

육계에서 분리한 *Salmonella gallinarum*의 약제내성 및 PFGE 양상

김성국, 김영환, 엄현정, 장성준, 조광현¹, 이양수

경상북도 가축위생시험소
(접수 2006. 5. 30, 게재승인 2006. 8. 10.)

Antimicrobial resistance and pulsed-field gel electrophoresis patterns of *Salmonella gallinarum* isolated from broiler

Seong-Guk Kim, Yeong-Hwan Kim, Hyun-Jung Eom, Seong-Jun Jang
Gwang-Hyeon Jo¹, Yang-Soo Lee

Gyeongbuk Veterinary Service Laboratory, Daegu, 702-701, Korea
(Received 30 May 2006, accepted in revised form 10 August 2006)

Abstract

Fowl typhoid (FT) is a septicemic disease caused by *Salmonella gallinarum*. The purpose of this study was to investigate the antimicrobial resistance and pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) patterns of *S. gallinarum* isolated from broiler. During 1999 to 2004, there was isolated a total of 26 strains in liver and spleen. The biochemical characteristics of *S. gallinarum* isolates was nonmotile, no production of H₂S, glucose gas, non-fermented rhamnose, indole-negative, fermentation of dulcitol, mannitol, maltose, and ornithine decarboxylase. At antimicrobial susceptibility, all of isolates were susceptible to amoxicillin/clavulanic acid, amikacin, neomycin, kanamycin, and cephalothin. Twenty-six isolates were divided into 19 resistant patterns and 6 strains was 8-multi-drug resistance. PFGE of *Xba*I restriction fragments of *S. gallinarum* isolates was 22 patterns.

Key words : *Salmonella gallinarum*, Antimicrobial susceptibility, PFGE

¹Corresponding author

Phone : +82-53-326-0013, Fax : +82-54-326-0014

E-mail : ckh1210@hanmail.net

서 론

가금티푸스(Fowl typhoid, FT)는 *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *gallinarum* (*S. gallinarum*)에 의해 일어나는 급성의 세균 감염증으로 간장의 심한 괴사반점과 출혈, 비장의 종대를 동반하고 패혈증을 일으켜 높은 폐사율을 나타내는 제2종 가축전염병으로 병아리에서는 추백리와 증상이 유사하며 성계에서는 패혈증을 주 증상으로 하는 소화기성 전염병으로 난계대 전염을 한다¹⁻⁴⁾.

가금티푸스의 병원체인 *S. gallinarum*은 추백리의 원인체인 *S. pullorum*과 매우 유사한 생물학적 성상을 가지고 있으며 *S. pullorum*과 *S. gallinarum*은 균체 항원구조가 O1, 9, 12로 동일하여 추백리 진단액에도 양성반응을 나타내므로 혈청반응만으로는 구별이 불가능하며 비교적 짧고 둔형의 간균의 형태를 띠고 비운동성의 통성혐기성의 그람 음성균이다. 보통의 한천배지에서 잘 자라며 집락의 형태는 초대 배양시 직경 1mm 내외의 작고 청회색을 띠며 습윤한 원형을 나타낸다.

이 균은 사람, 소, 개, 돼지, 토끼 등의 포유동물에도 감수성이 있으며 넓은 숙주영역을 가지고, 특히 닭과 칠면조에 감수성이 높다. 우 등⁵⁾은 가금티푸스균의 인공감염 실험에서 산란계의 품종별 내병성 실험을 실시하여 백색계보다는 갈색계에서 병원성의 발현이 더 높다고 보고한 바 있고 티푸스균은 어린 일령의 병아리에 감염시 폐사율이 높고 추백리와 유사한 증상을 나타내어 감별이 필요하며, 잠복기는 4-5일로서 난계대 전염되었을 경우 1주령 전후한 병아리에서 발병하여 높은 폐사율을 나타낸다. 감염병아리는 원기소실, 우모가 역립 상태로 까칠한 모습으로 줄고 있는 증상을 보이며, 백색설사로 인해 항문 주위가 회백색 계분이 부착되어 지저분하고 발육이 불량하고 허약하며, 사료섭취율이 떨어지고 부화 후 10일 이내에 높은 폐사율을 보인다. 폐사병아리의 부검시 신장이 종대되고 붉은색으로 변하며, 난황 흡수부전이 관찰되

고 간장에 백색결절 모양의 괴사소가 관찰되며 간장은 담즙에 염색되어 있으며 비장에 출혈반과 괴사반점 및 종대가 관찰된다⁶⁾.

가금티푸스는 1888년 영국의 양계장에서 처음으로 발생하여 Klein에 의해 'infectious enteritidis'라고 불리다가 그 후 1902년 미국의 Rhode Island의 양계장에 발생하여 조사한 결과 Curtice에 의해 FT로 명명되었다^{7,8)}.

국내에서는 1992년 경기도 김포 지역의 산란계 농장에서 공식 발생보고 되었으며 그 후 전국적으로 발생이 보고되었고 지금까지 양계산업에 막대한 경제적 피해를 일으키고 있다. 국내 발생양상은 1999년까지 주로 갈색계 산란농장에서 발생하여 산란율 저하 및 지속적 폐사를 일으켰으나 2000년대 들어 육계 사육농장에서 10일령 전후 병아리의 집단 폐사를 일으켜 막대한 경제적 손실이 발생하고 있다⁹⁾.

