

연구노트

## 계육의 창상부위에서 분리된 미생물의 동정

김현진 · 천호현 · 김주연 · 장성애 · 이봉덕<sup>1</sup> · 채현석<sup>2</sup> · 송경빈<sup>†</sup>  
충남대학교 식품공학과, <sup>1</sup>동물자원생명과학과, <sup>2</sup>국립축산과학원

### Identification of Microorganisms Isolated from Wound Regions of Chickens

Hyun-Jin Kim, Ho-Hyun Chun, Ju-Yeon Kim, Sung-Ae Jang, Bong-Duk Lee<sup>1</sup>,  
Hyun-Seok Chae<sup>2</sup> and Kyung Bin Song<sup>†</sup>

Department of Food Science & Technology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea  
<sup>1</sup>Department of Animal Science & Biotechnology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea  
<sup>2</sup>Poultry Science Division, National Institute of Animal Science, Chungnam 330-801, Korea

#### Abstract

We identified microorganisms causing skin disease in slaughtered chickens. Ten microbial strains were isolated from skin wound regions on the back and legs of chickens. Fatty acid composition analysis of the cell membranes of isolated bacteria identified five isolates of *Shigella sonnei*, *Proteus mirabilis* (2), and *Escherichia coli* (2). In addition, 16S rRNA sequencing indicated that *S. sonnei* (99%), *P. mirabilis* (99%), and *E. coli* (99%) were the strains responsible for skin wounds in chickens. Therefore, these three species may be the major pathogenic bacteria causing skin wounds on the back and legs of chickens.

**Key words :** chicken, skin wound region, fatty acid, 16S rRNA sequence

#### 서 론

계육은 저렴한 가격 및 높은 영양적 가치로 인하여 전 세계적으로 소비가 매년 증가하고 있다(1,2). 계육 소비량의 증가와 더불어 저장, 유통되는 제품에 대한 식품 안전뿐만 아니라 계육의 색과 맛 등 품질에 대한 중요성이 높아지고 있다(3,4).

계육은 대부분이 신선육의 형태로 판매가 되는데, 축산물 등급 판정의 닭 도체 품질기준에 따르면 피부병 등 질병의 흔적에 의한 손상 여부, 피부 상처로 인해 가슴과 다리 부위 등에 살이 노출된 크기, 도체에 있는 상처나 멍 등에 의해 등급이 정해진다. 따라서 계육의 창상은 닭 도체 품질 등급을 결정할 뿐만 아니라, 세균이 식육의 표면에 침입함으로써 질병을 야기할 수 있다. 특히 계육의 위생에 영향을 미치는 세균으로는 *Salmonella*(5), *Staphylococcus*(6),

*Campylobacter*(7), *Escherichia coli*(8) 등이 있는데, 이러한 균들이 식육의 표면이나 조직 내에 증식하게 되면 식육 외관의 변질을 초래할 뿐만 아니라 변패를 일으켜 계육의 저장, 유통 중 위생상의 문제를 야기 시킨다.

따라서 본 논문에서는 도계된 계육의 저장, 유통 중 품질에 영향을 끼치는 창상 문제 해결을 위한 기초 연구로서, 계육의 등과 다리의 창상 부위로부터 미생물을 분리하여 동정하고자 미생물의 세포막 지방산 조성 분석과 16S rRNA sequence를 통하여 계육 창상에 관여하는 주요 미생물을 분석하여 이에 보고하는 바이다.

#### 재료 및 방법

##### 재료 및 시료 채취

본 연구에 사용된 시료는 논산시 소재 양계장에서 도계 직전의 5주된 female broilers chicks (Ross x Ross) 800 마리

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail : kbsong@cnu.ac.kr,  
Phone : 82-42-821-6723, Fax : 82-42-825-2664

를 대상으로 창상이 있는 개체에서 채취하였다. 창상 부위에서의 시료 채취에 사용된 도구 및 기구는 가압, 멸균하여 사용하였고 모든 시료는 무균적으로 처리하였다.

#### 균주의 분리

계육의 등과 다리의 창상 부위로부터 시료 5 g을 취하여 멸균된 low density polyethylene (LDPE) bag에 넣고 45 mL의 0.1% sterile peptone water를 가한 후 3 min 동안 stomacher (MIX 2, AES Laboratoire, France)에서 처리하였다. 그리고 cheese cloth를 사용하여 여과한 후 0.1% 멸균 펩톤 용액으로 희석하여 tryptic soy agar (TSA, Difco Co, Detroit, MI, USA) plate에 희석액 0.1 mL를 도말하여 37°C에서 24시간 배양한 후 colony를 분리하였다. 분리된 colony를 tryptic soy broth (TSB, Difco Co.) 25 mL에 접종해 37°C에서 24시간 배양한 후, tryptic soy agar를 이용 순수 분리하였다.

