병아리 태자에 대한 엔로플록사신의 초기형 독성 연구

이진현*† · 이지희** · 조이연***

*공주대학교 사범대학 환경교육과, ***생물교육과, *보건환경연구소,

*금강유역환경연구소, **대전노은고등학교

(2008. 6. 10. 접수/2008. 7. 25. 수정/2008. 8. 5. 채택)

Teratological Effects of Enrofloxacin on the Embryos and Fetus During the Hatching of Chicken Eggs

Jin-Heon Lee*† · Ji-Hee Lee** · Yeaun Cho***

*Dept. of Environment Education and ***Biology Education, Kongju National University

*Public Health and Environmental Institute, *Korea Institute Silk River Basin Institute, **Daejeon Noeun High School

(Received June 10, 2008/Revised July 25, 2008/Accepted August 5, 2008)

ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the teratological effects of enrofloxacin, a veterinary antibiotic, on the embryos and fetus of hatching chicken eggs. A control group and four experimental fertilized egg groups were set up. The four experimental groups were injected with 0.05 ml, 0.1 ml, 0.2 ml, and 0.3 ml enrofloxacin (50 µg/ml) respectively. During the hatching period, the weights of total eggs, inside material(yolk and white) and embryos or fetuses, embryo growth, and teratological effects were investigated. In the experimental groups (fertilized eggs injected with 0.05 ml, 0.1 ml, 0.2 ml and 0.3 ml enrofloxacin), the weights of total eggs were decreased, but the yolk and white weights were increased by the higher amount of antibiotics. The weights of embryos (fetuses) in experimental groups were 86.1%, 78.6%, 65.6% and 61.4% of the control, respectively. Retarded growth, deformity and embryo loss were observed in experimental groups. Teratological effects such as undeveloped eyes, wings and legs, and deformed head and bill were also detected. In conclusion, we found that veterinary antibiotics, enrofloxacin have made teratological effects on the embryos and fetus of hatching eggs.

Keywords: enrofloxacin, embryo, fetus, teratogenic effects

I. 서 론

항생제는 종류에 따라 세균의 세포벽 합성 억제, 세포막 기능장애, 핵산기능 억제 또는 단백질 합성 억제 등을 통하여 세균발육을 억제하거나 사멸시키는 작용을 한다. 1928년 플레밍(Fleming)이 발견한 페니실린이 1940년 Chain과 Florey에 의하여 치료제로서 임상에서 사용된 이후 스트렙토마이신, 테트라마이신, 클로르 암페니콜 등 많은 항생물질들이 개발되었다.¹⁾

동물에서는 1946년 스트렙토마이신을 닭에 투여한 무어(Moore) 등에 의해 닭의 성장에 항생제가 영향을 미치는 것으로 보고되었으며, 1949년 Stockstad와 Jukes

에 의해 클로르테트라사이클린을 투여한 닭에서도 성장촉진에 효과가 있는 것으로 밝혀진 이후 1950년대 초부터 감염병 치료, 성장촉진 및 사료효율 개선목적으로 동물에서의 항생제 사용이 급격히 증가되어 왔다.^{1,2)}

엔로플록사신은 수의임상용으로 만들어진 최초의 불소를 함유한 제2세대 quinolone항생물질로서, 세균의 DNA의 supercoiling을 조절하는 DNA gyrase를 억제하는 방법으로 항균작용을 발휘하는 항균물질로 효능이 매우 좋기 때문에 현재 동물항생제로 널리 사용되고 있다.^{2,3,4)}

더욱이 현대 양계업계는 대단위로 고밀도 사육을 하고 있기 때문에 스트레스에 예민한 닭에 더욱 높은 부담을 주게 되고, 닭의 육성기 말기에 질병 이환율이 매우 높아져 닭 생산물의 저하 등과 같은 경제적 피해가 발생하기 때문에 엔로플록사신과 같은 동물항생제의 사용은 더욱 증가하고 있다.⁵⁾

식품약품안전청의 2006년도 유해물질 정기선행조사와

†Corresponding author : Dept. of Environment Education, Kongju National University, 182 Shinwhan, Gongju, Chungnam 314-701
Tel. 041-850-8814, E-mail : ejhl@kongju.ac.kr

‘2004-2006년 국내 유통식품 중 동물용의약품 실태조사 결과에 대하여 분석한 결과 시중에 유통 중인 축산물과 수산물에 잔류 허용기준을 초과하는 항생제가 다수 검출되었다. 2006년도 총 600건에 대한 동물용의약품 잔류 실태 조사결과에서도 닭고기 1건과 계란 2건에서 ‘엔로플록사신’이 기준치 이상으로 검출되었다고 보고하였다.^{6,7)} 한편 ‘2004년 동물용의약품 실태조사에서는 총 240건에 대한 동물항생제 31종에 대한 모니터링 결과, 총 6건에서 동물항생제가 검출되었으나 다행히 잔류허용기준을 초과한 부적합 건수는 없었다. 그러나 2005년의 경우에는 조사대상 600건 중 동물용 의약품 검출건수는 총 43건으로 증가하였고, 잔류허용기준을 초과한 건수도 총 600건 중에서 13건으로 증가하였다.’^{6,7,8,9)}

