

## 충남지역 농장환경에서 분리된 병원성대장균 분포 및 특성 분석

박준혁 , 윤경아 , 고영은 , 장미 , 김옥\*

충청남도보건환경연구원

### Prevalence and Characterization of Pathogenic *Escherichia coli* Isolated from the Livestock Environment in Chungcheongnam-do Province of South Korea

Junhyuk Park, Kyung A Yun, Youngeun Ko, Mi Jang, and Ok Kim\*

Chungcheongnam-do Institute of Health and Environment Research

#### ABSTRACT

**Background:** One of the major causes of pathogenic *E. coli* is the feces of infected livestock, and the management of the livestock environment is necessary to prevent pathogenic *E. coli*.

**Objectives:** The prevalence of pathogenic *E. coli* was identified from livestock environments, and the molecular characteristics and antibiotic resistance profiles of the isolated pathogenic *E. coli* strains were analyzed.

**Methods:** In 2022 and 2023, nine points of livestock houses at sites in Chungcheongnam-do Province were selected, and 100 cow feces or soil samples around the livestock houses were collected once per month. Pathogenic *E. coli* was isolated by selective culture and identified using multiplex PCR. Antibiotic resistance was tested on the isolated strains by using VITEK-2, and candidate strains were selected to perform 16s rRNA sequencing and phylogenetic analysis.

**Results:** A total of 100 samples were tested, and 60 pathogenic *E. coli* strains were isolated. Of these, 45 and 15 isolates were determined to be single and hybrid pathogenic *E. coli*, respectively. Among the 15 hybrid pathogenic *E. coli* strains, eight, five, and two strains were respectively identified as EHEC/ETEC, EHEC/EPEC, and EHEC/ETEC/EPEC hybrids. All 45 isolates showed resistance to at least one antibiotic, and they were susceptible to cefotaxime, amikacin, nalidixic acid, and ciprofloxacin. The highest resistance was against cefalotin, tetracyclin, and ampicillin (20.0%~58.3%). The 16s rRNA sequences of candidate isolates revealed nucleotide sequence identities of 99.1% to 100%.

**Conclusions:** In order to manage pathogenic *E. coli* from the One Health animal environment perspective, the characteristics of the occurrence of pathogenic *E. coli* from the livestock environment and molecular biology and antibiotic resistance to isolated strains were analyzed. In order to prevent and manage the occurrence of pathogenic *E. coli*, these monitoring studies must be continuously conducted.

**Key words:** Pathogenic *E. coli*, hybrid pathotype, antibiotic susceptibility

Received July 10, 2024

Revised August 16, 2024

Accepted August 16, 2024

#### Highlights:

- Hybrid pathogenic and single pathotype *E. coli* were isolated from livestock environments in Chungnam Korea.
- Major resistance antibiotics for isolates were Cefalotin, Tetracyclin, and Ampicillin.
- To prevent occurrence of pathogenic *E. coli*, monitoring of livestock environments must be continuously conducted.

#### \*Corresponding author:

Chungcheongnam-do Institute of Health and Environment Research, 8, Hongyegongwon-ro, Hongbuk-eup, Hongseong-gun, Hongseong 32254, Republic of Korea  
 Tel: +82-41-635-6840  
 Fax: +82-41-635-7942  
 E-mail: ok7076@korea.kr

## I. 서 론

기후변화 등의 영향으로 병원성대장균은 국내 수인성·식품 매개 감염증의 원인에 있어 발생건수 2위, 환자수 1위를 차지하고 있으며, 집단 식중독발생 중 25%가 병원성대장균이 원인이

되어 공중보건학상 큰 주의와 예방이 필요하다.<sup>1)</sup> 이러한 병원성대장균은 독소와 부착인자의 생산, 임상증상 및 항원의 특성 등에 따라 장출혈성대장균(Enterohemorrhagic *Escherichia coli*, EHEC), 장독소성대장균(Enterotoxigenic *Escherichia coli*, ETEC), 장침투성대장균(Enteroinvasive *Escherichia coli*, EIEC),

장병원성대장균(Enteropathogenic *Escherichia coli*, EPEC), 장부착성대장균(Enteroadherent *Escherichia coli*, EAEC)으로 분류된다.<sup>2-4)</sup> EHEC는 용혈성요독증후군(Hemolytic uremic syndrome)을 일으키는 원인 병원균으로서 verotoxin을 형성하고, ETEC는 소장에서 장관독소 열 민감성 독소(Heat-labile toxin, LT)와 열 저항성 독소(Heat-stable toxin, ST)를 생성하여 복통을 수반한 장염을 일으킨다.<sup>5,6)</sup> EIEC는 병원성 플라스미드를 갖고 있어 장 상피세포에 침투하고, 독소에 의해 설사를 일으킨다. EPEC는 독소는 생산되지 않으나 미세용모를 파괴하여 흡수를 방해하여 수양성 설사의 원인으로 작용한다. EAEC는 지속적인 설사를 일으켜 심한 수분 손실과 탈수가 유발되며, 만성 설사를 동반하기도 한다.<sup>7,8)</sup>

