

## 하천에서의 Oxytetracycline 내성주에 관한 연구

김영진 · 김종오\*

(주)청룡환경, \*동남보건대학교 환경보건과

### Study on Oxytetracycline Resistant Bacteria in the Surface Water Environment

Young Jin Kim and Jong Oh Kim\*

Chung Ryong Environment Co., LTD, Seoul, Korea

\*Department of Environmental Health, Dongnam Health University, Gyeonggy, Korea

#### ABSTRACT

**Objectives:** This study aims to understand the concentration, diversity, and antibiotic characteristics of oxytetracycline resistant bacteria present in a surface water environment.

**Methods:** Water sampling was performed in Cheongmi Stream in Gyeonggi-do, Korea in February and August 2014. Water samples collected from two sites were plated in triplicate on tryptic soy agar plates with 30 mg/L of oxytetracycline. Oxytetracycline resistant bacteria were selected from surface water in Cheongmi Stream and were subjected to 16S rDNA analysis for oxytetracycline resistant species determination. Identified resistant strains were tested for resistance to various antibiotics.

**Results:** Results from this study indicate that the dominant resistant organisms in this aquatic environment are from family *Acinetobacter* and family *Aeromonas*. As to culturable heterotrophic bacteria, Oxytetracycline resistant bacteria were present 0.45-0.93% during winter and 0.08-0.38% during summer. Most oxytetracycline resistant bacteria exhibited resistance to more than ten of the antibiotics studied. The diversity of oxytetracycline resistant bacteria in winter was higher than in summer.

**Conclusion:** Most of these resistant bacteria are Gram negative and are closely related to pathogenic species. These results suggest that increasing multi-antibiotic resistant bacteria in the surface water environment has a close relation to the reckless use of antibiotics in livestock.

**Keywords:** *Acinetobacter*, *Aeromonas*, Multidrug-resistant, Oxytetracycline, Surface water

#### I. 서 론

항생제는 의료계 및 축산업계에서 미생물에 의한 감염 치료 또는 예방을 목적으로 폭넓게 사용되고 있다. 축산업에서는 이와 같은 목적 이외에 가축의 성장을 촉진하게 위해 사용되기도 하는데, 이 경우 3~5%의 체중이 증가한다고 알려져 있다. 가축의 성

장을 촉진할 목적으로 항생제를 사용하는 것은 여러 가지 문제점을 일으킬 수 있는데, Fig. 1을 보면 축산분야에서 항생제 사용은 해당분야에 항생제 내성균의 선별 및 전파뿐만 아니라 출현한 항생제 내성균은 환경, 먹이사슬, 인간의 건강과도 밀접하게 작용할 수 있다는 것을 보여주고 있다.<sup>1)</sup> 이와 같은 상황은 영국의 몇몇 비육장에서 *S. typhimurium*의 특

<sup>1</sup>Corresponding author: Department of Environmental Health, Dongnam Health University, Gyeonggy, 440-714, Korea, Tel: +82-31-249-6452, Fax: +82-31-249-6450, E-mail: jongokim@dongnam.ac.kr  
Received: 21 January 2015, Revised: 30 January 2015, Accepted: 14 February 2015

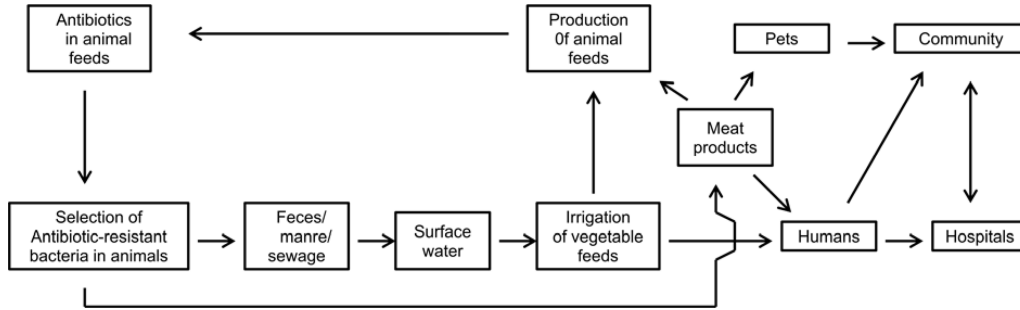


Fig. 1. Schematic diagram of the occurrence of transborder resistance by the agricultural use of antibiotics in animal feed.<sup>1)</sup>

정한 균주에서 처음 확인되었으며 수년에 걸쳐 항생제에 대해 내성을 갖는 세균들이 발표되었다.<sup>2)</sup>

국내에서의 일부 연구에 의하면 가축분뇨 및 퇴비에서 분리한 균주를 대상으로 실험한 결과에 의하면 83.6%가 1종 이상의 항생제에 대해 내성을 보이고 있으며 5종이상의 항생제에 대해서도 내성을 보이는 균주가 17.9%를 차지하고 있다.<sup>3)</sup> 또한 축산농가 주변 환경에서의 *E. coli*, *S. aureus*, *C. jejuni*, *E. faecium* 등을 분리하여 항생제 내성을 테스트한 결과, 하나 이상의 항균제에 대해 내성을 보이는 경우가 77.1%였고, 4개 이상의 항생제에 내성을 보이는 경우도 12.4%를 나타냈다.<sup>4)</sup>

국내에서 축산용 항생제 사용량은 2012년 약 936톤으로 점차 사용량이 감소하고 있으나 아직도 사용량이 많다.<sup>5)</sup> 축산업에 사용되는 항생제 중 tetracycline계 항생제가 282톤으로 가장 많이 사용되고 있다. 이 tetracycline(TC)계 항생제는 actinobacteria에 의해 생산되는 광범위 항생물질로 aminoacyl-tRNA의 ribosome결합을 방해하여 단백질의 합성을 저해한다. TC는 값이 저렴하고 부작용도 적어 어류양식, 가금류 사육 등 어업이나 축산업에서 치료 목적 외에 성장을 촉진할 목적으로 널리 사용되고 있다.<sup>6)</sup>



Fig. 2. Sampling sites in this study.

