

## 토끼에서 유산 발효유제품 급여에 의한 *Escherichia coli* O157:H7 및 *Salmonella typhimurium*의 증균억제효과

신광순\*<sup>†</sup> · 김용환 · 손원근 · 석주명 · 김상현  
\*서울대학교 수의과대학, 경상대학교 수의과대학

### Growth Inhibition Effect of *E. coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* by Lactic Fermented Milk Products Administrated Orally in Rabbit

Kwang-Soon Shin\*<sup>†</sup>, Yong-Hwan Kim, Won-Guen Son, Ju-Myeong Seok and Sang-Hyun Kim

\*College of Veterinary Medicine, Seoul National Univerisity, Suwon 441-744, Korea  
College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea

**ABSTRACT** — The growth inhibition effect of orally administrated yogurt ACE and Metchnikoff upon *E. coli* O157:H7 and *S. typhimurium* inoculated into gastric lumen of rabbits was investigated. The rabbits challenged with each 1 ml of suspension containing  $10^8$  CFU/ml of the pathogens were divided into 4 groups by the interval of yogurt administration: A group; pre-administrated 7 days before inoculation of the pathogens and fed daily; B group; administrated daily after inoculation of the pathogens, C group; administrated every 3 days after inoculation of the pathogens; Control group, not fed after inoculation of the pathogens. Each 3 ml of yogurt containing  $10^9$  CFU/ml was orally administrated into rabbits. All yogurt administrated groups (A, B, C) showed growth inhibition effect on *E. coli* O157:H7 in one day after inoculation of the pathogen by the level of 0.8~1.0 log CFU/g, compared with the result differences between the control group and the yogurt administrated groups. In the control group after 5 days of inoculation, the number of colonized pathogens was  $10^5$ ~ $10^6$  CFU/g, whereas  $10^3$ ~ $10^4$  CFU/g was detected in the yogurt administrated groups. After 10 days of inoculation, the viable pathogen number per gram (g) of the rabbit feces was  $10^3$  CFU/g in the control group, whereas the number below  $10^1$  CFU/g was detected in the group A, and  $10^2$  CFU/g in the group B and C. The growth inhibition effect of yogurt administration on *E. coli* O157:H7 was highly increased in the order of A, B, and C group. The same effect on *S. typhimurium* was observed at the level of 2 log CFU/g in the Metchnikoff yogurt administrated groups, compared with the control group result in one day after inoculation of the pathogen. In 7 days after inoculation of the pathogen, the viable number was increasingly decreased, and finally after 15 days no viable cell of *S. typhimurium* was discharged into the fecal samples in the group A, and the mean level of  $10^1$  CFU/g was detected in the group B, but there was no growth inhibition effect in the group C. The growth inhibition effect on *S. typhimurium* was observed at the same level of viable cell number between the yogurt ACE administrated groups and the control group in 5 days after inoculation. But, after 10 days of inoculation the viable cell number was started to decrease, and the viable cell of *S. typhimurium* was not discharged from rabbit intestinal contents after 15 days of inoculation in the yogurt ACE administrated groups. In such a case that yogurt was administrated in order to prevent the pathogens, pre-administration on a daily basis one week before inoculation of the pathogens exerted considerable effect in growth inhibition. In comparison with two kinds of yogurt tested in this study, the growth inhibition effect on two kinds of pathogens was observed more highly in the Metchnikoff administrated group than the ACE administrated group.

**Key words** □ *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, Yogurt, Growth inhibition effect

<sup>†</sup> Author to whom correspondence should be addressed.

최근 사람에서 가장 빈번하게 식중독 및 장염을 일으키는 병원체는 *E. coli* O157:H7, *Salmonella*속 균 및 *Campylobacter*속 균으로 알려져 있다.<sup>1,3)</sup> 이들 중에서 *E. coli* O157:H7은 거의 모든 식품 즉 물, 고기, 유제품 등을 통하여 감염되며, 분쇄고기(ground beef)가 가장 중요한 오염원으로 알려져 있다. 이 균은 Vero 독소를 생산하여 용혈성 요독 증후군(HUS),<sup>4,5)</sup> 출혈성 결장염(HC),<sup>5,6)</sup> 혈전성 혈소판 감소성 자반병(TTP)<sup>7)</sup> 및 돼지의 부종병(ED) 등<sup>8)</sup>을 일으킨다. 이균은 1982년 미국 및 캐나다에서 식중독의 원인균으로 보고된 이래 유럽, 남미, 남아프리카 및 일본등으로 전파되어 매년 증가 추세에 있다.<sup>7,9)</sup> 특히 1996년 일본에서 거의 10,000명에 달하는 폭발적인 집단 식중독을 유발하여 노약자 12명이 사망함으로써 세계적인 관심이 집중되고 있다. *Salmonella*속 균은 가축의 장관에 상존하며, 축산물 등 오염 식품을 통하여 감염하여 급성위장염, 식중독 및 패혈증 등을 일으킴으로 공중위생상 중요한 지표세균으로 알려져 있다.<sup>11-13)</sup>

