Korean J. Food & Nutr. Vol. 16. No. 2, 111~115 (2003)

THE KOREAN JOURNAL OF FOOD AND NUTRITI
한국식품영양학회

수산물에서 분리한 대장균의 분리특성 및 항생제 감수성

†이재인 · 한기영 · 박홍현*

서울시보건환경연구원, 경희대학교 외식산업학과*

Characteristics and Antibiotics Susceptibility of *Escherichia coli* Isolated from Fishery Products

†Jae-In Lee, Gi-Young Han and Hong-Hyun Park*

Seoul Health & Environment Research Institute

*Dept. of Foodservice Management, Kyung-Hee University**

Abstract

This study was practiced to investigate characteristics and antibiotics susceptibility to 296 isolates of *Escherichia coli* isolated from 2429 fishery samples sold in Noryangjin Fishery Market from Sep. 2001 to Aug. 2002. It showed 12.2% average *E. coli* isolation rates for the tested samples. Isolation rates were high in summer, especially July and August, but there was no isolate in winter season. Of the fishery groups, the isolation rate showed in crustacea(15.6%), in mollusca(14.4%), in shellfish(12.0%) and in fish(11.0%). But, differences between the fishery groups was not large. In the case of shellfish, the isolation rate of shucked shellfish (16.3%) was higher than the non-shucked shellfish (6.8%). Following the provinces of origin of the fishery samples, in Gyung-Nam (14.3%) showed the highest isolation rate, whereas Je-Ju (6.9%) showed the lowest isolation rate. Results in 12 kinds of antibiotics susceptibility test, the 169 isolates(57.1%) had antibiotics resistances at least one kind of antibiotics and the 104 isolates (35.1%) had the multiple resistance at least two kinds.

Key words : *Escherichia coli*, fishery products, antibiotics susceptibility.

서 론

최근 과다한 육류섭취가 성인병 등 각종 질환의 원인으로 밝혀지면서 어패류의 소비가 크게 증가하고 있다. 그러나 어패류는 낮은 함량의 collagen과 lipid 성분 및 비교적 높은 농도의 근육내 질소화합물 때문에 미생물에 의해 부패되기 쉽다[1]. 어패류의 부패에 관여하는 세균의 종류는 환경요인에 의해 달라지며, 어획방법, 운송차량의 위생, 가공 및 저장상태 등의 요인에 의해서도 어패류의 오염은 영향을 받는다[2].

어패류의 장내에 존재하는 세균으로는 *Alcaligenes, Clostridium, Bacillus, Vibrio, Pseudomonas, Flavobacterium, Escherichia* 등이 있으며, 이 중에서 장병원성 대장균(enteropathogenic *E. coli*), *V. parahaemolyticus*와 같은 병원체가 증가하고 있다[3].

대장균(*Escherichia coli*)은 장내세균과(Enterobacteriaceae)에 속하는 그람 음성, 비아포의 단간균이며 통성 혐기성균으로 주모성의 편모를 가지고 있어 대부분 운동성이 있으며, 협막을 가진 것도 있다. 대장균이 분변오염을 통하여 인체에 감염되었을 경우 설사,

† Corresponding author : Jae-In Lee, Seoul Health & Environment Research Institute, Garak-Dong 600, Songpa-Gu, Seoul, 138-701 Korea.

Tel : 02-3401-6294, Fax : 02-3401-6290, E-mail : shaoma@seoul.go.kr

요로감염증, 복막염, 및 신생아 패혈증 등 다양한 질환을 유발한다. 특히, 병원성 대장균은 분변오염의지표 및 Salmonella의 잠재적인 지표로 중요한 관심사가 되어왔다. 병원성 대장균의 치료제로는 β-lactam계 항생물질 중 일부의 penicillin계 항생물질, nalidixic acid, streptomycin, kanamycin 등이 유효하나 항생제의 남용으로 내성균이 점점 많아지고 있다.