일반적으로 *S. gallinarum*을 비롯한 *Salmonella*의 병원성 인자로는 pili 또는 flagella, cytotoxin, lipopolysaccharide와 enterotoxin 등이 알려져 있다. *S. gallinarum*은 감염 후 세망내피계를 포함한 실질장기에 침투하여 전신성 질환을 일으키는데 이러한 과정은 *Salmonella*의 세포부착성(adhesion) 및 침투성(invasion)능력에 좌우되며, 부착성 및 침투성이 큰 *Salmonella*균이 높은 병원성을 지닌 것으로 인식되고 있다¹⁰⁻¹²⁾.

*Salmonella*속 균에서 항균제에 대한 내성균의 출현은 항균제의 무분별한 남용으로 발생하며, 이는 R plasmid가 관계되어 사람과 동물의 치료에 어려움을 주고 있다. plasmid는 접합을 통하여 동종 또는 이종 세균간에 전달될 수 있으므로 약제 내성균의 증가에 중요한 역할을 한다.

박 등¹³⁾은 1994년 경북지방 20개 농장에서 분리한 *S. gallinarum*에 대한 각 항균제들의 최소발육억제농도(MIC)를 조사한 결과 각 항균제의 MIC가 같거나 편차가 매우 작아 거의 일정하고, 1992년 이후 4년간의 야외분리주들은 일정한 감수성 양상을 보였으나,

1996년 이후 분리주들은 gentamicin, tetracycline 등에 내성을 보이는 것으로 보고한 바 있다. 티푸스균은 세포내 기생세균으로 일단 발병하면 재발되는 사례들이 많아 대부분 약제를 반복적으로 투여하므로 내성 발현 가능성이 높다고 할 수 있다.

이 등¹⁴⁾은 1995년에서 2001년까지 7년간 닭에서 분리한 티푸스균을 대상으로 약제감수성 시험을 한 결과 ofloxacin에 대하여 82.6%의 감수성과 enrofloxacin과 ciprofloxacin에 대하여 각각 6.55와 10.9%의 감수성 결과를 보고한 바 있고, 또한 오 등¹⁵⁾은 penicillin과 colistin에 대하여 79.2%와 95.8%의 내성을 보고한 바 있다.

Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)를 이용한 macro-restriction 기법은 높은 감별능력과 재현성으로 다양한 역학적 자료와 상관관계를 나타내므로 현재까지 *Salmonella*속 균에서 유전자 수준의 molecular typing을 위한 gold standard로 인정받고 있으나 결과를 산출하기까지 3일 이상의 장시간이 소요되고 숙련된 기술과 표준기법, 고가의 장비 및 시약, 분석프로그램의 설치 등의 경제적인 측면을 고려해 볼 때 일반 실험실에서 광범위하게 운영되지는 못하는 실정이다¹⁶⁻¹⁹⁾.

본 연구에서는 가금티푸스 발생이 의심되는 육계에서 분리한 *S. gallinarum*을 이용하여 생물학적 특성 및 약제내성양상을 조사하고 PFGE를 이용한 molecular typing을 실시하여 역학적인 상관관계를 비교분석하였다.

재료 및 방법

균 분리

1999-2004년 육계사육농장으로부터 경상북도 가축위생시험소에 병성감정 의뢰된 병아리를 대상으로 부검을 실시한 후 임상증상 및 육안적 병변을 고려하여 가금티푸스로 잠정 진단 후 무균적으로 간 및 비장 1g을 취하여 9 ml tryptic soy broth (TSB, Difco, USA)에

접종한 후 37°C, 18시간 배양하고 배양액을 직접 MacConkey agar (Difco, USA)에 도말하여 37°C, 24시간 배양하였다. *Salmonella*속 균으로 의심되는 유당 비분해성 집락을 선택하여 tryptic soy agar (TSA, Difco, USA)에 계대하여 4°C 냉장상태에 보관하면서 생화학적, 혈청학적 검사 및 약제 감수성시험을 실시하였다.

생화학적 성상검사

농장별로 분리한 총 26주의 균주에 대하여 Ewing 등²⁰⁾의 방법에 따라 운동성, indole 생성능, H₂S 생성능, urease, phenylalanine deaminase, lysine decarboxylase, arginine decarboxylase, ornithine decarboxylase 및 lactose, sucrose, mannitol, dulcitol, adonitol, inositol, sorbitol, raffinose, rhamnose, maltose, cellobiose, arabitol의 당분해능 검사, esculin 가수분해능, nitrate 환원능, glucose 가스 생성능 등의 성상검사를 실시하였다.

혈청형 동정

Difco (Detroit, USA)에서 생산한 *Salmonella* O 항혈청인자 1, 9, 12를 구입하여 Ewing의 방법에 따라 분리한 균체를 1 ml의 멸균생리식염수에 희석한 후 희석액 30 µl과 O 항혈청인자 20 µl를 혼합하여 slide 응집반응을 실시하였다.

