

시판 축산물 및 수산물에서 *Enterococcus faecalis*와 *Enterococcus faecium* 분포 및 항생제 감수성에 관한 연구

성창현 · 천정환 · 곽효선¹ · 김현숙² · 서건호*

건국대학교 KU 식품안전연구센터, ¹식품의약품안전청 식중독예방관리과,
²캘리포니아 대학교(UC DAVIS) 영양학과

Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* Isolated from Beef, Pork, Chicken and Sashimi

Chang-Hyun Sung, Jung-Whan Chon, Hyo-Sun Kwak¹, Hyunsook Kim², and Kun-Ho Seo*

KU Center for Food Safety, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

¹Foodborne Disease Prevention and Surveillance Division, Korea Food and Drug Administration,
Cheongwon-gun 363-700, Korea

²Department of Nutrition, University of California, Davis 95616, USA

Abstract

In this study, a total of 256 samples of retail raw meats (beef, pork and chicken) and sashimi were investigated for the presence of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*. We isolated a total of 117 *E. faecalis* and *E. faecium* from the samples, with contamination rates ranging from 18.8% for sashimi samples to 68.8% of chicken samples. *E. faecalis* was the predominant species recovered from all of the retail raw meats beef (42.2%), pork (42.2%), chicken (65.6%) and sashimi (12.5%). Among 117 isolates, 61 isolates (52.1%) were resistant to tetracycline, 32 isolates (27.4%) were resistant to erythromycin, 23 isolates (19.7%) were resistant to chloramphenicol, 16 isolates (13.7%) were resistant to ripampin, 10 isolates (8.5%) were resistant to gentamycin, 9 isolates (7.7%) were resistant to ciprofloxacin and 1 isolate (0.9%) was resistant to ampicillin and penicillin G. No resistance to amoxicillin + clavulanic acid and vancomycin was observed. Although no strain was resistant to vancomycin, the *vanB* gene was observed in 9 of 117 of *Enterococcus* (7.7%) demonstrating potential risk of vancomycin-resistant *Enterococcus* (VRE). Our results indicate that *E. faecalis* and *E. faecium* were highly prevalent in retail raw meats, but most strains were sensitive to tested antibiotics.

Key words: *Enterococcus*, prevalence, antimicrobial resistance, vancomycin-resistant *Enterococcus*

서 론

*Enterococcus*는 그람양성, 통성혐기성 세균으로 대부분 동물의 장내 정상 세균총으로 존재하며 분변을 통해 식품 및 환경에 존재 가능한 균이다(Kang *et al.*, 2008; Katie *et al.*, 2009). 동물의 분변에 오염되지 않은 환경에서는 검출되지 않으므로 대장균과 함께 식품의 분변오염 지표세균으로 활용된다(Oh *et al.*, 2008). 하지만 최근 들어 *Enterococcus*는 중요한 병원균으로 인식되고 있다(Tailer *et al.*, 1993). *Enterococcus*는 병원 내 기회감염 원인균으로(noso-

comial pathogen) 경우에 따라 요로계 감염, 심내막염, 뇌수막염 등을 유발할 수 있다(Cauwerts *et al.*, 2007; De Fatima Silva Lopes *et al.*, 2005). 더욱이 *Enterococcus*가 여러 종류의 항생제에 대해 내성을 보이기 때문에 감염환자의 치료가 어려운 실정이다(Quednau *et al.*, 1998). 최근 들어 *Enterococcus*의 항생제 내성양상이 전세계적으로 높아지는 추세이기 때문에 *Enterococcus*의 항생제 내성양상에 대해 많은 연구가 이루어지고 있다(Harwood *et al.*, 2001; Quednau *et al.*, 1998).

특히 강력한 항생제인 vancomycin에 내성을 보이는 vancomycin-resistant *Enterococcus*(VRE)는 1987년 유럽에서 출현한 이래 국내에서도 분리균주가 급증하는 병원 내 중요한 기회감염균이다(Cha *et al.*, 2010). Aminoglycoside, glycopeptide 및 penicillin 계열의 항생제에 내성을 갖기 때

*Corresponding author: Kun-Ho Seo, Department of Public Health, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea. Tel: 82-2-450-4121, Fax: 82-2-3436-4182, E-mail: bracstu3@konkuk.ac.kr

문에 감염환자를 치료하기가 매우 어려울 뿐만 아니라(Park *et al.*, 1992; Sood *et al.*, 2008) VRE 내성 유전자가 methicillin resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA) 등을 포함한 다른 세균에게 전달될 가능성이 있기 때문에 임상적으로 극히 중요시 되고 있다(Noble *et al.*, 1992; Schlefer *et al.*, 1987).

