

유통 샐러드중의 병원성 미생물 오염 실태조사

박용배 · 강정복 · 김중범 · 김종찬
경기도보건환경연구원 북부지원

Isolation and Identification of Pathogenic Bacteria from Salads of Fast Food Restaurants

Yong-Bae Park, Jeong-Bok Kang, Jung-Beom Kim, Jong-Chan Kim
North branch kyonggi-do Institute of Health & Environment

Abstract

On the purpose of epidemiological survey relate to food poisoning, a total of 114 samples of different salads collected from fast food Restaurants in Gyeonggi-do were for the presence of pathogenic microorganisms. Microbial assessment of salads revealed that TPC($1.1 \times 10^6 \sim 8.4 \times 10^5$ CFU/g) and coliforms($0 \sim 5.4 \times 10^4$ CFU/g) exceeded the standards by Solberg et al.(TPC: 10^5 CFU/g, coliforms: 10^2 CFU/g).

Two pathogenic bacteria were isolated from salad samples, and identified by biochemical methods, including API identification systems.

Isolates from PALCAM agar and MYP agar media were in 98.6, 99.8% agreements with *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* at the species level, respectively. All 7 strains of *Bacillus cereus* isolates produced enterotoxin as revealed with CRET-RPLA.

Key words : salad, pathogenic bacteria, identification, CRET-RPLA

I. 서 론

현대사회가 발전함에 따라 여성들의 사회참여도가 높아졌으며 이로 인한 가정내 식습관에 많은 변화가 생겼다. 즉, 외식횟수가 점차로 증가되는 추세이며 짧은 시간 내에 간편하게 조리할 수 있는 식품에 대한 요구가 높아졌다¹⁾. 따라서 국민들이 외식에 의존하는 빈도가 점차 증가하게 되었고 오늘날 외식업소가 국민들의 중요한 식생활을 담당하게 되었다²⁾.

외식산업은 대표적인 서비스산업으로 1980년부터 꾸준히 증가하고 있는데³⁾ 이중 가장 급신장세를 보인 것이 패스트푸드점(fast food restaurant)이다⁴⁾.

오늘날의 식중독 사고는 거의 가정에서 소규모로 발생했던 과거와는 달리 최근 외식의 기회가 증가함에 따라 집단식중독 발생이 점차로 증가하고 있으며, 그 규모도 대형화되고 있는 추세이다⁵⁾.

우리나라에서의 총 식중독 환자발생건수는 2001년은 93건에 6,406명이, 2002년에는 78건에 2,980명

의 환자가 발생하였다. 2003년은 총 135건이 발생하여 총환자수는 7,909명이었고 학교급식소, 집단급식소, 음식점이 113건에 7,571명을 차지하여 집단화, 대형화 하고 있다⁶⁾. 따라서 식품의 안전성과 품질이 사회적 문제로 크게 대두되고 있으며 이에 대한 대비책이 시급한 국가적 과제로 부상하고 있다.

최근 식품산업의 급격한 발전으로 인하여 소비자들의 건강에 대한 인식이 증가함에 따라 영양가가 높으면서 맛이 있는 식품을 선호하게 되었다. 그 중에서도 야채류는 인간의 무병장수를 위한 건강식품의 소재로서 날로 관심이 높아지고 있다. 일반적으로 최소가공야채류는 간단하게 숙음, 껍질 벗김, 얇게 잘라냄, 세척 등의 방법을 사용하여 만들어지며 완제품은 포장을 하여 냉장저장을 한다. 이러한 RTU (ready-to-use)야채류는 최소가공을 한 후에도 자체 내에 미생물을 갖고 있으며 식품의 안전성에 심각한 문제를 야기 시키는 식중독균도 포함되어 있다⁷⁾.

