

닭에서 분리한 *Escherichia coli*의 생물화학적 및 배양 특성

우 용 구 · 김 기 석 · 김 봉 환*

농촌진흥청 가축위생연구소

경북대학교 수의과대학*

(1990. 8. 21 접수)

Biochemical properties and cultural characteristics of *Escherichia coli* isolated from chickens

Yong-ku Woo, Ki-seuk Kim, Bong-hwan Kim*

Veterinary Research Institute, Rural Development Administration

College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University*

(Received Aug 21, 1990)

Abstract: The present study was conducted to investigate the biochemical and cultural characteristics of *Escherichia coli* isolates from clinically affected chickens during the period from May 1988 to June 1989. A total of 82 *E coli* cultures were isolated from lesions of 75 chickens with colisepticemia.

Biochemical properties of *E coli* isolates tested were in accordance with the general classification standard; all the isolates showed positive reaction in Catalase, Indol, and Methyl-Red tests, but negative reaction in Oxidase, Urease, Vöges-Proskauer, Citrate utility, H₂S, Phenylalanine diamine, and malonate tests. And the carbohydrate fermentation rates of them were shown to be variable.

Of the 82 isolates, 48(58.5%) cultures produced colicin to inhibit the indicator strain of *E coli*.

Key words: Avian *Escherichia coli*, biochemical and cultural properties, colicin.

서 론

가금에 있어서 대장균은 장내에는 물론이고 특히 다른 동물과는 다르게 호흡기계인 비인강내에도 정상적으로 존재하고 있는 것이 가금 대장균의 특징이며 그 결과 다른 동물에서는 소화기계통에 질병을 일으키는 데 반하여 가금에 있어서는 주로 호흡기계통에 질병을 일으키는 것으로 알려져 있다.^{1,2}

닭에 있어서 병원성대장균은 그 침입을 용이하게 해 주는 유발인자로 알려진 *Mycoplasma*, Newcastle disease virus 그리고 Infectious bronchitis virus 등과 같은 호흡기계의 침입병인체와 더불어 한냉 및 건조한 환경이나 다습한 환경 그리고 암모니아가스 및 불량한 환경조건등과 같은 환경인자와 함께 2차적인 침입인자

로서 복합적인 작용을 하여 병증을 더욱 악화시켜 간포막염, 심낭염, 기낭염등을 일으켜 가금에 치사적인 영향을 초래하는 심한 복합성의 만성호흡기질병을 일으키는 것으로 알려져 있다.^{1,3,4,5,6}

지금까지 닭대장균중 유래 병원성 대장균의 특성을 연구하고자 많은 노력이 있었는데 그 대표적인 것으로는 닭대장균중 감염제에서 분리한 *E coli*의 혈청형의 분포를 조사한 것으로, 예를들면 01, 02, 078과 같은 혈청형이 많이 분리보고되었으며 또 독소산생능에 대한 조사와 더불어 Heller와 Drabkin⁷의 연구에서의 같이 세균의 항균성 단백질인 colicin의 산생능을 조사하여 닭유래 대장균의 특성을 조사하려는 연구도 있었으며, Barbour et al⁸과 Cloud et al⁹ 그리고 Rognerberger et al¹⁰과 같은 연구자들 처럼 닭유래 대장균

의 특이적인 생물화학적 특성을 조사한 연구들도 많이 보고되었다. 그리고 이들 분리균주들의 항균제감수성 및 내성양상 등에 관한 연구도 또한 많이 보고된 바 있다.^{11,12,13,14}

현재 국내양계분야에 있어서도 가금의 호흡기계질병 중에서 상당한 발생피해를 입히고 있는 것으로 검색된 닭대장균증에 대한 연구로써는 혈청형조사, 항균제 감수성조사 및 내성진달양상에 대한 연구에 치중되어져 왔으며 닭대장균증 유래 대장균의 병원성에 대한 연구는 미진한 실정이다.¹⁵⁻¹⁸

이러한 배경을 근거로 하여 본 연구는 우리나라 양계업계에 많은 경제적 손실을 초래하고 있는 닭대장균증의 효과적인 방제를 위한 기초자료를 마련할 목적으로 국내 닭유래 *E. coli*의 생물화학적 및 배양 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

가검동물 : 1988년 5월부터 1989년 6월 사이에 전국에 산재하고 있는 종계장 및 양계장에서 가축위생연구소에 병성감정 의뢰된 가검체중 병리해부소견상 대장균증으로 추정되는 닭 75수를 대상으로 하였다.

