

## 닭에서 분리한 *Salmonella gallinarum*의 병원성 및 Plasmid Profile

오강희\* · 김석환\* · 이경현 · 하종수 · 박승춘 · 정규식 · 정종식\* · 이근우 · 송재찬<sup>1</sup>

경북대학교 수의과대학  
\*경북가축위생시험소

### Virulence and Plasmid Profiles of *Salmonella gallinarum* Isolated from Chickens

Gang-Hee Oh, seok-whan Kim, kyung-hyun Lee, Jong-su Ha, Seung-choon Park,  
Kyu-sik Jung, Keun-woo Lee, and Jae-chan Song<sup>1</sup>

College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea  
\*Kyungbuk Veterinary Service Laboratory

**Abstract :** The present study was conducted to investigate the antibiotic resistance of 24 *Salmonella gallinarum* isolated from 48 chicken samples of diagnosed fowl typhoid cases during the period from November 1998 to November 1999. And the isolates of *S gallinarum* were also tested for their invasion abilities to experimental infection as one of virulence tests, and the presence of virulence-related plasmid in *S gallinarum* isolates. The results obtained through this study were summarized as follows; 1. All of isolates from 48 cases of 24 farms were identified *S gallinarum* by biochemical and serological tests. 2. Antimicrobial drug resistance test against 24 isolates showed that the isolates were resistant to Colistin(95.8%), and Penicillin(79.2%), Polymyxin B(75.0%), Streptomycin (65.2%), Gentamycin(54.2%), and Tetracycline(33.3%). 3. Mortality in chicken following peroral inoculation of four isolates of *S gallinarum* during 14-days inoculation peaked at 5 days(40%) after inoculation and all of experimental chickens died within 13 days after inoculation. 4. Based on the pattern and number of isolated plasmid from each isolate, plasmid profiles were divided into five groups; group I with 3 plasmids, group II to group IV with 4 plasmids and group V with 5 plasmids.

**Key words :** *Salmonella gallinarum*, Antibiotic resistance. Invasion abilities, Plasmid profile

## 서 론

*Salmonella*(S)속 균은 통성혐기성 그람음성 간균으로 장내 세균과에 속하며, 동물과 사람에게 장염, 위장염 및 패혈증 등을 일으키는 인수공통전염병의 원인균이다<sup>6,7</sup>.

*Salmonella*속 균은 2,200여종 이상의 혈청형이 현재까지 보고되었으며, 동물에 따른 숙주 특이성이 있는 *Salmonella*속 균과 숙주 특이성이 없는 *Salmonella*속 균으로 크게 구분하고 있다. *S typhi*와 *S paratyphi* A는 주로 사람에게 숙주 특이성을 나타내며, *S dublin*은 소에, *S choleraesuis*는 돼지에, *S abortus equi*는 말에, *S abortus ovis*는 양에 주로 감염되어 병원성을 나타낸다. 그밖에 *S typhimurium*, *S enteritidis*, *S anatum* 등은 숙주 특이성이 없이 다양한 동물에 감염되어 병원성을 나타내며, 그 중에서도 *S typhimurium*은 각종 동물로부터 가장 많이 분리되는 혈청형으로 알려져 있다<sup>3,6</sup>.

닭에서의 *Salmonella* 감염증은 일반적으로 *S pullorum*에 의한 추백리, *S gallinarum*에 의한 가금티푸스, 그리고 이들

혈청형을 제외한 나머지 여러 *Salmonella*균에 의하여 발생하는 가금파라티푸스로 구분하고 있다.

우리나라에서는 1925년 *S pullorum*이 병아리로부터 처음 분리 보고되었으며 전혈 평판 응집시험을 1933년 이후 추백리-티푸스 보균계 검색 방법으로 사용해 왔다<sup>24</sup>. 추백리와 가금파라티푸스는 오래 전부터 발생되어 왔으나 가금티푸스는 1992년 9월 김포 지역에서 발생한 것이 공식적으로 처음 보고되었다<sup>15</sup>. 이후 1994년부터는 전국적으로 확산되어 발생하는 양상을 보여 현재 가장 빈발하고 피해가 큰 가금 질병이다<sup>18,19</sup>.

