



유통 한약재에 대한 병원성미생물 분포

함희진^{*,**†} · 유인실^{*} · 이집호^{*} · 김수진^{*} · 유영아^{*} · 이은순^{*} · 김희선^{*}

^{*}서울특별시 보건환경연구원 강북농수산물검사소, ^{**}안양대학교 교양대학

Investigation of Pathogenic Microbial Contamination in Medicinal Herb Products on the Market

Hee Jin Ham^{*,**†}, In Sil Yu^{*}, Jib Ho Lee^{*}, Su Jin Kim^{*}, Young Ah Yu^{*}, En Sun Lee^{*} and Hee Sun Kim^{*}

^{*}Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health and Environment, Seoul 02569, Korea.

^{**}Anyang University, College of Liberal Arts, Anyang 14028, Korea.

ABSTRACT

Background: The study was conducted to investigate the distributions of faecal bacteria in commercial oriental medicine herb products.

Methods and Results: A survey was conducted on the microbial contamination levels and antimicrobial specificity of *Bacillus cereus* and other microbes using 106 oriental medicine herb products on sale in Seoul. Pouring and isolation methods such as standard plate counts were used to identify the bacteria. The isolated bacterias included coliforms, *Bacillus* spp., *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Listeria* spp. were identified by using gram staining and an API (analytical profile index) kit. Antimicrobial drugs discs were determined by CLSI (clinical and laboratory standards institute).

Conclusions: The bacterial isolates present in the herbal medicines included 98 coliforms, 45 *Bacillus* spp., 29 *Enterococcus* spp., and 2 *Listeria* spp. Among these, there were nine *Bacillus cereus* strains, one *Enterococcus faecium* strain, and one *Enterococcus faecalis* strain present. The 9 *Bacillus cereus* strains were tested for susceptibility to 36 types of antibiotics products by the disc diffusion method. The strains showed resistance to 13 of these antibiotic products and semi-resistance to 5 antibiotic products. On the basis of these results, any oriental medicine herb product can be assumed to be contain resistant or semi-resistant bacterial strains. Therefore, we suggest prescribing guidelines and special management for the use of antibiotics in farms producing oriental medicine herb products.

Key Words: *Bacillus cereus*, Antimicrobial Specificity, Oriental Medicines

서 언

‘대한민국약전’과 ‘대한민국약전 외 한약 (생약)규격집’에 기재되어 있는 한약재는 602 종에 이른다. 한약재 수급 및 유통관리 규정 (보건복지부 고시 제 2006-69호, 2006.8.5.)에 의하면, ‘한약재’라 함은 ‘한약’ 또는 ‘한약제제’를 제조하기 위한 원료약재를 말하고, ‘규격품’이라 함은 ‘한약재의 제조 및 품질기준, 포장방법, 표시사항 등의 기준에 적합한 한약재’로 정의하고 있다.

일부 살균효과가 있는 가공공정을 처리한 것을 제외하고는 살균과정을 거친 것은 거의 드물기 때문에 한약재에 존재하는 미생물의 오염수준과 주요 미생물의 모니터링 조사 연구는 한약재의 위생관리 및 오염관리에 있어서 중요하다 (Lee and Yoon, 2010). 약용작물의 소비 증가 추세에도 불구하고 원료의 생산, 유통 판매과정에서 재래 유통방식의 잔재가 여전히 사라지지 않고 있어, 세균이나 곰팡이 독소 오염 등으로 인한 약용작물의 미생물학적 안전성에 대한 우려가 제기되고 있는 실정이다 (Kim *et al.*, 2014). 한약재의 생산 가공 유통단계에

[†]Corresponding author: (Phone) +82-31-463-1362 (E-mail) hhj3814@anyang.ac.kr

Received 2017 February 14 / 1st Revised 2017 February 22 / 2nd Revised 2017 March 19 / 3rd Revised 2017 April 11 / Accepted 2017 April 11

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/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

서 적절한 보관과 관리가 되지 않으면 한약재가 미생물에 오염되었을 경우 미생물의 증식에 의한 한약재의 부패나 변질이 가속화되어 한약재의 품질저하와 이에 따른 한약의 약효를 떨어뜨릴 수 있다 (Lee and Yoon, 2010).

