

# 환자대변에서 장관병원성 대장균의 분리

독소원성 대장균의 검출에 대하여

부산대학교 의과대학 미생물학교실

김 영 부 · 양 학 도

= Abstract =

## Enterotoxigenic *Escherichia coli* Isolated from Diarrheal Patients

Yung Bu Kim and Hak Do Yang

Department of Microbiology, College of Medicine, Busan National University,  
Busan, Korea

The author attempted serological typing with the slide agglutination and the production of heat-labile enterotoxin (LT) and heat-stable enterotoxin (ST) by the enterotoxigenic *Escherichia coli* 446 strains isolated from diarrheal patients.

The enterotoxigenic *E. coli*, producing LT and/or ST, were detected by use of assays in the reversed passive hemagglutination (RPHA) and the suckling mouse method.

The results obtained were as follows:

1. Of 446 strains isolated, 88 strains(19.73%) produced LT, while 224 strains(50.22%) produced ST. 134(30.05%) produced both LT-ST simultaneously.

Serological typing were typed into 06, 08, 020, 025, 027, 0126, 0148 and 0159. Serotype 06 had the highest incidence of 26.46% followed by 0148(18.16%), 027(14.57%); 025(10.99%), 0159(4.03%), 0126(3.59%), 020(1.12%) and 08(0.45%).

2. Serotype 06, 08 and 025 almost always produced both LT and ST, whereas serotypes 020, 027 and 0148 almost always produced only ST. And serotypes 06, 025, 0126 and 0159 almost always produced LT or ST.

3. Of 134 LT-ST positive strains, 115 strains were serotype 06, 3 strains were 025, 2 strains were 08, and 14 strains were 0 untypable.

4. Of 224 ST positive strains, 65 strains were serotype 027, 81 strains were 0148, 16 strains were 0159, and 42 strains were 0 untypable.

5. Of 88 LT positive strains, 45 strains were serotype 025, 5 strains were 0126, 2 strains were 0159, and 42 strains were 0 untypable.

### 서 론

콜레라증이 콜레라균이 생산하는 콜레라 toxin에 의함이 판명된 이래<sup>9,12,20</sup>, 대장균중에서도 동물이나 사람에게 대하여 콜레라증과 똑같은 중독한 설사 증을 야기시키는 독소를 생산하는 균종이 존재한다는 사실이 명확히 되어, 이것을 중래의 병원성대장균(enteropathogenic *E. coli*)과는 구별하고 설사원성 독소를 생산하는 독소원성대장균(enterotoxigenic *E. coli*)라고 하였다<sup>9,34</sup>.

독소원성대장균은 병원성대장균, 세포침입성대장균 및 비병원성 대장균과 구별함에 있어서 임상적 사실에서 행하는 생화학적성상의 검사법만으로는 불가능하다. 독소원성대장균은 60°C, 10분의 가열에서 활성을 잃는 이열성독소(heat-labile enterotoxin: LT)와 100°C, 10분의 가열에서도 활성을 잃지 않는 내열성독소(heat-stable enterotoxin :ST)의 두종류의 enterotoxin이 알려져 있고<sup>12,13,35,37</sup> 환자에서 분리한 균은 LT 단독생산균, ST 단독생산균 및 LT-ST 두종류의 enterotoxin을 생산하는 균이 있으므로 분리균주의 각각에 대해서 LT와 ST의 두종류

의 enterotoxin 생산성을 검사하므로서 독소원성대장균의 동정이 가능하다.

본시험은 독소원성대장균으로 동정함에 있어서 현재에는 독소생산시험에 대신할 좋은 방법이 없으므로 환자유래독소원성대장균과 그 혈청형별의 분포와 상호관계를 추정하고자 하여 얻은 약간의 성적을 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 공시균종

일본동경도립위생연구소 세균제일연구과에서 1980년부터 1983년까지 4년간 설사환자유래의 enterotoxin 생산성의 *E. coli*, 총 446 균주이다.

