한국가축위생학회지 제40권 제2호 (2017)
Korean J Vet Serv, 2017, 40(2), 101-105
ISSN 1225-6552, eISSN 2287-7630
https://doi.org/10.7853/kjvs.2017.40.2.101

Korean Journal of
Veterinary Service
Available online at http://kjves.org

< Original Article >

경남 북부지역 오리 분변에서 분리된 *Campylobacter* spp.의 항생제 내성

김형수[1] · 서덕진[1] · 성민호[1] · 한권식[1] · 박정용[1] · 정명호[1] · 박동엽[1] · 박동주[2] · 고필옥[2]*
경상남도축산진흥연구소 북부지소[1], 경상대학교 수의과대학 수의학과, 생명과학연구원[2]

Antimicrobial resistance of *Campylobater* spp. from duck feces in northern area of the Gyeongnam province, Korea

Hyeong-Su Kim[1], Deok-Jin Seo[1], Min-Ho Seong[1], Kwon-Seek Han[1], Jung-Yong Park[1], Myeong-Ho Jeong[1], Dong-Yeop Park[1], Dong-Ju Park[2], Phil-Ok Koh[2]*

[1]Northern Branch of Gyeongnam Livestock Veterinary Promotion Research Institute, Hapcheon 50228, Korea
[2]Institue of Life Science, College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

(Received 2 May 2017; revised 20 June 2017; accepted 27 June 2017)

Abstract

The purpose of this study was to investigate prevalence and antimicrobial resistance patterns of *Campylobacter* spp. from duck feces in northern area of the Gyeongnam province, Korea. Samples of 121 duck feces were taken from April to December 2014 for this survey. Samples were examined by bacteria isolation and reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay for detection of *Campylobacter* spp. *Campylobacter* were isolated in 37 samples (30.6%). Among these samples, *C. jejuni* and *C. coli* were isolated in 35 samples and 2 samples, respectively. Minimum inhibitory concentration (MIC) test is performed to investigate antimicrobial resistance patterns of *Campylobacter* spp. *C. jejuni* were resistant to ciprofloxacin (85.7%), nalidixic acid(82.9%), tetracycline (77.1%), gentamicin (57.1%), azithromycin (40.0%), clindamycin (34.3%), erythromycin (22.9%), and florfenicol (8.6%). These data support a database of pollution and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. from duck feces and provide a basic information of reducing the secondary damage of antibiotic misuse.

Key words : Duck, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, Antimicrobial resistance

서 론

*Campylobacter*균은 나선형의 간균으로 Gram 음성균이며 균체 양극에 단일 편모를 가지며 corkscrew의 독특한 운동성을 가지고 있다. 또한, 미호기성으로 공기 노출, 건조, 낮은 pH, 열처리, 냉동 등의 환경 stress에 의해 균들이 점차 구형으로 변하는 특성을 갖는다(Moran과 Upton, 1987).

가금의 30～100%가 장관에 장내세균총으로 *C. jejuni*를 보균하고 있다(Schoeni와 Doyle, 1992). 사람에서 오염된 식품의 섭취로 인한 *C. jejuni*의 감염으로 질병이 유발하기 위해선 최소 500개 정도의 세균 수만 있으면 가능하다고 알려져 있다(Lamoureux 등, 1997). *Campylobacter*균에 의한 식중독은 급성 위장염을 주 증상으로 하며, 주로 *C. jejuni*와 *C. coli*에 의해 발생하고 있다(Duffy 등, 2008; Park 등, 2010). *C. jejuni*는 분변에 오염된 육류, 우유 및 물을 섭취하였을 때 장염을 일으킨다고 보고되었다(Oh 등, 1988). 주로 축산물을 통한 식중독은 조리과정에서 덜 익힌 고기를 섭취할 때 발생하며, 일부 계육의 경우 도계 과정

*Corresponding author: Phil-Ok Koh, Tel. +82-55-772-2354, Fax. +82-55-772-2349, E-mail. pokoh@gnu.ac.kr

Copyright © 2017, The Korean Society of Veterinary Service. All Rights Reserved.

에서 닭 내장 내용물로부터 오염이 되어 식중독과 장염을 일으킨다(Wedderkop 등, 2000). 이러한 *Campylobacter*균에 대한 연구는 Oh 등(1988)이 국내 육계 및 도계장에서 *C. jejuni* 오염 실태 조사, Kang 등(1999)의 국내 시판 우육, 돈육 및 계육에서 *C. jejuni*와 *C. coli*의 오염실태 조사, Na 등(2007)의 도계장 도계의 *Campylobacter*균 오염에 관한 연구, Park 등(2010)이 국내산과 수입산 쇠고기, 돼지고기 및 닭고기의 *Campylobacter*균 오염실태 조사, Kim 등(2013)의 오리 분변에서의 *C. jejuni* 오염도와 항생제 내성유형 조사 등이 보고되었다.

