

닭유래 *Escherichia coli*의 병원성에 관한 연구: 시험관내 Congo-red 결합능과 병원성간의 상관관계

우용구 · 김기석 · 김봉환*

가축위생연구소

경북대학교 수의과대학*

(1990. 8. 21 접수)

Studies on pathogenicity of *Escherichia coli* isolated from chickens: Correlation between *in vitro* Congo-red binding properties and *in vivo* virulence in avian *Escherichia coli*.

Yong Ku Woo, Ki Seuk Kim, Bong Hwan Kim*

Veterinary Research Institute, Anyang, Korea.

College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University*

(Received Aug 21, 1990)

Abstract: The correlation between *in vitro* Congo-red binding properties of *E coli* and *in vivo* invasiveness of the organisms in SPF chickens and mice was investigated. Congo-red positive *E coli* colonies were dark-red color with a typical colonial morphology of rough appearance when grown on Congo-red medium, while Congo-red negative colonies showed pale-pink color and smooth surfaced colonial morphology.

Pathogenicity of 10 Congo-red positive *E coli* for mice was observed in 92.5% but that of 5 Congo-red negative *E coli* was 45%.

Invasiveness of 10 Congo-red positive *E coli* for chickens was observed in 96% of the SPF chickens tested but that of 5 Congo-red negative *E coli* was 16% only.

These results of pathogenicity studies with *E coli* isolates indicate a significant correlation between Congo-red binding ability and virulence in avian *Escherichia coli*.

Key words: avian *Escherichia coli*, Congo-red binding properties, pathogenicity.

서 론

닭대장균증은 국내는 물론 세계 여러 나라의 양계업계에 심각한 경제적 손실을 입히고 있는 질병의 하나이다. 아직도 많은 나라에서 이 질병의 방제에 온갖 노력을 기울이고 있지만 효과적인 방제효과를 얻지 못하고 있는 것은 이 질병의 복잡한 병인론이 그 하나의 원인으로 작용하고 있다는 것이다.^{1,2} 이러한 이유에서

지금까지 수많은 연구가 진행되어 왔으며 그 주된 목적은 병원성 대장균의 필수적인 virulence factor를 찾아내려는 시도로서 생물화학적 특성³⁻⁶과 혈청형에 대한 조사^{4,7-11}, 그리고 항균제감수성 및 약제내성진달양상의 조사를 통하여 어떤 특성을 찾아보려한 것과 분리균주의 독소산생능 및 colicin산생능에 대한 조사를 통하여 역시 병원성균주의 특이적인 표현형질을 찾고자 한 것이 대표적인 예이다.¹²⁻¹⁵

최근에 와서는 분자생물학적인 연구를 통한 virulence factor 즉 닭에 침습성을 가진 병원성 *E coli*와 비병원성균주를 감별하려는 연구가 진행되고 있다.¹⁶⁻¹⁹ 이러한 방향에서 최근에 Berkhoff와 Vinal¹⁹은 간편하고 손쉬운 방법으로 닭에서 대장균증을 일으키는 균주를 찾아낼 수 있다는 보고를 하였다. 즉 대장균증을 일으키는 능력과 Congo-red (CR) dye와 결합능과는 높은 상관관계가 있다고 보고하였다. 그후 이들은 Cobett²⁰와 공동으로 부화시 부터 육추과정을 통한 광범위한 역학적인 조사를 통하여 Congo-red배지는 닭에 병원성이 있는 *E coli*를 동정할 수 있는 효과적인 배지라고 보고하였으며 또 Gjessing²¹은 1일령의 병아리에 CR양성균을 분무접종하여 대장균증의 재발현시험을 통하여 역시 같은 성적임을 보고한 바 있다. 원래 CR결합능을 처음 발견한 것은 *Chandroccoccus (Flexibacter) columnaris*에 galactosamine glycan이 존재한다는 것으로 부터 시작되었다.²²⁻²⁵ Surgalla와 Beasley²⁶는 *Yersinia pestis*에 대한 연구에서 단지 병원성균주만이 CR과 결합할 수 있음을 보고하였으며 그뒤 다른 연구자들도 *Yersinia*와 *Shigella*의 CR과의 결합능과 숙주조직의 침습능은 상호연관성이 있음을 보고하였다.^{16,17,27}