WHO에서는 원헬스를 “공중보건 향상을 위해 여러 분야에서 서로 소통 및 협력하는 프로그램, 정책, 연구 등을 설계하고 구현하는 접근법”으로 정의하며, 구체적인 내용으로 식품위생, 인수공통감염병 관리, 항생제 내성 관리 등을 제시하고 있다. 병원성대장균의 주된 발생 원인으로는 감염된 가축 분변, 도축 과정에서의 오염 등이 있으며, 이를 예방하기 위하여 사람, 가축 및 환경을 아우르는 원헬스 차원의 접근 필요성이 대두되고 있다.<sup>9)</sup> 국내 농장 환경에서의 병원성 미생물 오염도 조사 결과 대장균은 축종류에 상관없이 모두 검출되는 것으로 확인되었고, 29.4%가 병원성대장균인 것으로 확인되었다.<sup>10)</sup> 병원성대장균 발생과 유형의 근본적인 예방을 위해 동물환경의 농장 관리의 매우 중요하며 필수적이라 할 수 있다.

이에 본 연구는 충청남도 축사환경에서 병원성대장균의 현황을 파악하고, 분리균주에 대한 분자생물학적 특성과 항생제

내성을 분석하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 대상검체 및 전처리

검체 채취를 위해 충남 소재 농장 9 지점(천안 2곳, 보령 2곳, 아산 1곳, 청양 1곳, 보령 1곳, 홍성 1곳, 당진 1곳)을 선정하였고, 선정된 지점은 Fig. 1에서 나타내었다. 2022년과 2023년 6월부터 10월까지 각 지점별로 월 1회(총5회) 농장 주변 환경에서 상황에 따라 2~3개의 검체를 채취하였다. 2022년 59건, 2023년 41건의 검체를 수집하였고, 멸균된 기구를 이용하여 소 분변과 주변 토양을 50 mL용기에 10 g을 취한 후 실험 수행 전까지 -20°C에 보관하였다. 검체의 전처리는 검체 1 g을 멸균된 0.1 M의 PBS (phosphate buffered saline, Sigma, USA) 10 mL로 잘 섞은 후 3,000 RPM에서 10분간 원심분리한 다음 상층액을 취하여 시료로 사용하였다.

### 2. 병원성대장균 분리 배양

병원성대장균 검출을 확인하기 위하여 희석한 현탁액 1 mL를 대장균 검출에 사용되는 3M™ Petrifilm™ Coliform Count (3M, Korea) 배지를 사용하였고, 제조사의 매뉴얼에 따라 접종한 후, 37°C에서 24시간 배양하여 가스를 형성하는 푸른색 콜로니가 관찰되는 검체를 병원성대장균이 존재한다고 판단하였다. 양성 검체를 PBS에 부유시켜 이중 300 µL를 취해 TSB (Tryptic Soy Broth, MB cell, Korea) 3 mL에 접종하고, 37°C에서 24시간 동안 배양한 증균액을 멸균 증류수를 이용하여 10<sup>-5</sup>로 희석하였다. EMB (Eosin Methylene Blue, Oxoid, USA) 평판 배지에 희석액 100 µL를 도말하고 37°C에서 18시간 배양 후 금속성 청색 단일 집락을 따서 EMB 평판 배지에 희석도말 후 37°C에서 24시간 동안 배양하였다.

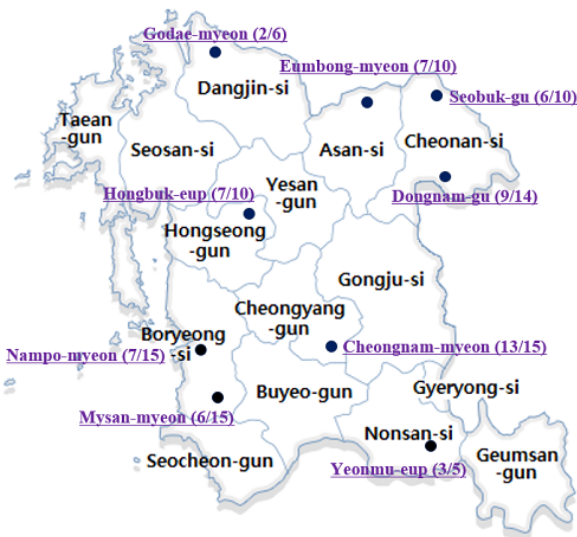


Fig. 1. Sampling sites for detection of pathogenic *E. coli* in Chungnam Korea in 2022~2023. The underlines were indicated administrative districts (detection no./specimen no.).

