

## 어류 양식장에서 분리한 *Vibrio parahaemolyticus*의 Class I Integron에 의한 Trimethoprim 내성

유홍식·박큰바위<sup>1\*</sup>·오은경·이태식<sup>2</sup>·신순범·권지영·김지회<sup>3</sup>·손광태  
국립수산과학원 식품안전과, <sup>1</sup>남서해수산연구소, <sup>2</sup>서해수산연구소, <sup>3</sup>남동해수산연구소

### Trimethoprim Resistance by Class I Integron in *Vibrio parahaemolyticus* from a Fish Farm

HongSik Yu, Kunbawui Park<sup>1\*</sup>, Eun-Gyoung Oh, Tae-Seek Lee<sup>2</sup>,  
SoonBum Shin, Ji-Young Kwon, Ji-Hoe Kim<sup>3</sup> and Kwang-Tae Son  
Food Safety Division, National Fisheries Research & Development Institute,  
NFRDI, Busan 619-902, Korea

<sup>1</sup>Southwest Sea Fisheries Research Institute, NFRDI, Yeosu 556-823, Korea

<sup>2</sup>West Sea Fisheries Research Institute, NFRDI, Incheon 400-420, Korea

<sup>3</sup>Southeast Sea Fisheries Research Institute, NFRDI, Tongyeong 650-943, Korea

A trimethoprim resistant *Vibrio parahaemolyticus*, which cause acute gastroenteritis in humans, was isolated from farmed fish and seawater. The resistance profiles of isolated *V. parahaemolyticus* and their correlation with mobile elements were investigated. All of the *V. parahaemolyticus* were resistance to both rifampin and trimethoprim. The presence of class I integron was confirmed by PCR. PCR-amplified inserted gene cassettes contained aminoglycoside *aac6-II*, rifampin *arr-3* and trimethoprim *dfrA27* resistance genes. This study indicated that class I integron mainly contributed to the circulation of trimethoprim resistance determinants in *V. parahaemolyticus*.

Key words: Trimethoprim, *Vibrio parahaemolyticus*, Integron, Gene cassette

#### 서 론

Trimethoprim은 합성 항균제로 dihydrofolate를 tetrahydrofolate로 환원시키는 dihydrofolate reductase (DHFR, *dfr*)에 길항작용을 하는데, 동물세포에는 영향을 미치지 않고, 세균에만 선택적으로 작용하므로 1962년부터 세균 감염증의 치료에 사용되어왔다. 그리고 sulfonamide와 병합하면 상승작용이 있으므로 이를 이용한 병합요법이 호흡기, 피부, 장내질 환 및 요로감염 등의 치료에 널리 이용되고 있다 (Huovinen, 2001; Navia et al., 2004).

현재까지 알려진 trimethoprim에 대한 항균제 내성의 기전은 주로 efflux pump에 의한 투과 제한, 표적효소의 조절 변화 등이 있으나, 가장 일반적인 내성 획득의 기전은 *dfr* 유전자에 의한 감수성 유전자의 치환이다 (Huovinen et al., 1995). *Dfr* 유전자는 mobile element로 알려진 plasmid, transposon 및 integron과 같은 수평전파가 가능한 DNA 구조에 포함되어 있는데, 이들 mobile element는 항균제 내성 유전자의 확산에 관여하는 대표적인 인자로 알려져 있다 (Warren et al., 1999; Lau and Ingham, 2001).

Integron은 자체 이동성은 갖고 있지 않지만 integrase를 이용하여 다른 종류의 이동성 인자인 transposon (Tn) 또는 insertion sequence (IS)에 삽입되어 이동성을 가지며 integron의 상류 끝에는 5' conserved segment (5'-CS), 하류 끝에는 3'-CS

가 존재한다. 또한 5'-CS에는 integrase 유전자 *intI*와 cassette가 재결합하는 부위 *attI* 및 promoter ( $P_{ant}$ )가 있어 하부에 삽입된 내성 유전자 발현을 조절할 수 있었다. Integron은 integrase 유전자의 염기서열 상동성에 따라 I~IV class integron으로 분류되며 대부분의 class I integron의 하류 3'-CS에는 4차 암모늄 화합물 내성 유전자의 결손형인 *qacE $\Delta$ I*과 sulfonamide 내성 유전자 *sulI*이 있다 (Hall and Collis, 1995; Recchia and Hall, 1995; Fluit and Schmitz, 1999; Rosser and Young, 1999).

