

# 포도상구균과 식품안전

## Staphylococci and Food Safety

구민선 | 안전성연구단

Min-Seon Koo | Food Safety Research Group

포도상구균(Staphylococci)은 1878년 Robert Koch가 처음으로 화농염증 검체에서 발견하였으며, 식중독과의 관련성은 1914년 Barber가 유선염을 앓고 있는 소의 우유를 직접 마시고 확인하였다. 그 이후로 Staphylococci 속의 균들이 세계적으로 공통적인 식중독의 원인이라는 것이 알려지게 되었다. 포도상구균 식중독의 대부분은 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*)과 관련되지만, 포도상구균의 다른 종들도 병원성 특성을 보유하고 있어 식중독을 발생시킨다.

황색포도상구균(*S. aureus*)은 건강한 성인의 40~50%가 보유하고 있는 비강과 구강 인후 점막의 상재균이지만, 각종 화농성 염증과 패혈증의 주 원인균이기도하다. 또한 1980년경 독소성 쇼크 증후군(toxic shock syndrome)의 원인균으로도 밝혀졌다. 사람은 황색포도상구균의 주요 오염원으로 다른 사람 및 식품으로 전파를 하는 매개체이기도 하다.

황색포도상구균은 병원성을 가진 세포 외 효소와 장독소를 생산하여 독소형 식중독을 유발시킨

다. 일반적으로 황색포도상구균 식중독은 오염된 식품을 섭취한 후 1~7시간 이내에 발병하여 구역질, 구토, 복통, 설사 등의 증상을 유발시킨다. 주요 오염식품으로는 다짐육, 해산물, 크림빵 등이지만, 적절하지 못한 제조, 유통, 보관된 식품은 다 가능성이 있다.

포도상구균은 식품산업과 공중보건 분야에서 가장 우려가 큰 미생물 중 하나로, 포도상구균 식중독 발생을 최소화하기 위해서는 깨끗한 원료의 사용, 미생물 증식과 독소 생산을 억제할 수 있는 환경 조성, 재오염 방지 등이 반드시 필요하다.

## 포도상구균의 특징

### 분류학적 위치

포도상구균은 그람양성구균으로, *Staphylococcaceae* 과에 속하며, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis* 등의 종들이 있다. 병

원성이 밝혀진 포도상구균들은 세포 외 효소(exoenzymes)인 coagulase, protease, nuclease, hemolysins 등과 장독소(enterotoxin)를 생산한다. 포도상구균이 생산하는 장독소는 저분자의 single chain 단백질로, 각각 독특한 antigenic site를 가지고 있다. 현재까지 혈청학적으로 18종의 staphylococcal enterotoxins(SEA~SEE, SEG~SER, SEU)이 알려져 있다.

포도상구균은 coagulase와 deoxyribonuclease(DNase)의 생산여부에 따라 나뉘기도 한다. DNase는 열에 안정한 효소로써 TNase(thermostable nuclease)로 불리며, coagulase의 생산 여부에 따라 coagulase-positive staphylococci(CPS)와 coagulase-negative staphylococci(CNS)로 나뉜다. CPS는 대부분 사람과 동물, 모두에게 병원성을 가

지고 있으며, 장독소는 Table 1에서 보는 바와 같이 CPS와 CNS 모두 생산하여 식중독을 유발시킬 수 있다.

### 형태학적 특징

포도상구균은 그람양성, catalase 양성인 구균이다. 세포는 비교적 작고(대략 0.5~1  $\mu\text{m}$ )이고, single cell로 발생해서 한 쌍 또는 4개씩 포도송이 모양의 배열을 갖는다. 비운동성으로, 편모(flagellar), 포자(spore), 협막(capsule)은 없지만 때로는 협막 모양의 점액층을 형성하는 균도 있다. 호기성 및 통성혐기성균으로 respiratory와 fermentative metabolism 모두가 가능하다. 보통한천배지에서 백색 또는 연한 황색의 집락으로 잘 발육한다.

**Table 1.** Species of staphylococcal of importance in foods; coagulase, nuclease and enterotoxin properties

Organism	Coagulase	Nuclease	Enterotoxin
<i>S. aureus</i>	+	+	+
<i>S. intermedius</i>	+	+	+
<i>S. hyicus</i>	(+)	+	+
<i>S. delphini</i>	+	-	NA
<i>S. schleiferi</i>	+	+	NA
<i>S. caprae</i>	-	+	+
<i>S. chromogens</i>	-	(+)	+
<i>S. cohnii</i>	-	-	+
<i>S. epidermidis</i>	-	-	+
<i>S. haemolyticus</i>	-	+	=
<i>S. lentus</i>	-	NA	+
<i>S. saprophyticus</i>	-	-	+
<i>S. sciuri</i>	-	NA	+
<i>S. simulans</i>	-	V	NA
<i>S. warneri</i>	-	+	+
<i>S. xylosus</i>	-	-	+

+ = positive; - = negative; (+) = weekly positive; V = variable; NA = not available

(D' Aoust et al., 2007)

### 생리학적 · 생화학적 특징

각종 배지에서 잘 발육하며, 다양한 탄수화물을 사용(발효)하여 산을 생성할 수 있다. 그리고 백색, 오렌지색 또는 황색의 색소를 생산한다. 병원성이 있는 균은 용혈작용과 혈장응고 작용이 있는 것으로 알려져 있지만 최근에는 혈장응고 작용이 없는 균에서도 병소가 분리되고 있다.

