

연구노트

다양한 식품에서 *Campylobacter jejuni* 검출을 위한  
real-time PCR과 배지배양법의 비교검증

천정환 · 현지연 · 황인균<sup>1</sup> · 광효선<sup>1</sup> · 한정아<sup>1</sup> · 김무상<sup>2</sup> · 김종현<sup>3</sup> · 송광영 · 서건호\*  
건국대학교 수의과대학, <sup>1</sup>식품의약품안전청 식품미생물팀,  
<sup>2</sup>서울시 보건환경연구원 역학조사팀, <sup>3</sup>질병관리본부 장내세균과

Comparison of Real-Time PCR and Culture Methods for Detection of  
*Campylobacter jejuni* in Various Foods

Jung-Whan Chon, Ji-Yeon Hyeon, In-Gyun Hwang<sup>1</sup>, Hyo-Sun Kwak<sup>1</sup>, Jeong-A Han<sup>1</sup>, Moo-Sang Kim<sup>2</sup>,  
Jong-Hyun Kim<sup>3</sup>, Kwang-Young Song, and Kun-Ho Seo\*

Department of Public Health, College of Veterinary Medicine, Konkuk University

<sup>1</sup>Food Microbiology Division, Korea Food and Drug Administration

<sup>2</sup>Epidemiology Team, Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health and Environment

<sup>3</sup>Division of Enteric Bacterial Infections, Center for Infectious Diseases, National Institute of Health

**Abstract** In this study, performances of culture methods using two selective media and real-time PCR were evaluated for detection of *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*) in various food samples. Sausage, ground beef, and radish sprouts inoculated with *C. jejuni* were enriched in Hunt broth and then streaked onto modified cefoperazone charcoal deoxycholate agar and Preston agar, followed by incubation under microaerobic conditions. The enriched Hunt broth (1 mL) was used in real-time PCR assay. No statistical differences were observed in sensitivity among the two selective media and real-time PCR for sausage and ground beef. However, the number of positives by real-time PCR in radish sprouts was much higher than the two selective media ( $p<0.05$ ). It appears that real-time PCR could be used as an effective screening tool to detect *C. jejuni*, particularly in foods with a high number of background microflora such as fresh vegetables.

**Keywords:** *Campylobacter jejuni*, real-time PCR, culture method, selective media

서 론

*Campylobacter* spp.는 그람 음성의 미호기성 세균으로서 인체에 감염되어 식중독을 일으키는 병원성 세균이다(1,2). *Campylobacter* spp.로 인한 식중독 사고는 전세계적이며, 특히 북미와 유럽 등의 선진국에서는 *Salmonella*에 의한 감염증보다 발생빈도가 많을 정도로 문제가 되고 있다(3-5). 가장 빈번하게 식중독을 일으키는 종은 *Campylobacter jejuni*(*C. jejuni*)로서 전체 *Campylobacter* 감염증의 약 90% 이상을 차지한다(3). 일반적으로 *C. jejuni*는 주로 가금육에서 검출율이 높고 다른 식품에서는 낮은 편으로 알려져 있으나, 500 CFU 가량만 섭취하여도 식중독을 발생시킬 수 있기 때문에 우유, 아이스크림, 야채 등 다양한 식품에서 발생이 보고되고 있다(6-8). 따라서 *C. jejuni*의 식품 내 검출 규격은 국내를 비롯한 대부분의 나라에서 불검출 기준을 적용하고 있다(9).

*C. jejuni* 선택배지는 크게 나누어 혈액을 첨가한 배지와 혈액 대신 활성탄을 첨가한 배지로 분류되며, 혈액이나 활성탄 등은 산소독성을 중화시키는 역할을 한다(10-13). 멸균된 혈액은 가격이 비싸고 쉽게 얻기 힘들기 때문에, 최근에는 혈액 대신 활성탄을 첨가한 배지를 선호하고 있다(14,15). 두 가지 계열의 배지는 각각 여러 종류가 개발되어 왔고 앞선 연구를 통하여 지속적으로 배지의 선택성과 민감도가 검증되어 왔으나(10), 대부분의 연구가 임상샘플이나 가금육 등을 대상으로만 이뤄졌기 때문에(10,11,14-16), *Campylobacter* 식중독의 원인이 되는 다양한 식품 샘플에서 두 계열의 선택배지 성능검증이 필요한 실정이다.

