

국내 축산 환경 중의 항생제 내성균 모니터링에 관한 연구

권영일 · 김태운¹ · 김해영¹ · 장윤희² · 곽효선³ · 우건조³ · 정윤희*

한국소비자보호원 시험검사소 식품미생물팀, ¹경희대학교 식품생명공학과,
²명지대학교 식품영양학과, ³식품의약품안전청 식품평가부 식품미생물팀

Monitoring of Antimicrobial Resistant Bacteria from Animal Farm Environments in Korea. Kwon, Young-Il, Tae-Woon Kim¹, Hae-Yeong Kim¹, Yun Hee Chang², Hyo-Sun Kwak³, Gun-Jo Woo³, and Yun-Hee Chung*. Test and Research Center, Korea Consumer Protection Board, Seoul 137-700, Korea, ¹Graduate School of Biotechnology, Kyung Hee University, Suwon 449-701, Korea, ²Department of Food and Nutrition, Myongji University, Yongin 449-728, Korea, ³Center for Food Safety Evaluation, Korea Food and Drug Administration, Seoul, 122-704, Korea – The kinds and quantity of antimicrobial agents used for cattle (animal industry) may be considerable, suggesting the possibility that pathogenic bacteria which cannot be extirpated by the existing antimicrobial agents could appear. Ten cattle, pig and chicken farms, respectively, were randomly selected from 5 provinces in Korea and the samples were collected from excrement, manure, underground water, farmers' hands and the neighboring environment. A total of 299 samples were examined and 197 of *Escherichia coli*, 13 of *Campylobacter jejuni/coli*, 223 of *Enterococcus faecium/faecalis* and 42 of *Staphylococcus aureus* isolates were collected. All isolates were screened for antimicrobial resistance: 69.4% of *E. coli* (137/197 strains), 78.6% of *S. aureus* (33/42 strains), and 82.1% of *E. faecium/faecalis* (183/223 strains) were resistant to one antimicrobial agent and all of *C. jejuni/coli* isolates showed the resistance to one antimicrobial agent. Meanwhile, the multiple resistance ratio for more than 4 lines of antimicrobial agent was 19.2% of *E. coli* (38/197 strains), 11.9% of *S. aureus* (5/42 strains), 15.4% of *C. jejuni/coli* (2/13 strains) and 6.2% of *E. faecium/faecalis* (14/223 strains). The antimicrobial resistance ratio of bacteria isolated from the cattle farm showed lower than that of bacteria isolated from the pig or chicken farm, which might be related to the quantity of antimicrobial agents consumed. And one strain of vancomycin resistant *E. faecium* (VREF) were isolated from the excrement of chicken and stream, respectively. Generally, the ratio of VREF collected in animal farm environments is lower than that of VREF collected in medical environment.

Key words: Antimicrobial resistant bacteria, multi-drug resistant

서 론

아시아권은 전 세계적으로 항생제 내성이 다른 지역에 비하여 월등히 높은 지역에 속하며, 한국의 항생제 내성률은 세계적으로 손꼽을 수 있을 정도로 높은 실정이다. 특히 페렴구균 내성은 세계에서 가장 높은 수준인데 예를 들면 penicillin의 경우 77%가 내성을 지녔으며 이 수치는 다른 선진국에 비해 5-7배 높은 편이다[35]. 더욱이 일반 지방 병원에서 검출되고 있는 포도상구균의 77%가 methicillin에 내성을 지니고 있다[34]. 전 세계적으로 세균의 항생제 내성이 문제가 되고 있으며 향후 국내에서도 내성균 문제는 심각한 상황으로 발전할 가능성을 지니고 있다. 항생제는 의료 기관에서 환자 치료 목적으로 사용하는 것 이외에도, 동물의

사료에 첨가되기도 하고 각종 생활용품에서 항생물질 첨가 상품이 나오는 등 우리 주변에까지 널리 퍼져 있다. 특히 낙농을 많이 하는 유럽국가에서는 최근까지도 성장 촉진제로서 많은 양의 항생제를 사료에 첨가해서 사용하였는데, 이 경우 가축의 체중이 5% 정도 증가한다고 알려져 있다[38]. 그러나 최근 축산 농가에서 과다한 항생제 남용으로 인한 내성균 출현으로 유럽에서는 의약품으로 쓰이는 항생제의 축산용은 사용을 금지하게 되었다[2]. 국내의 경우도 최근까지는 자료가 부족하여 가축, 수산 등에 사용되는 항생제의 종류 및 양이 얼마인지 정확히 알 수 없었으나, 2003년도 국가 항생제 안전관리 사업 결과 대략적인 수치가 알려졌다. 국내에서 사용된 소, 돼지, 닭 및 수산 등 4가지 축종의 항생제 전체판매 실적은 2001년 1,602톤, 2002년 1,550톤, 2003년 1,460톤 이었다[18]. 실제로 가축, 수산 등에 사용되는 항생제의 종류 및 양이 대단할 것으로 추측되는 실정이라 우리나라에서도 기존의 항생제로는 치료가 불가능한 병원균이 생길 수 있다는 가능성을 내재하고 있다. 생산성을

*Corresponding author

Tel: 82-2-3460-3041, Fax: 82-2-3460-3069

E-mail: yunhee@cpb.or.kr

높이기 위해 동물에게 항생제를 처방하거나 사료에 항생제를 넣는 것은 균의 내성률을 높일 수 있으며 또한 동물 분변이 환경에 노출되어 내성균의 오염경로가 될 수 있다. 항생제와 관련된 인류의 건강은 내성균을 포함한 농장의 분변과 직접적이든 간접적이든 연계되어 있다[11, 16, 19, 26].