국내에서 사육되고 있는 가축에서의 tetracycline 내성률을 보면, 소의 내성률은 47.2%, 돼지는 75.5%, 닭은 78.5%의 높은 내성률을 보이고 있다.<sup>5)</sup> 또한, 이 tetracycline계 항생물질은 국내의 수생 생태계에서 검출된다는 보고가 있으며,<sup>7,8)</sup> 일부 하천에서 분리된 세균에서도 낮은 비율이지만 tetracycline에 대해 내성을 보이고 있다고 보고되고 있다.<sup>9)</sup>

따라서 본 연구는 축산업에서 발생된 폐수를 통해 방류되는 oxytetracycline의 농도를 하천에서 측정하였으며, oxytetracycline에 대해 내성을 보이는 균의 농도 및 종의 다양성을 동절기 및 하절기에 조사하였다. 또한 기존 논문을 보면 특정한 항생제에 내성을 갖는 세균을 확인하는데 그쳤으나 본 논문에서 이들 내성균들의 항균제 spectrum도 조사하였다. 기 타항목으로 이들 하천 세균의 성장에 영향을 미치는 수온, pH, total organic carbon, total nitrogen, total phosphorus, dissolved oxygen를 조사하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 채취지점 및 채취방법

시료를 채취 대상인 하천인 청미천은 경기도 광주시 일죽면과 이천시 장호원읍을 통과하여 남한강으로 합류하는 하천이다.<sup>10)</sup> 이 청미천이 통과하는 일죽면은 2012년 현재 한우 10,966두, 돼지 148,900두 및 젓소 3,922두로 전국에서 최대로 사육되고 있는 면단위지역이다.<sup>11)</sup> 채취지점(Fig. 2)일죽면 당촌리에 위치한 행죽보(S1)와 장호원읍 대서리의 중태봉 양수장(S2)으로 2월과 8월에 각각 3개 지점에서 약 300 mL씩을 채취해 1 L 무균채수병에 혼합한 후 냉장보관하여 실험실로 이동하였다.

## 2. 청미천 수질조사

청미천의 수온, 용존산소농도 (dissolved oxygen), pH는 DO/pH meter (DH-32P, Toa, Japan)으로 측정하였다. 하천의 총질소, 총인 및 총유기탄소는 분석 전에 0.45 µm 기공의 여과지 (Advnatec, Japan)를 사용하여 부유물질을 제거하였으며, 총질소 및 총인은 연속측정기인 Integral Futura (Alliance, USA)로 측정하였으며, 총유기탄소는 TOC-L (Shimadzu, Japan)을 이용하여 분석하였다.

## 3. 하천에서의 oxytetracycline 농도측정

청미천 하천수의 oxytetracycline을 분석하기 위해 2690 HPLC(Waters, USA)와 Mass Selective ZQ 2000(micro mass, USA)을 직렬로 연결시킨 LC/MSD를 사용하였다. 시료는 분석 전에 0.45 µm 기공의 여과지 (Advnatec, Japan)를 사용하여 부유물질을 제거하였다. Oxytetracycline 분석을 위한 전처리 및 분석방법은 Kim 등<sup>12)</sup>의 방법을 변형하여 사용하였다.

## 4. 증속영양세균 및 항생제 내성균 분리

### 1) 증속영양세균 측정

시료 내 증속영양세균의 수를 파악하기 위해 멸균된 생리식염수로 희석하여 tryptic soy agar (Difco, USA)에 0.1 mL씩 3장에 도달하여 35°C에서 24시간 배양하였다.

### 2) Oxytetracycline 내성균 선별

Tryptic soy agar (Difco, USA)에 oxytetracycline (Sigma-Adrich, USA)을 30 mg/L의 농도로 첨가한 후 0.1 mL씩 3장에 도달하고 35°C에서 24시간 배양하여 하천 내 oxytetracycline에 내성을 보이는 균을 확인하였다.<sup>13)</sup>

## 5. Oxytetracycline 내성균의 동정

Oxytetracycline 내성균은 16S rDNA를 이용한 방법으로 Kim 등<sup>14)</sup>의 방법을 이용하여 균을 동정하였다. 내성균의 동정을 위한 세균의 16S rDNA의 증폭은 순수분리한 세균의 콜로니를 이용하여 colony PCR을 수행하였다.

