J. Fd Hyg. Safety
Vol. 23, No. 1, pp. 15~18 (2008)

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

시판 해산물에서 분리한 대장균의 혈청형 및 월별, 산지별 분포

함희진*
서울시 보건환경연구원

Serotypes and Distributions of *Escherichia coli* Strains Isolated from Marine Products in Wholesale Market

Hee-jin Ham*
Seoul Health & Environmental Research Institute, Seoul 138-701, Korea
(Received November 23, 2007/Accepted March 10, 2008)

ABSTRACT – For prevention of *E. coli* related with food poisoning including diarrhea, urinal infection, peritonitis and infant septicemia, two hundreds and twelve *E. coli* strains(10.3%) were isolated among 2,066 seafood products in Seoul Garak fishery market from 2005 to 2007. Most strains were isolated from fishes (7.0%), shellfishes (12.8%), crustaceans (8.7%), and molluscs (11.0%) in summer. Serotypes of *E. coli* isolates were determined as O6, O8, O25, O26, O27, O55, O78, O126, O158, O167, and O168. Conclusively, we knew that *E. coli* could be contaminated in various seafood products.

Key words: *E. coli*, Serotype, Seafood Products

대장균은 1885년 Theodor Escherich에 의해 밝혀졌으며[1], 장내 상주균으로만 인식되어 오다가 1923년 처음으로 신생아 설사를 원인균으로 인식되기 시작한[2] 장내세균과에 속하는 그람음성 단간균이며 통성 혐기성균으로 주모성의 편모를 가지고 있으며, 운동성이 있으나 일부는 비운동성이기도 하다[3]. 분변 오염을 통해 감염될 경우 설사, 요로 감염증, 복막염 및 신생아 패혈증 등 다양한 질환을 유발하며 특히, 병원성 대장균은 분변 오염의 지표로 중시된다[3]. 본 실험은 서울시내 소재하는 가락농수산물 시장에서 수거한 해산물을 대상으로 대장균을 분리하여 분리율 및 혈청형 동정 등을 실시하여 대장균에 의한 식중독 예방을 위한 기초자료로 제공코자 수행하였다.

재료 및 방법

시험 검체

시험 검체는 서울시 가락농수산물시장에서 수거한 총 2,066건의 해산물(어류 573건, 패류 721건, 갑각류 208건 그리고 연체류 564건)을 대상으로 실시하였다. 각각의 검체는 polybag에 채취한 후 즉시 ice box에 보관하여 1시간 이내에 실험실로 운반하여 균 분리 동정을 실시하였다.

*Correspondence to: Hee-jin Ham, Seoul Health & Environmental Research Institute, Seoul 138-701, Korea
Tel: 82-2-3401-6291
E-mail: hhj3814@naver.com

균 분리와 동정

Polybag으로 채취한 가검물을 ice box에서 꺼내어 자외선 멸균된 stomacher bag에 넣고 균질기(Seward stomacher 400, Model: BA7021, England)로 분쇄한 후 미리 준비한 90 mL lactose broth(Difco, USA)에 무균 환경 상태로 10 g을 취하여 넣어 37°C에서 18~24시간 호기 배양하여 증균하였고, 증균된 배지에서 1 Loop를 떼어 eosin methylene blue agar(EMB, Difco, USA)에 도말하여 37°C에서 18~24시간 호기 배양한 후 철록색 금속성 광택을 띠는 집락중 대장균으로 의심되는 집락을 선별하여 tryptic soy agar에서 순수분리 배양하였으며, 배양된 smooth colony는 API 20E kit(bioMerieux, France)를 이용하여 대장균으로 동정하였는데, 시험 방법은 F.D.A.의 bacteriological analytical manual[4], A.P.H.A.의 standard method[5] 및 식품공전의 일반시험법 중 미생물 시험법[6]에 준하여 시험하였다.

대장균 혈청형 동정 시험

Brain heart infusion agar(BHI, Difco, USA)에 균을 접종하여 18-24시간 배양 후 균을 멸균식염수에 농후하게 풀어 균 부유액을 제조하였고, 이 균액을 slide glass에 도말한 후 시판되는 대장균 O 항혈청(Denka seiken, Japan)을 동량 첨가하여 응집반응 유무로 혈청형 동정을 실시하였다.

