

서해안 수산생물에서 분리한 대장균(*Escherichia coli*)의 항생제 내성 및 다제 내성 양상 비교

정연겸 · 박보미 · 김민주 · 박진일 · 정연중¹ · 오은경*

국립수산과학원 서해수산연구소, ¹국립수산과학원 식품위생가공과

Comparison of Antimicrobial Resistance and Multi-Drug Resistance Patterns of *Escherichia coli* Isolated from Aquatic Organisms Off the West Coast of South Korea

Yeon Gyeom Jeong, Bo Mi Park, Min Ju Kim, Jin Il Park, Yeoun Joong Jung¹ and Eun Gyoung Oh*

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

¹Food Safety and Processing Research Division, National Institute of Fisheries Science, Busan 46083, Korea

Antimicrobial resistance patterns of *Escherichia coli* were investigated. Strains were isolated from 310 shellfish, 36 crustaceans, and 12 fish collected off the West Coast of Korea from April 2019 to October 2020. Two hundred and ninety-five *E. coli* strains were isolated from shellfish, 100 from crustaceans, and 54 from fish. Strains isolated from shellfish showed the highest resistance to ampicillin (27.5%), whereas those from crustaceans were resistant to sulfisoxazole (30.0%) and those from fish were resistant to ampicillin (59.3%) and sulfisoxazole (59.3%). Cefotaxime resistance was observed in strains isolated from short neck and hard clams, whereas gentamicin resistance was observed in strains from fish. Multi-drug resistance was observed in 56 strains (48.7%) isolated from shellfish, 11 (28.2%) from crustaceans and 27 (73.0%) from fish. Depending on the source of isolation, the strains showed specific antimicrobial resistance tendency. Strains isolated from shellfish showed 12 different multi-drug resistance patterns, whereas those from crustaceans showed high resistance (59%) to a single antimicrobial agent and those from fish showed a broad trend of multi-drug resistance to more than eight antimicrobials.

Keywords: Antimicrobial resistance, Aquatic organism, *Escherichia coli*, Multi-drug resistance, West coast

서론

항생제는 인간은 물론이고 축·수산물의 질병을 치료하고 예방하기 위한 필수 의약품이며, 축·수산업의 발전에 기여한 바가 크다. 국내 항생제 판매량은 2015년 약 910톤, 2016년 약 964톤, 2017년 약 1,027톤, 2018년 약 984톤, 2019년 약 927톤으로 매년 비슷한 판매량을 유지하고 있다(MFDS, 2019). 그러나 항생제 사용에 따른 내성균의 발생 및 광범위한 유행은 치료법이 없는 새로운 감염병 발생 이상의 파급력을 가지며, 사망률의 증가, 치료기간의 연장 및 의료비용의 상승 등 사회경제적인 손실은 물론, 공중보건에 있어 큰 위협이 된다(WHO, 2014; Lee

et al., 2019).

WHO (World Health Organization)에서 제시하는 항생제 내성의 주요 원인은 항생제의 오·남용이라고 정하고 있으며 (WHO, 2014) 수산물에서도 항생제 내성균의 출현이 보고되었다. 수산물에서의 항생제 내성균 발생 원인은 항생제의 오·남용뿐만 아니라 항생제를 투여한 축산동물이나 인간의 분변으로부터 발생한 항생제 내성균이 자연환경으로 방출되거나 축산동물, 인간에게 투여한 항생제가 성분이 변하지 않은 상태로 배설된다는 보고도 있다(Kummerer, 2009; Park et al., 2013).

항생제 내성뿐만 아니라 다제 내성의 출현은 더욱 심각한 문제를 야기한다. Song (2009)은 항생제에 다제 내성을 가지는 세

*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.2021.0388>

Korean J Fish Aquat Sci 54(4), 388-396, August 2021

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

저자 직위: 정연겸(연구사), 박보미(연구원), 김민주(연구원), 박진일(연구사), 정연중(연구사), 오은경(연구관)

균에 효과적인 새로운 항생제는 매우 드문 실정이며 특히 그람 음성 다제 내성균에 대한 새로운 항생제는 전무한 실정이라고 보고하고 있다. Muller et al. (2018)은 해양에서도 항생제에 대한 다제 내성균이 다수 검출되고 있고 세균 간 플라스미드 등 유전물질을 교환하여 다제 내성을 전이시킬 수 있다고 보고하였다. 그러나 앞서 보고된 문제에도 불구하고 항생제 개발에 오랜 시간 및 비용이 들고 새롭게 개발되더라도 다시 내성을 획득하는 문제 때문에 많은 제약회사들이 항생제 개발을 포기하고 있어 그 심각성은 더해지고 있으며(Song, 2009) 문제 해결을 위한 예방 및 관리 대책이 필요한 실정이다.

