

어린이집 급식설비에서 분리된 식중독 미생물의 독소 유전자 및 항생제 내성

김은영 · 김채영 · 임지유 · 김중범*

국립순천대학교 식품공학과

Toxin Genes and Antibiotic Resistance of Food Poisoning Bacteria Isolated from Food Service Equipment in Childcare Centers

Eun-yeong Kim, Chae-Young Kim, Ji-Yu Im, Jung-Beom Kim*

Department of Food Science and Technology, Suncheon National University, Suncheon, Korea

(Received May 19, 2024/Revised June 12, 2024/Accepted June 12, 2024)

ABSTRACT - This study assessed the contamination level of food poisoning bacteria on handles of food service equipment in childcare centers to prevent food poisoning and analyzed toxin genes and antibiotic resistance of isolated strains. The isolates used in this study were collected from 101 childcare centers in Jeollanam-do. Four strains of *Bacillus cereus* and two strains of *Staphylococcus aureus* were isolated on the handles of food service equipment (refrigerators and freezers). The toxin genes of *B. cereus* were detected as *nheA*, *nheB*, *nheC*, *entFM*, and *cytK*. No toxin genes of *S. aureus* were detected. *B. cereus* showed resistance to β -lactam antibiotics, such as ampicillin and cefepime. *S. aureus* also showed resistance to antibiotics such as ampicillin and cefepime. Therefore, microbial safety and hygiene management, such as periodic sterilization of handles, should be strengthened to prevent food poisoning caused by cross-contamination of food service equipment handles in childcare centers.

Key words: Childcare center, Food poisoning bacteria, Food service equipment, Toxin gene, Antibiotic resistance

우리나라 합계출산율은 2022년, 0.78명으로 OECD 38개 회원국 중 가장 낮은 출생률을 기록하고 있다^{1,2)}. 이러한 저출생의 원인으로 결혼에 대한 가치관 변화, 경제적 환경, 자녀 양육 및 교육비용으로 분석되고 있으며, 이 중 경제적 부담이 가장 큰 원인으로 보고되고 있다³⁾. 저출생 문제가 사회적으로 대두됨에 따라 정부는 양육지원 확대와 어린이집 지원정책 등을 시행하고 있다. 이러한 결과로 2017년 3,157개소의 국공립 어린이집 수는 2022년 5,801개소로 증가하였고 2017년 23.6%였던 공공보육 이용률은 2022년 36%까지 증가하였다⁴⁾. 또한 보육시설 이용 시간이 증가하고 종일반의 운영이 확대되면서 어린이집 및 보육시설에서는 단체급식을 제공하고 있다⁵⁾. 따라서 면역수

준이 낮은 영유아들의 건강관리를 위해 어린이집 및 보육 시설 급식실의 조리 환경에 대한 관리가 매우 중요하다⁶⁾. 그러나 어린이집 및 보육시설의 위생관리와 급식 조리기구 등에 대한 문제점이 보고되고 있다⁷⁾.

최근 5년간 연평균 식중독은 282건 발생한 것으로 보고되고 있으며, 그 중 집단급식소에서 발생한 식중독은 64건이 발생하였고⁸⁾ 2023년 어린이집 집단급식소 등 6,618 곳을 대상으로 위생 점검을 실시한 결과, 20곳이 식품위생법을 위반하였다고 식약처가 보고하였다⁹⁾. 또한 2020년 경기도 안산의 유치원에서 식중독이 발생하여 총 202명 중 102명이 유 증상자로 나타났고, 15명의 환자에서 용혈성요독증후군 의심증상이 발생하였다¹⁰⁾. 집단급식의 식중독 발생은 원재료 및 조리도구 등이 주요 원인으로 보고되고 있으며, 특히 조리 종사자의 개인위생 부족 등 손 위생 관리 부주의가 주요 원인으로 보고되고 있다¹¹⁾. 따라서 조리 종사자의 손이 자주 접촉하는 급식설비 손잡이 등이 식중독 발생의 주요 원인으로 작용할 가능성이 있다.