### 2. Enterotoxin 생산성시험

CAYE-3 배지<sup>4)</sup>에 lincomycin 을 90 $\mu$ g/ml이 되도록 가하고, 멸균소시험관에 1ml 씩 분주한다. CA YE-3 배지의 표면에 피검균을 이식하고, 37 $^{\circ}$ C, 18-24시간 배양한다. 배양후 polymyxin B (Sigma Chemicals) 를 2만 단위/ml 를 배양표면에 0.1ml 적하 하고 37 $^{\circ}$ C에서 3시간 배양한 후, phosphate buffered saline (pH 7.0) 을 1ml 가하고, 배지가 액상이 되도록 잘 각반한다. 다음에 2,500~3,000 회전으로 20분간 원심 칩전하고 이 상청액을 칩사가 혼입되지 않도록 주의깊게 채취한다. 이것을 enterotoxin 시료로서 사용하여 이열성 enterotoxin (LT) 과 내열성 enterotoxin (ST) 의 검사를 실시하였다<sup>3,4)</sup>.

#### 1) LT 의 검사

Kudoh et al.<sup>3)</sup>가 LT 와 콜레라 enterotoxin 과 면역학적으로 공통항원을 갖는 것을 이용하여 개발한 역수동적혈구 응집반응 (reversed passive hemagglutination: RPHA) 법으로 측정하였다.

#### 2) ST 의 검사

젓먹이 mouse 위내투여법 (suckling mouse method) 에 준하였다. 즉, 생후 3~5일의 ICR 제 젓먹이 mouse 을 이용하여 enterotoxin 시료 0.1ml 을 1/5 주사침을 사용하여 직접 위내에 투여한다. 시료를 투여한 mouse 는 실온에서 3~4시간 방치후, 개복하고 전장관을 적출하고, mouse 의 체중에 대하여 적출전장관의 중량 (fluid accumulation, FA) 비를 다음식으로 구한다.

$$\text{즉, FA 비} = \frac{\text{전장관중량}}{\text{체중} - \text{전장관중량}}$$

이 FA 비가 0.09 이상을 양성으로 판정한다. 양성의 경우는 음성에 비하여 장관내의 액체 정유가

현저하게 육안적인 관찰만으로도 판정이 가능하다.

### 3) 혈청형별 검사

대장균의 O 항원은 병원성대장균진단용 항 OK 혈청 및 항 O 혈청 (일본동지화학주식회사: 진단용면역혈청) 또한 당 연구소에서 표준균주를 사용하여 자가 조제한 항 혈청을 사용했다. 일반법에 준한 slide 응집반응으로 형별하였다.

## 성 적

표 1 및 표 2 에서 보는바와 같이 독소원성대장균, 총 446균주중에서 LT 단독생산균은 88주 (19.73%) 이며, ST 단독생산균은 224주 (50.22%) 그리고 LT-ST 생산균은 134주 (30.05%) 였다. Enterotoxin 생산균의 혈청형 분포를 검토해 보면 06, 08, 020, 025, 027, 0126, 0148 그리고 0159 였다. 각 형별로는 06형이 118주 (26.46%) 로 가장 많았고, 0148형이 81주 (18.16%), 027형이 65주 (14.57%), 025형이 49주 (10.99%), 0159형이 18주 (4.03%), 0126형이 16주 (3.59%), 020형 5주 (1.12%), 그리고 08형이 2주 (0.45%) 의 순이었다. 또 성별 불능이 92주 (20.63%) 로 나타났다. 표 2 에서 보는바와 같이 06, 08, 025형이 LT-ST 생산균이었으며 020, 027 및 0148형이 ST 단독생산균이었다. 그리고 06, 025, 0126 및 0159형이 LT 단독생성 혹은 ST 단독생산균이었다. LT-ST 생산균 134균주중에서 115주가 06형, 3주가 025형, 2주가 08형 그리고 14주가 형별불능이었다.

ST 생성균 224균주중에서 65주가 027형, 81주가 0148형, 16주가 0159형, 그리고 42주가 형별불능이었다.

LT 생성균 88균주 중에서 45주가 025형, 5주가 0126형, 2주가 0159형 그리고 36주가 형별불능이었다 (표 1 및 2 참조).

## 고 찰

대장균은 생후 1~2일부터 장관에 정착하는 장내세균종이지만, 설사를 일으키는 대장균은 3종류라고 알려지고 있다. 즉 병원성대장균 (enteropathogenic *E. coli*) 세균침입성 대장균 (enteroinvasive *E. coli*) 과 독소원성대장균 (enterotoxigenic *E. coli*) 이다.

