

즉석조리식품에서의 *Bacillus cereus* 오염실태조사 및 생육 pattern 분석

김순한* · 김미경 · 강민철 · 손영욱 · 이창희 · 김인복 · 이영자 · 최수영

부산지방식품의약품안전청

Received May 18, 2004 / Accepted August 10, 2004

Isolation and Growth Pattern of *Bacillus cereus* from Ready-to-Eat Foods. Soon Han Kim*, Mi Gyeong Kim, Min Cheol Kang, Young Wook Son, Chang Hee Lee, In Bok Kim, Young Ja Lee and Soo Young Choi. Busan Regional KFDA, Busan 608-829, Korea – The contamination of *Bacillus cereus* was investigated in 240 RTE (ready-to-eat) food samples including 118 seafoods, 82 Korean packaged meals and 40 other RTE foods. Many *B. cereus* presumptive strains were isolated from the enrichment culture in Tryptic Soy Broth (TSB) added polymyxin, followed by selective culture in Mannitol Egg Yolk Polymyxin (MYP) agar and Gram staining. A total of 36 strains (16 in seafoods, 17 in Korean packaged meals and 3 in other RTE foods) were identified as *B. cereus* by the analysis of 61 biochemical tests of the API 50CHB/20E system test and supplementary tests of β -hemolysis, rhizoid growth, motility and oxidase activity. The 28 strains out of 36 *B. cereus* isolates produced diarrhoeal enterotoxin in Brain Heart Infusion (BHI) broth. All isolates were resistant to ampicillin and penicillin antibiotics, and most of them were susceptible to gentamicin, vancomycin, bacitracin, chloramphenicol, kanamycin and streptomycin. The growth of *B. cereus* was affected by environmental temperature and incubation time. Culture with temperature under 10°C effectively restricted the growth of *B. cereus*.

Key words – *Bacillus cereus*, enterotoxin, seafood, ready-to-eat food

오늘날 식품산업의 발달과 위생관리기술의 향상에도 불구하고 우리나라에서는 매년 식중독 발생사례가 증가하는 추세에 있으며, 특히 최근 몇 년간은 발생 건수 대비 환자수가 급격히 증가하는 등 점차적으로 대형화·집단화되는 경향을 보이고 있어 사회적으로 문제가 되고 있다[17].

다양한 식중독 원인균들 중 특히 *Bacillus cereus*는 물, 토양, 공기 등 자연계에서 흔히 발견되는 토양미생물로 식품에 혼입될 기회가 많아 실제 검출사례도 유제품, 건조제품, 향신료, 식육 및 식육가공품, 과실·채소류 및 그 가공품, 즉석조리식품 등 매우 다양하다[4,16,19~21]. 이러한 *B. cereus*에 의해 오염된 식품의 섭취로 인한 세레우스 식중독의 발생사례가 많은 국가에서 보고되고 있다. 미국의 경우 1998년에서 2000년까지 3년간 464건이 발생되었고[22], 영국, 캐나다, 스웨덴 등의 유럽국가 뿐만 아니라 인근의 중국, 일본, 대만에서도 많은 발생사례들이 보고되고 있으며[5], 최근 식품의약품안전청에서 발표한 식중독발생현황 및 예방대책(2004. 1)에 따르면 우리나라에서도 2003년도에 3건, 198명의 감염환자가 발생하였다고 보고되었다.

*B. cereus*에 의한 질병은 이 균이 생산하는 독소에 의해 발생되는데, 이러한 독소는 설사형(diarrhoeal type)과 구토형(emetogenic type)으로 구분된다[6,8,9]. 구토형의 경우는 수 시간 이내의 짧은 잠복기를 가지는데 식품에서 미리 형성된 small

cyclic polypeptide인 cereulide에 의해 발병된다. 주 중상으로는 구역질, 구토, 위경련 등이 있으며, 쌀밥, 볶음밥, 스파게티 등의 곡류제품에 의한 것이 압도적으로 많은 것으로 보고되고 있다[18]. 설사형의 경우는 8~16시간의 잠복기를 가지고며, 오염된 식품 섭취 후 소장에서의 영양세포의 생육동안 생성된 enterotoxin에 의해 발병한다. 복통, 설사, 메스꺼움 등이 주된 증상으로, 원인식품들로는 육류, 해산물, 스프류, 푸딩 등 다양한 식품들에서 발생되는 것으로 보고되고 있다[7].

