

경기지역 학교 단체급식소 식품 및 환경 중 식중독균 분석

오탈영¹ · 백승엽¹ · 구민선^{1,2} · 이종경³ · 김승민¹ · 박경민² · 황대근² · 김현정^{1,2}

¹한국식품연구원

²과학기술연합대학원대학교

³한양여자대학 식품영양과

Analysis of Foodborne Pathogens in Food and Environmental Samples from Foodservice Establishments at Schools in Gyeonggi Province

Tae Young Oh¹, Seung-Youb Baek¹, Minseon Koo^{1,2}, Jong-Kyung Lee³, Seung Min Kim¹,
Kyung-Min Park², Daekeun Hwang², and Hyun Jung Kim^{1,2}

¹Food Safety Research Group, Korea Food Research Institute

²Department of Food Biotechnology, University of Science and Technology

³Department of Food and Nutrition, Hanyang Women's University

ABSTRACT Foodborne illness associated with food service establishments is an important food safety issue in Korea. In this study, foodborne pathogens (*Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, pathogenic *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, and *Vibrio parahaemolyticus*) and hygiene indicator organisms [total viable cell counts (TVC), coliforms] were analyzed for food and environmental samples from foodservice establishments at schools in Gyeonggi province. Virulence factors and antimicrobial resistance of detected foodborne pathogens were also characterized. A total of 179 samples, including food (n=66), utensil (n=68), and environmental samples (n=45), were collected from eight food service establishments at schools in Gyeonggi province. Average contamination levels of TVC for foods (including raw materials) and environmental samples were 4.7 and 4.0 log CFU/g, respectively. Average contamination levels of coliforms were 2.7 and 4.0 log CFU/g for foods and environmental swab samples, respectively. *B. cereus* contamination was detected in food samples with an average of 2.1 log CFU/g. *E. coli* was detected only in raw materials, and *S. aureus* was positive in raw materials as well as environmental swab samples. Other foodborne pathogens were not detected in all samples. The entire *B. cereus* isolates possessed at least one of the diarrheal toxin genes (*hblACD*, *nheABC*, *entFM*, and *cytK* enterotoxin gene). However, *ces* gene encoding emetic toxin was not detected in *B. cereus* isolates. *S. aureus* isolates (n=16) contained at least one or more of the tested enterotoxin genes, except for *tst* gene. For *E. coli* and *S. aureus*, 92.7% and 37.5% of the isolates were susceptible against 16 and 19 antimicrobials, respectively. The analyzed microbial hazards could provide useful information for quantitative microbial risk assessment and food safety management system to control foodborne illness outbreaks in food service establishments.

Key words: foodservice, foodborne pathogen, toxigenic genes, antibiotics susceptibility

서론

식중독으로 인한 우리나라의 사회경제적 손실비용은 2005년 1조 6천억 원으로, 주요 식품안전 이슈 중 하나이다 (1). 이 중 단체급식 발생 식중독은 건당 발생 환자수가 많아 이에 대한 관심이 집중되고 있다. 단체급식 이용자수는 2010년 기준 국민의 25%가 넘는 1,390만 명으로 추정되며, 최근 5년간 학교(직영 및 위탁) 및 기업의 단체급식에서 발

생된 식중독 환자수는 연간 2,521~4,515명이었다. 2014년 기준 건당 평균 식중독 환자수는 68.4명, 전체 환자수는 4,515명이었는데 이 중 학교 급식(직영)에서 전체 식중독 환자의 89.9%가 발생하여 단체급식 중 안전관리 필요성이 높은 것으로 조사되었고 다음으로 기업의 단체급식과 학교 급식(위탁)의 순이었다(2). 2014년 학교 단체급식소의 원인 물질별 식중독 통계에 의하면 pathogenic *Escherichia coli* 가 17건(환자수 1,441명)으로 가장 높게 나타났으며 그 뒤로 *Clostridium perfringens*가 10건(환자수 944명), norovirus가 8건(환자수 333명), *Staphylococcus aureus*가 3건(환자수 99명), *Salmonella* spp.가 2건(환자수 852명)으로 나타났다(2). 이들 병원성 미생물은 조리, 가공과정 중

가열을 하지 않고 그대로 소비되는 신선편의 식품(3) 및 불충분한 가열 또는 조리로 식품에 교차 오염되는 경우의 주요 식중독 유발요인으로 알려져 있다(4). 단체급식소 식중독 발생의 주요 원인으로는 급식시설의 노후화 및 환경의 열악함, 오염된 식재료와 조리기구의 사용, 식품의 저장, 보관 등 관리 및 조리단계에서의 온도관리 미흡, 조리 종사자의 개인위생 불량, 교차오염 그리고 위생관리체계 미비 등이 제시된 바 있다(5). 아울러 식중독 발생을 감소시키기 위한 위생관리 영역은 크게 식품 원자재의 위생, 조리 종사자의 개인위생, 급식소의 조리 기구나 조리환경 위생 등으로 분류할 수 있다(6). 단체급식소 식중독 제어와 안전관리 기술을 개발하기 위해서는 무엇보다 주요 공정 중 식품, 도구와 환경 시료 중의 미생물학적 위해인자에 대한 체계적인 분석에 근거한 위험분석이 요구된다. 국내외에서 식품안전관리를 위해 사전 예방적 안전관리 시스템을 도입하는 추세로 이와 관련하여 식품안전 분야에서 위험분석의 중요성이 크게 인식되고 있다(7,8). 위험분석은 식품 등에 존재하는 위해요인이 인체에 노출되었을 때 발생할 수 있는 유해 영향과 발생확률을 과학적으로 예측하는 일련의 과정으로 국내의 경우 2005년도 식품위생법에 관련 규정이 신설되면서 식품안전의 측면에서 위험분석이 강조되어 왔다. 기존의 정부 주도 식품안전관리는 물론이고 산업적 식품안전관리의 영역까지 널리 이용되는 추세로(9), 단체급식소 식중독 안전관리에도 활용 가능성이 높다. 이에 본 연구에서는 위험분석에 기반을 둔 단체급식소 식중독 사전 예방 시스템 개발을 위하여 식중독 환자 발생 건수가 가장 많아 안전관리 우선순위가 높은 학교급식(직영)에서 식품, 조리 도구 및 환경 중 식중독균을 분석하고 이들 미생물의 병원성 인자 및 항생제 내성을 확인하여 단체급식소 미생물 위험분석을 위한 정보를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

시료수집

2014년 5월부터 8월까지 경기도 소재 총 8개 학교의 급식소를 방문하여 전처리 및 조리 단계의 식품, 음용수, 조리 도구 및 환경 swab 시료를 무균적으로 멸균백에 채취하였다. 채취 후 즉시 냉장상태로 실험실에 운반하여 미생물 분석을 수행하였다. 모든 분석은 시료를 채취한 후 6시간 이내에 진행되었으며, 시료는 분석 진행 전까지 4°C로 유지하였다.

위생지표균 분석

단체급식소의 위생지표를 조사하기 위하여 일반세균수와 대장균군을 정량 분석하였다. 일반세균수는 식품공전(10)에 따라 시료 25 g에 멸균 인산 완충 희석액 225 mL를 가하여 균질기(Stomacher®400 Circulator, Seward Laboratory Systems Inc., Davie, FL, USA)를 이용하여 260 rpm

에서 2분간 균질화시킨 후 시험액 1 mL를 취하여 멸균 인산 완충 희석액 9 mL에 단계 희석하였다. 각 단계 희석액 1 mL를 평판에 분주하고 Plate Count Agar(PCA, Merck, Darmstadt, Germany)를 약 15 mL씩 부어 고르게 혼합한 후 37°C에서 24~48시간 배양하여 성장한 집락 수를 측정하였다.

