J. Fd Hyg. Safety
Vol. 23, No. 2, pp. 157~162 (2008)

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

열수(熱水)와 마이크로웨이브 가열이 조제분유 및 선식 용해 중 *Enterobacter sakazakii* 사멸에 미치는 영향

김중범 · 박용배 · 이명진 · 김기철 · 허정원 · 김대환 · 이정복 · 김종찬 · 최재호[1] · 오덕환[1]*
경기도보건환경연구원 보건연구부, [1]강원대학교 식품생명공학과

Effect of Hot Water and Microwave Heating on the Inactivation of *Enterobacter sakazakii* in Reconstituted Powdered Infant formula and *Sunsik*

Jung-Beom Kim, Yong-Bae Park, Myung-Jin Lee, Ki-Cheol Kim, Jeong-Weon Huh, Dae-Hwan Kim, Jong-Bok Lee, Jong-Chan Kim, Jae-Ho Choi[1], and Deog-Hwan Oh[1]*
Health Research Department, Gyeonggi-do Institute of Health & Environment
[1]Division of Food and Biotechnology, Kangwon National University
(Received June 3, 2008/Accepted June 23, 2008)

ABSTRACT – *Enterobacter sakazakii* was initially referred to as yellow-pigmented *Enterobacter cloacae* and reclassified in 1980. *E. sakazakii* infection cause life-threatening meningitis, septicemia, and necrotizing enterocolitis in infants. Powdered infant formula (PIF) and baby foods may be the important vehicle of *E. sakazakii* infection. It has been reported that *E. sakazakii* was isolated from PIF and *sunsik* ingredients produced in Korea. Some infants have been fed *sunsik* as a weaning diet. Therefore, it is necessary that this organism should be inactivated on preparing PIF and *sunsik* at homes and in hospitals. The cocktail of three Korean *E. sakazakii* strains (human, *sunsik* and soil isolates) were used to investigate the inactivation of this organism with hot water at 50, 60, 65, 70 and 80°C and microwave heating for 60, 75, 90, 105 and 120 sec. Reconstituted PIF and *sunsik* were inoculated with cocktailed vegetative cells of *E. sakazakii* at 6 log CFU/mL. Thermal inactivation of vegetative cells of *E. sakazakii* were achieved by reconstituted PIF and *sunsik* with hot water at 60°C or greater and with microwave heating at 2,450 MHz for 75 sec or longer. Considering that biofilm formation of *E. sakazakii* was adapted to survive the dry environment that is PIF and *sunsik* and thermal resistance increased, it is suggested that inactivation of *E. sakazakii* was used by hot water at 70°C or greater and microwave heating for 90 sec or longer. Reconstituted PIF and *sunsik* were inoculated with cocktailed vegetative cells of *E. sakazakii* at 2 to 3 log CFU/mL to investigate the growth curve of this organism and stored at 5, 10, 15, 20, 25, 30 and 35°C. Viable counts slightly changed at 5, 10°C during 48 h but grew at 15°C or greater. Considering that *E. sakazakii* is able to grow in infant formula milk at refrigerator temperature, reconstituted PIF and *sunsik* that are not immediately consumed should be discarded or stored at refrigeration temperatures within 24 h.

Key words: *Enterobacter sakazakii*, Inactivation, Hot water, Microwave heating

서 론

*Enterobacter sakazakii*는 Enterobacteriacea, 통성 혐기성 Gram 음성 간균으로[1] 2004년 프랑스와 뉴질랜드에서 총 3명의 사망자를 발생시키는 등[2] 새로이 주목받고 있는 세균으로 *Enterobacter cloaceae*와 유사하여 1980년 까지 yellow pigmented *Enterobacter cloaceae*로 불리어 지다가 DNA-DNA hybridization, 생화학적 실험, yellow pigmented 생산 실험, 항생제 내성 실험 등을 통하여 *E. sakazakii*로 재 명명되었다[3]. *E. sakazakii*는 성인에게 치명적인 감염을 발생시키지는 않으나 신생아(출생 28일 이내)와 저 체중 출산아, 4세 이하 소아에게 뇌막염과 패혈증을 유발시켜 감염자의 33~80%를 사망시키는 등 영유아에게 치명적인 세균이며 치료 후에도 신경마비, 시신경 손상 등의 후유증을 동반하는 것으로 보고되고 있다[1]. *E. sakazakii*에 관

*Correspondence to: Deog-Hwan Oh, Division of Food and Biotechnology, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea
Tel/Fax: 82-33-250-6457
E-mail: deoghwa@kangwon.ac.kr

한 연구 동향은 분리 배지연구, 인체 감염 사례 연구를 통한 위해도 분석, 조제분유이유식 등 식품 중의 분포 조사, 분리된 *E. sakazakii*의 생화학적, 분자생물학적 특성, 항생제 내성, *D*-value 등의 열 저항성, real-time PCR을 이용한 신속 검출법 등 다양한 연구가 이루어지고 있으나 *E. sakazakii*의 주요 서식지와 전파 경로에 관해서는 아직 정확하게 밝혀지지 않았다[4-10]. 그러나 위험군인 영・유아의 경우 섭취 식품이 조제분유 및 이유식으로 한정되어 있어 영・유아의 *E. sakazakii* 감염은 조제분유 등 영, 유아식품이 직, 간접 연관되어 있는 것으로 보고되고 있다[11].