#### 세포막 지방산 분석을 통한 미생물 동정

순수 분리된 미생물의 동정을 위하여 미생물의 세포막 지방산 조성을 Sherlock Microbial Identification System (MIDI Inc., Newark, DE, USA)을 사용하여 분석하였다. 미생물의 세포막으로부터 지방산 분리를 위해서 reagent 1 (sodium hydroxide 45 g, methanol 150 mL, 증류수 150 mL), reagent 2 (6 N HCl 325 mL, methanol 275 mL), reagent 3 (hexane 200 mL, methyl-tert butyl ether 200 mL), reagent 4 (sodium hydroxide 10.8 g, 증류수 900 mL)를 사용하였다. TSA plate에 배양된 colony로부터 Sherlock Microbial Identification System에서 제공하는 방법에 따라 시료와 reagent의 vortexing, heating, cooling 등의 과정을 MIDI사의 protocol에 따라 실험함으로써 미생물의 세포막 지방산을 추출하였고, 추출된 지방산을 ester화 시킨 후 분석 조건에 맞춰 gas chromatography (GC 6890, Agilent, Santa Clara, CA, USA)로 분석한 뒤, 이를 MIDI data base에 저장되어 있는 미생물 세포막 지방산의 data와 비교하여 균을 동정하였다.

#### DNA 추출과 PCR에 의한 16S rRNA 유전자의 증폭

배양된 균주로부터 Chelex 100 resin (Bio Rad, Hercules, CA, USA)을 이용하여 genomic DNA를 추출하였다. E tube에 5% boiling resin을 각각 180 µL 넣고 cell pellet을 현탁한 후 10x Taq Buffer 20 µL (20 mg/mL)와 pro K 10 µL를 혼합해 30 µL 씩 첨가하고 60°C에서 30분간 반응시키고 100°C의 끓는 물에서 10분간 3회 방치한 후 13,200 rpm, 4°C에서 10분 동안 원심분리하여 그 상등액을 template로 하여 PCR을 실시하였다. PCR 반응을 위한 주형 DNA를 3.0 µL의 농도로 하고, 10x EF Taq buffer 2.5 µL, 10 mM dNTP 0.5 µL, 1.0 µL의 primer, EF Taq (2.5U) 0.3 µL,

증류수 16.7 µL를 넣어 총 부피가 25 µL가 되도록 하였다. PCR을 위해 bacterial 16S rRNA 유전자에 존재하는 올리고를 sequencing primer로 사용하였으며 사용한 2종의 염기서열에 있어서, 앞쪽의 유전자 5'부위 primer (27F)는 5' AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG 3'이었고 3'부위의 reverse primer (1492R)는 5' GGT TAC CTT GTT ACG ACG ACT T 3'이었다. PCR을 실행하기 위해 반응 혼합액을 ABI 3730XL DNA Analyzer (Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA)에 넣어 증폭하였다. PCR 조건은 95°C에서 15분간 DNA를 변성시켰고 각 단계에서는 95°C에서 20초 동안 DNA 변성, 50°C에서 40초 동안 DNA와 primer의 재결합, 72°C에서 90초 동안 증폭하는 반응을 30번 반복한 후 72°C에서 5분간 처리 후 10°C에 방치하였다. PCR 증폭 산물은 1% agarose gel에서 전기영동하여 DNA band를 확인하였고 PCR product의 염기서열 분석을 위하여 PCR purification kit로 정제한 뒤 ABI PRISM 3730XL DNA sequencer를 이용하여 염기서열을 분석하고 NCBI BLAST search engine을 통하여 미생물을 동정하였다(9).

## 결과 및 고찰

양계장에서 도계 직전의 계육의 창상 부위로부터 분리된 시료로부터 각각 다른 형태의 단일 colony를 얻어 증균, 배양한 후 미생물의 세포막 지방산 조성 분석과 16S rRNA sequence를 실시하여 창상 관련 미생물을 동정하였다. 세균의 세포막 지방산 조성은 세포막의 중요한 구성성분으로써 이들의 조성은 세균을 분류하고 동정하는데 중요한 지표가 된다(10). Microbial Identification System을 이용하여 세균의 지방산 조성을 분석한 결과, 창상 부위로부터 분리한 10개의 균주 중 5개의 균주에서 유효성을 가지는 지방산 조성을 나타내었다(Table 1). 지방산 C14:0, C16:0 그리고 C17:0 CYCLO는 유효성을 지니는 모든 균주에서 주요 성분으로 나타났는데 그 중 하나는 지방산 C14:0, C16:0, C17:0 CYCLO를 각각 8.86, 34.09, 20.87% 포함하고 있었으며 data library를 이용하여 지방산 조성의 유사성을 분석한 결과 *Shigella sonnei*와 유사한 균으로 나타났다. 다른 균주는 지방산 C14:0, C16:0, C17:0 CYCLO를 각각 12.09, 33.72, 9.97%를 포함하며 *Proteus mirabilis*와 유사한 균으로 나타났다. 또 다른 균주는 C14:0, C16:0, C17:0 CYCLO 지방산을 7.83, 33.27, 17.55% 포함하고 있었으며 *Escherichia coli*와 높은 유사성을 나타냈다. 따라서 세균의 세포막 지방산 조성 분석을 실시한 결과, 창상부위에서 분리된 세균은 일차적으로 *Shigella* 속 1 균주, *Proteus* 속 2 균주, 그리고