약용작물은 주로 한약재로 이용되는데 국가별 한약재의 미생물 허용한도 규격기준을 살펴보면 독일 등 유럽에서는 호기성 세균의 미생물 오염한도를 10^7 CFU/g이하로 제한하고 있으며, 미국도 생약의 미생물 오염한도 기준을 유럽과 동일한 수준으로 제한하고 있다 (Lee and Yoon, 2010; Kim *et al.*, 2016). 일본의 경우에도 한약재에 대한 체계적인 미생물 오염도 실태조사를 바탕으로 유통되는 한약재의 미생물의 허용기준을 설정하였고, 미생물 오염을 막기 위해 한약재를 저온에서 보관하도록 법제화하고 있다 (Lee and Yoon, 2010; Kim *et al.*, 2016). 우리나라의 경우에는 한약 추출물 및 제제에 한정하여 미생물 허용한도 및 시험방법에 대한 식품의약품 안전청 고시 제 2003-20호에 ‘생약추출물을 함유하는 고형제제는 세균의 오염함도를 10^5 CFU/g 이하로 규격화하고는 있지만 원생약 분말을 한 개의 성분 이상 함유하는 고형제제는 세균 및 진균 시험을, 생균제제는 세균시험을 제외한다’ 라고 고시되어 있다 (Lee and Yoon, 2010). 하지만, 한약제제에 대한 미생물 한도기준이 있지만 한약재의 원재료에 대한 기준규격은 제도화되어 있지 않는 실정이므로 약용작물에 대한 기초연구를 바탕으로 과학적 근거자료를 수집함으로써 관리기준을 설정하는 것이 필요하다 (Kim *et al.*, 2016).

약용작물에 대한 안전성관련 연구는 중금속이나 농약 잔류 같은 화학적 위해요소 위주로 수행하여 왔으며 생물학적 위해요소에 관한 연구는 미흡한 실정이다 (Park and Cho, 2010). 약용작물의 대부분은 수확 후 열악한 제조환경으로 인하여 흙이 묻어있는 상태로 보관 또는 유통되어 토양 전염균에 오염될 가능성이 높다 (Park and Cho, 2010). 특히 상온에서 습기가 묻어있는 상태로 보관할 경우 *Bacillus cereus* 같은 토양 전염성 식중독에 오염될 수 있다 (Park and Cho, 2010).

본 연구는 유통 한약재에 대한 식중독균의 분포와 식중독에 대한 항생제 감수성 유무를 알아봄으로서 안전한 한약재의 유통을 위한 역학적인 기초자료를 제공하고자 수행하였다.

재료 및 방법

1. 시험 재료

2015년 11월부터 2016년 8월까지 유통 규격품 한약재 106건을 수집하여 식중독균 분포조사를 위한 시험재료로 사용하였다.

2. 시약 및 기기

세균 배양에 사용된 standard plate count agar, 대장균 배양에 사용된 desoxycholate agar, lactose broth, EMB agar,

바실러스 균 배양에 사용된 tryptic soy broth, 포도알균 배양에 사용된 baird parker agar는 Oxoid (Hampshire, England)에서 구입하여 사용하였고, 바실러스 균 배양에 사용된 MYP agar, 리스테리아 분리 동정에 사용된 fraser broth, oxford listeria selective agar는 Oxoid (Hampshire, England)에서 구입하여 사용하였으며, API 20E kit, API CHB kit, API strep kit, API staph kit, API listeria kit는 Biomerieux (Marcy l'Etoile, France), 장구균 배양에 사용된 enterococcus agar는 Becton, Dickinonson and Company (Franklin Lakes, NJ, USA)에서 각각 구입하여 사용하였다.

3. 시험에 사용할 시료 원액 조제

시료 10 g을 채취하여 잘게 부수거나 썰어서 자른 후 멸균 백에 넣고 90 ml 0.85% saline을 첨가한 다음 bag mixer 400 (Interscience, St. Nom la Bretèche, France)를 사용하여 시료를 균질화한 다음 원액시료로 사용하였다 (Lee and Yoon, 2010).

4. 총세균수의 측정

시료원액을 6부 튜브에서 계대희석한 후 petridishes에 희석 배수별로 1 ml 씩 넣고 미리 준비한 멸균된 standard plate count agar를 20 ml 씩 부어 pouring method에 의한 총세균수 정량시험을 수행하였다 (Lee and Yoon, 2010).