여성 경제활동 증가와 육아에 대한 부담으로 출산율은 1970년 4.53명에서 2005년 1.08명으로 급격히 감소하였으며, 향후 저 출산율이 고착화될 것으로 예측되고 있다. 이에 따라 국가에서는 국공립보육시설의 확충과 지원을 확대하여 출산율을 증가시키고자 노력하고 있다[12]. 그러나 학교급식의 전국적 시행 이후 전체 식중독 발생 중 학교급식이 차지하는 비율과 규모가 증가하였다는 보고[13]와 같이 탁아시설과 보육시설의 확충과 대형화는 영유아 위해 미생물에 의한 집단 식중독과 전염성질병 대형화의 잠재적 가능성을 내포하고 있다. 특히 국내제조 조제분유 45건 중 3건과 대체 이유식으로 사용되고 있는 선식의 원료 23건 중 8건에서 *E. sakazakii*가 검출되어[14,15] 국내 *E. sakazakii* 감염 위험성은 상존하며 신생아실이나 산후조리원 등 영유아 보육시설과 가정에서 *E. sakazakii* 감염환자가 발생할 경우 심각한 사회적 문제를 야기 할 것으로 예측되어 이에 관한 사전 예방과 제어에 관한 연구가 필요하다 하겠다.

따라서, 본 연구에서는 산후조리원 등 영유아 보육시설과 가정에서 조제분유 및 선식 사용 시 *E. sakazakii* 감염 위해도를 저감화하기 위하여 인체, 선식 및 토양으로부터 분리한 *E. sakazakii* 국내 분리균주를 대상으로 하여 열수(hot water)와 마이크로웨이브 가열의 살균효과와 저장 온도에 따른 안전성을 조사하였다.

재료 및 방법

실험 균주 및 식품 재료

본 실험에 사용한 실험 균주는 인체, 선식 및 토양에서 분리되어 동결 보관되어 있는 *E. sakazakii* 각 1주, 총 3주를 선별 Tryptone soya broth (TSB, Oxoid, England)에 접종하고 증균 배양한 후 Tryptone soya agar (TSA, Oxoid, England)에 35°C에서 24시간 2회 계대 배양하였다. 순수 배양된 3주는 Vitek system (bio Merieux, France)으로 *E. sakazakii*임을 재확인하여 실험 균주로 사용하였으며 조제분유와 선식은 수원시 소재 대형 할인매장에서 판매되고 있는 유통 제품을 구입하여 사용하였다.

조제분유와 선식의 준비 및 접종 균액

조제분유 20 g 및 선식 10 g을 제조사의 용법에 따라 젖병에 취한 후 끓는 물을 가하여 100°C가 되도록 하였다. 열수를 이용한 살균 실험은 용해된 조제분유와 선식을 각각 실험 온도의 항온수조에 4시간 보관한 후 실험에 사용하였으며, 마이크로웨이브를 이용한 살균 실험은 용해된 조제분유와 선식을 냉장고에 하룻밤 보관한 후 실험에 사용하였다. 저장온도에 따른 성장곡선 실험은 용해된 조제분유와 선식을 각각 실험 온도의 냉장고(Labcool, Sanyo, Japan)와 항온기(MIR-162, Sanyo, Japan)에 하룻밤 방치한 후 실험에 사용하였다.

접종 균액의 준비는 순수 배양된 각각의 실험 균주 집락을 멸균면봉에 조심스럽게 묻혀 3 mL 멸균 증류수를 포함하는 시험관에 넣어 UV spectrophotometer (bioMerieux Vitek colorimeter)로 610 nm에서 탁도 12%가 되도록 조정하였다. 3종의 *E. sakazakii* 균액을 멸균 시험관에 합쳐 Vortex mixer 균질화한 후 혼합 접종 균액으로 사용하였다.

살균 및 성장곡선 실험

열수를 이용한 살균 실험은 50, 60, 65, 70, 80°C 항온수조에 보관되어 각각의 실험온도에 도달한 용해된 조제분유 및 선식 100 mL에 혼합 접종 균액 1 mL를 가하여 초기 농도가 약 10^6 CFU/mL가 되도록 균질화 한 후 실온(22°C)에 방치하며 0.5, 2, 4, 8, 16, 32분에 용해된 조제분유 및 선식 각각의 온도 및 균수를 측정하였으며 2회 반복 실험하여 산술평균하였다.