항생제 감수성 시험

항생제 감수성 시험은 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)의 기준에 따라 디스크 확산법 (disc diffusion method)을 이용하여 *S. gallinarum*의 항균제 감수성 시험을 실시하였다²¹⁾. 먼저 공시균주를 TSA에서 37°C, 16-24 시간 동안 배양한 후 표준탁도 (McFarland No. 0.5)로 희석하고 멸균면봉을 사용하여 미리 준비한 Mueller-Hinton

medium (MHA, Difco, USA)에 균등하게 확산 도말한 다음 sensi-disc 8-phase self-tamping dispenser (BD[®], USA)를 사용하여 평판배지당 8종의 약제 disc를 적용한 후 37°C에서 24시간 배양하였다. 배양 후 disc 주위에 나타난 발육저지대를 caliper를 이용하여 측정하였고, 공시균주의 해당 항균제에 대한 감수성 또는 내성 판정은 disc 제조사에서 제시한 기준에 따랐다. 공시한 항균제는 BBL sensi-disc (BD[®], USA)제품인 amikacin (AN, 30 µg), ampicillin (AM, 10 µg), cephalothin (CF, 30 µg), ciprofloxacin (CIP, 5 µg), doxycycline (D, 30 µg), erythromycin (E, 15 µg), gentamicin (GM, 10 µg), kanamycin (K, 30 µg), norfloxacin (NOR, 10 µg), oxacillin (OX, 1 µg), penicillin (P, 10 U), colistin (CL, 10 µg), polymyxin B (PB, 300 U), tetracycline (Te, 30 µg), neomycin (N, 30 µg), amoxicillin/clavulanic acid (AMC, 30 µg), trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT, 1.25 µg), Oxoid[®] (UK)제품인 enrofloxacin (ENR, 5 µg) 등 18종을 사용하였다.

Pulsed-Field gel electrophoresis(PFGE)

공시균주의 molecular typing을 위해 다음과 같이 PFGE를 실시하였다. Agarose plug의 준비, agarose plug의 처리, 전기영동 등의 세 단계로 나누어 수행하였으며, 미국 질병통제센터 (CDC)에서 운영중인 PFGE network인 'PulseNet'에서 사용되는 표준 실험법을 기준으로 실시하였다²²⁾.

먼저 시험균주와 DNA 크기를 측정하기 위해 marker로 국립보건연구원에서 분양받은 *Salmonella breanderup* ATCC BAA-664주를 TSA에 접종하여 37°C, 18-24시간 배양한 다음 미리 준비한 2-3 ml의 cell suspension TE buffer (100 mM Tris, 100 mM EDTA, pH 7.5)에 OD₆₁₀ = 1.35의 탁도로 조정하여 균을 희석시켰다. 균현탁액 200 µl를 취하여 1.5 ml microcentrifuge tubes에 옮긴 다음, proteinase K (20 mg/ml) 10 µl를 넣고 잘 섞은 후 동량의 1.2% Seakem gold agarose (Cam-

brex, USA)를 첨가하여 disposable plug mold (BIO-RAD, USA)에 분주하여 plug를 제조하였다. 제조된 plug를 1.5 ml ES buffer (0.5M EDTA, pH 9.0; 1% sodium-lauroyl-sarcosine)과 40 µl proteinase K (20 mg/ml)가 첨가된 tube에 넣어 55°C 진탕항온수조에서 1시간 동안 반응시킨 후 plug wash TE buffer (10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH 7.5)를 이용하여 55°C 진탕항온수조에서 20분간 4회 세척한 후 plug를 1-2 mm 두께로 절단하여 30 U *Xba I* (Takara, Japan) 제한효소를 제조사의 사용지침에 따라 처리하였다. 제한효소 처리한 절편을 comb holder에 부착하여 gel casting stand에 올려놓은 후 준비한 1.0% 전기영동용 Seakem gold agarose를 분주하여 굳힌 다음 comb을 제거하였다. 전기영동용 용액은 0.5× TBE buffer (Tris base 5.4 g, boric acid 2.75 g, 0.05 M EDTA, pH 8.0)를 이용하였으며, CHEF Mapper XA PFGE system (BIO-RAD, USA)의 chamber에 채운 후 casting stand에서 30분간 실온에서 굳힌 gel을 고정시킨 후 6 V/cm, 120°, 14°C, switch time 2.16-63초에서 16시간 동안 전기영동을 실시하였다. 전기영동 완료 후 gel은 ethidium bromide (1 µg/ml)로 30분간 염색하고 UV transilluminator상에서 분절을 확인한 후 멸균증류수로 2회 세척하고 사진촬영을 위해 화상장치 (Gel Doc XR, BIO-RAD, USA)를 이용하여 촬영한 후 분석에 이용하였다.

Dendrogram에 의한 상관관계 분석

촬영한 gel 사진은 TIFF 그림 파일로 전환하여 분석프로그램인 FingerPrinter II Informatix software (BIO-RAD, USA)를 이용하여 유전자수준에서의 상동성을 분석하는 절차를 따랐으며, DNA 분절의 위치는 5% 허용 범위 (tolerance)를 적용하였고 개별 DNA 분절의 분자량은 marker의 lane에 기초하여 normalization하였다. 유전적 상관성의 Dice coefficient는 PFGE 양상을 근거로 "공통된 절

편의 수 $\times 2 \times 100$ / 전체 절편의 수” 공식에 의하여 구하였고, 군주간의 clustering은 un-weighted pair group method of average

linkage (UPGMA)에 의해 dendrogram을 작성하였다.

