

Research Article



CrossMark

Open Access

경포호의 항생제 내성 세균 조사

한덕기*

강릉원주대학교 해양생명과학과

Survey of Antibiotic Resistant Bacteria in Lake Gyeongpo, Korea

Dukki Han* (Department of Marine Bioscience, College of Life Sciences, Gangneung-Wonju National University, Gangneung 25457, Korea)

Received: 28 June 2023/ Revised: 29 July 2023/ Accepted: 4 August 2023

Copyright © 2023 The Korean Society of Environmental Agriculture

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.

ORCID

Dukki Han

<https://orcid.org/0000-0002-4387-5830>

Abstract

The emergence and spread of antibiotic-resistant bacteria have been increasing with anthropogenic contamination. Understanding the prevalence and distribution of these resistant bacteria in environments is crucial for effectively managing anthropogenic pollutants. Lake Gyeongpo in the Gangwon Province of South Korea is known for its diverse ecological features and human interactions. The lake is exposed to pollutants from non-point sources, including urban areas, agricultural practices, and recreational activities, which can introduce antibiotics and foster antibiotic resistance in bacteria. The present study investigates Lake Gyeongpo as a potential reservoir for antibiotic-resistant bacteria in a natural ecosystem. A total of 203 bacterial isolates were collected from six sampling locations in Lake Gyeongpo during May, July, and November 2022. Most isolates were taxonomically identified as *Pseudoalteromonas*, *Bacillus*, *Shewanella*, and *Vibrio* spp.; their abundance showed a spatiotemporal distribution. An antibiotic susceptibility test was conducted on 75 isolates using the disk diffusion method with six drugs according to the CLSI guideline; 42 isolates were resistant to one or more antibiotics. Among these, 15 isolates were identified as multi-

drug resistant bacteria. This finding suggests the potential anthropogenic impact on Lake Gyeongpo and provides valuable insights into the dissemination of antibiotic resistance caused by anthropogenic pollutants.

Key words: Anthropogenic pollutants, Antibiotic resistant bacteria, CLSI, East Sea, Lake Gyeongpo

서론

석호(Lagoon)는 파도나 해류의 영향으로 하천의 하구(Estuary)나 만(Bay)이 모래로 막혀서 생성된 자연호수로, 담수와 해수가 섞이는 기수(Brackish water)의 특징으로 인해 생태학적으로 중요한 가치를 가지고 있다. 석호는 전 세계 해안선의 13% 가량 형성되어 있으며[1], 지역 주민들의 어업과 관광 자원의 공간으로 활용되고 있다[2]. 국내의 석호는 강원 영동 지역에 주로 형성되어 있으며, 이중 경포호는 강원도 강릉시에 소재한 동해 연안의 대표적인 석호이다. 과거 경포호를 비롯한 동해 연안의 주요 석호들을 대상으로 수질 및 어류의 특성을 조사한 결과[2,3], 국내의 석호 환경은 인간 활동에 의해 역동적으로 변화하는 양상을 나타내고 있다. 특히 경포호는 2004년 수질 개선을 목적으로 바다와 연결된 보를 개방하면서, 현재 해수가 대거 유입되어 염도에 가까운 환경을 유지하고 있다[2].

석호의 환경을 보전하고 효율적으로 관리하기 위해서는, 지속적인 현장조사를 수행하여 석호의 생태적 특성을 면밀하게 파악할 필요가 있다. 이와 관련하여 최근 경포호를 포함한 동해 연안의 석호에서 특이적으로 서식하는 식물플랑크톤들을 발

* Corresponding author: Dukki Han

Phone: +82-33-640-1675; Fax: +82-33-640-2849;

E-mail: dukkihan@gwnu.ac.kr

견함으로써[4], 석호 생물종 다양성의 생태학적 가치를 재조명한 바 있다. 석호의 생태학적 가치를 보전하기 위해서는 기존의 환경조사와 병행하여, 강우(rainfall)로 유입되는 비점오염원(non-point pollutant source)의 영향을 평가할 필요가 있다. 아울러, 석호 생태계 물질순환의 기저 생물군(최종분해자)인 박테리아에 대한 정보 역시 필요할 것으로 판단된다.

석호는 지리적으로 바다와 단절되어 있기에, 인근에서 방류되는 생활하수와 강우로 유입되는 비점오염원(농경지의 비료와 농약, 축산폐수, 해변가 쓰레기 등)이 해소되지 않을 경우 수질오염에 취약한 특성을 가지고 있다. 특히 최근 축산 및 의료용 항생제들이 한강과 낙동강 등의 주요 국가하천에서 잔류물질로 검출되고 있어[5-7] 수생태계 보전에 대한 주의가 요구되는 만큼, 석호의 보전·관리를 위해 박테리아 생태계의 정밀조사 및 항생제 유입에 의한 내성균 유무 파악이 필요할 것으로 판단된다.