마이크로웨이브 가열을 이용한 살균 실험은 냉장고에 보관된 용해된 조제분유 및 선식에 준비된 혼합 접종 균액을 가하여 초기 농도가 약 10^5 ~ 10^6 CFU/mL가 되도록 균질화 한 후 마이크로웨이브(2450 MHz, Micro chef RE-790BS, Samsung, Korea)로 60~180초까지 가열하며 가열 전후 용해된 조제분유 및 선식 각각의 온도 및 균수를 측정하였으며 2회 반복 실험하여 산술평균하였다.

저장 온도에 따른 성장곡선 실험은 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35°C 각각 실험 온도에 보관되어 있는 용해된 조제분유 및 선식에 혼합 접종 균액을 가하여 초기 농도가 약 10^2 ~ 10^3 CFU/mL가 되도록 균질화한 후 각각 실험 온도에 보관하며 초기, 3, 6, 9, 12, 24, 48시간 균수를 측정하였다.

균수의 측정

균수의 측정은 0.2M phosphate buffer solution 9 mL가 들어 있는 시험관에 균질화 된 시험용액 1 mL를 취하여 Vortex mixer로 혼합한 후 10진법으로 단계 희석하여 시험용액 1 mL, 100 μL와 희석액 100 μL를 Chromogenic enterobacter sakazakii agar (CESA; Oxoid, England) 평판 배지에 도말한 후 35°C에서 24시간 배양하여 연록색의 전

형적인 집락을[4] 선별하여 1개 평판 당 30~300개의 집락을 생성한 평판을 택하여 mL당 집락수를 계산하였다. 열수를 이용한 살균 실험 중 조제분유 및 선식의 초기 균수를 측정하고자 용해된 조제분유 및 선식을 실온에 이를 때 까지 방치한 후 혼합 접종 균액 1 mL를 가하여 균질화한 후 균수를 측정 초기균수로 하였다.

결과 및 고찰

열수(Hot water)를 이용한 살균 실험

조제분유 제조사의 권장 섭취 기준은 음용수를 가열하여 끓인 후 냉각 시켜 일정량을 조제분유에 가하여 완전 용해시킨 후 섭취하도록 하고 있어 조제분유 및 선식에 오염 된 *E. sakazakii*를 열수를 이용 살균하고자 하였다. 각 제조 회사별로 냉각 온도는 상이 하였으나 50~70°C로 냉각된 음용수를 권장 기준으로 설정하고 있어 가열하여 끓인 음용수로 용해한 조제분유를 50~80°C 항온 수조에 보관한 후 혼합 접종 균액을 접종하여 실온에 방치하며 온도별 *E. sakazakii* 살균 효과를 실험하였다.

용해된 조제분유 100 mL에 대한 실험 결과는 Fig. 1A에 나타내었으며 초기 균수 측정 결과는 3.7×10^6 CFU/mL를 나타났다. 50°C 열수의 경우 32분 경과 후 3.1×10^6 CFU/mL로 균수의 변화가 없었으며 온도는 50°C에서 33.8°C로 냉각되었다. 60°C 열수의 경우 30초 경과 후 1.4×10^3 CFU/mL, 2분 경과 후 1.7×10^2 CFU/mL, 32분 경과 후 5.7×10^1 CFU/mL로 감소하였으며 온도는 각각 59, 56.5, 36.8°C로 냉각되었다. 65°C, 70°C, 80°C 열수의 실험 결과는 30초 경과 후부터 32분 경과 후까지 모든 온도에서 *E. sakazakii*가 검출되지 않았으며 온도는 30초 경과 후 각각 64.3°C, 69.0°C, 78.8°C를, 32분 경과 후 각각 38.5°C, 40.5°C, 42.0°C를 나타내었다.