***Escherichia coli*의 분리 및 생화학적 성상검사 :** 가검체의 병소에서 멸균된 기구로 균분리 재료를 채취하여 MacConkey 한천 배지에 도말하고 37°C에서 18~24시간 배양 하였다. 평판상에 증식된 집락의 형태 등에 의하여 *E. coli*로 의심되는 집락을 임의로 1~2개씩 선택하여 평판에 순배양한 후 반유동한천배지에 천자배양으로 보존하면서 실험에 사용하였다.

분리균의 생화학적 성상검사는 Cowan¹⁹과 MacFaddin²⁰의 방법에 준하였으며 운동성, IMVIC시험 및 당분해능등의 각종 성상을 조사하였다.

Colicin 산생능시험 : Heller와 Drabkin²¹의 방법에 준하였으며 tryptic-soy-broth(TSB)에 접종하여 37°C에서 12~18시간 배양한 *E. coli* ML1410을 tryptic soy agar(TSA)에 도말하여 실온에서 30분간 건조시킨후 TSB에서 12~18시간 배양한 분리균을 multi-inoculator로 접종하였다. 37°C에서 24시간 배양하여 자라난 집락의 주변부에 발육억제대가 형성되는 집종균에 대해서는 colicin 양성균으로 판정하였고, 집락주위에 발육억제대가 형성되지 않은 균은 colicin 음성균으로 판정하였다.

결 과

1988년 5월부터 1989년 6월 사이에 가축위생연구소에 병성감정 의뢰된 가검체중 병리해부 소견상 대장균감

Table 1. Origin of 82 *Escherichia coli* cultures used in the present study

Origins	No. of cultures isolated(%)
Liver	28 (34.2)
Heart	19 (23.2)
Air-sac	15 (18.3)
Joint	7 (8.5)
Peritoneal cavity	7 (8.5)
Others*	6 (7.3)
Total	82(100.0)

* Oviduct (2), intestine (2), lungs (1), trachea (1).

Table 2. Biochemical and cultural properties of 82 cultures of *E. coli* isolated from chickens

characters	No. of positive cultures	% of positive cultures
Catalase	82	100.0
Oxidase	0	0.0
Urease	0	0.0
Indol	82	100.0
Methyl-Red	82	100.0
Voges-Proskauer	0	0.0
Citrate	0	0.0
Hydrogen-sulfide	0	0.0
Phenylalanine diaminase	0	0.0
Malonate	0	0.0
Motility	64	78.0
T.S.I.(A/AG)	80	97.6

염증으로 추정되는 병체 75수에서 *Escherichia coli*를 분리한 내역은 table 1에 있는 바와 같다. 총분리균수 및 장기별 분리내역은 table 1에 있는 바와 같이 간에서 28주 (34.2%), 심장에서 19주(23.2%), 기낭에서 15주(18.3%), 관절과 복강에서 각각 7주(8.5%), 수란관, 폐, 기타장기에서 6주(7.3%) 등 총82주의 *E. coli*를 분리하여 시험에 사용하였다.

분리균 82주의 생화학적 성상은 table 2에서 보는 바와 같이 catalase시험, indol 산생시험, methyl-red 시험에서 대부분의 균주가 양성반응을 나타내었으며 운동성은 78%의 균주가 양성반응을 나타내었다. 이에 반하여 H₂S 산생시험, Voges-Proskauer시험, citrate 이용능시험, oxidase시험, malonate시험, 그리고 phenylalanine 시험과 urease시험에 대해서는 전균주가 음

Table 3. Fermentative properties of 82 cultures of *E coli* isolated from chickens

Fermentable substrates	No. of positive cultures	% of positive cultures
Arabinose	82	100.0
Lactose	82	100.0
Raffinose	69	84.1
Salicin	52	63.4
Adonitol	9	11.0
Dulcitol	66	80.5
Mannitol	79	96.3
Sorbitol	81	98.8

Table 4. Colicinogenicity of 82 *E coli* isolated from chickens

Origins	No. of positive cultures / No. of isolates	% of positive cultures
Liver	18/28	64.3
Heart	8/19	42.1
Air-sac	11/15	73.3
Joint	2/7	28.6
Peritoneal cavity	5/7	71.4
Others*	4/6	66.7
Total	48/82	58.5

* Oviduct(2), lungs(1), intestine(1)

성 반응을 나타내었다.

공시한 82주의 당분해성상은 table 3에서 나타낸 바와 같이 arabinose, lactose, raffinose, salicin, dulcitol, mannitol, sorbitol에 대해서 63~100%의 균주가 양성 반응을 나타내었으며 adonitol에는 11%가 양성 반응을 나타내었다.

