

牛 由來 腸毒素 產生 大腸菌에 대하여

李 彊 綠 · 崔 源 弼
慶北大學校 農科大學 獸醫學科
(1986. 2. 21 接受)

Studies on Enterotoxigenic *Escherichia coli* Isolated from Cattle

Gang-log Lee and Won-pil Choi

Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture, Kyungpook National University
(Received February 21th, 1986)

Abstract: The purpose of this study was the examination for presence of K99 antigen (K99), enterotoxigenicity, 0-groups, colicin and antibiotic susceptibility among *E. coli* isolated from calves and cows.

A total of 49(18.7%) among 262 strains, isolated from 30(26.5%) out of 113 calves and cows, possessed K99, and thirty three of 49 K99⁺ strains produced ST. Of the strains of diarrheal calf origin which less than 15 days old, a high correlation was observed between enterotoxigenic ability and K99: 92.3% of the K99⁺ strains produced heat stable enterotoxin(ST).

In O group typing of 33 ST⁺ strains, they belonged to O20(48.4%), O8(9.1%), O9(6.1%), O139(6.1%), O149(6.1%), O101(3.0%), O115(3.0%), except six which were untypable or auto-agglutinable.

Of 262 *E. coli* isolates, 30 strains(13.3%) produced colicin and K99 were detected in 6 strains.

One hundred eighty eight strains(71.8%) of 262 *E. coli* isolates were resistance to ampicillin, chloramphenicol, gentamicin, kanamycin, streptomycin, tetracycline, alone or in combination thereof.

One hundred and fourteen(60.6%) out of 188 drug resistance strains carried R factor(R⁺) which were transferable to the recipients by conjugation. Sixty five R⁺ strains(57.0%) carried thermosensitive R plasmid.

緒 論

家畜에 있어서 大腸菌性 泄瀉症은 enterotoxigenic *E. coli*(ETEC)가 產生하는 腸毒素에 의한 것으로 이로 인한 경제적 손실도 대단히 크다.

大腸菌性 泄瀉症의 發生起轉은 小腸粘膜에 colonization factor와 pili抗原에 의해 ETEC가 小腸粘膜에

계 附着하고 增殖하여 腸毒素을 產生함으로써 小腸粘膜으로부터 水分이나 電解質의 過多分泌가 일어나기 때문이라고 알려져 있다.¹⁵⁾

ETEC가 產生하는 腸毒素에는 耐熱性腸毒素(Heat stable enterotoxin, ST)와 易熱性腸毒素(Heat labile enterotoxin, LT) 2種類가 있고, pili抗原에는 K88, K99, 987P 등이 있으며, 腸毒素 產生能과 pili抗原은

서로 다른 plasmid의 支配下에 있으나 대부분이 同時에 나타나기 때문에 이 抗原의 檢出만으로도 ETEC에 의한 泄瀉症을 어느정도 진단할 수 있을 뿐만 아니라 이들은 소수의 O血清型에 국한되어 있다고 알려져 있다.^{16,17,20,24)}

특히 仔牛에서 분리되는 ETEC는 대부분이 ST산생(ST⁺)과 함께 K99抗原을 가지며(K99⁺) 이들의 O血清型은 O8, O9, C20, O101이 대부분을 차지한다고 알려져 있다.^{7,11,17,22)} 仔牛에서 ETEC에 의한 泄瀉症의 發生에 대한 研究가 많은 나라에서 이루어져 있으며 腸毒素 產生能과 K99抗原이 약제내성균의 R plasmid와 상호 전달이 일어날 경우 치료에 많은 어려움이 있으리라고 우려하고 있다.^{3,12)}

현재 우리나라에서는 仔牛 由來 ETEC에 대한 報告가 거의 없는 실정이므로 이 실험에서는 우리나라 仔牛 및 成牛 由來의 大腸菌에 대하여 K99와 ETEC의 分布狀況, ETEC의 血清型, colicin產生能, 抗生物質感受性 및 傳達性 R plasmid의 樣相에 관하여 조사하였다.

材料 및 方法

材料 採取 : 1984年 3月부터 10월까지 大邱近郊 2個 肥育牛牧場과 3個 乳牛牧場을 대상으로 每月 1回 순회하면서 正常 및 泄瀉症이 인정되는 仔牛 및 成牛의 直腸糞 또는 排泄 直後 新鮮한 糞을 멸균면봉으로 採取하였다.

大腸菌의 分離 : 大腸菌의 分離는 Edwards 및 Ewing⁴⁾의 方法에 準하였으며 確認된 大腸菌은 semisolid agar에 穿刺培養後 4°C에 保存하면서 실험에 供試하였다.

K99抗原檢査 : Guinée등⁵⁾의 方法에 準하여 평균응집 반응으로 檢査하였으며, 標準 K99⁺菌株로는 B41(영국 Weybridge研究所로 부터 분양된 것임)을 사용하였다.

