J. Fd Hyg. Safety 18(1), 1–5 (2003)

수산물에서 분리한 대장균의 혈청형 및 생화학적 특성

함희진† · 진영희
서울시 보건환경연구원

Serotypes and Biochemical Properties of *Escherichia coli* Isolated from Seafood Products

Hee-jin Ham† and Young-hee Jin
Seoul Health & Environmental Research Institute, Seoul 138-701, Korea

ABSTRACT – *E. coli* could cause a variety of different types of diseases, including diarrhea, urinal infection, peritonitis and infant septicemia. Ninety two *E. coli* strains (12.4%) were isolated among 742 seafood products in Seoul Garak fishery market from January to December in 2001. These isolates were serotyped as O24, O25, O29, O78, O112, O136, O146, O159, O166 and O168. Most *E. coli* strains were isolated from molluscs (28.1%), shellfishes (14.5%), fishes (10.4%) and crustaceans (4.7%) in summer. Therefore, 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] 장내세균과(Enterobacteriaceae)에 속하는 그람음성 단간균이며 통성 혐기성균으로 주모성의 편모를 가지고 있으며, 운동성이 있으나 일부는 비운동성이기도 하다.[2] 분변 오염을 통해 감염될 경우 설사, 요로 감염증, 복막염 및 신생아 패혈증 등 다양한 질환을 유발하며 특히, 병원성 대장균은 분변 오염의 지표로 중시된다.[2] 본 실험은 서울시내 소재하는 가락농수산물 시장에서 수거한 수산물을 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 2001년 1-12월 수거한 총 742건의 수산물(어류 192건, 패류 242건, 갑각류 39건 그리고 연체류 71건)을 대상으로 실시하였다. 각각의 검체는 polybag에 채취한 후 즉시 ice box에 보관하여 1시간 이내에 실험실로 운반하여 균 분리 동정을 실시하였다.

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), Easy 24E kit(KOMED, Korea)를 이용하여 대장균으로 동정하였는데, 시험 방법은 F.D.A.의 bacteriological analytical manual,[3] A.P.H.A.의 standard method[4] 및 식품공전의 일반시험법 중 미생물 시험법5)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.

†Author to whom correspondence should be addressed.

결과 및 고찰

월별, 검체별 대장균 분리현황

가락농수산물시장에서 수거한 총 742건의 수산물을 대상으로 대장균 분리를 실시한 결과, 92건의 검체에서 대장균이 분리되었는데, 이는 한 등[1]의 5.1%(37/733), 이 등[2]의 7.73%(181/2343), Chourio 등[9]의 9.33%(7/75), Warburton 등[7]의 8.12%(16/197)보다는 높은 검출율이었으나, Ayuki 등[6]의 10-30%, Elmossalami 등[10]의 40%보다는 낮은 검출율을 보였다. 한편, Kumiko 등[8]은 수산물에서 0.5%(7/1,445) 검출하였다고 보고하였고, 함 등[14]은 수족관수에서 2.8%(18/643) 검출을 보고하였다.

분리된 92주의 대장균의 월별 분포를 살펴보면, 1월 10%(1/10), 2월 7.1%(2/28), 3월 9.7%(7/72), 4월 10.8%(8/74), 5월 1.9%(1/53), 6월 20.3%(16/79), 7월 13.3%(10/75), 8월 40.0%(20/50), 9월 8.1%(7/86), 10월 10.0%(9/90), 11월 8.3%(6/72) 그리고 12월 9.4%(5/53)의 검출율을 보여, 이 등[2]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, 하절기의 검출율이 높은 점에서는 일치하였다.

검체별 분포를 살펴보면, 어류가 10.4%(20/192), 패류 14.5%(35/242), 갑각류 4.7%(10/212) 그리고 연체류 28.1%(27/96)의 검출율을 보여, 연체류가 어류, 패류 및 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)과 이 등[2]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).

