

급식실 실내공기에서 분리된 황색포도상구균과 바실러스 세레우스의 독소 유전자 및 항생제 내성

오도경 · 조아현 · 김찬영 · 정은선 · 김중범*
순천대학교 식품공학과

Toxin Gene and Antibiotic Resistance of *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* Isolated from Indoor Air in Cafeteria

Do-Gyung Oh, Ah-Hyeon Jo, Chan-Yeong Kim, Eun-Sun Jeong, Jung-Beom Kim*
Department of Food Science and Technology, Suncheon National University, Suncheon, Korea

(Received November 28, 2021/Revised December 10, 2021/Accepted December 10, 2021)

ABSTRACT - In this study, toxin gene and antibiotic resistance of food poisoning strains isolated from indoor air in the cafeteria were analyzed to prevent food poisoning. *Staphylococcus aureus* (16 strains) and *Bacillus cereus* (37 strains) isolated from indoor air in child care center were tested. The toxin genes of *S. aureus* and *B. cereus* were detected by PCR assay. The antimicrobial susceptibility test followed the disc diffusion method described by the Clinical and Laboratory Standard Institute. The *seg* and *sei* toxin genes were detected in 11 of 16 *S. aureus* strains (68.6%). The *nheA* and *nheB* toxin genes were detected in 37 *B. cereus* strains. In this study, a total of 12 toxin gene patterns of *B. cereus* were found, among which the *nheA-nheB-nheC* toxin gene was found to be the most frequent pattern. The result of the antimicrobial susceptibility test of *S. aureus* revealed 93.8% and 87.5% resistance to ampicillin and penicillin antibiotics, but methicillin resistance *S. aureus* and vancomycin resistance *S. aureus* were not detected. All 37 *B. cereus* tested in this study were resistant to ampicillin and penicillin antibiotics. Based on the result of this study, it was judged that regular ventilation and air quality management were necessary to prevent food poisoning caused by *S. aureus* and *B. cereus* contaminated in the indoor air of child care centers.

Key words: Food-borne pathogens, Toxin characteristics, Antibiotic resistance, Indoor air, Child care center

우리나라 합계 출산율은 2000년 약 1.5명에서 2020년 0.8명으로 감소하였다¹⁾. 이러한 현상은 양육에 대한 부담과 교육비용 증가에 기인한 것으로, 저출산 현상이 사회구조적 문제로 대두되고 있다^{2,3)}. 이에 따라 정부에서는 영유아를 대상으로 하는 직장어린이집을 확대하고 교육의 질적 수준 향상과 운영시간 확대를 추진하고 있다^{4,5)}. 이러한 노력으로 어린이집 보육 아동 수가 2000년 686,000명에서 2020년 1,244,396명으로 증가하였고⁶⁾ 직장어린이

집 수는 2010년 401곳에서 2020년 1,216곳으로 증가하였다⁷⁾. 또한 보육시설 운영시간이 확대됨에 따라 급식을 제공하는 어린이집이 증가하고 있다⁸⁾.

보육시설은 다수 인원을 대상으로 동시에 급식을 제공하기 때문에 한 번의 오염으로 대규모 식중독이 발생할 수 있다⁹⁾. 2021년 1월부터 9월까지 국내 식중독 발생 현황을 살펴보면, 총 식중독 발생 건수 256건 중 학교 및 집단급식소가 111건(43.36%), 음식점이 91건(35.55%), 가정집이 1건(0.39%)으로 학교 및 집단급식소가 가장 많았으며, 환자수도 2,327명으로 가장 높게 보고되고 있다¹⁰⁾. 또한 2020년 7월 전국 보육시설 급식소 위생 상태를 점검한 결과 1,063곳이 지적받은 것으로 보고되었다¹¹⁾. 부산지역 어린이집에서는 원아와 직원 36명이 고열, 구토, 설사 등의 식중독 증상을 호소하였고, 안산지역 어린이집에서는 118명의 환자가 발생하는 등 보육시설 단체급식의 안전성이 사회적 문제로 대두되고 있다¹²⁾.

*Correspondence to: Jung-Beom Kim, Department of Food Science and Technology, SunChon National University 255 Jungangro, Suncheon, Jeonnam, 57933 Korea
Tel: +82-61-750-3259, Fax: +82-61-750-3208
E-mail: okjbkim@sunchon.ac.kr

Copyright © The Korean Society of Food Hygiene and Safety. All rights reserved. The Journal of Food Hygiene and Safety is an Open-Access journal 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.

