

용남광도 해역의 굴(*Crassostrea gigas*) 및 육상오염원에서 분리한 대장균(*Escherichia coli*)의 항생제 내성

권순재 · 정연중 · 윤현진 · 목종수¹ · 권지영*

국립수산과학원 남동해수산연구소, ¹국립수산과학원 식품위생기공과

Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli* Isolated from Oyster *Crassostrea gigas* and Inland Pollution Sources in the Yongnam-Gwangdo Area, Korea

Soon Jae Kwon, Yeoun Joong Jung, Hyun Jin Yoon, Jong Soo Mok¹ and Ji Young Kwon*

Southeast Sea Fisheries Research Institute, National Institute of Fisheries Science, Tongyeong 53085, Korea

¹Food Safety and Processing Research Division, National Institute of Fisheries Science, Busan 40683, Korea

We isolated and characterized *Escherichia coli* (*E. coli*) from oyster *Crassostrea gigas* and inland pollution sources on Yongnam-Gwangdo island and neighboring areas on the southern coast of Korea in 2014-2015. A total of 222 strains of *E. coli* were isolated from 132 oysters and 88 samples from inland pollution sources. These 222 isolates were tested for their susceptibility to 24 antimicrobial agents, and 221 isolates were found resistant to the tested antibiotics. Of these 99.5% and 70.7% of the isolates showed very high resistance to rifampin and cephalothin respectively, followed by tobramycin (23.4%), streptomycin (20.2%), tetracycline (19.4%), cefepime (18.9%), ceftazidime (18.9%) and nalidixic acid (16.7%). The resistance rate of *E. coli* isolated from oysters was higher than that from inland pollution sources. In addition, multiple resistance to at least four antibiotics were present in 73.2% and 26.5% of *E. coli* isolates from oysters and inland pollution source samples, respectively.

Key words: Oyster, Antimicrobial resistance, Inland pollution source, *Escherichia coli*

서 론

패류를 매개로 인체에 해를 끼치는 미생물에는 병원성 비브리오와 같이 해양에서 유래하는 것도 있지만 많은 종의 세균이나 바이러스는 육상 온혈동물의 분변에서 유래한다(Todd and Campbell, 2002). *Escherichia coli*는 사람이나 동물의 장내 분포된 정상 세균총으로 자연계에서 널리 분포하고 있으며, 대부분 대장균은 병원성이 없는 것으로 알려져 있으나 일부의 특이 혈청형은 유아에게 설사를 일으킬 뿐 아니라 성인에게도 급성 위장염을 일으키며 동물에서도 다양한 소화기 질병과 설사 증상을 유발하는 것으로 알려져 있다(Song et al., 2004). 특히 굴(*Crassostrea gigas*)의 경우는 가열 조리하지 않고 날것으로 섭취하는 경우가 많기 때문에 생산단계에서 오염되는 여러 가지

식품위생 위험요소로 인해 인체에 직접적인 피해를 미칠 수 있다(Sobsey and Jaykus, 1991). 페니실린 발견 이후 다양한 종류의 항생제는 사람과 동물의 치료, 질병예방 및 성장촉진 등의 목적으로 사용되고 있다. 어류양식장의 경우, 양식어의 질병예방 및 치료를 위하여 항생제를 사료에 첨가하거나 약용함으로써 소기의 목적을 달성하고 있다(Son et al., 2003). 식용동물에서 치료 및 예방 목적뿐만 아니라 사료 효율의 증대를 위해 사용하는 사료첨가제는 식용 동물과 식품에서 항생제 내성 유전자를 유도하여 항생제 내성균을 출현하게 하였으며 결국에는 사람에게서 세균성 질병 치료에 사용되는 항생제에 대한 내성 균주의 출현을 가져왔다(Angulo et al., 2000; Donabedian et al., 2003).

항생제 내성은 항생제를 사용하기 때문에 발생한다. 항생제에 노출된 미생물이 자기복제 과정에서 내성을 갖는 형질을 선택

*Corresponding author: Tel: +82. 55. 640. 4760 Fax: +82. 55. 641. 2036

E-mail address: ksj3t3@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.2018.0673>

Korean J Fish Aquat Sci 51(6), 673-681, December 2018

Received 20 November 2018 Revised 5 December 2018; Accepted 20 December 2018

저자 직위: 권순재(인턴연구원), 정연중(해양수산연구소), 윤현진(인턴연구원), 목종수(해양수산연구소), 권지영(해양수산연구소)

하게 되고, 이렇게 생겨난 저항성 유전자를 다른 미생물에게 전달해 이들도 유사한 구조나 내성을 갖게 하는 것이다. 또한 여러 항생제가 유사한 구조나 성분을 공유하기 때문에 미생물이 하나의 항생제에 내성을 갖게 되면 동시에 다른 여러 항생제에도 내성을 갖게 되기도 한다. 항생제 사용이 항생제 내성을 일으키는 가장 큰 원인이므로 미생물이 항생제 내성을 갖게 되는 것은 막을 수 없는 자연현상이지만, 문제는 항생제의 오·남용 이 과정을 가속화하고 있다는 데 있다(Watts et al., 2017). 특히 항생제를 투여한 축산동물이나 사람의 분변으로부터 내성균이 자연환경으로 방출되기도 하는데, 사람이나 동물에게 투여한 항생제가 완전히 분해나 대사되지 않고 섭취된 항생제의 경우 약 70%정도가 성분이 변하지 않은 상태로 배설된다는 보고도 있다(Kummerer, 2009). 자연계에 유출된 항생제는 자연계에 존재하는 미생물의 내성을 증가시켜 돌연변이성 항생제 내성을 유발시키는 원인으로 작용할 수 있다(Witte, 2000).

