

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

권지영 · 권순재 · 양지혜 · 목종수¹ · 정상현 · 하광수 · 이희정 · 정연중^{1*}

국립수산과학원 남동해수산연구소, ¹국립수산과학원 식품위생가공과

Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* Isolated from Oysters *Crassostrea gigas* and Major Inland Pollution Sources in the Jaranman-Saryangdo Area in Korea

Ji Young Kwon, Soon Jae Kwon, Ji Hye Yang, Jong Soo Mok¹, Sang Hyeon Jeong, Kwang-Soo Ha, Hee Jung Lee and Yeoun Joong Jung^{1*}

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 46083, Korea

This study evaluated the abundance and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* in oysters *Crassostrea gigas* and major inland pollution sources sampled in 2014-2015 from Jaranman-Saryangdo on the southern coast of Korea. The ranges of the geometric mean of *E. coli* concentrations in oysters and major inland pollution sources were <20-29.8 MPN/100 g and 7.5-137.2 MPN/100 g, respectively. We isolated 247 strains of *E. coli* (28 from oysters and 247 from major inland pollution sources) and examined the antimicrobial resistance patterns of all isolates. Isolates from both sources were highly resistant to rifampin (99.5-100%) and cephalothin (70.8-78.6%). The resistance rate was higher in *E. coli* isolated from oysters than those from inland pollution sources. Multiple resistance against at least four antimicrobials was observed in 85.7% and 21.0% of the oyster and major inland pollution sources isolates, respectively.

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

서론

육상에 인접한 연안해역에서 서식 또는 양식되고 있는 굴 등의 패류는 이동성이 거의 없고 여과섭식 활동을 하는 특성 때문에 해수나 뺨 중에 존재하는 세균, 바이러스, 항생제, 중금속 등을 체내에 축적한다(Grimes, 1991; Feldhusen, 2000; Bosch et al., 2015; U.S. FDA, 2017). 패류는 종류에 따라 생식, 가열조리 등 다양한 형태로 소비되며 우리 국민이 선호하는 수산물이지만 생산해역과 생리적 특성상 타 수산물에 비하여 식품안전을 위협하는 위해인자에 노출될 가능성이 높기에 생산단계부터 철저한 위생관리가 요구된다(Hunter et al., 1999; Mallin et al., 2001).

패류를 오염시키는 세균, 바이러스 등은 주로 분변을 포함한 오염물질들과 함께 자연하천, 생활하수관, 하수처리장 등 해역 주변의 육상오염원을 통해 해역으로 유입되어 해역의 수질과 패류의 위생상태를 악화시키기 때문에 우리나라를 비롯한 미국, 유럽연합(EU) 등 외국에서는 해수와 패류의 위생학적 안전성을 확보하기 위하여 각국의 실정에 맞는 세균학적 위생관리 기준을 정하여 해역을 관리하고 있으며, 세균학적 기준으로 사용되는 대표적인 위생지표세균은 대장균이다(U.S. FDA, 2017; EC, 2015). 대장균(*Escherichia coli*)은 해수와 패류의 오염 지표로 사용될 뿐만 아니라 사람과 동물의 장내에 상재하는 세균으로 빈번하게 투여되는 항생제에 노출되기 때문에 항생제 내성균 출현과 내성 획득과정을 이해하는데 유용하여 임상 및

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

E-mail address: jjy3626@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.2019.0605>

Korean J Fish Aquat Sci 52(6), 605-616, December 2019

Received 25 October 2019; Revised 15 November 2019; Accepted 26 November 2019

저자 직위: 권지영(연구사), 권순재(연구원), 양지혜(연구원), 정상현(연구사), 하광수(연구관), 목종수(연구관), 이희정(연구관), 정연중(연구사)

비임상 분야에서의 항생제 사용에 따른 내성실태 조사 및 항생제 내성패턴 연구 등의 대상 균종으로 널리 사용되어지고 있다 (Levin et al., 1997; Lee et al., 2018; MFDS, 2019b). 최근 남해안과 서해안의 어류, 패류 양식장 및 패류에서 검출된 대장균 중에는 항생제에 내성을 가진 균주들이 분리되고 있으며, 이들 중에는 다제내성을 가진 대장균도 있음이 보고되고 있다 (Son et al., 2009; Park et al., 2013; Jo et al., 2016; Kwon et al., 2016; Ryu et al., 2017; Kwon et al., 2018).

항생제는 사람이나 동물의 감염병 치료를 위한 필수 의약품으로 1940년에 최초의 항생제인 페니실린의 치료효과가 검증된 이후 수많은 감염질환의 치료가 가능해졌다. 그러나 항생제의 사용에 따른 내성균의 발생 및 광범위한 출현은 치료법이 없는 신종감염병 이상의 파괴력을 나타내며, 사망률 증가, 치료기간 연장, 의료비용 상승 등 공중보건에 큰 위협이 되면서 의학적으로나 사회적으로 심각한 문제가 되고 있다 (WHO, 2014; Lee et al., 2019). WHO (world health organization)에서는 항생제 내성의 주요 원인은 항생제의 오·남용이라고 제시하고 있으며, 내성균은 사람 외에 농축수산, 식품, 환경 등 생태계 내 다양한 경로를 통해 전파된다. 사람이나 축수산물에 투여된 항생제는 완전히 분해·대사되지 않은 상태로 배설되어 육상오염원을 통해 해양수계 등 자연환경으로 유입되며 유입된 항생제는 자연계에 존재하는 미생물의 항생제 내성을 유발시키고 내성균의 확산 및 다제내성균 출현의 원인으로 작용할 수 있다 (Kummerer, 2009; Moura et al., 2014).

이에 본 연구에서는 남동해안에 위치한 우리나라의 대표적인 굴 양식해역인 자란만·사량도 해역에서 생산된 굴과 해역 주변의 주요 육상오염원을 대상으로 위생관리의 지표가 되는 대장균의 검출율, 항생제에 내성을 가진 대장균의 분포 및 내성 패턴을 확인하였다. 동 연구의 결과들은 항생제 내성균으로부터 국민의 건강을 보호하기 위하여 범부처(보건복지부, 질병관리본부, 농림축산식품부, 환경부, 해양수산부, 식품의약품안전처)가 협력하여 추진하고 있는 ‘국가 항생제 내성 관리대책(2016-2020)’의 추진전략 및 과제와 연계하여 수산분야의 항생제 내성균 감시체계 강화 및 내성정보 구축을 위한 기초자료로 활용될 수 있을 것이다 (KCDC, 2016).