대부분의 야채류는 물을 함유하고 있으므로 미생물이 증식하기에 적당하기 때문에 실제로 많은 병원성세균이 샐러드 야채에서 분리 된다⁸⁾. *Bacillus cereus*, *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia enterocolitica*, *Clostridium botulinum* 등은 냉장보관 시 생존과 성장이 가능⁹⁾하므로 냉장보관 또한 장시간 보관 시 식품 위생적 측면에서 바람직하지 않는 상황이 초래될 수 있다. 이에 식품의 품질과 안전성에 관한 새로운 대책기술의 필요성이 요구되고 있다. 그러한 기술의 하나로 예측미생물학(Predictive food microbiology)의 중요성이 대두되게 되었다. 최근 들어 미국과 유럽을 중심으로 대단히 활발한 연구가 이루어지고 있다. 지금까지의 상당한 시간과 인력 그리고 경비가 소요되는 미생물 접종시험 및 보존시험을 대체하여 식품의 원재료로부터 소비에 이르기까지의 전과정중에 병원성 미생물의 성장에 대하여 수학적 모델을 이용한 예측과 제어가 가능하기 때문에 대상 식품중의 병원성 미생물의 정량적 위험도평가(Quantitative risk assessment)를 위한 저비용의 유효 수단으로 인정되고 있다¹⁰⁾.

또한 식품의 안전성을 확보하기위해 지금까지의 일반적 위생관리 기준만으로 부족하였다. 따라서

이를 보완하기위한 국제적 기준으로서 HACCP (Hazard analysis critical control point) 시스템¹¹⁾이 도입되어 합리적이고 과학적인 위생관리체계^{12,13)}로 인식되기에 이르렀다.

그러나 HACCP은 현장마다 그 상황에 맞게 충분한 위해분석이 이루어진 후 원안을 만들어야 하므로 모범사례가 제각각이고 HACCP에 관한 기초자료나 정보수집이 안되어 어려운 경우가 많다¹⁴⁾. 국내외적으로는 1990년대 들어 HACCP을 적용, 실시하는 생산업체는 전반적으로 증가하였으나 국내 적용에 관한보고는 미흡한 실정이다.

이에 본 연구는 패스트푸드점에서 판매되는 샐러드에 대해서 미생물학적 품질을 평가하기 위하여 일반세균, 대장균군 및 병원성세균을 분리하여 잠재적 위해를 조사함으로써 위생적인 관리체계 확립을 위한 기초 자료로 활용하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 조사대상

본 연구는 경기북부지역의 패스트푸드점에서 판매되고 있는 샐러드를 구입하여 얼음을 채운 아이스박스로 운반하고 6시간 이내에 균 분리 실험에 사용하였다.

2. 검사방법

2.1 시료 전처리

샐러드 25g을 무균적으로 취하여 멸균생리식염수 225ml를 가하여 stomacher(Bagmixer 400, Interscience, USA)로 균질화한 후 시험용액으로 하였다.

2.2 미생물 검사

2.2.1 총균수(Total plate count)

시험용액을 10 단계 희석법에 따라 희석하여 각 희석액을 멸균 Petri dish 2매에 각각 1 ml 를 분주한 후 Plate Count agar (Difco, USA)를 무균적으로 분주하여 시험용액과 배지를 잘 혼합한 다음 냉각 응고시키고 배지를 중첩시켜 확산집락의 발생을 억제시킨 후 냉각 응고시킨 Petri dish는 3

5℃ 에서 48시간 배양한 후 1개 평판 당 30~300개의 집락(colony)을 생성한 평판을 택하여 g 당 집락수를 계산하였다.

2.2.2 대장균군수(Coliforms)

시험용액을 10단계 희석법에 따라 희석하여 각 희석액을 Petri dish 2매에 각각 1 ml 를 분주한 후 Desoxycholate Lactose agar(Difco, USA)를 무균적으로 분주하여 시험용액과 배지를 잘 혼합한 다음 냉각 응고시키고 배지를 중첩시켜 확산집락의 발생을 억제시킨 후 냉각 응고시킨 Petri dish 는 35℃에서 22시간 배양한 후, 생성된 집락중 적색의 전형적인 집락이 1개 평판 당 30~300개의 집락(colony)을 형성 한 평판을 택하여 g 당 집락수를 계산하였다.

