J. Fd Hyg. Safety 15(3), 241–247 (2000)

국내 유통식품에서 분리된 Verotoxin 생성 *Escherichia coli*의 특성

곽효선 · 차 진 · 강길진* · 김훈 · 박선희 · 김창민†
*식품의약품안전청 식품평가부 · 광주지방식품의약품안전청**

Characterization of Verotoxin-producing *Escherichia coli* Isolated from Domestic Foods

Hyo-shun Kwak, Jin Cha, Kil-Jin Kwang*, Hun Kim, Sun-Hee Park and Chang-Min Kim†
Department of Food, Korea Food and Drug Administration, Seoul, 122-704
*Department of Food Analysis, Korea Food and Drug Administration, Kwangju 506-050**

ABSTRACT – The incidence of verotoxin-producing *Escherichia coli*(VTEC) was surveyed in domestic foods including hamburger, raw meats and vegetables from 1997 to 1999. The molecular biological characteristics of the isolates were analyzed. Three VTEC strain were isolated from 1,700 samples. Serotypes of those isolates were O157 : H7, O26 : H4, and O55 : H12, respectively. Serotype O26 : H4 produced VT I and VT II, and O55 : H12 isolate produced VT I, however the 60 MDa plasmid DNA and *eae* gene were not found from both strains. One O157 : H7 isolate produced VT II and harbour 60 MDa plasmid DNA, however *eae* gene was not found in the strain. Although they produced VT, it seemed that the virulence of two strains were relatively weak because of the lack of the *eae* gene. In addition, the serotype O157 : H7 isolate resistant to ampicillin and streptomycin, while isolates of serotype O26 : H4 and O55 : H12 were multi-resistant to antibiotics including ampicillin, carbenicillin, cephalothin, trimethoprim/sulfamethoxazole and tetracycline. Supernatants of cultures of all three isolates were showed cytotoxic effect to vero and HeLa cell

key words □ Verotoxin-producing *E. coli*, Serotyping, Virulence factor, Antibiotic resistance

대장균 O157 : H7은 verotoxin(VT, Shiga-like toxin)을 생산하는 장관출혈성대장균으로 최근 미국, 캐나다, 일본, 유럽 등 세계적으로 대규모의 집단 감염증을 발생시켜 사회적인 문제로 대두되고 있다.[1-3] 대장균 O157 : H7 감염에 대한 첫 보고는 1982년 미국 Michigan과 Oregon 지역에서 발생한 출혈성대장염으로 전국단위의 fast-food 체인점에서 공급한 덜 익힌 햄버거의 분쇄육이 원인이었다.[4] 미국에서는 매년 20,000건의 대장균 O157 : H7 감염자가 발생하여 이중 250명이 사망하여 1.3%의 치사율을 보이는 것으로 추정되고 있다.[28] 특히 일본의 경우 1996년 Sakai시 주민(주로 어린이와 노약자) 5,700명의 환자를 발생시킨 대장균 O157 : H7 식중독 발생은 최대 규모의 발생 사례로 기록되고 있으며, 그 해 일본에서의 환자수는 총 9,346명이었고 이중 12명이 사망하였으며, 그 이후에도 지속적인 집단발생이 보고되고 있다.[5-6] 최근에는 대장균 O157 : H7 뿐 아니라 그외의 혈청형에 관한 식중독 발생사례가 빈번하게 보고되고 있으므로 혈청형 O157 : H7 이외의 혈청형인 O111, O26, O104 등에 관한 분포조사도 요구되고 있는 실정이다.

인접한 일본에서의 장관출혈성대장균 발생과 관련하여 식생활습관이 유사하고 인적 · 물적 교류가 많은 우리나라에서도 대장균 O157 : H7에 대한 주의가 촉구되어 왔고, 식품위생분야에서도 국내 유통식품에 대한 오염실태 조사가 필요함을 인지하여 식품의약품안전청에서는 1996년부터 식육 및 햄버거 등 유통식품에 대하여 검사하기 시작하였다. 식품 중 오염실태를 조사하는 과정에서 수입쇠고기 및 국내 유통쇠고기에서 대장균 O157 : H7과 대장균 O26 : H4가 검출되었다. 국내에서는 대장균 O157 : H7로 인한 집단발생 사례는 없으나, 1994년, 1998년과 1999년 환자로부터 O157 : (H7)이 검출되어 국내에서도 이 균에 의한 환자가 발생될 수 있다는 사실을 보여 주었다.[7]

†Author to whom correspondence should be addressed.