일반적으로, 사용된 항생제들은 대부분 하수처리장으로 유입되어 정수과정을 거치게 되지만, 정수처리 과정에서 분해되지 않은 잔류 항생제들이[8-10] 하수처리장 방류수로 다시 배출되어 하천과 연안의 수중생태계에 항생제 내성을 야기하게 된다[11]. 지속적으로 증가하는 산업활동과 함께 항생제의 사용량은 앞으로도 계속 증가할 것으로 판단되며[12,13], 이는 바야흐로 항생제 내성이 인류 활동의 지표로 간주할 수 있음을 시사한다[14]. 본 연구에서는 생태적으로 높은 가치를 가진 석호에서 비점오염원으로 인한 항생제 내성균의 출현 가능성을 조사하고자 하며, 이에 동해 연안지역 중 가장 인구수가 많은 경포호를 대상으로 박테리아를 배양 후 동정하여 항생제 감수성 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

시료 채집 및 박테리아 배양

2022년 5월과 7월, 11월의 동일시간(오전 10-11시)을 기준으로 경포호의 측면 6개 지역(GP1-GP6; Fig. 1)에서 수질 측정기(YSI5908, YSI Inc., USA)를 이용하여 수온(Temp.), 염분도(Salinity), 용존산소(DO), pH를 각각 측정하였고, 수질 측정과 동시에 박테리아 배양을 위해 호수의 표층수를 10 ml 채수하였다. 채수한 시료는 현장에서 냉장(4°C) 보관하여 실험실로 운반하였으며, 채수한 당일 즉시 박테리아 배양을 수행하였다.

박테리아 배양 전, 시료와 PBS 용액을 각각 1:9의 비율로 섞은 뒤 연속 희석을 통해 100배까지 희석한 희석액 100 μ l를 Marine Broth (Kisan Bio Co., Ltd., Korea)의 고체배지에 접종한 뒤 25°C에서 24시간 배양하였다. 이후 각 시료의 배지에서 형성된 단일집락(single colony)의 색상과 크기를 육안으로 선별하여 시료당 최대 12개까지 분리한 뒤, Marine Broth 고체배지에 다시 2차례 계대배양을 시도하여 단일집락을 확보하였다. 이후, 단일집락들을 Mueller-Hinton (Kisan Bio Co., Ltd., Korea)의 고체배지에 다시 배양을 하여 집락을 형성한 균주들만을 선정하여 항생제 내성 실험을 수행하였다.

Marine Broth의 고체배지에서 배양한 단일집락들을 대상



Fig. 1. Map of sampling stations in Lake Gyeongpo.

으로 Genomic DNA extraction kit (Bioneer Co., Korea)를 사용하여 gDNA를 추출하였고, 추출한 gDNA를 주형으로 하여 bacterial 16s rRNA gene의 universal primer set (27F: AGAGTTTGATCMTGGCTCAG; 1492R: TACGGYTACCTTGTACGACTT)을 사용하여 PCR을 진행하였다. PCR 반응은 Solg™ 2X Taq PCR Pre-Mix (SolGent Co., Ltd., Korea)를 사용하여 denaturation 95°C에서 20초, annealing 55°C에서 40초, extension 72°C에서 1분의 조건에서 30 cycle을 수행하였다. Bacterial 16s rRNA gene의 PCR 산물은 Genomic Gel purification kit (Bioneer Co. Korea)를 사용하여 정제한 뒤, 1% agarose gel 전기영동으로 1.4kb를 확인하였다. 정제한 bacterial 16s rRNA gene들은 마크로젠(Korea)에 의뢰하여 염기서열 분석을 수행하였다. 염기서열 정보는 700bp까지 생산하였으며 NCBI의 BLASTN (blast.ncbi.nlm.nih.gov) 분석을 통하여 97% 이상의 염기서열 유사성으로 미생물을 동정하였다. 그리고 동정의 정확성을 위하여 genus 수준의 분류정보만 확인하여 정리하였다.

항생제 감수성 평가

Mueller-Hinton 고체배지에 분리한 균주들은 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, M100)의 프로토콜에 근거하여 디스크 확산법을 이용한 항생제 감수성 평가를 수행하였다. 먼저, 멸균된 면봉을 이용하여 균주를 Mueller-Hinton 고체 배지에 도말한 뒤, 배양액이 흡수되도록 5분간 대기하였다. 이후 One Health 항생제 내성균 다부처 공동대응사업(www.kdca.go.kr)에서 제공하는 비인체(가축 및 축·수산물) 항생제 내성 정보를 기반으로 선정한 6종의 항생제 디스크(Chloramphenicol (CHL): 30 μ g; Trimethoprim-sulfamethoxazole (TRI/SUL): 25 μ g; Amoxicillin (AMX): 10 μ g; Streptomycin (STR): 25 μ g; Tetracycline (TET): 30 μ g; Erythromycin (ERY): 15 μ g)를 사전에 균주를 도말한 배지 위에 부착하여 35°C에서 18시간 동안 배양시킨 뒤, 항

생제 디스크 주변 투명한 크기를 *AntibiogramJ* (v1.0) 프로그램을 이용하여 측정하였다. 항생제 감수성 시험의 유효성을 확인하기 위해 표준균주로 *Enterococcus faecalis* (KCTC 3206)와 *Escherichia coli* (KCTC2441)를 이용하여 각각 그람양성균과 그람음성균에 대한 표준균주 대비 항생제 내성평가를 수행하였고, 실험에 사용한 6개 항생제 중 3개 이상의 항생제에 동시에 내성을 나타낸 균주의 경우 다제내성을 가지는 것으로 분류하였다.

