

소매시장에서 판매하는 돼지고기와 닭고기에서 분리된 *Escherichia coli*의 병원성 인자

최선금 · 이민화 · 이복희 · 정지윤¹ · 최창순*

중앙대학교 식품영양학과, ¹공주대학교 특수동물학과

Virulence Factor Profiles of *Escherichia coli* Isolated from Pork and Chicken Meats Obtained from Retail Markets

Sun Keum Choi, Min Hwa Lee, Bog-Hieu Lee, Ji-Youn Jung¹, and Changsun Choi*

Department of Food and Nutrition, Chung-Ang University, Ansong 456-756, Korea

¹Department of Companion and Laboratory Animals Science, Kongju National University, Yesan 340-702, Korea

Abstract

The aim of this study was to investigate the virulence factor profiles of *Escherichia coli* strains isolated from pork and chicken meats purchased from retail markets in Korea. From 943 pork and 142 chicken meats, 217 isolates of *E. coli* were cultured. The presence of 11 virulence factors (*elt*, *estI*, *estII*, *astA*, *stx*, *cdt*, *cnf*, *agg*, *inve*, *eae*, *afa*) were detected by polymerase chain reaction. Forty one (18.9%) of 217 *E. coli* isolates carried at least one virulence factor. Among 175 *E. coli* isolates from pork, the detection rate of *astA*, *elt*, *eae*, *estII*, *estI*, *afa*, and *cnf* were 6.9%, 4.6%, 4.6%, 4.0%, 2.3%, 1.1%, and 0.6%, respectively. However, *stx*, *agg*, and *cdt* were not detected in our isolates. Therefore, we conclude that *astA* is the most prevalent virulence factor in *E. coli* isolates contaminated in pork and chicken meats in Korea.

Key words: *Escherichia coli*, *astA*, prevalence, pork, chicken

서 론

온혈동물과 인간의 장내에서 공생하는 대장균(*Escherichia coli*)은 일반적으로 비병원성이나, 일부 병원성 대장균은 설사를 동반한 식중독 및 비노기 감염, 뇌막염, 폐혈증 등을 일으키는 것으로 잘 알려져 있다. 따라서 병원성 대장균은 병원성 인자 및 감염 기전 등과 같은 특징에 따라서 Enterohemorrhagic *E. coli*(EHEC), Enteropathogenic *E. coli*(EPEC), Enteroinvasive *E. coli*(EIEC), Enterotoxigenic *E. coli*(ETEC), Diffusely adherent *E. coli*(DAEC), Enteroaggregative *E. coli*(EAEC)과 같이 6개의 범주로 분류된다(Nataro and Kaper 1998). 그 중에서 장독소(Enterotoxins)를 생성하는 Enterotoxigenic *E. coli*(ETEC)은 음식을 날것으로 섭취한 경우 또는 오염된 식수를 통하여 감염되며 주로 개발 도상국이나 감염지역의 여행자에게서

수양성 설사를 일으킨다(Wanke *et al.*, 1991; Nataro and Kaper, 1998; Subekti *et al.*, 2003). 또한 1980년대 출현한 Enterohemorrhagic *E. coli*(EHEC)의 일종인 *E. coli* O157:H7은 노인과 어린이의 경우 출혈성 대장염(hemorrhagic colitis: HC)과 용혈성 요독 증후군(hemorrhagic uremic syndrome: HUS)과 같은 심각한 합병증을 일으키는 병원체로 햄버거, 패스트푸드, 주스 등에서 오염된 사례가 보고되었다(Spika *et al.*, 1986). 장병원성 대장균(EPEC)은 탁아소, 유치원 등에서 생활하는 유아 또는 병원에서 복통과 점액성 설사를 주로 일으키는 병원체로 오염된 물 또는 육류 식품 등을 통하여 주로 감염되는 것으로 알려져 있다(Shuman and Stock, 1956; Nataro and Kaper, 1998).

2008년 식품의약품안전청에서 집계한 식중독 통계에 따르면 병원성 대장균에 의한 식중독 발생 건수와 환자수가 가장 많은 것으로 집계되었다. 일반적으로 장독소형 대장균(ETEC)과 장병원성 대장균(EPEC)이 식중독을 일으키는 것으로 알려졌으나, 장부착성 대장균(EAEC)에 의한 식중독 발생도 많아지고 있다(Bhan *et al.*, 1989b). 최근 외국에서 발표되는 대장균 식중독 관련 연구에 따르면 햄, 소

*Corresponding author : Changsun Choi, Department of Food and Nutrition, College of Human Ecology, Chung-Ang University, Ansong 456-756, Korea. Tel: 82-31-670-4589, Fax: 82-31-676-8741, E-mail: cchoi@cau.ac.kr