대부분의 *Campylobacter*균에 대한 조사가 지육이나 도축장에서의 시료를 대상으로 실시하였으나, 농장에서의 조사는 거의 이루어지지 않은 실정이다. 따라서, 이번 조사에서는 오리 사육농장에서의 *Campylobacter* spp.에 대한 오리분변에서의 분리, 분리배양과 RT-PCR을 통한 세균동정 및 분리된 균에서의 항생제 내성 조사를 통하여 오리농장에서의 *Campylobacter*균에 대한 오염도 및 항생제 내성을 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

시료

실험에 사용한 재료는 2014년 4월부터 12월까지 경남 북부지역인 의령군, 창녕군, 거창군 및 합천군 지역의 오리농장에 대해서 상시예찰 및 역학관련 농가 예찰 및 이동승인을 위한 농장에서 채취되었다. 멸균된 면봉을 이용하여 시료 컵에 신선한 분변을 채취하여, 냉장상태로 운반하고, 시료채취 24시간 이내에 실험을 실시하였다. 경남 북부지역의 오리사육 농가 47곳의 121마리에 대하여 *Campylobacter* spp. 검출을 위하여 시료를 채취하였다.

균 분리 및 검출

채취된 분변은 멸균된 면봉으로 1 g을 채취하여 bolton broth base (Oxoid, England)를 121℃에서 15분간 멸균한 뒤 50℃로 식혀 laked horse blood (Oxoid, England) 및 bolton broth selective supplement (Oxoid, England)를 넣어 만든 bolton broth 9 mL에 넣고 혼합한 후 42℃에서 48시간 동안 미호기조건으로 증균배양을 실시하였다(식품의약품안전처, 2014). 증균배양액 20～30 μL를 campylobacter blood-free selective agar base (Oxoid, England)와 yeast extract (Oxoid, England)를 혼합한 다음 121℃에서 15분간 멸균한 뒤 50℃로 식힌 후 CCDA (Charcoal Cefoperazone Deoxycholate Agar) selective supplement (Oxoid, England)를 넣어 만든 mCCDA에 도말하고 42℃에서 24～48시간 미호기조건으로 배양하였다(식품의약품안전처, 2014). 원형 또는 불규칙한 형태로서 반투명한 흰색 또는 투명한 집락을 취하여 blood agar plate (KOMED, Korea)에 도말하고 37℃의 미호기상태에서 24～48시간 배양한 후 VITEK MS (mass spectrometry) (bioMerieux, France)를 이용하여 균 동정을 실시하였다. *Campylobacter* spp.로 동정된 균은 colony에서 균을 채취하여, NucliSENS easyMAG (bioMerieux, France)를 사용하여 유전자를 추출하였다. 추출된 DNA는 *Campylobacter coli*, *jejuni*, *lari* detection kit (iNtRON Biotechnology, Korea)를 사용하여 PCR을 실시하였다. PCR premix tube에 DNase/Rnase-free water 18 μL, 추출 DNA 2 μL를 가하여 최종 20 μL로 하여 이를 thermocycler (Eppendorf, Germany)에서 94℃에서 5분 반응 후 94℃에서 30초, 55℃에서 30초, 72℃에서 30초씩 40회 반응시킨 후 최종 72℃에서 5분간 반응시켰다. PCR이 완료 후 전기영동장치인 MultiNA (Shimadzu, Japan)를 이용하여 특이 band 증폭 유무를 확인하였다.

항생제 내성검사

분리된 *Campylobacter* spp.균주에 대한 항생제 내성검사는 다음의 항생제에 대하여 실시하였다. 각각의 항생제는 Azithromycin (AZI), Ciprofloxacin (CIP), Erythromycin (ERY), Gentamicin (GEN), Tetracycline (TET), Florfenicol (FFN), Nalidixic acid (NAL), Telithromycin (TEL), Clindamycin (CLI)이며, 각각의 항생제에 대하여 minimum inhibitory concentration (MIC)를 측정하였다. MIC 검사는 Sensititre CAMPY MIC Pannel (TREK Diagnostic system, England)를 이용하였다. Sheep blood agar plate에서 자란 4～5개의 colony들을 Sensititre CAMHBT 5 mL tube에 넣고, 잘 섞어준 후 0.5 McFarland standard를 이용 농도 보정을 한 뒤 보정된 배양액 100 μL를 Sensititre CAMHBT 11 mL tube에 분주 후 lysed horse blood 5%를 넣어 혼합한 뒤 접종액 100 μL씩 96 well panel에 분주 접종하고, 투명필름으로 sealing하고 36℃～37℃에 48시간 동안 미호기조건에서 배양한 후 판정을 실시하였다.