결과 및 고찰

경포호 환경 특성

경포호의 환경 특성을 분석하기 위하여 경포호 6개 지점에 대한 5월, 7월, 11월의 수온, 염분도, 용존산소, pH의 수치들을 분석한 결과(Fig. 2), pH를 제외한 항목들에서 공통적으로 시간(Month)의 변화에 따른 차이가 관찰되었으며 일부 지점들에서 수온, 염분도, 용존산소의 변화가 관찰되었다. 먼저, 수온의 변화에서 가장 뚜렷한 차이가 확인되었으며, 여름인 7월 수온이 평균 26.85±1.02°C로 봄인 5월의 18.40±3.94°C와 가을인 11월의 13.65±1.19°C에 비하여 높게 측정되었다. 특히 기수호의 특성을 반영하듯 경포호 내 해수의 유입지역에서 가

장 먼 GP1에서 해수 유입지역과 가까운 GP6로 근접할수록 수온이 낮아지는 경향이 관찰되며, 이러한 현상은 일교차가 큰 5월에 가장 뚜렷하게 나타났다. 염분의 변화는 5월이 28.22±3.16 psu로 가장 높게 나타났고 7월과 11월이 각각 21.28±2.02 psu와 21.67±3.72 psu로 서로 유사하게 관찰되었다. 그리고 수온의 변화와 유사하게 해수 유입지역에 가까워지면서 염분도가 증가하였다. 다만, GP6의 지점에서 관찰된 7월(24.2 psu)과 11월(28.8 psu)의 염분 수치는 5월(33.8 psu)에 측정된 일반적인 해수의 염분도에 비해 낮게 측정되었기에 계절적으로 담수와 해수유입에 대한 영향이 달라짐을 확인할 수 있었다. 용존산소의 경우 수온과 염분도가 낮은 11월에 7.58±1.02 ppm으로 가장 높게 측정되었고 5월과 7월의 경우 각각 6.17±0.52 ppm과 5.97±0.45 ppm으로 관찰되었다. 특히, 11월의 용존산소 변화에서 GP2부터 GP5까지의 수치 상승은 같은 시기의 낮은 수온과 염분도가 원인인 것으로 판단된다. pH는 관측치가 없는 7월을 제외하더라도 5월(8.10±0.15)과 11월(8.18±0.26)의 수치가 서로 유사한 것으로 관찰되었고 GP1에서 GP6까지의 변화 역시 두드러지게 나타나지 않았다.

