

송아지에 감염된 *Salmonella dublin*의 PCR 진단과 *rfbS* 항원단백 유전자의 염기서열분석

김철민* · 이영준* · 박명규* · 최경성* · 김민석*

이한경** · 이주목 · 권오덕 · 채준석¹

*전북대학교 생체안전성연구소, 수의과대학, **자연동물병원

Diagnosis of *Salmonella dublin* in Korean Native Calves using PCR and Nucleotide Sequences of *rfbS* Gene

Chul-min Kim*, Young-jun Lee*, Myeong-kyu Park*, Kyoung-seong Choi*, Min-seok Kim*,
Han-kyung Lee**, Joo-mook Lee, Oh-deog Kwon and Joon-seok Chae¹

College of Veterinary Medicine, *Bio-Safety Research Institute,
Chonbuk National University, Chonju, Chonbuk 561-756, Korea

**Ja-Yeon Veterinary Clinic

Abstract : An epizootic of calf diarrhea occurred in a Korean native cattle farm located in Chonbuk province. The calves that had either bloody or watery diarrhea were 1 to 30 days old. Some of these animals died during the acute course of the disease. Five calves with predominant clinical signs were examined in more detail. Hematological and serum chemical findings were suggestive of dehydration and nutritional insufficiency. Fecal material from the calves was cultured on/in brilliant green agar (BGA), xylose-lysine deoxycholate (XLD) medium, MacConkey agar, eosin methylene blue (EMB) agar and triple sugar iron (TSI) agar. A bacteria was isolated, which was subsequently identified as belonging to *Salmonella* spp. To differentiate *Salmonella* serotype, *rfbS* gene of *S. dublin* was amplified (720 bp) by multiplex PCR. The *rfbS* gene sequences of *S. dublin* field isolate (SDC-1) was compared with that of *S. dublin* (S-37), *S. dublin* (Ahn *et al.*, 1996), *S. enteritidis* (Ahn *et al.*, 1996) and *S. typhi* (Genebank accession No. M29682). The identities of nucleotide sequences were 100%, 99.6%, 99.6%, 97.5% respectively.

Key words : *Salmonella dublin*, polymerase chain reaction, *rfbS* gene

서 론

*Salmonella*속 균은 사람 및 동물에서 패혈증, 설사 등을 유발하는 장내 세균으로서 동물에서의 감염증은 경제적 피해를 미칠 뿐만 아니라 식육 및 환경오염을 통한 사람의 질병발생과 관련되므로 공중위생상으로도 중요시되고 있다^{1,17,19}. 소의 살모넬라증은 현재 75종 이상의 혈청형이 관련되어 있으며, 그 중 *Salmonella typhimurium*과 *S. dublin*이 가장 흔한 원

인균으로 알려져 있다¹⁹. *S. typhimurium*은 종 특이성이 적어서 사람에서도 식중독 원인균으로 문제시되어 그에 관한 많은 연구가 이루어지고 있으나, *S. dublin*은 주로 소에서만 보고되고 있다^{11,17-19}. 성우는 일반적으로 *S. dublin*의 보균자이나 분만 또는 다른 질병에 의한 스트레스를 받게 되면 균이 배출된다. 배출된 *S. dublin*에 감염되면 악취있는 설사, 외기소침, 열, 식육 부진, 허약, 혈액 그리고 점액이 섞인 변 등의 임상증상이 나타날 수 있고, 특히 임신우에서는 임신 200여 일에 유산이 발생할 수 있어 경제적인 손실을 초래하는 질병이다^{12,19}. *S. dublin*과 *S. typhimurium*은 생화학적 특징이 유사하여 감별하기가 힘들뿐 만 아니라 많은 시간이 소요된다.

최근 들어 생화학적 특성에 따른 원인체 규명뿐만

이 논문은 2000년도 전북대학교 부속 생체안전성연구소 학술연구비의 일부지원으로 이루어졌음(CNU-BSRI, No. 2000-16)

¹Corresponding author.