일반적으로 *S gallinarum*을 비롯한 *Salmonella*의 병원성 인자로는 pili 또는 flagella, cytotoxin, lipopolysaccharide와 enterotoxin등이 알려져 있다<sup>10,22</sup>. *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 있다<sup>2,22</sup>.

*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

<sup>1</sup>Corresponding author.  
E-mail : songjach@knu.ac.kr

약제 내성균의 증가에 중요한 역할을 한다<sup>13,14</sup>.

*S. gallinarum*에서 분리되는 plasmid는 병원성과 관련이 있는 것으로 알려져 있고, plasmid profile과 제한효소로 절단하여 전기영동하여 얻는 분획의 양상은 분리주간의 유전적인 차이를 비교하는데 의미가 있으며, 이 중 85 kb 크기의 큰 plasmid가 병원성과 관련이 있는 것으로 알려져 있다<sup>18,22</sup>.

국내에서의 *S. gallinarum*에 대한 연구는 주로 야외 분리주에 대한 생화학적 특성, 항원성, 항생제에 대한 내성과 백신에 대한 연구 등이 주로 보고되었고<sup>16,17,20,23</sup>, 일부의 연구자에 의해 *S. gallinarum*의 plasmid 보유상황이 보고되어 있을 뿐<sup>16,18,22</sup>, plasmid profile과 야외분리주의 병원성에 대한 상관관계를 연구한 보고는 거의 없는 실정이다. 따라서 *S. gallinarum* 야외분리주의 병원성과 plasmid profile과의 상관관계와 더불어 항균제에 대한 내성과 plasmid profile과의 상관관계도 조사하여 가급적 티푸스의 예방 및 근절대책을 위한 자료로 활용하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 균의 분리

1998년 11월부터 1999년 11월사이 경상북도 가축위생시험소에 병성감정을 의뢰한 양계농가 중 임상적으로 닭 티푸스로 확인된 24개 농장의 발병계 및 폐사계 등 총 48주의 닭에서 무균적으로 간을 직접 MacConKey agar(Difco, USA)에 도말하여 37°C, 18시간 배양하였으며, *Salmonella*속 균으로 의심되는 유당 비분해성 집락을 선택하여 triple sugar iron agar(Difco, USA) 사면배지에서 alkaline slant, acid butt를 나타내고 urease 음성인 균에 대하여 생화학적 및 혈청학적 검사를 실시하였다.

### 생화학적 성상검사

간에서 분리한 총 48주의 균주에 대하여 Ewing<sup>5</sup>의 방법에 따라 methyl반응, 운동성, indolet 생성능, H<sub>2</sub>S생성능, ornithine decarboxylase, d-tartrate 생성능 및 glucose 가스 생성능 시험과 adonitol, cellobiose, inositol, lactose, mannitol, raffinose, rhamnose, sucrose 및 trehalose 분해능 등의 성상 검사를 실시하였다.

### 혈청학적 검사

국립수의과학검역원으로부터 분양받은 O군별 혈청 A, B, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, D 및 E와 Difco에서 구입한 O군체 인자혈청 9, 12를 사용하였으며, 분리균의 혈청형을 동정하기 위한 응집 반응은 Ewing<sup>5</sup>의 방법에 따라 slide 응집반응을 실시하였다.

### 항균물질에 대한 감수성

동정된 *gallinarum* 24주의 항균제 내성 시험은 Steer 등<sup>12</sup>의 한천 평판 희석법에 의하여 실시하였다. brain heart infusion agar 및 Mueller Hinton medium을 사용하였고, 약제의 용해는 MacLowry 등<sup>8</sup>의 방법에 준하였다. 사용된 약

제는 sigma사 제품의 amikacin(Ak), ampicillin(Am), cephalothin(Ce), chloramphenicol(Cm), colistin(Co), furazolidone(Fu), gentamicin(Gm), kanamycin(Km), neomycin(Nm), penicillin(Pm), polymyxin B(Po), streptomycin(Sm), tetracycline(Te)과 ciprofloxacin(Cip; 유니화학), enrofloxacin(Enr; 이글 케미칼) 등 15종의 항균제를 사용하였다. 약제별 농도는 1,600 µl/ml에서 0.2 µl/ml까지 14단계로 희석한 배지를 사용하여 분리균의 최소발육저지농도(minimum inhibitory concentration, MIC)를 조사하였으며, MIC가 Gm은 12.5 µl/ml, 기타 약제는 25 µl/ml 이상일 때 내성균으로 판정되었다.

