

고추와 재배환경의 식품매개 병원균 분포

정지은¹ · 서승미¹ · 양수인² · 진현숙¹ · 정규석³ · 노은정² · 정명인¹ · 류재기⁴ · 류경열¹ · 오광교^{1,*}
¹국립농업과학원 농산물안전성부 유해생물과, ²국립농업과학원 농산물안전성부 작물보호과,
³경기도농업기술원, ⁴국립농업과학원 기획조정과

Distribution of foodborne pathogens in red pepper and environment

Jieun Jung¹, Seung-Mi Seo¹, SuIn Yang², Hyeon-Suk Jin¹, Kyu-Seok Jung³, Eunjung Roh²,
Myeong-In Jeong¹, Jae-Gee Ryu⁴, Kyoung-Yul Ryu¹, and Kwang Kyo Oh^{1,*}

¹Microbial Safety Division, Department of Agro-food Safety and Crop Protection, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration

²Crop Protection Division, Department of Agro-food Safety and Crop Protection, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration

³Gyeonggi-do Agricultural Research & Extension Services

⁴Planning and Coordination Division, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration

Abstract This study was performed to investigate the extent of microbial contamination, the presence of enterotoxin genes, and the antibiotic susceptibility of *Bacillus cereus* in 58 red pepper plants and 43 environmental samples (soil, irrigation water, and gloves) associated with the plant cultivation. The detected counts of total aerobic bacteria, coliform bacteria, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, and *Staphylococcus aureus* were lower in these samples, as compared to the regulations of standards for foods; moreover, pathogens, such as *E. coli*, *E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella* spp., were not detected. Genes encoding hemolysin BL enterotoxins (*hblA*, *hblC*, and *hblD*) as well as non-hemolytic enterotoxins (*nheA*, *nheB*, and *nheC*) were detected in 23 *B. cereus* specimens that were isolated from the test samples and had β -hemolytic activity. Interestingly, *B. cereus* is resistant to β -lactam and susceptible to non- β -lactam antibiotics. However, in this case, the isolated *B. cereus* specimens exhibited a shift from resistant to intermediate in response to cefotaxime and from susceptible to intermediate in case of rifampin, trimethoprim-sulfamethoxazole, vancomycin, clindamycin, and erythromycin. Therefore, the levels of *B. cereus* should be monitored to detect changes in antibiotic susceptibility and guarantee their safety.

Keywords: red pepper, cultivation environment, pathogenic bacteria, enterotoxin, antibiotics

서 론

고추(*Capsicum Annum* L.)는 가지과에 속하는 1년생 초본으로 한국인의 식생활에서 필수적인 향신료이다(Yun 등, 2012). 고추는 전 세계적으로 재배되며 우리나라에서 주로 이용되는 건고추의 2018년 재배면적은 28,824 ha로 기록되었다(RDA, 2020). 고추는 미성숙 시기와 성숙 시기 모두 사용 가능한 채소로 주로 풋고추, 홍고추, 건고추, 고춧가루 등의 형태로 소비되고 있다(Hung 등, 2018; Yi 등, 2019; Yun 등, 2012). 풋고추는 생식용으로 사용되며, 홍고추는 건고추로 만들어 조미료로 사용된다(Son 등, 2012). 고추는 약리적 기능을 갖는 폴리페놀 성분과 매운맛의 주

요 성분인 캡사이시노이드 성분, 플라보노이드 성분, 페놀산 성분 등을 함유하고 있다(Yi 등, 2019). 고추는 다른 과채류보다 재배기간이 길며, 4-8월 사이에 재배한다. 재배기간 동안 기온이 높고 강우가 잦아 미생물이나 해충에 감염될 가능성이 높으며, 고추 과피의 당 성분으로 인하여 유해 미생물의 증식 가능성이 높다. 또한, 작업자나 시설의 위생 상태에 따라 교차오염의 가능성이 높다(Jeong 등, 2018; Park와 Kwon, 2015). 또한, 과채류, 엽채류 등 비가열 농식품은 가열 가공공정을 거치지 않으므로 농식품 내에 존재하는 미생물이 그대로 유지될 수 있는 문제점이 있다(Jung 등, 2012).

2016년 미국에서 멕시코산 신선 고추의 *Salmonella* 오염으로 인한 식중독 사건이 발생하였으며, 2008년과 2010년 *Salmonella* spp.에 오염된 신선 고추로 인한 식중독 사건이 FDA에 의해 보고되었다(Ministry of Food and Drug Safety, 2017). Centers for Disease Control and Prevention (2021) 보고에 의하면 포장 샐러드, 잎채소, 양파, 새싹채소, 로메인 상추에서 *Salmonella* Typhimurium, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Newport, *E. coli* O103이 오염되었으며 이로 인해 식중독 사고가 발생하였고 보고하였다. 2014년 *Clostridium perfringens*의 기준치를 초과한 국내 고춧가루 제품을 식품의약품안전처에서 발표하였다

*Corresponding author: Kwang Kyo Oh, Microbial Safety Division, Department of Agro-food Safety and Crop Protection, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju, Jeonbuk 55365, Korea

Tel: +82-63-238-3405

Fax: +82-63-238-3840

E-mail: ohkwang@korea.kr

Received October 11, 2021; revised November 11, 2021;

accepted November 22, 2021

(Ministry of Food and Drug Safety, 2014). 고추에서 대장균과 *Bacillus cereus*가 검출되었으며(Jeong 등, 2018), 고추와 당근에서 *B. cereus*와 *E. coli*가 검출되었다고 보고하였다(Kim 등, 2017). 식품공전의 식품별 기준 및 규격에 의하면 신선편의식품의 경우 *Salmonella*와 장출혈성 대장균은 불검출이어야 하며, *B. cereus* 10^3 CFU/g, *S. aureus* 10^2 CFU/g, *C. perfringens* 10^2 CFU/g으로 명시되어 있다(Ministry of Food and Drug Safety, 2021).

우리나라는 현재 농산물에 대한 미생물 관리기준이 없는 실정이며, 재배단계에서 농산물의 병원성 미생물 오염상태를 조사하는 것은 농산물의 안전성을 평가하는 데 있어 매우 중요하다고 할 것이다. 이에 본 연구는 고추와 재배환경의 병원성 세균의 오염상태를 확인하고 환경과 식품에서 많이 검출되는 *B. cereus*의 장독소와 항생제 감수성에 대해 연구하여 농산물에 대한 식중독균의 잠재적인 위험성을 평가하고 농산물에 대한 미생물 관리기준의 기초 자료 확보를 위하여 수행하였다.

재료 및 방법

검체 채취 대상 및 방법

2018년 8-10월 고추 주요 A 지역 3개 농가에서 고추 58개, 토양 27개, 농업용수 9개, 장갑 7개 검체를 채취하였다. 고추 채취 시 교차 오염을 방지하기 위해 라텍스 장갑과 멸균된 가위를 이용하여 고추를 수집하였으며, 고추와 토양, 장갑은 멸균백에 농업용수는 멸균된 채수병에 넣어 냉장 상태로 실험실로 운반한 후 고추와 환경시료의 식중독 병원성 세균 오염도 조사를 실시하였다.

검체의 정량적 분석

식품공전의 미생물시험법에 의거하여 미생물 실험을 수행하였다(Ministry of Food and Drug Safety, 2021). 고추와 토양의 위생 지표 세균(일반세균수, 대장균, 대장균)의 정량적 분석을 위해 검체 25 g을 BPW (Buffered peptone water, Difco, Sparks, MD, USA) 225 mL와 혼합하고 2분간 균질화하였다. 각 희석농도 별로 준비된 시료 1 mL를 건조필름배지(3M Petrifilm aerobic count plate, 3M Petrifilm *E. coli*/Coliform count plate, 3M, St. Paul, MN, USA)에 분주하여 $35\pm 2^\circ\text{C}$ 에서 24시간 배양하였다. 배양 후 건조필름배지 위에 형성된 붉은색 집락을 계수하여 일반세균수를 측정하였으며, 기포를 가진 푸른색 집락과 붉은색 집락을 계수하여 대장균과 대장균을 측정하였다. 장갑의 위생지표세균분석을 위해 멸균된 가위로 자른 장갑 25 g을 BPW 225 mL와 2분간 균질화하였다. 건조필름배지를 이용하여 장갑의 일반세균수와 대장균/대장균을 측정하였다. 농업용수의 대장균과 대장균은 Colilert 18 kit (IDEXX Laboratories, Westbrook, ME, USA)를 이용하여 계수하였다.