그러나 현재까지의 연구를 살펴보면 어린이집 청소도구의 미생물학적 안전성 평가¹²⁾, 급식실 실내공기에서 분리된 식중독세균의 독소 유전자 및 항생제 내성¹³⁾, 보육시설

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

Copyright © The Korean Society of Food Hygiene and Safety. All rights reserved. The Journal of Food Hygiene and Safety is an Open-Access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

급식실 실내공기에서 분리된 식중독 세균의 독소 유전자 및 독소 생산 특성¹⁴⁾ 등 어린이집 급식실 실내 환경에 관한 연구에 국한되어 있으며, 어린이집 급식실 설비 손잡이에 대한 미생물학적 안전성과 분리된 식중독 미생물의 독소 유전자 및 항생제 내성 연구는 전무한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 어린이집 급식실의 필수 장비인 냉장고, 냉동고, 자외선 살균기 손잡이의 식중독 미생물 오염도를 분석하고, 분리된 식중독 세균의 독소 유전자와 항생제 내성을 분석하여 급식설비 손잡이에 의한 집단 식중독 발생을 예방하고자 하였다.

Materials and Methods

실험 재료 및 채취

본 연구에 사용된 재료는 전남 일부 지역 어린이집 101 곳의 냉장고, 냉동고, 자외선 살균기 손잡이 총 303개를 대상으로 하였다. 식중독 미생물 분리를 위해 멸균된 면봉을 0.85% 멸균 생리식염수에 적신 후 냉장고, 냉동고, 자외선 살균기의 손잡이 25 cm×2 cm에 해당하는 면적을 무균적으로 채취하였다. 채취된 면봉을 0.85% 멸균 생리식염수 10 mL에 넣은 후 균질화하여 시험원액으로 사용하였다¹⁵⁾.

Bacillus cereus 분리 동정

B. cereus 분리 동정은 식품공전을 준용하여 실험하였다¹⁶⁾. 시험원액을 Tryptic Soy Broth (TSB, MB cell, Seoul, Korea)에 1 mL 접종하여 30°C에서 24시간 배양하였다. 배양한 후 배양액을 Mannitol Egg Yolk Polymyxin Agar (MYP, MB cell)에 도말하여 30°C에서 24시간 동안 배양하였다. 집락 주위에 lecithinase를 생성하며 혼탁한 환을 가진 분홍색 집락을 선택하여 Nutrient Agar (NA, MB cell)에 도말한 뒤 30°C에서 24시간 배양하였다. 배양된 집락을 대상으로 Blood Agar (BA, MB cell)에 접종하여 집락 주변의 β-hemolysis를 확인한 후 Vitek 2 system (Vitek 2 Compact, BioMerieux, Marcy-l'Étoile, France)을 이용하여 *B. cereus*를 동정하였다.

Staphylococcus aureus 분리 동정

S. aureus 분리 동정은 식품공전을 준용하여 실험하였다¹⁶⁾. 시험원액 1 mL를 10%-NaCl TSB (MB cell)에 접종하여 35°C에서 24시간 배양하였다. 배양한 후 배양액을 Baird-Parker Agar (BPA, MB cell)에 도말하여 35°C에서 24시간 배양하였다. 배양 후 투명한 띠로 둘러싸인 광택의 검정색 집락을 선별하여 NA (MB cell)에 도말한 뒤 35°C에서, 24시간 배양하였다. 배양된 집락을 대상으로 Coagulase test (MB cell)를 실시하여 양성을 확인한 후 Vitek 2 system을 이용하여 *S. aureus*를 동정하였다.

DNA 추출

TSB 9 mL에 시험 용액 1 mL를 접종하여 35°C에서 24시간 배양하였다. 배양된 시험 용액 1 mL를 1.5 mL tube에 분주하여 12,000 RPM으로 10분간 원심분리하였다 (Smart R17, Hanil scientific, Gimpo, Korea). 원심분리 후 상층액을 제거하고 멸균증류수 1 mL를 첨가하여 12,000 RPM에서 10분간 원심분리하였다. 이 과정을 3회 반복하여 세척한 후 멸균증류수 1 mL를 가하여 heating block (HB-96D, set, Daihan scientific, Wonju, Korea)에서 99°C, 10분간 가열하였다. 가열된 1.5 mL tube를 12,000 RPM으로 10분간 원심분리 후 상층액을 주형 DNA로 사용하였다¹⁷⁾.

