

태안군 이원면 육상오염원 배출수에서 분리한 그람음성균의 항생제 내성 특성

박보미^{1,3} · 김민주¹ · 정연겸¹ · 박진일¹ · 유홍식² · 오은경^{1*}

¹국립수산과학원 서해수산연구소, ²국립수산과학원 식품위생가공과, ³군산대학교 식품생명공학과

Antimicrobial Resistance Characteristics of Gram-Negative Bacteria Isolated from Inland Pollution Sources in the Drainage Basin of Iwon-myeon (Taean-gun), South Korea

Bo Mi Park^{1,3}, Min Ju Kim¹, Yeon Gyeom Jeong¹, Jin Il Park¹, Hong Sik Yu² and Eun Gyoung Oh^{1*}

¹West Sea Fisheries Research Institute, National Institute of Fisheries Science, Incheon 22383, Korea

²Food Safety and Processing Research Division, National Institute of Fisheries Science, Busan 46083, Korea

³Department of Food Science and Biotechnology, Kunsan National University, Gunsan 54150, Korea

Fecal contamination levels of discharge water from inland pollution sources were investigated in Iwon-myeon (Taean-gun), South Korea. Gram-negative bacteria were isolated during the investigation and the antimicrobial resistance patterns of the isolates were examined to estimate their impact on the coastal environment. The ranges of total coliform and fecal coliform of 12 samples from four major inland pollution sources were 79-490,000 MPN/100 mL and 2.0-490,000 MPN/100 mL, respectively, with the highest level of fecal contamination at Station No. 3. A total of 137 strains (14 genus) were isolated, of which 86 strains (62.8%) were *Enterobacteriaceae*. The identified isolates were as follows: *Pseudomonas* spp. (35 strains), *Klebsiella* spp. (20 strains), *Serratia* spp. (20 strains), and *Escherichia* spp. (19 strains). The isolated Gram-negative bacteria showed the highest antimicrobial resistance to ampicillin (81.8%), followed by amoxicillin/clavulanic acid (64.2%), ceftiofur (61.3%), and cefoxitin (59.1%). Antimicrobials in which less than 10% of isolates showed antimicrobial resistance were ciprofloxacin (3.6%) and gentamicin (2.2%). Resistance to one or more antimicrobials was observed in 121 strains (88.3%) and 84 strains (61.3%) showed a tendency for multiple antimicrobial resistance.

Keywords: Antimicrobial resistance, Gram-negative bacteria, Inland pollution source, Iwon-myeon (Taean-gun), Multiple antimicrobial resistance (MAR)

서 론

최근 환경에서는 임상에서 사용되는 항생제에 내성을 가지는 세균이 검출되고 있으며 특히 수환경으로부터 발견되는 다제 내성균이 문제가 되고 있다(Chitanand et al., 2010). 이러한 내성균 확산의 주 원인으로는 병원 및 사육시설로부터 방출된 잔류항생제 및 항생제 내성균을 가진 인간 또는 동물의 분변 오염 등이 있고, 그 외에도 대량 강우 및 태풍 등의 영향에 의해 육상에 존재하는 내성균이 수환경으로 유입될 수 있다(Ikehata et al., 2006; Knapp et al., 2010). 육상오염원의 종류에는 다양한

오염물질을 가진 생활하수, 축산농가의 폐수, 우수 및 하천 등이 있으며, 장내세균 뿐 아니라 환경유래 병원성세균도 함유하고 있어 해역으로 직접 유입될 경우 인근에 서식하는 수산생물 및 수환경의 내성균 확산에도 영향을 미칠 우려가 있다(Rippey, 1994; Ha et al., 2013; Park et al., 2018; Roh et al., 2018; Kwon et al., 2019).

항생제는 세균성 질병 치료를 위해 반드시 필요한 의약품이지만 지속적인 항생제 사용 및 오·남용은 항생제 내성균 및 다제내성균 출현의 주 원인이며(WHO, 2014; Kwon et al., 2019), 병원성 세균이 항생제 내성을 획득할 경우 심각한 공중보건학적

*Corresponding author: Tel: +82. 32. 745. 0750 Fax: +82. 32. 745. 0619

E-mail address: ohdagu@korea.kr



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2021.0377>

Korean J Fish Aquat Sci 54(4), 377-387, August 2021

Received 25 June 2021; Revised 14 July 2021; Accepted 22 July 2021

저자 직위: 박보미(대학원생), 김민주(인턴연구원), 정연겸(연구사), 박진일(연구사), 유홍식(연구관), 오은경(연구관)

인 문제가 발생할 수 있다. World Health Organization (WHO)에서는 주요 항생제에 내성을 가진 6종의 병원성세균 ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* 및 *Enterobacter species*)에 대한 새로운 항생제의 개발이 시급하다고 발표하였다(WHO, 2017; Oliveira et al., 2020). 또한 영국의 경제학자인 Jim O'Neill은 항생제 내성균에 대한 적절한 대책을 마련하지 않는다면 2050년에는 내성균으로 인한 사망자가 1천만명까지 발생할 것으로 예측하였다(Vindenes et al., 2016; Kim et al., 2019).

전 세계적으로 항생제 내성균 및 다제내성균의 출현으로 인한 문제가 발생하고 있으며, 그 중 그람음성 *Enterobacteriaceae*는 β -lactamase를 생성하여 carbapenem과 같은 β -lactam계열의 항생제에 내성을 가질 수 있다(Paterson, 2006). 또한 육상에서 유입된 항생제 내성균의 내성인자(plasmid, transposon 및 integron)는 수환경에서 장기간 생존이 가능한 그람음성균에 전이되어 새로운 패턴의 항생제 내성균이 발견될 수 있다(Moura et al., 2012; Kotlarska et al., 2015; Park et al., 2018).

현재까지 육상오염원에 대한 인근 해역의 영향평가는 다수 진행되어 왔으나(Shim et al., 2012; Ha et al., 2013; Shin et al., 2018) 국내 육상오염원에서 분리된 항생제 내성균 및 다제내성균의 특성에 대한 연구는 *E. coli*와 같은 단일 세균에 집중되어 있어(Park et al., 2013; Kwon et al., 2016; Kwon et al., 2019) 다양한 균종에 대한 항생제 내성 특성 연구는 부족한 실정이다.

태안군 이원면 해역은 서해안에서 연간 200 ton 이상의 패류가 생산되는 지역이지만, 인가 및 축산농가에서 배출되는 폐수를 처리할 수 있는 적절한 시설이 없어 육상오염원이 해역으로 직접 유입될 가능성이 있다. 이에 따라 본 연구에서는 태안군 이원면 배수유역에 위치한 주요 육상오염원을 대상으로 분변오염도를 평가하였고, 육상오염원으로부터 다양한 그람음성균을 분리하여 항생제 내성 특성을 확인함으로써 항생제 내성균 연구의 기초자료로 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

조사 지점 및 시료 채취

충청남도 태안군 이원면 배수유역에 위치한 육상오염원 배출수의 분변오염도를 파악하고, 배출수로부터 분리된 그람음성균의 세균상 및 항생제 내성 특성을 조사하기 위하여 마을로부터 해역으로 배출되어 해역의 위생상태에 직접적인 영향을 미칠 수 있을 것으로 파악되는 조사 지점 4개소를 선정하였다(Fig. 1). 채취 시기는 세균학적 오염도가 증가할 수 있는 하절기 동안 3회(2020.6.17, 2020.7.6, 2020.8.19)에 걸쳐 총 12개 시료를 채취하였으며, 채취일 기준 3일전 강수량 합계는 0.0-0.1 mm이었고 기온은 21.6-26.5°C이었다. 시료는 1 L용 무균 채수병(New international science corporation, Namyangju, Korea)