*B. cereus*의 정량 및 정성적 분석

검체 25 g을 BPW (Difco) 225 mL에 넣어 2분간 균질화한 후 MYP (Mannitol Egg Yolk Polymyxin Agar, Oxoid Ltd., Basingstoke, Hants, UK) 배지에 균질액을 도말하여 28°C 에서 24시간 배양한 후 혼탁한 환을 갖는 분홍색 집락을 계수하였다. 정성시험을 동시에 진행하기 위해 계수한 배지에서 의심 균주를 TSA (Tryptic Soy Agar, Difco)에 계대한 후 PowerChek™ *Bacillus cereus* Detection Kit (KogeneBiotech, Seoul, Korea)을 이용하여 *B. cereus* 균주 확인 및 병원균 여부를 확인하였다. PCR에 의한 증폭 생성물은 2.0% agarose gel 전기영동에 의해 확인하였다.

*S. aureus*의 정량 및 정성 분석

*S. aureus*는 정량과 정성 검사를 실시하였다. 정량 분석의 경우 검체 25 g을 225 mL BPW (Difco)에 넣고 2분간 균질화하였다. 균질액을 BPA (Baird-Parker Agar, Difco) 배지에 도말하여 37°C 에서 24시간 배양한 후 혼탁한 환을 갖는 검은색 집락을 계수하였다. 정성 분석의 경우 시료 25 g을 10% NaCl 포함된 TSB 225 mL에 넣어 균질화한 후 37°C 에서 24시간 배양한 후 의심되는 콜로니를 TSA에 계대하였다. 균주 확인 및 식중독 병원성균 여부를 확인하기 위해 PowerChek™ *Staphylococcus aureus* Detection Kit (KogeneBiotech)을 이용하였으며 PCR에 의한 증폭 생성물은 2.0% agarose gel 전기영동에 의해 확인하였다.

병원성 *E. coli*의 정성적 분석

병원성 *E. coli*의 오염도를 확인하기 위해 검체 25 g을 BPW (Difco) 225 mL에 넣어 균질화한 뒤 $35\pm 2^\circ\text{C}$ 에서 3시간 배양 후 9 mL EC broth (Oxoid Ltd)에 증균배양액을 1 mL 분주한 후 44°C 에서 18-24시간 배양하였다. 가스 형성한 증균배양액을 EMB (Eosin methylene blue agar, Levine, Oxoid Ltd.) 배지에 희선도말하고 $37\pm 2^\circ\text{C}$ 에서 24시간 배양 후 의심 집락을 선별하여 TSA에 계대하였다. 식중독 병원성균 여부를 확인하기 위해 PowerChek™ Diarrheal *E. coli* 4-plex Detection Kit I과 II (KogeneBiotech)을 이용하였으며 PCR에 의한 증폭 생성물은 2.0% agarose gel 전기영동에 의해 확인하였다.

병원성 *E. coli* O157:H7의 정성적 분석

E. coli O157:H7의 오염도를 확인하기 위해 검체 25 g과 mEC (EC medium modified, Difco) 225 mL를 균질화한 후 $35\pm 2^\circ\text{C}$ 에서 24시간 배양하였다. 이후 증균배양액을 SMA (MacConkey Sorbitol agar, Difco)에 희선도말하여 37°C 에서 24시간 배양한 후 의심 집락을 선별하여 TSA에 계대하였다. 식중독 병원성균 여부를 확인하기 위해 PowerChek™ *E. coli* O157 Detection Kit (KogeneBiotech)을 이용하였으며 PCR에 의한 증폭 생성물은 2.0% agarose gel 전기영동에 의해 확인하였다.

*L. monocytogenes*의 정성적 분석

*L. monocytogenes*를 분리하기 위해 검체 25 g을 LEB (Listeria enrichment broth, Difco) 225 mL와 혼합한 후 $35\pm 2^\circ\text{C}$ 에서 24시간 배양하였다. 1차 배양액 1 mL를 9 mL FB (Fraser broth base, Difco)에 분주하여 $35\pm 2^\circ\text{C}$ 에서 24시간 배양하였다. 2차 배양액을 OA (Oxford medium bas, Difco) 배지에 희선도말하고 37°C 에서 24시간 배양 후 의심 집락을 선별하여 TSA에 계대하였다. 식중독 병원성균 여부를 확인하기 위해 PowerChek™ *Listeria monocytogenes* Detection Kit (KogeneBiotech)을 이용하였으며 PCR에 의한 증폭 생성물은 2.0% agarose gel 전기영동에 의해 확인하였다.

Salmonella spp.의 정성적 분석

Salmonella spp.를 분리하기 위해 검체 25 g을 BPW (Difco) 225 mL와 혼합한 후 $35\pm 2^\circ\text{C}$ 에서 24시간 배양하였다. 1차 배양액 1 mL를 RV (Rappaport-Vassiliadis broth, Difco) 9 mL에 넣어 42°C 에서 24시간 동안 2차 배양하였다. 2차 배양액을 희선도말한 XLD (Xylose lysine desoxycholate agar, Difco)를 37°C 에서 24시간 동안 배양한 후 의심 집락을 선별하여 TSA에 계대하였다. 식중독 병원성균 여부를 확인하기 위해 PowerChek™ *Salmonella* spp. Detection Kit (KogeneBiotech)을 이용하였으며 PCR에 의한 증폭 생성물은 2.0% agarose gel 전기영동에 의해 확인하였다.

Table 1. Primers used to detect the enterotoxin genes of *B. cereus* isolated from red pepper and environment

Target toxin	Gene	Primer	Oligonucleotide (5' to 3')	Amplicon (bp)
Hemolysin BL	<i>hblA</i>	hblA-F hblA-R	GTG CAG ATG TTG ATG CCG AT ATG CCA CTG CGT GGA CAT AT	319
	<i>hblC</i>	hblC-F hblC-R	AAT GGT CAT CGG AAC TCT AT CTC GCT GTT CTG CTG TTA AT	749
	<i>hblD</i>	hblD-F hblD-R	AAT CAA GAG CTG TCA CGA AT CAC CAA TTG ACC ATG CTA AT	429
Nonhemolytic enterotoxin	<i>nheA</i>	nheA-F nheA-R	TAC GCT AAG GAG GGG CA GTT TTT ATT GCT TCA TCG GCT	499
	<i>nheB</i>	nheB-F nheB-R	CTA TCA GCA CTT ATG GCA G ACT CCT AGC CGG TGT TCC	769
	<i>nheC</i>	nheC-F nheC-R	CGG TAG TGA TTG CTG GG CAG CAT TCG TAC TTG CCA A	581
Emetic toxin	<i>ces</i>	ces-F ces-R	GGT GAC ACA TTA TCA TAT AAG GTG GTA AGC GAA CCT GTC TGT AAC AAC A	1271

