pISSN 1229-1153 *J. Fd Hyg. Safety*
Vol. 28, No. 3, pp. 272~278 (2013)
http://dx.doi.org/10.13103/JFHS.2013.28.3.272

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

농산물 접촉 표면 재질에 따른 *Escherichia coli* O157:H7의 생존 및 상추로의 교차오염도 조사

김세리[1] · 최송이[1] · 서민경[1] · 김원일[1] · 정덕화[2] · 류경열[3] · 윤종철[1] · 김병석[4]*

[1]농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부 유해생물팀
[2]경상대학교 응용생명과학부, [3]농촌진흥청 연구정책국 연구성과관리과
[4]농촌진흥청 국립농업과학원 기획조정과

Survival and Cross-contamination of *Escherichia coli* O157:H7 on Various Agricultural Product-Contact Surfaces

Se-Ri Kim[1], Song-Yi Choi[1], Min-Kyoung Seo[1], Won-Il Kim[1], Duck-Hwa Chung[2], Kyoung Yul Ryu[3], Jong-Chul Yun[1], and Byung-Seok Kim[4]*

[1]Microbial Safety Team Department of Crop-Life Safety, NAAS, RDA
[2]Division of Applied Life Science, Gyeongsang National University
[3]R&D Evaluation Division, Research Policy Bureau, RDA
[4]Planning & Coordination Division, NAAS, RDA

(Received July 1, 2013/Revised August 16, 2013/Accepted September 6, 2013)

ABSTRACT - To evaluate the effect of surface contaminated with *Escherichia coli* O157:H7 (*E. coli* O157:H7) on the microbiological safety of lettuce, this study was conducted to investigate the attachment, biofilm producing, survival, and cross-contamination of *E. coli* O157:H7 on stainless steel and polyvinyl chloride (PVC). The attachment rate of *E. coli* O157:H7 on PVC was 10 times higher than that on stainless steel after exposure 1 h in cell suspension. However, there was not a difference between two types of surface after exposure for 6 h and 24h. The biofilm producing of *E. coli* O157:H7 was TSB > 10% lettuce extracts > 1% lettuce extracts > phosphate buffer. When two kinds of materials were stored at various conditions (20°C and 30°C, relative humidity (RH) 43%, 69%, and 100%), the numbers of *E. coli* O157:H7 at 30°C, RH 43% or RH 69% were reduced by 5.0 log CFU/coupon within 12 h regardless of material type. Conversely, the survival of *E. coli* O157:H7 at RH 100% was lasted more than 5 days. In addition, the reduction rate of *E. coli* O157:H7 was decreased in the presence of organic matter. The transfer efficiency of *E. coli* O157:H7 from the contaminated surface to lettuce was dependent upon the water amount of the surface of lettuce. Especially, the transfer rate of *E. coli* O157:H7 was increased by 10 times in the presence of water on the lettuce surface. From this study, the retention of *E. coli* O157:H7 on produce contact surfaces increase the risk cross-contamination of this pathogen to produce. Thus, it is important that the surface in post harvest facility is properly washed and sanitized after working for prevention of cross-contamination from surface.

Key words: Survival, Cross-contamination, *Escherichia coli* O157:H7, Product-contact surfaces

최근 국민들의 생활수준 향상과 건강에 대한 관심 증대로 육식보다 채식, 그리고 가공식품보다 자연 식품을 선호하고 있다. 과거의 식중독 발생은 고기류와 생선 등 단백질이 풍부한 식품에 의한 식중독이 대부분을 차지하고 있었으나 최근에는 과일과 채소 등에서 비롯된 식중독 사례가 국내외적으로 보고되고 있다[1-4]. 2007년 식품의약품안전청에서 발표한 국내 식중독 발생통계자료에 의하면 원인식품이 밝혀진 식중독 중 곡류와 채소류로 인한 식중독 발생은 6.0%로 타 식품에 비하여 상대적으로 낮지만 2001년부터 2007년까지 매년 4.2%~8.0%비율로 꾸준히 발생하고 있다[5]. 미국의 경우도 1996년부터 2008년까지 농산물과 관련된 식중독이 82건 발생하였다고 보고되었다[3].

*Correspondence author: Byung-Seok Kim, Planning & Coordination Division, National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, 249, Sedun-dong, Gwonseon-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 441-707, Korea
Tel: 82-31-290-0512, Fax: 82-31-290-0105
E-mail: kim2000@korea.kr

