

부산지역 중·고등학생 휴대전화에서 분리한 식중독균의 특성 연구 - 대장균, 황색포도상구균, 바실러스 세레우스를 중심으로 -

박선희[†] · 박연경 · 황인영 · 박혜영 · 성경혜 · 조현철
부산광역시 보건환경연구원

Study on the Characteristics of Food-borne Pathogens Isolated from Students' Mobile Phones in Busan

Sun-Hee Park[†], Yeon-Kyoung Park, In-Yeong Hwang, Hye-Young Park,
Gyung-Hye Sung, and Hyeon-Cheol Jo
Busan Metropolitan City Institute of Health & Environment

ABSTRACT

Objectives: Mobile phones have become one of the most essential accessories in daily life. However, they may act as reservoir of infectious pathogens if they are used without hygienic practices in their handling. Therefore, this study aimed to isolate food-borne pathogens from mobile phones and investigate the characteristics of toxin genes and antibiotic susceptibility patterns.

Methods: A total of 146 mobile phones were collected from 83 middle- and 63 high-school students in Busan. The surfaces of the mobile phones were aseptically swabbed.

Results: Among the food-borne pathogens, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* and *Escherichia coli* were detected in 26 (17.8%), 20 (13.7%) and four (2.7%) samples, respectively. There were no statistically significant differences according to school level, gender or phone type. None of four *E. coli* strains had pathogenic toxic genes. All of the *B. cereus* strains carried at least three different toxin genes among the nine enterotoxin and emetic toxin genes. Three out of 20 *B. cereus* strains (15%) possessed emetic toxin genes, which are rarely detected in food-poisoning cases in Korea. Among the 26 strains of *S. aureus*, the detection rate of staphylococcal enterotoxin genes, toxic shock syndrome toxin (*tsst*) and factors essential for methicillin resistance (*femA*) were 84.6%, 7.7% and 100%, respectively. In the antibiotic susceptibility test, there was no methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) or vancomycin-resistant *S. aureus* (VRSA).

Conclusion: The results show that students' mobile phones in Busan were contaminated by food-borne pathogens which carried various toxic genes. Therefore, regular phone disinfection and hand hygiene is important in order to reduce cross-contamination.

Key words : *Bacillus cereus*, food-borne pathogen, mobile phone, *Staphylococcus aureus*

I. 서 론

최근 환경 변화 및 국제 교류로 인한 해외유입 감

염병과 식생활 형태의 변화로 인한 집단 식중독이 지속적으로 증가하면서 개인 위생 관리, 특히 손 씻기의 중요성이 다시 강조되고 있으며, 정부 차원에

[†]Corresponding author: Busan Metropolitan City Institute of Health & Environment, Busan 616-110, South Korea, Tel : +82-51-309-2824, Fax : +82-51-309-2829, E-mail : psh0215@korea.kr

Received: 8 April 2016, Revised: 21 July 2016, Accepted: 1 August 2016

서 손씻기 운동 등의 홍보를 통해 올바른 손 씻기의 생활화를 권장하고 있다.¹²⁾ 하지만 손을 위생적으로 관리한다 하더라도 손을 씻기 전 오염된 손과 접촉된 생활 주변의 물체는 손에 있는 미생물에 잠재적으로 노출되어 있다고 할 수 있다. 그 중에서도 휴대전화의 경우 불특정 다수가 사용하는 화장실이나 공공장소에도 가지고 다니면서 세척 없이 사용하므로 손에 있는 미생물이 휴대전화로 옮겨질 수 있고, 기기 자체의 열 뿐만 아니라 가방이나 주머니에 보관하면서 적절한 온도로 인해 미생물 증식이 일어나 휴대전화에서 다시 손으로 옮겨지는 교차 오염원으로 작용할 수 있다.³⁾ 또한 휴대전화 표면에 부착된 미생물은 적절한 표면 소독과 같은 제거 과정이 없으면 오랜 기간동안 살아남을 수 있어 감염의 원인이 될 가능성이 있다고 하였다.⁴⁾

2014년 방송산업 실태조사⁵⁾에 따르면 우리나라 휴대전화 개인 보유율은 96%로 개인매체 중 가장 높았고, 연령이 낮을수록 휴대전화 이용 빈도가 높은 것으로 나타났다. 특히 중, 고등학생 휴대전화 보유율은 청소년 매체이용 실태조사⁶⁾를 시작한 2007년 68.2%에서 2013년에는 중학생 93.2%, 고등학생 94.7%까지 증가하여 학생들 사이에서도 휴대전화가 일상생활에 필수적인 매체로 자리잡고 있음을 알 수 있다. 휴대전화 보급률 증가와 비례하여 휴대전화를 감염병의 매개체로 보고한 여러 연구들이 국내외에서 활발히 진행되고 있다. 국내에서는 휴대전화를 통한 피부염⁷⁾이나 휴대전화 표면에서 분리한 미생물 오염도 등이 보고^{15,16,19)} 되고 있으나 연구대상이 주로 의료인이나 보건계열 교수진 및 학생 등이고 이들의 휴대전화에서 분리한 미생물 분포에 관한 보고가 대부분이다. 국외의 최근 연구경향은 휴대전화의 미생물 분포 및 분리된 미생물에 대한 항균제 감수성 결과 등이 보고되고 있으나 그 외의 특성에 대한 연구는 미흡한 편이다.^{34,36,38)}

중, 고등학교 학생들은 성장기 특성상 개인 위생 관념이 부족하고,^{2,9,22)} 학생들이 밀접하게 접촉하여 많은 시간을 보내는 학교는 감염병 발생 시 전파속도가 빨라 피해 규모가 크므로 개인 위생 교육은 더욱 철저히 이루어져야 한다.⁸⁾ 또한 신체적인 변화와 정신적, 사회적인 성숙이 이루어지는 청소년 시기에 형성되는 위생습관 및 건강수준은 개인 뿐만 아니라 가정, 지역사회 전체와 연결되며, 교육 효과 측면에

