

보육시설 급식실 실내 환경에서 분리된 식중독 미생물의 항생제 내성 특성

김중범 · 김종찬*†

경기도보건환경연구원 보건연구부, *서울과학기술대학교 환경공학과

Antibiotic Resistance of Food-Borne Pathogens Isolated from an Indoor Environment of a Lunchroom in a Child Care Center

Jung-Beom Kim* and Jong-Chan Kim†

Health Research Department, Gyeonggi-do Institute of Health & Environment, Suwon, Korea

*Department of Environmental Engineering, Seoul National University of Science and Technology, Seoul, Korea

ABSTRACT

Objectives: This study was performed in order to evaluate antibiotic resistance and analyze the multiple antibiotic resistance of food-borne pathogens isolated from indoor air and an air cleaner at a lunch room in a child care center.

Methods: An antibiotic test of food-borne pathogens, including four *Staphylococcus aureus* and 23 *Bacillus cereus* was conducted through the disk diffusion method from Clinical and Laboratory Standard Institute.

Results: All *Staph. aureus* was resistant to Ampicillin and Penicillin, while *B. cereus* was also resistant to Ampicillin, Cefepime and Penicillin. All isolates showed Vancomycin susceptibility but three out of four *Staph. aureus* and all *B. cereus* were resistant to Oxacillin. *Staph. aureus* and *B. cereus* presented two or more multiple antibiotic resistances.

Conclusions: The results indicated that food-borne pathogens isolated from indoor air and an air cleaner at a lunch room in a child care center showed multiple antibiotic resistances. The repeated control of indoor environment quality is required and continuous surveillance of antibiotic resistant strains is demanded.

Keywords: child care center, indoor environment, antibiotic resistance, food borne pathogen

I. 서 론

식중독이란 자연독, 유해 화학물질, 식중독 미생물이 함유된 식품을 섭취하여 발열, 구토, 설사, 복통의 증세를 나타내는 건강장애 상태를 지칭하며¹⁾ 국내 식중독 발생은 식품위생 및 안전을 확보하기 위해 노력하였음에도 불구하고 지속적으로 발생하고 있다. 식품의약품안전청의 집단 식중독 발생보고를 보면 2002년 77건, 2,939명에서 2010년 271건 7,218

명으로 발생건수는 3.5배, 환자수는 2.5배 증가하였다.²⁾ 원인시설별 집단 식중독 발생보고를 분석해 보면 음식점 49.0%, 학교 집단급식소 14.0%, 기업체 집단급식소 5.5%, 가정집 1.1%로 학교 집단급식소가 주요 식중독 발생장소로 보고되었고²⁾ 학교 등 집단급식소가 식중독 발생의 주요 원인으로 분석되었다.

저출산 문제를 극복하고자 정부에서는 보육시설의 확충과 보육서비스의 질 향상에 지속적인 노력을 기울여 보육시설은 1990년 1,919개소에서 2010년

†Corresponding author: Department of Environmental Engineering, Seoul National University of Science and Technology, Seoul, Korea, Tel: +82-2-970-6619, Fax: +82-2-971-5776; E-mail: kjs2580@seoultech.ac.kr

Received: 19 September 2012, Revised: 21 September 2012, Accepted: 4 October 2012

38,021개소로 19.8배 증가하였고 보육 영유아수는 48,000명에서 1,279,910명으로 26.6배 증가하였다.^{3,4)} 또한, 대부분의 어린이집에서는 단체급식을 제공하고 있으나 공간적 제약으로 보육실에서 보육과 급식을 함께 제공하고 있어 학교 급식환경보다 열악한 환경에서 영유아에게 급식을 제공하고 있다. 이러한 급식 환경과 면역력이 취약한 영유아를 대상으로 교육하는 보육시설의 특성을 고려 할 때 어린이집 등 보육시설의 식중독 발생 가능성은 상존한다 하겠다.

항생제란, 미생물이 생산하는 대사산물로서 낮은 농도에서 다른 병원성 미생물의 증식을 억제하거나 사멸시키는 화합물질로 1940년 Penicillin이 임상에서 처음 사용된 이후 5,000여 종의 항생제가 개발되어 그 일부가 현재 사용되고 있다.^{5,6)} 항생제는 식중독 발생 초기 원인균을 사멸시켜 치료에 결정적인 역할을 수행하며 식중독에 의한 사회적 손실을 축소하는데 유용하게 사용되고 있다.⁷⁾ 그러나 무분별한 항생제 사용으로 항생제 내성 미생물이 증가하고 있고⁸⁾ 식중독 미생물이 항생제 내성 유전자를 획득하여 집단 식중독을 발생시킬 가능성 증대되고 있어 공중보건학적으로 문제가 제기되고 있다.¹⁾ 또한, 급식시설의 주요 식중독 오염원 중 하나가 공기 등 실내 환경이라고 보고되고 있어⁹⁾ 면역력이 취약한 영유아들이 보육시설 급식 환경에 오염된 식중독 미생물에 감염되어 집단 식중독이 발생할 경우 신속한 초기 치료를 위해 어린이집 급식환경에서 분리된 식중독 세균에 대한 정확한 항생제 내성 정보가 필요하다 하겠다. 그러나 현재까지의 연구 동향을 살펴보면 초등학교 및 고등학교 실내 환경에서 공기 중 미생물 분리 및 특성,^{10,11)} 유치원생을 포함한 서울 및 광주 지역 학생들의 손에서 분리된 미생물의 항생제 내성 연구,^{12,13)} 초등학교 급식환경에서 분리된 미생물의 항생제 내성 연구⁷⁾ 등에 국한되어 있고 어린이집 급식실 실내 환경에서 분리된 식중독 미생물에 관한 항생제 내성 연구는 매우 미약한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 어린이집 급식실 내 설치된 공기청정기의 미생물 오염도를 조사하고 급식실 실내 공기와 공기청정기에서 분리된 식중독 미생물의 항생제 내성 패턴을 분석하여 집단식중독 발생 시 초기 치료에 필요한 정확한 항생제 내성 정보를 제시하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험대상 보육시설 및 시료채취

