

한국의 동물과 사람에서 분리한 *Salmonella enteritidis*의 phage types

우용구 · 박미선* · 우승룡 · 김봉환** · 김재학

국립수의과학검역원 · 국립보건원 세균질환부*

경북대학교 수의과대학**

(2000년 6월 21일 게재승인)

Phage types of *Salmonella enteritidis* isolated from animal and human in Korea

Yong-ku Woo, Mi-sun Park*, Seung-ryong Woo, Bong-hwan Kim** Jae-hak Kim

National Veterinary Research and Quarantine Service, Anyang, Korea

Department of Microbiology, National Institute of Health*

College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Taegu, Korea**

(Accepted by Jun 21, 2000)

Abstract : The present study was conducted to investigate the phage types(PT) of *Salmonella enteritidis* (SE) isolated from animals and human patients in Korea during the period 1993-1999. SE were isolated from chickens including the layer and broiler, duck, rat, swine and human patients in nationwide scale. A total of 231 non-human and 14 human SE strains were phage typed and 80.4%(197/245) of SE isolates tested could discriminate as a ten SEPTs including the RDNC by the 10 standard phages, which were brought from the Central Public Health Laboratory in England. In analysing of phage types both animal and human SE isolates, SEPT 4(55.4%) was the most prevalent in domestic animals including the layer(39.3%) and broiler(64.5%), duck (55.5%), and swine(75.0%) since 1993. About 57% of the *S enteritidis* from human was SEPT 4. Along with SEPT 4, SEPT 1, SEPT 6a, SEPT 7 and SEPT 7a var, SEPT 9b, SEPT 15, SEPT 21b and SEPT 22 were also found from animal and human SE isolates. SEPT 4(40.0%) was isolated from frozen chicken meats imported from China along with SEPT 7 and 7a var strains in this study.

In conclusion, SEPT 4 was the most predominant SEPT in our country regardless of animal or human hosts including the Che-Ju island and almost exclusively found in domestic poultry(layer and broiler). During the review period, SEPT 4 has already been spreading continually among the animal hosts since 1993.

Key words : *Salmonella enteritidis* , phage type, animal, human, Korea.

Address reprint requests to Dr. Yong-ku Woo, National Veterinary Research and Quarantine Service, Anyang 6 dong, Anyang, Kyunggi, 430-016, Republic of Korea.

서 론

Salmonella spp.은 자연계의 동물과 식물을 포함한 광범위한 숙주영역에 감염 또는 오염되어 있는 기회성의 세포내 침습성의 병원균으로서 특히 식중독과 관련하여 제1순위의 인수공통 병원균이다. *Salmonella* spp.이 자연계의 광범위한 숙주영역에서 생존할 수 있다는 사실은 이들이 병원균으로서 잠재능력이 뛰어나다는 사실을 증명함이다. *Salmonella* spp.은 사실상 거의 모든 척추동물에서 분리되었으며^{1,2} 현재까지 2,500여종³의 혈청형이 밝혀져 있으며 이들중 사람과 동물에 대해서 특이적으로 적응능을 획득한 소수의 혈청형 즉, *S typhi*(사람), *S dublin*(소), *S choleraesuis*(돼지), *S gallinarum* 및 *S pullorum*(가금) 등을 제외하면 거의 대부분의 혈청형은 자연계에 널리 분포되어 있는 숙주 비특이 혈청형이다⁴.

일반적으로 숙주적응 혈청형은 숙주에 대한 의존성(auxotrophic)의 성질 때문에 적응능을 획득한 숙주외의 환경이나 동물에서는 분리하기도 어려울 뿐만 아니라 보균 매체로서의 가능성도 희박한 특성을 갖고 있어 사실상 이들 혈청형에 의한 감염증의 근절은 가능성이 높은 실정이다. 이와같은 이유에서 실제로 이미 양계선진국에서는 가금티푸스와 추백리의 근절에 성공한 좋은 예도 있다^{3,4}. 이에 반하여 숙주 비특이 혈청형들은 지구상의 거의 모든 환경과 동물에 분포되어 있어 오염원을 근원적으로 제거하기란 사실상 불가능한 실정이다. 그러므로 사람에서 salmonellosis의 예방을 위한 실현 가능한 일은 무엇보다도 동물에서의 *Salmonella* spp.의 오염 수준을 극소화시키는 것이며, 동물에서 오염수준을 줄이기 위해서는 환경으로부터의 오염을 극소화시키거나 제거시키는 일이다. 이와같은 이유에서 생산단계에서 *Salmonella*의 오염수준을 극소화시키기 위해서 경쟁적 배제(competitive exclusion) 개념을 적용한 약제를 사용하는가 하면 또 생산단계부터 소비자 단계까지 철저한 감시감독을 통하여 오염수준을 극소화시키기 위해서 HACCP system의 적용이 요구되었다^{5,6}.

수의세균학자였던 Salmon^{2,4}이 Smith과 함께 돼지풀레라에 감염된 돼지에서 *S choleraesuis*를 분리하면서 *Salmonella* spp.가 질병에 관련된다는 사실이 확인되면서 동시에 *S choleraesuis*는 *Salmonella* spp.의 대표균종(type species)으로 자리잡게 되었다. *Salmonella* spp.은 균체의

성상이 지속적으로 변화하는 연속체(continuum)로서의 특성을 지니고 있는데 이와같은 성질 때문에 분류체계에 있어서도 많은 혼돈이 초래되고 있는데 그 예로서 최근 미국에서 새로운 *Salmonella* spp.을 분리하였는데 흥미롭게도 유명한 농구선수의 이름을 딴 *S mjordan*이란 혈청형으로 보고될 정도로 새로운 혈청형이 현재에도 출현하고 있어 연속체로서의 특성을 잘 보여주고 있다. 또한 *S pullorum*은 야외 환경에서 표준형, 중간형 및 변이형의 3종의 항원형이 공존하고 있으며, 균체표면항원(factor = XII₂)의 변이현상이 지속적으로 일어나고 있는 것도 좋은 예이다^{4,7}.

