

병계로부터 분리된 *Salmonella pullorum*의 생화학적 특성과 항균성 약제에 대한 감수성

박정우, 이종인, 구본행

충북가축위생시험소

Biological Properties and Antimicrobial Drug Susceptibilities of *Salmonella pullorum* Isolated from Diseased Chickens

Jong-Woo Park, Jong-In Lee, Bon Heng Goo

Chungbuk Veterinary Service Laboratory

Abstract

The present study was conducted to investigate biochemical properties, antimicrobial drug susceptibilities and epidemiology of 71 strains of *Salmonella pullorum* isolated from about 110 diseased chickens of 23 poultry farms located in Cheongjoo, Cheongweon and Koesan county, Chungbuk province, from August 1991 to March 1993. The isolates were identified as *S. pullorum* by serological and biochemical means. *S. pullorum* were mostly isolated in chicken under 3 weeks of age, and also isolated in 58, 72 days and 23 weeks of age.

According to breeds, most of the cultures were isolated in colored broiler chicken (14 to 23 cases), and also variously isolated in native chicken, white broiler chicken, black bone chicken and laying hen.

According to organs of diseased chickens, most of the cultures were isolated in liver (37 to 71 strains), and also variously isolated in spleen, lungs, blood, heart, oviduct and brain.

According to media used for primary culture from organs, most of the cultures were isolated purely with SS and BHI medium.

The majority of biochemical properties of *S. pullorum* isolated from diseased chickens were identical to those of the standard strains, but in the properties of rhamnose, and arabinose fermentation, some isolates were negative in spite of positive in those of standard *S. pullorum*.

All the isolates were highly susceptible to colistin, amikacin, kanamycin, gentamicin, carbenicillin, ampicillin, sulfamethoxazole, cephalothin, tetracycline and piperacillin regardless of isolated years, but no susceptible to penicillin, erythromycin, vancomycin, tylosin and novobiocin.

Key word : properties, drug susceptibilities, *Salmonella pullorum*, diseased chickens.

서 론

추 백리는 *Salmonella pullorum*이 원인균인 조류의 전염성 질병으로써 백색 설사가 특징이나 어린 병아리에서는 급성 전신성 패혈증을 일으키고, 성계에서는 국소 감염증 또는 불현성 감염증을 일으키는 것으로 알려지고 있다.¹⁾

이 질병은 1899년 Rettger에 의해 *S. pullorum*이 원인체인 것으로 밝혀졌으며 그후 여러 연구자들의 연구에 의해 균의 성장, 감수성 숙주, 병원성, 난계대성 관계 등이 밝혀진 바 있다.^{1, 2)}

전형적인 난계대성 질병인 이 질병의 피해는 주로 어린 병아리의 폐사와 관계있으며 고도의 숙주 특이성으로 조류에서 통상 문제되나 사람에서 salmonellosis를 일으킨 보고도 있다.^{1, 3)}

이 질병은 현재 세계 대부분의 국가에서 발생이 보고되었고, 일부 박멸된 국가도 있으나 아직도 많은 국가에서는 enzootic 질병으로 발생하고 있다.^{1, 4)}

우리나라에서도 이 질병을 1종 법정 가축 전염병으로 지정하여 방역을 철저히 실시한 관계로 몇년 전까지는 그 임상적 발생례가 드문 것으로 알려졌으나 최근 토종닭 유형의 닭을 사육하는 농가가 증가하면서 이들 종의 초생추뿐만 아니라 다른 여러종의 다양한 일령층에서 이 질병의 발생이 증가하고 있음이 최근의 병성감정을 통해 확인 되고 있다.

따라서 본 연구에서는 이 질병의 최근의 발생 양상을 알아보기 위해 그동안 의뢰되었던 닭 가검물 중 동 질병으로 진단된 case의 일령별, 품종별 발생분포 및 동가검물로부터 분리된 원인균의 생화학적 특성 및 약제 감수성에 대해서 시험한 결과를 요약하여 보고하는 바이다.

재료 및 방법

공시 가검물 : 1991년 8월부터 1993년 3월까지 충북 청주, 청원, 괴산지역의 양계농가로부터 병

성감정 의뢰된 닭 가검물 110례를 시험에 사용하였다.