재료 및 방법

조사지점 및 시료채취

자란만·사량도 해역은 북동·북서쪽으로는 경상남도 고성군 삼산면과 하일면, 남서쪽으로는 통영시 사량도의 해안선과 접해 있으며 남쪽은 외해로 열려있는 반폐쇄성의 내만이다. 대장균의 항생제 내성 조사를 위하여 자란만·사량도 해역 내 굴 양식장 5개소와 해역 주변 주요 육상오염원 8개소를 조사지점으로 설정하였고 (Fig. 1), 조사기간인 2014년 1월부터 2015년 12월 까지 굴 시료는 매월 1회, 주요 육상오염원 시료는 분기별 1회

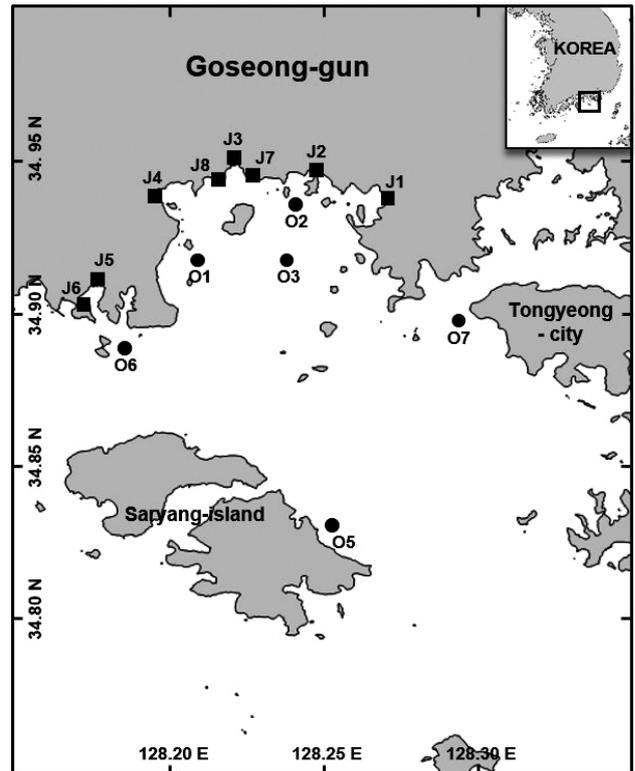


Fig. 1. Sampling stations of oysters (●) and major inland pollution sources (■) in the Jaranman-Saryangdo area

채취하였다. 양식장에서 채취한 굴은 해수로 깨끗이 씻어 멸균 비닐백(whirl-pak bags, Nasco International Inc., Janesville, WI, USA)에 담고, 주요 오염원 시료는 멸균 채수병에 채취하여 10°C 이하로 유지하면서 실험실로 운반한 후 실험에 사용하였다.

대장균군 및 분변계대장균 시험

대장균군 및 분변계대장균 시험은 laboratory procedures for the examination of sea water and shellfish (APHA, 1984) 방법에 준하여 실시하였다. 패류 및 육상오염원 시료의 추정시험에는 lauryl sulfate broth (Difco, Detroit, MI, USA)를 사용하여 35±0.5°C, 24-48시간 배양하였고, 확정시험에는 brilliant green bile lactose broth 2% (Difco, Detroit, MI, USA) 및 *E. coli* broth (Difco, Detroit, MI, USA)를 사용하여 각각 35±0.5°C, 24-48시간 및 44.5±0.2°C, 24시간 배양하였다. 대장균 및 분변계대장균수는 5개의 시험관을 사용하는 최확수 (most probable number, MPN)로 산출하여 100 g 또는 100 mL 당 MPN (MPN/100 g, MPN/100 mL)으로 표시하였다.

대장균 시험 및 분리동정

굴 시료의 대장균 시험은 ISO (2015)에 준하여 실시하였다.

탈각한 굴에 0.1% peptone 희석수를 첨가하여 균질화한 후 minerals modified glutamate medium (Oxoid, Basingstoke, UK)에 접종·배양(37±1°C, 24시간)하여 양성(yellow)으로 확인된 배양액은 tryptone bile x-glucuronide agar (Oxoid, Basingstoke, UK)에 희석 배양하였다(44±1°C에서 22±2 시간). 배양결과 청색(blue) 또는 청녹색 집락(blue-green colony)을 생성한 배양액은 대장균 양성으로 판정하고 그 결과는 100 g 당 MPN으로 표시하였다.

육상오염원 시료의 대장균 시험은 APHA 방법을 일부 변형하여 사용하였다. 추정시험 이후 확정시험의 *E. coli* broth 에서 양성으로 확인된 배양액은 tryptone bile x-glucuronide agar (Oxoid, Basingstoke, UK)에 희석 배양하여 청색 또는 청녹색 집락을 생성한 배양액은 대장균 양성으로 판정하고 그 결과는 100 mL 당 MPN으로 표시하였다. 굴과 육상오염원 시료에서 검출된 청색 또는 청녹색의 집락은 분리 배양 후 VITEK (Biomérieux, Marcy, France)으로 최종 확인·동정하였다.

항생제 내성 시험

굴과 육상오염원 시료에서 분리 동정된 대장균의 항생제 내성 확인에는 Acar and Goldstein (1991)의 디스크 확산법을 이용하였으며, 내성의 판정은 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2017) 기준을 근거로 하였다. 대장균 분리균주는 muller hinton broth (BBL, Sparks, MD, USA)에 접종, 배양(35°C, 18-24시간)하여 배양액의 탁도가 McFarland No. 0.5 정도가 되도록 희석한 후 muller hinton II agar (BBL, Sparks,

MD, USA) 평판에 도말하고 배양액이 흡수되도록 실온에서 5분간 방치한 다음 15분 이내에 항생제 디스크(Sensi-disc, BBL, Sparks, MD, USA)를 평판에 고착시켰다. 항생제는 amikacin(30 µg, AN), amoxicillin/clavulanic acid (20/10 µg, AMC), ampicillin (10 µg, AM), aztreonam (30 µg, ATM), ce-famandole (30 µg, MA), cefazolin (30 µg, CZ), cefepime (30 µg, FEP), cefotaxime (30 µg, CTX), cefotetan (30 µg, CTT), ceftoxitin (30 µg, FOX), ceftazidime (30 µg, CAZ), cephalo-thin (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 (10 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 (BBL, Sparks, MD, USA) 평판은 35°C에서 16-18시간 배양한 후 증식 저해대(inhibition zone)의 크기를 측정하여 항생제 내성 유무를 판별하였으며, 내성 시험결과의 정도관리(quality control)는 표준균주인 *E. coli* ATCC 25922를 이용하여 CLSI 에서 규정한 허용범위(quality control range)를 확인하였다. 항생제 내성 시험결과에 따른 분리균주의 다제내성 정도는 MAR (multiple antimicrobial resistance) index로 나타내었고, MAR index는 시험에 사용된 총 항생제 수에 대한 내성을 나타내는 항생제 수의 비율로 계산하였다(Krumperman, 1983; Titilawo et al., 2015).