시지, 각종 통조림 식품 등에 오염된 장부착성 대장균이 미열을 동반한 수양성/점액성 설사를 일으키며, 특히 유아에게 만성적인 설사를 일으키는 것으로 보고하고 있다(Bhan *et al.*, 1989a). 이러한 장부착성 대장균에 의한 식중독 발생은 전 세계적으로 보고되고 있으나 특히 개발도상국가에서의 발병률이 높은 것으로 보고되어 있다(Bhan *et al.*, 1989b; Nataro and Kaper, 1998; Subekti *et al.*, 2003). Savarino 등(1993)은 장부착성 대장균(EAEC)에서 장독소형 대장균(ETEC)의 내열성독소(Heat-stable toxin: ST)와 유사한 특성을 가지는 Enteroaggregative *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin 1(EAST1)을 확인 보고하였다. 후속 연구에서 38개의 아미노산으로 구성된 장독소인 EAST1이 보통 장부착성 대장균(EAEC)뿐만 아니라 장독소형 대장균(ETEC)과 장병원성 대장균(EPEC)에서도 발견됨으로써 식중독을 일으키는 대장균의 주요한 병원성 인자로 주목 받고 있다(Yamamoto and Echeverria, 1996; Yamamoto and Nakazawa, 1997; Nataro and Kaper, 1998). 국내의 경우 포유자돈과 이유자돈 설사증을 일으키는 병원성 대장균에서 EAST1이 존재함이 보고된 바 있었으나(Choi *et al.*, 2001), 식품에서 분리된 대장균에 대한 연구는 이루어지지 않았다.

장부착성 대장균(EAEC)과 비슷한 특성을 가지고 있는 미만성 부착성 대장균(DAEC)은 *afa*라는 병원성 인자를 보유하면서 어린이보다 성인에게 수양성 설사를 일으키는 특징만 알려져 있을 뿐 이에 대한 빈도 조사와 병인론에 대한 연구 보고는 제한적이다(Nataro and Kaper, 1998). 그 밖에 새롭게 알려진 병원성 인자인 cytotoxic necrotizing factor(CNF)는 분자량 110-115 kDa의 단백질로 CNF1과 CNF2의 두 가지 형이 존재하며, 진핵세포의 핵에 작용하여 다핵화(multinucleation)을 유도하고, 세포독성을 일으키는 특징이 알려져 있다(Kadhun *et al.*, 2006). 새로운 대장균 분류의 하나인 Necrotoxic *Escherichia coli*(NTEC)으로 불리는 대장균은 CNF를 보유하고 있으며, 가축의 장관에서 높은 빈도로 분리되므로 축산식품 오염에 대한 문제가 제기되고 있다. 그러나, 사람에서 분리되는 NTEC의 경우 위장관 질환을 일으키는 기전에 대한 논란이 존재하고 있어 축산식품과의 상관성 규명과 병인론 연구의 필요성이 제기되고 있다(De Rycke *et al.*, 1999; Kadhun *et al.*, 2006).

전 세계적으로 대장균의 새로운 병원성 인자들에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 그러나 매년 대장균에 의한 식중독이 다수 발생하고 있음에도 불구하고, 국내에서는 식품에서 분리되는 대장균의 특성 분석 및 새로운 병원성 인자의 보유 여부에 대한 연구 보고가 매우 제한적으로 수행되고 있다. 따라서 본 연구에서는 소매시장에서 판매되는 돈육과 계육에서 대장균을 분리하고, 현재까지 알려진 대장균의 병원성 인자의 보유 여부를 조사하고자

하였다. 또한 새로운 병원성 대장균을 검출하고, 그 상관관계를 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

가검물 및 공시균주

본 연구에 사용된 가검물은 2008년 1월부터 2009년 4월까지 서울과 경기도 지역에서 임의 선정한 대형마트 5곳과 소매 정육점 10곳을 선정하고 교차오염 방지를 위하여 매 2-3주마다 판매점 1곳당 2-3개의 가검물을 구매하였다. 목심 또는 안심부위로 소량 개별 포장된 돼지고기 943개와 개별 포장된 육계 142마리가 세균분리에 사용되었다. 위 기간 동안 수집된 총 1085개의 가검물에서 10 g을 채취하고 90 mL의 0.1%(w/v) Peptone Water(Cat. No. 218071, BD Difco, USA)와 함께 혼합하였다. 혼합액은 bag filter(Cat No. 064611, Interscience, France)에 넣어 stomacher(Interscience bagMixer®, St Nom, France)로 120 rpm에서 2분 간 균질화 하여 유제를 제조하였다. 유제는 대장균 선택배지인 Tergitol 7 agar(HiMedia Laboratories, Mumbai, India) 조건에서 24시간 호기배양 하였다. 배양에서 얻어진 1-2 mm 직경의 노란색을 형성하는 단일 집락을 선택하여 계대배양하였다.