**Table 1. The fatty acid composition of the cell membrane of the bacteria**

Fatty acid	Sample number				
	1 <sup>1)</sup>	2 <sup>2)</sup>	3 <sup>3)</sup>	4 <sup>4)</sup>	5 <sup>5)</sup>
C12:0	4.49	0.66	3.76	0.45	4.08
C13:0		0.59		0.2	0.38
C14:0	8.86	12.09	7.83	13.64	10.15
C15:0 ISO					
C15:0 ANTEISO					
C15:1 w8c				0.1	
C15:0		5.2	1.27	3.98	3.19
C16:0 N alcohol					0.38
C16:1 w5c				0.11	
C16:0	34.09	33.72	33.27	34.88	33.87
C17:0 ANTEISO					
C17:1 w8c		0.64		0.27	
C17:0 CYCLO	20.87	9.97	17.55	15.96	23.74
C17:0		2.17	0.76	1.05	0.97
C18:3 w6c			0.29		
C18:1 w9c	0.85		0.78		
C18:1 w7c	9.92	12.65	12.97	8.84	4.4
C18:0	0.51	0.48	1.75	0.4	0.16
C19:0 CYCLO w8c	3.99	3.17	4.88	4.24	5.79
C19:0 10 methyl				0.18	
C14:0 3OH/C16:0 ISO I	6.13	7.71	6.32	7.71	7.44
C16:1 w7c/C15:0 ISO 2OH	7.51	8.61	7.34	6.33	3.94
C17:1 ISO I/ANTEI B				0.14	
unknown 14.502		1.68	0.59	0.81	0.98
unknown 11.799				0.15	

<sup>1)</sup>*Shigella sonnei*; <sup>2)</sup>*Proteus mirabilis*; <sup>3)</sup>*Escherichia coli*; <sup>4)</sup>*Proteus spp.*; <sup>5)</sup>*Escherichia coli*.

*Escherichia* 속 2 균주로 동정되었다.

본 연구에서는 세포막 지방산 조성 분석을 실시하여 높은 유효성을 지니는 균주를 먼저 선별한 후, 창상 관련 미생물을 보다 확실하게 동정하기 위하여, 미생물의 유전적 표현형에 기초해 동정하는 16S rRNA sequence를 실시하였다. 16S rRNA sequence 분석은 유전자의 일부분을 PCR 반응으로 증폭하여 DNA 염기서열을 결정하는 방법인데, 균주의 16S rRNA 염기서열을 NCBI BLAST search engine을 사용하여 분석한 결과, *Shigella* 속, *Proteus* 속과 *Escherichia* 속 염기 서열과 상동성을 보였다(Fig. 1-5). 따라서 본 연구 분석 결과, *Shigella sonnei*와 1415개의 염기서열과 비교 시 1411개의 염기가 일치하였고, *Proteus mirabilis*와는 1417개 염기서열 중 1416개 일치, 그리고 *Escherichia coli*와는 염기서열 1425개 중 1411개 일치 등 5 균주가 각각 *Shigella* 속, *Proteus* 속과 *Escherichia* 속과 99%의 상동성을 나타냈다. 그러므로 본 연구에서 계육의 창상 부위 미생물을 동정하기 위한 세포막 지방산 조성 분석과 16S rRNA sequence 분석 결과를 토대로, 계육의 창상 부위로부터 분리된 주요 세균은 *Shigella sonnei*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* 라고 판단된다. 이러한 결과는 물론 양계장의 개별적인 위생 상태 등 환경적인 요인에 의한 차이를 감안하더라도, 본 연구에서 실험된 대상 육계 수를 고려할 때 창상과 관련되는 주요 미생물들이 *Shigella sonnei*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* 등인 것으로 판단되어 이러한 미생물들의 제거가 도제된 계육의 저장, 유통 중 품질 및 위생학적 안전성을 향상시키는 데 있어서 주요한 기초연구를 제공한다는 데 본 연구의 의의가 있다고 하겠다.