세균에서의 항생제 내성은 이러한 내성균에 감염된 사람이나 동물의 치료를 어렵게 하기 때문에 중요하며, 특히 여러 가지 항생제에 내성을 갖는 다제내성균의 출현 및 증가로 인해 항생제 내성 문제는 전 세계적으로 중대한 공중보건학적 위협이 되고 있다(Souli et al., 2008). 경상남도의 진해만 서부에 위치하고 있는 용남광도 해역은 북쪽은 고성군 거류면과 동해면 서쪽과 남쪽은 통영시 광도면과 용남면, 동쪽은 거제시 사등면과 접하고 있다. 2015년 동 해역의 양식어업권은 총 91건 중 굴 양식업이 49건으로 약 54%를 차지하고 있었으며 배수유역 내에는 가축 및 가금류의 총 사육수는 약 40만 마리로 그 중 닭이 213,113 마리가 사육되고 있었다(NIFS, 2017). 또한, 대단위 아파트 등의 인구밀집지역이 조성되어 있어 육상유래의 항생제 내성문제 가 높을 것으로 판단된다.

따라서 본 연구에서는 용남광도 해역의 굴 양식장 및 해상으로 유입되는 하천에서 대장균을 분리하고, 분리된 대장균의 항생제 내성 패턴을 조사함으로써 항생제 내성균 및 육상오염원 관리를 위한 기초자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

시료 채취 및 운반

시료로 사용된 굴은 2014년 1월부터 2015년 12월까지 매월 1회 경상남도에 위치한 용남광도 해역의 굴 양식장 5개소에서 채취한 것을 사용하였다(Fig. 1). 굴 132개 시료는 수하식 양식장에서 채취하여 동일지역의 해수로 깨끗이 씻은 후 whirl-pak (Nasco International Inc., USA)에 넣었다. 또한 육상오염원 시료는 용남광도 해역 주변 육상에서 바다로 유입되는 주요 오염원 11개소를 대상으로 하였으며, 2014년 1월부터 2015년 12월까지 분기별 1회씩 총 8회에 걸쳐 88개소를 조사하였다. 샘플은 멸균된 채수병에 채취하여 사용하였다. 채취된 굴 및 육상오염원 시료는 아이스박스에 넣고 얼음을 사용하여 10℃ 이하로 유

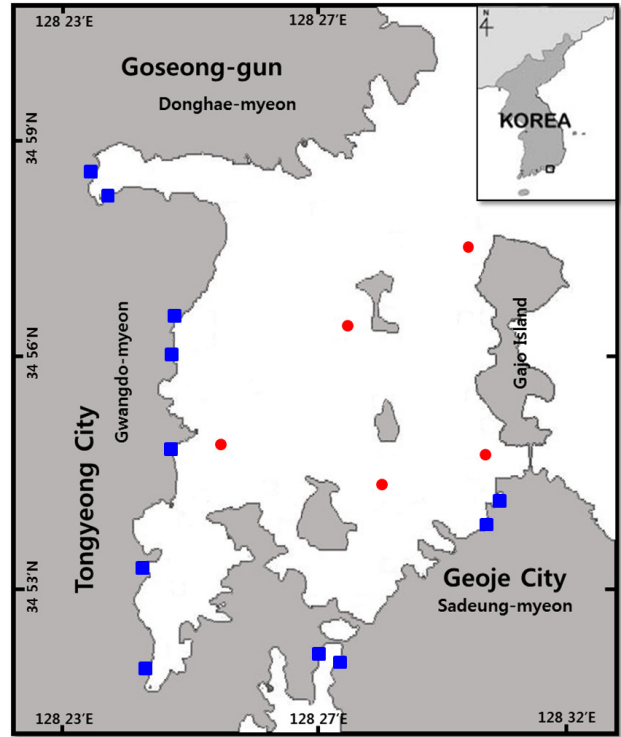


Fig. 1. Sampling stations of oyster *Crassostrea gigas* (●) and inland pollution sources (■) in the Yongnam-Gwangdo area, Korea.

지시켜 실험실로 운반하였다.

대장균(*E. coli*) 분리 및 동정

*E. coli*의 분리는 The recommended procedures for the examination of seawater and shellfish을 일부 변형한 방법을 사용하였다(APHA, 1970). 패류 시료는 패각을 제거하고 패육과 패액을 취한 후 동일한 양의 인산완충용액(phosphate buffer solution)을 첨가, 균질화하여 시험에 사용하였다. 균질화한 패류 및 육상오염원 시료는 10 mL의 lauryl tryptose broth (LTB; Difco, Detroit, MI, USA)에 접종하고 배양한(35±0.5℃, 48시간) 후, 가스가 생성된 양성 시험관의 배양액은 멸균 일회용 loop (10 µL)로 10 mL의 EC broth (EC; Difco, Detroit, MI, USA)에 접종, 배양하였다(44.5℃, 24시간). 대장균을 분리하기 위하여 가스 생성이 확인된 EC broth는 tryptone bile X-glucuronide

Table 1. Number of *E. coli* isolated from oyster *Crassostrea gigas* and inland pollution sources in the Yongnam-Gwangdo area

Samples	No. of samples	No. of isolated strains
Oyster	132	56
Inland pollution source	88	166
Total	220	222

agar (TBX; Oxoid, Basingstoke, UK) 평판에 streak하여 배양 (44±1℃에서 22±2시간) 후, *E. coli*로 추정되는 청색 또는 청 녹색의 집락을 선택하여 VITEK system (Biomérieux, Marcy, France)으로 확인, 동정하였다.