본 실험은 서울특별시 노량진수산시장에서 판매되는 수산물을 대상으로 대장균을 분리하고 분리균주들의 항생제 감수성을 조사하였다. 또한 대장균 분리의 월별, 지역별, 어종별 분포양상을 분석하고 이러한 분포양상과 항생제 내성과의 관계를 파악함으로써 수산물에 의한 식중독 예방을 위한 위생관리의 기초자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험은 2001년 9월부터 2002년 8월까지 노량진 수산시장에서 시판된 어류(1131건), 패류(748건), 연체류(313건), 갑각류(237건) 등 수산물 2429건을 대상으로 하였다.

2. 대장균의 분리 및 동정

대장균의 분리 및 동정은 Balows 등[4]과 Bergey's Manual[5] 방법에 나타난 생리적 특성을 API 20E kit (BioMereux, France)을 사용하여 조사하였다. 각 시료 10g을 취하여 90㎖ 생리식염수에 넣고 stomacher (Seward, England)로 60초간 균질화하였다. 균질액 1㎖을 취하여 EC broth(Difco, USA)에 접종하고 45℃에서 24시간 배양 후 durham tube에서의 gas 발생 유무를 판독하였다. Gas가 발생한 시험관의 균액을 EMB agar (Difco, USA)에 도말하고 37℃, 18시간 배양한 후 금속성 집락의 유무를 확인하고, 전형적인 금속성 집락을 취하여 tryptic soy agar(Difco, USA)에 다시 배양하여 형성된 집락을 순수분리하고 그람염색(Gram staining)을 실시하여 그람음성 무아포성 간균을 확인한 후 KIA(Difco, USA) 사면배지에 접종하였다. KIA agar에서 A/A 및 gas 생성을 확인한 후 API 20E kit에 접종하여 37℃, 18시간 배양 후 결과를 판독하였다.

3. 항생제 감수성 검사

Ampicillin(AM; 10μg), Penicillin(P; 10unit), Cephalothin(CF; 30μg), Chloramphenicol(C; 30μg), Erythromycin(E; 15μg), Gentamicin (GM; 10μg), Kanamycin(KM; 30μg), Nalidixic acid(NA; 30μg), Neomycin(N; 30μg), Streptomycin(S; 10μg), Tetracycline(Te; 30μg), Clindamycin(CC; 2μg) 등 총 12종의 BBL Sensi-Disk (Becton and Dickinson, U.S.A)를 사용하여 Kirby-Bauer 등의 disk diffusion method[6]에 의하여 시험하였다. 시험균액을 MacFarland No. 0.5 표준비색관(1% $BaCl_2$ 0.5㎖ + 1% H_2SO_4 99.5㎖)을 사용하여 균수를 10^8 CFU/㎖)에 맞추고 Müller Hinton agar(Difco, USA)에 면봉을 이용하여 배지 전체에 도말하였다. 배지를 clean bench내에서 10분간 방치하여 표면의 습기를 흡수시킨 후 항생제디스크를 배지에 얹어 37℃에서 18시간 배양하였다. 발육억제대의 크기는 zone reader (Fisher, USA)로 측정하였으며 NCCLS(National Committee Clinical Laboratory Standard)기준에 의해 항생제 감수성 및 내성을 판정하였다.

결과 및 고찰

1. 대장균 분리율

시판 어류(1131건), 패류(748건), 연체류(313건), 갑각류(237건) 등 총 2429건을 대상으로 *E. coli*를 분리·동정한 결과, 수산물에서는 296검체에서 *E. coli*가 분리되어 평균 12.2%의 분리율을 나타냈다(Table 1).

어종별 분리율을 보면, 어류에서 11.0%로 가장 낮은 분리율을 보였고 갑각류에서 15.6%로 가장 높은 분리율을 보였으나 평균 분리율 12.2%에 비교하여 어종간의 분리율 차이는 현저하지 않았다.