계란류 등에서 검출된 엔로플록사신이 인체에 들어오면 체내에서 장시간 잔류하면서 영향을 나타내는 물질로 알려져 있다. 이 동물항생제는 닭에게 기침하듯 콧물처럼 증상을 발생시키는 바이러스는 효과적으로 제거할 수 있지만, 인간에게 식중독을 일으키는 변종형태의 *Campylobacter*를 제거하지 못하기 때문에, 항생제에 내성을 갖는 바이러스를 퍼뜨리는 결과를 초래하게 된다. 따라서 미국에서는 1996년 이후 엔로플록사신을 가금용 항생제로 사용하는 것을 금지하고 있다.^{8,9)}

따라서 본 연구에서는 계란에 잔류되어 있는 엔로플록사신의 독성여부를 검증하기 위하여 양계산업에서 사용하고 있는 엔로플록사신을 부화달걀에 투여하고, 병아리가 달걀에서 부화되는 동안에 병아리 태자에서 발생하는 최기형성을 측정하여 엔로플록사신의 잔류독성을 증명하고자 하였다.

II. 연구방법 및 설계

1. 실험방법

실험에 사용할 유정난은 충남 조치원에 있는 부화장에서 구입하였고, 유정난의 동질성을 확보하기 위하여 동일한 날짜에 낳은 달걀 중에서 3일이 지나지 않은 것을 사용하였다. 유정난의 부화를 위하여 실험실용 자동부화기(온도: 36°C, 습도L 18%)를 사용하였고, 달걀

이 부화되는 20일 동안 실험하도록 설계를 하였다.

약물은 엔로플록사신을 사용하였고, 최기형 독성을 확인하기 위하여 부화하는 동안에 일정한 간격으로 달걀의 무게를 측정하고, 달걀내용을 태자와 분리한 후에 이들의 무게, 독성상태, 기형발생 등을 육안과 해부현미경(SZ-PT, Olympus)으로 관찰하였다.

2. 유정난의 약물투여방법

유정난에 약물을 투여하는 동안에 미생물이 달걀에 침투되는 것을 방지하기 위하여 초자기구, 도구, 증류수, 시약 등을 멸균하여 사용하였고, 자외선이 설치되어 있는 크린벤치 내에서 실험을 수행하였다.

유정난에 약물을 투여하기 위하여 먼저 유정난의 뾰족한 부분을 위로 놓고, 위에서 약 2 cm 정도 아래 부분에 아크릴 칼로 구멍을 내었다. 그리고 투여될 약물을 주사기에 넣고, 주사바늘이 달걀의 구멍에 깊게 넣어 약물을 투여한 후에 솜뭉치로 구멍을 매꾸어 달걀내용물과 외부를 차단시켰다.

3. 실험설계

실험을 위하여 대조군과 4개 실험군에 유정난을 각각 30개씩 배치하여 표시하여 Table 1과 같이 실험설계를 하였고, 대조군에는 증류수, 각 실험군에는 엔로플록사신(enrofloxacin)을 농도별로 구분하여 약물을 투여하였다.

4. 자료정리 및 통계분석

실험과정에서 수집한 자료는 엑셀프로그램으로 정리하고, 실험군 및 대조군 사이의 유의성에 대하여 PC용 SPSS 프로그램(ver 12.0)을 활용하여 ANOVA분석과 T-test분석 등과 같은 통계분석을 실시하였다.

III. 연구결과

1. 엔로플록사신이 부화기간 동안 달걀 무게변화에 미치는 영향

부화기간 동안 각 실험군의 달걀무게 변화는 Table

Table 1. Design for toxicological effects of enrofloxacin on the hatching of chicken eggs

Groups	No. of the fertilized eggs	Volume of enrofloxacin (1 ml=50 µg/ml)	Dosage of enrofloxacin
Control	30	0.05 ml pure water	-
Enrofloxacin(0.05 ml)	30	0.05 ml	2.5 µg
Enrofloxacin(0.1 ml)	30	0.1 ml	5.0 µg
Enrofloxacin(0.2 ml)	30	0.2 ml	10.0 µg
Enrofloxacin(0.3 ml)	30	0.3 ml	15.0 µg

