

## 전남지역 도축돈에서 분리된 *Salmonella typhimurium*의 병원성에 관한 연구

정대영, 박종태, 고흥범<sup>1\*</sup>

전라남도축산기술연구소, 전남대학교 수의과대학<sup>1\*</sup>

(접수 2003. 2. 3, 게재승인 2003. 3. 10)

## Studies on the pathogenicity of *Salmonella typhimurium* isolated from slaughtered pigs in Chonnam area

Dae-Young Jeong, Jong-Tae Park, Hong-Bum Koh<sup>1\*</sup>

Chonnam Livestock and Veterinary Research Institute, Kwangju, 506-555, Korea

<sup>1\*</sup>College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Kwangju, 500-757, Korea

(Received 3 February 2003, accepted in revised form 10 March 2003)

### Abstract

Non-typhoidal *Salmonella* serovars remain a potential threat to human health and many animals including beef cattle, broiler chickens, and pigs which possible sources of non-typhoidal salmonellosis in human. In this study, the cecal contents of slaughtered pigs were examined for *Salmonella* serovar prevalence. The characteristics of the isolates, including antimicrobial resistance patterns and virulence genes, were studied along with the reference strain *S typhimurium* ATCC 13311. Out of 640 sample, 137 *Salmonella*(21.4%) were isolated and their serovar were identified *S typhimurium* 83 strains(60.6%), *S agona* 10 strains(7.3%), *S schwarzengrund* 4 strains(2.9%), *S derby* 4 strains(2.9%), *S ayinde* 1 strains(0.7%), and untypable 35 strains(25.5%). All 83 *S typhimurium* strains(100%) were multi-drug resistance to at least 7 antibiotics, and 20 strains(24.1%) of 83 isolates were R-type ACSSuT. Examination of virulent gene by PCR revealed that 73 *S typhimurium* field isolates(88%) have a *invA* gene and 24 strains(28.9%) have a *spvC* gene.

Consequently, *S typhimurium* infection in slaughtered pigs was relatively to appear high prevalence in their herds which suggested that it should be necessary for herd health monitoring and surveillance.

Key words : Non-typhoidal *Salmonella*, Antimicrobial resistance, *invA*, *spvC*

---

<sup>1</sup>Corresponding author

Phone : +82-62-530-2849, Fax : +82-62-530-2809

E-mail : hbkoh@chonnam.ac.kr

## 서 론

Salmonella는 장내세균과에 속하는 그람음성의 lactose 비분해 균종으로 사람을 포함한 거의 모든 척추동물, 계란, 어패류 그리고 일부 채소 등에도 존재한다<sup>1)</sup>. 또한 Salmonella는 사람과 동물에 감염되어 장염, 위장염 및 패혈증을 일으키는 장내세균으로 사람과 동물 상호간의 감염증을 유발하는 인수공통 전염병의 원인균이다. 무수히 많은 보균동물이 사람에 대한 감염원이 되어 환경이나 식품오염을 통하여 식품매개성 감염을 유발하므로 공중보건학적으로 매우 중요한 세균이기도 하다<sup>2~5)</sup>.

Salmonella는 숙주적응성 혈청형과 비숙주적응성 혈청형으로 구분된다. 숙주적응성 혈청형으로는 사람을 숙주로 하는 *S typhi*, *S paratyphi A*, *S paratyphi C*, 그리고 *S sendae* 등이 있고, 소를 숙주로 하는 *S doublin*, 돼지를 숙주로 하는 *S choleraesuis*와 *S typhisuis* 및 닭을 숙주로 하는 *S pullorum*, *S gallinarum*이 있으며 양을 숙주로 하는 *S abortusovis*가 대표적이다. 그 중에서도 비숙주적응성 혈청형인 *S typhimurium* 과 *S enteritidis*는 사람을 비롯한 모든 동물에 감염되어 장염과 패혈증을 유발하는 대표적인 혈청형이다<sup>6~9)</sup>.

사람에서 위장염의 가장 중요한 원인으로 잘 알려진 비티프스성 살모넬라 감염증은 주로 동물 유래 음식물의 섭취를 통하여 감염되고<sup>2,10,11)</sup>, 세계 여러 지역으로부터 다제내성 균주가 출현함으로써 공중보건학적 중요성이 증가하고 있다. 대표적인 비숙주 적응성 혈청형인 *S typhimurium*은 1982년 Loeffler에 의하여 처음 분리 보고된 후 전 세계적으로 널리 분포하는 것으로 보고되었으며 모든 동물에 감염되어 패혈증, 유산, 폐렴 등의 증상을 나타내고, 특히 환경이나 식품오염을 통하여 사람에게 식중독을 유발한다<sup>12,13)</sup>.

최근 들어 *S typhimurium*은 ampicillin, chloramphenicol, streptomycin, sulfonamide 및 tetracycline 등 5종의 항생제에 대하여 다제 내성을 나타내는 R-type ACSSuT strain의

존재가 확인 된 후 이들의 분리가 전 세계적으로 보고되고 있다. 이들 5종의 항생제에 대하여 내성을 나타내는 다제내성 균주는 phage typing 결과 phage type 104로 확인됨으로써 WHO에 의하여 1984년부터 *S typhimurium definitive type 104*(STDT 104)로 명명되었으며 전 세계적으로 사람과 동물에서 보고되고 있다<sup>14~17)</sup>. 이들 균주는 사람과 동물에 강한 병원성을 보유하고 있으며 주요 보균동물인 소로부터 다른 동물로 빠르게 전파되어 거의 모든 동물에 분포하는 것으로 보고되고 있다. 최근 영국과 유럽의 여러 나라들과 미국과 캐나다에서 분리빈도가 급속히 증가하고 있는 추세에 있다<sup>18,19)</sup>.