### 온도의 영향

황색포도상구균은 식품산업에서 가장 우려되는 균으로 포도상구균 중 가장 많은 연구가 이루어졌다. 이 균의 최적 온도는 35~40℃이지만, 성장이 가능한 온도는 7~48℃이다(Table 2). 저온살균 적용 온도에서는 쉽게 죽지만, 건조된 고지방 식품에서는 열에 대해 내성(heat resistance)을 보인다. 성장한 온도에 따라 열에 대한 내성도 변화하여, 37℃ 이상의 온도에서 성장한 균은 내성이 증가하고, 20℃ 이하에서 성장한 균은 내성이 감소하는 것으로 알려져 있다. 또한 이 균은 -20℃에 저장된 식품에서는 동결, 해동 등의 과정에 대해 매우 강한 내

성을 가져 생존이 가능하다.

### pH와 수분활성도(water activity, $a_w$ )

황색포도상구균 성장의 최적 pH는 6~7이지만, pH 4~10의 범위에서도 성장이 가능하다. 일부 균주는 염산 같은 무기산이 산미제로 사용된 식품에서 pH 4.3 이하에서도 성장이 가능한 것으로 알려져 있다. 유기산이 사용된다면 pH limits는 더 높아진다. 포도상구균은 염에 대해서도 비교적 강한 내성이 있어서 다른 비호염성 세균에 비해 높은 염도, 즉 낮은 수분활성도에서도 성장이 가능하며, 성장 가능한 최소  $a_w$ 는 0.86이다.

### 독소

포도상구균이 생산하는 포도상구균 장독소(Staphylococcal enterotoxins, SEs)는 균을 배양하거나 식품 제조 환경 하에서 균이 성장하면서 독소가 생산·배출된다. 독소는 주로 황색포도상구균이 생산하지만, *S. intermedius*와 *S. hyicus* 등의 중도 독소를 생산한다.

**Table 2.** Limits for *S. aureus* growth and enterotoxin production

Factor	Growth*		Toxin production*	
	OPTIMUM	RANGE	OPTIMUM	RANGE
Temperature (°C)	37	7~48	40~45	10~48
pH	6~7	4~10	7~8	4.5~9.6 ▲
Water activity ( $a_w$ )	0.98	0.83~>0.99**	0.98	0.87~>0.99 ▲▲

\* Growth and toxin production limits are for *S. aureus* grown under optimal conditions

\*\* Aerobic (anaerobic  $a_w$  = 0.90~0.99)

▲ Aerobic (anaerobic lower pH limit is 5.0)

▲▲ Aerobic (anaerobic  $a_w$  = 0.92~>0.99)

생산된 SEs의 실제적인 양은 균주에 따라 차이가 있지만, 일반적으로 균이 급속한 성장을 하는 대수 증식기(exponential growth phase) 동안은 매우 낮은 수준으로 생산되고, 대수 증식기 후반(late exponential)이나 초기 정지기(early stationary phase)에서 급속히 증가한다. SEs는 매우 제한된 조건 하에서 생산되지만 성장 환경 인자들에 의해 영향을 받는다. SEB(장독소 B)의 생산은 10°C에 저장중인 '햄'에서도 보고된 바 있으며, SEA, SEB, SEC와 SED는 10°C에서 저장된 조리된 다짐육, 햄, 볼노나 소시지에서 보고되었다. SEs의 생산은 46.6°C의 고온에서도 관찰되었다.

SEs는 열에 내성(resistant)이 매우 강해서 저산성 통조림 식품의 멸균·가열 공정에서도 독성이 유지된다. 또한 SEs는 냉동상태에서도 독성이 유지되는 것으로 알려져 있다.

### 항생제 내성 특성

황색포도상구균은 페니실린(penicillin), 메티실린(methicillin), 겐타마이신(gentamycin), 스트렙토마이신(streptomycin), 에리스로마이신(erythromycin) 등의 항생물질에 대해 내성이 많이 보고되어 있다.

황색포도상구균은 병원 내 감염에 있어서 사람의 창상감염, 폐렴 등을 일으키는 주요 원인균으로, 이 중 대략 60~70%가 메티실린 내성균이다(methicillin resistance *S. aureus*, MRSA). MRSA에 의한 원내 감염은 사회적으로도 심각한 문제가 되고 있으며, 메티실린 내성이며, coagulase 음성인 포도상구균(MRCNS)도 최근 중요한 원내 감염균으로 인식되기 시작했다.

최근에는 식품에서 분리된 황색포도상구균도

메티실린, 페니실린, 겐타마이신 등 다양한 항생제에 대해 내성을 보이고 있다.

### 발생 및 노출

식품에서 주로 오염원은 화농성 질환이 있는 조리인 및 작업자, 소독이 불완전한 식기, 조리 기구 등이며, 감염된 황색포도상구균이 증식하면서 장독소가 생산되어 식품에 존재하여 섭취 시 식중독이 발생한다.

### 오염원과 보균 숙주

포도상구균은 온혈동물의 피부와 표피에 광범위하게 존재한다. 사람은 병원성 포도상구균의 보균자(carrier)로써 다른 사람과 식품으로 전파하는 주요 경로이다. 사람의 구강, 코, 눈, 귀, 점막, 비노생식기계, 피부, 상처 등에 황색포도상구균이 감염되며, 감염된 균수가 많을 때에 병원성을 일으킨다. 현재까지 알려진 포도상구균에 속하는 종의 반 정도는 사람에게만(*S. cohnii* ssp. *cohnii*) 서식하며, 일부 종은 사람과 동물(*S. aureus*) 모두에 서식한다. 사람의 피부는 *S. epidermidis*와 *S. haemolyticus*의 주요 서식처이다.

