

국내 가금유래 병원성 대장균의 extended-spectrum β -lactamase(ESBL) 특성 조사

성명숙¹ · 김진현¹ · 조재근² · 설성용³ · 김기석^{1,*}

¹경북대학교 수의과대학, ²대구시 보건환경연구원, ³경북대학교 의학전문대학원
(게재승인: 2008년 8월 28일)

Survey of extended-spectrum β -lactamase (ESBL) in pathogenic *Escherichia coli* isolated from poultry in Korea

Myung-Suk Sung¹, Jin-Hyun Kim¹, Jae-Keun Cho², Sung-Yong Seof³, Ki-Seuk Kim^{1,*}

¹College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

²Health & Environmental Research Institute, Daegu 706-732, Korea

³Kyungpook National University School of Medicine, Daegu 700-422, Korea

(Accepted: August 28, 2008)

Abstract : This study was conducted to investigate incidence of extended-spectrum β -lactamase (ESBL) producing strains and characteristics of ESBL gene in pathogenic *Escherichia coli* isolated from poultry during the period from April 2003 to December 2005 in Korea. Among 203 isolates, 4 isolates (3 from broilers and 1 from layer) were confirmed as ESBL producing strains by double disk synergy test, polymerase chain reaction and sequencing for β -lactamase genes. *bla*_{CTX-M-15} and *bla*_{CMY-2} were detected in these 4 isolates and were transferred to recipient by conjugation, respectively. Also, these ESBL producing strains were associated with multiple drug resistance. In conclusion, these results exhibit incidence of CTX-M and CMY-2 β -lactamase in pathogenic *E. coli* from poultry in Korea, and clinically important meaning in human. And they also suggest the needs for rapid and broad surveillance to monitor ESBL genes and R plasmid transferring resistant gene in poultry.

Keywords : ESBL genes, extended-spectrum β -lactamase (ESBL), Korea, pathogenic *Escherichia coli*, poultry

서 론

동물에서 각종 항균제가 성장촉진, 질병예방 및 치료의 목적으로 널리 사용되고 있으나 한편으로 이들 동물에서의 항균제 내성균 출현이 심각한 실정에 이르고 있다 [28, 30, 31]. 더욱이 최근에는 항균제 내성균 중 사람의 원내감염에 있어서 중요한 것으로 알려져 있는 extended-spectrum β -lactamase(ESBL)를 산생하는 장내 세균이 식용동물에서도 분리 보고 됨에 따라 식용동물에서의 항균제 내성 문제는 사람의 건강을 위협할 가능성이 있는 것으로 인정되어 세계보건기구 등 국제협회의

회에서 중요한 문제로 다루어지고 있다 [20, 30].

β -lactam 항균제는 1929년 플레밍에 의한 penicillin의 발견으로 개발이 시작되었으며, ampicillin의 임상 도입 이후 그람음성 세균에 의한 감염증 치료에도 광범위하게 사용되어왔다 [3, 5]. 그러나 이들 β -lactam 항균제는 주로 내성균의 β -lactamase 생성으로 불활성화 됨에 따라 보다 강력한 항균제를 개발해야 되는 실정에 이르게 되었다 [5, 21, 26]. 이러한 요구에 부응하여 1980년대 이후 기존의 β -lactamase에 감수성이 낮고 항균범위가 더욱 넓어진 oxyimino-cephalosporin들이 개발되어 항균제 내성인 그람음성균에 의한 감염증 치료에 유용하게

*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]

사용되어왔으나, 한편으로 이러한 extended-spectrum β -lactam 항균제에도 내성을 나타내는 다양한 유형의 새로운 ESBL 생산 균주가 분리되고 있고 그 빈도도 증가하는 추세에 있다 [8]. 이들 ESBL은 cefotaxime이나 ceftazidime 등의 제 3세대 cephalosporin 제제와 aztreonam과 같은 monobactam 등의 다양한 extended-spectrum β -lactam 항균제를 가수분해하나, clavulanic acid나 sulbactam 등 β -lactamase 저해제들에 의해서는 활성이 저해되는 효소들로 알려져 있다 [8, 10].

