

# 소와 돼지에서 Immunomagnetic separation법을 이용한 *Escherichia coli* O157:H7 분리 및 특성 조사

인수공통전염병팀

조미영 · 조성범 · 채희선 · 김두환 · 배내수 · 이정학 · 기노준 · 이병동

## Investigation on the prevalence and properties of the *Escherichia coli* O157 strains isolated from bovine and swine by immunomagnetic separation

Zoonosis Team

Mi-yeong Jo, Seong-beom Cho, Hee-sun Chae, Doo-hwan Kim, Nae-soo Bae,  
Jung-hark Lee, No-joon Ki, and Byung-dong Lee

### Abstract

Rectal contents from cattle collected immediately after slaughter were examined for the presence of enterohemorrhagic *E. coli* of serogroup O157 using an immunomagnetic separation technique. *E. coli* O157 strains were isolated from 66 of 1,013 bovine feces(7.6%), 2 of 440 bovine carcasses and not isolated from swine feces. These *E. coli* O157 stains were analyzed for the phenotypic characters and presence of virulence genes. Atypical biochemical features observed in most isolates are showed rhamnos- and trehalose-negative, and one strain was lysin decarboxylase- negative. Among the 68 *E. coli* O157 strains, 55 isolates expressed the H7 flagellar antigen and 13 isolates were non-motile. According to the results from multiplex PCR, 49(71%) of the 68 *E. coli* O157:H7(H-) isolates had verotoxin II gene only; 17(25%) had both verotoxin I and verotoxin II genes; Two isolates did not have any verotoxins(2.9%). All *E. coli* O157:H7 isolates possessed *eae* A gene and *uid* A gene.

Key words : immunomagnetic separation, bovine, swine, *E. coli* O157:H7

### 서론

*Escherichia coli* O157:H7은 1982년 사람에서 출혈성 장염을 일으키는 원인 체로 최초로 보고되었으며<sup>1)</sup>, 감염시 무증상에서부터 비출혈성 설사를 나타낼 수 있으

며, 소아나 노인에서 hemolytic uremic syndrome (HUS) 또는 사망에 이르기까지 여러 가지 다양한 질병을 일으키는 것으로 알려져 있다<sup>2, 3)</sup>.

지금까지 야채나, 멸균하지 않은 우유, 사과주스, 요구르트 등의 섭취에 의한 감염보고가 있으나<sup>4, 5, 6, 7)</sup>, 식

## 재료 및 방법

품을 통한 *E. coli* O157:H7의 감염증은 소 분변에 오염된 쇠고기가 가장 많은 원인을 차지하고 있다<sup>6, 8, 9, 10</sup>. 우리 나라에서는 소와 돼지의 도체표면 및 분변에서 몇 건의 분리보고가 있었으며<sup>11, 12</sup>, 사람에서는 1건의 HUS 감염증에 관한 보고<sup>13</sup>가 있었고, 식중독 환자에서 *E. coli* O157을 분리하였다는 보고<sup>14</sup>가 있다.

*E. coli* O157:H7이 다른 *E. coli* 들과 비교되는 가장 큰 특징은 24시간 내에 sorbitol을 분해하지 못하는 것과  $\beta$ -glucuronidase을 생산하지 못한다는 것이다<sup>15</sup>. 이런 점을 이용하여 *E. coli* O157:H7의 분리를 증가시키기 위해 cefixime-tellurite를 첨가한 sorbitol MacConkey medium<sup>16</sup>이 쓰이고 있으며,  $\beta$ -glucuronidase 활성 유무를 알 수 있는 chromocult agar 등의 사용이 보고되어 있다<sup>17</sup>. 그러나 sorbitol을 분해하며, 운동성이 없는 *E. coli* O157:H에 의한 대량 감염된 경우<sup>18</sup>와  $\beta$ -glucuronidase를 생산하는 변이주의 존재<sup>19</sup>, 그리고 다른 생화학적 검사시 변이를 보이는 균주에 대한 보고<sup>20</sup> 등으로 미루어 보아 더 특이적인 분리 방법이 요구되어 왔다.

