

< Original Article >

## 광주지역 한우 분변 내 설사병 병원체 조사

고바라다\* · 김효중 · 오아름 · 정보람 · 박재성 · 이재기 · 나호명 · 김용환  
광주광역시보건환경연구원

### Prevalence of enteropathogens in the feces from diarrheic Korean native cattle in Gwangju area, Korea

Ba-Ra-Da Koh\*, Hyo-Jung Kim, A-Reum Oh, Bo-Ram Jung, Jae-Sung Park,  
Jae-Gi Lee, Ho-Myoung Na, Yong-Hwan Kim

Health & Environment Research Institute of Gwangju, Gwangju 61027, Korea

(Received 7 May 2019; accepted 18 June 2019)

#### Abstract

Calf diarrhea is a common disease in young calves and is still a major cause of productivity and economic loss in livestock farms. Fecal samples from Korean native cattle ( $n=100$ ) with diarrhea from 64 farms in Gwangju area, Korea from September 2017 to December 2018 were examined for shedding of important protozoan parasitic, viral and bacterial pathogens using culture, rapid test kit and PCR methods. Of 57 (89.1%) of the 64 Korean native cattle farms examined had samples infected with at least one of the investigated pathogens. Among 100 fecal samples, 88 samples were positive for at least one of the twelve pathogens and 51 samples were simultaneously positive for two or more pathogens by culture and PCR assay. Bovine group A rotavirus (BRV) was the most common pathogen, found in 43/100 (43.0%) samples on 32/64 (50.0%) farms. Subsequently, kobuvirus (30.0%), pathogenic *E. coli* (29.0%), bovine parvovirus (17.0%), *Giardia* spp. (13.0%), *Eimeria* spp. (10.0%), *Clostridium perfringens* type A (8.0%), bovine torovirus (8.0%), bovine viral diarrhea virus (6.0%), bovine coronavirus (5.0%), bovine norovirus (2.0%) and *Cryptosporidium* spp. (2.0%) were detected. Nebovirus, kirkclareli virus, bovine adenovirus, *Salmonella* spp. and intestinal parasites were not detected. Of the 72 calves sampled in this age group, 64 (88.9%) samples were positive for at least one enteropathogen. BRV was identified in 34/72 (47.2%) samples from 27/48 (56.3%) farms. Subsequently, pathogenic *E. coli* (30.6%), kobuvirus (29.2%), BPaV (22.2%), *Giardia* spp. (15.3%), *Eimeria* spp. (9.7%), BVDV (6.9%), *Cl. perfringens* type A (6.9%), BCoV (4.6%) and *Cryptosporidium* spp. (2.8%) were detected in fecal samples. A total of ninety-six strains of *E. coli* were isolated from one hundred fecal samples collected from Korean native cattle with diarrhea. The presence of *stx1*, *stx2*, *eaeA*, LT, STa, STb, *ehxA*, *saa*, F4, F5(K99), F6, F17, F18 and F41 genes in the isolates was investigated by PCR. Out of ninety-six *E. coli* isolates screened for specific genes, 30 strains *E. coli* were identified to harbor shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) 7 (7.3%), enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) 8 (8.3%), enteropathogenic *E. coli* (EPEC) 6 (6.3%), enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) 2 (2.1%) and STEC/ETEC hybrid 7 (7.3%). This study provides epidemiological estimates of the prevalence of Korean native cattle's enteropathogens in Gwangju area, Korea, which would be used for cattle farmers and veterinarians to select appropriate therapeutic method.

**Key words :** Korean native cattle, Diarrhea, Bovine group A rotavirus, Pathogenic *E. coli*, *Giardia* spp.

\*Corresponding author: Ba-Ra-Da Koh, Tel. +82-62-613-7651,  
Fax. +82-62-613-7649, E-mail. barada@korea.kr

## 서 론

송아지 설사는 어린 송아지에서 흔히 발생하는 질병이며, 축산농가에서 여전히 생산성과 경제적 손실의 주요 원인이 된다. 임상 증상은 수양성 황색 설사, 회색 및 녹색 또는 혈액이나 점액이 포함된 설사, 탈수증, 체중감소 및 경련 등이 나타나며, 증상이 심해지면 때로는 폐사에 이른다(Schroeder 등, 2012). 여러 가지 병원체가 송아지 설사를 유발하거나 관여하는 것으로 알려져 있으며, 환경 및 사양관리, 영양 및 면역상태, 병원체 감염 정도와 같은 여러 가지 위험요인이 질병의 심각성이나 결과에 영향을 미친다(Cho와 Yoon, 2014).

국내에서 젓소와 한우 송아지의 주요 폐사원인은 장염이 42.5~44.4%로 폐렴 10.5~20.9%보다 많은 비중을 차지하고 있다(Kang 등, 2001; Hur 등, 2013b; Kim 등, 2015). 송아지 설사는 전염성 인자와 비전염성 인자 모두에 기인한다(Bartels 등, 2010; Cho와 Yoon, 2014). 전염성 인자로는 바이러스, 세균 및 기생충과 같은 소화기 병원체가 설사 발병과 관련되어 있으며, 단일 감염보다는 복합 감염 형태로 자주 관찰된다(Kang 등, 2001; Izzo 등, 2011). 두 가지 이상의 병원체에 감염된 송아지는 단일 병원체에 감염된 송아지보다 설사증상이 발생할 가능성이 6배정도 더 높다(Boileau와 Kapil, 2010).

송아지 설사를 일으키는 전염성 병원체는 bovine rotavirus (BRV), bovine coronavirus (BCoV), bovine viral diarrhea virus (BVDV), *Escherichia (E.) coli*, *Clostridium (Cl.) perfringens*, *Eimeria* spp., *Giardia* spp. 및 *Cryptosporidium* spp. 등이 있으며(Cho와 Yoon, 2014), torovirus, kobuvirus와 calicivirus 3종, 즉 bovine norovirus (BNoV), nebovirus, kirkclareli virus도 설사병 원인으로 보고되었다(Hoet 등, 2003; Yamashita 등, 2003; Park 등, 2007; Alkan 등 2015). 그 외에도 bovine parvovirus (BPaV)과 bovine adenovirus (BAoV)도 소에서 설사를 유발한다(Kailasan 등, 2015; Sibley 등, 2011).

한편, 대장균은 포유류 대장부위에 상재하는 세균으로 대부분 비병원성이기 때문에 설사분변에서 분리된 대장균은 병원성 인자에 대한 검사가 필요하다. 대장균은 병원성에 따라 장출혈성 대장균(enterohemorrhagic *E. coli*, EHEC), 장관독소원성 대장균(enterotoxigenic *E. coli*, ETEC), 장관병원성 대장균(enteropathogenic *E. coli*, EPEC), 장관침투성 대장균(enteroinvasive *E. coli*, EIEC), 장관흡착성 대장균(enteroag-

gressive *E. coli*, EAEC) 및 분산부착성 대장균(diffusely adherent *E. coli*, DAEC)으로 분류되고 있다(Nataro와 Kaper, 1998; Kaper 등, 2004). EAEC와 DAEC는 사람의 설사 유발 원인으로 알려져 있지만, 소에서는 질병 발생과 연관성이 없다(Cassar 등, 2004; Wieler 등, 2007; Kolenda 등, 2015).

시가독소생성 대장균(shiga toxin-producing *E. coli*, STEC)은 shiga toxin (Stx)을 산생하는 모든 대장균에 대한 일반적인 용어로 사용되었으며, EHEC라는 용어는 출혈성 대장염과 용혈성 요독 증후군을 일으키고, LEE (locus for enterocyte effacement)라는 하는 병원성 섬(pathogenicity island)의 일부인 intimin (*eaeA* gene)을 포함하여 Stx-positive strain 즉, STEC의 한부분(subset)으로만 표기하기 위해 사용되었다. 모든 STEC가 병원체로 간주되지 않지만, 상기 정의에 의해 EHEC는 병원체로 간주된다(Nataro와 Kaper, 1998; Kaper 등, 2004).

소에서 *Giardia* spp.와 *Cryptosporidium* spp.는 분변-구강 전파로 발생하는 원충성 병원체이지만, 사람에게서도 매우 흔한 수인성 전염병을 일으키는 원인체이다(Feng과 Xiao, 2011; Ryan 등, 2014). 람블편모충증은 소장에 기생하는 *Giardia (G.) lamblia* (동의어 *G. duodenalis* 또는 *G. intestinalis*)가 원인체이다. *C. parvum*, *C. bovis*, *C. andersoni*, *C. hominis* 및 *C. ryanae*는 소에서 감염을 일으키고, *C. parvum*과 *C. hominis*는 사람에게서도 감염을 일으킨다(Ryan 등, 2014). 또 다른 원충성 질환 중 하나인 소 콕시듐증은 송아지 생산성에 영향을 미치는 가장 중요한 기생충 질환 중 하나이다. 콕시듐의 초기 증상은 정상적인 분변에 혈액과 점액이 묻어나오다가 2~3일 후에 혈액과 점액 덩어리 형태로 배설되거나 처음부터 신선한 혈변이 관찰된다(Kwon과 Jang, 2000).

송아지 설사병은 원인체가 다르더라도 임상증상이 유사하기 때문에 정확한 검사가 필요하며, 증상 개선을 위한 대증요법과 원인체에 따른 치료제 선택이 중요하다. 농림축산검역본부에서 시행하고 있는 동물질병 표준진단요령(예규 제142호, 2017.12.29.)에는 대장균증, 살모넬라증, 장독혈증 및 BVDV 검사방법이 기재되어 있다. 전국의 동물위생시험소에서 수행되고 있는 소 설사병 진단에 주로 활용되는 진단방법은 소 설사병 항원 5종 (BRV, BCoV, *E. coli* K99, *Cryptosporidium* spp. 및 *Giardia* spp.) 항원진단키트, 세균 배양, 포화식염수 부유법을 이용한 기생충 검사 그리고 바이러스 3종 (BRV, BCoV 및 BVDV) RT-PCR kit

(Lili™ BD-Multi RT-PCR kit, iNtRON Biotechnology Inc., Korea)을 이용하여 진단하고 있다.

이번 조사는 광주지역 한우 설사병 원인체에 대한 신속한 진단과 치료를 위해 간이진단키트 활용과 실험실 정밀진단을 통해 양축농가에 신속하고 정확한 현장 연계형 질병진단 서비스를 제공하고 질병동향 파악과 확산방지 대책을 수립하고자 17개 병원체에 대한 감염실태와 분리한 대장균에 대해서 병원성 인자를 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 시료채취

한우 설사분변은 2017년 9월부터 2018년 12월까지 광주 인근지역에서 64농가 100건을 채취하였다. 시료는 일회용 비닐장갑을 착용 후 직장에 자극을 주어 분변을 채취하거나 임상증상을 보이는 개체의 축사에서 발견되는 설사분변을 채취하였다. 시료는 냉장 상태로 실험실로 운반하여 즉시 송아지 설사병 5종 (BRV, BCoV, *E. coli* K99, *Giardia* spp. 및 *Cryptosporidium* spp.)를 신속진단키트 (Rapid BoviD-5 Ag, Bionote, Korea)로 제조사의 지시에 따라 검사하였으며, 12시간 이내에 바이러스 검사, 세균 분리·동정 및 기생충 검사에 사용하였다. 이번 검사항목은 모두 17개 병원체로 바이러스 질병은 BRV, BCoV, BVDV, torovirus, kobuvirus, norovirus, nebovirus, kirklareli virus, BPaV 및 BAdV이며, 세균질병은 병원성 대장균, *Salmonella* spp. 및 *Cl. perfringens*이며, 기생충 검사항목은 *Eimeria* spp., *Giardia* spp., *Cryptosporidium* spp. 및 장내 기생충이었다. 채취된 분변은 나이에 따라 4개 그룹 즉, 송아지 (≤6개월), 육성·비육우 (≤2년), 성우 (>2년) 및 나이불명 소로 분류하였다.

### 세균검사

미생물검사 대상은 병원성 대장균, *Salmonella* spp. 및 *Cl. perfringens*이며 검사방법은 동물질병표준 진단요령(APQA, 2017)에 따라 검사하였다. 미생물 동정은 Vitek II system (bioMérieux, France)을 이용하여 최종 동정하였다. 이들 미생물에 대한 병원성 인자와 관련된 유전자 검사를 위해서 순수 분리한 집락을 tryptic soy agar 또는 5% 면양 혈액천천배지에 하룻밤

계대 배양한 다음, 일정량의 집락을 멸균 증류수 0.5 mL에 현탁시켜 100°C에서 15분간 중탕 후, 14,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 그 상층액을 template DNA로 사용하였다.

대장균의 병원성 인자 *stx1*, *stx2*, *eaeA*, F5(K99), F41 및 STa의 유전자 검사는 Franck 등(1998)이 제시한 multiplex PCR 방법을 이용하였다. Enterohemolysin (*ehxA*)은 Schmidt 등(1995), F17 유전자는 Van Bost 등(2001) 그리고 *saa* 유전자는 Paton과 Paton (2002)의 방법에 따라 PCR을 수행하였다. 한편 F4, F6 그리고 F18 검사와 LT와 STb 검사에는 각각 AccuPower® ETEC-Pili 5-Plex와 ETEC-Toxin 4-Plex PCR Kit (Bioneer, Korea)를 사용하였으며, 제조사의 지시에 따라 polymerase chain reaction (PCR)을 수행하였다.

*Cl. perfringens* 독소 산생 유전자 검사는 Yoo 등 (1997)의 방법에 따라 실험하였다. 이번 조사에 사용한 모든 primer는 Bioneer (Korea)에 의뢰하여 제작하였다. PCR 조성은 Maxime™ PCR premix kit (*i-Star-Taq*) (iNtRON biotechnology, Korea)을 사용하여 primer (10 pmole/μL) 각 1 μL, template DNA 2 μL를 넣어 증류수로 총 20 μL가 되게 조정하였다.

### 바이러스 검사

설사분변은 0.01 M phosphate buffered saline (pH 7.4) 용액으로 10배 희석하여 실온에서 10분간 2,000×g로 원심분리하였다. 원심분리한 상층액 150 μL를 취하여 Viral DNA/RNA extraction kit (iNtRON Biotechnology Inc., Korea)을 사용하여 제조사의 지시에 따라 유전자를 추출하였다. 추출된 유전자는 실험 전까지 -20°C에 보관하였다.

BCoV와 BVDV 검출을 위해서는 Lili™ BD-Multi RT-PCR kit (iNtRON Biotechnology Inc., Korea)를 사용하였으며, 제조사의 지시에 따라 RT-PCR을 수행하였다. BRV, torovirus, kobuvirus, norovirus, nebovirus, kirklareli virus, BAdV 및 BPaV 검출을 위한 primer과 annealing 온도 조건은 Table 1과 같다.

