

牛 由來 Citrate利用 大腸菌의 腸毒素 產生能 및 Plasmid DNA

蔡 太 喆 · 崔 源 弼

慶北大學校 獸醫科大學

(1988.1.25 접수)

Enterotoxin Production and Plasmid Detection of Citrate Utilizing *Escherichia coli* Isolated from Cattle

Tae-chul Chae and Won-pil Choi

College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University

(Received Jan. 25, 1988)

Abstract: This paper deals with the 0 groups of citrate utilizing variants of *Escherichia coli* (Cit⁺ *E. coli*) isolated from cattle, the production of colicin, hemolysin, K99 antigen, heat stable enterotoxin, and the isolation of plasmid DNA.

Among 42 Cit⁺ *E. coli*, 12 strains were 020, 9 strains 08, 5 strains 045, 3 strains 0115, 1 strain 064, 1 strain 0139 and remaining strains(11) were untypable.

Thirty-nine(81.3%) out of 48 Cit⁺ *E. coli* were produced colicin and 13(27.0%) were produced hemolysin.

Of 12 Cit⁺ *E. coli* bearing K99 antigen, 6(50.0%) were produced heat stable enterotoxin.

In gel electrophoresis for the isolation of plasmid DNA, the number of plasmids varied from 1 to 7 in 10 Cit⁺ *E. coli*. It's molecular weight ranged from 2 to 50 Mdalton, and 50 Mdalton plasmid was commonly existed in all strains.

緒 論

大腸菌은 사람과 動物의 腸內에 分布하는 細菌으로 citrate를 탄소원으로 利用할 수 없는 것으로 알려져 왔으나(Buchanan과 Gibbons, 1974), Edwards와 Ewing (1972)은 사람 由來 大腸菌에서 0.6~0.9%, Ishiguro와 Sato(1979)는 動物 由來 大腸菌에서 4.1~36.3%가 citrate利用 大腸菌變異株라고 報告하였으며 또한 citrate利用性이 plasmid에 의하여 傳達되고 있음이 認定되어 앞으로 急速히 진과될 可能性을 示唆하고 있다(Ishiguro와 Sato, 1979; 李憲俊과 崔源弼, 1983).

한편 大腸菌은 非病原性 細菌으로 알려져 왔으나, 1893年 Jensen이 犢牛의 白痢症 原因이 大腸菌이라고 報告한 이후 大腸菌의 病原性에 관하여 많은 研究가 이루어져 왔다(Sherwood 등, 1983; Sojka, 1973; Moon

등, 1966). 특히 사람과 어린 家畜에 있어서 病原性을 나타내는 主要 大腸菌은 腸毒素性 大腸菌(Enterotoxigenic *Escherichia coli*, ETEC)으로서 이들은 小腸粘膜에 쉽게 附着하여 發育增殖하면서 腸毒素(Enterotoxin)을 產生하는 것으로 알려져 있다(Moon 등, 1979). 또한 ETEC에 속하는 大腸菌은 대부분 K88, K99, F41 및 987P 등의 pili(Fimbriae) 抗原中 하나를 가지고 있다는 것이 많은 研究者들에 의해 밝혀졌으며(Sherwood 등, 1983; Moon 등, 1979; Jones와 Rutter, 1972) 犢牛에서는 주로 K99, F41 pili 抗原이 관련한다고 알려져 있다(Guinée 등, 1976; Moon 등, 1976; Myers와 Guinée, 1976). ETEC가 產生하는 腸毒素에는 易熱性腸毒素(Heat labile enterotoxin, LT)와 耐熱性腸毒素(Heat stable enterotoxin, ST) 두가지 型으로 알려져 있으며(Moon 등, 1976; Smith와 Gyles, 1970), 腸毒素 產生

과 pili抗原은 서로 다른 plasmid의支配를 받고 있으나, 대부분 同時에 나타나기 때문에 pili抗原 檢出만으로 로드 ETEC에 의한 설사증을 어느정도 診斷할 수 있다고 알려져 있다(Isaacson 등, 1978; Guinée 등, 1976; Moon 등, 1976; Jones와 Rutter, 1972). 그뿐만 아니라 K99 pili抗原을 産生(K99⁺)하는 大腸菌의 70~100%가 ST를 産生한다고 알려져 있어(Sherwood 등, 1983; Ueda 등, 1981; 李彊綴과 崔弼源 1986), K99 pili抗原과 ST 産生은 밀접한 관계를 나타내고 있으며 또한 이들 K99⁺ 菌의 대부분이 O8, O9, O20, O101 등 특종의 O血清型에 속한다고 알려져 있다(Lariviere 등, 1979; Isaacson 등, 1978; Moon 등, 1976).