Yoon 등¹³⁾은 집단급식소 식중독 발생 원인이 공기 중 낙하 세균, 교차오염으로 인한 조리도구 오염, 작업자의 부주의 등이라고 보고하였으며, 집단급식소의 주 오염원은 종사자, 식자재, 실내공기 등으로 보고되고 있다¹⁴⁾. Ryu 등¹⁵⁾의 보고에 의하면 실내환경에 존재하고 있는 미생물은 식중독, 알레르기, 호흡기 질환을 발생시킨다. 특히 보육시설은 면역력이 완전하게 형성되지 않은 영유아를 대상으로 운영되기 때문에 실내 환기 등이 적절하지 않으면 낙하 세균으로 인한 식품 안전사고가 발생할 수 있어 어린이집 실내공기에 대한 위생관리가 필요하다¹⁶⁾. 그러나 현재까지의 연구를 살펴보면 학교급식 식재료의 미생물학적 안전성 평가¹⁷⁾, 집단급식소의 가공 단계별 미생물 위해 분석¹⁸⁾, 조리 종사자의 위생지식 평가^{19,20)} 등 식재료, 조리 단계의 미생물학적 안전성과 조리종사자에 대한 위생수준 평가에 집중되어 있고, 급식실 실내공기^{16,21)}의 식중독 유발 가능성에 대한 연구는 미약한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 보육시설 실내공기에서 분리된 식중독 균주의 독소 유전자 분포와 항생제 내성을 분석하여 보육시설에서 식중독 발생 시 적절한 치료를 위한 기초자료를 제공하고자 하였다.

Materials and Methods

실험균주

실험에 사용된 식중독 미생물은 93곳의 보육시설 급식실 실내공기에서 분리되어 순천대학교 식품위생안전실험

실에 보관되어 있던 *Staphylococcus aureus* 16주, *Bacillus cereus* 37주를 대상으로 하였다. 보관 균주는 Tryptic soy broth (TSB, MBcell Ltd., Seoul, Korea)에 접종하여 35°C에 18시간 배양한 후 Tryptic soy agar (TSA, MBcell Ltd., Seoul, Korea)에 희석 도말하여 35°C에 18시간 배양하여 실험에 사용하였다.

식중독 미생물 확인

*S. aureus*와 *B. cereus*는 Nutrient agar (NA, MBcell, Seoul, Korea)에 도말 후 35°C에 18시간 배양하였다. 각각 배양된 *S. aureus*와 *B. cereus*는 API Staph (BioMerieux, Marcy-l'Étoile, France)와 Vitek BCL (BioMerieux) card를 이용해 생화학적으로 재동정하여 확인하였다.

독소 유전자 검출 PCR

*S. aureus*와 *B. cereus*의 독소 유전자 확인 실험을 위하여 확인된 식중독 균주를 TSB 5 mL에 접종한 후 35°C에서 24±2시간 배양하였다. 배양된 균액 1 mL를 micro tube에 취한 후 원심분리기(Smart R17, Hanil scientific, Gimpo, Korea)를 이용하여 12,000 rpm에서 10분간 원심분리를 하였다. 분리된 상층액을 제거한 후 멸균증류수 1 mL를 가하고 Vortex mixer (SI-0246A, New York, NY, USA)로 균질화하여 12,000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 이 과정을 2회 반복한 후 멸균증류수 1 mL를 micro tube에 가하여 99°C Heating Block (HB-96D, Daihan scientific, Wonju, Korea)에서 10분간 가열하였다. 가열된 micro tube

Table 1. Primer sequences for the PCR of *Bacillus cereus* toxin genes

Target gene	Sequence (5'-3')	Products size (bp)	Reference
<i>nheC</i>	GCG GAT ATT GTA AAG AAT CAA AAT GAG GT	557	Seong et al. (2008) ³³⁾
	TTT CCA GCT ATC TTT CGC TGT ATG TAA AT		
<i>nheB</i>	GTG CAG CAG CTG TAG GCG GT	328	
	ATG TTT TTC CAG CTA TCT TTC GCA AT		
<i>nheA</i>	ATT ACA GGG TTA TTG GTT ACA GCA GT	475	
	AAT CTT GCT CCA TACT CT CTT GGA TGC T		
<i>hblD</i>	GAA ACA GGG TCT CAT ATT CT	1,018	
	CTG CAT CTT TAT GAA TAT CA		
<i>hblC</i>	CCT ATC AAT ACT CTC GCA A	695	
	TTT CCT TTG TTA TAC GCT GC		
<i>hblA</i>	GCA AAA TCT ATG AAT GCC TA	884	
	GCA TCT GTT CGT AAT GTT TT		
<i>entFM</i>	AAA GAA ATT AAT GGA CAA ACT CAA ACT CA	596	
	GTA TGT AGC TGG GCC TGT ACG T		
<i>cytK</i>	GTA ACT TTC ATT GAT GAT CC	505	Park et al. (2015) ³⁴⁾
	GAA TAC TAA ATA ATT GGT TTC C		

