pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 39, No. 1, pp. 1~8 (2024)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2024.39.1.1

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

살모넬라 균주들에서 열처리에 의한 항생제 내성 연구

김수진[1] · 방우석[1] · 김세훈[2]*
[1]영남대학교 식품영양학과, [2]식품의약품안전평가원 미생물과

Antibiotic Resistance of *Salmonella* spp. After Exposure to Mild Heat Treatment

Su-Jin Kim[1], Woo-Suk Bang[1], Se-Hun Kim[2]*
[1]*Department of Food and Nutrition, Yeoungnam University, Gyeongsan, Korea*
[2]*Food Microbiology Division, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Ministry of Food and Drug Safety, Cheongju, Korea*

(Received Septmeber 19, 2023/Revised January 5, 2024/Accepted January 9, 2024)

ABSTRACT - *Salmonella* is widely prevalent in various environments and often detected in poultry. In this study, we investigated the effect of heat treatment on heat resistance via measuring the minimum inhibitory concentration (MIC) values of antibiotics after 3, 6, and 9 min of acclimatization to mild heat treatment (50°C) against 11 strains of *Salmonella* spp. Most strains were susceptible to chloramphenicol and their MIC values were maintained or decreased after heat treatment compared to the control. Most control and heat-treated strains showed susceptibility or intermediate resistance to ciprofloxacin. All isolates were susceptible to tetracycline, with the MIC increasing after heat treatment for *S*. Gaminara BAA 711. In the control, three, two, and six strains were susceptible, intermediate resistance, and resistant to gentamicin, respectively. Among them, *S*. Heidelberg ATCC 8326 had an intermediate MIC breakpoint of 8 μg/mL in the control; however, after 3 and 9 min of heat treatment, the MIC value increased to 16 μg/mL, indicating it to be resistant. The results of this study revealed the changes in antibiotic resistance in some of the 11 strains after heat treatment. MIC values of ciprofloxacin increased when *S*. Montevideo BAA 710 was heat treated for 3 and 6 min. MIC values of gentamicin increased after 3 min of heat treatment for *S*. Enteritidis 109 D1 and after 3 and 9 minutes of heat treatment for *S*. Heidelberg ATCC 8326. The MIC value of tetracycline increased when *S*. Gaminara BAA 711 was heat treated for 6 and 9 min.

Key words: *Salmonella* spp., Mild heat stress, Antibiotic resistance, Heat shock

*Salmonella*는 전세계적으로 식중독 발생의 주요 원인균으로 알려져 있으며, 전세계적으로 매년 1억 명의 *Salmonella* 감염 및 155,000명의 사망 사례가 있었다[1]. 최근 5년간 국내에서 발생한 식중독의 원인균은 pathogenic *Escherichia coli*(158건), *Salmonella*(92건), *Campylobacter jejuni* (59건), *Clostridium perfringens*(43건) 순으로, *Salmonella*는 병원성대장균에 의한 식중독 다음으로 높은 발생률을 나타내는 식중독 발생 원인 세균으로 조사되었다[2].

*Salmonella*는 가금류 및 가금류 가공제품을 생산하는 공정 중 여러 환경에 노출될 수 있으며, 이들의 반응에 의해 미생물의 저항성이나 민감도 증가를 야기한다[3-5]. 열처리는 식품안전 측면에서 식중독균을 불활성화시키는 식품공정 중 일반적인 방법이다[6]. 그러나 불충분한 열처리는 식중독균을 완전히 불활성화시키지 못하며 노출된 스트레스에 적응을 유도하기도 한다[7]. 따라서 약한 스트레스에 노출된 후 다른 스트레스 조건들에 노출되었을 때 교차저항을 나타내는 특성을 나타내기도 한다[8-10]. 열처리를 하는 동안 미생물은 세포가 파괴되는 것을 보호하기

*Correspondence to: Se-Hun Kim, Food Microbiology Division, Food Safety Evaluation Department, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Ministry of Food and Drug Safety, Cheongju 28159, Korea
Tel: +82-43-719-4322, Fax: +82-43-719-4300
E-mail: hoonye77@naver.com

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.

위해 열처리 반응에 저항하게 되며, heat shock 단백질들을 생산하여 단백질 변형을 피하고 세포막 유동성의 안정화를 유도한다[11,12]. *Salmonella*에서 heat shock 반응에 관여하는 조절인자는 sigma factor RpoS, RpoE, RpoH에 의해 조절된다고 알려져 있다[13,14]. 또한, *Salmonella* Enteritidis에서 열처리에 의해 유도되는 유전자는 *clpB*, *clpX*, *degP*, *dnaJ*, *FkpA*, *FtsJ*, *gapA*, *HflB*, *hslJ*, *hslU*, *hslV*, *htpG*, *htrA*, *lon*, *mopA*, *mopB*, *mreB*, *rpoE*, *ppiD* 등인 것으로 보고되었다[15,16].

동물의 세균 감염 예방과 치료 목적으로 항생제를 사용하고 있으나 무분별한 항생제 사용은 항생제 내성균을 발생시키고, 이에 오염된 동물을 섭취함으로서 사람에게 항생제 내성균(슈퍼박테리아)이 전달될 가능성이 있어 공중보건에 심각한 위협을 야기시킨다[17-19]. 여러가지 환경에 노출되면 미생물은 항생제 내성 오페론(operon)을 유도하게 되고 적어도 하나의 광범위하고 특이성 efflux pump (arcAB efflux pump)를 포함하는 다수의 유전자 발현을 조절한다[20].