수도권 소재 어린이집 11곳을 실험대상 보육시설로 선정하였고 대부분의 어린이집이 공간적 제약으로 인해 보육실에서 급식을 제공하고 있어 보육실 내 설치된 공기청정기 필터를 실험대상으로 하였다. 미생물 오염도 실험을 위하여 각각의 공기청정기 필터에 가로, 세로가 10 cm의 멸균 가스켓을 부착한 후 Pipette Swab (Saline 10 mL; 3 M, Korea)의 멸균 면봉을 이용 세밀히 닦아서 시료를 채취하였다. 채취한 시료는 Saline 10 mL에 무균적으로 넣어 균질화한 후 시험용액으로 사용하였다.

2. 실험대상 보관균주

항생제 내성 실험에 사용된 식중독 미생물은 어린이집 급식실 공기청정기에서 분리된 식중독 미생물과 어린이집 급식실 실내공기에서 분리되어 실험실에 보관되어 있던 *Staphylococcus aureus* 4주와 *Bacillus cereus* 21주를 포함하여 실험하였다. 보관균주는 Tryptic Soy broth (TSB; Oxoid, England)에 접종하여 35°C에서 18시간 배양한 후 Tryptic Soy agar (TSA; Oxoid, England)에 희석 도달한 후 35°C에서 18시간 배양하여 항생제 내성 실험에 사용하였다.

3. 일반세균수, 대장균군수 및 진균수 측정

일반세균수, 대장균군수 및 진균수는 식품공전과 김 등의 방법에 따라 실험하였다.^{14,15)} 시험용액은 10 단계 희석법에 따라 희석하여 희석액과 시험용액을 멸균 Petri dish 2매에 각각 1 mL씩 분주한 후 일반세균수는 Plate Count agar (Difco, USA), 진균수는 Potato Dextrose agar (Difco, USA)를 무균적으로 분주하여 냉각 응고시킨 후 각각 35°C에서 48시간 및 25°C에서 5일간 배양하였다. 대장균군수는 Desoxycholate Lactose agar (Difco, USA)를 무균적으로 분주하여 냉각 시킨 후 35°C에서 24시간 배양하였다. 1개 평판 당 300개 이하의 집락을 형성하는 평판을 선택하여 공기청정기 필터 100 cm² 당 집락수로 계산하였으며, 검출한계는 1 log CFU/100 cm² 이었다.

4. 식중독 미생물 분리 동정

식중독 미생물은 식품공전과 김 등의 방법에 따라 실

Table 1. Antibiotics used for the antibiotic resistance test

Group		Antibiotic
β-Lactam	Penicillin	Ampicillin (AM; 10 µg), Oxacillin (OX; 1 µg), Penicillin (P; 10 U)
	Cephems	Cefepim (FEP; 30 µg), Cefotetan (CTT; 30 µg)
	Carbapenems	Imipenem (IPM; 10 µg)
	Quinolones	Ciprofloxacin (CIP; 5 µg)
Non β-Lactam	Phenicols	Chloramphenicol (C; 30 µg)
	Lincosamide	Clindamycin (CC; 2 µg)
	Macrolides	Erythromycin (E; 15 µg)
	Aminoglycosides	Gentamicin (CN; 10 µg)
	Ansamycins	Rifampin (RD; 5 µg)
	Tetracyclines	Tetracycline (TE; 30 µg)
	Folatepathwayinhibitor	Trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT; 1.255 µg / 23.75 µg)
	Glycopeptides	Vancomycin (VA; 30 µg)

험하였다.^{14,16} *Salmonella* spp.는 Peptone water (Oxoid, England) 9 mL에 시험용액 1 mL를 가하여 35°C에서 24 시간 1차 증균한 후 배양액 0.1 mL를 10 mL의 Rappaport-Vassiliadis broth (Oxoid, England)에 접종하여 42°C에서 24시간 2차 증균 배양하였다. 배양액을 MacConkey agar (Oxoid, England)에 희석 도말하여 35°C에서 24시간 배양한 후 흰색 집락을 선별하여 Kligler iron agar (KIA; Oxoid, England)와 TSA (Oxoid, England)에 도말하여 35°C에서 24시간 배양하였다. 배양 결과 K/A, gas 양성과 H₂S를 생산한 집락에 대하여 O 혼합혈청 응집실험을 실시하여 혈청응집 양성반응을 나타낸 집락에 대하여 생화학실험을 실시하였다. 생화학실험은 Vitek 2 compact system (bioMerieux, France)을 이용 *Salmonella* spp.를 동정하였다.

*Staphylococcus aureus*는 10% NaCl을 첨가한 9 mL TSB (Oxoid, England)에 시험용액 1 mL를 가하여 35°C에서 24시간 증균 배양한 후 난황첨가 Baird-Parker agar (Oxoid, England)에 도말하여 35°C에서 24시간 배양하였다. 배양결과 검은색 집락과 주변에 혼탁한 백색환을 나타내는 집락을 선별하여 Tryptic Soy agar (TSA; Oxoid, England)에 희석 도말하여 35°C에서 24시간 배양하였다. 배양된 집락에 대하여 coagulase test (Staphylase, Oxoid, England)를 실시하여 응고가 일어나면 Vitek 2 compact system (bioMerieux, France)을 이용 생화학실험을 하여 *Staph. aureus*를 동정하였다.

