

## 인체장염유발 *Campylobacter jejuni*의 호기적 조건 하에서의 잔존 양상

신순영 · 김광엽\* · 박종현\*\*  
한국식품개발 연구원, \*충북대학교 식품공학과  
\*\*경원대학교 식품생물공학과

### Survival of *Campylobacter jejuni* under Aerobic Condition

Soonyoung Shin, Kwang-Yup Kim\* and Jong-Hyun Park\*\*

Korea Food Research Institute,

\*Department of Food Science and Technology, Chungbuk National University

\*\*Department of Food and Bioengineering, Kyungwon University.

#### Abstract

To provide more information on the enteric pathogen *Campylobacter jejuni* in the view of food sanitation, survival characteristics of two strains of *C. jejuni* in the different conditions were investigated. When  $10^7$  or  $10^3$  per ml of *C. jejuni* cells were inoculated in the supplemented Brucella broth and kept at 42°C, 25°C and 5°C under the static aerobic condition for 7 days, organisms exponentially proliferated to a  $>10^8$ , even in the  $10^3$  per ml inoculated-sample at 42°C for 1~2 days and the considerable level of viability maintained during 7 days. At 5°C, most of the initial level of organisms survived at the early period and only a  $< 0.5\text{-log}_{10}$  cells decrease were observed during the 7 days. At 25°C, a remarkable number of *C. jejuni* declined within 1~2 days and showed undetectable level of cells after 4 days. When sterile milk and minced chicken meat were artificially inoculated with  $10^7$  per ml of *C. jejuni*, mostly, a 1-to 2- $\log_{10}$  count decrease occurred at 42°C and 5°C while a  $>3 \log_{10}$  decrease at 25°C during 7 days. Unexpectedly, no colonies appeared on the plate inoculated from the minced chicken meat sample kept at 42°C after 4 days. The results suggest that *C. jejuni* contaminated to food can survive at the refrigeration temperature whereas they are sensitive to at the room temperature. Also, it is shown that the growth of *C. jejuni* at the optimal temperature may vary to the food sources.

Key words: *Campylobacter jejuni*, static aerobic condition, different temperatures

## 서 론

*Campylobacter* spp.는 그램 음성, 미호기성의 운동성을 가진 나선형 또는 만곡형의 간균으로 동물에서 유산, 불임, 장관염에 의한 설사증 등을 일으키는 동물 병원균으로 먼저 알려진 인수 공통 전염병 균이다<sup>(1,2)</sup>. 사람에게는 장염의 원인균으로 추측은 되었으나<sup>(3)</sup> 확인된 것은 배양 방법의 발달과 더불어 많은 연구가 진행된 1970년대 이후이다<sup>(4,5)</sup>.

*Campylobacter* spp.로 인한 장염은 현재 미국, 영국 호주 등 구미 선진국에서 Salmonellosis보다 더 빈번히 발생하는 가장 보편적인 장염 식중독균으로 보고 되

며<sup>(6,8)</sup>, *Campylobacter* spp. 중 약 90%는 *Campylobacter jejuni*로 보고되었다<sup>(9)</sup>. 이 균은 분변을 통해 배출되어 식수, 우유 및 닭고기 등 육류에 오염되어 직 간접적인 섭취로 장염을 일으키게 되는데, 우유 mL 당 2~3개의 cells 에 의해서도 장염을 일으켰다고 하며<sup>(10)</sup> 만성위염이나 관절염, Reiter's 증후, Guillain-Barre 증상 등 여러 가지 질병과 연계된다<sup>(6)</sup>. 세균성 식중독은 식품의 보관과 유통중 균이 증식할 수 있는 여건이 되면 일어날 수 있기 때문에 생활 수준과 관계없이 발생할 수 있다. 최근 문제가 되고 있는 *E. coli* O157 같은 새로운 균종에 대한 발병에서 보듯이 우리나라에도 식생활의 변화와 더불어 새로운 식중독에 대한 예방과 이해가 요구된다 하겠다.

우리나라에 *Campylobacter* spp.의 연구는 아직 활발하지 않으나, 나이에 따라 전체 장염 환자의 0.4~30.5

Corresponding author: Jong-Hyun Park, Department of Food and Bioengineering, Kyungwon University, Sujong-Gu, Songnam-Si 461-701, Korea

의 분리율이 보고되고 있으며, 도계장에서 닭의 분변, 계육, 냉각수, 내장 적출용 칼에 34.4~60%의 *C. jejuni*가 검출되었다고 보고되었다<sup>(11)</sup>. 그러나 현행 식품 공전상 식품은 병원성 세균에 감염되어서는 안된다는 포괄적 규정이 있을 뿐이어서 수입 닭고기 등 수입품 검사나 우리 식생활에서 병원성 식중독균으로서 *Campylobacter* spp.의 검사는 등한시되고 있는 실정이다.

*Campylobacter jejuni*의 식품에 오염 방지나 오염된 식품에서의 효과적인 검출을 위하여는 *C. jejuni*의 배양과 생리적 특성에 대한 기본적인 연구가 필수적인 것이라고 하겠다. 그러나 국내에서는 비슷한 균종인 *Helicobacter* spp.에 대한 생리적 연구들은 보고되고 있으나<sup>(12,13)</sup>, *C. jejuni*에 대해서는 식품 위생학 관점에서 기본 생리적인 연구들은 거의 보고되지 않고 있다.

본 연구에서는 세균성 식중독으로 새로이 문제가 되고있는 *C. jejuni*의 식품으로의 오염방지와 오염된 식품에서의 빠른 검출을 위해 몇가지 기초 연구를 수행하였다. *C. jejuni*의 미호기적 조건과 호기적 조건에서의 배양 특성과 산소에 대한 민감성 등을 관찰한 후, 식품 위생상 실제 환경인 호기적 대기 조건에서 냉장 온도와 실온에서 균이 어느 정도 생육하고 잔존하는가를 최적온도인 42°C와 비교하여 측정하였다. 또 식품 매개체로서 가장 빈도가 높은 것으로 알려진 우유와 닭고기 등<sup>(14)</sup>에 적용하여 그 결과를 세포의 생리적 특징과 식품 위생학적 관점에서 논의하였다.