대장균군(coliforms)은 일반세균수와 동일한 시험액 10, 1, 0.1 mL씩 3개를 튜브관을 넣은 Brilliant-green bile lactose broth(BGLB, Merck)에 접종하고 37°C에서 48시간 배양하여 가스의 발생이 확인되면 Endo agar(Merck)에 희석 배양하였다. 전형적인 집락이 확인되면 Nutrient agar(Merck)에 희석 배양하여 성장한 집락이 그람 음성, 무아포성 간균으로 확인되면 대장균군 양성으로 확정하고, 최확수표에 따라 대장균군 수를 산출하였다.

식중독균 분석

*Bacillus cereus*의 정량분석은 식품공전(10)에 따라 실시하였다. 일반세균수 분석과 동일한 시험액 1 mL를 단계 희석한 후, Mannitol Egg yolk Polymyxine agar(MYEP, Merck)에 각 단계 희석액을 0.2 mL씩 5장에 도달하여 총 접종액이 1 mL가 되게 한 다음 30°C에서 24시간 배양하였다. 성장한 집락 주변에 lecithinase를 생성하는 혼탁한 환이 있는 분홍색 집락을 계수하였다. 계수한 평판에서 5개 이상의 전형적인 집락을 선별하여 TSA(Merck)에 희석 도달하고 VITEK2®compact(BioMerieux, Marcy l'Etoile, France)로 확인 후 식품공전에 따라 *B. cereus*를 최종 확인하고 정량 결과값에 반영하였다.

C. perfringens, *E. coli*, pathogenic *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., *S. aureus*, *Vibrio parahaemolyticus*와 같은 병원성 미생물 정성시험은 식품공전(10)에 따라 진행되었다. 즉 시료 25 g에 분석할 병원성 미생물에 따른 225 mL의 배양액을 각각 가한 후 균질기를 이용하여 1분간 균질화시킨 다음 *L. monocytogenes*는 30°C, 나머지 균주는 35~37°C에서 18~24시간 배양하였다. 병원성 미생물별 증균 배양액을 10 µL 취하여 각 균별 선택배지에 접종한 후 37°C에서 배양하였다. 이때 *L. monocytogenes*는 30°C에서 24시간 배양하였고, *C. perfringens*는 37°C에서 혐기배양 하였다. 의심되는 집락을 TSA(Merck)에 희석 도달한 후 37°C에서 24시간 배양한 다음 VITEK2®compact(BioMerieux)로 최종 확인하였다.

병원성 인자 분석

분리 동정된 *B. cereus*와 *S. aureus*의 독소유전자는 PCR로 확인 동정하였다. 각 분리주의 genomic DNA는 DNeasy Blood and Tissue Kit(Qiagen GmbH, Hilden, Germany)을 사용하여 추출한 후 template DNA로 사용하였으며, *S. aureus*는 Lysozyme(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)을 포함한 enzymatic lysis buffer를 사용하였다. PCR

Table 1. List of primers used in the PCR for the detection of virulence associated genes in *B. cereus*

Target gene	Primer	Sequence	Condition	Amplicon (bp)	Reference
<i>gyrB</i>	BC-F	ATTGGTGACACCGATCAAACA	94°C 60 s, 58°C 90 s, 72°C 60 s (30 cycle)	365	Prüß et al. (11)
	BC-R	TCATACGTATGGATGTTATTC			
<i>cry</i>	K3	GCTGTGACACGAAGGATATAGCCA		1,600~ 1,700	Hwang (12)
	K5	AGGACCAGGATTTACAGGAGG			
<i>hblA</i>	hblA-F	GTGCAGATGTTGATGCCGAT		319	Ryan et al. (13)
	hblA-R	ATGCCACTGCGTGGACATAT			
<i>hblC</i>	hblC-F	AATGGTCATCGGAACCTCTAT		749	Ryan et al. (13)
	hblC-R	CTCGCTGTTCTGCTGTT2AAT			
<i>hblD</i>	hblD-F	AATCAAGAGCTGTCACGAAT		429	Ryan et al. (13)
	hblD-R	CACCAATTGACCATGCTAAT			
<i>nheA</i>	nheA-F	TACGCTAAGGAGGGGCA	94°C 45 s, 55°C 45 s, 72°C 45 s (35 cycle)	499	Granum et al. (14)
	nheA-R	GTTTTTATTGCTTCATCGGCT			
<i>nheB</i>	nheB-F	CTATCAGCACTTATGGCAG		769	Granum et al. (14)
	nheB-R	ACTCCTAGCCGGTGTTC			
<i>nheC</i>	nheC-F	CGGTAGTGATTGCTGGG		581	Granum et al. (14)
	nheC-R	CAGCATTTCGTAATTGCCAA			
<i>bceT</i>	bceT-F	GACTACATTCACGATTACGCAGAA		303	Lee et al. (15)
	bceT-R	CTATGCTGACGAGCTACATCCATA			
<i>entFM</i>	entFM-F	ATGAAAAAAGTAATTTGCAGG		1,269	Asano et al. (16)
	entFM-R	TTAGTATGCTTTTGTGTAACC			
<i>cytK</i>	cytK-F	GTAACCTTTCATTGATGATCC	94°C 45 s, 44°C 45 s, 72°C 45 s (35 cycle)	505	Stenfors and Granum (17)
	cytK-R	GAATACTAAATAATTGGTTTCC			
<i>ces</i>	ces-F	GGTGACACATTATCATATAAGGTG	94°C 45 s, 55°C 45 s, 72°C 45 s (35 cycle)	1,271	Granum et al. (14)
	ces-R	GTAAGCGAACCTGTCTGTAACAACA			

반응액은 AccuPower™ premix(Bioneer, Daejeon, Korea)에 template DNA 1 µL와 각각의 specific primer 1 µL를 넣고 증류수로 전체 용량이 20 µL가 되게 첨가하였다. *B. cereus*와 *S. aureus*의 enterotoxin gene을 분석하기 위한 primer 염기서열과 PCR 반응 조건은 Table 1, 2와 같다. PCR cycler(Eppendorf, Hamburg, Germany)의 반응조건은 94°C에서 7분간 predenaturation 시킨 후 Table 1과 2의 조건에 따라 annealing 시키고(11-18), 72°C에서 7분간 extension을 진행하였다. 증폭된 DNA는 2.0% agarose gel을 사용하여 TBE buffer 하에서 100 V로 50분간 전기영동을 실시한 후 EtBr로 15분간 염색한 다음 UV로 관찰하였다. 독소유전자 확인을 위해 사용된 표준균주는 *B. cereus* ATCC 14579(diarrheagenic), *B. cereus* NCCP 14796 (emetic), *S. aureus* ATCC 13565(*sea*), ATCC 14458 (*seb*), *S. aureus* ATCC 19095(*sec, seg, seh, sei, seg, sel, sem, sen, seo, seu*), *S. aureus* ATCC 23235(*sed, ser*), *S. aureus* FRI913(*see, sek, seq*), *S. aureus* NRS 110(*sej*), *S. aureus* NRS111(*tst*) 등이었다(19,20).

