J. Fd Hyg. Safety 17(1), 31–35 (2002)

김밥 중 황색포도상구균의 분포조사

강윤숙 · 윤선경 · 좌승협 · 이동하 · 우건조 · 박영식* · 김창민†
*식품의약품안전청 식품미생물과, * 한국보건산업진흥원*

Prevalence of *Staphylococcus aureus* in Kimbap

Yunsook Kang, Sunkyoung Yoon, Seunghyeup Jwa, Dongha Lee, Gun-Jo Woo, Yongsik Park* and Changmin Kim†
Food Micobiology Division, Korea Food & Drug Administration Seoul, 122-704, Korea
** Industry Information Division, Korea Health Industry Development Institute Seoul, 156-050, Korea*

ABSTRACT – According to food poisoning statistic data of 2000, the food poisoning outbreaks have occurred mainly by meat (27.9%), shellfish and its processed products (26.0%), and ready-to eat meals (24.0%) such as Kimbap and packed lunch boxes. The major causative food poisoning bacteria were *Salmonella* spp. (35.6%), *Staphylococcus aureus* (11.3%) and *Vibrio parahaemolyticus* (3.2%). In this study, we conducted the isolation and enumeration for *S. aureus* in Kimbap. This monitoring data will be applied to the following study, risk assessment. The Kimbap samples were collected from department stores, convenient stores and snack bars located in Seoul, Busan, Daejeon, and Gwangju. The overall isolation rate of *S. aureus* from 214 Kimbap samples was 34.1% and the average count was 623 cells. Enterotoxin typing test for isolates showed 42.5%, 4.1% and 2.7% for type A, B and C, respectively. There was no significant seasonal difference in *S. aureus* isolation, but the average count in summer(793 cfu/g) was 1.8 times higher than that of winter(446 cfu/g).

Key words □ *Staphylococcus aureus*, Risk assessment, Kimbap

우리나라의 경우, 황색포도상구균에 의한 식중독은 살모넬라, 장염비브리오와 더불어 발생빈도가 높다. 2000년도 국내 식중독발생 통계에 따르면, 원인식품별 식중독 발생건수는 육류 어패류 및 그 가공품에 이어 복합조리식품(김밥, 도시락)이 24.0%의 비율을 차지하고 있으며, 원인별 환자발생건수는 *Salmonella* spp.에 의한 식중독 발생건수에 이어 *Staphylococcus aureus*가 11.3%로 2위를 차지하고 있다.

*S. aureus*는 화농성질환 및 식중독의 원인균으로서[1,2,3,4,5], 식품 위생상 중요하게 다루어지고 있는 세균이다. 이 세균은 저항성이 강하여 공기, 토양등의 자연계에 광범위하게 분포하고 있고 건강한 사람과 동물의 피부 등에도 상재하고 있어[6,7,8,9], 식품에 쉽게 오염된다[10]. *S. aureus*에 의한 식중독은 *Clostridium botulinum* 식중독과 마찬가지로 균이 식품내에서 증식하면서 생성된 독소를 섭취함으로서 발생되는 독소형 식중독이다[11,12]. 자연계에는 여러 종류의 포도상구균이 있으나 enterotoxin을 생산하는 균종은 *S. aureus*에 한정된다. Enterotoxin은 분자량이 약 26,000~35,000 Da인 단일 폴리펩티드이며[5,13], 면역학적으로 서로 다른 9가지, 즉 enterotoxin A, B, C, D, E, F, G, H, I, J(SEA, SEB, SEC, SED, SEE, SEF, SEG, SEH, SEI, SEJ)형이 있다[14,15,25]. Enterotoxin을 생산하는 *S. aureus*은 이들 독소형중 한가지 또는 두가지형 이상의 독소를 생산하는 것으로 알려져 있고[16,17,18], 독소형과는 관계없이 식중독을 일으키나, 주로 A형이나 D에 의한 식중독 사례가 많은 것으로 보고되고 있다[12,16,19]. 더욱이 enterotoxin은 trypsin, chymotrypsin, renin 및 papain과 같은 단백질 분해효소에 의해 분해되지 않으며[10], 내열성이 강하여 독소형에 따라서는 100°C에서 30분간 가열해도 완전 파괴되지 않는다[5,12,14]. Enterotoxin에 대한 감수성은 개체별로 상당한 차이가 있어 섭취한 양만으로는 증상의 정도를 판정할 수 없으나 식중독을 일으킬 수 있는 enterotoxin의 양은 1 μg 이상인 것으로 알려져 있으며[14,20,21], 이러한 독소 생산은 온도에 민감하여 균의 증식에 적합한 온도와 일치한다. 한편, 환경 및 각종 식품에 대한 *S. aureus*의 오염도 및 enterotoxin생산주의 분포 등에 관한 연구는 많이 보고되고 있는데, 사람의 25~50%가 황색포도상구균 보균자이며, 이들 중 15~20%는 enterotoxin 생산주를 보균하고 있는 것으로 알려져 있다[21]. *S. aureus*식중독의 예방법은 식품으로의 *S. aureus* 오염방지, 오염된 균의 증식 및 enterotoxin 생산을