5. 대장균군수 (coliforms)의 측정

시료원액을 6부 튜브에서 계대희석한 후 petridishes에 희석 배수별로 1 ml 씩 넣고 미리 준비한 멸균된 desoxycholate agar를 20 ml 씩 부어 pouring method에 의한 대장균군수 정량 시험을 수행하였다 (Shim *et al.*, 2013).

6. 대장균군 (coliforms) 분리 동정

시료원액 1 ml 를 9 ml lactose broth에 넣어 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 24 시간 배양하여 증균하고 durham tube에 가스발생을 확인한 후 1 백금 이를 취하여 EMB agar에 도말 접종하여 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 18-24 시간 배양하였으며, 대장균군으로 의심되는 모든 형태의 집락을 골라 tryptic soy agar에서 순수 분리하고 gram staining을 실시하여 그람음성 무아포성 간균을 확인한 후 API 20E kit를 이용하여 균을 동정하였다 (Shim *et al.*, 2013).

7. 바실러스균 (*Bacillus* spp.) 분리 동정

시료원액 1 ml 를 9 ml tryptic soy broth에 넣어 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 24 시간 배양하여 증균하였고, 증균된 배지에서 1 백금 이를 취하여 egg yolk 5-10%와 *Bacillus cereus* selective supplement를 첨가한 MYP agar에 도말하여 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 18-24 시간 배양하였으며, 바실러스균으로 의심되는 집락을

선별하여 tryptic soy agar에서 순수 분리하고 그람 염색을 실시하여 그람양성 간균을 확인한 후 API CHB kit와 API 20E kit를 함께 이용하여 균을 동정하였다 (Shim *et al.*, 2013; Song *et al.*, 2014).

8. 장구균 (*Enterococcus spp.*) 분리 동정

시료원액 1 ml를 9 ml tryptic soy broth에 넣어 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 48 시간 배양하여 증균하였고, 증균된 배지에서 1 백금이를 취하여 enterococcus agar에 도말하여 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 18-24 시간 배양하였으며, 의심되는 집락을 선별하여 tryptic soy agar에서 순수 분리하고 그람 염색을 실시, 확인하여 API strep kit를 이용하여 균을 동정하였다 (Han *et al.*, 2011).

9. 포도알균 (*Staphylococcus spp.*) 분리 동정

시료원액 1 ml를 9 ml tryptic soy broth에 넣어 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 24 시간 배양하여 증균하였고, 증균된 배지에서 1 백금이를 취하여 egg yolk 5-10%를 첨가한 baird parker agar에 도말하여 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 18-24 시간 배양하였으며, 의심되는 집락을 선별하여 tryptic soy agar에서 순수 분리하고 그람 염색을 실시, 확인하여 API staph kit를 이용하여 균을 동정하였다 (Kim *et al.*, 2016).

10. 리스테리아 균 (*Listeria spp.*) 분리 동정

시료원액 1 ml를 9 ml fraser broth에 넣어 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 48 시간 배양하여 증균하였고, 증균된 배지에서 1 백금이를 취하여 oxford listeria selective agar에 도말하여 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 18-24 시간 배양하였으며, 의심되는 집락을 선별하여 tryptic soy agar에서 순수 분리하고 그람 염색을 실시, 확인하여 API listeria kit를 이용하여 균을 동정하였다 (Shim *et al.*, 2013).

11. 항생제 디스크 diffusion 법에 의한 항생제 감수성 시험

항생제 디스크 diffusion법 (antibiotics disc diffusion method)에 의해 BD (Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA) 제품으로 실시하였고 감수성은 clinical and laboratory standards institute에 방법에 의하여 판명하였다 (CLSI, 2007). 항생제 감수성 시험은 분리한 *Bacillus cereus* 균주 9 주에 대해 각각 실시하였고 사용한 antimicrobial drugs discs는 amikacin (AK30), amoxicillin/clavulanic acid (AMC), ampicillin (AMP10), ampicillin/sulbactam (SAM20), bacitracin(B10), carbenicillin (CAR100), cefamandole (MA30), cefoxitin (FOX30), ceftriazone (CRO30), cephaloxin (KF30), chloramphenicol (C30), ciprofloxacin (CIP5), clindamycin (DA2), colistin sulphate (CT10), compound sulphonamide (S3-300), doxycycline