배지배양법은 *C. jejuni*를 비롯한 세균성 식중독균 검출에 있어서 표준화된 검출기법이나 시간과 노동력의 소모가 많기 때문에 이를 보완해 줄 다양한 신속검출기법이 지속적으로 개발되었다(17,18). 그 중 목적하는 유전자의 증폭을 통해 균을 검출하는 PCR법은 개발된 이후로 가장 널리 사용되고 있는 검출법이다(19). 특히 형광의 발현량을 이용해 PCR 증폭산물을 실시간으로 측정하여 균 검출이 가능한 real-time PCR 기법은 정확할 뿐만 아니라 상대정량도 가능한 검출기법으로서 증균과정만을 거친 후, 2 시간 이내에 바로 검출이 가능하기 때문에 배지배양법에 비해 현격하게 시간을 단축시킬 수 있는 장점이 있다(20,21). 따라서 real-time PCR은 민감하고 신속하게 식품에서 *C. jejuni*를 검출할 수 있을 것으로 예상되나, 표준화된 검출기법인 배지배양법과 비교하여 검출능력과 검출감도가 어느 정도인지에 대해서는 정확한

\*Corresponding author: Kun-Ho Seo, Department of Public Health, College of Veterinary Medicine, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

Tel: 82-2-450-4121

Fax: 82-2-450-3037

E-mail: bracstu3@konkuk.ac.kr

Received October 14, 2010; revised November 18, 2010;

accepted November 22, 2010

비교검증이 이루어지지 않았다.

본 연구에서는 식품에서 real-time PCR과 배지배양법을 비교검증하여 real-time PCR이 표준화된 검출법인 배지배양법에 비해 어느 정도의 민감도와 신속성을 가지고 있는지 비교평가 하였다. 동시에 국내외의 다양한 공인 검출법에서 사용되고 있는(9,10,18,22) 활성탄 함유배지인 modified cefoperazone charcoal deoxycholate (mCCD) agar와 혈액함유배지인 Preston agar의 검출능을 비교하였다. 식품 내 *C. jejuni* 검출에 관한 앞선 연구들이 대부분 가금육 위주로 이루어진 것을 감안하여 가금육을 제외한 다양한 성상의 식품을 샘플로 하여 수행되었다.

## 재료 및 방법

### 실험에 사용된 균주

*C. jejuni*는 질병관리본부(Seoul, Korea)로부터 분양받아 실험실에서 보유하고 있던 임상분리균주를 사용하였으며  $-70^{\circ}\text{C}$ 에 보관하여 필요할 때마다 균주를 해동하여 사용하였다. 5%의 horse blood(Oxoid, Hampshire, U.K.)가 함유되어 있는 혈액배지에 해동된 균주를 도말하여  $42^{\circ}\text{C}$ 에서 미호기적으로 24시간 배양하였다. 미호기적 조건은 미호기팩(BioMérieux, Marcy l'Etoile, France)과 anaerobic jar(Mitsubishi Gas Chemical Co., Inc., Tokyo, Japan)를 사용하여 만들었다. 배양된 집락 중 단일집락을 선택하여 Hunt broth(Oxoid)에서  $42^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 배양하였으며 2번 이상 계대배양한 균액을 희석하여 접종액으로 사용하였다.

### 식품샘플의 준비와 접종

모든 식품샘플은 서울시 광진구에 위치한 대형마트에서 구매하였다. 샘플은 구매 즉시 실험실로 옮긴 후,  $4^{\circ}\text{C}$ 에 보관하였으며 6시간 이내에 실험에 사용하였다. 식품샘플은 가공식품, 신선육류, 신선야채 중 각각 한 종류씩을 선택하였다. 가공식품은 비엔나 소시지, 신선육류는 쇠고기 분쇄육, 신선야채는 무순을 사용하였다.