ESBL은 서유럽에서 처음 발견되었으며, 장내세균, *Pseudomonas aeruginosa* 및 *Haemophilus influenzae* 등 많은 종의 세균에서 발견되어 왔고 현재까지 150종 이상이 보고되어 있다 [8]. ESBL은 대부분이 Bush 분류의 group 2b(2be)에 속하는 효소로서 TEM-1, TEM-2 및 SHV-1을 발현하는 유전자에 점 변이에 의한 아미노산 치환이 일어나거나 혹은 염색체 상의 β -lactamase 유전자가 재조합되거나 transposon 등이 삽입됨으로써 생겨난 것으로 알려져 있는데, 크게 TEM형, SHV형, CTX-M형, OXA형 및 plasmid 매개성 AmpC 효소로 구분되어져 있다 [5, 8, 10]. 대부분의 ESBL은 TEM 또는 SHV 효소 유도체이지만, 최근 PER, VEB, CTX-M 및 OXA 유도체 등 다른 ESBL의 출현이 세계적으로 증가하고 있는 추세이다 [5-8, 11, 12, 18, 19, 22, 32, 33].

ESBL을 생산하는 유전자의 발현이 사람에서 임상적으로 중요한 의미를 지니는 것은 그람음성균에 있어서 새로 개발되는 제3세대 cephalosporin 및 monobactam 등에 대해 내성을 부여하여 치료를 어렵게 할 뿐만 아니라, 이들 유전자가 주로 transposon에 위치하고 있으며 plasmid를 매개로 다른 균에 쉽게 전달되어 병원 내에서 집단적으로 ESBL 유전자의 전달을 유발할 수 있기 때문이다 [8, 21, 26].

이러한 ESBL 생산 균주가 가축에서 분리되는 것은 가축과 접촉하거나 축산물을 섭취하는 사람에게 내성균을 전파할 수 있을 뿐 아니라, 사람의 질병에 직접적인 연관성은 없더라도 plasmid를 통하여 사람 질병과 관련된 균에 ESBL 유전자를 전달할 경우 항균제 선택이 매우 제한될 수 있어 질병 치료에 심각한 상황을 초래할 수 있다 [3, 26, 30].

현재 우리나라에서는 사람 유래균에서 ESBL 생성 균주의 분포 및 특성에 대해서는 연구된 바가 많으나, 식용동물에서의 보고는 드문 실정이다. 이에 본 연구에서는 대장균증을 나타내는 가금에서 분리한 병원성 대장균을 대상으로 광범위 β -lactam 항균제에 대한 내성균주를 분리하고 이들 균주의 ESBL 생성 유무, ESBL 유전자의 분류 및 접합에 의한 전달능을 확인하고자 본 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

공시재료

2003년 4월부터 2005년 12월까지 강원도, 경기도, 경상북도, 경상남도 및 충청북도 등에 소재하는 가금사육 농장으로부터 경북대학교 조류질병학 연구실에 병성감정 의뢰되어 가금 대장균증으로 진단된 가금의 실질장기로부터 세균을 분리하여 성 등 [1]에 의해 생화학적 정상검사와 O혈청형 조사를 통하여 대장균으로 동정된 203주를 실험에 제공하였다.

항균제 감수성검사

시험에 사용한 항균제는 ampicillin(USB, USA), aztreonam, ceftazidime, cefotaxime, cefepime(Boryung, Korea), cefoxitin, kanamycin(Duchefa, Netherlands), gentamicin, amikacin, nalidixic acid, ciprofloxacin(Fluka, Switzerland), chloramphenicol, tetracycline(Sigma Chemical, USA), streptomycin, sulfisoxazole 및 trimethoprim(ICN Biomedicals, USA)등 16종이었다. 공시균의 각 항균제별 최소억제농도(Minimal inhibitory concentration; MIC) 측정은 평판 희석법으로 실시하였으며 검사방법 및 내성균의 판정은 National Committee for Clinical Laboratory Standards [23]와 Voogd 등 [29]의 기준에 준하였다.

접합에 의한 항균제 내성전달 시험

내성전달시험은 Bradley 등 [9]의 방법에 준하여 실시하였으며, 피전달균으로는 *E. coli* RG488(rifampin 내성)과 *E. coli* J53(sodium azide 내성)을 사용하였다. Trypticase soy broth(TSB; Difco, USA)에 20시간 배양한 공시균과 피전달균을 각각의 4 ml TSB에 접종하여 37°C 항온수조에서 진탕하면서 4시간 배양한 다음 공시균과 피전달균을 1:4의 비율로 혼합하여 37°C에서 20시간 배양하였다. 이 혼합배양액을 rifampin(yuhan, Korea) 50 μ g/ml과 sodium azide(Sigma, USA) 200 μ g/ml 그리고 각 약제별로 8~256 μ g/ml의 농도를 함유하는 Mueller Hinton agar(MHA; Difco, USA)에 도말 접종하여 37°C에서 20시간 배양한 후, 집락형성 유무를 보아 내성전달을 판정하였다. 내성을 전달받은 피전달균의 집락을 각 약제별로 8개씩 임의로 취하여 MacConkey agar(Difco, USA)에 순수배양 하였으며 각 항균제에 대한 내성을 평판희석법으로 MIC를 측정하여 내성전달 양상을 보았다. 이때 매번 실험에서 공여균과 내성을 전달받지 않은 피전달균은 해당 선택배지에서 증식할 수 없음을 확인하였다.

