

도축되는 소(우) 장 및 폐 병변 부위의 세균 분리 및 감수성 연구

축산물위생검사소

신준철 · 김잠환

Pathogenic Bacteria Isolation and antibiotic susceptible research
from organ(Intestinal & Liver) contents in slaughter cattle

Veterinary Service Laboratory

jun-chul Sin · jam-hoan Kim

Abstract

This study was conducted to investigate the biochemical test, the population and antibiotic susceptibility test of Pathogenic Bacteria isolated from organ contents of slaughter cattle in Busan Dongwon industry butcher house.

1. In slaughter cattle *Listeria innocua* isolated from intestinal contents of 2 of 65cases(3.1%) and *Staphylococcus aureus* isolated from liver of 1 of 48 cases(2.1%). Isolation and Identification of Bacteria from Total 3 of 113 cases(2.6%).

2. In antibiotic susceptible test, amikacin, ampicillin, amoxicillin, carbenicillin, cafazon, cephalothin, ciprofloxacin, chloramphenicol, colistin, gentamycin, kanamycin, lincomycin, nalidixic acid, neomycin, norfloxacin, *Listeria innocua* and *Staphylococcus aureus* were norfloxacin and ciprofloxacin high susceptibility

서 론

축산물의 안전하고 위생적인 공급을 위해서는 축산물이 각종 세균으로 부터 오염되지 않은 것이 무엇보다 중요하다고 생각한다. 특히, 사육·사양관리를 철저히 하는 것이 제일 중요하고 그 다음에 축산물(육류, 내장)에서 식중독 및 부패미생물의 오염세균을 분리 판별하는 것이다. 일반적으로 식품중 축산물을 매개로 사람에서 문제가 되는 질병은 250여 종 이상이 알려져 있으며 이중에서 축산물과 관련된 중요한 병원체는 약 25종 정도가 알려져 있다. 축산물을 매개로 전파되는 중요한 병원체는 *Salmonella spp.*, *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, 등이 사람에서 식중독을 유발시켜 사회적인 문제를 야기 시키고 있다.

이에 본 연구는 도축장에 출하되는 소(축산물)의 주요 장기인 장 및 간의 병변에서 각종 세균을 분리하여 약제감수성 시험을 통하여 축산물의 안전하고 위생적인 공급뿐만 아니라 각종 식중독균을 예방 건전한 축산물의 소비를 촉진시키고, 아울러 무분별하게 사용되는 약제의 오·남용을 미연에 예방하여 양축농가의 경제적 손실을 방지하고 소득증대에 기여코자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

우리시 관내 도축장에서 2004. 1월에서

12월까지 도축되는 한우, 육우, 젖소의 주요장기인 장 및 간의 화농이나 염증 등의 병변 부위에서 샘플 채취후 병원성세균 분리 및 약제감수성 시험을 실시하였다.

균 분리 및 동정

- 대장균(*Enteropathogenic E. coli*)
mEC broth(novobiocin 20 μ g/mL) 또는 mTSB배지(novobiocin 20 μ g/mL) 225mL에 37 $^{\circ}$ C, 24시간 증균배양 한 후 MacConkey agar 및 EMB agagr에 희석하여 24시간 배양한다.
- 살모넬라균(*Salmonella spp.*)
RV broth에 20~24시간동안 증균배양한 후 증균배양액을 BS agar 및 XLD agar (또는 DCA, HE agar, BGSA)배지에 도말한 후 20~24시간 배양한다.
- 리스테리아균(*Listeria monocytogenes*)
LEB (또는 PALCAM broth, Fraser broth)에 24 - 48시간동안 증균 배양한 후 선택배지 LPM agar, Oxford agar 또는 PALCAM agar에 증균 배양균을 48시간 배양 후 리스테리아균의 전형적인 집락 모양인 진한갈색 또는 검은색 환으로 둘러싸인 집락을 선택한다.
- 포도상구균(*Staphylococcus. spp*)
Selective enrichment broth(TSB with 10%NaCL)에 24시간 증균 배양한 후 선택배지인 Selective agar(Baird parker medium)에 증균 배양한다.

항균제 감수성 시험

도축우의 장 및 간에서 분리한 세균 3건에 대하여 한천평판희석법에 의한 약제감수성 시험을 실시하기 위하여 fluid thioglycollate medium 및 blood agar base 배지를 사용하였고, 사용된 약제는 Amikacin, Ampicillin, Amoxicillin, Carbenicillin, Cafazon, Cephalothin, Ciprofloxacin, Nalidixic acid, Gentamycin, Doxycycline, Kanamycin, Lincomycin, Neomycin, Colistin, Chloramphenicol, Norfloxacin 등 16종의 항균제를 사용하였다.

