

추백리 혈청검사 양성 산란계로부터 *Salmonella*속균 분리

류재윤, 전무형*, 장경수*, 손현수, 곽학구, 박경재, 우용구**

충청북도 축산위생연구소남부지소, 충남대학교 수의과대학*, 국립수의과학검역원**

Isolation of *Salmonella* from the layer chickens reacting in pullorum-typhoid agglutination test

Jae-Yun Ryu, Moo-Hyung Jun*, Kyung-Soo Chang*, Hyun-Soo Son, Hak-Koo Kwak, Kyung-Jae Park, Yong-Koo Woo**

Southern Branch of Chungbuk Institute of Livestock and Veterinary Research,
College of Veterinary Medicine Chungnam National University*,
National Veterinary Research and Quarantine Service**

Abstract

To investigate the specificity of rapid slide agglutination test for pullorum-gallinarum diseases and to obtain a basic data for avian salmonellosis control, *salmonella* isolation was performed for the layer chickens positively reacted in pullorum-typhoid agglutination test. The biochemical, serological and antimicrobial properties of the isolates were examined. The results obtained through this study were summarized as follows:

1. Of 2,384 chickens tested by the agglutination test, 606 chickens (25.4%) were positive reactors. 154 of 606 reactors and 49 of the non-reacting chickens were investigated for *salmonella* isolation, resulting in isolation of 68 strains of *salmonellae* from 27 chickens.
2. By organs, the isolation frequency from liver, cecum, spleen, ovary and gall bladder showed 8.9% (18 strains), 8.9% (18 strains), 7.4% (15 strains), 4.4% (9 strains) and 3.9% (8 strains), respectively.
3. By culture medium, the combination of selenite broth and MacConkey agar revealed the highest isolation rate and the enrichment culture by delayed secondary enrichment culture method was found the most effective for *salmonella* isolation.
4. The serotypes of 68 *salmonella* isolates were identified as 3 strains of *S pullorum*, 24 strains of *S gallinarum*, 15 strains of *S typhimurium*, 8 strains of *S enteritidis*, 7 strains of *S paratyphi A*, 5 strains of *S infantis* and 6 strains of the other *salmonellae*.
5. The serotypes of 8 *salmonella* strains isolated from 49 chickens non-reacting in pullorum-typhoid agglutination test were identified as 3 strains of *S typhimurium* and 5 strains of *S infantis*.

6. When 24 chickens of which 68 strains of *salmonellae* isolated were examined by microplate agglutination test, the average antibody titer for pullorum antigen was $2^{5.25}$. The chickens at antibody titer between 2^3 and 2^5 showed the higher frequency of isolation as compared with the chickens at the other titers.
7. When *salmonella* isolates were tested the antimicrobial drug sensitivity by disk diffusion method, *S paratyphi* A were highly sensitive by 100% to ATM and GM, *S typhimurium*, by 88% to AM, CIP, IMP and TM, *S infantis*, by 100% to AM, CRO, ENR and PIP, *S enteritidis*, by 100% to IMP and PIP, *S pullorum*, by 100% to ATM, CRO, ENR and PIP and *S gallinarum*, by 92% to CRO, CIP and PIP.

Key words : *Salmonella* spp, Isolation, Layer, Antibiotic susceptibility

서 론

살모넬라균은 1885년 Salmon 및 Smith가 장염과 패혈증으로 폐사한 돼지 가검물에서 *S choleraesuis*를 최초로 분리 보고한 이래, 사람과 각종 동물에서 광범위하게 분리 보고되고 있으며, 살모넬라속 균의 혈청형은 약 2,300종에 달하는 것으로 알려져 있다¹⁻⁶⁾.

살모넬라는 비교적 광범위한 숙주영역을 가지고 있어서 감염된 동물의 분변, 육제품 및 유제품 등을 통해서 사람에게 전파되어 장염, 위장염 및 패혈증을 유발하는 인수공통전염병으로 공중보건학상 중요시되고 있다^{1,2,7-9)}. 국내에서는 동물 가운데 현재까지 소, 돼지, 닭, 개, 비둘기, 사자, 쥐 및 너구리에서 살모넬라균이 분리되어 약 15종의 혈청형이 보고된 바 있다^{2,10-20)}.

살모넬라균은 $2\sim 4\mu\text{m}\times 0.5\mu\text{m}$ 의 크기를 가진 그람음성 간균으로써 *S pullorum*과 *S gallinarum*을 제외하고는 peritrichous flagella를 가지며 운동성이 있다. 또한 fimbria와 capsule을 가지며 아포를 형성하지 않고, facultative anaerobe으로써 37°C에서 잘 증식하며, 동물의 장관내에서 주로 서식하지만, 토양, 물, 사료 등에도 서식하는 환경성 세균이다. 세포벽은 lipopolysaccharide protein complex (O-antigen)을 가지며, flagella 항원(H-antigen)과 fimbria항원을 가진다. Exotoxin 즉 LT-like toxin과 verotoxin(Shiga-

like toxin)을 산생하며 siderophore를 형성한다^{1,21,22)}. 가금의 살모넬라 감염증은 일반적으로 flagella가 없고, 운동성이 없는 *S pullorum*과 *S gallinarum*에 의해 발병되는 추백리와 닭티푸스 그리고, flagella와 운동성이 있으며, 숙주영역이 넓어 사람에서 식중독의 원인체로 알려져 있는 *S typhimurium*, *S enteritidis*, *S heidelberg* 등에 의해서 기인된 가금파라티푸스로 구분된다^{1,9,22-24)}.

*S pullorum*에 의해 발생하는 추백리는 주로 초생추에서 백색의 설사를 특징으로 하며, 높은 폐사율을 나타내고, 성계에서는 불현성 감염 또는 산란율 저하를 초래하는 제2종 법정전염병으로 급성형은 대부분 병아리에서만 볼 수 있다. *S gallinarum*은 어린 병아리 뿐만 아니라 주로 성계에서 임상 및 병리학적 소견이 명확하게 나타나며 높은 폐사율과 산란율의 저하를 일으킨다. 추백리와 닭티푸스 감염성계는 보균계로 있으면서 균을 배출하여 질병을 전파시키고 난계대전염을 하여 어린 병아리에 감염되므로 문제시 되고 있다^{1,22,25-30)}. *S pullorum*과 *S gallinarum*의 O 항원 구조는 1, 9, 12로 되어 있으며 Kauffman - White Scheme³¹⁾에 의해 Group D1으로 분류된다. 또한 *S pullorum*의 항원은 변이되어 12₁, 12₂, 12₃으로 구분된다. 표준형은 12₃의 양이 많고 12₂는 적으며 중간형은 12₂와 12₃이 동량으로 존재하고 변이형은 12₂가 많고 12₃이 적다. 한편 *S gallinarum*의 12인자에

대한 변이 현상은 없다¹⁾.

추백리와 닭티푸스의 혈청학적 검사방법으로는 tube agglutination test, rapid serum test, 전혈평판응집반응, agar-gel precipitation 및 egg yolk agglutination 시험 등이 있으며, 이 중 술식이 가장 간편하고 신속하여 야외에서 쉽게 응용할 수 있는 장점을 가지고 있는 전혈평판응집반응이 보편적으로 이용되고 있다^{1,4,32~34)}. 혈청학적 검사법 중 rapid serum test, tube agglutination test 및 전혈평판응집반응은 미국, 영국 등 추백리를 성공적으로 근절한 국가에서 정책적으로 활용하여 왔다. 국내에서는 종계장에서 추백리와 닭티푸스의 보균계를 검색 도태하기 위한 혈청학적 검사방법으로 전혈평판응집반응을 일반적으로 응용하고 있으며 이 검사방법은 추백리와 닭티푸스 방역에 크게 기여해 왔다. 그러나 전혈평판응집반응 및 시험관응집반응은 non-pullorum 또는 non-gallinarum reactor 즉 가양성 반응 (false positive)과 가음성 반응 (false negative)을 야기할 수 있다는 사실이 여러 학자들에 의해 제기된 바 있으며 계군에 따라서 3~60%의 가양성 반응이 있다는 사실이 보고된 바 있다^{35~40)}. 그러므로 혈청학적 검사로 추백리를 검진하는 계군에 대해 균분리 확인시험을 병행하여 수행해야 한다는 사실이 보고된 바 있다^{2,10,22,32,41,42)}.