독소 유전자 실험

B. cereus 독소유전자는 각각의 독소유전자 primer (*nheA*, *nheB*, *nheC*, *hbla*, *hblC*, *hblD*, *entFM*, *cytK* primer)를 사용하여 실험하였다 (Table 1). *nheA*, *nheB*, *nheC*, *hbla*, *hblC*, *hblD*, *entFM*의 PCR 반응조건은 95°C, 30 sec→(95°C, 30 sec→60°C, 1 min→72°C 1 min) 35 cycle→72°C, 5 min이고, *cytK*의 PCR 반응조건은 95°C, 1 min→(95°C, 60 sec→48°C, 60 sec→72°C, 60 sec) 30 cycle→72°C, 7 min이다.¹⁸⁻²¹⁾ *S. aureus* 독소유전자 PCR의 경우 *Staphylococcus aureus* toxin ID detection kit (Kogenebiotech, Seoul, Korea)를 사용하여 실험하였다. PCR 반응은 95°C, 10 min → (95°C, 30 sec→58°C, 30 sec→72°C, 30 sec) 32 cycle→72°C, 10 min 동

Table 1. Primer sequences for *Bacillus cereus* toxin genes

Target gene	Sequence (5'-3')	Products size (bp)	Reference
<i>nheA</i>	ATT ACA GGG TTA TTG GTT ACA GCA GT AAT CTT GCT CCA TACT CT CTT GGA TGC T	475	
<i>nheB</i>	GTA CAG CAG CTG TAG GCG GT ATG TTT TTC CAG CTA TCT TTC GCA AT	328	18)
<i>nheC</i>	GCG GAT ATT GTA AAG AAT CAA AAT GAG GT TTT CCA GCT AIC TTT CGC TGT ATG TAA A	557	
<i>hbla</i>	GCA AAA TCT ATG AAT GCC TA GCA TCT GTT CGT AAT GTT TT	884	
<i>hblC</i>	CCT ATC AAT ACT CTC GCA ATTT CCT TTG TTA TAC GCT GC	695	19)
<i>hblD</i>	GAA ACA GGG TCT CAT ATT CT CTG CAT CTT TAT GAA TAT CA	1,018	
<i>entFM</i>	AAA GAA ATT AAT GGA CAA ACT CAA ACT CA GTA TGT AGC TGG GCC TGT ACG T	596	20)
<i>cytK</i>	GTA ACT TTC ATT GAT GAT CC GAA TAC TAA ATA ATT GGT TTC C	505	21)

안 수행하였다. *B. cereus*와 *S. aureus*의 특정한 독소유전자를 확인하기 위하여 2% agarose gel (SeaKem® LE Agarose, LONZA, Basel, Switzerland)에 PCR product 5 µL loading하여 220 V에서 30분간 전기영동 하였다.

항생제 감수성 실험

분리균주의 항생제 감수성 실험은 디스크 확산법으로 실험하였다²²⁾. 분리균주를 Mueller Hinton agar (MHA, MB cell, Seoul, Korea)에 35°C에서 24시간 배양하였다. 배양한 후 한 colony를 취하여 3 mL Mueller Hinton Broth (MHB, MB cell)에 접종하여 35°C에서 24시간 배양하였다. 배양된 균액을 McFarland No. 0.5 (BioMerieux)의 농도로 조정된 후 MHA (MB cell)에 멸균된 면봉을 이용하여 균등하게 도말하였다.

사용된 항생제 디스크 종류는 ampicillin (AM, 10 µg), cefepime (FEP, 30 µg), cefotetan (CTT, 30 µg), ciprofloxacin (CIP, 5 µg), chloramphenicol (C, 30 µg), clindamycin (DA, 2 µg), erythromycin (E, 15 µg), gentamicin (CN, 10 µg), imipenem (IPM, 10 µg), oxacillin (OX, 1 µg), penicillin (P, 10 U), rifampicin (RD, 5 µg), tetracycline (TE, 30 µg), trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT, 1.255 µg)/23.75 µg)이다. 항생제 디스크를 배지 표면에 접종하여 고정시킨 후 35°C에서 24시간 배양하였다. *B. cereus*의 항생제 감수성의 경우 항생제 내성 기준이 설정되어 있지 않아 *S. aureus*의 기준을 적용하여 감수성(Susceptibility, S), 중간내성(Intermediate, I) 및 내성(Resistance, R)으로 판정하였다.