항생제 내성

학교 급식소에서 분리 동정된 *E. coli*와 *S. aureus*의 항생제 내성을 VITEK2®system(BioMerieux)의 AST-N224 test Card와 AST-P601 test Card를 이용하여 broth dilu-

tion법으로 시험하였다. 시험한 항생제로는 *E. coli*의 경우 amikacin, ampicillin, amoxicillin/clavulanic acid, aztreonam, cefazolin, cefepime, cefotaxime, cefoxitin, cef-tazidime, ciprofloxacin, ertapenem, gentamicin, imipenem, piperacillin/tazobactam, tigercycline, trimethoprim/sulfamethoxazole과 같고, *S. aureus*는 benzylpenicillin, clindamycin, ciprofloxacin, erythromycin, fusidic acid, gentamicin, habekacin, linezolid, mupirocin, nitrofurantoin, oxacillin, quinupristin/dalfopristin, rifampicin, teicoplanin, telithromycin, tetracycline, tigercycline, trimethoprim/sulfamethoxazole, vancomycin과 같다. Clinical and Laboratory Standard Institute(CLSI)의 기준을 따라 항생제 내성 여부를 판별하였으며(21), *E. coli* ATCC 10536과 *S. aureus* ATCC 23235를 표준균주로 사용하였다.

급식소 환경미생물 분포

미생물학적 위해인자를 분석한 총 8개 급식소 중 두 곳을 선정하여 급식소 환경의 미생물 분포를 분석하였다. 선정된 급식소에서 절단기, 칼, 세척대, 앞치마, 고무장갑, 화장실 세면대 손잡이, 전처리용 건조대, 냉장고 손잡이 등의 표면을 멸균 면봉으로 획득하여 0.85% 생리식염수에 현탁 후, 현탁액을 Tryptic Soy Agar(TSA, Merck)에 도말하여 생

Table 2. List of primers used in the PCR for the detection of virulence associated genes in *S. aureus*

Target gene	Primer	Sequence	Condition	Amplicon (bp)	Reference
<i>sea</i>	SEA-f	ATGGTTATCAATGTGCGGGTGIHIIICCAAACAAAAC	94°C 30 s, 55°C 30 s, 72°C 45 s (30 cycle)	344	Hwang et al. (19)
	SEA-r	TGAATACTGTCCTTGAGCACCAIHIIATCGTAATTAAC			
<i>seb</i>	SEB-f	TGGTATGACATGATGCCTGCACIHIIIGATAAATTTGAC		196	
	SEB-r	AGGTACTCTATAAGTGCCTGCCTIHIIIACTAACTCTT			
<i>sec</i>	SEC-f	GATGAAGTAGTTGATGTGTATGGATCIHIIIACTATGTA AAC		399	
	SEC-r	AGATTGGTCAAACCTTATCGCCTGGIHIIIGCATCATATC			
<i>sed</i>	SED-f	CTGAATTAAGTAGTACCGCGCTIHIIIAATATGAAAC		451	
	SED-r	TCCTTTTGCAAATAGCGCCTTGIHIIIGCATCTAATTC			
<i>see</i>	SEE-f	CCCTTGAGCATCAAACAAATCATAAHIIICGTGGACCCTTC		594	
	SEE-r	ATAGACTGAATAAGTTAGAGGAGTIIHIIIGAAGAAATTATC			
<i>seg</i>	SEG-f	ATAGACTGAATAAGTTAGAGGAGTIIHIIIGAAGAAATTATC		594	
	SEG-r	TTAGTGAGCCAGTGTCTTGCIHIIIAATCTAGTTC			
<i>she</i>	SEH-f	CATTCACATCATATGCGAAAGCAGIHIIITACACG		218	
	SEH-r	CTTCTGAGCTAAATCAGCAGTTGCIHIIITACTCTC			
<i>sei</i>	SEI-f	AGGCGTCACAGATAAAAACCTACCIHIIICAAATCAACTC		154	
	SEI-r	ACAAGGACCATTATAATCAATGCCIHIIITATCCAGTTTC			
<i>sej</i>	SEJ-f	TGTATGGTGGAGTAACACTGCATGIHIIIAATCAACTTTATG		102	
	SEJ-r	CTAGCGGAACAACAGTTCTGATGCIHIIATCCATAAAT			
<i>sek</i>	SEK-f	GTGTCTCTAATAATGCCAGCGCTIHIIICGATATAGG		282	
	SEK-r	CGTTAGTAGCTGTGACTCCACCIHIIITGTATTTAG			
<i>sel</i>	SEL-f	ATTCACCAGAATCACACCGCTIHIIITACTCGTA		469	
	SEL-r	GTGTAATAATAATCATAACGAGIHIIIGAACCATCATTC			
<i>sem</i>	SEM-f	CGCAACCGCTGATGTGCGIHIIITGAATCTTAGG		572	
	SEM-r	CAGCTTGTCTGTCCAGTATCIHIIIAAGTCATAAG			
<i>sen</i>	SEN-f	TCATGCTTATACGGAGGAGTTACGIHIIITGATGGAAATC	103		
	SEN-r	AACCTTCTGTGGACACCATCIHIIIAATACATTAACGC			
<i>seo</i>	SEO-f	GTGGAATTTAGCTCATCAGCGATTTCIHIIIAATTTCTAGG	116		
	SEO-r	GTACAGGCAGTATCCACTTGATGCIHIIATGACAATGTGC			
<i>sep</i>	SEP-f	ATCATAACCAACCGAATCACCAGIHIIIGGGTGAAACTC	547		
	SEP-r	GTCTGAATTGCAGGGAAGTGCIHIIIGCAATCTTAG			
<i>seq</i>	SEQ-f	GGTGGAAATTACGTTGGCGAATCAIHIIITAGATAAACC	330		
	SEQ-r	CTCTGCTTGACCAGTCCGGTGIHIIICAAATCGTATG			
<i>ser</i>	SER-f	TTCAGTAAGTGCTAAACCAGATCCIHIIICTGGAGAATTG	368		
	SER-r	CTGTGGAGTGCATTGTAACGCCIHIIIAATGCAAACCTCC			
<i>seu</i>	SEU-f	ATGGCTCTAAAATTGATGGTTCTAHIIITTA AAAACAG	410		
	SEU-r	GCCAGACTCATAAGGCGAACTAHIIITTCATATAAA			
<i>tst</i>	TST-f	GTTGCTTGGCACAACCTGCTACAGIHIIIAACCCCTGTTC	209		
	TST-r	TCAAGCTGATGCTGCCATCTGTGIHIIITATACGCATAG			
<i>femA</i>	Fem-f	ACAGCTAAAGAGTTTGGTGCCTIHIIIGATAGCATGC	723		
	Fem-r	TTCATCAAAGTTGATATACGCTAAAGGTIHIIICACACGGTC			

존한 균주를 대상으로 MS system(VITEK MS, BioMérieux)을 이용하여 분석하였다. 배양한 미생물을 1 µL matrix solution과 함께 Target Slide에 접종하고 분석한 후 VITEK MS system(BioMérieux)의 고급 스펙트럼 분류기 소프트웨어(Myla v.3.2, BioMérieux)를 이용하여 결과를 분석하였다. 시험 결과의 보정을 위해 사용한 표준균주는 *E. coli* ATCC 8739였다.

