

대장균의 이열성장독소 생산기전

서울대학교 의과대학 미생물학교실

최명식 · 이광호 · 장우현 · 이승훈

=Abstract=

Mechanism of Heat-Labile *E. coli* Enterotoxin Production

Myoung Sik Choi, Kwang Ho Rhee, Woo Hyun Chang and Seung Hoon Lee

Department of Microbiology, College of Medicine, Seoul National University

Enterotoxigenic *E. coli* is one of the major causative agents of the infantile diarrhea and traveler's diarrhea.

The heat-labile enterotoxin is thought to be a virulence factor in the pathogenesis of the diarrhea and to be a marker for identification of the enterotoxigenic *E. coli* from non pathogenic *E. coli*.

Therefore knowledge about the heat-labile enterotoxin is essential not only for understanding the pathogenesis but also for the diagnosis of the diarrhea.

However the in-vitro heat-labile enterotoxin production is reported to be greatly affected by the cultural condition.

In this regards, this study was designed to know the optimal conditions for the production of the heat-labile enterotoxin by assaying the permeability factor in the 18 hours culture supernatant of *E. coli* 08K25 (B2) H9 and of *E. coli* 015H11.

Results obtained were summerized as follows:

1. Amounts of heat-labile enterotoxin produced were greater at initial pH 8.5 than at 7.0 of CYES-2 broth culture. However, the bacterial growth itself was more abundant at 7.0 than at 8.5.
2. Heat-labile enterotoxin per unit volume of culture supernatant was greater at shaking culture than at standing culture condition, but ratio of the enterotoxin produced over the unit mass of *E. coli* calculated was greater at standing culture than shaking culture condition, indicating that the greater yields of the toxin produced at shaking culture was due to increase in *E. coli* cell mass compared to the standing culture condition:
3. The enterotoxin produced in the lincomycin (128 microgram/ml) supplemented media was 5 or 11 times greater on the basis of enterotoxin per unit mass of *E. coli*, compared to the lincomycin-non-supplemented media, indicating that lincomycin itself increases the enterotoxin production.
4. Treatment of 18 hours culture of *E. coli* with polymyxin B (0.2 mg/ml) for 1 hour increased the yields of enterotoxin amounting to 2 or 5 times of the non-treated control cultures.

I. 서 론

장독성대장균에 의해 사람에게서 유발되는 설사는 1968년 Calcutta에서 콜레라가 유행할때 Gorbach⁹⁾ (1971)

등 및 Sack¹¹⁾ (1971) 등에 의해 처음으로 보고되었으며 최근에 들어서는 소아의 설사질환 및 여행자설사 (Travelers' diarrhea)의 주요 원인균의 하나로 보고되고 있다.

본 연구는 1982년도 아산사회복지사업재단 연구비의 보조로 이루어진 것임.

이러한 장독성대장균은 장독소를 생산하여 장관점막

에 작용, 수분의 장관내 배출을 증가시켜 설사를 유발시킨다고 알려져 있으며 내열성장독소(Evans et al.,²⁾ 1973. Scotland et al.,¹²⁾ 1981. Jacks et al.,⁷⁾ 1974. Moon et al.,⁹⁾ 1978. Newsome et al.,¹⁰⁾ 1978. Whipp et al.,⁴⁾ 1981.)와 이열성장독소(Clements et al.,¹⁾ 1979. Evans et al.,³⁾ 1973. Scotland et al.,⁸⁾ 1981.)의 두 종류의 장독소를 생산한다고 보고되고 있다.

장독성대장균과 비병원성대장균을 분리 동정하는데는 생화학적반응을 토대로한 식별방법이 없기 때문에 장독소 생산 유무를 생물학적 측정법으로 결정하는 것이 균의 동정에 있어 주요한 지침이 된다.