농산물로 인한 식중독사고의 원인균으로는 *Escherichia coli* O157:H7 (*E. coli* O157:H7), *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*등이 있으며 그 중 *E. coli* O157:H7은 농산물로 인한 대형 식중독사고의 주요 원인으로 자리잡고 있다[4,6]. 그 예로 2006년에 *E. coli* O157:H7에 오염된 시금치가 원인이 되어 발생한 식중독 사고를 들 수 있으며, 이 사고로 205명 이상의 환자가 발생하였고 3명이 사망하였다[4]. 그 외에도 1996년 일본의 Sakai시에서 수경 재배한 무순에 의한 식중독사고를 들 수 있다[6]. *E. coli* O157:H7의 오염은 재배단계에서 유통과정에 이르는 전 단계에서 일어날 수 있으며 특히 수확 후 처리 과정 중 농산물과 직접 접촉 가능한 작업대, 저울 등에 의해 농산물이 유해미생물에 오염될 수 있다[7]. Chai[8] 등은 식중독균으로 오염된 stainless steel 표면에 오이를 접촉시키고 오이에 식중독균이 전이된 정도를 실험한 결과 34.8% 42.5% 정도 전이되었다고 보고하였다. 또한 Johnston[9] 등과 Ailes[10] 등의 연구에서도 수확 후 처리 후 농산물에서 수확 후 처리 전의 농산물보다 일반세균수와 대장균군의 농도가 유의하게 증가하는 것으로 나타나 오염된 수확 후 처리 환경은 농산물의 안전성에 직접적인 영향을 끼칠 수 있다고 보고하였다.

특히 작업대, 저울, 컨베이어벨트 등이 *E. coli* O157:H7을 비롯한 식중독세균으로 오염되면 식중독 세균이 작업대 표면에서 exopolysaccharide (EPS)를 생성하여 여러 가지 스트레스에 내성을 갖는 바이오필름을 형성한다[11]. 세균 주위에 형성된 바이오필름은 세균을 보호하여 환경저항성을 높이고, 살균, 소독제 처리에도 생존할 수 있도록 하기 때문에 농산물안전에 중요한 영향을 미친다[11]. 세균의 부착, 바이오필름 형성에 미치는 인자는 영양원, 상대습도, 온도, 부착하는 표면의 재질 등이 있으며 이들 인자들에 따라 농산물과 접촉하는 표면에서 *E. coli* O157:H7의 부착, 생존, 바이오필름형성 등을 이해하는 것은 농산물의 위생관리 전략을 수립하는데 있어 대단히 중요하다[12].

따라서 본 연구는 수확 후 처리시설 내에서 가장 널리 사용되는 표면의 재질인 polyvinyl chroride (PVC)와 stainless steel 표면에서 *E. coli* O157:H7의 부착, 바이오필름형성, 온·습도에 따른 생존을 조사하였다. 또한, *E. coli* O157:H7이 오염된 작업대 표면에서 상추로의 교차오염도 조사를 통하여 *E. coli* O157:H7에 오염된 작업대가 상추의 미생물학적 안전성에 미치는 영향을 평가하고자 수행하였다.

재료 및 방법

균주 준비

본 연구에 사용된 *E. coli* O157:H7 (ATCC 43889)을 사용하였다. 각 균주는 시료 중 존재하는 microflora의 생육을 억제하고자 대상 균주를 rifampicin 저항성을 유도하였다. Rifampicin 저항성 유도는 tryptic soy agar (TSA; Oxoid, Basingstoke, England)에서 배양 균주 1 loop 취하여 50 μl/ml의 rifampicin (R; Biosesang, Sungnam, Korea)이 함유된 7 ml의 Luria bertani broth (LB, Oxoid, England)에 접종하고 37°C, 24시간 진탕·배양하였다. 이후 50 μl/ml의 rifampicin이 함유된 Luria bertani agar (LA; Oxoid, England)에 접종하고 37°C, 24시간 배양하여 얻었다. Rifampicin 저항성균는 20% glycerol과 50 μl/ml의 rifampicin을 함유하는 TSB에 현탁하여 –70°C에서 보관하였다. 사용 시에는 상온에서 해동한 후 10 μl를 취하여 7 ml의 TSB-R에 넣은 후 37에서 18시간 동안 배양하고 4,500 × g, 15분간 원심분리 한 후 5 ml의 0.1% peptone water에 2번 세정한 후, 최종 *E. coli* O157:H7의 농도를 $O.D_{600}$ 1.0이 되게 phosphate buffered saline (PBS; Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)에 현탁하였다. 이후 10배 희석하여 생균수가 10^8 CFU/ml이 되게 조정하였다.

작업대 표면 종류에 따른 *E. coli* O157:H의 부착력 평가

본 연구에 사용된 재질은 농산물 수확후 처리시설에서 가장 많이 사용하는 stainless steel coupon (2 cm × 4 cm)과 PVC coupon (2 cm × 4 cm)을 사용하였다. 실험에 사용하기 전 스stainless steel coupon은 121°C, 15분간 고온 고압 멸균 하였고, PVC coupon은 70% ethanol (Biosesang, Sungnam, Korea)을 표면에 분사한 후 멸균된 거즈로 닦고 상온에서 표면을 완전히 건조시킨 다음 사용하였다. 부착력 평가는 앞서와 같이 준비된 균액 30 ml을 50 ml conical tube (SPL, Pocheon, Korea)에 넣고 stainless steel coupon과 PVC coupon을 각각 넣은 후 10°C에서 1, 6, 24시간 동안 배양하였다. 이후 부착되지 않은 cell들을 제거하기 위하여 35 ml의 PBS가 든 시험관에 넣고 15초간 흔들어 세척하였다. 세척 후 각종 판은 30 ml의 D/E broth (D/E; Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)가 든 tube에 넣고 28 kHz에서 4분 동안 초음파처리 후, 30초간 vortex하여 부착된 균을 회수하였다. D/E broth 1 ml을 취하여 9 ml의 0.1% peptone water로 희석하였다. 각 희석농도에 대하여 200 μl씩 TSA-R agar에 접종한 후, 37°C에서 24-48시간 배양하고 집락수를 계수하였다.