서도 다른 계층에 비해 큰 효과를 나타내므로 청소년 계층에서 위생교육은 필수적이라 할 수 있다.⁹⁾

이에 본 연구에서는 부산지역 중·고등학생의 휴대전화에서 주요 식중독균을 분리하여 독소 특성 및 항균제 내성 실태를 알아보고, 이를 통해 휴대전화가 감염병의 매개체로 작용할 가능성이 있는지 알아보고자 하였다. 또한 정부의 손씻기 운동과 더불어 감염병 예방을 위한 개인 위생 교육의 기초 자료를 제공하고자 본 연구를 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 연구대상 및 시료채취

2015년 4월에서 6월까지 부산보건환경연구원 체험교실에 참가한 5개 학교 중학생 83명과 부산지역 2개 학교 고등학생 63명을 포함하여 총 146명의 휴대전화를 연구 대상으로 하였다. 이들의 휴대전화 앞, 뒷면을 멸균 면봉으로 골고루 닦아 채취하고 saline 10 mL에 무균적으로 넣어 균질화한 후 시험용액으로 사용하였다.

2. 식중독균의 분리·동정

식중독균 분리는 식품의약품안전처의 식품공전 미생물시험법²³⁾ 및 질병관리본부의 감염병실험실진단³¹⁾에 따라 시행하였고, 각 식중독균의 분리를 위해 Tryptic Soy Broth (TSB, BD, USA)에 0.5 mL을 접종하여 37°C에서 18~24시간 증균한 후 선택배지에 희석도말 하였다.

E. coli 분리를 위해 Eosine Methylene Blue agar (EMB, BD, USA)에 증균배양액을 도말하여 37°C에서 24시간 배양 후 금속성 광택을 나타내는 집락을 TSA에 옮기고 37°C에서 24시간 배양하여 순수 분리하였다.

*B. cereus*는 증균 배양액을 Mannitol Egg Yolk Polymyxin agar (MYP, Oxoid, UK)에 도말하여 30°C에서 24시간 배양한 후 혼탁한 환을 가지며 lecithinase를 생성한 분홍색 집락을 선별하여 Blood agar plate (BAP; Hanil Komed)에 접종하고 30°C에서 24시간 배양하여 β-hemolysis를 확인하였다. 추가로 48시간 배양 후 염색하여 현미경 관찰을 통한 곤충독소단백질(Insecticidal crystal protein) 생성 확인시험도 실시하였다.

*S. aureus*는 Baird-Parker agar (BP, Oxoid, UK)에 증균 배양액을 도말하여 35°C에서 48시간 배양한 후 회백색을 나타내며 혼탁한 환을 가지는 전형적인 집락을 선택하여 BAP에 도말하였다. 35°C에서 24시간 배양한 후 Coagulase test (Staphylase, Oxoid, UK)를 실시하고 응집 반응을 확인하였다.

순수 분리된 *E. coli*, *B. cereus*, *S. aureus* 균주의 생화학적 동정을 위해 0.45% NaCl 용액을 사용하여 0.5 McFarland로 희석한 후 각각 VITEK (BioMerieux, France)의 GN, BCL, GP card를 이용하여 최종 확인하였다.

3. 독소 유전자 확인

순수 분리한 균을 멸균증류수 100 µL에 부유시켜 100°C에서 15분간 끓이고 4°C에서 14,000 rpm, 5분간 원심분리한 후 상층액을 template DNA로 사용하여 각 균주별로 PCR을 통해 독소 유전자를 확인하였다.

*E. coli*는 PowerCheck™ Diarrheal *E. coli* 8-plex Detection Kit (Kogenebiotech, Korea)를 사용하여 제조사에서 제시한 방법으로 PCR을 실시하고 병원성 대장균 5종(장출혈성, 장병원성, 장독소성, 장흡착성, 장침습성)에 대해 8종류의 병원성 유전자 *stx1*, *stx2*, *lt*, *sth/stp*, *eaeA*, *bfpA*, *aggR*, *ipaH*를 확인하였다. 양성 대조군으로는 ETEC NCCP 14039, EPEC NCCP 14038을 사용하였다.

*B. cereus*가 생산하는 장독소 중 5종류(*hblC*, *bceT*, *entFM*, *nheA*, *CytK*)와 구토독소(*cer*)는 PowerCheck™ *Bacillus cereus* 6-toxin Detection Kit (Kogenebiotech, Korea)를 사용하여 제조사에서 제시한 방법으로 실시하였고, 나머지 장독소 4종류 (*hblA*, *hblD*, *nheB*, *nheC*)에 대해서는 김 등¹⁰⁾, Yang 등¹¹⁾의 방법에 따라 PCR을 실시하였으며 양성 대조군으로 사용한 표준균주는 *B. cereus* ATCC 11778, NCCP 14042, NCCP 14043, NCCP 14716이었다.

*S. aureus*의 장독소 16종류(*sea~see*, *seg~seq*)는 PowerCheck™ *Staphylococcus aureus* toxin ID Detection Kit (Kogenebiotech, Korea)를 이용하여 제조사 방법으로 PCR을 실시하였고, 독소성 쇼크증후군 독소인 *tsst* (toxic shock syndrome toxin)와 표피박리독소인 *eta*, *etb* (exfoliative toxin), 메티실린 내성 유전자인 *mec* (methicillin resistance determinant)

*A*와 내성보조 유전자인 *fem* (factor essential for methicillin resistance) *A*는 Mehrotra 등¹²⁾의 방법에 따라 PCR을 실시하고 *S. aureus* ATCC 25923, ATCC 65389, ATCC 43300를 양성대조군 표준균주로 사용하였다.

PCR 결과는 자동 전기영동 장치(Advanced analytical technologies, USA) 또는 1.5% agarose gel로 전기영동하여 확인하였다.

