

## 소와 돼지유래 살모넬라속균의 약제내성유전자의 특성에 관한 연구

이우원 · 정병열<sup>1</sup> · 이강록 · 이동수 · 김용환<sup>2\*</sup>

부산광역시 보건환경연구원 축산물위생검사소, <sup>1</sup>국립수의과학검역원, <sup>2</sup>경상대학교 수의과대학

(접수 2009. 7. 22, 게재승인 2009. 9. 28)

## Investigation on antimicrobial resistance genes of *Salmonella* spp. isolated from pigs and cattle

Woo-Won Lee, Byeong-Yeal Jung<sup>1</sup>, Gang-Rok Lee, Dong-Soo Lee, Yong-Hwan Kim<sup>2\*</sup>

Veterinary Service Laboratory, Busan Metropolitan City Institute of Health and Environment, Busan 616-810, Korea

<sup>1</sup>National Veterinary Research & Quarantine Service, Anyang 430-824, Korea

<sup>2</sup>College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

(Received 22 July 2009, accepted in revised from 28 September 2009)

### Abstract

At the present study, it was aimed to detect virulence genes and antimicrobial resistance genes among 102 strains of 12 *Salmonella* serotypes isolated from pigs and cattle. In polymerase chain reaction (PCR), *invA* was detected from all strains of *Salmonella* spp., *spvC* was detected from *Salmonella enterica* serotype Enteritidis (*S. Enteritidis*) (100%), *S. Bradenburg* (75%), and *S. Typhimurium* (20.4%). Drug resistance related genes of 12 types were detected from all strains. TEM (*bla*<sub>TEM</sub>) gene was detected from 51 (92.7%) of 55  $\beta$ -lactams (54 ampicillin or 1 amoxicillin) resistance strains. 55 (100%) of 55 chloramphenicol resistance strains, 3 (100%) of 3 gentamicin resistance strains and 5 (100%) of 5 kanamycin resistance strains did contain *cml*, *aadB*, and *aphA1-Iab*, respectively. *strB* (89.9%), *strA* (88.4%), *aadA2* (84.1%) and *aadA1* (72.5%) were detected from 69 streptomycin resistance strains. *sulII* and *dhfrXII* were detected from 49 (100%) of 49 sulfamethoxazole/trimethoprim resistance strains, but *sulI* was not detected. *tetA* (97.9%) and *tetB* (21.6%) were detected from 97 tetracycline resistance strains. *int* gene was detected from 58 (56.9%) of 102 strains.

54 *S. Typhimurium* of 102 *Salmonella* spp. were attempted to detect drug resistance genes. TEM was detected from 44 (95.7%) of 46  $\beta$ -lactams (45 ampicillin or 1 amoxicillin) resistance strains. *cmlA* was detected from 51 (100%) of 51 chloramphenicol resistance strains. *aadA2* (100%), *strA* (100%), *strB* (100%), and *aadA1* (79.6%) were detected from 54 streptomycin resistance strains. *sulII* (100%) and *dhfrXII* (100%) were detected from 49 sulfamethoxazole/trimethoprim resistance strains. *tetA* was detected from 54 (100%) of 54 tetracycline resistance strains. *int* gene was detected from 54 (100%) of 54 strains. The major drug resistance pattern and resistance gene profile were ampicillin, chloramphenicol, streptomycin, sulfamethoxazole/trimethoprim and tetracycline (ACSSuT) and TEM, *cmlA*, *aadA1*, *aadA2*, *strA*, *strB*, *sulII*, *dhfrXII*, *tetA* and *int*, respectively.

**Key words** : Polymerase chain reaction, Virulence gene, Antimicrobial resistance gene

\*Corresponding author: Yong-Hwan Kim, Tel. +82-55-751-5820,  
Fax. +82-51-751-5803, E-mail. yho157@nongae.gsnu.ac.kr

## 서 론

*Salmonella*속 균은 그람음성의 통성 혐기성 세포 내 기생세균으로서 사람과 동물을 비롯하여 자연계에 널리 분포하고 있다. 이들 균에 감염되면 설사, 쇠약, 발열 및 폐혈증 등의 전신성 증상을 일으키며, 특이성이 있는 몇몇 균종을 제외한 대부분의 균 속이 인수공통 전염병의 원인세균으로 알려져 있다(Edwards와 Galton, 1967).

현재까지 밝혀진 serotype은 항원의 구조에 따라 2,500 여종으로 알려져 있으며, 이들 가운데 200 여종이 비교적 높은 분포를 나타내고 있다(Baggesen 등, 2000). *S. enterica*는 수 십년 동안 사람에서 식중독의 주요 병원체로 인식되어 왔으며, 주로 동물유래 균으로 오염된 음식물 섭취를 통하여 감염된 것으로 알려져 있다(Baggesen 등, 2000). 살모넬라감염증은 사람에서 가장 흔한 식품매개 질병으로서 미국에서 발생하는 식중독의 약 30%를 차지하며, 국내에서도 식중독 원인세균 중 가장 높은 분포를 나타내고 있다(이, 2009; Taitt 등, 2004).

항생제는 각종 세균성 감염증의 치료에 유용하게 사용될 뿐만 아니라 가축에서 발육촉진을 목적으로 사료에 첨가함으로써 항생제 오·남용에 의한 약제내성균이 선택적으로 증가하여 세균성 감염증의 치료 및 예방에 많은 문제점을 일으키고 있다(Chen 등, 2004; Gebreyes와 Altier, 2002). 약제내성기전은 염색체 유전자의 변이에 의한 경우도 있지만, 주로 R plasmid에 기인한다고 알려져 있다. R plasmid는 항균제에 대한 내성을 발현시키는데 관여하는 유전자로서 장내세균뿐만 아니라 많은 종류의 그람음성 간균에서 높은 빈도로 분리되고 있으며, 이는 장내에서 접합을 통하여 동종 또는 이종 세균간에 전달되어 내성균의 증가에 중요한 역할을 한다(이, 2009).

CDC(The Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA)에서는 *Salmonella*속 균의 약제내성 감시체계를 수립하였으며, National *Salmonella* Antimicrobial Resistance Monitoring System Study에서 1996년에 CDC가 발표한 자료에 의하면 3,903주의 *Salmonella* 분리균주 중 976주(25%)가 *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serotype Typhimurium (*S. Typhimurium*)이었고, ampicillin (A), chloramphenicol (C), streptomycin (S), sulfonamides (Su) 및 tetracycline

(T)의 5제 내성형인 ACSSuT가 1990년에 7% 수준이었던 것이 약 28% (275 of 976)로 증가하였다. 이와 같이 *S. Typhimurium*에 대한 다제내성은 1960년대 이후에 보고되었고, 이 serotype의 내성유형은 specific phage type과 관련이 있는 것으로 알려져 있다(Helmuth 등, 1985). 1984년 영국에서는 ACSSuT에 대하여 내성을 나타내는 다제내성형 strain이 phage type 104로 확인되었고, 그 이후 WHO (1994)에서 *S. Typhimurium* definitive type 104 (*S. Typhimurium* DT104)로 명명하였으며, 전 세계적으로 사람과 동물에서 분리 보고되고 있다(Arcangioli 등, 2000; Gebreyes와 Altier, 2002). 이러한 약제내성유전자의 획득은 염색체의 유전자 변이에 의한 경우도 있지만 주로 plasmid, transposon, integron-mediated mechanism에 의하며, plasmid는 그람음성 장내세균의 다제내성을 증가에 중요한 역할을 하는 이동성 DNA 요소인 class I integron을 운반하는 것으로 알려져 있다(Baggesen 등, 2000; Chen 등, 2004; Randall 등, 2004). 가장 일반적인 am-picillin 내성기전은 plasmid 또는 염색체에 존재하는 *bla* 유전자에 의해 암호화된  $\beta$ -lactamase에 의한 항생제의 불활화이다. Plasmid는 integron, transposon을 운반하며, 또한 integron과 transposon은 염색체에 의해 운반되기도 한다(Guerra 등, 2001; Soto 등, 2003).

살모넬라감염증의 역학적 연구는 serotype, 생물형, 약제내성형, phage type 등의 조사를 비롯하여 근년에는 plasmid profile, 중합효소연쇄반응(PCR) 기법을 기초로 한 분자유전학적 분석 및 제한효소 처리에 의한 DNA의 절단 양상 등을 분석하여 역학관계를 규명하고 있다(Gahring 등, 1990). 증가추세에 있는 약제내성 *Salmonella*속 균의 역학적 분석은 분자생물학의 발전과 함께 다각도로 진행되고 있다(Boyd 등, 2001; Boyd 등, 2002; Chen 등, 2004; Doublet 등, 2005; Meunier 등, 2002; Randall 등, 2004; Velge 등, 2005; Walker 등, 2005).

