

## 시판 어패류에서 분리한 대장균의 특성에 관한 연구

김정현<sup>†</sup> · 이용욱 · 이후장\* · 나승식  
서울대학교 보건대학원, \*서울대학교 수의과대학

### A Study on Characteristics of *Escherichia coli* Isolated from Fish in Market

Jung hyon Kim<sup>†</sup>, Yong wook Lee, Hu Jang Lee\* and Seung Shik Na

School of Public Health, Seoul National University, Seoul 110-799, Korea

\*College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Suwon 441-744, Korea

**ABSTRACT**—This study was intended that the biochemical patterns, bioserological characteristics, resistance of antibiotics, and transferable resistance patterns of 35 *Escherichia coli* strains from 79 fish and shellfish samples in marine markets from August to October, 1995. The Standard plate count, coliforms and fecal coliforms were also counted in the 79 cases and analysed the relationship each other. Geometric means of Standard plate count in seawater fish, shellfish, mollusca and crustacean were  $1.4 \times 10^5$  CFU/g,  $4.0 \times 10^5$  CFU/g,  $2.4 \times 10^5$  CFU/g,  $4.7 \times 10^5$  CFU/g, and those of coliforms were  $1.3 \times 10^3$  CFU/g,  $4.8 \times 10^3$  CFU/g,  $8.9 \times 10^2$  CFU/g,  $5.8 \times 10^3$  CFU/g. There were no fecal coliforms in the fish and mollusc. However, the geometric means of coliforms in the shellfish and crustacean ( $1.1 \times 10^1$  CFU/100g, 10 CFU/100 g) were less than those of fish and mollusca. The important biochemical characteristics of *E. coli* distinguished from the shellfish and crustacean were motility, ornithine decarboxylase, mucate, esculin. The fermentative properties of *E. coli* were also sucrose, salicin, sorbitol, and raffinose. Of 35 isolates of *E. coli*, 13 strains (37.1%) showed the pathogenic O antisera, which were O:27 3 strains (23.1%), O:159 2 strains (15.4%) and O:148, O:119, O:142, O:158, O:136, O:18, O:128, and O:168 1 strain (7.7 %), respectively.

**Key word** □ *Escherichia coli*, Standard Plate Count, Coliform, O Serotype, Biochemical characteristics

고품질의 단백질을 선호하는 선진국에서는 신선한 어패류에 대한 수요가 꾸준히 증가하여 어패류를 이용한 각종 인스턴트 식품이 증가하고 있다. 그러나 미생물의 증식에 의해 향기, 맛, 조직, 색깔 등의 품질이 변화되고, 부패를 일으키기 쉽다. 즉, 어패류의 낮은 collagen과 lipid 성분 및 비교적 높은 농도의 근육내 질소 화합물은 미생물의 급속한 성장과 함께 생성된 protease와 같은 가수분해효소에 의해 부패하기 쉽다.<sup>1)</sup> 이러한 미생물의 오염에 영향을 주는 인자로는 어획 방법, 선내에서의 취급, 어패류 운송 차량 위생, 가공 및 저장 상태 등이 있다.<sup>2)</sup>

일반적으로 세균은 어체 표면의 점액성물질, 아가미 및 장내에 부착되어 있으며 죽은 어패류의 부패에 중요한 역할을 한다.<sup>3)</sup> 어패류의 장내에 존재하는 미생물 세균으로

는 *Alcaligenes*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Escherichia* 등이 있으며 이 중에서 식품을 매개로 한 감염균으로 *Vibrio parahaemolyticus*, enteropathogenic *Escherichia coli*와 같은 병원체가 증가하고 있다.<sup>4)</sup>

*E. coli*는 장내세균과에 속하는 gram음성 단간균으로 분변오염을 통해 감염되었을 경우 설사, 요로감염증, 복막염 및 신생아 패혈증 등 다양한 질환을 유발시키며, 특히 병원성대장균은 분변 오염의 지표 및 *Salmonella*의 잠재적인 지표로 중요한 관심사가 되어 왔다.<sup>5)</sup> 인간이나 온혈동물의 장내에 존재하며 공생하고 있는 *E. coli*는 장내내 미생물의 약 1%를 이루고 있으며 설사를 동반하는 병원성대장균은 장병원성 대장균(EPEC), 장독소생산성 대장균(ETEC), 장출혈성 대장균(EHEC), 장조직침입성 대장균(EIEC)으로 분류되어 사람, 가축 및 하수, 하천 등 주변 환경에 널리 분포

<sup>†</sup> Author to whom correspondence should be addressed.

되어 있는 것으로 보고되고 있다.<sup>6,7)</sup>

따라서 본 연구에서는 시판중인 어패류에 대하여 일반세균수, 대장균군 및 분원성 대장균의 분포율을 조사하여 어패류의 세균학적 위생상태를 비교 조사하고 분리된 대장균에 대해서 생화학적 특성, 혈청학적 특성 조사하여 식중독 관리의 기초자료로 제공하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

시료는 1995년 8월 20일부터 10월 2일까지 서울 시내 가락 농수산시장, 노량진 수산물 시장에서 시판중인 어류 15종, 패류 20종, 연체류 3종, 갑각류 7종, 총 45종 79건을 멸균 용기에 채취하여 냉장상태에서 운반한 후 실험재료로 하였다.

