

# 병원성 대장균(O157:H7) 감염증의 특성 및 예방대책

정석찬 · 정병열 · 조운상 · 김종엽 · 이재진

사람의 식품 매개질병은 약 250종 이상이 알려져 있으며 이 중에서 동물성 식품과 관련된 식품 매개성 주요 병원체는 약 25종이다. 세계적으로 축산물에서 기인될 수 있는 가장 흔한 병원체로서 *Salmonella*, *Campylobacter*, *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* 및 *Bacillus cereus* 등이 있다. 오염된 식품에 의한 식중독은 일반적으로 산발적이지만 많은 사람이 이용되는 식당의 경우는 음식을 많이 만들기 때문에 발생 규모가 매우 크므로 공중위생학적인 측면에서 매우 중요시 되고 있다.

Shiga-like toxin(SLT)를 생성하는 *E. coli*는 사람에 강한 병원성을 나타내는 원인체로서 1982년 미국에서 *E. coli* O157:H7에 의한 식중독이 처음 보고되었고, 이균에 의한 식중독은 북미, 유럽, 남아프리카, 일본, 남미 및 호주의 남해안지역 등 세계적으로 문제시 되고 있다. 일본에서는 1996년 6월부터 8월까지 10,000여명의 환자가 발생하여 10명이 사망한 것으로 알려졌다.

또한 국내에서는 1994년에 경남 고성군에서 상가 문상객중 6명이 설사증세를 보여 가검물에서 채취 확인한 결과, 6명중 1명에서 국내 최초로 O157균이 분리된 바 있다고는 하나 대규모 집단발생된 예는 아직까지 없다. 그러나 보건복지부에서는 시중 부산물 판매업소에서 수거한 소의 간에서 병원성 대장균 O157:H7이 검출되었다고 보도('96. 8. 16)하여 사회적 문제를 야기시키고 있다.

우리나라에서 대장균(O157:H7)에 의한 식중독은

문제되지 않고 있으나 소의 간, 천엽, 육회 등 날고기를 즐겨먹는 식습관으로 식중독 발생이 우려되며 또한 식습관의 서구화 및 유통 음식물의 위생관리수준 등을 고려할 때 이 균에 의한 집단발생 가능성이 있어 최근 사회적 관심사가 되고 있는 병원성 대장균(O157:H7) 감염증의 특성 및 오염방지대책을 알아보려고 한다.

## 1. 원인 대장균

병원성 대장균은 독신, 부착인자의 생산능력, 임상증상 등을 기초로 하여 장관병원성 대장균(Enteropathogenic *E. coli*; EPEC), 장관독소원성 대장균(Enterotoxigenic *E. coli*; ETEC), 장관침입성 대장균(Enteroinvasive *E. coli*; EIEC),

표 1. 식중독 원인 병원성 대장균의 특성과 혈청형

특성	병원성대장균			
	ETEC	EPEC	EIEC	EHEC
독신(toxin)	이열성 및 내열성 독신 (LT/ST)	베로독신 (Verocytotoxin)		베로독신 (Verocytotoxin)
장관침입성	-	-	+	-
설사	수양성	수양성 및 혈액성	점액 및 혈액성	수양성 및 심한 혈액성
열	낮음	+	+	
주요감염장	소장	소장	대장	대장
	06	O26:K60 O55:K59	O28:K73	O157:H7
	08	O86:K61 O111:K58	O112:K66	O26:H7
주요혈청형	011	O119:K69 O125:K70	O124:K72	O111:H8등
	078등	O126:K71 O127:K63 O128:K67등	O143:K-	
			O144:K-등	

\* 수의과학연구소

장관출혈성 대장균(*Enterohemorrhagic E. coli*; EHEC) 등 4가지 주요균으로 분류한다.

우리나라에서는 가장 흔히 발생하는 대장균성 식중독은 장관 독소원성 대장균이며, 최근 미국이나 일본에서 문제시되고 있는 장관 출혈성 대장균 식중독의 주요 원인 혈청형은 *E. coli* O157:H7이며, 이외에서도 O26:H7, O111:H8 등이 알려져 있다.