4. 항균제 감수성 시험

*S. aureus*와 *B. cereus*에 대한 항균제 감수성 시험은 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)의 디스크 확산법¹³⁾과 E-test를 이용한 MIC (Minimal Inhibitory Concentration) 측정법으로 실시하였다. 항균제 디스크(sensi disc, BBL, USA)는 penicillin (10 unit), cefoxitin (30 ug), gentamicin (10 ug), erythromycin (15 ug), tetracycline (30 ug), ciprofloxacin (5 ug), clindamycin (2 ug), chloramphenicol (30 ug), rifampin (5 ug), teicoplanin (30 ug), trimethoprim/sulfamethosazole (23.75/1.25 ug), linezolid (30 ug), quinupristin-dalfopristin (15 ug) 13종을 사용하였고, vancomycin은 E-test strips (M.I.C.Evaluator, Oxoid, UK)를 사용하였으며, 디스크 확산법에는 *S. aureus* ATCC 25923, MIC 측정법에는 *S. aureus* ATCC 29213을 표준균주로 사용하였다.

TSA에서 35°C, 24시간 배양한 균을 탁도계를 이용하여 McFarland 0.5에 맞추고 세균현탁액을 Muller-Hinton agar (Oxoid, UK)에 접종한 후 cefoxitin을 제외한 항균제 디스크 12종은 35°C에서 18시간 배양하고, cefoxitin과 E-test strip을 사용한 vancomycin은 35°C에서 24시간 배양한 후 각 억제대의 직경과 MIC를 측정하여 CLSI 기준¹⁴⁾에 따라 내성유무를 판독하였는데, *B. cereus*의 경우 항균제 기준이 설정되어 있지 않아 같은 그람양성균인 *S. aureus*의 감수성 기준을 적용하였다.

5. 통계적 분석

휴대전화에서의 식중독균 분리율에 대한 통계 분석은 SPSS (version 19.0) 프로그램을 이용하여 카이제곱 검정을 실시하였고, p값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의하다고 판단하였다.

Table 1. Isolation rates (%) of food-borne pathogens according to the school level, gender and phone type

		Total No. (%) of sample	Total No. (%) of isolates			χ^2 (p)
			<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	
		146	26 (17.8%)	20 (13.7%)	4 (2.7%)	
School level	Middle school	83 (56.8%)	15 (18.1%)	10 (12.0%)	2 (2.4%)	0.297 (0.862)
	High school	63 (43.2%)	11 (17.5%)	10 (15.9%)	2 (3.2%)	
Gender	Male	43 (29.5%)	7 (16.3%)	10 (23.3%)	1 (2.3%)	1.356 (0.508)
	Female	103 (70.5%)	19 (18.4%)	14 (13.6%)	3 (2.9%)	
Phone type	Touch screen	138 (94.5%)	24 (17.4%)	18 (13.0%)	4 (2.9%)	0.460 (0.795)
	Keypad	8 (5.5%)	2 (25.0%)	2 (25.0%)	0 (0.0%)	

III. 결 과

1. 식중독균 분리 결과

146명의 휴대전화에서 분리된 식중독균은 *S. aureus* 26주(17.8%), *B. cereus* 20주(13.7%), *E. coli* 4주(2.7%)였고, 이를 학교급별, 성별, 휴대전화 유형별로 구분하여 Table 1에 나타내었다.

학교급별 식중독균 분리율은 중학생에서 *S. aureus* 18.1%, *B. cereus* 12.0%, *E. coli* 2.4%였고, 고등학생에서는 *S. aureus* 17.5%, *B. cereus* 15.9%, *E. coli* 3.2%로 중학생과 고등학생에 따른 식중독균 분리율은 통계적으로 유의한 차이가 없었다($p=0.862$).

성별에 따른 식중독균 분리율에서 남자는 *S. aureus* 16.3%, *B. cereus* 23.3%, *E. coli* 2.3%였고, 여자는 *S. aureus* 18.4%, *B. cereus* 13.6%, *E. coli* 2.9%로 *B. cereus*는 남자가, *S. aureus*와 *E. coli*는 여자가 다소 높았으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다($p=0.508$).

본 연구에 사용한 146대의 휴대전화를 유형별로 나누어본 결과 터치스크린이 138대, 키패드가 8대로 94.5%가 터치스크린 방식의 휴대전화를 보유하는 것으로 나타났다. 휴대전화 유형별 식중독균 분리율은 터치스크린의 경우 *S. aureus* 17.4%, *B. cereus* 13.0%, *E. coli* 2.9%였고, 키패드는 *S. aureus* 25.0%, *B. cereus* 25.0%, *E. coli*는 불검출로 *E. coli*를 제외한 2종류의 식중독균 분리율은 키패드에서 다소 높았지만 통계적으로는 유의한 차이가 없었다($p=0.795$).

2. 독소 유전자 확인 결과

휴대전화에서 분리된 식중독균의 독소 유전자 확인 결과 *E. coli*는 독소 유전자가 검출되지 않았다.

휴대전화에서 분리한 *B. cereus* 20주에 대해 구토독소 1종류와 장독소 9종류를 포함한 10종류의 독소유전자를 확인한 결과 구토독소인 *cer*은 15%, 장독소 중 *bceT* 45%, *entFM* 100%, *CytK* 30%가 검출되었다(Table 2). 또한 3가지 유전자가 생산하는 단백질로 구성되는 HBL complex와 NHE complex 중 HBL complex의 경우 *hblA*와 *hblC*는 각 60%, *hblD*는 45%가 검출되었고, NHE complex의 *nheA*, *nheB*, *nheC*는 각각 100%, 70%, 85%가 검출되었다.

휴대전화에서 분리한 *S. aureus* 26주의 독소유전자 확인 결과 22주(84.6%)에서 장독소가 검출되었고, *tssE*는 2주(7.7%)에서 검출되었다. 또한 *eta*, *etb*, *mecA* 유전자는 모든 균주에서 검출되지 않은 반면 MRSA 내성 보조유전자인 *femA* 유전자는 모든 균주에서 검출되었다 (Table 3). 장독소가 검출된 *S. aureus* 22주는 최소 1개에서 5개의 장독소가 검출되었으며 I-V까지 5가지 유형으로 나뉘었다(Table 4). I, III, IV유형은 각각 *sea*, *sec-seh-sel*, *sea-sec-seh-sel*로 1종류씩이었으나 2개의 장독소가 검출된 II유형은 *seb-sep*, *seb-seq* 2종류였고, 5개의 장독소가 검출된 V유형은 4종류로 나뉘었다.