한편 닭에서 대장균증의 발병기전(pathogenesis)의 규명과 *E coli* 백신의 검정 및 약제의 효능시험 등에 대장균증을 재현할 수 있는 공격접종 model을 개발하기 위하여 많은 시험이 시도되어 왔다. 그러나 닭의 *E coli* 감염등에는 많은 인자들이 영향을 미치는 관계로 인하여 즉 숙주의 유전형질과 호흡기 virus 감염증의 존재여부와, 접종시 접종경로와 접종균량, *E coli*의 혈청형 및 기타 균자체의 다양성 등이 관여함으로써 지금까지의 닭의 공격접종에 의한 대장균증 재발현 시험은 각 연구자 마다 그 시험방법에 상당한 차이가 있어서 접종경로만 하더라도 비강내, 기낭내, 정맥내, 피하, 복강내접종법 등이 시도되어 왔으며 또 여기에 사용된 접종균의 혈청형도 각기 다양하며 배지의 종류, 균의 성장상태, 균의 처리방법, 균의 부유매체, 접종균의 농도 등에 있어서도 다양한 양상을 나타내고 있다.^{1,28-31} 이러한 결과로 인하여 보고된 성적들 중에는 공통된 비교성적이나 공통된 발병기전, 화학요법의 적용 등에 있어서 혼란을 초래할만한 이러한 실험적인 발현시험에 있어서의 공통성의 결여에 있으며 게다가 닭대장균증의 정확한 병인론이 밝혀져 있지 않은데도 그 원인이 있다고 할 수 있다.^{1,18}

이러한 배경을 근거로 하여 본 시험은 현재 국내 양계업계에 있어서도 커다란 발생피해가 보고되고 있는 닭대장균증의 효과적인 방제를 위해서 그리고 닭유래

대장균의 virulence factor의 규명을 위한 연구에 있어서 그 기초자료를 제공하고자 앞서의 많은 연구자들이 이용한 과 있는 Congo-red 배지를 이용하여 국내의 대장균증 감염계 유래의 대장균에 대하여 그 감별을 시도하였으며, 이와 같이 분류 선택된 균주를 이용하여 이들의 병원성 발현시험에 대한 연구의 일환으로 병계분리주의 Congo-red결합능과 닭에 대한 병원성과의 관계를 규명해 보고자 SPF chicken과 SPF mice를 이용하여 *in vivo*에서의 병원성 재발현시험을 시도하였다.

재료 및 방법

Congo-red결합능 시험 : Berkhoff와 Vinal¹⁹과 Cobett²⁰ 그리고 Surgalla와 Beasley²⁶의 방법에 준하여 0.03%의 Congo-red agar배지를 만들어 균을 도말희석하여 37°C에서 24시간 배양한 후 실온에서 48시간동안 방치해 두면서 결과를 관찰하였다. 그 결과 적색집락을 형성함과 동시에 집락의 외양이 rough한 균을 Congo-red양성균으로 판정하였으며 이에 반해서 집락의 외양은 smooth하고 집락의 색깔도 다소 투명하여 배지의 바탕색을 띄고 있는 균은 Congo-red음성균으로 판정하였다.

액성매체에서의 Congo-red결합능 시험은 Payne과 Finkelstein²⁷의 방법에 따라서 실시하였으며 agar배지에서 배양한 집락을 phosphate-buffered saline(PBS)로 집균하여 3회 원심수세한 후 균의 수를 10⁸ CFU/ml로 다춘 다음 원심하여 상층액을 제거하고 0.002%의 Congo-red를 함유하는 PBS를 만들어 동일양을 각 접종균의 시험관에 옮겨주고 37°C에서 진탕해 주면서 5시간 배양하였다. 이러한 배양이 끝난 후 상층액을 원심으로 분리하여 spectrophotometer를 사용하여 500nm에서 흡광도를 측정하여 표준농도곡선과 비교하여 판정하였다.