3	CAAAGUGGUAAGCGCCCGAAGGUUAAAGCUACCUACUUCUUUGCAACCCACUCCCA	62
63	UGGUGUGACGGGGGUGUACAAGGCCCGGGAACGUAAUUCACCGUGGCAUUCUGAUCCA	122
123	CGAAUACUAGCGAUUCCGACUUAUGGAGUCGAGUUAUCAGACUCCAACCGACUACGAC	182
183	GCACUUAUGAGGUCCGCUUGCUCUCGCGCGGUCGCUUCUCUUUGUAUUGCAGCAUUGUAC	242
243	CACGUGUGUAGCCUGGUCGUAAGGGCCAUGAUGACUUGACGUCAUCCCCACCUUCCUCC	302
303	AGUUUAUCACUGGCAGUCUCCUUAGAUUCCCGGCCGACCCGUCGGCAACAAGGCUAAG	362
363	GGUUGCAGUUGCGGACUUAACCAAUUACACACAGCAGCAGCAGCCAUUG	422
423	CAGCACCUGUCUCACGGUUCGGGAAGGCACAUCUCAUCUCUGAAAACUUCGGUGGAUGU	482
483	CAAGACCAGGUAAGGUUCUCGCGUUGCAUCGAAUUAACCAACUCCACCGCUUGUG	542
543	CGGGCCCCCGUCAAUUCAUUGAGUUUAACCUUGCGGCGGUAUCCCCAGGCGGUCGAC	602
603	UUAACGCGUAGCUCGGGAAGCCACGCCUCAAGGGCAACAACCUCCAAGUCGACAUUGUU	662
663	ACGGCGUGGACUACCAGGGUAUCUAAUCCUGUUUGCUCGCCACGCUUUCGCACCUGAGCG	722
723	UCAGUCUUCGUCCAGGGGGCCGCUUCGCCACCGGUAUUCUCCAGAUUCUACGCAUUU	782
783	CACCGUACACCUGGAAUUCUACCCCCUCUACGAGACUCAAGCUUGCCAGUACAGAU	842
843	CAGUCCCGAGCCCGGGGAUUUCAUCUGACUUAACAACAACCGCCUCCGUCGUCGCU	902
903	UUAACGCCAGUAAUUCGAAUUAACGCUUGCACCCUCCGUAUUAACGCGGUCGUCGACG	962
963	GAGUUAAGCCCGUCUUCUCUGCGGGUAACGUCAAUAGAGCAAAGGUAUUAACUUUACUCC	1022
1023	CUUCCUCCCGGUGAAAGUACUUUACAACCCGAAGGCCUUCUUAUACACCGGCAUUGG	1082
1083	UGCAUCAGGUUGCGCCAUUGUGUACAUAUUCUCCACUGCUCUCCGUCUCCGAGGUCG	1142
1143	ACCGUGUCUCAGUUCAGUGGGCUGGUAUCCUCUCAGACCAGCUAGGGAUUCGUCGCCU	1202
1203	AGGUGAGCCGUUACCCACCUACUAGCUAAUCCAUUCUGGGCAUCCGAUUGGCAAGAGG	1262
1263	CCCGAAGGUUCCUUCUUUGGUCUUGCGACAUAUUGCGGUAUUAAGCUACCGUUCCAGUA	1322
1323	GUUAUCCUCCUACUAGCGAGUUCUCCAGACAUAUCUACCCGUCGCCACUCGUCAGC	1382
1383	GAAACAGCAAGCUGUUUGGUCUACCGUUCGACU	1417

**Fig. 1. BLAST search result of sample 1 corresponding to 16S rRNA gene of *Shigella sonnei*.**

Sequence of 16S rRNA of *Shigella sonnei* is underlined.