*Bacillus cereus*는 시험용액 100 µL를 Bacillus Cereus

Rapid agar (BACARA; AES Chemunex, France)에 도말하여 35°C에서 18시간 배양한 후 분홍색의 혼탁한 환을 갖는 집락을 선별하여 Blood agar (Komed, Korea)에 도말하였으며, β-hemolysis를 나타내는 균주에 대하여 Gram stain, Catalase test를 실시한 후 Vitek 2 compact system (bioMerieux, France)을 이용 생화학실험을 하여 *B. cereus*를 동정하였다.

5. 항생제 내성 실험

*Staph. aureus*와 *B. cereus*로 동정된 균주의 항생제 내성 실험은 Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI)에서 추천하는 디스크 확산법으로¹⁷⁾ 실시하였으며 본 실험에 사용된 항생제는 모두 Oxoid사의 디스크를 사용하였고 그 종류는 Table 1에 나타내었다. Muller Hinton broth (MHB; Oxoid, England)에 분리균주를 접종하여 35°C에서 24시간 배양한 후 MacFarland scale No. 0.5 BaSO₄ 표준비색관 (1.175% BaCl₂ 0.5 mL+0.36 N H₂SO₄ 99.5 mL: 10⁶ CFU/mL)과 동일한 탁도를 나타내도록 배양액을 멸균 생리식염수로 희석하였다. 희석된 배양액을 Muller Hinton agar (MHA; Oxoid, England) 전체에 멸균 면봉을 이용하여 골고루 도말한 다음 실온에서 10분간 정치시켜 습기를 제거한 후 항생제 디스크를 30 mm 간격으로 MHA 배지 표면에 부착시켜 35°C에서 24시간 배양하였다. *Staph. aureus* 균의 항생제 내성 여부는 CLSI의 가이드라인에 준하여¹⁷⁾ 감수성 (Susceptibility; S), 중간내성 (Intermediate; I) 및 내

Table 2. Microbiological evaluation of air cleaner located at lunchroom in child care center

Microorganisms	Range ¹⁾	Mean±STD ²⁾
Total aerobic bacteria	1.48~3.97	3.26±3.51
Coliform bacteria	ND ³⁾ ~2.85	2.14±2.19
Fungi	1.00~2.13	2.13±2.11

¹⁾Unit: log CFU/100 cm² filter in air cleaner.

²⁾STD: Standard deviation.

³⁾ND: Not detected (detection limit: <1.0 log CFU).

Table 3. Foodborne pathogen evaluation of air cleaner located at lunchroom in child care center

Type	No. of foodborne pathogens (%)		
	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>
Air cleaner filter (n=11)	ND ¹⁾	ND	2 (18.2)

¹⁾ND: Not detected.

성 (Resistance; R)으로 판정하였으며 *B. cereus*에 관한 항생제 내성기준이 설정되어 있지 않아 *Staph. aureus* 균의 항생제 내성 검사 기준을 적용 판단하였다. 항생제 내성 실험의 대조군으로는 *Staph. aureus* ATCC 25922을 사용하였다.

III. 결 과

1. 공기청정기 필터의 미생물 오염도

어린이집 급식실 내 설치된 공기청정기의 미생물 오염도를 분석하고자 일반세균수, 대장균군수 및 진균수를 실험하였으며, 그 결과는 Table 2에 나타내었다. 일반세균수의 경우 평균 3.26±3.51 log CFU/100 cm²를 나타내었고 10²에서 10³ 범위가 90.9%로 가장 높은 분포를 나타내었다. 식품위생 지표미생물인 대장균군의 경우 공기청정기 필터 11개 중 9개 (90.9%)에서 검출되었으며, 평균 2.14±2.19 log CFU/100 cm²를 나타내었다. 진균수의 경우 전체 11개 공기청정기 필터 모두에서 검출되었으며 평균 2.13±2.11 log CFU/100 cm²를 나타내어 어린이집 급식실 실내공기 중 일반세균수가 가장 높은 오염도 나타내었다. 공기청정기 필터 중 식중독 미생물 오염도를 분석하고자 *Salmonella* spp., *Staph. aureus*, *B. cereus*를 실험하였으며, 그 결과는 Table 3에 나타내었다. *Salmonella* spp.와 *Staph. aureus*의 경우 공기청정기 필터 모두에서 검출되지 않았으나 *B. cereus*의 경우 11개 공기청정기 필터 중 2개 (18.2%)에서 검출되어 어린이집 급식실에 설치된 공기청정기는 *B. cereus*에 가장 많이 오염된 것으로 나타났다.

