

飼料添加劑의 微生物汚染에 關하여

朴壽瓏 · 卓鍊斌

慶北大學校 農科大學 獸醫學科

Microbiological Studies on Feed Supplements

Park, Su Kyung · Tak, Ryun Bin

Dept. of Veterinary Medicine, Coll. of Agric., Kyungpook Natl. Univ.

Summary

Eighty one products from 36 kinds of vitamin and mineral feed supplement collected during August, 1984 to February, 1985 were examined for microbiological contamination. In addition, 83 strains of coliform isolated from the samples were tested for the resistance to 8 kinds of antimicrobial drugs and distribution of R plasmid.

General bacteria were detected in all of samples tested. Bacterial population was varied from less than 10 per gram of the sample to 1,400,000 per gram and 34 (42%) of 81 samples were contaminated with 100 to 1,000 cells per gram.

Coliform isolation, which was more frequent in samples with larger number of general bacteria, was possible in 14 (17.3%) out of 81 samples tested and 6 (33.3%) out of 18 companies were coliform positive in their products.

Forty one (49.4%) out of 83 coliform isolates were fecal coliform.

The frequency of resistant strains was the highest to sulfadimethoxine (Sa) with 92.8% and followed by streptomycin (Sm, 67.5%), tetracycline (Tc, 50.6%), kanamycin (Km, 26.5%), chloramphenicol (Cm, 18.1%) and ampicillin (Am, 15.7%). No strain was resistant to nalidixic acid (Na) and gentamicin (Gm). The resistance frequency of fecal coliform strains were higher compare to non-fecal coliform strains.

There were minimum inhibitory concentration (MIC) of 3,200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ or higher in 7 strains to Am, 3 to Sm and 3 to Km, and 70 strains had MIC of 1,600 $\mu\text{g}/\text{ml}$ or higher to Sa while Tc had MICs from 1.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ to 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$. All strains had MICs of 6.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of lower to Na and 3.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ or lower to Gm.

Seventy nine (95.2%) of 83 strains were resistant to one or more drugs tested. The most frequent resistance patterns were SaSm (14.5%) and followed by SaSmTc (12%), SaSmTcKm (8.4%), SaTc (8.4%) and SaSmKm (7.2%); total 19 different patterns were noted.

Thirty two (40.5%) of 79 resistant strains were transferred all or a part of their resistance to *Escherichia coli* ML 1410.

The frequency of transferable resistance was high in Am (100%) and Cm (80%) while low in Tc (38.1%), Sa (18.2%), Sm (17.9%) and Km (4.5%).

緒 論

近代 우리나라의 畜産은 農家 副業의인 形態를 벗어나 全業化 내지는 企業化의 發展을 거듭하여 大規模의 集團 飼育體系를 이루게 됨에 따라 配合飼料의 量的 生産增加에 박차를 가져와 오늘날 畜産農家의 대부분은 配合飼料에 의존하고 있으며, 또한 家畜의 生産性を 높이기 위하여 配合飼料에 各種 飼料添加劑를 添加하여 飼養하고 있다.^{3,4)} 그 중 특히 비타민과 礦物質은 動物의 體內 新陳代謝를 위한 必須物質으로써 이들의 缺乏時에는 顯著한 生産性 低下가 惹起될 수 있으므로 飼養標準에 따라 追加로 添加해 주고 있는 實情이며, 國內에서도 畜種이나 日令等 그 目的에 따라 이들을 主劑로한 各種 飼料添加劑가 生産되어 使用되고 있다.^{5,15)}

한편 各種 飼料原料 또는 配合飼料의 微生物汚染度에 관한 研究가 여러 학자들에 의해 報告된 바 있으며^{2,7,8,13,18-20)} 國內에서도 飼料原料나 市販 配合飼料의 微生物學的 汚染에 관해서는 姜 등⁷⁾, 姜 등⁸⁾ 및 金 등¹³⁾의 報告가 있으나 飼料添加劑에 대한 微生物學的 研究는 아직 報告된 바 없다.

飼料 혹은 飼料添加劑의 一般細菌 및 大腸菌群 汚染은 生産工程의 衛生程度를 추정할 수 있으며 藥劑 耐性を 가진 非病原性 腸系細菌이 汚染되어 있다면 이를 섭취한 動物의 腸内に 定着될 수 있으므로 傳染病의 發生時 病原菌의 耐性 획득에 의한 治療上의 어려움이 제기될 수도 있다.

이러한 중요성에 비추어 著者は 國內에서 生産되어 市販되고 있는 飼料添加劑에 대하여 一般細菌 및 大腸菌群의 汚染度와 이들 飼料添加劑에서 分離된 大腸菌群의 藥劑感受性を 試驗하여 藥劑別耐性菌의 出現頻度와 耐性樣相 및 傳達性 R plasmid의 分布等을 調査한 바 그 얻은 成績을 報告하는 바이다.