Table 1. Target genes and PCR product size

Classes of pathogenic <i>E. coli</i>	Genes	Amplicon size (bp)
EHEC	VT1 (stx1)	637
	VT2 (stx2)	297
ETEC	LT	530
	STp	167
	STh	85
EPEC	bfpA	400
	eaeA	231
EAEC	aggR	355
EIEC	ipaH	141

### 3. 병원성대장균 확인 동정

단일 집락을 TSB 3 mL에 접종하고 37°C에서 24시간 동안 배양 후 얻어진 배양액 1 mL를 취하여 8,000 RPM에서 1분간 원심분리하고, 상층액을 제거하고 PBS 1 mL를 넣은 후 잘 혼합하였다. 이 과정을 3회 반복 후 300 µL의 멸균 증류수를 추가하여 100°C에서 15분간 가열하였다. 그 후 8,000 RPM에서 30초간 원심분리하고, 상층액을 DNA 주형으로 multiplex PCR을 이용하여 각 세균의 특이적인 유전자를 증폭하여 확인하였다. PowerChek™ Diarrheal + 9-plex Detection Kit (Kogenebiotech, Korea)에 추출된 genomic DNA 5 µL를 추가하여 Proflex-PCR system (Thermo Fisher Scientific, USA)에서 PCR을 실시하였다. 증폭된 유전자의 밴드 크기는 Table 1에 나타내었으며, 최종적으로 제조사에서 제시한 판독방법에 따라 병원성대장균의 특이 유전자를 확인하였다.

### 4. 항생제 내성 검사

분리된 병원성대장균의 항생제 내성 시험은 VITEK 2 AST-N169 test kit (bioMérieux, France)를 사용하여 제조사의 방법에 준하여 실시하였다. 분리한 균주를 TSA (Tryptic soy agar, Synergy innovation, Korea)에 희석도말 후 37°C에서 24시간 동안 배양하였다. 단일 집락을 0.45% Saline 3 mL에 부유시킨 뒤 0.5 McFarland 탁도로 맞춘 polystyrene 시험관을 항생제 카드와 함께 VITEK 2 장비에 장착 후 항생제 감수성 검사를 실시하였다. 검사는 CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) 기준에 따라 17종의 항생제(Ampicilin

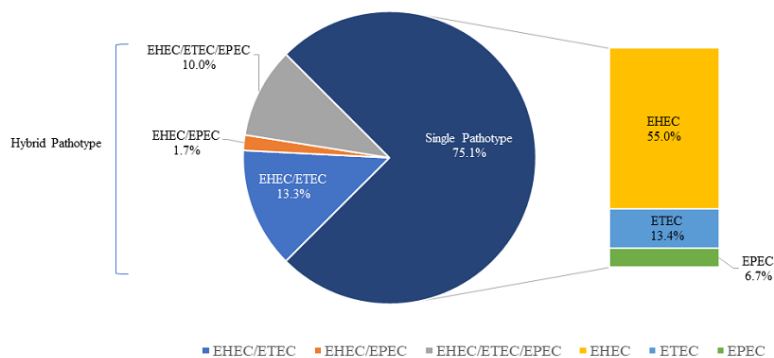
[AM], Amoxicilin/Clavulanic acid [AMC], Ampicilin/Sulbactam [SAM], Cefalotin [CF], Cefazolin [CZ], Cefotetan [CTT], Cefoxitin [FOX], Cefotaxime [CTX], Ceftriaxone [CRO], Imipenem [IPM], Amikacin [AN], Gentamicin [GM], Nalidixic acid [NA], Ciprofloxacin [CIP], Tetracyclin [TE], Chloramphenicol [C], Trimethoprim/Sulfamethoxazole [SXT])를 대상으로 항생제 감수성 및 내성 여부를 판정하였다.

### 5. 16s rRNA 염기서열 및 계통분석

분리된 균주의 16s rRNA 염기서열 분석을 위하여 추가적인 PCR을 실시하였다. 병원성대장균 확인시험을 위해 추출해 놓은 DNA 5 µL를 Access RT-PCR system (Promega, USA)에 추가하고, 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')와 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') 프라이머를 첨가하여 Proflex-PCR system에서 PCR을 실시하였다. 94°C에서 5분간 초기 변성 후, 94°C에서 1분, 54°C에서 40초, 72°C에서 1분 동안 30 사이클 반복 후 72°C에서 7분간 확장과정을 실시하였다. PCR 증폭산물을 전기영동하여 1,465 bp 크기의 밴드를 확인한 후, Bioneer (Korea)에 의뢰하여 16S rRNA 염기서열을 분석하였다. 분석된 염기서열은 Megalign (DNASTAR, USA)과 SeqMan (DNASTAR, USA)을 이용하여 염기서열의 정렬을 시행한 뒤 MEGA 11 software (BioDesign Institute, USA) 프로그램으로 계통분석을 실시하였다.

**Table 2.** Number of detections of pathogenic *E. coli* per month from livestock farms in Chungnam

	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct
Sample no.	21	20	20	19	20
Detection no.	20	6	17	14	3
Detection rate (%)	95.2	30.0	85.0	73.7	15.0



**Fig. 2.** Distribution of pathogenic *E. coli* isolated from livestock farms in Chungnam in 2022~2023

### III. 결 과

#### 1. 병원성대장균 검출

연구기간 중 수집된 100건의 검체를 대상으로 배양 및 multiplex PCR 검사를 실시한 결과, 병원성대장균이 60건 분리되었다. 월별 분리현황은 6월 20건, 7월 6건, 8월 17건, 9월 14건, 10월 3건이었으며(Table 2), 단일 지점으로 가장 많이 검출된 곳은 청양군 청남면 소재 농장으로 15검체 중 13건(검출률 86.7%), 천안 동남구 소재 농장 14검체 중 9건(검출률 64.3%)의 순으로 검출되었다(Fig. 1). 병원체별로는 45검체가 단일 병원체(single pathotype), 나머지 15검체가 복합 병원성대장균(Hybrid Pathogenic *E. coli*, HyPEC)으로 판정되었다. 단일 병원체 중 EHEC가 33건으로 55%를 차지하여 가장 많은 비율을 보였고, ETEC가 8건으로 13.3%, EPEC가 4건으로 6.7%

