

## 屠畜牛 膽囊에서 分離한 大腸菌에 관한 研究

심항섭, 우종태, 정준용, 강순근, 고영생, 박찬숙, 조중현

경기도 가축위생시험소 북부지소

## Studies on *E-coli* Isolated from Bile Juice of Slaughtered Cattle

Hang-Sup Shim, Jong-Tae Woo, Jun-Yong Jeong, Sun-Keun Kang,

Young-Sang Ko, Chan-Suk Park, Jung-Hyun Cho

Northern Branch of Kyunggi Veterinary Service Laboratory

### Abstract

The present study was conducted to investigate the biochemical properties, pathogenicity, antimicrobial test, and serotype of *E-coli* isolated from slaughtered cattle during the period from March 1991 to May 1991.

1. A total of 12 *E-coli* isolates were isolated from 132 bile juice of slaughtered cattle.
2. All isolates were resistant to Erythromycin, Cephalothin, Neomycin and Lincomycin while the majority of them were susceptible to Trimethoprim-sulfamethoxazole(67%), Chloramphenicol(58%), Gentamicin(58%), Ampicillin(17%), Kanamycin(9%) and Tetracycline(9%).
3. In the test of colicinogenecity and congo-red binding capability, 4(33%) isolates produced colicin, all isolates were congo-red negative.
4. The serotypes of isolated *E-coli* were identified as O88: K-(2 strain), O15: K-(1 strain), O8: K87: K88ab(1 strain), O139: K12(1 strain), O147: K89(1 strain), others(6 strains) were autoagglutination.

Key words: *E-coli*, Bile juice, Slaughtered cattle, Serotype, Public health.

### 緒 論

*Escherichia coli*는 Escherich에 의하여 어린이의 설사변에서 처음 분리 보고되어 *Bacteria coli commune*으로 명명한 이래 장내에 항상 존재하고 있는 정상 장내 세균총의 하나인 것으로 밝혀져 있

다.<sup>1)</sup> 특정 대장균이 사람에게는 소화기계통 및 비뇨기계통에 질병을 일으키는 병인체로 알려져 있고 가축에서는 송아지, 자돈 등 어린 동물에서 주로 설사 등을 일으키며, 닭 가금류 등에서는 대장균증의 원인균으로 작용하는 것으로 알려져 있다.<sup>2,3,4,10,22,24,30)</sup> 이와 같이 생활주변에서 우리

들이 많은 대장균에 노출되어 있기 때문에 대장균의 감염으로부터 완전히 보호될 수는 없다. 그러나 다행히도 이들 수많은 대장균중 사람과 동물에게 병원성을 가진 대장균의 혈청형은 수십종에 불과하다고 많은 학자들이 보고하였다.<sup>3,4,5,30)</sup> 가축에 있어 대장균에 관한 연구는 설사증과 닭 대장균증 등에 대해서는 비교적 많이 있으나, 도축우의 간이나 담낭에 분포하는 대장균에 대한 연구는 미진한 실정이다. 또 도축우의 간은 사람이 주로 생식하기 때문에 특정 병원성 세균에 의해 사람이 질병에 걸릴 가능성이 있다. 그래서 간과 인접한 담즙에서 *E. coli*를 분리한 후 분리주의 생화학적 특성, 약제감수성 시험, 혈청형 및 병원성 등에 대해 조사연구하여 도축위생 및 공중 위생학적 문제점을 알아보고 대장균의 효과적인 방제를 위한 기초자료를 제공할 목적으로 본 연구를 실시하였다.

## 材料 및 方法

### 시험재료

1991년 3월부터 5월 사이에 경기도 남양주 등 8개 도축장에서 도축우 132두의 담즙에서 분리한 대장균 12주를 시험에 공하였다.