Immunomagnetic separation(IMS) 기법은 *E. coli* O157에 대한 항체가 코팅된 bead를 이용하여 배양액 중의 *E. coli* O157을 선택적으로 분리해 내는 방법으로 최근 많은 연구자들에 의해 사용되고 있다<sup>21, 22, 23, 24, 25, 26, 27</sup>. 이러한 IMS 방법은 분자생물학적 방법에 비해 비용과 노력이 절감되고 전통적인 배양 법보다 민감도가 훨씬 높았다고 보고되었다<sup>21, 23, 24</sup>.

*E. coli* O157:H7의 중요 병원성 인자로는 verotoxin이 알려져 있다. 그러나 이것들만으로 병원성을 나타내기에는 충분하지 않으며 장관상피세포에 부착하여 affacing-effacing 현상을 나타내는 Locus of enterocyte effacement (LEE) 유전자와 60MDa 크기의 virulence plasmid인 hemolysin 유전자가 요구된다<sup>2</sup>. 따라서 *E. coli* O157:H7에 의한 공중보건학적인 위험성을 평가하기 위해서는 verotoxin과 함께 이들 병원성 인자에 대한 조사도 함께 병행되어야 한다.

본 연구는 우리 나라의 도축장에 출하되는 건강한 소의 분변에서 IMS 기법을 이용하여 *E. coli* O157:H7을 분리하고, 이들 분리주들의 혈청학적, 생물학적 특성 및 병원성 인자를 조사함으로써 국내에서 분리되는 *E. coli* O157:H7의 공중보건학적 위험성을 평가하는 기초자료로 제공하고자 실시하였다.

### 1. 공시재료

2000년 4월부터 2001년 11월까지 서울시내 도축장에 출하되는 소와 돼지의 분변을 직장으로부터 채취하였으며, 소 도체표면은 멸균된 가아제로 swabing 하여 즉시 실험에 사용하였다.

### 2. *E. coli* O157:H7의 분리 및 동정

#### 1) Immunomagnetic separation(IMS) 기법을 이용한 분리

IMS 기법은 Champman 등<sup>21</sup>의 방법을 일부 변형하여 실시하였다. 즉, 채취한 분변에 10배 용량이 되도록 novobiocin(20mg/l)을 첨가한 modified EC medium 배지를 넣어 37°C에서 18시간 동안 증균하였다. 증균된 배양액 1ml에 *E. coli* O157 antibody가 코팅된 Magnetic bead(Dynal, Oslo, Norway)20ul을 넣어 10분간 실온에서 회전시킨 후, Magnetic Concentrator(MPC-M, Dynal, Oslo, Norway)에 넣고 5분간 정치시켰다. 그 다음 상층액을 제거하고 PBST(0.05% Tween 20, phosphate-buffered saline, pH 7.2)로 2회 세척을 실시하였다. 세척 후 PBS(phosphate-buffered saline, pH 7.2) 50ul를 넣고 재부유시켰으며 멸균한 면봉을 이용하여 CT-SMAC(cefixime 0.05mg/l, potassium tellurite 2.5mg/l)와 Chromogenic Medium(O157:H7 ID, biomeriux, Lyon, France)에 도말하여 37°C에서 18~24시간 배양시켰다.

CT-SMAC 배지에서 sorbitol을 분해하지 않은 집락과 Chromogenic agar에서 녹색을 띄는 전형적인 집락을 선택하여 *E. coli* O157 latex test kit(Oxoid)로 응집 반응을 검사한 후 응집된 집락은 MacConkey agar에 도말하여 lactose 분해능을 확인하였다.

#### 2) 생화학적 특성검사

MacConkey agar에서 lactose를 분해한 집락을 tryptic soy agar에 계대배양한 후 생화학적 특성 검사를 위하여 ID 32E system(biomerieux, Lyon, France)을 이용한 검사와 MUG(4-methylumbelliferyl- $\beta$ -D-glucuronide) 분해능 조사, 운동성 조사 등을 실시하였다.

#### 3) 혈청형 동정

O 및 H 항혈청에 대한 응집반응은 tube agglutination test(Difco Laboratories, USA)로 실시하였다.

