

Bacillus cereus에 의한 대규모 집단식중독 원인 분석

이현아 · 고영은 · 이다연 · 윤경아 · 김현정 · 김옥 · 박준혁*
충청남도보건환경연구원

Analysis of the Causes of a Large Food Poisoning Outbreak Attributable to *Bacillus cereus*

Hyunah Lee, Youngeun Ko, Dayeon Lee, KyungA Yun, Hyeonjeung Kim, Ok Kim, Junhyuk Park*
Chungcheongnam-do Institute of Health and Environment Research, Hongseong, Korea

(Received December 15, 2023/Revised March 28, 2024/Accepted March 29, 2024)

ABSTRACT - This study was performed to establish the epidemiological features of a food poisoning outbreak that occurred in the cafeteria of a company in Chungcheongnam-do Province, Korea, in October 2020, and to recommend measures to prevent similar outbreaks. Twenty-one patients with acute gastroenteritis, three food handlers, seven cooking utensils, and 12 preserved food samples were subjected to viral and bacterial analyses based on procedures described in the “Manual for Detection of Foodborne Pathogens at Outbreaks”. Among 135 individuals who had been served the meals, 21 (15.6%) showed symptoms of nausea and vomiting within an hour of consuming the food. *Bacillus cereus* were isolated from 11 (52.4%) of the 21 patients, one food service employee, one item of cooking ware, and 12 preserved food samples. In addition, we confirmed the toxin genes *CER*, *nheA*, and *entFM* from the isolated *B. cereus* strains. Pulsed-field gel electrophoresis results indicated that all of the isolated *B. cereus* strains were closely related, with the exception of strains obtained from one patient and one sample of preserved food. These findings provide evidence to indicate that the isolated *B. cereus* originated from preserved foods and an unhygienic eating environment. This outbreak highlights that the provision of food in non-commercial food systems must be thoroughly managed. In addition, it emphasizes the necessity for the correct and timely identification of causal pathogens for tracing the cause of food poisoning outbreaks, and the need to preserve food under appropriate conditions. To prevent similar cases of food poisoning, it is necessary to investigate cases based on an epidemiological approach and share the findings.

Key words: Group food poisoning, *Bacillus cereus*, Emetic toxin

국내 식중독 발생은 식생활의 변화와 외식 및 단체급식의 증가, 지역 간 교류 증가, 기후 변화 등으로 점차 증가하고 있으며, 발생 양상과 원인이 다양해지고 규모도 커지고 있는 실정이다¹⁾. 2022년 식품안전나라 식중독 통계 자료를 살펴보면 지난 10년 동안 식중독 환자는 141,056명 발생하였다. 그 중 학교급식에서 전체 5,664건 중 787

건 58,919명(41.8%)이 발생하였고, 학교 외 급식에서 511건 18,856명(13.4%)이 발생하여 집단급식에 의한 식중독 환자가 전체의 55.1%로 절반 이상을 차지하였다. 또한 집단급식의 경우 식중독 발생 건당 환자가 평균 59.9명의 환자가 발생하여, 집단급식 이외의 음식점 등 발생 환자 14.5명보다 약 4.1배 많은 것으로 보고되어 있다^{2,3)}.

집단급식은 다수의 인원에게 동일한 음식을 제공하기 때문에 한 번의 오염으로도 빠르게 확산되어 대규모 식중독이 발생할 가능성이 있다. 급식소에서의 식중독 발생은 크게 조리환경, 식재료, 조리종사자에 의한 오염을 주요원인으로 들 수 있으며, 이러한 위생에 대한 부주의는 특히 교차 오염에 의한 식중독 위험성을 증가시킨다^{4,5)}. 음식을 조리할 때 다양한 접촉이 불가피하며, 이러한 접촉은 식재료, 조리기구, 설비, 조리종사자 등 다양한 요소로 인해 위

*Correspondence to: Junhyuk Park, Chungcheongnam-do Institute of Health and Environment Research, 8, Hongyegongwon-ro, Hongbuk-eup, Hongseong-gun, Chungcheongnam-do 32254, Korea
Tel: +82-41-635-6940, Fax: +82-41-635-7942
E-mail: junhyuk@korea.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.

생관리가 부족할 경우 교차오염을 발생시킨다. 특히, 부적절한 음식보관 온도는 적은 수의 미생물이라도 급격하게 증식하여 위해를 발생시킬 수 있다. 따라서 집단급식 식중독 발생을 줄이기 위해서는 위와 같은 요인들을 철저히 관리해야 한다^{6,7)}.