결과 및 고찰

위생지표균 오염도

위생지표균 및 식중독균을 분석한 총 8개 경기도 소재 학교 급식소는 농촌 3곳, 도시 4곳 및 벽지 1곳으로 구성되어 있으며 8개 학교 전체의 1일 식수 인원은 14,573명이었다. 학교 급식소에서 채취한 식품, 조리도구 및 환경 시료의 위생 실태를 살펴보기 위하여 지표균으로 총균수와 대장균

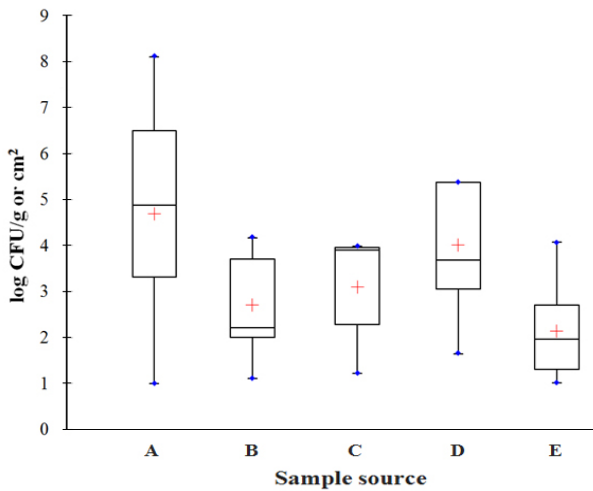


Fig. 1. Contamination of hygiene indicator microorganisms and *B. cereus* in food, equipment and environmental sample from foodservice establishments of schools. A, total viable counts of foods (n=66); B, total viable counts of equipment and environments (n=56); C, coliform of foods (n=66); D, coliform of equipment and environments (n=56); E, *B. cereus* of foods (n=66).

균을 분석하였다. 총 66개 식품 시료의 총균수는 평균 4.7 log CFU/g, 최대 8.1 log CFU/g이었고, 대장균군은 평균 3.1 log CFU/g, 4.0 log CFU/g으로 총균수에 비해 대장균군의 오염 수준이 낮았다. Cho와 Park(22)의 연구에서는 식재료의 총균수가 5.5 log CFU/g, 최대 6.8 log CFU/g으로 평균값은 더 높은 수준이었으나 편차가 크지 않았으며, 대장균군은 2.7 log CFU/g, 최대 3.6 log CFU/g으로 본 연구 결과보다 약간 낮은 수준으로 검출되었다. 한편 총 56개 환경 시료의 경우 총균수는 평균 2.7 log CFU/g, 최대 4.1 log CFU/g으로 식품 시료보다 낮은 수준으로 분석되었으나 대장균군의 경우 식품 시료와는 달리 환경 시료에서 평균 4.0 log CFU/g, 최대 5.4 log CFU/g으로 총균수에 비해 높은 수준으로 분석되었다(Fig. 1). 식품공전(10)에서 즉석섭취, 편의식품류의 세균수 기준은 5 log CFU/g으로 제시되었으나, 대장균군은 따로 명시되지 않았다. Solberg 등(23)도 세균수 기준을 5 log CFU/g 이하로 제안하였고, 대장균군은 3 log MPN/g 이하로 검출되지 않아야 한다고 제안한 바 있다. 대장균군에 대한 기준은 현재 정해져 있지 않으나 분변지표균인 대장균군의 급식소 환경 시료에서 높은 수준으로 검출된 결과는 환경에 의한 교차오염의 가능성을 배제할 수 없음을 나타내고 있어 이에 대한 추가 연구가 요구된다.

식중독균 분석

학교 급식소의 식품, 조리도구 및 환경 시료를 채취하여 *B. cereus*의 정량분석 및 *C. perfringens*, *E. coli*, pathogenic *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., *S. aureus*, *V. parahaemolyticus*의 정성분석을 실시하였다. *B. cereus*는 토양에서 유래된 미생물로 토양, 물, 먼지와

같은 자연환경에 널리 분포되어 있으며 원재료를 통해 식품에 오염된다. 일반적으로 *B. cereus*는 열에 안정성이 있는 포자를 형성하며 이는 135°C의 온도에서도 4시간 동안 생존이 가능하므로(24), 식품에 이미 오염되었을 경우 일반적인 열처리로는 포자를 제거할 수 없다. 식품 내 *B. cereus*의 수준이 3~6 log CFU/g 이상일 경우 식중독을 야기할 수 있음이 보고된 바 있다(24-27). 본 연구에서는 *B. cereus*의 정량분석 결과 식품 시료(n=66)에서 평균 2.1 log CFU/g, 최대 4.1 log CFU/g으로 분석되었으며, 이 중 조리된 식품의 오염도는 4 log CFU/g 이하로 식품공전의 기준 이하였다(10)(Fig. 1). 식품 시료 중 *E. coli*와 *S. aureus*는 조리 전 시료(n=14)의 각각 35.7%, 21.4%에서 검출되었으며 검출된 시료는 *E. coli*의 경우 숙주나물, 참나물, 썩갓, 감자, *S. aureus*의 경우 다진 당근, 썩갓, 감자였다. 조리단계 식품 시료(n=52)에서는 모두 음성으로 분석되었다. 조리도구(n=68)의 경우 모두 음성이었으며 환경 시료에서는 *S. aureus*가 냉장고 손잡이(n=14)에서 1개가 양성으로 검출되었고 그 외의 다른 환경 시료는 모든 항목에서 음성으로 분석되었다(Table 3). 그 외 *C. perfringens*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., *V. parahaemolyticus*는 분석된 식품, 조리도구 및 환경 시료에서 모두 음성이었다. *E. coli*는 조리 전 시료에서 35.7% 양성으로 나타났으나 병원성 인자는 검출되지 않았다. *S. aureus*는 건강한 사람의 25~50%가 보균자이며 이 중 15~20%는 enterotoxin gene을 생성할 수 있기 때문에 조리 종사자에 의해 오염될 가능성이 있다(28). 말레이시아의 초등학교 급식 종사자의 손을 대상으로 *S. aureus*를 조사한 결과 조리 전, 조리 중, 조리 후에 각각 74.1%, 65.9%, 70.6%로 검출되어(29) 조리 종사자가 오염의 매개가 될 수 있으며, 본 연구팀이 조리 전 시료와 환경에서 분리된 *S. aureus*의 rep-PCR 기반 유전적 상동성을 분석한 결과 동일 균주임이 확인되었으며(data not shown), 급식소 내 종사자-환경-식품 간의 교차오염에 대한 안전관리가 필요한 것으로 사료된다.

병원성 인자 분석

학교 급식소의 식품에서 분리한 *B. cereus* 분리주 86주를 대상으로 설사유발독소인 HBL(*hbl A, C, D*), NHE(*nhe A, B, C*), enterotoxin gene(*bceT, entFM, cytK*) 그리고 구토 유발 독소인 cereulide(*ces*) 독소유전자를 분석하였다. PCR 분석 결과 모든 *B. cereus* 분리주에서 독소유전자가 분석되었으며 독소유전자 분포에 따라 여러 그룹으로 구분할 수 있었다(Table 4). HBL complex는 모든 분리주에서 양성으로 나타났으며, 모든 *hbl* gene을 보유하는 분리주는 전체 86주 중 74주(86.0%)였다. NHE complex에서는 82주가 *nhe*의 모든 gene에 양성으로 나타났다(95.3%). Enterotoxin gene 3종류를 모두 보유하는 분리주는 68주(79%)였으며 *bceT*는 91.8%, *entFM*은 90.6%, 그리고 *cytK*는 88.3%가 양성으로 검출되었다. 기존 연구 결과 임상과

Table 3. Contamination of foodborne pathogens in foods, equipments, and environmental samples from foodservice establishments of schools