材料 및 方法

飼料添加劑: 1984年 8月부터 1985年 2月 사이 國內 18個 製造會社에서 生産되어 市販되고 있는 비타민 또는 비타민과 礦物質을 主成分으로 한 動物用 飼料添加劑 36個 品目에 대하여 品目當製造番號別 1~3個씩 總 81個 試料를 供試하였다.

一般細菌數 算定 및 大腸菌群의 分離: 一般細菌의

生菌數 및 大腸菌群數의 測定은 平板培養法에 의하였다. 一般細菌의 測定은 試料 1g을 생리식염수 9 ml에 浮遊시켜 混化한 다음 10倍 稀釋法으로 稀釋하여 堊균平板 2枚에 稀釋液 1 ml씩 分注하고 미리 준비한 50℃의 一般寒天培地(Standard plate count medium, Difco) 約 20 ml를 加하여 混化하였다. 培地가 굳은 다음 다시 一般寒天培地로 表面을 被覆하고 35~37℃ 48시간 培養후 平板當 集落數가 30~300個가 形成된 稀釋倍數의 것을 擇하여 算定하였다.

大腸菌群數의 測定에는 desoxycholate 寒天培地(Difco)를 使用하였다. 10倍 稀釋試料에서 集落形成이 없을 경우에는 veal infusion broth(Difco) 30 ml에 試料 3g씩 加하여 37℃ 18~24시간 增菌한 후 MacConkey agar(Difco)에 塗抹하고 다시 37℃ 1晝夜 培養하였다. 乳糖을 分解한 集落을 鈎菌하여 다시 MacConkey agar에서 순수 分離한 大腸菌群 83株를 半流動 寒天培地에 穿刺培養하여 保存하고 試驗에 使用하였다.

Durham 시험관을 挿入한 MacConkey broth(Difco)에 分離菌을 接種하여 44.5℃ 48시간 培養한 후 酸과 靑소가 形成된 菌을 fecal coliform으로 判定하였다.²⁵⁾

抗菌性 藥劑: Ampicillin(Am, 영진), chloramphenicol(Gm, 중근당), streptomycin(Sm, Meiji Seika, Japan), nalidixic acid(Na, 수도), tetracycline(Tm, Pfizer), gentamicin(Gm, 동명), kanamycin(Km, 동명) 및 sulfadimethoxime(Sa, 영진) 등 8種의 藥劑를 供試하였다.

抗菌劑에 대한 感受性試驗: 各 藥劑를 MacLowry 등¹⁷⁾과 Wolf 등²⁸⁾의 方法에 따라 適當한 溶媒에 溶解시킨 다음 稀釋하여 使用하였다. 藥劑感受性檢査는 平板稀釋法에 의하였으며 供試培地는 Sa를 除外하고는 tryptic soy agar(Difco)를 使用하였고 Sa에 대한 感受性檢査는 Mueller Hinton agar(Difco)를 使用하였다.

Tryptic soy broth(TSB, Difco)에서 37℃ 18~24시간 培養한 供試菌을 생리식염수로 100倍 稀釋하고 Steers 등²¹⁾의 接種用具를 利用하여 各 抗菌劑를 順次的으로 倍數稀釋한 濃度を 含有하는 平板培地에 接種한 다음 37℃ 24시간 培養 후 接種部位의 集落形成 有無를 보아 供試菌에 대한 各 藥

劑의 最小發育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration, MIC)를 測定하였으며 耐性菌의 測定은 MIC가 Am, Gm, Sm, Km 및 Na에서 $25 \mu\text{g/ml}$, Tc에서 $12.5 \mu\text{g/ml}$, Gm에서 $6.3 \mu\text{g/ml}$ 및 Sa에서 $400 \mu\text{g/ml}$ 이상일때 그 藥劑에 대한 耐性菌으로 判定하였다.¹⁶⁾

耐性傳達試驗: 藥劑感受性檢査에서 耐性菌으로 判定한 供試菌을 耐性供與菌으로 하고 耐性的 被傳達菌으로는 *Escherichia coli* ML1410을 使用하였다. 供與菌과 被傳達菌을 各各 TSB에 1晝夜 培養한 다음 다시 各各 4 ml의 TSB에 接種하고 37°C 溫水槽에서 3~4시간 가끔 振盪하면서 培養한 다음 供與菌과 被傳達菌을 1:4의 비율로 混合하여 다시 37°C 에서 18시간 培養한 菌液을 Na ($12.5 \mu\text{g/ml}$)와 Am ($12.5 \mu\text{g/ml}$), Gm ($12.5 \mu\text{g/ml}$), Km ($12.5 \mu\text{g/ml}$), Sm ($12.5 \mu\text{g/ml}$), Tc ($6.3 \mu\text{g/ml}$) 또는 Sa ($200 \mu\text{g/ml}$)를 含有하는 選擇培地에 塗抹하여 37°C 24시간 培養한 다음 集落形成 有無를 보아 耐性傳達를 判定하였으며 이때 選擇培地上에 나타나는 集落을 選擇培地別로 3~4個씩 任意로 取하여 MacConkey agar에 純培養한 다음 다시 抗菌劑에 대한 耐性を 平板法에 의하여 檢査하여 耐性傳達樣相을 보았다. 每回 實驗에서 供與菌과 被傳達菌은 選擇培地에서 增殖할 수 없음을 확인하였다.