동물도 포도상구균의 중요한 서식처이다. 황색포도상구균으로 인한 유선염은 우유 및 관련 식품의 오염을 유발하여 낙농산업과 공중보건의 가장 큰 우려가 되고 있다. 포도상구균 중 *S. hyicus*는 종종 돼지의 피부에서 발견되고 있으며 우유와 가공류에서도 분리된다. *S. sciuri*는 설치류의 피부에서 발견되며, *S. lentus*와 *S. caprae*는 양과 양의 젖에서

도 분리된다.

황색포도상구균은 자연계에 널리 분포되어 있어, 식품으로의 오염 경로도 매우 다양하고 복잡하다. 따라서 식품에서 근본적으로 황색포도상구균을 완전하게 차단하기는 어렵다. 대부분의 많은 식품이 포도상구균 식중독을 유발할 가능성은 매우 높다. 대표적으로 오염 가능성이 높은 식품으로는 소고기 다짐육, 해산물(조개, 굴, 게살), 샐러드, 크림빵류, 발효식품(살라미 등 건조되었거나 반 수분 함유식품), 우유 분말, 파스타, 즉석 편의 식품 등이다. 황색포도상구균은 이런 식품의 제조, 가공 또는 저장 동안 수분, 수분활성도 등의 변화에서도 성장이 가능하여 식중독을 유발시킬 수 있다. 환경 및 각종 식품에 대한 황색포도상구균의 오염도, 장독소 생산주의 분포 등에 관한 연구는 많이 보고되어 있는데, 건강한 사람의 2~50%가 황색포도상구균 보균자이며 이들 중 15~20%는 독소를 생산할 수 있는 황색포도상구균을 보균하고 있는 것으로 알려져 있다.

### 매개체와 전파

사람과 동물로부터 식품으로의 전파는 직·간접적인 접촉(피부 조직 등)이나 호흡기(respiratory tract)를 통하여 발생한다. 주요한 식품의 두 가지 오염원은 비강과 개인들이다. 각 개인의 손이나 팔이 오염되고, 오염된 손으로 식품을 처리함으로써 전파된다.

또한 대부분 식품오염은 식품 chain의 어느 단계에서든지 간에 부적절한 위생 관리의 결과이다. 만일 오염된 균이 성장을 허용하는 조건(온도, 기간)에서 저장이 된다면, 장독소가 형성된다. 포도상구균은 가공 설비에서도 집락을 이룰 수 있어(colonization), 분쇄기나 도마 등에서의 세척이 쉽

지 않다. 황색포도상구균 식중독 700여 건의 원인을 분석한 결과는 다음과 같다.

- 부적절한 냉장보관(inadequate refrigeration)
- 미리 제조한 음식의 장거리 이동
- 불량한 개인위생
- 부적절한 조리 방법 또는 가열 조건
- 대용량으로 제공되어 장시간 사용되는 음식

## 오염 현황

### 국내 현황

#### 국내 오염 현황

국내에서 시판되는 빵류, 김밥, 초밥, 햄버거 등 즉석 섭취 식품 3,300여 종에 대해 2년에 걸쳐 황색포도상구균의 오염률을 분석한 결과, 전체 8.6%의 식품에서 황색포도상구균이 검출되었다. 검출률이 높은 제품군은 크림케익류(31.6%), 회류(19.8%), 소가 들어있는 떡류(19.3%) 순이었다. 분리된 황색포도상구균 중 장독소를 생산하는 것으로 확인된 균은 전체의 52.6%였으며, SEA 생산균주가 가장 많이 검출되었고, 다음은 독소성 쇼크증후군 독소(TSST) 생산균주였다. 식품에서 분리된 독소형 황색포도상구균의 분포는 Table 3과 같다.

#### 식중독 발생 현황

2008년도 현재 식품의약품안전청에서 발표한 원인균별 식중독 발생 현황은 Table 4와 같다.

**Table 3.** Toxin typing of *Staphylococcus aureus* isolates from ready-to-eat foods in Korea as determined by reversed passive latex agglutination

Phenotype	No. of strain	Detected %
SEA only	59	79.7
SEA + SEC	1	1.4
SEA + TSST-1	8	10.8
SEB + TSST-1	1	1.4
SEC + SED	1	1.4
SEC + TSST-1	1	1.4
TSST-1 only	3	4.1

(Oh *et al.*, 2005)

Table 4에서 보는 바와 같이 2008년에 황색포도상구균에 의한 식중독은 총 15건에 556명의 환자가 보고되었다. 황색포도상구균에 의한 식중독은 세균에 의한 식중독 중 병원성 대장균, 살모넬라 다음으로 3위를 차지하였다.

년도별 황색포도상구균에 의한 식중독 발생 현황을 보면, 2002년에 8건에 370명의 환자가 발생하였고, 2006년에는 32건에 1,900여명의 환자가 발

생하였다(Table 5).

