



## 영유아용 분말 조제분유의 미생물 품질분석과 위해세균 모니터링

황지연 · 이지연<sup>1</sup> · 박종현\*

경원대학교 식품생물공학과, <sup>1</sup>국립수의과학검역원

## Microbiological Quality and Potential Pathogen Monitoring for Powdered Infant Formulas from the Local Market

Ji Yeon Hwang, Ji Youn Lee<sup>1</sup>, and Jong-Hyun Park\*

Department of Food Science and Biotechnology, Kyungwon University, Seongnam 461-701, Korea

<sup>1</sup>National Veterinary Research and Quarantine Service, Anyang 430-824, Korea

### Abstract

Ninety-nine samples of powdered infant formula in a market were collected from the local market and their contaminations for total aerobic bacteria, coliform, FAO/WHO Category A, B, and C pathogens were analyzed. Total aerobic bacteria were detected in 92 of 99 samples (93%) at levels of  $1.83 \pm 0.68$  Log CFU/g. These levels were below legal levels specified for infant formulas except for one sample detected by 4.5 Log CFU/g. Coliform was detected in 12 of 99 samples (12%) at levels of  $1.26 \pm 1.03$  Log MPN/g whereas non-detection was required according to the specification of coliform in infant formulas. *Escherichia coli* was detected in 1 of 99 samples by 0.48 Log MPN/g. *Salmonella* and *Enterobacter sakazakii* among Category A weren't detected in all the samples. Enterobacteriaceae, Category B group, were detected in 25 samples of total 99 samples (25%) by  $0.83 \pm 1.37$  Log MPN/g. Enterobacteriaceae identified by API 20E were *Escherichia vulneris*, *Es. hermannii*, *Pantoea* spp., *Citrobacter koseri*, *Klebsiella pneumoniae*, *En. cloacae*. *Bacillus cereus* among Category C was highly detected in 29 of 99 samples (29%) at levels of  $0.69 \pm 0.32$  Log MPN/g with the most probable number count method, which were below legal levels for the specification of *B. cereus* in infant formulas. *Clostridium perfringens*, *E. coli* O157, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, and *Campylobacter jejuni/coli* were not detected. Contamination level of major pathogens was low and falls within the range of specification of infant formulas. However, Enterobacteriaceae and *B. cereus* showed the high prevalence and some Enterobacteriaceae causing disease were detected. Therefore, it is necessary to monitor the potential pathogens continually and reduce them to improve the microbial quality of non-sterilized powdered infant formulas.

**Key words** : powdered infant formulas, microbial contamination, food-borne pathogens, monitoring

### 서 론

국민소득의 향상과 함께 국민의 의식 수준이 높아지면 서 식품안전에 대한 목소리도 높아지고 있으며 이제 식품안전은 건강한 삶을 바라는 행복추구권 차원의 국민기본권으로 인식되고 있다. 식품의 안전 문제는 매년 중요한 사회적 이슈로 제기되어 오곤 하는데 조제분유의 *Enterobacter sakazakii*에 대한 소비자의 불안이 처음으로 생긴 것은 해외언론으로부터 제기된 2004년이었고 2006

년도에 다시 상당히 커다란 사회적 관심과장을 일으키게 되었다. 이러한 결과로 약 3,000억 시장을 형성하고 있는 산업계의 매출이 현재는 현저히 줄어들고 있어 산업체들도 많은 어려움에 직면해 있다. 식품안전 확보는 일차적으로 식품을 제조하는 사업자, 규제를 실시하는 정부나 공공기관에 있다. 또한 정부는 현재 리스크가 발생하지 않았으나 리스크 발생가능성이 잠재되어 있는 경우에는 이 리스크에 대한 관련 자료를 수집, 분석하여 사전에 리스크의 저감화에 노력해야 할 것으로 보인다. 특히 모유 수유가 어렵고 면역이 완성되어 있지 못한 영유아에 공급되는 조제분유는 다른 식품에의 선택의 여지가 없다는 점에서 정부나 공공기관의 사전적인 능동적 대처가 요구된다. 또한 우리나라의 모유 수유율은 매년 큰 폭으로 감소하여

\*Corresponding author : Jong-Hyun Park, Department of Food Science and Biotechnology, Seongnam 461-701, Korea. Tel: 82-31-750-5523, Fax: 82-31-750-5273, E-mail: p5062@kyungwon.ac.kr

90%가 넘는 영유아들이 오로지 영유아식품에 의존해 영양분을 섭취하게 되므로 영유아 식품에 대한 주의 깊은 품질관리 및 안전성 관리가 요구되고 있다.

분말 조제분유는 비살균제품이기 때문에 낮은 정도이지만 기회감염균의 오염 가능성은 항상 존재하고 있다. 최근 국내에 시판 중인 조제분유를 대상으로 *En. sakazakii*의 스크리닝 및 특성을 분석한 연구 발표(Yoo et al., 2005) 이후로 조제분유 내에 *En. sakazakii*가 존재하는 것으로 밝혀져 문제가 되고 있다. 조제분유에서 검출되는 위해세균 및 잠재적인 위해세균은 *En. sakazakii*를 비롯하여 상당히 다양한 Enterobacteriaceae의 검출이 국내·외적으로 확인되고 있다. 이와 아울러 조제분유에서 검출되고 있는 장내세균과의 미생물들의 병원성에 대한 여러 보고가 발표되고 있는데 조제분유에서 분리된 *Salmonella* Typhimurium, *Citrobacter freundii*, *C. koseri*, *Escherichia hermannii*, *Es. vulneris* 등의 감염기작을 CaCO<sub>2</sub>과 대식세포에서의 침투성을 보고하였는데 *En. sakazakii*, *C. freundii* 등의 강력한 침투성이 확인되었다(Steve et al., 2007). 따라서 *En. sakazakii* 뿐만 아니라 다른 Enterobacteriaceae도 위해세균으로 작용할 수 있을 것으로 보인다.

