

소 분변과 도체에서 *E coli* O157:H7의 분리와 항생제 감수성

채희선¹, 김종화, 김규현, 최태석, 신방우, 이덕주, 이정학

서울특별시 보건환경연구원
(접수 2004. 8. 17, 게재승인 2004. 8. 25.)

The isolation and antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* O157:H7 on bovine feces and carcass

Hee-Sun Chae¹, Jong-Hwa Kim, Gyu-Hyeon Kim, Tae-Seok Choi,
Bang-Woo Shin, Duck-Joo Lee, Jung-Hark Lee

Seoul Metropolitan Health & Environment Research Institute, Seoul, 137-734, Korea
(Received 17 August 2004, accepted in revised form 25 August, 2004)

Abstract

In this study, a total of 2,119 samples was taken from bovine feces and carcass from March 2002 to December 2003. And those were examined for the presence of enterohemorrhagic *E coli* O157:H7. The properties of the isolates were characterized for biochemical features, serotypes, virulence genes and antimicrobial susceptibility. Forty five strains(3.7%) of *E coli* O157:H7 were isolated from 1,208 fecal samples and were not detected in carcass using immunomagnetic separation technique and selective media.

In multiplex PCR using *stx1*, *stx2*, *eaeA* and *hlyA* primers, the amplified bands at 180 bp, 255 bp, 384 bp and 534 bp were observed, respectively. In antimicrobial susceptibility test, all isolates were susceptible to amoxicillin/clavulanic acid and cefazolin. The isolates were most resistant to sulfisoxazole(24.4%), followed by streptomycin(22.2%), tetracycline(20.0%). Eight strains(17.8%) of 45 isolates showed the multi-resistant patterns with over 3 drugs.

Key words : Bovine feces, *E coli* O157:H7, Multiplex PCR

서 론

Escherichia coli (*E coli*) O157:H7은 1982년

미국에서 출혈성 장염에 이환된 환자로부터 최초로 분리 보고되었으며¹⁾, 다음 해에는 출혈성 신증후군(hemolytic uremic syndrome; HUS)이

¹Corresponding author

Phone : +82-2-570-3437, Fax : +82-2-570-3206

E-mail : heedoogy@hanmail.net

E coli O157:H7 감염과 연관성이 있다고 보고되었다²⁾. 이 균의 감염증은 일본에서 크게 유행하여 1996년에는 1만여 명의 환자가 발생하였고 11명이 사망함으로써 *E coli* O157:H7은 세계적으로 관심을 불러일으키고 이에 대한 연구가 활발히 수행되었다³⁾. 우리나라에서는 1994년에 최초로 국립보건원에서 설사환자로부터 *E coli* O157이 분리되었다고 보고한 바 있다⁴⁾.

E coli O157:H7의 가장 중요한 병원성 인자는 shiga toxin이며, 이 독소는 vero cell에 세포독성효과를 나타내므로 일명 verotoxin이라고도 불린다⁵⁻⁸⁾. 그러나 *stx* 유전자에 암호된 shiga toxin 단독으로는 *E coli* O157:H7 특유의 병원기전을 나타내지 못하는 경우가 많으며⁸⁻⁹⁾, 대개 *eaecA* 유전자에 암호되어 장관상피세포의 attaching and effacing(AE) 병변을 일으키는 인자와 *hlyA* 유전자에 암호되어 장관 내 출혈을 일으키는 인자와 공동으로 작용해야 한다고 알려져 있다¹⁰⁻¹¹⁾.

가축 가운데 소는 *E coli* O157:H7의 가장 중요한 보관동물로 간주되고 있으며¹²⁾, 면양, 산양, 돼지, 사슴, 닭, 칠면조 등에서도 이 균이 검출된다고 보고되어 다양한 동물들이 이 균의 보관숙주 역할을 하는 것으로 지적되고 있고¹³⁾ 인수공통전염병원체로 *E coli* O157:H7의 중요성이 날로 높아가고 있다¹⁴⁾.

본 연구는 서울도축장에서 도축되는 건강한 소의 분변과 도체로부터 IMS기법을 이용하여 *E coli* O157:H7을 분리하고, 분리균주에 대해 생화학적 성상 및 multiplex PCR법을 이용한 병원성 유전자를 조사하고, 항생제에 대한 감수성을 밝히고자 실시하였다.