이에 본 연구과제에서는 전국 5개도(경기도, 강원도, 충청도, 전라도, 경상도)에서 소, 돼지, 닭 농장 각각 10곳을 무작위로 선정하여 분변, 퇴비, 지하수, 농부 손 및 그 주위 환경인 하천, 토양에서 샘플을 채취하여 *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Campylobacter coli/jejuni*, *Enterococcus faecium/faecalis*, *Staphylococcus aureus*를 분리하였다. 이들 균주에 대해 항생제 감수성검사를 실시하여 항생제 내성률, 내성패턴 등 내성균의 오염실태를 조사하여 우리나라 축산 환경 중의 항생제 내성균 발생의 심각성을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

검체 채취 대상 및 방법

국내 지역을 경기도, 강원도, 충청도, 전라도, 경상도로 크게 5그룹으로 구분한 후 각각을 2곳의 군단위로 나누어 총 10개 지역으로 구분한 뒤, 국내 축산의 주요 축종인 소, 돼지, 닭 농가 10곳을 선택하여 각각의 농가에 대하여 가축의 분변, 퇴비, 농부의 손, 농가 내 지하수, 농가 및 그 주변 환경의 토양 및 하천에서 샘플을 수집하였다. 축종별로 약 100곳, 전체 약 300여 곳에서 검체를 채취하였다. 검체 채취 방법은 다음과 같이 실시하였다. 가축의 분변은 사육장 내에 있는 것, 퇴비는 퇴비를 저장하고 있는 곳, 토양은 농장주변에서 멀균된 모종삽과 무균 껍을 이용하여 약 300g을 채취하였다. 농부의 손에서의 균 채취는 멀균된 250 ml 생리식염수가 들어있는 무균 껍에 손을 담그고 5분간 세척한 액을 사용하였다. 지하수는 2분 정도 흘러보낸 뒤 무균 병에 담아 채취 하였고 하천의 물은 농장주변에 흐르는 하천에 멀균된 병을 담가 채취하였다. 채취된 시료는 냉장상태로 보관하여 실험실로 운반한 후, 냉장보관 하면서 24시간 이내에 시험을 실시하였다[17, 29, 30].

대상균주의 분리 및 동정방법

*E. coli*의 분리는 채취한 시료를 무균적으로 균질화 한 뒤 25 g(or ml)을 취해서 EC broth(Difco, Becton Dickinson and Co., Sparks, MD, USA) 225 ml에 접종한 후 44.5°C에서 24시간 증균 배양하였다. 이때 분변과 퇴비의 시료는 증균 과정 없이 직접 선택배양 배지에 도말하였다. 선택배양은 증균 배양액 10 µl를 eosin methylene blue agar(Difco)에 도말 후 35°C, 18~24시간 배양하고 금속성 광택 집락 3~5개를 분리한 후 nutrient agar(Difco)에 도말 후 35°C, 18~24시간 배양한 다음 그람염색 음성 및 oxidase(Difco) test 음성이 확인된 균에 대해서 미생물동정 기기인 VITEK

GNI⁺(bioMerieux Inc., Marcy 1 'Etoile, France)로 최종 동정하였다[8, 22, 36].

Salmonella spp.는 채취한 시료를 무균적으로 균질화 한 뒤 25 g을 취해서 buffered peptone water(Difco) 225 ml에 접종한 후 37°C에서 16~20시간 증균 배양하였다. 분변과 퇴비의 시료는 증균 과정 없이 직접 선택배양 배지에 접종하였다. 증균 배양액 0.1 ml를 10 ml의 Rappaport-Vassiliadis R10 broth(Oxoid LTD., Basingstoke, Hampshire, England)에 접종 후 42°C에서 18~24시간 배양한 후 파란색에서 무색 또는 옅은 초록색으로 변하는 배양액 50 µl를 Rambach (Merck, Darmstadt, Germany)배지에 도말한 후 37°C에서 18~24시간 배양한 후 핑크 빛을 나타내는 집락을 3~5개 선택하여 nutrient agar(Difco)에 도말 후 37°C에서 18~24시간 배양한 후 그람염색 음성 및 살모넬라 O 항원(Difco)에 대한 혈청검사를 실시하여 응집반응이 일어나는 균에 한하여 VITEK GNI⁺(bioMerieux)로 최종 동정하였다[23, 27, 28].

*C. coli/jejuni*의 분리는 채취한 시료를 무균적으로 균질화 한 뒤 25 g을 취해서 bolton selective enrichment broth (Oxoid) 225 ml에 37°C, 4시간 동안 미호기적 조건에서 증균 배양 후 42°C에서 48시간동안 *Campylobacter* 가스팩 (Oxoid)을 넣은 anaerobic jar에서 배양하였다. 분변과 퇴비의 시료는 증균 과정 없이 직접 선택배양 배지에 도말하였다. 증균 배양액 10 ml를 15 ml tube에 넣은 후 8,000 rpm에 10분간 centrifuge 후 침전물을 선택배양으로 *Campylobacter* blood free selective agar(Oxoid)에 도말 후 42°C, 미호기적 조건(10% CO₂, 5% O₂, and 85% N₂)을 만든 anaerobic chamber에서 48시간 배양한 다음 *C. jejuni*는 회색의 습윤한 집락을 나타내는 것을, *C. coli*는 creamy-grey 집락생성, 습윤하며, 약간 불룩한 균주의 특성을 나타내는 균주 각각 3~5개를 선택한 다음 horse blood agar(Difco)에 접종 후 42°C, 미호기적 조건을 만든 anaerobic chamber에서 48시간 배양하였다[9, 13, 31, 37]. 배양 균주는 acetate hydrolysis test를 실시하여 양성 균주를 선택하고 polymerase chain reaction (PCR)을 수행하여 확인시험을 하였다.

*S. aureus*의 분리를 위해 채취한 시료를 무균적으로 균질화 한 뒤 25 g을 취해서 10% NaCl을 첨가한 tryptic soy broth(Difco)에 37°C, 16시간 증균 배양하였다. 분변, 퇴비 시료는 증균 배양 과정 없이 직접 선택배양 배지에 도말하였다. 증균 배양액 50 µl를 Baird Parker+RPF(bioMerieux)에 도말 후 37°C, 16시간 배양하고 집락주변에 전형적인 환이 띄는 집락을 3~5개 선택해서 blood agar(Difco)에 접종 후 35°C, 16시간 배양하였고, hemolysis 현상이 일어나는 균을 nutrient agar(Difco)에 접종 후 37°C, 16시간 배양하였다. 그 다음 coagulase(Difco) test를 실시하여 양성 균주를 선택하여 최종적으로 VITEK GPI(bioMerieux)로 동정하였다[3, 4, 12].

*E. faecium/faecalis*의 분리를 위해 채취한 시료를 무균적

으로 균질화 한 뒤 25 g을 취해서 enterococcosel broth(EB) (BBL, Becton Dickinson and Company, Cockeysville, MD, USA)에 접종 후 37°C에서 18~24시간 증균 배양하였다. 분변과 퇴비는 증균 배양 과정 없이 직접 선택배양 배지에 도말하였다. 증균 배양액 10 µl을 취하여 선택배지인 EB에 도말 후 37°C에서 18~24시간 배양하고, vancomycin resistant *Enterococcus*(VRE)는 6 µg/ml 농도의 vancomycin (SIGMA, Sigma-Aldrich Co, St Louis, MO, USA)이 첨가된 EB 배지에 도말 후 37°C에서 18~24시간 배양하였다. EB에서 집락 주변 배지색이 검은색을 띄는 집락을 3~5개 선별하여 brain heart infusion agar(Difco)에 도말 후 37°C에서 18~24시간 배양하였다[1, 5, 14, 21, 24]. 배양된 균은 그람염색(Difco) 양성 및 catalase(Difco) 음성을 확인한 다음 PCR 방법을 이용하여 *E. faecium*과 *E. faecalis*를 확인하였다[10, 20].

