

닭에서 분리한 장내세균의 테트라사이클린 내성 유전자의 분포

박인달^{1,2}, 배일권²

고신대학교 의과대학 미생물학교실¹, 항생제 내성연구소²

Distribution of Tetracycline Resistance Genes in Enterobacteriaceae from Chicken

Indal Park^{1,2}, Il-Kwon Bae²

¹Department of Microbiology and ²Research Institute for Antimicrobial Resistance, Kosin University College of Medicine, Busan, Korea

Abstract

Background : Widespread resistance to the broad-spectrum tetracyclines has been caused by heavy clinical use and misuse in the human population. Additional contributing factors are the use of tetracyclines as a growth promotor in agriculture and as infection control agent in domestic animals and aquaculture. The purpose of this study was to investigate susceptibility of tetracycline and to detect tetracycline resistant genes from chickens.

Methods : Thirty-seven tetracycline resistant enteric bacteria were collected from the rectal swab of chickens by disk diffusion method, and the MICs (minimal inhibitory concentration) of tetracycline, oxytetracycline, chlortetracycline and erythromycin were determined by agar dilution method. PCR screening was carried out to identify possible tet genes that contributed to tetracycline resistance.

Results : Of the 37 tetracycline-resistant isolates, the frequency of isolation was *Escherichia coli* 32 (84.2%), *Citrobacter freundii* 2 (5.3%), *Klebsiella pneumoniae* 1 (2.5%), *Lectercia adecarboxylata* 1 (2.5%), *Proteus vulgaris* 1 (2.5%). The MIC range for the tetracycline-resistant enteric bacteria was as follows: tetracycline, >256 µg/ml; oxytetracycline, >256 µg/ml; chlortetracycline, 16~>128 µg/ml; erythromycin, 32~>256 µg/ml. All of the 37 tetracycline-resistant isolates were positive for tet(A) gene (100%), and 8 (21.6%) of these isolates were found to harbor the tet(A) plus tet(B) genes.

Conclusion : All isolates were resistant to tetracycline, oxytetracycline, chlortetracycline and erythromycin, and they harbored tet(A) gene or tet(A) plus tet(B) genes that gave rise to the tetracycline resistance. These results show that enteric bacteria isolates from chicken in Korea are resistant to tetracycline and all of them harbored tet(A) gene.

Key words : chicken, tetracycline, resistant, tet(A), tet(B)

서 론

항생제가 사람의 질병을 치료하고, 사망률을 감소시키는데 기여하였지만, 항생제의 오·남용으로 인하여 내성균이 출현하였고 그로인해 오히려 건강에 심각한 위협을 주는 요인으로 작용하게 되었다. 근래에는 항생제 사용을 강력하게 규제하여 내성균 출현을 억제하려는 노력을 하고 있지만 내성균이 사람에게 사용되는 항생제로만 출현되는 것이 아니라 축산동물과의 직접적인 접촉, 항생

제에 오염된 쇠고기 등에 의해서도 발생할 수 있다는 보고도 있다.¹⁻⁹⁾ 그리고 항생제 사용이 내성균 출현의 직접적인 원인이 아닐 수는 있으나 균이 항생제에 대해 살아남으려는 압박요인으로 작용하고, 그로인해 균이 생존함으로써 내성균이 출현 할 수 있는 가능성도 있다.^{10,11)}

국내의 축산 농가를 비롯하여 전 세계적으로 항생제는 축산동물의 질병예방과 치료뿐만 아니라 성장촉진제로도 사용되고 있다.^{12,13)} 성장촉진제로 사용되는 항생제의 양은 치료나 예방 목적으로 사용되는 양보다 훨씬 적지만 저농도로 장기간 사용하므로 내성을 유발할 수 있는 인자로 작용할 수 있다.⁴⁾ 축산동물에 많이 사용하는 항생제는 beta-lactam계, 테트라사이클린계, 마크로라이드계, 아미노글리코사이드계, 설폰아마이드계이며, 테트라

교신저자 : 박 인 달
주소 : 602-702 부산광역시 서구 암남동 34번지
고신대학교 의과대학 미생물학교실
TEL : 051-990-6423, FAX : 051-990-3081
E-mail : microdal@ns.kosinmed.or.kr