Table 1. Properties of *S. gallinarum* used in this study (n=26)

Strain No.	Source	Region	Age (day)	Year
183	liver	Chilgok	7	1999
934	liver	Gimcheon	12	2000
942	liver	Changnyeong	8	2000
1053	liver	Gimcheon	30	2000
1661	liver	Gumi	12	2000
1827	liver	Yeongcheon	36	2000
1889	liver	Gumi	7	2000
2007	liver	Uiseong	4	2000
2086	liver	Chilgok	7	2000
2196	liver	Uiseong	7	2001
2324	liver	Uiseong	Unknown	2001
2330	liver	Chilgok	Unknown	2001
2447	liver	Uiseong	20	2001
2467	spleen	Uiseong	14	2001
2503	liver	Seongju	Unknown	2002
2629	liver	Gumi	33	2002
2675	liver	Geochang	Unknown	2002
2870	liver	Dalseong	2	2003
2877	liver	Gimcheon	10	2003
2962	liver	Cheongdo	Unknown	2003
2964	liver	Gunwi	7	2003
3005	spleen	Uiseong	7	2003
3034	spleen	Seongju	5	2003
3038	liver	Uiseong	7	2003
3311	liver	Andong	9	2003
3339	liver	Cheongsong	10	2004

결 과

1999-2004년까지 가금티푸스 발생이 의심되는 육계 사육농장으로부터 병성감정 의뢰된

병아리 가검물을 대상으로 간장 및 비장에서 *S. gallinarum*을 분리한 농장은 총 26호이며, 군주별 내역은 Table 1과 같다.

Table 2. Biochemical properties of *S. gallinarum* isolated (n=26)

Test or substrates	Positive strains	
	No.	%
Motility	0	0.0
Indole production	0	0.0
H ₂ S production	0	0.0
Urease	0	0.0
Phenylalanine deaminase	0	0.0
Lysine decarboxylase	26	100.0
Arginine decarboxylase	0	0.0
Ornithine decarboxylase	0	0.0
Esculin hydrolase	0	0.0
Nitrate	26	100.0
Gas production of glucose	0	0.0
Fermentation of lactose	0	0.0
sucrose	0	0.0
mannitol	26	100.0
dulcitol	26	100.0
adonitol	0	0.0
inositol	0	0.0
sorbitol	0	0.0
raffinose	0	0.0
rhamnose	0	0.0
maltose	26	100.0
cellobiose	0	0.0
arabitol	0	0.0

분리한 *S. gallinarum*의 생화학적 성상을 검사한 결과 Table 2와 같이 26주 모두 동일한 생화학적 성상을 나타내었으며, 운동성, indole 및 H₂S 생성능, urease, phenylalanine deaminase 시험에서 모두 음성으로 나타났으며, 단백질분해능에서 lysine만 분해하였고, ornithine과 arginine에 대해서는 반응을 나타내지 않았다. 당분해능 시험에서 12종의 당 중에서 dulcitol, mannitol 및 maltose에 대해서만 분해능이 인정되었고 나머지 당들에 대해서는 모두 반응을 보이지 않았다. 생화학적 성상 결

과 *S. pullorum*과 감별이 필요한 glucose gas 산생능(-), dulcitol(+), maltose(+), ornithine decarboxylase(+))에서 일치하는 결과를 나타내었다.

26주의 *S. gallinarum*에 대하여 *Salmonella* O 항혈청의 group D와 factor 1, 9, 12에 대한 슬라이드 응집반응검사를 실시한 결과 모두 응집 반응을 나타내는 것으로 확인되었다.

디스크 확산법에 의한 항생제 감수성 시험 결과는 Table 3과 같았다.

Table 3. Antimicrobial drugs susceptibility of *S. gallinarum* isolated (n=26)

Antimicrobial drugs	Susceptibility		
	Resistant	Inter-mediate	Susceptible
Amikacin	-	-	26
Neomycin	-	3	23
Doxycycline	10	8	8
Erythromycin	26	-	-
Gentamicin	13	2	11
Kanamycin	-	3	23
Cephalothin	-	3	23
Ciprofloxacin	3	14	9
Norfloxacin	7	14	5
Enrofloxacin	3	13	10
Oxacillin	26	-	-
Penicillin	26	-	-
Amoxicillin/ clavulanic acid	-	-	26
Ampicillin	4	2	20
Tetracycline	10	2	14
Trimethoprim/ sulfamethoxazole	5	10	11
Polymyxin B	-	18	8
Colistin	5	17	4

amikacin 및 amoxicillin/clavulanic acid에 대해서는 전 균주가 감수성을, neomycin, kanamycin 및 cephalothin에 대해서는 전균주가 중등도 이상의 감수성을, 퀴놀론계열의 ciprofloxacin,

norfloxacin 및 enrofloxacin에서는 각각 23주 (88.5%), 19주 (73.1%), 23주 (24.3%)가 중등도 이상의 감수성을 보였다.

분리한 *S. gallinarum*의 항생제에 대한 내성 양상은 Table 4와 같다. 분리된 26주 모두는 erythromycin, penicillin, oxacillin에 모두

내성을 가진 것으로 나타났고 19개의 약제내성형으로 분류되었다. erythromycin, penicillin, oxacillin 포함하여 1종에 내성을 가진 주는 7주가 조사되었고, 8종 이상의 약제내성을 가지는 다제내성주가 4 형태로 분류되고 6주로 조사되었다.