### 미생물학적 시험

채취한 시판 어패류를 약 10 g을 채취하여 희석수 90 ml를 가하고 Homogenizer를 이용하여 2분 동안 균질화하여 시료 원액으로 사용하였다. 이들의 미생물학적 시험은 A.P. H.A.의 Standard method<sup>8)</sup> 및 FDA의 Bacteriological analytical Manual<sup>9)</sup>에 준하여 시험하였다.

**일반세균수 측정** — 균질화된 시료원액을 10배 희석용 시험관에 멸균 피펫을 이용하여 각 단계별( $10^2$ ,  $10^3$ ,  $10^4$ )로 희석하여 1 ml씩을 취한후 plate count agar(Difco)에 접종하여 시험하였다.

**대장균군** — Desoxycholate 유당하천 배지법에 의하여 측정하였다. 즉, Desoxycholate agar(Difco)에서 나타난 전형적인 집락을 백금 loop를 이용하여 EMB(Difco) 평판배지에 획선 도말하고 37°C 배양기에서 24시간 배양 후 녹색 금속 광택의 집락을 관찰하여 확정 시험 양성으로 판정하였다. 전형적인 집락 2개를 lactose broth(Difco)에 백금 loop로 접종하여 48±3시간 배양후 Gas 생성 및 Gram 음성 무포아 균으로 완전시험 양성임을 확인하였다.

**분원성 대장균** — 최확수법(Most probable number)에 의하여 측정하였다. 즉, 1:10, 1:10<sup>2</sup>, 1:10<sup>3</sup> 희석액을 각각 1 ml씩 5개의 EC 발효관에 접종한 후 44.5±0.2°C에서 24±2시간 배양하여 가스 발생 시험 양성으로 판정하였다. 음성인 경우 48±2시간까지 배양하여 최종판정하였다. 가스를 생성하는 양성관에서 백금을 이용하여 EMB(Difco) 평판배지에 도말하고 35±1°C에서 24±2시간 배양하여 *E. coli*로 의심되는 녹색 금속 광택의 전형적인 집락을 분리한 후 2개의 colony를 Tryptic soy agar(Difco)에 도말하여 37°C, 24시간 순수배양한 후 Gram's staining을 하였다. Gram negative,

KIA(Acid/Acid, H<sub>2</sub>S:negative, Gas:positive), IMVIC test<sup>6)</sup>(Indole, Methyl-red, Voges-Proskauer, Citrate)로 *E. coli*임을 최종 확인하고 최확수법에 의해 균수를 산정하였다.

### *Escherichia coli* 분리 및 동정

Edward and Ewing's identification of Enterobacteriaceae<sup>6)</sup>, 일반식품위생검사지침<sup>10)</sup>에 준하여 시험하였다.

시료를 EC 발효관에 접종한후 44.5±0.2°C에서 24±2시간 배양한 후 가스 발생관에서 백금을 이용하여 EMB(Difco), MacConkey agar(Difco) 평판배지에 배양하여 의심되는 집락 2개의 균주를 선택하여 Tryptic soy agar(Difco)에서 37°C, 24 hr 순수 배양한 후 Gram Staining후 negative 단간균, KIA(Difco)에서 Lactose:양성, Glucose:양성, Gas:양성, H<sub>2</sub>S:음성 성상을 갖는 집락을 Minitest(Dextrose, Nitrate, H<sub>2</sub>S, Indole, Ornithine, Urease, Lysine, Arabinose, Rhamnose, Inositol, Phenylalanine, Citrate, ONPG, Malonate)를 이용하여 동정하였다. *E. coli*로 추정되는 균은 다시 tube method로 44항목에 대해 생화학 실험을 실시하여 확인한 후 -70°C에서 저장하면서 실험에 사용하였다.

### *Escherichia coli*의 병원성대장균 혈청형 조사

병원성대장균 검사용O형 항혈청(Denka Seiki Co.)을 사용하여 slide agglutination test를 실시하였다.

시험균을 tryptic soy agar에 3회 이상 계대 배양하여 자란 S형 집락에서 선별한 균의 신선한 배양액을 항원으로 하여 우선 생균을 사용하여 혼합혈청과 슬라이드 응집 반응을 하였다. 이어서 응집된 혼합혈청에 들어있는 단독 O혈청 각각과 응집반응을 하였다. 반응 양성 O혈청이 존재하면 항원으로 사용한 균액을 100°C에서 1시간 가열하고 똑같이 O혈청과 응집하는 것을 확인하여 O항원균을 결정하였다. 판정은 육안으로 분명하게 확인되는 응집이 30초 이내에 일어나는 경우를 양성으로 판정하여 그 밖의 의심되는 반응이나 늦게 일어나는 반응은 음성으로 하였다.

