



유우 사육환경 및 원유의 미생물 및 항생제 내성 분석

설국환 · 이승규 · 김현욱 · 함준상 · 장애라 · 한기성 · 김동훈 · 오미화*

농촌진흥청 국립축산과학원

Analysis of Microorganisms and Antibiotic Resistance in Dairy Farms and Raw Milk

Kuk-Hwan Seol, Seung-Gyu Lee, Hyoun Wook Kim, Jun-Sang Ham, Aera Jang,
Gi-Sung Han, Dong-Hun Kim and Mi-Hwa Oh*

National Institute of Animal Science, RDA, Suwon 441-350, Korea

ABSTRACT

In recent times, antimicrobial resistance has been a concern because of its relation to national health and food safety. In this study, we reviewed the management of antibiotics and antimicrobial-resistant microorganisms in domestic and foreign countries and analyzed microorganisms and antimicrobial resistance in dairy farms and raw milk. The isolates from dairy farms were *Micrococcus* spp., *Staphylococcus chromogens*, *Escherichia coli*, *Bacillus licheniformis*, *Escherichia coli* O157:H7, *Pseudomonas plecoglossicida*, *Enterobacter* spp., and *Kluyvera intermedia*. *Rummeliibacillus stabekisii*, *Paenibacillus badius*, *Pantoea agglomerans*, *B. oleronius*, *B. fusiformis*, and *B. badius* were isolated from feed *E. coli* and *Kurthia gibsonii*, from feces and *S. pasteurii*, *S. aureus*, *S. chromogenes*, and *Salmonella* spp., from raw milk. Pathogens isolated from dairy farms and raw milk were tested for susceptibility to 20 types of antibiotics. *E. coli* (EAEC) and *E. coli* O157:H7 (EHEC) isolated from dairy farms, *E. coli* (EAEC) isolated from feces, and *Salmonella* spp. isolated from raw milk showed resistance to multiple antibiotics. These results show that antimicrobial-resistant microorganisms should be more effectively managed to improve the safety of dairy farms.

Keywords : microorganism, antimicrobial resistant microorganism, dairy farm, raw milk

서 론

항생제 내성 문제는 국민건강 및 식품 안전문제와 직결되기 때문에 전 세계적으로 주요한 이슈로 대두되고 있다. 이에 국제식품규격위원회인 Codex는 축·수산 식품분야의 항생제 내성에 대한 관리방안을 구축하기 위해 2006년 WHO와 FAO를 중심으로 “항생제내성 특별위원회”를 구성하고, 우리나라를 의장국으로 선임하였다. “항생제내성 특별위원회”는 2007년부터 2010년까지 4차례에 걸친 회의를 통해 항

생제 내성 위해관리 지침을 마련하였으며(CODEX TFAMR, 2010), 이를 2011년에 Codex에 최종 보고할 예정이다.

항생제 내성균의 발생은 항생제 사용의 결과로 나타나는 현상으로 미생물 자체의 생존유지 방법의 하나이다. 일반적으로 유해하지 않은 미생물이 내성을 획득할 경우 별 문제가 없는 것으로 알려져 있지만, 병원균의 경우 인간에게 난치 또는 불치를 일으키는 내성균으로 발전할 가능성이 있어서 문제의 소지가 되고 있다(권 등, 2005). 현재까지는 슈퍼박테리아라고 알려진 메티실린 내성 황색포도상구균(Methicillin-resistance *Staphylococcus aureus*; MRSA)의 인체 감염 사례나 동물과의 상관성이 규명되지는 않았지만, 최근에 돼지에서 유래된 것으로 추정되는 MRSA ST398이 사람에서 보고된

* Corresponding author: Mi-Hwa Oh, National Institute of Animal Science, RDA, Suwon 441-350, Korea. Tel: +82-31-290-1689, Fax: +82-31-290-1697, E-mail: moh@korea.kr

이래 ST398에 대한 연구가 유럽을 중심으로 활발하게 진행되고 있으며(Witte, 2007), 육회나 생선회 등을 날 것으로 먹을 경우 내성균이 인체 내로 감염될 수 있다고 보고되는(황 등, 2010) 등 동물에서 인체로의 전이에 대한 가능성이 제기되고 있어서 이에 대한 관리가 중요한 사안으로 인식되고 있다.