## 재료 및 방법

### 균주

*Campylobacter jejuni* ATCC 33291 (Human feces origin) *Campylobacter jejuni* A74/C (USDA에서 분양, Clinical isolate)<sup>(15)</sup>

분양받은 균주를 액체배지에 활성화 시켜 2 회 계대하여 사용했다. 균주는 그램염색, catalase, oxidase test로 확인하였고 균체지방산 분석과 전자현미경으로 미세구조를 관찰하였다. 균체의 보관은 고체배지에 도말한 후 4°C에 보관하여 7일마다 계대 배양하여 사용하였다.

### 배지

기본배지로서 Brucella broth (Difco)에 0.9 mM ferrous sulfate, 1.3 mM sodium metabisulfite와 2.3 mM sodium pyruvate 등을 가하여 121°C에서 15분 간 습열 멸균한 후 60°C로 식혀 1 L당 vancomycin 15 mg, tri-

methoprim lactate 5 mg, polymyxin B 20,000 IU, cycloheximide 50 mg을 가한 FBP Supplemented Brucella broth를 사용하였다. 액체배지에는 3% bovine calf serum (Hyclone)을, 고체배지에는(2% agar 함유) 10% defibrinated sheep blood (Korea media)를 가했다.

### 균의 미호기적 배양

3.5 L anaerobic jar와 *Campylobacter microaerophilic* system (Difco)을 사용하여 대기의 조건이 약 5% oxygen, 10% carbon dioxide 가 되도록 유지하였다. 이 미호기적으로 유지된 jar 안에 접종된 petri dish나 면전을 한 삼각 flask를 넣은 후, 42°C 항온기에 넣어 배양하였다. 시료를 채취한 후 다시 실험을 계속하는 경우 새 gas envelope를 넣어 가능한 균일한 대기조성이 유지 되도록 하였다.

### 균의 호기적 배양

산소에 대한 민감도를 비교하기 위하여 정지기 초기의 세포들을 평판배지에 단계적으로 희석하여 도말한 후 42°C 항온기에 48시간 동안 정해진 시간 별로 호기 조건에 노출 시켰다. 다시 미 호기적 조건에서 배양하여 호기 조건의 노출 시간에 따른 균수의 변화를 조사하였다. 액체 배양의 경우는 250 mL 삼각 flask에 150 mL의 FBP Brucella broth를 넣고 면전을 하여 이미 배양된 정지기 세포를 10<sup>3</sup>~10<sup>7</sup>/mL 되도록 접종한 후 5, 25, 42°C에 7일간 정지 배양하여 균수의 변화를 측정하였다. 우유와 닭고기를 이용한 실험에서는(시중 수퍼마켓에서 우유와 닭고기를 구입), 우유는 250 mL 삼각 flask에 150 mL, 닭고기는 뼈를 제거한 후 살만 chopper로 잘게 잘라 250 mL 삼각 flask에 100 g씩 넣은 후, 면전하여 110°C에서 10분간 가열 처리하거나 또는 그대로 가열처리하지 않고 균수가 10<sup>7</sup>/mL 되도록 접종하여 배양하였다.

### 생균수 측정

시료 1 mL 또는 1 g을 무균적으로 채취하여 희석수(peptone 1 g, sodium chloride 8.5 g, sodium thiosulfate 3 g, tween 80 30 mL/1 L d.w.)<sup>(16)</sup>에 단계적으로 희석하였다. 이를 10%의 defibrinated sheep blood를 함유한 Supplemented Brucella agar 배지에 접종하고 42°C의 미호기적 조건에서 48 시간 배양한 후 전형적인 모양의 *C. jejuni*의 집락수를 계수하였다.

### 균체지방산 분석

균체의 지방산 조성은 MIDI Microbial Identification

System (Microbial ID. Inc. Delaware, USA)를 이용하여 분석하였다. 사용된 GC는 Hewlett-Packard HP6890 series이였으며, capillary column (Ultra 2. Cross linked 5% PH ME Siloxane)를 사용하였다. 시료의 준비는 MIDI Manual에 따라 균을 peptone-yeast extract-glucose broth에 미호기적으로 배양한 후 정지기 세포들을 모아 wet biomass를 HCl-Methanol로 methylation하였으며 peak의 동정은 MIDI system에 fatty acid library에서 자동적으로 data화 하였다.

### 전자현미경

액체배양된 시료는 50 mM Tris HCl buffer (pH 7.8)로 2회 세척하고, 고체 배양된 시료는 그대로 2% phosphotungstic acid에 5~8분 처리하여 negative staining을 한후 투과 전자현미경(TEM) (Joel CXII 100, Tokyo, Japan) (80 KV)로 관찰하였다.

### 결과 및 고찰

*C. jejuni* ATCC 33291과 A74/C의 미 호기적 조건과 호기적 조건에서의 균의 생육

Fig. 1은 *Campylobacter jejuni* ATCC 33291과 *C. jejuni* A74/C를 미호기적 조건과 호기적 조건하에서 72시간 배양하며 얻은 곡선이다. 각 시료에 있어 배지 초기의 pH와 O.D.는 각각 7.07~7.08과 0.03~0.04이었다. 초기 24시간까지 미호기성 조건에서의 O.D.는 0.16과 0.20으로 증가하고, pH는 6.74와 6.85로 저하되었다. 호기조건에서의 O.D.는 0.12로 증가하고, pH

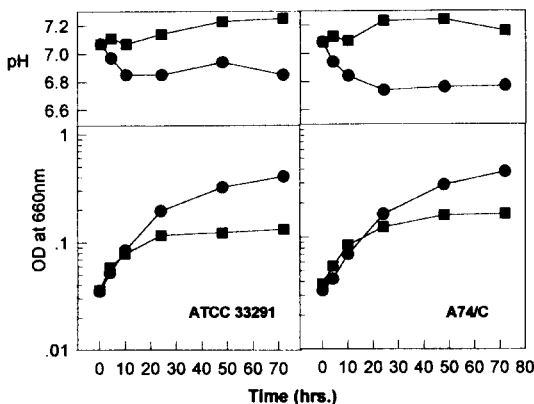


Fig. 1. Growth of *Campylobacter jejuni* ATCC33291 and *C. jejuni* A74/C in supplemented Brucella broth containing 3% bovine calf serum under microaerobic and aerobic conditions at 42°C for 72 hrs. ●—●: Microaerobic, ■—■: Aerobic