생균이 어떤 혼합혈청과도 응집이 일어나지 않는 경우에는 상기 조건에서 가열한 항원을 사용하여 응집반응을 하고 O항원균을 결정한다. 가열한 균이 자가응집을 일으키는 경우에는 재차 S형 집락균으로 항원을 만들어 다시 한 번 응집반응을 하였다.

### 자료의 처리 및 분석

실험결과는 통계분석하여 평균치와 표준편차를 계산하고,  $\alpha=0.05$  수준에서 Anova test에 의한 분산분석을 실시하여 각 어패류의 평균치간의 유의성 및 각 오염지표세균간의 상관성을 검증하였다.

## 결과 및 고찰

### 일반세균수 분포

79건의 어패류에서 검출된 일반세균수의 기하평균은  $3.6 \times 10^5$  CFU/g이었으며, 폐각을 제거한 패류살은  $5.2 \times 10^5$  CFU/g로 패류  $4.0 \times 10^5$  CFU/g보다 높게 나타났다(Table 1).

Gopalakrishna 등<sup>11)</sup>은 해수어에서  $5.3 \times 10^4$  CFU/g, 생선 회에서 유통과정의 2차 오염으로 인하여 높게 나타난 장 등<sup>12)</sup>의  $1.8 \times 10^5$  CFU/g 등의 보고는 본 실험의 결과와 비슷한 오염도를 나타냈다.

ICMSF(The International Committee on Microbiological Specification for Food)에서는 생육제품의 균수한도는  $5 \times 10^5$  CFU/g 이하로 규정하고 있으며, Wentz<sup>13)</sup>는 패류의 검사 기준이  $10^5$  CFU/g 이하로 나타나는 것이 바람직하다고 보고 있으나 판매되고 있는 패류에 직접 적용하기는 힘들다고 보고하고 있다.

### 대장균군 분포

79건의 검체에서 대장균군의 기하평균은  $4.4 \times 10^3$  CFU/g로 장 등<sup>12)</sup>이 생선회에서 조사한  $3.3 \times 10^3$  CFU/g와 Foster<sup>14)</sup>가 신선한 어패류에서  $7.8 \sim 4.8 \times 10^3$  CFU/g과 유사하게 분포하고 있었으며,  $10^2$  CFU/g 이상이 84.6%로 상당히 높게 나타났다(Table 2).

Wentz<sup>13)</sup>는 패류내 대장균군의 검사 기준은  $2 \times 10^4$  CFU/g 이하로 보고하고 있으며, 일본의 미생물 규격기준은 생식용 냉동 선어패류에서 대장균군은 음성으로 명시하고 있다.

어류의 기하평균 대장균군수는  $1.3 \times 10^3$  CFU/g로 Nair 등<sup>15)</sup>의 담수어에서  $1.6 \times 10^3$  CFU/g과 유사하였으며, Vishwamath 등<sup>16)</sup>의 냉장보관 상태의 어류에서  $14 \sim 91$  CFU/g으로 주변 환경 조건에 따라 분포의 양상이 다르게 나타났다. 패류에서는  $4.8 \times 10^3$  CFU/g로 Wentz 등<sup>13)</sup>의  $21$  CFU/g보다 높게 나타났으며 패류의 육질부에서는  $9.3 \times 10^3$  CFU/g로 일반세균수와 마찬가지로 폐각을 제거하는 과정에서 오염되어 높게 나타나는 것으로 사료된다. 어패류의

Table 1. Distribution of standard plate count in fish and shellfish on the market (CFU/g)

|                  | No. of samples | Range                                  | Geometric mean    |
|------------------|----------------|--|-------------------|
| Seawater fishes  | 20             | $3.3 \times 10^3 \sim 1.3 \times 10^6$ | $1.4 \times 10^5$ |
| Shellfishes      | 27             | $6.0 \times 10^3 \sim 1.2 \times 10^7$ | $4.0 \times 10^5$ |
| Peeled shellfish | 17             | $2.4 \times 10^4 \sim 8.5 \times 10^6$ | $5.2 \times 10^5$ |
| Mollusc          | 6              | $8.5 \times 10^3 \sim 2.6 \times 10^6$ | $2.4 \times 10^5$ |
| Crustacean       | 9              | $1.5 \times 10^4 \sim 1.0 \times 10^7$ | $4.7 \times 10^5$ |
| Total            | 79             | $3.3 \times 10^3 \sim 1.2 \times 10^7$ | $3.6 \times 10^5$ |

Table 2. Distribution of coliforms in fish and shellfishes on the market (CFU/g)

|                  | No. of samples | Range              | Geometric mean    |
|------------------|----------------|--------------------|-------------------|
| Seawater fishes  | 20             | $<2.1 \times 10^5$ | $1.3 \times 10^5$ |
| Shellfishes      | 27             | $<2.3 \times 10^6$ | $4.8 \times 10^3$ |
| Peeled shellfish | 17             | $<1.3 \times 10^6$ | $9.3 \times 10^3$ |
| Mollusc          | 6              | $<9.3 \times 10^4$ | $8.9 \times 10^2$ |
| Crustacean       | 9              | $<1.9 \times 10^7$ | $5.8 \times 10^3$ |
| Total            | 79             | $<1.9 \times 10^7$ | $4.4 \times 10^3$ |

분포는  $0 \sim 1.9 \times 10^7$  CFU/g로 광범위하게 분포하고 있었으며 각 어종간의 대장균군은 유의성이 없는 것으로 나타났다( $p > 0.05$ ).

