

## 서울지역 식육판매점의 우육에 대한 미생물학적 오염도 평가

고은경<sup>1</sup> · 허은정<sup>2</sup> · 김영조<sup>2</sup> · 박현정<sup>2</sup> · 위성환 · 문진산\*

농림축산검역본부 동물약품관리과, <sup>1</sup>옵티팜, <sup>2</sup>식품의약품안전처 미생물과, 축산물기준과, 농축수산물정책과

### Evaluation on Microbiological Contamination Level of Raw Beef from Retail Markets in Seoul, Korea

Eun-Kyung Ko<sup>1</sup>, Eun Jeong Heo<sup>2</sup>, Young Jo Kim<sup>2</sup>, Hyun Jung Park<sup>2</sup>, Sung-Hwan Wee, and Jin San Moon\*

Veterinary Pharmaceutical Management Division, Animal and Quarantine Agency, Anyang 430-757, Korea

<sup>1</sup>Optipharm Inc, 63, Osongsangmyoung 6-ro, Cheongwon 363-954, Korea

<sup>2</sup>Livestock Product Standard Division, Food Microbiology Division and Agro-Livestock & Fishery Products Policy Division, Ministry of Food and Drug Safety, Cheongwon 363-951, Korea

#### Abstract

This study was performed to evaluate the microbiological contamination level of raw beef from retail markets in Seoul, Korea. The sampling and laboratory test were performed according to the procedure of "Standard for processing and ingredients specification of livestock product" and "Korean food code". Enterotoxin of *Staphylococcus aureus* isolates were detected using VIDAS<sup>®</sup> and PCR-based methods. *Listeria monocytogenes* serotyping and genotyping were carried out using *Listeria antisera* and *L. monocytogenes* Fingerprinting kit, respectively. A total of 48 samples were collected from 16 retail markets (butcher's shop: 5, department store: 6, supermarket: 5) in 2011. The level of total bacteria counts in the butcher's shop, department store and supermarket were  $4.4 \times 10^3$  CFU/g,  $3.9 \times 10^5$  CFU/g and  $1.0 \times 10^4$  CFU/g, respectively. The concentrations of *Escherichia coli* of these three retail markets were  $6.4 \times 10$  CFU/g, 7.6 CFU/g and  $2.0 \times 10$  CFU/g, respectively. *Salmonella* species was not detected on all samples. However, *S. aureus* was isolated in the 3 samples (6.25%) from each type of three retail markets. *L. monocytogenes* was isolated in the 4 samples (8.3%) from department stores. The level of contamination of these foodborne bacteria was less than 100 CFU/g. The enterotoxin-encoding genes of *S. aureus* isolates were *sea*, *seh*, *sei* and *sep* gene. The gene similarity of *L. monocytogenes* isolated from two retail markets by Rep-PCR showed 57.8-98.1% and 68.1-98.1%, respectively. These results suggest that the HACCP guideline for environmental control in slaughterhouse and retail markets should be provided to prevent cross contamination and manage foodborne pathogens such as *L. monocytogenes* and *S. aureus*.

**Key words:** retail markets, raw beef, HACCP, microbiological quality

#### 서 론

최근 국내외 식품에서 식중독 발생이 증가하면서 소비자들의 식품구매 패턴이 가격이나 품질보다는 위생과 안전에 우선순위를 두면서 농산물에 비하여 상대적으로 미생물 오염이 용이한 축산물의 안전성에 대한 관심이 증가되고 있다 (Hong and Na, 2010; Lee, 2007). 또한, 식품의 공급경로가 다양화되면서 식품사고가 발생할 경우 특정 집단, 특정 지역과 장소에 국한되지 않고, 국가 또는 국민 전체에 광범

위한 파급효과를 가져오므로 최근 세계 각국에서는 식품의 안전성 향상을 위하여 생산단계에서부터 최종단계까지 관리하는 'Farm to Table' 전략을 수립하고 있다 (Kim *et al.*, 2010). 국내에서도 축산식품의 안전성 제고를 위하여 농림수산물부에서는 1997년에 축산물 가공장에 HACCP 제도를 도입한 이래 축산물 생산 모든 단계(농장-사료-도축-집유-식육포장처리-가공-운반-보관-판매)에 HACCP 제도를 적용하고 있다 (Animal, Plant and Fisheries Quarantine and Inspection Agency, 2008).

한육우 및 쇠고기의 80%, 돼지고기의 77%가 식육판매장을 거쳐 소비자에게 공급되고 (Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries, 2006), 식육 유통의 마지막 단계인 식육판매점의 HACCP 적용은 안전한 축산물 공급차원에

\*Corresponding author: Jin San Moon, Veterinary Pharmaceutical Management Division, Animal and Quarantine Agency, Anyang 430-757, Korea. Tel: 82-31-467-4303, Fax: 82-31-467-4321, E-mail: moonjs727@korea.kr

서 매우 중요하다. 하지만 도축장을 제외한 다른 업종의 경우 업소들의 자율적인 선택에 따라 HACCP 적용이 이루어지고 있기 때문에 식육판매점의 HACCP 적용 비율은 6.89%로 매우 낮은 수준이며, 운용에 있어서도 보완책 마련이 필요한 실정이다 (Animal, Plant and Fisheries Quarantine and Inspection Agency, 2011; Lee *et al.*, 2010).

식육의 위해요소로서 생물학적, 화학적, 물리적 요인이 있지만, 최근에는 식품안전에 있어서 생물학적 위해요소가 가장 중요시되고 있다. 식육 중 문제가 되는 주요 병원성 미생물로는 *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* O157:H7 등이 있다. 이들 병원체들은 식육 또는 외부환경으로부터의 오염에 의하여 식중독을 야기할 수 있다(Borch and Arinder, 2002; Kim *et al.*, 2005).

