J. Fd Hyg. Safety
Vol. 25, No. 3, pp. 220~225 (2010)

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

서울시내 유통식품에서 분리한 대장균의 항생제 내성 및 내성유전자

유영아* · 김무상 · 김경식 · 박선희 · 정성국
서울시보건환경연구원

Antimicrobial Resistance and Implicated Genes of *E. coli* Isolated from Commercial and Cooked Foods in Seoul

Young Ah Yoo*, Moo Sang Kim, Kyong Sik Kim, Sun Hee Park, and Sung Kuk Jung
Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health and Environment
(Received August 2, 2010/Revised August 27, 2010/Accepted September 13, 2010)

ABSTRACT - Distribution of foodborne *E. coli* strains, antimicrobial resistant genes and antimicrobial susceptibility have been carried out on *E. coli* isolated from commercial and cooked foods distributed food in Seoul. Of total 1,313 samples, fifty samples(3.8%) were found *E. coli* that included one of the ETEC and EPEC, respectively. The serotype of ETEC in seasoning raw meat was *E. coli* O26 and produced Verotoxin 2. Fifty percentage of total isolates were susceptible to all antimicrobial agents. Specially, there were ampicillin(36%), amoxicillin/clavulanic acid(32%) and tetracycline(22%) etc. Resistant gene (*tetB*) were found in four tetracycline resistant *E. coli* strains, and TEM gene was found in one ampicillin resistant *E. coli* isolate.

Key words: pathogenic *E. coli*, antimicrobial resistant, ETEC, EPEC

식품의약품안전청의 자료에 따르면, 호흡기 감염에 이어 두 번째로 많이 발생하는 질환이 소화기성 설사질환인 것으로 보고되어 있다. 전 세계에서 해마다 1,440만명이 설사질환을 포함한 감염성 질환으로 목숨을 잃고, 미국의 경우 매년 7천6백만 명이 수인성 전염병을 앓으며, 1000명당 1명은 1년에 1회 설사질환으로 입원한다는 통계가 있는 만큼 급성 설사는 전 세계적으로 질병위험이 매우 큰 질병이다[1]. 뿐만 아니라 설사질환은 전염력도 높아, 매년 500만 명 정도의 어린이가 후진국에서 설사질환의 합병증으로 사망하고 있어 우리나라는 물론 세계적으로 설사질환이 공중 보건학상 매우 중요하게 다루어지고 있다[2-3]. 2007년 발표된 국립보건원 자료에 따르면 우리나라에서 8개 시도에서 발생한 설사환자의 가검물에서 밝혀진 원인체중 49%가 *E. coli*라는 보고가 있으며[4], 세계적으로도 병원성 대장균은 설사질환 등 각종 감염질환의 주요 원인균으로서 연구가 활발히 진행중에 있다.

병원성 대장균을 포함한 세균에 의한 대부분의 감염질환과 질병치료를 위해 화학치료제에 의존할 수밖에 없으며, 치료제의 대부분은 항생제(Antibiotics)이다. 그러나 항생제의 사용은 세균들이 다양한 경로를 통해 항생제와 접하게 되는 기회가 많아지게 되면서 항생제 내성균의 출현이라는 필연적인 결과를 가져왔다[5-6]. 항생제 내성으로 인한 문제는 내성균의 증가로 인해 감염증 치료 효과를 약화시킬 뿐 아니라 부가적으로 의료비용을 상승시키고[7] 효과적인 약제 선택을 어렵게 함으로써 적절한 치료시기를 놓치게 되어 심각한 문제들을 야기하고 있다[8]. 특히 *Pseudomonas* 감염치료를 위해서는 감수성 있는 약제를 선택하기 어려울 정도로 내성균이 많아졌다[9-13]. 병원성 대장균 역시 여러 항생제에 내성을 갖는 균주가 증가하였고, 각종 질환의 원인균으로 작용하는 병원성 대장균에 사용되던 항생제가 듣지 않아 새로운 계열의 항생제로 대체해서 치료하는 경우가 늘어나고 있다. 내성균은 다양한 경로를 통해 빠르게 전파될 수 있으며, 특히 현대사회는 전 세계가 1일 생활권이 가능하게 되고 식품오염에 의한 내성세균의 전파가 빠르게 진행될 수 있는 문제가 있음으로 식품에서 분리된 세균의 항생제 감수성 조사 분석을 통하여 식품에서 유래하는 병원성 세균의 식품위생학적 기초 자료를 제공하고자 한다.

