

# Antimicrobial Susceptibility and Genetic Analysis of *Campylobacter jejuni* Isolated from Diarrhea Patients in Busan

Sun Hee Park, Byeong Jun Kim, Young Hee Kwon,  
In Yeong Hwang, Gyung Hye Sung, Eun Hee Park, Sung Hyun Jin

Microbiology Team, Department of Infectious Disease Research,  
Busan Metropolitan City Institute of Health & Environment, Busan, Korea

**Background:** *Campylobacter jejuni* is an important food-borne pathogen that causes human gastroenteritis. This study was conducted to investigate the incidence of isolation, antimicrobial susceptibility pattern, and *C. jejuni* genotype from diarrhea patients in Busan, Korea.

**Methods:** A total of 97 *C. jejuni* were isolated from diarrhea patients during five food-borne outbreaks from 2014 to September 2017. Antimicrobial susceptibility tests were carried out by the broth microdilution method for ciprofloxacin (CIP), nalidixic acid (NAL), tetracycline (TET), chloramphenicol, azithromycin (AZI), erythromycin (ERY), streptomycin (STR), gentamicin, and telithromycin. To investigate *C. jejuni* genotypes, pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) profile analysis was performed.

**Results:** The isolation rate of *C. jejuni* was 2.0% for the last 4 years and increased annually. Antimicrobial

resistance rates of *C. jejuni* were shown to be in the order of NAL (90.9%), CIP (89.4%), TET (13.6%), AZI (3.0%), ERY (3.0%), and STR (1.5%). The proportion of multidrug-resistance was 18.2%, and they commonly contained quinolones (CIP-NAL). Analysis of PFGE patterns of *Sma*I-restricted DNA of *C. jejuni* isolates showed 17 clusters; cluster 11 was the major genotype pattern.

**Conclusion:** This study will provide useful data for the proper use of antimicrobials and the management of resistant *C. jejuni*. Also it will help to provide data for the epidemiological investigation of food-borne diseases caused by *C. jejuni*, which is expected to increase in the future. (Ann Clin Microbiol 2019;22:42-49)

**Key Words:** Antimicrobial susceptibility, *Campylobacter jejuni*, Pulsed-field gel electrophoresis

## INTRODUCTION

*Campylobacter*는 극성 편모를 가지는 그람 음성의 나선형 간균으로, 증식을 위해서 3-10%의 산소와 3-5%의 이산화탄소가 필요한 미호기성 세균이며 주로 42°C에서 증식하는 호열성 세균이다[1,2]. 현재까지 26개의 종, 9개의 아종이 알려져 있으며 이 중 *C. jejuni*와 *C. coli*가 인체 감염을 주로 유발하는 것으로 알려져 있다. *C. jejuni*는 가금류, 소, 돼지 등에 많이 분포하고 있고 조리하지 않거나 조리가 덜 된 가금류 등의 육류를 섭취한 경우, 살균 처리되지 않은 생우유의 섭취 등으로 인해 감염되며 다른 식중독 세균에 비해 500-800개 정도의 소량의 균 수로도 감염을 일으킬 수 있다[1]. *Campylobacter*에 오염된 식품 등을 섭취한 경우 산성의 위를 통과하면서 대부분이 사멸되

지만 일부 생존한 *Campylobacter*는 장 상피세포 또는 점막에 부착하고 장내에 집락을 형성한 후 독소를 생산하여 분비성 설사를 야기하거나 장 점막 내로 침입한 다음 증식하여 면역 반응을 유발하고 출혈을 동반한 염증성 설사를 발생시킨다. 또한 복통, 권태감, 발열, 구토 등의 임상 증상을 나타내며, 일부 면역 저하자에서는 자가면역 질환인 Guillain-Barre 증후군과 Miller Fisher 증후군 등을 일으키기도 한다[3].

캠필로박터증(Campylobacteriosis)은 대부분 임상 증상이 심하지 않고, 증상의 지속 기간이 짧아 항균제 투여가 불필요하나 심한 증상이나 패혈증 발병 환자 및 면역 저하자의 경우 감염과 재발의 위험이 증가하며 만성 보균자가 될 가능성이 높으므로 적절한 항균제 치료가 필요하다[1,2]. 이전에는 ciprofloxacin과 같은 quinolone계를 사용하였으나 1978년 벨기에에

Received 24 November, 2018, Revised 3 May, 2019, Accepted 4 May, 2019

Correspondence: Sun Hee Park, Microbiology Team, Department of Infectious Disease Research, Busan Metropolitan City Institute of Health & Environment, 120 Hambakbong-ro 140beon-gil, Buk-gu, Busan 46616, Korea. (Tel) 82-51-309-2822, (Fax) 82-51-309-2829, (E-mail) psh0215@korea.kr

© The Korean Society of Clinical Microbiology.

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

서 *C. jejuni*의 quinolone계 내성률이 6.3%임을 처음으로 보고 [4]한 이후 여러 국가에서 높은 내성률을 보고하고 있어 quinolone계 항균제 치료에 문제점이 제기되었으며 현재는 erythromycin, azithromycin과 같은 macrolide계 항균제가 주로 사용되고 있다[1,2].

