가축 분변 유래 지표미생물 분포 및 항생제 내성 균주의 동정

김종규* · 이장훈** · 권혁구†

호서대학교 융합기술연구소, *가천의과대학 보건행정학과, **호서대학교 환경공학과

The Distribution of Indicator Microorganisms and Identification of Antibiotic Resistant Strains in Domestic Animal Feces

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

Institute of Fusion Technology, Hoseo University, Asan, Korea

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

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

ABSTRACT

Objectives: To estimate the microbial contaminant load discharged from livestock farms, we randomly selected livestock farmers of cattle, swine, and fowl and collected bacterial strains from domestic animals' feces and compost samples. Recently, as multi-antibiotic-resistant bacteria and super bacteria showing resistance to a variety of antibiotics have been reported one after another, the ecological and health hazard of antibiotic-resistant bacteria is emerging as an important issue.

Methods: Monitored indicator microorganism constituents were total coliform (TC), fecal coliform (FC), and aerobic bacteria. The multi-antibiotic-resistant bacteria were identified from investigated indicator microorganisms by 16S rRNA sequencing.

Results: By microbiological analysis, the largest population of aerobic bacteria (1.5×10^5 CFU/g) was found in cattle fecal compost, and total coliforms (1.1×10^7 CFU/g) and fecal coliforms (1.0×10^5 CFU/g) were found primarily in swine fecal compost, while the lowest population was found in fowl fecal compost. Among the 67 strains separated from aerobic bacteria, five strains expressing high antibiotic resistance were selected in each sample. We found the multi-antibiotic resistant strains to be *Shigella boydii*, *Staphylococcus lentus*, *Acinetobacter* sp. and *Brevibacterium luteolum*.

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

Key words: Livestock, Antibiotic resistant bacteria, Coliforms, 16S rRNA

I. 서 론

산업의 발달과 인구의 증가 등에 의해 가중되는 수계의 유무기질 유입은 심각한 수질오염을 야기하고 있다. 특히 사람과 가축의 배설물이 유입되어 나타나는 배설물 오염(분원성 오염, 분변성 오염)은 수

인성 질병의 원인이 되어 인간의 건강에 커다란 문제로 대두되었다.

지표수는 미생물 오염이 가지고 있는 잠재적 위험성 때문에 인간 또는 동물의 배설물로부터 오염되지 않아야 한다. 이러한 병원성 미생물은 다양한 점원, 비점오염원을 통해 수체로 유입하게 된다. 대표적인

†Corresponding author: Institute of Fusion Technology, Hoseo University, Asan 336-795, Korea, Tel: +82-41-540-9625, Fax: +82-41-540-5748, E-mail : hkkwon@hoseo.edu

Received: 1 April 2011, Revised: 13 August 2011, Accepted: 17 August 2011

점오염원에는 하수처리장 방류수, 하수관거의 월류수 등이 있고, 비점오염원에는 불법방류, 야행동물, 부패조, 가축시설, 매립지, 목초지 등을 들 수 있다.^{1,2)}

대표적인 지표미생물로서 대장균군, 분원성대장균군, 대장균, 분원성 연쇄상구균 등이 있다.³⁾ 장내세균의 한 종류로 존재하는 대장균군(coliform bacteria)의 분포상황을 파악함으로써 배설물 오염에 의한 병원성 미생물의 존재 가능성을 확률적으로 나타낼 수 있다.

최근 소독제 및 항균제 내성균에 대한 2차 감염이 사회적인 문제로 대두되고 있다. 소독제 내성 균주를 사용하여 항생제 내성을 확인한 결과 30%의 내성빈도를 나타내었다고 보고되어지고 있으며, 그 정도에 차이는 있으나 많은 병원성 미생물이 소독제와 항생제에 내성을 나타내고 있는 것이 현실이다.⁴⁾

고농도 항생제의 환경에의 노출은 강력한 항생제 내성 미생물의 출현을 야기할 뿐만 아니라 그보다 낮은 항생제 내성 유전자의 수평이동(Antibiotic Gene Horizontal Transfer)으로 인하여 축산분뇨 내의 병원성 미생물이 항생제 내성을 나타내는 것이 문제이다.^{5,6)}

