

Cronobacter sakazakii 분리배지의 성능 비교

김현정¹ · 구민선¹ · 오세욱^{2*}

¹한국식품연구원 안전성연구단

²국민대학교 식품영양학과

Performance Comparison of 3 Different Isolation Media of *Cronobacter sakazakii*

Hyun-Jung Kim¹, Minseon Koo¹, and Se-Wook Oh^{2*}

¹Food Safety Team, Korea Food Research Institute, Gyeonggi 463-746, Korea

²Dept. of Food and Nutrition, Kookmin University, Seoul 136-702, Korea

Abstract

Three different isolation media for *Cronobacter sakazakii* have been recommended by Korea Food and Drug Administration from 2007. Performance comparison test was carried out between recommended *Cronobacter sakazakii* isolation medium. Chromogenic Enterobacter sakazakii agar (CESA) and Enterobacter sakazakii agar (ESA) produce more distinctive colonies having characteristic colors and appearance than Violet red bile glucose agar (VRBGA). The sensitivity and specificity of 3 different isolation media was checked. All 3 tested media showed 100% sensitivity when tested with 30 different *Cronobacter sakazakii*. The CESA and ESA showed 100% specificity when tested with Enterobacteriaceae except *Cronobacter sakazakii*. However, VRBGA did not show any specificity, showing inadequate selectivity compared to applicable *Cronobacter sakazakii* isolation medium. Artificially inoculated *Cronobacter sakazakii* to milk powder was easily recovered with 3 different isolation media and they all showed almost the same recovery activity.

Key words: *Cronobacter sakazakii*, isolation medium, comparison, sensitivity, specificity

서 론

*Cronobacter sakazakii*는 다양한 식품에서 분리되는 등 자연에 널리 존재하는 것으로 알려져 있는 균이지만 주로 영아용 조제분유(1-5)와 분유(6-8)를 통하여 질병을 유발하는 것으로 추측되고 있다. *Cronobacter sakazakii*는 운동성이 있고 포자를 형성하지 않는 통성혐기성균이며, 그람 음성의 간균으로 주로 저체중신생아를 대상으로 괴사성 장염, 패혈증 및 뇌수막염을 유발하는 장내미생물이다(9). *Cronobacter sakazakii* 감염은 주로 생후 3일부터 4년까지의 신생아와 어린이를 대상으로 병을 유발하며, 2003년까지 적어도 76건의 감염사례가 보고되고 있다(10). 신생아뿐만 아니라 면역결핍인 어른에 대한 감염사례도 일부 보도되고 있다(11,12). 아직까지 *Cronobacter sakazakii*와 관련된 감염원 및 감염경로는 정확히 밝혀져 있지 않지만, 역학적 조사 결과에 따르면 조제분유, 분유를 탄 장소의 환경조건, 사용한 기구 등이 가장 유력한 오염경로라고 인정되고 있다(13).

우리나라에서도 2006년 조제분유에서 검출되어 사회적인 논란이 야기되기도 하였으며 그 결과 영아용 조제분유에서

는 검출되지 말아야 한다는 음성인 법적 기준을 가지게 되었으며(14), European Union에서도 미생물 기준이 도입되었다(15).

*Cronobacter sakazakii*의 선택적인 검출을 위한 다양한 방법들이 보고되고 있다. 선택적인 검출을 위해서는 *Cronobacter sakazakii*가 특징적으로 생산하는 α-glucosidase 활성을 선택마커로 이용하는 방법이 이용되고 있는데, 이를 chromogen을 이용하여 검출하는 선택배지(16)와 형광물질인 flurogen을 이용하여 검출하는 선택배지가 보고되고 있다(17).