Integron은 인간과 가축의 분변 등에서 유래하는 *Escherichia coli* (Jeong et al., 2005), *Klebsiella pneumoniae* (Kim et al., 2005)와 콜레라 원인세균인 *Vibrio cholerae* (Dalsgaard et al., 1999; 2000) 등에서 발견되고 있다. 이들 세균에서는 gene cassette 영역에 삽입되어 있는 *dfr* 유전자 (Fluit and Schmitz, 1999) 들에 의해 trimethoprim 내성이 나타난다는 보고는 많으나 *V. parahaemolyticus*에 관한 연구는 거의 전무한 실정이다.

Trimethoprim은 수산용으로는 사용량이 그리 많지는 않지만 Oh et al. (2008)이 우리나라 남해안 양식어류에서 분리한 *V. parahaemolyticus*에서 trimethoprim 내성에 관여하는 R plasmid pVPBW1을 보고하였으며 R plasmid 유전자 외의 다른 이동성 인자에 포함된 내성유전자의 존재 가능성을 제기하였다.

이러한 보고는 어류양식장과 같은 연안환경에서 *V. parahaemolyticus*가 지속적으로 항생체에 노출되거나, 포유류 분변과 같은 오염물질과 함께 육상에서 유입되는 항생제 내성 균들과의 접촉을 통해 내성인자를 전달 받는 경우 다양한

\*Corresponding author: bkbwtear@nfrdi.go.kr

항생제에 대한 내성을 획득할 가능성이 있다는 것을 시사하는 것이다. 따라서 본 연구에서는 trimethoprim에 내성을 나타내는 *V. parahaemolyticus*의 내성기전의 구명과 이들 균주들이 가지고 있는 이동성인자를 파악함으로써 내성균 발생, 전파경로의 추적 및 평가에 필요한 자료로 활용하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험균주

우리나라 남해안 어류양식장에서 분리한 *V. parahaemolyticus* 균주 중에서 trimethoprim에 대한 내성을 나타내는 균주를 대상으로 mobile element인 integron 보유 여부 및 gene cassettes 영역을 조사하고자 하였으며, 사용된 균주는 Table 1에 나타내었다.

Table 1. *Vibrio parahaemolyticus* used in this study

| No. | Stains | Source                        | Area  | Year |
|-----|--------|-------------------------------|-------|------|
| 1   | 050916 | <i>Paralichthys olivaceus</i> | Wando | 2005 |
| 2   | 050926 | <i>Paralichthys olivaceus</i> | Wando | 2005 |
| 3   | 050927 | <i>Paralichthys olivaceus</i> | Wando | 2005 |
| 4   | 050930 | <i>Paralichthys olivaceus</i> | Wando | 2005 |

### 항생제 감수성 시험

항생제 감수성 시험은 Acar and Goldstein (1991)의 디스크 확산법을 응용하여 사용하였다. 사용한 항생제 디스크는 ampicillin (10 µg/disk), chloramphenicol (5 µg/disk), nalidixic acid (30 µg/disk), rifampin (5 µg/disk), streptomycin (10 µg/disk), tetracycline (5 µg/disk), sulfamethoxazole/trimethoprim (23.75/1.25 µg/disk), trimethoprim (5 µg/disk) 등 8종 (BBL, BBL, Becton Dickinson, Sparks, USA)사 제품을 사용하였다. 항생제 디스크가 고착된 Müller hinton agar (Merck, Germany) 평판을 35°C에서, 16-18시간 배양한 다음 균의 억제대 (inhibition zone)의 크기로 감수성 정도를 판별하였다.