재료 및 방법

1. *E coli* O157:H7의 분리

1) 시료채취 : 2002년 3월부터 2003년 12월 까지 서울시 소재 도축장에서 도축된 소 분변 1,208건 및 소도체 911건에 대하여, 소의 분변 5~10g을 분변채취용기(Greiner, Germany)에 채취하고, 소의 도체표면을 easy swab(Komed,

Korea)으로 swabing하여 20시간 내에 실험에 사용하였다.

2) Immunomagnetic separation(IMS) 기법을 이용한 균분리

증균배양 : 채취한 분변에 novobiocin(20mg/ℓ)이 첨가된 Modified *E coli* medium(Merck, France)을 10배량을 넣은 후 잘 혼합하여 37℃에서 18~20시간 진탕 배양하였다.

Immunomagnetic separation : 증균된 배양액을 잘 혼합하여 1ml를 에펜도르프튜브에 넣은 후 *E coli* O157항체가 코팅된 magnetic bead를 20μl를 넣고 20분간 실온에서 교반하여 반응시켰다. 교반된 튜브를 Magnetic concentrator(Dynal, Norway)에 5분간 부착시켜 항원과 결합된 bead를 채집하고 PBST(0.05% Tween 20을 첨가한 phosphate-buffered saline, pH 7.2) 1ml를 넣어 세척하였다. 이 과정을 2~3회 반복한 후 세척된 bead에 mEC medium 50μl를 넣어서 부유시킨 후 멸균된 면봉으로 Chromogenic medium(O157:H7 ID medium, Biormerieux, France)과 CT-SMAC(Merck, Germany ; cefixime 0.05mg/ℓ, potassium tellurite 2.5mg/ℓ 첨가)에 각각 도말하여 37℃에서 18~20시간 배양하였다. 다음 날 전형적인 집락들을 채취하여 *E. coli* O157 latex test kit(Oxoid, England)로 응집반응검사를 하였고, 응집반응 양성을 보인 집락을 MacConkey agar(Merck, Germany)에 도말배양하여 lactose 분해능을 확인하였다.

3) 생화학적 성상검사

MacConkey에서 순수분리된 집락을 Tryptic soy agar(Merck, Germany)에 계대하여 단독 집락을 채취하여 0.85% NaCl medium(Biormerieux, France)에 부유시키고 McFarland No. 0.5 탁도로 조정하고 ID 32E 키트(Biormerieux, France)에 접종하여 37℃에서 18~24시간이상 배양한 후 판독하였다. 이 과정을 통해 ornithin decarboxylase 외 31종에 대한 분리균의 당분해능과 효소활성능 그리고 기질생산능 등에 대한 생화학적 성상을 검사하였다.

4) 혈청학적 검사

O 항혈청 응집반응 : 균주를 Tryptic soy agar에 배양한 후 신선한 집락을 식염수 (0.85%)가 들어있는 시험관에 부유하고 이 부유액을 100°C에서 30~60분간 끓였다. 이어서 실온에서 식힌 부유액을 0.85% 식염수로 MacFarland No. 3 탁도로 조정하고 그 균액에 최종농도가 0.5%되게 formaline을 첨가하였다. 그 다음 O157항혈청 (Difco, USA)을 1:20부터 1:1,280까지 계단희석하고, 0.85% 식염수 0.9ml를 첫 번째 시험관에 넣고 나머지 7개 시험관에는 0.5ml를 넣어 계단희석을 실시하였다. 혈청희석액에 동량의 시험균액을 첨가하고 잘 섞어준 후 48~50°C의 항온수조에 넣어서 18~20시간 반응시켜서 그 응집상태를 확인하였다.

H 항혈청 응집반응 : O157 항혈청 응집반응에서 양성반응을 보인 균주에 대해 실시하였다. 세균의 편모형성을 증진시키기 위하여 Motility test medium(Becton dickinson, USA)에 3~5회 계대배양한 다음, 계대배양된 균주를 Veal infusion broth(Difco, USA)에 다시 접종하여 35~37°C에서 6~8시간 배양하였으며 배양된 시험관에 최종 농도가 0.3%가 되도록 formalin을 첨가하여 혼합한 후 약 30분간 정치시켰다. 이어서 H7 항혈청(Difco, USA)을 0.85% 식염수로 1:500이 되게 희석하고 0.3~0.5ml를 시험관에 분주하였고, 여기에 동량(0.3

~0.5ml)의 준비된 균액을 넣어 혼합한 뒤 50°C의 항온수조에서 1시간 동안 반응시킨 후 응집상태를 관찰하였다.