Results and Discussion

급식 설비의 식중독 세균 오염도

어린이집 급식설비 손잡이의 식중독 세균 오염도를 분석하고자 *B. cereus*와 *S. aureus*를 실험하여 Table 2에 나타내었다. 식중독 세균은 발현 기전에 따라 독소형과 감염형으로 분류할 수 있다. 독소형 식중독은 원인균에 의해 이미 생산된 균체의 독소를 섭취하여 발생하고 대표적 세균으로 *S. aureus* 등이 보고되고 있다²³⁾. 감염형 식중독은 식중독균을 음식물과 함께 다량 섭취 시 발생하며 대

표적 세균으로 *Salmonella* spp., *Vibrio parahaemolyticus* 등이 보고되고 있다²⁸⁾. *B. cereus*는 감염형과 독소형 식중독을 모두 일으키는 그람양성, 통성혐기성 포자형성균으로 열악한 환경과 자연계에 널리 존재하고 있다²⁴⁾. *S. aureus*는 포도송이 모양의 그람양성 세균으로 인간 손 등 피부상재균으로 보고되고, 35-38°C의 최적 발육온도에서 식중독 원인인 장독소를 생산한다²⁵⁾. 따라서 급식실 설비 손잡이 중 생존할 가능성이 가장 높은 *B. cereus*와 *S. aureus*를 선정하여 실험하였다.

실험결과 *B. cereus*와 *S. aureus*는 국공립 어린이집에서는 검출되지 않았으나 가정 어린이집 냉동고와 지역 아동 어린이집 냉장고, 냉동고 손잡이에서 각각 *B. cereus* 2건, 총 4건이 검출되었다. 또한 민간, 지역 아동 어린이집 냉장고 손잡이에서 *S. aureus* 2건이 검출되었다. 어린이집 급식설비 손잡이에 대한 미생물 오염도 보고는 매우 미약하여 직접적인 비교는 어려우나, 어린이집 급식실 실내공기의 *B. cereus* 오염도는 32.8%를 나타내었고 *S. aureus*는 평균 6.3%를 나타내었다고 보고되었다¹³⁾. 또한 어린이집 급식실 테이블의 *B. cereus* 오염도는 11%, 어린이집 정수기에서 *B. cereus* 오염도는 12.2%로 보고되었다^{26,27)}. 본 실험결과 *B. cereus*의 검출율은 1.3%, *S. aureus*의 검출율은 0.7%로 나타나 다른 연구결과에 비해 낮은 수준이었으나 식중독 발생 위험성은 상존한다고 할 수 있다. 따라서 어린이집 급식설비 손잡이의 위생적인 관리와 교차오염을 예방하기 위해 급식설비 손잡이에 대한 주기적인 살균을 실시하여야 할 것으로 판단되었다.

독소 유전자 분포

어린이집 급식설비 손잡이에서 분리된 *B. cereus*의 독소 유전자 실험결과는 Table 3에 나타내었다. 실험결과 *hblA*는 3 균주(75%), *hblC*는 3 균주(75%)에서 검출되었으나 *hblD*는 모든 균주에서 불검출되었다. 또한 모든 균주에서 *nheA*, *nheB*, *nheC*, *entFM*, *cytK*가 검출되었다. *S. aureus*의 독소유전자 실험결과는 Table 4에 나타내었다. 분리된 모든 균주에서 *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *seh*, *sei*, *sej* 독소유전자가 불검출되었다.

*B. cereus*는 포자를 형성할 수 있는 그람양성 간균으로

Table 2. Detection of food poisoning bacteria on handle of food service equipment in child care center

Food service equipment	Food poisoning bacteria	
	<i>Bacillus cereus</i> (detection rate)	<i>Staphylococcus aureus</i> (detection rate)
Refrigerator (n=101)	2 (2.0%)	2 (2.0%)
Freezer (n=101)	2 (2.0%)	ND ¹⁾
Ultraviolet sterilizer (n=101)	ND	ND
Total (n=303)	4 (1.3%)	2 (0.7%)

¹⁾ND: not detected.

Table 3. Detection of toxin genes in *Bacillus cereus* isolated from handle of food service equipment in child care center

Isolates	Toxin gene ¹⁾							
	<i>nheA</i>	<i>nheB</i>	<i>nheC</i>	<i>hblA</i>	<i>hblC</i>	<i>hblD</i>	<i>entFM</i>	<i>cytK</i>
RD 5	+	+	+	+	+	-	+	+
RD 8	+	+	+	+	+	-	+	+
FC 16	+	+	+	-	-	-	+	+
FD 20	+	+	+	+	+	-	+	+
Detection rate (%)	100	100	100	75	75	0	100	100

¹⁾ +: detected, -: not detected.

