

## Distributions of *Bacillus cereus*, *Pseudomonas*, *Enterococcus*, and coliforms Isolated from Agricultural Products

Heejin Ham\*

Anyang University, College of Liberal Arts, Anyang, Korea

A survey was conducted on the bacterial contamination levels from 128 agricultural products, and identified 31 coliforms, 34 *Bacillus* spp., 35 *Pseudomonas* spp., and 3 *Enterococcus* spp.. Antibiotic susceptibility testing of eight *Escherichia coli* (*E. coli*) isolates, thirteen *Bacillus cereus* (*B. cereus*) isolates and seven *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) revealed that none of the *E. coli* isolates shows multidrug resistance pattern. However, one *B. cereus* isolate was resistant to Amoxicillin/clavulanic acid + Ampicillin/sulbactam + Cephaloxin, and twelve *B. cereus* isolates were resistant to Amoxicillin/clavulanic acid + Ampicillin/sulbactam + Cephaloxin + Tetracycline. The data from the current study points out that many agricultural products contain multidrug resistant bacteria, and it can be suggested for the need of proper guidelines and special management on the use of antibiotics in agricultural products.

**Key Words:** *B. cereus*, *Pseudomonas*, *Enterococcus*, Drug resistance patterns, Agricultural products

### INTRODUCTION

자연계, 곡류, 채소류에 널리 오염되어 있는 *Bacillus cereus* (*B. cereus*)에 의한 식중독이 식재료 오염, 식품 간 교차오염 등으로 발생하고, 조리사의 손이나 기구의 혼용에 따른 생 채소 음식의 교차오염으로부터 식중독 사고가 발생한다 (1, 2). 비가열 채소류의 오염도를 조사한 결과 *B. cereus*가 22% 검출된다고 Jung 등 (3)은 보고하였고, Kim 등 (4)은 급식소에서 많이 사용하는 콩나물에서 *B. cereus*가 가공 단계 및 완제품에서 검출되었다고 보고하고 있다. 우리나라는 샐러드 등과 같은 신선편이식품을 단순 농산물로 분류하다가 2008년부터 신선편이식품으로 분류하기 시작하면서 이에 대한 미생물 기준 또한 *Escherichia coli* (*E. coli*)는 10 CFU/g 이하, *B. cereus*는 1,000 CFU/g로 설정하였다 (5).

*Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*)는 중환자실 등에서 분리되는 주요병원균으로서 인공호흡기 관련 폐렴, 요로감염 및 혈관카테타 관련 감염의 주요원인균이기도 하며, 흔히 항균제에 내성을 나타낸다 (6~8). *P. aeruginosa* 균주는 beta-lactam 계열의 항균제인 ceftazidime, cefapime 및 carbapenam 등의 약제에 감수성을 보여 이들 항균제가 *P. aeruginosa*에 의한 감염의 치료제로 쓰인다 (6).

*Enterococcus*는 자연환경이나 동물에서 발견되며, 인체 내 위 장관에 상재 균으로 요로감염, 창상감염, 균혈증이나 심내막염 등을 일으킨다 (9, 10). 과거에는 드물었으나 근래에는 *Enterococcus*에 의한 원내감염이 흔히 발생하고 있고, *Enterococcus*는 beta-lactam, aminoglycoside, clindamycin과 trimethoprim/sulfamethoxazole에 대해 자연 내성을 갖는다 (9).

Coliforms는 물이나 토양 등의 자연계뿐 아니라 사람과 동식물의 장에 존재하는 *E. coli*, *Citrobacter*, *Enterobacter*,

Received: July 3, 2017/ Revised: August 7, 2017/ Accepted: August 16, 2017

\*Corresponding author: Heejin Ham. College of Liberal Arts, Anyang University, Anyang 14028, Korea.

Phone: +82-10-4140-3823, Fax: +82-31-463-1386, e-mail: hhj3814@anyang.ac.kr

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>).

*Klebsiella* 등의 세균들을 지칭하며, 식품위생을 판단하는 기준으로 사용된다 (11).

본 연구는 유통 농산물에 대한 *B. cereus*, *Pseudomonas*, *Enterococcus*, 그리고 coliforms의 분포를 알아보고, 유통 농산물에서 분리되는 주요 균의 항균제 내성 유형을 확인하고자 하였다.

## MATERIALS AND METHODS

### 시험 대상 농산물 검체

서울시 소재 가락농산물도매시장에서 2017년 5월부터 6월까지 구입한 농산물 128건(엽채류 41건, 과채류 24건, 엽경채류 21건, 과실류 19건, 버섯류 7건, 근채류 7건, 두채류 7건, 그리고 서류 2건 등)을 대상으로 실험을 실시하였다.

### 세균수 검사 및 세균 분리 동정

일반세균수 측정과 coliforms와 *Bacillus*의 분리 동정은 식품공전(식품의약품 안전처, 2015)의 일반 시험법 (12)에 따라 실시하였고, *Enterococcus*의 분리는 Ham 등이 사용한 검출법 (13)에 준하여 시험하였으며, *Pseudomonas*의 분리 동정은 미국 식품의약국(Food and Drug Administration, FDA)의 Bacteriological Analytical Manual (1992) (14)과 American Pharmacists Association (APHA)의 Standard Methods (1993) (15)에 준하여 실시하였다.