접종량은 Hyeon 등(21)의 연구와 Lee 등(23)의 연구를 참조하여 총 20개의 샘플 중 일부분의 양성결과가 나와 통계학적 유의차를 비교할 수 있도록 설정하였다. 총 세 가지 샘플에 대하여 각 샘플당 2회의 접종실험을 실시하였으며, 첫 번째 실험에서 부분양성의 결과가 나오지 않을 경우 접종량을 높여주어 추가적인 실험을 실시하였다. 500 g의 bulk 샘플에 배양 후 적절히 희석된 균을 접종하고 균이 고르게 분포되도록 손으로 맛사지하였다. 추가적으로 25 g을 양성대조군으로, 또 다른 25 g을 음성대조군으로 설정해주었으며 양성대조군에는  $10^7$  CFU/mL 이상의 *C. jejuni*를, 음성대조군에는 1 mL의 phosphate buffered saline(PBS, pH 7.4; Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA)를 접종하였다. 접종이 끝난 모든 샘플은 Han 등(24) 연구를 참조하여  $4^{\circ}\text{C}$ 에서 18-24시간 동안 보관하여 자연오염된 식품샘플과 유사하도록 만들어 주었다. 식품에 접종된 양이 어느 정도인지 확인하기 위하여 접종과 동시에 접종량과 동일균량을 혈액배지에 접종하여  $42^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 동안 미호기적인 조건으로 배양하여 실제 접종량을 산정하였다.

### 배지배양법을 이용한 *C. jejuni*의 검출

두 가지 선택배지를 사용한 배지배양법과 real-time PCR을 이용하여 *C. jejuni*를 검출하였으며 그 과정은 다음과 같다. 하루 동안 냉장보관 하였던 500 g의 bulk 샘플을 25 g씩 20개로 나누어

각각 멸균 비닐백에 담고, 각 비닐백에 5%의 horse blood(Oxoid)와 항생제 혼합액(cefoperazone, trimethoprim, vancomycin, amphotericinB)이 첨가된 100 mL의 Hunt broth를 넣어준 후, stomacher(BagMixer by Interscience, St. Nom, France)를 이용하여 30초간 균질화 시켜주었다. 균질화가 끝난 샘플은  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 4시간 동안 전증균배양(pre-enrichment)하였으며 전증균배양 후, cefoperazone을 첨가하여  $42^{\circ}\text{C}$ 에서 44시간 동안 증균배양(enrichment)하였다. 증균이 끝난 균액은 Preston agar와 mCCD agar에 각각 희석도말한 후  $42^{\circ}\text{C}$ 에서 미호기적인 조건으로 48시간 동안 선택배양하였다. 선택배양 후, 작고 투명하며 편평한 형태의 의심집락을 선별하여 각각 호기와 미호기 조건으로 계대배양하였다. 호기에서는 발육하지 않고 미호기에서만 발육하는 집락에 대하여 API Campy strip(BioMérieux)을 이용한 생화학적 확인동정을 실시하여 *C. jejuni*를 최종 확인동정하였다.

### DNA 추출과 Real-time PCR의 실시

증균배양액을 선택배지에 희석도말하는 동시에 Seo 등(25)의 연구를 참조하여 1 mL의 증균배양액에서 샘플 DNA를 추출하였으며 그 과정은 다음과 같다. 각 샘플에서 채취한 1 mL의 배지액을 14,000 rpm으로 3분간 원심분리하여 상층액을 버린 후, PrepMan<sup>®</sup> Ultra reagent(Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) 0.2 mL를 혼합하였다. 남아있는 고형물(pellet)이 완전히 파쇄될 수 있도록 10초 이상 vortexing을 실시하고  $100^{\circ}\text{C}$ 의 물에서 10분간 가열해주었다. 가열 후, 2분 동안 상온에서 식히고 14,000 rpm으로 3분간 다시 원심분리 하였으며 원심분리가 끝난 샘플의 상층액을 새로운 튜브에 따로 담아 real-time PCR을 수행할 샘플 DNA로 사용하였다.