항생제 감수성 시험

항생제 감수성 시험은 disk diffusion법과 minimal inhibitory concentration(MIC) 법을 이용하였다. Disk diffusion 방법은 감수성 시험 대상균주 중 *E. coli*, *Enterococcus* spp., *Salmonella* spp., *S. aureus*는 Muller-Hinton(MH) broth에 35°C, 2~6시간 배양하여 균 농도를 #0.5 McFarland standard로 조정 한 후 MH agar(Difco) 표면에 멸균면봉을 이용하여 고르게 도포하였다. 균을 희석한 후 15분 이내에 접종했으며, 접종 시 petridish를 60°로 회전하면서 3회 도포하였다. 평판을 3~5분 간 말리고 15분 이내에 dispenser를 이용해서 항생제 디스크를 배지 위에 접종하였다. 내성여부는 35°C 배양기에서 16~18시간 배양 후 균 억제대(inhibition zone)의 크기를 기록하여 판정하였다. 다만, vancomycin, oxacillin, methicillin의 경우는 24시간 배양 후 내성여부를 판정하였다.

*C. jejuni/coli*는 감수성시험 대상균주를 horse blood agar(Difco)에 접종 후 42°C, 미호기적 조건(10% CO₂, 5% O₂, and 85% N₂)의 anaerobic chamber에서 48시간 배양하여 Horse blood agar(Difco) 표면에 자란 균을 bolton selective enrichment broth(Oxoid)에 희석하여 균 농도를 #0.5 McFarland standard로 조정하였다. 희석된 균은 5% horse blood가 첨가된 두께가 약 4mm인 MH agar(Difco) 표면에 멸균면봉을 이용하여 고르게 도포하였다[32]. 도포 방법 및 디스크 접종방법은 위의 *E. coli*의 방법과 동일하게 하였다. 내성여부는 미호기적 조건(10% CO₂, 5% O₂, and 85% N₂)의 anaerobic chamber에서 37°C, 48시간 배양 후 균 억제대(inhibition zone)의 크기를 기록하여 판정하였다. 항균제 감수성 검사의 모든 과정 및 기준은 Clinical and Laboratory Standards Institute(CLSI)가 제시한 방법에 따라 수행하였고[25] 결과는 R(resistant, 내성), I(intermediate, 중등도 내성), S(susceptible, 감수성)로 나타내었다.

Minimal inhibitory concentration(MIC) 테스트는

vancomycin에 내성을 나타내는 *E. faecalis*에 대해서는 agar dilution method를 이용하여 MIC(최소 억제 농도)를 결정하였다. Vancomycin을 각각 1 µg/ml 에서 512 µg/ml까지 2배 연속 단계별로 희석하여 각 농도를 함유하는 MH agar를 제조한 후 #0.5 McFarland standard의 VRE균 부유액을 각 농도의 plate에 접종한 후 35°C에서 24시간 배양 후 균의 성장 여부를 관찰하여 MIC를 결정하였다. 시험 대조균주로 *E. faecalis* ATCC 29212를 이용하였다.

결과 및 고찰

대상 균주의 분리 및 검출율

각기 다른 10곳의 지역에서 소, 돼지, 닭 축사 및 그 주변 환경에서 검체를 채취하고 균을 분리하였다. 소 축사 주변 환경에서 채취한 검체 수는 분변 10곳, 퇴비 7곳, 농부의 손 10곳, 지하수 10곳, 토양 33곳, 하천 30곳으로 총 100곳에서 검체를 채취하였으며, 돼지는 분변 10곳, 퇴비 7곳, 농부의 손 10곳, 지하수 10곳, 토양 33곳, 하천 30곳으로 총 100곳에서, 닭은 분변 10곳, 퇴비 4곳, 농부의 손 9곳, 지하수 10곳, 토양 36곳, 하천 30곳으로 총 99곳에서 검체를 채취하였으며 채취된 검체를 대상으로 균을 분리하였다. 전체적으로 구분하여 보면 분변은 30곳, 퇴비는 18곳, 농부의 손은 29곳, 지하수는 30곳, 토양은 102곳, 하천은 90곳으로 총 299곳에서 검체를 채취하였다. 균의 검출은 선택 배지에서 목적하는 집락 3~5개를 취한 후 분리 및 동정 시험을 수행하였다.

대장균의 경우 분변 검체에서는 소, 돼지, 닭에 상관없이 모두 100% 검출되었다(Table 1). 퇴비는 소 축사 42.9%, 돼지 축사는 71.4%, 닭 축사는 50%로 돼지 축사의 퇴비가 대장균에 더 오염되어 있는 것으로 나타났다. 농부의 손에서는 축종에 상관없이 약 10% 정도로 검출되었으며, 지하수는 소 축사 1곳, 돼지 축사 1곳에서 검출되었고 닭 축사에서는 검출되지 않았다. 토양의 경우는 소 축사 주변이 57.6%, 돼지 축사 주변이 33.3%, 닭 축사는 47.2%이었으며, 하천은 소 축사 주변이 56.7%, 돼지축사 주변은 56.7%, 닭 축사 주변은 60%로 축종과 상관없이 비슷한 결과를 보였다. 전체적으로 보면 분변에서는 100%, 퇴비는 55.6%, 농부의 손은 10.3%, 지하수는 6.7%, 토양은 46.1%, 하천에서는 57.8%의 비율로 대장균이 검출되었다.

살모넬라균은 299개의 검체 중에서 돼지 농가 주변 토양 한곳에서만 검출되었다. 국내 유통 중인 계육에서의 살모넬라균의 오염률이 36%인 점을 고려할 때[6] 닭의 분변 10검체 중에서 1곳도 검출되지 않았다는 것은 닭의 도계 과정 중에서 살모넬라균의 교차 오염이 일어나고 있다는 것을 판단 할 수 있으며, 특히 도계 과정에서 세척과정은 같은 라인 안에서 많은 닭을 한꺼번에 넣고 하는 시스템이라 한 마리의 닭이 살모넬라균에 오염되어 있어도 쉽게 다른 닭들에게

Table 1. Isolation of several microorganisms from animal farm environment.