DNA 추출

DNA는 단일 집락에서 분리 배양된 대장균 균체를 1 mL의 멸균증류수에 부유하여 현탁액을 제조하고 95°C에 10분간 가열하여 추출하였다(Yamamoto and Nakazawa, 1997). 이후 microcentrifuge(Cat. No. VS-15000N, Vision scientific, Buchon, Korea)를 이용하여 8,000 rpm에서 2분 간 원심분리하고, 침전물을 제외한 상층액의 DNA 만을 수집하여 PCR template로 사용하였다.

Polymerase chain reaction(PCR)

본 연구에서는 선행연구에서 사용된 11개 병원성인자에 대한 중합효소 연쇄반응을 수행하였다. 6개의 독소(*elt*, *estI*, *estII*, *astA*, *stx*, *cdt*, *stx*)와 5개의 병원성 인자(*cnf*, *eae*, *afa*, *aggR*, *inve*)에 대한 중합효소 연쇄반응을 수행하기 위한 프라이머는 모두 Bioneer에 의뢰하여 제작하였으며, 그 염기서열은 Table 1과 같다(Hidaka *et al.*, 2009; Itoh *et al.*, 1992; Kobayashi *et al.*, 2002; Le Bouguenec *et al.*, 2001; Ojeniyi *et al.*, 1994; Osek *et al.*, 1999; Toth *et al.*, 2003). 중합효소 연쇄반응물의 조성은 3차 멸균수 7 μ L, 2.5 mM dNTP 2 μ L, 10X Reaction Buffer 2 μ L, 25 pmol forward & reverse primer 각 1 μ L, 1 U Top polymerase(Cat No. E-3100, Bioneer, Korea), DNA template 3 μ L로 하였다. 반응액은 Denaturation(94°C, 5 min), 35 main cycles(94°C 45 sec, Tm 45 sec, 72°C 45 sec), Final extension(72°C, 10

Table 1. Nucleotide sequences of primers for the detection of virulence factors of *Escherichia coli*

Target gene	Primer	Oligonucleotide sequence	Tm	Product size
elt	LT-F	5'-ATTTACGGCGTTACTATCCTC-3'	58°C	281bp
	LT-R	5'-TTTTGGTCTCGGTCAGATATG-3'		
estI	STa-F	5'-TCCGTGAAACAACATGACGG-3'	53°C	244bp
	STa-R	5'-ATAACATCCAGCACAGGCAG-3'		
estII	STb-F	5'-GCCTATGCATCTACACAATC-3'	53°C	279bp
	STb-R	5'-TGAGAAATGGACAATGTCCG-3'		
astA	EAST13a	5'-AGAAGTCTGGGTATGTGGCT-3'	55°C	393bp
	EAST13b	5'-GTTGGATAAGCGAAGAACGTG-3'		
stx	stx-f	5'-TTTACGATAGACTTCTCGAC-3'	60°C	228bp
	stx-r	5'-CACATATAAATTATTTTCGCTC-3'		
cdt	CDT-s1	5'-GAAAGTAAATGGAATATAATGTCCG-3'	55°C	466bp
	CDT-as1	5'-AAATCACCAAGAATCATCCAGTTA-3'		
	CDT-s2	5'-GAAAATAAATGGAACACACATGTCCG-3'		
	CDT-as2	5'-AAATCTCTGCAATCATCCAGTTA-3'		
cnf	CNF-s	5'-TTATATAGTCGTCAGATGGA-3'	55°C	633bp
	CNF-as	5'-CACTAAGCTTTACAATATTGA-3'		
eae	eaeAF	5'-GACCCGCGACAAGCATAAGC-3'	60°C	384bp
	eaeAR	5'-CCACCTGCAGCAACAAGAGG-3'		
afa	afa-f	5'-CGGCTTTTCTGCTGAACTGGCAGGC-3'	60°C	672bp
	afa-r	5'-CCGTCAGCCCCACGGCAGACC-3'		
inve	inve -f	5'-ATATCTCTATTCCAATCGCGT-3'	60°C	382bp
	inve -r	5'-GATGGCGAGAAATTATATCCCG-3'		
aggR	aggRks-1	5'-GTATACACAAAAGAAGGAAGC-3'	60°C	254bp
	aggRkas-2	5'-ACAGAATCGTCAGCATCAGC-3'		

min) 조건으로 MJ Mini personal Thermal Cycler(Cat No. PTC1148, Bio-Rad, Mexico)에서 반응하였다.

