

소의 糞便으로부터 *Campylobacter jejuni* 및 *Campylobacter coli*의 分離

試驗科

吳英姬·文玄七·崔元植

Isolation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from Cattle Feces

Experimental Division

Young Hee Oh, Hyun Chil Mun, Won Sik Choi

—Abstract—

This study was carried out to isolate campylobacter jejuni and campylobacter coli in feces. The experimental subjects were 250 Korean native cattle to be sacrificed in the Seoul area from September to October in 1986 to investigate their biochemical characteristics, their sensitivity for antibiotics, and their pathogenicity using experimental animal.

The results were as follows:

1. *Campylobacter jejuni* was isolated by 4% of 250 cattle feces, but *Campylobacter coli* was not isolated at all.
2. The 10 strains of *Campylobacter jejuni* isolated were similar with standard strains in biochemical characteristics.
3. *Campylobacter jejuni* did not express pathogenicity in experimental animal.
4. In sensitivity test for *Campylobacter jejuni*, chloramphenicol(80%), kanamycin(70%) and ampicillin(70%) were more effective than penicillin(30%), erythromycin(30%) and cephalothin(10%).

緒論

*Campylobacter sp.*는 소의 流産胎兒¹⁾, 송아지 및 돼지 赤痢^{2,3)}, 사람의 急性 胃腸炎⁴⁾, 妊娠婦의 血液 등⁵⁾에서 최초로 分離되었을 당시 *Vibrio*屬으로 命名되었고, 1957年 King 등⁶⁾은 *Campylobacter*의 生化學的 性狀 및 抗原의 特性에 따라 類似 *Vibrio*라 命名하였다.

그 이후 Veron과 Chatelain⁷⁾, Smibert⁸⁾가 DNA의 GC 함량이 *Vibrio*와의 差異가 있음을 밝혀냄으로써 *Campylobacter sp.*로 命名하게 되었으며, 1977年 Skirrow 등⁹⁾은 사람에서 腸炎의 主要 原因菌인 *Campylobacter jejuni*를 報告한 이래 *Campylobacter*에 대한 많은 研究와 이를 原因으로 하는 疾病들이 報告되고

있다.

家畜 및 家禽에서의 *C. jejuni*의 分離率은 소의 糞便에서 2.5~53%, 돼지의 糞便에서 10~100%, 닭을 비롯한 野生鳥類의 糞便에서 48~100% 였다고 報告된 바 있다.^{10~17)}

*Campylobacter sp.*는 그람 음성의 운동성을 가진 다 형태성 세균으로 사람에게 腸炎을 誘發하며, 羊의 流産, 개의 腸炎, 닭의 傳炎性 肝炎 등을 誘發시키며, 下痢動物뿐 아니라 健康한 動物의 腸이나 糞便에서도 檢出되고 있는 것으로 미루어 自然界에 널리 分布되어 있으며 이는 公衆衛生學的인 面에서 漸進적으로 중요시 되어지고 있다.

따라서 著者들은 소의 直腸 探便에 의한 *C. jejuni*와 *C. coli*의 分離率과 分離菌株에 대한 vivo에 의한 病原

性 및 抗生劑 感受性 調査를 하였기 그 結果를 報告 한다.

實驗材料 및 方法

1. 實驗材料

1986年 9月에서 10月사이 서울市內 屠畜場에서 屠畜 되는 韓牛 250頭의 直腸에서 糞便을 採取하여 試料로 하였다.

2. 實驗方法

1) *Campylobacter* 分離同定

本 菌의 分離 및 同定은 Morris와 Patton¹⁸⁾, Rosef 등¹⁹⁻²⁰⁾의 方法에 準하여 實驗하였다(그림 1 참조).