Table 1. Bacteriological examination results of oysters *Crassostrea gigas* and major inland pollution sources in the Jaranman-Saryangdo area

Samples	Station	Detection Range (MPN/100 g or 100 mL)			No. of samples
		Total coliform	Fecal coliform	<i>E. coli</i>	
Oyster	O-1	<18-230	<18-20	<20-<20	17
	O-2	<18-490	<18-20	<20-20	7
	O-3	<18-220	<18-170	<20-170	16
	O-5	<18-790	<18-130	<20-130	22
	O-6	<18-130	<18-78	<20-80	10
	O-7	<18-230	<18-78	<20-80	12
	Total		<18-790	<18-170	<20-170
Inland pollution source	J-1	240-7,900	4.0-790	3.6-17	8
	J-2	13-4,900	2.0-1,600	3.6-23	8
	J-3	23-11,000	<1.8-540	5.5-17	8
	J-4	240-54,000	33-3,300	1.8-110	8
	J-5	11-7,900	<1.8-2,200	10-170	8
	J-6	70-240,000	2.0-35,000	2.0-13,000	8
	J-7	700-24,000	13-7,900	13-170	7
	J-8	330-24,000	49-7,900	11-140	7
Total	-	11-240,000	<1.8-35,000	2.0-13,000	62

결과 및 고찰

굴 및 육상오염원의 세균학적 위생상태 평가

자란만사량도 해역에서 생산된 굴의 세균학적 위생상태를 평가하기 위하여 2014년 1월부터 2015년 12월까지 6개의 조사지점에서 채취한 84개의 굴 시료를 대상으로 대장균군, 분변계대장균 및 대장균수를 확인한 결과, 분변계대장균과 대장균수의 범위는 각각 $1.8\text{--}170\text{ MPN}/100\text{ g}$, <math><20\text{--}170\text{ MPN}/100\text{ g}</math>이었고(Table 1), 대장균수의 기하학적 평균(geometric mean) 및 계산된 백분위의 90번째 값(estimated 90th percentile)의 범위는 각각 <math><20\text{--}29.8\text{ MPN}/100\text{ g}</math>, <math><20\text{--}65.5\text{ MPN}/100\text{ g}</math>으로 대장균을 비롯한 위생지표세균의 오염도는 낮았다(Fig. 2). 우리나라에서는 생식용 굴에 대하여 대장균이 230 MPN/100 g 이하이어야 하고 700 MPN/100 g을 초과하는 시료가 없어야 한다고 규정하고 있으며(MOF, 2015; MOF, 2018; MFDS, 2019a), 유럽연합에서는 패류의 대장균 오염도에 따라 패류 생산해역의 등급(A, B, C)과 생식여부를 구분하고 있다(EC, 2015). 유럽연합에서 설정한 A등급 해역은 조사기간 동안 생산된 패류 시료의 80%가 대장균수 230 MPN/100 g 이하인 해역(모든 패류 시료는 700 MPN/100 g 이하)으로서 A등급 해역에서 생산된 패류는 수확 후 즉시 섭취(생식), 출하, 판매가 가능하다. 패류 시료의 90%가 대장균수 4,600 MPN/100 g 이하인 해역(모든 패류 시료는 46,000 MPN/100 g 이하)은 B등급 해역, 생산된 모든 패류 시료의 대장균값이 46,000 MPN/100 g 이하인 해역은 C 등급 해역으로서 B와 C 등급 해역에서 생산된 패류는 반드시 인공정화(depuration) 또는 자연정화(relaying) 후 출하하거나 승인된 방법으로 위생처리(가열, 가공 등) 후 판매하여야 한다. 본 연구의 조사결과 자란만사량도 해역의 굴에서 검출된 대장균수는 모두 170 MPN/100 g 이하로 유럽연합의 기준에 따라 수확 후 즉시 섭취(생식) 및 판매가 가능한 A등급 해역에서 생산된 수준이었고, 우리나라 생식용 굴의 기준에도 적합한 것으로 확인되었다.

자란만사량도 해역 주변 배수유역에 위치한 8개소의 주요 육상오염원 시료 62개에서 확인한 분변계대장균 및 대장균수의 범위는 각각 $1.8\text{--}35,000\text{ MPN}/100\text{ g}$, $2.0\text{--}940\text{ MPN}/100\text{ g}$이었다(Table 1). 대장균수의 기하학적 평균 및 계산된 백분위의 90번째 값의 범위는 각각 $7.5\text{--}137.2\text{ MPN}/100\text{ g}$, $17.5\text{--}4,846.1\text{ MPN}/100\text{ g}$으로 J1 (미룡천), J2 (삼봉천), J3 (수양천) 지점에서의 대장균 오염도는 아주 낮았고 J6 지점(용암포마을 하수)에서 가장 높았다(Fig. 2). J6 지점은 용암포마을 인가 밀집지역 입구에 위치하고 있어 마을의 생활오수가 많이 유입되는 곳으로 조사 당시에는 용암포마을과 인근 춘암마을에 마을하수처리장이 가동되고 있지 않았기 때문에(2013년 착공, 2016년 완공) 미처리된 경작지, 가축분뇨, 정화조의 오수 등 분변을 포함한 오염물질들이 직접 유입되어 대장균의 오염도가 높게 나타난 것으로 추정된다. 조사가 진행되었던 2014년과 2015년 당시 육상

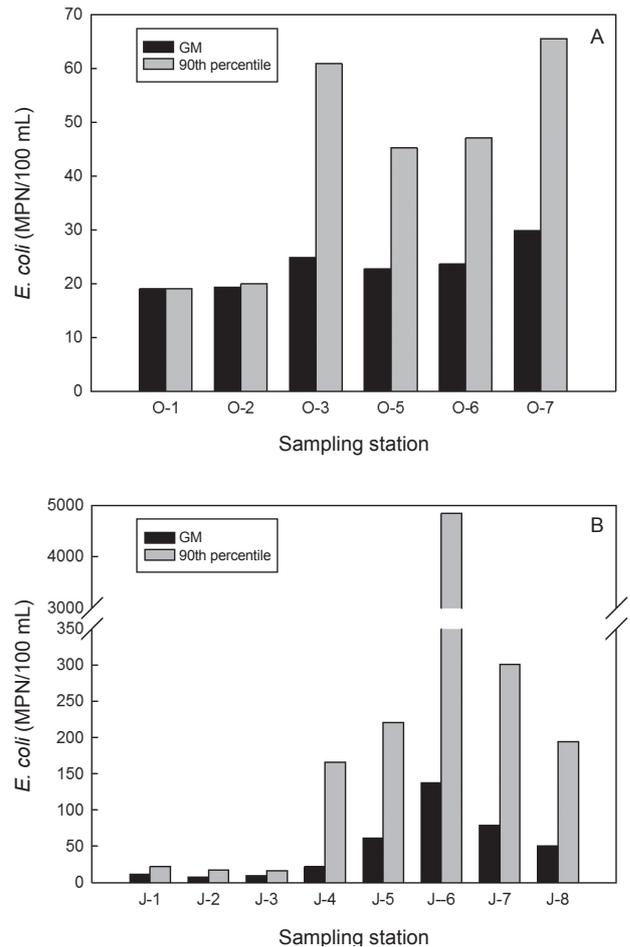


Fig. 2. Level of *E. coli* of oysters *Crassostrea gigas* and major inland pollution sources in the Jaranman-Saryangdo area