작업대 표면에 따른 *E. coli* O157:H7의 biofilm 형성능 평가

작업대 표면에서 *E. coli* O157:H7의 바이오필름 형성을 평가하기 위하여 균주 현탁액 30 ml을 50 ml conical 튜브에 넣었다. Stainless steel coupon과 PVC coupon을 균액이 들어있는 50 ml tube에 넣고 10°C에서 6시간 동안 배양하여 부착시킨 다음, 부착되지 않은 cell들을 제거하기 위하여 35 ml의 PBS가 든 튜브에 넣고 15초간 흔들어 세척하였다. 이후 각종 판은 PBS, TSB, 1% 상추 추출액, 10% 상추 추출액에 넣고 20°C와 30°C에서 각각 24시간 동안 배양하였다. 배양 후에 바이오필름을 형성하지 않고 부착된 cell들을 제거하기 위하여 35 ml의 PBS가 든 튜브에 넣고 15초간 흔들어 세척한 다음, 각종 판을 30 ml의 D/E broth가 든 tube에 넣고 28 kHz에서 4분 동안 초음파처리 후, 30초간 vortex하여 균을 회수하였다. D/E broth 1 ml을 취하여 9 ml의 0.1% peptone water로 희석하였다. 각 희석농도에 대하여 200 μl씩 TSA-R agar에 접종한 후, 37°C에서 24-48시간 배양하고 집락수를 계수하였다.

작업대 표면에 따른 *E. coli* O157:H7의 생존력 평가

작업대 표면에서 *E. coli* O157:H7의 온·습도에 따른 생존력을 평가하기 위하여, stainless steel coupon과 PVC coupon위에 *E. coli* O157:H7 균 현탁액(10^8 CFU/ml) 100 μl씩을 접종하고 습도 43, 69, 100%, 온도 20°C, 30°C에서 각각 노출시켰다. 습도조절은 포화 염용액이 들어있는 chamber를 이용하였다. 습도 43%는

K_2CO_3 (Duksan, Ansan, Korea)을, 69%는 KI (Duksan, Ansan, Korea)을, 100%는 멸균증류수를 사용하였다. 접종 된 각종 쿠폰은 각 조건별로 3, 6, 12, 18, 24시간, 1일, 2일, 3일, 4일, 5일 동안 노출시켰다. 이후 stainless steel coupon과 PVC coupon은 30 ml의 D/E broth가 든 tube에 넣고 28 kHz에서 4분 동안 초음파처리 후 30초간 vortex하였다. D/E broth 1 ml을 취하여 9 ml의 0.1% peptone water로 희석하고 각 희석농도에 대하여 200 µl씩 TSA-R agar에 접종하였다. 접종된 TSA-R agar는 37°C에서 24-48시간 배양하고 집락수를 계수하였다.

유기물 존재에 따른 표면에서 *E. coli* O157:H7생존력 평가

농산물을 취급하는 수확후 처리시설은 흙, 먼지, 농산물부스러기 등의 물질로 오염되기 쉽다. 따라서 이와 같은 유기물의 존재가 작업대 표면에서 *E. coli* O157:H7의 생존에 미치는 영향을 평가하였다. 본 연구에서 사용된 유기물로는 Park[13] 등의 연구에서와 같이 1% bovine serum albumin (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 사용하였다. 균주는 앞서 언급한 바와 같이 배양하고, PBS로 세척한 후 유기물 처리구는 1% bovine serum albumin이 함유된 PBS에, 유기물 무처리구는 PBS에 현탁하여 최종 10^8 CFU/ml이 되도록 조정하였다. 준비된 균액은 stainless steel coupon과 PVC coupon위에 100 µl씩 접종하고 온도 20°C, 습도 43, 69, 100%에 각각 3, 6, 12, 18, 24시간, 1일, 2일, 3일, 4일, 5일간 노출시켰다. 이후 30 ml의 D/E broth가 든 tube에 넣고 28 kHz에서 4분 동안 초음파처리 후 30초간 vortex하여 균을 회수하였다. D/E broth 1 ml을 취하여 9 ml의 0.1% peptone water로 희석하고 각 희석농도에 대하여 200 µl씩 TSA-R agar에 접종하였다. 접종된 TSA-R agar는 37°C에서 24-48시간 배양하고 집락수를 계수하였다.