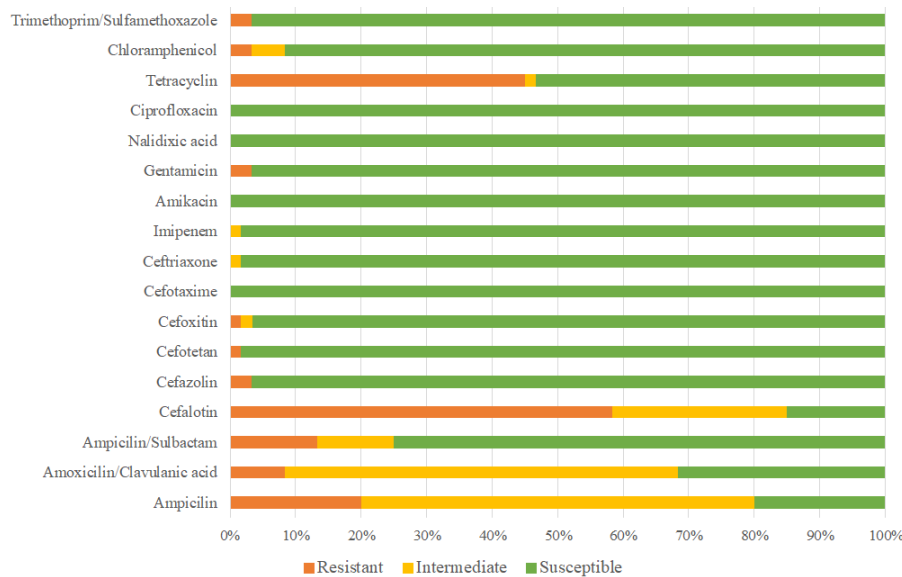
를 차지하였다. 복합 병원성대장균(HyPEC)으로 판정된 검체는 15건으로 25%를 차지하였다. 이 중 13건(15%)에서 두 종류 병원체 복합 병원성대장균(two pathotypes)이었으며, 세부적으로 EHEC/ETEC는 8건 13.3%, EHEC/EPEC는 5건 8.3%를 차지하였다. 2건(3.3%)에서 세 종류 병원체 복합 병원성대장균(three pathotypes)으로 확인되었고, 구체적으로는 EHEC/ETEC/EPEC로 확인되었다(Fig. 2). EHEC는 VT2 유전자, ETEC는 STp 유전자가 주로 검출되었고, 검출된 유전자의 종류는 Table 3에서 나타내었다.

#### 2. 분리균주의 항생제 내성 결과

항생제감수성 검사를 진행한 결과, 75% (45/60) 검체가 1종류 이상의 항생제에 내성을 보였다. Cefotaxime, Amikacin, Nalidixic acid, Ciprofloxacin의 경우 모든 균주들이 감수

**Table 3.** Distribution of pathogenic *E. coli* isolated from livestock farms in Chungnam in 2022~2023

Pathogenic types		Genes detected	n (%)
Single pathotype	EHEC (n=33)	VT1	1 (1.7)
		VT2	32 (53.3)
	ETEC (n=8)	STp	7 (11.7)
		STp+STh	1 (1.7)
Hybrid pathotype	EPEC (n=4)	eaeA	4 (6.7)
	EHEC/ETEC (n=8)	VT2+STp	8 (13.3)
	EHEC/EPEC (n=1)	VT1+VT2+eaeA	1 (1.7)
	EHEC/ETEC/EPEC (n=6)	VT1+VT2+STp+eaeA	6 (10.0)
Total			60 (100)



**Fig. 3.** Antibiotic resistance patterns of pathogenic *E. coli* isolates (n=60) using the Vitek-2 automated system in Chungnam Korea in 2022~2023

**Table 4.** Multiple drug resistant patterns of pathogenic *E. coli* isolates (n=60)

No. of antibiotics	Patterns	Total (n=60, %)	No. of isolates with pathotypes					
			EHEC	ETEC	EPEC	EHEC/EPEC	EHEC/EPEC	EHEC/EPEC
None	All sensitive	15 (25.0)	2	4	.	8	0	1
1	AM	1 (1.7)	1	.	.	.	.	.
	CF	8 (13.3)	.	1	2	.	1	4
	TE	5 (8.3)	4	.	1	.	.	.
	C	1 (1.7)	1	.	.	.	.	.
2	AM-CF	1 (1.7)	.	.	.	.	.	1
	AM-TE	1 (1.7)	1	.	.	.	.	.
	AMC-CF	1 (1.7)	1	.	.	.	.	.
	CF-TE	16 (26.7)	16	.	.	.	.	.
3	AM-SAM-CF	2 (3.3)	2	.	.	.	.	.
	AM-CF-SXT	1 (1.7)	.	1	.	.	.	.
	AM-GM-TE	1 (1.7)	1	.	.	.	.	.
4	AM-AMC-SAM-CF	1 (1.7)	1	.	.	.	.	.
	AM-SAM-CF-TE	2 (3.3)	1	1	.	.	.	.
5	AM-AMC-SAM-CF-CZ	1 (1.7)	.	.	1	.	.	.
	AM-AMC-SAM-CF-TE	1 (1.7)	1	.	.	.	.	.
	AM-GM-TE-C-SXT	1 (1.7)	1	.	.	.	.	.
7	AM-AMC-SAM-CF-CZ-CTT-FOX	1 (1.7)	.	1	.	.	.	.
Total		60 (100)	33 (55.0)	8 (13.3)	6 (6.7)	8 (13.3)	1 (1.7)	6 (10.0)