오염원 8개소 중 오염도가 낮은 J1, J2, J4 (염밭마을 하수) 지점이 위치한 배수유역에는 마을하수처리장(용호, 삼봉, 삼산문화, 임포 하수처리장)이 가동되고 있었고, J3, J5 (오방천), J6 (용암포마을 하수), J7 (삼태마을 하수) 및 J8 (용태마을 하수) 지점이 위치한 배수유역에는 마을하수처리장이 건설 중이거나 건설 예정이었다. Park et al. (2018)은 자란만사량도 해역 주변 배수유역에 위치한 하수처리장 3개소(용호, 삼산문화, 임포 하수처리장)의 배출수에서 대장균을 분리하지 못했는데 그 원인은 하수처리장의 최종 배출단계에 설치되어 있는 자외선램프의 살균효과에 의한 것이라고 보고하였다(Kim et al., 2016a). 이상의 조사결과 오염도가 높은 육상오염원이 존재하는 배수유역에는 마을하수처리장의 조속한 건설 추진이 필요함을 확인할 수 있었으며, 육상오염원 관리를 위해서는 지속적인 모니터링을 통한 오염원의 오염도 파악 및 조사결과를 바탕으로 한 오염원 관리 대책의 수립이 필요할 것으로 생각된다.

대장균의 분리 및 항생제 내성

자란만사랑도 해역에서 채취한 굴(84개)과 육상오염원 시료(62개)에서 대장균이 검출된 시료는 각각 22개(26.2%), 43개(69.4%)로 대장균은 굴보다 육상오염원에서의 2.5배이상 높게 검출되었다(Table 2). 대장균이 검출된 시료에서는 총 247균주(굴 28균주, 육상오염원 219균주)의 대장균을 분리하였고, 분리한 대장균을 대상으로 24종의 항생제에 대한 내성 시험 결과는 각각 Table 3과 Table 4에 나타내었다.

굴에서 분리한 대장균 28균주는 모두 rifampin (100%)에 대한 내성을 나타내었고 cephalothin, cefepime, ceftazidime, tobramycin에 대해서는 64.3-78.6%, ampicillin, piperacillin, tetracycline에는 50%의 균주가 내성을 나타내었으나, amoxicillin/clavulanate, cefotaxime, ceftaxitin, imipenem, amikacin에 대한 내성은 확인되지 않았다. 그리고 cefotaxime, ceftaxitin, imipenem에 대해서는 모든 균주가 감수성(100%)을 나타내었고, amoxicillin/clavulanate, gentamicin에는 26개의 균주(92.9%)가 감수성을 나타내었다(Table 3).

이전의 연구결과를 살펴보면 2011년부터 2012년까지 남해안 3개 지역(고흥, 여수, 남해)의 패류(굴, 바지락, 피조개)에서 분리한 대장균의 내성률은 tetracycline (29.9%), streptomycin (25.5%), ampicillin (18.6%) 순으로 높았고(Park et al., 2013), 2013년부터 2015년까지 서해안의 패류(굴, 바지락, 가무락)에서 분리한 대장균은 ampicillin (37.2%), cephalothin (21.7%),

Table 2. Number of *E. coli* isolated from oysters *Crassostrea gigas* and inland pollution sources in the Jaranman-Saryangdo area

Samples	Station	No. of samples	No. of positive samples (%)	No. of isolates
Oyster	O-1	17	0 (0.0)	0
	O-2	7	2 (28.6)	6
	O-3	16	5 (31.3)	6
	O-5	22	6 (27.3)	6
	O-6	10	2 (20.0)	4
	O-7	12	7 (58.3)	6
	Subtotal	-	84	22 (26.2)
Inland pollution source	J-1	8	6 (75.0)	30
	J-2	8	6 (75.0)	25
	J-3	8	5 (62.5)	25
	J-4	8	5 (62.5)	29
	J-5	8	5 (62.5)	27
	J-6	8	6 (75.0)	28
	J-7	7	5 (71.4)	26
	J-8	7	5 (71.4)	29
Subtotal	-	62	43 (69.4)	219
Total	-	146	65 (44.5)	247

Table 3. Antimicrobial resistance of *E. coli* isolated from oysters *Crassostrea gigas* in the Jaranman-Saryangdo area

Antimicrobial agents	No. of isolates (%)		
	Susceptible	Intermediate	Resistant
Penicillins			
Ampicillin (AM)	6 (21.4)	8 (28.6)	14 (50.0)
Piperacillin (PIP)	12 (42.9)	2 (7.1)	14 (50.0)
β-Lactams			
Amoxicillin/Clavulanate (AMC)	26 (92.9)	2 (7.1)	0 (0.0)
Cephems			
Cefamandole (MA)	22 (78.6)	2 (7.1)	4 (14.3)
Cefazolin (CZ)	26 (92.9)	4 (14.3)	4 (14.3)
Cefepime (FEP)	9 (32.1)	0 (0.0)	19 (67.9)
Cefotaxime (CTX)	20 (71.4)	4 (14.3)	4 (14.3)
Cefotetan (CTT)	28 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Cefoxitin (FOX)	28 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Ceftazidime (CAZ)	9 (32.1)	0 (0.0)	19 (67.9)
Cephalothin (CF)	2 (7.1)	4 (14.3)	22 (78.6)
Monobactams			
Aztreonam (ATM)	23 (82.1)	2 (7.1)	3 (10.7)
Penems			
Imipenem (IPM)	28 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Aminoglycosides			
Amikacin (AN)	22 (78.6)	6 (21.4)	0 (0.0)
Gentamicin (GM)	26 (92.9)	1 (3.6)	1 (3.6)
Streptomycin (S)	10 (35.7)	10 (35.7)	8 (28.6)
Tobramycin (NN)	10 (35.7)	0 (0.0)	18 (64.3)
Ansamycins			
Rifampin (RA)	0 (0.0)	0 (0.0)	28 (100.0)
Tetracyclines			
Tetracycline (TE)	13 (46.4)	1 (3.6)	14 (50.0)
Quinolone and fluoroquinolones			
Ciprofloxacin (CIP)	19 (67.9)	2 (7.1)	7 (25.0)
Nalidixic acid (NA)	17 (60.7)	0 (0.0)	11 (39.3)
Phenicols			
Chloramphenicol (C)	18 (64.3)	1 (3.6)	9 (32.1)
Folate pathway inhibitors			
Trimethoprim/Sulfamethoxazole (SXT)	18 (64.3)	0 (0.0)	10 (35.7)
Trimethoprim (TMP)	18 (64.3)	0 (0.0)	10 (35.7)