를 다시 12,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 식중독균의 주형 DNA로 사용하였다. *S. aureus* 독소 유전자는 PowerChek™ *Staphylococcus aureus* toxin ID PCR Kit (Kogene Biotech, Seoul, Korea)를 이용하였으며, Polymerase Chain Reaction (PCR) 조건은 initial denaturation 94°C 2 min 후 denaturation 94°C 60 sec, annealing 54°C 60 sec, extension 72°C 120 sec를 35 cycle 반복한 후 final extension 72°C 5min으로 제조사가 권장하는 방법에 따라 실험하였다. *B. cereus* 독소 유전자 확인 실험에 사용된 PCR 조건과 primer sequences는 Table 1에 나타내었다. PCR 반응이 완료된 후 독소 유전자 확인을 위해 1.2% agarose gel에 PCR product 5 µL를 loading 후 110 V에서 60분간 전기영동 하였다. 전기영동 결과 독소 유전자 유무를 판정하기 위해 특이적 밴드 형성 여부를 확인하였다.

항생제 감수성 실험

*S. aureus*와 *B. cereus*의 항생제 감수성 실험은 Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI)의 디스크 확산법에 따라 실험하였다²²⁾. 사용된 항생제 디스크는 Oxoid (Basingstoke, UK)의 clindamycin (DA, 2 µg), chloramphenicol (C, 30 µg), vancomycin (Va, 30 µg), tetracycline (TE, 30 µg), rifampin (RD, 5 µg), trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT, 1.255 µg/23.75 µg), penicillin (P, 10 U), gentamicin (CN,

10 µg), oxacillin (OX, 1 µg), ciprofloxacin (CIP, 5 µg), cefotetan (CTT, 30 µg), cefepime (FEP, 30 µg), ampicillin (AM, 10 µg), erythromycin (E, 15 µg), imipenem (IPM, 10 µg)으로 실험하였다. *B. cereus*의 항생제 감수성 기준은 설정이 되어 있지 않아 *S. aureus* 기준을 적용하여 판단하였다.

Results and Discussion

*S. aureus*와 *B. cereus* 독소 유전자

보육시설 실내공기에서 분리된 *S. aureus* 16균주의 독소 유전자 실험 결과는 Table 2에 나타내었다. 16 균주 중 11 균주(68.6%)에서 Staphylococcal enterotoxin g (*seg*)와 Staphylococcal enterotoxin i (*sei*) 독소 유전자가 검출되었고, Staphylococcal enterotoxin a (*sea*), Staphylococcal enterotoxin b (*seb*), Staphylococcal enterotoxin c (*sec*), Staphylococcal enterotoxin d (*sed*), Staphylococcal enterotoxin e (*see*), Staphylococcal enterotoxin h (*seh*), Staphylococcal enterotoxin j (*sej*)는 모두 불검출되었다. 보육시설 실내공기에서 분리된 *B. cereus* 37 균주의 독소 유전자 실험 결과는 Table 3에 나타내었다. 실험 결과 16 균주(43.2%)에서 *hblA*가 검출되었고, *hblC*는 8 균주(21.6%), *hblD*는 2 균주(5.4%), *nheC*는 30 균주(81.1%), *entFM*은 18 균주(48.6%), *cytK*는 8 균주(21.6%)에서 검출되었으며, *nheA*와 *nheB*는 모든 분리

Table 2. Detection of toxin genes in *Staphylococcus aureus* isolated from indoor-air in child care center

Isolates	Toxin gene								
	<i>sea</i>	<i>seb</i>	<i>sec</i>	<i>sed</i>	<i>see</i>	<i>seg</i>	<i>seh</i>	<i>sei</i>	<i>sej</i>
S 24	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S 27	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S 32	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S 36	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S 50	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S 69	-	-	-	-	-	+ ¹⁾	- ²⁾	+	-
S 70	-	-	-	-	-	+	-	+	-
S 83	-	-	-	-	-	+	-	+	-
S 89	-	-	-	-	-	+	-	+	-
S 90	-	-	-	-	-	+	-	+	-
S 92	-	-	-	-	-	+	-	+	-
S 97	-	-	-	-	-	+	-	+	-
S 111	-	-	-	-	-	+	-	+	-
S 117	-	-	-	-	-	+	-	+	-
S 127	-	-	-	-	-	+	-	+	-
S 141	-	-	-	-	-	+	-	+	-
Total	0	0	0	0	0	11(68.6)	0	11(68.6)	0

¹⁾ +: Detected.