이에 본 연구에서는 항생제 내성균의 안전관리 대책수립의 과학적 근거자료로 활용하고자 항생제 및 항생제 내성균에 대한 국내·외 관리현황, 국내 유우 사육환경과 우유 중 유해미생물 및 항생제 내성균 분석결과에 대해 고찰하고자 한다.

본 론

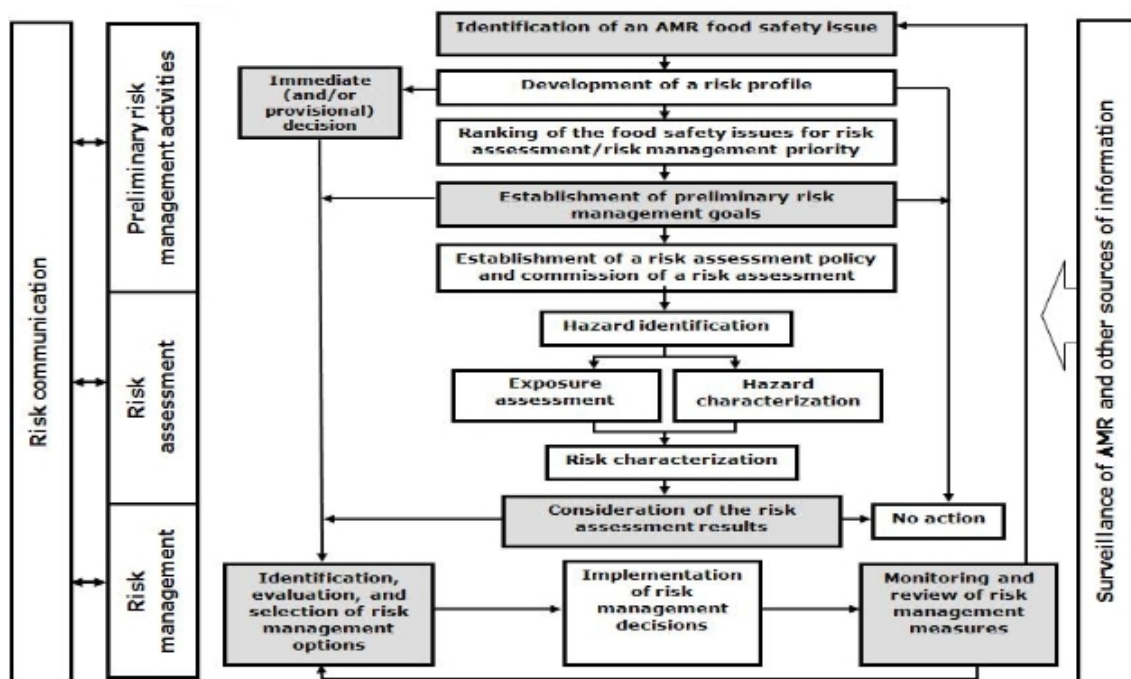
1. 국내·외 항생제 및 항생제 내성균의 관리 동향

항생제 내성 문제는 공중보건위생과 직결되어 세계적인 관심사로 대두되고 있으며, 전 세계적으로 여러 가지 항생제에 동시 내성을 가진 다제 내성균이 나타나, 최근 미국과 유럽 지역에서 문제가 되고 있는 반코마이신 내성 포도상구균(vancomycin resistant *Staphylococcus aureus*, VRSA), 반코마이신 내성 장구균(vancomycin resistant Enterococci, VRE), 메티실린 내성 포도상구균(methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA), 복합다제 내성 살모넬라균(*Salmonella* DT-104),

퀴놀론 내성 캄필로박터 등의 슈퍼박테리아와 같이 사람에게 적절한 치료제 부재로 인한 커다란 공중보건학적 문제가 전 세계적으로 대두되고 있다(조재근 등, 2006; 정갑수 등, 2006).

우리나라는 2003년부터 “국가 항생제내성 안전관리 사업”을 시행하여 임상 및 비임상에서 항생제 내성물에 대한 조사 연구를 수행하고 있다. 본 사업은 2003년부터 2012년까지 10년간 지속되는 정부의 국책사업으로 농식품부(국립수의과학검역원), 보건복지부(식품의약품안전청), 해양수산부(국립수산과학원), 국립보건연구원, 한국소비자보호원, 서울대학교, 삼성병원 등 전국 20개 대학종합병원 등이 참여하고, 국무총리실 주관 하에 이루어지고 있다. 미국의 경우는 식품의약품안전청(US FDA)에서 “Task Force on Antimicrobial Resistance”라는 특별위원회를 설치하고, 국가 항생제내성 모니터링 시스템(NARMS)을 구축하여 연구를 수행하고 있다.