원내감염과 연관성이 높은 대표적인 *Enterococcus* 종으로는 *Enterococcus faecalis*와 *Enterococcus faecium*이 있으며, 병원뿐 아니라 축산물, 수산물, 채소류 등과 같은 식품에서도 빈번하게 분리된다(Franz *et al.*, 1999; Mandel *et al.*, 1995; Sood *et al.*, 2008). 식품을 통한 해당균의 인체 감염 및 발병 가능성은 높지 않으나, 감염될 경우 장내 정상 세균총으로의 내성유전자 전이가 가능하여 문제가 될 수 있다(Chadwick *et al.*, 1996; Kang *et al.*, 2008). 따라서 식품에서의 *E. faecalis* 및 *E. faecium*의 오염률과 해당균의 항생제 내성 양상은 공중보건학적으로 의미가 있다.

국제적으로 식품에서 분리된 *Enterococcus* 중에서 PCR을 통해 *vanA* gene과 *vanB* gene을 검출하여 VRE의 정확한 분리연구가 이루어지고 있으나(Harwood *et al.*, 2001; Quednau *et al.*, 1998), 국내연구에서는 식품 중 VRE의 검출에 대한 연구보고가 많지 않다(Kang *et al.*, 2008). 또한 디스크 확산법이나 minimum inhibitory concentration (MIC) test를 활용하여 실제로 내성을 보이는 *Enterococcus* 만 검출하므로, 잠재적 위험성이 있는 *vanA* gene과 *vanB* gene의 분포에 대해서는 충분한 정보를 제공하지 못하고 있다(Ham, 2007; Kang *et al.*, 2008; Oh *et al.*, 2008; Park *et al.*, 1992; Park *et al.*, 2006). 최근 임상의학에서는 VRE의 유전자형과 항생제 내성 표현형이 일치하지 않는 경우가 보고되고 있어(Cha *et al.*, 2010; Park *et al.*, 2006), 식품에서 분리된 균주에 대해서도 VRE 검출에 대한 표현형과 유전형은 모두 확인하는 심도 있는 연구가 요구된다.

Enterococcus 의 분리 및 VRE의 검출에 관한 연구는 채소, 견해산물, 생식 등 다양한 식품에서 수행되어 왔으나(Ham, 2007; Kang *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2007), 축산 식품과 수산식품에서의 *Enterococcus*에 대한 연구는 국내에서 많이 이루어지지 않은 실정이다. 따라서 본 연구에서는 서울시내에서 시판되는 소고기, 돼지고기, 닭고기 등의 신선육류와 다양한 횡감어류로부터 *E. faecalis*와 *E. faecium*을 분리하고 디스크 확산법을 통해 10종의 항생제에 대한 내성양상을 분석하였다. 분리된 균주의 *vanA* gene과 *vanB* gene의 보유여부를 확인하여 VRE 검출에 대한 표현형과 유전형은 모두 확인함으로써 식품의 *Enterococcus* 오염 관리와 항생제내성균 위험평가의 중요한 기초자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

실험에 사용된 시료

2010년 1월부터 9월까지 16차례에 걸쳐 서울시 광진구, 중랑구, 성동구, 강동구 내에 있는 대형마트, 슈퍼마켓, 재래시장, 정육점, 횡집 등 총 256곳의 개별판매점에서 축산물과 수산물을 구입하였다. 시료는 1월, 4월, 7월, 9월에 각 계절별로 64건씩 수집하였으며, 계절별 64건은 각 4개의 지역구당 16개씩 구매하여 수집하였다. 축종별 시료 수는 축산물의 경우 소고기, 돼지고기, 닭고기 각 64개씩 192개였으며, 수산물은 횡감어류로서 광어, 우럭, 도미, 농어 각 16개씩 64개로 총 256개의 시료를 사용하였다. 구입한 모든 시료는 구입직후 냉장 포장하여 1시간 내에 실험실로 옮기고, 4°C에서 냉장 보관하여 4시간 내에 실험에 사용하였다.

