Kor. J. Food Hygiene 6(2), 89-93(1991)

환자 및 건강인 유래 *Staphylococcus aureus*의 특성과 Enterotoxin 산생성

최홍근 · 손원근 · 강호조
경상대학교 수의과대학

Characterization and Enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* Isolated from Patient and Healthy Human

Hong-Geun Choe, Won-Geun Son and Ho-Jo Kang
College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Chinju, 660-701, Korea

ABSTRACT—The present study was conducted to investigate the prevalence, the biochemical properties and the enterotoxin types of *Staphylococcus aureus* in healthy human and patient.

A total of 61 *S. aureus* strains were isolated from 142 samples. The prevalence of *S. aureus* isolated from healthy human and patient were 17.7% and 14.0%, respectively.

All the isolates showed the production of coagulase, lecithinase and hemolysis (α-hemolysis; 32.8%, β-hemolysis; 67.2%) on sheep blood agar.

Coagulase type VII (38.4%) and type III (26.0%) were dominant among coagulase types I through VIII. Twenty-four (52.2%) of 46 strains tested produced one or more enterotoxin; enterotoxin A, B and C were produced by 3, 9 and 12 strains, respectively.

Enterotoxins were produced by 100% of type II strains, 75% of type III and 39.1% of type VII. Commonly, coagulase type II produced enterotoxin B or C, and type VII produce enterotoxin C.

Keywords□Staphylococcus aureus, Characterization and Enterotoxigenicity.

*Staphylococcus aureus*는 사람 및 동물의 화농성 질환의 주된 원인균이며 이 균이 산생한 enterotoxin의 섭취에 의하여 포도구균성 식중독이 발생한다.[7,9] 이들 식중독은 최근 국내에서 발생하는 식중독 중 가장 많은 발생[18]을 보이고 있으나 그 원인균이 어디서 주로 유래하는 가에 대해서는 충분한 검토가 되지 않았으며 더우기 식중독과 관련된 coagulase 형별이나 enterotoxin 산생성에 대한 보고는 별로 없다. 연자들은 생유유래 *S. aureus*의 coagulase type과 enterotoxin 산생에 관한 보고[19]에 이어 이번에는 사람에 유래한 *S. aureus*의 병원성 여부를 검토하고져 건강인과 환자의 손바닥에서 *S. aureus*를 분리하고 병원성과 관련된 몇가지 특성과 enterotoxin 산생성을 조사하였다.

Received for publication 30 May, 1991
Reprint reguest: Dr. H.G. Choe at the above address.

재료 및 방법

균분리—균분리 재료는 건강한 대학생과 입원한 내과 환자의 손바닥으로부터 swab법으로 채취하였다. 이것을 3% egg yolk가 함유된 mannitol salt agar에 도말하여 36℃에서 48시간 배양한 다음 *S. aureus*균 특유의 혼탁대를 형성하는 집락을 시료당 2-3개씩 순수분리하였다.[2]

분리균의 동정시험—용혈성 시험은 Elek와 Levy의

Table 1. Isolation rates of *Staphylococcus aureus* from human hand.

Origin	No. sample tested	No. positive	%
Healthy human	85	15	17.7
Patient	57	8	14.0
Total	142	23	16.2

Table 2. Characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates.

Characteristics	% positive strains		
	Healthy human (37)	Patient (24)	Total (61)
Alpha hemolysis	35.1	29.2	32.8
Beta hemolysis	64.9	70.8	67.2
Mannitol fermentation	100.0	100.0	100.0
Coagulase production	100.0	100.0	100.0
Lecithinase production	100.0	100.0	100.0
TNase production	100.0	100.0	100.0
DNase production	100.0	100.0	100.0

( ): Number of strains tested

방법,[3] mannitol 분해, DNase 및 lecithinase 생성시험은 Baird-Parker의 방법,[1] coagulase 생성시험은 Cowan의 방법,[2] 그리고 TNase 생성시험은 Lachica 등의 방법[5]에 따라 실시하였다.