유산균은 장점막에서 병원성 세균이 정착하는 것을 경쟁적으로 저지시키거나<sup>14,15)</sup> 장관내 pH를 산성으로 저하시키므로써 세균의 발육을 억제시킬 뿐 아니라<sup>16)</sup> 대장균이 생성한 enterotoxin을 중화시키거나, 병원성 세균에 유해한 항균성 물질을 생성하는 것으로 알려져 있다.<sup>18,19)</sup> 유산균의 의학적인 이용효과에 대하여 Metchnikoff<sup>20)</sup>는 장염환자에서 *L. bulgaricus*의 발효유를 투여한 결과, 병원성 세균의 감소로 정상적인 변이 배설되었다고 하였으며, Farmer 등<sup>21)</sup>과 Mit-suoka<sup>22)</sup>은 Ehrlich 복수종양세포 및 육종세포를 이식한 흰쥐에 *L. bulgaricus* 발효유를 투여한 결과, 암세포의 증식이 억제된다고 하였다. *L. acidophilus*과 *L. casei*도 장 질환의 치료에 효과가 있는 것으로 널리 알려져 있다.<sup>23,24)</sup> 가축에서 유산균의 투여효과를 보면 *L. acidophilus*를 돼지에 급여하였을 때 장염의 감소와 증체효율의 개선효과가 있음이 알려져 있고,<sup>25,26)</sup> *Str. faecium*도 사료효율을 높여 주므로써 가축의 성장을 촉진하여 병원성 장내세균의 증식을 억제시키는 것으로 알려져 있다.<sup>27,28)</sup> 근년 유산균을 이용한 식품첨가제 및 사료첨가제가 많이 개발되어 장염의 예방 및 치료 목적으로 널리 사용되고 있다. 시험관내에서 유산균의 장내 결합세균에 대한 증식억제 효과에 대한 보고는 많지만, 생체내에서 대장균 O157:H7의 장관내 정착 및 증식억제효과에 대하여 보고한 성적은 거의 없다.

본 실험에서는 장관내 미생물에 대한 감수성이 비교적 높은 실험동물인 Newzealand white rabbit를 사용하여 유산균 발효유의 급여가 대장균 O157:H7 및 *S. typhimurium*의 장관정착 및 증식억제에 미치는 효과를 관찰하므로써, 본균의 감염에 대한 효과적인 예방법을 제시하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 균주 배양

한우에서 분리한 *Escherichia coli* O157:H7(KSC109) 및 *Salmonella typhimurium*(ATCC 14028)을 Tryptic soy broth(Difco)에 접종하여 37°C에서 24시간 진탕배양(200 rpm)한 것을 동일 신선배지에 재 접종하여(10% 용량) 4시간 진탕하였다.

배양액을 원심침전하여 침전균체를 Phosphate buffered saline(PBS, pH 7.4) 용액으로 2회세척한 다음, 최종적으로 10% Sodium bicarbonate 용액을 넣어 MacFarland No. 1의 혼탁도에 맞추어 10<sup>6</sup> CFU/ml 수준으로 희석하였다.

### 동물 접종

실험동물로 Newzealand white rabbit(1.5~2 kg) 80두를 구입하여 Safety clean rack에서 1주~2주 사육하면서 건강상태를 관찰하고, 대장균 O157:H7 감별배지인 Sorbitol MacConkey agar(Difco)와 *Salmonella* 감별배지인 Xylose lysin dextrose(XLD, Difco) 배지에 분변을 배양하여 미감염 동물을 선발 확인하였다. 선발된 토끼에 대장균 O157:H7 및 *Salmonella* 균을 10<sup>6</sup> CFU/ml 수준으로 조정한 병원균 부유액 1.0 ml를 round tipped needle(17-gauge, stainless)을 사용하여 경구적으로 위내에 접종하였다.

유산균의 투여는 (주)한국야구르트에서 생산되는 유산균 발효유 ACE(균주: *Lactobacillus casei* YIT9018)와 Metchnikoff(균주: *Lactobacillus acidophilus* NCFM) 제품으로 유산균수가 10<sup>9</sup> CFU/ml 수준의 음료 각 3 ml를 병원균 접종 시와 동일한 방법으로 투여하였다.

### 실험구의 설정

유산균의 경구투여에 의한 병원균의 증균억제 효과를 알아보기 위하여 Table 1과 같은 실험구를 설정하였다. 또한 각 실험구당 1.5~2 kg의 Newzealand white rabbit 2~8 마리를 Table 2와 같이 배치하여 실험에 공하였다.

### 사양관리

각 실험구의 동물은 동일 조건의 Safety clean rack(cage)에서 사육하고, 물 및 사료는 별균처리한 것을 사용하여 위생적인 사양관리를 하였다.