Real-time PCR은 앞선 Best 등(26)의 연구를 참조하여 *C. jejuni*에 종 특이적인 *mapA* 유전자를 타겟으로 한 primer/probe서열을 사용하였다. Forward primer는 CTG GTG GIT TTG AAG CAA AGA TT, reverse primer는 CAA TAC CAG TGT CTA AAG TGC GIT TAT, probe는 5' FAM-TTG AAT TCC AAC ATC GCT AAT GTA TAA AAG CCC TTT-TAMRA 3'를 사용하였다. 반응액은 총량을 25  $\mu\text{L}$ 로 하였으며, TaqMan<sup>®</sup> Universal PCR Master mix(Applied Biosystems) 12.5  $\mu\text{L}$ , forward와 reverse primer(300 nM) 각각 2.5  $\mu\text{L}$ , probe(100 nM) 2.5  $\mu\text{L}$ , 샘플 DNA는 5  $\mu\text{L}$ 를 넣어주었다. ABI PRISM 7500HT sequence detection system(Applied Biosystems)을 사용하여  $50^{\circ}\text{C}$ 에서 2분,  $95^{\circ}\text{C}$ 에서 10분간 반응시킨 다음,  $95^{\circ}\text{C}$ 에서 15초,  $60^{\circ}\text{C}$ 에서 1분을 1회로 반응조건을 맞추어 40 cycles를 반응시켰다.

### 식품 내 정상세균총의 측정

식품 내에 존재하고 있는 정상세균총이 증균과정에서 *Salmonella*와 경쟁적으로 성장하여 목적균의 성장 및 검출에 영향을 줄 수 있다는 Hyeon 등(21)의 연구를 참조하여 정상세균총이 *C. jejuni* 검출에 미치는 영향을 적절히 평가하기 위하여 식품샘플의 정상세균총을 측정하였다. 정상세균총은 실험에 사용된 샘플 외에 아무것도 접종되지 않은 25 g의 동일한 식품샘플에서 측정하였다. 25 g의 식품샘플을 stomacher bag에 225 mL buffered peptone water(BPW; Difco, Becton Dickinson, Sparks, MD, USA)와 함께 넣은 후 stomacher를 이용하여 30초간 균질화 시켜주었다. 균질화 후, 균액 0.1 mL를 단계별 희석하여 nutrient agar(Difco)에 접종하고  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 집락을 계수하고 희석배수를 고려하여 식품 내 정상세균총의 수준을 산정하였다.

**Table 1. Comparison of the number of background microflora and inoculation level of tested foods**

Sample	Trial	Background microflora (Log CFU/g)	Inoculation level (Log CFU/500 g)
Sausage	1	<2	1.34
	2	<2	1.83
Ground beef	1	5.79	1.79
	2	5.57	1.94
Radish sprout	1	7.79	3.26
	2	7.55	4.14

**자료의 분석**

두 가지 선택배지를 사용한 배지배양법과 real-time PCR과의 검출을 차이는 통계프로그램인 GraphPad Instat(GraphPad Software, Inc. San Diego, CA, USA)을 사용하여 Fisher's exact test로 통계학적인 유의차( $p < 0.05$ )를 분석하였다.

**결과 및 고찰**

**식품샘플 내 정상세균총의 수준과 영향**

Table 1에는 각 샘플의 정상세균총의 수준과, 각 식품에 대한 접종량이 제시되어 있다. 소세지에서는 정상세균총이 검출되지 않았고, 쇠고기 분쇄육은 5.57-5.79 log CFU/g 수준, 무순은 7.55-7.79 log CFU/g 수준을 보여 무순이 가장 높은 수준의 정상세균총을 보였다(Table 1). 접종량은 소시지와 쇠고기 분쇄육은 500 g 당 2 log CFU 미만이었으나, 무순은 3.26-4.14 log CFU 가량으로 무순의 접종량이 다른 식품에 비해 훨씬 높았다(Table 1). Hyeon 등(21)은 무순과 편육에서 인위접종된 *Salmonella* spp.를 검출한 앞선 연구를 통해 신선야채의 경우, 높은 수준의 정상세균총이 목적균의 증균을 억제하기 때문에 접종량이 높아지는 것이라고 보고하였다. Chon 등(27) 역시 *V. parahaemolyticus* 검출에 관한 연구에서 무순의 경우, 다른 샘플에 비해 정상세균총이 훨씬 높기 때문에 증균이 억제되며 따라서 인위접종시 더 높은 접종량이 필요하다고 보고하였다. 이는 본 연구와 일치하는 사실로서, 정상세균총이 월등히 높았던 무순의 경우 육류샘플에 비해 증균이 억제되어 2-3 log units 가량의 더 높은 접종량을 필요로 한 것으로 보인다. 그러나 쇠고기 분쇄육이 소시지에 비해 정상세균총이 훨씬 높았음에도 두 샘플간의 접종량은 비슷한 것을 볼 때, 증균이 억제되는 원인은 정상세균총 외에도 식품의 성상 등을 비롯한 다른 요인들이 관련된 것으로 보인다.

