*J. Fd Hyg. Safety 16(3), 159–167 (2001)*

# 식중독 환자에서 분리한 황색포도상구균의 생물학적 특성

박석기† · 황영옥 · 정지헌 · 이강문
*서울특별시 보건환경연구원*

# Biological Characteristics of *Staphylococcus aureus* Isolated from Food-Borne Patients in Seoul

**Seog Gee Park†, Young Ok Hwang, Ji Hun Jung and Kang Moon Lee**
*Seoul Metropolitan Government Health and Environment Research Institute 137-130 Korea*

**ABSTRACT** – *Staphylococcus aureus* is gram positive, facultatively anaerobic, non-sporulative coccus, and positive for coagulase and DNase. The food-poisoning outbreak of *Staphylococcus aureus* increases in the world, and third occurrence happened in our country. Of 105 isolates (25.4%) obtained 413 fecal samples of food-poisoning suspicious patients. In those cases, the enterotoxins were detected from a total of 45 isolates (42.9%), 9 isolates(20.0%) were A type, 33 isolates (73.3%) were H types, 2 isolates (4.4%) were G type and 1 isolate was a I type enterotoxin. Among the isolates possessing staphylococcal enterotoxins, 29 isolates had H type only(64.4%), 5 isolates had A type only and 4 isolates had both A and H type. Two isolates had G type only and 1 isolate had I type only. In the antibiotic susceptibility, 48 isolates (46%) had at least one antibiotic resistance among 105 isolates, 34 isolates (70.8%) were resistant to penicillin, 1 isolate (2.1%) to ampicillin, 3 isolates (6.3%) to erythromycin and kanamycin. Seven were resistant to more than two antibiotics and especially 1 isolate was resistant to penicillin-ampicillin-nitrofurantoin.

**Key words** □ *Staphylococcus aureus*, Foodborne disease, Enterotoxin, Antibiotic susceptibility

포도상구균은 포도상구균과에 속하는 그람 양성 구균의 총칭이며, 이 균속에는 23균종과 4아종이 있다. 이들 균종 중 식중독 원인이 되는 것은 혈장응고효소인 coagulase를 생산하는 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*)으로, 이 균은 여러 가지 감염증을 일으키는 가장 중요한 균종이며 다른 균종은 기회감염균이다.[1)]

포도상구균 식중독은 1884년 Vaughan과 Sternberg에 의해 최초로 보고되었다. 이 사례는 미국 미시간주에서 체다치즈를 먹은 300명이 발생한 대규모의 식중독 사건이었다.[2)] 30년이 지난 후 Baber는 필리핀의 한 농장에서 유방염에 걸린 젖소에서 착유한 우유에 의한 식중독을 보고하였다. 그 때 자신도 포도상구균에 오염된 우유를 먹고 구토나 설사가 일어난 것을 밝혀 포도상구균과 식중독과의 관계를 분명하게 밝혔다. 1930년에 Dack 등은 크리스마스 케이크에 의한 식중독 사례를 보고하였다. 그는 원인식품에서 포도상구균을 분리하여 그 배양액을 토끼에게 주사하였더니 심한 설사를 하고 폐사하는 것을 관찰하였다. 더욱이 3명의 임상자에서 배양액을 마시게 한 즉 3시간 후에 전원 식중독 증상을 나타내는 것을 확인하고 이 포도상구균에 의한 식중독을 보고한 그 해에 Jordan도 프에토리코에서 만든 치즈에서 분리한 포도상구균을 우유로 배양하고 그 우유를 임상실험자에게 마시게 하였더니 똑같은 식중독 증상이 일어나는 것을 확인하였다. 이와 같이 Dack나 Jordan의 연구성과에서 포도상구균 식중독은 enterotoxin에 의해 일어나는 것임이 입증되었고, 그 이후 세계 각 국에서 이 균에 의한 식중독이 수없이 보고되었다.[3)]

세계 각 국에서 포도상구균에 의한 식중독 발생 빈도는 높고 많은 나라에서 제1위 또는 살모넬라 및 가스괴저 식중독에 이어 제2위 또는 제3위를 차지하고 있다.[4)] 한편 우리나라에서도 살모넬라, 장염비브리오에 이어 제3위를 차지하고 있다. Fig. 1은 우리나라에서 발생한 식중독의 원인균별 분포이다.[5-7)]

포도상구균이 숙주에 질병을 일으키는 것은 숙주에 부착하고, 영양분을 획득하고, 숙주 면역 반응을 피하는 병원성 인자를 갖고 있기 때문이다. 이들 중 pyrogenic exotoxin (PT) family가 있는 데 이 그룹은 *S. aureus*와 *Streptococcus pyogenes*에 의해 나타나는 구조적으로 생물학적으로 관련이 있는 단백질로 이루어져 있다.[8)]

†Author to whom correspondence should be addressed.