### 3. Cytotoxicity 검사

Verotoxin의 세포독성 검사는 Karmali 등<sup>3)</sup> 등의 방법에 따라 실시하였으며, 실험에 사용된 vero cell은 10% fetal bovine serum(Gibco-BRL)을 첨가한 Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM, Gibco-BRL)으로 5% CO<sub>2</sub>, 37°C의 조건에서 계대 배양하면서 사용하였다. Verotoxin은 *E. coli* O157으로 확인된 분리주를 antibiotic medium(no. 3, Difco)에 접종하여 37°C에서 20~24시간 진탕 배양한 후 7,000 ×g에서 30분간 원심 분리하여 상층액을 0.22μm membrane filter(Millipore)로 여과한 것을 4°C에 저장하며 실험에 사용하였다. 세포변성효과를 확인하기 위해서 여과한 원액을 2배 계대 희석하여 단층배양한 vero cell에 100ul씩 접종하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건으로 3일간 배양하면서 매일 관찰하였다.

### 4. Multiplex Polymerase Chain Reaction

#### 1) Genomic DNA 추출

순수 분리한 분리주를 tryptic soy broth에 접종하여 37°C에서 18시간 배양한 후 12,000×g에서 2분간 원심 분리하여 pellet을 TE buffer로 2회 세척한 후 D.W 200μl에 재부유시켰다. 부유액이 들어 있는 튜브를 100°C에서 5~7분간 가열한 후 12,000×g에서 2분간 원심 시켜 상층액을 DNA template로 사용하였다.

#### 2) Primer

분리주로부터 *eae* A, verotoxin I, verotoxin II 및 *uid* A gene을 동시에 검출하기 위한 primer는 정 등<sup>29)</sup>이 보고한 primer를 (주)바이오니아에 합성 의뢰하여 사용하였다(Table 1).

#### 3) PCR 조건

**Table 1.** Nucleotide sequence of primers used in this study

Primers	Nucleotide sequence(5'-3')	Target	PCR products(bp)
LP30	CAGTTAATGTGGTGGCGAAGG	<i>slt</i> I	348
LP31	CACCAGACAATGTAACCGCTG		
LP43	ATCCTATTCCCAGGAGTTTACG	<i>slt</i> II	584
LP44	GCGTCATCGTATACACAGGAGC		
PT2	GCGAAAACGTGGAATTGGG	<i>uid</i> A	252
PT3	TGATGCTCCATCACTTCCTG		
AE19	CAGGTCGTCTGTCTGCTAAA	<i>eae</i> A	1,087
AE20	TCAGCGTGGTTGGATCAACT		

PCR 조건은 정 등<sup>29)</sup>의 방법으로 수행하였다. 즉, PCR mixture는 1×PCR buffer(Takara), 0.2mM dNTP, 50pmole의 각각의 primer와 2.5U Taq DNA polymerase(Takara)를 사용하였다. PCR 반응조건은 94°C에서 3분간 pre-denaturation 한 후, 94°C 1분간 denaturation, 64°C 50초간 annealing, 72°C 1분간 extension과정을 35 cycle 실시하였으며, PCR 반응산물 10μl을 2.0% agarose gel에 전기 영동하여 특이밴드를 확인하였다.

## 결 과

### 1. 분리율

2000년 4월부터 2001년 11월까지 총 1,013건의 소 분변, 440건의 소 도체표면 그리고 650건의 돼지 분변을 IMS법을 이용하여 *E. coli* O157:H7의 분리를 시도한 결과 총 68건이 분리되었다(3.2%). 소 분변에서 66건 및 소 도체표면에서 2건의 *E. coli* O157 균이 분리되었으며, 돼지분변에서는 분리되지 않았다. 계절별로 분리율을 보면, 기온이 높아지기 시작하는 5월부터 분리되기 시작하여 10월까지 분리되었으며 11월부터 4월까지

**Table 2.** Monthly changes in recovery of *E. coli* O157: H7(H-) from bovine feces, bovine carcasses, swine feces

Month		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	total
bovine feces	No. examind	33	40	40	69	84	146	58	104	99	215	60	65	1,013
	No. positive	0	0	0	0	19	14	5	10	12	6	0	0	66(6.5%)
bovine carcasses	No. examind	0	0	0	0	19	102	15	141	99	9	20	35	440
	No. positive	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	2(0.45%)
swine feces	No. examind	70	70	70	70	70	70	70	60	50	50	0	0	650
	No. positive	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0(0%)

지는 분리되지 않았다(Table 2.)