RNA 바이러스로부터 first-strand cDNA 합성과 PCR을 수행하기 위해서 Maxime™ RT-PCR premix kit (iNtRON biotechnology, Korea)를 사용하였으며, one-step RT-PCR 조성은 primer (10 pmole/μL) 각 1 μL, template RNA 2 μL를 넣어 증류수로 총 20 μL가 되게 조정하였다. Reverse transcription step은 45°C, 30분 반응한 후에 RTase inactivation step을 95°C, 5분 과정

**Table 1.** List of the oligonucleotide primers designed from target genes of the viral enteropathogens used in this study

| Target disease           | Sequence (5'→3')*             | Product size (base pair) | Target gene                   | Annealing Temperature | Reference             |
|--------------------------|-------------------------------|--------------------------|-------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| Bovine group A rotavirus | GCCTTTAAAAGCGAGAAITTT (F)     | 1,062                    | VP7                           | 52°C                  | Park et al., 2006a    |
|                          | GGTCACATCATACTCACTCA (R)      |                          |                               |                       |                       |
|                          | ATGTATGGTATTGAATATAACCAC (nF) | 885                      |                               |                       |                       |
| Torovirus                | AACCTGCCACCATTTTTTCC (nR)     |                          | Spike protein                 | 55°C                  | Hoet et al., 2003     |
|                          | GTGTTAAGTTTGTGCAAAAAT (F)     | 741                      |                               |                       |                       |
|                          | TGCATGAACTCTATATGGTGT (R)     |                          |                               |                       |                       |
| Kobuvirus                | TGGATTAATTCAGGAGGTGCC (nF)    | 653                      | 3D protein                    | 55°C                  | Kirisawa et al., 2007 |
|                          | CACTCTACATAGAGCGGTGTC (nR)    |                          |                               |                       |                       |
|                          | GATGCTCCTCGGTGGTCTCA (F)      | 631                      |                               |                       |                       |
| Norovirus                | GTCGGGGTCCATCACAGGGT (R)      |                          | <i>RdRp</i> <sup>†</sup>      | 54°C                  | Smiley et al., 2003   |
|                          | TGGAYTACAARTGTTTTGATGC (nF)   | 216                      |                               |                       |                       |
|                          | TGTTGTTRATGATGGTGTGA (nR)     |                          |                               |                       |                       |
| Nebovirus                | AGTTAYTTTTTCCTTYTAYGGBGA (F)  | 532                      | <i>RdRp</i> -MCP <sup>‡</sup> | 52°C                  | Smiley et al., 2003   |
|                          | AGTGTCTCTGTCAGTCATCTTCAT (R)  |                          |                               |                       |                       |
|                          | GTCGACGGYCTKGTSTTCCT (nF)     | 326                      |                               |                       |                       |
| Kırklareli virus         | CACAGCGACAAAATCATGAAA (nR)    |                          | Capsid                        | 55°C                  | Alkan et al., 2015    |
|                          | TTTCTAACYTATGGGGAYGAYG (F)    | 549                      |                               |                       |                       |
|                          | GTCACTCATGTTTCCTTCTCTAAT (R)  |                          |                               |                       |                       |
| Bovine adenovirus        | CGCTCCGTGTGGGATCACGA (nF)     | 194                      | Hexon                         | 55°C                  | Sibley et al., 2011   |
|                          | GCACGGGCTTCTTCTAGAGA (nR)     |                          |                               |                       |                       |
|                          | CCACCATATCACCAAATTGC (F)      | 300                      |                               |                       |                       |
| Bovine parvovirus        | CATAATCAGAATAGAAGGCCG (R)     | 599~725                  | Unknown protein               | 58°C                  | APQA, 2016            |
|                          | CAGTGGTCHTACATGCACATC (F)     |                          |                               |                       |                       |
|                          | GCATAAGACCCGTAGCAWGG (R) (nR) | 588~714                  |                               |                       |                       |
|                          | CATGCACATCGSGGNCAGGA (nF)     | 281                      |                               |                       |                       |
|                          | CTACAATGATTTGGTGGTACATTT      |                          |                               |                       |                       |
|                          | TAGAAAGCATCATGACTAACCAGT      |                          |                               |                       |                       |

\*F, forward primer; R, reverse primer; nF, forward primer for nested PCR; nR, reverse primer for nested PCR. <sup>†</sup>*RdRp*, RNA-dependent RNA polymerase. <sup>‡</sup>MCP, major capsid protein.

을 1 cycle 수행하였으며, PCR 단계는 denaturation 94°C, 45초, annealing은 Table 1과 같은 온도에서 1분 그리고 extension은 72°C, 1분 과정을 40회 반복하였다. 최종 extension은 72°C, 7분 과정을 1회 조건으로 실험하였다. 특히, BRV는 이중나선 RNA이기 때문에 first-strand cDNA 합성 전에 추출한 template RNA는 95°C에서 5분 동안 열처리한 후 얼음물에 급속히 냉각하여 단일가닥으로 변환 후 실험에 사용하였다.

RNA 바이러스의 nested PCR과 DNA 바이러스의 PCR 조성은 Maxime<sup>TM</sup> PCR premix kit (*i-StarTaq*) (iNtRON biotechnology, Korea)을 사용하여 primer (10 pmole/μL) 각 1 μL, template DNA 2 μL를 넣어 증류수로 총 20 μL가 되게 조정하였다. PCR 조건은 pre-denaturation 95°C 5분 과정을 1 cycle 수행한 후, PCR 단계는 denaturation 94°C, 45초, annealing은 Table 1과 같은 온도에서 1분 그리고 extension 72°C, 1분 과정을 35회 반복하였으며, 최종 extension은 72°C, 7분 과

정을 1회 반복하여 실험하였다.

## 기생충 검사

설사분변 내 기생충 검사를 위해 소 설사병 신속진단키트(Rapid BoviD-5 Ag test kit, Bionote Inc., Korea)를 이용하여 제조사의 지시에 따라 *Giardia* spp.와 *Cryptosporidium* spp.를 검사하였으며, *Eimeria* spp.와 일반 충란 검사는 포화식염수 부유법으로 검사하였다.

분변에서 유전자 추출은 바이러스 검사에서 사용한 10배 희석한 시험액 1 mL을 MagNA lyser green bead (Roche, Germany)에 분주하고 실온에서 10분간 12,000×g로 원심분리하였다. 원심분리한 상층액은 버리고 침전물에 nucleic lysis buffer (Promega, USA) 300 μL와 proteinase K (10 mg/mL) 10 μL를 추가하여 MagNA Lyser (Roche, Germany)기에 넣고 6000×g에

서 40초간 2회 분쇄한 후 65°C에서 30분간 열처리하였다. 이 용액 300 µL를 NX-48 Stool DNA kit (Genolution, Korea)에 넣고 Nextractor<sup>®</sup> (NX-48) (Genolution, Korea)를 이용하여 제조사의 지시에 따라 유전자를 추출하였다. 추출된 유전자는 실험실 전까지 -20°C에 보관하였다.

소 설사병 신속진단키트에서 기생충이 양성으로 확인된 설사분변은 PowerChek<sup>™</sup> real-time PCR kit (Kogenebiotech Co., Korea)를 이용하여 *G. lamblia*와 *C. parvum* 감염 여부를 확인하였으며, 검사는 제조사의 지시에 따라 real-time PCR을 수행하였다.

### 통계분석

통계분석은 IBM<sup>®</sup> SPSS<sup>®</sup> Statistics ver. 25.0 (IBM Co., Armonk, NY, USA)를 이용하였다. 계절과 나이에 따른 설사병 원인체 분석결과에 따라 Fisher의 정확 검정(Fisher's exact test)으로 통계학적 유의성을 검사하였으며, *P*값이 0.05 미만인 경우 통계학적 유의한 것으로 판단하였다. 설사분변을 대상으로 한 PCR과 신속진단키트사이의 일치도는 Cohen's kappa 분석을 실시하였다(Fleiss와 Cohens, 1973).

## 결 과

### 한우 설사분변 채취결과

2017년 9월부터 2018년 12월까지 광주 인근지역 64농가에서 한우 설사 분변 총 100건을 채취하였고, 송아지 72건, 육성·비육우 12건, 성우 5건 그리고 나이 불명 소 11건으로 분류되었다(Table 2).

시료 100건 중 계절별 채취건수는 봄(3~5월) 22건, 여름(6~8월) 14건, 가을(9~11월) 39건 그리고 겨울(12~2월) 25건이었으며, 송아지 분변시료 72건 중 계절별 의뢰건수는 봄 19건(26.4%), 여름 6건(8.3%), 가을 31건(43.1%) 그리고 겨울 16건(22.2%)이었다(Table 3). 송아지 설사는 가을에 31건(43.1%)으로 가장 많이 의뢰되었고, 9월부터 12월 사이에 가장 많이 발생하였다(Fig. 4). 연령별 의뢰건수는 1개월령이 25건으로 가장 많았고, 2주령과 2개월령에서 각각 12건을 차지하였다.

### 대장균 병원성 인자

한우 설사 분변 총 100건 중에서 대장균은 95개 분변에서 96 균주가 분리되었는데, 이것은 한개 분변시료에서 병원성 대장균 2 균주가 분리되었기 때문이다. 총 96개의 대장균을 PCR로 분석한 결과를 Table 6에 요약하였다. 전체 96 균주 중 60 균주(62.5%)는 이번 연구에서 시험한 병원성 인자 중 하나 이상을 보유하고 있었다. 가장 많이 검출된 병원성 인자는 F17 (35/96, 36.4%)이었으며, 다음으로 *stx1* (14.3%), *eaeA* (14.3%), F6 (13.5%), STa (9.4%), *stx2* (8.3%), *ehxA* (8.3%), *saa* (5.2%)가 검출되었고, LT, STb, F4, F5 (K99), F18 그리고 F41은 한 건도 검출되지 않았다. 병원성 대장균 30 균주 중에서 가장 많이 검출된 병원성 인자는 *stx1*과 *eaeA*로 각각 46.7%이었으며, 다음으로 F17 (40.0%), STa (30.0%), *stx2* (26.7%), *ehxA* (26.7%), *saa* (13.3%) 그리고 F6 (10.0%)이었다.

총 100건의 설사분변 중 29건(29.0%)의 분변에서 병원성 대장균이 30 균주가 분리되었는데, 한 개 시료(2주령)에서 STEC와 ETEC가 동시에 분리되었다. 분리된 병원성 대장균 30 균주 중 EHEC가 8균주(8.3%)로 가장 많이 분리되었고, STEC 7 균주(7.3%) STEC-ETEC hybrid 7 균주(7.3%), EPEC 6 균주(6.3%) 및 ETEC 2 균주(2.1%)가 분리되었다(Table 7). 각 병원성 대장균을 병원성 인자별로 구분해 보면, STEC의 경우에는 *stx1*과 *stx2*가 *saa*, F17, F6와 조합되어 분리되었다. EHEC는 *stx1+eaeA*과 *stx2+eaeA*가 F6, F17, *saa* 및 *ehxA*와 조합되어 분리되었다. EPEC는 *eaeA*만 1 균주, *eaeA*+F1 4 균주 그리고 *eaeA+ehxA*+F17 1 균주가 분리되었다. ETEC는 STa+F6 균주와 STa+*ehxA* 균주가 각각 1개씩 분리되었다. STEC-ETEC hybrid 균주는 7개가 검출되었는데, *stx1*+STa 2 균주, *stx2*+STa 3 균주, *stx2*+STa+F17 2 균주가 분리되었다. 비병원성 대장균 중 36 균주는 이번 연구에서 조사한 유전자가 하나도 검출되지 않았다.

96개 대장균 분리주 중 6개월령 이하 송아지에서 병원성 분리주는 23 균주(24.0%)이었고, 육성·비육우 5 균주(5.2%), 성우와 나이 불명 소에서 각각 1 균주(1.0%)이었다. 송아지에서 2개월령 7 균주(7.3%)로 가장 많이 분리되었고, 그 다음은 4주령에서 6 균주(6.3%)가 동정되었다(Table 8). 병원성 대장균이 계절별로 가을 (50.0%)에 가장 많이 검출되었고, 다음으로 겨울(23.3%)과 봄(16.7%) 순이었지만, 통계학적 유의한 차이는 없었다(Table 9). 한편, 이번 연구에서 설사분