국내에서는 박 등²⁾, 김 등¹⁰⁾, 김 등¹⁷⁾, 中剛 등⁴³⁾, 김 등⁴⁴⁾에 의해 가금으로부터 살모넬라균 분리 동정 및 생화학적 특성에 대한 연구가 광범위하게 이루어진 바 있다^{45,46)}. 그러나 급속평판응집반응에 의한 추백리 보균계 검색과 관련된 균 분리 확인시험과 진단법의 특이성에 대한 연구는 지금까지 미진한 상태이다. 이에 본 연구에서는 추백리 급속전혈평판응집반응에서 양성으로 확인된 산란계에 대해 살모넬라속 균을 분리 동정하고 분리균의 성상을 규명함으로써 전혈평판응집반응의 특이성에 대해 분석하고 가금 살모넬라감염증의 검색 및 근절사업과

방역대책 수립에 관련된 기초자료를 얻고져 일련의 시험을 수행하였다.

재료 및 방법

가검재료

1997년 8월부터 1998년 7월까지 충북지역 (보은, 옥천, 영동), 대전지역 (금산, 유성), 경북 김천지역에 위치한 12개의 산란계 사육농장에서 사육중인 성계 (200~350일령인 산란계) 가운데 2,384수를 임의 추출하여 추백리 급속전혈평판응집반응을 실시하여 그 중에서 양성으로 판정된 606수 중 154수와 음성으로 판정된 1,778수 중 49수, 즉 총 203수를 실험에 사용하였다 (Table 2).

추백리 급속평판응집반응

추백리진단은 가검계의 익하정맥으로부터 채혈하여 급속전혈평판응집반응으로 양성계를 진단하였다. 즉 추백리진단액 (녹십자수의약품주식회사) 30 μ l와 혈액 30 μ l를 초자평판에 적하하고 혼합한 후 1분 이내에 응집하면 양성, 1~2분 사이에 응집하면 의양성, 2분간 반응하여 응집하지 않으면 음성으로 판독하였다. 또한 의양성으로 판독된 경우 채혈한 혈액을 응고시킨 후 1,500rpm에서 10분간 원심분리하고 혈청을 분리하여 56 $^{\circ}$ C에서 30분간 비동화한 혈청과 위에서 사용한 진단액을 이용하여 전혈평판응집반응과 동일한 기법으로 혈청평판응집반응을 실시하여 결과를 확인하였다.

살모넬라속균 분리 및 동정

살모넬라속균의 분리 및 동정은 Ewing⁴⁹⁾의 방법을 응용하여 Fig 1과 같이 실시하였다. 즉 추백리 급속전혈평판응집반응을 실시한 후 선택한 203수를 희생하여 간, 비장, 맹장, 담낭 및 난소로부터 무균적으로 가검재료를 채취하였다. 채취한 장기절편은 유발을 이용하여 분쇄한 뒤 실질장기 무게의 10배되는 증균배지

(selenite broth, tetrathionate broth)에 가하여 37°C에서 24시간 증균배양하였으며, 증균액을 선택배지(salmonella-shigella agar, MacConkey agar, brilliant green agar)에 각각 도말하여 37°C에서 배양하고 집락을 관찰하였다. 그리고 *Salmonella*로 의심되는 유당을 분해하지 않는 집락에 대해 자외선 조사장치를 한 Wood lamp하에서 Mucap test (C₈-Esterase-spot test, Biolife)를 실시하여 형광을 발하는 집락을 선택하였다.

선택된 집락을 확인감별배지인 triple sugar iron agar(Difco) 및 urea agar(Difco)에 접종 배양하여 alkaline slant-acid butt 및 urea 음성의 성상을 나타내는 균을 선별하여 생화학적 검사 및 Bacto-Salmonella polyvalent antisera(Difco)를 이용하여 혈청학적 동정시험을 실시하였다.

또한 살모넬라균의 분리효능을 시험하기 위해 2차 지연증균(delayed secondary enrichment)방법을 실시하여 1차 증균배양법과 비교하였다³²⁾. 즉 selenite broth 및 tetrathionate broth를 이용하여 37°C에서 24시간 1차 배양한 다음 salmonella-shigella agar, MacConkey agar medium 및 brilliant green agar에 도말하여 살모넬라균 집락이 검출되지 않을 때 증균배지를 실온에서 5일간 배양한후 1ml의 증균액을 10ml의 selenite broth 및 tetrathionate broth에 다시 접종한 후 37°C에서 24시간 배양한 다음 선택배지에 이식하여 살모넬라속 균분리를 시도하였다. 본 시험에서는 주로 2차 지연증균 배양법을 이용하였다.

혈청형 동정

전 항의 시험에서 선별된 살모넬라속 균의 somatic O-antigen group과 flagella H-antigen의 결정은 Bacto-Salmonella O-antisera group(A, B, C1, C2, D1, E), Bacto-Salmonella O-antisera factor (9, 12) 및 Bacto-Salmonella H-antisera(a, b, c, d, i, g, m, Difco)를 공시하여 제조회사의 추천방법에 따라 수행하였다.

즉 somatic O-antigen을 slide agglutination법에 의해 실시하였고 slide glass위에 30 μ l의 항혈청을 적하하고 집락을 취해서 항혈청과 혼합하여 1분간 응집상태를 관찰하여 판정하였으며, somatic O-antigen이 정해진 균주에 대해 H-antigen에 대한 동정시험을 실시하였다. 즉 flagella H-antigen은 Bacto-Salmonella H-antisera를 생리식염수를 이용하여 원액을 만들고 다시 1:1,000으로 희석하여 시험용 혈청을 만들었다. 혈청반응전에 검사하고자하는 균의 집락을 sulfide-indole motility배지(Difco)에 3회 계대 접종배양하여 운동성 여부를 관찰하고 운동성이 확인된 균주를 택하여 tryptic soy broth(Difco)에 계대하고 37°C에서 24시간 배양하였다. 그리고 균액 1ml와 준비된 시험용 희석액 1ml를 시험관에 넣은 후 50°C에 조절된 항온수조에 1시간 반응한 후 응집상태를 확인하여 판정하였다.

생화학적 성상검사

분리균의 생화학적 성상검사는 Ewing⁴⁹⁾ 및 Cowan⁵⁰⁾의 방법에 준하여 운동성, urea 산생능, indol 산생능, H₂S 산생능, Voges-Proskauer reaction, d-tartrate, ornithine decarboxylase, lysine decarboxylase 산생능시험 및 glucose, mannitol, inositol, trehalose, lactose, sucrose, arabinose, maltose, dulcitol, sorbitol, melibiose, rhamnose, salicin, creatin에 대한 분해능 검사를 실시하였다. 또한 수의과학검역원에서 분양 받은 *S pullorum* 및 *S gallinarum* 표준균주를 대조균주로 사용하였다.