### *E. coli*의 분리 및 생화학적 성상검사

도축우의 담낭에서 멸균된 기구로 담즙을 채취하여 Blood agar 배지에 도말하고 37°C에서 11-24시간 배양하였다. 평판상에 증식된 집락을 평판에 순수배양한 후 반유동 한천배지에 천자 배양으로 보존하면서 시험에 사용하였다. 분리균의 생화학적 검사는 Cowan<sup>6)</sup> 그리고 Eward와 Ewing<sup>31)</sup>의 방법에 준하여 운동성 및 indol 시험 등 각종 성상을 조사하였다.

### 약제 감수성 시험

약제 감수성 시험을 위해 사용된 디스크(BBL)는 ampicillin 등 11종이며 그 종류와 약제 함유농도는 표 1과 같다.

감수성 시험은 Byant<sup>7)</sup>의 방법도 준하였으며 Brain heart infusion broth에서 37°C로 18-24시간 증균 배양한 균액을 표준 탁도액(0.36N

Table 1. Antimicrobial discs used for drug susceptibility test

Antimicrobial drug	Disc potency
Ampicillin(AM)	10 $\mu$ g
Cephalothin(CF)	30 $\mu$ g
Chloramphenicol(CM)	30 $\mu$ g
Gentamicin(GM)	10 $\mu$ g
Kanamycin(KM)	30 $\mu$ g
Amicacin(AN)	30 $\mu$ g
Tetracycline(TE)	30 $\mu$ g
Erythromycin(EM)	15 $\mu$ g
Neomycin(NE)	30 $\mu$ g
Lincomycin(LM)	2 $\mu$ g
Trimethoprim	1.25 $\mu$ g
sulfamethoxazole(SXT)	+23.75 $\mu$ g

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 99.5ml와 0.04M BaCl<sub>2</sub> 5ml를 혼합하여 밀봉한 것)과 같은 농도로 희석한 다음 희석된 균액에 멸균면봉을 침적시켰다가 Muller hinton agar 평판상에 균등히 도말하고 Sensi-disc dispenser를 사용하여 항균제 disc를 평판에 가볍게 부착시켰으며 37°C에서 18-24시간 배양한 다음 각각의 disc 주위에 형성된 발육저지환의 직경을 측정하여 내성유무를 판정하였다.

### Colicin 產生시험

Heller 등<sup>8)</sup>의 방법에 준하였으며 Tryptic soy broth(TSB)에 접종하여 37°C에서 12-18시간 배양한 *E. coli* ML 1410주를 Tryptic soy agar(TSA)에 도말하여 실온에서 30분간 건조시킨 후 TSB에 12-18시간 배양한 분리균을 접종하였다. 37°C에서 24시간 배양하여 사라난 집락의 주변부에 발육억제대가 형성되는 집종균에 대해서는 colicin 양성균으로 판정하였고, 집락주위에 발육억제대가 형성되지 않은 균은 colicin 음성균으로 판정하였다.

### Congo-red 결합 시험

Berkhoff 등<sup>9)</sup>과 Cobett 등<sup>10)</sup>의 방법에 준하여 0.03% Congo-red agar 배지에 균을 도말하

여 37℃에서 24시간 배양한 후 실온에서 48시간 동안 방치해두면서 결과를 관찰하였다. 적색 집락을 형성함과 동시에 집락의 외양이 rough한 것을 Congo-red 양성균으로 판정하였으며, 적색 집락을 형성하지 않고 집락의 외양이 smooth한 것은 Congo-red 음성균으로 판정하였다.

#### 혈청형 검사

분리균의 혈청형은 OK 인자 혈청 26종(가축

위생연구소 분양)을 사용하여 평판 응집반응으로 분류하였다.