1	<u>UGGUAAGCGCCC</u> UCCCGAAGGUUAAGCUACCUACUUCUUUUGCAACCCACUCCCAUGGUG	60
61	<u>UGACGGGCGGUGUGUACA</u> AGGCCCGGGAACGUAUUCACCGUAGCAUUCUGAUUCACGAU	120
121	<u>ACUAGCGAUUCCGACUUCA</u> UGGAGUCGAGUUGCAGACUCCAAUCCGGACUACGACAGACU	180
181	<u>UUAUGAGUUC</u> CGCUUGCUCUCGCGAGGUCGCUUCUCUUUGUAUCUGCCAUUGUAGCAGU	240
241	<u>GUGUAGCCCUACUCGUA</u> AGGGCCAUGAUGACUUGACGUCAUCCCCACCUUCCUCGGUUU	300
301	<u>AUCACCGGCAGUCUCCU</u> UUGAGUUCCACCAUTACGUGCUGGCAACAAAGGAUAAGGGUU	360
361	<u>GCGCUCGUUGCGGGACU</u> AAACCCAACAUUUCACAACACGAGCUGACGACAGCCAUGCAGC	420
421	<u>ACCUGUCUCAGCGU</u> UCCCGAAGGCACUCCUCUAUCUCUAAAGGAUUCGCUGGAUGUCAAG	480
481	<u>AGUAGGUAAGGUUCU</u> UCGCGUUGCAUCGAAUUAACCACAUGCUCACCACCGCUUGUGCGGG	540
541	<u>CCCCGUCAAUUCAUU</u> UGAGUUUUAACCUUGCCGGCCGUACUCCCCAGGCGGUCGAUUUA	600
601	<u>CGCGUUAGCUCCAGA</u> AGCCACGGUUCAAGACCACAACCUCUAAAUCGACAUCGUUUACAG	660
661	<u>CGUGGACUACCAGGGU</u> AUCUAAUCCUGUUUGCUCUCCACGCUUUCGCACCUGAGCGUCAG	720
721	<u>UCUUUGUCCAGGGGG</u> CCGCCUUCGCCACCGGUAUUCUCCACAUCUCUACGCAUUUCACC	780
781	<u>GCUACACAUGGAAU</u> UCUACCCCCUCUACAAGACUCUAGCCAACCAGUUUCAGAUGCAAU	840
841	<u>UCCCAAGUUAAGCUC</u> GGGGCUUUCACAUUCGACUUAUUGACCGCCUGCGUGCGCUUAC	900
901	<u>GCCCAGUAAUUCG</u> AUUAACGCUUGCACCCUCCGUAAUACCGCGGUCGUGGCACGGAGU	960
961	<u>UAGCCGGUGCUUCU</u> UCUGCGGGUAACGUCAAUUGAUAAGGGUAUUAACCUUAUCACCUUC	1020
1021	<u>CUCCCCGUGAAAGU</u> ACUUACAACCCUAAAGCCUUCUUAUACACGCGGCAUGGCUGCA	1080
1081	<u>UCAGGCUUGCGCC</u> CAUUGUGCAAUAUCCCCACUGCUGCCUCCCGUAGGAGUCUGGGCCG	1140
1141	<u>UGUCUCAGUCCAGU</u> GUGGCUGAUCAUCCUCUCAGACCAGCUAGAGAUUCGUCGCCUAGGU	1200
1201	<u>GAGCCUUACCCACC</u> UACUAGCUAAUCCCAUUGGGUUAUCCGAUAGUGCAAGGUCCG	1260
1261	<u>AAGAGCCCCUGCU</u> UUGGUCGUAAGACAUAUUGCGGUAUAGCCACCGUUUCCAGUAGUUA	1320
1321	<u>UCCCCUCUAUCGGG</u> CAGAUCCCCAUACAUAUCACCCGUCGCGCUCGUCAGCAAGA	1380
1381	<u>AAGCAAGCUUCUC</u> CGUUACCGCUCGACUUGCAUGU	1410

Fig. 2. BLAST search result of sample 2 corresponding to 16S rRNA gene of *Proteus mirabilis*.

Sequence of 16S rRNA of *Proteus mirabilis* is underlined.

