J. Fd Hyg. Safety 12(4), 294 - 299(1997)

겨울철에 시판되는 어패류에 있어서의 *E. coli*와 Coliform에 관한 연구
-서울시 가락동 농수산물시장을 중심으로-

노병의† · 빈성오 · 김성원*
*경산대학교 보건학과, *서울시 보건환경연구원*

A Study on Contamination of Fish Sold at Wholesale Market in Seoul Area
- Material Collected from Seoul Karak Fish Market -

Pyong-Ui Roh†, Sung-Oh Bin and Sung-Won Kim*
Dept. of Public Health Science, Kyungsan University, Kyungsan 712-715, Korea
**Public Health and Environment Institute of Seoul, Seoul 137-130, Korea*

ABSTRACT — A study was conducted to determine contamination status of fish sold at wholesale market in Seoul. A total of 79 samples (35 different kindry fish) were collected from the wholesale market. *E. coli* and coliform group bacteria were cultured and tested for sensitivity against antibiotics. The results are summarized as follows; 1. *E. coli* was isolated from 23 out of 79 samples (29.1%), and coliform groups from 53 out of 79 (67.1%). 2. Of coliform group, *Citrobacter freundii* was the most common and *Enterobacter cloacae* was the next. 3. 23 *E. coli* strains isolated from fishes were resistant to Oxacillin, Erythromycin and Lincomycin, meanwhile 23 *E. coli* strains were sensitive to Cefoperazone, Ceftazidime, Imipenem, and Ciprofloxacin.

Key words □ Bacterial contamination of fish

일반적으로 어패류는 단백질이나 지질이 풍부할 뿐만 아니라, 무기질이나 비타민류의 좋은 공급원이 되고 있다. 지질은 열량원으로 중요할 뿐만 아니라 동맥경화, 심근경색, 뇌혈전 등의 순환기계 성인병을 예방하는 데 효과가 있는 것으로 알려져 있어 어패류의 소비가 증가하고 있다.[1] 그러나 위생상태가 좋지 못하면 오염된 어패류 등을 통해서 간염을 위시한 세균성 질환이 많이 발생한다.[2,3]

*Escherichia coli*는 장관내의 상재균으로, 장관내에 있어서는 병원성을 나타내지 않으나 일부의 대장균은 장관내에서도 설사나 장염을 일으킨다. 이와 같은 대장균을 병원성 대장균이라 한다.[4]

대장균군은 Gram음성, 무아포성, 간균으로서 젖당을 분해하여 산과 가스를 생성하는 모든 호기성 또는 통성혐기성 세균을 말하며 분변오염의 지표로 이용된다. 식품에서 대장균군이 검출되었다는 것은 직접, 간접으로 인축의 분변에 오염된 것으로 볼 수 있으므로 식품위생상 그 의의가 크다. 특히, 어패류의 세균학적 오염도 조사는 식품위생 및 식중독 예방에 매우 중요한 자료이다.

한편 요즈음에는 어패류를 미생물에 오염되지 않고 장기간 신선한 상태로 유지시키고 보관하기 위하여 항생제를 무분별하게 사용하고 있다. 이러한 항생제의 남용으로 미생물의 내성균이 점점 많아지고 있다.

본 연구는 시판중인 어패류에 대하여 식품오염지표인 *Escherichia coli*와 Coliform, 그리고 *Escherichia coli*에 대한 항생제의 내성을 관찰하여 어패류의 오염도를 조사함으로써 어패류를 좀 더 위생적으로 공급할 수 있고, 어패류에 의한 식중독을 예방할 수 있는 기초자료를 제공하고자 실시하였다.

실험 재료, 방법 및 분석

실험재료

본 실험의 재료는 1996년 12월 5일부터 1997년 1월 6일까지 가락동 농수산물시장(서울특별시 농수산물 유통공사)

† Author to whom correspondence should be addressed.

에서 시판된 어류종, 패류종, 갑각류종, 연체류종을 대상으로 하였다. 실험한 시료의 종류는 총 35종 79건이었다.