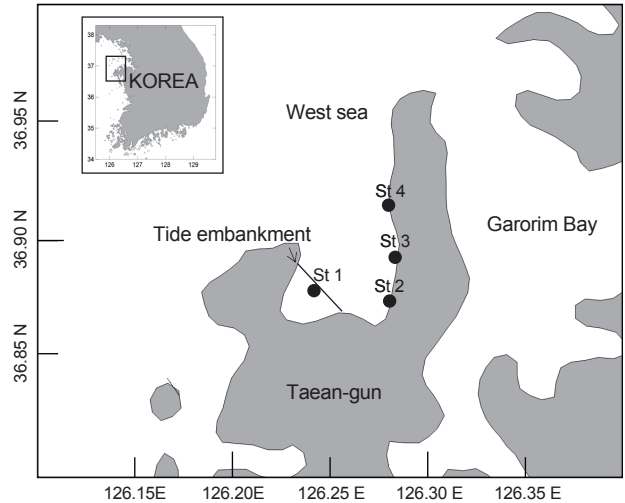


Fig. 1. Sampling stations of major inland pollution sources (●) in the Iwon-myeon (Taean-gun), South Korea.

에 800 mL 채수하여 10°C 이하로 유지하면서 실험실로 운반하여 실험에 사용하였다.

대장균군 및 분변계대장균 시험

육상오염원의 위생성상을 파악하기 위한 대장균군 및 분변계대장균 시험은 laboratory procedures for the examination of sea water and shellfish (APHA, 1984) 방법에 따라 실험하였다. 추정시험에는 lauryl sulfate broth (Oxoid, Basingstoke, UK)를 사용하여 35 ± 0.5°C에서 24-48 ± 2시간 배양하였고 산과 가스를 생성하는 관을 양성으로 하여 확정시험에 사용하였다. 확정시험에는 brilliant green bile lactose broth 2% (Oxoid, Basingstoke, UK)와 EC broth (Oxoid, Basingstoke, UK)를 사용하였으며 각각 35 ± 0.5°C에서 24-48 ± 2시간, 44.5 ± 0.2°C에서 24 ± 2시간 동안 배양하였다. 실험결과는 각 희석단계별로 5개의 시험관을 사용한 최확수법(most probable number, MPN)으로 산출하여 MPN/100 mL으로 표기하였다.

그람음성균의 분리 및 동정

그람음성균의 분리는 대장균군 시험에서 양성으로 확인된 lauryl sulfate broth 배양액을 EMB agar (Merck, Darmstadt, Germany) 배지에 도말하여 단일 colony를 순수 분리하였다. Tryptone soya agar (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, UK)에 분리된 균주를 계대배양하여 3 mL 0.45% NaCl 용액에 0.5 McFarland가 되도록 현탁한 후 VITEK2 system (BioMerieux, Marcy, France)으로 동정하고 항생제 내성 시험에 사용하였다.

항생제 내성 시험

육상오염원으로부터 분리된 그람음성균의 항생제 내성 시험은 국가 항생제 사용 및 내성 모니터링(MFDS, 2019)의 방법

에 따라 KRV5F panel (Sensititre, East Grinstead, UK)를 사용하여 최소억제농도법(minimum inhibitory concentrations, MICs)으로 시험하였다. Panel에는 16종의 항생제가 농도별로 포함되어 있으며 항생제 종류는 다음과 같다(항생제 농도 범위, µg/mL): amoxicillin/clavulanic acid (AmC; 2/1-32/16), ampicillin (AMP; 2-64), cefepime (FEP; 0.25-16), ceftiofur (FOX; 1-32), ceftazidime (CAZ; 1-16), ceftiofur (XNL; 0.5-8), chloramphenicol (CHL; 2-64), ciprofloxacin (CIP; 0.12-16), colistin (CL; 2-6), gentamicin (GEN; 1-64), meropenem (MEM; 0.25-4), nalidixic acid (NAL; 2-128), streptomycin (STR; 16-128), sulfisoxazole (FIS; 16-256), tetracycline (TET; 2-128), trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT; 0.12/2.38-4/76). Tryptone soya agar에서 배양한 각 균주를 3 mL 멸균증류수에 현탁하여 0.5 McFarland로 조정된 후 cation adjusted muller hinton broth (Sensititre, Lenexa, KS, USA) 11 mL에 10 µL씩 접종하여 균질화 하였다. Cation adjusted muller hinton broth에 접종된 균액을 KRV5F panel의 각 well마다 50 µL씩 접종액을 분주하여 35 ± 0.5°C에서 18-24시간동안 배양한 후 Optiread (Sensititre, East Grinstead, UK)로 측정하였고 결과의 판정은 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2017)을 근거로 하였다. 그람음성균의 다제내성정도를 파악하기 위하여 MAR (multiple antimicrobial resistance) index를 사용하였으며, MAR index는 시험에 사용된 총 항생제 개수에 대한 내성을 나타내는 항생제의 개수의 비율을 계산하여 나타내었다 (Titilawo et al., 2015; Govender et al., 2021).

결과 및 고찰

육상오염원의 위생성상 평가

태안군 이원면 해역에 위치한 육상오염원 배출수의 분변오염도를 파악하기 위하여 2020년 6월부터 8월까지 이원방조제 (St 1), 음포해변(St 2), 사목해변(St 3), 꾸지나무골 해수욕장 (St 4) 인근 육상오염원 4지점으로부터 총 12개의 시료를 채취하여 대장균군 및 분변계대장균을 분석하였으며, 조사 지점별 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 조사 지점별 대장균군 및 분변계대장균의 범위는 각각 St 1에서 79-240 MPN/100 mL 및 2.0-13 MPN/100 mL, St 2에서 1,300-3,300 MPN/100 mL 및 49-79 MPN/100 mL, St 3에서 330,000-490,000 MPN/100 mL 및 170,000-490,000 MPN/100 mL, St 4에서 4,000-14,000 MPN/100 mL 및 3,400-11,000 MPN/100 mL이었으며, 대장균군 수가 가장 높게 검출된 지점은 사목해변 인근에 위치한 St 3으로 490,000 MPN/100 mL을 나타내었고 St 4, St 2, St 1 순으로 높았다. 또한 분변계대장균 결과도 St 3 (사목해변)지점에서 490,000 MPN/100 mL으로 가장 높게 검출되었고 St 4, St 2, St 1순으로 높아 대장균군과 동일한 경향을 보였다.

대장균군 및 분변계대장균의 오염도가 가장 높은 St 3와 St 4

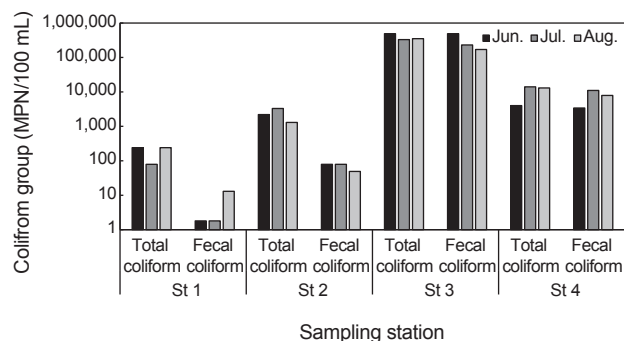


Fig. 2. Level of total coliform and fecal coliform of major inland pollution sources in the Iwon-myeon (Taeang-gun), South Korea.

