

경북지역 가축에서 분리된 *Salmonella typhimurium*과 *S enteritidis*의 phage typing 및 pulsed-field gel electrophoresis

김상윤, 이희무*, 김 신, 홍현표, 권현일

경상북도가축위생시험소 북부지소, 안동대학교 자연과학대학*
(접수 2001. 3. 28, 게재승인 2001. 4. 10)

Phage typing and pulsed-field gel electrophoresis of *Salmonella typhimurium* and *S enteritidis* isolated from domestic animals in Gyeongbuk province

Sang-Yun Kim, Hee-Moo Lee*, Sin Kim, Hyon-Pyo Hong, Heon-II Kwon

Northern Branch, Gyeongbuk Veterinary Service Laboratory, Andong, 760-901, Korea
College of Natural Science, Andong National University*, Andong, 760-749, Korea
(Received 28 March 2001, accepted in revised form 10 April 2001)

Abstract

Forty-five *Salmonella typhimurium* isolates were encountered 8 phage types in which DT197 and U302 were the predominant types.

The DT104 type which was first found from pig in Korea, and was resistant to chloramphenicol, streptomycin, sulfamethoxazole/trimethoprim, tetracycline, gentamicin and nalidixic acid.

Twenty-two *S enteritidis* isolates were encountered 5 phage types in which PT4 were the representative (predominant). *S enteritidis* isolates were susceptible to all antimicrobial agents.

As a result of PFGE analysis for *S typhimurium* and *S enteritidis*, PFGE patterns was better than phage typing in discriminating of strains. PFGE patterns were not in accord with phage type even though some strain had the same phage types.

Key words : *Salmonella*, Phage typing, PFGE

Corresponding author : Sang-Yun Kim, Northern Branch of Gyeongbuk Veterinary Service Laboratory, Andong, 760-901, Korea. Tel) 054-821-9882, Fax) 054-821-0556,
E-mail : sangyunk@hanmail.net

서 론

최근 *Salmonella*속 균의 감염증은 공중 보건 상 주요한 3가지 경향을 띠고 있다. 첫째 계란과 관련된 *S enteritidis*에 의한 감염이 현저히 증가되고 있고, 둘째 *Salmonella*속 균의 분리주들 사이에서 항생제 내성의 증가 특히 *Salmonella typhimurium* definitive type(STDT) 104균주의 급속한 확산과, 셋째 교역의 증가로 오염된 식품을 통하여 넓은 지역에서 국제적으로 발생되고 있다¹⁾.

*S typhimurium*은 1892년 Loeffler가 처음으로 분리한 세균(Minor 1984)으로 전 세계적으로 널리 분포하고 모든 동물에 감염되어 장염, 패혈증, 유산, 폐렴 등의 증상을 나타내며, 특히 환경이나 식품오염을 통하여 사람에서 식중독을 일으키므로 공중보건학적으로 중요시되고 있다^{2,3)}. 최근 *S typhimurium* 중에서 ampicillin, chloramphenicol, streptomycin, sulfonamides 및 tetracycline에 내성인 균주(R-type ACSSuT)의 분리가 증가되고 있다. 이 다섯 종류의 항균제에 내성인 균주의 phage typing 결과 주로 104 균주로 판명되었으며, WHO에서 1994년부터 Definitive Type(DT)104 균주로 언급하였다⁴⁾.

S typhimurium DT(STDT)104 균주의 주요 보균동물은 소였으나 이미 사람과 다른 모든 동물에 널리 전파되었으며⁵⁻⁷⁾, 최근 영국과 유럽의 여러 나라들 그리고 미국과 캐나다에서 분리빈도가 급속히 증가되고 있는 추세에 있다⁸⁾.

*S enteritidis*는 1888년 Gaertner에 의해 처음으로 분리⁹⁾된 이래 1980년대 중반 이후 *Salmonella*속 균 감염증의 범세계적인 역학적 특징으로 사람에서 *S enteritidis*에 의한 food-borne disease의 폭발적인 증가 현상이 보고되고 있다^{1,4)}.

*S enteritidis*는 사람과 모든 동물에 감염되어 주로 급성장염을 일으키나 닭에서는 난소에 감염되어 난황에 균이 이입되어 계란을 통하여 사람에게 감염됨으로 사람에게 있어서 식중독의 폭발적 발생을 야기한다^{1,10)}. 그리고 세계 각 국가들은 자국에서 유행하고 있는 *S enteritidis*

의 역학적 특성 연구의 일환으로 phage type (PT)을 조사한 결과 미국, 캐나다 및 폴란드에서는 *S enteritidis* PT(SEPT) 8, 영국, 네델란드, 이탈리아 등의 유럽 국가들에서는 SEPT 4, 그리고 발트해 연안 지역과 러시아에서는 SEPT 1이 가장 유행하는 phage type이라고 보고하였다¹¹⁻¹⁴⁾. 이와 같이 *S enteritidis*는 지역적으로 다른 phage type이 유행하고 있다¹⁵⁾. 우리나라에서도 1994년부터 사람 *Salmonella*속 균 감염증 가운데 *S enteritidis*에 의한 감염증이 현저히 증가하고 있는 추세이다¹⁶⁾.