추백리균의 항체역가 측정

추백리 급속전혈평판응집반응에서 양성으로 판정된 닭의 혈액을 각각 채혈하여 1,500rpm에서 10분간 원심한 후 혈청을 분리하여 56°C에서 30분간 비동화하여 실험에 공하였다. 항체역가는 Calnek 등²²⁾ 및 Barsoum과 Awad의

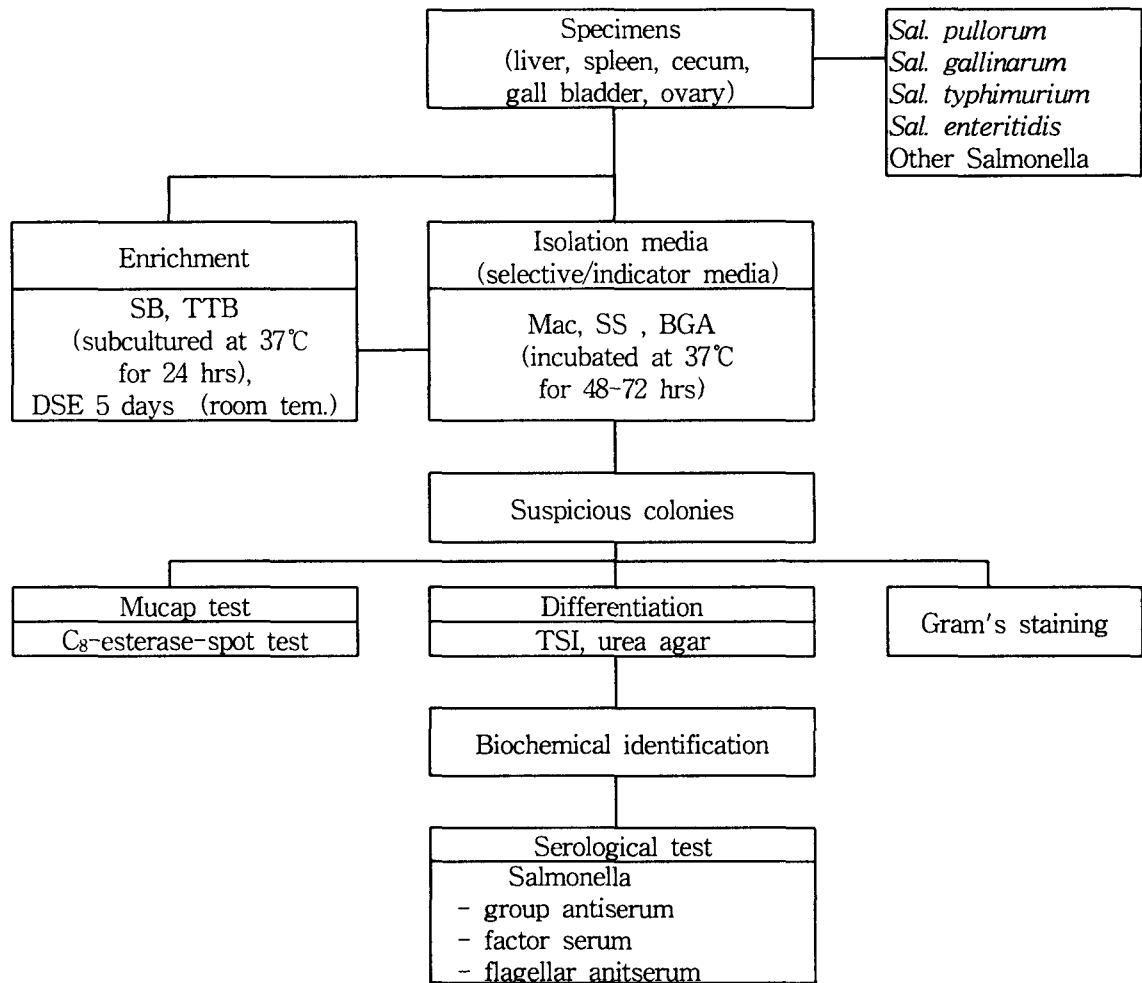


Fig 1. Isolation of *Salmonellae* from the chickens

방법⁵¹⁾을 응용하여 microplate agglutination (MAT) 방법으로 실시하였다. 즉 microplate (U-bottomed 96-well microplate)의 둘째 well 부터 마지막 well 까지 50 μ l의 멸균 생리식염수를 넣고 첫 well과 둘째 well에 각각 50 μ l의 가검혈청을 가한 후 둘째 well부터 2배 계단 희석하고 마지막 well의 50 μ l는 버렸다. 녹십자수의약품주식회사에서 제조된 급속전혈평판응집반응용 추백리진단액을 생리식염수로 1:20 배 희석하여 모든 well에 50 μ l씩 분주한 후 microplate를 밀봉하고 shaker로 3분간 진탕한 후 37 $^{\circ}$ C에서 24시간 동안 반응시켰다. 결과 판

독은 microplate를 45 $^{\circ}$ 로 기울여 응집상태를 판독하였으며, 수의과학검역원에서 공급된 양성 및 음성혈청을 대조로 하였다.

항균제 감수성 시험

분리된 살모넬라속 균에 대하여 paper disk diffusion 방법으로 항균제 감수성 시험을 수행하였으며, 술식은 Andrews 및 Wise⁵²⁾ 그리고 Kirby 및 Bauer^{52,53)} 등의 방법을 응용하여 실시하였다⁵⁴⁾. 분리균을 brain heart infusion broth (Difco)에 접종하여 37 $^{\circ}$ C에서 18~48시간 배양하여 McFarland scale 0.5농도로 조정한다

후 Mueller hinton agar (Difco) 평판배지 전면
에 멸균 초자봉으로 균등하게 도말 접종하고
37°C에서 3~10분간 건조시킨 다음 disk
dispenser (Difco)를 이용하여 배지위에 disk를
설치하여 37°C에서 24~72시간 배양 후 균증식
저지대의 직경을 측정하였다. 내성유무의 판정
은 Bryant의 방법³⁸⁾에 따랐으며 20종의 항생제
디스크 (Table 1)를 사용하였다.

Table 1. Antimicrobial disks used for diffusion
susceptibility test

Agents	Abbreviations	Concentration (μ g)/disk
Amikacin	AN	10*
Ampicillin	AM	10
Aztreonam	ATM	30
Cefoxitin	FOX	30
Ceftizoxime	ZOX	30
Ceftriaxone	CRO	30
Cefuroxime	CXM	30
Cephalothin	CF	30
Ciprofloxacin	CIP	5
Enrofloxacin	ENR	5
Gentamicin	GM	10
Imipenem	IMP	10
Kanamycin	KM	30
Lincomycin	LM	2
Piperacillin	PIP	100
Polymyxin-B	PO	300*
Ticarcillin	TIC	75
Tobramycin	TM	10
Trimethoprim- Sulfamethoxazole	SXT	1.25/23.75
Tyrosin	TS	11.5

* : Unit

결 과

살모넬라속균 분리율

1997년 8월 부터 1998년 7월 까지 충북지역
(보은, 옥천, 영동), 대전지역(금산, 유성) 및 경
북 김천지역에 위치한 12개의 산란계 사육농장

에서 사육중인 성계(200~350일령인 산란계)
가운데 2,384수를 임의 추출하여 추백리 급속
전혈평판응집반응을 실시하였다. 그 중에서 양
성으로 판정된 606수(25.4%) 중 154수와 음성
으로 판정된 1,778수 중 49수, 총 203수 닭의
간, 비장, 맹장분변, 담낭 및 난소로 부터 살모
넬라균 분리를 시도한 결과 양성으로 확인된
154수 중 24수(15.6%)에서 60주, 그리고 음성
으로 확인된 49수 중 3수(6.1%)에서 8주, 총 68
주의 살모넬라균을 각각 분리하였다 (Table 2).