Codex는 제29차 Codex 총회(스위스 제네바, 2006)에서 구성된 “항생제내성 특별위원회(Ad Hoc Codex Intergovernmental Task Force on Antimicrobial Resistance)”를 구성하고, 의장국으로 우리나라를 선정하여 2007년부터 4년간 우리나라에서 국제회의를 개최하였다. “항생제내성 특별위원회”에서 논의한 의제 및 내용은 크게 3가지로 분류할 수 있는데, 그 첫 번째는 식품유래 항생제 내성 미생물의 위해 수준, 영향을 과학적으로 평가하기 위한 방법 및 절차를 규정하는 문서인



Note: The boxes in grey highlight the key decision points in the framework of foodborne AMR-risk analysis.

Fig. 1. Framework for foodborne AMR risk analysis.

식품유래 항생제내성 미생물에 대한 위해평가지침을 마련하는 것이고, 두 번째는 위해관리자가 효율적인 관리대책을 선택할 수 있도록 제공되는 정보의 내용 및 범위와 기술방법을 규정하는 문서인 위해평가 및 관리 우선순위 설정을 위한 식품유래 항생제내성 미생물의 위해 프로파일 작성에 대한 지침 마련하는 것이다. 그리고 세 번째는 위해평가 및 위해프로파일을 바탕으로 위해관리자가 관리대책을 마련하여 실행하고 추진정책에 대한 결과평가를 통해, 후속 대책을 추진하는 과정을 체계적으로 기술한 문서인 식품유래 항생제내성 미생물 억제를 위한 위해관리지침을 마련하는 것이다(CODEX TFAMR, 2010). 현재는 2010년 진행된 제4차 회의를 마지막으로 특별위원회 작업기간을 마치고, 내년 총회에 최종보고서를 제출할 예정이다. 제4차 회의에서 최종적으로 진행된 식품유래 항생제 내성균에 대한 전체적인 위해 분석 체계는 Fig. 1과 같다(CODEX TFAMR, 2010).

잔류 항생제 및 항생제 내성 문제는 전적으로 사용하는 항생제의 다양성에 기인하기 때문에 항생제에 대한 오남용을 막는 것도 항생제 내성균 관리를 위해 매우 중요한 요소이다. 우리나라는 동물용 항생물질에 대한 국가관리 기준도 강화하고 있어서, 2011년에는 유럽과 같이 성장용 항생제 첨가를 금지할 예정이다. 농식품부는 2005년 53종이던 국내 사료용 항생제를 2008년 25종으로 줄였고, 이들 중 가축에서 내성률이 높거나 임상에서 사용하고 있는 항생제와 동일제제인 oxytetracycline, chlortetracycline, penicillin, colistin, bacitracin, lincomycin, neomycin 등 7종에 대해서는 2009년 1월 1일부터 추가로 사용이 금지하였으며, 최종적으로 2011년에는 질병치료용 항생제를 제외한 예방용 항생제를 모두 금지하는 것으로 결정하고, 수의사 처방제를 도입하려고 하고 있다(식품의약품안전청, 2007).

항생제 및 항생제내성 문제는 축산식품 안전성과 관련된 주요 사안일 뿐 아니라 범국가적인 항생제 종합대책이 마련되고 있는 실정에서 간과할 수 없는 중요한 문제로 대두되었음에도 불구하고, 아직까지 구체적인 관리방안 마련을 위한 체계적인 항생제 내성균 분석 연구나 농가단계의 대안마련은 매우 미흡한 실정이다. 따라서 국가적인 정책을 뒷받침할 수 있는 관련 연구들이 활발하게 진행되어야 할 것으로 생각된다.

