J Korean Soc Food Sci Nutr
40(7), 1025~1031(2011)

한국식품영양과학회지
DOI: 10.3746/jkfn.2011.40.7.1025

# 식품으로부터 쉬겔라 검출을 위한 분리배지 비교

인예원 · 하수정 · 오세욱†
국민대학교 식품영양학과

# Comparison of Selective Media for Isolation and Detection of *Shigella* spp. from Foods

**Ye-Won In, Su-Jeong Ha, and Se-Wook Oh†**
*Dept. of Food and Nutrition, Kookmin University, Seoul 136-702, Korea*


## Abstract

The objective of this study was to compare the performances of conventional microbiological media used in isolation of *Shigella* spp. from foods. Total of six selective media, including MacConkey agar (MAC), *Salmonella Shigella* agar (SSA), desoxycholate citrate agar (DCA), xylose lysine desoxycholate agar (XLD), hektoen enteric agar (HEA), and CHROMagar, were tested. MAC showed almost the same colony numbers as compared to tryptic soy agar (TSA) while DCA showed significantly lower colony numbers when cultivated *Shigella* spp. was counted in each medium. In a food recovery test with beef, pork and shrimp, *S. sonnei* recovered well on CHROMagar ($p<0.05$). With lettuce and cabbage, *S. sonnei* displayed significantly significant recovery ($p<0.05$) on SSA in comparison with other selective media. Heat-injured cells recovered well on MAC and SSA. In a specificity test using *Enterobacteriaceae* strains, HEA was identified as having the highest specificity among the tested media. However, *Morganella* spp. could not be differentiated from *Shigella* spp. on any of the tested selective media. *Shigella* spp. precluded the possibility of isolation from foods by a single 'best' selective medium. Consequently, a combination of complementary selective media or selection of appropriate media according to cell conditions must be considered for comprehensive isolation.


**Key words:** selective media, *Shigella* spp., foods, selectivity, comparison

## 서 론

*Shigella* spp.는 수인성 병원균으로 분류되어 왔으나 최근 식품에서 유래하여 식중독을 일으키는 병원균으로 알려지게 되었으며 주로 인간과 같은 영장류에서 발병을 유발한다(1). Shigellosis는 *Shigella* spp.에 의해 발병되는 감염성질환이며 우리나라에서는 제1군 전염병으로 지정되어 관리되고 있다(2,3). *Shigella* spp.는 *S. sonnei*, *S. flexneri*, *S. dysenteriae*와 *S. boydii*로 분류될 수 있는데 *Shigella* spp.에 의한 감염은 *S. sonnei*로부터 70% 기인하며 *S. flexneri*로부터 약 20% 정도 기인한다고 알려져 있다(1). 식품을 통한 shigellosis의 발병은 salmonellosis나 campylobacteriosis보다 비록 적게 보고되고 있으나 선진국에서도 주요한 식중독균으로 보고되고 있으며, 특히 위생상태가 불량한 개발도상국에서 흔히 발생하기 때문에 전 세계에서 널리 발생한다고 할 수 있으며 공중보건을 위협하는 커다란 원인이 되고 있다(4-9). *Shigella* spp.는 적은 양의 균수로도 질병유발이 가능하며 또한 식품에서 *Shigella* spp.를 분리하는 것은 다른 병원성 장내세균보다 더 어렵다고 알려져 있다(1).

*Shigella* spp.에 의한 질병유발은 원료식품을 취급하는데 있어 개인위생 미비 등에 의한 교차오염을 통하여 발생할 수 있으며 토마토, 샌드위치, 양파, 양상추, 파슬리, 감자샐러드, 갑각류 등의 다양한 식품에서 검출되었다고 보고되었다(10,11). 식품에서 *Shigella* spp.를 검출할 때 미국 FDA Bacteriological analytical manual(12)에 의하면 *Shigella* broth에서 증균 배양시킨 후 MacConkey agar(MAC)에서 분리 배양하는 방법이 권고되어 있으며 우리나라 질병관리본부 법정 전염병 실험실 진단지침(13)에서는 *Shigella* spp.을 식품에서 분리 시 MAC 또는 *Salmonella Shigella* agar (SSA) 사용을 권고하고 있다. *Shigella* spp.는 제1군 전염병으로 지정되어 있음에도 불구하고 우리나라 식품공전에는 실험법이 등재되어 있지 않은 실정이다.

식품에서 *Shigella* spp.를 분리하기 위하여 사용되는 분리배지로는 낮은 선택성을 갖는다고 알려져 있는 MAC, tergitol-7 agar(T7)가 있으며 중간 정도의 선택성 배지로 알려져 있는 xylose lysine desoxycholate agar(XLD), desoxy-

†Corresponding author. E-mail: swoh@kookmin.ac.kr
Phone: 82-2-910-5778, Fax: 82-2-910-5249

cholate citrate agar(DCA)가 있으며 높은 선택성을 가지는 배지로는 SSA, hektoen enteric agar(HEA)가 사용되고 있다(14,15). 또한 개별 분리배지의 경우 분리 효율이 월등하게 높지 않기 때문에 적어도 두 가지 또는 세 가지의 분리배지를 동시에 사용하여야 식품에서 검출 확률을 증가시킬 수 있다는 보고도 있다(4). 따라서 각 분리배지에 대한 성능비교가 우선적으로 수행되어야 하지만 아직까지 *Shigella* spp. 분리에 사용되는 분리 배지에 대한 성능비교는 매우 제한되어 있다.

