J. Exp. Biomed. Sci. 2012, 18(2): 152~159
pISSN : 1738-3226

Original Article

Prevalence and Antimicrobial Susceptibility of Erythromycin-Resistant *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* Isolated from Swine

Mi-Rai Choi[1], Shin-Moo Kim[2], Sang-Ha Kim[3], Wan-Soo Choi[4] and Young-Kwon Kim[5,†]

[1]Department of Public Health and Welfare, Graduate school of Konyang University, Daejeon 302-718, Korea
[2]Department of Clinical Laboratoty Scinence, Wonkwang Health Scinence University, Iksan 570-750, Korea
[3]Department of Public Health and Welfare Graduate School of Konyang University, Daejeon 302-718, Korea
[4]Department of Clinical Laboratoty Scinence Dong-eui Institute of Technology, Busan, 614-715, Korea
[5]Department of Biomedical Laboratory Science, Konyang University, Daejeon 302-718, Korea

Campylobacter species are known to the high optimum growth temperature (42℃) and the cause of enteritis in people. Erythromycin has a curative effect for enteritis caused by the bacteria. However, the rate of erythromycin-resistant bacteria was not well known until recently in Korea. Swine are one of sources of the infection with a *Campylobacter* species which cause the symptom of a high temperature. In this study, we cultured rectum fecal specimens of 100 pigs in an area of Buan-gun, Jeonbuk Province during July 2009. As a result, the detection rate of *C. jejuni* and *C. coli* and the rate of erythromycin-resistant bacteria for the separated *Campylobacter* species on the condition of high temperature were investigated. The possession or not of *hipO* and *glyA* gene and ciprofloxacin-resistant gene *gyrA* was also reviewed with biochemical characteristics and PCR.

Key Words: *Campylobacter* species, *C. jejuni*, *C. coli*, Erythromycin resistant, *hipO*, Gene *gyrA*

서 론

호열, 미산소성 그람음성 굽은 막대균인 *Campylobacter jejuni*와 *Campylobacter coli*는 각종 야생동물과 가축의 장관 내에 널리 분포되어 있으며, 특히 돼지를 비롯한 닭, 칠면조, 개, 소, 고양이 등에 보균률이 높은 것으로 보고되고 있다 (Smith et al., 1999; Friedman et al., 2000; Allos, 2001). *Campylobacter* 장염은 사람에게서 *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Escherichia coli* 보다 더 높은 장염을 일으키는 장염의 중요한 원인균으로 알려져 있다 (Gaunt et al., 1996; Altekruse et al., 1999).

Campylobacter 감염에 대한 치료제로는 fluoroquinolones, erythromycin, ciprofloxacin이 선택되어 사용되어 왔으나, 1980년 이후 특히 유럽지역을 중심으로 fluoroquinolone 내성이 증가하고 있으며 (Smith et al., 1999), 벨기에의 Vanhoof 등은 사람에서 분리된 *C. jejuni* 중 8.4%가 erythromycin에 내성임을 보고하였고 (Vanhoof et al., 1978), 기타 여러 나라에서 보고된 *C. jejuni*와 *C. coli*의 erythromycin 내성률은 Table 1과 같이 보고하였다 (Gilbreel and Taylor, 2006). Erythromycin 내성 *C. coli*는 돼지에서 높은 분리율을 나타내고, *C. jejuni*는 닭에서 높은 분리율을 나타내고 있어 (Arestrup et al., 2001; Chuma T et al., 2001; Van Looveren M et al., 2001), 사람에게서 분리되는 *Campylobacter* species 감염에 대한 치료과정 중 macroride계 항균제에 대한 내성이 나타날 수 있기 때문에, 이들 항균제에 대한 내성 패턴의 연구와 감시가 요구되고 있다. 또한, *Campylobacter* species에 대한 배양과 항균제 감수성 검사가 매우 까다롭기 때문에 우리나라의 임상미생물검사실에서는 *Campylobacter* species에 대한 일상적인 검사가 이루어지고 있지 않고, 경험적 항균제 치료에 의존하고 있어, *Campylobacter* species에 대한 정확한 항균제 치료의 가이드라인이 절실하게 요구되고 있다. 따라서 본 연구에서는 사람에게 중요한 *Campylobacter* species의 감염

*Received: 23 March, 2012 / Revised: 7 June, 2012
Accepted: 7 June, 2012
†Corresponding author: Young-Kwon Kim. Korea Culture Collection of Medical Fungi (KCMF), Dean of Medical Science College, Konyang Univ. 685 Gasuwon-dong, Seo-gu Daejon 302-718, Korea.
Tel: +82-42-600-6371, Fax: +82-42-543-6370
e-mail: ykkim3245@konyang.ac.kr
©The Korean Society for Biomedical Laboratory Sciences. All rights reserved.