항생제 내성 시험

*E. coli*의 항생제 내성 확인에는 Acar and Goldstein (1991)의 디스크확산법을 이용하였다. 분리, 동정된 *E. coli*는 muller hinton broth (MHB; BBL, NJ, USA)에 접종하여 35℃에서 18-24 시간 배양한 후, 균 배양액의 농도를 densicheck plus (Biomérieux, Marcy, France)로 0.5가 되도록 희석하여 조정하였다. 두께 4 mm의 muller hinton II agar (MHA; BBL, NJ, USA) 평판에 희석된 균액을 도말하고 흡수가 되도록 5분간 방치한 후 15분 이내에 항생제 디스크(Sensi-disc, BBL, NJ, USA)를 평판에 고착시켰다. 항생제 디스크는 amikacin (30 µg; AN), amoxicillin/ clavulanic acid (30 µg; AmC), ampicillin (10 µg; AM), aztreonam (30 µg; ATM), cefamandole (30 µg; MA),

cefazolin (30 µg; CZ), cefepime (30 µg; FEP), cefotaxime (30 µg; CTX), cefotetan (30 µg; CTT), cefoxitin (30 µg; FOX), ceftazidime (30 µg; CAZ), cephalothin (30 µg; CF), chloramphenicol (30 µg; C), ciprofloxacin (5 µg; CIP) gentamicin (10 µg; GM), imipenem (10 µg; IPM), nalidixic acid (30 µg; NA), piperacillin (100 µg; PIP), rifampin (5 µg; RA), streptomycin (10 µg; S), tetracycline (30 µg; TE), tobramycin (10 µg; NN), trimethoprim (5 µg; TMP), trimethoprim/ sulfamethoxazole (1.25/ 23.75 µg; SXT) 등 24종을 사용하였다. 항생제 디스크를 고착시킨 muller hinton II Agar 평판은 35℃에서 16-18시간 배양한 후, 증식 저해대(inhibition zone)의 크기를 측정하여 항생제 내성 유무를 판별하였다.

결과 및 고찰

대장균의 항생제 내성

2014년 1월부터 2015년 12월까지 용남광도 해역의 굴에서

Table 2. Antimicrobial resistance of *E. coli* isolated in the Yongnam-Gwangdo area

Antimicrobial agents	Concentration per disk (µg)	Diffusion zone breakpoint (mm)	No. of resistance isolates (%)
			<i>Escherichia coli</i> (n=222)
Amikacin (AN)	30	<14	31 (13.9)
Amoxicillin/Clavulanic acid (AMC)	20/10	<13	6 (2.7)
Ampicillin (AM)	10	<13	10 (4.5)
Aztreonam (ATM)	30	<10	5 (2.5)
Cefamandole (MA)	30	<14	17 (7.7)
Cefazolin (CZ)	30	<14	12 (5.4)
Cefepime (FEP)	30	<14	42 (18.9)
Cefotetan (CTT)	30	<12	1 (0.4)
Cefotaxime (CTX)	30	<14	7 (3.2)
Ceftazidime (CAZ)	30	<14	42 (18.9)
Cephalothin (CF)	30	<14	157 (70.7)
Cefoxitin (FOX)	30	<14	6 (2.7)
Chloramphenico (C)	30	<12	15 (6.8)
Ciprofloxacin (CIP)	5	<15	11 (5.0)
Gentamicin (GM)	10	<12	14 (6.3)
Imipenem (IPM)	10	<13	0 (0.0)
Nalidixic acid (NA)	30	<13	37 (16.7)
Piperacillin (PIP)	10	<17	32 (14.4)
Rifampin (RA)	5	<17	221 (99.5)
Streptomycin (S)	10	<11	45 (20.2)
Tetracycline (TE)	19	<14	43 (19.4)
Trimethoprim/ Sulfamethoxazole (SXT)	23.75/1.25	<10	16 (7.2)
Tobramycin (NN)	10	<12	52 (23.4)
Trimethoprim (TMP)	5	<10	18 (8.1)

*E. coli*는 56균주, 배수유역의 주요 육상오염원(하천 10개소, 생활하수 1개소)에서는 166균주가 분리되었으며(Table 1), 굴과 육상오염원에서 분리한 *E. coli* 222균주를 대상으로 24종의 항생제에 대한 내성률을 조사한 결과(Table 2), 내성률은 rifampin (99.5%)에서 가장 높았고 그 다음으로는 cephalothin (70.7%), tobramycin (23.4%), streptomycin (20.2%), tetracycline (19.4%), cefepime (18.9%), ceftazidime (18.9%), nalidixic acid (16.7%), piperacillin (14.4%), amikacin (13.9%) 순이었다. 이외 trimethoprim, cefamandole, trimethoprim/sulfamethoxazole, chloramphenicol, gentamicin, cefazolin, ciprofloxacin, ampicillin, cefoxitin, amoxicillin/ clavulanic acid, cefoxitim, aztreonam, cefotetan에 대한 내성률은 10% 이하로 낮았으며, imipenem에 대한 내성은 확인되지 않았다. 이전의 연구결과, 2011년부터 2012년까지 남해안 3개 지역(고흥, 여수, 남해)의 패류에서 분리한 *E. coli*의 내성률은 tetracycline (29.9%), streptomycin (25.5%), ampicillin (18.6%)순으로 높