†Author to whom correspondence should be addressed.

억제하는 방법[5], 식품에 생산된 독소를 분해 해독하는 방법 등을 들 수 있다. *S. aureus*는 자연계에 널리 분포되어 있을 뿐만 아니라 식품으로의 오염경로도 매우 다양하며, 식품이 이 균에 오염될 기회가 대단히 높기 때문에 근본적인 황색포도상구균의 오염방지란 거의 불가능하며, 또한 생성된 독소를 열처리에 의해 완전히 제거할 수 없다[5]. 따라서, 본 연구에서는 국내 식중독발생 주요원인 식품 중 하나인 김밥을 대상으로 황색포도상구균의 오염도를 파악하였고, 분리균에 대한 독소형을 분석하였으며, 각 검체에 대한 황색포도상구균 정량분석을 실시하였다. 외국에서는 식품 중 식중독균 기준·규격을 정량적 개념으로 운영하려는 추세이나, 국내에서는 아직까지 이에 대한 자료가 없는 실정이므로, 본 실험에서 실시한 정량분석 결과를 토대로 국내 실정에 맞는 위해도평가를 실시하고, 김밥 중 황색포도상구균에 대한 정량적인 기준·규격을 마련을 위한 기초자료로 확보하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

김밥 중 황색포도상구균 오염도 파악을 위하여 2000년 1월부터 2000년 9월까지 서울, 부산, 대전, 광주지역을 중심으로 시중 유통 중인 김밥을 분식점, 백화점, 편의점 등 유통·판매 형태별로 나누어 총 214건을 구입하여 재료로 하였다. 표준균주로는 *S. aureus* ATCC 13565, *S. aureus* ATCC 19095, *S. aureus* ATCC 27664를 사용하였다.

정성시험

검체 25 g을 무균적으로 취하여 10% NaCl이 첨가된 tryptic soy broth (Difco, USA) 225 ml에 넣고 stomacher로 1분간 균질화 시킨 후 37°C에서 24시간 증균배양 하였다. 증균배양액을 egg yolk가 첨가된 mannitol salt agar (Difco, USA)와 baird parker agar(Difco, USA)에 각 각 접종하여 37°C에서 16~24시간 배양 후 전형적인 성상을 나타내는 집락을 선별하였다. Brain heart infusion agar(Difco, USA) 평판배지에 접종 배양한 후, gram염색, coagulase시험, API Staph(Bio-Meriux, France) 등을 사용하여 최종 동정하였다[22,23].

정량시험

검체를 생리식염수(0.85% NaCl)에 10배 희석하여 균질화한 후 생리식염수 9 ml에 균질액 1 ml을 희석하여 10^{-1}에서 10^{-3}까지 단계 희석하고 각 희석액을 선택배지인 baird parker agar 또는 egg yolk가 첨가된 mannitol salt agar에 100 μl 분량으로 3장씩 도말하여 37°C, 48시간 배양 후 전형적인 집락(Baird parker agar: 검은 colony 주변에 백색환, mannitol salt egg yolk agar: 노란 colony 주변에 백색환)을 계수하였다[22].