#### 結 果

1991년 3월부터 5월 사이에 경기도 가축위생시험소 북부지소 관내 8개 도축장에서 도축우 132두의 담낭에서 분리한 대장균 12주에 대한 생화학적 성상은 표 2에서 보는 바와 같이

Table 2. Biochemical and cultural properties of 12 *E. coli* isolated from bile juice

Character	No of positive cultures	% of positive cultures
Catalase	12	100
Oxidase	0	0
Urease	0	0
Indole	12	100
Methyl-red	12	100
Voges-proskauer	0	0
Citrate	0	0
Hydrogen-sulfide	0	0
Phenylalanine diaminease	0	0
Malonate	0	0
Motility	12	100
TSI (A / AG)	12	100

Table 3. Antimicrobial susceptibility test of 12 *E. coli* isolated from bile juice

Antimicrobials	No of susceptible strains	% of susceptible strains
Trimethoprim+sulfamethoxazole	8	67
Chloramphenicol	7	58
Gentamicin	7	58
Ampicillin	2	17
Amicacin	2	17
Kanamycin	1	9
Tetracycline	1	9
Erythromycin	0	0
Cephalothin	0	0
Neomycin	0	0
Lincomycin	0	0

Catalase 시험, Indol 시험, Methyl-red 시험, 운동성 시험에서 전 균주가 양성 반응을 나타내었다. 이에 반하여 H<sub>2</sub>S 시험, Vogesproskauer 시험, Citrate 시험, Oxidase 시험, Malonate 시험, 그리고 Phenylalanine 시험과 Urease 시험에 대해서는 전균주가 음성반응을 나타냈다.

분리균의 약제감수성 시험 성적은 표 3에서와 같이 SXT에 8주(67%)가 감수성이 있었고, CM과 GM에 7주(58%), AM과 AN에 2주(17%), KM과 TE에 1주(9%)가 감수성이 있었으며 EM, CF, NE, LM에서는 전균주가 내성을 가지고 있었다.

분리균의 Colicin 産生능은 12주중 4주가 Colicin을 産生하여 33%가 양성반응을 나타내었다. 분리대장균에 대한 Congo-red와의 결합반응은 전체 12주중 전부가 Congo-red 배지에서 음성반응을 나타내었다.

분리한 12주의 대장균중 OK 혈청형에 응집반응을 보인 대장균은 6주(50%)로써 이들의 혈청형은 표 4에서 보는 바와 같이 088: K-에는 2주 그리고 015: K-, 08: K87: K88ab, 0139: K12,

Table 4. OK serotype of 12 *E. coli* isolated from bile juice

OK serotype	No of strains(%)
088: K-	2(16.6)
015: K-	1( 8.3)
08: K87: K88ab	1( 8.3)
0139: K12	1( 8.3)
0147: K89	1( 8.3)
Autoagglutination	6(50)
Total	12(100)

0147: K89 등에는 각각 1주씩 응집하였다.

분리한 대장균의 혈청형과 Colicin 産生能, Congo-red 結合能의 관계를 비교한 성적은 표 5에서 보는 바와 같이 분리균중 0139: K12 항혈청에 응집한 균주가 Colicin 양성을 나타내었고, 미확인된 혈청형에서 3주가 Colicin을 産生하였다.

Table 5. Relationship between serotype of isolates and colicinogenecity, cong-red binding capability

Ok serotype	No of strains agglutinated	No of colicinogenecity	No of cong-red binding capability
088 : K-	2	0	0
015 : K-	1	0	0
08 : K87 : K88ab	1	0	0
0139: K12	1	1	0
0147: K89	1	0	0
Autoagglutination	6	3	0
Total	12	4	0

## 考 察

*E. coli*는 소에서 장관 등에 정상적으로 서식하고 있으며 이들중 병원성 *E. coli*가 병증을 일으키는 것으로 알려져 있으며<sup>11)</sup> 주로 설사증을 일

으키기 때문에 이에 대한 연구는 많이 보고되었다.<sup>12,13,28,30)</sup> 그러나 소의 간이나 담즙에서 분리한 대장균에 대한 연구는 극히 미진한 것으로 생각된다. 담즙은 간세포에서 생성되어 담관을 거쳐 담낭에 모이기 때문에 간과 담즙은 밀접한 관