*Salmonella*속 균의 동정은 단지 혈청형의 동정만으로서 어떤 지역에서 역학적으로 특징적인 균주를 파악한다는 것은 거의 불가능한 실정이다. 이와 같은 이유에서 보다 체계적인 역학적 특성을 규명하기 위해서는 종 이하 수준까지 분석이 가능한 분석기법의 활용이 필수적이다. 이와 같은 문제점을 해결하기 위해서 phage typing 기법이 도입되었으며, phage typing 자료는 현재 가장 기초적이면서 범세계적으로 활용되고있는 역학 자료이다^{14,17,18)}. 그러나 우리나라에서는 아직 동물 유래 *S typhimurium* DT104와 *S enteritidis*에 대한 phage type의 조사가 전무한 상태이다.

유럽과 미국에서 급속히 확산되고 있는 *S typhimurium* DT104와 전 세계적으로 폭발적으로 발생하고 있는 *S enteritidis*는 동물을 통하여 사람에게 전파되는 비숙주적응형 *Salmonella*속 균의 대표적인 혈청형으로 공중보건학적인 면에서 매우 중요시되고 있다. 따라서 본 실험에서는 경북지역 가축에서 분리된 *S typhimurium* 과 *S enteritidis*의 phage typing을 실시하고 또한 유전자 분석 방법의 우수성을 평가하는 기준인 표현능, 재현성, 판별력이 가장 우수한 것으로 알려진 Pulsed Field Gel Electrophoresis(PFGE)¹⁹⁻²¹⁾를 실시하여 phage type과 비교 하였다.

재료 및 방법

1. Phage typing

경북지역 가축에서 분리된 *S typhimurium*

45주와 *S. enteritidis* 22주를 대상으로 phage typing을 실시하였다. *S. typhimurium*의 phage typing은 Anderson 등¹³⁾의 방법에 따라 31종의 normal phage set와 4종의 additional phage를, *S. enteritidis*는 Ward 등¹⁴⁾의 방법에 준한 10종의 phage set을 각각 이용하였다.

분리 균주를 nutrient agar plate에 도말 접종한 다음, nutrient broth에 상용시험 희석농도(routine test dilution, RTD)로 조정된 각 형의 phage액을 phage applicator로 접종하여 37°C에서 24시간 배양하였다. 판독은 숙주세포에 대하여 각 형의 phage액에 의해 특이적으로 일어난 용균 양상을 phage형 표준 판독표에 따라 판독하였다. 시험에 사용된 phage와 type strain은 영국의 International Centre for Enteric Phage Typing(ICEPT), Central Public Health Laboratories에서 분양 받아 사용하였다.

2. Pulsed-Field Gel Electrophoresis(PFGE)

가축에서 분리된 *S. typhimurium* 18주와 *S. enteritidis* 12주에 대한 PFGE는 Thong 등²²⁾의 방법에 따라 실시하였다.

가. Agarose plug의 제조

혈액배지에서 자란 균의 독립 colony를 취하여 5ml의 Tryptic soy broth(Difco)에 접종하고 37°C에서 overnight 배양한 후 배양액 1ml를 3.000g에서 20분간 원심 분리하여 침전된 균을 0.5ml의 SE buffer(75ml NaCl, 25mM EDTA; PH7.4)에 부유시키고, 2% pulsed field certified agarose(Bio-Rad, USA)를 만들어 50°C water bath에 보존하면서 위의 준비된 균액과 2% agarose를 1:1(v/v)의 비율로 혼합 후 plug mold에 넣어 형을 만들어 4°C에서 15분간 고형화시켜 사용하였다.

나. DNA의 정제

고형화된 plug를 1mg/ml의 lysozyme이 함유된 lysis buffer(6mM Tris-HCl, 1mM NaCl, 100mM EDTA, 0.5% Brij, 0.2% Deoxycholate, 0.5% Sarkosyl, 0.2µg RNase/ml)에 넣어 37°C에서 하룻밤 lysis 시킨 후 proteinase K 용액(1mg Proteinase K/ml, 0.5M EDTA,

0.5% Sarkosyl)에 넣어 50°C water bath에서 24시간 반응시킨 후 TE buffer(10mM Tris-HCl, 0.1mM EDTA; pH8.0)로 5회 세척 후 TE buffer에 넣어 4°C에서 보관하였다.

다. 제한효소 소화 및 PFGE

Plug를 digestion buffer(1×Restriction buffer, 1mM Dithiothreitol, 1mM bovine serum albumin)에 넣고 *Xba* I (5'-TCTAGA-3'; BioLabs, USA) 50unit로 37°C에서 4시간 처리한 후 1.2% PFGE grade agarose(Bio-Rad, USA)에 loading하여 0.5×TBE buffer(0.1M Tris, 1M Boric acid, 0.2mM EDTA)에서 14°C를 유지하면서 6v/cm, 15~56 sec pulse switch time 조건으로 CHEF-DR II(Bio-Rad, USA)를 이용하여 40시간 전기영동 후 ethidium bromide solution(GibcoBRL, USA)으로 염색하여 UV transilluminator(302 nm; Spectroline, USA)를 사용하여 DNA를 확인하였으며, marker로는 48.5kb에서 1,000kb까지의 크기를 가지는 Lambda Ladder DNA PFG marker(BioLabs, USA)를 사용하였다.

라. Reading of PFGE patterns

전기영동 후 PFGE pattern의 분석은 UPGMA program을 이용 dendrogram으로 분석하였다.