*E. faecalis*와 *E. faecium*의 분리 및 동정

시료에서 *E. faecalis*, *E. faecium*을 분리하기 위해서 샘플을 25 g씩 채취한 뒤 225 mL의 azide-dextrose broth(Merck, Germany)에 넣어주었다. Stomacher(Interscience™, USA)로 30초간 균질화 한 후 37°C에서 24시간 동안 증균배양하였다. 증균배양액을 bromocresol purple azide broth(Merck) 9 mL에 1 mL 접종하고 37°C에서 48시간 동안 배양하여 노란색으로 색이 변한 broth를 선택하여 enterococcosel agar(Oxoid, UK)에 희석 도말하여 37°C에서 24시간 동안 배양하였다. 검은색을 띄는 집락을 선택하여 laked horse blood(Oxoid)가 5% 함유된 blood agar에 37°C에서 24시간 동안 배양 후 catalase 음성, oxidase 음성 집락에 한하여 VITEK2(BioMerieux, France)로 생화학적 확인동정을 실시하였다. 분리된 균주는 추가적인 실험에 사용되기 전까지 -70°C에서 동결보존 하였다.

항생제 감수성 시험

모든 항생제 내성 시험은 National Committee for Clinical Laboratory Standard(NCCLS, 2004)의 기준에 맞추어 수행하였으며 아래와 같다. 분리된 균주를 Mueller-Hinton broth(MHB; Difco, USA)에 접종하여 37°C에서 24시간 동안 배양한 후 배양액을 멸균된 생리식염수로 희석한 뒤 densiCHEK plus™(BioMerieux)를 이용하여 탁도기준을 MacFarland 0.5로 맞추었다. 멸균된 면봉에 배양액을 묻혀 Mueller-Hinton Agar(MHA; Difco)에 고르게 도말하고, 15분 후 Disc dispenser(Oxoid)를 이용하여 항생제 디스크를 부착시킨 뒤 37°C에서 18시간 동안 배양하였다. 사용된 항생제 디스크는 ampicillin(AMP, 10 µg, Oxoid), amoxicillin/clavulanic acid(AMC, 30 µg, Oxoid), chloramphenicol(C, 30 µg, Oxoid), ciprofloxacin(CIP, 5 µg, Oxoid), erythromycin(E, 15 µg, Oxoid), gentamycin(CN, 10 µg, Oxoid), penicillin

G(P, 10 µg, Oxoid), rifampicin(RD, 5 µg, Oxoid), tetracycline(TE, 30 µg, Oxoid), vancomycin(VA, 30 µg, Oxoid) 등 총 10종류였으며 배양 후 억제대의 크기를 측정하여 NCCLS 기준과 비교하여 내성, 중간내성 및 감수성을 판정하였다.

Vancomycin 내성유전자의 검출

분리된 모든 균주의 *vanA* gene 및 *vanB* gene 보유여부를 multiplex PCR로 분석하였다. DNA추출은 중탕가열법 (boiling method)을 이용하였으며 상층액의 DNA농도는 20-90 ng/µL가 되도록 조절하였다. Primer 시퀀스와 PCR 조건은 Cha 등(2010)의 연구와 동일하게 사용하였다. *vanA* gene과 *vanB* gene의 primer sequence는 *vanA*는, forward-TATTGACTTCGTTTCAGTACA, reverse-TGTGGATATGTTTTCACAAG를 사용하였고, *vanB*는 forward-CAGACCCTGTATCGCACCAT, reverse-AACGGCGTATGGAAGCTATG를 사용하였다. 양성 대조균으로 해당 유전자를 지닌 *E. faecium* ATCC 700221(*vanA*)와 *E. faecalis* ATCC 51299(*vanB*)를 사용하였다. PCR반응은 Maxime PCR PreMix Kit (iNtRON, Seongnam, Korea)에 2 µL의 primer 혼합액(*vanA* primer, 0.8 µM; *vanB* primer 0.2 µM), 16 µL의 증류수, 2 µL의 DNA template를 넣어 반응액 20 µL를 제조하여 multiplex PCR을 실시하였다. 94°C에서 2분 반응 후 94°C에서 20초, 53°C에서 10초, 72°C에서 30초의 반응을 40회 반복하였고 최종 연장반응을 72°C에서 2분 동안 시행하였다. 최종 반응산물은 2% agarose gel에서 전기영동하여 해당되는 밴드의 유무를 확인하였다.

결과 및 고찰

*E. faecalis*와 *E. faecium*의 분리율

구입한 축산물과 수산물에서의 *E. faecalis*와 *E. faecium* 분리율은 Table 1에 제시되어 있다. 총 256개 시료 중 117개에서 *E. faecalis* 또는 *E. faecium*가 검출되어 45.7%의 분리율을 나타내었다. 균주에 따라 비교해보면 *E. faecalis*가 104개 균주(40.6%), *E. faecium*가 13개 균주(5.1%)로써 *E. faecalis*가 8배 높은 분리율을 보였다. 그 중 축산물은 192개 중 105개 균주가 분리되어 54.7%의 분리율을 나타내었다. 시료의 종류에 따라 비교해보면 닭고기에서 64개

중 44개 균주가 분리되어 가장 높은 68.8%의 분리율을 나타내었고 돼지고기에서 64개 중 32개 균주가 분리되어 50.0%의 분리율을, 쇠고기에서 64개 중 29개 균주가 분리되어 45.3%의 분리율을 나타내었다. 수산물 시료로 사용된 횡감어류에서는 64개 중 12개 균주가 분리되어 18.8%의 분리율을 나타내었다.