다양한 세균의 역학적 분석기법으로 활용되고 있는 PCR 기법은 약제내성 *Salmonella*속 균에서도 이용되고 있으며, 다제내성 ACSSuT *S. Typhimurium* DT104에 대한 연구는 물론 *Salmonella*속 균의 다른 serotype에 대해서도 약제내성유전자의 연구, 즉  $\beta$ -lactams 계열인 ampicillin과 amoxicillin 내성유전자(TEM과 PSE-1), chloramphenicol 내성유전자(*cat1*, *cat2*, *cat3*, *cmlA* 및 *catB*), florfenicol 내성유전자(*flo*), streptomycin 내성유전자(*aadA*, *aadB*, *strA* 및 *strB*), sulfonamides 내

성유전자(*sulA*, *sulB*, *sulI*, *sulII* 및 *sulIII*), tetra-cycline 내성유전자(*tetA*, *tetB*, *tetG* 및 *tetR*), integron capture, mobile gene 및 약제내성과 관계있는 *int* 유전자 등 약제내성 관련 유전자를 검색하는 등 연구가 활발하게 수행되고 있다(Chen 등, 2004; Faldynova 등, 2003; Gebreyes와 Altier, 2002; Pezzella 등, 2004; Randall 등, 2004). 또한, 장점막 침습성에 관련된 virulence gene인 *invA*와 숙주 세포내에서 *Salmonella*속 균의 성장을 증가시키고 숙주 면역체계와 상호작용하는 *spvC*에 관한 연구도 많이 이루어지고 있다(Bolton 등, 1999; Khan 등, 2000; Swamy 등, 1996).

그러나 국내에서 *Salmonella*속 균의 약제내성유전자에 대한 연구실적을 보면 이(2009)가 소와 돼지유래  $\beta$ -lactams 내성 *S. Typhimurium* 49주 중 47주에서 TEM 유전자를 검출 보고한 바 있고, Yang 등(2001)이 돼지로부터 분리한 ampicillin 내성 *S. Typhimurium* 4주, *S. Enteritidis* 2주에서 TEM 유전자를, 김(2000)은 돼지유래 ampicillin 내성 *S. Typhimurium* 2주에서 PSE-1 유전자를 검출한 바 있으며, Lee 등(2004)은 사람유래 다제내성 *S. Typhi*에서 ampicillin 내성 11주에 대하여 TEM 유전자를 검출 보고한 바 있다. 그러나 *Salmonella*속 균의 약제내성유전자에 대한 연구는 유럽, 미국 및 캐나다 등과 비교해 볼 때 매우 미미한 실적일 뿐만 아니라, 약제내성유전자 검출 또한  $\beta$ -lactamase에 한정되어 있다.

따라서 본 실험에서는 *Salmonella*속 균에 대한 역학 조사의 목적으로 이(2009)가 소와 돼지에서 분리한 34종의 serotype 457주 중 다제내성을 나타내는 *S. Typhimurium* (*S. Typhimurium* variant Copenhagen 포함), 비교적 약제내성율이 높거나 gentamicin 또는 kanamycin에 내성을 나타내는 살모넬라속 균 102주를 공시균주로 사용하였으며, PCR 기법을 이용하여 virulence gene인 *invA*와 *spvC*, ACGKSSuT 내성 관련 유전자 및 내성유전자 카세트에 알려진 *int* 검출을 시도하였다.

## 재료 및 방법

### 공시균주

공시균주는 이(2009)가 소와 돼지에서 분리한 살모넬라속 균 34종의 serotype 457주 중 *S. Typhimurium* (*S. Typhimurium* variant Copenhagen 포함) 54주를 포

함하여 12종의 serotype 102주를 사용하였다.

### 항균제 감수성시험

이(2009)가 소와 돼지에서 분리한 살모넬라속 균 34종의 serotype 457주에 대하여 실시한 항균제 감수성 시험 결과를 본 연구에 사용된 균주를 대상으로 재정리하였다.

### Polymerase chain reaction (PCR)

PCR은 이(2009)가 돼지에서 분리한 살모넬라속 균 12종의 serotype 102주에 대해서 실시하였다.

### DNA 추출

공시된 균주로부터 genomic DNA 추출은 이(2009)의 방법에 따라 Wizard genomic DNA purification kit (Promega, USA)를 사용하였다.

### Oligonucleotide primer의 합성

PCR에 사용된 oligonucleotide primer의 염기서열, 증폭산물의 크기 및 온도는 Table 1에서와 같이 *invA* 등 26종을 Bioneer (Korea)에 합성 의뢰하여 사용하였다.

### PCR에 의한 유전자의 검출

PCR 수행은 T-gradient (Biometra, Germany)를 이용하였다.

### *invA*와 *spvC* 유전자

*invA*와 *spvC* 유전자 검출을 위한 duplex PCR은 이(2009)의 방법에 따라 10× PCR buffer 2.5 $\mu$ l, 10mM dNTP 2.5 $\mu$ l, template DNA 1 $\mu$ l, 20 pM primer 각 0.5 $\mu$ l, *Taq* polymerase (TaKaRa, Japan) 0.2 $\mu$ l를 포함하여 최종량이 25 $\mu$ l가 되게 하였다. PCR은 95°C에서 2분간 denaturation시킨 후, 95°C에서 20초, 56°C에서 40초, 72°C에서 1분 조건으로 총 30cycle을 수행한 다음 72°C에서 5분간 extension시켰다.

### 약제내성 관련 유전자

약제내성 관련 유전자 검출을 위한 PCR은 이(2009),

Chen 등(2004) 및 Gebreyes와 Altier (2002) 등의 방법을 수정 보완하여 10×PCR buffer 2.5μl, 각 10mM dNTP 0.5μl, template DNA 1μl, 20pM primer 0.5μl, *Taq* polymerase (TaKaRa, Japan)를 포함하여 최종량이 25μl가 되게 하였다. PCR은 95°C에서 2분간 denaturation시킨 후, 95°C에서 20초, 53~56°C, 60°C 또는

62°C에서 40초, 72°C에서 1분 조건으로 총 35cycle을 수행한 다음 72°C에서 5분간 extension시켰다.

