J. Fd Hyg. Safety
Vol. 22, No. 4, pp. 388~394 (2007)

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

주요 식중독균 분리용 선택배지의 타당성 연구

조서희 · 하지형 · 김근성 · 심영환[1] · 권기성[2] · 한정아[2] · 황인균[2] · 하상도 · 오덕환[1]*
중앙대학교 식품공학과, [1]강원대학교 식품생명공학과
[2]식품의약품안전청 식품미생물팀

Evaluation of Selective Media for Isolation of Foodborne Bacteria

Seo-Hee Jo, Ji-Hyoung Ha, Keun-Sung Kim, Young-Hwan Shim[1], Ki-Sung Kwon[2], Jeong-A Han[2], In-Gyun Hwang[2], Sang-Do Ha, and Deog-Hwan Oh[1]*
Department of Food Science and Technology, Chung-Ang University
[1]Department of Food Science and Biotechnology and Institute of Bioscience and Biotechnology, Kangwon National University
[2]Food Microbiology Division, Korea Food & Drug Administration
(Received December 4, 2007/Accepted December 23, 2007)

ABSTRACT – This study was conducted to evaluate the selective media listed in currently available Food Code in Korea. The 29 different types of media of five different types of foodborne bacteria including *Salmonella* spp., *Bacillus cereus, Listeria monocytogenes, Vibrio parahaemolyticus, Staphylococcus aureus* were tested in the broth and food. The recovery test for five different types of foodborne bacteria was performed in the artificially inoculated into chicken, rice, pork and mackerel. There was no significant differences in isolation capabilities among twenty nine different types of isolation selective media for five different types of foodborne bacteria in broth condition, while there was significantly a little differences in isolation capabilities among those on foods ($P<0.05$). The higher number of foodborne pathogens were isolated from conventional selective media approved in Food Code than newly developed selective media such as chromogenic media. This results suggest that there was differences of selectivities among currently available isolation selective media in many countries and further studies are needed to be approved by Korean Food and Drug Administration.

Key words: *Salmonella* spp., *Bacillus cereus, Listeria monocytogenes, Vibrio parahaemolyticus, Staphylococcus aureus*, isolation selective media, Food Code

해마다 식중독세균에 의한 식중독 사건이 끊임없이 발생하고 그 규모면에 있어서도 대형화되고 있는 추세다. 특히 *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Vibrio parahaemolyticus, Bacillus cereus, Campylobacter jejuni* 등과 같은 세균성 미생물이 전체 보고된 식중독 발생의 약 90%를 차지하고 있다는 조사[1)]를 보더라도 급성식중독의 대부분이 세균성이라는 사실을 알 수 있다. 살모넬라증은 식중독 집단 발생의 가장 큰 비중을 차지하며, 주로 오염된 달걀과 가금류가 포함된 식품을 통해 전파되는 *S. Enteritidis*와 *S.* Typhimurium이 가장 많다. 최근 각종 냉장식품, 편이식품이 대규모로 유통, 소비되고 있어 *L. monocytogenes*와 같이 냉장온도에서도 증식이 가능한 저온균(psychrotroph)과 *Clostridium botulinum, S. aureus, Escherichia coli* O157, *B. cereus, Shigella sonnei* 균 등에 의한 발병 사례가 다수 보고[2-5)]되고 있으며, 가공 수송 중 비위생적 처리로 인해 오염된 식품의 경우 저온 유지에 실패할 경우 이들 오염균의 빠른 증식으로 인하여 식중독 사고의 주요 원인이 되고 있다. 이들은 사람을 매개로 하여 식육, 채소, 난류, 우유 및 유제품, 조리가공 식품 등의 여러 음식물을 오염시키고 있다. 식품으로부터 이들 식중독균의 존재를 확인하는 시험방법 중 전통적인 방법으로 선택배지를 사용한 검출방법이 시간은 오래 걸리나, 가장 정확하고 편리하다. 이는 ISO, AOAC, 및 AFNOR 등과 같은 국제표준기구에서 표준시험방법(Gold standard)으로 채택하고 있다.[6-12)] 국제적으로 통용되는 표준시험방

*Correspondence to: Deog-Hwan Oh, Department of Food Science and Biotechnology and Institute ofBioscience and Biotechnology, Kangwon National University, Chunchon, Kangwon 200-701, Korea
Tel: 82-33-250-6457, Fax: 82-33-250-6457
E-mail: food411@hanmail.net