0.1 µL/mL Ethidium bromide가 포함된 1x Tris acetate EDTA(TAE buffer) 1%(w/v) gel agarose를 제작하여 전기영동에 사용하였다. 전기영동은 PowerPac 300(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 이용하여 100 V 50분 간 수행하고, UV illuminator(SL-20 25W Transilluminator, Seoulin Bio Science, USA)로 관찰하였으며, Launch DocIT LS program (UVP Advanced BioImaging Software version. 5.5.5a, Cambridge, UK)으로 분석하였다.

결과 및 고찰

분리균주 및 PCR 분석

2008년 1월부터 2009년 4월까지 수집된 돈육 943개와 계육 142개에 대하여 대장균 분리 배양을 실시하였다. 세균배양 검사에 사용된 돈육과 계육으로부터 175개와 42개의 대장균이 분리되었으며, 각각 18.6%와 29.6%의 분리율을 나타내었다(Table 2). Lee 등(2009)은 2004년에서 2006년 수집된 3000개의 신선육으로부터 대장균을 분리동정 하였는데, 돈육, 계육, 우육으로부터 대장균 분리율이 각각 14.9%, 4.6%, 4.1%으로 보고하였다. 본 연구에 사용

Table 2. Virulence factor profiles of *Escherichia coli* isolated from chickens and pork meats purchased from retail markets

Type	Virulence factors	No. of isolates	
		Pork	Chicken
Single	<i>astA</i>	10/175 (5.7%)	1/42 (2.4%)
	<i>elt</i>	8/175 (4.6%)	0/42 (0.0%)
	<i>eae</i>	8/217 (4.6%)	0/42 (0.0%)
	<i>estII</i>	5/175 (2.9%)	0/42 (0.0%)
	<i>estI</i>	3/175 (1.7%)	0/42 (0.0%)
	<i>afa</i>	1/175 (0.6%)	0/42 (0.0%)
	<i>inve</i>	0/175 (0.0%)	1/42 (2.4%)
	<i>cnf</i>	1/175 (0.6%)	0/42 (0.0%)
Multiple	<i>astA + afa</i>	1/175 (0.6%)	0/42 (0.0%)
	<i>astA + estII</i>	1/175 (0.6%)	0/42 (0.0%)
	<i>estI + estII</i>	1/175 (0.6%)	0/42 (0.0%)

된 돈육의 경우 대장균 분리율이 18.6%로 선행연구와 유사한 경향을 보였다. 계육 샘플의 경우 대장균 분리율이 29.6%로 선행연구에 비하여 높게 조사되었다.

돈육과 계육에서 분리된 대장균에서 주요한 병원성인자 heat-stable toxin a(STa: *estI*), heat-stable toxin b(STb: *estII*), heat-labile toxin(LT: *elt*), cytolethal distending toxin (CDT: *cdt*), Shiga toxin(Stx: *stx*), EAST1(*astA*), cytotoxic

necrotizing factor(CNF: *cnf*), Intimin(*eae*), Afa(*afa*), Invasin (*inve*), AggR(*aggR*)의 보유 여부가 PCR기법으로 조사되었으며 그 결과는 다음과 같다(Figs. 1-2). 돈육에서 분리된 175개 대장균 중에서 136개(77.7%)는 병원성 인자를 보유하고 있지 않았으며, 39개(22.3%)의 분리주가 1개 이상의 병원성 인자를 보유하고 있었다. 돈육유래 병원성 대장균 39개 중에서 36개는 1개의 병원성 인자를 보유하고 있었으며, 3개의 분리주는 2개의 병원성 인자를 보유하고 있었다. 돈육 유래 대장균이 보유하고 있는 병원성 인자 중에서 *astA*가 12개(6.9%), *elt*와 *eae*가 각각 8개(4.6%), *estII* 7개(4.0%), *estI* 4개(2.3%), *afa*가 2개(1.1%), *cnf*가 1개(0.6%)의 분리주에서 확인되었다. 이와 대조적으로 계육에서 분리된 42개 대장균 중에서 40개(95.2%)는 병원성 인자를 보유하고 있지 않았다. 계육유래 대장균에서 확인된 병원성 인자는 *astA*와 *inve*가 각각 1개(2.4%)의 분리주에서 확인되었다(Table 2).