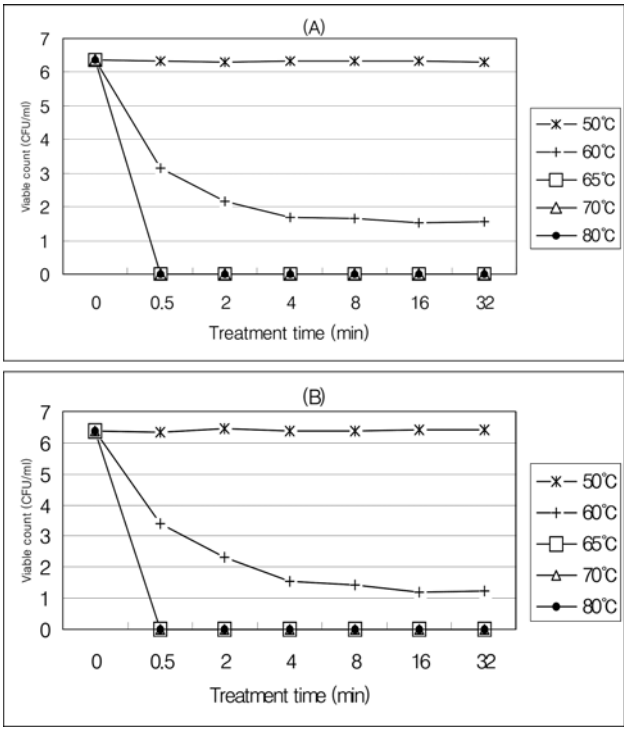

Fig. 1. Thermal inactivation of cocktailed vegetative cells of *Enterobacter sakazakii* in reconstituted powdered infant formula (100 mL) (A) and reconstituted *sunsik* (100 mL) (B) with hot water in baby feeding battle inoculating after stored at each temperature and cooling under room temperature.

용해된 선식 100 mL에 대한 열수를 이용한 살균 실험 결과는 Fig. 1B에 나타내었으며 초기 균수는 3.6×10^6 CFU/mL 이었다. 50°C 열수의 경우 32분 경과 후 온도는 50°C에서 34.3°C로 냉각되었고 균수는 4.3×10^6 CFU/mL로 미미한 변화를 나타내었다. 60°C 열수의 경우 30초 경과 후 3.9×10^3 CFU/mL, 2분 경과 후 3.1×10^2 CFU/mL, 32분 경과 후 2.5×10^1 CFU/mL로 감소하였으며 온도는 각각 59.5°C, 57.0°C, 36.5°C로 냉각되었다. 65°C, 70°C, 80°C 열수의 실험 결과는 30초 경과 후부터 32분 경과 후까지 모든 온도에서 *E. sakazakii*가 검출되지 않았으며 온도는 30초 경과 후 각각 64.1°C, 69.5°C, 79.3°C를, 32분 경과 후 각각 37.3°C, 38.3°C, 40.5°C를 나타내었다.

이러한 결과는 병원 유래 5주와 식품유래 5주 총 10주의 *E. sakazakii*를 혼합하여 용해된 조제분유를 대상으로 *D*-value를 측정하였을 경우 52°C에서 54.79 ± 4.71분, 60°C의 경우 2.50 ± 0.21분이라는 Nazarowec-White와 Farber의 보고[9]와 유사한 결과로서 50°C 열수는 *E. sakazakii* 사멸에 미치는 영향이 미미하고 60°C 이상의 열수부터 *E. sakazakii* 사멸에 효과가 있는 것으로 나타났다. 또한 본 실험의 결과는 국내 분리 *E. sakazakii*를 이용 조제분유를 대상으로 살균효과를 실험한 결과 65°C의 경우 초기 10^7 CFU/mL에서 4분경과 후 10^1 CFU/mL로 감소하였으며 70°C의 경우 초기 10^6 CFU/°C에서 6분경과 후 불검출 되었다는 Kim과 Park의 결과[16]에 비해 동일 온도에서 신속한 살균 효과를 나타내었다. 이러한 결과는 본 실험의 경우 *E. sakazakii* 균주를 TSA 배지에 접종하여 하룻밤 배양한 후 실험에 사용하였고 Kim과 Park의 경우 *E. sakazakii* 균액 0.1 mL를 조제분유에 접종하여 실온에서 1주일간 방치하여 건조한 후 용해하여 실험에 사용한 차이로 미생물의 경우 생육 단계에 따라 내열성이 변화한다는 Knabel 등의 보고[17]와 건조 환경에서 생존하기 위해 Biofilm을 생산 내열성이 강화하는 *E. sakazakii* 균주의 특성에 기인하는 것으로 판단된다[18]. *E. sakazakii* 균주의 $D_{58°C}$-value 실험 결과는 0.4분에서 4.2분까지 매우 다양하게 보고되고 있으며 Iverson의 경우 $D_{62°C}$-value 0.3분으로 매우 짧게 보고[18]하는 등 *D*-value는 생육 환경과 분리 균주의 특성에 따라 매우 다양한 결과가 보고되고 있다. 주요 식중독균의 $D_{72°C}$-value를 살펴보면 탈지분유 중 *Campylobacter*

*jejuni*는 0.07초, 시유 중 *Salmonella typhimurium*은 0.22초로 보고[19,20]된 것과 비교하여 용해된 조제분유 중 *E. sakazakii*는 1.30초로 주요 식중독균에 비하여 *D*-value가 높게 보고되고[9], 조제분유와 선식에 열수를 가하였을 때 발생하는 온도 저하와 70°C 이상의 열수를 권장하는 보고[21,22]를 고려하여 조제분유 및 선식 중의 *E. sakazakii*를 제어하기 위해서는 70°C 이상의 열수를 사용하여야 할 것으로 판단된다.