본 연구에서는 2010년 1월부터 6월까지 서울시내에서 유통되는 식품과 식품접객업소(집단급식소 포함)의 조리식품을 대상으로 식중독 원인균 분석 및 위생미생물 검사를 실시하였다. 그 결과 검출률이 가장 높은 대장균을 대상

*Correspondence to: Young Ah Yoo, Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health and Environment, Juamdong 1, Gwacheon-si, Gyeong gi-do 427-805, Korea
Tel: 82-2-570-3424
E-mail: lilycoe@seoul.go.kr

으로 그 분포를 살펴보았으며, 분리된 대장균의 항생제 감수성 시험을 통하여 이들의 내성 정도를 파악하고, 내성 유전자와 병원성유전자의 분포도 알아보았다.

재료 및 방법

실험균주

2010년 1월부터 6월까지 서울시내에서 유통되는 식품과 식품접객업소(집단급식소 포함)의 조리식품 중 각 구청을 통해 서울시보건환경연구원으로 검사 의뢰된 제품에서 분리된 대장균 50주를 시험대상으로 하였다. 검사 대상이 된 식품은 모두 1,313건으로 김밥과 샌드위치 등을 포함한 즉석섭취식품이 635건으로 가장 많았으며, 접객업소등에서 제공되는 조리음식이 374건, 선선편의식품 115건, 조미건포류 85건, 조미식품 77건, 과채가공품 14건, 젓갈류 13건 등이었다.

대장균 분리 및 동정

식품검체의 일정량을 멸균생리식염수와 함께 균질화 하여 시험용액으로 사용하였다. 3개의 9 mL EC broth(Difco, USA)에 시험용액 1 mL씩을 각각 접종하고 44ºC에서 24시간 배양 후 가스발생 양성인 경우 EMB 배지(Difco, USA)에 접종하여 35ºC에서 24시간배양 하였다. EMB 배지에서 전형적인 집락을 분리하여 보통한천배지에 순수배양 후 API 20E kit (BioMerieux, France)를 사용하여 동정하였다.

항생제 감수성시험

항생제 감수성 시험은 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines에 의해 disc diffusion method로 다음과 같이 실시하였다. Mueller Hinton broth (Difco, USA)에서 진탕배양 된 균액의 농도를 MacFarland No. 0.5정도로 희석하여 Mueller Hinton agar (Difco, USA)에 균일하게 도말하였다. 균액을 접종한 배지는 실온에서 약 5분간 건조시킨 후 disc dispenser (Becton Dickinson, USA)를 이용해 16종의 항생제 디스크(BBL, USA)를 두 개의 plate에 나누어 올려놓고 35ºC에서 하룻밤 배양하였다(Table 1). 각 항생제에 대한 억제대 크기를 zone reader로 측정하고 CLSI guideline 따라 감수성과 내성을 판정하였다[14].

대장균 DNA 추출

순수 분리된 대장균을 Tryptic soy broth(Difco, USA)에서 37ºC로 4시간 진탕 배양하고, Cole의 방법에 따라 DNA를 추출하였다[15]. 증균 배양된 가검물 1 ml을 microcentrifuge tube에 옮겨 14,000 rpm에서 10분간 원심분리 하였다. 상층액 0.5 ml을 새로운 tube에 옮기고 0.3 ml의 PEG (20% Polyethyleneglycol 8000, 2.5 M NaCl)용액을 추가한 다음

