

## 제7.4.16 장출혈성 대장균(Enterohemorrhagic *Escherichia coli*)

필요한 시액 및 배지 (자세한 사항은 제7.4.4 배지 및 시액 참조)

### 배지

mTSB 배지(배지 74): CM0989B + SR0181E

TC-SMAC 배지(배지 66): CM0813B + SR0172E

BCIG 한천배지(배지 73): <분말배지>CM0945B; <생배지>PO5109A

보통한천배지(배지 8): CM0017B

### 그람염색

Gram Stain Kit, Enhanced, 250ml x 5bottles (R40240): 고전방법(2분40초~3분) 대비 염색시간 단축(43초~1분8초); 배경 적색을 감소시켜 작은 그람음성 미생물의 대조를 향상; 긴 기본 유효기간 (460일)

### 생화학적 동정키트:

RapID ONE System, 20panels/kit (R8311006)

+ RapID Inoculation Fluid, 2mlx20tubes (R8325106)

+ RapID Spot Indole Reagent, 15mlx1vial (R8309002)

### 대장균 O157:H7 확인 라텍스 키트

RIM™ E.coli O157:H7 Latex Test, 50tests (R24250)

### 대장균 O157 확인 라텍스 키트

Oxoid *Escherichia coli* O157 Latex Test, 100tests (DR0620M)

Dryspot E. coli O157, 120tests (DR0120M)

### 분자 진단:

제품명	제품번호	용량	노트
SureTect™ E. coli O157:H7 PCR Assay	PT0400A	96 tests / kit	AOAC validated
TaqMan™ Verotoxin-producing <i>Escherichia coli</i> VT1/VT2 Multiplex Assay Beads	4485074	96 reactions	HPA validated
TaqMan™ Verotoxin-producing <i>Escherichia coli</i> VT1/VT2 Multiplex Assay	4485018	100 reactions	HPA validated
Dynabeads anti-E. coli O157	71003 71004	1mL 5mL	Isolate and concentrate E. coli O157:H7 from samples in as little as 24 hours

## 제7.4.16 장출혈성 대장균(Enterohemorrhagic *Escherichia coli*)

본 시험법은 대장균 O157:H7과 대장균 O157:H7이 아닌 베로독소 생성 대장균(VTEC, Verotoxin-producing *E. coli*)을 모두 검출하는 시험법이다. 장출혈성대장균의 낮은 최소감염량을 고려하여 검출 민감도 증가와 신속 검사를 위한 스크리닝 목적으로 증균 배양 후 배양액(1~2 mL)에서 베로독소 유전자 확인시험을 우선 실시한다. 베로독소(VT1 그리고/또는 VT2) 유전자가 확인되지 않을 경우 불검출로 판정할 수 있다. 다만, 베로독소 유전자가 확인된 경우에는 반드시 순수 분리하여 분리된 균의 베로독소 유전자 보유 유무를 재확인한다. 베로독소가 확인된 집락에 대하여 생화학적 검사를 통하여 대장균으로 동정된 경우 장출혈성대장균으로 판정한다.

### 가. 증균배양

- ① 검체 25g(25mL)을 취하여 다음 배지에서 증균배양한다.

배지	배지량	배양조건
mTSB (배지74)	225mL	35~37°C에서 24시간

### 나. 분리배양

- ② 장출혈성대장균의 분리를 위해 다음 배지에 각각 접종 및 배양하고 의심집락을 확인한다.

사용	배지	배양조건	의심집락
필수	TC-SMAC배지 (배지66)	35~37°C, 18~24시간	sorbitol을 분해하지 않은 무색집락
필수	BCIG 한천배지 (배지73)		직경 2mm 정도의 약간 돌기된 유향색으로 주변에 불투명록색 집락

- ③ 의심집락 각 5개 이상을 취하여 보통한천배지(배지8)에 옮겨 35~37°C에서 18~24시간 배양한다.

\* 전형적인 집락이 5개 이하일 경우 취할 수 있는 모든 집락에 대하여 확인시험을 실시한다.

### 다. 확인시험

- ④ 배양 후 집락에 대하여 베로독소 유전자 PCR 확인 시험을 수행한 후
- ⑤ 베로독소 양성 집락을 대상으로 그람염색으로 그람음성간균임을 확인하고
- ⑥ 생화학시험 (RapID ONE system 등)을 실시하여 대장균으로 확인된 경우 장출혈성대장균으로 판정한다.

### 라. 베로독소유전자 확인 시험 : 식품공전 및 분자진단제품 참조

### 마. 대장균 O157:H7의 확정이 필요할 경우,

- ⑦ 장출혈성대장균으로 판정된 균주에 대하여 O157과 H7 혈청형을 라텍스 응집 키트 등을 사용하여 결정한다. 제조사가 제시하는 시험 방법에 따라 진행한다.

최종적으로 1] 베로독소 유전자(VT1 또는/그리고 VT2) 양성,

2] O157 및 H7 혈청 확인,

3] 대장균으로 확인되었을 때

O157:H7으로 판정한다.