축산물에서 *Enterococcus*를 분리한 국외연구에서는 Pavia 등(2000)이 이탈리아에서 시판되는 쇠고기, 돼지고기, 닭고기, 칠면조, 양고기 등 100개의 샘플에서 45개의 *Enterococcus*를 분리하였는데 그 중 *E. faecalis*가 16개 균주(16%), *E. faecium*이 15개 균주(15%)로서 총 31%의 분리율을 나타내었다. Klein 등(1998)은 독일에서 판매되는 쇠고기와 돼지고기 555개의 샘플에서 209개의 *Enterococcus*를 분리하였는데 그 중 *E. faecalis*가 182개 균주(32.8%), *E. faecium*이 8개 균주(1.4%)로서 두 균은 총 34.2%의 분리율을 나타내었다. Quednau 등(1998)은 스웨덴과 덴마크에서 시판되는 돼지고기와 닭고기 115개의 샘플에서 각 샘플당 5개씩의 균주를 분리한 결과 277개의 *Enterococcus*를 분리하였는데 그 중 *E. faecalis*가 56개 균주(9.7%), *E. faecium*이 77개 균주(13.4%)로서 두 균은 총 23.1%의 분리율을 나타내었다. 이처럼 *E. faecalis*와 *E. faecium*의 분리율은 각 연구마다 다양한 차이를 보였으며 본 연구결과는 이들 연구결과와 비교해 볼 때 분리율이 다소 높은 편이었다. *Enterococcus*가 축산물의 위생 지표세균으로도 활용된다는 점에서(Lee *et al.*, 2009), 본 연구결과는 국내 축산물 위생수준의 개선이 필요함을 나타내고 있다.

수산물에서 *Enterococcus*를 분리한 국내연구에서는 Ham(2007)이 시판되는 164개의 건조 해산물에서 87개의 *Enterococcus*를 분리하여 53.0%의 분리율을 보고하였다. Oh 등(2008)이 어류양식장에서 채취한 66개의 수산물에서 25개의 *Enterococcus* spp.를 분리하여 37.9%의 분리율을 보고하였으며 종별로는 *E. faecalis*가 14개 균주(21.2%), *E. faecium*이 8개 균주(12.5%)였다. 이들 연구와 비교해볼 때 본 연구결과에서는 분리율이 비교적 낮았다. 이는 시료의 차이에 의한 것으로 보여지는데 Ham(2007)의 연구에서는 건조 해산물을, Oh 등(2008)의 연구에서는 내장과 아가미와 같은 비가식부위를 시료로 사용하였다. 주로 육상에서 유래되는 *Enterococcus*가 수산물에서 일정수준으로 분리되는 것은 유통 및 조리과정에서 오염되었을 가능성이 높다. 횡감어류를 비롯한 수산물은 가열과정 없이 섭취되는 경우가 많으며, 손질 및 가공과정에서 교차오염의 가능성 때문에 *Enterococcus*뿐만 아니라 식중독세균의 감염 위험성이 높다(Sung *et al.*, 2010).

분리된 균주의 항생제 내성 양상

분리된 117개 *E. faecalis*와 *E. faecium*에 대한 항생제 감수성 및 내성 양상은 Table 2에 제시되어 있다. Tetracy-

Table 1. Prevalence of *E. faecalis* and *E. faecium* in meats and sashimi

Samples (No. of samples)	No. of isolates (%)		
	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>	Total
Beef (64)	27 (42.2)	2 (3.1)	29 (45.3)
Pork (64)	27 (42.2)	5 (7.8)	32 (50.0)
Chicken (64)	42 (65.6)	2 (3.1)	44 (68.8)
Sashimi (64)	8 (12.5)	4 (6.3)	12 (18.8)
Total (256)	104 (40.6)	13 (5.1)	117 (45.7)

Table 2. Antibiotic resistance patterns of *E. faecalis* and *E. faecium* (n= 117) isolated from meats and sashimi