²⁾ -: Not detected.

Table 3. Detection of toxin genes (%) in *Bacillus cereus* isolated from indoor-air in child care center

Isolates	Toxin gene							
	<i>hblA</i>	<i>hblC</i>	<i>hblD</i>	<i>nheA</i>	<i>nheB</i>	<i>nheC</i>	<i>entFM</i>	<i>cytK</i>
1	-	-	-	+ ¹⁾	+	+	- ²⁾	+
3	-	-	-	+	+	-	-	-
5	+	-	-	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+	+	+	+
9	-	-	-	+	+	+	-	-
10	-	-	-	+	+	+	-	-
11	-	-	-	+	+	+	-	-
13	-	-	-	+	+	-	-	-
15	+	-	-	+	+	+	+	-
17	-	-	-	+	+	+	-	-
18	-	-	-	+	+	+	-	-
19	-	-	-	+	+	+	-	-
21	+	-	-	+	+	+	+	+
22	-	-	-	+	+	-	-	-
23	-	-	-	+	+	-	-	-
25	+	-	-	+	+	+	+	-
26	-	-	-	+	+	+	-	-
27	-	-	-	+	+	+	-	-
28	+	-	-	+	+	+	+	+
29	-	-	-	+	+	+	-	-
31	+	-	-	+	+	+	+	-
32	-	-	-	+	+	+	-	-
33	+	-	-	+	+	+	+	+
34	+	+	-	+	+	+	+	+
35	+	+	-	+	+	-	+	-
38	+	+	-	+	+	+	+	-
39	-	-	-	+	+	+	-	-
40	+	-	-	+	+	-	+	-
41	-	-	-	+	+	+	+	-
44	-	-	-	+	+	-	-	-
45	-	-	-	+	+	+	+	-
46	+	+	-	+	+	+	+	-
49	-	-	-	+	+	+	-	-
50	+	+	-	+	+	+	+	-
51	+	+	-	+	+	+	+	-
52	-	-	-	+	+	+	-	-
Total	16(43.2)	8(21.6)	2(5.4)	37(100)	37(100)	30(81.1)	18(48.6)	8(21.6)

¹⁾ +: Detected.²⁾ -: Not detected.

균주(100%)에서 검출되었다. *B. cereus* 37 균주의 독소 유전자 패턴은 Table 4에 나타내었다. *nheA-nheB* 2종류의 독소 유전자를 보유한 *B. cereus*가 5 균주(13.5%), *nheA-nheB-*

nheC 3종류의 독소 유전자를 보유한 *B. cereus*가 13 균주(35.1%), *nheA-nheB-nheC-entFM* 4종류의 독소 유전자를 보유한 *B. cereus*가 2 균주(5.4%), *nheA-nheB-nheC-cytK* 4

Table 4. Toxin genes profile of *Bacillus cereus* isolated from indoor-air in child care center

Pattern	Toxin gene								No of strain (%)
	<i>hblA</i>	<i>hblC</i>	<i>hblD</i>	<i>nheA</i>	<i>nheB</i>	<i>nheC</i>	<i>entFM</i>	<i>cytK</i>	
I	-	-	-	+ ¹⁾	+	- ²⁾	-	-	5 (13.5)
II	-	-	-	+	+	+	-	-	13 (35.1)
III	-	-	-	+	+	+	+	-	2 (5.4)
IV	-	-	-	+	+	+	-	+	1 (2.7)
V	+	-	-	+	+	-	+	-	1 (2.7)
VI	+	-	-	+	+	+	+	-	3 (8.1)
VII	+	+	-	+	+	-	+	-	1 (2.7)
VIII	+	-	-	+	+	+	+	+	3 (8.1)
IX	+	+	-	+	+	+	+	-	4 (10.8)
X	+	-	-	+	+	+	+	+	1 (2.7)
XI	+	+	-	+	+	+	+	+	1 (2.7)
XII	+	+	+	+	+	+	+	+	2 (5.4)

¹⁾ +: Detected.

²⁾ -: Not detected.