사이클린, 바시트라신, 린코마이신, 페니실린, 네오마이신, 콜리스틴 등은 인수공통 항생제로도 사용되고 있다. 그 중 테트라사이클린계는 연간 약 800톤을 소비하여 가장 많이 사용되는 항생제로 알려져 있으며, 치료보다는 축산동물의 사료나 물, 에어로졸에 주로 들어가고, 사료에 섞여 닭에게 먹이면 계란으로 이행된다는 보고도 있으며, 심지어 tetracycline-resistant *Escherichia coli* (TREC) 이 오염되어 있는 강물을 마신 임팔라에서 오염 안 된 강물을 마신 임팔라보다 약 19배 많은 TREC이 분리되었다는 보고도 있다.^{14,15)} 테트라사이클린계 항생제를 많이 사용함에 따라 자연히 내성균의 출현도 많으며, 그에 대한 연구도 활발하게 이루어지고 있다. 테트라사이클린 내성에 관여하는 유전자로는 여러 가지가 알려있는데 *tet(A)*-(E), *tet(G)*-(L), *tet(Z)* 등은 세포막 연관 단백질을 만들어 균체 내로 들어온 테트라사이클린을 외부로 잘 배출되게 하고, *tet(M)*, *tet(O)*, *tet(Q)*, *tet(S)*, *tet(W)* 등은 테트라사이클린의 표적물인 리보솜을 보호하는 단백질을 만들어 내성을 갖게 하며, *tet(X)*는 테트라사이클린을 효소적으로 불활성화 시켜서 내성을 갖게 하는 유전자이다.¹⁶⁾

따라서 본 연구에서는 닭의 분변에서 분리되는 균들이 테트라사이클린계 약제에 대한 감수성을 알아보고, 그 균들이 보유하고 있는 테트라사이클린 내성 유전자의 종류를 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

1) 균 분리와 동정

닭의 항문을 멸균된 면봉으로 잘 닦은 후 MacConkey 한천 (Becton, Dickinson and Company, Sparks, USA)과 혈액 한천 평판배지에 접종하여 배양한 후 증식된 집락을 실험 균주로 사용하였다. 이 균들을 생리식염수에 희석하여 McFarland 0.5로 조정하여 Mueller-Hinton 한천 배지에 접종한 후 테트라사이클린 항생제 디스크를 얹는 Kirby-Bauer disk diffusion 방법으로 내성을 판정하였다. 테트라사이클린 내성균으로 판정된 균은 Vitek GNI (bioMerieux Vitek Inc., Hazelwood, MO, USA)와 전통적인 방법으로 동정하였다.

2) 항균제 감수성 검사

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)의 기준

Table 1. PCR primers used to amplify different tetracycline resistance genes

Primers	Sequence (5' -3')	Size (bp)	Genbank accession No.
tetA	GCTACATCCTGCTTGCCTTC CATAGATCGCCGTGAAGAGG	210	X61367
tetB	TTGGTTAGGGGCAAGTTTTG GTAATGGGCAATAACACCCG	659	J01830
tetC	CTTGAGAGCCTTCAACCCAG ATGGTCGTCATCTACCTGCC	418	J01749
tetD	AAACCATTACGGCATTCTGC GACCGGATACACCATCCATC	787	L06798
tetE	AAACCACATCCTCCATACGC AAATAGGCCACAACCGTCAG	278	L06940
tetG	GCTCGGTGGTATCTCTGCTC AGCAACAGAATCGGGAACAC	468	S52437
tetGG	CAGCTTTCGGATTCTTACGG GATTGGTGAGGCTCGTTAGC	844	S52437
tetK	TCGATAGGAACAGCAGTA CAGCAGATCCTACTCCTT	169	S67449
tetL	TCGTTAGCGTGTGTCATTC GTATCCCACCAATGTAGCCG	267	U17153
tetM	GTGGACAAAGGTACAACGAG CGGTAAGTTCGTCACACAC	406	X90939
tetO	AACTTAGGCATTTCTGGCTCA TCCCCTGTTCATATCGTC	515	Y07780
tetAP	CTTGATTGCGGAAGAAGAG ATATGCCCATTTAACCACGC	676	L20800
tetQ	TTATACTTCCTCCGGCATCG ATCGGTTTCGAGAATGTCCAC	904	X58717
tetS	CATAGACAAGCCGTTGACC ATGTTTTTGGAAACGCCAGAG	667	X92946
tetX	CAATAATTGGTGGTGACCC TTCTTACCTTGGACATCCCG	468	M37699

에 의거하여 테트라사이클린, 옥시테트라사이클린과 클로르테트라사이클린, 에리스로마이신이 1-256 µg/ml 들어 있는 Mueller-Hinton 한천평판배지를 만들어 항균제 감수성 검사를 하였다.