조제분유에 대한 미생물 기준 규격에 대하여 우리나라에서는 2007년부터 EU와 같이 *En. sakazakii*는 무검출, 대장균군은 음성, *Bacillus cereus*는 100 CFU/g 이하, 총균수는 20,000 CFU/g 이하로 개정되었다(국립수의과학검역원 고시). 이러한 규격은 영유아식품의 제도적 차원에서 미생물 품질관리를 위하여 필요한 것으로 보이고, 조제분유의 국제적인 유통을 위해서는 CODEX의 조제분유 안전기준이 중요하다. 현재 CODEX에서 추진 중에 있는 Enterobacteriaceae의 음성 등의 기준에 대한 대처를 위해서도 국내 유통 조제분유의 오염세균 모니터링 연구가 필요하다(CAC, 2004). FAO/WHO 보고서(Genova, Feb., 2004)에서는 조제분유에서 검출되는 미생물의 존재와 그로 인한 질병의 위해도에 따라 Category A, B, C로 분류하였다. 즉, Category A는 오염된 조제분유가 역학적으로나 미생물학적으로 명확하게 영유아의 질병을 일으킨 것으로 확인된 *Salmonella*, *En. sakazakii* 균들이다. Category B는 명확하게 영유아 질병을 유발하지만 오염된 조제분유가 미생물학적으로나 역학적으로 질병유발과의 관련이 확인되지 않고 있는 세균들이다. 최근에 이들이 신생아 감염의 중요한 잠재적인 위해세균으로 간주되어 지고 있으며 이들은 Enterobacteriaceae와 *Acinetobacter*들이다. 그리고 Category C로 분류된 것들은 아직 조제분유에서 검출되지 않았거나 혹은 검출되었더라도 영유아 질병유발에 직접적으로 확인되지 않은 것들이다. 조제분유의 총 세균수와 Enterobacteriaceae의 오염 현황은 1982년에 처음 보고되었고, 보다 큰 규모로 조사하여 보고한 것은 약 20년 전에 네덜란드에서 이루어졌다(Muyjens et al., 1988; Schwab et al., 1982). 조제분유의 *Salmonella*

오염은 많은 감염질환 발생에 관여되어 있는 것으로 보고되어 있다(Bornemann et al., 2002; CDC, 1993; Olsen et al., 2001; Picket and Agate, 1967; Rowe et al., 1987; Threlfall et al., 1998; Usera et al., 1996). *En. sakazakii*와 비슷하게 비교적 낮은 수준으로 감염된 조제분유라 하여도 역학적으로, 미생물학적으로 이들 질환과 직접 연결되어 있는 것으로 보인다. 그러나 다행스러운 것은 *En. sakazakii*와 다른 Enterobacteriaceae와는 다르게 *Salmonella*는 조제분유에서는 거의 검출되지 않는 것으로 보인다(Muytjens et al., 1990). 국내에서 조제분유에 대한 이 미생물들의 품질에 대한 연구는 최근에 발표되기 시작하였는데, Yoo 등(2005) 및 Jung 등(2006)의 보고에서 조제분유의 오염율은 약 3% 미만인 것으로 보였다. 한편 이의 제어를 위한 온도관리에 대한 보고(Kim et al., 2007)도 있지만 조제분유의 미생물적인 품질 특히, *Salmonella*, *B. cereus*, Enterobacteriaceae의 오염분포와 오염정도에 대한 체계적인 보고는 거의 발견할 수가 없어서 잠재적인 위해세균에 대한 정보를 얻을 수가 없는 실정이다.

따라서 본 연구는 국내에서 생산, 유통되고 있는 영유아용 분말 조제분유의 미생물 오염현황을 분석하여 미생물 품질을 평가하고 아울러 위해세균 및 잠재적인 위해세균의 오염의 현황을 파악하여 유통 중인 이들 식품의 안전성을 평가하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 분석시료

본 실험에 사용한 분말 조제분유는 2007년 9월~12월에 시장에서 유통 중인 6개월 이내 영유아용 제품을 구입하여 분석하였다. 국내 주요 조제분유 생산업체별로, 수입회사별로 가장 많이 생산되는 제품들을 선정하고 각 브랜드 제품당 3개씩 99개의 시료를 구입하여 미생물 분석을 수행하였다.

### 시료채취 및 환원조제

모든 시료는 대형마트 등에서 유통 중인 상태로 구입하였고, 검체를 채취할 때 사용되는 도구 및 용기와 실험 과정에서 이용되는 배지 및 기구는 121°C, 1기압에서 가압 멸균하여 사용하였으며, 모든 시료는 clean bench에서 무균적으로 처리하였다.