cefazolin (19.9%) 순으로 내성률을 나타내었으며 남해안 3개 지역과 달리 tetracycline에 대한 내성률은 4% 수준으로 낮았다 (Jo et al., 2016; Ryu et al., 2017). 2014년과 2015년에 고성군(북쪽), 통영시(남쪽), 거제시(동쪽)에 접하고 있는 남해안 용남광도 해역의 굴에서 분리한 대장균의 내성률은 rifampin (100%), cephalothin (73.2%), cefepime, ceftazidime, tobramycin (71.4%) 순으로 높았는데, 이러한 결과는 자란만사량도 해역의 굴에서 분리한 대장균의 내성과 유사한 경향을 나타내는 것이었다. 그러나 자란만사량도 해역의 굴에서 분리한 대장균의 50%가 ampicillin, piperacillin, tetracycline에 대해 내성을 나타낸 반면, 용남광도 해역의 굴에서 분리한 대장균은 이들 3종에 대한 내성률이 10.7-14.3%로 낮았다(Kwon et al., 2018). 이상의 결과에서 서해안과 남해안의 패류에서 분리한 대장균의 ampicillin, piperacillin, tetracycline에 대한 내성률은 해역에 따른 차이가 있긴 하나 감소하는 경향을 나타내고, cephalothin과 같은 cephem계 항생제에 대한 내성률은 증가하고 있음을 확인할 수 있었다.

자란만사량도 해역의 육상오염원에서 분리한 대장균(219균주) 또한 굴에서 분리한 균주와 마찬가지로 rifampin (99.5%) 과 cephalothin (70.8%)에 대해 높은 내성률을 나타내었고, tetracycline (17.8%), streptomycin (17.4%), ampicillin (16.9%), piperacillin (12.8%) 순으로 내성을 나타내었다. 이들 6종 이외 18종의 항생제에 대한 내성률은 0.5-8.7%로 낮았고 amoxicillin/clavulanate, cefepime, cefotetan, ceftazidime, imipenem에 대해서는 95% 이상의 감수성을 나타내었다(Table 4.). 본 연구 결과와는 달리 한산거제만과 자란만사량도 해역의 주변 육상오염원(거제시, 통영시, 고성군 소재 하천 및 마을하수)에서 분리한 대장균의 내성 패턴에 대한 연구결과에서는 tetracycline (10.6%)에 대한 내성률이 가장 높았고 다른 항생제들의 내성률은 5% 이하이거나 내성을 나타내지 않았으며(Park et al., 2018), 남해 창선 해역의 육상오염원에서 분리한 대장균도 tetracycline과 ampicillin에 대한 내성률이 가장 높았다고 보고되어 있다(Kwon et al., 2016). 그러나 용남광도 해역의 육상오염원에서 분리한 대장균의 내성률은 rifampin (99.4%), cephalothin (69.9%)에서 높았고 나머지 항생제들의 내성률은 20% 이하였다고 보고하고 있다(Kwon et al., 2018).

2014년과 2015년에 자란만사량도 해역에서 채취한 굴과 오염원 시료를 대상으로 한 본 연구결과, 항생제별 내성률은 육상오염원 시료보다 굴에서 높게 나타났는데 이는 이동성이 없는 패류의 특성에 의한 것으로 육상오염원에서 유입되는 항생제가 패류의 여과섭식 과정 중에 축적되기 때문이다(Grimes, 1991; Feldhusen, 2000). 따라서 패류와 육상오염원에서 분리한 대장균의 내성 패턴은 수계에 잔류하는 항생제의 종류와 양(Kim et al., 2008; Jang et al., 2017; Lee et al., 2017), 해역 주변 배수유역의 현황과 밀접하게 관련되어 있다(Peak et al., 2007; Ferreira et al., 2007; Reinthaler et al., 2010).

Table 4. Antimicrobial resistance of *E. coli* isolated from major inland pollution sources in the Jaranman-Saryangdo area

Antimicrobial agents	No. of isolates (%)		
	Susceptible	Intermediate	Resistant
Penicillins			
Ampicillin (AM)	101 (46.1)	81 (37.0)	37 (16.9)
Piperacillin (PIP)	108 (49.3)	83 (37.9)	28 (12.8)
β-Lactams			
Amoxicillin/ Clavulanate (AMC)	208 (95.0)	4 (1.8)	7 (3.2)
Cephems			
Cefamandole (MA)	197 (90.0)	6 (2.7)	16 (7.3)
Cefazolin (CZ)	183 (83.6)	17 (7.8)	19 (8.7)
Cefepime (FEP)	218 (99.5)	0 (0.0)	1 (0.5)
Cefotaxime (CTX)	167 (76.3)	38 (17.4)	14 (6.4)
Cefotetan (CTT)	215 (98.2)	2 (0.9)	2 (0.9)
Cefoxitin (FOX)	202 (92.2)	5 (2.3)	12 (5.5)
Ceftazidime (CAZ)	216 (98.6)	0 (0.0)	3 (1.4)
Cephalothin (CF)	16 (7.3)	48 (21.9)	155 (70.8)
Monobactams			
Aztreonam (ATM)	194 (88.6)	19 (8.7)	6 (2.7)
Penems			
Imipenem (IPM)	217 (99.1)	1 (0.5)	1 (0.5)
Aminoglycosides			
Amikacin (AN)	188 (85.8)	29 (13.2)	2 (0.9)
Gentamicin (GM)	200 (91.3)	8 (3.7)	11 (5.0)
Streptomycin (S)	84 (38.4)	97 (44.3)	38 (17.4)
Tobramycin (NN)	201 (91.8)	8 (3.7)	10 (4.6)
Ansamycins			
Rifampin (RA)	1 (0.5)	0 (0.0)	218 (99.5)
Tetracyclines			
Tetracycline (TE)	62 (28.3)	118 (53.9)	39 (17.8)
Quinolone and fluoroquinolones			
Ciprofloxacin (CIP)	205 (93.6)	7 (3.2)	7 (3.2)
Nalidixic acid (NA)	160 (73.1)	44 (20.1)	15 (6.8)
Phenicol			
Chloramphenicol (C)	204 (93.2)	6 (2.7)	9 (4.1)
Folate pathway inhibitors			
Trimethoprim/ Sulfamethoxazole (SXT)	201 (91.8)	2 (0.9)	16 (7.3)
Trimethoprim (TMP)	197 (90.0)	5 (2.3)	17 (7.8)