3) Polymerase chain reaction (PCR)

실험균주를 MacConkey 한천 배지에서 배양하여 증식된 집락을 증류수 3ml에 현탁한 후 100°C에서 10분간 끓인 후 14,000 rpm에서 10분간 원심하였다. 그 상층액을 PCR 반응의 DNA 시료로 사용하였으며, DNA 시료 2µl에 EF-Taq DNA polymerase 2.5 unit (SolGent, Daejeon), 10X reaction buffer 3µl, 10mM dNTP-Mix 1µl, 각 primer 1µl 씩 넣은 후 총 30µl 되게 하였다. PCR은 TaKaRa PCR Thermal Cycler (TaKaRa, Japan)를 사용하여 95°C에서 5분간 전처리하고, 95°C 1분, 55°C 1분, 72°C 1분으로 35회 반응 시킨 후 72°C에서 5분간 마무리 반응을 하였다. 각

산물은 2% agarose gel에서 전기영동하여 Ethidium Bromide로 염색한 후 band를 확인하였다. 본 실험에 사용한 primer들은 Table 1에 나타내었다.

결 과

1) 균 분리와 항생제 감수성 검사

닭의 분변에서 분리한 테트라사이클린 내성균은 모두 37주였으며, 이들 균은 *Escherichia coli* (*E. coli*) 32주, *Citrobacter freundii* (*C. freundii*) 2주, *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) 1주, *Lectercia adecarboxylata* (*L. adecarboxylata*) 1주, *Proteus vulgaris* (*P. vulgaris*) 1주였다. 이 균들의 테트라사이클린, 옥시테트라사이클린, 클로르테

Table 2. Antibiotic susceptibilities of isolated Enterobacteriaceae

Strain	MIC ($\mu\text{g/ml}$)			
	TC	OT	CT	EM
E1 <i>Escherichia coli</i>	>256	>256	128	64
E2 <i>Escherichia coli</i>	>256	>256	32	32
E3 <i>Escherichia coli</i>	>256	>256	16	64
E4 <i>Escherichia coli</i>	>256	>256	64	128
E5 <i>Escherichia coli</i>	>256	>256	16	128
E6 <i>Escherichia coli</i>	>256	>256	64	128
E7 <i>Escherichia coli</i>	>256	>256	64	128
E8 <i>Escherichia coli</i>	>256	>256	64	32
E9 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	>256	>256	32	64
E10 <i>Escherichia coli</i>	>256	>256	64	32
E11 <i>Escherichia coli</i>	>256	>256	64	128
E12 <i>Escherichia coli</i>	>256	>256	64	128
E13 <i>Escherichia coli</i>	>256	>256	128	64
E14 <i>Escherichia coli</i>	>256	>256	64	128
E15 <i>Escherichia coli</i>	>256	>256	64	128
E16 <i>Escherichia coli</i>	>256	>256	64	64
E17 <i>Escherichia coli</i>	>256	>256	32	128
E18 <i>Escherichia coli</i>	>256	>256	128	32
E19 <i>Escherichia coli</i>	>256	>256	32	128
E20 <i>Escherichia coli</i>	>256	>256	64	128
E21 <i>Escherichia coli</i>	>256	>256	64	128
S1 <i>Escherichia coli</i>	>256	>256	64	64
S2 <i>Escherichia coli</i>	>256	>256	64	32
S3 <i>Escherichia coli</i>	>256	>256	64	64
S4 <i>Escherichia coli</i>	>256	>256	32	128
S6 <i>Leclercia adecarboxylata</i>	>256	>256	64	128
S7 <i>Citrobacter freundii</i>	>256	>256	64	256
S8 <i>Citrobacter freundii</i>	>256	>256	64	256
S9 <i>Escherichia coli</i>	>256	>256	64	128
S11 <i>Escherichia coli</i>	>256	>256	32	128
S12 <i>Escherichia coli</i>	>256	>256	32	128
S15 <i>Proteus vulgaris</i>	>256	>256	64	>256
S16 <i>Escherichia coli</i>	>256	>256	64	32
S17 <i>Escherichia coli</i>	>256	>256	32	128
S19 <i>Escherichia coli</i>	>256	>256	128	64
S20 <i>Escherichia coli</i>	>256	>256	128	64
S21 <i>Escherichia coli</i>	>256	>256	64	64