결 과

1. Phage type

가. *S. typhimurium*의 phage types

S. typhimurium 45주에 대한 phage typing 결과 Table 1과 같이 8종의 phage type이 동정되었으며, DT197이 소, 돼지에서 12주(26.7%)로 가장 많이 나타났으며, U302 type이 소, 돼지에서 11주(24.4%)로 많이 나타났고, DT202가 돼지에서 4주, DT194가 돼지와 닭에서 각각 1주와 2주, DT15a, DT104 그리고 DT208이 돼지에서 각각 1주가 나타났으며, phage와 반응은 일어나나 phage type이 확인되지 않는 RDNC(Reacts with phages but does not con-

Table 1. Phage types of 45 *S typhimurium* isolates

Animals	Phage types								Subtotal
	DT15a	DT104	DT194	DT197	DT202	DT208	U302	RDNC*	
Cattle				1(20.0)**			3(60.0)	1(20.0)	5
Pig	1(2.6)	1(2.6)	1(2.6)	11(28.2)	4(10.3)	1(2.6)	8(20.5)	12(30.8)	39
Poultry			1						1
Total	1(2.2)	1(2.2)	2(4.4)	12(26.7)	4 (8.9)	1(2.2)	11(24.4)	13(28.9)	45

* Reacts with phages but does not confirm to a recognised pattern

** Number in parenthesis indicates percentage

firm to a recognised pattern) type이 13주 (28.9%)가 있었다.

이러한 결과로 보아 DT197과 U302 type이 대표형임을 알 수 있었고, 또한 phage typing 시 12, 13, 18번 phage에서 용균이 일어나는 전형적인 DT104주가 돼지에서 분리된 *S typhimurium*에서 처음으로 확인되었다.

나. *S enteritidis*의 phage types

S enteritidis 22주에 대한 phage typing 결과 Table 2와 같이 5종이 확인되었다. 가축별로 보면, 소에서 분리된 1주는 PT21이었고, 돼지에서 분리된 8주는 3종으로 그중 PT1이 2주, PT4가 5주, PT9b가 1주였다. 닭에서 분리된 13주에서는 PT4가 8주였다. Phage와 반응은 하나 type이 확인되지 않는 RDNC는 5주였다. 따라서 경북지방 가축에서 분리된 *S enteritidis*의 phage typing결과 PT4가 닭과 돼지에서 13주(59.1%)가 확인되어 대표형으로 나타났다.

2. Pulsed-Field Gel Electrophoresis(PFGE)

가. *S typhimurium*의 PFGE

분리된 *S typhimurium* 18주에 대한 PFGE 결과 Fig 1과 같이 48~800kb상에서 9~12개의 fragment가 나타났다. 이를 UPGMA program을 이용한 dendrogram으로 위치에 따라 분류한 결과 Fig 2와 같이 12개의 PFGE pattern이 나타났다. PFGE pattern T1과 T2는 아주 밀접하게 연관된 균주였으며, PFGE pattern T1-T10까지의 균주는 fragment의 차이가 3개 이내로 80% 이상의 상동성을 가진 균주였으나, PFGE pattern T11과 12는 9~10개 차이로 완전히 연관성이 없는 것으로 나타났다.

또한 본 실험에 사용된 18균주는 6종의 phage type을 나타내는 균주였으나 PFGE pattern은 12종으로 나타났다. 그 중 *S typhimurium* DT197은 각각 다른 농장에서 분리된 10균주였으나 6종의 PFGE pattern으로 나타났

Table 2. Phage types of 22 *S enteritidis* isolates

Animals	Phage types					Subtotal
	PT1	PT4	PT9b	PT21	RDNC*	
Cattle				1		1
Pig	2(25.0)**	5(62.5)	1(1.3)			8
Poultry		8(53.3)			5(38.5)	13
Total	2(9.1)	13(59.1)	1(4.5)	1(4.5)	5(22.7)	22

* Reacts with phages but does not confirm to a recognised pattern

** Number in parenthesis indicates percentage.

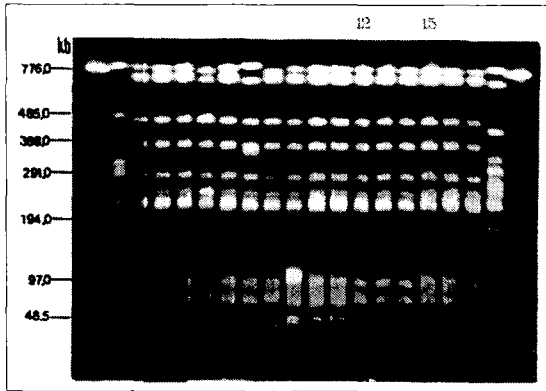


Fig 1. PFGE patterns of chromosomal DNA restriction fragment of *S typhimurium* strains digested with *Xba* I .
Lane m: Lambda Ladder PFG Marker (BioLabs, USA), lane 1: *S typhimurium* DT104, lane 2: DT202, lane 3-4: DT197, lane 5: U302, lane 6: DT197, lane 7: DT208, lane 8-14: DT197, lane 15-16: DT202, lane 17: DT194, lane 18: DT202.

