

< Original Article >

대구지역 폐수처리장에서 분리한 cefotaxime-resistant *Escherichia coli*의 특성

김환득 · 박대현 · 이미리 · 김은정 · 조재근*

대구광역시보건환경연구원

Characterization of cefotaxime-resistant *Escherichia coli* isolated from wastewater treatment plant in Daegu

Hwan-Deuk Kim, Dae-Hyun Park, Mi-Ree Lee, Eun-Jeong Kim, Jae-Keun Cho*

Metropolitan Health & Environmental Research Institute, Daegu 706-732, Korea

(Received 19 August 2014; revised 10 October 2014; accepted 21 November 2014)

Abstract

In this study, 185 cefotaxime-resistant *Escherichia coli* were isolated from different stages of a wastewater treatment plant (WWTP) in Daegu in Korea. Among them, 99.5% (184 isolates) originated from raw sewage and 0.5% (1 isolates) from the final effluent. Cefotaxime-resistant *E. coli* were high resistant to ampicillin, piperacillin, cefazolin, cephalothin, cefachlor and cefamandole (99.5~100%). About 93% of the cefotaxime-resistant *E. coli* were extended-spectrum β -lactamases (ESBL)-producing *E. coli*. The *bla*_{TEM+CTX} gene was the most predominant of the ESBL genes (72.5%), followed by *bla*_{CTX-M} (16.2%), *bla*_{TEM} (8.7%), *bla*_{TEM+CTX+SHV} (1.1%), *bla*_{TEM+SHV}, *bla*_{TEM+OXA}, and *bla*_{TEM+CTX+SHV} (respectively 0.5%). Class 1 and 2 integron were found in 49.7% and class 3 integron was not found. All of integron positive isolates were multiresistant (i.e. resistant to four or more antibiotics). Our findings showed WWTP is contaminated with antibiotic resistant bacteria with resistance genes.

Key words : WWTP, CTX-resistant *E. coli*, ESBL genes, Integrons

서 론

도시 하수처리장은 사람과 동물 병원체의 중요한 서식지로 완벽하게 처리되지 않은 방류수는 하천 내 항생제 내성 세균을 발생시키는 주요한 원인이다 (Ferreira da Silva, 2007; Reinthaler 등, 2010; Michal 등, 2013). 이들 균들은 수중 환경 내에서 존재하면서 수평전파에 의해 서로 다른 세균들과 내성 유전자를 교환하면서 항생제에 대한 더 강한 내성을 키운다 (Baquero 등, 2008; Martínez, 2008). *E. coli*를 포함한 항생제 내성 세균은 수중환경에 존재할 수 있으며, 인간은 수계와의 직·간접적인 접촉을 통해 항생제

내성균에 감염될 수 있어 공중보건학적으로 문제가 될 수 있다.

Integron은 이동 가능한 유전자 cassette를 인지하고 포획 할 수 있는 장소 특이적인 재조합 체계의 구성 요소를 가진 유전자로, 내성 유전자의 출현과 전파에 중요한 역할을 하며 다약제 내성과 관련이 있다 (Martinez, 2009; Cambray 등, 2010). 또한 integron은 integrase 단백질의 상동성에 근거를 두어 6종류의 class로 분류되며, 그 중 extended-spectrum β -lactamases (ESBL) 내성을 암호화하는 유전자(*bla* genes)를 포함하고 있는 class 1은 가장 흔한 구조이며, *Enterobacteriaceae*에서 주로 발견되고 있다(Frank 등, 2007).

최근 들어 integron과 ESBL을 생성하는 *E. coli*는 임상가검물에서만 국한되지 않고, 하천, 생활하수, 도

*Corresponding author: Jae-Keun Cho, Tel. +82-53-760-1303, Fax. +82-53-760-1302, E-mail. thinking@daegu.go.kr