닭에 대한 병원성(침습성)시험 : Berkhoff와 Vinal¹⁹과 Goren³⁰의 방법에 준하여 18⁸ CFU/ml로 균농도를 조절한 TSB배양액 1ml를 4주령의 SPF닭의 후흉기낭(caudal air-sac)에 접종하였다. 이와 같이 접종한 닭은 7일동안 관찰하였고 7일 이내에 폐사한 닭에 대해서는 닭대장균증 특유의 기낭염, 심낭염, 섬유소성 간포막염 등의 병변유무를 조사함과 아울러 이들 병변부에서 MacConkey agar와 Congo-red agar를 이용하여 *E coli*의 재분리를 실시하였다. 살아있는 닭에 대해서는 7일이 지난후 바로 부검하여 대장균증 특유의 병변유무를 관찰하고 *E coli*의 재분리를 위와 같이 실시하였다. 그리고 폐사하였거나, 기낭염, 심낭염, 간

포막염 등의 병변을 일으킨 경우는 병원성(침습성)이 있는 것으로 판정하였다.

Mice에 대한 병원성시험 : Berkhoff와 Vinal¹⁹의 방법에 따라서 집중균액은 닭집중시험에서와 같이 준비하였으며 집중균액 1ml를 18~20g의 adult BALB/C mice의 복강내에 접종하였다. Mice에 대한 병원성은 quantal method에 의해 결과를 판정하였다. 폐사한 mice는 간과 비장에서 균의 재분리를 시도하여 폐사원인이 집중균에 의한 것인지를 확인하였다.

결 과

닭유래 *E. coli* 82주에 대한 agar배지상에서의 Congo-red와의 결합반응을 나타낸 성적은 Table 1에서 보는 바와 같이 전체 82주중에 12주(14.6%)가 Congo-red와 결합하였으며 70주(85.4%)는 Congo-red와 결합하지 않았다. 그리고 liver유래 2주, heart유래 1주, 난절유래 4주, 복강유래 2주, 기타 장기유래의 3주가 Congo-red와 결합하여 14.6%의 균주가 Congo-red양성의 전형적인 적색의 rough한 집락을 형성하였다.

Table 1. Congo-red binding properties of 82 *E. coli* cultures isolated from chickens

Origins	No. of CR ⁺ cultures(%)	No. of CR ⁻ cultures(%)
Liver	2(16.7)	26(37.1)
Heart	1 (8.3)	18(25.7)
Air-sac	0 (0.0)	15(21.4)
Joint	4(33.3)	3 (4.3)
Peritoneal cavity	2(16.7)	5 (7.1)
Others*	3(25.0)	3 (4.3)
Total	12(14.6)	70(85.4)

* Trachea(1), Intestine(2)

액체배지에서의 Congo-red와의 결합반응은 Table 2에서 나타낸 바와 같이 agar배지에서 양성반응을 나타낸 10주의 Congo-red양성균의 500nm에서의 흡광도분포는 0.159~0.196(평균 0.188±0.011)이었으며 반면에 agar배지에서의 Congo-red음성균 5주의 흡광도분포는 0.218~0.301(평균 0.243±0.038)이었다.

Congo-red agar배지에서의 반응을 토대로 하여 분류한 Congo-red양성균 10주와 Congo-red음성균 5주의 SPF BALB/C mice에 대한 병원성을 조사한 결과는 Table 2에 있는 바와 같다.

Congo-red양성균주를 접종한 시험군에서는 총 40주 중 37주(92.5%)가 폐사한 반면에 Congo-red음성균주

Table 2. Pathogenicity of 10 CR⁺ and 5 CR⁻ *E. coli* in BALB/C mice

Strains	CR-binding on solid media	CR-absorption in liquid media	Lethal for mice
W38 P	+	0.195	4/4
W42 P	+	0.194	4/4
W35 J	+	0.190	4/4
W04 L	+	0.190	4/4
W69 L	+	0.187	4/4
W33 J	+	0.196	3/4
W10 T	+	0.190	3/4
W30 J	+	0.159	4/4
W36 C	+	0.188	4/4
C L-R	+	0.189	3/4
C L-W	-	0.301	0/4
H59	-	0.202	1/4
J 48	-	0.218	4/4
H22	-	0.247	4/4
M L1410	-	0.245	0/4

