

송아지 설사분변으로부터 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* 의 분리 및 특성규명

임금기 · 강문일 · 김상기 · 남경우 · 박현주 · 박진량 · 조경오 · 이봉주*

전남대학교 수의과대학
(게재승인: 2006년 5월 9일)

Identification and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from diarrhea in calves

Keum-Gi Lim, Mun-Il Kang, Sang-Ki Kim, Kyung-Woo Nam, Hyun-Joo Park,
Jin- Ryang Park, Kyoung-Oh Cho, Bong-Joo Lee*

College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Gwang-ju 500-757, Korea

(Accepted: May 9, 2006)

Abstract : Shiga toxin (stx) producing *Escherichia coli* (STEC) causes various clinical signs in animal and human. In this study, 255 fecal samples from calves showing diarrhea were collected from cattle farms in Chonnam province during the period from January 2005 to July 2005. Twenty six STEC (10%) were isolated from 255 fecal samples by PCR. The isolates displayed three different stx combinations (stx1 [69%], stx1 and stx2 [15%], and stx2 [38%]). The isolates were further studied for virulence associated genes and antimicrobial resistance to define the virulence properties. Intimin (*eaeA*), enterohemolysin (*hlyA*), and lipopolysaccharide (*rfbE*) virulence genes were detected in 6 (23%), 7 (26%), and 1 (3.8%) of the isolates, respectively, by PCR. One isolate possessing *rfbE* gene was typed as *E. coli* O157 : H7 by agglutination test with O and H antisera. All 26 isolates showed susceptibility to amikacin (100%) and the majority of isolates showed high susceptibility to gentamicin (88.5%) and chloramphenicol (73.1%). But all isolates were resistant to penicillin. These results may provide the basic knowledge to establish strategies for the treatment and prevention of enteric disease in calves.

Key words : antimicrobial resistances, calves, fecal samples, STEC, stx gene

서 론

대장균(*Escherichia coli*)은 *Enterobacteriaceae*에 속하고 동물과 사람의 장내 및 자연환경에 광범위하게 분포되어 있는 그람 음성 간균으로써 통성 혐기성이고 아포를 형성하지 않는다. 대장균은 대장부위에 상재하는 세균으로 대부분 비병원성이지만 일부는 사람과 어린 동물에서 다양한 장 질병과 설사 증상을 유발하는 것으로 밝혀져 있다 [38]. 일반적으로 설사를 유발하는 병원성 대장균은 현재 병원기전에 따라 조직침입성대장균

(enteroinvasive *E. coli*, EIEC), 독소원성대장균(enterotoxigenic *E. coli*, ETEC), 장관출혈성대장균(enterohemorrhagic *E. coli*, EHEC) 또는 vero 독소생성성대장균(verotoxin-producing *E. coli*, VTEC), 장관병원성대장균(enteropathogenic *E. coli*, EPEC) 및 장관응집성대장균(enteroaggregative *E. coli*, EAaggEC) 등으로 분류되고 있다 [27].

설사를 유발하는 *E. coli*의 병원기전과 관련된 병원성 인자와 이를 encoding하는 유전자들은 shiga toxin(*stx*), enterohemolysin(*hlyA*), intestinal adherence factor인 intimin

*Corresponding author: Bong Joo Lee

College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Gwang-ju 500-757, Korea
[Tel: +82-62-530-2850, Fax: +82-62-530-2878 E-mail: bjlee@chonnam.ac.kr]

(*eaeA*), lipopolysaccharides(*rfbE*) 등이 알려져 있다 [13, 20]. *stx*는 shigatoxin-producing *E. coli*(STEC)와 EHEC의 병원성을 지배하는 중요한 유전자이며 이는 *stx1*과 *stx2*로 나눌 수 있다[18]. *stx1*은 *Shigella dysenteriae*의 *stx*과 아미노산 서열이 거의 동일하며 혈청학적으로 그것과 구분될 수 없는 반면 *stx2*는 *Shigella*의 *stx*와 연관이 적고 *stx1* 또는 *S. dysenteriae*의 *stx*에 대한 항체에 의해 중화되지 않는다 [28, 36]. 하지만 모두 사람과 동물에서 설사증과 밀접한 관계가 있다. Intimin은 *eaeA*라는 유전자에 암호화되어 있는 97 kDa의 단백질로써 대장균이 장관 상피세포에 긴밀하게 부착할 수 있게 작용하고 장관점막에 attaching and effacing(A/E) 병변을 유발한다 [21]. 또한, *hlyA*는 plasmid에 존재하며 출혈성 대장염과 출혈성 요독증의 병인기전에 중요한 역할을 한다 [20]. Lipopolysaccharid는 *rfbE* 유전자에 암호화되어있으며 이는 *E. coli* O157에 특이적인 유전자이다 [13].