結 果

國內에서 市販되고 있는 비타민 또는 비타민과 鑛物質을 主成分으로하는 飼料添加劑에서 一般細菌 및 大腸菌群의 汚染度를 調査하였던 바 그 成績은 表1에서와 같다. 一般細菌은 試料 81例 모두에서 나타났으며 大腸菌群은 81例中 14例 (17.3%)에서만 分離되었다. 이들 飼料添加劑에서 一般細菌數의 分布는 g 當 10미만에서부터 1,400,000까지로 可檢物에 따라 細菌汚染度의 差異가 많았으며 g 當 100~1,000이 34例 (42%)로 가장 많았고, 다음 1,000~10,000이 20例 (24.7%), 10~100이 13例 (16%), 10미만 8例 (9.9%), 10,000~100,000 4例 (4.9%) 및 100,000~1,400,000 2例 (2.5%)의 順이었다.

大腸菌群에 있어서는 一般細菌이 g 當 100미만으로 汚染된 試料 21例에서는 전혀 分離되지 않았으며, 一般細菌의 汚染도가 g 當 100 이상의 높은 例

Table 1. Bacterial population in 81 feed supplements

No. of general bacteria/g	No. of positive samples (%)	No. of coliform positive samples
< 10	8 (9.9)	0
10 - < 100	13 (16.0)	0
100 - < 1,000	34 (42.0)	2
1,000 - < 10,000	20 (24.7)	9
10,000 - < 100,000	4 (4.9)	2
100,000 - 1,400,000	2 (2.5)	1
Total	81 (100%)	14 (17.3%)

Table 2. Bacterial population by company

Company	No. of products	No. of samples	No. of general bacteria/g	No. of coliform positive samples
A	1	3	10 - 200	0
B	3	8	140 - 34,000	2
C	1	2	190 - 620	0
D	1	1	360	0
E	2	4	20 - 17,000	0
F	3	6	230 - 5,700	0
G	5	15	40 - 6,000	4
H	4	8	<10 - 10,000	2
I	2	4	<10 - 870	0
J	4	9	<10 - 14,000	0
K	2	3	2,000 - 1,400,000	1
L	1	3	100 - 6,300	2
M	2	6	20 - 120	0
N	1	3	<10	0
O	1	3	1,200 - 2,500	3
P	1	1	<10	0
Q	1	1	10	0
R	1	1	250	0
Total 18	36	81		14

Table 3. Frequency of drug resistance in coliform isolates

Antimicrobial drugs*	No. of resistant strains among 83 coliforms (%)	No. of resistant strains among 41 fecal coliforms (%)	No. of resistant strains among 42 non-fecal coliforms (%)
Am	13 (15.7)	10 (24.4)	3 (7.1)
Cm	15 (18.1)	9 (22.0)	6 (14.3)
Sm	56 (67.5)	35 (85.4)	21 (50.0)
Na	0	0	0
Tc	42 (50.6)	29 (70.7)	13 (31.0)
Gm	0	0	0
Km	22 (26.5)	12 (29.3)	10 (23.8)
Sa	77 (92.8)	40 (97.6)	37 (88.1)

* Abbreviation ; see text.

에서는 大腸菌群의 分離率이 높았다.

供試 試料의 製造會社別 一般細菌數와 大腸菌群의 汚染程度는 表2에서 보는 바와 같이 一般細菌數 g 當 10 以下인 會社는 3 個社이고 會社에 따라 汚染程度가 多樣하였으며 大腸菌群에 있어서는 18 個 製造會社中 6 個社 (33.3%)의 제품에서 陽性이었다.

大腸菌群 陽性인 試料 14 例로부터 分離된 大腸菌群 83 株中 41 株 (49.4%)가 fecal coliform이였으며 供試菌의 抗菌性 藥劑에 대한 感受性試驗을 하였던 바 表3에서와 같이 Sa에 耐性인 菌이 77 株 (92.8%)로 가장 많았으며, 다음으로 Sm 및 Tc에 耐性인 菌이 各各 56 株 (67.5%) 및 42 株 (50.6%)의 順으로 이들 藥劑에 대한 耐性菌 出現率이 높았으며 Km, Cm 및 Am에 耐性인 菌은 各各 22 株 (26.5%), 15 株 (18.1%) 및 13 株 (15.7%) 順으로 비교적 이들 藥劑에 대한 耐性菌 出現率이 낮았고 Na와 Gm에 대하여는 全株가 感受性이었다. Fecal coliform과 non-fecal coliform의 藥劑別 耐性菌 出現率을 비교한 바 fecal coliform이 Na와 Gm을 除外한 全 供試藥劑에 대한 耐性菌 出現率이 높았다.