았고(Park et al., 2013), 2013년 남해안에 위치한 한산거제만과 자란만사량도 해역의 주변 육상오염원(거제시, 통영시, 고성군 소재 하천 및 마을하수)에서 분리한 *E. coli*는 tetracycline (10.6%)에 대한 내성률이 가장 높았으며 다른 항생제들의 내성률은 5% 이하이거나 내성을 나타내지 않았다(Park et al., 2018). 그러나 2013년부터 2015년까지 서해안의 패류에서 분리한 *E. coli*는 ampicillin (37.2%), cephalothin (21.7%), cefazolin (19.9%)순으로 높은 내성률을 나타내었으며(Jo et al., 2016) 남해안과는 달리 tetracycline계 항생제에 대한 내성률은 4% 수준이었고 cephem계 항생제에 대한 내성이 높게 나타났다. 2014년과 2015년에 용남광도 해역에서 채취한 굴과 오염원 시료를 대상으로 한 본 연구결과에서 *E. coli*의 내성률은 ansamycin계 항생제인 rifampin과 cephem계 항생제인 cephalothin에서 아주 높게 나타났는데, 이러한 결과는 축·수산물 항생제로 가장 많이 판매되고 있는 tetracycline계와 penicillin계 항생제(MFDS, 2018)에 대한 내성률이 높았던 2014년 이전 결

Table 3. Antimicrobial resistance of *E. coli* isolated from oyster *Crassostrea gigas* and inland pollution sources in Yongnam-Gwangdo area

Antimicrobial agents	Concentration per disk (µg)	Diffusion zone breakpoint (mm)	No. of resistance isolates (%)	
			Oyster	Inland pollution source
			<i>E. coli</i> (n=56)	<i>E. coli</i> (n=166)
Amikacin (AN)	30	<14	2 (3.6)	8 (4.8)
Amoxicillin/Clavulanic acid (AMC)	20/10	<13	1 (1.8)	5 (3.0)
Ampicillin (AM)	10	<13	8 (14.3)	23 (13.9)
Aztreonam (ATM)	30	<10	0 (0.0)	5 (3.0)
Cefamandole (MA)	30	<14	0 (0.0)	17 (10.2)
Cefazolin (CZ)	30	<14	0 (0.0)	5 (3.0)
Cefepime (FEP)	30	<14	40 (71.4)	2 (1.2)
Cefotetan (CTT)	30	<12	1 (1.8)	0 (0.0)
Cefotaxime (CTX)	30	<14	0 (0.0)	7 (4.2)
Ceftazidime (CAZ)	30	<14	40 (71.4)	2 (1.2)
Cephalothin (CF)	30	<14	41 (73.2)	116 (69.9)
Cefoxitin (FOX)	30	<14	0 (0.0)	6 (3.6)
Chloramphenico (C)	30	<12	6 (10.7)	9 (5.4)
Ciprofloxacin (CIP)	5	<15	1 (1.8)	10 (6.0)
Gentamicin (GM)	10	<12	2 (3.6)	12 (7.2)
Imipenem (IPM)	10	<13	0 (0.0)	0 (0.0)
Nalidixic acid (NA)	30	<13	7 (12.5)	30 (18.1)
Piperacillin (PIP)	10	<17	6 (10.7)	26 (15.7)
Rifampin (RA)	5	<17	56 (100.0)	165 (99.4)
Streptomycin (S)	10	<11	8 (14.3)	37 (22.3)
Tetracycline (TE)	19	<14	12 (21.4)	31 (18.7)
Trimethoprim/ Sulfamethoxazole (SXT)	23.75/1.25	<10	4 (7.1)	12 (7.2)
Tobramycin (NN)	10	<12	40 (71.4)	12 (7.2)
Trimethoprim (TMP)	5	<10	6 (10.7)	12 (7.2)

과와는 다른 항생제 내성률 패턴을 나타내는 것으로 용남광도 해역 주변 육상 배수구역 현황과 밀접한 관련이 있는 것으로 사료된다.