2.2.3 대장균(Escherichia coli)

시험용액 1ml를 EC broth(Difco, USA)에 접종하고 44.5℃ 에서 24시간 배양하여 가스발생을 인정한 발효관에서 1백급이를 EMB agar(Difco, USA)에 도말하고 35℃ 에서 24시간 배양하여 전형적인 집락을 확인하고 그람염색과 API 20E test kit(bio Merieux, France)를 이용하여 생화학 시험을 하여 대장균 양성을 판정하였다

2.2.4 병원성 세균의 분리

*Listeria monocytogenes*는 샐러드 25g을 무균적으로 취하여 Listeria Enrichment broth(Difco, USA) 225 ml 를 가하고 stomacher로 균질화한 후 30℃ 에서 24시간 배양하여 PALCAM agar(Oxoid, England)에 획선 도말하여 35℃ 에서 24시간 배양한 후 전형적인 집락을 선택하였다.

*Bacillus cereus*는 샐러드 25g을 무균적으로 취하여 멸균인산완충희석액 225ml를 가하여 stomacher로 균질화한 후 MYP agar(Oxoid, England)에서 획선 도말하여 35℃에서 24시간 배양한 후 전형적인 집락을 선택하였다.

*Salmonella, Shigella, Vibrio parahaemolyticus, Yersinia enterocolitica, Staphylococcus aureus, Clostridium perfringens, Campylobacter jejuni*도 식품공전¹⁵⁾과 감염성실험실진단지침¹⁶⁾에 따

라 실험하였다.

2.2.5 병원성 세균의 동정

*L. monocytogenes*는 PALCAM agar에서 후색의 환을 가진 전형적인 집락을 선택 0.6% yeast extract가 첨가된 Tryptic Soy agar(TSA-YE)와 Blood agar에 streaking하고 35℃ 에서 24시간 배양한 후 β-hemolysis를 나타내는 균주에 대하여 Gram stain, Catalase, Oxidase test를 실시하였으며, CAMP test와 API Listeria test kit(bio Merieux, France)를 이용 생화학 시험을 하여 동정하였다.

*B. cereus*는 MYP agar에서 혼탁한 환을 갖는 분홍색 집락을 선별하여 Tryptic Soy agar(TSA)와 Blood agar에 streaking하여 β-hemolysis를 나타내는 균주에 대하여 Gram stain, Catalase test를 실시하였으며, API 50CHB와 API 20E test kit(bio Merieux, France)를 이용 생화학 시험을 하여 동정하였다.

2.3 중합 효소 연쇄반응(Polymerase Chain Reaction:PCR)을 이용한 균주 확인시험

2.3.1 균주의 준비

대장균은 가스가 생성된 EC broth에서 1 백급이를 취하여 MacConkey agar에 획선 도말하고 35℃ 에서 24시간 배양하여 적색의 전형적인 집락을 선택하여 TSA 배지에 35℃ 에서 24시간 계대 배양하였다. *L. monocytogenes*로 동정된 균주는 TSA-YE 배지로 *B. cereus*로 동정된 균주는 TSA 배지로 35℃ 에서 24시간 계대 배양하였다.

2.3.2 DNA의 분리

TSA-YE와 TSA 배지의 균주 1 백급이를 TE buffer(10 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA ; pH 7.6) 1 ml 에 부유시킨 다음 95℃ 에서 10분간 열처리하여 균질화 시킨 후 10,000 rpm 에서 10분간 원심분리 하여 상층액을 사용하였다.