따라서 본 논문에서는 현재 식품에서 *Shigella* spp. 분리에 사용되고 있는 MAC, SSA, DCA, XLD, HEA와 CHROMagar를 대상으로 *Shigella* spp.의 성장 정도, 인위적으로 접종된 식품에서의 회수성능, 스트레스를 받은 미생물에 대한 회복 성능 및 장내세균을 대상으로 선택성을 측정하여 분리배지에 대한 성능평가 시험을 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 실험균주 및 사용배지

*Shigella sonnei*(KCCM 40949), *Shigella flexneri*(KCCM 40948), *Shigella boydii*(KCCM 41649)를 tryptic soya broth (TSB, Oxoid, Hampshire, England)로 37°C에서 24시간 배양한 후 tryptic soya agar(TSA, Oxoid)에 도말 배양하여 형성된 단일 콜로니를 분리하여 실험에 사용하였다. 배양된 균은 0.1% 펩톤수로 희석하여 사용하였다. 분리배지의 선택성 측정은 *Enterobacteriaceae*에 속한 균으로 *E. coli* O157:H7 3종, *Escherichia coli* 2종, *C. sakazakii* 4종, *Providencia stuartii*, *Citrobacter* spp. 2종, *Serratia* spp. 3종, *Morganella* spp. 3종, *Enterobacter* spp. 3종, *S.* Typhimurium 4종, *Klebsiella* spp. 2종, *Edwardsiella tarda, Proteus* spp. 2종 총 30균주를 대상으로 하였다. 분리 배지는 MAC(Oxoid), SSA(Oxoid), DCA(Oxoid), XLD(Oxoid), HEA(Oxoid), CHROMagar(CHROMagar$^{TM}$, Paris, France)를 이용하여 실험하였다.

### 식품 접종 및 회수성능 측정

서울시 정릉동 인근 마트에서 판매되고 있는 돼지고기, 소고기, 새우, 양상추, 양배추를 구입하여 실험에 사용하였다. 시료 25 g에 0.1% 펩톤수 225 mL를 첨가하고 37°C에서 24시간 배양한 실험 균주 250 μL를 식품 25 g에 4.8 log cfu/mL 수준으로 접종하였다. 접종 후 200 rpm으로 2분간 스토마커(Bagmixer 400W, Interscience, St. Nom, France)로 균질화 한 후 4°C에서 2시간 방치하였다. 이후 10진 희석하여 각 분리배지에 도말한 후 37°C에서 24시간 배양하여 형성된 집락을 계수하여 평가하였다.

### 식품 상재균에 대한 저해활성

돼지고기, 소고기, 새우, 양상추와 양배추 25 g에 0.1% 펩톤수 225 mL를 첨가하여 스토마커를 이용하여 균질화 한 후 적정수준으로 희석하여 각각의 분리배지에 도말하였다. 각 분리배지에 형성된 식품 상재균의 성장은 0: 거의 성장되지 않음, 1: 낮은 성장, 2: 중간 성장, 3: 높은 성장으로 임의적으로 설정하여 점수를 부여하였다. 각각의 시료에 대하여 총 10번의 서로 다른 실험을 실시하여 그 결과를 평균과 표준편차로 나타내었다.

### 스트레스를 받은 미생물의 회복 성능 측정

열 스트레스를 주기 위하여 37°C에서 24시간 배양한 TSB 배양액 2 mL를 각각 분주하고 60°C에서 30분간 열처리 후 즉시 얼음물에 넣어 냉각하였다. 냉장 스트레스는 4°C에서 6일 저장한 TSB 배양액을 사용하였으며 산 스트레스의 경우 HCl을 이용하여 pH 4.0으로 조정된 Brain Heart Infusion(BHI, Oxoid) broth에 TSB 배양액 1 mL을 옮겨 37°C에서 16~18시간 배양하였다.

### 선택성 측정

분리배지의 선택성 측정은 *Shigella* spp. 이외의 *Enterobacteriaceae* 30균주를 이용하여 각 분리배지에 획선 배양하여 37°C에서 24시간 배양한 후 각 분리배지에 출현할 것으로 예상되는 특징적인 콜로니 형성 여부로 측정하였다. 실험에 사용된 균주에 대하여 *Shigella* spp.의 특징적인 콜로니가 형성되지 않는 비율로 나타내었다.

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

### 통계 분석

실험은 각 3번씩 반복하여 측정하였다. 각 결과 값은 SPSS software(version 19.00, IBM, New York, NY, USA)을 이용하여 ANOVA 실시 후 Tukey's test에 의하여 5%의 유의수준($p<0.05$)에서 검정하였다.