법은 일부 정량적 분석이 필요한 식중독세균을 제외하고는 증균(enrichment), 선택(selection), 확인(confirmation)의 기본적인 3단계 절차로 구성되어 있다. 식품으로부터 식중독세균을 검출하기 위해서는 식품의 제조가공 및 주위 환경으로부터 다양한 종류의 스트레스를 받은 식중독세균을 소실없이 검출할 수 있는 증균(enrichment)배양하는 방법과 분리능력이 우수한 선택배지를 사용하는 것이 가장 중요하다.[13,14] 현재 국내외 전통배지 시장에서는 chromagar, petrifilm 등 신속, 정확, 편리한 배지들이 이용되고 있으며 실제 연구에서도 매우 실용적인 것으로 인정받고 있다. 그러나 현행 우리나라 식품공전상 등재되어 있는 식중독균 분리 배지들은 현재 국제적으로 거의 사용하지 않는 재래식 방법이거나, 분리능이 매우 낮아 현실적으로 사용되지 않는 것이 많다는 문제점이 제기되고 있다. 현재 식품공전이 제개정된 지 수십 년이 되었으나, 배지의 개선은 별로 이루어지지 못했었다.

따라서 본 연구에서는 현행 식품공전상 제시되어 있는 주요 5대 식중독균 분리배지의 평가를 위해 broth와 food에서 분리배지의 분리능을 비교하여 식품공전법 개정을 위한 기초 자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

사용균주

분리배지의 분리능을 검증하기 위하여 사용한 미생물은 *S.* Typhimurium, *S. Enteritidis, B. cereus, L. monocytogenes, V. parahaemolyticus, S. aureus*이며 각 균주는 중앙대학교와 경상대학교 식품공학과에서 각각 분양받아 사용하였다. *V. parahaemolyticus*는 tryptic soy broth (TSB, BD, USA) with 2.5% NaCl을 사용하였으며 나머지 균주는 TSB를 사용하여 3회 순수배양 후 -70ºC에서 보관하며 사용하였다.

분리배지

평가한 분리배지는 우리나라를 포함하여 각국의 식품, 의약품 관리국과 국제적인 공인기관에 등록되어 있으며, 시중에서 판매중인 분리배지를 우선적으로 선정하였으며 Table 1에 나타내었다.

Broth 시료

각 균주를 TSB 또는 TSB with 2.5% NaCl에 3회 순수배양하여 3종 혹은 2종씩 혼합 후 10 mL로 준비하여 원심분리기(Sorvall RC-5B Refrigerated superspeed centrifuge, DuPont Inc., USA)에서 2회 세척하였다(1500×g for 15 min at 4ºC). 멸균 인산완충희석액을 사용하여 각각의 혼합균주를 10^2, 10^3, 10^4 CFU/mL로 희석하였으며 희석된 균주들은 미리 준비된 각각의 분리배지에 0.1 mL씩 무균적으로 분주하여 균일하게 도말하였다. Mannitol-Egg Yolk-Polymyxin(MYP) agar는 30±2ºC에서 24시간 배양하였으며 나머지 분리배지는 35±2ºC에서 24시간 배양하며 집락이 관찰되지 않을 경우 추가적으로 12시간 배양하여 계수하였다. 결과는 계수한 집락을 바탕으로 초기 broth상태의 균농도를 $\log_{10}$CFU/mL로 나타내었다.

Food 시료

식품으로부터의 각 분리배지의 분리능을 검증하고자 *Salmonella* spp.는 닭고기를, *B. cereus*는 쌀을, *L. monocytogenes*와 *S. aureus*는 돼지고기를, *Vibrio parahaemolyticus*는 고등어를 사용하였다. Broth와 마찬가지로 각각의 균주를 3회 순수배양하여 원심분리기로 2회 세척한 후 다. 균주는 식품시료에 10^3~10^4 CFU/g의 수준으로 오염되도록 멸균 인산완충희석액으로 희석 및 현탁하여 각 시료를 40분간 침지한 후 외관의 물기가 마를 때까지 자연건조시켰으며 건조가 끝난 시료는 stomacher (BagMixer 400, Interscience, france)를 이용하여 균질화하고 멸균 인산완충희석액으로 희석한 후 각각의 분리배지에 0.1 mL씩 무균적으로 분주하여 균일하게 도말하였다. MYP agar는 30±2ºC에서 24시간 배양하였으며 나머지 분리배지는 35±2ºC에서 24시간 배양하며 집락이 관찰되지 않을 경우 추가적으로 12시간 배양하여 계수하였다. 결과는 계수한 집락을 바탕으로 오염시킨 식품시료의 초기 균농도를 $\log_{10}$CFU/g로 나타내었다.