모든 야외분리 대장균 O157:H7은 하나 또는 2가지의 shiga-like toxin(SLT)을 산생하는 것으로 알려져 있다. 사람유래의 균주들은 SLT-I 과 SLT-II를 산생하며 특히 SLT-II만을 산생하는 균주들이 많고 단지 SLT-I 만을 산생하는 균주는 거의 없는 것으로 알려져 있다.

## 2 역학

### 가. 발생

Shiga-like toxin(SLT) 또는 Verotoxin(VT)을 산생하는 *E. coli*는 사람에게 강한 병원성을 나타내는 원인체로서 1982년 미국에서 *E. coli* O157:H7에 의한 식중독이 보고되면서 최근 증가되고 있다. *E. coli* O157:H7의 사람에 대한 감염은 전세계적으로 광범위하며 북미, 유럽, 아프리카, 동아시아, 호주 등에 다수의 국가에서 보고되었고, 북미, 아프헨티나, 영국에서 호발하고 있다.

미국의 경우 1985~1986년의 조사에 매년 8/1,000,000명의 분리율과 2.1/1,000,000의 감염률을 나타내었다. 감염은 북미에 집중되어 왔으며, 1982~1987년 사

표 2. *E. coli* O157:H7 감염증의 발생보고

년 도	지 역	발생 환자수	오염원 및 감염경로
1982	미국(Oregon)	26	Ground beef
1984	미국(North Carolina)	36	Person-to-person
1985	미국(Ontario)	73	Ham, turkey, sandwiches (person-to-person)
1985	영국	24	Handling potatoes
1986	미국(Ontario)	46	Raw milk
1986	캐나다(Alberta)	16	Ground beef
1987	영국	26	Turkey roll
1990	미국(Missouri)	~240	Water
1990	벨기에	7	?
1993	이탈리아	8	(농촌지역)
1995	영국	17	person to person
1996	일본	1만 여명	소간, 물, 무순, 사람등

이에 미국과 캐나다에서 *E. coli* O157:H7에 의하여 396명의 환자를 포함 20여건의 발생이 있었다. *E. coli* O157:H7 감염환자의 15~36%(미국) 및 39%(영국)가 출혈성 설사증의 원인이 되었고, 독일 및 기타지역에서 출혈성 대장균과 용혈성 요독증후군(HUS)가 산발적으로 보고되고 있다.

일본의 경우 1991년 부터 1995년 사이에 465건의 감염예가 보고되어 있고, 최근 1996년 6월부터 8월까지 10,000여명의 환자가 발생하여 10명이 사망한 것으로 알려졌다.

### 나. 보균동물

소가 *E. coli* O157:H7의 주요한 보균동물로서 사람의 첫발생은 같은 쇠고기(ground beef)에서 비롯되었고 이후 몇몇 감염의 원유로 부터 비롯되었음이 보고되었다. 분리는 주로 송아지, 처녀소 또는 젖소 특히 어린 동물이나 beef cattle에서 이루어졌다. 일단 감염된 송아지는 임상증상이 나타날 수도 있지만 대부분의 경우에서 임상증상이 없는 보균동물이 된다. 성우는 *E. coli* O157:H7이 흔하지 않다.

또한 *E. coli* O157:H7은 가금류에 정착할 수 있으며, 예컨대 닭의 분변이나 turkey meat 등에서 균이 확인되기도 하지만 음식을 통한 감염은 거의 대부분이 소에서 유래된 식품에서만 보고되었기 때문에 소 이외의 다른 동물의 식육오염은 낮은 편이고 도축과정 및 처리과정의 오염이 문제시 될 수 있다.

### 다. 발생증상

용혈성 빈혈과 용혈성 요독증후군으로 발전하는 환자의 감수성은 다양하다. 5세 이하의 어린이와 면역이 저하된 사람이나 노인의 경우가 감수성이 높은 반면, 동물의 감수성은 매우 낮은 편이며, 임상적으로 중요한 감염이 아르헨티나와 스페인에서 송아지로 부터 보고된 바 있으나 미국과 영국에서 설사를 하는 송아지를 조사한 결과 *E. coli* O157:H7을 확인하지는 못하였다.