는 주변에 해수욕장 및 숙박시설이 있어 행락객의 출입이 잦은 위치에 있으며, 하수처리시설이 없기 때문에 처리되지 않은 오염물질이 해역으로 직접 유입되는 것으로 확인되었다. 또한 두 지점 모두 대장균군 및 분변계대장균 결과가 같거나 비슷한 수준으로 검출되었는데 이와 같이 분변오염도가 높게 검출되는 것은 St 3 및 St 4 배출수의 오염물질이 대부분 동물 및 인간의 분변으로부터 유래하기 때문인 것으로 사료된다. 반면 이원방조제 인근과 음포해변 인근에 위치한 St 1, St 2는 St 3, St 4에 비하여 상대적으로 낮은 분변오염도를 나타내었고 대장균군 수에 비해 분변계대장균 수가 대부분 낮게 검출되었다. 이러한 결과는 이들 지점의 오염물질에는 분변에 의한 오염보다는 토양, 식물 등의 자연환경에서 유래한 세균이 대부분을 차지하는 것으로 판단된다. Ha et al. (2013)은 남해안 창선 해역의 적양항과 장포항에 위치한 육상오염원 배출수의 세균학적 영향 평가 결과, 주변이 농지로 이루어져있고 거주 인구가 적은 지역의 하천에서는 분변계대장균 수가 낮았고 마을을 관통하여 흐르는 하천에서는 분변계대장균 수가 높다는 결과를 나타내었다. 또한 Shin et al. (2018)의 남해안 강진만 배수구역에 위치한 육상오염원 배출수의 분변계대장균 오염도를 조사한 결과에서도 인구가 밀집된 지역에서는 높은 분변오염도를 나타낸 반면, 상대적으로 인구가 적고 농지 주변에 위치한 육상오염원의 분변계대장균 수는 낮게 검출되었다고 보고하여 본 연구결과와 유사한 경향을 보였다.

육상오염원의 분변오염도는 강우량 및 조석에 따라 인근 해역에 미치는 영향범위가 달라질 수 있다는 연구결과가 있으며 (Ha et al., 2013), 태안군 이원면 해역의 경우 하절기 대량 강우 발생 시 분변오염도가 높은 육상오염원 배출수가 해역으로 유입될 가능성이 있어 지속적인 관리가 필요할 것으로 사료된다.

육상오염원에서 분리된 그람음성균

태안군 이원면 육상오염원 배출수 4개소에서 12개 시료를 채취하여 그람음성균을 분리·동정한 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 총 137균주(14 genus)가 분리되었으며, 그 중 86균주(9

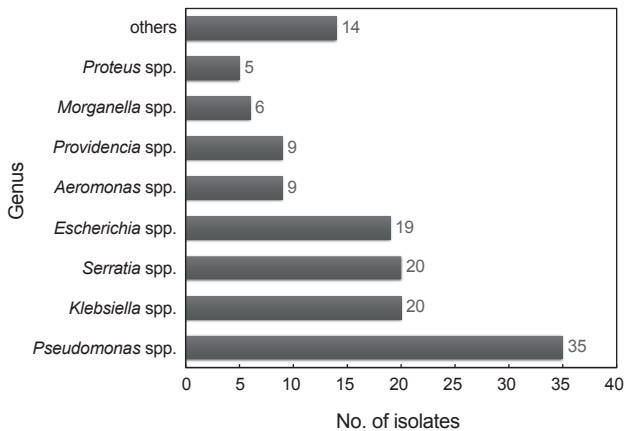


Fig. 3. Number of total Gram-negative bacteria isolated from inland pollution sources in the Iwon-myeon (Tae-an-gun), South Korea.

genus: *Klebsiella* spp., *Serratia* spp., *Escherichia* spp., *Providencia* spp., *Morganella* spp., *Proteus* spp., *Citrobacter* spp., *Kluyvera* spp., *Enterobacter* spp.)가 *Enterobacteriaceae*에 속하였고, 기타 51균주(5 genus: *Pseudomonas* spp., *Aeromonas* spp., *Alcaligenes* spp., *Pantoea* spp., *Burkholderia* spp.)도 분리되었다.

분리균주 중 가장 높은 비율로 검출된 *Pseudomonas* spp. (35 균주)은 주로 육상의 토양이나 물 등 자연환경에 널리 분포하는 세균으로, 대부분 비병원성이지만 일부 *P. aeruginosa*와 같은 균종은 사람에게 폐렴, 수막염 등의 질병을 유발하는 것으로 알려져 있다(Wiehlmann et al., 2007; Hesse et al., 2018; Oliveira et al., 2020). 본 연구에서는 대부분이 비병원성균으로 분리되었으나 일부 시료에서는 *P. aeruginosa* (8균주)도 분리되었다. 그 다음으로 많이 분리된 *Klebsiella* spp. (20균주)는 장내세균과에 속하며 자연에 널리 존재하는 세균으로 *K. pneumoniae* 및 *K. oxytoca*와 같이 사람에게 급성 폐렴 및 패혈증을 일으킬 수 있는 병원성 세균을 포함하고 있다(Zhong et al., 2013; Jung et al., 2016; Latifpour et al., 2016). 본 연구에서는 모든 균주가 병원성을 나타내는 *K. pneumoniae* 및 *K. oxytoca*로 분리되었다. *Serratia* spp. (20균주) 역시 자연에 널리 존재하는 장내세균으로 과거에는 비병원성 세균으로 여겨졌으나 최근에는 호흡기 감염, 요로감염, 패혈증 등의 감염질환 원인균으로 여겨지고 있다(Buffut-Bataillon et al., 2009; Mahlen, 2011). 본 연구에서는 모든 균주가 병원성 세균으로 알려진 *S. marcescens*으로 분리되었다. *Escherichia* spp. (19균주)의 경우 대표적인 장내세균으로 분변오염의 지표 세균이고 대부분은 비병원성을 나타내지만, *E. coli* O157:H7과 같이 특정 항원을 가진 경우에는 병원성을 나타낸다고 알려져 있으나(Kaper et al., 2004), 본 연구에서는 병원성을 가지는 *E. coli*는 검출되지 않았다.

Jang et al. (2015)은 국내 하천에서 분리된 그람음성균 동정결과에서 *Enterobacteriaceae* (41.0%) 및 *Pseudomonada-*

ceae (30.0%)가 분리되었다고 보고하였는데, 이는 본 연구에서 분리된 *Enterobacteriaceae* (62.8%) 및 *Pseudomonada-ceae* (25.5%)와 유사한 경향을 보였다. 반면에 Belachew et al. (2018)은 Ethiopia 도시 하천에서 분리한 그람음성균의 동정결과에서 *Klebsiella* spp. (39.0%)가 가장 많이 분리되었고, *E. coli* (26.0%), *C. freundii* (11.0%)순으로 분리되었다고 보고하였으며, Lee et al. (2006)은 하절기 영남지역 지하수에서 분리한 대장균군의 동정결과 *Enterobacter* spp. (65.0%)가 우점종으로 분리되었고, *Klebsiella* spp. (13.0%) 및 *Serratia* spp. (10.0%)순으로 분리되었다고 보고하여 본 연구와는 상이한 결과를 나타내었다. 이와 같이 분리되는 세균상의 차이를 보이는 이유는 육상오염원의 종류(생활하수, 우수, 농업용수 등), 주변 환경, 채취 시기, 강우량의 영향을 받기 때문으로 판단된다.