ST產生檢査 : K99⁺菌을 Dean 등²⁾의 方法에 準하여 ST產生檢査를 하였으며, 標準 毒素 產生菌으로 B41을 사용하였고, 의심되는 菌株은 2回 반복 실시하였다.

O血清型 同定 : K99⁺菌에 대하여 日本 農林省 家畜衛生 試驗場의 同定法²⁹⁾에 따라 실험관 응집반응을 실시하였으며, 사용한 標準 O血清은 O8, O9, O20, O45, O64, O101, O115, O139, O141, O149, O157을 사용하였다.

Colicin產生試驗 : *E. coli* ML1410(NA^r, methionine-requiring F-derivative of K-12)을 指示菌으로 하여 증층 배양법으로 실시하였다.⁶⁾

抗生物質 感受性檢査 : Steers 등²¹⁾의 평균 회석법에

의하였으며, 藥劑의 稀釋은 MacLowry 등¹⁵⁾의 方法에 準하였다. 사용藥劑는 Sigma제로 ampicillin(Am), chloramphenicol(Cm), gentamicin(Gm), kanamycin(Km), nalidixic acid(Na), rifampicin(Rf), streptomycin(Sm), tetracycline(Tc) 등 8劑였고, 이들 藥劑別 濃도가 100μg/ml에서 6.25μg/ml까지 단계별 稀釋濃도가 含有되도록 평균배지를 調製하였다. 供試菌은 trypticase soy broth에 37°C 18時間 培養한 菌液을 멸균 생리식염수로 100배 稀釋하여 multiple inoculator를 사용하여 上記의 抗生物質이 含有된 배지에 接種하고 37°C에서 24時間 배양후 菌의 發育有無를 보아 최소발육저지농도(minimum inhibitory concentration, MIC)를 判定하고 Am, Cm, Km, Na, Tc에 대하여는 MIC가 25μg/ml, Gm, Sm은 12.5μg/ml, Rf는 50μg/ml 이상인 菌을 내성균으로 判定하였다.

耐性傳達試驗 : Ishiguro 등⁸⁾의 方法에 따라 供與菌은 1藥劑 이상에 耐性인 菌株을, 被傳達菌은 大腸菌 ML1410을 사용하였으며, 37°C 및 25°C에서 藥劑耐性 傳達 및 溫度 感受性 傳達 與否를 檢査하였다.

結 果

正常 및 泄瀉症이 인정되는 仔牛와 成牛로 부터 분리한 262株의 大腸菌에 대하여 K99抗原 檢査와 K99⁺菌에 대하여 ST產生 狀況을 조사한 결과는 Table 1과 같다. 對象牛 113頭中 30頭(26.5%)로 부터 K99⁺菌이 분리되었으며, 262株의 大腸菌中 49株(18.7%)가 K99⁺이었고, K99⁺ 49株中 33株(67.3%)가 ST⁺이었다. 泄瀉仔牛 43頭 由來 100株中 12頭(27.9%) 由來의 22株(22.0%)가 K99⁺이었고 이중 19株(86.4%)는 ST⁺이었으며, 正常仔牛 41頭 由來 99株中 8頭(19.5%) 由來 12株(12.1%)가 K99⁺이었고 이중 7株(58.3%)는 ST⁺이었다. 成牛에서는 泄瀉成牛 16頭 由來 41株中 7頭(43.8%) 由來 12株(29.3%)가 K99⁺이었고 이중 5株(41.7%)는 ST⁺이었으며, 正常成牛에서는 13頭 由來 22株中 3頭(23.1%) 由來 3株(13.6%)가 K99⁺이었고 이중 2株(66.7%)는 ST⁺이었다.

仔牛의 日齡別 泄瀉症의 經重으로 구분하여 K99抗原 및 ST產生 狀況을 調査한 결과는 Table 2와 같다. 15日齡 以內의 泄瀉仔牛 18頭 由來 大腸菌 46株中 6頭(33.3%) 由來 13株(28.3%)가 K99⁺이었고 이중 12株(92.3%)는 ST⁺이었으며, 15日齡 以後 30日齡 以內의 泄瀉仔牛에서는 25頭 由來의 54株中 6頭(24.0%) 由來의 9株(16.7%)가 K99⁺이었고 이중 7株(77.8%)가 ST⁺이었다. 正常仔牛에서는 15日齡 以內의 23頭 由來 54株中 5頭(21.7%) 由來 9株(16.6%)가 K99⁺이었으며,

Table 1. Distribution of K99 Antigen among *E. coli* Isolated from Calves and Cows

Origin	No. of examined		No. of K99 ⁺		
	Animal	Strains	Strain carrying animal	Strains	ST ⁺ strains
Diarrheal calves	43	100	12(27.9)	22(22.0)	19(86.4)
Normal calves	41	99	8(19.5)	12(12.1)	7(58.3)
Diarrheal cows	16	41	7(43.8)	12(29.3)	5(41.7)
Normal cows	13	22	3(23.1)	3(13.6)	2(66.7)
Total	113	262	30(26.5)	49(18.7)	33(67.3)

K99⁺: K99 antigen detected by slide agglutination.