확인시험

정성·정량실험의 선택배지에서 전형적인 양상을 보인 집락은 10% NaCl이 첨가된 tryptic soy agar(Difco, USA)배지에 옮겨 37°C에서 18~24시간 배양한 후, 그람염색을 실시하여 포도상의 배열을 갖는 그람양성 구균을 확인하였으며, 포도상의 배열을 가지며 그람양성구균이 확인된 균주는 API Staph를 사용하여 최종동정하였다[24]. 동정된 균에 대하여 EDTA가 첨가된 coagulase plasma(BBL, USA)시약을 사용하여 coagulase 시험을 실시하였으며, 양성으로 판정되는 균을 최종적으로 *S. aureus*로 동정하였다.

Enterotoxin 확인시험

Enterotoxin 확인시험에는 reversed passive latex agglutination kit(SET-RPLA, Denka seiken, Japan)를 사용하였다[15]. 균을 Brain heart infusion(BHI) broth에 18시간 이상 배양하고 8,000 g에서 20분간 원심분리하여 상등액을 취한 후 10 배씩 단계희석하여 검액으로 사용하였다. 검액을 25 μl씩 microplate 5계열에 가하고 각 계열에 감작 latex A, B, C, D 및 대조 latex 25 μl씩을 첨가하고 10분간 교반하여 실온에서 18~20시간 정치한 후, 응집형태를 육안으로 관찰하여 독소형을 확인하였다.

결 과

시중 유통 중인 총 214건의 김밥을 대상으로 정성시험 결과(Table 1, Table 2), 73건이 황색포도상구균 양성을 보여 평균 34.1%의 균검출율을 보였으며, 정량분석 결과 총 214건에 대한 평균균량은 623 cfu/g이었다. 검체 구입지역별로는 서울, 부산, 대전 광주 지역이 각 각 40%, 28%, 37%, 31%의 검출율을 보여 서울에서의 검출율이 가장 높았으나, 전반적으로 거의 비슷한 수준이었다.

유통·판매형태별로는 분식점이 42.8%로 백화점(25.7%) 및 편의점(12.2%)보다 상당히 높은 검출율을 보였다(Fig 1). 가장 높은 검출율을 보인 곳은 서울의 분식점(53.1%)이었고, 가장 낮은 곳은 부산의 편의점(0%)이었다. 계절별로는 1차 검체채취 기간인 1~2월(평균기온 0.45°C)과 7~9월(평균기온 26.3°C) 모두 약 34%의 검출율을 보여 계절별 차이는 보이지 않았으나, 정량검사결과 1~2월(평균기온 0.45°C)검출평균량과 7~9월(평균기온 26.3°C)검출평균량은 각각 446 cfu/g,

Table 1. Prevalence of *Staphylococcus aureus* from Kimbap purchased at different regions in Korea

Region	No. of isolates/samples (%)	No. of isolates/samples (%)		
		Restaurant	C.V.S.[a]	Department Store
Seoul	21/52(40.4)	17/32(53.1)	1/9(11.1)	3/11(27.3)
Busan	15/54(27.8)	13/36(36.1)	0/10(0.0)	2/8(25.0)
Daejeon	21/57(36.8)	16/37(43.2)	2/11(18.2)	3/9(33.3)
Gwangju	16/51(31.4)	13/33(39.4)	2/11(18.2)	1/7(14.3)
Isolation rate(%)	73/214(34.1)	59/138(42.8)	5/41(12.2)	9/35(25.7)

[a]C.V.S., Convenience store

Table 2. Enumeration of *Staphylococcus aureus* in Kimbap

Population (cfu/g)	No. of isolates	No. of isolates		
		Restaurant	C.V.S.[a]	Department Store
less than 100	41	31	4	6
100~1,000	17	14	1	2
1,000~10,000	12	11	-[b]	1
10,000~50,000	3	3	-	-
Total	73	59	5	9

[a]C.V.S., Convenience store.
[b]-, Not detected.