Antibiotics	No. of isolates (%)		
	Susceptible	Intermediate	Resistant
Ampicillin	116 (99.1)	0 (0)	1 (0.9)
Gentamycin	105 (89.8)	2 (1.7)	10 (8.5)
Amoxicillin + clavulanic acid	117 (100)	0 (0)	0 (0)
Ciprofloxacin	73 (62.4)	35 (29.9)	9 (7.7)
Penicillin	116 (99.1)	0 (0)	1 (0.9)
Rifampin	43 (36.7)	58 (49.6)	16 (13.7)
Erythromycin	41 (35.0)	44 (37.6)	32 (27.4)
Vancomycin	103 (88)	14 (12.0)	0 (0)
Chloramphenicol	87 (74.3)	7 (6.0)	23 (19.7)
Tetracycline	44 (37.6)	12 (10.3)	61 (52.1)

cline의 내성률이 52.1%로 가장 높았으며, erythromycin의 내성률이 27.4%로 두 번째로 높았다. Chloramphenicol과 rifampin의 내성률은 각각 19.7%, 13.7%로 나타났다. 중간 내성률(intermediate resistance)은 rifampin이 49.6%, erythromycin이 37.6%로 높은 수준으로 나타났다. Ampicillin과 penicillin은 1개의 균주를 제외하고는 모두 감수성을 보였으며, amoxicillin + clavulanic acid에는 모든 균주가 감수성을 보였다. 모든 균은 vancomycin에 감수성을 보여 vancomycin에 내성을 나타내는 VRE는 한 균주도 검출되지 않았다. 분리된 117개의 균주 중 74.4%인 87개의 균주들이 1가지 이상의 항생제에 내성을 보였으며 3가지 계열 이상의 항생제에 내성을 보이는 균은 전체 117균주 중 17.1%인 20균주였다. 4가지 계열의 항생제에 내성을 보이는 균주는 4균주(3.4%), 5가지 계열의 항생제에 내성을 보이는 균주는 2균주(1.7%)로 나타났다.

분리된 *Enterococcus*를 이용하여 항생제 내성양상을 파악한 연구를 살펴보면 Pavia 등(2000)이 이탈리아에서 축산물에서 분리한 *Enterococcus*의 항생제 내성양상을 14종의 항생제를 이용하여 연구한 결과 tetracycline에 84.4% 내성, erythromycin에 75.6% 내성, gentamycin에 66.7% 내성, vancomycin에 64.4% 내성, ciprofloxacin에 55.6% 내성, chloramphenicol 42.2% 내성, ampicillin에 17.8% 내성, rifampin에 15.6%의 내성을 나타내었다고 보고하였다. 본 연구결과와 비교해볼 때 Pavia 등(2000)의 연구결과에서는 대부분 항생제 내성률이 본 연구결과보다 매우 높은 경향을 보였고, rifampin의 내성률은 비슷한 수준이었다. 반면에 Klein 등(1998)이 독일에서 축산물에서 분리한 *Enterococcus*의 항생제 내성양상을 연구한 결과, tetracycline에 20.1% 내성, erythromycin에 17% 내성, ciprofloxacin에 3.8% 내성, chloramphenicol에 1% 내성, penicillin에 0.5% 내성을 나타내었으며, ampicillin, amoxicillin + clavulanic acid, gentamycin, vancomycin에 내성을 나타내는 균주는 없었다고 보고하였다. Gentamycin, ciprofloxacin, erythro-

mycin, chloramphenicol, tetracycline의 내성률이 본 연구결과보다 낮은 경향을 보였고, 나머지 항생제의 내성률은 본 연구결과와 비슷한 경향을 보였다. Tetracycline의 내성률이 대부분의 연구에서 가장 높은 수준으로 나타났는데 이는 tetracycline계열의 항생제가 가축에서 가장 흔하게 사용되는 항생제이기 때문에(Lee *et al.*, 2009) 장내세균인 *Enterococcus*가 해당 항생제에 대해 높은 수준의 내성을 획득한 것으로 보인다.

본 연구와 비교하여 다른 연구가 수행된 국가 및 지역에 따라 *Enterococcus*의 항생제 내성양상이 많은 차이를 보였는데 이는 장내세균의 항생제 노출 정도와 사용실태의 차이에 의한 것으로 추정된다(Kang *et al.*, 2008). 축산농가 및 양식장에서 항생제의 오남용이 늘어날 경우 여러 항생제 내성 유전자의 전파로 인해 *Enterococcus*뿐만 아니라 병원성 세균의 항생제 내성률이 높아질 가능성이 있으므로 항생제의 신중한 사용이 요구된다. 또한 내성 유전자를 보유한 세균이 식품을 통해 인체로 감염될 경우 장내 정상세균총의 부정적 변화와 체내 병원성 세균의 항생제 내성을 증가로 심각한 공중보건학적 위험을 초래할 수 있다(Kummerer, 2003; Lee *et al.*, 2009).