미국의 질병관리센터(Center for Diseases Control ; CDC)의 조사자료에 의하면 미국에서는 해마다 6천 5백만건의 식중독이 발생되며 사망자가 9,000명이 발생하였다고 보고하였다. WHO의 조사결과 식중독의 발생에는 소비자들이 음식물을 보관 및 제조하는 과정에서의 실수가 90% 이상 관련된다는 사실은 확인하였다^{8,9}. 그러나 일반적으로 대중매체는 식중독이 발생한 경우 소비자의 과실에 대해서는 언급하지도 않고, 병원균이 분리 또는 관련된 축산물에만 초점을 두고 보도한 결과 축산물 소비의 격감은 물론 나아가 축산업 전체와 국가경제 전체에 막대한 피해를 입게되는 경우를 흔히 경험해왔다⁸.

1980년대 초까지만 하더라도 *S typhimurium*이 식중독의 가장 주된 병인체로 알려져 왔으나 특이하게도 1980년대 중반 이후부터 세계적인 경향으로 *S enteritidis*에 의한 식중독의 폭발적인 증가현상이 보고되었으며 따라서 이에 관련된 역학적 특성을 밝혀내기 위해 집중적인 연구가 진행되어 왔다^{3,10}.

Bacteriophage(phage) typing scheme(PTS)은 특정의 세균숙주에 대해서 알려진 phages의 감수성에 근거하여 역학적으로 특징적인 세균을 종(species)이하 수준까지 분류하는데 이용되는 기법이다¹¹. 현재 salmonellosis의 역학적 연구에 있어서 phage typing 자료는 범세계적으로 가장 유용하게 활용되고 있는 역학자료의 하나이며, PTS 기법은 적은 비용과 고가의 장비가 없이도 단시간에 간단한 술식으로 감염증에 관련된 병원균의 역학적 특성을 분석할 수 있는 장점이 있다. *Salmonella* spp.의 분석을 위해 개발된 PTS 기법은 무엇보다도 사람과 관련된 혈청형의 중요성에 기인하여 *S typhi*에 대하여 Craigie와 Yen¹¹이 Vi-phage II를 적용하여 개발한 PTS 기법이 최초이며 뒤이어 *S paratyphi* B¹¹, *S typhimurium*¹¹, *S hadar*¹²,

*S thompson*¹², *S anatum*¹³, *S enteritidis*¹⁰, *S virchow*¹¹, *S pullorum*¹⁴, *S blockley*¹⁴, *S dublin*¹⁴ 등에 대해서도 계속적으로 개발되었다. PTS 기법은 *Salmonella* spp. 뿐만 아니라 *Staphylococcus aureus*, *Shigella flexneri*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Enterobacter* 등의 균종에 대해서도 활용될 정도로 그 응용범위는 확대되어 있다^{15,16}.

*S enteritidis*의 PTS 기법은 이미 Lilleengen¹¹에 의해서 처음으로 개발된 바 있지만 실용화되지 못하자 Anderson과 Macierewicz 등에 의해서 계속적으로 수정보완이 시도되었지만 역시 실용화되지 못하였다. 그러나 Ward와 Rowe¹⁰는 10종의 typing phages를 이용하여 PTS 기법을 재정립하면서 이들의 방법은 범세계적으로 널리 활용되어 일관성 있는 성적을 확보함으로써 국제적으로 실용적인 PTS 기법으로 인정받게 되었다. 이들이 개발한 PTS 기법을 적용하여 식중독과 관련된 *S enteritidis*의 역학적 특성을 조사한 결과, 영국¹⁰에서는 *S enteritidis* phage types(SEPT) 4가 가장 유행하고 있다는 사실이 보고되었으며, 서독¹⁷과 이탈리아¹⁸, 프랑스¹⁹ 등의 유럽 제국들의 대부분과 태국에서도 역시 SEPT 4가 가장 유행하고 있다는 사실이 공통적으로 보고되었다. 반면에 북미 대륙의 미국²⁰에서는 SEPT 8이 가장 유행하고 있었으며 캐나다²¹에서도 마찬가지로 SEPT 8이 가장 지배적인 유행형이란 사실이 보고된 바 있다. 그리고 일본²²에서도 SEPT 1과 4가 가장 유행하고 있다는 사실이 보고되었다. 그러나 아직까지 우리나라에서는 사람분야는 물론 사람에 대하여 보균매체 역할을 하는 동물^{23,24}에서 분리된 SEPTs에 대한 보고자료는 대단히 미진한 실정이다.

이와 같은 배경을 토대로 이 연구에서는 1993년부터 1999년까지 각종 동물숙주로부터 *S enteritidis*를 분리 및 확보하여 phage types을 조사하고자 하였다^{25,26}. 특히 *S enteritidis*를 비롯한 파라티푸스 혈청형은 동물 뿐만 아니라 사람에서 식중독을 유발하는 인수공통 병원균인 만큼 사람에서 분리되는 *S enteritidis* 와의 상관성에 관한 연구는 필수적인 실정이다. 이와 같은 이유에서 이 연구에서는 국립보건원²⁷에서 전국 10개 시·도의 사람환자에서 분리된 *S enteritidis*를 직접 분양받아 동물에서 분리된 *S enteritidis*의 SEPTs의 분포양상 성격과 비교해보고자 하였다.