미생물 동정 및 항생제 감수성 평가

경포호 6개 지점에서 5월, 7월, 11월의 시료(N=18)들을 확

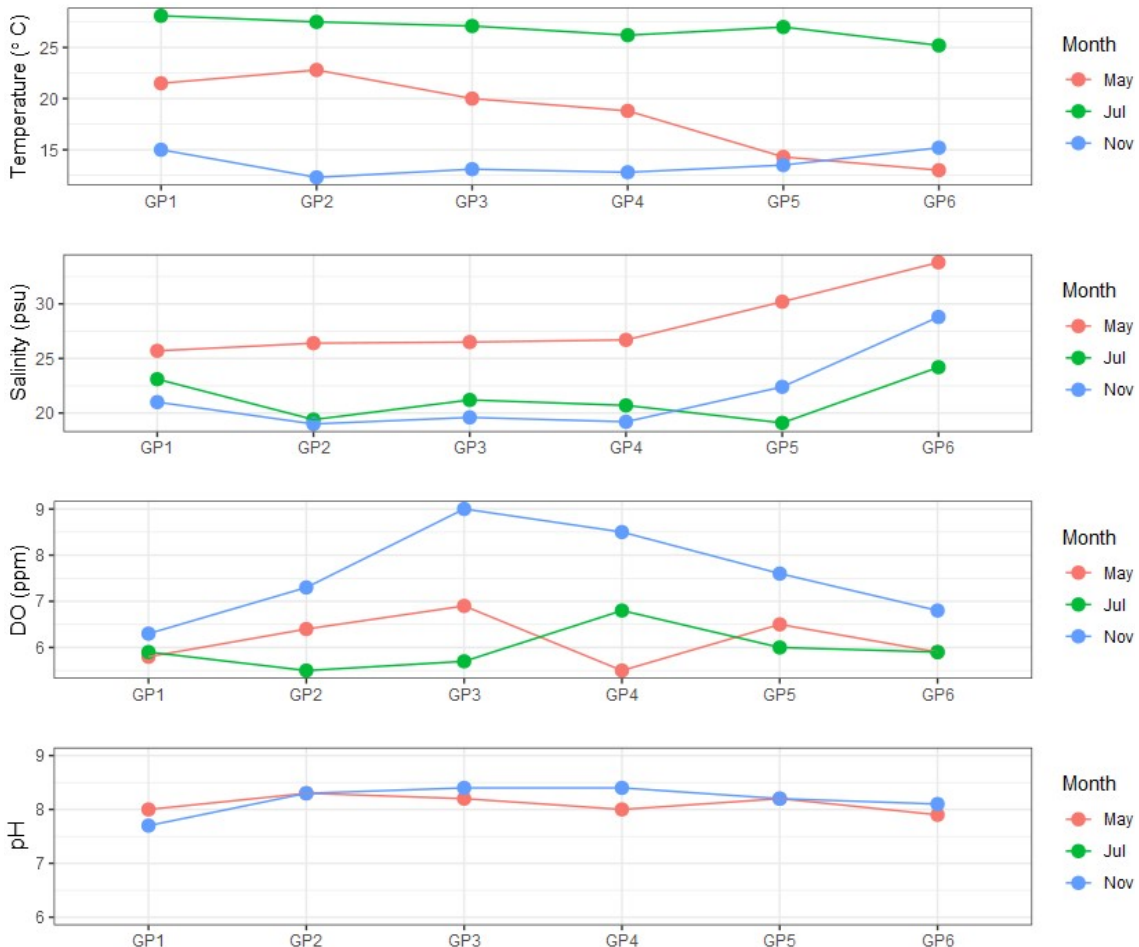


Fig. 2. Distribution of environmental parameters in Lake Gyeongpo.

Table 1. Number of bacterial isolates at phylum level

| Phylum (N=203) | Location | | | | | | Month | | |
|------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | GP1 (N=36) | GP2 (N=35) | GP3 (N=34) | GP4 (N=35) | GP5 (N=35) | GP6 (N=28) | May (N=59) | Jul (N=72) | Nov (N=72) |
| Proteobacteria (N=124) | 15 | 23 | 22 | 24 | 22 | 18 | 42 | 24 | 58 |
| Firmicutes (N=68) | 20 | 10 | 9 | 11 | 8 | 10 | 8 | 48 | 12 |
| Bacteroidetes (N=11) | 1 | 2 | 3 | 0 | 5 | 0 | 9 | 0 | 2 |

보하였고, 이를 Marine Broth 고체배지를 사용하여 5월에 59개의 균주를 분리하고 7월과 11월에 각각 72개씩의 균주들을 분리하여 총 203개의 균주를 동정하였다. 분리한 균주들의 절반 이상이 Proteobacteria(N=124)로 동정되었으며, 그 외 Firmicutes(N=68)와 Bacteroidota(N=11)로 확인되었다. 분리된 균주들의 대부분에 해당하는 Proteobacteria와 Firmicutes는 경포호에서 담수에 가장 가까운 GP1과 해수 유입지역에 가까운 GP6을 제외하면 서로 유사하게 분포하였다(Table 1). 아울러, Proteobacteria와 Firmicutes의 분포는 시간의 변화에 따라 달라지는 양상을 나타냈다. 즉, 봄인 5월과 가을인 11월에는 Proteobacteria의 균주의 수가 많았지만 여름인 7월에는 Firmicutes의 수가 증가하였다. 상기의 분리균주들은 genus level의 *Pseudoalteromonas*(N=33), *Bacillus*(N=28), *Shewanella*(N=25), *Vibrio*(N=22) 등으로 동정되었으며, 이들 균주들의 분포는 장소와 시간에 따라 우점하는 균들의 양상이 다르게 나타났다(Fig. 3). 일반적으로 *Vibrio*[15]를 비롯한 *Pseudoalteromonas*[16]와 *Shewanella*[17]는 해양환경에서 배양이 가능한 균주들이며, 상시 염호에 가까운 환경을 유지하

고 있는 경포호이기에 그 분포 양상이 특이적이라 판단되지는 않는다. *Bacillus*[18]의 경우 생리적으로 다양한 환경변화(온도, 염분, pH 등)에 쉽게 적응하는 균주로서, 최근 해양 유래 *Bacillus* 생리활성 연구[19]에 대한 관심과 함께 그 분포에 대한 보고 역시 증가하고 있다.

본 연구에서는 상기의 203개 균주들 중에서 Mueller-Hinton 고체배지에서 배양이 가능하였던 75개의 균주들을 확보한 뒤, 그람양성균(N=58)과 그람음성균(N=17)으로 분류하여 CLSI의 프로토콜에 따라 항생제 감수성 실험을 수행하였다. Mueller-Hinton 고체배지로 선별된 75개의 균주들은 5월에 4개, 7월에 50개, 11월에 21개가 확인되었으며(Table 2), 7월에 분리한 균들 중 *Bacillus* 균주의 수가 22개로 가장 우점하게 확인되었다. 그 외 단일 속의 균주들은 분포에 제한이 있어 장소와 시간에 따른 변화 양상을 나타내기에는 어려울 것으로 판단된다. 디스크 확산법의 항생제 감수성 평가를 통하여 측정된 투명환의 크기를 boxplot으로 나타낸 결과(Fig. 4), 투명환의 크기 분포는 각각의 항생제에서 서로 다르게 나타났지만 투명환 크기들의 중앙값(Median)이 최소 19 mm 이상