장독소(enterotoxins) 분비를 주요한 특징으로 하는 장독소형 대장균(ETEC)은 사람의 설사병을 일으키는 병원체로 Subekti 등(2003)이 보고한 바 있으며, 여행자 설사병

(Traveler's diarrhea)의 원인체로 잘 알려져 있다(Nataro and Kaper, 1998; Subekti *et al.*, 2003). 본 연구에 사용된 돈육유래 대장균 분리주에서도 *elt*, *estI*, *estII* 등을 보유하고 있는 장독소형 대장균이 10.3%로 가장 높은 비율을 나타내었다. 2004년부터 2006년까지 신선육에서 분리한 대장균의 분류 특성 조사에서 장독소형 대장균이 43.7%로 가장 많은 비율을 나타낸다고 하여 본 연구와 유사한 경향을 나타내었다(Lee *et al.*, 2009). 그러나 본 연구에서는 계육에서 분리된 대장균에서는 장독소형 대장균을 확인할 수 없었다.

본 연구에서는 국내에서 판매되고 있는 돈육과 계육에서 분리된 대장균에서 *astA*가 단일 병원성 인자 중에서 가장 높은 빈도로 존재하고 있음을 최초로 확인하였다. EAST1 독소를 생성하는 *astA*은 장응집성 대장균(EAEC)에서 최초로 발견된 병원성 인자로서 장병원성 대장균(EPEC)과 장독소형 대장균(ETEC)에서도 존재하는 것으로 알려지고 있다(Savarino *et al.*, 1993; Yamamoto and Nakazawa, 1997). 그러나 돈육과 계육에서 분리된 대장균 중에서 *astA*를 보유하는 13개 분리주 중에서 11개는 *astA*만을 보유하고 있어 기존에 알려진 분류체계에 속하지 않는 특징이 있었으며, Ishiguro 등(2005)이 보고한 결과와 비슷한 경향을 나타내었다. *astA*를 보유한 나머지 2개의 대장균은 *astA+estII*, *astA+afa*를 보유하고 있어 장독소형 대장균과 미만성 부착성 대장균에 속하는 것으로 판단되었으며, *aggR*을 보유하는 장응집성 대장균(EAEC) 또는 *eae*을 보유하는 장병원성 대장균(EPEC)과는 상관성이 없었다.

일본에서는 1996년부터 2004년까지 오사카, 히로시마, 후쿠이 지방 등에서 EAST1+ 대장균에 의한 대량 식중독 발생 사례가 보고되었다(Ishiguro *et al.*, 2005). 이후 일본의 소매점에서 판매되는 다양한 식재료로부터 분리된 대장균의 EAST1 보유여부 조사에서 식육, 야채, 해산물 유래의 대장균이 각각 29.6%, 4.4%, 6.3%의 양성률을 나타낸 것으로 보고된 바 있다(Toshima *et al.*, 2004). 한편 국내에서는 Choi 등(2001)이 자돈의 설사증을 일으키는 병원성 대장균 분리주 22.7%가 EAST1을 보유하고 있으며, EAST1이 단일 병원성 인자 중에서는 가장 높은 빈도로 존재하는 것을 보고한 바 있다. 그러나 아직 국내에서는

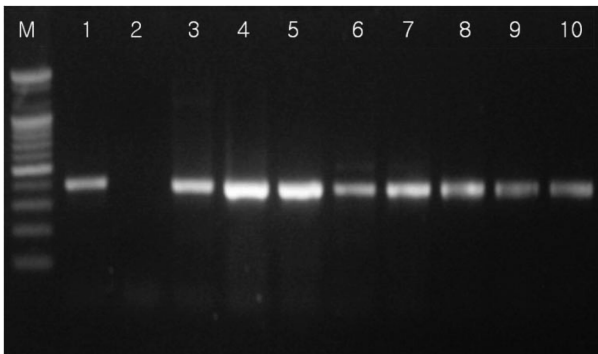


Fig. 1. Identification of Enteroaggregative *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin 1 (EAST1) in Korean *E. coli* isolates from pork and chicken meats by PCR. M: 100 base pair DNA ladder; lane 1: Positive control; lane 2: Negative control; lane 3: EAST1 (SNU06400); lane 4: EAST1 (SNU06429); lane 5: EAST1 (SNU06458); lane 6: EAST1 (SNU06843); lane 7: EAST1 (SNU061262); lane 7: EAST1 (SNU061262); lane 8: EAST1 (SI72562); lane 9: EAST1 (SI72716); lane 10: EAST1 (SI72720).

