

소와 돼지 도체표면에서 황색포도상구균의 분리 및 장독소 검출에 관한 연구

이우원[†]·이승미·이강록·이동수
축산물위생검사소

Detection of Enterotoxin by Polymerase Chain Reaction of *Staphylococcus aureus* Isolated from Pig and Cattle Carcass

Woo-Won Lee[†], Seung-Mi Lee, Gang-Rok Lee and Dong-Soo Lee

Veterinary Service Laboratory

Abstract

This study was aimed to explore the state of antimicrobial resistant *Staphylococcus aureus* isolates from 320 pig and cattle carcass (160 pigs and 160 cattle) slaughtered in Busan from March 2008 to November 2009. Among 320 samples, 26 of *Staphylococcus aureus* were isolated from pigs (10.6%), cattle (5.6%). In antimicrobial susceptibility test, all the isolates were demonstrated susceptibility to oxacillin, ceftiofur, cephalothin, vancomycin, rifampin, and linezolid. But the isolates were showed resistance to antibiotics, i.e. penicillin (92.3%), gentamicin (76.9%), tetracycline (69.2%), erythromycin (65.4%), and cindamycin (61.5%), in order. In case of enterotoxin production, 7.7% of 2 strains produced enterotoxin A.

Key words : *Staphylococcus aureus*, antimicrobial susceptibility test, enterotoxin

서 론

Staphylococcus aureus (*S. aureus*)는 그람 양성 구균으로 자연계에 널리 분포하고 있으며, 사람과 동물의 피부에 상재하는 정상세균이지만 적당한 환경조건이 주어지면 여러 가지 질병을 일으키는 기회감염균이다. 황색 색소를 생산하고 mannitol을 분해하며 혈액배지에서 용혈성을 나타낸다. 황색포도상구균은 젖소에서 유방염의 주요 원인균으로 잘 알려져 있으며, 병원성이 강하고 조직침습성이 높아 사람과 동물에 농가진, 농양, 봉와직염 등의 피부감염증, 창상감염, 골수염, 경부 임파선염, 식중독, 폐렴, 패혈증 및 뇌수막염 등의 감염증을 일으킨다고 알려져 있다^{4),15),27)}. 특히 이 균종에 의해서 생산되는 장독소는 사람에서 구토, 설사 및 장염 등을 일으키는 주된 식중독 원인체의 하나일 뿐 아니라 독성 쇼크성 증후군을 일으켜 치사에 이르게 할 수 있다고 보고되어 있다^{6),7)}.

식품유래 포도상구균성 식중독은 *S. aureus*에 의해 생산되는 독소로 오염된 음식물의 섭취로 인하여 발생하는 위장염이

다. 지금까지 알려진 *S. aureus*의 장독소는 항원적 상이성에 따라 A, B, C, D, E, G, H형 및 I형의 8종으로 알려져 있으며, 이 중 C형은 이화학적 성상에 따라 C₁, C₂, C₃ 등 3가지 이상의 아형으로 나뉘어진다^{9),13)}. 이들 중 Staphylococcal enterotoxin A (SEA)는 포도상구균성 식중독의 가장 빈번한 원인으로 작용하여 공중보건학적으로 매우 중요시 되고 있다^{1),14)}. 이들 독소들에 대한 염기서열분석은 상호간에 높은 상동성을 가지고 있어 각 독소형을 검출하거나 감별하는데 많은 어려움을 주고 있다^{5),7)}. 이들 독소 검출은 혈청학적 방법과 유전학적 방법으로 크게 나눌 수 있다. 혈청학적 방법의 경우 충분한 양의 항원과 anti-toxin antibody의 요구 및 교차반응과 같은 단점이 존재하며, 기존의 유전학적 방법 역시 독소형을 검출하기 위하여 반복된 수행을 해야 하는 등 단점이 있었다. 최근 이러한 단점을 극복할 수 있는 multiplex polymerase chain reaction (mPCR) 기법이 개발되었고, *S. aureus*의 장독소와 독성 쇼크성 증후군 독소와 관련된 유전자를 특이적으로 검출할 수 있었다¹⁶⁾.

