

우리나라의 가금과 환경에서 분리한 *Salmonella* species의 특성

우용구 · 이희수 · 이영주 · 강민수 · 김봉환* · 김재학

국립수의과학검역원
경북대학교 수의과대학*
(2000년 6월 21일 게재승인)

Characteristics of *Salmonella* species isolated from domestic poultry and environmental samples in Korea

Yong-ku Woo, Hee-soo Lee, Young-ju Lee, Min-su Kang, Bong-hwan Kim* , Jae-hak Kim

National Veterinary Research & Quarantine Service, Anyang, Korea
College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Taegu, Korea*

(Accepted by Jun 21, 2000)

Abstract : This study was conducted to investigate the isolation frequency, serotypes, and related epidemiological properties of 341 *Salmonella* spp from domestic poultry and environmental samples during the period 1993-1995. A total of 1,918 samples was collected during the three years period in nationwide. Most of *Salmonella* spp were isolated from the intestinal contents of poultry, especially cecal(46.0%) and rectal(35.8%) contents. Among the tested samples, rat(28.5%) was the most predominant *Salmonella* reservoirs and followed by duck(24.8%), broiler(18.8%), layer(14.8%) and feed(7.1%), in order.

More than twelve *Salmonella* serovars were identified among the 341 *Salmonella* isolates. The most prevalent serotypes isolated from non-human sources were *S enteritidis* (22.3%) and *S pullorum* (21.9%), *S muenchen* (13.9%), *S typhimurium* (12.6%), *S gallinarum* , *S meleagridis* , *S heidelberg* , and *S senftenberg* were followed, in order. In layer chickens, *S pullorum* (26.0%) was the most predominant serotype but *S muenchen* (33.0%) was in broiler chickens, *S enteritidis* (28.4%) was in ducks, and *S typhimurium* (60.0%) was in rats, respectively.

As a results, *S enteritidis* was identified as the most prevalent serotype in non-human *Salmonella* isolates in Korea during the period 1993-1995. A preliminary study on the phage typing of 19 *S enteritidis* selected from the nationwide scale was shown that *S enteritidis* phage type(PT) 4 was the most predominant PT, and SEPT 1, SEPT 6a, SEPT 7 and SEPT 7a variant were also found in the same period.

Key words : *Salmonella* , serovar, poultry, environmental samples, phage type.

서 론

*Salmonella species*은 1886년 수의세균학자였던 Salmon¹에 의해서 처음으로 분리 및 보고된 이후 지속적으로 변화를 진행하고 있는 세균(continuum)으로서 균체표면 항원성분중 serogroups의 특이성을 부여하는 주체성분인 lipopolysaccharide(LPS; O-antigen)와 편모항원인 flagellin protein(H-antigen)의 다양성에 근거하여 Kauffmann-White scheme에 따라서 최종적인 혈청형이 결정된다¹⁻³. *Salmonella spp.*는 현재까지 약 2,500종이 넘는 것으로 보고되어 그 혈청형의 다양성을 한눈에 짐작할 수 있으며, Gast⁵는 다양한 혈청형이 있지만 일부의 혈청형만이 자주 분리되는 혈청형에 속하며, 가끔유래 혈청형의 분포 양상은 지리적 또는 분리시기에 따라서 다양하게 나타날 수 있다고 하였다. Bergy's manual³의 분류기준에 따르면 *Salmonella spp.*은 *S bongori*와 *S choleraesuis*라는 단지 2개의 sepecies(종)으로 대별되며, 그중 10여종의 혈청형만이 *S bongori*란 종내에 포함될 뿐, 나머지의 혈청형은 *S choleraesuis*란 종내에 포함된다. 그래서 *S choleraesuis*는 표현형질과 유전학적인 특성에 따라서 다시 6개의 subspecies(아종)로 세분되며, 이들 아종중 사람과 동물에서 흔히 질병을 유발하는 *S enteritidis*, *S typhimurium* 등과 같은 악명높은 혈청형의 90% 이상은 subspecies I에 속한다^{3,8}.

Salmonellosis는 방대한 장내세균과에 속하는 *Salmonella spp.*중 어떤 하나 또는 그 이상의 혈청형에 의해서 발생되는 일련의 급성 또는 만성 세균성 감염증을 말한다. 가끔에서는 적응능을 획득한 2종의 숙주적용 혈청형(*S pullorum* 및 *S gallinarum*)에 의한 질병인 pullorum disease와 fowl typhoid 그리고 이들 2종을 제외한 특이적인 숙주영역이 없는 숙주 비특이 혈청형에 의한 감염증인 paratyphoid로 구분하고 있다⁵.

지금까지 자연계에서 확인된 *Salmonella ssp.*중 그 절반 이상은 조류에서 분리된 것이란 보고성적에 근거할 때 *Salmonella spp.*의 보균숙주로서 조류의 중요성을 짐작할 수 있다^{7,9}. 미국에서는 가끔과 가끔유래 산물 그리고 특히 난각제로 판매되는 계란이 사람의 식중독 발생과 관련된 가장 중요한 오염원이란 사실을 이미 밝혀낸 바 있다^{6,8}. Schwarz¹⁰는 지구상의 거의 모든 환경과 동식물에 *Salmonella*가 분포되어 있기 때문에 사실상 지구상

에서 *Salmonella*의 오염원은 끝이 없다고 하였다. 특히 salmonellosis의 예방과 근절을 위해서는 오염경로 및 질병발생의 연결고리의 차단이 필수적인 요건이다. 그러나 오염원의 근원적인 색출 및 제거가 지구상에서 사실상 불가능하기 때문에 질병의 예방과 근절은 그만큼 어려울 수밖에 없는 실정이다.