소는 STEC의 주요 보균동물로서 알려져 있으며, 이는 송아지 설사의 발병요인이다. 또한, STEC는 도축장에서 처리된 소고기, 돈육 및 계육에서 분리보고 되었으며, 설익은 쇠고기와 원유는 식품 매개성 발병의 매개물이 되어왔다 [7, 9, 10, 11, 23, 25, 30, 31, 34, 42]. 따라서 최근에 출현한 식품 매개성 대장균들 중에서 STEC은 가장 중요한 그룹으로 인식되고 있다. 이러한 STEC

은 사람에서 출혈성대장염(hemorrhagic colitis: HC)과 용혈성 요독증후군(hemolytic uremic syndrome, HUS)과 같은 중증 질병을 유발할 수 있다 [5, 8, 22, 31]. 이처럼 STEC은 산업동물에 감염되어 설사를 유발할뿐만 아니라 배설되어 환경과 축산식품에 오염되어 공중보건학적 문제를 야기할 수 있다.

따라서 본 연구에서는 전남지방 송아지에서 채취한 설사분변에서 STEC를 분리하고 *stx* 유전자형과 *hlyA*, *rfbE* 및 *eaeA* 유전자를 검색하였으며, 분리균주의 항생제 감수성 양상에 대한 연구를 실시하여 송아지 설사의 예방 및 치료의 기초 자료로 사용하고자 하였다.

재료 및 방법

가검물 채취

2005년 1월부터 7월까지 전남 무안 함평지역 92개 농장의 255두의 생후 70일령 이하의 한우 송아지로부터 설사 분변을 채취하여 냉장상태를 유지하면서 실험실로 운반하여 본 연구에 사용하였다.

PCR을 이용한 분변에서의 *stx* 유전자 검색

분변에서 DNA 추출을 위하여 0.1 g의 분변에서 Accu-Prep Genomic DNA extraction Kit(BIONEER, Korea)를 이용해 DNA를 분리하였다. 분변 DNA에서 *stx* 유전자

Table 1. Primer pairs used for detection and characterization of STEC in fecal samples of calves with diarrhea

Primer	Sequences	Location	Sizes (bp)	PCR condition (°C/m'sec")	Reference
<i>stxc</i> -F	5'-GAGCGAAATAATTTATATGTG-3'	280-300	518	94/5',94/1'	[20]
<i>stxc</i> -R	5'-TGATGATGGCAATTCAGTAT-3'	778-797		58/1'30" 72/1'30"	
<i>stx1</i> -F	5'-GAAGAGTCCGTGGGATTACG-3'	1022-1041	130	94/5',94/1'	[37]
<i>stx1</i> -R	5'-AGCGATGCAGCTATTAATAA-3'	1132-1151		60/1'30" 72/1'30"	
<i>stx2</i> -F	5'-GCGTTTTGACCATCTTCGT-3'	415-433	378	94/5',94/1'	[25]
<i>stx2</i> -R	5'-ACAGGAGCAGTTTCAGACAG-3'	773-792		55/1'30" 72/1'30"	
<i>eaeA</i> -F	5'-GTGGCGAATACTGGCGAGACT-3'	853-873	891	94/5',94/30"	[17]
<i>eaeA</i> -R	5'-CCCCATTCCTTTTCACCGTCG-3'	1723-1743		60/30" 72/1'30"	
<i>hlyA</i> -F	5'-GGTGCAGCAGAAAAAGTTGTAG-3'	238-259	1551	94/5',94/1'	[19]
<i>hlyA</i> -R	5'-TCTCGCCTGATAGTGTGGTA-3'	1767-1788		59/1'30" 72/1'30"	
<i>RfbE</i> -F	5'-GTCTGGACTCAACGTGGATT-3'	181-200	986	94/5',94/1'	[39]
<i>RfbE</i> -R	5'-AACTTGCTCATTTCGATAGGC-3'	1147-1166		55/1'30" 72/1'30"	

검출을 위해서 *stx1*과 *stx2* 모두를 검출할 수 있는 *stxc* primer를 이용하여 PCR을 실시하였다. Primer sequences와 PCR condition 및 증폭산물의 크기는 Table 1에 명시하였다.

STEC 분리

255개의 분변 샘플에서 추출한 DNA 중에서 *stxc* Primer를 이용한 PCR 검출에 양성반응을 보인 26개의 분변 샘플을 MacConkey agar(Oxoid, UK)에 접종한 후 37°C에서 18시간 배양하여 증균 시켰다. 증균된 colony들을 새로운 배지에서 재차 순수 분리하여 배양된 집락을 무작위로 선택하여 *stxc* primer로 다시 PCR을 실시하였다. *stxc* PCR 검출에서 양성을 보인 colony를 선택하여 *stx* producing *E. coli*로 판정하고 순수 배양하여 다음 시험에 공시하였다.