2. Polymerase chain reaction(PCR)

1) 공시균주

소분변에서 분리된 *E coli* O157:H7 45주를 공시하였으며, *stx1*, *stx2*, *eaeA* 그리고 *hlyA* 유전자를 보유한 표준 균주 *E coli* O157:H7 (ATCC 43894)를 공시하였다.

2) Genomic DNA의 추출

순수 분리주를 Brain heart infusion broth (BHI; Difco, USA)에 접종하여 37°C에서 18~24시간 배양시킨 후 1ml 에펜도르프튜브에 분주하였다. 그 후 12,000rpm에서 2분간 원심분리하여 얻어진 pellet을 phosphate-buffered saline, PBS, pH 7.2) 500µl로 2회 세척한 후 증류수 200µl에 재부유하고, 100°C에서 약 10분간 끓인 후 즉시 얼음에 담갔다가, 12,000rpm에서 2분간 원심 시켜서 얻어진 상층액을 사용하였다.

3) Primers

소에서 분리된 *E coli* O157:H7 45주에 대하여 병원성 인자를 암호하는 *stx1*, *stx2*, *eaeA*, *hlyA* 유전자에 대한 primers를 바이오니아 (Chungbuk, Korea)에 제작 의뢰하여 공시하였다. 각각의 primer에 대한 sequence와 예상되

Table 1. Primer sequences used in the PCR and the expected sizes of products

Primers ^a	Sequences(5'-3')	Targets	Size(bp)
stx1F	ATAAATCGCCATTCGTTGACTAC	<i>stx1</i>	180
stx1R	AGAACGCCCACTGAGATCATC		
stx2F	GCACTGTCTGAACTGCTCC	<i>stx2</i>	255
stx2R	TCGCCAGTTATCTGACATTCTG		
eaeAF	GACCCGGCACAAGCATAAGC	<i>eaeA</i>	384
eaeAR	CCACCTGCAGCAACAAGAGG		
hlyAF	GCATCATCAAGCGTACGTTCC	<i>hlyA</i>	534
hlyAR	AATGAGCCAAGCTGGTTAAGCT		

^a References : Adwan *et al.*¹⁵⁾, Hu *et al.*¹⁶⁾, Paton *et al.*¹⁷⁾

는 증폭 DNA 크기는 Table 1에 기술하였다.

4) PCR 조건

2 μ l의 template DNA, 1 μ M의 각각의 primer, 2.5mM의 dNTP mixture, 10X PCR buffer 5 μ l, 2.5U Taq polymerase(TaKaRa, Japan)을 넣어 총 용량이 50 μ l이 되게 실시하였다. 병원성 유전자 *stx1*, *stx2*, *eaeA* 및 *hlyA*를 검출하기 위한 PCR은 35 cycle을 실시하였으며, 처음 10 cycles은 95 $^{\circ}$ C 1분간 denaturation, 65 $^{\circ}$ C 2분간 annealing, 72 $^{\circ}$ C 1분 30초간 extension과정을 실시하였으며, 15 cycles은 annealing 온도를 60 $^{\circ}$ C까지 줄여서 실시하였으며, 25~35 cycle은 extension 시간을 2.5분으로 늘여서 수행하였다. 마지막의 extension은 5분으로 하였다. PCR 반응산물은 2% agarose gel상에서 100V에서 30분간 전기영동한 후 ethidium bromide(0.5 μ g/ml)로 염색하여 확인하였다.