### 국외 현황

황색포도상구균 식중독(staphylococcal food poisoning, SFP)의 발병은 개인별 차가 있어, 일반적으로 보고되지 않은 SFP가 더 많다고 한다. SFP로 확인된 환자의 대략 10%만이 병원을 방문하여

**Table 4.** Reported outbreaks of illness associated with food in Korea at 2008

	Pathogens	Outbreaks	Patients
Bacteria	<i>Salmonella</i> spp.	22	387
	<i>Staphylococcus aureus</i>	15	556
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	24	329
	<i>Bacillus cereus</i>	14	376
	<i>Clostridium perfringens</i>	6	434
	<i>Campylobacter jejuni</i>	6	73
	Pathogenic <i>Escherichia coli</i>	36	1,278
Virus	Noro virus	69	2,105
	Etc	1	26
Chemical hazard		2	34
Natural toxin		2	50
Unknown		157	1,839
Total		354	7,487

(식품의약품안전청, 식중독 발생 통계 현황)

**Table 5.** Foodborne outbreaks by *Staphylococcus aureus* reported in Korea between 2002 and 2008

Year	Outbreaks	Patients
2002	8	370
2003	13	808
2004	11	763
2005	16	863
2006	32	1,924
2007	38	843
2008	15	556
2009 (~6월까지)	8	372
합계	141	6,499

(식품의약품안전청, 식중독 발생 통계 현황)

식중독을 확인하는 것으로 알려져 있다.

황색포도상구균이 오염된 식품을 섭취함으로써 미국에서는 185,000건의 식중독이 발생하였으며, 생산비용과 의학비용으로 15억 달러가 소비되었다.

지금까지 보고된 SFP 중 가장 큰 것은 2000년 일본의 Kansai district에서 발생한 것으로, 10,000 이상의 식중독 발생이 이 지역에서 보고되었다. 오염 경로를 추적한 결과 디저트로 제공된 저지방 우유 분말에 오염된 황색포도상구균이 원인으로 밝혀졌다. 오염된 디저트에서는 장독소 A가 3.7 ng/g 수준으로 검출되었으며, 사람당 섭취된 총량은 대략 200~100 ng으로 추정되었다. 우유 분말은 생산 공정에서 130°C에서 2~4초간 살균처리되어 황색포도상구균의 균체는 살균되었지만 장독소는 활성이 유지되어 식중독이 발생하였다.

1999년 일본에서 발생한 SFP은 난황(egg-yolk, EY) reaction-negative strain에 의해 발병하였다. 회사 식당에서 점심 식사를 한 53명이 발병하였는데 이 중 8명은 병원 치료를 받았다. 전형적인 SFP로 잠

복기는 1.5~4시간이었으며, 설사, 구토 등의 증상이 있었다. 황색포도상구균과 장독소 A가 8명의 환자 분변 중 4개의 시료와 제공된 점심에 있는 스크램블 egg에서 분리, 검출되었다. 환자와 식품에서 분리된 모든 균주는 EY reaction-negative, coagulase-positive로, 이런 균주에 의한 식중독 발생은 많이 보고되지 않은 균주로, EY reaction-negative colonies에 대한 연구는 많이 이루어지지 않고 있어 많은 우려를 주고 있다.

대부분의 SFP 식중독은 장독소를 생산하는 포도상구균을 가진 건강한 보균자와 깊이 관련이 있다. 예를 들어 2003년 브라질의 레스토랑에서 식사를 한 42명 중 31명이 식후 30분 안에 구토, 설사, 어지럼증이 유발되었다. 원인 분석 결과 제공된 코스 요리 중 chicken pancake에서 독소형 포도상구균이 검출되었다. 분리된 균주는 SEA, SEB, SED를 생산하였으며, 레스토랑에 있는 식품을 취급하는 건강한 5명의 스텝 중 4명의 비강과 손톱에서 SEA, SEB, SEC, SED를 생산할 수 있는 황색포도상구균이 분리되었다. 따라서 이 식중독의 오염원은 식품

취급자로 결론을 내렸다. 이런 병원균을 보균한 식품 취급자는 최근 몇 년간의 조사에서 높은 빈도로 확인되었다.

## 독성 정보

### 임상적 특성

황색포도상구균 식중독(staphylococcal food poisoning, SFP)은 황색포도상구균이 생산한 장독소를 섭취함으로써 발생한다. 일반적으로 황색포도상구균이 생산하는 장독소(SEs)는 일차적인 식중독 인자로 알려져 있다. 장독소를 생산하는 황색포도상구균인 *S. aureus*는 한 가지 또는 두 가지형 이상의 독소를 생산한다.

SFP에 의한 임상적 증상은 메스꺼움, 구역, 구토, 복부 통증, 설사 등이며, 두통, 무력감, 어지러움, 오한, 발한 등의 증상도 생기기도 한다. 증상의 발현은 섭취 후 1~7시간 사이지만, 보통은 2~4시간 사이에 발생한다. 증상은 대부분 self-limiting(10일 이내에 저절로 치유되는 질환)으로 대부분 2일 이내에 회복된다. 통상적인 사망률은 0.03%이고, 노약자 등의 위험군에서도 4.4%로 매우 낮은 편이다. SFP 이외에도 황색포도상구균은 화농성 염증, 패혈증, 부스럼, 모낭염, 중이염, 결막염 등도 유발시킨다.