## 6. Oxytetracycline 내성균의 항생제 내성조사

동정이 확인된 세균의 항생제 감수성 조사는 디스

**Table 1.** Water quality of Cheongmicheon during this study

	February(2014)		August(2014)	
	S1	S2	S1	S2
Temperature (°C)	1.7	2.4	25.0	24.2
pH	7.52	7.42	7.12	7.20
Dissolved oxygen (mg/L)	13.1	12.9	5.7	5.6
Total organic carbon (mg/L)	1.501	1.503	2.972	3.066
Total phosphorus (mg/L)	0.132	0.114	0.068	0.057
Total nitrogen (mg/L)	6.381	6.595	2.629	2.162
Oxytetracycline (µg/L)	ND	ND	ND*	0.155

Note. \*ND : not detected

크 확산법을 사용하였다.<sup>14)</sup> 35°C에서 22시간 배양하여, 억제대의 직경을 mm 단위로 측정하여 Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) guideline,<sup>15)</sup> Sutter,<sup>16)</sup> Finlay<sup>17)</sup>에 따라 해석 하였다.

## III. 결 과

### 1. 하천수질조사 결과

행죽보 (S1)와 종태봉양수장 (S2)의 조사 기간 중 수질측정 결과는 Table 1과 같다. 동절기의 수온은 1.7 ~2.4°C, 하절기 수온은 24.2~25.0°C 이었다. pH는 7.12~7.52로 계절별 차이가 크지 않았다. 용존산소는 동절기에 12.9~13.1 mg/L, 하절기는 5.6~5.7 mg/L이었다. 총유기탄소는 동절기에 1.5 mg/L, 하절기에 3.0 mg/L로 두 지점의 차이는 없었다. 총인은 동절기에 0.11~0.13 mg/L, 하절기에는 0.057~0.068 mg/L의 농도였다. 총질소는 동절기에는 6.4~6.6 mg/L, 하절기에는 2.2~2.6 mg/L이었다.

행죽보의 동절기 및 하절기 시료, 종태봉 양수장의 동절기 및 하절기 시료의 oxytetracycline을 분석한 결과 4개의 시료 중 종태봉의 하절기 시료에서 0.155 µg/L의 농도를 확인하였다.

### 2. 증속영양세균 및 항생제 내성균수

Table 2를 보면 증속영양세균의 수는 행죽보의 경우 동절기에는  $6.0 \times 10^3 (\pm 5.0 \times 10^2)$  CFU/mL, 하절기는  $3.9 \times 10^4 (\pm 4.5 \times 10^3)$  CFU/mL이었다. 종태봉 양수장은 동절기에  $4.0 \times 10^3 (\pm 8.0 \times 10^2)$  CFU/mL, 하절기에는  $1.4 \times 10^4 (\pm 1.3 \times 10^3)$  CFU/mL의 빈도를 나타냈다.

**Table 2.** Heterotrophic bacteria and oxytetracycline resistant bacteria

	February		August	
	S1	S2	S1	S2
Tryptic soy agar (non-antibiotic) CFU/mL	6.0×10 <sup>3</sup> ±5.0×10 <sup>2</sup>	4.0×10 <sup>3</sup> ±8.0×10 <sup>2</sup>	3.9×10 <sup>4</sup> ±4.5×10 <sup>3</sup>	1.4×10 <sup>4</sup> ±1.3×10 <sup>3</sup>
Tryptic soy agar (+ oxytetracycline) CFU/mL	2.7×10±1.5×10	3.7×10±3.1×10	3.0×10±1.1×10	5.3×10±3.5×10

**Table 3.** Number of isolated oxytetracycline bacteria

	February		August	
	S1	S2	S1	S2
<i>Acinetobacter haemolyticus</i>			5	
<i>Acinetobacter johnsonii</i>			4	1
<i>Aeromonas allosaccharophila</i>	1			
<i>Aeromonas hydrophila</i>				4
<i>Aeromonas media</i>		1		11
<i>Escherichia coli</i>	2	1		
<i>Enterococcus faecium</i>		2		
<i>Escherichia fergusonii</i>		3		
<i>Kluyvera intermedia</i>	1			
<i>Morganella morganii</i>		1		
<i>Pseudomonas cedrina</i>		1		
<i>Pseudomonas psychrophila</i>	2			
<i>Psychrobacter faecalis</i>	1			
<i>Shigella flexneri</i>		2		
<i>Staphylococcus lentus</i>	1			

Oxytetracycline에 내성을 나타내는 균의 수를 보면 행죽보의 경우 동절기에는 3개의 평판에서 8개의 콜로니 (2.7×10±1.5×10 CFU/mL), 하절기에는 9개 콜로니 (3.0×10±1.1×10 CFU/mL)가 확인되었다. 종태봉양수장의 경우 3개의 평판에서 동절기에는 11개 콜로니 (3.7×10±3.1×10 CFU/mL), 하절기에는 16개 콜로니 (5.3×10±3.5×10 CFU/mL)가 확인되었다.

**3. Oxytetracycline 내성균의 동정**

Oxytetracycline이 첨가된 배지에서 출현한 내성균을 16S rDNA를 이용하여 균을 동정한 결과는 Table 3에 나와 있다.

행죽보 동절기 시료에서는 *Pseudomonas psychrophila*가 2개 콜로니, *Escherichia coli* 2개 콜로니, *Psychrobacter faecalis*, *Kluyvera intermedia*, *Staphylococcus lentus*, *Aeromonas allosaccharophila*가 각각 1개 콜로니 등 총 8개 콜로니가 확인되었다. 하절기

시료에서는 *Acinetobacter johnsonii*와 *Acinetobacter haemolyticus*의 *Acinetobacter*속만이 확인되었으며 각각 5개와 4개의 콜로니가 확인되었다.

