

<원 저>

## 말에서 분리한 *Escherichia coli*의 특성 및 항생제 감수성

윤성욱<sup>1,2</sup> · 권도연<sup>3</sup> · 최성균<sup>1</sup> · 이희수<sup>2</sup> · 조길재<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>경북대학교 수의과대학, <sup>2</sup>국립수의과학검역원, <sup>3</sup>식품의약품안전청  
(게재승인: 2010년 8월 18일)

### Characteristics and antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolated from horse

Sung-Wook Yun<sup>1,2</sup>, Do-Yeon Kwon<sup>3</sup>, Seong-kyoon Choi<sup>1</sup>, Hee-Soo Lee<sup>2</sup>, Gil-Jae Cho<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

<sup>2</sup>National Veterinary Research & Quarantine Service, Anyang 430-757, Korea

<sup>3</sup>Korea Food & Drug Administration, Seoul 122-704, Korea

(Accepted: August 18, 2010)

**Abstract :** This study was conducted to investigate characteristics and antimicrobial susceptibility of *Escherichia (E.) coli* isolates isolated from vaginal mucosa and clitoral fossa of 105 Thoroughbred mares suspicious of the genital disease in Korea during the period from March 2006 to July 2007. Ninety six *E. coli* isolates were identified as standard biochemical properties and using BIOLOG system. Fifty three isolates (55.2%) could be classified into a total of 21 O serotypes and forty three isolates (44.8%) were non-typeable with 51 O antisera used in this study. The verotoxin 1 (VT 1) and verotoxin 2 genes were analyzed by multiplex PCR. Among them, one isolate was detected VT 1 gene (130 bp). Most of isolates showed a high susceptibility in ciprofloxacin (100%), enrofloxacin (100%), norfloxacin (100%), cefoxitin (96.9%), gentamicin (96.9%), sulphamethoxazole (96.9%), nitrofurantoin (94.8%), amikacin (93.8%), nalidixic acid (92.7%) and tetracycline (90.6%). These results may provide the basic information to establish strategies for the treatment and prevention of reproductive disease in Thoroughbred mares in Korea.

**Keywords :** antimicrobial susceptibility, *E. coli*, Thoroughbred mare, verotoxin

## 서 론

*Escherichia(E.) coli*는 Family enterobacteriaceae에 속하는 대부분이 주모성 편모를 가진 운동성이 있는 그람 음성 간균으로써 표본균주가 혐기성 상태의 37°C에서 일반적 또는 선택적 배지에서 쉽게 배양되며 [17], 사람과 동물의 장내 정상 세균총에서 가장 널리 퍼져있는 종의 하나으로써 장의 생리를 유지하는데 있어 중요한 역할을 수행하지만, 이 종들 중 몇몇 균주는 매우 병원성이 강하여 사람 및 동물에서 질병을 유발하는 것으로 알려져 있다 [14].

Enteric *E. coli*는 혈청학적 특성과 병원성의 특성에 따

라 5종류로 분류되어 있다. Enterotoxigenic *E. coli*(ETEC)는 사람, 돼지, 양, 염소, 소, 개, 말에서 주로 설사를 유발하며 LT enterotoxin과 ST enterotoxin을 산생하고 있다. Enteropathogenic *E. coli*는 ETEC처럼 사람, 토끼, 개, 고양이, 말에서 설사를 유발하지만 장 표면에 부착하는 기전과 병원성이 다르고 또한 fimbriae, ST, LT 독소가 결핍되어 있다. 그리고 Enterohemorrhagic *E. coli*는 사람, 소, 염소에서 혈액성 설사를 유발하고, Enteroinvasive *E. coli*와 Enteroaggregative *E. coli*는 단지 사람에서 각각 고열을 동반한 다량의 설사와 수양성 설사를 유발한다 [7].

말에서 문제시되는 세균성 질병을 살펴보면, 망아지

\*Corresponding author: Gil Jae Cho

College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea  
[Tel: +82-53-950-5978, Fax: +82-53-950-5955, E-mail: chogj@knu.ac.kr]