Microwave 가열을 이용한 살균 실험

마이크로웨이브는 전자기를 방사하여 해동 또는 가열하는 장비로서 가정에서는 전자렌지로 통칭되는 가전제품이며 식품산업에서는 미생물 살균에 활용되는 장치로서 마이크로웨이브 가열에 관한 연구가 진행되어 왔다[23,24]. 또한 일부 가정에서는 열수(hot water)를 사용 조제분유를 준비하지 않고 시판 생수나 정수기로 정수된 음용수를 사용 조제분유를 용해시킨 후 마이크로웨이브로 가온하여 수유하는 경우가 있어 조제분유 및 선식에 오염 된 *E. sakazakii*를 마이크로웨이브 가열을 이용하여 60초에서 120초까지 가열하며 *E. sakazakii* 살균 효과를 실험하였다.

용해된 조제분유 100 mL에 대한 실험 결과는 Fig. 2A에 나타내었으며 마이크로웨이브로 60초간 가열하였을 경우 *E. sakazakii* 균수는 7.4×10^6 CFU/mL에서 1.9×10^6 CFU/mL로 변화가 미미하였고 온도는 9.5°C에서 54.0°C로 증가하였다. 75초간 가열하였을 경우 균수는 5.9×10^6 CFU/mL에서 8.1×10^1 CFU/mL로 급격히 감소하였으며 온도는 8.8°C에서 62.5°C로 증가하였다. 90초, 105초, 120초간 가열 하였을 경우 *E. sakazakii* 초기 균수는 각각 5.1×10^6 CFU/mL, 7.7×10^6 CFU/mL, 6.5×10^6 CFU/mL에서 가열 후 모두 불검출 되었으며 초기 온도는 각각 8.8°C, 8.3°C, 8.8°C에서 가열 후 73.0°C, 77.0°C, 83.5°C로 증가하였다.

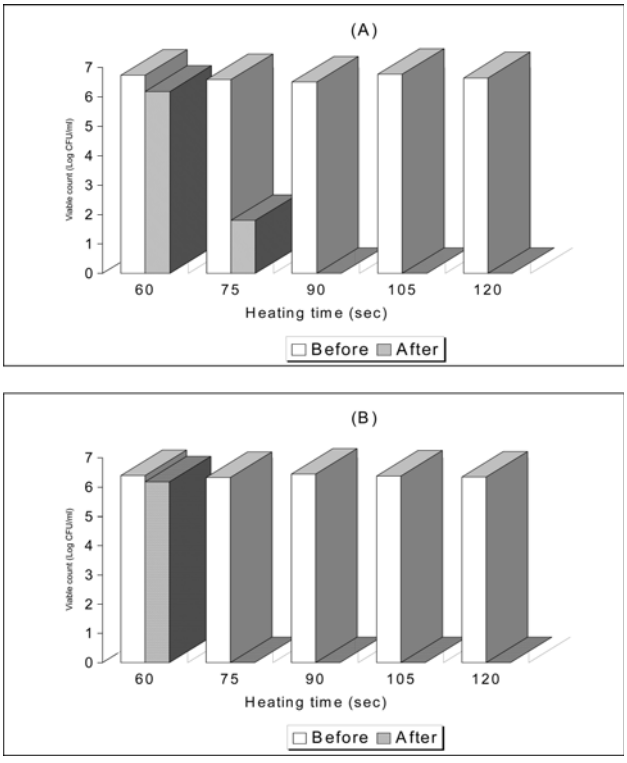

Fig. 2. Inactivation of cocktailed vegetative cells of *Enterobacter sakazakii* in reconstituted powdered infant formula (100 mL) (A) and reconstituted *sunsik* (100 mL) (B) in baby feeding battle after microwave heating.

용해된 선식 100 mL에 대한 실험 결과는 Fig. 2B에 나타내었으며 60초간 가열하였을 경우 초기 균수는 3.9×10^6 CFU/mL에서 1.8×10^6 CFU/mL로 변화가 미미하였고 온도는 7.0°C에서 56.0°C로 증가하였다. 75초, 90초, 105초, 120초간 가열 하였을 경우 *E. sakazakii* 초기 균수는 각각 3.3×10^6 CFU/mL, 4.3×10^6 CFU/mL, 3.8×10^6 CFU/mL, 3.4×10^6 CFU/mL에서 가열 후 모두 불검출 되었으며 초기 온도는 각각 7.0°C, 7.5°C, 7.6°C, 9.3°C에서 가열 후 67.8°C, 75.5°C, 82.8°C, 89.0°C로 증가하였다.