Double-disk synergy test(DDST)

ESBL 생성주 검색을 위하여 cefotaxime(Ct)과 ceftazidime(Cd)에 대한 MIC가 2 μ g/ml 이상인 4주를 대상으로

로 DDST를 시행하였다. 순수 배양된 집락을 백금으로 채취한 후 0.85% NaCl 용액에 MacFarland nephelometer No. 0.5(1.5×10^8 CFU/ml)로 탁도를 맞춘 접종 균액을 면봉으로 MHA에 접종하였다. 배지의 중앙에 amoxicillin/clavulanic acid disk(20/10 μ g, BBL)를 놓고 가장자리로부터 2 cm가 되는 곳에 30 μ g의 aztreonam(Az), Cd, Ct, cefoxitin(Cx) disk를 놓고 37°C에서 18시간 배양한 후 amoxicillin/clavulanic acid disk와 각 디스크 사이에서 상승작용을 나타내는 억제대의 확장현상이 5 mm 이상으로 관찰되면 양성으로 판정하였다.

Polymerase chain reaction(PCR) amplification and nucleotide sequencing

ESBL 유전자를 확인하기 위하여 DDST에 사용한 균주를 대상으로 PCR을 시행하였다. 평판배지에서 배양된 균 집락을 취하여 증류수에 희석하여 끓는 물에서 10분간 중탕하여 15,000 rpm으로 10분간 원심분리 후 PCR 반응을 위한 주형 DNA로 사용하였다. PCR 반응은 10 mM Tris-HCl(pH 8.8), 50 mM KCl, 0.1% Triton X-100, 1.5 mM MgCl₂, 0.2 mM deoxynucleoside triphosphates, 각각의 0.2 μ M primer, 1 unit Taq polymerase 및 1 μ l 주형 DNA를 첨가하여 Peltier Thermal Cycler-2000(MJ Research, USA)를 이용하여 수행하였다. *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CMY} 유전자를 확인하기 위하여 Table 1의 primer를 사용하였고, PCR 반응 조건은 초기 denaturation step을 94°C에서 5분, denaturation 반응은 94°C에서 1분, annealing 반응은 Table 1의 온도에서 1분, extension 반응은 72°C에서 1분간 시행하였고 이 반응을 총 35회 반복하였으며, final extension은 72°C에서 10분간 반응시킨 후 4°C에 보관하였으며, 증폭산물은 1% agarose gel에 전기영동하여 확인하였다 [18, 19]. 유전자의 염기서

열분석을 위하여 PCR 반응 산물을 정제한 후, 바이오닉스(Korea)에 의뢰하였다.

결 과

항균제 내성 양상 및 내성전달

공시한 가금 병원성 대장균 203주 중 extended-spectrum β -lactam 항균제에 대하여 내성인 균주는 Table 2에서와 같이 경상북도 안동시 및 울산광역시에 소재하는 육계 농장에서 각각 분리된 2주 및 1주 그리고 경상북도 영천지역 산란계농장에서 분리된 1주 등 총 4주(2.0%)로 확인되었다. 약제별로는 Az에 대해 내성인 균이 1주, Ct 및 Cx에 대해 각각 2주 그리고 Cd에 대하여는 3주가 내성을 나타내었으며 한편 cefepime에 대해서는 전 균주가 감수성을 나타내었다. 이들 내성균 4주는 대부분 tetracycline(Tc), aminoglycosides계, quinolones계, chloramphenicol, sulfisoxazole 및 trimethoprim 등의 약제에도 동시에 내성을 나타내어 모두 8제~10제 내성균주였다.

이들 균주를 대상으로 약제내성 전달성 여부를 알아보기 위해 *E. coli* RG488 및 *E. coli* J53을 피전달균으로 하여 접합에 의한 내성전달시험을 실시한 결과 Table 2에서와 같은 결과를 얻었다. Az, Cd, Ct 및 Cx 등의 cephalosporin계제의 내성은 모두 접합을 통하여 plasmid를 매개로 하여 피전달균에 전달되었고, tranconjugant에서 이들 약제에 대한 MIC는 대부분 공여균의 MIC와 같거나 더 높게 나타났다. 그 외 Tc, ampicillin 및 streptomycin 등이 주로 전달되는 것을 확인하였다.