供試菌의 各 藥劑에 대한 MIC分布를 보면 表4에서와 같이 Am 및 Km에 대하여는 MIC가 3,200 $\mu g/ml$ 以上인 高度의 耐性을 가진 菌이 各各 7 株 및 3 株이었으나 대부분의 耐性菌은 그 MIC가 25 $\mu g/ml$ 의 範圍이었다.

分離菌의 耐性型을 보면 表5와 같이 83 株中 供試한 藥劑 1種 以上에 耐性을 가진 菌이 79 株(95.2%)이었으며 耐性型別로는 Sa 및 Sm에 耐性인 2劑 耐性菌과 Sa 單劑 耐性菌이 各各 12 株 (14.5%) 보 가장 많았고 다음으로 SaSmTc의 3劑 耐性菌이 10 株 (12%), SaSmTcKm의 4劑 耐性菌과 SaTc의 2劑 耐性菌 各各 7 株(8.4%) 및 SaSmKm의 3劑 耐性菌 6 株 (7.2%)의 順이었으며 기타 耐性型을 가진 菌도 小數씩 있어 總 19種의 耐性型이 관찰되었다. 또한 耐性傳達을 試驗한 結果 耐性菌 79 株中 32 株 (40.5%)가 供與菌 耐性의 全部 또는 그 一部를 被傳達菌에 傳達하여 傳達性 R plasmid를 保有하고 있었으며 보다 많은 藥劑에 耐性을 가진 多劑耐性菌일수록 耐性傳達率이 높아 6劑 耐性菌 2 株는 모두가 藥劑耐性을 傳達하였고 5劑 耐性菌 8 株中 6 株 (75%), 4劑 耐性菌 14 株中 10 株 (71.4%), 3劑 耐性菌 19 株中 7 株 (36.8%) 및 2劑 耐性菌 24 株中 7 株(29.2%)의 順이었으며 單劑耐性菌 12 株에서는 耐性傳達이 이루어지지 않았다 (Table 6.).

이들 耐性菌의 各 藥劑別 耐性菌 出現頻度와 耐性傳達을 비교하여 보면 表7에서와 같이 Sa, Sm 및 Tc에 대한 耐性菌 出現頻도가 높았으나 耐性傳達率은 낮았으며, Cm 및 Am에 대한 耐性菌 出現頻도는 20%미만으로 매우 낮았으나 耐性傳達率은 80% 以上으로 대단히 높았다. Km에 있어서는 耐性菌 出現頻도 및 耐性傳達率 모두가 매우 낮았다.

Table 4. Minimum inhibitory concentration (MIC) to antimicrobial drugs in coliform isolates

Antimicrobial drugs*	No. of strains inhibited at MIC ($\mu g/ml$)													
	$\geq 3,200$	1,600	800	400	200	100	50	25	12.5	6.3	3.1	1.6	0.8	0.4
Am	7					2		4	14	46	10			
Cm		1	6	2			3	3	34	32	2			
Sm	3		6	6	11	6	1	23	24	3				
Na											31	52		
Tc				8	23	7	1	2	1	1	29	11		
Gm											37	39	6	1
Km	3							19	45		15	1		
Sa	17	53	7		3	3								

* Abbreviation ; see text.

Table 5. Resistance patterns and transferable R plasmids in coliform isolates

No. of drug marker	Resistance pattern *	No. of strains	No. of R ⁺ strains	Resistance pattern of R plasmids *	No. of R plasmids
6	SaSmTcKmCmAm	2	2	SaSmAm	1
				CmAm	1
				Am	1
5	SaSmTcKmCm	4	3	SaSmTcCm	1
				SaSmTc	1
				SaSmCm	1
				Cm	2
				Am	1
	SaSmTcKmAm	1	1	Am	1
	SaSmTcCmAm	3	2	SaSmCmAm	1
				Am	1
4	SaSmTcKm	7	3	SaSmTc	2
				Sa	1
				Tc	1
				SaSmTcCm	3
				Cm	1
				Am	2
				SmCmAm	1
3	SaSmTc	10	4	SaSmTc	2
				SaSm	2
				Sa	1
				SaSmKm	6
				SaSmAm	2
2	SaTcCm	12	7		0
				SaSm	12
				SaTc	7
					0
				SaKm	2
				SaAm	1
				SmTc	1
				SmAm	1
					1
				Am	1
1	Sa	12	0		

* Abbreviation; see text.