*Cronobacter sakazakii*의 선택적인 검출을 위해 사용되는 선택배지는 모두 다른 조성을 가지고 있어 미생물 성장에 차이가 있을 수 있으며 선택성에서도 차이가 있을 수 있다. Gurtler와 Beuchat(10)은 spiral plating 방법을 이용하여 stressed cell에서 회복하는 특성을 조사한 결과 TSAP(tryptic soy agar supplemented with 0.1% pyruvate) agar와 LBDC (Leuschner, Baird, Donald, and Cox) agar 같은 비선택배지(non-selective medium)가 stressed cell에 대한 회복 효율이 높았다고 하였으며 Oh and Kang(OK) agar와 Druggan-Forsythe-Iversen(DFI) agar와 같은 선택배지가 stressed

*Corresponding author. E-mail: swoh@kookmin.ac.kr
Phone: 82-2-910-5778, Fax: 82-2-910-4799

cell에 대한 회복 효율이 낮았다고 하였다. Iversen과 Forsythe (18)는 DFI agar, VRBG(violet red bile glucose) agar, mLST(modified LST) agar와 E. sakazakii isolation agar에 대한 비교실험에서 DFI agar가 검출율이 높았다고 하였으며 ESIA가 DFI에 비하여 위양성(false positive) 콜로니를 적게 형성하였다고 하였다.

국내에서는 2007년 식품공전에 *Cronobacter sakazakii* 실험법이 등재되었으며 분리배지로는 미국 FDA에서 권고하고 있는 배지인 VRBGA와 α -glucosidase 활성을 chromogen으로 검출하는 Chromogenic Enterobacter sakazakii agar와 효소활성을 형광물질인 flurogen으로 검출하는 Enterobacter sakazakii agar이 등재되어 있다(14).

본 논문에서는 식품공전에 등재된 3종의 *Cronobacter sakazakii* 분리배지에 대하여 sensitivity, specificity를 측정하였으며 위양성 생성여부 및 식품에서의 회수 효율에 대하여 비교실험을 하였다.

재료 및 방법

사용균주 및 배양

분리배지의 sensitivity 측정을 위해서 사용된 공인균주로는 4종의 *Cronobacter sakazakii* 균주(ATCC 12868, 29004, 29544, 51329)가 사용되었으며 일반균주로는 식품에서 분리한 26종의 균주를 실험에 사용하였다. 분리배지의 specificity 측정을 위해서는 E. coli O157:H7 6균주와 *Salmonella* spp. 24균주 등 Enterobacteriaceae에 속하는 30균주를 사용하여 실험하였다. 한국식품연구원 안전성연구단에 보관중인 미생물은 tryptic soy agar를 이용하여 37°C에서 24시간 배양하여 실험에 사용하였다. 식품에서의 회수실험은 *Cronobacter sakazakii* ATCC 12868, 29004, 51329 3종을 tryptic soy broth로 배양하여 4°C에서 20분간 원심분리(4,000×g)하여 균주를 회수하고 0.2% peptone water로 3번 수세한 후 사용하였다.

분리배지

실험에 공시된 *Cronobacter sakazakii* 분리배지는 우리나라 식품공전에 등재된 배지로서 Chromogenic Enterobacter sakazakii agar(CESA), Violet red bile glucose agar(VRBGA), Enterobacter sakazakii agar(ESA)를 사용하였다. 각 배지에 도달하여 36°C에서 24±2시간 배양한 후 CESA에서 청록색이고, VRBGA에서 자주색의 집락을, ESA에서는 장과장의 자외선(366 nm) 조사 하에 형광을 나타내는 집락을 *Cronobacter sakazakii* 추정균주로 하였다.

분리 배지의 sensitivity 측정

Sensitivity는 실험에 공시된 배지에서 목적으로 하는 대상균주를 고체배지에 희석 배양하였을 때 분리배지가 나타내는 전형적인 집락이 형성될 경우 양성으로 판단하였으며

그 비율을 측정하였다(19,20). *Cronobacter sakazakii* 표준균주 4균주 및 식품에서 분리된 26균주로 총 30균주를 사용하였다. 식품에서 분리된 균주는 식품공전상의 생화학적 실험을 통하여 확인된 균주이었으며 동시에 자동동정시스템인 Vitek® compact에서 90% 이상의 확률로 동정된 균주이다.

$$\% \text{ Sensitivity} = \frac{\text{True Positive}}{\text{True Positive} + \text{False Negative}} \times 100$$

분리 배지의 specificity 측정

Specificity는 실험에 공시된 배지에서 대상균주인 *Cronobacter sakazakii* 이외의 균주를 희석 도달하였을 경우 위양성(false positive)이 나타나지 않는 비율을 측정하였다(19,20). 대상균주로는 *Cronobacter sakazakii*와 같이 Enterobacteriaceae에 속하는 균주인 E. coli O157:H7 6균주(ATCC 35150, ATCC 43889, ATCC 43890, ATCC 43894, ATCC 43895, NCCP 11091)를 사용하였으며 *Salmonella* spp. 24균주를 사용하여 총 30종의 균주를 사용하였다.