Table 1. Sequence of oligonucleotides

Primer name	Target gene	Sequence (5' to 3')	Amplicon size (bp)
CJF	*C. jejuni*	ACTTCTTTATTGCTTGCTGC	323
CJR	*hipO*[a]	GCCACAACAAGTAAAGAAGC	
CCF	*C. coli*	GTAAAACCAAAGCTTATCGTG	126
CCR	*glyA*[a]	TCCAGCAATGTGTGCAATG	
CampyMAMA*gryA*1F	*gyrA*[b]	TTTTTAGCAAAGATTCTGAT	265
CampyMAMA*gryA*5R		CAAAGCATCATAAACTGCAA	

[a] Wang et al., 2002, [b] Zirnstein et al., 1999.

원인 돼지로부터 호열성 (42℃) *Campylobacter* species를 분리하여 검출률을 조사하였으며, 항균제 감수성 검사를 실시하여 *Campylobacter* species의 치료에 사용하는 항균제들에 대한 내성률을 조사하여 항균제 치료에 대한 참고자료를 제시하고자 하였다.

연구대상 및 방법

돼지에서 *Campylobacter jejuni*와 *C. coli*의 분리

***Campylobacter jejuni*와 *C. coli*의 생화학적 성상.** 본 연구에 사용한 시료는 2009년 7월 2일부터 7일 사이에 전북 부안지역 일개 농장의 돼지 100마리를 대상으로 직장 변 검체를 면봉으로 채취하여 Stuart 수송배지 (BBL, Copan, Italy)에 넣어 보존 수송하였다. *Campylobacter*의 분리를 위해 선택배지인 Preston agar (Oxoid, Basingstoke, UK)에 면봉으로 도말한 후 백금이로 획선 접종하였다. 10.0% CO_2 배양기에 42℃, 48시간 배양한 후, 용혈이 없고 원형의 회백색 집락을 재차 분리하였다. 순수 분리된 집락 중 그람음성, 굽은 막대균, oxidase 양성, hippurate hydrolysis 양성, 30 μg의 nalidixic acid 디스크에 내성, 30 μg의 cephalothin 디스크에 내성인 성상을 *C. jejuni*로 예비 동정하였고, 위 성상 중 hippurate hydrolysis 음성인 균주를 *C. coli*로 예비 동정하였다. 분리된 균주는 10.0% CO_2 조건에서 37℃, 48시간 blood agar plate (BAP)에 배양하였고, 배양된 균체는 15.0% glycerol이 포함된 BHI broth 1 ml에 현탁하여 다음 실험 시 까지 -70℃에 냉동 보관하였다.

***Campylobacter jejuni*와 *C. coli*의 *hipO*, *glyA* 유전자의 검출.** *C. jejuni*의 확인 동정을 위해 *hipO* 유전자를, *C. coli*는 *glyA* 유전자를 대상으로 PCR을 수행하였다. BAP 배지에 *C. jejuni*와 *C. coli*를 각각 접종하여 42℃, 10.0% CO_2 배양기에서 48시간 배양한 후 집락을 증류수에 현탁시켰다. 균 현탁액을 100℃에서 10분간 끓인 다음 10,000 rpm에서 5분간 원심분리한 후 상층액을 PCR을 위한 주형 DNA로 사용하였다. 본 실험에 사용된 primer의 염기서열은 Table 1과 같으며 Genotech Co. (Daejeon, Korea)에 의뢰하여 합성하였다. PCR을 위한 반응액 조성은 primer 각 1 μl, PCR mastermix (dNTP, taq polymerase, $MgCl_2$, Daejeon, Korea) 4 μl, 8-MOP 12 μl, 주형 DNA 2 μl를 넣어 최종 20 μl로 하였다. PCR 반응은 thermal cycler (GeneAmp system, PerkinCetus, Norwalk. CT, USA)를 사용하였다. 유전자 증폭을 위한 반응 조건은 predenaturation 95℃에서 5분, denaturation 95℃에서 30초, annealing 50℃에서 30초, extention 72℃에서 30초간 30회 반복하였고, 72℃에서 5분간 last extention 시킨 후 4℃에서 보관하였다. 증폭된 PCR 반응산물은 2.0% agarose gel (Cambrex bion science inc. Rockland, USA) 상에서 전기영동하여 확인하였다.