Table 6. Frequency of transferable resistance of coliform isolates associated with number of resistant drugs

No. of drug marker	No. of resistance pattern	No. of strains (%)	No. of R ⁺ strains (%)
6	1	2 (2.4)	2 (100.0)
5	3	8 (9.6)	6 (75.0)
4	4	14 (16.9)	10 (71.4)
3	4	19 (22.9)	7 (36.8)
2	6	24 (28.9)	7 (29.2)
1	1	12 (14.5)	0
Total	19	79 (95.2)	32 (40.5)

Table 7. Incidence of transferable resistance among resistant coliform isolates

Antimicrobial drugs *	No. of resistant strains (%)	No. of R ⁺ strains (%)
Sa	77 (92.8)	14 (18.2)
Sm	56 (67.5)	10 (17.9)
Tc	42 (50.6)	16 (38.1)
Km	22 (26.5)	1 (4.5)
Cm	15 (18.1)	12 (80.0)
Am	13 (15.7)	13 (100.0)

* Abbreviation; see text.

考 察

家畜 飼養에 있어서 生産性を 높이기 위한 수단의 하나로서 配合飼料에 各種 飼料添加劑의 使用이 普遍化되어 있으며,¹⁾ 그 中 비타민과 礦物質은 가장 많

이 쓰이는 添加劑의 하나로서 premix 型으로 生産되어 配合飼料에 適當한 비율로 添加되고 있으며 國內에서도 年間 10,000 t 以上の 많은 量이 使用되고 있다.^{6),15)}

飼料原料나 配合飼料에 대한 微生物學的 研究는 國內外 여러 研究者들에 의해 報告된 바 있으나,^{2),7)}

8, 13, 18-20) 飼料添加劑에 관한 微生物學的 研究는 아직 報告가 없는 實情이다.

本 實驗에서는 國內에서 市販되고 있는 維生素 또는 維生素과 礦物質을 主成分으로 하는 飼料添加劑에 대한 汚染程度를 알아보기 위하여 一般細菌數와 大腸菌群을 檢査한 結果 一般細菌은 供試 試料 모두에서 나타나 9 당 10 미단에서부터 1,400,000 까지 多様な 分布를 보였으며 그 中 100~1,000이 81 例中 34 例(42%)로 가장 많았고 製造會社에 따라서도 많은 差異가 있었다. 大腸菌群에 있어서는 一般細菌의 汚染度가 높을수록 分離되는 例가 많아 供試 試料 81 例中 14 例(17.3%)에서 陽性으로 나타났다. 이와 같이 一般細菌의 汚染程度와 大腸菌群의 分離에 있어서 相關關係를 가지는 것은 衛生程度가 낮은 環境일수록 이들의 汚染機會가 높기 때문인 것으로 생각된다. 또한 大腸菌群 陽性的인 경우는 大腸菌 外에도 다른 腸系 病原菌에 汚染될 수 있는 가능성을 示唆하므로 이에 대한 關心을 기울여야 할 것으로 思料된다. 一般細菌 및 大腸菌群數의 測定은 주로 各種 食品의 生産過程 및 加工後의 再汚染 與否를 檢査하기 위한 汚染指標으로써 널리 利用되고 있으며 飼料나 飼料添加劑에 있어서는 汚染程度에 따른 基準設定이 되어있지 않아 本 成績에서의 汚染度 數値가 어느 程度의 汚染水準에 該當하는지는 明確히 알 수 없으나 姜 등⁷⁾이 報告한 國內 市販 配合飼料의 一般細菌數 3,500~570,000/9 및 大腸菌群 陽性率 100%와 金 등¹³⁾에 의한 市販 配合飼料內 大腸菌數 48,000~45,000,000/9 과 비교하면 市販 配合飼料의 汚染度보다는 顯著히 낮았고, 森實 등¹⁸⁾에 의한 飼料中 大腸菌群 陽性數 87 例中 40 例(46%)보다도 매우 낮았다. 그러나 配合飼料보다 添加劑가 長期間 貯藏된다는 점과 供試한 試料中 9 당 一般細菌數가 100,000 以上인 例도 있어 이들 飼料添加劑가 주로 配合飼料에 添加되어 家畜에 給與되고 있음을 고려할때 飼料汚染을 增加시킬 수 있는 一部 要因이 될 수도 있을 것으로 思料된다.

分離 大腸菌群의 約 49%가 fecal coliform이었으며 이는 原料 및 生産工程의 衛生에 있어서 充分히 고려되어야 할 점으로 생각된다.