일반세균수 측정의 경우 시료 10 g을 90 ml 생리식염수에 넣어 희석한 시험액을  $10^{-6}$ 까지 10배 계단 희석한 후 세균배양접시에 1 ml씩 넣고 그 위에 미리 멸균하여 준비한 standard plate count agar (SPC agar, Oxoid, England) 20 ml를 부어(pouring method), 37°C에서 48시간 배양한 후 평판 계수 방법에 의해 판독하였으며, 동일한 방법으로 실험한 후 Difco™ R2A agar (BD Diagnostics, Sparks, MD, USA)를 부어 20°C에서 48시간 배양한 후 평판 계수 방법에 의해 판독하였다.

세균의 분리 동정은 시료 10 g을 90 ml 생리식염수에 넣어 희석한 시험액을 증균배지에 2 ml씩 접종하여 실험하였다. Coliforms의 경우, lactose broth (Oxoid)에서 증균한 후 EMB agar (Oxoid)에서 전형적인 집락을 선택하여 tryptic soy agar (Oxoid)에서 순수 분리하고 그램 염색과 API 20E kit (Biomerieux, France)를 이용하여 균을 동정하였다. *Bacillus*, *Pseudomonas*, 그리고 *Enterococcus*는 tryptic

soy broth (Oxoid)에서 증균한 후, MYP agar (Oxoid), *Pseudomonas* selective agar (Oxoid), 그리고 *Enterococcus* selective agar (Oxoid)에서 각각 전형적인 집락을 선별하여 tryptic soy agar (Oxoid)에서 순수 분리하고 그램 염색과 API 50 CHB kit (Biomerieux), API 20E kit (Biomerieux), API 20 STREP kit (Biomerieux)를 이용하여 균을 동정하였다.

### 항균제 감수성 시험

분리 균에 대한 항균제 감수성 검사는 항균제 디스크(BD BBL™)를 사용하여 디스크 확산법으로 실시하였고, clinical and laboratory standards institute (CLSI) 기준에 따라 감수성 여부를 판명하였다. 유통 농산물 검체에서 분리한 *E. coli* 8주, *B. cereus* 13주, 그리고 *P. aeruginosa* 7주에 대하여, Streptomycin을 포함한 14종의 항균제에 대한 감수성을 시험하였다 (13). 영하 80°C 저온 냉동고에 보관한 세균을 Mueller Hinton broth (Oxoid)에서 증균한 후 멸균된 면봉에 균을 묻혀 Mueller Hinton Agar (Oxoid)에 골고루 편 후 각각의 항균제 디스크를 disc dispenser (Oxoid)를 사용하여 부착하였다. 36°C에서 24시간 배양한 후 항균제로 인한 생장 저지 라인의 지름을 측정하여 판독하였다.

## RESULTS

### 세균수 검사 결과

농산물 검체 128건에 대해 37°C와 20°C 각각의 온도에서 일반세균수를 조사한 결과, 37°C에서는 엽채류에서  $2.8 \times 10^5$  CFU/g, 과채류에서  $2.1 \times 10^7$  CFU/g, 엽경채류에서  $2.6 \times 10^7$  CFU/g, 과실류에서  $1.6 \times 10^8$  CFU/g, 버섯류에서  $1.2 \times 10^8$  CFU/g, 근채류에서  $6.2 \times 10^7$  CFU/g, 두채류에서  $1.3 \times 10^8$  CFU/g, 그리고 서류에서  $9.5 \times 10^7$  CFU/g의 세균이 분리되어, 과실류, 버섯류, 두채류에서 검체 g당 평균세균수가 엽채류, 과채류, 엽경채류, 근채류, 서류에 비해 높게 나타났다.

20°C에서는 엽채류에서  $8.5 \times 10^4$  CFU/g, 과채류에서  $7.6 \times 10^6$  CFU/g, 엽경채류에서  $1.1 \times 10^7$  CFU/g, 과실류에서  $8.7 \times 10^7$  CFU/g, 버섯류에서  $8.0 \times 10^7$  CFU/g, 근채류에서  $1.3 \times 10^7$  CFU/g, 두채류에서  $4.7 \times 10^7$  CFU/g, 그리고 서류에서  $4.8 \times 10^7$  CFU/g의 세균이 분리되어, 엽경채류, 과실류, 버섯류, 근채류, 두채류, 서류에서 검체 g당 평균세균수가 엽채류와 과채류에 비해 높게 나타났다 (Table 1).

**Table 1.** Prevalence of microbial contamination in the agricultural products from the market

Samples <sup>a)</sup>	No. of Sample	Aerobic bacteria in 37 °C (CFU/g, SPC agar)			Aerobic bacteria in 20 °C (CFU/g, R <sub>2</sub> A agar)		
		Incidence rate (%)	Average Bacteria No.	Range	Incidence rate (%)	Average Bacteria No.	Range
Leaf vegetable	41	97.6	$2.8 \times 10^5$	$0 \sim 9.6 \times 10^8$	87.8	$8.5 \times 10^4$	$0 \sim 1.1 \times 10^8$
Fruit vegetable	24	87.5	$2.1 \times 10^7$	$0 \sim 2.2 \times 10^8$	83.3	$7.6 \times 10^6$	$0 \sim 1.1 \times 10^8$
Leaf and stem vegetable	21	100.0	$2.6 \times 10^7$	$3.1 \times 10^5$ $\sim 8.8 \times 10^5$	95.2	$1.1 \times 10^7$	$0 \sim 2.2 \times 10^8$
Fruits	19	36.8	$1.6 \times 10^8$	$0 \sim 1.6 \times 10^6$	26.3	$8.7 \times 10^7$	$0 \sim 4.5 \times 10^5$
Fungus	7	100.0	$1.2 \times 10^8$	$1.9 \times 10^2$ $\sim 6.8 \times 10^7$	57.1	$8.0 \times 10^7$	$0 \sim 3.8 \times 10^7$
Root vegetable	7	85.7	$6.2 \times 10^7$	$0 \sim 1.8 \times 10^8$	71.4	$1.3 \times 10^7$	$0 \sim 7.6 \times 10^7$
Flow bean sprouts	7	85.7	$1.3 \times 10^8$	$0 \sim 1.8 \times 10^8$	71.4	$4.7 \times 10^7$	$0 \sim 7.6 \times 10^7$
Potatoes	2	100.0	$9.5 \times 10^7$	$1.4 \times 10^7$ $\sim 1.1 \times 10^8$	100.0	$4.8 \times 10^7$	$3.7 \times 10^6$ $\sim 2.3 \times 10^7$
Total or Average	128	85.9	$7.7 \times 10^7$	$0 \sim 9.6 \times 10^8$	75.8	$3.7 \times 10^7$	$0 \sim 1.1 \times 10^8$