Strains		Area	Excrement	Manure	Farmer's hands	Under ground water	Soil	Stream
<i>E. coli</i>	Number of area	30	18	29	30	102	90	
	Detected area	30	10	3	2	47	52	
	Detection rate(%)	100	55.6	10.3	6.7	46.1	57.8	
<i>S. aureus</i>	Number of area	30	18	29	30	102	90	
	Detected area	3	0	10	0	3	19	
	Detection rate(%)	10	0.0	34.5	0.0	2.9	21.1	
<i>C. jejuni/ coli</i>	Number of area	30	18	29	30	102	90	
	Detected area	7	1	0	0	3	2	
	Detection rate(%)	23.3	5.6	0	0	2.9	2.2	
<i>E. faecalis/ faecium</i>	Number of area	30	18	29	30	102	90	
	Detected area	16	13	11	5	60	71	
	Detection rate(%)	53.3	72.2	37.9	16.7	58.8	78.9	

로 전달될 수 있을 것으로 사료되며, 이번 연구에서 10곳의 닭 농장 주변에서 1곳에서도 살모넬라균이 검출되지 않았다는 것은 이를 뒷받침해 주는 것으로 사료된다

*C. coli*는 전체 299개의 검체 중에서 소 분변에서 3곳, 돼지 분변에서 1곳, 하천에서 1곳, 닭 축사 주변 환경의 토양에서 1곳으로 전체 6곳에서 균주가 검출되었다(Table 1). *C. jejuni*는 전체 299개의 검체 중에서 소 분변에서 1곳, 소 축사의 퇴비에서 1곳, 소 축사의 토양에서 1곳, 돼지 분변에서 1곳, 돼지 축사의 하천에서 1곳, 닭 분변에서 1곳, 닭 축사 토양 1곳으로 전체 7곳에서 균주가 검출되었다. 따라서 *Campylobacter*균은 *C. coli*와 *C. jejuni*를 합해 총 13곳에서 균주가 검출되었으며, 채취지역별로 보면 분변에서 7곳, 퇴비 1곳, 토양에서 3곳, 하천에서 2곳이며 농부의 손과 지하수에서는 검출되지 않았다.

*S. aureus*는 분변 검체의 경우 소와 닭에서는 검출되지 않았으며, 돼지에서만 30% 검출되었다. 퇴비와 지하수에서는 소, 돼지, 닭 축사 모두 검출되지 않았다. 농부의 손에서는 소 축사는 20% 돼지 축사는 60%, 닭 축사는 22.2% 검출되었다. 토양의 경우는 소 축사 주변이 6.1%, 돼지 축사 주변이 3%, 닭 축사 주변에서는 검출되지 않았으며, 하천은 소 축사 주변이 26.7%, 돼지 축사 주변은 16.7%, 닭 축사 주변은 20%의 검출률을 나타내었다. 전체적으로 보면 분변은 10%, 농부의 손은 34.5%, 토양은 3.3%, 하천은 21.1%로 검출되었고 퇴비와 지하수에서는 검출되지 않았다(Table 1).

*E. faecium*의 경우 분변 검체에서 소 10%, 돼지 20%, 닭 20%의 비율로 검출되었으며, 퇴비의 경우 소 축사와 닭 축사에서는 검출되지 않았으며, 돼지 축사에서만 14.3% 검출되었다. 농부의 손은 소와 돼지 축사에서는 검출되지 않았고 닭 축사에서만 11.1% 검출되었다. 지하수는 소와 닭 축사에서는 검출되지 않았지만 돼지 축사에서 10% 검출되었다. 토양의 경우는 소 축사 주변이 18.2%, 돼지 축사 주변이 24.2%, 닭 축사 주변이 8.3% 검출되었다. 하천은 소 축

사 주변이 20%, 돼지 축사 주변은 23.3%, 닭 축사 주변은 6.7% 검출되었다. 전체적으로 보면 분변은 16.7%, 퇴비는 5.6%, 농부의 손은 3.4%, 지하수는 3.3%, 토양은 16.7%, 하천은 16.7% 검출되었다. *E. faecalis*의 경우 분변 검체에서는 소 20%, 돼지 30%, 닭 60%가 검출되었으며, 퇴비에서는 소 축사 42.9%, 돼지 축사 71.4%, 닭 축사 100%의 비율로 검출되었다. 농부의 손에서는 소 축사 30%, 돼지 축사 40%, 닭 축사 33.3%의 비율로 검출되었으며, 지하수에서는 소 축사 10%, 돼지 축사 20%, 닭 축사에서 10% 검출되었다. 토양의 경우는 소 축사 주변이 42.4%, 돼지 축사 주변이 45.5%, 닭 축사 주변이 38.9% 검출되었다. 하천은 소 축사 주변이 63.3%, 돼지 축사 주변은 56.7%, 닭 축사 주변은 66.7% 검출되었다. 전체적으로 보면 분변은 36.7%, 퇴비는 66.7%, 농부의 손은 34.5%, 지하수는 13.3%, 토양은 42.2%, 하천은 62.2%로 검출되었다. *E. faecium*과 *E. faecalis*는 검출율에 있어 큰 차이를 보였다. 분리균수로 비교하여 보면 *E. faecium*은 48균주가 분리되고 *E. faecalis*은 175균주가 분리되어, 환경에서 분리율이 *E. faecalis*가 *E. faecium* 보다 3.6배 정도 더 오염되어 있는 것으로 나타났다. 채취지역에 따른 검출률을 비교하여 보면, 분변의 경우 *E. faecium*은 16.7%인데 반해 *E. faecalis*는 36.7%이며, 퇴비도 *E. faecium*은 5.6%인데 *E. faecalis*는 66.7%이었고 농부의 손에서도 *E. faecium*은 3.4%인데 *E. faecalis*는 34.5%이었고, 지하수는 *E. faecium*은 3.3%인데 *E. faecalis*는 13.3%이었고, 축사주변의 토양에 있어서 *E. faecium*은 16.7%인데 *E. faecalis*는 42.2%이었고 축사주변의 하천에 있어서도 *E. faecium*은 16.7%인데 *E. faecalis*는 62.2% 검출되었다. 이 두 균종의 검출율을 합하여 보면 분변의 경우 53.3%, 퇴비는 72.2%, 농부의 손은 37.9%, 지하수는 16.7%, 토양은 58.8%, 하천은 78.9%로서 다른 균들에 높은 검출율을 보이고 있어 이는 *E. faecium/faecalis*가 환경에 널리 오염되어 있는 것으로 추측할 수 있었다(Table 1).

