

PCR Kit와 선택배지를 이용한 계란의 병원성세균 검출 비교 평가

김동호 · 윤혜정¹ · 송현파 · 임상용 · 조민호 · 조철훈^{1*}
한국원자력연구원 방사선과학연구소, ¹충남대학교 동물자원생명과학과

Comparison of a PCR Kit and a Selective Medium to Detect Pathogenic Bacteria in Eggs

Dong-Ho Kim, Hye-Jeong Yun¹, Hyun-Pa Song, Sang-Yong Lim, Min-Ho Jo
and Cheo-Run Jo^{1*}

Department of Radiation Biotechnology, Korea Atomic Energy Research Institute, Jeongeup 580-185, Korea

¹Department of Animal Science and Biotechnology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

Abstract

PCR technology has been widely used to detect and quantify microbial pathogens in foodstuffs, because the technique is rapid, sensitive, and selective. In this study, detection of contaminating pathogenic bacteria on shells of chicken eggs was performed using both a commercial multiplex polymerase chain reaction (PCR) kit and a viable count method employing a selective medium. The PCR kit was capable of detecting *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella* species, and *Shigella* species. Using the PCR method, five bacterial species were detected from 30 samples (33.3%) of 90 batches of eggs commercially available in a market. PCR products from *B. cereus*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica*, and *E. coli* O157:H7 were detected, and the numbers and frequencies of positive samples were 17 (18.8%), 12 (13.3%), 15 (16.6%), 16 (17.7%), and 4 (4.4%), respectively. None of any *Salmonella* species, *C. jejuni*, *V. parahaemolyticus*, or *Shigella* species was detected in this study. The results of PCR testing were confirmed using a typical viable count method employing a selective medium. We suggest that the multiplex polymerase chain reaction (mPCR) assay is a rapid and reliable method for detection of pathogenic bacteria contaminating eggs.

Key words : egg, PCR, pathogenic bacteria, detection

서 론

계란은 우수한 단백질 급원으로서 다양한 형태의 일반식품이나 식품첨가물로서 뿐만 아니라 알부민 등의 의약품, 화장품 등의 원료로 사용되는 등 그 활용범위가 매우 높은 식품소재이다(1). 계란의 난백과 난황은 3중 구조의 난각 보호막에 의하여 외부환경으로부터 차단되어 있어 다른 축산식품에 비하여 비교적 미생물의 오염 가능성이 낮은 편이다. 그러나 계란의 난각에는 계란 착란 과정 중 닭의 산란기나 배설물, 그리고 양계장의 환경으로부터 오염된

미생물이 다양하게 분포하며, 이러한 미생물들은 계란의 보관, 유통, 가공과정에서 난각의 균열부위를 통하여 계란 내부로 전이되거나 다른 식품으로의 이행 가능성이 높다(2,3). 특히 계란의 난백과 난황은 수분활성도가 높고 미생물 생장에 필요한 영양원이 풍부하여 일단 미생물 오염이 진행되면 오염 미생물의 생장에 의하여 식중독과 같은 식성 병해를 일으킬 수 있는 가능성이 크고, 다양한 조리식품 및 가공식품에 원료로 첨가되는 경우가 많아 오염미생물의 2차 확산에 대한 위험도가 높은 특성이 있다(4,5).

식품 또는 식품원료의 microflora는 식품의 부패와 식중독 발생 등에 직접적인 영향을 미친다. 따라서 병원성미생물에 의한 식중독의 발생을 예방하기 위해서는 각 식품의