ST⁺: Heat stable enterotoxin producing *E. coli* detected by infant mouse test.

Figures in parentheses are percentages.

Table 2. Distribution of K99 Antigen among *E. coli* Isolated from Diarrheal and Normal Calves

Origin	No. of examined			No. of K99 ⁺			
	Animal	Strains	Strain carrying animal	Strains	ST ⁺ strains		
Diarrheal calves	Diarrheal calves A*	Severe	12	33	5(41.7)	12(36.4)	11
		Weak	6	13	1(16.7)	1 (7.7)	1
		Subtotal	18	46	6(33.3)	13(28.3)	12(92.3)
	Diarrheal calves B**	Severe	4	25	4(36.4)	7(28.0)	5
		Weak	14	29	2(14.3)	2 (6.9)	2
		Subtotal	25	54	6(24.0)	9(16.7)	7(77.8)
Total		43	100	12(27.9)	22(22.0)	19(86.4)	
Normal calves	Normal calves A*	23	54	5(21.7)	9(16.6)	5	
	Normal calves B**	18	45	3(16.7)	3 (6.7)	2	
	Total	41	99	8(19.5)	12(12.1)	7(58.3)	

A*: less than 15days old calves.

B**: less than 30days old calves.

K99⁺: K99 antigen detected by slide agglutination.

ST⁺: Heat stable enterotoxin producing *E. coli* detected by infant mouse test.

Figures in parentheses are percentages.

이중 5株(55.6%)는 ST⁺이었으나 3頭 由來 3株는 K99 抗原만 產生하였다. 15日齡 以上 30日齡 以內의 正常 仔牛 18頭 由來의 45株中 3頭(16.7%) 由來 3株(6.7%) 가 K99⁺이었으며 이중 2株(66.7%)는 ST⁺이었으나 1 頭 由來 1株는 K99抗原만 產生하였다.

ST⁺ 33株에 대한 O血清型別 分布狀況을 조사한 結果는 Table 3과 같이 O20이 16株(48.4%)로 가장 많았으며 O8이 3株 (9.1%), O9, O139, O149가 各各 2 株(6.1%), O101과 O115가 各各 1株(3.0%), 型別不能이 2株(6.1%)이었으며 자가응집군이 4株(12.1%)이었다. 한편 供試한 大腸菌 262株中 30株(11.5%)가 colicin을 產生하였으며, 이중 6株는 K99⁺이었다.

262株의 大腸菌에 대하여 Am, Cm, Gm, Km, Na, Rf, Sm, Tc 등 8種의 抗生物質에 대한 感受性を 조사한 結果는 Table 4와 같이 Tc耐性株가 173株(66.0%)로 가장 많았으며 Sm에 154株(58.8%), Am에 121 株(46.2%), Km에 96株(36.6%), Cm에 79株(32.0%), Gm에 20株(7.6%)가 耐性이었으며 Na 및 Rf에 耐性 菌은 인정되지 않았다.

各 藥劑의 MIC分布는 Fig.1과 같이 Gm, Cm, Km, Am에서는 6.25μg/ml에서 發育한 菌의 대부분이 100 μg/ml에서도 發育이 억제되지 않았으나, Sm과 Tc에서는 藥劑濃度가 증가할수록 發育이 억제된 菌이 많았으며 특히 Tc에서는 100μg/ml에서 급격히 억제되었다.

Table 3. O Groups and Enterotoxigenicity of K99⁺ *E. coli* Isolated from Calves and Cows

O groups	K99 ⁺ Strains	ST ⁺ Strains
8	7(14.3)	3 (9.1)
9	3 (6.1)	2 (6.1)
20	19(38.8)	16(48.4)
101	1 (2.0)	1 (3.0)
115	1 (2.0)	1 (3.0)
139	2 (4.1)	2 (6.1)
149	3 (6.1)	2 (6.1)
Untypable	8(16.3)	2 (6.1)
Autoagglutination	5(10.2)	4(12.1)
Total	49(100.0)	33(100.0)

K99⁺: K99 antigen detected by slide agglutination.

ST⁺: Heat stable enterotoxin producing *E. coli* detected by infant mouse test.

Figures in parentheses are percentages.