### 증폭산물의 확인

PCR에 의해서 증폭된 산물은 이(2009)의 방법에 준하여 loading buffer (30% glycerol, 50mM EDTA,

**Table 1.** Synthetic oligonucleotides used as primers for PCR

Antimicrobials	Primer (gene)	Sequence (5'-3')	Size (bp)	T <sub>m</sub> (°C)	Reference		
	<i>invA</i> F	ACA GTG CTC GTT TAC GAC CTG AAT	244	56	Lee (2009)		
	<i>invA</i> R	AGA CGA CTG GTA CTG ATC GAT AAT					
	<i>spvC</i> F	ACT CCT TGC ACA ACC AAA TGC GGA	571	56			
	<i>spvC</i> R	TGT CTT CTG CAT TTC GCC ACC ATCA					
	<i>int</i> F	CCT CCC GCA CGA TGA TC	280	56	Lee (2009)		
	<i>int</i> R	TCC ACG CAT CGT CAG GC					
	Ampicillin	TEM F	GCA CGA GTG GGT TAC ATC GA	310		56	Lee (2009)
		TEM R	GGT CCT CCG ATC GTT GTC AG				
PSE-1 F		TTT GGT TCC GCG CTA TCTG	150	56			
PSE-1 R		TAC TCC GAG CAC CAA ATC CG					
Chloramphenicol	<i>cat</i> F	CCT GCC ACT CAT CGC AGT	623	60	Faldynova et al (2003)		
	<i>cat</i> R	CCA CCG TTG ATA TAT CCC					
	<i>cmlA</i> F	CGC CAC GGT GTT GTT GTT AT	394	55	Chen et al (2004)		
	<i>cmlA</i> R	GCG ACC TGC GTA AAT GTC AC					
	<i>cmlB</i> F	ACT CGG CAT GGA CAT GTA CT	840	55	Chen et al (2004)		
	<i>cmlB</i> R	ACG GAC TGC GGA ATC CAT AG					
Gentamicin	<i>flo</i> F	CTG AGG GTG TCG TCA TCT AC	673	55	Chen et al (2004)		
	<i>flo</i> R	GCT CCG ACA ATG CTG ACT AT					
	<i>grm</i> F	<i>grm</i> F	AAG CGC ACG AAG CGC GGG CTG	414	53	Gebreyes and Altier (2002)	
		<i>grm</i> R	AAG GCG GGC CTC AAG GAG GTC				
	<i>aadB</i> F	<i>aadB</i> F	GAG CGA AAT CTG CCG CTC TTG	310	53	Gebreyes and Altier (2002)	
		<i>aadB</i> R	CTG TTA CAA CGG ACT GGC CGC				
<i>aac(6)-I</i> F	<i>aac(6)-I</i> F	TGA GCA TGA CCT TGC GAT	337	53	Gebreyes and Altier (2002)		
	<i>aac(6)-I</i> R	GAA CAG CAA CTC AAC CAG					
Kanamycin	<i>aphA1-Iab</i> F	AAA CGT CTT GCT CGA GGC	500	53	Gebreyes and Altier (2002)		
	<i>aphA1-Iab</i> R	CAA ACC GTT ATT CAT TCG TGA					
Streptomycin	<i>aadA1</i> F	TAT CAG AGG TAG TTG GCG TCA T	484	54	Randall et al (2004)		
	<i>aadA1</i> R	GTT CCA TAG CGT TAA GGT TTC ATT					
	<i>aadA2</i> F	<i>aadA2</i> F	TGT TGG TTA CTG TGG CCG TA	712	62	Randall et al (2004)	
		<i>aadA2</i> R	GAT CTC GCC TTT CAC AAA GC				
		<i>strA</i> F	CTT GGT GAT AAC GGC AAT TC	548	53	Gebreyes and Altier (2002)	
		<i>strA</i> R	CCA ATC GCA GAT AGA AGG C				
<i>strB</i> F		ATC GTC AAG GGA TTG AAA CC	509	53	Gebreyes and Altier (2002)		
<i>strB</i> R		GGA TCG TAG AAC ATA TTG GC					
Sulfonamides	<i>sulA</i> F	CAC TGC CAC AAG CCG TAA	360	53	Gebreyes and Altier (2002)		
	<i>sulA</i> R	GTC CGC CTC AGC AAT ATC					
	<i>sulI</i> F	TCA CCG AGG ACT CCT TCT TC	331	55	Chen et al (2004)		
	<i>sulI</i> R	CAG TCC GCC TCA GCA ATA TC					
	<i>sulII</i> F	CCT GTT TCG TCC GAC ACA GA	435	55	Chen et al (2004)		
	<i>sulII</i> R	GAA GCG CAG CCG CAA TTC AT					
	Trimethoprim	<i>dhfrI</i> F	CGG TCG TAA CAC GTT CAA GT	220	55	Gebreyes and Altier (2002)	
		<i>dhfrI</i> R	CTG GGG ATT TCA GGA AAG TA				
<i>dhfrXII</i> F		AAA TTC CGG GTG AGC AGA AG	429	55	Chen et al (2004)		
<i>dhfrXII</i> R		CCC GTT GAC GGA ATG GTT AG					
	<i>dhfrXIII</i> F	RGCA GTC GCC CTA AAA CAA AG	294	55	Chen et al (2004)		
	<i>dhfrXIII</i> R	GAT ACG TGT GAC AGC GTT GA					
Tetracycline	<i>tetA</i> F	GCT ACA TCC TGC TTG CCT TC	210	53	Gebreyes and Altier (2002)		
	<i>tetA</i> R	CAT AGA TCG CCG TGA AGA GG					
	<i>tetB</i> F	TTG GTT AGG GGC AAG TTT TG	659	53	Gebreyes and Altier (2002)		
	<i>tetB</i> R	GTA ATG GGC CAA TAA CAC CG					
	<i>tetG</i> F	CAG CTT TCG GAT TCT TAC GG	844	53	Gebreyes and Altier (2002)		
	<i>tetG</i> R	GAT TGG TGA GGC TCG TTA GC					

0.025% bromophenol blue in 50mM Tris · HCl, pH 8.5) 와 2 : 1로 혼합하여 2.0% agarose (Sigma, USA) gel상 에 loading하고 TBE buffer (40mM Tris, 20mM boric acid, 1mM EDTA ; Invitrogen) 하에서 120~140 volt로 약 1시간 동안 전기영동을 실시하였다. Agarose (Sigma, USA) gel을 0.5µg/ml의 ethidium bromide (Gibco, USA) 용액으로 염색시킨 후 UV transilluminator (Hoefer, USA)를 사용하여 DNA산물을 확인하였다. Marker로는 100bp DNA Ladder (Promega, USA)를 사

용하였다.

결 과

항균제 감수성시험

소와 돼지에서 분리하여 공시한 12종의 serotype 102 주에 대한 내성유형은 Table 2에서와 같이 모든 균주 가 단제이상 약제에 대하여 내성을 나타내었고, 단제

Table 2. Resistance patterns of 102 strains of *Salmonella* spp. isolated from pigs and cattle\*

Serotype	No. of tested	Antimicrobial resistance pattern**	No. of strains (%)
Agona	2	D P T D P S T	1 (50) 1 (50)
Ardwick	9	D (P) T A Cb D P T C D K N P S T	7 (77.8) 1 (11.1) 1 (11.1)
Bradenburg	4	A Cb D P T	4 (100)
Bredney	3	A C Cb D K N P S T	3 (100)
Enteritidis	9	D P T K N P S	8 (88.9) 1 (11.1)
Mbandaka	3	G A D	2 (66.7) 1 (33.3)
Rissen	8	D (An) P T	8 (100)
Ruiru	7	D (Cb) S T	7 (100)
Senftenberg	1	D P S T	1 (100)
Tennessee	1	D G P	1 (100)
Typhimurium	54	C D (P) S T D Na S Su T C D Na (P) S Su T A C Cb D P S T A C Cb D Na P S Su T An Ac Cb Cf D Na P S Su T	4 (7.4) 2 (3.7) 2 (3.7) 1 (1.9) 44 (81.5) 1 (1.9)
Westhampton	1	D P S T	1 (100)
Total	101		102 (100)

\*2009, Lee

\*\*A; ampicillin, Ac; amoxicillin, An; amikacin, C; chloramphenicol, Cb; carbenicillin, Cf; cephalothin, D; doxycycline, G; gentamicin, K; kanamycin, N; neomycin, Na; nalidixic acid, P; penicillin, S; streptomycin, Su; sulfamethoxazole/trimethoprim, T; tetracycline

Table 3. Number of strains in *Salmonella* spp. resistant to antimicrobials\*

Serotype	No. of tested	Number of strains resistant to specific antimicrobials**							
		A	Ac	C	G	K	S	Su	T
Agona	2	0	0	0	0	0	1	0	2
Ardwick	9	1	0	1	0	1	1	0	9
Bradenburg	4	4	0	0	0	0	0	0	4
Bredney	3	3	0	3	0	3	3	0	3
Enteritidis	9	0	0	0	0	1	1	0	8
Mbandaka	3	1	0	0	2	0	0	0	0
Rissen	8	0	0	0	0	0	0	0	8
Ruiru	7	0	0	0	0	0	7	0	7
Senftenberg	1	0	0	0	0	0	1	0	1
Tennessee	1	0	0	0	1	0	0	0	0
Typhimurium	54	45	1	51	0	0	54	49	54
Westhampton	1	0	0	0	0	0	1	0	1
Total	102	54	1	55	3	5	69	49	97

\*2009, Lee

\*\*A; ampicillin, Ac; amoxicillin, C; chloramphenicol, G; gentamicin, K; kanamycin, S; streptomycin, Su; sulfamethoxazole/trimethoprim, T; tetracycline

내성에서 10제내성까지 다양한 형태로 나타났다. *S. Typhimurium*의 내성유형은 4제내성에서 10제내성까지 7종류의 형태로 나타났으며, 그 중 ACCbDNA PSSuT 내성유형이 44주(81.5%)로 가장 높은 분포를 나타내었다.

살모넬라속 균 102주의 약제감수성시험에서 특정한 약제에 대한 결과는 Table 3에서와 같이 tetracycline 내성 97주(95.1%), streptomycin 내성 69주(67.6%), chloramphenicol 내성 55주(53.9%), ampicillin 내성 54주(52.9%), sulfamethoxazole/trimethoprim 내성 49주(48.0%), kanamycin 내성 5주(4.9%) 등으로 나타났다. Serotype별 amoxicillin에 대한 내성은 *S. Typhimurium* 1주, chloramphenicol 내성은 *S. Typhimurium* 51주, *S. Bredney* 3주 및 *S. Ardwick* 1주였고, gentamicin 내성은 *S. Mbandaka* 2주와 *S. Tennessee* 1주였으며, kanamycin 내성은 *S. Bredney* 3주, *S. Ardwick* 및 *S. Enteritidis* 각각 1주였다. 또한 sulfamethoxazole/trimethoprim 내성은 *S. Typhimurium* 49주로 나타났으며, 그 외 약제에 대한 내성은 serotype별로 다양하게 나타났다.

### PCR에 의한 유전자의 검출을

#### *invA*와 *spvC* 유전자

살모넬라속 균 102주에 대하여 virulence gene (*invA*와 *spvC*)을 검출하고자 duplex PCR을 실시한 결과 *invA* 유전자는 모든 균주에서 검출(100%)되었고, *spvC* 유전자의 검출율은 22.5%(23주/102주)로 나타났으며, serotype별 검출율은 *S. Enteritidis* 100% (9주/9주), *S. Bradenburg* 75%(3주/4주) 및 *S. Typhimurium* 20.4% (11주/54주)로 나타났으나 다른 serotype에서는 검출되지 않았다.