## 2. 분리균의 혈청학적, 생화학적 성상 및 세포독성 검사

총 67개의 분리주 중 55개의 분리주는 모두 운동성을 가지고 있었으며, H7 항혈청에 응집되었으나, 나머지 13개의 균주는 운동성을 가지고 있지 않았다(Table 3).

대부분의 분리주들이 비전형적으로 rhamnos와 trehalose를 분해하지 못하였으며, 1개의 분리주는 lysin decarboxylase를 분해하지 못하였다.

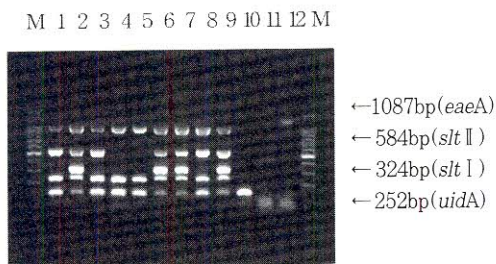
verocell에 대한 세포독성 실험결과 66개의 균주는 verocell에 대한 독성을 보였으나, 나머지 2개의 균주는 독성을 보이지 않았다.

## 3. Multiplex PCR 결과

*slt I*, *slt II*, *eae A*, *uid A* gene을 동시에 검출하기 위한 multiplex PCR 결과는 Fig. 1과 같다. 모든 분리

**Table 3.** Comparison of the multiplex PCR assay in *E. coli* O157 strain isolates

serotype	No. of strains isolated(%)	multiplex PCR assay			
		<i>slt 1</i>	<i>slt 2</i>	<i>eae A</i>	<i>uid A</i>
<i>E. coli</i> O157:H7	49(71%)	-	+	+	+
<i>E. coli</i> O157:H7	2(2.9%)	-	-	+	+
<i>E. coli</i> O157:H7	4(5.9%)	+	+	+	+
<i>E. coli</i> O157:H-	13(19.1%)	+	+	+	+



**Fig. 1.** Characterization of *E. coli* O157:H7(H-) strains by multiplex PCR assay.

Lane M: 100bp ladder (Takara)  
 Lane 1&3: *E. coli* O157:H7 strain showing *slt II*, *eaeA*, and *uidA* gene  
 Lane 2: *E. coli* O157:H7 strain showing *slt I*, *slt II*, *eaeA*, and *uidA* gene  
 Lane 4&5: *E. coli* O157:H7 strain showing *eaeA*, and *uidA* gene without *slt I* or *slt II* gene  
 Lane 6&7: *E. coli* O157:H- strain showing *slt I*, *slt II*, *eaeA*, and *uidA* gene  
 Lane 8: *E. coli* O157:H7 strain showing *slt II*, *eaeA*, and *uidA* gene  
 Lane 9: O157:H7 ATCC strain showing *slt I*, *slt II*, *eaeA*, and *uidA* gene  
 Lane 10, 11, 12: *E. coli* NCTC 9001, *K. pneumoniae*, and *K. oxytoca*

주들이 *eae A*와 *uid A* gene을 보유하고 있었으며, *slt II* 만을 생산하는 균주가 가장 많았다(Table 3).

## 고찰

*E. coli* O157:H7에 의한 식중독 감염은 6개 대륙 30여개 국가에서 발생하고 있으며, 감염 원인이 매우 다양하다. 지금까지 보고된 주 감염 원인은 소고기, 돼지고기, 닭 및 양고기 관련 산물이었으며<sup>30, 31</sup>, 특히 소는 가장 중요한 전염원으로 알려져 있다<sup>6, 8, 9, 10, 32</sup>.

우리 나라에서 *E. coli* O157:H7에 대한 분리율 조사는 차와 김 등<sup>12</sup>이 소와 돼지의 분변에서 각각 0.78%와 0.48%, 권 등<sup>33</sup>이 정육점 쇠고기를 수거하여 검사한 결과 0.7%, 그리고 고와 홍<sup>11</sup>이 쇠고기, 돼지고기 그리고 닭고기의 도체표면에 대해 검사한 결과 쇠고기에서만 *E. coli* O157:H7을 2건 분리(1.1%)한 예가 보고되어 있다.