Table 4. Frequency of Drug Resistance of 262 *E. coli* Strains Isolated from Calves and Cows

Drugs	No. of resistant strains
Ampicillin	121(46.2)
Chloramphenicol	79(30.2)
Gentamicin	20 (7.6)
Kanamycin	96(36.6)
Streptomycin	154(58.8)
Tetracycline	173(66.0)
Rifampicin	0
Nalidixic acid	0

Figures in parentheses are percentages.

Table 5. Drug Resistance Patterns and Transferable Drug Resistance of 262 *E. coli* Strains Isolated from Calves and Cows

Resistant to drugs of	Resistance patterns	No. of strains	No. of strains with transferable resistance	Resistance pattern transferred
6	Am, Cm, Gm, Km, Sm, Tc	15	3(3)	Am, Cm, Gm, Km, Sm, Tc
			1	Am, Gm, Km, Sm, Tc
			1	Cm, Gm, Km, Sm, Tc
			6(2)	Am, Gm, Km, Sm
			1(1)	Gm, Km, Sm, Tc
			2(1)	Gm, Km, Sm
			1	Sm, Tc

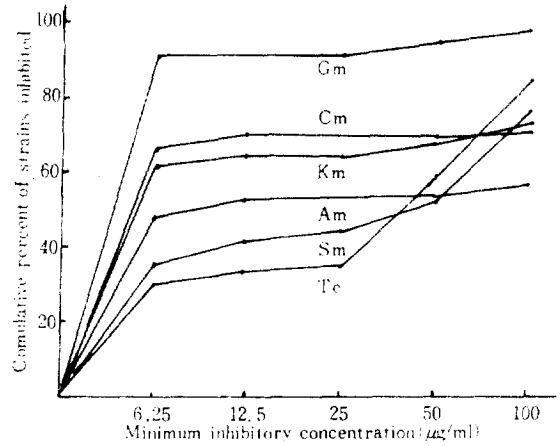


Fig 1. Antibiotics Spectra of 262 *E. coli* Strains Isolated from Calves and Cows.

Abbreviations: Am; Ampicillin, Cm; Chloramphenicol, Gm; Gentamicin, Km; Kamamycin, Sm; Streptomycin, Tc; Tetracycline.

藥劑耐性 大腸菌의 耐性傳達性을 조사한 결과는 Table 5와 같이 供試菌 262株中 188株(71.8%)가 供試藥劑 1種 以上에 대하여 耐性을 나타냈으며 176株(93.6%)는 多劑耐性菌이었다. 多劑耐性菌中 3劑耐性菌이 28.3%로 가장 많았으며 6劑耐性菌이 8.0%로 가장 적었고, 耐性樣相은 Sm, Tc耐性菌이 17.6%로 가장 많았다. 또한 1種 또는 그 以上의 藥劑에 耐性을 가진 188株에 대하여 ML1410을 被傳達菌으로하여 藥劑耐性의 傳達性을 조사한 결과 144株(60.6%)가 耐性의 一部 또는 全部를 被傳達菌에 傳達하였으며 耐性傳達菌中 65株(57.0%)가 37°C보다 25°C에서 傳達頻도가 높았다. 耐性傳達頻도는 6劑耐性菌이 100%, 5劑 81.3%, 4劑 82.2%, 3劑 67.3%, 2劑 10.0%, 單劑 8.3%로

Resistant to drugs of	Resistance patterns	No. of strains	No. of strains with transferable resistance	Resistance pattern transferred			
5	Am, Cm, Km, Sm, Tc	29	17(14)	Am, Cm, Km, Sm, Tc			
			3(3)	Cm, Km, Sm, Tc			
			1	Km, Sm			
			2(1)	Am			
			1(1)	Gm, Km, Sm, Tc			
4	Am, Cm, Km, Sm, Tc	9	1(1)	Km, Sm, Tc			
			1(1)	Gm, Km, Sm, Tc			
			4(2)	Am, Km, Sm, Tc			
			1	Am, Km, Sm			
			2	Km, Sm			
3	Am, Cm, Sm	20	1(1)	Am			
			7(7)	Am, Cm, Sm, Tc			
			11(3)	Am			
			1	—			
			2	Cm, Km, Sm, Tc			
			1(1)	Sm, Tc			
			2	Gm, Km, Sm, Tc			
			1	Gm, Km, Sm			
			3	Am, Cm, Tc	3	1	Am
						2	Am
1	Am, Sm						
14	Am, Km, Tc						
1	Am, Tc						
18	Am, Sm, Tc						
1	Am, Sm						
2(2)	Sm, Tc						
8(6)	Am						
2(2)	Sm						
2	Cm, Km, Tc						
1	Sm						
14	Km, Sm, Tc						
2	Km, Sm						
2	Am, Sm, Tc	18	1(1)	Sm, Tc			
			1(1)	Km			
			1(1)	Sm			
			1	—			
			1	—			
			3	Am			
			2	—			
			33	Sm, Tc			
			1	Am, Km, Sm, Tc	33	1(1)	Sm, Tc
						1	—
3	—						
5	Tc						
Total	26	188	114(65)	44			

Figures in parentheses are R. plasmid showing thermosensitive transfer.

