

축산폐기물에서 분리된 항생제 내성균 *Escherichia coli*와 *Brevibacterium* sp.의 내성 특성 및 감마선 살균 효능

Antibiotic Resistance of *Escherichia Coli* and *Brevibacterium* sp. Isolated from Livestock Waste and Disinfection Efficiency of Gamma-Ray Irradiation

장은희 · 정상혁 · 남윤구 · 박우신 · 이면주 · 김탁현[†]

Eunhee Jang · Sanghyuk Jung · Youn-Ku Nam · Wooshin Park · Myun-Joo Lee · Tak-Hyun Kim[†]

한국원자력연구원 방사선 공업환경연구부

Radiation Research Division for Industry & Environment, Korea Atomic Energy Research Institute

(2010년 3월 11일 접수, 2010년 7월 8일 채택)

Abstract : Antibiotic resistant bacteria were isolated from livestock wastes and the resistance patterns were investigated using various antibiotic agents. Also, a gamma ray was tested regarding the aspects of the effect on resistance pattern and the efficiency of disinfection. Among the isolates, *Escherichia coli* and *Brevibacterium* sp. showed the most serious resistance patterns. *Escherichia coli* had resistance against 9 agents whereas *Brevibacterium* sp. against 7 agents. It can be suggested from these results that the abuse of antibiotic agents will cause a serious mutation problem even to *Escherichia coli* which is ubiquitous in the ecosystem. *Escherichia coli* could be easily controlled but *Brevibacterium* sp. had a moderate resistance to the gamma ray under low doses. In the case of *Brevibacterium* sp., more than 2.0 kGy of a radiation dose will be required in order to achieve an enhanced efficiency of disinfection.

Key Words : Livestock Waste, Antibiotic Agents, Resistant Bacteria, Multi-drug Resistance, Gamma-ray Irradiation, Disinfection

요약 : 축산 폐기물에서 항생제에 대해 내성을 가지는 균주를 분리하여, 다양한 항생제에 대한 내성특성을 확인하고, 감마선의 조사에 따른 내성균의 항생제 내성 특성변화와 살균효능에 관한 연구를 수행하였다. 그 결과, 돈분과 돈분퇴비에서 분리된 균주중 *Escherichia coli*와 *Brevibacterium* sp.이 다제내성균으로 확인되었다. *E. coli*는 13종의 항생제 중 9종의 항생제에 대해 내성을 나타내었으며, *Brevibacterium* sp.는 7종의 항생제에 대한 내성을 나타내었다. 이 두 가지 대표 다제내성균에 대해 감마선을 이용한 살균실험을 시행한 결과, *Escherichia coli*는 항생제에 대한 내성이 돌연변이적으로 발생하기 쉬운 균주이나 감마선을 이용해 효율적으로 제어할 수 있는 것으로 나타났고, 그에 반해 *Brevibacterium* sp.는 저선량에서 감마선에 대한 내성을 나타내어 상대적으로 감마선을 이용한 제어가 용이하지 않았다. *Brevibacterium* sp.는 2.0 kGy의 조사량에 대해 *Escherichia coli*에 비해 약 100배 정도 낮은 살균 효율을 보임으로써, 감마선에 대한 내성이 강한 것으로 나타났다.

주제어 : 축산폐기물, 항생제, 내성 박테리아, 다제내성, 감마선조사, 살균

1. 서론

근래의 축산업은 집단화 사육 형태로 대규모화됨에 따라 운영 및 관리 측면에서는 효율성을 높일 수 있게 되었으나 질병 발생에 따른 집단 감염의 위험성은 더욱 높아졌다.¹⁾ 그에 따라 질병을 예방하기 위한 치료약제의 집중적인 사용이 증가하고 있다. 항생제는 세균성 질병의 치료뿐만 아니라 질병 예방 및 성장 촉진 목적으로 오랫동안 사용되어왔다. 그러나 항생제 사용의 긍정적 측면에 반해 최근에는 항생제의 과다사용에 따른 자연계 유출로 생태계에 심각한 악영향을 초래할 것이라는 우려가 확산되고 있다.