2014년과 2015년도에 판매량이 많았던 축·수산용 항생제는 penicillin계, tetracycline계 및 cepheims계열의 항생제로 penicillin계와 tetracycline계 항생제는 2006년 이후 판매량이 감소하는 추세를 나타냈지만 cepheims계열의 항생제 판매량은 5배 증가하였다. 그리고 소와 돼지 분변 유래 대장균은 tetracycline과 streptomycin에 대한 내성률이 높았고 닭 유래 균주의 내성률은 (fluoro) quinolones계 항생제인 ciprofloxacin과 nalidixic acid, cephem계 항생제인 cephalothin에서 높게 나타났다(MFDS, 2015; MFDS, 2016). 또한 2002년부터 2013년까지 국내 총 항생제 처방량은 penicillin 계열이 가장 많았고 다음으로는 cephem 계열이었는데 cephem 계열 항생제의 사용량은 2배 이상 증가하였으며 10세 미만의 소아와 60세 이상의 노령층에서는 penicillin 계열보다 더 많이 사용되고 있다(Kim et al., 2016; Kim et al., 2017; Lee et al., 2019). 따라서 자란만사랑도 해역에서 분리한 대장균의 내성 패턴은 조사가 행해진 이전부터 조사 시까지 축·수산용 항생제의 판매량, 가축의 분변 유래 대장균의 내성률 및 질병 치료를 위해 처방된 항생제 사용현황과 관련이 있는 것으로 사료되며, 향후 항생제 내성 연구는

보다 정밀한 내성경향 분석을 위하여 내성균 오염원 추적조사 (source tracking) 및 내성인자의 분자생물학적 특성 분석 등이 병행되어야 할 것이다.

대장균의 다제내성

미생물의 항생제 내성은 항생제를 사용하기 때문에 발생한다. 특히 항생제의 오·남용은 항생제 내성 발생의 가장 큰 원인이며 다양한 항생제의 사용은 다제내성균의 출현을 증가시켜 의학적으로나 사회적으로 문제가 되고 있다. 이에 본 연구에서는 자란만사랑도 해역의 굴과 육상오염원에서 분리한 대장균을 대상으로 4종 이상의 항생제에 내성을 나타내는 다제내성(multiple antimicrobial resistance, MAR) 패턴과 MAR index를 확인하였다(Table 5, Table 6). 시험에 사용된 총 항생제 수에 대한 내성을 나타내는 항생제 수의 비율로 계산되는 MAR index는 항생제에 의한 환경오염의 정도를 반영하여 항생제 사용에 따른 잠재적인 건강 위해도 평가에 사용되며 MAR index가 0.2보다 크다는 것은 항생제 오염에 대한 위험이 존재한다는 것을 의미한다(Krumpferman, 1983; Titilawo et al., 2015).

Table 5. Multiple antimicrobial resistance (MAR) of *E. coli* isolated from oysters *Crassostrea gigas* in Jaranman-Saryangdo area

No. of antimicrobials	Resistance patterns	No. of isolates	Total (%)	MAR index
1	RA	3	10.71	0.04
2	CF, RA	1	3.57	0.08
5	PIP, RA, TE, SXT, TMP	1	3.57	0.21
	FEP, CAZ, CF, NN, RA	3	10.71	
6	AM, PIP, CF, RA, TE, NA	1	3.57	0.25
	FEP, CAZ, CF, NN, RA, C	4	14.29	
7	AM, PIP, S, RA, TE, SXT, TMP	2	7.14	0.29
	FEP, CAZ, CF, S, NN, RA, TE	1	3.57	
9	FEP, CAZ, CF, NN, RA, NA, C	1	3.57	0.38
	AM, PIP, FEP, CAZ, CF, NN, RA, NA, C	1	3.57	
10	AM, MA, CTX, CAZ, CF, ATM, RA, TE, SXT, TMP	1	3.57	0.32
	AM, PIP, CZ, FEP, CF, S, RA, TE, SXT, TMP	1	3.57	
	AM, PIP, FEP, CAZ, CF, NN, RA, TE, NA, C	1	3.57	
	AM, PIP, FEP, CAZ, CF, NN, RA, CIP, NA, C	1	3.57	
13	AM, PIP, FEP, CAZ, CF, S, NN, RA, TE, CIP, NA, SXT, TMP	2	7.14	0.54
14	AM, PIP, FEP, CAZ, CF, S, NN, RA, TE, CIP, NA, C, SXT, TMP	1	3.57	0.58
15	AM, PIP, MA, CZ, FEP, CTX, CAZ, CF, NN, RA, TE, CIP, NA, SXT, TMP	1	3.57	0.63
	AM, PIP, MA, CZ, FEP, CTX, CAZ, CF, ATM, S, NN, RA, TE, CIP, NA,	1	3.57	
17	AM, PIP, MA, CZ, FEP, CTX, CAZ, CF, ATM, GM, NN, RA, TE, CIP, NA, SXT, TMP	1	3.57	0.71
		28	100	

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

Table 6. Multiple antimicrobial resistance (MAR) of *E. coli* isolated from major inland pollution sources in Jaranman-Saryangdo area

No. of antimicrobials	Resistance patterns	No. of isolates	Total (%)	MAR index
1	GM	1	0.46	0.04
	RA	48	21.92	
2	AM, RA	3	1.37	0.08
	PIP, RA	1	0.46	
	CTX, RA	1	0.46	
	CF, RA	82	37.44	
	S, RA	1	0.46	
	RA, TE	1	0.46	
	RA, CIP	1	0.46	
	RA, SXT	1	0.46	
	AM, CF, RA	6	2.74	
	PIP, CF, RA	3	1.37	
3	MA, CF, RA	3	1.37	0.13
	FOX, S, RA	1	0.46	
	CF, AN, RA	2	0.91	
	CF, S, RA	7	3.20	
	CF, NN, RA	1	0.46	
	CF, RA, TE	7	3.20	
	CF, RA, NA	1	0.46	
	S, RA, TE	2	0.91	
	AM, PIP, CF, RA	1	0.46	
	MA, CTX, FOX, RA	1	0.46	
4	CZ, FOX, CF, RA	1	0.46	0.17
	CTX, CF, S, RA,	1	0.46	
	CF, S, RA, NA	2	0.91	
	CF, S, RA, TE	1	0.46	
	CF, RA, TE, CIP	1	0.46	
	CF, RA, TE, C	2	0.91	
	AM, PIP, CF, ATM, RA	1	0.46	
	AM, AMC, CZ, CF, RA	1	0.46	
5	AM, CZ, FOX, CF, RA	1	0.46	0.21
	AM, CZ, CF, NN, RA	1	0.46	
	AMC, CZ, CF, RA, TE	2	0.91	
	CZ, FOX, CF, RA, TE	1	0.46	
	CF, S, RA, TE, C	1	0.46	
	IPM, RA, TE, SXT, TMF	1	0.46	