또한 *Campylobacter*의 감염 경로와 예방을 위한 역학적 연구로 생물형, 혈청형, 파지형 등의 표현형을 분석하는 방법과 ribotyping, pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), multilocus sequencing typing (MLST) 등 유전형질을 분석하는 방법이 있다.

*Campylobacter*는 선진국에서는 살모넬라, 병원성 대장균과 함께 식품매개질환의 주요 원인 세균으로 알려져 있으나 국내에서는 분리율이 낮아 그 중요성이 낮게 평가되어 왔다. 그러나 최근 질병관리본부가 주관하는 급성설사질환 실험실 감시사업(EnterNet)에서의 *Campylobacter* 분리율이 증가하고 있고 [5], *Campylobacter*에 의한 식중독이 매년 증가하고 있다. 이는 국내 축산물 소비량 증가, 학교 및 단체 급식 보급, 외식 문화의 보편화 등의 식생활 변화와 기후 온난화 같은 환경적 변화 등에 의한 영향으로 향후 *Campylobacter*에 의한 식품매개질환은 증가할 것으로 예상된다[5].

이에 본 연구에서는 부산지역 급성설사환자 실험실 감시사업 및 식중독 환자에서 분리한 *C. jejuni*를 대상으로 항균제 감수성 검사를 실시하여 내성 현황을 알아보고 PFGE로 유전자형 분석을 실시하여 질환 발생 시 역학 연구의 기초 자료를 확보하고자 하였다.

## MATERIALS AND METHODS

### 1. 연구대상

2014년 1월부터 2017년 9월까지 부산지역 협력병원에 내원한 설사환자 2,992명의 대변 검체에서 분리된 *C. jejuni* 61주와

같은 기간 동안 발생한 5건의 식중독 사례에서 분리된 *C. jejuni* 36주를 포함하여 총 97주를 연구 대상으로 하였다. 식중독 사례는 2015년 1건, 2017년 4건이 발생하였으며, 2015년 7월 고등학교 집단급식소 발생 사례에서 *C. jejuni* 24주를 분리하였고, 2017년 1월, 2월, 5월, 9월 식품접객업소에서 발생한 4건의 사례에서는 각각 2주, 3주, 5주, 2주의 *C. jejuni*를 분리하였다.

### 2. *C. jejuni*의 분리 · 동정

*C. jejuni*의 분리를 위해 modified Charcoal Cefoperazone Deoxycholate Agar (Oxoid, Basingstoke, UK)에 대변 검체를 멸균된 면봉으로 도말하고 CampyGen (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France)을 첨가하여 42°C에서 48시간 미호기 배양하였다. 배양 후 원형 또는 불규칙한 형태의 회백색 집락을 선별하여 순수 분리하였고, catalase 양성, oxidase 양성인 균을 API Campy (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France)로 시험하여 생화학적 특성을 확인하였다. 또한 *Campylobacter* Triplex Detection kit (Kogenebiotech, Seoul, Korea) 및 질병관리본부 감염병실험실진단[6]에 따른 *hipO* 유전자가 확인된 균을 *C. jejuni*로 최종 동정하였다.

### 3. 항균제 감수성 검사

항균제 감수성 검사는 Sensititre™ CAMPY (Thermo scientific, East Grinstead, UK)를 이용하여 제조사의 사용방법에 따라 시험하고 minimum inhibitory concentration (MIC)을 측정하였으며, 검사에 사용한 9종의 항균제는 erythromycin (ERY), chloramphenicol (CHL), ciprofloxacin (CIP), tetracycline (TET), telithromycin (TEL), gentamicin (GEN), azithromycin (AZI), streptomycin (STR), nalidixic acid (NAL)이다. 시험 균주는 혈액한천배지에 42°C, 미호기성 조건에서 24시간 배양한 후 Cation Adjusted Mueller-Hinton Broth w/TES (Thermo scien-

**Table 1.** Antimicrobial agents used for susceptibility testing of *Campylobacter jejuni* isolates

| Class           | Antimicrobial agent | Antimicrobial agent concentration range (ug/mL) | MIC breakpoint (ug/mL) |           |
|-----------------|---------------------|---|------------------------|-----------|
|                 |                     |   | Resistant              | Reference |
| Aminoglycosides | Gentamicin          | 0.12-32   | >2                     | EURL-AR   |
|                 | Streptomycin        | 0.03-16   | >4                     | EURL-AR   |
| Ketolides       | Telithromycin       | 0.015-8   | ≥8                     | NARMS     |
| Macrolides      | Azithromycin        | 0.015-64  | >4                     | EUCAST    |
|                 | Erythromycin        | 0.03-64   | >4                     | EUCAST    |
| Quinolones      | Ciprofloxacin       | 0.015-64  | >0.5                   | EUCAST    |
|                 | Nalidixic acid      | 4-64  | >16                    | EURL-AR   |
| Phenicol        | Chloramphenicol     | 0.03-64   | ≥32                    | NARMS     |
| Tetracyclines   | Tetracycline        | 0.06-64   | >2                     | EUCAST    |

Abbreviations: EURL-AR, EU Reference Laboratory for Antimicrobial Resistance; NARMS, National Antimicrobial Resistance Monitoring System; EUCAST, European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.

tific, East Grinstead, UK)에 현탁하여 0.5 McFarland로 보정하였다. 이 균액 100  $\mu$ L를 5% laked horse blood (Thermo scientific, Basingstoke, UK)가 첨가된 11 mL MHB에 접종하고 섞은 후 Sensititre™ CAMPY MIC plate (Thermo scientific)에 100  $\mu$ L씩 접종하여 42°C에서 48시간 미호기 배양한 후 육안으로 판독하였다. Breakpoint는 *Campylobacter*에 대한 EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2017), NARMS (National Antimicrobial Resistance Monitoring System), EURL-AR (EU Reference Laboratory for antimicrobial resistance, 2012) 기준에 따랐다(Table 1).