원인체의 분리 및 동정 : Edward⁵⁾의 방법을 적용하여 실시하였다. 즉 먼저 병계의 임상 증상을 관찰한 후 부검하여 피하적 및 내부장기의 육안적 소견을 관찰하였다.

그후 멸균면봉을 사용하여 내부장기로부터 무균적으로 샘플을 채취하여 *Salmonella shigella* medium(SS), MacConkey medium(Mac), brain heart infusion broth(BHI), selenite broth(SB) 및 혈액배지(Difco) 등에 접종하여 37°C 혐기 및 호기상태로 배양하였다.

배양 24시간후 집락형태, 그람염색상 및 균형태 등을 확인하여 *S. pullorum*으로 추정되면 바로 표준 살모넬라 O형 factor 항 혈청(Difco)과 평판 응집반응시켜 그 결과를 Kauffman-White분류 방법^{1, 6)}에 의거 혈청학적으로 동정후 확정된 균은 최소한의 영양분이 첨가된 유동한천배지에 장기 보존하면서 각종 생화학적 검사를 실시하여 성장조사와 아울러 *Salmonella gallinarum*과의 감별도 실시하였다.

생화학적 성장시험 : 혈청학적 시험에 의해 *pullorum*으로 거의 확정된 strain에 대한 생화학적 성장검사는 Cowan⁷⁾과 Macfaddin⁸⁾의 방법에 준하여 운동성, 질산염 환원시험, 황화수소 산생능 및 각종 당 분해시험 등에 대해 조사하였다.

항균제 감수성시험 : 분리균의 항균제 감수성 시험은 BBL사의 sensi disc를 이용하여 Bryant⁹⁾의 디스크 확산법으로 시험하였으며 사용 디스크의 약제 함량은 표 7에 표시된 바와 같다. 디스크에 접종하는 균액은 표준 탁도액(99.5ml의 0.36N H₂SO₄에 0.5ml의 0.04M BaCl₂를 혼합)과 같은 농도로 조절후 Mueller hinton medium(MHM)배지에 면봉으로 고르게 접종하여 37°C 부란기에서 호기조건으로 24시간 배양한 후 감수성 여부를 판정하였다.

결 과

1991년 8월부터 1993년 3월까지 충북 청주 근교 지역의 23개 양계농가로부터 병성감정 의뢰된 110례의 병계에서 71주의 *S. pullorum*을 분리한 내역을 닭의 일령별, 품종별 장기별로 분석한 결과 표 1, 2 및 3과 같았다.

즉 표 1은 일령별 분리내역을 나타낸 것으로서 총 23례중 7일령 이전에서 분리된 것이 8례였으며, 7~14일령에서 7례, 14~21일령에서 5례 분리되었고, 58일령, 72일령 및 23주령에서도 각각 1례씩이 분리되었던 바 90% 정도가 21일령 이전에 분리되었다.

표 2는 품종별 분리내역을 나타낸 것으로서 총 23례중 유색육계가 14례, 토종닭이 5례, 백색육계가 2례로 나타났으며 오골계와 산란계가 각각 1례를 차지하였다.

표 3은 분리주 71주의 장기별 분리내역을 나타낸 것으로서 분리주의 52%인 37주가 간장에서, 22%인 15주가 비장에서, 11%인 8주가 혈액에서 분리되었고 기타 폐, 심장, 뇌 및 난관에서도 다양하게 분리되었다.

표 4에는 병계로부터 *S. pullorum*을 분리하기 위해 사용한 배지 종류별 분리성적을 나타낸 것으로서 SS와 BHI에서는 100% 분리되었으나 살모넬라 선택배지인 SB에서는 1건도 분리되지 않았다.

한편, 이와 같이 여러 품종 및 일령으로부터 3

년여에 걸쳐 분리한 71주의 생화학적 성상검사 결과는 표 5 및 6에 나타낸 바와 같다. 즉 분리주들은 모두 oxidase, urease, ONPG반응, arginine dehydrolase, citrate utilization, H₂S production 및 운동성 등에 있어서는 음성반응을 보여 주었고 nitrate reduction, lysine decarboxylase, ornithine decarboxylase 및 TSI(K/A) 반응에서는 모두 양성반응을 보여주었다.