식품 제조 및 유통 중 열, 냉장, 냉동, 화학적 살균제, 건조 등 여러 환경에 노출될 수 있다. *Cronobacter sakazakii, Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, pathogenic *E. coli* 등에 대해 여러가지 환경에 노출된 후 항생제 내성의 증가나 감소 연구가 보고되었다[21-27]. Mild heat shock 후 항생제에 대한 민감도와 저항성에 관련하여 Al-Nabulsi 등[27]의 연구에서는 *C. sakazakii*를 열처리(55°C, 5분)하여 유도된 단백질 합성이 gentamicin, tetracyline, ciproloxacin, kanamycin 등 항생제 9종에 대해 증가된 항생제 저항성을 보였으며, *S. aureus* 균주들 중 항생제 내성이 없는 균주와 항생제 내성균주에 대해 열처리(63°C, 5분 또는 10분) 후 증가된 항생제 민감도를 보고하였다[25]. *Salmonella* spp.이 저온 열처리에 노출된 후 저항성 증가[16,28-30], 식품[31]이나 닭 도축장[19], 국내 환자[32,33]에서 분리한 균주에 대한 항생제 내성에 대한 연구가 보고되어져 왔으나 식품 제조공정 중 노출될 수 있는 저온 열처리 환경에 노출 후 항생제 민감도나 저항성을 알아본 연구는 부족한 실정이다. *Salmonella* Typhimurium을 45°C에서 배양한 후 amikacin, cefriaxone, trimethoprim에서 항생제 민감성이 증가한 연구[34], Wu 등[22]의 *Salmonella* Typhimurium 열처리(55°C, 5분) 후 polymycin, quinolone, penicillin, glycylcycline, carbapenem, cephalosporin, macrolide 계열 항생제에 대한 민감도와 저항성을 알아본 연구가 보고되었으나, aminoglycosides, fluoroquinolones, chrolamphenicol 계열에 대한 열처리 후 항생제 민감도와 저항성을 알아본 연구는 부족하다. 따라서 본 연구에서는 *Salmonella* spp.의 식품 가공 공정 중 노출될 수 있는 저온 열처리 후 여러 항생제에 대한 민감도와 저항성 변화에 대해 알아보고자 한다.

Materials and Methods

사용 균주

본 실험에 사용된 균주는 *Salmonella enterica* subsp. *enterica* 혈청형 Enteritidis 5 균주(ATCC 13076, 130 serotype D 1286, 125 serotype 13A, 124 serotype 8, 109 serotype D1)와 혈청형 Typhimurium 2 균주(ATCC 29629, ATCC 14028), 혈청형 Gaminara BAA 711, 혈청형 Montevideo BAA 710, 혈청형 Newport ATCC 6962, 혈청형 Heidelberg ATCC 8326를 사용하였다. 각 균주별로 -70°C 초저온 냉동고에 보관된 stock 배양액을 멸균된 9 mL tryptic soy broth (TSB, MD, USA)에 접종하였으며 37°C에서 24시간 간격으로 3번 계대 배양한 정지기의 균을 사용하였다. 각각의 배양액을 멸균된 TSB (Difco)를 이용하여 최종농도가 10^5 CFU/mL가 되도록 희석하였다.

열처리 온도 및 시간

Salmonella spp. 균주 현탁액 1 mL를 각각의 멸균 TSB (Difco) 9 mL에 접종한 다음 저온 열처리를 위해 Shaker 등[35]의 연구를 참고하여 50°C와 55°C로 설정된 항온수조에서 0, 3, 6, 9 분간 열을 가하였다. 열처리 후 각각의 test tube를 즉시 얼음물에서 냉각시켰다. 그 후, 9 mL의 멸균된 0.1% peptone water (Difco)를 이용하여 10진 희석하고 tryptic soy agar (TSA, Difco)로 평판 주입하여 37°C에서 24-48 시간 동안 배양하였다. 배양 후 30-300개 사이의 집락(colony)이 있는 plate를 선택하여 계수하였다(CFU/mL).

열처리한 균주의 항생제 감수성 측정

균주 초기농도 10^5 CFU/mL에서 1 Log 이내로 감소하는 온도를 찾아 설정하였으며 온도 조건은 50°C였다. 각 균주의 열에 의한 교차내성을 알아보기 위해 항생제는 총 4종(chloramphenicol, ciprofloxacin, gentamicin, tetracycline)을 사용하였다. 사용된 항생제는 항생제 분류와 분류별 세포에 작용하는 항균 특성이 다르며, 그 특성을 Table 1에 제시하였다. 항생제의 minimum inhibitory concentration (MIC)는 96-well plate를 사용하여 각 well마다 250 μL씩 총 용량을 맞추어 clinical and laboratory standards institute (CLSI)[36] 방법으로 측정하였다. 각각의 조건에서 열처리한 균주 100 μL를 여러 농도의 항생제 용액 50 μL을 첨가한 TSB (Difco) 100 μL에 접종하였다. 대조군 well은 100 μL 배양액과 100 μL TSB (Difco)에 멸균 증류수 50 μL를 첨가하였다. 각 plate는 37°C에서 24시간 동안 배양한 후 microplate reader (Epoch, BioTek Instruments Inc., Winooski, VT, USA)를 이용하여 OD_{620} 에서 광학밀도를 측정하였다. MIC breakpoint는 배양 후 성장이 관찰되지 않은 농도로 결정되었으며 MIC 해석기준은 CLSI M100[36]을 사용하였다. 연구에 사용한 항생제 4종에 대한 CLSI break point는 Table 2과 같다.