Salmonella 감염증은 Salmonella의 분리주들 사이에서 항생제 내성의 증가 특히 *S typhimurium definitive type*(STDT) 104 균주의 급속한 확산 및 국제적 교역 증가로 인하여 오염된 식품을 통하여 국제적으로 광범위하게 발생함으로써 공중보건학적 심각성이 크게 대두되고 있다. 또한 돈군 내에서도 Salmonella의 감염률이 급격히 높아져 사람에서 식중독의 주요 감염원으로 대두되고 있다.

이상과 같은 이유로 세계적으로 많은 양돈 국가에서는 돈 군에서 Salmonella 감염 검사를 통한 청정돈군 생산 기초자료를 마련하고자 많은 노력을 하고 있다. 전통적으로 널리 사용되고 있는 돼지에서의 Salmonella 감염검사는 돼지나 돈군으로부터 수거되거나 도축장에서부터 수거된 돼지 분변에 대한 세균학적 배양검사에 의하여 이루어지고 있으며<sup>20~22)</sup>, 최근에는 가검물 채취 방법이나 배양 방법에서의 차이를 보완하기 위하여 ELISA를 사용한 혈청이나 육즙 시료에서 특히 항체나 항원을 검사하는 돈군 monitoring이나 감시프로그램을 위해 보완적으로 사용되고 있다<sup>23~27)</sup>. 또한 이들 Salmonella의 돼지 분리주에 대한 항생제 감수성검사 monitoring은 돼지에서 임상적으로 살모넬라증이 발생하였을 때 치료를 위한 항생제를 선택하고 Salmonella 내성균주의 사람으로 전이위험을 입증하는데 매우 중요하다<sup>28,29)</sup>.

세계적으로 비티프스성 살모넬라증의 원인으

로 작용하는 *S typhimurium*에 대한 분포조사와 강한 항생제 내성을 보유한 STDT 104에 대한 조사가 널리 이루어지고 있으며, 주요 숙주로 작용하는 것으로 알려진 다양한 동물로부터 *S typhimurium* 및 STDT 104에 대한 조사가 널리 이루어지고 있으나 국내에서는 동물에서의 이들에 대한 조사가 거의 전무한 상태이다.

따라서 본 실험에서는 전남지역 도축장에 출하된 도축으로부터 *Salmonella*의 감염분포를 조사하고, 분리된 *S typhimurium*의 항생제 내성 유형을 검사함으로써 돼지에서의 *Salmonella* 전파 위험도를 검사하고 이들에 대한 효과적인 예방 및 치료체계를 확립할 수 있는 기초자료를 마련하고자 하였다. 또한 돼지에서 분리된 야외 분리주에 대해서 장점막에서의 비특이성 탐식상피세포로의 침투에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 *Salmonella*의 *invA* gene의 분포를 확인하고, *Salmonella*가 식세포에 의하여 탐식된 후 발현되어 세망내피세포에서 *Salmonella*의 성장과 생존을 증강시키는 것으로 알려진 중요한 병원성 발현유전자인 *spvC*의 분포를 검사함으로써 국내 분리주의 위험도 정도를 평가하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

전남지역의 32개 농장에서 각 농장별로 20두씩 640두를 대상으로 검사를 실시하였다. 도축장으로 출하된 돼지 도체의 맹장으로로부터 내용물을 무균적으로 채취한 후 곧바로 실험실로 운반하여 *Salmonella*의 분리에 사용하였다.

### *Salmonella*의 감염 분포조사

*Salmonella*의 분리 : 채취한 가검물로부터 *Salmonella*의 분리는 Stone 등의 방법<sup>26,27)</sup>에 따라 다음과 같이 실시하였다. 채취한 맹장 내용물을 10배 용량의 buffered peptone water (BPW, Difco, USA)에 넣어 37°C에서 24시간 증균 배양하였다. 증균된 분변 내용물 100 $\mu$ l를 채취하여 10ml의 Rappaport-Vasilliadis Broth

(Difco, USA)에 접종한 후 42°C에서 24시간 추가 증균 배양하였다. 증균액을 *Salmonella* 선택배지인 XLT-4 agar(Difco, USA)에 도말하여 37°C에서 24시간 배양한 후 *Salmonella*로 의심되는 집락을 수거하여 *Salmonella*의 동정에 사용하였다.

*Salmonella*의 동정 : *Salmonella*의 혈청형에 대한 동정은 Murray의 방법<sup>7)</sup>에 따라 다음과 같이 실시하였다. *Salmonella* 의심균을 감별배지인 MacConkey agar(Difco, USA)에 계대배양한 후 lactose 비분해 집락을 골라 triple sugar iron agar(TSI, Difco, USA)에 접종하여 배양성상을 검사하였다. *Salmonella*로 동정된 세균은 *Salmonella* O antisera(Difco, USA)를 이용하여 O antigen 검사를 실시하였고, O antigen이 결정된 균주는 H antigen(Difco, USA)검사를 실시하였다. 검사 대상 집락은 10 ml의 veal infusion broth(Difco, USA)에 접종한 후 37°C에서 24시간 증균하였다. 세균 증균액은 10ml의 0.6% formalin-saline과 동량 혼합하여 실온에서 1시간 동안 균을 고정하고 H antisera와 고정균액 500 $\mu$ l를 혼합하여 50°C 항온수조에서 1시간 반응시킨 후 응집유무를 관찰하는 방법으로 H antigen을 확인하였다.

### *S typhimurium*에 대한 항생제 감수성검사

항생제 감수성 검사 : 분리된 *S typhimurium*에 대한 항생제 감수성 검사는 Bauer 등의 방법<sup>30)</sup>에 따라 디스크 확산법으로 다음과 같이 실시하였다. 분리균주를 brain heart infusion broth(BHI, Difco, USA)에 접종하여 배양한 후 0.85% 멸균 saline으로 MacFarland scale No 0.5로 조정된 후 멸균면봉을 이용하여 세균 희석액을 Mueller Hinton agar(Difco, USA)에 도말 접종하였다. 세균액이 건조된 후 BBL사의 항생제 감수성 디스크 (Sensidisc, BBL Co, USA)를 부착시키고 37°C에서 배양하였다. 배양결과는 항생제 디스크 주위의 억제 영역의 직경을 측정하여 제조사의 판독기준에 따라 감수성(susceptibility), 중등도(intermediate), 내성(resistant)의 세 단계로 평가하였다.