통계처리

본 실험은 3회 반복 실시하였고 그 값을 SPSS Ver. 10.0 package program[15]을 이용하여 각 시험구의 평균과 표준편차를 산출한 후 각 시험구간의 차이 유무를 ANOVA로 분석한 뒤 a=0.05에서 유의적 차이를 Turkey법으로 검증하였다[16].

결과 및 고찰

Broth 시료에서의 분리능 비교

Broth에서 각각의 균주에 대한 분리배지의 분리능은 Table 2에 나타내었다. *Salmonella* spp. 분리배지는 모두 12종류를 사용하였으며 그 중 MacConkey agar, Desoxycholate Citrate agar, XLD agar가 국내 식품공전상 미생물시험법에 등록되어 있다. 최근 개발되어 시판되고 있는 분리배지들의 특징은 신속하고 간편하게 미생물을 검출하기 위한 목적으로 개발되어지고 있다. 본 연구에 사용된 분리배지 중 CHROMagar Salmonella와 SM ID2 agar가 chromogenic gene의 특성을 이용한 신기술의 분리배지다. 분리배지간의 분리능은 유의적인 차이를 보이지 않았으나 연구 결과 Maddocks 등[17]의 연구에 따르면 CHROMagar Salmonella를 사용하면 *Salmonella* spp. 분리 및 동정에 필

Table 1. Each isolation media used in this study

	Isolation media	Company
Samonella spp.	MacConkey agar	BD, USA
	Desoxycholate Citrate agar	BD, USA
	Xylose Lysine Desoxycholate(XLD) agar	BD, USA
	Salmonella Shigella(SS) agar	BD, USA
	Bismuth Sulfite agar	BD, USA
	Brilliant Green Sulfa agar	BD, USA
	Brilliant Green agar	BD, USA
	Brilliant Green agar Modified	BD, USA
	Hektoen Enteric agar	BD, USA
	CHROMagar Salmonella	BD, USA, CHROMagar, France
	SM ID2 agar	BIOMERIEUX, France
	Desoxycholate Citrate Lactose Sucrose(DCLS) agar	OXOID, UK
Bacillus cereus	Mannitol-Egg Yolk-Polymyxin(MYP) agar	BD, USA
	Chromogenic Bacillus cereus agar base	OXOID, UK
	Bacillus cereus selective agar base	OXOID, UK
Listeria monocytogenes	Oxford medium base	BD, USA
	Lithium chloride-Phenylethanol-Moxalactam(LPM) agar	BD, USA
	PALCAM medium base	BD, USA
	CHROMagar Listeria	BD, USA, CHROMagar, France
	Ottaviani Agosti agar(OAA)	BIOMERIEUX, France
Vibrio parahaemolyticus	Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose(TCBS) agar	BD, USA
	CHROMagar Vibrio	CHROMagar, France
Staphylococcus aureus	Mannitol Salt agar with Egg Yolk	BD, USA
	Mannitol Salt agar	BD, USA
	Baird-Paker agar	BD, USA
	Baird Paker RPF agar(RPFA)	BIOMERIEUX, France
	CHROMagar Staph aureus	BD, USA, CHROMagar, France
	Staphylococcus Medium 110	BD, USA
	Vogel and Johnson(VJ) agar	BD, USA

요한 시간과 비용을 절약할 수 있어 더 효율적인 것으로 보고한 바 있다.

B. cereus 분리배지는 모두 3 종류를 사용하였으며 그 중 Mannitol-Egg Yolk-Polymyxin(MYP) agar가 국내 식품공전상 미생물시험법에 등록되어 있는 분리배지이다. *B. cereus*를 검출하기 위하여 각국의 미생물시험법에 등록되어 있는 분리배지의 특징은 Egg-Yolk reaction을 확인하는 MYP agar가 유일하다고 볼 수 있다. 현재 분리배지 시장에서 *B. cereus*의 분리배지 선택의 폭은 좁은 편이며 *B. cereus* 분리배지의 분리능을 비교하기 위해 Chromogenic 배지 1종과 traditional 배지 2종을 사용하여 실험한 결과 분리배지간의 분리능은 유의적인 차이를 보이지 않았으나 Peng 등[18]은 Chromogenic media가 *B. cereus*를 분리할 때 높은 선택성이 있다고 보고한 바 있다.