### 대장균 O157:H7 및 *Sal. typhimurium*의 장관정착 및 증균 억제 효과 검증

병원균의 장관 정착을 조사하기 위하여 실험 동물의 분변을 무균적으로 채취하였다. 매일 분변받이를 살균세척하

**Table 1. Design of experimental groups based on administration of yogurt**

| Control   | A group  | B group  | C group   |
|---|--|--|---|
| Non-administrated, after inoculation of the pathogens | Pre-administrated, on a daily basis 7 days before inoculation of the pathogens | Administrated daily after inoculation of the pathogens | Administrated every 3 days after inoculation of the pathogens |

**Table 2. Grouping of rabbits into each experimental group**

| Distribution           | Control |     | A group |     | B group |     | C group |     | Total |
|------------------------|---------|-----|---------|-----|---------|-----|---------|-----|-------|
|                        | ACE     | Met | ACE     | Met | ACE     | Met | ACE     | Met |       |
| <i>E. coli</i> O157:H7 | 8       | 4   | 8       | 4   | 8       | 4   | 8       | 4   | 48    |
| <i>S. typhimurium</i>  | 4       | 2   | 4       | 2   | 8       | 4   | 4       | 2   | 30    |
| Sub-total              | 12      | 8   | 12      | 8   | 16      | 8   | 12      | 8   | 78    |

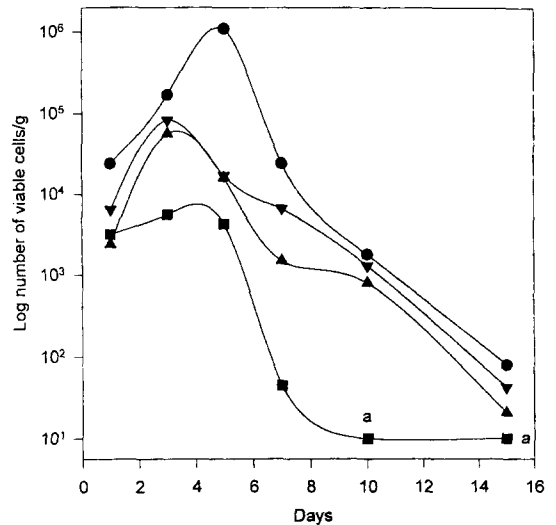
여 화염멸균한 다음, 각 실험구 개체의 분변 1 g을 10 ml의 PBS용액에 균질화한 다음, 10배 계단희석하여 MacConkey agar(MA), Sorbitol-MA(SMA)에 도말 배양하여 대장균 및 병원성 대장균 O157:H7균의 수를 산정하였다. SMA에서 sorbitol을 분해하지 않는 집락을 선발하여 4-methylumbelliform-β,D-glucuronide(MUG) 첨가 배지에 접종한 후 MUG 음성임을 확인하였다. *Sal. typhimurium*의 균수를 산정하기 위하여 XLD 배지에 계단희석된 분변재료를 도말배양하여 *Salmonella* 특유의 균 집락수를 측정하고, 생화학적 정상검사를 통하여 접종 균임을 확인하였다.

**결 과**

유산균 발효유 ACE와 Metchnikoff를 투여한 토끼에서 *E. coli* O157:H7과 *S. typhimurium*의 장관정착 및 증균억제 효과를 비교 시험한 결과, 유산균 발효유 ACE의 투여에 의한 *E. coli* O157:H7의 증균억제 효과의 성적은 Table 3 및 Fig. 1에서와 같다. 접종 1일 후에는 ACE를 투여한 A, B 및 C 군은 비투여 대조군  $6.5 \times 10^4$  CFU/g의 균수보다  $5.1 \times 10^3$ - $1.1 \times 10^4$  CFU/g 으로서 약 0.8 log(CFU/g) 정도 증균이 억제되었다.

그후 접종 5일까지는 전 실험구에서 균수가 증가되었으

나, 접종 7일후부터는 균수가 감소하기 시작하였으며, 접종 1주일전부터 ACE를 투여한 A 및 접종후 매일 ACE를 투



**Fig. 1. Fecal shedding of *E. coli* O157:H7 KSC 109 in rabbit inoculated with A product.**  
 ●—●: Control, ■—■: i, ▲—▲: ii, ▼—▼: iii, \*: <10 cfu/g.

**Table 3. Fecal shedding of *Escherichia coli* O157:H7 in rabbit administrated with yogurt (ACE and Metchnikoff)**

| Days | ACE               |                   |                   |                   | Matchinikoff      |                   |                   |                   |
|------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|      | Control           | A                 | B                 | C                 | Control           | A                 | B                 | C                 |
| 1    | $6.5 \times 10^4$ | $1.1 \times 10^4$ | $1.5 \times 10^4$ | $5.1 \times 10^3$ | $2.4 \times 10^4$ | $3.2 \times 10^3$ | $2.4 \times 10^3$ | $6.5 \times 10^3$ |
| 3    | $5.4 \times 10^4$ | $3.0 \times 10^4$ | $6.9 \times 10^3$ | $1.8 \times 10^5$ | $1.7 \times 10^5$ | $5.6 \times 10^3$ | $5.6 \times 10^4$ | $8.3 \times 10^4$ |
| 5    | $1.7 \times 10^5$ | $9.7 \times 10^4$ | $7.0 \times 10^4$ | $4.7 \times 10^4$ | $1.1 \times 10^6$ | $4.3 \times 10^3$ | $1.6 \times 10^4$ | $1.7 \times 10^4$ |
| 7    | $6.7 \times 10^3$ | $6.5 \times 10^2$ | $1.3 \times 10^3$ | $4.8 \times 10^3$ | $2.4 \times 10^4$ | $4.5 \times 10^1$ | $1.5 \times 10^3$ | $6.7 \times 10^3$ |
| 10   | $1.3 \times 10^5$ | $9.6 \times 10^1$ | $8.0 \times 10^2$ | $9.7 \times 10^2$ | $1.8 \times 10^3$ | <10               | $8.0 \times 10^2$ | $1.3 \times 10^3$ |
| 15   | $1.8 \times 10^2$ | $1.2 \times 10^1$ | $2.3 \times 10^1$ | $2.1 \times 10^2$ | $1.8 \times 10^2$ | <10               | $2.1 \times 10^1$ | $4.3 \times 10^1$ |