검사대상 항생제 : 양돈농가에서 예방 및 성

장축진목적으로 사용되는 사료첨가제용 항생제와 질병 발생 시 치료를 주목적으로 사용되는 주사 및 음수용 치료용 항생제를 바탕으로 amoxicillin/clavulanic acid, amikacin, ampicillin, bacitracin, ceftiofur, cephalothin, ciprofloxacin, chloramphenicol, enrofloxacin, erythromycin, gentamicin, lincomycin, lincomycin/spectinomycin, neomycin, norfloxacin, ploymyxin B, penicillin, streptomycin, sulfamethoxazol/trimethoprim, tetracycline, tiamulin, tylosin 등 22종의 항생제를 선택하였다.

R-type ACSSuT의 확인 : 항생제 감수성검사 결과는 ampicillin, chloramphenicol, streptomycin, sulfonamides 및 tetracycline의 5종 항생제에 대하여 동시 다제내성을 나타내는 균주를 R-type ACSSuT로 판정하고 그 분포를 조사하였다.

#### 병원성 유전자에 대한 PCR검사

*Salmonella typhimurium*의 *invA* gene과 *spvC* gene에 대한 PCR검사는 Abouzeed 등의 방법<sup>4)</sup>에 따라 다음과 같이 실시하였으며 *invA* gene과 *spvC* gene을 모두 포함하고 있는 *S typhimurium* ATCC 13311을 비교 균주로 사용하였다.

DNA추출 : *Salmonella*의 독력 보유 유전자에 대한 PCR검사를 위한 whole cell DNA추출은 Cohen 등의 방법<sup>25)</sup>에 따라 다음과 같이 실시하였다. *S typhimurium* 야외 분리주 83주와 *S typhimurium* ATCC 13311 표준 균주를 BHI broth에 접종하여 37°C, 24시간 배양한 후 배양

균액을 회수하여 12,000 rpm의 속도로 30분간 원심분리 하였다. 상층액을 제거하고 세균 침전물을 1ml의 Tris-EDTA buffer(10mM의 Tris·HCL, 1mM EDTA, pH 8.0)에 부유한 다음 12,000 rpm으로 5분간 원심 분리하여 배지성분을 제거하였으며, 동일한 방법으로 세균 침전물을 두 번 씻어내고 세균 침전물을 300 $\mu$ l의 Tris-EDTA buffer로 부유시킨후 10% sodiumdodecylsulfate(SDS) 100 $\mu$ l, 20mg/ml의 농도로 proteinase K 40 $\mu$ l, 10mg/ml lysozyme 100 $\mu$ l를 넣고 micropipette로 잘 혼합한 후 56°C 항온수조에서 1시간 동안 반응시켜 세균을 용해시켰다. 세균 용해액을 4°C에서 12,000rpm으로 10분간 원심분리 한 후 DNA부유 상층액을 거두어 동량의 혼합액(phenol : chloroform : isoamylalcohol = 25 : 24 : 1)과 섞어 12,000 rpm으로 20분간 원심분리하였다. 원심분리 후 단백질과 lipid가 제거된 DNA 부유액을 수거한 후 500 $\mu$ l isopropanol을 첨가하여 -70°C에서 2시간 동안 DNA를 탈수시켰다. 탈수된 DNA분자는 12,000 rpm으로 15분간 원심 분리하여 수거한 후 70% ethanol 500 $\mu$ l로 2회 세척한 후 실온에서 공기건조시켜 DNA를 얻었다. DNA분자는 30 $\mu$ l의 Tris-EDTA buffer에 부유하여 사용 전까지 -20°C에 냉동보관하였다.

PCR primer : *S typhimurium*의 *invA* gene과 *spvC* gene 특이적인 oligonucleotide primer는 Sawmy 등의 방법<sup>31)</sup>에 따라 다음과 같이 만들어 사용하였다(Table 1).

PCR증폭 : 야외 분리주와 표준 균주로부터 추출된 DNA는 AccuPower<sup>TM</sup>(Bioneer) PCR premix cocktail을 사용하여 10 $\mu$ l의 DNA 추출

Table 1. Oligonucleotide primer sequences and PCR amplication products size of *invA* and *spvC* virulence genes of *Salmonella*

Primer	Sequence	Products size
<i>invA</i>	sense 5'-TTg TTA Cgg CTA TTT TgA CCA-3'	521bp
	antisense 5'-CTg ACT gCT ACC TTg CTg ATg-3'	
<i>spvC</i>	sense 5'-Cgg AAA TAC CAT CAA ATA-3'	669bp
	antisense 5'-CCC AAA CCC ATA CTT ACT CTg-3'	

물을 20pmol primer로 DNA Thermal cycler Model 2400(Perkin Elmer, Scotia)에서 다음과 같은 조건으로 PCR 증폭을 실시하였다. 93℃에서 1분간 predenaturation을 실시한 후, 93℃에서 1분간 denaturation, 그리고 48℃에서 1분간 annealing, 그리고 72℃에서 2분간 extension을 30 cycles 적용한 다음, 72℃에서 2분간 last extension을 실시하였다.

전기영동 : 증폭된 PCR products는 100bp ladder(Biobasics, Canada)와 함께 1.5% agarose gel에서 100V로 30분간 전기영동 한 후 ethidium bromide로 염색하여 SL-20 DNA Image Visualizer(Seolin Scientific Co, USA)를 사용하여 특이 band를 확인하였다.