### 약제내성 관련 유전자

#### 약제내성 관련 유전자별 균주 수

102주에 대하여 각각의 약제내성 관련 유전자를 검출한 결과 TEM 유전자 등 14종의 내성 관련 유전자가 검출되었고, 약제내성유전자별 균주 수는  $\beta$ -lactams 계열 내성 55주(ampicillin 내성 54주와 amoxicillin 내성 1주) 중 51주(92.7%)에서 TEM 유전자가 검출되었고, chloramphenicol 내성 55주, gentamicin 내성 3주 및 kanamycin 내성 5주 중 모든 균주에서 각각 *cmlA*, *aadB* 및 *aphA1-Iab* 유전자가 검출되었으며, Streptomycin 내성 69주 중 *strB* 62주(89.9%), *strA* 61주(88.4%),

*aadA2* 58주(84.1%) 및 *aadA1* 50주(72.5%)에서 검출되었다. Sulfamethoxazole/trimethoprim 내성 49주 중 *sullI* 49주(100%), *dhfrXII* 49주(100%)에서 검출되었으나 *sull* 은 검출되지 않았다. Tetracycline 내성 97주 중 *tetA* 95주(97.9%)와 *tetB* 21주(21.6%)가 검출되었다. 약제내성과 관련 있는 *int* 유전자의 검출율은 56.9%(58주/102주)로 나타났으며, chloramphenicol 내성균주에서 100%(55주/55주) 검출되었다(Table 4, Fig. 1~2).

### Serotype별 약제내성유전자의 검출

Serotype별 약제내성유전자를 검출한 결과 *S. Typhimurium* 54주 중  $\beta$ -lactams 계열 내성 46주(ampicillin 내성 45주와 amoxicillin 내성 1주) 중 44주(95.7%)에서 TEM 유전자가 검출되었고, chloramphenicol 내성 51주 중 모든 균주(100%)에서 *cmlA*가 검출되었다. Streptomycin 내성 54주 중 모든 균주(100%)에서 *aadA2*, *strA* 및 *strB*가 검출되었고, 43주(79.6%)에서 *aadA1*이 검출되었으며, sulfamethoxazole/trimethoprim 내성 49주 중 모든 균주(100%)에서 *sullI*와 *dhfrXII*가 검출되었다. Tetracycline 내성 54주 중 모든 균주(100%)에서 *tetA*가 검출되었으며, 약제내성과 관련 있는 *int* 유전자도 모든 균주에서 검출되었다.

Chloramphenicol 내성 *S. Bredney* 3주, *S. Ardwick* 1주에서 *cmlA*가 검출되었고, gentamicin 내성 *S. Mbandaka* 2주와 *S. Tennessee* 1주에서 *aadB*가 검출되었으며, kanamycin 내성 *S. Bredney* 3주, *S. Ardwick* 및 *S. Enteritidis* 각 1주에서 *aphA1-Iab*가 검출되었다. Streptomycin에 내성 *S. Typhimurium*과 *S. Ruiru*에서는 *aadA1*, *aadA2*, *strA* 및 *strB*가 다양하게 검출되었으나 *S. Agona* 1주에서는 *aadA2*와 *strB*가 검출되었고, *S.*

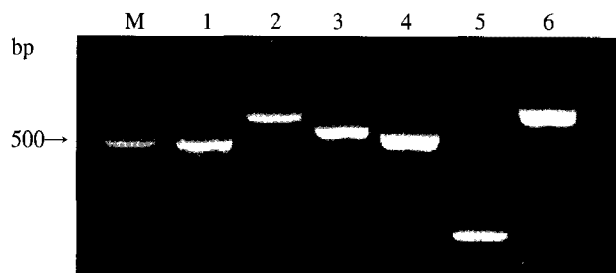
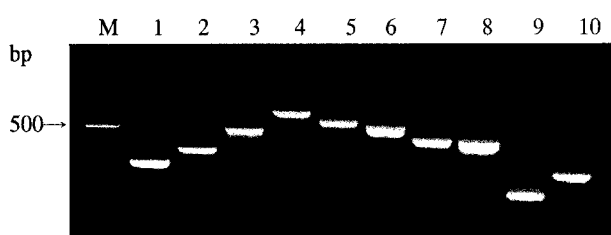


Fig. 1. PCR amplification of antimicrobial resistance genes from resistance type ST *S. Ruiru*. M; 100bp DNA Ladder (Promega), lane 1; *aadA1* (484bp), lane 2; *aadA2* (712bp), lane 3; *strA* (548bp), lane 4; *strB* (509bp), lane 5; *tetA* (210bp), lane 6; *tetB* (659bp).

**Table 4.** Number of strains in *Salmonella* spp. with specific resistance genes

Serotype	No. of tested	Number of strains containing resistance genes													int
		A* (Ac)		C	G	K		S			Su		T		
		TEM	cmlA	aadB	aphA1-Iab	aadA1	aadA2	strA	strB	sull	sullI	dhfr XII	tetA	tetB	
Agona	2	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	2	2	0
Ardwick	9	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	9	5	1
Bradenburg	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0
Bredney	3	3	3	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	3
Enteritidis	9	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	6	8	0
Mbandaka	3	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Rissen	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	1	0
Ruiru	7	0	0	0	0	7	1	7	4	0	0	0	7	5	0
Senftenberg	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Tennessee	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Typhimurium	54	44	51	0	0	43	54	54	54	0	49	49	54	0	54
Westhampton	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Total	102	51	55	3	5	50	58	61	62	0	49	49	95	21	58

\*A; ampicillin, Ac; amoxicillin, C; chloramphenicol, G; gentamicin, K; kanamycin, S; streptomycin, Su; sulfamethoxazole/trimethoprim, T; tetracycline



**Fig. 2.** PCR amplification of antimicrobial resistance genes from resistance type ACSSuT *S. Typhimurium*. M; 100bp DNA Ladder (Promega), lane 1; TEM (310bp), lane 2; *cmlA* (394bp), lane 3; *aadA1* (484bp), lane 4; *aadA2* (712bp), lane 5; *strA* (548bp), lane 6; *strB* (509bp), lane 7; *sullI* (435bp), lane 8; *dhfrXII* (429bp), lane 9; *tetA* (210bp), lane 10; *int* (280bp).

Ardwick과 *S. Enteritidis* 각 1주에서 *aadA2*, *S. Bredney* 3주에서 *strB*가 검출되었다. 또한, tetracycline 내성 *S. Typhimurium*, *S. Bradenburg*, *S. Bredney*, *S. Senftenberg* 및 *S. Westhampton*에서는 *tetA*만 검출되었으나 *S. Agona*, *S. Ardwick*, *S. Enteritidis*, *S. Rissen* 및 *S. Ruiru*에서는 *tetB*도 검출되었다(Table 4, 5 및 Fig. 1~2).

**약제내성유형별 유전자 profile**

약제내성유형과 내성유전자 profile과의 관계는 Table 6에서와 같이 *S. Typhimurium* 54주는 7종의 내성유전자 profile로 나타났고, ACSSuT 내성유형이면

**Table 5.** PCR results for resistance genes in 102 strains of *Salmonella* spp. showing antimicrobial resistance

Serotyp	No. of tested	Number of strains with resistance genes*																						
		T	Ca	Ab	Ap	A2	A1 A2	Sa	Sb	A1 Sa	A2 Sa	A2 Sb	A1 A2 Sb	Sa Sb	A1 Sa Sb	A2 Sa Sb	A1 A2 Sa Sb	S1	S2	D12	Ta	Tb	Ta Tb	
Agona	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Ardwick	9	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	5
Bradenburg	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0
Bredney	3	3	3	0	3	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
Enteritidis	9	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	6
Mbandaka	3	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Rissen	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	1	
Ruiru	7	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	3	0	1	0	0	0	0	2	0	5	
Senftenberg	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
Tennessee	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Typhimurium	54	44	51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	43	0	49	49	49	54	0	0	
Westhampton	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
Total	102	51	55	3	5	2	0	0	3	3	0	1	0	3	11	44	0	49	49	76	2	19		

\*T; TEM, Ca; cmlA, Ab; aadB, Ap; aphA1-Iab, A1; aadA1, A2; aadA2, Sa; strA, Sb; strB, S1; sull, S2; sullI, D12; dhfrXII, Ta; tetA, Tb; tetB