*Corresponding author. E-mail : cheorun@cnu.ac.kr,
Phone : 82-42-821-5774, Fax : 82-42-825-9754

microflora를 지속적으로 모니터링 해야 한다. 계란의 주요 식중독 위험인자는 *Salmonella*에 의한 Salmonellosis인 것으로 알려져 있으며, 이와 관련하여 *Salmonella enteritidis*를 비롯한 *S. typhimurium*, *S. heidelberg* 등의 병원성미생물 오염과 이로부터 유래한 식중독 발생 사례가 보고되어 있다(6-8). 그러나 김 등(9)은 국내에 유통 중인 계란의 오염 세균을 분리한 결과 *Staphylococcus sciuri*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis* 등이 분리되었고 *Salmonella*는 검출되지 않았다고 보고하여 계란으로부터 salmonellosis 이외의 식중독 발생이 가능성을 시사한 바 있다. 한편, 최근 미생물에 의한 식중독 발생의 국내 현황 또한 *Salmonella* 이외에도 *E. coli* O:157, *Campylobacter jejuni* 등의 비중이 점차 높아지고 있으므로 계란의 위생관리와 유통에서도 보다 다양한 병원성 미생물에 대한 위생 및 검역관리가 요구되고 있다(10).

식품의 미생물 오염도 검사에는 미생물 선택배지에 의한 미생물 검출법(viable cell count method)이 가장 일반적인 방법으로 사용되어 왔다(11-13). 그러나 viable cell count 방법은 검체의 전처리, 미생물 배양 및 분리, 동정 과정 등에 최소 5~6일 정도의 시간이 소비되며 배지의 제조나 미생물의 배양에 많은 노동력을 필요로 하는 문제점이 있다(14,15). 한편, PCR 기술은 생물체의 DNA 단편을 인위적으로 대량 증폭시키는 생명공학 기술로 활용되어 왔으며, 최근에는 신속하고 정확한 미생물의 검출기술로도 활용되고 있다(16,17). 특히 PCR 기술은 살아 있는 미생물뿐만 아니라 이미 죽은 미생물까지도 검출이 가능하므로 viable cell count 방법으로는 알 수 없는 살균처리 공정 이전의 위생미생물 오염도까지 측정할 수 있는 장점이 있다(18). 그러나 PCR 방법이 식중독균을 검출하고 확인하는데 기존의 배지법, 생화학적 분석 및 혈청학적 방법보다 매우 신속하고 정확하나, 검출된 세균의 정량값을 알 수 없으며 PCR 반응 후 agarose gel electrophoresis하는 과정에서 cross contamination이 일어날 수 있는 등의 한계를 가지고 있다. 또한, 자동화가 어려운 문제점을 가지고 있다. 따라서 이러한 단점을 보완하여 사용되는 방법이 실시간 유전자 정량 검출 기술(Real-time quantitative PCR)이다. Real-time PCR은 기존의 PCR에 비해 비록 고가의 장비를 사용해야하나 전기영동 과정이 생략됨으로써 오염의 가능성이 낮아지고, 확인에 소요되는 시간이 짧아졌다. 또한, 감도 및 재현성이 뛰어나고 정량적 측정이 가능하며, 다량의 샘플을 처리할 수 있는 장점이 있어 식품에서 식중독균의 검출 및 확인에 많이 이용되고 있다(19). 최근에는 유전자 증폭 검사에 필요한 모든 구성 요소들을 안정화 물질과 함께 동결건조시킨 PreMix 형태로써 제공됨으로써 검출 시간을 최소화할 수 있으며, 1종의 미생물이 아닌 여러 종의 미생물을 동시에 검출할 수 있는 multiplex polymerase chain reaction (mPCR) kit가 다양한 목적으로 상용화되어 의료 및 식품위생 분야

에서의 새로운 미생물 검출기술로 보급되고 있다.

본 연구는 현재 유통 중인 계란의 미생물 오염상태를 시판되는 multiplex polymerase chain reaction (mPCR) kit로 검사하고 이를 선택배지를 이용한 viable cell count 방법과 비교함으로써 보다 신속한 계란의 위생성 및 미생물학적 안전성 확보 기준 설정의 기초자료를 제공하고자 하는 목적으로 수행되었다.

재료 및 방법

시 료

계란 시료는 9개 회사의 시판 제품을 전북 및 대전지역 소재 대형 할인점에서 구입하였으며 미생물 검출 및 분리 시료는 각 생산회사 제품당 10개씩을 무작위로 선택하여 사용하였다. 시료 계란의 평균 중량은 70 ± 5.2 g 이었으며 시료의 미생물 오염도평가와 미생물분리 실험은 시료 구입 즉시 실시하였다.