식중독의 주요 원인 병원체는 norovirus, pathogenic *Escherichia Coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* 등 감염형이 있고, 이외 *Bacillus cereus*와 같이 열저항성과 독소를 생성하고 그로 인해 식품의 안전을 위협하는 독소형이 있다⁸⁾. *B. cereus*에 의한 식중독은 최근 10년간 132건으로 총 2,249명의 환자가 발생하였으며 이는 전체 식중독 발생의 2.3% 정도이다. 그러나 *B. cereus*는 토양, 물 등 자연환경에 흔하게 존재하고, 익히지 않고 섭취하는 식품에 널리 분포하여 식품의 보존기간과 관련되어 문제를 발생시키는 균이다. *B. cereus* 감염증은 세균성 식중독으로 독소에 따라 설사형과 구토형으로 구분된다. 설사형은 장내에서 *B. cereus*가 생산한 장독소에 의해 발생하며, 8-16시간 잠복기를 거친 후 복통, 설사, 메스꺼움 등을 유발한다. 구토형은 쌀과 관련된 식품과 밀접하게 관련되어 있으며, 잠복기가 0-5시간으로 비교적 짧고, 구토, 오심, 위경련 등을 일으킨다⁹⁾. 구토형 장독소는 열에 강한 내성을 가지고 있어 121°C에 90분간 가열하여도 활성이 유지되는 특징을 갖는다^{10,11)}.

본 연구는 2020년 10월 중 충청남도 내 집단급식에서 발생한 대규모 집단식중독의 원인을 분석하여 이와 유사한 집단 식중독 발생에 대한 효율적인 예방자료로 사용하고자 한다.

Materials and Methods

대상

2020년 10월 23일(금) 충청남도 소재 집단급식소에서 집단적으로 설사, 구토 등 급성의 장염증상을 보이는 환자들이 발생하였고 최초 증상보고는 12시 정각이었다. 동일한 물이나 음식을 섭취하는 공동 노출자는 135명으로 이들 중 환례 정의에 부합하는 유증상자는 21명이었고, 이들에 대하여 수인성·식품매개질환 역학조사 지침에 따라 수인성·식품매개 감염병 역학조사서를 작성하였다. 유증상

자 본인들이 작성한 역학조사서를 바탕으로 역학분석을 실시하였다.

전처리

유증상자 21명과 조리종사자 3명, 조리기구 등 주방환경 표면 도말검체 6건, 음용수 1건, 보존식 12건에 대한 식중독 세균 및 바이러스 검사를 실시하였다. 검체 전처리와 식중독 병원체 시험은 식품공전 미생물시험법에 따라 실시하였다¹²⁾. 유증상자 및 종사자는 직장도말 2개 이상의 검체를 채취하여 멸균된 0.1 M의 phosphate buffered saline (PBS, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) 3 mL로 잘 섞은 후 Centrifuge 5804R (Eppendorf, Hamburg, Germany)를 이용하여 1,650 xg에서 10분간 원심분리하고, 그 상층액을 시료로 사용하였다. 보존식 시료는 가능한 많은 양을 취하여 멸균백에 넣은 후, 식염수로 10배 희석하고 진탕하여 세균배양에 사용하였다. 음용수는 멸균된 여과장치에 0.45 µm 멤브레인 필터(Whatman Ltd, Clifton, NJ, USA)를 이용하여 1 L를 여과하고, 여과지를 직접 세균배양에 적용하였다.

식중독 세균 시험 및 동정

식중독 세균 시험과 동정은 수인성 및 식품매개 감염병 관리지침과 식중독 원인조사지침에 따랐다^{13,14)}. 분석한 식중독 세균과 바이러스 항목 Table 1에서 나타내었다. 세균 배양을 위해 처리된 시료를 tryptic soy broth (TSB, Oxoid, Basingstoke, England)에 넣고 35°C에서 24시간 동안 증균하고, 그 후 DNA를 추출하였다. 세균 배양액 1 mL를 Centrifuge 5418R (Eppendorf)를 이용하여 5,500 xg에서 1분간 원심분리하고, 상층액을 제거하고 PBS 1 mL 넣은 후 잘 섞어주었으며, 이 과정은 3회 반복하였다. 그 후 500 µL의 멸균 증류수를 추가하여, 부유한 후 Thermomixer (Eppendorf)를 이용하여 100°C에서 10분간 가열하였다. 가열 후 Centrifuge 5418R에서 5,500 xg의 속도로 1분간 원심분리하고, 상층액을 취하여 DNA 주형으로 사용하였다. 각 세균검사는 세균별 특이적인 유전자를 증폭하는 것으로 검사를 하였으며, 식중독 세균은 PowerChek™ 20 Pathogen Multiplex Real-time PCR Kit (Kogene Biotech, Seoul, Korea)를 이용하였다. 각각의 DNA 5 µL를 키트에

Table 1. Bacteria and viruses causing food poisoning tested in this study

Pathogens	
Bacteria	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Campylobacter coli</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Clostridium botulinum</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , pathogenic <i>Escherichia Coli</i> [Enteropathogenic <i>E. coli</i> (EPEC), Enterohemorrhagic <i>E. coli</i> (EHEC), Enterotoxigenic <i>E. coli</i> (ETEC), Enteroaggregative <i>E. coli</i> (EAEC), Enteroinvasive <i>E. coli</i> (EIEC)], <i>Salmonella</i> spp., <i>Shigella</i> spp., <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i> , <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Vibrio vulnificus</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i>
Viruses	Astrovirus, Enteric Adenovirus, Hepatitis A virus, Hepatitis E virus, Norovirus, Rotavirus, Sapovirus