항생제별 MIC break point는 CIP는 4, AZI, GEN, FFN과 CLI는 8, TET와 TEL은 16, ERY는 32, NAL은 64로 판정하였다(FDA, 2010).

결 과

경남 북부지역 오리사육농가를 대상으로 *Campylobacter* spp.를 분리한 결과 총 121건 시료에서 37건(30.6%)이 분리되었다. 그 중 *C. jejuni* 35건(28.9%), *C. coli*가 2건(1.7%)순으로 분리되었다(Table 1).

각 균주에 대한 항생제 내성시험 결과는 Table 2와 같이 나타났다. *Campylobacter* spp. 전체에 대해서는 AZI, CIP, ERY, GEN, TET, FFN, NAL, CLI와 같이 8종에 대해 내성을 보였다. 분리균에 대한 내성률은 CIP, NAL, TET, GEN, AZI, CLI, ERY, FFN 순을 보였다. 각각의 균종별로는 *C. jejuni*에서는 AZI, CIP, ERY, GEN, TET, FFN, NAL, CLI와 같이 8종에 대해 내성을 나타내었고, *C. coli*는 AZI, CIP, ERY, GEN, TET, NAL, CLI와 같이 7종에 대해서 내성을 보였다. 각 균종별 분리균에 대한 내성률은 *C. jejuni*는 CIP, NAL, TET, GEN, AZI, CLI, ERY, FFN 순을 보였다. *C. coli*는 AZI, ERY, GEN, NAL, CLI에 대해서는 100%, CIP, TET에 대해서는 50%로 나타났다. 분리된 *Campylobacter*균에 대한 항생제 내성 양상분석결과는 Table 3과 같이 나타났다. *Campylobacter* spp.는 7종, 6종, 5종, 4종, 3종, 2종, 1종의 약제에 대해 각각

Table 1. Isolations of *Campylobacter* spp. from feces

No. of samples	*C. jejuni* isolates (%)	*C. coli* isolates (%)	Total isolates (%)
121	35 (28.9)	2 (1.7)	37 (30.6)

Table 2. Antimicrobial resistance frequency of *Campylobacter* spp. isolates

Antibiotics	No. of antimicrobial resistance isolates (%)		
	Total (37)	*C. jejuni* (35)	*C. coli* (2)
AZI	16 (43.2)	14 (40.0)	2 (100.0)
CIP	31 (83.8)	30 (85.7)	1 (50.0)
ERY	10 (27.0)	8 (22.9)	2 (100.0)
GEN	22 (59.5)	20 (57.1)	2 (100.0)
TET	28 (75.7)	27 (77.1)	1 (50.0)
FFN	3 (8.1)	3 (8.6)	0 (0.0)
NAL	31 (83.8)	29 (82.9)	2 (100.0)
TEL	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
CLI	14 (37.8)	12 (34.3)	2 (100.0)

AZI: azithromycin, CIP: ciprofloxacin, ERY: erythromycin, GEN: gentamicin, TET: tetracycline, FFN: florfenicol, NAL: nalidixic acid, TEL: telithromycin, CLI: clindamycin.