Table 2. Prevalence (%) of enteric pathogens detected in fecal samples from diarrhetic Korean native cattle distributed by age group\*

|                             | BRV                | BCoV     | BVDV     | BToV     | Kobu      | BNoV    | BPaV      | <i>E. coli</i> | Cl.per   | Giar      | Cryp    | Eimeria   | ND        |
|-----------------------------|--------------------|----------|----------|----------|-----------|---------|-----------|----------------|----------|-----------|---------|-----------|-----------|
| Calves (≤6 mo)              |                    |          |          |          |           |         |           |                |          |           |         |           |           |
| ≤1 w (n=3)                  | 1 (33.3)           |          |          |          |           |         | 1 (33.3)  | 1 (33.3)       |          |           |         |           | 1 (33.3)  |
| ≤2 w (n=12)                 | 10 (83.3)          | 1 (8.3)  |          | 1 (8.3)  | 1 (8.3)   |         | 4 (33.3)  | 2 (16.6)       | 4 (33.3) |           |         |           | 1 (8.3)   |
| ≤3 w (n=3)                  | 3 (100)            |          |          |          |           |         | 1 (33.3)  | 1 (33.3)       |          |           |         |           |           |
| ≤4 w (n=25)                 | 11 (44.0)          | 1 (4.0)  | 4 (16.0) | 1 (4.0)  | 6 (24.0)  |         | 2 (8.0)   | 6 (24.0)       |          | 7 (28.0)  | 1 (4.0) | 7 (28.0)  | 3 (12.0)  |
| ≤2 mo (n=12)                | 3 (25.0)           | 1 (8.3)  |          | 1 (8.3)  | 6 (50.0)  |         | 5 (41.7)  | 7 (58.3)       | 1 (8.3)  | 3 (25.0)  | 1 (8.3) |           |           |
| ≤3 mo (n=5)                 | 3 (60.0)           |          |          | 1 (20.0) | 3 (60.0)  |         |           | 2 (40.0)       |          |           |         |           |           |
| ≤4 mo (n=8)                 | 2 (25.0)           | 1 (12.5) | 1 (12.5) | 2 (25.0) | 4 (50.0)  |         | 3 (37.5)  | 3 (37.5)       |          | 1 (12.5)  |         |           | 1 (12.5)  |
| ≤5 mo (n=2)                 | 1 (50.0)           |          |          |          | 1 (50.0)  |         | 1 (50.0)  |                |          |           |         |           |           |
| ≤6 mo (n=2)                 |                    |          |          |          |           |         |           |                |          |           |         |           | 2 (100)   |
| Subtotal (n=72)             | 34 (47.2)          | 4 (5.6)  | 5 (6.9)  | 6 (8.3)  | 21 (29.2) |         | 16 (22.2) | 22 (30.6)      | 5 (6.9)  | 11 (15.3) | 2 (2.8) | 7 (9.7)   | 8 (11.1)  |
| Farm (n=48)                 | 27 (56.3)          | 4 (8.3)  | 4 (8.3)  | 5 (10.4) | 17 (35.4) |         | 10 (20.8) | 18 (37.5)      | 4 (8.3)  | 11 (22.9) | 2 (4.2) | 7 (14.6)  | 5 (10.4)  |
| P-value                     | 0.023 <sup>†</sup> | 0.958    | 0.705    | 0.614    | 0.100     | -       | 0.114     | 0.437          | 0.740    | 0.479     | 1.000   | 0.172     | -         |
| Young cattle (≤2 yr) (n=12) | 5 (41.7)           |          |          |          | 6 (50.0)  |         | 1 (8.3)   | 5 (41.7)       | 1 (8.3)  |           |         | 2 (16.7)  |           |
| Adult cattle (>2 yr) (n=5)  | 1 (20.0)           |          | 1 (20.0) |          | 1 (20.0)  |         |           | 1 (20.0)       |          |           |         |           | 3 (60.0)  |
| Unknown age (n=11)          | 3 (27.3)           | 1 (9.1)  |          | 2 (18.2) | 2 (18.2)  |         | 2 (18.2)  | 1 (9.1)        | 2 (18.2) | 2 (18.2)  |         | 1 (9.1)   | 1 (9.1)   |
| Total (n=100)               | 43 (43.0)          | 5 (5.0)  | 6 (6.0)  | 8 (8.0)  | 30 (30.0) | 2 (2.0) | 17 (17.0) | 29 (29.0)      | 8 (8.0)  | 13 (13.0) | 2 (2.0) | 10 (10.0) | 12 (12.0) |
| Farm (n=64)                 | 32 (50.0)          | 5 (7.8)  | 5 (7.8)  | 6 (9.4)  | 23 (35.9) | 2 (3.1) | 11 (17.2) | 24 (37.5)      | 8 (12.5) | 12 (18.8) | 2 (3.1) | 9 (14.1)  | 7 (10.4)  |

\*BRV, bovine rotavirus; BCoV, bovine coronavirus; BVDV, bovine viral diarrhetic virus; BToV, bovine torovirus; Kobu, kobuvirus; BNoV, bovine norovirus GIII; BPaV, bovine parvovirus; *E. coli*, pathogenic *E. coli*; Cl.per, *Clostridium perfringens* type A; Giar, *Giardia* spp.; Cryp, *Cryptosporidium* spp.; *Eimeria*, *Eimeria* spp.; ND, not detected. Statistical analysis was conducted only on calves less than 6 months of age. <sup>†</sup>P<0.05, statistically significant.

**Table 3.** Prevalence (%) of enteric pathogens detected in fecal samples from diarrhetic Korean native cattle distributed by season and age group

| Season*     | BRV                | BCoV     | BVDV     | BToV     | Kobu      | BNCoV    | BPaV               | <i>E. coli</i> | Cl per   | Ciar      | Cryp    | Eimeria | ND        |
|-------------|--------------------|----------|----------|----------|-----------|----------|--------------------|----------------|----------|-----------|---------|---------|-----------|
| Spring      |                    |          |          |          |           |          |                    |                |          |           |         |         |           |
| ≤6 mo       | 14 (73.7)          |          | 1 (5.3)  | 2 (10.5) | 2 (10.5)  |          | 6 (31.6)           | 5 (26.3)       | 4 (21.1) | 2 (10.5)  |         |         | 2 (10.5)  |
| ≤2 yr       | (n=19)             |          |          |          |           |          | 1 (100)            |                |          |           |         |         |           |
| >2 yr       | (n=1)              |          |          |          |           |          |                    |                |          |           |         |         |           |
| Unknown age | (n=0)              |          |          |          |           |          |                    |                |          |           |         |         |           |
| Subtotal    | 14 (63.6)          |          | 1 (4.5)  | 2 (9.1)  | 2 (9.1)   |          | 7 (31.8)           | 5 (22.7)       | 4 (18.2) | 1 (50.0)  |         |         | 1 (50.0)  |
| Summer      |                    |          |          |          |           |          |                    |                |          |           |         |         |           |
| ≤6 mo       | 3 (50.0)           |          | 1 (16.7) |          | 2 (33.3)  |          | 2 (33.3)           | 1 (16.7)       |          |           |         |         | 1 (16.7)  |
| ≤2 yr       | (n=6)              |          |          |          |           |          |                    | 2 (100)        |          |           |         |         |           |
| >2 yr       | (n=2)              |          |          |          |           |          |                    |                |          |           |         |         |           |
| Unknown age | (n=0)              |          |          |          |           |          |                    |                |          |           |         |         |           |
| Subtotal    | 2 (33.3)           |          | 1 (7.1)  | 2 (33.3) | 2 (33.3)  | 2 (33.3) | 2 (14.3)           | 3 (21.4)       | 1 (7.1)  | 1 (16.7)  |         |         | 1 (16.7)  |
| Autumn      |                    |          |          |          |           |          |                    |                |          |           |         |         |           |
| ≤6 mo       | 12 (38.7)          | 2 (6.5)  | 2 (6.5)  | 1 (3.2)  | 13 (41.9) |          | 1 (3.2)            | 11 (35.5)      | 1 (3.2)  | 7 (22.6)  | 1 (3.2) |         | 4 (12.9)  |
| ≤2 yr       | (n=31)             |          |          |          |           |          |                    | 2 (40.0)       | 1 (20.0) |           |         |         | 2 (40.0)  |
| >2 yr       | 1 (20.0)           |          |          |          | 2 (40.0)  |          |                    | 1 (50.0)       |          |           |         |         |           |
| Unknown age | (n=2)              |          |          |          | 1 (50.0)  |          |                    |                |          |           |         |         |           |
| Subtotal    | 14 (35.9)          | 2 (5.1)  | 3 (7.7)  | 1 (2.6)  | 16 (41.0) |          | 1 (2.6)            | 14 (35.9)      | 3 (7.7)  | 7 (17.9)  | 1 (2.6) |         | 4 (10.3)  |
| Winter      |                    |          |          |          |           |          |                    |                |          |           |         |         |           |
| ≤6 mo       | 5 (31.3)           | 2 (12.5) | 1 (6.3)  | 3 (18.8) | 4 (25.0)  |          | 7 (43.8)           | 5 (31.3)       |          | 2 (12.5)  | 1 (6.3) |         | 1 (6.3)   |
| ≤2 yr       | (n=16)             |          |          |          |           |          |                    | 1 (25.0)       |          |           |         |         |           |
| >2 yr       | 4 (100)            |          |          |          | 4 (100)   |          |                    |                |          |           |         |         |           |
| Unknown age | (n=3)              |          |          |          |           |          |                    |                |          |           |         |         |           |
| Subtotal    | 10 (40.0)          | 3 (12.0) | 1 (4.0)  | 3 (12.0) | 8 (32.0)  |          | 7 (28.0)           | 7 (28.0)       |          | 2 (8.0)   | 1 (4.0) |         | 4 (16.0)  |
| Total       | 43 (43.0)          | 5 (5.0)  | 6 (6.0)  | 8 (8.0)  | 30 (30.0) | 2 (2.0)  | 17 (17.0)          | 29 (29.0)      | 8 (8.0)  | 13 (13.0) | 2 (2.0) |         | 12 (12.0) |
| P-value     | 0.045 <sup>†</sup> | 0.426    | 0.736    | 0.266    | 0.102     | -        | 0.002 <sup>†</sup> | 0.835          | 0.090    | 0.586     | 0.770   |         | -         |

\*Spring, Marach ~May; Summer, June ~August; Autumn, September ~November; Winter, December ~ February. Statistical analysis was conducted only on calves less than 6 months of age. <sup>†</sup> P<0.05, statistically significant.

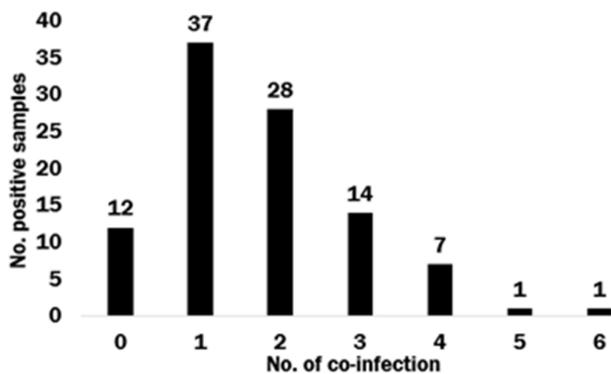


Fig. 1. Distribution of samples according to the number of enteropathogens detected in one fecal sample (n=100).

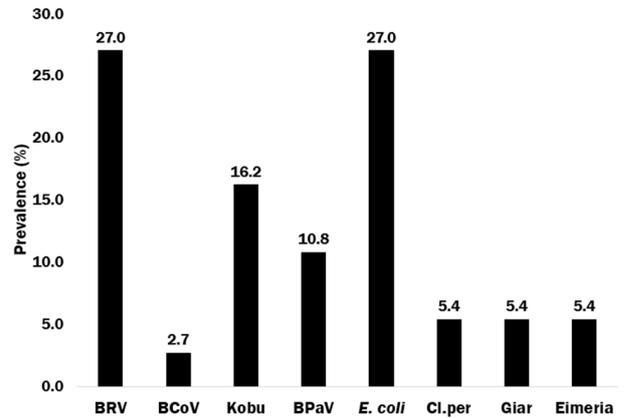


Fig. 2. Prevalence of case detected single enteropathogen (n=37).

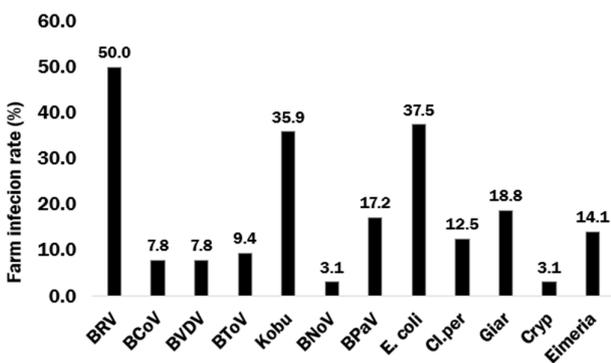


Fig. 3. Farm detection rate for enteropathogens detected in Korean native cattle.

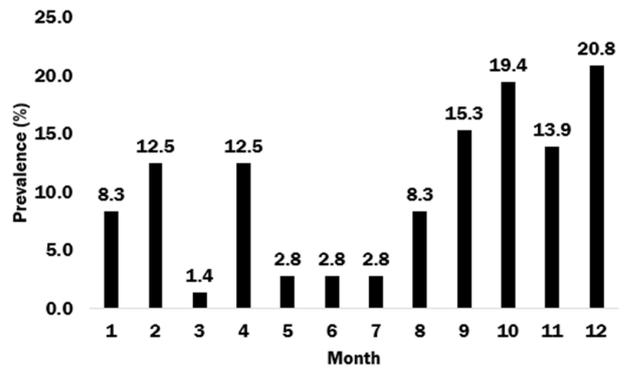


Fig. 4. Prevalence of fecal samples by months Korean native calves with diarrhea (n=72).

Table 4. Prevalence of detected enteropathogens on 64 Korean native cattle farm in Gwangju area, and in fecal samples from cattle (n=100) on those farms

| Pathogens | No. of farms positive (%) |             |           | No. of cattle positive (%) |             |           |
|-----------|---------------------------|-------------|-----------|----------------------------|-------------|-----------|
|           | Single                    | Two or more | Total     | Single                     | Two or more | Total     |
| BRV       | 7 (21.9)                  | 25 (78.1)   | 32 (100)  | 10 (23.3)                  | 33 (76.7)   | 43 (100)  |
| BCoV      | 0                         | 5 (100)     | 5 (100)   | 1 (20.0)                   | 4 (80.0)    | 5 (100)   |
| BVDV      | 0                         | 5 (100)     | 5 (100)   | 0                          | 6 (100)     | 6 (100)   |
| BToV      | 0                         | 6 (100)     | 6 (100)   | 0                          | 8 (100)     | 8 (100)   |
| Kobu      | 5 (21.7)                  | 18 (78.3)   | 23 (100)  | 6 (20.0)                   | 24 (80.0)   | 30 (100)  |
| BNoV      | 0                         | 2 (100)     | 2 (100)   | 0                          | 2 (100)     | 2 (100)   |
| BPaV      | 1 (9.1)                   | 10 (90.9)   | 11 (100)  | 4 (23.5)                   | 13 (76.5)   | 17 (100)  |
| E. coli   | 5 (20.8)                  | 19 (79.2)   | 24 (100)  | 10 (34.5)                  | 19 (65.5)   | 29 (100)  |
| Cl.per    | 2 (25.0)                  | 6 (75.0)    | 8 (100)   | 2 (25.0)                   | 6 (75.0)    | 8 (100)   |
| Giar      | 1 (8.3)                   | 11 (91.7)   | 12 (100)  | 2 (15.4)                   | 11 (84.6)   | 13 (100)  |
| Cryp      | 0                         | 2 (100)     | 2 (100)   | 0                          | 2 (100)     | 2 (100)   |
| Eimeria   | 2 (22.2)                  | 7 (77.8)    | 9 (100)   | 2 (20.0)                   | 8 (80.0)    | 10 (100)  |
| Total*    | 23 (35.9)                 | 34 (53.1)   | 57 (89.1) | 37 (37.0)                  | 51 (51.0)   | 88 (88.0) |

\*Number and percent of detected farms or fecal samples for enteropathogens.