따라서 장독소를 생산하기 좋은 최적조건을 배양시 유지하는 것은 장독성대장균을 동정하는데 있어 감수성을 높이는 중요한 관건이 된다. Mundell 등¹⁰⁾ (1976)은 배지의 구성성분 및 pH 등이 장독성대장균의 이열성장독소 생산에 중요한 영향을 미친다고 보고하고 있어 논자는 이열성장독소를 생산하는데 있어 배양최적조건을 알아보기 위해 배지의 pH, 통기, lincomycin 첨가 및 polymyxin B 처리 등 배양조건을 달리하여 얻은 배양상청액의 이열성장독소 독소능을 비교 검토하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 균 주

E. coli O8K25(B2) H9의 혈청형을 가진 CDC No. B 7575-11 균주의 세계보건기구에서 분양받은 *E. coli* O15 H11(LT⁻ST⁻)를 사용하였다.

한편 *E. coli* O 8 K25(B2) H9의 lincomycin 내성 균주를 얻기 위해 균주를 점차적으로 lincomycin 함량이 높은 CYES-2 한천배지에 계대배양하여 내성균주를 얻었으며 *E. coli* O 15 H 11는 원래부터 lincomycin 에 내성균주였다.

2. 항생제

Lincomycin은 한국업존주식회사 연구실에서 분양 받은 lincomycin 표준분말(860 mcg/mg)을 사용하였으며 polymyxin B는 한국업존주식회사에서 구입한 표준분말(8,104 unit/mg)을 사용하였다.

3. 배지제작

Casamino acid Yeast Extract Salt broth-2 (CYES-2) 배지와 pepton-salt slant는 Evans 등⁴⁾ (1973)의 방법에 따라 제작하였으며 Biken-2 배지는 Honda 등⁶⁾ (1981)의 방법에 따라 제작하여 사용하였다.

4. 이열성장독소 측정방법

Evans 등²⁾ (1973)의 방법을 이용하였다. 그 과정을 요약하면 pepton-slant에서 배양한 대장균을 250 ml 플라스크에 CYES-2가 45 ml 든 배지에 식균하여 37°C에서 24시간 진탕배양한 것을 종균으로 250ml 플라스크에 CYES-2가 45 ml 든 배지에 식균하여 37°C에서 진탕배양하면서 0시간, 4시간, 8시간, 12시간, 및 18시간에 각각 5 ml의 배양액을 채취하여 분광측정기로 590 nm에서 O.D.를 측정하고 일부는 12,000 G에서 20분동안 4°C에서 원심분리하여 각 상층액을 얻어 장독소능을 측정하였다.

장독소능은 투과성인자측정법을 이용하였으며 투과성인자측정법은 장독성대장균의 배양상청액을 0.1 ml 적 토끼의 등에 3군데 피내 주사한후 24시간후에 인산 완충식염수에 녹인 Evans blue (400 mg/20 ml)를 토끼 kg당 1 ml씩을 이경맥에 정맥 주사한후 2시간이 지난 다음 청색착색부위의 장반경 및 단반경을 측정하여 그 평균의 곱을 투과성인자지수로 결정하였으며 3군데의 투과성인자지수를 평균하여 독소능을 결정하였다.

III. 실험성적

1. 배지의 pH가 장독성대장균의 발육증식 및 이열성장독소 생산에 미치는 영향

E. coli O8K25(B2) H9를 pH 7과 pH 8.5로 조정 한 Casamino acid Yeast Extract Salt broth-2 (CYES-2)에 각각 식균한 후 37°C에서 진탕배양하면서 배지의 배양초기 pH가 장독성대장균의 발육증식 및 이열성장독소 생산에 미치는 영향을 알아보기 위하여 배양시간별로 세균배양액을 채취하여 수소이온농도, optical density 및 이열성장독소를 측정하였다.