*B. cereus*의 설사형 및 구토형 독소 유전자 분석

PCR로 확인한 *B. cereus*를 7% sheep blood 첨가한 sheep blood agar (Oxoid Ltd)에 계대하여 37°C에서 24시간 동안 배양한 후 colony 주변에 clear zone형성하는 균주를 선별하였다(Jung 등, 2020). β -Hemolysis 활성을 갖는 *B. cereus*에서 설사형 독소 (*hblACD*, *nheABC*)와 구토형 독소(*ces*) 유전자를 PCR로 확인하였다. Park 등(2018)의 연구에서 보고한 염기서열의 primer를 Bioneer 사(Daejeon, Korea)에서 합성하였다(Table 1). PCR 반응은 AccuPower® PCR premix (Bioneer)을 사용하였으며 DNA 10-30 ng, primer 10 pM 농도로 1쌍씩 첨가하고 멸균 증류수를 사용하여 최종 반응용액을 20 μ L로 조정하였다. PCR cycycler (C1000TM Thermal Cycler, BIO-RAD, CA, USA)의 반응 조건은 94°C에서 7분간 pre-denaturation한 뒤 *hblA* 유전자는 94°C에서 45초간 denaturation, 58°C에서 45초 annealing, 72°C에서 45초 extension의 조건으로 35 cycle을 수행하였으며, *hblC*와 *hblD* 유전자는 94°C에서 30초간 denaturation, 54°C에서 30초 annealing, 72°C에서 30초 extension의 조건으로 35 cycle을 수행하였다. *nheA*와 *nheB*, *nheC*, *ces* 유전자는 94°C에서 30초간 denaturation, 55°C에서 30초간 annealing, 72°C에서 30초간 extension의 조건으로 35 cycle을 수행하였다. Final extension을 72°C에서 7분간 실시하였다(Park 등, 2018). PCR에 의한 증폭 생성물은 2.0% agarose gel 전기영동에 의해 확인하였다. 양성 대조균으로 *B. cereus* ATCC 14579 균주를 사용하였다.

*B. cereus*의 항생제 감수성 시험

항생제 감수성 시험은 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2018) 가이드라인을 참조하였고 본 연구에서 사용된 항생제 (Oxoid Ltd) 종류는 다음과 같다: penicillin (10 U), oxacillin (1 μ g), cefotaxime (30 μ g), cefoxitin (30 μ g), imipenem (10 μ g), gentamicin (10 μ g), streptomycin (10 μ g), rifampin (5 μ g), trimethoprim-sulfamethoxazole (25 μ g), vancomycin (30 μ g), clindamycin (2 μ g), erythromycin (15 μ g), linezolid (30 μ g), chloramphenicol (30 μ g), tetracycline (30 μ g), and ciprofloxacin (5 μ g). 멸균 증류수에 희석한 접종 균액을 Muller-Hinton agar (Oxoid Ltd.) 배지 전체에 골고루 도말한 다음 상온에서 정치시켜 습기를 제거하였다. 항균제 디스크를 배지 표면에 부착시킨 후 28°C에서 16-18시간 배양하였으며 대조균으로는 *S. aureus* ATCC 29213 균주를 사용하였다.

통계처리

분석된 모든 결과들에 대해서는 SPSS 통계처리 프로그램 version 18을 사용하여 통계분석하였다. 통계분석은 ANOVA 프로그램의 Tukey's test로 $p < 0.05$ 의 수준에서 통계학적 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

고추와 재배환경의 일반세균수와 대장균군, 대장균 오염도

고추와 재배토양, 농업용수, 장갑 시료는 A 지역 3개 농가에서 8월에서 10월까지 3차례 채취하였다. 3개 농가의 일반세균수 측정 결과는 Table 2와 같다. 고추에서는 6.27, 5.79, 6.08 log CFU/g, 토양에서는 6.89, 7.08, 6.70 log CFU/g, 장갑에서는 4.44, 3.36, 6.42 log CFU/g이었다. 지하수 수질기준 중 농업용수의 일반세균수 오염한도(Ministry of Environment, 2021)가 설정되어 있지 않으므로 농업용수의 일반세균수는 측정하지 않았다. Hung 등(2018) 보고에 따르면 수확직후 노지재배 고추의 일반세균수는 5.27 log CFU/g이었고, 시설재배 고추의 일반세균수 오염수준은 4.47 log CFU/g이었다. Jeong 등(2018) 보고에 따르면 고추의 일반세균수는 4.96-6.26 log CFU/g이었으며, 고추 재배토양의 일반세균수는 6.26-7.16 log CFU/g이었다. Kim 등(2017) 보고에 따르면 고추의 일반세균수는 4.9 log CFU/g이었다. 일반호기성 세균의 밀도는 식품의 유통기한의 지표로서 사용되고 있어 식품 산업에 매우 유용한 지표이다(Forsythe, 2000). WHO (2007)은 신선 채소에 대해 총 호기성 세균수 오염한도를 10^7 CFU/g으로 설정하였으며, 홍콩은 신선 채소의 총 호기성 세균수 오염한도를 설정하지 않았다(Centre for Food Safety Food and Environmental Hygiene Department, 2014; WHO, 2007). Kim 등(2011a)이 보고한 연구에 따르면 정식후 상추의 일반세균수는 4.18-5.53 log CFU/g, 토양의 일반세균수는 6.55-7.30 log CFU/g, 작업장갑의 일반세균수는 6.34 log CFU/hand이었다. Yang 등(2019) 보고에 따르면 부추의 일반세균수는 6.49-8.12 log CFU/g, 토양의 일반세균수는 6.37-7.01 log CFU/g이었다. 본 연구에서 고추의 일반세균수는 5.79-6.27 log CFU/g으로 WHO가 정한 기준보다 낮았으며, 이전 연구에서 보고한 노지재배 고추와 시설재배 고추, 상추의 일반세균수보다 높았고 부추의 일반세균수와 비슷하거나 낮은 수치를 나타냈다. 본 연구에서 고추 재배토양의 일반세균수는 6.70-7.08 log CFU/g으로 이전 보고된 연구에서 측정된 고추, 상추, 부추

Table 2. The mean of total aerobic bacteria, coliform, and *E. coli* in red pepper and environment

Farm		N ¹⁾	Total aerobic bacteria	Coliform	<i>E. coli</i>
I	Red pepper	18	6.27±1.11 ^a	4.55±0.74	ND ⁴⁾
	Soil	9	6.89±0.65 ^a	5.14±0.50	ND
	Irrigation water ²⁾	3	NT ³⁾	<1	<1
	Gloves	2	4.44±0.03 ^b	ND	ND
II	Red pepper	20	5.79±1.18	3.36±1.40	ND
	Soil	9	7.08±0.48	4.76±1.13	ND
	Irrigation water	3	NT	247.05±164.17	<1
	Gloves	3	3.36±0.69	ND	ND
III	Red pepper	20	6.08±0.79	3.15±0.61 ^{bc}	1.54±0.08
	Soil	9	6.70±0.60	4.25±0.80 ^b	1.50±0.71
	Irrigation water	3	NT	17.67±4.30 ^a	<1
	Gloves	2	6.42±0.15	2.16±0.28 ^c	ND

¹⁾No. of samples²⁾MPN/100 mL³⁾not tested⁴⁾not detected (limit of detection <1.00 log CFU/g)

*All values are expressed as the mean±SD of triplicate determinations.

^{a-c}Values with different letter of same category are significantly different at $p < 0.05$ by a Turkey's multiple range test.

재배토양의 일반세균수와 비슷한 밀도를 나타냈다. 본 연구에서 채취한 장갑의 일반세균수는 Kim 등(2011a)이 연구한 상추 재배 환경에서 사용된 장갑의 일반세균수보다 낮은 밀도를 나타냈다. 고추 일반세균의 높은 밀도는 토양과 장갑의 접촉으로 인해 일반세균수가 높은 것으로 사료된다. 건조 전 고추 내 일반세균수가 많이 존재하면 건조 가공과정 동안 식중독균의 생존에 유리할 수 있으므로 재배 및 수확 과정에서 토양과 장갑 등 환경에 의해 교차오염되지 않도록 주의가 필요하다.