3. 항생제 감수성검사

소분변에서 분리된 *E coli* O157:H7 45주를 National Committee for Clinical Laboratory Standards(NCCLS)의해 인증된 디스크 확산법에 의해 실험하였다¹⁸⁾. 항생제 디스크는 BBL sensi-disc(Becton dickinson, USA)를 사용하여 amikacin, amoxicillin/clavulanic acid, ampicillin, carbenicillin, cefaclor, cefazolin, cefotaxime, chloramphenicol, ciprofloxacin, colistin, gentamicin, kanamycin, streptomycin, sulfisoxazole, tetracycline, trimethoprim/sulfamethoxazole의 16종의 항생제에 대한 감수성을 검사하였다. Tryptic soy agar (Merck, Germany)에서 자란 4~5개의 집락을 Mueller hinton broth(Difco, USA)에 부유시키고 Densitmat(Biomerieux, France)기로 탁도가 McFarland No. 0.5가 되도록 조정된 다음 균액을 Mueller hinton agar(Difco, USA)에 도말하고 3~5분간 건조시켰다. 그 후 Disc dispenser(Becton dickinson, USA)를 이용하여 디스크를 옮겨 심고 37 $^{\circ}$ C에서 2일 동안 배양하여 발육억제대를 측정하였다.

결과 및 고찰

1. *E coli* O157:H7 분리

2002년 3월부터 2003년 12월까지 소 분변 1,208건과 도체 911건에 대하여 immunomagnetic separation기법으로 *E coli* O157:H7의 분리를 시도한 바, 소분변으로부터 45(3.7%)주가 검출되었다. 세계적으로 여러 동물에서 *E coli* O157:H7은 분리와 특성에 관한 활발한 연구가 이루어져 있으며^{19~21)}, 분리율은 동물의 종류와 다양한 외적 환경에 따라 다양하게 보고되었다. Bonardi 등¹⁹⁾은 소의 분변에서 *E coli* O157:H7의 분리율이 13.1%이었고, Heuvelink 등²⁰⁾은 성우의 분변에서 10.6%, 송아지에서 0.5%, 양에서 4.1%, 돼지 분변에서 1.4% 그리고 칠면조 분변에서 1.3%가 분리되었다고 보고하였다. Lahiti 등²¹⁾은 소분변에서 1.31%의 *E coli* O157:H7이 각각 분리되었다고 보고하였다. 국내에서는 차 등²²⁾이 소와 돼지의 분변에서 각각 0.76%와 0.51%를 분리 보고한 바 있고, 고와 홍²³⁾이 쇠고기에서 2건(1.1%)를 분리한 예가 있었다.

2. 분리균의 생화학적 성상 및 혈청학적 검사 결과

분리된 45주의 *E coli* O157:H7에 대해 당분해능, 효소활성능 및 기질생산성을 검사한 결과, ornithin decarboxylase, lysin decarboxylase, galacturonate, phenol red, maltose, α -galactosidase, glucose, L-arabinose에서는 45주 모두 양성반응을 보였다. Mannitol은 43주(95.5%), indol은 44주(97.7%), saccharose는 20주(44.4%), trehalose는 8주(17.8%), rhamnose에서는 2주(4.4%)가 양성반응을 나타내었다. 그 외에 arginine dihydrolase, urease, L-arabitol, 5-ketogluconate, lipase, β -glucosidase, adonitol, palatinose, malonate, N-acetyl- β -glucosaminidase, β -glucuronidase, α -glucosidase, inositol, cellobiose, sorbitol, α -maltosidase, L-aspartic acid arylamidase에

대해서는 45주 모두 활성을 나타내지 않았다.

분리주에 대하여 항혈청을 이용한 응집반응을 실시한 결과 45주 모두 O157 항혈청에 응집되었다. Motility test medium에서 45주 모두 운동성을 나타내었으며, H7 항혈청에 양성반응을 보였다.

E. coli O157:H7은 sorbitol을 분해하지 못하고 β -glucuronidase에 대한 활성을 보이지 않는 특성이 있으며 다른 *E. coli*와 비교할 때 ornithine decarboxylase, arginine dihydrolase, urease와 5-ketogluconate에 대해서도 생화학적으로 다른 활성을 보이며, adonitol, D-arabitol, trehalose, rhamnose에 대해서도 다소 다른 양상을 나타낸다^{5, 24}. 본 실험에서 분리된 45주는 모두 sorbitol을 분해하지 못하고, β -glucuronidase에 활성을 보이지 않아 전형적인 *E. coli* O157:H7의 성상을 보였다.