배양초기 배지의 pH가 7 및 8.5에서 배양한 장독성대장균배양액은 배양시간이 경과함에 따라 pH가 점차 증가되어 18시간 후에는 각각 8.8 및 9.0에 도달하였으며 배양초기 pH에 비해 배양 24시간 후에는 배양액의 pH의 차가 거의 없음을 관찰하였다(Fig. 1). 한편 균의 발육은 초기배양 pH를 7로 조정한 CYES-2 배지에서 18시간 배양한 경우 O.D.는 6.9인데 반해 초기 배양 pH를 8.5로 조정한 CYES-2 배지에서 24시간 배양한 경우에는 O.D.가 6.5로 초기배양 pH가 7인 CYES-2 배지에서 배양한 경우에서 장독성대장균의 발육증식이 잘 되는 경향을 보였다(Fig. 1).

그러나 이열성 장독소는 배양초기 배지의 pH가 7인 경우에는 배양 12시간 이후부터 배양상청액내에서 검

출되고 18시간에 투과성인자지수가 33에 이른 반면 배양초기 배지의 pH가 8.5인 CYES-2에서 배양한 것은 이열성장독소를 4시간 이후부터 검출할 수 있었으며 18시간 후에는 그 독소능이 투과성인자지수 66에 이른 결과를 얻어 이열성장독소는 초기배양 배지의 pH가 8.5인 경우에 더 많이 검출된다는 결과를 얻었다(Fig. 1).

2. 통기가 장독성대장균의 이열성장독소 생산에 미치는 영향

E. coli O8K25(B2) H9 및 *E. coli* O15 H11을 250 ml 프라스크내에 든 CYES-2 배지 45 ml에 식균한 후 37°C에서 각각 진탕배양 및 정지배양하면서 시간별로 O.D. 및 이열성장독소를 측정하였다.

그 결과 진탕 배양에서 18시간 배양상청액의 독소능은 *E. coli* O8K25(B2) H9의 경우 170, *E. coli* O15 H11의 경우 361인 반면 정지배양에서는 *E. coli* O8K25(B2) H9의 경우 60, *E. coli* O15 H11의 경우 148 로써 진탕배양시에는 정지배양에 비해 이열성장독소양이 많이 검출되는 결과를 얻었으나(Fig. 2) 투과성인자지수를 분광밀도로 나누어 균당 생산하는 이열성장독소량을 상대적으로 알아 본 결과 정지배양시 두 실험균주에서 모두 균당 생산하는 이열성장독소의 양이 많은 것을 볼 때 진탕 배양때 이열성장독소가 많이 생산되는 것은 세균당 생산하는 이열성장독소의 양이 증가하는 것이 아니라 장독성대장균의 발육이 증진되어 그 결과 이열성장독소의 양이 증가되는 것으로 사료된다(Fig. 3).

3. Lincomycin이 장독성대장균의 이열성장독소 생산에 미치는 영향

Lincomycin을 CYES-2 배지에 첨가하여 장독성 대장균을 배양하였을 경우 이열성장독소 생산에 미치는 영향을 알아보기 위하여 *E. coli* O15 H11과 *E. coli* O8K25(B2) H9의 lincomycin 내성균주에 각각 lincomycin이 128 µg/ml되게 첨가된 CAYE-2 배지 및 lincomycin이 첨가되지 않은 CYES-2 배지에 식균하여 37°C에서 진탕배양하면서 시간별로 배양액을 채취하여 O.D. 및 이열성장독소 생산능을 측정하였다.