계가 있으며,<sup>20,21)</sup> 소 등은<sup>26)</sup> 사람에게 있어 간 농양은 주로 담도계를 통하여 감염(53.6%)되며 간농양에서 분리된 세균중 *E. coli*가 54.4%로 가장 많이 차지한다고 보고하였다. 그리고 Rubin 등<sup>22)</sup>은 *E. coli*에 의한 담도계의 질환이 간농양의 주원인으로 보고하였다. 우리나라 사람이 주로 생식하는 간에 대한 세균의 감염상태를 알기 위해 간과 밀접한 관계가 있는 담즙에서 대장균의 분리 실험을 실시한 결과 132두의 도축우에서 12주의 *E. coli*가 분리되어 약 9%의 분리율이 나타났다. 따라서 소에 있어 장관 및 기타 장기에 서와 마찬가지로 담낭에도 대장균이 감염되는 것을 알 수 있었다. 분리한 대장균의 생화학적 성상은 Edwards 및 Ewing<sup>31)</sup>의 분류기준에 일치하였으며 김 등<sup>23)</sup>의 보고와도 일치하였다.

그러나 우 등<sup>27)</sup>은 *E. coli*에 대한 생화학적 성장시험 결과 Motility는 78%, TSI는 97.6%로 보고하여 본 연구와 차이를 보였고, 또 분리 *E. coli*의 Motility가 72%, Indole에서는 94%, H<sub>2</sub>S 產生에서는 2.2%로 보고한 김 등<sup>24)</sup>과도 본 실험의 성적과 차이가 있었다.

담즙에서 분리한 대장균 12주에 대한 항균성 약제 감수성 시험결과 EM, CF, NE, LE에 전균주가 내성이 있었으며, SXT에 67%, CM과 GM에 58%, AM과 AN에 대해 17%, KE와 TE에 9%씩 각각 감수성을 나타내었다. 김 등<sup>28)</sup>은 소에서 분리한 대장균이 EM에 64.8%, TE에 63.2%, AM에 43.4%, CM에 36.8%, NE에 35.5%의 내성을 갖고, GM에 100%, CF에 90.8%로 감수성이 나타난다고 보고하여 크게 차이를 나타냈다. 또한 CM에 내성이 없다고 보고한 Andn 등<sup>12)</sup>의 성적과 소유래 *E. coli*가 AM, AN, CF, Te 등에 대해 내성이 없다는 Cooke 등<sup>13)</sup>의 보고와도 많은 차이가 있었다. 이와 같이 담즙에서 분리된 *E. coli*가 항생제에 상당한 내성을 나타내는 것은 항생제의 남용 또는 오용이 하나의 원인이라고 생각된다.

Colicin은 대장균 및 관련장내 세균에 의해서 產生되는 항균성 단백질로써 이들 Colicin을 產生하는 균들은 감염숙주에 대한 병원성이 강한 것으로 밝혀져 있다.<sup>29)</sup> 또한 *E. coli* 등 여러 세균

에서 Congo-red 양성균주는 병원성이 있는 균주라고 여러 사람이 보고하였다.<sup>9,10,15,16,17,18)</sup> 소 등<sup>30)</sup>은 소 설사증을 일으킨 병원성 대장균중 Colicin 產生能이 11.5%라고 보고하였고, 김 등<sup>19)</sup>은 사돈의 병원성 대장균의 Colicin 產生能이 16.7%로 보고하였다.

본 실험에서 공시한 *E. coli*의 Colicin 產生 시험결과는 33%로 높은 비율을 나타냈다. Congo-red 시험에서는 분리균이 모두 Congo-red 양성 반응을 나타내지 않았다.

분리균중의 일부는 Colicin 시험결과 병원성이 있을 것으로 생각되며 분리균의 병원성 유무를 완전히 파악하기 위하여는 동물시험 등 더 많은 연구가 필요하다고 생각된다.