재료 및 방법

공시균주 : 우리나라에서 1993년부터 1999년까지 제주도를 포함한 전국에 걸쳐서 산란계, 육용계, 오리, 돼지 및 집쥐에서 분리된 *S enteritidis* 분리주를 공시하였다. 그리고 전국 10개 시·도의 사람환자의 분변과 혈액에서 분리된 *S enteritidis* 분리주도 국립보건원에서 분양 받아 사용하였다.

Salmonella 항혈청 : *S enteritidis*의 혈청형의 동정을 위해서 Difco(USA)사 항혈청을 구입하여 사용하였으며, 제조회사의 지시에 따라서 항혈청을 원액 및 희석하여 평판응집법과 시험판시험법에 사용하였다.

표준 phages 및 type strains : 총 10종의 표준 phages와 역시 10종의 *S enteritidis* type strains은 영국 런던소재 Central Public Health Laboratory Service(PHLS)로부터 분양받은 것을 사용하였다.

생화학적 성상시험 : 1993년부터 1999년 사이 우리나라 동물유래의 표본을 먼저 *Salmonella-Shigellar* 한천배지와 MacConkey 한천배지에 37°C에서 24시간 배양한 후에 순수배양하여 *Salmonella* spp.로 의심되는 집락에 대하여 Olsson et al²⁸의 방법에 준하여 C_s-esterase spot test(Biolife co. Italy)를 실시하여 *Salmonella* spp. 집락을 1차적으로 검색한 후 이들 균주들에 대하여 Collins & Lyne¹의 방법에 따라 개별적으로 생화학 성상검사를 거친후 최종적으로 확인하였다.

Serotyping : 생화학성상으로서 *Salmonella* spp.로 확인된 균주에 대해서 혈청형의 동정은 Kauffmann-White scheme에 근거하여 균체표면(O) 및 flagellar(H) 항원을 양성 항혈청(Difco Co.)을 이용하여 동정하는 절차를 거쳤다. 특히 *S enteritidis*는 flagellar 항원의 경우 phase I(g, m, -)만을 소유하고 있기 때문에 H-phase 전환시험을 거치지 않고서 1차적인 시험판 시험법만으로서 최종적인 혈청형을 확인하였다.

Phage typing : Serotyping에서 *S enteritidis*로 동정된 총 245주를 대상으로 phage typing을 실시하였다. 순수 배양된 야외 분리주를 nutrient broth(NB)에 접종하여 배양하고, Ward와 Rowe¹⁰의 방법에 따라서 균수를 조절한 후 nutrient agar plate(NA)에 접종하여 표면의 습기를 건조시켰다. 그리고 NB에 사전에 역가검정을 실시하여 RTD(routine test dilution)로 조정된 10주의 표준 phages의 각각을 phage applicator를 이용하여 적정한 거리를 두고 접종한 후 37°C에서 18시간 배양하였다. 결과판독은 배양 후 확대경 등을 사용하여 표준파지의 반응양상을 판

독기준에 따라서 기록하였다. 최종적인 SEPTs의 판정은 숙주세포에 대하여 감수성을 나타낸 phages에 의해 특이적으로 나타난 용균양상을 PHLS(UK)의 SEPTs의 표준판독표에 준하여 비교 분석하여 결정하였다. 분양된 10주의 표준파지에 대해서 반응은 보이나 알려진 phage lysis patterns중의 어떠한 것으로서 명확히 결정할 수 없는 균주는 RDNC(Reacted but did not confirm)로 규정하였다.

결 과

1993년부터 1999년 사이 우리나라의 가금(산란계, 육용계 및 오리)과 돼지, 집쥐 그리고 국립보건원에서 분양받은 사람환자에서 분리된 SE 분리주에 대하여 PTs의 분포양상을 조사하였다. Table 1에서 나타낸 바와 같이 시험에 공시한 총 245주의 SE 분리주 중 197주만 알려진 PTs으로 구분할 수 있었다. 결과적으로 시험대상의 80.4%의 균주만이 10종의 분양받은 표준 phages로서 알려진 PTs으로 동정할 수 있었지만 나머지 균주는 PTs만으로서는 동정할 수 없었다. 비록 SE 균주의 역학적 특성 분석에 phage typing 기법이 유용하지만 이 방법 단독만으로는 모든 SE 균주를 완벽하게 분석할 수가 없었다. 그리고 총 245주의 분리주 중 128주가 SEPT 4로 확인되어 전반적으로 52.2%라는 압도적인 점유율을 차지함으로써 우리나라의 동물유래 균주는 물론 사람유래 분리주에서도 마찬가지로 가장 지배적인 PTs이라는 사실을 확인할 수 있었다. 그리고 SEPT 4와 더불어 SEPT 7과

PT 7a var는 51주로서 전체에 20.8%를 차지하였고, SEPT 1은 10주(4.1%), SEPT 9b와 SEPT 21b는 각각 2주(0.8%) 그리고 SEPT 6a, SEPT 15, SEPT 19 및 SEPT 22도 1주(0.4%)씩 각각 동정되었다. 아울러 이 시험에서는 영국에서 분양받은 표준 phages를 사용하였을 경우에도 알려진 SEPTs로서 동정되지 않은 균주(RDNC)도 확인되었으며, 이들을 포함하여 총 11종의 SEPTs를 동정할 수 있었다.