배양방법에 따른 균분리율

증균배지는 selenite broth와 tetrathionate
broth 그리고 선택배지로는 salmonella - shigella
agar, MacConkey agar 및 brilliant green agar를
사용하여 균분리를 비교한 바(Table 3), selenite
broth에 증균하여 MacConkey agar에 배양했을
때 68주 중 57주(83.8%)가 분리되어 가장 높
은 분리율을 보였다. 다음은 selenite broth와
salmonella-shigella agar에 배양했을 때 67.6%
의 분리율을 나타내었다. 그리고 tetrathionate
broth에 증균하여 brilliant green agar에 배양했
을 때 68주 중 31주(45.6%)가 분리되어 가장 낮
았다.

1차증균배양 (PE)과 2차지연증균배양(DSE)
간의 살모넬라균 분리효능을 비교한 바(Table
4) PE에서는 2주, DSE에서는 12주 그리고 PE
와 DSE를 동시에 이용했을 때는 54주가 분리
되어 PE 와 DSE를 동시에 수행했을 때 균분
리율이 가장 높았다. 공시한 1,015건의 가검물
에 대한 장기별 분리율은 간 과 맹장내용물에
서 각각 18주(8.9%)가 분리되어 가장 높았고
다음은 비장에서 15주(7.4%), 난소에서 9주
(4.4%) 그리고 담낭에서 8주(3.9%) 순으로 나
타났다(Table 4). *S pullorum* 3주는 DSE 방법
에 의해서만 분리되었고, *S gallinarum* 과
*Salmonella spp*는 24시간 배양과 DSE 양쪽 모
두에서 분리되었다.

Table 2. Isolation of *salmonella spp* from the layer chickens reacting to pullorum-typhoid agglutination test on 12 chicken farms

Location of farms	No of farms	No of chickens tested by AT	Results of AT (%)		No of chickens tested for salmonella isolation		No of salmonella isolate	
			P (%)	N	P	N	P	N
Chungbuk	8	1,852	407 (22.0)	1,445	102	31	38	4
Taejon	2	274	102 (37.2)	172	27	10	15	2
Kyungbuk	2	258	97 (37.6)	161	25	8	7	2
Total	12*	2,384	606 (25.4)	1,778	154	49	60	8

* : Approximate total number of chickens : 285,000 heads
 AT : pullorum-typhoid agglutination test
 P : The positive in pullorum-typhoid agglutination test
 N : The negative in pullorum-typhoid agglutination test

Table 3. Isolation of *salmonella spp* from different combination of enrichment and selective media

Enrichment broth	Media		No of isolates (%)
	Selective agar		
Selenite broth	salmonella - shigella agar		46 (67.6)
	MacConkey agar		57 (83.8)
	brilliant green agar		38 (55.9)
Tetrathionate broth	salmonella - Shigella agar		34 (50.0)
	MacConkey agar		44 (64.7)
	brilliant green agar		31 (45.6)

% : Isolation frequency of 68 isolates

Table 4. Comparison of *Salmonella* isolation between primary enrichment (PE) and delayed secondary enrichment (DSE)

Organs	No. of specimens	No. of isolates (%)			
		PE ^a	DSE ^b	PE & DSE ^c	Total
Liver	203	1	2	15	18 (8.9)
Spleen	203	0	2	13	15 (7.4)
Cecum	203	1	3	14	18 (8.9)
Gall bladder	203	0	2	6	8 (3.9)
Ovary	203	0	3	6	9 (4.4)
Total	1,015	2	12	54	68 (6.7)

^a : No. of isolates after the enrichment culture was incubated for 24 hours but not after DSE.

^b : No. of isolates after DSE, but not isolated after the enrichment was incubated for 24 hours.

^c : No. of isolates after both the 24 hour enrichment and DSE.

분리균의 생화학적 성상

68주의 분리균주 중 *S. gallinarum* (24주)과 *S. pullorum* (3주)에 대한 성상검사를 한 결과 (Table 5), 24주의 *S. gallinarum*은 운동성, urease산생능, H₂S 및 indole산생능, VP반응시험에서 모두 음성이었고 당분해능 시험에서는 sorbitol, melibiose, maltose, sucrose 및 d-tartrate에서 모두 양성반응을 보였고 arabinose, dulcitol, inositol, rhamnose, citrate 및 trehalose에서는 균주간의 반응에 차이가 관찰되었다. 또한 lactose, lysine decarboxylase, ornithine decarboxylase, glucose 및 mannitol에서는 모든 균주가 음성이었다.

3주의 *S. pullorum* 분리주는 모두 H₂S 산생능

음성이었고 sorbitol, melibiose, arabinose, inositol, rhamnose, sucrose, lysine decarboxylase, glucose 및 mannitol분해능 양성반응을 나타내었으며 그의 공시된 반응에서는 모두 음성반응을 나타내어 표준 *S. pullorum*주와 일치하였다 (Table 5).

Avian paratyphoid *salmonellae*에 해당되는 41주의 분리균에 대한 성상을 시험한 바 모든 균주는 운동성이 인정되었고, sorbitol, sucrose, glucose 및 mannitol에서 양성반응을 보였다. 또한 urease산생능, indole산생능, VP반응 그리고 lactose, ornithine decarboxylase 및 d-tartrate에서는 음성반응을 나타내었다. 그의 공시된 생화학적 성상시험에서는 균주간에 다양한 특성이 관찰되었다 (Table 6).

Table 5. Characterization of 24 isolates of *S. gallinarum* and 3 isolates of *S. pullorum*

Properties	Isolates *		Standards	
	<i>S g</i> (%)	<i>S p</i> (%)	<i>S g</i>	<i>S p</i>
Motility	0 (0)	0 (0)	0	0
Urease	0 (0)	0 (0)	0	0
Indole production	0 (0)	0 (0)	0	0
H ₂ S production	0 (0)	0 (0)	0	0
Voges-Proskauer	0 (0)	0 (0)	0	0
Sorbitol	24 (100)	3 (100)	1	1
Melibiose	24 (100)	3 (100)	1	1
Arabinose	23 (96)	3 (100)	1	1
Maltose	24 (100)	0 (0)	1	0
Dulcitol	15 (67)	0 (0)	1	0
Lactose	0 (0)	0 (0)	0	0
Inositol	20 (86)	3 (100)	1	1
Rhamnose	21 (88)	3 (100)	1	1
Sucrose	24 (100)	3 (100)	1	1
Lysine decarboxylase	0 (0)	3 (100)	0	1
Ornithine decarboxylase	0 (0)	0 (0)	0	0
Citrate utilization	22 (92)	0 (0)	1	0
Trehalose (gas)	21 (88)	0 (0)	1	0
Glucose (gas)	0 (0)	3 (100)	0	1
Mannitol (gas)	0 (0)	3 (100)	0	1
d-tartrate	24 (100)	0 (0)	1	0

* : *S p* : *S. pullorum*, *S g* : *S. gallinarum*

Table 6. Characterization of 41 isolates of avian paratyphoid *salmonellae*

Properties	No of positive strains	% of positive
Motility	41	100
Urease	0	0
Indole production	0	0
H ₂ S production	31	76
Voges-Proskauer	0	0
Sorbitol	41	100
Melibiose	35	85
Arabinose	37	90
Maltose	40	98
Dulcitol	34	83
Lactose	0	0
Inositol	29	72
Rhamnose	39	96
Sucrose	41	100
Lysine decarboxylase	23	56
Ornithine decarboxylase	0	0
Citrate utilization	27	64
Trehalose (gas)	20	51
Glucose (gas)	41	100
Mannitol (gas)	41	100
d - Tartrate	0	0

추백리균 항체역가

추백리 급속평판응집반응 양성계 중 *salmonella* 균이 분리된 24수의 익하정맥에서 채혈하여 분리한 혈청을 56°C에서 30분 비동화시킨 다음 microplate법으로 추백리 항체역가를 검사하였다. 그 결과 항체역가는 2³ 내지 2¹⁰으로 나타났으며 평균 항체역가는 2^{5.25}이었다. 균분리 빈도는 2³에서 5수, 2⁴에서 6수, 2⁵에서 4수, 2⁶에서 3수, 2⁷ 및 2⁸에서 2수 그리고 2⁹ 및 2¹⁰에서 각각 1수씩 분리되었다(Fig 2). 또한 *salmonella*균이 분리된 24수 중 *S pullorum*이 분리된 1수와 *S gallinarum*이 분리된 13수에 대한 추백리 항체역가를 조사한 결과 2³ 내지 2⁹으로 나타났으며 평균항체역가는 2^{5.35}이었다. 균분리율은 항체역가가 2³ 내지 2⁵일 때 높았다(Fig 3).