종태봉 양수장의 동절기 시료에서는 *Escherichia fergusonii*가 3개 콜로니, *Enterococcus faecium* 2개 콜로니, *Shigella flexneri* 2개 콜로니, *Morganella morganii*, *Pseudomonas cedrina*, *Aeromonas media*, *Escherichia coli*가 각각 1개 총 11개의 콜로니가 확인되었다. 종태봉의 하절기 시료에서도 행죽보 처럼 종의 단순화 현상이 발생하고 있으며, *Aeromonas hydrophila*가 4개 콜로니, *Aeromonas media* 11개 콜로니, *Acinetobacter johnsonii*가 1개 콜로니가 확인되었다.

**4. Oxytetracycline 내성주의 항균 spectrum**

Table 4와 Table 6을 보면 행죽보에서 동절기에 분리된 *P. psychrophila*, *E. coli*, *A. allosaccharophila*, *S. lentus*, *P. faecalis*, *K. intermedia* 모두 10종 이상의 항생제에 내성을 보이고 있으며, 하절기에 확인된 *A. johnsonii*는 10종, *A. haemolyticus*는 9종의 항생제에 대해 내성을 나타내고 있다.

Table 5와 Table 7에서 종태봉 양수장의 시료에서 동절기에 확인된 *E. fergusonii*, *S. flexneri*, *M. morganii*, *P. cedrina*, *A. media*, *E. coli*는 10종이상의 항생제에 대해 내성을 보였으나, *E. faecium*만이 4종의 항생제에 대해 내성을 나타냈다. 하절기의 경우도 확인된 *A. hydrophila*, *A. media*, *A. johnsonii* 3종의 내성균 모두 10개 이상의 항생제에 대해 내성을 보였다.

**IV. 고 찰**

청미천의 수질에서 총유기탄소, 총인, 총질소의 농도가 동절기는 하절기에 비해 높게 나타나고 있는데 이는 강수량에 의한 차이로 생각되며, 부영양화를 일으키는 총인과 총질의 농도를 보면 Forsberg와

**Table 4.** Resistant test to various antibiotics of isolated bacteria at S1 on February.

Antibiotic	<i>P. psychrophila</i>	<i>E. coli</i>	<i>A. allosaccharophila</i>	<i>S. lentus</i>	<i>P. faecalis</i>	<i>K. intermedia</i>
	(n=2)	(n=2)	(n=1)	(n=1)	(n=1)	(n=1)
	Resistant(%)	Resistant(%)	Resistant(%)	Resistant(%)	Resistant(%)	Resistant(%)
Oxytetracycline	2(100%)	2(100%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)
Vancomycin	2(100%)	2(100%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)
Clindamycin	2(100%)	2(100%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)
Erythromycin	2(100%)	2(100%)	0(0%)	1(100%)	0(0%)	1(100%)
Gentamicin	0(0%)	1(50%)	1(100%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)
Lincomycin	2(100%)	2(100%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)
Linezolid	2(100%)	2(100%)	1(100%)	0(0%)	1(100%)	1(100%)
Amicillin	2(100%)	2(100%)	1(100%)	0(0%)	0(0%)	1(100%)
Ceftizoxime	2(100%)	2(100%)	0(0%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)
Mupirocin	2(100%)	2(100%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)
Quinupristin/ Dalfopristin	2(100%)	2(100%)	1(100%)	1(100%)	0(0%)	1(100%)
Tetracycline	R(100%)	2(100%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)
Chloramphenicol	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	1(100%)	0(0%)
Ciprofloxacin	0(0%)	2(100%)	0(0%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)

**Table 5.** Resistant test to various antibiotics of isolated bacteria at S2 on February

Antibiotic	<i>E. fergusonii</i>	<i>E. faecium</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>M. morgani</i>	<i>P. cedrina</i>	<i>A. media</i>	<i>E. coli</i>
	(n=3)	(n=2)	(n=2)	(n=1)	(n=1)	(n=1)	(n=1)
	Resistant(%)	Resistant(%)	Resistant(%)	Resistant(%)	Resistant(%)	Resistant(%)	Resistant(%)
Oxytetracycline	3(100%)	2(100%)	2(100%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)
Vancomycin	3(100%)	0(0%)	2(100%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)
Clindamycin	3(100%)	0(0%)	2(100%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)
Erythromycin	3(100%)	1(50%)	2(100%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)
Gentamicin	0(0%)	0(0%)	1(50%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	1(100%)
Lincomycin	3(100%)	1(50%)	2(100%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)
Linezolid	3(100%)	0(0%)	2(100%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)
Amicillin	3(100%)	0(0%)	2(100%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)
Ceftizoxime	3(100%)	2(100%)	2(100%)	1(100%)	0(0%)	0(0%)	1(100%)
Mupirocin	2(66%)	0(0%)	2(100%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)
Quinupristin/ Dalfopristin	3(100%)	0(0%)	2(100%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)
Tetracycline	3(100%)	2(100%)	2(100%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)	1(100%)
Chloramphenicol	0(0%)	0(0%)	0(0%)	1(100%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)
Ciprofloxacin	3(100%)	2(100%)	1(50%)	1(100%)	1(100%)	0(0%)	0(0%)

Ryding<sup>18)</sup>의 부영양화 농도인 총인 0.025~0.1 mg/L와 총질소 0.6~1.5 mg/L를 초과하고 있어 수질오염이 심각하다는 것을 보여주고 있다.