도계육은 현재 시간당 수천 수가 동시에 자동처리 방식에 의해서 처리되고 있다. 그러나 우리나라의 경우 도계처리과정중 특히 냉각 및 수세과정은 여러가지 여건상 많은 닭들을 한꺼번에 대형 냉각탱크에서 집합처리하는 방식을 대다수 도계장에서 채택하고 있어 도계육 상호간의 교차오염의 기회가 어떠한 축종 보다도 높은 실정이다. 또한 도계육은 표피에 수많은 그리고 엄청난 면적에 해당하는 모공들이 *Salmonella spp.*를 비롯한 운동성이 활발한 *Campylobacter jejuni/coli*, *Listeria monocytogenes* 등과 같은 인수공통 병원미생물의 은닉장소를 제공하고 있어 그만큼 오염가능성이 높을 수 밖에 없는 취약성도 갖고 있다. 그리고 가끔은 특성상 사육에 있어서 밀집 다두사육에 용이하여 다른 어떤 축종 보다도 유해 병원미생물의 오염기회가 높아 결과적으로 질병발생 기회도 높은 것이 사실이다¹¹⁻¹⁶.

1980년대 중반이후부터 범세계적인 경향으로 사람에서 *S enteritidis* (SE)에 의한 식중독의 폭발적인 증가현상이 보고되었다^{7,8,11}. England와 Wales에서는 1981년에 총 1,087건이었던 것이 1988년도에는 15,427건으로 현저히 증가하였으며, 사람에서 분리된 *Salmonella spp.*중 *S enteritidis*가 56.0%로서 분리주의 대부분을 차지하였고 또 phage type(PT)의 조사결과 SEPT 4가 가장 많았는데^{6,8} 이는 이웃하는 국가들인 프랑스, 이탈리아, 서독 등의 국가에서도 동일한 양상인 것으로 조사되었다^{7,8}. 한편 미국은 유럽국가들과는 대조적으로 1980년대에 사람에서의 *S enteritidis*에 의한 감염증은 약 6.0%에 지나지 않았던 것이 1989년에는 20.0%(8,340건)로 급격한 증가현상이 역시 확인되었으며 phage type도 유럽과 달리 SEPT 8이 가장 지배적인 것으로 확인되었으며, Canada의 역학 조사에서도 SEPT 8이 가장 유행하는 것으로 확인되었다. 반면에 발틱해에 인접한 러시아와 핀란드 등의 국가들은 SEPT 1이 가장 유행하고 있는 것으로 조사되었다¹⁷⁻¹⁹.

우리나라에서는 1980년대 이후 가끔에 있어서 파라티푸스 *Salmonella*에 대한 역학적 특성에 관한 조사성적은

대단히 미진한 실정이며²¹⁻²², 특히 범세계적으로 증가추세에 있는 *S enteritidis*에 대한 보고성적은 더욱 미진한 실정이다. 그리고 1996년 10월경 우리나라에서도 대중매체를 통하여 시중판매 생닭이 *Salmonella* spp.에 높은 빈도로 오염되어 있다는 사실이 보도되어 우리나라도 *Salmonella*의 오염만큼은 예외가 될 수 없다는 경각심을 일깨워 주는 계기가 되었다^{20,21}.

이와같은 배경을 토대로 하여 이 연구에서는 1993년부터 1995년까지 우리나라 전국에 산재한 양계장의 각종 가금과 환경표본중 사료와 물 그리고 계사서식 쥐 등에 대해서 *Salmonella* spp.의 분리율을 조사하고 또 분리된 혈청형의 분포양상을 조사하고자 하였으며 아울러 이들과 관련된 역학적 특성에 대해서 조사하였던 바 그 성적을 보고하는 바이다.

재료 및 방법

공시균주 : 시험에 사용된 분리균주는 전국에 산재된 양계장의 가금에서 분리된 균주로서 1993년도 8월부터 1995년 12월까지 농림부 수의과학검역원에 의뢰된 가검물을 비롯하여 가금관련 환경표본중 시판사료와 음수용 물 그리고 경기도와 전라도 일원의 가금농장에 서식하고 있는 집쥐를 직접 생포하여 시험에 사용하였다. 그리고 *S enteritidis* ATCC 13076, *S typhimurium* ATCC 14028, *S gallinarum* ATCC 9184 등은 구입하여 사용하였으며, 진단액 제조균주인 *S pullorum* No. 11, 4, 296 등도 함께 대조균주로 공시하였다.

Salmonella spp.의 분리 및 동정 : *Salmonella* spp.의 분리배양에 이용된 재료로서는 가금의 각종 장기, 맹장 과 직장 내용물 등을 이용하였다. 이 시험에서 *Salmonella* spp.을 선택적으로 증균시키기 위해서 tetrathionate broth (Biolife, Italy)를 기초배지로 하여 선택효과를 높이기 위해 brilliant-green(Sigma, USA)과 novobiocin(125 µg/ml, Sigma, USA)과 sulfapyridine(130 µg/ml, Sigma, USA)과 같은 항생제도 함께 첨가한 TTBN-broth 배지를 실험실에서 직접 제조하여 사용하였다. 균분리용 재료는 기초배지의 1/10 분량을 접종한 후, 진탕하고 42~43℃에서 배양하였으며 48시간동안 일차적으로 증균시킨 후, *Salmonella*-Shigella agar(SS-agar; Biolife)에 계대하여 37℃에서 18~24시간 배양후 의심되는 집락에 대해서 집락 위에 직접 C₈-esterase spot test(Biolife, Italy)를 실시하여 *Salmonella* spp.

의 특이 집락만을 신속히 검색하는 절차를 거쳤다. 한편 1차 균분리에서 *Salmonella* spp.이 검출되지 않았던 재료에 대해서는 실험실 내에서 5~7일동안 방치시킨 후, 2차적으로 새로운 TTBN-broth 배지에 계대(secondary delayed enrichment)하여 앞서와 동일한 방법으로 배양하여 *Salmonella* spp.의 추가적인 분리를 시도하였다.