PCR을 이용한 병원성인자의 검출

병원성 인자를 검출하기 위하여 *eaeA*, *hlyA*, *rfbE* 유전자들에 대한 primer와 toxin typing을 하기 위해 *stx1*과 *stx2* primers를 선택하여 각각의 유전자별로 설계한 PCR을 실시하였다. Primer와 반응조건 등은 Table1에 명시하였다. 실험균주들에서 DNA 추출은 가열법을 이용하였으며, 이 방법은 1 ml Luria-Bertani(LB) broth에 접종하여 37°C에서 18시간 진탕 배양한 균액을 3,000 rpm에서 10분간 원심한 후, 300 µl의 멸균 증류수에 부유하고 95°C에서 10분간 가열한 다음 바로 냉동실(-20°C)에 보관하였다. 냉동보관된 샘플은 PCR 실시 이전에 상온에서 녹인 후 3,000 rpm에서 1분간 원심 분리하여 상층액을 수거하여 PCR의 template로 사용하였다.

PCR은 AccuPower PCR PreMix(Bioneer, Korea)를 사용하여 실시하였다. 반응액은 1 µl의 각각의 primer (50 pmol)에 2 µl의 주형 DNA와 멸균된 증류수를 혼합하여 20 µl로 조성하였다. PCR 반응은 GeneAmp PCR

System 2700(Applied Biosystems, USA)을 사용하였다. 증폭된 DNA의 확인은 0.7% ethidium bromide agarose gel에서 전기 영동을 실시한 후 UV light를 조사하여 band의 유무로 확인하였다

***E. coli* O157의 검색**

stxc primers를 이용한 PCR을 수행하여 양성반응을 보인 균주들에 대하여 *E. coli* O157에 특이적인 *RfbE* primers를 이용한 PCR을 실시하였다(Table 1). 그 결과 *RfbE* primers에 양성반응을 보인 균주는 액체배지에 배양하여 *Escherichia* O157 및 H7 항혈청(Denka Seiken, Japan)을 이용하여 슬라이드 응집반응과 tube 응집반응을 실시하였다.

항생제 감수성 검사

소의 설사분변에서 분리한 STEC 26주에 대한 항균제 감수성 시험은 Bauer와 Kirby(1966)의 방법에 따라서 시험하였다 [4]. 사용한 항균제 disc는 Becton Dickinson Microbiology Systems사(USA)의 Amikacin(AN), Amoxicillin-Clavulanic acid(AMC), Ampicillin(AM), Cephalothin(CF), Chloramphenicol(C), Colistin(CL), Gentamycin(GM), Kanamycin(K), Penicillin(P), Streptomycin(S), Tetracycline(TE), Trimethoprim/sulfamethoxazole(SXT) 등 총 12종을 사용하였으며, Clinical and Laboratory Standards Institute(CLSI)의 기준에 의하여 감수성 여부를 판정하였다. 즉, MacConkey agar에 37°C, 24시간 배양한 균을 Muller Hinton broth에서 18시간 배양한 후 멸균 생리 식염수로 희석하여 MacFarland scale No. 0.5 BaSO₄에 맞추었다. 접종 균액을 멸균된 면봉으로 Muller Hinton agar에 골고루 바른 다음, 항생제 디스크를 20 mm간격으로 배지 표면에 부착시키고 37°C에서 18시간 배양 후 발육 억제대를 측정하여 각 항생제에 대한 감수성 여부를 판정하였다.

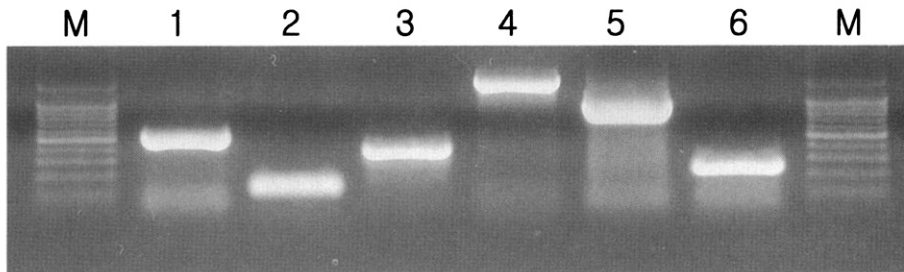


Fig. 1. Representative picture of agarose gel electrophoresis of the genes amplified by PCR using *E. coli* S16 strain for *stxc*, *stx1*, *stx2*, *RfbE* and *eaeA*, and *E. coli* S11 for *hlyA*. Lane 1: *stxc* (518 bp); Lane 2: *stx1* (130 bp); Lane 3: *stx2* (378 bp); Lane 4: *hlyA* (1551 bp); Lane 5: *RfbE* (986 bp); Lane 6: *eaeA* (241 bp); M: 100 bp ladder marker.