분리 대장균의 지역별 분포

92개의 분리균들의 지역별 분포를 살펴보면, 강원 지역은 12.5%(8/64)의 검출율을 보였고, 경기지역 8.7%(6/69), 경남 18.4%(25/136), 경북 33.3%(1/3), 전남 13.2%(30/228), 전북 11.8%(8/68), 충남 6.3%(2/32), 제주 17.7%(3/17) 그리고 우

Table 1. Monthly isolation rates of *E. coli* in seafood products

Seafood products	No. of *E. coli* isolates per samples in indicated months												Total(%)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Fishes	0/0	0/0	0/6	3/25	0/43	3/22	5/10	4/10	3/38	1/17	1/19	0/2	20/192(10.4)
Shellfishes	0/0	0/14	3/33	3/19	0/0	7/32	2/39	10/18	1/9	4/39	2/21	3/18	35/242(14.5)
Crustaceans	0/7	2/9	0/26	1/23	0/18	1/15	1/14	0/29	0/29	2/25	1/20	2/19	10/212((4.7)
Molluscs	1/3	0/5	4/7	1/7	1/3	5/7	2/11	6/8	3/10	2/9	2/12	0/14	27/96(28.1)
Tota (%)	1/10 (10.0)	2/28 (7.1)	7/72 (9.7)	8/74 (10.8)	1/53 (1.9)	16/79 (20.3)	10/75 (13.3)	20/50 (40.0)	7/86 (8.1)	9/90 (10.0)	6/72 (8.3)	5/53 (9.4)	92/742 (12.4)

Table 2. Geographical isolation rates of *E. coli* isolated in seafood products

Provinces	Regions(No. of E. coli isolates/samples)	Total(%)
Kang-won	Dong-hae(0/5), Muk-ho(0/1), Sok-cho(8/58)	8/64(12.5)
Kyung-gi	Kang-hwa(0/3), So-rae(0/1), Su-won(0/1), In-cheon(6/64)	6/69(8.7)
Kyung-nam	Nam-hae(1/9), Chung-mu(4/25), Ma-san(8/24), Busan(8/40), Jin-dong(4/23), Tong-young(0/8), Sam-cheon-po(0/7)	25/136(18.4)
Kyung-buk	Po-hang(1/8)	1/3(33.3)
Chun-nam	Kang-jin(0/2), Go-heung(8/39), Pul-kyo(0/9), Kwang-yang(1/1), Mok-po(1/13), Yeo-su(19/140), Wan-do(1/7), Keo-mun-do(0/1), Huk-san-do(0/1), Sin-ahn(0/8), Yeo-za-man(0/5), Nok-dong(0/2)	30/228(13.2)
Chun-buk	Kun-san(6/46), Bu-ahn(2/22)	8/68(11.8)
Chung-nam	Seo-san(0/4), Seo-cheon(0/1), Seo-hae-ahn(1/3), An-myeon-do(1/22), Tae-ahn(0/2)	2/32(6.3)
Che-ju	Je-ju(3/16), Chu-ja-do(0/1)	3/17(17.7)
Imported	Norway(0/1), Newzealand(0/4), Taiwan(0/1), Rusia(0/4), USA(1/5), North pacific(0/10), North-Korea(0/1), Ohman(0/3), India(0/1), Indonesia(1/4), Japan(0/14), China(6/63), Canada(0/4), Tailand(0/1), Pakistan(0/1), Phillipine(1/6), Deep sea(0/1), Adjacent sea(0/1)	9/125(7.2)
Total		92/742(12.4)

리나라 이외의 지역에서 7.2%(9/125)의 검출율을 보였는데, 이는 이 등[2]의 2000년 경남 12.0%, 전남 6.0% 등에 비해 높은 검출율을 보여, 검출빈도가 다소 증가하고 있음을 알 수 있었다(Table 2).

분리대장균의 생화학적 성상

92균주 가운데 61주를 대상으로 분리균들의 생화학적 성상을 시험한 결과, lactose, mannitol, maltose, potassium nitrate 그리고 glucose fermentation 각각 100%이었고, arabitol 21.3%, sucrose 68.9%, dulcitol 68.9%, adonitol 9.8%, sorbitol 86.9%, cellobiose 3.3%, raffinose 63.9%, rhamnose 93.4%, glucopyranoside 1.6%, esculin 14.8%, ONPG 93.4%, indole 96.7%, phenylalanine 1.6%, lysine 85.3%, arginine 1.6%, ornithine 70.5%, inositol 1.5%, urease 10.6%, lysine 98.5% 그리고 ornithine 89.4%이었으며, inositol, urease, H_2S, citrate 그리고 Voges-Proskauer가 각각 0%의 양성율을 나타내어(Table 3), 한 등[1]과 Ewing[16]의 보고와 대체로 일치하였다.