Table 1. The antimicrobial properties of the antibiotics used

Class	Antibiotics	Target site
Fluoroquinolones	Ciprofloxacin	DNA gyrase
Phenicols	Chloramphenicol	50S ribosomal subunit
Aminoglycosides	Gentamycin	30S ribosomal subunit
Tetracylines	Tetracycline	30S ribosomal subnuit

Table 2. MIC break points for antibiotics of *Salmonella* spp. (μg/mL)

Antibiotics	Susceptible	Intermediate	Resistant
Chloramphenicol	≤ 8	16	≥ 32
Ciprofloxacin	≤ 0.06	0.12-0.5	≥ 1
Gentamicin	≤ 4	8	≥ 16
Tetracycline	≤ 4	8	≥ 16

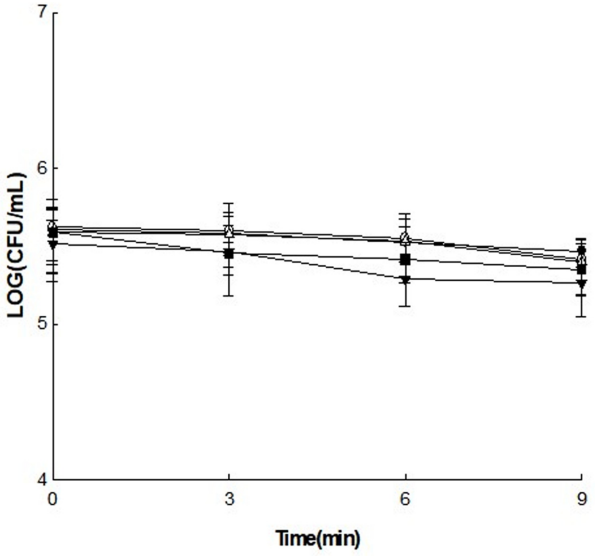

Fig. 1. Survival curves of *S.* Enteritidis ATCC 13076, *S.* Enteritidis 130, *S.* Enteritidis 125, *S.* Enteritidis 124, *S.* Enteritidis 109 after exposure to 50°C.
Vertical bars represents standard deviation (n=3).

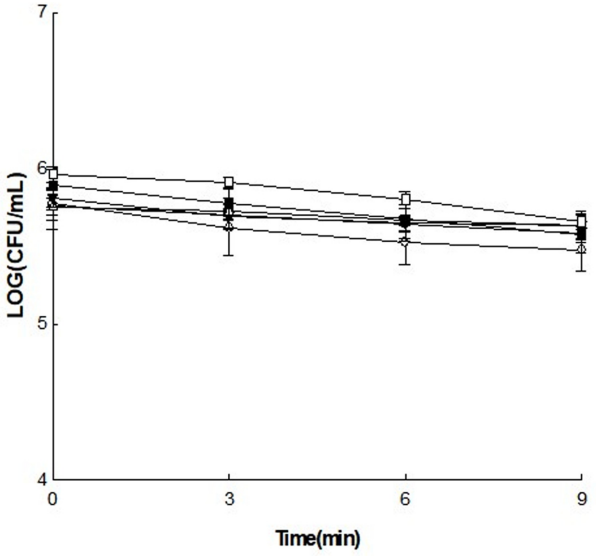

Fig. 2. Survival curves of *S.* Typhimurium ATCC 29629, *S.* Typhimurium ATCC 14028, *S.* Gaminara BAA 711, *S.* Montevideo BAA 710, *S.* Newport ATCC 6962, *S.* Heidelberg ATCC 8326 after exposure to 50°C.
Vertical bars represents standard deviation (n=3).

Results and Discussion

Salmonella 균주들에 대한 mild 열처리 적응

본 연구에서 *Salmonella* spp. 11 strains를 50°C 및 55°C에서 0, 3, 6, 9분동안 처리하였을 때 균주의 농도변화는 Fig. 1-4와 같다. *Salmonella* spp. 11 strains를 50°C에서 9분동안 열처리했을 때 대부분의 strains가 초기 접종농도인 5 Log CFU/mL를 유지하는 경향을 나타냈다(Fig. 1,2). 반면, 55°C에 9분동안 열처리했을 때 *S.* enterica ATCC 13076는 약 0.5 Log CFU/mL 감소하여 11 strains 중 열처리에 의한 저해효과가 가장 낮았고, *S.* Newport ATCC 6962와 *S.* Heidelberg ATCC 8326는 9분동안 열처리 후 약 1.5 Log CFU/mL 감소하여 가장 저해효과가 높았다(Fig. 3,4).

Salmonella spp.는 제조 공정 중 화학적인 세척, 냉장 및 열, 산화적인 환경, 건조 등의 여러 가지 환경을 거칠 수 있으며, 그 중 가금류 깃털 제거 및 표면 살균(56°C)을 위해 저온 열처리 환경에 노출될 수 있다[21]. 이러한 저온 열처리 후 치사에 해당되는 열온도, 산, NaCl 등의 환경에 노출하게 되면, 저온 열처리에 의한 열내성 효과를 나타낸다고 보고된 바 있다[10,28,29]. 본 연구에서는 저온 열처리에 의해 유도되는 열내성 효과를 알아보고자 *Salmonella* spp. 11 strains을 50°C의 저온 열처리 조건에 적응시킨 후 항생제 내성을 알아보았다.