태안군 이원면 육상오염원의 지점별로 분리된 genus를 Fig. 4에 나타내었다. St 1 (이원방조제)에서는 총 39균주(10 genus)가 분리되었고 *Pseudomonas* spp.가 10균주(25.6%)로 가장 많았으며 *Klebsiella* spp. 8균주(20.5%), *Providencia* spp. 6균주(15.4%), *Escherichia* spp. 5균주(12.8%)순으로 분리되었다. St 2 (음포해변)에서는 28균주(6 genus)가 분리되었으며, *Klebsiella* spp.가 8균주(28.6%)로 가장 많았고 *Pseudomonas* spp. 7균주(25.0%), *Serratia* spp. 7균주(25.0%)순으로 분리되었다. St 3 (사목해변)에서는 총 28균주(7 genus)가 분리되었고 그 중 *Pseudomonas* spp.가 8균주(28.6%)로 가장 많았으며 *Escherichia* spp. 7균주(25.0%) 및 *Serratia* spp. 5균주(17.9%)순으로 많이 분리되었다. St 4 (꾸지나무골 해수욕장)에서는 42균주(11 genus)가 분리되었으며 *Pseudomonas* spp.가 10균주(23.8%)로 가장 많이 분리되었고 *Escherichia* spp. 6균주(14.3%), *Serratia* spp. 6균주(14.3%), *Klebsiella* spp. 4균주(9.5%), *Morganella* spp. 4균주(9.5%)가 분리되었다.

태안군 이원면 배수유역의 육상오염원 배출수에서 분리한 그람음성균의 분리현황을 살펴본 결과, 총 137균주 중 86균주(62.8%)가 *Enterobacteriaceae*으로 분리되어 우점종을 차지하는 것으로 확인되었다. 또한 채취 지점별 세균상에서 다소 차이를 나타내었는데, St 3 (사목해변)지점에서 *Escherichia* spp. 분리 비율이 상대적으로 높게 검출되었다. 이는 St 3지점의 경우 인구밀집지역에 위치해 있으며, 인근에 해수욕장이 위치해 있어 행락객의 출입이 잦으므로 분변오염도가 높았을 것으로 판단된다. 특히 육상오염원 일부 시료에서 *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens*등과 같은 병원성 세균이 검출되고 있어 인근 해역에서 생산되는 수산생물의 위생상태에 영향을 미칠 우려가 있으므로 향후 적절한 관리방안을 마련해야 할 것으로 사료된다.

육상오염원으로부터 분리된 그람음성균의 항생제 내성 특성

태안군 이원면 해역의 육상오염원 배출수로부터 분리한 그

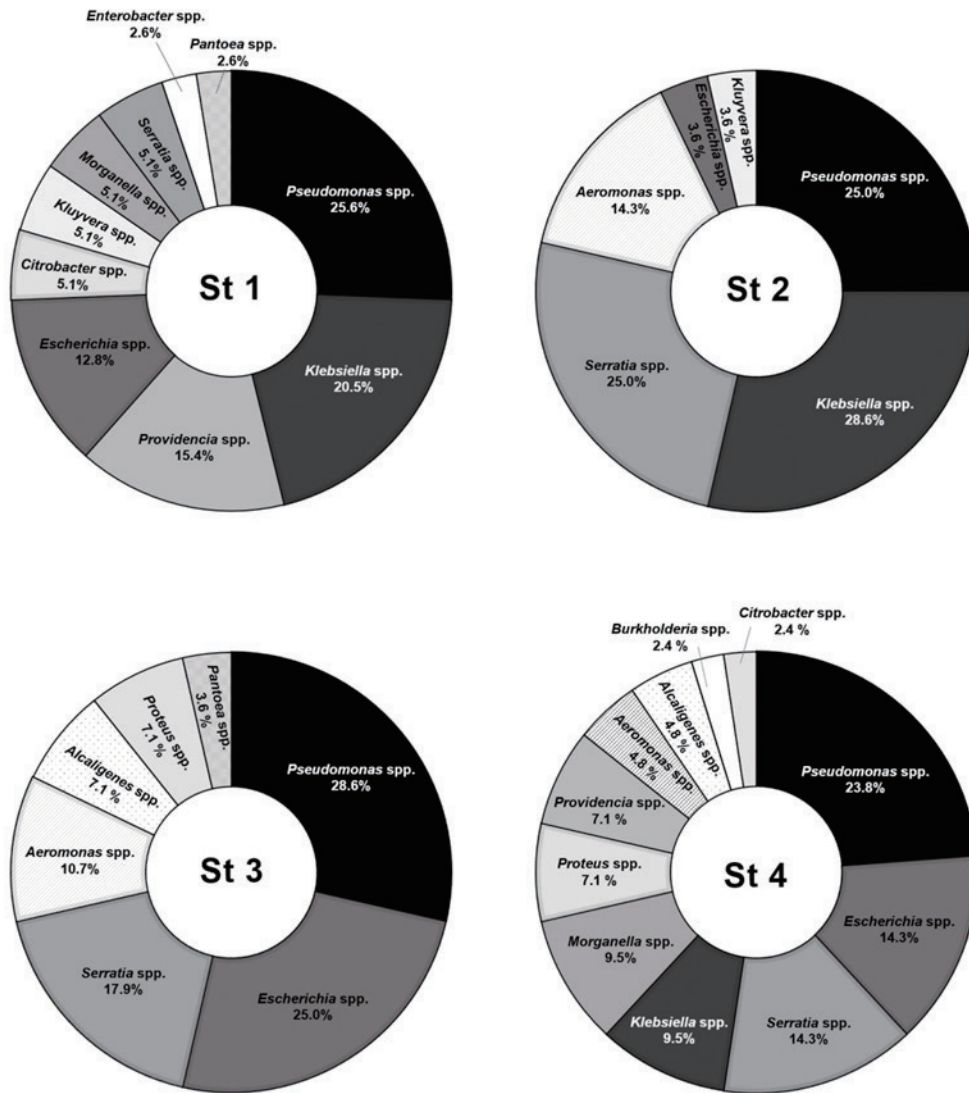


Fig. 4. Rate of Gram-negative bacteria isolated from inland pollution sources in the Iwon-myeon (Taean-gun), South Korea by sampling point.

람음성균 137균주의 항생제 내성 특성을 살펴보기 위하여 13 개 계열 16종의 항생제에 대한 내성 시험을 실시하였으며, 결과를 Table 1에 나타내었다. 분리된 그람음성균 대부분이 1개 이상의 항생제에 내성을 나타내었는데, 그 중 aminopenicillin 계열의 ampicillin (81.8%)에서 가장 높은 내성률을 나타내었고, amoxicillin/clavulanic acid (64.2%), ceftiofur (61.3%), cefoxitin (59.1%)순으로 높게 나타났다. 또한 colistin (51.1%), meropenem (43.8%), chloramphenicol (37.2%), cefepime (34.3%), tetracycline (34.3%) 등에서도 높은 내성률을 나타냈으며, 10%미만의 내성률을 나타낸 항생제는 ciprofloxacin (3.6%), gentamicin (2.2%)이었다.