축·수산물에서의 항생제 내성은 *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Vibrio parahaemolyticus* 등 위생지표세균, 식중독세균, 병원성세균을 분리하여 검사를 실시하고 있다(MFDS, 2019). 그 중 대장균(*E. coli*)은 대표적인 위생지표세균일 뿐만 아니라(FDA, 2019) 인간 또는 동물의 장내에 상존하는 세균이며 항생제 투여 시 빈번하게 노출되기 때문에 항생제에 의한 내성 획득 과정 및 내성균의 모니터링에 매우 유용한 세균으로 알려져 있다(Levin et al., 1997). 이와 같은 이유로 수산생물의 항생제 내성에 관한 다양한 연구들이 수행되어 왔으며 특히 분변오염의 지표로 사용되는 미생물인 대장균(*E. coli*)의 항생제 내성에 관한 다양한 연구가 수행되어 왔다(Son et al., 2009; Park et al., 2013; Jo et al., 2016; Kwon et al., 2016; Ryu et al., 2017; Kwon et al., 2019). 하지만 이처럼 특정 지역에서의 단일 수산생물에 대한 연구는 다양하게 진행되었지만, 다양한 수산생물의 항생제 내성을 비교한 연구는 부족하다.

본 연구에서는 다양한 수산생물에서 분리되는 항생제 내성균에 대한 비교 자료를 제공하고자 서해안 연안의 수산생물로부터 분리한 대장균에 대한 항생제 내성 및 다제 내성 양상을 비교하였다.

재료 및 방법

시험 시료

시험에 사용된 시료는 2019년 4월부터 2020년 10월 사이에 서해안 연안에서 채취한 패류 시료 310개, 갑각류 시료 36개, 어류 시료 12개이며, 채취 지점을 Fig. 1에 나타내었다. 굴(*Crassostrea gigas*)은 인천광역시 옹진군, 충청남도 태안군, 전라남도 신안군, 무안군 및 함평군의 패류생산해역에서 총 206개의 시료를 채취하였다. 바지락(*Venerupis philippinarum*)은 인천광역시 옹진군, 충청남도 보령시 및 당진시, 전라북도 부안군, 전라남도 신안군의 패류생산해역에서 총 96개의 시료를 채취하였다. 전복(*Haliotis discus*)은 충청남도 태안군, 전라남도 신안군의 전복양식장에서 총 6개의 시료를 채취하였다. 백합(*Meretrix lusoria*)은 전라남도 영광군의 패류생산해역에서 총 2개의 시료를 채취하였다. 채취한 패류 시료는 멸균된 황동술

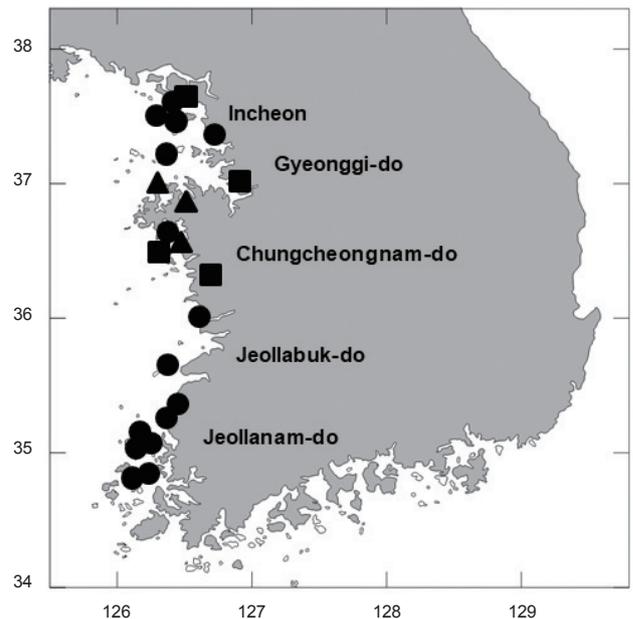


Fig. 1. Sampling stations of shellfish (●), crustacean (■) and fish (▲) of West coast of South Korea.

로 표면을 세척한 후 탈각하여 멸균된 용기에 담아 시험에 사용하였다. 새우(*Litopenaeus vannamei*)는 인천광역시 강화군, 경기도 평택시, 충청남도 서천군 및 태안군의 실내 수조 및 야외 호지로 이루어진 새우양식장에서 총 36개의 시료를 시험에 사용하였다. 새우의 표면을 세척한 후 머리와 내장만 취하여 시험에 사용하였다. 조피볼락(*Sebastes schlegelii*)은 충청남도 태안군 영목항의 해상 가두리 양식장에서 총 8개의 시료를 시험에 사용하였으며, 숭어(*Mugil cephalus*)는 충청남도 태안군 당암리의 해상 가두리 양식장에서 총 4개의 시료를 시험에 사용하였다. 어류 시료는 표면을 세척한 후 아가미와 내장만 취하여 시험에 사용하였다.

대장균 시험 및 분리 동정

대장균 시험은 recommended procedures for the examination of sea water and shellfish (APHA, 1970) 및 International Organization for Standardization (ISO, 2015) 분석법에 준하여 실시하였다. Blending한 각각의 시료 25 g을 EC broth (Oxoid, Basingstoke, UK) 225 mL에 접종하여 44.5±0.2°C에서 18-24시간 증균배양 후 tryptone bile X-glucuronide agar (Oxoid, Basingstoke, UK) 평판 5장에 각각 streaking하여 44±1°C에서 18-24시간 분리배양하였다. 분리배양 후 평판에서 청색(blue) 또는 청록색(blue-green)의 colony를 선택하여 tryptone soya agar (Oxoid, Basingstoke, UK) 평판에 streaking, 37±1°C에서 18-24시간 순수배양한 후 VITEK2 System (BioMerieux, Marcy, France)으로 동정하였다.