는 주로 패혈증과 폐렴, 설사, 위궤양, 번식마는 생식기 및 설사가 문제시되고 있다. 번식마에서 문제시되는 생식기로부터 세균을 분리한 결과, *Streptococcus equi zooepidemicus*은 상행성 태반염 감염마에서 가장 빈번히 분리되는 세균이며 [10], 그 외 *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* spp., *Leptospira* spp., *Enterobacter* spp.,  $\alpha$ -haemolytic *Streptococci*, *Staphylococci* spp. 및 nocardioforms도 분리되는 것으로 보고되고 있다 [12]. 그리고 유산은 더러브랫종에서 전반적인 생식기 질환의 문제로 큰 비중을 차지하고 있다 [19]. 말에서 자궁 감염은 수태를 저하의 가장 주요한 원인 중 하나로 오랫동안 인지되어 왔다 [4]. 이러한 감염은 종종 미생물의 기회감염에 의해 유발되며 이들로부터 다양한 균주가 분리되었음이 보고되었다 [21,22]. 말 생식기 질환의 보고에 따르면,  $\beta$  용혈성 *Streptococcus*가 감염 첫 해에 가장 심각한 감염원으로 규명되었고, 감염마 중 단지 40%만이 건강한 자마를 출생하였으며, 3년내에 전체의 35% 말은 성공적인 임신을 이루지 못했다. 이 외 *E. coli*, coagulase 양성의 *Staphylococcus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Corynebacterium equi* 및 화농성, 그리고 곰팡이 균류 감염 또한 회복이 힘든 심각한 병인체로 나타났다. 생식기로부터 이러한 균의 제거는 어려우며 많은 경우에서 치료가 쉽지 않음이 증명되었다 [5].

패혈증 망아지로부터 세균을 분리한 결과 *E. coli*가 가장 널리 분포하는 것으로 알려져 있다 [16]. *E. coli*균주의 독력 인자와 메카니즘이 설사를 유발할 수 있다는 사실은 사람, 돼지, 송아지 등에서 널리 연구되었다 [15]. 가축과 사람에서의 병원성 대장균은 gastroenteritis, urinary tract infection, neonatal meningitis와 드물게는 peritonitis, mastitis, septicemia, Gram-negative pneumonia을 일으키는 것으로 알려져 있지만, 대개 소, 양, 돼지, 사람에서의 설사를 주증으로 하고 있다. 말에서 설사를 일으키는 *E. coli*에 관한 연구는 다른 동물종에서 만큼 조사되지 않았으며, 말에서의 *E. coli*에 관한 연구는 주로 자마에서 ETEC에 초점을 두고 진행되어 왔다 [23].

말에서의 *E. coli*는 주로 망아지 설사와 패혈증, 비노생식기 관련 질병을 유발하는 것으로 알려져 있으나 다른 동물에 비해 연구가 미진한 상태이다. 특히 경주마는 물론 승용마 생산과 보급에 있어 말 생식기 계통의 질병이 매우 중요한 사안으로 부각되고 있다.

국내에서 사육중인 더러브랫종 씨암말의 번식효율 향상과 관련된 번식특성에 관한 연구는 보고된 바 있으나 생식기내 세균의 감염성에 관한 연구는 거의 없는 실정이다. 이와 같은 배경 하에 본 연구에서는 더러브랫종 씨암말의 생식기로부터 분리한 *E. coli*의 특성과 항균제

감수성에 대한 연구를 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 공시재료

국내 생산목장에서 사육중인 더러브랫종 씨암말을 대상으로 말의 번식시절인 2006년 3월부터 2007년 7월 사이 교배 전에 생식기 육안검사를 통해 질환이 의심되는 105두의 씨암말로 부터 vaginal swab를 이용하여 시료를 채취한 후 thioglycolate broth에 넣어 4°C 냉장상태로 48시간 내에 실험실로 운반하여 균 분리, 동정을 위한 재료로 사용하였다. 채취한 재료는 5% 면양혈액침가 혈액배지와 MacConkey agar 한천평판배지(Difco, USA)에 각각 도말한 후, 37°C에서 18~24시간 동안 배양한 후 배양된 집락들을 대상으로 집락형태나 Gram stain, OF-test, catalase test, oxidase test, MacConkey agar growth test, lysine decarboxylase test 등의 실험을 통해 *E. coli*로 1차 동정한 후, BIOLOG(Thermo, USA)기기를 이용하여 최종적으로 동정하였다.

### O group 혈청형 동정

O group 혈청형 동정은 Denka Seiken(Tokyo, Japan)사의 Pathogenic *E. coli* Immune Sera “SEIKEN”과 그 사용법에 의거하여 시험균주의 균체항원 혈청군 시험을 실시하였다. 항혈청은 총 51종으로 다가혈청 8종류와 단가혈청 43종(O1, O26, O86a, O111, O119, O127a, O128, O44, O55, O125, O126, O146, O166, O18, O114, O142, O151, O157, O158, O6, O27, O78, O148, O159, O168, O20, O25, O63, O153, O167, O8, O15, O115, O169, O28a, O112ac, O124, O136, O144, O29, O143, O152, O164)을 사용하였다. O 항원의 제조는 공시균을 MacConkey agar plate에 도말한 후 37°C에서 18~24시간 배양한 다음 2 mL 생리식염수에 MacFarland No.6(1.8 × 10 CFU/mL)의 탁도가 되도록 균을 부유시킨 다음 끓는 물에서 1시간 동안 증탕한 후 4°C에 보관하였다. O group 혈청형 동정은 먼저 microplate에 각각의 다가 항혈청을 4  $\mu$ L를 분주한 다음 O 항원 부유액 20  $\mu$ L를 혼합하여 응집유무를 확인하여 다가 항혈청 group을 동정하였다. 다가 항혈청 group에 해당하는 각각의 단가 항혈청에 대해서는 다가 항혈청의 응집반응과 동일한 방법으로 응집유무 시험을 실시하여 공시균의 O 혈청형을 최종 동정하였다.

