

포유자돈 소장에서 분리된 대장균의 섬모항원과 장내독소 분포양상

함희진 · 천두성* · 채찬희*

서울시 보건환경연구원
서울대학교 수의과대학*
(1997년 9월 3일)

Prevalence of pili and enterotoxins of *Escherichia coli* associated with diarrhea in preweaning piglets

Hee-jin Ham, Doo-sung Cheon*, Chan-hee Chae*

Seoul Metropolitan Institute of Health and Environment
College of Veterinary Medicine, Seoul National University*

(Received Sep 3, 1997)

초 록 : A comprehensive study of 132 *Escherichia coli* isolates from 150 piglets with colibacillosis included detection of heat-labile enterotoxin, heat-stable enterotoxin, and identification of K88 (F4), K99 (F5), 987P (F6), and F41. Four pili were examined by haemagglutination and slide agglutination test. Heat-labile (LT) and heat-stable (ST) enterotoxin was determined by reverse passive latex agglutination and precipitation test, respectively. Among 132 *E coli* isolates, 26 had K88 (19.7%), 16 had K99 (12.1%), 3 had 987P (2.3%), and 2 had F41 (1.5%). Three had K88 and K99 (2.3%), 3 had K88 and 987P (2.3%), 2 had K99 and 987P (1.5%), 5 had K99 and F41 (3.8%), and 8 *E coli* strains had K88, K99 and F41 (6.1%) simultaneously. Among 132 *E coli* isolates, 5 produced LT only (3.8%), 55 produced heat-stable toxin ST only (41.7%), and 4 produced both LT and ST (3.0%). Three major pathotypes accounted for 27.9% of *E coli* isolates: K99⁺ (8.3%), K88⁺ST⁺ (9%) and K88⁺ (10.6%). Results of this study indicated that piliated enterotoxin-producing *E coli* was prevalent and was associated with diarrhea in preweaning piglets.

Key words : *Escherichia coli*, K88, K99, 987P, F41, heat-labile toxin, heat-stable toxin, pig.

서 론

대장균의 종류는 크게 장내 독소형 대장균(enterotoxi-

genic *Escherichia coli*), 장내 병원성 대장균(enteropathogenic *E coli*), 장내 침입형 대장균(enteroinvasive *E coli*), 장내 출혈성 대장균(enterohemorrhagic *E coli*) 등 4그룹으로 나누어진다¹. 장내 독소형 대장균은 섬모항원(fim-

본 연구는 1996년도 학술진흥재단 자유공모과제(과제번호 1G 0104)에 의해 수행되었음.

Address reprint request to Dr Chan-hee Chae, Department of Veterinary Pathology, College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Suwon 441-744, Republic of Korea.

briae or pilus)과 장내독소(enterotoxin)을 분비하고, 장내 출혈성 대장균은 Shiga-like toxin을 분비하여 설사증을 일으키고 있다^{2,3}. 특히 포유자돈에 병원성을 갖는 대장균은 장내 독소형 대장균으로서 이에 속하는 대장균은 거의 모두가 K88(F3), K99(F4), 987P(F5), F41(Kiowa) 등 4종의 섬모항원중 하나 또는 둘 이상을 가지고 있고, 장내독소인 이열성 독소(heat-labile toxin; LT)와 내열성 독소(heat-stable toxin; ST)중 하나 또는 두개를 동시에 생성하고 있다^{4,5}.