## 결 과

### Salmonella의 감염 분포

도축돈의 맹장 내용물을 대상으로 Salmonella의 감염분포 조사결과는 Table 2와 같다. 32개 농장 640두의 돼지로부터 137주(21.4%)의 Salmonella가 분리되었으며, 이들 분리주의 혈청형 분포를 조사한 결과 *S typhimurium* 83주(60.6%), *S agona*가 10주(7.3%), *S schwarzengrund*가 4주(2.9%), *S derby*가 4주(2.9%), *S ayinde*가 1주(0.7%) 분리되었으며 35주(25.5%)는 형별이 불가능하였다.

### *S typhimurium*에 대한 항생제 감수성

본 실험에서 분리된 83주의 *S typhimurium*에 대하여 실시한 항생제 감수성 검사결과는 Table 3과 같다. 83 분리주 모두 22종의 항생제 중 7종 이상의 항균제에 대하여 내성을 나타내는 다제내성균으로 확인되었다. 83주중 63주(76%)는 10개 이상의 항생제에 대하여 내성을 보였고 이중 한 균주는 20개 이상의 항생제에 대하여 내성을 나타내었다. 항생제 별 유형을 조사한 결과 amoxicillin/clavulanic acid, streptomycin, norfloxacin, ploymyxin B, tetracycline, tiamulin, ceftiofur 등에는 전균주

Table 2. Prevalence of Salmonella serotypes isolated from slaughtered pigs in Chonnam area

Salmonella serotypes	Prevalence	
	Number of strain	Prevalence rate(%)
<i>S typhimurium</i>	83	60.6
<i>S agona</i>	10	7.3
<i>S schwarzengrund</i>	4	2.9
<i>S derby</i>	4	2.9
<i>S ayinde</i>	1	0.7
Untypable	35	25.5
Total	137	100

가 내성을 나타내었으며, amikacin에는 68주(82%), tylosin에는 65주(78%)가 내성을 보였다. Ciprofloxacin, chloramphenicol, ampicillin 및 sulfamethoxazol/trimethoprim에는 각각 56주(67%), 55주(66%), 48주(58%), 42주(51%)에서 내성을 나타내었다.

### R-type ACSSuT의 분포

22종의 항생제에 대하여 실시한 항생제 내성 검사 결과 ampicillin에 대하여 내성을 나타내는 균주가 48주(57.8%), chloramphenicol에 대하여 내성을 나타내는 균주가 55주(66.3%), sulfonamides에 대하여 내성을 나타내는 균주가 42주(50.6%)로 확인되었으며, 분리주 전체가 streptomycin과 tetracycline에 대하여 내성을 나타내었다. 또한 이들 내성 균주중 ampicillin, chloramphenicol, streptomycin, sulfonamide 및 tetracycline등의 5종의 항생제에 대하여 동시에 내성을 나타내는 R-type ACSSuT 균주는 20주(24.1%)로 나타났다 (Table 3).

### *invA* gene과 *spvC* gene에 대한 PCR 결과

주요 병원성 유전자인 *spvC* gene에 대한 PCR검사를 실시한 결과는 Table 4와 같았다. *S typhimurium* ATCC 13311균주와 함께 실시

Table 3. Antimicrobial susceptibility of 83 *Salmonella typhimurium* field isolated from slaughtered pigs in Chonnam area

Antibiotics	Potency	No of strains		
		Susceptible	Intermediate	Resistant
Amikacin	30 $\mu$ g	0	15	68
amoxicillin/Clavulanic acid	20 $\mu$ g/10 $\mu$ g	0	0	83
Ampicillin	10 $\mu$ g	23	12	48
Bacitracin	10U	26	39	18
Ceftiofur*		0	0	83
Cephlothin	30 $\mu$ g	37	25	21
Chloramphenicol	30 $\mu$ g	2	26	55
Chlorfloxacin	5 $\mu$ g	2	25	56
Enrofloxacin**	5 $\mu$ g	51	12	20
Erythromycin	15 $\mu$ g	44	31	8
Gentamicin	10 $\mu$ g	11	20	38
Lincomycin*	-	32	45	6
Lincomycin/Spectinomycin*	-	33	17	33
Neomycin	30 $\mu$ g	23	47	13
Norfloxacin	10 $\mu$ g	0	0	83
Penicillin	10 U	32	37	14
Polymyxin B	300 U	0	0	83
Streptomycin	10 $\mu$ g	0	0	83
Sulfamethoxazol/Trimethoprim	23.75 $\mu$ g/1.25 $\mu$ g	29	12	42
Tetracycline	30 $\mu$ g	0	0	83
Tiamulin*	-	0	0	83
Tylosin	-	9	9	65

\* Estimation by the disc reading standard of Denmark Rosco.

\*\* Estimation by the disc reading standard Bayer.

한 83개 야외분리주에 대한 *invA* gene과 *spvC* gene에 대한 PCR 검사결과 83주중 73주(88%)에서 *invA* gene에 특이적인 primer에 의하여 521bp의 증폭산물이 확인되었으며(Fig 1), 24주(28.9%)에서 *spvC* gene에 특이적인 primer에 의하여 669bp의 증폭산물이 확인되었다(Fig 2). 또한 15개 분리주는 *invA* gene과 *spvC* gene을 모두 보유하고 있었으며, *invA* gene과 *spvC* gene 모두에 대하여 음성을 나타내는 균주도 1주(1.2%)이다.