#### 4. PFGE 분석

PFGE 분석은 국가 표준 실험실망인 PulseNet 방법에 따라 실험하였다. 순수 분리된 균을 멸균 면봉에 묻혀, 2 mL cell suspension TE (0.85% Saline)에 넣어 VITEK colorimeter (bioMérieux, Loveland, CO, USA)를 사용하여 20%의 투명도로 현탁하였다. 현탁액 200  $\mu$ L를 1.5 mL tube에 옮긴 다음, proteinase K (20 mg/mL) 20  $\mu$ L와 1.2% plug용 seakem gold agarose 200  $\mu$ L를 넣어 섞은 후 바로 plug mold에 넣어 굳혔다. 2 mL tube에 cell lysis buffer (0.5 M EDTA, pH 8.0 : 1% sodium-lauroyl-sarcosine)와 proteinase K (20 mg/mL) 30  $\mu$ L가 첨가된 lysis solution 1.5 mL에 굳은 plug를 넣고 55°C 진탕 항온수조에서 100 rpm으로 1시간 동안 처리하였다. 세척용 완충 용액인 plug wash TE buffer (10 mM Tris pH 7.5 and 1 mM EDTA, pH 7.5)를 넣어 55°C 진탕 항온수조에서 40분간 1회, 20분간 4회 처리하였다. 세척이 끝난 plug를 1 mm 두께로 자른 다음 50 unit/ $\mu$ L *Sma*I 제한효소(NEB, UK)를 이용하여 25°C에서 4시간 동안 반응시키고 전기영동장치(CHEF Mapper XA chiller, Bio Rad, Hercules, CA, USA)에 넣어 initial time 6.76 sec, final time 35.38 sec, 전압 6 V/cm, angle 120° 조건으로 14°C에서 18시간 동안 전기영동하였다. 전기영동 완료 후 SYBR Gold nucleic acid gel stain (Invitrogen, Eugene, OR, USA)을 gel에 넣어 30분간 염색한 후 증류수를 이용하여 탈색시켜 UV로 확인하였다. PFGE pattern은 Bionumerics 프로그램 (Bio-Rad Laboratories)을 이용하여 1.5% tolerance, 1.5% optimization dice coefficient로 유사도를 계산하였으며, UPGMA법으로 유전적 유연관계를 분석하였다.

## RESULTS

#### 1. *C. jejuni*의 분리 경향

2014년부터 2017년 9월까지 부산 지역에서 분리된 *C. jejuni*의 군주는 총 97주로, 급성설사질환 감시사업에서 분리된 61주와 같은 기간 동안 발생한 식중독 중 *C. jejuni*가 원인균으로 분리된 36주를 실험 대상으로 하였다. 급성설사질환 감시사업의

경우 4년간 부산 지역의 5개 협력병원에서 의뢰된 2,992건에서 61주가 분리되어 평균 2.0%의 분리율을 나타내었고 월별 분리율은 급성설사질환 감시사업과 식중독 발생 건 모두 하절기인 6월에서 9월에서 높게 나타났다(Fig. 1).

#### 2. *C. jejuni*의 항균제 감수성 결과

설사환자에서 분리된 97주 중 식중독 분리주 36주는 같은 식중독 case에서 같은 항균제 패턴을 나타내어 표본으로 1주씩 처리하여, 급성설사질환 감시사업에서 분리된 61주와 식중독 군주 표본 5주를 포함하여 66주에 대해 9종류의 항균제에 대한 내성 정도를 MIC (minimal inhibitory concentration)로 확인하였다.

*C. jejuni* 66주는 nalidixic acid에 90.9%, ciprofloxacin에 89.4%로 quinolone계 항균제 2종류에 높은 내성을 나타내었고, 다음으로 tetracycline에 13.6% 내성을 나타내었다. 또한 macrolides계 항균제인 azithromycin과 erythromycin에 각 3.0%, aminoglycosides계 항균제인 streptomycin에는 1.5% 내성이었으며, gentamicin, chloramphenicol, telithromycin에는 모두 감수성이었다(Table 2).

항균제에 대한 다제내성 양상을 살펴보면 *C. jejuni* 66주 중 92.4%인 61주가 1종류 이상의 항균제에 내성을 나타내었으며, 2개 계열 이상에 내성을 나타내는 다제내성균은 12주(18.2%)로 공통적으로 quinolone계 항균제를 포함하고 있었고, 3개 계열에 내성을 나타내는 군주도 1주(1.5%) 있었다(Table 3).