Table 4. Antimicrobial resistance patterns of *S. gallinarum* isolated (n=26)

Resistance patterns	No. of isolates	Strain No.
OX P E	3	183, 2007, 3339
OX P E NOR	1	942
OX P E SXT	1	1053
OX P E GM	1	1661
OX P E D	2	2467, 3311
OX P E CL	2	2447, 3005
OX P E AM	1	2962
OX P E Te D	1	934
OX P E GM Te	1	1889
OX P E GM SXT	1	2870
OX P E GM CL	1	1827
OX P E GM Te D	2	2086, 2629
OX P E GM NOR SXT	1	2964
OX P E GM Te D CL	1	2503
OX P E GM AM Te D	1	3034
OX P E GM Te NOR ENR CIP	1	2196
OX P E GM CIP NOR ENR	2	2675, 2324
OX P E GM Te NOR D CL	1	2330
OX P E GM AM Te SXT D	2	2877, 3038
Total	26	

1999-2004년 사이에 분리된 26주의 *S. gallinarum*을 대상으로 제한효소 *Xba I*을 처리하여 PFGE를 실시하여 유전자 양상을 분석한 결과 22개 유형의 밴드양상을 확인할 수 있었다 (Fig 1, 2). 2000년도에 분리한 8주의 *S. gallinarum*을 대상으로 PFGE 양상을 분석한 결과는 Fig 3과 같다. 김천과 의성에 분리된 균주는 100%의 유사성을 나타내었으며, 창녕에서 분리된 균주 또한 80% 이상의 유사성을 보여 동일 유래에 근거한 가금티푸스 발생임을 짐작할 수 있었다.

2003년에 분리한 8주의 *S. gallinarum*의 PFGE 양상을 보면 의성과 성주에서 분리한

3005주와 3034주가 유전적으로 동일한 것으로 나타났고 의성의 3038주가 유전적으로 90%, 군위지역에서 분리한 2964주는 82%의 유사성을 나타내어 이 세 지역에서 발생한 가금티푸스는 동일한 근원을 가지는 것으로 조사되었다 (Fig 4). 한편 의성지역에서 분리한 연도별 7주의 *S. gallinarum*의 PFGE 양상을 보면 2001년에 분리한 2447주와 2467주 및 2003년 분리한 3005주와 3038주는 각각 90%의 유사성을 나타내었으나 타 분리주들은 서로 다른 양상을 나타내어 가금티푸스 발생에 여러 경로가 관여되었음을 확인할 수 있었다.

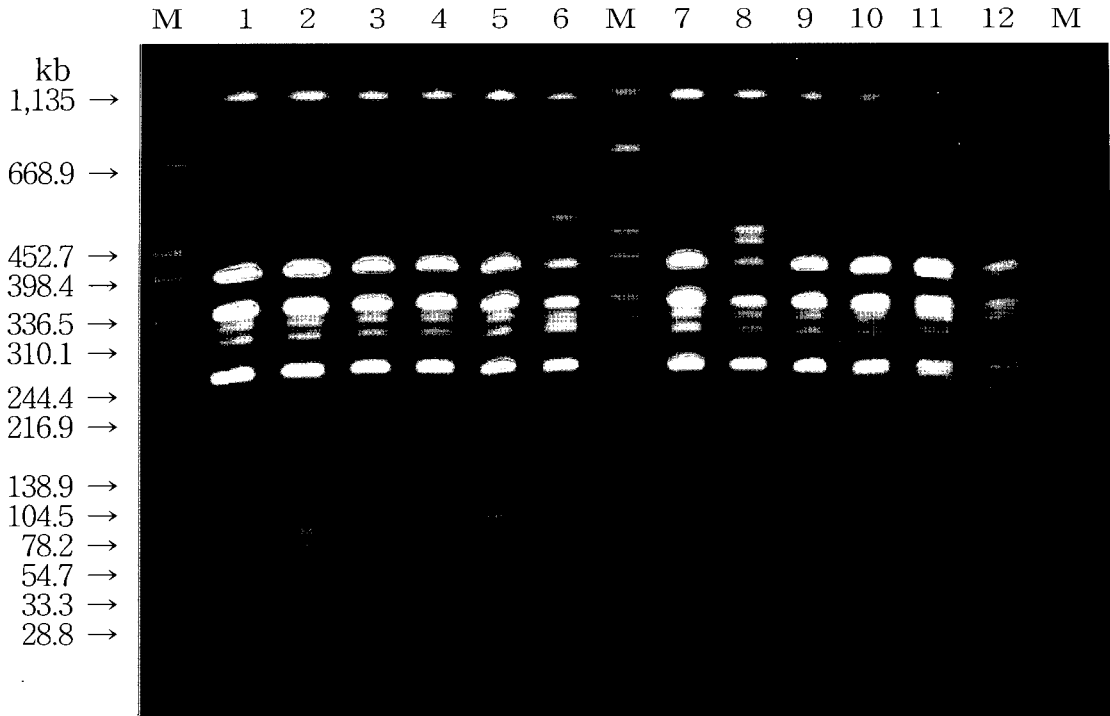


Fig 1. PFGE of *Xba I* restriction fragments of *S. gallinarum* isolates
 lane M : PFGE marker(*S. breanderup*), lane 1-6 : isolates(2086, 2196, 3311, 3005, 3034, 3038), lane 7-12 : isolates(2962, 2877, 2503, 2007, 2629, 1827)