자연계에 유출된 항생제는 자연계에 존재하는 미생물의 내성을 증가시켜 돌연변이성 항생제 내성 박테리아를 유발시키는 원인으로 작용할 수 있다.²⁾ 이러한 문제로 인해 유럽연합을 비롯한 선진국에서는 항생제 사용에 대한 규제를 시작하였고, 한국에서도 그에 관한 법적 규제를 마련하고

있다. 국내에서 항생제와 항균제를 배합하여 사료로 사용하는 것은 2011년까지는 허용하고 2012년부터는 금지 법안이 세워졌다.^{3,4)} 또한 25종의 항생제와 항균제 중 tetracycline계 항생제 2종과 fluoroquinolone계 항생제 5종 등 7종의 사용기준을 삭제하였다. 2011년까지 항생제와 항균제인 apamycin, avilamycin, bacitracin methylene disalsilate, bambermycin, enramycin, tiamurin, tylosin, virginiamycin과 sulfathiazole를 배합사료로 섞어 사용하지 못하도록 하였다.⁴⁻⁶⁾ 국내에서의 소, 돼지, 닭 등 주요 축종에 대한 항생제 전체 판매실적은 2001년 1,602톤, 2002년 1,550톤, 2003년 1,460톤 그리고 2008년에는 1,211톤으로 점차 감소하는 추세를 보이고 있으나, 실질적인 육류생산량 당 항생제 사용량은 0.66으로 일본 0.35, 미국 0.25, 영국 0.17에 비해 매우 높은 수치를 나타내고 있다.^{4,7,13)} 이는 항생제의 자연계유출 위험성이 높음을 의미하며, 그에 따라 기존 항생제로는 치료가 불가능한 항생제 내성 병원균의 출현 가능성 또한 증가

[†] Corresponding author E-mail: tkhk@kaeri.re.kr Tel: 063-570-3343 Fax: 063-570-3348

한다.⁷⁾

항생제는 원천적으로 사용하지 않는 것이 가장 확실한 방법이었으나, 현 상황에서는 이미 사용되어 폐수중에 함유되어 있는 항생제를 제거하고 처리장에서 자연계로 유입되는 항생제 내성균을 제어하는 두 가지 방법의 접근이 가능하다. 2000년대에 들어서 국내에서도 의약품질을 환경중 오염물질로 인식하고 이에 대한 조사가 이루어지기 시작하였다. 한국 환경정책평가연구원에서는 환경중 의약품질의 위해성에 관하여 문제를 제기하였으며,⁸⁾ 물환경중 환경위해성 평가가 필요한 의약품질을 우선순위로 정하고, 환경 위해성 평가를 수행하는 사업을 추진하였다.⁹⁾ 현재 우리나라에서는 사용 후 잔류 의약품의 환경오염 정도, 이동경로, 궁극적으로 존재하는 형태 등에 대한 의약품질의 경우에는 철저하게 하수처리시설을 통하여 조사가 거의 없는 실정이며, 반감기가 매우 길거나 축적성이 매우 높은 의거해야만 하는 것이 중요하지만, 의약품질의 하수처리문제는 아직까지 하수처리의 우선순위가 되지 못하고 있는 실정이다. 따라서, 선정된 의약품질의 분석방법을 확립하고 노출상태를 조사하여 하수 및 축산폐수 처리장으로 유입되는 의약품질의 처리방안과 효과적인 관리방안이 필요하다.¹⁰⁾

의약품질의 환경위해성으로 우려되는 주요한 문제는 항생물질 유입에 의한 새로운 내성균의 출현과 분포 증가와 호르몬계에 작용하는 의약품질 유입에 의한 생태계 교란의 위험 등이다.¹¹⁾ 국내 축·수산물 항생제 사용량은 외국에 비해 비교적 많은 양이 사용되고 있으며, 이 가운데 배합사료 조제용으로 절반 정도가 사용되고 있다. 우리나라에서 축·수산물의약품질을 총괄 관리하고 있는 농·수산식품부에서 축산물의 안전성 확보를 위한 방안을 지속적으로 추진 중에 있으며 한 예로 축·수산물 항생제를 지속적으로 줄여나가고 항생제 내성세균의 발생을 억제하기 위하여 국제적인 권고사항인 항생제의 사용량과 내성을 조사를 2003년부터 농·수산식품부, 식약청, 의료계, 소비자단체 등 관련부처 및 단체 공동으로 “국가항생제 내성관리사업”을 추진하고 있다.

이를 바탕으로 각 기관에서 항생제 내성세균의 검출 및 내성시험을 수행하기 위해 표준화되고 일관성 있는 시험을 수행하고 광범위하게 오염되고 있는 대표적인 균인 *E. coli*와 그람 양성균으로 광범위하게 오염되고 있는 균을 선정하여 항생물질 및 대상균주를 모니터링이 이루어지고 있다.