Table 4. Prevalence of *invA* gene and *spvC* gene of *Salmonella typhimurium* isolated from slaughtered pigs

Pathogenic gene	Prevalence	
	Number of strain	Prevalence rate(%)
<i>invA</i> gene	73	88.0
<i>spvC</i> gene	24	28.9
<i>invA</i> gene/ <i>spvC</i> gene	15	18.1
None	1	1.2

## 고 찰

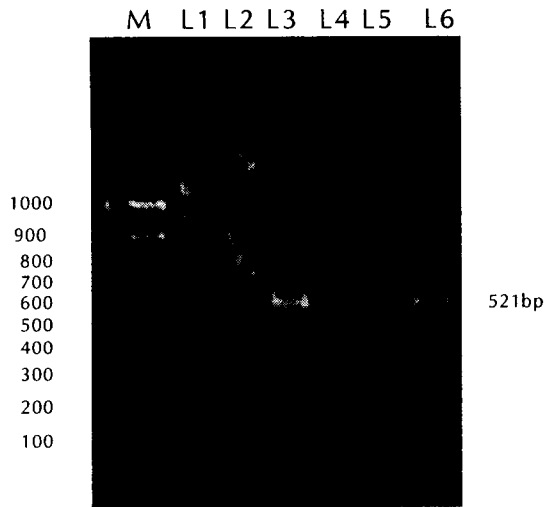


Fig 1. Analysis of PCR products of the *invA* gene of *Salmonella typhimurium* on 1.5% agarose gel electrophoresis Lane M : 100bp ladder, lane 1, 2, 4, 5 : *invA* negative *S typhimurium* isolates, lane 3 : *invA* positive *S typhimurium* isolates, lane 6 : *S typhimurium* ATCC 13311.

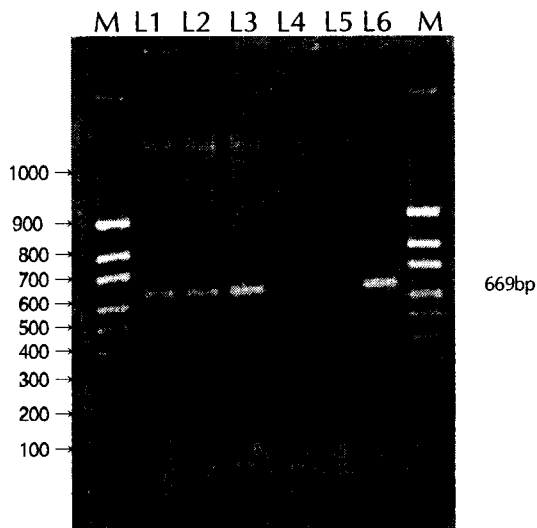


Fig 2. Analysis of PCR products of the *spvC* gene of *Salmonella typhimurium* on 1.5% agarose gel electrophoresis Lane M : 100 bp ladder, lanes L1 - L3 : *spvC* positive *S typhimurium* isolates, lanes L4, L5 : *spvC* negative *S typhimurium* isolates, lane L6 : *S typhimurium* ATCC 13311.

*Salmonella*는 장내세균과에 속하는 그람음성 간균으로 세계적으로 약 2,300종의 혈청형이 분리·보고되어 숙주적응성 혈청형과 비숙주적응성 혈청형으로 구분된다. 사람의 위장염의 가장 중요한 원인으로 알려진 비티프스성 살모넬라 감염증은 세계 여러 지역으로부터 다제내성균주가 출현함으로써 공중보건학적으로 그 중요성이 부각되고 있다<sup>32)</sup>. 특히 대표적인 비숙주적응성 혈청형으로 사람과 모든 동물에 감염되고 닭에서 paratyphoid를 유발하는 non-typhoidal salmonellosis의 원인체인 *S typhimurium*은 ampicillin, chloramphenicol, streptomycin, sulfonamide, tetracycline의 5종 항생제에 대하여 다제내성을 나타내는 R-type ACSSuT strain의 존재가 확인된 후 이들의 분리가 전 세계적으로 보고됨으로써 공중보건학적 중요성이 증가되고 있다. 이들 5종의 항생제에 대하여 내성을 나타내는 다제내성 균주는 phage typing 결과 phage type 104로 확인됨으로써 WHO에 의하여 *S typhimurium* definitive 104로 명명되었으며 전 세계적으로 사람과 동물에서 보고되고 있다. 이들 균주는 사람과 동물에 강한 병원성을 보유하고 있으며 주요 보균동물인 소로부터 다른 동물로 빠르게 전파되어 거의 모든 동물에 분포하는 것으로 보고되고 있다<sup>33)</sup>. 최근 영국과 유럽의 여러 나라들과 미국과 캐나다 등에서도 분리빈도가 급속히 증가하고 있는 추세에 있다.

국제적으로 교역이 증가되고 이로 인해 오염된 식품이 넓은 지역으로 확산되어 감에 따라 공중보건학적인 심각성이 크게 대두되고 있다. 특히, 돈군내에서 *Salmonella*의 감염률이 급격히 높아져 사람에서 식중독의 주요감염원으로 대두되고 있다. 이 때문에 세계적으로 많은 양돈 국가에서 *Salmonella* 감염검사는 돼지나 돈군으로부터 수거되거나 도축장으로부터 수거된 돼지 분변에 대한 세균학적 배양검사에 의하여 이루어지고 있으며, 최근에는 가검물 채취방법이나 배양방법에서의 차이를 보완하기 위하여 ELISA를 사용한 혈청이나 육즙시료에

서 특히 항체나 항원을 검사하는 돈균 모니터링이나 감시프로그램이 보완적으로 사용되고 있다<sup>34)</sup>. 또한 이들 Salmonella의 돼지 분리주에 대한 항생제 감수성 검사 모니터링은 돼지에서 임상적으로 Salmonellosis가 발생하였을 때 치료를 위한 항생제 선택의 기초자료가 될 수 있으며 내성 Salmonella의 사람으로의 전위 위험을 억제하는데 매우 중요하다.

따라서 이와 같은 공중보건학적 중요성 때문에 세계적으로 많은 나라들에서 nontyphoidal salmonellosis의 원인으로 작용하는 *S typhimurium*에 대한 분포조사와 강한 항생제 내성을 보유한 STDT104에 대한 조사가 널리 이루어지고 있으며, 주요 숙주로 작용하는 것으로 알려진 다양한 동물로부터 *S typhimurium* 및 STDT 104에 대한 조사가 널리 이루어지고 있다<sup>35)</sup>. 그러나 국내에서는 동물에서 *S typhimurium* 및 STDT 104에 대한 조사가 거의 전무한 상태이다.