Table 3. Invasiveness of 10 CR⁺ and 5 CR⁻ *E. coli* in SPF chickens

Strains	CR-binding on solid media	CR-absorption in liquid media	Pathogenic for chicken
W38 P	+	0.195	5/5
W42 P	+	0.194	5/5
W35 J	+	0.190	5/5
W04 L	+	0.190	5/5
W69 L	+	0.187	5/5
W33 J	+	0.196	3/5
W10 T	+	0.190	5/5
W30 J	+	0.159	5/5
W36 C	+	0.188	5/5
C L-R	+	0.189	5/5
C L-W	-	0.301	2/5
H59	-	0.202	1/5
J 48	-	0.218	1/5
H22	-	0.247	0/5
M L1410	-	0.245	0.5

는 20주중 9수가 폐사하여 45%의 폐사율을 나타내었다.

Table 3은 닭에서 분리한 Congo-red양성균주 10주와 Congo-red음성균주 5주의 SPF닭에 대한 병원성(침습

Table 4. Incidence of lesions in chickens inoculated into caudal airsac with 10 CR⁺ and 5 CR⁻ *E coli* cultures

Lesions	No. of birds showing lesions(%)	
	CR ⁺ group out of 50 birds?	CR ⁻ group out of 25 birds?
Airsacculitis	44(88.0)	4(16.0)
Pericarditis	29(58.0)	3(12.0)
Peritonitis	26(52.0)	3(12.0)
Perihepatitis	23(46.0)	0 (0.0)
Mortality	22(44.0)	0 (0.0)

성)을 조사한 성적을 나타낸 것으로 기낭집중법에 의한 시험성적이다. Congo-red양성균주 10주는 각각 5수씩 공시한 총 50수의 닭에 대해 48수(96%)에서 병원성(침습성)이 인정되었다. 한편 Congo-red음성균주 5주는 총 25수의 공시계중 4수(16%)에서 침습성이 인정되었다.

Table 4는 10주의 Congo-red양성균주와 5주의 Congo-red음성균주를 이용하여 닭의 기낭집중법에 의한 침습성시험의 결과 출현한 대장균중 특유의 병변소견의 출현빈도를 나타낸 성적으로써 Congo-red양성균

주의 집중계군에서의 기낭염병변은 총 50수중 44수(88%)에서 섬유소성의 삼출물로 덮혀있는 기낭염을 관찰할 수 있었던 반면에 Congo-red음성균주는 4마리에서 기낭염이 나타났다. 그리고 심낭염은 기낭염에 이어 2번째로 출현빈도가 많아 50수중 29수(58%)에서 병변이 인정된 반면에 Congo-red음성균주에서는 3수(12%)에서 심낭염이 출현하였다. 간포막염은 Congo-red양성균주의 계군에서는 23수(46%)에서 나타났고 Congo-red음성균주의 계군에서는 간포막염을 관찰할 수 없었다. 그리고 Congo-red양성균주의 계군에서는 22수(44%)의 폐사계가 출현한 반면에 Congo-red음성균주에서는 폐사계의 출현은 볼 수 없었다.

*E coli*의 Congo-red 결합능과 당분해능 등의 생화학적 성상, colicinogenicity 및 mice와 chicken에 대한 병원성(침습성)과의 관계를 비교한 성적은 Table 5에 있는 마와 같다. Ducitol과 salicin, raffinose, adonitol에 대한 분해능은 Congo-red양성 및 음성균주간에 뚜렷한 차이점은 찾을 수 없었고, 운동성도 Congo-red양성균과 음성균간에 감별점이 나타나지 않았다.

고 찰

닭의 대장균증은 많은 관련인자가 복합적으로 연관

Table 5. Relationship between some biochemical properties and invasiveness of *E coli* from chickens with particular regard to Congo-red binding capability of the organisms

Strains	CR-binding on solid media	CR-absorption in liquid media	Sugar fermentation	Motility	Hemolysis (α, β)	Colicinogenicity
W38 P	+	0.195	D.S.R.A.*	+	-	+
W42 P	+	0.194	D.S.R.	+	-	+
W35 J	+	0.190	D.	-	-	+
W04 L	+	0.190	D.S.	+	-	-
W69 L	+	0.187	S.R.	+	-	-
W33 J	+	0.196	D.	-	-	-
W10 T	+	0.190	S.R.	+	-	-
W30 J	+	0.159	D.	-	-	-
W36 C	+	0.188	D.S.R.	-	-	-
C L-R	+	0.189	D.S.R.	+	-	+
C L-W	-	0.301	D.S.	+	-	+
H59	-	0.202	D.S.R.	+	-	-
J 48	-	0.218	D.S.R.A.	+	-	-
H22	-	0.247	D.R.	+	-	+
ML1410	-	0.245	NT**	-	-	-

* A: Adonitol, D: Dulcitol, R: Raffinose, S: Salicin.