항생제는 의료 기관에서 환자 치료 목적으로 사용하는 것 이외에도, 동물의 사료에 첨가되기도 하고 많은 생활용품에서 항생물질 첨가 상품이 나오는 등 다양하게 사용되고 있다. 특히 낙농을 많이 하는 유럽국가에서는 성장 촉진제로서 많은 양의 항생제가 동물의 사료에 첨가되고 있다. 이 경우 동물의 장기 내 유해 미생물의 번식을 억제하고 사료의 영양성분이 잘 흡수되도록 도와주어 가축의 체중을 증가시킨다고 알려져 있어 사용량이 증가하고 있다.⁷⁾

최근 각종 항생제에 내성을 보이는 약제 다제 내성균 및 슈퍼박테리아가 잇따라 등장하여 항생제 내성균에 의한 생태유해성이나 보건위해성이 중요한 문제로 대두되고 있다.⁸⁾ 전 세계적으로 세균의 항생제 내성이 문제 되고 있으며 국내에서도 항생제 내성률이 세계적으로 손꼽을 정도로 높은 실정이며, 내성균 문제는 심각한 상황으로 발전될 가능성을 지니고 있다.⁹⁾ 지표미생물은 지표수의 수질을 결정하는 중요한 기준이지만, 축분에서 발생하는 지표미생물의 특성에 관한 자료가 많지 않다.

이에 본 연구에서는 소, 돼지, 닭을 사육하는 축산 농가를 무작위로 선정하여 가축의 분변 및 퇴비에서 채취한 검체로부터 지표수 수질에 영향을 미칠 수

있는 축분 유래 지표미생물의 분포 현황을 조사하고, 분리한 항생제 다제 내성균을 대상으로 16S rRNA Sequencing으로 동정하여 지표수 수질관리에 필요한 자료를 얻고자 하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 시료 채취

충남 A지역 축산 농가의 주요 축종인 소, 돼지, 닭 농가를 무작위로 선택하여 각각의 농가로부터 돈분, 우분, 계분의 샘플을 무균 팩에 각각 약 300 g씩 채취하였으며, 퇴비는 각 지역에서 생산된 돈분퇴비, 우분퇴비, 계분퇴비의 샘플을 채취하였다. 채취된 시료는 무균 팩에 담아 냉장상태로 보관하여 실험실로 운반한 후, 냉장보관하면서 24시간 이내에 시험하였다.^{10,11)}

2. 균주의 분리 동정

1) 균주의 분리

채취한 각각의 시료 1 mg를 멸균생리식염수(0.85% NaCl)에 넣고 충분히 교반 후 상등액을 멸균된 희석수에 10배수로 희석한 후 각 단계별 1 m/를 N/A(Difco Bacto™ Nutrient Agar)배지에 접종하여 35°C에서 24시간 배양 후, 각 시료별 15~20개의 특징 집락을 선별한 후 각 집락별로 3차에 걸쳐 계대 배양을 반복하여 순수 분리하였다.¹²⁾

순수 분리된 균주는 Nutrient Broth(Difco, USA)에서 2일간 배양한 후 Genomic DNA를 분리하였다.

2) 선택적 균주의 분리

총 대장균군 시험은 시료 100 m/를 Membrane Filter(Diameter 47 mm, Pore Size 0.45 µm)로 여과한 다음, 여과지를 m-Endo Agar LES(Difco) 배지에 접종하여 35±0.5°C에서 24±2시간 동안 배양한 다음 암적색의 금속광택을 발하는 집락을 계수(CFU/g)하였다.

분원성대장균 시험은 시료 100 m/를 Membrane Filter(Diameter 47 mm, Pore Size 0.45 µm)로 여과한 다음, m-FC Agar(Difco) 배지에 접종 후 배양 온도에 미치는 실험실의 공기의 영향을 최소화하기 위하여 방수되는 플라스틱 백에 밀봉하여 44.5±0.2°C의 water bath에서 24±2시간 동안 배양한 후에 질

은 푸른색을 띠는 집락을 계수(CFU/g)하였다.¹³⁾

대장균 시험은 시료 100 ml를 Membrane Filter (Diameter 47 mm, Pore Size 0.45 μ m)로 여과한 다음 여과지를 MacConkey Agar(Difco) 배지에 접종하여 35 $\pm$ 1°C에서 24~48시간 동안 배양한 후 적갈색 또는 핑크색의 집락을 계수(CFU/g)하였다.¹⁴⁻¹⁶⁾

대장균의 분리는 적갈색 또는 핑크색의 집락을 Durham Tube가 포함된 유당배지(Lactose Broth)에 접종하여 35 $\pm$ 1°C에서 48 $\pm$ 3시간 동안 배양 후 가스 발생이 확인되는 균주에 대해 Gram 염색 결과에 따라 Gram(-), 무아포성 간균이 증명되면 완전 시험을 통해 최종 확인하였다. 균주의 분리과정 및

방법을 Fig. 1과 Fig. 2에 나타내었다.