DDST를 통한 ESBL 생산균주의 검출

ESBL 산생주 검색을 위하여 Cd 및 Ct에 대한 최소발육저지농도가 2 μ g/ml 이상인 4주와 이들 균주의

Table 1. The list of sequence of primers used in this study

Primer	Temp* (°C)	Nucleotide sequence (5'-3')	Aplmicon size (bp)
CTX-M-2-S	58	5'-TTAATGATGACTCAGAGCATTC-3'	901
CTX-M-2-AS		5'-GATACCTCGCTCCATTATTG-3'	
CTX-M-3-S	55	5'-CGT CAC GCT GTT GTT AGG AA-3'	780
CTX-M-3-AS		5'-ACG GCT TTC TGC CTT AGG TT-3'	
CTX-M-9-S	50	5'-TAT TGG GAG TTT GAG ATG GT-3'	932
CTX-M-9-AS		5'-TCC TTC AAC TCA GCA AAA GT-3'	
SHV-S	55	5'-TGG TTA TGC GTT ATA TTC GCC-3'	865
SHV-AS		5'-GGT TAG CGT TGC CAG TGC T-3'	
CMY-1-S	60	5'-GAG CAG ACC CTG TTC GAG AT-3'	846
CMY-1-AS		5'-GAT TGG CCA GCA TGA CGA TG-3'	
CMY-2-S	60	5'-TGG CCD GAA CTG ACA GGC AAA-3'	462
CMY-2-AS		5'-TTT CTC CTG AAC GTG GCT GGC-3'	

*Annealing temperature used for PCR.

Table 2. Phenotypic and genotypic characteristics of *E. coli* strains producing extended-spectrum β -lactamase

Strain or transconjugant	Location	Breed	MIC (μ g/ml)				Resistance pattern	DDST [†]	<i>bla</i> gene detected
			Az*	Cd	Ct	Cx			
VE56	Ulsan	Broiler	32	32	64	8	TcSmApCtAzCdCiNa	+	<i>bla</i> _{CTX-M-15}
pVE561			32	32	128	4	SmApCtAzCd	+	<i>bla</i> _{CTX-M-15}
VE202	Yeong-cheong	Layer	8	8	64	4	TcSmSuApCtTpKmGmNa	+	<i>bla</i> _{CTX-M-15}
pVE2021			8	4	128	4	TcSmApCt	+	<i>bla</i> _{CTX-M-15}
VE125	Andong	Broiler	4	32	8	64	CmTcSmSuApCxCdTpCiNa	-	<i>bla</i> _{CMY-2}
pVE1251			4	32	4	64	ApCxCd	-	<i>bla</i> _{CMY-2}
VE126	Andong	Broiler	4	32	8	64	CmTcSmSuApCxCdTpCiNa	-	<i>bla</i> _{CMY-2}
pVE1261			4	32	4	64	ApCxCd	-	<i>bla</i> _{CMY-2}

*Ap, ampicillin; Az, aztreonam; Cd, ceftazidime; Ct, cefotaxime; Cx, cefoxitin; Km, kanamycin; Gm, gentamicin; Cm, chloramphenicol; Tc, tetracycline; Sm, streptomycin; Su, sulfisoxazole; Tp, trimethoprim; Na, nalidixic acid; Ci, ciprofloxacin.

[†]DDST : double disk synergy test.

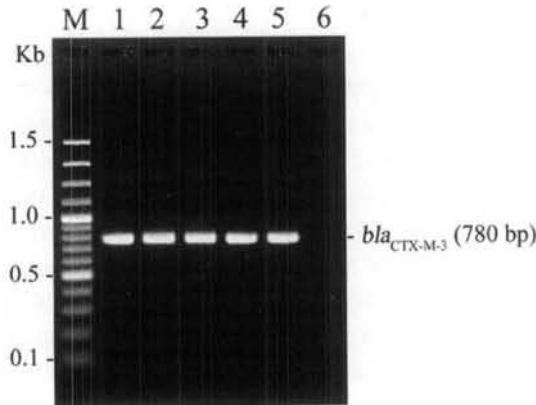


Fig. 1. PCR for detecting β -lactamase gene (*bla*_{CTX-M-3}). Lanes : M, 100 bp DNA ladder plus (Fermentas); 1, VE56; 2, pVE561; 3, VE202; 4, pVE2021; 5, positive control for *bla*_{CTX-M-3}; 6, negative control.