C₈-Esterase spot test를 이용한 *Salmonella* spp. 집락의 신속동정 : *Salmonella* spp.의 특이집락의 신속한 검출은 질병진단은 물론 각종 미생물 검사에 있어서 필수적인 만큼, 보다 민감도와 특이성이 높은 방법을 적용하여 *Salmonella* spp.의 집락을 검출하기 위해서 선택배지상의 집락에 대해서 직접 시험하는 방법인 C₈-esterase spot test(Mucap test reagent, Biolife, Italy)를 Olsson *et al*²⁴의 방법에 따라서 적용하였다.

Salmonella spp.의 serotyping : C₈-esterase spot test에서 양성반응 집락을 대상으로 구입한 *Salmonella* 항혈청(Bacto, USA)을 사용하여 평판용집법으로 균체표면항원(O-antigen)을 동정하였으며, 균체표면 항원이 확인된 균주에 대해서는 flagella의 발현을 조작해주기 위해서 육즙배지에 계대배양 한 후, 시험관 시험법으로서 제조회사의 지시에 따라서 적합한 배율로 희석된 양성 항혈청을 사용하였으며, phase I과 II의 2상의 항원을 동시에 갖는 균주의 동정은 Collins와 Lyne의 방법²에 따라서 phase changing test를 거친 후 최종적인 혈청형을 구분하였다.

*S enteritidis*의 Phage typing : 국내 가금과 가금관련 환경표본에서 분리된 *S enteritidis* 분리주중 전국을 대상으로 지역별로 고르게 총 19주를 선별하여 이들 균주에 대하여 phage types을 National Veterinary Service Laboratory(USA)에 의뢰하여 확인하였다.

결 과

농장별 및 개체별 *Salmonella* spp.의 분리율 조사 : 우리나라의 가금과 환경표본으로부터 *Salmonella* spp.의 분리율을 조사한 성적은 Table 1에 나타난 바와 같다. 즉, 농장별 조사에서는 비록 대상농장의 숫자가 소수이긴 하였지만 오리농장이 가장 높은 *Salmonella* spp. 분리율(13/14)을 기록하였으며, 이어서 쥐(70.0%), 산란계 농장(60.9%), 육용계 농장(58.1%) 그리고 시판사료(16.7%)의 순서로 조사되었다. 그러나 농장의 급수용 물에서는

Table 1. *Salmonella* spp isolation frequency i domestic poultry and environmental samples

Samples	No. of <i>Salmonella</i> spp isolates	
	No. of farm tested(%)	No. of individual samples(%)
Layer	25/41(60.9)	146/986(14.8)
Broiler	25/43(58.1)	115/612(18.8)
Duck	13/14(92.9)	34/137(24.8)
Mouse	7/10(70.0)	45/159(28.5)
Feed	1/6(16.7)	1/14(7.1)
Water	0/4(0.0)	0/10(0.0)
Total	71/118(60.2)	341/1918(17.8)

Salmonella spp.가 분리되지 않았다. 그리고 개체별 조사에서는 총 1,918건의 시험재료중 쥐가 28.3%(45주)로서

가장 높은 개체별 균분리 성적을 나타냈으며, 오리가 24.8%(34주), 육용계가 18.8%(115주), 산란계가 14.8%(146주) 그리고 사료가 7.1%(1주)의 순서로 각각 조사되었다.

분리장기에 따른 *Salmonella* spp.의 분리율 조사 : 분리된 *Salmonella* spp.를 분리출처에 따라서 분포양상을 조사한 결과 Table 2에서와 같이 육용계를 제외한 산란계, 오리 그리고 쥐에서 모두 총 157주(46%)의 가장 많은 *Salmonella* spp.가 맹장내용물에서 분리되었으며, 이어서 직장내용물에서 125주(36.6%)가 분리되었고, 간에서는 39주(11.4%), 난황에서는 12주(3.5%) 그리고 기타장기에서 7주(2.2%)가 각각 분리되었다.

분리된 *Salmonella* spp.의 serogroups의 분포양상 조사 : 국내 가금과 가금관련 환경표본에서 분리한 총 341주의 *Salmonella* spp.에 대해서 균체표면 항원(O-antigen)에 따른 serogroups의 분포양상을 조사한 성적은 Table 3에서 보는 바와 같다. 산란계와 오리에서 분리된

Table 2. Distribution of *Salmonella* isolates according to the isolated organs

Samples	No. of <i>Salmonella</i> spp isolates(Percentage)					Total
	C-C*	R-C**	Liver	Yolk	Others***	
Layer	66(45.2)	53(36.3)	13(8.9)	12(8.2)	2(1.4)	146
Broiler	43(37.4)	54(46.9)	17(14.8)	0(0.0)	1(0.9)	115
Duck	13(38.2)	9(26.5)	9(26.5)	0(0.0)	3(8.8)	34
Mouse	35(77.8)	9(20.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(2.2)	45
Total	157(46.0)	125(36.6)	39(11.4)	12(3.5)	7(2.1)	341

* : Others; Heart, spleen and intestine etc. ** : C-C; Ceacal contents, R-C; Rectal contents.

Table 3. Distribution of serogroups of *Salmonella* isolates from poultry and environmental samples

Sample	Serogroup of <i>Salmonella</i> spp islated(%)					Total
	B	C ₂	D ₁	E	Others	
Layer	5(2.9)*	1(0.8)	121(93.8)	2(1.6)	17(11.6)	146
Broiler	13(16.3)	38(47.5)	29(36.3)	0(0.0)	35(30.4)	115
Duck	7(28.0)	1(4.0)	10(40.0)	7(28.0)	9(26.5)	34
Mouse	27(75.0)	7(19.4)	2(5.5)	0(0.0)	9(20.0)	45
Feed	0(0.0)	1(100.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1
Total	52(19.2)	48(17.7)	162(59.8)	9(3.3)	70(20.5)	341

* : No. of *Salmonella* isolates(%).