실험재료 즉, 시료는 건열 및 화염멸균된 핀셋, 스푼 등을 시료 1건당 1개씩 사용하여 멸균 Polybag에 식품위생법의 식품 등의 기준 및 규격[5]에 준하여 채취한 후 즉시 Ice-Box에 넣어 저온(5±3°C)으로 유지시키면서 2시간 이내에 실험실에 운반하여 실험재료로 하였다.

실험방법

Coliform bacteria의 분리, 동정—어패류에서의 대장균군의 분리는 A.P.H.A의 Standard method,[6] 일본식품위생학 실험지침,[7] 식품공전[8]에 준하여 실시하였다. 시험원액 1 m*l*를 10 m*l*씩 들어있는 2개의 BGLB(Brilliant Green Lactose Bile Broth)배지(Difco, USA)에 접종하여 37±1°C에서 48±3시간 배양하여 gas가 생성되었는지 조사하고 가스발생이 인정되었을 때에는(배지를 흔들 때 거품모양의 가스 존재를 인정하였을 때); Gas가 생성된 tube의 균액을 백금루프로 따서 EMB(Difco, USA)배지에 도말하였다. 생성된 colony 중 서로 다르다고 인정되는 모든 colony들을 백금이로 따서 KIA(Kligler's Iron Agar) slant에 접종하여 37±1°C에서 18~24시간 배양하여 고층과 사면의 발효모양과 H_2S 형성여부, gas 발생여부를 고찰하여 대장균군의 유무를 알아냈다. 분리된 균중 Oxidase negative, Catalase positive인 균을 선별하여 API 20E Kit(BioMerieux, France)으로 최종 동정하였다.

***Escherichia coli*의 분리**—어패류에서의 *E. coli*의 분리는 A.P.H.A의 Standard method,[6] 일본식품위생학 실험지침,[7] 식품공전[8]에 준하여 실시하였다. 검체 1 g을 무균적으로 취하여 10 m*l* E.C. broth(Difco, U.S.A.)에 접종하여 45±1°C에서 48시간 배양하였다. 이때 Duram tube에 gas가 생성되었을 때는 추정시험 양성으로 하고 추정시험에서 양성일 때에는 해당 EC발효관으로부터 균액을 멸균 백금루프로 따서 EMB평판배지에 획선도말하여 37±1°C에서 24±2시간 배양한 후 전형적인 녹색 metal colony가 생성되었는지 여부를 조사하였다.

전형적인 녹색 metal colony가 생성되면 확정실험 양성으로 하고 녹색 metal colony를 멸균 백금이로 따서 Tryptic Soy Agar(Difco, USA)에 도말하여 37±1°C에서 24±2시간 배양한 후 Gram Stain(그람염색)을 실시하여 Gram negative간균임을 확인하였다. 분리된 균을 다시 KIA사면배지에 접종하여 고층과 사면이 각각 acid이며 H_2S negative이고 gas가 생성된 균주를 선별하였다.

분리된 *E. coli*에 대한 Antibiotics Susceptibility—분리된 *E. coli*를 대상으로 Kirby-disk Diffusion Method에 준하여 항생제 감수성 시험을 실시하였다. Antibiotics Disk는 Difco(USA)에서 구입하였으며, Ampicillin(Am; 10 mcg), Aztreonam(ATM; 30 mcg), Carbenicillin(CB100; 100 mcg), Cefamandole(MA30; 30 mcg), Cefoperazone(CFP75; 75 mcg), Ceftazidime(CAZ30; 30 mcg), Cefuroxime(CXM30; 30 mcg), Cephalothin(CF30; 30 mcg), Imipenem(IPM10; 10 mcg), Oxacillin(OX1; 1 mcg), Penicillin(P10; 10 unit) 등 β-lactam계 11종과 Amikacin(An30; 30 mcg), Gentamycin (GM10; 10 mcg), Kanamycin(K30; 30 mcg), Neomycin(N 30; 30 mcg), Tobramycin(NN10; 10 mcg), Strepto-mycin(S-10; 10 mcg) 등 Aminoglycoside계 6종, Chloramphenicol(C 30; 30 mcg), Erythromycin(E15; 15 mcg), Lincomycin(L2; 2 mcg) 등 Miscellaneous계 3종, Nalidixic acid(NA30; 30 mcg), Ciprofloxacin(CIP5; 5 mcg) 등 Quinolone계 2종, 그리고 Polypeptide계로서 Colistin(CL10; 10 mcg), Polymycin B(PB-300; 300U) 등 총 24종의 Antibiotics Disk를 사용하였다.