그 결과 *E. coli* O8K25(B2) H9의 18시간 배양상청액의 독소능은 lincomycin을 첨가한 경우 114이나 첨가하지 않은 경우 41이었으며 *E. coli* O15 H11의 18시간 배양상청액의 독소능은 lincomycin을 첨가한 경우 65이나 첨가하지 않은 경우 50으로 lincomycin을 첨가한 배지에서 장독성 대장균을 배양한 경우 이열성장

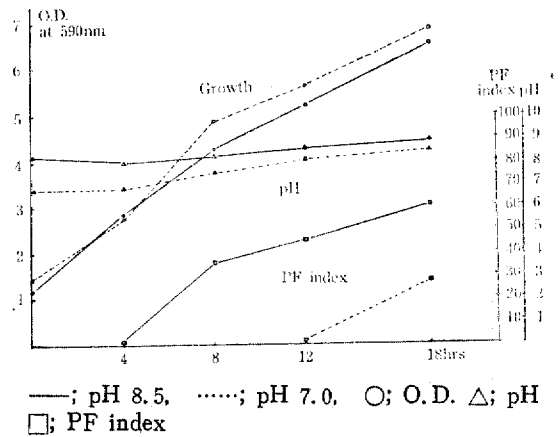


Fig. 1. Effect of initial pH of CYES-2 broth on production of heat-labile enterotoxin of enterotoxigenic *E. coli* O8K25(B) H9.

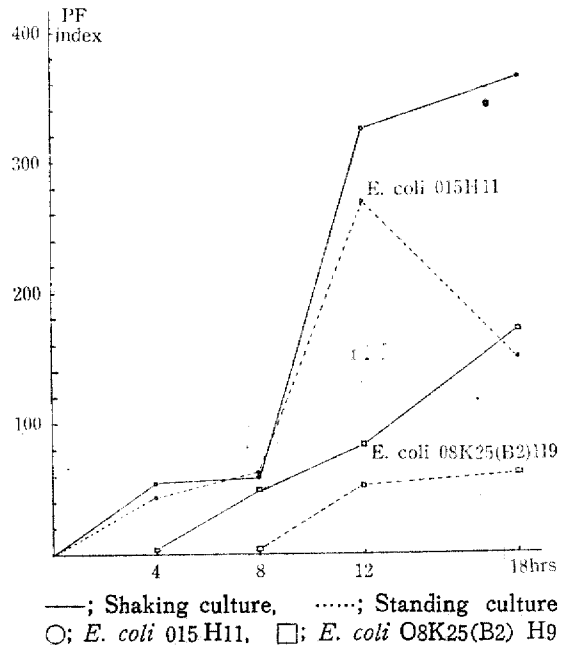


Fig. 2. Effect of shaking culture on production of heat-labile enterotoxin.

독소의 양이 lincomycin을 첨가하지 않은 CYES-2 배지에서 배양한 경우에 비해 증가하였으며(Fig. 4) 또한 투과성인자지수를 분광밀도로 나누어 상대적으로 세균당 내는 이열성장독소량을 알아 본 결과 lincomycin을 첨가하여 배양한 경우 균당 이열성장독소 생산량도 *E. coli* O8K25(B2) H9에서 lincomycin 첨가균이 첨가하지 않은 균에 비해 11배 *E. coli* O15 H11에

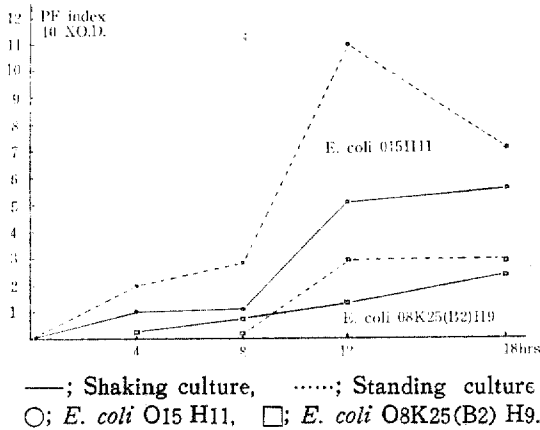


Fig. 3. Effect of shaking culture on production of heat-labile enterotoxin per *E. coli*.

