

< Short Communication >

육계에서 깃털을 이용한 플루오르퀴놀론계 잔류 모니터링 가능성 조사

김재호 · 김미희 · 안길호*
경기도북부동물위생시험소

Feasibility of monitoring of fluoroquinolones residual through feather analysis in broilers

Jae-Ho Kim, Mi-Hee Kim, Gil-Ho Ahn*

Gyeonggi Province Northern Animal Hygiene Laboratory Office, Yangju 11459, Korea

(Received 3 June 2020; revised 15 June 2020; accepted 24 June 2020)

Abstract

This study was conducted to analyze feasibility of monitoring of fluoroquinolones residual through feather analysis in broilers. The calibration curve showed good linearity ($r^2 \geq 0.99$) within the concentration range of 1~100 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) were validated at ≤ 0.66 and ≤ 1.99 $\mu\text{g}/\text{kg}$ in broiler feather, respectively. The recoveries in feather samples ranged from 94.6 to 114.4% (5.1-15.8% RSD) at the 5 to 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ spiking levels. The proposed new analytical method proved to be suitable and effective for fluoroquinolones determination. We also monitored fluoroquinolones residue in 36 samples (broiler that were slaughtered in Gyeonggi-do) using this method. Among tested feather samples, enrofloxacin and ciprofloxacin were detected in all samples. In muscle samples, enrofloxacin was detected in 20 (55.6%) samples and ciprofloxacin was not detected.

Key words : Fluoroquinolones, Enrofloxacin, Feather, Monitoring, LC-MS/MS

서 론

엔로플록사신은 플루오르퀴놀론계 항균물질로 그람 음성균, 그람양성균 및 mycoplasma에 강한 항균력을 지니고 있어 사람과 가축의 치료 및 예방에 널리 사용되는 약제이다(Gigosos 등, 2000; Seo 등, 2002). 또한 엔로플록사신은 국내 가금류에 사용 허가된 플루오르퀴놀론계 항균물질 중 대부분을 차지하는 약품으로 동물병원, 농가에서 사용되고 있고 음수 투여가 용이하여 살모넬라, 제대염 등 치료 및 초생추 폐사 예방을 위한 질병 관리 프로그램으로 사용하고 있다(농림축산검역본부, 2017). 그러나, 닭고기에서 플루오르퀴놀론계 항균제는 WHO 및 OIE에서 우선적 관리가 필

요한 항균제로 분류되고 있으며 식육 유래 플루오르퀴놀론계 항균물질 내성균으로 인해 인체 건강에 해를 줄 수 있음이 보고되었다(Engberg 등, 2004; Nelson 등 2007). 호주에서는 축산에서 사용을 허가하지 않으며, 미국에서는 가금에서 엔로플록사신의 사용 승인을 2005년에 철회하였다(FDA, 2005).

우리나라에서도 가축에 플루오르퀴놀론계의 사용이 증가하면서 내성균에 대한 문제가 꾸준히 제기되었다(Kim 등, 1997; Lee 등, 2005a; Lee 등, 2005b; Sung 등 2008; 농림축산검역본부 2013). 계란에서도 이 계열 약제에 대한 잔류 문제가 대두되었다(서, 2000). 또한 2017년 농림축산검역본부의 조사 결과를 보면, 식중독 원인균인 캄필로박터의 경우, 닭고기에서 분리된 균주들은 엔로플록사신에 대해 100%의 내성을 보이는 것으로 조사되기도 하였다(농림축산검역본부,

*Corresponding author: Gil-Ho Ahn, E-mail. dvmakh@gg.go.kr
ORCID <https://orcid.org/0000-0003-3212-9899>

2017). 이에 국내에서도 닭에 대한 사용 규제 등 강력한 위해관리 조치의 필요성이 대두되었다. 2017년 5월 부터 산란계에 대한 엔로플록사신 사용이 금지되었으며 2021년부터는 모든 닭에 엔로플록사신 사용을 금지하는 방안을 추진 중이다.

하지만 널리 사용했던 약제이기에 농가에서 엔로플록사신 사용금지가 정착되기까지는 시간이 필요할 것이다. 엔로플록사신 사용금지 정책이 보다 빨리 정착되기 위해서는 지속적인 교육, 홍보 등과 더불어 효과적인 모니터링 검사체계의 구축이 필요할 것으로 본다.

