

# 병원성 대장균 O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> 검출을 위한 Enzyme Immunoassay

정 병 열

수의과학연구소 세균과 연구사

## 서 론

Escherichia coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>은 1982년 미국 미시간주와 오레곤주에서 같은 쇠고기를 먹고 출혈성 설사를 일으킨 환자로부터 처음 분리보고된 이후로 이 균에 의한 식중독은 전세계적으로 발생하고 있다<sup>2</sup>. E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>은 enterohemorrhagic E coli(EHEC) group으로 분류되며, 이 균의 세포벽에 존재하는 intimin에 의해 장상피세포에 부착하여 용모세포를 파괴하여 출혈성 대장염을 유발하고, Shigella dysenteriae type 1이 산생하는 독소와 거의 유사한 독소를 산생하기 때문에 명명되는 shiga-like toxin(SLT) I, II와 II의 변이형 독소 등을 산생한다. 비록 이러한 병원성 인자를 가지고 사람에서 발병하는 다른 병원성 대장균이 많이 보고되고 있으나<sup>3</sup>, E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>은 사람의 출혈성 대장염에서 가장 많이 분리되며, 심한 경우 용혈성 요독 증후군 또는 혈소판 자반감소증으로 진행되어 사망율을 매우 높하게 한다<sup>2</sup>. 이 식중독의 감염원은 아직 정확하게 밝혀져 있지는 않으나, 사람에서의 발병 대부분이 조리가

덜된 같은 쇠고기를 섭취한 후 유발되었기 때문에 축산식품에서 이 병원체의 신속 스크리닝기법에 대한 많은 연구가 진행중이다. E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>을 스크리닝하는데 있어서 크게 3가지 방법을 기초로 하여 이루어지고 있다. 원인체 분리에 의한 방법<sup>5</sup>, SLT 등 병원성 유전자에 대한 DNA probe를 이용하는 방법<sup>6,7</sup>, 그리고 SLT, O<sub>157</sub> 또는 H<sub>7</sub>에 대한 항체를 이용하는 방법<sup>8,9</sup> 등이 있다. 균분리동정은 시간이 많이 소요되며, DNA probe를 이용하는 방법은 복잡하고 다소 특이성이 낮기 때문에, 신속하고 매우 민감하며 빠르고 쉽게 사용할 수 있는 enzyme immunoassay(EIA) 기법이 많이 이용되고 있다. 하지만 국내에 아직 E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> 검출을 위한 EIA 기법이 개발되지 않아 키트를 전량 수입에 의존하고 있는 실정이다. 따라서 이 연구에서는 쇠고기중 E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>을 검출하기 위한 신속한 스크리닝기법을 개발하여 특이성과 민감성 및 축산식품에의 적용 가능성 등에 대해 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 가 사용균주

EIA 기법의 민감성을 조사하기 위하여 E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> ATCC 43894를 사용하였고, 특이성 조사에 사용된 균주는 표 1에서와 같이 O3 등 E coli 33주와 Aeromonas salmonicida 등 총 49주를 사용하였다.

### 나 E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>의 분리 및 동정

E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>의 분리동정은 Sanderson 등<sup>10</sup>의 방법에 준하여 실시하였다. 간략히 기술하면 식육 25g을 cefixime(50ng/ml)과 vancomycin(40μg/ml, Sigma)이 첨가된 tryptic soy broth(CV-TSB) 225ml와 혼합하여 2분간 분쇄



한 후 37°C, 호기상태에서 일야 정치배양한 후 멸균식염수로 10<sup>3</sup>부터 10<sup>5</sup>배로 희석하여 cefixime (50ng/ml)과 potassium tellurite(2.5µg/ml)가 첨가된 sorbitol MacConkey agarplate (CT-SMAC)에 도말하여 37°C, 호기로 일야배양하였다. 다음날 대장균과 동일한 크기의 무색집락을 모두 취하여 MacConkey agar(Difco)에 희선접종하여 37°C, 호기로 일야배양하여 붉은색 집락을 형성한 균을 BLIRA broth(Merck)에 접종, 배양한 후 350nm 자외선을 조사하여 형광을 나타내지 않는 균을 대상으로 IMViC시험, KCN 생존능 및 cellobiose 분해능 등 생화학 시험으로 E coli를 확인한 후 O<sub>157</sub>과 H<sub>7</sub> 혈청형을 확인하고, multiplex PCR방법<sup>11</sup> 등으로 E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>의 병원성인자를 확인하였다.