3) 균주의 16S rRNA(Ribosomal RNA) Sequencing

1. PCR(Polymerase Chain Reaction) Amplification
멸균된 1.5 ml 원심분리 튜브에 0.5 ml의 멸균 생리식염수를 넣고 각각의 검체에서 분리한 호기성균주 중 항생제(Amoxicillin, Ampicillin, Ciprofloxacin, Erythromycin, Gentamicin, Streptomycin, Tetracycline, Vancomycin)에 다재 내성을 보이는 균주를 멸균된 백금이를 이용하여 순수 집락을 취하여 혼합하였다. 혼합된 1.5 ml 원심분리 튜브를 10,000 rpm으로 10분간 원심분리하고 상등액을 제거한 후 0.5 ml InstaGene Matrix(Bio-Rad, USA)를 첨가하여 56°C에서 15분간 배양하고 100°C에서 10분간 가열하였다. 가열이 끝난 후 Template DNA가 포함된 상등액을 PCR 증폭을 위한 시료로 사용하였다.

PCR 증폭은 20 μ l PCR 반응용액에 Template DNA 1 μ l를 첨가하여 MJ Reserch PTC-225 Peltier Thermal Cycler PCR Machine을 사용하였으며, 증폭을 위해 Universal Primer 27F(5'-AGAGTTTG ATCMTGGCTCAG-3')와 1492R(5'-TACGGYTAC-CTTGTTACGAC TT-3')을 사용하였다.

2) 16S rRNA 염기서열 분석

PCR 반응에 참여하지 않은 반응물과 dNTPs는 Montage PCR Clean Up Kit(Millipore)를 이용하여 정제하고, Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kits(Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)를 이용하여 Sequencing 반응을 실시하였다.

반응에 사용한 Universal Primer는 518F(5'-CCA-GCAGCCGCGGTAATACG-3')와 800R(5'-TACCA-GGGTATCTAATCC-3')이며, 염기서열 분석에는 ABI Prism 3730XL Analyzer(96 Capillary Type)를 이용하였다.

염기서열 분석 결과는 National Center For Biotechnology Information(NCBI)의 Basic Local Alignment Search Tool(BLAST)을 이용하여 16S rRNA Database 정보와 유사한 염기서열을 비교하였고 각각 계통분류학적 위치를 계(Domain) > 문(Phylum) > 강(Class) > 목(Order) > 과(Family) 단계에 이은 '속(Genus)' 단계에서 해당 미생물을 판단하였다. 이 때 Sequence Matching 비율은 97% 이상으로 적용하였다.

Fig. 1. Isolation procedure the membrane filtration method.

Fig. 2. Isolation procedure of *Escherichia coli*.

III. 결 과

1. 축산농가의 가축사육 현황

Table 1은 충남 A지역의 축산농가의 가축사육두수를 나타낸 것이다. A지역의 축산 농가에서는 주로 가금류와 돼지가 젓소나 한우에 비해 많은 분포를 보이고 있는 것이 특징이며, 가금류중 닭의 분포가 가장 높은 것으로 조사되었다.

2. 미생물학적 분석 결과

1) 호기성세균(Aerobic Bacteria)

각각의 가축분변 및 퇴비 시료에서 호기성세균의 분포정도를 조사한 결과 최소 1.0×10^4 CFU/g에서 최대 1.5×10^5 CFU/g의 분포를 나타내었다. 분포정도를 살펴보면 가장 많은 개체수를 나타낸 것은 우분퇴비이며, 가장 적은 개체수를 나타낸 것은 계분퇴비이었다. 분변과 퇴비에서의 호기성세균수를 비교하면 우분과 돈분은 퇴비에서, 계분의 경우에는 분변에서 각기 더 높은 개체수 분포를 보였다. 분석결과는 Table 2에 나타내었다.