패류의 경우는 12.0%의 분리율을 보여 수산물 평균 분리율과 유사한 수치를 나타냈으나, 탈각패류와 비탈각패류를 비교한 결과 각각 16.3%와 6.8%의 분리율을 보여 패류에 있어 탈각패류의 *E. coli* 오염이 보다 심각한 것으로 나타났다. Filter-feeding system을 갖추

Table 1. Numbers and isolation rates of *E. coli* from fishery products

Kind of marine products		No. of Samples	No. of Isolates	Isolation rate
Fish		1131	124	11.0 %
Shellfish	Shucked	411	67	16.3 %
	Non-shucked	337	23	6.8 %
	Subtotal	748	90	12.0 %
Mollusca		313	45	14.4 %
Crustacea		237	37	15.6 %
Total		2429	296	12.2 %

고 있는 패류는 생활하수에 오염된 물에서 자라는 경우 각종 세균과 바이러스 등 미생물뿐 아니라 여러 가지 오염물질을 축적하는 경향이 있으므로[7] 패류에서의 대장균 분리율이 다른 어종에 비해 높게 나타날 것으로 기대하였으나, 평균 대장균 분리율과 큰 차이가 없는 분리율(12.0%)을 보인 것으로 볼 때 검사대상이 된 패류들이 생활하수에 오염되었을 가능성은 낮은 것으로 보인다. 탈각패류가 비탈각패류에 비해 *E. coli.* 오염도가 높은 이유는 탈각과정이 대부분 수작업으로 이루어지므로 오염원에 노출될 위험이 높아짐과 동시에 작업자의 손을 통해 2차 오염이 일어날 가능성이 있기 때문인 것으로 생각되며, 탈각 과정에서의 2차 오염이 탈각패류에서 대장균 오염의 주요 원인인 것으로 사료된다.

시료로 사용한 전체 수산물의 월별 *E. coli* 분리율을 살펴보면(Fig. 1) 1, 2월중에는 *E. coli*가 전혀 검출되지 않다가 3월에 1.0%의 분리율을 보인 후 하절기로 갈수록 분리율이 높아져서 7, 8월에는 각각 39.3%와 33.2%의 높은 분리율을 보였다. 이후 *E. coli* 분리율은 다시 감소세를 나타낸 후 동절기인 12월에는 *E. coli*가 전혀 검출되지 않는 양상을 나타내었다. 河端 등[8]은 대장균이 해수온도가 10℃ 이상일 때 증식을 시작한다고 보고하였고, Burkhardt 등[9]도 패류의 세균 축적이 11.5~21.5℃일 때 활발히 이루어진다고 보고한 것을 고려할 때 본 실험에서 수온이 상승하기 시작하는 3월에 대장균이 분리되기 시작하여 11월까지 분리되는 것은 河端 등과 Burkhardt 등의 결과와 유산한 결과로 보인다.

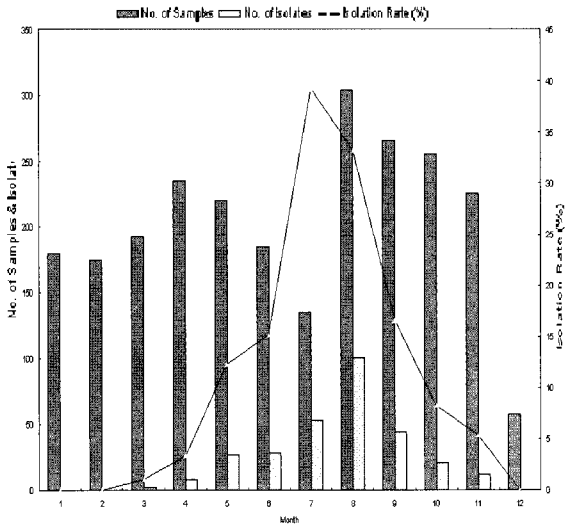

Fig. 1. Monthly *E. coli* isolation rates for marine products saled in Noryangjin Fishery Market from Sep. 2001 to Aug. 2002.

