl. Avian Dis 2001, **45**, 128-135.
15. **Guillaume G, Verbrugge D, Chasseur-Libotte M, Moens W, Collard J.** PCR typing of tetracycline resistance determinants (*Tet* A-E) in *Salmonella enterica* serotype Hadar and in the microbial community of activated sludges from hospital and urban wastewater treatment facilities in Belgium. FEMS Microbiol Ecol 2000, **32**, 77-85.
16. **Hussong D, Damaré JM, Limpert RJ, Sladen WJ, Weiner RM, Colwell RR.** Microbial impact of Canada geese (*Branta canadensis*) and whistling swans (*Cygnus columbianus columbianus*) on aquatic ecosystems. Appl Environ Microbiol 1979, **37**, 14-20.
17. **Johansson A, Greko C, Engström BE, Karlsson M.** Antimicrobial susceptibility of Swedish, Norwegian and Danish isolates of *Clostridium perfringens* from poultry, and distribution of tetracycline resistance genes. Vet Microbiol 2004, **19**, 251-257.
18. **Kanai H, Hashimoto H, Mitsuhashi S.** Drug resistance and conjugative R plasmids in *Escherichia coli* strains isolated from wild birds (Japanese tree sparrows, green pheasants and bamboo partridges). Jpn Poult Sci 1981, **18**, 234-239.
19. **Lanz R, Kuhnert P, Boerlin P.** Antimicrobial resistance and resistance gene determinants in clinical *Escherichia coli* from different animal species in Switzerland. Vet Microbiol 2003, **2**, 73-84.
20. **Lau MM, Ingham SC.** Survival of faecal indicator bacteria in bovine manure incorporated into soil. Lett Appl Microbiol 2001, **33**, 131-136.
21. **Lee C, Langlois BE, Dawson KA.** Detection of tetracycline resistance determinants in pig isolates from three herds with different histories of antimicrobial agent exposure. Appl Environ Microbiol 1993, **59**, 1467-1472.



22. **Levy SB, McMurry LM, Barbosa TM, Burdett V, Courvalin P, Hillen W, Roberts MC, Rood JI, Taylor DE.** Nomenclature for New Tetracycline Resistance Determinants. *Antimicrob Agents Chemother* 1999, **43**, 1523-1524.
23. **Marshall B, Morrissey S, Flynn P, Levy SB.** A new tetracycline-resistance determinant, class E, isolated from *Enterobacteriaceae*. *Gene* 1986, **50**, 111-117.
24. **Marshall B, Tachibana C, Levy SB.** Frequency of tetracycline resistance determinant classes among lactose-fermenting coliforms. *Antimicrob Agents Chemother* 1983, **24**, 835-840.
25. **Middleton JH, Ambrose A.** Enumeration and antibiotic resistance patterns of fecal indicator organisms isolated from migratory Canada geese (*Branta canadensis*). *J Wildl Dis* 2005, **41**, 334-341.
26. **Miles TD, McLaughlin W, Brown PD.** Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolates from broiler chickens and humans. *BMC Vet Res* 2006, **2**, 7.
27. **National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).** Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. NCCLS document M7-A6. 6th ed. NCCLS, Wayne, 2003.
28. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 14th Informational Supplement. NCCLS document M100-S12. NCCLS, Wayne, 2004.
29. **Nikolich MP, Hong g, Shoemaker NB, Salyers AA.** Evidence for natural horizontal transfer of tetQ between bacteria that normally colonize humans and bacteria that normally colonize livestock. *Appl Environ Microbiol* 1994, **60**, 3255-3260.
30. **Nivas SC, York MD, Pomeroy BS.** In vitro and in vivo transfer of drug resistance for *Salmonella* and *Escherichia coli* strains in turkeys. *Am J Vet Res* 1976, **37**, 433-437.
31. **Quessy S, Messier S.** Prevalence of *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. and *Listeria* spp. in ring-billed gulls (*Larus delawarensis*). *J Wildl Dis* 1992, **28**, 526-531.
32. **Reed KD, Meece JK, Henkel JS, Shukla SK.** Birds, migration and emerging zoonoses: west nile virus, lyme disease, influenza A and enteropathogens. *Clin Med Res* 2003, **1**, 5-12.
33. **Roberts MC.** Tetracycline resistance determinants: mechanisms of action, regulation of expression, genetic mobility, and distribution. *FEMS Microbiol Rev* 1996, **9**, 1-24.
34. **Sato G, Oka C, Asagi M, Ishiguro N.** Detection of conjugative R plasmids conferring chloramphenicol resistance in *Escherichia coli* isolated from domestic and feral pigeons and crows. *Zentralbl Bakteriol* 1978, **241**, 407-417.
35. **Sayah RS, Kaneene JB, Johnson Y, Miller R.** Patterns of antimicrobial resistance observed in *Escherichia coli* isolates obtained from domestic- and wild-animal fecal samples, human septage, and surface water. *Appl Environ Microbiol* 2005, **71**, 1394-1404.
36. **Sengeløv G, Halling-Sørensen B, Aarestrup FM.** Susceptibility of *Escherichia coli* and *Enterococcus faecium* isolated from pigs and broiler chickens to tetracycline degradation products and distribution of tetracycline resistance determinants in *E. coli* from food animals. *Vet Microbiol* 2003, **29**, 91-101.
37. **Simpson VR.** Wild animals as reservoirs of infectious diseases in the UK. *Vet J* 2002, **163**, 128-146.
38. **Schmidt AS, Bruun MS, Dalsgaard I, Larsen JL.** Incidence, distribution, and spread of tetracycline resistance determinants and integron-associated antibiotic resistance genes among motile aeromonads from a fish farming environment. *Appl Environ Microbiol* 2001, **67**, 5675-5682.
39. **Tsubokura M, Matsumoto A, Otsuki K, Animas SB, Sanekata T.** Drug resistance and conjugative R plasmids in *Escherichia coli* strains isolated from migratory waterfowl. *J Wildl Dis* 1995, **31**, 352-357.
40. **Wilkerson C, Samadpour M, Nicole van Kirk, Marilyn CR.** Antibiotic resistance and distribution of tetracycline resistance genes in *Escherichia coli* O157:H7 isolates from humans and bovines. *Antimicrob Agents Chemother* 2004, **48**, 1066-1067.