장내 독소형 대장균중 자돈설사증에서 문제시 되는 항원은 K88, K99, 987P, F41 등 4개 섬모항원이다⁴. 이중 자돈에 감염되어 설사증을 일으키는 대장균은 K88 섬모항원을 가진 것이 대부분이다³. K88 항원은 K88ab, K88ac, K88ad 등 3종류가 있고, K88 항원을 가진 대장균은 대부분 이열성 독소와 내열성 독소를 생성하며, K88 이외의 항원을 가진 대장균중 K99, 987P 항원을 가진 대장균도 자돈의 설사증에 중요한 원인이 되는데 이들 K99 및 987P 항원을 가진 장내독소형 대장균은 내열성 독소만을 생성하고 이열성 독소는 생성하지 못한다⁶. 이들 섬모항원은 여러 동물들의 적혈구를 이용한 응집반응으로 구별할 수 있다. K88 항원은 기니피과 닭의 적혈구에서, K99는 말과 양의 적혈구에서, F41은 사람, 기니피, 말, 양의 적혈구를 각각 응집하지만, 987P는 이와같은 동물의 적혈구를 응집하지 못하는데 이는 이들 동물의 적혈구 표면에 987P에 대한 수용기(receptor)가 없기 때문이며 이러한 응집현상의 차이로도 그 감별이 가능하다⁷. 장독소는 세균이 생산하는 단백질 물질로서 포유동물 소장점막에 작용하여 장액분비 증가를 유발하는 외독소이며, 장내 독소형 대장균이 생산하는 장독소는 조직손상을 동반하지 않고 설사를 유발하는 세균성 장독소로서 물리적 인자인 열에 대한 안정성에 기초를 두어 이열성 장독소와 내열성 장독소로 분류되어 지고 있다¹. 이열성과 내열성 독소로 대별되는 두가지 장독소는 십이지장, 공장 등 소장점막에 작용하여 소장벽을 통한 수분대사 장애를 초래하고 조직수분의 장관내로의 분비를 과다하게 하여 설사를 일으킨다¹.

본 실험은 위와 같이 대장균성 설사증에서 중요한 대장균의 섬모항원별 분포와 장내독소의 국내 분포를 살펴, 국내 대장균성 설사증의 추이를 살펴보고자 하며 나아가 자돈 대장균성 설사증의 백신개발에 대한 기초자료를 제공코자 하였다.

재료 및 방법

표준균주 : 본 시험에 표준균주로 이용한 *E coli* K88ab, *E coli* K88ac, *E coli* 987P, *E coli* F41, *E coli* K99는 미국 아이오와 주립대학 수의과대학 미생물실 실장인 Ms. J M Kinyon에게 분양받았고, *E coli* ST⁺, *E coli* LT⁺, *E coli* VT⁺는 농촌진흥청 수의과학연구소 세균과에서 분양받아 peptone 1%, NaCl 0.5%, 및 glycerol 20%이 각각 첨가된 semi-solid BHI agar에서 배양한 후, -70℃에서 냉동보관하였다. 분양받은 세균은 tryptic soy agar plate에 접종, 37℃에서 24시간 배양하여 전형적인 집락(colony)를 확인한 후 사용하였다.

시험균주 : 본 시험시료는 경기도, 경상남북도, 전라남북도, 충청남북도 등지에 소재하는 양돈장으로부터 1995년 3월부터 1996년 8월까지 서울대학교 수의과대학 병리학교실로 의뢰된 설사증상을 발현하고 있는 2주령 이하의 포유자돈 150두로부터 분리된 132종의 대장균을 시험균주로 사용하였다. 공장과 회장의 점막부위에서 멸균된 면봉에 의해 채집된 장점막 내용물을 이용하여 대장균들을 분리동정하여 tryptic soy agar plate에 접종, 37℃에서 24시간 배양하여 전형적인 집락(colony)를 확인한 후 사용하였다. 재시험이 필요한 경우는 표준균주와 같은 방법으로 -70℃ 냉동보관하면서 사용하였다.

대장균 분리동정시험(biochemical test) : 분리된 대장균은 생화학적 검사를 통하여 확인 동정되었다. 먼저 MacConkey agar와 KIA agar에서 유당 분해능, 가스 생성여부를 확인하고, IMViC 시험을 실시한 후, 확인된 대장균들에 대해 H₂S 생성능, urease 산생능, gelatin 액화능, 운동성(motility), decarboxylase test, phenylalanine deaminase test, malonate utilization 및 당분해시험 등 모두 39종류의 튜브를 이용한 생화학적 확인시험을 실시하였다⁸.

수동혈구 응집반응시험 : 혈구응집 결과에 준하여 기니피 적혈구, 닭 적혈구, 말 적혈구, 사람 적혈구를 사용하여 시험하였다⁹. 생리식염수에 항응고제인 EDTA(1.2g/L)를 첨가하여 각 동물에서 혈액을 채취하였다. PBS(phosphate buffered saline, 0.1M, pH 7.4)로 적혈구를 분리한 후 3회 세척하고 맨 마지막에 3%(v/v) 적혈구 부유액을 준비하였다. 섬모항원 생산에 적합한 Minca medium에서 시험 대장균을 37℃에서 24시간 배양하였다. 세균 부유액에 5x10¹⁰CFU ml⁻¹ 정도의 세균을 함유하도록

PBS를 이용하여 희석하였다. 50 μ l의 3%(v/v) 적혈구 부유액과 50 μ l의 세균부유액을 4부 튜브에서 tray mixer로 혼합하였다. 1시간 후 응집여부를 확인하였다²³.