2) 총 대장균군(TC : Total Coliform)

각각의 가축분변 및 퇴비 시료에서 총 대장균군의

개체수 분포정도를 조사한 결과는 계분퇴비가 1.0×10^4 CFU/g로 가장 적었으며, 돈분 분변에서 1.1×10^7 CFU/g으로 가장 높은 개체수를 나타내었다. 분석결과를 Table 2에 나타내었다. 분변과 퇴비를 비교했을 때 모두 분변이 퇴비보다 높은 개체수를 보이고 있다.

3) 분원성대장균(FC : Fecal Coliform)

각각의 가축분변 및 퇴비 시료에서 분원성대장균의 분포정도를 조사한 결과 돈분에서 최대 1.0×10^5 CFU/g로 조사되었고, 계분 퇴비에서 1.0×10^3 CFU/g로 가장 낮은 분포를 보였다. 분변과 퇴비를 비교했을 때 총 대장균군에서와 마찬가지로 퇴비보다 분변에서 모두 높은 개체수를 보였다. 전체 분석결과를 Table 2에 나타내었다.

3) 균 분리 및 동정

가축분변유래 항생제 내성균 분포를 조사하기 위하여 축산농가에서 채취한 각각의 돼지, 소, 닭의 분변시료 중의 호기성세균(Aerobic Bacteria)을 분리하였고, 총 대장균군(Total Coliform : TC)과 분원성대장균군(Fecal Coliform : FC)을 조사하여 TC와 FC에서 대장균 균주를 분리하였다. 분리 균주수는 호기성세균 67균주, 대장균 34균주이었다.

돈분에서는 호기성세균 11균주, 대장균 8균주, 돈분 퇴비에서는 호기성세균 12균주, 대장균 12균주를 분리하였고, 우분에서는 호기성세균 15균주, 대장균 1균주, 우분퇴비에서는 호기성세균 16균주, 대장균 1균주를 분리하였다. 계분에서는 호기성세균 13균주, 대장균 1균주, 계분퇴비에서는 대장균 11균주를 분리하였다. 그 요약을 Table 3에 나타내었다.

Table 1. Distribution of livestock in Chungnam A area
(unit : Number of Livestock)

Years	Native cattle	Dairy cattle	Swine	Fowl
2005	9,463	12,231	152,378	4,430,474
2006	10,667	9,556	128,328	1,959,527
2007	12,182	9,496	129,609	1,805,280

Table 2. Detection of aerobic bacteria, total coliform and fecal coliform from livestock feces and compost

Samples	Aerobic bacteria	Total coliform	Fecal coliform
	CFU/g		
Swine feces	1.1×10^5	1.1×10^7	1.0×10^5
Swine compost	1.2×10^5	1.6×10^5	1.1×10^4
Cattle feces	1.3×10^5	3.7×10^5	5.0×10^3
Cattle compost	1.5×10^5	1.0×10^5	2.0×10^3
Fowl feces	1.4×10^6	2.0×10^5	3.0×10^3
Fowl compost	1.0×10^4	1.0×10^4	1.0×10^3

Table 3. Number of isolates to aerobic bacteria and *E. coli* from feces and compost of farm animals

Sample list	No. of isolates	
	<i>Aerobic bacteria</i> Total (n = 67)	<i>Escherichia coli</i> Total (n = 34)
Swine feces	11	8
Swine compost	12	12
Cattle feces	15	1
Cattle compost	16	1
Fowl feces	13	1
Fowl compost	-	11

각각의 검체에서 분리한 호기성균주 중 다제 내성 균 5종을 선별하여, FF-8, SF-5, SC-2, CC-9A, CF-5로 명명하였다.

분리된 균주의 형태적 특성을 확인하기 위하여 그람 염색을 하였으며, 광학현미경(Olympus BX50)을 이용하여 관찰한 결과 Gram(-) 구균, Gram(-) 간균 등으로 확인되었다.

4. 16S rRNA(Ribosomal RNA) Sequencing

분리된 FF-8, SF-5, SC-2, CC-9-A, CF-5의 16S rRNA Sequencing의 염기서열을 BLAST(Basic Local Alignment Search Tool)를 이용하여 RDP(Ribosomal Database Project II)와 ERRD(The European Ribosomal RNA Database)에서 확인한 결과 SF-5는 *Shigella boydii*와 98.2%, CF-5는 *Acinetobacter* sp.와 98.8%, FF-8은 *Staphylococcus lentus*와 99.0%, SC-2는 *Brevibacterium luteolum*과 81.7%, CC-9A는 *Acinetobacter* sp.와 99.8% 각각 일치하는 것으로 판별되었다. Fig. 3-7에 염기서열 결과를 나타내었다.

