장출혈성 대장균 검출 솔루션 : VIDAS ESPT & GENE-UP EHEC

장출혈성대장균에 의한 식중독

최근 한 유치원에서는 집단 식중독이 발병하였고 집단감염의 원인균체로는 장출혈성 대장균이 지목되었으며 사회적 이슈가 되었다.

장출혈성대장균(Enterohemorrhagic *Escherichia coli*, EHEC)은 대장균 중 Shiga 독소를 생성하는 병원성 대장균으로 적은 양의 오염으로도 치명적인 독소를 생성해 출혈성 장염을 유발하는 식중독균이기도 하다. 1982년 미국에서 덜 익은 패티가 든 햄버거를 먹은 어린이들이 집단감염되어 이슈가 된 햄버거 병의 원인체로도 알려져 있다. 장출혈성 대장균은 주로 오염된 식품 (육류, 채소, 샐러드 등), 오염된 물 등을 통해 감염되며, 극 소량으로도 큰 질병을 가져오기 때문에 정확하고 정밀한 검사 방법으로 실험해야 한다.

이런 장출혈성 대장균을 정확하고 신속하게 검출하기 위한 비오메리으의 장출혈성 대장균(EHEC) 솔루션을 소개하고자 한다.

(1) 장출혈성 대장균의 검출률을 높이기 위한 면역농축과정

장출혈성 대장균은 극소량으로도 식중독을 일으키기 때문에 실험과정에서 검출이 안될 경우 식품의 품질과 위생 관리 측면에서 큰 손실과 피해를 초래할 수 있다.

따라서 검출 민감도를 높이고 위양성 결과를 줄이기 위한 방법이 필요하며, 그에 대한 해결책으로 여러 논문들이나 문헌에서는 면역자기비드 분리 방법 (IMS, Immunomagnetic separation)을 추천하고 있다. 이 방법은 검체 내 원하는 병원체만을 선택적으로 농축하고 다른 세균을 효과적으로 제거할 수 있는 방법으로 알려져 있다. 하지만 실험과정이 복잡하고 매뉴얼 과정이 많기 때문에 실험자에게는 기존의 IMS 방법 보다 더 쉽고 간편한 방법이 필요하다.

VIDAS UP *E. coli* Serogroups (ESPT)

실험자가 간편하고 손쉽게 자동면역농축과정을 할 수 있는 방법으로 비오메리으의 VIDAS UP *E. coli* Serogroups (ESPT) 키트가 있다. 이 키트로 장출혈성 대장균의 대표적인 혈청형인 E.coli O157, O26, O45, O103, O111, O121, O145을 자동면역농축할 수 있다.

실험 원리는 자동면역농축으로 7개의 타겟한 *E.coli* Serogroups에 특이적으로 작용하는 단백질 수용체가

코팅된 Solid Phase Receptacle (SPR)을 이용한다. 배양된 시료를 키트에 접종하면 시료 안에 있는 *E. coli* serogroups 이 Solid Phase Receptacle (SPR)에 특이적으로 결합하여 자동으로 농축액을 추출한다.

VIDAS UP *E. coli* Serogroups 면역 농축 솔루션은 PCR 실험에 사용하기 위한 핵산추출기능과 배지 접종을 위한 세포상태 추출 기능이 있으며, 2가지 프로토콜 중 실험용도에 따라 선택하여 사용할 수 있다. 면역 농축추출과정은 30여분 정도가 소요된다.

VIDAS UP *E. coli* Serogroups (ESPT)을 이용하면 PCR 검출을 수행하기 전에 장출혈성대장균의 대표적인 혈청형을 자동으로 면역 농축할 수 있으며, 이는 최종결과의 위양성률을 낮추는데 효과적이다.

(2) 장출혈성 대장균 신속 검출 방법

면역 농축 키트(VIDAS UP *E. coli* Serogroups)를 이용하여 추출한 핵산추출물은 신속 식중독균 스크리닝 장비인 GENE-UP system을 이용하여 장출혈성 대장균을 검출 할 수 있다. 2개의 FRET Probe를 이용하여 특이도를 높였으며, 증폭곡선 및 melting peak를 동시에 확인할 수 있어 낮은 농도의 오염도 그래프 상에서 확인이 가능하다. 또한 피펫을 이용한 과정이 2번 정도로 실험자에 의한 오류를 줄일 수 있으며 1시간 정도면 stx/eae 유전자의 유무를 확인할 수 있다.

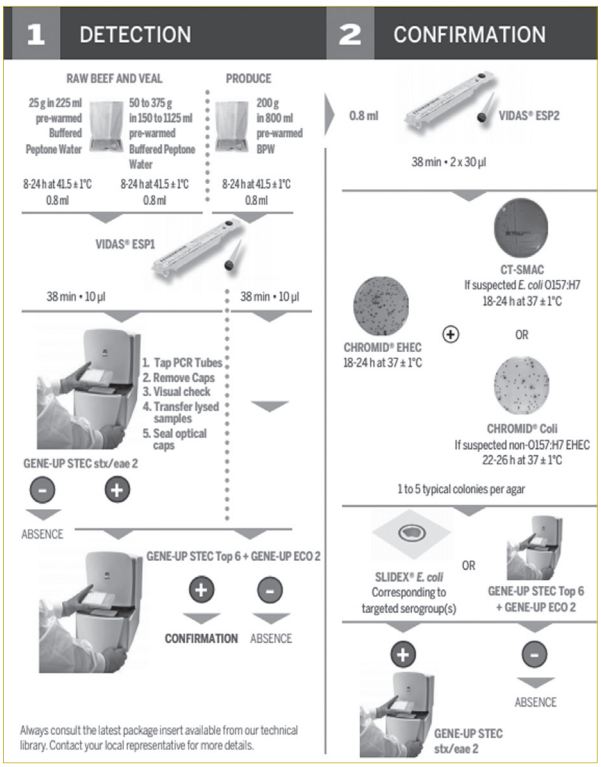
핵산 추출, 시약, 기기에 대해 각각의 솔루션으로 접근하는 기존의 방법들과는 다르게 GENE-UP EHEC 솔루션은 장출혈성 대장균의 추출과정부터 검출 과정까지 표준화된 프로토콜을 검증하여 제공하고 있다.