PCR Kit를 이용한 난각 오염 미생물 검출

9 group의 시험구에서 각각 10개의 계란을 무작위로 표본 추출한 다음 2차오염이 방지된 무균시험대 내에서 계란을 파쇄하여 난백과 난황을 제거한 후, 난각 부분을 회수하였다. 미생물 검출용 시료는 ISO 6579 방법(20)에 준하여 준비하였다. 즉, 회수된 90개의 난각을 각각 멸균된 poly-vinyl bag에 넣고 멸균 식염수(NaCl 0.85%) 50 mL를 첨가하여 blender에서 10분간 교반한 다음, 난각 세척 시험액 1 mL를 tryptic soy broth 10 mL에 접종한 후 37°C에서 24시간 증균배양(enrichment)하여 PCR용 DNA 분리를 위한 미생물 시료를 준비하였다. Dario 등(21)의 방법에 따라 미생물 배양액에서 DNA를 분리하였다. 먼저, 증균배양액 1 mL를 원심분리하여 (14,000 ×g, 10분) 미생물 균체를 회수하고 멸균 식염수(NaCl 0.85%)로 2회 세척하였다. 회수된 균체를 멸균수 200 uL에 현탁한 후 100°C 에서 5분 동안 가열하여 얻어진 상층액을 mPCR 반응의 template DNA 시료로 사용하였다. PCR kit는 시판되는 PowerCheck™ Multiplex-Pathogen Detection Kit (코젠바이오텍)를 사용하였다. PowerCheck™ Multiplex-Pathogen Detection Kit는 총 9종류의 병원성 미생물을 검출할 수 있는 primer를 포함하고 있으며 각 primer set는 서로 다른 길이를 가진 DNA 증폭 산물을 생산하도록 구성되어 있다. PCR 반응 후에 다음과 같이 각 병원성 미생물에 해당하는 DNA 단편의 증폭여부를 확인하여 시료 내에 병원성 미생물의 존재 여부를 판단하게 된다. [*Campylobacter jejuni*, 127 bp, *E.coli* O157:H7; 208 bp, *Staphylococcus aureus*, 264 bp, *Bacillus cereus*, 303 bp, *Vibrio parahaemolyticus*, 375 bp, *Listeria monocytogenes*, 454 bp, *Yersinia enterocolitica*; 551 bp,

Salmonella spp.; 678 bp, *Shigella spp.*; 825 bp]. PCR 반응액은 kit에 포함되어 있는 5x PCR buffer 5 uL, primer (50 pmol) 4 uL, Taq polymerase 1 uL (5 U/uL)에 계란에서 분리된 template DNA 10 uL와 증류수 5 uL를 혼합하여 준비하였다. PCR 반응은 denaturation (95°C, 5분), annealing (58°C, 30초, extension (72°C, 30초) 각 과정을 35회 반복 실시하였으며 마지막으로 72°C에서 5분간 반응한 후 종료하였다.

선택배지를 이용한 난각 오염 미생물 분리

상기의 시험방법에서 준비된 난각 세척 시험액을 멸균 식염수(NaCl 0.85%)를 이용하여 1/10 씩 단계별로 희석하고, 각 희석액 1 mL를 취하여 미생물별 agar 선택배지 15 mL에 pour plating한 다음, 이를 37°C의 배양기에서 48시간 배양하여 생성된 colony를 counting하여 bacteria의 오염도를 평가하였다. 선택배지에서의 분리 미생물 판정은 *Salmonella*와 *Shigella*는 *Salmonella-Shigella* agar (Difco Lab)에서 각각 검은색과 분홍색을 나타내는 colony로, *Bacillus cereus*는 10% egg yolk이 첨가된 MYP agar (Oxoid)에서 침전을 가진 분홍색 colony로, *Staphylococcus aureus*는 Baird Parker agar (Oxoid)에서 투명한 환을 가진 흑회색 colony로 잠정 판정하였다. *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes* 및 *E. coli*는 각각 *Yersinia* selective agar (Oxoid), *Listeria* selective agar (Oxoid), eosin methylene blue agar (Difco Lab)에서 분홍색, 갈색 및 녹색을 나타내는 colony로 판정하였으며 *Vibrio parahaemolyticus*는 TCBS agar에서 청록색을 나타내는 colony로 판정하였다. 한편, *Campylobacter jejuni*는 시료를 5 antimicrobics를 첨가한 Campylobacter Thioglycollate medium에 접종한 다음 BBL™CampyPak™을 투입한 jar에 담아 42°C에서 48시간 배양하여 생성된 점질상의 회색 colony로 잠정 판정하였다.

