

야생조류 유래 대장균의 항생제 감수성 및 plasmid profile

곽현정¹, 이우원, 김잡환, 정경태, 우병길, 이강록, 이동수

부산광역시 보건환경연구원
(접수 2005. 12. 28. 게재승인 2006. 3. 14)

The antimicrobial susceptibility and plasmid profile of *E coli* isolates from wild bird

Hyun-Jeong Kwak¹, Woo-Won Lee, Jam-Hwan Kim, Kyung-Tae Chung,
Byung-Gil Woo, Gang-Rok Lee, Dong-Soo Lee

Busan Metropolitan Health & Environmental Research Institute, Busan, 616-810, Korea
(Received 28 December 2005, accepted in revised from 14 March 2006)

Abstract

The present study was conducted to investigate serologic characteristics, antimicrobial resistance and plasmid profile of 79 *E. coli* isolated from faecal sample of the wild bird in Busan province (Gangseo, Saha) during the period from November 2004 to February 2005.

Many strains were positive for raffinose (63.3%), sorbitol (96.2%), sucrose (73.4%) and few strains were positive for esculin, arginine dihydrolase, ornithine decarboxylase.

Among 79 isolates, O serotypes were O55, O158, O18 and 47 strains (59.5%) were resistant to antimicrobial drugs such as tetracycline (40.5%), carbenicillin (27.8%).

15 strains showed 14 different plasmid bands composed of 1 to 6 bands. They were ranged from 1.6 to 43 kb and harbored 43 kb (11.4%), 5.3 kb (6.3%) and 11.4 kb (5.1%). Plasmid profile of 15 strains were 43 profile (2.5%), 2, 4, 43 profile (2.5%) and 5, 3, 11, 4, 43 profile (2.5%).

Key words : Wild bird, *E coli*, Serologic characteristics, Antimicrobial resistance,
Plasmid profile.

¹Corresponding author
Phone : +82-51-331-0095, Fax : +82-51-338-8266
E-mail : hjflower@busan.go.kr

서 론

국내 야생조류의 서식지로 낙동강, 천수만, 성산포 등 많은 곳이 알려져 있으며 특히 낙동강 하구는 삼각주가 발달해 있고, 줄풀과 갈대숲이 무성하며 얇은 갯벌이 형성되어 야생조류의 번식지로 안성맞춤이다.

최근들어 야생조류는 가끔 및 사람에게 각종 질병을 매개하는 전염원으로 인식되고 있어 그에 대한 연구에 많은 관심을 가지고 있다. 야생조류의 분변에서 고병원성 avian influenza virus가 관찰되어 가끔 및 사람을 위협하고 있으며¹⁾, 비둘기 유래 newcastle virus가 평의 장에서 분리된 바 있다²⁾. 또한 야생조류의 분변에서 *Salmonella* spp, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens* 등 장내 병원성 세균이 다소 검출되고³⁾, 비둘기의 장내용물에서 verotoxin 생산 대장균이 분리⁴⁾되는 등 가끔 및 사람의 질병과 관련하여 야생조류는 중요한 전염 매개체로 추정되고 있다.

대장균은 동물과 사람의 장내 및 자연환경에 광범위하게 분포되어 있으며 Gram 음성의 lactose를 분해하는 짧은 간균으로 통성 혐기성 세균으로 알려져 있다. 1885년 Theodor Escherich가 처음으로 대장균을 분리하여 *Escherichia coli*로 명명하였고⁵⁾, 1893년 Jensen이 송아지 설사증의 원인이 대장균이라는 것을 보고한 이후 enterotoxin, pili 항원, R plasmid 등 대장균의 병원성 인자들이 주요 연구대상이 되고 있다⁶⁾. 국내에서도 이들 대장균이 음수나 축산식품에 오염되어 식중독과 설사증을 유발할 위험성이 높아 사람을 비롯하여 소, 돼지 등 가축을 대상으로 많은 연구가 보고된 바 있다⁷⁻⁹⁾.

대장균에 의한 감염증으로 의학분야에서는 급성위장염 및 콜레라성 설사, 이질증후군, 유아 수막염 및 패혈증, 요로 감염증 등을 일으키고⁷⁾, 수의학 분야에서는 송아지의 패혈증 및 설사, 자돈의 설사 및 부종병, 자양의 패혈증 및 설사, 병아리의 패혈증 등을 일으키며

조류에서는 주로 호흡기 감염에 의한 급성 패혈증, 심낭염, 수란관염, 복막염 등을 일으켜 축산업에 큰 경제적 손실을 초래하는 것으로 알려져 있다¹⁰⁾.