는 7.08과 7.23으로 높아지는 차이를 보였다. 24시간 이후 호기 조건에서 균은 거의 증식하지 않은데 비하여, 미호기적 조건에서는 계속 증가하여 72시간에 미 호기성 조건의 O.D.는 0.38과 0.41 인데 비하여 호기성 배양에서는 0.13과 0.16에 머물렀다. 배양 24시간의 생균수를 측정된 결과 미호기성 조건의 O.D. 0.16 (ATCC33291)과 0.20 (A74/C)의 값에서  $2.3 \times 10^8$  cfu/mL과  $1.0 \times 10^9$  cfu/mL의 균수를 나타냈는데 이는 일반적으로 측정되는 OD와 생균수의 비례적 관계에 비쳐 볼 때 상대적으로 높은 균수였다. *Campylobacter* spp.는 다른 대부분의 세균처럼 6~8의 중성에서 자라며 균의 생육에 따라 배지의 pH는 약간 alkali로 된다<sup>(17)</sup> 미 호기성조건에서의 pH저하는 본 실험에서 미호기성 조건을 만들기 위해 사용된 gas pack에서 발생한 CO<sub>2</sub>에 의한 것으로 생각되며 그 폭은 크지 않았기 때문에 *Campylobacter jejuni*의 생육에 영향을 줄 정도는 아니었으리라 생각된다.

Fig. 1에서 보여주듯이 *C. jejuni*의 생육은 호기적 조건에서도 처음 균수의 4~5배가 증가되었고 최적조건인 미호기성에 비해 60~80% (24시간)에서 30~40% (72시간)의 생육이 유지되는 것을 보여 주었다. 이러한 증식의 정도는 이미 상당한 생육으로 볼 수 있으며 24 시간 이후 증식이 관찰되지는 않았으나 24시간의 생균 수가 약  $10^8$ ~ $10^9$  cfu/mL 수준임을 고려해 볼 때 잔존될 것으로 생각된다. 그러므로 *C. jejuni*가 미호기성이기는 하나 이 실험에서 사용된 선택 배지처럼 어떤 적당한 배지의 환경 조건이 주어진다면 일반 대기 상태에서도 충분히 균의 증식이 가능하리라는 것을 나타낸다.

*C. jejuni* ATCC 33291과 A74/C의 형태, 지방산 조성, 산소에 대한 민감도

*C. jejuni*는 생육에 좋지 않은 조건에서 구균의 형태로 전환되는 것으로 알려져 있다<sup>(1,18,19)</sup>. 본 실험의 미호기성 배양에서는 72시간까지 전형적인 간균과 나선형의 형태를 보였고, 보관을 위해 평판 배지에 도말하여 냉장고에 보관된 균의 경우 수축된 만곡형 또는 구균의 형태를 보였다. 그 미세형태를 negative staining 하여 투과 전자 현미경으로 관찰한 결과는 Fig. 2과 같았다. 미호기성의 정상적 환경에서 자란 전형적인 균 형태는 두 균주 모두 만곡형의 간균이나 나선 형태로 세포의 양쪽 또는 한쪽에 *C. jejuni*의 독성 중요한 인자로 알려진<sup>(6)</sup> 긴 편모를 가지고 있었다. Table 1은 두 균주의 세포 지방산 분석 결과이다. 주요 지방산으로 C<sub>14:0</sub>, C<sub>16:0</sub>와 *C. jejuni*에 특이적인<sup>(1)</sup> C<sub>19:0</sub>(cycle 11 12)가 15~

