

돼지 유래 대장균의 생물학적 특성과 plasmid profile에 대하여

정수관 · 정석찬* · 최원필
경북대학교 수의과대학
농촌진흥청 가축위생연구소*
(1990. 4. 20 접수)

Studies on biological characters and plasmid profiles of *Escherichia coli* isolated from pigs

Soo-kwan Jeong, Suk-chan Jeong,* Won-pil Choi
College of Veterinary medicine, Kyungpook National University
Veterinary Research Institute, Rural Development Administration*
(Received Apr 20, 1990)

Abstract: The purpose of this study was the examination for presence of pilus antigen, O serogroups, colicin production, antibiotic susceptibility and plasmid profiles among *E coli* isolated from diarrheal piglets and fattening pigs in Taegu province.

Of 145 *E coli* isolated, 98 strains (67.4%) possessed pilus antigens which belonged to either K88 (47.6%), K99 (11.7%) or 987P (8.3%) types.

Fifty-nine strains (40.7%) were classified into ten O serogroups and their types were O8 (22.0%), O20(16.9%), O141(15.3%), O9(10.2%), O45(10.2%), O139(8.5%), O064(6.8%), O149(5.0%), O157(3.4%), and O115(1.7%).

Thirty-three strains (22.8%) were colicinogenic and 6 strains (4.1%) were hemolytic. One hundred and thirty-nine strains (95.9%) of 145 *E coli* isolates were resistant to ampicillin, chloramphenicol, gentamicin, kanamycin, streptomycin, tetracycline, rifampicin and nalidixic acid, alone or in combination thereof.

Ninety strains (64.7%) of 139 drug resistant strains carried R factor (R) which were transferable to the recipient by conjugation.

In gel electrophoresis for the isolation of plasmid DNA, the number of plasmid DNA band varied from 2 to 11 in 16 *E coli* with pilus antigen.

Its molecular weight ranged from 1.0 to 60.0 megadalton.

Key words: *E coli*, pilus, serotype, colicin, plasmid.

서 론

Escherichia coli(*E coli*)는 동물과 사람의 장내 및 자연환경에 광범위하게 분포되어 있는 Gram음성 간균으로, 1893년 Jensen이 송아지 설사증의 원인이 대장

균이라는 것을 보고한 이후, enterotoxin, pili 항원 등 대장균의 병원성 인자들에 관한 많은 연구가 이루어져 왔다¹⁻³.

대장균에 의한 자돈의 설사기전은 유즙이나 사료 등에 혼입되어 섭취된 enterotoxigenic *E coli*(ETEC)가

colonization factor인 pili항원에 의해 소장 상피세포에 부착하고 증식하면서 장독소를 산생함으로써 소장점막으로부터 수분이나 전해질의 과다분비가 일어나기 때문이라고 알려져 있다^{4,5}.

ETEC는 heat labile enterotoxin(LT)과 heat stable enterotoxin(ST) 중 한 개 혹은 두 독소를 동시에 산생하며, K88, K99, 987P 및 F41등의 pili항원을 보유하고 있다. 이들 독소 및 K88, K99, F41 pili항원 산생능은 서로 다른 전달성 plasmid에 의해 지배되고 있으며 ETEC의 대부분은 O8, O10, O45, O64, O101, O138, O139, O141, O147, O149, O157 등 특정의 O혈청형에 속한다고 알려져 있다⁶⁻¹⁰.

대장균성 설사증의 예방 및 치료를 위해 여러 항생물질들을 계속 사용하게 됨으로서 이들 약제에 대한 다제내성균이 증가되고 있다¹¹⁻¹³. 한편 장독소 산생능과 pili항원이 약제내성균의 R plasmid와 상호 전달이 이루어지고 있어 설사증 예방과 치료에 많은 문제점이 야기되고 있다¹⁴⁻¹⁷.

따라서 이 실험에서는 대구 근교 양돈장의 설사자돈 및 육성돈에서 분리한 대장균에 대하여 자돈설사에 영향을 미치는 pili항원, colicin과 용혈성, 그리고 O혈청형, 약제 내성 및 그 전달양상 등 생물학적 특성과 LT 관련 plasmid를 조사하여 보고하는 바이다.

재료 및 방법

재료채취 : 1984년 5월에서 10월까지 대구 근교의 7개 양돈장에서 설사증이 인정되는 자돈 100두와 건강육성돈 45두의 배설직후 신선한 분변을 멸균 년봉으로 채취하였다.

대장균 분리 : 채취한 분변을 MacConkey agar평판배지에 도달 37°C 24시간 배양한 다음 유당을 분해한 집락을 취하여 IMViC 및 당분해능 시험으로 대장균임을 확인한 후 semisolid agar에 천자 배양 4°C에 보관하면서 실험에 공시하였다.

pili항원 특징 : 항원은 Guinée et al¹⁸의 방법에 따라 공시균을 반합성 배지인 minca배지에 배양하여 준비하였고, K88ab, K88ac, K99, 987P표준 항혈청은 가축위생연구소로부터 분양받아 본 대학 미생물학 교실에서 보존중인 것을 사용하여, 평판 응집반응으로 동정하였으며, 표준 K88ab균주(G7), K88ac균주(G205), K99균주(B41) 등(영국 Weibridge연구소로부터 분양된 것임)을 사용하였다.