축장, 폐수처리장과 같은 인간의 생활과 밀접한 환경에까지 확산되고 있어(Ash 등, 2002; Moura 등, 2007; Ferreira da Silva 등, 2010; Reinthaler 등, 2010) 문제가 되고 있다. 특히 ESBL 생성균주는 기존의 β -lactam계 항균제뿐만 아니라 cefotaxime (CTX), ceftazidime (CAZ) 과 aztreonam 같은 제 3세대 항균제들에 대해서도 내성을 가지고 있다(Bradford, 2001; Paterson과 Bonomo, 2005). 국내에서는 2006년 식품의약품안전청에서 환경 중 항생제 내성균 모니터링을 실시하여 국내 하천 및 하수처리장 내의 항생제 내성균의 실태를 조사한 이후(식품의약품안전청, 2006), 여러 연구자들이 한강, 낙동강, 영산강 등 전국 주요 하천에서 분리된 *E. coli*에서 integron과 ESBL의 특성에 대해 보고가 되고 있다(Kim 등, 2008; Jang 등, 2013; Cho 등, 2014). 그러나 항생제 내성균의 발원지로 알려진 폐수처리장 같은 곳에서 이들에 대한 보고는 거의 없다. 따라서 이번 연구는 대구지역에 있는 하수처리장의 유입수와 방류수에서 cefotaxime 내성 *E. coli*를 분리하고, 이들 균주를 대상으로 항생제 내성양상, integron 및 ESBL 내성 유전자의 분포를 조사하기 위해 실시하였다.

재료 및 방법

Cefotaxime 내성 *E. coli*의 분리

2013년 8월부터 11월까지 대구시에 위치한 폐수처리장 11개소를 대상으로 매월 1회씩 4회에 걸쳐 총 88개(유입수와 방류수 각각 44개)의 시료를 멸균 채수병을 이용하여 각각 500 mL씩 채취하였다. 채취한 시료는 확산집락을 방지하기 위해 적당히 희석(10^0 , 10^1 및 10^2) 한 다음, CTX (4 μ g/mL, Sigma, USA)이 첨가된 MacConkey agar (Oxoid, England) 평판배지에 고르게 도말한 다음 37°C에서 18시간 배양하였다. *E. coli*로 의심되는 집락을 평판 당 4~5개를 선택하여 EMB agar (Oxoid, England)에 37°C에서 18시간 배양한 후, 금속성 광택을 나타낸 집락을 선택하여 생화학 검사와 Vitek 2 compact (BioMerieux, S.A., France)를 이용하여 동정하였다.

항생제 감수성 시험

항생제 감수성 시험은 Bauer 등(1996)의 디스크 확산법을 이용하여 실시하였고, 내성 여부는 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2012)의 기준에 따라 판독하였다. 사용한 항생제 디스크(Oxoid, UK)는 ampicillin (10 μ g), piperacillin (100 μ g), ampicillin/sulbactam (10/10 μ g), piperacillin/tazobactam (100/10 μ g), ticarcillin/clavulanic acid (75/10 μ g), cephalothin (30 μ g), cefepime (30 μ g), cefotaxime (30 μ g), cefoxitin (30 μ g), ceftazidime (30 μ g), cefamandole (30 μ g), aztreonam (30 μ g) 및 imipenem (10 μ g) 등 14종이었다. 항생제 감수성 시험을 위한 표준균주로 *E. coli* ATCC 25922를 사용하였다. 한편 ESBL 생성 균주의 확인을 위해 cefotaxime/clavulanic acid (CTX-CA, 30/10 μ g)와 ceftazidime/clavulanic acid (CAZ-CA, 30/10 μ g)에 대해서도 항생제 감수성 시험을 실시하였다. 한편 동일 시료에서 분리된 균주 중 항생제 감수성 양상이 동일할 경우 1개의 균주만을 실험 결과로 이용하였다.

Genomic DNA 추출

공시균에 대한 genomic DNA 추출은 boiling법(Mazel 등, 2000)으로 실시하였다. 간단히 설명하면, tryptic soy broth (Oxoid, UK)에 접종하여 37°C에서 18~24시간 진탕 배양하여 얻은 균 부유액 1.0 mL를 13,000 rpm에서 2분간 원심분리한 후 상층액을 제거한 다음 멸균 증류수 0.5 mL로 재 부유하였다. 균 부유액은 끓는 물에 10분간 가열한 다음 13,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 취하여 template DNA로 사용하였다.

Genomic DNA 추출

Integron 및 β -lactamase 유전자의 검출을 위한 PCR

β -lactamase 유전자와 integron 검출을 위한 primers는 제조사(Bioneer, 한국)에 의뢰하여 합성 제작하였다(Table 1). PCR 반응은 2X TOPsimple DyeMix (aliquot)-HOT (Enzynomics, Korea)에 각각의 10 pmol primer 1 μ L와 template DNA 1 μ L를 넣은 후 멸균된 증류수를 첨가하여 최종 반응량이 20 μ L가 되게 하여 Tprofessional Thermal Cycler (Biometra, Germany)를 이용하여 수행하였다.