Table 2. Weight changes of hatching eggs in each experimental group

Unit : g

Hatching (day)	Control group	Enrofloxacin treated groups (1 m=50 µg/ml)			
		0.05 ml	0.1 ml	0.2 ml	0.3 ml
0	56.98 ± 4.45	57.25 ± 2.61	57.97 ± 4.74	57.14 ± 5.58	57.46 ± 4.20
5	56.73 ± 4.32	56.10 ± 3.62	53.51 ± 3.30	54.38 ± 4.21	55.48 ± 4.36
9	49.94 ± 3.50	52.92 ± 1.54	53.13 ± 4.45	53.38 ± 6.51	52.47 ± 1.67
12	49.69 ± 5.06	52.74 ± 1.62	53.86 ± 4.87	56.57 ± 8.41	50.82 ± 2.76
14	49.72 ± 3.66	49.07 ± 1.98	48.85 ± 5.14	49.26 ± 1.60	48.11 ± 4.29*
18	49.01 ± 2.95	47.92 ± 1.87	47.40 ± 4.16	46.26 ± 2.68*	45.78 ± 2.57*

* : Significantly different from control, p<0.05

2와 같이 나타났다. 유정난을 자동부화기에 처음 넣는 날에 대조군의 달걀 무게는 57 g(부화 0일)이었는데, 부화기간 동안에 계속 감소하여 부화 18일에는 달걀무게가 49 g로 되어서 17.5%만큼 감소하였다.

엔로플록사신을 투여한 실험군에서 달걀의 무게 감소량은 대조군 보다 통계적으로 유의한 수준으로 매우 크게 나타났다(p<0.05). 부화 18일에 4개 실험군에서 달걀무게는 각각 대조군 달걀무게의 97.8%, 96.7%, 94.4%, 93.4% 수준으로 나타났으며, 이것은 엔로플록사신을 투여함으로 인하여 부화달걀의 무게가 대조군보다 2.2%, 3.3%, 5.6%, 6.6% 만큼 더 감소된 것임을 알 수 있다.

2. 엔로플록사신이 부화계란의 내용물 변화량에 미치는 영향

부화기간 동안에 각 실험군별 계란 내용물의 무게변화는 Table 3과 같이 나타났다. 유정난을 부화기에 넣는 날(부화 0일)에 달걀의 내용물 무게가 53.8 g이었는데, 부화기간 동안에 무게가 감소하여 부화 18일째에는 내용물 무게가 14.4 g로 나타나서, 병아리 태자가 성장하면서 상대적으로 달걀 내용물은 73.2% 만큼 감소되는 현상이 나타났다.

엔로플록사신을 투여한 실험군에서는 계란 내용물이

대조군보다 통계적으로 유의한 수준으로 많은 양이 남겨져 있었다(p<0.01). 0.05 ml, 0.1 ml, 0.2 ml, 0.3 ml 등의 엔로플록사신을 투여한 실험군의 경우에 계란 내용물은 부화 18일째에 대조군에 비하여 25.2%, 29.1%, 39.5%(p<0.05)와 66.9%(p<0.01) 만큼 더 많이 남아 있었다.

3. 엔로플록사신이 부화계란 태자의 체중증가에 미치는 영향

달걀 부화기간 동안에 각 실험군별 병아리 태자의 체중변화는 Table 4와 같다. 부화기간 동안 병아리 태자는 성장하여 부화 18일째에 대조군에서 태자무게는 26.3 g 수준으로 증가하였다. 그러나 엔로플록사신을 0.05 ml, 0.1 ml, 0.2 ml, 0.3 ml를 투여한 각각의 실험군에서는 병아리 태자의 체중증가가 크게 둔화되어서 부화 18일째에 병아리 태자의 무게가 대조군의 86.1%, 78.6%, 65.6%, 61.4% 수준 등으로 통계적으로 유의하게 낮게 나타났다. 이러한 실험결과를 통하여 엔로플록사신에 의하여 태자의 체중이 13.9%, 21.4%(p<0.05), 34.4%(p<0.01), 38.6%(p<0.01) 만큼 낮아졌음을 알 수 있다.

4. 엔로플록사신이 병아리 태자의 발육성장에 미치는 영향

계란 부화기간 동안에 엔로플록사신이 각 실험군별

Table 3. Weight changes of the inside materials(yolk and white) of hatching eggs in each experimental group

unit : g

Hatching (day)	Control group	Enrofloxacin treated groups (1 m=50 µg/ml)			
		0.05 ml	0.1 ml	0.2 ml	0.3 ml
0	53.78 ± 3.45	53.25 ± 2.61	53.97 ± 3.74	53.14 ± 3.58	53.46 ± 3.20
5	46.04 ± 4.29	46.33 ± 3.29	47.85 ± 3.01	49.10 ± 3.78*	50.69 ± 6.42*
9	40.52 ± 3.71	40.75 ± 2.99	41.25 ± 3.45	43.70 ± 5.70*	46.55 ± 1.77*
12	32.48 ± 1.21	35.72 ± 1.75	39.71 ± 3.87	40.91 ± 2.72*	45.72 ± 1.15*
14	24.16 ± 2.17	29.54 ± 0.56	28.80 ± 4.14*	31.66 ± 1.12*	37.61 ± 3.52*
18	14.42 ± 0.67	18.05 ± 1.21	18.62 ± 3.53*	20.12 ± 4.20**	24.07 ± 2.48**