### 분원성 대장균 분포

어패류에서 검출된 분원성 대장균의 분포(Table 3)는  $10$  CFU/g 이하로 장 등<sup>12)</sup>의 생선회에서  $2.3 \times 10^2$  CFU/100 g보다 높게 분포하였으며 각 어종간 통계적 유의성은 없는 것으로 나타났다( $p > 0.05$ ). 59검체(74.7%)에서는 분원성 대장균이 검출되지 않았으며 Ayulo 등<sup>17)</sup>의 패류에서 27% 검출율에 비해 본 실험에서 2배나 되는 15검체(55.6%)에서 검출되었다는 점은 그들이 서식하고 있는 환경의 오염정도를 반영하는 것이며 이러한 어종의 표면이나 장내에 오염 미생물을 옮길 수 있어 문제가 될 것으로 생각된다.

어류 및 연체류에서는 분원성 대장균이 검출되지 않았으며, 갑각류와 패류살에서는  $10$  CFU/g 이하로 검출되었다. Gopalakrishna 등<sup>11)</sup>은 해수어에서  $10$  CFU/g로 Fattal 등<sup>18)</sup>과 Wentz 등<sup>13)</sup>은 담수어에서  $6.9$  CFU/g,  $3$  CFU/g 이하로 서식지에 따라 큰 차이가 없는 것으로 본 실험 결과와 비슷하였다.

패류에서는  $1.1 \times 10^1$  CFU/g로 높게 나타났다. 이것은 허 등<sup>19)</sup>은 생활하수 등으로 오염된 활어조 해수에서  $8.8 \times 10^3$  CFU/100 ml, Chai 등<sup>20)</sup>이 농경지가 인접해 있는 수역에서  $3 \sim 9.3 \times 10$  CFU/100 ml로 나타나고 있는 것과 같이 본 실험에서 채취한 패류가 진흙땀 등의 해저에 서식하고

Table 3. Distribution of fecal coliforms in fish and shellfish on the market (CFU/g)

|                  | No. of samples | Range              | Geometric mean    |
|------------------|----------------|--------------------|-------------------|
| Seawater fishes  | 20             | 0                  | 0                 |
| Shellfishes      | 27             | $<1.2 \times 10^3$ | $1.1 \times 10^1$ |
| Peeled shellfish | 17             | $<2.6 \times 10^2$ | <10               |
| Mollusc          | 6              | 0                  | 0                 |
| Crustacean       | 9              | 0                  | <10               |
| Total            | 79             | $<2.0 \times 10^3$ | <10               |

있는 환경 요인에 의하여 다른 어패류보다 높게 나타나는 것으로 생각된다.

**대장균의 생화학적 특성**

생화학 시험중 Indole, Methyl red, Acid from glucose, Gas from glucose, Lactose, Mannitol, Arabinose, Maltose, Trehalose, Beta-galactosidase, Nitrate reduction, Melibiose 및 Mannose 시험은 모든 균주가 양성을 나타내었으며, Lysine decarboxylase(94.3%), Rhamnose(97.1%) 및 Xylose (94.3%) 시험 양성이었다. H<sub>2</sub>S, Urease, Voges-Proskauer, Simmons' citrate, Gelatin liquifaction, Phenylalanine deaminase, Malonate, Christensen's citrate, Jordan's tartrate, Sodium acetate, Oxidase, DNase 및 Amygdalin 시험은 모두 음성 이었으며, Adonitol(2.9%), Inositol(2.9%), Cellobiose(2.9%), Erythritol(2.9%) 시험 음성이었다. 그밖에 Motility(74.3%), Arginine decarboxylase(11.4%), Ornithine decarboxylase(77.1%), Sucrose(45.7%), Dulcitol(80.0%), Adonitol(71.4%), Sorbitol(85.7%), Raffinose(57.1%), Mucate(68.6%), Esculin(57.1%) 시험은 11~89%의 양성으로 Ewing<sup>6)</sup>의 결과와 비슷한 양상을 나타내었다(Table 4).