패류와 육상오염원에서 분리한 *E. coli*의 내성은 육상오염원인 하천, 하수처리장, 폐수처리장 배출수 등 수계에 잔류하는 항생제에서 기인하고(Kim et al., 2008; Jang et al., 2017; Lee et al., 2017), 해역 주변 배수구역의 현황과 밀접하게 관련되어 있기에(Ferreira et al., 2007; Peak et al., 2007; Reinthaler et al., 2010) 해역으로 유입되는 항생제의 종류와 양은 주변 배수구역의 특성(인구, 산업화, 가축사육, 의료시설 등)에 따라 달라진다. 용남광도 해역의 서쪽과 남쪽 배수구역은 신도시로 개발된 통영시 광도면과 접하고 있는데, 광도면에는 용남광도 해역 인구의 47%가 거주하며 다세대 주택, 아파트, 상가, 병원 등

의료시설이 밀집되어 있을 뿐만 아니라 대형 조선소, 안정 및 덕포 산업단지가 위치하고 있으며, 이 지역에서 주로 사육되는 가축은 닭으로 사육가축의 89.3%를 차지하고 있다(NIFS, 2017). 따라서 용남광도 해역에서 분리한 *E. coli*의 내성률은 임상용(호흡기계 질환 치료)으로 처방률이 높은 ansamycin계 rifampin (99.5%), cephem계 cephalothin (70.7%), cefepime (18.9%) 및 ceftazidime (18.9%), aminoglycoside 계 tobramycin (23.4%)와 streptomycin (20.2%)에서 높게 나타난 것으로 추정된다(Kim et al., 2016; Kim et al., 2017). 또한 소와 돼지 분변 유래 *E. coli*의 내성률은 tetracycline에서 높은 반면, 닭 분변 유래 *E. coli*의 내성률은 quinolon계 항생제인 nalidixic acid에서 90% 이상이라는 보고 내용을 토대로 본 조사결과와 nalidixic acid에 대한 내성률(16.7%)은 닭의 사육과 관련이 있

Table 4. Multiple antimicrobial resistance of *E. coli* isolated from oyster *Crassostrea gigas* in Yongnam-Gwangdo Area

No. of antimicrobials	Resistance patterns	No. of isolated strains	Total (%)
1	RA	5	8.9
	AM, RA	1	
	CF, RA	3	
2	CTT, RA	1	12.5
	RA, TE	1	
	TMP, RA	1	
3	AMC, AN, RA	1	5.4
	CF, AN, RA	1	
4	CF, TMP, RA	1	8.9
	FEP, NN, CAZ, RA	4	
5	GM, S, TMP, RA	1	35.7
	CF, FEP, NN, CAZ, RA	20	
6	AM, CF, FEP, NN, CAZ, RA	3	8.9
	CF, FEP, NN, CAZ, RA, C	1	
7	CF, GM, FEP, NN, CAZ, RA	1	7.1
	CF, FEP, NA, NN, CAZ, RA, TE	2	
8	CF, S, FEP, NN, CAZ, RA, TE	2	1.8
	CF, S, FEP, NN, CAZ, RA, C, TE	1	
9	AM, CF, S, FEP, PIP, NN, CAZ, RA, TE	1	1.8
	AM, CF, S, FEP, PIP, NN, CAZ, RA, C, TE	1	
10	AM, CF, AN, FEP, NA, PIP, TMP, NN, CAZ, RA, SXT	1	5.4
	AM, CF, FEP, NA, PIP, TMP, NN, CAZ, RA, TE, SXT	1	
11	AM, CF, S, FEP, NA, PIP, NN, CAZ, RA, C, TE	1	1.8
	AM, CF, S, FEP, NA, PIP, NN, CAZ, RA, TE, SXT	1	
12	AM, CF, S, FEP, NA, PIP, TMP, NN, CAZ, RA, TE, SXT	1	1.8
		56	100

AN, Amikacin; AMC, Amoxicillin/Clavulanic acid; AM, Ampicillin; ATM, Aztreonam; MA, Cefamandole; CZ, Cefazolin; FEP, Cefepime; CTX, Cefotaxime; CTT, Cefotetan; FOX, Cefoxitin; CAZ, Ceftazidime; CF, Cephalothin; C, Chloramphenicol; CIP, Ciprofloxacin; GM, Gentamicin; IPM, Imipenem; NA, Nalidixic acid; PIP, Piperacillin; RA, Rifampin; S, Streptomycin; TE, Tetracycline; NN, Tobramycin; TMP, Trimethoprim; SXT, Trimethoprim/Sulfamethoxazole.

Table 5. Multiple antimicrobial resistance of *E. coli* isolated from inland pollution source in Yongnam-Gwangdo Area

No. of antimicrobials	Resistance patterns	No. of isolated strains	Total (%)
0		1	0.6
1	RA	25	15.1
	AN, RA	3	
	CF, RA	50	
	MM, RA	1	
2	NA, RA	5	39.2
	RA, C	2	
	RA, FOX	2	
	RA, TE	2	
	AN, NA, RA	1	
	CF, MA, RA	8	
3	CF, NN, RA	1	18.7
	CF, RA, TE	7	
	CF, S, RA	12	
	S, AN, RA	2	
	AM, CF, PIP, RA	2	
	AM, CF, S, RA	1	
	CF, GM, RA, FOX	1	
	CF, NA, RA, CIP	2	
	CF, NA, RA, TE	1	
4	CF, PIP, RA, TE	1	9.6
	CF, RA, C, TE	1	
	CF, S, NN, RA	1	
	CF, S, RA, TE	3	
	CF, RA, TE, CIP	1	
	GM, S, RA, TE	1	
	S, AN, NA, RA	1	
	AN, CF, GM, PIP, RA	1	
	AM, CF, NA, PIP, RA	1	
5	AM, CF, PIP, RA, C	1	3.0
	CF, S, AN, AMC, RA	1	
	CF, S, MA, RA, TE	1	
	AM, CF, NA, PIP, RA, TE	1	
	AM, CF, S, PIP, RA, FOX	1	
6	CF, S, AN, PIP, RA, TE	1	3.0
	CF, S, MA, RA, C, TE	1	
	CZ, CF, S, AM, RA, FOX	1	