종류의 독소 유전자를 보유한 *B. cereus*가 1 균주(2.7%), *hblA-nheA-nheB-entFM* 4종류의 독소 유전자를 보유한 *B. cereus*가 1 균주(2.7%), *hblA-hblC-nheA-nheB-entFM* 5종류의 독소 유전자를 보유한 *B. cereus*가 1균주(2.7%), *hblA-nheA-nheB-nheC-entFM* 5종류의 독소 유전자를 보유한 *B. cereus*가 3 균주(8.1%), *hblA-nheA-nheB-nheC-entFM-cytK* 6종류의 독소 유전자를 보유한 *B. cereus*가 3 균주(8.1%), *hblA-hblB-nheA-nheB-nheC-entFM* 6종류의 독소 유전자를 보유한 *B. cereus*가 4 균주(10.8%), *hblA-nheA-nheB-nheC-entFM-cytK* 6종류의 독소 유전자를 보유한 *B. cereus*가 1 균주(2.7%), *hblA-hblB-nheA-nheB-nheC-entFM-cytK* 7종류의 독소 유전자를 보유한 *B. cereus*가 1 균주(2.7%), *hblA-hblB-hblC-nheA-nheB-nheC-entFM-cytK* 8종류의 독소 유전자를 보유한 *B. cereus*가 2 균주(5.4%)로 나타났다. *B. cereus* 독소 유전자 패턴은 총 12개로 나타났으며 *nheA-nheB-nheC* 독소 유전자가 가장 중요한 패턴으로 나타났다.

S. aureus 균은 식품에 오염되어 증식하며 독소를 생산해 독소형 식중독을 발생시킨다²³⁾. *S. aureus*가 분비하는 독소는 식염수와 물에 녹는 특성이 있으며, 위장관의 소화효소에도 안정적이기 때문에 소화기관에서 독소 활성이 유지할 수 있다²³⁾. *S. aureus* 독소 유전자 실험 결과 *seg*와 *sei*가 동시에 검출되었다는 Park 등²⁴⁾의 보고와 본 실험의 결과가 일치하였다. *S. aureus*는 *seg*와 *sei* 독소를 동시에 보유하는 경우가 대부분이며 *Staphylococcus* 성홍열과 Human staphylococcus toxin shock의 원인이 될 수 있다고 보고되고 있다²⁵⁾. *B. cereus*는 토양 상재균으로 토양을 비롯한 하수, 먼지 등 자연계에 널리 분포하여 농산물 등의 원재료를 통해 식품에 오염되기 용이하다²⁶⁾. *B. cereus*

는 감염형 식중독과 독소형 식중독을 모두 일으킬 수 있으며, 설사형 식중독을 일으키는 장독소는 HBL (*hblA*, *hblC*, *hblD*), NHE (*nheA*, *nheB*, *nheC*), *cytK* (*cytK*), *entFM* (*entFM*) 등이 있고, 독소형 식중독을 일으키는 *Celullied (ces)*가 있다²⁷⁾. 본 실험에 사용된 *B. cereus* 37 균주 모두 설사형 장독소를 하나 이상 보유하고 있었다. 이러한 결과는 *B. cereus* 178 균주 모두에서 설사형 장독소가 검출되었다는 Han²⁸⁾의 보고와 일치하였다. 또한 국내에서 분리된 *B. cereus* 균주는 HBL, NHE 설사형 장독소 중 한 가지 이상의 독소를 생산한다는 Kim 등²⁹⁾의 보고와 일치하였다. 이러한 결과를 종합하여 볼 때 보육시설 실내공기에 오염된 *S. aureus*와 *B. cereus*에 의한 식중독 발생을 예방하기 위하여 주기적인 환기와 공기 질 관리가 필요한 것으로 판단되었다.

*S. aureus*와 *B. cereus* 항생제 감수성

보육시설 실내공기에서 분리된 *S. aureus* 16 균주의 항생제 감수성을 실험 결과는 Table 5에 나타내었다. 실험 결과 AM과 P 항생제에 93.8%, 87.5% 내성을 나타내었고, CTT 항생제에 68.8%가 중간내성으로 나타내었다. 또한 CN, FEP, C, TE, E 항생제에 각각 81.2%, 62.5%, 87.5%, 81.3%, 81.2% 감수성을 나타냈었고, CIP, IPM, OX, RD, DA, Va 항생제에 100% 감수성을 나타내었다. 보육시설 실내공기에서 분리된 *B. cereus* 37 균주의 항생제 감수성 실험 결과는 Table 6에 나타내었다. 실험 결과 AM, P 항생제에 100%, FEP, SXT 항생제에 97.3% 내성을 나타내었다. 또한 CN, CIP, IPM 항생제에 100%, C, TE, E, DA 항생제에 각각 94.6%, 67.6%, 62.2%, 89.2% 감수성을 나

Table 5. Antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* (n=16) isolated from indoor-air in child care center