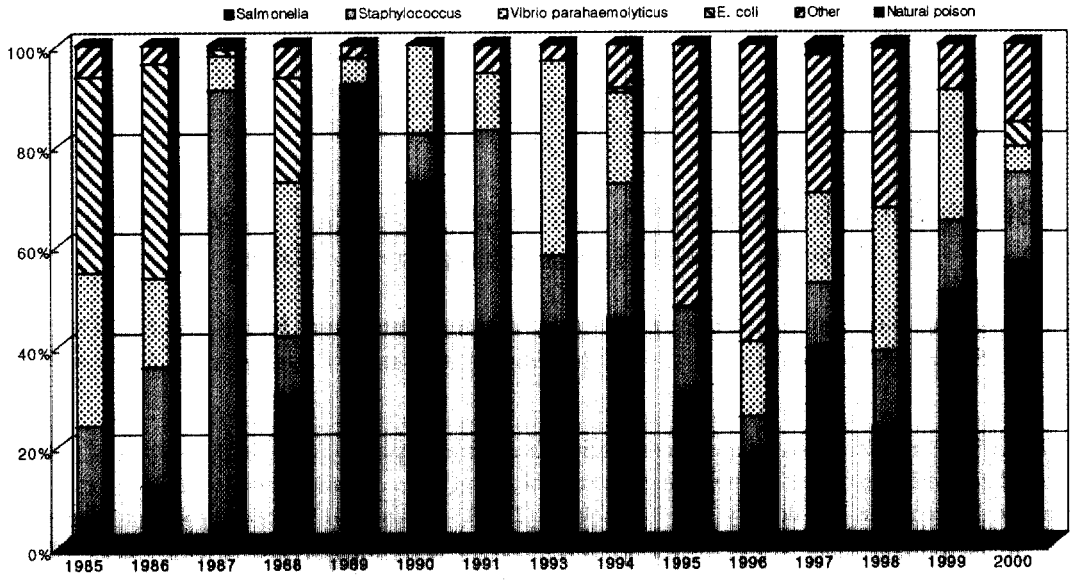


**Fig. 1. Distribution of etiologic agent of foodborn disease in Korea (1985-2000).**

황색포도상구균은 감염된 사람에 의해 식품을 통해 전달된다. 따라서 식품 오염은 food chain에서 열악한 위생 활동의 결과로서 발생할 수 있다. 즉 부적절한 보관온도 및 황색포도상구균이 급격하게 증식할 수 있는 기간이 결합되면 식중독을 일으키는 enterotoxin을 생성하게 된다.[9]

포도상구균 enterotoxin은 식품에서 황색포도상구균이 증식하는 동안에 생산된다. 1 μg 이하의 독소로도 인체에서 황색포도상구균식중독이 발생할 수 있다. 이 enterotoxin은 내열성이며 다양한 증식조건에서 생산되며, 항원 특이성에 따라 A~J형으로 분류된다. 대부분의 황색포도상구균 식중독은 A와 D형으로 알려져 있다.[10,11]

우리는 이 실험에서 집단식중독을 일으킨 황색포도상구균을 분리동정하고 enterotoxin형 및 항생제 감수성을 조사하여 황색포도상구균의 특성을 조사하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 시료 및 균주 보관

식중독 설사환자의 분변 413건을 조사하여 총 105건(25.4 %)의 황색포도상구균을 분리하였다. 이 분리균 중 15주는 설사환자에서 분리한 것이며, 90건은 건강보균자에서 분리한 것이다. 이 분리균들은 -70°C에 보관하면서 실험에 사용하였다.

### Coagulase 생산 시험

coagulase 생산 시험은 시험관법으로 조사하였다. 분리균은 37°C에서 24시간 배양한 후 의심되는 집락을 saline broth가 0.4 ml함유된 소형시험관에 접종한 다음 완전히 균질화 하였다. 소형시험관에 coagulase plasma 0.1 ml를 가하고 잘 혼합하였다. 36°C에 배양하고 6시간 후 응고물질 형성을 주기적으로 검사하였다. 시험관을 옆으로 기울일 때 응고된 상태로 되어 있는 것을 양성으로 판정하였다.

### enterotoxin 검출

enterotoxin과 Toxic Shock syndrome toxin-1(TSST-1)은 Monday와 Bohach의 방법에 따라 실시하였다.[12] 황색포도상구균의 genomic DNA는 Bohach 등의 방법에 따라 lysostaphin처리에 의해 얻었으며[13], phenol chloroform 처리 및 ethanol 침전법에 의해 순수 정제하였다.[14] DNA는 원심 분리하여 회수하고 진공 건조시키고 증류수 200 μl에 재차 녹인 다음 260 및 280 nm의 흡광도를 측정하여 최종농도가 10 ng/μl로 조절하였다.

enterotoxin검출용 PCR primer는 Table 1과 같았다.

황색포도상구균 enterotoxin 형별 multiplex PCR은 thermocycler(T-Gradient: Biometra)를 사용하여 실시하였다. PCR용량은 50 μl으로 하였으며, 시약은 1X Taq polymerase buffer, 4 mM $MgCl_2$, 300 nM primer, 400 μM dNTP, 5U of Taq polymerase 및 시험균 DNA template 50ng으로 조제하였다. PCR조건은 95°C denaturation 1분, 68°C annealing 45초 및 72°C extension 1분을 15회 반복하고 95°C denaturation 1분, 64°C annealing 45초 및 72°C extension 1분을 16회 반복하였으며 72°C최종 extension을 10분하고

**Table 1. Staphylococcal toxin-specific primers used for multiplex PCR**

| Gene | Primer sequence (5'→3') | GenBank accession no. | Location | Size |
|---|---|---|---|---|
| sea | 5'-GCAGGGAACAGCTTTAGGC-3'<br>5'-GTTCTGTAGAAGTATGAAACACG-3' | M18970 | 126-144<br>646-624 | 520 |
| seb-sec | 5'-ATGTAATTTTGATATTCGCAGTG-3'<br>5'-TGCAGGCATCATATCATACCA-3' | M11118 (seb) | 28-48<br>690-670 | 643 |
| sec | 5'-CTTGTATGTATGGAGGAATAACAA-3'<br>5'-TGCAGGCATCATATCATACCA-3' | X05815 | 407-430<br>690-670 | 283 |
| sed | 5'-GTGGTGAAATAGATAGGACTGC-3'<br>5'-ATATGAAGGTGCTCTGTGG-3' | M28521 | 368-389<br>752-734 | 384 |
| see | 5'-TACCAATTAACTTGTGGATAGAC-3'<br>5'-CTCTTTGCACCTTACCGC-3' | M21319 | 446-468<br>616-599 | 170 |
| seg | 5'-CGTCTCCACCTGTTGAAGG-3'<br>5'-CCAAGTGATTGTCTATTGTCG-3' | AF064773 | 317-335<br>644-624 | 327 |
| seh | 5'-CAACTGCTGATTTAGCTCAG-3'<br>5'-GTCGAATGAGTAATCTCTAGG-3' | U11702 | 245-264<br>603-583 | 360 |
| sei | 5'-CAACTCGAATTTTCAACAGGTAC-3'<br>5'-CAGGCAGTCCATCTCCTG-3' | AF064774 | 325-347<br>790-773 | 465 |
| sej | 5'-CATCAGAACTGTTGTTCCGCTAG-3'<br>5'-CTGAATTTTACCATCAAAGGTAC-3' | AF053140 | 471-493<br>612-590 | 142 |
| tsst | 5'-GCTTGCGACAACTGCTACAG-3'<br>5'-TGGATCCGTCATTCATTGTTAA-3' | J02615 | 48-67<br>606-587 | 559 |
| 16S rRNA | 5'-GTA GGT GGC AAG CGT TAT CC-3'<br>5'-CGCACATCAGCGTCAG-3' | X68417 | 545-564<br>773-758 | 228 |

정지하였다.