다른 식품에 비해 스트레스 요인이 많고 정상세균총의 수준이 높은 것으로 알려져 있는 신선야채에서는(3,21,27) *C. jejuni* 검출시 오염균량의 수준이 낮으면 증균이 억제되어 위음성의 결과를 보일 수 있을 것으로 예상된다. 최근들어 신선야채는 익히지 않고 섭취하며 교차오염이 가능하다는 점으로 인해, *C. jejuni*의 큰 위험요인으로 지적되고 있으므로(3,6,28-30), 신선야채에서의 증균 억제 현상은 *C. jejuni* 식중독 발생에 있어서 잠재적인 위험요소가 될 수 있을 것으로 판단된다.

**Real-time PCR과 배지배양법의 검출능력비교**

Table 2에는 real-time PCR과 두 가지 선택배지의 양성 검출을 차이가 비교되었다. 본 실험에서 사용된 음성 및 양성대조균은 두 가지 검출법에서 각각 음성과 양성으로 나와 사용된 실험방법이 적합함을 보여주었다. 특히 음성대조균이 음성으로 나왔으

**Table 2. Comparison of two selective media and real-time PCR in artificially inoculated food samples**

Sample	Trial	No. of positives <sup>1),2)</sup>		
		mCCD agar	Preston agar	Real-time PCR
Sausage	1	5/20 <sup>a</sup>	5/20 <sup>a</sup>	5/20 <sup>a</sup>
	2	2/20 <sup>a</sup>	2/20 <sup>a</sup>	2/20 <sup>a</sup>
Ground beef	1	8/20 <sup>a</sup>	8/20 <sup>a</sup>	8/20 <sup>a</sup>
	2	14/20 <sup>a</sup>	14/20 <sup>a</sup>	14/20 <sup>a</sup>
Radish sprout	1	0/20	0/20	0/20
	2	2/20 <sup>a</sup>	1/20 <sup>a</sup>	18/20 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Number of positive samples/number of total samples

<sup>2)</sup>Different letters within a row indicate a significant difference ( $p < 0.05$ )

므로 식품 내 자연오염과 위양성의 가능성은 배제되었다.

소세지에서는 세 가지 방법 모두 1차에서 5개, 2차에서 2개의 양성을 검출하였고, 쇠고기 분쇄육 역시 두 방법 모두 1차에서 8개, 2차에서 14개의 양성을 검출하여 통계학적인 유의차를 보이지 않았다( $p > 0.05$ , Table 2). 소시지의 경우 1차 접종량보다 2차 접종량이 많았음에도 양성은 오히려 2차 실험의 경우가 더 적었는데(Table 2), 이는 손으로 bulk sample을 맞사지하는 과정에서 균이 고르게 퍼지지 못했을 수 있었기 때문으로 분석된다. 무순에서는 소세지와 쇠고기 분쇄육에 비해 접종량이 높았음에도 1차에서는 모든 방법에서 양성을 보이지 않아 접종량을 10배 가량 늘려서 2차 실험을 실시하였다. 2차 실험 시, real-time PCR에서는 18개의 양성을 검출했으나, mCCD agar와 Preston agar에서는 각각 2개와 1개의 양성을 검출하여 두 방법간에는 통계학적 유의차를 나타냈다( $p < 0.05$ , Table 2). Hyeon 등(21)과 Chon 등(27)은 무순 등의 신선야채에서 *Salmonella*나 *Vibrio parahaemolyticus* 검출 시, real-time PCR이 배지를 사용한 전통적인 검출기법에 비해 더 민감도가 훨씬 높다고 보고하였는데, 이는 본 연구의 결과와 일치하는 사실이다. 이러한 원인은 높은 경쟁집락을 비롯한 신선야채 내의 다양한 스트레스 요인으로 인해 목적균이 선택배지상에서 잘 회복(recovery)되지 않았기 때문으로 보인다. 한편 무순의 1차 접종실험에서와는 달리 2차 실험에서는 양성이 검출된 이유는 접종량의 차이 때문인 것으로 보이며, 1차 접종실험에서의 접종량은 두 방법 모두 검출한계 이하인 것으로 사료된다.

