

2, 3, 5-Triphenyl Tetrazolium Chloride (T.T.C) Test 에 의한 牛乳中の 抗生物質 檢出에 關하여

金 教 準 金 烘 洙 蘇 景 宅 鄭 運 泳

忠南大學校 農科大學 畜產學科

忠清南道 家畜保健所

緒 論

抗生物質은 現今 獸醫學 및 畜產學 分野에서 豫防 및 治療劑로써 不可缺한 것이며 特히 乳房炎治療에는 數多한 製劑가 廣範圍하게 使用되고 있으나 實際에 있어서는 專門知識이 적은 酪農業者의 不適한 濫用과 誤用으로 이것이 乳汁에 移行殘留하게 되어^{1,2,3,10} 酪農經營上의 損失은 勿論이고 食品公害로써 FAO/WHO 에서는 크게 問題視하고 있다^{5,7}. 近年 外國에서는 牛乳에 殘留하는 藥劑를 投與한 후 3日 以內에 착유한 牛乳의 市販을 規制하고 있으나^{5,6} 施行이 어려운 關係로 乳房炎 治療劑에 food blue⁶를 添加하여 牛乳를 검査하고 있고 關係機關에서도 酪農業者나 組合 등에 強力히 指導와 改善을 促求하고 있다. 우리 나라에서는 아직 이 方面에 대해서 研究된 바가 적고 政策面에서도 別로 對策이 없으므로 이에 대한 適切한 對策과 指導上의 資料를 얻고자 T.T.C. Test⁸에 의하여 大田市 牛乳處理場을 中心으로 近郊 牧場에서 出荷하는 牛乳와 陽性으로 判明된 牛乳를 出荷한 牧場에서 個體別로 採取한 牛乳에 對해서 實施한 試驗成績을 報告하는 바이다.

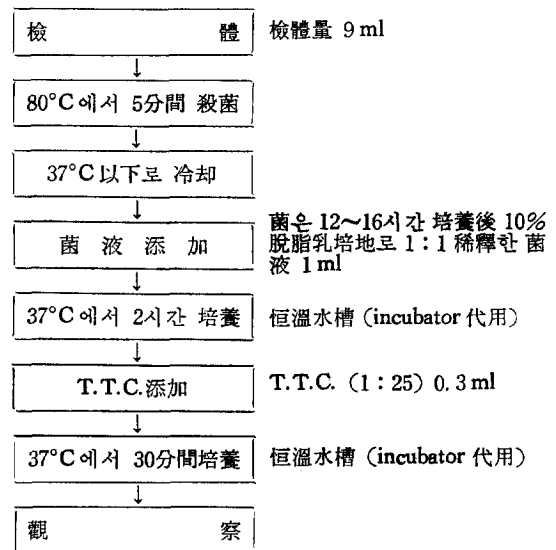
材料 및 方法

試驗牛乳: 大田市 牛乳處理場의 集合乳를 3日間隔으로 1個月間(10回), 그리고 全牧場乳를 3群으로 區分하여 每日 1個區씩 3日間 3回 檢査하고 陽性 牛乳를 出荷한 牧場에 對해서는 全乳牛에서 個體別로 採乳(30 cc)하여 檢査 하였다.

試驗菌: 日本農林省 畜產試驗場 由來의 *Streptococcus thermophilus* No. 510株를 北海道大學 獸醫學部에서 分讓받아 使用하였다.

培 地: 10% 脫脂乳培地는 cylinder plate assay 法에 의하여 抗生物質이 檢出되지 않는 것을 사용하였다.

檢査方法: 다음 그림과 같은 요령으로 실시하였다.



判定方法: 檢體의 着色狀은 標準色⁴과 比較하여 다음 기준에 따라서 判定하였다.

判 定 基 準

着 色 狀	判 定	摘 要
- : 着色하지 않은 것	陽 性	細菌의 發育을 阻止하는 物質을 含有
± : 若干 桃色을 띠는 것	疑陽性	若干 存在할 수도 있고 없을 수도 있음
+ : 桃色~赤色으로着色	陰 性	着色的 程度에 따라 다시 區分할 수 있음

結 果

任意로 採取한 牛乳檢査成績: 集乳筒의 牛乳를 每回

25個씩 採取 總 250檢體에 對한 檢査성적은 陽性 18.4%, 疑陽性 21.2%, 陰性 60.4%였다(第1表).

Table 1. Results of T.T.C. Test by Random Sampling at Milk Plant (25 samples each day)

Date	Results		
	Positive %	Suspect %	Negative %
Aug. 3	16	28	56
6	8	8	84
9	12	24	64
12	24	12	64
15	20	16	64
18	24	20	56
21	12	20	68
24	24	32	44
27	16	36	48
30	28	16	56
Mean	18.4	21.2	60.4

群別로 採取한 牛乳檢査成績 : 連 3일간에 걸쳐 全牧場을 A,B,C의 3個群으로 區分하고 總 122檢體를 檢査한 바 A群에서 陽性 18%, 疑陽性 20%, 陰性 62%였고, B群에서 陽性 31%, 疑陽性 48%, 陰性 21%로써 3群中 陽性率과 疑陽性率이 가장 높은 群이었으며 C群에서는 陽性 20%, 疑陽性 40%, 陰性 40%였고 各群의 平均은 陽性 23%, 疑陽性 36%, 陰性 41%였으며 陽性, 疑陽性率이 모두 59%였다(第2表).

