

도시하수 및 그 주변 하천 환경 중 항생제 내성 세균 노출 특성

오향균 · 박준홍*

연세대학교 사회환경시스템공학부

(2008년 12월 18일 접수, 2009년 3월 27일 채택)

Characteristics of Antibiotic Resistant Bacteria in Urban Sewage and River

Hyangkyun Oh · Joonhong Park*

School of Civil and Environmental Engineering, Yonsei University

ABSTRACT : This research investigated the characteristics of antibiotic resistance of bacteria in microbial communities from municipal wastewater treatment plants (MWTPs), and monitored seasonal changes of antibiotic resistant bacteria (ARB) from MWTPs and Han river. When antibiotics were amended to either R2A agar (R2A) for general heterotrophs or MacConkey sorbitol agar (MSA) for coliform bacteria, all the MWTP samples exhibited multiple antibiotic resistance on the antibiotic-amended solid media. The antibiotic resistance appearing frequencies of ampicillin and sulfathiazole, respectively, were higher than reported data for other countries. The antibiotic resistance appearances differed depending upon the concentrations of primary substrate and nutrients and the types of cultivation media. The following 16S rRNA gene phylogenetic analysis showed that the identified multiple-antibiotic resistant microbes on R2A plates were more likely to be known human-pathogenic bacteria than the background heterotrophic bacteria were, suggesting a high risk of antibiotic resistance appearance to public health. In addition, according to our investigation of seasonal changes of ARB from urban MWTP and river samples, the frequency of ARB appearances was shown to correlate positively with temperature. This indicates a possibility that global warming result in increase in microbial risk to public health.

Key Words : Antibiotic Resistance, Microbial Risk, Water Quality, Urban Sewage

요약 : 본 연구는 도시 하수처리장의 미생물 군집 내 항생제 내성 세균의 특징과 하천으로의 항생제 내성 세균 노출의 계절적 변화의 특성을 평가하였다. 일반 종속영양세균 배양을 위한 R2A agar (R2A)와 대장균군을 선택하여 배양하는 MacConkey sorbitol agar (MSA)에 항생제를 첨가 하여 제작한 배지에 하수처리장 시료를 도말하여 배양한 결과 모든 시료에서 다제 항생제 내성 세균을 검출 해 낼 수 있었다. Ampicillin과 sulfathiazole의 내성률이 다른 나라에 비해 높게 측정 되었으며 시료내 유기물의 정도, 사용된 배지에 따라 내성률이 다를 수 있었다. R2A 배지에서 분리된 다제 항생제 내성 세균은 모두 기존에 알려진 병원성 세균과 그 염기서열이 유사한 것으로 볼 때 병원성 세균의 항생제 내성 정도가 일반 세균보다 높음을 본 연구 결과로 보일 수 있었다. 또한 본 연구에서는 하수처리장이 하천에 미치는 유해성을 계절별로 관찰하여 전체 미생물중 항생제 내성 세균의 비율은 수온과 비례한다는 결과를 얻었다. 이 결과는 지구 온난화가 미생물 유해성을 증가시킬 가능성을 시사한다.

주제어 : 항생제 내성, 미생물 유해성, 하천수질, 도시하수

1. 서론

1928년 Alexander Fleming이 penicillin을 발명한 이래로 현재까지 수많은 항생제가 발명되었고 이들은 병원성 세균으로 발생하는 많은 질병으로부터 인류를 보호해 왔다. 그러나 의료산업 · 축산업 · 농업 · 양식업 등지에서 발생하는 폐수와 가정에서 발생하는 하수 중의 항생제가 하폐수 처리과정 중 거의 분해되지 않고 자연계로 배출되면서 두 가지 이상의 항생제에 대해 내성을 갖는 다제 항생제 내성균(multiple-antibiotic resistant bacteria)이 출현하게 되었다. 이들은 자연 환경 내에 존재하면서 서로 다른 세균들과 함께 항생제 내성 유전자를 교환하며 항생제에 대해

더 강한 내성을 키운다.¹⁾ 이때, 병원성 세균이 여러 가지 항생제에 대해서 항생제 내성 유전자를 획득하게 되는 경우 그 병원성 세균으로 인한 질병 통제가 불가능해지고 다제 항생제 내성균인 *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella sp.* DT 104와 같이 치명적인 세균에 의해 목숨을 잃는 경우도 보고되고 있다.^{2~4)}