결과 및 고찰

PCR을 이용한 난각 오염 미생물 검출

PCR을 이용한 계란의 병원성 미생물 검출을 일반적인 선택배지에서의 viable cell count 방법과 비교하여 검사하였다. PCR 시험은 시판 중인 PowerCheck™ Multiplex-Pathogen Detection kit를 이용하여 실시하였으며, PCR product의 분석 결과는 kit에서 제공된 각 미생물의 control DNA 크기를 전기영동으로 비교하여 검출여부를 판정하였다(Fig. 1). Fig. 1에 나타난 바와 같이 A 시험구의 경우 A-3 시료와 A-8 시료는 *L. monocytogenes*와 *Y. enterocolitica* 이 확인되었으며 A-4시료는 *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica* 그리고 *E. coli* O157:H7이 검출되었다. B 시험구의 경우, B-3, B-4, B-9 시료에서 검출대상 미생물 DNA가 확인되었다. 이러한 PCR 방법을 통하여 계란 난각의 오염미생물을

검사한 결과를 Table 1에 정리하였다. 총 90개의 검사시료 가운데 한 가지 이상의 미생물이 검출된 계란시료는 30개로 검사시료의 미생물 오염도는 약 33.3% 수준이었다. 시료 군별로는 C 시험구의 오염도가 가장 높아 10개의 시료 가운데 6개의 시료에서 미생물이 검출되었으며 검출된 미생물 수의 누적합계도 16종으로 가장 높았다. C 시험구에 이어 F 시험구에서 5개, A와 I 시험구에서는 4개의 시료에서 검출대상 미생물이 확인되었다. 이에 비하여 H 시험구는 1개의 시료에서 *B. cereus* 1종의 미생물만 검출되었으며, J 시험구는 PCR kit 검출 대상 미생물이 검출되지 않아 미생물 관점에서는 비교적 위생적인 세척 및 살균공정이 이루어졌음을 확인할 수 있었다. 미생물이 검출된 30개의 시료 가운데 검출대상 미생물 1종만이 검출된 시료는 8개였으며 2종 검출 시료는 11개, 3종 검출시료는 10개, 그리고 4종 검출시료는 1개로 조사되었다(Table 1). 미생물별 검출 빈도는 *B. cereus*가 17개 시료(18.9%)에서 검출되어 가장 높은 빈도를 보였으며 *Y. enterocolitica*는 16개(17.8%), *L. monocytogenes* 15개(16.7%), *St. aureus* 12개(13.3%), *E. coli* O157:H7 4개(4.4%)의 검출빈도를 보였다(Table 2). 한편, 본 실험에 도입된 PCR kit의 검출 대상 미생물 9종 가운데 *Campylobacter jejuni*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*는 모든 시료에서 검출되지 않았다.