고추의 오염도를 알기 위해 고추와 재배토양, 농업용수, 장갑 시료의 대장균군과 대장균의 오염도를 측정하였다. 대장균군의 측정 결과는 Table 2와 같다. 고추에서는 4.55, 3.36, 3.15 log CFU/g, 토양에서는 5.14, 4.76, 4.25 log CFU/g, 농업용수에서는 247.05, 17.67 MPN/100 mL, 장갑에서는 2.16 log CFU/g이었다. I 농가의 농업용수에서는 대장균군이 검출되지 않았으며, I과 II 농가의 장갑에서는 대장균군이 검출되지 않았다. 대장균군은 물과 농산물, 식품에서의 분변 오염 지표로 사용되고 있다(Forsythe, 2000). Hung 등(2018) 보고에 따르면 노지재배 고추와 시설재배 고추의 대장균군 오염수준은 3.58, 2.91 log CFU/g이었으며, Jeong 등(2018)이 연구한 보고에 따르면 고추에서 4.01-5.12 log CFU/g의 대장균군이 검출되었으며, 토양에서 3.29-4.85 log CFU/g의 대장균군이 검출되었다. Kim 등(2017) 보고에 의하면 고추에서 검출된 대장균군 수는 2.3 log CFU/g이었다. 본 연구에서 측정된 고추 시료의 대장균군 오염수준은 3.15-4.55 log CFU/g으로 이전 보고된 고추의 대장균군 오염수준과 비슷하였다. I 농가 토양에서 대장균군이 검출되었고, II 농가의 토양과 농업용수에서 대장균군이, III 농가의 토양, 농업용수, 장갑에서 대장균군이 검출되었다. I 농가 고추의 대장균군 오염수준은 II와 III 농가의 고추 대장균군 오염수준보다 높은 밀도를 보였다. 대장균군은 토양에서 30일 동안 생존하며, 오염된 토양과 농업용수에 의해 작물이 오염된다(Forsythe, 2000). 오염된 땅과 부속되지 않은 퇴비의 사용, 오염된 지하수로부터의 노출 등 다양한 경로를 통해 작물이 오염된다(Alegbeye 등, 2018). 본 실험의 결과, 고추에서 대장균군이

이전 연구 결과보다 높은 대장균군 밀도를 나타낸 것은 재배기간 동안 토양, 농업용수, 장갑 등 환경에 의해서 교차 오염된 것으로 판단된다. 고추와 토양, 농업용수, 장갑의 대장균 측정 결과는 Table 2와 같다. I과 II 농가에서 채취한 시료에서는 대장균이 검출되지 않았다. III 농가의 고추에서는 1.54 log CFU/g, 토양에서는 1.50 log CFU/g이 검출되었다. 대장균은 토양에서 30일 이상 생존할 수 있으며, *E. coli* O157:H7은 토양에서 130일 동안 생존할 수 있다(Jung 등, 2017). 대장균은 오래기간 토양에 존재하므로 재배기간 동안 토양 내 대장균이 작물을 오염시킬 가능성이 있기에 철저한 위생관리가 필요하다.

고추와 재배 환경의 *B. cereus*와 *S. aureus* 오염도

*B. cereus*는 토양과 쌀, 우유, 채소, 작업자의 피부에서 흔히 발견되는 미생물로 채소의 재배과정에서의 주요 오염원으로 토양이 보고되었다(European Food Safety Authority, 2005; Park 등, 2018). 따라서 3개 농가에서 채취한 농업용수의 *B. cereus*는 정량 분석하지 않았다. 고추와 토양, 장갑의 *B. cereus*의 정량 분석한 결과는 Table 3과 같다. 고추에서 2.94, 1.35, 2.10 log CFU/g, 토양에서 6.78, 6.25, 6.31 log CFU/g, 장갑에서 2.15, 1.95, 2.39 log CFU/g이었다. 식품공전의 식품별 기준 및 규격(Ministry of Food and Drug Safety, 2021)에서 신선편의식품의 경우 *B. cereus*는 10^3 CFU/g 이하로 고시되어 있다. Health Protection Agency (2009)에 따르면 즉석식품에서 *B. cereus* 균수가 10^3 CFU/g 미만 검출되어야 안전하며, 10^5 CFU/g 이상 검출될 경우 섭취의 잠재적 위험성이 있다고 보고하였다. Kim 등(2011a)에 따르면 상추의 *B. cereus* 균수는 1.88-1.94 log CFU/g, 토양에서 3.46-3.58 log CFU/g이었으며, Kim 등(2017)에 따르면 고추의 *B. cereus*는 1.0 log CFU/g이었다. Yang 등(2019)의 보고에 따르면 부추에서 *B. cereus*는 2.14-4.15 log CFU/g, 부추 재배토양에서 5.83-7.28 log CFU/g이었다. Kim 등(2011b) 연구에서 수확 전 들깻잎의 *B. cereus*는 0.00-0.77 log CFU/g, 수확 후 들깻잎의 *B. cereus*는 0.49-1.52 log CFU/g, 재배토양에서 0.00-3.80 log CFU/g, 작업자

Table 3. The population of *B. cereus* and *S. aureus* in red pepper and environment

Farm		N ¹⁾	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>
I	Red pepper	18	2.94±0.32 ^b	ND ⁴⁾
	Soil	9	6.78±0.34 ^a	NT
	Irrigation water ²⁾	3	NT ³⁾	ND
	Gloves	2	2.15±0.64 ^c	ND
II	Red pepper	20	1.35±0.51	2.09±0.67
	Soil	9	6.25±0.63	NT
	Irrigation water	3	NT	1.63±0.21
	Gloves	3	1.95±0.00	ND
III	Red pepper	20	2.10±1.22	ND
	Soil	9	6.31±0.40	NT
	Irrigation water	3	NT	ND
	Gloves	2	2.39±0.18	ND

¹⁾No. of samples²⁾log CFU/100 mL³⁾not tested⁴⁾not detected (limit of detection <1.00 log CFU/g or log CFU/100 mL)

*All values are expressed as the mean±SD of triplicate determinations.

^{a-c}Values with different letter of same category are significantly different at $p < 0.05$ by a Turkey's multiple range test.

의 손에서 0.00-0.57 log CFU/hand 계수되었다. 이전 연구에서 남부지방 부추의 *B. cereus*는 1.48-3.49 log CFU/g, 토양에서 4.89-5.55 log CFU/g이 오염되었다고 보고하였다(Jung 등, 2020). 본 연구에서 고추의 *B. cereus* 오염도는 1.35-2.94 log CFU/g으로 신선편의식품 기준 및 규격보다 낮은 밀도였으며, 이전에 보고된 부추의 오염도보다 낮은 밀도였지만, 고추와 상추, 들깻잎보다는 높은 오염밀도를 나타냈다. *B. cereus*는 토양 균주로 농산물에 쉽게 오염된다(Granum과 Lund, 1997). 본 연구에서 이전 결과보다 높은 밀도의 *B. cereus* 균수가 계측된 것은 토양에 존재하는 *B. cereus*가 고추 재배과정에서 오염이 되어 작물에서 균이 검출된 것으로 판단된다. 따라서, 토양에서 고추로 교차오염이 발생되지 않도록 재배환경의 위생관리가 요구된다.

고추와 토양, 농업용수, 장갑의 *S. aureus*의 정량 분석한 결과는 Table 3과 같다. I과 III농가의 고추와 농업용수, 장갑에서 *S. aureus*가 검출되지 않았다. II농가의 고추에서 2.09 log CFU/g, 농업용수 1.63 log CFU/100 mL이었으며, 장갑에서는 검출되지 않았다. 3개 농가에서 채취한 토양의 *S. aureus* 균수는 측정하지 않았다. 식품공전의 식품별 기준 및 규격(Ministry of Food and Drug Safety, 2021)에서 신선편의식품의 경우 *S. aureus*는 10² CFU/g 이하로 고시되어 있다. Health Protection Agency (2009)에 따르면 즉석식품에서 *S. aureus* 균수가 20 CFU/g 미만인 경우 위생적이며, 10⁴ CFU/g 이상인 경우 섭취 시 위험하다고 규정하였다. II농가의 고추에서 신선편의식품 기준보다 높은 2.09 log CFU/g이 검출되었다. *S. aureus*는 공기, 물, 작업자에 의해 식품을 오염시킨다(Yeni 등, 2016). 따라서 토양 내 *S. aureus*의 정량적 오염도를 확인하지 않았다. *S. aureus*는 사람과 동물, 공기, 먼지, 하수, 농업용수 등 다양한 유형에 존재한다(Yeni 등 2016). 오염된 농업용수의 관수로 인한 교차오염으로 고추 표면에서 *S. aureus*가 검출된 것으로 판단된다.