$$\% \text{ Specificity} = \frac{\text{True Negative}}{\text{True Negative} + \text{False Positive}} \times 100$$

식품에서의 회수 실험

인위적으로 접종하는 식품은 조제분유를 대상으로 하였다. *Cronobacter sakazakii* 접종을 위한 식품의 용량을 1000 mL로 설정하였으며 실험에 공시된 *Cronobacter sakazakii*는 ATCC 12868, 29004, 51329의 3종으로서 각각 별도로 배양한 후 연속희석법에 의해 1000 mL에 100 cfu 이상이 접종된 고농도 조건(100 cfu<inoculated cfu), 1000 mL에 10~100 cfu가 접종된 중간농도 조건(10 cfu<inoculated cfu<100 cfu) 및 1000 mL에 10 cfu 이하가 접종된 저농도 조건(inoculated cfu<10 cfu)의 3구간의 농도로 조정하였다. 접종은 하나의 처리구당 5개의 서로 다른 처리구를 제조하여 5회 반복실험 중 양성으로 측정된 수를 나타내었다(21). 인위적인 접종 후, 비선택중균 배양 및 선택중균(EE broth) 배양을 실시하고 3종의 분리배지에 도달한 후 전형적인 집락의 생성여부를 판단하여 양성으로 판단하였다. 미생물 집락 모양이 불분명 할 경우는 API 20E biochemical kit를 이용하여 동정하여 판단하였다.

결과 및 고찰

분리배지의 전형적인 집락 모양

식품공전에 등재되어 있는 *Cronobacter sakazakii* 분리용 고체배지 3종에 희석 도달하여 37°C에서 24시간 배양한 후 형성된 전형적인 집락 모양은 Fig. 1과 같다. CESA는 초기에는 DFI agar로 분리된 선택배지로서 chromogen을 첨가하여 α -glucosidase 효소활성에 의해 형성되는 뚜렷한 녹색의 집락을 형성하였다. ESA도 역시 α -glucosidase 효소활성을 4-methylumbelliferyl- α -D-glucoside를 선택 마커로 이용

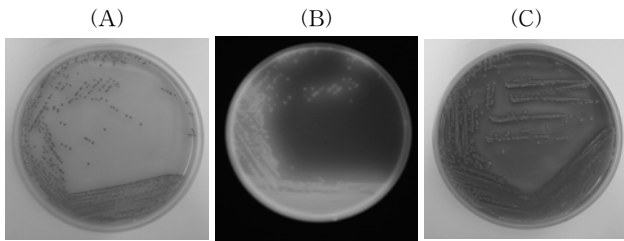


Fig. 1. Characteristic color and appearance of colonies on 3 different isolation media. A: Chromogenic Enterobacter sakazakii agar (CESA), B: Enterobacter sakazakii agar (ESA), C: Violet red bile glucose agar (VRBGA).

Table 1. Comparison of the sensitivity and selectivity of 3 different *Cronobacter sakazakii* isolation media

Parameter	CESA	ESA	VRBGA
No. of <i>Cronobacter sakazakii</i> strains showing positive color reactions	30/30	30/30	30/30
Sensitivity (%) ¹⁾	100	100	100
No. of non- <i>Cronobacter sakazakii</i> strains showing negative color reactions	30/30	30/30	0/30
Specificity (%) ²⁾	100	100	0

¹⁾The number of *Cronobacter sakazakii* strains giving the expected color reaction divided by the total number of *Cronobacter sakazakii* strains tested.

²⁾The number of non-*Cronobacter sakazakii* strains giving a negative color reaction or failing to grow divided by the total number of non-*Cronobacter sakazakii* strains tested.