미국과 캐나다에서 대부분의 사람 식중독 발생에는 더운 여름기간에 발생하였으며, 1991년 영국에서는 7~9월에 가장 많았다.

### 라. 환경

필라델피아에서 음수저장기(식수원지)에서 발견되었지만 사람의 분변오염에 대한 근거는 밝혀지지 않았으며, 야생동물-주로 사슴-이 오염원임을 추정하고 있

다. 한편 일반 도시하수나 농촌의 물 등에서도 분리되고 있어 사람의 2차 감염원이 되고 있다.

### 3. 발병기전

Enteropathogenic *E. coli*(EPEC)는 유아나 어린 토끼 등에서 설사를 유발한다. 1980년 초반에는 병원성의 기전이 밝혀져 있지 않아 *E. coli*의 shiga-like toxin에 관한 초기연구는 EPEC에 주로 초점이 맞추어져 왔다. 초기 연구결과 일부 EPEC는 독소를 산생하는데 HeLa cell에 세포독성이 있고 토끼 항독소에 의해 중화되는 독소이었다. 1982년 shiga-like toxin에 대한 monospecific antibody가 개발되었고, Vero cell에 치명적인 독소이기 때문에 Verotoxin(VT)이라고 명명되었다. 1983년에는 ETEC도 또한 SLT를 산생하는 것으로 보고되었고 이후 2종류의 verotoxin이 보고되어 각각 VT 1, VT2 또는 SLT-I, SLT-II로 불려진다.

#### 가. 특신의 유전적 특성

EPEC 및 EHEC에서 SLT-I operon의 구조 및 발현모델이 개발되었으며, 유전자 지도에는 구조유전자인 slt-IA, slt-IB와 SLT-I operon의 promotor 위치가 나타나 있다. 또한 slt-IB gene은 2차 promotor(P)로부터 전사될 수 있으며, polycistronic mRNA로부터 일차 translation products(변역산물)은 SLT-I의 A 및 B polypeptide에 부합한다. A : B의 비율은 1 : 5로서 전사과정에서 조절되는 것으로 추정되며, A와 B polypeptide의 배출과 signal sequence의 제거후에 holotoxin은 A, B polypeptide가 조합되는 것으로 추정된다. 아직 SLT-II 유전자에 대해서는 연구중에 있다.

Toxin중 A subunit는 A1, A2 등 다시 2부분으로 구성되어 있고, A1의 N말단은 enzymatic activity를 가지고 있으며, A2의 C말단은 B subunit와 함께 A1에 연결되어 있다. B subunit의 기능은 SLT가 glycolipid receptor에 결합하도록 해준다. Globotriosylceramid(Gb 3)은 SLT-I과 SLT-II에 대한 receptor로서 human kidney의 cortex에 풍부하다. VT1의 A, B subunit의 분자량을 염기서열에 근거하여 계측하면 각각 33,135 Da과 7,187 Da이고 *E. coli* O157:H7 균주로부터 정제된 VT2의 A, B subunit는 각각 35,000 Da, 10,700 Da 이다.

최근 SLT-II 변이주가 확인되고 있으며, 이 변이대장균은 SLT-II v(SLT-IIvp)를 산생하며, 돼지 부종병에 관여하는 것으로 알려지고 있다. 또한 HUS 환자로 부터 분리된 SLT-II 변이주의 염기서열과 amino acid sequence를 밝혔으며, 게다가 사람에서 제 3의 독소인 SLT-II vhc로 명명된 것을 산생하는 strain 7279를 확인한 바 있다. SLT-II A subunit와 VT2ha의 B subunit로 구성된 독소를 산생하는 *E. coli* O157:H- 균주가 있는 것으로 알려졌다. *E. coli* O157:H7이 수양성 및 혈액성 설사를 야기하며, hemorrhagic uremic syndrome (HUS)과 TTP에 연관된 것으로 조사되었고, SLT를 산생하는 *E. coli* O157 균주에 대한 생물형은 11가지로 분류된다.