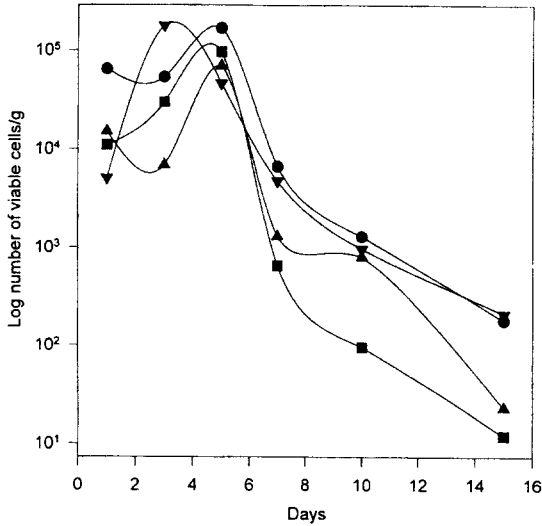


Fig. 2. Fecal shedding of *E. coli* O157:H7 KSC 109 in rabbit inoculated with B product.

—●—: Control, —■—: i, —▲—: ii, —▼—: iii.

여한 B 군은 3일 간격으로 ACE를 투여한 C 군과 대조군 보다 증균이 현저하게 억제되었다. 접종 15일 후에는 A군과 B군은 각각  $1.2 \times 10^1$  및  $2.3 \times 10^1$  CFU/g 수준으로 증균이 억제되었으나, 대조군 및 C군은 각각  $1.8 \times 10^2$  및  $2.1 \times 10^2$  CFU/g 수준을 유지하였다.

유산균 발효유 Metchnikoff를 투여한 토끼에서 *E. coli* O157:H7의 증균억제효과를 조사한 성적은 Table 3과 Fig. 2에서 보는 바와 같다. 접종 1일후 Metchnikoff 투여군 A, B 및 C는 대조군의  $2.4 \times 10^4$  CFU/g 보다  $2.4-6.5 \times 10^3$  CFU/g으로서 약 1 log(CFU/g) 정도 증균이 억제되었다. 대조군의 경우 3일후  $1.7 \times 10^5$ (5.24 log), 5일후  $1.1 \times 10^6$ (6.04 log) CFU/g 수준으로 현저하게 증가하였으며, 7일 후부터 감소하는 경향이었다. A군의 경우 접종 5일까지는 처음 정착균수를 유지하였으나 7일 후에는  $4.5 \times 10^1$ (1.65 log) CFU/

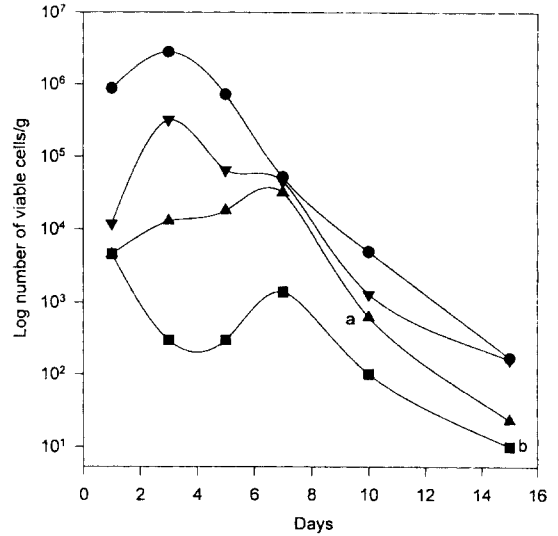


Fig. 3. Fecal shedding of *Salmonella typhimurium* 14028 in rabbit inoculated with A product.

—●—: Control, —■—: i, —▲—: ii, —▼—: iii,  
<sup>a</sup>: One rabbit of 2 animal tested was dead after 10 days,  
<sup>b</sup>: <10 cfu/g.

g 수준으로 대조군보다 증균이 현저하게 억제되었으며, 10일 후에는 대장균 O157:H7이 거의 검출되지 않았다. B군과 C군은 접종 3일까지는 균수가 약간 증가하는 경향이었으나, 10일후부터는 증균이 현저하게 억제되었다.