결과 및 고찰

월별, 검체별 대장균 분리현황

가락농수산물시장에서 수거한 총 2,066건의 해산물을 대상으로 대장균 분리를 실시한 결과, 212건의 검체에서 대장균이 분리(212/2,066, 10.3%)되었는데, 이는 한 등[1]의 5.1%(37/733), 이 등[3]의 7.73%(181/2343), Chourio 등[10]의 9.33%(7/75), Warburton 등[8]의 8.12%(16/197)보다는 높은 검출율이었으나, Ayuki 등[7]의 10-30%, Elmossalami 등[11]의 40%보다는 낮은 검출율을 보였다. 한편, Kumiko 등[9]은 수산물에서 0.5%(7/1,445) 검출하였다고 보고하였고, 함 등[15]은 수족관수에서 2.8%(18/643) 검출을 보고하였다.

분리된 212주의 대장균의 월별 분포를 살펴보면, 1월 4.0%, 2월 1.0%, 3월 0.7%, 4월 9.5%, 5월 4.4%, 6월 9.4%, 7월 30.5%, 8월 42.1%, 9월 21.2%, 10월 6.6%, 11월 0.7% 그리고 12월 4.6%의 검출율을 보여, 이 등[3]의 2000년 1월 0%, 2월 1.6%, 3월 1.6%, 4월 6.1%, 5월 5.2%, 6월 11.1%, 7월 12.1%, 8월 17.1% 그리고 9월 19.4%의 결과와는 차이가 있었으나, 6월에서 9월까지의 검출율이 높은 점에서는 일치하였다.

검체별 분포를 살펴보면, 병어, 고등어, 우럭 등의 어류가 7.0%(40/573), 소라살, 굴, 바지락살 등의 패류 12.8%(92/721), 새우 등의 갑각류 8.7%(18/208) 그리고 낙지, 쭈꾸미, 문어 등의 연체류 11.0%(62/564)의 검출율을 보여, 패류, 연체류가 어류, 갑각류에 비해 대장균 분리율이 비교적 높게 나타나, 한 등[1]의 어류 6.2%(11/179), 패류 6.4%(22/344), 갑각류 1.4%(1/72), 연체류 2.2%(3/138)와 이 등[3]의 어류 11.7%(74/635), 패류 7.3%(49/643), 갑각류 1.3%(10/155), 연체류 8.9%(30/338)의 결과에서 연체류가 어류에 비해 낮게 검출되었던 보고와 차이가 있음을 알 수 있었다(Table 1). 종별 분포를 보면, 소라살 29건, 새우 16건, 굴 12건, 바지락살 10건, 홍합살 10건, 낙지 9건, 키조개살 9건 등 순으로 높게 분포하였다.

분리 대장균의 지역별 분포

212개의 분리 균들의 지역별 분포를 살펴보면, 강원 지역은 21.3%의 검출율을 보였고, 인천지역 15.6%, 경남 12.1%, 전남 11.5%, 전북 22.2%, 충남 11.6%, 제주 6.7% 그리고 우리나라 이외의 지역에서 9.0%의 검출율을 보였는데(Table 2), 이는 이 등[3]의 **2000년** 강원 10.7%, 경남 12.0%, 전남 6.0%, 전북 8.5%, 충남 7.2%, 제주 16.2% 그리고 우리나라 이외의 지역 8.7%, 함 등[19]의 **2003년** 강원 12.5%, 경남 18.4%, 전남 13.2%, 전북 11.8%, 충남 6.3%, 제주 17.7% 그리고 우리나라 이외의 지역 7.2%의 검출율과 비교해 볼 때, 강원, 전북은 증가하였고, 경남, 전남, 제주는 증가하다가 감소추세이며, 충남과 우리나라 이외의 지역은 감소하다가 증가하는 추세를 보였다. 이는 강원과 전북지역의 생산 환경 개선과 우리나라 이외 지역으로부터의 수산물 수입량 증가에 기인하는 것으로 사료된다.