#### 나. 특신의 작용기전

SLT-I과 SLT-II는 면역학적으로 상이한데도 불구하고 생물학적인 성질은 유사하다. 즉, 이들은 60S ribosomal subunit에 tRNA의 aminoacyl binding에 관여하는 elongation factor I(EF-I)를 억제함으로써 단백질 합성을 막는다.

Shiga toxin과 SLT-II는 모두 28S RNA의 4324 position인 adenine에 N-glycosidic bond를 절단함으로써 진핵세포의 60S의 ribosomal subunit를 불활화시키는 것으로 알려지고 있다.

장관세포에 부착하는 능력은 *E. coli* O157:H7의 병원성 발휘에 있어서 중요한 요소이며, 이 균주는 비침투성(not invasive)이다. 이 균주의 부착능에 관한 연구에서 다른 cell line에 대한 부착능과 fimbria 항원의 중요성에 관한 자료는 다양하다.

### 4. 동물감염과 축산물 오염원

#### 가. 동물감염 :

1) 임상증상 : 동물들이 *E. coli* O157:H7의 보균동물로 알려지고 있으나 중요한 임상증상은 다른 *E. coli* serotype과 반대로 거의 보고되지 않고 있으며, *E. coli* O157:H7은 지금까지 동물들 중에서 단지 송아지에서만 발병하는 것으로 알려져 있다.

포유중 토끼, 2주령 기니피, 3주령 쥐, 어린 원숭이에 이 균을 인공접종후 비혈액성 설사(nonbloody diarrhea)를 유발할 수 있었고, 신생자돈에 구강으로 10<sup>7</sup>

CFU를 접종하면 식육결핍, lethargy(기면), 수양성 설사를 유발한다. 토끼, 어린 돼지, 다른 실험동물에서는 사람에서와는 달리 용혈성 요독증후군 및 출혈성 결장염의 전형적 증상으로 발전하지는 않는다.

2) 병변 : SLT를 위내로 주입한 토끼에서의 병변은 *E. coli* O157:H7에 의한 병변과 유사하며 상피에서의 세포사, crypts의 세포분열 활성, 주로 mid와 sidal 결장의 고유층과 상피에 호중구의 침윤을 특징으로 한다. 이러한 세균들은 결장의 장표면과 관련 유입과조직에 보이나 세포내나 다른 조직의 내부에는 보이지 않는다.

실험적으로 감염시킨 새끼돼지는 맹장과 결장의 microvilli의 소멸과 상피세포의 비틀림으로부터 회장 상피세포의 미란을 동반한 완전피사나 상피세포변성까지 다양한 병변을 보인다. Gnotobiotic piglet는 SLT-II-dependent 뇌병변이 부종병 돼지에서와 유사하게 나타난다.

*E. coli* O157:H7을 mice에 주사하면 결장과 신장에 병변을 나타내고, kidney의 병변은 박피된 신세뇨관의 축적과 근위극세뇨관 세포의 비정상 공포형성으로 나타난다.

#### 나. 축산물 오염

*E. coli* O157:H7에 의한 사람이 식중독 발생은 대부분 같은 고기나 햄버거를 먹은 후 발생되었고, 생유가 감염원인인 경우도 있었으며 또한 칠면조 고기로 발생된 적도 있다.

축산물은 일반적으로 도살전에 O157:H7에 감염된 동물로부터 기인되나 드물게 가공과정에 오염되는 것으로 알려지고 있으며 또한 도살전 농장에서의 송아지로부터 유래될 수 있으며, 도살장에도 오염되어 분포할 수 있다. 우유는 젖소와 착유과정이나 물을 통해 오염될 수 있으며 또한 송아지 분변으로부터 우유가 오염될 수 있다.

식품의 오염은 환경으로부터 기원될 수 있으며, 주로 음식을 제조하거나 세척할 때 사용되는 물이 분변에 오염되어 있을 경우 가능하다. *E. coli*는 도살장의 시궁창취와 같은 동물에서도 알려져 있으며, 이 시궁창취의 변이나 사체가 도살장을 오염시킬 수 있다. 또한 사람 보균자가 가공과정중 식품 오염원일 수 있다.