축산폐수가 유입되고 있는 청미천에서 2개의 시료

채취지역에서 동절기 및 하절기 시료의 oxytetracycline을 분석한 결과 한 개의 시료에서 0.155 µg/mL의 낮은 농도로 검출되었으며, 이 농도는 기존에 환경부에서 발표한 농도보다는 낮는데 이는 항생제 사용이

**Table 6.** Resistant test to various antibiotics of isolated bacteria at S1 on August

Antibiotic	<i>A. johnsonii</i> (n=4)	<i>A. haemolyticus</i> (n=5)
	Resistant(%)	Resistant(%)
Oxytetracycline	4(100%)	5(100%)
Vancomycin	4(100%)	5(100%)
Clindamycin	4(100%)	3(60%)
Erythromycin	4(100%)	2(40%)
Gentamicin	0(0%)	0(0%)
Lincomycin	4(100%)	5(100%)
Linezolid	4(100%)	5(100%)
Amicillin	2(50%)	2(40%)
Ceftizoxime	2(50%)	5(100%)
Mupirocin	4(100%)	5(100%)
Quinupristin/ Dalfopristin	4(100%)	5(100%)
Tetracycline	1(25%)	5(100%)
Chloramphenicol	4(25%)	5(100%)
Ciprofloxacin	4(100%)	0(0%)

**Table 7.** Resistant test to various antibiotics of isolated bacteria at S2 on August

Antibiotic	<i>A. hydrophila</i> (n=4)	<i>A. media</i> (n=11)	<i>A. johnsonii</i> (n=1)
	Resistant(%)	Resistant(%)	Resistant(%)
Oxytetracycline	4(100%)	11(100%)	1(100%)
Vancomycin	4(100%)	11(100%)	1(100%)
Clindamycin	4(100%)	11(100%)	1(100%)
Erythromycin	4(100%)	11(100%)	1(100%)
Gentamicin	2(50%)	2(18%)	0(0%)
Lincomycin	4(100%)	11(100%)	1(100%)
Linezolid	4(100%)	11(100%)	1(100%)
Amicillin	4(100%)	11(100%)	0(0%)
Ceftizoxime	4(100%)	5(45%)	1(100%)
Mupirocin	4(100%)	11(100%)	1(100%)
Quinupristin/ Dalfopristin	4(100%)	11(100%)	1(100%)
Tetracycline	4(100%)	11(100%)	1(100%)
Chloramphenicol	4(100%)	2(18%)	0(0%)
Ciprofloxacin	3(75%)	2(18%)	0(0%)

지속적으로 감소하고 있기 때문인 것으로 생각된다.<sup>5)</sup> 종속영양세균의 배양결과를 보면 매우 낮게 나오고

있는데 이는 자연계에 존재하는 세균수보다 실험실에서 배양하게 되는 실제의 균의 수보다 5~10%에 불과하게 배양된다고 하며 본 연구에서도 일반적으로 알려진 하천에서의 균 보다 적은 수로 검출되었다.<sup>19,20)</sup>

두 시료채취장소 모두 하절기가 동절기에 비해 종속영양세균의 수가 약간 증가하고 있으나 그 차이는 크지 않다. 또한 온도상승에 따라 항생제에 내성을 띠는 내성균의 수도 증가하고 있는 있는데 Levy 등<sup>21)</sup>은 균의 수가 증가하면 병원성 세균과 공생관계가 있는 비병원성 세균도 유전자 이동을 통해 항생제 내성유전자를 갖는 내성균이 증가할 수 있다고 보고 하였는데, 본 연구에서도 그와 같은 가능성을 보여 주고 있어 좀더 정밀한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

Oxytetracycline에 대해 내성을 띠는 균의 비율은 전체 종속영양세균에 대해 동절기에서는 0.45~0.93%였으나, 하절기에는 0.08~0.38%로 내성균의 수는 증가하였으나 내성균이 차지하는 비율은 감소하였다. Oh 등<sup>9)</sup>의 하수처리장 방류수에서의 tetracycline 내성을 1.0% 보다는 낮는데 이는 사용한 항생물질의 종류 및 사용된 배지의 차이에 의한 것으로 생각된다. 그러나 ampicillin을 이용한 강에서의 내성균 확인 결과는 배양 가능한 종속영양세균에 대해 3.9~59.2%로 내성율이 높다고 알려져 있다. 또한 이들 ampicillin에 대해 내성을 보이는 균들도 non β-lactam계 항생제에도 내성을 보이고 있어 환경에서의 다제 내성균은 일반적인 현상이라고 할 수 있으며, 본 연구에서도 oxytetracycline에 내성을 보인 균주들은 모두 다제내성균임을 확인할 수 있었다.<sup>9,20)</sup>