아니라 PCR를 이용한 다양한 검출기법이 소개되고 있으며, 그에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다^{3,6,11,15,17}. *Salmonella*의 *rfb* 항원단백유전자의 염기서열은 group에 따라 다양한 염기서열을 나타내는데 B group인 *S. typhimurium*은 *rfbJ*, D group인 *S. dublin*은 *rfbS* 등으로 구분이 가능하다는 연구보고가 있다^{6,13,14,16,20}. 국내에서는 살모넬라종의 신속한 진단을 위해, 최 등²¹은 *rfbJ* 유전자를 이용하여 자돈의 야외 가검물로부터 *S. typhimurium*을 검출하였고 박 등¹⁸과 김 등¹⁷은 *porin* 유전자 중 *Salmonella specific PhoE* gene을 이용하여 *Salmonella*속 균을 특이적으로 검출할 수 있는 방법을 제시하였다. 또한 안 등²⁰은 *rfbS* 유전자를 이용하여 *Salmonella sero-group* 중 A와 D의 각각에 대한 염기서열을 분석하였다.

본 연구에서는 전북지역 한우 사육목장에서 발생한 송아지 설사증에 대해 multiplex PCR을 이용하여 동정한 결과 *S. dublin*에 의한 송아지 설사증임을 진단하였으며, 또한 증폭된 *rfbS* 항원단백유전자 단편의 염기서열을 분석하고 소에서 발생되는 다른 *Salmonella species*와 비교하였다.

증 례

병력

한우 100여두를 사육하는 전북지역의 목장에서 30

일령 이하의 송아지들에서 장기간의 설사가 지속되어 전북대학교 수의과대학 부속동물병원에 진단이 의뢰되었다. 축주의 품고에 의하면, 항생제 치료에도 불구하고 계속적인 설사증이 있다고 하였다. 가검물 채취 당시 목장의 송아지들은 허약, 의기소침, 조기분만에 의한 폐사가 나타나고 있었다. 송아지들의 설사증상이 나타나기 시작한 시기는 파악되고 있지 않았으며, 개체에 대한 기록이 미비하였고, 전반적인 목장관리가 허술하게 이루어지고 있었다. 또한 우사 내에 배설물의 오랜 방치로 위생상태가 불량하였다.

혈액 및 혈청화학적 소견

임상증상이 심한 5마리의 송아지 혈액검사 결과 Table 1에서와 같이 PCV의 검사결과는 송아지 3번을 제외하고는 증가 소견을 나타내었으며, 적혈구수 역시 3번을 제외한 모든 송아지에서 증가되어 있었다. 총백혈구수 검사에서 2번 송아지는 20,700/ μ l로 증가되어 있었으며, 다른 송아지에서도 약간의 증가 경향을 나타내고 있었다. 혈청화학검사 결과 glucose의 혈중 농도는 2마리의 송아지에 있어서 낮은 수치로 나타났으며, globulin 수치도 2마리의 송아지에 있어서 정상 이하로 나타났다(Table 2).

분변검사

혈액이 함유된 설사 분변으로부터 기생충 감염여부

Table 1. Hematological values of 5 severe diarrhea calves in a livestock of Chonbuk province

Items	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	Normal range
PCV(%)	56.1	46.9	35.6	44.9	54.8	24-46
HB (g/dl)	18.2	14	7.9	11.7	13	8-15
RBC ($10^6/\mu$ l)	15.9	10.2	8.93	10.08	13.64	5-9
MCV (fl)	56.1	46	40	45	40	40-60
MCH (pg)	35	13.7	8.8	11.6	9.5	14.4-18.6
MCHC (g/dl)	32.4	29.8	22.1	26	23.7	26-34
WBC ($10^3/\mu$ l)	10.1	20.7	11	10.9	11.9	4-10
PLT ($10^3/\mu$ l)	812	217	474	677	1149	100-800

Table 2. Serum chemical values of 5 severe diarrhea calves in a livestock of Chonbuk province

Items	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	Normal range
Glucose (mg/dl)	50	10	33	59	63	45-75
BUN (mg/dl)	53	30	16	27	28	20-30
T-protein (g/dl)	4.9	3.2	6.2	6.2	6.2	6.7-7.4
Albumin (g/dl)	3.8	2.7	2.5	2.5	2.5	3-3.5
Globulin (g/dl)	1.1	0.5	3.7	3.7	3.7	3-4.2

를 확인하기 위하여 포화식염수를 이용한 부유법과 formalin-ether법에 의한 침전법으로 총란검사를 실시하여 본 결과 음성으로 판정되었다.