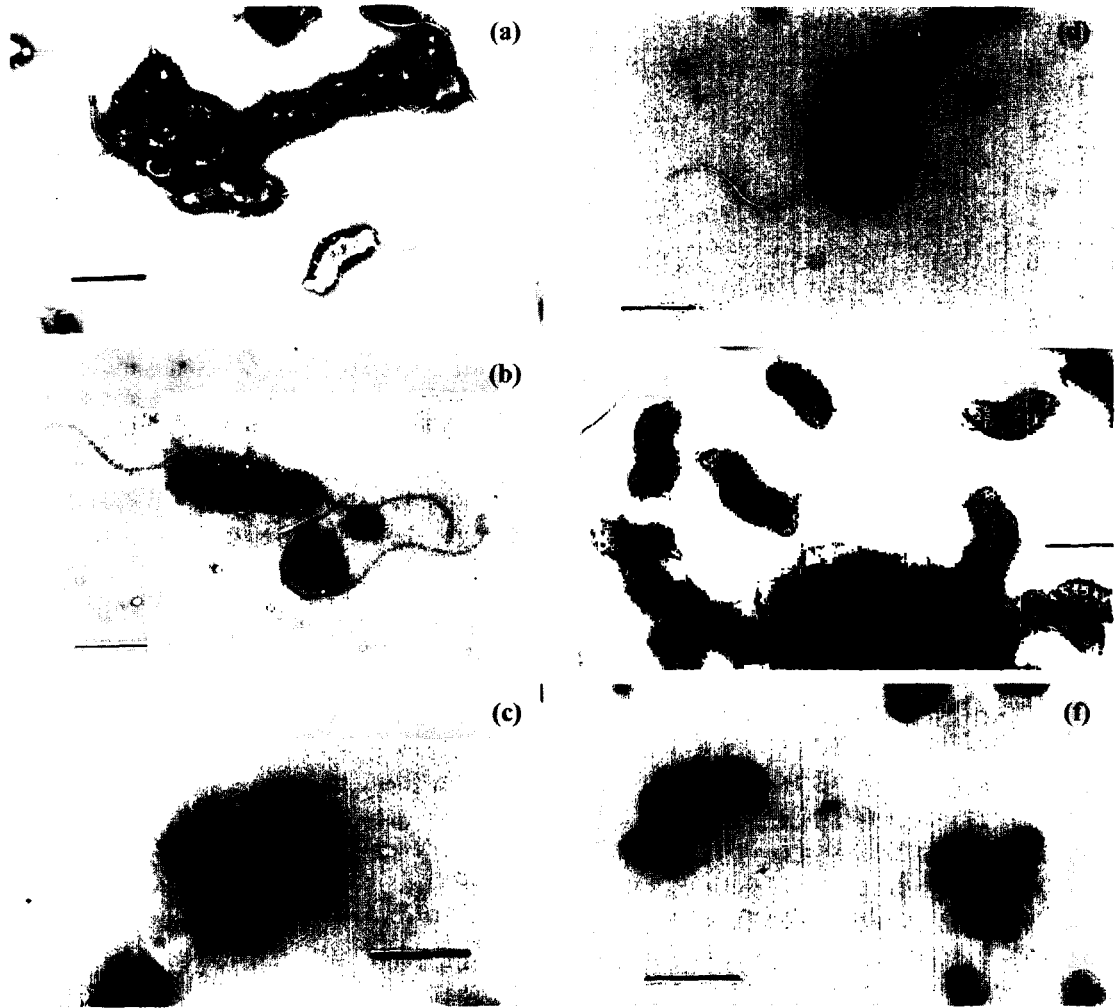


Fig. 2. Negative stained electron micrograph of *Campylobacter jejuni* ATCC 33291 (left) and *C. jejuni* A74/C (right). Bar 1  $\mu$ m. Picture c and f of both strains were prepared from solid cultures of the plate containing defibrinated sheep blood incubated under microaerobic condition at 42°C for 48 hrs before holding at 4°C in ambient atmosphere for 48 hrs, whereas picture a, b, d, e were from liquid cultures of supplemented Brucella broth under microaerobic condition at 42°C for 24 hrs.

Table 1. Cellular fatty acid pattern of *Campylobacter jejuni*<sup>1)</sup> (%)

| Fatty acid              | ATCC 33291 | A74/C |
|-------------------------|------------|-------|
| C <sub>12:0</sub>       | -          | 0.4   |
| C <sub>14:0</sub>       | 14.3       | 11.4  |
| C <sub>16:0</sub>       | 67.0       | 66.5  |
| C <sub>16:1</sub>       | 2.4        | -     |
| C <sub>18:0</sub>       | 1.8        | 2.3   |
| C <sub>19:0</sub> cyclo | 14.5       | 19.4  |
| Total                   | 100        | 100   |

<sup>1)</sup>Values are the percentages of the total named chromatographic area of products in MIDI data (Microbial ID, Inc. Delaware, USA). Harvested pellets were methylated by HCl-methanol and analyzed using the capillary column (Ultra 2 Hewlett Packard) according to the MIDI manual.

20% 함유되어 있었다. 균의 미세구조와 균체지방산 분석 결과 두 균주 사이에 유의할 만한 차이는 발견되지 않았다.

그러나 두 균주의 산소에 대한 민감도를 비교해 본 결과 Fig. 3와 같은 차이를 보였다. 이 실험은, 배양된 두 종의 *C. jejuni* strain를 평판 배지에 단계적으로 희석하여 호기적 조건의 42°C 항온기에 0, 2, 4, 12, 24, 48시간 노출시킨 후 다시 미호기적으로 배양하여 잔존한 균수를 나타낸 것이다. 그 결과 ATCC 33291은 48시간까지 호기조건에 노출하여도 균수에 큰 지장을 받지 않았으나 A74/C는 호기적 조건에 24시간, 48시간

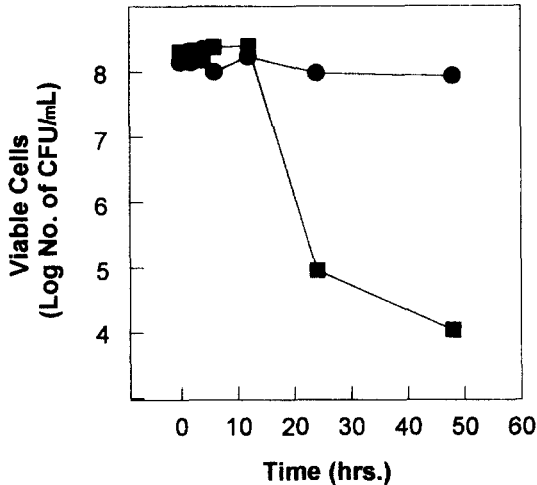


Fig. 3. Oxygen sensitivities of *Campylobacter jejuni* ATCC 33291 and *C. jejuni* A74/C. The inoculated plates were exposed under ambient atmosphere at 42°C for the determined hours and were reincubated under microaerobic condition at 42°C for 48 hrs. ●—●: ATCC 33291, ■—■: A74/C

간 경과 되었을 때 그 균의 잔존율이 현격히 감소되는 것으로 나타났다. 두 균주는 모두 인체 유래의 균종인데 균주에 따라 산소에 대한 내성에는 차이가 있음을 보여 주었다. 앞의 Fig. 1에서, 두 균주 모두 초기 생육기 동안 상당한 정도의 산소에 대한 내성을 나타내었지만, *C. jejuni*는 기본적으로 선택 배지라도 호기적 조건하에서의 평판 배지상에서는 생육이 되지 않는 미호기성이다. 이 실험에서 두 균주의 산소에 대한 민감성의 차이는 호기적 액체배양이나 호기적 조건의 고체 평판 배양으로는 구분되지 않는 정도이며, 평판 배지를 호기적 상태에 노출후 다시 미호기적 상태에서 배양함으로써 구분되는 약간의 차이였다고 생각된다.