Table 4. Detection of toxin genes in *Staphylococcus aureus* isolated from handle of food service equipment in child care center

Isolates	Toxin gene ¹⁾							
	<i>sea</i>	<i>seb</i>	<i>sec</i>	<i>sed</i>	<i>see</i>	<i>seg</i>	<i>seh</i>	<i>sei</i>
RB 14	-	-	-	-	-	-	-	-
RD 5	-	-	-	-	-	-	-	-
Detection rate (%)	0	0	0	0	0	0	0	0

¹⁾ +: detected, -: not detected.

토양에서 쉽게 관찰되며 농산물, 식품 등을 통한 식중독 발생이 빈번하다²⁸⁾. *B. cereus*는 설사형 식중독과 구토형 식중독을 유발할 수 있으며 설사형 식중독 독소유전자는 *hblA*, *hblC*, *hblD*, *nheA*, *nheB*, *nheC*, *cytK*, *entFM* 등이 보고되고 있으며 독소형 식중독 유전자로는 *ces*가 보고되고 있다²⁹⁾. 본 실험에서 분리된 *B. cereus* 4건 중 3건에서는 *hblD* 독소유전자를 제외한 설사형 독소유전자가 모두 검출되었다. 이러한 결과는 보육시설 유아 사용 수건에서 분리된 *B. cereus*가 *hblCDA*, *nheABC*, *entFM*, *cytK* 유전자를 보유하고 있다는 보고¹⁷⁾와 *B. cereus* 178 균주 모두에서 설사형 장독소가 검출되었다는 보고³⁰⁾와 유사하였다. 따라서 어린이집 급식설비 손잡이에서 분리된 *B. cereus*는 설사형 식중독을 발생시킬 수 있어 *B. cereus*에 의한 식중독 발생을 예방하기 위해 위생관리가 필요한 것으로 판단된다.

항생제 감수성 분석

어린이집 급식설비 손잡이에서 분리된 *B. cereus*와 *S. aureus*의 항생제 감수성 실험결과는 Table 5에 나타내었다. *B. cereus*의 항생제 감수성 기준이 설정되어 있지 않아 *S. aureus*의 항생제 감수성 기준을 적용하여 판단하였다²²⁾.

*B. cereus*의 항생제 감수성 실험결과 E, CN 항생제에 100% 감수성을 나타내었고 AM, FEP, CTT, OX, P, SXT 등 β-lactam계 항생제에 100% 내성을 나타내었다. 이러한 결과는 *B. cereus*가 AM, FEP 등 β-lactam계 항생제에 내성을 나타낸다는 기존 보고와 일치하였다³⁰⁾. CIP (75%), C (50%), DA (25%), TE (50%) 항생제에 감수성을 나타내었고, 중간 내성은 CIP (25%), C (50%), DA (75%), TE

(50%)를 나타내었다. 그 외 IPM 항생제는 감수성 75%, 내성 25%를 나타내었고 RD 항생제는 감수성 50%, 중간 내성 50%를 나타내었다.

*S. aureus*의 항생제 감수성 실험결과 FEP, CTT, CIP, DA, RD, TE, SXT 항생제에 100% 감수성을 나타내고 AM, P 항생제에 100% 내성을 나타내었다. 그 외 C (50%), E (50%), CN (50%) 항생제에 감수성을 나타내었고 항생제 내성은 C (50%), E (50%), CN (50%)을 나타내었다. OX 항생제는 50% 감수성, 50% 중간 내성을 나타내었다. 이러한 결과는 초등학교 급식환경에서 분리된 *S. aureus* 균주에 대해 항생제 감수성을 실험한 결과, 균주 모두에서 AM, P 항생제에 내성을 나타낸 보고와 일치한 결과였다³¹⁾.