병원성대장균은 1920년부터 보고되었고, 특성의 혈청형에 속한 것으로 알려져왔다. 또한 세포침입성 대장균은 1967년 Sakazaki et al.<sup>5)</sup> 은 *Shigella*-like *E. coli* 로서 보고한 것이 최초였다. 1956년에 De et al.<sup>6)</sup> 에 의하여 독소원성대장균의 최초의 보고가 있었

**Table 1.** O group and enterotoxin type of *E. coli* strains isolated from diarrhea at Tolyo, Japan (1980-1983)

Serotype (O group)	*		No. of enterotoxigenic strains				Subtotal(%)
	LT	ST	1980	198	1982	1983	
06	+	+	34	29	35	17	115(25.79)
08	+	+	2				2( 0.45)
025	+	+	2	1	6		3( 0.67)
UT**	+	+	5	1	6	2	14( 3.14)
Subtotal			43	31	41	19	134(30.05)
06	-	+	2	1			3( 0.67)
020	-	+	3	2			5( 1.21)
025	-	+				1	1( 0.22)
027	-	+	19	15	21	10	65(14.57)
0126	-	+	2	4	2	3	11( 2.47)
0148	-	+	27	25	20	9	81(18.16)
0159	-	+	11	1	3	1	16( 3.59)
UT	-	+	15	15	7	5	42( 9.42)
Subtotal			79	63	53	29	224(50.22)
025	+	-	13	19	6	7	45(10.09)
0126	+	-	2		2	1	5( 1.12)
0159	+	-	1	1			2(0.45)
UT	+	-	8	9	10	9	36( 8.07)
Subtotal			24	29	18	17	88(19.73)
Total			146	123	12	65	446

\*LT: Heat labile enterotoxin, \*ST: :Heat stable enterotoxin, \*\*UT: Untypable strains

**Table 2.** Comparison of toxin production by strains of *E. coli* of serogroupes 06, 08, 020, 025, 0126, 0148 0159 from cases of diarrhea in Tokyo

E.coli Serogroup	No. producing			Total
	LT-ST	ST only	LT only	
06	115(25.79)	3( 0.67)		118(26.46)
08	2( 0.45)			2( 0.45)
020		5( 1.12)		5( 1.12)
025	3( 0.67)	1( 0.22)	45(10.09)	49(10.99)
027		65(14.57)		65(14.57)
0126		11( 2.47)	5( 1.12)	16( 3.59)
0148		81(18.16)		81(18.16)
0159		16( 3.59)	2( 0.45)	18( 4.03)
UT	14( 3.14)	42( 9.42)	36( .07)	92(20.63)
Total	134(30.05)	224(50.22)	88(19.73)	446(100)

다. 칼카타의 전염병원에 콜레라양증상으로 입원한 환자중에서 콜레라균을 검출할 수 없었던 증례에서 대장균을 분리하고 rabbit 결찰장관에 투여한 결과, 콜레라균 투여의 경우와 똑같은 현저한 액체정유를 관찰했다. 병원성대장균에서는 이와 같은 반응이 일어나지 않았으므로 이 대장균을 병원성대장균과는 다른 설사성대장균이라고 생각했다. 그후 1968년에 Sack et al.<sup>35)</sup>은 똑같은 사실을 확인하였다. 이 균이 cholera enterotoxin 양의 독소를 생산함을 결론지었다. Sack et al.은 분리한 대장균을 종래 보고한 병원성대장균의 혈청형에 속하지 않으므로 이 균의 대장균을 enterotoxigenic *E. coli*라고 명명했다. 처음 독소원성대장균은 수의과영역에서 유약가축, 특히 소와 돼지의 설사 원인균으로 연구되었다.<sup>21, 28, 29, 30)</sup>

독소원성대장균에 의한 설사 지속기간을 콜레라와 비교하면 약간 짧지만(24~30시간), 이것을 제외하고는 설사편의 성상이나 탈수증상이 콜레라와 흡사하고, 급성기에  $10^7 \sim 10^9$ /ml의 대장균이 증명되었다. 그러나 회복기에는 증명되지 않는 것이 관찰되었다. Evans et al.<sup>10)</sup> 및 Gorbach et al.<sup>20)</sup>은 독소원성의 증명에 rabbit 피내반응을 주로 이용하였고, Shore et al.<sup>40)</sup>은 유약 mouse 위내 접종법을 이용했다.