[†]Corresponding author. E-mail : leewoow@korea.kr
Tel : +82-51-331-0095, Fax : +82-51-338-8266

식품 중에 오염된 *S. aureus*로부터 생산되는 이들 독소에 대한 연구는 외국에서 다수의 보고가 있었으나, 국내의 경우 강 등¹⁷⁾에 의하여 집합유에서 A형~D형에 대하여 제한적으로 조사된 적이 있고, 김 등¹⁹⁾이 유방염 유증에서 B형과 D형을 검출 보고한 바 있으며, 윤 등²³⁾이 식육유래 *S. aureus* 19주 중 돼지고기 유래 1주에서 C형을 검출 보고한 바 있으나 국내에서는 이에 대한 연구가 많지 않다. 따라서 본 연구는 최근 개발된 PCR 기법을 이용하여 2008년 3월부터 2009년 11월까지 소와 돼지 도체표면으로부터 분리한 *S. aureus*에 대하여 약제감수성, 장독소 및 독소 쇼크성 증후군 독소와 관련된 유전자의 검출을 조사하였다.

재료 및 방법

공시재료

시험에 사용한 균 분리재료는 2008년 3월부터 2009년 11월 까지 부산지역 도축장에 출하된 소와 돼지의 도체표면에서 320건의 시료를 채취하여 시험에 사용하였다. 시료들은 무균적으로 채취한 후 4시간 이내에 냉장상태로 실험실로 운반하여 균 분리에 사용하였다.

*S. aureus*의 분리 및 동정

*S. aureus*를 분리하기 위하여 채취한 도체 현탁액 1 mL를 10% NaCl을 첨가한 tryptic soy broth (TSB, Merck) 9 mL에 첨가하여 37°C에서 18시간 증균 배양하였다. 배양액 50 μ L를 Baird Parker medium (Merck)에 접종 후 37°C에서 24시간 배양하였다. 직경 1.0~1.5 mm, black, shiny, convex 집락 주위에 약 2~5 mm의 opaque region이 관찰되는 전형적인 집락을 선택해서 blood agar에 접종 후 37°C, 24시간 배양하였고, β -hemolysis 현상이 일어나는 균을 brain heart infusion (BHI, Merck)에 접종하여 37°C, 18시간 배양함과 동시에 coagulase test를 실시하여 양성임을 확인하였다. 황색포도상구균으로 의심된 집락에 대하여 Vitek으로 검사 확인하였다.

항균제 감수성시험

항균제 감수성시험은 National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS)의 방법¹¹⁾에 따라 sensi disc (BBL)를 이용한 디스크 확산법으로 실시하였다. 3 mL BHI broth (Merck)에 접종하여 37°C에서 18시간 배양한 시험 균액을 MacFarland No. 0.5 BaSO₄ 표준비색판과 같은 농도로 조정한 후 멸균 면봉을 이용하여 Muller-Hinton agar (Merck)에 도말접종한 후 37°C에서 24시간 배양하였으며, 감수성유무는 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)의 기준에 따라 판정하였다. 사용한 디스크의 종류와 함량은 penicillin (P, 10U), oxacillin (OX, 1 μ g), cefoxitin (FOX, 30 μ g), cephalothin (CF, 30 μ g), vancomycin (VA, 30 μ g), gentamicin (GM, 10 μ g), erythromycin (E, 15 μ g), tetracycline (TE, 30 μ g), ciprofloxacin (CIP, 5 μ g), clindamycin (CC, 2 μ g), sulfamethoxazole/trimethoprim (SXT, 23.75/1.25 μ g), chloramphenicol (C, 30 μ g), rifampin (RA, 5 μ g), quinupristin/dalfopristin (SYN, 15 μ g), linezolid (LNZ, 30 μ g) 및 telithromycin (TEL, 15 μ g) 등 16종을 사용하였다.

g), gentamicin (GM, 10 μ g), erythromycin (E, 15 μ g), tetracycline (TE, 30 μ g), ciprofloxacin (CIP, 5 μ g), clindamycin (CC, 2 μ g), sulfamethoxazole/trimethoprim (SXT, 23.75/1.25 μ g), chloramphenicol (C, 30 μ g), rifampin (RA, 5 μ g), quinupristin/dalfopristin (SYN, 15 μ g), linezolid (LNZ, 30 μ g) 및 telithromycin (TEL, 15 μ g) 등 16종을 사용하였다.

Polymerase chain reaction (PCR)

DNA 추출

공시된 균주로부터 genomic DNA 추출은 이 등²⁵⁾의 방법에 따라 Wizard genomic DNA purification kit (Promega, USA)를 사용하였다.