기존의 식육을 이용한 검사는 검사 당시 식육이 식육에 적합한지에 대해 판단하는데 초점이 맞춰져 있다. 하지만 식육검사는 휴약기간 이후 금지약물이 검출되지 않을 경우 금지약물 사용여부를 판단할 수 없으며 그로인한 항생제 내성균의 출현을 방지하는 데에는 한계가 있다.

이 문제를 해결하는데 깃털을 이용한 검사가 대안이 될 수 있다. San Martín 등(2007)은 엔로플록사신과 그 대사체인 시프로플록사신이 닭의 깃털에서 치료 후에도 긴 기간 동안 검출될 수 있음을 보고하였다. Larissa 등(2017)도 육계에서 부화 후 일주일 이내에 사용한 엔로플록사신도 도축단계에서 채취한 깃털 샘플을 통해 검출이 가능하다고 보고하였다. 국내에서는 깃털을 통한 엔로플록사신 검출에 관한 연구가 부족한 실정이다.

따라서 본 연구는 도축단계에서의 육계의 근육과 깃털 샘플 분석을 통해 엔로플록사신과 대사성 시프로플록사신의 잔류 여부를 조사하고, 식품공전의 축산물 퀴놀론 분석법이 깃털 분석에도 적용 가능한지를 검토해 보고자 수행되었다.

재료 및 방법

분석대상 시료

본 연구는 2019년 5월부터 2020년 5월까지 진행되었다. 2020년 4월 14일부터 2020년 4월 23일까지 경기도 동두천 지역 도계장으로 출하된 12개 육계 농장을 대상으로 도축 단계에서 시료를 채취하였다. 농장은 지역별로 강원 6개소, 경기 4개소, 경북 1개소, 충남 1개소이다.

한 농장 당 깃털과 가슴 근육을 3수씩 채취하였다.

깃털은 증류수로 세척 후 50°C 건조기에서 완전히 건조하여 실험 시까지 냉동보관 하였다.

표준품 및 시약

표준품은 시그마사의 analytical standard grade (Sigma-aldrich, St. Luis, USA)를 사용하였으며, 여기에는 엔로플록사신, 시프로플록사신, 마보플록사신, 오비플록사신, 사라플록사신, 다노플록사신, 디플록사신, 오픈플록사신, 노르플록사신, 페플록사신이 포함된다. 추출과 분석에 사용된 시약 n-hexane (Merck, Germany), acetonitrile (Merck, Germany), methanol (Merck, Germany), water (Burdick & Jackson, USA)는 LC급 이상을 사용하였으며, trichloroacetic acid (Sigma, USA) 및 formic acid (Thermo Fisher Scientific, USA)은 특급 시약을 사용하였다.

표준용액 제조

플루오르퀴놀론계 표준품을 각각 10 mg씩 정량하여 100 mL 용량플라스크에 취하였고, methanol 100 mL에 완전히 녹여 100 µg/mL가 되도록 표준원액을 만들어 각각의 표준원액을 이동상 용액으로 1 µg/mL가 되도록 희석하여 표준용액으로 사용하였다. 표준원액과 표준용액은 모두 갈색병에 담아 -30°C에 보관하여 실험에 사용하였다.

시료 추출 및 정제

근육시료 전처리하는 식품의 기준 및 규격의 방법에 따라 검체에 trichloroacetic acid 용액을 가한 후 아세트니트릴로 대상 성분을 추출하는 방법을 사용하였다(식품의약품안전처, 2020). 검체 1 g을 50 mL 원심분리관에 취하여 2.5% trichloroacetic acid 1 mL와 아세트니트릴 15 mL를 가하여 10분간 균질화한 후 4,400 g에서 20분간 원심분리하였다. 상층액을 여분의 원심분리관에 옮기고 아세트니트릴포화헥산 15 mL를 가하여 1분간 격렬히 진탕한 후 헥산층은 버렸다. 아세트니트릴층은 50°C 이하에서 질소가스로 용매를 날려 보내고 0.1% formic acid 1 mL에 녹인 후 0.2 µm 막여과지(membrane filter)로 여과하였다(Fig. 1). 깃털시료 전처리하는 식품의 기준 및 규격의 검사법을 약간 변경하여, 2.5% trichloroacetic acid 2.5 mL를 사용하였으며, 아세트니트릴 25 mL를 추출 용매로 사용하고 혼

합은 30분간 행하였으며, 이후의 과정은 근육의 전처리와 같은 방법을 취하였다(Fig. 2).