섬모 항혈청(fimbriae antiserum) 제조 : 섬모항원 제조에 사용한 실험동물은 서울시 보건환경연구원에서 사육중인 5kg 이하의 특정 병원체 부재(specific pathogen free) 뉴질랜드 흰색 토끼(Newzealand white rabbit)를 사용하였다¹⁰.

Minca medium를 이용하여 37 $^{\circ}$ C에서 24시간동안 시험균을 배양하고 배양액을 absolute ethyl alcohol에 1:1 비율로 부유시켰다. 부유액을 24시간 37 $^{\circ}$ C 배양분리하고, 원심분리후 상층알콜을 버리며 남은 균액을 absolute ethyl alcohol에 한 번 더 부유시키고 배양기에서 2시간 배양하였다. 다시 원심분리후 상층 알콜을 버리고 아세톤에 부유시키고 아세톤으로 2회 세척하였다. 소량의 아세톤을 넣고 아세톤이 증발할 때까지 24시간 배양시켰다. 부유농도는 24시간 broth culture 수준으로 하여 등장액(isotonic saline sol)에 부유시켜 주사하였다. 점종은 0.3, 0.5, 1.0, 2.0, 2.0, 2.0ml씩 4일간격 6회 주사하였고, 마지막 주사 7일 후에 채혈하였다. 0.25% phenol saline solution을 사용하여 혈청을 분리후 분리된 혈청을 항혈청으로 사용하였다. 제조된 항혈청의 역가는 K88ab 80:1, K88ac 160:1, 987P 40:1, F41 160:1, K99 160:1이었고, 대부분 교차반응이 없었으며, K88ab, K88ac 모두에 교차반응이 일어난 F41 항혈청만은 K88ab, K88ac 모두에 대한 항원으로 상쇄시킴으로써 F41 항혈청으로 사용하는데 문제가 되지 않았다. 한편 K88ab, K88ac 서로간에는 교차반응이 거의 없었다.

Slide and tube agglutination test : Slide agglutination test는 항혈청 원액을 사용하여 항원(신선한 균액)과 항혈청을 동량으로 반응시켜 2분 이내 응집으로 판정하였고, tube agglutination test는 항혈청 10배 희석액을 써서 항원(신선한 균액)과 항혈청을 동량으로 37 $^{\circ}$ C에서 반응시켜 1시간 후 응집여부로 판정하였다²⁴.

이열성 독소확인시험 : 대장균 이열성 독소 검출용 시약 VET-RPLA(reversed passive latex agglutination kit, Denka Seiken Co)를 사용하여 역수신 라텍스 응집반응을 실시하였다. 배양배지는 대장균 이열성 독소생산에 적합한 CaYe medium(casamino yeast medium)²⁵을 사용하였으며, 시험액은 위 배지에서 배양된 균액의 원심분리(5000 rpm, 10 min)후 상층액을 사용하여 VET-RPLA kit의 방법

에 준하여 시행하였다.

내열성 독소확인시험 : 내열성 독소생산여부 확인을 위해 35 $^{\circ}$ C, 45 $^{\circ}$ C, 55 $^{\circ}$ C, 65 $^{\circ}$ C, 100 $^{\circ}$ C 등에서 이열성 독소와 비교하여 확인하였다. 배양배지는 대장균이 내열성 독소를 생산하기에 적합한 CaYe medium²⁵을 사용하였으며, 시험액은 위 배지에서 배양된 균액의 원심분리(5000 rpm, 10 min)후 상층액을 사용하였다. 50% 콜레라 항혈청(cholera antiserum)과 48~50 $^{\circ}$ C에서 용해상태의 0.5% agarose를 1.8~2.0mm 내径의 microtube에서 혼합하여 넣고 굳혔다. 윗층에 동량의 항원(균액)을 증충하였다. 외부물질 침투방지를 위해 멸균된 mineral oil로 덮었다. 2~3일후 백색침강대(white precipitin band) 형성유무로 결과를 확인하였다^{11,12}.