L. monocytogenes 분리배지는 모두 5종류를 사용하였으며 그중 Oxford agar와 LPM agar가 국내 식품공전상 미생물시험법에 등록되어있는 분리배지이다. Chromogenic 배지 2종과 traditional 배지 3종을 사용하여 실험한 결과 분리배지간의 분리능은 유의적인 차이를 보이지 않았으나 El Marrakchi 등[19] *L. monocytogenes* 분리를 위한 평판배지로 CHROMagar™ Listeria와 같은 Chromogenic 배지가 반응시간과 비용이 적게 소요된다고 보고하였다.

Vibrio parahaemolyticus 분리배지는 모두 2종류를 사용하였으며 그 중 TCBS agar가 국내 미생물시험법에 등록되어 있는 분리배지이다. Chromogenic 배지 1종과 traditional 배지 1종으로 분리배지의 분리능을 비교실험 한 결과 분리배지간의 분리능은 유의적인 차이를 보이지 않았으나 Harakudo 등[20]은 문어와 고등어 외 18가지 식품으로부터 *V. parahaemolyticus*의 분리율이 CHROMagar Vibrio는 65%인 반면 TCBS agar는 50%로 낮았고, 37°C에서 18시간 동안 배양 후 실온에서 24시간 방치할 경우 TCBS agar에서 분리된 *V. parahaemolyticus*는 녹색에서 검정색으로 변하지만 CHROMagar Vibrio에서 분리된 균은 색이 변하지 않았으며, *V. parahaemolyticus*의 전형적인 colony는 CHROMagar Vibrio에서만 보라색으로 뚜렷하게 구분된다고 보고하였다.

Table 2. Comparison of Isolation capabilities of media for *Salmonella* spp., *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Vibrio parahaemolyticus* and *Staphylococcus aureus* in Broth (log_{10}CFU/mL)

Microorganism	Isolation media	Isolated number of cells from broth
Salmonella spp.	MacConkey agar[1)]	8.04[a]
	Desoxycholate Citrate agar[1)]	8.05[a]
	Xylose Lysine Desoxycholate(XLD) agar[1)]	8.04[a]
	Salmonella Shigella(SS) agar	8.11[a]
	Bismuth Sulfite agar	8.05[a]
	Brilliant Green(BG) Sulfa agar	8.10[a]
	Brilliant Green agar	8.09[a]
	Brilliant Green agar Modified	8.08[a]
	Hektoen Enteric agar	8.12[a]
	CHROMagar Salmonella	8.08[a]
	SM ID2 agar	8.12[a]
	Desoxycholate Citrate Lactose Sucrose(DCLS) agar	8.04[a]
Bacillus cereus	Mannitol-Egg Yolk-Polymyxin(MYP) agar[1)]	8.79[a]
	Chromogenic Bacillus cereus agar	8.64[a]
	Bacillus cereus selective agar base	8.70[a]
Listeria monocytogenes	Oxford medium base[1)]	8.11[a]
	Lithium chloride-phenylethanol-moxalactam (LPM) agar[1)]	8.03[a]
	PALCAM medium base	8.15[a]
	CHROMagar Listeria	8.06[a]
	Ottaviani Agosti agar(OAA)	8.02[a]
Vibrio paraheamolyticus	Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose(TCBS) agar[1)]	8.67[a]
	CHROMagar Vibrio	8.70[a]
Staphylococcus aureus	Mannitol Salt agar with Egg Yolk[1)]	9.34[a]
	Mannitol Salt agar	9.33[a]
	Baird-Paker agar	9.37[a]
	Baird Paker RPF agar(RPFA)	9.30[a]
	CHROMagar Staph aureus	9.38[a]
	Staphylococcus Medium 110	9.31[a]
	Vogel and Johnson(VJ) agar	9.33[a]

Different letters within a column denote significant difference ($P<0.05$).
[1)]Isolation media listed in Food Code of Korea Food and Drug Administration (KFDA).

S. aureus 분리배지는 모두 7종류를 사용하였으며 그중 Mannitol Salt agar with Egg Yolk가 국내 식품공전상 미생물시험법에 등록 되어있는 분리배지다. Chromogenic media 1종과 traditional media 6종을 사용하여 실험한 결과 분리배지간의 분리능은 유의적인 차이를 보이지 않았으나 Carricajo 등[21)]은 *S. aureus*는 CHROMagar Staph Aureus에서 선명한 분홍색 colony를 띄어 전통적인 배지에서는 분리되지 않는 *S. aureus*까지도 분리하고, sensitivity는 98%, specificity는 100%라고 보고하였다.