최근에 발표된 박의 연구[19]에 따르면 소규모 즉석제조김밥 35건 중 4건에서, 대규모 유통되는 편의점 김밥 11건 중 3건에서 *B. cereus*가 검출되었다고 보고되었다. 또한 박[20]은 초밥 105건의 어패류 부위 중에서 10.5%가 *B. cereus*에 의해 오염되어 있는 것으로 보고하였으며, 신[21]은 20개의 생식제품 중 11개 제품에서 *B. cereus*가 검출되었다고 보고하는 등 *B. cereus*에 오염된 식품 섭취로 인한 식중독의 발생가능성이 매우 심각한 것으로 나타났으나, 우리나라에서는 아직까지 살모넬라, 장염비브리오, 황색포도상구균과 같은 주요 식중독 원인균들에 비해서 *B. cereus*에 대한 각 식품군별 오염현황 및 신속·정확한 검출방법 등에서 연구가 매우 부족한 실정이다.

이번 연구의 목적은 점차적으로 증가하고 있는 세레우스 식중독의 발생가능성에 대한 기초자료를 제공하기 위하여, 다양한 식품 중 특히 국민 다소비 식품이며 *B. cereus*의 오염 가능성성이 높은 생선회, 패류 등의 횟감류와 김밥, 햄버거 등의 도시락류 및 기타 ready-to-eat (RTE) 식품들을 대상으로

*Corresponding author

Tel : +82-51-610-6249, Fax : +82-51-610-6295
E-mail : lambndog@kFDA.go.kr

*B. cereus*의 오염실태를 조사하였다. 아울러 세레우스 식중독 발생예방에 활용하고자 분리균에 대한 독소생성능과 온도 및 시간에 따른 생육 pattern 분석을 실시하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 시료의 전처리

2003년 4월부터 10월까지 부산 및 경남일대의 횟집, 재래시장 등의 소규모제조업소와 백화점, 할인점 등의 대규모 업소에서 생선회, 폐류 등의 횟감 118건, 김밥, 햄버거, 샌드위치 등의 도시락류 82건 및 기타 즉석조리식품 40건 등 총 240 건을 구입하여 시료로 사용하였다. 포장된 경우를 제외한 모든 시료들은 sterile sampling bag을 사용하여 채취하였고, 얼음을 채운 ice box에 보관하여 실험실로 운반하였으며, 도착 즉시 실험에 사용하였다.

표준균주로는 *Bacillus cereus* KCCM 40935, *B. cereus* KCTC 1661, *B. cereus* KCTC 1092, *B. cereus* KCTC 3062, *Bacillus thuringiensis* KCCM 41613 및 *Bacillus mycoides* KCCM 41606을 사용하였다.

*B. cereus*의 분리 및 동정

시료 25 g을 멸균된 stomacher bag에 취하고 멸균생리식염수 225 ml를 가한 후 균질화시켜 시험용액으로 사용하였다.

시험용액 1 ml를 100 IU/ml의 polymyxin B를 첨가한 Tryptic soy broth (TSB) 배지(BD, USA)에 접종하여 30°C에서 24시간 증균 배양한 후, Mannitol egg yolk polymyxin (MYP) agar (Oxoid, England)에 접종하여 30°C에서 24시간 배양하였다. MYP Agar에서 혼탁한 환을 갖는 분홍색의 전형적인 접락들을 선별하여 혈액한천배지(아산제약, Korea)에 이식하였고, 30°C에서 24시간 배양 후 그람염색을 실시하여 그람양성의 긴 간균으로, oxidase 음성 및 β-용혈성을 보이며 rhizoid growth를 보이지 않는 균주들을 분리하였다.

각 시료들로부터 분리된 분리균은 61개의 생화학적 시험들을 통해서 동정되었으며, data는 APILAB Plus software V3.3.3 (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France)로서 처리되었다. API 50 CHB를 사용하여 49개의 당발효능을 조사하였고, API 20E를 사용하여 12가지의 생화학적 시험(ONPG, ADH, LDC, ODC, CIT, H2S, URE, TDA, IND, VP, GEL and NIT)을 행하였으며, 실험은 제조사의 지시에 따라 실현하였다.