AN, Amikacin; AMC, Amoxicillin/Clavulanic acid; AM, Ampicillin; ATM, Aztreonam; MA, Cefamandole; CZ, Cefazolin; FEP, Cefepime; CTX, Cefotaxime; CTT, Cefotetan; FOX, Cefoxitin; CAZ, Ceftazidime; CF, Cephalothin; C, Chloramphenicol; CIP, Ciprofloxacin; GM, Gentamicin; IPM, Imipenem; NA, Nalidixic acid; PIP, Piperacillin; RA, Rifampin; S, Streptomycin; TE, Tetracycline; NN, Tobramycin; TMP, Trimethoprim; SXT, Trimethoprim/Sulfamethoxazole.

Table 5. Continued

No. of antimicrobials	Resistance patterns	No. of isolated strains	Total (%)
7	AM, GM, S, NA, RA, TE, CIP	1	1.8
	AM, S, PIP, TMP, RA, TE, SXT	1	
	GM, PIP, TMP, MA, RA, TE, CIP	1	
8	AM, CZ, CF, PIP, MA, RA, TE, CTX	1	1.2
	AM, CZ, CF, PIP, TMP, RA, TE, SXT	1	
9	AM, CZ, CF, NA, PIP, ATM, MA, RA, CTX	1	0.6
10	AM, CF, NA, PIP, TMP, NN, RA, C, TE, SXT	1	1.2
	S, PIP, ATM, NN, MA, RA, TE, CTX, CIP, SXT	1	
11	AM, CZ, CF, GM, NA, PIP, ATM, MA, RA, CTX, CIP	1	3.0
	AM, CZ, CF, S, AMC, NA, PIP, TMP, MA, RA, SXT	3	
	CF, GM, S, NA, PIP, TMP, NN, MA, RA, C, STX	1	
13	AM, CF, GM, S, NA, PIP, TMP, NN, RA, C, TE, CIP, SXT	1	1.2
	AM, CZ, CF, GM, S, NA, PIP, NN, MA, RA, TE, CTX, CIP	1	
14	AM, CZ, CF, GM, FEP, NA, PIP, TMP, ATM, NN, MA, RA, CTX, SXT	1	1.2
	AM, CZ, CF, GM, S, PIP, TMP, NN, MA, CAZ, RA, TE, FOX, SXT	1	
17	AM, CZ, CF, GM, FEP, NA, PIP, TMP, ATM, NN, MA, CAZ, RA, TE, CTX, CIP, SXT	1	0.6
Total		166	100

AN, Amikacin; AMC, Amoxicillin/Clavulanic acid; AM, Ampicillin; ATM, Aztreonam; MA, Cefamandole; CZ, Cefazolin; FEP, Cefepime; CTX, Cefotaxime; CTT, Cefotetan; FOX, Cefoxitin; CAZ, Ceftazidime; CF, Cephalothin; C, Chloramphenicol; CIP, Ciprofloxacin; GM, Gentamicin; IPM, Imipenem; NA, Nalidixic acid; PIP, Piperacillin; RA, Rifampin; S, Streptomycin; TE, Tetracycline; NN, Tobramycin; TMP, Trimethoprim; SXT, Trimethoprim/Sulfamethoxazole.

을 것으로 사료되며, 향후 조사지점별 *E. coli* 내성률 확인 및 비교 등 추가 연구가 필요하리라 생각된다.

대장균의 항생제 내성 비교

패류와 육상오염원에서 분리한 *E. coli*의 항생제별 내성의 경향은 Table 3에 나타내었다. 굴에서 분리한 *E. coli*는 24종의 항생제 중 18종에 대한 내성이 확인되었으며, 내성률은 rifampin (100%), cephalothin (73.2%), cefepime (71.4%), ceftazidime (71.4%), tobramycin (71.4%) 순이었으며, 이들 외에는 20% 이하의 내성률을 나타내었다. 22종의 항생제에서 내성을 나타낸 육상오염원 분리균주의 내성률은 rifampin (99.4%), cephalothin (69.9%)에서 높았고 나머지 항생제들의 내성률은 20% 이하였다. 항생제별 내성률은 육상오염원 시료보다 굴에서 높게 나타나는 경향을 보였는데, 이러한 결과는 이동성이 없는 패류의 특성에 의한 것으로(Grimes, 1991; Feldhusen, 2000) 육상오염원에서 유입되는 항생제가 여과-섭이 과정 중에 축적되기 때문인 것으로 사료된다. 그리고 육상오염원 시료에서는 굴에서 내성이 확인되지 않았던 aztreonam (5%), cefamandole (17%), cefazolin (5%), cefotaxime (7%), cefoxitin (6%)에서 내성을 나타내는 *E. coli*가 확인되었는데, 이들은 특정 오염원에서만 분리되는 균주인 것으로 추정되며 명확한 원인을 확인하기 위