Broth에서는 5가지 식중독세균 분리를 위한 29가지 선택배지의 분리능간에는 유의차가 없었다. 이것은 순수 배양한 균을 희석하여 각각의 분리배지에서의 recovery를 확인하는 것으로 분리배지마다 5가지 식중독세균의 분리에 전혀 문제가 없다는 것을 확인한 것이다.

Food 시료에서의 분리능 비교

Food에서 각각의 균주에 대한 분리배지의 분리능을 Table 3에 나타내었다. *Salmonella* spp.에 대한 분리배지간의 차이는 크지 않았지만 통계적인 유의차를 보였다($P<0.05$).. MacCokey agar와 SM ID2 agar에서 가장 높은 균수가 분리되었으며 CHROMagar Salmonella는 가장 낮은 균수가 분리되었다. Martin[22)]과 Herbert 등[23)]의 보고에 따르면 가장 높은 균수를 분리해 낸 MacCokey agar와 같은 대부분의 전통배지들에서 *Citrobacter* spp.와 *Proteus* spp. 등이 *Salmonella* spp.와 유사한 colony를 보여 감별에 어려움이 있으므로 전통배지에 비해 chromogenic 배지에서 분리된 균수가 적다는 것은 오히려 선택성이 더 크다는 증거가 될 수도 있다고 보고하였다.

*B. cereus*에 대한 분리배지의 분리능은 국내 식품공전상 미생물시험법에 등록되어 있는 분리배지인 MYP

agar가 *B. cereus* selective agar base와 함께 Chromogenic *Bacillus cereus* agar보다 통계적으로 높은 분리를 보였다. 분리배지간의 분리능 차이는 크지 않았지만 통계적 유의차를 나타내었다($P<0.05$). Goepfert 등[24]과 Rhodehamel 등[25]에 따르면 MYP agar에서 egg-yolk에 positive 반응을 보인 *Bacillus* spp.는 *B. thuringiensis*, *B. anthracis*, *B. mycoides*, *B. laterosporus*로 *B. cereus*만을 선택적으로 분리하기에는 한계가 있는 것으로 나타났으며 chromogenic 배지에서는 선택성이 커 다른 유사균을 제외시켜 더 낮은 수의 균이 분리된 것으로 판단된다.

*L. monocytogenes*에 대한 분리배지의 분리능은 분리배지간의 차이는 크지 않았지만 통계적 유의적인 차를 보였으며($P<0.05$), LPM agar는 다른 분리배지보다 가장 낮은 분리율을 나타내었고, 다른 네 가지 배지는 통계적인 유의차가 없이 분리능이 비슷한 것으로 나타났다. 그러나 Gasanov 등[26]과 Gracieux 등[27]은 *L. monocytogenes*와 *L. ivanovii*를 명확하게 구분해 주는 배지는 거의 없는 것으로 나타났으며 정확한 *L. monocytogenes*의 검출을 위해서는 이후 생화학적 검증과 같은 확인시험이 더 필요하다고 보고하였다. 한편, *Vibrio parahaemolyticus*에 대한 분리배지의 분리능은 분리배지간에 유의적인 차이를 보이지 않았다($P<0.05$).

*S. aureus*에 대한 분리배지의 분리능을 나타낸 결과 분리배지간의 차이는 크지 않았지만 통계적 유의차를 나타내었다($P<0.05$). Mannitol Salt agar with Egg Yolk, Staphylococcus Medium 110은 상대적으로 많은 균이 분리되었으나 이들 배지 간에는 유의적 차이가 없었다. 그 다음으로 Vogel and Johnson(VJ) agar였으며, Baird-Paker

Table 3. Comparison of Isolation capabilities of media for *Salmonella* spp., *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Vibrio parahaemolyticus* and *Staphylococcus aureus* on Food (log_{10}CFU/mL)