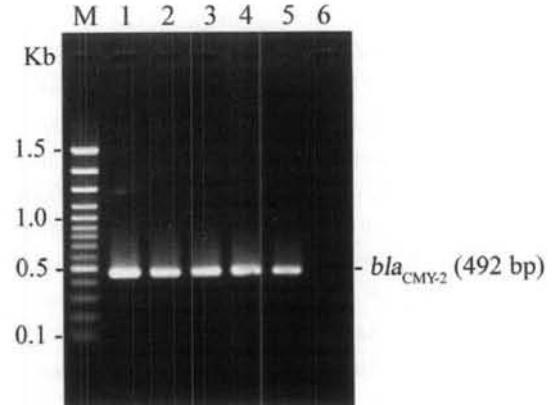


Fig. 2. PCR for detecting β -lactamase gene (*bla*_{CMY-2}). Lanes : M, 100 bp DNA ladder plus (Fermentas); 1, VE125; 2, pVE1251; 3, VE126; 4, pVE1261; 5, positive control for *bla*_{CMY-2}; 6, negative control.

transconjugant 4주를 대상으로 DDST를 실시한 결과 Ct에 대해 비교적 내성이 높은 VE56(울산 육계 유래균)과 VE202(영천 산란계 유래균) 및 이들 균의 transconjugant는 amoxicillin/clavulanic acid disk와 Az, Cd, Ct 및 Cx disk 사이에서 각각 항균작용이 상승된 억제환이 5 mm 이상으로 확인되어 양성반응을 나타낸 반면, Cx에 비교적 내성이 높은 VE125(안동 육계 유래균), VE126(안동 육계 유래균) 및 이들 균의 transconjugant는 음성반응을 나타내었다.

ESBL 유전자 검출

DDST를 실시한 균주 및 이들 균의 transconjugant를 대상으로 ESBL 유전자를 검출한 결과는 Fig. 1 및 Fig. 2에서와 같다. *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV} 및 *bla*_{CMY}에 암호화하는

primer를 이용하여 PCR를 실시한 결과 VE56와 VE202는 모두 780 bp에서 분획이 확인되어 *bla*_{CTX-M-3} group 유전자가 검출되었고, 이들 균의 transconjugant 2주에서도 공여균과 동일한 ESBL 유전자가 검출되었다. 이들 *bla*_{CTX-M-3} group 유전자의 염기서열을 분석한 결과 최종적으로 모두 *bla*_{CTX-M-15}로 확인되었다.

한편, VE125 및 VE126은 공시한 다른 cephalosporin계 항균제와 비교하여 Cx에 대한 MIC가 높게 나타난바, Cx에 대한 내성을 발현하는 class C β -lactamase를 생산할 것으로 추정하여 *bla*_{CMY-2}에 암호화하는 primer를 이용하여 PCR을 실시한 결과 462 bp에서 분획이 확인되어 *bla*_{CMY-2} 유전자를 검출하였으며, 이들의 transconjugant 2주에서도 모두 공여균과 동일한 ESBL 유전자를 보유하고 있는 것으로 확인되었다.

고 찰

식용동물인 가금에서 분리한 병원성 대장균 203주를 공시하여 인의에서 흔히 사용하고 있는 extended-spectrum β -lactam 항균제에 내성을 나타내는 균주(4주)의 ESBL 생성 여부 및 R plasmid를 통한 ESBL gene의 전달시험을 실시한 결과 CTX-M-15와 CMY-2 type의 ESBL을 생성하는 균주가 각각 2주이었으며, 이들 ESBL 생성을 코딩하는 유전자는 R plasmid를 통하여 전달됨을 확인하였다.

세계적으로 사람 유래균에서 가장 빈번하게 출현하는 ESBL은 SHV-5 등이었으나, 최근 CTX-M type ESBL을 생산하는 균주가 서유럽, 남아메리카, 아시아 등에서 빈번하게 검출되었으며, 전 세계적으로 확산되고 있는 추세이다 [5, 6, 8, 12, 14, 18, 19, 32].