**Table 6.** Specific antimicrobial resistance pattern and resistance gene profiles of *Salmonella* spp.

Serotype	No. of strains	Resistance patterns*	Resistance gene profiles
Agona (n=2)	1	T	<i>tetA, tetB</i>
	1	ST	<i>aadA2, strB, tetA, tetB</i>
Ardwick (n=9)	3	T	<i>tetA</i>
	4	T	<i>tetA, tetB</i>
	1	AT	<i>tetA, tetB</i>
	1	CKST	<i>cmlA, aphAI-Iab, aadA2, tetA, int</i>
Bradenburg (n=4)	4	AT	TEM, <i>tetA</i>
Bredney (n=3)	3	ACKST	TEM, <i>cmlA, aphAI-Iab, strB, tetA, int</i>
Enteritidis (n=9)	2	T	<i>tetB</i>
	6	T	<i>tetA, tetB</i>
	1	K	<i>SaphAI-Iab, aad2, int</i>
Mbandaka (n=3)	1	A	-
	2	G	<i>aadB</i>
Rissen (n=8)	7	T	<i>tetA</i>
	1	T	<i>tetA, tetB</i>
Ruiru (n=7)	1	ST	<i>aadA1, strA, tetA</i>
	1	ST	<i>aadA1, strA, strB, tetA</i>
	2	ST	<i>aadA1, strA, tetA, tetB</i>
	2	ST	<i>aadA1, strA, strB, tetA, tetB</i>
	1	ST	<i>aadA1, aadA2, strA, strB, tetA, tetB</i>
Senftenberg	1	ST	<i>tetA</i>
Tennessee	1	G	<i>aadB</i>
Typhimurium (n=54)	4	CST	<i>cmlA, aadA1, aadA2, strA, strB, tetA, int</i>
	2	SSuT	<i>aadA1, aadA2, strA, strB, sulIII, dhfrXII, tetA, int</i>
	1	AcSSuT	TEM, <i>aadA1, aadA2, strA, strB, sulIII, dhfrXII, tetA, int</i>
	2	CSSuT	<i>cmlA, aadA1, aadA2, strA, strB, sulIII, dhfrXII, tetA, int2</i>
	2	ACSSuT	<i>cmlA, aadA2, strA, strB, sulIII, dhfrXII, tetA, int</i>
	9	ACSSuT	TEM, <i>cmlA, aadA2, strA, strB, sulIII, dhfrXII, tetA, int</i>
Westhampton	34	ACSSuT	TEM, <i>cmlA, aadA1, aadA2, strA, strB, sulIII, dhfrXII, tetA, int</i>
	1	ST	<i>tetA</i>

\*A; ampicillin, C; chloramphenicol, K; kanamycin, S; streptomycin, Su; sulfamethoxazole/trimethoprim, T; tetracycline

서 TEM, *cmlA, aadA1, aadA2, strA, strB, sulIII, dhfrXII, tetA, int* profile 균주가 34주(63.0%)로 가장 높게 분포되었으며, ACSSuT 내성유형 TEM, *cmlA, aadA2, strA, strB, sulIII, dhfrXII, tetA, int* profile이 9주(16.7%) 및 CST 내성유형 *cmlA, aadA1, aadA2, strA, strB, tetA, int* profile이 4주(7.4%) 순으로 높게 분포되었다.

## 고 찰

살모넬라감염증의 역학적 연구는 serotype, 생물형, 약제내성형, phage type의 조사 등으로 이루어지고 있으나 이들을 파악하는 것만으로는 미흡한 실정이므로 근년에는 plasmid profile, PCR기법을 기초로 한 분자유전학적 분석 및 제한효소 처리에 의한 DNA의 절단 양상 등을 분석하여 역학관계를 규명하고 있으며 (Gahring 등, 1990), 증가추세에 있는 약제내성 *Salmonella*속 균의 역학적 분석은 분자생물학의 발전과 함께 다각도로 진행되고 있다. 다양한 세균의 역학적 분

석기법으로 활용되고 있는 분자유전학적 기법은 약제내성 *Salmonella*속 균의 특성 규명에도 이용되고 있다. PCR 기법을 이용하여 다제내성 ACSSuT *S. Typhimurium* DT104에 대한 연구는 물론 *Salmonella*속 균의 다른 serotype에 대해서도 약제내성유전자의 연구, 즉  $\beta$ -lactams 계열(ampicillin과 amoxicillin), phenicol 계열(chloramphenicol과 florfenicol), aminoglycoside 계열(kanamycin과 streptomycin), sulfonamides, tetracycline 내성유전자 및 약제내성과 관계있는 *int* 등 약제내성 관련 유전자를 검색하는 등 연구가 활발하게 수행되고 있으며(Chen 등, 2004; Faldynova 등, 2003; Gebreyes와 Altier, 2002; Pezzella 등, 2004; Randall 등, 2004), 장점막 침습성에 관련된 virulence gene인 *invA*와 *spvC*에 관한 연구도 많이 이루어지고 있다(Bolton 등, 1999; Khan 등, 2000; Swamy 등, 1996).

최근 연구에 따르면 다제내성 ACSSuT *S. Typhimurium* DT104는 염색체상에 약제내성유전자를 갖고 있는 것으로 나타났다. 유전자 배열은 주로 내성유전자들의 전달을 촉진시킬 수 있는 mobile DNA cassette



인 2개의 integron으로 구성되어 있으며, 이는 주로 streptomycin, tetracycline 및 sulfamethoxazole 내성유전자(각 *aadA2*, *tetR*과 *tetG* 및 *sull*)를 포함하고 있으며,  $\beta$ -lactamase (PSE-1과 TEM)와 chloramphenicol 내성유전자(*cml*)도 함께 검출되었다고 하였다(Chen 등, 2004; Randall 등, 2004).

이(2009)가 소와 돼지에서 분리한 34종의 serotype 457주 중 다제내성을 나타내는 *S. Typhimurium* (*S. Typhimurium* variant Copenhagen 포함), 비교적 약제내성율이 높거나 gentamicin 또는 kanamycin에 내성을 나타내는 살모넬라속 균 102주에 대하여 PCR 기법을 이용하여 virulence gene인 *invA*와 *spvC*, ACGKSSuT 내성 관련 유전자 및 내성유전자 카세트에 알려진 *int* 유전자 검출을 시도한 결과 *invA* 유전자는 모든 균주에서 검출(100%)되었으며, *spvC* 유전자의 검출율은 22.5% (23주/102주)로 나타났다. 또한 약제내성과 관련 있는 *int* 유전자의 검출율은 56.9%(58주/102주)로 나타났으며, chloramphenicol 내성균주에서 100%(55주/55주)의 검출율을 나타내었다.

Khan 등(2000)은 *S. Typhimurium* 32주에서 *invA* 100%, *spvC* 97%(31 of 32 isolates)와 *int* 94%(30 of 32)라고 하였고, 이들 중 22주의 ACSSuT 내성 *S. Typhimurium* DT104에서는 *invA*, *spvC* 및 *int* 유전자가 모두 검출되었다고 하였다. Swamy 등(1996)에 의하면 245주의 *Salmonella* 분리주에서 *invA* 유전자가 100% 검출되었고, *spvC* 유전자의 검출율은 15.1%(37 of 245 isolates)에 불과하다고 하였다. Bolton 등(1999)은 *Salmonella* 분리주에서 유전자의 검출율은 *invA* 98% (107 of 109 isolates), *S. Typhimurium*에서 *spvC*와 *int*는 각각 88%(81 of 92)와 87%(80 of 92), *S. Typhimurium*을 제외한 다른 serotype에서 *spvC*와 *int*는 각각 18%(3 of 17)와 82%(14 of 17)라고 하였으며, 특히 다제내성 *S. Typhimurium*과 chloramphenicol에 대하여 내성을 나타내는 *S. Typhimurium*이 아닌 다른 serotype에서 *int*는 각각 100%와 82%라고 보고하였다.

국내에서는 정 등(2003)이 전남지역의 돼지에서 분리한 *S. Typhimurium*에서 *invA* 88.0%, *spvC* 28.9%가 검출되었다고 하였고, 이(2009)는 *S. Typhimurium* 138주에서 *invA* 100%, *spvC* 24.6%(34 of 138 isolates) 및 *int* (integrase) 84.1%(116 of 138)가 검출되었다고 보고하였다.

본 실험에서 *invA*는 모든 균주에서 검출되어 외국의 Khan 등(2000), Bolton 등(1999) 및 Swamy 등(1996)과

우리나라의 이(2009)가 보고한 성적과 유사하였고, 정 등(2003)이 보고한 성적보다 높게 나타났다. *int*의 검출율은 56.9%로 나타나 외국의 성적보다 훨씬 낮았으나 chloramphenicol 내성 균주에서는 100%로 나타나 Khan 등(2000)과 Bolton 등(1999)의 성적보다 다소 높았다. *spvC*의 검출율은 22.5%로 나타나 Khan 등(2000), Bolton 등(1999)이 *S. Typhimurium*을 대상으로 조사한 성적보다 낮았으나 우리나라의 이(2009), 정 등(2003), Swamy 등(1996)의 성적과 유사하였다. *spvC*와 *int* 유전자의 검출율이 외국과 우리나라에서 보고된 성적에 비하여 낮은 것은 외국의 경우 주로 다제내성인 *S. Typhimurium* DT104를 중심으로 조사하였고, 우리나라의 경우도 병원성과 다제내성율이 높은 *S. Typhimurium*을 대상으로 조사한 것과 관련된 것으로 추측된다.