Table 1. Antimicrobial agents used in *E. coli* strains susceptibility test

Antimicrobial agents	Class	Concentration (μg/disc)	Zone diameter(mm)		
			Resistant	Intermediate	Susceptible
Cephalothin(CF)	Cephem	30 μg	14	15~17	18
Ceftriaxone(CRO)	Cephem	30 μg	19	20~22	23
Cefoxitin(FOX)	Cephem	30 μg	14	15~17	18
Gentamicin(GM)	Aminoglycoside	10 μg	12	13~14	15
Kanamycin(K)	Aminoglycoside	30 μg	13	14~17	18
Streptomycin(S)	Aminoglycoside	10 μg	11	15~20	21
Amikacin(AN)	Aminoglycoside	30 μg	14	15~16	17
Ampicillin(AM)	Penicillin	10 μg	13	14~16	17
Ticarcillin(TIC)	Penicillin	75 μg	14	15~19	20
Amoxicillin/clavulanic acid(AMC)	β-lactam/β-lactamase inhibitor combination	20 μg/10 μg	13	14~17	18
Ampicillin/sulbactam(SAM)	β-lactam/β-lactamase inhibitor combination	10 μg/10 μg	11	12~14	15
Chloramphenicol(C)	Phenicol	30 μg	12	13~17	18
Ciprofloxacin(CIP)	Quinolone	5 μg	15	16~20	21
Nalidixic acid(NA)	Quinolone	30 μg	13	14~18	19
Tetracycline(TE)	Tetracycline	30 μg	14	15~18	19
Trimethoprim/sulfamethoxazole(SXT)	Folate pathway inhibitor	1.35 μg/23.75 μg	10	11~15	16

vortex하여 37ºC 배양기에 넣고 10분간 정치한 후, 14,000 rpm에서 15분간 원심분리 한 다음 상층액을 제거하였다. DNA 침전물을 70% 에탄올 1 ml로 세척하고, 잔여 에탄올을 제거한 후, DNA를 완전히 말린 다음 0.1 ml의 멸균 증류수를 넣고 vortex 하고 60ºC에서 10분간 녹인 후 14,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 PCR의 DNA template로 사용하였다.

병원성 대장균 유전자 분석

E. coli detection kit (Genet bio, Seoul, Korea)를 사용해 multiplex PCR로 5가지 병원성 대장균 유전자를 분석하였다. *E. coli* detection kit의 mixing condition은 2X *E. coli*용 premix solution 10 µl, Template DNA 7 µl, primer mixture 3 µl로 total volume 20 µl로 하였으며 PCR condition은 다음과 같다. 94ºC에서 10분간 예비가열한 후 94ºC에서 30초, 62ºC에서 20초, 72ºC에서 40초를 35 cycles 실시하고, 72ºC에서 5분간 반응하였다. PCR 반응액은 1.5% agarose gel에서 전기영동하여 특정 병원성 대장균 유전자가 존재하는지 확인하였다(Table 2).

항생제 내성 유전자 분석

디스크환 시험법에 의한 16종의 항생제 감수성 시험결과 내성이 높게 나타난 Ampicillin, amoxicillin/clavulanic acid, tetracycline 등 3종류의 항생제를 대상으로 내성 유전자 분포를 조사 하였다. 모든 PCR의 증폭물질은 0.5% ethidium bromide가 첨가된 1.5% agarose gel에서 전기영동을 실시하고 밴드를 확인하였다.

Ampicillin

β-lactam계 항생제에 대한 내성유전자 분석을 위해 bla_{SHV} (F:5'-TCG CCT GTG TAT TAT CTC CC-3', B:5'-CGC AGA TAA ATC ACC ACA ATG-3'), bla_{OXA}(F:5'-GCA GCG CCA GTG CAT CAA C-3', B:5'-CCG CAT CAA ATG CCA TAA GTG-3') bla_{TEM}(F:5'-GAG TAT TCA ACA TTT TCG T-3',

Table 2. Target genes and PCR product size

Classes of Pathogenic *E. coli*	Genes	Product size
EAEC	*aggR*	122 bp
ETEC	ST	168 bp
	LT	394 bp
EPEC	*eaeA*	260 bp
EIEC	*spa*	331 bp
EHEC	VT 1	520 bp
	VT 2	650 bp