#### 3. PFGE에 의한 유전형 분석

분리된 97주 중 급성설사질환 감시사업에서 분리된 61주와 5 case의 식중독에서 분리된 군주 표본 5주를 포함하여 66주에 대해 *Sma*I 제한효소로 처리한 후 PFGE를 실시하였고, 유전적 유사성이 80% 이하인 경우에는 서로 다른 cluster로 분리하였

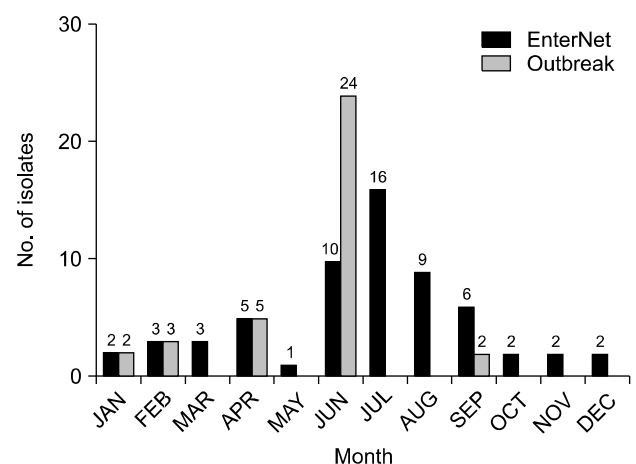


Fig. 1. Prevalence of *C. jejuni* isolates from diarrhea patients by month.

**Table 2.** Antimicrobial resistance rate and minimum inhibitory concentration (MIC) distribution of each agent in 66 *C. jejuni*

| Anti-microbial agent | Percentage of all isolates with MIC (ug/mL) |       |      |      |      |      |      |      |      |     |      |      |     |      |      | R*(%) |
|----------------------|---|-------|------|------|------|------|------|------|------|-----|------|------|-----|------|------|-------|
|                      | <0.015                                      | 0.015 | 0.03 | 0.06 | 0.12 | 0.25 | 0.5  | 1    | 2    | 4   | 8    | 16   | 32  | 64   | >64  |       |
| GEN                  |   | 33.3  |      |      |      | 51.5 | 15.2 |      |      |     |      |      |     |      |      | 0     |
| STR                  |   |       |      |      |      | 1.5  | 48.5 | 42.4 | 6.1  |     | 1.5  |      |     |      |      | 1.5   |
| TEL                  |   |       |      |      | 13.6 | 40.9 | 33.3 | 7.6  | 1.5  | 3.0 |      |      |     |      |      | 0     |
| AZI                  | 54.5  |       | 33.3 | 6.1  | 1.5  |      |      | 1.5  |      |     |      |      |     |      | 3.0  | 3.0   |
| ERY                  |   |       |      |      | 53.0 | 31.8 | 10.6 | 1.5  |      |     |      |      |     | 3.0  |      | 3.0   |
| CIP                  |   |       |      | 6.1  | 4.5  |      |      |      | 1.5  | 3.0 | 56.1 | 22.7 | 6.1 |      |      | 89.4  |
| NAL                  |   |       |      |      |      |      |      |      |      |     | 9.1  |      | 1.5 | 37.9 | 51.5 | 90.9  |
| CHL                  |   |       |      |      |      |      | 4.5  | 50.0 | 42.4 | 1.5 | 1.5  |      |     |      |      | 0     |
| TET                  |   | 6.1   |      | 1.5  | 22.8 | 40.9 | 10.6 | 4.5  |      |     |      | 1.6  | 3.0 | 4.5  | 4.5  | 13.6  |

\*R: Resistance rate.

Abbreviations: GEN, gentamicin; STR, streptomycin; TEL, telithromycin; AZI, azithromycin; ERY, erythromycin; CIP, ciprofloxacin; NAL, nalidixic acid; CHL, chloramphenicol; TET, tetracycline.

A thick black line indicates the breakpoint and gray shadow area indicates the test range (ug/mL) of each antimicrobial agent.

**Table 3.** Antimicrobial resistance patterns of *C. jejuni* (n=66)

| No. of resistance | Antimicrobial class                      | Resistance patterns | No. of isolates (%) |           |
|-------------------|--|---------------------|---------------------|-----------|
| 0                 |  |                     | 5 (7.6)             | 5 (7.6)   |
| 1                 | Quinolones                               | CIP                 | 2 (3.0)             | 49 (74.2) |
|                   |  | NAL                 | 3 (4.5)             |           |
|                   |  | CIP-NAL             | 44 (66.7)           |           |
| 2                 | Quinolones-Tetracyclines                 | CIP-NAL-TET         | 8 (12.1)            | 11 (16.7) |
|                   | Quinolones-Penicolones                   | CIP-NAL-CHL         | 1 (1.5)             |           |
|                   | Quinolones-Macrolides                    | CIP-NAL-AZI-ERY     | 2 (3.0)             |           |
| 3                 | Quinolones-Aminoglycosides-Tetracyclines | CIP-NAL-STR-TET     | 1 (1.5)             | 1 (1.5)   |

Abbreviations: see Table 2.