국내의 경우도 예외는 아니다. 2006년 식품의약품 안전청에서 「환경 중 항생제 내성균 모니터링」을 발간하여 우리나라 하천 및 하수처리장 내의 다제 항생제 내성 세균의 실태를 밝힌 바 있다.⁸⁾ *Staphylococcus aureus*의 경우 88.6%가 한 가지 이상의 항생제에 내성을 보이는 것으로 나타났다. 네 가지 이상의 항생제에 내성을 보이는 다제 내성균도 약 14.3%로 나타났다. 또한 *Enterococcus spp.*의 경우 한 가지 이상의 항생제에 내성을 보인 균은 97.2%이며, 네 가지 이상의 항생제에 내성이 있는 다제 내성균은 약 33.3%

* Corresponding author

E-mail: parkj@yonsei.ac.kr

Tel: 02-2123-5798

Fax: 02-346-5300

로 나타났다. 항생제 사용량의 증가에 따라 동물의 장(腸)은 항생제 내성 세균의 병원소(病原巢)중에 하나임은 이미 알려져 있는데,^{5~7)} 동물 체외로 방출된 이것들은 그대로 하수종말처리장으로 유입되고, 완벽하게 처리되지 않은 방류수는 하천 내 항생제 내성 미생물을 발생시키는 주요 원인이라고 보고되어 왔다.^{8~11)} 이러한 종류의 조사를 위해서 기존에는 특정 병원성 혹은 대장균을 배양·검출하는 방법으로 환경 내 항생제 내성 미생물의 유해성을 평가하였다. 하지만 비병원성 세균에도 항생제 내성 유전자가 존재할 수 있어¹²⁾ 환경 내 일반중속영양 세균의 항생제 내성 특성 규명이 필요하다.

자연환경으로 노출된 항생제로 말미암아 환경은 항생제 내성 세균과 유전자의 발원지이며,¹³⁾ 이러한 항생제 내성 세균은 온도 변화에 따라 항생제 내성률이 서로 다른 이미 여러 선행연구에서 보고되었다.^{14~16)} 그리고 기온이 상승하면 병원성 유전자나 항생제 내성 유전자의 세균 간 이동이 빨라지므로 미생물에 의한 보건유해성이 증가할 수 있다.^{17,18)} 현재 전 세계는 지구 온난화의 문제에 직면해 있고, 우리나라의 경우 일 년 사계절에 따른 기온변화가 높아 온도에 따른 미생물 유해성의 변화가 환경보건에 있어 중요할 것이다. 그럼에도 불구하고 물 환경에서 항생제 내성 미생물의 노출 변화를 계절에 따라 조사한 사례는 국내에서 아직까지 보고된 바 없다.

상기의 연구배경에 의거하여 본 연구에서는 국내 도시하수처리장의 항생제 내성 세균 특성과, 하천으로의 항생제 내성 세균 노출의 계절적 변화에 대한 기초조사를 하고자 하였다. 이를 위해서 도시하수처리장 하수(유입원수·폭기조·방류수)와 그 주변 하천수의 항생제 내성 세균을 배양·검출 한 후 분리·동정하였고, 계절별로 한강과 도시 하수 및 하수처리장 시료 내 관련 항생제 내성 특성을 분석하였다.

2. 실험 재료 및 방법

2.1. 시료 선정

하수처리장 시료 내 항생제 내성 세균을 분석하기 위해 2008년 9월 서울 소재 한 종말하수처리장의 유입수, 방류수, 폭기조에서 5 L의 시료를 한 번씩 채취하여 시료로 사용하였다. 그리고 하수 및 처리수 내 항생제 내성 세균이 하천에 미치는 영향을 계절별로 알아보기 위해 서울 소재 4곳의 하수처리장 유입수·방류수와 도시를 가로질러 흐르는 하천의 다섯 지점(Fig. 1)에서 2007년 8월과 11월 그리고 2008년 1월과 5월에 시료를 채취하였다. 하천수 시료의 경우 강 하류부(Down-stream)의 세 지점과 상류부(Up-stream)의 두 지점에서 시료를 채취하였다. 채취해온 시료는 공극 0.45 μm , 지름 47 mm의 필터(Watman)로 걸러 시료 안의 고형물을 제거하였고, 세균 배양실험 전까지 4°C에서 시료를 보관하였다.