PCR 산물은 1.5% agarose(0.5X Tris boric acid, EDTA) gel에서 100V로 전기영동하고 ethidium bromide (5 μg/ml)로 염색한 후 transilluminator로 확인하였다. 산물의 크기는 100 bp molecular weight ladder(DNA Molecular Weight Marker XIV:Boerhinger Mannheim)를 사용하여 측정하였다.

### Enterotoxin의 면역학적 시험

Enterotoxin을 검출하기 위하여 *S. aureus*균을 BHI broth에서 37°C 16~18시간 배양하고 여과멸균하여 여과액을 시험액으로 사용하였다. enterotoxin은 SET-RPLA(Denka Seiken, Japan)를 이용하였으며 제조회사의 시험방법에 따라 시험하였다.

### 항생제 감수성 시험

항생제 감수성시험은 Kirby-Bauer 디스크 시험법에 의하여 실시하였다. 황색포도상구균을 Muller Hinton broth 5㎖에 접종한 후 37°C에서 150 rpm으로 진탕배양하였다. 배양균액은 0.5 McFarland turbidity standard에 맞추어 희석하였다. 대조균액으로 *E. coli*(ATCC®25922), *S. aureus*(ATCC® 25923)를 사용하였다. 항생제 디스크는 다음의 것들을 사용하였다(BBL®):Penicillin G(P, 10U), Ampicillin(AM, 10 μg), Cephalothin(CF, 30 μg), Erythromycin(E, 15 μg), Chloramphenicol(C, 30 μg), Clindamycin(CC, 2 μg), Nitrofurantoin (F/M, 300 μg), SXT(Trimethoprim/sulfa-methoxazole, 1.25/23.75 μg), Vancomycin(Va, 30 μg), Kanamycin(K, 30 μg), Amikacin(AN, 30 μg), Methicillin(DP, 5 μg). 감수성은 National Commette for Clinical Laboratory Standards(NCCLS)[15]의 기준에 의하여 판정하였다

## 결 과

### 분리 및 동정

시료는 MSEY 및 Baird-Parker medium에 도말한 후 37°C 48시간 배양한 후 MSEY medium에서는 황색의 불투명 황색환을 형성한 집락과 Baird-Parker medium에서는 흑색의 투명 환을 형성한 집락을 황색포도상구균으로 추정하여 분리한 후 혈액배지에 도말 배양하여 순수 분리하였다. 순수 분리한 집락은 API staph kit(bioMerieux)에 의한 생화학시험에 의해 황색포도상구균임을 동정하였다. 동정된 황색포도상구균 모두 glucose, fructose, mannose, maltose, lactose, trehalose, mannitol, nitrate reduction, alkaline phosphate, VP, saccharose, N-acetyl glucosamine, arginine hihylysis, urease 시험은 양성이었으며, xylitol, melibiose, raffinose,

xylose, α-methyl glucoside 시험 음성이었다.

### Coagulase 생산성

검사한 413건 중에서 105건(25.4%)에서 coagulase 양성을 나타내었다. 이 균중 15주는 환자에서 분리한 것이며 90주는 건강 보균자에서 분리된 것이다.

### Enterotoxin 검출

황색포도상구균으로 동정된 105건에 대하여 enterotoxin 형별시험을 한 결과는 Table 2와 같았다. 총 45주(42.9%)에서 enterotoxin이 분리되었으며, A형 enterotoxin은 9주(20.0%)에서 검출되었으며, H형 enterotoxin은 33주(73.3%)에서 발견되었다. G형 enterotoxin은 2주(4.4%), I형 enterotoxin은 1주(2.2%)에서 검출되었다. 한편 H형 enterotoxin 단독 검출주가 29주(64.4%)로 가장 많았으며, A형 enterotoxin 단독 검출주 5주(11.1%), A형 및 H형 복합 검출주 4주(8.9%)이었으며, G형 enterotoxin 단독 검출주 2주(4.4%) 및 I형 enterotoxin 단독검출주 1주(2.2%)이었다. 그 밖의 B~F, J~H형 enterotoxin 및 TSST gene은 검출되지 않았다.

SET-RPLA에 의한 enterotoxin의 면역학적 시험에서 SEA enterotoxin만 9주 검출되었고 나머지 균주는 SET-RPLA 음성이었다. 또한 SET-RPLA SEA enterotoxin 양성균주는 PCR법에 의한 enterotoxin 시험에서 동일한 SEA gene을 갖고 있음이 확인되었다.

### 항생제 감수성 시험

황색포도상구균의 항생제 감수성 결과는 Table 3과 같았다. 즉 모든 균은 chloramphenicol, clindamycin, cephalothin, trimethoprim/sulfamethoxazole 및 vancomycin에 대하여 감수성을 나타내었다. amikacin(99.0%), nitrofurantoin(99.0%), methicillin(98.1%), erythromycin(97.1%) 및 kanamycin (96.2%)에 대해서는 높은 감수성을 나타내었으나 ampicillin (50.5%)과 penicillin(1%)은 감수성이 매우 낮았다. 특히 ampicillin와 penicillin의 중등도 내성은 각각 42.9%와 61.0%이었다. ampicillin에 대한 내성은 6.7%이며, erythromycin 2.9%, kanamycin 3.8%, nitrofurantoin 1.0% and penicillin 38.1%이었다.

시험한 황색포도상구균 105주 중에서 48주(46%)는 적어도 한 항생물질에 대하여 내성을 나타내었다. 34주(70.8%)는 penicillin에 대하여 내성을 나타내었으며, 1주(2.1%)는 ampicillin에 대하여 내성을 나타내었고 3주(6.3%)는 erythromycin과 kanamycin에 대하여 내성을 나타내었다(Table 4).