한편, 病原性 大腸菌의 pili抗原 및 腸毒素 産生에 관여하는 plasmid에 대하여 plasmid DNA 分離와 制限酵素를 사용한 plasmid의 樣相을 규명하는 등 이들에 관한 많은 研究가 이루어지고 있다(Ohmae 등, 1985; Olsvik 등, 1985; Gyles 등, 1974; 박경윤과 마정술, 1987).

현재까지 우리나라에서는 豚 由來 病原性 大腸菌에 관한 研究는 이루어지고 있으나(尹用德 등, 1984; 金鳳煥 등, 1981), 牛 由來에 대한 報告는 거의 없는 實情이며 특히 citrate利用 大腸菌의 腸毒素 産生 및 plasmid에 관하여는 거의 報告가 없어 이에 대한 研究가 要求되고 있는 實情이다.

따라서 이 實驗에서는 牛 由來 citrate利用 大腸菌에 대하여 O血清型, colicin 및 hemolysin 産生檢査와 K99 pili抗原 陽性菌을 檢出하여 ST 産生能 및 agarose gel 電氣泳動에 의한 plasmid의 分離를 實施하였다.

材料 및 方法

供試材料: 1983年 本 미생물학 教室에서 分離 保存 중인 牛 由來 citrate利用 大腸菌 48株를 供試하였다.

O血清型 同定: 日本 農林省 家畜衛生 試驗場의 同定法(1971)에 따라 實施하였으며 사용한 標準 O抗血清은 O8, O9, O20, O45, O64, O101, O115, O139, O141, O149, O157이었다.

Colicin 및 hemolysin 産生檢査: colicin 産生檢査는 Harnett와 Gyles의 중층배양법(1984)으로 實施하였다. 各 菌株를 LB(Luria-Bertani) agar에 도말하여 37°C, 24時間 배양한 다음 chloroform vapor로 菌을 사멸하여 여기에 brain heart infusion broth에 37°C, 24時間 배양한 *Escherichia coli* ML1410 0.1ml을 含有한 soft agar(0.6%)를 중층도말하여 lytic zone 有無로서 colicin産生有無를 判定하였다. hemolysin 産生檢査는 5% 山羊 血液이 含有된 배지를 사용하여 檢査하였다.

K99 pili抗原檢査: Guinée 등(1976)의 方法에 따라 평균응집반응으로 檢査하였으며, 標準 K99⁺ 菌株로는 B41(영국 Weybridge 研究所로부터 分讓)을 사용하였다.

耐熱性腸毒素産生檢査: K99⁺ 菌을 Dean 등(1972)의 方法에 따라 trypticase soy broth에 37°C, 18~24時間 振盪型養한 후 1,500g로 30分間 遠心分離한 上層液에 2% Evans blue液 1適을 加하여 接種液으로 사용하였다. 毒素檢査는 生後 2~3日齡 mouse 3~5마리에 接種液 0.1ml을 胃內에 注入한 다음 28°C, 4時間 방치 후 chloroform으로 痲醉시키고 腸을 떼어낸 나머지 무게와 腸管무게의 비가 0.07以下는 陰性, 0.07~0.09까지는 疑陽性, 0.09 以上을 陽性으로 判定하였다. 標準 毒素 産生菌으로는 B41을 사용하였다.