Microorganism	Isolation media	Isolated number of cells from food
Salmonella spp.	MacConkey agar[1)]	4.09[a]
	Desoxycholate Citrate agar[1)]	3.87[abcd]
	Xylose Lysine Desoxycholate(XLD) agar[1)]	3.77[cd]
	Salmonella Shigella(SS) agar	3.93[abcd]
	Bismuth Sulfite agar	3.79[bcd]
	Brilliant Green(BG) Sulfa agar	3.79[bcd]
	Brilliant Green agar	4.00[abc]
	Brilliant Green agar Modified	4.02[ab]
	Hektoen Enteric agar	3.82[bcd]
	CHROMagar Salmonella	3.72[d]
	SM ID2 agar	4.07[a]
	Desoxycholate Citrate Lactose Sucrose(DCLS) agar	3.99[abcd]
Bacillus cereus	Mannitol-Egg Yolk-Polymyxin(MYP) agar[1)]	3.79[a]
	Chromogenic Bacillus cereus agar	3.60[b]
	Bacillus cereus selective agar base	3.86[a]
Listeria monocytogenes	Oxford medium base[1)]	3.97[a]
	Lithium chloride-phenylethanol-moxalactam (LPM) agar[1)]	3.69[b]
	PALCAM medium base	3.99[a]
	CHROMagar Listeria	3.98[a]
	Ottaviani Agosti agar(OAA)	4.00[a]
Vibrio paraheamolyticus	Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose(TCBS) agar[1)]	4.51[a]
	CHROMagar Vibrio	4.54[a]
Staphylococcus aureus	Mannitol Salt agar with Egg Yolk[1)]	5.26[a]
	Mannitol Salt agar	5.27[a]
	Baird-Paker agar	4.95[c]
	Baird Paker RPF agar(RPFA)	4.99[c]
	CHROMagar Staph aureus	4.92[c]
	Staphylococcus Medium 110	5.29[a]
	Vogel and Johnson(VJ) agar	5.08[b]

Different letters within a column denote significant difference ($P<0.05$).
Total aerobic microbial count of noninoculated sample: 4.12 log_{10}CFU/g.
Total aerobic microbial count of inoculated sample: 4.29 log_{10}CFU/g.
[1)]Isolation media listed in Food Code of KFDA.

agar, Baird Paker RPF agar(RPFA), CHROMagar Staph aureus는 상대적으로 적은 균수가 분리되었으며, 이들 배지 간에는 유의적 차이가 없었다(P<0.05). Iandolo 등[28], Hurst 등[29], Gray 등[30], Smolka 등[31], Idziak 등[32]의 연구결과에 따르면 고농도(i.e., >40 g/L)의 sodium chloride는 균성장을 저해하기 때문에 75 g/L의 sodium chloride를 함유하고 있는 Mannitol Salt agar와 같은 전통 배지는 더 이상 분리 배지로 사용하지 않고 있다고 보고했다. 본 연구에서 나타낸 것과 같이 Chromogenic 배지의 분리균수가 적은 것은 선택성이 크기 때문에 유사균들이 많이 제거되었기 때문인 것으로 사료된다.

Food에서 5가지 식중독세균 분리를 위한 29가지 선택배지의 분리능 간에는 그 차이가 크지는 않았지만 통계적 유의차가 존재하였기 때문에 다양한 배지를 포함하고 있어야 하는 식품공전법에 등재되는 것이 바람직한 것으로 사료된다. 전통적인 선택배지와 Chromogenic media 사이에서의 분리 균수가 큰 차이는 없었지만 유의적 차를 보인 것은 향후 정량 규격으로 전환 될 때를 대비하여 선택배지들 간의 균 분리능 차이를 극복해야만 한다. 분리배지의 분리능은 true-positive와 true-negative가 높고 false-positive와 false-negative가 낮을수록 우수한데, 전통배지에서 false-positive가 발생하여 분리능이 떨어진다고 볼 수도 있어 추후 식품공전에 등재된 기초 배지들의 선택성에 대한 추가 연구가 필요할 것이다.

식품공전법에 등재되어 있는 대부분의 전통적인 선택배지들이 최근에 개발된 chromogenic 배지에 비해 약간 많은 양의 균이 분리되었지만 이는 유사 오염균들을 억제하지 못해 선택배지로서의 기능이 충부하지 못한 것으로 사료된다. 또한 이러한 선택배지들은 정량적인 결과도 중요하지만 식품산업의 적용시 경제성 뿐만 아니라 많은 시간을 필요로 하여 현재 식품공전법에 있는 배지들로는 식품으로부터 식중독균을 분리하는데 한계가 있어 식품산업에서의 불만이 그간 제기되어 왔었다. 따라서 전통적인 식중독세균의 검출방법의 개발 방향은 선택배지에서 분리 후 수행해야 될 확인시험에 소요되는 시간을 줄일 수 있는 specificity가 높은 선택배지의 개발에 집중될 것으로 예측할 수 있다[33]. 이에 chromogenic 배지와 petrifilm 등과 같이 현재 시장에서 각광받고 있고, 그 신뢰도와 편리성 면에서 인정받았던 많은 신제품들을 현행 제도권 내에서 흡수하여 공인법화 한다면 관련 산업의 개발 의욕을 고취하고 산업을 활성화하여 경제적 파급효과가 클 것으로 기대된다.