본 조사에서 분리된 Salmonella 혈청형의 분리율은 21.4%로서 1986년 최 등<sup>36)</sup>이 대구, 경북, 경남 및 충남의 7개 양돈장과 대구의 도축장으로부터 실시한 Salmonella의 분포검사 결과의 2.9% 분리율보다 월등히 높았다. 그러나 최 등의 검사대상이 배설물, 이유자돈, 웅돈, 그리고 토양이나 분변, 야생설치류 등을 포함하고 있어, 상대적으로 낮은 분리율로 나타났으며, 본 실험과 동일한 대상인 도축돈의 직장 내용물에서의 분리율은 13.6%로 본 실험의 결과보다는 낮았으나 전체적인 분리율에 비교해서 상당히 높음을 알 수 있었다.

가검물로부터 Salmonella의 분리는 가검재료에 오염된 소독제 및 항생제 등이 균의 증식을 방해하고 생체에 만성 감염된 Salmonella는 적은 수의 균이 주기적으로 배설되며, 사료, 물 및 토양 등의 환경에 오염된 Salmonella도 대개 소량으로 존재하기 때문에 배양법으로 분리할 경우 검출율이 매우 낮다. 그러므로 만성 감염 닭이나 사료, 물, 양계장 주변에서 채취된 가검 재료로부터 보다 빠르고 특이적으로 Salmonella를 검출하고 혈청형을 동정하기 위한 분자생물학적 기법을 이용한 진단법 등의

보완이 필요하다.

본 실험에서는 돼지에서 분리된 *S typhimurium*에 대한 약제내성 양상 및 주요 내성형인 STDT 104형에 속하는 ampicillin, chloramphenicol, streptomycin, sulfonamides 및 tetracycline에 대한 동시 내성균주의 존재 유무 및 분포정도를 확인하고자 *S typhimurium*에 대한 항생제 내성검사를 실시하였다. 분리주 모두 22종의 항생제 중 7종 이상의 항균제에 대하여 내성을 나타내는 다제약제내성균으로 확인되었다. 분리주 83주 중 63주(76%)는 10개 이상의 항생제에 대하여 다제내성을 나타내었으며 이중 한 개 균주는 20개 이상의 항생제에 대하여 내성을 나타내었다. 항생제 별로 내성유형을 조사한 결과 amoxicillin, streptomycin, norfloxacin, polymyxin B, tetracycline, tiamulin 및 ceftiofur는 분리균주 전체에서 내성을 나타내었으며, amikacin은 68주(82%), tylosin은 65주(78%)에서 내성이 확인되었다. Ciprofloxacin, chloramphenicol, ampicillin 및 sulfonamides 각각 56주(67%), 55주(66%), 48주(58%), 42주(51%)에서 내성을 나타내었다. 또한 ampicillin, chloramphenicol, streptomycin, sulfonamides 및 tetracycline 등의 5종의 항생제에 대하여 동시에 내성을 나타내는 R-type ACSSuT 균주도 20주(24.1%)로 확인되었다. 과거에는 국내에서 분리된 Salmonella 중 내성균은 극히 드물게 보고되었으나, 1984년 이후 ampicillin, chloramphenicol 및 tetracycline에 대한 내성 균주들이 증가하기 시작하였고, 현재에는 대부분의 Salmonella 분리주가 1종 이상의 항생제에 대하여 내성을 갖는 것으로 보고되고 있다<sup>37)</sup>. 특히 주로 내성이 유도되는 약제들은 동물치료와 사료 첨가제로 많이 사용하는 것으로서 사람의 Salmonella 감염증의 원인이 동물성 식품 또는 동물을 통한 감염으로 이루어진다는 것을 고려하면 동물에서의 내성균은 사람에게도 매우 중요할 것으로 생각된다. 1993년에서 1995년까지 영국에서 조사 보고된 DT 104의 fluoroquinolones에 대한 내성은 1%에서 27%까지 증가되고 있으며 ciprofloxacin에 대한 내성은 0%에서 6%로 증



가되고 있다. 이러한 각국의 항생제 내성 증가율은 심각한 공중보건학적 문제점을 제시하고 있다. 그리고 본 연구에서 확인된 7종이상의 항균제에 대한 다제약제내성 유형은 국내에서도 무분별한 항생제의 오·남용이 이루어지고 있다는 것을 추측할 수 있었으며 추후 전국적인 조사 연구를 통한 국내의 다제약제내성에 대한 조사가 필요하다고 생각된다.

Salmonella 감염증의 역학관계를 파악하기 위한 방법으로 Salmonella의 혈청형, 생물형, phage형 및 약제내성 양상 등을 조사하고 있으며, 최근에는 Salmonella가 보유하고 있는 plasmid DNA 분절형태 등을 분석함으로써 보다 정확히 역학적 의의를 추구하고자 하는 연구도 이루어지고 있다<sup>38)</sup>. 또한 이태리의 Nastasi 등<sup>39)</sup>은 ribotyping으로 *S typhimurium*의 감염을 추적하여 사람감염의 주요 원인은 돼지와 소에 의한 감염이라고 보고하였고, 돼지에 분포된 ribotype이 사람유래와 유사한 분포를 나타낸다고 해 돼지에서 *S typhimurium*에 의한 불현성감염과 이로 인한 식육오염이 공중보건학적으로 매우 중요함을 알 수 있다.