Plasmid DNA分離: plasmid DNA保有狀態를 조사하기 위하여 Maniatis 등(1982)의 alkaline lysis方法으로 plasmid를 分離하였다. 各 菌株를 LB(Luria-Bertani) broth 5ml에 37°C, 24時間 振盪培養하여 15,000 rpm으로 5分間 遠心分離한 후 沈澱된 細菌體를 재현탁액(50mM glucose, 10mM EDTA, 25mM Tris-Cl, lysozyme(4mg/ml)) 100 μ l을 加한 후 lysing solution (0.2N NaOH, 1% SDS) 200 μ l와 potassium acetate solution(5M potassium acetate 60ml, glacial acetate acid 11.5ml, H₂O 28.5ml) 150 μ l을 加하여 얼음에 5分間 방치하였다. 이것을 15,000 rpm으로 5分間 遠心分離하여 同量의 phenol/chloroform을 加한 후 遠心分離하여 2倍 容量의 ethanol을 加하여 -20°C에서 1夜 沈澱시켰다. 그후 沈澱된 plasmid DNA를 TE solution (10mM Tris-Cl, 1mM EDTA) 20 μ l에 溶解하여 이것을 plasmid DNA의 電氣泳動材料로 하였다.

Agarose gel電氣泳動: 分離된 plasmid DNA를 TBE buffer(89mM tris-HCl, 2.5mM EDTA, 89mM Boric acid)에 녹인 0.8% agarose gel에서 電氣泳動 하였다. 電氣泳動은 100V에서 4時間 전개하였으며 전개가 끝난 gel은 ethidium bromide (0.5 μ g/ml)로 染色하여 polaroid type 667 film을 사용하여 plasmid DNA band를 관찰하였으며, 分子量은 *Escherichia coli* V517을 marker로 利用하여 측정하였다.

結 果

牛 由來 citrate利用 大腸菌 48株中 자가응집菌 6株를 제외한 42株에 대한 O血清型 分布狀況은 Table 1과 같다. O20이 12株(28.6%)로 가장 많았으며, O8 9株(21.4%), O45 5株(11.9%), O115 3株(7.1%), O64 1株(2.4%), O139 1株(2.4%), 型別不能이 11株(26.2

Table 1. 0 Groups of 42 Citrate Utilizing *Escherichia coli* Isolated from Cattle

0 groups	No. of strains	%
8	9	21.4
20	12	28.6
45	5	11.9
64	1	2.4
115	3	7.1
139	1	2.4
Untypable	11	26.2
Total	42	100

Table 2. Other Characters of 48 Citrate Utilizing *Escherichia coli* Isolated from Cattle

Reaction	Production of			
	Colicin	Hemolysin	K99 antigen	ST*
Positive	39	13	12	6
Negative	9	35	36	6
Total	48	48	48	12

*ST : Heat-stable enterotoxin.

%)이었다.

供試菌 48株에 대한 colicin, hemolysin, K99 pili 抗原 및 ST產生能을 조사한 結果는 Table 2와 같다. 供

Table 3. Relationships between 0 Groups and Other Characters of Citrate Utilizing *Escherichia coli* Isolated from Cattle

Characters	No. of strains	0 groups							
		08	020	045	064	0115	0139	Auto**	UT***
Colicin production	39	7	11	5	1	3	1	6	5
Hemolysin production	13	4	5	2			1		1
K99 antigen production	12	6	2	1	1	2			
ST* production	6	2	1		1	2			

*ST : Heat-stable enterotoxin.

**Auto : Autoagglutination.

***UT : Untypable.

Table 4. Characters and Molecular Size of Plasmids Detected in 10 Citrate Utilizing *Escherichia coli* Isolated from Cattle

Strains	0 groups	Characters of*						No. of plasmids	Size(Md)** of plasmids
		Resistance patterns	Resistance patterns transferred	Col.	Hel.	K99	ST		
A	64	Sm Tc		+	-	+	+	3	50 4.5 4
B	20	Sm Tc		+	-	+	-	1	50
C	8	Sm Tc	Sm	+	-	+	+	2	50 10
D	20	Sm Tc	Sm	+	+	+	+	4	50 11 6 3.5
E	45	Tc		+	+	+	-	1	50
F	8	Sm Tc	Sm Tc	+	+	+	-	1	50
G	115	Sm Tc	Tc	+	+	+	+	7	50 25 14.5 9.5 4.2 4 2
H	8	Sm Tc		+	-	+	-	1	50
I	8	Sm Tc		+	-	+	-	1	50
J	8	Tc		+	-	+	+	3	50 9.5 3.3

*Sm ; Streptomycin, Tc ; Tetracycline, Col ; Colicin, Hel ; Hemolysin, ST ; Heat-stable enterotoxin.