장관출혈성대장균으로 인한 질병 발생의 원인식품은 덜 익힌 육류에 의한 것이 대부분이며, 오염된 사과쥬스, 생우유와 채소 및 물 등으로 다양하다. 인체감염 용량은 확실하게 밝혀지지 않았지만 *Shigella* spp.와 유사한 10–100균수 정도로 추정하고 있으며, 감염시 무증상, 묽은설사변, 혈변, 용혈성요독증후군, 출혈성대장염, 혈전성혈소판감소증 등의 증상을 보이고 심한 경우 사망에 이르기도 한다. 대장균 O157 : H7에 의한 질병은 오염된 식품을 섭취함으로써 발생하며, 질병유발의 원인물질은 장관계열에 심한 손상을 일으키는 VT에 의한 것으로 추정하고 있는데, 이 독성을 이용하여 장관출혈성대장균의 확인법으로 많이 이용되고 있다.[4]

이상에서와 같이 대장균 O157 : H7을 비롯한 장관출혈성대장균은 대규모의 집단발생을 일으킬 뿐 아니라 그 증상도 매우 심각하기 때문에 원인식품인 식육 및 채소류 등에 대한 지속적인 분포조사가 수행되어야 하며, 아울러 분리주에 대한 특성조사가 필요하다. 이에 국내에서는 검출사례가 매우 낮은 장관출혈성대장균을 유통식품 중에서 검출하였으므로 분리주에 대한 분자생물학적 특성을 보고하고자 한다.

재료 및 방법

시험균주

표준균주는 *Escherichia coli* O157 : H7 ATCC 43894를 국립보건원에서 분양받아 사용하였다. 시험균주는 1997년부터 1999년 사이 유통 식육과 햄버거 등 식품 품목에서 분리된 대장균 1,700주를 사용하였다.

혈청형 시험

O형은 생균과 사균에 대하여 단가 및 다가 항혈청(Denka Seiken co.)을 이용하여 slide agglutination법에 의하여 실시하였다. H 혈청형을 확인하기 위하여 분리균을 motility GI 배지(Difco)에 접종하여 35℃에서 하룻밤 배양하였다. Motility가 확인된 것은 동일배지에 다시 천자배양 하였고, 이 과정을 2회 반복한 후 Brain Heart Infusion broth (BHI, Difco) 5 ml에 접종하여 35℃에서 24시간 배양한 후 0.1% formaline을 가한 saline 5 ml과 혼합하였다. 이 액 0.5 ml과 H 항혈청 3 방울을 혼합하여 55℃에서 1시간 배양 후 응집의 유무를 관찰하였다.

Verotoxin 유전자 확인시험

VT I 과 VT II 생성능 확인은 Strockbine[8]에 따라 PCR법으로 실시하였다. 멸균증류수 50 μl를 가한 1.5 μl 원심관에 시험균주 한 집락을 취하여 현탁하였다. 이를 100℃로 15분간 가열한 후 원심분리(10,000 rpm, 15분)하여 얻어진 상등액을 주형 DNA로 사용하였다. VT I과 VT II의 확인을 위한 반응액은 *Taq* DNA polymerase(5 U/μl) 0.2 μl, 10×PCR buffer 3 μl, 25 mM $MgCl_2$ 2 μl, dNTPs(1 mM) 3 μl, 주형 DNA 6 μl, VT I 및 VT II primer (Table 1) 각 3 μl, 증류수 10.5 μl를 혼합하여 총량을 36.7 μl로 하였다. DNA 증폭은 95℃에서 30초간 denaturation, 55℃에서 1분간 annealing, 72℃에서 1분간 extension을 1 cycle로 하여 35 cycle을 반응시켰다. Ethidium bromide (0.5 μg/ml)가 첨가된 0.8% agarose gel에서 전기영동 후 결과를 확인하였다.

eae 유전자 및 60 MDa plasmid DNA 검출

장내 부착과 침투의 역할을 하는 *eae* 유전자 및 60 MDa plasmid DNA 확인시험은 Fratamico 등[9]의 방법에 따랐다. *eae* 유전자를 확인하기 위한 반응액은 *Taq* DNA polymerase(5 U/μl) 0.2 μl, 10×PCR buffer 3 μl, 25 mM $MgCl_2$ 2 μl, dNTPs(1 mM) 3 μl, 주형 DNA 6 μl, AE 19, AE 20(Table 1) 각 3 μl, 증류수 10.5 μl를 혼합하여 총량을 30.7 μl로 하였고, DNA 증폭은 94℃에서 1분간 denaturation, 55℃에서 1분간 annealing, 72℃에서 1분간 extension을 1 cycle로 하여 30 cycle을 반응시켰다. 60 MDa plasmid DNA 검출을 위한 반응액은 *eae* 유전자와