균 배양 검사

세균 동정을 위하여 영양배지에 증균시킨 후, 선택 배지인 brilliant green agar, xylose-lysine deoxycholate medium, MacConkey agar, Hekton enteric agar 등에 이차 배양을 하였으며, H₂S의 생성유무를 알아보기 위하여 Triple sugar iron agar에 배양한 결과 *Salmonella* spp.로 판정되었다.

항생제 감수성 검사

*Salmonella*에 의한 송아지 설사증의 치료를 위한 항생제 감수성 결과로는 tylosin, gentamicin(GM), penicillin(P), tetracyclin(Te), streptomycin(S), cephalothin(CF), erythromycin(E), clindamycin(CC), carbenicillin(CB), novobiocin(NB), oxytetracyclin(T), tiamulin 그리고 SAM(ampicillin+sulbactam)과 같은 항생제에는 저항성을 나타내었고, 단지 ceftiofur(XNS), neomycin(Neo), AMC(amoxicillin+clavulanic acid), SAM(ampicillin+sulbactam)에서만 감수성을 나타내었다.

변에서 바이러스 진단

바이러스성 설사 혹은 세균과의 혼합감염 유무를 알아보기 위하여 분변으로부터 RNA를 추출하여 RT-PCR을 시행하였다^{4,5,7}. 변에서 직접 RNA를 추출하기 위하여 TRI reagent(Molecular Research Center, USA)를 사용하였으며, reverse transcription KIT(promega, USA)를 이용하여 cDNA를 합성한 후 coronavirus, rotavirus, bovine viral diarrhea virus에 대한 RT-PCR을 시행하였으나 증폭산물이 검출되지 않았다.

Multiplex PCR을 이용한 혈청형의 분리

소에 있어서 살모넬라증을 일으키는 중요한 원인체인 *S. typhimurium*과 *S. dublin*의 감별진단을 위하여 PCR 증폭산물의 유전자 단편의 크기가 서로 다르게 설계된 primer를 이용하면 1회의 PCR을 실시함으로써 용이하게 감별진단을 할 수 있을 것으로 생각하고 multiplex PCR를 실시하였다. *S. typhimurium*의 PCR 증폭산물의 유전자 단편 크기는 882 bp이고, *S. dublin*은 720 bp로서 그 크기의 차이를 확인할 수 있었다.

Multiplex PCR 진단을 위한 대조균주는 국립수의과학검역원에서 분양받은 *S. dublin*(S-37)을 이용하였으

며, 전북 지역 한우 사육농가로부터 분리한 야외 분리주인 *S. dublin*(SDC-1)을 배양하여 진단에 이용하였다. 야외균주의 분리를 위해 멸균된 면봉으로 임상증상이 현저한 송아지의 직장내 변을 채취해온 후 LB broth에 접종하여 12시간 동안 진탕 배양하여 DNA를 추출하는데 사용하였다. DNA는 Sambrook의 방법⁹에 의하여 추출하였다. 증균된 배양액을 원심분리 후 침전된 균체를 회수하여 proteinase K, phenol 등이 혼합되어 있는 DNA 추출액(InstaGene matrix, BioRad, USA)을 100 µl 첨가한 후 56°C에서 30분간 반응하였다. 그리고 이 반응액을 100°C에서 10분간 가열하여 DNA를 변성시킨 후, 250 g에서 5분간 원심분리하여 상층에 존재하는 DNA를 회수하였다. *rfb* 항원단백유전자 중 type B에 해당하는 *rfbJ*와 type D에 해당하는 *rfbS* 항원단백유전자를 multiplex PCR로 증폭하고자 Luk 등⁶의 연구를 바탕으로 각각의 oligonucleotide primer 1쌍을 합성(Bioneer, Korea)하였고, high-performance liquid chromatography(HPLC)로 정제하였다. 합성된 primer는 100 pmol/µl 농도로 조정한 후, -20°C에 보관하면서 10 pmol/µl로 희석하여 사용하였다. Multiplex PCR을 위한 혼합액은 10×buffer [100 mM Tris-HCl(pH 8.3), 500 mM KCl, 15 mM MgCl₂, 0.001%(w/v) gelatin]와 2.5 mM dNTPs, 각각 10 pmol의 primer쌍, 2U *Taq* DNA polymerase (Takara) 그리고 template를 혼합한 후, 증류수를 첨가하여 최종 혼합물의 총량이 50 µl가 되도록 하였다. 반응조건으로는 94°C에서 2분간 predenaturation을 실시하였고, denaturation, annealing, 그리고 polymerization을 각각 94°C에서 1분, 45°C에서 1분 그리고 72°C에서 2분간씩 30 cycle을 유전자 증폭기(DNA thermal cycler 2400; Perkin-Elmer, USA)를 이용하여 PCR을 실시하였다. 증폭된 유전자 산물의 크기를 확인하기 위해서 PCR 산물 10 µl를 1.3% agarose gel에서 120V로 30분간 전기영동을 실시한 후 ethidium bromide(EtBr)로 염색하였고, UV transilluminator (Bio-Rad, USA)로 관찰하였다. 증폭된 DNA의 크기를 확인하기 위하여 100 bp DNA ladder(Bio-Lab, USA)를 DNA 크기 표지로 사용하였다. 그 결과 혈청형 D group에 속하는 *S. dublin*(720 bp)으로 판명되었다(Fig 1).