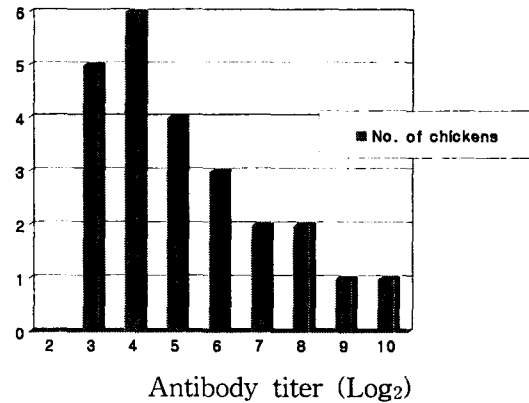


Fig 2. Distribution of 24 chickens of which 68 strains of *salmonella* were isolated according to the antibody titers measured by microplate agglutination test.

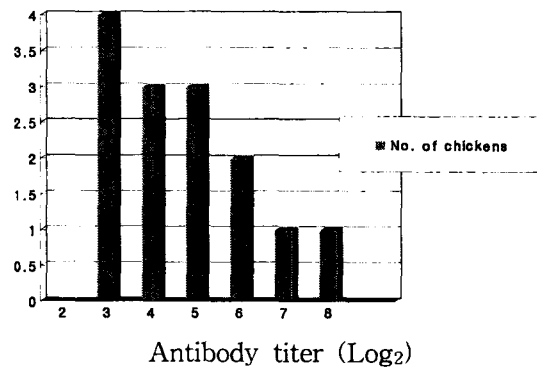


Fig 3. Distribution of 14 chickens of which *S pullorum* and *S gallinarum* were isolated according to the antibody titers measured by microplate agglutination test.

혈청형 조사

생화학적 정상검사에 *salmonella*속 균으로 분류된 68주의 분리주에 대해 somatic antigen과 flagellar antigen에 대한 항혈청을 이용하여 혈청학적 동정시험을 수행하였다(Table 7). 그 결과 *S paratyphi* A는 7주(A군), *S typhimurium*는 15주(B군), *S infantis*는 5주(C1군), *S enteritidis*는 8주(D1군), *S pullorum*은 3주(D1

군), *S. gallinarum*은 24주(D1군) 그리고 polyvalent O antiserum에 반응하고 혈청형 동정이 되지 않은 6주를 분리하였다. 혈청형별로 보면 *S. gallinarum*이 24주로 가장 많이 분리되었고, 다음이 *S. typhimurium*으로 15주 였다.

또한 추백리 급속평판응집반응에서 음성인 닭 49수 중 3수에서 *S. typhimurium* 3주 그리고 *S. infantis* 5주가 분리되었다.

분리주에 대한 항균제 감수성

분리된 68주의 *salmonella*에 대한 항생제 감수성 시험을 수행한 바 다음과 같은 결과를 얻었다(Table 7). *Sal. paratyphi* A(7주)는 ATM 및 GM에서 감수성이 높게 나타났고 AN 및 CXM에서는 내성을 나타내었다. *Sal. typhimurium*(15주)는 AM, CIP, IMP 및 TM에서 88%의 높은 감수성을 보였으며 AN 및 CXM에서 내성을 나타내었다. *Sal. infantis*(5주)는 AM, CRO, ENR 및 PIP에서 100%의 높은 감수성을 보였고 AN 및 CXM에서는 높은 내성을 보였다. *Sal. enteritidis*(8주)는 IMP 와 PIP에 대해 100% 그리고 AM, ENR, KM 및 TIC에서 88%의 감수성이 나타났으며 AN에서 높은 내성을 나타내었다. *Sal. pullorum*(3주)은 AM, ATM, CRO, ENR, PIP 및 ENR에 대해 높은 감수성을 보였고 AN, FOX, CXM, GM 및

TM에서는 매우 높은 내성이 인정되었다. *S. gallinarum*(24주)은 CRO, CIP, PIP 및 IMP에서 88-92%의 높은 감수성이 나타났으며 AN 및 CXM에서는 높은 내성을 나타내었다. 기타 *Salmonella spp*(6주)는 CIP 및 PIP에서 100%의 높은 감수성을 나타내었고 AN, ATM 및 CXM에서는 내성을 나타내었다.

고 찰

추백리 또는 닭티푸스에 감염된 닭의 검색방법으로 전혈평판응집반응과 혈청평판응집반응이 오래전부터 이용되어 왔으며 시술방법이 비교적 간단하기 때문에 세계적으로 계군검색기법으로 활용되어 추백리와 닭티푸스의 방역에 크게 기여하여왔다^{1,4,32-34}). 그러나 이 검사방법에서 비 특이반응에 의해 가양성 및 가음성반응이 문제된 바 있다³⁵⁻⁴⁰). 이런 결점을 보완하기 위해서 평판응집반응과 병행하여 균 분리시험을 수행하여야한다고 여러 학자들에 의해 강조된 바 있다^{1,2,10,22,41-44}).

본 연구에서는 충북, 대전 및 경북지역에 사육중인 산란계군에 대해 급속평판응집반응을 실시하고 동시에 살모넬라균 분리를 수행하였다. 1969년 Snoeyenbos 등⁴³)은 1,050수의 추백

Table 7. Serotyping of *Salmonella spp* isolated from the positive reactors in the rapid slide agglutination test for pullorum diseases

Serotypes	Groups	Somatic antigens	Flagellar antigens (Phase 1)	Total
<i>S. paratyphi</i> A	A	1, 2, 12	a	7
<i>S. typhimurium</i>	B	1, 4, 5, 12	i	15
<i>S. infantis</i>	C1	6, 7	c	5
<i>S. enteritidis</i>	D1	1, 9, 12	g, m	8
<i>S. pullorum</i>	D1	1, 9, 12	-	3
<i>S. gallinarum</i>	D1	1, 9, 12	-	24
<i>S. spp</i>	Poly	-	-	6
Total				68