Integron 및 β -lactamase 유전자의 검출을 위한 PCR

*bla*_{TEM}, *bla*_{OXA}, *bla*_{SHV} 및 *bla*_{CTX-M} 유전자의 동시 검출을 위한 multiplex PCR은 Fang 등(2008)의 방법에 따라 95°C에서 15분간 초기 denaturation 후, 94°C에서

30초, 62°C에서 90초, 72°C에서 60초 조건으로 총 30 cycle을 수행한 다음 72°C에서 10분간 최종 extension을 실시하였다. Class 1, 2 및 3 integron의 동시 검출을 위한 multiplex PCR은 Mazel 등(2000)의 방법에 따라 94°C에서 5분간 초기 denaturation 후, 94°C에서 30초, 62°C에서 30초, 72°C에서 60초 조건으로 총 30 cycle을 수행한 다음 72°C에서 8분간 최종 extension을 실시하였다. 증폭된 산물은 1.2% agarose gel에서 100 V로 30분간 전기영동을 실시한 후 UV transilluminator (Biometra, Germany)를 이용하여 확인하였다.

결 과

항생제 감수성 시험

폐수처리장 11개소의 유입수와 방류수로부터 총 185주(유입수, 184주; 방류수, 1주)의 CTX 내성 *E. coli*를 분리하였다. 이들 균주를 대상으로 대한 항생제 감수성 시험을 실시한 결과는 Table 2와 같다.

Penicillin계 항생제의 경우 ampicillin에 100%, piperacillin에 98.9%의 높은 내성률을 나타내었다. β -lactamase 억제제의 경우 ampicillin/sulbactam에 46.5%, ampicillin/clavulanic acid에 16.8%, 그리고 ticarcillin/clav-

Table 1. Primers used for detection of β -lactamases genes and integrons in the multiplex PCR

Primer name	Sequence (5' to 3')	Size (bp)	Reference
TEM-F	CGC CGC ATA CAC TAT TCT CAG AAT GA	445	Fang et al (2008)
TEM-R	ACG CTC ACC GGC TCC AGA TTT AT		
SHV-F	CTT TAT CGG CCC TCA CTC AA	237	Fang et al (2008)
SHV-R	AGG TGC TCA TCA TGG GAA AG		
CTX-M	ATG TGC AGY ACC AGT AAR GTK ATG GC	593	Fang et al (2008)
CTX-M	TGG GTR AAR TAR GTS ACC AGA AYC AGC GG		
OXA-F	ACA CAA TAC ATA TCA ACT TCG C	813	Fang et al (2008)
OXA-R	AGT GTG TTT AGA ATG GTG ATC		
int I 1-F	GGG TCA AGG ATC TGG ATT TCG	483	Mazel et al (2000)
int I 1-R	ACA TGC GTG TAA ATC ATC GTC G		
int I 2-F	CAC GGA TAT GCG ACA AAA AGG T	788	Mazel et al (2000)
int I 2-R	GTA GCA AAC GAG TGA CGA AAT G		
int I 3-F	GCC TCC GGC AGC GAC TTT CAG	1,042	Mazel et al (2000)
int I 3-R	ACG GAT CTG CCA AAC CTG ACT		

Table 2. Antimicrobial resistance patterns of 185 cefotaxime-resistant *E. coli*

Classification	Antimicrobial agents	Zone diameter* (mm)			No. (%) of resistant strains		
		S	I	R	S (%)	I (%)	R (%)
Penicillins	Ampicillin	≥17	14~16	≤13	0 (0)	0 (0)	185 (100)
	Piperacillin	≥21	18~20	≤17	0 (0)	2 (1.1)	183 (98.9)
β -lactamase inhibitors	Ampicillin/clavulanic acid	≥18	14~17	≤13	115 (62.2)	39 (21.1)	31 (16.8)
	Ampicillin/sulbactam	≥15	12~14	≤11	45 (24.3)	54 (29.2)	86 (46.5)
	Ticarcillin/clavulanic acid	≥20	15~19	≤14	67 (36.2)	103 (55.7)	15 (8.1)
Cephems	Cefazolin	≥23	20~22	≤19	0 (0)	0 (0)	185 (100)
	Cephalothin	≥18	15~17	≤14	0 (0)	0 (0)	185 (100)
	Cefachlor	≥18	15~17	≤14	0 (0)	2 (1.1)	183 (98.9)
	Cefamandole	≥18	15~17	≤14	1 (0.5)	0 (0)	184 (99.5)
	Cefoxitin	≥18	15~17	≤14	159 (85.9)	5 (2.7)	21 (11.4)
	Ceftazidime	≥21	18~20	≤17	91 (49.2)	38 (20.5)	56 (30.3)
	Cefepime	≥18	15~17	≤14	68 (36.8)	74 (37.8)	43 (23.2)
Carbapenems	Imipenem	≥23	20~22	≤19	185 (100)	0 (0)	0 (0)
Monobactams	Aztreonam	≥21	18~20	≤17	20 (10.8)	70 (37.8)	95 (51.4)