### *E. coli*의 verotoxin 동정

분리균 *E. coli*로부터 DNA 추출은 Zoetendal 등 [24]의 방법에 준하여 실시하였다. 먼저 Luria-Bertani

broth(Becton Dickinson, USA) 3 mL에 colony를 접종하여 37°C에서 overnight시켜 배양한 후 1.5 mL의 Eppendorf tube(Eppendorf, USA)에 1 mL를 분주하고  $2.17 \times 10^5$  g으로 1분 동안 원심분리한 다음 상층액 800 µL를 제거하였다. 그 후 100°C에서 15분간 가열한 후 다시  $2.17 \times 10^5$  g으로 10분간 원심분리하여 얼음에서 10분 동안 침지시킨 다음 상층액 150 µL를 회수하여 PCR을 위한 template DNA로 사용하였다.

PCR을 위한 조성은 PCR premix buffer(Quagen, USA) 15 µL, template DNA 2 µL, 20 pmol의 forward 및 reverse primer [20] 각각 1 µL, 멸균증류수 6 µL를 혼합하여 total volume이 25 µL가 되도록 조정 한 후 GeneAmp PCR system 2720(Applied Biosystem, USA)으로 증폭하였다. PCR은 먼저 94°C에서 5분 가열하여 변성을 유도하고, 94°C에서 2분간 denaturation, 55°C에서 1분간 annealing, 그리고 72°C에서 1분간 final extension의 3단계를 총 30회 반복하였으며, 마지막 72°C에서 7분간 final extension 과정을 거쳤다. PCR 산물은 2.0% agarose gel(Seakem ME Agarose, USA)상에서 전기영동한 후 5 µL/100 mL 농도의 Ethidium Bromide(Applied biosystem, USA)에 20분간 염색하여 UV transilluminator(Core Bio System, Korea)에서 확인하였다.

**항생제 감수성 시험**

분리된 *E. coli*는 Clinical and Laboratory Standards Institute의 기준 [18]에 따라 디스크 확산법 [6]으로 항생제 감수성 시험을 실시하였다. 먼저 *E. coli*를 Muller-Hinton broth에 접종하고 37°C에서 2~8시간 증균시킨 후 MacFarland No.5( $1.5 \times 10$  CFU/mL)의 농도로 조절한 다음 Muller-Hinton agar plate에 도말하여 항균제 disc(BBL, USA)를 접종한 후 37°C에서 18~24시간 배양한 다음 disc 주위의 complete inhibition zone의 크기를 측정하여 내성여부를 판정하였다. 분리군 96주의 *E. coli*에 대한 약제 감수성을 파악하고자 국내 말에서 많이 사용하고 있는 약제를 중심으로 amikacin 등 총 25종의 항균제에 대한 감수성 시험을 실시하였다.

**결 과**

***E. coli*의 분리 및 동정**

국내 생산목장에서 사육중인 더러브렛종 씨암말의 생식기로부터 *E. coli*를 분리한 결과, 1주의 용혈성 *E. coli*를 포함하여 96두(91.4%)에서 *E. coli*가 분리되었다.

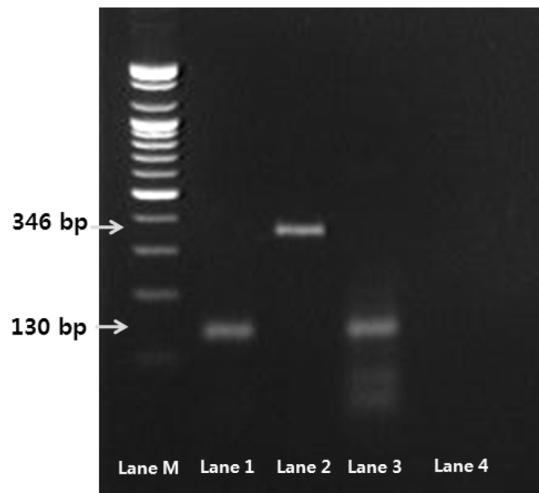
**O group 혈청형 동정**

분리군 96주의 *E. coli*를 대상으로 O group 혈청형을

**Table 1.** O serotypes of 96 *Escherichia coli* isolates

O serotypes	No. (%) of isolates
O1	14 (14.6)
O44	5 (5.2)
O55	4 (4.2)
O26	3 (3.1)
O28ac	3 (3.1)
O8	2 (2.1)
O6	2 (2.1)
O114	2 (2.1)
O18	2 (2.1)
O166	2 (2.1)
O153	2 (2.1)
O20	2 (2.1)
O25	2 (2.1)
O111	1 (1.1)
O128	1 (1.1)
O125	1 (1.1)
O146	1 (1.1)
O142	1 (1.1)
O158	1 (1.1)
O159	1 (1.1)
O148	1 (1.1)
NT	43 (44.8)
Total	96 (100)