** Not tested.

되어 일어나는 질병으로써 이로 인하여 정확한 병인론에 대한 이해가 부족하지만 그러나 *E coli*가 주된 병인체인 것으로 주목받아 왔으며 일반적으로 알려진 것은 *E coli*가 2차적인 병인체로 작용하여 닭의 면역체계가 손상을 받았을 경우 또는 virus성질병이나 세균성질병(mycoplasmosis)이 함께 동반되었을때 침습을 하여 병증을 악화시키는 것으로 알려져 왔다.² 그러나 특정한 균주의 *E coli*단독으로도 충분히 대장균증을 유발할 수 있다는 사실 또한 일찍이 보고된 바 있다.^{1,32} 그리고 최근 Gjessing과 Berkhoff²¹도 Congo-red양성의 *E coli* 단독으로 대장균증을 일으킬 수 있음을 보고하였다.

본 시험에 있어서 닭유래 *E coli*를 감별하기 위해 사용된 배지는 Berkhoff와 Vinal¹⁹의 방법에 따라 제조된 것과 Surgalla와 Beasley²⁶가 제조한 바 있는 배지와 Payne과 Finkelstein²⁷의 방법으로 제조된 배지 등이 비교되었으며 동일한 조건에서 조사된 Congo-red양성균 12주는 37°C에서 24시간의 배양으로도 암적색의 rough한 모양의 집락을 형성하였으며 이를 배지에서 Congo-red dye의 함량을 0.01%, 0.02%로 낮추어도 Congo-red양성균은 Congo-red음성균과 충분히 감별이 되었다. 그리고 bile-salts가 첨가되지 않은 배지에서도 Congo-red양성균은 역시 적색집락을 형성하였고 bile-salts를 첨가시에는 음성균주의 집락색깔이 다소 진해지는 경향이 있었으나 양성균과는 차이가 인정되었다. 그리고 Congo-red양성균은 장기계대도중에 Congo-red음성균으로의 자연돌연변이주가 출현함을 볼 수 있었다.

한편 최근에 Yoder³³가 bile-salts를 첨가한 배지에서는 분리균주의 내역에 관계없이 모두 적색집락을 형성했으며 bile-salts가 없는 배지에서는 적색집락을 형성한 균주는 없었다고 한 보고성적과는 차이가 인정되었다.

다른 동물의 대장균감염증과는 달리 자연감염상태에 대한 이해가 분명치 않은 닭대장균증과 같은 질병의 경우에는 *in vivo* 접종시험에 있어서 적합한 접종경로의 선택이 무엇보다도 중요한 것으로 보고되어 있다.¹ 그러나 이제까지의 연구를 보면 각기 다양한 접종경로를 채택하여 다양한 성적을 보고하고 있음은 주지의 사실이라 하겠다.^{10,28,31,32}

본 시험에서 선택된 기낭접종법은 Piercy와 West¹의 방법과 Berkhoff와 Vinal¹⁹의 방법에 일치한 바 그 특징은 가장 자연감염과 유사한 방법이며 발병에 필요한 균의 양도 적게 요구되며 *E coli*단독 접종으로도 충분히 병증을 유도할 수 있으며 균혈증을 빨리 일으킨다

