Kor. J. Microbiol. Biotechnol.
Vol. 36, No. 2, 142-148(2008)

샐러드와 새싹채소에서 *Enterococcus*의 분리와 항생제 내성특성

강태미 · 조선경 · 박종현*
경원대학교 식품생물공학과

Antibiotic Resistances of *Enterococcus* Isolated from Salad and Sprout. Kang, Tae-Mi, Sun-Kyung Cho, and Jong-Hyun Park*. *Department of Food Science and Biotechnology, Kyungwon University, Seongnam 461-701, Korea* – To evaluate the antibiotic resistance of *Enterococcus* from salad and sprout, *Enterococcus* were isolated and identified from 47 salad samples and 37 sprout samples, and then their antibiotic resistances were analyzed. Ninety five *Enterococcus*, 41 strains from salad and 54 strains from sprout, were ultimately isolated. The frequent *Enterococcus* in salad and sprout were *E. gallinarum*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. hirae*, and *E. avium*. Minimum inhibitory concentrations of the isolates for vancomycin were below 4 μg/mL, which were not high levels of resistance. All *Enterococcus* proved to be resistant to streptomycin and chloramphenicol. Twenty two percentage of the isolates were resistant to penicillin, however, almost the isolates were sensitive to tetracycline. Eighteen percentage of the isolates were resistant to erythromycin. All *E. faecium* and *E. faecalis* were found to be ampicillin-resistant, and seven *E. faecalis* and five *E. faecium* were resistant to rifampicin. Overall antibiotic resistances of *Enterococcus* isolates were relatively low and low resistance to vancomycin was similar to those evidenced by *Enterococcus* isolated from the other foods. Therefore, there may be no special risk from the antibiotics resistances of *Enterococcus* and especially vancomycin-resistant *Enterococcus* from the fresh-cut salads and the sprouts.

Key words: *Enterococcus*, salad, sprout, antibiotic resistance

서 론

장구균(*Enterococcus*)은 통성혐기성 그람 양성 구균으로서 형태학적으로는*Streptococcus*와 구별이 어려워 최근까지도 group D *Streptococcus*종으로 분류되었으나 DNA 상동성에서 차이를 보여 1984년 Schleife와 Kilpper-Balz에 의해 *Streptococcus*와는 다른 별개의 장구균 속(*Entrococcus* genus)으로 재분류되었다[15, 19]. 장구균은 대부분의 포유동물과 조류의 장내 정상 세균총이며, 동물과 사람 분변으로부터 배출되어 환경에 존재하는 비교적 독성이 약한 병원균이다. 장구균은 환경으로 배출되는 다른 분변내 세균과는 달리, 화학적이나 물리적 요인에 저항성이 강하여 숙주의 장내 환경 밖에서도 오랫동안 생존할 수 있다는 특징을 갖고 있다. 장구균속에는 16S rDNA 염기서열과 DNA-DNA hybridization연구를 통해 *E. faecalis, E. faecium*과 *E. casseliflvus*를 포함하여 27종이 보고되어 있다[5]. *E. faecalis*가 임상에서 분리되는 장구균의 80-90%를 차지한다. *E. faecium*의 분리율은 5-10%로 높지는 않으나 여러 항생제에 대하여 내성을 보이는 *E. faecium*의 등장으로 새롭게 중요한 병원 감염균으로 부각되었다[12].

장구균의 가장 중요한 특징 중 하나는 그람 양성균 감염증 치료에 흔히 사용되는 각종 항생제에 대해 상대적인 또는 절대적인 내성을 보인다는 것이다. 또한 염색체 내에 내재되어 있는 내인성 내성이외에도 plasmid와 transposon내에 암호화 되어 있는 유전자의 획득으로 다양한 항생제에 대하여 새로운 내성을 보이는 이차적 획득 내성을 나타낸다[15].

Vancomycin 내성 장구균(vancomycin-resisrant enterococci, VRE)은 1986년 유럽에서 처음 보고된 이후로 병원 감염의 원인균으로서 분리빈도가 증가하고 있으며 최근에는 유럽, 미국 이외에도 전세계적으로 증가하고 있는 추세이다[9, 13]. VRE 균종의 증가가 문제로 대두되는 이유는 대부분의 VRE 균종이 다른 항생제에도 내성을 갖기 때문에 치료하기가 어려울 뿐만 아니라 VRE 내성 유전자가 MRSA(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*)등을 포함한 다른 그람양성 구균에 전달될 가능성이 있기 때문이다[17, 19].

