

경기도 내 양식어류에서 분리한 병원성 세균의 Tetracycline 내성 유전자 분포

조기택[†] · 황윤정 · 이상우 · 김광일^{*} · 정현도^{*}

경기도 해양수산자원연구소, ^{*}부경대학교 수산생명의학과

Distribution of Tetracycline-Resistance Genes detected from isolates of cultured fishes in Gyeonggi-do

Ki-Taek Cho[†], Yun-Jeong Hwang, Sang-Woo Lee, Kwang-Il Kim^{*} and Hyun-Do Jeong^{*}

Gyeonggi Province Maritime&Fisheries Research Institute, Ansan 15651, Korea

^{*}Department of Aquatic Life Medicine, Pukyong National University, Busan 48513, Korea

Tetracycline (TC) is one of the antibiotics used for treatment of bacterial infection in Korea. Inadequate usage and abuse cause the resistance to antibiotics, like Tetracycline, Erythromycin, and Fluoroquinolone. It can also affect severe economic loss in aquaculture field in Korea. We isolated 101 bacterial samples from diseased fish at aquaculture sites in Gyeonggi-do during 2015~2018. Minimum inhibitory concentration (MIC) method has been used to determine distribution and to identify bacterial isolates resistant to antibiotics including Oxytetracycline (OTC), Ampicillin (AMP), Clindamycin (CLI), Enrofloxacin (ENRO), Gentamycin (GEN). TC resistant isolates were confirmed antibiotic resistance genes by conventional PCR. Bacterial isolates were identified as *Aeromonas* spp. (43.5%), *Pseudomonas* spp. (4.0%) and *Vibrio* spp. (5.0%). It was confirmed that multi-resistant isolates (77.2%) were predominant over single-resistant one (22.8%). TC resistant genes like *tet(A)*, *tet(D)*, *tet(E)*, *tet(G)*, *tet(M)*, and *tet(S)* were detected and *tet(A)* was the most prevalent. *Aeromonas* spp. is a dominant strain in bacterial infections in fishes of aquaculture sites, and further investigation on various antibiotic resistance genes will be needed for clear understanding of aquaculture sites in Gyeonggi-do.

Key words: Tetracycline, Antibiotic resistance gene, *tet* gene, *Aeromonas* spp., Multi-resistant bacteria

서 론

우리나라에서는 오랜 기간 동안 다양한 품종과 시설을 이용한 수산양식이 이루어지고 있다. 경기도의 경우 내수면 품종 위주의 양식이 이루어지고

있으며, 서해안 연안의 패류 양식 등 해면 품종도 일부 양식되어지고 있다. 경기도의 주요 양식품종은 뱀장어, 메기, 동자개, 대농갱이 등이 있으며, 2018년 경기도의 내수면 양식 생산량은 1,489 ton 이 생산되어 전국 내수면 양식 분야의 한 축을 담당하고 있다(해양수산부 수산정보포털, 2019).

내수면 어종을 비롯한 양식어류에서는 다양한 질병에 의한 피해가 발생하고 있으며, 특히 세

[†]Corresponding author: Ki-Taek Cho
Tel: +82-31-8008-6505, Fax: +82-32-890-4160
E-mail: ktcho8977@gg.go.kr

균성 질병은 양식어류에서 자주 발생하고 있는 질병 중 하나이다. 내수면 양식어류에 주로 발생하는 세균성 질병은 *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas salmonicida*, *Edwardsiella tarda* 등이며, 국내외에서 지속적으로 발생된다는 보고가 되어지고 있다(Akinbowale *et al.*, 2006; Dung *et al.*, 2009; Jun *et al.*, 2004). 세균성 질병은 다양한 항생제로 치료가 가능하며, 내수면 양식장에서는 Oxytetracycline (OTC), Florfenicol 등과 같은 항생제가 많이 사용되고 있다. 전 세계적으로 항생제는 인체 세균성 질병의 치료 외에도 축산업, 수산 양식 분야에서 많이 사용되고 있으며, 오남용 등으로 인해 항생제에 내성을 가지는 세균 또는 여러 항생제에 대해 내성을 나타내는 다제 내성균의 비율이 증가하고 있다(Labella *et al.*, 2013). 이러한 항생제의 내성 문제를 막기 위해 범국가적으로 항생제의 적절한 사용에 대해 관심을 기울이고 있으며, 세계보건기구(WHO)에서는 항생제 내성의 발생과 확산이 21 세기의 공중 보건을 위협하는 주요 요인 중 하나라고 규정하고 있다(Rodriguez-Mozaz *et al.*, 2015).