NT: non-typeable isolates.



**Fig. 1.** Gel electrophoresis of verotoxin 1 by PCR. Predicted 130 bp amplicons observed from *Escherichia (E.) coli* suspected strain. Lane M: molecular size marker (Bioneer, Korea); Lane 1: verotoxin 1 of *E. coli*, Lane 2: verotoxin 2 of *E. coli*, Lane 3: verotoxin 1 of *E. coli* isolated from horse genital tract, Lane 4: negative control strain.

**Table 2.** Detection of verotoxin from 96 *Escherichia coli* isolates

Toxins	No. (%) of isolates	Results of PCR products (bp)
Verotoxin 1	1 (1.1)	130
Verotoxin 2	0 (0)	346

The verotoxin 1 and verotoxin 2 were amplified by PCR with the following primers: verotoxin 1, (F-GAAGAGTCCGTGG GATTACG, R-AGCGATGCAGCTATTAATAA); verotoxin 2, (F-TTAACACACCCACCGGC AGT, R-GCTCTGGATG-CATCTCTGGT).

**Table 3.** Antimicrobial susceptibility of 96 *Escherichia coli* isolates isolated from genital tract in Thoroughbred mare

Antimicrobial drugs	No. (%) of susceptible isolates	No. (%) of resistant isolates
Amikacin	90 (93.8)	6 (6.2)
Ampicillin	77 (80.2)	19 (19.8)
Amoxicillin	81 (84.4)	15 (15.6)
Cephalothin	3 (3.1)	93 (96.9)
Cefoxitin	93 (96.9)	3 (3.1)
Ceftiofur	95 (98.9)	1 (1.1)
Ciprofloxacin	96 (100)	0 (0)
Clindamycin	85 (88.5)	11 (11.5)
Enrofloxacin	96 (100)	0 (0)
Erythromycin	13 (13.5)	83 (86.5)
Gentamicin	93 (96.9)	3 (3.1)
Kanamycin	75 (78.1)	21 (21.9)
Nitrofurantoin	90 (94.8)	6 (5.2)
Norfloxacin	96 (100)	0 (0)
Nalidixic acid	89 (92.7)	7 (7.3)
Neomycin	70 (72.9)	26 (27.1)
Ofloxacin	82 (85.4)	14 (14.6)
Spectinomycin	8 (8.3)	88 (91.7)
Streptomycin	10 (10.4)	86 (89.6)
Tetracyclin	87 (90.6)	9 (9.4)
Apramycin	17 (17.7)	79 (82.3)
Colistin sulphate	76 (79.2)	20 (20.8)
Sulfonamides	29 (30.2)	67 (29.2)
Mecillinam	36 (37.5)	60 (62.5)
Sulphamethoxazole	93 (96.9)	3 (3.1)

동정한 결과는 Table 1에서 보는 바와 같이 53주(55.2%)에서 총 21종의 혈청형이 동정되었다. O1이 14주(14.6%)로 가장 많았고, 그 다음으로 O44와 O55이 각각 5주(5.2%), 4주(4.2%), O26과 O28ac가 각각 3주(3.1%)로 비교적 많이 동정되었다. 또한 O8, O6, O114, O18, O166,

O153, O20, O25가 각각 2주(2.1%), O111, O128, O125, O146, O142, O148, O158, O159 등이 각각 1주(1.1%)로 극소수로 동정되었으나, 공시한 96주중 43주(44.8%)는 O group 혈청형이 확인되지 않았다.

### *E. coli*의 verotoxin 동정

분리된 *E. coli*의 verotoxin을 동정한 결과는 Table 2와 Fig. 1에서 보는 바와 같이 총 96주 중 1주(1.1%)에서 verotoxin 1(VT 1)을 동정하였다.