결 과

야외분리 대장균 확인 동정 : 경기도, 경상남북도, 전라남북도, 충청남북도 등지에 소재하는 양돈장으로부터 서울대학교 수의과대학 병리학교실로 의뢰된 설사자돈 150두를 대상으로 분리동정한 야외 분리균주는 총143개였으며 이들중 선택배지와 생화학적 시험 등으로 최종 대장균으로 확인된 균주는 132개였고 본 실험은 이 132개 대장균을 대상으로 세부적으로 실시되었다.

섬모(fimbriae) 분포 : 분리된 132균주에 대한 섬모의 분포실험에서 K88, K99, F41은 적혈구를 이용한 수동혈구 응집반응을 실시하였으며, 987P는 987P에 대한 토끼 항혈청을 만들어서 항혈청 응집반응을 실시하였다. 수동혈구 응집반응과 항혈청 응집반응은 3회 실시하여 양성반응이 1회이상 관찰되는 야외분리 대장균을 양성으로 판정하였다. 분리된 132개 균주중 68개 균주(52%)에서 최소한 1개 이상의 섬모항원을 보유하였다. 한 개 이상의 섬모항원을 보유한 68개 균주중 47개 균주는 1개의 섬모를 보유하고 있으며, 21개 균주는 2개이상의 섬모항원을 보유하였다. 분리된 132개 균주에 대한 단일섬모의 분포를 보면 K88 섬모만을 보유한 대장균이 26균주(19.7%)로 가장 많았으며, K99 섬모만을 보유한 대장균이 16균주(12.1%), 987P 섬모만을 보유한 대장균이 3균주(2.3%), F41 섬모만을 보유한 대장균이 2균주(1.5%)로 분포하였다. 분리된 132개 균주에 대한 복수섬모의 분포를 보면 K88, K99와 F41 등 3가지 섬모를 동시에 보유한 대장균이 8균주(6.1%)로 가장 많았으며, K99와 F41

등 2가지 섬모를 동시에 보유한 대장균이 5균주(3.8%), K88와 K99 등 2가지 섬모를 동시에 보유한 대장균이 3균주(2.3%), K88와 987P 등 2가지 섬모를 동시에 보유한 대장균이 3균주(2.3%), K99와 987P 등 2가지 섬모를 동시에 보유한 대장균이 2균주(1.5%)로 분포하였다(Table 1). 분리된 132개 균주중 K88를 보유하고 있는 40개 균주에 대한 K88ab와 K88ac에 대한 토끼 항혈청을 이용한 항혈청 응집반응에서 K88ab가 15균주, K88ac가 23균주로 분포되었다. 나머지 K88 2균주는 K88ab와 K88ac에 대한 항혈청과 응집반응을 나타내지 않았다.

장독소(enterotoxin) 분포 : 분리된 132균주에 대한 장독소 분포실험에서 이열성 장독소와 내열성 장독소 분포조사를 실시하였다. 분리된 132개 균주중 64개 균주(48.4%)에서 최소한 1개 이상의 장내독소를 분비하였다. 한 개 이상의 장독소만을 분비한 64개 균주중 60개 균주는 1개의 장독소만을 분비하고 있으며, 4개 균주는 2개의 장독소를 분비하였다. 한 개의 장독소만 분비하는 대장균중 55균주(41.7%)는 내열성 장독소만을 분비하였고, 5균주(3.8%)는 이열성 장독소만 분비하였다. 분리된 대장균중 4균주(3.0%)에서만 내열성 장독소와 이열성 장독소 모두를 분비하였다(Table 1).

섬모항원과 장독소 분포의 상관관계 : 분리된 132균주에 대한 섬모항원과 장독소 분포 관계를 보면, 한 개 이

상의 섬모를 보유한 68개 대장균 균주중 29개 균주가 내열성 장내독소만 분비하였고, 3개 균주가 이열성 장내독소만 분비하였고, 2개 균주가 내열성 장독소와 이열성 장내독소 모두를 분비하였다. K88 단일 섬모항원을 보유하고 내열성 장내독소를 분비하는 대장균이 12균주로 가장 많이 설사증상이 있는 포유자돈에서 분리되었다. K88, K99, F41의 복수 섬모항원을 보유하고 내열성 장내독소를 분비하는 대장균이 5균주가 분리되었다. K99 단일섬모를 보유하고 내열성 장내독소를 분비하는 대장균이 4균주가 분리되었다.