최근 들어 동물의 질병치료 및 예방을 목적으로 사용되는 항생물질의 오·남용으로 인한 내성균의 출현으로 질병치료에 많은 어려움을 겪고 있고 항생제에 노출의 기회가 거의 없는 야생조류에서도 내성균이 분리되는 등 이들에 대한 연구가 요구되어지고 있다. 또한 현재까지 국내에서 각종 동물유래 병원성 대장균에 관한 연구는 많이 보고되었으나 야생조류에 대한보고는 거의 없는 실정이다. 야생조류는 이동이 용이하여 한반도 주변의 국가로부터 질병 유입의 가능성이 높고 국내 가축 및 사람에게 질병의 중요한 매개체로 작용할 수 있다.

따라서 저자는 역학조사의 일환으로 야생조류에서 분리한 대장균주의 몇가지 특성을 조사코자 부산일대 낙동강하류에서 서식하는 야생조류의 분변을 채취하고 각종 생화학적 성장시험에 의해 대장균으로 동정한 분리균에 대하여 항균제에 대한 내성을 검사하여 내성균의 출현빈도와 내성양상을 시험하고, plasmid DNA의 성상을 전기영동법으로 조사하여 항균제 내성과 비교한바 얻은 성적들을 보고하는 바이다.

재료 및 방법

공시 재료 및 동정 시험

2004년 11월부터 2005년 2월까지 부산근교 낙동강 하류에서 서식중인 야생조류의 분변을 17회에 걸쳐 채취하여 균 분리 재료로 사용하였다. 균 분리는 먼저 동량의 멸균 생리식염수에 부유시켜 MacConkey agar (Difco, USA)에 접종하여 37°C에서 24시간 배양한 후 lactose를 분해하는 집락을 선정하여 triple sugar iron agar 시험, IMViC 시험을 거쳐

대장균과 성상이 유사한 균주를 대상으로 미생물분리동정기 (VITEK, France)에서 acetamide, arginine dihydrolase, esculin hydrolysis, adonitol, inositol, malonate 분해 등 29종의 생화학적 성상시험을 실시하여 대장균을 동정하였다.

항균제감수성 시험

분리한 대장균에 대한 항균제 감수성 시험은 Bauer 등¹¹⁾의 disc diffusion method에 의해 실시하였다. 대장균은 tryptic soy broth (TSB; Difco, USA)에 접종하고 37°C에서 24시간 증균시킨 후 McFarland No. 0.5의 농도와 일치시킨 것을 Mueller Hinton agar (Merck, Germany) plate에 도말하여 항균제 disc (BBL, USA)를 접종한 후 37°C에서 18~24시간 배양한 다음 disc 주위 억제대를 측정하여 항균제에 대한 감수성 유무를 결정하였다.

항균제는 amikacin (30 µg), amoxicillin (30 µg), ampicillin (10 µg), carbenicillin (100 µg), cephalothin (30 µg), chloramphenicol (30 µg), colistin (10 µg), doxycycline (30 µg), gentamicin (10 µg), kanamycin (30 µg), nalidixic acid (30 µg), neomycin (30 µg), streptomycin (10 µg), tetracycline (30 µg), trimethoprim / sulfamethoxazole (23.75/1.25 µg) 등 15종을 시험에 사용하였다.

Plasmid DNA 분리 시험

대장균의 plasmid profile을 조사하기 위하여 Sambrook 등¹²⁾의 alkaline lysis method로 plasmid를 분리하였다. 균체를 TSB에 접종하여 37°C에서 18시간 진탕 배양한 다음 배양액 1.5 ml를 원심분리 (15,000 rpm, 5분)하여 얻은 균체에 solution I (50 mM glucose, 10 mM EDTA, 25 mM TrisCl, pH 9.0, 4 mg/ml lysozyme) 100 µl를 가하고 실온에서 5분간 방치하였다. 여기에 solution II (0.2 N NaOH, 1% SDS) 200 µl를 가하여 얼음 속에

5분간 방치하고 solution III (3 M potassium acetate, pH 4.8) 150 µl를 넣어 다시 얼음 속에 10분간 방치한 후 원심분리하였다. 상층액에 동량의 TE saturated phenol/chloroform을 가하고 원심분리하여 얻은 상층액을 두 배 용량의 ethanol을 가하여 실온에서 10분간 방치한 후 원심분리하여 DNA를 침전하였다. DNA pellet은 70% cold ethanol로 세척하고 실온에서 10분간 방치한 후 TE buffer (pH 8.0) 50 µl로 용해하였다. 대장균으로부터 분리한 plasmid는 Mayer 등¹³⁾의 방법에 따라 loading buffer (30% glycerol, 50 mM EDTA, 0.025% bromopenol blue in 50 mM Tris-HCl, pH 8.5)와 2:1로 혼합하여 0.8% agarose gel (Difco, USA)상에 loading 하고 TBE (89 mM Trise base, 89 mM boric acid, 2 mM EDTA, pH 8.0) 완충액에서 90 V로 4시간 동안 전기영동을 실시하였다. 영동 후 agarose gel은 0.5 µl/ml의 ethidium bromide (Gibco, USA) 용액에 담근 후 UV transilluminator (Hoefer, USA)를 사용하여 plasmid를 확인하였다.