8	<u>AAGUGGUAAGCGCCC</u> UCCCGAAGGUUAAGCUACCUACUUCUUUUGCAACCCACUCCCAUG	67
68	<u>GUGUGACGGGCGGUG</u> UGUACAAGGCCCGGGAACGUAUUCACCGUGGCAUUCUGAUCCACG	127
128	<u>AUUACUAGCGAU</u> UCCGACUUCAUGGAGUCGAGUUGCAGACUCCAAUCCGGACUACGACGC	187
188	<u>ACUUUAUGAGG</u> UCCGCUUGCUCUCGCGAGGUCGCUUCUCUUUGUAUGCGCCAUUGUAGCA	247
248	<u>CGUGUGUAGCC</u> UGGUCGUAAGGGCCAUGAUGACUUGACGUCAUCCCCACCUUCCUCCAG	307
308	<u>UUUAUCACUGG</u> CAGUCUCCUUGAGUUCCGGCCGGACCGCUGGCAACAAAGGAUAAGGG	367
368	<u>UUGCGCUCGU</u> UGCGGGACUUAACCCAACAUUUCACAACACGAGCUGACGACAGCCAUGCA	427
428	<u>GCACCUGUCU</u> CACGGUUCCCGAAGGCACCUUCUCAUCUCUGGAAAGUCCGUGGAUGUCA	487
488	<u>AGACCAGGUA</u> AGGUUCUUCGCGUUGCAUCGAAUUAACCACAUGCUCACCACCGGUUGUGCG	547
548	<u>GGGCCCCGUC</u> AAUUCAUUUGAGUUUAACCCUGCGGCCGUACUCCCCAGGCGGUCGACU	607
608	<u>UAACGCGU</u> UAGCUCCGGAAGCCACGCCUCAAGGGCACAACCUCCAAGUCGACAUCGUUU	667
668	<u>ACGGCGUGG</u> ACUACCAGGGUAUCUAAUCCUGUUUGCUCCCCCACGCUUUCGCACCUGAGCG	727
728	<u>UCAGUCUUCG</u> UCCAGGGGGCCGCCUUCGCCACCGGUAUUCCUCCAGAUUCUACGCAUUU	787
788	<u>CACCGCUAC</u> ACCUGGAAUUCUACCCCCUCUACGAGACUCAAGCUUGCCAGUAUCAGAUG	847
848	<u>CAGUCCCAGG</u> UUGAGCCCGGGGAUUACAUCGACUUAACAAACCGCCUGCGUGCGCU	907
908	<u>UUACGCC</u> CAGUAAUUCGAAUAAACGCUUGCACCCUCCGUAAUACCGCGGCUGCGGCACG	967
968	<u>GAGU</u> UAGCCCGGUGCUUCUUCGCGGUAACGUCAAUUGAGCAAAGGUAUUAACUUUACUC	1027
1028	<u>CCUUC</u> CCCCCGUGAAAGUACUUUAACAACCCGAAGGGCCUUCUUAUACACGCGGCAUGG	1087
1088	<u>CUGCAUCAGG</u> CUUGCGCCAUUGUGCAAUAUCCCCACUGCUGCCUCCCGUAGGAGUCUG	1147
1148	<u>GACCGUGUC</u> CAGUCCAGUGUGGUGGUAUCCUCUCAGACCAGCUAGGGAUCGUCGCC	1207
1208	<u>UAGGUGAG</u> CCGUUACCCACCAACAAGCUAAUCCCAUCUGGGCACAUCCGAUGGCAAGAG	1267
1268	<u>GCCCCAAGG</u> UCCCCUCUUUGGUCUUGCGACGUUAUGCGGUAUAGCUACCGUUUCCAGU	1327
1328	<u>AGUUA</u> CCCCCUCCAUCAGGCAGUUUCCAGACAUAUCACCCGUCGCGCACUCGUCAG	1387
1388	<u>CGAAGAAGCA</u> AGCUGUUUGCCUGUUACCGUUCGACUUGCAUGUGU	1417

Fig. 3. BLAST search result of sample 3 corresponding to 16S rRNA gene of *Escherichia coli*.

Sequence of 16S rRNA of *Escherichia coli* is underlined.

1	<u>UGGUAAGCGCCUCCCGAAGGUUAAGCUACCUACUUCUUUUGCAACCCACUCCCAUGGUG</u>	60
61	<u>UGACGGGCGGUGUGUACAAGGCCCGGGAACGUAAUUCACCGUAGCAUUCUGAUCUACGAUU</u>	120
121	<u>ACUAGCGAUUCCGACUUCAUGGAGUCGAGUUGCAGACUCCAAUCCGGACUACGACAGACU</u>	180
181	<u>UUAUGAGAUCCGCUUGCUCUCGCGAGGUCGCUUCUCUUUGUAUCUGCCAUUGUAGCAGU</u>	240
241	<u>GUGUAGCCCUACUCGUAAGGGCCAUGAUGACUUGACGUAUCCCCACCUUCCUCCGGUUU</u>	300
301	<u>AUCACCGGCAGUCUCCUUUGAGUUCCACCAUUCAGUGCUGGCAACAAAGGAUAAGGGUU</u>	360
361	<u>GCGCUCGUUGCGGGACUUAACCCAACAUUUCACAACACGAGCUGACGACAGCCAUGCAGC</u>	420
421	<u>ACCUGUCUCAGCGUUCGCCGAAGGCACUCCUCUAUCUCUAAAGGAUUCGCUGGAUGUCAAG</u>	480
481	<u>AGUAGGUAAGGUUCUUCGCGUUGCAUCGAAUUAACCCACAUGCUCACCGCUUGUGCGGG</u>	540
541	<u>CCCCGUCAAUUCAUUUGAGUUUUAACCUUGC GGCCGUACUCCCCAGGCGGUCGAUUUAA</u>	600
601	<u>CGCGUUAAGCUCCAGAAGCCACGGUUCAAGACCACAACCUCUAAAUCGACAUCGUUUACAG</u>	660
661	<u>CGUGGACUACCAGGGUAUCUAAUCCUGUUUGCUCUCCACGCUUUCGCACCUGAGCGUCAG</u>	720
721	<u>UCUUUGUCCAGGGGGCCGCCUUCGCCACCGGUAUUCUCCACAUCUCUACGCAUUUACCC</u>	780
781	<u>GCUACACAUGGAAUUCUACCCCCUCUACAAGACUCUAGCCAACCAGUUUCAGAUGCAAU</u>	840
841	<u>UCCCAAGUUAAGCUCGGGGCUUUCACAUCUGACUUAUUGACCGCCUGCGUGCGCUUUAC</u>	900
901	<u>GCCAGUAAUUCGGAUUAACGCUUGCACCCUCCGUAAUACCGCGGUCGUCGGCACGGAGU</u>	960
961	<u>UAGCCGGUGCUUCUUCGCGGGUAACGUCAAUUGAUAAAGGGUAUUAACCUUAUCACCUUC</u>	1020
1021	<u>CUCCCGCUGAAAGUACUUUACAACCCUAAGGCCUUCUUCAUACACGCGGCAUGGCUGCA</u>	1080
1081	<u>UCAGGCUUGC GCCCAUUGUGCAAUUAUCCCCACUGCUGCCUCCCGUAGGAGUCUGGGCCG</u>	1140
1141	<u>UGUCUCAGUCCAGUGUGGCUGAUCUCCUCUCAGACCAGCUAGAGAUCGUCGCCUAGGU</u>	1200
1201	<u>GAGCCUUUACCCACCUACUAGCUAAUCCCAUUGGGUUCAUCCGAUAGUGCAAGGUCCG</u>	1260
1261	<u>AAGAGCCCCUGCUUUGGUCGUAAGACAUAUUGCGUAUUAAGCCACCGUUUCCAGUAGUUA</u>	1320
1321	<u>UCCCCUCUACGCGGCAGAUCCCCAUACAUAUCUACCCGUCGCGCUCGUCAGCAAGA</u>	1380
1381	<u>AAGCAAGCUUUCUCCUGUUAACCGCUCGACUUGCAUG</u>	1410