유전자 염기서열 분석

유전자 염기서열 분석은 Sanger¹⁰의 dideoxy chain termination 방법에 준하여 실시하였다. PCR 증폭산물

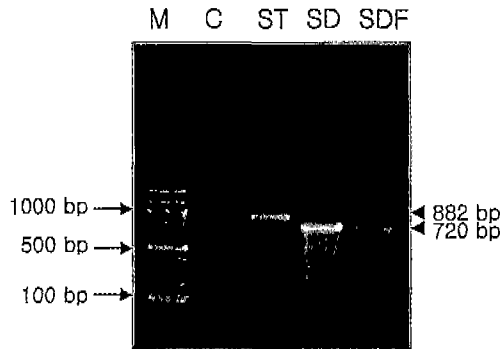


Fig 1. Multiplex PCR amplicons of *S. typhimurium rfbJ* and *S. dublin rfbS* genes. M, 100 bp DNA ladder; C, negative control; ST, *S. typhimurium* (positive control); SD, *S. dublin* (positive control); SDF, *S. dublin* field isolate.

은 유전자 염기서열 분석을 하기 위하여 PCR 과정에서 남은 primer 쌍과 dNTPs를 제거하고자 QIAquick PCR Purification Kit(QIAGEN, German)를 사용하여 정제하였으며, ABI Prism Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit(Perkin-Elmer/ABI, USA)를 이용하여 sequencing 반응을 실시하였고, 염기서열 분석은 유전자 자동분석기(PE Biosystems Prism 377, Perkin-Elmer, USA)를 이용하였다.

대조균주로 사용한 *S. dublin*(S-37)과 야외 분리주(SDC-1)의 염기서열분석 결과는 100%의 동일성을 나타내었으며, 안 등²⁰의 보고에 의하면 D group에 속하는 *S. dublin*과 *S. enteritidis*의 *rfbS* 항원단백유전자의 염기서열은 100%의 동일성을 나타내었다고 보고하였다. 본 실험에 있어서 *S. dublin*의 염기서열 분석에서는 99.6%의 동일성을 나타내었다. 그리고 *S. typhi* (Genebank accession No. M29682)의 *rfbS* 항원단백 유전자의 염기서열과 비교해 본 결과, 98.5%의 높은 유사성을 나타내었다(Fig. 2). 또한 DNA 염기서열 분석 결과를 아미노산서열로 바꿔 비교한 결과 *S. dublin*의 대조균주와 야외균주 경우 100%의 동일성을 나타내었고 *S. dublin*과 *S. enteritidis*의 비교에서는 99.6% 그리고 *S. dublin*과 *S. typhi*의 비교에서는 97.5%의 동일성을 나타내었다(Fig. 3).