**Md : Megadalton.

試菌 48株中 39株(81.3%)가 colicin을 産生하였으며 13株(27.0%)가 hemolysin을 産生하였다. K99 pili抗原 産生株는 12株(25.0%)이었으며, 이들 K99⁺ 12株中 6株(50.0%)가 ST를 産生하였다.

O血清型과 colicin, hemolysin, K99 pili抗原 및 ST 産生能과의 연관성을 조사한 結果는 Table 3과 같다. colicin産生 39株는 다양한 O血清型을 나타내었으며 O20이 11株(28.2%)로 가장 많았으며 O8 7株(17.9%), O45 5株(12.8%), O115 3株(7.7%), O64와 O139가 各 各 1株(2.6%), 型別不能이 5株(12.8%)이었으며, 자가응집菌이 6株(15.4%)이었다. hemolysin産生 13株는 O20이 5株(38.5%)로 가장 많았으며 O8 4株(30.8%), O45 2株(15.4%), O139와 型別不能이 各 各 1株(7.7%)이었다. K99 pili抗原 産生 12株는 O8이 6株(50.0%)로 가장 많았고, O20과 O115가 各 各 2株(16.7%)이었으며, O45와 O64가 各 各 1株(8.3%)이었다. 또한 ST産生 6株는 O8과 O115가 各 各 2株(33.3%)이었으며, O20과 O64가 各 各 1株(16.7%)이었다.

Citrate利用 大腸菌 10株에 대하여 病原性과 관련이 있는 factor인 colicin, hemolysin, K99 pili抗原 및 ST 産生能과 電氣泳動후 나타난 plasmid의 수와 分子量을 조사한 結果는 Table 4와 같다. 이들 菌株中 colicin, hemolysin, K99 pili 및 ST産生能 모두를 가진 菌이 1株(G)이었으며, colicin, hemolysin 및 K99 pili 産生

能을 가진 菌이 3株(D, E, F), colicin, K99 pili 및 ST 産生能을 가진 菌이 3株(A, C, J)였으며, colicin과 K99 pili産生能을 가진 菌이 3株(B, H, I)이었다. 한편, 이들 菌들의 電氣泳動 結果 나타난 plasmid의 수는 1~7개로 다양하였으며, 菌株別로는 G 菌株에서는 7개의 plasmid(약 50Md, 25Md, 14.5Md, 9.5Md, 4.2Md, 4Md, 2Md)가 나타났으며, D 菌株는 4개의 plasmid(약 50Md, 11Md, 6Md, 3.5Md), A 菌株는 3개의 plasmid(약 50Md, 4.5Md, 4Md), C 菌株는 2개의 plasmid(약 50Md, 10Md)가 나타났으며, B, E, F, H, I 菌株에서는 단일 plasmid(약 50Md)만 나타났다(Fig. 1). 分子量이 약 50Md 크기의 plasmid가 10菌株 모두에서 공통적으로 存在하고 있었으며, 다른 plasmid의 分子量은 약 2~25Md이었다. ST를 産生하는 菌株(A, C, D, G, J)는 모두가 2개 이상의 plasmid를 가지고 있었으나 ST를 産生하지 않는 菌株(B, E, F, H, I)는 한개의 plasmid만 가지고 있었다.

考 察

大腸菌은 自然界 및 사람과 動物의 腸内に 分布하는 細菌으로서 약 10,000여種의 血清型이 있을 것이라고 報告하고 있으나(ørskov와 ørskov, 1979), 현재까지 血清型이 완전히 규명된 것은 수백종에 불과하며 이中 牛 및 豚에서 病原성이 認定되는 大腸菌의 O血清型은