#### 가. 전파

*E. coli* O157:H7 감염의 전염은 오염된 축산물 섭취, 사람과 사람이 및 물 등의 환경으로부터 기인된다. 주된 전파경로는 요리되지 않은 ground beef의 섭취였으며, 멸균되지 않은 우유가 유아에서 출혈성 대장염을 일으켰다는 보고가 있다. 미국에서 출혈성 대장염의 발생의 몇몇 예는 *E. coli* O157:H7에 오염된 물에 의해서였으며, 다른 *E. coli* 균주의 경우와 마찬가지로 *E. coli* O157:H7도 분변에 오염된 물(소 농장, 도축장, 하수에서 유래한 물)에서 발견되었다.

식품은 물 또는 감염된 사람을 통해 *E. coli* O157:H7에 오염될 수 있으며, 사람에서 사람의 전파는 병원에서 2차 감염이 보고됨으로써 알려졌다.

#### 나. 임상형

사람에서의 병원성은 hemorrhagic colitis(출혈성 대장염), hemolytic uremic syndrome(HUS) 및 thrombotic thrombocytopenic purpura(TTP) 등 3가지 병형으로 분류된다.

1) 출혈성 대장염(Hemorrhagic Colitis : HC) : *E. coli* O157:H7에 의해 발생하는 출혈성 대장염은 복벽의 경련, 혈변, 장점막의 부종으로 특징지어지는 toxin에 의한 감염으로 열은 없거나 약간 있을 수 있다. 증상은 24시간 이내에 수양성 설사로 시작하고 혈변성 설사가 2~4일 동안 지속되고, 보통 2~9일 후에 임상증상은 사라진다. 심한 경우 종종 입원이 필요하며, 치명적인 감염은 유아나 면역이 저하된 사람에서 일어날 수 있고, 중등도 감염의 경우는 혈변성 검사를 일으키지 않을 수 있다.

2) 용혈성 요독 증후군(Hemorrhagic Uremic Syndrome : HUS) : HUS는 주로 유아나 면역이 저하된 사람, 종종 여자에게서 일어나는 중증의 합병감염증으로서 출혈성 장염 후에 신장계통에 toxin이 침투하여 급성의 신장장애를 일으킨다. 이는 미세혈관의 출혈로 인한 빈혈과 합병작용으로 혈소판 감소증이 일어나며, 일반적으로 환자는 심한 상태가 되고, 투석이 필요하다. 신장내피세포는 SLT activity에 의해 상처를 받아 신장과 다른 장기에서 미세혈소판의 응집이 나타난다.

3) 혈전성 혈소판 감소성 자반병(Thrombotic Thrombocytopenic Purpura : TTP) : 성인 환자에서의 합병증은 증추신경계통을 포함하는 TTP이다. 증상

## 5. 인체감염

은 미세혈관 출혈성 빈혈, 혈소판 감소증, 열, 신경이상 등이 나타난다. 뇌에서 혈액응고가 나타나고, 종종 죽음에 이른다. 증상의 발현동안에 trimethoprim-sulfamethoxazole이나 gentamicin으로 치료했을 때는 위험할 수 있다. 이들 항생제는 Verotoxin 산생 대장균은 죽이나 toxin을 deactivation시키지 않고, 유리시킨다.

4) 기타 감염 : 급성 유아 사망증후군(Sudden Infant Death Syndrome : SIDS)으로 죽은 46명의 유아에 대한 연구에서 SLT를 생산하는 대장균은 모든 임상 case에서 존재하였으나, 건강한 24명의 유아는 SLT를 생산하는 대장균이 존재하지 않았다. 이 결과는 SLT생산 *E. coli*는 SIDS의 원인중 하나임을 시사해 준다. 또한 *E. coli* O157:H7 감염후의 흔치않은 복합 증은 출혈성 방광염, 귀두염, 경련증 등이다.

6. 진 단

가. 균 분리동정 : *E. coli* O157:H7의 특성은 다른 *E. coli*와는 다르며, 대부분의 분리균이 sorbitol을 발효시키지 않기 때문에 MacConkey sorbitol agar가 분변, 우유, 기타 임상가검물이나 식품에서 이 균주를 검사하는데 흔히 사용한다.

