

가축 분변중의 항생제 내성균주의 분포에 관한 연구

권혁구* · 이장훈** · 김종규†

가천의과학대학교 보건행정학과, *호서대학교 융합기술연구소, **호서대학교 환경공학과

A Study on the Distribution of Antibiotic Resistant Bacteria in Domesticated Animal Feces

Hyuk-Ku Kwon*, Jang-Hoon Lee**, and Jong-Geu Kim†

Department of Health Administration, Gachon University of Medicine & Science, Incheon, Korea

*Institute of Fusion Technology, Hoseo University, Asan, Korea

**Department of Environmental Engineering, Hoseo University, Asan, Korea

ABSTRACT

Objectives: To estimate the multi-antibiotic resistant bacterial contaminant load discharged from livestock farms, we randomly selected livestock farms specializing in cattle, swine, and fowl and collected bacterial strains from domesticated animal feces and compost samples. Problems with resistance to antibiotics are becoming worldwide issues, and as the consumption of antibiotics appears to be excessive in Korea as well, the emergence of antibiotic resistant bacteria shows the possibility to cause potentially serious social problems.

Methods: To monitor multi-antibiotic resistant bacterial constituents, aerobic bacteria and *Escherichia coli* were isolated from domesticated animal feces and compost. Antibiotic resistance testing was performed by the disc diffusion method using 13 different antibiotics.

Results: Examining the degree of sensitivity to antibiotics of the aerobic bacteria originating from domesticated animal feces, fowl feces showed the highest distribution rate (35.5%), followed by swine feces compost (23.1%), swine feces (18.2%), cattle feces (14.9%), and cattle feces compost (8.2%). Antibiotic resistance tests of aerobic bacteria and *E. coli* originating from domestic animals feces resulted in 83.6% and 73.5% of each strain showing resistance to more than one antibiotic, respectively.

Conclusions: These results suggest that increasing multi-antibiotic resistant bacteria in the environment has a close relation to the reckless use of antibiotics in livestock.

Keywords: livestock, antibiotic resistant bacteria, *E. coli*, feces, compost

I. 서 론

항생제란 일반적으로 미생물이 대사과정에서 생산하는 물질을 말하며, 소량으로 다른 미생물의 발육을 억제 또는 사멸시키는 물질로 정의된다.¹⁾ 1942년 알렉산더 플레밍(1881~1955)이 발견한 최초의 항생제인 Penicillin이 치료제로 사용된 이후 현재 3,000

여종 이상의 화학종이 항생제로 승인을 받았으며²⁾ 각 나라의 항생제 연간 소비량은 수 킬로그램(kg)에서 수천 톤(ton)에 이르고 있다.³⁾

항생제는 의료기관에서 환자치료를 목적으로 사용하는 것 이외에도, 동물의 사료에 첨가되기도 하고 각종 생활용품에서 항생물질 첨가 상품이 나오는 등 우리 실생활에 널리 퍼져 있다. 특히 가축에서의 항

†Corresponding author: Department of Public Health Administration, Gachon University of Medicine & Science, Incheon 406-799, Korea, Tel: +82-32-820-4225, Fax: +82-32-820-4029, E-mail: jkkim@gachon.ac.kr

Received: 26 January 2012, Revised: 21 February 2012, Accepted: 21 March 2012

생제 사용은 질병치료와 아울러 성장촉진, 사료효율 향상을 목적으로 사료 및 음용수에 첨가하여 지속적으로 사용되어 오고 있다. 이러한 항생제의 사용으로 일시적으로 유해한 병원성 세균의 감소 효과는 볼 수 있지만, 지속적인 항생제 사용은 가축 장내의 정상균총에까지 영향을 미쳐 항생제 내성균을 유발할 수 있다. 뿐만 아니라 동물 분변이 환경에 노출되어 내성균의 확산 경로가 될 수 있으므로 인간의 건강은 내성균을 포함하고 있는 가축의 분변과 직접적으로 연계되어 있다.^{4,6)}

선진각국과 비교한 축산물 생산량 및 항생제 사용량 조사에 따르면 우리나라보다도 축산물 생산량이 많은 미국, 일본 등의 선진국에 비해 항생제 사용량이 월등히 많은 것으로 보고되고 있다.⁷⁾

2001년 이후 축산물 항생제의 용도별, 가축별, 종류별 판매실적과 가축별 항생제 사용량은 돼지, 닭, 수산용, 소의 순으로 많았다. 전체 항생제 사용량은 2003년 1,439톤, 2004년 1,368톤, 2005년 1,553톤, 2006년도 1,457톤, 2007년에는 약 1,526톤이었다.⁸⁾