이러한 결과는 조제분유를 젖병에 가하여 용해한 후 마이크로웨이브로 85~100초간 가열한 결과 5 $\log_{10}$ CFU/mL의 *E. sakazakii* 초기균수가 불검출에서 20 CFU/mL로 살균되었고 온도는 82~93°C를 나타내었다는 Kindle 등의 보고[23]와 유사한 결과로서 조제분유 100 mL는 90초 동안, 선식 100 mL는 75초 동안 마이크로웨이브 가열하였을 경우 *E. sakazakii*가 불검출 되었다. 100 mL의 동일 용량에서 선식이 조제분유에 비해 15초 단축된 가열 시간에서 동일한 살균 효과를 나타내었는데 이러한 결과는 가열 살균의 경우 살균 대상 식품의 고형분, 지방 및 당 함량에 영향을 받는다는 보고[17]로 보아 조제분유와 선식의 지방 및 고형분 함량 등 식품 성분 조성 차이에 기인한 것으로 판단된다. 마이크로웨이브를 이용한 가열이 열수를 이용한 경우 보다 편리하게 조제분유를 용해시켜 준비할 수 있으나 영·유아가 섭취하기 적당한 50°C 이하의 온도에서는 살균 효과를 나타내지 못하여 냉장고에 보관 중인 음용수와 정수기로 정수된 차가운 음용수를 이용 조제분유를 용해한 후 마이크로웨이브로 섭취하기 적당하게 가온하는 경우는 *E. sakazakii* 감염 위험성을 제거하지 못하는 것으로 나타났다. 따라서 본 실험의 결과와 Edelson-Mammel 등의 보고[21,22]를 고려하여 마이크로웨이브를 이용하여 *E. sakazakii*를 제어하기 위해서는 조제분유와 선식의 온도가 70°C 이상을 나타내는 100 mL의 경우 90초 이상 가열하거나 온도 측정이 곤란한 가정에서는 조제분유가 최초 끓는 시점까지 가열한 후 냉각하여 섭취하여야 할 것으로 판단된다.

저장 온도에 따른 성장곡선 실험

산후조리원 등 신생아 집단보육 시설에서는 수유 시 마

다 매번 조제분유를 준비하기 곤란하여 일시에 다량의 젖병에 조제분유를 준비 냉장고에 보관 하며 수유 시 마다 제공하는 경우가 있어 저장 온도에 따른 *E. sakazakii* 증식 곡선을 실험하여 용해된 조제분유 및 선식의 저장 안정성을 평가해 보고자 5°C~35°C에 48시간 동안 보관하며 실험하였으며 실험 결과는 Fig. 3에 나타내었다.

5°C, 10°C의 경우 용해된 조제분유와 선식 모두 초기 10^2~10^3 CFU/mL를 48시간까지 유지하여 증식이 미약하였으나 15°C의 경우 12시간 경과 후 완만한 증식을 나타내었으며 24시간 경과 후 용해된 조제분유와 선식 모두 10^4 CFU/mL까지 증식하였고 48시간 경과 후는 10^6 CFU/mL까지 증식하였다. 20°C의 경우도 15°C와 유사하게 24시간 경과 후 용해된 조제분유와 선식 모두 10^5 CFU/mL까지 증식하였고 48시간 경과 후 10^7 CFU/mL까지 증식하였다. 25°C의 경우 6시간 이후 완만한 증식을 나타내어 9시간 경과 후 용해된 조제분유와 선식 모두 10^4 CFU/mL까지 증식하였고 12시간 경과 후 10^6 CFU/mL까지 증식하였으며 48시간 경과 후는 10^8 CFU/mL까지 증식하였다. 30°C와 35°C의 경우 3시간 이후부터 완만한 증식을 나타내어 6시간 경과 후 10^4 CFU/mL까지 증식하였으며 12시간 경과 후 10^7 CFU/mL까지 증식하였고 24시간 경과 후 10^8 CFU/mL까지 증식하였다.

저장 실험 결과 *E. sakazakii*는 10°C 이하에서는 증식이

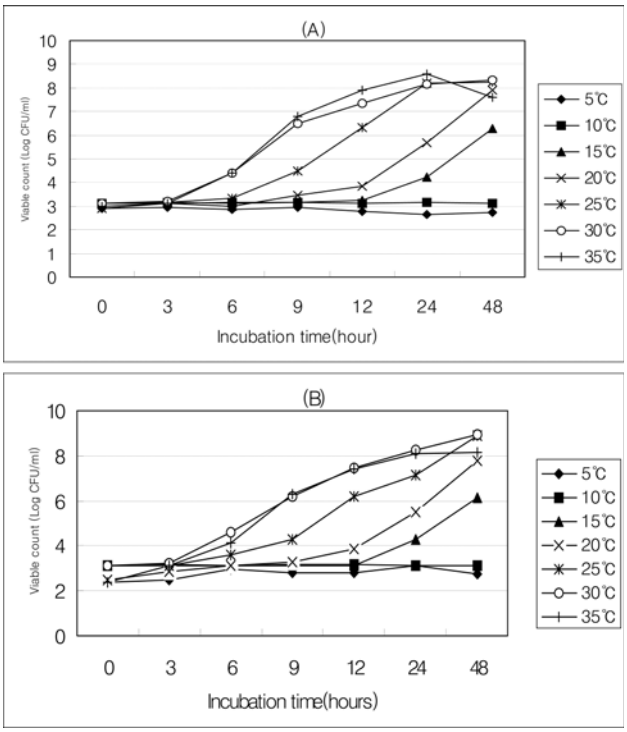

Fig. 3. Growth curve of cocktailed vegetative cells of *Enterobacter sakazakii* on reconstituted powdered infant formula (A) and reconstituted *sunsik* (B) in baby feeding battle at various temperature.