결 과

분석조건

초고속액체크로마토그래프 질량분석기(UHPLC-MS/MS, Waters Xevo TQ-XS)를 이용하여 분석을 실시하였고, 칼럼은 ACQUITY UPLC® BEH C18 1.7 μm, 2.1×100 mm (Waters)를 사용하였다. 기기의 분석조건은 Table 1, 2와 같다. 데이터 수집 및 분석은 MassLynx 4.2 software (Waters)를 사용하였다.

Method validation

깃털의 경우 플루오르퀴놀론계 항균물질이 검출되지 않은 산란계 깃털(Blank sample)을 1 g씩 준비하여, 0, 1, 10, 30, 50, 70, 100 μg/kg이 되도록 표준용액을 첨가한 후 전처리하여 조직표준곡선(Tissue standard curve)을 작성하였다. 근육은 blank 시료의 추출-정제액에 표준용액을 첨가하여(matrix matched) 깃털과 동일한 농도로 표준곡선을 작성하였다. 농도별 표준곡선을 검량하여 각 농도별 면적비를 구한 후, 회귀분석

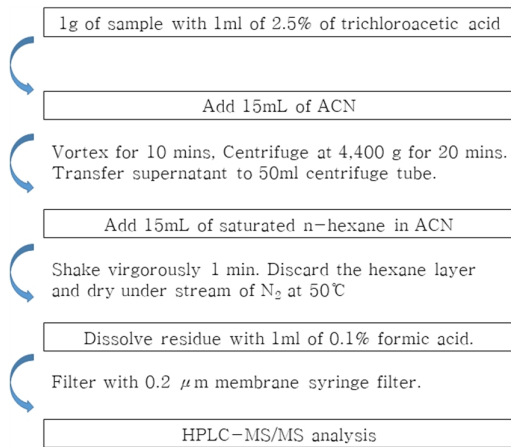


Fig. 1. Flow chart of muscle samples preparation method.

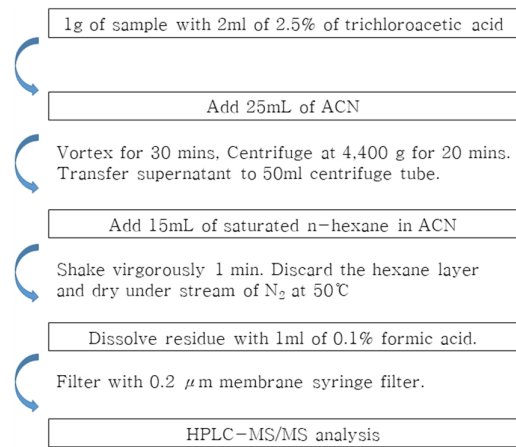


Fig. 2. Flow chart of feather samples preparation method.

Table 1. Analytical condition of LC/MS/M

Model	Waters ACQUITY UPLC		
Detector	Waters Xevo TQ-XS LC/MS/MS		
Column	ACQUITY UPLC® BEH C18 (1.7 μm, 2.1×100 mm, Waters)		
Mobile phase	A: 0.1% formic acid in water B: 0.1% formic acid in acetonitrile		
	Time (min)	A (%)	B (%)
	0.00	90	10
	0.50	90	10
	3.00	65	35
	5.00	5	95
	8.00	5	95
	10.00	90	10
Flow rate	0.4 mL/min		
Ionization mode	ESI (Positive mode)		
Capillary voltage	0.7 kV		
Nebulizer Gas	N2		
Collision gas	Ar		

Table 2. Multiple reaction monitoring analysis of two quinolones

Analyte	RT (min)	Precursor ion (m/z)	Quantification ion (m/z)*	Identification ion (m/z)*	Cone (V)
Enrofloxacin	3.5	360.2	316.2 (19)	203.05 (35) 245.1 (26)	50
Ciprofloxacin	2.9	332.2	288.1 (17)	245.1 (22) 314.1 (18)	45
Norfloxacin	2.7	320.2	276.2 (16)	233.1 (23)	40
Pefloxacin	2.8	334.2	290.2 (16)	233.1 (22)	50
Danofloxacin	3.2	358.2	96.1 (23)	314.15 (15) 340.1 (19)	50
Ofloxacin	2.7	362.2	318.2 (17)	261.1 (25)	50
Marbofloxacin	2.4	363.2	72.1 (22)	320.1 (14)	45
Sarafloxacin	3.6	386.2	299.1 (24)	322.1 (21)	50
Orbifloxacin	3.5	396.2	352.1 (16)	295.1 (23)	50
Difloxacin	3.6	400.2	356.1 (18)	299.1 (27)	50

*Collision energy (eV) is given in parentheses.