항생제 내성균의 모니터링한 결과를 비교해보면 가장 많이 검출되는 균주는 *E. coli*로 돼지 분변에서 100%, 퇴비에서 71.4% 돼지농가의 하천에서는 56.7% 토양에서 33.3%로 대부분의 채취지역에서 검출되는 것을 확인하였다. 또한 분변의 경우 검출률이 높은 순서로 보면 대장균이 100%, 장구균이 53.3%, 감필러박터균 23.3% 황색 포도상구균 10%로 검출되었다.¹²⁾ 항생제 수별 내성율도 전체 1종에서 11종까지 항생제 내성을 가지고 있는 균주들이 나타나 슈퍼박테리아에 대한 문제가 대두되고 있다. 돼지 주변 환경에서 분리한 대장균의 항생제 내성율을 보면 가장 많이 나타나

는 tetracycline과 streptomycin, ampicillin, ciprofloxacin, gentamycin, amoxillin/clavulanic acid 등에서 높게 나타났다.¹²⁾

기존의 연구에서는 항생제 자체의 제거를 위해 감마선, UV, 오존 등 고도산화공정을 이용한 항생제의 분해와 생분해도 향상에 관한 연구가 일부 수행되어 이 중 감마선이 항생제의 종류에 관계없이 일관된 성능을 나타내는 것으로 밝혀졌다.^{13,14)}

지금까지는 주로 항생제 내성균의 분포 모니터링에 관한 연구에 그치고 있고, 이들을 저감, 처리하기 위한 연구는 거의 수행되지 못하였다. 따라서 본 연구에서는 항생제의 존재로 인해 발생한 축산환경에서의 항생제 내성균의 분포를 모니터링하였고, 항생제 내성에 대하여 다제내성균의 발현상태와 항생제 내성율을 조사하고, 감마선 조사를 이용하여 내성균의 살균효능을 시험하였다.

2. 실험재료 및 방법

2.1. 검체 채취 및 대상균주의 분리·동정

임의로 선택된 충남지역의 축산농가에서 돈분과 돈분퇴비의 샘플을 채취하였다. 분변은 사육장 내에 있는 것을 채취하였으며, 퇴비는 퇴비를 저장하고 있는 곳에서 각각 채취하였다. 채취된 시료는 냉장상태로 보관하여 24시간 이내에 실험에 이용하였다.¹³⁾ 채취한 시료는 무균적으로 균질화한 뒤 습시료 중량으로 5 g을 취해서 EC broth (Difco, 231430, Becton Dickinson and Co., Sparks, MD, USA) 45 mL에 접종한 후 45°C에서 24시간 증균배양하였다. 증균배양액 10 μL를 eosin methylene blue agar (Difco, 211215, Becton Dickinson and Co., Sparks, MD, USA)에 도말 후 35°C에서 18~24시간 배양하고 금속성 광택 집락에서 3~5개를 분리 하였다. 분리한 균주를 nutrient agar (Difco, 234000, Becton Dickinson and Co., Sparks, MD, USA)에 도말 후 35°C에서 18~24시간 동안 배양하였다.¹³⁾ 배양된 균은 API kit (bioMerieux® SA Marcy-l'Etoile, France)을 이용하여 분리·동정하였으며, 이에 분리되어진 균주에 대해 PCR (polymerase chain reaction)을 실시하여 균을 동정하였으며, PCR 조건과 Primer는 Table 1과 2에 나타내었다.

16S rRNA Sequencing을 하였으며, 1,400~1,500 bp로 2가지의 primer 518F-CCAgCAGCCgCgTAATACg와 800R-

Table 1. Operation conditions for the PCR amplification of DNA

0	HEADER			
1	LIDHT	100°C	ON	10 min
2	LOOP[35 cycles	
3	TEMP	94°C		45 sec
4	TEMP	55°C		60 sec
5	TEMP	72°C		60 sec
6	LOOP]			
7			END	

Table 2. Primers of amplification and sequencing

	Primers	
amplification	27F	AgA gTT TgA TCM TGG CTC Ag
	1492R	TAC ggY TAC CTT gTT ACg ACT T
sequencinf Reference	518F	CCA gCA gCC gCg gTA ATA Cg
	800R	TAC CAg ggT ATC TAA TCC

TACCAgggTATCTAATCC Universal primer를 사용하였다. Sequencing은 Big Dye terminator cycle sequencing kit v.3.1 (applied Biosystems, USA)를 이용하여 실시하였다.

2.2. 분리 · 동정된 균의 항생제 감수성 시험

항생제 내성에 대한 감수성 조사를 위하여 축산업에서 많이 사용되고 있는 것으로 알려져 있는 항생제 13종(amoxicilline, ampicillin, nalidixic acid, gentamycin, tetracycline, streptomycin, vancomycin, trimethoprim, lincomycin, sulfamethiazole, oxytetracycline, sulfathiazole, chlorotetracycline)¹⁶⁾을 대상으로 분리된 균주들의 항생제 감수성을 조사하였다 (Table 3). 돈분 및 돈분퇴비로부터 분리된 각각의 균주에 대해 13가지 항생제에 대한 내성을 각각 검증하였다. 항생제 감수성 시험은 BD BBLTM Sensi-DiscTM을 이용한 디스크 확산법(disk diffusion method)을 이용하였다.¹⁷⁾ 감수성 시험 대상 균주를 Muller-Hinton (MH) broth에 35℃, 2~8시간 배양하여 균 농도를 Table 4에 나타낸 것처럼 McFar-