### 항생제 감수성 시험

분리된 96주의 *E. coli*에 대한 약제 감수성 결과는 Table 3에서 보는 바와 같다. 분리된 *E. coli*균주는 ciprofloxacin(100%), enrofloxacin(100%), norfloxacin(100%), ceftiofur(98.9%), cefoxitin(96.9%), gentamicin(96.9%), sulphamethoxazole(96.9%), nitrofurantoin(94.8%), amikacin(93.8%), nalidixicacid(92.7%), tetracyclin(90.6%) 등의 약제에 비교적 높은 감수성을 나타내었지만 erythromycin(13.5%), streptomycin(10.4%), spectinomycin(8.3%), apramycin(17.7%), cephalothin(3.1%) 등의 약제에 대해서는 비교적 높은 약제 내성을 나타내었다.

## 고 찰

국내 말 시장의 수요를 충족시키고 보다 질 좋은 경주마 및 승용마를 확보하기 위해서는 혈통이 우수한 씨수(암)말의 선정은 물론, 말 번식기술의 정립 및 향상이 무엇보다 요구되어지고 있다. 그러나 말의 번식과 관련된 연구는 외국에서는 많이 보고되어 있으나 국내에서는 상당히 미흡한 실정이다.

말 생식기 내에 존재하는 세균은 반드시 해로운 것만은 아니지만 병원성 세균으로서 발달될 잠재적인 특성을 가지고 있다. 자궁감염의 진행 정도는 자궁상태, 저항력 등과 병원체의 종류, 숫자, 독성 등에 의해 좌우되며 그 말의 감수성에 따라 감염의 진행여부가 결정된다. 감염원과 싸우는 자궁의 생리기전에 대해서는 정확히 알려진 것이 없으나 감염이 발생할 때마다 암말의 저항력은 계속해서 감소하는 것으로 알려져 있다. 현재 씨암말의 생식기 감염을 유발하는 여러 가지 환경적, 물리적 요인들이 밝혀지고 있기 때문에 씨암말의 수태능력을 연구할 때는 이러한 요인들과 함께 교배 시 씨수말의 생식기와 관련된 질량도 평가해야 할 것이다.

지금까지 국내에서 씨암말의 생식기 유래 세균의 분리에 관한 연구에서 김 등 [1]은 19두의 건강한 씨암말을 대상으로 생식기내 세균을 조사한 결과 *Streptococcus* spp.(37.3%), *Staphylococcus* spp.(23.9%), *Bacillus* spp.

(16.4%), *Corynebacterium* spp.(7.5%), *Enterobacter cloacae* (7.5%), *E. coli*(5.9%), *Bacteroides* spp.(1.5%) 등을 분리 보고한 바 있다. 또한 최 등 [2]은 국내에서 사육중인 더러브렛종 씨암말 100두를 대상으로 생식기내 세균의 분포와 그 분리균에 대한 항생제 감수성 양상을 연구한 결과, 분리된 세균은 *E. coli*(19.8%), *Proteus mirabilis* (14.9%), *Staphylococcus aureus*(14.9%), *Staphylococcus epidermidis*(11.2%), coagulase-negative *Staphylococcus* spp.(10.0%), *Enterococcus faecalis*(9.2%), *Enterobacter nimipressuralis*(7.4%), *Actinomyces viscosus*(7.2%), *Enterobacter mobilis*(4.7%), *Aeromonas encheleia*(4.3%), *Proteus vulgaris*(3.6%) 등의 순으로 높은 분리율을 나타내었고, Gram 음성균의 분리율(65.36%)이 Gram 양성균의 분리율(34.64%)보다 높게 나타났다고 보고한 바 있다.

Clark 등 [9]은 말의 trachea(10.8%), uterine(46.3%), wound(18.9%), postprocedural soft tissue(34.5%), urine (36%), septic foal(35.7%), umbilicus(50%) 등에서 높은 *E. coli*의 분리율을 보고하였다.

말 생식기 내 상재하는 다양한 세균의 분포양상에 관한 다양한 연구결과를 통해 *E. coli*는 가장 널리 상재하고 분포하는 균으로 그 중요성이 아주 크다고 할 수 있다.

Ike 등 [14]은 1982년에서 1986년에 걸쳐 설사를 보이는 463두의 말이지로부터 세균학적 연구를 수행한 결과, 용혈성 *E. coli*가 만성 설사를 나타내는 자마에서 빈번하게 검출되었으나 정상 자마에서는 거의 검출되지 않았으며, 다른 달보다도 5월에 5배나 더 높게 분리되었다고 보고한 바 있다. 그리고 이러한 사실로부터 hemolytic *E. coli*는 교배기인 특히 5월 동안에 역학적으로 자마에서의 만성적 설사와 매우 연관성이 높을 것으로 보인다. 설사를 보이는 자마 및 자궁염을 보이는 암말에서 분리된 hemolytic *E. coli*의 많은 종들은 혈청형 O101으로 분류되었다. 이는 hemolytic *E. coli*가 암말에서 자마로의 전파가 이루어질 수 있음을 강력히 뒷받침해 준다. 반면에 설사 또는 자궁염을 보이는 말과 정상 말들로부터 분리된 *E. coli*는 다양한 혈청형으로 분류되었고 이 혈청형들 중 O8, O101, O147이 많이 동정되었다고 보고한 바 있다. 본 연구에서는 1주의 hemolytic *E. coli*와 verotoxin 1을 생산하는 *E. coli*균 1주를 각각 동정하였다. 이들 생식기 유래 세균은 향후 태어날 말이지에 대한 패혈증과 설사 등을 유발할 가능성이 높으므로 더욱더 세심한 관찰이 요구되어지며, 이들 균주와 생식기 질환 유발과의 관련성 등 앞으로 더 많은 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