최소억제농도법(Minimum Inhibitory Concentrations, MICs)을 이용한 항생제 내성 시험

최소억제농도법(minimum inhibitory concentrations, MICs)을 이용한 항생제 내성 시험은 식품의약품안전처(Ministry of Food and Drug Safety, MFDS)에서 제공하는 국가 항생제 사용 및 내성 모니터링(MFDS, 2019)에 준하여 실시하였으며, 내성을 판정하는 기준은 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2019)를 근거로 하였다(Table 1). VITEK2로 최종 확인 및 동정한 분리 균주를 mueller-hinton agar (Oxoid, Basingstoke, UK) 평판에 streaking 하여 37±1°C에서 18-20시간 배양한 후 평판배지에서 약 3-5개 집락을 loop로 취하여 5 mL 멸균 증류수에 현탁하여 0.5 McFarland로 탁도를 조정하였다. 탁도를 조정된 현탁액을 cation adjusted mueller-hinton broth (Sensititre, Lenexa, KS, USA) 11 mL tube에 10 µL 넣어 충분히 vortexing한 후 검사 항생제가 농도별로 coating된 KRV5F MIC panel (Sensititre, East Grinstead, UK)에 자동분주 접종기(auto inoculator, AIM)를 이용하여 50 µL씩 분주하고 35±0.5°C에서 18-24시간 배양하였다. 이때, MIC panel은 MFDS (2019)에 따라 주문제작하여 사용하였다. 배양이 완료된 MIC panel을 Optiread (Sensititre, East Grinstead, UK)로 판독하여 완전히 균의 증식이 억제된 가장 낮은 농도를 최소억제농도(MICs)로 판정하였다. 판정된 MIC 농도를 항생제 내성기준(breakpoints)과 비교하여 내성 및 감수성을 판정하였다. 분리균주의 항생제 다제 내성 정도는 MAR (multiple antimicrobial resistance) index로 나타내었으며, MAR index는 항

생제 내성 시험에 사용된 총 항생제 종류의 수(16종)에 대한 내성을 나타내는 항생제 종류의 수의 비율(내성을 나타내는 항생제 종류의 수/시험에 사용된 총 항생제 종류의 수)로 계산하였다(Krumperman, 1983; Titilawo et al., 2015).

결과 및 고찰

서해안 수산생물 중 대장균의 검출 및 분리 현황

2019년 4월부터 2020년 10월까지 서해안 연안에서 채취한 수산생물의 대장균 분리 결과를 Table 2에 나타내었다. 패류 중 굴(*Crassostrea gigas*)은 총 206개 시료에서 대장균 125균주를 분리했으며, 바지락(*Venerupis philippinarum*)은 총 96개 시료에서 111균주, 전복(*Haliotis discus*)은 총 6개 시료에서 34균주, 백합(*Meretrix lusoria*)은 총 2개 시료에서 25균주를 분리했다. 갑각류인 새우(*Litopenaeus vannamei*)는 총 36개의 시료에서 대장균 100균주를 분리했다. 어류 중 조피볼락(*Sebastes schlegelii*)은 총 8개 시료에서 대장균 19균주를 분리했으며, 승어(*Mugil cephalus*)는 총 4개 시료에서 35균주를 분리했다.

대장균의 항생제 종류별 내성

서해안의 수산생물에서 분리된 대장균 총 449균주의 16종 항생제에 대한 내성을 Table 3에 나타내었다. 패류, 갑각류, 어류에서 분리한 대장균의 항생제 내성률은 ampicillin이 가장 높았고(28.1%), tetracycline (24.3%), sulfisoxazole (22.0%), streptomycin (14.0%), nalidixic acid (12.0%) 순으로 높은 항생제 내성률을 보였다.

Table 1. Types of antimicrobials and breakpoints used in *Escherichia coli*'s MIC test

Antimicrobial agents (Abbreviation)	Range tested (µg/mL)	Breakpoints (µg/mL)	Reference
Amoxicillin/ clavulanic acid (AmC)	2/1-32/16	≥32/16 ¹	CLSI (2019)
Ampicillin (AMP)	2-64	≥32 ¹	CLSI (2019)
Cefepime (FEP)	0.25-16	≥16 ¹	CLSI (2019)
Cefoxitin (FOX)	1-32	≥32 ¹	CLSI (2019)
Ceftazidime (CAZ)	1-16	≥16 ¹	CLSI (2019)
Ceftiofur (XNL)	0.5-8	≥8 ²	NARMS (2014)
Chloramphenicol (CHL)	2-64	≥32 ¹	CLSI (2019)
Ciprofloxacin (CIP)	0.12-16	≥1 ¹	CLSI (2019)
Colistin (COL)	2-16	≥4 ³	EUCAST (2019)
Gentamicin (GEN)	1-64	≥16 ¹	CLSI (2019)
Meropenem (MEM)	0.25-4	≥4 ¹	CLSI (2019)
Nalidixic acid (NAL)	2-128	≥32 ¹	CLSI (2019)
Streptomycin (STR)	16-128	≥32 ²	NARMS (2014)
Sulfisoxazole (FIS)	16-256	≥512 ¹	CLSI (2019)
Tetracycline (TET)	2-128	≥16 ¹	CLSI (2019)
Trimethoprim/ Sulfamethoxazole (SXT)	0.12/2.38-4/76	≥4/76 ¹	CLSI (2019)