고추와 재배환경의 병원성 미생물 오염도

고추와 토양, 농업용수, 장갑의 병원성 미생물 오염도를 조사

하였다. 병원성 미생물을 검출하기 위해 증균배지와 선택배지에서 배양된 의심균주를 PCR을 통해 확인하였다. 3개 농가의 병원성 *E. coli*, *E. coli* O157:H7, *B. cereus*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp.를 측정된 결과는 Table 4와 같다. 3개 농가에서 채취한 모든 시료에서 병원성 *E. coli*, *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp.이 검출되지 않았지만, *B. cereus*와 *S. aureus*는 고추, 토양, 농업용수, 장갑에서 검출되었다. I농가 고추의 *B. cereus*는 18개 시료 중 4개(22.2%) 시료에서 검출되었고, 토양 9개 시료 중 5개(55.6%) 시료에서 검출되었으며, 장갑 2개 중 2개(100.0%) 시료에서 검출되었다. II농가 고추의 *B. cereus*는 20개 시료 중 4개(20.0%) 시료에서 검출되었고, 토양 9개 시료 중 3개(33.3%) 시료에서 검출되었으며, 장갑 3개 시료 중 1개(33.3%) 시료에서 검출되었다. III농가 고추의 *B. cereus*는 20개 시료 중 4개(20.0%) 시료에서 검출되었고, 토양 9개 시료 중 3개(33.3%) 시료에서 검출되었으며, 장갑 2개 시료 중 1개(50.0%) 시료에서 검출되었다. I농가 고추의 *S. aureus*는 18개 시료 중 11개(61.1%) 시료, 토양 9개 시료 중 2개(22.2%) 시료, 장갑 2개 시료 중 1개(50.0%) 시료에서 검출되었으며, II농가 고추 20개 시료 중 9개(45.0%) 시료, 토양 9개 시료 중 5개(55.6%) 시료에서 농업용수 3개 시료 중 2개(66.7%) 시료, 장갑 3개 시료 중 1개(33.3%) 시료에서 검출되었고, III농가 고추 20개 시료 중 7개(35.0%) 시료, 토양 9개 시료 중 6개(66.7%) 시료, 장갑 2개 시료 중 1개(50.0%) 시료에서 *S. aureus*가 검출되었다. I과 III농가 농업용수에서는 *S. aureus*가 검출되지 않았다. 식품공전의 식품별 기준 및 규격(Ministry of Food and Drug Safety, 2021)에서 신선편의식품의 경우 *Salmonella* spp.와 *E. coli* O157:H7이 검출되어서는 안된다고 고시되어 있다. 본 연구결과에서 고추와 재배환경에 *B. cereus*와 *S. aureus*를 제외한 병원성 *E. coli*와 *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. 등 병원성 미생물 오염은 없는 것으로 나타났지만, 토양과 농업용수, 작업장갑에 대한 철저한 안전관리로 농산물로 인한 식중독 사고를 예방해야 할 것이다.

Table 4. Incidence of foodborne pathogens in red pepper and environment

Farm		Pathogenic <i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Salmonella</i> spp.
I	Red pepper	ND ¹⁾	ND	4/18 (22.2%)	11/18 (61.1%)	ND	ND
	Soil	ND	ND	5/9 (55.6%)	2/9 (22.2%)	ND	ND
	Irrigation water	ND	ND	NT ²⁾	0/3 (0.0%)	ND	ND
	Gloves	ND	ND	2/2 (100.0%)	1/2 (50.0%)	ND	ND
II	Red pepper	ND	ND	4/20 (20.0%)	9/20 (45.0%)	ND	ND
	Soil	ND	ND	3/9 (33.3%)	5/9 (55.6%)	ND	ND
	Irrigation water	ND	ND	NT	2/3 (66.7%)	ND	ND
	Gloves	ND	ND	1/3 (33.3%)	1/3 (33.3%)	ND	ND
III	Red pepper	ND	ND	4/20 (20.0%)	7/20 (35.0%)	ND	ND
	Soil	ND	ND	3/9 (33.3%)	6/9 (66.7%)	ND	ND
	Irrigation water	ND	ND	NT	0/3 (0.0%)	ND	ND
	Gloves	ND	ND	1/2 (50.0%)	1/2 (50.0%)	ND	ND
Total		0/101	0/101	27/92	45/101	0/101	0/101

¹⁾not detected²⁾not tested

고추와 재배환경의 *B. cereus*의 독소 유전자 분석

*B. cereus*는 구토 또는 설사를 일으키는 독소형 식중독 세균으로 설사형 식중독을 유발하는 독소는 hemolysin BL (HBL), non-hemolytic enterotoxin (NHE), cytotoxin K, enterotoxin FM이 있으며, 구토형 식중독을 유발하는 독소에는 emetic toxin이 있다(Kim 등, 2011b). 설사형 식중독 유발 독소 중 HBL과 NHE 유전자가 *B. cereus*에 의해 발생한 설사형 식중독의 주요 원인으로 알려져 있다(Jeon과 Park, 2010)

3개 농가 고추와 토양, 농업용수, 장갑에서 분리한 *B. cereus* 균주 중 설사형 식중독을 야기시키는 hemolysin BL (HBL) 유전자를 보유하는 균주를 선별하기 위해 β-hemolysis 활성을 측정하였다. β-Hemolysis 활성을 갖는 균주는 sheep blood agar 내 혈액 세포를 용혈시켜 콜로니 주변에 clear zone을 형성시킨다(Bottone, 2010). 고추와 토양, 농업용수, 장갑에서 분리한 *B. cereus* 27균주 중 23균주에서 β-hemolysis 활성을 지녔다. 고추에서 β-hemolysis 활성을 갖는 11개 균주와 토양에서 8개 균주, 장갑 4개 균주에 대한 용혈성 장독소(*hblACD*)와 비용혈성 장독소(*nheABC*) 유전자를 PCR로 확인하였다. 고추와 토양, 장갑의 용혈성과 비용혈성 장독소를 확인한 결과는 Table 5와 같다. 고추의 용혈성(*hblA*, *hblC*, *hblD*)독소는 각각 54.5, 72.7, 90.9%비율로 존재하였고 비용혈성(*nheA*, *nheB*, *nheC*)독소는 각각 100, 72.7, 90.9%비율로 존재하였다. 토양의 용혈성 독소는 87.5, 75.0, 87.5%, 비용혈성 독소는 100, 87.5, 87.5% 비율로 존재하였다. 장갑의 용혈성독소는 75.0, 100, 100%, 비용혈성 독소는 100, 100, 100% 비율로 존재하였다. 고추의 *hblACD* 독소는 54.5%, *nheABC* 독소는 72.7%이었고, 토양의 *hblACD* 독소는 75.0%, *nheABC* 독소는 75.0%이었고, 장갑의 *hblACD* 독소는 75.0%, *nheABC* 독소는 100%의 비율을 보였다. 고추와 토양, 장갑의 비용혈성 장독소 비율은 용혈성 장독소보다 높았다. 이전 연구에서 들깨잎에 *hblA*, *hblC*, *hblD* 독소는 각각 69.5% 비율로 존재하였고, *nheA*, *nheB*, *nheC*는 100, 97.9, 75.8% 비율로 존재하는 것으로 보고되었다(Kim 등, 2011b). 친환경 채소류와 GAP인증 채소류에서 분리한 *B. cereus*의 장독소를 확인한 결과, *nheA*는 97%, *hblC*는 88.2%, HBL 독소 단백질은 56.8% 검출되었다(Cho 등, 2020). 상추에서 분리한 저온내