Vancomycin 내성유전자의 검출

분리된 117개의 *E. faecalis*와 *E. faecium*의 *vanA* gene 및 *vanB* gene 보유여부를 multiplex PCR로 분석한 결과, *vanA* gene을 보유한 균주는 없었으며, *vanB* gene을 보유한 균주는 9개로 나타났다(Fig. 1). 그러나 *vanB* gene을 보유한 이들 9개 균주도 모두 항생제 디스크 검사에서 vancomycin에 감수성을 나타냈다.

VRE의 유전형과 항생제 내성 표현형에 대한 연구는 임상의학분야에서 주로 이루어졌으며, 본 연구의 결과와 같이 유전형과 표현형이 일치하지 않는 경우가 임상분리 균주에서 많이 보고되었다(Cha *et al.*, 2010; Park *et al.*, 2006). 본 연구에서 분리된 균주처럼 표현형은 없으나 내

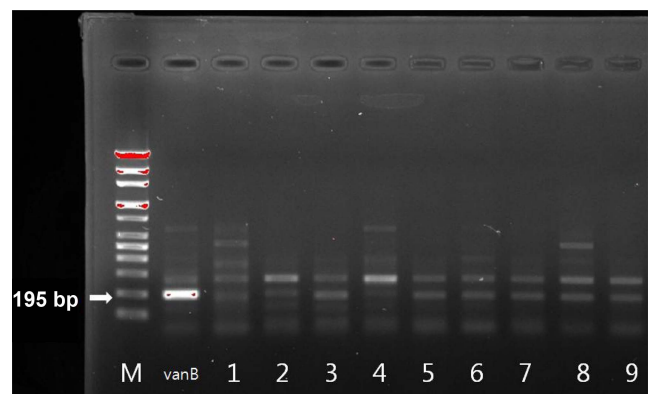


Fig. 1. Agarose gel electrophoresis showing PCR product with *vanB* primer from isolated *E. faecalis* and *E. faecium* in meat and sashimi.

성 유전자를 가진 균주의 경우, 추후에 vancomycin 내성 표현형이 발현 되거나 내성 유전자가 다른 세균에게 전파 될 가능성이 있어(Noble *et al.*, 1992; Schlefer *et al.*, 1987) 잠재적 위해 가능성을 염두에 두어야 한다.

*Enterococcus*는 항생제 내성과 관련이 깊은 기회감염균임에도 불구하고 식중독균이 아니라는 이유로 임상분야가 아닌 식품분야에서는 폭 넓게 다루어지지 않았다. 특히 국외에 비해 국내에서는 연구가 많이 이루어지지 않았으며 특히 축산물과 수산물에서는 자료가 매우 부족한 실정이다. 본 연구에서는 시판 축산물 및 수산물에서 *E. faecalis*와 *E. faecium*을 검출하였고 이에 대한 항생제 내성과 관련 유전자를 관찰하였다. 특히 수산물의 경우, 조리되지 않고 섭취되어 실질적으로 균의 감염위험이 큰 생선회를 대상으로 하였다. 전반적으로 분리된 균의 항생제 내성양상은 국외의 다른 연구결과에 비해 우려할만한 수준은 아니었으며 특히 vancomycin에 내성을 보이는 VRE는 한 균주도 검출되지 않았다. 그러나 multiplex PCR을 이용하여 vancomycin 내성 유전자 보유여부를 확인하였을 때, vancomycin에 감수성을 나타내던 9개의 균주에서 *vanB* gene이 검출되었다. 이러한 잠재적 내성 균주의 검출은 디스크 확산법이나 MIC test로는 한계가 있으므로(Harwood *et al.*, 2001; Quednau *et al.*, 1998), 향후 식품 내 VRE를 검출할 경우 본 연구와 같이 표현형과 유전형형을 모두 고려한 다각적인 분석이 필요할 것으로 보인다. 한편 항생제 내성률을 감소시키기 위하여 축산선진국에서는 오래 전부터 항생제 오남용에 의한 내성균 출현 모니터링을 실시하고 그 결과에 따라 항생제 사용을 규제하고 있는 점을 고려하여(Kim *et al.*, 2011) 향후 국내에서도 축산물 및 수산물 등 식품에서 유래한 *Enterococcus*의 항생제 내성양상에 대한 지속적이고 심도 있는 모니터링이 필요할 것으로 보인다. 축산물과 수산물의 *Enterococcus* 오염도 및 항생제 내성균 양상과 VRE 표현형과 유전형의 상관관계를 분석한 본 연구의 결과는 향후 축산물 및 수산물 섭취가 인체건강에 미치는 위험평가(risk analysis)의 중요한 기초자료가 될 것이다.