한편 어종별로 분류된 대장균의 생화학적 특성은 일반적으로 큰 차이는 없으나, Motility 시험에서 패류살에서 분리된 대장균은 모두 운동성이 있었으며, 갑각류에서 분리된 대장균은 66.7%, 패류에서 분리된 대장균은 69.2%의 운동성을 나타내었다. Ornithine decarboxylase 시험에서 패류살에서 분리한 대장균은 100% 모두 양성이었으나, 패류에서 분리한 대장균은 84.6%, 갑각류에서 분리한 대장균은 33.3%만이 양성을 나타내었다. Sucrose는 패류살에서 분리한 대장균은 100% 모두 양성이었으나, 패류에서 분리한 대장균은 50.0%로 환자에서 분리한 43.0%로 보고한 박 등<sup>21)</sup>과 비슷하였으나 김 등<sup>22)</sup>의 돼지새끼에서 100%와 큰 차이를 보였으며, 갑각류에서 분리한 대장균은 모두 음성을 나타내었다. Dulcitol은 패류살과 갑각류에서 분리한 대장균은 100% 모두 양성이었으나, 패류에서 분리한 대장균은 73.1%만이 양성을 나타냈는데 이는 Ewing<sup>6)</sup>의 49.3%, 김 등<sup>22)</sup>의 55.2%와 차이가 있었고 닭에서 분리한 우 등<sup>23)</sup>의 80.5%와 비슷하였다. Salicin은 패류살에서 분리한 대장균은 100% 모두 양성 이었으나, 패류에서 분리한 대장균은 69.2%, 갑각류에서 분리한 대장균은 66.7% 양성으로 Ewing<sup>6)</sup>의 36%, 박 등<sup>21)</sup>의 53.2%, 김 등<sup>22)</sup>의 61.6%보다 높게 나타내었다. Sorbitol은 갑각류에서 분리한 대장균은 모두 양성으로 박 등<sup>21)</sup>의 93.7%, 김 등<sup>22)</sup>의 98.5%, 우 등<sup>23)</sup>의 98.8%와 유사하였으며, 패류에서 분리한 대장균은 84.6%로 Ewing<sup>6)</sup>의 80.3%와 비슷하였다. 그러나 패류살에서 분리한 대장균은 66.7%만이 양성

**Table 4. Biochemical characteristics of *E. coli* isolated from fish and shellfish on the market**

| Tests of substrate         | Shellfish | Peeled shellfish | Crustacean | Total   |
|----------------------------|-----------|------------------|------------|---------|
| Arabinose                  | +(100)    | +(100)           | +(100)     | +(100)  |
| Raffinose                  | d(61.5)   | +(100)           | d(33.3)    | d(57.1) |
| Rhamnose                   | +(96.2)   | +(100)           | +(100)     | +(97.1) |
| Malonate                   | -( 0 )    | -( 0 )           | -( 0 )     | -( 0 )  |
| Mucate                     | d(76.9)   | d(33.3)          | d(33.3)    | d(68.6) |
| Christensen's citrate      | -( 0 )    | -( 0 )           | -( 0 )     | -( 0 )  |
| Jordan's tartrate          | -( 0 )    | -( 0 )           | -( 0 )     | -( 0 )  |
| Sodium acetate             | -( 0 )    | -( 0 )           | -( 0 )     | -( 0 )  |
| Maltose                    | +(100)    | +(100)           | +(100)     | +(100)  |
| Xylose                     | +(92.3)   | +(100)           | +(100)     | +(94.3) |
| Trehalose                  | +(100)    | +(100)           | +(100)     | +(100)  |
| Cellobiose                 | -(3.8)    | -( 0 )           | -( 0 )     | -(2.9)  |
| Erythritol                 | -(3.8)    | -( 0 )           | -( 0 )     | -(2.9)  |
| Esculin                    | d(61.5)   | d(33.3)          | d(33.3)    | d(57.1) |
| Beta-galactosidase         | +(100)    | +(100)           | +(100)     | +(100)  |
| Nitrate                    | +(100)    | +(100)           | +(100)     | +(100)  |
| Oxidation-Fermentation     | F(100)    | F(100)           | F(100)     | F(100)  |
| Oxidase                    | -( 0 )    | -( 0 )           | -( 0 )     | -( 0 )  |
| Dnase                      | -( 0 )    | -( 0 )           | -( 0 )     | -( 0 )  |
| Amygdaline                 | -( 0 )    | -( 0 )           | -( 0 )     | -( 0 )  |
| Melibiose                  | +(100)    | +(100)           | +(100)     | +(100)  |
| Mannose                    | +(100)    | +(100)           | +(100)     | +(100)  |
| Hydrogen sulfide(KIA agar) | -( 0 )    | -( 0 )           | -( 0 )     | -( 0 )  |
| Urease                     | -( 0 )    | -( 0 )           | -( 0 )     | -( 0 )  |
| Indole                     | +(100)    | +(100)           | +(100)     | +(100)  |
| Methyl red                 | +(100)    | +(100)           | +(100)     | +(100)  |
| Voges-Proskauer            | -( 0 )    | -( 0 )           | -( 0 )     | -( 0 )  |
| Citrate(Simmons')          | -( 0 )    | -( 0 )           | -( 0 )     | -( 0 )  |
| Motility                   | d(69.2)   | +(100)           | d(66.7)    | d(74.3) |
| Gelatin                    | -( 0 )    | -( 0 )           | -( 0 )     | -( 0 )  |
| Lysine decarboxylase       | +(92.3)   | +(100)           | +(100)     | +(94.3) |
| Arginine decarboxylase     | d(15.4)   | -( 0 )           | -( 0 )     | d(11.4) |
| Ornithine decarboxylase    | d(84.6)   | +(100)           | d(33.3)    | d(77.1) |
| Phenylalanine deaminase    | -( 0 )    | -( 0 )           | -( 0 )     | -( 0 )  |
| Glucose acid               | +(100)    | +(100)           | +(100)     | +(100)  |
| gas                        | +(100)    | +(100)           | +(100)     | +(100)  |
| Lactose                    | +(100)    | +(100)           | +(100)     | +(100)  |
| Sucrose                    | d(50.0)   | +(100)           | -( 0 )     | d(45.7) |
| Mannitol                   | +(100)    | +(100)           | +(100)     | +(100)  |
| Dulcitol                   | d(73.1)   | +(100)           | +(100)     | d(80.0) |
| Salicin                    | d(69.2)   | +(100)           | d(66.7)    | d(71.4) |
| Adonitol                   | -(3.8)    | -( 0 )           | -( 0 )     | -(2.9)  |
| Inositol                   | -(3.8)    | -( 0 )           | -( 0 )     | -(2.9)  |
| Sorbitol                   | d(84.6)   | d(66.7)          | +(100)     | d(85.7) |