성을 나타내었으며, 항생제 내성 정도는 Cefalotin (58.3%), Tetracyclin (45%), Ampicilin (20%) 세 종류가 가장 높은 내성을 나타내었다(Fig. 3). 항생제 다제 내성의 분포 양상을 조사한 결과, 총 17개의 패턴이 관찰되었으며 25% (15/60) 균주가 단일 내성을 나타내었고 31.7% (19/60) 균주가 두 종류 항생제에 대한 내성을 보였다. 다제내성의 경우 최대 7가지 종류(AM-AMC-SAM-CF-CZ-CTT-FOX) 항생제에 대한 내성을 보인 균주도 관찰되었다(Table 4).

### 3. 16s rRNA 염기서열 분석

분리된 병원성대장균들의 염기서열 상 연관성을 파악하기 위하여 다중서열정렬과 계통분석을 실시하였다. 분리된 병원성대장균 30균주를 선택하여 16s rRNA 염기서열을 결정하고, 5개의 참조주를 포함하여 1,375 bp에 대하여 다중정렬과 계통분석을 실시한 결과, 분리된 병원성대장균과 참조주의 염기서열 상동성은 99.1%~100% 나타났다(Fig. 4). 이는 병원성대장균의 종류와 관계없이 높은 유사성을 나타냄을 의미한다.

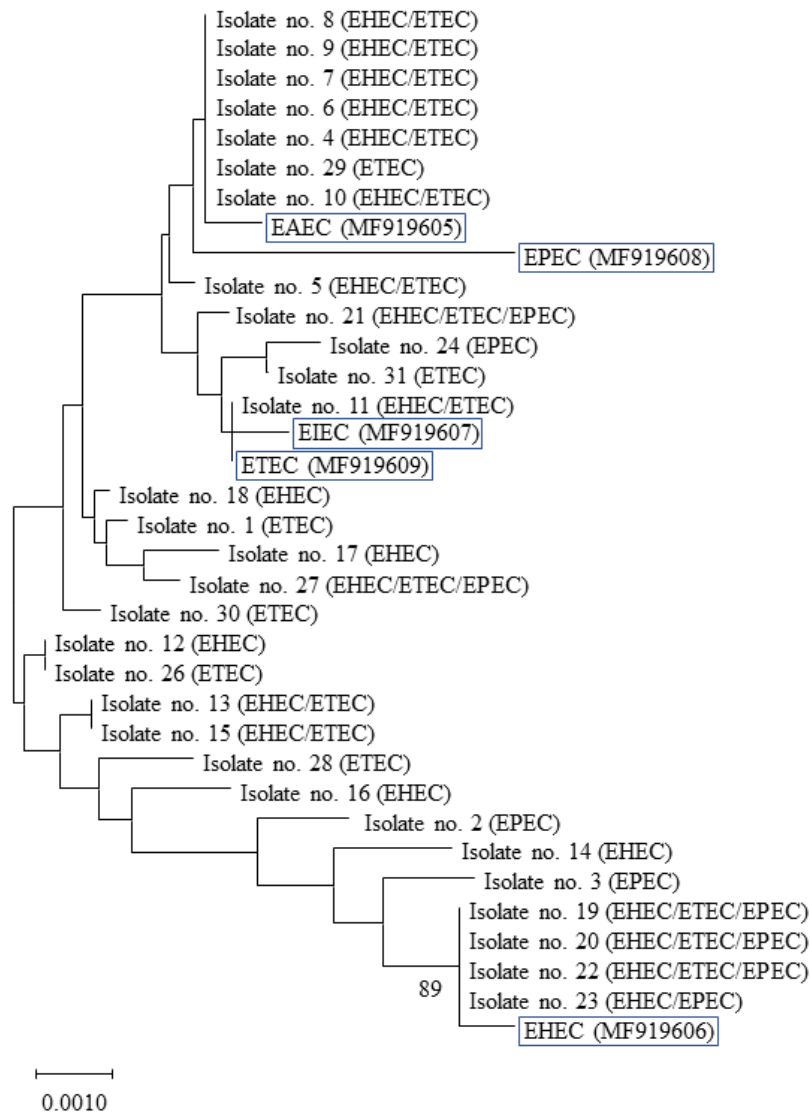
## IV. 고 찰

국내 기후변화가 가속화됨에 따라 병원성대장균의 유행이

급격하게 증가될 것이라 예상된다.<sup>1)</sup> 공중보건 관점에서 발생요인이 매우 다양한 병원성대장균은 감염요소가 사람, 동물, 환경에 모두 존재하기 때문에 원헬스 개념의 접근이 필요하다.<sup>9)</sup> 병원성대장균은 동물의 분변 및 축사 주변 환경의 오염으로서 널리 퍼져 있으며, 오염된 환경의 접촉과 오염된 동물 유래 음식물을 섭취함으로써 사람에게 감염된다.<sup>11,12)</sup> 본 연구에서는 원헬스 개념의 병원성대장균 관리를 위해 농장환경에서의 병원성대장균 현황을 조사하고 이에 대한 특성을 분석하였다.