## 결과 및 고찰

### 분리배지에서의 성장도 측정

37°C에서 24시간 배양한 *Shigella* spp.을 10진 희석하여 각각의 분리배지에 도말하여 각 분리배지에서의 성장 특성을 관찰하였다(Table 1). 비분리배지인 TSA에서는 7.46~7.83 log cfu/mL 수준의 성장을 나타내었다. *S. sonnei*의 경우 분리배지인 MAC, SSA, XLD, HEA, CHROMagar에서 0.17~0.67 log cfu/mL($p<0.05$) 수준으로 성장이 저해된 것으로 나타났다. DCA에서는 가장 크게 저해되어 1.20 log cfu/mL($p<0.05$) 수준으로 저해되었다. *S. boydii*는 MAC, SSA, HEA에서의 성장이 더 높았고 DCA와 CHROMagar에서 0.95, 0.83 log cfu/mL($p<0.05$) 수준으로 저해되었다. *S. flexneri*는 MAC, SSA, DCA에서 비슷한 성장을 보였으나 XLD, HEA, CHROMagar에서 0.48~0.62 log cfu/mL($p<0.05$) 수준으로 저해된 결과를 확인할 수 있었다. 높은 선택

Table 1. Growth of *Shigella* spp. on different selective media

| Medium[1)] | *Shigella* spp. (log cfu/mL) | | |
|---|---|---|---|
| | *S. sonnei* | *S. boydii* | *S. flexneri* |
| TSA | 7.64±0.30$^{a2)}$ | 7.46±0.22$^{a}$ | 7.83±0.20$^{a}$ |
| MAC | 7.27±0.31$^{ab}$ | 7.39±0.22$^{ab}$ | 7.59±0.07$^{ab}$ |
| SSA | 6.97±0.40$^{bc}$ | 7.06±0.46$^{abc}$ | 7.50±0.25$^{ab}$ |
| DCA | 6.44±0.38$^{c}$ | 6.51±0.29$^{c}$ | 7.43±0.23$^{ab}$ |
| XLD | 7.47±0.20$^{ab}$ | 6.84±0.44$^{bc}$ | 7.33±0.08$^{b}$ |
| HEA | 7.15±0.29$^{ab}$ | 7.33±0.23$^{ab}$ | 7.35±0.29$^{b}$ |
| CHROMagar | 7.29±0.25$^{ab}$ | 6.63±0.17$^{c}$ | 7.21±0.37$^{b}$ |

All values are mean±SD of three replications.
[1)]TSA, tryptic soya agar; MAC, MacConkey agar; SSA, *Salmonella Shigella* agar; DCA, desoxycholate citrate agar; XLD, xylose lysine desoxycholate agar; HEA, hektoen enteric agar; CHROMagar, CHROMagar$^{TM}$.
[2)]Means with different superscripts are significantly different by Tukey's test at p<0.05.

성을 가지는 것으로 알려져 있는 SSA는 높은 성장을 나타내었지만 다른 배지인 HEA에서는 성장이 저해되는 것으로 나타났다.

현재 미국 FDA BAM의 방법(12)으로 식품에서 *Shigella* spp.의 분리 시 권고되고 있는 MAC의 경우 실험에 사용된 비분리배지와 비교하였을 때 유의적 차이 없이 고른 성장을 나타내었다. 우리나라 질병관리본부 법정전염병 실험실 진단 지침(13)에서 권고하고 있는 SSA의 경우 *S. sonnei*의 성장이 다른 속에 비하여 저해되는 것으로 나타났다. DCA에서는 *S. flexneri*를 제외하고 낮은 성장을 나타내었다. CHROMagar의 경우 *S. sonnei*를 제외하고 다른 배지와 비교하여 0.62~0.83 log cfu/mL로 성장이 저해되었으나 회색의 환으로 둘러싸인 남색 콜로니를 나타내어 가시적으로 presumptive 콜로니 선발이 수월하였다. 이는 순수 배양된 *Shigella* spp.의 성장을 비교한 결과 CHROMagar에서 SSA와 XLD보다 비슷하거나 약간 낮은 수준의 집락수가 관찰되었다는 Lample과 Maurelli(11)의 보고와 유사하였다.

### 식품에서의 회수성능

식품에 *Shigella* spp.를 인위적으로 접종한 후 각 분리배지에서의 회수성능을 측정하여 그 결과를 Table 2에 나타내었다. 돼지고기에 접종한 *S. sonnei*의 경우 CHROMagar에서 4.00 log cfu/mL로 가장 높은 회수성능을 나타내었으며 HEA에서 가장 낮은 회수성능을 나타내었다(p<0.05). *S. boydii*의 경우 3.26~3.77 log cfu/mL 수준으로 회수되었으며 각 배지 간 유의적인 차이는 없었다. *S. flexneri*는 SSA와 HEA에서 가장 높은 수준으로 회수되었다(p<0.05). 소고기에 접종한 *S. sonnei*에서도 돼지고기와 같이 CHROMagar에서 4.02 log cfu/mL로 가장 높은 회수성능을 나타내었으며(p<0.05), *S. flexneri*를 접종한 경우에도 가장 높은 균수인 3.03 log cfu/mL을 나타내었다(p<0.05). *S. boydii*는 3.09~3.69 log cfu/mL로 회수되었으며 돼지고기와 같이 배지 간 유의적 차이는 없었다. 새우에서는 *S. sonnei*의 경우 SSA, CHROMagar에서 4.05~4.18 log cfu/mL로 가장 높게 측정