Table 2에서는 서울, 경기, 인천, 강원, 충북, 충남, 대전, 전북, 전남, 광주, 대구, 경북, 부산 및 경남지역의 도계장에서 직접 수거한 도계육에서 분리한 SE중 SEPT 4로 확인된 균주들을 대상으로 분리출처에 따라서 SEPT 4의 분포양상을 조사한 성적이다. 이 성적에서는 1993년 이래로 SEPT 4는 이미 제주도를 비롯하여 우리나라의 전국에 고르게 분포되어 있음을 확인할 수 있었다. 그리고 조사된 지역에 따른 분포상황 조사에서 경기도와 충남지역에서 SEPT 4는 22.4%로서 가장 많이 동정되었으며, 이어서 전북, 강원 및 전남지역의 순서로 조사되었다.

Table 3에서는 1993년부터 1999년까지 우리나라의 가금(산란계, 육용계 및 오리), 돼지 및 집쥐에 분리한 SE 분리주와 함께 국립보건원에서 분양받은 사람환자에서 분리된 SE 분리주에 대하여 SEPTs를 동정하여 분리된 숙주별로 그 분포양상을 비교 조사한 성적이다. 이 성적에서 SEPT 1은 주로 사람과 산란계 그리고 오리유래의 균주에서만 확인되었으며, SEPT 4는 우리나라의 사람을 비롯하여 산란계, 육용계, 오리 및 돼지까지 시험대상의

Table 1. Phage types of *Salmonella enteritidis* (SE) isolated in domestic animals and human from 1993 to 1999

PTs	Phage types(PTs) of <i>Salmonella enteritidis</i>										Total
	1	4	6a	7 or 7a	9b	15	19	21b	22	RDNC	
Number	10	128	1	51	2	1	1	2	1	48	245
Percentage	4.1	52.2	0.4	20.8	0.8	0.4	0.4	0.8	0.4	19.6	100

Table 2. Provincial distribution of *S. enteritidis* PT 4 strains isolated from chicken and chicken meats in Korea from 1993 to 1999

Provinces	KG*	KW	CB	CN	JB	JN	KB	KN	CJ	Total
PT 4	13	6	3	13	7	6	3	3	4	58
Percentage	22.4	10.3	5.2	22.4	12.1	10.3	5.2	5.2	6.9	100

* KG : Kyonggi, KW : Kangwon, CB : Chungbuk, CN : Chungnam, JB : Jeonbuk, JN : Jeonnam, KB : Kyongbuk, KN : Kyongnam, CJ : Cheju.

대부분의 숙주영역에서 고르게 분포되어 있음이 확인되었다. 이에 반하여 SEPT 6a는 오로지 사람유래 균주에서만 확인되었고, SEPT 15와 SEPT 22는 가금유래의 균주에서만 확인되었다. SEPT 7과 SEPT 7a var는 육용계와 산란계 그리고 오리를 포함한 주로 가금유래의 균주에서만 확인되었고, SEPT 9b는 육용계와 돼지유래 균주에서 확인되었으며, SEPT 21b는 특이하게 집취유래의 균주와 사람유래 분리주에서 확인되었으며, SEPT 19는 오리유래 균주에서만 확인되었다.

Table 4에서는 1993년부터 1999년까지 우리나라에서 분리한 SE종 PTs이 확인된 균주들에 대해서 분리시기별로 분포양상을 조사한 성적이다. 이 성적에서 1993년도에 분리된 34주(17.3%), 1994년도의 분리주중 14주(7.1%), 1995년도의 분리주중 19주(9.7%), 1996년도의 분리

주중 109주(55.6%), 1997년도의 분리주중 10주(5.1%), 1998년도의 분리주중 8주(4.1%) 그리고 1999년도의 분리주중 2주(1.0%)가 각각 알려진 SEPTs으로 확인되었다.

그리고 연도별로 분리주의 분포양상을 조사한 성적에서 SEPT 4는 우리나라의 가금을 비롯한 대부분의 동물숙주에서 1993년도부터 1999년까지 지속적으로 분리되고 있었고, 1996년도부터 육류미생물 검사와 도계장 위생관련 계육검사가 집중적으로 실시된 관계로, 상대적으로 이 시기의 분리균주의 수가 많았던 것으로 조사되었다.

Table 5는 SE 분리주중 분리숙주에 따라서 SEPT 4의 분포양상을 조사한 성적이다. 먼저 산란계에서 분리된 11주(39.3%)가 SEPT 4로 확인되었고, 육용계에서는 분리된 61주(64.5%)가 SEPT 4로 확인되어 이들이 분리주

Table 3. Distribution of phage types of *Salmonella enteritidis* according to the isolated hosts from 1993 to 1999 in Korea

Host	Phage type of <i>Salmonella enteritidis</i>									
	PT 1	PT 4	PT 6a	PT 7 or 7a	PT 9B	PT 15	PT 19	PT 21b	PT 22	
Broiler	○	○	-	○	○	-	-	-	-	
Laver	○	○	-	○	-	○	-	-	○	
Duck	○	○	-	○	-	-	○	-	-	
Mice	-	-	-	-	-	-	-	○	-	
Swine	-	○	-	-	○	-	-	-	-	
Human	○	○	○	-	-	-	-	○	-	
Total	4	5	1	3	2	1	1	2	1	

Table 4. Comparison of distribution of *Salmonella enteritidis* PTs depending on the isolated period in Korea since 1993

Years	Number of identified (percentage)							Total
	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	
Isolates	34 (17.3)	14 (7.1)	19 (9.7)	109 (55.6)	10 (5.1)	8 (4.1)	2 (1.0)	196 (100)

Table 5. Distribution pattern of *Salmonella enteritidis* phage type 4 among the domestic animals and human in Korea from 1993 to 1999

Isolates/ Host	No. of identified/No. of total tested(percentage)					Total
	Layer	Broiler	Duck	Human*	Swine	
SEPT4/ Total	11/28 (39.3)	60/93 (64.5)	10/18 (55.5)	8/14 (57.1)	3/4 (75.0)	128 (100)

의 대부분을 차지하였다. 그리고 오리에서 분리된 10주(55.5%)가 SEPT 4로 확인되었고, 사람유래 분리주총 8주(57.1%)가 SEPT 4로 확인되었고, 돼지유래의 3주(75.0%)도 SEPT 4로 확인되었다. 이 성적에서 SEPT 4균주의 대부분은 우리나라의 산란계, 육용계 및 오리를 비롯한 가금류를 중심으로 분리됨을 확인할 수 있었다.