E. coli, *Salmonella* spp., *C. coli/jejuni*, *S. aureus*와 *E. faecium/faecalis*의 검출율을 채취 지역별로 비교해 보면 분변과 하천에서 이들 균이 제일 많이 분리되었다. 균별 검출율을 보면 분변의 경우는 *E. coli* 100%, *E. faecium/faecalis* 53.3%, *C. coli/jejuni* 23.3%, *S. aureus* 10% 순으로 검출되었으며, 하천의 경우는 *E. faecium/faecalis* 78.9%, *E. coli* 57.8%, *S. aureus* 21.1%, *C. coli/jejuni* 2.2% 순으로 균별 검출율의 순위는 차이가 있었다(Table 1).

항생제 감수성

분리 및 동정이 확인 된 후 냉동 보관되어 있던 균을 활성화 시킨 후 1개의 검체 당 3균주에 대하여 항생제 감수성 시험을 실시 한 후 감수성 경향이 동일할 경우에는 1개를 항생제 내성 결과로 이용하였다. 항생제 감수성 검사는 『국

가 항생제 내성 안전관리사업』 추진과 관련하여 각 기관에서 항생제 내성세균의 검출 및 내성시험을 수행하기 위해서는 표준화되고 일관성 있는 시험을 수행하여야만, 목적으로 하는 자료를 얻을 수 있기 때문에 균주별 검사 대상 항생물질을 결정하였으며(Table 2), 감수성 검사는 디스크 확산법(disc diffusion method)으로 실시하였다.

분리된 *E. coli* 197균주 중 1가지 이상의 항생제 내성을 가지고 있는 균주는 137균주(69%)로(Table 3), 소 축사 주변 환경에서 분리된 71균주에서 43균주(61%), 돼지 축사 주변 환경에서 분리한 52균주 중 41균주(78%), 닭 축사 주변 환경에서 분리한 74균주 중 53균주(71%)를 나타내어, 소 축사에 비해 돼지나, 닭 축사 주변 환경에서 분리한 대장균의 내성률이 다소 높은 것으로 나타났다. 분리된 *E. coli*의 내성 항생제 수별 내성률을 보면 전체 분리균 197 균주 중에

Table 2. Antimicrobials used in this study for susceptibility test.

Antimicrobials	Enterobacteriaceae		<i>S. aureus</i>	<i>E. faecium/faecalis</i>	<i>C. jejuni/coli</i>
	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i> spp.			
Ampicillin(10 µg)	•	•		•	
Cefazolin(30 µg)	•				
Cephalothin(30 µg)	•				
Gentamycin(120/10 µg)	•(120)			•(10)	
Streptomycin(10 µg)	•	•			
Amikacin(30 µg)	•		•		•
Amoxillin/Clavulanic acid(30 µg)	•	•		•	
Cefepime(30 µg)	•	•			
Cefoxitin(30 µg)	•	•			
Cefotaxime(30 µg)	•	•			
Ciprofloxacin(5 µg)	•	•		•	•
Enrofloxacin(5 µg)	•	•			•
Norfloxacin(10 µg)	•	•			•
Imipenem(10 µg)	•	•			
Sulfamethoxazole/Trimethopenem(25 µg)	•	•	•		
Oxacillin(1 µg)			•		
Penicillin(10IU/IE/UE)			•		
Rifampin(5 µg)				•	
Erythromycin(15 µg)			•	•	•
Clindamycin(2 µg)			•		
Vancomycin(30 µg)			•	•	
Chloramphenicol(30 µg)	•	•		•	•
Tetracycline(30 µg)	•	•	•	•	•
Total	17	13	8	9	7

Table 3. Prevalence of antimicrobial resistant bacteria in animal farm environment.

Strains (No. of total isolates)	No. of isolates resistant to one or more kinds of antimicrobial (%)	No. of isolates resistant to four or more kinds of antimicrobial(%)
<i>E. coli</i> (197)	137(69.4)	38(19.2)
<i>S. aureus</i> (42)	33(78.6)	5(11.9)
<i>C. jejuni/coli</i> (13)	13(100)	2(15.4)
<i>E. faecium/faecalis</i> (223)	183(82.1)	14(6.2)

서 내성이 전혀 없는 것은 30.5% 였으며, 1종류는 27.4%, 2종류는 14.7%, 3종류는 7.6%, 4종류는 4.6%, 5종류는 1.0%, 6종류는 3.0%, 7종류는 3.6%, 8종류는 3.0%, 9종류는 2.5%, 10종류와 11종류는 각각 0.5%, 12종류는 1.0%로 나타났다.

채취 지역 특징에 대한 내성 항생제수에 대한 내성률을 살펴보면 4가지 종류 이상의 항생제에 내성이 있는 다제 내성균은 분변, 퇴비, 토양, 하천에서 나타났으며, 분변과 퇴비가 하천과 토양보다는 다소 높게 나타났다(Table 4). 그러나 항생제 사용이 직접 없는 토양과 하천에서 이런 균들이 검출된다는 것은 오염경로 분석에 있어서 좋은 자료가 될 것으로 사료된다. 특히 지하수에서 분리된 균은 모두 다제 내성균으로 밝혀져 이들 내성균이 지하수까지 오염된다는 것을 의미하며, 좀 더 깊은 연구가 필요할 것으로 사료되었다.

항생제별 내성률을 보면 tetracycline(TE) 56.3%, cephalothin(CF) 28.9%, streptomycin(S) 27.4%, ampicillin(AM) 25.9%, trimethopem/sulfamethoxazole(SXT) 17.8%, enrofloxacin(ENO) 13.2%, norfloxacin(NOR) 12.7%, ciprofloxacin(CIP) 12.2%, chloramphenicol(C) 9.1%, gentamycin(GM) 6.6% 이며 그 외에 cefazolin(CZ), amoxillin/clavulanic acid(AMC), cefepime(FEP), cefotaxime(CTX), ceftiofex(FOX)은 5% 미만으로 검출되었으며, amikacin(AN), imipenem(IPM)은 분변, 퇴비, 농부의 손, 지하수, 토양, 하천에서 분리된 모든 균에서 내성률을 나타내지 않았다. 분변과 퇴비에서 분리된 균의 내성률이 토양과 하천 보다는 다소 높은 것으로 나타났다으며, tetracycline(TE), cephalothin(CF), streptomycin(S), ampicillin(AM)에 높은 내성률을 나타내었다.

Salmonella spp.는 299곳의 분리 대상 검체 중 돼지 축사 주변 환경의 토양 1곳에서만 검출 되었고 이 균의 항생제 감수성 검사 결과 내성이 없는 것으로 나타났다.