*E. coli* O157:H7은 대부분 β-D-glucuronidase 활성을 띠지 않으며, sorbitol 반응과 β-D-glucuronidase 활성은 관련되어지는 것으로 알려져 있다. 아울러 *E. coli* O157:H7은 보통 임상이나 식품가검물에서 *E. coli*를 분리하는 온도인 44.5℃에서 자라지 않고, enterohemolysin을 산생한다.

1) *E. coli* O157:H7 분리법의 개괄도

시료를 증균배지 modified EC broth(novobiocin 첨가)에 배양(37℃, 24시간)



MacConkey sorbitol agar 및 Fluorocult *E. coli* O157 medium에 배양(37℃, 24시간)



MacConkey sorbitol agar에서 무색, Fluorocult에서 녹색을 보이는 집락을 TSI에 접종하여 배양(37℃, 24시간)



TSI에서 A/A(노란색/노란색)을 형성균을 대상으로 *E.*

*coli* 인지를 검사 *E. coli*와 *E. hermannii*는 IMViC test의 성적이 동일하므로 반드시 KCN test와 cellobiose 분해능 등을 검사함



전형적인 *E. coli*의 성장균들은 대장균 O157 항혈청으로 평판응집반응 실시



최종확인은 H7 항혈청을 이용한 immobilization test

2) 분리방법 : 시료를 마쇄하여 modified EC broth에서 6시간동안 진탕배양하거나 또는 정지상태에서 35℃, 24시간동안 배양한다. 배양후 배양액을 적절히 희석(10<sup>4</sup>~10<sup>6</sup>)하여 각각 0.1ml씩 MSA plate에 부어 spreading 한다. MSA plates는 37℃에서 하룻밤 배양한다. 배양후 집락이 무색인 것을 TSI, IMViC test, KCN, cellobiose 등의 생화학검사를 실시한다.

대부분의 *E. coli*는 β-glucuronidase를 산생하므로 EC-MUG broth에 배양하면 MUG(4-methylumbelliferyl-β-D-glucuronide)를 분해하여 Methylumbelliferon을 형성한다. 이 MUG는 장파장(365nm)의 UV조사에서 푸른색 형광을 나타낸다. 그러나 *E. coli* O157은 β-glucuronidase를 산생하지 않으므로 UV조사에서 푸른색 형광을 나타내지 않는다.

표 3. *E. coli*의 생물화학적 특성

시 험	결 과	
	<i>E. coli</i> O157:H7	일반 대장균
TSI	A/A	A/A
oxidase test	-	-
Lactose	+	+
Indole	+	+
Citrate	-	-
VP	-	-
MR	+	+
Sorbitol 분해능	-	+
MUG test	-	+
44.5℃ 성장능	-	+
enterohemolysin	+	-
KCN	-	-
Cellobiose	-	-
Glucose, gas	+	+
Lysine	+	80%+

4) 혈청학적 검사 : 혈청형은 시판되는 항혈청 kits을

이용한 평판응집반응으로 동정이 가능하며, 혈청학적 동정은 다른 O157 혈청형과 구별되는 O157과 H7 항혈청을 포함하여야 한다. SLT-산생 *E. coli*는 O157:H7이나 때로는 O157:H-일 수 있으며, *E. coli* O157의 신속검출은 latex 응집반응에 의해서도 가능하다.

*E. coli*는 균체항원(O, 171종), pilli 항원(K, 80종), 편모항원(H, 56종) 등이 서로 복잡하게 연관되어 약 9,000 여종 이상이 알려져 있어서 혈청학적인 분석이 수월하지는 않다. 한편 *E. coli* O157:H-는 소나 돼지에서도 흔히 보균할 수 있고, verotoxin을 산생하지 않아 정확한 혈청형 규명은 진단에 매우 중요하다.

가) 항혈청 O157 검사 : 대장균 O157 항혈청을 이용하여 평판응집반응으로 응집유무를 검사한다. MacConkey sorbitol agar에서 집락을 수거하여 멸균식염수 30 $\mu$ l에 부유시킨 후 이 균 부유액 1방울과 동량의 *E. coli* O157 항혈청을 평판에 섞어서 1분동안 섞으면서 응집유무를 관찰한다. 시험균은 반드시 멸균생리식염수로 smooth한 집락에 대해 실험하여야 한다. 즉, 저장되었던 일부균들은 rough 상태일 수 있으므로 혈청학적인 시험은 반드시 smooth colony로 시험하여야 한다.