대량으로 생산되는 항생제 중 일부는 원료 생산 공장에서의 폐기 및 부산물의 폐수유입, 가정에서의 사용 및 폐기로 인한 배출, 개인 치료를 통한 배설물, 제약회사의 무분별한 폐기, 병·의원 및 약국 등에서의 무단 폐기, 축산 폐기 배설물에 의한 배출, 관상용 어항에 사용되는 항생제가 함유된 물의 방류, 어류의 양식이나 횃집 등에서의 수조 청소 시 버리는 폐수 등 다양한 경로를 통해 일반하수처리장이나 축산폐수처리장으로 유입되거나 직접 지하수나 하천으로 유입되어 환경에 큰 영향을 미치고 있다.^{9,11)}

2006년도 국립환경과학원의 보고서에 따르면 하천이나 하수 내에서 항생제의 농도는 ppb 수준이므로, 항생제의 농도가 직접적이고 심각한 영향을 미칠지는 다소 명확하지 않아 보이나 다량의 항생제를 투여한 동물과 인체에서 배출되는 분뇨의 경우 투여분의 30~90%가 분뇨에 잔류한다. 특히 동물의 경우에는 배설물의 형태로 배출된 항생제가 분해되지 않고 고농도로 잔류하여 축산환경 주변까지 오염시키고 있다.

이들 항생제가 환경에 존재함으로써 인체나 동물들에게서 비정상적인 생리학적인 과정이 일어나고 생식기관의 손상, 발암성 위험의 증가는 물론 항생제 내성 박테리아의 출현 등 인간과 생태계에 영향을 미칠 수 있는 개연성이 크다.

이에 본 연구에서는 미생물 생태학적 측면과 공중위생 및 임상의학적인 측면에서 농장에서 발생하는 미생물들의 다약제 내성화에 대한 문제해결을 위한 기초연구로서, 충남지역의 소, 돼지, 닭을 사육하는 축산 농가를 무작위로 선정하여 가축의 분변 및 퇴비에서 채취한 검체로부터 분리된 균주에 대해 항생제 내성률을 검토하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 시료 채취

충남 A지역 축산 농가의 주요 축종인 소, 돼지, 닭 농가를 대상으로 시료를 채취하였다. 각각의 농장으로부터 신선한 돈분, 우분, 계분과 각각의 퇴비 샘플을 무균 팩에 각각 약 300 g씩 채취하였다. 퇴비는 퇴비 저장소에서 1-2일 경과된 시료를 대상으로 하였다. 채취된 시료는 냉장상태로 실험실로 운반한 후, 냉장보관하면서 24시간 이내에 균주의 분리 시험에 사용하였다.^{11,12)}

2. 균 분리 및 동정

1) 일반세균 분리

채취한 각각의 시료 1 mg을 멸균생리식염수(0.85% NaCl)에 넣고 충분히 교반한 다음 상등액을 멸균된 희석수로 10배수 희석한 후 각 단계별 1 ml/를 N/A (Difco Bacto™ Nutrient Agar) 배지에 도말하였다. 35°C에서 24시간 배양 후 집락의 모양, 색깔 등의 특성을 관찰하여 각 시료별 15~20개의 특정 집락(colony)을 선별한 다음 각 집락 별로 3차에 걸쳐 N/A배지에 계대 배양을 하면서 균주를 순수 분리하였다.¹³⁾

2) 대장균의 분리

대장균의 분리는 채취한 각각의 시료 1 mg을 멸균생리식염수(0.85% NaCl)에 넣고 충분히 교반 후 Membrane Filter(dia 47 mm, pore size 0.45 μm)로 여과한 다음 여과지를 MacConkey Agar(Difco) 배지에 접종하였다. 35±1°C에서 24±1시간 동안 배양한 후 적갈색 또는 핑크색의 집락을 Durham Tube가 포함된 유당배지(Lactose Broth)에 접종하여 35±1°C에서 48±1시간 배양한 다음 가스 발생이 확인되는 균주에 대해 Gram Staining을 실시하여

Gram(-), 무아포성 간균이 증명되면 완전시험을 통해 최종 확인하였다.^{14,15)}

3. 항생제 내성 검사

가축분변유래 항생제 내성균주 분포도 조사를 위하여 돼지, 소, 닭 농가에서 채취한 각각의 분변시료 중에 있는 호기성세균과 대장균을 분리하여 각각 13종 및 8종의 항생제에 대한 내성 검사를 실시하였다. 1개의 시료검체 당 2균주에 대하여 항생제 감수성 시험을 실시한 후 감수성 경향이 동일할 경우에는 1개를 항생제 내성 결과로 이용하였다. 항생제 검사는 국가 항생제 내성 안전관리사업에서 정한 항생물질별 균주별 검사 대상 물질로 결정하였으며, 감수성 검사는 디스크 확산법(Disc diffusion method)으로 실시하였다.¹⁶⁾