또한 각종 당분해 시험결과 glucose, mannitol, trehalose등에서는 모두 양성반응을 보여주었으나 inositol, sorbitol, sucrose, maltose, dulcitol 등에서는 모두 음성반응을 나타내었다. 그러나 rhamnose와 arabinose에서는 몇몇 균주가 음성 반응을 보여주었다.

분리주들의 각종 항생제에 대한 감수성 여부 시험결과는 표 7에 나타낸 바와 같다. 즉, 분리주들은 분리년도에 관계없이 콜리스틴, 아미카신, 가나마이신, 겐타마이신, 앰피시린, 세파록신, 테트라사이클린 등에는 모두 거의 비슷한 수준으로 감수성을 가진 것으로 나타났으나 페니실린, 반코마이신, 에리스로마이신, 타이로신, 노보바이오신 등에 대해서는 모두 감수성이 없는 것으로 나타났다. 한편 스트렙토마이신에 대해서는 분리년도에 따라 감수성에 약간의 변동이 있는 것으로 나타났다.

Table 1. Ages of diseased chickens isolating *Salmonella pullorum*

Ages	No. of chicken herds isolated	No. of strains isolated
7 days >	8	21
7~14 days	7	16
14~21 days	5	24
58 days	1	4
72 days	1	4
23 weeks	1	2
Total	23	71

Table 2. Species of diseased chickens isolating *Salmonella pullorum*

Species	No. of chicken herds isolated	No. of strains isolated
Colored broiler chicken	14	47
Native chicken	5	14
White broiler chicken	2	5
Black bone chicken	1	3
Laying hen	1	2
Total	23	71

Table 3. Origin of 71 *Salmonella pullorum* cultures used in the present study

Origins	No. of cultures isolated	% of cultures isolated
Liver	37	52
Spleen	15	22
Lungs	5	7
Heart	3	4
Brain	2	3
Blood	8	11
Oviduct	1	1
Total	71	100

Table 4. Isolation of *Salmonella pullorum* according to Media used for primary culture from diseased chickens

Media	No. of strains isolated	%
SS agar	71	100
Selenite borth	0	0
BH1 broth	71	100

Table 5. Biochemical and cultural properties of 71 cultures of *Salmonella pullorum* isolated from diseased chickens

Characters	No. of positive Cultures	% of positive cultures
Oxidase	0	0
Urease	0	0
Nitrate reduction	71	100
ONPG	0	0
Arginine dehydrolase	0	0
Lysine decarboxylase	71	100
Ornithine decarboxylase	71	100
Citrate utilization	0	0
H ₂ S production	0	0
Indole production	0	0
Voges-Proskauer reaction	0	0
Gelatine liquefaction	0	0
Motility	0	0
TSI (K / A)	71	100

Table 6. Fermentative properties of 71 cultures of *Salmonella pullorum* isolated from diseased chickens.

Fermentable substrates	No. of positive cultures	% of positive cultures
Glucose	71	100
Mannitol	71	100
Inositol	0	0
Sorbitol	0	0
Rhamnose	68	95.7
Sucrose	0	0
Melibiose	0	0
Arabinose	66	92.9
Maltose	0	0
Salicin	0	0
Dulcitol	0	0
Adonitol	0	0
Lactose	0	0
Glycerol	0	0
Trehalose	71	100
d-Tartrate	71	100

Table 7. Frequency of drug resistance of Salmonella pullorum isolated by year

Drug*	% of resistant strain		
	1991(11)**	1992(53)	1993(7)
Colistin(10mcg)***	0	0	0
Amikacin(30mcg)	0	0	0
Kanamycin(30mcg)	0	0	0
Gentamicin(10mcg)	0	0	0
Carbenicillin(100mcg)	0	0	0
Tobramycine(10mcg)	0	0	0
Ampicillin(10mcg)	0	0	0
Sulfamethoxazole(1.25+			
Trimethoprim 23.75mcg)	0	0	0
Penicillin(10U)	100	100	100
Streptomycin(10mcg)	100	90.5	85.7
Cephalothin(30mcg)	0	0	0
Tetracycline(30mcg)	0	0	0
Piperacillin(100mcg)	0	0	0
Vancomycin(30mcg)	100	100	100
Erythromycin(15mcg)	100	100	100
Tylocin	100	100	100
Novobiocin(30mcg)	100	100	100