Table 4. Preliminary investigation of 19 *Salmonella enteritidis* phage type(SEPT) isolated from domestic poultry, environmental samples and human isolates in 1997

Phage types	No. of positive/No. of total tested(percentage)			
	SEPT 1	SEPT 4	SEPT 6	SEPT 7 & 7 a var
<i>S enteritidis</i> strains	2/19(10.5)	13/19(68.4)	1/19(5.3)	3/19(15.8)

균주들은 D₁ group(131주와 12주)이 각각 가장 높은 빈도를 차지하였고, 육용계에서는 C₂ group(52주)이 가장 많았으며, 쥐에서는 B group(34주)이 압도적으로 많았다. 그리고 전체적으로 국내 가금과 환경표본에서 D₁ serogroup에 속하는 *Salmonella* spp.가 187주(54.8%)로 가장 지배적이란 사실을 확인할 수 있었으며 그 다음은 B group, C₂ group 그리고 E group의 순서라는 사실을 확인할 수 있었다.

분리된 *Salmonella* spp.의 serotyping : 국내 가금과 환경표본에서 분리된 총 341주의 *Salmonella* 분리주에 대한 최종적인 serotype을 동정한 성적은 Table 5에 나타낸 바와 같다. 우리나라 가금과 환경표본에서 분리된

Salmonella 분리주들은 총 12종 이상의 serotypes이 존재하는 것으로 확인되었다. 그리고 혈청형에 따라 분류하였을 때 *S enteritidis*가 76주(22.3%)로서 가장 지배적인 혈청형으로 확인되었으며 그 다음은 *S pullorum*이 75주(21.9%)로 확인되었다. 그리고 *S muenchen*이 47주(13.9%), *S typhimurium*이 43주(12.6%)의 순서로 조사되었으며, 이들 혈청형외에도 *S califonia*, *S chester*, *S heidelberg*, *S meleagridis*, *S newport*, *S gallinarum*, *S senftenberg*, *S stanley* 등도 동시에 확인되었다.

한편 산란계에서는 *S pullorum*이 64주(43.8%)로서 가장 높은 분리율을 나타내었으며, 육용계에서는 *S muenchen*이 38주(33%)로 가장 많이 분리된 혈청형이었고, 오

Table 5. Serotypes distribution of *Salmonella* isolates from poultry ad poultry related environmental samples in Korea

Serotype	No. of <i>Salmonella</i> spp.(%)					
	Layer	Broiler	Duck	Mice	Feed	Total
<i>S califonia</i>	-	1(0.8)	-	-	-	1(0.3)
<i>S chester</i>	-	1(0.8)	-	-	-	1(0.3)
<i>S enteritidis</i>	43(29.5)	21(18.3)	10(29.4)	2(4.4)	-	76(22.3)
<i>S heidelberg</i>	-	6(5.2)	-	-	-	6(1.9)
<i>S meleagridis</i>	-	-	7(20.6)	-	-	7(2.1)
<i>S muenchen</i>	1(0.7)	38(33.0)	1(2.2)	7(20.6)	-	47(13.9)
<i>S newport</i>	-	-	-	-	1(100)	1(0.3)
<i>S pullorum</i>	64(43.8)	11(9.6)	-	-	-	75(21.9)
<i>S gallinarum</i>	14(9.6)	1(0.8)	-	-	-	15(4.4)
<i>S senftenberg</i>	2(1.7)	-	-	-	-	2(0.6)
<i>S stanley</i>	-	-	1(0.7)	-	-	1(0.3)
<i>S typhimurium</i>	5(3.4)	5(4.3)	6(17.6)	27(60.0)	-	43(12.6)
Untypables	16(10.9)	31(26.9)	9(26.5)	9(20.0)	0(0.0)	67(19.1)
Total	146	115	34	45	1	341

리에서는 *S enteritidis* 가 10주(29.4%)로 그리고 쥐에서는 *S typhimurium* 이 27주(60.0%)로 가장 많이 분리되는 혈청형으로 확인되었고 사료에서 분리된 균주는 *S newport* 으로 확인되었다.

분리된 *Salmonella enteritidis* 의 phage typing : 우리나라 가금과 환경표본에서 가장 많이 분리되었던 *S enteritidis* 중 전국의 각 지역별로 총 11주와 사람유래의 *S enteritidis* 8주를 국립보건원에서 분양받아 phage types 을 조사하였던 바, Table 4에서 나타낸 바와 같이 SEPT 4가 전체의 68.4%로서 가장 압도적으로 많았으며, SEPT 7 및 SEPT 7a variant가 15.5%로서 그 다음 순서였고, 그 외에도 SEPT 1과 SEPT 6a도 함께 존재하고 있음이 확인되었다.

고 찰

Paratyphoid *Salmonella* 혈청형들이 원발성의 단독감염으로 임상적인 병증을 발현하기 위해서는 각종 스트레스 등을 비롯한 기타 관련요인(Predisposing factor)들에 의해서 숙주의 면역감시체계에 손상이 초래되어 숙주의 방어능이 취약해졌을 때 임상증상을 발현하는 정도이며, 어릴수록 감수성이 높으며 일령이 증가하면서 그에 따라 저항성도 급격히 증가하는 것으로 알려져 있다^{26,31}. 가금의 경우 숙주 적응성 혈청형은 기타 동물 및 환경에서는 거의 분리하기 어렵고 장관내에서는 비교적 신속히 배설되며 비장이나 간을 비롯한 세망내피계통의 장기내에 주로 침습 및 보균되어 있는 양상을 취하며 심지어 탐식세포인 대식구내에서도 쉽사리 증식할 수 있어 *Brucella* 속균, *Mycobacterium* 속균과 함께 대표적인 기회성의 세포내 침습 병원균으로 간주되고 있다^{1,26}.

1993년 이래 국내 가금과 환경표본유래 *Salmonella* spp.의 혈청형 분포조사에서 *Salmonella choleraesuis* serovar *gallinarum* biovar *pullorum* (*S pullorum*)이 *S enteritidis* 와 함께 두 번째로 높은 균 분리율을 나타낸 것은 제1종 법정전염병으로 고시되어 집중적인 관리대상의 질병임에도 불구하고 사실상 야외농장에서는 숙주적응성 혈청형에 의한 감염증 즉, 추백리와 가금티푸스에 의한 피해가 심각한 실정이란 사실을 제시해주는 성적으로 사료되었다.