+ : more than 90% positive, - : less than 10% positive, d : between 11% and 89%, ( ) were positive percentage.

이었다. Raffinose는 패류살에서 분리한 대장균은 모두 양성 이었으나, 패류 61.5%, 갑각류 33.3%만이 양성이었다. Mucate는 패류 76.9%, 패류살 및 갑각류는 각각 33.3%가 양성

이었다. Esculin은 패류 61.5%, 패류살과 갑각류는 각각 33.3%가 양성이었다. Lysine decarboxylase는 패류에서 분리한 대장균은 92.3%로 박 등<sup>21)</sup>의 96.2%와 비슷하였으며 Ewing<sup>6)</sup>의 80.6%, 김 등<sup>22)</sup>의 77.6%와 다소 차이가 있었다. Arginine decarboxylase는 패류살과 갑각류에서 모두 음성이었으나 패류에서 분리한 대장균은 15.4%로 Ewing<sup>6)</sup>과 박 등<sup>21)</sup>에서 16.3%, 24.0%로 유사하였으며 김 등<sup>22)</sup>의 44.0%와는 차이가 있었다.

한편 생화학적 특성으로 어패류별 분리 대장균을 분리할 때 Fig. 1와 같이 구분할 수 있다. 즉 sucrose와 sorbitol의 특성에 따라 분류하면, 패류살에서 분리된 대장균은 모두 sucrose -, sorbitol +인 반응을 나타내었으며, 갑각류에서 분리된 대장균은 sucrose +, sorbitol +인 것이 66.7% 그리고 sucrose +, sorbitol -인 것이 33.3%이었다. 한편 패류에서 분리된 대장균은 크게 sucrose -, sorbitol -와 sucrose +, sorbitol +인 것이 각각 42.3%, 나머지 반응이 각각 3.8%와 11.5%를 나타내었다.

Singh 등<sup>24)</sup>은 어패류를 7 biotype으로 분류하였는데 본 실험에서 분리한 대장균에서 biotype I은 패류 3.8%, 패류살 33.3%, biotype V은 패류 23%, biotype VI은 패류 7.7%, 갑각류 66.7%, biotype VII은 패류 15.4%로 나타났으며

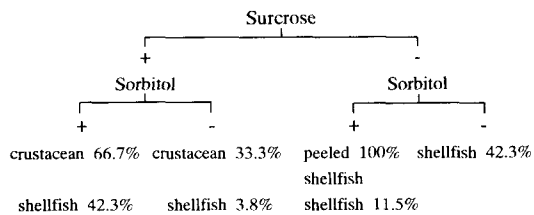


Fig. 1. Distribution of *E. coli* isolated from shellfish, peeled shellfish and crustacean by typical biochemical tests.

Table 5. Biochemical features of biotype of *E. coli* isolated from fish and Seafoods

| Biotype | Sugar fermentation pattern |         |          |          |           |          |
|---------|----------------------------|---------|----------|----------|-----------|----------|
|         | Sucrose                    | Salicin | Dulcitol | Adonitol | Arabinose | Sorbitol |
| I       | -                          | -       | +        | -        | +         | +        |
| II      | +                          | -       | +        | +        | +         | +        |
| III     | -                          | -       | -        | -        | -         | +        |
| IV      | -                          | -       | -        | -        | +         | +        |
| V       | +                          | -       | +        | -        | +         | +        |
| VI      | +                          | +       | +        | -        | +         | +        |
| VII     | -                          | +       | -        | -        | +         | +        |

Data are from B.R. Singh and S.B. Kulshrestha<sup>24)</sup>

biotype II, III, IV은 나타나지 않았다.