Table 1. Primers used in PCR for verotoxin-producing *E. coli*

Primer	Oligonucleotide Sequence (5' to 3')	Target	Product	Reference
VT I	CAG TTA ATG TGG TGG CGA AG CAC AGA CTG CTG CAG TGA GG	VT I	475bp	Strockbine et al[8]
VT II	CT TCG GTA TCC TAT TCC CGG CGC TGC AGC TGT ATT ACT TTC	VT II	863bp	
MFS1F MFS1R	ACG ATG TGG TTT ATT CTG GA CTT CAC GTC ACC ATA CAT A T	60MDa plasmid	166bp	Fratamico et al[9]
AE 19 AE 20	CAG GTC GTC GTG TCT GCT AAA TCA GCG TGG TTG GAT CAA CCT	eae A	1,087bp	

동일하게 만들었으며, primer는 MFS1F와 MFS1R(Table 1)을 사용하였고, DNA 증폭은 94℃에서 40초간 denaturation, 55℃에서 30초간 annealing, 72℃에서 1분 30초간 extension을 1 cycle로 하여 35 cycle을 반응시켰다. 결과는 ethidium bromide(0.5 μg/ml)가 첨가된 0.8% agarose gel에서 전기영동 후 확인하였다.

항생제 감수성시험

항생제 감수성시험은 disk diffusion method에 의하여 실시하였다.[10] 사용 항생제는 ampicillin(10 μg), carbenicillin (100 μg), ampicillin/sulbactam(10/10 μg), cephalothin(30 μg), gentamycin(10 μg), neomycin(30 μg), streptomycin(10 μg), tobramycin(10 μg), kanamycin(30 μg), amikacin(30 μg), tetracycline(30 μg), minocycline(30 μg), ciprofloxacin(5 μg), norfloxacin(10 μg), chloramphenicol(30 μg), nalidixic acid (30 μg)와 trimethoprim/sulfamethoxazole(1.25 μg/23.75 μg) 이었다. 결과판정은 National Committe for Clinical Laboratory Standardization[11]에 준하였다.

세포독성시험

세포독성시험은 미국 FDA bacteriological manual[12]에 의하였다. Vero cell(ATCC CCL-81)과 HeLa cell(ATCC CCL-2)은 각각 5% fetal bovine serum이 첨가된 Dulbecco's modified essential medium(DMEM, Gibco)에 접종하여, 36℃의 CO_2 배양기에서 3 일간 배양한 후 Vero cell과 HeLa cell의 각 부유액 100 μl를 96 well microplate에 접종하여 monolayer를 만들었다. VT 생성 3주는 tryptic soy broth(TSB, Difco) 10 ml에 각각 접종하여 37℃에서 24시간 진탕 배양 후 배양액을 원심분리(10,000 rpm, 30분)하였고, 상등액을 membrane filter(0.45 μm)로 여과하였다. 이를 Dulbecco's phosphate-buffered saline(pH 7.2)으로 5배 희석한 후 이 용액 50 μl를 vero cell과 HeLa cell의 monolayer에 접종하였다. 대조로는 TSB를 DPBS용액으로 5배 농도로 희석한 후 50 μl를 접종하였다. Microplate는 36℃의 CO_2 배양기에서 4 일간 배양하면서 매일 시험결과를 관찰하였다.

결 과

혈청형 및 verotoxin

PCR에 의한 VT 검출결과 VT I은 475 bp, VT II는 863 bp에서 각각 검출되었다. VT를 생성하는 것으로 확인된 분리주의 혈청형을 확인한 결과 O157 : H7, O26 : H4 및 O55 : H12로 각각 확인되었다. 혈청형 O157 : H7 분리주는 VT II를 생성하였고, 혈청형 O26 분리주는 VT I과 VT II를 생성하였다. 혈청형 O55 : H12 분리주는 VT I을 생성하였다(Fig. 1).