Table 3. Linearity evaluation and sensitivity data for the FQs detected in this study

Analyte	Feather			Muscle		
	R ²	LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)	R ²	LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)
Enrofloxacin	0.9960	0.26	0.78	0.9964	0.33	0.99
Ciprofloxacin	0.9906	0.49	1.51	0.9959	0.41	1.25
Danofloxacin	0.9954	0.26	0.78	0.9934	0.14	0.43
Difloxacin	0.9959	0.41	1.24	0.9971	0.36	1.09
Marbofloxacin	0.9963	0.11	0.35	0.9905	0.25	0.76
Norfloxacin	0.9955	0.49	1.50	0.9952	0.29	0.90
Ofloxacin	0.9907	0.66	1.99	0.9931	0.23	0.73
Orbifloxacin	0.9923	0.10	0.31	0.9991	0.47	1.42
Pefloxacin	0.9923	0.31	0.96	0.9886	0.52	1.58
Sarafloxacin	0.9964	0.34	1.02	0.9977	0.50	1.52

하여 표준곡선을 작성하였다. 검출한계(LOD)와 정량 한계(LOQ)는 각 농도를 세 번씩 주입하여 작성한 표준곡선을 이용하였으며, 다음과 같이 구하였다. $LOD=3.3 \times y$ 절편표준편차/기울기평균, $LOQ=10 \times y$ 절편표준편차/기울기평균. 이번 실험의 상관계수 correlation coefficient (R²)와 LODs, LOQs는 Table 3과 같다. 깃털의 평균 회수율은 94.70% (디플록사신) 에서 114.44% (다노플록사신)의 범위였다. 깃털의 Intra-day와 Inter-day precision은 각각 9.27%, 15.82% 이하로 좋은 반복성과 재현성을 나타냈다(Table 4). 근육의 평균 회수율은 97.67% (다노플록사신)에서 116.76% (마보플록사신)의 범위였다. 근육의 Intra-day와 Inter-day precision도 각각 3.49%, 9.19% 이하로 좋은 반복성과 재현성을 나타냈다(Table 5).

닭고기, 깃털 중 잔류조사

경기도 내 도계장의 도축단계 육계에서 채취한 깃털과 근육을 대상으로 플루오르퀴놀론계 항균물질에 대한 검사를 진행하였으며, 엔로플록사신과 대사체인 시프로플록사신만 검출되었다. 그 결과는 Table 6과 같다.

깃털의 경우 검사를 진행한 12개 농장 36수 모든 시료에서 엔로플록사신과 대사체인 시프로플록사신이 검출되었다. 근육은 엔로플록사신이 12개 농장 중 10개 농장, 20수에서 검출(55.6%) 되었으며, 시프로플록사신은 검출되지 않았다. 근육에서 검출된 가장 높은 값은 16.4 µg/kg이었으며, 이는 가금 근육에서 엔로플록사신의 잔류허용기준(100 µg/kg)보다 낮은 값이었다.

Table 4. FQs recovery and precision intra-day and inter-day from feather samples spiked with FQs

Analyte	Recovery (%)		Intra day precision (RSD%)*		Inter day precision (RSD%) [†]	
	5 (µg/kg)	20 (µg/kg)	5 (µg/kg)	20 (µg/kg)	5 (µg/kg)	20 (µg/kg)
Enrofloxacin	102.65	107.38	7.60	1.90	11.19	7.24
Ciprofloxacin	97.15	100.41	7.53	1.53	8.50	9.33
Danofloxacin	102.23	114.44	1.55	4.92	6.84	12.18
Difloxacin	94.70	98.62	1.06	7.37	15.82	13.69
Marbofloxacin	98.82	101.86	8.40	1.35	8.95	10.33
Norfloxacin	95.10	102.66	1.56	3.99	7.29	6.49
Ofloxacin	99.98	98.57	2.09	1.65	8.88	7.92
Orbifloxacin	94.68	98.94	9.06	8.90	9.87	10.76
Pefloxacin	105.54	101.08	1.21	2.34	9.90	5.09
Sarafloxacin	98.73	93.63	9.27	1.73	8.77	14.45

*Number of replicates=3. [†]Number of replicates=9.