다. Dendrogram 비교분석 결과 17개 cluster로 분류되었는데 이중 cluster 11이 25주(37.9%)로 가장 많은 비율을 차지하였으며 다음으로 cluster 10이 8주(12.1%), cluster 7이 7주(10.6%)였다(Fig. 2).

## DISCUSSION

부산 지역 급성설사질환 감시사업에서 *C. jejuni*의 4년간 평균 분리율은 2.0%였으며, 연도별 분리율은 2014년 0.9%, 2015년 1.5%, 2016년과 2017년 9월까지 각 3.7%씩으로 매년 분리율이 증가하였다. 이는 질병관리본부의 2012년부터 2015년 급성설사질환 실험실 감시사업 결과[5] 전국 설사환자 검체 70,406건 중 716주의 *Campylobacter* spp.를 분리하였고 연평균 분리율은 2012년 0.67%에서 2015년 1.51%로 약 2배 이상 증가하였다고 보고한 자료와 일치하였다.

월별 분리양상은 급성설사질환 감시사업과 식중독 발생 건 모두 하절기인 6월에서 9월까지 가장 분리율이 높았으며, 이와

같은 결과는 국내의 여러 보고[7-10] 뿐만 아니라 국외[1,2]에서도 같은 경향이였다. 또한 질병관리본부 자료에 따르면 주요 식중독 원인 병원체인 *E. coli*나 *Salmonella*에 비해 *Campylobacter*의 경우 계절에 따라 분리율이 유의하게 증가한다고 보고[5]하고 있어, 향후 기후 온난화로 인한 *Campylobacter* 식중독 증가가 예상되므로 *Campylobacter* 식중독의 주요 원인인 닭고기의 위생적인 처리, 교차오염 방지 등에 대한 주의가 더욱 필요할 것이다.

*Campylobacter* 감염은 대부분 자기제한적이고 탈수와 전해질 균형 유지를 위한 보조 요법 이외의 치료는 하지 않지만 면역 저하 환자, 증상이 심각하거나 외인성 감염이 있는 환자의 경우 항균제 치료를 하고 있는데 주로 ciprofloxacin이 널리 사용되었다. Quinolone계 항균제인 ciprofloxacin은 복제, 전사, 재조합 등에 필요한 효소인 DNA gyrase와 topoisomerase IV를 주요 타겟으로 하고 있으며 근래 이 항균제에 대한 내성 보고가 증가하고 있는 추세여서 현재는 erythromycin, azithromycin과 같은 macrolides계 항균제 치료를 선호하고 있다. Macrolide