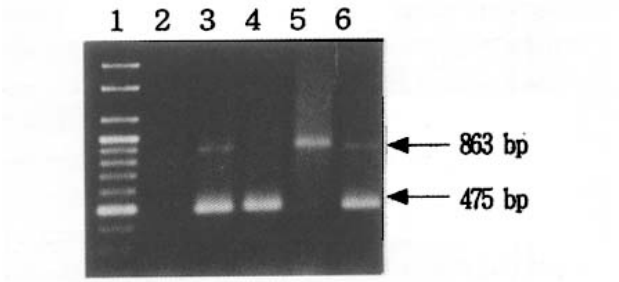

Fig. 1. Amplification of verotoxin gene by PCR.
VT I and II was identified in the region of 475bp and 863bp, respectively. Lane 1: 100bp ladder, lane 2: negative control, lane 3: *E. coli* ATCC 43894 (O157:H7), lane 4: *E. coli* isolate(O55:H12), lane 5: *E. coli* isolate (O157:H7), lane 6: E. coli isolate(O26:H4)

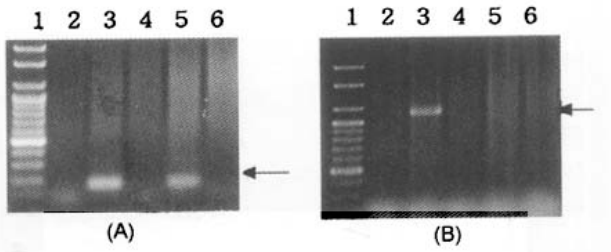

Fig. 2. Amplification of 60MDa plasmid DNA(A) and eae gene(B) by PCR.
60MDa plasmid DNA and eae gene were identified in the region of 166bp and 1,087bp, respectively. Lane 1: 100bp ladder, lane 2: negative control, lane 3: *E. coli* ATCC 43894 (O157:H7), lane 4: *E. coli* isolate (O55:H12), lane 5: *E. coli* isolate(O157:H7), lane 6: *E. coli* isolate (O26:H4)

eae 유전자 및 60 MDa plasmid DNA

장내부착과 침투인자인 *eae* 유전자는 1,087 bp에서 검출되었으며(Fig. 1. B) 60 MDa plasmid DNA는 166 bp에서 각각 확인되었다(Fig.1. C). 3주의 VT 생성 분리주에서 *eae* 유전자는 검출되지 않았으며, 혈청형 O157 : H7 분리주만이 60 MDa plasmid DNA가 검출되었다. 이 결과로 VT 생성 분리주는 *eae* 유전자 및 60 MDa plasmid DNA가 검출되지 않아 질병 유발능은 약한 것으로 추정되었다.

항생제 감수성 시험

대장균 O157 : H7 분리주는 ampicillin과 streptomycin에 내성을 보였으나 carbenicillin, ampicillin/sulbactam, cephalothin,

gentamycin, neomycin, streptomycin, tobramycin, kanamycin, amikacin, tetracycline, minocycline, ciprofloxacin, norfloxacin, chloramphenicol, nalidixic acid와 trimethoprim/sulfamethoxazole에는 감수성을 나타냈다. 혈청형 O26 : H4 분리주는 ampicillin, carbenicillin, cephalothin, neomycin, tetracycline과 trimethoprim/ sulfamethoxazole에 내성을 보였으나, ampicillin/sulbactam, gentamycin, streptomycin, tobramycin, kanamycin, amikacin, minocycline, ciprofloxacin, norfloxacin, chloramphenicol, nalidixic acid에는 감수성을 나타냈다. 혈청형 O55 : H12는 ampicillin, carbenicillin, cephalothin, tetracycline, minocycline(30 μg), chloramphenicol, kanamycin과 trimethoprim/ sulfamethoxazole에는 내성이 확인되었으나, ampicillin/sulbactam, streptomycin, amikacin, tetracycline, minocycline, chloramphenicol에 각각 감수성을 보였다. 이 결과 항생제에 대한 다재내성의 특성을 확인하여 항생제 내성균의 문제점을 암시하였다.

세포독성시험

Vero cell과 HeLa cell에 대한 세포독성은 분리주의 세포 배양액을 이용하였다. 대장균 O157 : H7 분리주는 vero cell과 HeLa cell에 세포독성을 보였는데, 접종 후 24시간에는 대부분의 cell에서 세포독성이 관찰되었으며, 48시간 후에는 모든 cell이 사멸되었다.