혈액한천배지에 배양함으로써 rhizoid growth 및 β-hemolysis 유·무를 확인하였으며, oxidase test는 filter paper 상에서 oxidase reagent (bioMérieux)를 사용하여 조사하였으며, 운동성을 알아보기 위하여 0.1% beef extract를 첨가한 motility test medium (Difco, U.S.A.)를 사용하여 30°C에서 24시간동안 배양하면서 관찰하였다.

최종 동정된 균주들은 -70°C에 보관하여 사용하였다.

Diarrhoeal enterotoxin 생성

설사형 장독소의 생성유무는 30°C, 24시간동안 Brain Heart Infusion broth (Oxoid, England)에서 배양한 배양액을 원심분리(10,000 rpm, 20 min)하여 균체를 제거한 배양상등액을 대상으로 *B. cereus* enterotoxin reverse passive latex agglutination (BCET-RPLA) test kit (Oxoid)를 사용하여 조사하였으며, 실험방법은 제조사의 지시에 따랐다.

항생제 감수성

*B. cereus*로 확인·동정된 36균주를 디스크법에 따라 항생제 감수성검사를 실시하였다. Mueller-Hinton broth (Difco)에 접종하여 30°C에서 24시간 배양시킨 균을 멸균된 액체배지로 희석하여 표준탁도액(McFarland No. 0.5)의 농도와 같도록 한 후, 멸균된 면봉을 이용하여 Mueller-Hinton agar (Difco)에 균등하게 도말하였다. 곧이어 항생제 감수성 실험용 disc (Oxoid)들을 배지위에 놓고 가볍게 밀착시킨 후, 32°C에서 18시간동안 배양한 후 저지환을 측정하였다. 이번 연구에 사용한 항생제는 ampicillin (10 µg), bacitracin (10 units), chloramphenicol (30 µg), erythromycin (15 µg), gentamicin (10 µg), kanamycin (30 µg), penicillin G (10 units), rifampicin (5 µg), streptomycin (10 µg), tetracycline (30 µg) 및 vancomycin (30 µg)이며, 결과의 판독은 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)법[12]에 준하였다.

온도-시간에 따른 생육특성 분석

온도 및 시간에 따른 생육특성의 분석을 위해 표준균주인 *B. cereus* KCCM 40935와 분리균인 18PE(독소생성균) 및 228SF(독소비생성균)의 3균주를 선정하여 각각 TSB에서 하룻밤동안 전 배양한 후 배양액 0.1 ml를 10 ml TSB에 접종하여 각 온도별(4°C, 10°C, 20°C 및 30°C)로 보관하면서 시간별(4시간 후, 7시간 후, 24시간 후)로 균수를 측정하였다. 균수의 측정은 멸균생리식염수를 사용하여 단계별로 희석한 액을 pour plate method로서 MYP agar에 접종하여 30°C 24~48시간 배양하여 혼탁한 환을 가지는 분홍색의 전형적인 접락의 수를 측정하였다.

결과 및 고찰

*B. cereus*의 분리 및 동정

B. cereus, *B. mycoides*, *B. anthracis* 및 *B. thuringiensis*는 분류학적 관련성이 매우 높아서 *B. cereus* group으로 불리고 있으며[3,10,11,14,15], Ash 등[1,2]은 *B. mycoides*, *B. anthracis* 및 *B. thuringiensis*를 *B. cereus*의 subspecies로 고려되어야 한다고 보고하였다. 실제 표준균주들을 대상으로 API 50 CHB / 20E test kit를 사용한 생화학 시험의 결과도 유사한 결과를

보이고 있는데, *B. cereus* KCTC 3062를 제외한 다른 *B. cereus* 3 균주(KCCM 40935, KCTC 1661 및 KCTC 1092)는 *B. cereus/B. mycoides*의 intermediate에 속하는 것으로 조사되어, API LAB system을 이용한 *B. cereus* group의 정확한 분류에는 부가적인 실험들을 필요로 하였다(Table 1). Granum[7]은 운동성 시험을 통해 *B. cereus*를 *B. mycoides*와 *B. anthracis*로부터 구분할 수 있다고 보고하였으며, 또한 Sarrías 등[13]은 분리균에 대한 oxidase test로서 *B. cereus*를 *B. thuringiensis*와 구분될 수 있다고 보고하였고, 아울러 *B. mycoides*는 혈액한천배지에서 rhizoid growth를 보임에 따라, 이러한 3가지 특성에 대한 부가적인 시험이 *B. cereus*의 동정에 이용될 수 있음을 확인하였다.