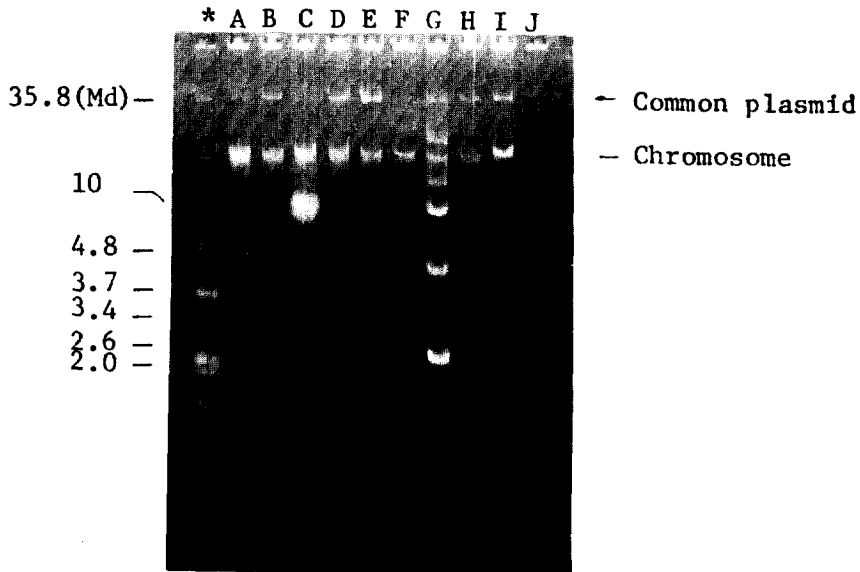


Fig. 1. Plasmid profile of 10 citrate utilizing *E. coli* by agarose gel(0.8%) electrophoresis.

*Marker, *E. coli* V517 strain.

Md : Megadalton.

O8, O9, O20, O45, O64, O101, O139 등 비교적 한정된 O血清型에 속한다고 알려져 있다(Lariviere 등 1979; Isaacson 등, 1978; Moon 등, 1976). 이 실험에서도 병원성이認定되는 O血清型인 O8, O20, O45가 61.9%를 차지하고 있어 citrate利用 大腸菌에서도 병원성이認定되는 O血清型이 分布하고 있음을 알 수 있다. 한편 生化學的 檢査에서 citrate利用성이 있는 菌株을 大腸菌에서 제외시켜 왔으나(Buchanan과 Gibbons, 1974), 근년에 이르러 이들 citrate利用 大腸菌變異株의 높은 分離率이 報告되고 있고(Ishiguro와 Sato, 1979; 李憲俊과 崔源弼, 1983)이 실험에서 나타난 바와 같이 citrate利用 大腸菌中에서도 병원성이認定되는 O血清型이 分布하고 있어 앞으로 大腸菌性 설사증 診斷과 菌分離시 오류를 범할 수 있으므로 이에 관한 많은 주의가 要求되어 진다.

同種 또는 이종의 腸內細菌에 대하여 殺菌效果가 있는 colicin에 대하여 Ueda 등(1981)은 牛 由來 大腸菌에서 36.0%, Trudel 등(1984)은 動物 由來 大腸菌에서 40.0%, 우리나라에서는 李와 崔(1986)가 牛 由來 大腸菌에서 11.9%, 金 등(1981)은 仔豚 由來 大腸菌에서 10.9%라고 報告하였고, Ishiguro와 Sato(1979)는 牛 由來 citrate利用 大腸菌 12株中 3株(25.0%)가 colicin을 產生한다고 報告하고 있으나 이 실험에서는 供試菌 48株中 39株(81.3%)가 colicin을 產生하여 이들 先人들의 報告와는 상당한 차이가 認定되고 있다. 이와같은 性적으로 보아 이들 citrate利用성과 colicin產生有無 및 colicin의 型別과 다른 腸內病原性 細菌에 대한 殺菌效果에 대해서는 앞으로 追구해볼 과제라 思料된다.

大腸菌의 hemolysin產生에 대하여 Sherwood 등(1983)은 ETEC의 94.2%, Ishiguro와 Sato(1979)는 豚 由來 citrate利用 大腸菌의 59.0%가 hemolysin을 產生한다고 報告하고 있으며 이 실험에서는 ETEC 6株中 2株(33.3%)가 hemolysin을 產生하여 이는 Gyles 등(1974)의 仔豚 由來 病原性 大腸菌의 30.6%, Ueda 등(1981)의 실사 仔豚 由來 大腸菌의 40.0%와 유사하며 金 등(1981)의 실사 仔豚 由來 大腸菌의 12.9%, 尹 등(1984)의 19.9% 보다는 다소 높게 나타났다.