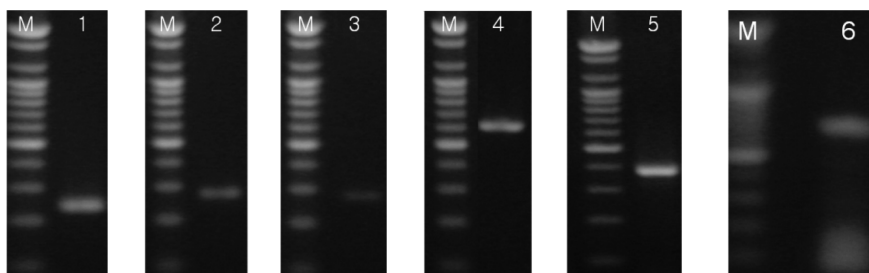


Fig. 2. Identification of the virulence factors in *E. coli* isolates by PCR. M: 100 base pair DNA ladder, 1: *estI* (SUN06312), 2: *estII* (SUN061255), 3: *elt* (SUN06521), 4: *cnf* (SUN061003), 5: *eae* (SUN06186), 6: *afa* (SUN06843).

EAST1+ 대장균에 의한 식중독 대량 발병 사례보고가 없으므로 식품 유래 대장균에서 EAST1에 대한 조사가 수행되지 못하였다. 본 연구결과는 국내에서 판매되고 있는 돈육과 계육에 EAST1을 생성하는 *astA*를 보유하는 병원성 대장균의 오염 빈도가 높음을 보여주고 있다. 따라서 국내에서 발생하는 대장균 식중독과 *astA*와의 상관관계 규명을 위한 연구가 수행될 필요가 있다.

장병원성 대장균(EPEC)이 보유하는 병원성 인자인 *eae*가 돈육 유래 대장균 8개(4.6%)에서 확인되었다. 그 밖에 *afa*를 보유하고 있는 미만성 부착성 대장균(DAEC) 2개와 *cnf*를 보유하고 있는 괴사성 독소 대장균(NTEC) 1개가 돈육에서 분리되었으며, 계육에서는 *inve*를 보유하고 있는 장침투성 대장균(EIEC) 1개가 분리되었다. 그 중에서도 본 연구팀이 국내 돈육에서 분리한 미만성 부착성 대장균(DAEC)과 괴사성독소 대장균(NTEC)은 국내에서는 최초 보고이다.

외국의 선행 연구와 비교하여 보았을 때, 흥미롭게도 본 연구 결과에서는 *stx*를 보유한 장출혈성 대장균(EHEC)이 검출되지 않았으며, 이와 밀접한 상관성이 있는 *cdt*도 검출되지 않았다. 대표적인 장출혈성 대장균인 *E. coli* O157:H7은 다양한 식품으로부터 분리되는 것으로 알려져 있으나, 특히 우육에서 분리되는 대장균의 경우 장출혈성 대장균의 검출빈도가 높고, 돈육과 계육을 포함한 다른 식품에서는 상대적인 검출율이 낮다(Itoh *et al.*, 1992; Lee *et al.*, 2009; Nataro and Kaper, 1998; Schoonderwoerd *et al.*, 1988). 따라서 계육과 돈육에서 분리된 대장균 분리주를 사용한 본 연구에서는 *stx*와 *cdt*가 검출되지 않았으나 향후 연구에서는 우육과 다양한 식품 유래의 대장균에 대한 조사를 수행할 필요가 있다.

최근 식중독을 일으키는 대장균과 관련된 연구에서 기존에 알려진 장독소형 대장균, 장출혈성 대장균, 장병원성 대장균 이외에 장부착성 대장균(EAEC)과 미만성 부착성 대장균(DAEC)와 같이 비교적 병원성 기전이 알려지지 않은 병원체에 대한 보고가 이어지고 있다(Levine *et al.*, 1988; Le Bouguenec *et al.*, 2001; Vial *et al.*, 1988; Toshima *et al.*, 2004). 본 연구에서는 EAST1+ 대장균과 미만성 부착성 대장균, 괴사성 독소 대장균 등과 같이 새로운 부류의 병원성 대장균이 돈육과 계육에 오염되어 있음을 확인하였다. 따라서 본 연구팀은 향후 식품에 오염된 병원성 대장균에서 새로운 병원성 인자의 분포와 식중독과의 상관성 규명이 꼭 필요할 것으로 기대한다.