Malrony 등(31)은 분쇄육, 우유, 계육 등 110개의 샘플에서 *Salmonella* spp.를 검출하기 위한 real-time PCR법을 평가하였는데 real-time PCR법은 100%의 민감도와 특이도를 보여 검출의 정확도가 높음을 보여주었다. 또한 300개의 수산식품에서 *Vibrio parahaemolyticus* 검출 시, real-time PCR과 배지배양법을 비교한 Cai 등(32)에서는 real-time PCR이 97개의 양성을 검출하여 78개의 양성을 검출한 배지배양법보다 우수한 검출감도를 보였다. 이러한 결과를 종합하여 보았을 때, real-time PCR법은 배지배양법과 비교하여 동등하거나 우수한 민감도를 가지고 있는 것으로 사료된다. 따라서 real-time PCR은 신선야채를 비롯한 다양한 식품에서 *C. jejuni* 검출 시 효과적인 활용이 가능할 것으로 판단된다.

한편 혈액을 함유한 Preston agar와 활성탄을 함유한 mCCD agar는 양성 검출율에 있어 거의 동일한 양성을 검출하여 통계학적인 유의차를 보이지 않았다( $p > 0.05$ , Table 1). 이는 가금육에서 *C. jejuni*의 검출 시, mCCD agar와 Preston agar의 검출능이 비슷하다고( $p > 0.05$ ) 보고한 Peterz(14)의 연구와 일치한다. 본 연구에서는 가금육이 아닌 다양한 성상을 지닌 식품에서 두 배지간의

양성 검출율을 평가하였는데, 다양한 식품에서 실험해 본 결과 양성 검출율에 있어서는 별다른 차이를 보이지 않아 두 종류의 배지는 공인검출법에서 함께 사용하기에 무리가 없는 것으로 판단된다. 그러나 무순에서는 두 가지 선택배지의 양성 검출율이 real-time PCR에 비해 현저히 낮았기 때문에, 무순을 비롯한 신선야채에서 *C. jejuni* 검출 시에는 real-time PCR 등의 유전자적인 기법으로 표준검출법인 배지배양법을 적절하게 보완하는 동시에 선택성과 민감도가 높은 선택배지를 개발해야 할 것으로 보인다.

본 연구에서는 신선육류, 신선야채, 가공식품에서 *C. jejuni* 검출을 위한 real-time PCR과 두 가지 선택배지를 사용한 배지배양법을 비교하였다. 결론적으로, real-time PCR은 짧은 시간에 높은 민감도로 다양한 식품에서 *C. jejuni*를 검출할 수 있는 우수한 검출기법인 것으로 판단된다. 따라서 real-time PCR은 표준검출법인 배지배양법을 이용한 *C. jejuni* 검출 시, 그에 앞선 선별검사용으로 활용하기 적합할 것으로 보이며 특히 야채와 같이 정상 세균총의 수준이 높은 샘플의 경우에는 더욱 효과적으로 사용될 것으로 기대된다.