Ampicillin은 1960년대부터 상용화되어 WHO 필수약품

목록에 등재되어 있는 세균성 질병 치료제로(WHO, 2019), 현재까지 발표된 여러 연구를 통하여 ampicillin의 높은 내성률이 보고되고 있으며 특히 다양한 수환경으로부터 분리한 대장균군은 ampicillin에서 50.0-98.4%로 높은 내성률을 나타내었다고 보고되어(Silva et al., 2006; Chitanand et al., 2010; Okai et al., 2019; Adinortey et al., 2020; Zagui et al., 2020) 본 연구와 유사한 경향을 나타내었다.

태안군 이원면 육상오염원 배출수로부터 분리한 그람음성균은 총 14 genus가 분리되었으며, 가장 많이 분리된 그람음성균 4 genus 대한 항생제 내성률을 Table 2에 나타내었다. 가장 높은 비율로 분리된 *Pseudomonas* spp. (35균주)은 모든 균주에서 1개 이상의 항생제에 대한 내성을 나타내었으며, cefoxitin

(100%), ampicillin (97.1%), ceftiofur (94.3%), amoxicillin/clavulanic acid (91.4%), chloramphenicol (91.4%) 순으로 높은 내성률을 나타내었다. 한편 가장 낮은 내성률을 나타낸 항생제는 gentamicin (5.7%)과 ceftazidime (5.7%)이었다. 외국의 하수처리시설 배출수, 폐수 및 수환경으로부터 분리된 *Pseudomonas* spp.의 항생제 내성에 관한 여러 연구결과(Odjadjare et al., 2012; Devarajan et al., 2017; Govender et al., 2021)에서는 ampicillin에 대한 내성률이 81.0-93.0%로 보고된 바 있어 본

Table 1. Antimicrobial resistance of Gram-negative bacteria isolated from inland pollution sources in the Iwon-myeon (Taean-gun), South Korea

Antimicrobial agents	No. of isolates (%) (n=137)		
	Resistant	Intermediate	Susceptible
Aminoglycosides			
Gentamicin	3 (2.2)	1 (0.7)	133 (97.1)
Streptomycin	37 (27.0)	0 (0.0)	100 (73.0)
Aminopenicillin			
Ampicillin	112 (81.8)	4 (2.9)	21 (15.3)
β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations			
Amoxicillin/clavulanic acid	88 (64.2)	6 (4.4)	43 (31.4)
Cephameycin			
Cefoxitin	81 (59.1)	6 (4.4)	50 (36.5)
Cephalosporin III			
Ceftiofur	84 (61.3)	5 (3.6)	48 (35.0)
Ceftazidime	30 (21.9)	9 (6.6)	98 (71.5)
Cephalosporin IV			
Cefepime	47 (34.3)	13 (9.5)	77 (56.2)
Carbapenem			
Meropenem	60 (43.8)	14 (10.2)	63 (46.0)
Fluoroquinolone			
Ciprofloxacin	5 (3.6)	8 (5.8)	124 (90.5)
Folate pathway inhibitors			
Trimethoprim/sulphamethoxazole	22 (16.1)	0 (0.0)	115 (83.9)
Sulfisoxazole	30 (21.9)	0 (0.0)	107 (78.1)
Phenicol			
Chloramphenicol	51 (37.2)	37 (27.0)	49 (35.8)
Polymyxins			
Colistin	70 (51.1)	0 (0.0)	67 (48.9)
Quinolone			
Nalidixic acid	20 (14.6)	0 (0.0)	117 (85.4)
Tetracyclines			
Tetracycline	47 (34.3)	10 (7.3)	80 (58.4)

연구결과와 유사한 경향을 나타내었다.

Klebsiella spp. (20균주)의 경우 ampicillin에 100%의 내성률을 보였고 sulfisoxazole (35.0%), colistin (20.0%), ceftiofur (10.0%) 순으로 높은 내성률을 보였다. 반면에 gentamicin, streptomycin, cefoxitin, ceftazidime, cefepime, meropenem, ciprofloxacin, trimethoprim/sulphamethoxazole, chloramphenicol, nalidixic acid에 대해서는 모두 감수성을 나타내었다. 이와 같은 결과는 2019년 Tokyo의 Tama강 하류에서 분리된 *Klebsiella* spp.은 ampicillin에 100%의 내성을 나타내었고, gentamicin, ceftazidime, meropenem, chloramphenicol에서 모두 감수성을 나타내었다고 보고한 바와 일치하였다(Okai et al., 2019). 또한 Adinortey et al. (2020)는 어류양식장으로부터 분리된 *K. pneumoniae* 및 *K. oxytoca*에서 ampicillin내성률이 100%로 나타났으며, 분리된 모든 *K. pneumoniae*가 gentamicin에 감수성을 나타내었다고 보고하여 본 연구결과와 일치하였다.

Serratia spp. (20균주)에서는 ampicillin, amoxicillin/clavulanic acid, ceftiofur, colistin에 대하여 100%의 내성을 나타내었고 그 외 cefepime (95.0%), meropenem (95.0%), cefoxitin (85.0%), tetracycline (75.0%)에 대해서도 높은 내성률을 나타내었다. 반면 gentamicin, ciprofloxacin, trimethoprim/sulphamethoxazole, nalidixic acid에서는 모두 감수성을 나타내었다. *Serratia* spp.의 항생제 내성 연구는 주로 임상에서 이루어졌으며, 환경 및 육상오염원에서 분리된 내성균에 관련된 연구는 극히 적은 것으로 파악되었다. Adinortey et al. (2020)는 어류양식장으로부터 1균주의 *S. marcescens*를 분리하여 항생제 내성을 살펴본 결과, ampicillin, chloramphenicol, tetracycline에서 100%의 내성률을 보였으며, gentamicin에만 감수성을 보였고 보고하여 본 연구와 일부 유사한 경향을 보였다.

Escherichia spp. (19균주)은 ampicillin (15.8%) 및 colistin (15.8%)에서 가장 높은 내성률을 보였고 streptomycin, amoxicillin/clavulanic acid, cefoxitin, ceftiofur, ceftazidime, cefepime, meropenem, sulfisoxazole, tetracycline에서는 모두 10.5%의 내성률을 보였으며, gentamicin, ciprofloxacin, trimethoprim/sulphamethoxazole, chloramphenicol, nalidixic acid에서는 감수성을 나타내었다. 현재까지 국내 연안 육상오염원에서 분리된 *E. coli*의 항생제 내성 특성에 관한 연구는 다수 진행되어 왔으며(Kwon et al., 2016; Kwon et al., 2018; Park et al., 2018; Kwon et al., 2019), 2016-2019년에 남해안의 한산거제만, 자란만 사랑도, 용남광도 해역의 육상오염원에서 분리된 *E. coli*는 ampicillin에서 3.2-16.9%의 내성률을 나타내었다고 보고하여 본 연구와 유사한 결과를 나타내었다. 또한 위와 같은 연구에서는 지역마다 항생제 내성률의 차이가 다소 나타났는데 이는 육상오염원 주변에 위치한 시설(병원, 인가, 축산농가 및 양식장 등)에서 사용된 항생제의 종류에 따라 달라질 수 있으며, 조사시기와 강우량에 대한 영향도 받을 것으로 사료된다.