결 과

분리의 생화학적 성상

분리된 대장균 79주에 대하여 생화학적 성상 시험을 실시한 결과는 Table 1에서와 같이 acetamide, arginine dihydrolase, citrate, DP-300 resistance, esculin hydrolysis, malonate, ornithine decarboxylase, polymyxin B resistance, Voges-Proskauer 시험에서는 모두가 음성이었으며, H₂S 산생시험에서는 3주 (3.8%), urea hydrolysis 시험에서는 5주 (6.3%)가 양성반응을 나타내었다. 또한 이들 분리균은 indole 산생시험, methyl red 시험에서는 모두가 양성반응을 나타내었고 P-coumaric resistance 시험에서는 76주 (96.2%)가 양성이었으며 lysine decarboxylase 시험에서는 68주 (86.1%)가 양성반응을 나타내었다.

Table 1. Biochemical characteristics of 79 cultures of *E. coli* isolated from wild birds

Characteristics	Positive culture		Characteristics	Positive culture	
	No.	%		No.	%
Acetamide	0	0.0	Malonate	0	0.0
Arginine dihydrolase	0	0.0	Methyl red	79	100.0
Citrate	0	0.0	Ornithine decarboxylase	0	0.0
DP-300 resistance	0	0.0	P-coumaric resistance	76	96.2
Esculin hydrolysis	0	0.0	Polymyxin B resistance	0	0.0
H ₂ S	3	3.8	Urea hydrolysis	5	6.3
Indole	79	100.0	Voges Proskauer	0	0.0
Lysine decarboxylase	68	86.1			

당분해 시험은 Table 2에서 보는 바와 같이 indoxyl-β-D-glucoside oxidation, inositol 시험에서는 모두가 음성이었고, adonitol 시험에서는 1주 (1.3%)가 음성반응을 나타내었다. Glucose, lactose, L-arabinose, man-nitol, ONPG hydrolysis 시험에서는 모두가 양성반응

을 나타내었고, maltose 시험에서는 78주 (98.7%), sorbitol 및 xylose 시험에서는 각각 76주 (96.2%)가 양성이었으며 raffinose 시험에서는 50주 (63.3%), rhamnase 시험에서는 69주 (87.3%), sucrose 시험에서는 58주 (73.4%)가 양성으로 나타났다.

Table 2. Carbohydrate fermentation of 79 cultures of *E. coli* isolated from wild birds

Characteristics	Positive culture		Characteristics	Positive culture	
	No.	%		No.	%
Adonitol	1	1.3	Mannitol	79	100.0
Glucose	79	100.0	ONPG hydrolysis	79	100.0
Indoxyl-β-D-glucoside oxidation	0	0.0	Raffinose	50	63.3
Inositol	0	0.0	Rhamnase	69	87.3
Lactose	79	100.0	Sorbitol	76	96.2
L-arabinose	78	100.0	Sucrose	58	73.4
Maltose		98.7	Xylose	76	96.2

분리균주의 항균제감수성

야생조류에서 분리된 대장균 79주에 대한 항균제 감수성 시험 결과 Table 3에서 보는 바와 같이 tetracycline에 내성인 균이 32주 (40.5%)로 가장 많았으며, carbenicillin 22주 (27.8%), doxycycline 17주 (21.5%) 등이 비교적 높은 내성을 나타내었고 ampicillin 7주 (8.9%), streptomycin 4주 (5.1%), cephalothin 3주 (3.8%), nalidixic acid 3주 (3.8%), trime-

thoprim/sulfamethoxazole 2주 (2.5%), chloramphenicol 1주 (1.3%) 등은 낮은 내성을 나타내었다. 또한 amikacin, amoxicillin, colistin, gentamicin, kanamycin, neomycin 등은 79주 모두가 내성을 나타내지 않았다.

분리균의 각종 약제에 대한 내성양상을 조사한 결과 Table 4에서 보는 바와 같이 47주 (59.5%)가 1종 또는 그 이상의 약제에 대하여 내성을 나타내었으며 나머지 32주 (40.5%)는 공시한 15종 약제 모두에 대하여 감수성을

나타내었다. 내성균의 내성유형은 17종으로 나타났으며 이중 carbenicillin 및 tetracycline 1종 내성균이 각각 12주 (15.2%)로 가장 많았으며 다음으로 doxycycline, tetracycline 2종 내성균은 6주 (7.6%), doxycycline 1종내성균, doxycycline, strepto-mycin, tetracycline 3종 내성균 및 ampicillin, carbenicillin, doxycycline, tetracycline 4종내성균이 각각 2주 (2.5%)씩 나타났으며, 그 외에 내성유형을 나타낸 균은 각각 1주씩 관찰되었다. 한편으로 시험한 15종 약제 중 5종이상의 약제에 내성을 가진 다제내성균은 3주 (3.8%)로 매우 낮게 나타났다.