1) 디스크 확산법

항생제 감수성 검사는 분리 균주를 Mcfarland Turbidity 0.5 Standard¹⁷⁾에 맞추어 멸균생리식염수(0.85% NaCl)에 혼합시켜 Mueller-Hinton Agar Plate에 100 µl씩 일정하게 분주 후 도말한 다음, 백톤 비비엘 센스디스크 감수성 시험테스트 디스크(BD BBL™ Sensi-Disc™)를 일정간격으로 플레이트 상에 적용하였다. 항생제 디스크를 올려놓은 후 15분 이

내에 평판배지를 35°C에서 16~18시간동안 배양하여 육안으로 완전히 억제된 곳까지만 mm단위로 저지원의 직경을 측정하여 감수성 여부를 결정하였다. 항생제의 종류 및 항생제 디스크의 농도는 Table 1에 나타내었다.

III. 결 과

1. 항생제 내성률

각각의 가축분뇨 및 퇴비로부터 분리한 호기성 세균 67균주에 대한 항생제 내성 검사에 따른 내성률을 검사한 결과 13종의 항생제에 내성을 보이지 않는 균주는 16.4%로 나타났으며, 1종 이상의 항생제에 내성을 보이는 균주가 83.6%로 매우 높게 나타났다. 2종 이상의 항생제 내성은 56.7%, 3종 이상의 내성은 31.3%, 4종 이상의 내성은 29.9%를 차지하였고 항생제 5종 이상에 내성을 보이는 다제 내성 균주도 17.9%로 높게 나타났으며, 6종 및 7종 이상에 내성을 보이는 다제내성은 각각 10.4%, 7.5%였고 돈분에서 2개, 돈분 퇴비에서 분리된 1개의 균주가 8종 이상의 항생제에 내성을 보이는 다제 내성 균주로 4.5%를 차지하는 것으로 조사되었으며, 9종 이상의 항생제에 내성을 보이는 균주도 1.5%를 차지하는 것으로 나타났다.

1) 호기성세균(Aerobic bacteria)

호기성세균의 항생제 내성률 결과는 Table 2에 나타내었다. 13종의 항생제중 호기성세균은 Lincomycin(L2)에 대한 내성률이 79.1%로 가장 높게 나타났으며 평균 19.3%의 항생제 내성률을 나타냈다. 그 외 Nalidixic acid(NA30)가 34.3%, Oxytetracycline(T30)이 31.3%로 나타났으며, Streptomycin(S10)과 Tetracycline(TE30)이 각각 25.4%, Sulfamethizole(TH.25) 17.9% 등의 순으로 나타났다.

반면, Ampicillin(AM10), Ciprofloxacin(CIP5), Sulfathiazole(ST.25), Vancomycin(VA30)에 대해서는 10% 이하의 낮은 내성률을 나타냈으며, Gentamicin(GM10), Amoxicilline(AMC30) 등에는 내성이 없는 것으로 나타났다.

각각의 가축분변 시료 및 퇴비에서 분리한 호기성 세균 67균주의 항생제 및 가축시료별 내성 검사 결과를 Table 3에 나타내었다.

Table 1. List of antibiotics and concentration of resistance disc

Resistance	Code	Concentration of Resistance Disc (µg)
Amoxicilline/Clabulanic acid	AmC 30	30
Ampicillin	AM 10	10
Ciprofloxacin	CIP 5	5
Erythromycin-H ₂ O	E 15	15
Gentamicin	GM 10	10
Lincomycin	L 2	2
Nalidixic acid	NA 30	30
Oxytetracycline	T 30	30
Streptomycin	S 10	10
Sulfamethizole	TH .25	0.25
Sulfathiazole	ST .25	0.25
Tetracycline	TE 30	30
Vancomycin	VA 30	30

Table 2. Percentage of antibiotic resistance of aerobic bacteria strains isolated from livestock feces

	Antibiotics	Code	No. of isolates (%)
			Total (n=67)
Tetracyclines	Tetracycline	(TE30)	17(25.4)
	Oxytetracycline	(T30)	21(31.3)
Aminoglycosides	Gentamicin	(GM10)	0(0)
	Streptomycin	(S10)	17(25.4)
Sulfonamides	Sulfamethizole	(TH.25)	12(17.9)
	Sulfathiazole	(ST.25)	5(7.5)
Macrolides	Erythromycin-H ₂ O	(E15)	10(14.9)
Penicilins	Ampicillin	(AM10)	3(4.5)
	Amoxicilline	(AMC30)	0(0)
Quinolones	Ciprofloxacin	(CIP5)	2(3.0)
	Nalidixic acid	(NA30)	23(34.3)
Lincosamides	Lincomycin	(L2)	53(79.1)
Glycopeptides	Vancomycin	(VA30)	5(7.5)
Average			19.3%

Table 3. Percentage of antibiotic resistance of aerobic bacteria strains isolated from livestock classification