는 등의 장점이 있다. 아울러 닭의 기낭의 특징은 혈관의 분포가 비교적 적어서 건조한 조직구조물로서 닭 폐의 2중방향의 호흡과 관계있다고 알려져 있다. 본 시험의 성적은 Gross²의 보고성적과 일치한다. Congo-red양성의 *E coli*단독의 기낭접종으로 전형적인 대장균증의 병변소견인 섬유소성의 심낭염, 간포막염, 기낭염 등을 관찰할 수 있었으며 대부분(73.9%)의 폐사는 접종후 5일 이내에 출현하였다. 그리고 Congo-red양성균 12주는 SPF닭접종실험에서 96%의 높은 병원성이 인정되었으며 폐사율(44%)도 인정되었으나 Congo-red음성균주는 16%의 낮은 병원성을 나타냈으며 폐사계의 출현은 전혀 볼 수 없었는데 이러한 성적은 또한 Berkhoff와 Vinal¹⁹의 성적과 Gjessing과 Berkhoff²¹ 그리고 Cobett 등²⁰의 성적과도 거의 일치하는 양상이었다.

Congo-red양성균의 SPF mice에 대한 접종시험결과 높은 병원성이 인정되었으며 이로 인한 폐사한 mouse의 간과 비장에서는 미만성의 괴사병소가 출현했으며 이들 병소에서는 Congo-red양성균의 *E coli*가 재분리되었다. 그리고 폐사한 mouse에서는 심한 설사도 관찰되었다.

결 론

가축위생연구소에 병성감정 의뢰된 가검체에서 분리된 *E coli*균주를 이용하여 Congo-red agar배지에서의 그 결합능을 조사하였으며 이를 토대로 감별된 균주를 사용하여 SPF닭과 마우스에서 병원성 발현시험을 시도하였다.

Congo-red agar배지를 이용한 시험에서 Congo-red를 흡수하여 적색집락을 형성한 균주는 12주(14.6%)였으며 이들의 집락은 37°C에서 24시간 배양으로도 충분히 적색집락을 형성함과 동시에 집락의 외양이 푸른 어지는 양상을 나타낸 반면에 Congo-red dye를 흡수 이용치 못한 균주는 70주(85.4%)로써 이들의 집락은 배지의 마탕색과 같았고 집락의 외양도 smooth한 양상을 나타냈다. 이들 Congo-red양성균주들은 Congo-red dye의 함량변화와 bile-salts의 첨가유무에 관계없이 Congo-red음성균의 집락과 뚜렷이 구분되었다.

Congo-red양성균 10주와 Congo-red음성균주 5주에 대해서 SPF BALB/C mice와 SPF chicken에서의 병원성시험의 결과 BALB/C mice에 대해서 10주의 Congo-red양성균주는 총 40수중에 37수(92.5%)가 폐사하였으며 반면에 5주의 Congo-red음성균주는 20수중 9수(45%)가 폐사하였다.

SPF닭에 대해서 Congo-red양성균주 10주는 50수의

접종계군중에 48수(96%)에서 병원성(침습성)이 인정되었으며 22수(44%)의 폐사율을 나타내었다. 그러나 Congo-red음성군 5주는 25수중에 4수(16%)에서 병원성이 인정되었으며 폐사제의 출현은 전혀 볼 수 없었다.