고 찰

대장균 O157 : H7로 인한 집단발생의 원인식품은 충분히 조리되지 않은 햄버거, roast beef, 원유, 부적절하게 가공된 사과쥬스, 오염된 물 및 채소 등이다.[13-15] 질병의 발생은 대장균 O157 : H7이 오염되어 있는 식품을 충분히 조리하지 않고 섭취함으로써 일어나게 된다. 대장균 O157 : H7은 출혈성대장염, 용혈성요독증후군, 혈전성혈소판감소증 등 치명적인 증상을 유발하며 사망하는 사례도 종종 보고되고 있기 때문에 보균동물로 알려진 소를 비롯한 돼지 등에서 분포조사가 수행되고 있다.[16] 또한 주요 오염식품인 분쇄 쇠고기, 돼지고기와 닭고기의 식육제품 및 식품[4,17]을 중심으로 분포조사가 실시되었다. 특히 대장균 O157 : H7 감염은 사람과의 접촉을 통해서도 일어날 수 있기 때문에 유치원 등 어린이들이 집단 생활하는 곳에서 발생되는 사례도 종종 보고되고 있다.[18] 정[19]에 의하면 소 분변에서의 대장균 O157 : H7 검출율은 미국이 1.42%, 일본이 1.4%였으며, 국내 소와 돼지에서는 소 분변 390건 중 2건(0.51%), 돼지분변 420건 중 2건(0.48%)으로 검출율은 제외국에 비하여 매우 낮은 것으로 보고하였으나, 가축의 분변에 존재한다는 것은 식육이나 토양, 물 등으로 상재균이 오염될 수 있다는 가능성을 제시하고 있다. 최근에는 장관출혈성대장균 O157 : H7 뿐 아니라 혈청형 O26, O111, O114 등 다양한 종류의 대장균에 의하여 집단발생 및 병원성이 보고되고 있으므로,[20-21] 식중독 발생 방지를 위한 일환으로 혈청형 O157 뿐 아니라 기타 혈청형에 대하여도 분포조사를 실시하고 있다.

장관출혈성대장균은 국내에서는 매우 적은 분리율을 보이고 있으며 환자 발생수도 극히 낮은 실정이지만, 1996년부터 일본에서 대규모의 집단발생이 일어남에 따라 이 균으로 인한 식중독 발생을 사전에 방지하기 위하여 분포조사가 지속적으로 수행되고 있다. 본 실험에서는 1997년부터 1999년사이 식육, 햄버거 및 채소류 1,200건의 식품을 대상으로 분포조사를 실시하였으며, 이 결과 분리된 3주의 VT 생성 대장균에 대한 분자생물학적 특성을 조사하였다. 즉, 병원성과 관련된 VT, *eae* 유전자 및 60 MDa plasmid 유전자를 PCR법에 의하여 각각 검출하였다. 혈청형 O157 : H7 분리주는 햄버거에서 분리된 것으로서 60 MDa plasmid DNA는 확인되었으나, *eae* 유전자는 검출되지 않았으며 VT II를 생성하였다. 혈청형 O26 : H4 분리주는 VT I과 VT II를 생성하였으며, *eae* 유전자 및 plasmid DNA 유전자는 보유하고 있지 않았다. 혈청형 O55:H12 분리주도 *eae* 유전자와 60 MDa plasmid는 확인되지 않았으나 VT I만을 생성하였다. Verotoxin은 장관출혈성대장균의 병원인자 중 가장 중요하게 인식되는 요인으로 toxin이 혈류에 도달 후 상피세포 및 간의 tubular cell에 손상을 주게되며, 부착과 침투에 관여하는 *eae* 유전자 및 93 kb plasmid를 포함하고 있어, 장관출혈성대장균의 주요 병인요인으로 확인되고 있다.[22-24] Yatsuyanagi 등[24]에 의하면 60 MDa plasmid DNA와 *eae* 유전자는 사람에게 설사, 출혈성대장염, 용혈성요독증후군을 유발하는 VT의 기작에 중요한 역할을 한다고 하였으며, Beutin 등[25]도 VT의 생성이 확인되더라도 60 MDa plasmid나 *eae* 유전자가 없는 경우 이러한 유전자를 보유하고 있는 대장균에 비하여 사람에게 병원성을 적게 나타내는 것으로 설명하고 있다. 본 실험에서는 확인된 3주에서 *eae* 유전자는 확인되지 않았으며 혈청형 O157 : H7 분리주만이 60 MDa plasmid DNA를 보유하고 있어 *eae* 유전자나 plasmid DNA를 포함하는 대장균보다 병인유발능력이 약할 것으로 추정되었다.