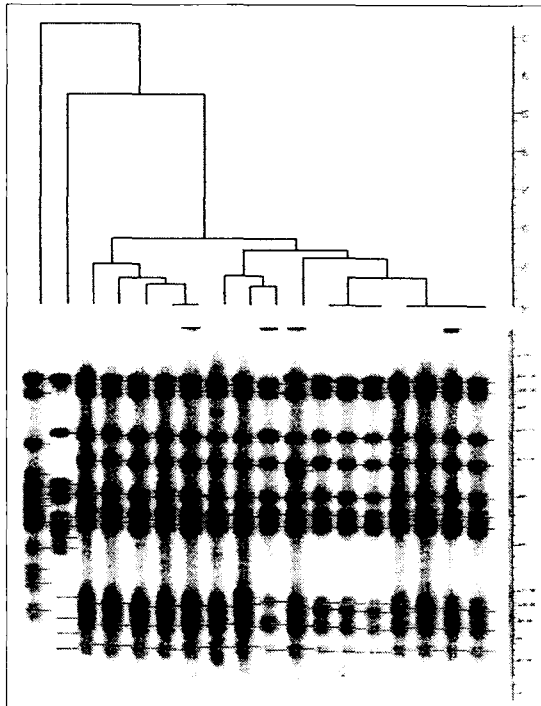


Fig 2. Dendrogram of PFGE pattern of *S typhimurium* by UPGMA program.

고, DT202는 3개의 농장에서 분리된 4주였으나 모두 다른 4종의 PFGE pattern으로 나타나 같은 phage type에서도 PFGE pattern은 다양하였다.

한편, PFGE pattern T2는 DT197 2주와 DT202 1주였으며, PFGE pattern T7은 DT197과 DT194가 혼합되어 나타나 같은 PFGE pattern내에 다른 phage type균주가 나타나고 있음이 확인되었다. DT104(T11)는 상동성이 45% 정도로 다른 균주와는 차이가 있었으며 12개의 fragment를 나타내었다.

나. *S enteritidis*의 PFGE

분리된 *S enteritidis* 12주에 대한 PFGE 결과 Fig 3과와 같이 15~800kb의 fragment가 14~16개로 나타났다.

UPGMA program을 이용한 dendrogram으로 fragment의 위치에 따라서 pattern을 분류한 결과 Fig 4와 같이 4종의 PFGE pattern이 나타났으며, PFGE pattern E1은 닭에서 분리

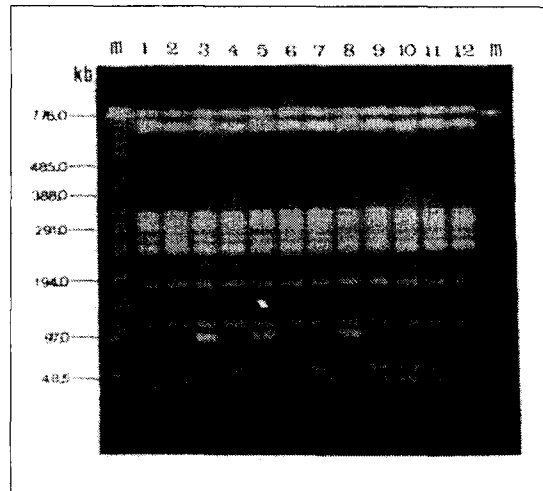


Fig 3. PFGE patterns of chromosomal DNA restriction fragment of *S enteritidis* strains digested with *Xba* I .

Lane m: Lambda Ladder PFG Marker (BioLabs, USA), lane 1: *S enteritidis* PT21, lane 2: PT4, lane 3: RDNC, lane 4: PT4, lane 5: RDNC, lane 6-7: PT4, lane 8: RDNC, lane 9-12: PT4.

된 phage type(PT4)으로 3개의 농장에서 분리된 8주였으나 모두 같은 PFGE pattern을 나타내고 있어서 기원이 같은 균주임을 알 수 있었다. 그러나 PFGE pattern E2와 E3는 닭에서 분리된 RDNC 3주로 2개의 농장에서 분리되었으며 2종의 PFGE pattern을 나타내고 있었다. *S enteritidis*는 phage type과 PFGE pattern이 거의 일치하였으며, PFGE를 실시한 12주는 서로 3개 이내의 fragment 차이로 94% 이상의 상동성을 보였다.

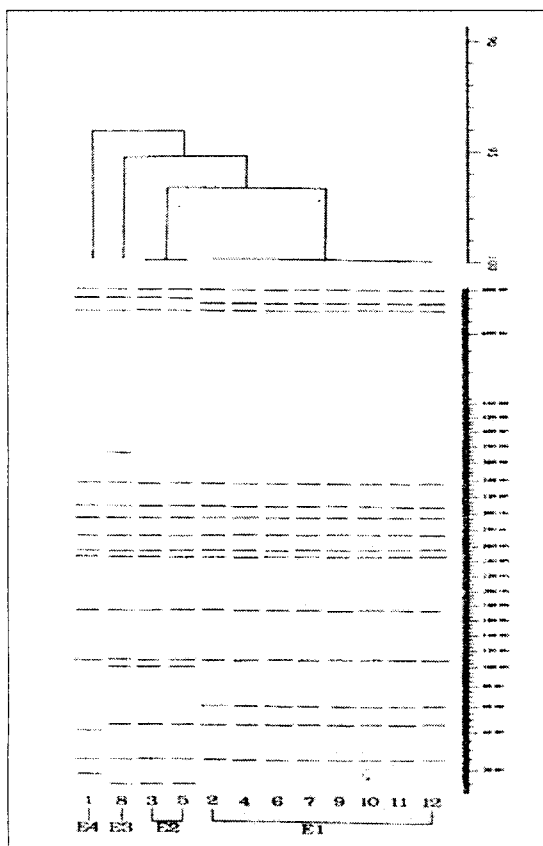


Fig 4. Dendrogram of PFGE pattern of *S enteritidis* by UPGMA program.