전 세계적으로 가장 위험한 항생제 내성균인 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)가 1961년 보고되었다³²⁾. Methicillin은 *S. aureus* 감염 치료에 사용되었으나³³⁾ methicillin과 같은 기작인 oxacillin이 1990년대 초 개발되어 *S. aureus* 항생제로 사용되고 있다³⁴⁾. 따라서 methicillin 또는 oxacillin에 내성인 *S. aureus*을 모두 MRSA라는 약자로 사용되고 있다²²⁾. *S. aureus* 균주의 OX 항생제 내성 실험결과, 2 균주 모두 OX 항생제에 중간 내성과 감수성을 나타내어 MRSA는 검출되지 않았다. 어린이집 급식설비 손잡이에서 분리된 *S. aureus*는 OX 항생제에 안전한 것으로 판단되나, 보육시설 급식환경에서 분리된 *S. aureus* 균주 75%가 OX 항생제에 내성을 나타내었다는 보고와 어린이 500명의 비강을 면봉으로 채취한 결과 4명의 어린이에게 MRSA가 검출되었다는 보고^{35,36)}가 있어 어린이집 급식설비 손잡이의 MRSA 분리·동정에 대한 지속적인 연구가 필요한 것으로 판단된다.

Table 5. Antibiotic resistance of *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* isolated from handle of food service equipment in child care center

Antimicrobial agent	<i>Bacillus cereus</i>				<i>Staphylococcus aureus</i>	
	RD 5	RD 8	FC 16	FD 20	RB 14	RD 5
Ampicillin	R ¹⁾	R	R	R	R	R
Cefepime	R	R	R	R	S	S
Cefotetan	R	R	R	R	S	S
Ciprofloxacin	I	S	S	S	S	S
Chloramphenicol	I	S	I	S	R	S
Clindamycin	I	S	I	I	S	S
Erythromycin	S	S	S	S	S	R
Gentamycin	S	S	S	S	S	R
Imipenem	R	S	S	S	S	S
Oxacillin	R	R	R	R	I	S
Penicillin	R	R	R	R	R	R
Rifampin	R	R	R	I	S	S
Tetracycline	I	S	I	S	S	S
Trimethoprim/sulfamethoxazole	R	R	R	R	S	S

¹⁾ R: resistance, S: susceptibility, I: intermediate.

국문요약

본 연구는 어린이집 급식설비 손잡이의 식중독 세균 오염도를 측정하고, 분리 균주의 독소 유전자와 항생제 내성을 분석하여 급식설비 손잡이에 의한 집단식중독을 예방을 위한 과학적 기반을 마련하고자 하였다. 실험 대상은 전라남도 일부 지역 어린이집 101곳의 냉장고, 냉동고, 자외선 살균기 손잡이, 총 303개를 대상으로 하였다. 어린이집 냉장고, 냉동고 손잡이에서 *B. cereus* 4 균주(1.3%)가 검출되었고 어린이집 냉장고 손잡이에서 *S. aureus* 2 균주(0.7%)가 검출되었다. *B. cereus*와 *S. aureus*의 독소유전자를 분석한 결과 *B. cereus* 4개 균주 모두에서 *nheA*, *nheB*, *nheC*, *entFM*, *cytK*가 검출되었으나, *S. aureus*의 2개 균주의 경우 모두 *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *seh*, *sei*, *sej* 독소유전자가 불검출되었다. *B. cereus*에서 설사를 유발하는 장독소가 검출되어 *B. cereus*에 의한 식중독 발생 가능성이 상존하는 것으로 판단되었다. *B. cereus*와 *S. aureus*의 항생제 감수성을 실험한 결과 *B. cereus* 4 균주에서 AM, FEP 등 β -lactam계 항생제에 내성을 나타내었고 *S. aureus* 균주 모두 AM, P 항생제에 내성을 나타내었다. *S. aureus* 균주는 OX 항생제에 각각 중간 내성 1 균주와 감수성 1 균주를 나타내었으나 MRSA는 검출되지 않았다. 이러한 결과를 종합하여 볼 때 어린이집 급식설비 손잡이의 교차오염으로 인한 식중독 발생을 예방하기 위해 급식설비 손잡이에 대한 주기적인 살균 등 위생관리 방안을 강화해야 할 것으로 판단되었다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Eun-yeong Kim <https://orcid.org/0000-0002-8839-2509>
 Chae-Young Kim <https://orcid.org/0000-0002-7905-9798>
 Ji-Yu Im <https://orcid.org/0000-0002-0190-0604>
 Jung-Beom Kim <https://orcid.org/0000-0002-0290-2687>