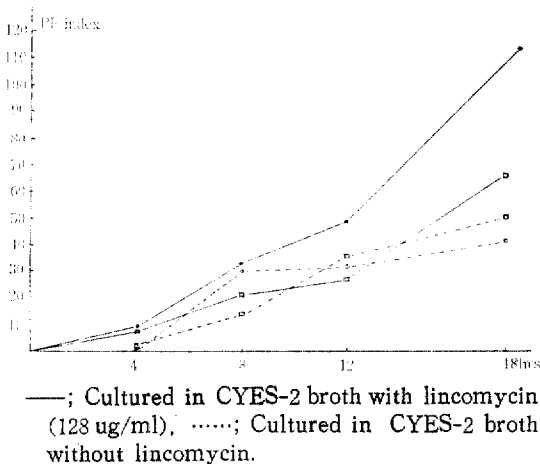


Fig. 4. Effect of lincomycin on production of heat-labile enterotoxin.

서 lincomycin 첨가군이 첨가하지 않은 군에 비해 5배 증가한다는 결과를 얻었다(Fig. 5).

4. Polymyxin B가 장독성 대장균의 이열성장독소 생산에 미치는 영향

Polymyxin B가 장독성 대장균의 이열성장독소 생산에 미치는 영향을 알아보기 위해 *E. coli* O15:H11 및 *E. coli* O8K25(B2):H9를 CYES-2, lincomycin을 128 μ g/ml 넣은 CYES-2 및 Biken-2 배지에 각각 식균하고, 18시간 진탕배양한후 실험군에는 Polymyxin B를 0.2 mg/ml 되게 넣고 1시간 처리하고 대조군은 그냥 1시간 방치후 배양상청액을 얻어 이열성장독소능을 측정하였다.

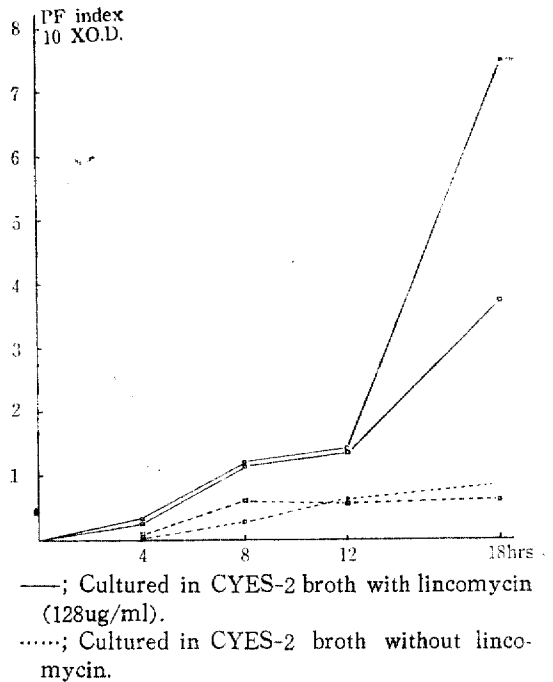


Fig. 5. Effect of lincomycin on production of heat-labile enterotoxin per *E. coli*.

그 결과 polymyxin B로 처리한 군은 장독소능이 CYES-2에서 배양시 *E. coli* O8K25(B2):H9는 139, *E. coli* O15:H11는 151이었으며 Biken-2에서 배양시 *E. coli* O8K25(B2):H9는 173, *E. coli* O15:H11은 359로써 polymyxin B를 처리하지 않은 군에 비해 2배 내지 5배 이상 장독소능이 증가하였으나 CYES-2에 lincomycin을 넣은 배양상청액의 독소능은 polymyxin B 처리군이나 처리하지 않은 경우에서 두 실험군주 두에서 유의한 독소능의 차이가 없었다(Table 1).

IV. 고 안

장독성대장균이 생산하는 이열성장독소의 생산에 관여하는 최적조건을 탐색하기 위해 배지의 pH, 통기, lincomycin 첨가 및 polymyxin B 처리 등 배양조건을 달리하여 배양상청액을 얻어 투과성인자 측정법으로 이열성장독소능을 측정하여 그 결과를 비교 검토하였다.