Table 8. Antimicrobial susceptibility of 68 isolates of *Salmonella* spp

Drugs	<i>S paratyphi</i> A (n=7)	<i>S typhimurium</i> (n=15)	<i>S infantis</i> (n=5)	<i>S enteritidis</i> (n=8)	<i>S pullorum</i> (n=3)	<i>S gallinarum</i> (n=24)	Other <i>salmonella</i> spp (n=6)
AN	1 (14)*	2 (13)	0 (0)	2 (25)	0 (0)	4 (17)	1 (17)
AM	6 (86)	13 (88)	5 (100)	7 (88)	3 (100)	20 (83)	4 (67)
ATM	7 (100)	10 (67)	2 (40)	4 (50)	3 (100)	12 (20)	2 (33)
FOX	2 (29)	7 (47)	2 (40)	3 (38)	1 (33)	14 (59)	3 (50)
ZOX	4 (57)	11 (73)	2 (40)	6 (75)	2 (67)	17 (71)	4 (67)
CRO	5 (71)	12 (80)	5 (100)	6 (75)	3 (100)	22 (92)	5 (83)
CXM	1 (14)	4 (29)	0 (0)	3 (38)	1 (33)	4 (17)	1 (17)
CF	3 (43)	7 (47)	3 (60)	5 (63)	2 (67)	16 (67)	3 (50)
CIP	6 (86)	13 (88)	4 (80)	6 (75)	2 (67)	22 (92)	6 (100)
ENR	6 (86)	10 (67)	5 (100)	7 (88)	3 (100)	20 (83)	3 (50)
GM	7 (100)	12 (84)	4 (80)	6 (75)	1 (33)	18 (75)	5 (83)
IMP	6 (86)	13 (88)	4 (80)	8 (100)	2 (67)	21 (88)	4 (67)
KM	4 (57)	10 (67)	4 (80)	7 (88)	2 (67)	17 (71)	5 (83)
LM	4 (57)	11 (73)	3 (60)	6 (75)	2 (67)	16 (67)	4 (67)
PIP	6 (86)	12 (84)	5 (100)	8 (100)	3 (100)	22 (92)	6 (100)
PO	4 (57)	7 (47)	3 (60)	6 (75)	2 (67)	17 (71)	4 (67)
TIC	5 (71)	12 (84)	4 (80)	7 (88)	2 (67)	18 (75)	5 (83)
TM	5 (71)	13 (88)	4 (80)	5 (63)	1 (33)	16 (67)	4 (67)
SXT	4 (57)	10 (67)	3 (60)	6 (75)	2 (67)	18 (75)	5 (83)
TS	2 (29)	10 (67)	3 (60)	3 (38)	2 (67)	16 (67)	3 (50)

* Number and percentage of the microorganisms showing susceptibility to the drugs tested by paper disk diffusion method.

리 양성계 중 63수의 난소와 복막에서 *S enteritidis*, *S heidelberg*, *S typhimurium*을 분리하였고, 58수의 장내용물에서도 살모넬라 균을 분리하여 보고하였다. 또한 1993년 Waltman 등³²⁾은 134,171수에 대한 평판응집반응에서 추백리 양성계는 680수였으며 그 중 226수 (33.2%)의 분변, 난소 및 간 등에서 *S pullorum*, *S enteritidis*, *S heidelberg*, *S typhimurium* 등 13종의 혈청형이 분리되었다고 보고된 바 있다. 본 시험에서 평판응집반응 양성율은 25.4%로써 Snoeyenbos 등⁴³⁾의 성적에 비해 월등히 높았으며 균분리율은 15.6% (24/154)로써 Waltman 등³²⁾의 결과에 비해 낮게 나타났다.

국내에서 건강한 닭의 분변에서 살모넬라균

분리율이 5.0%¹⁶⁾, 닭 직장내용물에서 1.57%¹⁷⁾ 그리고 내장과 총배설장 재료에서 7주 (3.21%)⁴⁵⁾가 분리되었다는 보고와 비교할 때 본 시험의 평판응집반응 양성계에서는 비교적 높은 분리율을 보인 것으로 인정되었다. 근년에 와서 *S gallinarum*감염에 기인된 닭티푸스가 만연되고 있으며 1993년 김 등⁴⁶⁾이 균분리 정상 및 역학조사에 대한 보고를 하였고 그 이후 박 등²⁾이 경북 지방에서 *S gallinarum*을 분리한 보고가 있다. 본 연구에서는 *S gallinarum*의 분리 빈도가 가장 높게 나타나서 야외질병 발생상태와 깊은 관계가 있는 것으로 생각된다. 또한 1997년 김 등¹⁰⁾은 경북지방에서 평판응집반응 양성계로부터 균분리를 시도하여 양성계 18수의 분변과 계란에서 *S pullorum*이 분리되지 않았다고

보고하여 본 시험결과와 상이하게 나타나서 균 분리 방법과 공기가검물의 선택이 중요하다는 사실이 인정되었다.

Calson⁵⁷⁾은 살모넬라균 분리시 tetrathionate broth 와 selenite broth의 효능을 비교한 바 tetrathionate broth가 selenite broth보다 좀더 높은 분리율을 나타냈다고 보고하였으며⁵⁸⁾ 국내에서는 김 등⁵⁹⁾의 시험에 의하면 증균배지별 salmonella균의 분리율은 rappaport medium에서 13%, tetrathionate strontium chloride broth에서 10% 그리고 selenite broth에서 9%의 분리율을 보였으며, 평균분리율은 10.7%이었다고 하였다. 본 시험에서는 selenite broth에 증균하여 MacConkey agar에서 선별하였을 때 가장 높은 분리율이 나타나서 이들의 결과와는 다소 차이가 있었다. 이와 같은 차이는 증균배양방법에 따라 야기될 수 있다고 생각된다.

Waltman 등³²⁾은 살모넬라균 분리시 PE와 DSE방법을 사용하였던 바 분리균주 569주 중 PE에서 31주(5.4%), DSE에서 113주(19.9%) 그리고 PE & DSE에서 425(74.7%)를 분리하였고 증균 배양방법에 따라 균분리율이 현저히 달라짐을 보고하였으며 본 시험에서도 이와 유사한 성적을 얻어서 시간적 여건이 허용되면 PE와 DSE방법을 동시에 수행하는 것이 균분리율을 높이는 데 필요하다는 사실을 확인하였다. 특히 증식속도가 느린 *S pullorum*은 DSE에서만 분리되었고, *S gallinarum*과 *salmonella spp*는 PE와 DSE 양쪽 모두에서 분리되었다는 점을 감안할 때 이런 점이 더욱 강조된다.

Snoeyenbos 등⁴³⁾의 보고에 의하면 분리균 63주의 장기별 분리율은 난소에서 34주(54.0%), 복강에서 7주(11.1%) 그리고 난소와 복강에서 22주(34.9%)로 난소에서 가장 높았고 Waltman 등³²⁾은 전체 분리균 226주 중 맹장에서 161주(71.2%), 맹장편도에서 148주(65.5%), 난소 및 수란관에서 110주(48.7%) 그리고 장기 혼합가검물에서 150주(66.4%)가 분리되어 맹장

에서 분리율이 높았다. 본 시험에서는 전반적으로 분리율이 낮았으나 장기별 분리율은 Waltman 등³²⁾의 성적과 유사하였으며 장기별 분리율은 항체역가와 관련성이 있을 것으로 추정된다.

이와 같은 사실은 본 연구에서 추백리 혈청역가가 비교적 낮은 2³, 2⁴ 그리고 2⁵에서 더 많은 살모넬라균이 분리되었고, *S pullorum*은 혈청역가 2³에서만 분리되어 추백리 항체역가와 살모넬라균의 분리율은 밀접한 관계가 있는 것으로 입증되었다. 양성계에 대한 항체역가측정에서 김 등¹⁰⁾은 추백리 항체역가는 2^{2.76-9.18}이었고 평균역가는 2^{5.06}으로 보고하여 본 시험의 결과와 유사하였다. 또한 추백리균은 간과 담낭, 난소에서 분리되었고 맹장분변에서 분리되지 않은 것은 성계에서 추백리균은 분변으로 인한 수평감염 보다는 수란관을 통한 난계대 감염이 더 보편적이라는 사실과 일치한다.

본 실험에서 분리한 살모넬라균에 대한 생물화학적 성상검사서 분리균 68주의 성상이 Ewing⁴⁹⁾의 방법에 따른 성상과 대부분이 일치하였으나 분리균이 H₂S산생능이 없음이 인정되었다. 이런 차이는 분리균주의 보관방법 및 보존기간에 따른 변이에 의한 차이로 추정된다. 또한 박 등²⁾, 김 등¹⁰⁾, 김 등⁵⁹⁾, 그리고 탁 등⁶⁰⁾의 실험결과와는 대부분이 일치하였다.