Coagulase typing—분리균의 coagulase型別은 Ushioda 등의 방법[16]에 따라 anticoagulase typing sera(日本 Denka 生研製)를 사용하였다.

Enterotoxin 산생—Enterotoxin 산생 및 형별시험에는 reversed passive latex agglutination test (SET-RPLA test kit, Oxoid)법을 이용하였다.[11,14]

결 과

Table 4. Enterotoxin types of *Staphylococcus aureus* isolates.

Origin	No. strains tested	Toxin producers (%)	Enterotoxin types by RPLA			
			A	B	C	D
Healthy human	22	12(54.5)	–	3*	9	–
Patient	24	12(50.0)	3	6	3	–

*Number of entertoxin production strains

건강인과 환자의 손바닥에서 *S. aureus*를 분리한 바 Table 1에서와 같이 건강인 재료 85예 중 15예, 환자 57예 중 8예에서 균이 분리되어 각각 17.7% 및 14.0%의 분리율을 나타내었다.

분리한 *S. aureus* 61균주에 대하여 병원성과 관련된 몇 가지 특성을 조사한 결과는 Table 2에서와 같다.

분리균 61주 모두가 면양혈액배지상에서 용혈성을 나타내어 β 용혈성 균이 67.2%, α 용혈성 균이 32.8%였고, mannitol 분해, lecithinase, TNase 및 DNase 생성시험에서 공시균 모두가 양성반응을 나타내었다.

공시균 46주에 대하여 Ushioda 등[16]의 방법으로 coagulase type을 분류한 바 44균주(91.3%)는 형별되었으나 2주는 형별할 수 없었다. 8종의 coagulase type 중 5종이 분리되었으며, type VII과 III이 각각 38.4% 및 26.0%로서 비교적 높은 분리율을 보였다. 유래별로 보면 건강인 유래균 22주는 type VII(12주), II · III 혼합형(5주), III(3주) 및 VI(2주)로 분류되었고, 환자 유래균 24주는 type III(9주), II(6주), VII(4주), VI(3주)였다(Table 3).

Enterotoxin 산생성은 Table 4에서와 같이 공시한 46균주 중 24균주가 enterotoxin을 산생하여 52.2%의 분리율을 나타내었으며 type별 분리율은 type C

Table 3. Coagulase types of *Staphylococcus aureus* isolates.

Origin	No. strains tested	Coagulase types								Untypable
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	II·III mixed	
Healthy human	22	–	–	3*	2	–	–	12	–	5	–
Patient	24	–	6	9	3	–	–	4	–	–	2

*Number of coaguase-positive strains

Table 5. Correlation between coagulase types and enterotoxin types.

Coagulase types	No. strains tested	Toxin production (%)	Enterotoxin type							
			Healthy (22)				Patient (24)			
			A	B	C	D	A	B	C	D
II	6	6 (100.0)	–	–	–	–	–	3	3	–
III	12	9 (75.0)	–	3	–	–	3	3	–	–
IV	5	0 (–)	–	–	–	–	–	–	–	–
VII	23	9 (39.1)	–	–	9	–	–	–	–	–

(50.0%), B(37.5%) 및 A(12.5%)였다. 유래별로 보면 건강인 유래주는 type C(40.9%)와 B(13.6%)가 환자 유래주는 type B(25.0%), A(12.5%) 및 C(12.5%)로 분류되었다.

Coagulase type과 enterotoxin type과의 관계를 검토한 바 coagulase type별 toxin 산생율은 type II(100%), III(75.0%) 및 VII(39.1%)이었고, 이들 가운데 coagulase type II는 enterotoxin type B 및 C를, type VII은 enterotoxin type C를 산생하는 균이었으며 대체적으로 건강인 유래균은 enterotoxin type C를, 환자 유래균은 type B를 생성하는 균이 많았다.