한편, 牛 由來 大腸菌에서 K99⁺菌의 分離狀況에 대하여 Nakazawa 등(1981)은 正常 犢牛에서 1.2%, Ueda 등(1982)은 正常 成牛에서 27.0%, Isaacson 등(1978)은 犢牛의 腸내용물에서 分離한 大腸菌의 13.8%가 K99⁺라고 報告하고 있어 研究者에 따라 차이가 있었으며 이 실험에서는 供試菌 48株中 12株(25.0%)가 K99⁺이었으며 이는 李와 崔(1986)가 正常 成牛에

서 分離한 大腸菌의 23.1%가 K99⁺이었다는 成績과 유사하였다.

ETEC는 pili抗原을 가지고 있어 小腸粘膜에 쉽게 附着하여 增殖함으로써 설사증 發生에 중요한 역할을 하고 있는 것으로 알려져 있다(Lariviere 등 1979; Moon 등, 1979; Isaacson 등, 1978; Jones와 Rutter, 1972). 한편, 牛 由來 ETEC와 K99 pili抗原에 대하여 Ueda 등(1981)은 K99⁺菌의 77.0%, Sherwood 등(1983)은 100%, 李와 崔(1986)는 67.3%가 ST를 產生한다고 報告하였고, Lariviere 등(1979)은 ETEC의 97.3%, Isaacson 등(1978)은 87.5%, Myers와 Guinée(1976)은 80.0%가 K99⁺라고 報告하여 K99 pili抗原과 ST產生은 밀접한 관계를 나타내고 있다. 이 실험에서는 K99⁺ 12株中 6株(50.0%)가 ST를 產生하여 先人들의 報告와는 차이가 認定되고 있으나 citrate利用 大腸菌에서도 K99 pili와 ST를 產生하는 菌이 나타나고 있다는 점은 주목할만한 것이라 생각된다. 또한 K99⁺菌中 ST를 產生하지 않는 菌에 대해서는 장기간 保存中에 毒素 產生能이 소실된 것인지 或은 LT를 產生하는지는 앞으로 追구해 볼 과제라 생각된다.

ETEC와 O血清型과의 관계에 대해서 Sherwood 등(1983)은 O8, Ueda 등(1981)은 O101, O8, Myers와 Guinée(1976)은 O8, O9, O20, O101, Lariviere 등(1979)은 O9, O20, O101 그리고 李와 崔(1986)는 ETEC의 50.0%가 O20이었다는 報告들에 의하면 가장 널리 分布하는 O血清型은 O8, O9, O20, O101이었다. 이 실험에서는 ETEC의 수가 적어 정확한 비교는 어려우나, ST產生 6株中 3株(50.0%)가 O8, O20이었으므로 대체로 先人들의 報告와 유사하였다.

한편, 大腸菌의 抗菌劑 耐性を 支配하는 R plasmid와 病原성에 관여하는 plasmid에 대하여 Wachsmuth 등(1976)은 抗菌劑 耐성과 腸毒素 產生과 관련된 plasmid는 各各 67Md, 30Md이며, Echeverria와 Murphy(1980)는 腸毒素 產生과 관련된 plasmid는 60~65Md, Gyles 등(1974)은 LT와 ST 同時 產生에 관여하는 plasmid는 60Md이라고 하였으며 또한 ST產生과 관련된 plasmid는 21~80Md이라고 報告하고 있으며, Olsvik 등(1985)은 腸毒素을 產生하는 大腸菌 10株에 대하여 plasmid의 수와 分子량을 조사한 結果 나타난 plasmid 수는 1~10개, 分子량은 1.5~77.5Md으로 다양하게 나타난다고 報告하고 있다. 이 실험에서도 供試菌 10株에서 分子량이 약 2~50Md인 plasmid가 1~7개로 다양하게 나타났으며, 分子량이 약 50Md의 公통 plasmid가 10菌株 모두에서 存在하고 있었다. 또한 生物學的 性상은 유사하나(Fig. D와 E, A와 C 및 J) pl-

asmid의 수와 분자량에 있어서 차이가 認定되고 있으며, 공통 plasmid와 다른 plasmid가 어떤 特性과 관련된 plasmid인지는 앞으로 추구해 볼 과제라 思料된다.

이상에서와 같이 citrate利用 大腸菌에서도 病原性이 認定되는 O血清型과 K99 pili와 ST를 產生하는 菌이 나타나고 있어 앞으로 이들 菌에 대한 生物學的 및 遺傳學的 研究가 광범위하게 이루어 저야 할 것으로 思料된다.