Tetracycline (TC)은 여러 그람 양성 및 음성 세균에 효과적인 광범위성 항생제로 알려져 있다. 양식 산업에서는 현재도 Oxytetracycline (OTC)와 같은 TC 계열 항생제가 많이 쓰이고 있어, 어류의 질병 치료를 위한 수산용 항생제로서 TC는 여전히 중요한 위치를 차지하고 있다. TC는 구조적으로 acetate와 malonate가 환을 형성하여, 4개의 연결된 환을 그 모핵으로 가지고 있으며, 세균의 ribosome의 30S subunit에 결합하여, aminoacyl tRNA가 50S subunit의 acceptor site와 결합하는 것을 방해하는 방법으로 단백질 합성을 억제시키는 작용에 의한 정균 능력을 나타낸다(Roberts, 1996). 하지만 이러한 효과 이면에는, 여러 분야에서의 무분별한 사용으로 인하여 TC에 대한 내성균이 증가하는 문제가 생기고 있다(Schmitz *et al.*, 2001; Schwarz *et al.*, 1998; Trzcinski *et al.*, 2000). TC 계열의 내성 기전은 크게 efflux 기작과 ribosomal protection 기작을 들 수 있는데, 이런 기작들은 TC 내성 유전자인 *tet* 유전자에 의해 일어나게 된다(Levy, 1992; Chopra and Roberts, 2001). *tet(A)*, *tet(B)*, *tet(C)*, *tet(D)*, *tet(E)*, *tet(G)*, *tet(K)* 등은 efflux 기작에 관여하며, *tet*

(M), *tet(S)*, *tet(W)* 등은 ribosomal protection에 관여하는 것으로 알려져 있다(Roberts, 2005). 또한, *tet(A)*, *tet(B)*, *tet(C)*, *tet(D)*, *tet(E)*, *tet(G)*는 그람 음성균에서 주로 나타나며, *tet(K)*, *tet(S)*, *tet(W)* 등은 그람 양성균에서 주로 존재한다. 특히 그들 중 *tet(M)*은 그람 양성균과 음성균 모두에서 보고되고 있다(Chopra and Roberts, 2001).

경기도 해양수산자원연구소에서는 경기도에 소재한 양식장의 바이러스성, 세균성 등 질병 모니터링을 주기적으로 실시하고 있으며, 분리된 세균성 병원체의 항생제 감수성 시험을 통해 감수성 있는 항생제 사용을 권고하는 등의 질병관리를 추진하고 있다. 이런 노력에도 불구하고, 여전히 도내 양식장 일부에서 항생제가 오·남용되고 있어 항생제 내성이 발생할 가능성이 높은 상황이다. 따라서 본 연구에서는 도내 양식장의 항생제 내성에 따른 영향을 파악하기 위하여, 2015~2018년 동안 도내 양식어류에서 분리된 균주를 대상으로 다양한 항생제에 대한 감수성 시험을 실시하였고, TC에 대한 내성을 나타내는 균주를 선별하여 *tet* 유전자 분포 양상을 확인하였다.

재료 및 방법

시료채취 및 균주 분리

본 연구에서는 2015~2018년 동안 경기도 내 양식장 약 300개소를 대상으로 질병 모니터링을 실시하였다. 검사 대상 양식장은 임상증상이 나타났거나 폐사가 발생한 곳을 선정하여 빈사 또는 정상 어류를 검사하였다. 양식어류는 임상검사를 통해 체표 및 내부장기의 이상을 확인하고, 간, 신장, 비장을 무균적으로 절개하여 Tryptic Soy Agar (TSA)에 도말하였다. 배지는 25℃에서 24시간 배양하였고, 단일 콜로니를 분리하여 Tryptic Soy Broth (TSB)에서 증균하여 실험에 사용하였다. 균주는 배양액과 배양액의 20%인 glycerol을 혼합하여 실험에 사용하기 전까지 -80℃에 보관하였다.