*C. coli/jejuni*는 분리된 13균주 모두 1가지 이상의 항생제에 내성을 가지고 있어, 100% 내성을 가지고 있었으며 항생제 감수성인 균주는 없었다(Table 3). 내성 항생제 수별 내성을 보면 전체 분리균 13균주 중 내성 항생제수 1종류와 3종류에 각 4균주, 2종류와 4종류에 각 2균주, 그리고 6종류의 항생제에 내성이 있는 것은 1균주였으며 이 균주의 내성 항생제 종류는 amikacin(AN), ciprofloxacin(CIP), enrofloxacin

(ENO), erythromycin(E), chloramphenicol(C), tetracycline(TE)이었으며 norfloxacin(NOR)에만 감수성이 있는 것으로 나타났다. 이들 균주의 항생제별 내성률을 보면 tetracycline(TE) 84.6%, ciprofloxacin(CIP) 53.8%, norfloxacin(NOR) 53.8%, erythromycin(E) 30.8%, enrofloxacin(ENO) 15.4%, chloramphenicol(C) 15.4%, amikacin(AN) 7.7%였다. 분리한 *C. coli/jejuni*의 수가 적어서 유효한 의미를 가지고 있지는 않지만 가축별 항생제 내성률을 보면 소 축사 주변 환경에서 분리한 균이 돼지나 닭 농가에서 분리한 균 보다 다양한 종류의 항생제에 내성을 가지고 있었다.

분리된 *S. aureus* 42균주 중 1가지 이상의 항생제 내성을 가지고 있는 균주는 34균주(78.6%)(Table 3), 소 축사 주변 환경에서 분리된 13균주에서 9균주(69%), 돼지 축사 주변 환경에서 분리된 20균주 중 17균주(85%), 닭 축사 주변 환경에서 분리한 9균주 중 7균주(78%)를 나타내어, 소 축사에 비해서 돼지나, 닭 축사주변 환경에서 분리한 황색포도상구균의 내성률이 다소 높은 것으로 나타났다. 내성 항생제 수별 내성률을 보면 내성 항생제수 1종류는 14균주, 2종류는 9균주, 3종류는 5균주였으며, 4종류의 항생제에 내성을 나타내는 것도 5균주 존재하였다.

항생제별 내성률을 보면 penicillin(P) 76.2%, tetracycline(TE) 42.9%, erythromycin(E) 26.2%, clindamycin(CC) 14.3%로 나타났으며, 분변, 축산인의 손, 하천에서 분리되었던 이들 균의 대부분은 penicillin(P)과 tetracycline(TE)에 높은 내성률을 나타내었다.

분리된 *E. faecium/faecalis* 223균주 중 1가지 이상의 항생제 내성을 가지고 있는 균주는 183균주(82%)(Table 3), 소 축사 주변 환경에서 분리된 68균주에서 53균주(78%), 돼지 축사 주변 환경에서 분리한 81균주 중 69 균주(85%), 닭 축사 주변 환경에서 분리한 74균주 중 61균주(83%)를 나타내어, 소 축사에 비해서 돼지나, 닭 축사 주변 환경에서 분리한 장구균의 내성률이 약간 높은 것으로 나타났다. 내성 항생제 수별 내성률을 보면 내성 항생제수 1종류는 82균주, 2종류는 63균주, 3종류는 24균주, 4종류는 9균주, 5종류는 4균주, 7종류 1균주였다. 항생제별 내성률을 보면 tetracycline 55.2%, rifampin 44.4%, erythromycin 25.1%, ciprofloxacin 15.2%, chloramphenicol 9.4%, gentamycin 1.3%, amoxillin/clavulanic acid 1.3%, ampicillin과 vancomycin에는 0.9%을 나타내었다.

분리된 *E. faecium* 48균주, *E. faecalis* 175균주에 대해서 vancomycin 감수성 시험을 실시한 결과 계분 1곳과 닭 축사 주변 하천 1곳에서 각각 분리된 *E. faecium* 2균주가 MIC가 256 µg/ml인 VREF로 판명되었다. 또한 vancomycin의 내성유전자형을 확인하기 위하여 multiplex PCR을 이용한 유전자형 분석결과 이들 2균주 모두 *vanA* 형으로 판명되었다. 국내 모병원에서 2002년 1년 동안 임상 검체에서 분리된 *E. faecium* 중 VREF(Vacomycin Resistant *E. faecium*)

Table 4. The number of multi-drug resistant bacteria isolated from domestic animal farm environment.

Area	Strain	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. jejuni/coli</i>	<i>E. faecium/faecalis</i>
Excrement	13	0	1	1	
Manure	4	0	0	2	
Farmer's hand	0	2	0	1	
Underground water	3	0	0	0	
Soil	10	0	0	2	
Stream	8	3	1	8	

의 분리율 33%과[15] 2002년 6월에서 8월까지 3개월간 국내 10개 대학병원에서 분리된 *E. faecium* 중 VREF는 8.3%~61%, 평균 19%의 분리율과 비교하여 볼 때²³⁾, 본 축산환경 중에서 분리된 VREF는 48균주 중 2균주(4.16%)로 임상 결과에 비해 분리율이 매우 낮았다. 그러나 계분 및 하천에서 이들 균이 분리되었다는 것은 병원과 같이 집중적으로 항생제가 사용되는 곳이 아니라는 점에서 의미하는 바가 크며 따라서 향후 오염경로 파악의 중요한 연구 자료로 활용될 것으로 사료되었다.

항생제 남용으로 인한 내성세균의 증가는 그 수적인 증가 외에 다양한 항생제에 내성을 가지고 있는 다제 내성균을 출현시켰다. 항생제 내성균에 있어서 다제 내성균에 대한 통일된 규정은 없으나, 4가지 계열의 서로 다른 항생제에 내성이 있는 균주에 대해서 다제 내성균(multi-drug resistant)으로 정해 보기로 하였다. 다제 내성균에 대한 의미는 중요한 만큼, 별도로 다제 내성균이 어느 정도인지 알아보았다. *E. coli*는 197균주 중 38균주로 19.2%, *S. aureus*는 42균주 중 5균주로 11.9%, *C. jejuni/coli*는 13균주 중 2균주로 15.4%, *E. faecium/faecalis*는 223균주 중 14균주로 6.2%를 나타내었다. 채취 지역별로 보면 분변과 하천에 다제 내성균이 많이 존재하는 것으로 나타났다(Table 4). 국내 축산 환경에서 분리한 여러 균들의 항생제 내성률이 높다는 결과와 더불어 본 실험에서 분리한 많은 수의 세균들이 여러 가지 다른 종류의 항생제에 대해 다제 내성을 갖고 있음을 알 수 있었다. 이는 향후 국내에서도 내성균 문제는 심각한 상황으로 발전할 가능성을 지니고 있음을 시사하였다.