고 찰

본 증례의 경우 송아지의 혈액검사 결과 탈수로 인한 PCV치의 증가와 적혈구수의 증가가 나타났으며,

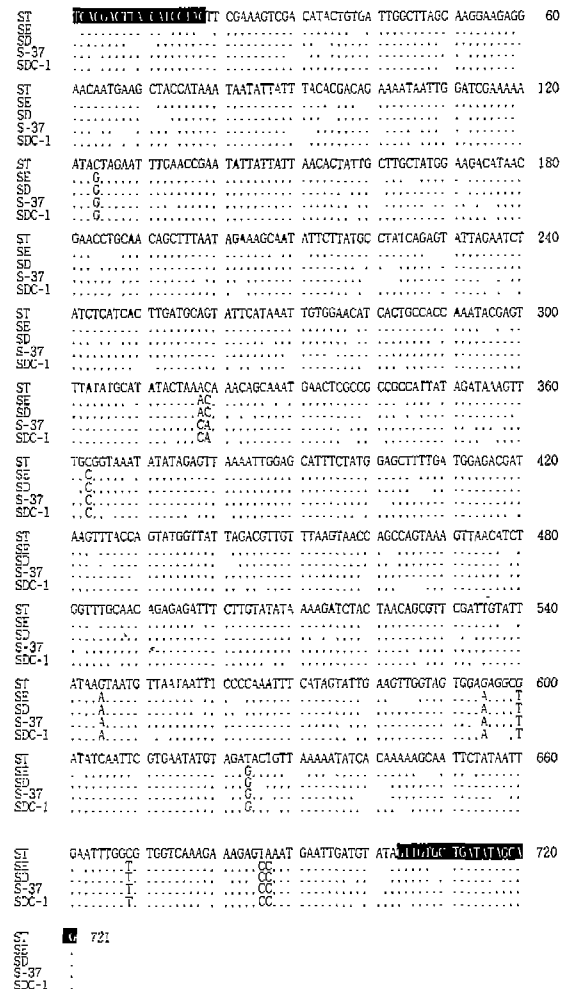


Fig 2. Comparison of nucleotide sequences of *Salmonella* spp. *rfbS* gene. ST, *S. typhi* (Genebank accession No. M29682); SE, *S. enteritidis* (Ahn et al. 1996); SD, *S. dublin* (Ahn et al., 1996); S-37, *S. dublin*; SDC-1, *S. dublin* field isolate; ■, primer sequences.

총백혈구수 검사에서 한마리의 송아지에서만 고도의 증가로 급성경과를 의심할 수 있었지만, 전반적으로 약간의 증가 경향을 보인 것은 반성 감염증에 의한 것으로 생각되었다. 혈청생화학적 검사에서 glucose가 낮게 나온 것은 살모넬라 감염증으로 인해 사료섭취 뿐 아니라 설사로 인한 장점막으로부터의 영양물질의 흡수장애에 기인된 것으로 생각되었다.

일반적으로 살모넬라증의 진단은 일차적으로 야외 가검물에서 병원체를 배양하여 동정하는 것에 기초를 두고 있다. 그러나, 균 배양방법, 생화학적 방법 또는

ST	SRLTSYFESR HTVIGLARKR NNEATINNII YTTENNWJEK ILEFEPNIII NTIACYGRHN	60
SEV.....	
S-37V.....	
SDC-1V.....	
ST	EPATALIESR ILMPIRVLES ISSLDVAVIN CGTSLPPTS LYAYTKKAN ELAAAIIDKV	120
SET.....	
S-37T.....	
SDC-1G.....	
ST	CGKYIELKLE HFYGAFDGDD KFTSMVIRRC LSNQPKWITS GLQQRDFLYI KDLLTAFDCI	180
SE	
S-37	
SDC-1	
ST	ISNWNPFKF HSEIVGSGEA ISIREYVDIV KNITKSNSTII EFGVVKERVN ELMYSCADIA	240
SEA.....	
S-37A.....	
SDC-1K.....	

Fig 3. Comparison of translated amino acid sequences of *Salmonella* spp. *rfbS* gene. ST, *S. typhi* (Genebank accession No. M29682); SE, *S. enteritidis* (Ahn *et al.*, 1996); SD, *S. dublin* (Ahn *et al.*, 1996); S, *S. dublin*, S-37; SDC-1, *S. dublin* field isolate.

면역학적 방법에 의한 동정 및 진단에는 많은 노력과 시간이 걸리는 단점을 가지고 있다¹⁸. PCR을 미생물의 검색목적으로 사용할 경우 대상 미생물의 특정 유전자 또는 특정 DNA 염기서열을 선택적으로 증폭시킴으로써 검체내에 존재하는 미생물을 정확히 찾아낼 수 있다.