초기 pH가 *C. jejuni* ATCC 33291과 A74/C의 생육에 미치는 영향

배지의 처음 pH를 3, 5, 7, 9로 맞춘 후 두 종의 *C. jejuni*를 각각 3% 접종하여 42°C의 미호기성 조건에서 생육을 비교하였다. Fig. 4에서 보여 주듯이 *C. jejuni*의 생육은 pH 7에 가장 전형적인 생육 곡선을 보여 주었고, pH 5와 3에서는 유의할 만한 생육이 관찰되지 않았다. pH 9에서 배양된 시료의 경우 초기에는 pH 7에서 보다 더욱 빠르게 증식되는 듯 했으나, 이후에는 pH 7에서 보다 낮은 생육을 나타내었다. pH 9의 조건은 본 실험에서 적용된 gas generation system에서 생성된 CO<sub>2</sub>에 의해 배지의 pH가 6시간 후 7.7 또는

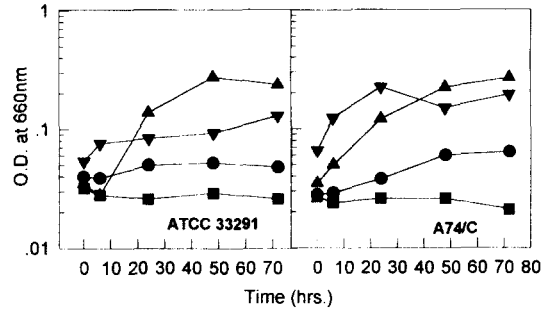


Fig. 4. Growth of *Campylobacter jejuni* ATCC 33291 and *C. jejuni* A74/C at initial pH 3~9 in supplemented Brucella broth containing 3% bovine calf serum under microaerobic condition at 42°C for 72 hrs. ●—●: pH 3, ■—■: pH 5, ▲—▲: pH 7, ▼—▼: pH 9

7.5로 내려가 중성 상태에 이르는 것이 관찰되었기 때문에 엄밀히 alkali 조건에서의 생육이라 할 수 없었다.

호기 상태의 냉장, 실온, 42°C에서 생육 양상

*C. jejuni* ATCC 33291과 A74/C의 정지기 초기의 세포를 FPB Brucella broth에 10<sup>7</sup>/mL, 10<sup>3</sup>/mL이 되도록 접종한 후, 냉장(5°C), 실온(25°C), 최적 온도(42°C)에서 7일간 생육 상태를 관찰한 결과는 Fig. 5과 같았다. 초기 접종량이 10<sup>7</sup>/mL인 경우(5-a), 42°C의 최적온도에서 두 균주 모두 초기 1.1×10<sup>7</sup>과 1.3×10<sup>7</sup> cfu/

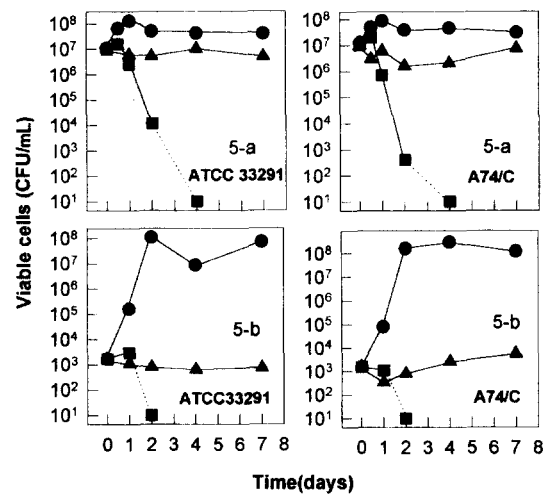


Fig. 5. Survival of *Campylobacter jejuni* ATCC 33291 and *C. jejuni* A74/C in supplemented Brucella broth containing 3% bovine calf serum started with 10<sup>7</sup> (5-a) and 10<sup>3</sup> cfu/mL (5-b) inoculum under aerobic condition at 42°C, 25°C and 5°C for 7 days. ●—●: 42°C, ■—■: 25°C, ▲—▲: 5°C, ...: No *Campylobacter* were detected at the <10-CFU/mL level (minimum level of sensitivity) in the sampling.

mL의 균수로 부터 1일 후에는  $1.3 \times 10^8$ 과  $8.6 \times 10^7$  cfu/mL으로 8~10배의 증식을 보여주었고 7일 경과 후에는  $4.0 \times 10^7$ 과  $3.0 \times 10^7$ cfu/mL으로 약간의 감소를 보여 주었다. 5°C에서는, 두 균주 모두 처음  $10^7$ /mL에서 1일 후  $6.0 \times 10^6$  cfu /mL으로 감소하여 7일에는  $4.9 \times 10^6$ 과  $7.2 \times 10^6$  cfu/mL으로 약간의 감소 추세를 보였다. 그러나 실온으로 설정한 25°C에서는 1일 후  $2.5 \times 10^6$ 와  $7.0 \times 10^5$  cfu/mL으로 감소되기 시작하여 2일 후에는  $1.2 \times 10^4$ 와  $4.0 \times 10^2$  cfu/mL으로 급격히 감소하였다. 이러한 온도에 따른 균의 잔존양상은 처음 접종량을  $10^3$ /mL로 한 실험 결과에서도 같은 경향이 있었다. 즉 Fig. 5-b에서 보는 바와 같이 42°C에서, 초기 세균수가  $1.7 \times 10^8$ 과  $1.6 \times 10^8$  cfu/mL는 급증하여 2일 후에는  $1.1 \times 10^8$ 과  $1.6 \times 10^8$  cfu/mL으로 적은 접종량으로도  $10^7$ /mL 이상의 균수 증식 결과를 보이고 7일 이후에도  $7.2 \times 10^7$ 과  $1.2 \times 10^8$  cfu/mL으로 높은 생균수가 유지되는 것을 보여주었다. 5°C에서는 균이 거의 잔존하는 경향이 있었다. 그러나 25°C에서는 처음 접종 균수  $1.6$ 과  $1.7 \times 10^3$  cfu/mL이 2일 이후부터 급격히 감소하여 2일 이후에는 시료에서 생균수가 거의 검출되지 않는 수준이었다. *Campylobacter jejuni* spp. 는 43°C에서 생육하고 45.5°C에서 약간 자라며 반면 30.5°C, 25°C에서는 생육하지 않는다<sup>1)</sup>. 그러나 본 실험 결과에서 25°C에서의 균수의 감소는 냉장 온도인 5°C에서 처럼 증식이 되지 않는 정도가 아니라 생균수의 급격한 감소이었다. 이는 단순히 미 호기성 균이 산소에 노출되어 있으므로 온도에 비해서 보일 수 있는 화학 반응의 결과가 아니라 25°C에서 어떤 독성물질이 작용하고 있다는 추측을 갖게한다. *Campylobacter* spp. 는 실온에서보다 냉장 온도에서 더 잘 잔존하는 것이 많은 연구에서 보고 되어 있다<sup>20-26)</sup>. 그러나 *C. jejuni*의 25°C 하에서의 사멸 원인에 대한 연구는 그다지 많지 않으며 논의도 상반되고 있다. 여러 가지 배지의 비슷한 실험에서도 실온부근에 *C. jejuni*의 생육이 민감했기 때문에 이들의 사멸이 영양 성분에 의한 것이기 보다 온도에 의존하는 것이 아닌가 생각해 볼 수 있다. 즉 42°C에서는 독성 대사물이 생성되지 않거나 또는 생성되더라도 균의 증식에 의해 제거되는데 비하여 25°C에서는 균이 산소나 세포 내외의 독성 대사물에 그대로 노출될 뿐이고, 4°C에서는 산소나 독성 대사물이 반응하기에 낮은 온도가 아닌가 생각해 볼 수 있다. 또는 lytic enzyme의 활성이 25°C 부근일 경우도 고려해 볼 수 있겠다.