102주에 대하여 각각의 약제내성 관련 유전자를 검출한 결과 TEM 유전자 등 14종의 내성 관련 유전자가 검출되었고, 약제내성유전자별 균주 수는  $\beta$ -lactams 계열 내성 55주 중 51주(92.7%)에서 TEM 유전자가 검출되었고, chloramphenicol 내성, gentamicin 내성 및 kanamycin 내성 모든 균주에서 각각 *cmlA*, *aadB* 및 *aphA1-Iab* 유전자가 검출되었으며, Streptomycin 내성 69주 중 *strB* 62주(89.9%), *strA* 61주(88.4%), *aadA2* 58주(84.1%) 및 *aadA1* 50주(72.5%)에서 검출되었다. Sulfamethoxazole/trimethoprim 내성 49주 중 *sullI* 49주(100%), *dhfrXII* 49주(100%)에서 검출되었으나 *sull*은 검출되지 않았다. Tetracycline 내성 97주 중 *tetA* 95주(97.9%)와 *tetB* 21주(21.6%)가 검출되었다.

Serotype별로 성적을 정리한 결과 *S. Typhimurium* 54주에서 약제내성유전자의 검출율은  $\beta$ -lactams 계열 내성유전자인 TEM 95.7%(44주/46주), chloramphenicol 내성유전자인 *cmlA* 100%(51주/51주), streptomycin 내성유전자인 *aadA2*, *strA*, *strB*가 각각 100%(54주/54주), *aadA1* 79.6%(43주/54주), sulfamethoxazole/trimethoprim 내성유전자인 *sullI*와 *dhfrXII* 각 100%(49주/49주) 및 tetracycline 내성유전자인 *tetA* 100%(54주/54주)로 나타났으며, 약제내성과 관련 있는 *int* 유전자도 모든 균주에서 검출되었다.

다른 serotype에서는 chloramphenicol 내성균주에서 *cmlA*가 검출되었고, gentamicin 내성 균주에서 *aadB*, kanamycin 내성균주에서 *aphA1-Iab*가 검출되었다. Streptomycin 내성균주에서는 *aadA1*, *aadA2*, *strA* 및 *strB*가 다양하게 검출되었다. 또한 tetracycline 내성균

주에서는 주로 *tetA*만 검출되었으나 *S. Agona*, *S. Ardwick*, *S. Enteritidis*, *S. Rissen* 및 *S. Ruiru*에서는 *tetB*도 검출되었다.

약제내성유형과 내성유전자 profile과의 관계를 조사한 결과 *S. Typhimurium* 54주 중 ACSSuT 내성유형이면서 TEM, *cmlA*, *aadA1*, *aadA2*, *strA*, *strB*, *sullI*, *dhfrXII*, *tetA*, *int* profile 균주가 34주(63.0%)로 가장 높게 분포되었으며, ACSSuT 내성유형 TEM, *cmlA*, *aadA2*, *strA*, *strB*, *sullI*, *dhfrXII*, *tetA*, *int* profile이 9주(16.7%) 및 CST 내성유형 *cmlA*, *aadA1*, *aadA2*, *strA*, *strB*, *tetA*, *int* profile이 4주(7.4%) 순으로 높게 분포되었다.

외국에서는 serotype, phage type 및 약제내성형 등의 상호관계를 규명할 목적으로 여러 종류의 primer를 이용하여 약제내성과 관련된 유전자를 검출하였다. Gebreyes와 Altier (2002)는 미국의 돼지로부터 분리한 484주의 *S. Typhimurium* (var Copenhagen 328주 포함)에서 PCR 기법을 이용한 다제내성 관련 유전자를 검사한 결과 ACSSuT 내성 *S. Typhimurium* DT104에서는 PSE-1, *aadA*, *sullI* 및 *tetG*가 검출되었고, AKSSuT 내성 *S. Typhimurium* DT193에서는 주로 TEM, *aphA1-Iab*, *strAB* 및 *tetB*가 검출되었으며, 가끔 *aadA*도 검출되었다고 하였다. 또한 AKSSuT 내성 *S. Typhimurium* U302 1주에서는 TEM, *aphA1-Iab*, *strAB* 및 *tetA*가, ACSSuT 내성 *S. Typhimurium* U302 1주에서는 DT104에서 검출된 것과 동일형인 PSE-1, *aadA*, *sullI* 및 *tetG*가 검출되어 다제내성 유전자의 존재 부위는 DT104는 chromosome, DT193은 plasmid라고 하였고, 보유하는 약제내성유전자는 서로 다르나 표현형 및 유전형적으로 서로 유사하며, 역학적으로도 관련이 있다고 보고하였다.

Randall 등(2004)은 영국의 사람과 동물에서 분리한 다제내성 *Salmonella*속 균(35종의 serotype)에 대한 약제내성유전자 검출에서 68주의 ACSSuT 내성 *S. Typhimurium* DT104는 주로 PSE-1, *floR*, *aadA2*, *sullI* 및 *tetG*가 검출되었고, 그 외에 TEM 5주, *cat1* 1주, *strA* 10주, *sullI* 8주, *tetB* 1주, kanamycin 내성 1주에서 *aphA1-Iab*가 검출되었으며, ampicillin 내성균주에서 TEM과 PSE-1이 동시에 검출된 예도 있었다고 하였다. 6주의 ACSSuT 내성 *S. Typhimurium* U302에서는 주로 PSE-1, *floR*, *aadA2*, *strA*, *sullI*, *sullI* 및 *tetG*가 검출되었고, *tetA* 1주도 검출되었다고 하였다. 11주의 ASSuT 내성 *S. Typhimurium* DT193에서는 주로 TEM, *strA*, *sullI* 및 *tetA*가 검출되었고, PSE-1 1주도 검

출되었으나 chloramphenicol 내성 1주에서는 *cat1*, *cat2* 또는 *floR*이 검출되지 않았다고 하였다. Kanamycin 내성 1주에서 *aphA1-Iab*가 검출되었고, 다른 serotype의 경우는 주로 TEM, *cat1*, *strA*, *sullI* 및 *tetA* 또는 *tetB*가 검출되었으며, 그 외에 *cat2*, *aadA1*, *aadA2* 및 *sullI*도 검출되었다고 하였다. *S. Emek* 1주에서 *floR*과 *tetG*가 검출된 예도 있었다고 하였다.

PSE-1, *floR*, *aadA2*, *sullI* 및 *tetG*는 *S. Typhimurium* DT104와 U302에서 검출율이 높았고, *tetA*와 *tetB*는 *S. Typhimurium* DT104와 U302가 아닌 다른 phage type과 serotype에서 주로 검출되었다고 하였다. *strA*는 *S. Typhimurium*에서도 검출되었으나 다른 serotype에서 검출율이 높았고, *aadA1*은 *S. Typhimurium*이 아닌 다른 serotype에서만 검출되었으며, *aadA1*과 *aadA2*, *aadA1*과 *strA* 및 *aadA2*와 *strA*가 함께 검출된 예도 있었다고 하였다. *aadA2*와 *strA* 같이 같은 항균제에 대하여 2가지 유전자가 검출되어 *aadA2*는 class 1 integron과 관련이 있고 *strA*는 plasmid와 관련이 있다고 하였으며, 또한 class 1 integron과 관계없이 같은 약제에 대해 2가지 유전자(*aadA1*과 *strA*)를 보유한 경우도 있었다고 하였다. 결론적으로 PSE-1, *floR*, *aadA2*, *sullI* 및 *tetG*는 chromosome의 multidrug resistance genomic island인 class 1 integron과 관련이 있으며, *strA*와 *sullI*는 plasmid와 관련이 있다고 하였다(Randall 등, 2004).

Chen 등(2004)은 미국과 대만에서 분리한 133주의 *Salmonella*속 균에 대하여 약제내성 관련 유전자를 검출한 결과 *aph-IIa*는 kanamycin 내성균에서, *aadA1*은 streptomycin 내성균, *sullI*과/ 또는 *sullI*는 sulfonamide 내성균, *tetA*와/ 또는 *tetB*는 tetracycline 내성균, *cat1*과 *cat2*는 대만유래 chloramphenicol 내성균, *flo-1*은 미국유래 *S. Typhimurium* DT104, TEM-1은 미국유래 *S. Typhimurium* DT208과 *S. Typhimurium*이 아닌 다른 serotype 및 대만유래의 ampicillin 내성균에서 검출되었다고 하였으며, 미국유래 2주의 *S. Typhimurium* DT104에서는 PSE-1, *flo-1*, *aadA1*, *aadA2*, *tetA* 및 *tetB*가 검출되었다고 하였다. 이 중 PSE-1, *flo-1*, *aadA2*, *sullI* 및 *tetA*는 다제내성 부위인 SGI1과 관련이 있고 *aadA1*, *sullI* 및 *tetB*는 plasmid와 관련이 있다고 보고하였다.