¹CLSI (2019). ²NARMS (2014). ³EUCAST (2019).

패류에서 가장 많은 내성률을 가지는 항생제는 ampicillin (27.5%)이었다. Ryu et al. (2017)는 서해안 패류에서 분리한 대장균의 항생제 내성을 조사한 결과, ampicillin의 내성률 (34.0%)이 가장 높게 나왔다고 보고하여 본 연구 결과와 같았다. 패류 중 굴은 tetracycline (12.8%)에서 가장 큰 내성률을 나타냈고, 바지락은 ampicillin (46.8%), 전복은 ampicillin (26.5%) 및 tetracycline (26.5%), 백합은 ampicillin, cefepime, cefoxitin, ceftazidime, ceftiofur에서 각각 40.0%로 가장 큰 내성률을 나타냈다. 패류의 종류에 따라 항생제에 대한 내성 양상이 다른 것을 볼 수 있는데, 이는 각각의 생육 방식 및 환경이 다르고 육상에서 유래되는 오염원의 지리적 차이 등에 의해 기

인하는 것으로 사료된다. 특히 바지락의 경우 다른 패류에 비해 항생제 내성 양상이 다양하고 내성률이 더 높은 경향을 보이고 있는데, 주로 모래와 펄이 섞인 곳에 서식하며 이동을 거의 하지 않는 특성 때문에 인근에서 갯벌로 흘러 들어온 오염원의 영향을 많이 받았을 것으로 사료된다. Kwon et al. (2005)에 의하면 갯벌 조사지역의 오염도 및 세균생산력은 높은 수준이라고 보고하였으며, Ju (1983)에 의하면 조사지역의 해수보다 갯벌의 오염도가 더 높다고 보고하고 있다. 갑각류인 새우는 sulfisoxazole (30.0%)에서 가장 큰 내성을 나타냈으나, Costa et al. (2015)와 Almeida et al. (2017)은 penicillin에서 가장 큰 내성을 나타냈다고 보고하고 있어 본 연구와는 차이가 있었다.

Table 2. Number of *Escherichia coli* strains isolated from aquatic organisms of West Coast of South Korea

Samples	No. of samples	No. of isolates	
Shellfish	Oyster <i>Crassostrea gigas</i>	206	125
	Short neck clam <i>Venerupis philippinarum</i>	96	111
	Abalone <i>Haliotis discus</i>	6	34
	Hard clam <i>Meretrix lusoria</i>	2	25
Crustacean	Shrimp <i>Litopenaeus vannamei</i>	36	100
Fish	Korean rockfish <i>Sebastes schlegelii</i>	8	19
	Gray mullet <i>Mugil cephalus</i>	4	35

Table 3. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from aquatic organisms of West Coast of South Korea (16 types)

	Resistant (%)							Total (%)
	Shellfish				Crustacean	Fish		
	Oyster	Short neck clam	Abalone	Hard clam	Shrimp	Korean rockfish	Gray mullet	
AmC	0 (0.0)	17 (15.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	8 (8.0)	3 (15.8)	1 (2.9)	29 (6.5)
AMP	10 (8.0)	52 (46.8)	9 (26.5)	10 (40.0)	13 (13.0)	17 (89.5)	15 (42.9)	126 (28.1)
FEP	0 (0.0)	11 (9.9)	0 (0.0)	10 (40.0)	9 (9.0)	7 (36.8)	0 (0.0)	37 (8.2)
FOX	0 (0.0)	15 (13.5)	0 (0.0)	10 (40.0)	8 (8.0)	3 (15.8)	0 (0.0)	36 (8.0)
CAZ	0 (0.0)	6 (5.4)	0 (0.0)	10 (40.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	16 (3.6)
XNL	0 (0.0)	17 (15.3)	0 (0.0)	10 (40.0)	10 (10.0)	8 (42.1)	0 (0.0)	45 (10.0)
CHL	1 (0.8)	33 (29.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	6 (6.0)	9 (47.4)	0 (0.0)	49 (10.9)
CIP	4 (3.2)	18 (16.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (2.0)	12 (63.2)	10 (28.6)	46 (10.2)
COL	1 (0.8)	13 (11.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	14 (14.0)	5 (26.3)	0 (0.0)	33 (7.3)
GEN	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	15 (78.9)	10 (28.6)	25 (5.6)
MEM	0 (0.0)	7 (6.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	7 (7.0)	3 (15.8)	0 (0.0)	17 (3.8)
NAL	4 (3.2)	25 (22.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (3.0)	12 (63.2)	10 (28.6)	54 (12.0)
STR	1 (0.8)	28 (25.2)	1 (2.9)	0 (0.0)	6 (6.0)	17 (89.5)	10 (28.6)	63 (14.0)
FIS	8 (6.4)	28 (25.2)	1 (2.9)	0 (0.0)	30 (30.0)	17 (89.5)	15 (42.9)	99 (22.0)
TET	16 (12.8)	51 (45.9)	9 (26.5)	0 (0.0)	6 (6.0)	17 (89.5)	10 (28.6)	109 (24.3)
SXT	0 (0.0)	12 (10.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.0)	17 (89.5)	10 (28.6)	40 (8.9)