Table 3. Distribution of resistance patterns of *Campylobacter* spp. isolates

No. of antibiotics	Resistance patterns	No. of isolates (%)
Campylobacter spp.		
7 (n=4)	AZI · CIP · ERY · GEN · TET · NAL · CLI	4 (11.1)
6 (n=6)	CIP · ERY · GEN · TET · FFN · CLI	1 (2.8)
	AZI · CIP · GEN · TET · FFN · NAL	1 (2.8)
	AZI · CIP · GEN · TET · NAL · CLI	3 (8.3)
	AZI · CIP · ERY · GEN · NAL · CLI	1 (2.8)
5 (n=5)	AZI · GEN · TET · FFN · NAL	1 (2.8)
	AZI · CIP · GEN · TET · NAL	1 (2.8)
	AZI · ERY · GEN · NAL· CLI	3 (8.3)
4 (n=9)	CIP · GEN · TET · NAL	5 (13.9)
	AZI · GEN · TET · NAL	1 (2.8)
	CIP · TET · NAL · CLI	1 (2.8)
	AZI · CIP · TET · NAL	1 (2.8)
	CIP · TET · NAL · CLI	1 (2.8)
3 (n=7)	CIP · TET · NAL	6 (16.7)
	CIP · GEN · NAL	1 (2.8)
2 (n=4)	CIP · ERY	1 (2.8)
	CIP · TET	2 (5.6)
	CIP · NAL	1 (2.8)
1 (n=1)	CIP	1 (2.8)
C. jejuni		
7 (n=3)	AZI · CIP · ERY · GEN · TET · NAL · CLI	3 (8.3)
6 (n=6)	CIP · ERY · GEN · TET · FFN · CLI	1 (2.8)
	AZI · CIP · GEN · TET · FFN · NAL	1 (2.8)
	AZI · CIP · GEN · TET · NAL · CLI	3 (8.3)
	AZI · CIP · ERY · GEN · NAL · CLI	1 (2.8)
5 (n=4)	AZI · GEN · TET · FFN · NAL	1 (2.8)
	AZI · CIP · GEN · TET · NAL	1 (2.8)
	AZI · ERY · GEN · NAL · CLI	2 (5.6)
4 (n=9)	CIP · GEN · TET · NAL	5 (13.9)
	AZI · GEN · TET · NAL	1 (2.8)
	CIP · TET · NAL · CLI	1 (2.8)
	AZI · CIP · TET · NAL	1 (2.8)
	CIP · TET · NAL · CLI	1 (2.8)
3 (n=7)	CIP · TET · NAL	6 (16.7)
	CIP · GEN · NAL	1 (2.8)
2 (n=4)	CIP · ERY	1 (2.8)
	CIP · TET	2 (5.6)
	CIP · NAL	1 (2.8)
1 (n=1)	CIP	1 (2.8)
C. coli		
7 (n=1)	AZI · CIP · ERY · GEN · TET · NAL · CLI	1 (2.8)
5 (n=1)	AZI · ERY · GEN · NAL· CL	1 (2.8)

11.1%, 16.7%, 13.9%, 25.0%, 19.4%, 11.1%, 2.8%의 항생제 내성을 나타냈다. *C. jejuni*는 7종, 6종, 5종, 4종, 3종, 2종, 1종의 약제에 대해 각각 8.8%, 17.6%, 11.8%, 26.5%, 20.6%, 11.8%, 2.9%의 내성률을 보였다. *C. coli*는 7종, 5종의 약제에 대해 각각 50.0%의 내성률을 보였다.

고 찰

본 연구에서 *C. jejuni* 분리율은 28.9%로 Kim 등(2013)이 경기도 지역 도축 오리를 대상으로 분리한 32.9%, Oh 등(1988)이 도계장 닭 분변에서 분리한 34.2%보다는 다소 낮은 경향을 보였으며, Park 등(2010)이 국내 시판 오리육에서 분리한 25.7%보다 다소 높은 분리율을 보였다. 이는 *Campylobacter*가 미호기성 균주로 채취시료가 외부 공기에 오래 노출될수록 분리율이 낮아지는 것으로 판단된다.

*C. jejuni*의 약제별 내성률에서 분리균에 대한 내성이 50% 이상인 항생제는 4종이었으며, 그 중 CIP가 85.7%로 가장 높게 나타났고, NAL 82.9%, TET 77.1%, GEN 57.1%로 순으로 나타났다. Kim 등(2013)에서는 내성률 50% 이상 항생제는 3종으로, NAL 87.5%, CIP 86.6%, TET 80.4%로 순으로 나타났다. 또한 Han 등(2007)에서 나타난 내성률 결과인 TET 99.1%, NAL과 CIP 92.2%, Frederick 등(2012)에서 나타난 내성률 결과인 TET 96%, NAL 84%, CIP 76%과 비교해 보았을 때, 본 연구에서는 GEN을 제외한 나머지 3종에서는 유사하게 높은 양상의 내성률을 보였다. 또한, TEL은 Kim 등(2013)과 같이 항생제 내성을 전혀 보이지 않았다. 반면, ERY와 GEN의 경우 본 실험에서는 *C. jejuni*에 대해 22.9%, 57.1%의 약제 내성을 보였으나, Kim 등(2013)에서는 ERY 0.9%, GEN 15.2%, Han 등(2007)에서는 ERY 0.0%, GEN 6.9%로 점진적으로 약제내성의 증가 양상을 보였다. 다제내성균 발현 정도는 2종 이상의 약제에 대한 내성률은 97.2%로 Kim 등(2013)의 96.4%와 유사하였으나, 본 연구에서는 최대 7종의 항생제에 대해 내성을 보였고, 5종이상의 약제에 대해 내성률이 38.2%를 차지하였으나, Kim 등(2013)에서는 3.6%로 내성을 보이는 약제의 수가 증가하는 경향을 보였다. 이는 가금농장에서 다양한 항생제의 사용에 따른 내성을 나타내는 항생제 종류의 증가 및 시료채취의 시점이 농장사육과 도축장에서의 도축과정에서의 시료채취라는 시점의 차이가 원인이 될 것으로 고려된다.