분리대장균의 혈청형 분포도

생화학적 검사를 실시하여 대장균으로 분리 동정한 212주를 대상으로 혈청형 동정을 실시한 결과, O6은 소라, 키조개, 그리고 건해삼에서 각각 1건씩, O25는 문어, 멍게에서 각각 1건씩, O29는 소라, 키조개에서 각각 1건씩, 그리고 O8, O26, O27, O55, O78, O126, O158, O168은 문어, 갈치, 미더덕, 바지락, 낙지, 쭈꾸미, 소라, 오징어 알에서 각각 1건씩, O167도 소라에서 1건 확인되어 총 16주(17.4%)의 O 혈청형이 동정되었다(Table 3). 이는 한 등[10]이 1999년 수산물 유래 대장균에서 O1, O6, O20, O26, O27, O29, O63, O114, O115, O119, O125, O126, O127, O143, O146, O148, O152, O153을 분리한 총 70.3%(26/37)의 혈청형 동정율에 비하여 낮은 동정율을 나타내었고, 이 등[3]이 2000년 O6, O8, O15, O18, O27, O29, O63, O78, O86, O114, O115, O125, O128, O142, O146, O158, O159, O166, O167, O168을 분리한 총 75.7%(137/181)의 혈청형 동정율에 비하여 훨씬 낮은 결과를 나타내었다. 이 가운데 O6, O29, O78 등은 한 등[10] 및 이 등[3]과 일치, O168은 이 등[3]과 일치하였으며, O25는 한 등[10]과 이 등[3]이 동정하지 못

Table 1. Monthly isolation rates of *E. coli* in 2,066 seafood products from 2005 to 2007 in Korea

Seafood products	No. of *E. coli* isolates per samples in each months												Total (%)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Fishes	0/81	0/73	0/53	3/29	1/55	8//54	16/50	7/35	4/48	0/42	0/26	1/27	40/573 (7.0)
Shellfishes	4/71	0/79	0/33	6/49	1/35	4/30	20/67	27/109	19/53	7/52	0/70	4/73	92/721 (12.8)
Crustaceans	0/19	0/15	0/14	1/15	3/18	0/10	4/22	5/30	4/17	0/14	0/16	1/18	18/208 (8.7)
Molluscs	5/54	2/43	1/40	3/44	2/50	0/33	18/51	17/66	8/47	3/43	1/37	2/56	62/564 (11.0)
Total(%)	9/225 (4.0)	2/210 (1.0)	1/140 (0.7)	13/137 (9.5)	7/158 (4.4)	12/127 (9.4)	58/190 (30.5)	101/165 (42.1%)	35/165 (21.2)	10/151 (6.6)	1/149 (0.7)	8/174 (4.6)	212/2,066 (10.3)

Table 2. Geographical isolation rates of *E. coli* isolated in 2,066 seafood products from 2005 to 2007 in Korea

Provinces	Regions(No. of *E. coli* isolates/samples)	Total(%)
Kang-won	Dong-hae(4/25), Sok-cho(10/43), Dong-hae-an(2/7)	16/75(21.3)
In-cheon	In-cheon(10/64)	10/64(15.6)
Kyung-nam	Nam-hae(3/32), Chung-mu(2/26), Ma-san(15/112), Busan(8/31), Jin-dong(3/25), Tong-young(7/91), Sam-cheon-po(4/35), Sa-cheon(1/3)	43/355(12.1)
Chun-nam	Go-heung(2/39), Mok-po(1/16), Yeo-su(38/328), Wan-do(5/21), Nok-dong(1/2), S대-hae-an(1/11)	48/417(11.5)
Chun-buk	Kun-san(17/76), Bu-ahn (1/5)	18/81(22.2)
Chung-nam	Seo-san(3/32), An-myeon-do(1/10), Tae-ahn(1/1)	5/43(11.6)
Che-ju	Je-ju(2/30)	2/30(6.7)
Other domestic	Other domestic(7/303)	7/303(2.3)
Imported	Rusia(8/94), North pacific(1/3), North-Korea(9/56), Indonesia(2/21), Japan(4/55), China(28/396), Turkey(1/1), Canada(2/7), Tailand(3/32), Phillipine(1/9), Other imported(0/24)	63/698(9.0)
Total(%)		212/2,066(10.3)