즉, 滅菌된 綿棒으로 直腸에서 糞便을 採取하여 시험판에 分注한 selective semisolid brucella medium (SSBM)에 옮겨 42°C에서 24시간 培養한 후 VTP brucella-FBP broth에 접종하고 42°C에서 48시간 培養, 培養液을 分離培地인 Butzler's medium(表 1 참조)에 접종하여 微好氣상태(本 實驗은 Gas pack jar 사용)로 42°C에서 48시간 계대 培養시키고, 차란 colony를 簡易同定(集落形態, 溶血, 크기, Gram염색 등)을 하여 *Campylobacter*와 類似한 細菌을 分離한 뒤 SSBM과 Blood agar에 접종하여 生化學 同定과 다음 實驗에 사용될 菌株을 保管하였다.

保管된 菌株을 Blaser 등²¹⁾의 方法에 따라 gram 염색, Oxidase test, Catalase test, H₂S test, Hippurate hydrolysis test, NO₃ reduction, 25°C, 37°C, 42°C 및

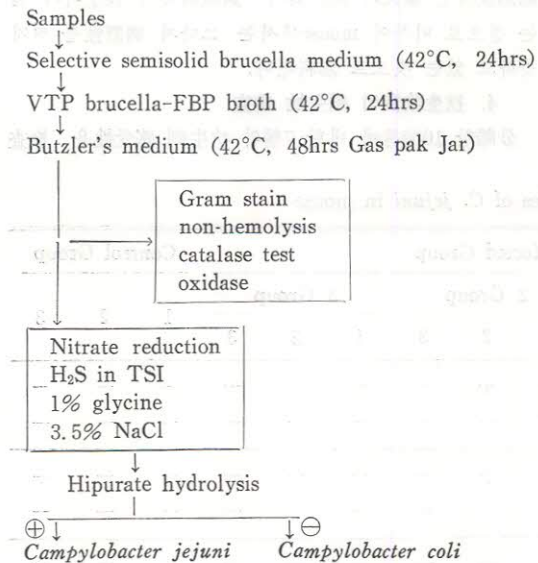


Fig. 1. Isolation and identification of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*.

Table 1. Composition of Butzler's agar

Thioglycollate broth medium(dehydrated)	29.0g
Agar	30.0g
D.W	825.0ml
Defibrinated sheep blood	150.0ml
Bacitracin	25,000IU
Novobiocin	0.005g
Cycloheximide	0.05g
Cephalothin	0.015g
Colistin	10,000IU

1% glycine broth에서의 發育시험, nalidixic acid(30 µg), Cephalothin(30µg)에 대한 disc method에 의한 感受性 實驗 등을 實施하여 Bauer 등의 方法에 의하여 同定하였다.

2) mouse를 利用한 病原性 實驗

SSBM에 保管한 菌株을 2% peptone, 0.3%(w/v) yeast extract 0.3% (v/v) sodium chloride, 0.14% (w/v) magnesium chloride와 1% sheep blood로 구성된 broth에 접종시켜 42°C에서 24시간 培養後 PBS로 培養液을 3회 세척한 후 菌數를 10⁸~10⁹ CFU(Colony Forming Unit)/ml가 되게하여 3주령된 ICR mouse를 1group당 3마리씩 3group으로 나누고 對照群으로 1 group을 나누 뒤 0.1cc even blue dye를 添加한 0.3cc 培養 菌液을 實驗群의 1, 2, 3, group mouse 腹腔內에 注入하고 對照群에는 0.1cc even blue dye를 添加한 0.3cc saline을 注入하여 3日, 6日, 10日間의 期間을 두고 經過를 觀察하였다.

3) 抗生劑 感受性 實驗

供試菌에 의한 抗生劑 感受性 實驗은 Bauer 등²²⁾의 方法에 의하여 實驗하였다. 즉, 分離된 *Campylobacter jejuni*를 Müller Hinton broth에 各各 接種한 뒤 微好氣性으로 10시간 정도 培養시킨 후 disc 擴散法에 의하여 感受性 檢査를 하였다.