2개의 시료채취지점에서 계절에 따른 oxytetracycline 내성균의 종 다양성을 보면 행죽보의 경우 동절기에는 6종이, 하절기에는 단지 2종만이 확인되었다. 종태봉 양수장의 경우도 동일한 현상이 발생하고 있는데 동절기에는 7종이, 하절기에는 3종이 확인되었는데 이와 같은 현상은 하천환경에서 종의 변화를 연구한 Kim의 연구<sup>22)</sup>와도 일치하는 결과를 보이고 있다. 행죽보의 시료에서 하절기에는 *Staphylococcus lentus*의 1종의 그람 양성균만이 검출되었으며 하절기에는 모두 그람 음성균만 검출되었다. 종태봉 양수장의 경우도 동절기에는 *E. faecium*의 1종의 그람 양성균만이 검출되었고 하절기에는 모두 그람 음성균으로 일반적으로 담수의 경우 그람 음성 간균이 우점종을 보이고 있다는 것과 일치하고 있다.<sup>23)</sup>

행중보의 동절기에 확인된 oxytetracycline 내성균인 *Aeromonas allosaccharophila*, *Escherichia coli*, *Kluyvera intermedia*, *Pseudomonas psychrophila*, *Psychrobacter faecalis*, *Staphylococcus lentus* 모두 vancomycin에 내성을 보이고 있으며, vancomycin 내성균에 사용되는 linezolid에 대해서도 *S. lentus*를 제외하고는 내성을 보이고 있다. 또한 이들 내성균 모두가 clindamycin, lincomycin, tetracycline에 내성을 보이고 있으며 6개 균 모두 10종 이상의 항생제에 내성을 보이고 있어 기존의 수생생태계에서의 항생제 내성균 연구처럼 다제내성균의 심각성을 보여주고 있다.<sup>20</sup> 하절기의 경우 *Acinetobacter haemolyticus*, *Acinetobacter johnsonii* 2종의 내성균만이 확인되었으며 이들 모두 vancomycin과 linezolid 등 10종의 항생제에 내성을 나타내고 있다.

종태봉 양수장의 동절기 시료에서는 *Aeromonas media*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia fergusonii*, *Morganella morganii*, *Pseudomonas cedrina*, *Shigella flexneri* 등 7종의 내성균이 확인되었으며 이들 중 *E. faecium*을 제외하고는 vancomycin과 linezolid 등 10종 이상의 항생제에 내성을 보였다. 특히, *M. morganii*의 경우 실험한 항생제 중 gentamicin을 제외한 13종에 대해 내성을 보이고 있다. 하절기의 경우 *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas media*, *Acinetobacter johnsonii* 등 3종의 내성균이 확인되었으며 이들도 10종 이상의 항생제에 내성을 나타내고 있다.

행중보에서 하절기에 절대 우점종으로 나타나는 *Acinetobacter*속은 자연계 특히, 토양에 흔하게 분포하는 그람 음성 간균이다. *Acinetobacter*는 면역기능이 떨어진 사람에게서는 생명에 치명적인 감염을 일으킬 수 있으며, 일부는 광범위한 항생제 내성을 보이기도 한다. *Acinetobacter*는 중환자실 같은 곳에서 원내감염으로 흔히 발견된다. 본 연구에서는 확인되지 않았지만 *A. baumannii*는 원내감염 원인균 중 하나이며 특히 호흡장치와 관련된 폐렴의 원인균으로 작용하며, 피부나 상처감염 뿐만 아니라 균혈증과 뇌막염을 일으킬 수 있다. 역학조사에 의하면 *Acinetobacter*는 의료장비에 대한 부착능력에 뛰어나서 biofilm을 만들어 치주염, 혈액감염, 요도감염에 중대한 역할을 하고 있다. 이들 *Acinetobacter*가 갖는 항생제내성 maker는 plasmid에 기인하며 이들

plasmid는 horizontal gene transfer방식에 의해 다른 병원성 세균에 전달될 수 있다. 따라서 *Acinetobacter*속은 의료장비 표면에 부착하는 능력, biofilm을 만드는 능력, 항생제에 대한 저항성 및 이들 저항성 유전자를 전달하는 능력으로 인해 전파의 가능성이 높기 때문에 폭넓은 연구가 필요하다.<sup>24)</sup>

종태봉 양수장에서 하절기에 우점종으로 나타나는 *Aeromonads*는 수생생태계, 어류, 식품, 애완동물, 무척추동물, 조류, 진드기 및 곤충류, 자연 토양 등에서 발견되는 그람 음성 간균이다. 특히 이 *Aeromonas*속은 강, 호수, 저수지, 강하구, 음용수, 지하수, 하수, 하수처리장 슬러지 등과 같은 수생생태계에서는 상재하고 있으며, 하수처리장 슬러지에서는 최고  $10^8$  CFU/mL까지도 검출되고 있다. 일반적으로 정지수보다는 흐르는 물에서 흔히 발견되고 25°C~35°C에서 빈도가 높다. 특히 *A. hydrophila*는 광범위한 범위의 온도, conductivity, pH, turbidity에서 발견되고 있다. 특히 문제가 되는 것은 해산물, 닭고기, 돼지고기, 쇠고기 등의 식품에서  $10^2$ ~ $10^5$  CFU/g 검출되고 있어 건강의 위해요인으로 작용할 수 있다. 급성 장염 같은 질병부터 패혈증, 뇌사성 근막염, 근괴사와 같은 치명적인 질환을 일으킬 수 있다고 알려지고 있다. 기존의 연구에 의하면 이 *Aeromonas*속은 tetracycline계, erythromycin, chloramphenicol에 대해 민감하다고 알려져 있으며 특히  $\beta$ -lactamase를 갖고 있어 penicillin계 항생물질에 대한 내성을 갖고 있는 것으로 알려지고 있다. 그러나 fluoroquinolone인 ciprofloxacin에 대해서는 민감하다고 알려져 있는데 본 연구에도 민감하게 나타나고 있다.<sup>25)</sup>