Oligonucleotide primer의 합성

PCR에 사용된 oligonucleotide primer의 염기서열, 증폭산물의 크기 및 온도는 Table 1에서와 같이 *clfA* 등 7종을 Bioneer (Korea)에 합성 의뢰하여 사용하였다.

PCR에 의한 황색포도상구균 확인시험

clfA 검출을 위한 PCR은 Mason 등⁸⁾의 방법을 약간 수정 보완하여 10 \times PCR buffer 2.5 μ L, 10 mM dNTP 2.5 μ L, template DNA 1 μ L, 20 pM primer 각 1 μ L, *Taq* polymerase (Enzymomics, Korea) 0.2 μ L를 포함하여 최종량이 25 μ L가 되게 하였다. PCR은 94°C에서 5분간 denaturation시킨 후, 94°C에서 20초, 55°C에서 40초, 72°C에서 1분 조건으로 총 35 cycle을 수행한 다음 72°C에서 10분간 extension시켰다.

장독소 및 독소 쇼크성 증후군 독소 관련 유전자의 검출

sea, *sab*, *sec*, *sed*, *see* 및 *tst* 유전자 검출을 위한 PCR은 Becker 등³⁾의 방법을 약간 수정 보완하여 10 \times PCR buffer 2.5 μ L, 10 mM dNTP 2.5 μ L, template DNA 1 μ L, 20 pM primer 각 1 μ L, *Taq* polymerase (Enzymomics, Korea) 0.2 μ L를 포함하여 최종량이 25 μ L가 되게 하였다. PCR은 94°C에서 5분간 denaturation시킨 후, 94°C에서 1분, 55°C에서 1분, 72°C에서 2분 조건으로 총 35 cycle을 수행한 다음 72°C에서 10분간 extension시켰다.

증폭산물의 확인

PCR에 의해서 증폭된 산물은 이 등²⁵⁾의 방법에 준하여 loading buffer (30% glycerol, 50 mM EDTA, 0.025% bromophenol blue in 50 mM Tris-HCl, pH 8.5)와 2:1로 혼합하여 2.0% agarose (Sigma, USA) gel상에 loading하고 TBE buffer (40 mM Tris, 20 mM boric acid, 1 mM EDTA; Invitrogen) 하에서 120~140 volt로 약 1시간 동안 전기영동을

실시하였다. Agarose (Sigma, USA) gel을 0.5 μ g/mL의 ethidium bromide (Gibco, USA) 용액으로 염색시킨 후 UV transilluminator (Hoefer, USA)를 사용하여 DNA 산물을 확인하였다. Marker로는 100 bp DNA Ladder (Promega, USA)를 사용하였다.

결 과

*S. aureus*의 분리율

소와 돼지의 도체표면으로부터 분리한 *S. aureus*의 분리율은 Table 2에서와 같이 총 320건 중 8.1% (26주) 이었다. 축종별 분리율은 돼지에서 10.6% (17주/160건), 소는 5.6% (9주/160건) 이었다.

항균제감수성시험

분리된 *S. aureus* 26주에 대한 감수성시험 결과는 Table 3과 같이 oxacillin, ceftiofur, cephalothin, vancomycin, rifampin, linezolid에 대하여 100%의 균주가 감수성을 나타내었고, ciprofloxacin과 quinupristin/dalfopristin에 대하여는 소유래 균주의 경우 모두 감수성을 보였으나 돼지에서 1주가 내성을 나타내었으며, 내성율은 penicillin (92.3%), gentamicin (76.9%), tetracycline (69.2%), erythromycin (65.4%), clindamycin (61.5%) 순이었다.

돼지유래 균주의 항균제 내성율은 penicillin (94.1%), gentamicin (76.5%), tetracycline (70.6%), erythromycin 및 clindamycin (64.7%) 등이었다. 소유래 균주의 항균제 내성율은 penicillin (88.9%), gentamicin (77.8%), erythromycin 및 tetracycline (66.7%), clindamycin (55.6%) 등이었다.