이러한 장구균은 개인이나 국가에 따라 *E. faecalis*보다 *E. faecium*이 많기도 하지만 사람 장내의 주된 *Enterococcus* 종은 *E. faecalis*이다[6]. 그러나 Mundt 등[23]은 많은 식품에 존재하는 일반적인 *E. faecalis*가 분변으로 부터의 직접적인 오염과 항상 관련되어 있는 것은 아니라고 하였다. 1992년 EU에서는 위생 지표로서 coliform과 *Escherichia coli*의 최대 수준을 확정하였지만, 장구균에 대해서는 제한을 두지 않

*Corresponding author
Tel: 82-31-750-5523, Fax: 82-31-750-5273
E-mail: p5062@kyungwon.ac.kr

았다. 더욱이 장구균은 식품산업에서 위생 지표로 중요성이 크지 않은 것으로 보여진다. 그러나 장구균은 항온동물과 관련되어 있을 뿐 아니라 흙, 물, 식물이나 채소, 곤충에서도 발견된다[14].

장구균의 살균온도에 대한 저항성과 다른 기질에 대한 적응성 그리고 생육조건(10°C-45°C, 6.5% NaCl, pH 9.6)은 원료로부터 가공된 식품에서 뿐만 아니라 가열등의 식품생산 일반적인 조건에 견딜 수 있음을 의미하며 장구균은 식품의 가공 중에도 오염될 수 있기 때문에 식품 중 장구균의 관리가 중요한 부분이 되어야 한다는 것을 알 수 있다.

유럽에서는 장구균의 bacteriocin 생산능을 이용한 최소가공, 즉석섭취 편이식품인 채소제품이 증가하고 있으며, 우리나라에서도 최근 웰빙문화와 개인건강유지가 사회적 화두로 떠오르면서 소비자들은 특별한 열처리가 필요 없거나 간단한 열처리 등으로 최소 가공된 fresh-cut-vegetable형태의 식품을 선호하는 경향이 증가하고 있다. 발효식품의 종균으로 많이 사용되고 있지만 장구균은 자연환경에 널리 분포하고 있으며 잠재적 병원성을 지니고 있다. 더욱이 VRE의 증가 역시 큰 문제로 대두되고 있으나 식품 중 장구균에 대한 연구가 많이 이루어지지 않고 있다.

따라서 본 연구는 국내에서 시판되고 있는 신선편의 식품인 샐러드와 새싹채소로부터 *Enterococcus*를 분리, 동정하고 분리균의 항생제 감수성을 분석하여 항생제 위해 가능성을 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

사용균주, 시료수집과 전처리

국내 대형마트에서 유통되는 샐러드 47종과 새싹채소 37종을 구입하여 총84종의 시료에서 *Enteorococcus*를 분리하였다. 생화학적 특성을 확인하기 위하여 사용된 표준균주로는 *Enterococcus faecalis* KCTC 2011, *Entercoccus faecium* KCCM 12118등을 사용하였다.

모든 시료는 clean bench에서 무균적으로 처리 되었으며, 모든 검체를 다룰 때에는 멸균한 시약스푼, 가위, 칼을 이용하였다. 채취한 시료 25 g을 취하여 0.85% 멸균 생리 식염수를 가하여 120초 동안 stomaker(IUL, Barcelona, Spain)를 이용하여 균질화한 후 1 mL을 시험 검액으로 사용하였고 실험 과정에서 사용되는 배지 및 기구는 121°C에서 가압멸균하여 사용하였다.

Enterococcus 분리와 동정

전처리된 검액 1 mL을 9 mL 0.85% 생리 식염수 용액에 넣어 10진 희석하여 Enterococci 선택배지인 Enterococcusel agar(Difco, Bercon, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA)에 분주 도말하여 37°C에서 24~72시간 배양한 후 검은색 집락 중 대표적인 것을 분리하여 동정하였다.

Enterococcosel agar에서 검은색 집락을 분리하여 5% 면양혈액이 첨가된 tryptic soy agar(Difco)에 배양 후 그람양성 구균의 균주만을 선별하여 45°C에서의 생육여부, 6.5% NaCl 존재하의 생육, catalase 생성유무와 함께 *Enterococcus*에 특이적 primer인 Ent 1(5'-TAC TGA CAA ACC ATT CAT GAT G-3')과 Ent 2(5'-AAC TTC GTC AAC GCG AAC-3')를 이용하여 PCR을 수행하고 API 20 Strep kit (bioMericeux, Marcy l'Etoil, France)와 자동화 미생물 동정장치인 Vitek((bioMericeux)의 결과를 통합하여 *Enterococcus* spp.를 동정하였다.