Abbreviation : EAEC; Enteroadherent *Escherichia coli*, ETEC; Enterotoxigenic *Escherichia coli*, EPEC; Enteropathogenic *Escherichia coli*, EIEC; Enteroinvasive *Escherichia coli*, EHEC; Enterohaemorragic *Escherichia coli*., ST: heat-stable toxin, LT: heat-labile toxin, VT: verotoxin

Table 3. The nucleotide sequences of primers for targeting tetracycline efflux pumps

Genes	Primer	PCR annealing and extension temp (ºC)	Amplicon size (bp)
tet A	5'-GCG CGA TCT GGT TCA CTC G-3' 5'-AGT CGA CAG YRG CGC CGG C-3'	61	164
tet B	5'-TAC GTG AAT TTA TTG CTT CGG-3' 5'-ATA CAG CAT CCA AAG CGC AC-3'	61	206
tet C	5'-GCG GGA TAT CGT CCA TTC CG-3' 5'-GCG TAG AGG ATC CAC AGG ACG-3'	68	207
tet D	5'-GGA ATA TCT CCC GGA AGC GG-3' 5'-CAC ATT GGA CAG TGC CAG CAG-3'	68	187
tet E	5'-GTT ATT ACG GGA GTT TGT TGG-3' 5'-AAT ACA ACA CCC ACA CTA CGC-3'	61	199
tet G	5'-GCA GAG CAG GTC GCT GG-3' 5'-CCY GCA AGA GAA GCC AGA AG-3'	68	134
tet H	5'-CAG TGA AAA TTC ACT GGC AAC-3' 5'-ATC CAA AGT GTG GTT GAG AAT-3'	61	185
tet J	5'-CGA AAA CAG ACT CGC CAA TC-3' 5'-TCC ATA ATG AGG TGG GGC-3'	61	184
tet Y	5'-ATT TGT ACC GGC AGA GCA AAC-3' 5'-GGC GCT GCC GCC ATT ATG C-3'	68	181
tet Z	5'-CCT TCT CGA CCA GGT CGG-3' 5'-ACC CAC AGC GTG TCC GTC-3'	61	204
tet 30	5'-CAT CTT GGT CGA GGT GAC TGG-3' 5'-ACG AGC ACC CAG CCG AGC-3'	68	210

B:5'-ACC AAT GCT TAA TCA GTG A-3')의 증폭은 95°C에서 15분간 예비가열한 후 94°C에서 denaturation 30초, 58°C에서 annealing 30초, 72°C에서 extention 1분을 30 cycles 실시하고, 72°C에서 10분간 반응하였다[16].

Tetracycline

Tetracycline계 항생제에 대한 내성 유전자중 efflux pump와 관련된 *tet A, tet B, tet C, tet D* 유전자의 primer는 Table 3과 같고, PCR 증폭은 94°C에서 5분간 예비가열한 후 94°C에서 denaturation 5초, 그리고 Table 3에 표시한 온도로 annealing 30초를 25 cycles 실시하고, 마지막 단계로 annealing 온도와 같은 온도로 10분간 반응하였다[16].

대장균 혈청형 동정 시험

Brain heart infusion agar (Difco, USA)에 균을 접종하여 18~24시간 배양 후 균을 멸균식염수에 농후하게 풀어 균부유액을 제조하였고, 이 균액을 slide glass에 도말한후 시판되는 대장균 O 항혈청(Denka Seiken, Japan)을 동량 첨가하여 응집반응 유무로 혈청형 동정을 실시하였다.

결 과

대장균 분리현황

검사 대상이 된 1,313건의 식품 중 50건에서 대장균이 검출되어 3.8%의 검출률을 보였으며 각 식품별 대장균 검출 현황을 Table 4에 나타내었다.