Table 5. FQs recovery and precision intra-day and inter-day from muscle samples spiked with FQs

Analyte	Recovery (%)		Intra day precision (RSD%)*		Inter day precision (RSD%) [†]	
	5 (µg/kg)	20 (µg/kg)	5 (µg/kg)	20 (µg/kg)	5 (µg/kg)	20 (µg/kg)
Enrofloxacin	107.17	101.26	1.10	3.45	5.31	3.69
Ciprofloxacin	106.67	102.30	1.77	1.43	6.35	2.24
Danofloxacin	97.67	99.90	3.49	1.10	9.19	1.89
Difloxacin	102.60	101.58	1.26	2.42	4.40	2.47
Marbofloxacin	116.76	104.31	0.83	1.20	7.46	2.82
Norfloxacin	108.90	103.11	3.45	1.63	7.75	3.53
Ofloxacin	111.72	104.97	1.87	2.12	6.40	3.53
Orbifloxacin	102.57	100.47	1.31	1.92	3.19	2.25
Pefloxacin	111.06	103.78	2.83	1.64	9.43	4.11
Sarafloxacin	101.20	98.79	3.05	1.16	3.33	2.29

*Number of replicates=3. [†]Number of replicates=9.

고찰

본 연구는 가금에서의 사용금지 예정인 엔로플록사신의 모니터링 강화를 위하여 깃털시료를 통한 검사가 효과적인지에 대해 조사하였다. 또한 축산물에서 플루오르퀴놀론계를 검사하는 방법인 식품공전의 검사법을 기준으로 하여 추가의 준비 및 별도의 교육 없이도 바로 현장 적용이 가능한지에 대해서도 검토하고자 하였다. 시료 추출 과정에서 건조된 깃털을 충분히 적시기 위하여 근육시료를 검사하는 방법보다 2.5% trichloroacetic acid, acetonitrile을 각각 2 mL와 25 mL로 증량하여 시험하였다. 시험방법을 검증한 결과 0.99 이상의 높은 직선성을 보였으며, 검출한계는 0.7 µg/kg 이하, 정량한계는 1.7 µg/kg 이하로 좋은 감도를 보였다(Table 3). 회수율은 94.7% 이상(Table 4)으로 CODEX에서 정한 권장 회수율(1~10 µg/kg일 경우 60~120%,

10~100 µg/kg일 경우 70~120%)을 모두 만족하였다. 이로써 깃털시료를 이용한 플루오르퀴놀론계 분석법이 적합한 것으로 확인되었다.

도계장에서 채취한 시료의 검사 결과를 분석해 보면 근육시료 55.6%에서 엔로플록사신이 검출되었고 깃털시료는 100%의 검출을 보였다. 깃털시료를 통한 실험이 근육 샘플을 통한 실험보다 더 높은 검출률을 보였다. Park 등(2019)은 퀘처스법을 이용한 도계장에서 채취한 육계 근육 시료의 엔로플록사신 검출이 23.3%라고 보고 하였는데, 본 연구에서는 근육 검출률이 이보다 높았다.

엔로플록사신을 10 mg/kg 농도로 3일간 근육 주사한 San Martín 등(2007)의 실험에서는 투약 중지 후 9 시간까지는 근육과 깃털에서 비슷한 수준으로 잔류된 것으로 보고하였다. 그러나 투약성분은 근육에서 깃털보다 더 빠르게 반감되었다. 9일차에서는 근육에서