### 병원성(pathogenicity)

병원성 포도상구균을 구별하기 위해 사용되는 지표(marker)로는 혈장응고효소(coagulase)와 장

독소(enterotoxin)가 있다. 혈장응고효소는 cell-free형과 cell-bound형이 있으며, 면역학적으로 분명하게 차이를 보이고, 작용기작도 다르다. 이 효소는 대부분의 독성 균주(virulent strain)에서 생산되며, fibrin barrier를 유발시켜 국지적 staphylococcal 손상(localized staphylococcal lesions)과 혈병(clot)을 유도한다. 하지만 최근 coagulase-negative staphylococci가 병원성을 보유한 것이 확인되어서 아직도 많은 연구가 필요하다.

SEs는 포도상구균과 *Streptococcus pyogenes*가 생산하는 pyrogenic toxins(PTs)의 큰 family 중 하나이다. 이들은 생물학적, 생화학적 특성의 차이로 분류되며 'super antigen'으로 언급되기도 한다. SEs가 PTs 계열이기는 하지만, 섭취 시 메스꺼움 증상을 보이는 것은 SFP에서만 보이는 특징이다. 독소의 작용기작을 보면, 구토와 설사는 장관 내에서 local neuroreceptor가 자극을 받아 뇌의 구토중추로 자극을 전달한 결과에 의한 것이라고 알려져 있다.

황색포도상구균이 생산하는 독성 인자로는 thermonuclease(TNase), hyaluronidase, lipases, hemolysin 등이 있다. TNase는 열에 안전한 endo, exo-nuclease로 숙주세포에서 DNA와 RNA의 가수분해(hydrolysis)를 유발시키며, hyaluronidase는 mucopolysaccharide의 세포 내 matrix를 붕괴시켜 숙주 세포 내에서 주변으로 포도상구균의 확산을 촉진한다. 이때 lipase는 균이 피부와 피하 조직으로 퍼지도록 하며,  $\alpha$ -hemolysin은 적혈구의 용혈반응을 유발한다.  $\beta$ -hemolysin은 lipocarbohydrate sphingomyelin complex에서 작용하여,  $\delta$ -hemolysin이 다양한 세포에서 lysis를 일으키도록 한다.



## Infectious Dose

일반적으로 식품 1g당 황색포도상구균이  $10^5$  수준으로 오염되어 있으면, 식중독을 일으키기에 충분한 장독소를 생산하는 것으로 알려져 있다. 식품 1g당 장독소가 1 ng 수준이면 SFP와 관련된 증상을 유발시키는데 충분하다. 균종에 따라 생산하는 독소의 양에는 차이가 있다.

## 위해평가

### 황색포도상구균 독소의 인체위해 용량

황색포도상구균의 독소가 인체에 위해를 줄 수 있는 위해용량 연구를 통하여, Balaban과 Rasooly는 인체에 미치는 황색포도상구균의 독소량은 100 ng이라고 보고하였다. 정 등은 @ Risk를 이용하여 식중독 발생 가능한 균체량을 산출하여, 김밥의 경우에는 섭취량을 고려할 때 인체위해 용량인 100 ng을 섭취할 수 있는 균체량의 예측값이 30℃에서 최소 5.93 log CFU/g, 평균값은 6.99 log CFU/g, 최대값은 9.00 log CFU/g로 산출되었으며, 25℃에서 최소값은 7.34 log CFU/g, 평균값은 7.35 log CFU/g, 최대값은 7.43 log CFU/g로 보고하였다. 샌드위치의 경우는 설정한 온도에서는 인체위해 용량을 섭취할 정도의 독소가 생산되지 않았다. 이들 결과들을 근거로 인체위해 용량을 섭취할 정도의 독소를 생산하는 균체량은 5.00 log CFU/g로 결정하였다.

## 각국의 관리 현황

### 기준 규격

우리나라 식품공전에서 2009년 현재 황색포도상구균은 정성 규격과 정량 규격으로 나누어 기준 규격이 설정되어 있다. 황색포도상구균이 검출되어서는 아니된다라고 규정하고 있는 것은 '별도의 규격이 정하여지지 않은 제조·가공용 원료를 제외한 식육, 살균 또는 멸균처리 하였거나 더 이상의 가공, 가열조리를 하지 않고 그대로 섭취하는 가공식품'이며, 즉석섭취·편의식품류는 황색포도상구균을 1g당 100 이하로 정량 기준을 설정하고 있다.

호주 및 뉴질랜드에서는 더 이상의 가열·조리 없이 섭취할 수 있는 냉동 전 가열·조리된 냉동식품(frozen pre-cooked food)에 대해 식품 1g당 coagulase-positive staphylococci 100 이하, 단 냉동 전 가열된 새우(prawn)의 경우 500 이하로 기준을 설정하고 있다. 또한 호주에서는 식품에 미생물 한계기준(microbiological limits for food, STANDARD 1.6.1)을 설정하여 운영하고 있다. 이 기준은 지정된 식품이나 식품류에 인간의 건강을 해칠 수 있는 식인성 미생물의 최대허용기준을 규정하고 있다. 이 기준은 특정식품이나 식품류의 시료채취 룯트로 사용되는 의무 시료계획이나 인체에 해를 미칠 수 있는 시료채취 룯트에 대한 판매금지를 명할 수 있는 기준이 된다. 이 기준에 따르면 시험할 모든 시료는 룯트당 5개 이상을 취하여 4개 이상의 시료가 기준에 적합하여야 하며, 하나 이상의 시료에서 부적합 기준을 초과할 경우에는 전체 룯트를 부적합으로 처리하도록 규정하고 있다.