Table 3. Antimicrobial resistance of 79 cultures of *E coli* isolated from wild birds

Drugs	Resistant isolates	
	No.	%
Amikacin (AN)	0	0.0
Amoxicillin (AmC)	0	0.0
Ampicillin (AM)	7	8.9
Carbenicillin (CB)	22	27.8
Cephalothin (CF)	3	3.8
Chloramphenicol (C)	1	1.3
Colistin (CL)	0	0.0
Doxycycline (D)	17	21.5
Gentamicin (GM)	0	0.0
Kanamycin (K)	0	0.0
Nalidixic acid (NA)	3	3.8
Neomycin (N)	0	0.0
Streptomycin (S)	4	5.1
Tetracycline (Te)	32	40.5
Trimethoprim/sulfa-methoxazole (SXT)	2	2.5

Plasmid profiles

야생조류에서 분리된 대장균 79주의 plasmid profile은 Fig 1 및 Table 5에서 보는 바와 같다. 시험균 중 15주 (19.0%)에서만 1.

6~43 kb 크기의 다양한 band를 나타내었으며 64주 (81.0%)에서는 plasmid가 분리되지 않았다. Plasmid band는 43 kb를 가진 균이 9주 (11.4%)로 가장 많았으며 다음으로 5.3kb 5주 (6.3%), 11.4 kb 4주 (5.1%), 2.4 kb가 3주 (3.8%)의 순으로 나타났다. 또한 41 kb, 34 kb, 16 kb, 3.3 kb를 가진 균이 각각 2주 (2.5%), 그리고 10.6 kb, 7.8 kb, 7.1 kb, 4.8 kb, 2.7 kb, 1.6 kb를 가진 균이 각각 1주 (1.3%)로 나타났다.

Plasmid profile은 15주 (19.0%)에서 1~6개의 band를 보유한 12종으로 분류되었으며 이들 중 43 profile, 2.4, 43 profile, 5.3, 11.4, 43 profile을 나타낸 것이 각각 2주 (2.5%)씩 관찰되었다.

Table 4. Antimicrobial resistant patterns of 79 cultures of *E coli* isolated from wild birds

Resistant patterns	Resistant strains	
	No.	%
CB*	12	15.2
D	2	2.5
NA	1	1.3
Te	12	15.2
CB, Te	1	1.3
CF, Te	1	1.3
D, Te	6	7.6
AM, CB, Te	1	1.3
CB, CF, Te	1	1.3
CB, D, Te	1	1.3
D, Te, SXT	1	1.3
D, S, Te	2	2.5
AM, CB, CF, Te	1	1.3
AM, CB, D, Te	2	2.5
AM, CB, D, Te, SXT	1	1.3
AM, CB, C, D, NA, S, Te	1	1.3
AM, CB, D, GM, NA, S, Te	1	1.3
No resistance	32	40.5
Total	79	100.0

* Abbreviations for drugs : See footnote at Table 3.

Table 5. Plasmid profile of 79 cultures of *E. coli* isolated from wild birds

Plasmid profile (kb)	Strains	
	No.	%
1.6	1	1.3
3.3	1	1.3
5.3	1	1.3
43	2	2.5
2.4 ; 43	2	2.5
34 ; 41	1	1.3
34 ; 43	1	1.3
2.4 ; 5.3 ; 11.4	1	1.3
5.3 ; 11.4 ; 43	2	2.5
7.1 ; 16 ; 43	1	1.3
5.3 ; 11.4 ; 41 ; 43	1	1.3
2.7 ; 3.3 ; 4.8 ; 7.8 ; 10.6 ; 16	1	1.3
No plasmid	64	81.0
Total	79	100.0

고찰

대장균은 어린 돼지나 송아지에서 장염, 조류에서 주로 호흡기 감염에 의한 급성패혈증, 심낭염, 수관관염, 복막염 등을 일으켜 축산업에 큰 경제적 손실을 초래하고 있다¹⁰⁾. 현재까지 국내에서 각종 동물유래 병원성 대장균에 관한 연구는 많이 보고되었으나 야생조류에 대한 연구는 거의 없는 실정이다.

국내 야생조류의 주요 서식지로 낙동강, 천수만, 성산포 등 많은 곳이 알려져 있으며 특히 낙동강 하구는 삼각주가 발달해 있고, 줄풀과 갈대숲이 무성하며 얇은 갯벌이 형성되어 야생조류의 번식지로 안성맞춤이다. 야생조류는 이동이 용이하여 한반도 주변의 국가로부터 질병 유입의 가능성이 높고 국내 가축 및 사람에게 질병의 중요한 매개체로 작용할 수 있다.