Table 6. Concentration of FQs (mg/kg) found in slaughterhouse samples

Farm	Slaughter day	Sample	Analyte	Amount ($\mu\text{g}/\text{kg}$)		
				n1	n2	n3
1	32	feather	ciprofloxacin	36.1	15.3	27.1
			enrofloxacin	117.6	63.4	96.4
		muscle	ciprofloxacin	<LOQ	<LOQ	<LOQ
			enrofloxacin	6.6	2.3	16.4
2	45	feather	ciprofloxacin	25.0	24.4	21.8
			enrofloxacin	111.3	139.5	105.2
		muscle	ciprofloxacin	-	-	-
			enrofloxacin	1.1	0.9	1.1
3	30	feather	ciprofloxacin	19.3	29.2	23.2
			enrofloxacin	141.5	374.7	187.1
		muscle	ciprofloxacin	<LOQ	-	<LOQ
			enrofloxacin	4.0	1.5	11.7
4	36	feather	ciprofloxacin	2.6	2.4	2.2
			enrofloxacin	56.4	16.4	22.1
		muscle	ciprofloxacin	-	-	-
			enrofloxacin	<LOQ	1.3	<LOQ
5	35	feather	ciprofloxacin	3.3	5.0	5.4
			enrofloxacin	17.8	37.4	35.8
		muscle	ciprofloxacin	-	-	-
			enrofloxacin	<LOQ	<LOQ	<LOQ
6	34	feather	ciprofloxacin	3.5	5.6	5.6
			enrofloxacin	80.9	55.5	53.2
		muscle	ciprofloxacin	-	-	-
			enrofloxacin	1.6	1.0	1.9
7	32	feather	ciprofloxacin	2.7	8.9	9.6
			enrofloxacin	18.5	46.7	53.6
		muscle	ciprofloxacin	-	-	-
			enrofloxacin	<LOQ	0.9	<LOQ
8	33	feather	ciprofloxacin	9.8	5.3	<LOQ
			enrofloxacin	38.2	62.4	45.4
		muscle	ciprofloxacin	-	-	-
			enrofloxacin	<LOQ	<LOQ	<LOQ
9	36	feather	ciprofloxacin	22.3	22.0	16.0
			enrofloxacin	122.9	115.6	100.8
		muscle	ciprofloxacin	-	-	-
			enrofloxacin	<LOQ	1.5	4.4
10	36	feather	ciprofloxacin	17.7	16.0	10.1
			enrofloxacin	65.4	87.2	52.3
		muscle	ciprofloxacin	-	-	-
			enrofloxacin	<LOQ	<LOQ	1.8
11	34	feather	ciprofloxacin	4.2	2.9	4.9
			enrofloxacin	23.1	25.6	24.4
		muscle	ciprofloxacin	-	-	-
			enrofloxacin	<LOQ	<LOQ	<LOQ
12	31	feather	ciprofloxacin	17.6	26.3	28.1
			enrofloxacin	80.9	95.8	113.2
		muscle	ciprofloxacin	-	-	-
			enrofloxacin	6.6	1.4	1.4

투약 성분이 거의 소실되었고 깃털에서는 30~40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 수준으로 잔류하였다. 이처럼 가식부위 보다 깃털에서 높은 수준의 엔로플록사신 잔류에 대해 López-

Cadenas 등(2013)은 플루오르퀴놀론계의 큰 분포용적, 낮은 혈장단백 친화성과 높은 지방 친화성과 같은 약동학적 특성을 지목하였다. 이 때문에 깃털 같은 말초

조직까지 높은 농도로 도달할 수 있다는 것이다. 또한 닭이 미지선(urophygial gland)에서 나오는 기름 성분의 분비물을 털 손질에 사용하는 습성 때문에 깃털이 약제 성분에 오염될 수 있음을 시사하였다.

엔로플록사신을 10 mg/kg 농도로 3일간 근육 주사한 San Martín 등(2007)의 실험에서는 9일 후 깃털에서 엔로플록사신이 30~40 µg/kg 수준으로 잔류하였고, 10 mg/kg 농도로 5일간 음수 투여한 Haag 등(2016), María 등(2019)의 실험에서는 9일 후 깃털에서 엔로플록사신이 95% 이상 제거되었다. 하지만 국내 육계의 사육환경이 평사이고 바닥을 쪼는 닭의 습성을 생각해 본다면 분변 섭취를 통해 약제 성분이 재흡수 되고 깃털이 분변에 오염될 수 있다. 이 때문에 케이지 사육 조건보다 긴 기간 동안 깃털에서 엔로플록사신이 검출될 가능성이 있다. 육계 분변에 잔류한 엔로플록사신은 환경에서 반감기가 조건에 따라 12.7~38.1일이며, 시프로플록사신은 1.2~8.2일이다(Slana 등 2017). 실제로 일반농장에서 엔로플록사신 투약 후 깃털에서의 잔류를 연구한 보고를 보면, 10 mg/kg 농도로 3일간 투약 후 39일이 지난 시점에서도 49 µg/kg의 농도로 엔로플록사신이 검출되었다(Larissa 등 2017). 즉 국내 육계 농장에서 보통 엔로플록사신을 초생추 폐사 예방을 위해 사용하는 시점이 3일령 전후임을 생각한다면 투약 후 30일 이상이 지난 도축단계 시점에도 깃털 검사를 통해 엔로플록사신 사용여부를 모니터링할 수 있다는 것을 알 수 있다.