요 약

시중에서 판매되는 계육과 돈육 가검물 1085개를 구입하고, 총 217개의 대장균 분리주를 확보하였다. 현재 알려진 대장균 병원성 인자 11개(*astA*, *elt*, *estI*, *estII*, *cdt*, *cnf*,

eae, *afa*, *stx*, *inve*, *aggR*)의 보유여부를 PCR 기법으로 조사하였다. 돈육유래 대장균에서 존재하는 병원성 인자는 *astA*(6.9%), *eae*와 *elt*(4.6%), *estII*(4.0%), *estI*(2.3%), *afa*(1.1%), *cnf*(0.6%)의 순으로 검출되었으나, *cdt*, *stx*, *aggR*, *inve*는 검출되지 않았다. 계육에서 분리된 대장균 42개 중에서 *astA*와 *inve*를 보유하고 있는 병원성 대장균이 각각 1개씩 확인되었다. 특히 *astA*는 돈육과 계육에서 분리된 대장균 중에서 높은 빈도로 존재하고 있음을 확인하였으며, *cnf*와 *afa*같이 기존에 알려지지 않은 병원성 인자들의 존재도 확인되었다.

감사의 글

본 연구는 2008한국과학재단 국제협력연구사업(과제번호: F01-2008-000-10064-0)에 의하여 수행되었으며, 이에 감사의 말씀을 드립니다.

참고문헌

- Bhan, M. K., Khoshoo, V., Sommerfelt, H., Raj, P., Sazawal, S., and Srivastava, R. (1989a) Enteroggregative *Escherichia coli* and *Salmonella* associated with nondysenteric persistent diarrhea. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **8**, 499-502.
- Bhan, M. K., Raj, P., Levine, M.M., Kaper, J.B., Bhandari, N., Srivastava, R., Kumar, R., and Sazawal, S. (1989b) Enteroggregative *Escherichia coli* associated with persistent diarrhea in a cohort of rural children in India. *J. Infect. Dis.* **159**, 1061-1064.
- Choi, C., Kwon, D., and Chae, C. (2001) Prevalence of the enteroggregative *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin 1 gene and its relationship with fimbrial and enterotoxin genes in *E. coli* isolated from diarrheic piglets. *J. Vet. Diagn. Invest.* **13**, 26-29.
- De Rycke, J., Milon, A., and Oswald, E. (1999) Necrotoxic *Escherichia coli* (NTEC): Two emerging categories of human and animal pathogens. *Vet. Res.* **30**, 221-233.
- Hidaka, A., Hokyo, T., Arikawa, K., Fujihara, S., Ogasawara, J., Hasa, A., Hara-Kudo, Y., and Nishikawa, Y. (2009) Multiplex real-time PCR for exhaustive detection of diarrhoeagenic *Escherichia coli*. *J. Appl. Microbiol.* **106**, 410-420.
- Ishiguro, F., Kyota, Y., Mochizuki, M., and Horikawa, T. (2005) An outbreak of diarrhea caused by *Escherichia coli* serogroup O169:HNM harboring a coding gene for enteroggregative *E. coli* heat-stable enterotoxin 1 (*astA*) in Fukui Prefecture. *Jpn. J. Infect. Dis.* **58**, 119-120.
- Itoh, F., Ogino, T., Itho, F., and Watanabe, H. (1992) Differentiation and detection of pathogenic determinants among diarrheogenic *Escherichia coli* by polymerase chain reaction using mixed primers. *Nippon Rinsho.* **50**, 343-347.
- Kadhun, H. J., Ball, H. J., Oswald, E., and Rowe, M. T. (2006) Characteristics of cytotoxic necrotizing factor and cytotoxic distending toxin producing *Escherichia coli*