식육 중 쇠고기의 유통단계별 병원성 미생물 오염수준에서 소비단계에서는 23.2%, 도축단계는 12.5%, 운반 및 가공단계는 5.6%로서 소비단계의 위생상태가 상대적으로 취약한 것으로 보고되었다(Park *et al.*, 2002). 특히, 우육은 가열조리시간이 다른 육류에 비해 짧고, 국내에서는 육회 등의 생고기로 소비되기 때문에 미생물 노출 가능성이 높기 때문에 철저한 위생관리가 요구된다. 그러나 국내 식육판매점에서 판매되고 있는 우육에 대한 미생물학적 오염도 분석과 검출 균의 특성에 대한 조사는 미미한 실정이다. 이에 본 연구에서는 식육 유통의 최종 단계인 식육판매점 중, 일반정육점, 백화점 내의 정육점, 그리고 대형할인점에서 판매되는 쇠고기에서 일반세균수와 대장균수를 비롯하여 식육에서 가장 문제시 되는 *Salmonella* spp., *S. aureus*, *L. monocytogenes*에 대한 미생물학적 오염실태와 분리균주의 특성을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료 및 시료채취

2011년 10월 5일부터 14일까지 서울 지역에 소재하고 있는 정육점과 백화점 및 대형할인점에서 운영되고 있는 식육판매점 총 16개 업소를 방문하여 진열보관 중인 쇠고기에 대하여 업소 별 3개 시료를 무균적으로 300 g 이상 채취하였다. 채취된 시료는 멸균된 시료채취 용기에 담아 아이스팩과 함께 포장, 운반하여 미생물 검사에 사용하였다.

### 일반세균수 및 대장균수 측정

우육에 대한 일반세균수 및 대장균수 검사는 축산물의 가공기준 및 성분규격 중 미생물 시험법에 의하여 실시하였다(Animal, Plant and Fisheries Quarantine and Inspection Agency, 2011). 즉, 일반세균수의 정량분석은 시료 25 g을 스토마커백에 취한 후 225 mL의 Butterfield's Phosphate-Buffered Dilution Water (Merck, Germany)을 가하여 균질

화한 다음  $10^{-8}$ 까지 단계 희석하여 검액 1 mL을 Petrifilm (3M™ Aerobic Count Plates)에 분주하여  $35\pm 1^\circ\text{C}$ 에서  $48\pm 2$  시간 배양한 후 붉은 집락수를 계수하고, 평균 집락수에 희석배수를 곱하여 균수를 측정하였다.

대장균 검사는 최확수법 (MPN)에 따라 실시하였으며, 시료 25 g을 10배 희석하여 시험용액으로 사용하였다. 3개 Brilliant Green Bile Broth (BD, USA) 발효관에 각각 1 mL, 0.1 mL, 0.01 mL를 접종하여  $48\pm 3$ 시간 배양하였다. 가스가 발생한 발효관을 Eosin Methylene Blue Agr (Oxoid, England)에 이식하여  $35\pm 1^\circ\text{C}$ 에서  $24\pm 2$ 시간 동안 배양 후 전형적인 집락이 확인될 경우에는 확정시험 양성으로 하였고, 비전형적인 집락의 경우에는 Vitek II (BioMerieux, France)로 최종 동정하였다.

### 식중독균 3종 분리 및 동정

살모넬라균 검사는 축산물의 가공기준 및 성분규격 중 미생물 시험법에 의하여 실시하였다(Animal, Plant and Fisheries Quarantine and Inspection Agency, 2011). 즉, 시료 25 g에 225 mL의 Buffered peptone Water (Merck, Germany)를 첨가하여  $36\pm 1^\circ\text{C}$ 에서 18-24시간 배양한 후 이 배양액을 10 mL의 Tetrathionate broth (BD, USA)에 1 mL, 10 mL의 Rappaport Vassiliadis broth (Merck, Germany)에 0.1 mL를 첨가하여 각각  $36\pm 1^\circ\text{C}$  및  $42\pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 20-24시간 동안 증균 배양하였다. 각 증균액을 Rambach Agar (Merck, Germany) 및 Xylose Lysine Deoxycholate Agar (BD, USA)에 도말한 후  $36\pm 1^\circ\text{C}$ 에서 20-24시간 배양하였다. 의심 집락을 Triple Sugar Iron Agar (BD, USA) 또는 Lysine Iron Agar (Biolife, Italia) 사면배지에 천자하여  $37\pm 1^\circ\text{C}$ 에서 20-24시간 배양하여 성상을 확인하고, Vitek II (BioMerieux, France)로 최종 동정하였다.

*S. aureus*는 식품공전의 일반미생물 시험법에 의하여 실시하였다(Korea Food & Drug Administration, 2011). 즉, 식육 25 g에 225 mL의 희석액을 가하여 2분간 균질화하여 시험용액으로 하고, 이를  $10^{-3}$ 까지 희석액을 만든 다음 각 단계별 희석액을 Baird-Parker (BD, USA) 배지 3장에 각각 0.3 mL, 0.4 mL, 0.3 mL씩 총 접종액이 1 mL이 되도록 도말하였다. 도말한 배지는 자연 방치하여 완전 흡수시킨 후  $35-37^\circ\text{C}$ 에서  $48\pm 3$ 시간 동안 증균 배양한 후 집락 주변이 불투명한 환으로 둘러싸인 검은색 집락을 의심집락으로 선정하였다. 의심 집락을 Blood Agar에 옮겨 용혈성 검사를 하고, 보통한천배지에 옮겨  $37^\circ\text{C}$ 에서 18-24시간 배양한 후 coagulase (BD, USA) test를 실시하고, Vitek II Compact system (BioMerieux, France)로 최종 동정하였다. 계수한 평판에서 5개의 전형적인 집락을 취하여 nutrient agar (Bifco, USA)에 옮겨 정성방법으로 확인한 후 동정된 균수에 희석 배수를 곱하여 균수를 계산하였다.