Salmonella의 장상피세포 침입에 관여하는 주요 병원성 유전자로 알려진 *invA* gene과 세망내피계 세포 내에서 Salmonella의 생존과 증식을 가능하게 하는 주요 병원성 유전자인 *spvC* gene<sup>40)</sup>에 대한 PCR 검사를 실시하였다. 분리된 *S typhimurium* 83주중 한 결과, 73주(88.0%)에서 *invA* gene의 존재가 확인되었으며, 24주(28.9%)에서 *spvC* gene의 존재가 확인되었다. 또한 15개 분리주는 *invA*와 *spvC* gene을 모두 보유하고 있었으며, *invA*와 *spvC* 모두에 대하여 음성을 나타내는 균주도 1주(1.2%)에서 확인되었다. 지금까지 국내 분리주에 대한 *invA*와 *spvC* gene에 대한 PCR 검사는 실시되지 않아 정확한 분포를 비교할 수는 없으나, 캐나다에서 Abouzeed 등<sup>4)</sup>의 보고에서 사람과 소에서 분리된 *S typhimurium* 분리주 전체가 *spvC* gene을 보유하고 있었던 것과 비교한다면 전남지역 돼지로부터 분리된 *S typhimurium*에 대하여 실시한 본 실험의 결과 *spvC* gene의 보유율이 상대적으로 낮은 것을

알 수 있었다. 그러나 *spvC* gene은 사람의 병원성 유전인자로 그 중요성이 높게 평가되고 있는 점을 외국의 경우와 비교해 국내 분리주에 대한 폭 넓은 조사연구가 필요한 실정이다.

본 실험에서 얻어진 결과는 Salmonella 감염증의 예방을 통한 청정돈육 생산으로 국가경쟁력을 유도하고, 오염된 식품을 통하여 식중독을 일으키는 요인을 효과적으로 제거함으로써 식육의 안전성을 확보할 수 있는 기초자료를 제공할 수 있었다.

## 결 론

세계적으로 비티프성 살모넬라 감염증이 증가하고 있으며 인축의 빈번한 교류를 통하여 이들 균주가 국가간에 신속하게 전파됨으로써 식품을 통한 식중독 발생 또한 심각한 공중보건학적 문제로 대두되고 있다. 그러나 국내에서는 비티프스성 살모넬라 감염증의 주요 전파원으로 알려진 돼지에서 이들 Salmonella의 감염분포 및 이들의 병원성에 대한 연구는 거의 이루어지고 있지 않아 돼지를 매개로 한 사람으로 질병 발생의 위험성 정도 및 발생시의 치료대책 또한 마련되지 못하고 있다.

본 실험에서는 전남지역 도축돈으로부터 Salmonella의 감염분포를 조사하고 이들로부터 분리된 Salmonella중 *S typhimurium*의 항생제내성 유형을 검사하였고, 또한 이들 분리주에서 Salmonella의 대표적인 병원성 발현 유전자인 *invA* gene과 *spvC* gene의 분포를 확인함으로써 국내 분리주의 위험도 정도를 평가하고자 하였다.

전남지역 도축장으로 출하된 32개 농장 640두의 돼지 맹장 내용물로부터 137주(21.4%)가 분리되었으며 이들에 대한 혈청형 검사 결과 *S typhimurium* 83주(60.6%), *S agona*가 10주(7.3%) *S schwarzengrund*가 4주(2.9%), *S derby*가 4주(2.9%), *S ayinde*가 1주(0.7%)로 확인되었으며 35주(25.5%)는 미동정으로 분류되었다. Salmonella혈청형 중 *S typhimurium*의 22종 항생제에 대한 항생제 감수성 검사결과 83주 모두가 7종 이상의 항생제에 대하여

내성을 나타내는 다제내성 균주로 확인되었으며 이 중 20주 (24.1%)는 ampicillin, chlorphenicol, streptomycin, sulfonamide, tetracycline의 5종 항생제에 대하여 내성을 나타내는 R-type ACSSuT 균주로 확인되었다. 또한 *S typhimurium* 분리주의 *invA* 와 *spvC* 유전자에 대한 PCR 검사결과, 83주 중 73주 (88%)에서 *invA* gene의 존재가 확인되었으며 24주에서 *spvC* gene이 확인되었다. 15개 분리주에서 *invA* 와 *spvC*를 모두 보유하고 있었으며, *invA* 와 *spvC*모두에 대하여 음성을 나타내는 균주도 1주(1.2%) 확인되었다.

### 참고문헌

- Schwartz KJ. 1999. Salmonellosis, In *Diseases of Swine*. 8th ed. Straw BE, D'Allaire WL, Mengeling WL, et al., eds, Iowa State University Press, Ames, Iowa : 535~551.
- Duitschaever CL. 1977. Incidence of *Salmonella* in retailed raw cut-up chicken. *J Food Prot* 40 : 191~192,
- Fedoraka-Cray PJ, Bush EJ, Thomas LA, et al. 1996. *Salmonella* Infection in Herds of Swine, *Research on Salmonellosis in the Food Safety Consortium*. United States Animal Health Association. Alkansas, October 17.
- Abouzeed YM, Hariharan H, Poppe C, et al. 2000. Characterization of *Salmonella* isolates from beef cattel, broiler chickens and human sources on Prince Edward Island. *Comp Immun Microbiol* 23 : 253~266,
- Baumler AJ, Hargis BM, Tsois RM. 2000. Tracing the origins of *Salmonella* outbreaks. *Science* 287 : 50~51.
- Murray MJ. 1986. *Salmonella*: Virulence factors and enteric salmonellosis. *JAVMA* 189 : 145~147.
- Murray CJ. 1978. *Salmonella* serovars and phage types in humans and without added novobicin for isolation of *Salmonella* from beef and deboned poultry meat. *Appl Environ Microbiol* 36 : 747~751.
- Gray JT, Fedorka-Cray PJ. 1996. Salmonellosis in swine: A review of significant areas affecting the carrier state. 1st Int Symposium: *Ecology of Salmonella in pork production*. Ames, Iowa : 80~103.
- Jone BD. 1996. Salmonellosis: Host immune responses and bacterial virulence determinants. *Ann Rev Immunol* 14 : 533~561.
- Bhatia TS, McNabb GD, Nayar GPS. 1979. *Salmonella* isolation from litter as indicator of flock infection and carcass contamination *Avian Dis* 24(4) : 838~841.
- Barbour EK, Nabbut NH, Hinners SW. 1983. Distribution of Paratyphoids on Saudi Arabian poultry farms and pathogenicity studies of predominant serotypes. *Avian Dis* 27 : 616~622.
- McDonough PL, Jacobson RH, Timoney JF. 1989. Virulence determinants of *Salmonella typhimurium* from animal sources. *Am J Vet Res* 50 : 662~670.
- Ruiz J, Sempere A, Varela MC, et al. 1992. Modification of the methodology of stool culture for *Salmonella* detection. *J Clin Microbol* 30 : 525~526.
- Terakado N, Ohya T, Ueda H, et al. 1980. A survey on drug resistance and R plasmids in *Salmonella* isolated from domestic animals in Japan. *Jpn J Vet Sci* 24 : 543~550.
- Clewell DB. 1981. Plasmid, drug resistance and gene transfer in the genus *Streptococcus* *Microbol Rev* 45 : 409~436.
- O'bien TF, Hopkins JD, Gilleece ES. 1982.