항균제 감수성 시험

Erythromycin과 quinolone 내성균의 분리. 내성균의 분리를 위해 표준 디스크 확산법 (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012)을 수행하였다. 배지는 5.0% 면양 혈액을 넣은 Mueller-Hinton agar (MHA, Difco Laboratories, Sparks, MD, USA)를 사용하였다. 순수 배양된 집락을 Tryptic soy broth (TSB, Difco) 2 ml에 현탁하여 1 McFarland 탁도로 맞추고, 면봉으로 배지의 표면에 고루 바른 후 디스크를 놓고 37℃, 10.0% CO_2 배양기에서 48시간 배양 후 결과를 판독하였다. 디스크는 amikacin 30 μg, ampicillin 10 μg, cephalothin 30 μg, ciprofloxacin 5 μg, erythromycin 15 μg, imipenem 10 μg, nalidixic acid 30 μg, tetracycline 30 μg (Becton-Dickinson, Cockeysville, MD, USA)를 사용하였다. 우무희석법 (Agar dilution method)을 위한 배지는 CLSI 표준 방법에 따라 5.0% 혈액을 첨가한 MHA 평판배지를 사용하였다. 항생제는 ampicillin, cephalothin, clindamycin,

Table 2. Antimicrobials usceptibility patterns of *C. jejuni* isolated from swine

Organisms (No. tested)	Antimicrobial agent	MIC (μg/ml)			Percentage of resistant (%)
		Range	50%	90%	
Erythromycin-resistant (26)	Ampicillin	2~64	4	8	3.8
	Cephalothin	64 ~ ≥128	64	≥128	100.0
	Ciprofloxacin	4~32	32	32	100.0
	Clindamycin	8~64	32	64	88.4
	Erythromycin	≥128	≥128	≥128	100.0
	Imipenem	0.125	0.125	0.125	0
	Nalidixic acid	32 ~ ≥128	≥128	≥128	100.0
	Tetracycline	4~≥128	8	128	38.5
Erythromycin-susceptible (7)	Ampicillin	4~64	8	64	14.2
	Cephalothin	≥128	≥128	≥128	100.0
	Ciprofloxacin	8~32	16	32	100.0
	Clindamycin	0.5~1	1	1	0
	Erythromycin	2~4	2	4	0
	Imipenem	0.125	0.125	0.125	0
	Nalidixic acid	128 ~ ≥128	≥128	≥128	100.0
	Tetracycline	8~128	64	128	71.4

erythromycin, gentamicin, nalidixic acid, ciprofloxacin, tetracycline (Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA) 및 imipenem (Merk Sharp & Dohme, Rahway, NJ, USA)을 사용하였다. 순수 배양된 집락을 TSB 2 ml에 현탁하여 1 McFarland 탁도로 맞추고, replicator로 접종하여 37℃, 10.0% CO_2 배양기에서 48시간 배양 후 증식을 억제시킨 항균제의 최소농도를 최소발육억제농도 (minimum inhibitory concentration, MIC)로 측정하였다. 정도관리를 위해 *Escherichia coli* ATCC 25922를 동시에 시험하였다.

Ciprofloxacin 내성 *gyrA* 유전자의 검출. Ciprofloxacin 내성 *Campylobacter*의 확인을 위해서 *gyrA* 유전자를 PCR 법으로 확인하였다. PCR 반응 조건은 *hipO*와 *glyA* 유전자에 사용된 방법과 동일하며, 사용한 primer의 염기서열은 Table 1과 같다.

결 과

돼지에서 *C. jejuni*와 *C. coli*의 분리

2009년 7월 2일부터 7일 사이에 부안지역 일개 농장에서 돼지 100마리의 직장 변 검체에서 분리된 *Campylobacter* species의 검출률은 55주 (55.0%)이었으며, 이중 *C. jejuni*는 33주 (33.0%), *C. coli*는 22주 (22.0%)가 분리되었다.

***C. jejuni*와 *C. coli*의 생화학적 성상.** 돼지에서 분리한 *C. jejuni* 33주와 *C. coli* 22주의 생화학적 성상은 Catalase 양성, Urease 음성, Oxidase는 양성을 보였으며, hippurate hydrolysis 시험에서는 *C. jejuni*는 진한 자주색을 보여 양성이었고, 무색인 *C. coli*는 음성을 보였다. Inodoxyl acetate hydrolysis는 두 균주 모두 양성을 보였으며, TSI의 H_2S 성상은 모두 음성이었다. Nalidixic acid와 Cephalothin 감수성 시험은 두 균주 모두 내성으로 동정되었다.