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

Table 6. Contuned

No. of antimicrobials	Resistance patterns	No. of isolates	Total (%)	MAR index	
6	AM, PIP, CF, S, RA, TE,	1	0.46		
	AM, PIP, CF, RA, TE, NA	1	0.46		
	AM, AMC, CZ, FOX, CF, RA	1	0.46		
	AM, PIP, CF, RA, TE, NA	1	0.46		
	PIP, MA, CTX, CF, S, RA	1	0.46		
7	AM, PIP, AMC, CF, S, RA, TE	1	0.46		
	AM, PIP, CF, GM, S, RA, TE	1	0.46		
	AM, CZ, FOX, CF, S, RA, TE	2	0.91		0.29
	PIP, MA, CTX, CTT, FOX, CF, RA	1	0.46		
	CF, RA, TE, CIP, NA, SXT, TMP	1	0.46		
8	AM, PIP, CF, S, RA, TE, NA, C	1	0.46	0.33	
	AM, PIP, CF, S, RA, TE, SXT, TMP	1	0.46		
	AM, PIP, CF, ATM, S, RA, TE, TMP	1	0.46		
	AM, PIP, S, RA, TE, C, SXT, TMP	1	0.46		
10	AM, PIP, CF, GM, S, RA, TE, NA, SXT, TMP	1	0.46	0.42	
	AM, PIP, CF, GM, S, NN, RA, TE, SXT, TMP	1	0.46		
	AM, PIP, MA, CZ, CTX, CF, S, RA, SXT, TMP	1	0.46		
11	AM, PIP, MA, CF, GM, S, NN, RA, TE, NA, C	1	0.46	0.46	
12	AM, PIP, MA, CZ, CTX, CF, GM, S, RA, NA, SXT, TMP	2	0.91	0.50	
	AM, PIP, MA, CZ, CTX, CF, GM, S, NN, RA, SXT, TMP	1	0.46		
14	AM, PIP, MA, CZ, CTX, CF, ATM, GM, NN, RA, TE, NA, SXT, TMP	1	0.46	0.58	
15	AM, PIP, MA, CZ, FEP, CTX, CF, GM, S, NN, RA, TE, CIP, NA, TMP	1	0.46	0.63	
19	AM, PIP, MA, CZ, CTX, FOX, CAZ, CF, ATM, GM, S, NN, RA, TE, CIP, NA, C, SXT, TMP	1	0.46	0.79	
	AM, PIP, AMC, MA, CZ, CTX, FOX, CAZ, CF, ATM, S, NN, RA, TE, CIP, NA, C, SXT, TMP	1	0.46		
20	AM, PIP, AMC, MA, CZ, CTX, CTT, FOX, CAZ, CF, ATM, S, NN, RA, TE, CIP, NA, C, SXT, TMP	1	0.46	0.83	
		219	100		

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

굴에서 분리한 대장균 중 24개의 균주(85.7%)는 4종 이상의 항생제에 내성을 나타내었고, 이들 중에는 6종(cefepime, ceftazidime, cephalothin, tobramycin, rifampin, chloramphenicol)의 항생제에 내성을 나타내는 균주가 가장 많았다(5 균주, 17.9%). 다제내성을 나타낸 균주 중 20개의 균주(71.4%)는 MAR index가 0.2 이상이었으며(Table 5), 이들 중 O-6 지점의 굴에서 분리한 1개 균주는 17종의 항생제에 내성을 나타내었으며 MAR index는 0.61로 가장 높았다. O-6 지점은 대장균 오염도가 가장 높았던 육상오염원 J6 (용암포마을 하수) 지점 인근 해역에 설치되어 있는 지점으로 이 지점의 굴에서 분리한 대장균의 평균 MAR index는 0.53으로 다른 지점의 굴보다 높았다.

육상오염원에서 분리한 대장균은 최소 1종에서 20종의 항생제 대하여 내성을 나타내었고 rifampin과 cephalothin에 내성을 나타내는 균주가 37.4% (82균주)로 가장 많았으며, 다제내성 패턴은 굴보다 다양하였다(Table 6). 육상오염원 분리균주 중 다제내성균은 46개(21.0%)인 것으로 확인되었고 다제내성을 나타낸 균주 중 36개의 균주는 MAR index가 0.2 이상이었다. 이들 중 J7 (삼태마을 하수) 지점에서 분리한 1개의 균주는 20종의 항생제에 내성을 나타내어 MAR index가 0.83으로 가장 높았으며, 육상오염원 지점별 평균 MAR index 또한 J7지점에서 가장 높았다(0.24). 대장균의 오염도가 다른 지점보다 아주 높았던 J6지점에서 분리한 대장균은 최대 14개의 항생제에 대

한 내성을 나타내었으며(MAR index 0.58), 평균 MAR index는 0.20이었다.