本 實驗에서 供試한 大腸菌群의 藥劑感受性を 試驗한 結果 Sa에 耐性인 菌이 77 株(92.8%)로

가장 많았고 다음으로 Sm 및 Tc에 대하여 耐性인 菌이 各各 56 株(67.5%) 및 42 株(50.6%)이었으나, 最近 金 및 卓¹²⁾은 國內 病鷄에서 分離한 大腸菌의 Tc, Sm 및 Sa에 대한 耐性菌出現率이 各各 90%, 82.9% 및 80.3%인것으로 報告하였으며, Kim 등¹⁸⁾이 沙生仔豚으로부터 分離한 大腸菌의 이들 藥劑에 대한 耐性菌出現率이 93.6%, 82.7% 및 60.9%인것으로 報告하여 本 成績에 비해 Tc 및 Sm에 대한 耐性菌出現率은 훨씬 높았으나 Sa에 대하여는 상당히 낮았다. 한편 姜 등⁷⁾은 國內 市販 各種 飼料로부터 分離한 大腸菌의 Tc 및 Sm에 대한 耐性菌出現率이 各各 24.4% 및 4.9%로 報告하여 이는 本 成績에서보다 매우 낮아 심한 差異를 나타내었으나 Am에 耐性인 菌이 20.7%, Cm에는 8.5%가 耐性を 가졌으며 Gm에는 全株가 感受性인 것으로 나타나 이는 本 成績과 類似한 結果였다. 이와 같은 畜種이나 飼料에 과 類似한 結果였다. 이와 같은 畜種이나 飼料에 따른 分離菌의 藥劑別 耐性菌出現率에 있어서의 差異는 供試菌의 分離時期나 分離地域 및 畜種 등에 따른 常 생각되나 本 成績에서 供試한 大腸菌群의 Tc, Sm 및 Sa에 대한 높은 耐性頻度는 이들 耐性 大腸菌群이 飼料添加劑의 原料 또는 賦形劑 등에 이미 汚染되어 있거나 製造時 사람이나 製造器具를 통한 汚染이 이루어지고 있음을 示唆 해주고 있다 하겠다.

本 實驗에서 供試한 飼料添加劑中の 大腸菌群 陽性率 17.3%는 姜 등⁷⁾이 報告한 國內 市販 配合飼料의 汚染度에 비하여 상당히 낮은 水準이라 하겠으나 이들 供試菌中の 多數가 Tc, Sm 및 Sa 등의 藥劑에 대한 높은 耐性率을 나타내었고 또한 이들 菌中에는 Am, Km 및 Cm 등 現在 사람이나 家畜 및 家禽에서 매우 효과적인 治療藥劑에 대하여 耐性を 가진 것도 分離되었으며 또한 供試菌의 92.2%가 耐性菌으로써 이 中 40.5%는 傳達性 R plasmid를 保有한 것으로 나타나 이는 대부분의 供試 添加劑들이 特別한 衛生的인 處理過程을 거침이 없이 飼料에 混入되어 家畜에 給與되고 있는 實情을 감안할때 家畜衛生 및 公衆保健上 注目의 대상이 될 수 있을 것으로 思料된다.

大腸菌을 위시한 腸內細菌 및 기타 그람陰性細菌에서 藥劑耐性的인 傳達에 관한 研究는 Ochiai 등²¹⁾ 및 Akiba 등¹¹⁾에 의하여 처음으로 報告된 이래 國

内外 많은 사람들에 의해 研究되어 왔다. Smith²³⁾ 및 Sturtevant 등²⁵⁾은 河川水에서 分離한 藥劑耐性 大腸菌의 41~44.5%가 그 耐性を 傳達하였으며, Fox 등⁵⁾은 類人猿에서 分離한 腸內細菌의 52.3%, Kim 및 Stephens¹⁴⁾는 屠鷄肉 由來 藥劑耐性 大腸菌의 10.8%, Walton²⁷⁾은 牛肉 및 豚肉에서 分離한 藥劑耐性 大腸菌群의 40%가 그 耐性を 傳達하였다고 報告하였다. 또한 國內에 있어서도 金 및 卓¹¹⁾이 河川水에서 分離한 耐性大腸菌의 87.5%, 金 등¹⁰⁾은 人에서 分離한 *Pseudomonas*의 14.5%, 朴²²⁾은 소由來 藥劑耐性 大腸菌의 28.1%, 金 및 卓¹²⁾은 닭由來 耐性大腸菌의 61.1%가 傳達性 R plasmid를 保有하고 있는 것으로 報告한 바 있다.

한편 金 및 卓¹²⁾은 닭由來 大腸菌에 있어서 많은 數의 藥劑에 耐性を 가진 多劑耐性菌일수록 耐性傳達率이 높은 것으로 報告하여 本 實驗結果와 매우 一致하는 傾向을 나타내었으며, 이는 R plasmid에 의한 感受性菌의 急速한 耐性化 傾向을 證明해주고 있다 하겠다.

家畜 및 家禽에서 分離한 藥劑耐性 大腸菌에 있어서 金 및 卓¹²⁾과 薛 등²⁶⁾도 Am에 대한 耐性の 傳達頻도가 가장 높은 것으로 報告하여 本 成績과 一致하고 있으며, 이로 미루어 앞으로 짧은 期間內에 Am에 대한 耐性大腸菌이 더욱 增加될 수 있음을 추측케 하고 있다.