O혈청형 동정 : 전 공시균주에 대하여 일본 농림성 가축위생시험장의 동정법¹⁹에 따라 시험관 응집반응으로 동정하였으며, 사용된 항혈청형은 O8, O9, O20,

O45, O64, O115, O139, O141, O149, O157의 10종으로 가축위생연구소에서 분양받아 본 대학 미생물학 교실에서 보존중인 것을 사용하였다.

Colicin 및 hemolysin산생 시험 : colicin산생 검사는 *E coli* ML1410(Na methionine-requiring F-derivative K-12)을 지시균으로 하여 증충 배양법²⁰으로 실시하였으며, hemolysin산생 시험은 5%산양 혈액이 함유된 trypticase soy agar배지를 이용하여 실시하였다²¹.

항생물질 내성 검사 : Steers et al²²의 환천 평판 희석법으로 실시하였으며 사용배지는 trypticase soy agar를 사용하였다. 약제희석은 MacLowry et al²³의 방법에 준하였으며 사용약제는 Sigma제로 ampicillin(Am), gentamicin(Gm), chloramphenicol(Cm), kanamycin(Km), streptomycin(Sm), tetracycline(Tc), nalidixic acid(Na) 및 rifampicin(Rf) 등 8종을 사용하였다.

Am, Cm, Km, Na, Tc에 대하여는 MIC가 25µg/ml, Gm, Sm은 12.5µg/ml, Rf는 50µg/ml이상일 때 내성균으로 판정하였다.

내성전달 시험 : Ishiguro et al²⁴의 방법에 따라 공여균으로는 1약제이상에 내성인 균주들, 피전달균은 *E coli* ML1410을 사용하였다. 이들을 각각 2ml trypticase soy broth에 37°C 24시간 배양후 각 0.2ml씩을 취하여 2ml trypticase soy broth에 혼합 배양한 다음 Na, Am, Cm, Km, Tc(25µg/ml), Gm, Sm(12.5µg/ml)를 함유하는 선택배지에 배양한 후 집락의 형성유무를 보아 내성전달을 판정하였다. 이때 공여균과 피전달균은 각각의 선택배지에서 발육하지 않음을 확인하였다.

Plasmid DNA 분리 : pili를 가진 균주의 plasmid DNA 보유상태를 조사하기 위하여 alkaline lysis방법²⁵으로 plasmid를 분리하였다. 분리된 plasmid DNA는 TBE(89mM tris-HCl, 2.5mM EDTA, 89mM Boric acid) buffer에 녹인 후 0.7% agarose gel에서 전기영동하였다. 전기영동은 100V에서 4시간 전개하였으며, 전개가 끝난 gel은 ethidium bromide(0.5µl/ml)로 염색 후 polaroid type 667 film을 사용하여 plasmid DNA band를 관찰하였고, 분자량은 *E coli* V517을 marker로 이용하였고, 표준 LT 균주는 *E coli* 83(LT⁺ST⁻) (서울대학교 의과대학 미생물학교실에서 분양된 것임)을 사용하였다.

결 과

대구근교 7개 양돈장에서 채취한 분변으로부터 분리한 145주(설사자돈 유래 100주, 육성돈 유래 45주)의 대장균에 대하여 pili항원을 조사한 결과는 Table 1과 같이 공시균 145주 중 설사자돈 유래 68주(46.9%),

Table 1. Typing of pilus antigen of 145 *Escherichia coli* isolated from pigs

Type of pilus	No. of isolates from		Total (%)
	Diarrheal piglets(%)	Fattening pigs(%)	
K88ab	34(34.0)	16(35.6)	50(34.5)
K88ac	12(12.0)	7(15.6)	19(13.1)
K99	13(13.0)	4(8.9)	17(11.7)
987P	9(9.0)	3(6.6)	12(8.3)
Others	32(32.0)	15(33.3)	47(32.4)
Total	100(100.0)	45(100.0)	145(100.0)

Table 2. O serogroups of *Escherichia coli* isolated from pigs

O groups	No. of isolated strains	%
8	13	22.0
20	10	16.9
141	9	15.3
9	6	10.2
45	6	10.2
139	5	8.5
64	4	6.8
149	3	5.0
157	2	3.4
115	1	1.7
Total	59	100.0

육성돈 유래 30주(20.7%)가 pili항원을 보유하고 있어 67.6%(98주)의 보유율을 나타내었다. K88ab⁺주는 50주(34.5%)이었고 K88ac⁺주는 19주(13.1%), K99⁺주는 17주(11.7%), 그리고 987P⁺주는 12주(8.3%)이었으며, K88항원이 인정된 것이 69주(47.6%)로 가장 많았다.