숙주 비특이 혈청형들은 운동성과 황화수소가스 산생능이 현저하며, 일반적으로 동물의 장관내에서 특별한

병증의 발현이 없이도 보균되어 있다가 간헐적으로 환경으로 배설되거나 도계과정에서 장비나 사람 및 기타 매개수단을 거쳐서 축산물을 오염시키며, 결과적으로 사람에서 식중독을 가장 많이 유발하는 대표적인 인수 공통 병원균으로 그중 *S enteritidis* 와 *S typhimurium* 은 현재까지 숙주 비특이 혈청형중 식중독과 관련해서 그 발생빈도 면에 있어서 가장 악명높은 혈청형으로 자리잡고 있다^{8,28,29}. 이러한 배경에서 엄청난 경제적 부담이 필요한 HACCP(Hazard analysis critical control points) 프로그렘까지 도입하였으며, 이를 통해서 위생적이고 안전한 식품을 확보하고자 *Salmonella* spp.와 병원성 *E coli*를 함께 표적유해 병원균으로 설정하여 생산단계에서부터 소비단계에 이르기까지 철저한 감시감독을 통하여 근원적인 병원미생물 감소방안을 모색하지 않으면 안된다는 사실을 인식하게 되었다.

Baumler *et al*³⁰은 1980년대 중반이후 *S enteritidis* 의 갑작스런 증가현상에 대해서 생태학적인 측면으로 해석을 시도하였다. 이들은 미국과 영국에서 강력한 혈액학적 검사법을 도입하여 실용계군에서 *S pullorum* (SP)과 *S gallinarum* (SG)에 양성인 닭을 지속적으로 제거시킨 결과 이미 1970년대 중반에 그 목적을 달성하였다. 반면에 *S enteritidis* 는 임상증상이나 혈액학적인 반응이 숙주 적응성 혈청형(SP & SG)들 보다 미약한 탓으로 추백리-티푸스 검색법으로는 검출 및 제거가 불완전할 수 밖에 없기 때문에 생태학적으로 생존을 유지할 수 있었다는 논리이다. 따라서 기존의 SP와 SG가 차지하고 있던 ecological niche에 빈틈이 생기자 계군에서 생존을 영위했던 *S enteritidis* 가 그 자리를 메우게 되면서 결과적으로 계란이나 가금유래 산물과 같은 매개체를 거쳐서 사람에서 *S enteritidis* 에 의한 salmonellosis의 발생을 급격히 증가시키게 된 것으로 분석하였다. 반면에 *S typhimurium* (ST)이 증가하지 못했던 이유에 대해서는 앞서의 3종의 혈청형(D1; O9)과는 달리 혈청형이 B-그룹(O12)으로 차이가 있는 관계로 사실상 ST 감염계의 제거는 추백리-티푸스 검색법에 의해서 거의 영향을 받지 않았기 때문에 특별한 증가현상없이 기존의 발생빈도를 유지해온 것으로 분석하였다. 그러나 우리의 실정은 *S enteritidis* 의 오염도 높지만 가금티푸스(*S gallinarum*)의 전국적인 만연과 또한 추백리(*S pullorum*) 그리고 *S typhimurium* 등도 전반적으로 높은 빈도로 오염되어 있어 이들의 지적과는 다른 차이점으로 분석되었다.

Edward *et al* 은 15년간의 조사결과 그들이 분리한 *Salmonella* spp. 중 절반이상이 조류에서 분리된 것이라고 하였으며, Moran도 총 850주의 *Salmonella* spp.를 미국의 동물에서 분리하였는데 그중 622주(73.0%)는 가금에서 분리하였다⁷. 이와같은 성적들은 모두가 *Salmonella* spp.의 보건동물로서 가금의 중요성을 시사하는 자료로 간주되었다. 미국의 경우 가금에서 총 48종의 *Salmonella* 혈청형을 분리하였으며, Price *et al*¹도 10년간 오리농장에서 총 7,029개 표본중 491예(6.9%)에서 *Salmonella* spp.를 분리하였다. Faddoul과 Fellows¹²는 미국에서 5년간의 조사결과 총 4,454개의 표본중 245예(5.5%)에서 *Salmonella* spp.를 분리하였으며 총 34종의 혈청형을 확인하였다. 그러나 본 시험성적에서는 단지 12종의 *Salmonella* 혈청형만을 동정하는데 그쳐 아쉬움이 남는 성적이지만 추후로 보다 많은 항혈청을 확보하여 지속적으로 혈청형을 밝혀보고자 한다.

Salmonella 연구의 시작은 실험실내에 얼마나 효과적인 균분리 및 동정시스템이 확립되어 있는가에 달려있다. 이는 현재까지도 *Salmonella* spp.의 보다 효과적인 분리방법에 대한 연구논문이 지속적으로 발표되고 있는 점으로도 능히 짐작할 수 있다^{14,15,35-37}. 따라서 이 성적에서도 가금과 환경표본으로부터 *Salmonella* spp.을 효과적으로 분리하기 위하여 항생제까지 첨가하여 TTBN 육즙배지를 직접 제조사용한 결과 방해요인으로 많이 작용하는 *Proteus* spp.과 *Pseudomonas* spp.들에 대해서 특이적으로 억제효과를 획득할 수 있었다. 그리고 가금에서 분리된 각종 *Salmonella* 혈청형에 대하여 항생제 내성양상 조사에서도 TTBN 배지에 첨가한 novobiocin에 대해서는 시험한 국내 분리 *Salmonella* 균주 모두가 내성을 나타내어 현재까지는 첨가한 항생제에 의해서 중식이 억제된 균주는 없는 것으로 사료되었다. 그리고 동일한 배지를 사용하여 국내 시판계육²¹ 및 계사의 분진 등 기타의 표본에 대한 시험에서도 *Salmonella* spp.의 선택중균 효과를 인정할 수 있었다.