* BBL Sensi-Disc

** Figures in parentheses indicate the Number of strains isolated in the year.

*** Figures in parentheses indicate the concentration of Disc.

고 찰

1929년 Pullorum disease로 명명되기 전에는 Bacillary white diarrhea라는 병명을 사용하기도 했던 이질병은 OIE(office international des epizooties)의 동물질병 분류상 list 2로 분류되고 있으며, 우리나라에서는 1종 법정 가축전염성으로 지정하여 방역에 임하고 있다.¹⁾

이 질병의 자연감염 숙주로는 닭과 칠면조를 위시하여 오리, 거위, 백조, 꿩, 메추리, 뇌조, 공작, 참새, 해오라기, 멧비둘기, 앵무새, 잉꼬 등

과 같이 거의 모든 조류가 해당되는 것으로 알려져 있으며^{3, 10, 11, 12)} 드물기는 하나 사람에게도 Salmonellosis를 일으켰다는 보고가 있다.¹⁾

이와 같이 조류에서 뿐만 아니라 사람에게도 감염될 수 있어 공중위생학적으로도 중요한 이질병은 최근 우리나라에서 그 임상적 발생이 증가하고 있음이 인지되고 있는 때에 본 연구에서는 그 동안의 발생양상을 정리 보고함으로써 본 병의 차후 방역수립에 다소나마 도움이 되고자 하였다.

1991년 8월부터 1993년 3월까지 3년여에 걸쳐 청주 근교지역의 양계농가로부터 병성 감정 의

되었던 병계로부터 Pullorum disease의 원인 균인 *S. pullorum*을 분리한 예는 총 23개 농가로부터 71주를 분리하였다.

이와 같은 분리를 병계의 일령별로 분석해보면 표 1과 같이 7일령 이전에서 8령 7~14일령에서 7령, 14~21일령에서 5령이 분리되어 21일령 이전에서 거의 90%가 분리된 것으로 나타나 최근 이 질병의 주발생 일령이 초생추임이 확인되었고, 이 질병이 난계대성 질병임과 본 시험의 주 발생일령을 종합해 볼때 이는 결국 모계로부터의 감염에 의한 것으로 생각된다. 또한 58일령, 72일령 및 23주령에서도 분리된 바 수직감염 뿐만 아니라 특정품종 즉 산란계, 성장기간이 다소 긴 유색육계, 토종닭, 오골계 등과 같은 품종에서의 회복계에 의한 수평감염에 의해서도 또한 병이 확산되고 있는 것으로 추정되고 있다.

품종별 분리율은 표 2와 같이 대부분이 유색육계와 토종닭에서 분리 되었으나 기타 백색육계, 오골계 및 산란계에서도 분리되었다.

추백리의 조류 종(species)간의 감수성 차이는 물론이고 같은 종의 품종(breeds)간에도 감수성에 차이가 있어, 일반적으로 lighter breeds가 heavy breeds보다 더 저항성이 크며 또 수컷이 암컷보다 더 저항성이 크다는 보고^{1, 13)}에 비추어 볼때 이와 같은 결과에서 유색 품종의 감수성 정도를 가늠해 볼 수 있으나 본 시험의 결과는 또한 이들 유색육계, 토종닭, 오골계 품종의 최근의 급작스런 사육 증가 요인에 따른 무분별한 종란생산 및 부화가 최근 본 질병이 다발해진 또하나의 요인이라 사료된다.