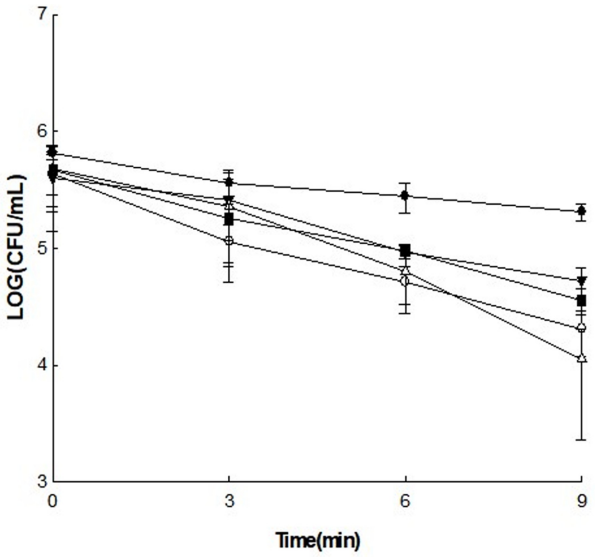

Fig. 3. Survival curves of *S*. Enteritidis ATCC 13076, *S*. Enteritidis 130, *S*. Enteritidis 125, *S*. Enteritidis 124, *S*. Enteritidis 109 after exposure to 55°C.
Vertical bars represents standard deviation (n=3).

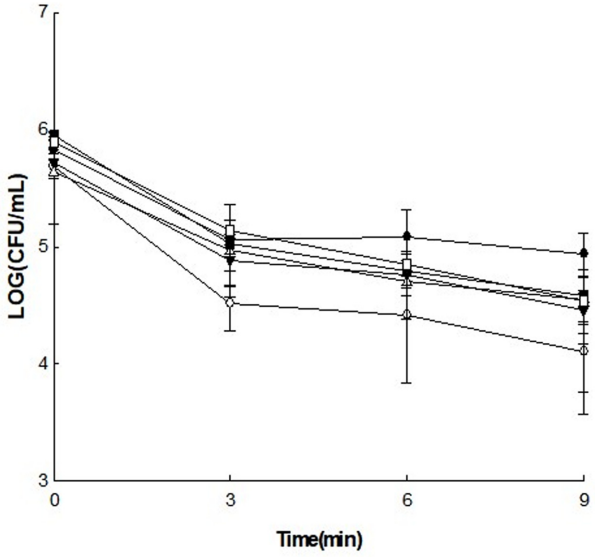

Fig. 4. Survival curves of *S*. Typhimurium ATCC 29629, *S*. Typhimurium ATCC 14028, *S*. Gaminara BAA 711, *S*. Montevideo BAA 710, *S*. Newport ATCC 6962, *S*. Heidelberg ATCC 8326 after exposure to 55°C.
Vertical bars represents standard deviation (n=3).

열처리한 *Salmonella* 균주들의 항생제 감수성 측정

Salmonella spp. 11 strains를 50°C에서 0, 3, 6, 9분 동안 열처리한 후, 항생제 4종(chloramphenicol, ciprofloxacin, gentamicin, tetracycline)에서 MIC값을 측정한 결과는 Table 3-6에 나타냈다. Chloramphenicol에 대해 대조군과 열처리한 strains는 *S.* Gaminara BAA 711을 제외하고 감수성(susceptible; S)이 있는 것으로 나타났고, 열처리한 strains의 MIC값은 대조군과 비교하였을 때 유지하거나 감소하였다. Ciprofloxacin에 대해서는 대조군과 열처리한 strains에 대해 대부분 감수성(S)이 있거나 중간(intermediate; I)을 나타냈으며, MIC값은 *S.* Montevideo BAA 710에서 증가하였다. Tetracycline는 모든 strains에서 감수성(S)이 있는 것으로 나타났으며, 이 중 *S.* Gaminara BAA 711에 대해 열처리 후 MIC값이 증가하였다.

Gentamicin에 대해 대조군에 대해 감수성(S)이 있는

Table 3. Profile for chloramphenicol of *Salmonella* spp. after heat stress at 50°C for 0, 3, 6, 9 min

Chloramphenicol	Heat stress (min)			
	0	3	6	9
S. Enteritidis ATCC 13076	S[1](8)	S(4)	S(4)	S(8)
S. Enteritidis 130	S(8)	S(8)	S(8)	S(8)
S. Enteritidis 125	S(8)	S(8)	S(8)	S(8)
S. Enteritidis 124	S(8)	S(8)	S(8)	S(8)
S. Enteritidis 109	S(8)	S(8)	S(8)	S(8)
S. Typhimurium ATCC 29629	S(8)	S(8)	S(8)	S(8)
S. Typhimurium ATCC 14028	S(4)	S(4)	S(4)	S(4)
S. Gaminara BAA 711	R[3](32)	I[2](16)	R(32)	I(16)
S. Montevideo BAA 710	S(8)	S(4)	S(4)	S(8)
S. Newport ATCC 6962	S(8)	S(8)	S(8)	S(8)
S. Heidelberg ATCC 8326	S(8)	S(8)	S(8)	S(8)

[1] S: susceptible.
[2] I: intermediate.
[3] R: resistant.