結 論

牛 由來 citrate利用 大腸菌에 대하여 O血清型과 colicin 및 hemolysin產生檢査, K99抗原 陽性菌(K99⁺)을 檢出하여 이들 菌의 ST產生試驗과 plasmid分離를 實施하였던 바 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. Citrate利用 大腸菌 42株에 대한 O血清型 分布狀況은 O20(12株)이 가장 많았고, O8(9株), O45(5株), O115(3株), O64(1株), O139(1株) 및 型別不能(11株)이었다.

2. Colicin產生은 供試菌 48株中 39株(81.3%)이었으며, hemolysin產生은 13株(27.0%)이었다.

3. 供試菌 48株中 12株(25.0%)가 K99⁺였으며, 이들 K99⁺ 12株中 6株(50.0%)가 ST를 產生하였다.

4. Citrate利用 大腸菌 10株의 plasmid 保有狀態는 분자량이 약 2~50Md이었으며, plasmid 수는 1~7개였고 약 50Md의 plasmid가 全 菌株에서 공통적으로 存在하고 있었다.

參 考 文 獻

Buchanan, R.E. and Gibbons, N.E. (1974) *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 8th ed. Baltimore, Williams & Wilkins., pp.290~295.

Dean, A.G., Ching, Y., Williams, R.G. and Harden, L.B. (1972) Test for *Escherichia coli* enterotoxin using infant mice: application in a study of diarrhea in children in Honolulu. *J. Infect. Dis.*, 125:407~411.

Echeverria, P. and Murphy, J.R. (1980) Enterotoxigenic *Escherichia coli* carrying plasmids coding for antibiotic resistance and enterotoxin production. *J. Infect. Dis.*, 142:273~278.

Edwards, P.R. and Ewing, W.H. (1972) *Identification of Enterobacteriaceae*. 3rd ed. Minneapolis, Burgess Publishing Co., pp.68~70.

Guinée, P.A.M., Jansen, W.H. and Agterberg, C. M. (1976) Detection of the K99 antigen by me-

ans of agglutination and immunoelectrophoresis in *Escherichia coli* isolates from calves and its correlation with enterotoxigenicity. *Infect. Immun.*, 13:1369~1377.

- Guinée, P.A.M., Veldkamp, J. and Jansen, W.H. (1977) Improved minca medium for the detection of K99 antigen in calf enterotoxigenic strains of *Escherichia coli*. *Infect. Immun.*, 15:676~678.
- Gyles, C., So, M. and Falkow, S. (1974) The enterotoxin plasmids of *Escherichia coli*. *J. Infect. Dis.*, 130:40~49.
- Harnett, N.M. and Gyles, C.L. (1984) Resistance to drugs and heavy metals, colicin production, and biochemical characteristics of selected bovine and porcine *Escherichia coli* strains. *Appl. Environ. Micro.*, 48:930~935.
- Isaacson, R.E., Moon, H.W. and Schneider, R.A. (1978) Distribution and virulence of *Escherichia coli* in the small intestines of calves with and without diarrhea. *Am. J. Vet. Res.*, 39:1750~1755.
- Ishiguro, N. and Sato, G. (1979) The distribution of plasmids determining citrate utilization in citrate-positive variants of *Escherichia coli* from humans, domestic animals, feral birds and environments. *J. Hyg. Camb.*, 83:331~344.
- Jones, G.W. and Rutter, J.M. (1972) Role of the K88 antigen in the pathogenesis of neonatal diarrhea caused by *Escherichia coli* in piglets. *Infect. Immun.*, 6:919~927.
- Lariviere, S., Lallier, R. and Morin, M. (1979) Evaluation of various methods for the detection of enteropathogenic *Escherichia coli* in diarrheic calves. *Am. J. Vet. Res.*, 40:130~134.
- Maniatis, T., Fritsch, E.F. and Sanbrook, J. (1982) *Molecular Cloning: A laboratory manual*, cold spring Harbor Laboratory Cold spring Harbor, N.Y.
- Moon, H.W., Isaacson, R.E. and Pohlenz, J. (1979) Mechanisms of association of enteropathogenic *Escherichia coli* with intestinal epithelium. *Am. J. Clin. Nutri.*, 32:119~127.
- Moon, H.W., Sorensen, D.K., Sautter, J.H. and Higbee, J.M. (1966) Association of *Escherichia*