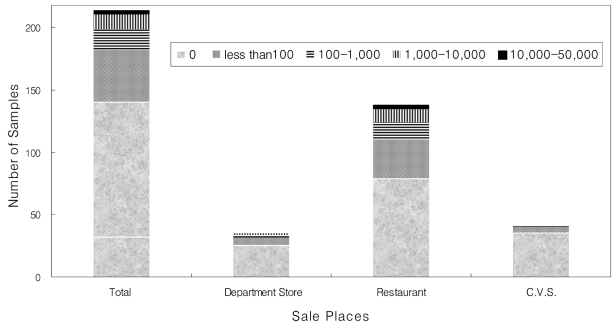

Fig. 1. Isolation and enumeration of *S. aureus* in Kimbab (Isolation rate: 34.1%, Ave. population: 623 cfu/g)

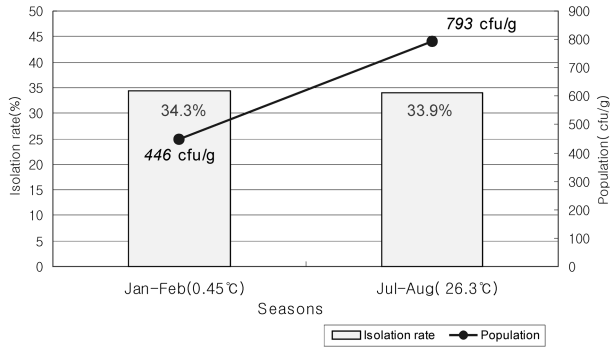

Fig. 2. Isolation rate by season

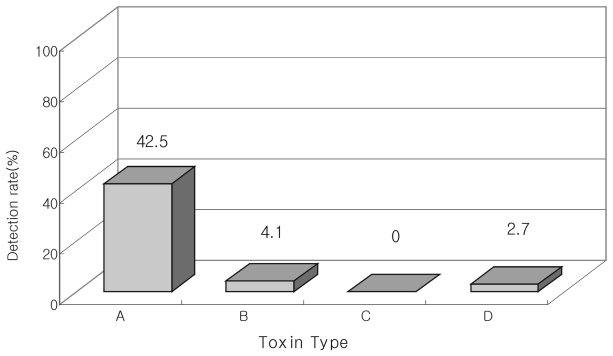

Fig. 3. Detection rate of Staphylococcal enterotoxins

793 cfu/g으로서 겨울철보다 여름철이 약 1.8배 높게 나타났다(Fig 2).

분리균 73주에 대한 enterotoxin 시험결과 A type 42.5 %(31주/73주), B type 4.1%(3주/73주), D type 2.7%(2주/73주)의 분포를 보였다(Fig. 3).

고 찰

유통 중인 김밥에 대하여 지역별, 판매형태별, 계절별 황색포도상구균의 오염도 분석 결과, 지역별 검출율은 서울, 부산, 대전, 광주가 약 28~40%의 비슷한 수준을 보여 지역별로 큰 차이는 없는 것으로 나타났다. 판매형태별 검출율 분석결과 전체적인 균검출율은 백화점(25.7%) 및 편의점(12.2%)이 분식점(42.8%)보다 주방 및 판매시설이 위생적이라고 생각할 수 있으며, 또한 정량검사결과 분식점(평균 903 cfu/g) 및 백화점(67 cfu/g)은 실온유통 및 판매가 이루어지나, 편의점(16 cfu/g)의 경우는 냉장유통・판매과정이 이루어져 분식점 및 백화점의 검출균량보다 편의점에서의 검출균량이 상대적으로 약 4~50배 가량 낮은 것으로 나타났다. 따라서, 김밥을 제조 즉시 섭취하거나, 또는 편의점과 같은 냉장 유통・판매과정이 도입된다면 김밥으로 인한 식중독발생율을 상당히 감소시킬 수 있는 것으로 판단되었다.