*S, susceptible; I, intermediate; R, resistant.

Table 3. Phenotypes of antimicrobial resistance in 185 CTX-resistant *E. coli*

Multiplicity of resistance	No. of isolates (%)
12	1 (0.5)
11	7 (3.8)
10	6 (3.2)
9	17 (9.2)
8	31 (16.8)
7	33 (17.8)
6	40 (21.6)
5	48 (26.0)
4	2 (1.1)
Total	185 (100)

ulanic acid에 8.1%의 내성률을 나타내었다. Cephem계의 경우 cefazolin과 cephalothin에 대하여는 전 균주가 내성을 나타내었고, cefamandole과 cefachlor에 대하여는 각각 99.5%와 98.9%의 높은 내성률을 나타내었다. 반면 ceftazidime, cefepime 및 ceftoxitin에는 각각 30.3%, 23.2% 및 11.4%의 낮은 내성률을 나타내었다. Monobactam계인 aztreonam에는 51.4%의 내성률을 나타내었으나, carbapenems계인 imipenem에 대하여는 공시균 모두 감수성을 나타내었다. 공시균 185주 중 171주(92.4%)는 CTX과 CTX-CA 또는 CAZ과 CAZ-CA 디스크 사이에서 상승효과에 의한 억제대의 크기가 5 mm 이상으로 관찰된 ESBL 생성균주로 유입수에서 170주(91.9%), 방류수에서 1주(0.5%)가 검출되었다.

이번 연구에서 CTX 내성 *E. coli*는 모두 4종 이상의 약제에 내성을 나타내었으며, 그 중 5제 내성균이 26.0%로 가장 많았으며, 다음 6제(21.6%), 7제(17.8%), 8제(16.8%), 9제(9.2%) 순이었다(Table 3).

Integron 및 β -lactamase 유전자의 검출을 위한 PCR

총 185주의 CTX 내성 *E. coli*를 대상으로 integrons (class 1, 2 및 3 integron)과 β -lactamase 유전자(bla_{TEM} , bla_{SHV} , bla_{OXA} 및 bla_{CTX-M})의 검출을 위해 multiplex PCR을 실시한 결과는 Table 4와 같았다.

Integron은 CTX 내성 *E. coli*의 92주(49.7%)에서 검출되었으며, 이 중 class 1 integron이 90주(48.7%)로 가장 많이 검출되었고, 다음 class 2 integron 및 class 1+2 integron이 각각 1주(0.5%)에서 검출되었다. 반면 class 3 integron은 검출되지 않았다.

Table 4. Prevalence of β -lactamase genes and integrons in 185 cefotaxime-resistant *E. coli*

No. of β -lactamase genes (%)		No. of integrons (%)	
bla_{TEM}	16 (8.7)	<i>int 1 1</i>	90 (48.7)
bla_{CTX-M}	30 (16.2)	<i>int 1 2</i>	1 (0.5)
$bla_{TEM+CTX-M}$	134 (72.5)	<i>int 1 3</i>	-
$bla_{TEM+OXA}$	1 (0.5)	<i>int 1 1+int 1 2</i>	1 (0.5)
$bla_{TEM+SHV}$	1 (0.5)	Not detected	93 (50.3)
$bla_{TEM+CTX+SHV}$	2 (1.1)		
$bla_{TEM+CTX+OXA}$	1 (0.5)		
Total	185 (100)	Total	185 (100)

CTX 내성 *E. coli*의 전주가 한 종류 이상의 β -lactamase 유전자를 가지고 있었다. $bla_{TEM+CTX-M}$ 유전자가 134주(72.5%)로 가장 많이 검출되었고, 다음 bla_{CTX-M} 30주(16.2%), bla_{TEM} 16주(8.7%), $bla_{TEM+CTX-M+SHV}$ 2주(1.1%), $bla_{TEM+SHV}$, $bla_{TEM+OXA}$ 및 $bla_{TEM+CTX-M+OXA}$ 유전자가 각각 1주(0.5%)의 순으로 검출되었다.