Table 2. The *stx* types and toxin gene typing in 26 STEC strains isolated from the diarrheal feces of calves

Strains	virulence gene					
	<i>stxc</i>	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>hlyA</i>	<i>rfbE</i>	<i>eaeA</i>
S1	+	-	-	-	-	-
S2	+	-	+	+	-	-
S3	+	-	+	-	-	-
S4	+	+	+	+	-	-
S5	+	-	-	-	-	-
S6	+	+	+	-	-	-
S7	+	+	-	-	-	-
S8	+	-	+	-	-	-
S9	+	+	-	-	-	-
S10	+	+	-	-	-	-
S11	+	+	-	+	-	+
S12	+	+	-	-	-	-
S13	+	+	-	+	-	+
S14	+	+	-	+	-	+
S15	+	+	-	-	-	-
S16	+	+	+	-	+	+
S17	+	+	-	-	-	-
S18	+	+	-	-	-	-
S19	+	+	-	-	-	-
S20	+	-	+	+	-	-
S21	+	-	+	-	-	-
S22	+	+	+	-	-	+
S23	+	+	-	-	-	-
S24	+	+	-	-	-	-
S25	+	-	+	-	-	-
S26	+	+	-	+	-	+

결 과

STEC의 분리

송아지 설사분변 255개에서 DNA를 분리하여 *stxc* primer를 이용하여 PCR을 실시한 결과 26개(10.2%)의 분변에서 518 bp의 특이 band가 증폭됨을 관찰할 수 있었다(Fig. 1). 26개의 *stxc* primers에 양성 반응을 보인 분변에서 무작위로 선택된 대장균 집락들중에서 *stxc* primer로 PCR을 재차 실시하여 양성반응을 보인 집락들을 STEC로 판정하고 선택하여 순수 배양하였다. 이렇게

분리된 STEC 분리주를 S1-S26으로 명명하였다(Table 2).

STEC 분리주의 toxin typing

26개의 STEC 분리주에 대한 toxin typing을 위해 *stx1* 및 *stx2* primers를 이용하여 PCR을 실시하였다. 26주의 STEC 분리주 중 130 bp의 *stx1* 특이 band를 보이는 균주는 총 18주, 378 bp의 *stx2* 특이 band가 관찰되는 균주는 총 10주가 검출되었다. 그리고 *stx1*과 *stx2*가 동시에 관찰된 균주는 총 4주(S4, 6, 16, 22)였으며, *stx1*과 *stx2* 모두를 갖지 않는 균주가 2주(S1, S5) 관찰되었다

(Table 2).

STEC 분리주의 병원성유전자 검출

26주의 STEC중 enterohemolysin인 *hlyA*에 양성 반응 (1,551 bp)을 나타내는 균주는 총 7주(26%), *eaeA*(891bp)에 양성반응을 보인 균주는 총 6주(23%)가 관찰되었다. 이들 중 5주는 *hlyA*와 *eaeA* 유전자를 동시에 갖고 있었다(Table 2).

STEC 26주 중 1주(S16)만이 *E. coli* O157에 특이적인 RfbE primer에 양성 반응(986 bp)을 보였다. 이 균주에 대해 항혈청(O157및 H7)을 이용하여 슬라이드 및 tube 응집반응을 실시한 결과 S16은 *E. coli* O157:H7로 판명되었다.

항생제 감수성 검사

STEC 26주에 대하여 AN의 9종의 항균제에 대하여 감수성 검사를 실시하였다. 26주의 STEC중 AM에 대해 15주(57.7%), CF에 대해 13주(50%), C에 대해 7주(26.9%), GM에 대해 3주(11.5%), K에 대해 16주(61.6%), S에 대해 18주(69.2%), TE에 대해 19주(73.1%), sxt에 대해 9주(34.6%)가 각각 내성을 나타내었다(Table 3).