채취된 시료의 일정량은 멸균된 spatula로 멸균 stomacher bag에 넣고 희석액 9배량의 0.85% 멸균생리식염수를 가해 Stomacher(IUL, Spain)로 120초간 균질한 후 이 중 1 mL을 시험 검액으로 사용하였다.

### 미생물 분리 및 동정

분석 미생물로는 총세균수와 대장균군, *Es. coli*를 분석하였고, 위해세균인 *Salmonella*, *En. sakazakii*, *B. cereus*의

오염분포와 정도를 분석하였다. 그리고 Category C group의 *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogens*, *E. coli* O157:H7, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni* 등 식중독 유발 세균의 오염분포를 분석하였다. 이들 분석방법은 축산물의 가공기준 및 성분규격(국립수의과학검역원 고시 제2007-20호, 2007년)에 명시되어 있는 방법으로 사용하였고 *Y. enterocolitica*는 식품공전(<http://www.kfda.go.kr>)에서 제시되어 있는 방법을 활용하였다. Category B group인 Enterobacteriaceae 세균의 분포를 분석하여 잠재적인 위해세균을 측정하였는데 이 방법은 아주 일부를 제외하면 개별 장내세균과의 잠재적인 위해세균의 선별적 분리가 어려운 상태이므로 조제분유를 EE broth에서 증균시키거나 혹은 직접 Standard Enterobacteriaceae agar(VRBGA, Oxoid, UK)에 plating 하였다. 이 배지상에서 서로 다른 콜로니를 선별하여 ID32E 혹은 API20E(Biomerieux, France)를 사용하여 표현형으로 동정하여 오염분포를 분석하였다.

### 주요 세균의 PCR 분석과 정량분석법

미생물 정량분석은 축산물가공처리법의 가공기준 및 성분규격 고시 혹은 식품공전에 준하여 실시하였다. 분리한 미생물의 최종동정은 본 연구실에서 사용하고 있는 PCR 등의 분자생물학적인 방법을 적용하였으며, 오염도가 낮은 미생물을 측정하기 위한 정량분석을 위해서는 최확수법(MPN)을 활용하여 실험을 수행하였다. 이때 사용된 PCR primer는 *B. cereus*의 *gyrB* 유전자를 대상으로 한 BC1/BC2R과 BT1/BT2이고(Shoichi *et al.*, 1999), *C. jejuni/coli*의 *ceuE* gene을 대상으로 한 JEJ1/JEJ2(Gonzalez *et al.*, 1997)와 aspartokinase gene을 대상으로 한 CC18F/CC19R(Linton *et al.*, 1997)이며, *En. sakazakii*의 tRNA Glu, 23s rRNA intergenic spacer gene을 대상으로 한 ESFor/ESRev(Derzelle *et al.*, 2007)이고, *C. perfringens*의  $\alpha$ -toxin

gene을 대상으로 한 a1/a2이다(Daube *et al.*, 1994)(Table 1). PCR 조건은 *B. cereus*는 94°C 1분, 58°C 1.5분, 72°C 2.5분에 30회전 후 72°C 7분으로, *C. jejuni*는 94°C 5분 후 94°C 30초, 57°C 30초, 72°C 1분에 30회전 후 72°C 5분으로, *C. coli*는 95°C 15분 후 95°C 30초, 55°C 30초, 72°C 30초에 40회전으로, *E. sakazakii*는 95°C 10분 후 95°C 10초, 60°C 10초, 72°C 15초에 46회전 후 40°C 30초로, *C. perfringens*는 95°C 5분 후 95°C 30초, 50°C 30초, 72°C 1분에 30회전 후 72°C 10분으로 하였다.

## 결과 및 고찰

### 일반세균수, 대장균군과 *E. coli* 오염분석

국내 대형마트에서 유통 중인 분말 조제분유를 구입하여 오염미생물을 분석한 결과 일반세균수는 총 99개의 제품 중 92개의 제품에서 검출(93%)되었다. 그리고 일반세균수는  $1.83 \pm 0.68$  Log CFU/g으로 나타났으며 최고 4.5 Log CFU/g에서 최저 1 Log CFU/g(검출한계 10<sup>1</sup> 미만)의 분포를 보였다. 대장균군은 99개의 제품 중 12개의 제품에서 검출(12%)되었으며  $1.26 \pm 1.03$  log MPN/g의 분포를 보였다. 대장균군은 약 4 log MPN/g가 검출된 한 제품을 제외하고는 0.6~1.4 log MPN/g의 분포를 보였고(대장균군 기준규격은 음성)(Fig. 1), 대장균은 한 제품에서 0.48 log MPN/g으로 검출되었다.

따라서 분석 조제분유 대부분에서 세균이 검출되고 있음을 알 수가 있었고 2개의 시료를 제외하고 모두 총균수 기준(총균수 기준규격은 20,000 cfu/g 이하) 이내의 균수가 검출되었다. 그리고 대장균군이 일부 제품에서 검출되었고 한 개의 제품에서 대장균이 검출되었다. 그러나 이러한 결과를 외국 다른 나라의 분말 조제분유의 미생물분석과 비교하면 전체적으로 미생물품질은 비교적 양호한 것으로 보인다(Caubilla-Barron *et al.*, 2004).