항생제 감수성 시험 및 동정

양식어류에서 분리한 균주의 항생제 내성 유무를 확인하기 위하여, TC를 비롯한 다양한 항생제

에 대한 항생제 감수성 시험을 실시하였다. 해당 시험은 다양한 항생제에 대한 MIC(Minimum Inhibitory Concentration) 값을 동시에 분석 가능한 Sensititre Bovine/Porcine plate (Thermo Fisher, USA)를 사용하였다(Ruzauskas *et al.*, 2018). Ampicillin (AMP), Oxytetracycline (OTC), Gentamycin (GEN), Clindamycin (CLI), Enrofloxacin (ENRO)에 대한 MIC 값을 확인하였고, CLSI 등의 기준을 참고하여 내성 유무를 판단하였다. 모든 균주들은 Biolog (USA)에서 시판된 간이 생화학적 동정용 키트를 사용하였고, Microstation (Biolog, USA) 장비로 동정 결과를 확인하였다.

TC 내성(*tet*) 유전자 확인

TC 내성균주에서 내성을 유발하는 *tet* 유전자를

확인하기 위하여 Conventional PCR을 실시하였다. Total DNA는 분리균주의 배양액에서 DNeasy Blood & Tissue kit (QIAGEN, Germany)을 이용해 분리하였고, 실험법은 제품 매뉴얼에 따라 진행하였다. 10X PCR buffer 2 µl, 200 µM의 각각의 dNTP, 1 µM의 sense primer와 antisense primer, Taq DNA polymerase (TaKaRa, Japan) 및 template 1 µl를 첨가한 후 distilled water로 최종액의 volume이 20 µl가 되도록 했다. Primer는 대표적인 *tet* 유전자들에 대해 특이적으로 제작된 것을 사용하였고, *tet(A)~tet(G)*는 동시에 검출이 가능한 조합을 사용하였다 (Table 1) (Jun *et al.*, 2004; Jun, 2010; Aminov *et al.*, 2001). PCR 혼합물은 Biometra TAdvanced Thermal Cycler (Analytik-Jena, Germany)를 사용하여, 94°C에서 3분간 pre-denaturation 시킨 후, 94°C

Table 1. Primers used in this study

Genes	Primer	Oligonucleotide sequence (5'→3')	Expected size	Reference
<i>tet(A)</i> to (G)	TETF ^a	GCGCTNTATGCGTTGATGCA		Jun <i>et al.</i> , 2004; Jun, 2010
	TAR	ACAGCCCGTCAGGAAATT	387	
	TBR	TGAAAGCAAACGGCCTAA	171	
	TCR	CGTGCAAGATTCGGAATA	631	
	TDR	CCAGAGGTTTAAGCAGTGT	489	
	TER	ATGTGTCCTGGATTCTT	246	
	TGR	ATGCCAACACCCCGGCG	803	
<i>tet(K)</i>	TKR-F TKR-R	GTAATGGTACCTGGTAAATC CTATTACCTATTGTGCTAC	399	Aminov <i>et al.</i> , 2001
<i>tet(L)</i>	TLR-F TLR-R	GATCGATAGTAGCCATGG CTTCTATCAACAAGTATC	480	
<i>tet(M)</i>	TMR-F TMR-R	GAATCTGAACAATGGGAT CTAACAATTCTGTTCCAGC	1,099	
<i>tet(O)</i>	TOF-F TOF-R	ACGGARAGTTTATTGTATACC TGCGGTATCTATAATGTTGAC	171	Aminov <i>et al.</i> , 2001
<i>tet(S)</i>	TSR-F TSR-R	GAAAGCTTACTATACAGTAGC AGGAGTATCTACAATATTTAC	169	
<i>tet(W)</i>	TWR-F TWR-R	GAGAGCCTGCTATATGCCAGC GGGCGTATCCACAAATGTTAAC	168	
<i>tet(Q)</i>	TQR-F TQR-R	AGAATCTGCTGTTTGCCAGTG CGGAGTGTCAATGATATTGCA	169	
<i>tet(T)</i>	TTR-F TTR-R	AAGGTTTATTATATAAAAGTG AGGTGTATCTATGATATTTAC	169	

^aTETF designed from the conserved region of six different *tet* genes and used as the common sense primer for PCR amplification.