국내에서의 ESBL 연구는 주로 사람 유래 대장균, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii* 및 *Serratia marcescens* 등의 장내세균에서 이루어졌으며, 빈번하게 출현하는 ESBL은 TEM-52, SHV-12와 SHV-2a이었으나 [16, 17, 25], 최근에는 CTX-M enzyme 및 CMY-2 등의 출현이 보고되고 있다 [3, 18, 19, 24]. Pai 등 [24]이 2001년에 사람 유래 *Shigella sonnei*, *K. pneumoniae* 및 대장균에서 CTX-M-14를 분리 보고하였고, 그 이후 이 등 [3]이 국내 대학병원 환자의 노에서 분리된 대장균에서 TEM과 CTX-M-3를 포함한 7종의 ESBL을 분리 보고하였다. 또한 2005년에 Kim 등 [18, 19]은 대학병원에서 분리한 대장균과 *K. pneumoniae*에서 SHV-12와 CTX-M-3, CTX-M-9, CTX-M-14 및 CTX-M-15 등 다양한 CTX-M 형이 가장 빈번하게 나타났고, 국내에서 처음으로 plasmid-mediated AmpC β -lactamase인 ACT-1, CMY-2의 출현을 보고하였다.

위와 같이 최근 우리나라를 포함한 세계 여러 나라에서 사람에게 있어서 새롭게 문제시되고 있는 CTX-M type ESBL과 국내에서는 2005년에 처음으로 분리 보고된 CMY-2가 가금 유래 병원성 대장균에서도 검출됨을 본 연구 결과에서 확인할 수 있었다.

한편, 국립수의과학검역원에서는 「국가 항생제 내성 안전관리 사업」의 일환으로 2003년부터 2006년까지 질병에 이환된 소, 돼지 및 개의 분변에서 분리한 대장균의 제3세대 cephalosporin계 약제에 대한 내성을 조사한 결과 408주중 4주(1.0%)가 내성을 나타내었고, 이들 내성균주는 소에서 2주, 돼지 및 개에서 각각 1주씩 분리되었다. 이들 내성균 4주의 ESBL 유전자의 검사 결과 모두 *bla*_{CTX-M} type 유전자를 보유하고 있는 것으로 보고하여 축종은 다르지만 본 연구에서와 유사한 ESBL 유전자를 보유하고 있는 것으로 나타났다 [2]. 또한 이 등

[4]은 2006년에 도축장에서 돼지 분변 및 소의 내장과 분변으로 ESBL 생산 균주를 분리한 결과 돼지 분변에서만 TEM-52를 생산하는 *K. pneumoniae* 8주 및 SHV-12를 생산하는 대장균 2주를 분리 보고하여 본 결과와는 상당한 차이를 보였다.

한편 일본에서는 최근 소, 돼지 및 닭 등 건강한 식용동물에서 분리한 대장균의 cephalosporin계 항균제에 대한 내성을 조사한 결과 육계에서만 18주의 cefazolin 내성균이 확인되었다 [20]. 이들 균주 중 6주는 CTX-M type, 8주는 CMY-2 type의 ESBL을 생산하는 것으로 보고하여 본 연구 결과와 거의 일치하였으며 일본과 우리나라의 가금유래 대장균에서 비슷한 ESBL 유전자가 분포하고 있는 것을 알 수 있었다.

내성균주가 ESBL을 생산하는 기전 중 세균 간의 ESBL 유전자 전달은 대부분이 clonal spread인 것으로 알려져 있지만, 최근에 plasmid에 의해서도 다른 균에 쉽게 전달되는 것으로 보고되었다 [3, 13, 16, 18, 25]. 본 연구에서도 ESBL 유전자가 울산의 육계와 영천의 산란계에서 분리된 야의 분리주와 이들의 transconjugant에서 동일하게 *bla*_{CTX-M-15}가 확인되었고, 안동의 육계에서 분리된 야의균주와 이들의 transconjugant 모두 *bla*_{CMY-2}가 검출된 결과로 보아 ESBL 유전자의 전달은 접합에 의해 plasmid를 매개로 쉽게 전달되는 것이 확인되었다.

한편, 이 등 [3]은 사람 유래 TEM 유전자가 plasmid를 매개로 동물 분리주 대장균에 전달되는 것으로 보고하여 사람과 동물유래 분리주 사이의 ESBL 유전자 전달은 cephalosporin계 항균제에 대한 내성 확산 문제를 시사하고 있다.

ESBL 유전자를 보유한 plasmid의 크기는 비교적 커서 다른 여러 항균제의 내성 유전자도 함께 보유하고 있어 세균 감염증의 치료제 선택에 상당한 어려움이 있는 것으로 알려져 있다 [15, 26, 27]. 본 연구 결과에서도 ESBL 유전자를 보유하고 있는 분리주 4주 모두가 aminoglycoside계 및 quinolone계 등 8-10제에 동시에 내성을 나타내는 다제내성 균주임을 확인할 수 있었다.