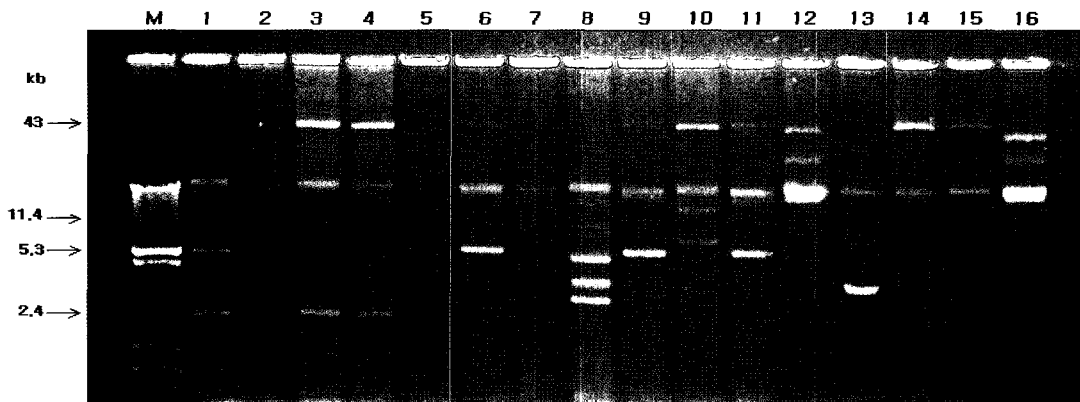


Fig 1. Plasmid profile of the 79 *E. coli* isolates.

M : λ DNA/EcoR I +Hind III (promega), lane 1~16 : *E. coli* plasmid DNA

야생조류·분변에서 분리된 대장균 79주에 대하여 생화학적 성장시험을 실시한 결과 sorbitol 96.2%, sucrose 73.4%, raffinose 63.3%, esculin 0%, arginine dihydrolase 0%, ornithine decarboxylase 0%의 양성율을 나타내어 Ewing¹⁴⁾의 *E. coli*에 대한 성장시험에서 sorbitol 81.3%, sucrose 59.2%, raffinose 51.5% 보다 높은 양성율을 나타내었고, 김 등¹⁵⁾

의 설사병에 감염된 자돈의 병원성 대장균에 대한 성장시험에서 sucrose 47.0%, raffinose 53.0% 보다 높은 양성율을 나타내었다. 한편 Ewing¹⁴⁾의 시험에서 arginine dihydrolase 55.4%, esculin 50.6%, ornithine decarboxylase 65.8%, 김 등¹⁵⁾의 시험에서 arginine dihydrolase 44.0%, ornithine decarboxylase 70.1%보다 현저히 낮은 양성율을 나타내었다.

Montgomery 등¹⁶⁾은 4일령과 7일령의 계태아에서 대장균의 치사율과 관련된 생화학적 정상시험을 연구한 결과 raffinose, rhamnose, lysine decarboxylase 양성인 대장균이 공통적으로 계태아에 높은 치사율을 나타냈으며, sorbitol, arginine dihydrolase의 특성은 계태아의 일령에 따른 치사율과는 관련이 없는 것으로 보고한 바 있다. 본 연구에서 분리된 대장균은 raffinose 양성인 균주가 63.3%로 관찰되어 닭에 전염된다면 치명적인 질병을 일으킬 수 있을 것으로 사료된다.

야생조류에서 분리된 대장균 79주에 대한 항균제내성은 47주 (59.5%)가 내성을 나타내었고, 20주 (25.3%)는 2제이상에 내성을 나타내었다. 대장균의 항생제내성 비율은 Nakamura 등¹⁷⁾은 야생조류에서 18.7%, 서 등¹⁰⁾은 비둘기에서 26.5%, Kimpe 등¹⁸⁾은 비둘기에서 대부분 약제에 내성을 나타내지 않는다고 보고하였으며, Cole 등¹⁹⁾은 야생거위에서 72.0%를 보고하였다. 본 연구 (59.5%)에서는 Nakamura 등¹⁷⁾, 서 등¹⁰⁾, Kimpe 등¹⁸⁾의 성적 보다는 높았으나 Cole 등¹⁹⁾의 성적에 비하여 낮게 나타났다.