우유와 닭고기에 첨가시 잔존 양상

Fig. 6과 Fig. 7는 우유과 닭고기에 *C. jejuni*의 균을  $10^7$ /mL되도록 첨가하여 5, 25, 42°C에서 7 또는 14일간 보관하면서 변하는 생균수를 표시한 것이다. 먼저 시중에 유통되는 UHT (130°C에서 2~3초간)로 시판 우유를 별도 처리없이 이용하여 *C. jejuni*의 균수 변화를 관찰 했을 때(Fig. 6-a), 42°C에서 처음  $1.1 \sim 3.0 \times 10^7$  cfu/mL에서 1일 후 42°C에서는  $8.0 \sim 8.8 \times 10^7$  cfu/mL까지 증식하다가 배양 7일에 검출되지 않았고, 25°C에서는 FPB Brucella broth (Fig. 5)에서 처럼 급격히 감소하였다. 이 우유는 4일 이후부터 42°C와 25°C에 다른 호기성 일반세균이 생육되었고 따라서 혼합배양의 형태가 되었다고 볼 수 있다. 한편 110°C에서 10분 살균하여 사용한 우유 시료에  $10^7$ /mL의 균을 접종했을 때(Fig.6-b), ATCC 33291의 경우 42°C에서 초기 증식이 지난 후 7일 경과에  $5.2 \times 10^6$  cfu/mL로 감소하였고, 25°C에서는 급격한 감소를 보였고 4°C에서는 역시 25°C에서 보다 균이 더욱 잔존하는 경향을 보였다. A 74/C는 25°C에 있어서 약간 더 감소되었다.

가열처리하지 않은 닭고기와 110°C에서 10분간 가열처리한 닭고기에  $10^7$ /mL 균을 접종하여 균의 증식 정도를 조사한 결과(Fig. 7), 생 닭고기에서는 42°C의 조건에서의 경우 1일 이후부터 *C. jejuni*의 생육은 거의 관찰되지 않았다(Fig. 7-a). 또 25°C에서는 그 보다 완만하기는 하나 균수의 급격한 감소가 관찰되었다

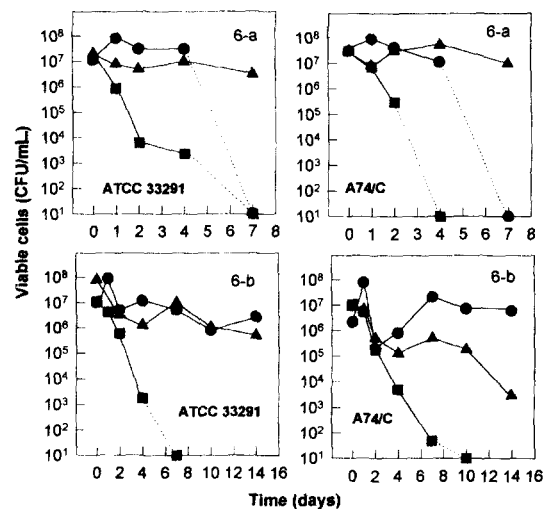
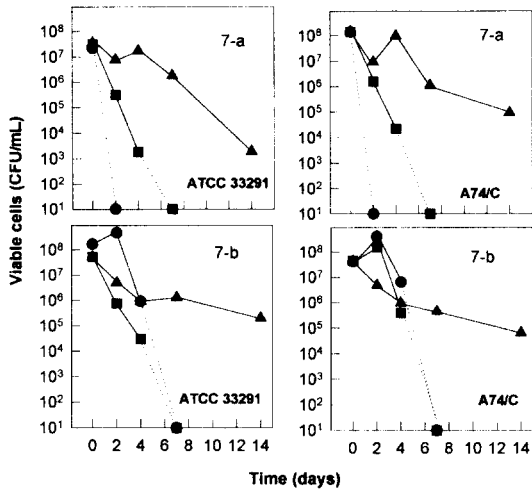


Fig. 6. Survival of *Campylobacter jejuni* ATCC 33291 and *C. jejuni* A74/C in a maket milk (6-a) and heated milk (6-b) inoculated with  $10^7$  CFU/mL under aerobic condition at 42°C, 25°C and 5°C for 14 days. ●—●: 42°C, ■—■: 25°C, ▲—▲: 5°C, ....: No *Campylobacter* were detected at the  $<10^1$ -CFU/mL level (minimum level of sensitivity) in the sampling.