고 찰

대구지역에 있는 11개 하수처리장의 유입수와 방류수로부터 총 185주의 CTX 내성 *E. coli*가 분리되었다. β -lactam계 항생제는 β -lactam환의 가수분해로 인해 하수처리장에서 생물학적 처리과정 동안 상당히 감소한다고 알려져 있다(Li와 Zhang, 2011). 비록 이번 연구에서 폐수처리장의 유입수와 방류수에서 CTX 내성 *E. coli*에 대한 균수는 측정하지 않았지만, 185주의 CTX 내성 *E. coli* 중 단지 1주만이 방류수에서 검출되어 항생제 내성 관점에서 검사 유출수는 공중보건학적으로 비교적 양호한 것으로 생각된다.

이번 연구에서 CTX 내성 *E. coli*는 ampicillin, piperacillin, cefazolin, cephalothin, cefachlor 및 cefamandole에 대해서는 99.5~100%에 이르는 높은 내성률을, ampicillin/sulbactam과 aztreonam에는 각각 46.5%와 51.4%의 중등도의 내성률을 그리고 나머지 약제에 대해서는 낮은 내성률(0~30.3%)을 나타내었다. 최근까지 국내에서 폐수처리장을 대상으로 분리된 CTX에 내성인 *E. coli*를 대상으로 항생제 내성 양상에 관한 보고는 없다. 그러나 대구시 폐수처리장에서 처리된 최종 방류수는 낙동강과 금호강으로 흘러 들어간다는 것을 고려해 볼 때, 이러한 결과는 Kim 등(2012)과 Cho 등(2014)이 보고한 성적과 비교 시 유사한 결과를 나타내었다.

Integron은 균주 간 여러 가지 내성 유전자를 전달함으로써 다제내성균의 발현에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Mokracka 등, 2012; Koczura 등, 2012). 이번 연구에서도 CTX 내성 *E. coli*는 모두 4종 이상의 약제에 내성을 보인 다제내성균이었다. 한편 integrons은 CTX 내성 *E. coli*의 49.7%에서 검출되었으며, 이러한 결과는 도시 하수처리장에서 Koczura 등(2012)이 *E. coli*에서 11.0%, 도축장 하수처리장에서 Moura 등(2007)의 *Enterobacteriaceae*와 *Aeromonas* spp.에서 35%의 성적보다 높았다. 반면 중국의 양쯔강에서 65.2% (Chen 등, 2010) 및 낙동강과 금호강에서 61.4% (Cho 등, 2014)보다는 낮았다. 그러나 이번 연구에서는 CTX 내성 *E. coli*만을 대상으로 integron을 검출한 관계로 타 연구자들의 결과와 비교 시 신중을 기할 필요가 있다.

이번 연구에서 integrons 중 class 1 integron이 가장 많이 검출되어, integrons의 유래에 상관없이 class 1 integron은 class 2와 3 integron 보다 더 많이 검출되었다고 보고한 이전 연구자들의 결과와 일치하였다 (Moura 등, 2007; Laroche 등, 2009; Koczura 등, 2012). 한편 이러한 성적을 국내 임상가검물 및 가축에서 검출된 결과와 비교 해 볼 때, Yu 등(2003)이 대구지역 대학병원에서 분리된 *E. coli*에서 54% 및 Kang 등(2005b)이 돼지에서 분리된 *E. coli*에서 64.4%의 성적보다는 낮았으나, Kang 등(2005a)이 사람과 동물에서 분리된 *E. coli*에서 11.4~42.3%보다는 높거나 비슷하였다.