2제 이상의 항생물질에 대하여 내성을 나타낸 균주는 7주(7%)이었다. 시험한 황색포도상구균 105주 중, 4주(8.3%)는

**Table 2. Distribution of enterotoxin type determined by PCR method**

| Type of Enterotoxin | | | | | | | | | | Total (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| A | B | C | D | E | G | H | I | J | TSST | |
| + | | | | | | | | | | 5 (11.1) |
| + | | | | | | + | | | | 4 (8.9) |
| | | | | | | + | | | | 29 (64.4) |
| | | | | | + | | | | | 2 (4.4) |
| | | | | | | | + | | | 1 (2.2) |
| 9 (20.0) | - | - | - | - | 2 (4.4) | 33 (73.3) | 1 (2.2) | - | - | 45 (42.9) |

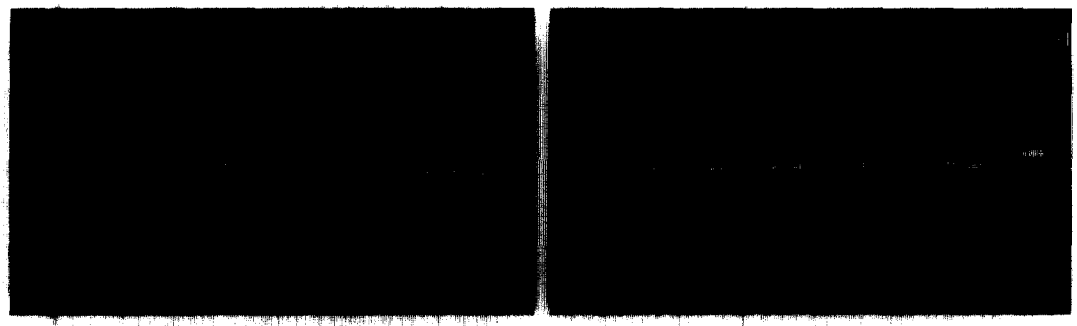

**Fig. 2. Electrophoretic result of enterotoxin pattern in *Staphylococcus aureus* isolated from patients with foodborne disease analyzed by PCR. M: Molecular standard size, Lane 1-5: SEA, land 6-9: SEA + SEH, lane 10-27: SEH, lane 28 and 29: SEG, lane 30:SEI.**

**Table 3. Antimicrobial susceptibility rates of *S. aureus***

| Antimicrobials | Number of isolates (%) | | |
|---|---|---|---|
| | Resistant | Intermediate | Susceptible |
| Amikacin | 1 (1.0) | 0 | 104 (99.0) |
| Ampicillin | 7 (6.7) | 45 (42.9) | 53 (50.5) |
| Chloramphenicol | 0 | 0 | 105 (100) |
| Clindamycin | 0 | 0 | 105 (100) |
| Cephalothin | 0 | 0 | 105 (100) |
| Erythromycin | 3 (2.9) | 0 | 102 (97.1) |
| Kanamycin | 4 (3.8) | 0 | 101 (96.2) |
| Methicillin | 0 | 2 (1.9) | 103 (98.1) |
| Nitrofurantoin | 1 (1.0) | 0 | 104 (99.0) |
| Penicillin | 40 (38.1) | 64 (61.0) | 1 (1.0) |
| Trimethoprim | 0 | 0 | 105 (100) |
| Vancomycin | 0 | 0 | 105 (100) |

**Table 4. Multiple resistance pattern of *S. aureus***

| Multiple resistance pattern | No. of isolates (%) | Total |
|---|---|---|
| P | 34 (70.8%) | 41 (85.4%) |
| E | 3 (6.3%) | |
| KM | 3 (6.3%) | |
| AM | 1 (2.1%) | |
| P-AM | 4 (8.3%) | 7 (14.6%) |
| P-AN | 1 (2.1%) | |
| P-K | 1 (2.1%) | |
| P-AM-F/M | 1 (2.1%) | |
| Total (%) | 48 (100%) | |

※P:Penicillin AM:Ampicillin AN:Amikacin F/M:Nitrofurantoin K:Kanamycin
E: Erythromycin

penicillin-ampicillin 다제내성이었으며, 1주(2.1%)는 penicillin-kanamycin 및 penicillin-amikacin에 대하여 내성이 나타내었으며, 1주는 penicillin-ampicillin-nitrofurantoin 3제 내성이었다(Table 4).

## 고 찰

*Staphylococcal enterotoxin*(SE)은 사람에서 gastroenteric syndrome을 일으키며, toxic shock를 일으킬 수 있는 체외 단백이다. 현재 SE는 SEA[16], SEB[17], SEC[17], SED[18] SEE[19], SEG[20], SEH[21], SEI20, 및 SEJ[22]의 9가지 항원형이 보고되어 있으며, TSST[23]는 1혈청형이 보고되어 있다. SEC는 다형태성이어서 여러 가지 항원형과 분자서열변이를 갖고 있는 데 $SEC_1$, $SEC_2$, $SEC_3$, $SEC_{bovine}$, 및 $SEC_{ovine}$으로 표시하고 있다. 이들은 작은 항원적 차이와 동물숙주에 따라 분류되고 있다.[24] SE는 분자량 26,900~29,699 Da 크기의 단일사슬 단백이다.

SE는 in vivo 또는 in vitro에서 생물학적 활성에 의해 검출될 수 있다. 그러나 실질적으로는 immunoassay(immunodiffusion, radioimmunoassay, latex agglutination, immunoblotting, enzyme linked immunosorbent assay)에 의한 일상적인 검출이 거의 일반적으로 사용되고 있다. DNA sequence에 대한 정보가 모든 SE에 대하여 이용될 수 있으므로, 현재에는 PCR이 대체방법으로 이용되고 있다[25].