Table 5. Simultaneous infection of Korean native cattle with diarrhea by enteric pathogens

| Pathogens                     | No. of positive | Pathogens                    | No. of positive | Pathogens                    | No. of positive | Pathogens                    | No. of positive |
|-------------------------------|-----------------|------------------------------|-----------------|------------------------------|-----------------|------------------------------|-----------------|
| BRV alone                     | 10              | BVDV alone                   | 0               | Kobu alone                   | 6               | Cl.per alone                 | 2               |
| + BVDV                        | 3               | + BRV                        | 3               | + BRV                        | 4               | + BRV                        | 3               |
| + BToV                        | 1               | + BRV+E. coli+Giar           | 1               | + BPaV                       | 1               | + Eimeria                    | 1               |
| + Kobu                        | 4               | + Kobu+E. coli+Eimeria       | 1               | + E. coli                    | 1               | + BRV+BPaV                   | 1               |
| + BPaV                        | 2               | + BRV+BCoV+Kobu+E. coli+Giar | 1               | + Giar                       | 2               | + BPaV+Giar+Cryp             | 1               |
| + E. coli                     | 2               | Total                        | 6               | + BRV+BToV                   | 1               | Total                        | 8               |
| + Cl.per                      | 3               |                              |                 | + BRV+E. coli                | 4               |                              |                 |
| + Giar                        | 2               |                              |                 | + BCoV+BPaV                  | 1               |                              |                 |
| + Eimeria                     | 1               |                              |                 | + BToV+BNoV                  | 1               | Giar alone                   | 2               |
| + BToV+Kobu                   | 1               | BToV alone                   | 0               | + BPaV+E. coli               | 2               | + BRV                        | 2               |
| + BToV+BNoV                   | 1               | + BRV                        | 1               | + E. coli+Eimeria            | 1               | + Kobu                       | 2               |
| + Kobu+E. coli                | 4               | + BPaV                       | 1               | + E. coli+Giar               | 1               | + Eimeria                    | 2               |
| + BPaV+E. coli                | 1               | + Eimeria                    | 1               | + BRV+BPaV+E. coli           | 1               | + Kobu+E. coli               | 1               |
| + BPaV+Cl.per                 | 1               | + BRV+BNoV                   | 1               | + BRV+BPaV+Eimeria           | 1               | + BRV+BVDV+E. coli           | 1               |
| + BCoV+ETEC+STEC*             | 1               | + BRV+Kobu                   | 1               | + BVDV+E. coli+Eimeria       | 1               | + BRV+BToV+E. coli           | 1               |
| + BVDV+E. coli+Giar           | 1               | + Kobu+BNoV                  | 1               | + BRV+BToV+BPaV+E. coli      | 1               | + BPaV+Cl.per+Cryp           | 1               |
| + BToV+E. coli+Giar           | 1               | + BRV+E. coli +Giar          | 1               | + BRV+BCoV+BVDV+E. coli+Giar | 1               | + BRV+BCoV+BVDV+Kobu+E. coli | 1               |
| + Kobu+BPaV+E. coli           | 1               | + BRV+Kobu+BPaV+E. coli      | 1               | Total                        | 30              | Total                        | 13              |
| + Kobu+BPaV+Eimeria           | 1               | Total                        | 8               |                              |                 |                              |                 |
| + BToV+Kobu+BPaV+E. coli      | 1               |                              |                 | E. coli alone                | 10              |                              |                 |
| + BCoV+BVDV+Kobu+E. coli+Giar | 1               |                              |                 | + BRV                        | 2               | Cryp alone                   | 0               |
| Total                         | 43              |                              |                 | + Kobu                       | 1               | + BCoV                       | 1               |
|                               |                 |                              |                 | + BRV+Kobu                   | 4               | + BPaV+Cl.per+Giar           | 1               |
| BCoV alone                    | 1               | BPaV alone                   | 4               | + BRV+BPaV                   | 1               | Total                        | 2               |
| + Cryp                        | 1               | + BRV                        | 2               | + Kobu+BPaV                  | 2               |                              |                 |
| + Kobu+BPaV                   | 1               | + BToV                       | 1               | + Kobu+Giar                  | 1               |                              |                 |
| + BRV+ETEC+STEC*              | 1               | + Kobu                       | 1               | + Kobu+Eimeria               | 1               | Eimeria alone                | 2               |
| + BRV+BVDV+Kobu+E. coli+Giar  | 1               | + BRV+E. coli                | 1               | STEC+ ETEC+ BRV+BCoV*        | 1               | + BRV                        | 1               |
| Total                         | 5               | + BRV+Cl.per                 | 1               | + BRV+BVDV+Giar              | 1               | + BToV                       | 1               |
|                               |                 | + Kobu+BCoV                  | 1               | + BRV+BToV+Giar              | 1               | + Cl.per                     | 1               |
|                               |                 | + Kobu+E. coli               | 2               | + BRV+Kobu+BPaV              | 1               | + Giar                       | 2               |
| BNoV alone                    | 0               | + BRV+Kobu+E. coli           | 1               | + BVDV+Kobu+Eimeria          | 1               | + Kobu+E. coli               | 1               |
| + BRV+BToV                    | 1               | + BRV+Kobu+Eimeria           | 1               | + BRV+BToV+Kobu+BPaV         | 1               | + BRV+Kobu+BPaV              | 1               |
| + BToV+Kobu                   | 1               | + Cl.per+Giar+Cryp           | 1               | + BRV+BCoV+BVDV+Kobu+Giar    | 1               | + BVDV+Kobu+E. coli          | 1               |
| Total                         | 2               | + BRV+Kobu+BToV+E. coli      | 1               | Total                        | 29              | Total                        | 10              |

\*STEC and ETEC were detected simultaneously and BRV and BCoV were also detected. This case was counted four mixed pathogen.

**Table 6.** Virulence factors of 96 *E. coli* strains isolated from diarrheic Korean native cattle

| Pathotype*       | No. of strains | Virulence factors (%) |             |             |          |             |            |           |           |
|------------------|----------------|-----------------------|-------------|-------------|----------|-------------|------------|-----------|-----------|
|                  |                | <i>stx1</i>           | <i>stx2</i> | <i>eaeA</i> | STa      | <i>ehxA</i> | <i>saa</i> | F6        | F17       |
| STEC             | 7              | 5                     | 1           | 0           | 0        | 0           | 3          | 1         | 1         |
| EHEC             | 8              | 7                     | 2           | 8           | 0        | 5           | 1          | 1         | 5         |
| EPEC             | 6              | 0                     | 0           | 6           | 0        | 2           | 0          | 0         | 4         |
| ETEC             | 2              | 0                     | 0           | 0           | 2        | 1           | 0          | 1         | 0         |
| STEC/ETEC hybrid | 7              | 2                     | 5           | 0           | 7        | 0           | 0          | 0         | 2         |
| Subtotal         | 30 (100)       | 14 (46.7)             | 8 (26.7)    | 14 (46.7)   | 9 (30.0) | 8 (26.7)    | 4 (13.3)   | 3 (10.0)  | 12 (40.0) |
| Nt-EC            | 66             | 0                     | 0           | 0           | 0        | 0           | 1          | 10        | 23        |
| ND               | 36             | 82                    | 88          | 82          | 87       | 88          | 91         | 83        | 61        |
| Total            | 96 (100)       | 14 (14.3)             | 8 (8.3)     | 14 (14.3)   | 9 (9.4)  | 8 (8.3)     | 5 (5.2)    | 13 (13.5) | 35 (36.4) |

\*STEC, shiga toxin-producing *E. coli*; EHEC, enterohemorrhagic *E. coli*; EPEC, enteropathogenic *E. coli*; ETEC, enterotoxigenic *E. coli*; Nt-EC, *E. coli* strains did not have toxin genes; ND, Not detected virulence factors.

**Table 7.** Distribution of virulence factors of 96 *E. coli* isolates from Korean native cattle with diarrhea

| Pathotype                  | No. of isolates | Prevalence (%) |
|----------------------------|-----------------|----------------|
| STEC                       | 7               | 7.29           |
| <i>stx1</i>                | 1               | 1.04           |
| <i>stx1+saa</i>            | 2               | 2.08           |
| <i>stx1+F17</i>            | 1               | 1.04           |
| <i>stx1+saa+F6</i>         | 1               | 1.04           |
| <i>stx2</i>                | 1               | 1.04           |
| <i>stx2+F17</i>            | 1               | 1.04           |
| EHEC                       | 8               | 8.33           |
| <i>stx1+eaeA+ehxA</i>      | 3               | 3.13           |
| <i>stx1+eaeA+F6</i>        | 1               | 1.04           |
| <i>stx1+eaeA+F17</i>       | 1               | 1.04           |
| <i>stx1+eaeA+ehxA+ F17</i> | 1               | 1.04           |
| <i>stx1+eaeA+saa+ F17</i>  | 1               | 1.04           |
| <i>stx2+eaeA+ehxA+ F17</i> | 1               | 1.04           |
| EPEC                       | 6               | 6.25           |
| <i>eaeA</i>                | 1               | 1.04           |
| <i>eaeA+F17</i>            | 4               | 4.17           |
| <i>eaeA+ehxA+F17</i>       | 1               | 1.04           |
| ETEC                       | 2               | 2.08           |
| STa+F6                     | 1               | 1.04           |
| STa+ <i>ehxA</i>           | 1               | 1.04           |
| STEC/ETEC hybrid           | 7               | 7.29           |
| <i>stx1+STa</i>            | 2               | 2.08           |
| <i>stx2+STa</i>            | 3               | 3.13           |
| <i>stx2+STa+F17</i>        | 2               | 2.08           |
| Nt-EC                      | 66              | 68.75          |
| F6                         | 6               | 6.25           |
| F17                        | 19              | 19.79          |
| <i>saa</i>                 | 1               | 1.04           |
| F6+F17                     | 4               | 4.17           |
| No genes                   | 36              | 37.50          |
| Total                      | 96              | 100            |

변 100건에 대한 신속진단키트에서 *E. coli* K99 항원은 모두 음성이었다.

#### *Cl. perfringens* 검사결과

한우 설사분변 100건 중에서 *Cl. perfringens* 8 균주 (8.0%)가 분리되었으며, alpha toxin만 검출되어 type A로 확인되었다. 송아지에서 검출률은 6.9% (5/72건)이었으며, 2주령에서 33.3% (4/12건), 2개월령에서 8.3% (1/12건)로 조사되었다. 육성·비육우에서 검출률은 8.3% (1/12건)로 나타났다(Table 2). 봄철에 송아지에서 21.1% (4/19건)로 검출률이 가장 높았으며, 여름철과 겨울철에는 검출되지 않았다(Table 3).

#### 기생충 검사결과

한우 설사분변 100건 중 10건(10.0%)에서 *Eimeria* spp. 난포낭이 검출되었다. 4주령 한우 분변 25건 중 7건(28.0%)에서 난포낭이 검출되었고, 육성·비육우 12건 중 2건(16.7%)에서 난포낭이 검출되었다(Table 2). 봄철 시료에서는 콕시듐 총란이 발견되지 않았으며, 여름철 시료 14건 중 2건(14.3%)으로 송아지와 같이 불명 소에서 각각 1건씩 검출되었다. *Eimeria* spp. 검출률은 가을철에 15.4% (6/39건)로 가장 높게 나타났다. 이 중 송아지의 감염률은 12.9% (4/31건)로 조사되었다(Table 3).

소 설사병 항원 신속진단키트에서 각각 *Giardia* spp.와 *Cryptosporidium* spp. 양성으로 확인된 시료에 대해서 PowerChek™ real-time PCR kit (Kogenebiotech Co., Korea)로 검사한 결과 *G. lamblia* 감염률은 13.0%

**Table 8.** Distribution of 96 *E. coli* by age of Korean native cattle with diarrhea

| Age             | Pathogenic <i>E. coli</i> (%) |         |         |          |                  | Subtotal  | Nt-EC     | Total     |
|-----------------|-------------------------------|---------|---------|----------|------------------|-----------|-----------|-----------|
|                 | STEC                          | EHEC    | EPEC    | ETEC     | STEC/ETEC hybrid |           |           |           |
| Calves (≤6 mo)  |                               |         |         |          |                  |           |           |           |
| ≤1 w            |                               | 1 (1.0) |         |          |                  | 1 (1.0)   | 2 (2.1)   | 3 (3.1)   |
| ≤2 w            | 1* (1.0)                      | 1 (1.0) |         | 1* (1.0) |                  | 3 (3.1)   | 10 (10.4) | 13 (13.5) |
| ≤3 w            |                               |         | 1 (1.0) |          |                  | 1 (1.0)   | 2 (2.1)   | 3 (3.1)   |
| ≤4 w            | 1 (1.0)                       | 3 (3.1) | 1 (1.0) |          | 1 (1.0)          | 6 (6.3)   | 17 (17.7) | 23 (16.7) |
| ≤2 mo           | 2 (2.1)                       | 2 (2.1) |         |          | 3 (3.1)          | 7 (7.3)   | 5 (3.1)   | 12 (10.4) |
| ≤3 mo           | 1 (1.0)                       |         |         |          | 1 (1.0)          | 2 (2.1)   | 3 (3.1)   | 5 (5.2)   |
| ≤4 mo           | 1 (1.0)                       | 1 (1.0) | 1 (1.0) |          |                  | 3 (3.1)   | 5 (5.2)   | 8 (8.3)   |
| ≤5 mo           |                               |         |         |          |                  |           | 2 (2.1)   | 2 (2.1)   |
| ≤6 mo           |                               |         |         |          |                  |           | 2 (2.1)   | 2 (2.1)   |
| Subtotal        | 6 (6.3)                       | 8 (8.3) | 3 (3.1) | 1 (1.0)  | 5 (5.2)          | 23 (24.0) | 48 (45.8) | 71 (69.8) |
| <i>P</i> -value | 0.792                         | 0.904   | 0.336   | 0.676    | 0.301            | 0.615     | 0.615     | 0.876     |
| Young cattle    |                               |         | 3 (3.1) | 1 (1.0)  | 1 (1.0)          | 5 (5.2)   | 7 (7.3)   | 12 (12.5) |
| Adult cattle    |                               |         |         |          | 1 (1.0)          | 1 (1.0)   | 2 (2.1)   | 3 (3.1)   |
| Unknown age     | 1 (1.0)                       |         |         |          |                  | 1 (1.0)   | 9 (9.4)   | 10 (10.4) |
| Total           | 7 (7.3)                       | 8 (8.3) | 6 (6.3) | 2 (2.1)  | 7 (7.3)          | 30 (31.3) | 66 (68.8) | 96 (100)  |

\*STEC and ETEC were isolated simultaneously in one fecal sample. Statistical analysis was conducted only on calves less than 6 months of age.