Table 1. Synthetic oligonucleotides used as primers for PCR

Target gene	Sequence (5' - 3')	Size (bp)	Tm (°C)	Reference
<i>clfA</i>	GCA AAA TCC AGC ACA ACA GGA AAC GA CTT GAT CTC CAG CCA TAA TTG GTG G	638	55	Mason <i>et al.</i> (2001)
<i>sea</i>	CCT TTG GAA ACG GTT AAA ACG TCT GAA CCT TCC CAT CAA AAA C	127	55	Becker <i>et al.</i> (1998)
<i>seb</i>	TCG CAT CAA ACT GAC AAA CG GCA GGT ACT CTA TAA GTG CCT GC	477	55	Becker <i>et al.</i> (1998)
<i>sec</i>	CTC AAG AAC TAG ACA TAA AAG CTA GG TCA AAA TCG GAT TAA CAT TAT CC	271	55	Becker <i>et al.</i> (1998)
<i>sed</i>	CTA GTT TGG TAA TAT CTC CTT TAA ACG TTA ATG CTA TAT CTT ATA GGG TAA ACA TC	319	55	Becker <i>et al.</i> (1998)
<i>see</i>	CAG TAC CTA TAG ATA AAG TTA AAA CAA GC TAA CTT ACC GTG GAC CCT TC	178	55	Becker <i>et al.</i> (1998)
<i>tst</i>	AAG CCC TTT GTT GCT TGC G ATC GAA ATT TGG CCC ATA CTT T	445	55	Becker <i>et al.</i> (1998)

Table 2. Isolation rates of *S. aureus* isolates from pig and cattle carcass

Animal	Sample	No. of samples tested	No. of samples isolated (%)
Pig		160	17 (10.6)
Cattle		160	9 (5.6)
Total		320	26 (8.1)

Table 3. Antimicrobial resistance of 26 *S. aureus* isolates from pig and cattle carcass

Antimicrobial agent	No. (%) of isolates with indicated antimicrobial resistance		
	Pig (n=17)	Cattle (n=9)	Total (n=26)
Penicillin	16 (94.1)	8 (88.9)	17 (92.3)
Oxacillin	0	0	0
Cefoxitin	0	0	0
Cephalothin	0	0	0
Vancomycin	0	0	0
Gentamicin	13 (76.5)	7 (77.8)	20 (76.9)
Erythromycin	11 (64.7)	6 (66.7)	17 (65.4)
Tetracycline	12 (70.6)	6 (66.7)	18 (69.2)
Ciprofloxacin	1	0	1
Clindamycin	11 (64.7)	5 (55.6)	16 (61.5)
Sulfamethoxazole/Trimethoprim	8 (47.1)	3 (33.3)	11 (42.3)
Chloramphenicol	3 (17.6)	2 (22.2)	5 (19.2)
Rifampin	0	0	0
Quinupristin/Dalfopristin	1	0	1
Linezolid	0	0	0
Telithromycin	6 (35.3)	3 (33.3)	9 (34.6)

PCR의 특이성

분리된 *S. aureus* 26균주로부터 genomic DNA를 추출한 다음 *S. aureus*임을 확인하기 위하여 *clfA*를 이용하여 PCR을 수행한 결과 분리된 모든 균주에서 638 bp의 *clfA* 유전자 특이적인 증폭산물이 나타났다 (Fig. 1).

장독소 및 독소 쇼크성 증후군 독소와 관련된 유전자의 검출을 위하여 *sea*, *sab*, *sec*, *sed*, *see* 및 *tst*를 이용하여 PCR을 수행한 결과 그림 2에서와 같이 소와 돼지에서 분리된 *S. aureus* 각각 1균에서만 127 bp의 증폭산물인 장독소 A (7.7%) 유전자가 검출되었고, 다른 분리주에서는 장독소의 유전자와 관련된 어떠한 증폭산물도 나타나지 않았다.

고 찰

식품유래 포도상구균성 식중독은 *S. aureus*에 의해 생산되는 독소로 오염된 음식물의 섭취로 인하여 발생하는 위장염이다. 지금까지 알려진 *S. aureus*의 장독소는 항원적 상이성에 따라 A, B, C, D, E, G, H형 및 I형의 8종으로 알려져 있으며, 이 중 C형은 이화학적 성상에 따라 C₁, C₂, C₃ 등 3가지 이상의 아형으로 나뉘어진다^{9),13)}. 이들 중 Staphylococcal enterotoxin A (SEA)는 포도상구균성 식중독의 가장 빈번한 원인으로 작용하여 공중보건학적으로 매우 중요시 되고 있다^{1),14)}. 이들 독소들을 검출하기 위한 PCR기법이 개발되어 *S. aureus*의 장독소와 독성 쇼크성 증후군 독소와 관련된 유전자

를 특이적으로 검출할 수 있었다¹⁶⁾.