SEH는 SEA subfamily에 속하는 superantigen이며, SEA, SED 및 SEE와 약 35%의 동일한 아미노산을 공유하고 있다. 특히 SEH는 T cell mitogen으로 작용하며 TC cytotoxicity의 inducer로 작용한다. SEH와 SEA의 배열은 유사성을 갖고 있지만 MHC class II 상호작용에 관여하는 지역이 다른 것으로 알려져 있다.[26] SEH는 Zn이 없는 구조와 Zn이 있는 2가지 구조를 가지고 있으며, ZnSEH는 MHC class II에 관련이 있는 지역에서 C-terminal beta-sheet와 결합하는 것으로 알려져 있다.[27]

최근에는 Orwin 등[28]은 superantigenicity, pyrogenicity, enterotoxin의 치사효과를 증가시키는 효과를 가지며 토끼에서 치사효과를 가진 SEK를 분리하였다고 보고하였다. SEK는 또한 인체 CD4(+)과 CD8(+) T 세포를 자극한다고 보고하였다.

영국에서는 1969~1990년 사이에 SEA 단독, SEA+SED 및 SEC+SED가 각각 57%, 15% 및 8%로 보고되어 있다.[29] 일본은 SEA 및 SEA와 다른 형의 혼합형이 89~90%를 차지하고 있으며,[1] 미국에서는 SEA와 다른 형의 혼합형이 50% 이상을 차지하나[30] 스리랑카에서는 7.8%에 지나지 않는다고 하였다[31]. Harvey 등[32]은 인체유래균보다 닭유래균에서 SED가 발견되었다고 하였으나 Gibbs 등[33]은 닭유래균에서 SED를 검출하지 못하였다고 다른 결과를 보고하였다. 나이지리아의 인스탄트 식품에서 44%가 SED이었으며, 닭유래균이었다.[34] 나이지리아 식품에서 SEA, SEB, SED 및 SEC가 각각 57%, 15%, 6% 및 5%라고 보고되었다.[35] 양젖에서 SEA와 SED가 전체의 35%를 차지하였으며, 축산제품과 식육제품에서 96%가 SEA라고 보고하였다.[30] 그러나 본 실험에서는 42.9%에서 enterotoxin이 분리되었으며, 이 중 SEA가 전체의 20%, SEH가 73.3%를 차지하여, 매우 다른 양상을 보였다. 특히 국내에서 분리된 유방염유래 포도상구균의 30%에서 enterotoxin이 검출되고 이중 2/3가 sea/e, 1/3이 seb/c로 확인된 것과는 매우 다른 양상을 나타내었다.[36] 이러한 결과는 유방염 원인균과 식중독환자 유래균의 차이에 의한 것으로 생각된다. 따라서 국내에서 다양한 enterotoxin에 대한 조사가 활발하게 이루어져야 할 것으로 생각된다.

모든 유전형 시험의 취약점은 유전자가 존재한다고 반드

시 독소를 생산할 수 있다는 것을 항상 의미하는 것은 아니다. 과거 연구자들처럼 우리는 SET-RPLA assay를 이용할 때 SEA를 생산한 균주 중 4주는 SEH gene이 존재한다는 것을 확인하였기 때문이다. 포도상구균의 enterotoxin 생산은 발육상태(접종량, 배양온도, pH 및 수분활성)[37]에 의해 영향을 받는다. SET-RPLA 시험의 중요성은 독소생산균이 죽었을 때 가공처리된 식품에서 미리 만들어진 독소를 검출하는데 있다. PCR 시험의 이점은 불활화된 균도 PCR 증폭에 이용할 수 있는 것이며, 시험은 식품시료에서 독소생산성 세균의 존재를 신속하게 선별하는 데 있다.[38]

본 실험에서 penicillin은 내성 38.1%, 중등도 내성 61%이었으며 1주만이 감수성을 나타내어 높은 내성을 나타내었으며, ampicillin 내성 6.7%, 중등도 내성 42.9%로 β-lactam계 항생제에 대하여 내성을 나타내었다. 그러나 methicillin에 대한 내성은 없었고 중등도 내성 1.9%였다.

Costa 등[39]은 황색포도상구균의 84.4% 및 86.7%가 ampicillin과 penicillin에 대하여 내성을 가졌으며, cephalothin의 감수성은 84.4%, gentamicin 감수성 80%, sulphazotrin 감수성 77.8%이었다고 보고하였고, Adesiyun등[40]은 Trinidad에서 분리한 황색포도상구균 중 74.5%가 penicillin 내성이라고 보고하였다. 또한 Rohani 등[41]이 조사한 바에 의하면 페니실린 내성 94.1%, methicillin 39.7%, chloramphenicol 8.5%, ciprofloxacin 29.2%, clindamycin 2.1%, erythromycin 45.9%, gentamicin 40.5%, rifampicin 3.3%, tetracycline 47.2%, co-trimoxazole 38.5%, mupirocin 2.8%, fusidic acid 3.6%이었으며, Lilenbaum등[42]은 건강한 개 피부에서 분리한 포도상구균 중 50%가 penicillin 내성이었으며, 22.4%는 oxacillin 내성 12.2%는 rifampin 내성이었으며, oxacillin과 ampicillin 내성은 penicillin내성과 비슷하였으며, gentamicin은 가장 좋은 치료제이었다고 보고하였다. Hsieh와 Liu[43]는 황색포도상구균의 72.9%가 penicillin과 ampicillin에 내성이며, 41.9%가 tetracycline과 erythromycin에 16.3%가 oxacillin에 내성이나 vancomycin이나 nitrofurantoin에는 모두 감수성이었다고 보고하였다. Marshall등[44]은 황색포도상구균의 26%가 oxacillin내성이며 oxacillin 감수성 황색포도상구균은 fluoroquinolone에 대한 감수성이 높다고 보고하였다.

그러나 Aarestrup 등[45]은 황색포도상구균의 30%가 ciprofloxacin에 내성이며 단지 7%만이 페니실린 내성이었다고 반대의 결과를 보고하였다. Sulphamethoxazole 내성은 19%, erythromycin 내성이 24%이었다.