한 혈청형이 나타나는 등 여러 형태의 대장균 혈청형 양상이 나타났다. 이 가운데 O6, O8, O25, O27, O78, O167 등은 장내독소형 대장균 (enterotoxigenic *E. coli*), O26은 장내출혈성 대장균 (enterohemorrhagic *E. coli*), O29는 장내침입성대장균 (enteroinvasive *E. coli*), 그리고 O55, O126, O158 등은 장내병원성대장균 (enteropathogenic *E. coli*) 등으로 분류되는데[20] 이는 국내 유통되는 해산물 유래 대장균들이 장내 독소형과 장내 병원성 대장균이 많이 나타나고, 새로운 해양환경 변화 등으로 인한 새로운 혈청형들의 출현 가능성 등을 이번 실험에서 확인할 수 있었으며, 이에 대한 지속적인 혈청형 연구와 병원성 유전자에 대한 추가 연구가 필요함을 알 수 있었다.

한편, Singh 등[16]은 1994년 수산물 유래 대장균에서 O2, O3, O20, O87, O128을 보고하였고, Mitsuda 등[12]은 참치에서 O25가 분리됨을 보고하였으며, Guyon 등[13]은 굴에서, Makino 등[14]은 연어에서 O157이 분리되었다고 보고하여 어패류 등 수산물에 병원성 대장균이 분포되어 있음을 알 수 있다.

요 약

서울시 가락농수산물시장에서 수거한 총 2,066건의 해산물(어류 573건, 패류 721건, 갑각류 208건 그리고 연체류 564건)을 대상으로 대장균을 분리 동정한 결과 10.3%(212/2,066)의 검출율을 보였다.

분리된 212주의 대장균의 **월별 분포**를 살펴보면, 1월 4.0%, 2월 1.0%, 3월 0.7%, 4월 9.5%, 5월 4.4%, 6월 9.4%, 7월 30.5%, 8월 42.1%, 9월 21.2%, 10월 6.6%, 11월 0.7%

Table 3. Serotypes on 212 *E. coli* isolates from 2,066 various seafood products from 2005 to 2007 in Korea

Sero-types	No. of isolates with indicated serotypes													Total
	spiny turban shell (소라)	comb pen shell (키조개)	solen stricus (맛조개)	manila clam (바지락)	cuttlefish egg (오징어알)	warty sea squirt (미더덕)	twuggumi (쭈꾸미)	octopus (문어)	common octopus (낙지)	hairtail (갈치)	dried sea cucumber (건해삼)	sea squirt (멍게)	etc.	
O6	1	1									1			3
O8			1											1
O25								1				1		2
O26										1				1
O27						1								1
O29	1	1												2
O55				1										1
O78									1					1
O126							1							1
O158	1													1
O167	1													1
O168					1									1
NA*													196	196
Total	4	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	196	212

* NA=non-agglutinated on *E coli* O antiserum

그리고 12월 4.6%의 검출율을 보여, 6-9월 등 하절기에 많은 대장균이 분포됨을 알 수 있었고, **검체별 분포**를 살펴보면, 어류가 7.0%(40/573), 패류 12.8%(92/721), 갑각류 8.7%(18/208) 그리고 연체류 11.0%(62/564)의 검출율을 보여, 패류, 연체류가 어류, 갑각류에 비해 대장균 분리율이 비교적 높게 나타났다. 또한, **지역별 분포**를 살펴보면, 강원 21.3%의 검출율을 보였고, 인천 15.6%, 경남 12.1%, 전남 11.5%, 전북 22.2%, 충남 11.6%, 제주 6.7% 그리고 우리나라 이외의 지역에서 9.0%의 검출율을 보였다.

212주를 대상으로 **혈청형 동정**을 실시한 결과, O6은 소라, 키조개, 그리고 건해삼에서 각각 1건씩, O25는 문어, 멍게에서 각각 1건씩, O29는 소라, 키조개에서 각각 1건씩, 그리고 O8, O26, O27, O55, O78, O126, O158, O168은 문어, 갈치, 미더덕, 바지락, 낙지, 쭈꾸미, 소라, 오징어 알에서 각각 1건씩, O167도 소라에서 1건 확인되어 총 16주(7.5% = 16/212)의 O 혈청형이 동정되어 어패류 등 해산물에 대장균이 분포되어 있음을 알 수 있었다.