Table 2. Results of T.T.C. Test in 3 Groups

Groups	Results			Remarks	
	No. of samples	Positive %	Suspect %		Negative %
A	41	18	20	62	Sep. 5
B	41	31	48	21	Sep. 6
C	40	20	40	40	Sep. 7
Average	—	23	36	41	—

陽性反應이 인정된 牧場에 對한 檢査成績 : 各群別로 檢査成績에 따라 判定 즉시로 陽性牧場을 直接 訪問하여 개체별로 採乳한 成績은 第3表에서 보는 바와 같이 總 162 檢體中 陽性 5%, 疑陽性 2%, 陰性 93%였다. 9個所의 陽性牧場에서 陽性, 疑陽性이 8個 牧場이고 단 1個의 牧場에서 만이 陰性이었다. 陽性牧場의 原因調査에 있어 6個 牧場은 乳房炎과 관련이 있었고 3個 牧場에서는 HiTi로 牛乳筒과 乳房을 洗滌한 곳 이 1個所, 乳房皮膚炎 治療目的으로 抗生劑軟膏塗擦이 1個所였으며 나머지 1個所에서는 全然 그 原因을 알 수 없었다.

考 察

第1表에서 보는 바와 같이 3日間隔으로 任意로 採取한 牛乳를 10회에 걸쳐 檢査한 平均 成績이 18.4%였고 3群으로 區分하여 全 牧場牛乳를 檢査한 平均

Table 3. Results of Individual Test at Positive Farms

Farm No.	Results			Remarks	
	No. of Cattle	Positive	Suspect		Negative
6	35	2	—	33	Hostacillin 12,000,000 IUPER herd IM, mastitis
7	20	—	1	19	Hostacillin 9,000,000 IUPER herd IM, 2 days ago
14	15	1	—	14	Antibiotics infused to the udder, madtitis
18	20	2	—	18	Antibiotics infused to the udder, madtitis
20	8	1	1	6	Milk can and udder were washed with HiTi
27	11	—	1	10	Antibiotic ointment was applied to the udder
31	15	1	—	14	Antibiotics infused to the udder
36	25	1	—	24	Antibiotics infused to the udder, madtitis
47	13	—	—	13	—
Total	162	8	3	151	Positive 8%, Suspect 3%, Negative 93%

成績이 23%였는데 Feagan⁶⁾은 Australia의 Victoria州에 있어 個個 農家の 牛乳 12%, 混合乳의 77%에서 Penicillin이 檢出되었다고 하였고 그후로 부터 乳房注 入用 Penicillin 10萬 IU에 對하여 125 mg의 food blue를 添加하는 것을 義務化하였던 바 2年後인 1964年 4월에 0.4%와 2.5%, 1965年 5월에는 2.1%와 4.5%로 各各 減少되었다고 하였다.

한편 Terplan 및 Zaadho⁹⁾에 의하면 Grass Klaus(1969)는 America에서 6.5%, England에서 16.6%, Australia에서 15%를 各各 檢出하였다고 한다. 따라서 本 試驗 成績은 多少 높다고 할 수 있겠으나 우리도 強力한 指導啓蒙과 徹底한 檢査制을 실시하고 色素劑의 添加等 制度的 措置가 取해진다면 充分히 감소시킬 수 있을 것이라고 생각된다.

第3表에서 보는 바와 같이 陽性으로 判定된 9個의 牧場에서 陽性 5%, 疑陽性 2%에 不過하였는데도 이것이 混合될 경우 이들 牧場에서 生産되는 新鮮牛乳를 汚染시켜 第2表에서 보는 바와 같이 陽性, 疑陽性 合하여 約 59%에 達하는 抗生物質의 汚染乳가 出荷되었다는 結果가 되고 牛乳處理場에서 이것을 그대로 取扱하여 全 集合乳가 汚染된다면 乳酸菌의 發育은 抑制되고 乳加工에 있어 莫大한 經濟的 損失과 직접 人體에 過敏症等 副作用으로 公衆衛生面에서도 큰 威脅을 免할 수 없을 것이라 생각된다.