* : Significantly different from control, p<0.05

** : Very significantly different from control, p<0.01

Table 4. Weight changes of embryos or fetus of hatching eggs in each experimental group unit : g

Hatching (day)	Control group	Enrofloxacin treated groups (1 m=50 µg/ml)			
		0.05 ml	0.1 ml	0.2 ml	0.3 ml
5	0.19 ± 0.03	0.20 ± 0.06	0.28 ± 0.08	0.20 ± 0.04	0.21 ± 0.04
9	1.78 ± 0.16	1.54 ± 0.99	1.50 ± 0.45	1.46 ± 0.10	1.40 ± 0.06
12	6.50 ± 0.34	6.33 ± 0.90	6.07 ± 0.79	5.33 ± 0.64	5.10 ± 0.84*
14	13.36 ± 0.44	12.31 ± 0.84	11.74 ± 0.84*	11.40 ± 0.21*	10.41 ± 0.94*
18	26.26 ± 0.60	22.62 ± 1.92	20.65 ± 1.08*	17.23 ± 2.18**	16.13 ± 2.48**

* : Significantly different from control, p<0.05

** : Very significantly different from control, p<0.01

Table 5. Incidents of toxic effects in embryos (fetus) Unit : %

	Control	Enrofloxacin treated groups (1 m=50 µg/ml)			
		0.05 ml	0.1 ml	0.2 ml	0.3 ml
Retarded growth	0.00	4.41	7.41	25.93	14.81
Deformity	0.00	2.70	3.70	22.22	29.63
Embryo loss	2.70	3.70	7.41	11.11	29.63
Total	2.70	10.81	18.52	59.26	74.07

병아리 태자의 발육성장에 미친 영향은 Table 5와 같다. 부화기간 동안 태자의 발육성장에 문제가 발생한 비율이 대조군에서는 2.7%이었는데, 엔로플록사신을 투여한 실험군에서는 10.8%, 18.5%, 59.3%, 74.1% 등으로 매우 높게 나타났으며, 엔로플록사신의 투여량이 증가함에 따라 태자 발육저해 현상도 비례하면서 크게 증가하였다. 특히 엔로플록사신을 0.2 ml와 0.3 ml를 투여한 실험군에서 기형과 발생손실이 높은 빈도로 발생하였다.

5. 엔로플록사신에 의한 병아리 태자의 최기형 독성 발생

계란이 부화되는 동안에 엔로플록사신의 투여로 인하여 병아리 태자에게 기형이 발생한 결과가 Figure 1이다. 육안으로 볼 있을 정도로 특이하게 기형이 발생한 것은 부화 9일째부터이었다.

부화 9일째에 0.3 ml 엔로플록사신을 투여한 실험군에서 머리에 실핏줄이 몰려있고, 몸체가 완전히 형성되지 않아서 심장이 돌출되어 심장이 뛰는 모습이 보이는 기형이 관찰되었다.

부화 11일째에도 0.3 ml 엔로플록사신을 투여한 실험군에서 양눈이 발달되지 않고, 부리가 비정상적으로 돌출되어 있고 몸이 발육되어 있지 않은 기형이 관찰되었다.

부화 12일째에도 0.3 ml 엔로플록사신을 투여한 실험군에서 목이 발달되지 않아 머리와 몸통이 붙어 있는 기형이 관찰되었고, 다리의 뼈가 발달되지 않아서 잘려

져 있는 현상이 관찰되었고, 복부가 발달되지 않아 속이 흰히 보이는 현상도 관찰되었다.

부화 14일째에는 0.05 ml 엔로플록사신을 투여한 실험군에서도 다리가 발달되지 않은 상태로 기늘고 꺾여져 있는 현상이 관찰되었다. 또한 0.1 ml 엔로플록사신을 투여한 실험군에서도 머리에 이상물질이 붙어있는 기형현상과 윗 부리가 발달되어 있지 않는 현상도 관찰되었다.

부화 18일째에는 0.3 ml 엔로플록사신을 투여한 실험군에서는 탯줄이 비정상적으로 비대해 있었고 복부가 밀봉되지 않아서 내장이 밖으로 나와 있는 현상이 관찰되었고, 다리의 미발달로 인한 기형현상이 관찰되었다.