2. 유우 사육환경 및 원유 중 미생물 분포 분석

유우의 사육환경을 통하여 우유에 노출될 수 있는 미생물의 종류와 항생제 내성 여부를 통한 위해가능성을 파악하기 위해 유우사와 원유시료에서 미생물 분리·동정하고, 그 분포를 분석하였다. 실험목장의 유우사 시료는 울타리와 사료공급통 표면에서 스워프 방법(swab method)으로 채취하

였고, 사료와 분변, 원유는 각 25 g 또는 mL의 시료를 채취하여 분석하였다. 수집된 시료는 펩톤수를 이용해 단계별로 희석하여 영양배지에 도말하였고, 배양된 호기성균은 형태(morphology)별로 16S rRNA sequence 분석으로 동정하였다.

유우 사육환경과 원유에 대한 미생물 분포를 조사한 결과, 다양한 미생물이 분포하고 있음을 알 수 있었다. 원유시료에서는 *Staphylococcus* spp.의 분포가 높았으며(Fig. 2), 사료시료에서는 *Bacillus* spp.의 분포가 높게 나왔고(Fig. 3), 분변과 환경시료에서는 *Escherichia coli*의 분포가 가장 높았다(Fig. 4, 5). 환경시료에서는 가장 다양한 미생물이 분리되었

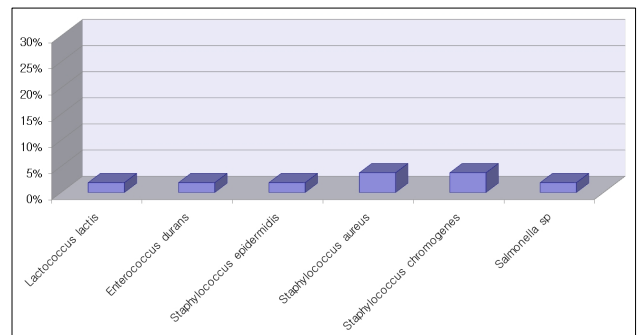


Fig. 2. Distribution of microorganisms isolated from raw milk.

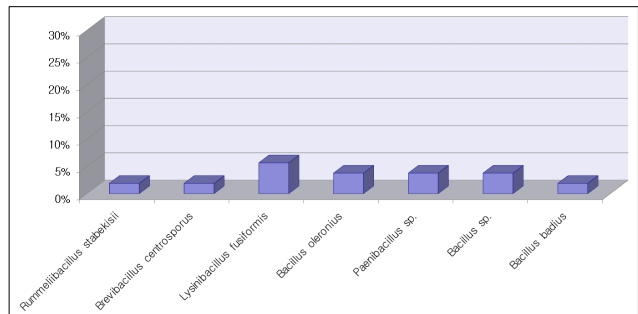


Fig. 3. Distribution of microorganisms isolated from feed in dairy farm.

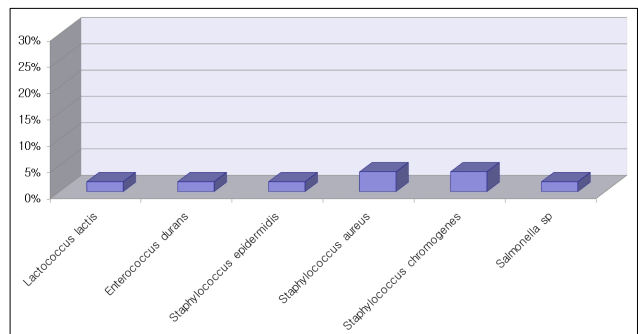


Fig. 4. Distribution of microorganisms isolated from faecal sample in dairy farm.

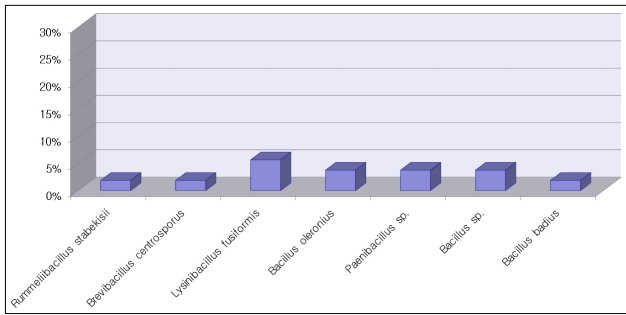


Fig. 5. Distribution of microorganisms isolated from environment of dairy farm.

다(Fig. 5). 시료분석 결과, *E. coli* O157:H7, *S. aureus*, *Salmonella* 등 일부 병원성 미생물도 검출된 것으로 보아 유우사 사육에 있어 보다 위생적인 관리체계가 필요할 것으로 생각된다.