**Table 9.** Prevalence of 30 pathogenic *E. coli* by season of Korean native cattle with diarrhea

| Season           | STEC     | EHEC     | EPEC     | ETEC    | STEC/ETEC hybrid | Total     |
|------------------|----------|----------|----------|---------|------------------|-----------|
| Spring           | 2 (6.7)  | 3 (10.0) |          |         |                  | 5 (16.7)  |
| Summer           | 1 (3.3)  |          | 1 (3.3)  | 1 (3.3) |                  | 3 (10.0)  |
| Autumn           | 2 (6.7)  | 4 (13.3) | 3 (10.0) | 1 (3.3) | 5 (16.7)         | 15 (50.0) |
| Winter           | 2 (6.7)  | 1 (3.3)  | 2 (6.7)  |         | 2 (6.7)          | 7 (23.3)  |
| Total            | 7 (23.3) | 8 (26.7) | 6 (20.0) | 2 (6.7) | 7 (23.3)         | 30 (100)  |
| <i>P</i> -value* | 0.901    | 0.474    | 0.657    | 0.369   | 0.241            | 0.528     |

\**P* values for the season were determined by the Fisher's exact test.

**Table 10.** Comparative performance of RT-PCR and rapid test kit in detecting BRV and BCoV from fecal samples of diarrheic Korean native cattle

| Rapid test kit* | RT-PCR   |          |       | % agreement (κ value) |
|-----------------|----------|----------|-------|-----------------------|
|                 | Positive | Negative | Total |                       |
| BRV             |          |          |       |                       |
| Positive        | 20       | 0        | 20    | 77 (0.498)            |
| Negative        | 23       | 57       | 80    |                       |
| Total           | 43       | 57       | 100   |                       |
| BCoV            |          |          |       |                       |
| Positive        | 3        | 6        | 9     | 92 (0.389)            |
| Negative        | 2        | 89       | 91    |                       |
| Total           | 5        | 95       | 100   |                       |

\*Rapid BoviD-5 Ag test kit (Bionote Inc., Korea).

이며, *C. parvum*의 감염률은 2.0%이었다(Table 2). 송아지에서 *G. lamblia* 감염률은 15.3% (11/72건)이었고, 4주령에서 감염률은 28.0% (7/25건), 2개월령에서 감

염률은 25.0% (3/12건)로 나타났다. *G. lamblia*에 감염된 4주령에서 7건은 콕시듐에 중복 감염되었다(Table 2).

### 설사 병원체 분포

검사시료 총 64농가 100건 중에서 57농가 88건 (88.0%)에서 설사 병원체 12종이 검출되었으며, BRV가 43.0%로 가장 많이 검출되었고, 다음으로 kobuvirus 30.0%, 병원성 대장균 29.0%, BPaV 17.0%, *G. lamblia* 13.0%, *Eimeria* spp. 10.0%, BToV 8.0%, *Cl. perfringens* type A 8.0%, BVDV 6.0%, BCoV 5.0%, BNoV 2.0% 그리고 *C. parvum* 2.0%순으로 검출되었다(Table 2).

시료 전체 100건 중 원인체가 단독으로 검출된 시료는 37건이고 중복감염 시료는 51건이었다(Table 4). 두 개 이상 검출된 병원체는 2종 28건, 3종 14건, 4종

7건 및 5종과 6종은 각각 1건으로 나타났다(Fig. 1). 단독으로 검출된 시료 37건 중에서 BRV와 병원성 대장균이 각각 27.0%로 가장 많이 검출되었으며, 다음으로 kobuvirus가 16.2%, BPaV는 10.8%, *Eimeria* spp., *G. lamblia* 및 *Cl. perfringens* type A가 각각 5.4% 그리고 BCoV는 2.7% 순으로 검출되었다(Fig. 2). BVDV, BToV, BNoV 및 *C. parvum*은 단독 검출건수는 없었고, 모두 다른 병원체와 함께 검출되었으며, *G. lamblia*의 중복 감염률은 84.6%이었고 다음으로 kobuvirus, *Eimeria* spp. 및 BCoV로 각각 80.0%이었으며, BRV 76.7%, *Cl. perfringens* type A 75.0%, 병원성 대장균 65.5% 순으로 조사되었다(Table 4).

채취한 시료 전체 64농가 중 57 농가(89.1%)에서 한 개 이상 병원체가 검출되었다(Table 4). 이 중 BRV가 32농가(50.0%)로 가장 많았고, 다음으로 병원성 대장균 24농가(37.5%), Kobuvirus 23농가(35.9%), *G. lamblia* 12농가(18.8%), BPaV 11농가(17.2%), *Cl. perfringens* type A 8농가(12.5%) 순으로 나타났다(Fig. 3). BCoV, BVDV, BToV, BNoV 및 *C. parvum*은 단독 감염 없이 모두 다른 병원체와 함께 검출되었으며, *G. lamblia*의 중복 감염률은 91.7%이었고 다음으로 BPaV 90.9%, 병원성 대장균 79.2%, kobuvirus 78.3%, BRV 78.1%, *Eimeria* spp. 77.8% 그리고 *Cl. perfringens* type A 75.0%순으로 조사되었다.

이번 검사에서 5개 병원체 즉, nebovirus, kirklareli virus, BAdV, *Salmonella* spp. 및 장내 기생충은 검출되지 않았다. 원인체가 검출되지 않은 시료는 모두 12건으로 송아지 8건, 성우 3건, 나이 불분명 소 1건으로 조사되었고, 송아지 8건 중 1주령 1건, 2주령 1건, 4주령 3건, 4개월령 1건, 6개월령 2건이었다.

### 일령별 병원체 분포

송아지 분변시료 48농가 72건 중에서 43농가 64건(88.9%)에서는 병원체가 검출되었고, BRV가 27농가에서 34건(47.2%)으로 가장 많이 검출되었으며, 다음으로 병원성 대장균 30.6%, kobuvirus 29.2%, BPaV 22.2%, *G. lamblia* 15.3%, *Eimeria* spp. 9.7%, BToV 8.3%, BVDV 6.9%, *Cl. perfringens* type A 6.9%, BCoV 5.6% 그리고 *C. parvum* 2.8%순으로 검출되었다. BNoV는 송아지와 육성·비육우 분변 시료에서 검출되지 않았다(Table 2).

육성·비육우 분변시료 총 12건에서 5종의 병원체가 검출되었으며, kobuvirus가 50.0%로 가장 많이 검출되

었으며, 다음으로 BRV 41.7%, 병원성 대장균 41.7%, *Eimeria* spp. 16.7%, BPaV 8.3% 및 *Cl. perfringens* type A 8.3%순으로 검출되었다. 성우 분변시료 5건 중에서는 2건에서 4종의 병원체가 검출되었는데 BRV, BVDV, Kobuvirus 및 병원성 대장균이 각각 1건씩 검출되었다. BRV 검출률은 송아지 나이와 유의적 차이가 있었다( $P=0.023$ ). 그 외 검출된 병원체는 나이와 통계학적 유의한 차이가 없었다.

### 계절별 병원체 분포

봄에 채취된 시료는 총 22건으로 병원체는 19건(86.3%)에서 검출되었고, BRV가 14건(63.6%)으로 가장 많이 검출되었으며, 다음으로 BPaV 31.8%, 병원성 대장균 22.7%, *G. lamblia* 13.6%, *Cl. perfringens* type A 18.2%, BToV와 kobuvirus 9.1%, BVDV 4.5% 순으로 검출되었다. BCoV, BNoV, *C. parvum* 및 *Eimeria* spp.는 검출되지 않았다.

여름에 채취된 시료는 총 14건으로 병원체는 13건(92.9%)에서 검출되었고, BRV가 5건(35.7%)으로 가장 많이 검출되었으며, 다음으로 kobuvirus 28.6%, 병원성 대장균 21.4%, BToV, BNoV, BPaV와 *Eimeria* spp. 14.3%, BVDV, *Cl. perfringens* type A와 *G. lamblia* 7.1%순으로 검출되었다. BCoV와 *C. parvum*은 검출되지 않았다.

가을에 채취된 시료는 총 39건으로 병원체는 35건(89.7%)에서 검출되었고, kobuvirus가 14건(41.0%)으로 가장 많이 검출되었고, 다음으로 BRV와 병원성 대장균 35.9%, *G. lamblia* 17.9%, *Eimeria* spp. 15.4%, BVDV와 *Cl. perfringens* type A 7.7%, BCoV 5.1% 그리고 BToV, BPaV 및 *C. parvum* 2.6%순으로 검출되었다.

겨울에 채취된 시료는 총 25건으로 병원체는 21건(84.0%)에서 검출되었고, BRV가 10건(40.0%)으로 가장 많이 검출되었으며, 다음으로 kobuvirus 32.0%, BPaV와 병원성 대장균 28.0%, BCoV와 BToV 12.0%, *G. lamblia*와 *Eimeria* spp. 8.0% 그리고 BVDV와 *C. parvum* 4.0%순으로 검출되었다.

BCoV는 가을과 겨울에 검출되었으며, 송아지에서 검출률은 각각 6.5%와 12.5%이었다. *C. parvum*은 송아지에서만 가을과 겨울에 각각 3.2%와 6.3% 검출되었다. BNoV는 여름에만 나이 불명 소 2건(33.3%)에서만 검출되었다. BRV는 봄에 73.7%의 검출률로 가장 높았으며( $P=0.045$ ), BPaV는 겨울에 43.8%의 검출

물로 다른 계절에 비해 높았다( $P=0.002$ ). 그 외 병원체는 계절에 따른 통계학적으로 유의한 차이가 없었다.

### 설사 병원체 복합감염 분석

한우 설사 분변 전체 100건 중에서 검출된 병원체별 복합감염 형태와 검출건수를 Table 5에 요약하였다. 이번 연구에서 검출된 BRV는 43건으로 다른 병원체와 혼합 검출된 시료는 33건(76.7%)으로 2중18건, 3중 8건, 4중 5건 그리고 5중과 6중은 각각 1건이었다. 이 중에서 BRV+kobuvirus 4건과 BRV+Kobuvirus+병원성 대장균 4건으로 다른 혼합감염 형태보다 많았다(Table 5). BRV와 중복감염은 kobuvirus와 병원성 대장균은 각각 13건(30.2%), BPaV와 7건(16.3%), BVDV, BToV 및 *G. lamblia*와 각각 5건(11.6%), *Cl. perfringens* type A와 4건(9.3%), BCoV와 *G. lamblia*는 2건(4.7%), BNoV와 1건(2.3%)이 혼합 감염되었다.

BCoV의 중복 검출률은 80.0%이며, BRV, kobuvirus 및 병원성 대장균과 각각 2건 (40.0%), BPaV, BVDV, *G. lamblia* 그리고 *C. parvum*과 각각 1건(20.0%) 혼합 감염되었다. Kobuvirus의 중복 검출률은 78.3% 농장에서 80.0%로 나타났으며, 이중 BRV와 15건(50.0%), 병원성 대장균과 13건(43.3%), BPaV와 7건(23.3%), 그 외 병원체는 1~3건(3.3~10.0%)이 중복감염이었다. BVDV의 중복 검출률은 80.0%이며, BRV와 병원성 대장균은 각각 3건(50.0%), kobuvirus와 *G. lamblia*는 2건(33.3%), BCoV와 *Eimeria* spp.는 각각 1건(16.7%)과 혼합 감염되었다. BToV는 BRV 5건 (62.5%), BPaV, BNoV, Kobuvirus 그리고 병원성 대장균은 각각 2건(25.0%), *Eimeria* spp.와 *G. lamblia*는 각각 1건(12.5%)과 혼합 감염되었다. BPaV의 중복 감염률은 76.5%이며, BRV와 kobuvirus와 각각 7건(41.2%), 병원성 대장균과 5건(29.4%), BToV와 *Cl. perfringens* type A가 각각 2건(11.8%), BCoV, *G. lamblia*, *C. parvum* 및 *Eimeria* spp.와 각각 1건(5.9%)이 혼합 감염되었다.

*Cl. perfringens* type A의 중복 감염률은 75.0%이며, BRV와 4건(50.0%), BPaV와 2건(25.0%), 그리고 *G. lamblia*, *C. parvum* 및 *Eimeria* spp.와 각각 1건(12.5%)이 혼합 감염되었다. *G. lamblia*의 중복 감염률은 84.6%이고, BRV가 5건, kobuvirus와 병원성 대장균은 각각 4건, BVDV와 *Eimeria* spp.는 각각 2건, BToV, BPaV, BCoV 및 *Cl. perfringens* type A가 각각 1건이

중복 검출되었다. *Eimeria* spp.의 중복 감염률은 80.0%이며, kobuvirus와 3건, BRV, 병원성 대장균 및 *G. lamblia*와 각각 2건, BVDV, BToV, BPaV 및 *Cl. perfringens* type A와 각각 1건이 혼합 감염되었다.

### 신속진단키트와 PCR 검사 비교

한우 설사분변 100건에 대한 BRV와 BCoV에 대한 신속진단키트 검사와 RT-PCR 검사 사이의 비교 결과는 Table 10에 요약하였다. 검사한 모든 설사분변 중에서 RT-PCR 검사로 43개의 시료에서 BRV 유전자를 검출했으며, 이는 신속진단키트에 의해 확인된 양성 시료수( $n=20$ )보다 23건 많았다. 반면에 다른 모든 시료( $n=57$ )는 두 검사방법에서 모두 BRV에 음성이었다. 따라서 BRV 신속진단키트와 RT-PCR간의 검사 일치도는 77%였고,  $\kappa$  값은 0.498이었다. BCoV 검출의 경우 RT-PCR은 신속진단키트와 비교하여 BCoV에 대해 양성으로 2개의 시료를 확인하는 반면, 신속진단키트에 의한 6개의 양성 시료는 RT-PCR에 의해 BCoV에 대해 음성이었다. 두 가지 검사 사이의 일치도는 92%였고  $\kappa$  값은 0.389이었다.

*Giardia* spp.에 대한 신속진단키트 검사에서 양성 시료 24건에 대한 real-time PCR 검사에서 11건이 *G. lamblia*로 확인되었으며, *Cryptosporidium* spp.에 대한 신속진단키트 검사에서 양성 시료 4건 중에서 real-time PCR 검사에서 2건이 *C. parvum*으로 확인되었다.

## 고 찰

송아지의 설사 원인은 영양적, 면역학적 그리고 사육환경 등 다양한 요인이 복합적으로 관련되어 있다. 송아지 설사병은 설사로 인해 성장지연, 탈수로 인한 폐사, 치료에 따른 막대한 경제적 비용이 소요되는 치명적인 질병이다(Cho와 Yoon, 2014). 국내 한우 설사병에 대한 연구는 다발하는 특성의 몇 가지 질병에 대한 조사로 다양한 병원체에 대한 종합적인 보고가 드물며, 특히 광주지역의 체계적인 연구와 분석이 매우 미비하다. 이번 연구는 2017년 9월부터 2018년 12월까지 광주 인근지역 한우 설사 분변을 채취하여 17종의 설사병 원인체에 대한 감염실태를 조사하였다.