근래들어 동물의 질병 치료 및 예방 목적으로 사용되는 항생물질의 남용과 오용으로 인한 내성균 특히 다제내성균의 출현으로 질병치료에 많은 문제를 겪고 있는데, 이것은 가축 뿐 아니라 야생조류에서도 문제가 될 것으로 사료된다. Cole 등¹⁹⁾은 야생거위의 높은 약제내성은 가축사육지가 근접한 곳에 거위가 서식하기 때문이며, 가축의 배설물, 주위 농작물, 연못에서 분리한 대장균이 모두 비슷한 약제내성을 나타내는 것은 야생거위가 가축의 배설물로 오염된 농작물 및 물을 섭취하기 때문으로 보고하였다. 본 실험에서 야생조류 유래 대장균의 높은 항균제 내성율은 야생조류의 먹이 및 주위 환경이 높은 내성율을 나타내는 대장균으로 오염되었을 것으로 사료된다.

한편 대장균 79주에 대한 항균제내성은 tetracycline에 내성인 균이 32주 (40.5%)로

가장 많았으며, carbenicillin 22주 (27.8%), doxycycline 17주 (21.5%) 등이 비교적 높은 내성을 나타내었다. 1종 또는 그 이상의 약제에 대하여 내성균 47주의 내성유형은 17종으로 나타났으며 이중 carbenicillin 및 tetracycline 1종 내성균이 각각 12주 (15.2%)로 가장 많았으며 다음으로 doxycycline, tetracycline 2종내성균이 6주 (7.6%)로 나타났다. 서 등¹⁰⁾은 비둘기 유래 대장균의 약제내성은 streptomycin 19.9%, tetracycline 18.9%으로 보고하였으며, 약제내성 유형은 streptomycin과 tetracycline 2제내성이 27.3%, streptomycin 단제내성은 20.5%의 순으로 나타났다. Cole 등¹⁹⁾은 야생거위 유래 대장균의 약제내성은 tetracycline 64.0%, streptomycin 56.0%, ampicillin 20.0%의 순으로 보고하였다.

한편 국내에서 가축의 약제내성을 연구한 정 등⁹⁾은 돼지 유래 대장균의 약제내성은 tetracycline 86.2%, streptomycin 82.8%을 보고하였고 약제내성 유형은 streptomycin과 tetracycline 2제내성이 41.0%, ampicillin, streptomycin, tetracycline 3제내성과 tetracycline 단제내성이 각각 11.5%로 나타났다. 김 등²⁰⁾은 설사증상을 나타내는 돼지, 소에서 대장균의 약제내성은 돼지가 ampicillin 95.2%, tetracycline 93.5%의 순이었으며, 약제내성 유형은 ampicillin, cephalosporin, streptomycin, tetracycline, sulfaisodimidin 내성이 24.2%, ampicillin, cephalosporin, chloramphenicol, streptomycin, tetracycline, sulfaisodimidin 내성은 11.3%로 보고하였다. 소의 약제내성은 tetracycline 90.6%, streptomycin 87.5%의 순이었으며, 약제내성 유형은 ampicillin, cephalosporin, chloramphenicol, kanamycin, neomycin, streptomycin, tetracycline, sulfaisodimidin 내성이 28.1%, ampicillin, chloramphenicol, streptomycin, tetracycline, sulfaisodimidin 내성은 12.5%로 보고하였다.

야생조류와 가축에서 유래된 대장균의 항균제내성을 비교하면 임상치료에 흔히 사용되는 tetracycline의 내성이 공통적으로 높게

나타났다. 그러나 야생조류는 약제를 접할 기회가 거의 없으므로 가축 유래 대장균으로 오염된 먹이 및 물 등을 야생조류가 섭취하는 것으로 추정된다.

야생조류에서 분리된 대장균 79주의 plasmid profile은 15주에서만 (19.0%) 1.6~43 kb 크기의 다양한 band를 나타내었으며 64주 (81.0%)에서는 plasmid가 분리되지 않았다. Plasmid band는 43 kb 9주 (11.4%), 5.3 kb 5주 (6.3%), 11.4 kb 4주 (5.1%), 2.4 kb가 3주 (3.8%)로 각각 나타났으며, 41 kb, 34 kb, 16 kb, 3.3 kb 등이 각각 2주 (2.5%) 그리고 10.6 kb, 7.8 kb, 7.1 kb, 4.8 kb, 2.7 kb, 1.6 kb 등이 각각 1주 (1.3%)의 순으로 나타났다. Plasmid profile은 15주 (19.0%)에서 1-6개의 band를 보유하고 12종으로 분류되었으며 이들 중 43 profile, 2.4, 43 profile, 5.3, 11.4, 43 profile을 나타낸 것이 각각 2주 (2.5%)로 관찰되었다. Plasmid band를 가진 15주 가운데 11주가 약제내성을 가지고 있었으나 plasmid profile과 특정 약제의 내성, band의 수와 다제내성과는 관련이 없었다.