항균제 감수성 시험

Erythromycin과 quinolone 내성균의 분리. *Campylobacter* 균종 감염의 장염 치료제로 사용되고 있는 erythromycin을 포함한 8종의 항균제에 대한 감수성 시험에서 erythromycin 내성률, MIC 범위, MIC_{50} 및 MIC_{90}은 Table 2, 3과 같다. 본 시험에 사용된 *C. jejuni*에 대한 erythromycin의 MIC 범위는 ≥128 μg/ml, MIC_{90}은 ≥128 μg/ml이었고, erythromycin 내성 균주에 대해 가장 항균력이 높은 것은 imipenem이었으며, 그 MIC 범위는 0.125 μg/ml, MIC_{90}은 0.125 μg/ml이었고, ampicillin의 MIC 범위는 4 ~ ≥8 μg/

Table 3. Antimicrobial susceptibility patterns of *C. coli* isolates from swine

Organisms (No. tested)	Antimicrobial agent	MIC (μg/ml)			Percentage of resistant (%)
		Range	50%	90%	
Erythromycin-resistant (14)	Ampicillin	2~8	4	8	0
	Cephalothin	64~128	≥128	≥128	100.0
	Ciprofloxacin	8~32	16	32	100.0
	Clindamycin	0.5~4	0.5	4	0
	Erythromycin	≥128	≥128	≥128	100.0
	Imipenem	0.06~0.125	0.125	0.125	0
	Nalidixic acid	128 ~ ≥128	≥128	≥128	100.0
	Tetracycline	0.5~128	16	128	64.3
Erythromycin-susceptible (8)	Ampicillin	4~16	8	16	0
	Cephalothin	≥128	≥128	≥128	100.0
	Ciprofloxacin	4~32	16	32	100.0
	Clindamycin	16~64	64	64	92.8
	Erythromycin	0.5~4	2	4	0
	Imipenem	0.06~0.125	0.125	0.125	0
	Nalidixic acid	64 ~ ≥128	≥128	≥128	100.0
	Tetracycline	2~128	64	128	62.5

ml, MIC_{90}은 8 μg/ml이었으며, tetracycline의 MIC 범위는 4~128 μg/ml, MIC_{90}은 128 μg/ml, clindamycin의 MIC 범위는 8~64 μg/ml, MIC_{90}은 64 μg/ml이었다. 본 시험에 사용된 Erythromycin 내성 *C. coli*에 대한 erythromycin의 MIC 범위는 ≥128 μg/ml, MIC_{90}은 ≥128 μg/ml이었으며, erythromycin 내성 균주에 대해 항균력이 높은 것은 ampicillin, clindamycin, imipenem이었으며, imipenem의 MIC 범위는 0.06~0.125 μg/ml, MIC_{90}은 0.125 μg/ml이었고, ampicillin의 MIC 범위는 2 ~ ≥8 μg/ml, MIC_{90}은 8 μg/ml이었으며, tetracycline의 MIC 범위는 0.5~128 μg/ml, MIC_{90}은 128 μg/ml, clindamycin의 MIC 범위는 0.5~4 μg/ml, MIC_{90}은 4 μg/ml이었다. *C. jejuni*의 erythromycin 감수성 균주에 대해 항균력이 높은 것은 imipenem이었으며, imipenem의 MIC 범위는 0.125 μg/ml, MIC_{90}은 0.125 μg/ml이었고, erythromycin의 MIC 범위는 ≤2 ~ 4 μg/ml, MIC_{90}은 4 μg/ml이었으며, ampicillin clindamycin의 MIC 범위는 각각 4~64 μg/ml와 0.5~1 μg/ml, MIC_{90}은 64 μg/ml와 1 μg/ml이었고, tetracycline의 MIC 범위는 8~128 μg/ml, MIC_{90}은 128 μg/ml이었다. Imipenem은 erythromycin 내성과 감수성 *Campylobacter* 균종에서 가장 낮은 MIC_{90}를 보였으며, erythromycin 내성 *Campylobacter* 균종의 장염 치료제는 ampicillin이 추천되었다. 또한 erythromycin 감수성 *Campylobacter* 균종에 대한 clindamycin은 낮은 MIC_{90}을 보였다. 모든 *Campylobacter* 균종은 ciprofloxacin에 내성이었으며, erythromycin 내성과 감수성 *C. jejuni*는 tetracycline에 각각 38.5%와 71.4%의 내성률을, erythromycin 내성과 감수성 *C. coli*는 tetracycline에 각각 64.3%와 62.5%의 내성률을 보였다.