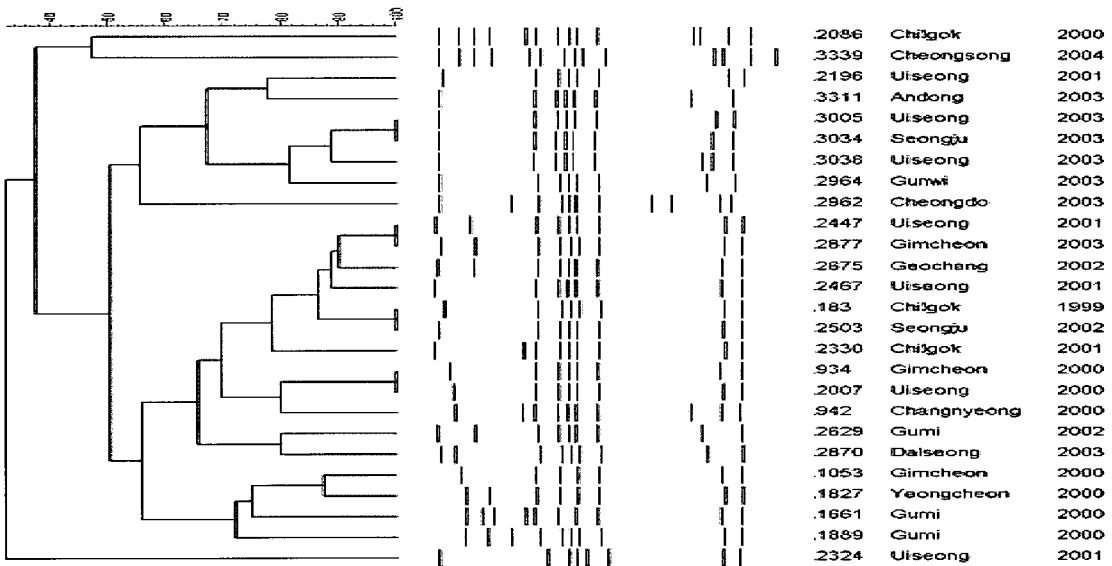


Fig 2. Dendrogram of *S. gallinarum* isolates by PFGE pattern (*Xba I*)

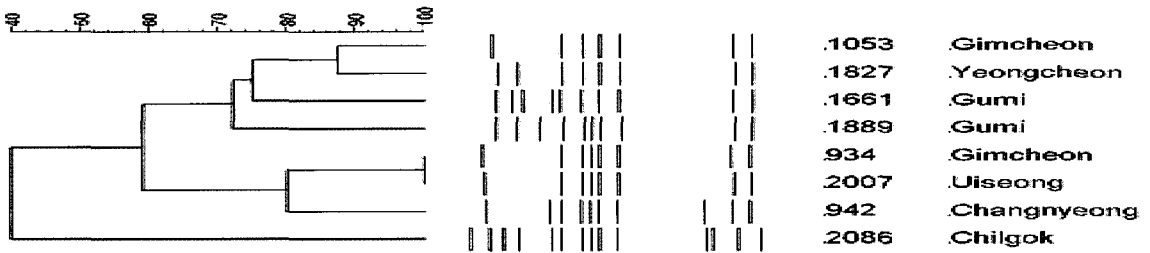


Fig 3. Dendrogram of *S. gallinarum* isolated in 2000 by PFGE pattern (*Xba I*)

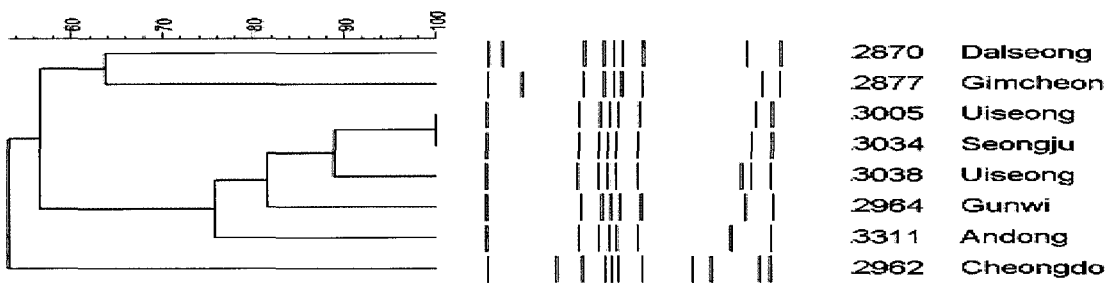


Fig 4. Dendrogram of *S. gallinarum* isolated in 2003 by PFGE pattern (*Xba I*)



Fig 5. Dendrogram of *S. gallinarum* isolated in Uiseong by PFGE pattern (*Xba I*)

고 찰

1992년 국내에서 공식적으로 발생 보고된 이후 국내 양계산업에 큰 경제적 손실을 초래한 가금티푸스의 원인균인 *S. gallinarum*은 세포내 기생세균으로서 면역세포나 항체 또는 일반적인 항생제가 세균에 직접 작용하지 못하는 세포내 침투하므로 치료효과가 낮고 면역형성이 잘 되지 않기 때문에 재발을 또한 높다. 이 균은 계란을 통한 난계대전염과 감염계와의 접촉에 의한 수평감염 및 오염된 사료나 양계기구 및 야생조수, 설치류, 사람

등에 의한 기계적 전파에 의해 전염된다. 이번 조사에서 대부분의 분리주가 20일령 미만의 어린 일령에서 분리되었으며 병성감정의뢰한 시기에 따라 다소 차이는 있으나 대부분 난계대 전염에 의한 발생인 것으로 판단되었다. 또한 어린 병아리에 발생하여 높은 폐사를 일으키는 추백리의 원인균인 *S. pullorum*과 성상이 매우 유사하며 두 원인체간의 감별을 위한 연구가 비교적 많이 축적되어 있으며, 육계의 살모넬라증 분리시 감별을 위한 생화학적 정상검사가 필요하고 현재 유전학적 감별을 위한 ribotyping을 이용한 *EcoR I* 제한

효소를 처리하여 유전학적 분석에 의한 감별도 이용되고 있다²³⁻²⁵⁾.