이번 조사 기간 동안에 한우 송아지 설사는 9~12월 사이에 다발하였고, 가을과 겨울에 각각 39.0%와 25.0%를 차지하였는데, 한우 송아지에서 소화기 질환

에 의한 폐사는 가을(37.3%)에 다발하였다는 Kim 등(2015)의 보고와 유사하였지만, 소화기 질환으로 여름철에 폐사율이 높다는 Kang 등(2001)의 보고와는 상당한 차이를 나타냈다. 한우 송아지의 폐사는 분만 후 7주 이내에 장염에 의해 주로 발생한다(Kang 등, 2001; Kim 등, 2015). 이번 조사에서 1~8주령의 송아지 설사병 시료는 55건으로 조사되었다(Table 2). Jeong 등(2012)은 경남지역 6개월령 이하 송아지 설사병 중 바이러스(BRV, BVDV 및 BCoV) 감염률이 봄 48.4%, 여름 25.8%, 가을 6.2%, 겨울 19.6%로 보고하였는데, 이번 조사에서 이들 바이러스에 대한 송아지( $n=72$ )에서 감염률은 봄 20.8% (15건), 여름 5.6% (4건), 가을 22.2% (16건), 겨울 12.5% (9건)로 조사되어 차이가 있었다(Table 3).

BRV는 일반적으로 1~2주령의 송아지에서 설사를 일으키는 중요한 원인체이다(Cho와 Yoon, 2014). 송아지에서 BRV 검출률은 나이와 계절에 따른 분석에서 그룹 간에 유의한 차이가 있었다. BRV 검출은 송아지에서 27개 농장(56.3%) 34건(47.2%)이었으며, 육성·비육우에서 41.7%, 성우에서 20.0%이었고, 봄철에 73.7%로 가장 많이 검출되었다. 국내에서 BRV의 검출률은 Heo 등(2008b)이 RT-PCR을 이용하여 송아지 설사분변에서 40.8%로 19일령 이하에서 55.1%, 2개월령 이상에서 41.2%로 보고하였고, 이번 연구와 유사한 결과를 보였다. 하지만 Jeong 등(2012)과 Kim 등(2012)은 BRV 검출률이 각각 8.4%와 14.4%로 보고하였다.

BCoV의 이번 조사결과는 5개 농장(7.8%) 5건(5.0%)에서 가을과 겨울에만 검출되었다. 송아지는 4개 농장(8.3%)에서 4건(5.6%)이 검출되었으며, 육성·비육우와 성우에서는 검출되지 않았다. 국내에서 RT-PCR을 이용한 BCoV의 검출률은 겨울철 성우 설사분변에서 58.2% (Park 등, 2006b) 그리고 송아지 설사 또는 소 분변에서 0~12.4%로 보고하였다(Heo 등, 2008b; Jeong 등, 2012; Kim 등, 2012).

BVDV의 이번 조사결과는 5개 농장(7.8%) 6건(6.0%)에서 검출되었다. 송아지는 4개 농장(8.3%) 5건(6.9%)이 검출되었으며, 육성·비육우에서는 검출되지 않았다. 국내에서 BVDV의 검출률은 RT-PCR을 이용하여 송아지 설사분변에서 2.1%~25.7%이며, 주로 4주령이하에서 검출되었으며(Song과 Choi, 2010; Jeong 등, 2012; Kim 등, 2012), 이번 연구에서도 주로 4주령이하에서 검출되었지만, 계절과 나이에 따른 BVDV의 검출률은 통계학적으로 유의성이 없었다. 하지만

Heo 등(2008b)의 조사에서는 BVDV의 검출률이 19일령 이하 5.1%, 39일령 이하 7.8%, 60일령 이하 17.4%, 60일령 이상 35.3%로 송아지 나이가 많을수록 증가한다고 보고하였다.

BToV의 이번 조사결과는 6개 농장(9.4%) 8건(8.0%)에서 검출되었다. 송아지는 5개 농장(10.4%)에서 6건(8.3%)이 검출되었으며, 육성·비육우와 성우에서는 검출되지 않았다. 송아지에서 계절별 검출률은 겨울철과 봄철에 각각 18.8%와 10.5%로 조사되었으며 여름에는 검출되지 않았다. 국내에서 BToV의 검출률은 RT-PCR을 이용하여 송아지 설사분변에서 6.9% (Park 등, 2008), 성우에서 1.1% (Park 등, 2006b)로 보고되었다. BToV는 3주령 이하의 송아지에서 경증에서 중증의 설사를 일으키는 흔한 전염성 위장관 원인체이며, 소의 90~95%가 항체를 보유하고 있으며, 국내와 일본을 비롯한 여러 나라에서 송아지 설사분변에서 BToV 검출을 보고하였다(Cho와 Yoon, 2014; Maclachlan 등, 2016).

Yamashita 등(2003)이 *Picornaviridae*에 속하는 kobuvirus를 건강한 소 분변 16.7%에서 검출하였다고 최초 보고한 이후 유럽, 아시아, 남미 그리고 아프리카 지역에서 보고되었다(Reuter와 Egyed, 2009; Mohamed 등, 2018). Jeoung 등(2011)은 국내 소 설사분변과 정상 분변 107건 중 37 (34.6%)건에서 양성인 확인되었으며, 이중 25건은 1개월령 이하의 송아지에서 검출되었고 9건은 BRV를 비롯한 다른 바이러스와 혼합 감염되었다고 보고하였다. 이번 연구에서 kobuvirus는 23개 농장(35.9%) 30건에서 검출되었으며, 송아지의 경우 17개 농장(35.4%) 21건(29.2%)에서 검출되어 Jeoung 등(2011)의 검출률 34.6%와 유사하였다. Kobuvirus의 계절별 검출률은 6개월령 이하의 송아지에서 가을에 41.9%로 가장 높았고, 2년 이하 육성·비육우에서는 가을과 겨울에 각각 40.0%와 100.0%로 조사되었고, 나이와 계절에 따른 감염률에 통계학적 유의한 차이는 없었다.

이번 조사에서 calicivirus 3가지 원인체 중에서 BNoV만이 여름철에 2개 농장(3.1%)에서 나이 불분명 소 2건(2.0%)에서 검출되었으며, BToV와 BRV 혼합감염 1건, BToV와 kobuvirus 혼합감염 1건으로 확인되었다. BNoV는 소장의 상피세포에 감염되고 공장 과 회장의 용모 위축을 일으켜 설사를 유발하지만, 임상적으로 건강한 소의 분변에서도 분리된다(Cho와 Yoon, 2014). 국내에서 BNoV의 검출률은 송아지 설사분변에서 9.3% (Park 등, 2007), 겨울철 성우 설사

분변에서 1.6% (Park 등, 2006b)로 보고되었다.

BPaV는 급성 위장염 외에 자연유산, 사산과 같은 생식기 질환을 일으킨다(Kailasan 등, 2015). BPaV는 특히 소장부위에 감염을 일으켜 경증의 수양성 설사로 시작해 점액성 설사를 일으킬 수 있다. 설사는 4~6일 동안 지속하고 바이러스는 감염 후 최대 11일 동안 배출될 수 있다(Maclachlan 등, 2016). 이번 연구에서 BPaV는 11개 농장(17.2%) 17건(17.0%)으로 주로 송아지에서 검출되었으며, 송아지의 경우 10개 농장(20.8%) 16건(22.2%)에서 검출되었다. 이번 연구에서 BPaV는 가을(3.2%)을 제외하고 다른 계절의 검출률은 31.6~43.8%로 조사되었다. BPaV의 검출률은 나이와 계절에 따른 분석에서 그룹 간에 차이가 있었다. 소 설사분변에 대한 BPaV에 대한 연구조사는 전세계적으로도 매우 드물며, 국내에서도 연구보고를 거의 찾아볼 수 없었다.

이번 연구에서 분리된 *E. coli*는 한우 설사분변 100건 중에서 96주를 분리하였으며, 이중 병원성 대장균은 29개 시료에서 30주를 동정하였다. Kolenda 등(2015)의 메타분석(Meta analysis)에 따르면 설사시료에서 EPEC, STEC 및 EHEC 검출률은 각각 7.5%, 18.2% 그리고 6.0%로 분석하였고, 이번 연구에서는 각각 6.3%, 7.3% 그리고 8.3%로 메타분석의 STEC 검출률은 이번 연구결과와 상당한 차이가 있었다.

EPEC의 병원성과 관련된 인자는 *eaeA* 유전자인데 shiga toxin 또는 shiga toxin 유전자는 보유하지 않는 균주가 여기에 해당한다. EPEC는 설사증상이 있는 동물과 건강한 동물에서 분리율은 각각 7.5%와 14.6%로 설사증상이 있는 동물보다는 건강한 동물에서 더 잘 발견된다고 보고하였다(Kolenda 등, 2015). 이번 연구에서 한우 설사 분변에서 분리한 총 96개 대장균 기준으로 6건(6.3%)이 검출되었고, 이중 5 균주에서 F17이 검출되었다.

EPEC에 존재하는 heat-stable enterotoxin (ST)은 설사증상이 있는 개체와 건강한 동물에서 분리율은 각각 7%와 0.3%이다. heat-labile enterotoxin (LT)의 검출률은 0.3%로 건강한 동물과 설사증상이 있는 동물에 거의 분리되지 않는다고 보고하였다(Kolenda 등, 2015). EPEC 부착소(adhesin) 중 F5, F17 그리고 F41 fimbriae는 각각 9.5%, 30.4% 그리고 11.1% 동물로부터 분리된다고 보고하였는데 이번 연구에서 검출된 EPEC에서는 이들 fimbriae와 LT가 검출되지 않았고, 분리된 총 *E. coli* 중 EPEC는 2주(2.1%)가 분리되었다.

Lim 등(2006)은 전라남도 지역에서 채취한 송아지

설사분변에서 STEC가 10.2%의 비율로 존재한다고 보고하였고, Kang 등(2014)은 2010년과 2011년에 한우농장에서 채취한 분변 568개에서 STEC의 검출 비율은 18%라고 보고하였는데 이들 연구 결과의 STEC 비율에는 EHEC가 포함되어 있다. 이번 연구결과에서 검출된 STEC 7건과 EHEC 8건을 합하면 설사분변 전체 100건에 대한 검출률은 15%로 이들의 결과와 유사하였다.

Kolenda 등(2015)의 메타분석에 따르면 EHEC의 각 유전자형에 대한 검출률은 *stx1+eaeA* 양성 5.3%, *stx2+eaeA* 양성 1.5%, *stx1+stx2+eaeA* 양성 1.0%이었고, STEC에서 Stx 검출률은 *stx1* 6.1%, *stx2* 7.1% 그리고 *stx1+stx2* 4.6%이었고, STEC는 설사와 관련이 없다고 보고하였다. Hur 등(2013a)은 송아지 설사분변에서 분리한 314주 중에서 2주(0.6%)가 *stx1*과 *stx2*를 동시에 생산하는 분리주라고 보고하였고, Kang 등(2014)은 한우 분변에서 4.9% (28/568)가 *stx1*<sup>+</sup>/*stx2*<sup>+</sup>로 보고하였다. 이번 연구에서 분리된 전체 대장균 96주 중 EHEC는 8주이며, *stx1+eaeA* 양성 7주(7.3%), *stx2+eaeA* 양성 1주(1.0%)이었고 *stx1+stx2+eaeA* 양성은 분리되지 않았다. *stx1*의 검출률은 메타분석에서 5.3%이고 이번 연구결과는 7.3%로 다소 차이가 있었고, *stx2*의 검출률은 메타분석에서 1.5%이고 이번 연구결과는 1.0%로 유사하였다.

설사 또는 패혈증이 있는 송아지에서 분리된 병원성 대장균에서 F17 fimbriae가 많이 분포하는 것으로 알려져 있다(Le Bouguéneq와 Bertin, 1999). 이번 연구에서 F17 유전자가 96 분리주 중에서 35주(36.4%)로 가장 많이 검출되었는데 이전의 연구결과인 36.9% (Hur 등, 2013a)와 매우 유사하였다. 이번 연구에서 병원성 대장균 30주 중 9주(30.0%)에서 F17이 검출되었지만, 설사증상과 밀접한 관련이 있는 F5와 F41 fimbriae 유전자는 검출되지 않았으며, LT, STb, F4, 그리고, F18도 검출되지 않았다. 메타분석에 따르면 *E. coli*의 F4 fimbriae 보유는 송아지 설사와 관련이 없지만, F17은 송아지 설사의 발병기전에 관련되어 있다고 분석하였다(Kolenda 등, 2015). 또한, F5가 지난 몇 년간 유행이 크게 감소했는데 이것은 백신 접종으로 설명할 수 있다. 국내에서 1986년에 보고한 송아지에서 *E. coli* (K99)의 검출률은 30.6%이었고(Kim 등, 1986), 1988년 포유 중인 한우 송아지에서 *E. coli* (K99)의 검출률은 14.7% (Kim 등, 1990)로 조사되었다. Kim 등(2012)은 2010~2011년에 채취한 소분변을 대상으로 실시간 유전자검사방법에서 *E. coli* (K99)는

검출되지 않았다고 보고하였고, 이번 연구에서도 검출되지 않았다.

소에서 shiga toxin은 위장관의 혈관에 결합할 수 없기 때문에 세포 내로 이입되지 않고 다른 장기로 전달되어 혈관에 손상을 일으킨다. 사람에서는 EHEC가 결장에서 집락을 형성하고 전해질 불균형을 야기하지만 소에서는 shiga toxin의 영향을 받지 않는 직장-항문 경계에서 집락을 형성한다. EHEC가 소의 분변으로 흘러나오기 때문에 식육, 우유 및 유제품과 같은 오염된 소 유래 축산물 또는 오염된 물, 살균 처리되지 않은 사과 음료와 채소를 사람이 소비함으로써 EHEC에 감염된다(Nguyen과 Sperandio, 2012). Kim 등(2009)은 사람 설사환자에서 분리한 STEC (EHEC 포함) 중 69%가 *eaeA<sup>+</sup>/ehxA<sup>+</sup>/saa<sup>-</sup>* 유전자형을 보유하고 있었고, 무증상 집단감염자의 86%와 소 분변 유래 분리주 36%가 *eaeA<sup>-</sup>/ehxA<sup>+</sup>/saa<sup>+</sup>* 유전자형을 보유하고 있었다. 이번 연구결과에서 사람 설사환자에 분리되는 주요 유전자형(*eaeA<sup>+</sup>/ehxA<sup>+</sup>/saa<sup>-</sup>*)이 2개월령 이하의 송아지에서만 5건(33.3%)이 검출되었고, 무증상 집단감염자의 주요 유전자형(*eaeA<sup>-</sup>/ehxA<sup>+</sup>/saa<sup>+</sup>*)은 검출되지 않았다. Kim 등(2009)은 소에서 분리된 STEC가 모두 사람에서 병원성을 나타내는 것은 아니라고 보고하였지만, 이번 연구결과에서는 사람에서 설사를 일으키는 유전자형이 검출되었다(Table 7). 다만 2개월령 이하의 어린 송아지 분변에서만 검출되었기 때문에 역학적으로 관련이 없어 보이며, 실제 도축장에서 출하되는 30개월령 이상의 소를 대상으로 좀 더 면밀한 연구가 필요하다.