한편, 가검 병계의 장기별 균 분리율에서는 간장에서 가장 높은 분리율을 나타내었고 그 다음이 비장, 혈액, 폐, 심장, 뇌 및 난관 순으로 다양하게 분리되어 통상 전신상기에서 분리 가능하나 그 중에서도 간장이 원인균을 분리하는 장기로서 가장 적합하다는 보고와 일치하였다.¹⁾

또한 가검물로부터 균을 분리하기 위해 사용된 배지별 분리율에서는 SS와 BHI배지 등에서는 거의 순수하게 분리되었으나 살모넬라 선택

배지인 SB에서는 한건도 분리되지 않았는데, 이는 SB로는 접종균수가 5×10^3 개 이상일때만 *S. pullorum*의 증식이 인정되었다는 정 과 한의 보고⁴⁾ 및 Smith의 보고¹⁵⁾에 비추어 볼때 *S. pullorum*의 초대분리를 위한 배지로는 통상 살모넬라 분리배지인 SB보다는 SS, BHI 또는 Mac를 사용하는 것이 좋으리라 사료된다.

표준 살모넬라 O형 factor 항혈청 1, 9, 12에 강하게 평판응집반응이 되어 *S. pullorum*으로 인정되는 분리주 71주의 생화학적 성상 검사 결과에서는 분리주 대부분이 oxidase, ONPG, H₂S 산생능, urease, indole, gelatin 산생능 및 운동성과 inositol, sucrose, dulcitol, lactose, glycerol 등의 탄수화물 발효능에 있어서는 음성반응을 보여주었고 nitrate reduction, arginine dihydrolase, lysine 및 ornithine decarboxylase 반응과 glucose, mannitol, trehalose, d-tartrate, rhamnose 및 arabinose 등의 당 발효능에서는 양성반응을 보여주어 전형적인 *S. pullorum*의 생화학적 특성과 일치하였으나 몇몇 균주는 rhamnose, arabinose에 음성반응을 보여주었다.

*S. pullorum*과 *S. gallinarum*은 다같이 그룹 D somatic antigen 1, 9, 12를 소유하고 있으며 또한 살모넬라 속종 이들 2종만이 flagella antigen이 없는 것으로 알려지고 있어^{6, 10, 16)} 혈청학적으로는 이들 2종의 구분이 어려우나 생화학적 성상에서는 다소 차이가 있고 그 중에서도 dulcitol 발효능과 d-tartrate의 활용능이 이들 2종을 구분하는 지표로 많이 이용하고 있다.^{6, 16, 17)}

한편, *S. gallinarum*과는 달리 *S. pullorum* strains은 factor 12 somatic antigen을 다시 12₁, 12₂, 12₃으로 나누며 따라서 3개의 변이주가 있는 것으로 알려지고 있고 표준주와 변이주는 12₂, 12₃의 구성에 다소 차이가 있는 것으로 알려지고 있어^{1, 6, 16)} 분리주 71주에 대한 변이주 감별은 추후 연구가 더 필요하리라 본다.

1991년부터 1993년까지 분리된 분리주 71주의 항균 약제 감수성을 디스크 확산법으로 시험한 결과 분리주 대부분이 콜리스틴, 아미카신, 겐타

마이신, 카베니실린, 앰피실린, 설파메톡사졸, 세파록신, 테트라사이클린 및 피페라실린 등의 항생제에는 분리시기에 따른 차이없이 거의 동일한 정도의 억제대로 감수성이 있었으나 페니실린, 에리스로마이신, 반코마이신, 타이로신 및 노보바이오신 등에는 전혀 감수성이 없는 것으로 나타나 본 균의 항원 특성상 내성균의 출현과 내성균으로부터의 내성 획득이 거의 없었던 것으로 사료된다.

한편 스트렙토마이신에는 분리년도에 따라 감수성균이 출현되었는데 이는 최근의 본 약제 사용빈도 여부와 관련이 있는 것으로 사료된다.

결 론

1991. 8월부터 1993. 3월까지 충북 청주, 청원 및 괴산지역에 소재하는 23개 양계농가로 부터 병성감정 의뢰인 110여마리의 병계에서 71주의 *Salmonella pullorum*을 분리하여 혈청학적으로 동정하고, 이어 생화학적 특성 및 항균약제에 대한 감수성 시험을 실시한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

*Salmonella pullorum*이 분리된 병계의 일령은 대부분이 3주령이내의 어린병아리였으나 58일 및 72일령에서도 1건씩 분리되었고 23주령에서도 1건이 분리되었다.