에서 30초 denaturation, 55℃에서 30초 annealing, 72℃에서 30초 extension의 반응을 30 cycle 수행한 후 72℃에서 7분간 post-extension 시켰다. 증폭산물은 QIAxcel Advanced Instrument (QIAGEN, Germany)를 이용하여 전기영동 하였고, 증폭산물의 길이를 확인하여 *tet* 유전자의 유무를 확인하였다.

결과 및 고찰

도내 양식생물 분리균주 모니터링

2015~2018년까지 경기도에 소재한 양식장을 대상으로 질병 모니터링을 실시하였고, 임상증상이 있거나 폐사가 발생한 이력이 있는 양식어류를 대상으로 간, 신장, 비장에서 세균을 분리 배양하였다. 모니터링 결과, 메기, 뱀장어 등의 다양한 내수면 양식어종에서 총 101개의 균주를 분리하였다 (Table 2). 분리된 균주 중, *Aeromonas* spp.가 43.5%로 가장 우점하였으며, *A. veronii*, *A. hydrophila*, *A. allosaccharophila*, *A. eucrenophila* 등이 분리되었다 (Table 3). 분리균주 중에는 어병세균으로 잘 알려져 있는 *A. hydrophila* 8개를 비롯하여, *P. fluorescens*, *P. anguilliseptica*, *E. tarda*, *L. garvieae*, *Y. ruckeri*가 각각 1개, 1개, 2개, 1개로 확인되었다. 일반적으로 내수면 어류에서는 *A. hydrophila*, *A. salmonicida*와 같은 *Aeromonas* spp., *E. tarda*, *P. flu-*

orescens 등에 의한 세균성 질병이 잘 알려져 있다 (Jun *et al.*, 2010). 이번 연구에서는 넙치를 비롯한 해면 어류에 주로 발생하는 *L. garvieae*가 양식 메기에서 분리되었는데, 이는 중국에서 양식된 yellow catfish의 장내 세균 등에서 분리되었다는 보고에서 내수면 양식품종에서도 분리가 가능하다는 것을 알 수 있다(Wu *et al.*, 2010).

분리균주의 항생제 내성 특성 비교

본 연구에서 분리한 균주의 항생제 내성 유무를 조사하기 위하여, 분리균주를 대상으로 TC, GEN, AMP, CLI, ENRO에 대한 내성 유무를 MIC법으로 확인하였다. 총 101개의 균주 중 총 92개의 균주에서 다양한 항생제에 대한 내성이 확인되었으며, 나머지 9개 균주에서는 확인되지 않았다(Table 4). 그 중 TC에 내성을 나타내는 균주는 47개가 확인되었고, 전체 균주의 46.5%로 확인되었다(Table 3). 또한, *Aeromonas* spp.는 전체 TC 내성균 대비 51.1%로 가장 많았으며, *A. hydrophila*를 비롯한 어병세균에서도 TC에 대한 내성이 확인되었다(Table 3).

또한, 다양한 항생제에 대해 내성을 나타내는 다재내성균의 비율을 분석하였는데, 단일 항생제에 대해 내성을 나타내는 균주(22.8%)보다 다재내성균의 비율(77.2%)이 더 높다는 것을 확인하였다 (Table 4). 단일 내성으로서는 CLI가 가장 높았으며 (13.0%), 다재내성에서도 CLI가 포함되어 있는