Table 3. List of antibiotic agents and the concentrations used in this study

Antibiotic agents	Concentration (µg/disc)
Amoxicillin/Clabulanic acid	30
Ampicillin	10
Ciprofloxacin	5
Erythromycin-H ₂ O	15
Gentamycin	10
Lincomycin	2
Nalidixic acid	30
Oxytetracycline	30
Streptomycin	10
Sulfamethiazole	25
Sulfathiazole	25
Tetracycline	30
Vancomycin	30

Table 4. McFarland nephelometer standard

McFarland standard No.	0,5
1% Barium chloride, mL	0,05
1% Sulfuric acid, mL	9,95
Approx. cell density (1 × 10 ⁸ CFU/mL)	1,5
% Transmittance	74,3
Absorbance*	0,132

* Absorbance at 600 nm

land standard #0.5 (1.175% barium chloride dihydrate + 1% sulfuric acid)로 조정된 후 MH agar (Difco, Becton Dickinson and Co., Sparks, MD, USA) 표면에 고르게 도포하였다. 항균제 디스크를 사용하여 내성여부는 35℃ 배양기에서 16~18시간 배양 후 균 억제대(inhibition zone)의 크기를 기록하여 감수성 여부를 판정하였다.^{18,19)}

2.3. 감마선을 이용한 항생제 내성균의 살균효율

항생제 내성균에 대한 감마선의 살균효율을 검증하기 위하여, 돈분과 돈분 퇴비로부터 분리된 항생제 내성균주인 *Esherichia coli*와 *Brevibacterium* sp.에 대해 각각 감마선을 조사하여 조사 전후의 균수를 측정하여 조사량에 대한 살균효율을 검증하였다. 조사원으로는 Co⁶⁰ 감마선 조사시설(Point source AECL, IR-79, MDS, Nordion International Co. Ltd, Ottawa, Canada, 300,000Ci) (1Ci = 3.7×10¹⁰ Bq)을 이용하였고, 실온에서 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 2.0 kGy의 총 흡수선량을 적용하여 효율을 평가하였다.

감마선 조사 전후의 균수를 측정하고 살균효율을 확인하기 위하여 각각의 조사선량에 대한 시료를 연속희석법을 이용하여 생균수를 측정하였다. 각각 분리된 균주를 각각 멸균수(0.85% NaCl)에 희석하여 균질화한 후 시험에 사용하였다. Nutrient Agar를 사용하여 35℃에서 16~18시간 배양하였고, 생성된 colony의 수를 육안으로 계수하여 3회의 실험을 통해 평균값을 산출하였으며, 시료 1 g당 log colony forming unit (log CFU/g)로 나타내었다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 검체별 균의 분리

돈분과 돈분퇴비에서 각각 11, 12개의 균주를 순수 분리하였으며, 분리 균들을 동정한 결과 *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Brevibacterium* sp., *Rhodococcus* sp., *Corynebacterium* sp.종들로 구성됨을 알 수 있었다. 이중 *Corynebacterium* sp.는 9개, *Bacillus subtilis*가 6개, *Esherichia coli* 4개, *Rhodococcus* sp. 3개, *Brevibacterium* sp. 1개의 빈도로 분리되었다.

3.2. 분리 균주의 항생제 내성 특성 및 방사선의 영향

분리 · 동정을 통해 얻어진 균주에 대하여 디스크 확산법(disk diffusion method)으로 항생제에 대한 내성특성을 조사하였다. 돈분에서 분리된 *E. coli*와 돈분퇴비에서 분리된 *Brevibacterium* sp.는 항생제 9종과 7종에 대해 각각 내성을 나타내어 다제내성균으로 확인되었다. *E. coli*는 tetracycline, sulfamethiazole, streptomycin, erythromycin-H₂O, ampicillin, lincomycin, oxytetracycline, vancomycin, sulfathiazole의 항생제 9종에 항생제에 대한 내성이 나타났으며, *Brevibacterium* sp.는 7종류의 항생제 즉, tetracycline, sulfamethiazole, streptomycin, erythromycin-H₂O, ciprofloxacin,

Table 5. Results of susceptibility test for *E. coli* and *Brevibacterium* sp.