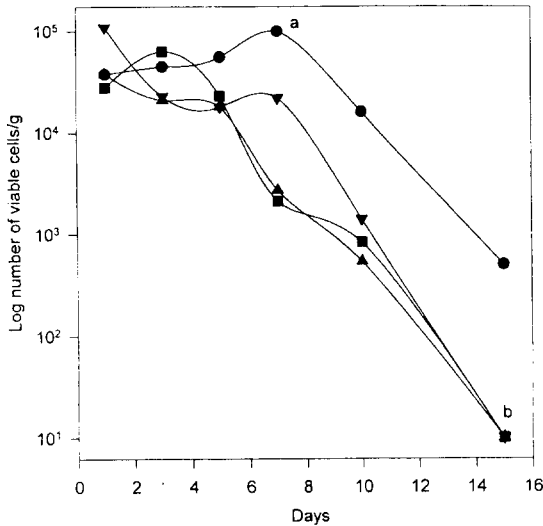
유산균 발효유 ACE의 급여가 *S. typhimurium*의 증균억제에 미치는 효과를 조사한 결과는 Table 4 및 Fig. 3에서와 같다. 대조군의 경우 접종 1일에  $3.8 \times 10^4$  CFU/g의 균수에서 접종 7일에는  $1.0 \times 10^5$  CFU/g로서 다소 증가되었으나 그후 감소하여 15일에는  $2.0 \times 10^2$  CFU/g의 균수를 나타낸 반면 A, B, C군의 경우 접종 1일의 정착균수는 다소간의 차이를 보였으나, 전 시험군 공히 점차 감소하여 접종 15일 이후에는 거의 병원균의 배설을 관찰할 수 없었다. 특히 대

Table 4. Fecal shedding of *Salmonella typhimurium* in rabbit administrated with yogurt (ACE and Metchnikoff)

| Days | ACE                  |                   |                   |                   | Matchnikoff        |                   |                      |                      |
|------|----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|-------------------|----------------------|----------------------|
|      | Control              | A                 | B                 | C                 | Control            | A                 | B                    | C                    |
| 1    | $3.8 \times 10^4$    | $2.8 \times 10^4$ | $3.8 \times 10^4$ | $1.1 \times 10^5$ | $8.8 \times 10^5$  | $4.6 \times 10^3$ | $4.6 \times 10^3$    | $1.2 \times 10^4$    |
| 3    | $4.5 \times 10^4$    | $6.3 \times 10^4$ | $2.1 \times 10^4$ | $2.3 \times 10^4$ | $2.8 \times 10^6$  | $3.0 \times 10^2$ | $1.3 \times 10^4$    | $3.2 \times 10^5$    |
| 5    | $5.6 \times 10^4$    | $2.3 \times 10^4$ | $1.8 \times 10^4$ | $1.8 \times 10^4$ | $7.2 \times 10^5$  | $3.0 \times 10^2$ | $1.8 \times 10^4$    | $6.5 \times 10^4$    |
| 7    | $1.0 \times 10^{5a}$ | $2.1 \times 10^3$ | $2.7 \times 10^3$ | $2.2 \times 10^3$ | $5.2 \times 10^4*$ | $1.4 \times 10^3$ | $3.2 \times 10^4$    | $4.6 \times 10^4$    |
| 10   | $1.6 \times 10^4$    | $8.3 \times 10^2$ | $5.4 \times 10^2$ | $1.4 \times 10^3$ | $5.0 \times 10^3$  | $1.0 \times 10^2$ | $6.3 \times 10^{2b}$ | $1.3 \times 10^{3b}$ |
| 15   | $5.0 \times 10^2$    | <10               | <10               | <10               | $1.7 \times 10^2$  | <10               | $2.3 \times 10^1$    | $1.6 \times 10^2$    |

<sup>a</sup> One of 4 rabbits tested was dead after 7 days of inoculation.

<sup>b</sup> One of 2 rabbits tested was dead after 10 days of inoculation.



**Fig. 4. Fecal shedding of *Salmonella typhimurium* 14028 in rabbit inoculated with B product.**  
 —●—: Control, —■—: i, —▲—: ii, —▼—: iii,  
 a: One rabbit of 2 animal tested was dead after 7 days,  
 b: <10 cfu/g.

조군의 1두는 접종 7일 후에 10<sup>6</sup> CFU/g 이상의 높은 균수를 나타내었고, 식욕부진, 설사 등의 증상을 나타내다가 10일 후에 폐사하였다.

유산균 발효유 Metchnikoff를 투여한 토끼에서 *S. typhimurium*의 증균억제효과를 조사한 성적은 Table 4 및 Fig. 4에서 보는 바와 같다. 접종 1일후 Metchnikoff 투여군 A, B 및 C는 대조군의 8.8×10<sup>5</sup> CFU/g 보다 1.2-4.6×10<sup>3</sup> CFU/g으로서 약 2 log(CFU/g) 정도의 현저한 증균억제효과를 나타내었다. A군은 접종 3일 후에는 3.0×10<sup>2</sup> CFU/g 수준으로 현저하게 증균이 억제되었으며 10일후까지 완만하게 억제되는 경향을 보였고, 접종 15일 후에는 거의 배균되지 않았다. B군은 접종 7일까지는 약간 증균되는 경향을 보였으나 접종 10일 후에는 증균이 현저하게 억제되었고, 15일 후에는 2.3×10<sup>1</sup> CFU/g 수준으로 증균이 억제되었다.