결 과

균 분리율

도축우 내장(장, 간) 113건중에서 장 및 간에서 2건(*Listeria innocua*), 간에서 1건(*Staphylococcus aureus*) 총 3건이 분리되어 분리율은 2.6%로 나타났다.

분리균의 생화학적 성상

도축우의 내장(장, 간)에서 분리한 세균 3주에 대한 생화학적 성상은 아래와 같이 표준균주와 일치하였다.

리스테리아는 유사한 집락에 대해서는 그람염색으로 그람양성 간균을 확인하고, 생 화학성상 시험을 실시한다. catalase 양성, β -용혈성을 나타내며, 운동성이 있고, mannitol 비분해, rhamnose 분해, xylose비분해의 결과를 보일 경우 리스테리아균

(*Listeria innocua*)양성으로 판정하였다.

*Staphylococcus aureus*은 보통한천배지에서 포도상의 배열을 갖는 그람양성 구균을 확인하고, coagulase test를 실시한다. coagulase에 양성, catalase에 양성, mannitol에 양성, glycine에 양성, Lysostaphin sensitivity 양성, Thermostable nuclease production test 양성을 나타내고, lithium chloride에 의한 Gram-negative 성장 저해 및 potassium tellurite 에 의한 Gram-negative 의 성장 저해 받는 것을 확인하였다.

분리균의 약제감수성 시험

장 및 간에서 분리한 세균 *Listeria innocua* 2주와 *Staphylococcus aureus* 1주에 대하여 Amikacin, Ampicillin, Amoxicillin, Carbenicillin, Lincomycin, Cephalothin, Ciprofloxacin, Doxycycline, Gentamycin, Kanamycin, Neomycin, Norfloxacin, Nalidixic acid, Chloramphenicol, Cafazon, Colistin, 등 16종의 항균제에 대한 조사한 결과 분리한 세균 3주에 공히 Norfloxacin와 Ciprofloxacin에 가장 높게 감수성을 나타냈다.

고 찰

리스테리아 균에 의한 식중독은 세계적으로 증가하고 있는 추세이며, 특히 유럽에서 많이 발생하고 있고, 국가별 인구 백만명당 발병율은 미국이 1985년에 7.0명, 카나다는 1988년에 2.3명, 프랑스는 14.7명이 발생하고 있으며, 우리나라의 경우는

거의 발병예가 없다. 원인식품은 주로 치즈, 우유등과 관련된 낙농제품과 아이스크림, 생선, 육류등 다양하다.

본 연구에서 리스테리아 원인균 분리 방법은 화농성 염증을 일으키는 장 및 간의 병변에서 직접 선택배지인 Selective enrichment broth(LE broth)에 증균 시키고 24시간 증식 후 LPM agar, Oxford agar 또는 Selective media plate(PLACAM agar)에 증식 후 그람 염색에 의한 형태학적 검사 및 생화학검사를 실시하여 *Listeria innocua*를 분리하였다.

리스트테리아균을 신속히 검출하는 방법으로는 균을 신속히 동정하는 Vitek system, Micro-ID등과 Nucleic acid hybridization assay법을 이용한 nonradioactive DNA probe kits, Immunoassay기법을 이용한 *Listeria* -Tek, Tecra-*Listeria* kits, 이외 PCR (polymerase chain reaction)기법 등이 있으며, 본 실험에서는 이용하지 않았으나 이 등의 원유중 *L. monocytogenes*의 신속검색에서도 *L. monocytogenes*에 대한 PCR기법을 이용하여 리스테리아 균 검출 방법으로 사용하였고, 강 등의 수입 동물성 식품에서 *L. monocytogenes*의 신속 검색에서 PCR법을 수입 우유, 돈육, 계육 및 오리육에 적용하여 *L. monocytogenes*를 검색한 결과 총 117 시료중 직접 PCR법에서는 7예, 증균후의 PCR법은 12예, 그리고 균 분리배양법은 8예가 양성을 나타내는 석으로 보아 리스테리아 균 분리에 많이 사용되는 것으로 판단된다.

또한 포도상구균에 대한 연구에서는 *Staphylococcus spp*은 20여종으로 자연계에 널리 분포되어 있는 세균의 하나로서 식중독뿐만 아니라 피부의 화농·중이염·방광염 등 화농성 질환을 일으키는 원인균으로 우리나라에서 살모넬라 식중독 및 장염비브리오 식중독 다음으로 많이 일어나는 식중독으로 알려져 있다.

*Staphylococcus spp*중에 황색의 색소를 생산하는 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*) 만이 식중독을 일으키며 기타 포도상구균에 의한 식중독 발생 사례는 현재까지 없다.