공시균 82주의 colicin 산생능은 table 4에 나타낸 바와 같이 간유래 28주 중에서 18주가 colicin을 산생하였으며 심장유래 19주중에 8주, 기낭유래 15주 중에 11주, 그리고 관절과 복강유래의 각각 7주중에 2주와 5주가 colicin을 산생하였고 기타 장기유래 6주중에 4주가 colicin을 산생하여 전체적으로 58.5%(48주)가 양성 반응을 나타내었다.

고 찰

Escherich에 의하여 처음 분리 보고된 *Escherichia coli*는 광범위한 동물에 숙주영역을 갖고 있으며 닭에 있어서 *E coli*는 장과 비인강내에 정상적으로 서식하며 이들중 병원성의 *E coli*가 병증을 일으키는 것으로

밝혀져 있다. 그러나 아직 닭대장균증의 병인론에 대해서는 불명확한점이 많지만 Gross¹에 따르면 닭에 있어서 *E coli*는 1차적인 병원체로써 대장균증을 일으키기도 하며 또는 여러가지 호흡기계 친화성 virus나 호흡기계의 침습 세균인 *Mycoplasma*의 감염이 있을때 그리고 닭의 면역체계가 손상을 받았을 경우 그리고 불량한 환경조건등과 같이 복합적인 병인론에 의하여 호흡기계를 침습하여 만성적인 병증을 일으키며 닭의 상태를 더욱 악화시켜 치사적인 결과를 초래한다고 하였다.

현재 우리나라의 양계업계에 있어서도 닭대장균증은 호흡기계 질병중에 가장 많이 발생하고 있는 질병의 하나이지만 이 질병의 올바른 이해점근과 방제대책을 위해서는 무엇보다도 이 질병의 원인체에 대한 정확한 virulence factor의 규명이 우선 되어야 한다.¹⁵

닭병소 유래 *E coli*는 특성의 혈청형 예컨대 01, 02, 078등과 같은 소수의 0-group에 속하는 균이 주종을 이루므로 이러한 *E coli*가 병원성균이라는 주장도 많으나 0-group의 분포는 나라에 따라서 뿐만 아니라 지역에 따라서 그분포에 차이를 나타내며 또 사양형태에 따라서도 상당한 차이가 인정됨이 알려져 있고 또한 특성의 혈청형으로 분류되지 않는 균들이 상당수 있다는 사실도 보고되고 있다.^{1,9,12,14,18}

닭대장균증 유래의 virulent *E coli*의 H₂S 산생능이 비병원성균 보다 유의적으로 높아져 이러한 표현형질은 병원성균의 감별에 이용할 수 있다는 Barbour et al⁸의 연구보고는 국내 대장균증감염계에서 분리된 82주의 대장균에 있어서 H₂S산생균주는 없었으며 또한 김과 남궁¹⁶의 보고에 의한 국내분리주에 대한 성적에서도 본 성적과 동일하게 H₂S를 산생한 균주는 관찰되지 않아 큰차이를 나타냈다.

Hemsley et al¹⁴은 dulcitol과 salicin의 분해능을 가진 균들은 virulent *E coli*의 한 특징이라고 보고한 바 있으며 Cloud et al⁹은 raffinose의 분해능(89.8%)이 비교적 높게 나타났으며, Rogenberg et al¹⁰은 adonitol의 분해능이 병원성 *E coli*에서 더 높게 나타났다고 하였다. 그리고 이들은 대장균의 운동성과 항생제감수성은 병원성과 관련이 없는 것으로 보고한 바도 있다. 본 시험성적에서의 raffinose(84.1%), salicin(63.4%), adonitol(11.0%), dulcitol(80.5%) 등의 성적으로는 뚜렷한 특징은 찾을 수 없었으며 이러한 성적으로써 닭유래 병원성 균주를 감별하기는 곤란하였다.

Colicin은 대장균 및 관련 장내세균에 의해서 산생되는 항균성단백질로써 이들 colicin을 산생하는 균들

은 감염숙주에 대한 병원성이 강한 것으로 밝혀져 있다.⁷ 그리고 Heller와 Drabkin²¹은 정상계군 유래의 대장균(32.9%)보다 병계유래의 대장균의 colicin 산생능(61.8%)이 높게 나타났다고 보고하였다. 그리고 김과 남궁¹⁷의 보고에 의하면 국내 닭유래 대장균의 50.6%가 colicin 산생능이 있다고 하였다. 본 시험에 공시된 *E coli*의 colicin 산생능시험 성적도 Heller와 Drabkin²¹ 그리고 김과 남궁¹⁷의 보고성적과 유사한 성적을 나타냈다.

결 론

1988년 5월부터 1989년 6월 사이에 전국에 산재하고 있는 양계장으로 부터 가축위생연구소에 병성감정의뢰되어 대장균감염증으로 진단된 가검체를 대상으로 하여 총 82주의 *Escherichia coli*를 분리 하여 생물화학적 성상 및 배양특성을 조사하였다.