이처럼 가식부위보다 긴 잔류기간, 시료 채취의 편리성 등을 볼 때 깃털을 통한 금지약물의 모니터링 검사가 효과적임을 알 수 있다. 본 연구의 검사법을 현장에 적용한다면 가금에서의 엔로플록사신 사용금지 정책을 보다 빨리 정착시키고 효과적으로 관리할 수 있을 것이다. 또한 깃털 검사를 통한 잔류물질 검사는 플루오르퀴놀론계 약물 이외에도 tetracyclines, macrolides, lincosamides, sulfonamides, tylosin 약물 등 다양한 약물들의 검사에도 적용할 수 있다(Berendsen 등, 2013; Comejo 등, 2017; Larissa 등, 2017; Comejo 등, 2018; Pokrant 등, 2018). 더 나아가 깃털을 통한 항생제 잔류물질 검사는 산란계의 무항생제 인증 등에 적용할 수 있을 것이다. 이는 기존의 계란시료를 통한 인증보다 더 신뢰도 높은 인증 검사법으로 활용할 수 있을 것이다.

결론

본 연구에서는 관내 도계장에서 채취한 12개 농장의 깃털과 근육시료로 플루오르퀴놀론계 검사를 진행하였다. 농장 당 3수씩 검사한 결과 근육에서는 10개 농장 20수에서 엔로플록사신이 검출되었으며, 시프로플록사신은 검출되지 않았다. 깃털의 경우는 12개 농장의 모든 시료에서 엔로플록사신과 시프로플록사신이 검출되었다. 즉 농장의 엔로플록사신 투약 여부를 판단하는데 근육을 통한 검사보다 깃털을 이용한 검사가 더 효과적임을 알 수 있다. 또한 실험은 기존의 근육에 대한 식품공전의 실험법에서 2.5% trichloroacetic acid, acetonitrile 사용량만 증량하여 수행하였기 때문에 현장에서 깃털 검사를 도입하는데 어려움이 없을 것으로 여겨진다.

CONFLICT OF INTEREST

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

ORCID

Jae-Ho Kim, <https://orcid.org/0000-0002-3157-8118>

Mi-Hee Kim, <https://orcid.org/0000-0002-5992-4529>

Gil-Ho Ahn, <https://orcid.org/0000-0003-3212-9899>

REFERENCES

- 농림축산검역본부. 2013. 2012년도 축산 항생제내성균 감시체계 구축 보고서. pp. 5-30.
- 농림축산검역본부. 2017. 닭 및 닭고기 유래 플루오르퀴놀론계 항균제 내성 세균에 대한 내성 저감 및 관리 기술 개발 연구 결과보고서.
- 서계원. 2000. 계란중 Fluoroquinolone계 합성항균제의 잔류에 관한 연구. 전남대학교 박사학위논문. pp. 65-87.
- 식품의약품안전처. 2020. 식품의 기준 및 규격. 식품의약품안전처 고시 2020-3호.
- Berendsen B, Bor G, Gerritsen H, Jansen L, Zuidema T. 2013. The disposition of oxytetracycline to feathers after poultry treatment. *Food Addit Contam.* 30: 2102-2107.
- Comejo J, Pokrant E, Krogh M, Briceño C, Hidalgo H, Maddaleno A, Araya C, San Martín B. 2017. Determination of oxytetracycline and 4-epi-oxytetracycline residues in feath-