3. Multiplex PCR

병원성 인자를 암호하는 *stx1*, *stx2*, *eaeA* 그리고 *hlyA* 유전자를 검출하기 위하여 *E. coli* O157:H7 45주에 대하여 multiplex PCR을 실시한 결과는 Fig 1에서와 같이 180bp, 255bp, 384bp 및 534bp 크기의 증폭산물이 균주에 따라 다양하게 나타났다.

45주의 모든 분리주는 *eaeA*와 *hlyA* 유전자를 가지고 있었으며, *stx1*만 가지고 있는 분리주는 1주(2.2%), *stx2* 유전자만을 가지고 있는 분리주는 21주(46.7%), 그리고 *stx1*과 *stx2*를 동시에 가지고 있는 분리주는 18주(40.0%)로 나타났으며, *stx1*과 *stx2*를 모두 가지고 있지 않은 분리주는 5주(11.1%)이었다(Table 2).

병원성 인자의 분포패턴은 위와 같이 4가지 유형으로 구분되며 Hu¹⁶등과 Paton과 Paton¹⁷

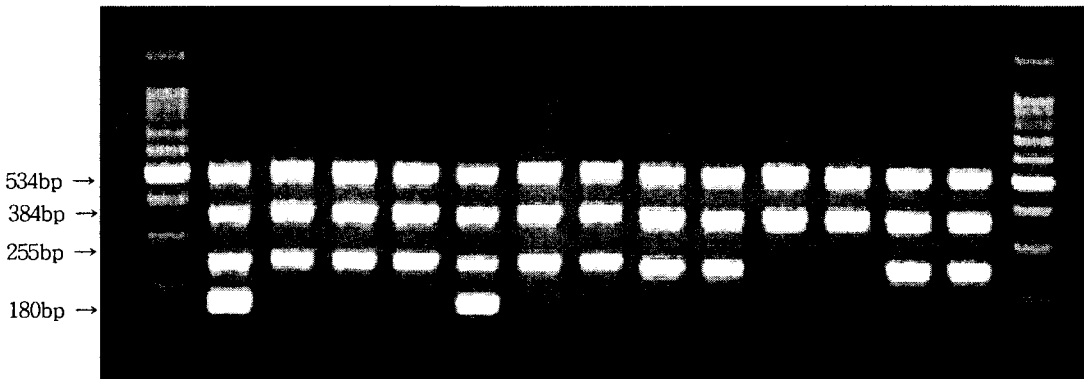


Fig 1. Multiplex PCR patterns of *E. coli* O157:H7 isolated from the feces of the slaughtered cattle. Lane M ; 100 bp DNA ladder, Lane R ; positive control (*E. coli* O157:H7, ATCC 43894), Lanes 1 to 12 ; *E. coli* isolates

Table 2. Patterns of the multiplex PCR of 45 isolates of *E. coli* O157:H7

Organisms	No of strains isolated(%)	Multiplex PCR assay			
		<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eaeA</i>	<i>hlyA</i>
<i>E. coli</i> O157:H7	5 (11.1)	-	-	+	+
<i>E. coli</i> O157:H7	1 (2.2)	+	-	+	+
<i>E. coli</i> O157:H7	21 (46.9)	-	+	+	+
<i>E. coli</i> O157:H7	18 (40.0)	+	+	+	+

의 결과와 유사하였다. 따라서 대부분의 분리주들은 인체에 감염시 verotoxin을 생산하여 병원성을 발현할 수 있는 잠재력이 있다고 생각된다.

4. 항생제 감수성

E coli O157:H7 45주에 대하여 항생제 감수성검사를 실시한 결과는 Table 3과 같다. Amikacin외 15종의 항생제 중에서 amoxicillin/clavulanic acid와 cefazolin은 45주(100%) 모두에서 감수성을 나타내었으며, cefotaxime과 colistin, cefaclor, amikacin은 44주(97.8%)에서 감수성을 보였다. 가장 내성이 높게 관찰된 항생제는 sulfisoxazole로써 45주 중에서 11주(24.4%)가 나타났으며, streptomycin에서 10주(22.2%), tetracycline에서 9주(20.0%)가 내성을 보였다.