항생제 감수성 측정

분리한 *Enterococcus*의 항생제 감수성은 한천 희석방법을 이용하여 수행하였다[21]. 대상 항생제는 National Committee for Clinical Laboratory Standards(NCCLS)에서 *Enterococcus*의 항생제 검사로 추천된 vancomycin, penicillin, chloramphenicol, tetracycline, rifampin, streptomycin 그리고 ampicillin과 erythromycin을 사용하였다[16]. Muller-Hilton(MH) broth(Oxoid, Hampshire, England)에서 배양된 균액을 MH 한천배지에 항생제를 단계별로 희석하여 첨가한 배지에 접종기구를 이용하여 접종한 후 37°C에서 24시간 배양하였다. 최소생육저해농도(minimum inhibitory concentration, MIC)는 각각의 항생제가 첨가된 배지에서 균주가 증식하지 않는 최소농도로 결정하였다.

결과 및 고찰

Enterococcus 분리와 동정

Enterococcusel agar에서 검은색 집락을 선택하여 45°C에서의 생육, 6.5% NaCl 존재하의 생육, catalase 생성유무를 확인한 후 *Enterococcus* 에 특이적 primer인 Ent1, Ent2를 이용하여 PCR을 수행한 결과 샐러드 47개중에서 32개에서 *Entrococcus*가 검출되었으며 새싹채소 37개중 27개에서 *Enterococcus*가 분리되었다(Fig. 1).

Vitek과 API 20 strep kit의 결과를 종합하여 샐러드와 새싹채소에서 분리한 *Enterococcus* species를 동정하였다. 샐

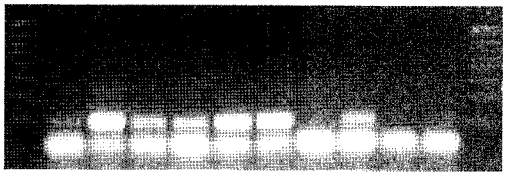

Fig. 1. Agarose gel electrophoresis showing PCR product with Ent 1, Ent 2 primer from isolated *Enterococcus* spp. in salad. Lanes : 1, *Enterococcus; faecalis* KCTC 2011, 2, Esa*-1, 3; Esa-2, 4; Esa-3, 5; Esa-4, 6; Esa-5, 7; not detected, 8; Esa-6, 9; not detected, 10; not detected; M; 100 bp DNA ladder. Esa*: Enterococci isolated from salad.

Table 1. Identification of isolated *Enterococcus* spp. isolated from 47 salad (A) and 37 sprout (B) by Vitek and API 20 strep kit.