수중환경 내 존재하는 *E. coli*에서 class 2와 3 integrons의 검출에 관한보고는 거의 없다. 그러나 class 2 integron은 북유럽에 위치한 Seine estuary로부터 분리된 *E. coli*의 1.4% (Laroche 등, 2009), 사람과 동물 유래에서 분리된 *E. coli*의 1.4% (Kang 등, 2005b; Cocchi 등, 2007)의 성적과는 유사하였다. 이번 조사에서 class 3 integron은 검출되지 않았다(Laroche 등, 2009; Su 등, 2012) 한편 이번 연구에서 integrase gene 내 gene cassettes에 대한 분석은 실시하지 않았다. 향후 추가적인 연구가 이루어져야 될 것으로 생각된다.

CTX 내성 *E. coli*의 92.4%는 CTX와 CTX-CA 또는 CAZ와 CAZ-CA 디스크사이에서 상승효과에 의한 억제대의 크기가 5 mm 이상으로 관찰된 ESBL 생성균주이었다. 이는 이번 연구에서 CTX에 내성인 *E. coli* 대부분이 ESBL 생성에 의하여 내성을 획득하였음을 의미한다. 또한 CTX 내성 *E. coli*에서 *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM}, *bla*_{OXA} 및 *bla*_{SHV} 같은 β -lactamase 유전자가 검출되었

으며, 이들 유전자는 이미 임상가검물 뿐만 아니라 국내의 강, 하천 등에서 보고되고 있다(Kim 등, 2008; Jang 등, 2013; Cho, 2014; Kang 등, 2005b; Lee 등, 2009; Cho 등, 2011).

Plasmid에 의해 매개 되는 TEM 및 SHV형 효소는 과거 ESBL 중 가장 흔히 발견되었으나, 1983년 독일에서 CTX에 내성인 균주가 처음 보고된 이후 CTX-M형 유전자의 발생빈도는 계속 증가하고 있다. CTX-M형 ESBL은 plasmid에 의해 매개되며 가수분해 기질 특이성 및 억제특이성이 TEM형이나 SHV형 ESBL과 유사하지만, ceftazidime보다는 cefotaxime에 대한 가수분해 활성이 더 강한 특성이 있다(Paterson과 Bonomo, 2005). 이번 연구에서도 CTX 내성 *E. coli*는 ceftazidime에 대해서는 30.3%만이 내성을 나타내었다.

이번 연구에서 *bla*_{CTX-M} (90.3%)과 *bla*_{TEM} (83.2%)형 유전자가 가장 많이 검출되었으며, 일부 균주에서는 *bla*_{OXA} 및 *bla*_{SHV}형 유전자도 검출되었다. 이러한 결과는 이전 연구자들의 결과와 일치하였다(Lu 등, 2010; Chen 등, 2010; Dhanji 등, 2011; Jang 등, 2013; Cho, 2014). 특히 CTX 내성 *E. coli*의 82%는 두 종류 이상의 β -lactamase 유전자를 동시에 가지고 있었다. 이는 ESBL 유전자가 plasmid를 통하여 다른 균으로 쉽게 전파될 수 있음을 의미한다(Bradford, 2001). 이번 연구에서 검출된 *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV} 및 *bla*_{OXA} 형에 대해서는 추가적인 조사를 통한 유전형의 규명이 필요할 것으로 생각된다.

이번 연구의 결과 폐수처리장 유입수는 CTX 내성 *E. coli*로 오염이 되어 있었고 또한 이들 균은 병원이나 임상가검물에서만 국한되지 않고 수중환경에까지 확산되어 존재하고 있음을 확인하였다. 수중 환경은 내성균과 내성 유전자의 저장고 역할뿐만 아니라 환경으로 내성균의 전파에 중요한 역할을 한다. 따라서 하수처리장의 최종 방류수가 강과 하천으로 흘러들어가 식수와 농업용수 등으로 사용되어지는 것을 고려할 때 하수처리장에서의 항생제 내성균의 배출 감소를 위한 대책 마련이 요구된다.

결론

대구지역에 있는 폐수처리장 11개소의 유입수와 방류수에서 총 185주(유입수, 184주; 방류수, 1주)의 CTX 내성 *E. coli*를 분리하여, 이들 균주를 대상으로 항생제 감수성 시험, integrons 및 β -lactamase 유전자

의 검출을 실시한 결과는 다음과 같다.