또한 분리균 96주의 *E. coli*에 대해 혈청형을 동정한 결과 53주(55.2%)에서 총 21종의 혈청형이 동정되었고 O1이 14주(14.6%)로 가장 많았고, 그 다음으로 O44와

O55이 각각 5주(5.2%), 4주(4.2%), O26과 O28ac가 각각 3주(3.1%), O8이 2주(2.1%)로 동정되어 Ike 등 [14]이 보고한 성적(O8, O101, O147)과는 다소 차이가 있었다. 이는 사용한 항혈청의 종류에 따른 차이로 생각되어지며, 향후 좀 더 많은 연구가 진행되어야 할 것이다.

Albihn 등 [3]은 생식기 질환과 관련된 암말로로부터 분리한 세균에 대한 항생제 감수성 검사 결과, 모든 분리균은 광범위 penicillin G에 감수성을 보였고 *E. coli* 분리균은 enrofloxacin에 감수성을 나타내었으며, cephalothin (39%), streptomycin(22%), trimethoprim/sulphamethoxazole (15%) 및 ampicillin(11%) 등에 내성을 나타내는 것으로 보고하였다. 또한 Biruhtesfa 등 [8]은 패혈증을 보이는 말에서 세균을 분리한 후 항생제 감수성 검사를 실시한 결과 패혈증으로 의심되는 경우 중 총 20%에서 세균이 검출되었고 검출균 중 70%의 경우는 그람 음성을 나타냈고, 나머지는 그람 양성이었다. *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*는 각각 45%, 30%, 25%의 비율로 분리되었고, 가장 효력을 나타내는 항생제로는 polymyxin B(90%), gentamicin (85%), chloramphenicol (80%) 및 kanamycin(80%) 이었다. 또한 분리균 중 tetracycline에 감수성을 보이는 균주는 한 주도 없는 것으로 보고한 바 있다.

Frontoso 등 [11]은 번식장애를 보이는 586두의 암말로로부터 자궁내 swab를 통해 세균을 분리하고 감수성을 조사한 결과 *Streptococcus* group C(31.7%)와 *E. coli*(18.4%)로서 둘 다 번식 문제와 연관되어 있었다. *Streptococcus* group C의 항생제 감수성 양상의 결정에서는 단지 amoxicillin/clavulanic acid에서 82.7%의 분리균이 침범을 보이며 매우 활발하였고 *E. coli*는 주요한 약제들이 매우 높은 효능을 보였다. 또 Grobbel 등 [13]은 폐지의 urinary, genital tract, mastitis, metritis, agalactia, 말의 genital tract, 개와 고양이의 respiratory tract, urinogenital tract와 gastrointestinal tract에서 분리한 417종의 *E. coli*균에 대한 항생제 감수성 조사 결과 sulfamethoxazole(18~59%), tetracycline(14~54%) 및 ampicillin(14~39%), cephalothin(39~46%)에서 내성을 나타내었고, amoxicillin/clavulanic acid(1~4%), gentamicin(1~9%) 및 cefazolin(0~11%)에서는 대체로 낮은 내성을 보였다. 최 등 [2]은 국내에서 사육중인 더러브렛종 씨암말 100두를 대상으로 생식기 유래 분리균에 대한 항생제 감수성 양상을 연구한 결과, 분리된 대부분의 균주는 quinolone계와 cepha계 항생제에 대한 감수성이 높게 나타났다고 보고한 바 있다.