***C. jejuni*와 *C. coli*의 *hipO*, *glyA*와 *gyrA* 유전자의 검출.** 생화학적 동정 시험에서 *C. jejunie*로 동정된 33균주는 모두 *C. jejunie* 특이 유전자인 *hipO*를 확인할 수 있었으며, *C. coli*로 동정된 22균주는 모두 *C. coli* 특이 유전자인 *glyA*를 확인할 수 있었으며, nalidixic acid와 ciprofloxacin에 내성을 나타내는 *C. jejuni*와 *C. coli*의 모든 균주에서 변이된 유전자인 *gyrA*가 266 bp에서 관찰되어, ciprofloxacin-resistant *Campylobacter* species임을 알 수 있었다 (Table 4, Fig. 1-3).

고 찰

*Campylobacter*는 닭, 칠면조, 돼지, 개, 소, 고양이 등에서 보균률이 높으며, 각종 야생동물 및 가축의 장관 내에 널리 분포한다. 특히 *C. jejuni*는 닭과 소에서 주로 보균하고 있으며, *C. coli*는 돼지에서 많이 보균하고 있어 이

Table 4. Detection of *hipO, glyA* and *gryA* gene for *C. jejuni* and *C. coli* isolated from swine

Source of isolation	Detection of indicated genes by PCR		
	hipO	*glyA*	*gyrA*
CJ-01*	+	−	+
CJ-02	+	−	+
CJ-03	+	−	+
CJ-04	+	−	+
CJ-05	+	−	+
CJ-06	+	−	+
CJ-07	+	−	+
CJ-08	+	−	+
CJ-09	+	−	+
CJ-10	+	−	+
CJ-11	+	−	+
CJ-12	+	−	+
CJ-13	+	−	+
CJ-14	+	−	+
CJ-15	+	−	+
CJ-16	+	−	+
CJ-17	+	−	+
CC-18	−	+	+
CC-19	−	+	+
CJ-20	+	−	+
CC-21	−	+	+
CJ-22	+	−	+
CJ-23	+	−	+
CJ-24	+	−	+
CC-25	−	+	+
CJ-26	+	−	+
CJ-27	+	−	+
CC-28	−	+	+
CJ-29	+	−	+
CC-30	−	+	+
CC-31	−	+	+
CC-32	−	+	+
CJ-33	+	−	+
CJ-34	+	−	+
CC-35	−	+	+
CC-36	−	+	+
CJ-37	+	−	+
CC-38	−	+	+
CC-39	−	+	+
CC-40	−	+	+
CJ-41	+	−	+
CC-42	−	+	+
CC-43	−	+	+
CC-44	−	+	+
CC-45	−	+	+
CJ-46	+	−	+
CC-47	−	+	+
CJ-48	+	−	+
CJ-49	+	−	+
CC-50	−	+	+
CC-51	−	+	+
CJ-52	+	−	+
CJ-53	+	−	+
CC-54	−	+	+
CC-55	−	+	+
Total	33	22	55

*NO. of isolates tested.
CJ, *Campylobacter jejuni*; CC. *Campylobacter coli*.

러한 동물들로부터 사람에 감염되어 *Campylobacter* 장염을 일으키는 것으로 알려져 있다 (Guévremont et al., 2006; Shin et al., 2010). 이 세균들은 공기 중의 노출이나 건조, 낮은 pH, 가열에 대한 저항성이 낮으며, 식품 중에는 증식하기 어려우나, 적은 세균수의 감염으로도 장염을 일으킬 수 있어, 여러 나라에서 세균성 식중독의 빈번한 원인균으로 보고되어 왔다 (Pedersen, et al., 2003). *Campylobacter* 균종의 감별을 위한 동정 실험은 생화학적 성상으로 쉽지 않은 것으로 알려져 왔으며, *C. jejuni*와 *C. coli*의 분리 동정 법으로 hippurate hydrolysis 시험, nalidixic acid와 cephalothin 감수성 시험이 사용되어 왔으나, nalidixic acid와 cephalothin에 대한 내성 균주의 출현으로 인하여 그 이용 가치가 점차 적어지고 있다.