Table 5. Distribution of enterotoxin genes in *B. cereus* isolated from red pepper and environment

	Red pepper (n=11) ¹⁾	Soil (n=8)	Gloves (n=4)
<i>hblA</i>	6 (54.5%)	7 (87.5%)	3 (75.0%)
<i>hblC</i>	8 (72.7%)	6 (75.0%)	4 (100.0%)
<i>hblD</i>	10 (90.9%)	7 (87.5%)	4 (100.0%)
<i>hblACD</i>	6 (54.5%)	6 (75.0%)	3 (75.0%)
<i>nheA</i>	11 (100.0%)	8 (100.0%)	4 (100.0%)
<i>nheB</i>	8 (72.7%)	7 (87.5%)	4 (100.0%)
<i>nheC</i>	10 (90.9%)	7 (87.5%)	4 (100.0%)
<i>nheABC</i>	8 (72.7%)	6 (75.0%)	4 (100.0%)
<i>ces</i>	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

¹⁾no. of samples

성을 갖는 *B. cereus*의 *hblACD*는 44.4% *nheABC*는 94.4% 비율로 검출되었다(Park 등, 2020). *hblACD*는 부추에서 36.7%, 피망에서 95.2%, 깻잎에서 25.6%, 로메인상추에서 35.7% 비율로 검출되었으며, *nheABC*는 부추에서 71.4%, 피망에서 100%, 깻잎에서 56.4%, 로메인상추에서 64.3% 비율로 검출되었다(Park 등 2018). *B. cereus* 균주 내 *hblA*, *hblC*, *hblD* 모두 존재하여 단백질을 생성하고, *nheA*와 *nheB* 유전자에 의해 생성된 단백질에 의해 *B. cereus*가 식중독을 유발할 수 있다고 보고되었다(Kim 등, 2011b). 이전 연구결과와 유사하게 본 연구에서 비용혈성 독소가 용혈성 독소보다 높은 비율로 검출되었으며, *hblD*와 *nheA*이 높은 비율로 작물에서 검출되었다. 재배 및 수확과정과 작업자에서 용혈성 독소보다 비용혈성독소가 높게 나온 이전 결과(Kim 등, 2011b)와 유사하게 토양과 장갑에서 비용혈성 독소가 더 높게 검출되었다. Kim 등(2011b)이 보고한 연구에 따르면 환경보다 들깨잎에서 용혈성 및 비용혈성 장독소가 높은 비율로 검출되었다. 하지만 본 연구에서는 이전 연구결과와는 달리 고추보다 토양과 장갑에서 높은 비율로 장독소가 검출되었다. *B. cereus*는 토양에

Table 6. Antibiotic susceptibility of *B. cereus* isolated from red pepper

Antimicrobial agent		No. (%) of <i>B. cereus</i> isolates (n=11)		
		Resistance ¹⁾	Intermediate	Susceptible
β-Lactams	Penicillin	11 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	Oxacillin	11 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	Cefotaxime	7 (63.6)	4 (36.4)	0 (0.0)
	Cefoxitin	11 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	Imipenem	0 (0.0)	0 (0.0)	11 (100.0)
Non-β-lactams	Gentamicin	0 (0.0)	0 (0.0)	11 (100.0)
	Streptomycin	0 (0.0)	0 (0.0)	11 (100.0)
	Rifampin	0 (0.0)	4 (36.4)	7 (63.6)
	Trimethoprim-sulfamethoxazole	0 (0.0)	1 (9.1)	10 (90.9)
	Vancomycin	0 (0.0)	1 (9.1)	10 (90.9)
	Clindamycin	0 (0.0)	2 (18.2)	9 (81.8)
	Erythromycin	0 (0.0)	1 (9.1)	10 (90.9)
	Linezolid	0 (0.0)	0 (0.0)	11 (100.0)
	Chloramphenicol	0 (0.0)	0 (0.0)	11 (100.0)
	Tetracycline	0 (0.0)	0 (0.0)	11 (100.0)
	Ciprofloxacin	0 (0.0)	0 (0.0)	11 (100.0)

¹⁾After the treatments with antibiotic agents of recommended concentration, if the diameter of inhibition zones against *B. cereus* was greater than that of quality control ranges, the effect of antibiotic agents on *B. cereus* was defined as Susceptible; if the diameter of inhibition zones against *B. cereus* was less than that of quality control ranges, the effect of antibiotic agents on *B. cereus* was defined as Resistance; and if the diameter was between Resistance and Susceptible, the effect of antibiotic agents on *B. cereus* was defined as Intermediate.

서 분리되는 병원균이며 환경에서 HBL을 생성하는 *B. cereus*가 검출된다고 보고되었다(Senesi와 Ghelardi, 2010). 그렇기에 작물보다 환경에서 높은 비율의 장독소가 검출된 것으로 판단된다. 구토형 식중독을 유발하는 *ces* 유전자를 검정한 결과, 모든 시료에서 유전자가 검출되지 않았다. Park 등(2018)이 부추와 피망, 깻잎, 상추에서 구토형 독소인 *ces* 유전자는 검출되지 않았다고 보고하였다. 본 연구에서 Park 등(2018)이 보고한 결과와 유사한 결과를 나타냈다. 본 연구에서 독소 검정한 고추와 토양, 장갑에서 *hblACD*, *nheABC*가 모두 존재하므로 설사형 식중독을 유발할 가능성이 있기에 재배환경에서 고추로의 교차오염을 예방해야 하며 지속적인 모니터링을 통한 고추의 *B. cereus* 오염 정도를 관리할 필요가 있다.

고추와 재배환경의 항생제 감수성 분석

고추와 고추 재배토양, 장갑에서 분리한 *B. cereus*를 대상으로 16개의 항생제 감수성을 조사한 결과, Table 6-8에서 보는 바와 같다. β-Hemolysis 활성을 갖는 23균주의 항생제 감수성을 확인하였다. 본 논문에서 β-lactams계 항생제 5종(penicillin, oxacillin, cefotaxime, cefoxitin, imipenem)과 비β-lactams계 항생제 11종(gentamicin, streptomycin, rifampin, trimethoprim-sulfamethoxazole, vancomycin, clindamycin, erythromycin, linezolid, chloramphenicol, tetracycline, ciprofloxacin)을 사용하였다. 고추의 항생제 감수성을 분석한 결과는 Table 6과 같다. β-lactams계 항생제에는 내성을 보였지만 cefotaxime항생제에 대해 4균주(36.4%)가 중간 내성을 보였으며 imipenem항생제에 대해 11균주(100%)가 감수성을 나타냈다. 비β-lactams계 항생제에 대해서는 감수성을 보였지만, rifampin (36.4%), trimethoprim-sulfamethoxazole (9.1%), vancomycin (9.1%),