2.2. 항생제 내성 세균 배양 방법

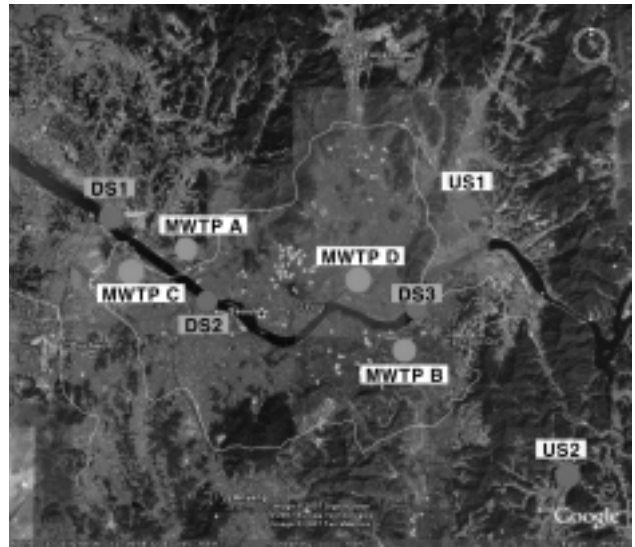


Fig. 1. Sampling positions along the Han river.

물 환경 시료 내 일반 중속영양세균을 배양하기 위해서 상대적으로 낮은 탄소원을 가지고 있는 R2A agar (R2A)¹⁹⁾를 배지로 사용하였다. 그리고 동물의 장내세균인 Enterobacteriaceae과(family)에 속한 세균을 분리하기 위해 MacConkey sorbitol agar (MSA)^{14,20)}를 배지로 사용하였다. 여기에 ampicillin (10 $\mu\text{g/mL}$), sulfathiazole (200 $\mu\text{g/mL}$), tetracycline (30 $\mu\text{g/mL}$)을 문헌^{15,16)}에 근거한 농도만큼 배지에 각각 넣어 항생제가 함유된 고형배지를 제작하였다. 시료 내 배양된 세균을 정량적으로 검출하기 위해서 시료를 무세균 phosphate buffer (NaH_2PO_4 , pH = 6.7)와 혼합하여 다양한 농도로 희석시킨 후 배양된 집락을 확인하는 평판확산법(spread plate method)을 이용하여 계수(計數)하였다.¹⁹⁾ 일반 고형 배지(90×15 mm size)에 도말된 희석시료의 양은 100 μL 이고, 한 고형배지 상에 30~300개의 집락이 있을 때 미생물의 분리와 정량화를 시행하였다. 이렇게 환경시료가 접종된 배지를 R2A의 경우는 21°C에서 5일,²⁰⁾ MSA는 37°C에서 24시간 배양한 후에 형성된 집락을 계수하였다. 집락 측정 결과의 정량적 신뢰성 평가를 위해서 각 시료의 평판확산법 분석은 최소 세 번 반복 수행 하였다.

하수 및 처리장과 하천에 노출된 항생제 내성 세균수의 계절별 변화를 조사하기 위해 강력한 인체용 항생제 중 하나인 vancomycin 100 $\mu\text{g/mL}$ 이 첨가된 R2A 고형배지를 사용하였다. Vancomycin 내성 세균은 다제 내성을 지니는 경우가 많아²¹⁾ 그 위험도가 높기에 vancomycin을 선정하였고, 상기와 같은 평판확산법을 이용해서 미생물 배양·검출을 수행하였다.

2.3. 배양 분리된 항생제 내성의 세균 동정과 계통분석

시료가 분주된 배지에서 자라난 세균의 계통학적 특성을 파악하기 위해 colony PCR 방법을 수행하였다. 우선 배양 배지상의 집락을 멸균된 이쑤시개를 이용하여 각각의 PCR tube에 넣었다. 그리고 분리된 세균의 DNA를 추출하기