Table 2. Comparison of selective media for detection of *Shigella* spp. from various foods

| Medium[1)] | *Shigella* spp. (log cfu/mL) | | |
|---|---|---|---|
| | *S. sonnei* | *S. boydii* | *S. flexneri* |
| Raw pork | | | |
| MAC | 3.57±0.08$^{ab2)}$ | 3.53±0.11$^{a}$ | 3.08±0.05$^{b}$ |
| SSA | 3.38±0.07$^{bc}$ | 3.77±0.22$^{a}$ | 3.36±0.41$^{a}$ |
| DCA | 3.11±0.02$^{c}$ | 3.40±0.05$^{a}$ | 3.19±0.11$^{ab}$ |
| XLD | 3.54±0.10$^{abc}$ | 3.47±0.51$^{a}$ | 3.10±0.05$^{ab}$ |
| HEA | 3.02±0.08$^{c}$ | 3.34±0.17$^{a}$ | 3.44±0.19$^{a}$ |
| CHROMagar | 4.00±0.16$^{a}$ | 3.26±0.35$^{a}$ | 3.16±0.03$^{ab}$ |
| Raw beef | | | |
| MAC | 3.16±0.03$^{abc}$ | 3.30±0.18$^{a}$ | 2.82±0.06$^{ab}$ |
| SSA | 3.47±0.32$^{ab}$ | 3.29±0.42$^{a}$ | 2.85±0.13$^{ab}$ |
| DCA | 3.17±0.07$^{bc}$ | 3.69±0.53$^{a}$ | 2.73±0.06$^{ab}$ |
| XLD | 3.43±0.26$^{ab}$ | 3.20±0.11$^{a}$ | 2.99±0.06$^{ab}$ |
| HEA | 3.00±0.15$^{c}$ | 3.09±0.10$^{a}$ | 2.75±0.09$^{b}$ |
| CHROMagar | 4.02±0.06$^{a}$ | 3.62±0.04$^{a}$ | 3.03±0.20$^{a}$ |
| Shrimp | | | |
| MAC | 3.73±0.19$^{ab}$ | 3.60±0.09$^{abc}$ | 3.12±0.04$^{a}$ |
| SSA | 4.05±0.07$^{a}$ | 3.97±0.24$^{ab}$ | 3.19±0.06$^{a}$ |
| DCA | 3.21±0.21$^{c}$ | 4.14±0.16$^{a}$ | 2.94±0.04$^{a}$ |
| XLD | 3.58±0.16$^{ab}$ | 3.66±0.17$^{abc}$ | 3.16±0.07$^{a}$ |
| HEA | 3.53±0.11$^{bc}$ | 3.45±0.33$^{bc}$ | 2.77±0.04$^{a}$ |
| CHROMagar | 4.18±0.13$^{a}$ | 3.42±0.23$^{c}$ | 3.03±0.08$^{a}$ |
| Lettuce | | | |
| MAC | 3.11±0.13$^{ab}$ | 4.75±0.05$^{a}$ | 4.06±0.12$^{a}$ |
| SSA | 3.17±0.07$^{a}$ | 4.66±0.17$^{a}$ | 3.24±0.11$^{b}$ |
| DCA | 2.97±0.04$^{ab}$ | 3.85±0.46$^{bc}$ | 3.27±0.08$^{b}$ |
| XLD | 2.98±0.11$^{ab}$ | 4.12±0.10$^{bc}$ | 3.16±0.02$^{b}$ |
| HEA | 2.91±0.10$^{ab}$ | 4.19±0.03$^{b}$ | 3.40±0.42$^{b}$ |
| CHROMagar | 2.84±0.08$^{b}$ | 3.66±0.44$^{c}$ | 2.97±0.04$^{b}$ |
| Cabbage | | | |
| MAC | 3.13±0.04$^{ab}$ | 3.13±0.04$^{ab}$ | 2.78±0.14$^{a}$ |
| SSA | 3.37±0.12$^{a}$ | 2.90±0.14$^{bc}$ | 3.01±0.21$^{a}$ |
| DCA | 3.06±0.11$^{ab}$ | 3.13±0.03$^{ab}$ | 2.79±0.09$^{a}$ |
| XLD | 3.30±0.26$^{ab}$ | 3.49±0.07$^{a}$ | 3.10±0.07$^{a}$ |
| HEA | 2.83±0.09$^{c}$ | 2.72±0.10$^{c}$ | 3.19±0.05$^{a}$ |
| CHROMagar | 2.97±0.04$^{bc}$ | 2.95±0.03$^{c}$ | 2.98±0.05$^{a}$ |

All values are mean±SD of three replications.
[1)]Referred to the commented in Table 1.
[2)]For each food, means with different superscripts are significantly different by Tukey's test at p<0.05.