매우 미약하나 15°C부터 증식을 나타내어 35°C 전후에서 최적 생육온도를 나타낸다는 Iveron 등의 보고[25]와 일치하는 결과이며 인체 감염 최소량이 10^3~10^5 cells이라는 보고[26]와 조제분유 중 *E. sakazakii* 오염은 10^1 cell 이하라는 보고[22]를 고려할 경우 각 보관 온도에서 2 log cycle 이상 증식을 나타낸 시점인 15°C의 경우는 36시간, 20°C의 경우는 24시간, 25°C, 30°C, 35°C의 경우는 9시간 이상 보관하는 것은 영·유아에게 감염 위험을 나타낼 수 있을 것으로 판단된다. 또한 5°C, 10°C의 경우 48시간까지 증식이 미약하여 용해된 조제분유와 선식을 냉장 보관할 경우 안전한 것으로 판단할 수 있으나 보관 중 부적절한 온도관리와 취급자의 부주의 등에 의한 2차 오염 및 냉장보관도 24시간 이내로 제한한 권고 사항[27]과 냉장 온도에서 사멸하지 않고 미약하게 증식한다는 보고[18]를 고려하여 산후조리원 및 신생아실의 용해된 조제분유와 선식의 냉장 보관은 24시간 이내로 제한하여야 할 것으로 판단된다.

요 약

열수(Hot water)를 이용 조제분유 및 선식 준비 시 살균 효과를 실험한 결과 60°C 이상에서 살균 효과를 나타내었으나 조제분유와 선식에 열수를 가하였을 때 발생하는 온도 저하와 조제분유 및 선식 등의 분말 식품에서 biofilm을 생산하여 내열성이 증가되는 *E. sakazakii*의 특성을 고려하여 70°C 이상의 열수로 조제분유 및 선식 등을 용해하여야 할 것으로 판단된다. 마이크로웨이브를 이용 *E. sakazakii*의 살균 효과를 실험한 결과 *E. sakazakii*를 제어하기 위하여 100 mL의 경우 90초 이상 가열하거나 온도 측정이 곤란한 경우에는 최초 끓는 시점까지 가열한 후 냉각하여 섭취하여야할 것으로 조사되었다. 용해된 조제분유 및 선식의 저장 안정성을 평가하기 위해 5~35°C에 48시간 동안 보관하며 *E. sakazakii*의 성장곡선을 실험한 결과 5°C, 10°C 냉장온도에서는 48시간까지 증식이 미약하였다. 그러나 냉장 온도에서 사멸하지 않고 미약하게 증식하는 *E. sakazakii*의 특성을 고려하여 조제분유 및 선식의 냉장 보관은 24시간 이내로 제한하여 섭취하여야 할 것으로 판단된다.

참고문헌

1. Nazarowec-White, M. and Farber, J.M. : *Enterobacter sakazakii*: a review. *Int. J. Food Microbiol.*, **34**, 103-113 (1997).
2. Gurtler, J.B., Kornacki, J.L., and Beuchat, L.R. : *Enterobacter sakazakii*, a coliform of increased concern to infant health. *Int. J. Food Microbiol.*, **104**, 1-34 (2005).
3. Farmer, J.J., Asbury, M.A., Hickman, F.W., and Don, J.B. : *Enterobacter sakazakii*: A new species of "Enterobacteriaceae" isolation from clinical specimens. *Int. J. Syst. Bacte-*