윤 등⁶¹⁾은 닭에서 분리된 15주의 *salmonella spp*는 AM, CB, CF, C, CL 및 GM에 대해 감수성이 있고 E와 P에는 100%의 내성을 나타내며 K는 53.3%, S는 66.7% 그리고 Te는 46.7%의 내성이 있다고 하였다. 김 등¹³⁾은 병계에서 분리한 *salmonella*속 균 95주는 AM, CL, C, GM, K, N 및 SXT에 감수성을 나타내었고, TE와 S는 41.5%와 70.8%의 내성을 나타낸다고 하였다. 이들 결과와 비교해 볼 때 감수성을 나타내는 약제들은 거의 일치하지만 AM, CRO, ST, PIP, IMP, ATM 및 ENR 등이 중등도 이상의 감수성을 나타내는 약제에서는 보고

자간에 약간의 차이가 있었다. 이러한 차이는 수의사의 처방이나 지시 없이 자유롭게 항생제를 구입하여 투여하고 항생제감수성 시험결과에 의하지 않고 광범위 항생제를 과용 또는 오용함으로써 일어나는 것으로 생각되며, 특히 본 시험에서 공시한 대부분의 *salmonella* 분리주들이 AN, CXM, GM, FOX 및 TM에 대해 내성을 나타낸다는 사실은 가끔 살모넬라증 치료와 예방에 참고해야 할 결과라 생각된다.

본 시험의 결과를 종합해 보면, 야외에서 사용되고 있는 추백리 급속평판응집반응 시험에서 *S pullorum* 및 *S gallinarum* 이외의 균감염에 의한 가양성반응이 야기될 수 있다는 사실이 확인되었다.

결 론

추백리 급속전혈평판응집반응에서 양성으로 판정된 산란계로 부터 *salmonella*속 균을 분리 동정함으로써 추백리 전혈평판응집반응의 특이성을 분석하고 살모넬라감염증의 근절 및 방역 대책 수립에 관련된 기초자료를 얻고자 일련의 시험을 수행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 2,384수의 산란계를 임의 추출하여 추백리 급속평판응집반응을 실시하였던 바 606수(25.4%)가 양성으로 판정되었으며 이 중 154수에 대해 균분리시험을 하여 24수(15.6%)로 부터 60주의 *salmonella*균을 분리하였다.
2. 장기별로는 간과 맹장에서 각각 18주(8.9%)가 분리되어 가장 높은 분리율을 나타내었고 비장에서 15주(7.4%), 난소에서 9주(4.4%) 그리고 담낭에서 8주(3.9%)가 분리되었다.
3. *Salmonella*균 분리율은 selenite broth에서 중간하고 MacConkey agar에서 배양했을 때 가장 높았고, 증균배양에서는 delayed secondary enrichment 방법을 함께 사용

했을 때 가장 높은 분리율을 보였다.

4. 68주의 *salmonella*균주의 혈청형은 *S gallinarum*이 24주(35%), *S typhimurium*이 15주(22%), *S enteritidis*가 8주(12%), *S paratyphi A*가 7주(10%) 그리고 *S infantis*가 5주(7%) 분리되었고, 추백리의 원인체인 *S pullorum*은 3주(4%) 분리되었으며 기타 *salmonella spp*는 6주 분리되었다.
5. 추백리 평판응집반응에서 음성으로 확인된 49수 중 3수에서 8주의 균주가 분리되었으며 혈청형은 *S typhimurium*이 3주 그리고 *S infantis*가 5주이었다.
6. Microplate agglutination법으로 *salmonella*균이 분리된 24수에 대한 *S pullorum* 항체역가를 측정한 결과 평균역가는 $2^{5.25}$ 이었으며, 항체역가가 2^3 , 2^4 및 2^5 에서 *salmonella* 분리율이 높게 나타났다.
7. *Salmonella* 분리균주에 대한 항균제 감수성시험을 실시한 바 *S paratyphi A*는 ATM 및 GM, *S typhimurium*은 AM, IMP, CIP 및 TM, *S infantis*는 AM, CRO, ST, ENR 및 PIP, *S enteritidis*는 IMP 및 PIP, *S pullorum*은 AM, ATM, CRO, ENR 및 PIP 그리고 *S gallinarum*은 CRO, CIP 및 PIP에 대해 88 - 100%의 높은 감수성을 보였다.

참고문헌

1. Timoney JF, Gillespie HJ, Scott FW. et al. 1988. Hagan and Bruner's microbiology and infectious diseases of domestic animals. 8th ed. Comstock Pub. Assoc. Ithaca and London : 74~87.
2. Park NC, Do JC, Cho KH. 1995. Prevalent characteristics of fowl typhoid and antibiotic susceptibility of *Salmonella gallinarum*. *Kor J Vet Serv* 18(2) : 113~

- 123.
3. Benett IL, Hook ED. 1967. Some aspect of salmonellosis. *Ann Rev Med* 10 : 1~21.
 4. Edward PR, Galton MM. 1967. Salmonellosis . *Adv Vet Sci* 11 : 1~63.
 5. William JE, Snoeyenbos GH. 1991. Introduction to avian salmonellosis. Hofstad, M. S. Disease of poultry, 8th ed., Iowa State Univ Press Ames : 721.
 6. Mallinson ET, Snoeyenbos GH. 1989. Salmonellosis : A laboratory manual of the isolation and identification of avian pathogens, 3rd ed. Purchase HG, Arp LH, Domermuth GH, et al. eds. American Association of Avian Pathologists. *Kenett Square Path* : 3~11.
 7. Chung GT, Frost AJ. 1969. The occurrence of *Salmonella* in slaughtered pigs. *Aust Vet J* 56 ; 350.
 8. Chun D, Suh IS. 1971. *Salmonellae* in the Republic of Korea. *J Res Ins Med Sci Kor* 3 : 489.
 9. Galbrath NS. 1964. Studies of human salmonellosis in relation to infection in animals. *Vet Res* : 506~528.
 10. 김영환, 김경희, 우용구 등. 1997. 경북지방 유래 추백리 양성계에서 균분리 및 혈청역가 추이. *한가위지* 20(1) : 19~26.
 11. Park KY, Yeh JG, Park SG. 1994. Characteristics of salmonella species isolated from poultry. *Kor J Publ* 18(2) : 107~116.
 12. 김영호, 장영호, 박경윤. 1995. 가금에서 분리한 salmonella속 균의 항균물질에 대한 감수성 및 plasmid profile. *대한수의학회지* 35(3) : 537~542.
 13. Kim KS, Namgoong S, Mho IP. 1984. Antimicrobial drug susceptibility of *Salmonellae* isolated from chicken in Korea. *Kor J Publ Hlth* 8(1) : 11~14.
 14. 최원필, 이희석, 여상건 등. 1988. 우·돈에서 분리한 salmonella유래 R plasmid의 유전학적 및 분자생물학적 성상에 관한 연구 1. 유우에서 salmonella속균의 분포상황 및 약제내성. *대한수의학회지* 28(2) : 331~337.
 15. Tak RB. 1982. The distribution of *Salmonellae* in zoo animals in Dalsung park. *Kor J Publ Hlth* 6(2) : 81~84.
 16. Tak RB, Chun DG. 1971. Distribution of *Salmonellae* among animals in Korea. *Central J Med* 20(3) : 229~263.
 17. 김정규, 윤용덕, 김봉환. 1971. 우리나라에 있어서 동물유래 salmonella속 균의 분포 조사. *농시연보* 14(5) : 69~73.
 18. Cho DI, Shin KS. 1985. Isolation and identification of *Salmonellae* and *Escherichia coli* from chicken eggs. *Kor J Publ Hlth* 9(2) : 13~18.
 19. 최원필, 이희석, 여상건 등. 1986. 양돈장에 있어서 salmonella 감염증의 역학적 연구 : 1. 발생 및 오염상황, 혈청형과 *Salmonella typhimurium*의 생물형. *대한수의학회지* 26(1) : 49~59.
 20. 정석찬, 최원필. 1986. 우 유래의 salmonella 속 균의 보균을 조사연구. *공중보건학지* 14(1) : 11~15.
 21. Smith HW. 1959. The isolation of *Salmonellae* from the mesentric lymph nodes and feces of pigs, cattle, dogs, cats and from the other organs of poultry. *J Hyg Camb* 57 : 266~273.
 22. Calnek BW, John BH, Beard CW, et al. 1998. Disease of poultry. 10th. ed. Iowa State University Press. Ames, Iowa : 81~129.