strains가 3 strains, 중간(I) 2 strains, 내성(resistant; R)을 가진 strains가 6 strains인 것으로 나타났으며, 열처리 후 MIC값이 감소하거나 증가하였다. *S.* Enteriridis 130의 경우, 대조군에서는 저항성을 나타냈으나 열처리 후 항생제에 대한 감수성이 있는 것으로 나타났다. 반면, *S.* Heidelberg ATCC 8326의 경우, 대조군에서 중간(I)를 나타냈으나, 3분과 9분 열처리 후 MIC값이 증가하면서 내성(R)을 나타내어 항생제에 대한 저항성이 증가하였다. Etter 등[37]의 연구에서 *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Heidelberg의 열 스트레스 노출 후 항생제 내성이 증가하였다. 56°C 처리 후 *S.* Heidelberg에서 heat shock protein (HSP) 유전자인 *hscBA*, *dnaJ*, *ibpB*의 증가를 보고하였으며, 병원성 유전자인 *invI*, *epaR*, *yopJ* (*avrA*) 발현이 유의적으로 증가하였다(P<0.05). 또한, 실험한 모든 *S.* Heidelberg strains에서 multidrug efflux pump 유전자인 *macAB*, *mdfA*가 유의적으로 증가하였으며, 일부 *S.* Heidelgberg strains에서는 *mdtB*, *sbmA*, *acrD*, *dinF*, *envR*, *msvA* 유전자 발현이 유의적으로 증가하였다(P<0.05). 본 연구에서도 *S.* Heidelberg ATCC 8326의 경우 50°C에서 3분과 9분 열처리 후 gentamcin에 대해 내성이 증가한 것으로 나타났는데, HSP관련 유전자나 multidrug efflux pump 유전자 등 항생제 내성 증가에 영향을 미치는 유전자의 발현에 의한 결과로 사료된다.

Table 4. Profile for ciprofloxacin of *Salmonella* spp. after heat stress at 50°C for 0, 3, 6, 9 min

Ciprofloxacin	Heat stress (min)			
	0	3	6	9
S. Enteritidis ATCC 13076	S[1](0.06)	S(0.06)	S(0.06)	S(0.06)
S. Enteritidis 130	S(0.06)	S(0.06)	S(0.06)	S(0.06)
S. Enteritidis 125	S(0.06)	S(0.06)	S(0.06)	S(0.06)
S. Enteritidis 124	I[2](0.5)	I(0.25)	I(0.25)	I(0.12)
S. Enteritidis 109	S(0.06)	S(0.06)	S(0.06)	S(0.06)
S. Typhimurium ATCC 29629	S(0.06)	S(0.06)	S(0.06)	S(0.06)
S. Typhimurium ATCC 14028	I(0.12)	I(0.12)	S(0.06)	I(0.12)
S. Gaminara BAA 711	I(0.12)	S(0.06)	S(0.06)	I(0.12)
S. Montevideo BAA 710	I(0.25)	I(0.5)	I(0.5)	I(0.25)
S. Newport ATCC 6962	S(0.06)	S(0.06)	S(0.06)	S(0.06)
S. Heidelberg ATCC 8326	I(0.12)	S(0.06)	S(0.06)	S(0.06)

[1] S: susceptible.
[2] I: intermediate.

Table 5. Profile for gentamicin of *Salmonella* spp. after heat stress at 50°C for 0, 3, 6, 9 min

Gentamicin	Heat stress (min)			
	0	3	6	9
S. Enteritidis ATCC 13076	S[1](4)	S(4)	S(4)	S(4)
S. Enteritidis 130	R[2](16)	S(4)	S(4)	S(4)
S. Enteritidis 125	I[3](8)	S(4)	S(4)	I(8)
S. Enteritidis 124	S(4)	S(4)	S(4)	S(4)
S. Enteritidis 109	S(4)	I(8)	S(4)	S(4)
S. Typhimurium ATCC 29629	R(32)	R(32)	R(32)	R(32)
S. Typhimurium ATCC 14028	R(16)	R(16)	R(16)	R(16)
S. Gaminara BAA 711	R(16)	I(8)	R(16)	I(8)
S. Montevideo BAA 710	R(16)	I(8)	I(8)	S(4)
S. Newport ATCC 6962	R(16)	R(16)	R(16)	R(16)
S. Heidelberg ATCC 8326	I(8)	R(16)	I(8)	R(16)

[1] S: susceptible.
[2] R: resistant.
[3] I: intermediate.

Table 6. Profiles for tetracycline of *Salmonella* spp. after heat stress at 50°C for 0, 3, 6, 9 min

Tetracycline	Heat stress (min)			
	0	3	6	9
S. Enteritidis ATCC 13076	S[1)](2)	S(2)	S(2)	S(2)
S. Enteritidis 130	S(2)	S(2)	S(2)	S(2)
S. Enteritidis 125	S(4)	S(2)	S(2)	S(2)
S. Enteritidis 124	S(2)	S(2)	S(2)	S(2)
S. Enteritidis 109	S(4)	S(2)	S(2)	S(2)
S. Typhimurium ATCC 29629	S(2)	S(2)	S(2)	S(2)
S. Typhimurium ATCC 14028	S(4)	S(4)	S(2)	S(1)
S. Gaminara BAA 711	S(2)	S(2)	S(4)	S(4)
S. Montevideo BAA 710	S(2)	S(2)	S(2)	S(1)
S. Newport ATCC 6962	S(1)	S(1)	S(1)	S(1)
S. Heidelberg ATCC 8326	S(2)	S(2)	S(2)	S(1)

[1)] S: susceptible.