식품 중에 오염된 *S. aureus*로부터 생산되는 이들 독소에 대한 연구는 외국에서 다수의 보고가 있었으나, 국내의 경우 강 등¹⁷⁾에 의하여 집합유에서 A형~D형에 대하여 제한적으로 조사된 적이 있고, 김 등¹⁹⁾이 유방염 유증에서 B형과 D형을 검출 보고한 바 있으며, 윤 등²²⁾이 식육유래 *S. aureus* 19주 중 돼지고기 유래 1주에서 C형을 검출 보고한 바 있으나 국내에서는 이에 대한 연구가 많지 않다. 따라서 본 연구에서는 최근 개발된 PCR 기법을 이용하여 2008년 3월부터 2009년 11월까지 소와 돼지 도체표면으로부터 분리한 *S. aureus*에 대하여 약제감수성, 장독소 및 독소 쇼크성 증후군 독소와 관련된 유전자의 검출율을 조사하였다.

소와 돼지의 도체표면으로부터 분리한 *S. aureus*의 분리율은 돼지에서 10.6% (17주/160건), 소는 5.6% (9주/160건) 이었다. 국내에서 여러 연구자들에 의하여 *S. aureus*에 대한 연구는 주로 소 유방염에 한하여 이루어졌다. 정 등²⁸⁾은 전체 유방염 원인체 중 *S. aureus*가 13.6%라 하였고, 마 등²⁰⁾은 16.5%라고 하였다. 또한 손 등²¹⁾과 석 등²²⁾은 각각 26.0%와 18.3%라고 보고하였다. 이상의 보고들은 본 실험에서 얻어진 결과보다는 분리율이 훨씬 높았는데, 이들은 유방염 의심우 또는 유방염에 이환된 젖소로부터 *S. aureus*를 분리 보고하였기 때문으로 생각된다.

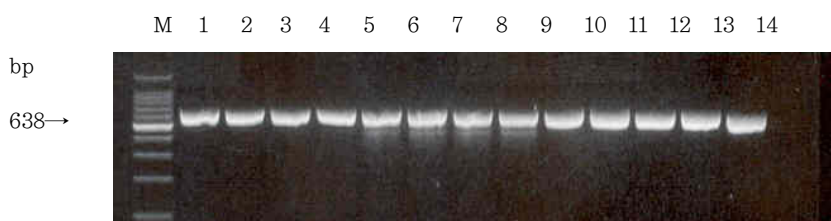


Fig. 1. PCR products amplified from *S. aureus* isolates using *clfA* primers. M; 100 bp DNA Ladder (Promega), lane 1~13; *S. aureus*, lane 14; *E. coli*.

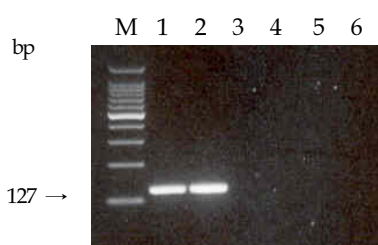


Fig. 2. Detection of enterotoxin gene from *S. aureus* isolates, M; 100 bp DNA Ladder (Promega), lane 1; SEA producer (*S. aureus* isolate from cattle carcass), 2; SEA producer (*S. aureus* isolate from pigs carcass), lane 3~6; Non-toxin producer.

항생제는 각종 세균성 감염증의 치료에 유용하게 사용될 뿐만 아니라 가축에서 발육촉진을 목적으로 사료에 첨가함으로써 항생제 오남용에 의한 약제내성균이 선택적으로 증가하여 세균성 감염증의 치료 및 예방에 많은 문제점을 일으키고 있다. 약제내성기전은 염색체 유전자의 변이에 의한 경우도 있지만, 주로 R plasmid에 기인한다고 알려져 있다. R plasmid는 항균제에 대한 내성을 발현시키는데 관여하는 유전자로서 장내세균뿐만 아니라 많은 종류의 그람음성 간균에서 높은 빈도로 분리되고 있으며, 이는 장내에서 접합을 통하여 동종 또는 이종 세균간에 전달되어 내성균의 증가에 중요한 역할을 한다²⁴⁾.