Antibiotic	Microbe Dose kGy	<i>E. coli</i> WD01 ²⁴⁾							<i>Brevibacterium</i> sp. DA01 ²⁵⁾						
		0	0,1	0,3	0,5	0,7	0,9	1	0	0,1	0,3	0,5	0,7	0,9	1
Tetracycline		•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
Gentamycin															
Sulfamethiazole		•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
Streptomycin		•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
Erythromycin-H2O		•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
Ampicillin		•	•	•	•	•	•	•							
Amoxicillin/Clabulanic acid															
Ciprofloxacin									•	•	•	•	•	•	•
Lincomycin		•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
Oxytetracycline		•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
Vancomycin		•	•	•	•	•	•	•							
Sulfathiazole		•	•	•	•	•	•	•							

lincomycin, sulfathiazole에서 내성을 나타냈다(Table 5). *Brevibacterium* sp.의 경우는 항생제에 내성을 나타내는 균주로 이미 보고된 바 있다.²⁰⁾ 이 연구에 의하면 *Brevibacterium* sp.는 streptomycin, tetracycline, kanamycin, erythromycin, gentamycin, neomycin, chloramphenicol 등에서 내성을 나타낸다고 보고되었다.²⁰⁾ *E. coli*의 경우 인체는 물론 자연계에 다량으로 존재하는 일반적인 균주이며, 항생제에 노출되기 전에는 항생제에 대한 내성이 없었을 것으로 추정되며,²¹⁾ 과다한 항생제에 노출됨으로써 발생한 유전적 돌연변이의 대표적인 예라고 할 수 있다. 위에 나타난 바와 같이 *E. coli*는 *Brevibacterium* sp.보다 더 심각한 다제내성을 나타내었다.

위와 같이 9종의 항생제에 대해 내성을 가진 *E. coli*와 7종의 항생제에 대해 내성을 가진 *Brevibacterium* sp. 이외에 2가지 계열의 서로 다른 항생제에 내성이 있는 균주에 대해서 돈분과 돈분퇴비에서 분리된 균주 중 항생제 내성이 나타난 균주를 알아보았다.

Bacillus sp.와 *Corynebacterium* sp., *Rhodococcus*가 항생제 내성균으로 나타났다. *Bacillus*는 tetracycline, streptomycin, ampicillin, lincomycin, oxytetracycline, vancomycin의 6종류에 대한 항생제 내성이 나타났으며, *Corynebacterium* sp.는 gentamycin, ciprofloxacin, lincomycin, oxytetracycline의 4종류에 대한 항생제 내성이 나타났다. 또한 *Rhodococcus*는 nalidixic acid와 lincomycin의 2종에 대한 항생제 내성이 나타났다.

방사선 조사에 따른 균주의 항생제 내성 특성의 변화는, 방사선 조사 전후의 디스크상의 억제환(inhibition zone)의 크기변화로 비교해 볼 수 있는데, *E. coli*의 경우 gentamycin, amoxicillin/clabulanic acid, ciprofloxacin에 대해, 그리고 *Brevibacterium* sp.는 gentamycin, ampicillin, amoxicillin/clabulanic acid, vancomycin, sulfathiazole에 대해 각각 억제환 크기의 변화가 나타났다(Table 5, Fig. 1). 하지만 Fig. 1

에 나타난 바와 같이 억제환의 형성은 관찰되었으나 방사선 조사량과 억제환의 크기변화와 뚜렷한 상관관계를 나타내지 않았다.

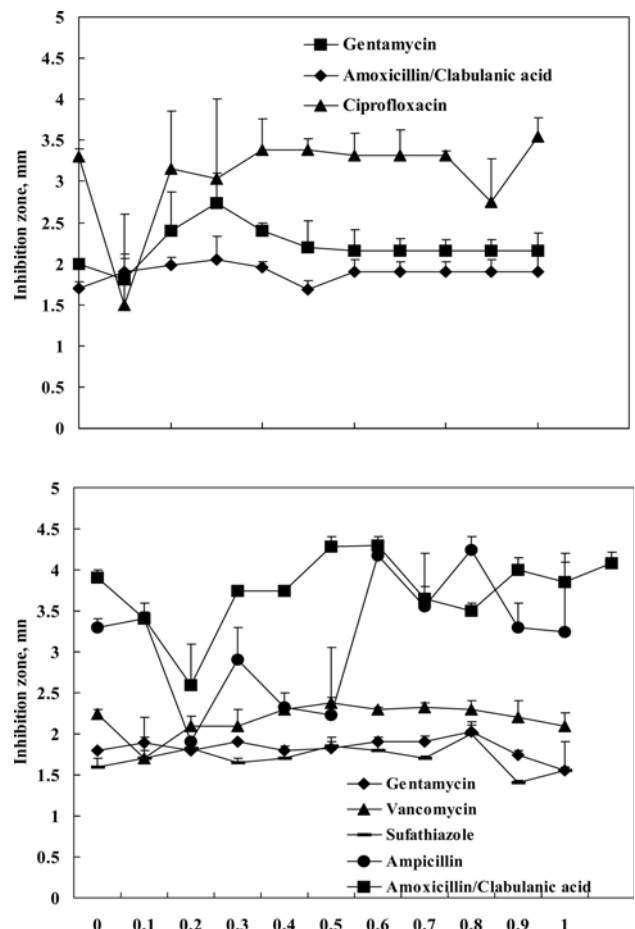


Fig. 1. Size distribution of inhibition zone corresponding to irradiation dose, (a) *E. coli*, (b) *Brevibacterium* sp. Each point is the average of triplicated tests.