**Fig. 7. Survival of *Campylobacter jejuni* ATCC 33291 and *C. jejuni* A74/C in raw (7-a) and heated chickens (7-b) inoculated with  $10^7$  CFU/mL under aerobic condition at  $42^\circ\text{C}$ ,  $25^\circ\text{C}$  and  $5^\circ\text{C}$  for 14 days. ●—●:  $42^\circ\text{C}$ , ■—■:  $25^\circ\text{C}$ , ▲—▲:  $5^\circ\text{C}$ , ...: No *Campylobacter* were detected at the  $<10$ -CFU/mL level (minimum level of sensitivity) in the sampling.**

이러한 *C. jejuni*의 증식 억제는 *C. jejuni*가 다른 호기성균과 혼합되어 있을 때 생육이 저하되기 때문으로 생각된다<sup>(27,28)</sup>.  $5^\circ\text{C}$ 의 냉장온도에서는 처음  $3.5 \times 10^7$ 과  $1.4 \times 10^8$  cfu/g에서 7일 후  $1.8 \times 10^6$ 과  $1.1 \times 10^6$  cfu/g으로 역시 상당한 균이 잔존하였으며, 이후 14일 경과후  $1.9 \times 10^3$ 과  $9.3 \times 10^4$ /g으로 다른 배지의 경우에 비해 비교적 현저히 감소되었다.

가열 처리한 닭고기 시료에 *C. jejuni*는(Fig. 7-b),  $42^\circ\text{C}$ 에서 2일까지는 활발한 생육을 보였으나, 4일 이후는 균수가 급격히 감소하여 7일에는 거의 검출되지 않았다.  $25^\circ\text{C}$ 에서는 Brucella broth나 우유에서 보다 비교적 많은 수의 균이 잔존되었으나 7일 이후에는 역시 거의 검출되지 않았다.  $5^\circ\text{C}$ 에서는 실험구 중 유일하게 14일 까지 상당량의 균수가 잔존하였다. 가열 처리된 닭고기 시료에서  $42^\circ\text{C}$  4일 이후 *C. jejuni*의 생육이 급격히 저하되는 현상은 예측하지 못한 결과였다.

Blankenship과 Craven<sup>(21)</sup>은 유사한 실험에서 *C. jejuni*가  $37^\circ\text{C}$ 에서는 생육이 유지되었으나  $43^\circ\text{C}$ 에서는 균수가 급격히 감소되는, 본 실험과 같은 경향을 보고하였다. *C. jejuni*의 생육에 최적온도인  $42^\circ\text{C}$ 의 닭고기 시료에 접종된 균이 4일 이후 검출되지 않은 것은 혹시 '배양은 되지 않으나 살아있는 상태(viable but non-culturable, VBNC)<sup>(29)</sup>의 식중독으로의 감염이 가능한 세포 형태가 아니었을까하는 추측도 가능하다.  $42^\circ\text{C}$ 에서 4~14일이 경과한 닭고기 시료는 고기가 분

해되어 거의 액체상태의 시료로 변해 있었으며 이때 닭고기 시료들의 최종 pH는 7.0~8.0이었기 때문에 배양과정 중 pH에 의한 저해는 없었으리라 여겨진다. 만일  $42^\circ\text{C}$ 에서 *C. jejuni*의 VBNC가 증식되었다면 식중독 전염의 가능성은 여전히 남아있다.

왜 *C. jejuni*의 사멸이 냉장온도보다 실온에서 더 잘 일어나느냐 하는 문제는 *C. jejuni* 균주의 생리에 있어서 흥미로운 과제로 여전히 남겨진다. 실험에 사용된 닭고기 시료는 다진 고기가 묻혀진 고체 형태를 이뤘고 지방 함량이 많아 실온이하에서는 굳은 형태이었다. 이 시료에서 우유등 다른 액체 시료에 비해  $25^\circ\text{C}$ 에서의 균의 사멸이 완만했다는 점은 산소와 관련된 독성 대사물에 의한 가능성을 시사한다. *C. jejuni*가 냉장온도에서는 생육이 보존되고 실온에서는 오히려 2~3일 후 균의 생육이 저하된다는 특징은 *Campylobacter* spp.의 매개 가능성이 큰 식품의 유통이나 취급에 있어서 식품 위생학적으로 중요한 결과가 될 수 있다고 생각된다.

## 요 약

인체장염 유발균으로 최근 문제가 되고 있는 미호기성 식중독균 *Campylobacter jejuni*의 오염 방지와 식품속에서의 검출을 위한 실험으로서 두종의 인체 유래 *C. jejuni*를 이용하여 증균 선택배지에서의 증식과 우유, 닭고기등에서의 첨가 후의 잔존 양상을 온도별로 조사하였다. *C. jejuni*는 Supplemented Brucella Broth (SBB)에서 호기적 조건에서도 최적조건인 미호기적 배양에 비해 60~80% (24 시간)의 생육이 관찰되었다. SBB에 *C. jejuni*를 생균수가  $10^7$  cfu/mL과  $10^3$  cfu/mL 되도록 접종하여 호기조건에서 42, 25,  $5^\circ\text{C}$ 에서 7일간 배양하였을 때  $42^\circ\text{C}$ 에서는  $10^7$  cfu/mL과  $10^3$  cfu/mL 접종시료 모두 1~2일 후  $>10^8$ 으로 급격히 증가하다가 7일에는  $>10^7$ 으로 유지되었다.  $5^\circ\text{C}$ 에서는 배양 초기 접종된 양을 거의 유지하다가 7일 경과후에  $<1/2\log_{10}$  정도가 감소하였다.  $25^\circ\text{C}$ 에서는 1~2일 이후 급격히 감소하여 4일 이후에는 균이 거의 검출되지 않는 수준이었다. 가열 처리된 우유와 잘게 썰은 닭고기에  $10^7$ /mL 되도록 균을 접종한 후 42, 25,  $5^\circ\text{C}$ 에서 14일간의 생균수의 변화를 조사한 결과, 우유에서는 SBB에서와 유사한 결과를 보였고, 닭고기에서는  $42^\circ\text{C}$ 의 최적조건에서 4일 이후 균이 검출되지 않으나 균의 생육이 유지된  $4^\circ\text{C}$ 의 냉장조건과 대조를 이뤘다. 이상의 결과에 의하여 *C. jejuni*가 오염된 식품이 유통되고 취급될 때 냉장온도에서 가장 그 생육이 안정하

게 보존되며, 실온에서는 생육이 불안정하여, 식품에 따라 최적온도에서도 생육양상이 다르다는 것을 알 수 있었다.