본 실험 결과, *Salmonella* spp.를 50°C에서 열처리 후 4종의 항생제에 대한 저항성을 알아봤을 때, 대부분의 strains에서 항생제에 대한 내성이 증가하지 않았다. Wu 등[22)]의 연구에서 *Salmonella* spp.에 대해 산과 알칼리(pH 5-9), 냉장(4°C), 냉동(-20°C), 열처리(55°C) 후 항생제 내성에 대해 알아본 결과 55°C에서 2-12분 동안 열처리한 strains에서 항생제 내성을 보인 strains는 다른 스트레스에 노출 후 항생제 내성을 보인 strains에 비해 약한 특성을 보였다고 보고하여 본 연구 결과와 유사한 경향을 나타냈다. 이러한 결과는 *Salmonella* strains의 저온 열처리에 의해 1차적으로 바깥 세포막과 ribosomal nucleic acids의 치명적인 손상[38,39)]으로 세포막 유동성[40)], heat shock 단백질 합성과 세포막 receptor에 대한 영향[22,41,42)]에 의한 것에서 기인한다고 보고된 바 있다. 본 연구에서도 이러한 열처리 후의 세포 변화로 인해 항생제 내성에 영향을 미친 것으로 사료된다. 식품의 맛과 영양을 살리기 위해 60°C 이하에서 저온살균을 하는 경우가 있는데, 본 연구에서 *Salmonella* spp.를 50°C에서 9분까지 열처리하였을 때 몇몇 균주들에서 MIC값이 2배나 증가하는 결과를 보이므로 저온살균을 적용하는 식품에 대해 미생물 생장을 저해함과 동시에 식품의 관능적인 측면에 최소한의 영향을 미치는 온도와 충분한 가열 시간을 설정하여 열처리하는 것이 중요하다.

또한, 본 연구 결과에서 *Salmonella* spp.를 열처리(50°C) 후 4종의 항생제에 대한 저항성을 알아봤을 때 대부분의 strains에서 항생제에 대한 내성이 증가하지 않았으나, ciprofloxacin, tetracycline, gentamicin에 대해 열처리 후 MIC값이 증가하는 균주들이 존재했다. 국내에서 *Salmonella* spp.은 다양한 혈청형이 분리되고 있고, 항생제 감수성 패턴도 달라져 ciprofloxacin에 대한 내성균 출현, tetracycline, ampicillin 등에 대한 내성률 증가가 보고되었다[33)]. 만약 항생제 내성균이 식품 제조공정 중 노출될 수 있는 환경에 적응된 후 사람에 치명적인 감염을 주어 항생제 치료의 어려움을 주게 된다면 공중보건에 문제를 야기시킬 수 있다. 본 연구에서는 *Salmonella* spp.에 열처리한 후 4가지 계열에 관한 항생제 민감도와 저항성 연구를 수행하였으나, 특정 유전자 발현의 유무나 발현량에 따른 항생제 내성에 미치는 영향을 분석하지 못한 한계점이 있으므로 추후 열처리에 의해 유도된 유전자 특성 및 항생제 내성에 영향을 미치는 메커니즘 연구가 진행되어야 할 것으로 판단된다.

국문요약

Salmonella spp. 11 strains에 대해 저온 열처리(50°C) 3, 6, 9분 후 MIC값을 측정하여 항생제 내성을 알아보았다. Chloramphenicol에 대해 대조군과 열처리한 strains 대부분에서 감수성(S)이 있는 것으로 나타났고, 열처리한 strains의 MIC값은 대조군과 비교하였을 때 유지되거나 감소하였다. Ciprofloxacin에 대해 대조군과 열처리한 strains는 대부분 감수성(S)이 있거나 중간(I)을 나타냈다. Tetracycline은 모든 strains에서 감수성(S)이 있는 것으로 나타났으며, *S.* Gaminara BAA 711에 대해 열처리 후 MIC값이 증가하였다. Gentamicin에 대해 대조군 strains들에서 감수성을 나타낸 strains가 3 strains, 중간을 나타낸 strains 2 strains, 내성을 가진 strains가 6 strains였으며, 이 중 *S.* Heidelberg ATCC 8326는 MIC값을 측정했을 때 대조군에서 MIC값이 8 μg/mL로 MIC break point가 중간이었으나, 3분과 9분 열처리 후 MIC값이 16 μg/mL로 증가하여 break point가 내성을 나타냈다. 본 실험결과 *Salmonella* spp. 11 strains에 대해서 저온 열처리 후 열내성 효과에 의한 항생제 내

성을 알아봤을 때 ciprofloxacin에서 *S.* Montevideo BAA 710을 3, 6분 열처리한 경우, gentamicin에서 *S.* Enteritidis 109 D1을 3분 처리한 경우와 *S.* Heidelberg ATCC 8326을 3, 9분 처리한 경우, tetracycline에서 *S.* Gaminara BAA 711을 6, 9분 처리한 경우 MIC값이 증가하였다. 후속 연구를 통해 *Salmonella* spp. strains에 대해 열처리 후 열내성 효과를 나타내는 병원성 유전자의 특성에 대한 지속적인 연구가 필요하다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Su Jin Kim https://orcid.org/0000-0002-7431-4905
Woo Suk Bang https://orcid.org/0000-0001-8276-1329
Se-Hun Kim https://orcid.org/0000-0003-1239-7466