感受性 實驗에는 Ampicillin(10µg), Cephalothin(30µg), Chloramphenicol(30µg), Erythromycin(15µg), Kanomycin(30µg), Neomycin(30µg), Penicillin(10 unit) 등 7種의 抗生劑(BBL제품)를 使用하여 Bauer 등²²⁾의 結果표에 의하여 결정하였다.

結果 및 考察

1. 生化學의 性狀을 통한 *C. jejuni*와 *C. coli*의 分離

소의 糞便에서 採取한 *Campylobacter jejuni*와 *C.*

Table 2. Isolation rates of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in cattle feces

Source	No. of Samples	Isolation of <i>C. jejuni</i>	Isolation of <i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i> positive %	<i>C. coli</i> positive %
A group	100	3	0	3%	0%
B group	100	5	0	5%	0%
C group	50	2	0	4%	0%

*coli*分離 및 同定한 結果 表 2와 같았다.

A group의 100에의 試料中 *C. jejuni*가 3에, B group의 100에의 試料中 *C. jejuni*가 5에, C group의 50에의 試料中 *C. jejuni*가 2에 分離되었고 A, B, C, 3group 모두 *C. coli*는 分離되지 않았다.

이런 結果는 Garcia 등²³⁾이 屠殺된 소의 腸器에서 18%의 *C. jejuni* 分離率 및 Munroe 등²⁴⁾의 닭의 糞便에서 24% 分離率 Martin 등²⁵⁾의 193에의 소의 糞便中 72에, 下痢患者 糞便 137에중 32에를 分離 報告한 것과 本 實驗에서 나타난 4%의 分離率과는 많은 差異를 보였는데 이의 主된 原因은 앞의 研究者들²³⁻²⁵⁾의 경우는 下痢便을 試料로 하였으나 本 試驗에서는 正常的인 소의 糞便을 試料로 使用한 結果라 思料된다.

2. 生化學的 性狀實驗

分離菌 10株에 대한 生化學的 性狀檢査 結果는 表 3과 같이 Catalase test, 1% glycine, NO₃ reduction, 42°C 發育試驗, Motility test에서는 10菌株 모두 陽性反應을 나타내었고 25°C, H₂S gas 生成은 10菌株 모두 陰性을 나타내었으며, Oxidase test에서는 10菌株中 8菌株가 陽性反應을 나타냈고 Hippurate hydrolysis test에서는 9菌株가 陽性反應을 나타내었다.

이와 같은 生化學的 性狀結果는 Herbert²⁶⁾와 Garcia 등²³⁾의 實驗結果와 비슷하였다.

3. mouse를 利用한 病原性 實驗

Table 3. Biochemical characteristics of *Campylobacter jejuni* isolated from cattle feces

Characteristics	No. of strains	No. of positive	%
Catalase Production	10	10	100
Growth in 1% Glycine	10	10	100
Nitrate Reduction	10	10	100
Growth at 42°C	10	10	100
25°C	10	0	0
Motility	10	10	100
H ₂ S	10	0	0
Hippurate Hydrolysis	10	9	90
Oxidase Production	10	8	80

mouse를 利用한 病原性 實驗結果는 表 4와 같았다.

*C. jejuni*를 注射한 實驗群中 2group에서 3일제 泄瀉를 한 痕跡이 나타났고 6일제에서는 對照群과 實驗群 2group에서 泄瀉痕跡이 나타났으나 10일제 對照群과 實驗群에서는 泄瀉를 한 痕跡이 보이지 않았으며 10日 經過後에는 廢死가 對照群과 實驗群에서 發生되지 않는 점으로 미루어 mouse에서는 그다지 病原性을 띄지 못하고 있는 것으로 思料된다.

4. 抗生物質의 感受性 檢査

分離한 10菌株에 대한 7種의 抗生劑 感受性을 檢査

Table 4. Pathogenic properties of *C. jejuni* in mouse

결과	Group	Infected Group									Control Group			
		1 Group			2 Group			3 Group			1	2	3	
		1	2	3	1	2	3	1	2	3				
3 days	diarrhea	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	Mortality	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6 days	diarrhea	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+
	Mortality	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10 days	diarrhea	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Mortality	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Table 5. Drug sensitivity of *Campylobacter jejuni* isolated from cattle feces.