공시군 145주에 대하여 10종의 항혈청으로 O혈청형을 동정한 결과 59주(40.0%)는 동정이 가능했으나 86주(60.0%)는 동정이 불가능했다. 동정된 59주의 혈청형은 Table 2와 같이 O8이 13주(22.0%)로 가장 많았으며 O20 10주(16.9%), O141 9주(15.3%), O9와 O45가 각각 6주(10.2%), O139 5주(8.5%), O64 4주(6.8%), O149 3주(5.0%), O157 2주(3.4%), O115 1주(1.7%)의 순으로 동정되었다.

공시 대장균 145주에서 pili항원을 보유한 98주에 대한 O혈청형의 분포상황은 Table 3과 같이 57주는 동

Table 3. Serogrouping of *E. coli* having pilus antigen, isolated from pigs

O groups	pilus antigen			Total
	K88	K99	987P	
20	7	1	2	10(10.2)
8	5	1	1	7(7.1)
141	4	1	0	5(5.1)
9	1	0	3	4(4.1)
45	1	2	1	4(4.1)
139	4	0	0	4(4.1)
64	2	0	1	3(3.1)
149	2	0	0	2(2.1)
157	0	1	0	1(1.0)
115	1	0	0	1(1.0)
Untypeable	42	11	4	57(58.1)
Total	69(70.4)	17(17.3)	12(12.3)	98(100.0)

Figures in parentheses are percentages.

Table 4. Distribution of pilus antigen with colicinogenicity and hemolysis of 145 *Escherichia coli* isolated from pigs

Characters	Pilus antigen				Total
	K88	K99	987P	Others	
Colicinogenicity	16 (48.5)	7 (21.2)	1 (3.0)	9 (27.3)	33 (22.8)
Hemolysis	2 (33.3)	0	0	4 (66.7)	6 (4.1)

Figures in parentheses are percentages.

Table 5. Frequency of drug resistance and transferability of individual drug resistance in 145 *Escherichia coli* isolated from pigs

Drugs	No. of resistance strains(%)	No. of strains transferred resistance(%)
Tetracycline (Tc)	125(86.2)	47(37.6)
Streptomycin (Sm)	120(82.8)	84(70.0)
Ampicillin (Am)	33(22.8)	31(93.9)
Kanamycin (Km)	23(15.9)	12(52.2)
Chloramphenicol (Cm)	19(13.1)	13(68.4)
Gentamicin (Gm)	9(6.2)	7(77.8)
Nalidixic acid (Na)	1(0.6)	NT
Rifampicin (Rf)	0	

NT: not tested.

Table 6. Drug resistance patterns and transferable drug resistance for *Escherichia coli* strains isolated from pigs

No. of resistant drugs	Resistance patterns	No. of strains	No. of strains with transferable resistance	Resistance patterns transferred
6.	Am Cm Gm Km Sm Tc	1	1	Am Cm Km Gm Sm Tc
	Am Cm Km Sm Tc Na	1	NT	
5.	Am Cm Gm Sm Tc	1	1	Am Cm Gm Sm
	Am Cm Km Sm Tc	2	1	Am Cm Km
4.			1	Am Sm
	Cm Gm Km Sm Tc	2	1	Cm Gm Km Sm Tc
	Am Cm Sm Tc	5	1	Am Cm Sm Tc
			2	Am Cm Sm
			2	Am
	Am Km Sm Tc	3	2	Am Km Sm
			1	Am Sm
	Am Gm Sm Tc	1	1	Am Sm
3.	Cm Km Sm Tc	5	3	Cm Km Sm Tc
			1	Cm Sm Tc
	Am Sm Tc	16	7	Am Sm Tc
			8	Am Sm
			1	Am
	Cm Sm Tc	2	2	Cm Sm Tc
	Gm Sm Tc	4	3	Gm Sm Tc
			1	Sm Tc
	Km Sm Tc	7	2	Km Sm Tc
			1	Km Sm
2.	Am Sm	2	2	Am Sm
	Km Tc	2	0	—
	Sm Tc	57	22	Sm Tc
			15	Sm
1.			1	Tc
	Am	1	1	Am
	Sm	11	4	Sm
		16	0	—
Total	19	139	90	28

Abbreviations; see Table 5.

정되지 않았고 41주가 동정되었으며 K88⁺주는 O20, O8, O141, O139, K99⁺주는 O45, 987P⁺주는 O9, O20에 주로 속하였고, O형청형이 동정된 59주(Table 2) 가운데 41주(69.5%)의 대장균이 pili항원을 가지고 있었다.