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

이와 같은 차이는 육상오염원의 종류 또는 실제 새우 양식에 사용되는 항생제 종류에 기인한 것으로 추정되며, 더 많은 종류의 갑각류에 대한 연구를 통해 갑각류에 대한 특징적인 항생제 내성 양상 파악이 필요할 것으로 사료된다. 어류는 ampicillin (59.3%) 및 sulfisoxazole (59.3%)에서 가장 큰 내성을 나타냈다. Son (2009)의 보고에서는 tetracycline (74.1%), cephalothin (69.9%), doxycycline (66.5%) 순으로 높은 항생제 내성률을 보이고 있어 본 연구와는 차이가 있었다. 어류의 경우 시험에 사용한 시료의 수 및 분리된 균주 수가 다소 적었기 때문에 향후 추가적인 연구가 이어져야 할 것으로 판단된다.

Ceftazidime의 경우 패류 중에서도 바지락, 백합에서만 내성을 나타내고, gentamicin의 경우 어류에서만 내성을 나타내는 특징이 있었다. Ceftazidime 및 gentamicin은 가축 및 사람에게

서 사용되는 항생제로 알려져 있으며(MFDS, 2019), 이와 같은 특징은 수산생물의 종류에 따른 특징이라기보다는 시료를 채취한 지점 주변 육상오염원의 지역적 특징에 의한 차이일 것으로 판단된다.

대장균의 항생제 내성 패턴 및 다제 내성

서해안의 수산생물에서 분리된 대장균의 항생제 내성 패턴 및 다제 내성(multiple antimicrobial resistance, MAR)을 MAR index와 함께 패류, 갑각류, 어류별로 Table 4, Table 5, Table 6에 나타내었고, 수산생물의 종류에 따른 항생제 내성 및 다제 내성을 비교한 그래프를 Fig. 2에 나타내었다.

패류에서 분리한 대장균 중 56개의 균주(48.7%)는 MAR index가 0.2 이상, 즉 4종 이상 항생제에 대해 내성을 나타냈

Table 4. Multiple antimicrobial resistance (MAR) of *Escherichia coli* isolated from shellfish

No. of antimicrobials	Resistance patterns	No. of isolates	Total (%)	MAR index
1	FIS	8	7.0	0.06
	TET	9	7.8	
	NAL	4	3.5	
	STR	1	0.9	
	CHL, TET	7	6.1	
	AMP, TET	17	14.8	
2	CIP, NAL	4	3.5	0.13
	STR, TET	1	0.9	
	COL, FIS	1	0.9	
	AMP, TET	4	3.5	
3	AMP, STR	1	0.9	0.19
	AMP, COL, TET	1	0.9	
	AMP, NAL, TET	1	0.9	
4	AMP, CIP, NAL, TET	3	4.4	0.25
	AMP, FEP, COL, FIS	1	1.5	
5	AMP, CHL, STR, FIS, TET	15	13.0	0.31
	AMP, FEP, FOX, CAZ, XNL	10	8.7	
6	AmC, AMP, FEP, FOX, XNL, COL	1	1.5	0.38
	AmC, AMP, FEP, XNL, COL, FIS	2	2.9	
7	AMP, CHL, CIP, NAL, STR, TET, SXT	10	14.7	0.44
8	AmC, AMP, FEP, FOX, XNL, COL, MEM, FIS	6	8.8	0.5
	AmC, AMP, FOX, CAZ, XNL, CIP, NAL, TET	5	7.4	
9	AmC, AMP, FEP, FOX, CAZ, XNL, COL, MEM, FIS	1	1.5	0.56
10	AmC, AMP, FOX, XNL, CHL, NAL, STR, FIS, TET, SXT	1	1.5	0.63
11	AmC, AMP, FOX, XNL, CHL, COL, NAL, STR, FIS, TET, SXT	1	1.5	0.69
Total		115	100.0	

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

고, 이 중 5종(ampicillin, chloramphenicol, streptomycin, sulfisoxazole, tetracycline)의 항생제에 내성을 나타내는 균주가 가장 많았다(15균주, 13%). 또한 다제 내성의 패턴이 4종 2개, 5종 2개, 6종 2개, 7종 1개, 8종 2개, 9종 1개, 10종 1개, 11종 1