- coli* with diarrheal disease of the newborn pig. Am. J. Vet. Res., 27:1007~1011.
- Moon, H.W., Whipp, S.C. and Skartvedt, S.M. (1976) Etiologic diagnosis of diarrheal disease of calves: frequency and methods for detecting enterotoxin and K99 antigen production by *Escherichia coli*. Am. J. Vet. Res., 37:1025~1029.
- Myers, L.L. and Guinée, P.A.M. (1976) Occurrence and characteristics of enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from calves with diarrhea. Infect. Immun., 13:1117~1119.
- Nakazawa, M., Nemoto, H., Ueda, H. and Maruyama, T. (1981) Enteropathogenic *Escherichia coli* in calves with diarrhea. Jap. J. Vet. Sci., 43:89~91.
- Olsvik, Ø., Solberg, R. and Bergan, T. (1985) Characterization of enterotoxigenic *Escherichia coli*. Acta. Path. Micro. Immun. Scand. Sect. B., 93:255~262.
- Ørskov, F. and Ørskov, I. (1979) Special *Escherichia coli* serotypes from enteropathies in domestic animals and man. Fortsch. Vet., S29:7~14.
- Sherwood, D., Snodgrass, D.R. and Lawson, G.H. K. (1983) Prevalence of enterotoxigenic *Escherichia coli* in calves in Scotland and northern England. Vet. Rec., 113:208~212.
- Smith, H.W. and Gyles, C.L. (1970) The relationship between two apparently different enterotoxins produced by enteropathogenic strains of *Escherichia coli* of porcine origin. J. Med. Micro., 3:387~401.
- Sojka, W.J. (1973) Enteropathogenic *Escherichia coli* in man and farm animals, Can. Inst. Food. Sci. Technol. J., 6:52~63.
- Trudel, L., Arriaga-alba, M. and Lavoie, M.C. (1984) Survey of drug and phage resistance and colicin and hemolysin production among coliforms isolated in the Ivory Coast. Appl. Environ. Micro., 48:905~907.
- Ueda, H., Terakado, N., Isayama, Y., Sakurai, K. and Nakazawa, M. (1981) Etiologic studies on enterotoxigenic *Escherichia coli* among isolates from domestic animals in Japan. Natl. Inst. Anim. Health Q(Jan)., 21:108~109.
- Ueda, H., Terakado, N., Sekizaki, T., Hashimoto, K. and Takesue, K. (1982) Distribution of enterotoxigenic *Escherichia coli* in diarrheal calves and healthy cattle. Jap. J. Vet. Sci., 44:751~757.
- Wachsmuth, I.K., Falkow, S. and Ryder, R.W. (1976) Plasmid mediated properties of a heat-stable enterotoxin producing *Escherichia coli* associated with infantile diarrhea. Infect. Immun., 14:403~407.
- 金鳳煥, 金東成, 李昌九 (1981) 仔豚의 病原性 大腸菌 症에 관한 研究. 1. 養豚農家實態 및 설사 仔豚에서 分離한 大腸菌의 性狀調查. 大韓獸醫學會誌, 21:81~86.
- 박경윤, 마점술 (1987) Enterotoxigenic *Escherichia coli* 987의 Pilus 생성능 및 야외분리 대장균의 987p 항원조사. 서울대 獸醫大 論文集, 31~41.
- 李灑綠, 崔源弼 (1986) 牛 由來 腸毒素 產生 大腸菌에 대하여. 大韓獸醫學會誌, 26:69~77.
- 李憲俊, 崔源弼 (1983) 動物 由來의 Citrate利用 大腸菌 變異株에 관하여. 大韓獸醫學會誌, 23:173~178.
- 尹用德, 金鍾萬, 金東成 (1984) 仔豚의 大腸菌性 설사 증에 관한 研究. 1. 설사仔豚으로 부터 分離된 病原性 大腸菌의 血清型 分布調查. 農試報告, 26-1(畜産, 家衛): 66~71.
- 日本農林省 家畜衛生試驗場 (1971) 大腸菌의 O群 血清型別法. pp.1~17.