한 배지로서 효소활성 결과 생성된 형성물질을 366 nm 정도의 자외선을 조사한 경우 형광을 띤 집락을 형성하였다. 미국 FDA에서 권고하고 있는 분리배지인 VRBGA는 자주색 집락을 형성하였으며 집락주위에 bile salt가 생성하는 검은색의 침전물이 생성되었다. VRBGA에서 형성된 집락보다는 CESA와 ESA에서 형성된 집락이 더욱 더 뚜렷한 선택과 모양을 나타내는 것으로 판단되었다. 이는 선택배지의 검출 원리가 서로 다르며 첨가되는 선택물질이 다르기 때문으로 보다 정확한 결과를 얻기 위해서는 분리배지에 대한 평가시험이 중요함을 알 수 있었다. Iversen과 Forsythe(18)는 *E. sakazakii* isolation media가 CESA보다 위양성을 적게 나타내었다고 평가한 바 있으며 또한 보다 정확한 선택배지 개발을 위해서는 crystal violet, sodium lauryl sulfate, brilliant green, sodium deoxycholate와 같은 다양한 선택물질(selective agents)의 종류와 첨가수준에 대한 새로운 평가가 필요하다고 하였다.

분리배지의 sensitivity와 specificity 측정

선택배지 비교시험에 선정된 3종의 배지에 대하여 sensitivity와 specificity를 측정하였다(Table 1). 먼저 sensitivity는 실험실에 보관중인 30종의 *Cronobacter sakazakii*를 3종의 분리배지에 희석 도말하여 37°C에서 성장시킨 후 각 분리배지의 특성에 맞게 생성되는 특징적인 집락 모양을 관찰하

Table 2. Determination of sensitivity of 3 different *Cronobacter sakazakii* isolation media

Species	Strains	CESA	ESA	VRBGA
<i>E. sakazakii</i>	ATCC 12868	✓	✓	✓
<i>E. sakazakii</i>	ATCC 29004	✓	✓	✓
<i>E. sakazakii</i>	ATCC 29544	✓	✓	✓
<i>E. sakazakii</i>	ATCC 51329	✓	✓	✓
<i>E. sakazakii</i>	S-1	✓	✓	✓
<i>E. sakazakii</i>	S-2	✓	✓	✓
<i>E. sakazakii</i>	S-3	✓	✓	✓
<i>E. sakazakii</i>	Dr-1	✓	✓	✓
<i>E. sakazakii</i>	Dr-2	✓	✓	✓
<i>E. sakazakii</i>	Dr-3	✓	✓	✓
<i>E. sakazakii</i>	FSM 30	✓	✓	✓
<i>E. sakazakii</i>	FSM 145	✓	✓	✓
<i>E. sakazakii</i>	FSM 261	✓	✓	✓
<i>E. sakazakii</i>	FSM 262	✓	✓	✓
<i>E. sakazakii</i>	FSM 265	✓	✓	✓
<i>E. sakazakii</i>	FSM 270	✓	✓	✓
<i>E. sakazakii</i>	FSM 271	✓	✓	✓
<i>E. sakazakii</i>	FSM 272	✓	✓	✓
<i>E. sakazakii</i>	FSM 273	✓	✓	✓
<i>E. sakazakii</i>	FSM 274	✓	✓	✓
<i>E. sakazakii</i>	FSM 275	✓	✓	✓
<i>E. sakazakii</i>	FSM 287	✓	✓	✓
<i>E. sakazakii</i>	FSM 290	✓	✓	✓
<i>E. sakazakii</i>	FSM 292	✓	✓	✓
<i>E. sakazakii</i>	FSM 293	✓	✓	✓
<i>E. sakazakii</i>	FSM 294	✓	✓	✓
<i>E. sakazakii</i>	FSM 295	✓	✓	✓
<i>E. sakazakii</i>	FSM 297	✓	✓	✓
<i>E. sakazakii</i>	FSM 298	✓	✓	✓
<i>E. sakazakii</i>	FSM 299	✓	✓	✓

✓: characteristic color and shape shown on each selective agar.