### 염색체 DNA의 분리

염색체 DNA의 분리는 Hopwood et al. (1985) 방법을 변형하여 사용하였다. 균주를 35°C에서 18시간 배양한 후 20,000×g에서 30분간 원심분리하여 균체를 모으고, TEG (25 mM Tris-HCl, 50 mM glucose, 10 mM EDTA, pH 8.0) 완충용액으로 1회 세척한 후 lysozyme (2 mg/mL), 10% sodium dodecyl sulfate (Merck, Germany, SDS) 용액과 phenol:chloroform:isoamyl alcohol (25:24:1)을 순차적으로 처리하여 상정액을 얻었다. 이 상정액에 RNaseA (200 mg/mL)와 proteinase K (50 mg/mL)를 처리한 후 phenol:chloroform:isoamyl alcohol로 재 처리하고 에탄올을 첨가하여 침전시켜 염색체 DNA를 회수하였다.

### Class I integron의 탐색

Class I integron의 탐색을 위하여 class I integron PCR

반응에 사용한 정방향 (5'-TCAGCACATGCGTGTAATCGTCG-3')과 역방향 (5'-ATGAAAACCGCTCTGCGCCGT TAC-3') primer는 Bito and Susani (1994)의 방법에 따라 제작하였다. PCR 반응은 0.5 µL (2.5 U) Taq polymerase, 5 µL Taq polymerase buffer (×10), 1 µL의 10 mM dNTP, 39 µL dH<sub>2</sub>O에 20 pmol의 각 primer 2 µL와 25 ng 주형 DNA를 첨가하여 잘 혼합한 후 반응액을 94°C에서 5분간 변성시켰다. 이를 60°C에서 1분간 annealing한 후 72°C에서 1분간 polymerization 시키는 것을 30 cycles로 실시하였다.

PCR 산물 확인을 위한 전기영동은 0.8% agarose gel에 1 µL의 6×loading buffer (Bioneer, Korea)와 분리한 plasmid 5 µL를 혼합하여 100 volt에서 1시간 동안 전개시키고 ethidium bromide (Sigma-aldrich, USA, 이하 EtBr) (0.5 µL/mL)용액으로 20분간 염색하여 transilluminator (High performance ultraviolet transilluminator, USA)에서 확인하였다.

### Gene cassette 조사

Integron 내의 gene cassette을 조사하기 위하여 PCR 반응에 사용한 정방향 (5'-TCATGGCTTGTTATGACTGT-3')와 역방향 (5'-GTAGGGCTTATTATGCACG-3') primer는 White et al. (2003)의 방법에 따라 제작하였다. PCR 반응은 0.5 µL (2.5 U) Taq polymerase, 5 µL Taq polymerase buffer (×10), 1 µL의 10 mM dNTP, 39 µL dH<sub>2</sub>O에 20 pmol의 각 primer 2 µL와 25 ng 주형 DNA를 첨가하여 잘 혼합한 후 반응액을 94°C에서 5분간 변성시켰다. 이를 60°C에서 1분간 annealing한 후 72°C에서 1분간 polymerization 시키는 것을 30 cycles로 실시하였다. PCR 산물 확인을 위한 전기영동은 상기의 방법과 동일하게 실시하였다.

### PCR 산물 클로닝 및 염기서열 분석

증폭한 PCR 산물을 클로닝 하기 위하여 Wizard SV Gel and PCR Clean-Up system kit (Promega, USA)를 사용하여 PCR 산물을 정제하였으며 TA 클로닝을 실시하기 위하여 pGEM-T Easy Vector System kit (Promega, USA)를 이용하였다. TA 클로닝 실시한 것을 미리 제조해 둔 *E. coli* DH5α competent cell에 형질전환시켰으며 plasmid extraction kit (Bioneer, Korea)을 사용하여 형질전환주로부터 plasmid를 추출하였다. 이렇게 분리된 plasmid의 염기서열을 분석한 후 NCBI에서 운영하는 BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/blast.cgi>)를 이용하여 상동성을 조사하였다.

## 결과 및 고찰

### 분리균주의 항생제 내성경향

Oh et al. (2008)은 2005년 남해안 어류양식장에서 trimethoprim에 대해 높은 내성을 나타내는 *V. parahaemolyticus* 5균주를 분리하였으며 이들 균주들 중 *V. parahaemolyticus* 050919균주에서 trimethoprim에 내성에 관여하는 R plasmid인 pVPBW1을 분리하여 그 특성을 구명하여 보고하였다. 본 연구에서는 나머지 4균주에 대한 내성기전을 구명하고자 항균

제 내성 유전자의 확산에 관여하는 integron의 보유유무를 조사하였다.