시험균은 Tryptic Soy Agar(Difco, USA)에서 24시간 배양후 Mueller Hinton Broth(Difco, USA)에서 8시간 배양하여 MacFarland scale No. 0.5 $BaSO_4$표준비색관(0.048 M $BaCl_2$ 0.5 m*l*+1% H_2SO_4 99.5 m*l*; 10^8 CFU/m*l*)에 맞추어 완충식염수로 희석하였다. 희석된 균액을 Mueller Hinton Agar에 도말한 후 10분간 정치시켜 습기를 제거한 후 Disk Dispensor(Perkin Elmer, UK)를 이용하여 Disk를 배지상에 올려놓았다. 37±0.5°C에서 18시간 배양후 zone reader (Fisher)를 이용하여 발육억제대의 크기를 측정하였다. 감수성 여부는 NCCLS(National Committe for Clinical Laboratory Standard)의 기준에 따라 판정하였다.

분석

각 어종간 대장균, 대장균군의 성적은 p=0.05 수준에서 SAS/PC 프로그램을 이용한 χ^2-Test 분석을 실시하여 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

어종별 대장균군의 오염도

어패류에서 검출된 대장균군의 오염도는 검체 총 79건중 53건(67.1%)이 양성반응을 보였다. 각 어종별에서 갑각류 10건중 8건에서 양성반응을 보여 80%로 가장 오염도가 높았고, 어류는 24건중 17건으로 70.8%, 패류는 26건중 18건으로 69.2%, 연체류는 총 19건중 10건으로 52.6%가 양성반응을 보였다(Table 1).

어종별 대장균군의 오염에 대한 유의성은 없는 것으로

Table 1. Coliform bacteria isolation by sea food product

Sea Food Product	Coliform		Total (%)
	Positive (%)	Negative (%)	
Fish	17(70.8)	7(29.2)	24(100.0)
Shellfish	18(69.2)	8(30.8)	26(100.0)
Crustacea	8(80.0)	2(20.0)	10(100.0)
Mollusca	10(52.6)	9(47.4)	19(100.0)
	χ^2 = 4.415 DF = 3 p = 0.220		
Total	53(67.1)	26(32.9)	79(100.0)

Table 2. Isolation rates of *E. coli* by sea food product

Sea Food Product \ Rates	Number of Samples	*Esherichia coli*	
		Number of Isolates	Isolation Rate(%)
Fish	24	4	16.7
Shellfish	26	12	46.2
Crustacea	10	3	30.0
Mollusca	19	4	21.1
	χ^2 = 6.412 DF = 3 p = 0.093		
Total	79	23	29.1

나타났으며($p > 0.05$) 이러한 결과는 산지에서 도매상으로, 도매상에서 소매상으로, 소매상에서 소비자로 이어지는 과정에서 운반, 저장, 판매시 부주의로 인해서 대장균군의 발생과 증식에 알맞은 조건이 되어 어패류가 오염에 쉽게 노출된 것으로 생각된다. 장[9] 등의 조사에서 어패류는 유통과정의 2차오염으로 인해서 오염도가 증가한다는 결과와 같았다.