연구기간 중 농장 환경에서 채취된 100건의 검체 중 60건에서 병원성대장균이 검출되어 검사대상 농장에는 병원성대장균이 흔하게 오염되어 있는 것으로 확인되었다. 과거 HACCP 시스템을 적용한 국내 농장에서의 병원성대장균 검출률 29.4%에 비해 높은 수치이며, 이는 일반축산 농가와외의 세균관리 수준에서 오는 차이일 것이라 생각된다.<sup>10)</sup> 검출된 검체는 청양소재 농장과 6월에 가장 많이 검출되었는데, 이들의 월별 지역적 특성이 분석되진 않았다. 다만 한 농장에서 병원성대장균이 지속적으로 발견된다는 것은 그 장소가 세균의 저장소 역할을 하는 것으로 판단할 수 있다.

분리된 병원성대장균 60균주 중 45개 검체가 단일 병원체로 확인되었고, 나머지 15개의 검체가 여러 개의 독성유전자를 포함하는 복합 병원성대장균(HyPEC)으로 확인되었다. 단일 병원



**Fig. 4.** Phylogenetic analysis of reference strains and pathogenic *E. coli* isolates in this study. The reference strains used in phylogenetic tree are boxed.

체 중 EHEC가 33건으로 55%를 차지하여 가장 많은 비율을 보였고, 이중 32건에서 VT2 독소유전자를 포함하고 있었다. VT 유전자와 관련된 verocytotoxin은 장과 신장의 혈관 내피세포를 손상시켜 병증을 유발하는 것으로 알려져 있어 VT 유전자가 높은 비율로 검출된 것은 병원성을 나타낼 수 있는 가능성이 높다.<sup>13)</sup> 하지만 다른연구에서 *eae*와 *saa* 유전자가 병원성 발현에 중요한 역할을 한다고 보고되어 VT 유전자의 유무만으로 병원성을 단정짓기는 어려울 것이다.<sup>14)</sup> 그럼에도 VT 유전자가 발현된 EHEC의 기회감염 시 임상증상으로 발현될 수 있으므로 주의가 요구되며, 추가적인 유전적 검사가 필요할 수 있다.

두 개 이상의 독성 유전자를 조합하는 복합 병원성대장균(HyPEC)은 전 세계적으로 등장한 후 공중 보건 문제로 대두되

고 있다.<sup>15,16)</sup> 이는 병원성대장균 그룹 간의 수평적 유전자 이동이 원인이 되거나<sup>16,17)</sup> 대부분의 병원성대장균의 독성 유전자가 플라스미드에 위치하여 접합을 통해 다른 병원성대장균으로 전달되기 때문이다.<sup>18)</sup> 복합 병원성대장균(HyPEC)의 최초 보고는 EAEC/EHEC이며, 독일에서 발생한 대규모 설사 환자에서 확인되었고,<sup>19)</sup> 그 이후 미국과 인도에서 EPEC/ETEC,<sup>15,20)</sup> 브라질에서 EPEC/EHEC 등이 보고되었다.<sup>21)</sup> 국내에서도 분리된 복합 병원성대장균(HyPEC)을 대상으로 독소유전자에 대한 연구가 진행 중이지만,<sup>22,23)</sup> 국내의 농장 환경에서 복합 병원성대장균(HyPEC)의 검출 및 분리가 보고된 바 없다.

분리된 병원성대장균의 항생제감수성 시험에서 75% (45/60) 검체가 1종류 이상의 항생제에 내성을 보였고,

Cefalotin (58.3%), Tetracyclin (45%), Ampicilin (20%) 세 종류가 가장 높은 내성을 나타내었다. 유통 소고기에서 분리된 병원성대장균의 항생제 내성시험에서 Tetracycline, Ampicillin, Trimethoprim/Sulfamethoxazole, Chloramphenicol의 항생제에서 내성을 보이고 있었는데,<sup>24)</sup> Tetracycline, Ampicillin에서는 유사한 결과를 보였지만 본 연구에서 Cefalotin 항생제 내성이 가장 많은 것은 특징이다. Cefalotin 항생제는 cephalosporins 계열의 1세대 항생제로써 학교급식 식중독 원인 병원성대장균 연구에서도 주요 내성균 중 하나이다.<sup>25)</sup>