2.3.3 PCR 증폭반응

균주의 확인 시험을 위하여 *L. monocytogenes*

는 *Iap* gene에서 증폭된 DNA가 454bp 인 LM primer (Kogenbiotec, Korea), *B. cereus*는 Bce T gene에서 증폭된 DNA가 303bp 인 BC primer (Kogenbiotec, Korea)를 사용 PCR을 실시하였으며, PCR mixture는 10 mM Tris-HCl, 1.5 mM MgCl₂, 40 mM KCl, 0.001% gelatin, 250 μM dNTP, primer 30 pM, 1 U Taq polymerase를 함유하도록 조제하여 사용하였다. 반응액에 5μl의 target DNA를 가한 후 94°C 2분, (94°C 30초, 60°C 30초, 72°C 30초) 35 cycle 반복하였으며 72°C에서 5분간 정치하였다.

2.3.4 전기영동

증폭된 DNA는 loading buffer와 혼합하여 2% agarose gel에 TBE 완충액(100 mM Tris-HCl, 83 mM boric acid, 1 mM EDTA; pH 8.3)을 사용하여 110 volt로 50분간 전기영동 시키고, ethidium bromide로 염색하여 자외선 투조기 상에서 Polaroid film으로 사진을 찍어 관찰하였다.

2.4 독소확인시험

*B. cereus*의 enterotoxin 생성능은 CRET-RPLA (Denkaseiken, Tokyo, Japan)을 사용하여 제조회사의 사용설명서에 따라 enterotoxin을 확인하였다. Enterotoxin을 측정하기 위하여 *B. cereus*는 Brain Heart Infusion broth (Difco, USA)배지에서 32°C에서 6시간 진탕배양(rotary shaker 110 rev/min, Universal, Korea)하여 상등액을 취한 후 enterotoxin 생성능 시험에 사용하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 미생물검사

1.1 총균수

미생물 분석결과 원재료의 총균수는 $1.1 \times 10^1 \sim 8.4 \times 10^5$ CFU/g으로 샐러드의 종류에 따라 큰 차이를 나타내었다. Solberg¹⁷⁾ 등이 제시한 배식단계 음식의 기준치인 총균수 10^5 CFU/g 이하를 만족시켰으나 최상의 원료구입과 냉장보관, 위생적인 기구사용 등으로 미생물의 증식방지에 노력해야 하

겠다.

1.2 대장균균수

샐러드의 대장균균수는 $0 \sim 5.4 \times 10^4$ CFU/g으로 패스트푸드점별, 종류에 따라 큰 차이를 나타내었으며, 샐러드 71건(62.3%)에서 대장균이 검출되었다.

Solberg¹⁷⁾ 등이 제시한 배식단계 음식의 기준치인 대장균균수 10^2 CFU/g 과 비교하면 조사대상 114개 중 32개(28%)제품이 기준치를 초과하였으며 최고 5.4×10^4 CFU/g의 대장균균수가 검출되었다.

대장균군중 *Escherichia coli*, *Kleb-siella pneumoniae*는 분변 유래균이며, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*는 분변 및 자연계에 모두 존재하는 균이다¹⁸⁾. 따라서 샐러드는 가열 조리과정 없이 섭취하는 식품임으로 대장균군이 검출된 것은 식품의 안전성에 위험이 된다고 사료된다.

1.3 대장균(Coliforms)

대장균은 분변 유래균이며 독소, 부착인자 생성 및 임상증상 등에 따라 병원성대장균은 EPEC(Enteropatho-genic *E. coli*), ETEC(Enterotox-genic *E. coli*), EHEC(Enterohaemorrhagic *E. coli*), EIEC(Enteroinvasive *E. coli*), EAggEC(Enter-aggregative *E. coli*)등으로 분류 된다^{19,20)}. 본 실험에서는 샐러드 검체 114건 중 19건(16.7%)에서 대장균이 검출되었으며 PCR (GENECHASER™ *E. Coli* Test, RapiGEN, Korea)법으로 병원성대장균을 검사한 결과 EAEC, ETEC, EHEC, EPEC, EIEC는 검출되지 아니 하였다.

1.4 병원성 세균의 분리 및 동정

대부분의 야채는 물을 함유하고 있으므로 미생물이 증식하기에 적당하여 많은 병원성 세균이 샐러드 야채에서 분리되었다⁸⁾. 따라서 본 연구에서는 식중독에 대한 안전성을 확보하기 위해 식중독 원인균의 분포를 조사하였다.