IV. 고 찰

계란 껍질에는 많은 구멍을 가지고 있어서 계란은 이곳을 통하여 가스교환에 의하여 호흡작용을 할 수 있다. 특히 계란에 있는 구멍들은 뾰족한 부분(the sharp end)보다는 뭉툭한 부분(the blunt end)에 더 많이 분포되어 있기 때문에, 계란이 부화하는 동안에 병아리 태자의 호흡에서 뭉툭한 부분이 뾰족한 부분보다 더 중요하다.^{10,11)} 따라서 본 연구에서 계란의 뾰족한 부분에서 약물을 투여하였고, 자동부화기에 유정난을 넣을 때에는 뭉툭한 부분이 위로 향할 수 있도록 놓아서 계란의 구멍들에게 주는 영향을 최소화하면서 호흡할 수 있도록 실험을 실시하여 엔로플록사신이 병아리 태자

Fig. 1. Photographs of teratological effects of enrofloxacin during the development of chick embryo by using optical camera

(chicken embryo)의 발육성장에 미치는 영향을 관찰하였다.

계란이 부화하는 동안에 껍질을 통하여 산소를 흡입하고 이산화탄소를 버리는 호흡작용을 하기 때문에 부화기의 내부 환경조건을 온도: 36°C, 습도: 18%로 유지하였다. 본 연구에서 대조군의 유정난은 자동부화에 처음 넣는 날에 무게가 57 g(부화 0일)이었고, 부화

18일에는 달걀무게가 49 g로 되어서 약 17.5% 수준으로 감소하였다. 이것은 병아리 태자가 성장하면서 계란 껍질 밖으로 보내는 이산화탄소의 양이 크게 증가하였기 때문이라고 생각한다. Yu¹²⁾의 실험연구에서도 부화기간이 지속됨에 따라 병아리 태자의 호흡작용이 활발하게 진행되기 때문에 껍질을 통한 가스교환작용이 크게 일어나서 배출되는 이산화탄소량이 크게 증가하였

다고 보고하였다. 그러나 엔로플록사신을 투여한 실험군에서 계란의 무게 감소량이 대조군보다 통계적으로 유의하게 더 크게 나타났다($p < 0.05$). 엔로플록사신을 투여함으로써 인하여 부화달걀의 무게가 대조군 보다 2.2%, 3.3%, 5.6%, 6.6% 만큼 더 감소된 것으로 나타났다. 이것은 엔로플록사신이 계란에 잔류함으로써 인하여 이산화탄소가 정상수준 이상으로 배출되었거나 그 밖의 가스나 수증기가 배출되어 계란무게가 감소한 것으로 추정된다.

부화기간 동안에 병아리 태자는 계란의 난황과 난백을 이용하여 발육하고 성장하기 때문에 계란의 내용물과 태자의 무게는 서로 역비례관계를 나타낸다. 본 실험에서 대조군의 내용물이 부화 0일에 53.8 g이었는데 부화기간 동안 계속 감소하여 부화 18일에는 14.4 g로 감소되었지만, 태자의 체중은 유정난에서 0.01 g이었지만 부화기간 동안 계속 증가하여 부화 18일째에는 26.3 g로 성장하였다.

그런데 엔로플록사신을 투여한 실험군에서는 계란의 내용물과 태자 체중의 변화가 대조군에서와 큰 차이를 나타내었다. 즉 계란의 난황과 난백의 감소량과 태자 체중 증가량이 크게 둔화되었는데, 엔로플록사신의 투여량에 비례하여 이러한 현상은 더 크게 나타났다. 0.3 ml 엔로플록사신을 투여한 경우에 계란 내용물의 무게가 부화 18일째인데도 불구하고 대조군 보다 66.9% 만큼 많아서 통계적으로 유의한 차이가 있었고($p < 0.01$), 태자의 체중은 대조군 보다 38.6% 만큼 낮아서 통계적으로 유의한 차이가 있었다($p < 0.01$). 이러한 결과의 원인은 부화기간 동안에 병아리 태자가 난황과 난백의 영양물질을 이용하는 것은 약물로 투여된 엔로플록사신이 나쁜 영향을 주었기 때문이라고 생각한다. 엔로플록사신의 화학식은 1-cyclopropyl-7-(4-ethyl-1-piperazineyl)-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid로서, 친수성 퀴놀론계 합성항균제이기 때문에 물에 잘 녹는 성질을 지니고 있다.¹⁵⁾ 퀴놀론의 이러한 화학적 성질로 인하여 동물의 경구로 투여되었을 경우에 위장관을 통하여 쉽게 흡수되어 혈중 농도가 경구 투여 후 1-2시간 후에 최고치에 도달할 수 있다.¹⁶⁾ 따라서 본 연구에서 난황에 투여된 엔로플록사신이 부화 3일부터 형성된 싹을 통하여 영양물질과 함께 태자 체내에 이동될 수 있었을 것이라고 생각되며, 이러한 현상은 태자가 난황과 난백의 영양을 이용하는데 엔로플록사신이 나쁜 영향을 주게 되는 원인을 제공하게 되는 근거가 될 수 있다고 생각한다. 그러나 엔로플록사신이 병아리 태자의 체중을 감소시키는데 직접적 관여를 하였는지, 혹은 다른 경로를 통하여 태자의 체중을 감소시