배지의 배양초기 pH는 장독성대장균 배양상청액내의 이열성장독소 독소능을 결정하는 중요한 조건으로 생각된다. Mundell 등¹⁰⁾(1976)은 세포내 스테로이드

Table 1. Effect of polymyxin B treatment on production of heat-labile enterotoxin.

1 hrs. culture fluid in	Treated with	Permeability factor index	
		<i>E. coli</i> O8K25(B2) H9	<i>E. coli</i> O15 H11
CYES-2	None	57.76	84.64
	Polymyxin B	139.24	151.29
CYES-2 Supplemented Lincomycin (128 ug/ml)	None	333.06	196
	Polymyxin B	299.29	244.92
Biken-2	None	55.50	79.21
	Polymyxin B	172.92	359.10

18 hrs. culture fluid with polymyxin B (0.2 mg/ml) for 1 hr.

형성능을 이용하여 이열성장독소의 독소능을 측정하였더니 장독성대장균의 초기배양 pH가 7.5인 경우에 비해 8.5인 경우에 더 이열성장독소 독소능이 높아짐을 관찰하였다.

본 실험의 결과에서도 배양초기 배지의 pH가 8.5인 경우가 7.0인 경우에 비해 장독성대장균의 발육은 덜 되었으나 배양상청액의 이열성장독소 독소능은 더 높았다. 이러한 결과는 첫째로 pH가 7.0일 때는 이열성장독소의 생산자체를 저하시킨다는 것과, 둘째로 생산은 저하되지 않으나 배양상청액내로 배출된 이열성장독소는 pH 7.0에서 쉽게 독소능이 상실된다는 것으로 설명할 수 있겠다. 그림 1에서 볼 때 초기배양 배지의 pH를 8.5로 했을 경우 배양액의 pH는 항상 8.0 이상으로 유지되며, 이때는 대장균의 증식에 따라 곧 배양상청액에서 독소능이 발현된다. 그러나, 초기배양 배지의 pH를 7.0으로 했을 경우, 처음엔 배양상청액 내에서 독소능이 나타나지 않다가 pH가 8.0을 넘어서는 때부터 독소능이 발현된다. 이 사실을 볼 때 상청액내로 배출된 이열성장독소가 pH 7.0에서 쉽게 파괴되어 독소능이 상실되는 것에 더 큰 원인이 있을 것으로 사료되나, 이에 대한 직접적인 실험이 있어야 할 것이다.

Evans 등⁴⁾(1973) 및 Clements⁵⁾(1979) 등은 장독성대장균의 이열성장독소 생산을 위하여 대장균을 진탕배양하였으나 Sack¹²⁾(1975)은 장독성 대장균의 이열성 장독소는 진탕배양시 생산이 증가되나 이열성장독소는 정치배양을 할 때 더 많이 생산된다고 하였다.

본 실험에서는 진탕배양을 통해 장독성대장균의 배양액에 통기를 하였을 경우 이열성장독소 생산에 미치는 영향을 알아 보았다. 그 결과 진탕배양시에는 정치배양에 비해 이열성장독소의 독소능은 높았으나 균당 이열성장독소의 독소능은 낮음을 볼 때 진탕배양에 의한 이열성장독소의 독소능이 높은 것은 장독성 대장균의 발육이 더 잘되어 그 결과 전체의 독소능이 높아진

것으로 사료된다.

Levner 등⁸⁾(1977)은 단백질합성억제제인 lincomycin이 장독성대장균의 이열성장독소생산을 증진시키며 이러한 lincomycin에 의한 이열성장독소합성증가는 정상적으로는 이열성장독소의 합성을 제한시키는 인자가 lincomycin에 의해 특히 합성억제되어 그 결과 이열성 대장균의 세포내 합성이 증가한다는 것으로 설명하였다.