*L. monocytogenes*는 열에 비교적 저항력이 강하고 냉장고의 온도에서 성장할 수 있어 안전하다고 생각되는 냉장 저장 식품을 통해 식중독을 발

생시키면서 건강한 사람에게는 치사율이 30%, 노약자와 면역력이 약해진 사람에게는 70%로써 상당히 독성이 강한 균주로서 알려져 있다²¹⁾. 샐러드 1건에서 검출된 *L. monocytogenes*는 Table 1. 과 같이 그람 양성, Motility 양성, Catalase 양성, Oxidase 음성, Esculin 가수분해, Hemolysis 양성, Rhamnose 양성, CAMP test 양성으로 API Listeria test kit을 이용해 동정한 결과 98.6%의 상동성을 보였다. 미국이나 영국에서는 *L. monocytogenes*가 검출되어서는 안 된다고 규정하여 관리하고 있다²²⁾. 본 조사에서 샐러드를 통한 listeriosis가 발생할 가능성이 있음이 밝혀졌다. 따라서 식품원료가 이 균에 오염되지 않도록 최대한 방지하는 것이 최적의 예방법이라고 사료된다.

*B. cereus*는 오심, 구토, 복부경련, 설사를 일으키는 식중독의 원인균으로¹⁶⁾ 본 조사에서는 114개 제품 중 7개 제품(6.14%)의 샐러드에서 검출되었다.

*B. cereus*는 Table 2.와 같이 그람양성 포자형성

Table 1. Characteristics of *Listeria monocytogenes* isolation from salads using PALCAM agar

Characteristics	Results
Gram stain	+ ¹⁾
Shape	rod
Motility at 25 °C	+
Catalase	+
Oxidase	- ²⁾
Hemolysis	+
CAMP test	+
Esculin hydrolysis	+
α-Mannosidase	+
D-Arabitol	+
D-Xylose	-
Rhamnose	+
α-Methyl D-glucoside	+
Ribose	-
Glucose 1 phosphate	-
D Tagatose	-

¹⁾ : Positive ²⁾ : Negative

균으로 Catalase 양성, Lecithinase 양성, Motility 양성, Hemolysis 양성균으로 Glucose, Fructose, Starch, Lactose를 분해하고 Lysine, Ornithine, Xylitol 등 음성을 나타내었다.

그러나 *B. cereus* 7 균주의 생화학적 성상은 D-Mannose, Amygdalin, Saccharose, Gentiobiose, Gluconate를 분해하는 균종과 분해하지 않는 균종으로 나타났으며, API 50CHB에 99.8%의 상동성을 보였다. *B. cereus*균은 전 세계적으로 널리 분포되어 있는 식중독균이며, cook-chill 야채식품에서 지배적인 호기성균으로 보고되고 있다²³⁾. 10°C와 20°C에서 저장한 cook-chill 제품에서는 증식하였으나 4°C에서 저장한 제품은 *B. cereus*가 검출되지 않았다는 보고²⁴⁾가 있다. 따라서 원료 야채류에 대한 오염방지로 충분한 세척 및 항균 처리와 3°C이하로 냉장 저장하여 식중독을 예방하여야겠다.

2. PCR을 이용한 *L. monocytogenes*와 *B. cereus*의 확인시험

PCR은 최근 들어 환경중의 미생물을 동정하는데 효과적인 도구로 사용되어지고 있다²⁵⁾. 또한 각종 병원체를 신속히 검출하고 동정하는데 이용되고 있다. 본 조사에서는 생화학적 시험방법을 통해 검출된 *L. monocytogenes*와 *B. cereus*에 대하여 PCR을 이용하여 확인하였다.

*L. monocytogenes*는 Fig. 1.과 같이 Iap gene을 증폭하는 LM primer를 사용 454bp band를 확인하였고, *B. cereus*는 Fig. 2.와 같이 Bce T gene을 증폭하는 BC primer를 사용 303bp band를 확인하였다.