Edward 등<sup>33)</sup>은 사람과 가축 및 가금에 감염되는 병원성 대장균은 혈청형에 따라 특이성이 있다고 하였으며 소에 감염하여 설사증을 일으키는 *E. coli*의 혈청형은 08, 09, 020, 0139, 0149, 0101, 0115 등과 밀접한 관련이 있다고 보고하였다. Brenner<sup>25)</sup>은 사람의 설사증에 관여하는 혈청형은 028ac, 0112, 0124, 0136, 0143, 0114, 0152, 0164 등 수십종이 된다고 보고하였다.

본 시험 결과를 보면 혈청형 동정에 공시한 12주중 OK 항혈청에 양성을 보인 대장균의 혈청형은 088: K-에는 2주 그리고 015: K-, 08: K87: K88ab, 0139: K12, 0147: K89 등에는 각 1주로 동정되어 사람의 설사증에서 분리한 대장균의 0 혈청형과 동일한 것은 없었다.

본 연구에서 소에 감염하여 설사증을 일으키는 혈청형중 하나인 08 혈청형이 분리되어 담낭에 감염되는 대장균과 설사증에 관계되는 대장균에 대한 상호연관관계가 보다 깊게 연구되어야 한다고 생각된다. 또 본 실험의 결과로 보아 담즙에서 분리한 *E. coli*가 사람의 설사증을 일으키는 직접적인 원인균이라는 것은 밝혀지지 않았지만 숙주에 대해 병원성을 나타내는 Colicin을 產生하는 세균이 비교적 높은 비율로 나타났다는 점에 대해 유의해야 할 것으로 생각된다.

## 結 論

경기도 관내 도축장을 대상으로 도축우의 담즙에서 *E. coli*를 분리한 후 분리주의 성장, 혈청형 등을 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 도축우 132두의 담즙에서 12주(9%)를 분리하였다.

2. 분리균에 대한 항균제 감수성 시험결과 trimethoprim sulfamethoxazole에 8주(67%), chloramphenicol과 gentamicin에 7주(58%), ampicillin과 amikacin에 2주(17%), kanamycin과 tetracycline에 1주(9%)씩 각각 감수성이 있고 erythromycin, cephalothin, neomycin, lincomycin에는 전균주가 내성을 가지고 있었다.

3. Colicin 産生 시험에서는 12주중 4주(33%)가 양성반응을 나타냈으나, Congo-red 結合能 시험에서는 전균주가 음성반응을 나타내었다.

4. 혈청학적 검사결과 12주중 OK 혈청형에 양성반응을 보인 대장균은 6주(50%)로써 이들의 혈청형은 088: K-에는 2주(16.6%) 그리고 015: K-, 08: K87: K88ab, 0139: K12, 0147: K89에 각각 1주(8.3%)씩 응집반응을 나타내었다.

## 參 考 文 獻

1. Orskov F. 1984. Genus I. *Escherichia* Castellani and chalmers, Berrgey's Manual of Systemic Bacteriology.
2. Brenner DJ. 1984. Bergey's Manual of Systemic Bacteriology, 7th ed. Williams and Willkins, Baltimore.
3. Edwards PR, Ewing WH. 1974. Identification of Enterobacteriaceae, 2nd ed. Cambridge University Press, London.
4. A-buckle JBR. 1968. The distribution of certain *Escherichia coli* strains in pigs and their environment. Brit Vet J. 124: 152.
5. Cahill Edna E, PJ Glantz. 1978. Demonstration of the K88ab antigens of *Escherichia coli* by means of immu-