(A)				(B)			
No.	Strain	Organism	Relative probability (%)	No.	Strain	Organism	Relative probability (%)
1	Esa-1	*Enterococcus casseliflavus /gallinarum*	99	1	Esp-1	*Enterococcus casseliflavus /gallinarum*	99
2	Esa-2	*Enterococcus gallinarum*	99	2	Esp-2	*Enterococcus gallinarum*	98
3	Esa-3	*Enterococcus avium*	96	3	Esp-3	*Enterococcus hirae*	85
4	Esa-4	*Enterococcus gallinarum*	90	4	Esp-4	*Enterococcus casseliflavus /gallinarum*	95
5	Esa-5	*Enterococcus casseliflavus /gallinarum*	99	5	Esp-5	*Enterococcus gallinarum*	92
6	Esa-6	*Enterococcus faecium*	89	6	Esp-6	*Enterococcus faecalis*	99
7	Esa-7	*Enterococcus faecium*	99	7	Esp-7	*Enterococcus casseliflavus /gallinarum*	90
8	Esa-8	*Enterococcus avium*	80	8	Esp-8	*Enterococcus casseliflavus /gallinarum*	99
9	Esa-9	*Enterococcus avium*	80	9	Esp-9	*Enterococcus faecalis*	99
10	Esa-10	*Enterococcus avium*	98	10	Esp-10	*Enterococcus gallinarum*	99
11	Esa-11	*Enterococcus avium*	86	11	Esp-11	*Enterococcus faecium*	73
12	Esa-12	*Enterococcus casseliflavus /gallinarum*	96	12	Esp-12	*Enterococcus gallinarum*	93
13	Esa-13	*Enterococcus casseliflavus /gallinarum*	99	13	Esp-13	*Enterococcus avium*	96
14	Esa-14	*Enterococcus avium*	95	14	Esp-14	*Enterococcus casseliflavus /gallinarum*	85
15	Esa-15	*Enterococcus avium*	66	15	Esp-15	*Enterococcus avium*	99
16	Esa-16	*Enterococcus avium*	95	16	Esp-16	*Enterococcus faecalis*	99
17	Esa-17	*Enterococcus avium*	91	17	Esp-17	*Enterococcus faecalis*	99
18	Esa-18	*Enterococcus casseliflavus /gallinarum*	98	18	Esp-18	*Enterococcus gallinarum*	97
19	Esa-19	*Enterococcus casseliflavus /gallinarum*	98	19	Esp-19	*Enterococcus gallinarum*	82
20	Esa-20	*Enterococcus gallinarum*	73	20	Esp-20	*Enterococcus gallinarum*	90
21	Esa-21	*Enterococcus gallinarum*	80	21	Esp-21	*Enterococcus casseliflavus /gallinarum*	98
22	Esa-22	*Enterococcus faecium*	93	22	Esp-22	*Enterococcus avium*	98
23	Esa-23	*Enterococcus gallinarum*	73	23	Esp-23	*Enterococcus casseliflavus /gallinarum*	99
24	Esa-24	*Enterococcus avium*	99	24	Esp-24	*Enterococcus gallinarum*	85
25	Esa-25	*Enterococcus gallinarum*	97	25	Esp-25	*Enterococcus gallinarum*	89
26	Esa-26	*Enterococcus faecium*	89	26	Esp-26	*Enterococcus faecium*	97
27	Esa-27	*Enterococcus gallinarum*	91	27	Esp-27	*Enterococcus faecium*	99
28	Esa-28	*Enterococcus casseliflavus /gallinarum*	99	28	Esp-28	*Enterococcus gallinarum*	87
29	Esa-29	*Enterococcus casseliflavus /gallinarum*	81	29	Esp-29	*Enterococcus gallinarum*	96
30	Esa-30	*Enterococcus casseliflavus /gallinarum*	99	30	Esp-30	*Enterococcus avium*	89
31	Esa-31	*Enterococcus casseliflavus /gallinarum*	99	31	Esp-31	*Enterococcus casseliflavus /gallinarum*	99
32	Esa-32	*Enterococcus gallinarum*	90	32	Esp-32	*Enterococcus faecium*	99
33	Esa-33	*Enterococcus gallinarum*	99	33	Esp-33	*Enterococcus faecium*	99
34	Esa-34	*Enterococcus faecalis*	99	34	Esp-34	*Enterococcus casseliflavus /gallinarum*	99
35	Esa-35	*Enterococcus casseliflavus /gallinarum*	99	35	Esp-35	*Enterococcus casseliflavus /gallinarum*	79
36	Esa-36	*Enterococcus hirae*	95	36	Esp-36	*Enterococcus faecium*	90
37	Esa-37	*Enterococcus hirae*	97	37	Esp-37	*Enterococcus faecium*	90
38	Esa-38	*Enterococcus casseliflavus /gallinarum*	99	38	Esp-38	*Enterococcus gallinarum*	89
39	Esa-39	*Enterococcus gallinarum*	73	39	Esp-39	*Enterococcus hirae*	97
40	Esa-40	*Enterococcus gallinarum*	97	40	Esp-40	*Enterococcus faecalis*	99
41	Esa-41	*Enterococcus gallinarum*	97	41	Esp-41	*Enterococcus casseliflavus /gallinarum*	99
				42	Esp-42	*Enterococcus casseliflavus /gallinarum*	99
				43	Esp-43	*Enterococcus faecalis*	99
				44	Esp-44	*Enterococcus casseliflavus /gallinarum*	99
				45	Esp-45	*Enterococcus casseliflavus /gallinarum*	94
				46	Esp-46	*Enterococcus gallinarum*	98
				47	Esp-47	*Enterococcus faecalis*	98
				48	Esp-48	*Enterococcus gallinarumx*	95
				49	Esp-49	*Enterococcus gallinarum*	84
				50	Esp-50	*Enterococcus faecium*	93
				51	Esp-51	*Enterococcus hirae*	99
				52	Esp-52	*Enterococcus faecium*	99
				53	Esp-53	*Enterococcus gallinarum*	81
				54	Esp-54	*Enterococcus faecium*	97

러드 32개의 시료에서 분리한 *Enterococcus* 41개 균주 중에서 *E. avium*가 10균주(24.4%)로 분리되었고, *E. faecalis*가 1주(2.4%)로 가장 적게 분리되었으며, *E. faecium*는 4주(9.8%), *E. gallinarum*는 12주(29.2%)로 가장 많이 검출되었으며, *E. hirae*는 2주(4.9%)로 분리되었으며 *E. gallinarum/casseliflavus*도 *E. gallinarum*와 같이12주(29.2%)로 가장 많이 검출되었다.

새싹채소 27개에서 분리한 *Enterococcus* 54균주 가운데 *E. avium* 4균주(7.4%), *E. faecalis* 7주(13%), *E. faecium* 10주(18.5%), *E. gallinarum* 16주(29.6%) 순으로 가장 많이 검출되었으며, *E. gallinarum/casseliflavus* 14주(25.9%)가 검출되었다(Table 1).