본 연구에서 분리된 *E. coli*의 대부분 균주들이 erythromycin(13.5%), streptomycin(10.4%), spectinomycin (8.3%), apramycin(17.7%), cephalothin(3.1%) 등을 제외

하고는 낮은 항생제 내성을 나타내었다. Albihn 등 [3]이 말의 생식기 유래 *E. coli*는 cephalothin(39%), streptomycin(22%), trimethoprim/sulphamethoxazole(15%) 및 ampicillin(11%) 등에 내성을 나타낸다고 보고한 성적과 본 연구와는 유사한 결과를 얻었다. 또한 *E. coli*균은 cephalosporin 계통의 1세대 항균제인 cephalothin에 96.9%, 2세대인 cefoxitin에 3.1%, 3세대인 ceftiofur에 1.1%의 내성을 나타내어 향후 말 임상에서 항균제의 감수성과 관련된 연구가 더 많이 요구되고 있다. 그러나 전반적으로 세균에 의한 말의 생식기 감염증 시 개체의 특성과 질병 진행 과정에서 가장 효과적인 약제를 선택할 수 있는 폭이 넓다는 것을 의미하며, 따라서 치료 및 예방 목적의 항생제 사용 시 가능한 체내에 가장 낮은 독성을 나타내는 약제를 선택할 수 있을 것으로 사료된다.

국내에서 사육중인 더러브렛 씨암말의 생식기 질환을 예방하고 생산성 향상을 도모하기 위해서는 가능한 한 자궁의 감염기회를 줄이는 것이 중요하며 암말의 자궁 면역학적 연구, 특히 자궁내의 세포반응이나 항균 물질의 분비 및 방어기전 등의 연구와 동시에 만약 발병 시 치료효율을 극대화하는 방안으로 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다. 암말의 외부 생식기의 해부학적 혹은 환경적 특성상 분변에 의한 오염 정도가 다른 부위에 비해 높고 오염에 노출될 가능성이 높우하기 때문에 병원성 세균에 의한 감염증을 최대한 억제하기 위해서는 교미 전과 후에 철저한 소독이 병행되어야 할 것으로 판단된다. 또한 말의 인공 수정후의 자궁 내막염은 말에서 보편적으로 알려져 있으며, 자궁내의 정액과 세균과의 연관성이 있는 것으로 알려져 있다. 국내에서 인공수정을 통한 승용마 생산의 효율성을 높이기 위해서 말에서 면역 및 염증 반응에 대한 모델 정립 또한 요구되고 있다.

본 연구를 통해 국내에서 사육중인 더러브렛 중 씨암말의 생식기내 *E. coli*의 특성과 약제 감수성을 파악함으로써 적절한 항균제의 선택을 통한 *E. coli*로 인한 질병의 조기 치료에 기여 및 항균제의 오남용도 방지할 수 있을 것으로 기대된다. 따라서 본 연구를 통해서 얻은 결과는 향후 국내에서 사육중인 씨암말의 생산성 향상에 기여하는 물론 *E. coli*와 생식기 질병 연구 프로그램의 효과적인 진행과 백신 개발 등에 유용한 자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

본 연구에서는 말의 생식기 질환 유래 *E. coli*에 한정하여 연구하였지만 향후에는 건강한 씨암말의 생식기 유래 *E. coli*와 망아지 패혈증이나 설사 유래 *E. coli*의 특성 등 씨암말과의 연관성에 대해서도 연구하여야 할 것으로 사료되며, 특히 국민 소득의 증대와 함께 향후 국내에서도 말고기의 소비가 증가할 것으로 예상됨에

따라 식육에서의 *E. coli*에 대해서도 연구되어야 할 것으로 사료된다.

## 결 론

국내 생산목장에서 사육중인 더러브렛 중 씨암말 105두의 생식기로부터 *E. coli*를 분리한 결과, 96두(91.4%)에서 분리되었고 분리균주 중 1주(1.1%)가 면양혈액침 가 혈액배지에서 beta 용혈성을 나타내었다.

51개 O group 혈청형을 분석한 결과 53주(55.2%)에서 총 21종의 O group 혈청형이 동정되었다. O1이 14주(14.6%)로 가장 많았고, 그 다음으로 O44와 O55이 각각 5주(5.2%), 4주(4.2%), O26과 O28ac가 각각 3주(3.1%)로 비교적 많이 동정되었다. 그리고 분리균 96주 중 1주(1.1%)에서 VT 1을 동정하였다.

분리균 96주의 *E. coli*에 대한 약제 감수성 검사 결과 ciprofloxacin(100%), enrofloxacin(100%), norfloxacin(100%), cefoxitin(96.9%), gentamicin(96.9%), sulphamethoxazole(96.9%), nitrofurantoin(94.8%), amikacin(93.8%), nalidixic acid(92.7%), tetracycline(90.6%) 등의 약제에 비교적 높은 감수성을 나타내었다.