Table 1. PCR primers used in this study

|                       | Primer          | Target gene or region                   | Sequence (5'→3')  | Product (bp) | Reference                     |
|-----------------------|-----------------|---|---|--------------|-------------------------------|
| <i>B. cereus</i>      | BC1<br>BC2R     | <i>gyrB</i>                             | ATTGGTGACACCFATCAAACA<br>TCATACGTATGGATGTTATTC          | 365          | Shoichi <i>et al.</i> , 1999  |
|                       | BT1<br>BT2R     | <i>gyrB</i>                             | ATCGGTGATACAGATAAGACT<br>CCTTCATACGTATGAATATTATTT       | 368          |                               |
| <i>C. jejuni/coli</i> | JEJ1<br>JEJ2    | <i>ceuE</i>                             | CCTGCTACGGTGAAGTTTTGTC<br>GATCTTTTGTGTTGTGCTGC          | 793          | Gonzalez <i>et al.</i> , 1997 |
|                       | CC18F<br>CC519R | aspartokinase                           | GGTATGATTTCTACAAAGCGAG<br>ATAAAAAGACTATCGTCGCGTG        | 500          | Linton <i>et al.</i> , 1997   |
| <i>E. sakazakii</i>   | ESFor<br>ESRev  | tRNA Glu, 23S rRNA<br>intergenic spacer | ATCTCAAAAAMTACTGTAAAGTCACGTT<br>CCGAARAAGTMTTCGKGTGCGGA | 158          | Derzelle <i>et al.</i> , 2007 |
| <i>C. perfringens</i> | a1<br>a2        | $\alpha$ -toxin                         | TGCTAATGTTTACTGCCGTTGATAG<br>ATAATCCCAATCATCCCAACTATG   | 247          | Daube <i>et al.</i> , 1994    |

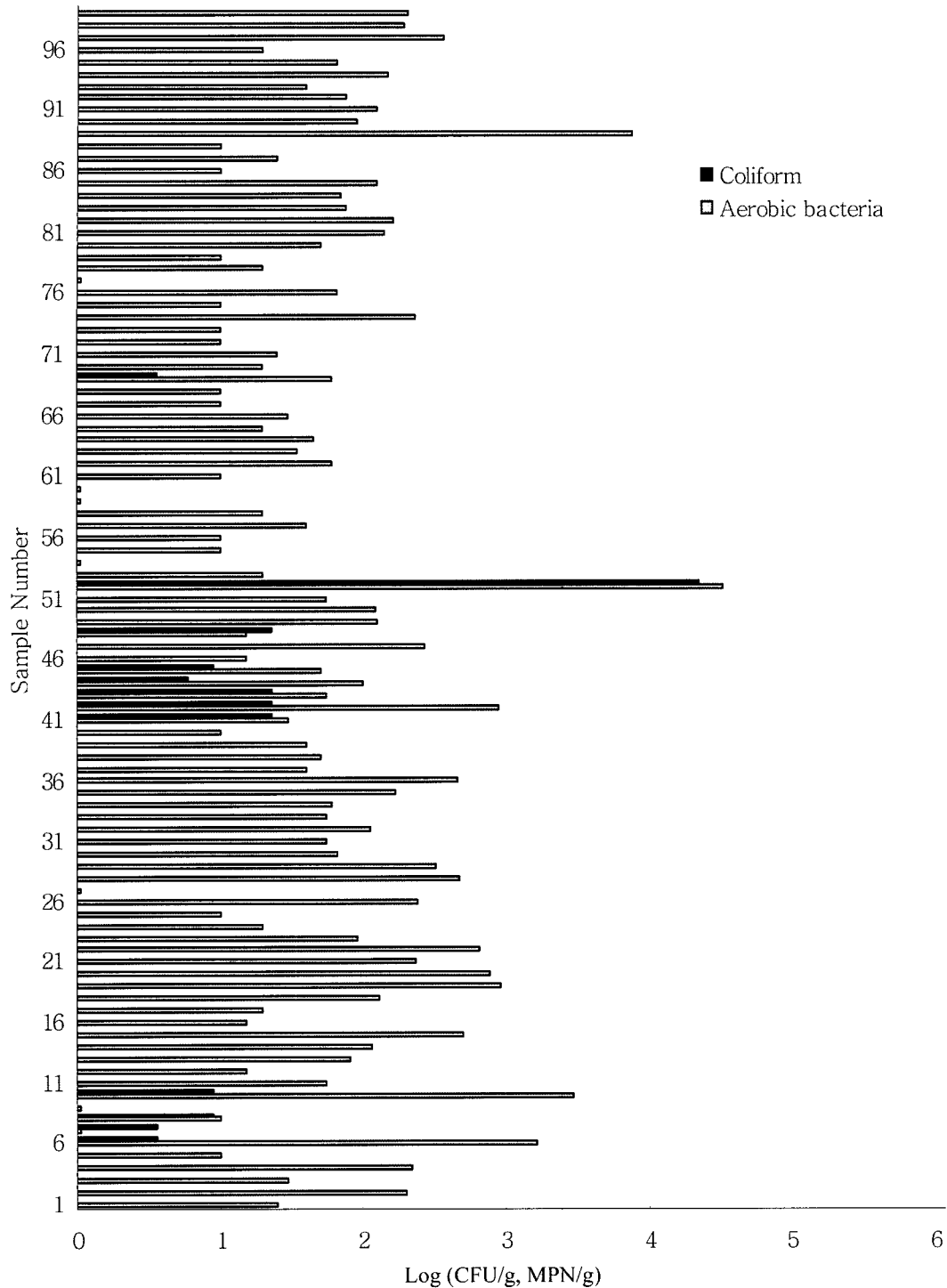


Fig. 1. Viable counts for aerobic bacteria and MPN counts of coliform in the powdered infant formulas.