Antimicrobial agent	<i>Staphylococcus aureus</i> (%)		
	Resistance	Susceptibility	Intermediate
Clindamycin	0	100.0	0
Chloramphenicol	12.5	87.5	0
Vancomycin	0	100.0	0
Tetracycline	12.5	81.3	6.2
Rifampin	0	100.0	0
Trimethoprim / sulfamethoxazole	0	100.0	0
Penicillin	87.5	12.5	0
Gentamicin	18.8	81.2	0
Oxacillin	0	100.0	0
Ciprofloxacin	0	100.0	0
Cefotetan	6.2	25.0	68.8
Cefepime	0	62.5	37.5
Ampicillin	93.8	6.2	0
Erythromycin	18.8	81.2	0
Imipenem	0	100.0	0

Table 6. Antibiotic resistance of *Bacillus cereus* (n=37) isolated from indoor-air in child care center

Antimicrobial agent	<i>Bacillus cereus</i> (%)		
	Resistance	Susceptibility	Intermediate
Clindamycin	0	89.2	10.8
Chloramphenicol	2.7	94.6	2.7
Tetracycline	0	67.6	32.4
Rifampin	86.5	5.4	8.1
Trimethoprim / sulfamethoxazole	97.3	2.7	0
Penicillin	100.0	0	0
Gentamicin	0	100.0	0
Ciprofloxacin	0	100.0	0
Cefotetan	29.7	37.9	32.4
Cefepime	97.3	2.7	0
Ampicillin	100.0	0	0
Erythromycin	2.7	62.2	35.1
Imipenem	0	100.0	0

타내었다.

집단식중독 발생 시 면역력이 취약한 영유아의 조기 치료를 위하여 적절한 항생제 사용이 필수적이다²¹⁾. 그러나 항생제 오남용으로 인해 내성균이 발생하여 사회적 문제로 대두되고 있다³⁰⁾. *B. cereus*의 항생제 감수성 기준은 설정이 되어 있지 않아 *S. aureus* 기준²²⁾을 적용하여 판단하였다. *B. cereus* 항생제 내성 실험 결과 AM과 P 항생제 등 β -lactam계 항생제에 내성을 나타내어 Kang 등⁸⁾의 보고와 일치하였다. *S. aureus*에 대한 항생제 실험 결과, AM

항생제에 내성이 93.8%로 가장 높게 나타났다. 이러한 결과는 *S. aureus* 39 균주에 대해 실험한 결과 AM 항생제 내성이 가장 높았다는 Lee 등³¹⁾과의 보고와 일치하는 결과이었다. 또한 penicillin 항생제 내성이 87.5%로 높게 나타났다는데, 이러한 결과도 Kim 등³²⁾의 보고와 유사한 항생제 내성율이었다. 전 세계적으로 가장 위험한 항생제 내성균으로 methicillin resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA)와 vancomycin resistance *Staphylococcus aureus* (VRSA)가 보고²¹⁾되고 있다. 실험에 사용된 *S. aureus* 16

균주 모두 oxacillin과 vancomycin에 감수성을 나타내어 MRSA와 VRSA는 검출되지 않았다.

국문요약

본 연구에서는 보육시설 실내공기에서 분리된 식중독 균주의 독소 유전자 분포와 항생제 내성을 분석하여 보육시설 실내공기에 의한 식중독 발생을 사전 예방하고 식중독 발생 시 적절한 치료를 위한 기초자료를 제공하고자 하였다. 어린이집 실내공기에서 분리된 *Staphylococcus aureus* 16주, *Bacillus cereus* 37주를 실험대상으로 하였다. *S. aureus*와 *B. cereus* 독소 유전자는 PCR 방법으로 검출하였다. 항생제 감수성 실험은 Clinical and Laboratory Standard Institute의 디스크 확산법에 따라 실험하였다. *S. aureus* 16 균주 중 11 균주(68.6%)에서 *seg*와 *sei* 독소 유전자가 검출되었다. *B. cereus* 37 균주 모두에서 *nheA*와 *nheB* 독소 유전자가 검출되었다. *B. cereus* 독소 유전자 패턴은 총 12개로 나타났으며 *nheA-nheB-nheC* 독소 유전자가 가장 중요한 패턴으로 나타났다. *S. aureus* 16 균주의 항생제 감수성실험 결과 ampicillin과 penicillin 항생제에 93.8%, 87.5% 내성을 나타내었으나 methicillin resistance *Staphylococcus aureus*와 vancomycin resistance *Staphylococcus aureus*는 검출되지 않았다. *B. cereus* 37 균주의 항생제 감수성 실험 결과 ampicillin과 penicillin 항생제에 100% 내성을 나타냈다. 이러한 결과를 종합하여 볼 때 보육시설 실내공기에 오염된 *S. aureus*와 *B. cereus*에 의한 식중독을 발생을 예방하기 위하여 주기적인 환기와 공기 질 관리가 필요한 것으로 판단되었다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Do-Gyung Oh <https://orcid.org/0000-0002-9753-2534>
 Ah-Hyeon Jo <https://orcid.org/0000-0001-7189-7837>
 Chan-Yeong Kim <https://orcid.org/0000-0003-1531-4734>
 Eun-Sun Jeong <https://orcid.org/0000-0003-3308-6632>
 Jung-Beom Kim <https://orcid.org/0000-0002-0290-2687>