Pezzella 등(2004)은 이탈리아의 동물유래 58주(20종의 serotype)의 다제내성 *Salmonella*속 균에 대하여 streptomycin과 tetracycline 내성 관련 유전자를 검출한 결과 *strA*와 *strB*의 검출율이 84%였고, *tetA*의 검출

율은 68%이었으며, 이들은 plasmid와 transposon과 관련이 있다고 보고하였다. Llanes 등(1999)은 프랑스에서 분리한 96주의 amoxicillin 내성 *Salmonella*속 균에서 TEM-1(54주), PSE-1(40주), TEM-2와 PSE-1(1주) 및 OXA-4(1주)를 검출하였으며, 모든 PSE-1은 *S. Typhimurium*에서 검출되어 염기서열분석 결과 *Pseudomonas aeruginosa*에서 plasmid RPL11에 의해 운반된 PSE-1의 염기서열과 98% 상동성을 가진다고 보고하였다. Guerra 등(2001)은 다제내성 *S. enterica* serotype [4, 5, 12 : I : -]에서 *dfrA12*와 *aadA2*는 class 1 integron과 관련이 있고, TEM, *cmlA*, *aac(3)-IV* 및 *tetA*는 *spv*를 운반하는 140kb 또는 *spv*를 보유하지 않는 120kb 크기의 large plasmid와 관련이 있다고 보고하였다.

국내의 약제내성 관련 유전자 검출에 관한 연구에서는 이(2009)가 소와 돼지유래  $\beta$ -lactams(ampicillin과 amoxicillin) 내성 *S. Typhimurium* 49주(AAcCSSuT 내성 44주와 ACST 내성 5주) 중 47주에서 TEM을 검출 보고하였고, Lee 등(2004)은 사람유래 다제내성 *S. Typhi*에서 ampicillin 내성 11주에 대하여 TEM을 검출 보고한 바 있다. Yang 등(2001)은 돼지에서 분리한 ACSSuT 내성형의 *S. Typhimurium* DT104 2주와 tetracycline과 chloramphenicol 내성 *S. Typhimurium*에서 PSE-1과 *cml/tetR* 유전자는 검출되지 않았지만, *Salmonella*속 균 6주(ACSSuT 내성형의 *S. Typhimurium* DT104 2주, ampicillin 내성 *S. Typhimurium* 3주 중 2주 및 ampicillin 내성 *S. Enteritidis* 4주 중 2주)에서 TEM이 검출되었다고 하였으며, 김(2000)은 CGNaSSuT 내성형의 *S. Typhimurium* DT104(1주), CSSuT 내성형의 *S. Typhimurium*(4주) 및 ACSSuT 내성형의 *S. Typhimurium*(2주)에서 *cml/tetR*은 검출되지 않았지만, ACSSuT 내성형의 *S. Typhimurium*(2주)에서 PSE-1이 검출되었다고 하였다.

본 실험에서 사용한 54주 중 43주의 ACSSuT *S. Typhimurium*에서 주로 TEM, *cmlA*, *aadA1*, *aadA2*, *strA*, *strB*, *sullI*, *dhfrXII*, *tetA*가 검출되어 미국의 Gebreyes와 Altier (2002)가 AKSSuT 내성 *S. Typhimurium* U302 1주에서 TEM, *aphA1-Iab*, *strAB* 및 *tetA*가 검출되었다고 보고한 성적과 유사하였고, 영국의 Randall 등(2004)이 ASSuT 내성 *S. Typhimurium* DT193에서 주로 TEM, *strA*, *sullI* 및 *tetA*가 검출되었다고 보고한 성적과 유사하였으며, Chen 등(2004)이 대만유래 *Salmonella*속 균에서 주로 TEM-1, *cat1*과/

또는 *cat2*, *aadA1*, *sullI* 및 *tetA*가 검출되었다고 보고한 성적과 Gebreyes와 Altier (2002)가 AKSSuT 내성 *S. Typhimurium* DT193에서 주로 TEM, *aphA1-Iab*, *strAB* 및 *tetB*가 검출되었다고 보고한 성적과 다소 유사하였다. 다만 chloramphenicol 내성 유전자 검출 결과 국내 분리주에서는 *cmlA*가 검출되었으나 대만 분리주에서는 *cat*가 검출되었으며, tetracycline 내성 유전자 검출 결과 국내 분리주에서는 *tetA*가 검출된 반면에 미국 분리주에서는 *tetB*가 검출되어 서로 차이를 나타내었다. 이탈리아의 Pezzella 등(2004)과 프랑스의 Llanes 등(1999)의 성적과는 다소 차이가 났다.

또한 *S. Typhimurium*이 아닌 다른 serotype에서 주로 TEM, *cmlA*, *aadB*, *aphA1-Iab*, *aadA1*, *aadA2*, *strA*, *strB*, *sullI* *tetA*, *tetB*가 검출되어 Randall 등(2004)이 *S. Typhimurium*이 아닌 다른 serotype에서 주로 TEM, *cat1*, *strA*, *sullI* 및 *tetA* 또는 *tetB*가 검출되었고, 그 외에 *cat2*, *aadA1*, *aadA2* 및 *sullI*도 검출되었다고 보고한 성적과 다소 유사하였다. Kanamycin 내성 분리주에서 *aphA1-Iab*이 검출되어 Gebreyes와 Altier (2002) 및 Randall 등(2004)이 보고한 성적과 일치하였으나 Chen 등(2004)이 대만 분리주에서는 *aph-IIa*가 검출되었다고 보고한 성적과는 차이를 나타내었다. Gentamicin 내성 분리주에서 *aadB*가 검출되어 Gebreyes와 Altier (2002)가 *grm*이 검출되었다고 보고한 성적과는 차이를 나타내었지만 Randall 등(2004)이 보고한 성적과는 일치하였다.

위의 연구자들이 보고한 내성 관련 유전자 검출의 성적과 본 실험에서의 성적이 부분적으로 차이가 나는 것은 국가간의 지역적 차이도 있을 수 있지만 주로 연구자들이 사용한 primer의 종류와 관련이 깊을 것으로 추측된다. 왜냐하면, Gebreyes와 Altier (2002)는 chloramphenicol 내성 유전자 검출을 위한 primer를 사용하지 않았고, sulfonamides 내성 유전자 검출에 *sullI*만 사용하였으며, Randall 등(2004)은 chloramphenicol 내성 유전자 검출에 *cmlA*와 *cmlB*를 사용하지 않았고, streptomycin 내성 유전자 검출에 *strB*를 사용하지 않았으며, Chen 등 (2004)은 streptomycin 내성 유전자 검출에 *strA*와 *strB*를 사용하지 않았기 때문이다. 따라서 우리나라 소와 돼지유래 살모넬라속 균에서 주로 검출된 TEM, *cmlA*, *strA*, *strB*, *sullI* 및 *tetA*는 plasmid와 관련이 있을 것으로 추측된다.

본 실험에서 소와 돼지에서 분리된 *S. Typhimurium*의 주요 약제내성유형 및 내성유전자 profile은 각

ACSSuT 및 TEM, *cmlA*, *aadA1*, *aadA2*, *strA*, *strB*, *sullI*, *dhfrXII*, *tetA*, *int*로 나타났다. 이는 1980~1990년대까지 외국에서 다제내성을 나타내었던 *S. Typhimurium*과 유사한 유형이었으며, 1990년대 이후에 주로 유럽, 미국 및 캐나다 등에서 분리되는 ACSSuT 내성형의 *S. Typhimurium* DT104와 내성유형은 같았다. 본 연구에서 조사된 *S. Typhimurium*은 *S. Typhimurium* DT104와 약제내성유전자형은 서로 다를지라도 이와 유사한 식품 매개 질병을 일으키는 주요 원인체이므로 공중보건학적으로 중요한 의미를 갖는다고 볼 수 있다.

## 결 론

다제내성을 나타내는 *S. Typhimurium*, 비교적 약제내성율이 높거나 gentamicin 또는 kanamycin에 내성을 나타내는 살모넬라속 균 102주(12 serotypes)에서 PCR 기법을 이용하여 virulence gene인 *invA*와 *spvC*, ACCKSSuT 내성 관련 유전자 및 내성유전자 카세트 로 알려진 *int*를 검출하여 분자유전학적 특성을 조사한 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

*invA*는 모든 균주에서 검출 되었으며, *spvC*의 검출율은 22.5%로 나타났다. 또한 약제내성과 관련 있는 *int*의 검출율은 56.9%로 나타났으며, chloramphenicol 내성균주에서 100%의 검출율을 나타내었다.

TEM 유전자 등 14종의 내성 관련 유전자가 검출되었다. 약제내성유전자별 균주 수는  $\beta$ -lactams 계열 내성 55주(ampicillin 내성 54주와 amoxicillin 내성 1주) 중 51주(92.7%)에서 TEM 유전자가 검출되었고, chloramphenicol 내성 55주, gentamicin 내성 3주 및 kanamycin 내성 5주 중 모든 균주에서 각각 *cmlA*, *aadB* 및 *aphA1-lab* 유전자가 검출되었으며, Streptomycin 내성 69주 중 *strB* 62주(89.9%), *strA* 61주(88.4%), *aadA2* 58주(84.1%) 및 *aadA1* 50주(72.5%)에서 검출되었다. Sulfamethoxazole/trimethoprim 내성 49주 중 *sullI* 49주(100%), *dhfrXII* 49주(100%)에서 검출되었으나 *sull*은 검출되지 않았다. Tetracycline 내성 97주 중 *tetA* 95주(97.9%)와 *tetB* 21주(21.6%)가 검출되었다.