*L. monocytogenes* 검사는 축산물의 가공기준 및 성분규

격 중 미생물 시험법(Animal, Plant and Fisheries Quarantine and Inspection Agency, 2011)의 최확수법(MPN)에 기초하여 실시하였다. 즉, 시료 25 g에 *Listeria* Enrichment Broth (BD, USA) 225 mL를 첨가하여 균질화한 다음, 0.85% 멸균 NaCl 용액을 사용하여  $10^{-1}$ 에서  $10^{-3}$ 까지 단계 희석하여 균질화한 후 각 단계별로 균액을 선택배지인 Oxford agar (Oxoid, England)에 3장씩 획선 접종하여  $35\pm 1^\circ\text{C}$ 에서  $48\pm 2$  시간 배양하였다. 배양 후 전형적인 집락을 선택하여 확인 검사를 실시하여 그람양성의 간균으로서 Catalase 양성,  $\beta$ -용혈성을 나타내며, 운동성이 있고, CAMP test 결과 *S. aureus*에서 양성 결과를 보이는 집락을 Vitek II (BioMerieux, France)로 최종 동정하였다. 균수는 3단계 희석에 의한 양성 반응 결과에 의한 최확수표에 의하여 결정되었다.

### *S. aureus* 분리주의 장독소 생성능 검사

*S. aureus* 균주에 대한 장독소 생성능 검사는 일차적으로 VIDAS® Staphylococcal enterotoxins kit (BioMerieux, France)를 이용하여 스크린 검사하였으며, 양성반응을 보인 균주에 대해서는 PCR 검사를 실시하여 유전자형을 조사하였다. PCR 검사는 *S. aureus*가 검출된 균주를 tryptic soy broth (BD, USA)에서  $35^\circ\text{C}$ , 24시간 배양 후 3,000 rpm에서 20분간 원심 분리 후 pellet을 얻었고, QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen)를 이용하여 DNA를 제조사의 방법에 따라 실시하여  $-70^\circ\text{C}$ 에서 보관하였다. Primer는 독소형 A, B, C, D, E, G, H, I, J, K, L, M, N, O, P, Q 검출이 가능한 *Staphylococcus aureus* toxin ID Detection Kit (Kogene, Korea)를 이용하였다. 반응 조건은  $95^\circ\text{C}$ 에서 30초간 denaturation,  $58^\circ\text{C}$ 에서 30초간 annealing,  $72^\circ\text{C}$ 에서 30초간 extension하는 것을 1 cycle로 하여 35 cycle을 반응시키고  $72^\circ\text{C}$ 에서 10분간 반응을 연장하였다. 반응이 끝난 후에는  $4^\circ\text{C}$ 에서 보관하였다. 증폭된 DNA는 2% (w/v) Seakem agarose (Takara, Japan) gel에서 100 V, 45분간 전기영동한 후 ethidium bromide (1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )로 15분 염색한 후 20분 탈색한 후 UV로 확인하였다. DNA Marker는 100 bp DNA Ladder (Bioneer, Korea)를 사용하였다.

### *L. monocytogenes* 분리주의 혈청형 검사 및 유전학적 상동성 검사

*L. monocytogenes* 분리주의 serotyping을 확인하고자 O와 H antisera (Denka Seiken, Tokyo, Japan)를 이용하여 Seeliger와 Hohne의 방법(Seeliger and Hhne, 1979)에 따라 평판응집반응을 실시하였다. 즉, 균체표면 항원(O antigen)의 동정은 고형배지에서 여러 개의 colony를 채취하여 평판응집반응으로 검사하였다. 편모항원(H antigen) 검사는 시험관응집반응법으로 검사한 후 혈청형을 결정하였다.

또한 *L. monocytogenes* 분리주에 대하여 DiversiLab™ *L. monocytogenes* Fingerprinting kit (bioMerieux, France)를 이

용하여 유전학적 상동성을 조사하였다. 즉, 표준 multiplex PCR 반응액은 rep-PCR master mix(MM1) 18  $\mu\text{L}$ ,  $10\times$  GeneAMP PCR Buffer 2.5  $\mu\text{L}$ , primer mix 2  $\mu\text{L}$ , AmpliTaq® DNA polymerase (Applied Biosystems, Foster City, CA.) 0.5  $\mu\text{L}$ 에 DNA template 2  $\mu\text{L}$ 을 더하여 총 반응액을 25  $\mu\text{L}$ 로 하였다. PCR 반응 조건은  $94^\circ\text{C}$ 에서 2분간 initial denaturation 처리 후,  $94^\circ\text{C}$ 에서 30초간 denaturation,  $50^\circ\text{C}$ 에서 30초간 annealing,  $70^\circ\text{C}$ 에서 90초간 extension을 35회 반응시키고, final extension은  $70^\circ\text{C}$ 에서 3분간 반응 후  $4^\circ\text{C}$ 에서 보관하였다. 증폭된 DNA는 micro-fluidic chips을 이용하였고, DiversiLab software (ver. 3.4)를 이용하여 유전학적 일치율을 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### 일반세균수 및 대장균수 오염도

국내의 경우 농림수산물식품부 고시로 식육중 미생물 검사요령(Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries, 2011)에 의하여 식육판매장에서 유통되는 쇠고기의 일반세균수와 대장균수 기준을  $1\times 10^7$  CFU/g 이하와  $1\times 10^3$  CFU/g 이하로 관리하고 있다. 하지만 유럽의 경우 다지거나 소분된 식육의 일반세균수 기준은  $n=5$ ,  $c=2$ ,  $m=5\times 10^5$  CFU/g,  $M=5\times 10^6$  CFU/g로, 대장균수 기준은  $n=5$ ,  $c=2$ ,  $m=5\times 10^1$ ,  $M=5\times 10^2$  CFU/g으로, 캐나다, 호주, 뉴질랜드에서는 뼈를 제거한 식육에 대하여 일반세균수 기준은  $n=5$ ,  $c=3$ ,  $m=5\times 10^5$  CFU/g,  $M=5\times 10^7$  CFU/g으로 관리하고 있다(Lee *et al.*, 2004).