본 연구에 사용한 실험 균주들의 항생제 내성경향을 Table 2에 나타내었다. *V. parahaemolyticus* 050916 균주는 sulfamethoxazole/trimethoprenem, rifampin, nalidixic acid 및 trimethoprim에, *V. parahaemolyticus* 050926 균주는 ampicillin, sulfamethoxazole/trimethoprenem, rifampin 및 trimethoprim에, *V. parahaemolyticus* 050927 균주는 ampicillin, streptomycin, sulfamethoxazole/trimethoprenem, rifampin 및 trimethoprim에, 그리고 *V. parahaemolyticus* 050930 균주는 ampicillin, rifampin 및 trimethoprim에 항균제 내성을 나타내었으며, 이들 균주들은 모두 trimethoprim 및 rifampin 내성을 가지고 있었으나 다른 항생제에 대한 내성 경향을 균주들마다 다소 차이를 나타내었다.

Table 2. Antibiotic resistance patten of trimethoprim resistant *Vibrio parahaemolyticus* isolates

| Strain | AM <sup>1)</sup> | S  | SXT | RA | C  | TE | NA | TMP |
|--------|------------------|----|-----|----|----|----|----|-----|
| 050916 | 12 <sup>2)</sup> | 11 | AG  | AG | 28 | 12 | AG | AG  |
| 050926 | AG <sup>3)</sup> | 14 | AG  | AG | 10 | 28 | 24 | AG  |
| 050927 | AG               | 8  | AG  | AG | 12 | 28 | 26 | AG  |
| 050930 | AG               | 12 | 24  | AG | 10 | 28 | 26 | AG  |

<sup>1)</sup>AM, Ampicillin; S, Streptomycin; SXT, Sulfamethoxazole/trimethoprenem; RA, Rifampin; C, Chloramphenicol; TE, Tetracycline; NA, Nalidixic acid; TMP, Trimethoprim.

<sup>2)</sup>The numbers indicate the diameter of clear zone (mm).

<sup>3)</sup>AG, no inhibition.

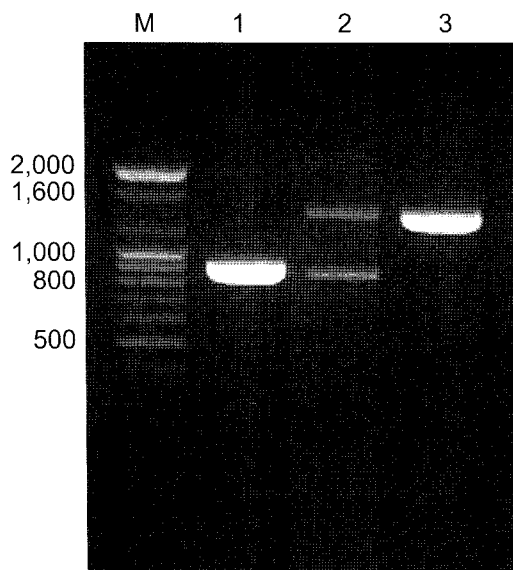


Fig. 1. Agarose gel electrophoresis pattern of the amplicons of partial integrase gene and gene cassettes. M, 100 bp DNA ladder; 1, Partial integrase gene; 2, gene cassette groups I; 3, gene cassette groups II.

*Vibrio parahaemolyticus*의 class I integron 보유

Trimethoprim에 내성을 나타내는 *V. parahaemolyticus* 균주들의 내성인자를 탐색하기 위하여 integron 보유 유무를 조사하였다. PCR을 수행한 결과, *V. parahaemolyticus* 4균주 모두에서 단일 밴드의 PCR 산물을 확인할 수 있었으며 (Fig. 1) 이 PCR 산물이 integron인지를 확인하기 위하여 pGEM-T vector에 클로닝한 후 염기서열 분석을 실시하였다.