요 약

국내 지역을 경기도, 강원도, 충청도, 전라도, 경상도로 크게 5그룹으로 구분한 후 각각을 2곳의 군단위로 나누어 총 10곳의 지역으로 구분한 뒤, 국내 축산의 주요 축종인 소, 돼지, 닭 축사를 중심으로 분변, 퇴비, 축산인의 손, 지하수, 토양, 하천에서 *E. coli* 197균주, *S. aureus* 42균주, *C. jejuni/coli* 13균주, *E. faecium/faecalis* 223균주를 분리하여 항생제 감수성 시험을 실시하였다. 모니터링 결과 축산환경에서 분리된 균 중 한 가지 이상의 항생제에 대한 내성율은 *E. coli* 69.4%(137균주), *S. aureus* 78.6%(33균주), *C. jejuni/coli* 100%(13균주), *E. faecium/faecalis* 82.1%(183균주)를 나타내었다. 또한 4계열 이상의 항생제 내성이 있는 다제 내성율은 각각 19.2%(38균주), 11.9%(5균주), 15.4%(2균주), 6.2%(14균주)였다. 그리고 환경 중에서 VREF 2개 균주를 분리하였다. 축종별 항생제 사용추이를 살펴보면, 소, 돼지, 닭 및 수산용 등 주요 사육가축에 한정하여 판매량을 조사한 결과 소의 경우 01년부터 연도별로 6%, 9%, 8% 판매, 돼지 경우 01년부터 연도별로 57%, 56%, 55% 판매, 닭의 경우 01년부터 연도별로 23%, 23%, 26% 판매, 수산용의 경

우 01년부터 연도별로 14%, 12%, 11% 판매된 것으로 조사되었다[18].

이는 소 축사 환경에서 분리한 균이 돼지나 닭 축사 환경에서 분리한 균보다 내성율이 낮게 나타나 항생제 사용량과 관계가 있는 것을 추측할 수 있었다.

전체적으로 분리된 균의 내성율이 임상에서 분리되는 균의 항생제 내성율에 비해서는 낮게 검출되었다. 그러나 하천, 토양, 축산인의 손, 지하수 등에서 분리된 균의 항생제 내성확률 결과는 동물의 분변 등 환경관리에 대한 좀 더 많은 관심과 정책이 필요할 것으로 사료되었다. 또한 축산 환경에서 분리된 내성균이 많지 않은 국내 현실을 감안할 때 본 연구에서 분리된 균주들은 향후 항생제 내성균 전파 경로를 추적하는 좋은 연구 자료가 될 것으로 사료되었다.

감사의 글

이 논문은 식품의약품안전청 국가항생제안전관리사업(관리번호 항 내안 754, 축산환경 중의 항생제 내성균 모니터링)의 연구비 지원에 의하여 수행된 결과의 일부이며 이에 감사하는 바입니다.)

REFERENCES

- Baele, M., P. Baele, M. Vaneechoutte, V. Storms, P. Butaye, L. A. Devriese, G. Verschraegen, M. Gillis, and F. Haesebrouck. 2000. Application of tRNA intergenic spacer PCR for Identification of *Enterococcus* Species. *J. Clin. Microbiol.* **38**: 4201-4207.
- Bernard Dixon. 2000. Antimicrobials as growth promoters : risks and alternatives. *ASM News.* **66**: 264-265.
- Boerlin, P., P. Kuhnert, D. Hussy, and M. Schaellibaum. 2003. Methods for identification of *Staphylococcus aureus* isolates in cases of bovine mastitis. *J. Clin. Microbiol.* **41**: 767-771.
- Chapin K. and M. Musgnug. 2003. Evaluation of three rapid methods for the direct identification of *Staphylococcus aureus* from positive blood cultures. *J. Clin. Microbiol.* **41**: 4324-4327.
- Cheng, S., F. K. McCleskey, M. J. Gress, J. M. Petroziello, R. L. Namdari, K. Beninga, A. Salmen, and V. G. DelVecchio. 1997. A PCR assay for identification of *Enterococcus faecium*. *J. Clin. Microbiol.* **35**: 1248-1250.
- Chung, Y. H., S. Y. Kim, and Y. H. Chang. 2003. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Salmonella* isolated from foods in Korea from 1993 to 2001. *J. Food Prot.* **66**: 1154-1157.
- Cloak, O. M. and P. M. Fratamico. 2002. A multiplex polymerase chain reaction for the differentiation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from a swine processing facility and characterization of isolates by pulsed-field gel electrophoresis and antimicrobial resistance profiles.