공시 대장균 145주의 colicin 및 hemolysin산생능과

pili항원과의 관련성은 Table 4와 같이, colicin산생능(Col)을 가진 대장균은 33주로 공시균이 22.8%이었으며, colicin산생 33주 중 24주(72.7%)가 pili항원을 보유하고 있었고 ColK88⁺ 16주(48.5%), ColK99⁺ 7주(21.2%), Col987P⁺ 1주(3.0%)로 나타났으며 hemolysin산생주는 6주(4.1%)이었고 K88⁺주가 2주이었다.

Table Characters and molecular size of plasmids in 16 *Escherichia coli* isolated from pigs

Strains	Types of pili	Resistance patterns	Resistance patterns transferred	No. of plasmids	Size of plasmids (megadalton)
1	K99	Am Sm Tc	Am Sm	7	48 42 11.1 4.3 4.0 2.2 2.0
2	K88	Sm Tc	Sm Tc	5	52 48 4.6 3.7 2.6
3	K88	Tc		3	48 4.8 1.8
4	K88	Tc		5	52 20 6.0 2.6 1.8
5	K99	Tc		3	6.0 2.6 1.8
6	K99	Sm		8	48 7.5 6.0 4.0 3.7 3.0 2.6 1.0
7	K99	Sm Tc	Sm Tc	9	50 48 42 25 15 4.3 3.3 3.0 2.8
8	K88	Sm Tc		9	52 45 42 36 12 4.6 4.2 2.8 2.3
9	987P	Gm Sm Tc	Gm Sm Tc	6	52 50 6.7 3.0 2.0 1.4
10	987P	Gm Sm Tc	Gm Sm Tc	10	60 52 50 25 20 6.7 4.1 3.7 2.6 2.1
11	K99	Am Gm Sm Cm Tc	Am Gm Sm Cm	11	60 36 15 6.7 4.8 4.0 3.1 2.8 2.3 2.1 1.2
12	K99	Am Km Sm Tc	Am Sm	2	56 36
13	K88	Am Sm Tc	Am Sm	6	52 36 12 4.1 2.2 2.0
14	K88	Sm Tc	Sm Tc	5	60 56 7.2 3.5 2.2
15	K88	Am Sm Tc	Am Sm	3	56 15 4.1
16	K88	Gm Sm Tc	Gm Sm Tc	10	60 52 50 25 20 6.7 4.1 3.7 2.6 2.1

Abbreviations: see Table 5.

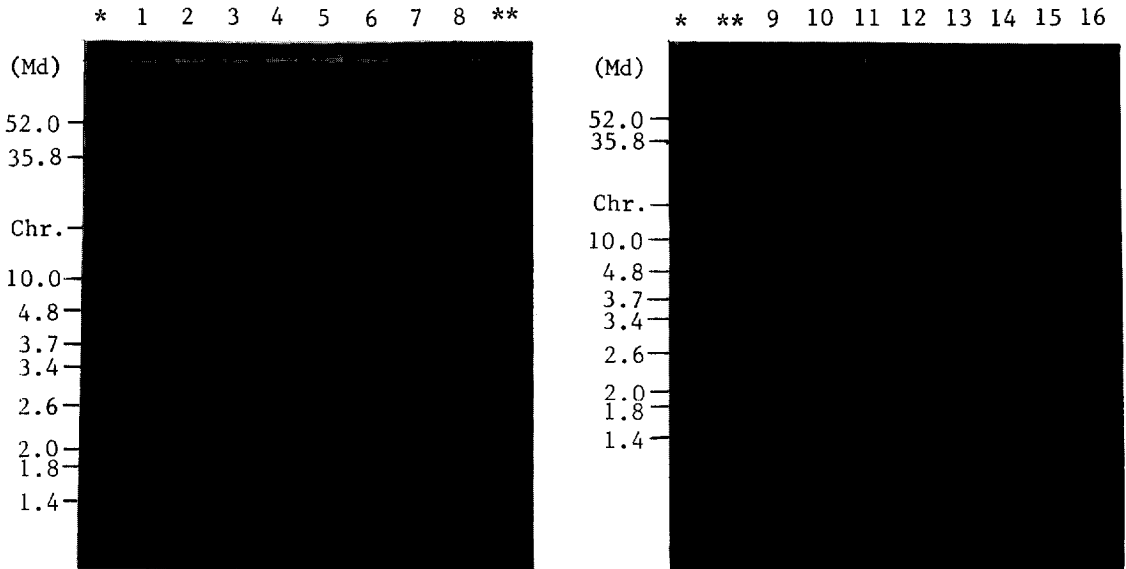


Fig 1. Plasmid profile of 16 *E coli* by agarose gel electrophoresis.

*: marker, *E coli* V517 strain Md: megadalton
 **: marker, *E coli* 83(LT⁺ST⁻) strain Chr: chromosome

공시대장균 145주의 약제내성 및 내성전달성을 조사한 결과는 Table 5와 같다. 약제내성 빈도는 Tc내성균이 125주(86.2%)로 가장 많았고 Sm 120주(82.8%), Am 33주(22.8%), Km 23주(15.9%), Cm 19주(13.1%),

Gm 9주(6.2%), Na 1주(0.6%)이었고 Rf내성은 인정되지 않았으며 전 약제에 대해 감수성인 균주도 6주(4.1%)이었다.