샐러드와 새싹채소에서 분리한 *Enterococcus* 결과를 보면 샐러드와 새싹채소에서 동정한 *Enterococcus*의 *E. avium, E. faecalis, E. faecium, E. gallinarum, E. hirae, E. casseliflavus* 6종으로 같다. 분포는 샐러드에서는 *E. avium*이 많이 검출된 것 이외에는 새싹채소와 비슷한 분포를 나타내며, 새싹채소에서는 샐러드보다 *E. faecalis, E. faecium*이 더 많이 검출되었다(Fig. 3).

분리균의 vancomycin 최소발육억제농도

Vancomycin 내성 장구균(VRE)은 VanA, VanB, VanC, VanD 및 VanE의 5가지 표현형이 있는데, VanA형은 *E. faecalis*와 *E. faecium*에 흔하며, 고농도의 vancomycin (MIC, 64-1,000 μg/mL)에 내성을 보이며, VanB형은 VanA 형과는 달리 vancomycin에 대해서 다양한 범위의 내성(MIC, 4-1,000 μg/mL)을 보인다. VanC형은 *E. gallinarum, E. casseliflavus* 및 *E. flavescens*에서 관찰되는데, 최근 보고된 VanE형과 함께 vancomycin에 대해서 저농도 내성(MIC, 4-32 μg/mL)을 나타낸다[13].

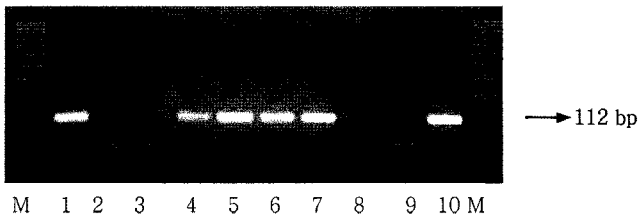

Fig. 2. Agarose gel electrophoresis showing PCR product with Ent 1, Ent 2 primer from isolated *Enterococcus* spp. in sprout. Lanes: 1; *Enterococcus faecium* KCCM 12118, 2; not detected, 3; not detected, 4; Esp*-1, 5; Esp-2, 6; Esp-3, 7; Esp-4, 8; Esp-5, 9; not detected, 10; Esp-6, M; 100 bp DNA ladder. Esp*: Enterococci isolated from sprout.

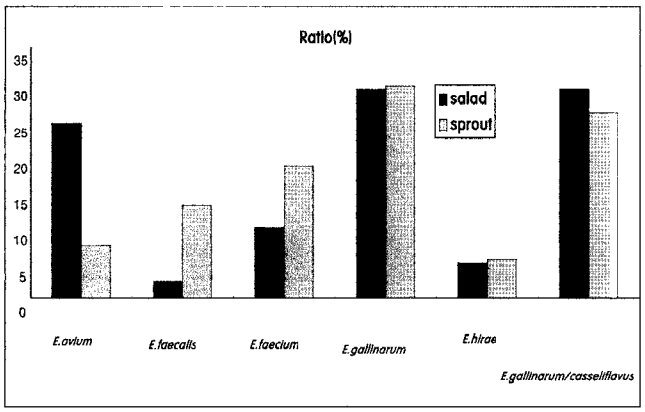

Fig. 3. Composition of *Enterococcus* spp. isolated from salad and sprout.

국내 유통되는 샐러드와 새싹채소에서 분리된 *Enterococcus*에 대하여 vancomycin resistant enterococci(VRE)의 분포를 조사하기 위해서 vancomycin에 대한 최소발육억제농도(MIC)를 조사하였다. 그 결과 샐러드와 새싹채소에서 분리된 *Enterococcus*에 대한 vancomycin의 MIC 범위는 0.25 μg/mL에서 8.0 μg/mL로 나타났으며, 고농도 vancomycin에 내성을 보이는 균주는 확인되지 않았다. 분리된 *Enterococcus* 중 *E. avium* 2균주, *E. faecalis* 1균주, *E. faecium* 2균주, *E. gallinarum* 20균주, *E. gallinarum/casseliflavus* 23종이 저농도 내성(MIC, 4.0 μg/mL)을 보이며 이 균주들을 제외하고는 vancomycin에 감수성(MIC 0.25-2.0 μg/mL)을 보였다(Table 2).

Vancomycin에 대해 저농도 내성을 보이는 분리균은 샐러드에서 19균주, 새싹채소에서 29균주로 전체 분리균 중 51%로 나타났다. 저농도 내성 균주는 *E. avium* 4.2%, *E. faecalis* 2.1%, *E. faecium* 4.2%, *E. gallinarum* 41.6%, *E. gallinarum/casseliflavus* 48%로 확인되었다. Chadwick 등[3]은 닭과 돼지고기 및 쇠고기에서 VRE를 분리하였으며, 식품유통을 거쳐 VanA 유전자가 전이될 수 있을 것이라 하였다. 또한 VRE는 농가의 동물이나 조리되지 않은 닭에서도 Bates 등[2]에 의해 분리되었으며, 환자의 혈액과 소변에서 분리한 VRE와 같은 ribotyping 패턴을 갖고 있었다. Klein 등[11]이 쇠고기와 돼지고기에서 분리한 *Entercoccus* 중 0.5%가 VRE였으며, 임상분리균과 다른 항생제 내성 양상을 발견하였다.