3. Enterotoxin 확인

샐러드에서 분리된 *B. cereus* 7균주는 모두 enterotoxin을 생성하였다. 저온성 *B. cereus*의 91%가 cytotoxin을 생성하고 CRET-RPLA와 ELISA immunoassay에서 51%와 85%가 독소를 생성한다고 보고한 바 있으며²⁶⁾, *B. cereus* 식중독은 요리도중 생존한 포자가 발아 가능한 온도에 도달, 유지될 경우에 발아, 증식하여 enterotoxin을 생성할 때 발생한다¹⁶⁾고 한다.



Fig. 1. Agarose gel electrophoresis(2.0% agarose) of PCR amplication products of isolated *L. monocytogenes* from salads.
 Lane M : size marker
 Lane 1 : *L. monocytogenes* positive control
 Lane 2 : *L. monocytogenes* from salads
 Lane 3 : *L. monocytogenes* negative control

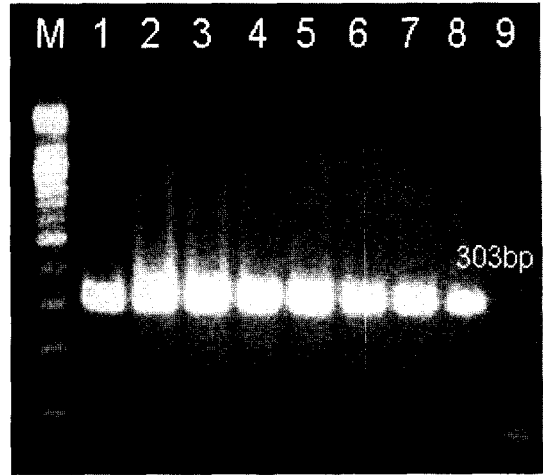


Fig. 2. Agarose gel electrophoresis(2.0 % agarose) of PCR amplication products of isolated *B. cereus* from salads.
 Lane M : size marker
 Lane 1 : *B.cereus* positive control
 Lane 2 ~ 8 : *B.cereus* from salads
 Lane 9 : *B.cereus* negative control

Table 2. Characteristics of *Bacillus cereus* isolation from salads using MYP agar

Characteristics	Results						
	Isolation 1	Isolation 2	Isolation 3	Isolation 4	Isolation 5	Isolation 6	Isolation 7
Gram stain	+ ¹⁾	+	+	+	+	+	+
Shape	rod	rod	rod	rod	rod	rod	rod
Motility	+	+	+	+	+	+	+
Catalase	+	+	+	+	+	+	+
Egg-yolk lecithinase	+	+	+	+	+	+	+
Hemolysis	+	+	+	+	+	+	+
Glycerol	+	+	+	+	+	+	+
Erythritol	- ²⁾	-	-	-	-	-	-
D-Arabinose	-	-	-	-	-	-	-
L-Arabinose	-	-	-	-	-	-	-
Ribose	+	+	+	+	+	+	+
D-Xylose	-	-	-	-	-	-	-
L-Xylose	-	-	-	-	-	-	-
Adonitol	-	-	-	-	-	-	-
β-Methyl-D-xyloside	-	-	-	-	-	-	-