분리대장균의 혈청형 분포도

생화학적 성상 검사를 실시한 대장균 61주를 대상으로 혈청형 동정을 실시한 결과, 개미더덕 1건에서 O6, 숭어와 갈치 각각 1건에서 O25가 확인되었고, 개미더덕, 한치알, 백합 각각 1건에서 O29가, 개미더덕 1건에서 O78 그리고 굴, 감오징어, 갈치, 병어, 적어, 동죽살 각각 1건씩에서 O112, O136, O146, O159, O166, O168이 각각 확인되어 총 13주(21.3%)의 O 혈청형이 동정되었다(Table 4). 이는 한 등[9]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[2]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, O146 등은 한 등[9] 및 이 등[2]과 일치, O159, O166, O168 등은 이 등[2]과 일치하였으며, O25, O112, O136 등은 한 등[9]과 이 등[2]이 동정하지 못한 혈청형이 나타나는 등 여러 형태의 대장균 혈청형 양상이 나타나 국내 수산물 유래 대장균이 대장균성 설사에 대한 원인이 될 가능성과 새로운 해양환경 변화 등으로 인한 새로운 혈청형들의 출현 가능성 등을 이번 실험에서 확인할 수 있었고, 이에 대한 지속적인 혈청형 연구와 병원성 유전자에 대한 추가 연구가 필요함을 알 수 있었다.

한편, Singh 등[15]은 1994년 수산물 유래 대장균에서 O2, O3, O20, O87, O128을 보고하였고, Mitsuda 등[11]은 참치에서 O25가 분리됨을 보고하였으며, Guyon 등[12]은 굴에서, Makino 등[13]은 연어에서 O157이 분리되었다고 보고하여 어패류 등 수산물에 병원성 대장균이 분포되어 있음을 알 수 있다.

Table 3. Biochemical properties of 61 *E. coli* isolates from seafood products

Properties	No. of positive isolates (%)	Properties	No. of positive isolates (%)
H_2S	0	Disaccharides	
ONPG	57(93.4)	Cellobiose	2(3.3)
Potassium nitrate	61(100)	Lactose	61(100)
Urease	0	Maltose	61(100)
IMViC test		Sucrose	42(68.9)
Indole	59(96.7)	Trisaccharides	
Voges-Proskauer	0	Raffinose	39(63.9)
Citrate	0	Glucosides	
Decarboxylase test		Esculin	9(14.8)
Argine	1(1.6)	Glucopyranoside	1(1.6)
Lysine	52(85.3)	Alcohols	
Ornithine	43(70.5)	Adonitol	6(9.8)
Phenylalanine	1(1.6)	Arabitol	13(21.3)
Monosaccharides		Dulcitol	42(68.9)
Glucose	61(100)	Inositol	0
Rhamnose	57(93.4)	Mannitol	61(100)
		Sorbitol	53(86.9)

Table 4. Serotypes of 13 *E. coli* isolates from various seafood products

Serotypes	No. of isolates with indicated serotypes										Total
	Eboya	Striped mullet	Cutlass fish	Arrow squid	Shortnecked clam	Oyster	Cuttle fish	Butterfish	Forskal	Surf clam	
O6	1										1
O25		1	1								2
O29	1			1	1						3
O78	1										1
O112						1					1
O136							1				1
O146			1								1
O159								1			1
O166									1		1
O168										1	1
Total	3	1	2	1	1	1	1	1	1	1	13