Garcia Franco Do Nascimento 등[46]은 브라질 병원에서 분리한 포도상구균중 ampicillin 내성 60.9%, cephalothin 내성 58.7% 및 carbenicillin 내성 52.2%이었으며 3세대 및 4세대 세포로스포린에 대한 내성은 각각 26.1%, 17.4%라고 보고하였다. Tripodi 등[47]은 황색 포도상구균의 methicillin 내성은 49%이며 coagulase 음성 포도상균의 내성이 52-72%로 높으며 methicillin 내성 황색포도상구균은 glycopeptide 항생제와 trimethoprim-sulfamethoxazole에 대해 감수성이 있다고 보고하였다. Monsen 등[48]은 혈액배양에서 분리된 황색포도상구균은 oxacillin에 감수성이 있다고 보고하였다. Laverdiere 등[49]은 황색포도상구균의 ciprofloxacin, ceftazidime 및 norfloxacin의 내성은 각각 7%, 4% 및 6%이었다고 보고하였다. Udo 등[50]은 coagulase 음성 포도상구균을 조사한 결과 vancomycin과 mupirocin에는 모두 감수성이었으며, 페니실린과 메티실린에 대한 내성은 각각 83%, 47.7%이었다고 보고하였다. Baiocchi 등[51]은 oxacillin 내성이 1980년대 39%에서 1990년대 69%로 증가하였으며, ciprofloxacin, clindamycin, rifampicin에 대한 내성이 증가하였다고 보고하였다.

Farias 등[52]은 브라질 병원에서 분리한 포도상구균은 glycopetide에 높은 감수성을 나타내었다고 보고하였다. Speller 등[53]은 영국과 웨일즈에서 분리한 포도상구균의 methicillin 내성은 1989-1991년까지는 1.5%이었으나 1995년에는 13.2%로 급격히 증가하였으며, 동시에 erythromycin, clindamycin, ciprofloxacin, gentamicin, trimethoprim, rifampicin에 대한 내성이 증가하였다고 보고하였다. Schito 등[54]은 1992-1992년에 분리한 포도상구균에 대하여 조사한 결과 유럽이 미국보다 penicillin 감수성 균주가 많았으며 72.5%가 β-lactamase를 생산하지만 methicillin에 감수성이 있다고 보고하였다. Moorhouse 등[55]은 1993년 아일랜드에서 분리한 황색포도상구균 중 methicillin 감수성 85%, penicillin 8%, gentamicin 89%, ciprofloxacin 85%, erythromycin 80%, fusidic acid 96%, mupirocin 98%이었으며, MRSA는 fusidic acid와 mupirocin을 제외한 다른 항생제에 대하여 감수성이 낮다고 보고하였다. Nushijima 등[56]은 상처감염에서 분리한 황색포도상구균의 19.2%가 methicillin 내성이었다고 보고하였다. Tanaka 등[57]은 양로원에서 분리한 황색포도상구균의 20%가 MRSA이며 이 균주들은 다제내성이라고 보고하였다. Adesiyun 등[58]은 상처와 설사에서 분리한 포도상구균을 조사한 결과 penicillin에 대하여 내성이 높았으며, sulfamethoxazole/trimethoprim 내성이 가장 낮았으며, 상처유래 균주는 설사유래 균주보다 다제내성이 높다고 보고하여 본 실험에서 methicillin 내성이 낮은 이유가 설사유래 균주이기 때문인 것으로 생각된다.

## 국문요약

집단식중독 환자에서 분리한 *Staphylococcus aureus*에 대한 항생제 감수성, enterotoxin 형별을 PCR로 조사한 결과는 다음과 같았다.

1. 의심환자분변 413건중 105건(25.4%)에서 *Staphylococcus aureus* coagulase 양성 균주가 분리되었다.
2. enterotoxin 생산성을 PCR로 조사한 결과 총 45주(42.9%)에서 enterotoxin gene이 확인되었으며, 이 중 H형 단독생산주가 29주(64.4%)로 가장 많았으며, A형 단독생산주 5주(11.1%), A형 및 H형 혼합생산주 4주(8.9%), G형 생산주 2주(4.4%) 및 I형 생산주 1주(2.2%)이었다.
3. 시험한 105주 중 48주(45.7%)에서 항생제 내성이 확인되었으며, 이 중 penicillin에 대한 내성이 38.1%로 가장 높았으며, ampicillin과 penicillin은 중등도 내성이 각각 42.9%, 61.0%이었다. chloramphenicol, clindamycin, methicillin, trimethoprim, vancomycin은 모두 감수성이었다. 또한 단제 내성이 85.4%를 차지하였으며, 2제 내성이 12.5%, 3제내성이 2.1%이었다.