분리균주에 대한 항균제 내성결과를 보면 penicillin (92.3%), gentamicin (76.9%), tetracycline (69.2%), erythromycin (65.4%), cindamycin (61.5%) 순이었으며, 축종별로 살펴보면 돼지유래 균주의 항균제 내성율은 penicillin (94.1%), gentamicin (76.5%), tetracycline (70.6%), erythromycin 및 clindamycin (64.7%) 등이었다. 소유래 균주의 항균제 내성율은 penicillin (88.9%), gentamicin (77.8%), erythromycin 및 tetracycline (66.7%), clindamycin (55.6%) 등이었다. 김 등¹⁸⁾은 관절염 또는 피부 화농부위의 닭과 한우로부터 *S. aureus*를 분리 보고한 바에 따르면, 닭에서 분리된 *S. aureus*의 항균제 내성율은 tetracycline (72.0%), penicillin (58.0%), gentamicin

(22.0%) 등이라고 하였고, 한우에서 분리된 *S. aureus*의 항균제 내성율은 penicillin (100%), tetracycline (76.0%) 등이라고 보고하였다. 이와 같은 결과는 본실험에서 얻어진 결과와 비교해 보면, tetracycline 내성율은 비슷하였고, penicillin과 gentamicin은 많은 차이를 나타내었다. 이와 같이 축종별로 항생제 내성율 차이는 균분리 시료의 차이와 축종별로 자주 사용되는 항균제의 종류가 다름에 따라 항균제 내성율도 차이가 있을 것으로 생각된다.

분리된 *S. aureus*로부터 장독소 및 독소 쇼크성 증후군 독소의 검출을 위하여 *sea*, *sab*, *sec*, *sed*, *see* 및 *tst*를 이용하여 PCR을 수행한 결과 소와 돼지에서 분리된 유래 각각 1균주에서만 127 bp의 증폭산물인 장독소 A (SEA) 유전자가 검출되었고, 다른 분리주에서는 장독소와 관련된 어떠한 증폭산물도 나타나지 않았다.

최근까지 다양한 식품유래의 *S. aureus*에 의해 생산되는 장독소 및 독성 쇼크성 증후군 독소의 독소형 분석이 시도되었다. 이러한 독소형 분석의 결과는 지리학적 분포 및 숙주동물에 따라 다른 양상을 보여주었다. 1997년 프랑스의 Rosec 등¹²⁾은 시판되고 있는 식품에서 조사한 결과, 생유로 만든 치즈가 주된 오염원이었으며, 총 230주의 *S. aureus* 분리주 중 30.5%가 하나 이상의 장독소를 생산하였고, SEC형이 가장 우세한 독소형

임을 보고하였다. 브라질의 Ayulo 등²⁾은 생선류 및 해산물로부터 분리한 *S. aureus* 109주 중 9주 (8.3%)만이 장독소를 생산하였으며, 이중 SEA가 가장 우세한 독소형임을 보고하였다. 또한 자이레의 Mathieu 등¹⁰⁾은 *S. aureus* 53주 중 13주 (25.0%)가 장독소를 생산하였으며, SEA가 가장 우세한 독소형임을 보고하였다.

한편 국내에서 enterotoxin 생성능을 살펴보면 1990년 강 등¹⁷⁾이 집합유로부터 분리한 *S. aureus* 133주 중 SEC를 생산하는 균주가 48.9%, SED 15%, SEA 5.3%라고 보고하였다. 임²⁶⁾은 젓소 유방염 유래 *S. aureus*의 enterotoxin 생산능 조사에서 SEA 17.5%, SEC 0.6%라고 보고하였으며, 김 등¹⁷⁾은 젓소 유방염유로부터 분리한 *S. aureus* 16주 중 56.3%가 SED를 생산하였고, 그 중 2주는 SEB도 동시에 생산하였다고 하였다. 또한 윤 등²³⁾은 식육유래의 *S. aureus*로부터 생산되는 장독소의 독소형을 조사한 결과 19주 중 돼지고기 유래의 1주 (5.3%)만이 SEC를 검출 보고한 바 있다. 위의 성적을 비교해보면 분리된 지역과 시기에 따라 다양한 독소를 생산함을 알 수 있었다.

본 연구의 결과는 기존의 연구결과와 현저한 차이를 보여주었다. 이러한 차이는 가검시료, 시기, 지역 및 독소형 분석방법의 차이에 의한 것으로 추정된다. 위의 결과에서와 같이 국내에서 분리한 *S. aureus*의 독소형은 주로 SEC로서, 많은 연구자들이 국내에서 발생하는 황색포도상구균 식중독에서 식육이 주된 전염원이 아니며, 식육유래 식중독의 발생이 SEA보다는 SEC에 기인될 가능성이 있음을 암시하였다.