CTX 내성 *E. coli*는 ampicillin, cefazolin, cephalothin, cefamandole, piperacillin 및 cefachlor에 높은 내성을 나타내었고, 전주가 4종 이상의 약제에 내성을 나타내었다. CTX 내성 *E. coli*의 92.4% (171주)가 ESBL 생성균주이었으며, 공시균 모두가 한 종류 이상의 β -lactamase 유전자를 가지고 있었다. $bla_{TEM+CTX-M}$ 유전자가 134주(72.5%)로 가장 많이 검출되었고 다음 bla_{CTX} 30주(16.2%), bla_{TEM} 16주(8.7%), $bla_{TEM+CTX+SHV}$ 2주(1.1%), $bla_{TEM+SHV}$, $bla_{TEM+OXA}$ 및 $bla_{TEM+CTX+OXA}$ 유전자가 각각 1주(0.5%)의 순으로 검출되었다. Integron은 92주(49.7%)에서 검출되었으며, 이 중 class 1 integron이 90주(48.7%)로 가장 많이 검출되었고, 다음 class 2 integron 및 class 1+2 integron이 각각 1주(0.5%)에서 검출되었다. 이번 조사에서 class 3 integron은 검출되지 않았다.

참 고 문 헌

- 식품의약품안전청. 2006. 환경 중 항생제 내성균 모니터링.
- Ash RJ, Mauck B, Morgan M. 2002. Antibiotic resistance of gram-negative bacteria in rivers, United States. *Emerg Infect Dis* 8: 713-716.
- Baquero F, Martínez JL, Cantón R. 2008. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Curr Opin Biotechnol* 19: 260-265.
- Bradford PA. 2001. Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: Characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev* 14: 933-951.
- Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol* 45: 493-496.
- Cambray G, Guerout A, Mazel D. 2010. Integrons. *Annu Rev Gen* 44: 141-166.
- Chen H, Shu W, Chang X, Chen JA, Guo Y, Tan Y. 2010. The profile of antibiotics resistance and integrons of extended-spectrum beta-lactamase producing thermotolerant coliforms isolated from the Yangtze River basin in Chongqing. *Environ Pollut* 158: 2459-2464.
- Cho JK, Sung MS, Kim JH, Kim KS. 2011. Detection of CTX-M and TEM type extended-spectrum β -lactamases in *Escherichia coli* isolated from livestock in Korea. *Kor J Vet Serv* 34: 37-43.
- Cho JK, Kim HD, Kwon SH, Kim JH, Jang SI, Park CK, Kim KS. 2014. Prevalence of antimicrobial resistance and integrons in extended-spectrum β -lactamases producing *Escherichia coli* isolated from Nakdong and Gumho river in Korea. *Korean J Vet Serv* 34: 19-27.
- CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2012. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-second informational supplement. M100-S22. Wayne, Pa, USA.
- Cocchi S, Grasselli E, Gutacker M, Benagli C, Convert M, Piffaretti JC. 2007. Distribution and characterization of integrons in *Escherichia coli* strains of animal and human origin. *FEMS Immunol Med Microbiol* 50: 126-132.
- Dhanji H, Murphy NM, Akhigbe C, Doumith M, Hope R, Livermore DM, Woodford N. 2011. Isolation of fluoroquinolone-resistant O25b:H4-ST131 *Escherichia coli* with CTX-M-14 extended-spectrum β -lactamase from UK river water. *J Antimicrob Chemother* 66: 512-516.
- Fang H, Ataker F, Hedin G, Dornbusch K. 2008. Molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases among *Escherichia coli* isolates collected in a Swedish hospital and its associated health care facilities from 2001 to 2006. *J Clin Microbiol* 46: 707-712.
- Frank T, Gautier V, Talarmin A, Bercion R, Arlet G. 2007. Characterization of sulphonamide resistance genes and class 1 integron gene cassettes in *Enterobacteriaceae*, Central African Republic (CAR). *J Antimicrob Chemother* 59: 742-745.
- Ferreira da Silva M, Vaz-Moreira I, Gonzalez-Pajuelo M, Nunes OC, Manaia CM. 2007. Antimicrobial resistance patterns in *Enterobacteriaceae* isolated from an urban wastewater treatment plant. *FEMS Microbiol Ecol* 60: 166-176.
- Jang J, Suh YS, Di DY, Unno T, Sadowsky MJ, Hur HG. 2013. Pathogenic *Escherichia coli* strains producing extended-spectrum β -lactamases in the Yeongsan river basin of South Korea. *Environ Sci Technol* 47: 1128-1136.
- Kang HY, Jeong YS, Oh JY, Tae SH, Choi CH, Moon DC, Lee WK, Lee YC, Seol SY, Cho DT, Lee JC. 2005b. Characterization of antimicrobial resistance and class 1 integrons found in *Escherichia coli* isolates from humans and animals in Korea. *J Antimicrob Chemother* 55: 639-644.
- Kang SG, Lee DY, Shin SJ, Ahn JM, Yoo HS. 2005a. Changes in patterns of antimicrobial susceptibility and class 1 integron carriage among *Escherichia coli* isolates. *J Vet Sci* 6: 201-205.
- Kim J, Kang HY, Lee Y. 2008. The identification of CTX-M-14, TEM-52, and CMY-1 enzymes in *Escherichia coli* isolated from the Han River in Korea. *J Microbiol* 46: 478-481.
- Kim JH, Zheng XH, Cho JK, Sung MS, Kim KS. 2012. Prevalence and characterization of extended-spectrum β -lactamase among *Escherichia coli* isolated from Geumho river in Korea. *J Pure and Appl Microb* 6: 989-1000.
- Koczura R, Mokracka J, Jabłońska L, Gozdecka E, Kubek M, Kaznowski A. 2012. Antimicrobial resistance of integron-harboring *Escherichia coli* isolates from clinical samples, wastewater treatment plant and river water. *Sci*