VT를 생성하는 3주에서 vero cell(Fig.4)과 HeLa cell (Fig.5)에 세포독성을 확인하였는데, O'Brien 등[27]의 설명과 같이 VT가 두가지 cell에 세포독성을 나타냈다. 장관출혈성대장균의 검출법이 발달되지 않았던 시기에는 VT 생성을 확인하기 위하여 vero cell을 이용한 세포독성시험을 실시

하였으나 시험법이 복잡한 단점이 있다. 따라서 최근에는 PCR을 이용하여 독소 유전자를 검출하는 시험법을 일반적으로 사용하고 있다. 또한 여러 가지 병원인자를 동시에 검출하는 multiplex PCR법을 이용하여 신속하고 간단하게 유전자를 확인하고 있어, 많은 실험실에서 사용되고 있다. 최근에는 대장균 O157 : H7을 비롯하여 verotoxin을 생성하는 장관출혈성대장균을 신속검출하기 위한 키트가 상업화되어 시판되고 있으며, 국내에서도 신속검출법에 관한 연구가 수행되고 있으므로 앞으로는 식품 중에서 신속·간단하게 장관출혈성대장균을 검출할 수 있을 것으로 기대된다.

식육이나 가열처리하지 않은 식품에는 대장균 O157 : H7이 존재할 가능성이 있으나, 이 균은 열에 약하여 75℃에서 3분의 가열처리에 의하여 사멸된다. 그러나 햄버거 등에서 이 균이 검출되는 것은 고기를 가는 과정에서 균이 내부로 섞여 들어간 상태에서 조리시 열이 내부까지 도달하지 못하였기 때문이다. 미국 FDA에서는 분쇄 쇠고기를 88.8℃의 온도로 충분히 조리하고 고기의 내부는 붉은 빛이 없어질 때까지 충분히 가열하도록 권고하고 있으며, 햄버거의 패티는 86.1℃로 가열하도록 하고 있다. 2차오염을 방지하기 위하여 가열한 음식과 가열처리하지 않은 음식을 같이 놓지 않도록 하며, 감염된 사람 특히, 어린이는 손을 비누로 깨끗하게 씻어서 감염이 퍼질 위험성을 줄여야 한다. 또 적당한 수준의 chlorine이 처리된 물이나 다른 오염되지 않는 물을 마시는 등의 주의를 기울인다면 대장균 O157 : H7에 의한 감염 및 전파는 방지할 수 있을 것이다.

대장균 O157 : H7을 비롯한 장관출혈성대장균의 감염증을 예방하기 위하여는 원인식품이나 감염경로를 밝혀 감염원이 되고있는 원인물을 배제하고 관리하는 것이 중요하다. 장관출혈성대장균은 잠복기간이 3-8일로 길어 식중독이 발생된 후 원인식품을 확인하는데 큰 어려움이 있었다. 일예로, 1998년 햄버거에서 대장균 O157 : H7이 검출되었을 때, 햄버거 판매점, 제조회사 및 원료 공급지에서 제조되고 있는 모든 원료를 수거하여 검출시험을 실시하였으나, 균이 검출되었던 패티와 동일 랏트의 패티는 이미 모두 소비되어 구할 수 없는 상태였으므로 정확한 오염식품을 찾아내지 못하였다. 이러한 단점을 보완하기 위하여 오염원을 파악하고 오염 가능성이 높은 식품을 대상으로 지속적인 분포조사를 실시하여 사전에 식중독의 발생을 방지하는 것이 중요하다. 이에 식품의약품안전청에서는 매년 하절기 특별수거 및 지속적인 모니터링을 실시하여 식품에서 장관출혈성대장균의 오염체계를 감시하여 장관출혈성대장균 특히 대장균 O157 : H7로 인한 위해를 사전에 방지하고자 노력하고 있다.

감사의 말씀

본 논문의 일부는 보건복지부의 1997년부터 1999년까지의 보건의료기술연구개발사업의 지원과제로 이루어진 것으로 이에 깊이 감사드립니다.