Fig. 4. BLAST search result of sample 4 corresponding to 16S rRNA gene of *Proteus* spp.

Sequence of 16S rRNA of *Proteus* spp is underlined.

1	<u>CGCCUCCCGAAGGUUAAGCUACCUACUUCUUUUGCAACCCACUCCCAUGGUGUGACGGG</u>	60
61	<u>CGGUGUGUACAAGGCCCGGGAACGUAAUUCACCGUGGCAUUCUGAUCCACGAUUACUAGCG</u>	120
121	<u>AUUCGACUUCAUGGAGUCGAGUUGCAGACUCCAAUCCGGACUACGACGCACUUUAUGAG</u>	180
181	<u>GUCCGCUUGCUCUCGCGAGGUCGCUUCUCUUUGUAUUGCGCCAUUGUAGCAGUGUGUAGC</u>	240
241	<u>CCUGGUCGUAAGGGCCAUGAUGACUUGACGUAUCCCCACCUUCCUCCAGUUUAUCAUCG</u>	300
301	<u>GCAGUCUCCUUUGAGUUCCCGGCCGACCGCUGGCAACAAAGGAUAAGGGUUGCUCUCGU</u>	360
361	<u>UGC GGACUUAACCCAACAUUUCACAACACGAGCUGACGACAGCCAUGCAGCACCUGUCU</u>	420
421	<u>CACAGUCCCCGAAGGCACC---CCAUCUCUGGAAAGUUCUGUGGAUGUCAAGACCAGGUA</u>	480
481	<u>AGGUUCUUCGCGUUGCAUCGAAUUAACCCACCAUGCUCACCGCUUGUGCGGGCCCCCGU</u>	540
541	<u>CAAUUCAUUUGAGUUUUAACCUUGC GGCCGUACUCCCCAGGCGGUCGACUUAACGCGUUA</u>	600
601	<u>GCUCCGGAAGCCACGCCUCAAGGGCACAACCUCCAAGUCGACAUCGUUUACGGCGUGGAC</u>	660
661	<u>UACCAGGGUAUCUAAUCCUGUUUGCUCUCCACGCUUUCGCACCUGAGCGUCAGUCUUCGU</u>	720
721	<u>CCAGGGGGCCGCCUUCGCCACCGGUAUUCUCCAGAUUCUACGCAUUUACCGCUACAC</u>	780
781	<u>CUGGAAUUCUACCCCCUCUACGAGACUCAAGCUUGCCAGUAUCAGAUGCAGUUCCAGG</u>	840
841	<u>UUGAGCCCCGGGGAUUUCACAUCUGACUUAACAAACCGCUGCGUGCGCUUUACGCCCAGU</u>	900
901	<u>AAUUCGUAUUAACGCUUGCACCCUCCGUAAUACCGCGGUCGUCGGCACGGAUUAGCCGG</u>	960
961	<u>UGCUCUUCUGCGGGUAACGUCAAUGAGCAAAGGUAAUUAACUUUACUCCCUUCCUCCCCG</u>	1020
1021	<u>CUGAAAGUACUUUACAACCCGAAGGCCUUCUUCAUACACGCGGCAUGGCUGCAUCAGGCU</u>	1080
1081	<u>UGC GCCCAUUGUGCAAUUAUCCCCACUGCUGCCUCCCGUAGGAGUCUGGACCGUGUCUA</u>	1140
1141	<u>GUUCCAGUGUGGCUGGUAUCCUCUCAGACCAGCUAGGGAUCGUCGCCUAGGUGAGCCGU</u>	1200
1201	<u>UACCCACCC-AC-AGCUAAUCCCAUCUGGGCACAUCCGAUGGCAAGAGGCCCGAAGGUCC</u>	1260
1261	<u>CCCUCUUUGGUCUUGCGACGUUAUGCGGUAAUAGCUACCGUUUCCAGUAGUUAUCCCCU</u>	1320
1321	<u>CCAUCAGGCAGUUUCCAGACAUAUCUACCCGUCGCGCACUCGUCAGCAAAG AGCAAAG</u>	1380
1381	<u>CUUCUU-GCUG--ACCGUUCGACUUGCAUG</u>	1410