Class	Antibiotics	No. of isolates (%)				
		Swine feces (n=11)	Cattle feces (n=15)	Fowl feces (n=13)	Swine compost (n=12)	Cattle compost (n=16)
Tetracyclines	Tetracycline	3(27.3)	0(0)	12(92.3)	2(16.7)	0(0)
	Oxytetracycline	3(27.3)	2(13.3)	12(92.3)	4(33.3)	0(0)
Aminoglycosides	Gentamicin	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	Streptomycin	3(27.3)	5(33.3)	5(38.5)	2(16.7)	2(12.5)
Sulfonamides	Sulfamethizole	2(18.2)	4(26.7)	1(7.7)	4(33.3)	1(6.3)
	Sulfathiazole	2(18.2)	0(0)	0(0)	2(16.7)	1(6.3)
Macrolides	Erythromycin	2(18.2)	1(6.7)	4(30.8)	3(25.0)	0(0)
Penicilins	Ampicillin	3(27.3)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	Amoxicilline	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
Quinolones	Ciprofloxacin	0(0)	0(0)	2(15.4)	0(0)	0(0)
	Nalidixic acid	0(0)	2(13.3)	11(84.6)	9(75.0)	1(6.3)
Lincosamides	Lincomycin	5(45.5)	14(93.3)	13(100)	9(75.0)	12(75.0)
Glycopeptides	Vancomycin	3(27.3)	1(6.7)	0(0)	1(8.3)	0(0)
Average		18.2%	14.9%	35.5%	28.1%	8.2%

(1) 돈분(swine feces)

돈분으로 부터 분리한 11종 균주 중 Lincomycin(L2)에 대한 내성률이 45.5%로 가장 높게 나타났으며 평균 18.2%의 항생제 내성률을 보였다. 그 외 Oxytetracycline(T30), Vancomycin(VA30), Tetracycline

(TE30)이 27.3%로 나타났으며, Sulfamethizole(TH.25), Erythromycin-H₂O(E15), Sulfathiazole(ST.25)이 18.2% 등의 순으로 나타났다. 반면 Gentamicin(GM10), Amoxicilline(AMC30), Ciprofloxacin(CIP5), Nalidixic acid(NA30) 등에는 내성이 없는 것으로 나타났다.

(2) 우분(cattle feces)

우분으로 부터 분리한 15종의 균주 중 Lincomycin (L2)에 대한 내성률이 93.3%로 가장 높게 나타났으며 평균 14.9%의 항생제 내성률을 보였다. 그 외 Streptomycin(S10)이 33.3%로 두 번째로 높은 내성률을 보였고 Sulfamethizole(TH.25)이 26.7%, Oxytetracycline(T30)과 Nalidixic acid(NA30)이 13.3%, Erythromycin-H₂O(E15)과 Vancomycin(VA30)이 6.7% 등의 순으로 나타났다. 반면, Tetracycline(TE30), Gentamicin(GM10), Ampicillin (AM10), Amoxicilline (AMC30), Ciprofloxacin(CIP5), Ciprofloxacin(CIP5) 등에는 내성이 없는 것으로 나타났다.

(3) 계분(fowl feces)

계분으로 부터 분리한 13종의 균주 중 Lincomycin (L2)에 대한 내성률이 100%로 가장 높게 나타났으며 평균 35.5%의 항생제 내성률을 보였다. 그 외 Tetracycline(TE30)과 Oxytetracycline(T30) 92.3%로 두 번째로 높은 내성률을 보였다. 또한 Nalidixic acid(NA30)이 84.6%, Streptomycin (S10)이 38.5%, Erythromycin-H₂O(E15)이 30.8%, Ciprofloxacin(CIP5)이 15.4%, Sulfamethizole(TH.25)이 7.7% 등의 순으로 나타났다. 반면, Gentamicin(GM10), Ampicillin (AM10), Amoxicilline(AMC30), Vancomycin(VA30), Sulfathiazole(ST.25) 등에는 내성이 없는 것으로 나타났다.

(4) 돈분퇴비(swine compost)

돈분퇴비로 부터 분리한 12종의 균주 중 Lincomycin (L2)과 Nalidixic acid(NA30)에 대한 내성률이 각각 75.0%로 가장 높게 나타났으며 평균 23.1%의 항생제 내성률을 보였다. 그 외 Sulfamethizole(TH.25)과 Oxytetracycline(T30)이 각각 33.3%, Erythromycin-H₂O(E15)이 25.0%, Tetracycline(TE30), Streptomycin (S10)과 Sulfathiazole(ST.25)이 16.7%로 나타났다. 반면 Gentamicin(GM10), Ampicillin(AM10) Amoxicilline(AMC30), Ciprofloxacin(CIP5), 등에는 내성이 없는 것으로 나타났다.