항생제 감수성 및 다제내성

2010년 상반기 유통식품에서 분리된 대장균의 항생제 감수성 시험 결과는 시험균주의 50%인 25균주는 16종의 항생제에 대한 내성을 보이지 않았으며, 각 항생제에 대한 내성은 ampicillin (AM)에 대한 내성이 36%로 가장 높았으며, amoxicillin/clavulanic acid (AMC)과 tetracycline (TE)의 내성이 각각 32%, 22%였다. 이들의 내성 양상은 모두 17가지 패턴이었으며, 2제 내성을 가진 9균주 중 8균주가 AM - AMC에 내성을 보였다(Fig. 1, Table 5).

Table 4. Distribution of *E. coli* isolates and each samples

Products	No. of *E. coli* isolates per each samples (%)
Ready-to-eat food	34/635 (5.4)
Cooked food	11/374 (2.9)
Fresh ready-to-eat food	3/115 (2.6)
Seasoned dried marine product	2/85 (2.4)
Seasoning food	0/77
Processed Fruit & vegetable product	0/14
Salted seafood (jeotkal)	0/13
Total	50/1313 (3.8)

항생제 내성 유전자 검출

β-lactam계 항생제 내성유전자 분포

항생제 감수성 시험 결과 AM과 AMC에 내성을 갖는 20균주를 대상으로 β-lactam계 항생제 내성 유전자분포를 모니터링 한 결과 1균주에서 857bp의 크기를 가진 TEM 유전자가 검출되었으며 그 외 유전자는 검출되지 않았다.

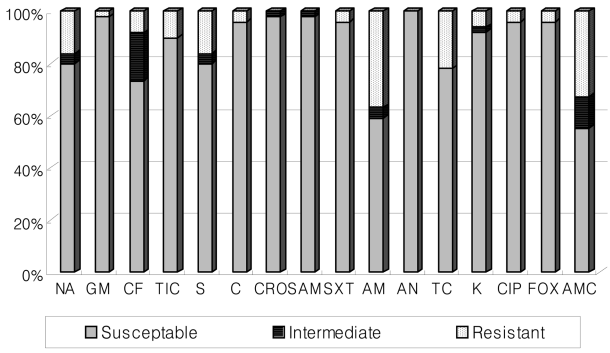

Fig. 1. Antibiogram of *E. coli* isolated from Commercial and Cooked food in Seoul. Abbreviation : NA; nalidixic acid, GM; gentamicin, CF; cephalothin, TIC; ticarcillin, S; streptomycin, C; chloramphenicol, CRO; ceftriaxone, SAM; ampicillin/sulbactam, SXT; trimethoprim/sulfamethoxazole, AM; ampicillin, AN; amikacin, TC; tetracycline, K; kanamycin, CIP; ciprofloxacin, FOX; cefoxitin, AMC; amoxicillin/clavulanic acid.

Table 5. Multiple drug resistant patterns of 50 *E. coli* strains

Multi drug-resistant patterns	No of Isolates	
None	25(25%)	
NA	2	5 (10%)
AM	1	
GM	1	
AMC	1	
NA-TC	1	9 (18%)
AM-AMC	8	
CF-AM-AMC	1	4 (8%)
TIC-AM-TC	1	
CF-AM-TC	1	
S-C-TC	1	
S-AM-TC-AMC	1	1 (2%)
NA-S-AM-TC-AMC	1	1 (2%)
NA-S-AM-TC-FOX-AMC	1	2 (4%)
NA-TIC-S-AM-TC-AMC	1	
CF-TIC-S-AM-TC-K-AMC	1	1 (2%)
NA-CF-TIC-S-C-SXT-AM-TC-K-CIP-AMC	1	2 (4%)
NA-CF-TIC-S-SXT-AM-TC-K-CIP-FOX-AMC	1	

Tetracycline 내성 유전자

항생제 감수성 시험 결과 TC에 내성을 갖는 11균주를 대상으로 TC 내성유전자의 분포를 모니터링 한 결과 4균주(8%)에서 *tetB*가 검출되었고 그 외 유전자는 검출되지 않았다.