태안군 이원면 육상오염원 배출수로부터 분리한 그람음성균 총 137균주(14 genus) 중 가장 많은 균주가 분리된 4 genus (*Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp., *Serratia* spp., *Escherichia* spp.) 94균주에 대한 항생제 내성 특성을 확인한 결과, 대부분의 균주에서 높은 ampicillin 내성을 나타내었고, 낮은 내성 또는 감수성을 보이는 항생제는 gentamicin이었다. *Pseudomonas* spp.에서는 모든 균주가 1개 이상의 항생제에 내성을 나타내었고, *Klebsiella* spp.에서는 모든 균주가 10개 항생제에 감수성을 나타내었으며 *Serratia* spp.은 대부분의 항생제에서 높은 내성률을 보였다. 한편 *Escherichia* spp.은 기타 genus에 비하여 상대

적으로 낮은 내성률을 보였으며, 특정시기에 분리된 일부 다제내성균을 제외하고 대부분의 균주에서 모든 항생제에 감수성을 나타내었다. 이는 태안군 이원면 주변에 서식하는 인구가 항생제에 대한 내성을 획득할 만큼 노출빈도가 많지 않았을 것으로 추측된다. 또한 본 연구에서 10균주 미만으로 분리된 나머지 그람음성균(10 genus: *Aeromonas* spp., *Providencia* spp., *Morganella* spp., *Proteus* spp., *Alcaligenes* spp., *Citrobacter* spp., *Kluyvera* spp., *Pantoea* spp., *Burkholderia* spp., *Enterobacter* spp.)은 항생제 내성 특성에 대한 추가적인 검토가 필요할 것으로 사료된다.

Table 2. Antimicrobial resistance of four major Gram-negative bacteria isolated from inland pollution sources in the Iwon-myeon (Taean-gun), South Korea

Antimicrobial agents	Number of resistance isolates (%)			
	<i>Pseudomonas</i> spp. (n=35)	<i>Klebsiella</i> spp. (n=20)	<i>Serratia</i> spp. (n=20)	<i>Escherichia</i> spp. (n=19)
Aminoglycosides				
Gentamicin	2 (5.7)	(0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Streptomycin	13 (37.1)	(0.0)	3 (15.0)	2 (10.5)
Aminopenicillin				
Ampicillin	34 (97.1)	(100.0)	20 (100.0)	3 (15.8)
β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations				
Amoxicillin/clavulanic acid	32 (91.4)	(5.0)	20 (100.0)	2 (10.5)
Cephameycin				
Cefoxitin	35 (100.0)	(0.0)	17 (85.0)	2 (10.5)
Cephalosporin III				
Ceftiofur	33 (94.3)	(10.0)	20 (100.0)	2 (10.5)
Ceftazidime	2 (5.7)	(0.0)	10 (50.0)	2 (10.5)
Cephalosporin IV				
Cefepime	5 (14.3)	(0.0)	19 (95.0)	2 (10.5)
Carbapenem				
Meropenem	22 (62.9)	(0.0)	19 (95.0)	2 (10.5)
Fluoroquinolone				
Ciprofloxacin	5 (14.3)	(0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Folate pathway inhibitors				
Trimethoprim/sulphamethoxazole	17 (48.6)	(0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Sulfisoxazole	10 (28.6)	(35.0)	2 (10.0)	2 (10.5)
Phenicol				
Chloramphenicol	32 (91.4)	(0.0)	9 (10.0)	0 (0.0)
Polymyxins				
Colistin	16 (45.7)	(20.0)	20 (100.0)	3 (15.8)
Quinolone				
Nalidixic acid	13 (37.1)	(0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Tetracyclines				
Tetracycline	7 (20.0)	(5.0)	15 (75.0)	2 (10.5)

태안군 이원면 해역의 육상오염원 배출수에서 분리한 그람음성균 137균주의 내성 및 다제내성 특성을 MAR index와 함께 Table 3에 나타내었다. MAR index는 항생제로 인한 환경오염

정도를 반영하여 잠재적인 건강위해도 평가에서 사용되는 지표로, MAR index가 0.2 이상일 경우 항생제에 대한 위험을 나타낸다(Titilawo et al., 2015). 분리된 그람음성균 137균주 중 모

Table 3. Antimicrobial resistance patterns of Gram-negative bacteria with MAR index isolated from inland pollution sources in the Iwon-myeon (Tae-an-gun), South Korea

No. of antimicrobials	Resistance patterns	No. of isolates	Total (%)	MAR index
0		16	11.7	0.00
1	AMP	10	7.3	0.06
	CL	1	0.7	
	FOX	1	0.7	
2	AmC/AMP	2	1.5	0.13
	AmC/FOX	1	0.7	
	AMP/CL	5	3.6	
	AMP/FIS	4	2.9	
	AMP/TET	1	0.7	
	AMP/XNL	2	1.5	
	CHL/STR	1	0.7	
	CL/TET	1	0.7	
	STR/TET	1	0.7	
	AmC/AMP/MEM	1	0.7	
3	AmC/FOX/STR	2	1.5	0.19
	AMP/CL/FIS	1	0.7	
	AMP/XNL/FIS	2	1.5	
4	CL/STR/TET	1	0.7	0.25
	AmC/AMP/FOX/XNL	2	1.5	
	AmC/AMP/MEM/STR	1	0.7	
	AmC/AMP/XNL/MEM	1	0.7	
5	AMP/FOX/XNL/CHL	3	2.2	0.31
	AmC/AMP/FOX/XNL/MEM	2	1.5	
6	AmC/AMP/FEP/FOX/CL/TET	1	0.7	0.38
	AmC/AMP/FOX/CL/STR/FIS	1	0.7	
	AmC/AMP/FOX/XNL/CHL/CL	1	0.7	
	AmC/AMP/FOX/XNL/CHL/MEM	4	2.9	
	AmC/AMP/FOX/XNL/CL/TET	1	0.7	
	AMP/FOX/CHL/CIP/CL/SXT	1	0.7	
7	AmC/AMP/FEP/FOX/XNL/CL/MEM	1	0.7	0.44
	AmC/AMP/FOX/XNL/CHL/CL/MEM	5	3.6	
	AmC/AMP/FOX/XNL/CHL/NAL/SXT	4	2.9	
≤ 8		55	40.1	
Total		137	100.0	

AmC, amoxicillin/clavulanic acid; AMP, ampicillin; FEP, cefepime; FOX, ceftiofur; XNL, ceftiofur; CHL, chloramphenicol; CL, ciprofloxacin; CIP, colistin; MEM, meropenem; NAL, nalidixic acid; STR, streptomycin; FIS, sulfisoxazole; TET, tetracycline; SXT, trimethoprim/sulfamethoxazole.

든 항생제에 감수성을 나타내는 균주는 16균주(11.7%)였으며 대부분의 분리균주가 1개 이상의 항생제에 내성을 나타내었다. 또한 4개 이상의 항생제에 내성을 가지는 다제내성균 중 MAR index가 0.2 이상으로 나타난 균주는 84균주(61.3%)로 이 중 7개의 항생제(amoxicillin/clavulanic acid, ampicillin, cefoxitin, cefixim, chloramphenicol, colistin, meropenem)에 내성을 가진 균주가 5균주(3.6%)로 가장 많았다. 8개 이상의 항생제에 내성을 가진 균주는 55균주(40.1%)로 상당히 높은 비율을 차지하였고 1개의 분리균주에서 0.94로 가장 높은 MAR index를 나타내었다. Kwon et al. (2016)은 남해안 장선해역의 육상오염원으로부터 분리한 대장균의 다제내성률이 100%로 매우 높게 검출되었고 다양한 내성패턴을 나타내었다고 보고하였다. 또한 Chitanand et al. (2010)은 수생환경에서 분리한 대장균의 다제내성률이 40.4%로 검출되었다고 보고하였고, 시료 채취 지점마다 도시화 정도의 차이로 인하여 MAR index값이 달라질 수 있다고 보고하였다. 한편, 육상오염원의 분변오염도가 높은 경우 항생제 내성균 및 다제내성균의 검출률도 증가할 것으로 추정하였으나, 본 연구결과에서는 수질의 위생상태와 항생제 내성률 간의 상관관계가 나타나지 않았다. 따라서 세균의 오염도와 항생제 내성균 분포의 상관관계를 파악하기 위해서는 지속적인 모니터링이 필요할 것으로 사료된다.