(5) 우분퇴비(cattle compost)

우분퇴비로 부터 분리한 16종의 균주 중 Lincomycin

(L2)에 대한 내성률이 75.0%로 가장 높게 나타났으며 평균 8.2%의 항생제 내성률을 보였다. 그 외 Streptomycin(S10)이 27.3%, Sulfamethizole(TH.25), Nalidixic acid(NA30)과 Sulfathiazole (ST.25)에는 각각 8.2% 등의 순으로 나타났다. 반면, Tetracycline (TE30) Gentamicin(GM10), Erythromycin-H₂O(E15), Amoxicilline(AMC30), Ciprofloxacin(CIP5), Oxytetracycline(T30), Vancomycin(VA30) 등에는 내성이 없는 것으로 나타났다.

2) 대장균(*Escherichia coli*)

가축 분변에서 분리한 대장균의 항생제 내성률은 Table 4와 같다. Tetracycline(TE30)과 Oxytetracycline (T30)에 대한 내성률이 67.6%로 가장 높게 나타났으며, 그 외 Ampicillin(AM10)이 61.8%, Sulfamethizole (TH.25)이 55.9%, Streptomycin(S10)이 52.9%, Nalidixic acid(NA30)이 17.6%, Amoxicilline(AMC30)이 14.7% 등의 순으로 나타났다. 반면, Ciprofloxacin (CIP5)이 8.8%로 가장 낮은 내성률을 나타내었다. 또한, 항생제 계열별 내성현황은 각각 Tetracyclines 계 67.6%, Penicillins계 38.2%, Aminoglycoside계 52.9%, Sulfonamide계 55.9%로 나타났다.

각각의 시료로부터 분리된 대장균 34균주를 대상으로 8종의 항생제에 대한 내성검사를 한 결과 항생제에 대해 내성을 보이지 않는 균주는 26.5%로 나타났으며, 1종 이상의 항생제에 내성을 갖는 균주가 73.5%로 나타났다. 2종 및 3종 이상에 대한 다제 내성균은 각각 73.5%이었고 4종 이상의 항생제에 내성이 있는 다제 내성균은 70.6%, 5종 이상은

Table 4. Percentage of antibiotic resistance of *E. coli* strains isolated from livestock feces

Class	Antibiotics	No. of isolates (%)
		Total (n=34)
Penicillins	Amoxicillin	5(14.7)
	Ampicilin	21(61.8)
Quinolones	Ciprofloxacin	3(8.8)
	Nalidixic acid	6(17.8)
Tetracyclines	Tetracycline	23(67.6)
	Oxytetracycline	23(67.6)
Sulfonamides	Sulfamethizole	19(55.9)
Aminoglycosides	Streptomycin	18(52.9)

Table 5. Percentage of antibiotic resistance of *E. coli* strains isolated from livestock classification

Class	Antibiotics	No. of isolates (%)					
		Swine feces (n=8)	Cattle feces (n=1)	Fowl feces (n=1)	Swine compost (n=12)	Cattle compost (n=1)	Fowl compost (n=11)
Penicillins	Amoxicillin	2(25.0)	0(0)	1(100)	2(16.7)	0(0)	0(0)
	Ampicilin	8(100)	0(0)	1(100)	11(91.7)	0(0)	1(9.1)
Quinolones	Ciprofloxacin	0(0)	0(0)	0(0)	3(25.0)	0(0)	0(0)
	Nalidixic acid	1(12.5)	0(0)	0(0)	3(25.0)	0(0)	2(18.2)
Tetracyclines	Tetracycline	8(100)	0(0)	1(100)	12(100)	0(0)	2(18.2)
	Oxytetracycline	8(100)	0(0)	1(100)	12(100)	0(0)	2(18.2)
Sulfonamides	Sulfamethizole	8(100)	1(100)	1(100)	6(50.0)	1(100)	2(18.2)
Aminoglycosides	Streptomycin	6(75.0)	0(0)	1(100)	11(91.7)	0(0)	0(0)
Average		64.1	12.5	75.0	62.5	12.5	10.2

44.1%로 나타났다. 또한, 6종 이상의 항생제에 내성을 갖는 균주도 11.8%였으며 7종과 8종 이상에 대한 다재내성균도 각각 8.8%, 2.9%인 것으로 조사되었다.

각각의 가축분변 시료 및 퇴비에서 분리한 대장균 34균주의 항생제계열 및 가축시료별 내성검사 결과를 Table 5에 나타내었다.

(1) 돈분 분리 대장균

돈분으로부터 분리한 대장균 8종의 균주를 대상으로 항생제 8종의 내성 검사 결과 Tetracycline, Oxytetracycline, Sulfamethizole, Ampicilin에서 100% 내성을 보였으며, Streptomycin이 75.0%, Amoxicilline이 25.0%, Nalidixic acid 12.5% 등의 순으로 나타났다. 반면, Ciprofloxacin에는 내성이 없는 것으로 나타났다. 항생제 계열별로는 Tetracyclines 계, Sulfonamides 계가 100%의 내성률을 나타냈다.