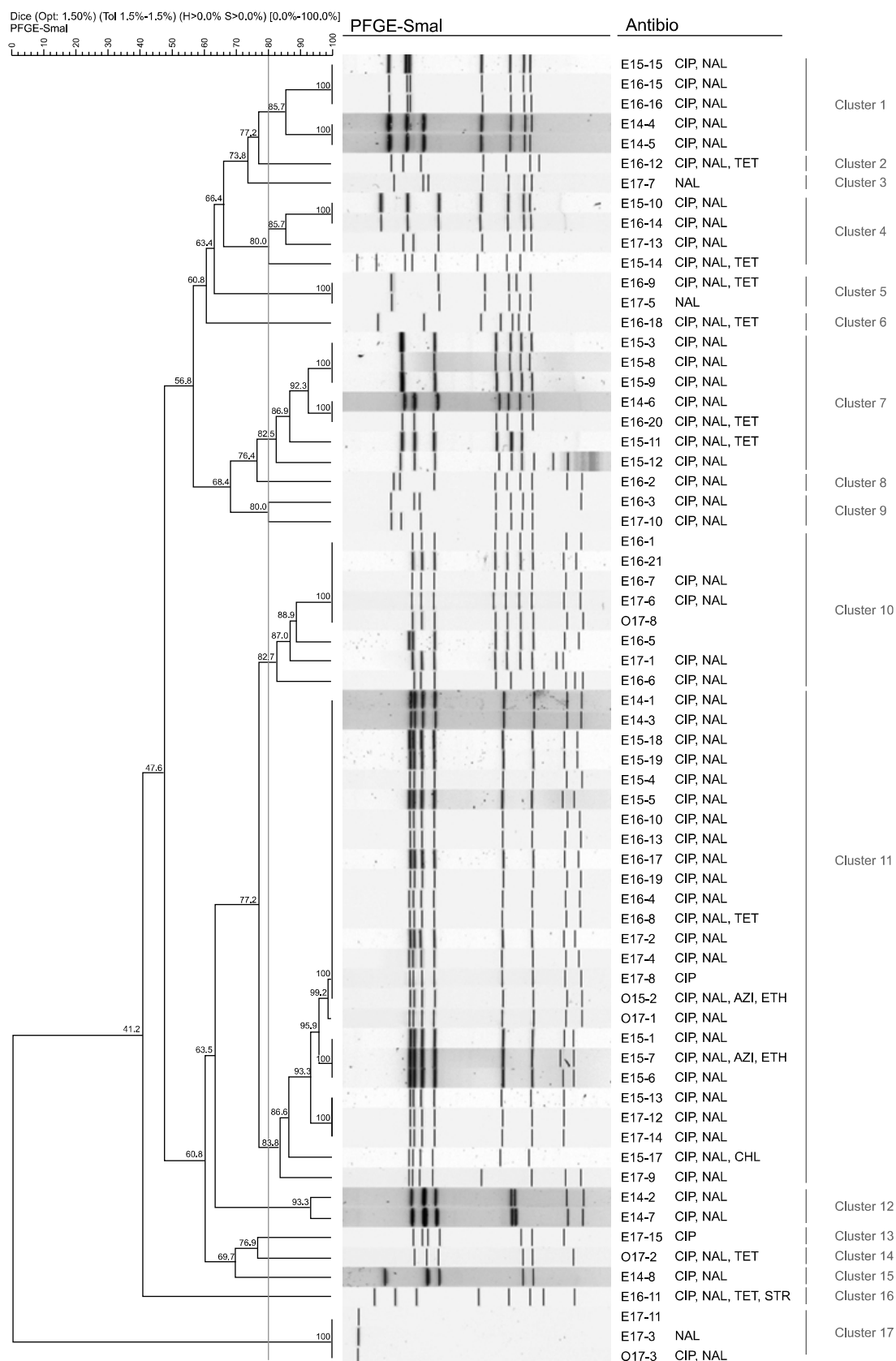


Fig. 2. Dendrogram of *SmaI* PFGE patterns for *C. jejuni* isolates from diarrhea patients.

계 항균제는 주로 23S rRNA와 ribosomal protein에 결합하여 단백질합성을 저해해 항균 효과를 나타내는데 성장 촉진과 치료의 이유로 동물 산업에서 사용중이고, 일부 국가에서 높은 내성을 지닌다고 보고[11,12]되고 있으며, macrolide계 항균제에 내성인 *Campylobacter*는 감수성 균주에 비해 인체 감염 시 부작용의 위험, 침습성 질환으로 발전, 사망 등의 위험요소가 더 높은 것으로 보고[13]되었다.

국가항균제내성정보 2014년 연보[14]에 따르면 국내에서 분리되는 *C. jejuni*의 nalidixic acid와 ciprofloxacin 내성률은 2013년 기준 93.5%, 91.3%로 내성률이 높으며, azithromycin과 erythromycin에서는 내성주가 확인되지 않았다고 보고하였다. 그리고 가금류 및 가축에서 분리한 *C. jejuni*의 항균제 감수성에 관한 연구 중 Chae 등[13]은 2010년 가축 및 도축장 식육(소, 돼지, 닭)에서 분리한 균주의 경우 모든 축종에서 ciprofloxacin, nalidixic acid에 내성이었고, erythromycin의 내성률은 닭에서 7.0%였으며, 국내 가축 및 식육 분리주에서의 내성률이 다른 나라에 비해 높고 사람에게 전달 가능성이 있다고 하였다.

본 연구에서의 내성률은 ciprofloxacin 89.4%, nalidixic acid 90.9%로 quinolone계 내성률이 높은 수준이었고, azithromycin과 erythromycin에서도 3.0%의 내성률을 나타내었다. Park 등[7]은 2005년-2006년 10월까지 부산지역 설사환자에서 분리한 *C. jejuni*의 항균제 내성률은 ciprofloxacin 37%, nalidixic acid 33.3%였으며, erythromycin에는 모든 균주가 감수성으로 보고하였는데, 실험방법이나 판독 기준에서 차이점이 있으나 본 연구 결과와 비교해 보았을 때 10여년 동안 부산지역 설사환자에서 분리된 *C. jejuni*의 quinolone계 항균제 내성률은 더 높아졌으며, macrolide계 항균제에 대해서도 내성이 나타났음을 알 수 있었다. 이는 국내 항균제 사용 실태 및 주요 병원균의 항균제 내성에 관한 연구[15]에서 부산지역의 항균제 처방 비율이 2002년과 2013년 비교 시 quinolone계는 8%에서 12%, macrolide계는 7%에서 15%로 증가한 점, 항균제 내성이 높은 축산물의 소비량 증가 등 여러 요인이 작용했을 것이라고 생각한다. Quinolone계 항균제 내성을 증가는 미국[16], 영국[17], 네덜란드[18] 등 다수의 연구에서 보고되었으며, 국내 경향도 최근 보고된 경기도[8]의 경우 nalidixic acid, ciprofloxacin 각 95.2%, 인천[10]은 nalidixic acid 93.1%, ciprofloxacin 96.8%로 본 연구와 비슷한 수준이었다. 또한 macrolide계 항균제 내성의 경우, 미국[19]의 최근 보고에서 erythromycin 4% 이하, 스페인[20] 3.8%, 국내의 경기도[8] 2.4%로 본 연구 결과와 비슷한 경향을 나타내었다. 중증의 캄필로박터증 치료제로 사용하는 gentamicin에 대한 내성은 아직까지 낮은 것으로 보고[1]되고 있으며, 본 연구에서도 gentamicin에는 모든 균주가 감수성이었다.