Process	Sample	No. of positive samples/ No. of total samples (%)						
		<i>E. coli</i>	Pathogenic <i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella</i> spp.	<i>L. monocytogenes</i>	<i>perfringens</i>	<i>V. parahemolyticus</i>
Food	Raw materials	5/14 (35.7)	0/14 (0.0)	3/14 (21.4)	0/14 (0.0)	0/14 (0.0)	0/14 (0.0)	0/14 (0.0)
		0/2 (0.0)	0/2 (0.0)	0/2 (0.0)	0/2 (0.0)	0/2 (0.0)	0/2 (0.0)	0/2 (0.0)
	During cooking step	0/5 (0.0)	0/5 (0.0)	0/5 (0.0)	0/5 (0.0)	0/5 (0.0)	0/5 (0.0)	0/5 (0.0)
	Final dish	0/8 (0.0)	0/8 (0.0)	0/8 (0.0)	0/8 (0.0)	0/8 (0.0)	0/8 (0.0)	0/8 (0.0)
		0/8 (0.0)	0/8 (0.0)	0/8 (0.0)	0/8 (0.0)	0/8 (0.0)	0/8 (0.0)	0/8 (0.0)
		0/14 (0.0)	0/14 (0.0)	0/14 (0.0)	0/14 (0.0)	0/14 (0.0)	0/14 (0.0)	0/14 (0.0)
		0/5 (0.0)	0/5 (0.0)	0/5 (0.0)	0/5 (0.0)	0/5 (0.0)	0/5 (0.0)	0/5 (0.0)
		0/4 (0.0)	0/4 (0.0)	0/4 (0.0)	0/4 (0.0)	0/4 (0.0)	0/4 (0.0)	0/4 (0.0)
		0/6 (0.0)	0/6 (0.0)	0/6 (0.0)	0/6 (0.0)	0/6 (0.0)	0/6 (0.0)	0/6 (0.0)
	Subtotal	5/66 (7.6)	0/66 (0.0)	3/66 (4.5)	0/66 (0.0)	0/66 (0.0)	0/66 (0.0)	0/66 (0.0)
Equipments and utensils	Cutting boards (8)	0/8 (0.0)	0/8 (0.0)	0/8 (0.0)	0/8 (0.0)	0/8 (0.0)	0/8 (0.0)	0/8 (0.0)
	Knives (11)	0/11 (0.0)	0/11 (0.0)	0/11 (0.0)	0/11 (0.0)	0/11 (0.0)	0/11 (0.0)	0/11 (0.0)
	Drain (7)	0/7 (0.0)	0/7 (0.0)	0/7 (0.0)	0/7 (0.0)	0/7 (0.0)	0/7 (0.0)	0/7 (0.0)
	Blenders (7)	0/7 (0.0)	0/7 (0.0)	0/7 (0.0)	0/7 (0.0)	0/7 (0.0)	0/7 (0.0)	0/7 (0.0)
	Sink (9)	0/9 (0.0)	0/9 (0.0)	0/9 (0.0)	0/9 (0.0)	0/9 (0.0)	0/9 (0.0)	0/9 (0.0)
	Countertops (8)	0/8 (0.0)	0/8 (0.0)	0/8 (0.0)	0/8 (0.0)	0/8 (0.0)	0/8 (0.0)	0/8 (0.0)
	Apron (9)	0/9 (0.0)	0/9 (0.0)	0/9 (0.0)	0/9 (0.0)	0/9 (0.0)	0/9 (0.0)	0/9 (0.0)
	Gloves (9)	0/9 (0.0)	0/9 (0.0)	0/9 (0.0)	0/9 (0.0)	0/9 (0.0)	0/9 (0.0)	0/9 (0.0)
	Subtotal	0/68 (0.0)	0/68 (0.0)	0/68 (0.0)	0/68 (0.0)	0/68 (0.0)	0/68 (0.0)	0/68 (0.0)
	Environment	Shelf (10)	0/10 (0.0)	0/10 (0.0)	0/10 (0.0)	0/10 (0.0)	0/10 (0.0)	0/10 (0.0)
Sink (3)		0/3 (0.0)	0/3 (0.0)	0/3 (0.0)	0/3 (0.0)	0/3 (0.0)	0/3 (0.0)	0/3 (0.0)
Tap (7)		0/7 (0.0)	0/7 (0.0)	0/7 (0.0)	0/7 (0.0)	0/7 (0.0)	0/7 (0.0)	0/7 (0.0)
Knobs (14)		0/14 (0.0)	0/14 (0.0)	1/14 (7.1)	0/14 (0.0)	0/14 (0.0)	0/14 (0.0)	0/14 (0.0)
Table (6)		0/6 (0.0)	0/6 (0.0)	0/6 (0.0)	0/6 (0.0)	0/6 (0.0)	0/6 (0.0)	0/6 (0.0)
Washing water (5)		0/5 (0.0)	0/5 (0.0)	0/5 (0.0)	0/5 (0.0)	0/5 (0.0)	0/5 (0.0)	0/5 (0.0)
Subtotal		0/45 (0.0)	0/45 (0.0)	1/45 (2.2)	0/45 (0.0)	0/45 (0.0)	0/45 (0.0)	0/45 (0.0)
Total		5/179 (2.8)	0/179 (0.0)	4/179 (2.2)	0/179 (0.0)	0/179 (0.0)	0/179 (0.0)	0/179 (0.0)

Table 4. Profiles of toxin-encoding genes in *B. cereus* isolates obtained from foods and environmental samples from foodservice establishments of schools

	Numbers of strain	HBL ¹⁾ complex			NHE ²⁾ complex			Enterotoxin genes			Emetic toxin gene
		<i>hblA</i>	<i>hblC</i>	<i>hblD</i>	<i>nheA</i>	<i>nheB</i>	<i>nheC</i>	<i>bceT</i>	<i>entFM</i>	<i>cytK</i>	<i>ces</i>
Total strain	86	84	76	82	85	83	83	79	78	76	0
Group 1	6	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-
Group 2	57	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Group 3	1	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Group 4	3	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Group 5	5	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-
Group 6	1	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-
Group 7	2	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-
Group 8	1	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-
Group 9	1	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
Group 10	2	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
Group 11	1	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-
Group 12	1	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-
Group 13	1	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-
Group 14	1	-	+	+	-	+	+	+	-	+	-
Group 15	2	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
Group 16	1	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-

¹⁾HBL, hemolysin. ²⁾NHE, nonhemolytic enterotoxin.

식품 및 곡물시료에서 분리한 120주의 *B. cereus*의 독소유전자는 HBL complex가 94.2%로 본 연구 결과보다 더 높게 분석되었으나 NHE complex에서 90.0%, enterotoxin 중 *entFM*은 65.8%, 그리고 *cytK*는 52.5%가 양성으로 본 연구 결과에 비해 낮게 나타났다(30). 한편 단체급식소 식품에서 분리된 *B. cereus*에서 구토 유발 독소유전자인 *ces*는 모든 분리주에서 음성이었고 Kim 등(30)의 연구에서도 음성으로 나타나 유사한 경향을 보였다. 급식소에서 분리된 *S. aureus* 16주에 대하여 enterotoxin 생성유전자를 분석한 결과 4개의 서로 다른 group으로 분류되었다(Table 5). Group 1은 *sea*, *seh*, *sek*, *seq* 유전자를 동시에 보유하는 group으로 전체 분리주의 43.7%를 차지하였다. Group 2는 *sea*, *sek*, *seq* 유전자를 동시에 보유하였고 전체 분리주의 18.7%를 차지하였으며, group 3은 *seg*, *sei*, *sel*, *sem*, *sen*, *seo*, *seu* 유전자를 보유하였으며 전체 분리주의 31.2%에 해당되었다. Group 4는 전체 분리주의 6.3%를 차지하였으나 독소유전자를 가장 많이 보유(*sea*, *seg*, *sei*, *sel*, *sem*, *sen*, *seo*, *seu*)하였다. Group 2와 3은 식품에서만 분리되었고, group 1의 경우 식품과 환경에서 발견되어 *S. aureus*가