병원성 대장균 분리 및 혈청형 동정

식품에서 분리한 50건의 대장균을 대상으로 병원성 대장균 형별을 조사한 결과 vero toxin 2를 생산하는 장출혈성 대장균 O26 1건, *eaeA* 유전자를 가진 장병원성대장균 1건이 검출되었다.

고 찰

식품의 위생관리는 식중독 사고와 밀접한 관계가 있으며, 대부분 세균에 의한 식중독이 주를 이루고 있다. 식품에 의한 식중독 사고는 보건위생학적인 측면에서 뿐만 아니라, 식품에 오염된 내성세균의 전파로 최근 심각한 문제가 되고 있는 내성세균의 감염 기회를 제공하기도 한다[17]. 2010년 1월부터 6월까지 서울시내에서 유통중인 식품을 대상으로 위생세균 및 식중독 세균을 모니터링 한 결과 1,313건의 샘플 중 50건의 대장균이 검출되었으며, 대장균이 분리된 식품을 유형별로 살펴보면 김밥과 육회를 포함한 즉석섭취식품 635건 중, 34건에서 대장균이 검출되어 5.4%로 가장 높았으며, 단체급식소에서 제공되는 음식을 포함하는 조리식품 374건 중 11건이 검출되어 2.9%의 검출률을 보였다. 이중 육회에서 분리된 대장균 중에는 VT2를 생산하는 장출혈성대장균(EHEC)이 1건 검출되었으며 O혈청형은 O26이었다. 장출혈성대장균은 장 점막에 심한 손상을 일으키고 때로는 적혈구를 파괴하는 독소를 생성하는 Shiga toxin-producing *E. coli* 중 하나로 현재 전 세계적으로 증가하고 있는 non-O157 strain중 가장 흔한 serotype으로 알려져 있다[18-21]. 그리고 포장마차에서 판매되는 김밥에서 검출된 대장균에서는 *eaeA* 유전자를 갖는 장병원성대장균(EPEC)도 1건 검출 되었다.

즉석섭취식품의 경우 별도의 조리과정 없이 소비자가 그대로 섭취하는 식품으로 식중독 세균에 오염된 식품을 섭취했을 때 인체에 미치는 영향이 심각하게 나타날 수 있음으로 식품 위생관리에 각별히 신경을 써야할 것이다.

국내외 연구 자료에 따르면 식품에서 유래하는 세균에 대한 항생제 내성 연구결과 내성률이 매우 높게 나타나고 있으며[22], 특히 대장균의 경우 설사증세가 없는 정상인에게서나 심지어는 식당에서 제공되는 음식과 생수에서까지 병원성 대장균의 한 종류인 EAEC가 갖는 특유의 유전자인 *east1*과 *aggR*이 검출된 보고가 있었다[23-28]. 이처럼 EAEC 유전자는 이미 광범위하게 퍼져있다고 추정할 수 있기 때문에, 본 연구에서는 서울시내에 유통되는 식품에서 분리된 대장균의 항생제내성률과 EAEC를 비롯한 병원성 대장균의 유전자 분포에 관하여 조사하였다. 그러나 실험 결과 EAEC 유전자는 한건도 검출되지 않았다. 그리고 대표적인 그람 음성균인 *E. coli*에 대한 항생제 감수성 시험 결과는 세파로스포린계 항생제와 아미노글리코시드계 항생제에 모두 감수성이 높았으며 전체 균주의 50%는 16가지 항생제에 모두 감수성을 보였다. 내성이 높게 나타난 항생제에 대한 내성 유전자 분포를 살펴보면, 최근 국내 대형병원의 임상검체에서 분리되는 *E. coli*의 70%이상이 ampicillin에 내성이며 그중 대부분은 TEM-1 에 의한 것이라는 보고가 있었는데 본연구 결과 TEM이 1건에서 검출되었으며, 테트라싸이클린계 항생제 내성유전자 중에서도 우리나라에서 흔하게 발견되는 종류인 *tetB*가 4균주에서 검출되었을 뿐 특이사항은 없었다[29].