Table 2. Various species of diseased fish used for monitoring in this study

Common name	Species	Isolates	The number of individuals*
Altum angelfish**	<i>Pterophyllum altum</i>	3	1
Far eastern catfish	<i>Silurus asotus</i>	49	37
Japanese eel	<i>Anguilla japonica</i>	11	7
Koi**	<i>Cyprinus carpio</i>	8	8
Korean bullhead	<i>Pseudobagrus fulvidraco</i>	14	11
Korean weatherfish	<i>Misgurnus anguillicaudatus</i>	6	4
Rainbow trout	<i>Onchorhynchus mykiss</i>	1	1
Mandarin fish	<i>Siniperca scherzeri</i>	4	4
Chinese Sturgeon	<i>Acipenser sinensis</i>	4	4
Ussurian bullhead	<i>Leiocassis ussuriensis</i>	1	1

* Some individuals have two or three different isolates.

** They were cultured for ornamental use.

Table 3. Identification of isolates from diseased fishes in aquaculture sites

Genus	Species	The number of isolates (%)	
		Total	TC-resistance
		101	47
<i>Aeromonas</i>		44 (43.5)	24 (51.1)
	<i>A. hydrophila</i>	8	6
	<i>A. bestiarum</i>	6	6
	<i>A. veronii</i>	8	5
	<i>A. allosaccharophila</i>	8	2
	<i>A. caviae</i>	2	-
	<i>A. sobria</i>	1	1
	<i>A. eucrenophila</i>	8	2
	<i>A. ichthiosmia</i>	1	1
	<i>A. jandaei</i>	2	1
<i>Pseudomonas</i>		4 (4.0)	3 (6.4)
	<i>P. fluorescens</i>	1	1
	<i>P. anguilliseptica</i>	1	-
	<i>P. aeruginosa</i>	1	1
	<i>P. viridilivida</i>	1	1
<i>Vibrio</i>		5 (5.0)	-
	<i>V. metschnikovii</i>	3	-
	<i>V. Cholerae 01/0139</i>	2	-
<i>Yersinia</i>	<i>Y. ruckeri</i>	1 (1.0)	1 (2.1)
<i>Lactococcus</i>	<i>L. garvieae</i>	1 (1.0)	1 (2.1)
<i>Edwardsiella</i>	<i>E. tarda</i>	2 (2.0)	2 (4.2)
<i>Etc.</i>		44 (43.5)	16 (34.0)

AMP^R/CLI^R(19.6%), TC^R/AMP^R/CLI^R(12.0%) 그룹이 높은 비율을 차지하였다(Table 4).

TC 내성균의 *tet* 유전자 분포

도내 양식장에서 TC 내성을 주로 일으키는 *tet* 유전자를 파악하기 위하여, TC에 내성을 나타내는 균주를 대상으로 *tet* 유전자의 분포 양상을 확인하였다. 그람 음성 세균에서는 주로 efflux 기작에 관여하는 *tet(A)~tet(G)* 등에 의해 내성이 유발된다고 알려져 있으며, 종종 *tet(M)*, *tet(S)* 등이 ribosomal protection 기작을 일으켜 TC에 내성을 나타낸다는 보고가 있다(Poole, 2005). 본 연구에서 분리된 TC 내성균 47개를 대상으로 *tet(A)* 등 14개의 *tet* 유전자의 분포 양상을 확인한 결과, *tet(A)*, *tet(D)*, *tet(E)*, *tet(G)*, *tet(M)*, *tet(S)*가 존재함을 확인하였다(Fig. 1). 그 중 *tet(A)*가 가장 많은 11 균주에서

검출되었으며, *tet(E)*와 *tet(D)*가 각각 9개, 4개 균주

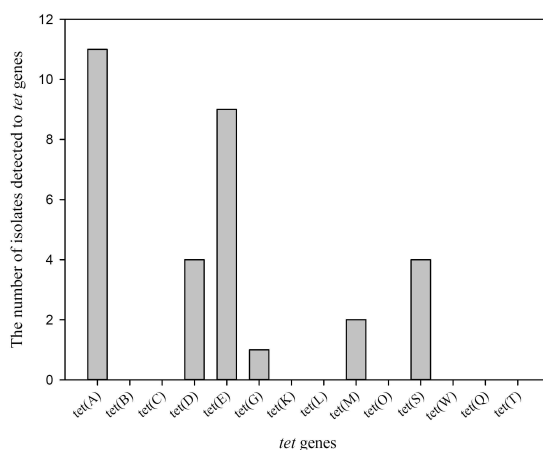


Fig. 1. The number of isolates containing TC resistant (*tet*) genes.