한편 내성전달율은 Am(93.9%), Gm(77.8%), Sm

(70.0%), Cm(68.4%), Km(52.2%), Tc(37.6%)로 나타났다.

약제내성 대장균의 내성양상과 내성전달양상은 Table 6과 같이 공시균 145주 중 139주(95.9%)가 공시약제 1종 이상에 내성을 나타내었으며, 이들 내성균 중 단제내성균은 28주(20.1%)이었고 111주(79.8%)가 다제내성균이었다. 다제내성균 중 2제내성균이 61주(55.0%)로 가장 많았으며 6제내성균이 2주(1.8%)로 가장 적었다. 내성유형은 모두 19유형으로 SmTc내성균이 57주(41.0%)로 가장 많았고 AmSmTc, Tc 각각 16주(11.5%), Sm 11주(8.0%), KmSmTc 7주(5.0%), AmCmGmTc, GmKmSmTc 각각 5주(3.6%)로 이들 유형이 84.0%(117주)를 차지하였다.

전달성 R plasmid보유율은 내성균 139주 중 90주(64.7%)가 내성의 일부 또는 전부를 피전달균에 전달함으로써 내성균이 R plasmid를 가지고 있음이 증명되었다. 또한 전달후 R plasmid유형은 28유형으로 이 중 SmTc유형이 23주이었다.

공시 대장균 145주 중 pili항원을 가진 약제내성 대장균 16주에 대하여 Plasmid를 분리한 다음, 전기영동을 실시한 결과 나타난 plasmid DNA band의 수와 분자량은 Table 7과 같이 plasmid DNA band는 2~11개이었으며, 이들의 분자량은 1.0~60.0Md로 다양하게 나타났다. 특히, 2, 4, 8, 9, 10, 13, 16번 균주에서는 표준 LT⁺균주에서와 같은 약 52Md의 plasmid DNA band가 인정되고 있으며, 이들은 K88⁺주가 5주, 987P⁺주가 2주이었다(Fig 1).

고 찰

ETEC는 자돈설사증의 원인균으로 소장점막에 부착하여 증식하면서 enterotoxin을 산생하여 설사를 일으키지만, ETEC라해도 소장점막에의 부착능력이 없으면 설사를 일으키지 못함으로 소장점막에 균체를 부착케하는 pili항원은 자돈설사증에 주요한 역할을 하고 있다.

Jones와 Rutter⁴는 자돈설사증에서 K88항원의 역할을 조사하였던 바 K88⁺균은 소장의 점막에 부착할 수 있었으나, K88⁻균은 점막에 부착하지 못하고 장관내에 전반적으로 분포한다고 하여 K88 pili항원이 주요한 병원성 인자임을 보고하였다.

Söderlind와 Möllby⁷는 K88⁺균을 설사자돈균에서 56%, 건강자돈균에서 1%가 분리되었다고 보고한 바가 있고, Smyth et al²⁶과 Nagy et al²⁷은 설사자돈에서 분리한 K88⁻ETEC에서 K99⁺균주 및 987P⁺균주를 검출하여 자돈설사증에서 K88⁺ pili뿐만 아니라 K99⁺ pili

와 987P⁺ pili도 작용함을 보고하였고, Francis와 Wilson²⁸은 설사자돈에서 K88⁺균뿐만 아니라 K99⁺균 및 987P⁺균도 동일개체에서 분리하여 이들의 복합감염 예를 보고하였다.

한편 설사자돈에서 분리한 대장균의 pili항원 보유율 조사에서 Wilson과 Francis²⁹은 K88⁺ 47.5%, K99 13.5%, 987P⁺ 30.0%로, Chen et al³⁰은 K88⁺ 0.8%, K99 11.0%, 987P⁺ 19.7%로 pili항원의 분포율은 상이하나 3종의 pili항원이 자돈설사에 관여하고 있음을 보고하였고, 우리나라에서 박과 마³¹는 경기지역에서 987P⁺가 11.6%, 윤 등³²은 경기, 충남지역에서 K88ab⁺ 28.7%, K88ac⁺ 19.5%로, 고와 이³³는 K88ab⁺ 26%, K88ac⁺가 62%로, K99⁺주와 987P⁺주는 분리되지 않았다고 한다.

이 실험에서도 K88ab⁺ 34.3%, K88ac⁺ 13.1%외에 K99⁺ 11.7%와 987P⁺ 8.2%가 분리되어 우리나라의 자돈설사증에서 K99⁺대장균이 관여하고 있음이 처음 인정되었으며, K88, K99 및 987P 등 3 pili항원 보유 대장균이 널리 분포되어 있음을 알 수 있었다. 한편 설사자돈과 육성돈에 있어서, 이들 pili항원 보유율의 차이는 인정되지 않았으며, K88⁺가 69주(47.8%)로 가장 많이 검출되었고, 각 pili항원의 분포율은 지역에 따라 다소 차이가 인정되고 있었다.