해서는 육상오염원 지점별로 오염의 발원지와 주변환경에 대한 보다 정밀한 추적조사가 수행되어야 할 것으로 판단된다

대장균의 다제내성 양상

용남광도 해역의 굴에서 분리된 *E. coli* 56균주에 대한 항생제 내성 패턴은 Table 4에 나타내었다. 분리된 모든 균주는 시험에 사용된 24종의 항생제 중 최소 1종에서 12종에 대하여 내성을 나타내었고, 내성을 나타내지 않는 균주는 없었다. 내성을 나타내는 56균주 중에서 4종 이상의 항생제에 내성을 나타내는 다제내성균(multiple antimicrobial resistance bacteria, MARB)은 41균주(73.2%)로 확인되었으며, 내성률이 높았던 5종(rifampin, cephalothin, cefepime, ceftazidime, tobramycin)의 항생제에 내성을 갖는 균주가 가장 많았다(35.7%). 용남광도 해역의 굴에서 분리한 *E. coli*의 다제내성균 검출률 또한 개별 항생제에 대한 내성률과 마찬가지로 남해안과 서해안의 패류에서 분리한 *E. coli*의 다제내성률(14.2%, 15.9%) 보다 높았고(Park et al., 2013; Jo et al., 2016), 항생제의 사용이 빈번한 어류양식장의 양식어류에서 분리된 다제내성균 검출률(62.5%) 보다 높게 나타났다(Son et al., 2009). 이러한 결과는 앞서 언급한 바와 같이 용남광도 해역 주변 배수구역 오염원의 특성과 관련이 있을 것으로 사료되며, 이 외에도 지역사회 항생제 사용량의

증가 및 다변화 등 다양한 원인들에서 기인하는 것으로 추정된다. 그리고 가축유래 *E. coli*의 내성 및 다제내성률 조사결과, 연도별 내성률 추이는 다소 차이가 있으나, 소와 돼지에서 분리한 *E. coli*의 내성률은 전반적으로 감소 추세를 나타내었고 닭에서는 증가추세를 나타내었다. 닭의 분변 및 도축장의 닭 도체에서 분리한 *E. coli*의 다제내성률은 각각 84.7%-90.1% 및 69.4%-87.0%로 소의 분변(17.0%-31.9%)과 도체(15.2%-38.2%), 돼지의 분변(64.6%-87.4%)과 도체(52.3%-78.6%)에서 분리한 균주보다 높은 것으로 나타나(MFDS, 2018) 용남광도 해역의 패류와 육상오염원에서 분리한 *E. coli*의 항생제 내성 패턴은 배수유역에서 주로 사육되는 가축용 항생제와도 무관하지 않을 것으로 사료된다.

육상오염원에서 분리된 *E. coli* (166균주)의 다제내성(Table 5)은 개별로도 내성률이 높았던 항생제인 rifampin과cephalothin에 내성을 나타내는 균주가 30% (50균주)로 가장 많았고, 다제내성균의 검출률은 26.5% (44균주)로 패류보다 낮았는데, 이는 일정기간 항생제 등이 축적·잔류하는 패류와 달리 하천, 생활하수, 하수처리장 방출수 등과 같은 육상오염원은 수계로 유동·확산되기 때문인 것으로 추정되며, 육상오염원에 유입되거나 잔류하는 항생물질은 본류와 지류, 강우량(풍수기, 갈수기 등), 조사시기(농번기 등), 폐수·하수처리공법 등 환경조건에 영향을 받으므로(Kim et al., 2008) 육상오염원에 잔류 항생제 종류와 내성 패턴은 패류보다 다양한 경향을 나타내는 것으로 사료된다.

연안 해역에 정착·서식하는 패류를 비롯한 수산물은 다양한 육상오염원을 통해 해역으로 유입되는 항생제에 노출되고, 지속적인 항생제의 환경노출에 따라 수산물에서 내성균 및 다제내성균의 검출률 및 출현가능성 또한 점차 높아지고 있다. 따라서 내성균과 다제내성균의 출현을 최소화하고 안전한 수산물을 생산하기 위해서는 항생제의 적절한 사용과 국가차원의 적극적인 항생제 관리와 더불어 육상오염원에서의 항생제 내성률 확인 및 항생제 저감 연구 등이 지속 추진되어야 할 것이다.

사 사

이 논문은 2018년 국립수산물품질관리원 수산물안전연구사업 수출패류 생산해역 및 수산물 위생조사(R2018056)의 지원으로 수행된 연구이며 연구비 지원에 감사드립니다.