작업대 표면에서 *E.* O157:H7의 오염도 조사

E. coli O157:H7에 오염된 작업대가 상추의 미생물안전성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 stainless steel coupon과 PVC coupon을 *E. coli* O157:H7로 오염시키고 이후에 상추를 각종 쿠폰과 접촉시킨 후 상추의 미생물 오염도를 조사하였다. 이를 위해, 먼저 상추는 200 ppm sodium hyperchloride에 1분간 침지하고 증류수로 2번 세척한 후 4 × 4 cm로 절단하였다. 상추는 물기를 종이타월(Yuhan Kimberly, Ltd., Seoul, Korea)로 제거한 것과 분무기로 10초간 분사하여 표면에 물기가 많은 것 두 가지로 준비하였다. 또한 각종 coupon (4 × 4 cm)은 10^8 CFU/ml, 10^6 CFU/ml농도의 균액 100 µl로 접종하고 실온에서 1시간 노출시켰다. 이후 상추 표면위로 *E. coli* O157:H7이 접종된 PVC coupon, stainless steel coupon을 각각 올려놓고 상추에 가해지는 힘을 동일하게 하기 위하여 PVC coupon을 올린 상추위에는 stainless steel coupon을, stainless steel coupon을 올린 판에는 PVC coupon을 올려 1분간 접촉시켰다. 접촉시킨 후에 상추를 20 ml의 PBS가 든 conical tube에 넣고 30초간 vortex하였다. PBS 1 ml을 취하여 9 ml의 0.1% peptone water로 희석하고 각 희석농도에 대하여 200 µl씩 TSA-R agar에 접종하였다. 접종된 TSA-R agar는 37°C에서 24-48시간 배양하고 집락수를 계수하였다.

통계처리

모든 실험은 3반복으로 수행하였으며, 모든 실험결과는 평균치와 표준편차를 사용하여 나타내었고, 각 군간 비교는 one-way ANOVA를 이용하여 분석하였다. 평균값은 Duncan's multiple test를 통하여 다중비교를 하였으며, 대조군과 비교하여 P값이 0.05 미만일 경우에 통계학적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

결과 및 고찰

E. coli O157:H7의 부착력과 바이오필름 형성능 평가

수확후 처리시설에서 작업대의 표면재질로 가장 널리 사용되는 stainless steel과 PVC에서 *E. coli* O157:H7의 부착력을 조사한 결과는, Fig. 1에서와 같이 *E. coli* O157:H7 현탁액에 1시간 노출시킨 PVC가 stainless steel 보다 약 0.9 log CFU/coupon 높았으나, 6시간과 24시간째에는 두 재질간의 유의적 차이가 없었다.

바이오필름 형성능은 stainless steel 보다 PVC에서 높았으며, 온도별로는 stainless steel이 온도에 따른 차이가 없었던 반면에, PVC에서는 20°C보다 30°C에서 바이오필름 형성이 높았

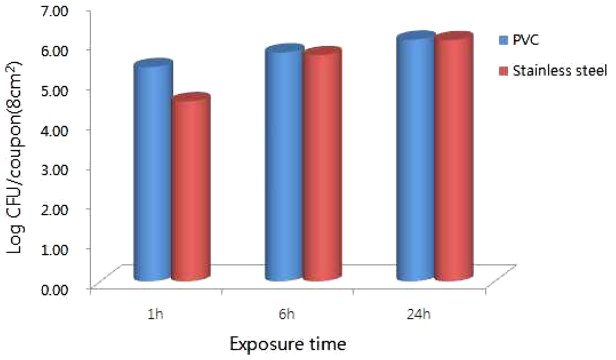

Fig. 1. The number of *E. coli* O157:H7 cells attached to polyvinyl chloride (PVC) and stainless steel.

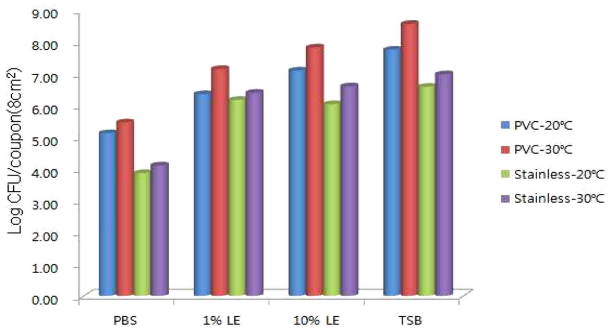

Fig. 2. Biofilm formation of *E. coli* O157:H7 on the surfaces of polyvinyl chloride (PVC) and stainless steel. PBS, phosphate buffered saline; LE, lettuce extract; TSB, tryptic soy broth.