- J. Food Prot.* **65**: 266-273.
8. Delpassand E. S., M. V. Chari, C. E. Stager, J. D. Morrisett, J. I. Ford, and M. Romazi. 1995. Rapid identification of common human pathogens by high-resolution proton magnetic resonance spectroscopy. *J. Clin. Microbiol.* **33**: 1258-1262.
 9. Doorn, L.-J. A. V. Haperen, A. Burnens, M. Huysmans, P. Vandamme, B. A. J. Giesendorf, M. J. Blaser, and W. G. Quint. 1999. Rapid identification of thermotolerant *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter lari*, and *Campylobacter upsaliensis* from various geographic locations by a GTPase-based PCR-reverse hybridization assay. *J. Clin. Microbiol.* **37**: 1790-1796.
 10. Dutka-Malen, S., S. Evers, and P. Courvalin. 1995. Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant *Enterococci* by PCR. *J. Clin. Microbiol.* **33**: 24-27.
 11. FDA. 2001. Antimicrobial Resistance A Growing Threat.
 12. Holliday, M. G., M. Ford, J. D. Perry, and F. K. Goul. 1999. Rapid identification of *Staphylococcus aureus* by using fluorescent staphylocoagulase assays. *J. Clin. Microbiol.* **37**: 1190-1192.
 13. Hong, Y. M. E. Berrang, T. Liu, C. L. Hofacre, S. Sanchez, L. Wang, and J. J. Maurer. 2003. Rapid detection of *Campylobacter coli*, *C. jejuni*, and *Salmonella enterica* on poultry carcasses by using PCR-enzyme-linked immunosorbent assay. *Appl. Environ. Microbiol.* **69**: 3492-3499.
 14. Horn, K. G., C. A. Gedris, and K. M. Rodney. 1996. Selective isolation of vancomycin-resistant *Enterococci*. *J. Clin. Microbiol.* **34**: 924-927.
 15. Institute of resistant bacteria. 2003. Susceptibility of bacteria for antimicrobials isolated in the year 2002. *News*, **11**: 1-2.
 16. Jensen, M. W., W. C. Downs, J. D. Murray, T. R. Nicoll, S. D. Lefevre, and C. M. Meyers. 1987. Staphylococcosis of turkey. 1. portal of entry and tissue colonization. *Avian Dis.* **31**: 64-69.
 17. Joseph S. W., J. R. Hayes, L. L. English, L. E. Carr, and D. D. Wagner. 2001. Implications of multiple antimicrobial-resistant enterococci associated with the poultry environment. *Food Addit. Contam.* **18**: 1118-1123.
 18. Jung, S. C. (National Veterinary Research and Quarantine Service) 2003. Report on control of antimicrobial resistant bacteria in Korea. pp. 198-203. Construction of control system of antimicrobials for domestic animals. Korea Food and Drug Administration.
 19. Khan, S. A., M. S. Nawaz, A. A. Khan, R. S. Steele, and C. E. Cerniglia. 2000. Characterization of erythromycin-resistant methylase genes from multiple antimicrobial resistant *Staphylococcus* spp. isolated from milk samples of lactating cows. *Am. J. Vet. Res.* **61**: 1128-1132.
 20. Kim, J. S., Y. S. Lee, J. K. Lee, J. I. You, H. B. Kim, Y. H. Choi, and Y. J. Kim. 2000. The survey of vancomycin resistant *Enterococcus* isolated from clinic and animals. *KNIH.* **37**: 40-52.
 21. Kohner, P. C., R. Patel, J. R. Uhl, K. M. Garin, M. K. Hopkins, L. T. Wegener, and F. R. Cockerill. 1997. Comparison of agar dilution, broth microdilution, E-test, disk diffusion, and automated Vitek methods for testing susceptibilities of *Enterococcus* spp. to vancomycin. *J. Clin. Microbiol.* **35**: 3258-3263.
 22. Kuhnert P., J. Nicolet, and J. Frey. 1995. Rapid and accurate identification of *Escherichia coli* K-12 strains. *Appl. Environ. Microbiol.* **61**: 4135-4139.
 23. Lee, K. Y. 2002. Monitoring of antimicrobial resistant bacteria in domestic. pp. 23-25. National Institute of Toxicological Research.
 24. Moschetti, G., G. Blaiotta, F. Villani, S. Coppola, and E. Parente. 2001. Comparison of statistical methods for identification of *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecalis*, and *Enterococcus faecium* from randomly amplified polymorphic DNA patterns. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**: 2156-2166.
 25. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, 7th ed. Approved standard MA7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Wayne, PA
 26. Nawaz, M. S., A. A. Khan, S. A., Khan, D. D. Paine, J. V. Pothuluri, and C. E. Cerniglia. 1998. Biochemical and molecular characterization of erythromycin resistant avian *Staphylococcus* spp. isolated from chickens. *Poult. Sci.* **78**: 1191-1197.
 27. Ng S. P., C. O. Tsui, D. Roberts, P. Y. Chau, and M. H. Ng. 1996. Detection and serogroup differentiation of *Salmonella* spp. in food within 30 hours by enrichment-immunoassay with a T6 monoclonal antibody capture enzyme-linked immunosorbent assay. *Appl. Environ. Microbiol.* **62**: 2294-2302.
 28. Pignato, S., A. M. Marino, M. C. Emanuele, V. Iannotta, S. Caracappa, and G. Giammanco. 1995. Evaluation of new culture media for rapid detection and isolation of *Salmonella* in foods. *Appl. Environ. Microbiol.* **61**: 1996-1999.
 29. Pinto, B., R. Pierotti, G. Canale, and D. Reali. 1999. Characterization of faecal streptococci as indicator of faecal pollution and distribution in the environment. *Lett. Appl. Microbiol.* **29**: 258-263.
 30. Rhodes, G., G. Huys, H. Swings, P. McGann, M. Hiney, P. Smith, and W. P. Roger. 2000. Distribution of oxytetracycline resistance plasmids between aeromonads in hospital and aquaculture environments: implication of T721 in dissemination of the tetracycline resistance determinant Tet A. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**: 3883-3890.
 31. Rice B. E., C. Lamichhane, S. W. Joseph, and D. M. Rollins. 1996. Development of a rapid and specific colony-lift immunoassay for detection and enumeration of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, and *C. lari*. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* **3**: 669-677.
 32. Saenz, Y., M. Zarazaga, M. Lantero, M. J. Gastanares, F. Baquero, and C. Torres. 2000. antimicrobial resistance in *Campylobacter* strains isolated from animals, foods, and humans in Spain in 1997-1998. *Antimicrob. Agents*

- Chemother.* **1**: 267-271.
33. Saha, S. K., G. L. Darmstadt, A. H. Baqui, M. Hanif, M. Ruhulamin, M. Santosham, T. Nagatake, and R. E. Black. 2001. Rapid Identification and antimicrobial susceptibility testing of *Salmonella enterica* Serovar Typhi isolated from blood: implications for therapy. *J. Clin. Microbiol.* **39**: 3583-3585.
 34. Song, J. H. 1999. Emerging infectious disease due to microbial adaptation : emergence and spread of antimicrobial resistance. *Kor. J. Infect. Dis.* **31**: 79-87.
 35. Song, J. H., J. W. Yang, J. H. Joung, S. J. Kang, and N. Y. Lee. 2000. Unique alterations in Penicillin-binding protein 2B of multidrug-resistant *Streptococcus pneumoniae* from Korea. *Kor. J. Infect. Dis.* **32**: 108-114.
 36. Stender, H., A. J. Broomer, K. Oliveira, H. Perry-O'Keefe, J. J. Hyldig-Nielsen, A. Sage, and J. Coull. 2001. Rapid detection, identification, and enumeration of *Escherichia coli* cells in municipal water by chemiluminescent In Situ hybridization. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**: 142-147.
 37. Waage, A. S., T. Vardund, V. Lund, and G. Kapperud. 1999. Detection of small numbers of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* cells in environmental water, sewage, and food samples by a seminested PCR Assay. *Appl. Environ. Microbiol.* **65**: 1636-1643.
 38. Wolfgang, W. 1998. Medical consequences of antimicrobial use in agriculture. *Science.* **13279**: 996-997.

(Received Nov. 16, 2006/Accepted Jan. 3, 2007)