국문요약

서울시 가락농수산물시장에서 2001년 1-12월 수거한 총 742건의 수산물(어류 192건, 패류 242건, 갑각류 39건 그리고 연체류 71건)을 대상으로 대장균을 분리 동정한 결과 12.4%(92/742)의 검출율을 보였다. 분리된 92주의 월별 분포를 살펴보면, 1월 10%(1/10), 2월 7.1%(2/28), 3월 9.7%(7/72), 4월 10.8%(8/74), 5월 1.9%(1/53), 6월 20.3%(16/79), 7월 13.3%(10/75), 8월 40.0%(20/50), 9월 8.1%(7/86), 10월 10.0%(9/90), 11월 8.3%(6/72) 그리고 12월 9.4%(5/53)의 검출율을 보여 6-8월 등 하절기에 많은 대장균이 분포됨을 알 수 있었고, 검체별 분포를 살펴보면, 어류가 10.4%(20/192), 패류 14.5%(35/242), 갑각류 4.7%(10/212) 그리고 연체류 28.1%(27/96)의 검출율을 보여, 연체류가 어류, 패류 및 갑각류에 비해 대장균 분리율이 비교적 높게 나타났다. 또한, 지역별 분포를 살펴보면, 강원 12.5%(8/64), 경기 8.7%(6/69), 경남 18.4%(25/136), 경북 33.3%(1/3), 전남 13.2%(30/228), 전북 11.8%(8/68), 충남 6.3%(2/32), 제주 17.7%(3/17) 그리고 우리나라 이외의 지역에서 7.2%(9/125)의 검출율을 보였다. 92주 가운데 61주를 대상으로 분리균들의 O 혈청형을 동정한 결과, 개미더덕 1건에서 O6, 숭어와 갈치 각각 1건에서 O25가 확인되었고, 개미더덕, 한치알, 백합 각각 1건에서 O29가, 개미더덕 1건에서 O78 그리고 굴, 갑오징어, 갈치, 병어, 적어, 동죽살 각각 1건씩에서 O112, O136, O146, O159, O166, O168이 각각 확인되어 총 21.3%(13/61)의 혈청형이 동정되어 어패류 등 수산물에 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. 이재인, 한창호, 차영섭, 홍채규, 유영아, 전수진, 한기영, 서병태, 이정자: 수산물에서 분리한 대장균의 O 항원형 및 항생제 감수성. 서울특별시 보건환경연구논문집, **36**, 32-38 (2000).
3. Food and Drug Administration: Bacteriological Analytical Manual, 7th ed. AOAC, International, (1992).
4. Marshall, R.T.: Standard methods for the examination of dairy products, Washington, American Public Health Association, (1993).
5. 식품의약품 안전청: 식품공전, 문영사, pp78-111 (2000).
6. Ayulo, A.M.R., Machado, R.A.: Enterotoxigenic Escherichia coli and Staphylococcus aureus in fish and seafood from the southern region of Brazil. *Int. J. Food Microbiol.*, **24**(1/2), 171-178 (1994).
7. Warburton, D.W., Harrison, B., Crawford, C., Foster, R., Fox, C., Gour, L., Purvis, U.: Current microbiological status of health foods' sold in Canada. *Int. J. Food Microbiol.*, **42**(1/2), 1-7 (1998).
8. 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**(3,4), 161-165 (1998).

9. Chourio G.L., Montiel de M.M.: Microbiological quality of the clanup Tivela Mactroides (guacuno) from Cano Sagua, *Zulia State. Ciencia,* **5**(3), 219-226 (1997).
10. Elmossalami, M.K., Emara, M.T.: Safety and quality of fresh water crayfish Procambarus clarkii in the river Nile, *Nahrung*, **43**(2), 126-128 (1999).
11. Mitsuda, T., Muto, T., Yamada, M., Kobayashi, N., Toba, M., Aihara, Y., Ito, A., 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**(3), 652-656 (1998).
12. Guyon, R., Dorey, F., Collobert, J.F., Foret, J., Goubert, C., Mariau, V., Malas, J.P.: Detection of shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 in shellfish (Crassostrea gigas). *Sciences des Aliments*, **20**(4/5), 457-466 (2000).
13. Makino, S., Kii, T., Asakura, H., Shirahata, T., Ikeda, T., Takeshi, K., Itoh, K. : Does enterohemorhagic Escherichia coli O157:H7 enter the viable but nonculturable state in salted salmon roe?. *App. Environ. Microbiol.*, **66**(12), 5536-5539 (2000).
14. 함희진, 한창호, 차영섭: 서울시내 수산시장에 설치된 가판 수족관수의 세균분포, *한국환경위생학회지*, **27**(4), 47-50 (2001).
15. 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**(4), 324-326 (1994).
16. Ewing, W.H.: Edwards and Ewing's Isolation of Enterobacteriaceae, 4th ed. Elsevier, New York, pp94-101 (1986).