대조군 및 C군은 접종 3일까지 증균하였으며, 접종 5일 후부터 서서히 감소하여 15일 후에도 1.6×10<sup>2</sup> CFU/g 수준을 배균하였다. 특히 A군을 제외한 실험구에서 각 1두가 식욕부진, 설사 등의 증상을 보이다가 접종 7일과 10일 후에 폐사하였다.

**고 찰**

대장균 O157:H7 및 *S. typhimurium*은 급성위장염을 일으

키는 감염성 식중독의 대표적인 원인체로서 공중보건학적 측면에서 매우 중요한 세균들이다.<sup>1,3)</sup> 유산균은 장점막에 병원성 세균이 정착하는 것을 저지하고<sup>14,15)</sup> 장관내에서 산성 pH를 조성하므로써 세균의 발육을 억제하며,<sup>16)</sup> 세균이 생성한 독소를 중화하거나,<sup>17)</sup> 항균성 물질을 생산하는 것으로 알려져 있다.<sup>18,19)</sup> 시험관내에서 유산균의 장내 경합세균에 대한 억제효과에 관한 보고는 많지만, 생체내에서 대장균 O157:H7의 증균억제에 대하여 보고한 성적은 거의 없다.

본 실험에서는 국내 한우에서 분리한 대장균 O157:H7(KSC109) 및 *S. typhimurium*(ATCC 14028)을 Newzealand white rabbit 위내로 접종하고, 유산균 발효유 ACE 및 Metchnikoff의 투여간격을 달리한 실험구에서 유산균의 병원성 세균에 대한 증균억제효과를 비교 시험하였다.

대장균 O157:H7 접종 1일후 유산균 발효유 ACE 및 Metchnikoff 급여구에서는 비급여 대조구에서보다 평균 0.8~1.0 log(CFU/g) 정도 증균이 억제되었으며, 접종 5일 후에는 비급여 대조구에서는 10<sup>5</sup>~10<sup>6</sup> 수준으로 증균하였으나, 유산균 발효유 급여구에서는 10<sup>3</sup>~10<sup>4</sup>로 접종수준을 유지하였다. 이러한 결과는 선인들이 보고한 유산균 발효유의 병원성 세균에 대한 장관정착 및 증균억제효과가 대장균 O157:H7에서도 입증된 것이라 생각된다. 접종 10일후 비급여 대조구에서는 대장균 O157:H7이 10<sup>3</sup> 수준을 유지한 반면, 유산균 발효유 급여구 A군에서는 10개 이하(-10<sup>1</sup>) 수준, B 및 C군에서는 10<sup>2</sup> 수준으로 증균이 억제되었다. Perdigon 등<sup>20)</sup>에 의하면 쥐에 유산균을 급여하였을 경우 식세포 및 임파구를 활성화시켜서 면역반응이 증강되고 IgA 분비도 증가하였다고 한다. 본 결과에서 10일후 유산균 발효유 급여구에서 균수가 현저히 감소한 것도 유산균 발효유에 의한 면역반응 증강 및 발육억제 작용의 협력작용의 결과로 생각된다. 사용한 유산균 발효유중에서 대장균 O157:H7 증균억제 면에서는 Metchnikoff가 ACE 보다 좋은 결과를 보였으며 전 시험구 중에서 A군이 가장 좋은 결과를 보였다. 그러므로 유산균 발효유를 대장균 O157:H7감염의 예방목적으로 투여할 경우에는 최소한 균 접종 1주일 전부터 유산균을 매일 급여하는 것이 가장 좋은 것으로 나타났다.

*S. typhimurium* 접종 1일후 유산균 발효유 Metchnikoff 급여구는 대조구에서 보다 2.0 log(CFU/g) 정도 증균이 현저하게 억제되어 7일경 까지 유지되어 선인들이 보고한 유산균 발효유의 병원성세균에 대한 정착 및 발육억제효과가 입증되었다. 7일 후에는 균수가 점차 감소하여 15일 후에는 A군에서는 거의 배균되지 않았으며, B군에서는 10<sup>1</sup> 수준이 검출되어 선인들이 보고한 유산균 발효유의 병원성 세균에 대한 면역반응 증강효과가 입증되었다. 그러나 3일 간격으

로 Metchnikoff를 급여한 C군에서는 방어효과를 인정할 수 없었다. 유산균 발효유 ACE 급여구는 접종후 5일까지는 비급여구에서와 같이 *S. typhimurium*은 접종 수준을 유지하여 증균억제효과를 인정할 수 없었으나 10일 후에는 유산균 발효유 급여구에서 균수가 감소하여 15일 후에는 급여구 모두 거의 배균되지 않았다. 유산균 발효유 ACE의 경우 증균억제효과가 늦게 나타난 것은 장시간 배양한 균이므로 급여초기에 정착균수는 다소 많겠지만 장관내의 새로운 환경에 적응하는 유도가 연장된 것으로 생각된다. 10일 후에는 유산균 발효유의 면역반응 증강효과 및 발육억제효과가 상승되어 *S. typhimurium*이 거의 배균되지 않은 것으로 생각된다. *S. typhimurium* 증균억제 효과는 감염 초기에는 Metchnikoff 급여군이 좋은 경향이었으나, 10일 후에는 ACE 급여군에서 더 좋은 경향으로 나타났다. 이러한 차이는 ACE의 대조군에서 초기에 *S. typhimurium*의 정