최근에 PCR을 이용한 살모넬라증의 진단법이 활발히 연구되고 있는데^{2,3,13,15,17,18}, 이 방법을 이용한 DNA 증폭은 바이러스와 세균의 농도가 낮은 경우, 또는 배출된 세균이 생존하기 어려운 경우, 균의 분리가 까다로운 경우에 특히 유용하며, 가검물에서 높은 민감성과 특이성으로 병원균을 검출할 수가 있다³. 또한, 배양에 의한 *Salmonella* 속 균을 확인하기 위해서는 다수의 가검물 채취가 필요한데 비해 PCR은 민감성이 높아 소량의 가검물 채취로도 충분한 검출이 가능한 특성이 있다¹⁸. 국내에서는 안 등²⁰이 *rfbS* 항원단백 유전자를 이용하여 D group인 *S. dublin*, *S. denteritidis* 그리고 *S. typhi*와 A group인 *S. paratyphi*의 유전자 염기서열을 비교 분석한 결과, 종간에 있어서 서로 98%이상의 높은 동질성이 있는 것으로 보고되었다.

전북지역 한우 사육목장에 있어서 30일령 이하의 송아지 설사증을 진단하기 위하여 multiplex PCR 방법으로 원인균을 검출해 본 결과 *S. dublin* (720 bp)으로 판명되었다. 소에서 주로 질병을 일으키는 원인체인 *S. typhimurium*과 *S. dublin*은 생화학적 성상의 유사성 때문에 감별하기가 힘들지만, 그들이 가지고 있는 *rfb* 항원단백유전자의 차이를 이용하여 multiplex PCR 방법으로 쉽게 구별할 수 있었다. 본 실험에서 이용한 multiplex PCR 방법은 *Salmonella*의 혈청형인 B(*S. typhimurium*)와 D group(*S. dublin*)의 감별을 위

한 간편하고 빠른 결과를 얻을 수 있는 좋은 방법으로 판단되었다.

또한 *S. dublin* 야외분리주(SDC-1)의 *rfbS* gene의 염기서열 차이를 비교한 결과, *S. dublin* (S-37), *S. dublin* (안 등²⁰), *S. enteritidis* (안 등²⁰), *S. typhi* (Genebank accession No. M29682)과 각각, 100%, 99.6%, 99.6%, 97.5%의 동일성을 나타내었다. DNA 염기서열을 amino acid 염기서열로 변환하여 비교하여 본 결과에서도 Fig 3에서와 같이 107번째 위치에서 안 등²⁰이 보고한 결과와 다르게 나타났다. 이러한 결과로 보아 안 등이 보고한 *S. dublin*과 야외 분리주인 *S. dublin* SDC-1은 같은 종이면서도 107번째 위치에서 변이가 일어난 것으로 판단되었다.

*Salmonella dublin*은 성우에서 보균자 상태가 흔하기 때문에^{12,19}, 그 목장에는 *S. dublin*이 산재된 것으로 추정할 수 있었으며, 치료와 동시에 환경을 개선하지 않는 한 계속적으로 문제시 될 것으로 생각한다. 앞으로 임상증상이 모호한 원인체의 진단을 위해 간편하고 신속한 진단방법인 PCR을 적용함으로써 조기진단을 통한 예방에 있어서 더욱 효과적으로 대처할 수 있으리라 생각되어지며, 분리된 균의 염기서열을 분석하고, 비교해 나간다면 균의 항원성 변이에 따른 특성에 맞게 효과적인 백신 개발이 가능해질 것으로 생각된다.

결 론

전북지역 한우 사육목장에서 발생한 송아지 설사증을 multiplex PCR 방법을 이용하여 진단한 결과 *S. dublin*으로 동정되었으며, 증폭된 *rfbS* 항원단백 유전자의 염기서열(720 bp)을 분석하여 본 결과 표준균주와 야외균주는 100%의 동일성을 나타내었으나 본 증례에서 분리한 *S. dublin* SDC-1 분리주와 안 등²⁰이 보고한 *S. dublin*, *S. enteritidis*를 비교한 결과 각각 99.6%의 동일성을 나타내었다. 이 결과로 보아 *S. dublin*의 *rfbS* 항원단백유전자에 있어서 특이부분의 염기서열 차이는 야외균주의 변이가 일어난 것으로 판단되었다. 또한 *S. dublin*의 *rfbS* 항원단백 유전자는 *S. typhi*와 비교한 결과, 97.5%의 동일성을 나타내었다.