첨가하여 QuantStudio 5 real-time PCR (Thermo Fisher Scientific, Cleveland, OH, USA)에 셋팅하고 95°C에서 10분 초기반응과 95°C 15초, 55°C 30초를 40회 반복하여 각 세균 유전자를 실시간으로 증폭하였다. 유전자의 증폭 그래프가 로그로 표시되고, 역치값이 0.2이상과 제조사에서 제시한 35 threshold cycle (*Ct*)이하 일때 양성으로 판정하였다. 양성으로 판단된 세균은 IV. 식중독 세균 시험법에 제시된 식중독 세균의 선택배지를 이용하여 단일집락을 분리하였고, 생화학적 시험을 통해 동정하였다¹⁵⁾.

식중독 바이러스 검사

식중독 바이러스 시험은 수인성 및 식품매개 감염병관리 지침과 식중독 원인조사지침에 따랐다^{13,14)}. 전처리된 검체를 Nextractor NX48 (Genolution, Seoul, Korea)를 사용하여 바이러스 핵산을 추출하였다. 바이러스 핵산은 PowerChek™ Adeno/Astro/Rotavirus Multiplex Real-time PCR Kit (Kogene Biotech), PowerChek™ Norovirus GI/GII Multiplex Real-time PCR kit (Kogene Biotech), PowerChek™ Hepatitis A Virus Real-time PCR Kit (Kogene Biotech), PowerChek™ Hepatitis E Virus Real-time PCR Kit (Kogene Biotech), PowerChek™ Sapovirus/Astrovirus Multiplex Real-time PCR Kit (Kogene Biotech)를 이용하여 검사하였다. 추출된 바이러스 핵산 5 µL를 키트에 추가한 후, QuantStudio 5 real-time PCR에서 50°C 30분 1회를 통해 역전사 반응을 수행하고, 95°C 10분 1회 수행 후 95°C 15초와 55°C 1분을 45회 반복하여 반응하였다. 역치값이 0.2이고, 제조사에서 제시한 *Ct*값 36이하일 때 양성으로 판단하였다.

*B. cereus*의 독소 유전자 검사

분리된 *B. cereus*의 독소 유전자 검사를 위해 단일집락을 선택하여 TSB에 넣고 35°C에서 24시간 동안 증균배양 후, DNA를 추출하였다. DNA 추출은 배양액 1 mL를 취하여 Centrifuge 5418R를 이용하여 5,500 xg로 1분간 원심분리하고, 상층액을 제거하고 PBS 1 mL 넣은 후 잘 섞어주었다. 이 과정을 3회 반복하고, 500 µL의 멸균된 증류수를 추가하여 Thermomixer를 이용하여 100°C에서 10분간 가열하였다. 가열 후 Centrifuge 5418R에서 5,500 xg로 30초간 원심분리하고, 상층액을 DNA 주형으로 사용하여 독소에 특이적인 유전자 증폭을 실시하였다. 독소형 시험은 PowerChek™ *Bacillus cereus* Toxin ID Real-time PCR Kit (Kogene Biotech)를 이용하였다¹⁶⁻¹⁸⁾. 분석된 *B. cereus*의 독소 유전자는 enterotoxin T (*BceT*), emetic toxin (cereulide, CER), hemolysin BL C (*hblC*), non-hemolytic enterotoxin (*nheA*), cytotoxin K (*cytK*), enterotoxin FM (*entFM*)이다. 추출된 DNA 5 µL를 키트에 첨가하여 QuantStudio 5 real-time PCR에 장착하고 50°C에서 2분, 95°C에서 10분 간 초기반응 후, 95°C 15초와 60°C 1분을

40회 반복하여 독소 유전자를 실시간으로 증폭하였다. 증폭된 유전자가 로그 그래프로 표시되고, 역치값이 0.2일 때 제조사에서 제시한 *Ct* 값 35이하 일 때 양성으로 판단하였다.

곤충독소단백질 생성 실험

분리된 *B. cereus*는 *B. thuringiensis*와 16s rDNA 염기서열의 유사도가 높아 곤충독소단백질(insecticidal crystal protein) 생성 실험을 실시하였다. 각 배지에서 전형적인 집락을 선별하여 Oxoid Nutrient Agar (Oxoid)에 접종하고 30°C에서 24시간 배양하였다. 2-3일 추가 배양하여 곤충독소단백질 생성을 확인하였다. 배양된 *B. cereus*는 0.5% basic fuchsin solution으로 염색하여 ×1,000배에서 EVOS XL Core Imaging System (Thermo Fisher Scientific)으로 관찰하였으며, 곤충독소단백질이 생성되지 않는 것을 확인하였다.