B. cereus 분리용 배지인 MYP agar에서 혼탁한 환을 가지는 분홍색의 전형적인 접락을 대상으로 그람염색, oxidase test 및 혈액한천배지에서의 β-용혈성 및 rhizoid growth여부를 조사하여, 그람양성의 간균이고 oxidase 음성 및 혈액한천배지에서 β-용혈성을 보이며 rhizoid growth를 보이지 않는 균주들을 분리하였다. 분리된 균주를 대상으로 API 50CHB / 20E test kit를 사용한 생화학 시험을 실시하여 API LAB Plus software로 확인하였다. 시료당 분리균이 2개 이상인 경우는 *B. cereus*의 % ID (percentage of identification)가 높은 분리균을 선택하여 그 결과를 Table 2에 나타내었다. 총 36균주들 중 15균주(41.7%)가 *B. cereus*로서 확인되었고, 나머지 21균주(58.3%)가 *B. cereus*와 *B. mycoides* 및 *B. anthracis*의 intermediate에 속하는 것으로 조사되었다. 운동성 시험을 통해 *B. cereus*를 *B. mycoides*와 *B. anthracis*로부터 구분할 수 있었으며, 또한 oxidase 음성반응은 분리균들이 *B. thuringiensis*일 가능성을 배제시켜 *B. cereus*임을 확인시켜 주었다.

Enterotoxin 생성

*B. cereus*로서 확인된 36균주들을 대상으로 BCET-RPLA test kit (Oxoid)를 사용하여 diarrhoeal enterotoxin 생성유무를 검사한 결과, 28균주(77.8%)가 설사형 장독소를 생성하는 것으로 나타났으며, 이는 Valero 등[16]이 보고한 32균주들

중 23균주(71.9%)가 설사형 장독소를 생성한다는 결과와 유사하였다.

식품별/계절별 *B. cereus*의 검출율

Fig. 1에서 보는 바와 같이 총 240건의 조사대상 식품들 중 36건에서 *B. cereus*가 검출되어 평균 15.0%의 검출율을 나타내었는데, 이를 시료의 종류에 따라 살펴보면, 횟감류는 총 118건 중 16건(13.6%)에서, 도시락류는 총 82건 중 17건(20.7%)에서, 기타 식품공전상 도시락류에 속하지 않는 ready-to-eat (RTE) 식품 40건에 대해서는 3건(7.5%)에서 *B. cereus*균이 검출되었다. 실제적으로 *B. cereus*의 검출율은 조사대상 국가와 제품에 따라 10~50% 정도로 매우 큰 차이를 보이고 있으며, 국내에서는 아직까지 많은 연구가 되어 있지 않아 비교가 어려웠다. 최근 박의 연구[19]에 따르면 소규모 즉석제조 김밥 35건 중 4시료(11%)에서, 대규모 유통되는 편의점 김밥 11건 중 3건(27%)에서 *B. cereus*가 검출되었다고 보고된 바 있다.

Fig. 2는 각 계절별 *B. cereus*의 검출율을 나타낸 그림으로, 횟감류의 경우 17.3%~18.8%의 검출율로 큰 차이를 보이지 않았으나, 도시락류의 경우 봄과 가을철의 검출율 10.5%와 12.1%보다 여름철(6~8월)에 15.6%로 *B. cereus*가 비교적 많이 검출되어 기온이 높을수록 많이 검출되고 있음을 보여주었다.

항생제 감수성

Table 3은 *B. cereus*로 확인된 36균주에 대한 항생제 감수성 시험결과로 분리균들은 ampicillin (100%), penicillin G (100%) 및 rifampicin (69.5%)에 내성을 보였으며, gentamicin (100%), vancomycin (100%), bacitracin (86.1%), chloramphenicol (97.2%), erythromycin (30.6%), kanamycin (86.1%), streptomycin (97.2%) 및 tetracycline (66.7%)에 감수성을 나타내었다. *B. cereus* 균들은 chromosomal β-lactamase의 활성 때문에 penicillin G에 대한 높은 내성을 나타내고 있는 반면, 일반적으로 *B. anthracis*는 penicillin G에 감수성을 나타내는 것으로 보고되고 있다[11]. 이러한 항생제 감수성 시험결과는 *Bacillus*속의 분류와 관련될 수 있으나, 실제 *B. cereus*에 대