3.3. 감마선을 이용한 살균 효율

Fig. 2는 각각의 감마선 조사선량에 대한 살균효율을 나타낸다. 조사선량별 살균효율을 비교해본 결과 *E. coli*의 경우 감마선을 조사한 것과 조사하지 않은 균을 비교하였을 때 0.1 kGy에서 83.24%로 살균된 것으로 나타났으며, 0.3 kGy 이상부터 살균효율이 99%로 낮은 선량에서도 살균효율이 높은 것으로 나타났다(Fig. 2(a)). 그러나 *Brevibacterium* sp.의 경우는 동일한 선량인 0.1 kGy에서 32.48%로 *E. coli*보다 낮은 살균효율을 나타내었으며, 90% 이상의 살균효율을 얻기 위해서는 1.0 kGy 이상의 조사선량을 필요로 하는 것으로 나타났다(Fig. 2(b)).

감마선 조사 후 두 균주의 살균효율 결과는 Table 6과 Fig. 3에 나타내었다. *E. coli*의 경우 감마선을 조사하지 않은 시료에서는 2.4×10^9 CFU/mL의 결과가 나타난 반면, 조사량이 증가함에 따라 조사량 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 kGy에 대해 각각 1.3×10^8 , 1.9×10^6 , 1.5×10^5 그리고 4.7×10^2 CFU/mL의 결과를 나타내었고(Table 6), Fig. 3에서처럼 log CFU/g으로 환산하여 나타내면 조사선량에 따라 개체수가 현격히 감소한 것을 확인하였다. 그에 반해 *Brevibacterium* sp.의 경우에는 조사하지 않은 시료의 경우에는 4.3×10^8 CFU/mL의 값을 보였고, 조사량 0.1, 0.5, 1, 2 kGy에 대해 각각

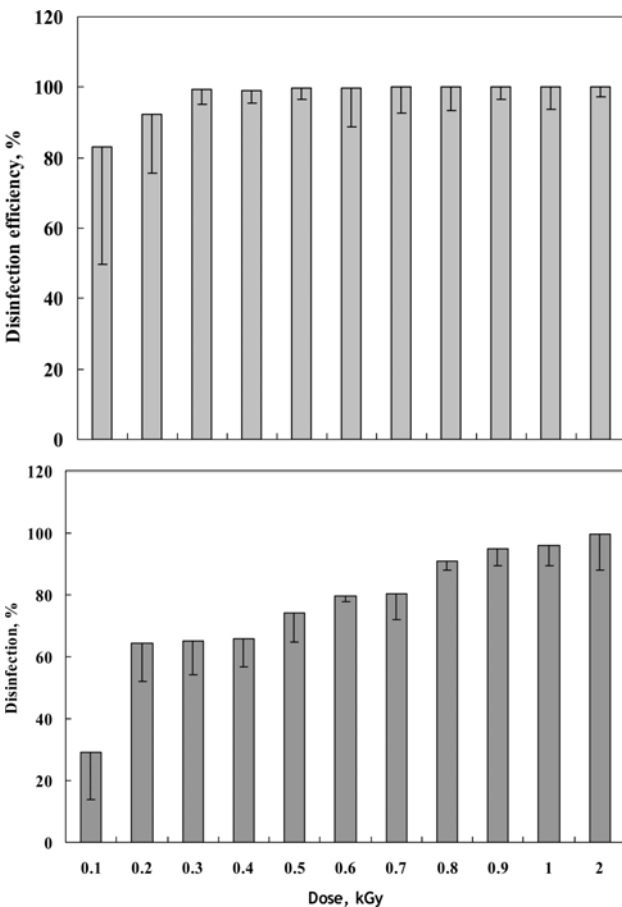


Fig. 2. Disinfection efficiency as a function of irradiation dose of gamma ray, (a) *E. coli*, (b) *Brevibacterium* sp. Error bars indicate the standard deviations of data.