국문요약

국내 유통식품에서 verotoxin(VT)을 생성하는 대장균의 오염도를 조사하고 이로 인한 식중독의 발생을 사전에 예방하기 위하여 1997년부터 1999년 사이 햄버거, 식육 및 채소류에서 VT 생성 대장균의 분포조사를 실시하였으며, 이 결과 분리된 대장균에 대한 분자생물학적 특성을 조사하였다. 식육, 햄버거 및 채소류 총 1,700건의 식품 중에서 VT를 생성하는 대장균이 검출된 것은 3건으로 매우 낮은 검출율을 보였는데, 분리주의 혈청형은 각각 O26:H4, O157 : H7 및 O55 : H12였다. 혈청형 O26 : H4 분리주는 VT I과 VT II를 생성하였고, O55 : H12주는 VT I을 각각 생성하였으며, 두 분리주에서 *eae* 유전자와 60 MDa plasmid DNA는 검출되지 않았다. 혈청형 O157 : H7주는 VT II를 생성하였고 60 MDa plasmid DNA는 검출되었으나 *eae* 유전자는 확인되지 않았다. 따라서 분리된 VT 생성 대장균들은 *eae* 유전자가 검출되지 않아 질병유발 가능성은 낮은 것으로 추정되었다. 항생제 내성능에서 혈청형 O157 : H7 분리주는 ampicillin과 streptomycin에 내성을 나타낸 반면, 혈청형 O26 : H4주와 혈청형 O55 : H12주는 ampicillin, carbenicillin, cephalothin, trimethoprim/sulfamethoxazole과 tetracycline에 내성을 보여 분리주의 다재내성능을 확인하였다. 세포배양액으로 실시한 vero cell과 HeLa cell에 대한 세포독성능은 3주의 분리주에서 확인되었다.

참고문헌

1. Rocchi G, Capozzi M.: Enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7 infection, Recent Pro. *Med.*, **90**, 613-618 (1999).
2. Pebody RG, Furtado C, Rojas A, McCarthy N, Nylen

G, Ruutu P, Leino T, Chalmers R, de Jong B, Donnelly M, Fisher I, Gilham C, Graverson L, Cheasty T, Willshaw G, Navarro M, Salmon R, Leinikki P, Wall P, Bartlett C: An international outbreak of vero cytotoxin-producing Escherichia coli O157 infection amongst tourists ; a challenge for the European infectious disease surveillance network, Epidemiol. *Infect*, **123**, 217-223 (1999).