References

1. Korean Statistical Information Service (KOSIS), (2023, November 15). Population trend survey. Retrieved from <https://kostat.go.kr/board.es?mid=a10301020300&bid=204>
2. Korean Statistical Information Service (KOSIS), (2023, November 15), Population trend survey. Retrieved from https://kostat.go.kr/board.es?mid=a10301020300&bid=204&act=view&list_no=426806
3. Jang, H.K., Lee, M.J., Kim, K.M., Kim, Y.R., Women in low birth rate and national response strategy, 240-15, Korea women's development institute, Seoul, Korea (2004).
4. Korea Development Institute (KDI), (2023, November 15). Economic policy commentary, Retrieved from https://eiec.kdi.re.kr/publish/naraView.do?fcodes=00002000040000100005&cid=13762&sel_year=2022&sel_month=07&pp=20&pg=1
5. Jang, M.L., Kim, Y.B., A study of the actual conditions of

- kindergarten meals program. *Korean J. Early Child. Educ.*, **23**, 261-284 (2003).
6. Min, J.H., Lee, Y.K., Microbiological quality evaluation for implementation of HACCP system in day-care center food service operation: I. Focus on heating process and after-heating process. *Korean J. Nutr.*, **37**, 712-721 (2004).
 7. Kang, Y.J., Hand washing, essential for safe food preparation, a technical review. *J. Korean Public Health Assoc.*, **27**, 269-276 (2001).
 8. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), (2023, November 15). Inspection to prevent food poisoning at daycare centers in preparation for summer. Retrieved from <https://impfood.mfds.go.kr/CFBBB02F02/getCntntsDetail?cntntsSn=473258>
 9. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), (2023, November 15). Sanitary Inspection for Prevention of Food Poisoning in Daycare Centers in the First Half. Retrieved from https://www.mfds.go.kr/brd/m_99/view.do?seq=47395&srchFr=&srchTo=&srchWord=&srchTp=&itm_seq_1=0&itm_seq_2=0&multi_itm_seq=0&company_cd=&company_nm=&page=1
 10. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), (2023, November 15). The government pushes for emergency measures related to the outbreak of intestinal hemorrhagic *E. coli* in Ansan kindergarten. Retrieved from <https://impfood.mfds.go.kr/CFBBB02F02/getCntntsDetail?cntntsSn=306045>
 11. Bae, H.J., Analysis of contamination of bacteria from raw materials, utensils and workers' hands to prepared foods in food service operations. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **35**, 655-660 (2006).
 12. Lee, Y.J., Kim, C.Y., Im, J.U., Oh, Y.J., Choi, Y.N., Kim, J.B., Evaluation of the microbiological safety of cleaning tools in child care centers. *Korean J. Food Cook. Sci.*, **38**, 29-35 (2022).
 13. Oh, D.G., Jo, A.H., Kim, C.Y., Jeong, E.S., Kim, J.B., Toxin gene and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* isolated from indoor air in cafeteria. *J. Food Hyg. Saf.*, **36**, 520-527 (2021).
 14. Kim, J.B., Kim, J.C., Toxin gene profiles and toxin production ability of food-borne pathogens isolated from indoor air from lunchrooms at child care centers. *J. Environ. Health Sci.*, **38**, 510-519 (2012).
 15. Kim, J.B., Park Y.B., Kim, K.C., Kim, D.H., Kang, S.H., Lim, Y.S., Park, P.H., Yoon, M.H., Lee, J.B., Evaluation and reduction of microbiological hazard of spoon and spoon case carried by nursery school children. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **40**, 116-122 (2011).
 16. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), (2023, November 15). Food code. Standards and specifications for each food products. prepared meals. Retrieved from <https://various.foodsafetykorea.go.kr/fsd/#/ext/Document/FC>
 17. Kim, J.B., Kim, N.Y., Kang, S.H., Do, Y.S., Eom, M.N., Yoon, M.H., Lee, J.B., Prevalence and toxin characteristics of microorganism on hand towels using for children in child care center. *J. Food Hyg. Saf.*, **28**, 138-145 (2013).
 18. Yang, I.C., Shin, D.Y.C., 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).