고 찰

1980년대 중반이후 범세계적으로 가금과 가금유래 산물 특히 난각체로 판매되는 계란과 이들 계란이 함유된 음식물이 원인으로 작용하여 *S enteritidis*에 의한 식중독의 폭발적인 증가현상이 보고되었다. 따라서 이 혈청형에 의한 식중독의 역학적 특성분석이 시급히 요구되고 있다^{5,8}. 이를 위해서는 무엇보다도 간편하고 신속하며 범세계적으로 공통적인 자료가 필요하며, 이러한 목적에서 Ward와 Rowe¹⁰는 용균성 균주에서 직접 분리한 4종(phage 1, 2, 3 & 6)의 phages와 phages의 적응능에 따라 5종(phage 4, 5, 8, 9 & 10) 그리고 하수에서 분리한 1종(phage 7) 등 총 10종의 typing phages를 이용하여 *S enteritidis*의 PTS 기법의 실용화에 성공하였다. 현재 영국의 Central Public Health Laboratory는 세계 각국의 실험실에 표준 phages와 통일된 분석기술을 제공함으로써 범세계적으로 일관성 있는 성적을 도출함과 동시에 *S enteritidis*의 역학연구에 있어서 공통된 자료를 확보하는데 중요한 역할을 제공하고 있다.

Hickman과 Brenner et al⁸은 salmonellosis의 역학조사를 위해서는 phage typing이 가장 유용한 분석기법으로 간주하고, 미국의 환경표본과 동물 그리고 사람에서 분리된 573주의 SE 분리주에 대하여 SEPTs의 분포양상을 조사한 결과, SEPT 8(48.2%)이 가장 유행하는 균형이었으며, 이어서 SEPT 13a(20.1%)와 SEPT 13(7.8%)의 순서로 분포되어 있음을 확인하였고, 캐나다에서도 역시 SEPT 8이 가장 유행하고 있음이 보고되어 SEPT 8은 북아메리카 국가들에서 분리되는 *S enteritidis*의 공통된 역학적 특성으로 인정되고 있다^{21,29}. 그러나 체코공화국과 폴란드에서도 SEPT 8이 또한 가장 유행하고 있다고 보고되었다¹⁹. 한편 영국, 덴마크, 이탈리아, 프랑스, 네덜란드, 스위스, 독일 등을 포함하는 서유럽 제국들은 SEPT 4가 가장 유행하고 있어 북아메리카 국가들의 성적과는 대조적인 양상으로 보고되었다^{8,10,18,20}. 그리고 오스트레일

리아³⁰는 SEPT 26이 가장 유행하며 그 다음은 SEPT 4이며, 핀란드와 러시아를 비롯한 발탁해 인접국가들은 SEPT 1이 지배적인 유행형으로 보고되었다. 그리고 아시아 국가 중에는 일본과 태국이 이미 SEPT 4가 유행하고 있음을 국제적으로 보고하였다³¹.

한편 이 연구에서는 인접한 아시아 국가간^{22,32}를 중에서도 자국의 SEPTs의 분포양상에 대한 국제적인 보고자료는 일본과 태국을 제외하고 한국과 중국은 보고 사실이 없는 설정이다. 그러나 중국에서는 이미 많은 양의 계육이 수입되고 있는 설정이다. 그리고 우리나라의 외국산(태국, 호주, 프랑스, 영국, 캐나다 및 중국) 가금육의 수입위생조건에는 하나같이 가금사육 농장에서도 SEPT 4가 분리된 사실이 없어야 하며, 이들 국가의 수출 가금육에서도 SEPT 4가 분리된 사실이 없어야 한다고 규정(2000, 4월)하고 있다. 이와 같은 이유에서 비록 시험의 특성상 많은 균주를 확보할 수는 없었지만 우리의 입장에서는 반드시 확보해야 할 자료인 관계로 이때 까지 확보할 수 있었던 4주의 적은 수의 분리주에 대해서라도 SEPTs를 비교조사하였던 바 중국산 냉동계육에서도 SEPT 4(25.0%)가 존재하고 있음을 확인할 수 있었고, 동시에 SEPT 7와 7a var도 상당수(75.0%) 존재함을 확인하였다. 이처럼 SEPTs의 분포유형은 국가 또는 지역적으로 일관성 있는 자료를 제공하고 있어 *S enteritidis*와 *S typhimurium* 등과 같이 유행병을 일으키는 중요한 병원균의 역학적 연구에는 필수적인 자료로 평가되고 있다. 한편 우리나라의 경우 1993년 이래로 가금과 환경표본의 *Salmonella* spp. 오염도 조사와 *S enteritidis* 등을 비롯한 혈청형의 분포조사 성적에서 1993년 이후로 국내 가금에서도 *S enteritidis*가 가장 유행하고 있음이 이미 보고되었다^{25,26}. 그리고 우 등²⁴은 예비적으로 이미 19주의 가금유래 *S enteritidis*에 대하여 NVSL의 도움을 얻어 SEPTs를 조사한 결과 SEPT 4가 가장 많았으며 SEPT 7 및 7a var도 존재함을 확인한 바 있다. 그러나 가금을 제외한 기타 동물유래 균주에 대한 SEPTs의 조사 성적은 없는 설정이며 또한 우리나라의 경우 가금을 제외한 기타동물에 대해서는 *Salmonella* 혈청형의 분포조사 성적조차도 대단히 미흡한 설정이다. 그리고 국내 사람에서는 1997년까지는 오히려 *S typhimurium*이 가장 유행하고 있었으며, 최근에서야 *S enteritidis*가 유행하고 있다는 사실이 보고된 바 있지만 SEPTs에 대한 공식적인 보고자료는 여전히 없는 설정이다²⁷.