clindamycin (18.2%), erythromycin (9.1%)에서 일부 균주가 중간 내성을 나타냈다. 토양의 항생제 감수성을 분석한 결과는 Table 7과 같다. β-lactams계 항생제에는 내성을 보였지만 cefotaxime항생제에 대해 4균주(50.0%)가 중간 내성을 나타냈으며, imipenem항생제에 대해 8균주(100%)가 감수성을 나타냈다. 비β-lactams계 항생제에 대해서는 감수성을 보였지만, 균주 중 일부분의 균주가 rifampin (37.5%), erythromycin (12.5%)에 대해 중간 내성을 나타냈다. 장갑에 대한 항생제 감수성을 분석한 결과는 Table 8과 같다. β-lactams계 항생제에는 내성을 보였지만 cefotaxime항생제에 대해 2균주(50.0%)가 중간 내성을 나타냈으며, imipenem항생제에 대해 4균주(100%)가 감수성을 나타냈다. 비β-lactams계 항생제에 대해서는 모든 균주가 감수성을 나타냈다. 상추에서 분리한 저온 내성 *B. cereus*의 tetracycline에 대해 내성(11.1%)과 중간 내성(16.7%)을 나타냈으며, rifampin에 대해 내성(22.2%)과 중간 내성(33.3%), clindamycin에 대해 중간 내성(44.4%)을 나타냈다(Park 등, 2020). 부추에서 분리한 *B. cereus*는 tetracycline과 rifampin, tetracycline+rifampin에 대해 각각 6.1, 22.4, 6.1% 내성을 가지며, 깻잎에서 분리한 *B. cereus*는 clindamycin과 rifampin에 대해 2.6, 48.7% 내성을 보였으며 로메인 상추에서 분리한 *B. cereus*는 rifampin에 대해 40.5% 내성을 나타냈다(Park 등, 2018). 이전 연구에 따르면 *B. cereus*는 β-lactamases를 생성하기에 β-lactam 계열 항생제에 대해 내성을 갖으며, aminoglycosides, clindamycin, vancomycin, chloramphenicol, erythromycin에 대해서는 감수성을 갖는다고 보고되었다(Drobniewski, 1993). Rifampin은 넓은 범위 세균에 항생제로 효과적이지만, 일부 *B. cereus*는 rifampin에 대해 내성을 갖는다고 보고하였다(Park 등, 2020). Kim 등(2011b)이 수행한 연구에서 rifampin에서 환경과 들깻잎에서 일부 저항성을 보

Table 7. Antibiotic susceptibility of *B. cereus* isolated from soil

Antimicrobial agent		No. (%) of <i>B. cereus</i> isolates (n=8)		
		Resistance ¹⁾	Intermediate	Susceptible
β-Lactams	Penicillin	8 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	Oxacillin	8 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	Cefotaxime	4 (50.0)	4 (50.0)	0 (0.0)
	Cefoxitin	8 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	imipenem	0 (0.0)	0 (0.0)	8 (100.0)
Non- β-lactams	Gentamicin	0 (0.0)	0 (0.0)	8 (100.0)
	Streptomycin	0 (0.0)	0 (0.0)	8 (100.0)
	Rifampin	0 (0.0)	3 (37.5)	5 (62.5)
	Trimethoprim-sulfamethoxazole	0 (0.0)	0 (0.0)	8 (100.0)
	Vancomycin	0 (0.0)	0 (0.0)	8 (100.0)
	Clindamycin	0 (0.0)	0 (0.0)	8 (100.0)
	Erythromycin	0 (0.0)	1 (12.5)	7 (87.5)
	Linezolid	0 (0.0)	0 (0.0)	8 (100.0)
	Chloramphenicol	0 (0.0)	0 (0.0)	8 (100.0)
	Tetracycline	0 (0.0)	0 (0.0)	8 (100.0)
	Ciprofloxacin	0 (0.0)	0 (0.0)	8 (100.0)

¹⁾After the treatments with antibiotic agents of recommended concentration, if the diameter of inhibition zones against *B. cereus* was greater than that of quality control ranges, the effect of antibiotic agents on *B. cereus* was defined as Susceptible; if the diameter of inhibition zones against *B. cereus* was less than that of quality control ranges, the effect of antibiotic agents on *B. cereus* was defined as Resistance; and if the diameter was between Resistance and Susceptible, the effect of antibiotic agents on *B. cereus* was defined as Intermediate.

Table 8. Antibiotic susceptibility of *B. cereus* isolated from gloves

Antimicrobial agent		No. (%) of <i>B. cereus</i> isolates (n=4)		
		Resistance ¹⁾	Intermediate	Susceptible
β-Lactams	Penicillin	4 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	Oxacillin	4 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	Cefotaxime	2 (50.0)	2 (50.0)	0 (0.0)
	Cefoxitin	4 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	imipenem	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (100.0)
Non- β-lactams	Gentamicin	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (100.0)
	Streptomycin	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (100.0)
	Rifampin	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (100.0)
	Trimethoprim-sulfamethoxazole	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (100.0)
	Vancomycin	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (100.0)
	Clindamycin	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (100.0)
	Erythromycin	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (100.0)
	Linezolid	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (100.0)
	Chloramphenicol	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (100.0)
	Tetracycline	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (100.0)
	Ciprofloxacin	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (100.0)

¹⁾After the treatments with antibiotic agents of recommended concentration, if the diameter of inhibition zones against *B. cereus* was greater than that of quality control ranges, the effect of antibiotic agents on *B. cereus* was defined as Susceptible; if the diameter of inhibition zones against *B. cereus* was less than that of quality control ranges, the effect of antibiotic agents on *B. cereus* was defined as Resistance; and if the diameter was between Resistance and Susceptible, the effect of antibiotic agents on *B. cereus* was defined as Intermediate.

인다고 보고하였다. 환경적 스트레스는 항생제 내성에 영향을 준다고 보고되었다(Poole, 2012). 환경적 요인에 의해 *B. cereus*가 rifampin, trimethoprim-sulfamethoxazole, vancomycin, clindamycin, erythromycin에 대해 일부 중간 내성이 생겨난 것으로 추정되며 정확한 원인에 대해서는 보다 면밀한 분석이 필요하다. 이전 연구와는 다르게 고추와 환경에서 trimethoprim-sulfamethoxazole과 vancomycin, clindamycin, erythromycin에서 중간 저항성을 갖는 균주가 분리되었기에 작물과 재배환경에서 분리한 *B. cereus*균주의 항생제 내성에 대한 연구가 체계적으로 이루어져야 할 것으로 생각된다.

요 약

본 연구는 고추와 토양, 농업용수, 장갑을 대상으로 101개의 시료를 채취하여 위생지표세균(일반세균, 대장균군, 대장균)과 *B. cereus*, *S. aureus*에 대해 정량 분석과 병원성 세균(병원성 *E. coli*, *E. coli* O157:H7, *B. cereus*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp.)에 대해 정성 분석하였다. 고추와 토양, 장갑 시료의 일반세균수는 3.36-7.08 log CFU/g, 대장균군은 2.16-5.14 log CFU/g, 대장균은 1.50-1.54 log CFU/g이었고 농업용수 시료의 대장균군은 17.67-247.05 MPN/100 mL 수준으로 나타났다. 고추와 토양, 농업용수, 장갑의 *B. cereus*는 1.35-6.78 log CFU/g, *S. aureus*는 1.63-2.09 log CFU/g 수준으로 나타났다. 고추와 토양, 농업용수, 장갑 시료에서 병원성 *E. coli*, *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. 등은 검출되지 않았다. 고추와 환경 시료에서 분리한 *B. cereus*의 장독소 유전자와 항생제 감수성을 분석하였다. 고추와 토양, 장갑에서 분리한 *B. cereus*의 *hblACD* 유전자는 각각 54.5, 75, 75% 비율이었으며, *nheABC* 유전자는 각각 72.7, 75, 100% 비율이었다. 고추와 토양, 장갑에서 분리한 *B. cereus*는 β -lactam계 항생제에 대해 저항을 보였지만, cefotaxime에 대해 일부 균주는 중간 내성을 보였고 모든 균주는 imipenem에 대해 감수성을 나타냈다. *B. cereus*는 비 β -lactam계 항생제에 대해 감수성을 나타냈지만, rifampin, trimethoprim-sulfamethoxazole, vancomycin, clindamycin, erythromycin에 대해 일부 균주는 중간 내성을 나타냈다. 본 연구의 결과를 통하여 재배단계 고추의 미생물학적 오염도를 파악할 수 있고, 고추에 오염된 *B. cereus*에 의해 설사형 식중독이 발생 가능성을 파악할 수 있다. 이는 농산물 중 미생물 기준 설정 등에 대한 과학적 근거로써 활용이 가능할 것으로 기대한다. 또한, 고추와 재배환경에서 항생제 저항성 *B. cereus*가 검출되어 농업현장에서 항생제 내성균주 출현을 예방하는 대책이 요구된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원 농업과학기술연구개발사업(과제:PJ0126762019)의 지원을 받아 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

References

Alegbeleye OO, Singleton I, Sant'Ana AS. Sources and contamination routes of microbial pathogens to fresh produce during field cultivation: a review. *Food Microbiol.* 73: 177-208 (2018)

Bottone EJ. *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. *Clin. Microbiol. Rev.* 23: 382-398 (2010)

Centers for Disease Control and Prevention. List of selected multi-

state foodborne outbreak investigations. Available from: <https://www.cdc.gov/foodsafety/outbreaks/multistate-outbreaks/outbreaks-list.html> Accessed Sep. 14, 2021.