(2) 돈분퇴비 분리 대장균

돈분퇴비로 부터 분리한 대장균 12종의 균주를 대상으로 항생제 8종의 내성 검사 결과 Tetracycline, Oxytetracycline에 100% 내성을 보였으며, Streptomycin 과 Ampicilin이 91.7%, Sulfamethizole 50.0%, Ciprofloxacin과 Nalidixic acid이 25.0% 등의 순으로 나타났다. 반면, Amoxicilline에는 내성률이 16.7% 가장 낮게 나타났다. 항생제 계열별로는 Tetracyclines 계가 100%의 내성률을 나타냈다.

(3) 계분 분리한 대장균

계분으로 부터 분리한 대장균 1종의 균주를 대상으로 항생제 8종의 내성 검사 결과 Tetracycline, Oxytetracycline, Sulfamethizole, Streptomycin, Ampicilin, Amoxicilline에 내성을 보였으며, Quinolones 계인 Ciprofloxacin, Nalidixic acid에는 내성이 없는 것으로 나타났다.

(4) 계분퇴비 분리 대장균

계분퇴비로 부터 분리한 대장균 11종의 균주를 대상으로 항생제 8종의 내성 검사 결과 Tetracycline, Oxytetracycline, Nalidixic acid, Sulfamethizole에 18.2% 내성을 보였으며, Ampicilin이 9.1%로 나타났다. 반면, Amoxicillin, Ciprofloxacin, Streptomycin에는 내성이 없는 것으로 나타났다.

(5) 우분 분리 대장균

우분으로 부터 분리한 대장균 1종의 균주를 대상으로 항생제 8종의 내성 검사 결과 Sulfonamides계인 Sulfamethizole에만 내성을 보였으며, 나머지 항생제에는 내성이 없는 것으로 나타났다.

(6) 우분퇴비 분리 대장균

우분퇴비로 부터 분리한 대장균 1종의 균주를 대상으로 항생제 8종의 내성 검사 결과 우분에서 분리한 대장균과 동일하게 Sulfonamides계인 Sulfamethizole에만 내성을 보였으며, 나머지 항생제에는 내성이 없

는 것으로 나타났다.

IV. 고 찰

분리된 호기성세균 67균주에 대한 항생제 및 가축 시료별 내성 검사 결과 가축분변유래 항생제 내성균주의 분포비율은 계분이 35.5%로 가장 높았으며 돈분 23.1%, 돈분 18.2%, 우분 14.9%, 우분 8.2% 순으로 감소하였다. 가축분변만으로 비교하면 내성균주의 분포비율은 계분, 돈분, 우분 순으로 나타났다.

항생제 별로 내성률을 살펴보면 Lincomycin(L2) 내성균주의 분포 비율은 전 검체에서 평균 77.8%로 높게 나타났으며, Vancomycin(VA30) 내성균주는 돈분에서만 27.3%의 높은 내성률을 나타내었다. 또한 Gentamycin(GM10)의 내성균주의 경우는 모든 검체에서 내성이 없는 것으로 나타났다. Ciprofloxacin(CIP5)의 내성균주는 돈분, 돈분, 우분, 우분 비에서는 내성이 없는 것으로 나타났으며, 계분에서만 15.4%의 내성을 나타냈다.

축산농가에서 사용량이 가장 많은 Tetracyclines계 항생제에 대한 내성률은 돈분에서 27.3%, 계분에선 92.3%의 높은 값을 나타내었다.

계분에서 내성균주의 분포비율이 높게 나타난 원인은 닭 배합사료를 주먹이로 이용하지만 돼지의 경우 주로 잔류음식물을 먹이로 주고, 소의 경우 풀을 사료로 사용하기 때문이라고 사료된다.¹⁸⁾

돈분의 경우 항생제의 사용이 다른 농가에 비해 많은 것으로 추정되는 새끼 돼지 사육시설 돈분 시료에서 다제 내성균주의 검출이 높게 나타났다. 또한 닭의 경우도 돼지와 동일하게 사료에 항생제가 다수 포함되어 있으며, 가축이 사료를 소화한 후에 흡수되지 않은 항생제는 분변을 통하여 환경에 노출가능성을 제시해준다.

각각의 가축분변 시료 및 퇴비에서 분리한 대장균 34균주의 항생제계열 및 가축시료별 내성검사 결과 가축분변유래 항생제 내성균주의 분포비율은 계분이 75.0%로 가장 높았으며 돈분 64.1%, 돈분 62.5%, 우분과 우분 12.5% 순으로 감소하였다. 가축분변으로 보았을 때 내성균주의 분포비율은 계분, 돈분, 우분 순으로 나타났다. 또한 우분과 우분

퇴비에서는 Sulfamethizole을 제외한 7종의 항생제에 대해서는 내성이 없는 것으로 나타났다. 축산농가에서 항생제 계열별 사용량이 가장 많은 Tetracyclines 계, Penicillins 계, Sulfonamides 계 항생제에 대한 내성률이 높은 값을 나타내었다.