다. 또한, 처리 용액별로는 TSB > 10% 상추출물 > 1% 상추추출물 > PBS 순이었다. PBS에서 바이오필름을 형성시켰을 때, PVC와 stainless steel에서 각각 5.5, 3.1 log CFU/coupon이었으나, 10% 상추추출물에서는 각각 7.8, 6.6 log CFU/coupon으로 10% 상추추출물에서 약 2.3~3.5 log CFU/coupon 높았다. 세균의 부착과 바이오필름형성은 세균의 curli, pili, fibrillae, flagella 등 세균 표면구조와 memberane protein, capsular polysaccharides, lipopolysaccharides 등의 세포 외부 구성물질이 관여한다고 보고되고 있다[14]. 이들 구조와 구성물질은 세균의 hydrophobicity와 cell charge를 결정하는데 영향을 미치게 되는데, *E. coli* O157:H7의 세포표면에는 charge를 띠는 구성물질이 많지 않기 때문에 부착과 관련된 부분은 주로 hydrophobity와 관련이 있는 것으로 보고되고 있다[15]. 소수성을 갖는 세포구성물은 hydrophopicity가 높은 재질들과 보다 잘 결합하기 때문에 고무, 플라스틱처럼 소수성을 갖는 재질에서 stainless steel, 유리와 같이 친수성을 갖는 재질에서 보다 세균의 부착력이 높고, 바이오필름형성이 유리하다는 Sinde와 Carballo[16]의 연구결과는 본 연구 결과와 일치하였다. 또한 본 연구에서 TSB외에도 상추추출물에서 바이오필름을 잘 형성하였는데, 이는 Silagyi[17] 등의 연구 결과와 유사한 경향을 보였다. 또한, Silagyi[17] 등은 alfalfa broth 등 vegetable broth에서도 바이오필름이 잘 형성된다고 하였는데, 이는 바이오필름 형성 초기에 vegetable broth에서 *E. coli* O157:H7의 바이오필름 형성에 관여하는 autoinducer-2 signal(AI-2)의 활성화에 의한 것으로 보고하였다.

따라서 이상의 결과로 미루어 볼 때, stainless steel에서 PVC보다 부착력과 바이오필름 형성이 낮아 수확 후 처리시설에서 작업대의 재질로 stainless steel이 보다 적합할 것으로 보인다. 또한, 바이오필름은 외부환경으로부터 식중독세균을 보호하여 생존을 보다 오랫동안 지속시켜주기 때문에 농산물 안전성을 제고하기 위해서는 주기적인 세척, 소독을 통하여 작업대를 청결하게 유지하는 것이 필수적이다.

온 · 습도에 따른 작업대 표면에서 *E. coli* O157:H7의 생존력 평가

Fig. 3은 온습도에 따른 stainless steel과 PVC 상에서 *E. coli* O157:H7의 생존력을 조사한 결과이다. Fig 3에서 보는 바와 같이, 온도와 습도에 따라 *E. coli* O157:H7의 생존력은 유의적인 차이가 있었다. 온도 20°C보다 30°C에서 사멸속도가 빨랐으며 습도가 낮을수록 사멸속도가 현저하게 빨랐다. 온도 30°C, 습도 43% 조건에서는 6시간 이내에 약 5.0 log CFU/coupon이 감소한데 반해, 20°C, 습도 100%에서는 4일 동안 초기균수를 유지하고 있었다. 또한, 재질별로는 stainless steel에서 PVC보다 *E. coli* O157:H7의 감소 속도가 빨랐다. 온도 20°C, 습도 69% 조건에서 48시간 노출시켰을 때, PVC에서는 2.8 log CFU/coupon, stainless steel에서는 2.0 log CFU/coupon이었다. 또한, 온도 30°C, 습도 100% 조건에서는 PVC에서 120시간동안 초기균수가 유지되고 있었으나, stainless steel에서는 24시간 이후에 감소하기 시작하여 96시간 이후에는 약 2.0 log CFU/coupon이 감소하였다. Bae[18] 등도 *E. coli* O157:H7을 stainless steel에 부착시키고 상대습도 23%, 43%, 69%, 85%, 100%에 노출시키고 생존을 조사한 결과, 상대습도 100%에서는 본 연구의 결과처럼 변화가 없고, 43%에서는 하루 내에 4.0 log CFU/coupon 감소한다고 보고하였다. Else[19] 등의 연구에서도 상대습도 100%, 30°C조건에서는 2.0 log CFU/coupon이상의 농도로 *E. coli* O157:H7의 생존이 5달 동안 지속되었다고 보고하였다. 이렇게 상대습도 100%에서 *E. coli* O157:H7의 생존이 오래 지속되는 이유는 바이오필름을 형성하기 때문이라고 Bae[18] 등은 보고하였다. 따라서 본 연구의 결과로 미루어 볼 때, 작업대에서 병원성미생물의 생존과 바이오필름형성에는 온도와 습도가 중요한 요소로 판단되며 작업대를 위생관리 측면에서 사용 후에는 반드시 건조한 상태로 유지해야 할 것으로 보인다.

유기물의 존재에 따른 작업대 표면에서 *E. coli* O157:H7의 생존력 평가

수확 후 처리시설로 흙과 같은 유기물이 유입은 유해미생물의 생존에 영향을 미칠 수 있다. 이들 유기물이 존재할 때 유해미생물의 생존에 어떤 영향을 미치는지를 조사하였다. 유기물이 존재할 시와 존재하지 않을 때 *E. coli* O157:H7의 생존을 비교한 결과 Fig. 4에서 보는 바와 같이 유기물이 존재할 경우, PVC와 stainless steel 표면에서 사멸속도가 감소하는 것을 알 수 있었다. 습도 43%에서 48시간 노출시켰을 때, stainless steel과 PVC에 유기물이 존재하지 않을 때는 각각 4.4와 4.7 log CFU/coupon이 감소하였으나, 유기물이 존재할 때는 각각 1.9와 2.5 log CFU/coupon이 감소하였다. 또한 습도 69%에 노출시켰을 때, stainless steel과 PVC표면에서 유기물이 존재하지 않을 때는 각각 48시간과 72시간까지 생존 가능하였으나, 유기물이