3. 항균제 감수성 시험 결과

B. cereus 20주는 모두 penicillin에 내성을 나타내었고 cefoxitin 90%, SXT와 rifampin에 각 20%의 내성을 나타내었다. Erythromycin과 SXT에는 25%의 중등도 내성을, rifampin에는 70%, quinupristin-dalfopristin에는 5%의 중등도 내성을 나타내었다.

항균제 감수성 시험 결과 *S. aureus* 26주의 항균제 내성률은 penicillin 80.8%, erythromycin 15.4%, chloramphenicol 3.8%였고, erythromycin에는 3.8%의

Table 2. Distribution of emetic toxin gene and enterotoxin genes of *B. cereus* strains isolated from mobile phones

No.(%) of <i>B. cereus</i> isolates	Emetic toxin gene				Enterotoxin genes					
	<i>cer</i>	<i>bceT</i>	<i>entFM</i>	<i>CytK</i>	HBL complex			NHE complex		
					<i>hblA</i>	<i>hblC</i>	<i>hblD</i>	<i>nheA</i>	<i>nheB</i>	<i>nheC</i>
	3 (15%)	9 (45%)	20 (100%)	6 (30%)	12 (60%)	12 (60%)	9 (45%)	20 (100%)	14 (70%)	17 (85%)
BCL-1	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
BCL-2	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+
BCL-3	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
BCL-4	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+
BCL-5	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+
BCL-6	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+
BCL-7	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BCL-8	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BCL-9	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-
BCL-10	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+
BCL-11	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+
BCL-12	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-
BCL-13	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-
BCL-14	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BCL-15	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+
BCL-16	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+
BCL-17	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
BCL-18	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+
BCL-19	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+
BCL-20	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Table 3. Isolation rates of staphylococcal enterotoxin, toxic shock syndrome toxin, exfoliative toxin and methicillin resistance genes of *S. aureus* strains isolated from mobile phones (n=26)

No.(%) of <i>S. aureus</i> isolates	staphylococcal enterotoxin	toxic shock syndrome toxin	exfoliative toxin		methicillin resistance gene	
	<i>sea-see, seg-seq</i>	<i>tsst</i>	<i>eta</i>	<i>etb</i>	<i>mecA</i>	<i>femA</i>
	22 (84.6%)	2 (7.7%)	0	0	0	26 (100%)

중등도 내성을 나타내었다(Table 5). Methicillin 내성 검사는 oxacillin으로 검사하여 왔으나 최근에는 cefoxitin 사용을 권장하고 있어 대체하여 시험한 결과 methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA)는 없는 것으로 나타나 MRSA 내성유전자인 *mecA*가 검출되지 않은 것과 같은 결과를 나타내었고, vancomycin 에도 감수성을 나타내어 vancomycin-resistant *S. aureus* (VRSA)도 검출되지 않았다.

*B. cereus*와 *S. aureus*의 다제내성패턴 결과는 Fig. 1에 나타내었다. *B. cereus*는 3가지 항균제에 내성을 나타낸 균주가 7주(35%)로 PEN-FOX-SXT 4주, PEN-FOX-RIF 3주였으며, 2가지 항균제에 내성을 나타낸 균주가 12주(60%)로 PEN-FOX 11주, PEN-RIF 1주였다. *S. aureus*의 경우 2개 이상의 항균제에 내성을 보이는 다제 내성균은 총 4주(15.4%)로 PEN-ERY 3주(11.5%), PEN-CHL 1주(3.8%)였고, 18

Table 4. Type of staphylococcal enterotoxin genes in *S. aureus* strains isolated from mobile phones (n=22)

No. of types (%)	Enterotoxin genes	No. of isolates (%)
I (18.2)	<i>sea</i>	4 (18.2)
II (9.0)	<i>seb-sep</i>	1 (4.5)
	<i>seh-seq</i>	1 (4.5)
III (4.5)	<i>sec-seh-sel</i>	1 (4.5)
IV (4.5)	<i>sea-sec-seh-sel</i>	1 (4.5)
	<i>sea-seg-sei-sen-seo</i>	3 (13.6)
V (63.6)	<i>sea-seg-sem-sen-seo</i>	1 (4.5)
	<i>seg-seh-sei-sen-seo</i>	2 (9.1)
	<i>seg-sei-sem-sen-seo</i>	8 (36.4)

주(69.2%)는 1가지 항균제에 내성을 나타냈다.

IV. 고 찰

1. 휴대전화에서의 식중독균 분리율

부산지역 중, 고등학생 146명의 휴대전화에서 분리된 식중독균은 *S. aureus* 26주(17.8%), *B. cereus* 20주(13.7%), *E. coli* 4주(2.7%)였으며 이를 학교급별, 성별, 휴대전화 유형별로 분석한 결과 통계적으로 유의한 차이는 없었다.(Table 1) 대학생의 휴대전화를 대상으로 한 기존의 연구²⁴⁾에서는 *S. aureus*는 여자가, *Bacillus spp.*는 남자에서 분리율이 높았고 특히 *S. aureus*의 분리율은 성별에 따라 통계적으로

Table 5. Antibiotic susceptibility test of *B. cereus* and *S. aureus* isolated from mobile phones

Antimicrobial agent (Conc.)	<i>B. cereus</i>			<i>S. aureus</i>		
	R (%)	I (%)	S (%)	R (%)	I (%)	S (%)
Penicillin (10 unit)	100	0	0	80.8	0	19.2
Cefoxitin (30 µg)	90	0	10	0	0	100
Erythromycin (15 µg)	0	25	75	15.4	3.8	80.8
Chloramphenicol (30 µg)	0	0	100	3.8	0	96.2
Trimethoprim-sulfamethoxazole (1.25 /23.75 µg)	20	25	55	0	0	100
Rifampin (5 µg)	20	70	10	0	0	100
Quinupristin-dalfopristin (15 µg)	0	5	95	0	0	1
Teicoplanin (30 µg)	0	0	100	0	0	100
Gentamicin (10 µg)	0	0	100	0	0	100
Tetracycline (30 µg)	0	0	100	0	0	100
Ciprofloxacin (5 µg)	0	0	100	0	0	100
Clindamycin (2 µg)	0	0	100	0	0	100
Linezolid (30 µg)	0	0	100	0	0	100
Vancomycin (0-246 µg/mL)	0	0	100	0	0	100