요 약

서울시내에서 유통되는 식품과 식품접객업소(집단급식소 포함)의 조리식품을 대상으로 식중독 원인균 분석 및 위생미생물 검사를 실시한 결과, 분리된 대장균의 항생제 감수성 시험을 통하여 이들의 내성 정도를 파악하고, 내성 유전자와 병원성유전자의 분포도 알아보았다. 모두 1313건의 샘플 중 50건에서 대장균이 검출되어 3.8%의 검출률을 보였다. 이중 육회 1건에서 장출혈성대장균 O26 1건, 김밥에서 장병원성대장균 1건이 각각 검출되었다. 50건의 대장균중 50%가 16종의 항생제에 모두 감수성을 보였으며 내성이 높게 나타난 항생제는 ampicillin(36%), amoxicillin/clavulanic acid(32%) 그리고 tetracycline(22%)의 순이었다. 이들의 내성유전자 분포는 TEM이 1건, *tetB* 4건이 각각 검출되었다.

참고문헌

1. Christophr, J. L. M., and Alan, D. L. : Mortality by cause for eight regions of the world : global burden of disease study. *Lancet*, **349**, 1269-1276, (1997).
2. Flint, J. A., Van Duyhoven, Y. T., Angulo, F. J., and DeLong, S. M. : Estimating the burden of acute gastroenteritis, food-borne disease, and pathogens commonly transmitted by food: *an international review,* CID. **41**, 698-704, (2005).
3. Scallan, E., Majowicz, S. H., Hall G., and Banerjee, A. : Prevalence of diarrhea in the community in Austria, Canada, Ireland, and the United States. *Int. J. Epidemiol.,* **34**, 454-460, (2005).
4. 국립보건연구원 : 수인성 식품매개성 감염병 감시망 운영: 2007년 사업 결과 및 2008년 사업계획서. 서울, (2008).
5. Dixon, B. : Antibiotics as growth promotors: risks and alternatives. ASM News, **66**, 264-265, (2000).
6. Jack, A. H., Robert, G. A., and Carlos, F. A. : Do antibiotics maintain antibiotic resistance. *Drug discovery today,* **5**, **5**,