## 참고문헌


1. 日本藥學會編: 日本衛生試驗法 註解. 東京, 金原出版株式會社 (1995).
2. Dack, G.M.: Food poisoning, Chicago, University of Chicago Press (1956).
3. ICMSF: Microorganisms in foods 5. Microbiological specifications of food pathogens, London, Blackie Academic & Professional, (1996).
4. Pan, T.M., Wang, T.K., Lee, C.L., Chien, S.W., and Horng, C.B.: Food-borne disease outbreaks due to bacteria in Taiwan, 1986 to 1995, J. Clin. Microbiol., **35(5)**, 1260-1262 (1997).
5. 국립보건원: 2000년 급성 전염병 관리사업지침 (2000).
6. 국립보건원: 1999년 급성 전염병 관리사업지침 (1999).
7. 식품의약안전청: 식품의약품 통계연보. (2001).
8. Schlievert, P.M., Bohach, G.A., Ohlendorf, D.H., Stauffacher, C.V., Leung, D.Y., Murray, D.L., Prasad, G.S., Earhart, C.A., Jablonski, L.M., Hoffmann, M.L., and Chi, Y.I.: Molecular structure of staphylococcus and Streptococcus superantigens, J. Clin. Immunol., **15**, 4S-10S (1995).
9. Eley, A.R.: Microbial food poisoning, 2nd ed., London, Chapman & Hall, (1992).
10. Doyle, M.P.: Foodborne bacterial pathogens, New York and Basel, Marcel Dekker, Inc (1989).
11. Hui, Y.H., Gorham, J.R., Murrell, K.D., and Cliver, D.O.: Foodborne disease handbook vol. 1. diseased caused by bacteria, New York, Marcel Dekker, Inc, (1994).
12. Monday, S.R., and Bohach, G.A.: Use of multiplex PCR to detect classical and newly described pyrogenic toxin genes in staphylococcal isolates, J. Clin. Microbiol., **37(10)**, 3411-3414 (1999).
13. Bohach, G.A., Kreswirth, B.N., Novick, R.P., and Schlievert, P.M.: Analysis of toxic shock syndrome isolates producing staphylococcal enterotoxins B and C1 with use of southern hybridization and immunologic assays, Rev. Infect. Dis., **11**(Supl1):S75-S81 (1989).
14. Sambrook, J., and Russell, D.W.: Molecular cloning: a laboratory manual, 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, (2001).
15. National Committee for Clinical Laboratory standards: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, 4th ed. Approved standards M7-A4. National committee for clinical laboratory standards, Vayne, Pa. (1997).
16. Betley, M.J., and Meckalanos, J.J.: Nucleotide sequence of the type a staphylococcal enterotoxin gene, J. Bacteriol., **170**, 34-41 (1988).
17. Bohach, G.A.: Staphylococcal enterotoxin B and C., Structural requirements for superantigenic and enterotoxingenc activities, Prep. Biochem. Biotechnol., **27**, 79-110 (1997).
18. Bayles, K.W., and Iandolo, J.J.: Genetic and molecular analyses of the gene encoding staphylococcal enterotoxin D, J. Bacteriol., **171**, 4799-4806 (1989).
19. Couch, J.L, Soltis, M.T., and Betley, M.J.: Cloning and nucleotide sequence of the type E staphylococcal enterotoxin gene, J. Bacteriol., **170**, 2954-2960 (1988).
20. Munson, S.H., Tremaine, M.T., Betley, M.J., and Welch, R.A.: Identification and characterization of staphylococcal enterotoxin types G and I from *Staphylococcus aureus,* Infect. Immun., **66(7)**, 3337-3348 (1998).
23. Murray, D.L., Prasad, G.S., Earhart, C.A., Leonard, B.A.B., Kreswirth, B.N., Novick, R.P., Ohlendorf, D.H., and Schlievert, P.M.: Immunobiologic and biochemical properties of mutants of toxic shock syndrome toxin-1, J. Immunol., **152**, 87-95 (1994).
21. Su, Y.C., and Wong, A.C.: Identification and purification of a new staphylococcal enterotoxin, H, Appl. Environ. Microbiol., **61**, 1438-1443 (1995).
22. Zhang, S., Iandolo, J.J., and Stewart, G.: The enterotoxin D plasmid of *Staphylococcus aureus* encodes a second enterotoxin determinant(sej), FEMS Microbiol. Lett., **168**, 227-233

(1998).
24. Marr, J.C., Lyon, J.D., Roberson, J.R., Lupher, M., Davis, W.C., and Bohach, G.A.: Characterization of novel type C staphylococcal enterotoxins: biological and evolutionary implications, Infect. Immun., **61(10)**, 4254-62 (1993).
25. Becker, K., Roth, R., and Peters, G.: Rapid and specific detection of toxigenic *Staphylococcus aureus*: Use of two multiplex PCR enzyme immunoassays for amplification and hybridization of staphylococcal enterotoxin genes, exfoliative toxin genes, and toxic shock syndrome toxin 1 gene, J. Clin. Microbiol., **36(9)**, 2548-2553 (1998).
26. Nilsson, H., Bjork, P., Dohlsten., and Antonsson, P.: Staphylococcal enterotoxin H displays unique MHC class II-binding properties, J. Immun., **163**, 6686-6693 (1999).
27. Hakansson, M., Petersson, K., Nilsson, H., Forsberg, G., Bjork, P., Antonsson, P., and Svensson, L.A.: The crystal structure of staphylococcal enterotoxin H: implications for binding properties to MhC class II and TcR molecules, J. Mol. Biol. **302(3)**, 527-537 (2000).
28. Orwin, P.M., Leung, D.Y., Donahue, H.L., Novick, R.P., Schlievert, P.M.: Biochemical and biological properties of staphylococcal enterotoxin K, Infect. Immun., **69(1)**, 360-366 (2001).
29. Wieneke, A.A., Roberts, D., and Gilbert, R.J.: Staphylococcal food poisoning in the United Kingdom. 1969-90, Epidemiol. Infect., **110**, 519-531 (1993).
30. Casman, E.P., Bennett, R.W., Dorsey, A.E., and Issa, J.A.: Identification of a fourth staphylococcal enterotoxin, enterotoxin D, J. Bacteriol., **94**, 1875-1882 (1967).
31. Palasuntheram, C., and Beauchamp, M.S.: Enterotoxigenic staphylococci in Sri Lanka, J. Appl. Bacteriol., **52**, 39-41 (1982).
32. Harvey, J., Patterson, J.T., and Gibbs, P.A.: enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* strains isolated from poultry: Raw poultry carcassess as a potential food-poisoning hazard, J. Appl. Bacteriol., **52**, 251-258 (1982).
33. Gibbs, P.A., Patterson, J.T., and Harvey, J.: Biochemical characteristics and enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* strains isolated from poultry, J. Appl. Bacteriol., **44**, 57-74 (1978).
34. Adesiyun, A.A.: Enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* strains isolated from Nigerian ready-to-eat foods, J. Food Prot., **47**, 438-440 (1984).
35. Sokari, T.G., and Anozie, S.O.: Occurrence of enterotoxin producing strains of *Staphylococcus aureus* in meat and related samples from traditional markets in Nigeria, J. Food Prot., **53**, 1069-1070 (1990).
36. Lee, S.U., Quesnell, M., Fox, L.K., Yoon, J.W., Park, Y.H., Davis, W.C., Falk, D., Deobald, C.F., and Bohach, G.A.: Characterization of staphylococcal bovine mastitis isolates using the polymerase chain reaction, J. Food Prot., **61(10)**, 1384-1386 (1998).
37. Genigeorgis, C.A.: Present state of knowledge on staphylococcal intoxication, Int. J. Food Microbiol., **9**, 327-360 (1989).
38. Sharma, N.K., Rees, C.E.D., and Dodd, C.E.R.: Development of a single-reaction multiplex PCR toxin typing assay for *Staphylococcus aureus* strains, Appl. Environ. Microbiol., **66(4)**, 1347-1353 (2000).
39. Costa, E.O., Benites, N.R., Guerra, J.L., and Melville, P.A.: Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus spp.* isolated from mammary parenchymas of slaughtered dairy cows, J. Vet. Med. B Infect Dis Vet Public Health, **47(2)**, 99-103 (2000)
40. Adesiyun, A.A., Prabhakar, P., Ali, C., and Lewis, M.: Characteristics of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical and non-clinical human sources in Trinidad: susceptibility to bacteriophages and antimicrobial agents, an toxigenicity, Zedntrabl. Bakteriol., **282(4)**, 519-532, (1995).
41. Rohani, M.Y., Raudzah, A., Lau, M.G., Zaidatul, A.A., Salbiah, M.N., Keah, K.C., Noraini, A., and Zainuldin, T.: Susceptibility pattern of *Staphylococcus aureus* isolated in Malaysian hospitals, Int. J. Antimicrob. Agents, **13(3)**, 209-213 (2000).
42. Lilenbaum, W., Nunes, E.L., and Azeredo, M.A.: Prevalence and antimicrobial susceptibility of staphylococci isolated from the skin surface of clinically normal cats, Lett. Appl. Microbiol., **27(4)**, 224-228 (1998).
43. Hshieh, S.E., and Liu, J.L.: Coagulase type and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from various areas in Taiwan, Chung Hua Min Kuo Wei Sgebd Wu Chi Mien I Hsueh Tsa Chih, **28(1)**, 47-58 (1995).
44. Marshall, S.A., Wilke, W.W., Pfaller, M.A., and Jones, R.N.: *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci from blood stream infections: frequency of occurrence, antimicrobial susceptibility, and molecular(mecA characterization of oxacillin resistance in the SCOPE program, Diagn. Microbiol. Infect. Dis., **30(3)**, 205-214 (1998).
45. Aarestrup, F.M., Agers, Y., Ahrens, P., Jrgensen, J.C., Madsen, M., and Jensen, L.B.: Antimicrobial susceptibility and presence of resistance genes in staphylococci from poultry, Vet. Microbiol. **74(4)**, 353-364 (2000).
46. Garcia Franco do Nascimento, G., figueiredo, S.H., Felix, P.R., and Fernades Goncalez Martins, P.: Drug resistance in bacteria isolated from a vrazilian hospital, Brazil, J. Infect. Dis., **2(6)**, 291-299 (1998).
47. Tripodi, M.F., Attanasio, V., Adinolfi, L.E., Florio, A., Cione, P., Cuccurullo, S., Utili, R., and Ruggiero, G.: Prevalence of antibiotic resistance among clinical isolates of methicillin-resistant staphylococci, Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., **13(2)**, 148-152 (1994).