1970년대 전반의 보고에서는 이열성 enterotoxin과 내열성 enterotoxin의 생산성이 명확하지 않았다. 현재에는 두종류의 enterotoxin을 생성함이 알려져 있다.<sup>10, 24, 41)</sup> 하나는 60°C, 10분의 가열에서도 활성을 잃지 않는 내열성 enterotoxin(ST)이며, 저분자의 peptide 독소이다. 양독소 모두 그 생산에는 Ent라고 명명되고 있는 plasmid에 의하여 지배되고 있고, LT 단독생산균, ST 단독생산균, LT-ST의 두종류의 생산균이 구별되고 있다. 처음엔 이열성 enterotoxin은 사람뿐만 아니라 가축의 설사원인균이므로 동물종과는 관계없이 동일분자라고 생각하였다. 그러나 최근의 연구에 의해 사람환자 유래의 LTh와 돼지유래의 LTp와는 면역학적으로 동일하지 않고 물리화학적 성상에도 차가 있음이 알려졌다. 특히 소유래의 LT는 LTh, LTp의 면역학적인 공통항원성을 전혀 갖지 않음이 보고되었다. LT의 작용기전은 콜레라 enterotoxin과 같다. 즉 LT는 adenylate cyclase를 활성화하고 세포내 C-AMP 농도를 높인다. 최초로 이 사실을 보고한 것은 Evans et al.<sup>10)</sup>이며 Guerrant et al.<sup>22)</sup>은 LT가 고양이 공장 adenylate cyclase 활성화와 그것에 수반되는 세포내 C-AMP의 증량을 여러가지 조직이나 세포에서 확인하였다. CHO 세포, Y

부신세포에서의 CAMP의 증량은 이런 배양세포의 형태변화를 일으킴으로 LT의 활성의 측정에 이용하였다. 배양세포방법은 세포를 취급하는 번잡함과 시간과 경험을 요하며 또한 판정시 세포의 신장 또는 원형화의 객관적판정에 어려움이 있다. 본 시험에서는 배양세포법 대신에 특이성 감도 그리고 보다 정량성이 높고 간이 신속하게 행할수 있는 항 chobra 독소를 이용한 역수동적혈구응집반응법에 의한 대장균 LT 검출법으로 검사했다.<sup>3, 42, 43)</sup>

내열성 enterotoxin(ST)을 최초로 기재한 것은 Smith & Gyles<sup>35)</sup>이며, 돼지 유래의 독소원성대장균을 돼지결찰장관 loop에 투여하여 증명했다. 그후 Burgess et al.<sup>7)</sup>은 돼지유래의 독소원성대장균이 두종류의 ST를 생산함을 보고했다. 즉 하나는 methanol 가용성으로 생후 1~3일의 새끼 돼지와 젖먹이 mouse에 활성을 나타내나, 생후 7~9주의 돼지에서는 활성을 나타내지 않는다. 또 하나는 methanol 불용성으로 생후 7~9주의 돼지나 토끼의 결찰장관에서는 활성이지만, 젖먹이 mouse에 대해서는 활성을 나타내지 않는다. Burgess는 전자를 STa, 후자를 STb라고 했다. 한편 Moseley et al.<sup>30)</sup>은 유전자공학의 기술을 이용하여 ST의 생산을 지배하는 Ent plasmid DNA의 해석을 하고 젖먹이 mouse 활성을 나타내는 STa는 적어도 두종류 있음을 보고했다. 그후 면역학적연구결과 사람환자 유래의 독소성대장균에는 STh를 생산하는 균만 아니라, STh를 생산하는 균도 존재함을 명백히 하였다. ST의 작용기전에 대하여 Field et al.<sup>16)</sup>는 rabbit의 장관막에 ST의 작용을 받아 ST에 의해 전해질의 이동에 따라 생기는 전위차를 측정한 결과 ST의 농도에 따라 전위차가 확대하지만 그 증대와 세포내 C-GMP의 량과 상관하고 있음을 발견했다.