이상의 결과로 태안군 이원면 육상오염원 4지점의 배출수 12개로부터 분리된 그람음성균 137균주의 항생제 내성 특성을 살펴본 결과, ampicillin (81.8%)에서 가장 높은 내성률을 나타내었고, gentamicin (2.2%)에서 가장 낮은 내성률을 보였는데 이는 10균주 이상 분리된 4 genus별 내성 특성과 일치하는 경향을 보였다. 또한 분리된 그람음성균 137균주에 대한 다제내성률은 61.3%으로 높게 나타났으며 내성 패턴도 매우 복잡한 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 조사 시기 및 주변환경(여름철 관광객의 방문, 인근 축사 및 농가의 폐수 등)에 의한 영향에 기인한 것으로 보이며, 세균 간에 항생제 내성인자(integrin, plasmid 및 transposon 등) 전이 등으로 인하여 수계에 공존하는 그람음성균이 다양한 내성인자를 획득했을 가능성도 배제할 수 없다(Kotlarska et al., 2015; Oliveira et al., 2020). 최근 수환경으로부터 분리된 그람음성균에서 자연에서는 볼 수 없는 항생제 내성이 발견되고 있으며, 이는 임상이나 사육시설에서 사용된 잔류항생제의 영향으로 내성 유전자를 획득했을 것으로 판단되지만 정확한 원인은 밝혀지지 않았다. 따라서 향후 그람음성균의 항생제 내성 유전자 획득 기전에 대하여 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단된다. 또한 대량 강우 및 태풍 등으로 인하여 육상에 존재하는 다제내성균이 유입될 수 있으므로 적절한 육상오염원 관리 및 제어기술 개발과 함께 다양한 환경에서의 지속적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

사 사

이 논문은 2021년도 국립수산물과학원 수출패류 생산해역 및

수산물 위생조사(R2021060)의 지원으로 수행되었으며, 연구비 지원에 감사드립니다.

References

- Adinortey CA, Aheto DW, Boateng AA and Agbeko R. 2020. Multiple antibiotic resistance-coliform bacteria in some selected fish farms of the central region of Ghana. *Scientifica* 2020, 6641461. <https://doi.org/10.1155/2020/6641461>.
- APHA (American Public Health Association). 1984. Laboratory procedures for the examination of seawater and shellfish. 5th Ed. American Public Health Association, Washington D.C., U.S.A., 1-47.
- Belachew T, Mihret A, Legesse T, Million Y and Desta K. 2018. High level of drug resistance by gram-negative bacteria from selected sewage polluted urban rivers in Addis Ababa, Ethiopia. *BMC Res Notes* 11, 524. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3622-0>.
- Buffet-Bataillon S, Rabier V, Bétrémieux P, Beuchée A, Bauer M, Pladys P, Le Gall E, Cormier M and Jolivet-Gougeon A. 2009. Outbreak of *Serratia marcescens* in a neonatal intensive care unit: contaminated unmedicated liquid soap and risk factors. *J Hosp Infect* 72, 17-22. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2009.01.010>.
- Chitanand MP, Kadam TA, Gyananath G, Totewad ND and Balhal DK. 2010. Multiple antibiotic resistance indexing of coliforms to identify high risk contamination sites in aquatic environment. *Indian J Microbiol* 50, 216-220. <https://doi.org/10.1007/s12088-010-0042-9>.
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). 2017. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. CLSI document M100-S26. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, U.S.A., 29-76.
- Devarajan N, Köhler T, Sivalingam P, Delden C, Mulaji CK, Mpiana PT, Ibelings BW and Poté J. 2017. Antibiotic resistant *Pseudomonas* spp. in the aquatic environment: A prevalence study under tropical and temperate climate conditions. *Water Res* 115, 256-265. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.02.058>.
- Govender R, Amoah ID, Adegoke AA, Singh G, Kumari S, Swalaha FM, Bux F and Stenström TA. 2021. Identification, antibiotic resistance, and virulence profiling of *Aeromonas* and *Pseudomonas* species from wastewater and surface water. *Environ Monit Assess* 193, 294. <https://doi.org/10.1007/s10661-021-09046-6>.
- Ha KS, Yu HD, Shim KB, Kim JH, Lee TS, Kim PH, Lee HJ and Yu HS. 2013. The effects of inland pollution sources around the port of Jeokyang and Jangpo after rainfall events on bacteriological water quality in the Changseon area, Korea. *Korean J Fish Aquat Sci* 46, 160-167. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2013.0160>.
- Hesse C, Schulz F, Bull CT, Shaffer BT, Yan Q, Shapiro N, Has-