개, 총 12개로 패류, 갑각류, 어류 중 가장 다양하였으며, MAR index가 0.2 이하인 균주에 대해서도 내성 패턴이 1종 4개, 2종 7개, 3종 2개, 총 13개로 다양하였다. 이는 육상과 인접한 연안 해역에서 주로 서식하고 이동성이 거의 없으며 여과섭식을 통

Table 5. Multiple antimicrobial resistance (MAR) of *Escherichia coli* isolated from crustacean

No. of antimicrobials	Resistance patterns	No. of isolates	Total (%)	MAR index
1	NAL	1	2.6	0.06
	COL	3	7.7	
	FIS	18	46.2	
	STR	1	2.6	
2	AMP, COL	2	5.1	0.13
	XNL, FIS	1	2.6	
3	STR, FIS, TET	1	2.6	0.19
	AmC, AMP, MEM	1	2.6	
4	AMP, FEP, XNL, COL	1	2.6	0.25
5	FEP, FOX, XNL, COL, FIS	1	2.6	0.31
7	AMP, CHL, CIP, NAL, STR, FIS, TET	1	2.6	0.44
	AMP, CIP, NAL, STR, FIS, TET, SXT	1	2.6	
9	AmC, AMP, FEP, FOX, XNL, CHL, COL, MEM, FIS	4	10.3	0.56
	AmC, AMP, FEP, FOX, XNL, COL, MEM, FIS, TET	1	2.6	
10	AmC, AMP, FEP, FOX, XNL, CHL, COL, STR, FIS, TET	1	2.6	0.63
	AmC, AMP, FEP, FOX, XNL, COL, MEM, STR, FIS, TET	1	2.6	
Total		39	100.0	

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

Table 6. Multiple antimicrobial resistance (MAR) of *Escherichia coli* isolated from fish

No. of antimicrobials	Resistance patterns	No. of isolates	Total (%)	MAR index
1	FIS	5	13.5	0.06
	AMP	5	13.5	
8	AMP, CIP, GEN, NAL, STR, FIS, TET, SXT	17	45.9	0.50
	AMP, FEP, XNL, CHL, GEN, STR, FIS, TET, SXT	3	8.1	
9	AMP, CHL, CIP, COL, NAL, STR, FIS, TET, SXT	1	2.7	0.56
	AmC, AMP, CIP, GEN, NAL, STR, FIS, TET, SXT	1	2.7	
10	AMP, FEP, XNL, CHL, COL, GEN, STR, FIS, TET, SXT	1	2.7	0.63
11	AMP, FEP, XNL, CHL, CIP, GEN, NAL, STR, FIS, TET, SXT	1	2.7	0.69
13	AmC, AMP, FOX, XNL, CHL, CIP, COL, MEM, NAL, STR, FIS, TET, SXT	1	2.7	0.81
	AmC, AMP, FEP, FOX, XNL, CHL, COL, GEN, MEM, STR, FIS, TET, SXT	1	2.7	
15	AmC, AMP, FEP, FOX, XNL, CHL, CIP, COL, GEN, MEM, NAL, STR, FIS, TET, SXT	1	2.7	0.94
Total		17	100.0	

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

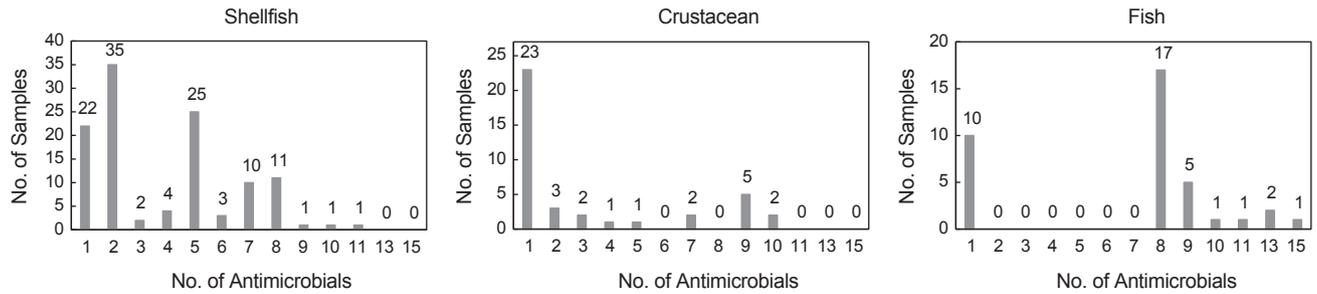


Fig. 2. Comparison of antimicrobial and multi-drug resistance according to types of aquatic organisms.

해 각종 세균 등을 체내에 축적하는 패류의 특징(Grimes, 1991; Feldhusen, 2000)이 주된 원인이라고 판단된다.