References

1. Statistics Korea, (2021, October 30). Total fertility rate and Mock fertility rate by age. Retrieved from https://kosis.kr/statHtml/statHtml.do?orgId=101&tblId=DT_1B81A21&vw_cd=&list_id=&scrId=&seqNo=&lang_mode=ko&obj_var_id=&itm_id=&conn_path=E1&docId=0028401690&markType=
2. Kim, J.S., Kim, J.B., Prevalence and Toxin genes of food-borne pathogens isolated from toothbrush in child care center. *J. Food Hyg. Saf.*, **30**, 242-428 (2015).
3. Lee, Y.M., The different view point of child education center food service program between the parents and the teachers. *Kor. J. Comm. Nutri.*, **10**, 654-667 (2005)
4. Seol, H.R., Park, H.S., Park, K.H., Park, A.K., Ryu, K., Microbiological evaluation of foods and kitchen environments in childcare center and kindergarten foodservice operations. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **38**, 252-260 (2009).
5. Seol, S.M., Lee, T.S., Shim, M.S., Jang, G.C., Spatial inequality of the distribution of daycare centers and consideration of countermeasures : The case of daycare centers in Jeollanam-do. *J. Korean Ass. Regional Geo.*, **21**, 716-727 (2015).
6. Statistics Korea, (2021, October 30). Current status of childcare children by age. Retrieved from https://kosis.kr/statisticsList/statisticsListIndex.do?menuId=M_01_01&vwcd=MT_ZTITLE&parmTabId=M_01_01&outLink=Y&entrType=#content-group
7. Statistics Korea, (2021, november 9). Current status of workplace daycare centers. Retrieved from https://kosis.kr/statisticsList/statisticsListIndex.do?menuId=M_01_01&vwcd=MT_ZTITLE&parmTabId=M_01_01&outLink=Y&entrType=#content-group
8. Kang, J.Y., Park, E.J., Lee, H.C., Park, M.J., Oh, D.G., Kim, C.Y., Jeong, E.S., Lee, Y.J., Kim J.B., Evaluation of microbiological safety of knives and cutting boards in child care centers. *Korean J. Food & Nutr.*, **33**, 702-709 (2020).
9. Hong, S.H., The microbiological assessment and identification of food utensils and food service facilities in school. *J. Food Hyg. Saf.*, **29**, 189-194 (2014).
10. Ministry of Food and Drug Safety, (2021, October 30). Food poisoning statistics(By cause facility/year). Retrieved from https://www.foodsafetykorea.go.kr/portal/healthyfoodlife/foodPoisoningStat.do?menu_no=4425&menu_grp=MENU_NEW02
11. Ministry of Food and Drug Safety, (2021, October 30). More than 1,000 cases of poor hygiene were detected at kindergartens and daycare centers nationwide. Retrieved from https://www.foodsafetykorea.go.kr/portal/board/boardDetail.do?menu_no=2859&bbs_no=bbs082&ntctxt_no=1087197&menu_grp=MENU_NEW05
12. Busan Metropolitancity, (2021, October 30). Group food poisoning at daycare centers in Busan... "The reason is Salmonella". <https://www.busan.go.kr/nbtnewsBU/1442763>
13. Yoon, M.H., Kim, J.B., Oh, H.S., Prevalence of microbiological contamination on water purifiers at lunchroom in child care center. *Korean J. Food Cook. Sci.*, **28**, 599-604 (2012).
14. Kim, J.G., Park, J.Y., Kim, J.S., A study on the sanitary condition of kitchens in food court/cafeterias - An observation on seasonal variations. *J. Environ. Health Sci.*, **38**, 118-127 (2012).
15. Ryu, J.U., A study on the measurement and evaluation of IAQ in school classroom. MA thesis, Chungju University,