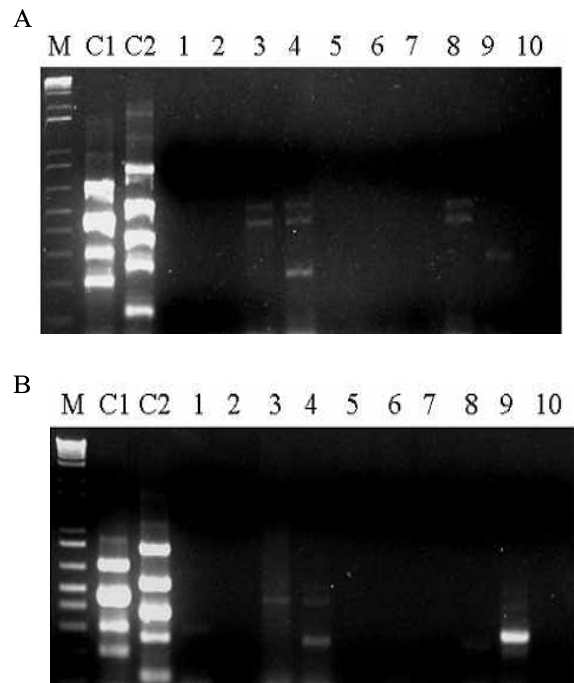


Fig. 1. Results of PCR amplifications of the Multiplex-Pathogen target genes performed in DNA extracted from shell eggs.

Lane M; 100 bp ladder, Lane C1; control DNA(from bottom to up, *E.coli* O157:H7; 208 bp, *Bacillus cereus*; 303 bp, *Listeria monocytogenes*; 454 bp, *Salmonella spp.*; 678 bp), Lane C2; control DNA(from bottom to up, *Campylobacter jejuni*; 127 bp, *Staphylococcus aureus*; 264 bp, *Vibrio parahaemolyticus*; 375 bp, *Yersinia enterocolitica*; 551 bp, *Shigella spp.*; 825 bp), Lane 1~10; tested sample.

Table 1. Detection of the pathogenic bacteria from the egg shell using the commercial PCR kit

Sample	Detected Microorganisms by PCR kit					Number of detected
	<i>B. cereus</i>	<i>Y. enterocolitica</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>St. aureus</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	
A-3	-	+	+	-	-	2
A-4	-	+	+	-	+	3
A-8	-	+	+	-	-	2
A-9	-	-	-	+	-	1
B-3	-	-	+	-	-	1
B-4	-	-	+	+	-	2
B-9	-	-	-	+	+	2
C-1	+	+	-	+	-	3
C-2	-	+	+	+	-	3
C-4	+	+	+	-	-	3
C-5	+	-	-	+	+	3
C-6	+	+	-	-	+	3
C-9	-	-	+	-	-	1
D-4	+	-	-	-	-	1
D-7	+	-	-	-	-	1
E-2	+	-	+	+	-	3
E-8	-	-	+	+	-	2
F-3	+	+	-	-	-	2
F-4	+	+	-	-	-	2
F-6	-	+	-	-	-	1
F-7	+	-	+	-	-	2
F-9	-	+	-	-	-	1
G-5	+	-	+	+	-	3
G-7	+	+	-	+	-	3
G-10	+	+	+	-	-	3
H-8	+	-	-	-	-	1
I-2	-	-	+	+	-	2
I-3	+	+	+	+	-	4
I-8	+	+	-	-	-	2
I-10	+	+	-	-	-	2
Number of detected	17	16	15	12	4	64

선택배지를 이용한 난각 오염 미생물 분리

일반적인 선택배지에서의 viable cell count 시험결과를 PCR을 이용한 계란의 병원성 미생물 검출 결과와 비교하였다. Viable cell count 방법을 통한 계란 난각 오염미생물 검사결과를 Table 3에 정리하였다. PCR 방법을 이용한 계란의 미생물 오염도 검사에서는 총 90개의 검사시료 가운데 한 가지 이상의 미생물이 검출된 계란시료가 30개였으나 viable cell count 방법에서는 27개의 시료에서 미생물이