정과 여²¹⁾는 plasmid 소실실험을 통해 penicillin G, erythromycin, sulfamethoxazole 내성은 소실되지 않으며 tetracycline, ampicillin, chloramphenicol, streptomycin, erythromycin, spectinomycin 내성은 소실되거나 잔존함을 조사하였다. 전자는 plasmid DNA가 transconjugant의 염색체 DNA에 삽입되어 내성을 나타낸 것으로 보이며 후자는 plasmid DNA가 염색체 DNA에 삽입되거나 R-plasmid의 상태로 내성을 나타내는 것으로 추정하였다. 또한 염색체 DNA보다 큰 plasmid들이 transconjugant 후에도 다수 존재하므로 이것의 대부분이 접합성 R-plasmid로 보고하였다. 본 실험의 야생조류 유래 대장균의 plasmid는 염색체 DNA에 삽입되지 않는 한 소실의 여지가 많으며 또한 소수의 염색체 DNA보다 큰 plasmid를 고려할 때 plasmid profile과 특정 약제의 내성, band의 수와 다제내성과의 관련이 적은 것에 대한

근거가 될 수 있으며 차후 세심한 연구가 이루어져야 할 것이다.

Sherley 등²²⁾은 항생제에 대한 내성은 plasmid와 관련이 없으며 저항성을 나타내는 유전자의 수평이동에 의한다고 하였다. 또한 여러 번의 복제를 통해 작은 size의 plasmid를 얻었으나 plasmid profile 및 band의 수와 내성을 나타내는 항생제의 수와는 관련이 없다고 보고하였다. Montgomery 등¹⁶⁾은 각종 질병으로 부검 의뢰된 닭에서 대장균을 분리하여 plasmid profile과 항생제내성 외에 계태아의 치사율 등의 표현형 및 유전자적 특성과는 관련이 없다는 보고를 하였다.

그러나 하 등²³⁾은 대장균에서 63.2-79.8 MD 크기의 R-plasmids가 chloramphenicol, tetracycline, streptomycin, sulfamethoxazole, ampicillin, kanamycin, cephalothin, trimethoprim, penicillin, gentamicin, cefamandole 등의 항균제에 대한 내성을 보고하였다.

Hartman 등²⁴⁾은 tetracycline에 대한 저항성의 일부는 8.6 kb 무게의 plasmid를 동일하게 가진다고 하였으며 Malkawi와 Youssef²⁵⁾는 tetracycline, ampicillin 단제내성을 나타내는 대장균은 25 kb의 plasmid profile을 일반적으로 가진다고 보고하였다. 본 실험에서는 plasmid profile과 특정 약제의 내성과는 관련이 없는 것으로 나타나 차이가 있었다. 이는 집단사육 등으로 인한 주위 환경의 영향을 적게 받는 야생조류의 분변을 채집하였고 plasmid의 분리율이 19.0%로 낮은 것과 관련이 있을 것으로 사료되며 향후 더 많은 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

결 론

2004년 11월부터 2005년 2월까지 부산일대 낙동강 하류에서 서식하는 야생조류의 분변을 채취하여 대장균을 분리하고 그 특성을 조사한 바 다음과 같은 성적을 얻었다.