TC: tetracycline, OT: oxytetracycline, CT: chlortetracycline EM: erythromycin

닭에서 분리한 장내세균의 테트라사이클린 내성 유전자의 분포

트라사이클린, 에리스로마이신에 대한 감수성은 테트라사이클린, 옥시테트라사이클린에 대한 minimal inhibitory concentration (MIC)는 모든 균이 >256 $\mu\text{g/ml}$ 이었으며, 클로르테트라사이클린에 대해서는 18~>128 $\mu\text{g/ml}$ 이었고, 에리스로마이신에 대해서는 32~>256 $\mu\text{g/ml}$ 이었다. (Table 2)

2) Tetracycline 내성 유전자 분포

각 균에 대한 *tet* 유전자 분석을 위한 PCR을 수행한 결과 모든 균들이 *tet(A)* 유전자를 갖고 있었으며 (Fig.1), *E. coli*인 E4, E8, E11, S1, S2, S3, S19 균주와 *L. adecarboxylata*인 S6이 *tet(B)* 유전자를 추가로 갖고 있었다. 그 이외의 테트라사이클린 내성 유전자는 관찰되지 않았다. (Table 3)

Table 3. Distribution of tetracycline resistant genes in isolated Enterobacteriaceae

Strain	tet genes															
	A	AP	B	C	D	E	G	GG	K	L	M	O	Q	S	X	
E001	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
E002	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
E003	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
E004	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
E005	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
E006	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
E007	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
E008	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
E009	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
E010	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
E011	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
E012	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
E013	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
E014	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
E015	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
E016	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
E017	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
E018	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
E019	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
E020	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
E021	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
S001	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
S002	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
S003	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
S004	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
S006	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
S007	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
S008	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
S009	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
S011	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
S012	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
S015	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
S016	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
S017	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
S019	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
S020	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
S021	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

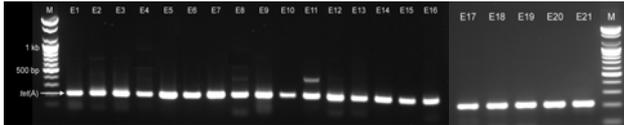


Fig. 1 PCR of tetracycline resistant tet(A) gene in Enterobacteriaceae.

Lane M, 100 bp DNA ladder; lane E1-E21, isolated strains.

고찰

테트라사이클린계 항생제는 축산동물에 가장 많이 사용하는 항생제이며, 인수공통 항생제로도 사용되고 있다. 본 실험에서는 축산 농가로부터 분리한 균 중 테트라사이클린에 내성을 나타내는 균 37주를 분리·선택하여 동정하였더니 *E. coli* 32주, *C. freundii* 2주, *K. pneumoniae* 1주, *L. adedecarboxylata* 1주, *P. vulgaris* 1주가 분리 되어 Velusamy 등¹⁷⁾이 축산 농가의 흙에서 분리한 균과 거의 같은 종류였다. 분리 균 중 *E. coli*가 84.2%로 가장 높은 분리율을 나타내었는데 이러한 결과는 Ashish 등¹⁸⁾이 젓소에서 분리한 장내세균 중 *E. coli*가 86.4% (223/258 균주)로 가장 높은 분리율을 나타낸 것과 비슷한 수치이며, 일반적으로 가축이나 그 주변 환경에서 분리되는 균 종류와 유사하였다.

분리된 균들을 테트라사이클린, 옥시테트라사이클린, 클로르테트라사이클린, 에리스로마이신에 대한 MIC를 측정 한 결과 테트라사이클린, 옥시테트라사이클린에 대한 MIC는 모든 균이 >256 µg/ml이었으며, 클로르테트라사이클린에 대해서는 18~>128 µg/ml이었고, 에리스로마이신에 대해서는 32~>256 µg/ml로서 분리균 모두가 테트라사이클린제제와 에리스로마이신에 내성(100%)을 나타내었다. 이러한 결과는 최성화 등¹⁹⁾이 돼지의 분변과 퇴비에서 분리한 모든 *E. coli*가 테트라사이클린에 대해 내성(100%)을 나타내었다는 보고와 같으며, Ashish 등¹⁸⁾은 젓소에서 42%, Velusamy 등¹⁷⁾은 축산농가 흙에서 64.3%, Andrew 등²⁰⁾은 닭에서 47%의 테트라사이클린 내성균이 출현하였다고 하여 다른 항생제에 비해 비교적 높은 내성율을 보고하고 있다.