지금까지 자돈의 대장균설 설사증에서 분리된 대장균의 O형청형은 지역에 따라 차이는 있으나 비교적 소수의 혈청형에 한정되고 있는데, C2, C6, C8, C9, O20, O32, O45, O64, C98, O101, O115, O138, O139, O141, O147, O149, O157 등이 주로 많이 분리되고 있다^{7,11,29,30,34,35,36}. 이 실험에서도 C8, C20, O141, C9, O45, O139, O64, O149, O157, C115 등으로 선인들의 보고와 비교할때 분리율의 차이는 인정되나 유사한 성적을 나타내고 있다.

한편 자돈설사증 유래 대장균의 O형청형, 장독소 산생성 및 pili항원과의 관련성에 대하여 Moon et al³⁷은 자돈설사증 유래 111주의 ETEC에서 987P⁺ 55주, K99⁺ 5주, K88⁺ 4주이었고, 987P⁺주는 C9, C20, C141 등이 많으며, Söderlind와 Möllby⁷는 분리주의 24%가 O149 혈청형이었고 모두 K88⁺주이었다고 하였으며, Gaastra와 de Graaf⁹는 K88⁺대장균은 C45, C138, O141, O147, C149, O157 등이었고 K99⁺는 C64, O101, 987P⁺는 C9, C20, O141 등이었으며, Smyth et al²⁶은 64주의 ETEC 중 17주가 K99⁺균(26.6%)이었고, 이들은 C8, C9, C64, O101, O140 등이었다고 하였다. 이 실험에서도 K88⁺주는 C8, C20, O139, O141에, K99⁺주는 C45, 987P⁺주는 C9, C20으로 상기 선

인들의 성적과 대체로 유사하였으나, 혈청형이 동정되지 않은 57주(58.0%)에서도 pili항원은 인정되고 있어 pili항원은 여러 혈청형에 분포되어 있으리라 사료된다.

중종 또는 이종의 장내세균에 대하여 살균효과가 있는 colicin산생 대장균은 공시균 145주 중 33주(22.8%)로 일본의 설사패지 유래 23.7%³⁸와는 비슷하였으나 경기강원지역 설사자돈 유래 10.9%³⁹, 경기지역 설사자돈 유래 13.3%¹²와는 상당한 차이를 나타내고 있었다. 또한 Colicin산생 33주 중 24주(72.7%)가 pili항원을 보유하고 있음은 주목되어지며, colicin산생능과 pili항원 gene 및 장독소산생 gene을 동시에 보유할 경우 설사를 더 용이하게 일으키게 될 것으로 생각되는데, 이에 대한 더 많은 조사가 요구된다.

Olsvik et al¹⁴은 ETEC 10주에 대하여 plasmid DNA 수와 분자량을 조사하여 수는 1~10개, 분자량은 1.5~77.5 megadalton(Md)으로 다양하게 나타났다고 하였으며, LT산생과 관련된 plasmid DNA를 Silva et al¹⁵은 54Md으로, Clements et al¹⁶은 50Md이라고 하였고, Gyles et al¹⁷은 LT와 ST의 동시 산생에 관여하는 plasmid DNA는 60Md이라고 보고하였다. 이 실험에서 plasmid DNA의 수는 2~11개이었고, 분자량은 1.0~60.0Md이었으며 표준 LT⁺ST⁻균주의 52Md과 동일 분자량을 가진 균주(2, 4, 8, 9, 10, 13, 16)가 인정되었다. 이들 균주는 LT산생균주로 사료되나 LT산생 여부의 확인이 요구되며, K88⁺주와 987P⁺주에서는 52Md band가 인정되고 있으나 K99⁺주에서는 인정되지 않아 K99⁺주에서는 LT산생이 드물다는 선인들^{9, 29, 37}의 보고와 일치하고 있다.

동물의 질병치료 및 예방 목적으로 사용되는 항생물질의 남용과 오용으로 인한 내성균 특히 다약제내성균의 출현으로 질병치료에 많은 문제가 되고있음을 여러 학자들이 지적하고 있다^{15, 20, 21, 24}. 이 실험에서도 공시 항생물질에 대한 대장균 145주의 내성율이 95.9%이며 다제내성율은 79.9%, 내성전달 빈도는 64.7%로 최근에 보고된 성적들¹¹⁻¹³과 유사한 결과를 나타내고 있어 우리나라에서도 항생물질의 사용량이 증가함에 따라 내성균도 증가되고 있음이 인정되고 있다.

이상에서와 같이 우리나라 설사자돈 및 육성돈에서 R plasmid 및 pili항원 보유 대장균이 많이 분포하고 있어서 이들 plasmid와 장독소산생 plasmid가 동시에 비병원성 대장균에 전달될 경우 자돈 설사증의 발생과 그 치료에 커다란 영향을 미칠 것으로 생각되며, 앞으로 더 많은 연구가 요구되고 있다.