- noelectrophoresis and immunodiffusion infection and immunity. 20(3): 811-815.
6. Cowan ST. 1957. Manual for the Identification of Medical Bacteria, 2nd ed. Burgers Publishing Co, Minnesota.
7. Bryant MC. 1972. Antibiotics and their laboratory control. 2nd ed. London, butterworth and Co Ltd.
8. Heller Ed, Drabkin N. 1977. Some characteristics of pathogenic *Escherichia coli* strains, Br Vet J. 133: 572-578.
9. Berkhoff HA, Vinal AC. 1986. Congo-red medium to distinguish between invasive and non-invasive *Escherichia coli* pathogenic for poultry, Avian Diseases. 30: 117-121.
10. Cobett WT, Berkhoff HA, Vinal AC. 1987. Epidemiological study of the relationship between Congo-red binding *Escherichia coli* and avian colisepticemia, Can J Vet Res. 51: 312-315.
11. Buxton A, Fraser G. 1977. Animal microbiology, Blackwell scientific publications.
12. Aden DP, Reed ND, Underdahal NR, Mebus CA. 1969. Transferable drug resistance among Enterobacteriaceae isolated from cases of neonatal diarrhea in calve and piglets. Appl Microbiol. 18: 961.
13. Cooke EM, Shooter RA, Breaden AL. 1971. Antibiotics sensitivity of *E. coli* isolated from animal, food, hospital patients, and normal people. Lancetii: 8.
14. Johnson JL, Chuto WS. 1966. Galactosmine glycan of *Chondrococcus columnaris*, Science. 152: 1247-1248.
15. Kaya PJ, Robbins RM, Brent DR. 1983. Differentiation between virulent and avirulent *Yersinia enterocolitica* isolates by using Congo-red agar, J Clin Microbiol. 18: 486-490.
16. Maurelli AT, Blackmon B, Curtiss R III. 1984. Loss of Pigmentation *Shigella flexneri*

- 2a is correlated with loss of virulent and virulence associated plasmids, *Infection and Immunity*. 43: 397-401.
17. Surgalla MJ, Beesley ED. 1969. Congo-red agar Plating medium for detecting pigmentation in *pasteurella pestis*. *Applied Microbiology*. 18: 834-837.
  18. Payne SM, Finkelstein RA. 1977. Detection and differentiation of iron-responsive avirulent mutants on Congo-red agar, *Infection and Immunity*. 18: 94-98.
  19. James H. Gillespie, John F. Timoney. 1981. Hagan and Bruner's *Infections Diseases of Domestic Animal* 7th, Cornell university press.
  20. Melivin T Swenson. 1977. *Ducke's physiology of domestic animal*, ninth edition, Connell university press.
  21. Rginald G Tomson. 1988. *Special veterinary pathology*, B. C Decker Inc.
  22. Rubin RH, Swartz MN, Malt R. 1974. Hepatic abscess: change in clinical, bacteriologic and therapeutic aspects. *Am J Med*. 57: 601.
  23. 김기석, 남궁선, 1987. 닭 대장균의 특성에 관한 연구, I. 혈청형 및 항원성 약제내성. *한국수의공중보건학회지*. 11: 13-19.
  24. 김봉환, 김동성, 이창구, 1981. 자돈의 병원성 대장균증에 관한 연구, 양돈농가실태 및 설사자돈에서 분리한 대장균의 성장조사. *대한수의학회지*. 21(2): 81-85.
  25. 김봉환, 1981. 자돈의 병원성 대장균증에 관한 연구 2. 설사자돈으로부터 분리한 대장균의 혈청형동정. *대한수의학회지*. 21: 87-91.
  26. 이진욱, 윤진, 김진복, 1990. 화농성 간농양의 임상적 고찰. *대한소화기병학회지*. 22(1): 147-155.
  27. 우용구, 1989. 닭에서 분리한 *E Coli*의 생물화학적 특성 및 병원성. 경북대 대학원.
  28. 김봉환, 이재진, 김기석, 한태우, 1980. 동물유래 병원성세균의 각종 항행물질에 대한 감수성 조사. *대한수의학회지*. 20(2): 85-92.
  29. 김기석, 남궁선, 1988. 닭 대장균의 특성에 관한 연구, II. 약제내성양상, 전달성, R-plasmid의 분포 및 비적합성균, Colicin 산생 및 Col plasmid의 전달, 혈구응집능. *한국수의공중보건학회지*. 12: 63-83.
  30. 이강복, 최원필, 1986. 우유래 장독소 산생 대장균에 대하여. *대한수의학회지*. 26(1): 69-77.