Table 4. The number of the multiple antibiotic resistant isolates

Antimicrobial agent				The number of the isolates (%)
Total isolates				101
Non-resistant				9
Resistant isolates				92
OTC ^R				1 (1.1)
GEN ^R				3 (3.3)
AMP ^R				4 (4.3)
CLI ^R				12 (13.0)
ENRO ^R				1 (1.1)
OTC ^R GEN ^R				2 (2.2)
OTC ^R AMP ^R				8 (8.7)
OTC ^R CLI ^R				6 (6.5)
OTC ^R ENRO ^R				3 (3.3)
GEN ^R AMP ^R				2 (2.2)
GEN ^R CLI ^R				-
GEN ^R ENRO ^R				-
AMP ^R CLI ^R				18 (19.6)
AMP ^R ENRO ^R				-
CLI ^R ENRO ^R				2 (2.2)
OTC ^R GEN ^R AMP ^R				2 (2.2)
OTC ^R GEN ^R CLI ^R				-
OTC ^R GEN ^R ENRO ^R				-
OTC ^R AMP ^R CLI ^R				11 (12.0)
OTC ^R AMP ^R ENRO ^R				-
OTC ^R CLI ^R ENRO ^R				3 (3.3)
GEN ^R AMP ^R CLI ^R				1 (1.1)
GEN ^R CLI ^R ENRO ^R				-
AMP ^R CLI ^R ENRO ^R				1 (1.1)
OTC ^R GEN ^R AMP ^R CLI ^R				6 (6.5)
OTC ^R GEN ^R AMP ^R ENRO ^R				-
OTC ^R AMP ^R CLI ^R ENRO ^R				2 (2.2)
GEN ^R AMP ^R CLI ^R ENRO ^R				1 (1.1)
OTC ^R GEN ^R AMP ^R CLI ^R ENRO ^R				3 (3.3)

에서 확인되었다. Ribosomal protection 기작에 관여하는 *tet* 유전자 또한 확인되었는데, *tet*(S)은 *Enterococcus* spp.와 *L. garvieae*와 같은 그람 양성 세균에서 검출되었으며, *tet*(M)은 그람 음성 세균인 *C. freundii*, *Y. ruckeri*에서 확인되었다. 본 연구 결과에서는 그람 음성 세균에서만 efflux 유전자인 *tet*(A), *tet*(D), *tet*(E), *tet*(G)가 확인되었는데, 일반적으로 efflux 기작을 일으키는 *tet* 유전자는 그람 음

성 세균에서 *tet*(A)~*tet*(E), *tet*(G) 등이 우점적으로 나타나며, 그람 양성 세균에서는 매우 드물게 나타난다고 알려져 있다(Butaye *et al.*, 2003; Poole, 2005; Roberts, 2005). 또한, 해면 양식어류에서는 *tet*(B)와 *tet*(D)가 상대적으로 우점적으로 나타나는 반면, 내수면 양식어류인 메기에서 분리된 *E. tarda*에서는 *tet*(A)와 *tet*(D)가 우점적으로 검출된다는 보고가 있다(Jang *et al.*, 2018; Jun *et al.*, 2004). 이와

같은 결과들은 내수면 양식어류에서 분리된 균주를 분석한 본 연구에서의 결과와 일치하였으며, *tet* 유전자의 분포 양상이 해면과 내수면 양식어류에 따라 차이가 있음을 확인할 수 있었다.