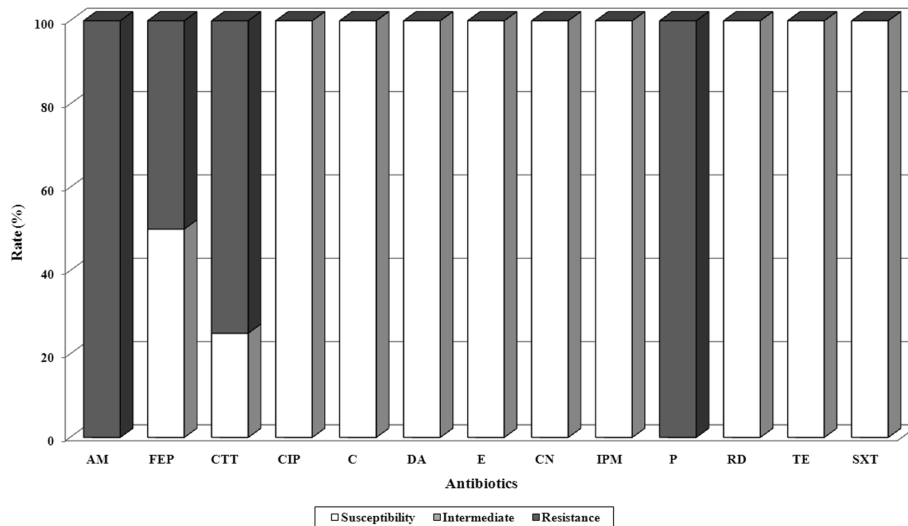


Fig. 1. Antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from air cleaner and indoor-air at lunchroom in child care center. AM; ampicillin (10 µg), FEP; cefepime (30 µg), CTT; cefotetan (30 µg), CIP; ciprofloxacin (5 µg), C; chloramphenicol (30 µg), DA; clindamycin (2 µg), E; erythromycin (15 µg), CN; gentamicin (10 µg), IPM; imipenem (10 µg), P; penicillin (10 U), RD; rifampin (5 µg), TE; tetracycline (30 µg), SXT; trimethoprim/sulfamethoxazole (1.255 µg/23.75 µg).

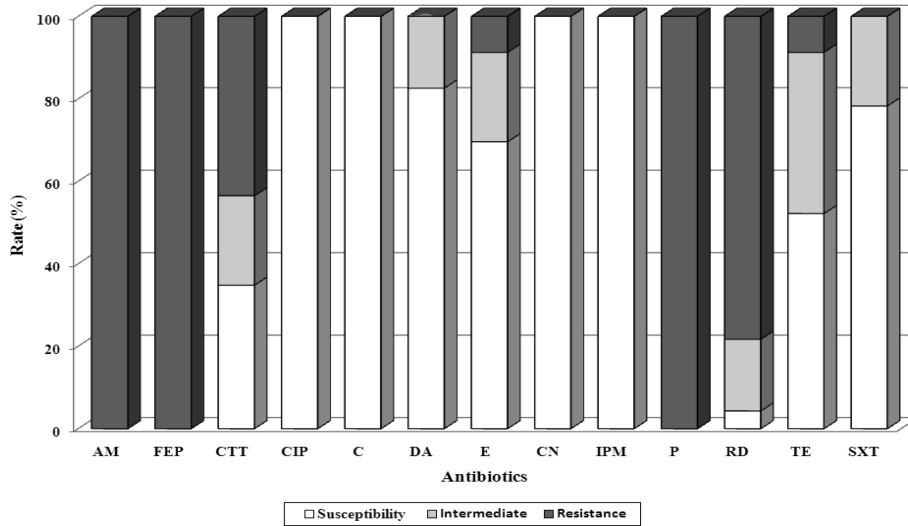


Fig. 2. Antibiotic susceptibility of *Bacillus cereus* isolated from air cleaner and indoor-air at lunchroom in child care center. AM; ampicillin (10 µg), FEP; cefepime (30 µg), CTT; cefotetan (30 µg), CIP; ciprofloxacin (5 µg), C; chloramphenicol (30 µg), DA; clindamycin (2 µg), E; erythromycin (15 µg), CN; gentamicin (10 µg), IPM; imipenem (10 µg), P; penicillin (10 U), RD; rifampin (5 µg), TE; tetracycline (30 µg), SXT; trimethoprim/sulfamethoxazole (1.255 µg / 23.75 µg).

2. 식중독 미생물의 항생제 내성

어린이집 급식실 내에 설치된 공기청정기 필터에서 분리 동정된 *B. cereus* 2균주와 어린이집 실내공기로 부터 분리되어 보관 중인 *Staph. aureus* 4균주 및 *B. cereus* 21균주 총 27균주의 항생제 내성을 실험한 결과는 Fig. 1 및 2에 나타내었다. *Staph. aureus* 항생제 내성 실험결과 Ciprofloxacin (CIP), Chloramphenicol (C), Clindamycin (DA), Erythromycin (E), Gentamicin (CN), Imipenem (IPM), Rifampin (RD), Tetracycline (TE), Trimethoprim/Sulfamethoxazole (SXT) 항생제에 100% 감수성을 나타내었고 Ampicillin (AM), Penicillin (P)에 100% 내성을 나타내었다. Cefepime (FEP) 항생제에는 50% 감수성과 50%의 내성을 나타내었고 Cefotetan (CTT) 항생제에는 25%의 감수성과 75%의 내성을 나타내었다. *B. cereus* 항생제 내성 실험결과 CIP, C, CN, IPM 항생제에 100% 감수성을 나타내었으며 AM, FEP, P 항생제에 100% 내성을 나타내었다. 그 외 CTT, E, RD 및 TE 항생제는 각각 감수성 (34.8, 69.6, 4.3, 52.2%), 중간 내성 (21.7, 21.7, 17.4, 39.1%), 내성 (43.5, 8.7, 78.3, 8.7%)을 나타내었으며, DA 및 SXT 항생제는 각각 82.6, 78.3%의 감수성과 17.4, 12.7%의 중간

Table 4. Methicillin and vancomycin resistant of *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* isolated from air cleaner and indoor-air at lunchroom in child care center

Antibiotics	No. of resistant pathogens (%)	
	<i>Staphylococcus aureus</i> (n=4)	<i>Bacillus cereus</i> (n=23)
Oxacillin (1 µg) ¹⁾	3 (75.0)	23 (100.0)
Vancomycin (30 µg)	0 (0.0)	0 (0.0)

¹⁾Oxacillin resistance means methicillin resistance.