## 참고문헌

1. 김태중, 윤희중, 최귀철, 박정문. 번식마 생식기내 세균총 조사 및 약제 감수성에 관한 연구. 건국대학교 축산대학동물자원연구소센터, 서울, 1991.
2. 최성균, 이수길, 양재혁, 조길재. 더러브렛 씨암말의 생식기내 세균의 분포 및 항생제 감수성 양상. J Vet Clin 2007, **24**, 19-25.
3. Albihn A, Båverud V, Magnusson U. Uterine microbiology and antimicrobial susceptibility in isolated bacteria from mares with fertility problems. Acta Vet Scand 2003, **44**, 121-129.
4. Anderson MA, Whitlock JE, Harwood VJ. Diversity and distribution of *Escherichia coli* genotypes and antibiotic resistance phenotypes in feces of humans, cattle, and horses. Appl Environ Microbiol 2006, **72**, 6914-6922.
5. Bain AM. The role of infection in infertility in the thoroughbred mare. Vet Rec 1966, **78**, 168-173.
6. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am J Clin Pathol 1996, **45**, 493-496.
7. Bettelheim KA. Biochemical characteristics of *Escherichia coli*. In: Gyles CL (ed.). *Escherichia coli* in Domestic Animals and Humans. pp. 3-30, CAB

- International, Wallingford, 1994.
8. **Biruhtesfa A, Yilikal A, Bojia E, Ayele G, Getachew M.** Aerobic bacterial isolates in equids and their antimicrobial susceptibility pattern. Intern J Appl Res Vet Med 2007, **5**, 107-112.
  9. **Clark C, Greenwood S, Boison JO, Chirino-Trejo M, Dowling PM.** Bacterial isolates from equine infections in western Canada (1998-2003). Can Vet J 2008, **49**, 153-160.
  10. **Cummins C, Carrington S, Fitzpatrick E, Duggan V.** Ascending placentitis in the mare: A review. Irish Vet J 2008, **61**, 307-313.
  11. **Frontoso R, De Carlo E, Pasolini MP, van der Meulen K, Pagnini U, Iovane G, De Martino L.** Retrospective study of bacterial isolates and their antimicrobial susceptibilities in equine uteri during fertility problems. Res Vet Sci 2008, **84**, 1-6.
  12. **Giles RC, Donahue JM, Hong CB, Tuttle PA, Petrites-Murphy MB, Poonacha KB, Roberts AW, Tramontin RR, Smith B, Swerczek TW.** Causes of abortion, stillbirth, and perinatal death in horses: 3,527 cases (1986-1991). J Am Vet Med Assoc 1993, **203**, 1170-1175.
  13. **Grobbe M, Lübke-Becker A, Alesik E, Schwarz S, Wallmann J, Werckenthin C, Wieler LH.** Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* from swine, horses, dogs and cats as determined in the BfT-GermVet monitoring program 2004-2006. Berl Munch Tierarztl Wochenschr 2007, **120**, 391-401.
  14. **Ike K, Kamada M, Azai T, Imagawa H, Kumanomido T, Nakazawa M, Kashiwazaki M, Kume T.** Some properties of *Escherichia coli* isolated from foals with diarrhea and mares with metritis. Bull Equine Res Inst 1987, **24**, 33-41.
  15. **Levine MM.** *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. J Infect Dis 1987, **155**, 377-389.
  16. **Mapes S, Rhodes DM, Wilson WD, Leutenegger CM, Pusterla N.** Comparison of five real-time PCR assays for detecting virulence genes in isolates of *Escherichia coli* from septicemic neonatal foals. Vet Rec 2007, **161**, 716-718.
  17. **Nataro JP, Kaper JB.** Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev 1998, **11**, 142-201.
  18. **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria that Grow Aerobically. 5th ed. Approved Standard M7-A5. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, 2000.
  19. **Platt H.** Aetiological aspects of abortion in the thoroughbred mare. J Comp Pathol 1973, **83**, 199-205.
  20. **Pollard DR, Johnson WM, Lior H, Tyler SD, Rozee KR.** Rapid and specific detection of verotoxin genes in *Escherichia coli* by the polymerase chain reaction. J Clin Microbiol 1990, **28**, 540-545.
  21. **Ricketts SW, Young A, Medici EB.** Uterine and clitoral cultures. In: McKinnon AO, Voss JL (eds.). Equine Reproduction. pp. 234-245, Lea & Febinger, Philadelphia, 1993.
  22. **Shin SJ, Lein DH, Aronson AL, Nusbaum SR.** The bacteriological culture of equine uterine contents, in-vitro sensitivity of organisms isolated and interpretation. J Reprod Fertil Suppl 1979, **27**, 307-315.
  23. **van Duijkeren E, van Asten AJ, Gaastra W.** Characterization of *Escherichia coli* isolated from adult horses with and without enteritis. Vet Q 2000, **22**, 162-166.
  24. **Zoetendal EG, Heilig HG, Klaassens ES, Booijink CC, Kleerebezem M, Smidt H, de Vos WM.** Isolation of DNA from bacterial samples of the human gastrointestinal tract. Nat Protoc 2006, **1**, 870-873.