IV. 고 찰

총 대장균군과 분원성대장균 분포 분석결과 분변과 퇴비를 비교했을 때 모두 퇴비보다 분변에서 높은 개체수를 보였다. 이는 퇴비화 과정에서의 온도 관련 살균효과에 기인한 것으로 판단된다.

16S rRNA Sequencing의 염기서열 분석에 의해 SF-5의 경우 *Shigella*로 *Shigella* sp.는 이질을 일으킬 수 있는 균주로 알려져 있고 Lipopolysaccharide (LPS) 층에 있는 O-다당질 고리의 면역원성에 따라 *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Shigella boydii*, *Shigella dysenteriae*의 4종으로 나뉘며,^{17,18)} 이들 세균은 모두 이질균증(Shigellosis)의 원인균이 되는 것으로 알려져 있다.¹⁹⁾

CF-5와 CC-9A의 경우 *Acinetobacter*로 ‘*Acinetobacter*’균은 혈액감염을 유발하고 상처감염과 폐렴을 유발하며, 건강한 사람의 피부에 잠복하다 위생상태가 불결한 손을 통해 전염될 수 있는 것으로 알려져 있다.

*Acinetobacter*균은 일반적인 항생제 치료에는 저항을 보이거나 특수 항생제로는 치료될 수 있으며 건강

> SF-5(98.2% Sequence Matching with *Shigella boydii*)

```
TTATCGGATTACTGGGCGTAAGCGCACGCAGGCGGTTTGTTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGG
GCTCAACCTGGGAAGTGCATCTGATACTGGCAAGCTTGAGTCTCGTAGAGGGGGGTAGAATTC
CAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCTGG
ACGAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCTGGTAGTC
CACGCCGTAAACGATGTCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGC
GTTAAGTCGACCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCC
CGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGTCTTGA
CATCCACGGAAGTTTTAGAGATGAGAATGTGCCTTCGGGAACCGTGAGACAGGTGCTGCATG
GCTGTCGTCAGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTATCC
TTTGTGCCAGCGGTCCGGCCGGAACTCAAAGGAGACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGT
GGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACCAGGGCTACACAGTGTACAATGGCGCA
TACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTGCCTCGTAGTCCGGATTG
GAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTGATCAGAATGCCACGGT
GAATACGTTCCCGGCCCTTGTACACACCGCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAG
TAGTAGCTTAACCTTCGGGAGGGCGCTTACCACTTTGTGATTCATGACTGGGGTGAGTC
```

Fig. 3. The partial nucleotide sequence of 16S rRNA sequence isolated from swine feces.

> CF-5(98.8% Sequence Matching with *Acinetobacter* sp.)
 TTATCGGATTTACTGGGCGTAAGCGCGTAGGTGGCCAATTAAGTCAAATGTGAAATCCCCG
 AGCTTAACTTGGGAATTGCATTGATACTGGTTGGCTAGAGTATGGGAGAGGATGGTAGAATT
 CCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGATGGCGAAGGCAGCCATCTG
 GCCTAATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCATGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGT
 CCATGCCGTAAACGATGTCTACTAGCCGTTGGGGCCTTTGAGGCTTTAGTGGCGCAGCTAACG
 CGATAAGTAGACCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGC
 CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGTCTTG
 ACATAGTAAGAACTTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACCTACATACAGGTGCTGCAT
 GGCTGTCGTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTTTTC
 CTTATTTGCCAGCGGGTTAAGCCGGGAACCTTAAGGATACTGCCAGTGACAACTGGAGGAAG
 GCGGGGACGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGTC
 GGTACAAAGGGTTGCTACCTAGCGATAGGATGCTAATCTCAAAAAGCCGATCGTAGTCCGGAT
 TGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGAATGCCGCG
 GTGAATACGTTCCCGGGCCTTG
 TACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTTTGTGTCACCAGAAGTAGTAGTCTAACCGCAAGGA
 GGACGCTTACCACGGTGTGGCAGATGACTGGGGTGAG

Fig. 4. The partial nucleotide sequence of 16S rRNA sequence isolated from cattle feces.