(DO30), erythromycin (E15), gentamicin (CN10), kanamycin (K30), levofloxacin (LEV5), nalidixic acid (NA30), neomycin (N10), nitrofurantoin (F300), novobiocin (NV30), oleandomycin (OL15), oxolinic acid (OA2), penicillin G (P10), polymyxin B (PB300), rifampicin (RD5), streptomycin (S10), sulphomethoxazole/trimethoprim (SXT25), tetracycline (TE30), ticarcillin (TIC75), tobramycin (TOB10), trimethoprim (W5), 그리고 vancomycin (VA30) 등 36종류를 사용하였다 (Song *et al.*, 2014; Han *et al.*, 2011, Choi *et al.*, 2013; Ryu *et al.*, 2011).

결과 및 고찰

1. 총세균수와 대장균군

유통 한약재 총 106건에 대해 총세균수와 대장균군수를 조사한 결과 홍화, 두충 그리고 산조인에서는 일반 세균과 대장균군이 오염되어 있지 않았고, 택사, 당귀, 국화, 진피, 산사, 치자, 맥문동, 연자육, 작약, 길경, 정향 그리고 건강에서는 일반 세균은 오염되었으나 대장균군은 오염되지 않았으며, 오가피, 우슬, 석창포, 행인, 황기, 마인, 결명자, 육계, 천궁, 토사자, 박하 그리고 갈근 등에서는 일반세균과 대장균군이 모두 오염되어 있는 것으로 나타났다 (Table 1).

이는 한약재 등의 항균활성에 대한 연구 즉, 맥문동, 산수유, 국화 등의 추출물들에 대한 항균 특성 (Han *et al.*, 2011; Seo *et al.*, 1999), 오미자 추출물의 항균활성 (Park and Cho, 2010), 작약 추출물의 항균 활성 (Park and Cho, 2010), 치자에 대한 항균활성 (Ryu *et al.*, 2011)에 관한 연구 결과 각각 항균활성을 나타내었다는 결과들과 일치하였다. 또한, 일반세균과 대장균군의 오염이 없었던 홍화, 두충 그리고 산조인에 대한 항균활성 연구가 필요할 것으로 사료된다.

또한, 총 106건에 대해 총세균수와 대장균군수의 검출 범위를 조사한 결과 우슬은 $4.1 \times 10^4 - 8.1 \times 10^4$ 와 $0 - 8.0 \times 10^3$ 로, 석창포는 $3.9 \times 10^3 - 3.2 \times 10^6$ 와 $3.0 \times 10^4 - 9.1 \times 10^3$ 로, 맥문동은 $0 - 9.6 \times 10^3$ 와 $0 - 0$ 으로 각각 나타났고, 황기는 $0 - 8.4 \times 10^4$ 와 $0 - 7.8 \times 10^4$ 로, 두충은 $0 - 0$ 과 $0 - 0$ 으로, 산조인도 $0 - 0$ 과 $0 - 0$ 으로 각각 나타나 2010년 한약재에서 조사한 결과 (Lee and Yoon, 2010)인 황기, 두충, 산조인에서는 총세균수가 적게 나온 반면, 상대적으로 총세균수가 많은 한약재는 석창포, 우슬, 맥문동 등이었다는 보고와 대체로 일치하였으나 황기의 경우에는 본 연구 결과와 다소 차이를 보였다. 한편, 총세균수와 대장균군수의 검출빈도를 보았을 때 품목별 세균이 검출되지 않은 시료가 많은 것으로 나타나 한약재의 미생물 오염은 한약재가 오염될 수 있는 여러 환경, 즉 제조과정 중 CCP (critical control point, 중점관리지점)에서의 관리문제가 가장 크므로, 한약재가 어떤 것인지 보다는 개별 한약재를 더욱 집중 관리

Table 1. Bacterial count distribution of medicinal herb products on the market.