갑각류에서 분리한 대장균 중 11개의 균주(28.2%)는 MAR index가 0.2 이상이었고, 이들 중 9종(amoxicillin/clavulanic acid, ampicillin, cefepime, cefoxitin, ceftiofur, chloramphenicol, colistin, meropenem, sulfisoxazole)의 항생제에 내성을 나타내는 균주가 가장 많았다(4균주, 10.3%). Fig. 2에서 보는 바와 같이 갑각류의 경우 단일 항생제에 대한 내성률(59.0%)이 매우 높은 특징이 있는데, 이는 sulfisoxazole 단일 항생제에 대한 내성률(46.2%)이 매우 높기 때문이다. Sulfisoxazole은 설파제계 항생제의 일종으로서 수산용 항생제로 이용되고 있다(NIFS, 2021). Samanidou et al. (2016)이 수행한 UPLC (ultra performance liquid chromatography) 분석을 통한 새우 시료 내 항생물질 추출 연구에서도 sulfisoxazole이 검출되었다고 보고하고 있다. 그러나 sulfisoxazole이 갑각류 내 항생제 내성을 가지는 대표적인 물질이라고 판단하기에는 시험에 사용한 시료의 종류 및 개수가 충분하지 않다고 판단되어 향후 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

어류에서 분리한 대장균 중 27개의 균주(73.0%)는 MAR index가 0.2 이상이었고, 이들 중 8종(ampicillin, ciprofloxacin, gentamicin, nalidixic acid, streptomycin, sulfisoxazole, tetracycline, trimethoprim/sulphamethoxazole)의 항생제에 내성을 나타내는 균주가 가장 많았으며(17균주, 45.9%) 충청남도 태안군 영목항의 조피볼락(*Sebastes schlegelii*)에서 분리한 1개의 균주는 16종 항생제 중 15종에 대해 내성을 가져 MAR index가 0.94로 가장 높았다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 어류의 경우 8개 이상의 항생제에 대해서만 다제 내성을 가지는 특징이 있는데, 이는 항생제에 대한 단일 내성부터 다제내성까지 다양한 내성 패턴을 보인 Son et al. (2009)의 보고와는 다른 양상이며, 4개 이상, 7개 이하의 항생제에 대한 다제 내성이 나타나지 않는 이유에 대해서도 설명이 어렵다. 따라서 이러한 특징을 대표하기에는 시험에 사용한 시료의 수가 충분하지 않다고 판단되며, 향후 충분한 시료로 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

본 연구에서 2019년 4월부터 2020년 10월 사이 서해안 연안의 수산생물로부터 분리된 대장균 총 449균주의 16종 항생제

에 대한 내성 및 다제 내성을 확인해 본 결과, 내성률은 ampicillin이 가장 높았고(28.1%), tetracycline (24.3%), sulfisoxazole (22.0%), streptomycin (14.0%), nalidixic acid (12.0%) 순으로 높았다. 패류에서 가장 높은 내성률을 가지는 항생제는 ampicillin (27.5%)이었으며, 48.7%의 대장균 균주가 MAR index 0.2 이상이었다. 갑각류인 새우는 sulfisoxazole (30.0%)에서 가장 높은 항생제 내성을 나타냈고, 28.2%의 균주는 MAR index가 0.2 이상이었다. 어류에서 가장 높은 내성률을 가지는 항생제는 ampicillin (59.3%) 및 sulfisoxazole (59.3%)이었으며, 73.0%의 대장균 균주가 MAR index 0.2 이상이었다. 이처럼 서해안 연안의 패류, 갑각류 및 어류에서 분리한 대장균의 항생제에 대한 내성을 확인할 수 있었고, 이는 MFDS (2019)에서 주요 항생제별 내성률이 tetracycline (48.8%), nalidixic acid (47.9%), ampicillin (47.9%), sulfisoxazole (43.5%) 순으로 나타났다고 보고한 것과 유사하였으며, 높은 다제 내성률 및 다양한 내성 패턴도 확인할 수 있었다. 항생제 내성의 주요 원인이 항생제의 오·남용인 만큼 항생제 내성균 및 다제 내성균의 확산을 최소화할 수 있도록 적절한 항생제 사용 및 사용량 저감이 요구된다. 더불어 안전한 수산물을 생산하기 위한 오염원의 관리, 항생제 내성균 제어기술 연구 등 항생제 내성 관리를 위한 꾸준하고 다양한 노력이 요구된다.

사 사

이 논문은 2021년 국립수산물과학원 수산과학연구사업 수출패류 생산해역 및 수산물 위생조사(R2021060)의 지원으로 수행된 연구이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

References

- Almeida MVA, Cangussu IM, Carvalho ALS, Brito ILP and Costa RA. 2017. Drug resistance, AmpC- β -lactamase and extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae isolated from fish and shrimp. Rev Inst Med Trop São Paulo 59, e70. <https://doi.org/10.1590/S1678-9946201759070>.
- APHA (American Public Health Association). 1970. Recom-