본 연구에서 서울지역 16개 식육판매점에서 유통되고 있는 쇠고기를 대상으로 일반 세균수를 조사한 바,  $1.1\times 10^2$  CFU/g에서  $1.5\times 10^6$  CFU/g으로 업소별로 매우 큰 차이를 보였다(Table 1). 업소별 일반세균수를 비교해보면 정육점은 평균  $4.4\times 10^3$  CFU/g, 백화점은  $3.9\times 10^5$  CFU/g, 대형할인점은  $1.0\times 10^4$  CFU/g로 나타났다. 대장균수도 업소별로 평균을 비교해 보면 정육점  $6.4\times 10$  CFU/g, 백화점 7.6 CFU/g, 대형할인점  $2.0\times 10$  CFU/g 수준이었으며 전반적으로 불검출에서부터  $3.2\times 10^2$  CFU/g까지 식육판매점별로 매우 다양한 수준을 나타내었다. 하지만, 16개 식육판매점의 48개 시료 모두에서 일반세균수 및 대장균수 국내 권장기준인  $1\times 10^7$  CFU/g과  $1\times 10^3$  CFU/g을 초과하지 않았다. 이러한 성적은 Jeon 등 (2011)이 백화점 및 대형할인점에서 유통되고 있는 우육의 평균 일반세균수가  $3.2\times 10^5$  CFU/g, 나머지 판매점은  $1.6\times 10^6$  CFU/g으로 보고한 것과 비교할 때 매우 양호한 수준이었다.

한편, 이번 조사에서 백화점 및 대형할인점의 일반세균수 및 대장균수 평균이 정육점에 비하여 높게 나타났는데, 이러한 원인은 HACCP 지정 업소의 대부분이 대형마트로서, 미지정 업소에 비해 상대적으로 일일 식육 취급 물량이 많음으로 인한 미생물 오염 가능성 증가에 의한 것으로 사료

**Table 1. Total bacterial counts and *E. coli* counts of raw beef from retail markets**

Markets		Total bacteria counts (CFU/g)			<i>E. coli</i> (CFU/g)		
		Mean (n=3)	Minimum	Maximum	Mean (n=3)	Minimum	Maximum
Butcher's shop	A	1.5×10 <sup>4</sup>	1.3×10 <sup>4</sup>	1.9×10 <sup>4</sup>	3.2×10 <sup>2</sup>	93	7.3×10 <sup>2</sup>
	B	5.5×10 <sup>2</sup>	4.4×10 <sup>2</sup>	6.5×10 <sup>2</sup>	N.D. <sup>1)</sup>	N.D.	N.D.
	C	2.9×10 <sup>3</sup>	1.4×10 <sup>3</sup>	3.8×10 <sup>3</sup>	N.D.	N.D.	N.D.
	D	3.1×10 <sup>3</sup>	1.0×10 <sup>3</sup>	1.9×10 <sup>3</sup>	N.D.	N.D.	N.D.
	E	6.7×10 <sup>2</sup>	5.8×10 <sup>2</sup>	8.0×10 <sup>2</sup>	N.D.	N.D.	N.D.
Department store	F	1.9×10 <sup>5</sup>	2.9×10 <sup>4</sup>	3.9×10 <sup>5</sup>	1.2	N.D.	3.6
	G	2.2×10 <sup>4</sup>	1.9×10 <sup>4</sup>	2.4×10 <sup>4</sup>	N.D.	N.D.	N.D.
	H	6.5×10 <sup>5</sup>	1.5×10 <sup>5</sup>	1.6×10 <sup>6</sup>	42	9.1	93
	I	1.5×10 <sup>6</sup>	9.4×10 <sup>4</sup>	4.2×10 <sup>6</sup>	N.D.	N.D.	N.D.
	J	2.2×10 <sup>2</sup>	2.0×10 <sup>1</sup>	5.2×10 <sup>2</sup>	N.D.	N.D.	N.D.
	K	1.1×10 <sup>2</sup>	3.0×10 <sup>1</sup>	2.4×10 <sup>2</sup>	2.4	N.D.	3.6
	L	2.0×10 <sup>3</sup>	1.1×10 <sup>3</sup>	5.9×10 <sup>3</sup>	46	23	93
Supermarket	M	1.5×10 <sup>3</sup>	1.2×10 <sup>3</sup>	1.7×10 <sup>3</sup>	7.4	3.6	15
	N	4.3×10 <sup>2</sup>	N.D.	1.3×10 <sup>3</sup>	N.D.	N.D.	N.D.
	O	2.2×10 <sup>4</sup>	4.4×10 <sup>3</sup>	4.4×10 <sup>4</sup>	50	N.D.	1.5×10 <sup>2</sup>
	P	9.6×10 <sup>3</sup>	2.3×10 <sup>3</sup>	2.1×10 <sup>4</sup>	1.2	N.D.	3.6

<sup>1)</sup>N.D. Not detected.