Drug	No. of sensitive strains	Sensitive %
Chloramphenicol(30 μ g)	8	80%
Erythromycin(15 μ g)	3	30%
Kanamycin(30 μ g)	7	70%
Ampicillin(10 μ g)	7	70%
Neomycin(30 μ g)	4	40%
Penicillin(10 unit)	3	30%
Cephalothin(30 μ g)	1	10%

한 결과 表 5와 같았다.

Chloramphenicol 80%, Kanamycin 70%, Ampicillin 70%, Penicillin 30%, Erythromycin 30%, Neomycin 40%, Cephalothin 10% 등의感受性を 나타내었다.

이러한 결과는 Page, Figueroa 등^{27,28)}의 報告와는 差異를 보였는데 이는 Mercer 등²⁹⁾이指摘한 바와 같이 우리나라 畜産業界에서 疾病의 豫防과 治療目的으로 抗生劑 濫用으로 耐性を 가진 菌의 出現率이 增加된 데 起因한 것으로 思料된다.

結 論

1986年 9월부터 10月사이 서울市內 屠畜場에서 屠畜되는 韓牛 250頭의 直腸에서 採取한 糞便으로부터 *Campylobacter jejuni*와 *Campylobacter coli*를 分離하고 이들의 生化學的 性狀과 mouse를 利用한 病原性 實驗 및 抗生劑 感受性を 實驗한 바, 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 소의 糞便에서 *C. jejuni*는 250예의 試料中 10株(4%)를 分離하였으며 *C. coli*는 分離되지 않았다.
2. 分離된 10株의 *C. jejuni*의 生化學的 性狀은 供試菌과 거의 類似한 結果를 나타내었다.
3. mouse를 利用한 病原性 檢査에서 *C. jejuni*는 病原性を 나타내지 않았다.
4. 抗生物質의 感受性 檢査 結果 Chloramphenicol(80%), Kanamycin(70%), Ampicillin(70%)에는 높은 感受性を 나타내었으나 Penicillin(30%), Erythromycin(30%), Cephalothin(10%)에서는 感受성이 낮았다.

參 考 文 獻

1. Smith, T. and M.S. Taylor: Some morphological

- and biological characteristics of the spirilla associated with disease of fetal membrane in cattle. J. Exp. Med., 30:299-311, 1919.
2. Doyle, M.P.: A vibrio associated with swine dysentery Am. J. Vet., 5:3, 1944.
3. Jones, F.S., R.B. Little and M. Orcutt: A Contamination of the study of the aetiology of infectious diarrhea (winter source) in cattle. J. Am. Vet. Med. Ass., 81:610, 1932.
4. Levy, A.J.: A gastroenteritis outbreak probably due to a bovine strain of *Vibrio*. Yale. J. Biol. Med., 18:243, 1946.
5. Vinzent, R., J. Dumas and N. Picard: Septicemia grave au cours de la grossesse due a un vibron Avortement consecutif. Full Acad. Natl. Med. (paris), 131:90-92, 1947.
6. King, E.O.: Human infection with *Vibrio foetus* and a closely related *Vibrio*. J. Infect. Dis., 119, 1957.
7. Véron, M. and R. Chatelain: Taxonomic study of the genus *Campylobacter* sebald and Veron and designation of the neotype strain for the type species. *Campylobacter fetus* (Smith and Taylor) sebald and veron. Int. J. Syst. Bacteriol., 23:122-134, 1973.
8. Smibert, R.M.: *Campylobacter* in Bergy's Manual of Determinative Bacteriology 9th ed. Williams & Willkins Baltimore, 207, 1974.
9. Skirrow, M.B.: *Campylobacter* enteritis: A "new" disease Br. Med. J., 2:9-11, 1977.
10. Butzler, J.P., et al.: Related *Vibrio* in stools. J. Pediatr., 82:493, 1973.
11. Grant, I.H., N.J. Richardson, and V.D. Bokkenheuser: Broiler chickens as potential source of *Campylobacter* infection in humans. J. Clin. Microbiol., 11:508, 1980.
12. Level, A. and I.D. Ricciardi: *Campylobacter jejuni*: Isolation and Characterization of strains from chickens in Rio de Janeiro.
13. Luechtefeld, N.W. et al.: Evaluation of transport and storage techniques for isolation of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* from turkey cecal specimens. J. Clin. Microbiol., 13:438-443, 1981.
14. Prescott, J.F., and C.W. Bruin-Mosch.: Carriage of *Campylobacter jejuni* in healthy and diarrheal