Waltman *et al*¹³⁻¹⁵은 미국의 34개 주와 캐나다의 1주를 포함하여 총 74개의 실험실을 대상으로 조사한 결과 69%의 실험실이 가금유래 조직장기에 대해서 *Salmonella* spp.의 분리를 위한 증균배지로서 TTB 배지를 사용하고 있었으며, 나머지 54%는 selenite 배지를 사용하고 있었으나, 반면에 환경표본의 경우에는 TTB 배지를 79%의 실험실에서 사용하고 있었고, 단지 38%만이 selenite 배

지를 사용하는 것으로 조사되었다. 이들의 성적에서 제시된 바와 같이, 이 시험에서 적용한 TTBN 배지를 이용한 *Salmonella* spp.의 분리기법은 효과적인 방법으로 간주되었다.

가금의 장기별 균분리 조사성적에서 장의 후부인 맹장과 직장내용물에서 가장 높은 빈도의 paratyphoid *Salmonella* spp.들이 분리되었는데 이는 Faddoul과 Fellows²³의 성적에서도 총 108예의 닭의 장내용물중 84예(78.0%)에서 *Salmonella* spp.가 분리되었고, 칠면조의 경우에도 73예(70%)에서 분리되었다는 성적에 근거할 때, 가금에서 *Salmonella* spp.의 균분리를 위해서는 장후부의 내용물을 선택하는 것이 바람직할 것으로 사료되었다. 그리고 Dreesen *et al*¹⁶과 Fanelli *et al*²⁸도 가금에서 paratyphoid *Salmonella* spp.의 주요 보건장소는 맹장을 비롯한 장의 후부라고 제시함으로써 이 시험성적은 선구자들의 보고성과 일치하는 성적으로 사료되었다.

국내 가금과 환경표본에 대한 paratyphoid *Salmonella* serotypes의 분포양상 조사성적인 Table 1에서 농장별 조사에서는 17.8%(341/1918)의 오염도를 나타냈으며, 개체별 조사에서는 60.2%(71/118)란 오염도 성적이 확인되었지만, 국내 관련분야의 해당자료가 없어 오염도 수준을 비교할 수 없는 실정이다. 그러나 비록 조사시기에 차이는 있지만 미국의 농장별 및 개체별 성적과 비교하면 각각 24%(406/23,431 맹장표본)와 65.4%(2,418/3,700 맹장표본)라는 성적보다는 조금 낮은 오염도 수준이었고, Dreesen *et al*¹⁶이 보고한 농장별로 97.4%(37/38)라는 성적은 우리나라의 농장별 오염도 성적보다 높은 오염도 성적으로 간주되었다.

임상실험실에서는 무엇보다도 salmonellosis의 신속, 정확한 진단이 가장 중요하다. 따라서 민감도와 특이성 높게 *Salmonella* spp.를 동정할 수 있는 방법의 확립이 요구된다. 이를 위해 이 연구에서는 비교적 저렴한 비용으로 선택배지상의 집락을 직접대상으로 하여 *Salmonella* spp.의 집락을 검출하는 방법인 C₈-esterase spot test를 채택하였다. 이 방법은 많은 시간이 소요되는 생화학적인 동정방법을 대신할 수 있을 정도로 민감도와 특이성이 높은 방법으로서 *Salmonella* spp.가 소유한 특이적인 효소인 C₈-esterase에 4-methylumbelliferilcaprylate란 형광성 기질을 결합시켜 이를 자외선 장치하에서 늦어도 5분 이내에 신속히 형광성 집락을 검출할 수 있는 원리에 근거한 방법이다. C₈-esterase spot test를 적용하여 *Salmonella*

spp.을 동정할 경우 TTBN 배지를 이용한 증균과정과 선택배지에서 집락의 형성시간까지 48시간부터 늦어도 66시간이면 *Salmonella* spp.의 확인이 가능하며 이 방법으로 확인된 집락은 별도의 균배양없이 바로 균체표면항원의 동정이 가능하며 다만 추가적으로 시험관 시험법으로 편모항원만 동정하면 최종적인 serotype의 동정까지 완료할 수 있는 신속한 방법이다.

국내 가금과 환경표본에서 *Salmonella* spp.를 분리하였던 바, 국내 상황도 1993년 이래로 외국의 역학사항과 일치하여 *S. enteritidis*가 가장 유행하는 혈청형이라는 사실을 확인할 수 있었으며 또한 국내 계육의 *Salmonella* 오염도 조사성적²¹에서도 역시 일치된 성적을 얻을 수 있었다. 그러나 김 등³⁷(1995)은 우리나라 사람에서의 *Salmonella* spp.를 분리하였던 바, *S. typhi* (29.85%), *S. typhimurium*(29.3%), *S. enteritidis* (27.3%)의 순서라고 보고하여 동물분야의 성적과는 큰 차이가 인정되었지만 곧이어 1997년도의 보고자료³⁹에서는 오히려 *S. enteritidis*가 44.1%로 가장 많았으며, 그 다음이 *S. typhimurium* (23.5%)으로 역전되었다는 성적을 보고하였다.

우리나라 사람유래 분리주의 근원출처를 규명하기 위해서는 동물유래 동일 혈청형을 확보한 후에 phage typing, 유전자 분석법 등을 적용한 보다 체계적인 역학조사가 수행되어야 할 것으로 판단되었다. 이와 관련하여 Table 4는 비록 소수의 군주에 대해서나마 우리나라 전국에서 분리된 가금유래 *S. enteritidis*를 선별하여 phage typing을 예비적으로 실시하였던 바, 유럽국가들에서 유행하고 있는 SEPT 4가 가장 유행하는 phage type이라는 사실을 처음으로 확인할 수 있었으며, 동시에 SEPT 7과 7a variant도 높은 빈도로 존재하며, SEPT 1 및 SEPT 6a도 존재하고 있음을 확인하였다.