- Molecular epidemiology of antibiotic resistance in *Salmonella* from animals and human beings in the United States. *New Engl J Med* 307 : 1~6..
17. Poppe C, Smart N, Khakhria R, et al. 1998. *Salmonella typhimurium* DT104 : A virulent and drug-resistant pathogen. *Can Vet J* 39 : 559~565.
  18. 김종만, 진남섭, 김종완 등. 1997. 가축의 설사변에서 분리한 대장균과 살모넬라균의 항균물질 감수성과 마우스에서의 치료효과. *대한수의학회지* 37 : 389~403.
  19. 김호훈, 박미선, 강연호 등. 1998. 1997년도 한국에서 분리된 *Salmonella* 주의 역학적 특성. *한국수의공중보건학회지* 22 : 253~260.
  20. Moats WA. 1978. Comparison of four agar plating media with and without added novobiocin for isolation of *Salmonella* from beef and deboned poultry meat. *Appl Environ Microbiol* 36 : 747~751.
  21. Finkelstein RA, Marchlewicz BA, McDonald RJ, et al. 1983. Isolation and characterization of a cholera-related enterotoxin from *Salmonella typhimurium*. *FEMS Microbiol Lett* 17 : 239~241.
  22. Collins CH, Lyne PM. 1984. Microbiological method, 5th ed, Butterworths : 142~145.
  23. Duguid JP, Anderson ES, Alfredson GA, et al, 1974. A new biotyping scheme for *Salmonella typhimurium* and phylogenetic significance. *J Med Microbiol* 8 : 149~168.
  24. Brunner F, Margadant A, Peduzzi R, et al. 1983. The plasmid patterns as an epidemiologic tool for *Salmonella typhimurium* epidemics : Comparison with the lysotype. *J Infect Dis* 148 : 7~11.
  25. Cohen ND, Neibergs HL, McGruder ED, et al. 1993. Genus specific detection of *Salmonella* using the polymerase chain reaction(PCR). *J Vet Diagn Invest* 5 : 368~371.
  26. Stone GG, Oberst RD, Hays MP, et al, 1994. Detection of *Salmonella* serovars from clinical samples by enrichment broth cultivation-PCR procedure. *J Clin Microbiol* 32 : 1742~1749.
  27. Stone GG, Oberst RD, Hays MP, et al, 1995. Detection of *Salmonella typhimurium* from rectal swabs of experimentally infected beagles by short cultivation and PCR-hybridization. *J Clin Microbiol* 33 : 1292~1295.
  28. 윤용덕, 김종만, 김동성 등. 1981. 각종 동물에서 분리된 살모넬라속균의 약제 감수성. *한국수의공중보건학회지* 5 : 19~24.
  29. 김호훈, 신영학, 장영수. 1995. 최근 보건 검사실에서 분리된 *Salmonella*속균의 혈청형 및 역학적 특성. *한국수의공중보건학회지* 19 : 343~350.
  30. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris TC. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol* 45 : 493~496.
  31. Swamy SC, Barnhard HM, Lee MD, et al. 1996. Virulence determinants *invA* and *spvC* in *Salmonella* isolated from poultry products, wastewater, and human sources. *Appl Environ Microbiol* 62 : 3768~3771.
  32. Smith HW, Tucker JF. 1979. The effect on the virulence and infectivity of *Salmonella typhimurium* and *Salmonella gallinarum* of acquiring antibiotic resistance plasmids from organisms that had caused serious outbreaks of disease. *J Hyg Camb* 83 : 305~317.
  33. Gulig PA, Curtiss R III. 1987. Plasmid associated virulence of *Salmonella typhimurium*. *Infect Immun* 55 : 2891~

- 2901.
34. Galan JE, Pace J, Hayman J. 1992. Involvement of the epidermal growth factor receptor in the invasion of cultured mammalian cells by *Salmonella typhimurium*. *Nature* 357 : 588~589.
  35. Price KE, Defuria MD, Pursiano TA. 1976. Amikacin, an aminoglycoside with marked activity against antibiotic resistant clinical isolates. *J Infect Dis* 134 : S249~S261.
  36. 최원필, 이희석, 여상건 등. 1986. 양돈장에 있어서 *Salmonella* 감염증의 역학적 연구. *대한수의학회지* 26 : 49~59.
  37. 정윤섭, 한상순, 권오현 등. 1987. Ampicillin 과 Chloramphenicol 내성 *Salmonella typhimurium* 분리의 증가. *대한미생물학회지* 22 : 55~59.
  38. Woodward MJ, McLaren I, Wray I. 1989. Distribution of virulence plasmids within *Salmonella*. *J General Microbiol* 135 : 503~511.
  39. Nistasi A, Mammina C, Cannova L. 2000. Antimicrobial resistance in *Salmonella enteritidis*, southern Italy, 1990~1998. *Emerg Infect Dis* 6 : 401~403.
  40. Gahring LC, Heffron F, Finlay BB, et al. 1990. Invasion and replication of *Salmonella typhimurium* in animal cells. *Infect Immun* 58 : 443~448.