- Chungju, Korea (2008).
16. Kim, J.B., Kim J.C., Toxin gene profiles and toxin production ability of food-borne pathogens isolated from indoor air from lunchrooms at child care centers. *J. Environ. Health Sci.*, **38**, 510-519 (2012).
 17. Kim, Y.H., Jun, S.Y., Ryu, K., Lee, Y.K., Microbiological quality and safety during delivery of food ingredients supplied to elementary schools : Vegetables and processed food. *Korean J. Food Preserv.*, **17**, 586-594 (2010).
 18. Gil, H.K., Microbiological analysis of foods in cafeteria during preparation steps. MA thesis, Korea University, Seoul, Korea (2015).
 19. Han, J.S., Lee, Y.E., Employees' sanitation practice level and sanitation knowledge at school foodservice operations in Chungbuk province. *Korean journal of human ecology*, **20**, 637-649 (2011).
 20. Hong, W.S., Yim, J.M., Evaluation of foodservice employees' sanitary performance and sanitary education in middle and high schools in Seoul. *J. Korean Diet. Assoc.*, **15**, 113-127 (2009).
 21. Kim, J.B., Kim J.C., Antibiotic resistance of food-borne pathogens isolated from an indoor environment of a lunchroom in a child care center. *J. Environ. Health Sci.*, **38**, 415-423 (2012).
 22. Clinical and Laboratory Standards Institute, (2021, October 30). CLSI M100-ED29:2019 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 29th Edition. Retrieved from <http://em100.edaptivedocs.net/GetDoc.aspx?doc=CLSIM100ED29:2019&sbssok=CLSI M100 ED29:2019 TABLE 2A>
 23. Kim, S.R., Cha, M.H., Chung, D.H., Shim, W.B., Profiles of toxin genes and antibiotic susceptibility of staphylococcus aureus isolated from perilla leaf cultivation area. *J. Food Hyg. Saf.*, **30**, 51-58 (2015).
 24. Park, C., Seong, C.N., The correlation between roxin genotype and antibiotic resistance in methicillin resistant *staphylococcus aureus* isolated from clinical specimen of intensive care unit. *Korean J. Clin. Lab. Sci.*, **48**, 202-209 (2016).
 25. Cho, Y.S., Lee, J.Y., Lee, M.K., Shin, D.B., Kim, D.H., Park, K.M., Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* pathogenic factors isolated from various foods in Korea. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **43**, 648-654 (2011).
 26. Kim, T.S., Kim, M.J., Kang, Y.M., Oh, G.N., Choi, S.Y., Oh, M.S., Yang, Y.S., Seo, J.M., Ryu, M.G, Kim, E.S., Ha, D.R., Cho, B.S., Molecular characterization and toxin profile of *Bacillus cereus* strains isolated from ready-to-eat foods. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **46**, 334-340 (2014).
 27. Park, S.H., Gwon, W.G., Lee, I.S., Kim, E.J., Hwang, S.J., Koo, H.S., Na, Y.R., Kim, B.J., Park, E.H., Lee, M.O., Distribution and toxin gene characteristic of *Bacillus cereus* isolated from foods in Busan. *J. Food Hyg. Saf.*, **35**, 219-224 (2020).
 28. Han, M.K., A study of toxin characterization and genetic relationship between *Bacillus cereus* strains isolated in Korea. MA thesis, Chung-Ang University, Seoul, Koera (2014).
 29. Kim, J.B., Kim, J.M., Kim, S.Y., Kim, J.H., Park, Y.B., Choi, N.J., Oh, D.H., Comparison of enterotoxin production and phenotypic characteristics between emetic and enterotoxic *Bacillus cereus*. *J. Food Prot.*, **73**, 1219-1224 (2010).
 30. Park, J.G., Antibiotic susceptibility patterns of *Staphylococcus aureus* and MRSA isolated from the nasal cavity of kindergartners. MA thesis, Catholic University of Pusan, Busan, Korea (2007).
 31. Lee, M.S., Han, H.S., Jung, J.S., Identification of bacterial strains adhered to human scalp hair and antimicrobial susceptibility. *Korean J. Microbiol.*, **41**, 47-52 (2005).
 32. Kim, J.S., Lee, J.H., Kim, J.H., Choi, J.M., Kim, S.R., Ha, S.D., Kim, K.S., Lee, K.H., Kim, M.G., Kim, K.Y., Kim, C.H., Chung, D.H., Characteristics of Enterotoxigenic genes and Antibiotic Susceptibility of *Staphylococcus aureus* Isolated from Tomato Farms in Western Gyeongnam. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **38**, 295-303 (2006).
 33. Seong, S.J., Lim, J.S., Lee, K.G., Lee, S.J., Hong, K.W., Toxin Gene Profiling of *Bacillus cereus* Food Isolates by PCR. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.*, **51**, 263-268 (2008).
 34. Park, K.M., Kim, H.J., Jeong, M.C., Koo, M.S., Occurrence of Toxigenic *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* in Doenjang, a Korean Fermented Soybean Paste. *J. Food Prot.*, **79**, 605-612 (2016).