수산물의 원산지에 따른 *E. coli* 분리양상을 살펴보면, 경남(14.3%), 전북(14.3%), 경북(13.0%) 지역이 평균보다 높은 분리율을 보였으며, 강원(9.7%), 충남(9.6%), 제주(6.9%) 지역은 평균보다 낮은 대장균 분리율을 보였다(Table 2).

수입 수산물의 경우는 13.5%의 *E. coli* 분리율을 보여 전체 평균보다는 높은 수치였으나, 그 차이는 크지 않은 것으로 나타났으며, 특히 사회적 관심도가 높은 중국산 수산물의 경우는 228건의 검체중 30건(13.2%)에서 *E. coli*가 분리되어 평균 분리율보다는 높지만 수입 수산물 평균보다는 낮은 분리율을 나타냈다 (Data not shown).

2. 수산물로부터 분리한 *E. coli* 균주의 항생제 감수성

296주의 대장균 분리균주에 대해 12종의 항생제디스크를 이용하여 항생제 감수성 검사를 실시한 결과, Table 2와 같이 penicillin, clindamycin, erythromycin에 대해서는 모든 분리균주가 내성을 나타내었다. 이는 대장균이 그람 음성균인데 비해 이들 항생제들이 그람 양성균에 선택적인 작용을 하는데 기인한 것으로 생각된다.

반면에 대장균 치료에 사용되고 있는 nalidixic acid, streptomycin, kanamycin의 경우는 각각 219주(74.0%), 232주(78.4%), 259주(87.5%)가 이들 항생제에 감수성을 나타냈으며, 내성균주의 빈도도 각각 16주(5.4%), 33주(11.2%), 16주(5.4%)로 다른 항생제에 비해 적게 나타났다. 이러한 결과로부터 이들 약제가 대장균 증

Table 2. Numbers and isolation rates of *E. coli* from fishery products according to their provinces of origin

Native provinces	No. of samples	No. of isolates	Isolation Rate (%)
Gyung-Gi	63	8	12.7
Chung-Nam	115	11	9.6
Chun-Buk	175	25	14.3
Chun-Nam	677	76	11.2
Gyung-Nam	440	63	14.3
Gyung-Buk	23	3	13.0
Gang-Won	258	25	9.7
Je-Ju	58	4	6.9
Imported	576	78	13.5
Ocean	44	3	6.8
Total	2429	296	12.2

Table 3. Antibiotics susceptility of *E. coli* isolates

Antibiotics	Isoaltes (%)		
	Susceptible	Intermediate	Resistant
Ampicillin	100 (33.78)	142 (47.97)	54 (18.24)
Sterptomycin	232 (78.38)	31 (10.47)	33 (11.15)
Neomycin	152 (51.35)	126 (42.57)	18 (6.08)
Nalidixic acid	219 (73.99)	61 (20.61)	16 (5.41)
Tetracycline	64 (21.62)	121 (40.88)	111 (37.50)
Penicillin	0 (0.0)	0 (0.0)	296 (100.0)
Clindamycin	0 (0.0)	0 (0.0)	296 (100.0)
Chloramphenicol	293 (98.99)	0 (0.0)	3 (1.01)
Cephalothin	142 (47.97)	79 (26.69)	75 (25.34)
Gentamicin	296 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Kanamycin	259 (87.50)	21 (7.09)	16 (5.41)
Erythromycin	0 (0.0)	43 (14.53)	253 (85.47)

식 억제에 효과적이며, 아울러 최소한 환경분리주에 있어서는 아직 이들 약제에 대한 내성 유전자의 전이가 활발하지 않다는 것을 유추할 수 있다. 사용된 항생제중 gentamicin은 모든 분리균주가 감수성을 보였으며, chloramphenicol의 경우도 3주(1.01%)를 제외하고는 모두 감수성을 나타내어 대장균에 대해 탁월한 억제효과를 나타내었다.