195-204, (2000).
7. McGowan, Jr. J. E. : Economic impact of antimicrobial resistance. *Emerg. Infect. Dis.,* **7**, 286-292 (2001).
8. Price, J., Ekleberry, A., and Grover, A. : Evaluation of clinical practice guidelines on outcome of infection in patients in the surgical intensive care unit. *Crit. Care. Med.*, **27**, 2118-2124 (1999).
9. Cristina, S., Carmen, P., Fe, T., Laura, G., Adriana, M., M. Angeles, D., Miquel, P., Francisco, G., and Javier, A. : Clinical impact of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* bloodstram infections. *J. infect.,* **58**, 285-290, (2009).
10. M. Sasaki, E. Hiyama, Y. Takesue, M. Kodaira, T. Sueda, and T. Yokoyama. : Clinical surveillance of surgical imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection in a Japanese hospital. *J. Hosp. infect.*, **56**, 111-118, (2004).
11. Takaji, F., Naomi, A., Giichi, S., Taeko, W., Yutaka, J., Isamu, Y., and Yoshinori, Y. : Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates in Japan to doripenem and other antipseudomonal agents. *Int. J. Antimicrobial Agents*, **34**, 523-528, (2009).
12. E. Tumeo, H. G. Haore, I. Patry, X. Bertrand, M. Thouverez, and D. Talon. : Are antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from hospitalized patients recovered in the hospital effluents? *Int. J. Hyg. Environ. Health*, **211**, 200-204, (2008).
13. R. Jung, D. N. Fish, M. D. Obritsch, and R. MacLaren. : Surveillance of multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* in an urban tertiary-care teaching hospital. *J. Hospital infection*, **57**, 105-111, (2004).
14. 식품의약품안전청 : 항생제 내성균 검사 표준 시험법. 서울, pp. 30-46 (2005).
15. Cole, N. D. : Purification of plasmid and high molecular mass DNA using PEG-salt two-phase extraction. *Biotechnique*. **11**, **1**, 18-22 (1991).
16. Thi, T. H. V., James, C., Toni, C., T. T., and Peter, J. C. : Safety of raw meat and shellfish in Vietnam: An analysis of Escherichia coli isolations for antibiotics resistance and virulence genes. *Int. J. Food Microbiol.*, **124**, 217-223 (2008).
17. H., S., Kwak. : International trend of the antimicrobial resistant bacteria control at a food. Safe Food. **5**, **1**, pp. 20-26 (2010).
18. Paton AW., Ratcliff RM., Doyle RM., Seymour-Murray J., Davos D., Lanser JA., et al. : Molecular microbiological investigation of an outbreak of hemolytic-uremic syndrome caused by ry-fermented sausage contaminated with Shiga-like toxin-producing *Escherichia coli. J. Clin. Microbiol*., **34**, 1622-7 (1996).
19. Schmidt H, Geitz C, Tarr PI, Frosch M, Karch H. : Non-O157:H7 pathogenic Shiga toxin-producing *Escherichia coli:* phenotypic and genetic profiling of virulence traits and evidence for clonality. *J. Infect. Dis.*, **179**, 115-23 (1999).
20. McMaster C, Roch EA, Willshaw GA, Doherty A, Kinnear W, Cheasty T. : Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* serotype O26:H11 outbreak in an Irish creche. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*., **20**, 430-2 (2001).
21. Tozzi AE, Caprioli A, Minelli F, Gianviti A, De Petris L, Edefonti A, et al. : Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections associated with hemolytic uremic syndrome, Italy, 1988-2000. *Emerg. Infect. Dis*., **9**, 106-8 (2003).
22. 권기성, 황인균, 곽효선, 강윤숙, 고영호, 김미경, 한정아, 이근영, 조정화, 이지원, 김규헌, 이정수, 최윤정, 우건조 : 식품 중 식중독균 항생제 내성 모니터링. 국가항생제내성 안전관리사업 연구보고서 제 4권, 서울. pp. 13-29 (2006).
23. M. A. Dow, I. Toth, A. Malik, M. Herpay, N. Nogrady, K. S. Ghenghesh, and B. Nagy. : Phenotypic and genetic characterization of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) and enteroaggregative *E. coli* (EAEC) from diarrhoeal and non-diarrhoeal children in Libya. *Comparative Immunol. Microbiol. Infect. Dis*., **29**, 100-113 (2006).
24. Sarantuya, J., Nishi, J., Wakimoto, N., Erdene, S., Nataro, J. P., and Sheikh, J. : Typical enteroaggregative *Escherichia coli* is the most prevalent pathotype among *E. coli* strains causing diarrhea in Mongolian children. *J. Clin. Microbiol*., **42**, 133-9 (2004).
25. Zamboni, A., Fabbricotti, S. H., Fagundes-Neto, U., and Scaletsky I. C. : Enteroaggregative *Escherichia coli* virulence factors are found to be associated with infantile diarrhea in Brazil. *J. Clin. Microbio*., **42**, 1058-1063 (2004).
26. Adachi, J. A., Mathewson, J. J., and Jiang, Z. D. : Enteric pathogens in Mexican sauces of popular restaurants in Guadalajara, Mexico, and Houston, Texas. *Ann. Intern. Med*., **136**, 884-887 (2002).
27. David, B., Huang, M. D., Herbert, L., and Dupont, M. D. : Enteroaggregative *Escherichia coli*: An Emerging pathogen in Children. *Semin. Pediatr. Infect. Dis*. **15**, 271 (2004).
28. 권기성 : 식품 중 식중독균 항생제 내성 모니터링. 식품의약품안전청연구보고서, KFDA. pp. 9-26 (2005).
29. 김영화: 해수 어류에서 분리된 Vibrio균의 tetracycline 내성 유전자 특성. 석사학위논문, 부경대학교, 부산, pp. 22-27 (2004).