분리군 82주의 생화학적 성상은 표준대장균의 분류기준에 거의 일치하는 성상을 나타내었다. 그리고 당분해 성상은 각기 다양하게 나타났는 바 adonitol은 11%의 양성반응을 나타냈고, 그의 arabinose, lactose, raffinose, salicin, dulcitol, mannitol, sorbitol에 대해서는 63~100%의 균주가 각각 양성반응을 나타냈다.

분리균주의 78%는 운동성을 가진 균주였으며 이에 반해 22%는 운동성이 없었다.

공시군 82주의 colicin산생능 시험에서는 각장기 유래의 48주가 colicin을 산생하여 58.5%의 colicin양성반응을 나타냈다.

참 고 문 헌

1. Gross WB. Colibacillosis, In: *Disease of poultry*, 8th ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa 1984;270-277.
2. Gross WB. Symposium on chronic respiratory disease. *Am J Vet Res* 1958;19:448-471.
3. Carlson BC and Whenham GR. Coliform bacteria in chicken broiler house dust and their possible relationship to colisepticemia. *Avian Diseases* 1968;13:296-302.
4. Fabricate J and Levine PP. Experimental production of complicated chronic respiratory disease infection(air-sac disease). *Avian Diseases* 1962; 6:13-23.
5. Gross WB. *Escherichia coli* as a complicated factor of Newcastle disease vaccination. *Avian Diseases* 1960;4:132-134.

6. Nagi MS and Raggi LG. Importance to "air-sac disease" of water supplies contaminated with pathogenic *Escherichia coli*. *Avian Diseases* 1971;22:710-723.
7. Heller ED and Perek M. Pathogenic *Escherichia coli* strains prevalent in poultry flocks in Israel. *Br Vet J* 1968;124:509-513.
8. Barbour EK, Nabbut NH and Alnakhill HM. Production of H₂S by *Escherichia coli* isolated from poultry: An unusual character useful for epidemiology of colisepticemia. *Avian Diseases* 1984;29:431-436.
9. Cloud SS, Rogenberger JK, Fries PA, Wilson RA and Odor EM. In vitro and in vivo characterization of avian *Escherichia coli* I. Serotypes, metabolic activity, and antibiotic sensitivity. *Avian Diseases* 1986;1084-1093.
10. Rogenberger JL, Fries PA, Cloud SS and Wilson RA. In vitro and in vivo characterization of avian *Escherichia coli*, II. Factors associated with pathogenicity. *Avian Diseases* 1985;29: 1094-1107.
11. Barbour K, Nabbut NH. Use of epidemiologic markers to identify the source of *Escherichia coli* infections in poultry. *Am J Vet Res* 1985; 46:989-991.
12. Glantz PJ, Saul N and George B. *Escherichia coli* serotypss isolated from salpingitis and chronic respiratory disease of poultry. *Avian Diseases* 1962;6:322-328.
13. Glantz PJ. An *Escherichia coli* serotypes useful for experimental infections. *Avian Diseases* 1965; 9:264-265.
14. Hemsley RV, Barnum DA and Ingram DF. Biochemical and serological studies of avian strains of *Escherichia coli*. *Avin Diseases* 1966; 11:90-97.
15. 김기석, 남궁선 : 닭 의뢰가검물 병성감정. 가축위생 연구소 시험연구보고서, 1981~1987.
16. 김기석, 남궁선 : 닭 대장균의 특성에 관한 연구. I. 혈청형 및 항균성 억제내성, 한국수의공중보건학회지, 1987;11:13-19.
17. 김기석, 남궁선 : 닭 대장균의 특성에 관한 연구. II. 억제내성 양상, 전달성 R-plasmid의 분포 및 비적합성균, colicin 산생 및 Col-plasmid의 전달,

- 혈구 응집능, 한국수의공중보건학회지. 1988, 12: 63-83.
18. 김봉환, 김동성, 이창구: 자돈의 병원성 대장균증에 관한 연구. I. 양돈 농가 실태 및 설사자돈에서 분리한 대장균의 실상조사, 대한수의학회지. 1981;21(2):81-85.
 19. Cowan ST. *Manual for the identification of medical bacteria*, 2nd ed. Burgers Publishing Co, Minnesota, 1957.
 20. Macfaddin JF. *Biochemical tests for identification of medical bacteria*. The Williams and Wilkins, Baltimore, 1976.
 21. Heller ED and Drabkin N. Some characteristics of pathogenic *Escherichia coli* strains. *Br Vet J* 1977;133:572-578.
 22. Edwards PR and Ewing WH. *Identification of medical bacteria*, 2nd ed. Cambridge University Press, London, 1974.