Characteristics	Results						
	Isolation 1	Isolation 2	Isolation 3	Isolation 4	Isolation 5	Isolation 6	Isolation 7
Galactose	-	-	-	-	-	-	-
D-Glucose	+	+	+	+	+	+	+
D-Fructose	+	+	+	+	+	+	+
D-Mannose	-	-	-	-	+	+	-
L-Sorbose	-	-	-	-	-	-	-
Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-
Dulcitol	-	-	-	-	-	-	-
Inositol	-	-	-	-	-	-	-
Mannitol	-	-	-	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-	-	-
α-Methyl-D-mannoside	-	-	-	-	-	-	-
α-Methyl-D-glucoside	-	-	-	-	-	-	-
N-Acetyl glucosamine	+	+	+	+	+	+	+
Amygdalin	+	+	-	+	+	+	+
Arbutin	+	+	+	+	+	+	+
Esculin	+	+	+	+	+	+	+
Salicin	+	+	+	+	+	+	+
Cellobiose	+	+	+	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	-	+	-	-	-	-
Melibiose	-	-	-	-	-	-	-
Saccharose	-	-	+	+	-	-	+
Trehalose	+	+	+	+	+	+	+
Inulin	-	-	-	-	-	-	-
Melezitose	-	-	-	-	-	-	-
Raffinose	-	-	-	-	-	-	-
Starch	+	+	+	+	+	+	+
Glycogen	+	+	+	+	+	+	+
Xylitol	-	-	-	-	-	-	-
Gentiobiose	-	-	+	-	-	-	-
D-Turanose	-	-	-	-	-	-	-
D-Lyxose	-	-	-	-	-	-	-
D-Tagatose	-	-	-	-	-	-	-
D-Fucose	-	-	-	-	-	-	-
L-Fucose	-	-	-	-	-	-	-
D-Arabitol	-	-	-	-	-	-	-
L-Arabitol	-	-	-	-	-	-	-

Characteristics	Results						
	Isolation 1	Isolation 2	Isolation 3	Isolation 4	Isolation 5	Isolation 6	Isolation 7
Gluconate	+	-	-	+	-	+	-
2-Keto gluconate	-	-	-	-	-	-	-
5-Keto gluconate	-	-	-	-	-	-	-
Ortho-nitro-phenyl-galactoside	-	-	-	-	-	-	-
Arginine	+	+	+	+	+	+	+
Lysine	-	-	-	-	-	-	-
Ornithine	-	-	-	-	-	-	-
Simmon's citrate	-	-	-	-	-	-	-
Hydrogen sulfate	-	-	-	-	-	-	-
Urea	-	-	-	-	-	-	-
Tryptophane	-	-	-	-	-	-	-
Indole	-	-	-	-	-	-	-
Voges-Proskauer	-	-	-	-	-	-	-
Kohn's gelatine	+	+	+	+	+	+	+
NO ₂ production	-	-	-	-	-	-	-

¹⁾ : Positive ²⁾ : Negative

본 조사에서는 *B. cereus* 7균주가 모두 enterotoxin을 생성하여 *B. cereus* 식중독의 원인균이 될 수 있음을 확인하였다.

B. cereus 7균주는 CRET-RPLA Kit에서 모두 enterotoxin을 생성하였다.

IV. 결 론

패스트푸드점에서 판매되고 있는 샐러드에 대해 총균수, 대장균군수, 대장균 및 10종의 병원성세균의 존재여부를 확인하였다.

1. 총균수는 $1.1 \times 10^4 \sim 8.4 \times 10^5$ CFU/g, 대장균군수 $0 \sim 5.4 \times 10^4$ CFU/g으로 Solberg 등이 제시한 기준치인 총균수 10^5 CFU/g 이하, 대장균군수 10^2 CFU/g 이하와 비교하면 총균수는 기준치를 만족시켰고, 대장균군수는 기준치를 초과하였다.
2. 10종의 병원성세균을 검사한 결과 listeriosis 유발 가능성이 있는 *L. monocytogenes*가 1건 (0.9%), 중요한 식중독 원인균인 *B. cereus* 7건 (6.1%)이 검출되었으며, API를 이용한 생화학 시험과 PCR 검사법으로 확인되었다.