결 론

2014년 4월부터 12월말까지 경남 북부지역 오리농가를 대상으로 121건 시료에 대한 오염도 조사 결과, *Campylobacter* spp.가 37건(30.6%)이 분리되었다. 그 중 *C. jejuni* 35건(28.9%), *C. coli*가 2건(1.7%) 분리되었다. *C. jejuni*에 대한 항생제 내성률은 CIP (85.7%), NAL (82.9%), TET (77.1%), GEN (57.1%), AZI (40.0%), CLI (34.3%), ERY (22.9%), FFN (8.6%), TEL (0.0%) 순으로 나타났다. 다제내성의 정도는 2종 이상의 항생제에 대한 내성률은 97.2%이며, 4종(26.5%), 3종(20.6%), 6종(17.6%), 5종(11.8%) 및 2종(11.8%), 7종(8.8%)의 순으로 나타났다. 결론적으로, 본 연구는 경남 북부지역의 오리 분변에서 분리된 *Campylobacter* spp.의 항생제 내성 조사를 통하여 *Campylobacter*균에 대한 오염도와 항생제 오·남용으로 인한 2차 피해를 줄이기 위한 기초 자료를 제공할 수 있다고 판단된다.

REFERENCES

식품의약품안전처. 2014. 축산물의 가공기준 및 성분규격. 식품의약품안전처 고시 제2014-7호.

Adzitey F, Rusul G, Huda N, Cogan T, Corry J. 2012. Prevalence, antibiotic resistance and RAPD typing of Campylobacter species isolateed from ducks, their rearing and processing environments in Penang, Malaysia. Int J Food Microbiol 154: 197-205.

Duffy G, Lynch OA, Caqney C. 2008. Tracking emerging zoonotic pathogens from farm to fork. Meat Sci 78: 34-42.

FDA. 2010. National Antimicrobial Resistance Mornitoring System, http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/SafetyHealth/AntimicrobialResistance/NationalAntimicrobialResistanceMornitoringSystem/ucm312356.htm.

Han K, Jang SS, Choo E, Heu S, Ryu S. 2007. Prevalence, genetic diversity, and antibiotic resistance patterns of Campylobacter jejuni from retail raw chickens in Korea. Int J Food Microbiol 114: 50-59.

Kang HJ, Kim YH, Suk jM, Lee SM, Kim JY, Jung SC. 1999. Prevalance and Serovar of Food Poisoning Bacteria in Retail Fresh, Frozen and Packed Meats. J Food Hyg Safety 14: 327-332.

Kim NH, Chae HS, Kang YI, Shin BW, Choi NH, Kim HB. 2013. Prevalence and antimicrobial resistance patterns of Campylobacter jejuni from duck feces. Korean J Vet

Serv 36: 57-60.

Lamoureux M, MacKay A, Messier S, Fliss I, Blais BW, Holley RA, Simard RE. 1997. Detection of Campylobacter jejuni in food and poultry visera using immunomagnetic separation and microtitre hybridization. J Appl-M Microbiol 83: 641-651.

Moran AP, Upton ME. 1987. Factors affecting production of coccoid forms by Campylobacter jejuni on solid media during incubation. J Appl Bacteriol 62: 527-537.

Na HM, Koh B, Park SD, Kim YH. 2007. Studies on Campylbacter jejuni and Campylobacter coli contaminationon broiler carcasses in slaughterhouse. Korean J Vet Serv 30: 77-87.

Oh JS, Shin KS, Yoon YD, Park JM. 1988. Prevalence of Campylobacter jejuni in Broilers and Chicken Processing Plants. Korean J Food Hygiene 3: 27-36.

Park HK, Kim YJ, Song SW, Heo EJ, Kim HJ, Ku BK, Lee SW, Moon JS, Wee SH. 2010. Prevalence of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli isolated from domestic and imported meats in Korea, 2005-2009. Korean J Vet Publ Hlth 34: 181-187.

Schoeni JL, Doyle MP. 1992. Reduction of Campylbacter jejuni colonization of chicks by cecum-colonizing bacteria producing anti-C. jejuni metabolites. Appl Environ Microbiol 58: 644-670.

Wedderkopp A, Rattenborg E, Madsen M. 2000. National surveilance of Campylobacter in broiler at slaughter in Denmark in 1998. Avian Dis 44: 993-999.