분리된 병원성대장균 중 30 균주의 16s rRNA 염기서열을 분석하고, 병원성대장균 종류에 따라 5개의 참조주를 포함하여 다중정렬과 계통분석을 실시하였다. 일반적으로 세균의 분자유전학적 동정은 16s rRNA 유전자 염기서열을 이용하는데, 16s rRNA 유전자 염기서열은 약 1,550 bp의 길이를 가지며 보존서열과 다형성을 보이는 서열 부위로 구성되어 염기서열을 이용한 세균의 동정에 유용하다고 알려져 있다.<sup>26,27)</sup> 그럼에도 미생물 간의 염기서열이 거의 동일한 경우 분자유전학적 방법만을 통해서서는 종을 동정하기 어려우며,<sup>28)</sup> 본 연구의 결과에서도 99.1%~100% 높은 염기서열 상동성으로 인한 병원성대장균 종류와는 상관없이 그룹을 형성하여, 병원성대장균 내의 분류를 위한 16s rRNA 염기서열의 사용은 제한적이라는 것을 보여준다.

병원성대장균은 동물 및 농장 주변 환경의 오염 원인으로 널리 퍼져 있고, 이에 대한 부적절한 관리는 사람으로 하여금 병원성대장균에 감염되는 결과를 가져오기도 한다. 그에 따라 본 연구는 원헬스 차원에서 병원성대장균 관리를 위해 축사환경으로부터 병원성대장균의 현황과, 분리균주에 대한 분자생물학 및 항생제 내성에 대한 특성을 분석하였다. 따라서 농장 내 병원성대장균의 발생을 예방하고 관리하기 위해 돼지, 닭 등 축종별 농장을 확대하여, 다양한 검체를 확보하고, 지역별, 시기별 검출양상은 지속적으로 모니터링해야 할 것이다. 본 연구는 충청남도 내 축사 주변을 중심으로 복합 병원성대장균을 조사하고, 그 특성을 분석하였다는데 의의가 있다.

## V. 결 론

본 연구는 2022년부터 2023년 중 충청남도 내 축사환경 검체 100건을 대상으로 병원성대장균을 분리하고, 분리균주에 대한 특성을 분석하였다. 배양검사결과 60건의 병원성대장균이 분리되었고 이중 45개 검체가 단일 병원체(single pathotype)의 병원성대장균으로 판정되었다. 구체적으로 EHEC가 33건(55%), ETEC가 8건(13.3%), EPEC가 4건(6.7%)을 차지하였다. Hybrid Pathogenic *E. coli*로 판정된 검체는 15건(25%)으로, 이 중 EHEC/ETEC는 8건(13.3%), EHEC/EPEC는 5건(8.3%), EHEC/ETEC/EPEC 2건(3.3%)으로 확인되었다. 분리

균주의 75% (45/60)에서 1종류 이상의 항생제에 내성을 보였고, Cefotaxime, Amikacin, Nalidixic acid, Ciprofloxacin의 경우 모든 균주들이 감수성을 나타내었으며, 항생제에 대한 내성의 정도는 Cefalotin (58.3%), Tetracyclin (45%), Ampicilin (20%) 세 종류가 가장 높은 내성을 나타내었다. 분리된 30균주의 16s rRNA 염기서열을 이용하여 다중정렬을 실시한 결과 99.1%~100%의 염기서열 상동성을 나타내었다. 원헬스 개념에서 병원성대장균 관리를 위해 본 연구에서는 축사환경으로부터 병원성대장균의 현황과, 분리균주에 대한 분자생물학 및 항생제 내성에 대한 특성을 분석하였다. 병원성대장균의 발생을 예방하고 관리하기 위해서는 이러한 실험실 감시는 지속적되어야 할 것이다.

## Conflict of Interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

## References

- Kim, JG. Influence of climate factors on the occurrence of pathogenic *Escherichia coli* food poisoning in Korea. *J Environ Health Sci.* 2020; 46(3): 353-358.
- Caprioli A, Morabito S, Brugère H, Oswald E. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. *Vet Res.* 2005; 36(3): 289-311.
- Croxen MA, Law RJ, Scholz R, Keeney KM, Wlodarska M, Finlay BB. Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev.* 2013; 26(4): 822-880.
- Gomes TA, Elias WP, Scaletsky IC, Guth BE, Rodrigues JF, Piazza RM, et al. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Braz J Microbiol.* 2016; 47(Suppl 1): 3-30.
- Griffin PM, Tauxe RV. The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other enterohemorrhagic *E. coli*, and the associated hemolytic uremic syndrome. *Epidemiol Rev.* 1991; 13(1): 60-98.
- Pupo GM, Lan R, Reeves PR. Multiple independent origins of Shiga toxin clones of *Escherichia coli* and convergent evolution of many of their characteristics. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000; 97(19): 10567-10572.
- DuPont HL, Formal SB, Hornick RB, Snyder MJ, Libonati JP, Sheahan DG, et al. Pathogenesis of *Escherichia coli* diarrhea. *N Engl J Med.* 1971; 285(1): 1-9.
- Clarke SC, Haigh RD, Freestone PP, Williams PH. Virulence of enteropathogenic *Escherichia coli*, a global pathogen. *Clin Microbiol Rev.* 2003; 16(3): 365-378.
- Youn HY, Seo KH. Interagency countermeasures against enterohaemorrhagic *Escherichia coli* infections from a one-health perspective. *Safe Food.* 2021; 16(2): 38-46.
- Lee GY, Lee JY, Back SH, Hwang IJ, Lee KS, Kim YS, et al. Study