참고문헌

1. Curiale MS, Klatt MJ, Bartlett CL. Colormetric

- deoxyribonucleic acid hybridization assay for rapid screening of *Salmonellae* in foods: Collaborative study. JAOAC 1991; 73: 248-256.
2. Chiu CH, Ou JT. Rapid identification of virulence genes. *invA* and *spvC*, by an enrichment broth culture-multiplex PCR combination assay. J Clin Microbiol 1996; 34: 2619-2622.
 3. Cohen ND, Neibergs HL, McGruder ED, Whitford HW, Behle RW, Ray PM, Hargis BM. Genus specific detection of *Salmonella* using the polymerase chain reaction (PCR). J Vet Diag Invest 1993; 5: 378-385.
 4. Isegawa Y, Nakagomi O, Nakagomi T, Ishida S, Uesugi S, Ueda S. Determination of bovine rotavirus G and P serotypes by polymerase chain reaction. Molecular and Cellular Probes 1993; 7: 277-284.
 5. Lopez OJ, Osorio FA, Donis RO. Rapid detection of bovine viral diarrhea virus by polymerase chain reaction. J Clin Microbiol 1991; 29: 578-582.
 6. Luk JM, Kongmuang U, Reeves PR, Lindberg AA. Selective amplification of abequose and paratose synthase genes (*rfb*) by polymerase chain reaction for identification of *Salmonella* major serogroups (A, B, C2, and D). J Clin Microbiol 1993; 31: 2118-2123.
 7. Rekik MR, Dea S. Comparative sequence of a polymorphic region of the spike glycoprotein S1 subunit of enteric bovine coronavirus isolates. Arch Virol 1993; 135: 319-331.
 8. Roszak DB, Colwell RR. Survival strategies of bacteria in the natural environment. Microbiol Rev 1987; 51: 365-379.
 9. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. Analysis and cloning of eukaryotic genomic DNA. In: Molecular cloning, A laboratory manual. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press. 1989: 9.1-9.62.
 10. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with terminating inhibitor. Proc Natl Acad Sci USA 1977; 74: 5463-5467.
 11. Stone GG, Oberst RD, Hays MP, Mcvay S, Chengappa MM. Detection of *Salmonella* serovars from clinical samples by enrichment broth cultivation-PCR procedure. J Clin Microbiol 1994; 32: 1742-1749.
 12. Timoney JF, Gillespie JH, Scott FW, Barlough JE. The pathogenic bacteria. In: Hagan and Bruner's microbiology and infectious disease of domestic animals. 8th ed, Ithaca: Cornell University Press 1988: 78-79.
 13. Verma N, Reeves P. Identification and sequence of *rfbS* and *rfbE*, which determine antigenic specificity of group A and group D *Salmonella*. J Bacteriol 1989; 171: 5694-5701.
 14. Verma NK, Quigley NB, Reeves PR. O antigen variation *Salmonella* spp.: *rfb* gene cluster of three strains. J Bacteriol 1988; 170: 103-107.
 15. Widjoatmodjo MN, Fruit AC, Torensma R, Verdonk GP, Verhoef J. The magnetic immuno polymerase chain reaction assay for direct detection of *Salmonellae* in fecal samples. J Clin Microbiol Dec 1992; 30: 3195-3199.
 16. Wyk P, Reeves P. Identification and sequence of the gene for abequose synthase which confers antigenic specificity on group B *Salmonella*: homology with galactose epimerase. J Bacteriol 1989; 171: 5687-5693.
 17. 김원용, 장영호, 박경윤, 김철중, 신평순, 박용하. Polymerization chain reaction과 southern hybridization을 이용한 *Salmonella*속 균의 신속한 검출. 대한수의학회지 1995; 35: 531-536.
 18. 박두희, 감원용, 김철중, 마점술. Polymerase chain reaction에 의한 *Salmonella*속 균의 검출. 대한수의학회지 1994; 34: 115-125.
 19. 박용복, 한홍률, 한정희. *Salmonella dublin*에 의한 소의 살모넬라증 발생. 대한수의학회지 1987; 27: 69-76.
 20. 안종삼, 정석찬, 김종만, 박용호, 우승룡, 조윤상, 이상운, 우희종. *Salmonella* A 및 D group의 특이적 검출을 위한 *rfb* 염기서열 분석에 기초한 PCR 기법의 적용. 대한위생학회지 1996; 31: 155-163.
 21. 최경성, 박진호, 이주목, 권오덕. 증합효소연쇄반응을 이용한 자돈에서 *Salmonella typhimurium*의 신속한 검출. 대한수의학회지 1998; 38: 763-770.