β-lactam계 항생제인 ampicillin과 cephalothin의 경우는 100주(33.8%)와 142주(48.0%)만이 감수성을 나타내어 penicillin 등의 β-lactam계 항생제보다는 높은 감수성을 보였지만 그외 다른 항생제에 비해서는 그다지 높은 억제효과를 보이지 않았다. Tetracycline의 경우는 감수성 균주가 64주(21.6%)인데 비해 내성균주는 111주(37.5%)이며, intermeiate에 속하는 균주도 121주(40.9%)로 대장균 증식 억제에 그다지 효과적이지 않은 것으로 나타났다. Neomycin에 대한 감수성 검사 결과, 내성균주는 18주(6.1%)로 kanamycin의 경우와 유사했으나 감수성 균주는 152주(51.4%)인데 비해 intermeiate균주가 126주(42.6%)로 나타나 kanamycin이나 gentamicin 등 다른 aminoglycoside계 항생제와 다른 양상을 보였다.

항생제에 내성을 나타내는 세균의 출현은 병리학, 공중보건 등에서 큰 문제점으로 부각되어 왔으며, 항생제 내성의 전이는 사람뿐 아니라 동물, 양식어 등에서 발생하는 감염성 질병의 치료에 중대한 장애가 되고 있다.

본 실험에서 296주의 대장균 분리균주들은 tetracycline에 대해 37.5%의 내성을 내타내었고 ampicillin

Table 4. Multiple antibiotic resistance patterns of *E. coli* isolated from marine products

Antibiotics resistance pattern	No. of strains (%)	Subtotal (%)
Te	49 (16.6)	
AM	4 (1.4)	92 (31.1)
CF	39 (13.2)	
Te, S	5 (1.7)	
CF, AM	15 (5.1)	32 (10.8)
Te, NA	12 (4.1)	
CF, Te, AM	8 (2.8)	
CF, Te, N	4 (1.4)	27 (9.1)
Te, N, K	3 (1.0)	
Te, S, AM	12 (4.1)	
CF, Te, N, AM	2 (0.7)	
CF, Te, NA, S	3 (1.0)	9 (3.0)
Te, S, AM, K	4 (1.4)	
Te, S, AM, K, N	5 (1.7)	5 (1.7)
CF, Te, N, S, AM, K, NA	1 (0.3)	4 (1.4)
CF, Te, N, S, AM, K, C	3 (1.0)	
Subtotal	169 (57.1)	169 (57.1)
None		127 (42.9)
Total		296(100.0)

과 cephalothin에 대해서도 비교적 높은 내성을 나타내었다. 반면 chloramphenicol과 gentamicin 등은 내성균주의 출현이 거의 없었다. 환자에서 분리된 *E. coli*를 대상으로 한 Park 등[10]의 결과와 비교할 때 cephalothin을 제외한 모든 항생제에서 임상분리주보다 현저히 낮은 항생제 내성을 보였다.

모든 균주가 내성을 나타낸 penicillin, clindamycin, erythromycin을 제외한 다제내성 양상을 Table 4에 표시하였다. 총 296주의 분리균주중 169주(57.1%)가 항생제 내성을 나타냈으며 이중 104주(35.1%)는 2가지 이상의 항생제에 내성을 보였다. Park 등[7]은 환자에서 분리한 임상분리주를 대상으로 84.6%가 다제내성을 보였다고 보고한데 비해 본 실험에서는 35.1%만이 다제내성을 나타내 환경분리주에서의 내성전이는 아직 활발하지 않은 것으로 생각된다.

하지만 실험실 내에서 인위적으로 조성한 natural microenvironment에서 이종 세균간의 다제내성 유전자 전이를 조사한 Kruse와 Sørum[11]은 항생제가 투여되지 않은 상태에서도 진화적으로 무관한 세균들 사이에 내성 유전자의 전이가 이루어 졌음을 밝혔으며, 동시

에 사람, 동물, 어패류, 토양, 생활하수 등 세균이 어떤 시료에서 분리되었는가에 관계없이 내성 유전자의 전이는 이루어진다고 보고하였다.