Sample names (latines)	Korean names	Numbers of samples	Total aerobic bacteria (cfu/g)		Total coliform (cfu/g)	
			ICD ¹⁾	Range	ICD	Range
Acanthopanax Root Bark	오가피	5	3 / 5	0 - 1.1 × 10 ⁶	3 / 5	0 - 1.1 × 10 ⁴
Achyranthis Radix	우슬	4	4 / 4	4.1 × 10 - 8.1 × 10 ⁴	3 / 4	0 - 8.0 × 10 ³
Acori Gramineri Rhizoma	석창포	3	3 / 3	3.9 × 10 ³ - 3.2 × 10 ⁶	3 / 3	3.0 × 10 - 9.1 × 10 ³
Alismatis Rhizoma	택사	4	2 / 4	0 - 1.6 × 10 ³	0 / 4	0 - 0
Angelica Gigantis Radix	당귀	3	1 / 3	0 - 1.4 × 10 ³	0 / 3	0 - 0
Armeniaca Semen	행인	4	2 / 4	0 - 7.4 × 10 ³	2 / 4	0 - 4.0 × 10
Astragali Radix	황기	8	5 / 8	0 - 8.4 × 10 ⁴	5 / 8	0 - 7.8 × 10 ⁴
Carthami Flos	홍화	4	0 / 4	0 - 0	0 / 4	0 - 0
Cassiae Semen	결명자	3	3 / 3	2.7 × 10 ² - 1.8 × 10 ⁴	1 / 3	0 - 1.1 × 10 ³
Chrysanthemi Flos	국화	3	3 / 3	8.0 × 10 - 2.8 × 10 ³	0 / 3	0 - 0
Cinnamoni Cortex Spissus	육계	4	4 / 4	6.2 × 10 ² - 8.0 × 10 ⁵	2 / 4	0 - 1.8 × 10 ²
Citri Unshii pericarpium	진피	4	2 / 4	0 - 1.6 × 10 ³	0 / 4	0 - 0
Cnidii Rhizoma	천궁	9	5 / 9	0 - 9.5 × 10 ²	3 / 9	0 - 5.0 × 10 ²
Crataegi Fructus	산사	5	2 / 5	0 - 2.2 × 10 ²	0 / 5	0 - 0
Eucommiae Cortex	두충	2	0 / 2	0 - 0	0 / 2	0 - 0
Gardeniae Fructus	치자	5	1 / 5	0 - 1.1 × 10 ²	0 / 5	0 - 0
Liriodis Tuber	백문동	4	1 / 4	0 - 9.6 × 10 ³	0 / 4	0 - 0
Menthae Herba	박하	3	2 / 3	0 - 2.6 × 10 ⁶	1 / 3	0 - 2.1 × 10 ³
Nelumbinis Semen	연자육	3	2 / 3	0 - 4.6 × 10 ²	0 / 3	0 - 0
Paeoniae Radix	작약	6	4 / 6	0 - 4.8 × 10 ⁴	0 / 6	0 - 0
Platycodi Radix	길경	3	1 / 3	0 - 2.5 × 10 ⁵	0 / 3	0 - 0
Puerariae Radix	갈근	6	3 / 6	0 - 8.8 × 10 ³	1 / 6	0 - 2.1 × 10 ³
Syzigii Flos	정향	2	1 / 2	0 - 1.8 × 10 ²	0 / 2	0 - 0
Schisandrae Fructus	오미자	3	0 / 3	0 - 0	0 / 3	0 - 0
Zingiberis Rhizoma	건강	3	3 / 3	9.6 × 10 ² - 3.4 × 10 ³	0 / 3	0 - 0
Zizyphi Semen	산조인	3	0 / 3	0 - 0	0 / 3	0 - 0

¹⁾ICD; Incidence.

하여할 필요가 있을 것으로 사료된다.

2. 속균별 세균 분리 결과

균 분리 시험 결과, 리스테리아속균 2 주, 바실러스속균 45 주, 장알균속균 29 주, 그리고 대장균속균 98 주 등 총 174 주의 균을 분리하였다 (Table 2). 174 주의 세균 분리 결과를 살펴보면, 대장균속균 56.3% (98/174), 바실러스속균 25.9% (45/174), 장구균속균 16.7% (29/174), 포도알균 속균 0.0% (0/174), 그리고 리스테리아속균 1.1% (2/174) 순으로 분리율을 나타내었다 (Table 2).