Coagulase-positive staphylococci의 미생물 한계기준은 영유아용 제품은 g당 불검출이며, 유제품은 g당 10 이하, 비가열 육류는 g당  $10^3$  이하, 가열 육류는 g당  $10^2$  이하, 갑각류는 g당  $10^2$  이하이다.

영국의 식품규격청(food standard agency, FSA)에서는 식품과 유제품 형태에 따라 미생물적 위험성을 고려하여, 5개의 카테고리로 설정하고, 각 카테고리에 따라 미생물 기준을 설정하였다. 미생물 기준도 '만족(satisfactory)-적합(acceptable)-불만족(unsatisfactory)-부적합(unacceptable/potentially hazardous)'으로 나누어 설정하였다. 황색포도상구균의 경우 기준이 설정된 식품에 한하여 100 이하의 적합,  $10^4$  미만은 불만족,  $10^4$  이상은 부적합으로 규정하였다.

호주, 영국, 캐나다 등 대부분의 나라에서 황색포도상구균의 기준은 영유아식은 보다 엄격하여 대부분 불검출 또는 10 이하이며, 그 외 식품의 경우는  $10^2$ ~ $10^3$  미만으로 규정하고 있다.

## 관리동향

지난 10년간 황색포도상구균의 관리를 위해 US FDA와 codex alimentarius commission, ISO, AOAC 등이 협의를 통하여, 통합된 staphylococci와 staphylococcal enterotoxin의 검출 및 분리를 위한 공인된 방법이 만들어졌다. 이때 사용된 기준은 포도상구균에 의한 위험을 제어하고 평가하기 위한 프로그램의 일환이었으며, 다음 사항들에 대한 평가의 필요성에서 수립되어졌다.

- The safety of food, ingredient or process
- Compliance with good manufacturing

process(GMP)

- Their role in part of a development program
- Suitability of a food or ingredient
- The shelf life of perishable foods

유럽에서는 european commission regulation(ec regulation N° 2073/2005)에서 “식품에는 사람의 건강에 위험이 될 수 있는 미생물이나 그들이 생산하는 독소 또는 대사산물이 포함되어서는 아니된다 (foodstuff should not contain microorg-anisms or their toxins or metabolites in quantities that present an unacceptable risk for human health.)”라고 명시하였다. 이에 따라 낙농제품, 패류가공품 등에 대해 coagulase-positive staphylococci에 대한 개별 식품안전을 위한 기준이 만들어 졌다. 이들에 대한 자세한 정보는 ‘Commission Regulation(ec) N° 2073/2005 of 15th November, 2005, on microbiological criteria for foodstuff available from the Official Journal of the European Union(www.ojec.com)’에서 확인할 수 있다.

## 예방법

식품제조에서 소비까지 시간을 단축하고(실온에서 최장 4시간 정도), 부패하기 쉬운 음식을 2시간 이상 보존해야 할 경우에는 60℃ 이상 혹은 10℃ 이하, 가능하면 4℃ 이하에서 보존한다.

식품산업은 그들 제품의 안전을 확보하고, 시장에서 안전하지 못한 식품을 방출하고, 공공위생을 보호하는데 기여할 의무가 있다. 식품안전은 일차적으로 ‘preventative approach, implementation of good hygiene practice, HACCP principles’에 근거한

절차를 적용하여 확인한다. 미생물 기준은 식품, 조제, 취급, 유통 과정 등에 대한 적합성(acceptability)에 대한 guidance를 제공하지만, HACCP-based procedures와 hygiene control measure의 통합된 부분으로 구성되어야 한다.

식품에서 pathogenic staphylococci의 존재와 관련되는 hazard는 황색포도상구균이 생산하는 독소이다. 따라서 이의 효율적 관리를 위한 critical control points(CCP)는 아래 사항을 포함하여야 한다.

- Pathogenic staphylococci의 오염도가 낮은 원료의 사용
- 미생물 오염을 낮추고, 병원체를 제거하기 위한 적절한 처리법의 사용
- 취급과 보관 동안 병원체의 증식을 막기 위한 온도(저온) 및 첨가제의 사용
- 재오염을 막기 위한 위생적인 취급 및 절차

## 분석법

황색포도상구균의 선택배지나 직접계수법을 위한 배지로 Baird-Parker 배지(BPA)가 전 세계적으로 가장 공통적으로 사용된다. 이 배지는 lithium chloride와 potassium tellurite가 들어 있어, 황색포도상구균과 경쟁하는 다른 균이 성장하지 못하게 한다. 또한 황색포도상구균이 성장하면서 배지에 포함된 potassium tellurite가 환원되면서 전형적인 검은색 집락을 만들도록 유도한다. 첨가된 sodium pyruvate와 egg-yolk로 인해 injured cell도 검출될 수 있으며, 집락주위에 halo와 침전을 유도함으로써 lipolytic-positive staphylococci가 분화하도록

하고 있다.

황색포도상구균이 생산하는 장독소(SEs)의 검출은 각 SEs에 대한 특이적 항체를 사용하여 검출한다. 가장 먼저 발전된 방법은 gel을 사용하는 것으로 항원, 항체 반응에 의하여 유발된 침전 반응으로 확인한다. Microslide 방법은 감도(0.05~0.1 ug/ml)는 높지만, 결과 해석에 주의를 기울여야 한다. 그 외에도 식품에서 SEs의 검출을 위해 유용한 방법들은 대부분 ELSIA나 reversed passive latex agglutination(RPLA)에 근거한 방법들로, RPLA 방법이 가장 일반적으로 쉽게 사용되는 방법이지만, 식품에 따라 false-positive(coagulation) 반응을 주의하여야 한다.