고 찰

*Staphylococcus aureus*는 국소감염 뿐만아니라 패혈증 및 식중독을 일으키는 가장 흔한 원인균으로 피부의 정상 세균층을 구성하는 주요 병원균으로 알려져 있다.[3,6,10]

건강인과 환자의 손바닥에서 *S. aureus*의 분리빈도를 조사한 바 건강인 에서 17.7%, 환자에서 14.0%의 분리율을 나타내었다. 분리된 61주는 β 용혈성 균이 67.2%이었고 α 용혈성 균이 32.8%로서 전 균주가 용혈성을 나타내었다. 또한 분리균 모두가 mannitol 분해, lecithinase, TNase 및 DNase 생성 시험 등 병원성과 관련된 각 시험에서 양성반응을 나타내었다.

Coagulase type을 분류한 결과 46주 중 91.3%가 형별되었고 type VII 및 III이 비교적 높은 분리율을 나타내었으며, 대체적으로 건강인 유래주는 coagulase type VII이, 환자 유래주는 type III와 II가 높은 분포를 보였다. 이와 같은 결과는 Ushioda 등[16]이 포도구균성 농양 유래주에서 coagulase type IV의 분포가 높았다고 하는 성적과는 상이하였으나, 이들이 식중독 유래주에서 보고한 type VII, II 및 III, 환경 유래주에서 type III, IV 및 VII, 식중독 재료 유래주에서 type II, III, VI 및 VII이 높은 분포를 나타내었다고 하는 것과, Shinagawa 등[13]이 생유 유래주의 경우 coagulase type VII, II 및 III가, 강 등[19]이 농가 집합유 유래주에서 type VII과 II가 높은 분포로 분리된다고 하는 성적과는 비슷한 결과였다.

이와 같은 결과는 Evans 등[4]이 enterotoxin을 산생하는 균이 coagulase 양성 *S. aureus*라고 지적한 점으로 미루어 볼 때 건강인 및 환자의 손바닥에서 15% 내외로 본 균이 분리되어 식중독 예방을 위해서는 무엇보다도 수지의 위생관리에 더욱 유의해야 할 것으로 사료된다.

분리주의 enterotoxin 산생성을 조사한 바 52.2%의 균이 독소를 산생하여 type C와 B가 대부분을 점하였고 type A는 소수로 분리되었다. 유래별 enterotoxin type을 보면 건강인 유래주는 type C와 B로, 환자 유래주는 type B, A 및 C로 분리되어 분리유래에 따라 서로 다른 양상의 type을 나타내었다.

Wieneke[17]에 의하면 식중독환자 유래주의 enterotoxin type은 A와 D가, 병원 유래주는 type A, B 및 C, 식품 유래주는 type D, C 및 A가 비교적 높은 율로 분리되었고 Payne과 Wood[12]는 식품유래주의 62.5%가 enterotoxin을 산생하여 type A의 분리율이 가장 높았다고 하였다. Terayama와 Igarashi[15]는 식중독 추정식품 유래주의 enterotoxin 산생시험에서 가장 높은 분리율을 나타낸 것은 type A였고, type C, B 및 D는 소수였다고 보고하였다. Shinagawa 등[13]에 의하면 생유 유래균의 enterotoxin 산생율은 36.6%로서 type C, B 및 A가 비교적 높은 분포를 나타내었고, 강 등[19]은 생유에서 유래한 *S.*

*aureus*의 enterotoxin 산생율은 88%로서 type C와 D가 높은 분포를 나타내었다고 하였다.

본 시험에서 분리주의 enterotoxin 산생율은 강 등[19]의 생유유래균과 Payne와 Wood[12]의 식품유래균에서 보다 낮은 독소 산생율을 보였으나 Shinagawa 등[13]의 생유 유래주에서의 enterotoxin 산생율보다는 높게 나타난 것은 분리 유래에 따른 차이일 것으로 추측된다.