Hughes et al.<sup>25)</sup> 및 Rao et al.<sup>32)</sup>도 ST가 C-GMP의 대사에 관여하고 있음을 보고하였지만, ST에 의한 adenylate cyclase의 활성화의 기전에 대해선 아직 불명하다고 하였다. 최명식<sup>3)</sup> 등은 LT의 생산에 배지의 pH, 통기, lincomycin, polymyxin B의 영향과 그 기전에 대하여 보고하였으며 양남웅<sup>2)</sup> 등은 ST생산에 대한 보고에서 glucosamine salts medium을 고안하고 glucose의 첨가는 ST생산을 억제시키거나 지연시켰으며 억제기전은 catabolite control 기전일 것으로 보고하였다.

콜레라 enterotoxin이나 LT에 의한 C-AMP의 경우와 똑같이 C-GMP 농도의 상승이 어떠한 반응과 정을 거쳐서 장관 내의 액체저유가 생기는 것인가에 대하여는 급후에 검토해야 할 남은 과제로 사료

된다.

Dupont et al.<sup>15)</sup>, Black et al.<sup>16)</sup>에 의해 독소원성대장균이 한정된 지역에서만 분포하고 있는 것이 아님이 보고되었다. 많은 면학조사에 의하여 열대, 아열대지방을 여행하는 여행자를 괴롭히는 여행자설사병의 원인균으로 알려졌고 널리 주목을 받게 되었다<sup>44, 45, 47)</sup>. 1974년 10월 멕시코시<sup>17)</sup>에서 개최된 World Congress of Gastroenterology 의 의학회에 출석한 73명의 의사와 48명의 가족이 동행함에 있어서 여행증은 물론 여행전부터 여행후에 이르기까지 설사의 유무와 설사의 원인균등에 대한 연구결과, 설사원인균검색을 행한 107례중 51명(47.7%)가 여행자설사를 호소했다. 그해 검출된 설사원인균중에서 독소원성대장균이 가장 많아 23명에서 분리 동정되었다. 일본에서도 여행자설사의 주요원인균으로 주목 받고 있다. 우리나라도 해외여행자의 증가로 미루어 볼때 본균에 의한 여행자설사환자가 상당수인 것으로 예상된다. 독소원성대장균의 혈청형에 대해서는 Orskov et al.<sup>31)</sup>은 세계각지에서 사람환자유래의 독소원성대장균을 수집하고 그 혈청형을 연구한 결과, 06 : H16, 08 : H9, 015 : H11, 025 : H42, 078 : H11, 078 : H12 등의 균형이 광범위하게 분포하고 있음을 보고하였으며, Rowe et al.<sup>28)</sup>은 영국에서 유유아의 설사환자에서 분리한 독소원성대장균이 06, 027, 078, 및 0159의 혈청형에 한정되고 있음을 보고하였다. Smith et al.<sup>27)</sup>이 보고한 폐지설사증유래대장균의 혈청형의 분포는 사람환자유래와는 상당히 다른 양상을 나타내고 있다. 예를들면 08, 045, 0138, 0141, 0147, 09, 0139 등였으며 Moon et al.<sup>29)</sup>은 소설사증유래대장균의 혈청형분포 성적은 08, 09, 014, 0101, 0138였다. 본 시험결과에서는 06, 08, 020, 025, 0126, 0148 및 0159의 혈청형분포를 나타냈으며 Evans et al.<sup>15)</sup> 및 Orskov et al.<sup>31)</sup>의 독소원성대장균의 혈청형과는 상당한 부분이 일치하고 있다. 이상의 성적에서 독소원성대장균과 혈청형과의 명확한 관련성이 있다고 확정적인 결론을 내리기는 아직 미흡하지만 독소원성대장균이 특정의 혈청형균에 속한다고 거대한 Rowe et al.<sup>28)</sup>의 보고와 더불어 본시험의 성적을 미루어봐서 독소원성대장균의 일차 검출법에 혈청학적검사가 독소원성대장균의 동정에 있어서 일차적 지표로 대신할 수 있을 것으로 사료된다.

## 결 론

설사환자에서 분리한 446균주의 독소원성대장균에 의해 생산되는 LT, ST 생산능과 혈청형별시험을

실시하였다. LT의 검사에는 역수동적혈구반응법(revsrd passive hemagglutination: RPHA)으로, ST의 검사에는 젓먹이 mouse 위내 투여법(suckling mouse method)으로 실시하여 얻은 성적은 다음과 같다.