착 및 증균율이 낮았던 점으로 미루어 대조군에 사용한 토끼의 개체차이에 의한 것으로 생각되며 실험동물의 두수를 늘려 확인해 볼 필요성이 있다고 생각한다. *S. typhimurium* 감염의 예방목적으로 유산균 발효유를 투여한 경우에도 대장균 O157:H7의 경우에서와 같이 균 접종 1주일 이전부터 유산균을 매일 급여한 군(A군)에서 가장 좋은 효과를 나타내었다. 이러한 결과는 Perdigon 등<sup>29)</sup>이 제시한 유산균에 의한 식세포 및 입파구의 활성화에 의한 면역반응 증강 및 IgA분비 증가에 의한 것으로 생각된다.

### 감사의 말씀

본 연구는 '96년도 (주)한국아쿠르트 중앙연구소의 지원에 의하여 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

### 국문요약

유산균 발효유의 응용이 대장균 O157:H7 및 *S. typhimurium*의 증균억제에 미치는 영향을 조사하기 위하여, 국내에서 분리한 대장균 O157:H7 및 *S. typhimurium*을 토끼의 위내에 접종하고 유산균 발효유 ACE 및 Metchnikoff의 투여 간격을 달리한 실험구에서 유산균의 병원성세균에 대한 증균억제효과를 비교 시험하였다.  $10^8$  CFU/ml 수준의 두 병원성 세균 부유액 1 ml을 토끼의 위내에 접종한 다음 유산균 발효유의 투여 간격에 따라 4개 실험구로 분류하였다. 즉, A군; 병원성 세균 접종 7일 전부터 유산균 발효유 매일 급여군, B군; 병원성 세균 접종후 유산균 발효유 매일 급여군, C군; 병원성 세균 접종후 3일 간격으로 유산균 발효유 급여군, 대조군; 병원성 세균 접종후 유산균 발효유 비 급여군. 유산균 발효유는 (주)한국 아쿠르트 제품으로  $10^8$  CFU/ml 수준의 균농도를 갖는 각 3 ml을 토끼의 위내로 접종하였다. 대장균 O157:H7 접종 1일후 유산균 발효유 ACE 및 Metchnikoff 급여구에서는 비급여 대조군에서 보다 0.8~1.0 log CFU/g 정도 증균이 억제되었다. 접종 5일후 대조군에서는  $10^5 \sim 10^6$  수준으로 증균하였으나, 유산균 발효유 급여구에서는  $10^3 \sim 10^4$  CFU/g 수준으로 정착균수를 유지하였다. 접종 10일후 대조군에서는  $10^3$  CFU/g을 유지하였으나, 유산균 급여 A군에서 10 CFU/g 이하의 수준, B 및 C군에서는  $10^2$  CFU/g 수준으로 증균이 억제되었다. 유산균 발효유의 대장균 O157:H7에 대한 증균억제효과는 A군 및 B군 순으로 높았으며, C군에서는 효과가 낮았다. *S. typhimurium*은 접종 1일후 유산균 발효유 Metchnikoff 급여구는 대조군에서 보다 2 log CFU/g 정도 증균이 현저하게 억제되어 7일경까지 유지되었다. 7일 후에는 균수가 점차 감소하여 15일 후에는 A군에서는 거의 배균되지 않았으며, B군에서는 101 CFU/g 수준이 검출되어 유산균 발효유의 *S. typhimurium*에 대한 증균억제효과가 높았으나 C군의 경우는 효과가 인정되지 않았다. 유산균 발효유 ACE 급여구는 접종 5일 후까지는 비급여구에서와 같이 *S. typhimurium*은 정착균수를 유지하여 증균억제효과를 인정할 수 없었으나, 10일 후에는 유산균 발효유 급여구에서는 균수가 감소하여 15일 후에는 거의 배균하지 않았다. 대장균 O157:H7 및 *S. typhimurium*을 감염예방 목적으로 급여할 경우에는 감염 1주일 전부터 매일 급여하는 것이 증균억제효과가 현저하였으며, 접종후 매일 급여하는 경우에도 증균억제효과가 높았다. 그러나 접종후 3일 간격으로 급여한 경우에는 증균억제 효과가 낮았다. 공시한 유산균 발효유에 따른 2종의 병원성 세균에 대한 증균억제효과는 ACE 보다 Metchnikoff 급여구에서 높게 나타났다.