Table 1. Characterization of typed *Bacillus* strains on the basis of biochemical and physiological properties^a

Strains	% ID ^b	API name	Motility	Oxidase test	Rhizoid growth	Bacterial strain
KCCM 40935	80.6/18.5	<i>B. cereus/B. mycoides</i>	+	-	-	<i>B. cereus</i>
KCTC 1661	82.2/14.8	<i>B. cereus/B. mycoides</i>	+	-	-	<i>B. cereus</i>
KCTC 1092	50.1/49.4	<i>B. cereus/B. mycoides</i>	+	-	-	<i>B. cereus</i>
KCTC 3062	96.0	<i>B. cereus</i>	+	-	-	<i>B. cereus</i>
KCCM 41613	98.7	<i>B. cereus</i>	+	+	-	<i>B. thuringiensis</i>
KCCM 41606	52.9/28.7/15.1	<i>B. mycoides/B. anthracis/B. cereus</i>	-	-	+	<i>B. mycoides</i>

^aSymbols: +, positive; -, negative.

^b% ID means the percentage of identification.

Table 2. Characterization of *B. cereus* isolates from various ready-to-eat foods on the basis of biochemical and physiological properties^a

Food samples	% ID ^b	API name	Motility	Bacterial strain	BCET-RPLA test	
Sea foods	5	80.5/19.4	<i>B. cereus/B. mycoides</i>	+	<i>B. cereus</i>	+
	11	58.7/40.9	<i>B. mycoides/B. cereus</i>	+	<i>B. cereus</i>	+
	78	61.1/38.8	<i>B. cereus/B. mycoides</i>	+	<i>B. cereus</i>	+
	81	90.4/9.5	<i>B. cereus/B. mycoides</i>	+	<i>B. cereus</i>	+
	86	90.0/9.9	<i>B. cereus/B. mycoides</i>	+	<i>B. cereus</i>	+
	123	66.5/33.4	<i>B. cereus/B. mycoides</i>	+	<i>B. cereus</i>	+
	128	69.7/30.2	<i>B. cereus/B. mycoides</i>	+	<i>B. cereus</i>	+
	167	95.2	<i>B. cereus</i>			+
	176	69.9/30.0	<i>B. cereus/B. mycoides</i>	+	<i>B. cereus</i>	+
	177	99.3	<i>B. cereus</i>			+
	204	64.7/35.2	<i>B. mycoides/B. cereus</i>	+	<i>B. cereus</i>	+
	226	50.5/49.4	<i>B. cereus/B. mycoides</i>	+	<i>B. cereus</i>	+
	228	99.8	<i>B. cereus</i>			+
	236	99.5	<i>B. cereus</i>			+
Other RTE foods	238	80.5/18.7	<i>B. cereus/B. mycoides</i>	+	<i>B. cereus</i>	-
	239	96.8	<i>B. cereus</i>			+
Packaged meals	16	99.6	<i>B. cereus</i>			+
	18	99.6	<i>B. cereus</i>			+
	19	99.6	<i>B. cereus</i>			+
	108	72.2/27.7	<i>B. cereus/B. mycoides</i>	+	<i>B. cereus</i>	+
	113	86.1/13.8	<i>B. cereus/B. mycoides</i>	+	<i>B. cereus</i>	+
	114	99.4	<i>B. cereus</i>			+
	117	99.2	<i>B. cereus</i>			+
	118	99.2	<i>B. cereus</i>			+
	119	80.6/19.3	<i>B. cereus/B. mycoides</i>	+	<i>B. cereus</i>	+
	140	74.4/24.0	<i>B. cereus/B. anthracis</i>	+	<i>B. cereus</i>	-
	148	99.2	<i>B. cereus</i>			-
	179	96.8	<i>B. cereus</i>			+
	189	76.3/23.1	<i>B. cereus/B. mycoides</i>	+	<i>B. cereus</i>	+
	190	68.2/31.2	<i>B. cereus/B. mycoides</i>	+	<i>B. cereus</i>	+
	205	67.9/30.0	<i>B. cereus/B. anthracis</i>	+	<i>B. cereus</i>	-
	219	81.1/17.4	<i>B. cereus/B. anthracis</i>	+	<i>B. cereus</i>	-
	222	65.9/32.3	<i>B. cereus/B. mycoides</i>	+	<i>B. cereus</i>	-
Other RTE foods	44	79.2/19.8	<i>B. cereus/B. mycoides</i>	+	<i>B. cereus</i>	-
	67	98.0	<i>B. cereus</i>			+
	68	99.9	<i>B. cereus</i>			-

^aSymbols, ^b% ID are the same as Table 1.