Note. R: Resistance, I: Intermediate, S: Susceptible

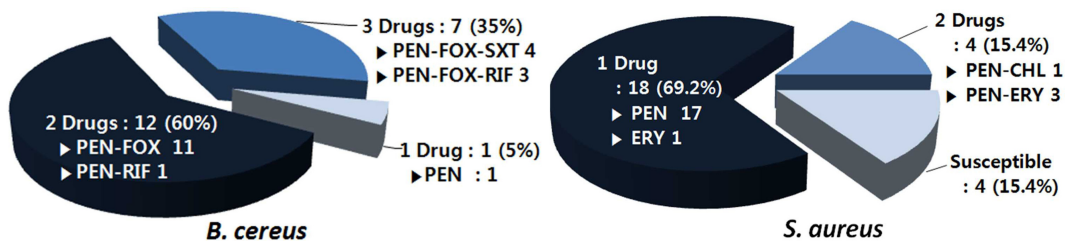


Fig. 1. Multidrug resistance patterns of *B. cereus*, *S. aureus*

Note. PEN: Penicillin, FOX : Cefoxitin, SXT: Trimethoprim/sulfamethoxazole, RIF : Rifampin, ERY: Erythromycin, CHL: Chloramphenicol

유의한 결과라고 하여 본 연구의 결과와 차이가 있었다. 또한 휴대전화 유형별 분리율의 경우 최근 터치스크린 방식의 휴대전화 사용자가 증가하면서 키패드와 터치스크린 휴대전화간 미생물 분리율 차이에 대한 연구가 이루어지고 있는데 Pal 등²⁵⁾은 키패드 유형에서 분리율이 높았고 이는 키패드의 불규칙적이고 평평하지 않은 표면이 미생물의 저장소로 작용했을 가능성을 제기한 반면 이 등¹⁵⁾은 터치스크린 유형에서 잠재적 병원균이 더 빈번하게 나타난다는 상이한 결과를 보고하였으나 본 연구에서는 휴대전화 유형별 유의한 차이는 찾을 수 없었다.

휴대전화에서 분리한 *S. aureus* 분리율의 경우 의료진을 대상으로 한 국내 보고에서 0.5%³⁾, 12.9%¹⁶⁾, 24.6%¹⁵⁾, 국외에서는 8.1%¹⁷⁾, 32.6%¹⁸⁾가 보고되고 있고, 보건계열 학생 및 교수를 대상으로는 3.61%¹⁹⁾, 16%²⁰⁾, 대학생을 대상으로는 4%²¹⁾가 보고되었다. *E. coli*는 국내 의료진 대상에서 4%³⁾, 보건계열 종사자 1.02%¹⁹⁾, 대학생에서 8%²¹⁾의 분리율이 보고되었으며 *B. cereus*는 대학생의 휴대전화에서 23%²¹⁾ 분리율이 보고되고 있어 분리한 균의 종류 및 균주별 분리율이 다양함을 알 수 있다. 이는 대상 시료수와 시료채취 방법, 선택배지 사용 유무 등의 실험적 차이와 직종별 작업 환경 등의 차이에 의한 것으로 판단된다.

2. 휴대전화에서 분리한 식중독균의 독소 유전자

휴대전화에서 분리된 균이 식중독을 일으킬 수 있는지 그 위험성을 알아보기 위해 균주별 독소 유전자를 확인한 결과 *E. coli*는 독소 유전자가 검출되지 않아 식중독균으로 작용할 가능성은 없으나 분변에 의한 오염은 여전히 발생할 수 있을 것이라 판단된다.

(1) *B. cereus*의 독소 유전자

*B. cereus*는 자연계에서 흔히 발견되는 그람양성의 포자 형성균으로 *B. cereus*에 의한 식중독에는 enterotoxin에 의한 설사형과 emetic toxin에 의한 구토형이 있다. 설사형 식중독과 관련된 enterotoxin은 HBL (haemolytic enterotoxin; *hblA*, *hblC*, *hblD*), NHE (non-haemolytic enterotoxin; *nheA*, *nheB*, *nheC*), Cytotoxin K (*CytK*), enterotoxin FM (*entFM*), bacillus cereus toxin T (*bceT*)가 있으며, 구토형 식

중독은 *cer* (cereulide) 에 의해 발생한다.²⁶⁾

휴대전화에서 분리한 *B. cereus* 20주에 대해 구토독소 1종류와 장독소 9종류를 포함한 10종류의 독소 유전자를 확인한 결과 모든 균주에서 최소 3종류에서 최대 9종류의 독소 유전자가 검출되었고, 특히 *entFM*과 *nheA*는 모든 균주에서 검출되었으며 *bceT* 45%, *CytK* 30%가 검출되었다(Table 2). *hblA*, *D*, *C*가 각각 생산하는 B (Binding), L₁, L₂ (Lytic) 3가지 단백질로 구성된 HBL enterotoxin complex는 장독소 활성을 나타내기 위해 3개 유전자가 모두 필요한 것으로 알려져 있는데, 본 연구에서 3개 유전자를 모두 보유하는 균주는 9주로 분리된 *B. cereus* 균주 중 45%가 HBL 활성을 나타낼 수 있을 것이라 추정되나, 정확한 독소 발현에 대해서는 RPLA (Reversed Passive Latex Agglutination)와 같이 표현형을 확인할 수 있는 면역분석법 실험이 추가로 필요할 것으로 판단된다. NHE enterotoxin complex도 *nheA*, *B*, *C*에서 발현된 Nhe A, NheB, NheC 3개의 단백질로 구성되어 있으며 본 연구에서 3개 유전자 모두 검출된 균주는 13주(65%)로 HBL complex gene에 비해 많은 균주에서 NHE complex gene이 검출되었으며, 각 독소 유전자의 검출률은 *nheA* (100%), *nheC* (85%), *nheB* (70%) 순으로 나타났다.