<sup>a)</sup> Leaf vegetable, 엽채류; Fruit vegetable, 과채류; Leaf and stem vegetable, 엽경채류; Fruits, 과실류; Fungus, 버섯류; Root vegetable, 근채류; Flow bean sprouts, 두채류; Potatoes, 서류.

검체 종류에 따른 세균 분리율을 조사한 결과, 37°C에서는 엽채류에서 41개 검체 중 40개 검체에서 세균이 분리되어 97.6%의 세균 분리율을 나타내었고, 과채류에서는 24개 검체 중 21개 검체에서(87.5%), 엽경채류에서는 21개 검체 중 21개 검체에서(100.0%), 과실류는 19개 검체 중 7개 검체에서(36.8%), 버섯류는 7개 검체 중 7개 검체 모두에서(100.0%), 근채류는 7개 검체 중 6개 검체에서(85.7%), 두채류는 7개 검체 중 6개 검체에서(85.7%), 그리고 서류는 2개 검체 중 2개 검체 모두에서(100.0%) 균이 분리되어 평균 85.9%의 높은 세균 분리율을 확인하였다.

20°C에서는 엽채류에서 41개 검체 중 36개 검체에서 균이 분리되어 87.8%의 세균 분리율을 나타내었고, 과채류에서는 24개 검체 중 20개 검체에서(83.3%), 엽경채류에서는 21개 검체 중 20개 검체에서(95.2%), 과실류는 19개 검체 중 5개 검체에서(26.3%), 버섯류는 7개 검체 중 4개 검체에서(57.1%), 근채류는 7개 검체 중 5개 검체에서(71.4%), 두채류는 7개 검체 중 5개 검체에서(71.4%), 서류는 2개 검체 중 2개 검체 모두에서(100.0%) 균이 분리되어 평균 75.8%의 균 분리율을 나타내었다(Table 1).

#### 세균 분리 시험 결과

세균이 검출되지 않은 18건의 검체를 제외한 나머지 110건의 검체에서 103주의 세균이 분리되었으며(Table 2), 분리된 균주들은 -80°C 저온 냉동고에 보관하면서 실험에 사용하였다. 실험에서 분리된 103개 균주는 coliforms가 31주(30.1%), *Bacillus*가 34주(33.0%), *Pseudomonas*가 35주(34.0%), 그리고 *Enterococcus*가 3주(2.9%)였다(Table 2).

Coliforms의 경우 엽채류에서 14주가 분리되어 가장 많았고, 엽경채류에서 9주, 과채류에서 4주, 두채류에서 2주, 그리고 과실류와 버섯류에서 각각 1주의 coliforms가 분리되었다(Table 2), 균주들의 속군별로는 *E. coli*가 8주로 가장 많았고, *Aeromonas hydrophila*, *Gemella haemolysans*, *Serratia liquefaciens*, *Serratia marcescens*가 각각 4주씩, 그리고 *Citrobacter freundii*가 3주 등으로 나타났다(Table 3).

*Bacillus*의 경우, 엽채류에서 13주가 분리되어 가장 많았으며, 과채류에서 6주, 엽경채류에서 5주, 과실류, 근채류, 두채류에서 각각 3주씩, 그리고 서류에서 1주가 분리된 *Bacillus* spp.가 분리되었다(Table 2). 속군별로는 *B. cereus* 13주, *B. mycoides* 18주, *Brevibacillus laterospororus*

**Table 2.** Bacterial distribution in the agricultural products from the market

Samples	Bacterial species			
	Coliforms	<i>Bacillus</i> spp.	<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Enterococcus</i> spp.
Leaf vegetable	14	13	18	3
Fruit vegetable	4	6	7	0
Leaf and stem vegetable	9	5	6	0
Fruits	1	3	0	0
Fungus	1	0	1	0
Root vegetable	0	3	1	0
Flow bean sprouts	2	3	2	0
Potatoes	0	1	0	0
Total	31	34	35	3

**Table 3.** Prevalence of coliforms, *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., and *Enterococcus* spp. in 128 agricultural products from the market