**Table 2. Prevalence of *Salmonella* spp., *S. aureus* and *L. monocytogenes* in raw beef from retail markets**

Markets		<i>Salmonella</i> spp.		<i>S. aureus</i>		<i>L. monocytogenes</i>	
		No. of Positive	CFU/g	No. of Positive	CFU/g	No. of Positive	MPN/g
Butcher's shop	A	0/3	N.D. <sup>1)</sup>	0/3	N.D.	0/3	N.D.
	B	0/3	N.D.	0/3	N.D.	0/3	N.D.
	C	0/3	N.D.	0/3	N.D.	0/3	N.D.
	D	0/3	N.D.	0/3	N.D.	0/3	N.D.
	E	0/3	N.D.	1/3	10	0/3	N.D.
Department store	F	0/3	N.D.	0/3	N.D.	0/3	N.D.
	G	0/3	N.D.	1/3	50	0/3	N.D.
	H	0/3	N.D.	0/3	N.D.	1/3	28
	I	0/3	N.D.	0/3	N.D.	2/3	3
	J	0/3	N.D.	0/3	N.D.	0/3	N.D.
	K	0/3	N.D.	0/3	N.D.	1/3	3.6
	L	0/3	N.D. <sup>1)</sup>	0/3	N.D.	0/3	N.D.
Supermarket	M	0/3	N.D.	0/3	N.D.	0/3	N.D.
	N	0/3	N.D.	1/3	10	0/3	N.D.
	O	0/3	N.D.	0/3	N.D.	0/3	N.D.
	P	0/3	N.D.	0/3	N.D.	0/3	N.D.
	Total (%)	0/48 (0%)		3/48 (6.3%)		4/48 (8.3%)	

<sup>1)</sup>Not detected.

된다.

### *Salmonella* spp., *S. aureus*, *L. monocytogenes* 3종 식중독균 오염도

식육 제품은 소비자가 최종 섭취에 이르기까지 도축에서 가공, 운반, 유통 등의 여러 단계를 거치게 된다. 본 연구에서는 유통의 최종 단계인 식육 판매점의 우육으로부터 *Salmonella* spp., *S. aureus*, *L. monocytogenes* 3종 식중독균에 대한 오염실태를 조사한 바, *Salmonella* spp.는 모든 시료에서 검출되지 않았다(Table 2). 이에 반하여 *S. aureus*는 총 3건(6.25%)으로, 정육점, 백화점, 대형마트에서 각각

1건씩 검출되었으며, *L. monocytogenes*는 백화점에서만 총 4건(8.3%)이 검출되었다. *S. aureus* 균이 검출된 시료의 오염수준은 1.0×10<sup>1</sup> CFU/g에서 5.0×10<sup>1</sup> CFU/g이었으며, *L. monocytogenes*는 3.0 MPN/g에서 2.8×10<sup>1</sup> MPN/g의 수준으로서 두 균주의 미생물 오염수준은 모두 g당 100 CFU 이하로 조사되었다. 이러한 결과는 Park 등 (2002)이 쇠고기 유통단계에서 *S. aureus* 9.0%, *L. monocytogenes* 5.5%, *Salmonella* spp. 1.4%의 분리율을 보인 성적과 유사하였다. 한편, Kim 등 (2005)이 식육판매점의 전 단계인 도축된 소에서 *L. monocytogenes*의 분리율이 0.42%로 조사되었고, Ra 등 (2002)과 Jeon 등 (2011), 그리고 Park 등 (2002)이

도축단계에서 *Salmonella* spp., *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *C. perfringens* 등과 같은 병원성 미생물이 검출됨을 보고하였다. 위와 같이 도축장에서는 병원성 미생물이 다양하게 검출되고 있으며, 이러한 식육이 식육판매점으로 출하될 경우 작업 기구 및 환경 등으로 인한 2차 오염이 발생할 가능성이 있다. 따라서, 식육판매점에서는 부적절한 취급에 의한 미생물의 오염과 증식을 최소화하기 위하여 식육원료의 위생적 취급뿐만 아니라 작업환경에 대한 보다 철저한 위생관리가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

### *S. aureus*의 장독소 유형

*S. aureus*가 생성하는 병원성 인자 중 enterotoxin은 현재 18 종류가 알려져 있으며, 현재 확인된 것은 16종(A, B, C1, C2, C3, D, E, G, H, I, J, K, L, M, N, O)이다. 아직까지 장독소와 식중독 발생 관계는 완전히 알려져 있지 않으나, *S. aureus* 중 SEA, SEB, SEC, SED, SEE에 의한 식중독이 95%를 차지하고 있으며, 나머지 5%만이 새로운 장독소에 의한 것으로 보고하고 있다(Jarraud *et al.*, 2001; Kwona *et al.*, 2004; Letertre *et al.*, 2003; Omoe *et al.*, 2002; Orwin *et al.*, 2001; Willaims *et al.*, 2000). 이 중 75-87%가 SEA에 의한 식중독으로 보고하고 있다(Youichi and Minoru, 1997). 본 연구에서 식육판매점 3개 업소에서 분리된 *S. aureus* 7주를 대상으로 ViDAS® 검사장비에 의해서는 장독소 생성 여부를 조사한 바, 1주(I)를 제외한 6주 모두에서 양성 반응을 보였다(Table 3). 또한, PCR 검사에 의하여 장독소 유형을 분석한 바, Fig. 1에서와 같이 E판매점에 분리한 1주를 제외한 모든 균주에서 *sep* 유전자가 확인되었으며, G와 N판매점에서 분리한 3주는 *sea*, *seh*, *sei* 3종류의 유전자를 동시에 보유하고 있는 것으로 조사되었다.

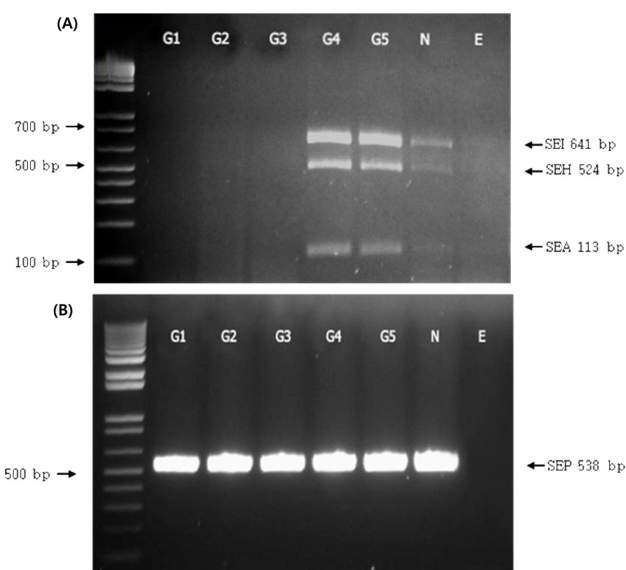
### *L. monocytogenes* 혈청형 및 유전학적 상동성

*L. monocytogenes*는 2-100 CFU/g의 적은 양으로도 식품 내에서 식중독을 일으킬 수 있고, 냉장온도에서도 증식이 가능하므로 식품 취급시 각별한 주의가 필요하다(Kim *et al.*, 2006). 특히, 육회 등 생고기를 섭취하는 우리나라의 경우 listeriosis의 발생에 대한 대비가 있어야 할 것이다(Cho *et al.*, 2000). 또한, 리스테리아증 발생시 감염원과 감염경로에 대한 신속한 역학적 원인 규명을 위하여 *L. monocytogenes*에 대한 혈청형 및 유전형 등의 조사가 필요하다