1. 독소원성대장균, 총 446균주중에서 LT 단독생산균은 88주(19.73%)이며 ST 단독생산균은 224주(50.22%) 그리고 LT-ST 생산균은 134주(30.05%)였다. 혈청형분포는 06, 08, 020, 025, 027, 0126, 0148 그리고 0159형이었다. 각 형별로는 06형이 118주(26.46%)로 가장 많았고, 0148형이 81주(18.16%), 027형이 65주(14.57%), 025형이 49주(10.99%), 0159형이 18주(4.03%), 0126형이 16주(3.59%), 020형이 5주(1.12%) 그리고 08형이 2주(0.45%)의 순으로 나타냈다.

2. 혈청형 06, 08 및 025형이 LT-ST생산균이었으며, 020, 027, 및 0148형이 ST 단독생산균이었으며 그리고 06, 025, 0126 및 0159형이 LT단독생산 혹은 ST 단독생산균이었다.

3. LT-ST생산균 134균주중에서 115주가 06형, 3주가 025형, 2주가 08형 그리고 14주가 형별 불능이었다.

4. ST 생산균 224균주중에서 65주가 027형, 81주가 0148형, 16주가 0159형 그리고 42주가 형별 불능이었다.

5. LT 생산균 88균주중에서 45주가 025형, 5주가 0126형, 2주가 0159형 그리고 36주가 형별 불능이었다.

본 시험에 지도해주신 일본동경도립위생연구소 부장 大橋 誠博士, 副參事研究員 工藤 泰雄博士, 松下 秀, 山田 澄夫博士에게 심실한 사의를 표합니다. 그리고 본 논문을 지도해주신 양학도교수, 오양효 교수께 사의를 드립니다.

## 참 고 문 헌

- 1) 손근찬: 영아설사, 감염 10(1): 4, 1978.
- 2) 양남웅, 김익상, 장우현, 이승훈: 대장균의 내열성장독소생산에 관여하는 조건. 서울의대학술지 25(2): 139, 1984.
- 3) 양학도, 오양효, 김영부외: 식중독원인균이 생산한 독소와 그 검출법. Medical Postgraduates, 1(12): 23, 1984.
- 4) 장우현, 최명식: 장병원성대장균과 설사, 감염 13(1): 51, 1981.
- 5) 최명식, 이광호, 장우현, 이승훈: 대장균의 이열성장독소생산기전, 대한미생물학회지 17(1): 35, 1982.