고 찰

*S typhimurium*에 대한 phage typing은 Calow¹⁷⁾에 의해 처음으로 적용된 이후 Anderson 등¹⁸⁾에 의해서 표준화되었고, *S enteritidis*는

Ward 등¹⁴⁾에 의해서 실용적인 기법으로 확립되었다. 우리 나라 동물에서 분리된 *Salmonella*속 균에 대한 phage typing은 우²³⁾가 *S enteritidis*를 대상으로 보고한 것이 전부이다. 본 실험에서는 분리된 *S typhimurium* 45주를 대상으로 phage typing한 결과 8종의 phage type(PT)이 확인되었으며, 그 중 DT197(26.7%)과 U302 type(24.4%)이 대표적인 형으로 나타났다.

Khakhria 등²⁴⁾은 Canada에서 1983년부터 1992년까지 동물 및 사람유래 *S typhimurium*에서 24종의 PT를 확인한 후 그 중 PT10이 가장 대표형이라고 하였다. Murray²⁵⁾는 1987년부터 1992년까지 Australia에서 동물 및 사람유래 *S typhimurium*에서 11종의 PT를 확인하였고, 사람과 소, 양에서는 PT9, 돼지에서는 PT141, 닭에서는 PT135가 가장 대표형이라고 보고하였다. 또한 Threlfall 등²⁶⁾은 1981년부터 1990년까지 영국의 사람과 동물에서 분리된 *S typhimurium*중에서 사람에서는 PT204c, 소와 돼지에서는 PT193, 그리고 닭에서는 PT8이 가장 대표형이라고 보고하였고, Carlson 등²⁷⁾은 1998년도 미국의 동물에서 분리된 *S typhimurium*의 다제내성균 432주 중 DT104가 가장 많고, U302, DT193, DT208 및 DT120의 순서로 분리되었다고 보고하였다. 이와 같이 지역과 국가별로 유행하는 PT는 다양한 것으로 나타났으며, 우리 나라에서도 김 등²⁸⁾이 1997년도 사람에서 분리된 *S typhimurium* 84주에 대한 phage typing 결과 14종의 PT를 확인하였고, 그중 104L(DT104)형이 52%나 분리되어 대표형이라고 하였으나, 본 실험에서는 1주만이 분리되어 차이가 있었다. 이것은 *S typhimurium*은 125PT이 있다²⁹⁾고 하였는데, 본 실험에 적용한 샘플수가 너무 적었고, 또한 김 등²⁸⁾이 대구지역에서 분리된 1주 대상으로 실험하였을 뿐이어서 더욱 많은 샘플을 적용해야 될 것으로 판단되었다. 한편, 본 실험에서 최초로 돼지에서 PT DT104 균주를 확인하였으며, 이 DT104가 분리된 양돈 농가는 사육규모 400 두 수준의 농가로 자돈 설사가 심하여 항균제 치료로 효과가 없다는 역학적 특징을 가진 농

장이었다. 또한 상기농가에서는 외국으로부터 돼지를 수입하지는 않았으나, 가끔씩 다른 농가로부터 종돈을 입식하는 농장으로, DT104 균주가 이 농장에서 분리된 것은 외부 유입에 의한 것인지 또는 다른 어떤 요인에 의한 것인지 정확히 알 수 없었다. 그리고 이 농장에서는 DT104주 외에 RDNC 1주도 분리되었다.

Poppe 등⁸⁾과 Low 등⁷⁾은 *S typhimurium* DT (STDT)104는 소가 주 보균동물이라고 하였으나, 지금은 사람과 거의 모든 동물로 확산되었으며, 영국과 유럽의 여러 나라, 미국 그리고 캐나다에서 분리 빈도가 높다고 하였다. 그러나 경북지방 소에서 분리된 *S typhimurium* 5주는 DT197과 U302였으며, DT104는 없었다. 이것은 분리수가 너무 적어서 나타나지 않은 것으로 추측되었고, 이에 대한 계속적인 조사가 진행되어야 할 것이다.

본 실험에서 분리된 STDT104 균주는 전형적인 ampicillin, chloramphenicol, streptomycin, sulfonamides, tetracycline resistance type (R type ACSSuT)이 아닌 ampicillin이 결여된 CSSuT resistance type이었으나 gentamicin 및 nalidixic acid에도 내성을 나타내었다. 그러나 상기농가에서 분리된 phage type RDNC는 resistance pattern이 전형적인 ACSSuT이고 gentamicin, nalidixic acid에도 역시 내성이 있었다. 따라서 한 농장에서 분리된 같은 혈청형의 *Salmonella*속 균일지라도 PT와 약제내성이 다른 형태가 나타나고 있다는 것을 알 수 있었다.