### Plasmid 분리

Plasmid profile을 위해 Sambrook 등<sup>11</sup>의 alkaline lysis 방법을 이용하여 plasmid를 분리하였다. 5 ml의 LB broth에 균을 접종하여 37°C, 18시간 동안 진탕 배양한 후 원심 집균하였으며, 수확 2시간 전에 chloramphenicol(17 µg/ml)을 처리한 후 3 ml의 배양액을 원심으로 집균하여 Solution I (50 mM glucose, 10 mM EDTA, 25 mM Tris-HCL, pH 8.0, 4 mg/ml lysozyme) 100 µl를 가하여 vortexing한 후 실온에서 5분간 방치하였다. 새로 준비한 Solution II(0.2N NaOH, 1% SDS) 200 µl를 가하여 가볍게 섞어 준 다음, 얼음 속에 5분간 방치하고, Solution III(3M sodium acetate, pH 4.8) 150 µl를 넣고 vortexing 후 얼음속에 10분간 방치하였다. 12,000×g(4°C)로 10분간 원심 분리한 후 상층액을 다른 tube에 옮기고 동량의 phenol/chloroform용액(phenol 25: chloroform24: isoamyl alcohol 1, Sigma, St Louis, MO, USA)을 넣어 vortexing하였다. 다시 12,000×g(4°C)로 5분간 원심 분리한 후 상층액을 다른 tube에 옮기고 2배 용량의 cold ethanol을 첨가한 후 12,000×g(4°C)로 20분간 원심분리하여 plasmid를 회수하였다. 회수한 plasmid DNA를 진공 건조시킨 후, 다시 RNase(Gibco/BRL, Grand Island, NY, USA) 20 µl/ml이 들어있는 TE buffer(Tris-EDTA) 50 µl에 재용해시켰다. Loading buffer(0.25% bromophenol blue, 0.25% xylene cyanol FF, 40%(W/V) sucrose in water)와 5:1로 혼합하여 1% agarose gel상에 loading하고 0.5 TBE 용액(45 mM Tris-borate, 1mM EDTA, pH 8.0) 하에서 100V, 1시간 동안 전기영동한 다음 ethidium bromide 용액(1 µl/ml)에서 염색한 후 UV illuminator를 이용하여 관찰하였다.

### Pulsed field gel electrophoresis(PFGE)

회수한 plasmid DNA를 상기의 방법으로 조제한 다음 PFGE(Pharmacia)를 실시하였다. 전기영동조건은 1% agarose를 이용하여 0.5X TBE buffer에 300V, pulsed time 25초로 6시간 동안 영동한 후 ethidium bromide 용액에 20분간 염색한 후 UV illuminator를 이용하여 관찰하였다.

### 병원성 시험

1) 공시동물. D 중계장 유래의 하이라인 품종의 갈색산란

계를 분양받아 시험에 사용하였다. 공격접종시험은 미리 분변검사를 거쳐 *Salmonella* 부재인 닭만을 선별하였으며, 외부와 격리된 시험동물사에 옮겨서 접종시험을 수행하였고, 사료와 물도 *Salmonella* 부재인 것을 확인한 후 사용하였다.

2) **공시균주.** 야외농장에서 전형적으로 가금티푸스가 발생한 계균유래의 갈색산란계의 간병소에서 분리한 *S. gallinarum* 4주를 임의로 선택하여 공격접종균으로 사용하였다.

3) **접종경로 및 병원성측정.** 공격접종균을 tryptic soy broth(Difco, USA)에 접종하여 37°C에서 18시간 배양 후 구강접종법으로 4주령의 닭에 마리당 1.0 ml( $1.0 \times 10^7$  cfu)을 접종하였다. 공격접종 후 2주일 동안 사육하면서 폐사여부와 병변조건 등을 관찰하였다.