한 다양한 항생제 감수성 조사는 거의 이루어지지 않아 분리균들에 대한 항생제 내성에서의 변화에 대한 비교는 불가능하였다.

온도-시간에 따른 생육 pattern 분석

다양한 즉석조리식품에서의 미생물 위해 관리를 위해 온도-시간의 요소는 실제 생산 및 유통단계에서 중요한 관리요소(critical control point)라는 판단에서 *B. cereus* KCCM 40935와 분리균인 18PE(독소생성균) 및 228SF(독소비생성균)의 3균주를 선정하여 온도-시간에 따른 생육 pattern을 조

사하였다. Fig. 3은 *B. cereus* KCCM 40935의 결과로서 4°C 및 10°C에서는 24시간까지 균의 증식이 상당히 저해되었으나, 20°C에서는 4시간 보관 시 *B. cereus* 균수에서 10배의 증식을 보였고, 7시간 후에는 200배 이상의 증식을 보였으며, 30°C에서 보관시에는 매우 급속히 증식하여 7시간 만에 최고 균수를 나타내었으며, 분리균인 18PE 및 228SF의 경우도 유사한 결과를 나타내었다(data not shown). 이러한 결과는 *B. cereus*의 생육이 온도와 시간에 매우 밀접하게 관련되어 있음을 확인시켜 주는 것으로, 특히 여름철과 같이 외기의 온도가 높아질 때 *B. cereus*에 의한 식중독 발생가능성이 상재하

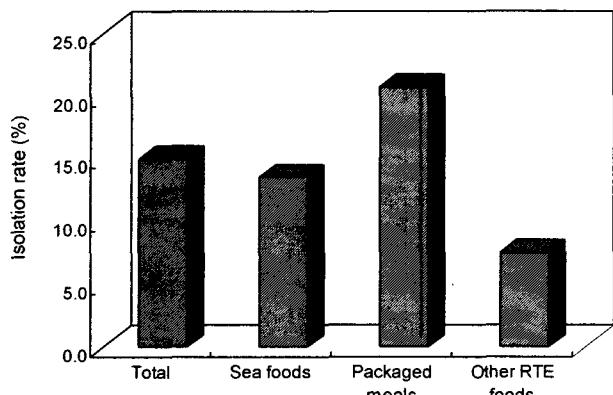


Fig. 1. Isolation rates of *B. cereus* from various ready-to-eat foods.

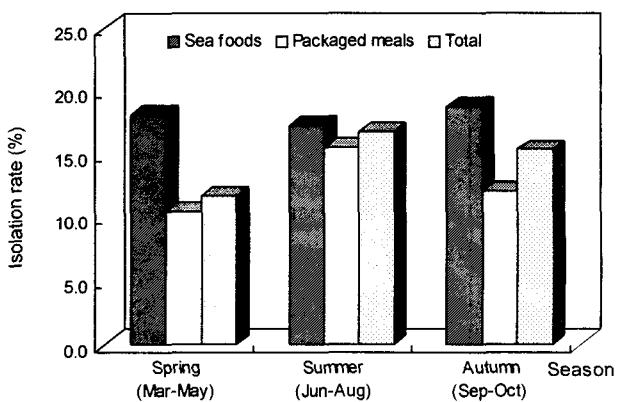


Fig. 2. Isolation rates of *B. cereus* with variable seasonal temperature.