여 측정하였다. CESA, ESA 및 VRBGA 모두 각각의 분리배지의 선별원리에 맞는 특징적인 집락 선택 및 모양을 나타내었다. 따라서 실험에 공시된 3종의 분리배지는 실험에 공시한 30종의 *Cronobacter sakazakii*에 대한 sensitivity가 100%인 것으로 판단되었다(Table 2). 분리배지에서 가장 중요한 것이 목적하는 균에 대해서만 특징적인 선택성을 나타내어야 한다는 것이다. 따라서 분리배지의 specificity는 매우 중요한 평가항목으로서 본 실험에서는 Enterobacteriaceae에 속하는 균을 대상으로 하여 6종의 *E. coli* O157:H7과 24종의 다양한 serotype의 *Salmonella* spp.를 대상으로 총 30종에 대한 실험을 실시하였다. 그 결과 CESA와 ESA에서는 *Cronobacter sakazakii*가 분리배지에서 나타내는 전형적인 색깔과 모양을 나타내는 균이 없는 것으로 측정되어 본 실험 조건에서는 위양성을 나타내지 않음을 알 수 있었다. 따라서 2종의 배지에 대해서는 specificity가 100%로 측정되었다. 그러나 VRBGA의 경우 실험에 공시된 30균주 모두 전형적인 *Cronobacter sakazakii* 집락의 선택과 모양을 나타내었으므로 모두 위양성으로 판단되었으며 따라서 specificity는 0%로 측정되었다(Table 3). 이는 CESA와 ESA는 *Cronobacter sakazakii*만이 가지는 고유한 특성인 α-glucosidase 선택막커로 사용하였기 때문에 specificity가 높은 것으로 나

Table 3. Determination of specificity of 3 different *Cronobacter sakazakii* isolation media

Species	Strains	CESA	ESA	VRBGA
<i>E. coli</i> O157:H7	ATCC 35150	×	×	✓
<i>E. coli</i> O157:H7	ATCC 43889	×	×	✓
<i>E. coli</i> O157:H7	ATCC 43890	×	×	✓
<i>E. coli</i> O157:H7	ATCC 43894	×	×	✓
<i>E. coli</i> O157:H7	ATCC 43895	×	×	✓
<i>E. coli</i> O157:H7	NCCP 11091	×	×	✓
<i>S. typhimurium</i>	ATCC 14028	×	×	✓
<i>S. typhimurium</i>	ATCC 6994	×	×	✓
<i>S. typhimurium</i>	PTU 302	×	×	✓
<i>S. typhimurium</i>	DT 104	×	×	✓
<i>S. typhimurium</i>	PT 10	×	×	✓
<i>S. heidelberg</i>	3390H	×	×	✓
<i>S. illinois</i>	2386H	×	×	✓
<i>S. infantis</i>	1232H	×	×	✓
<i>S. jarab</i>	2234H	×	×	✓
<i>S. jariana</i>	2080H	×	×	✓
<i>S. californica</i>	3515H	×	×	✓
<i>S. oerror</i>	1325H	×	×	✓
<i>S. clerby</i>	1325H	×	×	✓
<i>S. enteritidis</i>	3512H	×	×	✓
<i>S. give</i>	E1 1432H	×	×	✓
<i>S. agonab</i>	4000H	×	×	✓
<i>S. anatum</i>	1904H	×	×	✓
<i>S. beroilly</i>	19955H	×	×	✓
<i>S. bredney</i>	1370H	×	×	✓
<i>S. typhimurium</i>	DT 107	×	×	✓
<i>S. enteritidis</i>	43353	×	×	✓
<i>S. enteritidis</i>	ME 13	×	×	✓
<i>S. enteritidis</i>	ME 14	×	×	✓
<i>S. poona</i>	3417H	×	×	✓

✓: characteristic color and shape shown on each selective agar, ×: other color and shape.

타났지만 VRBGA는 일반적인 coliform의 선발배지로 사용되므로 *Citrobacter* 속, *Escherchia* 속, *Cronobacter* 속, *Klebsiella* 속 모두에 대한 검출이 가능하기 때문에 specificity가 낮게 나타난 것으로 판단되었다.