Baggesen 등³⁰⁾은 Denmark의 돼지에서 분리된 STDT104 7주 가운데, 4주는 ACSSuT resistance type이고, 1주는 SSu resistance type이고 2주는 모든 항생제에 감수성이 있다고 보고하였다. 또한 Low 등⁷⁾은 가축에서 분리한 STDT104의 90%가 소에서 분리되었다고 보고하였으며, 분리된 DT104의 모든 균주는 1종 이상의 항생제에 내성이 있었고, 4제 내성이 97% 이었다고 보고하였다. Poppe 등⁸⁾은 1996년 영국의 사람에서 분리된 STDT104중 58%와, 동물에서 분리된 거의 모든 균주가 ACSSuT이었고, 1997년 미국의 동물에서 분리된 STDT104

는 100%, 1997년 Canada의 사람에서 분리된 STDT104는 57.6%가 ACSSuT이고, 동물에서 분리된 STDT104는 94.2%가 ACSSuT 또는 ACSuT라고 보고하였다. 이와 같이 STDT104 균주는 R type ACSSuT가 가장 많지만 다양한 다제내성을 나타내고 있음을 알 수 있다.

*S enteritidis*의 phage typing 결과는 5종의 PT로 확인되었으며, 영국과 유럽에서 유행하고 있는 PT4가 전체의 59.1%로 대표적인 형태로 나타났다. *S enteritidis*에 의한 식중독은 지금 전 세계적으로 급속히 증가하고 있다⁴⁾. 영국의 경우 1981년도 식중독 사고가 1,087건 발생하였으나, 1988년도에는 15,427건으로 크게 증가하였으며, 이중 56%가 *S enteritidis*에 의한 것이었으며 *S enteritidis* PT (SEPT)4가 지배적인 균형이었다^{14,26)}. 미국에서는 *S enteritidis*에 의한 식중독 사고가 1976년 5%에서 1996년에는 26%로 증가하였으며, SEPT8이 지배적인 균형이지만, 1993년과 1994년 California와 서부지역 여러 주에서 SEPT4가 증가하고 있다⁴⁾. 그리고 Poppe 등³¹⁾은 1983년과 1993년 사이 Canada에서 SEPT8이 가장 유행하는 균형이라고 보고하였으며, Hasenson 등¹¹⁾은 발트해 연안 지역과 러시아에서는 SEPT1이 가장 유행하는 PT라고 보고하였다. 이와 같이 국가별, 지역별로 특정의 PT들이 야외에서 문제를 야기하고 있음을 알 수 있다. 우리 나라에서는 우²³⁾가 닭 유래 *S enteritidis* 19주의 PT를 조사하여 SEPT4, PT7 및 PT7a를 보고하였다. 본 연구에서는 SEPT4가 닭에서뿐만 아니라 돼지에서 가장 대표적인 형으로 나타났다. 1994년부터 우리 나라에서 분리된 사람유래 *Salmonella*속 균 중에서 *S enteritidis*가 급속히 증가¹⁶⁾하고 있는 추세이나, 사람유래 *S enteritidis* PT에 대한 조사가 전무한 상태로 본 연구에서 나타난 성적과 비교할 수 없었다.

한편 SEPT4에 대한 약제 감수성을 조사한 결과 분리된 모든 균주(13 strains)는 13종의 항균제에 감수성이 있는 상태였다. 이는 Poppe 등⁸⁾이 *S enteritidis*는 비록 많은 나라에서 흔히 분리될지라도, 분리 주는 주로 항균제에 대하여 감수성 상태로 남아 있다고 보고 한 것과

일치하였다.

이와 같이 경북지방에서 분리된 *S typhimurium*은 DT104를 포함한 다제내성균이 많았고, *S enteritidis*는 PT4가 대표적인 형이고 약제감수성이 있는 상태였다. 이것은 Angulo¹⁾, Murray 등⁴⁾ 그리고 Poppe 등⁸⁾이 보고한 사람과 동물에서 범세계적으로 발생하는 salmonellosis의 역학적 특징과 일치하였다.

유전자 분석 방법의 우수성을 평가하는 기준인 표현능, 재현성, 판별력이 가장 우수한 것으로 알려진 PFGE는 큰 크기의 세균 DNA 절편을 분석하는데 유리한 방법으로, 제한효소 처리시 5~50개의 DNA 절편이 만들어진다. PFGE는 모든 세균에 적용이 가능하며, 한 gel 상태에서 모든 세균 염색체 DNA band를 관찰할 수 있는 장점이 있으나, 시간이 많이 소요되며, 고가의 장비와 setting시 많은 노력과 시간이 요구되는 단점이 있다^{19~21)}.

Guerra 등³²⁾은 PFGE가 *S typhimurium*의 특성을 위한 역학적 도구로 가장 좋다고 하였으며, Ridley 등³³⁾은 *S enteritidis*의 역학적 typing에 있어서 다른 genotypic typing보다 나은 식별력을 나타낸다고 하였다.

Tenover 등²¹⁾은 PFGE pattern은 야의 분리주들 사이에서 역학적으로 연관되지 않는 주들을 구별할 수 있고, 유전적 사건 즉 점돌연변이, DNA 결손이나 삽입시 PFGE pattern은 분명히 변화한다고 하였으며, DNA fragment가 2~3개 차이가 있을 때 밀접한 관련이 있고, 4~6개의 차이가 있을 때는 관련가능성이 있고, 7개 이상의 차이가 있을 때는 역학적으로 분명히 다르다고 보고하였다. 본 실험에서도 *S typhimurium* 18균주 중 16균주는 서로 1~2개의 fragment 차이로 역학적으로 서로 밀접한 관련주였으나, 2균주는 9~10개의 차이로 역학적으로 완전히 다른 균주였음을 알 수 있었고, *S enteritidis* 12균주는 모든 균주가 3개 이내의 fragment 차이로 서로 밀접한 관련주들이었다.