References

1. Almeida, I.A., Peresi, J.T., Alves, E.C., Marques, D.F., Teizeira, I.S., Silva, S.I., Pigon, S.R., Tiba, M.R., Fernades, S.A., *Salmonella* Alachua: causative agent of a foodborne disease outbreak. *Braz. J. Infect. Dis.*, **19**, 233-238 (2015).
2. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), (2023, June 17). Statistic system. Retrieved from https://www.foodsafetykorea.go.kr/portal/healthyfoodlife/foodPoisoningStat.do?menu_no=519&menu_grp=MENU_GRP02.
3. Skandamis, P.N., Yoon, Y.H., Stopforth, J.D., Kendall, P.A., Sofos, J.N., Heat and acid tolerance of *Listeria monocytogenes* after exposure to single and multiple sublethal stresses. *Food Microbiol.*, **25**, 294-303 (2008).
4. Tiganitas, A., Zeaki, N., Gounadaki, A.S., Drosinos, E.H., Skandamis, P.N., Study of the effect of lethal and sublethal pH and a(w) stresses on the inactivation or growth of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Typhimurium. *Int. J. Food Microbiol.*, **31**, 104-112 (2009).
5. Gabriel, A.A., Influences of simultaneous physicochemical stresses on injury and subsequent heat and acid resistances of *Salmonella* Enteritidis in apple juice. *Food Control*, **31**, 28-34 (2013).
6. Xu, A., Chuang, S., Scullen, O.J., Huang, L., Sheen, S., Sheen, L.Y., Johnson, J.R., Sommers, C.H., Thermal inactivation of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* suspended in ground chicken meat. *Food Control*, **104**, 269-277 (2019).
7. Chen, Z., Stress responses of foodborne pathogens and implications in food safety. *J. Food Microbiol. Saf. Hyg.*, **2**, E103 (2017).
8. Beales, N., Adaptation of microorganisms to cold temperatures, weak acid preservatives, low pH, and osmotic stress: A review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, **3**, 1-20 (2004).
9. Hill, C., Cotter, P.D., Sleator, R.D., Gahan, C.G.M., Bacterial stress response in *Listeria monocytogenes*: Jumping the hurdles imposed by minimal processing. *Int. Dairy J.*, **12**, 273-283 (2002).
10. Kim, J.Y., Song, H.N., Kim, D.B., Lee, S.Y., Physiological changes and stress responses of heat shock treated *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Food Control*, **124,** 107915 (2021).
11. Hassan, H., Iskandar, C.F., Hamzeh, R., Malek, N.J., Khoury, A.E., Abiad, M.G., Heat resistance of *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., and *Escherichia coli* isolated from frequently consumed foods in the Lebanese market. *Int. J. Food Prop.*, **25**, 2435-2444 (2022).
12. Dawoud, T.M., Davis, M.L., Park, S.H., Kim, S.A., Kwon Y.M., Jarvis, N., O'Bryan, C.A., Shi, Z., Crandall, P.G., Ricke, S.C., The potential link between thermal resistance and virulence in *Salmonella*: A review. *Front. Vet. Sci.*, **4**, 93 (2017).
13. Guillen, S., Nadal, L., Alvarez, I., Manas, P., Cebrian, G., Impact of the resistance response to stress conditions encountered in food and food processing environments on the virulence and growth fitness of non-typhoidal *Salmonellae*. *Foods*, **10**, 617 (2021).
14. Sirsat, S.A., Burkholder, K.M., Muthaiyan, A., Dowd, S.E., Bhunia, A.K., Ricke, S.C., Effect of sublethal heat stress on *Salmonella* Typhimurium virulence. *J. Appl. Microbiol.*, **110**, 813-822 (2011).
15. Kobayashi, H., Miyamoto, T., Hashimoto, Y., Kiriki, M., Motomatsu, A., Honjoh, K., Lio, M., Identification of factors involved in recovery of heat-injured *Salmonella* Enteritidis. *J. Food Prot.*, **68**, 932-941 (2005).
16. Spector, M.P., Kenyon, W.J., Resistance and survival strategies of *Salmonella enterica* to environmental stresses. *Food Res. Int.*, **45**, 455-481 (2012).
17. Schwarz, S., Kehrenberg, C., Salsh, T.R., Use of antimicrobial agents in veterinary medicine and food animal production. *Int. J. Antimicrob. Agents*, **17**, 431-437 (2001).
18. Hamer, D.H., Grill, C.J., From the farm to the kitchen table: the negative impact of antimicrobial use in animals on humans. *Nutr. rev.*, **60**, 261-264 (2002).
19. Cheong, Y.W., Characterization of *Salmonella* isolated from chicken slaughterhouses during 2018-2019 in Korea. Master thesis, University of Kangwon, Chuncheon, Korea (2021).
20. Alekshun, M.N., Levy, S.B., Moledular mechanisms of antibiacterial multidrug resistance. *Cell*, **128**, 1037-1050 (2007).
21. Marmion, M., Macori, G., Ferone, M., Whyte, P., Scannell, A.G.M., Survive and thrive: Control mechanisms that facilitate bacterial adaptation to survive manufacturing-related stress. *Int. J. Food Microbiol.*, **368**, 109612 (2022).
22. Wu, S., Yang, Y., Wang, T., Sun, J., Zhang, Y., Ji, J., Sun, X., Effects of acid, alkaline, cold, and heat environmental stresses on the antibiotic resistance of the *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Food Res. Int.*, **144**, 110359 (2021).