#### Category A group 세균의 검출

Category A의 미생물은 명확하게 영유아의 질병을 일으킨 사례가 있는 것으로 확인된 균들로 구성되어 있으며 *Salmonella*와 *E. sakazakii*는 총 99개의 제품 중 모든 제품에서 검출되지 않았다. Jaspar 등(1990)은 *Salmonella*는 조제분유에서 거의 검출되지 않는 것으로 보고하였으나 Muytjens 등(1988)은 *E. sakazakii*가 141개의 시료에서 약

14%가 오염되어 있다고 보고하였다. Leusher 등(2004)은 13.8%, Iversen와 Forsythe (2004)도 시료가 2.4%가 *En. sakazakii*에 오염되어 있다고 보고하였다. Iversen와 Forsythe (2004)도 시료의 2.4%가 *En. sakazakii*에 오염되어 있다고 보고하였다. 국내에서도 Lee 등(2005)은 약 4.3%의 분유에서 *En. sakazakii*가 검출되었다고 보고하였으나 본 연구에서는 검출되지 않은 것으로 나타났다. 따라서 Category

Table 2. Identification of Enterobacteriaceae isolated from powdered infant formulas by API 20E

| Sample No. | Microorganism                    | % ID |
|------------|----------------------------------|------|
| 8          | <i>Pasteurella pneumotrohica</i> | 96.3 |
| 16         | <i>Escherichia hermannii</i>     | 97.7 |
|            | <i>Enterobacter cloacae</i>      | 81.5 |
| 27         | <i>Cedecea lapagei</i>           | 99.8 |
| 30         | <i>Cedecea lapagei</i>           | 99.8 |
|            | <i>Pseudomonas luteola</i>       | 98.1 |
| 31         | <i>Ewingella americana</i>       | 57.4 |
|            | <i>Cedecea lapagei</i>           | 94.7 |
| 32         | <i>Cedecea lapagei</i>           | 94.7 |
|            | <i>Cedecea lapagei</i>           | 99.8 |
| 42         | <i>Escherichia vulneris</i>      | 95.9 |
| 44         | <i>Pseudomonas luteola</i>       | 98.1 |
|            | <i>Escherichia vulneris</i>      | 95.9 |
| 45         | <i>Escherichia vulneris</i>      | 95.9 |
| 52         | <i>Pseudomonas luteola</i>       | 98.1 |
| 54         | <i>Pseudomonas fluorescens</i>   | 70.3 |
| 55         | <i>Cedecea lapagei</i>           | 94.7 |
| 57         | <i>Pseudomonas luteola</i>       | 98.1 |
| 63         | <i>Pantoea spp3</i>              | 93.2 |
|            | <i>Pseudomonas luteola</i>       | 99.9 |
| 64         | <i>Pantoea spp3</i>              | 93.2 |
| 71         | <i>Pantoea spp1</i>              | 97.3 |
|            | <i>Pantoea spp1</i>              | 59.9 |
| 73         | <i>Cedecea lapagei</i>           | 99.8 |
|            | <i>Klebsiella pneumoniae</i>     | 45.5 |
|            | <i>Pseudomonas luteola</i>       | 64.2 |
| 77         | <i>Pseudomonas luteola</i>       | 99.8 |
| 78         | <i>Pseudomonas luteola</i>       | 99.8 |
| 84         | <i>Pseudomonas luteola</i>       | 55.8 |
| 85         | <i>Pseudomonas luteola</i>       | 55.8 |
| 87         | <i>Pantoea spp3</i>              | 93.2 |
| 97         | <i>Pantoea spp3</i>              | 36.0 |
| 99         | <i>Citrobacter koseri</i>        | 99.9 |
|            | <i>Escherichia hermanni</i>      | 89.0 |

A의 미생물에 대한 국내 유통 조제분유생산 관리는 비교적 양호한 것으로 보인다.

### Category B group 오염분석

Category B의 미생물은 명확하게 영유아의 질병을 유발하지만 오염된 조제분유가 미생물학적으로나 역학적으로 질병유발과 관련이 확인되지 않고 있는 균들로 구성되어 있어서 신생아를 감염시킬 소지가 큰 위해세균으로의 중요한 잠재적인 위해세균으로 간주되어지고 있다. 이 분류에 속하는 것들이 *En. cloacae*, *C. freundii*, *C. koseri*,