Ridley 등³³⁾은 *S enteritidis*를 *Xba* I으로 처리했을 때 40~600kb사이에서 13~16개의 fragment가 나타났다고 하였으며, Laconcha 등³⁴⁾은 50~900kb에서 12~21개의 band가 나타난다고

하였다. 본 실험에서는 15~800kb에서 14~16개의 fragment가 나타나 상기의 보고와 거의 일치하였다.

Baggesen 등³⁰⁾과 Olsen 등³⁵⁾은 *S typhimurium*를 *Xba* I으로 PFGE를 실시했을 때 같은 PT에서 여러 가지의 PFGE pattern이 나타나고, 한가지 PFGE pattern내 다른 PT이 나타났다고 보고하였으며, 또한 Hamada 등³⁶⁾과 Thong 등²²⁾은 PFGE와 phage typing는 서로 연관성이 없었다고 보고하였다. 그러나 Tassios 등³⁷⁾은 PFGE는 *S typhimurium* 분리주들 사이에 clonal 관계와 역학적 동정에 성공적으로 사용될 수 있고, phage typing과 일치하거나 더 변별력이 있다고 하였다. 본 실험에서도 *S enteritidis* PT4에서는 PFGE와 phage typing은 일치하였을 뿐 나머지 균주는 같은 PT에서 다양한 PFGE pattern이 나타나고 있어서 PFGE가 phage typing보다 더 변별력이 있는 것으로 확인되었다.

결 론

경북지방 가축에서 분리된 *S typhimurium* 45주에 대한 phage typing 결과 8종이 확인되었으며, 그중 DT197과 U302가 대표형으로 나타났다. 한편, 1주가 확인된 DT104는 chloramphenicol, streptomycin, sulfamethoxazole/trimethoprim, tetracycline, gentamicin, nalidixic acid에 내성을 보였다.

S enteritidis 22주의 phage types은 5종으로 확인되었으며, PT4가 가장 대표적인 형으로 나타났다. 분리된 *S enteritidis* PT4는 모든 항균제에 감수성을 보였다.

Phage type과 PFGE pattern은 완전히 일치하지 않았다. *S typhimurium*과 *S enteritidis*는 phage typing보다 PFGE pattern에서 변별력이 높았다.

참고문헌

1. Angulo F. 1996. *Salmonella* infection in people. In: Research on Salmonellosis. In

- the Food Safety Consortium. United States Animal Health Association. Arkansas, October 17.
2. Baker RC, Goff JP, Timoney JF. 1980. Prevalence of *Salmonella* on eggs from poultry farms in New York State. *Poult Sci* 59: 289~292.
 3. Blackburn BO, Schlater LK, Swanson MR. 1984. Antibiotic resistance of members of the genus *Salmonella* isolated from chicken, turkeys, cattle, and swine in the United States during October 1981 through September 1982. *Am J Vet Res* 45: 1245~1249.
 4. Murray PR, Pfaller MA, Tenouer FC, et al. 1999. Manual of Clinical Microbiology. 7th ed. ASM Press, Washington DC: 467~471.
 5. Besser TE, Gray CC, Gay JM et al. 1997. *Salmonella* associated with *Salmonella typhimurium* DT104 in the USA. *Vet Rec* 140: 75.
 6. Evans SJ, Davies RH. 1996. Case control study of multiple-resistant *Salmonella typhimurium* DT104 infection of cattle in Great Britain. *Vet Rec Special Article* December 7: 557~558.
 7. Low JC, Angus M, Hopkins G, et al. 1997. Antimicrobial resistance of *Salmonella enterica typhimurium* DT104 isolates and investigation of strains with transferable apramycin resistance. *Epidemiol Infect* 118: 97~103.
 8. Poppe C, Smart N, Khakhria R, et al. 1998. *Salmonella typhimurium* DT104: A virulent and drug-resistant pathogen. *Can Vet J* 39: 559~565.
 9. Minor LL. 1984. *Salmonella*, In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 1st ed. Krieg NR, Holt JG, eds, Williams & Wilkins, Baltimore: 427~458.
 10. Snoeyenbos GH, Williams JE, Pomeroy BS et al. 1991. Salmonellosis, In: *Disease of Poultry*. 9th ed. Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, et al. eds. Iowa State University Press. Ames Iowa: 72~130.
 11. Hasenson LB, Kaftyreva L, Laszl VG, et al. 1992. Epidemiological and Microbiological data on *Salmonella enteritidis*. *Acta Microbiol* 39: 31~39.
 12. Rodrigue DC, Cameron ND, Puhr Fw. 1992. Comparison of plasmid profiles, phage types and antimicrobial resistance patterns of *Salminella enteritidis* isolates in United States. *J Clin Microbiol*, 30: 854~857.
 13. Threlfall EJ, Hall ML, Rowe B. 1995. *Salmonella* bacteremia in England and Wales, 1981-1990. *J Clin Pathol* 45: 34~36.
 14. Ward LR, De Sa JDH, Rowe B. 1987. A phage typing scheme for *Salmonella enteritidis*. *Epidemiol Infect* 99: 291~294.
 15. Lukinmaa S, Schildt R, Rinttil T, Siitonen A. 1999. *Salmonella enteritidis* phage types 1 and 4: Pheno- and genotypic epidemiology of recent outbreaks in Finland. *J Clin Microbiol* 37(7): 2176~2182.
 16. 박미선, 강연호, 안윤형 등. 1998. 장티푸스 및 살모넬라증 병원체에 대한 역학적 연구. *국립보건원보* 35: 18~19.
 17. Callow BR. 1959. A new phage typing scheme for *Salmonella typhimurium*. *J Hyg* 57: 346~359.
 18. Anderson ES, Ward LR, de Saxe MJ et al. 1977. Bacteriophage-typing designations of *Salmonella typhimurium*. *J Hyg* 78: 297~300.
 19. Bannerman TL, Hancock GA, Tenovar FC. 1995. Pulsed field gel electrophoresis as a replacement for bacteriophage typing of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 33: 551~555.
 20. Mhand RA, Brahimi N, Moustauoi N et