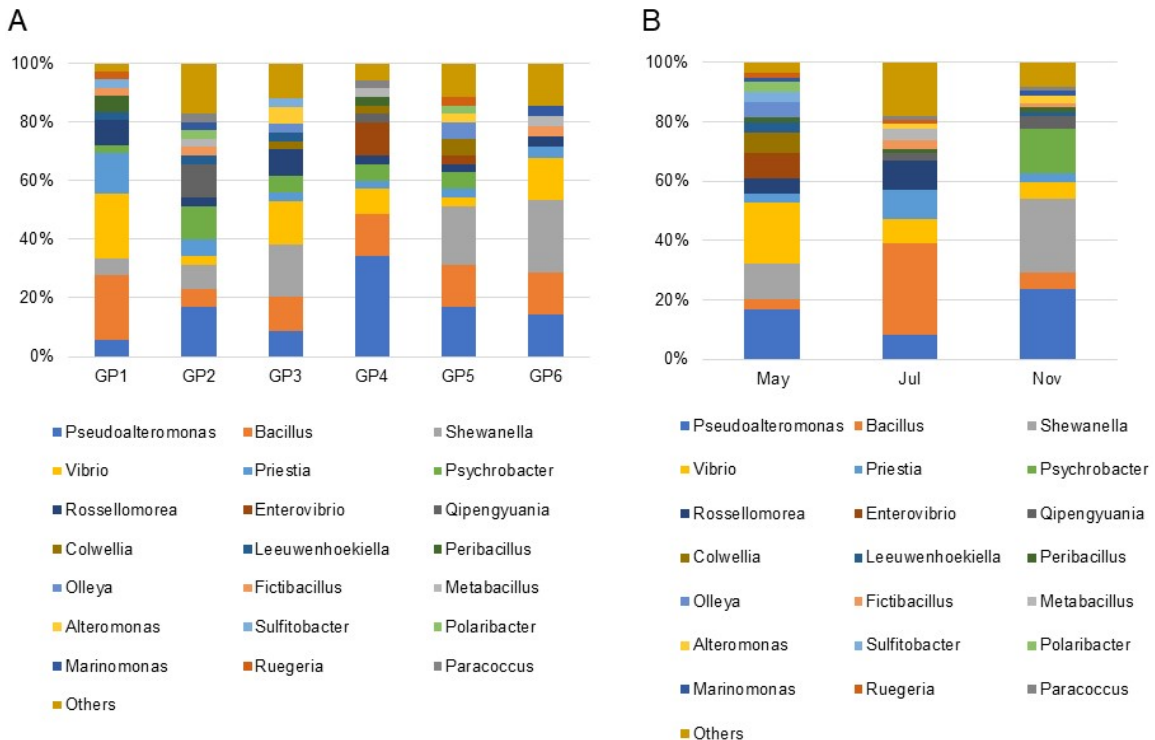


Fig. 3. (A) Spatial and (B) temporal distribution of bacterial isolates at genus level.

Table 2. Recovery of bacterial isolates on Muller-Hinton agar

| Phylum | Genus | Gram | May (N=4) | Jul (N=50) | Nov (N=21) | Sum (N=75) |
|----------------|------------------------------|----------|-----------|------------|------------|------------|
| Firmicutes | <i>Bacillus</i> | Positive | 0 | 22 | 4 | 26 |
| Firmicutes | <i>Priestia</i> | Positive | 2 | 7 | 2 | 11 |
| Firmicutes | <i>Rosellomorea</i> | Positive | 1 | 5 | 0 | 6 |
| Proteobacteria | <i>Vibrio</i> | Negative | 0 | 3 | 1 | 4 |
| Proteobacteria | <i>Psychrobacter</i> | Negative | 0 | 0 | 4 | 4 |
| Firmicutes | <i>Fictibacillus</i> | Positive | 0 | 2 | 1 | 3 |
| Firmicutes | <i>Metabacillus</i> | Positive | 0 | 3 | 0 | 3 |
| Proteobacteria | <i>Shewanella</i> | Negative | 0 | 0 | 2 | 2 |
| Firmicutes | <i>Peribacillus</i> | Positive | 0 | 1 | 1 | 2 |
| Proteobacteria | <i>Qipengyuania</i> | Negative | 0 | 0 | 1 | 1 |
| Proteobacteria | <i>Sulfitobacter</i> | Negative | 1 | 0 | 0 | 1 |
| Proteobacteria | <i>Acinetobacter</i> | Negative | 0 | 1 | 0 | 1 |
| Firmicutes | <i>Cytobacillus</i> | Positive | 0 | 1 | 0 | 1 |
| Proteobacteria | <i>Serratia</i> | Negative | 0 | 1 | 0 | 1 |
| Proteobacteria | <i>Cereibacter</i> | Negative | 0 | 1 | 0 | 1 |
| Firmicutes | <i>Pseudalkalibacillus</i> | Positive | 0 | 1 | 0 | 1 |
| Firmicutes | <i>Paenibacillus</i> | Positive | 0 | 1 | 0 | 1 |
| Proteobacteria | <i>Enterobacter</i> | Negative | 0 | 1 | 0 | 1 |
| Firmicutes | <i>Terribacillus</i> | Positive | 0 | 0 | 1 | 1 |
| Firmicutes | <i>Planococcus</i> | Positive | 0 | 0 | 1 | 1 |
| Proteobacteria | <i>Altericroceibacterium</i> | Negative | 0 | 0 | 1 | 1 |
| Firmicutes | <i>Calidifontibacillus</i> | Positive | 0 | 0 | 1 | 1 |
| Firmicutes | <i>Exiguobacterium</i> | Positive | 0 | 0 | 1 | 1 |