국내의 경우에는, 1997년 이후 동물 유래 VRE의 분리 보고가 있었다. Seo 등[20]은 1999년에 돼지와 닭 분변 1,091 중 닭 분변에서 11주의 VRE를 보고하였다. Cho 등[4]은 소, 돼지, 닭 및 개 등의 분변에서 분리한 *Entrococcus* 122개 균주중 고농도 vancomycin 내성 균주는 없었으나, 저농도 vancomycin 내성을 보이는 *E. gallinarum*과 *E. casseliflavus* 등을 분리하였다. 그러나 식품 중 VRE의 검출에 대한 연구보고는 많지 않은 실정이다. 최근 특별한 열처리가 필요 없거나 간단한 열처리 등으로 최소 가공된 ready-to-eat 형태의 식품인fresh-cut-vegetable 선호하는 경향이 증가하고 있다[1, 16]. *Enterococcus*는 자연환경에 널리 분포하고 있는 만큼 이러한 최소 가공 식품에는 VRE가 존재할 수 있으나 본 연구의 결과 이들 최소 가공 식품 중 VRE의 내성정도가 높지 않은 것으로 나타났다.

Table 2. Minimum inhibitory concentrations of vancomycin against *Enterococcus* spp. isolated from salad and sprout.

	Species (No.of isolates)	MIC (μg/mL)						Range
		0.25	0.5	1.0	2.0	4.0	8.0	
Salad	*E. avium* (10)	0	0	9	0	1	0	1.0-4.0
	E. faecalis (1)	0	0	0	1	0	0	2.0
	E. faecium (4)	1	0	3	0	0	0	025-1.0
	E. gallinarum (12)	2	0	0	1	6	3	0.5-8.0
	E. hirae (2)	0	1	1	0	0	0	0.5-1.0
	E. gallinarum/casseliflavs (12)	0	0	3	0	3	6	0.5-8.0
Sprout	*E. avium* (4)	0	0	3	0	0	1	1.0-8.0
	E. faecalis (7)	0	0	0	6	1	0	2.0-4.0
	E. faecium (10)	0	0	8	0	2	0	1.0-4.0
	E. gallinarum (16)	0	0	3	2	8	3	1.0-8.0
	E. hirae (3)	0	1	1	1	0	0	0.5-2.0
	E. gallinarum/casseliflavs (14)	0	0	0	0	2	12	4.0-8.0

분리균의 항생제 감수성

식품유래 enterococci에 ampicillin, chloramphenicol, erythromycin, penicillin, rifampicin, streptomycin 그리고 tetracycline의 감수성을 검사한 결과, streptomycin에 대해서는 32 μg/mL 이상의 내성을 보였으며, chloramphenicol에 대해서는 2-16 μg/mL의 내성을 나타내었다(Table 3). Penicillin에는 22%가 저농도 내성을 보였으며 tetracycline에 대해서는 0.25-2 μg/mL 이하의 감수성을 나타내었다. *E. faecalis*와 *E. faecium*은 본래 penicillin에 낮은 친화도를 갖는 penicillin-binding protein(PBP)5 때문에 penicillin에 저농도를 내성을 갖는다[7]. Enterococci의 고농도 penicillin 내성은 PBP5의 과잉 생성과 PBP5에서 아미노산이 치환되는 것과 관련이 있으며, *E. faecium*에서 가장 많이 관찰된다. Penicillin에 대한 감수성 실험 결과, *E. faecalis* 8균주 모두 저농도 내성을 갖으며, *E. faecium* 6균주 또한 저농도 내성을 보였다. Erythromycin에 대한 감수성 실험결과, 샐러드와 새싹채소 분리균에서 각각 22%, 20%의 저농도 내성을 보였다. 독일의 Klare 등[10]은 동물 유래 vancomycin 내성 *E. faecium* 8균주의 항생제 감수성 결과, penicillin에는 저항성, chloramphenicol과 rifampicin에는 감수성을 나타냄을 확인하였다. Klein 등[11]이 독일의 쇠고기와 돼지고기에서 분리한 enterococci의 항생제 감수성 검사결과, penicillin, tetracycline, ciprofloxacin, chloramphenicol 및 rifampicin에 감수성을 보였다. 그리고 Pavia 등[18]이 이태리의 소, 닭, 칠면조, 양 및 돼지 등의 고기에서 분리한 enterococci의 항생제 감수성 결과, 감수성이 있는 항생제는 ampicillin과 rifampin이었으며, 대부분이 tetracyclin에 내성을 보였다. 각 나라 및 소재에 따라 enterococci의 항생제 감수성이 차이를 보이는 것은 장내 세균의 항생제 감수성 검사에서 지표세균인 *Enterococcus*가 내성을 보이는 항생제에 노출된 정도와 사용된 항생제 사용실태에 따른 차이에 기인한 것으로 보인다.