- animals. Am. J. Vet. Res., 42:164-165, 1981.
15. Prescott, J.F., and D.L. Munroe: *Campylobacter jejuni* enteritis in man and domestic animals. JAVMA, 181(12):1524-1530.
 16. Rosef, O. and M. Yndestad: Some characteristics of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* isolated from pigs, birds and man. Acta. Vet. Scand., 23:9-15, 1982.
 17. Weber, A., I Bergmann and K. Bauer: Detection of *Campylobacter jejuni* in fecal samples of calves with and without enteritis. Veterinary Bulletin Abstracts, 54:339, 1984.
 18. Morris, G.K. and C.M. Patton: *Campylobacter*: Manual of Clinical microbiology 4th ed. 27: 302-308, 1985.
 19. Rosef, O. et al.: Isolation and characterization of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from domestic and wild mammals in Norway. Appl. Environ. Microbiol., 46:855-859, 1983.
 20. Rosef, O. and G. Kapperud.: *Campylobacter* from feces of poultry. Acta. Vet. Scand., 23:128-134, 1982.
 21. Blaser, M.J. and L.B. Reller: *Campylobacter* enteritis. N. Engl. J. Med., 305:1444, 1981.
 22. Bauer, A.W., W.M. Kirby and J.C. Sherris: Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Clinical. Pathology, 36:493, 1966.
 23. Garcia, M.M., et al.: Isolation, Characterization and serotyping of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from slaughter cattle. Applied and Enviro, Microbiol., 49:667-672, 1985.
 24. Munroe, D.L., J.F. Rescott, and J.L. Penner: *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* serotypes isolated from chickens, cattle and pigs. J. Clinical. Microbiol., 18:877, 1983.
 25. Martin, W.T., C.M. Patton, G.F. Morris, and N.D. Puhr.: Selective enrichment broth medium for Isolation of *Campylobacter jejuni* J. Clinical. Microbiol., 17:853, 1983.
 26. Hebert, G.A., et al.: 30 years of *Campylobacters*: biochemical characteristics and biotyping proposal for *Campylobacter jejuni* J. Clin. Microbiol., 15: 1063-1073, 1982.
 27. Page, R.J., R.H.I. Ross., D.G. White: Antibiotic susceptibility of 1001 human clinical isolates of thermophilis *Campylobacter spp.*, and correlation of biotype, serotype and antibiogram with epidemiological information relating to 274 sporadic cases of enteritis, Third inter, Workshop on *Campylobacter* Infections (Abstract) 156, 1985.
 28. Figueroa, G., M. Troncoso, M. Araya, O. Brunser, J. Espinoza and M.E. Bustor: Role of *Campylobacter jejuni* in patients with and without diarrhoea in santiago, chile: prospective studies, Third inter, Workshop on *Campylobacter* infections (Abstract) 150, 1985.
 29. Mercer, H.D., D. Pocerull, S. Gaines, S. Wilson and J.V. Bennett: Characteristics of antimicrobial resistance of *Escherichia coli* from animals, Relationship to veterinary and management uses of antimicrobial agent Appl. Microbial, 22:700, 1971.