본 실험에서 보면 배지내에 lincomycin을 128 µg/ml가 되게 첨가하여 장독성대장균을 배양하였을 경우에 첨가하지 않은 것에 비해 이열성장독소가 증가하는 결과를 얻었다.

이러한 결과는 Levner 등⁸⁾(1977)과 같은 결과이며 이러한 이열성장독소의 상청액내 독소능이 높은 것은 균 부피당 독소능이 높아 있는 것을 볼 때 장독성 대장균에서의 장독소 합성자체가 lincomycin에 의해 항진되었음을 알 수 있으나 이러한 항진이 lincomycin에 내성인 균주에서 이열성장독소 합성에 관여하는 유전자와 lincomycin 내성결정 유전자가 근접하게 존재하여 그 결과 lincomycin 내성균의 상대적 증식에 의한 이열성장독소 생산의 증진인지 아니면 lincomycin이 이열성장독소 합성을 제한시키는 인자를 선택적으로 합성억제하여 그 결과 이열성장독소 생산이 증진된 것인지에 대해서는 앞으로 연구가 있어야 할 것으로 사료된다.

Evans 등⁴⁾(1974)은 polymyxin B가 장독성대장균의 이열성장독소의 배출을 증진시킨다고 주장하였다.

그는 이열성장독소의 정제를 하기 위해 세균 배양액을 원심분리하여 상청액은 버리고 Tris 완충액으로 세균을 세척한 후 polymyxin B를 세균에 작용시켜 완충액내에 배출된 장독소를 분리 정제하였다. 따라서 저자는 18시간 배양한 장독성대장균 배양액을 1시간동안 polymyxin B로 처리한 후 독소량을 측정하여 po-

lymyxin B를 첨가하지 않았을 때에 비해 상청액내에 이열성장독소가 증가할 것이라는 생각으로 CYES-2와 Biken-2에 배양한 장독성 대장균 배양상청액에 비해 polymyxin B를 배양액에 작용시킨 경우 투과성인자의 지수가 높아짐을 관찰하였고, CYES-2에 lincomycin을 첨가한 경우에는 18시간 배양액에 polymyxin B를 작용시키도 커다란 독소량의 상승이 없음을 볼 때 polymyxin B는 이열성장독소량을 증가시키나 세포가 낼 수 있는 이열성장독소의 양은 한계가 있을 것으로 해석된다.

V. 총 괄

장독성대장균은 여름철 소아 설사에 중요한 원인균의 하나로 대두되고 있다. 그런데 설사의 원인이라고 생각되는 이열성장독소의 생산은 배지구성성분 및 배양조건 등의 영향을 받는다고 단편적으로 알려졌다.

본자는 배지의 pH, 통기, Lincomycin 및 polymyxin B 등이 장독성대장균의 이열성장독소 생산에 미치는 영향 및 그 기전을 알아보기 위하여 *E. coli* O8 K25(B2) H9(CDC No. B7575-11) 및 *E. coli* O15 H II(LT+ST-)를 Casamino acid Yeast Extract Salt-2 배지에 배양하여 그 배양상청액을 투과성인자측정법으로 이열성장독소를 측정, 비교 검토하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 배지의 pH가 8.5인 경우 7.0에 비해 균의 발육은 덜 되었으나 이열성장독소는 더 많이 측정되었다.
2. 진탕배양하면 정치배양에 비해 이열성장독소는 더 많이 측정되었으며, 정치배양시 균 부피당 생산하는 이열성장독소의 양이 많은 것을 볼 때 균의 발육이 증진됨에 따라 이열성장독소의 양이 증가된 것으로 사료된다.
3. 배양액에 lincomycin(128 µg/ml)을 첨가하여 장독성대장균을 배양하면 균 부피당 이열성장독소 생산이 5배 내지 11배 상대적으로 증가하였다.
4. 장독성대장균의 18시간 배양액을 polymyxin B (0.2 mg/ml)로 1시간 처리하면 이열성장독소의 양이 2 내지 5배 증가하였다.