되었으며 DCA에서 가장 낮게 측정되었다(p<0.05). 그러나 *S. boydii*의 경우 DCA가 가장 높은 회수성능을 나타낸 반면 CHROMagar는 가장 낮은 회수성능을 나타내었다. 양상추에서는 *S. sonnei*와 *S. boydii*가 CHROMagar에서 가장 낮게 회수되었으며 MAC, SSA에서 높게 회수된 것으로 나타났다. 양배추의 경우 MAC, SSA, DCA, XLD가 *S. sonnei*와 *S. boydii*에 대해 높은 회수성능을 나타내었으며 HEA와 CHROMagar에서 2.72, 2.97 log cfu/mL로 유의적으로 낮게 측정되었다(p<0.05). *S. flexneri*는 새우와 양배추에서 각각 2.77~3.19, 2.78~3.19 log cfu/mL로 회수되어 배지간의 유의적 차이는 없는 것으로 판단되었다. 그러나 양상추에 접종한 *S. flexneri*는 2.97~4.06 log cfu/mL로 회수되었으며 MAC에서 다른 배지와 비교하여 회수성능이 유의적으로 높은 것으로 측정되었다(p<0.05). 식품에서의 회수 실험 결과

*S. sonnei*의 경우 돼지고기, 소고기, 새우에서 CHROMagar의 회수성능이 유의적으로 높게 나타났지만($p<0.05$) *S. boydii*와 *S. flexneri*의 경우 배지간의 차이는 크지 않았다. 반면, 양상추와 양배추에서 *S. sonnei*는 SSA에서 가장 높게 회수되었으며 CHROMagar와 HEA에서 가장 낮게 회수되었다($p<0.05$). *S. boydii*와 *S. flexneri*에서도 CHROMagar의 회수성능이 낮은 것으로 측정되었다. Lample과 Maurelli(11)가 보고한 양상추와 새우에서 XLD와 CHROMagar에 대한 회수성능 결과와 비교하여 CHROMagar에서의 회수성능은 본 실험에서 비슷하게 측정되었지만 XLD의 회수성능은 본 실험에서 상대적으로 높게 나타내었다. 따라서 식품에서 회수 시험을 실시할 경우 *S. sonnei*의 검출 시 돼지고기, 소고기, 새우에서 회수성능이 높은 CHROMagar를 사용하며, 양상추, 양배추에서는 SSA 사용이 검출에 용이할 것으로 판단되었다. 본 실험결과, *Shigella* spp.는 식품의 종류에 따라 회수되는 양상이 상이하므로 향후 더욱 더 많은 식품을 대상으로 회수 실험이 진행될 필요성이 있다고 생각되었다.

### 식품 상재균의 각 분리배지에서의 성장 측정

식품에 고유하게 존재하는 상재균은 *Shigella* spp.의 검출을 방해할 수 있는 경쟁균으로 작용할 수 있기 때문에 각 식품에서 상재균을 추출하여 실험에 공시된 분리배지에 도말하여 성장특성을 측정하였으며 그 결과를 Table 3에 나타내었다. 돼지고기에서 유래한 식품 상재균은 HEA에서 가장 낮은 성장을 보였으며 소고기와 새우는 SSA에서 가장 낮은 성장을 나타내었다. 양상추에서는 DCA, 양배추에서는 MAC에서의 성장이 가장 크게 저해되는 것으로 나타났고 양배추의 경우 각 분리배지에서 식품 상재균의 성장이 거의 관찰되지 않았다. 실험에 적용된 대상 식품 모두에서 유래한 식품 상재균에 대한 성장은 각 배지간의 유의적인 차이가 없었다.

**Table 3. Intensity of background microflora on selective media**

| Sample | Intensity of background microflora[1] | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | Average |
| Raw pork | | | | | | | | | | | |
| MAC | 2 | 3 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 0 | 3 | 2.30±1.06[ns2)] |
| SSA | 3 | 3 | 2 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 0 | 2 | 2.10±0.99 |
| DCA | 2 | 3 | 2 | 3 | 2 | 2 | 3 | 1 | 0 | 0 | 1.80±1.14 |
| XLD | 3 | 3 | 2 | 2 | 3 | 1 | 2 | 1 | 0 | 2 | 1.90±0.99 |
| HEA | 1 | 1 | 2 | 1 | 2 | 0 | 2 | 1 | 0 | 1 | 1.10±0.74 |
| CHROMagar | 3 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 3 | 0 | 3 | 2.50±0.97 |
| Raw beef | | | | | | | | | | | |
| MAC | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0.50±0.71[ns] |
| SSA | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0.40±0.52 |
| DCA | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0.70±0.67 |
| XLD | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 2 | 0.80±0.63 |
| HEA | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0.60±0.52 |
| CHROMagar | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0.70±0.48 |
| Shrimp | | | | | | | | | | | |
| MAC | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0.20±0.42[ns] |
| SSA | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.00±0.00 |
| DCA | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 2 | 0.80±0.63 |
| XLD | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 0 | 2 | 0.80±0.79 |
| HEA | 1 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0.60±0.97 |
| CHROMagar | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0.30±0.48 |
| Lettuce | | | | | | | | | | | |
| MAC | 2 | 1 | 3 | 3 | 1 | 2 | 1 | 0 | 0 | 2 | 1.50±1.08[ns] |
| SSA | 2 | 0 | 3 | 3 | 3 | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 1.50±1.35 |
| DCA | 0 | 2 | 0 | 3 | 0 | 3 | 0 | 2 | 0 | 3 | 1.30±1.42 |
| XLD | 2 | 2 | 1 | 3 | 3 | 2 | 2 | 3 | 0 | 2 | 2.00±0.94 |
| HEA | 2 | 0 | 3 | 3 | 2 | 0 | 3 | 0 | 0 | 3 | 1.60±1.43 |
| CHROMagar | 3 | 2 | 1 | 3 | 0 | 1 | 2 | 3 | 0 | 3 | 1.80±1.23 |
| Cabbage | | | | | | | | | | | |
| MAC | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.00±0.00[ns] |
| SSA | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.20±0.42 |
| DCA | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.20±0.42 |
| XLD | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.30±0.67 |
| HEA | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.10±0.32 |
| CHROMagar | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.20±0.42 |