#### 다 EIA 키트 제작

EIA 키트는 아래와 같이 제작하였다. E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> ATCC 43894를 사용하여 아래와 같이<sup>12</sup> 토끼 면역혈청을 만들었다. smooth colony를 따서 infusion broth에 접종하여 37°C, 6~8시간 배양한 후 infusion agar plate에 도말하여 16시간 배양한 후 0.5% 멸균 식염수로 집균하여 2회 원심수세했다. 부유시킨 후 100°C, 2시간 30분동안 가열처리하고 이를 다시 1회 원심수세한 후 550nm, 흡광도 1에 맞춘 후 4~5일간격으로 0.5ml, 1ml, 2ml, 4ml을 토끼 이정맥에 각각 접종하고 최종접종후 심장채혈로 전체혈한 후 혈청을 분리하여 보존제로 0.05% sodium azide를 첨가했다. O<sub>157</sub> 이외의 균체항원을 갖는 E coli 10종으로 흡수과정을 거쳐 automated FPLC system(Pharmacia Biotech)과 protein A cartridge(Bio Rad)를 이용하여 항체만을 순수 정제하여 BCA protein assay kit(Pierce)로 농도를 측정하였다. 정제된 항체는 capture antibody로 사용하였으며, 0.1M carbonatebuffer (pH 9.6)를 이용하여 microplate(Nunc)에 0.5 µg/well 분주하여 37°C, 3시간 방치였다가 4°C에서 하루 반응시킨 후 0.05%(v/v) Tween 20이 첨가된 phosphate buffered saline(137mM NaCl, 2.7mM KCl, 4.3mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 1.4mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH7.2, PBST)으로 5회 세척

하였다. 2%(w/v) skim milk(Difco)가 첨가된 PBST를 분주하여 실온에서 30분이상 방치하여 blocking한 다음, PBST로 5회 세척하여 스크리닝용 키트로 사용하였다.

#### 라 EIA 키트에 의한 스크리닝 방법

증균된 시료의 일부를 10분간 끓인 후 실온으로 식힌 다음 EIA 키트에 100µl를 분주하여 실온에서 2시간 반응시켰으며, 단 반응중 매 15분마다 가볍게 흔들어 항원항체반응을 촉진시켰다. 이후 다시 PBST로 5회 세척한 후 peroxidase-labeled E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> antibody(Kirkegaard and Perry Laboratories)를 10ng/well 분주한 후 실온에서 30분 반응시킨 다음 PBST로 5회 세척하였다.

TMB(Kirkegaard and Perry Laboratories)로 발색시킨 후 발색반응은 405nm에서 측정하였으며, 흡광도가 0.2미만이면 음성, 0.2부터 0.4까지는 의양성, 0.4를 초과할 경우 양성으로 판정하였으며 양성대조군은 흡광도가 0.6이상, 음성대조군은 흡광도가 0.1이하로 하였다.

#### 마 특이성 및 민감성 시험

증균배지 성분의 발색반응에 대한 영향을 알아보기 위하여, E coli O<sub>157</sub> 증균배지로 많이 사용되고 있는 TSB 및 EC broth(Difco)와 대조군으로 PBS를 사용하여, E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>을 10<sup>7</sup>개/ml부터 10<sup>10</sup>개/ml까지 희석하여 EIA 결과를 비교하였다. E coli O<sub>157</sub>과 공통항원을 가지는 균<sup>13</sup>들과의 교차반응 유무를 알아보기 위하여 E coli O3 등 33주와 Aeromonas salmonicida 등 총 49주를 TSB에 접종하여 37°C, 일야배양한 후 EIA 기법을 적용하여 특이성을 조사하였다. 그리고 식육에 E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>을 1.3X10<sup>8</sup>개/g부터 1.3X10<sup>0</sup>개/g까지 인공적으로 접종한 후, 증균전과 18시간 증균후의 민감도를 조사하였다.