가금농장에 서식하고 있는 쥐는 개체별 분리율 조사에서 가장 높은 *Salmonella* 오염도 성적을 나타내었다. 그리고 닭에 대해서도 병원성이 강한 것으로 알려진 *S. typhimurium*을 비롯하여 *S. enteritidis*도 분리되어 결과적으로 가금의 salmonellosis의 전파에 있어서 증폭보균 매체로서 쥐의 역할이 중요함을 시사해주는 자료로 분석되었다. 이 성적은 Henzler et al.⁴⁰ 그리고 Davies와 Wray⁴¹가 주장한 성적과도 일치하는 바, 농장수준에서 *Salmonella* 방제대책을 수립함에 있어서 *Salmonella* spp.의 증폭보균 매체인 쥐(설취류)를 제거하기 위한 구서대책을 세우는 것은 필수요건이며 구서대책 없는 *Salmonella* 방제

대책은 무의미하다는 사실을 알 수 있다. 그리고 가금류 중에서 우리가 가장 높은 *S. enteritidis* 오염도 성적을 나타내어 이들 혈청형에 대해서는 추가적인 역학적 조사가 필요함을 제시하였으며, 오리사육 농장은 위생관리에 더욱 세심한 관심이 필요할 것으로 분석되었다.

결 론

1993년부터 1995년 사이 우리나라의 가금과 관련 환경표본에서 채취된 재료로부터 각종 *Salmonella* spp.의 분리율과 serotypes의 분포양상 그리고 관련 역학적 특성에 대해서 조사하였다. 먼저 농장별 *Salmonella* spp. 분리 조사에서는 오리농장이 가장 높은 균분리율(92.9%)을 나타냈으며, 이어서 쥐, 산란계 농장, 육용계 농장 그리고 사료의 순서로 조사되었다. 그러나 물에서는 *Salmonella* spp.을 분리할 수 없었다. 개체별 분리조사에서는 전체 1,918개체중 농장서식 쥐가 28.3%(45주)로 가장 높은 오염도를 나타내었고 다음은 오리, 육용계, 산란계 및 사료의 순서로 조사되었다. 그리고 분리장기에 따른 분리율 조사에서는 육계를 제외한 산란계, 오리 및 쥐에서 전체 157주(46.0%)가 명장내용물에서 분리되어 가장 높은 균분리 성적을 나타내었으며, 이어서 직장내용물에서 122주(35.8%) 그리고 간과 난황 및 기타장기의 순서로 조사되었다. 우리나라의 가금과 환경표본으로부터 *C₈-esterase spot test*로 일차적인 검색후 최종적인 혈청학적인 동정 결과, 총 341주의 *Salmonella* spp.가 분리되었고, 균체표면항원(O-groups)에 따르면 산란계와 오리에서는 D₁ serogroup(131주와 12주)이 가장 많이 분리되었고, 육용계에서는 C₂ serogroup, 쥐는 B groupe이 가장 많았다. 그리고 D₁ groupe이 전체적으로 187주(54.8%)로서 가장 지배적인 혈청형이었으며, 다음은 B와 C₂ 그리고 E group의 빈도로 조사되었다. 가금과 환경표본에서 분리된 총 341주의 *Salmonella* 분리주에 대하여 최종적인 혈청형의 동정 결과, *S. enteritidis*가 76주(22.3%)로 가장 지배적인 혈청형이었고, 이어서 *S. pullorum*이 75주(21.9%), *S. muenchen*이 47주(13.9%), *S. typhimurium*이 43주(12.6%)가 분리되었으며 그리고 *S. califonia*, *S. chester*, *S. heidelberg*, *S. meleagridis*, *S. newport*, *S. gallinarum*, *S. senftenberg*, *S. stanley* 등도 분리되었다. 산란계에서는 *S. pullorum*이 64주(43.8%)로 가장 많이 분리되었고, 육용계에서는 *S. muenchen*이 38주(33%)로, 오리에서는 *S. enteritidis*가 10주

(29.4%)로, 쥐에서는 *S typhimurium* 이 27 주(60%)로 가장 많았으며, 사료에서 분리된 균주는 *S newport* 였다. 그리고 전국의 가금유래 *S enteritidis* 와 사람유래의 동일 혈청형에 대한 예비적인 phage types의 조사결과 SEPT 4가 가장 유행하는 phage type이었고, 동시에 SEPT 1, SEPT 6a, SEPT 7과 7a variant도 존재하고 있음을 확인하였다.