*B. cereus*의 전장 변환 전기영동법(PFGE, Pulse Field Gel Electrophoresis)

순수 분리된 *B. cereus* 21 균주의 유전학적 연관관계를 확인하기 위해 PFGE 유전자 지문 분석을 실시하였다^{19,20)}. 전일에 배양한 분리균주의 집락을 채취하여 cell suspension TE buffer [100 mM Tris (Bioneer, Daejeon, Korea), 100 mM EDTA (Bioneer)]에 현탁하여 탁도 20%로 맞추었다. 균 현탁액 200 µL와 1.2% Seakem Gold Agarose (Lonza, Walkersville, MD, USA)를 동량으로 혼합하여 plug mold (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 이용하여 plug을 제작하였다. Cell Lysis Buffer [50 mM Tris (Bioneer, Daejeon, Korea), 50 mM EDTA (Bioneer), 1% sodium lauroylsarcosine (Sigma-Aldrich)] 1.5 mL에 Proteinase K (Sigma-Aldrich)를 50 µL 넣은 용액에 plug를 넣고, 55°C 항온수조에서 2시간 반응 시켰다. Plug wash TE buffer [10 mM Tris (Bioneer), 1 mM EDTA (Bioneer)]으로 5회 세척 후 SmaI 제한효소 (Roche diagnostics GmbH, Mannheim, Germany)를 plug 절편당 40 unit을 넣고 37°C 항온수조에서 24시간 반응하였다. 전기영동은 CHEF Mapper® XA Pulsed Field Electrophoresis System (Bio-Rad)를 사용하였으며, 조건은 6 Volt, 5.3 sec initial switching time, 34.9 sec final switching time 그리고 11°C에서 30시간 전기영동 후 SYBR® Gold Nucleic Acid Gel Stain (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)로 30분간 염색 후 Gel Doc system (Bio-Rad)에서 촬영하였다.

Results

역학조사결과

2020년 10월 23일(금) 충청남도 소재 집단급식소에서 구토 등 급성의 장염 증상을 보이는 환자들이 발생하였다. 동

일한 물이나 음식을 섭취하는 공동 노출자는 135명으로 이들 중 환례 정의에 부합하는 유증상자는 21명으로 15.6%, 최초 증상보고는 10월 23일 12시였다. 급식 섭취 후 1시간 이내에 증상이 발현된 환자는 전체 21명 중 18명으로 전체의 85.8%를 차지하였다(Table 2). 유증상자 21명에 대한 주요 증상은 메스꺼움과 구토였으며, 설사, 오한, 복통 등을 동반하였다. 21명의 환자 중 17명(81.0%)에서 여러 번의 메스꺼움을 느꼈으며, 구토를 한 사람은 15명(71.4%)이었다(Table 3).

식중독 세균 및 바이러스 검사

유증상자 21명과 종사자 3명, 조리기구 등 환경검체 7건, 그리고 보존식 12건에 대하여 식중독 세균 18종과 식중독 바이러스 7종에 대한 검사를 실시하였다. 식중독 바이러스는 검출되지 않았고, 식중독 세균 검사결과 유증상자 11명, 조리종사자 1명, 도마 1건과 보존식 8건(안동찜닭, 백미밥, 무짬지, 콩나물김치국, 잡곡밥, 참치김치찌개, 아채겉절이, 미니돈까스)에서 *B. cereus*가 검출되었다(Fig. 1). 분리된 균주는 곤충독소단백질 생성시험을 통해 *B. thuringiensis*와 구분하고, real time PCR로 *B. cereus*의 특이 유전자를 확인하였다(Fig. 2, Table 4).

***B. cereus* 검출 및 독소유전자 분석**

분리된 *B. cereus* 21균주의 독소 유전자 검출결과, 보존식 중 10월 22일 미니돈까스에서 *B. cereus* 균주에서 bceT,

hblC, cytK, nheA, entFM 독소유전자가 검출되었다. 이를 제외한 나머지 20균주에서는 동일하게 CER, *nheA*, *entFM* 독소유전자가 검출되었다(Table 4).

분리된 *B. cereus* PFGE 분석

보존식에서 검출된 *B. cereus*와 유증상자 및 종사자에서 분리된 *B. cereus*의 유연관계를 분석하기 위하여 PFGE를 실시하였고, 그 결과 유증상자 1인(Patient-11)과 보존식 1건(Preserved food-8)을 제외한 분리된 모든 균주의 유전자지문 양상이 일치하였다(Fig. 3). B66S16.067형의 *B. cereus* 분리주가 본 집단식중독의 주요한 세균으로 판단되며, 유증상자 1인(Patient-11)에서 분리된 B66S16.066형과의 상동성은 74.7%이었다. 보존식 1건(Preserved food-8)에서 분리된 B66S16.068형과의 상동성은 68.5%로 나타났으며, 여기서 보여준 세 유전자 지문(B66S16.066, B66S16.067, B66S16.068) 유형은 국내의 PFGE 데이터베

Table 2. Distribution of onset time of clinical symptoms among total 21 patients

	<30 min	<1 hour	>1 hour
No. of patients (%)	4(19.1)	14(66.7)	3(14.3)