대장균의 병원성 혈청형 분포 조사

시험한 대장균 35주 중 13주(37.1%)가 병원성 대장균 혈청형을 가지고 있었으며 이는 환자에서 분리한 박 등<sup>21)</sup>의 39.3%와 유사하였으며 Valentinc 등<sup>25)</sup>이 물에서 분리한 대장균 15.8%보다 높게 나타났다. 패류에서 분리된 대장균 26주 중 12주(46.2%)가 병원성 대장균 혈청형에 속하였으며, 패류살에서 분리된 대장균 6주 중 1주(16.7%)가 병원성 대장균 혈청형에 속하였으며, 갑각류에서 분리된 3주에서는 검출되지 않았다.

혈청형별로는 총 10종의 혈청형이 분리되었으며, 사람이나 동물의 장내 병원 매개체인 독소원성 대장균에 속하는 혈청형 O:27, O:148 및 O:159형이 분리되었으며, 이중 O:27형이 3주(23.1%)로 가장 많이 검출되었으며, O:159형 2주(15.4%) 그리고 O:148형 1주(7.7%)로 총 6주(46.2%)가 검출되었다. 신생아 및 소아의 설사와 관련된 장내병원성 대장균에 속하는 혈청형 O:119형은 1주(7.7%)로 박 등<sup>21)</sup>의 1주(1.3%)와 유사 하였으며, O:142형 및 O:158형은 각각

Table 6. Distribution of O serotypes of *E. coli* isolated from fish and shellfish on the market

| Group                         | Serotypes | Shellfish | Peeled shellfish | Crustacean | Total (%) |
|-------------------------------|-----------|-----------|------------------|------------|-----------|
| Enterotoxigenic               | O:27      | 3         |                  |            | 3(23.1)   |
|                               | O:148     | 1         |                  |            | 1(7.7)    |
|                               | O:159     | 2         |                  |            | 2(15.4)   |
| Enteropathogenic              | O:119     | 1         |                  |            | 1(7.7)    |
|                               | O:142     | 1         |                  |            | 1(7.7)    |
|                               | O:158     | 1         |                  |            | 1(7.7)    |
| Enteroinvasive                | O:136     | 1         |                  |            | 1(7.7)    |
| Shigella-like toxin producers | O:18      | 1         |                  |            | 1(7.7)    |
|                               | O:128     | 1         |                  |            | 1(7.7)    |
|                               | O:168     |           | 1                |            | 1(7.7)    |
| Total                         |           | 12        | 1                | 0          | 13        |

1주(7.7%)씩 분리되었다. 장침입성 대장균에 속하는 혈청형 O:136형이 1주(7.7%)가 분리되었으며, 유사이질균 독소 생산성 대장균에 속하는 혈청형 O:18형(7.7%)은 박 등<sup>21)</sup>의

1.3%(1주/78주)와 같이 낮게 검출되었고, O:128형은 Singh 등<sup>24)</sup>의 어패류에서 분리한 대장균의 23%보다 낮게 나타났으며 O:168형도 각각 1주(7.7%)씩 분리되었다(Table 6).

국문요약

시판 어패류의 세균학적 위생상태를 조사하고 분포하고 있는 대장균의 생화학적 특성 및 항생제 감수성 양상을 조사하기 위해 어패류 79건에 대하여 일반세균수, 대장균군 및 분원성 대장균수를 조사하고 여기서 분리한 35주(패류, 갑각류)에 대한 생화학적 성상, 혈청학적 성상을 조사하였다. 어류, 패류, 연체류, 갑각류의 일반세균수의 기하평균은  $1.4 \times 10^5$  CFU/g,  $4.0 \times 10^5$  CFU/g,  $2.4 \times 10^5$  CFU/g,  $4.7 \times 10^5$  CFU/g, 대장균군의 기하평균은  $1.3 \times 10^3$  CFU/g,  $4.8 \times 10^3$  CFU/g,  $8.9 \times 10^2$  CFU/g,  $5.8 \times 10^3$  CFU/g이었다. 분원성 대장균은 어류와 연체류에서 검출되지 않았으며 패류에서는  $1.1 \times 10^1$  CFU/g, 갑각류에서는 10 CFU/g이하로 나타났다. 각 어패류 사이에서 일반세균수, 대장균군 및 분원성대장균의 오염도는 유의한 차가 없었다( $p > 0.05$ ). 분리한 *E. coli* 35주 중 패류 및 갑각류를 감별할 수 있는 특징적인 생화학 성상은 Motility, Ornithine Decarboxylase, Mucate, Esculin이었으며 당분해 특성인 Scurose, Salicin, Sorbitol, Raffinose도 감별성상을 나타냈다. 패류 및 갑각류에서 분리한 *E. coli* 35주 중 병원성 O 혈청형을 나타낸 균주는 13주(37.1%)이었으며, 이 중 O:27이 3주(23.1%)로 가장 많았고 O:159는 2주(15.4%), O:148, O:119, O:142, O:158, O:136, O:18, O:128, O:168 형이 각각 1주(7.7%)씩 분리 되었다.