 19. Ngamwongsatit, P., Buasri, W., Pianariyanon, P., Pulsrikan, C., Ohba, M., Assavanig, A., Panbabgred, W., Broad distribution of enterotoxin genes (*hblCDA*, *nheABC*, *cytK*, and *entFM*) among *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus cereus* as shown by novel primers. *Int. J. Food Microbiol.*, **121**, 352-356 (2008).
 20. Ghelardi, E., Celandroni, F., Salvetti, S., Barsotti, C., Baggiani, A., Senesi, S., Identification and characterization of toxigenic *Bacillus cereus* isolates responsible for two food-poisoning outbreaks. *FEMS Microbiol. Lett.*, **208**, 129-134 (2002).
 21. Stenfors, L.P., Mayr, R., Scherer, S., Granum, P.E., Pathogenic potential of fifty *Bacillus weihenstephanensis* strains. *FEMS Microbiol. Lett.*, **215**, 47-51 (2002).
 22. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. CLSI approved standard M100-S17, CLSI, Wayne, PA, USA (2007).
 23. Cho, Y.S., Kim, H.S., Kim, S.K., Kwon, O.C., Jeong, S.J., Lee, Y.M., Antibacterial and bactericidal activity of green tea extracts. *J. Korean Tea Soc.*, **3**, 89-103 (1997).
 24. Kim, M.G., Choi, J.C., Biotoxins involved in food borne disease and their control enterotoxins and emetic toxin of *B. cereus*. *Food Sci. Ind.*, **42**, 2-19 (2009).
 25. Oh, M.H., Kang, S.I., Hong, S.P., Oh, S.W., Comparison of four different isolation media for *Staphylococcus aureus*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **38**, 606-611 (2009).
 26. Lee, H.C., Jun, S.Y., Ha, H.H., Song, J.S., Lee, Y.J., Kim, J.B., Evaluation of microbiological safety of food service environment in child care centers. *J. Food Hyg. Saf.*, **35**, 146-151 (2020).
 27. Yoon, M.H., Kim, J.B., Oh, H.S., Prevalence of microbiological contamination on water purifiers at lunchroom in child care center. *Korean J. Food Cook. Sci.*, **28**, 599-604 (2012).
 28. Park, Y.B., Kim, J.B., Shin, S.W., Kim, J.C., Cho, S.H., Lee, B.K., Ahn, J.H., Kim, J.M., Oh, D.H., Prevalence, genetic diversity, and antibiotic susceptibility of *Bacillus cereus* strains isolated from rice and cereals collected in Korea. *J. Food Prot.*, **72**, 612-617 (2009).
 29. Kim, J.B., Jeong, H.R., Park, Y.B., Kim, J.M., Oh, D.H., Food poisoning associated with emetic-type of *Bacillus cereus* in Korea. *Foodborne Pathog. Dis.*, **7**, 555-563 (2010).
 30. Han, M.K., A study of toxin characterization and genetic relationship between *Bacillus cereus* strains isolated in Korea. MS Thesis, Chung-Ang University, Seoul, Koera (2014).
 31. Kang, J.Y., Park, E.J., Lee, H.C., Park, M.J., Oh, D.G., Kim, C.Y., Jeong, E.S., Lee, Y.J., Kim, J.B., Evaluation of microbiological safety of knives and cutting boards in child care centers. *Korean J. Food Nutr.*, **33**, 702-709 (2020).
 32. Ha, K.S., Park, S.J., Shim, W.B., Chung, D.H., Screening of MRSA (Methicilline Resistant *Staphylococcus Aureus*) and *seb* gene in producing strains isolated from food service

- environment of elementary schools. *J. Food Hyg. Saf.*, **18**, 79-86 (2003).
33. Diederer, B.M., Kluytmans, J.A., The emergence of infections with community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Infect.*, **52**, 157-168 (2006).
34. Bannerman, T.L., Peacock, S.J., 2006. *Staphylococcus*, *Micrococcus*, and other catalase-positive cocci. Manual of clinical microbiology: Volume 1, 9th ed, pp. 390-411.
35. Kim, J.B., Kim, J.C., Antibiotic resistance of food-borne pathogens isolated from an indoor environment of a lunchroom in a child care center. *J. Environ. Health Sci.*, **38**, 415-423 (2012).
36. Nakamura, M.M., Rohiling, K.L., Shashaty, M., Lu, H., Tang, Y.W., Edwards, K.M., Prevalence of methicillin resistance *Staphylococcus aureus* nasal carriage in the community pediatric population. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, **21**, 917-922 (2002).