Table 3. Distribution of clinical symptoms among total 21 patients

No. of patients (%)	Clinical symptoms					
	diarrhea	abdominal pain	nausea	chilling	vomit	fever
	5(23.8)	6(28.6)	17(81.0)	1(4.8)	15(71.4)	0(0.0)

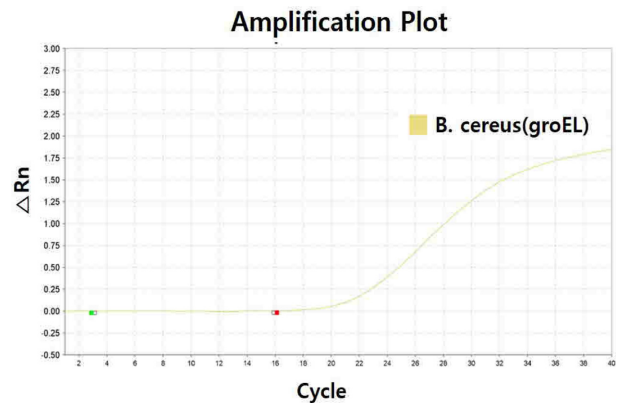


Fig. 1. Real-time PCR result for positive samples of *B. cereus*.

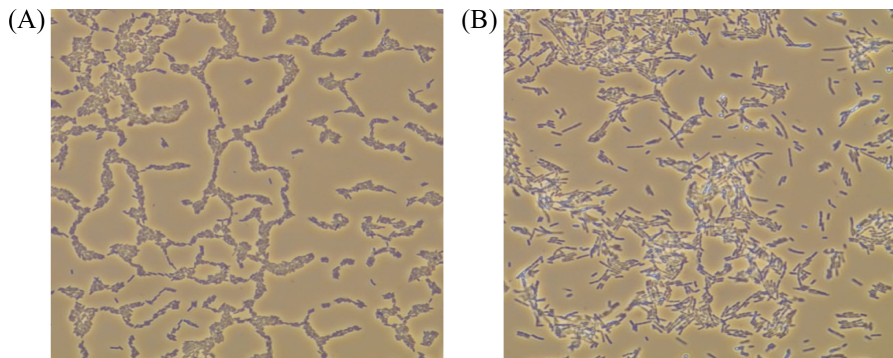


Fig. 2. Comparison of microscopy for *B. cereus* (A) and *B. thuringiensis* (B). In *B. thuringiensis* (B), it was confirmed that insect toxin was produced.

Table 4. Detection and distribution of food-borne pathogens in patients and environment samples

Sample type	No. of samples	<i>Bacillus cereus</i> Positive (%)	Toxin genes of detection
Patients	21	11(52.4)	CER, <i>nheA</i> , <i>entFM</i>
Food service employees	3	1(33.3)	CER, <i>nheA</i> , <i>entFM</i>
Food water and swabs in environment	7	1(14.3)	CER, <i>nheA</i> , <i>entFM</i>
Preserved food	12	8(66.7)	7(CER, <i>nheA</i> , <i>entFM</i>) 1(<i>bceT</i> , <i>nblC</i> , <i>cytK</i> , <i>nheA</i> , <i>entFM</i>)