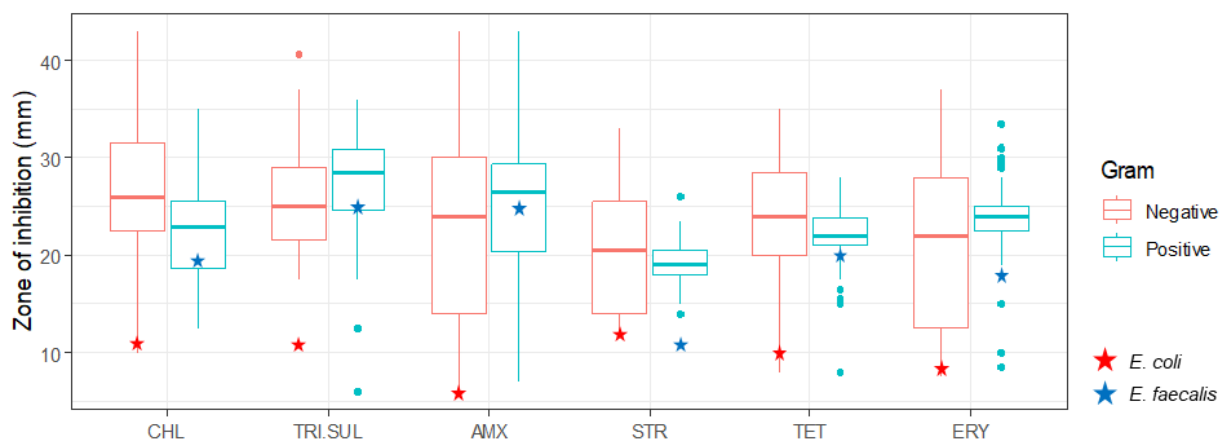


Fig. 4. Inhibition zone diameter distribution for six antibiotics. Chloramphenicol (CHL): 30 µg; Trimethoprim-sulfamethoxazole (TRI/SUL): 25 µg; Amoxicillin (AMX): 10 µg; Streptomycin (STR): 25 µg; Tetracycline (TET): 30 µg; Erythromycin (ERY): 15 µg.

으로 확인되었다. 각 항생제에 대한 그람음성균들과 그람양성균들 간의 투명한 크기 평균은 통계적으로 유의미하게 다르지 않은 것으로 평가되었으며($P>0.01$; Table 3), 이들의 투명한 크기 차이를 통한 항생제 감수성 평가는 사실상 불가능한 것으로 판단된다. 이에 그람음성균과 그람양성균에 대한 항생제별

억제대 크기를 CLSI의 기준에 따라 각각 *E. coli*와 *E. faecalis*의 투명한 크기와 비교하여 표준균주 대비 항생제 내성(이후 '내성'으로 표기함) 여부를 결정하였다. 분석결과 Mueller-Hinton 고체배지로 선별된 75개의 균주들 중 42개에서 하나 이상의 항생제에 내성을 보였으며(Table 4), 이중 7월의 균주

Table 3. Average of Inhibition zone diameter for six antibiotics against gram negative and positive bacteria

| Antibiotics | Size of inhibition zone (mm) for gram type | | P-value |
|-------------|--|----------|---------|
| | Negative | Positive | |
| CHL | 26.03 | 22.04 | 0.12 |
| TRI/SUL | 22.98 | 27.07 | 0.05 |
| AMX | 24.41 | 24.79 | 0.89 |
| STR | 20.36 | 19.22 | 0.50 |
| TET | 23.03 | 21.94 | 0.57 |
| ERY | 21.69 | 23.55 | 0.44 |

Table 4. Number of antibiotic resistant bacteria

| Month | Location | CHL (N=13) | TRI/SUL (N=15) | AMX (N=31) | STR (N=18) | TET (N=9) | ERY (N=6) |
|-------|----------|------------|----------------|------------|------------|-----------|-----------|
| May | GP1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | GP2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | GP3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | GP4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | GP5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | GP6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Jul | GP1 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 |
| | GP2 | 1 | 0 | 4 | 1 | 0 | 2 |
| | GP3 | 1 | 2 | 5 | 3 | 4 | 2 |
| | GP4 | 2 | 0 | 4 | 0 | 0 | 0 |
| | GP5 | 5 | 1 | 4 | 1 | 0 | 1 |
| | GP6 | 1 | 0 | 5 | 1 | 1 | 1 |
| Nov | GP1 | 1 | 6 | 3 | 6 | 0 | 0 |
| | GP2 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| | GP3 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 0 |
| | GP4 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| | GP5 | 0 | 2 | 0 | 2 | 1 | 0 |
| | GP6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Table 5. Occurrence of multi-drug resistant bacteria