본 실험에서 IMS 법을 이용하여 총 1,013건의 소 분변, 440건의 소 도체표면 그리고 650건의 돼지 분변을 검사한 결과, 소 분변에서 66건(6.5%), 소 도체표면에서 2건(1.45%)이 분리되었으며, 돼지 분변에는 1건도 분리되지 않았다. 다른 나라에서 IMS기법을 이용하여 *E. coli* O157:H7을 분리한 성적을 보면 1.31%에서 10.6%까지로 다양하게 보고되어 있다<sup>23, 24, 26, 27, 34</sup>. Karch 등<sup>23</sup>은 IMS법이 분자생물학적인 방법보다 시간과 노력을 덜 필요로 하면서도 효과적으로 *E. coli* O157을 분리할 수 있는 것으로 보고하였으며, Chapman 등<sup>21</sup>도 소 분변에서 *E. coli* O157:H7을 분리할 때, IMS기법이 전통적인 직접 배양방법에 비하여 100배 이상 민감하였다고 보고하였는데, 본 실험에서도 IMS 기법을 이용하여 분리를 시도하였던 바, 기존의 보고<sup>11, 12, 33</sup>에 비하여 높은 분리율을 보였다.

계절별 분리율을 보면, 기온이 높아지기 시작하는 5월부터 분리되기 시작하여 10월까지 분리되었으며 11월부터 4월까지의 분리되지 않았다. Hancock 등<sup>35</sup>과 Chapman 등<sup>36</sup>이 소 분변으로의 계절적 변화에 따른 *E. coli* O157:H7의 배출 변화에 대해 연구한 결과 여름과 가을에 다발 하였으며, 이는 사람의 *E. coli* O157:H7 감염증 발생시기와 일치하는 양상을 보였다고 보고한 바 있다. Kudva 등<sup>37</sup>이 양 분변에서 *E. coli*

O157:H7의 분리를 시도한 결과에서도 여름에만 분리되었다고 보고한 바 있어 본 연구 결과와 유사하였다. 고와 홍<sup>11)</sup>이 보고한 결과에서도 *E. coli* O157:H7은 여름에만 분리되었다고 보고한 바 있다.

*E. coli* O157:H7은 sorbitol과  $\beta$ -glucuronidase에 대한 활성 이외에도 ornithine decarboxylase, arginine dihydrolase, urease와 5-ketogluconate에 대해 전형적인 *E. coli*와는 다른 생화학적 활성을 보일 수 있으며, rhamnose, adonitol, D-arabitol, trehalose와 inositol에 대해서도 다른 생화학적 양상을 보이는 것으로 알려져 있다<sup>38)</sup>. James 등<sup>20)</sup>도 위와 유사한 결과를 보고한 바 있으며, 본 실험 결과 우리 나라에서 분리된 대부분의 분리주들은 rhamnose와 trehalose를 분해하지 못했으며, 한 개의 분리주는 lysin decarboxylase를 분해하지 못하였다. 또, 최근에는  $\beta$ -glucuronidase 활성을 보이는 *E. coli* O157:H7의 분리<sup>19)</sup>가 보고되었으며, Ammon 등<sup>18)</sup>에 의해 sorbitol을 분해하는 *E. coli* O157:H-에 의한 HUS 환자의 대량 발생도 보고되어 있다. 본 연구에서 분리된 67개의 분리주 모두는 sorbitol을 분해하지 못하였으며  $\beta$ -glucuronidase의 활성을 보이지 않았다. 사람의 감염과 관련하여 운동성이 없는 균주의 분리가 점점 증가하고 있는 데 한 예로, 90년대 초기에는 6%에 불과하던 *E. coli* O157:H-가 96년도에는 47%로 증가되었다는 보고가 있다<sup>39)</sup>. 본 연구결과에서는 13개의 분리주가 운동성을 가지고 있지 않은 것으로 나타났다.