- strains isolated from meat samples in Northern Ireland. *Food Microbiol.* **23**, 491-497.
9. Kobayashi, K., Seto, K., Yatsuyanagi, J., Saito, S., Terao, M., Kaneko, M., Serikawa, T., Kuramoto, S., Fujisawa, T., Suzuki, R., Yamazaki, M., Hayashi, K., Matsune, W., Yasuoka, T., Horikawa, K., Murakami, K., Kawano, K., Yamada, T., and Ito, K. (2002). Presence of the genes regarding adherence factors of *Escherichia coli* isolates and a consideration of the procedure for detection of diarrheagenic strain. *Kansenshogaku Zasshi* **76**, 911-920.
 10. Le Bouguenec, Lalioui, L., du Merle, L., Jouve, M., Courcoux, P., Bouzari, S., Selvarangan, R., Nowicki, B. J., Germani, Y., Andremont, A., Gounon, P., and Garcia, M. I. (2001) Characterization of AfaE adhesins produced by extraintestinal and intestinal human *Escherichia coli* isolates: PCR assays for detection of Afa adhesins that do or do not recognize Dr blood group antigens. *J. Clin. Microbiol.* **39**, 1738-1745.
 11. Lee, G. Y., Jang, H. I., Hwang, I. G., and Rhee, M. S. (2009) Prevalence and classification of pathogenic *Escherichia coli* isolated from fresh beef, poultry, and pork in Korea. *Int. J. Food Microbiol.* **134**, 196-200.
 12. Levine, M. M., Prado, V., Robins-Browne, R., Lior, H., Kaper, J. B., Moseley, S. L., Gicquelais, K., Nataro, J. P., Vial, P., and Tall, B. (1988) Use of DNA probes and HEp-2 cell adherence assay to detect diarrheagenic *Escherichia coli*. *J. Infect. Dis.* **158**, 224-228.
 13. Nataro, J. P. and Kaper, J. B. (1998) Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Rev.* **11**, 142-201.
 14. Ojeniyi, B., Ahrens, P., and Meyling, A. (1994) Detection of fimbrial and toxin genes in *Escherichia coli* and their prevalence in piglets with diarrhoea. The application of colony hybridization assay, polymerase chain reaction and phenotypic assays. *Zentralbl. Veterinarmed. B.* **41**, 49-59.
 15. Osek, J., Gallien, P., Truszczynski, M., and Protz, D. (1999) The use of polymerase chain reaction for determination of virulence factors of *Escherichia coli* strains isolated from pigs in Poland. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* **22**, 163-174.
 16. Savarino, S. J., Fasano, A., Watson, J., Martin, B. M., Levine, M. M., Guandalini, S., and Guerry, P. (1993) Enterotoxigenic *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin 1 represents another subfamily of *E. coli* heat-stable toxin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90**, 3093-3097.
 17. Schoonderwoerd, M., Clarke, R. C., van Dreumel, A.A., and Rawluk, S. A. (1988) Colitis in calves: natural and experimental infection with a verotoxin-producing strain of *Escherichia coli* O111:NM. *Can. J. Vet. Res.* **52**, 484-487.
 18. Shuman, M. E. and Stock, A. H. (1956) Epidemiologic studies on enteropathogenic *Escherichia coli* diarrhea. *Ann. NY Acad. Sci.* **66**, 108-111.
 19. Spika, J. S., Parsons, J. E., Nordenberg, D., Wells, J. G., Gunn, R. A., and Blake, P. A. (1986) Hemolytic uremic syndrome and diarrhea associated with *Escherichia coli* O157:H7 in a day care center. *J. Pediatr.* **109**, 287-291.
 20. Subekti, D. S., Lesmana, M., Tjaniadi, P., Machpud, N., Sriwati, Sukarma, Daniel, J. C., Alexander, W. K., Campbell, J. R., Corwin, A. L., Beecham, H. J. 3rd, Simanjuntak, C., and Oyoyo, B. A. (2003) Prevalence of enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) in hospitalized acute diarrhea patients in Denpasar, Bali, Indonesia. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **47**, 399-405.
 21. Toshima, H., Uenaka, E., Bi, Y., Nakamura, H., Ogasawara, J., Hase, A., Kamata, Y., and Nishikawa, Y. (2004) Detection and isolation of *Escherichia coli* with a coding gene for enteroaggregative *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin 1 from food and comparison with fecal isolates. *J. Food Prot.* **67**, 2117-2122.
 22. Toth, I., Hrault, F., Beutin, L., and Oswald, E. (2003) Production of cytolethal distending toxins by pathogenic *Escherichia coli* strains isolated from human and animal sources: establishment of the existence of a new *cdt* variant (Type IV). *J. Clin. Microbiol.* **41**, 4285-4291.
 23. Vial, P. A., Robins-Browne, R., Lior, H., Prado, V., Kaper, J. B., Nataro, J. P., Maneval, D., Elsayed, A., and Levine M. M. (1988) Characterization of enteroadherent-aggregative *Escherichia coli*, a putative agent of diarrheal disease. *J. Infect. Dis.* **158**, 70-79.
 24. Wanke, C. A., Schorling, J. B., Barrett, L. J., Desouza, M. A., and Guerrant, R.L. (1991) Potential role of adherence traits of *Escherichia coli* in persistent diarrhea in an urban Brazilian slum. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **10**, 746-751.
 25. Yamamoto, T. and Echeverria, P. (1996) Detection of the enteroaggregative *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin 1 gene sequences in enterotoxigenic *E. coli* strains pathogenic for humans. *Infect. Immun.* **64**, 1441-1445.
 26. Yamamoto, T. and Nakazawa, M. (1997) Detection and sequences of the enteroaggregative *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin 1 gene in enterotoxigenic *E. coli* strains isolated from piglets and calves with diarrhea. *J. Clin. Microbiol.* **35**, 223-227.

(Received 2009.11.3/Revised 2010.2.5/Accepted 2010.2.19)