반면, TC 내성균 중 21개의 균주에서는 본 연구에서 대상으로 한 *tet* 유전자가 모두 검출되지 않았다. TC 내성의 기작은 크게 3가지로 나뉘며, 각각 efflux, ribosomal protection, enzymatic 기작으로 불린다. efflux 기작은 *tet(A)*~(*E*) 이외에도 *tet(30)*, *tet(31)*, *tet(33)* 등 다양한 유전자가 해당 기작을 통해 세균의 TC 내성을 유발하며, plasmid 또는 chromosome에 존재한다고 알려져 있다(Chopra and Roberts, 2001; Poole, 2005). 또한, ribosomal protection 또는 enzymatic 기작을 일으키는 다양한 *tet* 유전자가 존재하며, 양식어류 또는 사육수에서 *tet(Y)*, *tet(X)* 등의 검출이 보고되고 있다(Furushita *et al.*, 2003, Huang *et al.*, 2017). 따라서 본 연구에서 *tet* 유전자가 검출되지 않은 TC 내성균들은 다른 *tet* 유전자 또는 기작으로 인해 TC 내성이 유도되었을 것이라 여겨진다.

요 약

Tetracycline (TC)은 국내에서 세균 감염 치료에 반드시 필요한 대표적인 항생제로 알려져 있다. 그러나 부적절한 사용과 남용으로 인해 Tetracycline, Erythromycin, Fluoroquinolone 등과 같은 항생제에 대한 내성이 발생하고 있으며, 이는 국내 양식 분야에서 심각한 경제적 피해를 유발한다. 본 연구에서는 2015~2018년에 걸쳐 경기도 양식장의 양식생물에서 101개 균주를 분리하였다. 분리균주는 간단한 생화학적 방법을 통해 동정하였으며, 최소억제농도(MIC)의 확인을 통해 Oxytetracycline (OTC), Ampicillin (AMP), Clindamycin (CLI), Enrofloxacin (ENRO), Gentamycin (GEN)에 대한 내성 여부를 확인하였다. 이중 TC에 내성을 보이는 균주는 PCR법을 통해 *tet* 유전자의 분포를 조사하였다. 그 결과, 총 101개 균주 중에서 *Aeromonas* spp.가 44개(43.5%)로 가장 우점하였고, 그 다음으로 *Pseudomonas* spp. 4개(4.0%), *Vibrio* spp. 5개(5.0%)가 확인되었다. 또한, 다중 내성을 보이는 균주

(77.2%)가 단일 내성균(22.8%)보다 많음을 확인하였다. *tet(A)*, *tet(D)*, *tet(E)*, *tet(G)*, *tet(M)*, *tet(S)*가 TC 내성 균주에서 검출되었으며 *tet(A)*가 가장 우점적으로 확인되었다. *Aeromonas* spp.는 분리된 균주 중에서 가장 많았으며, 경기도 내 양식현장에서의 다양한 항생제 내성 유전자의 특성에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

감사의 글

이 논문은 경기도해양수산자원연구소의 본예산 사업 중 수산질병관리원 운영 및 시험연구사업 예산에 의해 수행되었습니다.

References

- Akinbowale O.L., Peng H., Barton M.D.: Antimicrobial resistance in bacteria isolated from aquaculture sources in Australia. *J. Appl. Microbiol.*, 100(5):1103-1113, 2006.
- Aminov R.I., Garrigues-Jeanjean N., Mackie R.I.: Molecular ecology of tetracycline resistance: development and validation of primers for detection of tetracycline resistance genes encoding ribosomal protection proteins. *Appl. Environ. Microbiol.*, 67(1): 22-32, 2001.
- Butaye P., Cloeckert A., Schwarz S.: Mobile genes coding for efflux-mediated antimicrobial resistance in Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 22:205-10, 2003.
- Chopra I. and Roberts M.C.: Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 65:232-260, 2001.
- Dung T.T., Haesebrouck F., Sorgeloos P., Tuan N.A., Pasmans F., Smet A., Decostere A.: IncK plasmid-mediated tetracycline resistance in *Edwardsiella ictaluri* isolates from diseased freshwater catfish in Vietnam. *Aquaculture*, 295:157-159, 2009.
- Furushita M., Shiba T., Maeda T., Yahata M., Kaneoka A., Takahashi Y., Torii K., Haegawa T., Ohta M.: Similarity of tetracycline resistance genes isolated from fish farm bacteria to those from clinical isolates. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69:5336-5342, 2003.
- Huang L., Xu Y.B., Xu J.X., Ling J.Y., Chen J.L., Zhou J.L., Zeung L., Du P.Q.: Antibiotic resistance genes (ARGs) in duck and fish production ponds with in-