Dassanayake 등은 *C. jejuni*의 13.0%는 hippurate hydrolysis 음성이라고 보고하여 기존의 생화학적 동정 실험만으로는 정확한 동정을 기대할 수 없게 되었다. Wang 등은 *C. jejuni*만이 보유하고 있는 특이 유전자를 *hipO* 유전자로 확인이 가능하며, *C. coli*만이 보유하고 있는 특이 유전자인 *glyA*로 유전자로 확인이 가능하다고 보고한 이래 *hipO* 유전자와 *glyA* 유전자의 검출은 *C. jejuni*와 *C. coli*를 동정하는데 중요한 지표로 사용되고 있다 (Wang et

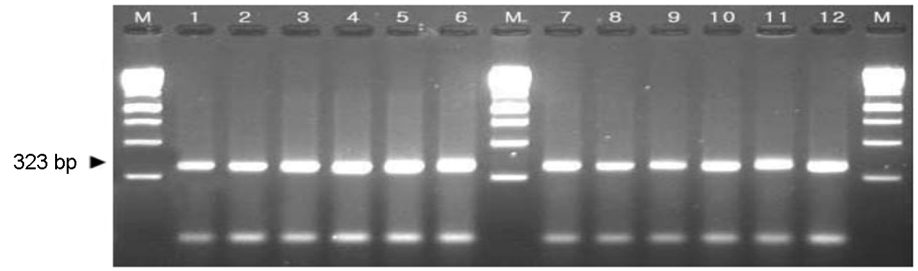

Fig. 1. Agarose gel electrophoresis of PCR products by using primer pairs *hipO* gene for identification of *C. jejuni*. Lane 1 to 12, *C. jejuni*; M, size marker; lane 1, strain no. CJ-1; lane 2, strain no. CJ-2; lane 3, strain no. CJ-3; lane 4, strain no. CJ-4; lane 5, strain no. CJ-5; lane 6, strain no. CJ-6; lane 7, strain no. CJ-7; lane 8, strain no. CJ-8; lane 9, strain no. CJ-9; lane 10, strain no. CJ-10; lane 11, strain no. CJ-11; lane 12, strain no. CJ-12.

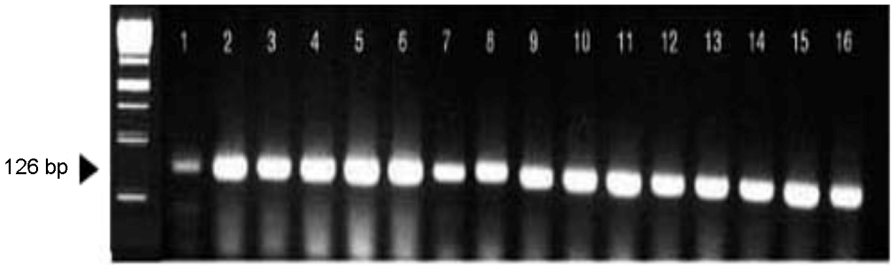

Fig. 2. Agarose gel electrophoresis of PCR generated by using primer pairs for g*lyA* gene for identification of *C. coli*. Lane M, size marker; lane 1, strain no. CC-18; lane 2, strain no. CC-19; lane 3, strain no. CC-21; lane 4, strain no. CC-25; lane 5, strain no. CC-28; lane 6, strain no. CC-30; lane 7, strain no. CC-31; lane 8, strain no. CC-32; lane 9, strain no. CC-35; lane 10, strain no. CC-36; lane 11, strain no. CC-38; lane 12, strain no. CC-39; lane 13, strain no. CC-40; lane 14, strain no. CC-42; lane 15, strain no. CC-43; lane 16, strain no. *C. coli* ATCC 33559.

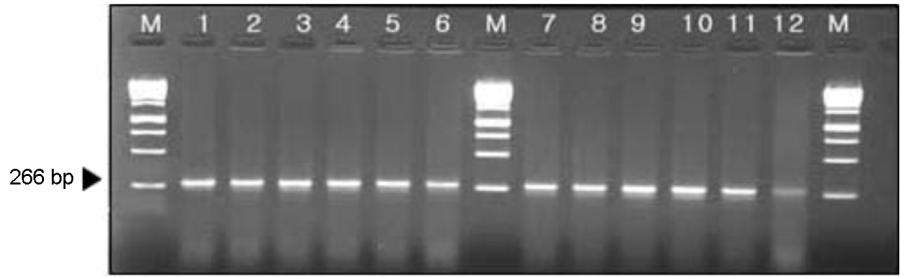

Fig. 3. Agarose gel electrophoresis of PCR products by using primer pairs *gryA* gene for detection of ciprofloxacin-resistant *Campylobacter* species Lane 1 to 12, *Campylobacter* species; M, size marker; lane 1, strain no. CJ-1; lane 2, strain no. CJ-2; lane 3, strain no. CJ-3; lane 4, strain no. CJ-4; lane 5, strain no. CJ-5; lane 6, strain no. CJ-6; lane 7, strain no. CJ-7; lane 8, strain no. CJ-8; lane 9, strain no. CJ-9; lane 10, strain no. CJ-10; lane 11, strain no. CJ-11; lane 12, strain no. CJ-12.