SEPT 4는 사람환자는 물론 산란계, 육용계, 오리 그리고 돼지를 비롯하여 전체 SE균주중 52.2%를 차지하여 SEPT 4가 가장 유행하고 있는 것으로 확인되어 우리나라의 SEPTs의 유행양상은 유럽제국들의 유행양상과 일치함을 재확인할 수 있었다. 그러나 이 등²³의 보고성적에서는 동일한 가금유래 *S enteritidis*에 대한 PTs의 조사 성적이나 SEPT 4가 전혀 없었다는 성적과는 큰 차이가 인정되었다. 그리고 공식적인 보고자료가 없었던 까닭에 직접 SE균을 분리 확보하여 비교시험을 하였던 중국 산 계육에서도 SEPT 4가 존재함을 직접 확인할 수 있었다. 따라서 이와같은 자료는 이들 국가와의 무역관계에 있어서 검역 및 검사업무를 수행함에 있어서 중요한 자료로 활용될 수 있을 것으로 사료되었다. 이와 관련하여 미국에서는 비록 1996년도에 캘리포니아주에서 SEPT 4가 확인되었음에도 불구하고, SEPT 8가 가장 유행형이라는 이유로 이들을 외래성의 병원균으로 간주하여 수출 및 수입시 검역 및 검사대상으로 간주한 바 있다^{33,36}.

연도별 SEPTs의 분포조사에서도 우리나라에서는 이미 1993년 이래로 지속적으로 SEPT 4가 분리되고 있음을 확인할 수 있었고, 1996년도에 집중적으로 많았던 것은 단지 이 시기에 분리균주의 수가 상대적으로 많았기 때문이었다. 그리고 동물숙주별로 SEPTs의 조사성적에서 육용계 유래의 균주가 상대적으로 많았다는 점은 있지만 SEPT 4는 산란계나 오리에서도 역시 비슷한 양상으로 분포되어 있었다. 그리고 오리유래의 SEPTs 중 SEPT 1가 비교적 높은 빈도를 차지한 것이 하나의 특징으로 사료되어 이 숙주에 대해서는 지속적인 감시와 조사를 진행하고 있다. 그러나 동물숙주간에 있어서 근원적인 오염원의 출처를 규명하기 위해서는 분리된 숙주별로 SEPT 4에 대한 보다 세밀한 분자유전학적인 분석 기법 등을 적용한 지속적인 연구가 요구된다.

범세계적으로 폭증하고 있는 *S enteritidis*의 역학조사를 위해서는 단순히 혈청학적인 동정만으로는 부족하며 혈청형 이하 수준의 보다 세밀한 분석이 요구된다^{9,10,19,22}. 이러한 이유에서 특정 유행병의 역학적 연구는 관련 병원균이 환자에 접근하게 되는 경로와 오염출처를 파악하는 것은 물론이며 나아가 질병을 예방하고 근절하기 위해서도 필수적이기 때문이다^{36,37}. *Salmonella* spp.와 같이 오염원이 끝없는 많은 실정에서 가능성 높은 일이라면 현재 사람에서 가장 문제가 되고 있는 혈청형인 *S enteritidis* 하나 만이라도 오염원을 색출하여 제거함으로

써 당면한 문제를 해결할 수 있는 실마리를 확보할 수 있을 것으로 사료된다. 그러나 병원균이 광범위한 환경이나 동물숙주에 널리 분포되어 있고 또 건강한 사람과 동물에 흔히 보균되어 있는 경우에는 오염원의 색출 및 제거는 그만큼 어려울 수밖에 없다는 사실도 인정해야 하겠다^{23,34,35}.

미국에서 *S enteritidis*에 의한 사람에서 salmonellosis의 급격한 증가현상이 1984년부터 1994년까지 57%가 증가했으며, 특히 *S enteritidis*에 의한 식중독은 무려 1,056배나 증가했다. *S enteritidis*는 1996년의 경우 사람에서 가장 많이 분리되었고 대부분은 음식점이나 보육시설 내에서 발생하였고, 발생원인은 난각체로 판매되는 오염된 계란과 이들 계란이 포함된 식품으로 밝혀졌다^{8,20,35}. 그리고 가금유래 균주의 58.0%에 해당하는 균주가 SEPT 8이었으나 다른 동물에서는 단지 24.0%만이 SEPT 8이었다는 사실로 가금이 주된 오염원으로 취급되었다. 1996년의 SEPT의 조사에서 건강한 닭에서 1.7%~50.0%의 SEPT 4가 분리되었으며, 도태되는 닭에서도 14~42.0%나 분리되었고 또한 SEPT 4는 집쥐에서 12.5%, 고양이에서도 57.0%나 분리되었다^{18,34,38}. 한편 이 연구에서는 국내에서는 처음으로 가금을 비롯하여 돼지와 집쥐에서 분리된 균주에 대해서 SEPTs를 조사하였으나 전체적인 분리주의 숫자가 가금에 비하여 상대적으로 적었던 점이 아쉽지만 가금이외의 숙주에서 *S enteritidis*는 극히 소수가 분리된다는 점을 고려할 때 돼지유래의 *S enteritidis* 4주중 3주가 SEPT 4라는 사실은 돼지도 SEPT 4의 보균숙주로서의 가능성을 배제할 수 없음을 사사해주는 성적으로 사료되었다²⁵. 이와 관련하여 소를 비롯한 기타 동물숙주에 대해서는 지속적으로 보다 많은 분리주를 확보할 계획이며 SEPTs의 조사도 함께 실시하고자 한다. 쥐와 사람에서 공통적으로 확인된 SEPT 21b에 대해서는 분자역학적인 방법으로 보다 세밀한 분석이 필요할 것으로 사료되었다.