- tergrated or non-integrated mode. *Chemosphere*, 168: 1107-1114, 2017.
- Jang H.M., Kim Y.B., Choi S., Lee Y., Shin S.G., Unno T., Kim, Y.M.: Prevalence of antibiotic resistance genes from effluent of coastal aquaculture, South Korea. *Environ. pollut.*, 233:1049-1057, 2018.
- Jun L.J., Jeong J.B., Huh M.D., Chung J.K., Choi D.L., Lee C.H., Jeong H.D.: Detection of tetracycline-resistance determinants by multiplex polymerase chain reaction in *Edwardsiella tarda* isolated from fish farms in Korea. *Aquaculture*, 240:89-100, 2004.
- Jun L.J.: Characterization of antibiotics resistant genes carried by fish pathogens in Korea. Ph. D. Thesis, Pukyung National University, Busan, Korea. 2010.
- Jun J.W., Kim J.H., Gomez D.K., Choresca C.H. Jr., Han J.E., Shin S.P., Park S.C.: Occurrence of tetracycline-resistant *Aeromonas hydrophila* infection in Korean cyprinid loach (*Misgurnus anguillicaudatus*). *Afr. J. Microbiol. Res.*, 4(9):849-855. 2010.
- Labella A., Gennari M., Ghidini V., Trento I., Manfrin A., Borrego J.J., Lleo M.M.: High incidence of antibiotic multi-resistant bacteria in coastal areas dedicated to fish farming. *Mar. Pollut. Bull.*, 70:197-203, 2013.
- Levy S.B.: Active efflux mechanism for antimicrobial resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 36:695-703, 1992.
- Poole K.: Efflux-mediated antimicrobial resistance. *J. Antimicrob. Chemother.*, 56(1):20-51, 2005.
- Rodriguez-Mozaz S., Chamorro S., Marti E., Huerta B., Gros M., Sanchez-Melsio A., Borrego C.M., Barcelo D., Balcazar J.L.: Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in hospital and urban wastewaters and their impact on the receiving river. *Water Res.*, 69:234-242, 2015.
- Roberts M.C.: 1996. Tetracycline resistance determinants: mechanism of action, regulation of expression, genetic mobility, and distribution. *FEMS Microbiol. Rev.*, 19(1):1-24, 1996.
- Roberts M.C.: Update on acquired tetracycline resistance genes. *FEMS Microbiol. Lett.*, 245:195-203. 2005.
- Ruzauskas M., Klimiene I., Armalyte J., Bartkiene E., Siugzdiniene R., Skerniskyte J., Krasauskas R., Suziedeliene E.: Composition and antimicrobial resistance profile of Gram-negative microbiota prevalent in aquacultured fish. *J. Food Saf.*, 38(3), 2018.
- Schmitz F.J., Krey A., Sadurski R., Verhoef J., Milatovic D., Fluit A.C., European SENTRY Participants: Resistance to tetracycline and distribution of tetracycline resistance genes in European *Staphylococcus aureus* isolates. *J. Antimicrob. Chemother.*, 47(2): 239-240, 2001.
- Schwarz S., Roberts M.C., Werckenthin C., Pang Y., Lange C.: Tetracycline resistance in *Staphylococcus* spp. from domestic animals. *Vet. Microbiol.*, 63(2-4): 217-227, 1998.
- Trzcinski K., Cooper B.S., Hryniewicz W., Dowson C. G.: Expression of resistance to tetracyclines in strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Antimicrob. Chemother.*, 45(6):763-770, 2000.
- Wu S., Gao T., Zheng Y., Wang W., Cheng Y., Wang G.: Microbial diversity of intestinal contents and mucus in yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). *Aquaculture*, 303(1-4):1-7, 2010.
- 해양수산부: 수산정보포털, <http://fips.go.kr>, 2019.

Manuscript Received : May 27, 2021

Revised : Jun 04, 2021

Accepted : Jun 07, 2021