혈청학적 검사시 반드시 양성 및 음성 대조균주로 비교실험해야 하며, 위양성 반응은 O157 항혈청과 교차응집반응을 일으키는 *Salmonella* group N(O30), *Citrobacter freundii*, *Yersinia enterocolitica* O9, *Escherichia hermanii*균과 반응시킬 때 나타날 수도 있다.

나) 항혈청 H7 검사 : 운동성 *E. coli*는 반운동배지(0.4% agar)에서 운동성을 보이거나 배지중에 편모에 대한 항혈청(H 항혈청)이 있으면 운동성이 사라진다. Enteric fermentation base(Difco)에 0.4% agar를 첨가하여 시험관에 6.3ml씩 분주하여 autocalving 후 45 $^{\circ}$ C로 식힌 다음, 1 : 64부터 1 : 65,536까지 단계 희석된 H7항혈청 0.1ml를 각 시험관에 넣어 혼합한 뒤 완전히 균한다. *E. coli* O157:H7균 및 분리균을 0.3cm 깊이로 접종하여 하루동안 배양한다. 항혈청이 첨가되지 않은 control tube와 비교하여 운동성이 완전히 억제된 혈청 최고희석배수를 결정한다.

#### 나. 독신 검출

SLTs는 Vero cell을 죽이며, 세포배양을 이용한 검출

법은 진단으로 유용하다.

세포독성시험으로 분변과 세균배양의 여과물에서 독신을 검출할 수 있다. 분변 및 배양액중 Shiga-like toxin 검출을 위한 효소면역측정법(ELISA)도 개발되어 있다. *E. coli* O157:H7 균주의 Toxin 검출은 verocytotoxin tissue culture assay 및 immunoblot 방법으로 검출할 수 있다. VT(verotoxin)의 검사는 다양한 mammalian cell culture 즉, Vero 및 Helta 등의 cell을 사용하여 일반적인 cytotoxicity 방법으로 검사한다.

균을 trypticase soy broth 20ml에 접종하여 37 $^{\circ}$ C에서 20~24시간 진탕배양하고, 배양액을 7,000 $\times$ g에서 30분간 원심침전시켜 상청액을 0.45 $\mu$ m membrane를 이용하여 여과한 후 여과액을 2배(또는 5배)계단 희석하여 검사에 사용한다.

Vero 및 Hela 세포는 5% fetal bovine serum(FBS), gentamicin(50 $\mu$ g/ml) 이 들어있는 EMEM(Eagle's minimum essential medium) 배지에서 37 $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub>의 조건으로 배양하여 실험에 이용한다.

균 여과액을 각 well당 20 $\mu$ l씩 넣어 37 $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 3일간 배양하면서 매일 cytopathic effects (CPE)를 관찰한다. 배양 3일후 세포를 50% 사멸(CD<sub>50</sub>)시키는 최종 희석배수를 endpoint로 하여 cytotoxicity의 정도를 결정한다.

#### 다. 유전자 검출

*E. coli* O157:H7을 포함하여 모든 verotoxin-산생 *E. coli*를 특이적으로 탐지할 수 있는 유전자 probe 방법이 유용한 것으로 알려져 있다. SLT-1과 SLT-2 특이유전자 probe를 phage DNA로 부터 *E. coli* O157:H7가 전형적으로 보유하고 있는 60MDa plasmid로 부터 DNA probe를 개발한 바 있다. 이 Probe는 *E. coli* O157:H7 분리주의 약 99%가 결합한다. 또한 중합효소연쇄반응(PCR)은 *E. coli*의 verotoxin I 및 II 유전자를 검출하는데 빠르고, 특이하고 민감한 방법으로 알려져 있다. 수의과학연구소에서는 이들 독신유전자를 검출할 수 있는 PCR 진단법이 개발되어 있고 또한 glucuronidase 유전자를 이용하여 *E. coli* O157:H7과 일반 *E. coli* 균을 구분하여 특이적으로 검출할 수 있다.