| Month | Location | Phylum | Genus | Resistant to | | | |
|-------|------------|-----------------|----------------------------|--------------|---------|-----|-----|
| Jul | GP5 | Proteobacteria | <i>Vibrio</i> | CHL | AMX | STR | |
| | GP3 | Proteobacteria | <i>Serratia</i> | AMX | STR | TET | ERY |
| | GP6 | Proteobacteria | <i>Enterobacter</i> | AMX | STR | ERY | |
| | GP3 | Proteobacteria | <i>Cereibacter</i> | CHL | AMX | STR | TET |
| | GP2 | Proteobacteria | <i>Acinetobacter</i> | CHL | AMX | STR | |
| | GP3 | Firmicutes | <i>Bacillus</i> | TRI/SUL | AMX | TET | ERY |
| | GP5 | Firmicutes | <i>Bacillus</i> | CHL | TRI/SUL | AMX | ERY |
| Nov | GP1 | Firmicutes | <i>Priestia</i> | TRI/SUL | AMX | STR | |
| | GP1 | Firmicutes | <i>Priestia</i> | TRI/SUL | AMX | STR | |
| | GP1 | Firmicutes | <i>Peribacillus</i> | CHL | TRI/SUL | STR | |
| | GP5 | Firmicutes | <i>Exiguobacterium</i> | TRI/SUL | STR | TET | |
| | GP3 | Firmicutes | <i>Calidifontibacillus</i> | TRI/SUL | AMX | STR | TET |
| | GP1 | Firmicutes | <i>Bacillus</i> | TRI/SUL | AMX | STR | |
| | GP3 | Firmicutes | <i>Bacillus</i> | CHL | TRI/SUL | AMX | STR |
| GP4 | Firmicutes | <i>Bacillus</i> | CHL | TRI/SUL | STR | | |

들에서 실험에 사용한 6개 항생제 각각에 대한 내성을 확인하였고 GP1에서 GP6까지 모두 내성균이 존재하였다. 11월의 균주들에서는 ERY를 제외한 5개 항생제에 대한 개별 내성이 확인되었고 GP6을 제외한 지역에서 모두 내성균이 존재하였다. 5월의 경우 GP2 지점에서 AMX에 대한 내성균이 1개 확인되었다. 상기의 결과는 특정 시기와 지점에서의 항생제 내성균의 출현을 의미하기보다는 Mueller-Hinton 고체배지로 선별된 균주들의 편향적인 분포가 주요한 원인일 것이다. 그럼에도 불구하고 실험에 사용한 균주(N=75)의 절반 이상(N=42)에서 항생제 내성이 확인되었고, 이중 15개 균주(7월: 7개, 11월 8개)에서 다제내성이 확인되었다는 점은(Table 5) 경포호의 항생제 오염 가능성을 강하게 시사하고 있다.

결론

본 연구에서는 경포호를 대상으로 동해안 석호의 박테리아 생태환경을 조사한 뒤, 인간활동의 영향을 항생제 내성유무를 통하여 가능하고자 하였다. 먼저 기수호인 경포호를 공간적으로 6개 지점으로 구분한 뒤, 봄(5월)-여름(7월)-가을(11월)의 계절 구분에 따라 수질특성 변화를 조사하였다. 측정된 수질특성 자료를 통하여, 경포호는 1) 계절 구분에 따라 수온의 변화가 뚜렷하게 나타나며, 2) 갈수기인 봄에는 염분도가 높아지고, 3) 수온이 낮은 겨울에 DO 수치가 증가하며, 4) 해수 유입지역과의 거리에 따라 수질 특성이 달라지는 기수호의 특징을 확인하였다. 상기의 기수호 수질환경 변화는 경포호의 박테리아 분포에도 영향을 미치는 것으로 판단된다. 특히 본 연구에서 확인된 그람음성균인 *Pseudoalteromonas*, *Shewanella*, *Vibrio* 균주들은 해양환경에서 주로 서식하는 박테리아로 알려져 있으며, 과거의 인간활동(2004년 이후 보 개방)이 야기한 환경변화가 현재의 박테리아 서식조건을 형성한 것으로 판단된다. 이와 같은 결과를 통하여, 본 연구에서는 기존의 석호 환경조사와 함께 박테리아 생태모니터링이 병행 가능함을 확인하였으며, 향후 이를 통해 경포호를 비롯한 석호 생태계의 물질순환과 오염원 현황 파악 및 기원 추적에 대한 단서를 제공할 수 있을 것으로 판단된다. 아울러, 상기의 박테리아 분리·동정으로 파악된 항생제 내성 결과는 기존의 CLSI 기준 실험법의 한계(Mueller-Hinton 배지의 편향성)에도 불구하고 경포호 환경에 대한 항생제 노출 영향을 어느 정도 반영한 것으로 판단된다. 본 연구에서는 경포호에서 다수의 세균 내성 표현형을 최초로 분석하여 환경에 이미 존재하는 다제내성을 확인하였으며, 제안된 경포호 비점오염원 노출에 대한 잠재적 위해성은 향후 경포호를 대상으로 환경유전체 기반의 정밀하고 체계적인 연구를 수행하여 오염의 기원에 따른 항생제 내성 발생에 대한 연관성이 보다 명확하게 규명되어야 할 것이다.

Note

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgement

This paper was supported by research funds for newly appointed professors of Gangneung-Wonju National University in 2021 and by Korea Institute of Marine Science & Technology Promotion (KIMST) funded by the Ministry of Oceans and Fisheries (20220533).