결론적으로 이 연구의 수행목적이었던 동물 즉, 가금을 비롯하여 돼지와 집쥐에 대해서는 물론 우리나라의 사람에서 분리된 *S enteritidis*의 PTs의 분포양상을 확인 할 수 있었고, 그 결과 SEPT 4가 가장 유행하고 있다는 사실도 확인하였다. 그리고 우리나라의 사람과 가금에서 공통적으로 *S enteritidis*가 가장 많이 분리된다는 사실은 이미 보고되어 있으며, 이 성적에서 SEPT 4가 공통적으로 가장 압도적인 점유율을 차지하고 있다는 사실

을 확인하였다. 그리고 추후로 우리나라에서 분리된 각종 숙주유래의 SEPT 4에 대해서 pulsed field gel electrophoresis(PFGE), ribotyping, random fragment length polymorphism(RFLP), polymerase chain reaction(PCR)-RFLP 등^{10,22,32,37}의 분자유전학적 분석법을 활용하여 보다 세밀한 조사를 수행할 계획이다.

결 론

우리나라의 동물중 산란계, 육용계 및 오리에서 분리된 SE 균주, 시판 계육 및 도계육에서 분리된 SE 균주 그리고 돼지 및 집쥐에서 분리한 SE 균주를 비롯한 동물 유래 균주를 포함하여, 전국 10개 시·도의 식중독에 걸린 사람환자의 혈액과 분변에서 분리된 *S. enteritidis* 도 함께 포함하여 역학적 특성조사의 일환으로서 phage types을 조사하였다.

1993년부터 1999년까지 동물과 사람으로부터 확보된 총 245주의 *S. enteritidis* 분리주에 대하여 Central Public Health Laboratory에서 직접 분양받은 10주의 표준 phages를 이용하여 분석한 결과, 총 179주가 알려진 phage type (80.0%)으로 동정되어 PTS 기법의 실용성을 확인할 수 있었지만 반면에 10주의 표준 phage로서도 감별할 수 없는 균주도 존재함을 알 수 있었다.

Phage typing 결과 SEPT 4는 1993년 이후로 7년동안 우리나라의 동물과 사람에서 분리된 전체 시험대상 균주의 52.2%에서 가장 암도적인 우위를 차지하고 있음을 확인할 수 있었고, 아울러 SEPT 1(4.1%), SEPT 6a(0.4%), SEPT 7 및 SEPT 7a var(20.8%), SEPT 9b 및 SEPT 21b 등 도 우리나라의 동물과 사람유래 균주에 존재하고 있음을 확인하였다. SEPT 4의 86.9%는 가금(산란계, 육용계 및 오리)에서 분리되었으며, 그중 육용계에서 분리된 균주의 64.5%가 SEPT 4로 확인되었고 오리유래 균주의 10.7%도 SEPT 4인 것으로 확인되었다. 한편 돼지에서는 *S. enteritidis*가 분리빈도가 낮음에도 불구하고 분리주의 75.0%(3/4)가 SEPT 4로 확인되었다. 국제적인 보고자료가 없어 자료확보를 위해서 비교조사를 한 결과, 중국산 계육에서도 SEPT 4를 직접 분리 및 확인하였다.

결론적으로 1993년부터 1999년에 걸쳐서 제주도를 포함한 우리나라 전국에서, 분리지역과 분리시기별 분포 양상의 비교조사에서도 SEPT 4는 특정지역이나 분리시기에 국한됨이 없이 전국에 걸쳐서 고르게 분포되어 있

었고, 1993년 이래로 전국에서 지속적으로 분리되고 있음을 확인하였다.

참 고 문 헌

1. Collins CH, Lyne PM, Grange JM. *Collins and Lyne's Microbiological methods*. Seventh edition. Butterworth Heinemann, p 314-325, 1995.
2. Schwartz KJ. *Salmonellosis. Diseases of swine*. Iowa state university Press, Ames, Iowa, USA, 12th ed. p 535-547. 1999.
3. Poppe C, McFadden KA, Brouwer AM, et al. Characterization of *Salmonella enteritidis* strains. *Can J Vet Res*, 57:176-184, 1993.
4. Gast RK. *Salmonella infections. Diseases of poultry*. Iowa state university Press, Ames, Iowa, USA, 10th ed. 1997.
5. Humphrey TJ. Public health implications of the infection of egg-laying hens with *Salmonella enteritidis* phage type 4. *World's Poultry Science Journal*, 46:5-13, 1990.
6. Henzler DJ, Ebel E, Sanders J, et al. *Salmonella enteritidis* in eggs from commercial chicken layer flocks implicated in human outbreaks. *Avian Diseases*, 38: 37-43, 1994.
7. 최철순, 정영석, 김원용 등. *Salmonella* 균과 대장균에 대하여 길항작용을 나타내는 *Bacillus species*의 분리. *Kor J Vet Publ Hlth*, 23(4):261-269, 1999.
8. Hickman-Brenner FW, Stubbs AD, Farmer III JJ. Phage typing of *Salmonella enteritidis* in the United States. *Journal of Clinical Microbiology*, 29(12):2817-2823, 1991.
9. Rodrigue DC, Cameron DN, Puhr ND, et al. Comparison of plasmid profiles, phage types, and antimicrobial resistance patterns of *Salmonella enteritidis* isolates in the United States. *Journal of Clinical Microbiology*, 30(4):854-857, 1992.
10. Ward LR, De Sa JDH, Rowe B. A phage-typing scheme for *Salmonella enteritidis*. *Epidem Inf*, 99:291-294, 1987.
11. Craigie J, Yen CH. The demonstration of types of *B. typhosus* by means of preparations of type II Vi phage;