48. Monsen, T., Ronnmark, M., Olofsson, C., Wistrom, J.: Antibiotic susceptibility of staphylococci isolated in blood cultures in relation to antibiotic consumption in hospital wards, Scand. J. Infect. Dis., **31(4)**, 399-404 (1999).
49. Laverdiere, M., Weiss, K., Rivest, R., and Delorme, J.: Trends in antibiotic resistance of staphylococci over an eight-year period: differences in the emergence of resistance between coagulase positive and coagulase-negative staphylococci, Micro. Drug Resist., **4(2)**, 119-122 (1998).
50. Udo, E.E., Jacob, L.E., and Chugh, T.D.: Antimicrobial resistance of coagulase-negative staphylococci from a Kuwait hospital, Microb. Drug. Resist., **1(4)**, 315-320 (1995).
51. Baiocchi, P., Galie, M., Santini, C., Czarfagna, P., Cassone, M., Tarasi, D., and Venditti, M.:In vitro susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated form blood to currently used antistaphylococcal drugs, J. Chemother., **10(1)**, 25-28 (1998)
52. Farias, W.V., Sader, H.S., Leme, I.L., and Pignatari, A.C.: Sensitivity pattern of 117 clinical isolates of *Staphylococcus aureus* from 12 hospitals, Rev. Assoc. Med. Bras., **43(3)**, 199-204 (1997).
53. Speller, D.C., Johnson, A.P., James, D., Marples, R.R., Charlett, A., and George, R.C.: Resistance to methicillin and other antibiotics in isolates of *Staphylococcus aureus* from blood and cerebrospinal fluid, England and Wales, 1989-95, Lancet **359(9074)**, 323-325 (1997).
54. Schito, G.C., Debbia, E.A., and Pesce, A.: Susceptibility of respiratory strains of *Staphylococcus aureus* to fifteen antibiotics: results of a collaborative surveillance study (1992-1993). The Alexander Project Collaborative group, J. Antimicrob. Chemother., 38(Suppl. A):97-106 (1996).
55. Moorhouse, E., Fenelon, L., Hone, R., Smyth, E., McGahon, J., and Dillon, M.: *Staphyloccus aureus* sensitivity to various antibiotics-a national survey in Ireland 1993, Ir. J. Sci., **165(1)**, 40-43 (1996).
56. Nishijima, S., Nakagawa, M., Sugiyama, AT., Akamatsu, H., Horio, T., Kawabata, S., and Fujita, M.: Sensitivity of *Staphylococcus aureus*, isolated from skin infection in 1994, to 19 antimicrobial agents, J. Int. Med. Res., **23(5)**, 328-334 (1995).
57. Tanaka, Y., Adachi, A., Ashimoto, A., Kishimoto, H., Teshima, R., and Yamamoto, K.: Drug-resistant *Staphylococcus aureus* contamination in the ward environment, Kansenshogaku Zasshi, **66(9)**, 1270-1275 (1992).
58. Adesiyun, A.A., Lenz, W., and Schaal, K.P.: Phage susceptibility, enterotoxigenicity and antibiograms of *Staphylococcus aureus* strains isolated from human wounds and diarrhoea, Zentralbl. Bakteriol., **277(2)**, 259-259 (1992).