고 찰

오늘날 대장균 중 STEC가 식품 매개 병원체로써 중요성이 증가되고 있다. STEC는 많은 수의 O:H 혈청형을 가지고 있으나 대부분의 HC와 HUS의 발병은 O157:H7 혈청형에 의한 것으로 간주되고 있다 [9, 23, 27]. 세계적으로 STEC와 EHEC는 소를 사육하는 거의

모든 농장에서 분리되며, 소에서 장염을 발생시키는 주요 병원소로 알려져 있다 [14]. Blanco 등 [9]은 아르헨티나에서 사람의 STEC의 주된 감염원은 소에서 유래한다는 것을 혈청형 연구를 통해 밝혀냈다. 국내에서는 도축장에서 처리된 식육에 대한 *E. coli* O157 오염여부를 검사한 결과 쇠고기, 돈육 및 계육에서 균이 분리되었다고 보고 되었다 [1]. 또한, *E. coli* O157:H7 신속검출을 위한 multiplex-PCR 기법을 확립하여 쇠고기에 대한 검출시험을 실시한 결과 *stx1*과 *stx2* 유전자를 가진 *E. coli*를 검출한 바 있다 [3]. 이와 같이 STEC는 국내외에서 중요한 인수공통전염병의 병원체로 간주되고 있다. 가축과 축산식품에 대한 STEC의 분리 및 동정과 역학조사가 여러 나라에서 수행되었으며, 최근 유전자 검색 기법을 이용한 독소 관련 유전자의 성상에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다 [6, 12, 16, 29, 32]. 본 연구에서는 전라남도 지역에서 채취한 255두분의 송아지 설사분변에서 STEC 분리를 시도하여 26주를 분리 동정하였으며 이들의 병원성인자를 검사하고 항생제 감수성에 대한 연구를 실시하였다.

Beutin 등 [6]은 소의 직장 및 결장에서 분변을 채취하여 STEC를 검출한 결과 STEC이 21.1%의 비율로 존재한다고 보고 하였다. 또한 Rowland 등 [33]은 호주 농장에서 사육중인 소의 분변 샘플 588개에서 STEC를 검출한 결과 21.8%의 비율로 STEC가 존재함을 보고하였다. 이들의 성적은 본 실험에서 얻어진 STEC 분리율 10.2%(26/255)보다 높았다. 그러나 Cobbold 등(2004)은 미국 Washington 주의 12개 농장에서 소의 분변을 채취하여 PCR 기법과 colony lysis DNA hybridization 기법을 이용하여 STEC를 검출한 결과 7%의 비율로 STEC

Table 3. Antimicrobial susceptibility results of 26 STEC strains isolated from the diarrheal feces of calves

Antimicrobials	No. of strains(%)		
	Resistant	Intermediate	Susceptible
Amikacin(AN)	0(0)	0(0)	26(100)
Amoxicillin/clavulanic acid(AMC)	0(0)	11(42.3)	15(57.7)
Ampicillin(AM)	15(57.7)	5(19.2)	6(23.1)
Cephalothin(CF)	13(50)	13(50)	0(0)
Chloramphenicol(C)	7(26.9)	0(0)	19(73.1)
Gentamicin(GM)	3(11.5)	0(0)	23(88.5)
Kanamycin(K)	16(61.6)	1(3.8)	9(34.6)
Streptomycin(S)	18(69.2)	0(0)	8(30.8)
Tetracycline(TE)	19(73.1)	4(15.4)	3(11.5)
Trimethoprim/Sulfamethoxazole(SXT)	9(34.6)	0(0)	17(65.4)

를 검출해냈다고 보고하였으며 [15] 이는 본 실험 성적보다 약간 낮은 것을 알 수 있었다. 이처럼 소분변에서 STEC의 분리율은 국가 및 지역에 따라서 다르게 나타났는데 이는 동물의 종 및 사양 환경 등 여러 가지 요인 및 사용된 검색기법의 감수성과 특이성에 영향을 받을 수 있을 것으로 생각된다.

일반적으로 이유 전후의 어린송아지에서는 stx1이 주로 분리되고 성우에서는 stx2가 주로 분리된다는 Weiler 등의 보고 [40]처럼, 모두 송아지 설사분변을 사용한 본 연구에서 총 26개의 분리주 중 20개의 분리주에서 stx1 검출되었다. 이처럼 어린송아지에서 stx2보다 stx1이 더 많이 검출되는 원인에 관한 깊은 연구가 향후 필요하겠다. 송아지에서 설사를 유발하는 STEC의 주요병원성 인자는 stx1이며 이러한 stx1을 갖는 분리주들은 대장균이 장관 상피세포에 긴밀하게 부착할 수 있게 작용하고 장관점막에 A/E 병변을 유발하는 *eaeA* gene를 갖고 있는 경향이 높아서 송아지 설사의 원인체로서 stx2를 갖는 STEC보다 병원성이 더 강하다 [40, 41]. 본 연구에서도 STEC 26주 중에 6주가 *eaeA* gene을 갖고 있었으며 이들은 모두 stx1을 갖는 STEC에 속하였다. 또한 본 연구에서는 stx1과 stx2를 동시에 갖고 있는 분리주가 4주 되었는데 이는 Beutin 등이 돼지 분리 9주의 STEC에 대한 독소형 시험 결과 stx1과 stx2를 동시에 생산하는 분리주가 없다는 보고와 국내 돼지분변에서 분리한 13주의 STEC에서도 stx1과 stx2를 동시에 생산하는 분리주가 없다는 보고 [2]와는 상이한 결과를 보였다.