분리주 중 3가지 이상의 항생제에 대체 내성을

나타낸 것은 8주(17.8%)이었으며, 이 중 1주(2.2%)는 ciprofloxacin, cefotaxime, streptomycin, colistine, cefaclor, sulfisoxazole, gentamicin, amikacin에, 또 다른 2주(4.4%)는 streptomycin, sulfisoxazole, ampicillin, kanamycin, carbenicillin, tetracycline에, 2주(4.4%)는 streptomycin, sulfisoxazole, gentamicin, ampicillin, kanamycin, trimethoprim/ sulfamethoxazole, chloramphenicol, carbenicillin, tetracycline에, 그리고 3주(6.6%)는 streptomycin, sulfisoxazole, tetracycline에 대체내성을 각각 보였다.

Meng 등²⁵⁾은 소와 사람과 식품에서 *E coli* O157:H7을 분리하여 항생제 감수성검사를 실시한 결과 분리주에서 24%가 최소한 1가지 이상의 약제에 내성을 보였으며, 19%가 3가지 또는 그 이상의 항생제에 내성을 보였고, 소에서

Table 3. Antimicrobial susceptibility of 45 *E coli* O157:H7 isolates from the feces of the slaughtered cattle

Antimicrobial agents	Disc potency(μ g)	No of isolates(%)		
		Susceptible	Intermediate	Resistant
Amikacin	30	44 (97.8)		1 (2.2)
Amoxicillin/ Clavulanic acid	20/10	45 (100.0)		0 (0.0)
Ampicillin	10	40 (88.9)		5 (11.1)
Carbenicillin	100	37 (82.2)	4(8.9)	4 (8.9)
Cefaclor	30	44 (97.8)		1 (2.2)
Cefazolin	30	45 (100.0)		0 (0.0)
Cefotaxime	30	44 (97.8)		1 (2.2)
Chloramphenicol	30	43 (95.6)		2 (4.4)
Ciprofloxacin	5	44 (97.8)		1 (2.2)
Colistin	10	44 (97.8)		1 (2.2)
Gentamicin	10	42 (93.4)		3 (6.6)
Kanamycin	30	41 (91.1)		4 (8.9)
Streptomycin	10	33 (73.3)	2(4.4)	10 (22.2)
Sulfisoxazole	250	34 (75.6)		11 (24.4)
Tetracycline	30	36 (80.0)		9 (20.0)
Trimethoprim/ Sulfamethoxazole	1.25/23.75	43 (95.6)		2 (4.4)

분리된 균주에서 내성율이 34%로 가장 높다고 하였으며, 이는 가축에서의 성장촉진과 치료 목적으로 투여한 항생제가 소에서의 내성율을 높인다고 보고하였다. Schroeder 등²⁶⁾은 tetracycline에서 27%, sulfamethoxazole에서 26%가 내성을 보였고, 3가지 이상의 약제에 대한 다제 내성이 15%로 보고하여 본 시험에서 얻어진 다제내성 빈도(16.2%)와 유사하였다. Threlfall 등²⁷⁾은 식품에서 분리된 *E coli* O157:H7의 다제 내성은 높은 편이 아니나 streptomycin, sulphonomides 그리고 tetracyclines에서는 내성율이 높게 나타난다고 보고하였고, 이 내성율은 1994년 이후로 계속 증가하고 있다고 시사하였다. *E coli* O157:H7의 가장 흔한 내성유형은 streptomycin-sulfisoxazole-tetracycline이었으며^{25,28)}, 본 연구에서 나타난 내성유형과 거의 일치하였다.

Dupont 등²⁹⁾이 임상적으로 EHEC 감염에 기인한 출혈성 설사 환자의 증세가 HUS로 진행되는 것을 막기 위해 감염초기에 trimethoprim-sulphamethoxazole 등의 치료가 유효하다고 보고하였으나, 항생제의 사용은 세균의 용균을 야기하여 장내에 shiga toxin을 유리시킬 수 있으며, 특히 fluoroquinolones같은 항생제의 경우 shiga toxin의 유전자 발현을 유도하여 증세를 악화시킬 수도 있다고 지적한 바 있다²⁸⁾.

우리나라 정상 소의 분변에서의 *E coli* O157:H7의 분리율은 외국의 보고보다는 낮게 나타났으나, 소의 육회나 생간을 날것으로 먹는 식습관이나 패스트푸드와 냉동식품의 확대 보급으로 이 균에 의한 감염가능성이 점차 높아지는 추세이다. 이에 따라 식중독의 예방 및 안전한 축산물의 생산을 위하여 *E coli* O157:H7의 지속적인 검사와 그에 따른 도축장의 위생관리의 강화에 더욱 힘써야 할 것으로 사료된다.