참 고 문 헌

1. Piercy DWT and West B. Experimental *Escherichia coli* infection in broiler chickens: Course of the disease induced by inoculation via the air-sac route. *J Comp Path* 1976;86:203-210.
2. Gross WB. Colibacillosis In: *Disease of poultry*, 8th ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa (1984), pp.279-277.
3. 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;29:341-346.
4. Hemsley RV, Barnum DA and Ingram DG. Biochemical and serological studies of avian strains of *Escherichia coli*. *Avian Diseases* 1966; 11:90-97.
5. Kloryga MA. Pathogenicity of five rough mutants of avian pathogenic *Escherichia coli* isolated from broilers. *Avian Pathology* 1986; 15:749-759.
6. Rosenberger 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;29:1084-1107.
7. Barbour K and Nabbut NH. Use of epidemiologic markers to identify the source of *Escherichia coli* infections in poultry. *Am J Vet Res* 1985; 46:989-991.
8. Cloud SS, Rosenberger 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;29:1084-1093.
9. Glantz PJ, Saul N and George B. *Escherichia coli* serotypes isolated from salpingitis and chronic respiratory disease of poultry. *Avian Diseases* 1962;6:322-328.
10. Glantz PJ. An *Escherichia coli* serotypes useful for experimental infections. *Avian Diseases* 1965; 9:264-265.
11. Heller ED and Perek M. Pathogenic *Escherichia coli* strains prevalent in poultry flocks in Israel. *Br Vet J* 1968;124:509-513.
12. Heller ED and Drbkin N. Some characteristics of pathogenic *Escherichia coli* strains. *Br Vet J* 1977;133:572-578.
13. 김기석, 남궁선 : 닭 대장균의 특성에 관한 연구, I. 혈청형 및 항균성 약제내성, 한국수의공중보건학회지, 11:13-19, 1987.
14. 김기석, 남궁선 : 닭 대장균의 특성에 관한 연구, II. 약제내성 양상, 전담성 R-plasmid의 분포 및 비적합성균, colicin산생 및 col-plasmid의 전달, 혈구 응집능, 한국수의공중보건학회지, 12:63-83, 1988.
15. 김봉환, 김동성, 이창구 : 자돈의 병원성 대장균중에 관한 연구, 양돈농가 실태 및 설사자돈에서 분리한 대장균의 성장조사, 대한수의학회지, 21(2): 81-85.
16. Kaya PJ, Robbins RM and Brent DR. Differentiation between virulent and avirulent *Yersinia enterocolitica* isolates by using Congo-red agar. *J Clin Microbiol* 1983;18:486-490.
17. Maurelli AT, Blackmon B and Curties R III. Loss of pigmentation in *Shigella flexneri* 2a is correlated with loss of virulent and virulence associated plasmids. *Infection and Immunity* 43; 397-401.
18. Sekizaki T, Nonomura I and Imada Y. Loss of virulence associated with plasmid curing of chicken pathogenic *Escherichia coli*. *Jpn J Vet Sci* 1989;51(3):659-661.
19. Berkhoff HA and Vinal AC. Congo-red medium to distinguish between invasive and non-invasive *Escherichia coli* pathogenic for poultry. *Avian Diseases* 1986;30:117-121.
20. Cobett WT, Berkhoff HA and Vinal AC. Epidemiological study of the relationship between Congo-red binding *Escherichia coli* and avian colisepticemia *Can J Vet Res* 1987;51:312-315.
21. Gjessing KM and Berkhoff HA. Experimental reproduction of airsacculitis and septicemia by aerosal exposure of 1-day-old chicks using

- Congo-red positive *Escherichia coli*. *Avian Diseases* 1989;33:473-378.
22. Johnson JL and Chilton WS. Galactosamine glycan of *Chondrococcus columnaris*. *Science* 1966;152:1247-1248.
 23. Wood PJ. Specificity in the interaction of direct dyes with polysaccharides. *Carbohydrate Research* 1980;85:271-287.
 24. Wood PJ. The use of dye polysaccharide interactions in β -D-glucan assay. *Carbohydrate Research* 1981;94:C19-C23.
 25. Wood PJ. Factors affecting precipitation and spectral changes associated with complex formation between dyes and β -D-glucans assays. *Carbohydrate Research* 1982;102:283-293.
 26. Surgalla MJ and Beesley ED. Congo-red agar plating medium for detecting pigmentation in *Pasteurella pestis*. *Applied Microbiology* 1969; 18:834-834.
 27. Payne SM, Finkelstein RA. Detection and differentiation of iron-responsive avirulent mutants on Congo-red agar. *Infection and Immunity* 1977;18:94-98.
 28. Ardrey WB, Peterson CF and Haggart M. Experimental colibacillosis and the development of carriers in laying hens. *Avian Diseases* 1968; 13:505-511.
 29. Fabricate J and Levine PP. Experimental production of complicated chronic respiratory disease infection (air-sac disease). *Avian Diseases* 1962; 6:13-32.
 30. Goren E. Observations on experimental infection of chickens with *Escherichia coli*. *Avian Diseases* 1978;9:312-324.
 31. Gross WB. The development of "air-sac disease". *Avian Diseases* 1961;5:431-439.
 32. Gross WB. Symposium on chronic respiratory disease. *Am J Vet Res* 1958;19:448-471.
 33. Yoder HW. Congo-red binding by *Escherichia coli* isolates from chickens. *Avian Diseases* 1989; 33:502-505.