Table 3. Antibiotics susceptibility of *B. cereus* isolated from various RTE foods

Antibiotics	Susceptibility		
	Resistant (%)	Intermediate (%)	Susceptible (%)
Ampicillin	100	-	-
Bacitracin	-	13.9	86.1
Chloramphenicol	-	2.8	97.2
Erythromycin	-	30.6	69.4
Gentamicin	-	-	100
Kanamycin	-	13.9	86.1
Penicillin G	100	-	-
Rifampicin	69.5	22.2	8.3
Streptomycin	-	2.8	97.2
Tetracycline	11.1	22.3	66.7
Vancomycin	-	-	100

고 있어 식중독 예방을 위해선 보존 및 유통과정에서 10°C 이하의 저온 보존이 필수적인 것으로 판단되었다. 실제 김밥을 생육배지로 이용하여 *B. cereus*, *Staphylococcus aureus* 등의 생육 pattern 분석을 행한 박의 연구[19]도 유사한 결과를 나

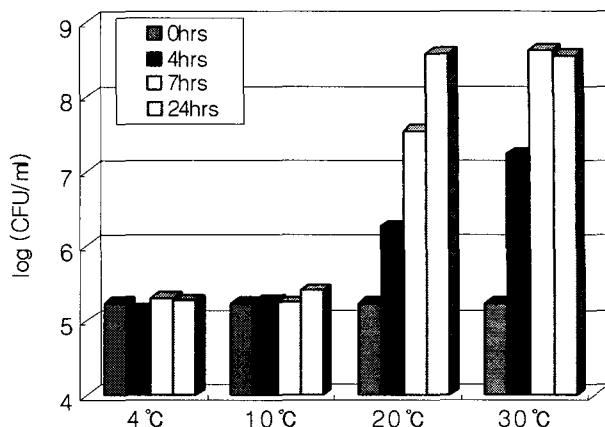


Fig. 3. Growth pattern of *B. cereus* KCCM 40935 in relation to temperature and time.

타내어 김밥이 *B. cereus* 등의 식중독 세균에 좋은 생육배지가 되고 있다는 것을 보여준다.

요 약

국민 다소비 식품인 생선회, 패류 등의 횟감류 118건, 김밥, 햄버거 등의 도시락류 82건 및 기타 ready-to-eat(RTE) 식품 40건, 총 240건을 대상으로 *Bacillus cereus*의 오염실태를 조사한 결과, 횟감류 16건(13.6%), 도시락류 17건(20.7%), 기타 RTE 식품에서 3건(7.5%), 총 36건(15.0%)에서 *B. cereus*가 검출되었다. *B. cereus*의 검출은 polymyxin B를 첨가한 TSB배지를 사용한 중균배양 후, MYP agar에서 전형적인 집락을 선별하였으며, 선별된 균주들을 대상으로 그람염색, oxidase test, 혈액한천배지에서의 rhizoid growth, β-용혈성 유·무 등을 통해 추정 균주들을 분리하였다. API 50 CHB/20 E system을 통한 생화학적 분석과 motility시험 등을 행하여 최종적으로 *B. cereus*로서 동정·확인하였다. 확인된 36균주 중 28균주(77.8%)가 BCET-RPLA 시험을 통해 BHI broth에서 설사형 독소를 생성하는 것으로 나타났다. 아울러 항생제 감수성 시험 결과 분리균들은 ampicillin (100%), penicillin G (100%) 및 rifampicin (69.5%)에 내성을 보였으며, gentamicin (100%), vancomycin (100%), bacitracin (86.1%), chloramphenicol (97.2%), erythromycin (69.4%), kanamycin (86.1%) 및 streptomycin (97.2%)에 감수성을 나타내었다. *B. cereus*의 생육은 온도와 시간에 밀접한 관련성을 보였는데, 냉장온도인 10°C 이하에서는 균의 생육이 상당히 저해된 반면, 20°C 및 30°C에 보관시에는 급격한 증식을 보여 기온이 상승하는 하절기에 특히 많은 주의가 필요하다고 판단되었다.