하지만 최근까지 다수의 보고에 의하면 *S. aureus*에 의한 식중독에서 SEA에 의한 식중독이 가장 흔한 것으로 알려져 있다. 식육은 많은 병원성 혹은 독소원성 세균의 매개체 역할을 할 수 있으며, 특히 *S. aureus*와 같이 소비되기 전에 식육내에서 성장하여 독소를 생산할 수 있는 병원체에게 있어서 더욱 중요한 감염의 수단일 수 있다. 최근 사람에서 문제시 되는 식중독 원인균 중 *S. aureus*가 생산하는 장독소는 주요한 원인물질의 하나로 인식되어 왔다. 따라서 본 연구에서의 결과는 *S. aureus* 분리균주 수가 다소 적기는 하지만 도체표면에서 SEA가 검출됨으로써 향후 국내에서도 식육유래 *S. aureus*에 의한 식중독이 발생할 가능성이 있음을 알 수 있었다.

결 론

최근 사람에서 문제시 되는 식중독 원인균 중 *S. aureus*가 생산하는 장독소는 주요한 원인물질의 하나로 인식되어 왔다. 따라서 본 연구에서는 최근 개발된 PCR 기법을 이용하여 2008년 3월부터 2009년 11월까지 소와 돼지 도체표면으로부터 분리한 *S. aureus*에 대하여 약제감수성, 장독소 및 독소 쇼크성 증후군 독소의 검출율을 조사하였다.

소와 돼지의 도체표면으로부터 분리한 *S. aureus*의 분리율은 돼지에서 10.6% (17주/160건), 소는 5.6% (9주/160건) 이었다.

돼지유래 균주의 항균제 내성율은 penicillin (94.1%), gentamicin (76.5%), tetracycline (70.6%), erythromycin 및 clindamycin (64.7%) 등이었다. 소유래 균주의 항균제 내성율은 penicillin (88.9%), gentamicin (77.8%), erythromycin 및 tetracycline (66.7%), clindamycin (55.6%) 등이었다.

분리된 *S. aureus* 26균주로부터 *S. aureus*임을 확인하기 위하여 *clfA*를 이용하여 PCR을 수행한 결과 분리된 모든 균주에서 638 bp의 *clfA* 유전자 특이적인 증폭산물이 나타났고, 장독소 및 독소 쇼크성 증후군 독소의 검출을 위하여 *sea*, *sab*, *sec*, *sed*, *see* 및 *tst*를 이용하여 PCR을 수행한 결과 소와 돼지에서 분리된 *S. aureus* 각각 1주에서만 127 bp의 증폭산물인 장독소 A (7.7%)가 검출되었고, 다른 분리주에서는 장독소의 유전자와 관련된 어떠한 증폭산물도 나타나지 않았다. 따라서 본 연구에서의 도체표면에서 분리된 *S. aureus* 분리균주 수가 다소 적기는 하지만 SEA 유전자가 검출됨으로써 향후 국내에서도 식육유래 *S. aureus*에 의한 식중독이 발생할 가능성이 있음을 알 수 있었다.

참 고 문 헌

1. Anderson JE, Beelman RP, Doores S. Persistence of serological activities of staphylococcal enterotoxin A in canned mushrooms. *J Food Protect* 59: pp.1292~1299(1986).
2. Ayulo AM, Machado RA, Scussel VM. Enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in fish and seafood from the southern region of Brazil. *Int Food Microbiol* 24(1~2): pp.171~178(1994).
3. Becker K, Roth R, 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): pp.2548~2553(1998).
4. Davis BD, Dulbecco R, Eisen HN, et al. *Staphylococci*. Microbiology. 4rd. Lippincott: pp.539~550(1996).
5. Hovde CJ, Hackett SP, Bohach, GA. Nucleotide sequence of the staphylococcal enterotoxin C₃ gene: sequence comparison of all three type C staphylococcal enterotoxin. *Mol Gen Genet* 220: pp.329~333(1990).
6. Johnson HM, Russell JK, Pontzer CH. Superantigens on human disease. *Scientific American* pp.92~101(1992).