al., 2002). 1994년 Sánchez 등은 *Campylobacter* 감염 치료에 널리 사용되는 ciprofloxacin에 대한 내성 조사 보고에 의하면 스페인에서 분리한 균주 중에는 ciprofloxacin 내성균이 분리되지 않았지만, 1992년에서는 49균주가 내성임을 보고하였으며, ciprofloxacin에 대한 내성은 변이된 *gyrA* 유전자에 기인하는 것으로 보고하였다. 따라서 *Campylobacter* 균종의 동정과 ciprofloxacin 내성 연구에서 여러 가지 유전자 검출 방법들이 보고되어 왔으나, 본 연구에서는 Wang 등이 보고한 *hipO*와 *glyA* 유전자 중 *hipO* 양성은 *C. jejuni*로, *glyA* 양성은 *C. coli*로 동정하였으나 (Wang et al., 2002), Zirnstein 등은 ciprofloxacin 내성을 나타내는 균주에서 변이된 *gyrA* 유전자를 검출하여 *C. jejuni*와 *C. coli*의 ciprofloxacin 내성 세균의 지표 유전자로 확인하였다 (Zirnstein et al., 1999).

Fluoroquinolone이 개발된 초기에는 여러 균종에 대한 항균력이 높아 (Segreti et al., 1989) *Campylobacter* 장염 치료에 유용하게 사용되었으며 (Goodman et al., 1990), fluoroquinolone이 널리 사용됨에 따라서 fluoroquinolone 내성 균주가 증가하고 있음이 보고되었다 (Zirnstein et al., 1999). Payot 등 (2004)은 프랑스 돼지에서 분리한 *C. coli* 균주 중 fluoroquinolone 내성 *Campylobacter* 균주가 65.8%임을 보고하였고, Kim 등 (2008)은 우리나라 익산 지역의 닭과 환자에서 분리한 *C. jejuni*가 모두 nalidixic acid와 ciprofloxacin 내성임을 보고하였다. 본 연구에서 돼지를 대상으로 분리된 *C. jejuni*와 *C. coli*에서는 nalidixic acid와 ciprofloxacin에 모두 내성을 나타내었으며, nalidixic acid의 MIC_{50}와 MIC_{90}은 각각 ≥128 μg/ml이었다. Ciprofloxacin 내성 유전자인 *gyrA* 유전자가 본 연구에서 분리한 *C. jejuni*와 *C. coli* 모두에서 검출되어, *Campylobacter* 감염 치료에 fluoroquinolone을 사용할 수 없을 뿐만 아니라, nalidixic acid 디스크 시험은 *Campylobacter* species 감별에도 이용할 수 없으며, *Campylobacter* 감염 치료에 fluoroquinolone을 사용할 때에는 항균제 감수성 시험이 반드시 필요할 것으로 사료된다. 본 실험에 사용된 *Campylobacter* 균종 55주는 cephalothin, ciprofloxacin, erythromycin, nalidixic acid에 내성이었고, erythromycin 내성 *C. jejuni*는 ampicillin에는 3.8%, clindamycin에 88.4%, imipenem에 0%, tetracycline에 38.5%가 내성이었으며, 가장 낮은 MIC_{90}를 보인 항균제는 ampicillin이었다. Erythromycin 감수성 *C. jejuni*는 ampicillin에 14.2%, clindamycin과 imipenem에 0%, tetracycline에는 71.4%가 내성이었으며, 가장 낮은 MIC_{90}를 보인 항균제는 clindamycin이었다. 한편 erythromycin 내성 *C. coli*는 ampicillin, clindamycin, imipenem은 0%, tetracycline은 64.3%가 내성이었고, 가장 낮은 MIC_{90}를 보인 항균제는 clindamycin이었으며, erythromycin 감수성 *C. coli*는 ampicillin과 imipenem은 0%, clindamycin은 92.8%, tetracycline은 62.5%가 내성이었으며, 가장 낮은 MIC_{90}를 보인 항균제는 erythromycin으로 나타났다. 따라서 본 연구에 사용된 *Campylobacter* species 55주 모두에서 퀴롤론계 항균제에 대해서 100.0% 내성을 나타내 앞으로 *Campylobacter* species 감염 치료에 사용할 수 없다는 결론을 얻었으며, erythromycin과 tetracycline에 대해서도 내성균이 점차 증가하고 있어 *Campylobacter* species 감염에 대한 치료 시에는 반드시 항균제 감수성 시험이나 관련 유전자의 검출 시험을 한 후에 치료가 필요할 것으로 사료된다.