켰는지에 대해서는 더 연구가 필요하다. Davies 등¹⁷⁾는 흡연모가 비 흡연모에 비해 매일 294 kcal와 10 g 단백질의 섭취하였지만 심한 흡연을 하는 산모의 아이는 분만시 8% 이상의 체중감소를 보였으며, 생리적 성장 및 지능적 능력에도 장기간 부작용을 보였다고 보고하였다. 한편 Lee & Han¹⁸⁾은 임신한 흰쥐에게 10, 20, 30 mg/kg 메틸수은을 경구로 투여하였을 태자의 체중이 16.7%, 34.1%, 88.9% 감소하였다고 보고하였으며, 태자체중의 감소원인은 lower mitotic growth rate 일 것으로 추정하였다.

부화기간 동안에 태자의 체내에 들어오게 된 엔로플록사신은 자연스럽게 병아리 태자의 손실, 발육과 성장, 기형 발생들에 크게 영향을 주게 될 것이라고 생각할 수 있다. 실제로 본 연구결과의 Table 5에서 엔로플록사신에 의한 병아리 태자의 손실, 성장 및 발육 지연, 기형발생 등의 발생율을 잘 보여주고 있다. 엔로플록사신을 투여한 실험군에서 태이손실, 발육 및 성장 지연 등의 발생율이 매우 크게 나타났고, 그 발생율이 엔로플록사신의 투여량에 비례하며 증가하였으며, 0.3 ml 엔로플록사신을 투여한 실험군에서는 태이손실, 발육성장 지연 등의 독성작용 발생율이 74.1%로 매우 높게 나타났다. 생체발육과정은 각 생물체마다 특이한 creode를 이루고 있기 때문에, 성장억제물질은 이에 대하여 canalization을 높임으로서 성장 및 분화에 이상을 초래하는 것이다.¹⁹⁾ Dactinomycin은 RNA 합성을 억제하고 posterior portion에 발생을 억제하는 형태로 병아리 태자의 발생과 성장에 영향을 미친다고 보고하였는데,^{20,21)} 엔로플록사신의 병아리 태자의 발생 및 성장에 대한 억제기전을 설명하기 위해서는 이에 대한 추가적인 연구가 필요하다고 생각한다.

또한 생체의 발생에 저해효과를 나타내는 물질들은 성장과 분화에 영향을 미치기 때문에 성장을 억제할 뿐만 아니라 분화방향에 변화를 일으켜 기형을 일으킬 수도 있다. Cyclophosphamide의 경우는 alkyl제의 하나로서 성장억제, 항면역성, 최기형 및 유전이상 등 여러 가지 효과를 나타내는 물질로 알려져 있다.²²⁾ Wooley²³⁾는 Mustard계 제제가 alkyl화에 의하여 단백질의 변화와 효소의 불활성화를 일으킨다고 하였으며, Bodenstein²⁴⁾은 이것이 세포핵에 대하여 핵분열, 팽창, 염색체 분리 단절, 핵분열억제를 나타낸다고 하였다. Drag²⁵⁾은 이 물질이 세포분열을 억제하나 간질증식을 초래한다고 하였다.

본 연구결과에서 엔로플록사신을 투여한 실험군에서 다양한 기형발생이 부화 9일째부터 나타나기 시작하였는데, 이것은 부화 9일째부터 병아리 태자가 왕성하게

발육과 성장을 하기 때문인 것으로 생각된다.¹²⁾ 0.3 ml 엔로플록사신을 투여한 실험군에서는 부화 9일째부터 심장, 가슴 부위 등이 불완전하게 발육되어 밖에서 볼 수 있는 기형이 관찰되었고, 부화 11일째에서는 양쪽이 형성되지 않은 기형도 발생하였으며, 부화 14일 부터는 다리의 성장이 지연되거나 차단 됨으로 인하여 기형의 형태로 나타났다. 0.05 ml와 0.1 ml 엔로플록사신을 투여한 실험군에서는 부화 14일에 머리형성에 기형이 발생하였고 윗부리가 발육하지 않은 기형현상도 관찰되었다.

엔로플록사신이 병아리 태자의 기형발생 기전은 명확히 알려져 있지 않다. 다만 세균에 대한 약리작용으로서 표적물질은 세균의 DNA gyrase,²⁾ DNA topoisomerase II,⁴⁾ DNA topoisomerase IV¹³⁾임을 통하여 간접적으로 추론할 수 있다. 이러한 효소들에 작용하여 DNA합성을 저해하고, 이런 결과로 인하여 세균의 대사와 증식에 필요한 DNA 복제, 유전정보 전달, 재조합의 기능이 차단한다.^{14,15)} 이러한 약리작용이 태자가 발육하고 성장하는 과정에 영향을 주었을 것이라고 판단되며, 그 결과가 각종 기형발생으로 나타날 것이라고 생각할 수 있다.