- 6) Black RE, Merson MH, Rowe B, Taylor PR, Rahman ASMM, Hug AA, Aleem ARMA, Sack DA, and Curlin GT : "Epidemiology of enterotoxigenic *Escherichia coli* in rural Bangladesh @, p292, 1979. In Proceeding 14th Joint Conf. US-Japan Cooperat. Med. Sci. Prug Cholera Panel, Takeya, K and Zinnaka Y Eds., Toho University, Tokyo.
- 7) Burgess MN, Bywater CM, Cowley, NA, Mullan and Newsome PM: Biological evaluation of a methanol-soluble, heat-stable *Escherichia coli* enterotoxin in infant mice, Pigs, raffits and calves. *Infect. Immun.*, **21**:526, 1978.
- 8) De SN and Chatterje DN: "An experimental study of the mechanism of *Vibrio cholerae* on the intestinal mucous membrane", *J.Pathol. Bacteriol.*, **66**:559, 1953.
- 9) Bhattacharya De SNK and Sarkar JK: "A study of the pathogenicity of strains of *Bacterium coli* from acute and chronic enteritis". *J.Pathol. Bacteriol.*, **71**:201, 1956.
- 10) Dean AG, Ching YC, Williams RG and Harden LB: "Test for *Escherichia coli* enterotoxin using infant mice: Application in a study of diarrhea in children in a study of diarrhea in children in Honolulu", *J.Infect. Dis.*, **125**:407.
- 11) De SN, Bhattacharya K and Sarkar JK: A study of the pathogenicity of strains of *Bacterium coli* from acute and chronic enteritis. *J.Pathol. Bacteriol.*, **71**:201, 1965.
- 12) Dorner F: "*Escherichia coli* enterotoxin. Purification and partial characterization, *J.Biol. Chem.*, **250**:8712, 1975.
- 13) Dupont JL, Formal SB, Hornick RB, Synder MJ, Libonati JP, Sheahan DG, Labrec EH and Kalas JP: "Pathogenesis of *Escherichia coli* diarrhea, *New Eng. J. Med.*, **285**:1, 1971.
- 14) Evans DJ, Jr., Chen LC, Curlin GT and Evans DG : Stimulations of adenylate cyclase by *Escherichia coli* enterotoxin. *Nature New Biology* **236**:137, 1972.
- 15) Evans DJ, Jr., Evans DG, Dupont HL, Orskov F and Orskov I : Patterns of loss of enterotoxigenicity by *Escherichia coli* isolated from adults with diarrhea: Suggestive evidence for an interrelationship with serotype. *Infect. Immun.*, **17**:105, 1977.
- 16) Field M, Graf LH, Laird Jr., WJ and Smith PL : Heat-stable enterotoxin of *Escherichia coli*: In vitro effects of guanylate eyclase activity, Cyclic GMP concentration, and ion transport in small intestine. *Proc. Natl. Acad. Sei. USA*, **75**:2800, 1978.
- 17) Finkelstein RA and Lo Spalluts JJ : "Pathogenesis of experimental cholera. Preparation and isolation of choleraegen and choleraegenoil", *J.Exptl. Med.*, **130**:185, 1969.
- 18) Finkelstein RA, LaRue MK, Johnston DW, Vasil ML, Cho GJ and Jones JR : "Isolation and properties of heat labile enterotoxin(s) from enterotoxigenic *Escherichia coli*". *J. Infect. Dis.*, **133**:5120, 1976.
- 19) Geary SJ, Marchlewicz BA and Finkelstein RA : Comparison of heat-labile enterotoxins from porcine and human strains of *Escherichia coli*. *Infect. Immun.*, **22**:709, 1978.
- 20) Gorbach SL, Banwell JG, Chatherjee DC, Jacobs B and Sock RB : "Acute undifferentiated human diarrhea in the tropics. I. Alterations in intestinal microflora: *J.Clin. Invest.*, **50**:881, 1971.
- 21) Guerrant RL, Bewnton LL, Schnaitman TC, Rebhun LI and Gilman AG : "Cyclic adenosine monophosphate and alteration of Chinese hamster ovary cell morphology: a rapid, sensitive in vitro assay for the enterotoxins of *Vibrio cholerae* and *Escherichia coli*", *Infect. Immun.*, **10**:320, 1974.
- 22) Guerrant RL, Gangvly U, Casper AGT, Moore EJ, Pierce NF and Carpenter CCJ : Effect of *Escherichia coli* on fluid transport across canine small bowel. Mechanism and time-course with enterotoxin and whole bacterial cells. *J.Clin. Invest.*, **52**:1707, 1973.
- 23) Holmes RK, Twiddy EM and Neill RJ : Recent advances in the study of heat-labile enterotoxins of *Escherichia coli*. In *Bacterial Diarrheal Diseases: An International Symposium*, KTT publ., Tokyo, in press.
- 24) Honda T, Tsuji T, Takeda Y and Miwatani T: Immunological nonidentity of heat-labile enterotoxins from human and porcine enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Infect. Immun.*, **34**:337, 1981.
- 25) Hughes JM, Murad F, Chang B and Guerrant RL : Role of cyclic GMP in the action of heat-stable enterotoxin of *Escherichia coli*, *Nature*, **271**:755, 1978.
- 26) Kudoh Y, Yamada S, Matsushita S, Ohte K, Tsuno M, Muraoka T, Ohtomo N and Ohashi : "Detection of heat-labile enterotoxin of *Escherichia coli* by reversed Passive hemagglutination test with specific