요 약

본 연구에서는 서울시내 256곳의 판매점에서 구입한 축산물 및 수산물에서 *Enterococcus faecalis*와 *Enterococcus faecium*을 분리하였으며 분리된 균주의 항생제 내성양상과 vancomycin 내성 유전자 보유여부를 검증하였다. 총 256개 시료 중 117개에서 *E. faecalis*(40.6%)와 *E. faecium*(5.1%)가 검출되어 45.7%의 분리율을 나타내었다. 축산물은 192개 중 105개 균주가 분리되어 54.7%의 분리율을 나타내었는데 닭고기에서 가장 높은 68.8%의 분리율을, 돼지고기에서 50.0%의 분리율을, 쇠고기에서 45.3%의 분리율을

나타내었다. 횡감어류에서는 18.8%의 분리율을 나타내었다. 분리된 균주에 대한 항생제 내성 양상은 10종의 항생제 디스크를 이용하여 검증하였다. Tetracycline의 내성률이 52.1%로 가장 높았으며, erythromycin의 내성률이 27.4%로 두 번째로 높게 나타났다. Ampicillin과 penicillin은 1개의 균주를 제외하고는 모두 감수성을 보였으며, amoxicillin & clavulanic acid에는 모든 균주가 감수성을 보였다. Vancomycin에는 모든 균주가 감수성을 보여 VRE는 검출되지 않았다. 분리된 균주의 vancomycin 내성유전자의 검출은 multiplex PCR을 이용하여 *vanA* gene과 *vanB* gene 보유여부를 확인하였다. *vanA* gene이 검출된 균주는 없었으나, vancomycin에 감수성을 나타내던 9개의 균주에서 *vanB* gene이 검출되어 VRE균 출현의 잠재적인 가능성을 보여주었다.

감사의 글

본 연구는 2010년도 식약청 용역사업(10162항생제112)의 연구비지원과 2012년도 교과부 재원으로 한국연구재단(No. 2012R1A2A2A01015344)의 지원을 받아 수행되었으며 이에 감사드립니다. 저자인 천정환은 Brain Korea 21(BK21) 사업의 부분적인 지원을 받았습니다. 또한 실험에 도움을 아끼지 않은 송광영, 현지연, 김윤경, 박준호, 이재훈, 김선영님께 감사합니다.

참고문헌

1. Cauwerts, K., Decostere, A., De Graef, E. M., Haesebrouck, F., and Pasmans, F. (2007) High prevalence of tetracycline resistance in *Enterococcus* isolates from broilers carrying the erm(B) gene. *Avian Pathol.* **36**, 395-399.
2. Cha, C. H., An, H. K., and Kim, J. U. (2010) Detection of vancomycin-resistant enterococci using multiplex real-time PCR assay and melting curve analysis. *Korean J. Lab. Med.* **30**, 138-146.
3. Chadwick, P. R., Woodford, N., Kaczmarski, B., Gray, S., Barrell, R. A., and Oppenheim, B. A. (1996) Glycopeptide resistant enterococci isolated from uncooked meat. *J. Antimicrob. Chemother.* **38**, 908-909.
4. De Fatima Silva Lopes, M., Ribeiro, T., Abrantes, M., Figueiredo Marques, J. J., Tenreiro, R., and Crespo, M. T. (2005) Antimicrobial resistance profiles of dairy and clinical isolates and type strains of enterococci. *Int. J. Food Microbiol.* **103**, 191-198.
5. Franz, C. M., Holzapfel, W. H., and Stiles, M.E. (1999) enterococci at the crossroads of food safety. *Int. J. Food Microbiol.* **47**, 1-24.
6. Ham, H. J. (2007) *E. faecalis* and *E. faecium* isolated in dried marine products. *J. Fd. Hyg. Safety* **22**, 294-299.
7. Harwood, V. J., Brownell, M., Perusek, W., and Whitlock, J. E. (2001) Vancomycin-resistant *Enterococcus* spp. isolated