#### 바 증균시간에 따른 EIA 기법의 효과

적정 증균시간을 알아보기 위하여 E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>을 식육에 2.3X10<sup>6</sup>개/g과 2.3X10<sup>1</sup>개/g를 인공적으로 접종시킨 후 증균전, 증균 6시간, 12시간, 18시간째에 각각 EIA 기법을 실시하여 적정 증균시간을 조사하였다.

#### 사 E Coli O<sub>157</sub> 검출

EIA 기법의 야외 적용가능성을 조사하기 위하여 소분변 50건과 쇠고기 35건을 대상으로 EIA 키트로 E coli O<sub>157</sub> 검출을 실시하였다.

## 시험결과

이 실험에서 제작된 E coli O<sub>157</sub> EIA 키트의 특이성을 알아보기 위하여 E coli 33주와 *Aeromonas salmonicida* 등 총 49주를 EIA로 스크리닝한 결과는 표 1에 나타난 바와 같다. E coli O<sub>157</sub> 3주는 양성으로 나타났으며, E coli O<sub>20</sub>, *Citobacter amalonaticus*는 양성으로 나타나 교차반응이 있었으며, 이외의 균은 음성으로 나타나 특이성은 95.9%이었다. EIA 키트 사용시 증균배지내 성분들이 발색반응에 관여하는가를 조사한 결과는 표2에 나타난 바와 같다. 일야증균된 E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>을 원심수거하여 PBS, TSB 및 EC broth로 10진희석한 후 EIA 기법을 실시한 바 PBS로 희석한 후의 결과와 TSB나 EC broth로 희석한 결과가 동일하여 배지성분들은 전혀 EIA 기법에 영향을 미치지 않는 것으로 확인되었다.

표 1. 개발된 스크리닝 키트의 특이성 검사

균종	형질형	결과*	균종	형질형	결과*
E coli	O3:H31	-	E coli	O133:H29	-
	O4:H-	-		O137:H41	-
	O6:H-	-		O139:H1	-
	O8:H-	-		O141:H4	-
	O14:H-	-		O149:H10	-
	O15:H25	-		O150:H6	-
	O16:H48	-		O157:H19	+
	O20:H-	+		O157:H7	+
	O38:H30	-		O157:NM	+
	O45:H23	-		<i>Aeromonas salmonicida</i>	-
	O51:H24	-		<i>Bacillus subtilis</i>	-
	O55:H-	-		<i>Citrobacter amalonaticus</i>	+
	O78:H-	-		<i>Edwardsiella tarda</i>	-
O101:H-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-		
O111:H-	-	<i>Listeria monocytogenes</i>	-		
O114:H32	-	<i>Listeria innocua</i>	-		
O116:H10	-	<i>Listeria ivanovii</i>	-		
O117:H4	-	<i>Listeria murrayi</i>	-		
O118:H-	-	<i>Salmonella typhimurium</i>	-		
O119:H27	-	<i>Salmonella choleraesuis</i>	-		
O120:H6	-	<i>Salmonella enteritidis</i>	-		
O123:H16	-	<i>Salmonella paratyphi A</i>	-		
O131:H26	-	<i>Staphylococcus aureus</i>	-		
O132:H28	-	<i>Streptococcus agalactiae</i>	-		
		<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	-		

\* 음성 : <0.2, 위양성 : 0.2~0.5, 양성 : >0.5



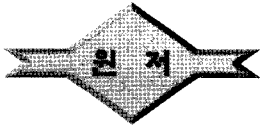


표 2. 증균배지에 의한 가양성반응유무 조사

배지	대장균 O <sub>157</sub> :H <sub>7</sub> 희석배수 (개/ml)							
	10 <sup>7</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>1</sup>	10 <sup>0</sup>
PBS	+	+	+	+	+/-	-	-	-
TSB	+	+	+	+	+/-	-	-	-
E C	+	+	+	+	+/-	-	-	-

EIA 키트의 민감성을 조사하기 위하여 쇠고기중에 인공적으로 E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>을 1.3×10<sup>8</sup>개/g부터 1.3×10<sup>0</sup>개/g까지 10진단계별로 접종하였으며, 증균전과 증균후의 EIA 결과는 표4에서 보는 바와 같이 증균 전에는 1.3×10<sup>5</sup>개/g까지 검출할 수 있었으나, CV-TSB배지로 18시간 증균후에는 1.3×10<sup>0</sup>개/g까지 검출할 수 있었다.