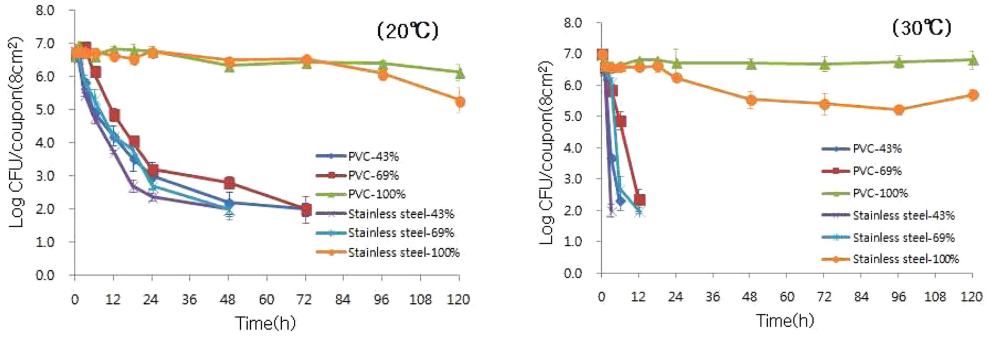

Fig. 3. Survival populations of *E. coli* O157:H7 on the surfaces of polyvinyl chloride (PVC) and stainless steel at 20°C and 30°C, RH 43%, 69%, and 100%. Error bars indicate standard deviation.

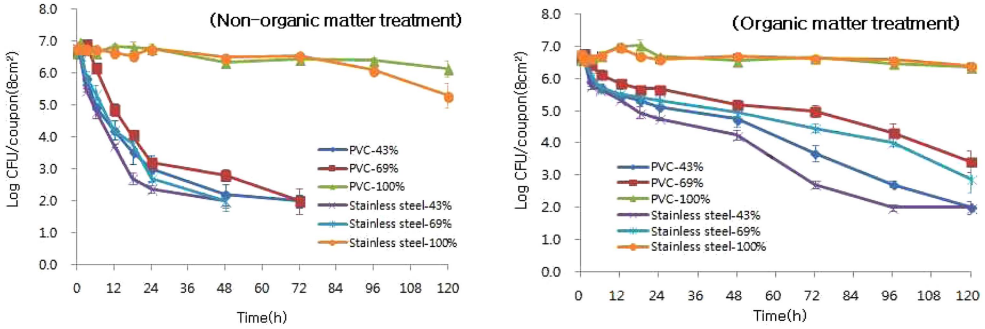

Fig. 4. Survival populations of *E. coli* O157:H7 on the surfaces of polyvinyl chloride (PVC) and stainless steel in the presence of organic matter. Error bars indicate standard deviation.

존재할 때는 120시간이 경과하여도 생존력이 유지되었다. Takahashi[20] 등은 stainless steel 표면에 양배추, 참치, 돼지고기 즙액을 코팅시킨 후, *L. monocytogenes*를 접종했을 때 식품의 종류에 따라 차이는 있었지만 *L. monocytogenes* 단독으로 접종했을 때보다 감소속도가 느려 본 연구의 결과와 같은 경향을 보였다. 이는 흙이나 식품 잔여물 등은 세균 주위를 둘러싼 보호막을 형성시켜 건조 등 외부 환경으로부터 *E. coli* O157:H7을 보호하여 작업대 표면에서 이 세균의 생존을 보다 오래 지속시키기 때문이다[21]. 또한, Park[13] 등은 이러한 유기물들이 작업대 표면이나 농산물 표면에 존재할 때 소독제의 효과를 급감시킨다고 보고하여 농산물을 수확 후 처리시설에서 세척, 선별, 포장 등의 작업이 끝난 후에는 반드시 작업대 표면을 세척하여 흙을 비롯한 유기물들이 작업대표면에 누적되지 않게 관리하는 것이 필요하다.