또한 항생제 내성균주가 주로 병원, 양식어장, 생활하수 등 항생제 오염이 심한 곳에서 주로 분리되기는 하지만[12], 항생제에 오염되지 않은 환경에서도 내성균주가 분리된다는 보고[13]를 고려할 때 항생제의 오·남용을 방지하는 것 못지 않게 생활하수의 철저한 처리와 식원료의 유통과정중 서로 다른 원료 사이의 cross-contamination을 막기 위한 지도를 강화하는 등 내성균주 자체의 전파를 막는 노력이 필요할 것으로 사료된다.

요 약

총 2429건의 시판 수산물에서 296건의 *E. coli*가 분리되어 평균 12.2%의 분리율을 보였다. 대장균은 연중 분리되나, 하절기 특히 8, 9월에 가장 높은 분리율을 보였다. 어종별 대장균 분리율은 갑각류 15.6%, 연체류 14.4%, 패류 12.0%, 어류 11.0%로 나타나 어종간의 분리율 차이는 크지 않은 것으로 나타났다. 그러나 패류의 경우는 평균 대장균 분리율은 12.0%이지만, 비탈각패류에서는 6.8%, 탈각패류에서는 16.3%의 분리율을 보여 큰 차이가 있었다. 지역별로는 경남산 어패류에서 대장균 분리율이 14.3%로 높게 나타났고, 제주는 6.9%로 낮은 분리율을 보였다. Tetracycline 및 β-lactam계 항생제에 대한 내성은 비교적 높았던 반면, chloramphenicol과 aminoglycoside계 항생제에 대한 내성은 전혀 없거나 아주 낮은 빈도로 출현하였으며 다제내성주의 빈도는 35.1%로 임상분리주에서 보다 낮게 나타났다.

참고문헌

1. Lee, Y. W. : Distribution of indicator organisms in commercial fish and shellfish and influence of storage temperature and period. *J. Fd. Hyg. Safety.* **11**(1), 57~70 (1996)
2. Ward, D. R. and Baj, N. J. : Factors affecting microbiological quality of seafoods. *Food Technol.*, **3**, 85~89 (1988)
3. Frazier. W. C. and Westhdff, D. C. : *Food Microbiology.* 4th Ed. McGraw-Hill Book Comp., New York, 99. **203** (1988)
4. Balows. A. : *Mannual of clinical microbiology.* American Society for Microbiology, Washington D. C., (1991)
5. Krieg, N. R. and Holt, J. G. : *Bergery's Manual of systematic Bacteriogy,* Willam & Wilkins, Baltimore, Md. (1986)
6. Bauer, A. W. : Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.*, **45**, 493~496 (1966)
7. Dore, William J. and David, N. L. : Behavior of *Escherichia coli* and Male-specific bacteriophage in environmentlly contaminated bivalve molluscs before and after depuration. *Appl. and Environ. Microbiol.* **61**(8), 2830~2834 (1995)
8. 河端俊治, 春田二佐夫, 細見祐太郎 : 實務食品衛生, 中央法規出版, 東京, (1986)
9. Burkhardt W. 3rd, Watkins, W. D and Rippey, S. R. : Seasonal effects on accumulation of microbial indicator organisms by *Mercenaria mercenaria. Appl. and Environ. Microbiol.*, **58**, 826~831 (1992)
10. Park, S. G. : Serotype and transfer of drug resistance in *E. coli* isolated from patients. *Report of S.I.H.E.* **32**, 13~19 (1996)
11. Kruse, H. and Sorum, H. : Transfer of multiple drug resistance plasmids between bacteria of diverse origins in natural microenvironments. *Appl. and Environ. Microbiol.*, **60**, 4015~4021 (1994)
12. Sandas, R. A., Torsvik, V. L. and Goksayr, J. : Transferable drug resistence in bacteria from fish-farm sediments. *Canadian J. Microbiol.* **38**, 1061~1065 (1992)
13. Mach, P. A. and Grimes, D. J. : R-plasmid transfer in a waste-water treatment plant. *Appl. and Environ. Microbiol.*, **44**, 1395~1403 (1982)

(2003년 4월 17일 접수)