Bacterial isolates		Number of bacteria	Isolation rate (%)
Coliforms	<i>E. coli</i>	8	24.2% (31/128)
	<i>Serratia marcescens</i>	4	
	<i>Serratia liquefaciens</i>	4	
	<i>Gemella haemolysans</i>	4	
	<i>Citrobacter freundii</i>	3	
	<i>Roultella terrigena</i>	1	
	<i>Pantoea</i> spp.	1	
	<i>Enterobacter sakazakii</i>	1	
	<i>Citrobacter braakii</i>	1	
	<i>Etc.</i> *	4	
<i>Bacillus</i> spp.	<i>B. mycoides</i>	18	26.6% (34/128)
	<i>B. cereus</i>	13	
	<i>Brevibacillus laterospororus</i>	2	
	<i>B. firmus</i>	1	
<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>P. luteola</i>	18	27.3% (35/128)
	<i>P. aeruginosa</i>	7	
	<i>P. fluorescens</i>	7	
	<i>Chromobacterium violaceum</i>	3	
<i>Enterococcus</i> spp.	<i>Aerococcus viridans</i>	3	2.3% (3/128)

*Etc.* = *Aeromonas hydrophila/caviae/sobria*

**Table 4.** Antimicrobial susceptibility patterns of bacterial isolates from 128 agricultural products from the market

Antimicrobial drugs	Concentration	<i>E. coli</i> (n=8)			<i>B. cereus</i> (n=13)			<i>P. aeruginosa</i> (n=7)		
		S <sup>a)</sup> (%)	I <sup>b)</sup> (%)	R <sup>c)</sup> (%)	S <sup>a)</sup> (%)	I <sup>b)</sup> (%)	R <sup>c)</sup> (%)	S <sup>a)</sup> (%)	I <sup>b)</sup> (%)	R <sup>c)</sup> (%)
Streptomycin (S)	10 mg	75.0	25.0		100			28.6	28.6	42.8
Kanamycin (K)	30 mg	87.5	12.5		100			57.1		42.9
Gentamycin (GM)	10 mg	100			100			100		
Amoxicillin/clavulanic acid (AMC)	30 µg	87.5	12.5				100			100
Chloramphenicol (C)	30 µg	100			100				14.3	85.7
Cephalexin (CF)	30 µg	100					100			100
Ampicillin/sulbactam (SAM)	20 µg	87.5	12.5				100			100
Ciprofloxacin (CIP)	5 µg	100			100			100		
Tetracycline (Te)	30 mg	62.5		37.5	84.6	7.7	7.7		28.6	71.4
Amikacin (AN)	30 µg	100			100			100		
Nalidixic acid (NA)	30 µg	100			92.3		7.7	14.3		85.7
Norfloxacin (NOR)	10 mg	100			100			100		
Levofloxacin (LVX)	5 µg	100			100			100		
Vancomycin (VA)	30 µg	62.5	12.5	25.0	100					100

<sup>a)</sup>S: susceptible, <sup>b)</sup>I, intermediate, <sup>c)</sup>R, resistant

2주, 그리고 *B. firmus* 1주가 분리되었다(Table 3).

*Pseudomonas*의 경우, 엽채류에서 18주가 분리되어 가장 많았고, 과채류에서 7주, 엽경채류에서 6주, 두채류에서 2주, 그리고 버섯류와 근채류에서 각각 1주가 분리되었다(Table 2), 속균별로는 *P. luteola*가 18주, *P. aeruginosa*와 *P. fluorescens*가 각각 7주씩, 그리고 *Chromobacterium violaceum*이 3주 분리되었다(Table 2).

*Enterococcus*의 경우, 엽채류에서 3개 균주가 분리되었으며, 분리된 균은 모두 *Aerococcus viridans*로 확인되었다(Table 3).

#### 항균제 감수성 검사 결과

분리한 103개 균주 중 공중보건학적 관점에서 위생지표 미생물로서 의미가 있는 *E. coli*와 식중독균으로 의미가 있는 *B. cereus*와 *P. aeruginosa*에 대하여 항균제 감수성 검사를 실시하였다. 분리한 8주의 *E. coli*에 대한 항균제 감수성 검사 결과, Streptomycin, Kanamycin, Gentamycin,

Amoxicillin/clavulanic acid, Chloramphenicol, Cephalexin, Ampicillin/sulbactam, Ciprofloxacin, Amikacin, Nalidixic acid, Norfloxacin, 그리고 Levofloxacin에 대하여 감수성을 나타내었고, 37.5%의 *E. coli*에서 Tetracycline에 대하여, 그리고 25.0%의 *E. coli*에서 Vancomycin에 대하여 내성을 나타내었다(Table 4). 또한, *E. coli* 균주들에 대해 조사한 결과 다제 내성을 갖는 것은 나타나지 않았다. 분리한 13주의 *B. cereus*에 대한 항균제 감수성 검사 결과, Streptomycin, Kanamycin, Gentamycin, Chloramphenicol, Ciprofloxacin, Tetracycline, Amikacin, Nalidixic acid, Norfloxacin, Levofloxacin, 그리고 Vancomycin에 대하여 감수성을 나타내었고, Amoxicillin/clavulanic acid, Cephalexin, Ampicillin/sulbactam에 대하여는 내성을 나타내었다(Table 4). 또한 분리한 12주의 *B. cereus*가 Amoxicillin/clavulanic acid + Ampicillin/sulbactam + Cephalexin + Tetracycline에 다제 내성을 나타내었고, 분리한 1주의 *B. cereus*가 Amoxicillin/clavulanic acid + Ampicillin/sulbactam + Cephalexin에 대해

**Table 5.** Multiple drug resistance patterns in *B. cereus* and *P. aeruginosa* isolates from 128 agricultural products

Multiple drug resistance pattern	No. of isolate
<i>B. cereus</i> strains (n=13)	
AMC+SAM+CF+TE	12
AMC+SAM+CF	1
<i>P. aeruginosa</i> strains (n=7)	
AMC+SAM+C+VA+NA+CF+S+TE	2
AMC+SAM+VA+NA+CF+S+TE	1
AMC+SAM+C+VA+NA+CF	2
AMC+SAM+C+TE+CF	2