- on the management level of pathogenic bacteria in HACCP system implemented animal farms. *J Animal Sci Technol*. 2011; 53(1): 67-74.
11. Lim KG, Kang MI, Kim SK, Nam KW, Park HJ, et al. Identification and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from diarrhea in calves. *Korean J Vet Res*. 2006; 46(2): 135-142.
  12. Witte W. Medical consequences of antibiotic use in agriculture. *Science*. 1998; 279(5353): 996-997.
  13. Karmali MA, Gannon V, Sargeant JM. Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC). *Vet Microbiol*. 2010; 140(3-4): 360-370.
  14. Jenkins C, Perry NT, Cheasty T, Shaw DJ, Frankel G, Dougan G, et al. Distribution of the saa gene in strains of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* of human and bovine origins. *J Clin Microbiol*. 2003; 41(4): 1775-1778.
  15. Dutta S, Pazhani GP, Nataro JP, Ramamurthy T. Heterogenic virulence in a diarrheagenic *Escherichia coli*: evidence for an EPEC expressing heat-labile toxin of ETEC. *Int J Med Microbiol*. 2015; 305(1): 47-54.
  16. Santos ACM, Santos FF, Silva RM, Gomes TAT. Diversity of hybrid and hetero-pathogenic *Escherichia coli* and their potential implication in more severe diseases. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020; 10: 339.
  17. Aref NM, Abdel-Raheem AA, Kamaly HF, Hussien SZ. Clinical and sero-molecular characterization of *Escherichia coli* with an emphasis on hybrid strain in healthy and diarrheic neonatal calves in Egypt. *Open Vet J*. 2018; 8(4): 351-359.
  18. Yang X, Bai X, Zhang J, Sun H, Fu S, Fan R, et al. *Escherichia coli* strains producing a novel Shiga toxin 2 subtype circulate in China. *Int J Med Microbiol*. 2020; 310(1): 151377.
  19. Bielaszewska M, Mellmann A, Zhang W, Köck R, Fruth A, Bauwens A, et al. Characterisation of the *Escherichia coli* strain associated with an outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, 2011: a microbiological study. *Lancet Infect Dis*. 2011; 11(9): 671-676.
  20. Hazen TH, Michalski J, Luo Q, Shetty AC, Daugherty SC, Fleckenstein JM, et al. Comparative genomics and transcriptomics of *Escherichia coli* isolates carrying virulence factors of both enteropathogenic and enterotoxigenic *E. coli*. *Sci Rep*. 2017; 7(1): 3513.
  21. Gioia-Di Chiacchio RM, Cunha MPV, de Sá LRM, Davies YM, Pereira CBP, Martins FH, et al. Novel hybrid of typical enteropathogenic *Escherichia coli* and Shiga-toxin-producing *E. coli* (tEPEC/STEC) emerging from pet birds. *Front Microbiol*. 2018; 9: 2975.
  22. Oh KH, Shin E, Jung SM, Im J, Cho SH, Hong S, et al. First isolation of a hybrid shigatoxigenic and enterotoxigenic *Escherichia coli* strain harboring the stx2 and elt Genes in Korea. *Jpn J Infect Dis*. 2017; 70(3): 347-348.
  23. Lee W, Kim MH, Sung S, Kim E, An ES, Kim SH, Kim SH, Kim HY. Genome-based characterization of hybrid shiga toxin-producing and enterotoxigenic *Escherichia coli* (STEC/ETEC) strains isolated in South Korea, 2016-2020. *Microorganisms*. 2023; 11(5): 1285.
  24. Lee MG, Lee HH, Jeong HJ, Cho SJ, Jeong SH, Seo YJ, et al. Antimicrobial resistance and genetic characterization of pathogenic *Escherichia coli* isolated from distribution beef in Gwangju. *J Food Hyg Saf*. 2021; 36(2): 180-187.
  25. Kim KA, Yong KC, Jeong JA, Huh JW, Hur ES, Park SH, et al. Analysis of epidemiological characteristics, PFGE typing and antibiotic resistance of pathogenic *Escherichia coli* strains isolated from Gyeonggi-do. *Korean J Microbiol*. 2014; 50(4): 285-295.
  26. Pace NR. A molecular view of microbial diversity and the biosphere. *Science*. 1997; 276(5313): 734-740.
  27. Thorne JL, Kishino H, Painter IS. Estimating the rate of evolution of the rate of molecular evolution. *Mol Biol Evol*. 1998; 15(12): 1647-1657.
  28. Park Y, Shin HB, Kim CK, Roh KH, Yum JH, Yong D, et al. Identification of bacterial and fungal isolates by sequence analysis of 16S rRNA and internal transcribed spacer. *Ann Clin Microbiol*. 2010; 13(1): 34-39.

#### 〈저자정보〉

박준혁(팀장), 윤경아(연구사), 고영은(연구사), 장미(공무직), 김옥(원장)