분리균에 대한 enterotoxin 시험결과, A type균의 분리율이 42.5%(31주/73주)로 가장 높게 나타났으며, 이는 식품에서 분리한 황색포도상구균은 주로 enterotoxin type A가 많이 검출된다는 일반적인 보고와 일치하였다[16,19].

또한 계절별 검출율은 여름철과 겨울철의 검출율이 거의 비슷한 34%로 나타났지만, 검출균량은 여름철이 겨울철보다 약 1.8배가량 높게 나타나서 일반적으로 연중 식중독이 발생할 수 있지만, 특히 온도가 높은 여름철에 황색포도상구균에 의한 식중독발생율이 증가할 수 있다는 일반적인 통계와 일치하였다[14]. 향후 이 결과를 토대로 김밥 중 황색포도상구균에 의한 노출량평가 및 위해도평가를 수행하여, 김밥에 대한 위생관리 및 황색포도상구균에 대한 효과적인 관리기준을 마련할 필요가 있다.

감사의 말씀

이 논문은 보건의료기술 연구개발사업(관리번호: HMP-99-F-06-0001, 식품중 각종 위해요인의 위해성 평가와 관리방안 수립에 관한 연구)의 연구비 지원에 의하여 수행된 결과의 일부이며 이에 감사하는 바입니다.

국문요약

2000년 국내 식중독발생 통계에 따르면, 원인식품별 식중독발생건수는 육류 등이 27.9%, 어패류 및 가공품이 26.0%, 복합조리식품(김밥, 도시락)이 24.0%의 비율을 차지하고 있으며, 원인균별 식중독발생건수는 *Salmonella* spp.가 28.8%로 1위, *Vibrio parahaemolyticus*가 13.5%로 2위, *Staphylococcus aureus*가 8.7%로 3위를 차지하고 있다. 이에 본 연구에서는 김밥 중 황색포도상구균에 대한 분포도조사 및 오염정도를 분석하여 위해도평가의 기초자료로 활용하고자 하였다. 서울, 부산, 대전, 광주의 백화점, 편의점, 분식점 등에서 구입한 김밥 총 214건에 대한 황색포도상구균의 정량 및 정성실험 결과, 균검출율은 34.1%였고, 평균균량은 623 cfu/g이었다. 분리균에 대한 enterotoxin 실험결과 A type 42.5%(31주/73주), B type 4.1%(3주/73주), D type 2.7%(2주/73주)의 분포를 보였다. 또한 유통・판매형태별로는 분식점의 검출율이 42.8%로 백화점(25.8%) 및 편의점(12.3%)보다 높게 나타났으며, 계절별 평균균검출율은 비슷하였으나, 정량검사결과 여름철(793 cfu/g)에 겨울철(446 cfu/g)보다 균량이 1.8배 높게 나타났다.