구토독소는 cereulide라고 불리는 저분자 펩타이드로 구성되어 있고 열과 산, 알칼리 및 단백질 가수분해 효소에도 저항성이 있으며 주로 쌀 등의 전분질 식품에서 주로 검출되고 포자 형성과 관련이 있다고 보고되고 있다.⁴⁰⁾ 구토독소에 의한 식중독은 간기능 부진과 신장장애까지 일으키며 우리나라에서 *B. cereus*로 인한 식중독 보고는 설사형이 대부분이고 구토형 식중독 사례는 2008년 울산,³⁹⁾ 2011년 전북³⁷⁾ 등이 보고되고 있다. 휴대전화에서 분리된 *B. cereus* 20주 중 3주에서 구토독소가 검출되어 15%의 검출률을 나타내었고, 구토독소가 검출된 3주는 *entFM*과 NHE complex를 구성하는 *nheA*, *nheB*, *nheC*만 보유하고 있어 구토독소를 산생하는 *B. cereus*는 HBL complex를 보유하지 않다는 보고^{39),40)}와도 일치하였다.

휴대전화에서 분리된 *B. cereus*의 독소 특성에 대한 자료가 미흡하여 직접 비교하기에는 제한점이 있으나 김 등²⁷⁾은 설사환자와 식품에서 구토독소가 검출된 *B. cereus*는 없었고, Chon 등²⁸⁾은 3년간 식중

독 사례 분리주의 3.4%만 구토독소가 검출되었다고 보고하였다. 또한 김 등²⁹⁾은 들깨잎과 생산환경에서 분리된 *B. cereus*에서 21%, 김 등¹⁰⁾은 즉석섭취식품과 편의식품에서 각각 59.4%, 35.6%의 구토독소 검출률을 나타내는 *B. cereus*를 분리하였다고 보고하였다. Altayar 등³⁰⁾은 토양, 동물분변, 가공채소류 등에서 9.1%의 구토독소 검출률을 나타내었고 환경이나 식품 중에 *B. cereus*는 존재하지만 구토 독소를 보유하는 경우는 드물다고 하였다. 본 연구에서 구토독소 검출률은 임상 분리주보다 높고 환경 및 식품 분리주에 비해서는 낮은 경향을 나타내나, 휴대전화에서 분리한 *B. cereus*를 통해 설사형 식중독 뿐만 아니라 구토형 식중독을 일으킬 수 있는 가능성이 있음을 확인하였다. 특히 *B. cereus*의 경우 열이나 건조 등의 열악한 환경에서 포자를 형성하고 적절한 조건이 갖추어질 경우 다시 증식하며, 여러 종류의 표면에 강한 접착성을 지니므로 휴대전화의 위생적인 관리가 더욱 중요하다고 판단된다.

(2) *S. aureus*의 독소 유전자

*S. aureus*는 임상검체에서 흔히 분리되는 그람 양성균으로 건강인의 비강과 인후, 피부 등의 상재균으로 존재하기도 하지만 식중독의 원인이 되는 장독소 (Staphylococcal enterotoxin) 외에도 발열, 혈압저하, 발적 등을 일으키는 독소성 쇼크증후군 독소 (*tsst*), 표피박리독소(*eta*, *etb*) 등을 분비하여 피부감염성 질환에서 식중독, 폐혈증, 폐렴, 피부열상 및 독소 쇼크 증후군 등의 원인균으로 작용하기도 한다.¹²⁾ 근래에는 여러 항생제에 내성을 지닌 MRSA가 문제가 되고 있는데, 이는 주로 *mecA* 유전자에 의해 생성된 변형 페니실린 결합 단백질(penicillin binding protein, PBP 2a)로 인해 β -lactam계에 내성을 일으키게 된다. 본 연구의 휴대전화에서 분리한 *S. aureus* 26주 중 22주(84.6%)에서 장독소가 검출되었고, *tsst*는 2주(7.7%)에서 검출되었으며, *eta*, *etb*, *mecA* 유전자는 모든 균주에서 검출되지 않았다(Table 3). MRSA 내성 보조유전자인 *femA* 유전자는 모든 균주에서 검출되었는데 이 유전자는 *S. aureus*에 특이하게 존재하고 β -lactam 항균제에 대한 내성을 나타낸다고 보고되고 있다.³²⁾ 또한 장독소가 검출된 *S. aureus* 22주를 유형별로 나누어 보았을 때 V유형 중 *seg-sei-sem-sen-seo*가 8주(36.4%)로 가장 많은 비

율을 차지하였는데, 이는 임 등³³⁾이 설사 환자에서 분리한 *S. aureus* 중 *egc* 5개 유전자가 모두 검출된 균주가 20.3%이라 보고하여 본 연구 결과에서의 *egc* 검출률이 높았다. 이 유형은 *seg*, *sei*, *sem*, *sen*, *seo* 5개의 enterotoxin gene이 하나의 operon으로 연결된 *egc* (enterotoxin gene cluster)로 병독성 인자 및 superantigen으로 작용해 적은 농도로도 T세포를 직접적으로 자극하여 숙주를 고열과 쇼크에 빠지게 할 수 있다고 보고³²⁾되고 있다. 무생물 표면에서 생존하는 병원균의 대부분이 습한 환경에서 생존률이 높은 반면 *S. aureus*의 경우 낮은 습도에서 생존률이 더 높다는 보고⁴⁾가 있으므로, 건조한 상태의 휴대전화에서 생존하는 *S. aureus*로 인해 인체로 직접적인 발현을 일으킬 가능성은 적지만, 손이나 음식 등에서 적절한 조건이 갖추어질 경우 대량 증식한 균의 교차 오염으로 인해 영향을 미칠 수 있을 것으로 판단된다.