3. 유우 사육환경 및 원유에서 분리된 병원균에 대한 항생제 감수성 검사

현재 항생제 내성에 대한 분석법으로는 National Committee for Clinical Laboratory Standard(NCCLS) 지침에 따른 한천희석법(Agar Dilution Method), 디스크확산법(Disk Diffusion Method)과 E-test 같은 전통적인 방식이 사용되고 있다.

본 연구에서는 디스크확산시험법을 사용하여 유우 사육환경 및 원유에서 분리된 병원균에 대해 20종의 항생제(Table 1)에 대해 내성 여부 및 정도를 판단하였다. 검사 결과, 원유에서 분리된 *Salmonella* spp.는 oxacillin, tylosin, vancomycin, linezolid에 내성을 보였으며, *S. aureus*는 colistin에 내성을 보였다. 분변에서 분리된 *E. coli*는 clindamycin, nalidixic acid, oxacillin, penicillin, linezolid에 내성을 보였다. 환경에서 분리된 *E. coli* O157:H7은 nalidixic acid과 oxacillin, linezolid에 내성을 보였고, *S. aureus*는 nalidixic acid, *E. coli* CZ는 cephalothin, clindamycin, erythromycin, oxacillin, ampicillin, penicillin, linezolid에 내성을 보였다(Table 1). 분리된 병원성 미생물 대부분이 oxacillin과 linezolid에 대하여 내성을 나타내었고, 환경에서 분리된 *E. coli*가 가장 많은 종류의 항생제 대해 내성을 나

Table 1. Antimicrobial resistance of pathogens isolated from environment of dairy barn (Zone diameter : mm)

Antibiotic disk	Faeces		Raw milk		Environment	
	<i>E. coli</i> 55989	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i> CZ	<i>E. coli</i> O157:H7
Cefazolin (KZ 30 μL)	20(S)*	20(S)	19(S)	31(S)	9(R)	16(I)
Cephalothin (KF 30 μL)	10(R)	21(S)	11(R)	32(S)	-(R)	10(R)
Chloramphenicol (C 30 μL)	15(I)	17(I)	18(S)	19(S)	22(S)	15(I)
Ciprofloxacin (CIP 5 μL)	30(S)	27(S)	38(S)	31(S)	42(S)	30(S)
Clindamycin (CD 2 μL)	7(R)	13(R)	11(R)	18(I)	-(R)	7(R)
Erythromycin (E 15 μL)	7(R)	14(I)	9(R)	20(I)	-(R)	9(R)
Gentamicin (CN 30 μL)	11(R)	11(R)	12(R)	18(S)	14(I)	13(I)
Nalidixic acid (NA 30 μL)	R(R)	11(R)	12(R)	-(R)	25(S)	5(R)
Neomycin (N 30 μL)	15(I)	11(R)	13(I)	12(R)	12(R)	13(I)
Oxacillin (OX 1 μL)	-(R)	16(S)	-(R)	20(S)	-(R)	-(R)
Tetracycline (TE 30 μL)	13(R)	18(I)	14	24(S)	17(I)	14(R)
Tylosin (TY 30 μL)	7(R)	15(I)	-(R)	21(S)	9(R)	9(R)
Vancomycin (VA 30 μL)	7(R)	12(R)	-(R)	13(R)	12(R)	10(R)
Ampicillin (AMP 10 μL)	16(I)	9(R)	11(R)	11.5(R)	-(R)	13(R)
Streptomycin (S 10 μL)	15(S)	8(R)	19(S)	15(S)	13(I)	17(S)
Penicillin G (P 10 Iv)	-(R)	7(R)	9(R)	10(R)	-(R)	7(R)
Linezolid (LNZ 30 mcg)	-(R)	21(R)	-(R)	16(R)	-(R)	-(R)
Colistin (CT 10 mcg)	9(I)	-(R)	15(S)	14(S)	12(R)	9(R)
Amoxicillin/clavulanicacid (Amc 10 mcg/10 mcg)	14(R)	14(R)	17(I)	42(S)	9(R)	15(I)
Trimetoprim/sulfamethoxazole (SxT 1.25 μL/23.75 μL)	17(S)	11(I)	14(I)	27(S)	22(S)	14(I)

*Susceptibility was evaluated according to the manufacturer's guide. S; susceptible, I; intermediate, R; resistant.