- from wastewater and chicken feces in the United States. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**, 4930-4933.
8. Kang, T. M., Cho, S. K., and Park, J. H. (2008) Antibiotic resistances of *enterococcus* isolated from salad and sprout. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **36**, 142-148.
 9. Katie, F. and Carol, P. (2009) The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology* **155**, 1749-1757.
 10. Kim, A., Cho, M. I., Her, M., Jung, B. Y., Lim, S. K., Jung, S. C., Song, C. H., and Lee, J. Y. (2011) Quinupristin/dalfopristin resistance patterns in *Enterococcus faecium* isolated from chicken farms in South Korea. *Kor. J. Vet. Publ. Hlth.* **35**, 91-96.
 11. Kim, S. H., Kim, J. S., and Park, J. H. (2007) Antibiotic resistance of *Enterococcus* isolated from the processed grain foods, saengsik and sunsik. *Food Sci. Biotechnol.* **16**, 470-476.
 12. Klein, G., Pack, A., and Reuter, G. (1998) Antibiotic resistance patterns of enterococci and occurrence of vancomycin-resistant enterococci in raw minced beef and pork in Germany. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**, 1825-1830.
 13. Kummerer, K. (2003) Significance of antibiotics in the environment. *J. Antimicrob. Chemother.* **52**, 5-7.
 14. Lee, H. I., Lee, S. J., and Choi, S. S. (2009) Antimicrobial resistance patterns of enterococci spp. isolated from raw milk samples. *J. Fd. Hyg. Safety* **24**, 373-377.
 15. Mandel, G. L., Bennett, J. E., Dolin, R., and Mandell, D. (1995) *Streptococcus bovis*, and *Leuconostoc* spp. In: A principles and practice of infectious disease. Mcclering, R. C. (ed) Churchill Living Stone, NY, pp. 1826-1835.
 16. NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) (2004) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. NCCLS document M100-S14. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Wayne, PA., p. 65.
 17. Noble, W. C., Virani, Z., and Cree, R. G. (1992) Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from *Enterococcus faecalis* NCTC 12201 to *Staphylococcus aureus*. *FEMS. Microbiol. Lett.* **93**, 195-198.
 18. Oh, E. G., Son, K. T., Yu, H. S., Kim, J. H., Lee, T. S., and Lee, H. J. (2008) Antimicrobial susceptibility pattern of *Enterococcus faecalis* and *E. faecium* from fish farms in the southern coast of Korea. *J. Kor. Fish Soc.* **41**, 435-439.
 19. Park, H. S., Chung, H. K., and Lee, H. H. (1992) Antimicrobial susceptibility of *Enterococcus* species isolated from clinical materials. *J. Korean Soc. Microbiol.* **27**, 103-114.
 20. Park, I. J., Lee, W. G., Lee, H., Yong, D., Lee, K., Kim, E. C., Jeong, S. H., Park, Y. J., Choi, T. Y., Uh, Y., Shin, J. H., Lee, J., Ahn, J. Y., Lee, S. H., and Woo, G. J. (2006) Mechanism of *vanB* phenotype in vancomycin-resistant enterococci carrying *vanA* gene. *Korean J. Lab. Med.* **26**, 412-417.
 21. Pavia, M., Nobile, C. G., Salpietro, L., and Angelillo, I. F. (2000) Vancomycin resistance and antibiotic susceptibility of enterococci in raw meat. *J. Food Prot.* **63**, 912-915.
 22. Quednau, M., Ahrn, S., Petersson, A. C., and Molin, G. (1998) Antibiotic-resistant strains of *Enterococcus* isolated from Swedish and Danish retailed chicken and pork. *J. Appl. Microbiol.* **84**, 1163-1170.
 23. Schlefer, K. H. and Kilpper-Balz, R. (1987) Molecular and chemotaxonomic approach to the classification of streptococci, enterococci and lactococci. *Rev. Syst. Appl. Microbiol.* **10**, 1-18.
 24. Sood, S., Malhotra, M., Das, B. K., and Kapil, A. (2008) Enterococcal infections and antimicrobial resistance. *Indian J. Med. Res.* **128**, 111-121.
 25. Sung, C. H., Cheon, J. H., Hyeon, J. Y., Hwang, I. G., Kwak, H. S., Yoon, S. H., Lee, J. S., Chung, Y. H., Song, K. Y., and Seo, K. H. (2010) Prevalence and antimicrobial resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from raw fishes. *Kor. J. Vet. Publ. Hlth.* **34**, 197-202.
 26. Tailer, S. A. N., Bailey, E. M., and Rybak, M. J. (1993) *Enterococcus*, an emerging pathogen. *Ann. Pharmacother.* **27**, 1231-1242.

(Received 2012.6.12/Revised 2012.10.30/Accepted 2013.2.18)