3. 휴대전화에서 분리한 식중독균의 항균제 감수성

(1) *B. cereus*의 항균제 감수성

휴대전화에서 분리한 *B. cereus* 20주는 penicillin 100%, cefoxitin 90%, SXT와 rifampin에 각 20%의 내성을 나타내었다. *B. cereus*의 항균제 감수성에 대한 기존 연구에서 임상 분리주²⁸⁾ 및 식중독 사례에서의 분리주³⁷⁾ 뿐만 아니라 식품, 환경 분리주²⁹⁾에서 모두 β -lactam계에 내성을 나타내어 본 연구와 같은 결과였고 이는 항생제 남용에 의한 내성보다는 β -lactamase를 생성할 수 있는 균 자체의 특성으로 보고되고 있다.²⁹⁾

(2) *S. aureus*의 항균제 감수성

휴대전화에서 분리한 *S. aureus* 26주는 penicillin 80.8%, erythromycin 15.4%, chloramphenicol 3.8% 내성을 나타내었고, erythromycin에 3.8%의 중등도 내성을 나타내었으며, MRSA와 VRSA는 없었다(Table 5). 의료진의 휴대전화에서 분리된 *S. aureus*의 항균제 감수성 연구에서 Kabir 등³⁴⁾은 penicillin 60.5%, rifampicin 21.1%, tetracycline 5.26%, chloramphenicol 5.26%, vancomycin 2.63%의 내성을 나타내고 gentamicin에는 감수성이라 보고하였고, Rana 등³⁵⁾은 penicillin 90%, cefoxitin 40%, gentamicin 30%, levofloxacin 20%로 보고하였다. 또한 Sepehri 등¹⁸⁾은 gentamicin 15.6%, cephalothin

6.7%, amoxicillin에는 25% 내성을, 김 등¹⁶⁾은 oxacillin 감수성 시험 결과 13주 중 4주가 내성이라고 보고하였다. 비의료진을 대상으로 한 연구 중 Kawo 등³⁶⁾은 ciprofloxacin 93.3%, amoxicillin 53.3%, gentamicin 20%로 보고하였으며, 본 연구 결과는 휴대전화에서 분리한 *S. aureus* 항균제 감수성 연구의 대부분이 β -lactam계 내성률이 높다고 보고한 기존 연구와 같은 결과를 나타내었다. 부산 지역 중, 고등학생들의 휴대전화에서 분리한 *S. aureus* 중 MRSA, VRSA는 없는 것으로 나타났다. 하지만 의료진의 휴대전화에서 MRSA가 분리되었다는 여러 보고^{15,16)}가 있었고, 2012년 인도의 *Shobha*가 휴대전화에서 분리한 *staphylococci* 중 vancomycin에 내성인 균주를 분리하였다는 보고³⁸⁾가 있었으며, 예전에는 항균제 내성균이 대부분 원내감염의 문제로 인식했으나 최근에는 의료기관과 지역사회 상호간의 감염이 제기됨에 따라 지역사회에서 분리되는 균주에 대한 항균제 내성에 대해서도 지속적인 관찰이 필요할 것으로 보인다.

V. 결 론

본 연구에서는 부산지역 중·고등학생의 휴대전화에서 주요 식중독균을 분리하고 그 특성을 조사하여 휴대전화가 감염병의 매개체로 작용할 수 있는지 알아보고자 하였다. 항균제감수성 결과 근래 문제가 되고 있는 메치실린 내성 및 반코마이신 내성 황색포도상구균은 검출되지 않았으나 바실러스 세레우스와 황색포도상구균의 경우 식중독을 일으킬 수 있는 다양한 독소 유전자가 검출되어 식중독 발생의 가능성이 있음을 확인하였다. 휴대전화 상의 감염원이 인체로 직접 영향을 미치기 보다는 손을 통한 교차오염으로 음식 등에 대량으로 증식하여 영향을 미칠 것으로 생각되므로 이를 방지하기 위해서는 정기적인 휴대전화 소독 뿐만 아니라 개인 위생이 함께 수행되어야 하며, 특히 지역사회를 이끌어 갈 중·고등학생의 올바른 위생습관을 형성할 수 있는 교육이 필수적이라 하겠다.

References

1. Jeong JS, Choi JK, Jeong IS, Paek KR, In HK,

Park KD. A nationwide survey on the hand washing behavior and awareness. *J Prev Med Public.* 2007; 40(3): 197-204.

2. Lee MS, Park YJ. Hand washing projects for preventing infectious diseases. *Public Health Weekly Report*, KCDC. 7(13):268-277

3. Kwon YW, Lee SY. Identification of bacterial flora on cellular phones of dentists. *International Journal of Oral Biology.* 2014; 39(3); 137-143

4. Kramer A, Schwebke I, Kampf G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces?. *BMC Infect Dis.* 2006; 6(1): 130

5. Ministry of Science, ICT and Future Planning. 2014 Census of Broadcasting Industry. Ministry of Science, ICT and Future Planning Press; 2014

6. Ministry of Gender Equality and Family. 2013 Survey on the media use by children and youth in 2013. Available : http://www.prism.go.kr/homepage/search/retrieveIntegrateSearch.do?cond_search_content=2013+%ec%b2%ad%ec%86%8c%eb%85%84+%eb%a7%a4%ec%b2%b4%ec%9d%b4%ec%9a%a9&cond_sort=&cond_period=&cond_search_start_date=&cond_search_end_date=&cond_search_type=2

7. Kim BJ, Li KS, Woo SM, Cho WI, Cho SY, Kim MN, et al. Clinical Observation of Cellular Phone Dermatitis in Korea. *Korean J Dermatol.* 2006; 44(1): 35-39

8. Korea Centers for Disease Control and Prevention. Result of school-based infectious disease surveillance in Republic of Korea, 2012. Available : <http://www.cdc.go.kr/CDC/info/CdcKrInfo0301.jsp?menuIds=HOME001-MNU1132-MNU1138-MNU0037-MNU1380&cid=20546>

9. Jang YJ, Lee MS, Na BJ, Kim GY, Bae SH, Kim CW, et al. A study on the knowledge, attitude and practice of handwashing of middle school students. *Journal of Korean Society for Health and Promotion.* 2007; 24(4): 1-22

10. Kim TS, Kim MJ, Kang YM, Oh GN, Choi SY, Oh MS, et al. Molecular characterization and toxin profile of *Bacillus cereus* strains isolated from Ready-to-eat foods. *Korean J. Food Sci. Technol.* 2014; 46(3): 334-340