또한 enterotoxin type의 분포면에서 볼 때 Wieneke[17]가 병원 유래주에서 분리한 type과 Shinagawa 등[13]이 생유 유래균에서 보고한 type과는 일치된다고 볼 수 있겠으나 Wieneke[17]가 식중독 환자 유래주에서 보고한 type A 및 D, Terayama와 Igarashi[15]의 식중독 추정식품 유래주에서 type A, 강 등[19]의 생유 유래주에서 type C와 D가 대부분을 차지하였다는 성적과는 큰 차이를 나타내고 있다. 건강인과 환자에서 유래한 균주의 enterotoxin type이 병원 및 식중독 추정식품 유래주의 type 양상과 거의 일치되었고, 특히 환자 유래주에서만 type A가 분리된 점으로 미루어 볼 때 환자 유래균은 병원에서 유래한 균일 것으로 추측된다.

Coagulase type과 enterotoxin type과의 관계에서 coagulase type II는 enterotoxin type B와 C를, coagulase type VII은 enterotoxin VII은 enterotoxin type C를 산생하는 균이었다. 또한 enterotoxin 산생빈도면에서 건강인 유래균과 환자 유래균 간에 어떠한 차이를 인정할 수 없었으나 전자는 type C가, 후자는 type B가 높은 분포를 나타낸 것은 건강인 유래주는 주로 환경재료에서, 환자 유래주는 병원재료에서 오염되었을 것으로 해석된다.

이상과 같은 성적을 종합하여 볼 때 *S. aureus*는 우유 및 기타 환경재료에서 유래한 병원균보다 사람에서 유래한 병원균이 포도구균 감염병 및 식중독의 원인균으로서 더욱 유력하게 작용하는 것으로 사료된다.

국문요약

사람에서 분리되는 *S. aureus*의 병원성과의 관계를 검토할 목적으로 건강인과 환자의 손에서 *S. aureus*를 분리하여 병원성과 관련된 몇 가지 특성과 enterotoxin 산생성을 조사한 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. *S. aureus*의 분리빈도는 건강인에서 17.7%, 환자에서 14.0%로 나타났다.

2. 공시한 61주는 면양혈액배지상에서 β 용혈성이 67.2%, α 용혈성이 32.8%로서 분리균 모두가 용혈성을 나타내었고, mannitol 분해, lecithinase, TNase 및 DNase 시험에서 공시한 전 균주가 양성반응을 보였다.

3. Ushioda 등[16]의 방법에 의하여 coagulase type을 분류한 바 공시한 46주 가운데 91.3%가 형별되었고, 이들 중 type VII(38.4%)과 III(26.0%)가 비교적 높은 분포를 나타내었다. 유래별로 보면 건강인 유래주는 22주 중 type VII(12주)이 가장 많았고, 환자 유래주는 24주 중 type III(9주) 및 II(6주)가 높은 분포를 보였다.

4. Enterotoxin 산생율은 46균주 중 52.2%였고 분리된 enterotoxin type은 C(50.0%), B(37.5%) 및 A(12.5%)였다. 유래별로 보면 건강인 유래주는 type C와 B로, 환자 유래주는 type B, A 및 C로 분류되었다.

5. Coagulase type에 따른 enterotoxin 산생율은 type II, III 및 VII의 순으로 각각 100%, 75% 및 39.1%였다. 이들 가운데 coagulase type II는 enterotoxin type B 및 C를, type VII은 type C를 산생하는 균이었고, 대체적으로 건강인 유래주는 enterotoxin type C를, 환자 유래균은 type B를 생성하는 균이 많은 것으로 인정되었다.