참 고 문 헌

- Calnek BW, Barnes HJ. Diseases of Poultry, 10th ed. 1991. Iowa State University Press, Ames Iowa. 1997.
- Collins CH, Lyne PM. Microbiological method, 5th ed., P.142-145. Butterworths, 1984.
- Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, et al. Bergey's manual of Determinative bacteriology, 9th ed., P. 186-187. Williams & Wilkins, Maryland. 1994.
- Ewing WH. Edwards and Ewing's Identification of Enterobacteriaceae, 4th ed., Elsevier Science Publishing Co. P. 27-45. New York, 1986.
- Gast RK, Beard CW. Isolation of *Salmonella enteritidis* from internal organs of experimentally infected hens. *Avian Diseases*, 34:991-993, 1990.
- Henzler DJ, Ebel E, Sanders J, et al. *Salmonella enteritidis* in eggs from commercial chicken layer flocks implicated in human outbreaks. *Avian Diseases*, 38:37-37, 1994.
- Poppe C, Johnson RP, Forsberg CM, et al. *Salmonella enteritidis* and other *Salmonella* in laying hens and eggs from flocks with *Salmonella* in their environment. *Can J Vet Res*, 56:226-232, 1992.
- Rodrigue DC, Tauxe RV, Rowe B. International increase in *Salmonella enteritidis*: A new pandemic?. *Epidemiol Infect*, 105:21-27, 1990.
- Lisa KN, Richard EW. Comparison of phenotypic characteristics of *Salmonella* spp. isolated from healthy and ill(infected) chickens. *Am J Vet Res*, 52:1512-1517, 1991.
- Schwartz KJ. Salmonellosis. Diseases of swine. Iowa state university Press, Ames, Iowa, USA, 12th ed. p 535-547. 1999.
- Mitarai Y, Yoshitake M. Outbreaks of *Salmonella enteritidis* infections in broiler chickens. *J Jpn Soc Poult Dis*, 31:92-99, 1995.
- Faddoul GP, Fellows GW. A five year survey of the incidence of Salmonellae in avian species. *Avian Diseases*, 9:297-300, 1965.
- Waltman WD, Mallinson ET. Isolation of *Salmonella* from poultry tissue and environmental samples: a nationwide survey. *Avian Diseases*, 39:45-54, 1995.
- Waltman WD, Horne AM, Pirkle C. Influence of enrichment incubation time on the isolation of *Salmonella*. *Avian Diseases*, 37:884-887, 1994.
- Waltman WD, Horne AM, Pirkle C, et al. Use of Delayed secondary enrichment for the isolation of *Salmonella* in poultry and poultry environments. *Avian Diseases*, 35:88-92, 1991.
- Dreesen DW, Barnhart HM, Burke JL, et al. Frequency of *Salmonella enteritidis* and other *Salmonellae* in the ceca of spent Hens at time of slaughter. *Avian Diseases*, 36:247-250, 1992.
- Kinde H, Read DH, Chin RP, et al. *Salmonella enteritidis*, phage type 4 infection in a commercial layer flock in southern California: Bacteriologic and epidemiologic findings. *Avian Diseases*, 40:665-671, 1996.
- Murray CJ. *Salmonella* serovars and phage types in humans and animals in Australia 1987-1992. *Australian Veterinary Journal*, 71(3):78-81, 1994.
- Johansson TML, Schildt R, Ali-Yrkko S, et al. The first *Salmonella enteritidis* phage type 1 infection of a commercial layer flock in Finland. *Acta Vet Scand*, 37: 471-480, 1996.
- 우용구, 김기석, 이희수 등. 국내 계군의 파라티푸스 감염실태조사. 농촌진흥청 수의과학연구소. 시험연구사업보고서, P. 345-350, 1994.
- 우용구, 이영주, 김기석 등. 국내 시판계육의 미생물 오염실태조사. 농촌진흥청 수의과학연구소 시험연구사업보고서(II), P. 23-25, 1996.
- 우용구, 현방훈, 정석찬 등. *Salmonella* 속군의 신속 검출을 위한 PCR 진단법개발. *RDA J of Veterinary Science*, 39(2):66-75, 1997.
- Olsson M, Syk A, and Wollin R. Identification of *Salmonellae* with the 4-Methylumbelliferyl caprilate flu-

- orescence test. *J of Clini Microbi*, 29:2631-2632, 1991.
24. Aguirre PM, Cacho JB, Folgueira L. Rapid fluorescence method for screening *Salmonella* spp. from enteric differential agars. *J of Clini Microbi*, 28:148-149, 1990.
 25. Anne MF, Yves G. Detection of *Salmonellae* by using rambach agar and by a C8-esterase spot test, *J of Clini Microbi*, 29:2357-2359, 1991.
 26. Snoeyenbos GH, Carlson VL, Smyser CF. An epidemiological study of Salmonellosis of chickens. *Avian Diseases*, 12:653-667, 1968.
 27. Lax AJ, Barrow PA, Jones PW, et al. Current perspectives in salmonellosis. *Br Vet J*, 151:351-361, 1995.
 28. Fanelli MJ, Sadler WW, Franti CE, et al. Localization of *Salmonellae* within the intestinal tract of chickens. *Avian Diseases*, 14:367-375, 1970.
 29. Moats WA. Comparison of four agar plating media with and without added novobiocin for isolation of *Salmonellae* from beef and deboned poultry meat. *Applied and Environ Microbi*, 36(5):747-751, 1978.
 30. Baumler AJ, Hargis BM, Tsolis RM. Tracing the origins of *Salmonella* outbreaks. *Science*, 287:50-51, 2000.
 31. Duitschaever CL. Incidence of *Salmonella* in retailed raw cut-up chicken. *J Food Prot*, 40:191-192, 1977.
 32. Jones BD. Salmonellosis: Host immune responses and bacterial virulence determinants. *Annu Rev Immunol*, 14:533-561, 1996.
 33. George PF, Gordon WF. A five-year survey of the incidence of *Salmonella* in avian species. *Avian Diseases*, 40:296-271, 1996.
 34. Barbour EK, Nabbut NH, Hinnners SW. Distribution of paratyphoids on Saudi Arabian poultry farms and pathogenicity studies of predominant serotypes. *Avian Diseases*, 27:616-622, 1983.
 35. Ruiz J, Sempere A, Varela MC, et al. Modification of the methodology of stool culture for *Salmonella* detection. *J of Clinic Microbi*, 30:525-526, 1992.
 36. Bhatia TS, McNabb GD, Nayar GPS. *Salmonella* isolation from litter as indicator of flock infection and carcass contamination. *Avian Diseases*, 24(4):838-841, 1979.
 37. Davies RH, Wray C. Mice as carriers of *Salmonella enteritidis* on persistently infected poultry units. *Veterinary Record*, 137:337-341, 1995.
 38. 김호훈, 신영학, 장영수. 최근 보건 검사실에서 분리된 *Salmonella* 속균의 혈청형 및 역학적 특성. *Kor J Vet Publ Hlth*, 19:343-350, 1995.
 39. 김호훈, 박미선, 강연호, 등. 1997년도 한국에서 분리된 *Salmonella* 주의 역학적 특성. *Kor J Vet Publ Hlth*, 22(3):253-260, 1998.
 40. Henzler DJ, Opitz HM. The role of mice in the epidemiology of *Salmonella enteritidis* infection on chicken layer farms. *Avian Diseases*, 36:625-631, 1992.
 41. Davison S, Benson CE, Eckroade RJ. Comparison of environmental monitoring proto cols for the detection of *Salmonella* in poultry houses. *Avian Diseases*, 39:475-479, 1995.