Abbreviations: Am; Ampicillin, Cm; Chloramphenicol, Gm; Gentamicin,

Km; Kanamycin, Sm; Streptomycin, Tc; Tetracycline.

나타났다.

藥劑別 耐性傳達頻度は Table 6과 같이 Am耐性菌 121株中 77株(63.6%), Cm이 79株中 34株(43.0%), Gm이 20株中 18株(90.0%), Km이 96株中 60株(62.5%), Sm이 154株中 79株(51.3%), Tc耐성은 173株中 64株(37.0%)가 被傳達菌에 傳達되었다.

Table 6. Transferability of Individual Drug Resistance in *E. coli* Isolated from Calves and Cows

Drugs	No. of resistant strains	No. of strains transferred resistance	
Ampicillin	121	77(43)*	(63.6)
Chloramphenicol	79	34(30)	(43.0)
Gentamicin	20	18 (9)	(90.0)
Kanamycin	96	60(34)	(62.5)
Streptomycin	154	79(49)	(51.3)
Tetracycline	173	64(45)	(37.0)

*: No. of strains thermosensitive transferred resistance. Figures in parentheses are percentages.

考 察

腸毒素產生 大腸菌(ETEC)은 仔牛 泄瀉症의 原因菌으로서 小腸粘膜에 附着 增殖하여 腸毒素을 產生함으로써 泄瀉가 일어나지만, ETEC라 할지라도 小腸粘膜에 附着能力이 없으면 泄瀉가 發生하지 않으므로 小腸粘膜에 대하여 附着을 용이하게 하는 K99抗原은 ETEC에 의한 仔牛 泄瀉症 發生에 중요한 역할을 하고 있다.¹⁵⁾ Sherwood 등¹⁶⁾은 K99⁺菌의 100%, Ueda 등²³⁾은 77%가 ST⁺라고 報告하였고, Myers와 Guinée¹⁷⁾는 ETEC의 80%, Ueda 등²²⁾은 87%, Moon 등¹⁸⁾은 76%, Isaacson 등⁷⁾은 87.5%, Larivière 등¹¹⁾은 97.3%가 K99⁺라고 보고하여 K99抗原과 ST產生은 밀접한 관계임을 나타내고 있다. 또한 Larivière 등¹¹⁾은 腸內容物에서 K99⁺菌의 檢出만으로도 ETEC에 의한 泄瀉症으로 진단할 수 있음을 試驗하고 있다.

이 실험에서 泄瀉仔牛中 K99⁺는 27.9%로 Martel 등¹⁴⁾의 18.9%, Sherwood 등¹⁶⁾의 7.5%보다는 높았지만 Kornizer와 Tamarin¹⁰⁾의 47%, Nakazawa 등¹⁸⁾의 32.0%, Contrepolis 등¹²⁾의 39%보다는 낮은 成績이었고, 分離한 大腸菌中 K99⁺는 22.0%로 Nakazawa 등¹⁸⁾의 18.0%보다는 약간 높았다. 이와같은 차이는 牧場, 地域, 仔牛日齡, 泄瀉程度, 治療有無 등과 관계가 있는 것으로 생각된다. 또한 K99⁺菌中 ST⁺은 86.4%로

Ueda 등²³⁾의 77.0%, Nakazawa 등¹⁸⁾의 68.4%보다는 높았으나 Sherwood 등¹⁶⁾의 100%보다는 낮았지만 K99⁺와 ST⁺와는 밀접한 관계가 있음이 인정되었다.

泄瀉仔牛 日齡에 따른 成績에서 15日齡 以內의 水樣性的 泄瀉症이 인정된 仔牛의 41.7%에서 K99⁺菌이 분리된 반면, 연변자우에서는 16.7%의 K99⁺菌이 분리되었고 이들 由來 K99⁺菌의 92.3%가 ST⁺이었다. 이와같은 성적은 K99⁺ST⁺大腸菌은 수양성의 설사를 일으키며,^{16,17,18)} 또한 K99⁺菌의 檢出만으로 ST⁺菌을 檢출할 수 있음을 示唆한 Larivière 등¹¹⁾의 報告와 일치되고 있다. 15日齡 以上 30日齡 以內의 仔牛에서도 이와 유사한 결과이나 ST⁺은 K99⁺菌의 77.8%로 나타나 K99抗原과 ST產生과의 관계는 어린 仔牛일수록 더욱 더 밀접한 관계가 있는 것으로 추측된다.