내성을 나타내었다. 분리된 *Staph. aureus*와 *B. cereus* 균주의 Oxacillin (OX) 및 Vancomycin (VA) 항생제 내성 실험결과는 Table 4에 나타내었다. 분리된 *Staph. aureus* 4균주 중 3균주에서 Oxacillin 내성을 나타내어 Methicillin Resistance *Staph. aureus* (MRSA)가 75%로 나타났으며 *B. cereus*의 경우 실험에 사용된 23균주 모두 Methicillin 내성을 나타내었다. 분리된 *Staph. aureus*와 *B. cereus* 균주 모두 Vancomycin 항생제에 감수성을 나타내어 Vancomycin Resistance *Staph. aureus* (VRSA)는 검출되지 않았다.

Table 5. Multiple antibiotic resistance pattern of *Staphylococcus aureus* isolated from air cleaner and indoor-air at lunchroom in child care center

Antibiotics	Number	Rate (%)	Total (%)
AM-P	1	25.0	25.0
AM-CTT-OX-P	1	25.0	25.0
AM-FEP-CTT-OX-P	2	50.0	50.0
Total	4	100.0	100.0

AM; ampicillin (10 µg), FEP; cefepime (30 µg), CTT; cefotetan (30 µg), OX; oxacillin (1 µg), P; penicillin (10 U)

Table 6. Multiple antibiotic resistance pattern of *Bacillus cereus* isolated from air cleaner and indoor-air at lunchroom in child care center

Antibiotics	Number	Rate (%)	Total (%)
FEP-OX-P	1	4.3	4.3
AM-FEP-OX-P	10	43.6	43.6
AM-FEP-CTT-OX-P	6	26.3	
AM-FEP-OX-P-RD	1	4.3	30.6
AM-FEP-CTT-E-OX-P	1	4.3	
AM-FEP-CTT-OX-P-TE	1	4.3	
AM-FEP-E-OX-P-RD	1	4.3	
AM-FEP-OX-P-RD-TE	1	4.3	
AM-FEP-CTT-OX-P-TE	1	4.3	21.5
Total	23	100.0	100.0

AM; ampicillin (10 µg), FEP; cefepime (30 µg), CTT; cefotetan (30 µg), E; erythromycin (15 µg), OX; oxacillin (1 µg), P; penicillin (10 U), RD; rifampin (5 µg), TE; tetracycline (30 µg)

3. 항생제 다제 내성 패턴

*Staph. aureus*와 *B. cereus* 균주의 항생제 다제 내성을 분석한 결과는 Table 5와 6에 나타내었다. *Staph. aureus*의 경우 AM과 P 항생제 등 2가지 항생제에 1균주 (25%)가 다제 내성을 나타내었고 AM-CTT-OX-P 항생제 등 4가지 항생제에 1균주 (25%)가 다제 내성을 나타내었으며 AM-FEP-CTT-OX-P 항생제 등 5가지 항생제에 2균주 (50%)가 다제 내성을 나타내어 실험에 사용된 *Staph. aureus*는 모두 항생제 다제 내성을 나타내었다. *B. cereus*의 경우 FEP-OX-P 항생제 등 3가지 항생제에 1균주 (4.3%)가 다제 내성을 나타내었고 AM-FEP-OX-P 항생제 등 4가지 항생제에 10균주 (43.6%)가 다제 내성을 나타내었으며 AM-FEP-CTT-OX-P 항생제와 AM-FEP-OX-P-RD 항생제 등 5가지 항생제에 각각 6균주 (23.6%)와 1균주 (4.3%)

가 다제 내성을 나타내어 5가지 항생제에 다제 내성을 나타내는 *B. cereus*는 총 7균주로 (30.6%) 나타났다. 6가지 항생제에 다제 내성을 나타낸 *B. cereus*는 총 5균주 (21.5%)로서 AM-FEP-CTT-E-OX-P 항생제가 1균주, AM-FEP-CTT-OX-P-TE 항생제가 1균주, AM-FEP-E-OX-P-RD 항생제가 1균주, AM-FEP-OX-P-RD-TE 항생제가 1균주 및 AM-FEP-CTT-OX-P-TE 항생제가 1균주로 나타났다.

IV. 고 찰

공기청정기 필터의 미생물 오염도를 연구한 보고가 전무하여 실험결과를 직접 비교 분석 할 수는 없었지만 일반세균수가 평균 $3.26 \pm 3.51 \log \text{CFU}/100 \text{cm}^2$, 대장균수가 평균 $2.14 \pm 2.19 \log \text{CFU}/100 \text{cm}^2$, 진균수가 평균 $2.13 \pm 2.11 \log \text{CFU}/100 \text{cm}^2$ 를 나타낸 것은 휴게 음식점과 학교 급식소 조리실의 낙하세균이 $1.15 \sim 1.42 \log \text{CFU}/\text{plate}$ 를 나타내었다는 보고와^{9,18)} 비교 시 높은 오염도를 나타낸 것으로서 이러한 결과는 공기청정기를 1시간 가동 시 실내 부유세균이 $64.3 \pm 13.1\%$ 제거된다는 보고로¹⁹⁾ 보아 실내공기 중 부유세균이 공기청정기 필터에 농축된 결과인 것으로 판단된다. 공기청정기 필터의 식중독 미생물 실험결과 *Salmonella* spp.와 *Staph. aureus*가 검출되지 않은 것은 유치원 실내 공기 중 미생물을 조사한 결과 *Staph. aureus*는 검출되지 않고 *Staph. epidermidis*, *Staph. cohnii*, *Staph. lentus* 등이 검출되었다는 보고와²⁰⁾ 일치하는 결과이며 *B. cereus*가 11개 공기청정기 중 2개에서 (18.2%) 검출된 것은 병원 실내공기 중에서 *B. cereus*가 1.9에서 8.2% 까지 검출되었다는 보고에²¹⁾ 비해 높은 결과로서 이러한 결과는 그람 양성 포자 형성 균인 *B. cereus*가²²⁾ 실내공기 중에 오염되어 있다가 공기청정기 필터에 농축된 후 포자를 형성하여 생존하였기 때문인 것으로 판단된다. *B. cereus*에 의한 식중독 발생과 대사산물이 여러 질병의 원인물질로 작용하는 진균에¹⁰⁾ 의한 질병을 예방하기 위하여 공기청정기 필터의 주기적인 청소가 필요한 것으로 판단되었다.