E. coli O157:H7에 오염된 작업대 표면이 상추의 미생물 오염에 미치는 영향

E. coli O157:H7에 오염된 작업대 표면이 상추의 미생물 오염에 미치는 영향을 조사하기 위하여 각 표면에 초기오염수준을 각각 2.5와 4.5 log CFU/coupon으로 오염시켜놓고 상추 표면에 수분을 완전히 제거한 상추와 수분을 흠뻑 가한 상추를 접촉시켰다. 그 결과, Table 1에서 보는 바와 같이, 상추의 수분상태에 따른 오염정도는 유의적인 차이가 있었으며 수분이 있을 때에 stainless steel에서 PVC에서보다 상추 오염도가 더 높았다. 상추 표면의 수분을 완전히 제거했을 경우에는 작업대 오염농도의 약 1%, 상추 표면에 수분이 존재할 시에는 약 10% 정도로 검출되어 상추의 표면에 수분이 존재할 시에 10배 이상 오염도가 높아짐을 알 수 있었다. Chai[8] 등의 연구에서는 *Camphylobacter*에 오염된 도마에서 농산물로 전이율은 22.6%~73.3%이었고, Kusumaningrum[22] 등의 연구에서도 *Salmonella* spp.와 *Campylobacter* spp.에 오염된 stainless steel에서 오이 slice로의 전이율이 각각 34.8%와 42.5%였다고 보고하여, 병원성 미생물에 오염된 작업환경이 농산물의 안전성에 얼마나 중요한 영향을 미치는 지를 보여주었다. 또한, Silagyi[17] 등의 연구에서는 *E. coli* O157:H7로 오염된 stainless steel에 다양한 채소를 접촉시키고 채소로 전이된 정도를 조사한 결과, cantaloupe, 상추, 당근, 시금치, green bean에서 각각 4.5, 3.5, 3.2, 3.2, 2.3 log CFU/cm^{2}가 검출되었는데, 이러한 검출수준의 차이는 각 채소가 가진 수분활성도에 따라 달라지며 수분이 많은 채소에서 전이율이 높다고 보고하였다. 식품의 수분함량은 농산물 생산환경에서 농산물로의 교차오염에 중요한 요소로 판단된다. 특히, 농산물 중 엽채소는 시들음을 방지하고 신선도를 높이기 위하여 수분을 가하는 경우가 많기 때문에 작업대의 철저한 위생관리가 필요하다.

요 약

본 연구는 polyvinyl chroride (PVC)와 stainless steel 표면에서 *E. coli* O157:H7의 부착, 바이오필름형성, 온·습도에 따른 생존율을 조사하고, *E. coli* O157:H7이 오염된 작업대 표면에서 상추로의 교차오염도 조사를 통하여 *E. coli* O157:H7에 오염된 작업대가 상추의 미생물학적 안전성에 미치는 영향을 평가하고자 수행하였다. 작업대 표면 재질인 PVC와 stainless steel에 *E. coli* O157:H7 배양액을 1시간 노출시켰을 때, PVC의 경우, stainless steel 보다 10배 정도 부착력이 높았으나, 6시간째는 두 재질간의 차이가 없었다. 또한, *E. coli* O157:H7의 바이오필

Table 1. Transmission of *E. coli* O157:H7 from contaminated surface to lettuce

Contamination level of surface (log CFU/coupon)	Moisture condition of lettuce	From PVC to lettuce	From stainless steel to lettuce
2.5	Dry	≤ 0.8[a]	≤ 0.8[a]
	Moisture	1.7 ± 0.2[b]	1.7 ± 0.6[b]
4.5	Dry	3.0 ± 0.3[a]	2.4 ± 0.4[a]
	Moisture	3.6 ± 0.4[b]	3.6 ± 0.2[b]

Data are presented as means ± standard deviations (SD).
[a,b]Means with different superscripts in the same row and column within the same contamination level are significantly different ($P < 0.05$).

름 형성은 TSB > 10% 상추추출액 > 1% 상추추출액 > phosphate buffer 순이었으며, 재질별로는 PVC에서 바이오필름형성능이 높은 것으로 나타났다. 온도 20°C, 30°C, 습도 43%, 69%, 100%에서 각각 노출 시켰을 때, *E. coli* O157:H7은 온도 30°C, 습도 43%, 69% 조건에서 12시간 내에 약 5.0 log CFU/coupon이 감소한데 반해, 상대습도 100%에서는 농도의 큰 변화 없이 5일 이상 생존이 지속되었다. 또한, 유기물이 작업대 표면에 존재 시, *E. coli* O157:H7의 감소 속도가 느렸다. *E. coli* O157:H7에 오염된 작업대에 상추를 접촉시키고 상추의 오염도를 조사한 결과, 상추 표면에 수분이 존재할 때 오염된 작업대 표면에서 *E. coli* O157:H7의 이동수준이 상추에 수분이 없을 때 보다 10배 이상 증가하는 것으로 나타났다. 따라서 *E. coli* O157:H7에 오염된 작업대는 상추의 안전성에 직접적인 영향을 미칠 수 있어 작업 후에 세척, 소독을 통하여 위생적으로 관리하는 것이 필요하다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호 : PJ009272)의 지원에 의해 이루어진 것임.