참고문헌

1. 한창호, 홍채규, 이재인, 유영아, 차영섭, 전수진, 강신명, 한기영, 김성원, 이정자: 수산물에서 분리한 대장균의 혈청형 및 항생제 감수성에 관한 연구. 서울특별시 보건환경연구논문집, **35**, 37-44(1999).
2. 김교창, 도대홍 : 돼지에서 유래한 병원성대장균의 내열성 장독소 생산 유전자의 Cloning 및 발현, 한국식품위생안전성학회, **6**, 147-155(1991).
3. 이재인, 한창호, 차영섭, 홍채규, 유영아, 전수진, 한기영, 서병태, 이정자: 수산물에서 분리한 대장균의 O 항원형 및 항생제 감수성. 서울특별시 보건환경연구논문집, **36**, 32-38(2000).
4. Food and Drug Administration : Bacteriological Analytical Manual, 7th ed. AOAC, *International*, (1992).
5. Marshall, R.T.: Standard methods for the examination of dairy products, Washington, *American Public Health Association*, (1993).
6. 식품의약품 안전청 : 식품공전, 문영사, pp78-111(2000).
7. Ayulo, A.M.R. and Machado, R.A.: Enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in fish and seafood from the southern region of Brazil. *Int. J. Food Microbiol.*, **24**, 171-178 (1994).
8. Warburton, D.W., Harrison, B., Crawford, C., Foster, R., Fox, C., Gour, L., and Purvis, U.: Current microbiological status of health foods' sold in Canada. *Int. J. Food Microbiol.*, **42**, 1-7 (1998).
9. Kumiko K., Hiroshi U., Machiko J., Teruyoshi A., Mie I., Takeshi I., and Sumio Y. : Results of Bacterial Contamination of Commercial Raw Fish and Shellfish in Tama, Tokyo (1986-1996). *Jpn. J. Food Microbiol*., **15**, 161-165 (1998).
10. Chourio G.L. and Montiel de M.M. : Microbiological quality of the clanup Tivela Mactroides (guacuno) from Cano Sagua, Zulia State. *Ciencia*, **5**, 219-226 (1997).
11. Elmossalami, M.K. and Emara, M.T.: Safety and quality of fresh water crayfish Procambarus clarkii in the river Nile, *Nahrung*, **43**, 126-128 (1999).
12. Mitsuda, T., Muto, T., Yamada, M., Kobayashi, N., Toba, M., Aihara, Y., Ito, A., and Yokota, S. :Epidemiological study of a food-borne outbreak of enterotoxigenic *Escherichia coli* O25 NM by pulsed-field gel electrophoresis and randomly amplified polymorphic DNA analysis. *J. Clin. Microbiol.*, **36**, 652-656 (1998).
13. Guyon, R., Dorey, F., Collobert, J.F., Foret, J., Goubert, C., Mariau, V., and Malas, J.P. : Detection of shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 in shellfish (Crassostrea gigas). *Sciences des Aliments*, **20**, 457-466 (2000).
14. Makino, S., Kii, T., Asakura, H., Shirahata, T., Ikeda, T., Takeshi, K., and Itoh, K. : Does enterohemorhagic *Escherichia coli* O157:H7 enter the viable but nonculturable state in salted salmon roe?. *App. Environ. Microbiol.*, **66**, 5536-5539 (2000).
15. 함희진, 한창호, 차영섭 : 서울시내 수산시장에 설치된 가판수족관수의 세균분포, 한국환경위생학회지, **27**, 47-50 (2001).
16. Singh, B.R. and Kulshrestha S.B. : Incidence of *Escherichia coli* in Fishes and Seafoods : Isolation, Serotyping and Enterotoxigenicity Evaluation. *J. Food Sci. Technol.*, **31**, 324-326 (1994).
17. Ewing, W.H. : Edwards and Ewing's Isolation of Enterobacteriaceae, 4th ed. Elsevier, New York, pp. 94-101 (1986).
18. 김정현, 이용욱, 이후장, 나승식 : 시판 어패류에서 분리한 대장균의 특성에 관한 연구, 한국식품위생안전성학회, **12**, 354-360 (1997).
19. 함희진, 진영희 : 수산물에서 분리한 대장균의 혈청형 및 생화학적 특성, 한국식품위생안전성학회, **18**, 1-5(2003).
20. James, M.T., Martin J.L., and David A.G. : Modern Food Microbiology, Seventh Edition, Springer Science Business Media Inc., pp. 637-650 (2005).