>FF-8 (99.0% Sequence Matching with *Staphylococcus lentus*)
 CGGAATTATTGGGCGTAAGCGCGTAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCACGGCT
 CAACCGTGGAGGGTCATTGGAACTGGGGAACCTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGAATTCCAT
 GTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCACTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCT
 GTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCAC
 GCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTCCGCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCAT
 TAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCG
 CACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAAATCTTGACA
 TCCTTTGATCGCTCTAGAGATAGAGTTTTCCCTTCGGGGGACAAAGTGACAGGTGGTGCATG
 GTTGTCGTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTAAGC
 TTAGTTGCCATCATTAAGTTGGGCACTCTAGGTTGACTGCCGGTGACAAACCGAGGAAGGTG
 GGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGATTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATAAT
 ACAAAGGGCAGCAACCCGCGAGGTCAAGCAAATCCCATAAAATTATTCTCAGTTCGGATTGT
 AGTCTGCAACTCGACTACATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGCATGTACGGTG
 AATACGTTCCCGGGTCTGTACACACCGCCCGTCACACCAGAGAGTTTGTAACACCCGAAGC
 CGGTGGAGTAACCTTTTATTAGGAGCTAGCCGTCGAAGTGGGACAGATGATT

Fig. 5. The partial nucleotide sequence of 16S rRNA sequence isolated from fowl feces.

>SC-2 (81.7% Sequence Matching with *Brevibacterium luteolum*)
 TTTTCGCTCTCAGCGTCAGTTACAGCCCAGAGTCCCGCCTTCGCCACCGGTGTTCTCTCTGATA
 TCTGCGCATTTACCCGCTACACCAGGAATTCAGACTCCCCTACTGCACTCTAGTCAGCCCGT
 ACCCACTGCACGCGCAACGTTAAGCGTTGCGTTTCCACAGCAGACGTGACCAACCACCTACGA
 GCTCTTTACGCCAATAATTCCGGACAACGCTTGTACCCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCA
 CGTAGTTAGCCGGTACTTCTTCTGCAGGTACCGTCACTTTCGCTTCTTCCCTACTGAAAGCGG
 TTTACAACCCGAAGGCCGTCATCCCGCACGCGGCGTCGCTGCATCAGGGTTCCCCCATTGTG
 CAATATCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGGCCGTGTCTCAGTCCCAGTGTGGCCGG
 TCGCCCTCTCAGGCCGGCTACCCGTCGTCGTCTTGGTAGGCCACTACCCACCAACAACTGA
 TAGGCCGCGAGTCCATCCCCAACCAGTAAACCCCTTTCACCACCAGACCATGCGGCCAGTAG
 TCATATCCGGTATTAGACCCAGTTTCCAGGCTTATCCCGAAGTCAGGGGCAGGTTACTCACG
 TGTTACTACCCGTTTCGCCACTCATCCACACCAGCAAGCTGGGCGCTTCAGCGTTCGACTTG
 CATGTGTTAAGCACGCCGCCAGCGTTCGTCTGAGCCTNTCAAAACCTCTANCCCCCTGNCG
 CGGGGGTCTCTAGAGGTGGGCATTTTCGGCTCACGCCGAATTAACCAACCTTATGCCGCTGGG
 AGGACGGACGCACGCTGAGCTAAATGAATTATCGTGGCCCCCACAGAGCAACACTNCTATTC
 TTTTCTACAATAACTAAAAACGTGGACGTACTGAACGG

Fig. 6. The partial nucleotide sequence of 16S rRNA sequence isolated from swine compost.