11. Yang IC, Shin DYC, Huang TP, Huang YP, Wang JY, Pan TM. Establishment of a novel multiplex PCR assay and detection of toxigenic strains of the species in the *Bacillus cereus* group. *J Food Prot.* 2005; 68(10): 2123-2130

12. Mehrotra M, Wang G, Johnson WM. Multiplex PCR for detection of genes for *Staphylococcus*

- aureus* enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin 1 and methicillin resistance". *J Clin Microbiol.* 2000; 38(3): 1032-1035.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test; Approved Standard-Eleventh Edition : M02-A11. Wayne, PA, USA ; 2012
 14. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 24th informational supplement, Wayne, PA, USA ; 2014
 15. Lee YJ. Comparison of bacterial contamination rates between smart cell phone and non-smart cell phone of health care workers, [dissertation]. [Seoul] : Seoul National University; 2012
 16. Kim JS, Kwon OK, Song W, Kim HS, Park JY, Cho HC, et al. Isolation of Healthcare-Associated Pathogens from Cellular Phones Used by Meical Personnel. *Korean J Nosocomial Infect Control.* 2010; 15(1): 36-40
 17. Karabay O, Koçoglu E, Tahtaci M. The role of mobile phones in the spread of bacteria associated with nosocomial infections. *J Infect Dev Ctries.* 2007; 1(1):72-73
 18. Sepehri G, Talebizadeh N, Mirzazadeh A, Mirshekari TR, Sepehri E. Bacterial contamination and resistance to commonly used antimicrobials of healthcare workers' mobile phones in teaching hospitals, Kerman, Iran. *Am J Appl Sci.* 2009; 6(5): 806-810
 19. Kim SJ, Kim GH, Shin EK, Bae JH, Jeon YR. Distribution of microorganisms isolated from cellular phones. *The Korean Society for biomedical laboratory sciences.* 2008; 14(4): 257-261
 20. Singh S, Acharya S, Bhat M, Rao SK, Pentapati KC. Mobile phone hygiene: potential risks posed by use in the clinics of an Indian dental school. *J Dent Educ.* 2010; 74(10): 1153-1158
 21. Tagoe DN, Gyande VK, Ansah EO. Bacterial contamination of mobile phones: When your mobile phone could transmit more than just a call". *Web-medCentral Microbiology.* 2011; 2(10): WMC002294
 22. 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
 23. Ministry of Food and Drug Safety. Korean Food Standards Codex. 2013
 24. Ovca A, Rednak B, Torkar K, Jevnik M, Bauer M. Students' mobile phones-how clean are they? *International Journal of Sanitary Engineering Research.* 2012; 6(1): 6-18
 25. Pal P, Roy A, Moore G, Muzslay M, Lee E. Key-pad mobile phones are associated with a significant increased risk of microbial contamination compared to touch screen phones. *J Infect Prev.* 2013; 14(2): 65-68
 26. Granum PE, Lund T. *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. *FEMS microbiology letters.* 1997; 157(2): 223-228.
 27. 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-T29
 28. Chon JW, Kim JH, Lee SJ, Hyeon JY, Song KY, Park C, et al. Prevalence, phenotypic traits and molecular characterization of emetic toxin-producing *Bacillus cereus* strains isolated from human stools in Korea. *J Appl Microbiol.* 2012;112(5): 1042-1049
 29. Kim SR, Lee JY, Lee SH, Ryu KY, Park KH, Kim BS, et al. Profiles of toxin genes and antibiotic susceptibility of *Bacillus cereus* isolated from perilla leaf and cultivation areas. *Korean J Food Sci Technol.* 2011; 43(2): 134-141
 30. Altayar M, Sutherland AD. *Bacillus cereus* is common in the environment but emetic toxin producing isolates are rare. *J Appl Microbiol.* 2006; 100(1) : 7-14
 31. Korea Centers for Disease Control and Prevention, 2005. Infectious Disease Laboratory Diagnosis ; Disease-Specific Protocol. 3re ed.
 32. Jarraud S, Peyrat MA, Lim A, Tristan A, Bes M, Mougel C, et al. *egc*, A highly prevalent operon of enterotoxin gene, forms a putative nursery of superantigens in *Staphylococcus aureus*. *The Journal of Immunology.* 2001;166(1) : 669-677
 33. Lim YS, Young KC, Hong HG, Kim YH, Kim KA, Lee SH, et al. Characterization of *Staphylococcus aureus* Isolated from diarrhea patients in Gyeonggi-do. *The Report of Gyeonggi-do Institute of Health and Environment.* 2009; 2010
 34. Kabir MS, Akhter K. Antibiotic resistance patterns of *Staphylococcus aureus* isolated from mobile phone devices in Bangladesh. *Advances in Biological Research.* 2014; 8(1): 23-28
 35. Rana R, Joshi S, Lakhani S, Kaur M, Patel P. Cell phones- homes for microbes!. *Int J Biol Med Res.* 2013; 4(3): 3403-3406
 36. Kawo AH, Musa AM. Enumeration, isolation and antibiotic susceptibility profile of bacteria associated with mobile cell phones in a university envi-

- ronment. *Nig. J. Basic Appl. Sci.* 2013; 21(1): 39-44
37. Kim SG. A study of emetic toxin and enterotoxin producing *Bacillus cereus* strains isolated from Outbreak of Jeonbuk province, [dissertation]. [Jeonbuk]: Jeonbuk National University ; 2013
38. Shobna KS, Ravikumar TN, Gurumurthy BY, Subbaraju A. Methicillin and vancomycin resistant *Staphylococci* from cell phones-an emerging threat. *Int J Microbiol.* 2012; 3(3): 163-166
39. Kim JH, Lim EG, Jang HC, Park JY, Lee SJ, Park MS, et al. A case of emetic toxin producing *Bacillus cereus* strains isolated from outbreak. *Korean J Clin Microbiol.* 2009; 12(1): 48-52
40. Ehling-Schulz M, Svensson B, Guinebretiere MH, Lindback T, Andersson M, Schulz Anja, et al. Emetic toxin formation of *Bacillus cereus* is restricted to a single evolutionary lineage of closely related strains. *Microbiology.* 2005; 151(1): 183-197