**Table 3. Detection of enterotoxin genes of *S. aureus* isolated from raw beef**

Market	No of. Isolates	No of. positive	
		VIDAS	PCR
E	1	+	-
G	5	+ <sup>1)</sup>	+ <sup>1)</sup>
N	1	-	+

<sup>1)</sup>5 isolates all positive.



**Fig. 1. Agarose gel electrophoresis patterns of PCR products from enterotoxin type of *S. aureus* isolated from raw beef. (A) *S. aureus* enterotoxin primer set 1 (A, B, C, D, E, G, H, I), (B) *S. aureus* enterotoxin primer set 2 (J, K, L, M, N, O, P, Q) Lane G1-E; *S. aureus* isolates of three retail markets**

(Allerberger and Fritschel, 1999). O와 H 항원에 따라서 13 가지 이상으로 구분되어지는 혈청형 검사는 그 동안 많은 연구자에 의해서 조사가 수행되었으며, 사람과 동물의 리스테리아증 발생의 90% 이상이 4b, 1/2a 및 1/2b가 점하고 있는 것으로 보고하고 있다 (Farber *et al.*, 1991; Newton *et al.*, 1992; Smerdon *et al.*, 2001).

본 연구에서는 사람에서의 리스테리아증의 발병 가능성을 검토하고자 혈청형을 조사한 바, 모든 균주가 1/2c로 동정되었다. 이러한 결과는 Kang 등 (1991)이 국내에서 식육, 닭고기, 원유, 유가공장, 오수, 동물사료 및 동물체표 등에서 분리한 *L. monocytogenes* 혈청형 조사에서 1/2a, 1/2b, 4b가 점하고 있다는 보고와 Farber와 Peterkin (1991)이 사람과 동물의 리스테리아증 발생의 90% 이상이 4b, 1/2a 및 1/2b가 점하고 있다는 보고와는 차이가 있지만 식품유래의 균주는 1/2a, 1/2b, 1/2c가 주축을 이루고 있다고 보고한 성적과는 유사하였다.

또한, 본 연구에서 3개 식육판매점에서 분리한 *L. monocytogenes* 9주(H: 5주, I: 3주, K: 1주)에 대하여 유전학적 상동성을 조사하기 위하여 PCR를 실시한 바, 식육판매점에서 분리한 균주간 유전학적 일치율이 80% 이하를 나타내어 균주의 유래가 다른 것으로 분석되었다. H와 I 식육판매점에서 분리한 균주간 유전학적 상동성은 57.8-98.1%와 68.1-98.1%로 조사되었으며, 동일 시료에서 분리된 H 판매점의 2주(H-b와 H-c)와 I 판매점의 2주(I2-b와 I1-a)는 98.1%의 일치율을 나타내었다. 이러한 결과는 오염된 원료육 또는 식육 취급 시 칼, 도마, 장갑 등의 작업도구 및 환경에

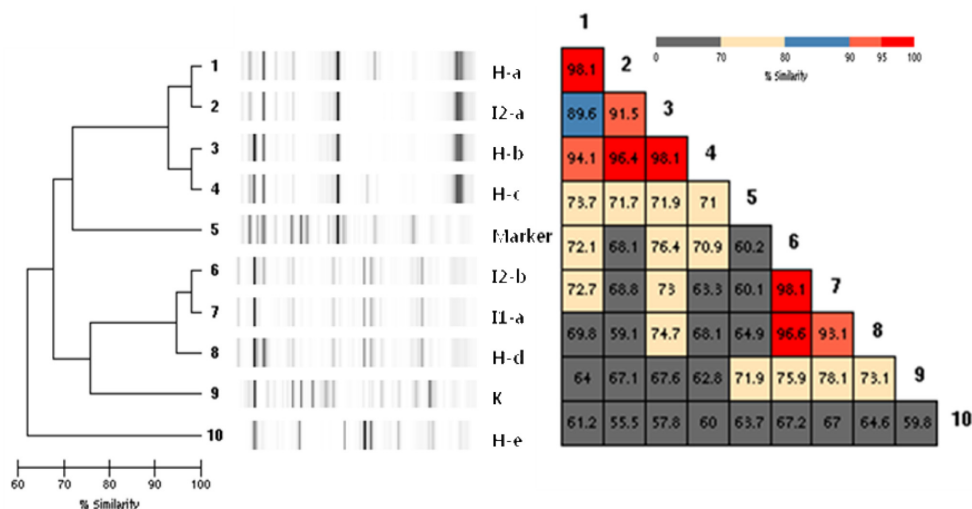


Fig. 2. Fingerprinting patterns generated using the REP-PCR products and dendrogram showing the clustering from nine *L. monocytogenes* isolated from three retail markets (H, I, K).