균이 분리된 병계의 품종은 대부분이 유색육계(23건 중 14건) 품종이었으나 토종닭(5), 백색육계(2), 오골계(1) 및 산란계(1)에서도 다양하게 분리되었다.

균이 분리되는 주요 장기로는 간장, 비장, 혈액, 폐, 심장, 뇌 및 난관 등의 순으로 다양하였으며, SS, BHI agar에서 거의 순수하게 분리되었다.

분리균의 생화학적 특성 시험에서는 rhamnose, arabinose 등의 일부 당발효 성상에서 몇몇 분리균주가 음성으로 나타났으나 기타 특성은 전형적인 *Salmonella pullorum*의 생화학적 특성과 동일하였다.

분리균의 항균 약제 감수성 시험에서는 콜리스틴, 아미카신, 가나마이신, 겐타마이신, 카베니실린, 앰피실린, 설파메톡사졸, 세파록신, 테트라사이클린 및 피페라실린 등의 항생제에 분리균주 전부가 분리시기에 따른 차이없이 거의 동일한 정도의 억제대로 감수성이 있었으며, 페니실린, 에리스로마이신, 반코마이신, 타이로신 및 노보바이오신 등에는 전혀 감수성이 없었다.

참 고 문 헌

1. Snoeyenbos GH. 1991. Pullorum disease in diseases of poultry. 9th ed. Iowa state university press Ames Iowa USA : 73-86.
2. Van Schothorst M, Guinee PAM, Kampelmacher EH, et al. 1965. A : Prevalence of salmonellae in poultry in the Netherlands. Zentralblatt fuer veterinaemedizin, 12 : 422.
3. Kevin D pelzer. 1989. Salmonellosis. JAVMA, 195(4) : 456-463.
4. PA Barrow, A berchieri Jr, O Ai-Haddad. 1992. Serological response of chickens to infection with salmonella gallinarum-S. pullorum detected by enzymelinked immunosorbent assay. Avian diseases, 36 : 227-236.
5. Edwards PR. 1986. Identification of enterobacteriaceas. 4th ed. New York, Elsevier scientific publishing co inc : 81.
6. Kauffmann MD. 1966. The bacteriology of enterobacteriaceae. The Williams and Wilkins Co, Baltimore.
7. Cowan ST. 1957. Manual for the identification of medical bacteria. 2nd ed. Burgess publisheng Co. Minnesota
8. Macfaddin JF. 1976. Biochemical tests for identification of medical bacteria. The Williams and Wilkins, Baltimore.

9. Bryant MC. 1972. Antibiotics and their laboratory control. 2nd ed. Butterworth and Co. Ltd, London.
10. Whiteman CE, AA Bickford. 1979. Avian disease manual. American association of avian pathologists, College Station, Texas : 96-99.
11. Hungerford TG. 1969. Diseases of poultry including cage birds and pigeons. 4th ed. Angus and Robertson Ltd London : 230-256, 462, 479.
12. Stround RK, M Frien. 1987. Avian salmonellosis in field guide to wildlife diseases, vol 1, General field procedures and diseases of migratory birds. U S department of the interior, fish and wildlife service Res Publ 167, Washington DC : 101-106.
13. Gordon RF, FTW Tordan. 1982. Salmonella pullorum disease in poultry diseases. 2nd ed. Bailliere Tindall London : 9-18.
14. 정길택, 한홍륜. 1973. 닭의 살모넬라 감염증에 관한 연구 : Korean J vet Res, 13 : 31-33.
15. Smith HW. 1952. The evaluation of culture media for the isolation of salmonellae from faeces. J Hyg Camb, 50 : 21.
16. Buchanan RE, NE Gibbons(eds). 1974. Bergey's manual of determinative bacteriology. 8th ed. Williams & Wilkins Co, Baltimore.
17. Richter ER, MC Burns, GJ Banwart. et al. 1982. Gas-liquid chromatographic differentiation between Salmonella gallinarum and Salmonella pullorum. Jor food protection, 45(10) : 919-922.