요 약

본 연구는 현행 식품공전상 제시되어 있는 식중독균 분리배지의 평가를 위해 *Salmonella* spp., *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*의 5가지 식중독세균용 29가지 분리 선택배지를 Broth와 Food에서 시험하였다. Food는 닭고기, 쌀, 돼지고기, 고등어를 대상으로 5가지 식중독균을 접종 후 균주의 recovery를 확인하였고. Broth는 5가지 식중독세균용 29가지 분리 선택배지를 사용하였다. Broth에서는 각 세정균에 대한 분리배지들 간에 유의적인 차이가 없었으나(P<0.05), Food에서는 그 차가 크지는 않았으나, 분리선택배지간의 분리능에 통계적 유의차가 존재하였다. 식품공전에 등재된 전통적인 분리 선택배지에서 분리된 균수가 Chromogenic 배지 등 새로운 선택배지에서 분리된 균수보다 많았다. 국제적으로 등재된 배지간의 선택성의 차이가 존재하였으며, 추후 다양한 배지가 식품공전에 등재되기 위해서는 추가 연구가 필요하다.

감사의 글

본 연구는 한국식품의약안전청의 연구비 지원(06042 기준규098)에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Korea Food and Drug Administration: 2003-2006년도 식중독 발생현황. (2007).
2. Itoh, Y., Sugita-Konishi, Y., kasuage, F., Iwake, M., HaraHudo, Y., Saito, N., Noguchi, Y., Konuma, H., and Kumagai, S.: Enterohemorrahagic *Escherichia coli* O157:H7 present in Radish Sprouts. *Appl. Environ. microbiol.*, **64**, 1352-1532 (1998).
3. Hedberg, C.W., Angulo, F.G., White, K.E., Langkop, C.W., Schell, W.L., Stobierski, M.G., Schuchat, A., Besser, J.M., Dietrich, S., Helsel, L., Griffin, P.M., McFarland, J.W., Osterhorm, M.T. and The Investigation Team: Outbreaks of Salmonellosis Associated with Eating Uncooked Tomatoes. *Implications or Public Health, Epidemiol. Infect.*, **122**, 385-393 (1999).
4. Beuchat, L.R., Harris, L.R., Linda, J., Ward, T.E. and Kajs, T.M.: Development of a Proposed Standard Method for Assessing the efficacy of Fresh Produce Sanitizers. *J. Food Prot*., **64**, 1103-1109 (2001).
5. Harris, L.J., Beuchat, L.R., Kajs, T.M., Ward, T.E. and Taylor, C.J.: Efficacy and Reproducibility of a Prouce wash in KillingSalmonella on the Surface of Tomatoes Assessed with a Proposed Standard Method or Produce Sanitizers. *J. Food Prot*., **64**, 1477-1482 (2001).
6. Microbiology of food and animal geeding stuffs-Horixontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*-part 1: Detection method, Amendment 1: Modification of the isolation media and the heamolysis test, and inclusion of precision data, ISO 11290-1:1996/Amd:2004.
7. Microbiology of food and animal geeding stuffs-Horixontal method for the detection and enumeration of *Listeria mono-*