고 찰

본 연구에서는 포유자돈에서 설사증상을 일으키는 대장균들을 자돈 소장에서 분리하여 132주 대장균으로 동정하였고 이들에 대한 병원성 인자인 섬모와 장내독소의 분포양상 시험을 실시하였다. 병원성 인자인 섬모항원중 K88, K99, 987P, F41을 동물의 적혈구를 이용한 수동혈구 응집반응(haemagglutination test)과 토끼의 항혈청을 이용한 응집반응(agglutination test)방법을 이용하여 검사하였다. 장내독소인 내열성 독소와 이열성 독소 분비유무도 검사하였다. 본 연구결과 포유자돈에서 주로 설사를 유발하는 대장균은 *E. coli* K88*ST*으로 판명되었다. 국내의 다른 연구자들의 결과와 비교해본 결과 연구 수행시기와 국가별로 섬모분포의 차이점이 관찰되었다. 영국에서 1979년 실시한 연구에서는 K88(12.7%)와 987P(0.8%)로 보고되었으며¹³, 1988년 실시한 연구에서는 K99(32.3%), 987P(23.2%), F41(15.6%)로 보고되었다¹⁴. 덴마크에서 1994년 실시한 연구에서는 이유전 포유자돈 설사에서 K88(28.27%), K99(1.57%), F41(3.14%), 987P(8.38%), K88*987P(2.62%), K99*F41(1.57%), F41*987P(0.52%)로 분포되어 있어 대체로 4가지 섬모항원 모두가 골고루 분포함을 알 수 있다¹⁵. 독일에서 1992년 조사에서는 K99(44.19%)로 보고하여 K99가 주로 분포함을 알 수 있고¹⁶, 벨기에에서 1990년 조사에서는 K99(27.3%), F41*K99(68.2%), F41(1.5%)로 보고하여 K99, F41이 주로 분포함을 알 수 있었다⁴. 미국에서 1980년 조사에서는 K88(5.88%), K99(13.24%), 987P(80.88%)로 분포되었으며¹⁷, 1986년에는 K88(47.53%), 987P(30.04%), K99(13.45%), F41(5.38%)로 조사되었으며¹⁸, 1990년에는 987P(50%), F41(8.33%), K99*F41(16.67%)로 보고되어⁴, 시대가 흐름에 따라 섬모의 분포양상

Table 1. Relationship of fimbrial antigens and enterotoxins of 132 *Escherichia coli* isolated from piglets with diarrhea in Korea

Fimbrial antigen*	No. of positive strains(%)	No. of strains producing			
		LT	ST	LT&ST	None
K88	26(19.7)	12			14
K99	16(1.1)	1	4		11
987P	3(2.3)		2		1
F41	2(1.5)		1	1	
K88+K99	3(2.3)	1	1		1
K88+987P	3(2.3)		3		
K99+987P	2(1.5)				2
K99+F41	5(3.8)	1	1		3
K88+K99+F41	8(6.1)		5	1	2
Total fimbrial typing	68(51.5)	3	29	2	34
Negative typing	64(48.5)	2	26	2	34

*K88, K99 and F41 was typed by hemagglutination test, while 987P was determined by agglutination tests.

도 변화되는 것이 관찰되었다. 본 연구결과와 1994년 조사된 덴마크와 분포양상이 매우 유사한 것으로 밝혀졌다.

국내에서도 본 연구와 유사한 조사를 1981년부터 시행하였다^{3,7,19-21}. 하지만 대부분의 국내 조사는 특정지역에 국한되어 있거나 일년동안 지속적인 조사보다는 특정시기에 시행되어서 결과의 객관성이나 국내의 대장균 병원성 분포를 대표하기에는 미흡한 면도 없지 않았다. 1981년 조사에서는 K88ab(24.21%)와 K88ac(24.21%)만 보고되었다¹⁷. 2년후인 1983년에 경기도 이천군에 소재하는 국한된 한 개 농장에서의 조사에서는 987P(2.3%)가 처음 보고되었고, 2년전과 마찬가지로 K88ab(26.1%)와 K88ac(4.7%)이 가장 흔한 대장균으로 판명되었다³. 1984년에 처음으로 국내 전체를 대상으로 조사한 결과 K88ab(28.7%)와 K88ac(19.5%)이 가장 흔한 대장균으로 판명되었다²⁰. 1987년 수원 근교의 양돈장에서의 987P 단일섬모에 대한 조사에서 조사된 대장균중 11.6%가 987P를 보유하고 있는 것으로 판명되었다⁷. 1987년 조사된 결과에서는 K88ab(26%), K88ac(62%), K99(0%)로 보고되었다²¹. 지난 15년동안 국내에서 조사한 결과와 본 연구결과를 비교하면 국내에서 문제가 되는 장내독소형 대장균의 대다수는 K88 또는 K99 섬모를 보유하고 있으며 987P와 F41 섬모항원을 보유한 대장균이 증가되는 추세이다.