국내축산환경에서 분리한 여러 균들의 항생제 내성률이 높다는 결과와 더불어 본 실험에서 분리한 여러 균들이 다양한 종류의 항생제에 내성을 보이고 있었다. 이는 향후 국내에서도 내성균 문제는 심각한 상황으로 발전할 가능성이 있음을 시사하고 있다. 이와 같은 항생제 내성균은 식품을 통해 인간에 대한 노출의 위험성을 증가시키며 내성균은 통상적인 항생제 치료를 어렵게 하거나 불가능하게 할 수도 있다. 국내에서는 정확한 정보는 없지만 미국의 경우 약 200만 명이 항생제 내성균에 의한 질병에 걸리고 약 23,000명이 내성균에 의해 사망되고 있다고 추정되고 있어 국내에서도 정확한 실태조사가 필요하다고 생각된다.<sup>26)</sup>

## V. 결 론

면단위 지역으로는 가장 많은 가축을 사육하고 있는 안성시 일죽면을 흐르는 축산폐수가 유입되고 있는 청미천의 2개 지점에서 oxytetracycline 내성균의 빈도, 종류, 내성균의 항생제 spectrum을 조사하였다. 이들 지역에서의 종속영양세균의 빈도는 동절기에  $4.0 \times 10^3 \sim 6.0 \times 10^3$  CFU/mL, 하절기는  $1.4 \times 10^4 \sim 4.0 \times 10^3$  CFU/mL였다. Oxytetracycline 내성균의 빈도는 동절기  $2.7 \times 10 \sim 3.7 \times 10$  CFU/mL, 하절기  $3.0 \times 10 \sim 5.3 \times 10$  CFU/mL로 하절기가 높았다. 이들 내성균의 종속영양세균에 대한 비율은 동절기에서는 0.45~0.93%였으나, 하절기에는 0.08~0.38%로 내성균의 수는 증가하였으나 내성균이 차지하는 비율은 감소하였다.

행죽보의 시료에서 계절에 따른 내성균의 종류를 보면 동절기는 *Aeromonas allosaccharophila*, *Escherichia coli*, *Kluyvera intermedia*, *Pseudomonas psychrophila*, *Psychrobacter faecalis*, *Staphylococcus lentus* 등 6종의 내성균이 확인되었으나, 하절기에는 *Acinetobacter haemolyticus*, *Acinetobacter johnsonii* 2종의 내성균만이 확인되었다. 확인된 모든 내성균은 메치실린 내성균 치료에 사용되는 vancomycin에 내성을 보이고 있으며, vancomycin 내성균에 사용되는 linezolid에 대해서도 *S. lentus*를 제외하고는 내성을 보이고 있다. 또한 이들 내성균 8종 모두가 vancomycin, clindamycin, lincomycin, tetracycline 등 10종 이상의 항생제에 내성을 보이고 있다.

종태봉 양수장의 동절기 시료에서는 *Aeromonas media*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia fergusonii*, *Morganella morganii*, *Pseudomonas cedrina*, *Shigella flexneri* 등 7종의 내성균이 확인되었으며, 하절기의 경우에는 *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas media*, *Acinetobacter johnsonii* 등 3종의 내성균이 확인되었다. *E. faecium*을 제외하고는 vancomycin과 linezolid 등 10종 이상의 항생제에 내성을 보였다. 특히, *M. morganii*의 경우 gentamicin을 제외한 13종에 대해 내성을 보이고 있어 수생생태계에서의 다제내성균의 심각성을 보여주고 있다. 이들 다제내성균들은 감염의 유행률, 사망률 및 치료의 경제적 비용이 상당할 뿐만 아니라, 내성유전자의 보관소로 작용할 수 있다고 알려지고 있어 이들에 의한 감염에 주의하는 것이 필요하다.

본 연구에서는 축산폐수가 유입되는 하천에서 가축항생제로 가장 많이 쓰이는 항생제인 tetracycline 계의 하나인 oxytetracycline 내성균의 종류 및 오염도, 이들의 항생제 spectrum에 대한 처음으로 파악하였다. 그러나 본 연구는 동절기와 하절기라는 계절에 국한되어 현장조사 하였고 때문에 계절 변화를 충분히 반영하지 못하였다. 따라서 계절적 요인과 지역별 차이 등에 대한 심도있는 현장연구 조사가 추후 수행되어야 할 것으로 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 2014년도 동남보건대학교 연구지원비에 의해 수행되었습니다. 이에 감사드립니다.