*Escherichia coli*는 대장균속 98건 가운데 1건으로 나타나 전체 대장균속의 1.0% (1/98)에 불과하였고, *Enterococcus faecalis*는 1건으로 장알균 29건 가운데 3.5% (1/29), *Enterococcus faecium*도 1건으로 장알균 29건 가운데 3.5% (1/29)로 각각 나타났으며, *Bacillus cereus*는 바실러스속균 45건 가운데 9건으로 무려 20.0% (9/45)를 차지하여 한약재에

흔히 발견되는 식중독균임을 알 수 있었다 (Table 2). 이는 2010년 한약재에서 검출된 호기성 세균 가운데 *Bacillus cereus*가 전체 50.4% (59/117)라는 보고 (Lee and Yoon, 2010)보다는 적었으나 다른 호기성 세균들에 비해 많이 나타났다. 이렇게 *Bacillus cereus*가 많이 나타나는 것은 일반적으로 *Bacillus* 속균들이 토양에서 유래하여 그 대부분이 포자를 형성함으로 고열에서도 균이 사멸하지 않는 특성을 갖고 있기 때문으로 보이며 (Lee and Yoon, 2010), 특히 이들이 한약의 가공과정에서 혼입되게 되면 식중독 유발 가능성도 배제할 수 없다 (Lee and Yoon, 2010). 또한, 2014년 보고 (Kim et al., 2014)에 의하면 황기를 제조하는 농가의 손수레에서도 *Bacillus cereus*가 검출되었고, 황기를 생산하는 작업자의 손에서도 *Bacillus cereus*가 검출되었다고 보고함으로 *Bacillus cereus*가 한약재 가공과정에서 세척을 통한 저감화 방안 등 가공처리 과정에 대한 특별한 주의가 필요한 것으로 판단된다.

그 외 많이 분리된 균들로는 대장균속의 경우 *Enterobacter*

Table 2. Coliforms strains, *Bacillus* spp., *Enterococcus* spp. and *Listeria* spp. strains from medicinal herb product on the market.

Type	Identified bacterial strains / Strain number (Total = 147)	% (isolates/total aerobic bacteria counts)		
Coliforms	<i>Enterobacter cloacae</i>	28		
	<i>Pantoea</i> spp.	17		
	<i>Serratia ficaria</i>	13		
	<i>Cronobacter</i> spp.	9		
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp. <i>pneumoniae</i>	5		
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp. <i>ozaenae</i>	5		
	<i>Escherichia vulneris</i>	5		
	<i>Acinetobacter baumannii/calcoaceticus</i>	4		
	<i>Enterobacter amnigenus</i>	2	56.3% (98/174)	
	<i>Serratia rubidaea</i>	2		
	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	2		
	<i>Escherichia coli</i>	1		
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	1		
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	1		
	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	1		
	<i>Pseudomonas luteola</i>	1		
	<i>Enterobacter amnigenus</i>	1		
Bacillus spp.	<i>Bacillus mycoides</i>	23		
	<i>Bacillus cereus</i>	9		
	<i>Bacillus circulans</i>	3		
	<i>Bacillus megaterium</i>	3		
	<i>Bacillus coagulans</i>	2		25.9% (45/174)
	<i>Bacillus non-reactive</i>	2		
	<i>Bacillus lentus</i>	1		
	<i>Geobacillus stearothermophilus</i>	1		
<i>Bacillus licheniformis</i>	1			
Enterococcus spp.	<i>Leuconostoc</i> spp.	14		
	<i>Aerococcus viridans</i>	7		
	<i>Globicatella sanguinis</i>	6	6.7% (29/174)	
	<i>Enterococcus faecium</i>	1		
	<i>Enterococcus faecalis</i>	1		
<i>Listeria</i> spp.	<i>Listeria ivanovii</i>	2		1.1% (2/174)

cloacae, *Pantoea* spp., *Serratia ficaria*, *Cronobacter* spp. 등이었으며, 바실러스균의 경우 *Bacillus mycoides*, *Bacillus circulans*, *Bacillus megaterium* 등이었고, 장알균 가운데에는 *Leuconostoc* spp., *Aerococcus viridans*, *Globicatella sanguinis* 등이 많이 나타났다 (Table 2). 이는 2010년 한약재에서 검출된 호기성 세균 가운데 *Bacillus megaterium* 이 10.2% (12/117)라고 보고 (Lee and Yoon, 2010)한 것과 비교할 때 6.7% (3/45)를 나타낸 이번 결과와 유사하였고, *Bacillus subtilis* 는 9.4% (11/117)로 보고하여 이번 연구결과 검출되지 않은 결과와는 대조를 이루어 이에 대한 추가 연구가 필요할 것으로 사료되는데 이는 고초균 (*Bacillus subtilis*)의 경우 건조된 한약재에서 나올 가능성이 있기 때문인데 이