독소 생성에 유리한 환경에 노출되는 경우 식중독을 유발할 수 있음을 보여주었다. 모든 분리주에서 독소유전자가 검출되었으며 전형적인 장독소유전자(*sea*~*see*) 중에서 *sea*를 제외한 나머지 유전자는 분석되지 않았으며, *seg*와 *sei* 유전자는 같은 시료에서 검출되었다. *seg*와 *sei* toxin gene은 항상 결합되어 있다고 알려져 있으며(31) 인간 독소충격증 후군과 포도상구균성 열상 피부증후군의 원인이 될 수 있다(32). Aydin 등(33)의 연구에서 육제품, 유제품 및 제과류, 그리고 즉석식품 등에서 분리한 *S. aureus* 147주 중 62%에서 *S. aureus* enterotoxin gene, exfoliative toxin gene, toxic-shock syndrome toxin gene이 검출되었고, 전형적인 장독소유전자보다 *sei* gene이 더 많이 검출되어 본 연구 결과와는 차이를 보였다. 한편 toxic-shock syndrome toxin(*tst*) 유전자는 모든 분리주에서 검출되지 않았다.

항생제 내성

항생제는 보건 위생뿐만 아니라 각종 농축수산물 생산 공정에서도 사용되고 있다. 항생제의 오남용으로 인한 내성균주의 출현은 집단 식중독 발생 시 초기 진료에 결정적 영향

Table 5. Profiles of toxin-encoding genes in *S. aureus* isolates obtained foods and environmental samples from foodservice establishments of schools

	Numbers of strain	Genes																		
		<i>femA</i>	<i>sea</i> ¹⁾	<i>seb</i> ¹⁾	<i>sec</i> ¹⁾	<i>sed</i> ¹⁾	<i>see</i> ¹⁾	<i>seg</i>	<i>seh</i>	<i>sei</i>	<i>sej</i>	<i>sek</i>	<i>sel</i>	<i>sem</i>	<i>sen</i>	<i>seo</i>	<i>sep</i>	<i>seq</i>	<i>ser</i>	<i>seu</i>
Total strain	16	16	11	0	0	0	6	7	6	0	10	6	6	6	6	0	10	0	6	0
Group 1	7	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Group 2	3	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Group 3	5	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-
Group 4	1	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-

¹⁾Classical enterotoxin gene, *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*.

²⁾*tst*, toxic-shock syndrome toxin.

Table 6. Antimicrobial resistance of *E. coli* and *S. aureus* isolated from food and environmental samples of foodservice establishments of schools

Bacteria	Resistance phenotype	Number (%) of isolates
<i>E. coli</i>	CFZ ¹⁾	2 (4.9)
	FOX	1 (2.4)
	SXT	1 (2.4)
	CFZ-FOX	1 (2.4)
	Susceptible to all tested antibiotics ²⁾	38 (92.7)
<i>S. aureus</i>	P	5 (31.3)
	GM	10 (62.5)
	P-GM	5 (31.3)
	Susceptible to all tested antibiotics ³⁾	6 (37.5)

¹⁾CFZ, cefazolin; FOX, cefoxitin; SXT, trimethoprim/sulfamethoxazole; P, benzylpenicillin; GM, gentamicin

²⁾92.7% of the *E. coli* strains were susceptible against ampicillin, amoxicillin/clavulanic acid, piperacillin/tazobactam, cefotaxime, ceftazidime, cefepime, aztreonam, ertapenem, imipenem, amikacin, gentamicin, ciprofloxacin and tigecycline.

³⁾37.5% of the *S. aureus* strains were susceptible against oxacillin, habekacin, ciprofloxacin, erythromycin, telithromycin, clindamycin, quinupristin/dalfopristin, linezolid, teicoplanin, vancomycin, tetracycline, tigecycline, nitrofurantoin, fusidic acid, mupirocin, rifampicin, trimethoprim/sulfamethoxazole.

을 주기 때문에 분리균주에 대한 항생제 내성 여부를 분석할 필요가 있다(28). *E. coli* 41주를 16종의 항생제를 이용하여 내성을 분석한 결과 92.7%의 분리주에서 모든 항생제에 대한 감수성이 있었으나 cefazolin에 2개 균주(4.9%)가 내성을 보였고, cefoxitin, trimethoprim/sulfamethoxazole에 각각 1개 균주(2.4%)가 내성을 보였다. 1개 균주는 cefazolin과 cefoxitin에 대해 동시에 내성이 있었다(Table 6). Yoo 등(34)이 유통식품에서 분리된 대장균 50주를 대상으로 항생제 감수성을 시험한 결과 50%의 분리주에서 모든 항생제에 대한 감수성을 보였으며, ampicillin과 amoxicillin/clavulanic acid 그리고 tetracycline에서 각각 36%, 32%, 22%의 내성을 확인하였고, 다제내성 분리주가 전체의 40%를 차지하였다. Kim 등(35)의 연구에서는 썰러드,

새싹 등 국내 신선편이 식품에서 분리된 대장균 120주의 항생제 내성을 분석한 결과 ampicillin에 대한 내성이 14.2%로 가장 높았고 piperacillin 11.7%, cefalotin 10.0%의 순으로 분석되었으며, 2개 이상의 항생제에 다제내성을 보이는 균주는 전체 신선편이 식품 분리주의 14.1%로 본 연구에 비해 높았다. 본 연구에서 *S. aureus*의 19종의 항생제에 대한 내성을 분석한 결과 benzylpenicillin에서 5개 균주(31.3%), gentamicin에서 10개 균주(62.5%)가 내성을 보였고, 항생제 2종(benzylpenicillin, gentamicin)에 대해 다제내성을 보인 분리주가 5개 분석되었다. 전체 분리주의 37.5%는 시험한 모든 항생제에 감수성이 있었다(Table 6). 국내 식품에서 분리된 *S. aureus*의 항생제 내성을 살펴보면 돈육 제품 124점에서 분리한 *S. aureus* 30주의 항생제 내성 결과 penicillin과 ampicillin에 대해 76.7%, 70.0%의 높은 내성을 보였고(36), Kim 등(28)의 연구에서 들깨잎 재배단지에서 분리한 *S. aureus* 31주를 대상으로 항생제 감수성을 확인한 결과 모든 분리주에서 내성이 나타났고 penicillin과 ampicillin의 내성이 각각 96.8%, 96.8%로 매우 높게 나타나 본 연구 결과와는 차이를 보였다. 이와 같이 학교 급식소에서 분리된 *E. coli*와 *S. aureus*의 경우 항생제 내성률이 낮았으며, 다제내성률도 높지 않아 국내 학교 급식에서 분리된 주요 균주의 경우 항생제 내성에 대한 위험은 크지 않은 것으로 사료된다.