Table 3. Prevalence and frequency of food-borne pathogens in powdered infant formulas

|                           | Viable plate count       |                         | MPN count        |           |
|---------------------------|--------------------------|-------------------------|------------------|-----------|
|                           | Prevalence <sup>1)</sup> | Frequency <sup>2)</sup> | Prevalence       | Frequency |
| <i>Enterobacteriaceae</i> |                          |                         | 25/99            | 0.83±1.37 |
| <i>Salmonella</i>         |                          |                         | - <sup>3)</sup>  |           |
| <i>En. sakazakii</i>      |                          |                         | -                |           |
| <i>Es. coli</i>           |                          |                         | 1/99             | 0.48      |
| <i>Es. coli</i> O157:H7   |                          |                         | -                |           |
| <i>B. cereus</i>          | 17/99                    | 1.13±0.25               | 29/99            | 0.69±0.32 |
| <i>S. aureus</i>          | -                        |                         | NT <sup>4)</sup> |           |
| <i>C. perfringens</i>     | -                        |                         | NT               |           |
| <i>C. jejuni/coli</i>     |                          |                         | -                |           |
| <i>L. monocytogenes</i>   |                          |                         | -                |           |
| <i>Y. enterocolitica</i>  |                          |                         | -                |           |

<sup>1)</sup>No of sample; <sup>2)</sup>Unit: Log CFU/g; <sup>3)</sup>-: Tried, but not detected; <sup>4)</sup>NT: Not tried.

*Pantoea agglomerans*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Hafnia alvei*, *Es. vulneris*, *Es. coli*, *Serratia* spp., *Acinetobacter* spp. 등이 알려지고 있다. 본 연구에서 실시한 분석결과 Enterobacteriaceae는 99개의 제품 중 25개의 제품에서 검출(25%)되었고, 검출균수는 0.83±1.37 log MPN/g으로 나타났다(Table 3). 이들 세균의 선택배지에서 분리된 콜로니를 API20와 ID32E로 동정한 결과 약 20종의 장내세균들이 분리 동정되었다. 이 중 *Es. vulneris*, *Es. hermannii*, *Pantoea* spp., *C. koseri*, *K. pneumoniae*, *En. cloacae*의 세균들이 검출되었는데 이들은 장내세균과에 속해 있으면서 병원환자시료에서 분리되는 균들로 잠재적인 위해세균들이다(Table 2). 그리고 제조사별로 Enterobacteriaceae의 오염정도는 8~42%까지 차이가 많이 있는 것으로 나타났다. 또한 각 제조사에서 검출된 시료들도 특정시료에서 많이 검출됨을 볼 때 조제분유의 시료원료에서 이들 위해세균들이 집중적으로 오염, 삼입되었을 것으로 보인다. 따라서 각 원료별 이들 세균관리를 집중적으로 하면 미생물 안전성을 높일 수 있으리라 사료된다.

Muytjens 등(1988)은 35개국의 141개의 조제분유에서 Enterobacteriaceae의 오염을 분석한 결과 52.5% 시료에서 검출되었는데 그 오염정도는 1 CFU/g 정도이었다. 이들은 주로 *En. agglomerans*, *En. cloace*, *En. sakazakii*, *K. pneumoniae* 등이었기 때문에 *Salmonella* 뿐만 아니라 이들 세균의 오염도 저감화에도 좀 더 적극적인 노력이 필요하다고 보고하였다. 또한 Iversen과 Forsythe(2004)은 전 세계에서 수집한 조제분유 82개중 총균수가 4 Log CFU/g를 초과한 시료가 3%가 되고 99%의 시료에서 Enterobacteriaceae의 균들이 검출되었다고 보고하였다. 이들은 *En. cloacae*, *En. sakazakii*, *Pantoea* spp., *K. ozaenae*, *S. ficaria*, *C. feundii* 등이었는데 Muytjens 등(1988)의 결과

Table 4. Summary of the contaminated microbial analysis and microbial criteria of powdered infant formulas

|            | Pathogen                  | Prevalence      | Frequency <sup>2)</sup> | Korean Criteria <sup>2)</sup> | CODEX Criteria <sup>2)</sup> |
|------------|---------------------------|-----------------|-------------------------|-------------------------------|------------------------------|
|            | Total viable count        | 92/99(93%)      | 1.83±0.68               | 4.3                           | 3~4(2/5)                     |
|            | Coliform                  | 12/99(12%)      | 1.26±1.03               | Nega <sup>3)</sup>            | 1.3(1/5)                     |
| Category A | <i>Salmonella</i>         | - <sup>1)</sup> |                         | Nega                          | Nega                         |
|            | <i>En. sakazakii</i>      | -               |                         | Nega                          | Nega                         |
| Category B | <i>Enterobacteriaceae</i> | 25/99(25%)      | 0.83±1.37               |                               |                              |
|            | <i>Es. coli</i>           | 1/99 (1%)       | 0.48                    |                               |                              |
|            | <i>Es. coli</i> O157      | -               |                         |                               |                              |
|            | <i>B. cereus</i>          | 29/99(29%)      | 0.69±0.32               | 2                             |                              |
| Category C | <i>S. aureus</i>          | -               |                         |                               |                              |
|            | <i>C. perfringens</i>     | -               |                         |                               |                              |
|            | <i>C. jejuni/coli</i>     | -               |                         |                               |                              |
|            | <i>L. monocytogenes</i>   | -               |                         |                               |                              |
|            | <i>Y. enterocolitica</i>  | -               |                         |                               |                              |

<sup>1)</sup>-: Not detected; <sup>2)</sup>Unit: Log CFU/g or Log MPN/g; <sup>3)</sup>Nega: Non-detection.

보다도 더 다양한 Enterobacteriaceae가 검출되었다. 이들 Enterobacteriaceae는 면역적으로 미완성인 영유아에게 위해인자가 될 수 있음을 보고하였다.