Centre for Food Safety and Environmental Hygiene Department. Microbiological guidelines for food for ready-to-eat food in general and specific food items. Centre for Food Safety and Environmental Hygiene Department, Queensway, Hong Kong, pp. 3-8 (2014)

Cho SJ, Jeong SH, Seo YJ, Kim TS, Lee HH, Lee MG, Seo JM, Cho BS, Kim JB. Prevalence and toxin characteristics of *Bacillus cereus* isolated from vegetables in Gwangju metropolitan city. *Korean J. Food Nutr.* 33: 142-148 (2020)

CLSI. M100 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 28th ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA, pp. 54-62 (2018)

Drobniowski FA. *Bacillus cereus* and related species. *Clin. Microbiol. Rev.* 6: 324-338 (1993)

European Food Safety Authority. Opinion of the scientific panel on biological hazards on *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp in foodstuffs. *EFSA J.* 175: 1-48 (2005)

Forsythe SJ. The microbiology of safe food, first ed. Blackwell Science, Malden, MA, USA, pp. 3-5, 78, 194 (2000)

Granum PE, Lund T. *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. *FEMS Microbiol. Lett.* 157: 223-228 (1997)

Health Protection Agency. Guidelines for assessing the microbiological safety of ready-to-eat foods placed on the market. Health Protection Agency, London, UK, pp. 18 (2009)

Hung NB, Yun B, Kim WI, Jung G, Lee T, Roh E, Kim HJ, Lee S, Kim SR. Analysis of the microbial contamination levels in dried red pepper during production. *Korean J. Food Preserv.* 25: 279-287 (2018)

Jeon JH, Park JH. Toxin gene analysis of *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* isolated from cooked rice. *Korea J. Food Sci. Technol.* 42: 361-367 (2010)

Jeong BR, Seo SM, Jeon HJ, Roh EJ, Kim SR, Lee T, Ryu JG, Ryu KY, Jung KS. Evaluation on microbial contamination in red pepper and red pepper cultivated soil in Korea. *J. Food Hyg. Saf.* 33: 347-353 (2018)

Jung J, Oh KK, Seo SM, Yang S, Jung KS, Roh E, Ryu JG. Distribution of foodborne pathogens from garlic chives and its production environments in the southern part of Korea. *J. Food Hyg. Saf.* 35: 477-488 (2020)

Jung KS, Roh EJ, Ryu KY, Kim WI, Park KH, Lee DH, Kim KH, Yun JC, Heu SG. Monitoring of pathogenic bacteria in organic vegetables from Korean market. *Korean J. Soil Sci. Fert.* 45: 560-564 (2012)

Jung KS, Seo SM, Jeon HJ, Kim SR, Kim WI, Kim SR, Roh EJ, Ryu JG, Lee SD. Evaluation on microbial contamination in Chinese cabbage cultivated soil in Korea. *Korean J. Soil Sci. Fert.* 50: 538-546 (2017)

Kim SR, Lee JY, Lee SH, Kim WI, Park KH, Yun HJ, Kim BS, Chung DH, Yun JC, Ryu KY. Evaluation of microbiological safety of lettuce and cultivation area. *J. Food Hyg. Saf.* 26: 289-295 (2011a)

Kim SR, Lee JY, Lee SH, Ryu KY, Park KH, Kim BS, Yoon YH, Shim WB, Kim KY, Ha SD, Yun JC, Chung DH. Profiles of toxin genes and antibiotic susceptibility of *Bacillus cereus* isolated from perilla leaf and cultivation areas. *Korean J. Food Sci. Technol.* 43: 134-141 (2011b)

Kim WI, Gwak MG, Jo AR, Ryu SD, Kim SR, Ryu SH, Kim HY, Ryu JG. Investigation of microbiological safety of on-farm produce in Korea. *J. Food Hyg. Saf.* 32: 20-26 (2017)

Ministry of Environment. Groundwater quality standards. Available from: https://www.me.go.kr/home/web/policy_data/read.do?sessionId=Y7KHTkfTPiE1q6zzjxyj0FhF.mehome1?pagerOffset=950&maxPageItems=10&maxIndexPages=10&searchKey=&searchsearc=&menuId=10264&orgCd=&condition.code=A5&condition.deleteYn=N&seq=157 Accessed Nov. 21, 2021.

Ministry of Food and Drug Safety. Recall of red pepper powder detected with pathogenic bacteria (2014). Available from: <https://impfood.mfds.go.kr/CFBBB02F02/getCntntsDetail?cntntsSn=281338> Accessed Sep. 14, 2021.

- Ministry of Food and Drug Safety. Report of pathogen outbreak of Mexican red pepper contaminated with *Salmonella* spp. in USA (2017). Available from: <https://impfood.mfds.go.kr/CFCAA01F02/getCntntsDetail?cntntsSn=254613> Accessed Sep. 14, 2021.
- Ministry of Food and Drug Safety. Food Code. Available from: https://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01_01.jsp Accessed Sep. 12, 2021.
- Park KM, Jeong M, Park KJ, Koo M. Prevalence, enterotoxin genes, and antibiotic resistance of *Bacillus cereus* isolated from raw vegetables in Korea. *J. Food Protect.* 81: 1590-1597 (2018)
- Park KM, Kim HJ, Jeong M, Koo M. Enterotoxin genes, antibiotic susceptibility, and biofilm formation of low-temperature-tolerant *Bacillus cereus* isolated from green leaf lettuce in the cold chain. *Foods* 9: 249 (2020)
- Park SB, Kwon SC. Microbiological hazard analysis for HACCP system application to red pepper powder. *J. Korea Acad.-Ind. Co. Soc.* 16: 2602-2608 (2015)
- Poole K. Bacterial stress responses as determinants of antimicrobial resistance. *J. Antimicrob. Chemoth.* 67: 2069-2089 (2012)
- RDA. Green & red pepper. 6th ed. Rural Development Administration, Jeonju-si, Korea. pp. 10-14 (2020)
- Senesi S, Ghelardi E. Production, secretion and biological activity of *Bacillus cereus* enterotoxins. *Toxns* 2: 1690-1703 (2010)
- Son KA, Kwon H, Kim JB, Jin YD, Kim TK, Kim CS, Gil GH, Im GJ, Lee KW. The residue characteristics of chlorpyrifos in chilli and sweet peppers. *Korean J. Pest. Sci.* 16: 236-241 (2012)
- WHO. WHO guidelines for assessing quality of herbal medicines with reference to contaminants and residues. World Health Organization, Geneva, Switzerland, pp. 27 (2007)
- Yang S, Seo SM, Roh E, Ryu JG, Ryu KY, Jung KS. Evaluation of microbial contamination in leek and leek cultivated soil in Korea. *J. Food Hyg. Saf.* 34: 534-541 (2019)
- Yeni F, Yavas S, Alpas H, Soyer Y. Most common foodborne pathogens and mycotoxins on fresh produce: a review of recent outbreak. *Crit. Riv. Food Sci.* 56: 1532-1544 (2016)
- Yi TG, Park Y, Choi IY, Park NI. Comparison of metabolite levels and antioxidant activity among pepper cultivars. *Korean J. Breed. Sci.* 51: 326-340 (2019)
- Yun H, Park K, Ryu KY, Kim SR, Yun JC, Kim BS. Effects of LED treatment on microbial reduction and quality characteristics of red pepper powder. *J. Food Hyg. Saf.* 27: 442-448 (2012)