는 대부분의 유통한약재가 토양유래라는 점 때문이다. 속균별 세균 분리 결과를 통해, 실험을 수행한 여러 병원성 미생물 중에서 *Bacillus cereus*가 국내 유통 한약재의 위생지표에 대한 지표세균으로 가장 적합함을 알 수 있다. 일반적으로 유통 한약재에 발생하는 유해세균은 생산, 가공, 저장 단계 등 다양한 유입경로로 발생할 수 있다. 본 연구에 사용한 시료는 서울특별시 동대문구 약령시에서 유통되는 규격품 한약재만을 검사하였으며, 시료는 국내산 37건, 수입산 69건 (중국산 55건, 베트남산 6건, 인도네시아산 5건, 인도산 3건) 등 106건이었고, 제조업체는 G명품제약, N제약 (주), D제약 (주), M생약 (주), S생약 (주), SK (주), Y약초도매시장 (주), (주) KS PHARM, (주) N생약, (주) D한방제약, (주) D허브, (주) Y풀잎제약, (주) JY세상,

Table 3. Antimicrobial discs used for diffusion susceptibility test of 9 strains *Bacillus cereus* isolated from medicinal herb product on the market.

Antimicrobial drugs	Initial	Con ¹⁾ (μ g)	Sup ²⁾ (%)	Inter ³⁾ (%)	Resis ⁴⁾ (%)
Amikacin	AK30	30	100.0	0.0	0.0
Amoxicillin/clavulanic acid	AMC30	30	0.0	0.0	100.0
Ampicillin	AMP10	10	0.0	0.0	100.0
Ampicillin sulbactam	SAM20	20	0.0	0.0	100.0
Bacitracin	B10	10units	0.0	0.0	100.0
Carbenicillin	CAR100	100	0.0	0.0	100.0
Cefamandole	MA30	30	0.0	0.0	100.0
Cefoxitin	FOX30	30	22.2	0.0	77.8
Ceftriazone	CRO30	30	0.0	11.1	88.9
Cephalothin	KF30	30	0.0	0.0	100.0
Chrolamphenicol	C30	30	44.4	33.3	22.3
Ciprofloxacin	CIP5	5	66.7	33.3	0.0
Clindamycin	DA2	2	55.6	11.1	33.3
Colistine sulphates	CT10	10	0.0	0.0	100.0
Compound sulphonamides	S3-300	30	55.6	0.0	44.4
Doxycycline	DO30	30	55.6	33.3	11.1
Erythromycin	E15	15	77.8	11.1	11.1
Gentamicin	CN10	10	100.0	0.0	0.0
Kanamycin	K30	30	33.3	66.7	0.0
Levofloxacin	LEV5	5	100.0	0.0	0.0
Nalidixic acid	NA30	30	0.0	77.8	22.2
Neomycin	N10	10	0.0	100.0	0.0
Nitrofrantoir	F300	300	0.0	33.3	66.7
Novobiocin	NV30	30	0.0	0.0	100.0
Oleandomycin	OL15	15	88.9	11.1	0.0
Oxolinic acid	OA2	2	100.0	0.0	0.0
Penicillin G	P10	10 units	0.0	0.0	100.0
Polymyxin B	PB300	300 units	0.0	44.4	55.6
Rifampicin	RD5	5	0.0	0.0	100.0
Streptomycin	S10	10	88.9	11.1	0.0
Sulphamethoxazole/trimethoprim	SXT25	25	11.1	0.0	88.9
Tetracycline	TE30	30	0.0	22.2	77.8
Ticarcillin	TIC75	75	0.0	0.0	100.0
Tobramycin	TOB10	10	66.7	33.3	0.0
Trimethoprim	W5	5	0.0	0.0	100.0
Vancomycin	VA30	30	100.0	0.0	0.0

¹⁾Con; Concentration, ²⁾Sup; Susceptible, ³⁾Inter; Intermediate, ⁴⁾Resis; Resistant.

(주) JH제약, (주) GO허브, (주) P무약, (주) HS제약, (주) H팜, (주) H제약, C제약, W제약 (주) 등 21개의 업체들이었다.