표 4. 병원성 대장균 인공감염후 증균전후 스크리닝 결과

증균유무	인공감염된 E coli O <sub>157</sub> :H <sub>7</sub> 균수 (개/g)								
	1.3×10 <sup>8</sup>	1.3×10 <sup>7</sup>	1.3×10 <sup>6</sup>	1.3×10 <sup>5</sup>	1.3×10 <sup>4</sup>	1.3×10 <sup>3</sup>	1.3×10 <sup>2</sup>	1.3×10 <sup>1</sup>	1.3×10 <sup>0</sup>
증균전	+	+	+	+	+/-	-	-	-	-
증균후	+	+	+	+	+	+			

증균시간에 따른 EIA 효과(표 5)를 조사한 바 E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>을 쇠고기 1g당 2.3개를 접종시켰을 때 증균 6시간부터 검출이 가능하였고, 1g당 0.2개를 접종시켰을 경우에도 증균 6시간후에는 의양성이었으나 증균 12시간이후에는 양성반응을 보였다.

표 5. 증균시간대별 병원성 대장균 O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> 검출양상 비교

접종균수 (개/g)	증 균 시 간			
	0	6	12	18
2.3 X 10 <sup>0</sup>	-	+	+	+
2.3 X 10 <sup>-1</sup>	-	+/-	+	+

확립된 EIA 기법을 이용하여 쇠고기 35건과 소분변 50건을 대상으로 E coli O<sub>157</sub>을 검출함과 동시에 균 분리 및 동정을 비교조사한 결과는 표 6과 같다. 쇠고기 35건에서는 EIA 및 균분리동정에서 모두 음성으로 나타나 100% 일치율을 보였으며, 소분변 50건중 EIA 키트에서 4건(8%)이 양성으로 나타났으나, E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>이 분리되지 않아 가양성반응임을 알 수 있었다.

표 6. 스크리닝 키트의 야외적용 시험

재 료	검사건수	스크리닝 (%)	양성건수	병원성 대장균 O <sub>157</sub> :H <sub>7</sub> 분리건수
도 축 육	35	0		0
소 분 변	50	4(8)		0

## 고 찰

E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>은 주요한 식중독 원인균으로 지목되고 있으며 출혈성 설사나 용혈성 요독증후군, 혈소판 자반 감소증 등을 유발한다<sup>2</sup>. 특히 본 병원체의 전파는 축산식품에 의한 경우가 대부분이기 때문에<sup>4</sup> 축산식품에서 E coli O<sub>157</sub>을 신속히 스크리닝하는 방법의 개발이 절실히 요구되고 있다. E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>은 24시간이내에 sorbi-tol을 분해하지 못한다는 특성때문에 sorbitol MacConkey agar(SMAC)를 초대분리배지로 많이 사용하며<sup>14</sup>, 또한 SMAC에서 무색집락을 대상으로 β-glucuronidase 활성유무<sup>15</sup>, O<sub>157</sub>과 H<sub>7</sub> 항원유무 등에 근거하여 다른 E coli들과 구분하여 분리하고 있다. 그러나 이러한 생화학성상을 기초로 한 확인방법은 시간이 많이 소요되어 식품중에서 E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>을 신속히 분리동정하기란 쉽지가 않다. 따라서 최근 선택배지의 개발<sup>16,17</sup>, 증균조건<sup>18</sup> 및 분리기법<sup>19</sup>에 대한 연구가 많이 진행되고 있다.

이 실험에서 제작한 EIA 키트는 E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>의 균체항원에 대한 polyclonal antibody(pAb)를 capture antibody와 detection antibody(dAb)로 사용한 sandwich ELISA방법이다. 사용된 dAb는 E coli O<sub>157</sub>에 대한 pAb이기 때문에 H혈청형에 상관없이 O<sub>157</sub>만 있으면 양성으로 나타났으며, 순수배양된 49주를 적용하여 특이성검사를 실시한 결과 약 95.9%의 특이성이 나타났다. 그러나 민감성이 100%로써 EIA 검사결과가 음성이면 시료에 E coli O<sub>157</sub>이 없으므로 더 이상 E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> 분리를 시도할 필요가 없으며, EIA 검사결과가 양성일 경우에는 E coli O<sub>157</sub>에 의한 양성인지 또는 공통항원을 가지는 다른 균들에 의한 것인지를 E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> 분리동정법으로 확인하여야 할 것으로 생각된다.