## 국내 시험법

### 식품공전

우리나라 식품공전(2009)에서 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*)의 분석법은 정성시험법과 정량시험법 두 가지로 되어 있다. 우리나라에서는 황색포도상구균이 생산하는 독소는 기준이 없어 분석법이 명시되어 있지 않다. 정성시험법에서 증균배지로 10% NaCl을 첨가한 TSB 배지를 사용하며, 분리배지는 난황첨가 만니톨 식염한천배지(mannitol salt agar) 또는 Baird-Parker 한천평판배지를 사용한다. 난황첨가 만니톨 식염한천배지에서는 황색 불투명 집락(만니톨분해)을 나타내고 주변에 혼탁한 백색환(난황반응 양성)이 있는 전형적인 집락을, Baird-Parker 한천평판배지에서는 투명한 띠로 둘러싸인 광택이 있는 검정색의 전형적인 집락을 선정하여 확인시험을 실시한다. 확인시험

은 전형적인 집락을 선택하여 보통 한천배지에 배양하여 형태학적, 생화학적 및 병원성 특징을 분석하여 실시한다. 황색포도상구균은 그람양성구균, coagulase 양성, hemolysis 양성이다.

정량시험법은 검체 25 g(ml)에 10배의 멸균 인산 완충 희석액을 넣고 충분히 혼합하여 시험용액을 조제하고, 10진 단계로 희석하여, 선택배지로 Baird-Parker 한천평판배지 3장에 0.3 ml, 0.4 ml, 0.3 ml씩 총 접종액이 1 ml이 되게 도달한다. 도달된 플레이트를 35℃에서 45~48시간 배양하여 전형적인 집락의 수를 계수하며, 계수한 평판에서 5개 이상의 전형적인 집락을 선별하여 보통한천배지에 접종하고 정성시험과 같은 방법으로 확인시험을 실시하여 결정한다.

### 황색포도상구균 감염증 확인법

우리나라에서 황색포도상구균 감염증은 대변을 검체로 하여 분석한다. 대변은 항생제 치료 이전에 채취하여, 만니톨 식염한천 배지(MSA)에서 분리 배양한다. 대변 1 g 정도를 떼어 넣어 분리배지에 면봉으로 직접 찍어 바르고, loop로 희석해 가면서 집락들이 잘 분리되도록 배지 전체에 바른다. 증균은 식품에서와 같이 10% NaCl을 첨가한 Tryptic Soy 액체 배지를 사용하며, 선택배지로는 난황첨가 만니톨 식염배지(MSA)를 사용한다. 전형적인 집락(황색으로 불투명하며, 주변에 혼탁한 백색환)을 선정하여 확인 시험을 하여 그람양성구균, coagulase 양성을 확인한다. 또한 분리된 황색포도상구균과 장염을 일으키는 병원성 황색포도상구균의 구별을 위해 PCR을 이용하여 확인 동정 실험을 시행한다. PCR법을 이용하여 장염을 일으키는 병원성 황색포도상구균의 병원성

인자인 장독소(enterotoxin)의 검출여부로 판정한다.

### 외국 시험법

#### Coagulase-positive staphylococci

황색포도상구균을 직접 계수하기 위한 선택배지는 Baird-Parker 배지(BPA)가 가장 많이 공통적으로 사용된다. 선택배지에서 전형적인 집락을 선택하여 rabbit plasma를 사용하는 coagulase test를 하거나, rabbit plasma가 첨가된 재조합배지를 사용하여 coagulase-positive staphylococci를 선택한다.

ISO에서는 coagulase-positive staphylococci의 계수방법으로 3가지가 있다.

'Microbiology of food and animal feeding stuffs-horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci(*Staphylococcus aureus* and other species)'

- Part 1 : EN ISO 6888-1. Technique using Baird-Parker agar medium
- Part 2 : EN ISO 6888-2. Technique using rabbit plasma fibrinogen
- Part 3 : EN ISO 6888-3. Detection and MPN technique for low numbers

### 장독소의 검출

식품에서 SEs의 검출을 위해 사용되는 ELISA 방법은 식품에서 독소의 추출법에 따라 차이를 보인다. 최근 시료의 특성에 따라 추출 및 정제에 사용되고 kits의 사용으로 정확도가 높아지고 있다. 유럽의 EC

regulation N° 073/2005에서 언급된 reference SE detection methods는 VIDAS® SET2(bioMérieux, Marcy l'Etoile, France)와 Transia plate SET(RAISIO Diagnostics, BioControl Systems Inc.) 등이 있다.

특히 유럽에서는 규격에 우유와 유제품에 있어서 ELISA 시험을 위한 추출법을 명문화하였다. VIDAS SET2에서는 dialysis/concentration을, Transia plate SET에서는 rabbit immunoglobulins를 사용하는 추출물의 전처리 및 전처리 후 dialysis/concentration이 사용되고 있다. 자세한 정보는 'Agency Française de Sécurité Sanitaire des Alim-nets(AFSSA), web site(www.afssa.fr)'에서 확인할 수 있다.