참 고 문 헌

1. 임순영, 윤석권 냉동식품에서 분리한 *Yersinia enterocolitica*의 특성. 한국식품과학회지 **31(6)**, 1336. 2000.
2. 광동경, 류은순. 패스트푸드 업체의 급식관리 구조개선을 위한 모형설정에 관한 연구. 한국식품화학회지 **5(4)**, 456-463. 1990.
3. 김기욱. 한국식품산업의 프렌차이징 전략-국내 진출 패스트푸드 중심으로. 중앙대학교 국제경영대학원 석사학위논문. 1992
4. 전국경제인연합회 한국경제연감. 2000.
5. 이용욱, 홍종해 우리나라에서 보고된 집단 식중독의 발생특징. 식품공업, 109. 1997.
6. 식품의약품안전청. 식중독 발생현황 및 예방대책. 2004
7. 오덕환. 최소가공야채류의 미생물학적 안전성.

- 식품산업과영양 4(3), 48-54. 1999.
8. Gillian, A. F., Christopher, T., and David, O.. The micro- biological safety of minimally processed vegetables. *Int. J. Food sci. Technol.* **34**, 1 22. 1999
 9. Schofield, G. M. Emerging foodborne Pathogens and their significance in chilled foods. *J. Appl. Bacteriol.* **72**, 267-273. 1992.
 10. Swerdlow, D. L., and Altekruse, S. F. Food- borne diseases in the Global Village. Emerging Infections 2. Scheld, W. M., Craig, W. A. and Hughes, J. M. (eds). American Society for Microbiology, Washington. 273-294. 1998.
 11. 강영재 HACCP란 무엇인가. 식품과학과산업 **26**, 4. 1993.
 12. Kalish, F. Extending the HACCP concept to product distri- bution. *Food Technol*, **45**, 119. 1991.
 13. NACMCF HACCP princip- les for the food production USDA, FSIS. Washington D.C. 1989.
 14. 양재승 식품의안전성과 HACCP 식품과학과산업. **30**, 172-182. 1997.
 15. 식품안전 식품의약품안전청 78-11 2. 2000.
 16. 감염병실협실 진단지침 국립보건원.109-283. 1996.
 17. Solberg, M., Buckalew, J.J., Chen, C.M., Schaffner, D.W., O' Neill, k., McDowell J., Post, L. S., and Borderck, M. Micro- bio- logical safety assurance system for food service facilities. *Food Technol.* **44**, 68. 1990.
 18. 박석기 등 위생 미생물 시험법 해설. 미래문화. 60 72. 1998.
 19. Levin MM. *Escherichia coli* that cause diar- rhea, enterotoxigenic, enteropathogenic, en- teroinvasive, enterohaemorrhagic, enteroadhe- rent. *J. Infect. Dis.* **155**. 337-389. 1987.
 20. William H. Ewing, Edwards and Ewing's Identification of Entero- bacteriaceae 4th ed. Elsevier science publishing co., Inc. New York. 93-134. 1986.
 21. Seeligeri, H.P.R. and Finger, H. In J.S. Remington and J.O. Klein(eds). Infectious disease of the fetus and newborne infant, 2nd ed. W.B. Saunders, Philadelphia. 264-289. 1983.
 22. WHO. Food borne Listeriosis. Document No. WHO / WHE / FOS / 88.5. World Health organization, Geneva, Switzerland. 1988.
 23. Carlin, F., Guinebretiere, M. H., Choma, C., Pasgualini, R., Bracco nner, A. and Nguyen- the, C. Sporeforming bacteria in commercial cooked, pasteurized and chilled vegetable purees. *Food Microbial.* **17**.153-165. 2000.
 24. Choma, C., Guinebretiere, M. H., Carlin, F., Schmitt, P., Velge, P., Granum, P. E. and Nguyenthe, C. Prevalence character- ization and growth of *Bacillus cereus* in commercial cooked chilled foods containing vegetables. *J. Appl. Microbial.* **88**. 617-625. 2000.
 25. Tsai, Y., palmer, C. J.m and Sangermano, L. R. Detection of *Escherichia coli* in sewage and sludge by polymerase chain reaction. *Appl. Environ. Microbial.* **59**. 353-357. 1992
 26. Beattie, S.H. and Williams, A.G. Detection of toxigenic strains *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. with an improved cytotoxicity assay. *Lett. Appl. Microbial.* **28**. 221-225. 1999.