어린이집 등 보육시설은 면역력이 취약한 영유아를 보육하는 교육기관으로서 집단 식중독이 발생할 경우 식중독 미생물의 항생제 내성 정보가 초기 치료에 결정적인 역할을 하게 되므로⁷⁾ 어린이집 실내

환경으로부터 분리된 식중독 미생물의 항생제 내성을 실험하였다. *Staph. aureus*의 항생제 내성 실험결과 β -lactam계 항생제인 AM과 P 항생제에 100% 내성을 나타내었는데 이러한 결과는 초등학교 급식환경에서 분리된 *Staph. aureus*가 AM과 P 항생제에 100% 내성을 나타내었다는 보고와⁷⁾ 일치하는 결과이나 식품제조 환경과 광주지역 및 서울지역 학생들의 손에서 분리된 *Staph. aureus*가 AM 항생제에 각각 90.9, 91.5, 28.6% 내성을 나타내고 P 항생제에 각각 90.9, 95.7, 79.6% 내성을 나타내었다는 보고에^{1,12,13)} 비해 높은 항생제 내성을 나타낸 것으로 학생들 손에서 분리된 *Staph. aureus* 보다 높은 β -lactam계 항생제 내성을 나타내었다. *B. cereus*의 항생제 내성 실험결과 AM, FEP, P 항생제에 100% 내성을 나타내었는데 이러한 결과는 농산물 재배환경과 설사환자 및 식품 중에서 분리된 *B. cereus*가 AM과 P 항생제에 100% 내성을 나타내었다는 보고와²³⁻²⁵⁾ 일치하는 결과이고 FEP 항생제의 경우 어린이 휴대수저집과 어린이 손 및 설사환자로부터 분리된 *B. cereus*가 100, 100, 97.7%의 내성을 나타내었다는 보고와^{15,16,25)} 매우 유사한 결과로서 대부분의 *B. cereus*가 β -lactamase를 생산 β -lactam계 항생제에 내성을 나타낸다는 보고와 일치하는 결과였다.²⁶⁻²⁸⁾

1970년대 이후 OX 항생제에 내성을 나타내는 *Staph. aureus* 균주 (MRSA)가 증가하고 있으며 1996년 일본에서 MRSA 감염 치료에 사용되는 VA 항생제에 중간내성을 나타내는 균주가 보고된 이후 2002년 미국에서 VA 항생제 내성을 가진 *Staph. aureus* 균주 (VRSA)가 보고되며 세계적으로 감염환자가 증가하여 심각한 사회문제를 야기하고 있다.^{29,30)} 본 실험에 사용된 *Staph. aureus* 4균주와 *B. cereus* 23 균주 중 VRSA는 검출되지 않았지만 *Staph. aureus*의 경우 3균주 (75%)가 OX 항생제에 내성을 나타내는 MRSA로 판명되었다. 이러한 결과는 어린이 500명의 비강을 조사한 결과 4명에서 MRSA가 검출되었다는 보고와³¹⁾ 광주지역 학생들의 손과 식품제조 및 농장 환경에서 분리된 *Staph. aureus* 중 MRSA는 각각 10.6, 36.4, 14.3% 이었다는 보고에 비해 매우 높은 OX 항생제 내성을 나타낸 것이다.^{1,13,32)} *B. cereus*의 경우 23균주 모두 OX 항생제에 내성을 나타내는 Methicillin 내성균주로 판명되어 어린이집 유아 손과 휴대 수저집 및 농장 환경과 설사환자에

서 분리된 *B. cereus* 중 Methicillin 내성 균주는 각각 100, 100, 96.0, 93.2% 이었다는 보고와 유사한 결과를 나타내었다.^{15,16,25,32)} 실험에 사용된 *Staph. aureus* 균주가 4균주로 매우 작아 어린이집 급식실 실내 환경 중 MRSA 오염도를 대표하기에는 한계가 있으나 OX 항생제에 내성을 나타내는 *mec A* 유전자가 *Staph. aureus* 균주 상호간 수평이동이 가능하고³³⁾ 어린이집 급식도구에서 *Staph. aureus*가 검출된다는 보고가¹⁵⁾ 있어 MRSA에 의한 집단 식중독 위험성은 상존한다고 판단된다. *Staph. aureus*와 *B. cereus*의 항생제 내성 실험결과를 볼 때 항생제 내성은 더 이상 병원 실내 환경만의 문제가 아니며 어린이집 급식실도 공기 질 등 실내 환경을 지속적으로 체계적으로 유지관리 하여야 할 것으로 판단되었다.