1)Intensity of background microflora was rated in a scale of 0 to 3. 0, none or less; 1, sparsely populated background colonies; 2, medium-populated background colonies; 3, heavily populated background colonies.
2)There were no significant differences in all selective agar.

또한, 돼지고기와 양상추에 존재하는 상재균 중 *Shigella* spp. 분리배지에서 성장하는 미생물 수가 높게 관찰되었으며 소고기, 새우, 양배추에서 존재하는 상재균 중에서 *Shigella* spp. 분리배지에서 성장하는 미생물 수는 매우 낮음을 알 수 있었다. Lample과 Maurelli(11)는 새우와 양상추에서 XLD가 CHROMagar에 비해 식품 상재균 성장이 높았다고 보고하여 본 실험과는 반대 결과를 나타내었다. 이는 실험에 사용된 식품재료가 상이하였기 때문에 상재균의 분포가 상이한 결과라고 생각되었다. 자연적으로 존재하는 상재균이 높을 경우 분리를 목적으로 하는 균의 검출이 어렵다고 알려져 있는데(16) 소고기, 새우, 양배추에서 *Shigella* spp. 검출 시 상재균의 영향을 덜 받기 때문에 검출이 용이할 것이라고 생각되었다.

### 스트레스를 받은 미생물에 대한 분리배지에서의 회복 특성

열, 산, 냉장 조건으로 처리하여 스트레스를 받은 *Shigella* spp.에 대한 각 분리배지에서의 회복 성능을 측정하였다(Table 4). 열 스트레스를 받은 *Shigella* spp.의 경우 비선택배지인 TSA에서 3.12~4.48 log cfu/mL로 성장하였으나 *S. sonnei*의 경우 MAC, SSA에서만 성장되었고 *S. flexneri*는 MAC, SSA, XLD, CHROMagar에서 성장되었다. *S. boydii*는 모든 배지에서 성장을 확인할 수 있었다. 특히, MAC, SSA에서 각각 4.05 log cfu/mL, 4.17 log cfu/mL로 성장되어 비선택배지인 TSA와 같은 수준의 성장을 나타내었다. CHROMagar의 경우 2.54 log cfu/mL로 성장이 가장 낮았다($p<0.05$). 산 스트레스를 받은 *Shigella* spp.에서는 *S. flexneri*, *S. boydii*가 SSA를 제외하고 각각의 분리배지에서 높은 성장을 나타내었다. SSA는 선택성이 높은 배지이지만 스트레스를 받은 미생물의 성장을 억제한다는 기존의 보고와 일치하였다(2). *S. sonnei*의 경우 전체적으로 성장이 높지 않았으며 낮은 선택성을 가지는 배지로 알려져 있는 MAC에서 가장 높은 성장을 하였다. 냉장 스트레스를 받은 미생물의 경우 대체적으로 *Shigella* spp.의 성장이 높게 나타났으며 *S. boydii*는 배지간의 유의적 차이가 없었으나 *S. sonnei*와 *S. flexeneri*는 배지간의 유의적 차이가 있었다.

식품에 존재하는 미생물은 원료처리, 가공처리, 유통 중의 여러 가지 공정을 거치며 환경에서 스트레스를 받을 수 있어 손상된 세포 상태로 존재할 수 있다. 이 경우 선택배지를 바로 사용하여 검출실험을 할 경우, 선택배지에 존재하는 지시약, bile salt에 의해 사멸이 발생하여 균 검출이 낮게 측정될 수 있다(4). 또한, 손상된 세포가 식품 속에서 회복되어 병원균으로 작용할 수 있는 가능성을 배제하게 되어 위험성이 낮게 평가될 수 있다. *Shigella* spp.에 열, 산, 냉장 스트레스를 가한 후 배지에서의 성장을 비교해 본 결과 열 스트레스를 받은 미생물이 분리배지에서 가장 크게 저해되는 것으로 나타났다. 따라서 전체적으로 산 스트레스, 냉장 스트레스에 비하여 열 스트레스가 더욱 더 많은 손상된 세포를 생성시킨 것이라고 생각되었다.