어종간 *E. coli*의 오염도

총 79건중 23건에서 *E. coli*가 검출되어 29.1%의 검출율을 보였다. 어패류에서 검출된 *E. coli*의 분포는 어류에서 24건중 4건으로 16.7%, 패류에서 26건중 12건으로 46.2%, 갑각류 30.0%, 연체류 21.1%의 양성반응을 보였다(Table 2). 김[10]의 어종중 패류에서 55.6%로 양성반응이 가장 높게 나타난 것과 같이 본 실험에서도 패류에서 가장 높은 오염도를 보였다. 그러나 Ayulo[11] 등의 패류에서의 27.0% 검출률에 비해 46.2%로 높게 나타난 것은 그 패류가 서식하는 환경오염 정도를 반영하는 것이라고 볼 수 있다. 이러한 어종에 오염 미생물이 침입하고 이것을 인간이 섭취할 수 있어 주의 깊게 관찰할 필요가 있으나 우리나라에서는 어패류에 대한 미생물의 규격기준이 아직 설정되어 있지 않은 상태이다. 그러나 일본에서는 미생물 규격기준[12]에서 생식용 냉동 신선 어패류에서 대장균군은 음성으로 하고 있다. 어종별 대장균의 오염도에 대한 유의성은 없었다($p > 0.05$).

이렇게 대장균 · 대장균군과 어종별 사이에 유의성이 없게 나타난 것은 어패류를 잡은 후 산지에서 판매지로 운송

Table 3. Bacterial species isolated from each sea food product

Bacteria \ Sea Product	Fish				Shellfish	Crustacea	Mollusca	Total
	Skin	Muscle	Intestine	Subtotal				
Aeromonas caviae	–	–	1	1	2	–	–	3
Cedecea davisae	1	–	–	1	–	–	1	2
Cedecea neteri	–	–	1	1	–	–	–	1
Chryseomonas luteola	2	1	1	4	–	–	–	4
Citrobacter amalonaticus	2	2	–	4	1	–	2	7
Citrobacter freundii	8	9	2	19	9	–	2	30
Enterobacter amnigenus	1	–	1	2	5	–	1	8
Enterobacter cloacae	5	–	–	5	4	2	2	13
Enterobacter intermedius	–	–	–	–	–	–	1	1
Enterobacter sakazakii	–	–	–	–	1	1	–	2
Enterobacter taylorae	–	–	–	–	–	–	2	2
Escherichia coli	–	–	–	–	1	–	2	3
Escherichia fergusonii	–	–	1	1	1	–	–	2
Escherichia vulneris	1	2	1	4	1	–	–	5
Klepsiella ozanae	–	–	1	1	2	–	–	3
Salmonella arizonae	1	–	–	1	2	–	–	3
Salmonella paratyphi	–	1	–	1	–	–	–	1
Salmonella spp.	–	–	1	1	–	–	–	1
Total	21	15	10	46	29	3	13	91

과정중 세균들이 아가미나 피부에 묻었다가 감염되었거나, 판매지에서의 불결한 위생상태로 이미 2차 오염이 되었기 때문으로 추측된다.

각 어종에서의 Coliform Bacteria의 분리

각 어종별로 분리 동정한 박테리아는 총 91주의 집락으로부터 18균속이 동정되었다(Table 3). 어류에서는 인체 감염 병원체를 알고자 피부, 근육, 내장으로 나누어 세균 분리 및 동정을 하였다. 91주중 *Citrobacter freundii*가 30주로 가장 많이 분리되었고 그 다음이 *Enterobacter cloacae*가 13주, *Enterobacter amnigenus*가 8주로 많이 분리 되었으며 *Citrobacter*속이 37주로 가장 많이 분리 되었다. 각각의 어종별에서도 *Citrobacter freundii*가 가장 많이 분리 되었다. 김[13] 등의 어류에서의 실험에서는 *Aeromonas*속이 가장 많이 분리 되었으나 본 실험에서는 *Citrobacter*속이 가장 많이 분리 되었다.