따라서 본 연구의 결과, 샐러드와 새싹채소에서 분리한 *Enterococcus*는 streptomycin, chloramphenicol에 대해서 모든 균들이 내성을 나타내었으며, tetracyclin, penicillin, rifampicin, ampicillin과 erythromycin의 다른 항생제에 대해서는 균주에 따라 다른 감수성을 나타내어 동물 유래 *Enterococcus*와는 다른 항생제 감수성을 보였다.

현재 식품 중 *Enterococcus*의 검출에 대한 연구 보고는 많지 않은 실정이다. 최근 특별한 열처리가 필요 없는 fresh-cut-vegetable 형태의 식품을 선호하는 경향이 증가하고 있다. *Enterococcus*는 자연환경에 널리 분포하고 있으므로 식

Table 3. Minimum inhibitory concentrations of antibiotic against *Enterococcus* spp. isolated from salad and sprout.

Antibiotic	MIC (μg/mL)									Range
	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	32>	
ampicillin	0	0	1	14	17	41	22	0	0	2-16
chloramphenicol	0	0	0	2	59	25	9	0	0	2-16
erythromycin	13	17	21	27	14	2	1	0	0	0.25-16
penicillin	53	1	6	14	5	15	1	0	0	0.25-16
rafampin	22	3	12	12	23	20	3	0	0	0.25-16
streptomycin	0	0	0	0	0	2	12	37	44	8-32>
tetracycline	10	9	48	25	0	1	2	0	0	0.25-16

품의 원료에 따라 그 분포가 상이할 것이라 생각되며, 이러한 최소 가공 식품에는 VRE가 존재할 수 있다. 따라서 앞으로 특별한 열처리 없이 섭취하는 신선편의 식품에 대한 VRE의 관리와 저감화 방안 등에 계속적인 모니터링이 필요할 것이라 생각되어진다.

요 약

샐러드와 새싹채소에서 분리한 *Enterococcus*의 항생제 내성을 알아보기 위해서 샐러드 47개와 새싹채소 37개에서 *Enterococcus*를 분리하여 항생제 내성을 분석하였다. 총 95균주, 샐러드에서 41균주 새싹채소에서 54균주의 *Enterococcus*를 분리하였으며 대부분이 *E. gallinarum*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. hirae*, *E. casseliflavus*, *E. avium*으로 동정되었다. Vancomycin의 최소 생육 저해 농도는 4 μg/mL 이하로 샐러드와 새싹채소에서 분리된 *Enterococcus*에서는 vancomycin 내성이 높지 않은 것으로 나타났다. 그리고 모든 *Enterococcus*에서 streptomycin과 chloramphenicol에 내성을 보였으며, 22% *Enterococcus*는 penicillin에서 저농도 내성을 보였다. 그러나 거의 모든 *Enterococcus*에서 tetracycline에 민감성을 나타내었다. 검출된 모든 *E. faecium*과 *E. faecalis*에서도 ampicillin 저농도 내성을 보였으며, 7균주의 *E. faecium*과 5균주의 *E. faecalis* 에서 rifampin저농도 내성을 보였다. 전반적으로 분리된 *Enterococcus*는 vancomycin과 다른 항생제에 대해 감수성과 낮은 내성을 각각 보였으며 다른 식품 분리균주에서도 유사한 결과를 보이고 있다. 그러므로 샐러드와 새싹채소에서의 분리된 *Enteroccocus*는 vancomycin과 다른 항생제에도 내성이 낮아 특별히 항생제 위해정도는 크지 않은 것으로 보인다.