向後 飼料衛生 分野의 基礎資料를 위하여 보다 多樣한 種類의 飼料原料나 添加劑에 관한 研究가 이루어져야 할 것으로 思料된다.

摘 要

市販 飼料添加劑에 대한 微生物學的 汚染程度를 알아보기 위하여 國內에서 販賣되고 있는 비타민과 鑛物質 飼料添加劑 36個 品目 總 81例의 試料를 供試하여 一般細菌 및 大腸菌群의 汚染狀態를 檢査하고 아울러 試料로부터 分離한 83株의 大腸菌群에 대한 Am等 8種의 抗菌性藥劑에 대한 耐性頻도 및 耐性程度를 파악하였으며 耐性菌에 있어서는 耐性樣相과 R plasmid의 分布를 調查하여 다음과 같은 成績을 얻었다.

一般細菌은 試料 81例 모두 陽性이었으며 大腸菌群은 81例中 14例 (17.3%)에서만 陽性이었다.

一般細菌數의 分布는 *g*當 10미만에서부터 1,400,000까지 多樣하였으며 그 中 100~1,000/*g*이 34例 (42%)로 가장 많았고 大腸菌群에 있어서는 一般細菌의 汚染度가 높을수록 分離率이 높았으며 總 18個 製造會社中 6個社 (33.3%)의 製品에서 陽性이었다.

供試菌 83株中 41株(49.4%)가 fecal coliform이었다.

供試菌에 대한 藥劑別 耐性菌出現率은 sulfadimet-hoxine (Sa)에 대해 92.8%로 가장 높았고 다음으로 streptomycin (Sm)에 67.5%, tetracycline (Tc)에 50.6%, kanamycin (Km)에 26.5%, chloramphenicol(Cm)에 18.1%, ampicillin (Am)에 15.7% 順이었으며 nalidixic acid(Na)와 gentamicin (Gm)에는 全株가 感受性이었고 各供試 藥劑에 있어서 non-fecal coliform에 비하여 fecal coliform의 耐性菌出現率이 높았다.

供試菌의 最小發育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration, MIC) 分布는 Am 및 Km에 대하여 MIC가 3,200 $\mu\text{g/ml}$ 이상인 高度의 耐性を 가진 菌이 各各 7株 및 3株이었으나 대부분의 耐性菌은 그 MIC가 25 $\mu\text{g/ml}$ 이었고, Cm, Sm 및 Tc에 대한 耐性菌의 대부분은 25 $\mu\text{g/ml}$ 에서 400 $\mu\text{g/ml}$ 의 範圍이었다.

供試菌 83株中 79株 (95.2%)가 供試한 藥劑 1種 以上에 耐性を 가졌으며 耐性型別로는 SaSm 耐性型 및 Sa 單劑耐性型이 各各 12株 (14.5%)로 가장 많았고 다음으로 SaSmTc型 10株 (12%), SaSmTcKm型 7株 (8.4%), SaTc型 7株 (8.4%) 및 SaSmKm型 6株 (7.2%)의 順이었으며 總 19種의 耐性型이 관찰되었다.

耐性傳達試驗 結果 耐性菌 79株中 32株(40.5%)가 傳達性 R plasmid를 保有하고 있었으며 多劑耐性菌일수록 耐性傳達率이 높았다. 供試 藥劑別 耐性傳達頻도는 Am (100%) 및 Cm (80%)에서 매우 높고, 다음으로 Tc (38.1%), Sa (18.2%), Sm (17.9%) 및 Km (4.5%)의 順이었다.