riol., 569-584 (1980).
4. Iversen, C., Druggan, P., and Forsythe, S. : A selective differential medium for *Enterobacter sakazakii*, a preliminary study. *Int. J. Food Microbiol.*, **96**, 133-139 (2004).
5. Barbara, J.S., Nellie, H., Avroy, A.F., and James, A.L.: *Enterobacter sakazakii* is a rare cause of neonatal septicemia or meninggitis in VLBW infants. *J. Pediatrics*, 821-823 (2004).
6. Iversen, C. and Forsythe, S. : Isolation of *Enterobacter sakazakii* and other enterobacteriaceae from powdered infant formular milk and related products. *J. Food Microbiol.*, **21**, 771-777 (2004).
7. Nazarowec-white, M. and Farber, J.M. : Phenotypic and genotypic typing of food and clinical isolates of *Enterobacter sakazakii*. *J. Med. Microbiol.*, **48**, 559-567 (1999).
8. Delphine, G., Laurent, P., Amornrut, L., Amal, K., Chanwitt, T., Michael, F. and Patrice, N. : Molecular epidemiology of the integron-located VEB-1 extended- spectrum ß-lactamase in nosocomial enterobacterial isolates in BangKok, Thailand. *J. Clin. Microbiol.*, 175-182 (2001).
9. Nazarowec-White, M. and Farber, J.M. : Thermal resistance of *Enterobacter sakazakii* in reconstituted dried-infant formular. *Lett. Appl. Microbiol.,* **24**, 9-13 (1997).
10. Burkhard, M. and Martin, W. : Detection of *Enterobacter sakazakii* strains by real-time PCR. *J. Food Prot.*, **68(8)**, 1623-1627 (2005).
11. Biering, G., Karlsson, S., Clark, N.V.C., Jonsdottir, K.E., Ludvigsson, P., and Steingrimsson, O. : Three cases of neonatal meningitis caused by *Enterobacter sakazakii* in powdered milk. *J. Clin. Microbiol.*, **27**, 2054-2056 (1989).
12. Jung, C.W., Kim, O.J., and Min, H.S. : A study of effect of the evaluative accreditation system of daycare center. *J. Child Edu.*, **17**, 269-279 (2008).
13. Kim,S., Yi, H.C., Kim, E.M., Lee, M.A., Park, J.A., and Kim, J.W. : Assessment of microbial contamination levels of elementary school classrooms as foodservice environments. *Korean J. Food Cookery Sci.*, **23(3)**, 321-326 (2007).
14. Yoo, M.K., Kim, S.S., and Oh, S. : Isolation and genotyping of *Enterobacter sakazakii* from powdered infant formula manufactured in Korea. *Food Sci. Biotechnol.*, **16(6)**, 875-877 (2005).
15. Choi, J.W., Kim, Y.J., Lee, J.K., Kim, Y.H., Kwon, K.S., Hwang, I.G., and Oh, S.W. : Multiple confirmation and RAPD-genotyping of *Enyerobacter sakazakii* isolation from Sunsik. *Korean J. Food Sci. Technol*., **40(1)**, 101-105 (2008).
16. Kim, S.H., and Park, J.H. : Thermal resistance and inactivation of *Enterobacter sakazakii* isolation during rehydration of powdered infant formular. *J. Microbiol. Biotechnol.*, **17(2)**, 364-368 (2007).
17. Knabel, S.J., Walker, H.W., Hartman, P.A., and Mendonea, A.F. : Effect of growth temperature and strictly anaerobic recovery on survival of *Listeria monocytogenes* during pasteurization. *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**, 370-376 (1990).
18. Iversen, C., Lane, M., and Forsythe, S. : The growth profile, thermotolerance and biofilm formation of *Enterobacter sakazakii* growth in infant formula milk. *Lett. Appl. Microbiol.*, **38**, 378-382 (2004).
19. Bardshaw, J.G., Peeler, J.T., Corwin, J.J., Barnett, J.E., and Twedt, R. M. : Thermal resistance of discase-associated *Salmonella typhimurium* in milk. *J. Food Prot.*, **50**, 95-96 (1987).
20. Doyle, M.P. and Roman, D.J. : Growth and survival of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* as a function of temperature and pH. *J. Food Prot*., **44**, 596-601 (1981).
21. Durdy, D., Mullane, N.R., Quinn, T., Wall, P.G., and Fanning, S. : *Enterobacter sakazakii*: An emerging pathogen in powdered infant formula. *Clin. Infect. Dis.*, **42**, 996-1002 (2006).
22. Edelson-Mammel, S.G. and Buchanan, R.L. : Thermal inactivation of *Enterobacter sakazakii* in rehydrated infant formular. *J. Food Prot*., **67**, 60-63 (2004).
23. Kindle, G., Busse, A., Kampa, D., Meyer-Koenig, U., and Daschner, F.D. : Killing activity of microwaves in milk. *J. Hosp. Infect.*, **33**, 273-278 (1996).
24. Goldblith, S.A., Wang, D.I.C. : Effect of microwaves on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. *Appl. Microbiol*., **15**, 1371-1375 (1967).
25. Iversen, C., Hargreaves, A., and Forsythe S. : Growth rates and *D*-values of *Enterobacter sakazakii* in 5 suspending media. *ASM conference, Washington*, 17-22 May 2003.
26. Pagotto, F.J., Nazarowec-White, M., Bidawid, S., and Farber, J.M. : *Enterobacter sakazakii*: infectivity and enterotoxin production in vitro and in vivo. *J. Food Prot.*, **66**, 370-375 (2003).
27. Centers for Disease Control and Prevention : *Enterobacter sakazakii* infections associated with the use of powdered infant formula-Tennessee 2001. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.*, **51**, 297-300 (2002).