본 실험에 이용된 육계에서 분리한 *S. gallinarum*의 생화학적성상을 검사한 결과 26주 모두 비운동성을 나타내었고, 혈청형인자 O 1, 9, 12에 모두 응집반응을 나타내었고 생화학 성상에서 glucose 가스 산생능이 없었고, dulcitol, mannitol, maltose의 분해능이 확인되었으며, lysine decarboxylase에 양성으로 조사되어 모두 *S. gallinarum*임이 확인되었다.

이번 실험에 이용한 *S. gallinarum* 26주에 대한 약제감수성 결과 amoxicillin/clavulanic acid, amikacin에 대하여 26주 모두 감수성을 나타내었으며, neomycin, kanamycin 및 cephalothin에 대해서는 모든 균주가 중등도 이상의 감수성을 가진 것으로 조사되었고, erythromycin, oxacillin, penicillin에 대해서는 모두 내성을 가지는 것으로 조사되었다. 퀴놀론계열의 ciprofloxacin, norfloxacin과 enrofloxacin에 대하여 각각 23주(88.4%), 19주(73.0%), 23주(88.4%)가 감수성을 나타내었으나 대부분이 중등도의 감수성을 가지는 것으로 나타나 약제선정에 신중을 기울여야 할 것으로 생각된다.

박 등¹³⁾은 1994년 경북지역 분리한 *S. gallinarum* 20주를 대상으로 항균제 최소발육억제농도(MIC)를 조사한 바 amikacin, ampicillin, cephalothin, chloramphenicol, furazolidone, neomycin, polymyxin B, gentamicin, kanamycin에 100% 감수성이 있으며, penicillin, streptomycin에는 내성을 가지는 것으로 보고하여 본 실험에 비해 높은 약제감수성 성적을 나타내었으나 내성출현 빈도가 높아진 것으로 생각된다. 또한 이 등¹⁴⁾은 1995년에서 2001년에 걸쳐 분리한 *S. gallinarum*에 대한 연도별 약제감수성 추이를 조사한 결과 1995년에 분리한 18주에 대해서는 대체로 동일한 감수성 결과를 보고하였고, 2001년도에 분리한 46주에 대한 약제감수성검사 결과 퀴놀론계열의 항생제인 enrofloxacin, ciprofloxacin 및 norfloxacin에 대한 감수성이 각각 6.5%, 10.9%, 52.2%로 보고하여 퀴놀론계열 약제의

무분별한 사용에 따른 내성균주의 출현을 조사한 바 있으나 본 실험에서는 퀴놀론계열의 항생제가 감수성은 있는 것으로 조사되었으나 대부분이 중등도의 감수성을 가지는 것으로 나타났다.

*S. gallinarum*은 1992년 분리된 이후 4년간 일정한 약제감수성 결과를 나타내었으나 이후 내성균주가 출현하기 시작하였다. 본 실험에서는 26주 중 모두 penicillin, oxacillin 및 erythromycin에 내성을 보였고 또한 대부분의 분리균주가 3종 이상의 항생제에 내성을 갖는 다제내성균으로 조사되었다.

1999-2004년 사이에 분리된 26주의 *S. gallinarum*을 이용하여 PFGE 양상 분석 결과, 28.8-1,135 kb 사이에서 7-14개의 분절을 가지며, 22개의 유형으로 확인되었다. 이 등²⁶⁾은 randomly amplified polymorphic DNA (RAPD)법을 이용하여 분리연도별 *S. gallinarum*의 genotyping을 실시하여 네 가지 형으로 분류하여 다른 분석방법에 비하여 매우 유용하다고 보고한 바 있다. 본 실험에서는 생물형이나 생화학적 특성이 거의 동일하게 나타나는 26주의 *S. gallinarum*을 대상으로 연도별, 지역별로 분리균주를 PFGE를 실시하여 유전형을 조사한 바 26주를 대상으로 22개의 유형으로 분류되어 가금티푸스 발생과 관련하여 역학적인 특성을 밝히는데 매우 유용하게 이용할 수 있다고 판단되며, 육계의 경우 대부분이 종계장 및 부화장에서 유래한 난계대전염에 의한 티푸스발생으로 판단되나 원인체의 분리 및 PFGE에 의한 유전자분석에 대한 자료 축적이 미미하여 발생농장의 원인균을 분리하여 PFGE의 유전자양상을 분석함으로써 농장내 재감염에 의한 경우인가, 감염된 병아리의 입식에 의한 것인지를 밝히기에는 한계가 따르므로 지속적인 유전적 양상 분석 자료의 축적이 필요하다고 생각된다.

결론

1999-2004년까지 가금티푸스 발생 육계농장

에서 분리한 *S. gallinarum*을 이용하여 생화학적, 약제감수성 및 PFGE 양상을 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

경북지방 육계농장에서 병성감정 의뢰된 아리를 대상으로 분리한 26주의 *S. gallinarum*은 비운동성, indole 및 H₂S 산생능, urease, phenylalanine deaminase 음성으로 나타났고, lysine decarboxylase 양성, dulcitol, mannitol 및 maltose 당분해능이 인정되었고, glucose에서 가스 산생능은 없었다.

항균제 감수성시험 결과 amoxicillin/clavulanic acid 및 amikacin에 전 균주가 감수성을 나타내었고, neomycin, kanamycin 및 cephalothin에 대해서도 전 균주가 중등도 이상의 감수성을 나타내었으며, erythromycin, oxacillin, penicillin에 대해서는 모두 내성을 가졌다.

분리한 26주는 erythromycin, penicillin, oxacillin에 모두 내성을 보였고, 이들의 내성유형은 19종으로 나타났으며, 그중 8종 이상의 약제에 내성을 보인 다제내성주가 6주이며, 4종의 내성유형을 보였다.