결 론

이 실험은 대구근교의 양돈장에서 설사자돈과 육성돈에서 분리한 대장균 145주에 대하여 pili항원, O혈청형, colicin산생과 항생물질 내성등과 LT관련 plasmid를 조사하였던 바 다음과 같은 성적을 얻었다.

1. 공시균의 67.6%에서 pili항원이 인정되었으며 K88ab(34.5%), K88ac(13.1%) 및 K99(11.7%), 987P(8.3%) 등이었다.
2. 공시균의 40.0%에서 O혈청형이 동정되었고, O8(22.0%), O20(16.9%), O141(15.3%), O9(10.2%), O45(10.2%), O139(8.5%), O64(6.8%), O149(5.0%), O157(3.4%) 및 O115(1.7%) 등이었다.
3. Colicin산생주는 22.8%이었으며 ColK88(48.5%), ColK99(21.2%), Col987P(3.0%)이었고 용혈성주는 4.1%이었다.
4. 공시균의 95.9%가 ampicillin, chloramphenicol, gentamicin, kanamycin, streptomycin(Sm), tetracycline(Tc), nalidixic acid 또는 rifampicin에 내성을 나타내었으며 Tc, Sm에 높은 내성을 보였다.
5. 다제내성주는 79.9%이었으며 SmTc내성형이 41.0%로 가장 많았고, 내성전달율은 64.7%이었다.
6. Pili항원 보유 16주의 plasmid DNA band수는 2~11개이었고, 분자량은 약 1.0~60.0Md이었으며 LT산생 plasmid DNA의 분자량은 약 52Md이었다.

참 고 문 헌

1. Smith HW, Halls, Sheila. Studies on *Escherichia coli* enterotoxin. *J Path Bact* 1967;93:531~543.
2. Nielsen NO, Moon HW, Roe WE. Enteric colibacillosis in swine. *JAVMA* 1968;153:1590~1606.
3. Smith HW, Linggood MA. Observations on the pathogenic properties of the K88, Hly and Ent plasmids of *Escherichia coli* with particular reference diarrhoea. *J Med Microbiol* 1971;4:467~485.
4. Jones GW, Rutter JM. Role of the K88 antigen in the pathogenesis of neonatal diarrhea caused by *Escherichia coli* in piglets. *Infect Immun* 1972;6:918~927.
5. Moon HW, Isaacson RE, Pohlenz J. Mechanisms of association of enteropathogenic *Escherichia coli* with intestinal epithelium. *Am J Clinical Nutrition* 1979;32:119~127.