- mended procedures for the examination of seawater and shellfish. 4th Ed. American Public Health Association, Washington D.C., U.S.A., 1-47.
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). 2019. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: M100 (29th Edition). Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), Wayne, PA, U.S.A.
- Costa RA, Araujo RL, Souza OV and Vieira HSF. 2015. Antibiotic-resistant vibrios in farmed shrimp. *BioMed Res Int* 2015, 505914. <https://doi.org/10.1155/2015/505914>.
- EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing). 2019. Clinical breakpoints and dosing of antibiotics. Retrieved from <http://www.eucast.org/> on Jun 1, 2021.
- FDA (Food and Drug Administration). 2019. National shellfish sanitation program (NSSP), guide for the control of molluscan shellfish 2019 Revision. Retrieved from <http://www.fda.gov/media/143238/download> on Jun 9, 2021.
- Feldhusen F. 2000. The role of seafood in bacterial food-borne disease. *Microbes Infect* 2, 1651-1660. [https://doi.org/10.1016/s1286-4579\(00\)01321-6](https://doi.org/10.1016/s1286-4579(00)01321-6).
- Grimes DJ. 1991. Ecology of estuarine bacteria capable of causing human disease: A review. *Estuaries* 14, 345-360. <https://doi.org/10.2307/1352260>.
- ISO (International Organization for Standardization). 2015. Microbiology of the food chain horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive *Escherichia coli* Part 3: Detection and most probable number technique using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucuronide. Retrieved from <https://www.iso.org/standard/56824.html> on Jun 10, 2021.
- Jo MR, Park YS, Park KBW, Kwon JY, Yu HS, Song KC, Lee HJ, Oh EG, Kim JH, Lee TS and Kim PH. 2016. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from shellfish farms on the west coast of Korea. *Korean J Fish Aquat Sci* 49, 13-19. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2016.0013>.
- Ju JW. 1983. Studies on *Vibrio parahaemolyticus* on the southern seas of Korea on the isolation of *Vibrio parahaemolyticus* from sea water, sea mud and marine products in Jeju, Koeje, Namhae, Yockji, Busan and Masan. *J Korea Soc Microbiol* 18, 1-9.
- Krumperman PH. 1983. Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. *Appl Environ Microbiol* 46, 165-170.
- Kummerer K. 2009. Antibiotics in the aquatic environment - A review - Part I. *Chemosphere* 75, 417-434. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.086>.
- Kwon JY, Kwon SJ, Yang JH, Mok JS, Jeng SH, Ha GS, 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 KK, Lee HK and Je JG. 2005. Distribution of bacterial population and activities at the tidal flat in southern area of Ganghwa Island, Korea. *J Wet Res* 7, 37-52.
- 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>.
- Kwon SJ, Jung YJ, Yoon HJ, 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>.
- Lee EJ, Park JH, Lee GW and Kim DS. 2019. The use of broad-spectrum antibiotics and antibiotics to treat antimicrobial-resistant bacteria. *Yakhak Hoeji* 63, 43-53. <https://doi.org/10.17480/psk.2019.63.1.43>.
- Levin BR, Lipsitch M, Perrot V, Schrag S, Antia R, Simonsen L, Walker NM and Stewart FM. 1997. The population genetics of antibiotic resistance. *Clin Infect Dis* 24, S9-16. https://doi.org/10.1093/clinids/24.Supplement_1.S9.
- 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.
- Muller H, Sib E, Gajdiss M, Klanke U, Lenz-Plet F, Barabasch V, Albert C, Schallenberg A, Timm C, Zacharias N, Schmithausen RM, Engelhart S, Exner M, Parcina M, Schreiber C and Bierbaum G. 2018. Dissemination of multi-resistant gram-negative bacteria into German wastewater and surface waters. *FEMS Microbiol Ecol* 94, 1-11. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiy057>.
- NARMS (National Antimicrobial Resistance Monitoring System). 2014. National antimicrobial resistance monitoring system for enteric bacteria. Retrieved from <https://www.cdc.gov/narms/index.html> on Apr 10, 2021.
- NIFS (National Institute of Fisheries Science). 2021. Antimicrobial for fisheries. Retrieved from http://www.nifs.go.kr/page?id=antibiotics_1_06 on Jun 1, 2021.
- 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 shellfish farms in the southern coast of Korea. *Korean J Fish Aquat Sci* 46, 528-533. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2013.0528>.
- Ryu AR, Park KBW, Kim SH, Ham IT, Kwon JW, Kim JH, Yu HS, Lee HJ and Mok JS. 2017. Antimicrobial resistance patterns of *Escherichia coli* and *Vibrio parahaemolyticus* isolated from shellfish from the southern coast of Korea. *Korean J Fish Aquat Sci* 50, 662-668. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2017.0662>.

- Samanidou V, Bitas D, Charitonos S and Papadoyannis I. 2016. On the extraction of antibiotics from shrimps prior to chromatographic analysis. *Separations* 3, 8. <http://doi.org/10.3390/chromatography3010008>.
- Song JH. 2009. Current status and future strategies of antimicrobial resistance in Korea. *Korean J Med* 77, 143-151.
- Son KT, Oh EG, Park KBW, Kwon JY, Lee HJ, Lee TS and Kim JH. 2009. Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolated from fish farms on the Southern Coast of Korea. *Korean J Fish Aquat Sci* 42, 322-328. <https://doi.org/10.5657/kfas.2009.42.4.322>.
- 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>.
- WHO (World Health Organization). 2014. Antimicrobial resistance: global report on surveillance. Retrieved from <http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/> on Jun 5, 2021.