특히 부화 11일째부터 다리 발육과 성장의 지연으로 인한 기형형태가 관찰되어서 엔로플록사신이 골격의 형성과 분화에도 영향을 주고 있음을 알 수 있다. 경골 발생에는 유리연골에서 발생하는 연골내골화 방식과 중간엽 또는 고유결합조직에서 발생하는 막내골화의 두 가지 방식이 있고, 모든 기존의 중배엽이 골 조직으로 전환되는 것이 포함된다.^{26,27)} 또한 골격의 형성은 단순히 세포의 분화과정을 통해서 일어나는 것이 아니라 방향성이나 위치에 따른 분화양상을 조절하는 것으로 알려져 있는 Hox 유전자들이 경골의 발생에 중요한 역할을 담당하는 bone morphogenetic protein(BMP)의 발현을 조절하여 형태형성을 조절하는 것으로 알려져 있다. 이러한 BMP에 의한 골형성과정은 lipoxxygenase를 통한 지질대사물들의 생성과 관련되었을 것으로 보고되고 있다.²⁸⁾

V. 결 론

본 연구는 동물항생제로 사용하고 있는 엔로플록사신의 병아리 태자에 대한 최기형성을 확인하기 위하여 부화계란을 이용하여 독성실험을 실시하였다. 유정난을 구입하여 엔로플록사신(50 µg/ml)을 0.05 ml, 0.1 ml, 0.2 ml, 0.3 ml(50 µg/ml) 투여한 후에 실험실용 자동부화기에 부화시키면서 병아리 태자에게 발생하는 독성과 최기형 현상을 관찰하였다.

엔로플록사신을 투여로 인하여 부화 18일째에 계란의 무게가 대조군 보다 2.2%, 3.3%, 5.6%($p<0.05$), 6.6%($p<0.05$) 만큼 통계적으로 유의하게 감소하였고, 계란 내용물(난황과 난백)은 대조군에 비하여 25.2%, 29.1%, 39.5%($p<0.05$)와 66.9%($p<0.01$) 만큼 통계적으로 유의하게 많이 남아 있었으며, 태자의 체중은 대조군에 비해 13.9%, 21.4%($p<0.05$), 34.4%($p<0.01$), 38.6%($p<0.01$) 만큼 통계적으로 낮게 나타났다.

또한 엔로플록사신을 투여한 각 실험군에서 태자 발육지연, 기형발생, 태자 손실 등이 10.8%, 18.5%, 59.3%, 74.1% 등으로 매우 높게 나타났는데, 육안으로 관찰할 수 있는 기형을 보면, 부화 9일째에 몸체가 형성되지 않고 심장이 밖으로 돌출되어 보이고 있었고, 부화 11일째에는 양눈이 형성되지 않는 기형이 발견되었다. 부화 12일 목이 발달되지 않고, 다리 뼈가 발달되지 않아 잘려져 있는 현상이 발견되었고, 부화 14일째에는 머리에 기형이 형성되고 윗부리가 발육되지 않은 기형도 발견되었다. 그리고 부화18일째에는 턱줄 비대현상과 복부가 밀봉되지 않아 내장이 밖으로 노출되어 있는 현상, 그리고 다리 기형을 관찰하였다.

결론적으로 본 연구를 통하여 동물항생제로 사용하고 있는 엔로플록사신이 병아리 태자에게 최기형 독성을 나타낼 수 있음을 확인하였다.

참고문헌

1. Hong, K. S. : The study on regulatory measure for appropriate use of antibiotics in animals, The Graduate school of Public Health, Yonsei University, 1-169, 2005.
2. Hopper, D. C., Wolfson, J. S. : Mechanism of quinolone action and bacterial killing, *Quinolone Antimicrobial Agents*, 2nd edition, 53-76, 1993.
3. Brown, S. A. : Fluoroquinolones in animal health, *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics (Oxford)*, **19**, 1-14, 1996.
4. Vancutsem, P. M., Babish, J. G., Schwark, W. S. : The fluoroquinolone antimicrobials: structure, antimicrobial activity, pharmacokinetics, clinical use in domestic animals and toxicity, *Conell Veterinardns*, **80**(2), 173-186, 1989.
5. Yun, H., S. C. Park, C. S. Kim, M. K. Kim, K. S. Choi, K. S. Shin, J. I. Park, J. H. Cho, M. H. Cho : Comparative pharmacokinetics of enrofloxacin and enrofloxacin acetate in rabbits, *Journal of Veterinary Science, Chungnam National University (CNU)*, **4**(1), 21-29, 1996.
6. Jung, S. C. : Establish of control system of antibiotics for livestock, *The Annual Report of KFDA, Korea Food and Drug Administration*, 420-421, 2005.
7. Lim, S. K., Lee, H. S., Song, S. W., Choi, Y. M.,