분석한 유전자 염기서열에 대한 상동성 결과를 Table 3에 나타내었다. Integron은 integrase 유전자의 염기서열 상동성에 따라 I~IV class integron으로 분류되는데 *V. parahaemolyticus* 4균주에서 확인된 PCR 산물은 *Escherichia coli* strain 1387 및 *Pseudomonas aeruginosa* strain B3 균주에서 확인된 class I integrase 유전자와 99% 상동성을 가지는 것으로 나타났으며, 병원성세균인 *Shigella flexneri* 5와 *Salmonella enterica Paratyphi A* 균주에서 확인된 class I integrase 유전자와도 99%의 상동성을 나타내었다. 이것으로 보아 *V. parahaemolyticus* 4균주가 가지고 있는 것은 모두 class I에 속하는 integron이며 염색체 DNA내에 삽입되어 있는 것으로 추정되었다.

Dalsgaard et al. (1999; 2000)은 베트남 콜레라 환자에서 분리한 *Vibrio cholerae* O1과 태국의 임상 및 환경에서 각기 서로 다른 혈청학적 O형 *Vibrio cholerae* 균주들로부터 class I integron을 발견하여 보고하였으며, Ceccarelli et al. (2006)은 앙골라에서 분리한 *Vibrio parahaemolyticus*에서 trimethoprim에 내성에 관여하는 *dfrA15* 유전자가 포함되어 있는 class I integron을 보고하였다. Class I integron은 *Vibrio* 속처럼 해양상재세균에서 뿐만 아니라 장내세균과에 속하며 사람이나 가축의 분변에서 분리되는 *Escherichia coli* (Jeong et al., 2005), *Klebsiella pneumoniae* (Kim et al., 2005), *Shigella* spp. (Iversen et al., 2003), *Salmonella* spp. (Zhang et al., 2004)에서도 발견되기 때문에 이들 세균들이 가지고 있는 항생제 내성인자들이 식중독 원인세균 중 하나인 *V. parahaemolyticus*로 전이되어 다양한 항생제에 내성을 가질 가능성이 높다고 할 수 있다. 즉, 육상에서 유입되는 분변 유래의 오염원의 관리와 분변에 함유되어 있는 세균들의 항생제 내성 수준 그리고 해양상재세균으로의 내성인자 전이 가능성에 대한 연구가 체계적으로 이루어져야 할 것으로 사료되었다.

Table 3. Homology analysis of the class I integrase gene of *Vibrio parahaemolyticus* isolates

| Strain                                       | Gene              | Homology (%) | Accession no. |
|--|-------------------|--------------|---------------|
| <i>Escherichia coli</i> strain 1387          | Class I integrase | 99           | EU675686      |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> strain B3      | Class I integrase | 99           | EU588392      |
| <i>Enterobacter aerogenes</i> plasmid pYMG-8 | Class I integrase | 99           | FJ004895      |
| <i>Shigella flexneri</i> 5                   | Class I integrase | 99           | DQ923619      |
| <i>Salmonella enterica Paratyphi A</i>       | Class I integrase | 99           | AM412236      |

Table 4. Homology analysis of the aminoglycoside 6'-N-acetyltransferase (*aac6-II*) gene located in 0.8 kb fragment of Group I

| Strain  | Protein(gene)  | Homology (%) | Accession no. |
|---|--|--------------|---------------|
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> strain pae943                     | aminoglycoside 6'-N-acetyltransferase ( <i>aac6-II</i> ) | 100          | EU886980      |
| <i>Acinetobacter baumannii</i> K43                              | aminoglycoside 6'-N-acetyltransferase ( <i>aac6-II</i> ) | 100          | EF127959      |
| <i>Aeromonas hydrophila</i>                                     | aminoglycoside 6'-N-acetyltransferase ( <i>aac6-II</i> ) | 100          | DQ993182      |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i>                                    | aminoglycoside 6'-N-acetyltransferase ( <i>aac6-II</i> ) | 100          | DQ902344      |
| <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhi | aminoglycoside 6'-N-acetyltransferase ( <i>aac6-II</i> ) | 100          | AY123251      |

*V. parahaemolyticus*의 class I integron 내의 gene cassettes

*V. parahaemolyticus* 4균주가 가지는 class I integron 내의 gene cassettes 영역에 trimethoprim 내성에 관여하는 유전자가 삽입되어 있는지 여부를 조사하였다. 그 결과 Fig. 1에서 확인 할 수 있듯이 두개의 그룹으로 구분이 되는데 *V. parahaemolyticus* 050916균주에서는 Group I에 해당하는 두개 (0.8 및 1.5 kbp)의 단편들이 확인되었고 나머지 세 균주에서는 모두 Group II에 해당하는 하나의 단편 (1.5 kbp)만 확인되었다.