## 요 약

본 연구에서는 두 종류의 선택배지를 활용한 배지배양법과 real-time PCR의 *C. jejuni* 검출능력을 비교하였다. 소시지, 쇠고기 분쇄육, 무순에 *C. jejuni*를 접종하고 Hunt broth로 증균배양 하였으며, mCCD agar와 Preston agar에 배양액을 희석도말하여 미호기적으로 배양하였다. 동시에 증균배양액에서 1 mL을 채취하여 real-time PCR을 실시하였다. 실험결과, real-time PCR은 쇠고기 분쇄육과 소세지에서 두 가지 선택배지와 비교하여 동일한 검출력을 보였으나 무순에서는 훨씬 더 많은 양성을 검출하였다( $p < 0.05$ ). 두 배지간의 비교에서는 Preston agar와 mCCD agar는 통계학적 유의차가 없는 민감도를 보였다( $p > 0.05$ ). 결론적으로 real-time PCR은 표준검출법인 배지배양법과 비교하여 동등하거나 우수한 민감도를 지닌 신속검출기법인 것으로 사료되며, 배지배양법에 앞서 선별검사로 사용할 경우 시간, 비용, 노동력 절감에 있어서 매우 유효한 방법이 될 것으로 판단된다.

## 감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ007195) 지원에 의해 이루어진 것이며 저자인 천정환과 현지연은 2010년도 두뇌한국21사업의 지원을 받아 이에 감사를 드립니다. 또한 실험에 도움을 아끼지 않은 김윤경, 박준호, 성장현, 김동현에게 감사드립니다.

## 문 헌

- Park CE, Sanders GW. Occurrence of thermotolerant campylobacters in fresh vegetables sold at farmers' outdoor markets and supermarkets. *Can. J. Microbiol.* 38: 313-316 (1992)
- Frost JA, Gillespie IA, O'Brien SJ. Public health implications of *Campylobacter* outbreaks in England and Wales, 1995-9: Epidemiological and microbiological investigations. *Epidemiol. Infect.* 128: 111-118 (2002)
- Brandl MT, Haxo AF, Bates AH, Mandrell RE. Comparison of survival of *Campylobacter jejuni* in the phyllosphere with that in the rhizosphere of spinach and radish plants. *Appl. Environ. Microb.* 70:1182-1189 (2004)
- Shin SY, Kim KY, Park JH. Survival of *Campylobacter jejuni* under aerobic condition. *Korean J. Food sci. Technol.* 30: 916-923 (1998)
- Lee YD, Park JH. Selective detection of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *Arcobacter butzleri* and *Helicobacter pylori* by polymerase chain reaction. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34: 1134-1139 (2002)
- Kärenlampi R, Hänninen ML. Survival of *Campylobacter jejuni* on various fresh produce. *Int. J. Food Microbiol.* 97: 187-195 (2004)
- Sahin O, Kobalka P, Zhang Q. Detection and survival of *Campylobacter* in chicken eggs. *J. Appl. Microbiol.* 95: 1070-1079 (2003)
- Belanger AE, Shryock TR. Macrolide-resistant *Campylobacter*: the meat of the matter. *J. Antimicrob. Chemoth.* 60: 715-723 (2007)
- Korea Food and Drug Administration. Food code. Available from [http://safefood.kfda.go.kr/RS/food\\_menu.jsp](http://safefood.kfda.go.kr/RS/food_menu.jsp), Accessed Dec. 10, 2009.
- Corry JE, Post DE, Colin P, Laisney MJ. Culture media for the isolation of campylobacters. *Int. J. Food Microbiol.* 26: 43-76 (1995)
- Bolton FJ, Hutchinson DN, Coates D. Blood-free selective medium for isolation of *Campylobacter jejuni* from feces. *J. Clin. Microbiol.* 19: 169-171 (1984)
- Moran L, Kelly C, Madden RH. Factors affecting the recovery of *Campylobacter* spp. from retail packs of raw, fresh chicken using ISO 10272-1:2006. *Lett. Appl. Microbiol.* 48: 628-632 (2009)
- Gun-Munro J, Rennie RP, Thornley JH, Richardson HL, Hodge D, Lynch J. Laboratory and clinical evaluation of isolation media for *Campylobacter jejuni*. *J. Clin. Microbiol.* 25: 2274-2277 (1987)
- Peterz M. Comparison of Preston agar and a blood-free selective medium for detection of *Campylobacter jejuni* in food. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 74: 651-654 (1991)
- Karmali MA, Simor AE, Roscoe M, Fleming PC, Smith SS, Lane J. Evaluation of a blood-free, charcoal-based, selective medium for the isolation of *Campylobacter* organisms from feces. *J. Clin. Microbiol.* 23: 456-459 (1986)
- Line JE, Stern NJ, Lattuada CP, Benson ST. Comparison of methods for recovery and enumeration of *Campylobacter* from freshly processed broilers. *J. Food Protect.* 64: 982-986 (2001)
- Bolton FJ, Sails AD, Fox AJ, Wareing DR, Greenway DL. Detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in foods by enrichment culture and polymerase chain reaction enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Food Protect.* 65: 760-767 (2002)
- Josefsen MH, Lübeck PS, Aalbaek B, Hoorfar J. Preston and Park-Sanders protocols adapted for semi-quantitative isolation of thermotolerant *Campylobacter* from chicken rinse. *Int. J. Food Microbiol.* 80: 177-183 (2003)
- Sachse K. Specificity and performance of diagnostic PCR assays. *Methods Mol. Biol.* 216: 3-29 (2003)
- Yang C, Jiang Y, Huang K, Zhu C, Yin Y. Application of real-time PCR for quantitative detection of *Campylobacter jejuni* in poultry, milk, and environmental water. *FEMS Immunol. Med. Mic.* 38: 265-271 (2003)
- Hyeon JY, Hwang IG, Kawk HS, Park JS, Heo S, Choi IS, Park CK, Seo KH. Evaluation of an automated ELISA and real-time PCR by comparing with a conventional culture method for the detection of *Salmonella* spp. in steamed pork and raw broccoli sprouts. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.* 29: 506-512 (2009)
- U.S. Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual, Chapter7 *Campylobacter*. Available at: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/UCM072616>. Accessed June 3 2010.
- Lee JH, Song KY, Hyeon JY, Hwang IG, Kwak HS, Han JA, Chung YH, Seo KH. Comparison of standard culture method and real-time PCR assay for detection of *Staphylococcus aureus* in processed and unprocessed foods. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.* 30: 410-418 (2010)
- Han SR, Hyeon JY, Kim HY, Park JS, Heo S, Shin HC, Seo KH. Evaluation of conventional culture methods and validation of immunoassays for rapid detection of *Listeria monocytogenes* in