따라서 현재 유통되고 있는 조제분유는 일부가 기준치를 초과한 총균수를 보여주고 있고 대부분의 조제분유가 Enterobacteriaceae로 오염되어 있는 것으로 보인다. 현재 FAO/WHO를 중심으로 국제적으로 *En. sakazakii*와 *Salmonella*균 뿐만 아니라 다른 Enterobacteriaceae들도 병원성 세균으로 작용할 가능성이 있기 때문에 이의 규제관리에 대한 검토를 하고 있다(Table 4). 따라서 국내에서도 이들 세균에 대한 관심과 저감화에 좀 더 적극적인 노력이 이루어져야 하리라 사료된다.

#### Category C group 세균의 검출

Category C group은 식중독 유발 세균들로 총 99개의 제품 중에서 *Es. coli* O157, *C. perfringens*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica*, *C. jejuni/coli*는 검출되지 않았다. 그러나 *B. cereus*는 99개의 제품 중에서 표준배양법으로는 17개의 제품에서 검출(17%)되었으며, MPN법으로는 29개의 제품에서 검출(29%)되었다. 대체적으로 MPN이 비교적 더 많은 *B. cereus*를 민감하게 검출할 수가 있는 것으로 나타났다. MPN법으로는 0.69±0.32 Log MPN/g으로 나타났으며(Table 3) 검출범위는 0.5~1.6 Log MPN/g의 분포를 보였다. 제조사별로 *B. cereus*는 오염정도가 2배정도 차이가 있는 것으로 분석되었는데 이는 큰 차이는 아닌 것으로 보인다. 따라서 이러한 결과는 기준규격을 모두 충족시켜주는 세균 오염정도인 것으로 분석되었다.

#### 요 약

국내에서 생산, 유통되고 있는 영유아용 분말 조제분유

99제품을 수집하여 일반세균, 대장균군, FAO/WHO Category A, B, C 위해세균 분류에 따른 오염현황을 분석하였다. 일반세균수는 총 99개의 제품 중 92개의 제품에서 검출(93%)되었으며 1.83±0.68 Log CFU/g의 분포를 보였다. 최고 4.5 Log CFU/g가 검출된 한 제품을 제외하고는 조제분유의 총균수의 기준규격에 적합하였다. 대장균군은 조제분유 대장균군의 기준규격이 음성인 것에 비해 99개의 제품 중 12개의 제품에서 검출(12%)되었으며 1.26±1.03 log MPN/g의 분포를 보였다. 대장균은 한 제품에서 0.48 log MPN/g으로 검출되었다. Category A 세균인 *Salmonella*와 *En. sakazakii*의 오염도 분석 결과 총 99개의 모든 제품에서 검출되지 않았다. Category B group인 세균 중에서 장내세균은 99개의 제품 중 25개의 제품에서 검출(25%)되었고 오염수준은 0.83±1.37 log MPN/g으로 나타났다. 검출된 Category B group 세균들은 *Escherichia vulneris*, *Es. hermannii*, *Pantoea* spp., *Citrobacter koseri*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* 등이었다. Category C 세균의 오염은 *Bacillus cereus*가 조제분유 99개의 제품 중에서 29개의 제품이 검출(29%)되어 비교적 높은 오염도를 보였지만 오염수준은 0.69±0.32 log MPN/g으로서 *B. cereus*의 국내 기준규격에 모두 적합하였다. 그 외의 Category C 세균은 검출되지 않았다. 국내 유통 조제분유의 주요 위해세균의 대한 미생물 오염정도가 낮아 미생물 기준 규격에 적합한 것으로 평가되었다. 그러나 Category B의 장내세균은 높은 검출율을 보였고 질환을 유발시킬 수 있는 균들이 확인되어 잠재적인 위험이 있다고 사료된다. 따라서 비살균식품인 조제분유의 특성상 잠재적인 위해세균 모니터링이 지속적으로 필요하며 그에 대한 안전성 확보에 능동적 자세가 필요하다.