참고문헌

1. Baird-Parker, A.C.: Gram positive cocci. In R.E. Buchanan and N.E. Gibbons (ed.), Bergry's manual of determinative bacteriology. 8ed. The williams and Wilkins co., Baltimore (1974).
2. Cowan, S.T.: Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria. Cambridge university. London (1974).
3. Elek, S.D. and Levy, E.: Distribution of haemolysins in pathogenic and non-pathogenic Staphyococci. *J. Path. Bact.*, **62**, 541 (1950).
4. Evans, J.B. and Niven, C.F.: A comparative study of known food poisoning Staphylococcus and rela-

ted varieties. *J. bacteriol.*, **59**, 545 (1950).
5. Lachica, R.V.F., Genigeorgis, C. and Hoeprich, P. D.: Metachromatic agardiffusion methods for detecting staphylococcal nuclease activity. *Appl. Microbiol.*, **21**, 585 (1971).
6. Magaret, T.H.D. and Elmer, H.M.: *Staphylococcus aureus*: Production of extracellular compounds and behavior in foods-A review, *J. Food Protec.*, **52**, 267 (1989).
7. McDonald, J.S.: Relationship of hygiene milking mashine function and intramammary therapy to udder disease. *J.A.V.M.A.*, **155**, 903 (1969).
8. Minor, T.E. and Marth, E.H.: *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal food intoxication: A review. III. Staphylococci in dairy food. *J. Milk Food Technol.*, **35**, 77 (1972).
9. Morton, H.E. and Cohn, J.: Coagulase and deoxyribonuclease activity of Staphylococci isolated from clinical source. *Appl. Microbiol.*, **23**, 725 (1972).
10. Newbould, F.H.S.: Epizootiology of mastitis due to *Staphylococcus aureus*. *J.A.V.M.A.*, **153**, 1683 (1968).
11. Park, C.E. and Szabo, R.: Evaluation of the reversed passive latex agglutination (RPLA) test kits for detection of Staphylococcal enterotoxin A.B.C. and D in food. *Can. J. Microbiol.*, **32**, 723 (1986).
12. Payne, D.N. and Wood, J.M.: The incidence of enterotoxin production in strains of *Staphylococcus aureus* isolated from foods. *J. Appl. Bacteriol.*, **37**, 319 (1974).
13. Shinagawa, K., Tanabayashi, K., Kogure, Y., Matusaka, N. and Konuma, H.: Incidence and population of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in raw milk from milking to milk plant. *Jpn. J. Vet. Sci.*, **50**(5), 1060 (1988).
14. Shingaki, M., Igarashi, H., Fujikawa, H., Ushioda, H., Terayama T. and Sakai, S.: Study on reversed passive latex agglutination for the detection of Staphylococcal enterotoxins A-C. *Ann. Rep. Tokyo Metr. Res. Lab. P.H.*, **32**, 1, 128 (1981).
15. Terayama, T. and Igarashi, H.: Direct detection of Staphylococcal enterotoxin from incriminated foods in food poisoning and coagulase types of the isolates of *Staphylococcus aureus*. *J. Japanes Food Hygiene Res.*, **31**, 193 (1981).
16. Ushioda, H., Terayama, T., Sakai, S., Zen-Yoji, H., Nishiwaki, M. and A. Hidane: Coagulase typing of staphylococci and staphylococcal infections. Zbl. Bakt. Suppl. 10. Gstav Fischer Verlag. Stattgart. New York (1981).
17. Wieneke, A.A.: Enterotoxin production by strains of *Staphylococcus aureus* isolated from food and human beings. *J. Hyg., Canb.*, **73**, 255 (1974).
18. Yong-Wook Lee and Jong-Gyn Kim: A study on the trend of food poisoning outbreaks, reported cases, in Korea, *Kor. J. Food Hygine.* **2**(4), 215 (1987).
19. 강호조, 최홍근, 손원근 : 生乳由來 *Staphylococcus aureus*의 coagulase型과 enterotoxin 産生. 韓國獸醫公衆保健學會, **14**(1), 15 (1990).