식품에서의 회수 실험

분리배지는 식품에서 직접 목적으로 하는 균을 분리하는 배지이기 때문에 식품에서의 회수율이 높은 것이 바람직하다. *Cronobacter sakazakii*를 식품에 인위적으로 접종한 후 분리배지를 이용하여 회수율을 평가하였다. 접종할 식품은 *Cronobacter sakazakii* 식중독이 발생할 가능성이 가장 높은 것으로 판단되는 식품인 조제분유를 대상으로 하였다. 시중에서 구매한 조제분유를 먼저 40°C의 물을 첨가하여 수화시켰으며 이후 생산업체에서 권고하는 방법에 따라 액상분유를 제조하였다. 식품공전에 고시된 *Cronobacter sakazakii* 분리를 위한 실험방법이 100 g의 조제분유를 1000 mL로 희석하여 제조하기 때문에 *Cronobacter sakazakii* 접종을 위한 식품 용량을 1000 mL로 설정하였다. 실험에 공시된 *Cronobacter sakazakii*는 ATCC 12868, 29004, 51329의 3종

Table 4. Recovery test of *Cronobacter sakazakii* from artificially inoculated infant milk formula

Cultures	Inoculation level	Isolation ratio		
		CESA	ESA	VRBGA
ATCC 12868	inoculation <10 cfu	0/5 ¹⁾	0/5	0/5
	10 cfu<inoculation<100 cfu	2/5	2/5	2/5
	100 cfu<inoculation	5/5	5/5	5/5
ATCC 29004	inoculation<10 cfu	3/5	3/5	3/5
	10 cfu<inoculation<100 cfu	5/5	5/5	5/5
	100 cfu<inoculation	5/5	5/5	5/5
ATCC 51329	inoculation<10 cfu	2/5	2/5	3/5
	10 cfu<inoculation<100 cfu	5/5	5/5	5/5
	100 cfu<inoculation	5/5	5/5	5/5

¹⁾Number of positive result in 5 different trials.

으로서 각각 별도로 배양한 후 연속적인 희석에 의해 가장 시료당 100 cfu 이상이 접종된 고농도 처리구, 시료당 10~100 cfu 수준이 접종된 중간농도 처리구 및 시료당 10 cfu 이하가 접종된 저농도 처리구의 세 구간의 농도로 조정하였다. 이는 접종하는 미생물의 양에 따라 처리구 모두에서 회수되거나 또는 처리구 전체에서 회수되지 않을 수 있는 가능성이 있기 때문이다. 따라서 접종하는 미생물 수가 가장 큰 변수가 되므로 세 구간 중 일정 농도에서 부분적인 회수 (partial recovery)가 가능해야 배지간의 비교가 가능하기 때문이었다. 인위적으로 조제분유에 접종한 후 식품공전 방법에 따라 실험하였으며 최종적으로 3종의 분리배지에 도달하여 36°C에서 24±2시간 배양한 후 전형적인 집락 생성여부를 파악하여 양성시료로 판별하였다(Table 4). 접종은 하나의 처리구당 5개의 서로 다른 처리구를 설정하여 5번의 반복 실험으로 진행하였으며 5번의 시료중 *Cronobacter sakazakii*가 회수된 처리구를 계수하였다. ATCC 12868 균주의 경우 저농도에서는 모든 분리배지에서 회수가 되지 않았지만 접종농도가 증가함에 따라 3종의 분리배지 모두 회수율이 증가하는 것으로 나타났다. 실험에 공시된 3종의 분리배지를 이용한 식품에서의 회수실험은 접종하는 *Cronobacter sakazakii*의 농도가 변수로 작용하는 것으로 나타났지만 조제분유에 인위적으로 접종한 *Cronobacter sakazakii*에 대한 분리배지간의 회수율 차이는 없는 것으로 판단되었다.

요 약

식품공전에 *Cronobacter sakazakii* 분리배지로 등재되어 있는 3종의 분리배지에 대한 평가실험을 실시하였다. Chromogenic Enterobacter sakazakii agar, Enterobacter sakazakii agar가 VRBG agar에 비하여 뚜렷한 색택과 모양의 집락을 생성하였다. 3종의 분리배지 모두 30종의 *Cronobacter sakazakii*에 대한 sensitivity가 100%로 측정되었지만 *Cronobacter sakazakii* 이외의 Enterobacteriaceae 균주를 이용한 specificity 실험에서는 Chromogenic Enterobacter sakazakii agar,

Enterobacter sakazakii agar가 100%로 측정되었지만 VRBG agar는 0%로 측정되었다. 인위적으로 접종한 식품에서의 회수율은 실험에 공시된 3종 배지에서 커다란 차이가 없었다.