引用文獻

1. Akiba, T., T. Koyama, T. Ishiki, S. Kimura and T. Fukushima : Studies on the mechanism of development of multiple drug resistant *Shigella* strains, *Nihon Iji Shimpo*, 1866 : 45-50, 1960.
2. Boyer, Jr., C. I., D. W. Bruner and J. A. Brown : Salmonella organisms isolated from poultry feed, *Avian Dis.*, 2:396-401, 1958.
3. 畜産業協同組合中央會 : 畜協調査季報, 星文社, 4:61-105, 1984.
4. Ensminger, M. E. and C. G. Olentine, Jr. : Feeds and Nutrition-Complete, Ensminger Publishing Co., California(1978) pp.195-209.
5. Fox, J. G., S. B. Synder and O.A. Soave : Transmissible drug resistance in *Enterobacteriaceae* isolated from healthy non-human primates, *Am. J. Vet. Res.*, 34:965-970, 1973.
6. 韓仁圭 : 配合飼料의 品質 向上 方案, 韓國營養飼料研究會報, 5:151-163, 1981.
7. 姜鎬祚, 姜正夫, 朴武鉉 : 國內市販 飼料에 대한 衛生學的研究 1報. 微生物學的 汚染狀態와 大腸菌의 藥劑耐性, 韓國獸醫公衆保健學會誌, 6: 85-93, 1982.
8. 姜鎬祚, 姜正夫 : 國內市販 飼料에 대한 衛生學的研究 2報. 곰팡이 및 Aflatoxin 의 汚染狀態, 韓國獸醫公衆保健學會誌, 6:95-103, 1982.
9. Kim, B. H., D. S. Kim and C. K. Lee : The *in vitro* drug resistance of *Escherichia coli* isolated from scouring piglets during 1977 and 1978, 農村振興廳農事試驗研究報告, 21: 57-59, 1979.
10. 金靜, 韓王洙, 徐仁錫 : 病院綠膿菌의 同種菌 接合에 의한 多劑耐性의 傳達, 大韓微生物學會誌, 14:49-61, 1979.
11. 金基錫, 卓鍊斌 : 大邱新川으로부터 分離된 藥劑耐性 大腸菌群의 傳達性耐性에 關하여, 大韓獸醫學會誌, 17:73-78, 1977.
12. 金基錫, 卓鍊斌 : 鷄由來 病原性 大腸菌에 關한 研究. 2. 大腸菌感染 病鷄로부터 分離한 大腸菌의 抗菌性 藥劑耐性 및 傳達性 耐性因子(R p-lasmid), 韓國獸醫公衆保健學會誌, 8:1-10, 1984.
13. 金基錫, 南宮琬, 毛仁筆, 吳瓊祿, 南基哲 : 國內市販飼料의 微生物汚染에 關한 研究. 第1報. 單味飼料 및 配合飼料 중 살모넬라속균 및 大腸菌群의 分布, 韓國獸醫公衆保健學會誌, 8:33-37, 1984.
14. Kim, T. K. and J. F. Stephens : Drug resistance and transferable drug resistance of *Escherichia coli* isolated from "Ready-to-Cook" broilers, *Poult. Sci.*, 51:1165-1170, 1972.
15. 韓國動物藥品協會 : 動物藥品等 生産販賣實績, 동약회, 서울(1984) pp.4-5.
16. Lennette, E. W. : Manual of Clinical Microbiol., 3rd ed., Amer. Society for Microbiol., Washington, D. C.(1980) pp.463-464.
17. MacLowry, J. D., M. J. Jaqua and S. T. Selepak : Detailed methodology and implementation of a semiautomated serial dilution microtechnique for antimicrobial susceptibility testing, *Appl. Microbiol.*, 20:46-53, 1970.
18. 森實, 高橋孝則, 尾上洋一, 高橋武夫 : 飼料에 對ける細菌, 酵母およびカビ類의 汚染實態について, 日獸會誌, 30:19-22, 1977.
19. 中島 亨, 若松英信, 楠谷喜洋 : 飼料의 微生物汚染에 關する研究, 第1報. 飼料原料中の 細菌數, サルモネラ菌의 檢出, 畜産의 研究, 37:471-473, 1983.
20. 中島 亨, 若松英信, 楠谷喜洋 : 飼料의 微生物汚染에 關する研究, 第2報. 飼料製造工程, 農場, 人工胃液での 細菌數의 變動, 畜産의 研究, 37: 547-549, 1983.
21. Ochiai, K., T. Yamanaka, K. Kimura and O. Sawada : Studies on inheritance of drug-resistance between *Shigella* strains and *Escherichia coli* strains, *Nihon Iji Shimpo*, 1961:34-46, 1959.

22. 朴浩圭 : 소에서 分離한 *Escherichia coli* 의 抗生物質耐性 및 傳達性 耐性因子的 分布, 大韓獸醫學會誌, 17:5-8, 1977.
23. Smith, H. W.: Incidence in river water of *Escherichia coli* containing R factors, Nature, 228:1286-1288, 1970.
24. Steers, E., E. L. Foltz and B. S. Graves : Inocular replicating apparatus for routine testing of bacterial susceptibility to antibiotics, Antibiot. Chemother., 9 : 307 - 311, 1959.
25. Sturtevant, A. B., G. H. Gassell and T.W. Feary : Incidence of infectious drug resistance among fecal coliforms isolated from raw sewage, Appl. Microbiol., 21:487-491, 1971.
26. 薛盛用, 趙成萬, 全煥基 : 家畜由來 大腸菌의 抗菌劑耐性 및 R plasmid, 大韓化學療法學會誌, 2:144-166, 1984.
27. Walton, J. R. : Contamination of meat carcasses by antibiotic-resistant coliform bacteria, Lancet, 2:561-563, 1970.
28. Wolf, P. L., B. Russel and A. Shimoda: Practical clinical microbiology and mycology technique and interpretations, New York, London, Sydney, Toronto, John Wiley and Sons, Inc. (1975) pp.195-199.