Xba I 제한효소처리에 의한 PFGE에 의한 유전자 양상은 22개의 유형이 확인되었다.

참고문헌

1. 김순재, 강문일, 권혁무 등. 1997. 조류질병학, 선진문화사, 서울 : 153-161.
2. Saif YM, Barnes HJ. 2003. *Diseases of poultry*. 11 eds. Blackwell Publishing Co, Iowa : 567-579.
3. Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW. 1997. *Diseases of poultry*. Mosby-Wolfe Co, London : 82-96.
4. 최유정, 김도경, 김용환. 2000. 경남지역에서 발생한 가금티푸스의 역학적 특성 및 진단방법에 대한 비교 시험. 한가위지 23(4) : 349-360.
5. 우용구, 김봉환. 1998. 가금티푸스균의 인공감염에 대한 백색 및 갈색 산란계 계통간의 내병성 비교. 대한수의학회지 38 : 784-792.
6. Christensen JP, Olsen JE, Hansen HC, et al. 1992. Characterization of *Salmonella enterica* serovar *gallinarum* biovars *gallinarum* and *pullorum* by plasmid profiling and biochemical analysis. *Avian Pathol* 21 : 461-470.
7. Klein E. 1889. Über eine epidemische Krankheit der Hühner, verursacht durch einer Bacillus-Bacillus gallinarum. *Zentralbl Bakteriol. Paraxitenkd. Abt. I Orig* 5 : 689-693.
8. Curtice C. 1902. Fowl typhoid. *RI Agric Exp Stu Bull* 87.
9. 김기석, 이희수, 모인필 등. 1995. 국내 닭에서의 가금티푸스 발생. 농촌진흥청 농업과학논문집 37(1) : 544-549.
10. 이동석, 한태욱. 2000. 국내에서 분리한 *Salmonella gallinarum*의 병원성, 항생제 감수성 및 plasmid profile. 한국수의공중보건학회지 24(1) : 49-57.
11. Michael JM. 1986. *Salmonella* : Virulence factors and enteric salmonellosis. *JAVMA* 144 : 145-147
12. Brown PA, Simpson JM, Lovell MA. 1987. Contribution of *Salmonella gallinarum* large plasmid toward virulence in fowl typhoid. *Infect Immun* 55 : 388-392.
13. 박노찬, 도재철, 조광현 등. 1995. 닭티푸스균의 발생상황과 *Salmonella gallinarum*의 항균제 감수성. 한가위지 23 : 45-49.
14. Lee YJ, Kim KS. 2003. Biochemical characteristics and antimicrobials susceptibility of *Salmonella gallinarum* isolated in Korea. *J Vet Sci* 4(2) : 161-166
15. 오강희, 김석환, 이경현 등. 2002. 닭에서 분리한 *Salmonella gallinarum*의 병원성 및 plasmid profile. 한국임상수의학회지 19(2) : 159-164.
16. Garaizar J, Lopez-Molina N, Laconcha I,

- et al. 2000. Suitability of PCT fingerprinting, infrequent-restriction-site PCR and pulsed-field gel electrophoresis, combined with computerized gel analysis, in library typing of *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis*. *Appl Environ Microbiol* 66(12) : 5273-5281.
17. Gerner-Smidt P, Graves LM, Hunter S, et al. 1998. Computerized analysis of restriction fragment length polymorphism patterns : Comparative evaluation of two commercial software packages. *J Clin Microbiol* 36(5) : 1318-1323.
18. Hanninen ML, Perko-Makela P, Pitkala A, et al. 2000. A three-year study of *Campylobacter jejuni* genotypes in humans with domestically acquired infections and in chicken samples from the Helsinki area. *J Clin Microbiol* 38(5) : 1998-2000.
19. Hudson CR, Quist C, Lee MD, et al. 2000. Genetic relatedness of *Salmonella* isolates from nondomestic birds in South-eastern United States. *J Clin Microbiol* 38(5) : 1860-1865.
20. Ewing WH. 1986. *Edwards and Ewing's identification of Enterobacteriaceae*. 4 eds. Elsevier, Amsterdam : 181-318.
21. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2000. *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test; approved standards*. 7 eds. NCCL, Wayne, USA : M100-S10.
22. CDC, Pulsenet. 2004. Standardized laboratory protocol for molecular subtyping of *Escherichia coli* O157:H7, nontyphoidal *Salmonella* serotypes, and *Shigella sonnei* by PFGE. http://www.cdc.gov/pulsenet/protocols/ecoli_salmonella_shigella_protocols.pdf
23. 박경윤. 1999. 국내 가금류에서의 살모넬라감염증 발생상황과 살모넬라 분리주의 특성조사. 서울대학교 박사학위논문.
24. 이희수, 김순재, 김기석 등. 1997. *Salmonella gallinarum* 분리주로부터 추출한 세포외막단백질의 닭에 대한 면역원성. 대한수의학회지 37(3) : 501-510.
25. Barrow PA, Lovell MA, Old DC. 1992. *In-vitro* and *in-vivo* characteristics of TnphoA mutant strains of *Salmonella* serotype Gallinarum not invasive for tissue culture cells. *J Med Microbiol* 36(6) : 389-397.
26. Lee YJ, Kim BH, Kim KS. 2004. analysis of *Salmonella gallinarum* isolates by randomly amplified polymorphic DNA. *Kor J Vet Publ Hlth* 28(1) : 1-5.