한편 正常仔牛 由來 大腸菌中 K99⁺菌의 分離狀況에 대해서 Ueda 등²²⁾은 4株中 2株를, Nakazawa 등¹⁸⁾은 1.2%를 분리하였고, Isaacson 등⁷⁾은 장내용물에서 분리한 大腸菌中 13.8%가 K99⁺ST⁺라고 보고하여 연구자에 따라 차이가 있었으며, 이 실험에서도 正常仔牛 由來 大腸菌中 12.1%가 K99⁺였으며 이중 58.3%가 ST⁺로서 先人들의 報告와 차이가 인정되었다.

成牛에서도 泄瀉牛의 43.8%, 正常牛의 23.1%에서 K99⁺菌이 분리되었으며 이들 由來 大腸菌의 23.8%가 K99⁺菌이었고 이중 46.7%는 ST⁺으로서 Ueda 등²²⁾의 正常成牛 由來 K99⁺菌의 분리율인 27%보다는 다소 낮았으나 대체로 유사한 수준이었으며, WHO의 報告²⁴⁾에 의하면 仔牛의 ETEC감염은 成牛의 fecal-oral transmission으로 알려져 있어 특히 成牛에 대한 검색이 더 많이 이루어져야 할 것으로 생각된다.

K99⁺菌中 ST를 產生하지 않는 菌에 대해서는 保存 中에 毒素 產生能이 소실된 것인지 或은 LT를 產生하는 지는 앞으로 추구해볼 과제라고 생각된다.

ETEC와 O血清型과의 관계에서 Nakazawa 등¹⁸⁾은 O101, Moon 등¹⁸⁾은 O9, O101, Sherwood 등¹⁶⁾은 O8, Larivière 등¹¹⁾은 O9, O20, O101, Ueda 등²³⁾은 O101, O8, O20, Myers 및 Guinée¹⁷⁾은 O8, O9, O20, O101, Konizer 및 Tamarin¹⁰⁾은 O9, O101 그리고 Ueda 등²²⁾은 ETEC의 60%가 O101이었다는 보고들에 의하면 가장 널리 分布하는 O血清型은 O8, O9, O20, O101이었다. 이 실험성적도 O20이 가장 많이 分布되어 있었으며, 日本에서는 O101이 60% 以上을 차지하고 있으나 우리나라에서는 3.0%만이 분리된 점은 주목할 만한 것이라 생각된다.

同種 또는 異種의 腸內細菌에 대하여 살균효과가 있는 colicin產生 大腸菌은 供試菌 262株中 30株(11.5%)

이었으며 이는 薛 등²⁷⁾의 乳牛 由來 9.3%, 金 등²⁵⁾의 仔豚 由來 10.9%와 유사하였고, colicin產生株中 K99 抗原도 동시에 검출된 菌株은 6株이었다.

供試한 大腸菌 262株를 8種의 抗生物質에 대해 感受性검사를 실시한 결과 71.8%가 1種 以上の 抗生物質에 耐性を 나타내어 卓 등²⁸⁾의 各種 動物 由來 大腸菌의 耐性菌 出現率 71.8%와는 같았으나 朴²⁹⁾의 抗生物質 治療 乳牛의 46.4%, 薛 등²⁷⁾의 正常乳牛 由來 7.2% 보다는 높았고, 金 등⁹⁾의 泄瀉仔豚 由來 100%보다는 낮았으며, 이는 사용된 抗生物質의 種類, 投與量, 사용기간, 검사시기 및 검사지역 등에 의한 차이로 생각된다.

各 藥劑에 대한 MIC分布에서 Am, Cm, Gm, Km 등의 藥劑에 대하여 6.25µg/ml濃度에서 發育한 菌의 대부분이 100µg/ml濃度에서 發育이 억제되지 않는 반면, Sm 및 Tc耐性菌은 藥劑의 濃度가 증가할수록 發育이 억제된 菌이 많은 것은 Am, Cm, Gm, Km 등은 주로 치료제로 사용되므로 大腸菌이 고농도에 노출되어 耐性を 획득하였고, Tc는 주로 사료첨가제로 사용되어 저농도에서 장기간 노출됨으로써 내성을 획득했기 때문이라 생각된다.