- dairy and processed foods. Korean J. Food Sci. Anim. Resour. 28: 616-622 (2008)
25. Seo KH, Brackett RE. Rapid, specific detection of *Enterobacter sakazakii* in infant formula using a real-time PCR assay. J. Food Protect. 68: 59-63 (2005)
26. Best EL, Powell EJ, Swift C, Grant KA, Frost JA. Applicability of a rapid duplex real-time PCR assay for speciation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* directly from culture plates. FEMS Microbiol. Lett. 229: 237-241 (2003)
27. Chon JH, Hyeon JY, Hwang IG, Kwak HS, Han JA, Chung YH, Song KW, Seo KH. Comparison of standard culture method and real-time PCR for detection of *Vibrio parahaemolyticus* in sea-foods and vegetables. Korean J. Food Sci. Technol. 42: 355-360 (2010)
28. Evans MR, Ribeiro CD, Salmon RL. Hazards of healthy living: bottled water and salad vegetables as risk factors for *Campylobacter* infection. Emerg. Infect. Dis. 9: 1219-1225 (2003)
29. Hussain I, Shahid Mahmood M, Akhtar M, Khan A. Prevalence of *Campylobacter* species in meat, milk and other food commodities in Pakistan. Food Microbiol. 24: 219-222 (2007)
30. Luber P, Brynestad S, Topsch D. Quantification of *Campylobacter* species cross-contamination during handling of contaminated fresh chicken parts in chicken in kitchens. Appl. Environ. Microb. 72: 66 - 70 (2006)
31. Malorny B, Paccassoni E, Fach P, Bunge C, Martin A, Helmuth R. Diagnostic real-time PCR for detection of *Salmonella* in food. Appl. Environ. Microb. 70: 7064-7052 (2004)
32. Cai T, Jiang L, Yang C, Huang K. Application of real-time PCR for quantitative detection of *Vibrio parahaemolyticus* from sea-food in eastern China. FEMS Immunol. Med. Mic. 46: 180-186 (2006)