E coli O<sub>20</sub>과 Citrobacter amalonaticus에서 일부 가양성반응(4.1%)이 나타났으며, 이러한 가양성반응을 최대한 줄이기 위해서 E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>에 대한 단클론항체<sup>20</sup>, H<sub>7</sub>에 대한 항체<sup>21</sup>를 dAb로 사용하면 E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>에 특이성이 높은 스크리닝 키트 제작이 가능하리라 사료된다<sup>21</sup>. 인공적으로 E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>을 접종한 쇠고기에서 증균전의 민감도가 1.3X10<sup>5</sup>개/g이었으며 12시간 증균후에 0.2개/g까지도 검출할 수 있어 이미 보고된 E coli O<sub>157</sub> EIA 키트와 유사하였으며<sup>23</sup>, 이러한 결과는 쇠고기 g당 수 개의 E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>이 오염되어 있다하더라도 충분히 검출이 가능할 것으로 사료된다. 균분리동정에 의한 확인방법을 사용할 경우 많은 시간과 노동이 소요되지만 EIA 키트로 1차 스크리닝하여 양성반응을 보인 시료에 대해서만 E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>을 분리한다면 많은 노동력을 줄일 수 있을 것이며, 특히 이 EIA 기법은 증균후 3시간이내에 결과 판독이 가능하며 microplate를 이용하므로 다량의 시료를 처리할 수 있어 야외에서 E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>을 스크리닝하기에 유용한 방법이라고 사료된다.

## 결론

축산식품중 E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub>의 오염 유무를 신속히 확인하기 위한 EIA 키트를 제작하여 그 특이성과 민감성, 그리고 쇠고기 및 분변중 적용시험 등을 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

- ① E coli 등 총 49주를 일야배양한 후 EIA를 실시한 결과, E coli O<sub>20</sub> 및 Citrobacter amalonaticus에서만 가양성반응이 나타났으며(4.1%), E coli O<sub>157</sub>을 제외한 다른 모든 시험균주에서는 음성으로 나타나 특이성은 95.9%이었다.
- ② 쇠고기중 E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> 검출을 위한 EIA 기법은 증균없이 1.3X10<sup>5</sup>개/g까지 검출이 가능하였고, 12시간 증균후에는 0.2개/g까지 검출할 수 있었다.
- ③ 소 분변 및 고기에 EIA 기법과 균분리동정법을 비교 적용한 결과 쇠고기 35건에서는 EIA 및 균분리동정 모두에서 음성으로 나타나 100% 일치율을 보였으며 소분변 50건에서는 4건(8%)의 가양성반응이 나타났다. 이러한 EIA기법은 민감성이 매우 높은 방법으로 식육중 E coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> 검출을 위한 스크리닝방법으로 사용될 수 있을 것이다.

표 7. 기존방법과의 차이점

구분	균분리동정	PCR	EIA
증균	증균배지에서 12 - 18시간		
장비	필요없음	PCR장치 전기영동기 자외선조사기	필요없음
소요시간	5 - 7일	12-24시간	15-24시간
단가(원)	5,000	4,000	3,000
특성	최종확인방법	신속확인 및 스크리닝방법	다량검사용 스크리닝방법

\* 검사건수와 병원성 세균종수가 많을수록 EIA가 편리하고 경제적인 방법임.