4) **각 장기에 대한 접종균의 재분리.** 닭의 각 조직 장기에 대해서 균분리는 MacConkey agar를 이용하였으며, 특히 맹장내용물에서 *Salmonella* 균을 선택적으로 증균시키기 위해서 tetrathionate brilliant green broth배지를 사용하였다. 혈청형이 D<sub>1</sub>임을 확인한 후에 운동성 유무 등 각종 생화학적 성상을 비교하여 *S. pullorum*과 *S. gallinarum*을 감별하였다.

**결 과**

24개 농장에서 의뢰된 48수의 가검재료에서 분리한 *Salmonella*속 균에 대하여 *Salmonella*속 균중 운동성이 없는 *Salmonella pullorum*과 *Salmonella gallinarum*과의 감별을 위해 각종 생화학적 성상검사를 실시한 결과 모두 *Salmonella gallinarum*으로 판정되었다. 발병계 및 폐사계

**Table 1.** Biochemical properties of 48 *Salmonella gallinarum* strains isolated from chicken

Properties	no. of positive strains	% of positive strains
Motility	0	0
Indole production	0	0
H <sub>2</sub> S	0	0
Methyl red	48	100
Ornithine decarboxylase	0	0
adonitol	0	0
cellobiose	0	0
dulcitol	48	100
glucose(gas)	0	0
inositol	0	0
mannitol	48	100
raffinose	0	0
rhamnose	0	0
sucrose	0	0
trehalose	48	100
d-tartrate	48	100

48수의 간으로부터 분리한 각 1균주씩 총 48균주에 대한 생물화학적 성상검사를 실시한 결과는 Table 1과 같다.

모든 균주가 운동성, indole 및 H<sub>2</sub>S 산생능 시험에서 음성이었고, methyl red 반응시험에서는 양성이었으며, 당분해능 시험에서는 dulcitol, mannitol, trehalose에서 양성반응을 보였고, adonitol, cellobiose, inositol, raffinose, rhamnose, sucrose에는 음성이었으며, glucose내 가스 산생능은 없었다. ornithine decarboxylase에는 음성이었고, d-tartrate에는 양성이었다.

*S. gallinarum*의 경우 1992년 9월 이후 약 4년간의 초기 분리주들은 일정한 감수성 양상을 보였으나 이후 1996년 하반기부터 일부의 약제에 내성을 보이는 균주들이 나타나기 시작하였다<sup>18,19</sup>. 따라서 본 조사에서는 분리된 *S. gallinarum* 24주에 대하여 약제내성 양상을 파악하기 위해 항균물질 15종에 대한 최소발육저지농도(MIC)를 조사한 결과 Table 2에 서와 같이 분리주 모두가 2종 이상의 약제에 내성을 가진 다제 내성균이었으며, 약제별로는 Co에 95.8%, Pm에 79.2%, Po에 75.0%, Sm에 62.5%, Gm에 54.2% 그리고 Te에 33.3%의 내성을 나타내었다.

**Table 2.** Drug resistance patterns of 24 *S. gallinarum*

Strain	Region	Resistant patterns
19	Uisung	Co,Pm,Po
29	Kimchon	Co,Gm,Pm,Po,Sm
142	Uisung	Co,Pm,Po
182	Chilgok	Co,Gm,Pm,Po,Sm,Te
189	Chilgok	Co,Pm,Po
456	Kunwi	Co,Gm,Pm,Po,Sm
523	Chilgok	Co,Pm,Po
562	Yongchon	Co,Pm,Po
615	Daegu	Co,Pm,Po
619	Sungju	Co,Gm,Pm,Po,Sm,Te
631	Chilgok	Co,Gm,Pm,Po,Sm,Te
646	Chilgok	Co,Pm,Po
652	Kunwi	Co,Gm,Pm,Po,Sm
664	Chilgok	Co,Gm,Pm,Po,Sm,Te
673	Kimchon	Co,Pm,Po
681	Dalsung	Co,Gm,Pm,Po,Sm
716	Dalsung	Co,Gm,Pm,Po,Sm,Te
742	Kunwi	Co,Pm,Po,Sm
752	Sungju	Co,Gm,Sm,Te
781	Changnyong	Co,Pm
806	Chilgok	Co,Gm,Sm
812	Kyongju	Co,Gm,Sm
836	Koryong	Co,Sm,Te
841	Uisung	Gm,Sm,Te

Abbreviations: Co: Colistin, Gm:Gentamicin, Pm:Penicillin, Po:Polymyxin B, Sm; Streptomycin, Te; Tetracycline.