검출되어 검사시료의 미생물 오염도는 약 30.0% 수준이었다(Table 2). 시료별로는, PCR 방법에서 미생물이 검출되었던 D-4, F-6, H-8 시료가 viable cell count 시험에서는 검출대상 미생물이 확인되지 않았으며(Table 3), 검출된 미생물종의 누적합계는 PCR 방법에서는 64건이었으나 viable cell count 방법에서는 53건으로 확인되었다(Table 2). 아울러 PCR 방법에 대한 viable cell count 방법의 미생물별 검출 빈도 변화는 *B. cereus*가 17개 시료(18.9%)에서 14개(15.6%) 시료로, *Y. enterocolitica*는 16개(17.8%)에서 12개(13.3%)로, *L. monocytogenes*는 15개(16.7%)에서 13개(14.4%)로, *St. aureus*는 12개(13.3%)에서 10개(11.1%)로 감소하였으며, *E. coli* O157:H7은 두 가지 검출방법간의 차이가 나타나지 않았다(Table 2). 한편, PCR kit를 이용한 검출 방법에서 대상 미생물이 검출되지 않은 시료가 viable count에서는 검출되는 경우는 나타나지 않았으며 PCR 방법과 마찬가지로 viable cell count 방법에서도 *Campylobacter jejuni*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*는 모든 시료에서 검출되지 않았다.

Table 2. Comparison of the PCR kit and selective media in a detection frequency of pathogenic bacteria from egg shell

Microbial contamination	PCR Kit		Viable Cell Count	
	Number of samples	Rate of samples (%)	Number of samples	Rate of samples (%)
Untamminated egg	60	66.7	63	70.0
Contaminated egg	30	33.3	27	30.0
<i>B. cereus</i>	17	18.9	14	15.6
<i>Y. enterocolitica</i>	16	17.8	12	13.3
<i>L. monocytogenes</i>	15	16.7	13	14.4
<i>St. aureus</i>	12	13.3	10	11.1
<i>E. coli</i> O157:H7	4	4.4	4	4.4
<i>C. jejuni</i>	ND	-	ND	-
<i>V. parahaemolyticus</i>	ND	-	ND	-
<i>Salmonella spp.</i>	ND	-	ND	-
<i>Shigella spp.</i>	ND	-	ND	-

본 시험에서 나타난 계란 오염 미생물의 검출빈도는 Moon 등(22)의 시중 유통 계란의 일반 미생물 오염도 평가 결과인 41.3% 및 Lee 등(23)의 대장균군 오염도 4.7%와 유사한 수준이었다. 한편, 본 연구에서는 일반적인 계란오염 병원성미생물로 알려진 *Salmonella*가 검출되지 않았는데 이는 국내에 유통 중인 계란의 오염세균을 분리 결과 *Staphylococcus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, 등이 분리되었고 *Salmonella*는 검출되지 않았다고 보고한 김 등(9)의 결과와 일치하였다. 이러한 경향은 *Salmonella* 이외에도 *E. coli* O:157, *Campylobacter jejuni* 등에 의한 식중독 발생 비중이 점차 증가하고 있는 국내 현황(10)과 유사한 것이었

으며 이는 계란의 위생관리와 유통에서도 보다 다양한 병원성 미생물에 대한 검역관리가 필요함을 반증하는 것이라 할 수 있다.

이상의 결과에서 살펴본 바와 같이 PCR을 이용한 병원성 미생물의 검출 방법은 viable cell count 방법보다 감도가 높음을 알 수 있었다. 이러한 결과는 viable cell count 방법의 경우, 시료의 전처리와 pour plating 과정에서 오염미생물의

회색으로 인하여 계란 1개의 난각에 최소한 100 cell 이상의 미생물이 분포할 때에만 검출이 가능하기 때문에 나타난 것이라 사료된다. 한편, PCR 방법은 viable cell count 방법에 비하여 노동력의 감소, 감도와 신속성, 다양한 미생물의 동시검출 등의 측면에서 기술적 우위성을 가지나 미생물 오염의 정량적 분석이 어렵고 기기와 전문성이 요구되는 문제점이 있다. 따라서 PCR 검출법과 viable cell count 방법은 필요에 따라 선택 또는 상호보완 관계를 유지하는 것이 바람직할 것으로 사료된다.