- ers and edible tissues of broiler chickens using liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *J Food Prot.* 80: 619-625.
- Cornejo J, Pokranta E, Carvallo A, Maddaleno A, San Martín B. 2018. Depletion of tylosin residues in feathers, muscle and liver from broiler chickens after completion of antimicrobial therapy. *Food Addit Contam.* 35: 448-457.
- Engberg J, Neimann J, Nielsen EM, Aerestrup FM, Fussing V. 2004. Quinolone resistant *Campylobacter* infections: risk factors and clinical consequences. *Emerging Infectious Disease.* 10: 1056-1063.
- FDA. 2005. Commissioner of Food and Drugs, Docket No. 2000N-1571, Enrofloxacin for Poultry; Final Decision on Withdrawal of New Animal Drug Application Following Formal Evidentiary Public Hearing; Availability. Federal Register Volume 70 Number 146. <http://edocket.access.gpo.gov/2005/05-15224.htm>.
- Gigosos PG, Revesado PR, Cadahia O, Fenta CA, Vazquez BI, Franco CM, Cepeda A. 2000. Determination of quinolones in animal tissues and eggs by high-performance liquid chromatography with photodiode-array detection. *J Chromatogr A.* 871: 31-36.
- Haag G, Gustavo H, Errecalde J. 2016. Quantification of residual enrofloxacin and ciprofloxacin in feathers of broiler chickens by high-performance liquid chromatography-fluorescence after oral administration of the drugs. *J Adv Pharm Technol Res.* 7: 2-5
- Kim JM, Jean NS, Kim JW, Jean YH, Lee HS, Kweon CH, WooSR, Lee HC, Park JM, Kim JH, Rhee JC. 1997. Antimicrobial drug susceptibility and treatment efficacy in mice against *Escherichia coli* and *Salmonella* spp isolated from feces of diarrheal animals. *Korea J Vet Res.* 37: 389-403.
- Larissa J, Jansen M, Yvette J, Bolck C, Janneau Rademaker, Tina Zuidema, Bjorn J, Berendsen A. (2017) The analysis of tetracyclines, quinolones, macrolides, lincosamides, pleuromutilins, and sulfonamides in chicken feathers using UHPLC-MS/MS in order to monitor antibiotic use in the poultry sector. *Anal Bioanal Chem.* 409: 4927-4941.
- Lee YJ, Cho JK, Kim KS, Tak RB, Kim AR, Kim JW, Im SK, Kim BH. 2005a. Fluoroquinolone resistance and gyr A and par C mutations of *Escherichia coli* isolated from chicken. *J Microbiol.* 43: 391-397.
- Lee YJ, Kim YR, Jung SC, Song SW, Kim JH. 2005b. Antibiotic resistance pattern of *E. coli* and *Salmonella* spp. Isolated from chicken feces. *Korea J Vet Res.* 45: 75-83.
- López-Cadenas C, Sierra-Vega M, García-Vieitez JJ, Díez-Liébana MJ, Sahagún-Prieto A, Fernández-Martínez N. 2013. Enrofloxacin: Pharmacokinetics and metabolism in domestic animal species. *Curr Drug Metab.* 14: 1042-1058.
- María Laura M, Andrea B, Daniel B, Nora M. 2019. Enrofloxacin and ciprofloxacin Residues in broiler chicken feathers after enrofloxacin oral administration. *EC Veterinary Science.* 4.3: 180-186.
- Nelson JM, Chiller TM, Powers JH, Angulo FJ. 2007. Fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* species and the withdrawal of fluoroquinolones from use in poultry: a public health success story. *Clinical Infectious Disease.* 44: 977-980.
- Park SJ, Kim HB, Choi BK, Hong CO, Lee SY, Jeon IH, Lee SY, Kwak PH, Park SW, Kim YS, Lee KJ. 2019. The development and validation of a novel liquid chromatography tandem mass spectrometry procedure for the determination of fluoroquinolones residues in chicken muscle using modified QuEChERS method. *Korean J Vet Serv.* 42: 289-296.
- Pokrant E, Medina F, Maddaleno A, San Martín B, Cornejo J. 2018. Determination of sulfachloropyridazine residue levels in feathers from broiler chickens after oral administration using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *PLoS ONE* 13: e0200206.
- San Martín B, Cornejo J, Iraguen D, Hidalgo H, Anadon A. 2007. Depletion study of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in edible tissues and feathers of white leghorn hens by liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *J Food Protect.* 70: 1952-1957.
- Seo KW, Lee JI, Lee CY, Kim ES, Lee JC. 2002. Matrix Solid-Phase Dispersion (MSPD) for the isolation and liquid chromatographic determination of fluoroquinolones in eggs. *Korean J Publ Hlth.* 26: 269-281.
- Slana M, Žigon D, Sollner-Dolenc M. 2017. Enrofloxacin degradation in broiler chicken manure under field conditions and its residuals effects to the environment. *Environmental Science and Pollution Research International.* 24: 13722-13731.
- Sung MS, Kim JH, Cho JK, Seol SY, Kim KS. 2008. Antimicrobial resistance and transfer of R plasmid of pathogenic *Escherichia coli* isolated from poultry in Korea. *Korean J Vet Res.* 48: 275-285.