原因 發生에 對하여 考察하면 抗生劑를 投與한 事實 이 있어서 陽性을 나타내는 것은 當然한 常識이지만 No. 20牧場에서는 HiTi와 水道水로써 牛乳筒을 洗滌한 것 뿐이고 No. 47牧場에서는 原因을 溯及하여 調査한 結果 檢査 當日의 牛乳檢査에서 酸度過多로 失格되었다는 것이 判明되었기 때문에 同材料를 數次에 걸쳐 反復檢査 해 보았으나 如前히 陽性反應을 나타낸 것으로 미루어 보아 酸敗乳가 各種 洗劑, 鹽素化合物, 逆性石鹼等이 本 試驗의 判定에 影響을 준다는 것은, 앞으로 더욱 더 究明하여야 할 問題點이라 하겠다.

本試驗法이 penicillin을 對象으로 開發된 方法이라 現今에 있어서도 各種의 抗生物質을 混合 使用하고 있는데 이를 個個로 識別하기에는 缺陷이 적지 않으므로 어디까지나 screening test 程度를 벗어나지 못할 것이지만 적어도 異物이 含有된 牛乳를 조사해 가가는데 있어서 酪農經營面에서나 公衆衛生上의 意義가 매우 크다고 하겠으며 牛乳檢査에 있어 本法를 採擇하여 應用的 妙를 期하며 生産業者들에 對한 指導啓蒙을 促求하고 制度的 改善이 切實히 要求된다.

結 論

大田市 近郊 牧場 牛乳를 對象으로 534檢驗를 T.T.C. test에 의하여 抗生物質을 檢査한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 任意로 採取한 250檢體에 對하여 約 1個月에 걸쳐 實施한 成績은 陽性 23%, 疑陽性 36%이었으며 모두 大體로 높은 陽性率이었다.

2. 陽性牧場을 對象으로 162檢體에 對하여 個體別 檢査成績은 陽性이 5%, 疑陽性이 2%에 不過하였으나 混合乳로서의 檢査成績은 陽性和 疑陽性이 約 59%에 達하는 높은 汚染乳이었다.

3. 牛乳의 抗生物質 잔류를 抑制하려면 3日 間隔으로 本 試驗을 實施하고 乳房炎治療劑에는 food blue를 添加하여 적어도 72時間 以上の 牛乳出荷禁止期間의 設定이 必要하다고 思料된다.

參 考 文 獻

1. Blobel, H.: Concentration of penicillin. J. A. V. M. A. 1960. 137; 110.
2. Blobel, H.: Penicillin in milk. J. A. V. M. A. 1962. 136; 477.
3. Cannon, R. Y. and Hawkins G. E.: Residues of antibiotic in milk. J. Dairy Sci. 1962. 45; 769.
4. Chalmers C. H.: Bacteria in related to milk supply. Edward Arnold LTD. London. 1962. p. 286.
5. F. A. O. / W. H. O.: F. A. O. Nutrition Meetings Report Series. 1969. 69; 34.
6. Feagan J. T.: The incidence of penicillin in Melbourne milk supply before and after the introduction of dye marking of penicillin. J. Dairy Tech. 1964. 19; 76.
7. I. D. F.: I. D. F. sessions of Moscow. V. Doc. 1968. 86.
8. Neal C. E. and Calbert H. E.: TTC reduction test for penicillin in milk. 1955. 38; 629.
9. Terplan, G. and Zaadho [K. J.]: Zum Vorkommen und Nachweis von Hemmsstoffen in der milchkeine kurze Übersicht. Milchwissenschaft. 1967. 22; 761.
10. 楠山永雄: 藥物의 乳房內, 筋肉內, 子宮內 投與による牛乳での 移行殘留. 畜産의 研究, 1971. 25: 273.

11. 松之清信・中村久・根岸文佐：乳房内に投與した抗生物質の乳中内消長について。獸醫畜産新報, 1971. 536:17.
12. 農林省：動物用抗生物質製劑檢定基準, 農林省告示, 1582. 1970. 10.
13. 小銀浩臣：畜産に用ひられる抗生物質の特性, 畜産の研究, 1970. 24:1482.

Detection of Antibiotic Residues in Cow Milk by 2, 3, 5-Triphenyl Tetrazolium Chloride (T.T.C.) Test

Kyo Jun Kim. D.V.M., M.S.

Department of Animal Husbandry, College of Agriculture, Choong Nam National University

Hong Soo Kim, D.V.M., Kyung Tack So, D.V.M. and Uoon Yeong Chung, D.V.M.

Choong Nam Animal Health Laboratory

Abstract

Five hundred and thirty four samples collected from some farms in Daejeon area were used to determine the antibiotic residues in milk by T.T.C. test.

The results were summerized as follows:

1) Among 250 random samples tested for one month, positives were 18.4% and suspects 21.2%. Another 122 sampls were divide into 3 groups with interval of 3 days, and 23% of positives and 36% of suspects were found.

2) From individual test of 162 samples from farms which produced positive milk, 5% of positives and 2% of suspects were appeared. Of the mixed milk 59% of them was found positive or suspect.

3) In order to protect antibiotic residues in marketing milk, milk must be tested with interval of 3 days. And if cows were treated with mastitis drug, it will be better to use the drug with food blue and not to be sold the milk up to 3 days or more after the treatment.