의한 교차오염이 되었을 가능성을 뒷받침 해 주는 것으로 사료된다. 실제적으로 Jeon 등(2011)은 장갑, 칼, 도마, 저울 등의 작업도구에서 *S. aureus*와 *Salmonella* spp.의 검출율과 사용 전 목장갑에 비하여 사용 후 일반세균수가 평균 10<sup>2</sup> CFU/g 증가하는 것으로 보고하였다. 또한, 작업자의 손에서 검출된 *S. aureus*의 경우 24시간 동안 교차오염을 발생시킬 수 있다는 보고(Wei and Chiou, 2002)에 따라서 작업도구 사용 후 즉시 세척과 소독을 실시하며 다음 사용 전까지 자외선 소독기 등의 전용 보관 장소에 보관 후 사용하도록 하고, 장갑, 칼, 도마 등 작업횟수와 사용횟수에 따라 소독과 교체를 하는 등 위생관리에 대한 개선이 필요할 것으로 사료된다.

본 연구에서 국내에서 우유를 판매하는 식육판매점에서 분리한 *S. aureus* 및 *L. monocytogenes* 균주가 유전학적 분석에 의하여 이들 균주 중 일부는 교차오염 가능성이 제기되었다. 따라서 이들 식중독 균의 효율적인 관리를 위해서는 무엇보다도 식육 원료를 포함하여 작업 도구 및 환경에서의 교차 오염을 예방하기 위한 적절한 위생관리와 철저한 검사가 있어야 할 것으로 사료된다.

요 약

본 연구에서는 식육 유통의 최종 단계인 식육판매점 중, 일반정육점, 백화점 내의 정육점, 그리고 대형할인점에서 판매되는 쇠고기에 대한 미생물학적 오염도를 조사하였다. 업소별 일반세균수를 비교해 보면 정육점은 평균 4.4×10<sup>3</sup> CFU/g, 백화점은 3.9×10<sup>5</sup> CFU/g, 대형할인점 1.0×10<sup>4</sup> CFU/g로 나타났으며, 대장균수는 정육점 6.4×10 CFU/g, 백화점 7.6 CFU/g, 대형할인점 2.0×10 CFU/g 수준이었다. 식중독균 중 *Salmonella* spp.는 모든 업소에서 검출되지 않았지만 *S.*

*aureus*는 총 3건 (6.25%)으로, 정육점, 백화점, 대형마트에서 각각 1건씩 검출되었으며, *L. monocytogenes*는 백화점에서만 총 4건(8.3%)이 검출되었다. 이들 시료의 미생물 오염수준은 모두 100 CFU/g 이하로 조사되었다. 식육에서 분리된 *S. aureus*의 enterotoxin type은 *sea*, *seh*, *sei*, *sep*형으로 나타났다. *L. monocytogenes*가 검출된 4개의 시료에서 9주가 분리되었으며, 이들 균주의 혈청형은 모두 1/2c로 조사되었으며, 2개 업소에서 분리된 3주와 5주에 대한 균주 간 유전학적 상동성은 57.8-98.1%와 68.1-98.1%로 각각 조사되었다. 본 연구 결과, 식육판매점에서 유통되는 쇠고기에서 일반세균수 및 대장균수가 기준치인 1×10<sup>7</sup> CFU/g 및 1×10<sup>3</sup> CFU/g 이하로 검출됨을 확인할 수 있었다. 그러나, 식육에서 문제시되는 식중독 세균인 *S. aureus* 및 *L. monocytogenes*가 일부 식육판매점에서 검출된 바, 이와 같은 병원성 미생물의 효과적인 관리를 위해서는 칼과 도마 등의 이차오염 방지를 위한 작업환경 및 시설에 대한 세부적인 HACCP 관리기준 마련과 더불어 미생물에 대한 정기적인 검사가 수행되어야 할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농림수산검역검사본부 수의과학기술개발 연구사업의 지원에 의해 수행되었으며, 이에 깊은 감사를 드립니다.

참고문헌

1. Allerberger, F. and Fritschel, S. J. (1999) Use of automated ribotyping of Austrian *Listeria monocytogenes* isolated to support epidemiological typing. *J. Microbiol. Methods* **35**, 237-