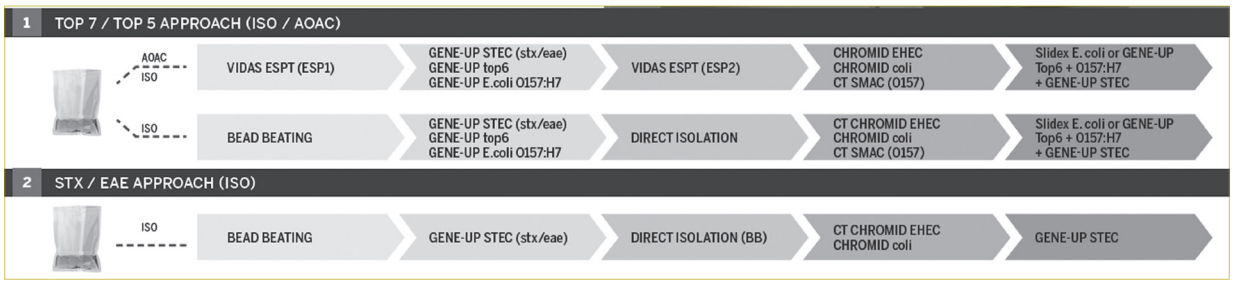
장출혈성을 유발하는 stx 혹은 eae 유전자를 실시간으로 검출 가능한 키트로 GENE-UP STEC-stx/eae 2 이 있으며, 확인시험시에는 GENE-UP E. coli O157:H7 2 와 GENE-UP STEC-Top 6 을 이용하여 정확하게 혈청형 타입을 구분할 수 있다.

(3) 한 눈에 보는 장출혈성대장균 프로토콜

장출혈성 대장균 검출시 아래 순서로 실험과정이 진행되며, ④*번 과정은 국외 규정을 따르거나 추가적인 확인 실험이 필요한 경우 진행한다.

① 시료 배양





▲ ISO/AOAC 규정에 맞게 선택하여 적용가능한 EHEC 솔루션

② VIDAS UP E. coli Serogroups (ESPT) 또는 GENE-UP LYSIS KIT
③ GENE-UP STEC-stx/eae 2
④ *GENE-UP E. coli O157:H7 2 GENE-UP STEC-Top 6

실험프로토콜의 경우, 실험하고자 하는 시료에 따라 적합한 배양 온도를 포함한 전실험과정의 프로토콜이 제공된다.

(4) 실험 소요시간

최종 분석결과가 음성일 경우에는 1일안에 결과를 확인가능하며, 양성인 경우 확인실험이 필요하며 이 경우 2일이 소요된다. 기존 매뉴얼 방법에 의해 3일 정도 소요되는 실험시간을 최소 1일 에서 2일 단축할 수 있는 신속한 방법이다.

분석결과	검출시험	확인시험	분석시간
음성일 경우	○		1일 (시료배양포함)
양성일 경우	○	○	2일 (시료배양포함)

(5) 국내외 규정에 맞게 적용가능한 솔루션

장출혈을 유발하는 독성 유전자로 stx유전자와 eae 유전자가 있으며, 국내시험법에서는ISO 규정과 비슷하게 stx 유전자만 검출되어도 장출혈성대장균으로 판정한다. 비오메리으에서는 국내 규정에 적합한 stx를 검출하는 키트를 제공하며, 동시에 ISO, USDA 등 국제 규정에서 요구하는 주요 혈청형 검출 키트도 제공하고 있다. 실험자는 준수하고자 하는 국내 또는 국외 규정에 맞게 키트 및 모드를 선택하여 결과판독이 가능하다.

(6) 결과의 신뢰성

GENE UP EHEC 프로토콜은 ISO 16140에 따른 AFNOR인증과 AOAC 인증을 획득하여 결과의 정확도와 Reference 방법과의 동등성에 대한 검증을 받았다.

결론

장출혈성 대장균은 극 소량으로도 심각한 식중독을 유발하는 병원성세균으로 식품위생 측면에서 반드시 신뢰성 있고 민감도가 높은 실험방법을 사용해야 한다.

비오메리으의 장출혈성 대장균 솔루션은 전처리 과정에 면역 농축방법으로 위양성 결과를 줄일 수 있으며, 식중독균 스크리닝 장비인 GENE-UP를 이용하여 1시간 이내에 빠르고 정확한 결과를 얻을 수 있다. 시료 배양에서부터 결과 확인까지 최종 결과가 음성이면 1일 이내에 확인 가능하며, 양성일 경우도 2일 이내에 최종 결과 확인이 가능하다.

또한 국제공인기관에 의해 ISO, ACAC 인증을 받은 완전한 프로토콜을 이용하여 실험과정을 표준화할 수 있다. 또한 교차 오염 및 관련 실험 오류를 줄일 수 있으며 이로써 결과적으로 신뢰성 있는 결과를 얻을 수 있다.

앞으로 비오메리으의 장출혈성 대장균 토탈 솔루션이 정확하고 신뢰성 있는 결과를 제공하므로써 식품안전에 기여하기를 기대한다.