>CC-9A (99.8% Sequence Matching with *Acinetobacter* sp.)
 TTATCGGATTTACTGGGCGTAAGCGCGCTAGGTGGCCAATTAAGTCAAATGTGAAATCCCCG
 AGCTTAACTTGGGAATTGCATTCGATACTGGTTGGCTAGAGTATGGGAGAGGATGGTAGAATT
 CCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGATGGCGAAGGCAGCCATCTG
 GCCTAATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCATGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGT
 CCATGCCGTAAACGATGTCTACTAGCCGTTGGGGCCTTTGAGGCTTTAGTGGCGCAGCTAACG
 CGATAAGTAGACCGCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGC
 CCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCAAGAACCTTACCTGGTCTTG
 ACATAGTAAGAACTTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACCTACATACAGGTGCTGCAT
 GGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTTTC
 CTTATTTGCCAGCGGGTTAAGCCGGAACTTTAAGGATACTGCCAGTGACAACTGGAGGAAG
 GCGGGGACGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGTC
 GGTACAAAGGGTTGCTACCTAGCGATAGGATGCTAATCTCAAAAAGCCGATCGTAGTCCGGAT
 TGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGAATGCCGCG
 GTGAATACGTTCCCCGGCCTTGTACACACCGCCGTCACACCATGGGAGTTTGTGTCACCAGA
 AGTAGTAGTCTAACCGCAAGGAGGACGCTTACCACGGTGTGGCAGATGACTGGGGTGAG

Fig. 7. The partial nucleotide sequence of 16S rRNA sequence isolated from cattle compost.

한 사람에게는 큰 위협이 되지 않는다. 다만, 면역 기능이 저하된 중증환자에서는 감염을 일으킬 수 있는 균으로 알려져 있다.^{20,21)}

FF-8은 *Staphylococcus*로 ‘포도상구균’은 인수공통 질환을 일으키며, 자연계에 널리 분포하고 사람과 동물의 피부, 비인후 등에 상재균으로서 알려져 있으며 본 균 속에는 화농의 원인 외에 식중독의 원인이 되는 ‘황색포도상구균’이 있으며, 주요 전파경로는 의료진의 손이나 사람과 사람의 직접 접촉에 의한 것으로 알려져 있다.²²⁾

*Staphylococcus aureus*도 인수공통 질환을 일으키는 병원성 미생물로 분류되고 있으며, 국내 식중독 발생의 대표적인 균 중 하나이다. 식약청(2006년)에서 발표한 집단식중독 발생현황을 보면, 노로바이러스(30.81%)와 병원성대장균(26.14%)에 이어 식중독 발생사고의 원인균의 17.76%를 차지하고 있다.²³⁾

V. 결 론

본 연구에서는 지표수의 잠재적 위험성을 갖고 있는 가축분변에 대한 생태유해성이나 공중보건위해성의 측면에서 지표미생물의 분리 동정 및 가축분변 및 퇴비중의 항생제 다제내성균의 오염실태를 조사하여 다음과 같은 결론을 도출하였다.

1. 가축분변의 미생물학적 분석결과 호기성세균의 경우 우분퇴비에서 1.5×10^5 CFU/g로 가장 많은 개체수를 나타내었다. 개체수 분포정도는 우분퇴비, 돈분퇴비, 계분퇴비의 순이었으며, 우분과 돈분은 퇴비에서, 계분은 분변에서 각기 더 높았다.

2. 총 대장균의 경우는 돈분에서 1.1×10^7 CFU/g로 가장 많은 개체수를 보였고, 계분퇴비에서 각각 1.0×10^4 CFU/g로 가장 적은 개체수를 나타내었다.

3. 분원성대장균은 돈분에서 1.0×10^5 CFU/g로 가장 많은 개체수를 보였고, 계분퇴비에서 1.0×10^3 CFU/g로 가장 적은 개체수를 나타내었으며, 총 대장균과 분원성대장균 분포가 퇴비에서보다 모든 분변시료에서 높은 개체수를 보였다.

4. 호기성세균에서 분리된 67종의 균주 중 시료 별로 항생제 내성률이 높은 다제 내성균주의 16S rRNA Sequencing 결과 *Shigella boydii*, *Staphylococcus lentus*, *Acinetobacter* sp., *Brevibacterium luteolum* 등으로 판별되었다.