**Table 3.** Mortality in chickens following peroral inoculation of *S. gallinarum* during 14-days experiment

strain	daily mortality											No. died/No. inoculated(%)	
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
19		2	1		2								5/5(100)
29		2	1	1	1								5/5(100)
182		2	1	1	1								5/5(100)
619		2			1	1					1		5/5(100)

**Table 4.** Organ invasiveness of *Salmonella gallinarum* for 4 weeks old chicken

Routes	% of <i>S. gallinarum</i> culture positive		
	Liver	Spleen	Cecum
PO	100	100	80

PO = peroral challenge

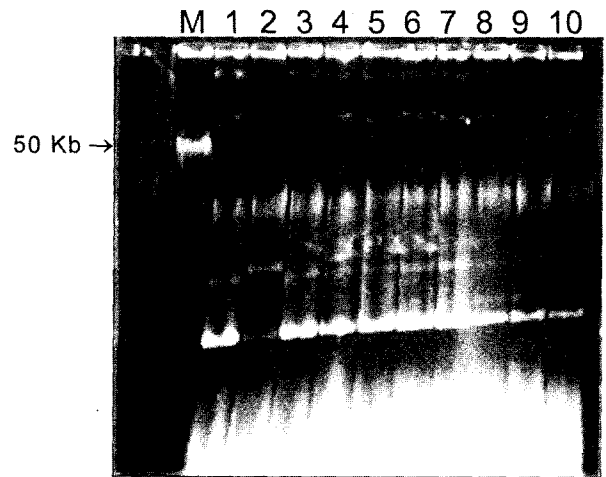
**Table 5.** Plasmid profiles of 10 *S. gallinarum* isolated from chicken from November 1998 to November 1999 in Kyungbuk

Types of plasmid profiles	Plasmid band type	No. of plasmid	Isolates(%)
I	①③⑤	5	50
II	①②③⑤	2	20
III	①③⑤⑥	1	10
IV	①④⑤⑥	1	10
V	①②③⑤⑥	1	10

지금까지 국내에서의 *S. gallinarum* 야외분리주의 병원성에 대한 연구는 부진한 실정이고, 실제 상황과 비슷한 *In vivo*에서의 조사가 거의 없어 본 조사에서는 야외에서 분리된 *S. gallinarum* 4주의 병원성을 파악하기 위하여 4주령의 시험계에 *S. gallinarum*을 구강 접종한 결과 Table 3에서와 같이 접종 5일째부터 폐사계가 나타나기 시작하였고, 접종 5일째에 가장 많은 8수(40%)가 폐사하였다. 폐사계의 출현은 접종 13일까지 지속되었고, 접종한 20수 모두 폐사하였다.

분리한 *S. gallinarum* 야외분리주의 각 장기에 대한 침습성을 파악하기 위해 시험기간 중 폐사한 닭에 대하여 간, 비장 및 맹장내용물로부터 접종균의 분리를 시도하였던 바, Table 4에서와 같이 간(100%), 비장(100%) 및 맹장(80%)에서 각각 균을 재분리 할 수 있었다.

닭에서 분리한 *S. gallinarum*의 plasmid profile 보유상황을 알아보기 위하여 본 시험에서 분리한 *S. gallinarum* 10주에 대한 plasmid를 분리하여 전기영동한 결과 Fig 1과 Table 5에서 보는 바와 같이 모두 5가지 유형의 plasmid를 보유한 양상을 나타내었다. 이 중 검출된 plasmid 수가 3개인 것이 5주(50%)로 가장 많았으며, plasmid수가 4개인 것이 4주(40%), 그리고 plasmid수가 5개인 것이 1주(10%)이었다.