- immunoglobulin against cholera toxin" P226, 1970.  
*In Proceedings 14th Joint Conf. US-Japan Cooperat. Med. Sci. Prag.* Cholera Panel, Takeya, K and Zinnaka, Y. Eds., Toho CIniversity, Tokyo.
- 27) Merson MH, Morris GK, Sack DA, Wells J.G, Feeley JC, Sack RB, Creech WB, Kapikian AS and Gangarosa EJ : "Traveller's diarrhea in Mexico. A prospective study of physicians and family members attending a congress", *New Eng J.Med.*, **294**:1299, 1976.
  - 28) Moon HW, Whipp SC, Engstrom GW and Baetz AL : "Response of the rabbit ileal loop to cell-free products from Escherichia coli enteropathogenic for swine," *J. Infect. Dis.*, **121**:182, 1970.
  - 29) Moon JW, Whipp SC and Skartvedt SM : "Etiologic diagnosis of diarrheal diseases of calves: Frequency and method for detecting enterotoxin and K99 antigen production by Escherichia coli", *Amer. J. Vet. Res.*, **37**:1025, 1976.
  - 30) Moseley SL, Huq ARMA, Alim MSo, Samadpour M-Motalebi and Falkow S : Detection of enterotoxigenic Escherichia coli by INA colony hybridization. *J. Infect. Dis.*, **142**:892, 1980.
  - 31) Orskov F, Orskov I, Evans DJ, Sack RB, Sack DA and Wadstrom T : "Special Escherichia coli serotypes among enterotoxigenic Strains from diarrhoea in adults and children", *Med. Microbiol. immunol.*, **162**:73, 1976.
  - 32) Rao MC, Orellana SA, Field M, Robertson DC and Gianella RA : Comparison of the biological actions of three purified heat-stable enterotoxins: Effects of ion transport and guanylate cyclase activity in rabbit ileum in vitro. *Infect. Immun.*, **33**:165, 1981.
  - 33) Rowe B, Scotland SM and Gross B : "Enterotoxigenic Escherichia coli causing infantile enteritis in Britain", *Lancet*, **1**:90, 1977.
  - 34) Sack RB, Gorbach SL, Banwell JG, B.Jacobs, Chatterjee BD and Mitra RC : "Enterotoxigenic Escherichia coli isolated from patients with severe cholera-like disease, *J.Infect. Dis.*, **123**:378, 1971.
  - 35) Sack RB, Gorbach SL, Banwell JG, Jacobs B, Chatterjee BD and Mitra RC : Enterotoxigenic Escherichia coli isolated from patients with severe cholera-like disease. *J.Infect. Dis.*, **123**:378, 1971.
  - 36) Sakazaki R, Tamura K and Saio M : Enteropathogenic Escherichia coli associated with diarrhoea in Children and adults Japan. *J. Med. Sci. Biol.*, **20**:387, 1967.
  - 37) Smith HW and Gyles CL : "The relationship between two apparently different enterotoxins produced by enteropathogenic strains of Escherichia coli of porcine origin: *J.Med. Microbiol.*, **3**:387.
  - 38) Smith HW and Gyles CL : The relationship between two apparently different enterotoxins produced by enteropathogenic strains of Escherichia coli of porcine origin. *J.Med. Microbiol.*, **3**:387, 1970.
  - 39) Smith JW and Halls S : "Studies on Escherichia coli enterotoxin", *J.Pathol. Bacteriol.*, **93**:531, 1967.
  - 40) Shore EG, Dean AG, Holik KJ : Enterotoxin-producing Escherichia coli and diarrheal disease in adult travelers: a prospective study. *J. Infect. Dis.*, **129**:577, 1974.
  - 41) Tsuji T, Taga S, Honda T, Takeda Y and Miwatani T : Molecular heterogeneity of heat-labile enterotoxins from human and porcine enterotoxigenic Escherichia coli, *Infect. Immun.*, **38**:444, 1982.
  - 42) 松下秀, 工藤泰雄, 坂井千三, 大橋誠 : 毒素原性大腸菌の簡易検出法とその本菌下痢症診断への應用, 日本細菌學雜誌 **38**(1) : 237, 1983.
  - 43) 三輪谷俊夫, 竹田美交, 工藤泰雄 : ユレラ菌と毒素原性大腸菌の検出法, 日本細菌學會教育委員會編 **70**, 1981.
  - 44) 竹田美文 : 輸入腸管感染症の疫學, 臨床と細菌 **10**(1) : 5, 1983.
  - 45) 工藤泰雄 : 輸入感染性腸炎の實態とその疫學について, 日本東京衛生局學會誌 **70** : 3, 1983.
  - 46) 工藤泰雄 : 毒素原性大腸菌下痢症, 日本細菌學雜誌 **35** : 38, 1980.
  - 47) 工藤泰雄 : 輸入感染性腸炎の實態とその検査, 臨床と細菌 **6** : 46, 1979.