1. 야생조류의 분변으로부터 분리한 대장균

- 79주의 생화학적 특성은 sorbitol 시험에서는 76주 (96.2%), sucrose 시험에서는 58주 (73.4%) raffinose 시험에서는 50주 (63.3%)가 positive로 비교적 높은 양성율을 보였고, arginine dihydrolase, esculin, ornithine decarboxylase 시험에서는 모두가 음성으로 나타났다.
2. 대장균 47주 (59.5%)가 1종 또는 그 이상의 약제에 대하여 내성을 나타내었고 tetracycline에 내성인 균이 32주 (40.5%)로 가장 많았으며 carbenicillin 22주 (27.8%), doxycycline 17주 (21.5%) 등이 비교적 높은 내성을 나타내었다. 내성균의 내성유형은 17종으로 나타났으며 이중 carbenicillin 및 tetracycline 1종 내성균이 각각 12주 (15.2%)로 많았으며 다음으로 doxycycline과 tetracycline 2종내성균은 6주 (7.6%)로 나타났다.
 3. 대장균 79주의 plasmid profile은 15주 (19.0%)에서만 1.6~43 kb 크기의 다양한 band를 나타내었으며 Plasmid band는 43 kb 9주 (11.4%), 5.3 kb 5주 (6.3%), 11.4 kb 4주 (5.1%), 2.4 kb가 3주 (3.8%)로 각각 나타났다. Plasmid profile은 15주에서 1~6개의 band를 보유하고 12종으로 분류되었으며 이들 중 43 profile, 2.4, 43 profile, 5.3, 11.4, 43 profile을 나타낸 것이 각각 2주 (2.5%)로 관찰되었다.
 3. Craven SE, Stern NJ, Line E, et al. 2000. Determination of the incidence of *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni*, and *Clostridium perfringens* in wild birds near broiler chicken houses by sampling intestinal droppings. *Avian Dis* 44 (3) : 715-720.
 4. Fukuyama M, Furuhashi K, Oonaka K, et al. 2003. Isolation and serotypes of Vero toxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) from pigeons and crows. *Kansenshogaku Zasshi* 77 (1) : 5-9.
 5. Carter GR, Chengappa MM, Roberts AW. 1995. *Essentials of veterinary microbiology*. 5th ed. Williams & Wilkins, Baltimore : 151-165.
 6. Biberstein EL, Yuan CZ. 1990. *Review of veterinary microbiology*. Blackwell Scientific Publications Press, Boston : 103-109.
 7. 송희중, 채효석. 1998. 가축에서 대장균 감염증. *한가위지* 21(4) : 413-429.
 8. 탁연빈. 1977. 계 유래 *Escherichia coli*의 항생물질내성 및 R인자의 분포. *대한수의학회지* 17(1) : 1-4.
 9. 정수관, 정석찬, 최원필. 1990. 돼지 유래 대장균의 생물학적 특성과 plasmid profile에 대하여. *대한수의학회지* 30(3) : 287-295.
 10. 서동균, 최원필, 박노찬. 1990. 비둘기 유래 대장균의 생물화학적 특성에 대하여. *대한수의학회지* 30(4) : 427-434.
 11. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JS. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol* 45 : 493-496.
 12. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. 1989. *Molecular cloning a laboratory manual*. 2nd ed. SCH Laboratory Press, New York : 1.25-1.28.
 13. Mayer LW. 1988. Use of plasmid

참 고 문 헌

1. Swayne DE, Suarez DL. 2000. Highly pathogenic avian influenza. *Rev Sci Tech* 19(2) : 463-482.
2. Capua I, Manvell RJ, Antonucci D, et al. 1994. Isolation of the pigeon PMV-1 variant of Newcastle disease virus from imported pheasants (*Phasianus colchicus*). *Zentralbl Veterinarmed B* 41(10) : 675-678.

- profiles in epidemiologic surveillance of disease outbreaks and intracing the transmission of antibiotic resistance. *Clin Microbiol Rev* 1 : 228-243.
14. Ewing WH. 1986. *Edwards and Ewing's Identification of Enterobacteriaceae*. 4th ed. Elsevier Science Press, New York : 93-97.
 15. 김봉환, 김동성 이창구. 1981. 자돈의 병원성 대장균증에 관한 연구. *대한수의학회지* 21(2) : 81-86.
 16. Montgomery RD, Jones LS, Boyle CR, et al. 2005. The embryo lethality of *Escherichia coli* isolates and its relationship to various *in vitro* attributes. *Avian Dis* 49 : 63-69.
 17. Nakamura M, Yoshimura H, Koeda T. 1983. Drug resistance and plasmids of *Escherichia coli* strains isolated from six species of wild birds. *Jpn J Vet Sci* 44 : 465-471.
 18. Kimpe A, Decostere A, Martel A, et al. 2002. Prevalence of antimicrobial resistance among pigeon isolates of *Streptococcus gallolyticus*, *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serotype Typhimurium. *Avian pathol* 31(4) : 393-397.
 19. Cole D, Drum DJ, Stallknecht DE, et al. 2005. Free-living Canada geese and antimicrobial resistance. *Emerg Infect Dis* 11 : 6.
 20. 김봉환, 이재진, 김동성. 1979. 대장균 설사증에 이환된 소, 돼지, 양에서 분리한 대장균의 약제감수성. *대한수의학회지* 19(2) : 121-126.
 21. 정명은, 여상건. 1994. 돼지유래 대장균의 항균제내성 분포와 R-plasmid의 성상. *대한수의학회지* 34(4) : 759-768.
 22. Sherley M, Gordon DM, Collignon PJ. 2004. Evolution of multiresistance plasmids in Australian clinical isolates of *Escherichia coli*. *Microbiology* 150 : 1539-1546.
 23. 하경임, 서성일, 박종욱. 1990. 대장균의 R-plasmid의 특성과 항균제내성. *대한미생물학회지* 25(1) : 19-26.
 24. Hartman AB, Essiet II, Isenbarger DW, 2003. Epidemiology of tetracycline resistance determinants in *Shigella* spp and entero-invasive *Escherichia coli* : characterization and dissemination of tet(A)-1. *J Clin Microbiol* 41(3) : 1023-1032.
 25. Malkawi HI, Youssef MT. 1998. Antibiotic susceptibility testing and plasmid profiles of *Escherichia coli* isolated from diarrhoeal patients. *J Trop Pediatr* 44(3) : 128-132.