- al. 1999. Characterization of extended-spectrum β -lactamase-producing *Salmonella typhimurium* by phenotypic and genotypic typing methods. *J Clin Microbiol* 37(11) : 3769~3773.
21. Tenover FC, Arbeit RD, Georing RV, et al. 1995. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: Criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol* 33 : 2233~2239.
 22. Thong KL, Ngeow YF, Altwegg PN et al. 1995. Molecular analysis of *Salmonella enteritidis* by pulsed-field gel electrophoresis and ribotyping. *J Clin Microbiol* 33 : 1070~1074.
 23. 우용구. 1998. 가금의 Salmonellosis에 관한 연구. 경북대학교대학원 박사학위 논문.
 24. Khakhria R, Woodward D, Johnson WM, et al. 1997. *Salmonella* isolated from humans, animals and other sources in Canada, 1983-1992. *Epidemiol Infect* 119 : 15~23.
 25. Murray CJ. 1994. *Salmonella* serovars and phage types in humans and animals in Australia 1987-1992. *Aust Vet J* 71(3) : 78~81.
 26. Threlfall EJ, Rowe B, Ward LR. 1993. A comparison of multiple drug resistance in *Salmonella* from humans and food animals in England and Wales, 1981 and 1990. *Epidemiol Infect* 111 : 189~197.
 27. Carlson SA, Browing M, Kathleen E, et al. 2000. Identification of diminished tissue culture invasiveness among multiple antibiotic resistant *Salmonella typhimurium*. *Microb Pathog* 28 : 37~44.
 28. 김호훈, 박미선, 강연호 등. 1998. 1997년도 한국에서 분리된 *Salmonella*주의 역학적 특성. *한국수의공중보건학회지* 22(3) : 253~260.
 29. Minor LL. 1992. The Genus *Salmonella*, In : *The prokaryotes*. 2nd ed. Balows A, Truper HG, Dworkin M, Harder W, et al. eds. Springer-Verlag, New York : 2760~2774.
 30. Baggesen DL, Aarestrup FM. 1998. Characterization of recently emerged multiple-resistant *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* DT104 and other multiresistant phage types from Danish pig herds. *Vet Rec* 25 : 95~97.
 31. Poppe C, Demczuk W, McFadden K et al. 1993. Virulence of *Salmonella enteritidis* phagetypes 4, 8 and 13 and other *Salmonella* spp. for day-old chicks, hens and mice. *Can J Vet Res* 57(4) : 281~287.
 32. Guerra B, Schrors P, Mendoza MC. 2000. Application of PFGE performed with *Xba* to an epidemiological and phylogenetic study of *Salmonella* serotype *typhimurium*. Relations between genetic types and phage types. *New Microbiol* 23(1) : 11~20.
 33. Ridley AM, Threlfall EJ, Rowe B. 1998. Genotypic characterization of *Salmonella enteritidis* phage types by plasmid analysis, ribotyping, and pulsed-field gel electrophoresis. *J Clin Microbiol* 36(8) : 2314~2321.
 34. Laconcha I, Baggesen DL, Rementeria A et al. 2000. Genotypic characterization by PFGE of *Salmonella enterica* serotype *enteritidis* phage types 1, 4, 6, and 8 isolated from animal and human sources in three European countries. *Vet Microbiol* 75 : 155~165.
 35. Olsen JE, Skov MN, Angen O et al. 1997. Genomic relationships between selected phage types of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype *typhimurium* defined by ribotyping, IS200 typing and PFGE. *Microbiology* 143(Pt4) : 1471~1479.
 36. Hamada K, Tsuji H, Izumiya. 2000. Com-

- parison by pulsed-field gel electrophoresis of *Salmonella enteritidis* genotypes from various food poisoning outbreaks from 1997 to 1999 in Hyogo prefecture. *Jpn J Infect* 53(1): 25~27.
37. Tassios PT, Gazouli M, Tzelepi E, et al. 1999. Spread of a *Salmonella typhimurium* clone resistant to expanded-spectrum cephalosporins in three European countries. *J Clin Microbiol* 37(11): 3774~3777.