STEC/ETEC hybrid 균주는 shiga toxin (*stx*)과 heat-stable (*est*) 또는 heat-labile enterotoxin (*elt*) 병원성 인자를 보유하고 있다. 아시아, 유럽, 미국 등에서 이들 균주가 검출되었다고 보고하였다(Nyholm 등, 2015; Leonard 등, 2016; Akiyama 등, 2017; Johura 등, 2017). 이집트에서 송아지 분변으로부터 hybrid 균주의 검출률은 4.7%였으며, *stx1*/STa 1.8%, *stx2*/STa 2.9%로 보고하였으며(Aref 등, 2018), 2014년 제주도에서 22세의 설사환자로부터 *stx2a/elt* 유전자를 보유한 STEC/ETEC hybrid 균주가 최초 보고되었다(Oh 등, 2017). 이번 연구에서 hybrid 검출률은 7.3%로 *stx1*/STa 2주(2.1%), *stx2*/STa 3주(3.1%), *stx2*/sta/F17 2주(2.1%)였다.

송아지에서 *Cl. perfringens* type A는 장독혈증을 일으키고, 소장에서 괴사성 출혈성 병변이 특징이며, 이환율은 낮지만 폐사율이 거의 100%에 이르기 때문

에 경제적으로 중요한 질병이다(Lebrun 등, 2010). 국내에서 장독혈증으로 폐사한 소의 분변 등 임상시료에서 type A와 D가 검출되었다(Jang 등, 2010; Lee 등, 2011). 이번 연구결과에서 송아지 설사분변에서 *Cl. perfringens* type A만 검출되었고, 겨울을 제외한 나머지 계절에 8개 농장(12.5%) 8건(8.0%)에서 검출되었다. 송아지의 경우 4개 농장(8.3%) 5건(6.9%)으로 특히 2주령에서 검출률은 33.3%로 다른 일령에 비해 높았다. 이집트에서 폐사한 소의 장내용물과 설사증상이 있는 신생 송아지의 분변 227건에서 분리한 총 154개 분리주의 *Cl. perfringens*는 모두 type A라고 보고하였다(Selim 등, 2017).

소에서는 숙주 적응된 *G. duodenalis* assemblage E가 가장 흔하지만, 인수공통인 assemblage A와 B는 가끔 검출된다(Thompson, 2004; Feng과 Xiao, 2011). 최근 국내에서 Lee 등(2018)은 한우 정상 분변에서 PCR 방법으로 *G. duodenalis*의 검출률은 9%로 보고하였고, 이 중에서 *G. duodenalis* assemblage A가 이유전 송아지의 정상 분변에서 동정되었다고 최초 보고하였다. Kim 등(2016)은 신속진단키트를 이용하여 *G. lamblia*의 검출률은 25.5%로 보고하였다. 이번 연구에서 신속진단키트를 이용하여 *Giardia* spp.는 24건(24.0%)이 검출되었고, 이들 양성 시료에 대한 *G. lamblia* real-time PCR 방법에서 12농장(18.8%) 13건(13.0%)이 계절에 상관없이 검출되었고, 4주령과 2개월령의 검출률은 각각 28.0%와 25.0%로 나타났다.

*Cryptosporidium* spp.는 수인성 기생충 중의 하나이며, 30종 이상이 다른 숙주에 기생하며, 소에서 주요 증상은 수분 부족과 급성 설사로 탈수증, 식욕부진, 성장 지체와 관련된다(Ryan 등, 2014). Lee 등(2016)은 국내에서 3개월령 이하의 송아지의 설사분변에서 PCR을 이용하여 *Cryptosporidium* spp.의 검출률은 9.9%, *C. parvum*과 *C. bovis/ryanae*는 각각 6.1%와 4.1%로 보고하였다. 이번 연구에서 신속진단키트를 이용하여 *Cryptosporidium* spp. 4건(4.0%)이 검출되었고, 이들 시료에 대한 real-time PCR 방법으로 2건(2.0%)의 *C. parvum*이 확인되었고, 4주령에서 겨울에 1건(4.0%), 2개월령에서 가을에 1건(8.3%)이 검출되었다. 2001~2002년에 *C. parvum*의 감염률이 현미경 검사로 전라남도 곡성군과 경기도 화성시에서 사육하는 소에서 각각 98.2%와 8.9%로 보고하였고, 곡성군에서 사육하는 젖소의 경우 감염률이 100%라고 보고하였다(Yu 등, 2004).

복시뿔증은 주로 3주령~6개월령 사이의 송아지에

서 혈변, 체중감소, 영양실조, 수축, 복통 등의 증상을 일으킨다. 콕시듐에 감염된 송아지는 감염성 oocyst를 함유한 분변을 통해 다른 동물에게 감염을 확산시킬 수 있으며, 세균성 장염과 바이러스 감염 그리고 폐렴과 같은 속발성 질병에 더 걸리기 쉽다(Taylor와 Catchpole, 1994; Dauschies와 Najdrowski, 2005; Bangoura와 Dauschies, 2007). 이번 연구에서 *Eimeria* spp.는 9개 농장(14.1%) 10건(10.0%)에서 봄철을 제외한 그 외 계절에 확인되었고, 송아지의 경우 7개(14.6%) 농장 7건(9.7%)으로 모두 4주령의 송아지에서 검출되었다. 국내에서 소 설사분변에서 *Eimeria* spp.의 검출률은 이유 전 한우 송아지 설사분변에서 30.9% (Kim 등, 2018), 1세 이하의 소 설사분변에 46.7% (Heo 등, 2008a), 31~60일령에서 한우 혈변에서 44.5% (Chon 등, 2007)로 다른 일령에 비해 감염률이 높다고 보고하였다.

이번 조사에서 5개 병원체 즉, nebovirus, kirklareli virus, BAdV, *Salmonella* spp. 및 장내 기생충은 검출되지 않았다. Kim 등(2012)은 실시간 유전자검사방법으로 *Salmonella* spp.가 검출되지 않았다고 보고하였지만, Heo 등(2008a)은 소 설사분변을 배양 검사하여 *Salmonella* spp. 검출률은 7.2%로 보고하였다. Park 등(2006b)은 겨울철 설사 증상이 있는 성우에 대한 검사에서 *Salmonella* spp. 2농장(2.7%) 3건(1.6%), nebovirus가 9농장(12.0%) 12건(6.5%)에서 검출되었으며, 이번 조사에서 다루지 않았던 *Mycobacterium paratuberculosis*가 3농장(4.0%) 3건(1.6%)이 검출되었다고 보고하였다.

한우 송아지 설사병은 1개월령 이하에서 다발하며 이 시점으로 발생빈도가 크게 차이가 나며 연령이 증가할수록 설사병은 뚜렷이 감소한다(Kang 등, 2001). 대부분 축주나 일부 수의사는 환축의 임상증상과 설사분변의 상태로 원인을 판단하는 경우가 많다. 한우 사육농가에서 발생하는 송아지 설사병은 신속한 발견과 적절한 치료와 조치를 통해 치료효과를 높일 수 있으며, 현장에서 신속-정확한 검사를 통해 농가와 임상수의사에게 그 결과를 알림으로써 송아지의 생존율 향상에 많은 도움을 줄 수 있다. 이번 연구결과를 통해서 광주지역 한우에서 다발하는 설사병의 원인체를 파악할 수 있었고, 간이진단키트로 원인체를 확인하고 즉시 농가에 알려줌으로써 신속한 치료 방향을 제시하였고, 실험실 정밀검사 절차와 체계를 확립할 수 있었으며, 향후 백신개발과 진단키트 개발의 기초자료로서 활용가치가 매우 높을 것으로 생각

한다.

## 결 론

송아지 설사는 어린 송아지에서 흔히 발생하는 질병이며, 축산농가에서 여전히 생산성과 경제적 손실의 주요 원인이다. 이번 조사는 광주 지역 한우 설사병 원인체를 조사하기 위해서 64농가에서 설사분변 100건을 2017년 9월부터 2018년 12월까지 채취하여 세균배양, 신속진단키트와 PCR 검사를 이용하여 원충성 기생충, 바이러스와 세균성 병원체를 검사하였다. 전체 64 농가 중 57농가에서 한 개 이상 설사병 원인체가 검출되었다. 분변 시료 100건 중에서 88건에서 12종 병원체가 검출되었으며, 51건에서는 2개 이상의 병원체가 동시에 검출되었다. BRV는 32개 농장(50.0%)에서 43건 시료(43.0%)에서 검출되어 이번 조사에서 가장 많이 검출된 설사 병원체이다. 다음으로 kobuvirus (30.0%), pathogenic *E. coli* (29.0%), BPaV (17.0%), *G. lamblia* (13.0%), *Eimeria* spp. (10.0%), *Cl. perfringens* type A (8.0%), BToV (8.0%), BVDV (6.0%), BCov (5.0%), BNoV (2.0%) 그리고 *C. parvum* (2.0%) 순으로 검출되었으며, nebovirus, kirklareli virus, BAdV, *Salmonella* spp. 및 장내 기생충은 검출되지 않았다. 이번 연구에서 송아지 분변시료 48농가 72건 중에서 43농가(89.6%) 64건(88.9%)에서는 병원체가 검출되었고, BRV가 27농가에서 34건(47.2%)으로 가장 많이 검출되었으며, 다음으로 분변에서 검출률은 병원성 대장균 30.6%, kobuvirus 29.2%, BPaV 22.2%, *G. lamblia* 15.3%, *Eimeria* spp. 9.7%, BVDV 6.9%, *Cl. perfringens* type A 6.9%, BCov 4.6% 그리고 *C. parvum* 2.8%순으로 검출되었다. 한우 분변 시료 100건 중에서 대장균 96 균주가 분리되었으며, *stx1*, *stx2*, *eaeA*, LT, STa, STb, *ehxA*, *saa*, F4, F5(K99), F6, F17, F18 및 F41 유전자를 검출하기 위해서 PCR로 검사하였다. 96 균주에 대한 유전자 검사결과 병원성 대장균은 30 균주로 확인되었으며, STEC 7 (7.3%), EHEC 8 (8.3%), EPEC 6 (6.3%), ETEC 2 (2.1%) 그리고 STEC/ETEC hybrid 7 (7.3%) 균주로 나타났다. 이번 연구는 광주 지역 한우농가에서 채취한 설사분변에 대한 병원체 조사를 통해 역학조사 기반 마련과 농장주와 임상 수의사에 적절한 치료방법을 선택하는데 사용이 될 것이다.

## 감사의 글

이 논문은 2018년도 광주광역시보건환경연구원 연구사업비 지원으로 수행하였습니다.