이들 단편들에 어떠한 항생제 내성관련 유전자들이 포함되어 있는지를 확인하기 위하여 pGEM-T vector에 클로닝한 후 염기서열 분석을 하여 상동성 검색을 실시하였다. 그 결과, 0.8 kbp 단편 내에는 아미노글리코사이드 (aminoglycoside)계 열 항생제인 gentamicin에 내성에 관여하는 aminoglycoside 6'-N-acetyltransferase 유전자인 *aac6-II*가 삽입되어 있음이 확인되었는데, 이 *aac6-II* 유전자는 *Pseudomonas aeruginosa* strain pae943 및 *Klebsiella pneumoniae*에 보고된 *aac6-II* 유전자와 100%의 상동성을 가짐이 확인하였다 (Table 4).

Group I 및 II에서 확인된 1.5 kbp 단편의 상동성을 조사한 결과, 1.5 kbp 단편 내에는 두개의 항생제 내성인자가 삽입되어 있었다. 먼저 rifampin 내성에 관여하는 내성 인자인 rifampin ADP-ribosylating transferase을 인지하는 유전자인 *arr-3*가 삽입되어 있었는데, 이 *arr-3* 유전자는 *Klebsiella pneumoniae* strain Kp1 및 *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 등에서 보고된 *arr-3* 유전자와 높은 상동성을 가졌다. 또 다른 내성인자로는 trimethoprim 내성에 관여하는 dihydrofolate reductase을 인지하는 *dfrA27* 유전자가 삽입되어 있었으며 *Klebsiella pneumoniae* 및 *Escherichia coli* strain 1387에서 보고된 *dfrA27* 유전자와 동일함이 확인되었다 (Table 5, 6).

한편, Ceccarelli et al. (2006)은 *Vibrio parahaemolyticus*의 class I integron 내의 gene cassettes 영역에는 trimethoprim 내성에 관여하는 *dfrA15* 유전자만 포함되어 있었다고 보고하

였으며, Fluit and Schmitz (1999)은 trimethoprim에 관여하는 내성유전자인 *dfrA5*, *dfrA7*, *dfrA12*, *dfrA15*, *dfrB1*, *dfrB2* 및 *dfrB3*가 class I integron내의 gene cassettes 영역에서 확인되었다고 보고하였다.

이상의 결과를 Table 7에 정리하여 나타내었다. Trimethoprim에 대해 높은 내성을 나타낸 *V. parahaemolyticus* 4균주는 염색체 DNA내에 삽입되어 있는 class I integron 내에 존재하는 *dfrA27* 유전자에 의해 trimethoprim에 대한 내성을 보유하고 있는 것으로 확인되었으며, 이들 균주들이 가지고 있는 class I integron 내에는 trimethoprim 내성에 관여하는 인자 뿐만 아니라 gentamicin과 rifampin 내성에 관여하는 인자들도 포함되어 있음이 확인되었다.

Table 5. Homology analysis of rifampin ADP-ribosylating transferase (*arr-3*) gene located in 1.5 kb fragment of group I and II

| Strain                                  | Protein(gene)  | Homology (%) | Accession no. |
|---|--|--------------|---------------|
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> strain Kp1 | Rifampin ADP-ribosylating transferase ( <i>arr-3</i> ) | 100          | EJ459817      |
| <i>Vibrio cholerae</i> non-O1/non-O139  | Rifampin ADP-ribosylating transferase ( <i>arr-3</i> ) | 99           | EU678897      |
| <i>Acinetobacter junii</i> strain BDC07 | Rifampin ADP-ribosylating transferase ( <i>arr-3</i> ) | 99           | EU686387      |
| <i>Acinetobacter baumannii</i> 509107   | Rifampin ADP-ribosylating transferase ( <i>arr-3</i> ) | 99           | EU340416      |
| <i>Escherichia coli</i> strain DR22806  | Rifampin ADP-ribosylating transferase ( <i>arr-3</i> ) | 99           | EF415651      |