Table 3. Detection of the pathogenic bacteria from the egg shell using the viable cell count method on a selective media

Sample	Detected Microorganisms by viable cell count method					Number of detected
	<i>B. cereus</i>	<i>Y. enterocolitica</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>St. aureus</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	
A-3	- ¹⁾	+	+	-	-	2
A-4	-	+	+	-	+	3
A-8	-	+	+	-	-	2
A-9	-	-	-	+	-	1
B-3	-	-	+	-	-	1
B-4	-	-	+	+	-	2
B-9	-	-	-	+	+	2
C-1	+	-	-	-	-	1
C-2	-	+	+	+	-	3
C-4	+	+	-	-	-	2
C-5	-	-	-	+	+	2
C-6	+	+	-	-	+	3
C-9	-	-	+	-	-	1
D-4	-	-	-	-	-	0
D-7	+	-	-	-	-	1
E-2	+	-	-	+	-	2
E-8	-	-	+	+	-	2
F-3	+	+	-	-	-	2
F-4	+	+	-	-	-	2
F-6	-	-	-	-	-	0
F-7	+	-	+	-	-	2
F-9	-	+	-	-	-	1
G-5	+	-	+	+	-	3
G-7	+	-	-	-	-	1
G-10	+	+	+	-	-	3
H-8	-	-	-	-	-	0
I-2	-	-	+	+	-	2
I-3	+	+	+	+	-	4
I-8	+	+	-	-	-	2
I-10	+	-	-	-	-	1
Number of detected	14	12	13	10	4	53

¹⁾Not detected in the detection limit (10²CFU/egg) of this study.

요 약

유통 중인 계란의 병원성균 오염상태를 시판되는 multiplex polymerase chain reaction (mPCR) kit로 검사한 결과, 총 90개의 검사시료 가운데 한 가지 이상의 미생물이 검출된 계란시료는 30개로, 검사시료의 미생물 오염도는 약 33.3% 수준이었다. 미생물별 검출 빈도는 *B. cereus*가 17개 시료 (18.9%)에서 검출되어 가장 높은 빈도를 보였으며 *Y. enterocolitica*는 16개(17.8%), *L. monocytogenes* 15개 (16.7%), *St. aureus* 12개(13.3%), *E. coli* O157:H7 4개(4.4%)의 검출빈도를 보였다. 한편, 선택배지를 이용한 viable cell count 방법에서는 27개의 시료에서 미생물이 검출되어 검사시료의 미생물 오염도는 약 30.0% 수준이었으며, 미생물별 검출 빈도는 *B. cereus*가 17개 시료(18.9%)에서 14개 (15.6%) 시료로, *Y. enterocolitica*는 16개(17.8%)에서 12개 (13.3%)로, *L. monocytogenes*는 15개(16.7%)에서 13개 (14.4%)로, *St. aureus*는 12개(13.3%)에서 10개(11.1%)로 감소하였으며, *E. coli* O157:H7은 두 가지 검출방법간의 차이가 나타나지 않았다. 검출 대상 미생물 9종 가운데 *Campylobacter jejuni*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella spp.*, 및 *Shigella spp.*는 두 방법 모두에서 검출되지 않았다. 이상의 결과에서 살펴본 바와 같이 PCR을 이용한 병원성 미생물의 검출 방법은 viable cell count 방법보다 감도가 높음을 알 수 있었다.

참고문헌

1. Yoo, Y.M. (2003) Changes in quality of eggs with storage temperature and time. Monthly Poultry, 3, 119-124
2. Gast, R.K. and Beard, C.W. (1992) Detection and enumeration of *Salmonella enteritidis* in fresh and stored eggs laid by experimentally infected hens. J. Food Protect., 55, 152-156
3. Himmack, T.S., Sherrod, P.S., Bruce, V.R., June, G.A., Satchell, F.B. and Andrews, W.H. (1993) Growth of