*E. coli* O157:H7의 병원성 인자인 verotoxin I, verotoxin II, *eaeA* gene 및 *E. coli* O157:H7의 특이 유전자인 *uid A* gene을 동시에 검출하기 위한 multiplex PCR 결과 모든 분리주들이 *eae A*와 *uid A* gene을 보유하고 있으며, verotoxin II만을 생산하는 분리주가 가장 많은 것으로 나타났다(74.6%). 분리주 중 두 개의 분리주는 verotoxin I, II를 모두 보유하지 않았다. 십여년 전의 보고에 따르면 verotoxin I과 verotoxin II가 같이 분리되는 비율이 76%로 가장 높았으나<sup>40)</sup>, 최근에는 verotoxin II만을 보유한 *E. coli* O157:H7 분리주가 증가한 것을 볼 수 있다<sup>41, 42)</sup>. Rowland와 Patricia<sup>43)</sup>에 따르면, 소의 연령에 따라 우세한 verotoxin type이 달라지는 데, 이유전 송아지에서는 verotoxin I, II가 모두 분리되지만, 이유 후에는 verotoxin I이 우세하게 분리되고, 더 나이 먹은 소에

서는 verotoxin II가 우세하게 분리된다고 보고하였다. 국내 도축장에 출하되는 소의 연령이 2~3세인 점을 미루어 보아 본 실험에서 verotoxin II가 우세하게 분리되어 위와 유사한 결과를 인정할 수 있었다. 한편, 모든 분리주들이 *eae A* gene을 가지고 있었는데, 이는 인체에 감염시 verotoxin과 함께 병원성을 나타낼 가능성이 있는 것으로 나타났다.

이상의 결과를 볼 때 우리나라에서 소 분변에 의한 도체의 오염과 이에 따른 사람으로의 감염도 유발될 가능성이 높은 것으로 여겨진다. 특히 육회, 천엽, 생간 등을 날 것으로 먹는 식습관과 패스트푸드의 확대 보급으로 우리 나라에서도 *E. coli* O157:H7(H-)으로 인한 발병 가능성은 충분히 잠재되어 있다고 볼 수 있다. 따라서 도축장 위생관리를 강화하여 도축과정에서 분변 오염을 최소화함으로써 이러한 가능성을 줄일 수 있을 것이며, 아울러 분리주에 대한 역학적 분석이 지속적으로 수행되어야 할 것이다.

## 참 고 문 헌

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. Paul S Mead, Patricia M Griffin: *Escherichia coli* O157:H7. Lancet. 352: 1207-1212 (1998.)
3. Karmali MA: Infection by verocytotoxin-producing *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev. 2: 15-38 (1989)
4. Watanabe Y, Ozasa K, Mermin JH, Griffin PM, Masuda K, Imashuku S, Sawada T: Factory outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection in Japan. Emerg Infect Dis. 3: 424-428 (1999)
5. Cody SH, Glynn MK, Farrar JA, Cairns KL, Griffin PM, Kobayashi J, Fyfe M, Hoffman R, King AS, Lewis JH, Swaminathan B, Bryant RG, Vugia DJ: An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection from unpasteurized