**Table 4. Comparison of selective media for detection of *Shgella* spp. with cell stress**

| Stress[1)] | Medium[2)] | *Shigella* spp. (log cfu/mL) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | *S. sonnei* | *S. boydii* | *S. flexneri* |
| Heat | TSA | $3.12\pm0.49^{a3)}$ | $4.48\pm0.42^{a}$ | $4.09\pm0.32^{a}$ |
| | MAC | $2.44\pm0.61^{a}$ | $4.05\pm0.43^{a}$ | $3.54\pm0.27^{ab}$ |
| | SSA | $2.93\pm0.08^{a}$ | $4.17\pm0.57^{a}$ | $2.39\pm0.13^{b}$ |
| | DCA | – | $4.00\pm0.77^{ab}$ | – |
| | HEA | – | $3.96\pm1.00^{ab}$ | – |
| | XLD | – | $3.44\pm0.70^{ab}$ | $2.00\pm1.15^{b}$ |
| | CHROMagar | – | $2.54\pm0.34^{b}$ | $3.30\pm1.90^{ab}$ |
| Acid | TSA | $4.94\pm0.39^{a}$ | $5.62\pm2.81^{a}$ | $4.83\pm0.18^{a}$ |
| | MAC | $3.75\pm0.28^{b}$ | $5.63\pm2.82^{a}$ | $4.38\pm0.09^{ab}$ |
| | SSA | $2.74\pm1.04^{c}$ | $3.67\pm0.23^{d}$ | $3.84\pm0.32^{b}$ |
| | DCA | $3.29\pm0.30^{bc}$ | $5.01\pm0.30^{b}$ | $4.10\pm0.27^{b}$ |
| | HEA | – | $4.68\pm0.15^{bc}$ | $4.11\pm0.28^{b}$ |
| | XLD | – | $4.44\pm0.33^{c}$ | $4.10\pm0.18^{b}$ |
| | CHROMagar | $2.99\pm0.43^{c}$ | $4.90\pm0.25^{bc}$ | $4.20\pm0.80^{ab}$ |
| Chill | TSA | $5.77\pm0.08^{a}$ | $4.48\pm2.23^{a}$ | $5.86\pm2.93^{a}$ |
| | MAC | $5.71\pm0.20^{a}$ | $5.01\pm0.27^{a}$ | $4.30\pm0.13^{c}$ |
| | SSA | $4.42\pm0.44^{ab}$ | $4.85\pm0.25^{a}$ | $3.70\pm0.46^{d}$ |
| | DCA | $4.90\pm0.28^{ab}$ | $4.42\pm0.25^{a}$ | $3.30\pm0.22^{d}$ |
| | HEA | $4.36\pm0.22^{ab}$ | $3.93\pm0.42^{a}$ | $4.40\pm0.15^{bc}$ |
| | XLD | $5.18\pm0.52^{ab}$ | $4.00\pm0.19^{a}$ | $4.78\pm0.08^{b}$ |
| | CHROMagar | $5.84\pm0.15^{a}$ | $4.86\pm0.21^{a}$ | $4.31\pm0.10^{c}$ |

All values are mean±SD of three replications.
[1)]Heat, TSB culture 2 mL incubated at 60°C for 30 min; Acid, BHI acidified to pH 4.0 with HCl and incubated at 37°C for 6~18 hr; Chill, TSB culture incubated at 4°C for 6 days.
[2)]Referred to the commented in Table 1.
[3)]Means with different superscripts are significantly different by Tukey's test at $p<0.05$.

**Table 5. Determination of specificity using *Enterobacteriaceae***

| | Medium[1] | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | MAC | SSA | DCA | HEA | XLD | CHROMagar |
| True negative | 18 | 20 | 22 | 24 | 23 | 22 |
| False positive | 12 | 10 | 8 | 6 | 7 | 8 |
| Percent of specificity (%)[2] | 60.00 | 66.67 | 73.33 | 80.00 | 76.66 | 73.33 |

[1]Referred to the commented in Table 1.
[2]The number of non-shigellae strains giving a negative color reaction or failing to grow divided by the total number of non-shigellae strains tested.

### 분리배지의 선택성 측정

분리배지의 선택성은 *Shigella* spp.가 아닌 균주이면서 *Shiella* spp.와 유사한 생화학적 특성을 가지는 균주를 대상으로 하여 실험하였으며 위양성(false-positive)을 나타내지 않는 비율로 측정하였다(Table 5). *Shigella* spp.가 속해있는 장내세균 family(과)인 *Enterobacteriaceae* 30균주를 대상으로 실험한 결과 6개의 균주가 위양성을 나타낸 HEA가 가장 높은 선택성을 가지는 것으로 나타났으며 MAC가 가장 낮은 선택성을 나타내었다. HEA는 높은 선택성을 가지는 배지로 평가되고 있어 본 실험 결과와 일치하였다. 그러나 또 다른 선택성이 높은 배지로 알려져 있는 SSA는 66.67%를 나타내어, 중간정도의 선택성을 가지는 것으로 평가되고 있는 DCA, XLD보다도 낮게 측정되었다. 한편, 실험에 공시된 *Morganella* spp.에 대해서는 거의 모든 분리배지에서 *Shigella* spp.와 구별하기 어려운 반면 *E. coli*에 대해서는 배지에서 확실하게 구별되었다.