- Salmonella enteritidis* in grade A eggs during prolonged storage. Poultry Sci., 72, 373-377
4. Mishu, B., Koehler, J. and Lee, L.A. (1994) Outbreaks of *Salmonella enteritidis* infections in the United States, J. Infect. Dis., 169, 547-552
 5. Khalid, S.A.A., Hassan, E.E.B. and Ali, S.A.Z. (1998) An outbreak of food poisoning associated with restaurant-made mayonnaise in Abha, Saudi Arabia. J. Diarrhoeal Dis. Res., 16, 201-201
 6. Gast, R.K. and Beard, C.W. (1992) Detection and enumeration of *Salmonella enteritidis* in fresh and stored egg laid by experimentally infected hens. J. Food Protect., 55, 152-156
 7. Schoeni, J.L., Glass, K.A., McMernott, J.L. and Wong, A.C.L. (1995) Growth and penetration of *Salmonella enteritidis*, *Salmonella heidelberg* and *Salmonella typhimurium* in egg. Int. J. Food Microbiol., 24, 385-396
 8. Jones, F.T., Rives, D.V. and Carey, J.B. (1995) *Salmonella* contamination in commercial eggs and an egg production facility. Poultry Sci., 74, 753-757
 9. Kim, D.H., Yun, H.J., Song, H.P., Lim, B.L. and Jo, C.G. (2008) Isolation of egg-contaminating bacteria and evaluation of bacterial radiation sensitivity. Korean J. Food Preserv., 15, 774-781
 10. Lee, H.J. (2008) Pathogenic agents and outbreak of foodborne diseases at home and abroad. Korean. J. Vet. Public. Health, 32, 81-89
 11. de Boer, E. (1998) Update on media for isolation of Enterobacteriaceae from foods. Int. J. Food Microbiol., 45, 43-53
 12. Blood, R.M. and Curtis, G.D.W. (1995) Media for 'total' Enterobacteriaceae, coliforms and *Escherichia coli*. Int. J. Food Microbiol., 26, 93-115
 13. Feder, I., Nietfeld, J.C., Kelly, B., Butine, M.D., McNamara, P. and Chengappa, M.M. (1998) Evaluation of enrichment techniques for the isolation of *Salmonella choleraesuis* from swine feces. J. Microbiol. Methods, 33, 143-151
 14. Hoorfar, J. and Baggesen, D.L. (1998) Importance of pre-enrichment media for isolation of *Salmonella spp.* from swine and poultry. FEMS Microbiol. Lett. 169, 125-130
 15. Betts, R. (2002) Detecting pathogens in food. In: Foodborne pathogens. Blackburn, C.W. and McClure, P.J.(Editors), CRC Press, New York, p.13-52
 16. Aslam, M., Hogan, J. and Smith, K.L. (2003) Development of a PCR-based assay to detect Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella* in milk. Food Microbiol. 20, 345-350
 17. Brul, S., Klis, F.M., Oomes, S.J.C.M., Montijn, R.C., Schuren, F.H.J., Coote, P. and Hellingwerf, K.J. (2002) Detailed process design based on genomics of survivors of food preservation processes. Trends Food Sci. Technol. 13, 325-333
 18. Chem, T.R., Chiou, C.S., and Tsen, H.Y. (2004) Use of novel PCR primers specific to the genes of staphylococcal enterotoxin G, H, I for the survey of *Staphylococcus aureus* strains isolated from food poisoning cases and food samples in Taiwan. Int. J. Food Microbiol. 92, 187-197
 19. Saulnier, D., Decker, S.D. and Haffner, P. (2009) Real-time PCR assay for rapid detection and quantification of *Vibrio aestuarianus* in oyster and seawater: A useful tool for epidemiologic studies. J. Microbiol. Methods, 77, 191-197
 20. ISO 6579 (1993) Microbiology-General Guidance on Methods for the Detection of *Salmonella* International Organization of Standardization.
 21. Dario, D.M., Luciana, C., Elisabetta D., Simona, D.P., Emma, F. and Laura, T. (2003) Evaluation of DNA extraction methods for use in combination with sybr green I real-time PCR to detect *Salmonella enterica* serotype enteritidis in poultry. Appl. Environ. Microbiol., 69, 3456-3461
 22. Moon, E.S. and Ko, M.H. (2006) Quality grade of eggs in the food stores. Safe Food, 1, 23-26
 23. Lee, S.M., Kim, K.H., Lee, J.G., Park, E.J., Lee, S.W. and Hong, C.H. (2002) Hygienic quality of eggs in the department food stores in the Incheon metropolitan area. J. Food Hyg. Safety, 17, 129-136

(접수 2009년 6월 17일, 채택 2009년 10월 30일)