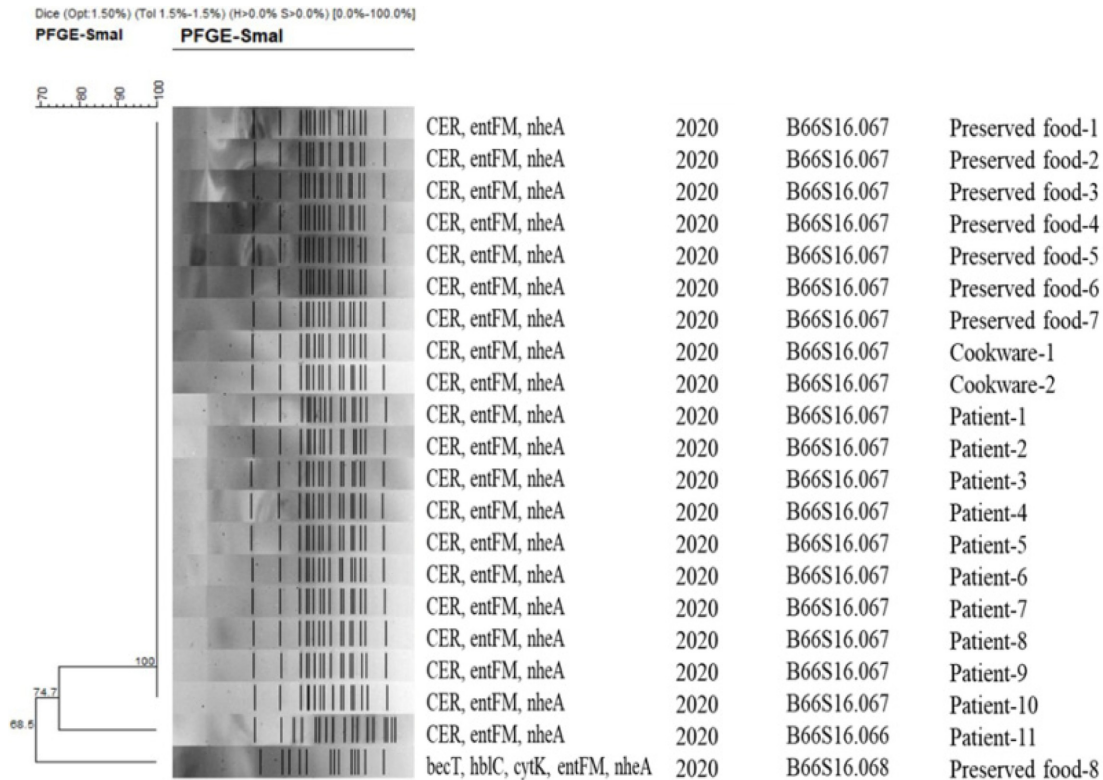


Fig. 3. Result of pulsed field gel electrophoresis for *Bacillus cereus* strains isolated in this food poisoning.

이스인 PulseNetKorea DB 확인 결과 처음으로 확인된 유형이었다(Fig. 3).

Discussion

본 연구는 2020년 10월 중 충청남도내 집단급식소에서 *B. cereus*에 의해 발생한 식중독에 대한 실험분석으로 시군 보건소에서 작성되는 역학조사와는 내용상 차이를 보일 수 있다. 2019년 충청남도 기준 집단 식중독 발생 시 원인병원체의 검출률은 44.3%이었다. 집단급식소의 경우 검출률이 86.7%로 상대적으로 높은 수치를 나타내었는데, 이는 집단급식소에서 발생하는 식중독의 유증상자가 대규모이기 때문이다⁹⁾. 그러나 비교적 높은 원인병원체의 검출률에도 불구하고 대부분 유증상자에서만 원인 병원균이 검출되었으며, 보존식이나 환경에서 병원체가 검출되는 것

은 매우 드물어 식중독을 일으킨 원인에 대한 명확한 인과관계 분석이 어려웠다²¹⁾.

본 집단식중독에서는 유증상자 11명과, 조리종사자 1명, 조리기구 2건과 보존식 8건에서 *B. cereus*가 검출됨에 따라 *B. cereus*에 의한 집단식중독으로 판단되었다. 유증상자 21명 중 18명이 1시간 이내 증상이 나타남에 따라 기발현된 독소에 의해 식중독이 발생된 것으로 판단된다. 주요 증상 역시 메스꺼움과 구토 증상이 대부분을 차지하였다. 한 균주를 제외한 모든 균주에서 검출된 독소 유전자는 CER, *nheA*, *entFM*이었다. *B. cereus*의 독소형은 보유 독소 유전자에 따라 설사형과 구토형으로 구분된다. 설사형은 장독소(enterotoxin)에 의한 감염으로 증상은 감염 8-16시간 후에 설사, 복통, 일부 구토, 발열증상을 보이며, 원인 독소 유전자로는 *hblC*, *nheA*, *cytK*, *entFM*, *bceT* 등이 있다²²⁾. 구토형은 cereulide라는 작은 펩타이드 단편에 의해 기인되며, 증

상은 감염 0.5-6시간 후에 구토, 일부설사 및 발열 증상이 나타난다. 구토독소는 cereulide 형성에 관여하는 CER 유전자의 존재로 확인한다²³⁻²⁵. 본 연구에서 분리된 *B. cereus* 균주에서 CER을 포함하고 있고, 주요 증상을 고려하여 *B. cereus* 균주에 의한 구토형 식중독으로 판단된다.

Patient-11에서 분리된 균주의 경우, 동일한 독소 유전자 CER, *entFM*, *nheA*가 검출되었으나, PFGE 유전자 지문 (B66S16.067)이 다르게 나타나 본 집단식중독을 일으킨 *B. cereus*와는 다른 균주임이 확인되었다. 이 환자의 경우, 별도로 외부에서 *B. cereus*를 접촉하였거나, 본 식중독의 원인이 여러 종류의 *B. cereus*가 관계되어 있을 수 있다는 가능성을 말해주고 있다. 또한 보존식에서 분리된 1개 균주는 PFGE 유전자지문 패턴(B66S16.068) 뿐만아니라 함유하고 있는 독소 유전자도 다른 것이 확인 되었다. 이는 본 집단 급식소의 환경에 다양한 *B. cereus*가 분포한다고 추정할 수 있다. 그럼에도 불구하고, 종사자 및 조리기구, 보존식에 광범위하게 *B. cereus*가 검출된 것으로 보아, 급식환경에 유입된 *B. cereus*가 증식할 수 있는 환경이 조성되었다고 사료된다. 발현된 독소는 열에 강해 장시간 독성이 유지되어 환자들에게 증상의 유발원이 되었을 것으로 추정된다.