- Total Environ 414: 680-685.
- Laroche E, Pawlak B, Berthe T, Skurnik D, Petit F. 2009. Occurrence of antibiotic resistance and class 1, 2 and 3 integrons in *Escherichia coli* isolated from a densely populated estuary (Seine, France). FEMS Microbiol Ecol 68: 118-130.
- Lee SG, Jeong SH, Lee H, Kim CK, Lee Y, Koh E, Chong Y, Lee K. 2009. Spread of CTX-M- type extended-spectrum beta-lactamases among bloodstream isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from a Korean hospital. Diagn Microbiol Infect Dis 63: 76-80.
- Li B1, Zhang T. 2011. Mass flows and removal of antibiotics in two municipal wastewater treatment plants. Chemosphere 83: 1284-1289.
- Lu SY, Zhang YL, Geng SN, Li TY, Ye ZM, Zhang DS, Zou F, Zhou HW. 2010. High diversity of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in an urban river sediment habitat. Appl Environ Microbiol 76: 5972-5976.
- Martínez JL. 2008. Antibiotics and antibiotic resistance genes in natural environments. Science 18: 365-367.
- Martínez JL. 2009. Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants. Environ Pollut 157: 2893-2902.
- Mazel D, Dychinco B, Webb VA, Davies J. 2000. Antibiotic resistance in the ECOR collection: integrons and identification of a novel aad gene. Antimicrob Agents Chemother 44: 1568-1574.
- Michael I1, Rizzo L, McArde11 CS, Manaia CM, Merlin C, Schwartz T, Dagot C, Fatta-Kassinos D. 2013. Urban wastewater treatment plants as hotspots for the release of antibiotics in the environment: a review. Water Res 47: 957-995.
- Mokracka J, Koczura R, Kaznowski A. 2012. Multiresistant Enterobacteriaceae with class 1 and class 2 integrons in a municipal wastewater treatment plant. Water Res 46: 3353-3363.
- Moura A, Henriques I, Ribeiro R, Correia A. 2007. Prevalence and characterization of integrons from bacteria isolated from a slaughterhouse wastewater treatment plant. J Antimicrob Chemother. 60: 1243-1250.
- Paterson DL, Bonomo RA. 2005. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev 18: 657-686.
- Reinthal FF, Feierl G, Galler H, Haas D, Leitner E, Mascher F, Melkes A, Posch J, Winter I, Zarfel G, Marth E. 2010. ESBL-producing *Escherichia coli* in Austrian sewage sludge. Water Res 44: 1981-1985.
- Su HC, Ying GG, Tao R, Zhang RQ, Zhao JL, Liu YS. 2012. Class 1 and 2 integrons, sul resistance genes and antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolated from Dongjiang River, South China. Environ Pollut 169: 42-49.
- Yu HS, Lee JC, Kang HY, Ro DW, Chung JY, Jeong YS, Tae SH, Choi CH, Lee EY, Seol SY, Lee YC, Cho DT. 2003. Changes in gene cassettes of class 1 integrons among *Escherichia coli* isolates from urine specimens collected in Korea during the last two decades. J Clin Microbiol 41: 5429-5433.