## REFERENCES

- Akiyama Y, Futai H, Saito E, Ogita K, Sakae H, Fukunaga M, Tsuji H, Chikahira M, Iguchi A. 2017. Shiga toxin subtypes and virulence genes in *Escherichia coli* isolated from cattle. *Jpn J Infect Dis* 70(2): 181-185.
- Alkan F, Karayel İ, Catella C, Bodnar L, Lanave G, Bányai K, Di Martino B, Decaro N, Buonavoglia C, Martella V. 2015. Identification of a bovine enteric calicivirus, kırklar-eli virus, distantly related to neboviruses, in calves with enteritis in Turkey. *J Clin Microbiol* 53(11): 3614-3617.
- APQA. 2016. Animal & plant quarantine agency research & development report. pp. 334-392(unpublished).
- APQA. 2017. Standard diagnosis outline for animal disease. Vol I. Korea disabled culture contents association Co., Seoul.
- Aref NM, Abdel-Raheem AA, Kamaly HF, Hussien SZ. 2018. Clinical and sero-molecular characterization of *Escherichia coli* with an emphasis on hybrid strain in healthy and diarrheic neonatal calves in Egypt. *Open Vet J* 8(4): 351-359.
- Bangoura B, Dausgschies A. 2007. Parasitological and clinical parameters of experimental *Eimeria zuernii* infection in calves and influence on weight gain and haemogram. *Parasitol Res* 100(6): 1331-1340.
- Bartels CJ, Holzhauser M, Jorritsma R, Swart WA, Lam TJ. 2010. Prevalence, prediction and risk factors of enteropathogens in normal and non-normal faeces of young Dutch dairy calves. *Prev Vet Med* 93(2-3): 162-169.
- Boileau MJ, Kapil S. 2010. Bovine coronavirus associated syndromes. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 26(1): 123-146.
- Cassar CA, Ottaway M, Paiba GA, Futter R, Newbould S, Woodward MJ. 2004. Absence of enteroaggregative *Escherichia coli* in farmed animals in Great Britain. *Vet Rec* 154(8): 237-239.
- Cho YI, Yoon KJ. 2014. An overview of calf diarrhea - infectious etiology, diagnosis, and intervention. *J Vet Sci* 15(1): 1-17.
- Chon SK, Lee HK, Song HJ. 2007. Eimeriosis in Korean indigenous calves with bloody diarrhea from March, 2006 to March, 2007. *Korean J Vet Serv* 30(2): 269-274.
- Dausgschies A, Najdrowski M. 2005. Eimeriosis in cattle: current understanding. *J Vet Med B* 52: 417-427.
- Feng Y, Xiao L. 2011. Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia* species and giardiasis. *Clin Microbiol Rev* 24(1): 110-140.
- Fleiss JL, Cohen J. 1973. The equivalence of weighted kappa and the intraclass correlation coefficient as measures of reliability. *Educational and Psychological Measurement* 33(3): 613-619.
- Franck SM, Bosworth BT, Moon HW. 1998. Multiplex PCR for enterotoxigenic, attaching and effacing, and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains from calves. *J Clin Microbiol* 36(6): 1795-1797.
- Gómara MI1, Cubitt D, Desselberger U, Gray J. 2001. Amino acid substitution within the VP7 protein of G2 rotavirus strains associated with failure to serotype. *J Clin Microbiol* 39(10): 3796-3798.
- Heo JH, Cho MH, Lee KC, Park MN, Cho EJ, Choi MS, Kim CH, Kang JB, Kim EK, Kim JS. 2008a. An epidemiological study on the calves with clinical diarrhea in southern Gyeongnam. *Korean J Vet Serv* 31(3): 305-313.
- Heo JH, Cho MH, Lee KC, Park MN, Cho EJ, Choi MS, Kim CH, Kang JB, Kim EK, Kim JS. 2008b. Detection of the etiological viruses from calves with clinical diarrhea in Gyeongnam south area. *Korean J Vet Serv* 31(3): 265-272.
- Hoet AE, Nielsen PR, Hasoksuz M, Thomas C, Wittum TE, Saif LJ. 2003. Detection of bovine coronavirus and other enteric pathogens in feces from diarrhea cases in cattle. *J Vet Diagn Invest* 15(3): 205-212.
- Hur J, Jeon BW, Kim YJ, Oh IG, Lee JH. 2013a. *Escherichia coli* isolates from calf diarrhea in Korea and their virulent genetic characteristics. *J Vet Med Sci* 75(4): 519-522.
- Hur TY, Jung YH, Choe CY, Cho YI, Kang SJ, Lee HJ, Ki KS, Baek KS, Suh GH. 2013b. The dairy calf mortality : the causes of calf death during ten years at a large dairy farm in Korea. *Korean J Vet Res* 53(2): 103-108.
- Izzo MM, Kirkland PD, Mohler VL, Perkins NR, Gunn AA, House JK. 2011. Prevalence of major enteric pathogens in Australian dairy calves with diarrhoea. *Aust Vet J* 89(5): 167-173.
- Jang SJ, Do SH, Ki MR, Hong IH, Rark JK, Cho YJ, Ji AR, Park Si, Park SJ, Kim TH, Kwak DM, Jeong KS. 2010. Sudden death caused by *Clostridium perfringens* type D enterotoxemia in feedlot cattle. *Journal of life science* 20(5): 639-643.
- Jeong MH, Lee MK, Kim HS, Lee SU, Seong MH, Park DY, Hwang BW, Park HJ, Cho JH. 2012. Detection of etiologic agents in diarrhea fecal samples from calves in Gyeongnam province, Korea. *Korean J Vet Serv* 35(4): 339-342.
- Jeoung HY, Lim JA, Jeong W, Oem JK, An DJ. 2011. Three clusters of bovine kobuvirus isolated in Korea, 2008-2010. *Virus Genes* 42(3): 402-406.
- Johura FT, Parveen R, Islam A, Sadique A, Rahim MN, Monira S, Khan AR, Ahsan S, Ohnishi M, Watanabe H, Chakraborty S, George CM, Cravioto A, Navarro A, Hasan B, Alam M. 2017. Occurrence of hybrid *Escherichia coli* strains carrying shiga toxin and heat-stable toxin in livestock of Bangladesh. *Front Public Health* 4:287.

- Kailasan S, Halder S, Gurda B, Bladec H, Chipman PR, McKenna R, Brown K, Agbandje-McKenna M. 2015. Structure of an enteric pathogen, bovine parvovirus. *J Virol* 89(5): 2603-2614.
- Kailasan S, Halder S, Gurda B, Bladec H, Chipman PR, McKenna R, Brown K, Agbandje-McKenna M. 2015. Structure of an enteric pathogen, bovine parvovirus. *J Virol* 89(5): 2603-2614.
- Kang E, Hwang SY, Kwon KH, Kim KY, Kim JH, Park YH. 2014. Prevalence and characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) from cattle in Korea between 2010 and 2011. *J Vet Sci* 15(3): 369-379.
- Kang MI, Han DU, Chung YU, Chung DY, Lee CY, Lee CG, Wee SH, Cho JJ. 2001. Survey on Korean-native calves disease and mortality. *Korean J Vet Serv* 24(3): 223-241.
- Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol* 2(2): 123-140.
- Kim D, Lyoo YS, Lyoo HS, Yoon CK. 1990. Etiology and clinical aspects of diarrhea of Korean native calves during the suckling period. *Korean J Vet Res* 30(2): 255-260.
- Kim HC, Choe C, Kim S, Chae JS, Yu DH, Park J, Park BK, Choi KS. 2018. Epidemiological survey on *Eimeria* spp. associated with diarrhea in pre-weaned native Korean calves. *Korean J Parasitol* 56(6): 619-623.
- Kim JM, Yoon YD, Park JM, Kim BH. 1986. Studies on development of *Escherichia coli* subunit vaccine against calf diarrhea: I. Distribution of enterotoxigenic *Escherichia coli* and purification of K99 and F41 pilus antigens. *Korean J Vet Res* 26(1): 97-102.
- Kim MJ, Kim SH, Kim TS, Kee HY, Seo JJ, Kim ES, Park JT, Chung JK, Lee BK, Lee J. 2009. Molecular genetic characterization of shiga toxin-producing *E. coli* isolated from diarrhea patients and cattle in Gwangju Area, Korea. *J Bacteriol Virol* 39(2): 79-95.
- Kim S, Kang JH, Lee CJ, Lee YS, Chae JB, Kang SW, Jeong SH, Yu DH, Jo A, Yoo JG, Choi KS, Kim HC, Park BK, Chae JS, Park J. 2016. Detection of diarrheagenic pathogens from feces and incidence of diarrhea in Korean calves. *Korean J Vet Serv* 39(3): 187-192.
- Kim UH, Jung YH, Choe C, Kang SJ, Chang SS, Cho SR, Yang BC, Hur TY. 2015. Korean native calf mortality: the causes of calf death in a large breeding farm over a 10-year period. *Korean J Vet Res* 55(2): 75-80.
- Kim WI, Cho YI, Kang SJ, Hur TY, Jung YH, Kim NS. 2012. Simultaneous detection of major pathogens causing bovine diarrhea by multiplex real-time PCR panel. *J Vet Clin* 29(5): 377-383.
- Kirisawa R, Takeyama A, Koiwa M, Iwai H. 2007. Detection of bovine torovirus in fecal specimens of calves with diarrhea in Japan. *J Vet Med Sci* 69(5): 471-476.
- Kolenda R, Burdukiewicz M, Schierack P. 2015. A systematic review and meta-analysis of the epidemiology of pathogenic *Escherichia coli* of calves and the role of calves as reservoirs for human pathogenic *E. coli*. *Front Cell Infect Microbiol* 5:23.
- Kwon OD, Jang JS. 2000. An outbreak of bovine coccidiosis in Korean native cattle. *Korean J Vet Serv* 23(2): 133-136.
- Le Bouguéne C, Bertin Y. 1999. AFA and F17 adhesins produced by pathogenic *Escherichia coli* strains in domestic animals. *Vet Res* 30(2-3): 317-342.
- Lebrun M, Mainil JG, Linden A. 2010. Cattle enterotoxaemia and *Clostridium perfringens*: description, diagnosis and prophylaxis. *Vet Rec* 167(1): 13-22.
- Lee JW, Kim JY, Kwak KH, Yuk HS, Shon KR, Koh WS. 2011. Mass mortality of *Clostridium perfringens* infection in Hanwoo. *Korean J Vet Serv* 34(1): 31-35.
- Lee SH, VanBik D, Kim HY, Lee YR, Kim JW, Chae M, Oh SI, Goo YK, Kwon OD, Kwak D. 2016. Multilocus typing of *Cryptosporidium* spp. in young calves with diarrhea in Korea. *Vet Parasitol* 229: 81-89.
- Lee YJ, Han DG, Ryu JH, Chae JB, Chae JS, Yu DH, Park J, Park BK, Kim HC, Choi KS. 2018. Identification of zoonotic *Giardia duodenalis* in Korean native calves with normal feces. *Parasitol Res* 117(6): 1969-1973.
- Leonard SR, Mammel MK, Rasko DA, Lacher DW. 2016. Hybrid shiga toxin-producing and enterotoxigenic *Escherichia* sp. cryptic lineage 1 strain 7v harbors a hybrid plasmid. *Appl Environ Microbiol* 82(14): 4309-4319.
- Lim KG, Kang MI, Kim SK, Nam KW, Park HJ, Park JR, Cho KO, Lee BJ. 2006. Identification and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from diarrhea in calves. *Korean J Vet Res* 46(2): 135-142.
- MacLachlan N, Dubovi EJ, Barthold SW, Swayne DE, Winton JR. 2016. Fenner's veterinary virology. 5th ed. Elsevier, London.
- Mohamed FF, Mansour SMG, Orabi A, El-Araby IE, Ng TFF, Mor SK, Goyal SM. 2018. Detection and genetic characterization of bovine kobuvirus from calves in Egypt. *Arch Virol* 163(6): 1439-1447.
- Nataro JP, Kaper JB. 1998. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev* 11(1): 142-201.
- Nguyen Y, Sperandio V. 2012. Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) pathogenesis. *Front Cell Infect Microbiol* 2: 90.
- Nyholm O, Heinikainen S, Pelkonen S, Hallanvuori S, Haukka K, Siitonen A. 2015. Hybrids of shigatoxigenic and enterotoxigenic *Escherichia coli* (STEC/ETEC) among human and animal isolates in Finland. *Zoonoses Public Health* 62(7): 518-524.
- Oh KH, Shin E, Jung SM, Im J, Cho SH, Hong S, Yoo CK, Chung GT. 2017. First isolation of a hybrid shigatoxigenic and enterotoxigenic *Escherichia coli* strain harboring the *stx2* and *elt* genes in Korea. *Jpn J Infect Dis* 70(3): 347-348.
- Park SH, Saif LJ, Jeong C, Lim GK, Park SI, Kim HH, Park SJ, Kim YJ, Jeong JH, Kang MI, Cho KO. 2006a. Molecular characterization of novel G5 bovine rotavirus strains. *J Clin Microbiol* 44(11): 4101-4112.
- Park SI, Jeong C, Kim HH, Park SH, Park SJ, Hyun BH, Yang DK, Kim SK, Kang MI, Cho KO. 2007. Molecular epidemiology of bovine noroviruses in South Korea. *Vet Microbiol* 124(1-2): 125-133.

- Park SJ, Jeong C, Yoon SS, Choy HE, Saif LJ, Park SH, Kim YJ, Jeong JH, Park SI, Kim HH, Lee BJ, Cho HS, Kim SK, Kang MI, Cho KO. 2006b. Detection and characterization of bovine coronaviruses in fecal specimens of adult cattle with diarrhea during the warmer seasons. *J Clin Microbiol* 44(9): 3178-3188.
- Park SJ, Oh EH, Park SI, Kim HH, Jeong YJ, Lim GK, Hyun BH, Cho KO. 2008. Molecular epidemiology of bovine toroviruses circulating in South Korea. *Vet Microbiol* 126(4): 364-371.
- Paton AW, Paton JC. 2002. Direct detection and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* by multiplex PCR for *stx1*, *stx2*, *eae*, *ehxA*, and *saa*. *J Clin Microbiol* 40(1): 271-274.
- Reuter G, Egyed L. 2009. Bovine kobuvirus in Europe. *Emerg Infect Dis* 15(5): 822-823.
- Ryan U, Fayer R, Xiao L. 2014. *Cryptosporidium* species in humans and animals: current understanding and research needs. *Parasitology* 141(13): 1667-1685.
- Schmidt H, Beutin L, Karch H. 1995. Molecular analysis of the plasmid-encoded hemolysin of *Escherichia coli* O157:H7 strain EDL 933. *Infect Immun* 63(3): 1055-1061.
- Schroeder ME, Bounpheng MA, Rodgers S, Baker RJ, Black W, Naikare H, Velayudhan B, Sneed L, Szonyi B, Clavijo A. 2012. Development and performance evaluation of calf diarrhea pathogen nucleic acid purification and detection workflow. *J Vet Diagn Invest* 24(5): 945-953.
- Selim AM, Elhaig MM, Zakaria I, Ali A. 2017. Bacteriological and molecular studies of *Clostridium perfringens* infections in newly born calves. *Trop Anim Health Prod* 49(1): 201-205.
- Sibley SD, Goldberg TL, Pedersen JA. 2011. Detection of known and novel adenoviruses in cattle wastes via broad-spectrum primers. *Appl Environ Microbiol* 77(14): 5001-5008.
- Smiley JR, Hoet AE, Traven M, Tsunemitsu H, Saif LJ. 2003. Reverse transcription-PCR assays for detection of bovine enteric caliciviruses (BEC) and analysis of the genetic relationships among BEC and human caliciviruses. *J Clin Microbiol* 41(7): 3089-3099.
- Song MC, Choi KS. 2010. Phylogenetic analysis of bovine viral diarrhea virus from Korean indigenous calves in Gyeongbuk province. *J Vet Clin* 27(6): 635-639.
- Taylor MA, Catchpole J. 1994. Coccidiosis of domestic ruminants. *Appl Parasitol* 35(2): 73-86.
- Thompson RC. 2004. The zoonotic significance and molecular epidemiology of *Giardia* and giardiasis. *Vet Parasitol* 126(1-2): 15-35.
- Van Bost S, Bâbe MH, Jacquemin E, Mainil J. 2001. Characteristics of necrotizing *Escherichia coli* isolated from septicemic and diarrheic calves between 1958 and 1970. *Vet Microbiol* 82(4): 311-320.
- Wieler LH, Sobjinski G, Schlapp T, Failing K, Weiss R, Menge C, Baljer G. 2007. Longitudinal prevalence study of diarrheagenic *Escherichia coli* in dairy calves. *Berl Münch Tierärztl Wochenschr* 120(7-8): 296-306.
- Yamashita T, Ito M, Kabashima Y, Tsuzuki H, Fujiura A, Sakae K. 2003. Isolation and characterization of a new species of kobuvirus associated with cattle. *J Gen Virol* 84(11): 3069-3077.
- Yoo HS, Lee SU, Park YH. 1997. Molecular typing and epidemiological survey of prevalence of *Clostridium perfringens* types by multiplex PCR. *J Clin Microbiol* 35(1): 228-232.
- Yu JR, Lee JK, Seo M, Kim SI, Sohn WM, Huh S, Choi HY, Kim TS. 2004. Prevalence of cryptosporidiosis among the villagers and domestic animals in several rural areas of Korea. *Korean J Parasitol* 42(1): 1-6.