호기성세균과 마찬가지로 계분에서 내성균주의 분포비율이 75.0%로 높게 나타난 것은 닭은 주로 사료를 먹이로 이용하지만 돼지의 경우 주로 식물물을 먹이로 주고, 소의 경우 풀을 사료로 사용하기 때문이라고 사료된다.¹⁹⁾

가축 분변에서 분리한 대장균의 항생제 내성률 중 Tetracyclines 계열이 가장 높은 내성률을 나타낸 것은, Tetracycline이 가축에서 오래전부터 질병 예방 및 성장촉진 목적으로 사용되어 왔고 현재에도 전체 항생제중 약 50% 이상 사용되고 있기 때문이라 사료된다. 2004년 이후에 Tetracyclines 계열의 연간 소비량은 약 600~700톤으로서 전체 사용량의 약 40~50% 정도를 차지하고 Tetracyclines 계열의 배합사료 내 첨가용 항생제 허가 품목을 감축 하여 점차 그 사용량이 감소하고 있는 추세이다.²⁰⁾

2008년 대장균의 Tetracycline 내성실태는 가축 71.8%, 축산물 74.1%로 나타났으며, 사용량이 39% 감소하여 대장균의 Tetracycline 내성률이 4~6% 감소하는 성과를 거두었다는 보고 수치와 항생제 내성률 2005년에 비해 2006년에는 전반적으로 항생제 내성률이 낮아지는 경향을 보인 연구결과²¹⁾ 등으로 보아 대장균의 Tetracycline 내성률은 감소하는 추세를 보이고 있는 것으로 사료된다. 그러나 외국의 경우와 비교해 보면 미국 42%, 이탈리아 19.6%, 프랑스 0%로 국내 내성률이 아직까지는 다소 높은 것으로 나타났다.^{22,23)}

향후 항생제 사용량과 내성율과의 직접적인 연관성을 조사하기 위해서는 시료 채취 농가의 항생제 사용에 대한 정보를 파악함과 동시에 내성률을 검토하고 동일 농가에 대해 반복적인 조사가 필요할 것으로 사료되며, 외국의 경우와 같이 지속적인 모니터링과 이에 대한 대책의 필요성이 요구된다. 또한 내성률 결과와 같이 다제 내성균주의 수질환경으로의 전이가 우려되므로 축산폐수처리내 항생제 내성균의 처리방안과 축산 환경개선의 필요성이 매우 높다.

V. 결 론

본 연구에서는 항생제 내성균주에 대한 생태유해성이나 공중보건위해성의 측면에서 가축분변 및 퇴비로부터 일반세균과 *E. coli* 균주를 분리하여 항생제 내성균 분포와 현황을 통해 가축분변 및 퇴비중의 항생제 다제내성균의 오염실태를 조사하여 다음과 같은 결론을 도출하였다.

1. 가축분변유래 호기성세균과 대장균의 항생제 내성검사 결과 1종 이상의 항생제에 내성을 갖는 균주가 각각 83.6%, 73.5%로 나타났다. 5종 이상의 항생제에 내성을 갖는 균주도 각각 17.9%, 44.1%로 높은 내성률을 보였다. 따라서 축산폐수 처리시 내성균 처리공정 도입이 요구된다.

2. 항생제 감수성 정도를 검사한 결과 가축분변유래 호기성세균의 항생제 내성균주의 분포비율은 계분이 35.5%로 가장 높았으며 돈분퇴비 23.1%, 돈분 18.2%, 우분 14.9%, 우분퇴비 8.2% 순으로 나타났다.

3. 가축분변유래 호기성세균의 항생제별 내성률은 Lincomycin이 79.1%로 가장 높게 나타났으며, 평균 19.3%의 내성률을 나타내었다.

4. 대장균의 항생제 내성 검사 결과 가축 분변에서 분리한 대장균은 8종의 검사 항생제 중 Tetracycline (TE30)과 Oxytetracycline(T30)의 내성률이 67.6%로 가장 높게 나타났다. 이는 식품의약품안전청 “국가 항생제내성안전관리사업”에서 조사된 '08년 대장균의 Tetracycline 내성실태 결과와 유사하였다.

5. 분리된 대장균의 내성균주 분포는 계분 75.0%, 돈분 64.1%, 돈분퇴비 62.5%, 우분 및 우분퇴비가 12.2%로 나타났다.

감사의 글

이 논문은 2010년도 호서대학교의 재원으로 학술연구비 지원을 받아 수행된 연구임(2010-0083).