급식소 환경미생물 분포

급식소 중 두 곳을 선정해 급식소 환경미생물 군집의 구성을 분석하여 환경 중 교차오염 가능성을 확인하고자 하였다. 급식소 I의 절단기, 칼, 세척대, 앞치마, 냉장고 손잡이를 대상으로 미생물 분포를 분석한 결과 *Bacillus* spp., *Burkholderia* spp., *Enterobacter* spp., *Erwinia* spp., *Micrococcus* spp., *Pantoea* spp., *Pectobacterium* spp.가 분석되었으며, *Pantoea* spp.가 가장 높은 비율로 분석되었고 *Bacillus* spp.가 다음으로 분석되었다. 또 다른 급식소(급식소 II)에서는 칼, 세척대, 고무장갑, 화장실 세면대 손잡이, 건조대(전처리용)를 대상으로 분석했을 때 *Acineto-*

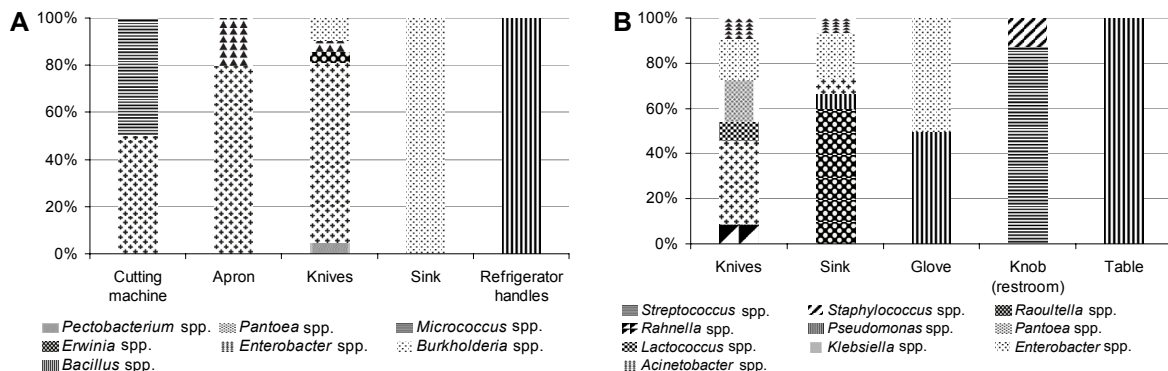


Fig. 2. Profiles of culturable microorganisms in environmental samples of foodservice establishments. A, foodservice establishment I; B, foodservice establishment II.

bacter spp., *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Lactococcus* spp., *Pantoea* spp., *Pseudomonas* spp., *Rahnella* spp., *Raoultella* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp.가 분석되었고, 그중 *Raoultella* spp.가 가장 높은 비율로 분석되었으며 뒤를 이어 *Streptococcus* spp.가 다음으로 높은 비율로 분석되었다(Fig. 2). 급식소 I의 *Pantoea* spp.의 경우 도마, 앞치마, 칼에서 공통적으로 분석되었고, 급식소 II의 경우 칼, 개수대, 그리고 장갑에서 *Enterobacter* spp.가 검출되어 이를 공통적으로 사용하는 급식소 조리원이 교차오염의 매개가 되었을 가능성을 보여주고 있다.

요 약

본 연구에서는 건당 환자수가 높아 식품안전관리 우선순위가 높은 단체급식소의 식품, 조리도구 및 환경에서 식중독균을 분석하고 이들 미생물의 병원성 인자 및 항생제 내성을 확인하여 미생물 위험분석을 위한 기본정보를 제공하고자 하였다. 경기도 소재 총 8개(농촌 3, 도시 4 및 벽지 1) 학교급식소에서 식품 시료(n=66), 조리도구(n=44) 및 환경 시료(n=56) 등 총 179점의 시료를 채취하여 지표세균 및 식중독균을 분석하였다. 식품 시료에서 총균수는 평균 4.7 log CFU/g, 최대 8.1 log CFU/g으로 대장균군의 평균 오염도 3.1 log CFU/g, 최대 오염도 4.0 log CFU/g으로 높았다. 선반 및 개수대 등 환경 시료의 총균수는 평균 2.7 log CFU/g, 최대 4.1 log CFU/g으로 식품 시료보다 낮은 수준으로 분석되었으나 대장균의 경우 평균 4.0 log CFU/g, 최대 5.4 log CFU/g으로 식품 시료보다 오염 수준이 높아 환경으로부터의 교차오염 가능성을 배제할 수 없었다. 병원성 미생물 중 *Bacillus cereus*의 정량분석 결과 식품(원료, 조리단계 및 조리식품 포함) 시료에서 평균 2.1 log CFU/g, 최대 4.1 log CFU/g으로 분석되었으나, 이 중 조리된 식품의 오염도는 10,000 CFU/g 이하로 식품공전의 기준 이하로 오염되어 있었다. *Escherichia coli*는 식품 중 조리 전 시료(n=14)에서만 검출을 35.7%로 분석되었으며 조리단계의 식품, 조리도구 및 환경 시료에서는 검출되지 않았다. *Staphylococcus aureus*의 경우 조리 전 식품 원료(n=14)의 21.4%에서 검출되었으며 환경 시료(냉장고 손잡이)에서 1건 양성으로 검출되었고, 조리단계의 식품, 조리도구 및 환경 시료에서는 검출되지 않았다. 그 외 *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Vibrio parahaemolyticus*는 분석된 모든 시료에서 모두 음성이었다. 분리된 *B. cereus*의 독소유전자(*hbl*ACD, *nhe*ABC, *ent*FM, *cytK* enterotoxin gene)를 분석한 결과 구토 유발 독소인 *ces*는 모두 음성이었으나 분석된 86주 모두 적어도 1종 이상의 설사 유발 독소유전자가 검출되었으며 66.2%의 균주는 설사 유발 독소유전자를 모두 보유하고 있었다. 식품과 환경에서 분리한 *S. aureus*(n=16)의 장독소 생성 유전자를 분석한

결과 모두 1종 이상의 독소유전자가 검출되었다. 전형적인 장독소유전자 중에서는 *sea*만 검출되었으며, 독소충격증후군 toxin(*stx*) 유전자는 모든 분리주에서 검출되지 않았다. 집단 식중독 발생 시 초기 진료에 결정적 영향을 주는 항생제 내성 여부를 분석한 결과 *E. coli*(n=41)의 92.7%는 분석한 항생제 16종에 대해 내성을 보이지 않았고 cefazolin에 대한 내성률이 4.9%로 가장 높았으며, 1개 균주에서만 2개 항생제에 대해 다제내성을 보여 국내외 항생제 내성률보다 낮았다. *S. aureus*(n=16)는 시험한 19종 항생제 중 gentamicin에 대한 내성률이 62.5%로 가장 높았으며 일부 균주에서 2주 항생제에 대해 다제내성이 관찰되었다. 한편 단체급식소 2개소의 조리도구와 환경 중 미생물 균집을 분석한 결과 특정균이 도구와 환경에서 중복 검출되어 도구와 환경 중 교차오염 가능성을 간접적으로 시사하였다. 이와 같이 본 연구에서 단체급식소 식품, 조리도구 및 환경 중 위생지표균과 병원성 미생물의 오염패턴을 분석하고 분리된 균주의 독성인자와 항생제 내성 정보를 분석하였다. 관련 정보는 단체급식소 미생물 위험분석과 이를 바탕으로 사전적, 정량적 안전관리 기술 개발에 활용 가능할 것으로 사료된다. 한편 식중독 유발의 다른 원인인 바이러스류와 기타 원인에 대한 연구는 진행되지 않아 추가 연구가 필요하다.