- 244.
2. Animal, Plant and Fisheries Quarantine and Inspection Agency. (2011) Situation of HACCP system application. <http://www.qia.go.kr/livestock/clean/listCpsyWebAction.do?clear=1>
  3. Animal, Plant and Fisheries Quarantine and Inspection Agency. (2008) Meat retail business HACCP manual (No. 11-1541002-000045-01), pp. 8.
  4. Animal, Plant and Fisheries Quarantine and Inspection Agency. Standards for Processing and Ingredients Specifications of Livestock Products, Animal, Plant and Fisheries Quarantine and Inspection Agency Notification (No. 2011-43).
  5. Borch, E. and Arinder, P. (2002) Bacteriological safety issues in red meat and ready-to-eat meat products, as well as control measures. *Meat Sci.* **62**, 381-390.
  6. Cho, J. S., Kim, Y. J., Kim, S. S., Do, J. C., Kim, S. H., Lee, Ch. W., Kim, I. S., and Jyeong, J. S. (2000) Survey on the contamination of listeria sp In meats which was collected in Kyongbuk province. *Korean J. Vet. Serv.* **23**, 341-348.
  7. Farber, J. and Peterkin, P. (1991) *Listeria monocytogenes* a food-borne pathogen. *Microbiol. Rev.* **55**, 476-511.
  8. Hong, C. H. and Na, H. S. (2010) Comparative analysis for improving the effective application of HACCP prerequisite items in meat markets. *Korean J. Vet. Serv.* **33**, 393-399.
  9. Jarraud, S., Peyrat, M. A., Lim, A., Tristan, A., Bes, M., Mougel, C., Etienne, J., Vandenesch, F., Bonneville, M., and Lina, G. (2001) *egc*, a highly prevalent operon of enterotoxin gene, forms a putative nursery of superantigens in *Staphylococcus aureus*. *J. Immunol.* **166**, 669-677.
  10. Jeon, H. C., Kim, J. E., Son, J. W., Chae, H. S., Jin, K. S., Oh, J. H., Shin, B. W., and Lee, J. H. (2011) Evaluation of the microbial contamination status and sanitation practice level in butcher's shops in Seoul. *Korean J. Vet. Serv.* **34**, 409-416.
  11. Kang, H. J., Son, W. G., Kang, G. S., and Park, C. E. (1991) Characteristics of isolates and incidence of *Listeria monocytogenes* in faeces from animals, feeds and raw foods of animal origin 1. Incidence of *Listeria monocytogenes* in raw milk, beef, chicken meat and animal faeces. *Kor. J. Vet. Publ. Hlth.* **15**, 231-237.
  12. Kim, H. J., Park, S. H., and Kim, H. Y. (2006) Classification of *Listeria monocytogenes* Isolates from Korean Domestic Foods Using Random Amplification of Polymorphic DNA and Serotyping Analysis, *Kor. J. Microbiol, Biotechnol.* **34**, 23-27.
  13. Kim, H. W., Lee, J. Y., Hong, W. S., Hwang, S. M., Lee, V., Rhim, S. R., and Paik, H. D. (2010) Overview of real-time visibility system for food (Livestock products) transportation systems on HACCP application and systematization. *Korean J. Food Sci. An.* **30**, 896-904.
  14. Kim, J. Y., Lee, J. H., Gi, N. J., and Lee, J. H. (2005) Microbiological quality and detection of pathogenic microorganisms in slaughtered meat in Seoul area. *Korean J. Vet. Serv.* **28**, 215-223.
  15. Korea Food & Drug Administration, Korean Food Standards Codex (No. 2011-76) No. 10. General method, 10-3-35.
  16. Kwona, N. H., Kima, S. H., Parka, K. T., Baea, W. K., Kima, J. Y., Lima, J. Y., and Ahnb, J. S. (2004) Application of extended single-reaction multiplex polymerase chain reaction for toxin typing of *Staphylococcus aureus* isolates in South Korea. *Int. J. Food Microbiol.* **97**, 137-145.
  17. Lee, B. O. (2007) The structure and characteristics of HACCP system for livestock products in Korea. *Kor. J. Agric. Management Policy* **34**, 456-472.
  18. Lee, J. Y., Paik, J. K., Hwang, H. S., Lee, J. E., Shin, W. S., Kim, H. W., Paik, H. D., and Hong, W. S. (2010) Survey of hygienic condition and management of meat markets in Seoul and Gyeong-gi area, Korea - HACCP-certified and non certified. *Korean J. Food Sci. An.* **30**, 336-344.
  19. Lee, M. S., Woo, G. J., Park, J. S., Lee, D. H., and Oh, S. S. (2004) Guidelines for microbiological standards of food in foreign countries. *J. Fd. Hyg. Safety* **19**, 140-150.
  20. Letertre, C., Perelle, S., Dilasser, F., and Fach, P. (2003). A strategy based on 50 nuclease multiplex PCR to detect enterotoxin genes *sea* to *sej* of *Staphylococcus aureus*. *Mol. Cell. Probes*, **17**, 227-235.
  21. Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries. (2011) Guideline for microbiological examination of raw meats, Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries Notification No. 2011-54, Section 11: Recommended microbiological criteria for monitoring.
  22. Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries. (2006) Distribution condition survey of livestock and livestock products.
  23. Newton, L., Hall, S. M., Pelerin, M., and McLauchlin, J. (1992) Listeriosis surveillance: 1991. *PHLS. Commun. Dis. Rep.* **2**, 142-144.
  24. Omoe, K., Ishikawa, M., Shimoda, Y., Hu, D. L., Ueda, S., and Shinagawa, K. (2002) Detection of *seg*, *seh*, and *sei* genes in *Staphylococcus aureus* isolates and determination of the enterotoxin productivities of *S. aureus* isolates harboring *seg*, *seh*, or *sei* genes. *J. Clin. Microbiol.* **40**, 857-862.
  25. Orwin, P. M., Leung, D. Y., Donahue, H. L., Novick, R. P., and Schlievert, P. M. (2001). Biochemical and biological properties of Staphylococcal enterotoxin K. *Infect. Immunol.* **69**, 360-366.
  26. Park, S. D., Kim, Y. H., Koh, B. R. D., Kim, C. H., Yoon, B. C., and Kim, C. K. (2002) A study on the contamination level of pathogenic microorganisms in beef distribution stages. *Korean J. Vet. Serv.* **25**, 117-126.
  27. Ra, I. T., Rhim, H. G., Jo, M. Y., Lee, Y. S., and Lee, B. D. (2002) Survey of microbiological quality and detection of pathogenic microorganisms on the surface of slaughtered beef and pork products. *Korean J. Vet. Serv.* **25**, 9-14.
  28. Seeliger, H. P. R. and Hohne, K. (1979) Serotyping of *Listeria monocytogenes* and related species. *Method Microbiol.* **13**, 31-49.
  29. Smerdon, W. J., Jones, R., McLauchlin, J., and Reacher, M. (2001) Surveillance of listeriosis in England and Wales 1995-1999. *Commun. Dis. Public Health* **4**, 188-193.
  30. Wei, H. L. and Chiou, C. S. (2002) Molecular subtyping of *Staphylococcus aureus* from an outbreak associated with a food handler. *Epidemiol. Infect.* **128**, 15-20.
  31. Williams, R. J., Ward, J. M., Henderson, B., Poole, S., O'Hara,

- B. P., Wilson, M., and Nair, S. P. (2000) Identification of a novel gene cluster encoding staphylococcal exotoxin-like proteins: Characterization of the prototypic gene and its protein product SET1. *Infect. Immunol.* **68**, 4407-4415.
32. Youichi, O. and Minoru, M. (1997) Amino acid requirements for the growth and enterotoxin production by *Staphylococcus aureus* in chemically defined media. *Int. J. Food Microbiol.* **36**, 77-82.

---

(Received 2012.10.17/Revised 2013.4.16/Accepted 2013.5.23)