- commercial apple juice. *Ann Intern Med.* 130(3): 202-209 (1999)
6. Doyle MP: *Escherichia coli* O157:H7 and its significance in foods. *Intern J Food Microbiol.* 12: 289-302 (1991)
  7. Morgan D, Newman C, Hutchison D, et al: Verotoxin producing *Escherichia coli* O157 infections associated with the consumption of yoghurt. *Epidemiol Infect.* 111: 181-187 (1993)
  8. Maria A Montenegro, Michal Bulte, Thorsten Trumpf, Stojanka Aleksic, Gerhard Reuter, Eberhard Bulling, and Reiner Helmuth: Detection and characterization of fecal verotoxin-producing *Escherichia coli* from healthy cattle. *J Clin Microbiol.* 28(6): 1417-1421 (1990)
  9. G Wang, T Zhao, and MP Doyle: Fate of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in bovine feces. *Appl Envir Microbiol.* 62: 2567-2570 (1996)
  10. Wells JG, Davis BR, Wachsmuth IK, et al: Laboratory investigation of hemorrhagic colitis associated with rare *Escherichia coli* serotype. *J Clin Microbiol.* 18: 512-520 (1983)
  11. 고주언, 홍종해: 도체표면의 분변오염과 verotoxin 생성 *Escherichia coli* O157:H7 분리에 관한 연구. *한국식품위생안전성학회지.* 12(1): 78-82 (1997)
  12. 차인호, 김용환: 동물분변에서 *Escherichia coli* O157:H7의 분리 및 이들 균이 생산하는 Verotoxin-2의 생물화학적 특성. I. 소와 돼지의 분변에서 *E coli* O157:H7의 분리 및 Verotoxin-2의 생산에 관여하는 파야지의 분리에 관하여. *대한수의학회지.* 36(2): 371-378 (1996)
  13. Kim YB, Okuda J, Matsumoto C, Morigaki T, Asai N, Watanabe H, Nishibuchi M: Isolation of an *Escherichia coli* O157:H7 strain producing Shiga toxin 1 but not Shiga toxin 2 from a patient with hemolytic uremic syndrome in Korea. *FEMS Microbiol Lett.* 166(1): 43-48 (1998)
  14. 국립보건원: 감염병 발생정보. 5: 2-3 (1994)
  15. Meng J, Doyle MP, Zhao S, et al: The detection and control of *Escherichia coli* O157:H7 in food, *Trends Food Sci Technol.* 5: 179-185 (1994)
  16. Tomohiko Fujisawa, Shin sata, Katsuhiko Aikawa, Takanori Takahashi, Shiro Yamai and Toshio Shimada: Modification of sorbitol MacConkey medium containing cefixime and tellurite for isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from radish sprouts. *Appl Environ Microbiol.* 66(7): 3117-3118 (2000)
  17. Manafi M: New developments in chromogenic and fluorogenic culture media. *Int J Food Microbiol.* 60: 205-218 (2000)
  18. Ammon A, Petersen LR, Karch H: A large outbreak of hemolytic uremic syndrome caused by an unusual sorbitol-fermenting strain of *Escherichia coli* O157:H-. *J Infect Dis.* 179(5): 1274-1277 (1999)
  19. Hayes P S, Blom K, Feng P, Lewis J, Strockbine N A, Swaminathan B: Isolation and Characterization of a  $\beta$ -glucuronidase-producing strain of *Escherichia coli* serotype O157:H7 in the United States. *J Clin Microbiol.* 33: 3347-3348 (1995)
  20. James M Ware, Sharon L Abbott, J Michael Janda: A new diagnostic problem: isolation of *Escherichia coli* O157:H7 strains with aberrant biochemical properties. *Diag Microbiol Infect Dis.* 38: 185-187 (2000)
  21. Chapman PA, Wright DJ, Siddons CA: A comparison of immuno magnetic separation and direct culture for the isolation of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 from bovine faeces. *J Med Microbiol.* 40: 424-427 (1994)
  22. Thomas E Besser, Dale D Hancock, Lori C Pritchett, Ella M McRae, Daniel H Rice, and Phillip I Tarr: Duration of detection of fecal