- Shin, H. C., Lee, J. Y., Kim, A. R., Kwon, J. H., Kim, D. W., Jung, S. C. : Establish of control system of antibiotics for livestock, The Annual Report of KFDA, *Korea Food and Drug Administration*, 921-922, 2006.
8. Jung, S. C. : Surveillance of antimicrobial resistance and antibiotics' usages for live stocks, The Annual Report of KFDA, *Korea Food and Drug Administration*, 1-100, 2008.
9. Son, S. W. : Efficiently usages of antibiotics for the safety culture of livestock, *Journal of Swine, Korean Swin Association* **317**, 22-30, January 2006.
10. Romanoff, A. L. and Romanoff, A. J. : The avian eggs, John Wiley & Sons, Inc., 110-111, 1949.
11. Romanoff, A. L. : Study of various factors affecting permeability of bird's egg shell, *Food Research*, **8**, 212-213, 1943.
12. Yu, C. J. : The effects of gas diffusibility of egg shell on development of the chick embryo, *Kyungpook University Theses*, **11**, 131-137, 1967.
13. Ng, E. Y., Trucksis, M., Hopper, D. C. : Quinolone resistance mutations in topoisomerase IV: relationship to the flqA locus and genetic evidence that topoisomerase IV is the primary target and DNA gyrase is the secondary target of fluoroquinolones in staphylococcus aureus, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **40**, 1881-1888, 1996.
14. Kato, J. I., Nishimura, Y., Imamura, Y., Niki, H., Hiraga, S., Suzuki, H. : Matrix solid phase dispersion (MSPD) extraction and HPLC determination of enrofloxacin and ciprofloxacin in pork muscle tissue, *Korean Journal of Veterinary Researches*, **37**, 195-202, 1997.
15. Seo, K. W. : Studies on the residues of fluoroquinolones in chicken egg, Dept. of Veterinary Medicine, Graduate School, *Chonnam National University*, 1-164, 2000.
16. Wise, R., Lister, D., McNulty, C. A., Griggs, D., Andrews, J. M. : The comparative pharmacokinetics of five quinolones, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **18**, 71-81, 1986.
17. Davies, D. F., Gry, O. P., Ellwood, P. C., Abernethy, M. : Cigarette smoking in pregnancy: Associations with maternal weight gain and fetal growth, *Lancet*, **1**, 385-387, 1976.
18. Lee, J. H. and Han, D. H. : Maternal and fetal toxicity of methylmercuric chloride administered to pregnant Fischer 344 rats, *Journal of Toxicology and Environmental Health*, **45**, 415-425, 1995.
19. Kim, H. S., Park, W. H., Kim, M. K. : Effects of growth inhibitor on organs in chick embryo, *Chungnam Medical Journal*, **2**(2), 385-390, 1975.
20. Goldberg, R. E., Rabinowitz, M. : Structure activity correlation of actinomycin S and the derivatives, *Nature Lond*, **196**, 743-748, 1962.
21. Pierro, L. J. : Teratogenic actions of actinomycin D in the embryonic chick, Early development, *Journal of Experimental Zoology (New York, NY)*, 148-241-249, 1961.
22. Bautz, E., Frese, E. : On the mutagenic effects of alkylating agents, *Proceedings of National Academy of Science of the United States of America(Washington DC)*, **46**, 1585-1589, 1960.
23. Park, N. D. : Studies on the effect of cyclophosphamide on the growth in chick embryo, *Chungnam Medical Journal*, **2**(2), 275-286, 1975.
24. Bodenstein, D. : Effects of nitrogen mustard on embryonic amphibian development, Ecodermal effects, *Journal of Experimental Zoology (New York, NY)*, **104**, 311-313, 1947.
25. Dagg, C. P., Karnofsky, D. A., Toolan, H. W., Roddy, J. : Serial passage of human tumors in chick embryo : growth inhibition by nirto mustard, *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine (Baltimore, MD)*, **87**, 223-225, 1954.
26. Park, H. S. : Bone formation during the development of chick embryo, *Graduate School of Education, Kangwon National University*, 1-33, 2001.
27. Lee, J. H. : Methylmercuric Chloride(MMC) and Reduction of the Fetal Ossification in Fischer-344 Rats during Organogenesis, *Korea Journal of Environmental Health*, **27**(2), 73-81, 2001.
28. Wozney, J. M. : Bone morphogenetic protein and their gene expression, In Noda M(ed), *Cellular and Molecular Biology of Bone*, Academic Press, Inc, San Diego, 131-167, 1993.