항균제 다제내성 양상에 대해 살펴보면 2계열 이상에 내성을 나타내는 다제내성균은 12주(18.2%)로 공통적으로 quinolone계 항균제인 CIP-NAL 패턴을 포함하고 있었고, 3계열에

내성을 나타내는 균주도 1주(1.5%) 있었다. 또한 quinolone계와 macrolide계에 내성을 나타내는 CIP-NAL-AZI-ERY 패턴의 균주가 2주(3.0%)였는데, 이는 급성설사질환 감시사업 2015년 6월에 분리된 1주와 2015년 7월 고등학교에서 발생한 집단 식중독 전에서 분리한 2주 모두에서 나타난 패턴이었다. 이와 같이 사람에서 *Campylobacter* 치료제로 사용되는 quinolone계와 macrolide계 항균제에 동시에 내성을 나타내는 내성 균주는 사람에서 적절한 치료제가 없어 심각한 문제를 일으킬 수 있다는 보고[21]가 있으므로 항균제 사용에 더욱 주의를 기울여야 하겠다.

항균제 감수성 실험과 관련하여 본 연구에서 사용한 항균제 감수성 패널은 기존의 배지희석법에 비해 사용하기 편리한 장점이 있으나, 9종류의 항균제에 대해 64 ug/mL 농도까지만 판독 가능하여 항균제 종류의 선택이 어렵고 64 ug/mL 이상의 검사결과에서는 어떤 농도까지 내성을 나타내는지 여부는 알 수 없는 한계점이 있었다. 그리고 *Campylobacter*에 대한 break-point의 경우 CLSI, EUCAST, NARMS 등 기관마다 항균제 종류 및 기준이 다양하며, 어떠한 기준으로 판독하였는지 제시되어 있지 않은 참고문헌의 경우 단순한 내성률 또는 내성 포기만으로는 결과 비교에 어려운 점이 있으므로 항균제 내성 및 표기의 표준화 등이 필요할 것으로 생각한다.

PFGE에 따른 유전형 분석에서 급성설사질환 분리주 61주와 5 case의 식중독 표본주 5주는 17개의 다양한 cluster로 분류되었으며, 가장 많은 비율을 차지한 Cluster 11의 경우 2014년부터 2017년까지 급성설사질환 감시사업에서 매년 분리된 23주와 2015년 7월과 2017년 1월 식중독 분리주가 포함되어 있어 부산지역에서 분리되는 *C. jejuni*의 주요 유전형 패턴임을 알 수 있었다. 또한 cluster 14에는 2017년 2월 식중독 분리주, cluster 17에는 2017년 5월 식중독 분리주와 2017년 급성설사질환 감시사업에서 분리된 2주가 포함되어 있었다.

본 연구에서는 2014년부터 2017년 9월까지 부산지역 설사환자에서 *C. jejuni*의 분리 경향을 알아보고, 항균제 감수성 현황을 조사하여 주요 항생제에 대한 내성률과 다제내성 양상을 파악하였으며, PFGE를 통한 유전자형 분석을 통해 유행 패턴을 조사하였다. 향후 증가가 예상되는 *C. jejuni*로 인한 식품매개 질환 발생 시 신속한 역학적 연관성 파악, 적절한 항균제 사용과 내성균 관리를 위해 지속적인 모니터링과 자료 축적이 필요하다고 생각한다.

## REFERENCES

1. Kaakoush NO, Castaño-Rodríguez N, Mitchell HM, Man SM. Global epidemiology of *Campylobacter* infection. Clin Microbiol Rev 2015;28:687-720.
2. Silva J, Leite D, Fernandes M, Mena C, Gibbs PA, Teixeira P. *Campylobacter* spp. as a foodborne pathogen: a review. Front