테트라사이클린 내성과 관련이 있는 tet 유전자의 보유 현황은 모든 균들이 tet(A) 유전자를 갖고 있었으며, tet(B) 유전자는 총 37주중 *E. coli*인 E4, E8, E11, S1, S2, S3, S19 등 7균주와 *L. adedecarboxylate*인 S6 1균주가 갖고 있어 분리된 유전자는 모두 막 연관 단백질을 만들어 균

체 내로 들어온 테트라사이클린을 외부로 잘 배출되게 하는 유전자였고, 다른 종류의 유전자는 관찰되지 않았다. tet(A) 유전자는 100%의 분리율을, tet(B)는 21.6%의 분리율을 나타내었는데 이러한 결과는 Moussa 등²¹⁾이 닭으로부터 분리한 테트라사이클린 내성균 104 균주 중 tet(A) 유전자는 76 균주(73.1%), tet(B) 유전자는 59 균주(56.7%)가 갖고 있었다는 보고와는 차이가 있으나, tet(A)와 tet(B) 유전자를 같이 갖고 있는 균주는 31균주(29.8%) 인 것과는 유의한 결과이다. 그리고 Ashish 등¹⁸⁾이 젓소에서 분리한 테트라사이클린 내성 *E. coli*는 7%가 tet(A)를 갖고 있으며, 93%가 tet(B) 유전자를 갖고 있었으며, Margareta 등²²⁾은 사람에서 분리한 *E. coli*에서 tet(A)는 25.6%, tet(B)는 32.2%, tet(A)와 tet(B)를 같이 갖고 있는 균은 3.5%였다는 보고와는 차이가 있었다. 이러한 차이는 Mónica 등²³⁾이 *Actinobacillus pleuropneumoniae*는 주로 tet(B) 유전자를 갖고 있다고 보고 한 것과 같이 균에 따라 특정 내성 유전자를 가질 수 있으며, Chopra 등¹⁶⁾, Roberts²⁴⁾도 균의 종류에 따라 갖고 있는 테트라사이클린 내성 유전자가 다른 것으로 보고하고 있다. 본 연구는 닭에서 분리된 장내세균에서 테트라사이클린 내성 유전자의 보유현황을 관찰하였는데 앞으로는 사람에서 분리되는 장내세균에서는 어떤 양상을 갖는지 계속 연구해야할 것으로 생각된다.

결론

닭에서 장내세균을 분리하여 테트라사이클린에 내성인 균을 동정하였더니 *E. coli* 32주, *C. freundii* 2주, *K. pneumoniae* 1주, *L. adedecarboxylata* 1주, *P. vulgaris* 1주가 분리 되었다. 이 균들은 테트라사이클린, 옥시테트라사이클린, 클로르테트라사이클린, 에리스로마이신에 대해 모두 내성을 나타내었다. 또한 이 균들에 대해 테트라사이클린 내성에 관여하는 tet 유전자의 보유상태를 PCR로 확인한 결과 모든 균주가 tet(A) 유전자를 갖고 있었고, E4, E8, E11, S1, S2, S3, S6, S19 등 8균주는 tet(B)를 더 보유하고 있는 것으로 확인되었다.

참고문헌

1) Angulo FJ, Baker NL, Olsen SJ, Anderson A, Barrett TJ : Antimicrobial use in agriculture: controlling the transfer of antimicrobial resistance to humans. *Semin Pediatr Infect Dis* 15:78-85, 2004

2) Cox LA, Popken DA : Quantifying potential human health impacts of animal antibiotic use: enrofloxacin and macrolides in chickens. *Risk Anal* 26:135-146, 2006

3) Besser TE, Goldoft M, Pritchett LC, Khakhria R, Hancock DD, Rice DH, Gay JM, Johnson W, Gay CC : Multi-resistant *Salmonella typhimurium* DT104 infections of humans and domestic animal in the Pacific northwest of the United States. *Epidemiol Infect* 124:193-200, 2000

4) Donabedian SM, Thal LA, Hershberger E, Perri MB, Chow JW, Bartlett P, Jones R, Joyce K, Rossiter S, Gay K, Johnson J, Mackinson C, DeBess E, Madden J, Angulo F, Zervos MJ : Molecular characterization of gentamicin-resistant enterococci in the United States: evidence of spread from animals to humans through food. *J Clin Microbiol* 41:1109-1113, 2003

5) Holmberg SD, Wells JG, Cohen ML : Animal-to-man transmission of antimicrobial resistant *Salmonella* : investigations of U.S. outbreaks, 1971-1983. *Science* 225:833-835, 1984