藥劑耐性菌中 耐性傳達頻度は 60.6%이었고 多劑耐性菌이 單劑耐性菌보다 傳達頻도가 높았으며, 이 결과는 卓 등²⁸⁾의 各種 動物 由來 藥劑耐性 大腸菌의 傳達頻度 66.8%와는 유사하였으나 朴²⁹⁾의 乳牛 由來 28.1% 보다는 높았다. 특히 耐性傳達菌 57.0%가 37°C에서 보다 25°C에서 傳達頻도가 높아 Ishiguro 등⁸⁾의 52%와 유사하였으며 이는 牛 由來 大腸菌中 온도 감수성 R plasmid가 많이 分布되어 있음을 알 수 있다. 各 藥劑別 耐性傳達頻도는 Gm이 90.0%로 가장 높았고, Tc가 37.0%로 가장 낮아 Gm의 耐性菌 出現率は 낮았으나 傳達頻도가 높은 반면, Tc는 耐性菌 出現率은 높았지만 傳達頻도는 낮아 대조를 이루었다. 특히 藥劑耐性菌中 K99+ST+株와 非病原性 菌株間에는 藥劑耐性, MIC分布 및 耐性傳達頻도에 차이가 없었으며, 이는 先人들의 결과와도 유사하였다.^{3,12)}

이상에서와 같이 우리나라 仔牛 및 成牛에 O20型의 K99+ST+大腸菌이 많이 分布되어 있고 이들중 藥劑耐性菌株가 많을 뿐만 아니라 K99+, ST+plasmid가 非病原性 大腸菌의 R plasmid와 接觸에 의해 相互傳達이 이루어질 경우 藥劑耐性 病原性大腸菌에 의한 仔牛 泄瀉症의 발생과 치료에 커다란 영향을 미칠 것으로 생각되며 앞으로 더 많은 研究가 이루어져야 할 것이다.

結 論

우리나라 仔牛와 成牛에 分布해 있는 大腸菌中 K99抗 原 陽性菌(K99+)을 檢出하여 이들의 耐熱性腸毒素 產生(ST+)試驗과 O血清型을 조사하였고, colicin產生 및 抗生物質 感受性檢査 등을 실시하였던 바 다음과 같은 結果를 얻었다.

泄瀉 및 正常 仔牛와 成牛 113頭中 K99+牛은 26.5%였고, 供試菌 262株中 18.7%인 49株가 K99+이었고 이 중 67.3%가 ST+이었다.

15日齡 以內 仔牛의 水樣性 泄瀉症 由來 K99+菌은 92.3%가 ST+로서 상호 밀접한 관계가 인정되었다.

ST+33株의 O血清型은 O20(48.4%)이 가장 많았고, 그외 O8(9.1%), O9(6.1%), O139(6.1%), O149(6.1%), O101(3.0%), O115(3.0%)등의 7血清型이 전체의 81.8%이었다.

供試菌 262株中 30株(11.5%)가 colicin產生株였으며 이 중 6株는 K99+이었다.

Ampicillin, chloramphenicol, gentamicin(Gm), kanamycin, nalidixic acid, rifampicin, streptomycin (Sm) 및 tetracycline(TC)에 대한 耐性樣相은 耐性株가 71.8%(188株)이었고, 3劑耐性菌이 28.3%로 가장 많았으며, Sm과 Tc에 높은 耐性を 나타내었다. 藥劑耐性的 傳達率은 60.6%이었고, 耐性株의 57%는 37°C보다 25°C에서 耐性傳達頻도가 높았으며, Gm耐性株는 90.0%가 耐性傳達性이었다.

參 考 文 獻

1. Contrepolis, M., Dubourguier, H.C., Bordas, C. and Gouet, Ph.: Frequency of *E. coli* which express, the character K99 and ST, in feces of diarrhoeic calves. Rec. Méd. Vét. (1979) 155:553.
2. Dean, A.G., Ching, Y., Williams, R.G. and Harden, L.B.: Test for *Escherichia coli* enterotoxin using infant mice: application in a study of diarrhea in children in Honolulu. J. Infect. Dis. (1972) 125:407.
3. Echeverria, P. and Murphy, J.R.: Enterotoxigenic *Escherichia coli* carrying plasmids coding for antibiotic resistance and enterotoxin production. J. Infect. Dis. (1980) 142:273.
4. Edwards, P.R. and Ewing, W.H.: Identification of enterobacteriaceae. 3rd ed., Burgess Publ. Co., Minneapolis(1972) p.1.
5. Guinée, P.A.M., Veldkamp, J. and Jansen, W.