PCR을 이용한 *hlyA*, *eaeA* 병원성 유전자 검출에서 *eaeA*는 6주(23%), 그리고 *hlyA*는 7주(26%)가 관찰되었다. 이러한 성적은 송 등(2005)이 보고한 국내 돼지 분변에서 분리한 STEC에서는 모두 음성반응을 보였던 결과 [2]와 Beutin 등 [6]이 돼지에서 분리한 STEC 중에 *hlyA* 유전자 보유율은 2.6% 미만이라는 보고와는 다소 차이가 있었다. 그러나 Rowland 등 [33]이 호주의 젓소에서 분리한 STEC의 20%가 *eaeA*와 *hlyA* 유전자를 보유하고 있다는 보고와 아주 유사하였다. 이러한 다소 차이가 있는 STEC의 성상은 STEC 특성을 규명하는 아주 중요한 요인으로 지적되고 있다.

동물의 질병 치료 및 예방적 목적의 항생제의 사용은 항생제 잔류, 다약제 내성균의 출현 등으로 질병치료 뿐만 아니라 축산물 생산 과정에 있어 공중보건학적 문제점을 유발하고 있다. 본 실험에서도 26주의 STEC 중 AN에 대해서는 26주 모두가 감수성이 있는 것으로 나타났다. 이들 내성균 중 단제 내성균은 6주(23.1%)이었고 20주(76.9%)가 다제 내성균이었다. 이러한 결과는 송 등 [2]의 돼지에서 분리한 13주의 STEC의 항생제 내성 분포와 상이하게 나타났다. 이들은 13주의 STEC 모두

AM, CC, E, L, S, TE, TL의 7가지 항생제에 대해 내성을 나타냈으며 AN, GM, LS, N에 대해서는 모두 감수성이 있는 것으로 보고하였다. 이처럼 국내 분리 대장균들에 대한 항생제 감수성 조사는 많이 수행되어 왔으나 시기와 지역별로 다양한 양상을 나타내고 있다.

본 실험에 공시한 송아지 설사분변에서 분리한 STEC의 샘플수는 많지 않으나 전남지방 송아지 설사분변에서 분리한 STEC의 독소형과 병원성 유전자의 존재유무를 규명할 수 있었으며 항생제 내성 정도를 파악할 수 있었다. 이러한 결과는 송아지 설사의 예방 및 치료의 기초 자료로 유용하게 사용될 것이다. 또한, STEC는 여러 축종에서 광범위하게 분포되어 있으며 공중보건학적으로도 중요한 인수공통전염병체로도 인정되고 있기 때문에 다양한 축종에서 계절 및 지역별로 분리하여 분자역학적 연구를 지속적으로 수행하여야 할 것이다.

감사의 글

교육인적자원부 2단계 BK21 사업의 지원을 받아 수행된 연구 논문임.

참고문헌

1. 고주언, 홍종해. 도체 표면의 분변오염과 verotoxin 생성 *Escherichia coli* O157:H7 분리에 관한 연구. 한국식품위생안전성학회지 1997, 12, 78-82.
2. 송영환, 김지영, 채미경, 박창식, 김명철, 전무형. 도축돈 장분변으로부터 Shiga Toxin-producing *Escherichia coli*의 분리와 성상. 대한수의학회지 2004, 44, 551-559.
3. 정석관, 정병열, 윤장원, 조윤상, 김종업, 박용호. 쇠고기 중 *Escherichia coli* O157:H7 신속검출을 위한 multiplex-PCR 기법 개발. 대한수의학회지 1998, 38, 173-181.
4. Bauer AW, Kirby WMJC. Antibiotic susceptibility testing by a standardized disc method. Am J Clin Path 1966, 36, 493.
5. Beutin L. *Escherichia coli* O157 and other types of verocytotoxigenic *E. coli* (VTEC) isolated from humans, animals and food in Germany. In: Stewart CS, Flint HJ (eds.) *Escherichia coli* O157 in farm animals. pp. 121-145, CABI Publishing, Wallingford, UK, 1999.
6. Beutin L, Geier D, Steinruck H, Zimmermann S, Scheuts F. Prevalence and some properties of verotoxin (Shiga-like toxin)-producing *Escherichia coli* in seven different species of healthy domestic animals. J Clin Microbiol 1993, 31, 2483-2488.
7. Beutin L, Krause G, Zimmermann S, Kaulfuss S,