다제 내성을 나타냈다(Table 5). 분리한 7주의 *P. aeruginosa*에 대한 항균제 감수성 검사 결과, Kanamycin, Gentamycin, Ciprofloxacin, Amikacin, Norfloxacin, 그리고 Levofloxacin에 대하여 감수성을 나타내었고, Streptomycin, Amoxicillin/clavulanic acid, Chloramphenicol, Cephaloxin, Ampicillin/sulbactam, Tetracycline, Nalidixic acid, 그리고 Vancomycin에 대하여는 내성을 나타내었다(Table 4). 또한 Amoxicillin/clavulanic acid + Ampicillin/sulbactam + Chloramphenicol + Vancomycin + Nalidixic acid + Cephaloxin + Streptomycin + Tetracycline에 다제 내성을 갖는 것이 2주, Amoxicillin/clavulanic acid + Ampicillin/sulbactam + Chloramphenicol + Vancomycin + Nalidixic acid + Cephaloxin에 다제 내성을 갖는 것이 2주, Amoxicillin/clavulanic acid + Ampicillin/sulbactam + Chloramphenicol + Tetracycline + Cephaloxin에 다제 내성을 갖는 것이 2주, 그리고 Amoxicillin/clavulanic acid + Ampicillin/sulbactam + Vancomycin + Nalidixic acid + Cephaloxin + Streptomycin + Tetracycline에 다제 내성을 갖는 것이 1주 등으로 나타나 7개의 *P. aeruginosa* 분리주 모두 다제 내성을 갖는 것으로 나타났다(Table 5).

## DISCUSSION

농산물에 대해 일반세균수를 조사한 결과, 37℃에서는 엽채류가  $2.8 \times 10^5$  CFU/g, 과채류  $2.1 \times 10^7$  CFU/g, 엽경채류  $2.6 \times 10^7$  CFU/g, 과실류  $1.6 \times 10^8$  CFU/g, 버섯류  $1.2 \times 10^8$  CFU/g, 근채류  $6.2 \times 10^7$  CFU/g, 두채류  $1.3 \times 10^8$  CFU/g, 서류  $9.5 \times 10^7$  CFU/g 등으로 각각 나타났고,

과실류, 버섯류, 두채류의 경우 엽채류, 과채류, 엽경채류, 근채류, 서류에 비해 평균세균수가 높게 나타났는데(Table 1), 이는 일반채소류에서 발견되는 일반세균수가  $10^3 \sim 10^9$  CFU/g이라는 보고 (16)와 일치하였다. 일반적으로는 일반세균수가  $10^7 \sim 10^8$  CFU/g이 식품에 존재할 경우 이것이 원인이 되어 다른 식품과의 복합적인 작용 또는 면역기능이 약한 사람에게는 병원성이 없는 세균이라 할지라도 식중독을 일으킬 가능성이 큰 것으로 보고 있는데 (16), 이번 조사 결과 유통 농산물을 날 것으로 먹을 경우 식중독을 일으킬 정도의 결과가 나타나기 때문에 대부분의 유통 농산물은 반드시 씻어 먹어야 할 것으로 판단되는 매우 유용한 조사 결과임을 알 수 있었다. 한편, 수돗물 세척만으로도 80% 이상의 세균이 유통 농산물에서 제거된다 (3)는 보고가 있고, 가정용 세척제를 이용하여 3분간 침지함으로써 세균수가 95.5%의 감소율을 나타낸다는 보고 (3)도 있으므로 유통 농산물은 수돗물이나 가정용 세척제로 반드시 씻어서 먹어야만 할 것으로 사료된다. Jung 등 (3)은 비가열 채소류에 대한 일반세균수 조사 결과 균수가  $10^6 \sim 10^7$  CFU/g이라고 보고함으로 약간의 차이를 보였고, 또한, 대장균군수 조사 결과에서도  $10^5 \sim 10^6$  CFU/g이라고 보고함으로 약간의 차이를 나타내었다. Yu 등 (17)은 총 호기성 세균을 조사한 결과 먹을 수 있는 농산물의 부위가 토양 또는 먼지 등과 가까이 접촉할수록 오염수준이 증가하는 것으로 나타났다고 보고하였는데, 농산물 종류에 따른 미생물 숫자가 열매 부분인 과실류, 버섯류, 두채류의 경우 뿌리나 잎 부분이라고 할 수 있는 엽채류, 과채류, 엽경채류, 근채류, 서류에 비해 평균세균수가 높게 나타나 Yu 등 (17)과는 다른 결과를 보였으며 이는 토양보다는 먼지가 농산물에 대한 미생물 오염에 더 큰 영향을 주는 것으로 보여져 유통 농산물에 대한 주방용 랩이나 크린 백(clean bag)과 같은 위생적인 포장유통과 포장보관이 반드시 필요함을 알 수 있다.

20℃에서의 평균세균수 조사 결과가 37℃에서의 평균세균수 조사 결과보다 전체적으로 낮은 수치들로 나타나(Table 1) 유통 농산물의 위생관리를 위해서는 반드시 냉장고 보관이 필요함을 알 수 있었고 냉장고 보관이 유통 농산물의 위생관리에 매우 유용함을 알 수 있었다. 세균 분리율에 대한 조사 결과에 있어서도 20℃에서 유통 농산물에 대한 세균 분리율이 37℃에서의 세균 분리율보다 엽채류, 과채류, 엽경채류, 과실류, 버섯류, 근채류, 두채류, 서류 모두에서 낮게 나타나(Table 1), 이 또한, 냉장고 보관이

유통 농산물의 위생관리에 매우 유용함을 알 수 있었다.