포유자돈의 설사에서 분리된 대장균의 섬모와 장내독소의 분포관계에 대한 결과를 비교하여 보면 미국에서 조사한 결과에서는 대부분 K88 대장균은 주로 이열성 장내독소를 분비한 반면, K99 또는 987P 섬모항원을 보유한 대장균은 주로 내열성 장내독소를 분비하는 것으로 밝혀졌다²². 덴마크 조사에서는 대부분의 K88 섬모를 보유한 대장균은 이열성과 내열성 장내독소를 모두 보유하고 있는 반면, K99 또는 987P 섬모를 보유한 대장균은 주로 내열성 장내독소를 분비하는 것으로 밝혀졌다¹⁵. 본 연구조사에서는 K88, K99, 987P 섬모를 보유한 대부분의 대장균은 주로 내열성 장내독소를 분하는 것으로 밝혀져서 국가별로 K88섬모와 장내독소의 분포는 매우 불규칙한 분포양상을 나타내는 반면, K99와 987P 섬모는 3개국 모두 내열성 장내독소를 분비하는 것으로 밝혀져 전세계적으로 일치된 분포양상을 나타냈다. 국내에서는 아직까지 대장균 섬모항원과 장내독소에 대한 분포관계에 대한 연구가 진행되어 있지 않다. 본 연구에서 처음 포유자돈에서 분리된 대장균에서 F41 섬모를

밝혀낸 것과 대장균 섬모항원과 장내독소의 분포관계를 밝힌 것은 큰 성과로 생각된다.

결론

포유자돈의 설사증을 일으키는 대장균 132주를 분리 동정하였고 이들에 대해 섬모항원(K88ab, K88ac, K99, F41, 987P)과 장내독소(내열성과 이열성 독소)의 분포상태를 검사하였다. 국내 포유자돈 설사증에서 분리된 132균주의 섬모항원 분포를 분석해본 결과 40개 균주가 K88 섬모를 보유하고 있으며, 장내독소 분포를 분석해본 결과 54개 균주가 내열성 장내독소를 분비하였다. 가장 일반형의 대장균은 K99*(8.3%; 11균주), K88*ST*(9%; 12균주), K88*(10.6%; 14균주)로 밝혀졌다. 본 연구는 국내에서 아직까지 포유자돈의 대장균 설사증에서 보고되지 않았던 F41 섬모를 처음 발견하였다. 국내에서의 결과들과 비교해볼 때 년차적으로 K88 항원은 계속 많은 분포가 있으며, K99와 987P 항원의 분포는 계속 증가추세를 보이고 있다.

참고 문헌

1. Chae C. Diarrhegenic *Escherichia coli*. *Korean J Vet Res*, 33:567-572, 1993.
2. Chae C. Shiga toxin, Shiga-like toxin and Verotoxin. *Korean J Vet Res*, 33:773-779, 1993.
3. 윤용덕, 김종만, 김동성 등. 돼지 세균성 소화기 질환에 대한 연구 1. 자돈의 대장균성 설사병의 예방 및 치료에 관한 연구. *한국축산과학연구보고*, 3: 136-151, 1983.
4. Mainil JG, Bex F, Jacquemin E, et al. Prevalence of four enterotoxin(STaP, STaH, STb and LT) and four adhesin subunit (K88, K99, 987P and F41) genes among *Escherichia coli* isolates from cattle. *Am J Vet Res*, 51:187-190, 1990.
5. 김봉환. 돼지의 병원성 대장균 설사병. 제1회 양돈 산업 진흥을 위한 국제 심포지움 발표 논문집. *한국축산과학연구보고*, 1:210-219, 1981.
6. Baker IK, Van Dreumel AA, Palmer N. The alimentary disease. In Jubb KVF, Kennedy OC, Palmer N, ed *Pathology of Domestic Animals Volume 2*, 4th