- excretion of *Escherichia coli* O157:H7 in cattle. *J Infect Dis.* 175: 726-729 (1997)
23. Karch H, Janetzki-Mittmann C, Aleksic S, Datz M: Isolation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 strains from patients with hemolytic-uremic syndrome by using immunomagnetic separation, DNA-based methods, and direct culture. *J Clin Microbiol.* 34(3): 516-519 (1996)
  24. Heuvelink AE, Biggelaar FLAM, Boer E, et al: Isolation and Characterization of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 strains from Dutch cattle and sheep. *J Clin Microbiol.* 36(4): 878-882 (1998)
  25. Pyle BH, Broadaway SC, McFeters GA: Sensitive detection of *Escherichia coli* O157:H7 in food and water by immunomagnetic separation and solid-phase laser cytometry. *Appl Environ Microbiol.* 65(5): 1966-1972 (1999)
  26. Varaporn Vuddhakul, Nuanjira Patararungroing, Punnee Pungrasamee, Siroj Jitsurong, Tadaaki, Norio Asai, Mitsuki Nishibuchi: Isolation and characterization of *Escherichia coli* O157 from retail beef and bovine feces in Thailand. *FEMS Microbiology Letters.* 182: 343-347 (2000)
  27. Elina Lahti, Markku Keskimäki, Leila Rantala, Paula Hyvonen, Anja Siitonen, Tuula Honkanen-Buzalski: Occurrence of *Escherichia coli* O157 in Finnish cattle. *Vet Microbiol.* 79: 239-251 (2001)
  28. Bauer AW, Kirby MM, Sherris JC, et al: Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol.* 45: 493-496 (1966)
  29. Suk-chan Jung, Byeong-yeal Jung, Jang-won Yoon, Yun-sang Cho, Jung-yeom Kim, Yong-ho Park: Development of multiplex-PCR for the rapid detection of *Escherichia coli* O157:H7 from raw beef. *Korean J Vet Res.* 36(1): 173-181 (1998)
  30. Doyle MP, Schoeni JL: Survival and growth characteristics of *Escherichia coli* associated with hemorrhagic colitis. *Appl Environ Microbiol.* 48: 855-856 (1984)
  31. Heuvelink AE, Zwartkuis-Nahuis, Biggelaar FLAM, Leeuwen WJ, Boer E: Isolation and characterization of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 from slaughter pigs and poultry. *Int J Food Microbiol.* 52: 67-75 (1999)
  32. Renwick SA, Wilson JB, Clarke RC: Evidence of direct transmission *Escherichia coli* O157:H7 infection between calves and a human. *J Infect Dis.* 168: 792-793 (1993)
  33. 권경란, 김소희, 장영미, 곽효선, 백선영, 최병희, 김형일, 권영미: 식육중 *Escherichia coli* O157의 분리 및 균의 특성조사에 관한 연구. *국립보건원보.* 32: 529-534 (1995)
  34. McDonough PL, Rossiter CA, Rebhun RB, Stehman SM, Lein DH, Shin SJ. Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 from cull dairy cows in New York state and comparison of culture methods used during preharvest food safety investigations. *J Clin Microbiol.* 38(1): 318-322 (2000)
  35. Hancock DD, Besser TE, Kinsel ML, Tarr PI, Rice DH, Paros MG: The prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 in dairy and beef cattle in Washington state. *Epidemiol Infect.* 113: 199-207 (1994)
  36. Chapman PA, Cerdan Malo AT, Ellin M, Ashton R, Harkin: *Escherichia coli* O157 in cattle and sheep at slaughter, on beef and lamb carcasses and in raw beef and lamb products in South Yorkshire, UK. *Int J Food Microbiol.* 64(1-2): 139-50 (2001)
  37. Kudva IT, Hatfield PG, Hovde CJ: Characterization of *Escherichia coli* O157:H7 and other Shiga toxin-producing *E. coli* serotypes isolated from sheep. *J Clin*

- Microbiol. 355(4): 892-899 (1997)
38. Abbott S L, D F Hanson, T D Felland, S Connell, A H Shum and J M Janda: *Escherichia coli* O157:H7 generates a unique biochemical profile on MicroScan conventional gram-negative identification panels. J Clin Microbiol. 32: 823-824 (1994)
39. Fields PI, Blom K, Hughes HJ, Helsel LO, Feng P, Swaminathan B: Molecular characterization of the gene encoding H antigen in *Escherichia coli* and development of a PCR-restriction fragment length polymorphism test for identification of *E. coli* O157:H7 and O157:NM. J Clin Microbiol. 35(5): 1066-1070 (1997)
40. Ostroff SM, Tarr PI, Neill MA, Lewis JH, Hargrett-Bean N, Kobayashi JM: Toxin genotypes and plasmid profiles as determinants of systems sequelae in *Escherichia coli* O157:H7 infections. J Infect Dis. 160: 994-998 (1989)
41. Allison L, Stirrat A, Thomson-Carter FM: Genetic heterogeneity of *Escherichia coli* O157:H7 in Scotland and its utility in strain subtyping. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 17(12): 844-848 (1998)
42. Akiba M, Masuda T, Sameshima T, Katsuda K, Nakazawa M: Molecular typing of *Escherichia coli* O157:H7 (H-) isolates from cattle in Japan. Epidemiol Infect. 122(2): 337-341 (1999)
43. Rowland Cobbold, Patricia Desmarchelier: Characterization and clonal relationship of shiga-toxigenic *Escherichia coli*(STEC) isolated from Australian dairy cattle. Vet Microbiol. 79: 323-335 (2001)