참고문헌

1. KIM, G.H. and Bang, H.Y.: A survey on consumption pattern of minimally fruits and vegetables. *Korean J. Food Culture*, **13**, 267-274 (1998).
2. Choi, J.W., Park, S.Y., Yeon, J.H., Lee, M.J., Chung, D.H., Lee, K.H., Kim, M.G., Lee, D.H., Kim, K.S. and Ha, S.D.: Microbial contamination levels of fresh vegetables distributed in markets. *Korean J. Fd. Hyg. Safety*, **20**, 43-47 (2005).
3. FDA: Guidance for Industry: Guide to Minimize Microbial Food Safety Hazards of Leafy Greens; Draft Guidance. Available from: http://www.fda.gov/Food/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/GuidanceDocuments/ProduceandPlanProducts/ucm174200.html.
4. CDC: Update on Multi-State Outbreak of *E. coli* O157:H7 Infections From Fresh Spinach, October 6, 2006. Available from: http://www.cdc.gov/ecoli/2006/september/updates/100-606.html.
5. KFDA: Analysis on the trend of food-poising over the last 5 years. Av ailable from: http://www.foodnara.go.kr/portal/site/kfdaportal/template. Accessed Aug. 25, (2010)
6. Watanabe, Y., Ozasa, K., Mermin, J.H., Griffin, P.M., Masuda, K., Imashuku, S. and Sawada, T.: Factory outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection in Japan. *Emerg. Infect. Dis*., **5**, 424-428 (1999).
7. Kim S.R., Lee, J.Y., Lee, S.H., Kim, W.I., Park, K.H., Yun, H.J., Kim, B.S., Chung, D.H., Yun, J.C. and Ryu, K.Y.: Evaluation of microbiological safety of lettuce and cultivation area. Korean *J. Fd. Hyg. Safety,* **26**, 289-295 (2011).
8. Chai, L.C., Lee, H.Y., Ghazali, F.M., Bakar, F.A., Malakar, P.K., Nishibuchi, M. Nishibuchi, Nakaguchi, Y. and Radu. S.: Simulation of cross-contamination and decontamination of Campylobacter jejuni during handling of contaminated raw vegetables in a domestic kitchen. *J. Food Prot.,* **71**, 2448-2452 (2008).
9. Johnston, L.M., Jaykus, L.A., Moll, D., Martinez, M.C., Anciso, J., Mora, B. and Moe, C.L.:. A field study of the microbiological quality of fresh produce. *J. Food Prot.*, **68**, 1840-1847 (2005)
10. Ailes, E.C., Leon, J.S. Jaykus, L.A., Johnston, L.M., Clayton, H.A., Blanding, S., Kleinbaum, D.G., Backer, L.C. and Moe, C.L.: Microbial concentrations on fresh produce are affected by postharvest processing, importation, and season. *J. Food Prot.*, **71**, 2389-2397 (2008)
11. Bae, Y.M., Heu, S. and Lee, S.Y.: Inhibitiory effect of dry-heat treatment and chemical sanitizers against foodborne pathogens contaminated on the surfaces of meterials. *J. Korean Soc Food SCi. Nutr*., **38**, 1265-1270 (2009).
12. Ryu, J.H., Kim, H. and Beuchat, L.R.: Attachment and biofilm formation by Escherichia coli O157:H7 on stainless steel as influence by exopolysaccharide production, nutrient availability, and temperature. *J. Food Prot.*, **67**, 2123-2131 (2004).
13. Park, E.J., Alexander, E., Taylor, G.A., Costa, R. and Kang, D.H.: The decontaminative effects of acidic electrolyzed water for *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, and *Listeria monocytogenes* on green onions and tomatoes with different organic demands. *Food Microbiol.,* **26**, 386-390 (2009).
14. de Rezende, E.E., Anriany, Y., Carr, L.E., Joseph, S.W. and Weiner, R.M.: Capsular polysaccharide surrounds smoothe and rugose types of Salmonella enterica serovar Typhimurium DT104. *Appl. Environ. Microbiol*., **71**, 7345-7351 (2005).
15. Paul, J.H., and Jeffrey, W.H.: Evidience for separate adhesion mechanisms for hydrophilic and hydrophobic surfaces in *Vibrio proteolytica*. *Appl. Environ. Microbiol.,* **50**, 431-437 (1985).
16. Sinde, E. and Carballo, J.: Attachment of Salmonella spp. and Listeria monocytogenes to stainless steel, rubber and polytetrafluor-ethylene : the influence of free energy and the effect of commercial sanitizers. *Food Microbiol.,* **17**, 439-447 (2000).
17. Silagyi, K., Kim S.H., Lo, Y.M, and Wei, C.: Production of biofilm and quorum sensing by Escherichia coli O157:H7 and its transfer from contact surface to meat, poultry, ready-to-eat deli, and produce products. *Food Microbiol.*, **26**, 514-519 (2009).
18. Bae, Y.M., Baek, S.Y. and Lee, S.Y.: Resistance of pathogenic bacteria on the surface of stainless steel depending on attachment form and efficacy of chemical sanitizers. *Int. J. Food Microbiol.*, **153**, 465-473 (2012)
19. Else, T.A., Pantle, C.R. and Amy, P.S.: Boundaries for biofilm formation : humidity and temperature. *Appl. Environ. Microbiol.*, **69**, 5006-5010 (2003)
20. Takahashi, H., Kuramoto, S., Miya, S. and Kimura, B.: Desiccation survival of Listeria monocytogenes and other potential foodborne pathogens on stainless steel surface is affected by different food soils. *Food Control*, **22**, 633-637 (2011).

21. Kusumaningrum, H.D., Riboldi, G., Hazeleger, W.C. and Beumer, R.R.: Survival of foodborne pathogens on stainless steel surfaces and cross-contamination to foods. *Int. J. Food Microbiol.*, **85**, 227-236 (2003).

22. Kusumaningrum, H.D., van Asselt E.D., Beumer, R.R., and Zwietering, M.H.: A quantitative analysis of cross-contamination of Salmonella and Campylobacter spp. via Domestic kitchen surfaces. *J. Food Prot.*, **67**, 1892-1903 (2004).