7. Marrack P, Kappler J. The staphylococcal enterotoxins and their relatives. *Science* 248: pp.705~711(1983).
8. Mason WJ, Blevins JS, Wibowo N, et al. Multiplex PCR protocol for the diagnosis of saphylococcal infection. *J Clin Microbiol* 39(9) : pp.3332~3338 (2001).
9. Munson SH, Tremaine MT, Betley MJ, et al. Identification and Characterization of staphylococcal enterotoxin types G and I from *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun* 66(7): pp.3337~3348(1998).
10. Mathieu AM, Isigidi BK, Devriese LA, et al. Characterization of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. strains isolated from bovine meat in Zaire. hain reaction. *Int Food Microbiol* 14(12): pp.119~125(1991).
11. National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1988. Performance standards for antimicrobial disc susceptibility tests. 6th ed. Approved standard. NCCLS. 18(1):M2~A6(1988).
12. Rosec JP, Guiraud C, et al. Enterotoxin production by staphylococci isolated from foods in France. *Int Food Microbiol* 35(3): pp.213~221(1997).
13. Su YC, Wong AC. Identification and purification of a new staphylococcal enterotoxin, H. *Appl Environ Microbiol* 61(4): pp.1438~1443(1995).
14. Teryama T, Igarashi H. Direct detection of staphylococcal enterotoxin from incriminated foods in food poisoning and coagulase types of the isolates of *Staphylococcus aureus*. *J Japan Food Hygiene Res* 31: pp.193~197(1981).
15. Timoney JF, Gillespie JH, Scott FW, et al. The Genera *Staphylococcus*, Hagans and Bruner's Microbiology and Infectious Disease of Domestic Animals. 8rd. Cornell University Press: pp.171~180(1988).
16. Yoon JW, Park YH, Jung SC, et al. Toxin~typing of staphylococcal enterotoxins A, B, C, D, E, and TSST~1 from mastitic milk using multiplex PCR. 92nd ADSA Annual Meeting, p171(1997).
17. 강호조, 최홍근, 손원근. 생유유래 *Staphylococcus aureus* 의 coagulase형과 enterotoxin 산생. 한국수의공중보건학회 14(1): pp.15~19(1990).
18. 김신, 오유미, 김상윤, 우용구, 권현일. 경북북부지역 젖소 유방염 우유 및 각종 동물로부터 분리한 *Staphylococcus aureus*의 항균제 내성과 MRSA 검출에 관한 연구. 한국가축위생학회지 23(2): pp.153~163(2000).
19. 김신, 홍현표, 김상윤, 권현일, 이희무. 유방염 유즙에서 분리한 포도구균의 분자생물학적 typing과 multiplex PCR 을 이용한 장독소의 검출. 한국가축위생학회지 25(3): pp.275~283(2002).
20. 마점술, 조희택, 이길홍. 경기지방의 젖소 유방염 감염률 및 원인균에 관한 시험. 서울대학교 수의대 논문집 2: pp.25~27(1977).
21. 손봉환, 정길생. 경기지역에 있어서 유우의 유방염에 관한 조사연구. 한국축산학회지 20(3): pp.227~232(1978).
22. 석호봉, 이관원, 오성룡. 성환지역의 유우유방염에 관한 연구. 1. 유방염의 발생 실태와 그 원인균 조사. 대한수의학회지 21:pp.161~165(1981).
23. 윤장원, 정석찬, 양수진, 정병열, 서근석, 김소현, 박용호. 식육유래의 *Staphylococcus aureus*으로부터 산생되는 staphyococcal superantigens의 유전자형 분석. 대한수의학회지 38(3): pp.553~558(1998).
24. 이우원, 정병열, 이강록, 이동수, 김용환. 소와 돼지유래 *Salmonella*속 균의 혈청형 및 약제감수성. 한국가축위생학회지 32(1): pp.49~59(2009).
25. 이우원, 이승미, 이강록, 이동수, 박호국. Multiplex PCR 기법을 이용한 *Salmonella* Enteritidis와 *Salmonella* Typhimurium의 특이적 검출에 관한 연구. 한국가축위생학회지 32(2): pp.147~153(2009).
26. 임숙경. 젖소 유방염 유래 *Staphylococcus aureus*의 유전학적 특성과 약제내성에 관한 연구. 전남대학교 대학원 수의학 박사학위논문(2000).
27. 장현규. *Staphylococcus aureus*의 항생제 내성에 관하여. 조선대학교 대학원 석사논문(1989).
28. 정창국, 한홍률, 정길택. 우리나라 젖소 유방염 원인균의 역학적 조사 및 치료에 대한 연구. 대한수의학회지 10(1): pp.39~45(1970).