결 론

2002년 3월부터 2003년 12월까지 서울시 도축장에서 소 분변 1,208두와 도체표면 911건을 채취하여 *E coli* O157:H7의 분리를 실시하였

다. 분리된 45주에 대해 생화학적 및 혈청학적 검사를 실시하고, multiplex PCR로 병원성 인자를 검출하고, 분리주에 대한 항생제내성검사를 실시한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. Immunomagnetic separation(IMS)법을 이용하여 1,208건의 소분변으로부터 45주(3.7%)의 *E coli* O157:H7이 분리되었고, 911건의 소 도체표면에서는 한건도 분리되지 않았다.
2. 분리된 45주에 대해 생화학적 검사를 실시한 결과 45주 모두가 sorbitol을 분해하지 못하고, β -glucuronidase에 활성을 보이지 않아 전형적인 *E coli* O157:H7의 성상을 보였다. 분리주에 대한 항혈청을 이용한 응집반응을 실시한 결과 45건 모두 혈청형이 O157:H7으로 나타났다.
3. 45주의 분리주에 대해 병원성인자를 암호하는 *stx1*, *stx2*, *eaeA* 및 *hlyA* 유전자에 대한 multiplex PCR을 실시한 결과 *eaeA*와 *hlyA* 유전자는 45주에서 모두 검출되었고, *stx1*만을 보유한 분리주는 1주(2.2%), *stx2*만을 가진 분리주는 21주(46.7%), *stx1*과 *stx2*를 동시에 가진 분리주는 18(40.0%)주이었고, 나머지 5주(11.1%)는 *stx1*과 *stx2* 모두 가지고 있지 않았다.
4. 항생제 감수성 검사를 실시한 결과 amoxicillin/clavulanic acid와 cefazolin은 45주 모두에서 감수성을 나타내었으며 내성이 높게 관찰되는 항생제는 sulfisoxazole에서 11주(24.4%), streptomycin에서 10주(22.2%), tetracycline에서 9(20.0%)주로 나타났다. 그리고 3가지 이상의 다제내성 양상을 보인 분리주는 8주(17.8%)이었다.

참고문헌

1. Ostroff SM, Tarr PI, Neill MA, et al. 1989. Toxin genotypes and plasmid profiles as determinants of systemic sequelae in *Escherichia coli* O157:H7 infections. *J Infect Dis* 160 : 994-998.
2. Karmali MA, Steele BT, Petric M, et al.