- Gleier K.** Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from human patients in Germany over a 3-year period. *J Clin Microbiol* 2004, **42**, 1099-1108.
8. **Blanco J, Blanco M, Blanco JE, Mora A, Alonso MP, Gonzalez EA, Bernrdez MI.** Epidemiology of verocytotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) in ruminants. In: Duffy G, Garvey P, McDowell D (eds.) Verocytotoxigenic *Escherichia coli*. pp. 113-148, Food & Nutrition Press, Trumbull, 2001.
9. **Blanco JE, Blanco M, Alonso MP, Mora A, Dahbi G, Coira MA, Blanco J.** Serotypes, virulence genes and intimin types of Shiga toxin (verotoxin)-producing *Escherichia coli* isolates from human patients: prevalence in Lugo (Spain) from 1992 through 1999. *J Clin Microbiol* 2004, **42**, 311-319.
10. **Blanco M, Blanco JE, Blanco J, Mora A, Prado C, Alonso MP, Mourio M, Madrid C, Balsalobre C, Jurez A.** Distribution and characterization of faecal verotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) isolated from healthy cattle. *Vet Microbiol* 1997, **54**, 309-319.
11. **Blanco M, Padola NL, Krger A, Sanz ME, Blanco JE, Gonzalez EA, Dahbi G, Mora A, Bernrdez MI, Etcheverra AI, Arroyo GH, Lucchesi PMA, Parma AE, Blanco J.** Virulence genes and intimin types of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* isolated from cattle and beef products in Argentina. *Int Microbiol* 2004, **7**, 269-276.
12. **Botteldoorn N, Heyndrickx M, Rijpens N, Herman L.** Detection and characterization of verotoxigenic *Escherichia coli* by a VTEC/EHEC multiplex PCR in porcine faeces and pig carcass swabs. *Res Microbiol* 2003, **154**, 97-104.
13. **Clarke SC, Haigh RD, Freestone PP, Williams PH.** Virulence of enteropathogenic *Escherichia coli*, a global pathogen. *Clin Microbiol Rev* 2003, **16**, 365-378.
14. **Cobbold R, Desmarchelier P.** Characterisation and clonal relationship of Shiga-toxigenic *Escherichia coli* (STEC) isolated from Australian dairy cattle. *Vet Microbiol* 2001, **79**, 323-335.
15. **Cobbold RN, Rice DH, Szymanski M, Call DR, Hancock DD.** Comparison of Shiga-toxigenic *Escherichia coli* prevalences among dairy, feedlot, and cow-calf herds in Washington State. *Appl Environ Microbiol* 2004, **70**, 4375-4378.
16. **Fukushima H, Hoshina K, Gomyoda M.** Long-term survival of shiga toxin-producing *Escherichia coli* O26, O222, and O157 in bovine feces. *Appl Environ Microbiol* 1999, **65**, 5177-5181.
17. **Gannon VPJ, D'souza S, Graham T, King RK, Rahn K, Read S.** Use of the flagella H7 gene as a target in multiplex PCR assays and improved specificity in identification of enterohemorrhagic *Escherichia coli* stains. *J Clin Microbiol* 1997, **35**, 656-662.
18. **Gyles CL.** *Escherichia coli* cytotoxins and enterotoxins. *Can J Microbiol* 1992, **38**, 734-746.
19. **Hiroshi A, Sou-ichi M, Toshikazu S, Teizo T, Hisao K, Tetsuya I, Kouichi, T.** Detection and long-term existence of shiga toxin (Stx)-producing *Escherichia coli* in sheep. *Microbiol Immunol* 1998, **42**, 683-688.
20. **Kaper JB, Elliott S, Sperandio V, Perna NT, Mayhew GF, Blattner FR.** Attaching and effacing intestinal histopathology and the locus of enterocyte effacement. In: Kaper JB, O'Brien AD (eds.) *Escherichia coli* O157: H7 and other Shiga toxin-producing *E. coli* strains. pp. 163-182. ASM Press, Washington DC, 1998.
21. **Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL.** Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol* 2004, **2**, 123-140.
22. **Karmali MA.** Infection by verocytotoxin producing *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev* 1989, **2**, 5-38.
23. **Kobayashi H, Shimada J, Nakazawa M, Morozumi T, Pohjanvirta T, Pelkonen S, Yamamoto K.** Prevalence and characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from healthy cattle in Japan. *Appl Environ Microbiol* 2001, **67**, 484-489.
24. **Maite M, Juan J.** Abundance in sewage of bacteriophages that infect *Escherichia coli* O157:H7 and that carry the shiga toxin 2 gene. *Appl Environ Microbiol* 1998, **64**, 2443-2448.
25. **Meichtri L, Miliwebsky E, Gioffr A, Chinen I, Baschkier A, Chillemi G, Guth BEC, Masana MO, Cataldi A, Rodrguez HR, Rivas M.** Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in healthy young beef steers from Argentina: Prevalence and virulence properties. *Int J Food Microbiol* 2004, **96**, 189-198.
26. **Mora A, Blanco M, Blanco JE, Alonso MP, Dhahi G, Thompson-Carter F, Usera MA, Bartolom R, Prats G, Blanco J.** Phage types and genotypes of human and animal shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 in Spain. Identification and characterization of two predominating phage types (PT2 and PT8). *J Clin Microbiol* 2004, **42**, 4007-4015.
27. **Nataro JP, Kaper JB.** Diarrheagenic *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol Rev* 1998, **11**, 142-201.