이상에서 살펴본 바와 같이 사람의 병원성 세균 감염에서 중요한 문제가 되고 있는 *bla*_{CTX-M-15} 및 *bla*_{CMY-2} 유전자가 가금 병원성 대장균에서 검출된 것은 plasmid를 매개로 사람 병원성 세균에 이들 ESBL 유전자를 쉽게 전달하여 세균 감염증 치료에 어려움을 초래할 수 있다. 따라서 가금에 있어서 ESBL 유전자 및 이들 유전자를 전달하는 R plasmid에 대한 모니터링이 체계적으로 신속하게 이루어져야 하며 더 나아가 다른 식용동물과 사육 환경 등에 대해서도 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

결 론

2003년 4월부터 2005년 12월 까지 국내 가금 농장에서 분리한 가금 병원성 대장균을 대상으로 ESBL 생성 균주의 발생을 파악하고 ESBL 유전자의 특성을 조사하고자 본 연구를 실시하였다.

Double disk synergy test, polymerase chain reaction 및 유전자 염기서열분석을 이용하여 공시균 203주 중 4주 (육계유래 3주 및 산란계유래 1주)가 ESBL 생성 균주로 확인되었다. 이들 4주에서 *bla*_{CTX-M-15} gene 및 *bla*_{CMY-2} gene이 검출되었으며 이 ESBL 유전자들은 접합에 의해 피전달균에 전달되었다. 또한 ESBL 생산 균주는 모두가 8-10제에 내성을 가진 다제내성균이었다. 이상의 시험결과 가금 병원성 대장균에서 사람의 병원성 세균에서 중요한 문제가 되고 있는 CTX-M 및 CMY-2 β -lactamase가 검출됨에 따라 앞으로 가금에 있어서 ESBL 유전자 및 이들 유전자를 전달하는 R plasmid에 대한 모니터링이 체계적으로 신속하게 이루어져야 할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. 성명숙, 김진현, 하중수, 조재근, 설성용, 김기석. 가금 유래 병원성대장균의 생화학적 성상 및 혈청형. 대한수의학회지 2008, 48, 145-151.
2. 식품의약품안전청. 축산 항생제내성 및 항생제 사용 실태 조사. 식품의약품안전청, 서울, 2007.
3. 이계남, 김우주, 이연희. 국내 대학병원에서 분리된 *Escherichia coli*의 Extended-spectrum β -Lactamase (ESBL) 현황. 미생물학회지 2004, 40, 295-301.
4. 이훈구. 부산 도축장에서 분리된 광범위 베타 락탐 분해효소(Extended-Spectrum β -Lactamase, ESBL) 생성 장내세균의 형질분류. 미생물학회지 2006, 42, 125-130.
5. 石井良和. 基質特異性擴張型 β 락탐마제(ESBL) 생산균. 모던메디아 2007, 53, 8-14.
6. Bonnet R. Growing group of extended-spectrum β -lactamases: the CTX-M enzymes. Antimicrob Agents Chemother 2004, 48, 1-14.
7. Bou G, Oliver A, Martínez-Beltrán J. OXA-24, a novel class D β -lactamase with carbapenemase activity in an *Acinetobacter baumannii* clinical strain. Antimicrob Agents Chemother 2000, 44, 1556-1561.
8. Bradford PA. Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: Characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin Microbiol Rev 2001, 14, 933-951.
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. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrob Agents Chemother 1995, 39, 1211-1233.
11. Danel F, Hall LM, Gur D, Akalin HE, Livermore DM. Transferable production of PER-1 β -lactamase in *Pseudomonas aeruginosa*. J Antimicrob Chemother 1995, 35, 281-294.
12. De Champs C, Sirot D, Chanal C, Bonnet R, Sirot J. A 1998 survey of extended-spectrum β -lactamases in *Enterobacteriaceae* in France. The french study group. Antimicrob Agents Chemother 2000, 44, 3177-3179.
13. Gniadkowski M, Palucha A, Grzesiowski P, Hryniewicz W. Outbreak of ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* in a pediatric hospital in Warsaw, Poland: clonal spread of the TEM-47 extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing strain and transfer of a plasmid carrying the SHV-5-Like ESBL-encoding gene. Antimicrob Agents Chemother 1998, 42, 3079-3085.
14. Gniadkowski M, Schneider I, Palucha A, Jungwirth R, Mikiewicz B, Bauernfeind A. Cefotaxime-resistant *Enterobacteriaceae* isolates from a hospital in Warsaw, Poland: identification of a new CTX-M-3 cefotaxime-hydrolyzing β -lactamase that is closely related to the CTX-M-1/MEN-1 enzyme. Antimicrob Agents Chemother 1998, 42, 827-832.
15. Jeong SH, Bae IK, Kwon SB, Lee JH, Jung HI, Song JS, Jeong BC, Kim SJ, Lee SH. Investigation of extended-spectrum β -lactamases produced by clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Korea. Lett Appl Microbiol 2004, 39, 41-47.
16. Jeong SH, Bae IK, Lee JH, Sohn SG, Kang GH, Jeon GJ, Kim YH, Jeong BC, Lee SH. Molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamases produced by clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* from a Korean nationwide survey. J Clin Microbiol 2004, 42, 2902-2906.
17. Kim J, Kwon Y, Pai H, Kim JW, Cho DT. Survey of *Klebsiella pneumoniae* strains producing extended-spectrum beta-lactamases: prevalence of SHV-12 and SHV-2a in Korea. J Clin Microbiol 1998, 36, 1446-1449.