문 헌

1. Bar-Oz B, Preminger A, Peleg O, Block C, Arad I. 2001. *Enterobacter sakazakii* infection in the newborn. *Acta Paediatr* 90: 356-358.
2. Biering G, Karlsson S, Clark NC, Jónsdóttir KE, Lúdvígsson P, Steingrímsson O. 1989. Three cases of neonatal meningitis caused by *Enterobacter sakazakii* in powdered milk. *J Clin Microbiol* 27: 2054-2056.
3. Nazarowec-White M, Farber JM. 1997. Incidence, survival, and growth of *Enterobacter sakazakii* in infant formula. *J Food Prot* 60: 226-230.
4. Clark NC, Hill BC, O'Hara CM, Steingrímsson O, Cooksey RC. 1990. Epidemiologic typing of *Enterobacter sakazakii* in two neonatal nosocomial outbreaks. *Diagn Microbiol Infect Dis* 13: 467-472.
5. Van Acker, de Smet F, Muyldermans G, Bougateg A, Naessens A, Lauwers S. 2001. Outbreak of necrotizing enterocolitis associated with *Enterobacter sakazakii* in powdered milk formula. *J Clin Microbiol* 39: 293-297.
6. Farmer JJ, Asbury MA, Hickman FW, Brenner DJ, the Enterobacteriaceae Study Group. 1980. *Enterobacter sakazakii*, new species of *Enterobacteriaceae* isolated from clinical specimens. *Int J Syst Bacteriol* 30: 569-584.
7. Kandhai MC, Reij MW, Gorris LG, Guillaume-Gentil O, van Schothorst M. 2004. Occurrence of *Enterobacter sakazakii* in food production environments and households. *Lancet* 363: 39-40.
8. Muyltjens HL, Roelofs WH, Jaspar GHJ. 1988. Quality of powdered substitutes for breast milk with regard to members of the family *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol* 26: 743-746.
9. Jin Seong Uni-Tech. 2007. *Food-borne pathogens*. Handbook, Seoul, Korea. p 491-498.
10. Gurtler JB, Beuchat LR. 2005. Performance of media for recovering stressed cells of *Enterobacter sakazakii* as determined using spiral plating and ecometric techniques. *Appl Environ Microbiol* 71: 7661-7669.
11. Hawkins RE, Lissner CR, Sanford JP. 1991. *Enterobacter sakazakii* bacteremia in an adult. *South Med J* 84: 793-795.
12. Lai KK. 2001. *Enterobacter sakazakii* infections among neonates, infants, children, and adults: case reports and a review of the literature. *Medicine* 80: 113-122.
13. Simmons BP, Gelfand MS, Haas M, Metts L, Ferguson J. 1989. *Enterobacter sakazakii* infections in neonates associated with intrinsic contamination of a powdered infant formula. *Infect Control Hosp Epidemiol* 10: 398-401.
14. Korea Food & Drug Administration. 2008. *Food code*. Seoul, Korea.
15. European Commission. 2005. Commission regulation (EC) number 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs. *Official J Eur Union* L 338: 1-26.
16. Iversen C, Druggan P, Forsythe SJ. 2004. A selective differential medium for *Enterobacter sakazakii*. a preliminary study. *Int J Food Microbiol* 96: 133-139.
17. Oh SW, Kang DH. 2004. Fluorogenic selective and differential medium for isolation of *Enterobacter sakazakii*. *Appl Environ Microbiol* 70: 5692-5694.
18. Iversen C, Forsythe SJ. 2007. Comparison of media for the isolation of *Enterobacter sakazakii*. *Appl Environ Microbiol* 73: 48-52.
19. Cooke, VM, Miles RJ, Rrice RG, Richardson AC. 1999. A novel chromogenic ester agar medium for detection of *Salmonellae*. *Appl Environ Microbiol* 65: 807-812.
20. Manafi M, Kremsmaier B. 2001. Comparative evaluation of different chromogenic/fluorogenic media for detecting *Escherichia coli* O157:H7 in food. *Int J Food Microbiol* 71: 257-262.
21. Weagant SD, Bound AJ. 2001. Evaluation of techniques for enrichment and isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from artificially contaminated sprouts. *Int J Food Microbiol* 71: 87-92.

(2010년 1월 25일 접수; 2010년 3월 15일 채택)