REFERENCES

- 1) Clements J.D., and Finkelstein R.A.: *Isolation and Characterization of Homogeneous Heat-Labile Enterotoxins with High Specific Activity from Escherichia coli Cultures. Infect. Immunity.* 24 : 760—769, 1979.
- 2) Evans D.G., Evans D.J. J.R. and Gorbach S.L.: *Identification of Enterotoxigenic Escherichia coli and Serum Antitoxin Activity by the Vascular Permeability Factor Assay. Infect. Immunity.* 8 : 731—735, 1973.
- 3) Evans D.G., Evans D.J. J.R. and Pierce N.F.: *Differences in the Response of Rabbit Small Intestine to Heat-Labile and Heat-Stable Enterotoxins of Escherichia coli. Infect. Immunity.* 7 : 873—880, 1973.
- 4) Evans D.J. J.R., Evans D.E. and Gorbach S.L.: *Production of Vascular Permeability Factor by Enterotoxigenic Escherichia coli Isolated from Man. Infect. Immunity.* 8 : 725—730, 1974.
- 5) Gorbach S.L., Banwell J.G., Chatterjee B.D., Jacobs B. and Sack R.B.: *Acute Undifferentiated Human Diarrhea in the Tropics. (I. Alterations in Intestinal Microflora) J. Clin. Investigation.* 50 : 881—900, 1971.
- 6) Honda, T., Taga, S., Takeda, Y. and Miwatani T.: *Modified Elek Test for detection of Heat-Labile Enterotoxin of Enterotoxigenic Escherichia coli. J. Clin. Microbiol.* 13 : 1—5, 1981.
- 7) Jacks T.M. and Bo Jack Wu: *Biochemical Properties of Escherichia coli Low-Molecular-Weight, Heat-Stable Enterotoxin. Infect. Immunity.* 9 : 342—347, 1974.
- 8) Levner M., Wiener F.P. and Rubin B.A.: *Induction of Escherichia coli and Vibrio cholerae Enterotoxins by an Inhibitor of Protein Synthesis. Infect. Immunity.* 15 : 132—137, 1977.
- 9) Moon H.W., Fung P.Y., Whipp S.C. and Isaacson R.E.: *Effects of Age and Ambient Temperature on the Response of Infant Mice to Heat-Stable Enterotoxin of Escherichia coli: Assay Modifications. Infect. Immunity.* 20 : 36—39, 1978.
- 10) Mundell D.H., Anselmo C.R. and Wishnow R.M.: *Factors Influencing Heat-Labile Escherichia coli Enterotoxin Activity. J. Clin. Microbiol.* 14 : 383—388, 1976.

- 11) Newsome P.M., Burgess M.N. and Mullan N.A.: *Effect of Escherichia coli Heat-Stable Enterotoxin on Cyclic GMP Levels in Mouse Intestine*, *Infect. Immunity*. 22 : 290—291, 1978.
- 12) Sack R.B., Gorbach S.L., Banwell J.G., Jacobs B., Chatterjee B.D. and Mitra R.C.: *Enterotoxigenic Escherichia coli Isolated from Patients with Severe Cholera-like Disease*. *J. Infect. Diseases*. 123 : 378—385, 1971.
- 13) Scotland S.M., Day N.P., Cravioto A., Thoma and Rowe B.: *Production of Heat-Stable Enterotoxins by Strains of Escherichia coli Belonging to Serogroups O44, O114, and O128*. *Infect. Immunity*. 31 : 500—503, 1981.
- 14) Whipp S.C., Moon H.W. and Argenzio E.A.: *Comparison of Enterotoxic Activities of Heat-Stable Enterotoxins from Class 1 and Class 2 Escherichia coli of Swine Origin*. *Infect. Immunity*. 31 : 245—252, 1981.