- ed. Academic press, San Diego:200-213, 1992.
7. 박경윤. Enterotoxigenic *Escherichia coli* 987P의 pilus 생성능 및 야외분리 대장균의 987P 항원조사. 서울대학교 수의대 논문집, 12:31-40, 1988.
 8. Brenner DJ. Facultatively anaerobic gram-negative rods. In Krieg NR, Holt JG, ed *Bergey's Manual of Systemic Bacteriology volume 1*, 1st ed, Williams & Wilkins, Baltimore:408-423, 1984.
 9. Gaastra W, De Graaf FK. Host-specific fimbrial adhesins of noninvasive enterotoxigenic *Escherichia coli* strains. *Microbiol Rev*, 46:129-161, 1982.
 10. William HE. The Genus *Escherichia* in *Edward and Ewing's Identification of Enterobacteriaceae*. 4th ed. Elsevier Science, Publishing Co. New York: 93-134, 1986.
 11. 이종훈. 병원 미생물학. 2판. 수문사, 서울:149-164, 1973.
 12. Campbell DH, Garvey JS, Cremer NE, et al. Preparation of Antiserums. In *Methods in Immunology*, 2nd ed. WA Benjamin, Inc, London:159-173, 235-267, 1970.
 13. Sellwood R. *Escherichia coli* diarrhea in pigs with or without the K88 receptor. *Vet Rec*, 8:228-230, 1979.
 14. Fairbrother JM, Lariviere S, Johnson WM. Prevalence of fimbrial antigens and enterotoxins in non classical serogroups of *Escherichia coli* isolated from newborn pigs with diarrhea. *Am J Vet Res*, 49:1325-1328, 1988.
 15. Ojeniyi B, Ahrens P, Meyling A. Detection of fimbrial and toxin genes in *Escherichia coli* and their prevalence in piglets with diarrhea-The application of colony hybridation assays, polymerase chain reaction and phenotypic assay. *J Vet Med B*, 41:49-59, 1994.
 16. Boss P, Monckton RP, J Nicolet, et al. Nachweis von toxigenen verschiedener *E coli* pathotypen beim schwein mit Nichtradioaktiv markeierten sonden. *Schweiz Arch Tierheilk*, 134:31-37, 1992.
 17. Moon HW, Kohler EM, Schneiderand RA. Prevalence of pilus antigens, enterotoxin types, and enteropathogenicity among K88-negative enterotoxigenic *Escherichia coli* from neonatal pigs. *Infect Immun*, 27:222-230, 1980.
 18. Evans MG, Waxler GL, Newman JP. Prevalence of K 88, K99 and 987P pili of *Escherichia coli* in neonatal pigs with enteric colibacillosis. *Am J Vet Res*, 47: 2431-2434, 1989.
 19. 김봉환. 자돈의 병원성 대장균중에 관한 연구 1. 설사 자돈으로부터 분리한 대장균의 혈청형 동정. 대한수의학회지, 121:87-91, 1981.
 20. 윤용덕, 김종만, 김동성. 자돈의 대장균성 설사증에 관한 연구 2. 자돈의 대장균성 설사증 백신개발. 농시보고(축산,가축), 26-1:72-79, 1984.
 21. 윤용덕. 대장균의 K99 pilus합성 유전자 재조합에 관한 연구. 농촌진흥청 연구와 지도, 129:18-20, 1987.
 22. Wilson RA, Francis DH. Fimbriae and enterotoxins associated with *Escherichia coli* serogroups isolated from pigs with colibacillosis. *Am J Vet Res*, 47:213-217, 1986.
 23. Bertschinger HU, Bachmann M, Mettler C, et al. Adhesive fimbriae produced *in vivo* by *Escherichia coli* O139:K12(B):H1 associated with enterotoxaemia in pigs. *Vet Microbiol*, 25:267-281, 1990.
 24. Difco Laboratory. *E coli* O/OK antisera. In *Difco manual*, 10th ed. Difco, Detroit:309-321, 1984.
 25. Ronald MA. CAYE Broth. In Lawrence CP, ed *Handbook of Microbiological Media*, 1st ed. CRC Press, Florida:74, 1995.