1983. Sporadic cases of haemolytic-uraemic syndrome associated with faecal cytotoxin and cytotoxin-producing *Escherichia coli* in stools. *Lancet* 1 : 619-620.
3. Iwasa M, Makino S, Asakura H et al. 1999. Detection of *Escherichia coli* O157:H7 from musca domestica (*Diptera: Muscidae*) at a cattle farm in Japan. *J Med Entomol* 36 : 108-112.
 4. 국립보건원. 1994. 감염병 발생정보 5 : 131-142.
 5. Louie M, Read S, Louie L, et al. 1999. Molecular typing methods to investigate transmission of *Escherichia coli* O157:H7 from cattle to humans. *Epidemiol Infect* 123 : 17-24
 6. Brees P, Morgan IM, Ackermann TW, et al. 2000. Cattle lack vascular receptors for *Escherichia coli* O157:H7 shiga toxins. *Pans* 97 : 10325-10329.
 7. Thomas A, Cheasty T, Frost JA, et al. 1996. Verocytotoxin-producing *Escherichia coli*, particularly serogroup O157, associated with human infections in England and Wales : 1992-4. *Epidemiol Infect* 117 : 1-10.
 8. 강동현. 1997. 식품 병원균인 *Escherichia coli* O157:H7의 중요성. 한국식품위생안전성학회지 12 : 367-378.
 9. Hideki, Jun K, Muneo S, et al. 2001. Prevalence and characteristics of shiga toxin-producing *Escherichia coli* from healthy cattle in Japan. *Appl Environ Microbiol* 67 : 484-489.
 10. 정석찬, 정병열, 윤장원 등. 1998. 쇠고기 중 *Escherichia coli* O157:H7 신속검출을 위한 multiplex-PCR 기법 개발. 대한수의학회지 38 : 173-181.
 11. Feng P, Monday SR. 2000. Multiplex PCR for detection of trait and virulence factors in enterohemorrhagic *Escherichia coli* serotypes. *Mol Cell Probes* 14 : 333-337.
 12. Johnsen G, Wasteson Y, Heir E, et al. 2001. *Escherichia coli* O157:H7 in feces from cattle, sheep and pigs in the southwest part of Norway during 1998 and 1999. *Int J Food Microbiol* 65 : 193-200.
 13. Wang G, Zhao T, Doyle MP 1996. Fate of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in bovine feces. *Appl Environ Microbiol* 62 : 2567-2570.
 14. Mead PS, Griffin PM. 1998. *Escherichia coli* O157:H7. *Lancet* 352 : 1207-1212.
 15. Adwan K, Abu-Hasan N, Essawi T. 2002. Isolation and characterisation of shiga toxigenic *Escherichia coli* strains from northern Palestine. *J Med Microbiol* 51 : 332-335.
 16. Hu Y, Zhang Q, Meitzler JC. 1999. Rapid and sensitive detection of *Escherichia coli* O157:H7 in bovine faeces by multiplex PCR. *J Appl. Microbiol* 87 : 867-876.
 17. Paton AW, Paton JC. 1998. Detection and characterization of shiga toxigenic *Escherichia coli* by using multiplex PCR assays for *stx1*, *stx2*, *eaeA*, enterohemorrhagic *E. coli hlyA*, *rfb_{O111}*, and *rfb_{O157}*. *J Clin Microbiol* 36 : 598-602.
 18. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1997. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests-6th ed. NCCLS, Wayne, Pa.
 19. Bonardi S, Maggi E, Bottarelli A, et al. 1999. Isolation of vero cytotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 from cattle at slaughter in Italy. *Vet Microbiol* 67 : 203-211.
 20. Heuvelink AE, Biggelaar FL, Boer, E, et al. 1998. Isolation and characterization of verocytotoxin-producing *Escherichia coli*

- O157 strains from dutch cattle and sheep. *J Clin Microbiol* 36 : 878-882.
21. Lahti E, Keskimaki M, Rantala L, et al. 2001. Occurrence of *Escherichia coli* O157 in finnish cattle. *Vet Microbiol* 79 : 239-254.
 22. 차인호, 김용환. 1996. 동물분변에서 *Escherichia coli* O157:H7의 분리 및 이들 균이 생산하는 Verotoxin-2의 생물화학적 특성(I. 소와 돼지의 분변에서 *Escherichia coli* O157:H7의 분리 및 Verotoxin-2 생산에 관여하는 파아지의 분리에 관하여). *대한수의학회지* 36 : 371-378.
 23. 고주언, 홍종해. 1997. 도체표면의 분변오염과 verotoxin 생성. *한국식품위생안전성학회지* 12 : 78-82.
 24. Leclercq A, Lambert B, Pierarad D, et al. 2001. Particular biochemical profiles for enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 isolates on the ID 32E system. *J Clin Microbiol* 39 : 1161-1164.
 25. Meng J, Zhao S, Doyle MP, et al. 1998. Antibiotic resistance of *Escherichia coli* O157:H7 and O157:NM isolated from animals, food and humans. *J Food Prot* 61 : 1511-1514.
 26. Schroeder CM, Zhao C, Debroy C, et al. 2002. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* O157 isolated from humans, cattle, swine and food. *Appl Environ Microbiol* 68 : 576-581.
 27. Threlfall EJ, Ward LR, Frost JA, et al. 2000. The emergene and spread of antibiotic resistance in food-borne bacteria. *Int J Food Microbiol* 62 : 1-5.
 28. Vila J, Vargas M, Casals C, et al. 1999. Antimicrobial resistance of diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from children under the age of 5 years from Ifakara, Tanzania. *Antimicrob Agents Chemother* 43 : 3022-3024.
 29. Dupont H, Timsit JF, Souweine B, et al. 1996. Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* O157 and other enterohaemorrhagic *Escherichia coli* isolated in Italy. *Clin Reanim Malad Infect* 15 : 351-353.