- H. : Improved minca medium for the detection of K99 antigen in calf enterotoxigenic strains of *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* (1977) 15:676.
6. Harnett, N.M. and Gyles, C.L. : Resistance to drug and heavy metals, colicin production and biochemical characteristics of selected bovine and porcine *Escherichia coli* strains. *Appl. Environ. Micro.* (1984) 48:930.
 7. Isaacson, R.E., Moon, H.W. and Schneider, R.A. : Distribution and virulence of *Escherichia coli* in the small intestines of calves with and without diarrhea. *Am. J. Vet. Res.* (1978) 39: 1750.
 8. Ishiguro, N., Goto, J. and Sato, G. : Genetical relationship between K plasmid derived from *Salmonella* and *Escherichia coli* obtained from pig farm and its epidemiological significance. *J. Hyg. Camb.* (1980) 84:365.
 9. Kim, B.H., Kim, D.S. and Lee, C.H. : The *in vitro* drug resistance of *Escherichia coli* isolated from scouring piglets during 1977 and 1978. *Res. Report. ORD.* (1979) 21:57.
 10. Kornitzer, I. and Tamarin, R. : Incidence and characteristics of enteropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from cases of acute diarrhoea in young calves in Israel. *Ref. Vet.* (1979) 36: 87.
 11. Larivière, S., Lallier, R. and Morin, M. : Evaluation of various methods for the detection of enteropathogenic *Escherichia coli* in diarrhoeic calves. *Am. J. Vet. Res.* (1979) 40:130.
 12. Lopez, A.G., Kadis, S. and Shotts, E.B. : Enterotoxin production and resistance to antimicrobial agent in porcine and bovine *Escherichia coli* strains. *Am. J. Vet. Res.* (1982) 43:1286.
 13. MacLowry, J.D., Jaqua, M.J. and Selepak, S. T. : Detailed methodology and implementation of a semiautomated serial dilution microtechnique for antimicrobial susceptibility testing. *Appl. Microbiol.* (1970) 20:46.
 14. Martel, J.L., Contrepois, M., Dubourguier, H. C., Girardeau, J.P., Gouet, Ph., Bordas, C., Hayers, F., Quillieriet-Eliez, A., Ramiisse, J. and Sendral, R. : Frequency of K99 antigen and antibioresistance in *Escherichia coli* from calves in France. *Ann. Rech. Vét.* (1981) 12:253.
 15. Moon, H.W., Isaacson, R.E. and Pohlenz, J. : Mechanism of association of enteropathogenic *Escherichia coli* with intestinal epithelium. *Am. J. Clin. Nutr.* (1979) 32:119.
 16. Moon, H.W., Whipp, S.C. and Skartvedt, S. M. : Etiologic diagnosis of diarrreal disease of calves: frequency and method for detecting enterotoxin and K99 antigen production by *Escherichia coli*. *Am. J. Vet. Res.* (1976)37:1025.
 17. Myers, L.L. and Guinée, P.A.M. : Occurrence and characteristics of enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from calves with diarrhea. *Infect. Immun.* (1976) 13:1117.
 18. Nakazawa, M., Nemoto, H., Ueda, H. and Maruyama, T. : Enteropathogenic *Escherichia coli* in calves with diarrhea. *Jpn. J. Vet. Sci.* (1981) 43:89.
 19. Sherwood, D., Snodgrass, D.R. and Lawson, G.H.K. : Prevalence of enterotoxigenic *Escherichia coli* in calves in Scotland and northern England. *Vet. Rec.* (1983) 113:208.
 20. Sojka, W.J. : Enteropathogenic *Escherichia coli* in man and farm animals. *Can. Inst. Food. Sci. Technol. J.* (1973) 6:52.
 21. Steers, E., Foltz, F.L. and Graves, B.S. : An inocula replicating apparatus for routine testing of bacterial susceptibility to antibiotics. *Antibiotic. Chemother.* (1959) 9:307.
 22. Ueda, H., Terakado, N., Sekizaki, T., Hashimoto, K. and Takesue, K. : Distribution of enterotoxigenic *Escherichia coli* in diarrreal calves and healthy cattle. *Jpn. J. Vet. Sci.* (1982) 44:751.
 23. Ueda, H., Terakado, N., Isayama, Y., Sakurai, K. and Nakazawa, M. : Etiologic studies on enterotoxigenic *Escherichia coli* among isolates from domestic animals in Japan. *Natl. Inst. Anim. Health Q(Jpn).* (1981) 21:108.
 24. WHO Scientific Working Group. : *Escherichia coli* diarrhea. *Bull. WHO.* (1980) 58:23.
 25. 金鳳煥, 金東成, 李昌九 : 仔豚의 病原性 大腸菌에 관한 研究. 1. 養豚農家實態 및 설사 仔豚에서 分離한 大腸菌의 性狀調査. *大韓獸醫學會誌*(1981) 21:81.

26. 朴清圭：소에서 分離한 *Escherichia coli*의 抗生物
質耐性 및 傳達性 耐性 因子의 分布. 大韓獸醫學
會誌(1977) 16:159.
27. 薛盛用, 趙成萬, 全濼基：家畜 由來 大腸菌의 抗
菌劑耐性 및 R plasmid. 韓國化學療法學會誌(19
84) 2:144.
28. 卓鍊斌, 金永洪, 朴清圭：家畜 腸內細菌의 抗生物
質에 대한 感受性 및 傳達性 耐性因子에 관한 研
究. 韓國獸醫公衆保健學會誌(1979) 3:23.
29. 日本農林省 家畜衛生試驗場：大腸菌의 O群 血清型
別法(1971) p. 1.
-