- I. principles and technique. *Canad Pub Health J*, 27: 448-463, 1936.
12. Bouzoubaa K, Nagaraja KV, Newman JA. Phage-typing system for *Salmonella hadar* of animal origin. *Avian Diseases*, 30(2):358-340, 1985.
 13. Gershman M. A phage typing system for *Salmonella anatum*. *Avian Diseases*, 18(4):565-567, 1975.
 14. Tsubokura M. Studies on *Salmonella pullorum* phage, IV. Phage receptor of *S pullorum*. *Jap J Vet Sci*, 27: 309-315, 1965.
 15. Xiaoqing He, Pan R. Bacteriophage lytic patterns for identification of *Salmonellae*, *Shigellae*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, and *Enterobacter cloacae*. *Journal of Clinical Microbiology*, 30(3):590-594, 1992.
 16. Anderson ES, Williams REO. Bacteriophage typing of enteric pathogens and *Staphylococcus* and its use in epidemiology. *J Clin Path*, 9:94-115, 1956.
 17. Schroeter A, Ward LR, Rowe B, et al. *Salmonella enteritidis* phage types in Germerny. *Eur J Epidemiol*, 10(5):645-648, 1994.
 18. Pignato S, Nastasi A, Mammina C, et al. Phage types and ribotypes of *Salmonella enteritidis* in southern Italy. *Zentralbl Bakteriol*, 283(3):399-405, 1996.
 19. Avril JL, et al. Salmonella and salmonellosis, proceedings May 20-22, in France, 1997.
 20. Rodrigue DC, Tauxe RV, Rowe B. International increase in *Salmonella enteritidis*: A new pandemic? *Epidemiol Infect*, 105:21-27, 1990.
 21. Khakhria R, Woodward D, Johnson WM, et al. *Salmonella* isolated from humans, animals and other sources in Canada, 1983-92. *Epidemiol Infect*, 119(1):15-23, 1997.
 22. Kusunoki J, Kai A, Yanagawa Y, et al. Biochemical and molecular characterization of *Salmonella* serovar *enteritidis* phage type 4 isolated from food poisoning outbreaks in Tokyo. *Kansenshogaku Zasshi*, 71(8):730-737, 1997.
 23. 이희수, 임숙경, 우승룡 등. 돼지 살모넬라 감염증 신속진단법 개발에 관한 연구. 농림부 수의과학연구소 시험연구보고서, 232-240, 1997.
 24. 우용구, 박미선, 박최규 등. 우리나라의 사람과 동물에서 분리된 *Salmonella enteritidis* 의 phage types. 대한수의학회지, 39:197, 1998.
 25. 우용구, 현방훈, 정석찬 등. *Salmonella* 속균의 신속 검색을 위한 PCR 진단법 개발. 수의과학연구논문집, 37(3):66-69, 1997.
 26. 우용구, 이영주, 김기석 등. 시판계육의 미생물 오염 실태조사. 농촌진흥청 수의과학연구소 시험연구보고서(II), 57-61, 1996.
 27. 김호훈, 박미선, 강연호 등. 1997년도 한국에서 분리된 *Salmonella* 주의 역학적 특성. *Kor J Vet Publ Hlth*, 22(3):253-260, 1998.
 28. Olsson M, Anna Syk, Wollin R. Identification of *Salmonellae* with the 4-methyl umbelliferylcaprilate fluorescence test. *J of Clinical Microbiol*, 29:2631-2632, 1991.
 29. Lax AJ, Barrow PA, Jones PW, et al. Current perspectives in salmonellosis. *Br Vet J*, 151:351-377, 1995.
 30. Murray CJ. *Salmonella* serovars and phage types in humans and animals in Australia 1987-1992. *Australian Veterinary Journal*, 71(3):78-81, 1994.
 31. Johansson TML, Schildt R, Ali-Yrkko S, et al. The first *Salmonella enteritidis* phage type 1 infection of a commercial layer flock in Filand. *Acta Vet Scand*, 37: 471-480, 1996.
 32. Ling JM, Koo IC, Kam KM, et al. Antimicrobial susceptibilities and molecular epidemiology of *Salmonella enterica* serotype *enteritidis* strains isolated in Hong Kong from 1986 to 1996. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(6):1693-1699, 1998.
 33. 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.
 34. Poppe C, Demczuk W, McFadden K, et al. Virulence of *Salmonella enteritidis* phage types 4, 8, 13 and other *Salmonella* spp. for day-old chicks, hens and Mice. *Can J Vet Res*, 57:281-287, 1993.
 35. Threlfall EJ, Frost JA. A review The identification, typing and fingerprinting of *Salmonella*: laboratory aspects and epidemiological applications. *Journal of Applied Bacteriology*, 68:5-16, 1990.

36. Suzuki S. Pathogenicity of *Salmonella enteritidis* in poultry. *International J of Food Microbiology*, 21:89-105, 1994.
37. Brugha RF, Howard AJ, Thomas GR, et al. Chaos under canvas: a *Salmonella enteritidis* PT 6B outbreak. *Epidemiol Infect*, 115:513-517, 1995.
-