REFERENCES

Allos BM. *Campylobacter jejuni* Infections: update on emerging issues and trends. Clin Infect Dis. 2001. 32: 1201-1206.

Altekruse SF, Stern NJ, Fields PI, Swerdlow DL. *Campylobacter jejuni* an emerging foodborne pathogen. Emerg Infect Dis. 1999. 5: 28-35.

Arestrup FM, Engberg J. Antimicrobial resistance of thermophilic *Campylobacter*. Vet Res. 2001. 32: 311-321.

Chuma T, Ikeda T, Maeda T, Niwa H, Okamoto K. Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter* strains isolated from broilers in the southern part of Japan from 1995 to 1999. J Vet Med Sci. 2001. 63: 1027-1029.

Clinical and Laboratory Standards Institute: Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria; approved guideline. CLSI Document M45-A, 2012.

Dassanayake RP, Zhou Y, Hinkley S, Stryker CJ, Plauche G, Borda JT, Sestak K, Duhamel GE. Characterization of cytolethal distending toxin of *Campylobacter* species isolated from captive macaque monkeys. J Clin Microbiol. 2005. 43: 641-649.

Gaunt PN, Piddock LJ. ciprofloxacin resistant *Campylobacter* species in humans: an epidemiological and laboratory study. J Antimicrob Chemother. 1996. 37: 747-757.

Goodman LJ, Trenholme GM, Kaplan RL, Segreti J, Hines D, Petrak R, Nelson JA, Mayer KW, Landau W, Parkhurst GW, Stuart Levin. Empiric antimicrobial therapy of domestically acquired acute diarrhea in urban adults. Arch lntern Med. 1990. 150: 541-546.

Guévremont E, Nadeau E, Sirois M, Quessy S. Antimicrobial susceptibilities of thermophilic *Campylobacter* from humans, swine, and chicken broilers. Can J Vet Res. 2006. 70: 81-86.

Kim SM, Kim EC, Choi MR, So HA, Shim ES, Kim ES, Park SC, Seong CN, Chong Y. Cytolethal Distending Toxin Production, Genotypes and Atimicrobial Susceptibility of *Campylobacter jejuni* Isolates from Diarrhea Patients and Chickens. Journal of Bacteriology and Virology 2008. 38: 207-219.

Payot S, Avrain L, Magras C, Praud K, Cloeckaert A, Chaslus-Dancla E. Relative contribution of target gene mutation and efflux to fluoroquinolone and erythromycin resistance, in French poultry and pig isolates of *Campylobacter coli*. Int J Antimicrob Agents. 2004. 23: 468-472.

Pedersen K, Wedderkopp A. Resistance to quinolones in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from Danish broilers at farm level. J Appl Microbiol. 2003. 94: 111-119.

Sánchez R, Fernández-Baca V, Díaz MD, Muñoz P, Rodríguez-Créixems M, Bouza E. Evolution of susceptibilities of *Campylobacter* species to quinolones and macrolides. Antimicrob Agents Chemother 1994. 8: 1879-1882.

Segreti J, Nelson JA, Goodman LJ, Kaplan RL, Trenholme GM. *In vitro* activities of lomefloxacin and temafloxacin against pathogens causing diarrhea. Antimicrob Agents Chemother 1989. 33: 1385-1387.

Shin E, Lee Y. Characterization of erythromycin-resistant porcine isolates of *Campylobacter coli*. Microb Drug Resist. 2010. 16: 231-239.

Smith KE, Besser JM, Hedberg CW, Leano FT, Bender JB, Wicklund JH, Johnson BP, Moore KA, Osterholm MT. Quinolone-resistant *Campylobacter jejuni* infections in Minnesota, 1992-1998. Investigation Team. N Engl J Med. 1999. 20; 340: 1525-1532.

Van Looveren M, Daube G, De Zutter L, Dumont JM, Lammens C, Wijdooghe M, Vandamme P, Jouret M, Cornelis M, Goossens H. Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter* strains isolated from food animals in Belgium. J Antimicrob Chemother. 2001. 48: 235-340.

Wang G, Clark CG, Taylor TM, Punknell C, Barton C, Price L, Woodward DL, Rodgers FG. Colony multiplex PCR assay for identification and differentiation of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis* and *C. fetus* subsp. J Clin Microbiol. 2002. 40: 4744-4747

Zirnstein G, Li Y, Swaminathan B, Angulo F. Ciprofloxacin resistance in *Campylobacter jejuni* isolates: detection of *gyrA* resistance mutations by mismatch amplification mutation assay PCR and DNA sequence analysis. J Clin Microbiol. 1999. 37: 3276-3280.