## 요 약

본 연구는 식품으로부터 *Shigella* spp.를 검출하기 위해서 현재 사용되고 있는 분리배지를 대상으로 분리 성능을 비교하였다. MAC, SSA, DCA, XLD, HEA와 CHROMagar 총 6개의 분리배지를 대상으로 비교하였다. 일반 *Shigella* spp.에 대한 성장은 MAC에서 TSA와 비슷한 수준 균수를 보였고 DCA에서 낮은 균수로 측정되었다. 소고기, 돼지고기, 새우를 대상으로 한 회수실험은 *S. sonnei*가 CHROMagar에서 성장이 유의적으로 높았으며($p<0.05$) 양상추와 양배추에서는 *S. sonnei*가 SSA에서의 성장이 유의적으로 높게 나타났다($p<0.05$). 식품 상재균은 소고기, 새우, 양배추에서 전체적으로 낮은 수준으로 측정되었으나 각 배지에서 유의적 차이는 없었다($p>0.05$). 열 스트레스를 받은 *S. sonnei*는 MAC, SSA에서만 성장하였다. *Enterobacteriaceae*를 대상으로 한 선택성 측정 결과 HEA가 가장 높은 선택성을 나타내었다. *Morganella* spp.는 각 분리배지에서 *Shigella* spp.와 구분되지 못하였다. 실험에 사용된 배지는 각각의 조건에 따라 분리되는 특성이 상이하므로 식품에서 분리배지를 이용하여 *Shigella* spp.를 분리하고자 할 경우 분리 균의 상태에 따라 분리배지를 선택하여 사용하는 것이 바람직할 것으로 생각되었다.

## 감사의 글

이 논문은 2010년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(2010-0021744).

## 문 헌

1. Corry JEL, Curitis GDW, Baird RM. 2003. Chapter 14. Media for the isolation of *Shigella* spp. In *Handbook of Culture Media for Food Microbiology*. Elsevier Science B. V., Amsterdam, Netherlands. p 209-214.
2. Yang J, Nie H, Chen L, Zang X, Yang F, Xu X, Jhu Y, Jin Q. 2007. Revisiting the molecular evolutionary history of *Shigella* spp. *J Mol Evol* 64: 71-79.
3. Talukder KA, Islam MA, Khajanchi BK, Dutta DK, Islam Z, Safa A, Alam K, Hossain A, Nair GB, Sack DA. 2003. Temporal shifts in the dominance of serotypes of *Shigella dysenteriae* from 1999 to 2002 in Dhaka, Bangladesh. *J Clin Microbiol* 41: 5053-5058.
4. Uyttendaele M, Bagamboula CF, De Smet E, Van Wilder S, Debevere J. 2001. Evaluation of culture media for enrichment and isolation of *S. sonnei* and *S. flexneri*. *Int J Food Microbiol* 70: 255-265.
5. Brooks JT, Ochieng JB, Kumar L, Okoth G, Shapiro RL, Wells JG, Bird M, Bopp C, Chege W, Beatty ME, Chiller T, Vulule JM, Mintz E, Slutsker L. 2006. Surveillance for bacterial diarrhea and antimicrobial resistance in rural western Kenya, 1997-2003. *Clin Infect Dis* 43: 393-401.
6. Islam MS, Hossain HS, Hasan MK, Rahman MM, Fuchs G, Mahalanabis D, Baqui AH, Albert MJ. 1998. Detection of shigellae from stools of dysentery patients by culture and polymerase chain reaction techniques. *J Diarrhoeal Dis Res* 16: 248-251.
7. Sackey BA, Mensah P, Collison E, Sakyi-Dawson E. 2001. *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella* and *Escherichia coli* in live and dressed poultry from metropolitan Accra. *Int J Food Microbiol* 71: 21-28.
8. Lee KU, Ju YR, Park YMA, Lee KJ, Lee YJ, Kim CK, Hong SG, Park YC. 1996. Construction of allelic exchanged mutants for a gene replacement of *Shigella sonnei*. *J Korea Soc Microbiol* 31: 35-44.
9. Zhang G, Lample KA. 2010. Comparison of chromogenic biolog rainbow agar *Shigella*/*Aeromonas* with xylose lysine desoxycholate agar for isolation and detection of *Shigella* spp. from foods. *J Food Prot* 73: 1458-1465.
10. Centers for Disease Control and Prevention. 2006. *Shigella* surveillance: annual summary. 2005.
11. Lample KA, Maurelli AT. 2007. *Shigella* species. In *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. Doyle MP, Beuchat LR, eds. ASM Press, Washington, DC, USA. p 323-341.

12. FDA. 2009. Chapter 06. *Shigella*. In *Bacteriological Analytical Manual*. Food and Drug Administration, USA. http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm070789.htm
13. CDC. 2002. *Guidelines for laboratory diagnosis of statutory communicable diseases*. Centers for Disease Control, Seoul, Korea. p 27-29.
14. American Public Health Association. 2001. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 4th ed. American Public Health Association, Washington, DC, USA. p 381-385.
15. De Boer E. 1998. Update on media for isolation of *Enterobacteriaceae* from foods. *Int J Food Microbiol* 45: 43-53.
16. Warren BR, Parish ME, Schneider KR. 2005. Comparison of chromogenic *Shigella* spp. plating medium with standard media for the recovery of *Shigella boydii* and *Shigella sonnei* from tomato surfaces. *J Food Prot* 68: 621-624.

(2011년 4월 27일 접수; 2011년 5월 19일 채택)