*Staph. aureus*는 혈류감염 등의 질병과 함께 식중독을 일으키는 대표적인 Gram 양성균으로 병원에서 분리된 *Staph. aureus* 뿐만 아니라 식품 및 환경에서 분리된 *Staph. aureus*도 질병 관련성이 보고되고 있다.³⁴⁾ *B. cereus*는 설사형과 구토형 식중독을 일으키며 설사형은 *B. cereus*가 소장에서 증식하며 장독소 (Enterotoxin)를 생산하여 발생하고 구토형은 *B. cereus*가 식품 중에서 증식하며 구토독소 (Emetic toxin)을 생산하여 발생한다.³⁵⁾ 토양 상재균인 *B. cereus*의 경우 신선편의식품의 소비 증가와 더불어 지속적으로 식중독을 발생시키고 있어²⁾ 식중독 환자의 초기 치료를 위해 분리균주의 항생제 다제 내성을 분석하였다. 본 실험에 사용된 *Staph. aureus*와 *B. cereus* 모두 β -lactam ring을 기본구조로 항균활성을 나타내는 Penicillin계와 Cephems계 항생제에 내성을 나타내었으며²³⁾ 광주지역 학생들의 손에서 분리된 *Staph. aureus*의 경우 9.0%가 5개 이상의 항생제에 다제 내성을 나타내었고 서울지역 학생들의 손에서 분리된 *Staph. aureus*의 경우 60.0%가 2개 이상의 항생제에 다제 내성을 나타내었다는 보고와 비교 시 본 실험에 사용된 *Staph. aureus*는 모두 2개 이상의 항생제에 다제 내성을 나타내었으며 50%가 5개 이상의 항생제에 다제 내성을 나타내어 학생들의 손에서 분리된 *Staph. aureus* 보다 높은 항생제 다제 내성을 나타내었다. 시판 건포투와 농장 환경에서 분리한 *B. cereus*의 경우 94.4%와 50%가 6개 이상의 항생제에 다제 내성을 나타내었다는 보고와^{23,24)} 비교 시 본 실험에 사용된 *B. cereus*의 경우 6개 이상의

다제 내성 비율이 21.5%로 낮게 나타났으나 분리균주 모두 3개 이상의 항생제에 다제 내성을 나타내었다. 따라서 면역력이 취약한 보육시설의 영유아에게 실내 환경에 오염되어 있던 항생제 다제 내성 균주가 감염되어 식중독이 발생할 경우 치료가 매우 곤란하므로 보육시설의 실내 환경 관리에 각별한 주의가 필요하며 보육시설 실내 환경에서 분리된 식중독 미생물에 대한 체계적인 항생제 내성 연구가 필요한 것으로 판단된다.

V. 결 론

어린이집 급식실 내 설치된 공기청정기의 미생물 오염도를 조사하고 급식실 실내 공기와 공기청정기에서 분리된 식중독 미생물의 항생제 내성 패턴을 분석하여 집단식중독 발생 시 초기 치료에 필요한 정확한 항생제 정보를 제시하기 위하여 *Staph. aureus* 4균주와 *B. cereus* 23균주의 항생제 내성을 실험하였다. 공기청정기 필터의 식중독 미생물 실험결과 *Salmonella* spp.와 *Staph. aureus*는 검출되지 않았으나 *B. cereus*가 11개 공기청정기 필터 중 2개에서 (18.2%) 검출되어 공기청정기 필터의 주기적인 청소가 필요한 것으로 판단되었다. *Staph. aureus* 항생제 내성 실험결과 AM, P 항생제에 내성을 나타내었고 *B. cereus* 항생제 내성 실험결과 AM, FEP, P 항생제에 내성을 나타내었다. *Staph. aureus*와 *B. cereus* 균주 모두 VA 항생제에 감수성을 나타내었으나 *Staph. aureus* 4균주 중 3균주가 MRSA로 나타났고 *B. cereus*의 23균주 모두 Methicillin 내성을 나타내었다. *Staph. aureus*는 모두 2개 이상의 항생제에 다제 내성을 나타내었고 *B. cereus*는 모두 3개 이상의 항생제에 다제 내성을 나타내어 감염 시 치료에 사용할 수 있는 항생제가 제한적인 것으로 나타났다. 따라서 항생제 내성은 더 이상 병원 실내 환경만의 문제가 아니며 어린이집 급식실 실내 환경도 지속적이고 체계적인 관리가 필요하며 보육시설 실내 환경에서 분리된 식중독 미생물에 대한 체계적인 항생제 내성 연구가 필요한 것으로 판단된다.

참고문헌

1. Kim JY, Kim SR, Choe JM, Shim WB, Park SJ,

- Chung DH. Antibiotic resistance for isolated pathogenic bacteria from manufacturing establishment of sandwich products. *J Fd Hyg safety*. 2007; 22(1): 45-51.
2. Korea Food and Drug Administration. Information of Food Poison. 2012 May 16. Available at: <http://e-stat.kfda.go.kr>.
3. Central Childcare Information Center. Statistics on Child Care Service. 2012 May 16. Available at: <http://central.childcare.go.kr>.
4. Jang ML, Kim YB. A study of the actual conditions of kindergarten meals program. *J Kor Soc Early Childhood Education*. 2003; 23(3): 261-284.
5. Kim JM, Kim JS, Jung HC, Kim NY, Song SS. Antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* isolated from Korean patients in 2003. *Korean J Gastroenterol*. 2004; 44(3): 126-135.
6. Song JH. Mechanisms of antimicrobial resistance. *The Microorganisms and Industry* 1998; 24(1): 20-25.
7. Ha KS, Park SJ, Shim WB, Chung DH. Screening of MRSA (methicilline resistant *staphylococcus aureus*) and *seb* gene in producing strains isolated from food service environment of elementary schools. *J Fd Hyg safety*. 2003; 18(2): 79-86.
8. Park SG, Park SK, Jung JH, Jin YH. Antibiotic susceptibility of *Salmonella* spp. isolated from diarrhea patients in Seoul from 1996 to 2001. *J Fd Hyg safety*. 2002; 17(2): 61-70.
9. Kim JG, Park JY, Kim JS. A study on the sanitary condition of kitchens in food court/cafeterias - An observation on seasonal variations. *J Environ Health Sci*. 2012; 38(2): 118-127.
10. Kim NY, Kim YR, Kim MK, Cho DW, Kim JS. Isolation and characterization of airborne bacteria and fungi in indoor environment of elementary school. *Kor J Microb*. 2007; 43(3): 193-200.
11. Lee AM, Kim NY, Kim SY, Kim JS. Distribution and characteristics of airborne microorganisms in indoor environment of schools. *Kor J Microb*. 2005; 41(3): 188-194.
12. Lee H, Choi SM. Hand washing awareness among students in Seoul and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated on their hands. *J Environ Health Sci*. 2009; 35(4): 278-286.
13. Chung JK, Kim MJ, Kee YH, Choi MH, Seo JJ, Kim SH, Park JT, Kim MG, Kim ES. Prevalence of food poisoning bacteria on hands in various age groups. *J Fd Hyg safety*. 2008; 23(1): 40-50.
14. Korea Food and Drug Administration. Food Code of Korea. Seoul Korea: KFDA, 2005.