Table 6. Homology analysis of dihydrofolate reductase (*dfrA27*) gene located in 1.5 kb fragment of group I and II

| Strain                                 | Gene                                      | Homology (%) | Accession no. |
|--|---|--------------|---------------|
| <i>Klebsiella pneumoniae</i>           | Dihydrofolate reductase ( <i>dfrA27</i> ) | 100          | FJ976724      |
| <i>Vibrio cholerae</i> non-O1/non-O139 | Dihydrofolate reductase ( <i>dfrA27</i> ) | 100          | EU678897      |
| <i>Escherichia coli</i> strain 1387    | Dihydrofolate reductase ( <i>dfrA27</i> ) | 100          | EU675686      |
| <i>Kluyvera ascorbata</i>              | Dihydrofolate reductase ( <i>dfrA27</i> ) | 99           | EU495238      |
| <i>Aeromonas hydrophila</i>            | Dihydrofolate reductase ( <i>dfrA27</i> ) | 97           | FM877476      |

Table 7. Relationships between amplicon size, resistance genes and resistance patterns found within *Vibrio parahaemolyticus* isolates

| Groups | Pattern of amplicon | Resistance gene                               | Type of resistance | Strain |
|--------|---------------------|---|--------------------|--------|
| I      | 0.8, 1.5 kbp        | <i>aac6-II</i> , <i>arr-3</i> , <i>dfrA27</i> | SXT-RA-NA-TMP      | 050916 |
| II     | 1.5 kbp             | <i>arr-3</i> , <i>dfrA27</i>                  | AM-SXT-RA-TMP      | 050926 |
| II     | 1.5 kbp             | <i>arr-3</i> , <i>dfrA27</i>                  | AM-S-SXT-RA-TMP    | 050927 |
| II     | 1.5 kbp             | <i>arr-3</i> , <i>dfrA27</i>                  | AM-RA-TMP          | 050930 |

이처럼 항생제의 오남용으로 인한 내성균의 발생과 더불어 육상에서 유입되는 항생제 내성을 가진 장내세균 등으로부터 integron과 같은 이동성 인자에 포함되어 있는 내성 인자가 *V. parahaemolyticus*와 같은 해양상재세균으로 전달 될 수 있는 것으로 추정되었다. 이는 다양한 항생제에 내성을 가지는 *V. parahaemolyticus* 출현을 유발하여 인체 감염이나 어류 질병 발생 시 치료를 어렵게 하고, 해양상재세균이 항생제 내성 인자를 전달하는 중간 매개체 역할을 하여 해양생태계에 내성인자의 확산을 유발 할 수 있기 때문에 사람과 가축 등에서 유래하는 분변성 오염물질의 해양유입을 차단하기 위한 체계적인 관리 시스템의 구축이 절실한 실정이라고 사료되었다.