감사의 글

본 연구는 한국식품연구원의 연구비 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Shin H, Lee S, Kim JS, Kim J, Han KH. 2010. Socioeconomic costs of food-borne disease using the cost-of-illness model: applying the QALY method. *J Prev Med Public Health* 43: 352-361.
2. Food Safety Korea. Available from: http://www.foodsafety-korea.go.kr/portal/healthyfoodlife/foodPoisoningStat.do?menu_no=519&menu_grp=MENU_GRP02 (accessed Sep 2015).
3. Beuchat LR. 1996. *Listeria monocytogenes* incidence on vegetable. *Food Control* 7: 223-228.
4. Heiman KE, Garalde VB, Gronostaj M, Jackson KA, Beam S, Joseph L, Saupe A, Ricotta E, Waechter H, Wellman A, Adams-Cameron M, Ray G, Fields A, Chen Y, Datta A, Burall L, Sabol A, Kucerova Z, Trees E, Metz M, Leblanc P, Lance S, Griffin PM, Tauxe RV, Silk BJ. 2015. Multistate outbreak of listeriosis caused by imported cheese and evidence of cross-contamination of other cheeses, USA, 2012. *Epidemiol Infect* 30: 1-11.
5. Hong SH. 2014. The microbiological assessment and identification of food utensils and foodservice facilities in school. *J Fd Hyg Safety* 29: 189-194.
6. Bae HJ. 2006. Analysis of contamination of bacteria from raw materials, utensils, and worker's hands to prepared foods in foodservice operations. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 655-660.
7. Lee JK, Kwak NS. 2004. Microbiological risk assessment

- for food safety control. *Food Science and Industry* 37: 61-71.
8. Lee SH. 2011. Quantitative microbial risk assessment. *Safe Food* 6: 13-16.
 9. Kim HJ, Kim SM, Ok G, Koo M. 2015. Microbiological risk assessment for industry. *Safe Food* 10: 13-22.
 10. MFDS. 2014. *Food Code*. Ministry of Food And Drug Safety, Seoul, Korea. 10-3-1_1.
 11. Prüß BM, Dietrich R, Nibler B, Mrtlbauer E, Scherer S. 1999. The hemolytic enterotoxin HBL is broadly distributed among species of the *Bacillus cereus* group. *Appl Environ Microbiol* 65: 5436-5442.
 12. Hwang JH. 2009. Biochemical characteristics and enterotoxin gene distribution of food-borne *Bacillus cereus*. *MS Thesis*. Kyungwon University, Gyeonggi, Korea.
 13. Ryan PA, Macmillan JD, Zilinskas BA. 1997. Molecular cloning and characterization of the genes encoding the L1 and L2 components of hemolysin BL from *Bacillus cereus*. *J Bacteriol* 179: 2551-2556.
 14. Granum PE, O'Sullivan K, Lund T. 1999. The sequence of the non-hemolytic enterotoxin operon from *Bacillus cereus*. *FEMS Microbiol Lett* 177: 225-229.
 15. Lee DS, Kim KS, Kwon KS, Hong KW. 2008. A multiplex PCR assay for the detection and differentiation of enterotoxin-producing and emetic toxin-producing *Bacillus cereus* strains. *Food Sci Biotechnol* 17: 761-765.
 16. Asano SI, Nukumizu Y, Bando H, Iizuka T, Yamamoto T. 1997. Cloning of novel enterotoxin genes from *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis*. *Appl Environ Microbiol* 63: 1054-1057.
 17. Stenfors LP, Granum PE. 2001. Psychrotolerant species from the *Bacillus cereus* group are not necessarily *Bacillus weihenstephanensis*. *FEMS Microbiol Lett* 197: 223-228.
 18. Ehling-Schulz M, Svensson B, Guinebretiere MH, Lindbäck T, Andersson M, Schulz A, Fricker M, Christiansson A, Granum PE, Märtlbauer E, Nguyen-The C, Salkinoja-Salonen M, Scherer S. 2005. Emetic toxin formation of *Bacillus cereus* is restricted to a single evolutionary lineage of closely related strains. *Microbiology* 151: 183-197.
 19. Hwang SY, Kim SH, Jang EJ, Kwon NH, Park YK, Koo HC, Jung WK, Kim JM, Park YH. 2007. Novel multiplex PCR for the detection of the *Staphylococcus aureus* superantigen and its application to raw meat isolates in Korea. *Int J Food Microbiol* 117: 99-105.
 20. Oh SK, Koo M, Lee N, Kim HJ, Oh SW, Choi SY. 2011. Distribution of newly described enterotoxin-like genes in *Staphylococcus aureus* isolated from ready-to-eat foods in Korea. *Food Sci Biotechnol* 20: 579-584.
 21. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2014. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 24th informational supplement (M100-S24)*. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA. p 68-75.
 22. Cho SK, Park JH. 2012. Microbial contamination analysis for drinking water, foodstuff, and cooked food for foodservice operation. *Korean J Food Sci Technol* 44: 478-483.
 23. Solberg M, Buckalew JJ, Chen CM, Schaffner DW, O'Neill K, McDowell J, Post LS, Bodeck M. 1990. Microbiological safety assurance system for foodservice facilities. *J Food Technol* 44: 68,70-73.
 24. Granum PE, Lund T. 1997. *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. *FEMS Microbiol Lett* 157: 223-228.
 25. Andersson A, Ronner U, Granum PE. 1995. What problems does the food industry have with the spore-forming pathogens *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens*?. *Int J Food Microbiol* 28: 145-155.
 26. U.S. Department of Agriculture/Food Science & Inspection Service. 2004. Examination of meat and poultry products for *Bacillus cereus*. U.S. Department of Agriculture/Food science & Inspection Service Microbiology Guidebook. Available from <http://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/7aa41946-bd89-4ba9-91cf-7ea72e15e677/Mlgchp12.pdf?MOD=AJPERES> (accessed Sep 2015).
 27. U.S. Food & Drug Administration. 2004. Bacteriological analytical manual. U.S. Food & Drug Administration Center for Food Safety & Applied Nutrition. Available from <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070875.htm> (accessed Sep 2015).
 28. Kim SR, Cha MH, Chung DH, Shim WB. 2015. Profiles of toxin genes and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from perilla leaf cultivation area. *J Fd Hyg Safety* 30: 51-58.
 29. Tan SL, Lee HY, Mahyudin NA. 2014. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* isolated from food handler's hands. *Food Control* 44: 203-207.
 30. Kim JB, Kim JM, Cho SH, Oh HS, Choi NJ, Oh DH. 2011. Toxin genes profiles and toxin production ability of *Bacillus cereus* isolated from clinical and food samples. *J Food Sci* 76: 25-29.
 31. Chen TR, Chiou CS, Tsen HY. 2004. Use of novel PCR primers specific to the genes of staphylococcal enterotoxin G, H, I for the survey of *Staphylococcus aureus* strains isolated from food-poisoning cases and food samples in Taiwan. *Int J Food Microbiol* 92: 189-197.
 32. Jarraud S, Cozon G, Vandenesch F, Bes M, Etienne J, Lina G. 1999. Involvement of enterotoxins G and I in staphylococcal toxic shock syndrome and staphylococcal scarlet fever. *J Clin Microbiol* 37: 2446-2449.
 33. Aydin A, Sudagidan M, Muratoglu K. 2011. Prevalence of staphylococcal enterotoxins, toxin genes and genetic-relatedness of foodborne *Staphylococcus aureus* strains isolated in the Marmara Region of Turkey. *Int J Food Microbiol* 148: 99-106.
 34. Yoo YA, Kim MS, Kim KS, Park SH, Jung SK. 2010. Antimicrobial resistance and implicated genes of *E. coli* isolated from commercial and cooked foods in Seoul. *J Fd Hyg Safety* 25: 220-225.
 35. Kim SM, Oh T, Kim HJ. 2015. Antimicrobial resistance, molecular, and phenotypic diversity of *Escherichia coli* isolates from fresh vegetable products in Korea. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 58: 745-750.
 36. Kim HJ, Koo M. 2012. Estimation of dietary exposure to antimicrobial resistant *Staphylococcus aureus* from pork-based food dishes. *Korean J Food Sci Ani Resour* 32: 91-97.