감사의 글

본 연구는 2007년도 경원대학교 학술연구비 지원에 의하여 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Ahn, Y. S. and D. H. Shin. 1999. Antimicrobial effects of organic acids and ethanol on several foodborne microorganism. *Korean J. Food Sci. Technol.* **31**: 1315-1323.
2. Bates, J., J. Z. Jordens, and D. T. Griffiths. 1994. Farm animals as a putative reservoir for vancomycin-resistant enterococci infection in man. *J. Antimicrob. Chemoth.* **34**: 507-516.
3. Chadwick, P. R., N. Woodford, E. B. Kaczmarski, S. Gray, R. A. Barrell, and B. A. Oppenheim. 1996. Glycopeptide-resistant enterococci isolated from uncooked meat. *J. Antimicrob. Chemoth.* **38**: 908-909.
4. Cho, Y. S., H. S. Lee, J. M. Kim, P. D. Ryu, Y. H. Park, H. S. Yoo, and M.H. Lee. 2003. Comparison of antimicrobial susceptibility of vancomycin resistant enterococci from animal and human. *Korean J. Vet. Public Health* **27**: 17-29.
5. Collins, M. D., D. Jones, J. A. E. Farrow, R. Kilpper-Balz, and K.H. Schleifer. 1984. *E.avium* nom. rev.,comb. nov.; *E. casseliflavus* nom. rev., comb. nov. *E.durans* nom. rev., combnov.; *E. gallinarum* comb nov. *Int. Syst. Bacteriol.* **34**: 220-223.
6. Devriese, L. A., B. Pot, and M. D. Collins. 1993. Phenotypic identification of the genus *Enterococcus* and differentiation of phylogentically distanct enterococcal species and species group. *J. Appl. Becteriol.* **75**: 339-408.
7. Fackalm, R. R. and M. D. Collins. 1989. Identification of *Enterococcus* species isolated from human infections by a conventional test scheme. *J. Clin. Microbiol.* **27**: 731-734.
8. Johnson, A. P., A. H. C. Uttley, N. Woodford, and R. C. Geroge. 1990. Resistance to vancomycin and teicoplanin: *An emerging clinical problem. Clin. Microbiol. Rev.* **3**: 280-291.
9. Kim, J. K. and Y. W. Lee. 1989. A review study of food poisoning in Korea. *J. Food Hyg. Saf.* **4**: 199-255.
10. Klare, I., H. Heier, H. Claus, R. Reissbrodt, and W. Witte. 1995. vanA-Mediated high-level glycopeptide resistance in *Enterococcus faecium* from animal husbandry. *FEMS Microbiol. Lett.* **125**: 165-172.
11. Klein, G., A. Pack, and G. Reuter. 1998. Antibiotic resistance patterns of enterococci and occurrence of vancomycin-resistant enterococci in raw minced beef and pork in Germany. *Appl. Environ. Microbiol.***64**: 1825-1830.
12. Mandel, G.L., J.E. Bennett, R. Dolin, and D. Mandell. 1995. *Streptococcus bovis*, and *Leuconostoc*. spp. p.1826-1835. *In* R. C. Mcellering (ed), *A Principles and Practice of Infectious Disease*. Churchill Living Stone, New York, NY, USA
13. Moellering, R.C. 1998. Vancomycin-resistant enterococci. *Clin. Infect. Dis.* **26**: 1196-1199.
14. Mundt, O.J. 1986. Enterococci. p.1063-1065. *In* P.H.A. Sneath, N.S. Mair, M.E. Shape, and G.E. Holt (eds.), *Bergey's Manual of Systemic Bacteriology*. Vol. 2, Williams and Wilkins, Baltimore, MD, USA
15. Murray, B.E. 1990. The life and times of the *Entrococcus*. *Clin. Microbiol. Rev.* **3**: 46-65.
16. NCCLS document M2-A7. 2000. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; Approved standard M2-A7(eds.), *National Committee for Clinical Laboratory Standard,* Wayne, PA, USA.
17. Noble, W.C., Z. Virani, and R.G.A. Cree. 1992. Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from *Enterococcus faecalis* NCTC 12201 to *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol. Lett.* **93**: 195-198.
18. Pavia, M., C.G.A. Nobile, L. Salpietro, and I.F. Angellillo. 2000. Vancomycin resistance and antibiotic susceptibility of enterococci in raw meat. *J. Food Protect.* **7**: 912-915.
19. Schlefer, K.H. and R. Kilpper-Balz. 1987. Molecular and

chemotaxonomic approach to the classification of streptococci, enterococci and lactococci. Review. *Syst. Appl. Microbiol.* **10**: 1-18.

20. Seo, K.S., D.J. Song, M.M. Gwyther, and Y.H. Park. 1999. Development of multiplex PCR for detection of vancomycin resistant enterococci(VRE) and epidemiological application in Korea. *Korean J. Vet. Res.* **39**: 343-352.
21. Zarazaga, M., Y. Saenz, A. Portillo, C. Tenorio, F. Ruiz-Larrea, R.D. Campo, F. Baquero, and C. Torres. 1999. In vitro activities of ketolide MHR 3647, mactolides, and other antibiotics against *Lacobacillus*, *Leuconostoc*, and *Pediococcus isolates*. *Antimicrob. Agents Ch.* **43**: 3039-3041.

(Received Arp. 28, 2008/Accepted June 3, 2008)