## 사 사

본 연구는 국립수산물품질관리원 수출패류 생산해역 및 수산물 위생조사 연구 (RP-2010-FS-001)의 수행에 따른 결과로 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Acar JF and Goldstein FW. 1991. Disk susceptibility test. In: Antibiotics in Laboratory Medicine, Lorian V, ed. Williams & Wilkins, Baltimore, U.S.A., 17-52.
- Bito A and Susani M. 1994. Revised analysis of *aadA2* gene of plasmid pSa. Antimicrob Agents Chemother 38, 1172-1175.
- Ceccarelli D, Salvia AM, Sami J, Cappuccinalli P and Colombo MM. 2006. New cluster of plasmid-located class I integrons in *Vibrio cholerae* O1 and a *dfx15* cassette-containing integron in *Vibrio parahaemolyticus* isolated in Angola. Antimicrob Agents Chemother 50, 2493-2499.
- Dalsgaard A, Forslund A, Tam NV, Vinh DX and Cam PD. 1999. Cholera in Vietnam: changes in genotypes and emergence of class I integrons containing aminoglycoside resistance gene cassettes in *Vibrio cholerae* O1 strains isolated from 1979 to 1996. J Clin Microbiol 37, 734-741.
- Dalsgaard A, Forslund A, Serichantalergs O and Sandvang D. 2000. Distribution and content of class I integrons in different *Vibrio cholerae* O-serotype strains in Thailand. Antimicrob Agents Chemother 44, 1315-1321.
- Fluit AC and Schmitz FJ. 1999. Class I integrons, gene cassettes, mobility, and epidemiology. Eur J Microbiol Infect Dis 18, 761-770.
- Gaskins HR, Collier CT and Anderson DB. 2002. Antibiotics as growth promotants: mode of action. Anim Biotechnol 13, 29-42.
- Hall RM and Collis CM. 1995. Mobile gene cassettes and integron: capture and spread of genes by site-specific recombination. Mol Microbiol 15, 593-600.
- Hopwood DA, Bibb MJ, Chater KF, Kieser T, Bruton CJ, Kieser HM, Lydiate DJ, Smith CP and Schrempf H. 1985. Genetic manipulation of *Streptomyces* a laboratory manual. The John Innes Foundation. Norwich, England, 1-356.
- Huovinen P, Sundstrom L, Swedberg G and Skold O. 1995. Trimethoprim and sulfonamide resistance. Antimicrob Agents Chemother 39, 279-289.
- Huovinen P. 2001. Resistance to trimethoprim-sulfamethoxazole. Clin Infect Dis 32, 1608-1614.
- Iversen J, Sandvang D, Srijan A, Cam PD and Dalsgaard A. 2003. Characterization of antimicrobial resistance, plasmids, and gene cassettes in *Shigella* spp. from patients in vietnam. Microb Drug Resist 9 suppl 1:S17-24.
- Jeong JY, Yoon HJ, Kim ES, Lee Y, Choi SH, Kim NJ, Woo JH and Kim YS. 2005. Detection of *qnr* in clinical isolates of *Escherichia coli* from Korea. Antimicrob Agents Chemother 49, 2522-2524.
- Kim SH, Wei CI, Tzon YM and An H. 2005. Multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolated from farm environments and retail products in Oklahoma. J Food Prot 68, 2022-2029.
- Lau MM and Ingham SC. 2001. Survival of faecal indicator bacteria in bovine manure incorporated into soil. Lett Appl Microbiol 33, 131-136.
- Navia MM, Ruiz J and Vila J. 2004. Molecular characterization of the integrons in *Shigella* strains isolated from patients with traveler's diarrhea. Diagn Microbiol Infect Dis 48, 175-179.
- Oh EG, Yu HS, Shin SB, Son KT, Park KB, Kwon JY, Lee TS and Lee HJ. 2008. Trimethoprim resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from fish farm. J Kor Fish Soc 41, 324-329.
- Recchia GD and Hall RM. 1995. Gene cassette: a new class of mobile element. Microbiology 141, 3015-3027.
- Rosser SJ and Young HK. 1999. Identification and characterization of class I integrons in bacteria from an aquatic environment. J Antimicrob Chemother 44, 11-18.
- Tollefson L, Altekruze SF and Potter ME. 1997. Therapeutic antibiotics in animal feeds and antibiotic resistance. Rev Sci Tech 16, 709-715.
- Warren JW, Abrutyn E, Hebel JR, Johnson JR, Schaeffer

AJ and Stamm WE. 1999. Guidelines for antimicrobial treatment of uncomplicated acute bacterial cystitis and acute pyelonephritis in women. *Clin Infect Dis* 29, 745-758.

White PA, McIver CJ, Deng Y and Rawlinson WD. 2000. Characterization of two new gene cassettes, *aadA5* and *dfxA17*. *FEMS Microbiol* 182, 265-269.

Zhang H, Shi L, Li L, Guo S, Zhang X, Yamasaki X, Miyoshi S and Shinoda S. 2004. Identification and

characterization of class 1 integron resistance gene cassettes among *Salmonella* strains isolated from healthy humans in China. *Microbiol Immunol* 48, 639-645.

---

2010년 2월 10일 접수  
 2010년 4월 1일 수정  
 2010년 4월 13일 수리