3. 항생제 감수성 검사결과

분리한 9 주의 *Bacillus cereus*에 대해 항생제 감수성 검사를 실시한 결과 amoxicillin/clavulanic acid (AMC), ampicillin (AMP10), ampicillin/sulbactam (SAM20), bacitracin (B10), carbenicillin (CAR100), cefamandole (MA30), cephalothin

(KF30), colistine sulfates (CT10), novobiocin (NV30), penicillin G (P10), rifampicin (RD5), ticarcillin (TIC75), trimethoprim (W5) 등 13류에 대하여는 내성 (resistance)을 나타내었고, cefoxitin (FOX30), ceftriazone (CRO30), nitrofrantoir (F300), polymyxin B (PB300), sulphomethoxazole/trimethoprim (SXT25), tetracycline (TE30) 등 6류에 대하여는 중등도의 내성 (semi-resistance)을 나타내었으며 (Table 3), amikacin (AK30), gentamicin (CN10), levofloxacin (LEV5), oxolinic

acid (OA2), vancomycin (VA30) 등 5류에 대하여는 감수성 (susceptibility)을 나타내었고, ciprofloxacin (CIP5), clindamycin (DA2), compound sulfonamides (S3-300), doxycycline (DO30), erythromycin(E15), oleandomycin (OL15), streptomycin (S10), tobramycin (TOB10) 등 8류에 대하여는 중등도 감수성 (semi-susceptibility)을 나타내었다 (Table 3).

19종류의 항생제들에 대한 내성결과에 대해서는 한약재들에서 분리된 바실러스 세레우스 균주들이 인체 혹은 분변 유래일 가능성을 배제할 수 없음을 나타내고 있어 이들에 대한 추가 연구가 필요할 것으로 생각된다.

REFERENCES

- Choi EJ, Jang SR, Kang OJ and Bang WS.** (2013). Antimicrobial activity of *Psoralea corylifora*, *Schisandra chinensis*, and *Spatholobus suberectus* extracts. Korean Journal of Food Science and Technology. 45:495-500.
- Clinical and Laboratory Standards Institute(CLSI).** (2007). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: Approved standard-ninth edition. Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne, PA, USA. CLSI document M2A9.
- Han YS, Kang SJ, Pack SA, Lee SS and Song HJ.** (2011). Antibacterial activities of flower tea extracts against oral bacteria. Korean Journal of Food and Cookery Science. 27:21-28.
- Kim YR, Ha JH, Kim SR, Park YC, Kim KC, Kim WI, Ryu SH and Kim HY.** (2016). Investigation of microbial contamination in *Liriope platyphylla* at post harvest environments. Journal of Food Hygiene Safety. 31:99-106.
- Kim YR, Lee KA, Kim SR, Kim WI, Ryu SH, Ryu JG and Kim HY.** (2014). Microbial hazard analysis of *Astragalus membranaceus* Bunge for the good agricultural practices. Journal of Food Hygiene Safety. 29:181-188.
- Lee JS and Yoon YS.** (2010). Studies on bacterial and fungal contamination in the herbal medicines. Journal of the Korea Academia-Industrial Cooperation Society. 11:4826-4832.
- Park KD and Cho SH.** (2010). Antimicrobial characteristics of *Paeonia lactiflora* Pall. extract tested against food-putrefactive microorganisms. Korean Journal of Food Preservation. 17:706-711.
- Ryu JY, Park YJ and Kim HS.** (2011). Antibacterial activity of fermented Korean medicine against multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*. Korean Society for Biotechnology and Bioengineering Journal. 26:543-551.
- Seo KI, Lee SW and Yang KH.** (1999). Antimicrobial and antioxidative activities of corni fructus extracts. Korean Journal of Food Preservation. 6:99-103.
- Shim WB, Kim JS, Kim SR, Park KH and Jung DH.** (2013). Microbial contamination levels of ginseng and ginseng products distributed in Korean markets. Journal of Food Hygiene and Safety. 28:319-323.
- Song MO, Hwang YO, Kim SJ, Ryu SH, Jeong HW, Park JE, Kim DM, Park GY and Choi SM.** (2014). Inhibitory effect of antimicrobial food against *Bacillus cereus*. Journal of Food and Hygiene Safety. 29:211-216.