참고문헌

1. Venugopal, V.: Extracellular proteases of contaminant bacteria in fish spoilage. *Rev. J. Food Protect*, **53**, 341-350 (1990).
2. Ward, D.R. and Baj, N.J.: Factors affecting microbiological quality of seafoods. *Food Technol*, **3**, 85-89 (1988).
3. Hogue, M.M., Rasul, Z., Ahsan, C.R. and Hog, M.M.: Bacterial flora in the alimentary tract of live fresh water diseased fish and their response to different antibiotics. *Bangladesh J. Zool*, **20**(2), 341-346 (1992).
4. Frazier, W.C. and Westhoff, D.C.: *Food Microbiology*, 4th Ed. McGraw- Hill Book Comp, New York, pp.203 (1988).
5. Sherman, P., Drumm, B., Karmall, M. and Cutz, E.: Adherence of bacteria to the intestinal in sporadic cases of enteropathogenic *Escherichia coli* associated diarrhea in infants and young childred. *Gastroenterology*, **96**, 86-94 (1989).
6. Ewing, W.H.: *Edwards and Ewing's Identification of Enterobacteriaceae*, 4th ed. Elsevier, New York, pp. 93-130 (1986).
7. Formal, S.B., Hale, T.L., and Sansonetti, P.J.: Invasive enteric pathogens. *Rev. Infect. Dis*, **5**(4), S702-707 (1983).
8. American Public Health Association: *Compendium of Methods for the Microbiological Eamination of Food*, 2th

- ed. APHA, Washington, DC, pp. 265-284 (1984).
9. Food and Drug Administration: *Bacteriological Analytical Manual*, 7th ed. AOAC international, Arlington, pp. 1-47 (1992).
10. 일본식품위생협회: *식품위생검사지침서(미생물편)*. 사단법인 일본식품위생협회, 동경, pp. 127-133 (1990).
11. Gopalakrishna Iyer, T.S. and Shrivastava, K.P.: Reliability of *Escherichia coli* and Facel Sterptococci as indicators of Salmonella in frozen fishery products. *Fishery Technology*, **26**, 137-139 (1989).
12. 장독식, 최위경: 시판 수산식품에 대한 세균학적 연구. 2. 생선회의 위생지표 세균에 관하여. *한국수산학회지*, **6**(3, 4), 92-96 (1973).
13. Wentz, B.A., Duran, A.P., Swartzentruber, A., Schwab, A.H. and Read, R.B. Jr.: Microbiological quality of fresh blue crabmeat, clams and oysters. *J. Food Protect*, **46**, 978-81 (1983).
14. Foster, J.F., Flower, J.L. and Dacey, J.: A microbial survey of various fresh and frozen seafood products. *J. Food Protect*, **40**, 300-303 (1977).
15. Nair, K.K.S. and Nair, R.B.: Bacteriological quality of fresh water fish from Krishnarajendra sagar reservoir. *Fishery Technology*, **25**, 79-80 (1988).
16. Vishwanath, W., and Lilabati, H.: Biochemical and microbiological quality of ice stored Catfish *Wallago attu* of the Imphal market. *Fishery Technology*, **32**(2), 113-117

- (1995).
17. Ayulo, A.M.R., Machado, R.A. and Scussel, V.M.: Enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in fish and seafood from the southern region of Brazil. *J. Food Microbiol*, **24**, 171-178 (1994).
  18. Fattal, B., Dotta, A., Parpari, L., Tchorsh, Y. and Cabelli, V.J.: Microbiological purification of fish growth in fecally contaminated commerical fish pond. *Wat. Sci. Tech*, **27**(7-8), 303-311 (1993).
  19. 허성호, 김영만, 이동근: 여름철 활어조해수의 세균학적인 연구. *한국영양식량학회지*, **12**, 19-26 (1983).
  20. Chai, T.J., Han, T.J. and Cockey, R.R.: Microbiological quality of shellfish-growing waters in Chesapeake bay. *J. Food Prot*, **57**, 229-234 (1994).
  21. 박석기: 건강인에서 분리한 *E. coli*의 약제내성 및 전달성. *서울시보건환경연구원보*, **14**, 73-82 (1977).
  22. 김봉환, 김동성, 이창구: 자돈의 병원성 대장균증에 관한 연구. *대한수의학회지*, **21**, 81-86 (1981).
  23. 우용구, 김기석, 김봉환: 닭에서 분리한 *Escherichia coli*의 생물학적 및 배양 특성. *대한수의학회지*, **30**, 421-425 (1990).
  24. Singh, B.R. and Kulshrestha, S.B.: Incidence of *Escherichia coli* in fishes and seafoods isolation, serotyping, biotyping and enterotoxigenicity evaluation. *J. Food Sci. Technol*, **31**(4), 324-326 (1994).
  25. Valentini, S.R., Gomes, T.A. and Falcao, D.P.: Lack of virulence factors in *Escherichia coli* strains of enteropathogenic serogroups isolated from water. *Appl. Environ. Microbiol*, **58**, 412-414 (1992).