어패류에서 분리한 *E. coli*의 항생제 내성 조사

Oxacillin, Erythromycin, Lincomycin에 대해 시험균 23주 모두 내성을 보였으며, Penicillin에 대해 20주 87.0%가 Streptomycin과 Cephalothin이 각각 9주(39.1%), 5주(21.8%)에서 내성을 보였으며 Ampicillin, Carbenicillin에 대해 4주(17.4%)가 내성을 보였다. 특히 제[14]의 실험결과와 같이 β-lactams계열의 Penicillin이 내성이 높았다. Cefoperazone, Ceftazidine, Imipenem, Ciprofloxacin은 100% 감수성을 나타내었다(Table 4). 내성을 가진 항생제에 대해 어종별로 알아보면 어류에서 Oxacillin, Erythromycin, Lincomycin에서 모두 내성을 보였으며, 패류에서는 Oxacillin, Penicillin, Erythromycin, Lincomycin에서 모두 내성을 보였다(Table 5).

이렇듯 내성을 많이 가지는 이유로 단기간 내에 많은 양의 생산을 위하여 무분별한 항생제의 남용과 유통과정중 신선도 유지를 위한 항생제 사용이 그 원인이라고 사료된다. 안[15] 등은 항생제 내성은 결국 질병상태, 사망상태의 보건관리 비용을 증가시키고, 특히 면역 기능이 저하된 환자들을 치료하는 데 많은 부담을 준다고 하였다. 또한 여러 학자들이 항생제의 종류와 관계없이 내성균주는 발생하며, 항생제를 장기간 사용하는 것은 단기치료나 예방적 사용보다 약제 내성의 발생에 훨씬 큰 부담을 준다고 한다.[16] 따라서 항생제 선택시에는 가능한 병원균의 범주를 좁히고 항균범위가 좁은 항생제를 선택하여야 하며 최소유효량으로 단기간 투여하여야 한다.[17]

Table 4. Antibiotics susceptibility of *E. coli* isolated from sea food product

Families	Antibiotics	Susceptible Strain (%)	Intermediate Strain (%)	Resistant Strain (%)	Total (%)
β-lactams	Ampicillin	19 (82.6)	-	4 (17.4)	23(100.0)
	Aztreonam	16 (69.6)	7 (30.4)	-	23(100.0)
	Carbenicillin	9 (39.1)	10 (43.5)	4 (17.4)	23(100.0)
	Cefamandole	20 (87.0)	3 (13.0)	-	23(100.0)
	Cefoperazone	23(100.0)	-	-	23(100.0)
	Ceftazidime	23(100.0)	-	-	23(100.0)
	Cefuroxime	16 (69.6)	7 (30.4)	-	23(100.0)
	Cephalothin	7 (30.4)	11 (47.8)	5 (21.8)	23(100.0)
	Imipenem	23(100.0)	-	-	23(100.0)
	Oxacillin	-	-	23(100.0)	23(100.0)
	Penicillin	3 (13.0)	-	20 (87.0)	23(100.0)
Aminoglycosides	Amikacin	17 (73.9)	4 (17.4)	2 (8.7)	23(100.0)
	Gentamycin	22 (95.7)	-	1 (4.3)	23(100.0)
	Kanamycin	16 (69.6)	5 (21.7)	2 (8.7)	23(100.0)
	Neomycin	7 (30.4)	14 (60.9)	2 (8.7)	23(100.0)
	Streptomycin	2 (8.7)	12 (52.2)	9 (39.1)	23(100.0)
	Tobramycin	22 (95.7)	-	1 (4.3)	23(100.0)
Miscellaneous	Chloramphenicol	22 (95.7)	-	1 (4.3)	23(100.0)
	Erythromycin	-	-	23(100.0)	23(100.0)
	Lincomycin	-	-	23(100.0)	23(100.0)
Quinolones	Ciprofloxacin	23(100.0)	-	-	23(100.0)
	Nalidixic acid	21 (91.3)	-	2 (8.7)	23(100.0)
Polypeptides	Colistin	14 (60.9)	9 (39.1)	-	23(100.0)
	Polymyxin B	17 (73.9)	6 (26.1)	-	23(100.0)