참고문헌

1. Kim, D.H., Kwon, K.R., Lee, K.H., Ju, Y.R., Oh, K.S. and Kark, H.S.: Studies on Staphylococcal food-poisoning and enterotoxin productivity, *Report of National Institute of Health*, **26**, 111-121 (1989).
2. Ryu, P.Y., Kim, Y.I., Rhee, J.H., Chung, S.S., Ahn, T.H., Shin, J.H., Ryang, D.W., Kim, Y.H.: Antimicrobial resistance and plasmid profile of methicillin-resistant *S. aureus, J. Infection*, **27**(1), 15-29 (1995).
3. Yi, D.H. and Hong, H.S.: Isolation and cultural conditions of *Actinomycetes* strain producing effective antibiotic for MRSA, 건국기술연구논문집, **24** (1999).
4. Jung, C.H. and Kang, H.J.: Antimicrobial susceptibilities and -lactamase production of *S. aureus* isolated from bulk milk and domestic animals, Kor. *J. Vet. Publ. Hlth*., **17**(3) (1993)
5. 김승곤, 김충환, 김태운, 이건섭, 정경석: 최신병원위생학, 고문사, pp.251-256 (2000).
6. Suk, S.U. and Park, S.C.: Staphylococcal infections, *J. Infection*, **17**(2), 115-122 (1985).
7. Kim, D.H., Kim, B.S., Lee, K.H., Ju, Y.R., Oh, K.S., Kark, H.S. and Choi. Y.K.: A study on diagnosis of Staphylococcal food poisoning and enterotoxin, *The Report of National Institute of Health*, **27**(1), 56-63 (1990).
8. Lee, K.U., Kim, Y.J., Lee, S.M., Lee, M.S. and Kim, B.H.: Nonstaining method for determination of gram reactions and comparision of the API Staph(*DMS*) and Cowan and Steel procedures for the identification of *Staphylococcus* and *Micrococcus*, Report of NIH Korea, **25**, 277-288 (1988).
9. Cho, D.T.: Significance of methicillin-resistant *S. aureus* as a nosocomial pathogen, *J. Infection*, **27**(1), 11-13 (1995).
10. 정갑수: *S. aureus*의 增殖과 enterotoxin産生에 미치는 pH, 溫度 및 食品添加物 의 影響. 전남대학교 박사학위논문 (1992).
11. Kim, D.H., Kwon, K.R., Lee, K.H., Ju, Y.R., Oh, K.S. and Kark, H.S.: Study on Staphylococcal enterotoxin, Report of NIH Korea, **25**, 297-307 (1988).
12. Atanassova, V., Meindl, A., Ring, C.: Prevalence of *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins in raw pork and uncooked smoked ham-a comparison of classical culturing detection and RFLP-PCR, *Int. J. Food Microbiol.*, **68**, 105-113 (2001).
13. Shin, H.K., Kim, J.B., Lee, J.H., Kim, Y.K. and Kim, C.K.: Development of the simple immunoassays for the measurement of Staphylococcal enterotoxins, *J. Anim. Sci. Tech.*, (1993).

14. 장동석, 신동화, 정덕화, 김창민, 이인선: 식품위생학, 정문각, pp.45-133 (1999).
15. Chen, T.R., Hsiao, M.H., Chiou, C.S., Tsen, H.Y.: Development and use of PCR primers for the investigation of C1, C2 and C3 enterotoxin types of *Staphylococcus aureus* strains isolated from food-borne outbreaks, *Int. J. Food Microbiol.*, **71**, 63-70 (2001).
16. Hepner, E.: Food poisoning and *Salmonella* infections in England and Wales, 1976-1978, *Publ. Hlth. Lond.*, **94**, 337-349 (1980).
17. Noterman, S. and Heuvelman, C.J. : Combined effect of water activity, pH and sub-optimal temperature on growth and enterotoxin production of *S. aureus, J. Food Sci.*, **48**, 1832-1840 (1983).
18. Vernon, E. and Tillett, H.E.: Food poisoning and *Salmonella* infections in England and Wales, 1969-1972, *Publ. H1th. Lond.*, **88**, 225-235 (1974).
19. 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).
20. 李恩重: The Effect of temperature and time on the multiplication of *Staphylococcus* in foods, *Korean Journal of Public Health,* **9**(2), 381-387 (1972).
21. Brown, M.H.: Meat microbiology, Applied Science Publishers. London and New York, pp.269-486 (1982).
22. Bacteriological Analytical Manual, Chap. 12, Food and Drug Administration, 8th Ed. (1995).
23. 식품공전(별책), 식품의약품안전청, pp. 107 (2000).
24. Norinaga, M., Asako, K., Takashi, M., Masato, A.: An outbreak of food poisoning due to egg yolk reaction-nagative *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Food Microbiol*, **64**, 361-366 (2001).
25. Monday, S. R. and Bohach, GA. : Use of multiplex PCR to detect classical newly described pyrogenic toxin genes in staphylococcal isolates, *J. Clin. Microbiol.*, **37**, 3411-3414 (1999).