Table 6. Results of microbial disinfection after gamma-ray irradiation

kGy	<i>E. coli</i> (CFU/mL)	<i>Brevibacterium</i> sp. (CFU/mL)
0	$2.4 \times 10^9 \pm 37,4767$	$1.3 \times 10^7 \pm 12,3423$
0.1	$1.3 \times 10^8 \pm 11,9304$	$9.2 \times 10^6 \pm 11,0151$
0.2	$4.0 \times 10^7 \pm 291605$	$4.6 \times 10^6 \pm 9,0184$
0.3	$1.1 \times 10^7 \pm 7,7674$	$4.5 \times 10^6 \pm 9,5043$
0.4	$5.8 \times 10^6 \pm 6,5574$	$4.4 \times 10^6 \pm 2,0816$
0.5	$1.9 \times 10^6 \pm 5,7735$	$3.4 \times 10^6 \pm 8,0829$
0.6	$1.4 \times 10^6 \pm 19,1398$	$2.6 \times 10^6 \pm 3,2145$
0.7	$8.9 \times 10^5 \pm 12,5033$	$2.5 \times 10^6 \pm 3,2145$
0.8	$1.9 \times 10^5 \pm 11,5326$	$1.2 \times 10^6 \pm 5,2915$
0.9	$1.8 \times 10^5 \pm 5,7735$	$6.6 \times 10^5 \pm 6,4290$
1.0	$1.5 \times 10^5 \pm 10,7858$	$5.2 \times 10^5 \pm 11,5902$
2.0	$4.7 \times 10^2 \pm 4,5093$	$4.8 \times 10^4 \pm 13,0000$

* standard deviation

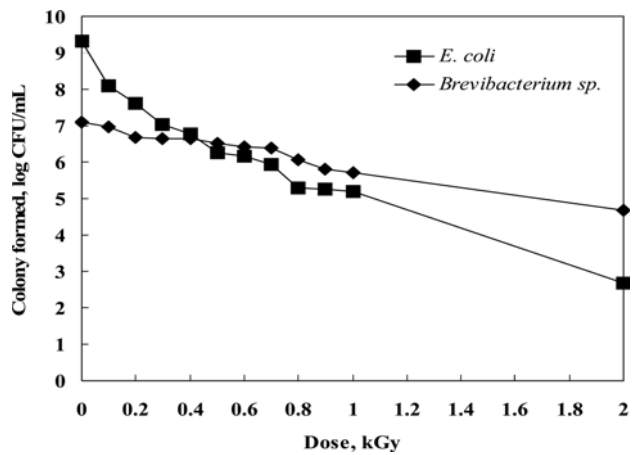


Fig. 3. Results of disinfection tests using gamma ray irradiated samples. Each point is the average of triplicated tests.

1.1×10^8 , 4.3×10^6 , 1.2×10^5 그리고 6.5×10^4 CFU/mL의 결과를 나타내었다(Table 6). 특히 2.0 kGy에 대해서는 *E. coli*에 비해 약 100배 정도의 낮은 살균효율을 나타내었다. 이는 앞서 언급된 바 있는 *Brevibacterium* sp.의 감마선에 대한 내성에 의해 나타난 결과인 것으로 사료된다.

4. 결론

항생제 남용은 세균이 저항성을 갖도록 만들며, 결국 어떠한 항생제로도 치료할 수 없는 슈퍼박테리아를 출현시키는 등의 심각한 문제를 일으키고 있다. 환경중에 존재하는 항생제 및 이에 의한 항생제 내성균의 모니터링 및 특성 연구는 다수 수행되었고, 환경중의 잔류항생제의 처리를 위한 연구는 일부 수행되었으나, 항생제 내성균의 제어를 위한 연구는 전무한 실정이다. 이에 본 연구에서는 항생제 내성균의 제어를 위해 축산폐기물로부터 균주를 분리하여 항생제 내성 경향을 파악하고 다제 내성균으로 나타나는 균주를 가지고 감마선에 의한 살균처리 연구를 수행하였다.

항생제 내성균의 출현정도를 검증하기 위해 축산폐기물로부터 주요 균주를 분리하여 대표 항생제에 대한 내성 경향을 파악한 결과, 돈분에서 분리된 *E. coli*는 tetracycline, sulfamethiazole, streptomycin, erythromycin-H₂O, ampicillin, lincomycin, oxytetracycline, vancomycin, sulfathiazole의 9종, 돈분퇴비에서 분리된 *Brevibacterium* sp.는 tetracycline, sulfamethiazole, streptomycin, erythromycin-H₂O, ciprofloxacin, lincomycin, sulfathiazole의 7종에 대해 각각 내성을 가지는 다제내성균으로 확인되었다. 이외에, *Bacillus* sp.는 tetracycline, streptomycin, ampicillin, lincomycin, oxytetracycline, vancomycin의 6종의 항생제에 대한 다제 내성이 나타났으며, *Corynebacterium* sp.는 gentamycin, ciprofloxacin, lincomycin, oxytetracycline의 4종의 항생제에 대한 다제 내성이 나타났으며, *Rhodococcus*는 nalidixic acid와 lincomycin의 2종의 항생제에 대한 내성이 나타났다.