23. Martin WJ, Ewing WH. 1969. Prevalence of serotypes of *Salmonellae*. *Appl Micro* 17 : 111~117.
24. Jubb KVF, Kenedy PC, Palmer N. 1985. Pathology of domestic animals. Vol 2. 3rd ed. Academic Press. London : 135~143.
25. Bouzoubaa K, Nagaraja KV, Newman JA. 1987. Use of membrane protein from *Salmonella gallinarum* for prevention of fowl typhoid infection in chickens. *Avi Dis* 31 : 699~704.
26. Bouzoubaa K, Nagaraja KV, Kabbaj FZ. 1987. Feasibility of using proteins from *Salmonella gallinarum* vs. 9R live vaccine for prevention of fowl typhoid infection in chickens. *Avi Dis* 31 : 699~704.
27. Jordan FTW, 1956. The transmission of *Salmonella gallinarum* through the egg. *Poult Sci* 35 : 1019~1025.
28. Bumstead N, Barrow P. 1993. Resistance to *Salmonella gallinarum*, *Salmonella pullorum* and *Salmonella enteritidis* in inbred lines of chickens. *Avi Dis* 37 : 189~193.
29. Johnson DC, David M, Goldsmith S. 1992. Epizootiological investigation of an outbreak of pullorum disease in an integrated broiler operation. *Avi Dis* 36 : 770~775.
30. Shivaprasad HL, Timoney JF, Morales S, et al. 1990. Pathogenesis of *Salmonella enteritidis* infection in laying chickens. I. Studies on egg transmission, clinical signs, fecal shedding and serological responses. *Avi Dis* 34 : 548~557.
31. Kauffmann F. 1972. Serological diagnosis of salmonella species. Kauffmann-White-Schema. 1st ed. Munksgard, Copenhagen.
32. Waltman WD, Horne AM. 1993. Isolation of *Salmonellae* from chickens reacting in the pullorum-typhoid agglutination test. *Avi Dis* 37 : 805~810.
33. Jones FS. 1913. The value of the macroscopic agglutination test in detecting fowls that are harboring bacterium pullorum. *J Med Res* 27 : 481~495.
34. Schaffer JM, McDonaid D, Haij WJ, et al. 1931. A stained antigen for the rapid whole blood test for pullorum disease. *JAVMA* 79 : 236~240.
35. Barnhart HM, Dresen DW, Bastien R, et al. 1991. Prevalence of *Salmonella enteritidis* and other serovars in ovaries of laying hens at time of slaughter. *J Food Prot* 54 : 488~495.
36. Gast RK, Beard CW. 1990. Serological detection of experimental *Salmonella enteritidis* infections in laying hens. *Avi Dis* 34 : 721~728.
37. Runnels RA, Coon CJ, Farley H, et al. 1927. An application of the rapid method agglutination test to the diagnosis of bacillary white diarrhea infection. *JAVMA* 70 : 660~662.
38. Bryant MC. 1972. Antibiotics and their laboratory control. 2nd ed. Butterworth, London : 24~30.
39. Bergqvist E, Rosende S, Bauer R. 1973. Factors which can disturb the hemagglutination test in the diagnosis of pullorum disease ; isolation and identification of microorganisms which react nonspecifically with pullorum

- antigen. *Agric Tec*(Santiago). 33 : 204~208.
40. Sato Y, Sato G. 1997. Status of *Salmonella gallinarum-pullorum* infectious in poultry in Zambia. *Avi Dis* 41 : 490~495.
 41. Gast RK, Beard CW. 1989. Age-related changes in the persistence and pathogenicity of *Salmonella typhimurium* in chicks. *Poult Sci* 68 : 1454~1460.
 42. Chew M, Liow TM. 1971. Salmonella isolations from aviary birds in Singapore. *Kajian Vet* 3 : 83~87.
 43. Snoeyenbos GH, Smyser CF, Roekel HV. 1969. Salmonella infections of the ovary and peritoneum of chickens. *Avi Dis* 13 : 668~670.
 44. Thain JA, Blandford TB. 1981. Long term serological study of chickens naturally infected with *Salmonella pullorum*. *Vet Rec* 109 : 136~138.
 45. 中剛于史, 김종배, 마점술. 1985. 한국에서 분리한 동물유래 salmonella균 의 약제 내성과 plasmid의 검출. 서울대학교 수의대 논문집 10(2) : 145~153.
 46. Kim KS, Lee HS, Mo IP. 1995. Outbreaks of fowl typhoid from chickens in Korea. RDA. *J Agri Sci* 37(1) : 544~549.
 47. Kim HH, Shin YH. 1995. Epidemiological characters and serotype of salmonella strains recently isolated from public health laboratories. *Kor J Publ Hlth* 19(4) : 343~350.
 48. Han TU, Uang KU, Kim TA. 1964. Survey of *Salmonellae* present in hatching eggs. *J Agri Sci* 7(3) : 11~17.
 49. Ewing WH. 1986. Edwards and Ewing's identification of enterobacteriaceae. 4th ed. New York, Elsevier.
 50. Cowan ST. 1974. Manual for the identificaion of medical bacteria. 2nd ed. Cambridge University Press. London.
 51. Barsoum IS, Awad AY. 1971. Microtiter plate agglutination test for salmonella antibodies. *Appl Microbiol* 23(2) : 425~426.
 52. Andrews JM, Wise R. 1986. Disc sensitivity testing with ciproxacin. *Antimicrobial Agents Chemother* 29(6) : 1088~1089.
 53. Bauer JD. 1982. Clinical laboratory methods. The C. V. Kirby Co. St, Louis, Toronto, London.
 54. Bauer LW, Kirby WMJC. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Am J Clin Path* 36 : 493.
 55. Steers E, Foltz EL, Graves BS. 1959. An inocula replicating apparatus for routine testing of bacterial susceptibility to antibiotics. *Antibiotic Chemother* 9 : 307~312.
 56. MacLowry JD, Jaqua MJ, Selepak ST. 1970. Detailed methodology and implementation of semiautomated serial dilution microtechnique for antimicrobial susceptibility testing. *Appl Microbiol* 20 : 46~53.
 57. Calson VL, Snoeyenbos GH. 1974. Comparative efficacies of selenite and tetrathionate enrichment broths for the isolation of salmonella serotypes. *Am J Vet Res* 35 : 711.
 58. Smith HW. 1952. The evaluation of culture media for the isolation of *Salmonellae* from faeces. *J Hyg Camb* 50 : 21.
 59. Kim YH, Kang HJ. 1985. Serological

- group and antimicrobial sensitivity of *Salmonellae* isolated from dogs and cats. *Kor J Publ Hlth* 10(1) : 11~16.
60. 탁연빈. 1973. 대구지방에 있어서의 salmonella 보균상태에 대하여. *중양의학*. 25(2) : 237~240.
61. 윤용덕, 김종만, 김동성. 1981. 각종동물에서 분리된 살모넬라속균의 약제 감수성. *한국수의공중보건학회지* 5(1) : 19~24.