Table 5. Antibiotics resistant *E. coli* by antibiotics by sea food product

Families	Antibiotics	Sea Product				Total
		Fish	Shellfish	Crustacea	Mollusca	
β-lactams	Ampicillin	1	2	1	-	4
	Carbenicillin	1	2	1	-	4
	Cephalothin	-	3	2	-	5
	Oxacillin	4	12	3	4	23
	Penicillin	2	12	3	3	20
Aminoglycosides	Amikacin	1	-	1	-	1
	Gentamycin	-	-	1	-	1
	Kanamycin	2	-	-	-	2
	Neomycin	2	-	-	-	2
	Streptomycin	3	5	1	-	9
	Tobramycin	-	-	1	-	1
Miscellaneous	Chloramphenicol	-	-	1	-	1
	Erythromycin	4	12	3	4	23
	Lincomycin	4	12	3	4	23
Quinolones	Nalidixic acid	1	-	1	-	2
No. of Isolated		4	12	3	4	23

국문요약

본 연구는 서울지역의 시장에서 판매된 어류의 오염상태를 측정하였다. 재료는 시장에서 판매되는 79건(35종)을 선택하였다, *E. coli*와 Coliform을 배양하였고 항생제에 대한 감수성을 시험하였다. 결과를 요약하면 다음과 같다. 1. *E. coli*는 79건중 23건이 분리되었으며(29.1%) 대장균군은 79건중 53건이 분리되었다(67.1%). 2. 대장균군 중 *Citrobacter freundii*가 가장 많이 분리되었고 다음이 *Enterobacter cloacae*가 많았다. 3. 어패류에서 분리된 23주의 대장균은 Oxacillin, Erythromycin과 Lincomycin에 대해 저항성이 있었고, Cefoperazone, Ceftazidime, Imipenem, Cirprofloxacin에 대해서는 감수성이 있었다.

참고문헌

1. 이용욱 외 3인: 시판어패류에서의 오염지표세균의 분포와 저장온도 및 저장기간이 오염지표세균에 미치는 영향, 식품위생안전성학회지, **11**(1), 57-70 (1996).
2. M. Jacob: Safe food handling, WHO, pp. 25-31 (1989).
3. Abram S. Benenson: Control of Communicable Diseases in Man, APHA, pp. 196-200 (1990).
4. Michael D. Doyle, Dean O. Cliver: Foodborne Disease, Academic Press, pp. 209-215 (1990).
5. 보건복지부: 식품위생관계법규, 지구문화사, pp. 256-384 (1996).
6. A.P.H.A: Standard Method, pp. 964-966 (1975).
7. 遠藤英美, 西壇進: 日本食品衛生學, 三共出版, 25-34 (1992).
8. 한국식품공업협회: 식품공전, (1995).
9. 장동석, 최위경: 시판 수산식품에 대한 세균학적 연구, 한국수산학회지, **6**(1), 92-96 (1973).
10. 김정현: 동절기에 시판되는 어패류에서 분리된 *E. coli*의 특성에 관한 연구, 서울대학교보건대학원 석사학위논문, (1996).
11. Ayulo, A. B., Adedayo., and Scussel, V. M.: Enterotoxigenic *Escherichia coli* and Staphylococcus aureus in fish and seafood from the southern region of Brazil. *J. Food Micribiol*, **24**, 171-178 (1994).
12. 厚生省生活衛生局: 食品衛生實驗指針 微生物編, 東京, 日本食品衛生協會, (1990).
13. 김호훈 외 7인: 담수어양식장에서 분리되는 병원성 세균에 관한 연구, 국립보건원보, **27**(1), 13-24 (1990).
14. 제금순: 식품첨가색소가 대장균 증식에 미치는 영향, 부

산여자대학교대학원 석사학위논문, (1992).
15. 안혜진, 김정순: 다약제 내성균 발생빈도와 감염요인에 관한 연구, 서울대학교 보건대학원 국민보건연구소, **5**(2), 93-109 (1995).
16. Cohen ML: Epidemiology of drug resistance Implication for a postantimicrobial era, Science, pp. 1050-1055 (1992).
17. 홍사석 : 약리학 강의, 의학문화사, p.552 (1993).