18. **Kim J, Lim YM, Jeong YS, Seol SY.** Occurrence of CTX-M-3, CTX-M-15, CTX-M-14, and CTX-M-9 extended-spectrum β -lactamases in enterobacteriae clinical isolates in Korea. *Antimicrob Agents Chemother* 2005, **49**, 1572-1575.
19. **Kim J, Lim YM, Rheem I, Lee Y, Lee JC, Seol SY, Lee YC, Cho DT.** CTX-M and SHV-12 β -lactamases are the most common extended-spectrum enzymes in clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* collected from 3 university hospitals within Korea. *FEMS Microbiol Lett* 2005, **245**, 93-98.
20. **Kojima A, Ishii Y, Ishihara K, Esaki H, Asai T, Oda C, Tamura Y, Takahashi T, Yamaguchi K.** Extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* strains isolated from farm animals from 1999 to 2002: report from the Japanese veterinary antimicrobial resistance monitoring program. *Antimicrob Agents Chemother* 2005, **49**, 3533-3537.
21. **Livermore DM.** β -lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* 1995, **8**, 557-584.
22. **Naas T, Nordmann P.** OXA-type β -lactamases. *Curr Pharm Des* 1999, **5**, 865-879.
23. **National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).** Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved standard. 6th ed. NCCLS document M7-A6. NCCLS, Villanova, 2003.
24. **Pai H, Choi EH, Lee HJ, Hong JY, Jacoby GA.** Identification of CTX-M-14 extended-spectrum β -lactamase in clinical isolates of *Shigella sonnei*, *Escherichia coli*, and *Klebsiella pneumoniae* in Korea. *J Clin Microbiol* 2001, **39**, 3747-3749.
25. **Pai H, Lyu S, Lee JH, Kim J, Kwon Y, Kim JW, Choe KW.** Survey of extended-spectrum β -lactamases in clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: prevalence of TEM-52 in Korea. *J Clin Microbiol* 1999, **37**, 1758-1763.
26. **Philippon A, Arlet G, Jacoby GA.** Plasmid-determined AmpC-type β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2002, **46**, 1-11.
27. **Stürenburg E, Mack D.** Extended-spectrum beta-lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory, therapy, and infection control. *J Infect* 2003, **47**, 273-295.
28. **Tabatabaei RR, Nasirian A.** Comparison of plasmid profile analysis, serotyping and antimicrobial resistance patterns of *E. coli* isolated from poultry in Tehran. *Food Sci Biotechnol* 2004, **13**, 100-103.
29. **Voogd CE, Schot CS, van Leeuwen WJ, van Klingeren B.** Monitoring of antibiotic resistance in *Shigellae* isolated in the Netherlands 1984-1989. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992, **11**, 164-167.
30. **World Health Organization (WHO).** The medical impact of antimicrobial use in food animals. In: Report of a WHO meeting. WHO, Geneva, 1997.
31. **World Health Organization (WHO).** Use of quinolones in food animals and potential impact on human health. In: Report of a WHO Meeting. WHO, Geneva, 1998.
32. **Yan JJ, Ko WC, Tsai SH, Wu HM, Jin YT, Wu JJ.** Dissemination of CTX-M-3 and CMY-2 β -Lactamases among Clinical isolates of *Escherichia coli* in Southern Taiwan. *J Clin Microbiol* 2000, **38**, 4320-4325.
33. **Zhou XY, Bordon F, Sirot D, Kitzis MD, Gutmann L.** Emergence of clinical isolates of *Escherichia coli* producing TEM-1 derivatives or an OXA-1 β -lactamase conferring resistance to β -lactamase inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother* 1994, **38**, 1085-1089.