위 두 가지 대표 다제내성균인 *E. coli*와 *Brevibacterium* sp.에 대해 감마선을 이용한 살균실험을 시행한 결과, *E. coli*는 감마선을 이용해 효율적으로 살균할 수 있는 반면, *Brevibacterium* sp.는 저선량에서 감마선에 대한 내성을 나타내어 상대적으로 감마선을 이용한 제어가 용이하지 않았다. 감마선 조사 후 *Brevibacterium* sp.는 2.0 kGy의 조사량에 대해 *E. coli*에 비해 약 100배 낮은 살균효율을 보임으로써, 항생제에 대한 내성은 물론 감마선에 대한 내성 또한 강한 것으로 나타났다.

KSEE

사 사

본 연구는 2009년 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업(과제번호 2009-0071708) 및 원자력연구개발사업(과제번호 2009-0062216)의 연구비 지원으로 수행되었으며 감사의 뜻을 표합니다.

참고문헌

1. 환경부, 수질보전국 생활오수과, “미국·일본 축산폐수관리 실태 조사보고,” (2001).
2. Witte, W., “Selective pressure by antibiotic use in livestock,” *Int. J. Antimicrob. Agents*, **16**, S19~S24(2000).
3. 식품의약품안전청, “검역원공고 제2007-184호,” (2007).
4. Choi, J. E. and Lee, E. Y., “An investigation on the antibiotic resistant condition and label-stated of domestically distributed livestock-environment improving agents,” *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.*, **37**, 258~265(2009).
5. Park, Y. H., “Risk management of critically important veterinary antibiotics,” Seoul University and Korea Food & Drug Administration(2007).
6. Kwon, Y. I., T. W. Kim, H. Y. Kim, Y. H. Chang, H. S. Kwak, G. J. Woo, and Y. H. Chung., “Monitoring of anti-microbial resistant bacteria from animal farm environments in Korea,” *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.*, **35**, 17~25(2007).
7. Jung, S. C., “Report on control of antimicrobial resistant bacteria in Korea,” *KoreaFood and Drug Administration*, **198**, 198~203(2003).
8. 방정임, “의약품에 의한 환경오염문제와 대응방안연구,” 한국정책평가연구원(2005).
9. 방정임, “의약품질의 환경위해성 평가 체계 구축 방안,” 한국환경정책평가연구원(2006).
10. 명승운, “환경중 의약품질 분석방법 연구 및 노출실태 조사 I&II,” 국립환경연구원(2007).
11. 방정임, 김명현, 최경호, 김영희, 김민영, “의약품질의 환경 유해성 관리 연구,” 환경정책평가연구원(2007).
12. 정윤희, “축산환경중의 항생제 내성균 모니터링,” 식품의약품안전청(2003).
13. 권영일, 김태운, 김해영, 장윤희, 광효선, 우건조, 정윤희, “국내 축산 환경 중의 항생제 내성균 모니터링에 관한 연구,” *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.*, **35**, 17~25(2007).
14. 김태훈, 최동규, 이면주, 유승호, “고도산화공정을이용한 항생제 분해,” *Appl. Chem.*, **12**, 337~340(2008).
15. Hyun Y. KIM, Seung H. Yu, Myun J. Lee, Tae H. Kim, Sang D. Kim, “Radiolysis of selected antibiotics and their toxic effects on various aquatic organisms,” *Radiat. Phys. Chem.*, **78**, 267~272(2009).
16. Joseph S. W., J. R. Hayes, L. L. English, L. E. Carr, and D. D. Wagner., “Implications of multiple antimicrobial resistant enterococci associated with the poultry environment,” *Food Addit. Contam.*, **18**, 1118~1123(2001).
17. 김윤희, 고종명, 공용우, 오보영, 김정희, “지역사회 및 병원 임상검체에서 분리한 대장균의 항생제,” *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.*, **42**, 252~256(2006).
18. NCCLS, “Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically,” 6th ed. M7-A6 23, M7-A5 20, Clinical and laboratory standard institute, baltimore, MA, USA(2003).
19. National Committee for clinical laboratory standard, Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, 7th ed. Approved standard MA7(2001).
20. AL-ADMAWY. A. M, NOBLE. W. C, “Antibiotic production by cutaneous *Brevibacterium* sp.,” *J. Appl. Bacteriol.*, **51**, 535~540(1981).
21. 이연희, “항생제 내성의 제문제,” *미생물산업*, **25**(1998).
22. Maxcy R. B., Tiwari, N. P., “Irradiation of meats for public health protection,” In Radiation preservation of food. 491~504(1973).
23. Ko J. K., Ma Y. H., Song K. B., “Effect of electron beam irradiation on the microbial safety and quality of sliced dried squid,” *J. Korean Soc FOOD Sci Nutr.*, **34**, 433~437(2005).
24. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=Nucleotide&list_uids=148913177&dopt=GenBank.
25. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=Nucleotide&list_uids=182342149&dopt=GenBank.