농산물에 대해 균 분리 시험 결과, coliforms 28.2% (31/128), *Bacillus* spp. 30.9% (34/128), *Pseudomonas* spp. 31.8% (35/128), 그리고 *Enterococcus* spp. 2.7% (3/128)으로 동정되었다(Table 2 and 3). 이는 Kim 등 (18)이 보고한 야채샐러드에서의 대장균군 분리율 43.3% (52/120)보다는 낮게 나왔고, Hong 등 (19)이 신선채소 및 과일류에서 총대장균 군수가 90.9% (170/187)의 검출율을 보였다고 한 것 보다도 낮게 검출되어 대형 유통 농산물 도매 시장에서의 위생관리가 양호한 것으로 나타났다.

농산물에 대해 분리한 coliforms의 경우 *E. coli* 등 총 31주가 분리되었고, 엽채류에서 13건으로 가장 많았고, 엽경채류에서 9건, 과채류에서 4건, 기타 4건이 나왔으며 (Table 2), 균주들의 속균별로는 *E. coli*가 8주로 가장 많았으며, 그 다음이 *A. hydrophila*, *G. haemolysans*, *S. liquefaciens*, *S. marcescens*에서 각각 4주씩, 그리고 *C. freundii*가 3주 등으로 나타났는데(Table 3), Kim 등 (18)은 야채샐러드에서의 coliforms 분포 중 *E. cloacae*가 분리빈도수가 가장 높았다고 보고하여 *E. coli*가 가장 많이 나타난 본 실험 결과와는 다른 결과를 나타내 유통 농산물과 조리된 야채샐러드가 세균 분포 양상이 다르며 이는 단순 가공을 통해서도 세균 분포가 변화됨을 알 수 있는 결과로 보인다. *E. coli*의 경우 전체 119건의 시료 중 8주가 분리되어 6.72%의 분리율을 나타냈는데 19%의 채소에서 *E. coli*가 검출되었다는 Jung 등의 보고 (3) 보다는 적게 검출되었고, Kang 등 (20)이 새싹채소 50건 중 32%인 16건에서 *E. coli* 검출을 보고한 것보다는 적게 검출됨을 알 수 있었으며, 우리나라 유기농 채소에서 *E. coli* 검출율이 23.2%라는 보고 (3)보다도 적게 검출되는 등 유통 농산물 도매 시장에서의 위생관리가 매우 중요함을 드러내고 있다. Jung 등 (3)은 비가열 채소류에 대한 *E. coli*가 18.5% 검출되었고, Hong 등 (19)도 신선채소 및 과일류에서 *E. coli*가 12.8% (24/187) 검출되었다고 각각 보고하여 본 실험 결과보다 높았고, Seo 등 (21)은 신선편의식품에서 *E. coli*가 5.8% 검출, Park 등 (5)은 찐고추에서 *E. coli*가 6% 검출되었다고 각각 보고하여 본 실험 결과와 유사한 결과를 보고하였으므로 이러한 결과들로 볼 때 유통 농산물 도매 시장에서의 위생관리는 지속적으로 이루어져야 함을 강조할 수 있다. 한편, *E. coli*는 지표세균으로서 원산지나 시료에 따라 그리고 유통상의 단계나 위생상태에 따라 검출률이 차이가 날 수 있다 (3)고 사료되며 위생지표미생물인 *E. coli*

검출에 대한 본 조사 결과 유통 농산물에 대한 위생상태가 대체로 양호하며 이로 인해 지속적인 위생관리는 반드시 필요하다 하겠다.

*Bacillus*속은 *B. cereus* 13주, 기타 21주 등 총 34주였고, 엽채류에서 13주로 가장 많았으며, 과채류 6주, 엽경채류 5주, 기타 10주 등으로 많이 분리되었고(Table 2), 속균별로는 *B. cereus* 13주, *B. mycoides* 18주, *Brevibacillus laterospororus* 2주, 그리고 *B. firmus* 1주 등으로 나타났다 (Table 3). Lim 등 (22)은 *B. cereus* 군수가 광범위한 환경에서 발견되고 있고, 열, 추위, 건조, 화학물질 등의 극한 환경에서도 저항성을 갖는 내생포자를 호기적으로 생산하는 능력을 갖고 있다고 보고하여 본 실험 결과를 뒷받침하고 있으며, *B. cereus*는 호기적으로 포자를 형성하여 여러 가지 화학물질과 건조 그리고 살균처리에 대하여 저항력을 갖고 있는데 최근에는 10℃ 이하의 냉장온도에서도 자라는 것으로 보고되고 있어서 *B. cereus*에 대한 식중독균 관리가 지속적으로 필요함을 알 수 있었다.