참고문헌

1. Kim SP, Jensen JN, Aga DS, Weber AS. Tetracycline as a selector for resistant bacteria in activated sludge. *Chemosphere*. 2007; 66: 1643-1651.
2. Fent K, Weston AA, Caminada D. Ecotoxicology of

- human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology*. 2006; 76: 122-159.
3. Jones OAH, Voulvoulis N, Lester JN. Aquatic environmental assessment of the top 25 English prescription pharmaceuticals. *Water Research*. 2002; 36: 5013-5022.
4. Hanzawa Y, Oka C, Ishiguro N, Sato G. Antibiotic-resistant coliforms in the waste of piggeries and dairy farms. *Nippon Juigaku Zassh*. 1984; 46: 363-372.
5. Klare I, Badstubner D, Konstabel C, Bohme G, Claus H, Witte W. Decreased incidence of VanA-type vancomycinresistant enterococci isolated from poultry meat and from fecal samples of humans in the community after discontinuation of avoparcin usage in animal husbandary. *Microb Drug Resist*. 1999; 5: 45-52.
6. Mathew AG, Saxton AM, Upchurch WG, Chattin SE. Multiple antibiotic resistance patterns of *Escherichia coli* isolates from swine farms. *Appl Environ Microbiol*. 1999; 65: 2770-2772.
7. Choi JE, Lee EY. An investigation on the antibiotic resistant condition and label-stated of domestically distributed livestock-environment improving agents. *Kor J Microbiol Biotechnol*. 2009; 37: 258-265.
8. Jung SC. Report on control of antimicrobial resistant bacteria in Korea. *Kor Food & Drug Admini*. 2003; 198: 198-203.
9. Cook M, Moloto E, Anerson C. Fluorochrome labelling in roman period skeletons from dakhleh oasis, Egypt. *Am J Phys Anthropol*. 1989; 80(2): 137-143.
10. Iwane T, Urase T, Yamamoto K. Possible impact of treated wastewater discharge on incidence of antibiotic resistant bacteria in river water. *Water Sci Technol*. 2001; 43(2): 91-99.
11. Joseph SW, Hayes JR, English II, Carr IF, Wagner DD. Implications of multiple antimicrobial-resistant enterococci associated with the poultry environment. *Food Addit Contam*. 2001; 18: 1118-1123.
12. Rhodes G. Distribution of oxytetracycline resistance environments: implication of T721 in dissemination of the tetracycline resistance determinant Tet A. *Appl Environ Microbiol*. 2000; 66: 7813-7820.
13. Bae MS, Choi GG, Park SH, Choi MS, Lee GH. Annual population variation and identification of antibiotic-resistant bacteria in the lower lake Geumgang. *J Ecol Field Biol*. 2001; 27(5): 283-289.
14. Lee YO, Cho JL, Kim SH, Kim SD, Heo SN, Lee HJ. Comparative studies on detecting methods for fecal indicators. *J Kor Soc Water Environ*. 2006;

- 22(6): 1052-1059.
15. Chu DS, Kwon HK, Lee SE, Lee JH. A study on indicator bacteria for water quality management of urban artificial lakes. *Kor J Env Hlth.* 2007; 33(4): 299-305.
 16. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. 7th ed. M20A7. 2000.
 17. NCCLS (national committee for clinical laboratory standards)
 - Mcfarland Turbidity 0.5 standard
 - : 1.175% barium chloride dihydrate ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
 - 0.5 ml + 1.0% sulfuric acid (H_2SO_4) 99.5 ml
 18. Moon GH, Lee JC. Antibiotic resistance in gram negative enteric bacteria isolated from feces of domestic animals. *Yakhak Hoeji.* 1986; 30(1): 51-54.
 19. Moon KH. Antibiotic resistance in gram negative enteric bacteria isolated from feces of domestic animals. *Yakhak Hoeji.* 1986; 30(1): 51-54.
 20. Jung SC. Establishment of control system of antibiotics for livestock. Seoul: KFDA Press; 2006. p.19-27.
 21. Lim SK, Lee HS, Byun JR, Park SY, Jung SC. Antimicrobial resistance of commensal bacteria isolated from food-producing animals I. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. isolated from cattle faecal samples. *Kor J Vet Publ Hlth.* 2007; 31(1): 21-29.
 22. Bywater R, Deluyker H, Deroover E, Jong A, Marion H, McConville M, et al. A European survey of antimicrobial susceptibility among zoonotic and commensal bacteria isolated from food-producing animals. *Appl Environ Microbiol.* 2007; 73: 156-163.
 23. Sawant AA, Hegde NV, Straley BA, Donaldson SC, Love BC, Knabel SJ, et al. Antimicrobial resistance enteric bacteria from dairy cattle. *Appl Environ Microbiol.* 2007; 73(1): 156-163.