## 참고문헌

1. Karmali, M.A.: Infection by verocytotoxin-producing *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Rev.*, **2**, 15-39 (1989).
2. Bennett, I.L. and Hook, E.D.: Some aspect of salmonellosis. *Ann. Rev. Med.*, **10**, 1-21 (1985).
3. Butzler, J.P.: *Campylobacter infection* in man and animal. *CRC press Inc.*, 1-246 (1984).
4. Karmali, M.A., Petric, M., Lom, C.: The association between hemolytic uremic syndrome and infection by verotoxin-producing *Escherichia coli*. *J. Infect. Dis.*, **151**, 775-782 (1985).
5. Hockin, J.C., Lior, H.: Haemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome caused by *Escherichia coli* O157:H7 in Canada. *Can. Dis. Wkly. Rep.*, **13**, 203-204 (1987).
6. Pai, C.H., Gordon, R., Sims, H.V.: Sporadic causes of hemorrhagic colitis associated with *Escherichia coli* O157:H7. *Ann. Int. Med.*, **101**, 738-742 (1984).
7. Brain, M.C., Dacie, J.V., Hourihane, D.O'B.: Microangiopathic hemolytic anemia; the possible role of vascular lesions in pathogenesis. *Br. J. Hamatol.* **8**, 358-373 (1962).
8. Marques, L.R.M., Peiris, J.S., Cryz, S.J.: *Escherichia coli* strains isolated from pigs with edema disease produce a variant Shiga-like toxin II. *FEMS Micorobiol. Lett.* **44**, 33-38 (1987).
9. Doyle, M.P.: *Escherichia coli* O157:H7 and its significance in foods. *Int. J. Food Microbiol.*, **12**, 289-301 (1991).
10. "대장균(O157:H7)의 공중보건학적 의의 및 수의사의 역할"에 대한 좌담회, 대한수의사회지 **32**, 738-743 (1996).
11. Aserkoff, B., Schoroeder, S.A. and Brachman, P.S.: Salmonellosis in the United States- A five-year review. *Am. J. Epidemiol.* **92**, 13-24 (1970).
12. Atkinson, N.: The world problem of Salmonellosis : Salmonellosis in Australia edited by E. Van Oye, *Junk, The Hague*, 539-589 (1964).
13. Bowmer, E.J.: The challenge of Salmonellosis major public health problem, *Am. J. Med. Sci.*, **247**, 647-501 (1964).
14. Khem, M., Shahani, K.M. and Amadu, D., Ayebo, A.D.: Role of dietary *Lactobacilli* in gastrointestinal microecology. *Am. J. Clin. Nutr.*, **33**, 2488 (1980).
15. Gilliland, S.E. and Speck, M.L.: Antagonistic action of *Lactobacillus acidophilus* toward intestinal and food brone pathogens in associative culture, *J. Food protect.*, **40**(12), 820 (1977).
16. Stamer, J.R.: The lactic acid bacteria; Microbes of diversity. *Food Technol.*, **33**, 63 (1979).
17. Mitchell, I. and Kenworthy, R.: Investigation on a metabolite from *Lactobacillus bulgaricus* which neutralizes the effect of enterotoxin from *Escherichia coli* pathogenic for pigs. *J. Appl. Bacteriol.*, **41**, 163 (1976).
18. Collins, E.B. and Aramaki, K.: Production of hydrogen peroxide by *Lactobacillus acidophilus*. *J. Dairy Sci.*, **63**, 533 (1980).
19. Hamdan, I.Y. and Mikolajick, E.M.: Acidolin; An antibiotic produced by *Lactobacillus acidophilus*. *J. Antibiotics*, **27**, 631 (1974).
20. Metchnikoff, E.: The prolongation of life. 1st ED. *Putmans Sons, New York*, (1988).
21. Farmer, R.E., Shahani, K.M. and Reddy, G.V.: Inhibitory effect of yogurt components. *J. Dairy Sci.*, **58**, 787 (1975).
22. Mitsuoka, T. : Medical effect of latic acid bacteria. 제4회 「유산균과 건강」에 관한 국제심포지엄, pp. 29-45 (1985).
23. Back, C. and Necheles, H.: Beneficial effects administration of *Lactobacillus acidophilus* in diarrhea and other intestinal disorders. *Am. J. Gastroenterol.* **35**, 522 (1961).
24. Speck, M.L.: Interactions among *Lactobacilli* and man. *J. Dairy Sci.*, **59**, 338 (1976).
25. Hill, H.R., Kenworthy, R. and Porter, P.: Studies on the effect of dietary *Lactobacilli* on intestinal and urinary amines in pigs in relation to weaning and postweaning diarrhea. *Res. Vet. Sci.*, **11**, 320 (1970).
26. Kershaw, G.F., Luscombe, J.R. and Cole, D.J.A.: Lactic acid and Sodium acrylate; Effect on growth of pigs. *Vet. Res.*, **79**, 296 (1966).
27. 한인규, 채병조, 박응복, 이광득: 돼지에 관한 *Streptococcus faecium*의 성장속진과 하리 방지 효과 및 장내 미생물에 관한 연구, 축산과학, **2**, 12 (1982).
28. Underdahl, N.R., Torres-Medina, A., Doster, A.R.: Effect of *Streptococcus faecium* C-68 in control of *Escherichia coli* induced diarrhea in gnotobiotic pigs. *Am. J. Vet. Res.*, **40**, 2227 (1982).
29. Perdigon, G., Nader de Macias, M.E., Alvarez, S., Oliver, G. and Pesce de Ruiz Holgado, A.A. : Prevention of gastrointestinal infection using immunobiological methods with milk fermented with *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus*. *J. Dairy Res.*, **57**, 255-264(199).