28. **O'Brien AD, Holmes RK.** Shiga and Shiga-like toxins. *Microbiol Rev* 1987, **51**, 206-220.
29. **Ose KJ.** Prevalence of virulence factors of *Escherichia coli* strains isolated from diarrhegic and healthy piglets after weaning. *Vet Microbiol* 1999, **68**, 209-217.
30. **Padola NL, Sanz ME, Blanco JE, Blanco M, Blanco J, Etcheverria AI, Arroyo GH, Usera MA, Parma AE.** Serotypes and virulence genes of bovine Shiga-toxigenic *Escherichia coli* (STEC) isolated from a feedlot in Argentina. *Vet Microbiol* 2004, **100**, 3-9.
31. **Parma AE, Sanz ME, Blanco JE, Blanco J, Vias MR, Blanco M.** Virulence genotypes and serotypes of verotoxigenic *Escherichia coli* isolated from cattle and foods in Argentina. *Eur J Epidemiol* 2000, **16**, 757-762.
32. **Paton JC, Paton AW.** Pathogenesis and diagnosis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections. *Clin Microbiol Rev* 1998, **11**, 450-479.
33. **Rowland C, Patrica D.** Characterisation and clonal relationships of Shiga-toxigenic *Escherichia coli* (STEC) isolated from Australia dairy cattle. *Vet Microbiol* 2001, **79**, 323-335.
34. **Sanz ME, Vias MR, Parma AE.** Prevalence of bovine verotoxin-producing *Escherichia coli* in Argentina. *Eur J Epidemiol* 1998, **14**, 399-403.
35. **Schmidt H, Beutin L, Karch H.** Molecular analysis of the plasmid-encoded homolysin of *Escherichia coli* O157:H7 strain EDL 933. *Infect Immun* 1995, **63**, 1055-1061.
36. **Strockbine NA, Marques RM, Newland JW, Smith HW, Holmes RK, O'Brien AD.** Two toxin-converting phages from *Escherichia coli* O157:H7 strain 933 encode antigenetically distinct toxins with similar biologic activities. *Infect Immun* 1986, **53**, 135-140.
37. **Terezinha K, Maria RB, Andrea MM, Tania ATG, Monica AMV, Claudete SAF, Antonio JPE.** Virulence properties of *Escherichia coli* isolated from ostriches with respiratory disease *Vet Microbiol* 2001, **83**, 71-80.
38. **Timoney JF, Gillespie JH, Scott FW and Barlough JE.** The Enterobacteriaceae-The lactose fermenters, p. 61-71. Hagen and Bruner's Microbiology and Infectious Diseases of Domestic Animals. Cornell University Press, USA, 1988.
39. **Tsukamoto T, Kawai T.** Identification of *Escherichia coli* O157 antigen by polymerase chain reaction. *Kansenshogaku Zasshi* 1998, **72**, 738-741.
40. **Weiler LH, Bauerfeind R, Baljer G.** Characterization of Shiga-like toxin producing *Escherichia coli* (SLTEC) isolated from calves with and without diarrhoea. *Int J Med Microbiol Virol Parasitol Infect Dis* 1992, **276**, 243-253.
41. **Weiler LH, Vieler E, Erpenstein C, Schlapp T, Steinreck H, Bauerfeind H, Byomi A, Baljer G.** Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) from bovines: association of adhesion with the carriage of *eae* and other genes. *J Clin Microbiol* 1996, **34**, 2980-2984.
42. **Wilson JB, McEwen SA, Clarke RC, Leslie KE, Wilson RA, Waltner-Toews D, Gyles CL.** Distribution and characteristics of verocytotoxigenic *Escherichia coli* isolated from Ontario dairy cattle. *Epidemiol Infect* 1992, **108**, 423-439.