## 감사의 글

본 연구는 2007년도 국립수의과학검역원의 연구용역과 제 사업비로 수행되었으며, 자원에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Bornemann, R., Zerr, D. M., Heath, J. Koehler, J., Grandjean, M., Pallipamu, R., and Duchin, J. (2002) An outbreak of *Salmonella* serotype Saintpaul in a children's hospital. *Infect. Control Hospital Epidemiol.* **23**, 671-676.
- CAC (2004) Proposed draft revision of the recommended international code of practice for foods for infants and children. Available at: [ftp://ftp.fao.org/codex/ccfh37/fh37\\_04e.pdf](ftp://ftp.fao.org/codex/ccfh37/fh37_04e.pdf).
- CDC (1993) *Salmonella* serotype Tennessee in powdered milk products and infant formula. Canada and the United States. *MMWR.* **42**, 516-517.
- Caubilla Barron, J., Iversen, C., and Forsythe, S. J. (2004) The desiccation survival of *Enterobacter sakazakii* and related Enterobacteriaceae. 104<sup>th</sup> ASM General Meeting, New Orleans, LA.
- Daube, G., China, B., Simon, P., Hvala, K., and Mainil, J. (1994) Typing of *Clostridium perfringens* by in vitro amplification of toxin genes. *J. Bacteriol.* **77**, 650-655.
- Derzelle, S., Dilasser, F., Maladen, V., Soudrie, N., Leclercq, A., Lombard, B., and Lafarge, V. (2007) Comparison of three chromogenic media and evaluation of two molecular-based identification systems for the detection of *Enterobacter sakazakii* from environmental samples from infant formulae factories. *J. Food Prot.* **70**, 1678-1684.
- Gonzalez, I., Grant, K. A., Richardson, P. T., Park, S. F., and Collins, M. D. (1997) Specific identification of the enteropathogens *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* by using a PCR test based on the *ceuE* gene encoding a putative virulence determinant. *J. Clin. Microbiol.* **35**, 759-763.
- Iversen, C. and Forsythe, S. (2004) Isolation of *Enterobacter sakazakii* and other Enterobacteriaceae from powdered infant formula milk and related products. *Int. J. Food Microbiol.* **21**, 771-777.
- Jaspar, A. H. J., Mutyjens, H. L., and Kollee, L. A. (1990) Neonatal meningitis caused by *Enterobacter sakazakii*: milk powder is not sterile and bacteria like milk too!. *Tijdschr Kindergeneeskde* **58**, 151-155.
- Jung, M. K. and Park, J. H. (2006) Prevalence and thermal stability of *Enterobacter sakazakii* from unprocessed ready-to-eat agricultural products and powdered infant formulas. *Food Sci. Biotechnol.* **15**, 152-157.
- Kim, S. H. and Park, J. H. (2007) Thermal resistance and inactivation of *Enterobacter sakazakii* isolates during rehydration of powdered infant formula. *J. Microbiol. Biotechnol.* **17**, 364-368.
- Leuschner, R. G. and Bew, J. (2004) A medium for the presumptive detection of *Enterobacter sakazakii* in infant formula: Interlaboratory study. *J. AOAC Int.* **87**, 604-613.
- Linton, D., Lawson, A. J., Owen, R. J., and Stanley, J. (1997) PCR detection, identification to species level, and fingerprinting of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* direct from diarrhetic samples. *J. Clin. Microbiol.* **35**, 2568-2572.
- NVRQS (National Veterinary Research & Quarantine Service). 2007. [http://www.nvrqs.-go.kr/Main\\_Index.asp](http://www.nvrqs.-go.kr/Main_Index.asp).
- Muytjens, H. L., Roelofs-Willemsse, H., and Jaspar, G. H. J. (1988) Quality of powdered substitutes for breast milk with regard to members of the family Enterobacteriaceae. *J. Clin. Microbiol.* **26**, 743-746.
- Olsen, S. J., Bishop, R., Brenner, F. W., Roels, T. H., Bean, N., Tauxe, R. V., and Slutsker, L. (2001) The changing epidemiology of *Salmonella*: Trends in serotypes isolated from humans in the United States 1987-1997. *J. Infect. Dis.* **183**, 753-761.
- Pickett, G. and Agate, G. H. (1967) Outbreak of salmonellosis due to a lactose-fermenting variant of *Salmonella* Newington. *Morbidity and Mortality* **16**, 18.
- Rowe, B., Begg, N. T., Hutchinson, D. N., Dawkins, H. C., Gibert, R. J., Jacob, M., Hales, B. H., Rae, F. A., and Jepson, M. (1987) *Salmonella* Ealing infections associated with consumption of infant dried milk. *Lancet* **2**, 900-903.
- Schwab, A. H., Swartzentruber, A., Wentz, B. A., and Jr. Read, R. B. (1982) Microbiological quality of dry-milk mixes and milk substitute infant formulas. *Appl. Environ. Microbiol.* **43**, 389-391.
- Shoichi, Y., Eiji, O., Norio, A., and Kasthuri, V. (1999) Cloning and nucleotide sequence analysis of *gyrB* of *Bacillus cereus*, *B. thuringiensis*, *B. mycoides*, and *B. anthracis* and their application to the detection of *B. cereus* in rice. *Appl. Environ. Microbiol.* **65**, 1483-1490.
- Threlfall, E. J., Ward, L. R., Hampton, M. D., Ridley, A. M., Rowe, B., Roberts, D., Gilbert, R. J., Van Soneren, P., Wall, P. G., and Grimont, P. (1998) Molecular fingerprinting defines a strain of *Salmonella enterica* serotype Anatum responsible for an international outbreak associated with formula-dried milk. *Epidemiol. Infect.* **121**, 289-293.
- Townsend, S., Barron, J. C., Loc-Carrillo, C., and Forsythe, S. (2007) The presence of endotoxin in powdered infant formula milk and the influence of endotoxin and *Enterobacter sakazakii* on bacterial translocation in the infant rat. *Int. J. Food Microbiol.* **24**, 67-74.
- Usera, M. A., Echeita, A., Aladuena, A., Blanco, M. C., Reymundo, R., Prieto, M. I., Tello, O., Cano, R., Herrera, D., and Martinez-Navarro, F. (1996) Interregional foodborne salmonellosis outbreak due to powdered infant formula contaminated with lactose-fermenting *Salmonella virchow*. *Eur. J. Epidemiol.* **12**, 377-381.
- Yoo, M. K., Kim, S. S., and Oh, S. S. (2005) Isolation and genotyping of *Enterobacter sakazakii* from powdered infant formula manufactured in Korea. *Food Sci. Biotechnol.* **14**, 875-877.