## 참고 문헌

1. Riley LW, Remis RS, Helgerson SD, et al. Hemorrhagic colitis associated with a rare Escherichia coli serotype. *N Engl J Med*, 308:681-685, 1983.
2. Hockin J, Lior H. Hemorrhagic colitis and hemorrhagic uremic syndrome caused by Escherichia coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> in Canada. *Can Dis Weekly Rep*, 13:203-204, 1987.
3. Griffin PM. Escherichia coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> and other enterohemorrhagic Escherichia coli. *Infections of the gastrointestinal tract*, p739-761, Raven press, NY, 1995.
4. Lamothe F, Gaudreau C, Bernard D, et al. Hemorrhagic colitis following the consumption of hamburgers—Quebec. *Can Dis Weekly Rep*, 9:50-51, 1983.
5. Okrend AJG, Rose BE, Bennett B. A screening method for the isolation of Escherichia coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> from ground beef. *J Food Prot*, 53:249-252, 1990.
6. Samadpour M, Liston J, Ongerth JE, et al. Evaluation of DNA probes for detection of Shiga-like-toxin-producing Escherichia coli in food and calf fecal samples. *Appl Environ Microbiol*, 56:1212-1215, 1990.
7. Levine MM, Xu J, Kaper JB, et al. A DNA probes to identify enterohemorrhagic Escherichia coli of O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> and other serotypes that cause hemolytic uremic syndrome. *J Infect Dis*, 156:175-182, 1987.
8. Weeratna RD, Doyle MP. detection and protection of verotoxin 1 of Escherichia coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> in food. *Appl Environ Microbiol*, 57:2951-2955, 1991.
9. Kim MS, Doyle MP. Dipstick immunoassay to detect enterohemorrhagic Escherichia coli of O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> in retail ground beef. *Appl Environ Microbiol*, 58:1764-1767, 1992.
10. Sanderson MW, Gay JM, Hancock DD, et al. Sensitivity of bacteriologic culture for detection of Escherichia coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> in bovine feces. *J Clin Microbiol*, 33:2616-2619 1995.
11. Jung SC, Jung BY, Yoon JW, et al. Development of a multiplex-PCR for the rapid detection of Escherichia coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> from raw beef. *Korean J Vet Res*, 38:accepted for publication. 1998.
12. Ewing WH, Edwards and Ewing's Identification of Enterobacteriaceae. Elsevier science publishing CO 4ed, NY, 1986.
13. Bettleheim KA, Evangelidis H, Pearce JL, et al. Isolation of Citrobacter freundii strain which carries the Escherichia coli O<sub>157</sub> antigen. *J Clin Microbiol*, 31:760-761, 1993.
14. March SB and Ratnam S. Sorbitol-MacConkey medium for the detection of Escherichia coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> associated with hemorrhagic colitis. *J Clin Microbiol*, 23:869-872, 1986.
15. Thompson JS, Hodge DS, Borczyk AA. Rapid biochemical test to identify verocytotoxin-positive strains of Escherichia coli O<sub>157</sub>. *J Clin Microbiol*, 28:2165-2168, 1990.
16. Chapman PA, Siddons CA, Zadik PM, et al. An improved selective medium for the isolation of Escherichia coli O<sub>157</sub>. *J Med Microbiol*, 35:107-110, 1991.
17. Zadik PM, Chapman PA, Siddons CA, et al. Use of tellurite for the selection of verocytotoxigenic Escherichia coli O<sub>157</sub>. *J Med Microbiol*, 39:155-158, 1993.
18. Raghubeer EV and Matches JR. Temperature range for growth of Escherichia coli serotype O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> and selected coliforms in E coli medium. *J Clin Microbiol*, 28:803-805, 1990.
19. Wright DJ, Chapman PA, Siddons CA. Immunomagnetic separation as a sensitive method for isolating Escherichia coli O<sub>157</sub> from food samples. *Epidemiol Infect*, 113:31-39, 1994.
20. Padhye NV, Doyle MP. Production and characterization of a monoclonal antibody specific for enterohemorrhagic Escherichia coli of serotypes O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> and O<sub>26</sub>:H<sub>11</sub>. *J Clin Microbiol*, 29:99-103, 1991.
21. He Y, Keen JE, Westerman RB, et al. Monoclonal antibodies for detection of the H<sub>7</sub> antigen of Escherichia coli. *Appl Environ Microbiol*, 62:3325-3332, 1996.
22. Padhye NV and Doyle MP. Rapid procedure for detecting enterohemorrhagic Escherichia coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> in food. *Appl Environ Microbiol*, 57:2693-2698, 1991.
23. Johnson RP, Durham RJ, Johnson ST, et al. Detection of Escherichia coli O<sub>157</sub>:H<sub>7</sub> in meat by an enzyme-linked immunosorbent assay, EHEC-TEK. *Appl Environ Microbiol*, 61:386-388, 1995.