최근에는 PCR을 이용하여 staphylococci에서 enterotoxin의 유전자를 검출하는 방법이 널리 채택되고 있다. PCR 방법은 highly-specific하고 sensitive해서 다른 기법에 비해 sensitive하고 rapid하며 species dependent하지는 않다. 이 방법은 직접적으로 toxin을 검출하는 것이 아니고 toxin을 code하는 유전자를 검출하는 방법이다.

● 참고문헌 ●

1. 강윤숙, 윤선경, 좌승엽, 이동하, 우건조, 박영식, 김창민, 김밥 중 황색포도상구균의 분포 조사, J Fd Hyg Safety, 17(1), 31-35, 2002
2. 식품의약품안전청 식중독예방 대국민 홍보사이트 (<http://fm.kfda.go.kr/education/necessity.php>)
3. 정명섭, 김용수, 노민정, 김우선, 박인숙, 김애영, 박연희, 오덕환, 하상도, 서교영, 허선경, 김영국, 최재호, 심영환, 김태웅, 즉석섭취식품의 *Staphylococcus aureus* 저감화를 위한 위해관리 연구 (II), 식품의약품안전청 용역연구보고서, 2007
4. Adesiyun AA, Tatini SR, Hoover DG, Production of enterotoxin(s) by *Staphylococcus hyicus*, Vet Microbiol, 9, 487-495, 1984
5. Asato T, Kumeda Y, Kawai T, Shibata T, Oda H, Haruki K, Nakazawa H, Kozaki S, An extensive outbreak of staphylococcal food poisoning due to low-fat milk in Japan : estimation of enterotoxin A in the incriminated milk and powdered skim milk, Epidemiol Infect, 130, 33-40, 2003.
6. 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
7. Brown MH, Meat microbiology, Applied Science Publishers, London and New York, 269-486, 1982
8. D'Aoust JY, Barbes R, Carter M, Evanson D, Fanning S, Flowers R, Jaykus LA, Louve JL, Kennedy J, McClure J, McNamara AM, Madsen M, Nesbakken T, Notermans S, Ottaviani F, Ottaviani M, Smoot M, Swaminathan B, Verozy-Rozand C, Wall P, Food safety handbook-Microbial challenges, Biomérieux, 2007
9. Food Microbiology, Fundamentals and Frontiers 2<sup>nd</sup> Edition, ASM press, 2001
10. Fueyo JM, Martin MC, Gonzalez-Hevia MA, Mendoza MC, Enterotoxin production and DNA fingerprinting in *Staphylococcus aureus*

- isolated from human and food samples. Relation between genetic types and enterotoxins, *Int J Food Microbiol*, **67**, 139-145, 2001
11. Gilbert RJ, de Louvois J, Donovan T, Little C, Nye K, Ribeiro CD, Richards J, Roberts D, Bolton FJ, Guidelines for the microbiological quality of some ready-to-eat foods sampled at the point of sale. PHLS Advisory Committee for Food and Dairy, *Commun Dis Public Health*, **3**, 163-167, 2000
  12. Gustafson J, *Staphylococcus aureus* as a food pathogen : the staphylococcal enterotoxins and stress response systems, in Griffiths M (ed), *Understanding pathogen behaviour : virulence, stress response and resistance*, Woodhead publishing Limited, 2005
  13. Kim DH, Kwon KR, Lee KH, Ju YR, Oh KS, Kark HS, Study on Staphylococcal enterotoxin, Report of NIH Korea, **25**, 297-307, 1988
  14. Koo MS, Lee N, Cho YS, Shin DB, Lee YS, Cha JO, Molecular characterization of toxigenic *S. aureus* with ready-to-eat in Korea. International Association for Food Protection, Calgary Alberta, Canada, **174**, 2006
  15. Hepner E, Food poisoning and Salmonella infections in England and Wales, 1976-1978, *Publ Hlth Lond*, **94**, 337-349, 1980
  16. [http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/res-rech/analy-meth/microbio/index\\_e.html](http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/res-rech/analy-meth/microbio/index_e.html)
  17. Jablonsk L, Bohach GA, Beucha LR, Doyle MP, Montiville R(ed), *Food Microbiology : Fundamentals and Frontiers*, ASM press ISBN 978-1555812089, 2001
  18. Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig LF, Bresee JS, Shapiro C, Griffin PM, Tauxe RV, Food-related illness and death in the United States, *Emerg Infect Dis*, **5**, 607-625, 1999
  19. Naomi Balaban, Avraham Rasooly, Staphylococcal enterotoxins, *Int J Food Microbiol*, **61**, 1-10, 2000
  20. Noterman S, Heuvelman CJ, 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
  21. Oh SK, Lee N, Cho YS, Shin DB, Choi SY, Koo M, Occurrence of toxigenic *Staphylococcus aureus* in ready-to-eat foods in Korea, *J Food Prot*, **70**(5), 1153-1158, 2007
  22. Tatini SR, Bennett R, *Staphylococcus : Detection by cultural and modern techniques*, In Robinson R, Patel P, Batt CA(ed), *Encyclopedia of Food Microbiology*, Academic press, ISBN 978-0122270703, 1999
  23. Todd E, Preliminary estimated of costs of food borne disease in the United States, *J Food Prot*, **52**, 595-601, 1989

**구민선** 이학박사

소 속 : 한국식품연구원 안전성연구단

전문분야 : 미생물(위해미생물, 항균물질)

E-mail : [minsk@kfri.re.kr](mailto:minsk@kfri.re.kr)

T E L : 031-780-9161