참고문헌

1. Doran JW, Schepers JS, Swanson NP. Chemical and bacteriological quality of pasture runoff. *J Soil Water Conserv.* 1981; 36(3): 166-171.
2. Murray KS, Fisher LE, Therrien J, George B, Gillespie J. Assessment and use of indicator bacteria to determine sources of pollution to an urban river. *J Great Lakes Res.* 2001; 27(2): 220-229.
3. Baudisova, D. Evaluation of *Escherichia coli* as the main indicator of fecal pollution. *Water Sci Technol.* 1997; 35(11-12): 333-336.
4. Kim HN, Park JY, Kim SW, Jun HK. Growth Inhibitions of Strains Exhibiting Resistances against General Disinfectants and Antibiotics by MBT-01108 Material. *J Life Sci.* 2007; 17(9): 1278-1283.
5. Jindal, A, Kocherginskaya S, Mehboob A, Robert M, Mackie RI, Raskin L, Zilles JL, et al. Antimicrobial use and resistance in swine waste treatment systems. *Appl Environ Microbiol.* 2006; 72(12): 7813-7820.
6. Dzidic S, Bedekovic V. Horizontal gene transfer emerging multidrug resistance in hospital bacteria. *Acta Pharmacol Sin.* 2003; 24(6): 519-526.
7. Wolfgang W. Medical consequences of antibiotic use in agriculture. *Science.* 1998; 279(5353): 996-997.
8. Lim SK, Lee HS, Byun JR, Park SY, Jung SC. Antimicrobial resistance of commensal bacteria isolated from food-producing animals 1. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. isolated from cattle fecal samples. *Kor J Vet Public Health.* 2007; 31(1): 21-29.
9. Kwon YI, Kim TW, Kim HY, Chang YH, Kwak HS, Chung YH. Monitoring of Antimicrobial Resistant Bacteria from Animal Farm Environments in Korea. *Kor J Microbiol Biotech.* 2007; 35(1): 17-25.
10. Joseph SW, Hayes JR, English LL, Carr LE, Wagner DD. Implications of multiple antimicrobial-resistant enterococci associated with the poultry environment. *Food Additives Contaminants.* 2001; 18: 1118-1123.
11. Rhodes, G, Huys, G, Swings J, McGann P, Hiney M, Smith P, et al. Distribution of oxytetracycline resistance plasmids between aeromonads in hospital and aquaculture environments: implication of Tn1721 in dissemination of the tetracycline resistance determinant Tet A. *Appl Environ Microbiol.* 2000; 66(9): 3883-3890.
12. Bae MS, Choi GG, Park SH, Choi MS, Lee GH.

- Annual population variation and identification of antibiotic-resistant bacteria in the lower lake Geum-gang. *Ecolo Soc Kor*. 2004; 27(5): 283-289.
13. APHA, AWWA, WPCF. Standard Methods for Examination of Water and wastewater, 19th ed. Washington, D.C : American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation; 1995. p.1268.
14. Park HJ. Relationships between Physicochemical Characteristics and Microorganisms in Goggyochun stream basin, 2003-2005 [dissertation]. [Asan]: Hoseo University; 2001.
15. Park JE, Kim SD, Cho JR, Kim SH, Lee HJ, Lee YO. Comparative studies on detecting methods of fecal indicators (Coliforms) in surface water. *J Kor Soc on Water Quality*. 2006; 22(6): 1052-1059.
16. Chu DS, Kwon HK, Lee SE, Lee JH. A study on indicator bacteria for water quality management of Urban artificial lakes. *Kor J Environ Health*. 2007; 33(4): 299-3057.
17. Yu TJ, Hong JH, Kim YB, Lee H, Kim YA, So MH, et al. Food Microbiology, 1st ed. Seoul : Munundang; 1996. p.243-245.
18. Lee YY, Park SG. Food Hygiene and Microbiology Test, 1st ed. Seoul : Dong Hwa Technology Publishing Company; 1997. p.260-266.
19. Oh HK, Lee NG, Bae YS, Lee KJ, Ju YR, Kim YC, et al. Cloning of the form I-antigen genes from *Shigella sonnei* KNIH104. *J Kor Soc Microbiol*. 1997; 32: 161-166.
20. Bergogne-Berezin E. The increasing significance of outbreaks of *Acinetobacter* spp. the need for control and new agents. *J Hosp Infect*. 1995; 1(30): 441-452.
21. Cisneros-Herreros JM, Garnacho-Montero J, Pachon-Ibanez ME. Nosocomial pneumonia due to *Acinetobacter baumannii*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiologia Clinica*. 2005; 3(23): 46-51.
22. Hartstein AI, Denny MA, Morthland VH, LeMonte AM, Pfaller MA. Control of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in hospital and an intensive care unit. *Infect Contr Hosp Epidemiol*. 1995; 16: 405-411.
23. Annual report of food-borne disease in Korea. Available: <http://www.kfda.go.kr>. 2006.pdf [accessed 19 September 2010].