Kang 등 (20)은 식품 공전 상 신선편의식품에 대한 기준인 *B. cereus* 1,000 CFU/g 이하인 규정기준을 초과한 경우가 80건 중 2건이었다고 보고하면서 *B. cereus*는 새싹채소와 샐러드에서의 검출율이 매우 높으며 유통관리를 잘못했을 경우 *B. cereus*의 급속한 성장이 우려된다고 하여 위생관리를 강조하고 있고, Kang 등 (20)은 새싹채소 50제품 중 32%인 16건에서 *B. cereus*가 검출되었다고 보고함으로써 119건 중 10.9%인 13주에서 *B. cereus*가 분리된 본 실험과는 차이를 보였으며, Kim 등 (18)은 깻잎에서 *B. cereus*가 46.5% 검출되었다고 보고하였고 오염을 최소화하기 위해서는 재배부터 수확까지 전 단계에 대한 위생관리의 필요를 강조하였다. Kim 등 (23)은 비가열 채소류에 대한 *B. cereus*가 14.5% 검출되었다고 보고하여 약간의 차이점을 볼 수 있었고, Jeon 등 (2)은 전통된장에서 *Bacillus* spp.들을 조사한 결과 *B. subtilis*가 47.4%로 가장 많았고 그 다음으로 *B. licheniformis*, *B. amyloliquifaciens* 순이었다고 보고하였는데 각 시료별로 세균종의 양상이 다른 것은 당연하다 할 수 있으며, Park 등 (5)은 자연상태에 광범위하게 분포하는 *B. cereus*가 토양미생물로 농산물에 오염될 가능성이 매우 높고 실제적으로도 그 오염 분포도가 높은 것으로 나타난다고 보고하는 등 대표적인 식중독균인 *B. cereus*에 대한 지속적인 연구가 꼭 필요함을 알 수 있었으며, 이번 조사 결과 대형 농산물 시장에서의 유통 농산물에 대한 식중독 관리도 지속적으로 필요함을 알 수

있었다.

*Pseudomonas*속의 경우, *P. luteola* 18주, 기타 17주 등 총 35주였으며, 엽채류에서 18주로 가장 많았고, 과채류 7주, 엽경채류 6주, 기타 4주 등으로 분리되었으며(Table 2), 속균별로는 *P. luteola* 18주, *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*가 각각 8주씩, 그리고 *Chromobacterium violaceum*가 3주 등으로 각각 나타났다(Table 3). *P. aeruginosa*이 많이 검출된 것은 농산물을 물로 세척하는 것과 관련 있을 것으로 사료된다.

분리한 균주들 103건 중에서 공중보건학적 관점에서 위생지표미생물로서 의미가 있는 *E. coli*와 식중독균으로 의미가 있는 *B. cereus*, *P. aeruginosa*에 대하여 항균제 감수성 실험을 실시하였는데, 먼저 농산물에서 분리한 13주의 *B. cereus*의 항균제 감수성 검사를 실시한 결과 Amoxicillin/clavulanic acid, Cephaloxin, 그리고 Ampicillin/sulbactam에 대하여는 내성을 나타내었으며(Table 4), 이는 Kim 등 (18)이 깻잎에서 분리한 *B. cereus*에 대한 검사 결과 penicillin, ampicillin, oxacillin, amoxicillin-clavulanic acid, cefazolin, cephalothin 등에 대하여 저항성을 나타냈다고 보고한 것과는 동일한 결과를 보였고, 농산물에서 분리한 7주의 *P. aeruginosa*의 항균제 감수성 검사를 실시한 결과 Streptomycin, Amoxicillin/clavulanic acid, Chloramphenicol, Cephaloxin, Ampicillin/sulbactam, Tetracycline, Nalidixic acid, 그리고 Vancomycin에 대하여는 내성을 나타내었으며(Table 4), 이는 Yoon 등 (6)이 이화여자대학교 목동병원 진단검사의학과에 의뢰된 검체에서 분리한 20개 *P. aeruginosa* 균주에 대한 항균제 감수성 검사 결과인 ceftazidime, aztreonam, amikacin, tobramycin, gentamicin, meropenem, imipenem, ciprofloxacin, rifampin 등에 내성을 보였다는 검사 결과와는 다른 양상을 보였고, Pai (7)가 단국대학교 병원, 삼성의료원, 아산병원, 및 한림대학교 병원의 환자들로부터 분리한 10개 *P. aeruginosa* 균주에 대한 항균제 감수성 검사 결과인 ceftazidime, cefepime, meropenem, amikacin, ciprofloxacin 등에 내성을 보였다는 검사 결과와도 다른 양상을 보였으며, Lutz 등 (24)이 미국 오하이오 주의 수영장과 수도꼭지에서 분리한 23개 *P. aeruginosa* 균주에 대한 항균제 감수성 검사 결과인 ampicillin, ampicillin/sulbactam, cefazolin, cefotetan, cefocitin, cefuroxime, nitrofurantoin 등에 내성을 보였다는 검사 결과와도 다르게 나타나는 등 유통 농산물에서 분리한 *P. aeruginosa* 균주에 대한 항균제 내성 양상이 병원 검체나 환경 검체에서의 *P. aeruginosa* 균주에 대

한 항균제 내성과 전혀 다른 양상을 나타냄을 알 수 있었으므로 이에 대한 추가 연구의 필요성을 알 수 있었다.

즉, 농산물에서 분리한 *P. aeruginosa* 균주에 대한 것과 임상 검체에서 나타난 결과와는 다를 수밖에 없겠으나 이러한 아외균주들에 대한 항균제 내성이 어떻게 인체 내에서는 전혀 다른 양상을 보이는지에 대해서도 추후 많은 추가 연구들이 필요할 것으로 보인다.

가공과정을 거치지 않은 신선채소류에서 검출되는 세균의 오염원을 생각해 볼 때, *Bacillus*속의 균들이 많이 검출된 것으로 보아 토양이 오염원으로서 가장 가능성이 높고 (2), coliforms들이 많이 검출되는 것으로 보아 토양뿐만 아니라 물도 채소류 등 농산물에 대한 오염원으로서 가능성을 추정할 수 있는데 (11), *Pseudomonas*속의 균들이 많이 검출되는 경우는 그 오염원에 대한 추정이 어려움 (6~8)으로 인해 이에 대한 추가적인 연구들이 필요할 것으로 사료된다.