*B. cereus*는 자연계에 널리 존재하며, 열악한 환경에서도 오랫동안 생존하는 능력을 가지고 있다. 감염시 증상은 심하지 않아 수일 내에 자연치유가 되는 경우가 많으며, 그에 따라 병원에 내원하는 경우가 드물어 감염률에 비해 보고되지 않는 경우가 많다⁷. *B. cereus*는 다양한 독소를 포함하고 있어, 분리주에 대한 독소의 분포를 조사하고 독소의 조성을 파악하는 것이 중요하다²⁶. 이번 대규모 식중독 사례는 단체급식의 안전한 급식 환경과 제공되는 음식의 관리에 대한 중요성을 일깨워 준다. 본 집단식중독 사례에서는 제공된 보존식에서 원인병원체를 찾아내 원인식품을 규명하였고, 유증상자들의 인과관계를 증명하였다. 보존식에서 원인병원체를 찾아내는 것은 식중독의 원인을 추정하는데 매우 중요하므로, 단체급식소에서 규정에 맞는 보존식 용기를 사용하고 이를 적정온도(-18°C 이하)에 보관해야 한다. 식중독을 예방하기 위해서는 발생시 정밀한 역학조사를 기반으로 원인과 전파경로 등 관련 정보를 분석하고 결과를 유관기관에 공유하고, 단체급식소에 교육자료로 활용하는 등 유사한 집단식중독이 발생하지 않도록 노력해야 할 것이다.

본 연구 결과 집단식중독을 예방하기 위해 단체 급식 환경과 음식 관리에 대한 노력을 기울여야 하며, 이와 유사한 집단 식중독 발생에 대한 효율적인 예방자료로 사용될 수 있을 것이다.

국문요약

본 연구는 2020년 10월 중 충청남도내 단체 급식소에서

발생한 대규모 집단 식중독 원인에 대하여 분석하였다. 전체 급식원 135명 중 21명(15.6%)에서 음식을 섭취한 후 1시간 이내에 주로 메스꺼움과 구토 증상을 보였다. 유증상자 21명 중 11명과, 조리종사자 1명, 조리기구 2건과 보존식 8건에서 *B. cereus*가 검출됨에 따라 *B. cereus*에 의한 집단 식중독으로 판단하였다. 분리된 21개의 균주를 PFGE 분석한 결과, 19개의 균주가 동일한 것으로 판단되었고, 이들 균주가 가지고 있는 독소 유전자는 CER, *nheA*, *entFM*이었다. 실험결과, CER을 포함하고, 증상 발현 시간이 1시간 이내로 매우 짧아 *B. cereus*의 구토형 식중독으로 판단하였다. 집단식중독 원인으로 안전하지 않은 급식 환경과 제대로 관리되지 않은 음식에 의한 것이라 조사되었다. 이러한 결과는 단체급식에서의 급식환경과 제공되는 음식이 철저하게 관리되어야 한다는 것을 보여준다. 이와 더불어 보존식에서 원인 병원체를 찾아내는 것은 식중독의 원인을 추정하는데 매우 중요하므로, 단체급식소에서 규정에 맞는 보존식 용기를 이용하여 이를 적정온도에 잘 보관해야 한다. 또한 정밀한 식중독 역학조사를 기반으로 사례를 분석하고 결과를 전파함으로써 유사한 식중독이 재발하지 않도록 해야 한다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Hyunah Lee	https://orcid.org/0000-0002-4904-0113
Young-Eun Ko	https://orcid.org/0000-0002-3893-1527
Dayeon Lee	https://orcid.org/0000-0002-4927-7655
KyungA Yun	https://orcid.org/0000-0002-3709-0914
Hyeonjeung Kim	https://orcid.org/0000-0001-5764-4171
Ok Kim	https://orcid.org/0000-0003-4499-3895
Junhyuk Park	https://orcid.org/0000-0003-3096-6220

References

- Hall, G.V., D'Souza, R.M., Kirk, M.D., Foodborne disease in the new millennium: out of the frying pan and into the fire?. *Med. J. Aust.*, **177**, 614-618 (2002).
- Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), (2022, Dec 20). Food poisoning statistics. Retrieved from https://www.food-safetykorea.go.kr/portal/healthyfoodlife/foodPoisoning-Stat.do?menu_no=4425&menu_grp=MENU_NEW02.
- Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), Korea Food & Drug Statistical Yearbook, MFDS, Cheongju, Korea (2018).
- Kwun, J.W., Lee, C.H., Trends of recent food-borne disease outbreaks in Korea. *J. Korean Med. Assoc.*, **50**, 573-581 (2007).
- Lee, H.A., Choi, J.H., Park, S.M., Nam, H.S., Choi, J.H.,