- san KA, Varghese N, Elbourne LDH, Paulsen IT, Kyrpides N, Woy T and Loper JE. 2018. Genome-based evolutionary history of *Pseudomonas* spp. *Environ Microbiol* 20, 2142-2159. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14130>.
- Ikehata K, Naghashkar NJ and El-Din MG. 2006. Degradation of aqueous pharmaceuticals by ozonation and advanced oxidation processes: a review. *Ozone Sci Eng* 28, 353-414. <https://doi.org/10.1080/01919510600985937>.
- Jang YJ, Song KB, Chung IY, Kim H, Seok KS, Kim BR, Yoo YJ, Rhee OJ and Chae JC. 2015. Prevalence of multi-drug resistant bacteria belonging to gram negative *Enterobacteriaceae* isolated from a domestic stream. *Microbiol Biotechnol Lett* 43, 396-400. <https://doi.org/10.4014/mbl.1512.12002>.
- Jung LS, Jo AR, Kim JJ and Ahn JH. 2016. Characteristics of *Klebsiella pneumoniae* exposed to serial antibiotic treatments. *Korean J Microbiol* 52, 428-436. <https://doi.org/10.7845/kjm.2016.6072>.
- Kaper JB, Nataro JP and Mobley HLT. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol* 2, 123-140. <https://doi.org/10.1038/nrmicro818>.
- Kim KM, Cho MH, Lee SH, Kim KH, Lee JG and Lee SM. 2019. A monitoring survey on antimicrobial resistance of bacterial isolates from companion dogs in Incheon. *Korean J Vet Serv* 42, 53-60. <https://doi.org/10.7853/kjvs.2019.42.2.53>.
- Knapp CW, Dolfing J, Ehlert PA and Graham DW. 2010. Evidence of increasing antibiotic resistance gene abundances in archived soils since 1940. *Environ Sci Technol* 44, 580-587. <https://doi.org/10.1021/es901221x>.
- Kotlarska E, Luczkiewicz A, Pisowacka M and Burzynski A. 2015. Antibiotic resistance and prevalence of class 1 and 2 integrons in *Escherichia coli* isolated from two wastewater treatment plants, and their receiving waters (Gulf of Gdansk, Baltic Sea, Poland). *Environ Sci Pollut Res* 22, 2018-2030. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3474-7>.
- Kwon JY, Kwon SJ, Yang JH, Mok JS, Jeong SH, Ha KS, Lee HJ and Jung YJ. 2019. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from oysters *Crassostrea gigas* and major inland pollution sources in the Jaranman-Saryangdo area in Korea. *Korean J Fish Aquat Sci* 52, 605-616. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2019.0605>.
- Kwon SJ, Jung YJ, Yoon HY, Mok JS and Kwon JY. 2018. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from oyster *Crassostrea gigas* and inland pollution sources in the Yongnam-Gwang-do area, Korea. *Korean J Fish Aquat Sci* 51, 673-681. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2018.0673>.
- Kwon SJ, Lee KJ, Jung YJ, Park SG, Go KR, Yang JH and Mok JS. 2016. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolates from mussel *Mytilus galloprovincialis* farms and inland pollution sources in the Changseon area, Korea. *Korean J Fish Aquat Sci* 49, 564-572. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2016.0564>.
- Latifpour M, Gholipour A and Damavandi MS. 2016. Prevalence of extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in nosocomial and community-acquired urinary tract infections. *Jundishapur J Microbiol* 9, e31179. <https://doi.org/10.5812/jjm.31179>.
- Lee IH, Kim SK, Choi YH and Kim JS. 2006. Distribution and characteristics of coliform bacteria in groundwater of Yeungnam province. *Korean J Microbiol* 42, 95-102.
- Mahlen SD. 2011. *Serratia* infections: From military experiments to current practice. *Clin Microbiol Rev* 24, 755-791. <https://doi.org/10.1128/CMR.00017-11>.
- MFDS (Ministry of Food and Drug Safety). 2019. Report of the national antimicrobial use and resistance monitoring—animals, meats and fishery products 2019. MFDS, Osong, Korea, 1-153.
- Moura A, Pereira C, Henriques I and Correia A. 2012. Novel gene cassettes and integrons in antibiotic-resistant bacteria isolated from urban wastewaters. *Res Microbiol* 163, 92-100. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2011.10.010>.
- Odjajare EE, Igbinoso EO, Mordi R, Igere B, Igeleke CL and Okoh AI. 2012. Prevalence of multiple antibiotics resistant (MAR) *Pseudomonas* species in the final effluents of three municipal wastewater treatment facilities in South Africa. *Int J Environ Res Public Health* 9, 2092-2107. <https://doi.org/10.3390/ijerph9062092>.
- Okai M, Aoki H, Ishida M and Urano N. 2019. Antibiotic-resistance of fecal coliforms at the bottom of the tama river, Tokyo. *Biocontrol Sci* 24, 173-178. <https://doi.org/10.4265/bio.24.173>.
- Oliveira D, Forde B, Kidd T, Harris P, Schembri M, Beatson S, Paterson D and Walker M. 2020. Antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. *Clin Microbiol Rev* 33, e00181-19. <https://doi.org/10.1128/CMR.00181-19>.
- Park KBW, Kim SH, Ham IT, Ryu AR, Kwon JY, Kim JH, Yu HS, Lee HJ and Mok JS. 2018. Antimicrobial resistance patterns of *Escherichia coli* isolated from discharged water from inland pollution sources in the Hansan-Heojeman and Jaranman-Saryangdo area of Korea. *Korean J Fish Aquat Sci* 51, 1-7. <https://doi.org/10.5657/KAFS.2018.0001>.
- Park KBW, Park JY, Jo MR, Yu HS, Lee HJ, Kim JH, Oh EG, Shin SB, Kim YK and Lee TS. 2013. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from the shellfish farms in the southern coast of Korea. *Korean J Fish Aquat Sci* 46, 528-533. <http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2013.0528>.
- Paterson DL. 2006. Resistance in gram-negative bacteria: *Enterobacteriaceae*. *Am J Med* 119, S20-28. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2006.03.013>.
- Rippey S. 1994. Infectious diseases associated with molluscan shellfish consumption. *Clin Microbiol Rev* 7, 419-425. <https://doi.org/10.1128/CMR.7.4.419>.
- Roh HJ, Kim NE, Chun WK, Kim WK, Kim AR, Lee YH, Kim YJ, Hwang JY and Kim DH. 2018. Distribution of indicator bacteria in seawater off the coasts of Jeju Island and Pohang

- in 2017. Korean J Fish Aquat Sci 51, 697-703. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2018.0697>.
- Shim KB, Ha KS, Yoo HD, Lee TS and Kim JH. 2012. Impact of pollution sources on the bacteriological water quality in the Yongnam-Gwangdo shellfish growing area of western Jinhae bay, Korea. Korean J Fish Aquat Sci 45, 561-569. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2012.0561>.
- Shin SB, Lim CW, Lee JH and Jung SH. 2018. Evaluation of inland pollution sources impact in the Gangjin Bay, Korea. J Fish Mar Sci Edu 30, 2241-2248. <https://doi.org/10.13000/JFMSE.2018.12.30.6.2241>.
- Silva J, Castillo G, Callejas L, López H and Olmos J. 2006. Frequency of transferable multiple antibiotic resistance amongst coliform bacteria isolated from a treated sewage effluent in Antofagasta, Chile. Electron J Biotechnol 9, 533-540. <https://doi.org/10.2225/vol9-issue5-fulltext-7>.
- Titilawo Y, Sibanda T, Obi L and Okoh A. 2015. Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of water. Environ Sci Pollut Res 22, 10969-10980. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3887-3>.
- Vindenes MD, Kirthana R, Beaulac P, BCPS and Shira Doron MD. 2016. The legislative momentum of antimicrobial stewardship: An international perspective. Curr Treat Options Infect Dis 8, 72-83. <https://doi.org/10.1007/s40506-016-0072-x>.
- WHO (World Health Organization). 2014. Antimicrobial resistance: global report on surveillance. Retrieved from <http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport> on Oct 4, 2019.
- WHO (World Health Organization). 2017. Global priority list of antibiotic resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. Retrieved from http://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short_Summary_25Feb-ET_NM_WHO.pdf?ua_1 on Nov 2, 2019.
- WHO (World Health Organization). 2019. World health organization model list of essential medicines. Retrieved from <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/325771/WHO-MVP-EMP-IAU-2019.06-eng.pdf> on Jun 2, 2019.
- Wiehlmann L, Wagner G, Cramer N, Siebert B, Gudowius P, Morales G, Köhler T, Delden C, Weinel C, Slickers P and Tümmler B. 2007. Population structure of *Pseudomonas aeruginosa*. Proc Natl Acad Sci USA 104, 8101-8106. <https://doi.org/10.1073/pnas.0609213104>.
- Zagui GS, de Andrade LN, Moreira NC, Silva TV, Machado GP, Darini AL and Segura-Muñoz SI. 2020. Gram-negative bacteria carrying β -lactamase encoding genes in hospital and urban wastewater in Brazil. Environ Monit Assess 192, 376. <https://doi.org/10.1007/s10661-020-08319-w>.
- Zhong HQ, Zhang S, Pan H and Cai T. 2013. Influence of induced ciprofloxacin resistance on efflux pump activity of *Klebsiella pneumoniae*. J Zhejiang Univ Sci B 14, 837-843. <https://doi.org/10.1631/jzus.B1200221>.