본 연구결과 굴과 육상오염원 시료에서 4종 이상의 항생제에 내성을 나타내는 다제내성균의 비율은 각각 71.4%, 21.0%이었으며, 항생제별 내성률 결과(Table 3, Table 4)와 마찬가지로 굴에서 높게 나타났다. 이러한 경향은 용남광도 해역의 연구결과에서도 확인되었는데, 굴에서 분리한 대장균 중 다제내성균의 비율(7.3%)은 육상오염원(26.4%) 보다 높게 나타났다. 육상오염원 분리균주에서 항생제 내성과 다제내성균의 검출률이 낮은 이유는 여과섭식 과정을 통해 수계에 잔류하는 항생제를 축적하는 패류와 달리 가축의 분변, 자연계를 통해 육상오염원으로 유입된 항생제는 수계를 통해 이동·확산되어 축적되지 않기 때문이며, 강우량(풍수기, 갈수기 등), 조사시기(농번기 등) 등의 환경조건과 하수처리장의 물리·화학적 처리공정 등의 영향으로(Kim et al., 2008) 다양한 항생제 내성 패턴을 나타내는 것으로 사료된다. 그리고 사람이나 가축의 분변 등을 통해 유입된 대장균의 오염도가 높은 경우 항생제 내성 및 다제내성균의 검출률도 높을 것으로 추정되나, 세균의 오염도와 항생제 내성과의 정확한 상관관계를 파악하기 위해서 향후 지속적인 모니터링과 연구가 필요할 것이다. 또한 해역의 위생관리를 위하여 육상오염원 저감대책으로 추진되고 있는 하수처리장의 증설은 항생제 내성 미생물의 불활성화를 포함한 세균, 바이러스 등 생물학적 오염물질의 해역 유입 차단에는 최선의 대책이다. 그러나 항생제 및 항생제 내성 유전자의 경우 생물학적 오염물질과 달리 일반적인 하수처리장의 처리 공정(염소 소독, UV 살균 등)으로는 저감 또는 제거할 수 없기 때문에 수산물 생산해역으로의 항생제 유입을 제어할 수가 없다(NIER, 2011). 따라서 안전한 수산물을 생산하기 위해서는 적극적인 육·해상오염원 관리와 더불어 항생제 내성균의 증가와 다제내성균의 출현을 최소화할 수 있도록 항생제 사용 저감 및 항생제 내성 미생물의 제어기술 개발 연구 추진 등 국가차원에서의 항생제 관리를 위한 노력이 더욱 강화되어야 할 것이다.

사 사

이 논문은 2019년 국립수산물품질관리원 수산물안전연구사업 수출패류 생산해역 및 수산물 위생조사(R2019050)의 지원으로 수행된 연구이며 연구비 지원에 감사드립니다.

References

- APHA (American Public Health Association). 1984. Laboratory procedures for the examination of seawater and shellfish. 5th Ed. American Public Health Association, Washington DC, U.S.A., 1-47.
- Bosch AC, O'Neill B, Sigge GO, Kerwath SE and Hoffman LC. 2015. Heavy metal and marine fish meat and consumer health: a review. *J Sci Food Agric* 96, 32-48. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7360>.
- 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.
- EC (European Commission). 2015. Commission regulation (EU) 2015/2285 amending Annex II to regulation (EC) No 854/2004 of the European Parliament and of the Council laying down specific rules for the organisation of official controls on products of animal origin intended for human consumption. Retrieved from <http://data.europa.eu/eli/reg/2015/2285/oj> on Oct 4, 2019.
- 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).
- 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>.
- Hunter C, Perkins J, Tranter J and Gunn J. 1999. Agricultural land-use effects on the indicator bacterial quality of an upland stream in the derbyshire peak district in the UK. *Water Res* 33, 3577-3586. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(99\)00083-4](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(99)00083-4).
- 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. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- 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>.
- KCDC (Korea Centers for Disease Control and Prevention) 2016. National action plan for combating antibiotic-resistance (2016-2020). Retrieved from <https://www.cdc.go.kr/board.es?mid=a40303010000&bid=0015> on Oct 22, 2019.
- 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 SH, Kim KM, Kim GI and Choe JW. 2016a. Disinfection of *E. coli* from wastewater using non-contact type UV photoreactor and log inactivation index. *J Korean Soc Water Wastewater* 30, 1225-7672. <http://dx.doi.org/10.11001/jksww.2016.30.2.139>.
- Kim YA, Park YS, Youk TM, Lee SS and Son YJ. 2016b. A study on the use of antibiotics in Korea and the resistance of major pathogens to antibiotics. National Health Insurance Service Ilsan hospital report 2016-20-001, NHIS Ilsan Hospital, Goyang, Korea, 1-116.
- 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 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. <http://do.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. <http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2016.0564>.
- 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>.
- 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>.
- Lee HM, Yoon EJ, Kim DK, Jeong SH, Won EJ, Shin JH, Kim SH, Shin SH, Shin KS, Kim YA, Uh Y, Yang GW, Kim IH, Park C and Lee KJ. 2018. Antimicrobial resistance of major clinical pathogens in South Korea, May 2016 to April 2017: First one-year report from KOR-GLASS. *Eurosurveillance* 23, 1800047. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.42.1800047>.
- 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, 9-16. https://doi.org/10.1093/clinids/24.supplement_1.s9.
- Mallin MA, Ensign SH, McIver MR, Shank GC and Fowler PK. 2001. Demographic, landscape, and meteorological factors controlling the microbial pollution of coastal waters. *Hydrobiologia* 460, 185-193. <http://dx.doi.org/10.101023/A:1013169401211>.
- MFDS (Ministry of Food and Drug Safety). 2015. Report of the national antimicrobial use and resistance monitoring-livestock, meats and fishery products 2014. MFDS, Osong, Korea, 1-28.
- MFDS (Ministry of Food and Drug Safety). 2016. Report of the national antimicrobial use and resistance monitoring-livestock and animal products 2015. MFDS, Osong, Korea, 1-37.
- MFDS (Ministry of Food and Drug Safety). 2019a. Korea food code. Retrieved from http://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01_01.jsp on Oct 22, 2019.
- MFDS (Ministry of Food and Drug Safety). 2019b. Report of the national antimicrobial use and resistance monitoring-animals, meats and fishery products 2018. MFDS, Osong, Korea, 1-35.
- MOF (Ministry of Oceans and Fisheries). 2015. Sanitary criteria of producing, processing facilities and seawater area for fisheries product. Notice no. 2015-3, MOF, Sejong, Korea.
- MOF (Ministry of Oceans and Fisheries). 2018. Sanitary criteria of Shellfish growing area. Notice no. 2018-166, MOF, Sejong, Korea.
- Moura A, Araujo S, Alves MS, Henriques I, Pereira A and Correia ACM. 2014. The contribution of *Escherichia coli* from human and animal sources to the integron gene pool in coastal waters. *Front Microbiol* 419, 1-15. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2014.00419>.
- NIER (National Institute of environmental research). 2011. A study of discharge source and variation for pharmaceuticals in the environment (IV). Retrieved from <http://www.prism.go.kr/homepage> on Oct 22, 2019.
- 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>.
- Reinthal 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>.

- Ryu AR, Park KBW, Kim SH, Ham IT, Ryu AR, Kwon JY, 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. <http://do.doi.org/10.5657/KFAS.2017.0662>.
- 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. <http://dx.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. <http://doi.org/10.1002/jsfa.7360>.
- U.S. FDA (Food and Drug Administration). 2017. National shellfish sanitation program (NSSP), guide for the control of molluscan shellfish. Retrieved from <http://www.fda.gov/media/117080/download> on Oct 22, 2019.
- WHO (World Health Organization). 2014. Antimicrobial resistance: global report on surveillance. Retrieved from <http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/> on Oct 4, 2019.