참 고 문 헌

- Ash, C. and M. D. Collins. 1992. Comparative analysis of

- 23S ribosomal RNA gene sequences of *Bacillus anthracis* and emetic *Bacillus cereus* determined by PCR-direct sequencing. *FEMS Microbiol. Lett.* **94**, 75-80.
2. Ash, C., J. A. Farrow, M. Dorsch, E. Steckerbrandt and M. D. Collins. 1991. Comparative analysis of *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus* and related species on the basis of reverse transcriptase sequencing of 16S rRNA. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **41**, 343-346.
 3. Claus, D. and R. C. W. Berkeley. 1986. Genus *Bacillus* Cohn 1986, pp. 1195-1139. In P. H. A. Sneath (ed.), *Bergey's manual of systematic bacteriology*, Vol. 2. Williams & Wilkins Co., Baltimore.
 4. Fang, T. J., Q. K. Wei, C. W. Liao, M. J. Hung and T. H. Wang. 2003. Microbiological quality of 18°C ready-to-eat food product sold in Taiwan. *Int. J. Food. Microbiol.* **80**, 241-250.
 5. Finlay, W. J. J., N. A. Logan and A. D. Sutherland. 2002. *Bacillus cereus* emetic toxin production in cooked rice. *Food Microbiol.* **19**, 431-439.
 6. Granum, P. E. 1994. *Bacillus cereus* and its toxins. *J. Appl. Bacteriol.* **76** (Suppl.), 61S-66S.
 7. Granum, P. E. 1997. *Bacillus cereus*, pp. 327-336, In Doyle, M. P., L. R. Beuchat and T. J. Montville (eds.), *Food Microbiology, Fundamentals and Frontiers*, ASM Press, Washington, DC.
 8. Johnson, K. M. 1984. *Bacillus cereus* foodborne illness -an update. *J. Food Prot.* **47**, 145-153.
 9. Johnson, K. M., C. L. Nelson and F. F. Busta. 1982. Germination and heat resistance of *Bacillus cereus* spores from strains associated with diarrhoeal and emetic food-borne illnesses. *J. Food Sci.* **47**, 1268-1271.
 10. Kaneko, J., R. Nozaki and R. Aizawa. 1978. Deoxynucleic acid relatedness between *Bacillus anthracis*, *B. cereus* and *Bacillus thuringiensis*. *Microbiol. Immunol.* **22**, 639-641.
 11. Kim, S. S., Y. H. Park, J. S. Lee, J. H. Yoon, Y. K. Shin, I. K. Rhee and Y. J. Kim. 1998. Taxonomic studies of the beta hemolysis-causing pathogen *Bacillus cereus* isolated from sea water. *J. Microbiol. Biotechnol.* **8**, 67-73.
 12. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1991. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test. ed 4. M2-M4. NCCLS. Villanova, Pa. Order from NCCLS. 771 East Lancaster Ave., Villanova, PA 19085.
 13. Sarriás, J. A. M. Valero and M. C. Salmerón. 2002. Enumeration, isolation and characterization of *Bacillus cereus* strains from Spanish raw rice. *Food Microbiol.* **19**, 589-595.
 14. Seki, T., C. Chang, H. Mikami and Y. Oshima. 1978. Deoxyribonucleic acid homology and taxonomy of the genus *Bacillus*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **28**, 182-189.
 15. Somerville, H. J. and M. L. Jones. 1972. DNA competition studies within the *Bacillus cereus* group of *bacilli*. *J. Gen. Microbiol.* **73**, 257-265.
 16. Valero, M., L. A. Hernández-Herrero, P. S. Fernández and M. C. Salmerón. 2002. Characterization of *Bacillus cereus* isolates from fresh vegetables and refrigerated minimally processed foods by biochemical and physiological tests. *Food Microbiol.* **19**, 491-499.
 17. Woo G. J., D. H. Lee, J. S. Park, Y. S. Kang and C. M. Kim. 2002. Prevention of food poisoning outbreaks and food safety control. *Food. Ind. Nutr.* **7**, 17-21.
 18. Yokoyama, K., M. Ito, N. Agata, M. Isobe, K. Shibayama, T. Horii and M. Ohta. 1999. Pathological effect of cereulide, an emetic toxin of *Bacillus cereus*, is reversible in mice. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **24**, 115-120.
 19. 박종현. 2002. 복합조리식품 제조공정상의 미생물학적 위해 관리. 식중독 저감화사업 연구보고서. 식품의약품안전청. pp. 235-305.
 20. 박종현. 2003. 어패류에서의 식중독발생 감소를 위한 위해관리지침 작성. 식중독저감화사업 연구보고서. 식품의약품안전청. pp. 325-408.
 21. 신일식. 2003. 생식 중 자연환경 유래 위해 미생물 저감화 방법에 관한 연구. 식중독저감화사업 연구보고서. 식품의약품안전청. pp. 465-513.
 22. 오상석. 2003. 외국의 미생물 기준규격 운영·관리 및 식중독 통계자료 조사. 식중독저감화사업 연구보고서. 식품의약품안전청. pp. 73-210.