- Park, J.H., Epidemiological analysis of a food poisoning outbreak caused by multiple pathogens in a high school in Chungnam Korea. *J. Environ. Health Sci.*, **45**, 434-444 (2019).
6. Lee, H.A., Nam, H.S., Choi, J.H., Park, S.M., Park, J.J., Kim, H.M., Cheon, Y.H., Park, J.H., Analysis of food poisoning outbreaks occurred in Chungnam Korea. *J. Environ. Health Sci.*, **46**, 184-191 (2020).
 7. Oh, T.Y., Baek, S.Y., Koo, M.S., Lee, J.K., Kim, S.M., Park, K.M., Hwang, D.K., Kim, H.J., Analysis of foodborne pathogens in food and environmental samples from foodservice establishments at schools in Gyeonggi province. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **44**, 1895-1904 (2015).
 8. Granum, P.E., Lund, T., *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. *FEMS Microbiol. Lett.*, **157**, 223-228 (1997).
 9. Ihde, D.C., Armstrong, D., Clinical spectrum of infection due to *Bacillus* species. *Am. J. Med.*, **55**, 839-845 (1973).
 10. Koo, M., *Bacillus cereus* - An ambusher of food safety. *Bull. Food Technol.*, **22**, 587-600 (2009).
 11. Gilbert, R.J., Stringer, M.F., Pearce, T.C., The survival and growth of *Bacillus cereus* in boiled and fried rice in relation to outbreaks of poisoning. *J. Hyg.*, **73**, 433-444 (1974).
 12. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), Manual for detection of foodborne pathogens at outbreaks. MFDS, Cheongju, Korea (2019).
 13. Korea Disease Control and Prevention Agency (KCDA), Guideline for water & foodborne diseases prevention and control. KCDA, Cheongju, Korea (2018).
 14. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), Manual for detection of foodborne pathogens at outbreaks. MFDS, Cheongju, Korea (2018).
 15. Korea Disease Control and Prevention Agency (KCDA), Guidelines for Laboratory Diagnosis of Waterborne and Food-borne Diseases. KCDA, Cheongju, Korea (2017).
 16. Chon, J.W., Kim, J.H., Lee, S.J., Hyeon, J.Y., Song, K.Y., Park, C., Seo, K.H., Prevalence, phenotypic traits and molecular characterization of emetic toxin-producing *Bacillus cereus* strains isolated from human stools in Korea. *J. Appl. Microbiol.*, **112**, 1042-1049 (2012).
 17. Fricker, M., Messelhäuser, U., Busch, U., Scherer, S., Ehling-Schulz, M., Diagnostic real-time PCR assays for the detection of emetic *Bacillus cereus* strains in foods and recent food-borne outbreaks. *Appl. environ. microbiol.*, **73**, 1892-1898 (2007).
 18. Kim, M.J., Han, J.K., Park, J.S., Lee, J.S., Lee, S.H., Cho, J.I., Kim, K.S., Various enterotoxin and other virulence factor genes widespread among *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* strains. *J. Microbiol. Biotechnol.*, **25**, 872-879 (2015).
 19. Kim, J.H., Lim, E.G., Jang, H.C., Park, J.Y., Lee, S.J., Park, M.S., Choi, G.B., Lee, B.K., A case of emetic toxin producing *Bacillus cereus* strains isolated from outbreak. *Korean J. Clin. Microbiol.*, **12**, 48-52 (2009).
 20. Kišek, T.C., Pogačnik, N., Torkar, K.G., Genetic diversity and the presence of circular plasmids in *Bacillus cereus* isolates of clinical and environmental origin. *Arch. Microbiol.*, **203**, 3209-3217 (2021).
 21. Lee, H.A., Kim, J.Y., Nam, H.S., Choi, J.H., Lee, D.Y., Park, S.M., Lim, J.A., Cheon, Y.H., Choi, J.H., Park, J.H., Case report for a large-scale food poisoning outbreak that occurred in a group food service center in Chungnam, Korea. *J. Environ. Health Sci.*, **46**, 525-531 (2020).
 22. Lund, T., Debuyser, M.L., Granum, P.E., A new cytotoxin from *Bacillus cereus* that may cause necrotic enteritis. *Mol. Microbiol.*, **38**, 254-261 (2000).
 23. Yang, I.C., Shih, D.Y., Huang, T.P., Huang, Y.P., Wang, J.Y., Pan, T.M., Establishment of a novel multiplex PCR assay and detection of toxigenic strains of the species in the *Bacillus cereus* group. *J. Food Prot.*, **68**, 2123-2130 (2005).
 24. Guinebretiere, M.H., Broussolle, V., Nguyen-The, C., Enterotoxigenic profiles of food-poisoning and food-borne *Bacillus cereus* strains. *J. Clin. Microbiol.*, **40**, 3053-3056 (2002).
 25. Kim, J.B., Kim, J.M., Kim, C.H., Seo, K.S., Park, Y.B., Choi, N.J., Oh, D.H., Emetic toxin producing *Bacillus cereus* Korean isolates contain genes encoding diarrheal-related enterotoxins. *Int. J. Food Microbiol.*, **144**, 182-186 (2010).
 26. Andersson, A., Ronner, U., Granum, P.E., What problems does the food industry have with the spore-forming pathogens *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens*?. *Int. J. Food Microbiol.*, **28**, 145-155 (1995).