농산물에서 분리한 *B. cereus*들은 Amoxicillin/clavulanic acid, Cephaloxin, Ampicillin/sulbactam에 대하여 내성을 *P. aeruginosa*들은 Streptomycin, Amoxicillin/clavulanic acid, Chloramphenicol, Cephaloxin, Ampicillin/sulbactam, Tetracycline, Nalidixic acid, Vancomycin에 대하여 내성을, *E. coli*들은 Tetracycline과 Vancomycin에 대하여 내성을 각각 나타내었는데 농산물에서 분리한 균주들이 이들 항균제들에 어떠한 경로로 내성을 나타내는 지에 대하여는 알려진 바가 없으나 최근 토양미생물에서 생성된 항균제를 농약 대용으로 쓰는 농용 항균제 사용과 무관하지는 않을 것으로 보여진다.

## REFERENCE

- 1) Bae YM, Lee SY. Microbial quality of fresh produce in Korea and decontamination technologies. *Safe Food* 2009; 4:33-9.
- 2) Jeon DY, Yoon GB, Yoon YH, Yang SI, Kim JB. Bacterial community of traditional Deonjang in longevity area and antagonistic effect against *Bacillus cereus*. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 2016;45:1035-40.
- 3) Jung SH, Hur MJ, Ju JH, Kim KA, Oh SS, Go JM, et al. Microbiological evaluation of raw vegetables. *J Food Hyg Safety* 2006;21:250-7.
- 4) Kim MH, Shin WS. Microbiological quality of raw and cooked foods in middle and high school food service



- establishments. J Kor Soc Food Sci Nutr 2008;37:1343-56.
- 5) Park WJ, Ryu HY, Lim GY, Lee YD, Park JH. Microbial prevalence and quality of organic farm produce from various production sites. Kor J Food Sci Technol 2014;46: 262-7.
  - 6) Yoon JS, Moon HW, Lee MA. *In vitro* activity of antimicrobial combination against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. Korean J Clin Microbiol 2006;9:1-6.
  - 7) Pai HJ. *In vitro* effects of combined antibiotics against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. Korean J Med 2010;79:41-7.
  - 8) Kang CI. Antimicrobial therapy for infections caused by multidrug-resistant gram-negative bacteria. Korean J Med 2015;88:502-8.
  - 9) Choi YJ, Kim HJ. Trends of antimicrobial resistance of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from clinical specimens between 2005~2007. J Soonchunhyang Med Sci 2008;14:183-9.
  - 10) Kim SH, Lim TJ, Kim HY, Park SE, Kim SY. Clinical characteristics of community acquired Enterococcal urinary tract infections in children. J Korean Soc Pediatr Nephrol 2013;17:19-24.
  - 11) Lee DY, Kim HE, Lee JS, Kim KS, Cho YS. Comparative evaluation of selective chromogenic media for coliforms bacteria isolated from food. J Food Hygi Safety 2016;31: 222-5.
  - 12) Ministry of Food and Drug Safety, Korean Food Standards Codex, 2015;211-30.
  - 13) Ham HJ, Kim SE, Ryu SH, Hwang YO, Choi SM. Bacterial Distributions of *Escherichia coli* and *Bacillus cereus* etc. Isolated from Dried Seasoned Marine Products in Garak Fishery Wholesale Market in Seoul, 2009. J Food Hygi Safety 2010;25:10-15.
  - 14) Food and Drug Association, Bacteriological analytical manual 7<sup>th</sup> ed. AOAC International, 1992.
  - 15) Marshall RT, Standard methods for the examination of dairy products. Washington D. C.: American Public Health Association, 1993.
  - 16) Choi JW, Park SY, Yeon JH, Lee MJ, Chung DH, Lee KH, *et al.* Microbial contamination levels of fresh vegetables distributed in markets. J Food Hygi Safety 2005;20:43-7.
  - 17) Yu YM, Youn YN, Hua QJ, Cha GH, Lee YH. Biological hazard Analysis of paprikas, Strawberries and tomatoes in the markets. J Food Hygi Safety 2009;24:174-81.
  - 18) Kim JS, Bang OK, Chang HC. Examination of microbiological contamination of ready-to-eat vegetable salad. J Food Hygi Safety 2004;19:250-7.
  - 19) Hong CK, Seo YH, Choi CM, Hwang IS, Kim MS. Microbial quality of fresh vegetables and fruits in Seoul, Korea. J Food Hygi Safety 2012;27:24-9.
  - 20) Kang TM, Cho SK, Park JY, Song KB, Chung MS, Park JH. Analysis of microbial contamination of sprouts and fresh-cut salads in a market. Korean J Food Sci Technol 2011;43:490-4.
  - 21) Seo YH, Jang JH, Moon KD. Microbial evaluation of minimally processed vegetables and sprouts produced in Seoul, Korea. Food Sci Biotechnol 2010;19:1283-8.
  - 22) Lim JH, Kim YH, Ahn YT, Kim HU. Studies on the contamination and inhibition of bacillus cereus in domestic raw milk and milk product. Kor J Anim Sci 2000;42:215-22.
  - 23) Kim YS, Moon HK. The Microbiological quality of environmentally friendly and ordinary agricultural vegetables used in a school foodservices. J Kor Diet Assoc 2010;16: 49-61.
  - 24) Lutz JK, Lee JY. Prevalence and antimicrobial-resistance of *Pseudomonas aeruginosa* in swimming pools and hot tubs. Int J Environ Res Public Health 2011;8:554-64.