## References

1. Khachatourians GC. Agricultural use of antibiotics and the evolution and transfer of antibiotic-resistant bacteria. *CMAJ*. 1998; 159(9): 1129-1136.
2. Dewey CE, Cox BD, Budh EJ, Hurd HS. Association off-label feed additives and farm size, veterinary consultant use and animal age. *Pre Vet Med*. 1997; 31(1-2): 133-145.
3. Kwon HK, Lee JH, Kim JG. A Study on the distribution of antibiotic resistant bacteria in domesticated animal feces. *J Environ Health Sci*. 2012; 38(2): 142-150.
4. Kwon YI, Kim TW, Kim HY, Chang YH, Kwak HS, Woo GJ, et al. Monitoring of antimicrobial resistant bacteria from animal farm environments in Korea. *Kor J Microbio Biotechnol*. 2007; 35(1): 17-25.
5. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs. News. Available: [http://www.mafra.go.kr/list.jsp?&newsid=155444846&section\\_id=b\\_sec\\_1&pageNo=107&year=2014&listcnt=10&board\\_kind=C&board\\_skin\\_id=C3&depth=1&division=B&group\\_id=3&menu\\_id=1125&reference=&parent\\_code=3&popup\\_yn=&tab\\_yn](http://www.mafra.go.kr/list.jsp?&newsid=155444846&section_id=b_sec_1&pageNo=107&year=2014&listcnt=10&board_kind=C&board_skin_id=C3&depth=1&division=B&group_id=3&menu_id=1125&reference=&parent_code=3&popup_yn=&tab_yn) [accessed 4 November 2014].
6. Suzuki S. Tetracycline Resiatance Gene in Asian Aquatic Environment. Available: [http://www.terra-pub.co.jp/onlineproceedings/ec/03/pdf/BR\\_03001.pdf](http://www.terra-pub.co.jp/onlineproceedings/ec/03/pdf/BR_03001.pdf) [accessed 14 October 2013].
7. Kim JH. Ecology risk assessment of pharmaceutical residues in Han River. [PhD thesis]. [Seoul]: Yonsei University; 2008.



8. National Institute of Environmental Research. News. Available. <http://www.nier.go.kr/NIER/Egov-MovePageMain.do?linkPage=nier-nf-03&nId=17113&Command=READ>[accessed 4 November 2014]
9. Oh HK, Park JH. Characteristics of antibiotic resistant bacteria in urban sewage and river. *Journal of KSEE*. 2009; 31(3): 232-239.
10. Available: <http://terms.naver.com/entry.nhn?docId=1146604&cid=40942&categoryId=33192> [accessed 10 November 2014].
11. National Statistical Information Service. Livestock Statistics Survey. Available. [http://kosis.kr/statisticsList/statisticsList\\_02List.jsp?vwcd=MT\\_ATITLE01&parmTabId=M\\_02\\_01\\_01#SubCont](http://kosis.kr/statisticsList/statisticsList_02List.jsp?vwcd=MT_ATITLE01&parmTabId=M_02_01_01#SubCont) [accessed 3 September 2013].
12. Kim SJ, Ogo M, Oh MJ, Suzuki S. Occurrence of tetracycline resistant bacteria and tet(M) gene in seawater from korea coast. Available: <http://www.terrapub.co.jp/onlineproceedings/ec/06/pdf/PR644.pdf> [accessed 14 October 2013].
13. Dang H, Ren J, Song L, Sun S, An L. Diverse tetracycline resistant bacteria and resistance genes from coastal waters of jiaozhou bay. *Microb Ecol*. 2008; 55: 237-246.
14. Kim JO, Kim YJ. A study on the concentration and characteristics of methicillin-resistant staphylococci in the indoor air of childcare facilities. *J Environ Health Sci*. 2013; 39(5): 447-455.
15. Clinical Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 23<sup>rd</sup> informational supplement. M100-S23. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute; 2013.
16. Sutter VL, Kwock YY, Finegold SM. Susceptibility of bacteroides fragilis to six antibiotics determined by standardized antimicrobial disc susceptibility testing. *Antimicrob Agents Chemother*. 1973; 3(2): 188-193.
17. Finlay JE, Miller LA, Poupard JA. Interpretive criteria for testing susceptibility of staphylococci to mupirocin. *Antimicrob Agents Chemother*. 1997; 41(5): 1137-1139.
18. Forsberg C, Ryding SO. Eutrophication parameters and trophic state indices in 30 Swedish waste-receiving lakes. *Arch Hydrobiol*. 2007; 190: 189-207.
19. Hiraish A. Respiratory quinone profiles as tools for identifying different bacterial populations in activated sludge. *J Gen Appl Microbiol*. 1988; 34: 39-56.
20. Ash RJ, Mauck B, Morgan M. Antibiotic resistance of gram-negative bacteria in rivers, united states. *Emerg Infect Dis*. 2002; 8(7): 713-716.
21. Levy SB, Marshall B. Antibacterial resistance worldwide. *Nat med*. 2004; 10(12): 122-129.
22. Kim YJ. A study on the variation of phytase activity and the diversity of producing microorganisms in the river environment. [PhD thesis]. [Seoul]: Seoul National University; 2002.
23. Shim SK, Lee YK, Lee YS, Ju NY, Huh NY. Food Sanitation, 5<sup>th</sup> ed. Seoul: Jinro Press; 2008. p.26.
24. Available: <http://en.wikipedia.org/wiki/Acinetobacter> [accessed 3 December 2014].
25. Janda JM, Abbott SL. The genus aeromonas: taxonomy, pathogenicity, and infection. *Clin Microbiol Rev*. 2010; 23(1): 35-73.
26. Available: [http://www.nytimes.com/2014/01/28/science/antibiotics-in-animals-tied-to-risk-of-human-infection.html?ref=science&\\_r=1](http://www.nytimes.com/2014/01/28/science/antibiotics-in-animals-tied-to-risk-of-human-infection.html?ref=science&_r=1) [accessed 14 October 2014].