References

1. Kjerfve B (1994) Coastal lagoons. Elsevier Oceanography Series, 60, 1-8. [https://doi.org/10.1016/S0422-9894\(08\)70006-0](https://doi.org/10.1016/S0422-9894(08)70006-0).
2. Kwak S, Bhattra B, Choi K, Heo W (2015) Long-term variations of water quality parameters in Lake Kyoungpo. Korean Journal of Ecology and Environment, 48(2), 95-107. <https://doi.org/10.11614/KSL.2015.48.2.095>.
3. Park S, Jang Y, Lee K, Heo W, Cho K, Choi J (2014) Analysis of fish community of lagoons in the East sea-shore according to hydrach succession. Korean Journal of Ecology and Environment, 47(spc), 83-99. [https://doi.org/10.11614/KSL.2014.47\(S\).083](https://doi.org/10.11614/KSL.2014.47(S).083).
4. Kwon D, Park M, Lee CS, Park C, Lee SD (2021) New records of the diatoms (Bacillariophyceae) from the Coastal Lagoons in Korea. Journal of Marine Science and Engineering, 9(7), 694. <https://doi.org/10.3390/jmse9070694>.
5. Kim JH, Park CK, Kim MY, Ahn SG (2008) Contamination of veterinary antibiotics and antimicrobials in Han river basin. Journal of the Korean Society for Environmental Analysis, 11, 109-118.
6. Hong Y, Lee I, Tae B, Lee W, Pan SY, Snyder SW, Kim H (2021) Contribution of sewage to occurrence of phosphodiesterase-5 inhibitors in natural water. Scientific Reports, 11(1), 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89028-3>.
7. Lee SH, Jung HW, Jung JY, Min HJ, Kim BR, Park CG, Oh JE, Onoda Y, Satou N (2013) Characteristics of occurrence of pharmaceuticals in the Nakdong river. Journal of Korean Society of Environmental Engineers, 35(1), 45-56.
8. Rai PK, Tripathi B (2007) Microbial contamination in vegetables due to irrigation with partially treated municipal wastewater in a tropical city. International Journal of Environmental Health Research, 17(5), 389-395. <https://doi.org/10.1080/09603120701628743>.
9. Pant A, Mittal AK (2007) Monitoring of pathogenicity of effluents from the UASB based sewage treatment

- plant. *Environmental Monitoring and Assessment*, 133(1), 43-51.
<https://doi.org/10.1007/s10661-006-9558-1>.
10. Igbinsola EO, Obi LC, Okoh AI (2009) Occurrence of potentially pathogenic vibrios in final effluents of a wastewater treatment facility in a rural community of the Eastern Cape Province of South Africa. *Research in Microbiology*, 160(8), 531-537.
<https://doi.org/10.1016/j.resmic.2009.08.007>.
 11. DeVries SL, Zhang P (2016) Antibiotics and the terrestrial nitrogen cycle: A review. *Current Pollution Reports*, 2(1), 51-67.
<https://doi.org/10.1007/s40726-016-0027-3>.
 12. Schar D, Klein EY, Laxminarayan R, Gilbert M, Van Boeckel TP (2020) Global trends in antimicrobial use in aquaculture. *Scientific Reports*, 10(1), 1-9.
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-78849-3>.
 13. Van Boeckel TP, Brower C, Gilbert M, Grenfell BT, Levin SA, Robinson TP, Teillant A, Laxminarayan R (2015) Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(18), 5649-5654.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1503141112>.
 14. Lee JH, Hong HW, Han DK (2022) Survey of antibiotic resistant bacteria in Ulleungdo, Korea. *Korean Journal of Environmental Agriculture*, 41(4), 344-354.
<https://doi.org/10.5338/KJEA.2022.41.4.40>.
 15. Baker-Austin C, Trinanes J, Gonzalez-Escalona N, Martinez-Urtaza J (2017) Non-cholera vibrios: The microbial barometer of climate change. *Trends in microbiology*, 25(1), 76-84.
<https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.09.008>.
 16. Gauthier G, Gauthier M, Christen R (1995) Phylogenetic analysis of the genera *Alteromonas*, *Shewanella*, and *Moritella* using genes coding for small-subunit rRNA sequences and division of the genus *Alteromonas* into two genera, *Alteromonas* (emended) and *Pseudoalteromonas* gen. nov., and proposal of twelve new species combinations. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 45(4), 755-761.
<https://doi.org/10.1099/00207713-45-4-755>.
 17. Satomi M, Oikawa H, Yano Y (2003) *Shewanella marinintestina* sp. nov., *Shewanella schlegeliana* sp. nov. and *Shewanella sairae* sp. nov., novel eicosapentaenoic-acid-producing marine bacteria isolated from sea-animal intestines. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53(2), 491-499.
<https://doi.org/10.1099/ijs.0.02392-0>.
 18. Rampelotto PH (2010) Resistance of microorganisms to extreme environmental conditions and its contribution to astrobiology. *Sustainability*, 2(6), 1602-1623. <https://doi.org/10.3390/su2061602>.
 19. Mondol MA., Shin HJ, Islam MT (2013) Diversity of secondary metabolites from marine *Bacillus* species: Chemistry and biological activity. *Marine Drugs*, 11(8), 2846-2872. <https://doi.org/10.3390/md11082846>.