3. Novello A.: Outbreak of Escherichia coli O157:H7 and Campylobacter among attendees of the Washington County Fair-New York, NMWR, **48**, 803-805 (1999).
4. Doyle, M.P. Escherichia coli and its significance in foods. Intern. *J. Food. Microbiol.* **12**, 289-302 (1991).
5. Michino H, Araki K, Minami S, Sakai N, Miyazaki M, Ono A, Yanagawa H.: Massive outbreak of Escherichia coli O157:H7 infection in schoolchildren in Sakai City, Japan, associated with consumption of white radish sprouts, Am. *J. Epidemiol.*, **50**, 787-796 (1999).
6. Funamori Y, Fujinaga Y, Yokota K, Inoue K, Hirai Y, Oguma K, Kira S, Taketa K.: Molecular typing of enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7 isolated in Okayama Prefecture using pulsed field gel electrophoresis and random amplification of polymorphic DNA, Acta Med. *Okayama*, **53**, 193-200 (1999)
7. 김 호훈, 1998. Escherichia coli O157:H7의 세계적 감염 실태 및 역학. Medical POSTGRADUATES **26**, 15-20
8. Strockbine, N.A. T. Popovic-Uroic, K.D. Green, Wells, J.G. and Wachsmuth. 1991. Amplification of genes for shiga-like toxins I and II from Escherichia coli in stool specimens by the polymerase chain reaction. Escherichia coli O157:H7 in foods, proceedings of a workshop, March 18-19, 1991
9. Fratamico, P.M., S.K.Sackitey, M. Wiedmann, and M.Y. Deng. 1995. Detection of Escherichia coli O157:H7 by multiplex PCR. *J. Clin. Microbiol.* **33**, 2188-2191
10. Isenberg H.D. 1992. Microbiology procedures handbook I, section 5. antimicrobial susceptibility testing. American Society for Microbiology.
11. National Committe for Clinical Laboratory Standardzation. Performance standards for antimicro- bial disk susceptibility test, M2-M3, 3rd ed. **4**, 369-406 (1984).
12. Hitchins, A.D., P. Feng, W.D. Watkins, S.R. Rippey and L.A.Chandler. 1995. Escherichia coli and coliform bacteria. FDA Bacteriological Analytical Manual. 8th. ed. 4.01-4.29. AOAC Internation
13. Belongia, E.A., K.L. MacDonald, G.L. Parham, K.E. White, J.A. Korlath, M.N. Lobato, S.M. Stand, K.A. Casale and M.T. Osterholm. An outbreak of Escherichia coli O157:H7 associated with consumption of precooked meat patties. *J. Intern. Dis.* **164**, 338-343 (1991).
14. Besser, R.E., S.M. Leff, J.T. Weber, M.P. Doyle, T.J. Barrett, J.G. Wells, P.M. Griffin. An oitbreak of diarrhea and hemolytic uremic syndrome from Escherichia coli O157:H7 in fresh-pressed apple cider. *JAMA*. **269**, 2217-2220 (1993).
15. Swedlow, D.L., B.A. Woodruff, R.C. Brady, P.M. Griffin, H.D. Donnell, E. Geldreich, B.J. Payne, A. Meyer, J.G. Wells, K.D. Green, M. Bright, N.H. Bean, P.A. Blake. A waterborne outbreak in Missouri of Escherichia coli O157:H7 associated with bloody diarrhea and death. *Annal. Intern. Med.* **117**, 812-819 (1992).
16. Tada H., S. Itami, Y. Yamamoto, K. Kobayashi, M. Taguchi, M. Nakazawa. Detection of verotoxin-producing Escherichia coli using polymerase chain reaction from dairy cattle. *Kansenshogaku Zasshi* **66**, 1383-1389 (1992).
17. Read, SC., CL. Gyles, RC Clarke, H. Lior and S. McEwen. Prevalence of verocytotoxigenic Escherichia coli in ground beef, pork and chicken in southwestern Onterio. *Epidemiol. Infect.* **105**, 11-20 (1990).
18. Centers for Disease Control. Hemolytic-uremic syndrom associated with *Escherichia coli* O157:H7 enteric infections-United States. MMWR **34**, 20-21 (1985).
19. 정 석찬, 정 병열, 조 동희, 김 종염, 이 재진, 박 용호. 1998. 국내 발견 신세대 식중독균의 문제점과 예방대책-Escherichia coli O157:H7의 특성 및 최근 연구동향. 1998년 한국 식품안전성 학회 심포지엄.
20. Paton AW, Paton JC.: Direct detection of shiga toxigenic Escherichia coli strains belonging to serogroups O111, O157, and O113 by multiplex PCR, *J. Clin. Microbiol.* **37**, 3362-5 (1999).
21. Schmidt H, Geitz C, Tarr PI, Frosch M, Karch H.: Non-O157:H7 pathogenic shiga toxin producing *Escherichia coli:* phenotypic and genetic profiling of virulence traits and evidence for clonality, *J. Infect. Dis.*, **179**, 115-23 (1999).
22. Boerlin P, Chen S, Colbourne JK, Johnson R, De Grandis S, Gyles C.: Evolution of enterohemorrhagic Escherichia coli hemolysin plasmids and the locus for enterocyte effacement in shiga-producing *Escherichia coli, Infect. Immun.*, **66**, 2553-61 (1997).
23. Izumiya H, Watanabe H.: Genes involved in the virulence of enterohemorrhagic Escherichia coli. *Nippon Rinsho.*, **55**, 641-5 (1997).
24. Yatsuyanagi, J., S. Saito, M. Morita. Some characteristics of verotoxin -producing Escherichia coli

strains isolated from sporadic diarrhea in Akita Prefecture. *Kansenshogaku Zasshi.* **69**, 1286-1293 (1995).
25. Beutin, L., D. Geier, S. Zimmermann and H. Karch. Virlence marker of Shiga-like toxin-producing *Escherichia coli* strains originating from healthy domestic animals of different species. *J. Clin. Microbiol.* **35**, 631-635 (1995).
26. Sandhu, K.S., Clarke, RC, McFadden, K, Brouwer, A, Louie, M, Wilson, J, Lior, H, and Gyles, CL.: Virulence markers in shiga toxin-producing Escherichia coliisolated from cattle, *Epidemiol. Infect.*, **116**, 1-7 (1996).
27. O'Brien, A.D. and Lively, TA, Chang, TW, and Gorbach, SL.: Purification of Shigella dysenteriae I(Shiga)-like toxin from *Escherichia coli* O157:H7 strains associated with hemorrhagic colitis. *Lancet* 573 (1993)
28. Nauschuetz W: Emerging foodborne pathogens: enterohemorrhagic *Escherichia coli. Clin. Lab Sci.*, **11**, 298-304 (1998).