타내었다(Table 1). 이상의 결과들을 통하여 유우의 사육환경과 원유 중에 여러 종의 다제내성균이 존재함을 알 수 있었다.

결 론

Codex에서는 최근 이슈화 되고 있는 항생제 내성 문제와 관련하여 ‘항생제 내성 최소화 및 억제를 위한 실행규범’을 마련하고, 우리나라를 의장국으로 하는 ‘항생제내성 특별위원회’를 구성하여 항생제 내성균의 위해평가 및 관리방안 등의 세부지침을 마련하였다. 항생제 내성은 항생제 사용에 따른 자연스러운 현상이나 잘못된 항생제 사용으로 가속화되고, 널리 확산될 경우 공중 보건에 심각한 문제가 발생할 수 있기 때문에 효율적인 관리가 필요하다.

본 연구는 유우 사육환경과 원유 분포하는 미생물을 분리·동정하고, 분리된 병원성 미생물의 항생제 감수성을 분석함으로써 사육 환경 중 미생물과 항생제 내성균의 분포를 파악하고자 시행되었다. 미생물 분석결과 유우사에서 *Micrococcus* spp., *S. chromogenes*, *E. coli*, *B. licheniformis*, *Escherichia coli* O157:H7, *Pseudomonas plecoglossicida*, *Enterobacter* spp., *Kluyvera intermedia*가 분리되었고, 사료에서 *Rummeliibacillus stabekisii*, *Paenibacillus badius*, *Pantoea agglomerans*, *B. oleronius*, *B. fusiformis*, *B. badius*가 분리되었다. 분변에서는 *E. coli*와 *Kurthia gibsonii*, 원유에서는 *S. pasteurii*, *S. aureus*, *S. chromogenes*, *Salmonella* spp.가 분리되었다. 분리된 병원균을 20종의 항생제에 대하여 디스크 확산법을 이용하여 항생제 감수성을 분석한 결과, 유우사에서 분리된 *E. coli*(EAEC), *E. coli* O157:H7 (EHEC), 분변에서 분리된 *E. coli*(EAEC), 우유에서 분리된 *Salmonella* spp.가 여러 가지 항생제에 대해 다제내성을 보이는 것으로 나타났다. 이상의 결과들을 통하여 유우 사육 환경 중에 다양한 종류의 병원균 및 항생제 내성균 존재함을 알 수 있어서 보다 효율적인 안전관리가 필요한 것으로 나타났다.

또한, 현재 상용되고 있는 전통적인 방식의 항생제 감수성 검사법은 개별균주에 대해 배양이 필요하다는 점에서 시간과 노동, 경제성 면에서 매우 비효율적이어서 앞으로 증가하고 있는 항생제 내성균에 대해 효과적으로 대응하기 위해서는 분자생물학적 방법 기반의 항생제 감수성 검사법 개발이 필요할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. NCCLS document M100-S5. 1994. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test-fifth edition: approved standard.
2. Report of the fourth session of the codex *ad hoc* inter-governmental task force on antimicrobial resistance. 2010. http://codextfamr.kfda.go.kr/06board/en_06_01_view.html?seq=30&page=1
3. Witte, W., Strommenger, B., Stanek, C. and Cuny, C. 2007. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in humans and animals, Central Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 13:255-258.
4. 권기성, 황인균, 광효선, 고영호, 박종석, 김미경, 이근영, 변주선, 임형근, 이진욱, 우건조. 2005. 식품 중 식중독균 항생제 내성 모니터링. 식품의약품안전청연구보고서. 9: 135-136.
5. 식품의약품안전청. 2007. 항생제 내성관리 종합대책.
6. 정갑수, 조병훈, 손성완, 임채미, 박수정, 권현정, 하혜정. 2006. 축산물의 잔류물질 관리현황 및 방지 대책. 한국수의공중보건학회지. 30:159-168.
7. 조재근, 하중수, 김기석. 2006. 소, 돼지 및 닭으로부터 분리한 대장균의 항균제 내성. 한국수의공중보건학회지. 30: 9-18.
8. 황인균, 광효선, 윤상현. 2010. 식품위해요소로서의 메치실린내성 황색포도상구(MRSA). *Safe Food.* 5:26-35.

(2010년 11월 3일 접수; 2010년 11월 16일 채택)