References

- Acar JF and Goldstein FW. 1991. Disk susceptibility testing. In: Antibiotics in Laboratory Medicine, Lorian V, ed. Williams & Wilkins, Baltimore, M.D., U.S.A., 17-52.
- Angulo FJ, Johnson KR and Tauxe RV. 2000. Origins and consequences of antimicrobial-resistant nontyphoidal *salmonella*: implications for the use of fluoroquinolones in food animals. *Microb Drug Resist* 6, 77- 83. <http://doi.org/10.1089/ldr.2000.6.77>.
- APHA (American Public Health Association). 1970. Recommended procedures for the examination of seawater and shellfish. 4th Ed. American Public Health Association, Washington D.C., U.S.A., 1-47.
- Donabedian SM, Thal LA and Hershberger E. 2003. 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. <http://doi.org/10.1128/JCM.41.3.1109-1113.2003>.
- Feldhusen F. 2000. The role of seafood in bacterial foodborne disease. *Microbes Infect* 2, 1651-1660.
- Ferreira M, Vaz-Moreira I, Gonzalez-Pajuelo M, Nunes OC and Mannaia CM. 2007. Antimicrobial resistance patterns in *Enterobacteriaceae* isolated from an urban wastewater treatment plant. *FEMS Microbiol Ecol* 60, 166-176. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2006.00268.x>.
- Grimes DJ. 1991. Ecology of estuarine bacteria capable of causing human disease: A review. *Estuaries* 14, 345-360. <https://doi.org/10.2307/1352260>.
- Jang YJ, Yoo YJ, Sul WJ, Cha CJ, Rhee OJ and Chae JC. 2017. Effect of antibiotic resistant factors in effluent of wastewater treatment plant on stream. *Korean J Microbiol* 53, 316-319. <https://doi.org/10.7845/kjm.2017.7083>.
- 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://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2016.0013>.
- Kim JA, Park JH, Kim BY and Kim DS. 2017. The Trend of Acute Respiratory Tract Infections and Antibiotic Prescription Rates in Outpatient Settings using Health Insurance Data. *Korean J Clin Pharm* 27, 186-194. <https://doi.org/10.24304/kjcp.2017.27.3.186>.
- Kim JH, Park CK, Kim MY and Ahn SG. 2008. Contamination of Veterinary Antibiotics and Antimicrobials in Han River Basin. *J Korean Soc Environ Anal* 11, 109-118.
- Kim YA, Park YS, Youk TM, Lee SS and Son YJ. 2016. A Study on the Use of Antibiotics in Korea and the Resistance of Major pathogens to Antibiotics. *NHIS Ilsan hospital Report* 2016-20-001, 1-116.
- Kummerer K. 2009. Antibiotics in the aquatic environment-A review-Park I. *Chemosphere* 75, 417-434. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.086>.
- Lee HJ, Kim HY, Kim KY, Yang DS, Lee IJ, Lim YK, Kim JH and Oh JE. 2017. Characteristic Occurrence and Distributions of Pharmaceuticals in the Nakdong River. *J Korean Soc Environ Eng* 39, 403-411. <https://doi.org/10.4491/KSEE.2017.39.7.403>.
- MFDS (Ministry of Food and Drug Safety). 2018. Antimicrobial resistance monitoring. Retrieved from http://www.mfds.go.kr/m_231/view.do?seq=33040 on Jul 10, 2018.

- NIFS (National Institute of Fisheries Science). 2017. Report of sanitary survey of shellfish growing area in Yongnam-Gwangdo, 2014-2016. NIFS, Busan, Korea.
- 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 shellfish farms in the southern coast of Korea. Korean J Fish Aquat Sci 46, 528-533. <http://do.doi.org/10.5657/KFAS.2013.0528>.
- Peak N, Knapp CW, Yang RK, Hanfelt MM, Smith MS, Aga DS and Graham DW. 2007. Abundance of six tetracycline resistance genes in wastewater lagoons at cattle feedlots with different antibiotic use strategies. Environ Microbiol 9, 143-151. <http://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2006.01123.x>.
- Reinthaler FF, Ferierl G, Galler H, Haas D, Leitner E, Mascher F, Melkes A, Posch J, Winter I, Zarfel G and Marth E. 2010. ESBL-producing *E. coli* in Austrian sewage sludge. Water Res 44, 1981-1985. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.11.052>.
- Sobsey MD and Jaykus LA. 1991. Human enteric viruses and depravation of bivalve molluscs. In: Molluscan shellfish depravation. Otwell WS, Rodrick GE and Martin RE, eds. CRC Press, Boca Raton, F.L., U.S.A., 71-114.
- Son JC, Park SW and Min KJ. 2003. Environmental and antimicrobial characteristics of *Vibrio spp.* isolated from fish, shellfish and brackish water samples in Gyeonbuk western coast. Kor J Environ Health 29, 94-102.
- Son KT, Oh EG, Park KBW, Kwon JY, Lee HJ, Lee TS and Kim J.H. 2009. Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolated from fish farms on the southern coast of Korea. Korean J Fish Aquat Sci 42, 322-328.
- Song SW, Jung SC, Kim SI, Jung ME, Kim KH, Lee JY, Lim SK, Lee YJ, Cho NI, Park JM and Park YH. 2004. Surveillance of antimicrobial susceptibility of bacteria isolated from slaughterhouse in Korea, 2003. 1. Antimicrobial susceptibility of *E. coli* isolated from carcasses in slaughterhouse. Korean J Vet Public Health 25, 215-221.
- Souli M, Galani I and Giamarellou H. 2008. Emergence of extensively drug-resistant and pandrug-resistant Gram-negative bacilli in Europe. Euro Surveill 13, 19045.
- Todd KE and Campbell AR. 2002. Growing area 1508 sanitary survey report. Marlborough Public Health Unit, Marlborough, New Zealand.
- Watts JEM, Schreier HJ, Lanska L and Hale MS. 2017. The Rise Tide of Antimicrobial Resistance in Aquaculture: Source, Sinks and Solutions. Mar Drugs 15, 1-16. <https://doi.org/10.3390/md15060158>.
- Witte W. 2000. Selective pressure by antibiotic use in livestock. Int J Antimicrob Agents 16, S19-S24. [https://doi.org/10.1016/S0924-8579\(00\)00301-0](https://doi.org/10.1016/S0924-8579(00)00301-0).