- Microbiol 2011;2:200.
3. Allos BM. *Campylobacter jejuni* infections: update on emerging issues and trends. Clin Infect Dis 2001;32:1201-6.
  4. Vanhoof R, Vanderlinden MP, Dierickx R, Lauwers S, Yourassowsky E, Butzler JP. Susceptibility of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* to twenty-nine antimicrobial agents. Antimicrob Agents Chemother 1978;14:553-6.
  5. Jung SM, Kim NO, Na HY, Hong SH, Chung GT. Prevalence of *Campylobacter* causing acute diarrhea in Korea, 2012-2015. Public Health Wkly Rep 2016;9:526-30.
  6. Korea Centers for Disease Control and Prevention. Infectious Disease Laboratory Diagnosis; Disease-Specific Protocol. 3rd ed. Seoul: National Institute of Health; 2005.
  7. Park EH, Kim JA, Choi SH, Bin JH, Cheigh HS, Suk DH, et al. Isolation and antimicrobial susceptibility of *Campylobacter jejuni* from diarrhea patients. J Life Sci 2007;17:811-5.
  8. Hur ES, Park PH, Kim JH, Son JS, Yun HJ, Lee YE, et al. Genetic properties and antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* isolates from diarrhea patients in Gyeonggi-do. Korean J Microbiol 2013;49:228-36.
  9. Kim WH, Choi OK, Jeong JA, Park SH, Lee YE, Park GH, et al. Genetic analysis of *Campylobacter jejuni* isolates from diarrhea patients in Gyeonggi-do. Korean J Microbiol 2018;54:31-7.
  10. Kim JS, Lee MY, Kim SJ, Jeon SE, Cha I, Hong S, et al. High-level ciprofloxacin-resistant *Campylobacter jejuni* isolates circulating in humans and animals in Incheon, Republic of Korea. Zoonoses Public Health 2016;63:545-54.
  11. Wiczorek K, Szweczyk R, Osek J. Prevalence, antimicrobial resistance, and molecular characterization of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* isolated from retail raw meat in Poland. Vet Med 2012;57:293-9.
  12. Kim NH, Chae HS, Kang YI, Shin BW, Choi NH, Kim HB. Prevalence and antimicrobial resistance patterns of *Campylobacter jejuni* from duck feces. Korean J Vet Serv 2013;36:57-60.
  13. Chae MH, Nam HM, Jang GC, Kim HJ, Kim SR, Jung SC, et al. Antimicrobial resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from food animals and raw meats in slaughterhouse in Korea during 2010. Korean J Vet Public Health 2013;35: 239-45.
  14. Korea Centers for Disease Control & Prevention and Korea National Institute of Health. Korean Antimicrobial Resistance Monitoring System 2014 Annual Report. Osong: KNIH; 2016.
  15. National Health Insurance Service Ilsan Hospital Institute of Health Insurance & Clinical Research. [https://www.nhmc.or.kr/openInfo/management/audit/hospital\\_41\\_disc\\_audit05\\_1.do](https://www.nhmc.or.kr/openInfo/management/audit/hospital_41_disc_audit05_1.do) [Online] (last visited on 16 December 2017).
  16. Nachamkin I, Ung H, Li M. Increasing fluoroquinolone resistance in *Campylobacter jejuni*, Pennsylvania, USA, 1982-2001. Emerg Infect Dis 2002;8:1501-3.
  17. Dingle KE, Clarke L, Bowler IC. Ciprofloxacin resistance among human *Campylobacter* isolates 1991-2004: an update. J Antimicrob Chemother 2005;56:435-7.
  18. van Hees BC, Veldman-Ariesen MJ, de Jongh BM, Tersmette M, van Pelt W. Regional and seasonal differences in incidence and antibiotic resistance of *Campylobacter* from a nationwide surveillance study in the Netherlands: an overview of 2000-2004. Clin Microbiol Infect 2007;13:305-10.
  19. US Food and Drug Administration. NARMS Integrated Report: 2014. The National Antimicrobial Resistance Monitoring System: Enteric Bacteria. Silver Spring: US FDA; 2014.
  20. Pérez-Boto D, López-Portolés JA, Simón C, Valdezate S, Echeita MA. Study of the molecular mechanisms involved in high-level macrolide resistance of Spanish *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains. J Antimicrob Chemother 2010;65: 2083-8.
  21. Hoge CW, Gambel JM, Srijan A, Pitarangsi C, Echeverria P. Trends in antibiotic resistance among diarrheal pathogens isolated in Thailand over 15 years. Clin Infect Dis 1998;26:341-5.

=국문초록=

## 부산지역 설사환자에서 분리한 *Campylobacter jejuni*의 항균제 감수성과 유전자형 분석

부산광역시 보건환경연구원 감염병연구부 미생물팀

박선희, 김병준, 권영희, 황인영, 성경혜, 박은희, 진성현

**배경:** *Campylobacter*는 식품매개질환의 중요한 원인균으로, 본 연구에서는 부산지역 설사환자에서 분리한 *Campylobacter jejuni*의 분리경향, 항균제 내성률, 유전자형 분석에 대해 조사하였다.

**방법:** 2014년부터 2017년 9월까지 급성설사질환 감시사업 및 5건의 식중독 사례에서 97주의 *Campylobacter jejuni*를 분리하였다. 항균제 감수성 검사는 9종류의 항균제(ciprofloxacin (CIP), nalidixic acid (NAL), tetracycline (TET), chloramphenicol, azithromycin (AZI), erythromycin (ERY), streptomycin (STR), gentamicin, telithromycin)에 대하여 액체배지미량 희석법으로 실시하였고, 유전자형은 pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)로 분석하였다.

**결과:** *Campylobacter jejuni*의 4년간 평균 분리율은 2.0%였으며 해마다 분리율은 증가하였다. 항균제 내성률은 NAL 90.9%, CIP 89.4%, TET 13.6%, AZI와 ERY 각 3.0%, STR 1.5% 순이었으며, 다제내성률은 18.2%였으며 다제내성균주 모두 quinolone계 항균제(CIP-NAL)를 포함하고 있었다. *Sma*I 제한효소로 처리한 PFGE 패턴은 모두 17개 cluster로 분류되었으며 이 중 cluster 11이 부산지역에서 분리되는 *Campylobacter*의 주요 유전자형 패턴이었다.

**결론:** 본 연구는 적절한 항균제 사용과 항균제 내성 관리를 위한 유용한 자료를 제시하며, 향후 증가가 예상되는 *Campylobacter*로 인한 식중독의 역학 조사를 위한 자료 축적에 도움이 될 것이다. [Ann Clin Microbiol 2019;22: 42-49]

교신저자 : 박선희, 46616, 부산시 북구 함박봉로 140번길 120  
부산광역시 보건환경연구원 감염병연구부 미생물팀  
Tel: 051-309-2822, Fax: 051-309-2829  
E-mail: psh0215@korea.kr