*S. Typhimurium* 54주에서 약제내성유전자의 검출율은  $\beta$ -lactams 계열 내성유전자인 TEM 95.7%(44주/46주; ampicillin 내성 45주와 amoxicillin 내성 1주), chloramphenicol 내성유전자인 *cmlA* 100%(51주/51주),

streptomycin 내성유전자인 *aadA2*, *strA*, *strB*가 각각 100%(54주/54주), *aadA1* 79.6%(43주/54주), sulfamethoxazole/trimethoprim 내성유전자인 *sullI*와 *dhfrXII* 각 100%(49주/49주) 및 tetracycline 내성유전자인 *tetA* 100%(54주/54주)로 나타났으며, 약제내성과 관련 있는 *int* 유전자도 모든 균주에서 검출되었다.

약제내성유형과 내성유전자 profile과의 관계를 조사한 결과 *S. Typhimurium* 54주 중 ACSSuT 내성유형이면서 TEM, *cmlA*, *aadA1*, *aadA2*, *strA*, *strB*, *sullI*, *dhfrXII*, *tetA*, *int* profile 균주가 34주(63.0%)로 가장 높게 분포되었다.

## 참 고 문 헌

- 김상윤. 2000. 경북지역 가축에서 분리된 *Salmonella*속 균의 역학적 특성 및 병원성. 안동대학교 대학원 박사학위 논문.
- 이우원, 정병열, 이강록, 이동수, 김용환. 2009. 소와 돼지유래 *Salmonella*속 균의 혈청형 및 약제감수성. 한국가축위생학회지 32(1): 49-59.
- 이우원, 정병열, 이강록, 이동수, 김용환. 2009. 소와 돼지유래 다제내성 *Salmonella*속 균의 분자유전학적 특성. 한국가축위생학회지 32(1): 61-76.
- 정대영, 박종태, 고흥범. 2003. 전남지역 도축장에서 분리된 *Salmonella typhimurium*의 병원성에 관한 연구. 한국가축위생학회지 26(1): 39-50.
- Arcangioli MA, Leroy-Setrin S, Martel JL, Chaslus-Dancla E. 2000. Evolution of chloramphenicol resistance, with emergence of cross-resistance to florfenicol, in bovine *Salmonella* Typhimurium strains implicates definitive phage type (DT) 104. *J Med Microbiol* 49(1): 103-110.
- Baggesen DL, Sandvang D, Aarestrup F. 2000. Characterization of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104 isolated from Denmark and comparison with isolates from Europe and the United States. *J Clin Microbiol* 38(4): 1581-1586.
- Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol* 45(4): 493-496.
- Bolton LF, Kelley LC, Lee MD, Fedorka-Cray PJ, Maurer JJ. 1999. Detection of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium DT104 based on a gene which confers cross-resistance to florfenicol and chloramphenicol. *J Clin Microbiol* 37(5): 1348-1351.
- Boyd D, Cloeckert A, Chaslus-Dancla E, Mulvey MR. 2002. Characterization of variant *Salmonella* genomic island 1 multidrug resistance regions from serovars Typhimurium DT104 and Agona. *Antimicrob Agent and Chemother* 46(6): 1714-1722.
- Boyd D, Peters GA, Cloeckert A, Boumedine KS, Chaslus-Dancla E, Imberechts H, Mulvey MR. 2001. Complete

- nucleotide sequence of a 43-kilobase genomic island associated with the serovar Typhimurium DT104 and its identification in phage type DT120 and serovar Agona. *J Bacteriol* 183(19): 5725-5732.
- Bryant MC. 1972. Antibiotics and their laboratory control. 2nd ed. Butterworth, London. 41.
- Chen S, Zhao S, White DG, Schroeder CM, Lu R, Yang H, McDermott PF, Ayers S. 2004. Characterization of multiple-antimicrobial-resistant *Salmonella* serovars isolated from reptail meats. *Appl Environ Microbiol* 70(1): 1-7.
- Doublet B, Boyd D, Mulvey MR, Cloeckaert A. 2005. The *Salmonella* genomic island 1 is an integrative mobilizable element. *Mol Microbiol* 55(6): 1911-1924.
- Edwards PR and Galton MM. 1967. Salmonellosis. *Adv Vet Sci* 11: 1-63.
- Faldynova M, Pravcova M, Sisak F, Havlickova H, Kolackova I, Cizek A, Karpiskova R, Rychlik I. 2003. Evolution of antibiotic resistance in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium strains isolated in the Czech republic between 1984 and 2002. *Antimicrob Agents Chemother* 47(6): 2002-2005.
- Gahring LC, Heffron F, Finlay BB, Falkow S. 1990. Invasion and replication of *Salmonella typhimurium* in animal cells. *Infect Immun* 58(2): 443-448.
- Gebreyes WA and Altier C. 2002. Molecular characterization of multidrug-resistant *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium isolates from swine. *J Clin Microbiol* 40(8): 2813-2822.
- Guerra B, Soto SM, Arguelles JM, Mendoza MC. 2001. Multidrug resistance is Mediated by large plasmids carrying a class 1 integron in the emergent *Salmonella enterica* serotype [4, 5,12:i:-]. *Antimicrob Agents Chemother* 45(4): 1305-1308.
- Helmuth R, Stephan R, Bunge C, Hoog B, Steinbeck A, Bulling E. 1985. Epidemiology of virulence associated plasmids and outer membrane protein patterns within seven common *Salmonella* serotypes. *Infect Immun* 48: 175-182.
- Khan AA, Nawaz MS, Khan SA, Cerniglia CE. 2000. Detection of multidrug-resistant *Salmonella typhimurium* DT104 by multiplex polymerase chain reaction. *FEMS Microbiol Lett* 182(2): 355-360.
- Lee KW, Yong DG, Yum JH, Lim YS, Kim HS, Lee BK and Chong YS. 2004. Emergence of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar Typhi in Korea. *Antimicrob Agent Chemother* 48(11): 4130-4135.
- Llanes C, Kirchgesner V, Plesiat P. 1999. Propagation of TEM- and PSE-type  $\beta$ -lactamase among amoxicillin-resistant *Salmonella* spp. isolated in France. *Antimicrob Agent Chemother* 43(10): 2430-2436.
- Meunier D, Boyd D, Mulvey MR, Baucheron S, Mammina C, Nastasi A, Chaslus-Dancla E, Cloeckaert A. 2002. *Salmonella enterica* serotype Typhimurium DT 104 antibiotic resistance genomic island 1 in serotype Paratyphi B. *Emerg Infect Dis* 8(4): 430-433.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1988. Performance standards for antimicrobial disc susceptibility tests. 6th ed. Approved standard. NCCLS. 18(1): M2-A6.
- Pezzella C, Ricci A, DiGiannatale E, Luzzi I, Carattoli A. 2004. Tetracycline and streptomycin resistance genes, transposons, and plasmids in *Salmonella enterica* isolates from animals in Italy. *Antimicrob Agents Chemother* 48(3): 903-908.
- Randall LP, Cooles SW, Osborn MK, Piddock LJV, Woodward MJ. 2004. Antibiotic resistance genes, integrons and multiple antibiotic resistance in thirty-five serotypes of *Salmonella enterica* isolated from humans and animals in the UK. *J Antimicro Chemother* 53(2): 208-216.
- Soto SM, Gonzalez-Hevia A, Mendoza MC. 2003. Antimicrobial resistance in clinical isolates of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis: relationships between mutations conferring quinolone resistance, integrons, plasmids and genetic types. *J Antimicro Chemother* 51(5): 1287-1291.
- Swamy SC, Barnhart HM, Lee MD, Mendoza MC. 1996. Virulence determinants *invA* and *spvC* in *Salmonella* isolated from poultry products, wastewater, and human sources. *Appl and Environ Microbiol* 62(10): 3768-3771.
- Taitt CR, Shubin YS, Angel R, Ligler FS. 2004. Detection of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium by using a rapid, array-based immunosensor. *Appl Environ Microbiol* 70(1): 152-158.
- Velge P, Cloeckaert A, Barrow P. 2005. Emergence of *Salmonella* epidemics: The problems related to *Salmonella enterica* serotype Enteritidis and multiple antibiotic resistance in other major serotypes. *Vet Res* 36(3): 267-288.
- Walker Ra, Lindsay E, Woodward MJ, Ward LR, Threlfall EJ. 2001. Variation in clonality and antibiotic-resistance genes among multiresistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium phage type U302 (MR U302) from humans, animals and foods. *Microb Drug Resist* 7(1): 13-21.
- Yang SJ, Park KY, Seo KS, Besser TE, Yoo HS, Noh KM, Kim HK, Kim SH, Lee BK, Kook YH, Park YH. 2001. Multidrug-resistant *Salmonella typhimurium* and *Salmonella enteritidis* identified by multiplex PCR from animals. *J Vet Sci* 2(3): 181-188.