#### 7. 예방대책

우리나라에서는 대장균(O157:H7)에 의한 식중독은 문제되지 않고 있으나 소의 간, 천엽, 육회 등 날고기를 즐겨먹는 식습관으로 식중독 발생이 우려되며, 식습관의 서구화 및 유통 음식물의 위생관리 수준 등을 고려할 때 *E. coli* O157:H7균에 의한 집단발생 가능성이 있어 설사환자 관리시 주의를 요한다.

사람에서의 예방은 쇠고기(간, 천엽, 골 등) 생식을 금지토록 홍보를 강화하고, 2차 감염 예방을 위한 환경 위생관리를 철저히 해야한다. 식품에서 *E. coli* O157:H7의 방제에 가장 중요한 조치는 식품의 섭취전에 가열과 가공과정의 위생적인 처리이다. *E. coli* O157:H7에 의한 감염을 막기 위해서는 유아나 면역이 약화된 사람은 절대로 원유나 날고기, 덜익힌 고기를 먹어서는 안된다. 물은 대장균 군수와 *E. coli*의 존재를 정기적으로 관리함으로써 음수위생을 확고히 해야 한다.

가축에서는 도축시 식육의 분변오염에 대한 철저한 도축장 위생관리 및 지도를 실시하고, 목장에서 질병관리 및 착유위생 관리를 철저히 해야 하며, 물 등의 환경위생에 대해서도 관심을 가져야 할 것이다.

소와 다른 동물에 대한 감염예방은 감염되는 방법이 명확하지 않아 어려운 실정이나 동물의 *E. coli* O157:H7 감염의 가장 중요한 예방법은 음수관리를 위생적으로 하는 것이다. 대장균은 분변에 오염된 물에 의해 전파되는 것으로 알려져 있고, 농장, 도축장, 도시 하

수에 *E. coli*가 많이 오염될 수 있으므로 오염된 음수의 접촉을 막아야 한다. 농장동물의 음수는 100ml sample당 대장균이 검출되어서는 안되며, *E. coli* 오염을 제거하기 위한 처리방법은 사료를 가열하거나 pelleting하며 물을 염소처리한다.

아울러 동물검역소에서는 수입육에 대한 대장균(O157:H7) 검사를 실시하여 국내 유입을 사전에 방지해야 한다. 또한 국내 유통 식육 및 동물에서의 분포상황을 파악하고, 식육중 식중독 주요원인 세균인 병원성 대장균(O157:H7), 살모넬라 등 위생기준 및 식육생산 단계별 미생물 오염 지도 기준 설정을 설정하여 사람에의 사전방지 대책을 마련해야할 것이다.

한편 식육이나 축산부산물중 병원성 대장균(O157:H7)의 분리 및 보고는 사회적 문제의 파장을 고려할 때 그 혈청형의 정확한 규명과 아울러 독신생산능 등의 시험이 필수적으로 뒤따라야 할 것으로 사료된다.

세계 각국은 식품매개에 의한 식중독 발병위험을 줄이고 안전한 식육생산 공급을 위한 농장에서부터 소비자까지 모든 단계를 모니터링하는 위해분석 및 주요 관리점(HACCP)제도를 도입하고 있다. 따라서 우리나라에서도 식중독 발생의 근원적 예방을 위해서는 축산물 생산단계부터 소비자까지 전과정의 위해분석 및 주요 관리점제도를 조기도입 및 적용이 시급히 요청된다 하겠다.

## 참 고 문 헌

1. Beran GW, Steele JH. Handbook of Zoonoses : *E. coli* O157:H7 as a food borne pathogen, 2nd ed., CRC press, 1994: pp331~341.
2. O'Brien AD, Holmes RK. Shiga and Shiga-like toxins, Microbiol, Reviews, 1987: 51: 206~220.
3. Karmali MA. Infection by Verotoxin-producing *Escherichia coli*. Clin. Microbiol. Reviews, 1989: 2: 15~38.
4. Food and Drug Administration, Bacteriological Analytical Manual, 7th ed., AOAC international, 1992: pp1~529.