6. Sojka WJ. Enteric diseases in new-born piglets, calves and lambs due to *Escherichia coli* infection. *Vet Bull* 1971;41:509~522.
7. Söderlind O, Möllby R. Enterotoxins O-groups and K88 antigen in *Escherichia coli* from neonatal piglets with and without diarrhea. *Infect Immun* 1979;24:611~616.
8. WHO Scientific Working Group. *Escherichia coli* diarrhea. *Bull WHO* 1980;58:23~36.
9. Gaastra W, de Graaf FK. Host-specific fimbrial adhesins of noninvasive enterotoxigenic *Escherichia coli* strains. *Microbiological Reviews* 1982;46:129~161.
10. Wilson MR. Enteric colibacillosis. In: Leman AD, ed. *Disease of Swine* 6th ed. Iowa: Iowa state university press, 1986;520-528.
11. 尹用德, 金鐘萬, 金東成 등. 돼지細菌性消化氣疾病에 관한 연구, 1. 仔豚의 大腸菌性 설사病의 豫防 및 治療에 관한 연구, 한국축산과학 연구보고 1983;3:136~151.
12. 김현수, 탁연빈. 하리자돈으로부터 분리한 대장균에 관하여, 韓國獸醫公衆保健學會誌 1985;9:19~28.
13. 金順在, 盧尙錫. 大腸菌症에 걸린 어린돼지에서分離한 溶血性 大腸菌에 관한 연구. 建國大學校論文集 1986;11:195-210.
14. Olsvik O, Solberg R, Bergan T. Characterization of enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Acta Path Microbiol Immun Sect B* 1985;93:255~262.
15. Silva MLM, Scaletsky ICA, Reis MHL et al. Plasmid coding for drug resistance and production of heat-labile and heat-stable toxins harbored by an *Escherichia coli* strain of human origin. *Infect Immun* 1983;39:970~973.
16. Clements JD, Flint DC, Engert RF et al. Cloning and molecular characterization of the B subunit of *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin. *Infect Immun* 1983;40:653~658.
17. Gyles C, So M, Falkow S. The enterotoxin plasmids of *Escherichia coli*. *J Infect Dis* 1974;130:40~49.
18. Guinée PAM, Jansen WH and Agterberg CM. Detection of the K99 antigen by means of agglutination and immunoelectrophoresis in *Escherichia coli* isolates from calves and its correlation with enterotoxigenicity. *Infect Immun* 1976;13:1369~1377.
19. 日本農林省 家畜衛生試驗場 大腸菌の○群 血清型別法 1971;pp.1~17.
20. Harnett NM, Gyles CL. Resistance to drugs and heavy metals, colicin production and biochemical characteristics of selected bovine and porcine *Escherichia coli* strains. *Appl Environ Microbiol* 1984;48:930~935.
21. Trudel L, Arriaga-alba M, Lavoie MC. Survey of drug and phage resistance and colicin and hemolysin production among coliforms isolated in the Ivory Coast. *Appl Environ Microbiol* 1984;48:905~907.
22. Steers E, Foltz EL, Graves BS. An inocula replicating apparatus for routine testing of bacterial susceptibility to antibiotics. *Antibiot Chemother* 1959;9:307~311.
23. MacLowry JD, Jaqua MJ, Selepak ST. Detailed methodology and implementation of a semiautomated serial dilution microtechnique for antimicrobial susceptibility testing. *Appl Microbiol* 1970;20:46~53.
24. Ishiguro N, Goto J, Sato G. Genetical relationship between R plasmid derived from Salmonella and *Escherichia coli* obtained from a pig farm and its epidemiological significance. *J Hyg Camb* 1980;84:365~379.
25. Maniatis T, Fritsch EF, Sanbrook J. *Molecular Cloning: A laboratory manual*. Cold spring Harbor Laboratory. Cold spring Harbor, NY, 1982.
26. Smyth CJ, Olsson E, Moncalvo C, et al. K99 antigen-positive enterotoxigenic *Escherichia coli* from piglets with diarrhea in Sweden. *J Clin Microbiol* 1981;13:252~257.
27. Nagy B, Moon HW, Isaacson RE. Colonization of porcine intestine by enterotoxigenic *Escherichia coli*: selection of epithelial cells in vitro and incidence of a pilus antigen among porcine enteropathogenic *E coli*. *Infect Immun* 1977;16:344~352.
28. Francis DH, Wilson RA. Concurrent infection of pigs with enterotoxigenic *Escherichia coli* of different serogroups. *J Clin Microbiol* 1985;22:457~458.

29. Wilson RA, Francis DH. Fimbriae and enterotoxins associated with *Escherichia coli* serogroups isolated from pigs with colibacillosis. *Am J Vet Res* 1986;47:213~217.
30. Chen C, Kume T, Nakazawa M et al. *Escherichia coli* originated from diarrhea of suckling piglets in Taiwan. II, serological properties. *Kitasato Arch of Exp Med* 1984;57:211~220.
31. 박경윤, 마점술. Enterotoxigenic *Escherichia coli* 987의 pilus 생성능 및 야외분리 대장균의 987P항원조사. 서울대학교 獸醫大 論文集 1987;12:31~41.
32. 尹用德, 金鐘萬, 金東成. 仔豚의 大腸菌性 설사증에 관한 研究, 2. 仔豚의 大腸菌性 설사증 백신開發. 農試報告 1984;26-1(畜産, 家衛):72~79.
33. 高昞媛, 李敏雄. 動物 由來 病原性 大腸菌의 K99 pill 合成 Plasmid DNA 樣相에 관한 研究. 東國大學校 大學院 1986;pp. 1~31.
34. Murray CJ. Salmonella and *Escherichia coli* from veterinary and human sources in Australia during 1985 and 1986. *Aust Vet* 1987;64:256~257.
35. 尹用德, 金鐘萬, 金東成. 仔豚의 大腸菌性 설사증에 관한 研究. 1. 설사仔豚으로부터 分離된 病原性 大腸菌의 血清型 分布調查. 農試報告 1984;26-1(畜産, 家衛):66~71.
36. 金鳳煥, 仔豚의 病原性 大腸菌에 관한 研究. 2. 설사仔豚으로부터 分離한 大腸菌의 血清型 同定. 大韓獸醫學會誌 1981;21:87~91.
37. Moon HW, Kohler EM, Schneider RA et al. Prevalence of pilus antigens, enterotoxin types, and enteropathogenicity among K88-negative Enterotoxigenic *Escherichia coli* from neonatal pigs. *Infect Immun* 1980;27:222~230.
38. Udea H, Terakado N, Isayama Y et al. Etiologic studies on enterotoxigenic *Escherichia coli* among isolates from domestic animal in Japan. *Natl Inst Anim Health Q (Jpn)* 1981;21:108-109.
39. 金鳳煥, 金東成, 金昌九. 仔豚의 病原性 大腸菌에 관한 研究, 1. 養豚家實態 및 설사仔豚에서 分離한 大腸菌의 性狀調查. 大韓獸醫學會誌 1981;21:81~85.