23. Wang F., Fu, Y., Lin, Z., Zhang, B., Se, J., Guo, X., Fan, J., Jia, Y., Xu, X., Jiang, Y., Shen, C., Neglected drivers of antibiotic resistance: survival of extended spectrum β-Lactamase-producing pathogenic *Escherichia coli* from livestock waste through dormancy and release of transformable extracellular antibiotic resistance genes under heat treatment. *Environ. Sci. Technol.*, **57**, 9955-9964 (2023).
24. Akhtar, M., Maserati, A., Diez-Gonzalez, F., Sampedro, F., Does antibiotic resistance influence shiga-toxigenic *Escherichia coli* O26 and O103 survival to stress environments? *Food Control*, **68**, 330-336 (2016).
25. Ma, Y., Lan, G., Li, C., Cambaza, E.M., Liu, D., Ye, X., Chen, S., Ding, T., Stress tolerance of *Staphylococcus aureus* with different antibiotic resistance profiles. *Microb. Pathog.*, **133**, 103549 (2019).
26. Al-Nabulsi, A.A., Osaili, T.M., Shaker, R.R., Olaimat, A.N., Jaradat, Z.W., Elabedeen, N.A.Z., Holley, R.A., Effects of osmotic pressure, acid, or cold stresses on antibiotic susceptibility of *Listeria monocytogenes*. *Food Microbiol.*, **46**, 154-160 (2015).
27. Al-Nabulsi, A.A., Osaili, T.M., Elabedeen, N.A.Z., Jaradat, Z.W., Shaker, R.R., Kheirallah, K.A., Tarazi, Y.H., Holley, R.A., Effect of environmental stress desiccatiion, acidity, alkalinity, heat or cold on antibiotic susceptibility of *Cronobacter sakakzakii*. *Food Microbiol.*, **146**, 137-143 (2011).
28. Fong, K., Wang, S., Heat resistance of *Salmonella enterica* is increased by pre-adaptation to peanut oil or sub-lethal heat exposure. *Food Microbiol.*, **58**, 139-147 (2016).
29. Jiao, S., Zhang, H., Liao, M., Hayouka, Z., Jing P., Investigation of the potential direct and cross protection effects of sublethal injured *Salmonella* Typhimurium induced by radio frequency heating stress. *Food Res. Int.*, **150**, 110789 (2021).
30. Guillén, S., Marcén, M., Àlvarez, I., Mañas, P., Cebrián, G., Stress resistance of emerging poultry-associated *Salmonella* serovars. *Int. J. Food Microbiol.*, **335**, 108884 (2020).
31. Nair, D.V.T., Venkitanarayanan, K., Johny, A.K., Antibiotic-resistant *Salmonella* in the food supply and the potential role of antibiotic alternatives for control. *Foods*, **7**, 167 (2018).
32. Kim, S.H., Park, E.H., Hwang, I.Y., Lee, H.M., Song, S.A., Lee, M.A., Lee, S.O., Kim, S.Y., Kim, J.J., Shin, J.H., Hong S.G., Shin, K.S., Kim, S.J., Ryoo, N.H., Lee, W.H., Jang, S.J., Shin, J.H., Serotyping and antimicrobial susceptibility of *Salmonella* isolated in Korea in 2015. *Ann. Clin. Microbiol.*, **22**, 55-60 (2019).
33. Park, E.H., Shin J.H., Park, Y.K., Park, S.H., Sung G.H., Hwang, I.Y., Park, H.Y., Jo H.C., Korean nationwide surveillance for serotyping and antimicrobial susceptibility of *Salmonella* species. *The annual report of Busan metropolitan city institute of health & environment*, **24**, 28-39 (2014).
34. McMahon, M.A.S., Xu, J., Moore, J.E., Blair, I.S., McDowell, D.A., Environmental stress and antibiotic resistance in food-related pathogens. *Appl. Environ. Microbiol.*, **73**, 211-217 (2007).
35. Shaker, R.R., Osaili, T.M., Abu Al-Hasan, A.S., Ayyash, M.M., Forsythe, S.J., Effect of desiccation, starvation, heat, and cold stresses on the thermal resistance of *Enterobacter sakazakii* in rehydrated infant milk formula. *J. Food Sci.*, **73**, M354-M359 (2008).
36. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2021. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 31th ed, CLSI, Berwyn, PA, USA, pp. 43-45.
37. Etter, A.J., West, A.M., Burnett, J.L., Wu, S.T., Veenhuizen, D.R., Ogas, R.A., Oliver, H.F., *Salmonella enterica* subsp. enterica Serovar Heidelberg food isolates associated with a salmonellosis outbreak have enhanced stress tolerance capabilities. *Appl. Environ. Microbiol.*, **85**, e1065-19 (2019).
38. Noriega, E., Velliou, E., Van Derlinden E., Mertens, L., Van Impe, J.F.M., Effect of cell immobilization on heat-induced sublethal injury of *Escherichia coli*, *Salmonella* Typhimurium and *Listeria innocua*. *Food Microbiol.*, **36**, 355-364 (2013).
39. Boziaris, I.S., Humpheson, L., Adams, M.R., Effect of nisin on heat injury and inactivation of *Salmonella enteritidis* PT4. *Int. J. Food Microbiol.*, **43**, 7-13 (1998).
40. Kremer, L., Guerardel, Y., Gurchas, S.S., Locht, C., Besra, G.S., Temperature induced changes in the cell-wall components of *Mycobacterium thermoresistibile*. *Microbiology*, **148**, 3145-3154 (2002).
41. Lin, J., Nishino, K., Roberts, M.C., Tolmasky, M., Aminov, R.I., Zhang, L., Mechanisms of antibiotic resistance. *Front. Microbiol.*, **6**, 34 (2015).
42. Peng, M., Salaheen, S., Buchanan, R.L., Biswas, D., Alterations of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium antibiotic resistance under environmental pressure. *Appl. Environ. Microbiol.*, **84**, e01173-18 (2018).