cytogenes-part 2: Enumeration, ISO 11290-2:1998.
8. Microbiology of food and animal geeding stuffs-Horixontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*-part 2: Enumeration method, Amendment 1: Modification of the enumeratio medium, ISO 11290-2:1998/Amd.1:2004.
9. Microbiology of food and animal geeding stuffs-Horixontal method for the detection of *Salmonella* spp., ISO 6579:2002/Cor. 1:2004.
10. Microbiology of food and animal geeding stuffs-Horixontal method for the detection of *Escherichia coli* O157, ISO 16654:2001.
11. Microbiology of food and animal geeding stuffs-Horixontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*-part 1: Detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*, Part 1: Detection method, ISO 11290-1: 1996.
12. Milk and milk products - Detection of *Salmonella* spp. ISO 6785:2001 and IDF 93:2001.
13. de Boer, E: Update on media for isolation of Evterobacteriaceae from foods, *Int. J. Food Microbiol*., **45**, 43-53 (1998).
14. Clavero, M.R.S and Beuchat, L.R.: Suitability of selective plating media for recovering heat- or freese-streessed *Escherichia coli* O157:H7 from tryptic soy broth and ground beef. *Appl. Environ. Microbiol*., **61**, 3268-3273 (1995).
15. SPSS. Statistical PaCkage for Social Sciences for Windows. Rel. 10.0. SPSS Inc., Chicago, IL, USA (1999)
16. Jung CY, Choi LG. SPSSWIN for Statistics Analysis, Ver. 10.0, 4th ed. Muyok Publishing Co., Seoul, Korea, 276-283 (2002)
17. Maddocks, S., Olma, T. and Chen, S.: Comparison of CHROMagar salmonella medium and xylose-lysine-desoxycholate and salmonella-shigella agars for isolation of *Salmonella* strains from stool samples, *J. Clin. Microbiol*., **40**, 2999-3003 (2002).
18. Peng, H., Ford, V.,Frampton, E.W., Restaino, L., Shelef, L.A. and Spitz, H.: Isolation and enumeration of *Bacillus cereus* from foods on a novel chromogenic plating medium, *Food Microbiology*, **18**, 231-238 (2001).
19. El Marrakchi, A., Boum'handi, N. and Hamama, A.: Performance of a new chromogenic plating medium for the isoltion of *Listeria monocytogenes* from merine envrionments. *Letters in Applied Microbiology*, **40**, 87-91 (2004).
20. Harakudo, Y., Nishina, T. Nakagawa. H., Konuma, H., Hasegawa. J. and Kumagai, S.: Improved method for detection of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood. *Appl. Environ. Microbiol.*, **67**, 5819-5823 (2001).
21. Carricajo, A., Treny, A., Fonsale, N., Bes, M., Reverdy, M. E., Gille, Y., Aubert, G. and Freydiere, A. M.: Performance of the chromogenic medium CHROMagar *Staphylococcus aureus* and the Staphychrom Coagulase test in the detection and identification of *Staphylococcus aureus* in clinical specimens. *J. Clin. Microbiol*., **39**, 2581-2583 (2001).
22. Martin, B.: Media for *salmonella, Int. J. Food Microbiol*., **26**, 117-131 (1995).
23. Herbert, D. and Martin, A.: Evaluation of five new plating media for isolatin of *Salmonella* species, *J. Clin. Microbiol*., **33**, 802-804 (1995).
24. Goepfert, J. M., Spira, W. M. and Kim, H. U.: *Bacillus cereus*: food poisoning organism. A review., *J. Milk Food Technol.*, **35**, 213-227 (1972).
25. Rhodehamel, E. J. and Harmon, S. M.: *Bacillus cereus*. In *Bacteriological Analytical Manual* 8th edn. Gaithersburg, MD, AOAC Inernational, (1995).
26. Gasanov, U., Hughes, D. and Hansbro, P.M.: Methods for the isolation and identificatin of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes*: a review, *FEMS Microbiol*. Rev., **29**, 851-875 (2005).
27. Gracieux, P., Roche, S.M., Pardon, P. and Velge, P.: Hypovirulent *Listeria monocytogenes* strains are less frequently recovered than virulent strains on PALCAM and Rapid'L.mono media, *Int. J. Food Microbiol*., **83**, 133-145 (2003).
28. Iandolo, J. J. and Ordal, Z. J.: Repair of thermal injury of *Staphylococcus auareus*. *J. Bacteriol.*, **91**, 134-142 (1966).
29. Hurst, A., Hughes, A., Baere-Rogers, J. L. and Collins Thompson, D.L.: Physiological studies on the recovery of salt tolerance by *Staphylococcus aureus* after sublethal heating. *J. Bacteriol.*, **116**, 901-907 (1973).
30. Gray. R.J.H., Gaske, M.A. and Ordal, Z.J.: Enumeration of thermally stressed Staphylococcus aureus MF31. *J. Food Sci.*, **39**, 844-846 (1974).
31. Smolka, L.R., Nelson, F.E. and Kelly, L.M.: Interaction of pH and NaCl on enumeration of heat stressed *Staphylococcus aureus*. *Appl. Microbiol*., **27**, 443-447 (1974).
32. Idziak, E.S. and Mossel, D.A.A.: Enumeration of vital and thermally stressed *Staphylococcus aureus* in foods using Baird-Parker pig plasma agar(BPP). *J. Appl. Bacteriol*., **48**, 101-113 (1980).
33. Kim, Y.S. and Ha, S.D.: Detection and isolation of foodborne bacteria using conventional culture media. *Safe Food*, **1**, 5-15 (2006).