## 문헌

- Smibert, R.M.: Genus *Campylobacter*. Sebald and Véron 1963, 907. In *Bergey's manual of systematic bacteriology*, Krieg N.R. and Holt J.G.(ed.), Williams and Wilkins Co. Baltimore, Vol 1. p.111-118 (1984)
- Tenover, F.C. and Fennell, C.L.: The Genera *Campylobacter* and *Helicobacter*. In *The prokaryotes*, 2nd ed. Balows, A., Truper, H. G., Harder, W., Schleifer, K. H. (Ed.). Springer-Verlag, New York Inc., Vol. IV p.3488-3511 (1991)
- King, E.O.: Human infections with *Vibrio fetus* and a closely related *Vibrio*. *J. Inf. Dis.*, **101**, 119-128 (1957)
- Dekeyser, P.M., Gossuin-Detrain, M., Butzler, J.P. and Sternon, J.: Acute enteritis due to related *Vibrio*: first positive stool cultures. *J. Inf. Dis.*, **125**, 390-392 (1972)
- Butzler, J.P., Dekeyser, P., Detrain, M. and Dehaen, F.: Related *Vibrio* in stools. *J. Pediatr.*, **82**, 493-495 (1973)
- Bryan, F.L. and Doyle, M.P.: Health risks and consequences of *Salmonella* and *Campylobacter jejuni* in raw poultry. *J. Food Protect.*, **58**, 326-344 (1995)
- The national advisory committee on microbiological criteria for foods: *Campylobacter jejuni/coli*. *J. Food Prot.*, **57**, 1101-1121 (1994)
- Smith J.L.: Arthritis, Guillani-Barré syndrome, and other sequelae of *Campylobacter jejuni* enteritis. *J. Food Prot.*, **58**, 1153-1170 (1995)
- Centers for disease control: *Campylobacter* isolates in the United States, 1982-1986. *Morbidity and Mortality Weekly Rep.* 37 (no.SS-2): p.1-13 (1988)
- Robinson, D.A.: Infective dose of *Campylobacter jejuni* in milk. *Br. Med. J.*, **282**, 1584 (1981)
- Oh, J.S., Shin, K.S., Yoon, Y.D. and Park, J.M.: Prevalence of *Campylobacter jejuni* in broilers and chicken processing plants (in Korean). *Kor. J. Food. Hygiene*, **3**, 27-36 (1988)
- Lee, H.S. and Choe, T.B.: Morphologic conversion of *Helicobacter pylori* from Bacillary to Coccoid by environmental stress (in Korean). *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **25**, 240-247 (1997)
- Yun, S.K. and Hwang S.Y.: Characteristics of ATPases present in everted membrane vesicles of *Helicobacter pylori*. *J. Microbiol. Biotechnol.*, **7**, 167-173 (1991)
- Doyle, M.P. and Roman, D.J.: Recovery of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from inoculated foods by selective enrichment. *Appl. Environ. Microbiol.*, **43**, 1343-1353 (1982)
- Stern, N.J., Bailey, J.S., Blankenship, L.C., Cox, N.A. and McHan F.: Colonization characteristics of *Campylobacter jejuni* in chick ceca. *Avi. Dis.*, **32**, 330-334 (1988)
- Humphrey T., Mason, M. and Martin, K.: The isolation of *Campylobacter jejuni* from contaminated surfaces and its survival in diluents. *Int. J. Microbiol.*, **26**, 295-303 (1995)
- Christopher, F.M., Smith, G.C. and Vanderzant, C.: Effect of temperature and pH on the survival of *Campylobacter fetus*. *J. Food Prot.*, **45**, 253-259 (1982)
- Hazeleger, W.C., Janse, J.D., Koenraad, P.M.F.J., Beumer, R.R., Rombouts, F.M. and Abee, T.: Temperature-dependent membrane fatty acid and cell physiology changes in coccoid forms of *Campylobacter jejuni*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **61**, 2713-2719 (1995)
- Moran, A.P. and Upton, M.E.: A comparative study of the rod and coccoid forms of *Campylobacter jejuni* ATCC 29428. *J. Appl. Bacteriol.*, **60**, 103-110 (1986)
- Doyle, M.P. and Roman, D.J.: Response of *Campylobacter jejuni* to sodium chloride. *Appl. Environ. Microbiol.*, **43**, 561-565 (1982)
- Blankenship, L.C. and Craven, S.E.: *Campylobacter jejuni* Survival in chicken meat as a function of temperature. *Appl. Environ. Microbiol.*, **44**, 88-89 (1982)
- Barrell, R.A.E.: The survival of *Campylobacter coli/jejuni* in unpasteurised milk. *J. Infect.*, **3**, 348-352 (1981)
- Curtis, L.M., Patrick, M. and de W. Blackburn, C.: Survival of *Campylobacter jejuni* in foods and comparison with a predictive model. *Lett. Appl. Microbiol.*, **21**, 194-197 (1995)
- Blaser, M.J., Hardesty, H.L., Powers B. and Wang W.L.: Survival of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* in biological milieus. *J. Clin. Microbiol.*, **11**, 309-313 (1980)
- Svedhem, Å., Kaijser, B. and Sjogren, E.: The occurrence of *Campylobacter jejuni* in fresh food and survival under different conditions. *J. Hyg. Camb.*, **87**, 421-425 (1981)
- Doyle, M.P. and Roman, D.J.: Sensitivity of *Campylobacter jejuni* to drying. *J. Food Prot.*, **45**, 507-510 (1982)
- Aquino, M.H.C., Carlos, J.P., Tibana, A. and Franco, R. M.: *Campylobacter jejuni/coli*: Methodology of isolation and possible interfering factors in primary culture. *J. Food Protect.* **59**, 429-432 (1996)
- Doyle, M.P. and Roman, D.J.: Prevalence and survival of *Campylobacter jejuni* in unpasteurized milk. *Appl. Environ. Microbiol.*, **44**, 1554-1158 (1982)
- Bovill, R.A. and Mackey, B.M.: Resuscitation of 'non-culturable' cells from aged cultures of *Campylobacter jejuni*. *Microbiol.*, **143**, 1575-1581 (1997)