Fig. 5. BLAST search result of sample 5 corresponding to 16S rRNA gene of *Escherichia coli*.

Sequence of 16S rRNA of *Escherichia coli* is underlined.

## 요 약

본 연구에서는 계육 창상부위의 원인이 되는 세균을 동정하였다. 계육의 등과 다리 창상 부위로부터 무작위 선별법을 통해 총 10주의 균주를 분리하였다. 순수 분리 배양된 균주의 세포막 지방산 조성 분석 결과, 5 균주가 높은 유효성을 지녔으며, *Shigella sonnei*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*로 동정되었다. 또한 16S rRNA sequence를 실시한 결과, 동정된 균주는 *Shigella sonnei*(99%), *Proteus mirabilis*(99%) 그리고 *Escherichia coli*(99%)와 높은 염기서열 상동성을 나타냈다. 따라서 본 연구에서 조사된 계육의 등과 다리 부위 주요 창상 원인균은 *Shigella sonnei*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*인 것으로 밝혀졌다.

## 감사의 글

본 연구는 농촌진흥청의 연구비 지원으로 이루어진 것이며, 이에 감사를 드립니다.

## 참고문헌

1. Bailey, J.S., Lyon, B.G., Lyon, C.E., and Windham, W.R. (2000) The microbiological profile of chilled and frozen chicken. *J. Food. Prot.*, 63, 1228-1230
2. Ko, J.K., Ma, Y.H., and Song, K.B. (2005) Effect of electron beam irradiation on the microbial growth and qualities of chicken breast. *J. Korean. Soc. Appl. Biol. Chem.*, 48, 120-127
3. Hong, Y.H., Ku, K.J., Kim, M.H., Won, M.S., Chung, K.S., and Song, K.B. (2008) Survival of *Escherichia coli*

O157:H7 and *Salmonella typhimurium* inoculated on chicken by aqueous chlorine dioxide treatment. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 18, 742-745

4. Kim, K.K., Eom, S.J., Im, J.H., Lee, K.M., Yoo, S.J., Kim, H.U., and Kim, G.B. (2009) A study on the effects of probiotic yogurt on the microbial quality of fresh chicken meat during cold storage. *Korean. J. Food Sci. Anim. Resour.*, 29, 269-277
5. Tamblyn, K.C., Conner, D.E., and Bilgili, S.F. (1997) Utilization of the skin attachment model determine the antibacterial efficacy of potential carcass treatments. *Poultry Sci.*, 76, 1318-1323
6. Zhou, Q., Gu, C.Q., Hu, X.Y., Wang, D.H., Li, X.M., Zhou, S.Q., and Cheng, G.F. (2007) Role of interleukin 6 in the pathogenesis of an avian model of *Staphylococcus aureus* arthritis. *Poultry Sci.*, 86, 1245-1250
7. Jeffrey, J.S., Tonooka, K.H., and Lozano, J. (2001) Prevalence of *Camphylobacter* spp. from skin, crop, and intestine of commercial broiler chicken carcasses at processing. *Poultry Sci.*, 80, 1390-1392
8. Arshad, N., Neubauer, C., Hasnain, S., and Hess, M. (2008) *Peganum harmala* can minimize *Escherichia coli* infection in poultry, but long term feeding may induce side effects. *Poultry Sci.*, 87, 240-249
9. Kim, G.Y., Suh, J.T., Choi, S.K., and Lee, H.J. (2007) A case of bacteria caused by *Arthrobacter woluwensis*. *Korean. J. Clin. Microbiol.*, 10, 160-163
10. Hyun, K.W., Lee, J.S., Ham, J.H., and Choi, S.Y. (2005) Isolation and identification of microorganism with potent fibrinolytic activity from Korean traditional *Deonjang*. *Korean. J. Microbiol. Biotechnol.*, 33, 24-28

(접수 2009년 11월 30일, 채택 2010년 3월 19일)