15. Kim JB, Park YB, Kim KC, Kim DH, Kang SH, Lim YS, Park PH, Yoon MH, Lee JB. Evaluation and reduction of microbiological hazards of spoon and spoon case carried by nursery school children. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 2011; 40(1): 116-122.
16. Kim JB, Hur ES, Kang SH, Kim DH, Do YS, Park PH, Park YB, Yoon MH, Lee JB. Prevalence of microbiological hazard on nursery school children's hands and effect of hand washing education. *J Fd Hyg safety.* 2012; 27(1): 30-36.
17. Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 15th informational supplement, M100-S15. 2005.
18. Kim JG, A survey on the sanitation condition of kitchens and facilities of a school food-service program. *Kor J Environ Health.* 2003; 29(1): 87-93.
19. Na KH, Son JS, Sung KJ, Jang YK. Comparative efficiency evaluation of air cleaners for improving indoor air quality. *Journal of Environmental Impact Assessment.* 2005; 14(3): 109-115.
20. Hwang KH, Lee AM, Shin HJ, Kim JS. Seasonal monitoring of microbial concentrations in kindergartens. *Kor J Microb.* 2003; 39(4): 253-259.
21. Chang MW, Chang TH, Park ID, Kim KH. Antibiotic susceptibility to isolated bacteria and fungi from the indoor-air. *Kor J life Sci.* 1998; 8(5): 537-549.
22. Kim JB, Kim JM, Kim SY, Kim JH, Park YB, Choi NJ, Oh DH. Comparison of enterotoxin production and phenotypic characteristics between emetic and enterotoxic *Bacillus cereus*. 2010; *J Food Prot.* 73(7): 1219-1224.
23. 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 area. *Kor J Food Sci Technol.* 2011; 43(2): 134-141.
24. Ham HJ, Kim MS. *Bacillus* spp. and *B. cereus* isolated in dried maine products. *J Fd Hyg safety.* 2006; 21(3): 159-163
25. Park YB, Kim JB, Shin SW, Kim JC, Cho SH, Lee BK, Ahn JH, Kim JM, Oh DH. Prevalence, genetic diversity, and antibiotic susceptibility of *Bacillus cereus* strains isolated from rice and cereals collected in Korea. *J Food Prot.* 2009; 72(3): 612-617.
26. Kim JB, Kim JM, Cho SH, Oh HS, Choi NJ, Oh DH. Toxin genes profiles and toxin production ability of *Bacillus cereus* isolated from clinical and food samples. *J Food Sci.* 2011; 76(1): T25-29.
27. Kim JB, Park JS, Kim MS, Hong SC, Park JH, Oh DH. Genetic diversity of emetic toxin producing *Bacillus cereus* Korean strains. *Int J Food Microbiol.* 2011; 150(1): 66-72.
28. Weber T, Marahiel MA. Exploring the domain structure of modular nonribosomal peptide synthetases. *Structure.* 2001; 9(1): R3-R9.
29. Kim MN, Pai CH, Woo JH, Ryu JS, Hiranatsu K. Vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus* in Korea. *J Clin Microbiol.* 2000; 38(10): 3897-3881.
30. Woodford N, Waner M, Aucken HM. Vancomycin resistance among epidemic strains of methicillin-resistance *Staphylococcus aureus* in England and wales. *J Antimicrob chemother.* 2000; 45(2): 258-259.
31. Nakamura MM, Rohiling KL, Shashaty M, Lu H, Tang YW, Edwards KM. Prevalence of methicillin resistance *Staphylococcus aureus* nasal carriage in the community pediatric population. *Pediatr Infect Dis.* 2002; 21(10): 917-922.
32. Kim JS, Kim JH, Choi JM, Ha SD, Kim KS, Lee KH, Kim MG, Kim KY, Chung DH. Characteristics of enterotoxigenic genes and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from tomato farms in western Gyeongnam. *Kor J Food Sci Technol.* 2006; 38(2): 295-303.
33. Suzuki E, Hiranatsu K, Yokota T. Survey of methicillin-resistance clinical strains of coagulase-negative staphylococci for *mec A* gene distribution. *Antimicrob Agent Chemother.* 1992; 36: 429-453.
34. Styers D, Sheehan DJ, Hogan P, Sahm DF. Laboratory-based surveillance of current antimicrobial resistance patterns and trends among *Staphylococcus aureus*: 2005 status in the United States. *Am Clin Microbiol Antimicrob.* 2006; 5(2): 1-9.
35. Kim JB, Jeong HR, Park YB, Kim JM, Oh DH. Food poisoning associated with emetic-type of *Bacillus cereus* in Korea. *Foodborne Pathog Dis.* 2010; 7(5): 555-563.