본 연구에서는 포도상구균의 세균 분리는 리스테리아 분리 방법과 동일한 직접 화농성 병변에서 채취 선택배지인 Selective enrichment broth(TSB with 10%NaCL)에 24시간 증식 후 Selective agar(Baird parker medium)에 증식 후 그람 염색에 의한 형태학적 검사 및 생화학검사로 실시하여 간의 화농성 염증을 일으킨 병변서 *Staphylococcus aureus*을 분리하였다. 이는 진 등의 유방염 감염 원인균 분리에서도 이 균이 검출되는 것으로 보아 화농성 염증을 일으키는 균 뿐만 아니라 유방염의 원인균이기도 한 것으로 사료됨.

장 및 간에서 분리한 균 3주에 대한 약제 감수성시험 조사에서 Amikacin, Ampicillin, Amoxicillin, Carbenicillin, Cafazon, Cephalothin, Ciprofloxacin, Kanamycin, Neomycin, Doxycycline, Norfloxacin, Gentamycin, Lincomycin, Chloramphenicol,

Nalidixic acid, Colistin, 등 16종의 항균제를 사용한 결과 Norfloxacin와 Ciprofloxacin에 가장 감수성이 높게 나타났다. 이는 진 등의 Norfloxacin, Cephalothin과 비교할 때 Norfloxacin은 공통성을 갖지만 Ciprofloxacin은 차이점을 나타내었으나, 박 등의 Cephalothin, Chloramphenicol와 임 등의 Cephalothin, Chloramphenicol과 비교할 때는 상당한 차이가 있었다.

이상의 결과를 볼 때 화농성 병변을 나타낸 내장(장, 간)에서 세균 분리 방법등을 더욱 더 다양하고 심도있게 연구를 각종 식중독 뿐만 아니라 다른 질병 원인 분석에 필요한 원인균 분리에 최선을 다해야 할 것으로 생각된다.

결 론

부산시 관내 도축장의 도축우 113건(장 65건, 간48건)의 내장인 장 및 간의 화농성 염증 등 이상이 있는 병변 부위에서 세균을 분리하고, 분리한 세균에 대하여 약제 감수성 시험을 실시하여 다음과 같은 성적을 얻었다.

1. 도축우 장 65건에서 세균 분리 성적은 *Listeria. innocua* 2건으로 분리율 3.1%, 간 48건에서 세균 분리 성적은 *Staphylococcus aureus* 1건으로 분리율 2.1%로 총 3건의 세균을 분리 2.6%의 분리율을 나타냈으며, 대장균·살모넬라·연쇄상 구균 등은 전혀 검출이 되지 않았다.

2. 도축우 내장(장, 간)에서 분리한 3주에 대하여 Amikacin, Ampicillin, Amoxicillin, Carbenicillin, Kanamycin, Cephalothin, Colistin, Ciprofloxacin, Doxycycline, Gentamycin, Cafazon, Lincomycin, Neomycin, Chloramphenicol, Nalidixic acid, Norfloxacin 등 16종의 항균제를 사용한 약제감수성 시험을 한 결과 *Listeria. innocua*와 *Staphylococcus aureus* 모두 Norfloxacin와 Ciprofloxacin에 가장 감수성이 높게 나타났다.

참고문헌

1. Calnek. B. W. et al. Diseases of Poultry, 10th ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA
2. Jordand's Poultry Diseases, 3rd ed.
3. 도축우 소장에서 세균분리 및 시간경과에 따른 균수변화 추이(김정화의 4인)
4. 손봉환 : 유방염 방제를 통한 유질 향상 방안 학술심포지움 자료. 한국가축위생학회, 1994.
5. 이성모, 황현순, 손봉환 등 : 원유의 위생학적 유질 변동에 관한 연구. 한국가축위생학회지 17(3) : 208~226, 1994.
6. 이철현, 손원근, 강호조 : 원유로부터 *Listeria monocytogenes* 의 신속검색을 위한 중합 효소연쇄반응법의 개선. 대한수의학회지 36(1):119-129, 1996
7. 강호조, 석주명, 손원근 : 수입동물성

- 식품에서 *Listeria monocytogenes*의 신속검색을 위한 중합효소연쇄반응 기법의 개발 및 적용. 한국수의공중보건학회지, 21(2):149-157, 1997
8. 김신, 김순태, 김우현, 권헌일 : 경북지역 젖소 유방염 우유 및 각종 동물로부터 분리한 포도상구균의 동정 및 항생제 감수성. 한국가축위생학회 21(3) : 301~312, 1998.
9. 진주은, 정경태, 이우원, 이강록 : 유방염 감염 목장우유의 유즙으로부터 원인균 분리치료제 선택에 관한 연구 2000