6) Spika JS, Waterman SH, Soo Hoo GW, Louis MES, Pacer RE, James SM, Bissett ML, Mayer LW, Chiu JY, Hall B, Green K, Potter ME, Cohen ML, Blake PA : Chloramphenicol-resistant *Salmonella* Newport traced through hamburger to dairy farms. *N Engl J Med* 316:565-570, 1987

7) Endtz HP, Ruijs GJ, van Klingeren B, Jansen WH, Van der Reyden T, Mouton RP : Quinolone resistance in *Campylobacter* isolated from man and poultry following the introduction of fluoroquinolones in veterinary medicine. *J Antimicrob Chemother* 27:199-208, 1991

8) McDermott PF, Zhao S, Wagner DD, Simjee S, Walker RD, White DG : The food safety perspective of antibiotic resistance. *Animal Biotech* 13:71-84, 2002

9) McEwen S, Reid-Smith R : Antimicrobial resistance in food. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 15:201-203, 2004

10) Lederberg J : Infectious disease as an evolutionary paradigm. *Emerg Infect Dis* 3:417-423, 1997

11) Khachatryan AR, Besser TE, Hancock DD, Call DR : Use of a nonmedicated dietary supplement correlates with increased prevalence of streptomycin- sulfatetracycline-resistant *Escherichia coli* on a dairy farm. *Appl Environ Microbiol* 72:4583-4588, 2006

12) Hammerum AM, Heuer OE, Lester CH, Agero Y, Seyfarth AM, Emborg HD, Frimodt-Møller N, Monnet DL : Comment on: withdrawal of growth-promoting antibiotics in Europe and its effects in relation to human health. *Int J Antimicrob Agents* 30:466-468, 2007

13) Giguere S, Prescott JF, Baggot JD, Walker RD, Dowling PM : Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine, 4th ed. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, 2006

14) Kan CA, Petz M : Residues of veterinary drugs in eggs and their distribution between yolk and white. *J Agric Food Chem* 48:6397-6403, 2000

15) Mariano V, McCrindle CME, Cenci-Goga B, Picard JA : Case-control study to determine whether river water can spread tetracycline resistance to unexposed impala (*Aepyceros melampus*) in Kruger National Park (South Africa). *Appl Environ Microbiol* 75:113-118, 2009

16) Chopra I, Roberts M : Tetracycline antibiotics: Mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol Mol Biol Rev* 65:232-260, 2001

17) Velusamy S, Hyang-Mi N, Ashish AS, Susan IH, Lien TN, Stephen PO : Distribution of tetracycline and streptomycin resistance genes and class 1 integrons in *Enterobacteriaceae* isolated from dairy and nondairy farm soils. *Microb Ecol* 55:184-193, 2008

18) Ashish AS, Narasimha VH, Beth AS, Sarah CD, Brenda CL, Stephen JK, Bhushan MJ : Antimicrobial-resistant enteric bacteria from dairy cattle. *Appl Environ Microbiol* 73:156-163, 2007

19) 최성화, 이영주, 김봉환, 김기석, 박정규, 배동화, 조재근, 김종완, 김병한, 강민수 : 양돈 환경유래 *Escherichia coli*의 항균제 내성 및 유전적 특성. *J Bacteriol Virol* 36:159-165, 2006

20) Andrew B, Nir S, Michael JS : Frequency and distribution of tetracycline resistance genes in genetically diverse, nonselected, and nonclinical *Escherichia coli* strains isolated from diverse human and animal sources. *Appl Environ Microbiol* 70:2503-2597, 2004

21) Moussa SD, Fred GS, Fatoumata D, Jane P, Luke M, Roland B, Claudie B, Pascal D, Susan B, Brent JS, Edward T : Impact of feed supplementation with antimicrobial agents on growth performance of broiler chickens, *Clostridium perfringens* and *Enterococcus* counts, and antibiotic resistance phenotypes and distribution of antimicrobial resistance determinants in *Escherichia coli* isolates. *Appl Environ Microbiol* 73:6566-6576, 2007

22) Margareta T, Peter JP, Anita YMH, Mark O, Stanley M, Karen C, Patricia AB, Jones CH : Occurrence of tetracycline resistance genes among *Escherichia coli* isolates from the phase 3 clinical trials for tigecycline. *Antimicrob Agents Chemother* 51:3205-3211, 2007

23) Mónica B, César BG, Elías FR, Marilyn CR, Jesús N : Distribution of tetracycline resistance genes in *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolates from Spain. *Antimicrob Agents Chemother* 50:702-708, 2006

24) Roberts MC : Update on acquired tetracycline resistance genes. *FEMS Microbiol Lett* 245:195-203, 2005