**Fig 1.** Plasmid profiles of *S. gallinarum* isolated from chicken M : marker, 1 to 10 : isolate, 19, 29, 142, 182, 189, 456, 523, 562, 615, and 619, respectively.

### 고 찰

1992년 이후부터 국내에 큰 경제적인 피해를 일으킨 가금 티푸스의 원인균인 *S. gallinarum*은 닭에서 발생하는 추백리의 원인균인 *S. pullorum*과 매우 비슷한 성상을 나타내어 두 혈청형간의 생화학적인 성상, 분자생물학적인 성상과 병원성에 대한 연구가 비교적 많이 축적되어 있다<sup>18,21-23</sup>.

*Salmonella*속 균종 *S. pullorum*과 *S. gallinarum*을 제외한 나머지 *Salmonella*속 균은 편모를 보유하고 있어 운동성이 있으나, *S. pullorum*과 *S. gallinarum*은 편모를 보유하지 않아 운동성이 없다. 그리고 *S. pullorum*과 *S. gallinarum*은 균체 항원구조가 O<sub>1,9,12</sub>로 동일하여 추백리 진단액에도 양성 반응을 나타내므로 혈청반응만으로는 구별이 불가능하며 생화학적 반응에 의해서 분별이 가능하다<sup>5</sup>. *S. pullorum*과 *S. gallinarum*의 분별시험은 glucose내 가스산생능, dulcitol 분해능 등으로 구별하며, 이 실험에서의 *Salmonella*속 분리균 48주는 비운동성이며, 혈청반응에서 O<sub>9</sub> 및 O<sub>12</sub> 균체 항원을 보유함과 아울러 glucose내 가스생성능이 없었고, dulcitol 분해능이 양성으로 나타나 *S. gallinaum*임이 확인 동정되었다.

박 등<sup>19</sup>의 보고에 의하면 1994년 경북지방 20개 농장에서 분리한 *S. gallinarum*에 대한 각 항균제들의 최소발육억제농도(MIC)를 조사한 결과 각 항균제의 MIC가 같거나 편차가

매우 작아 거의 일정한 것으로 나타났다. *S. gallinarum*의 경우 1992년 9월이후 약 4년간의 초기 분리주들은 일정한 감수성 양상을 보였으나<sup>16,19</sup>, 이후 1996년 하반기부터 gentamycin, tetracycline 등에 내성을 보이는 균주들이 나타나기 시작하였으며, 가금티푸스는 일단 발병하면 재발되는 사례들이 많아 대부분 약제를 반복적으로 투여하므로 내성 발현 가능성이 높았다고 할 수 있다<sup>18,20</sup>. 분리주들의 항균제에 대한 내성양상을 살펴보면 colistin, penicillin, polymyxinB, streptomycin에 대해서는 높은 내성을 나타내었으며, gentamicin, tetracycline에 대해서도 비슷한 내성을 보였다. 이러한 항균제 내성 결과는 기존에 국내에서 보고된 결과와 비슷한 경향을 나타내며, 항균제의 내성과 분리된 plasmid profile과는 관련이 없는 것으로 사료된다.

*Salmonella*속 균에 대한 병원성 중 가장 중요한 과정이 균이 장내에 들어와 목표세포에 부착되는 부착성과 세포내로 침투하여 증식하는 침투성이라 할 수 있다. 특히 침투성은 *Salmonella*가 전신성 감염을 유도하는데 결정적인 역할을 하며, 침투성이 높은 균주는 비침투성인 균주보다 분변으로 배설되는 시기가 빠르다고 알려져 있다<sup>2,22</sup>.

일반적으로 침투성을 측정함에 있어서 닭에 직접 경구로 *S. gallinarum*을 투여하고 일정시간이 지난 후 실질장기인 간이나 비장 등에서 분포하는 균수를 측정하는 *In vivo* 검사와 primary chicken cell이나 cell line을 이용한 *In vitro* 검사법이 있으며 전자의 경우 실제 상황과 비슷한 장점이 있다<sup>1,4,9</sup>.

가금티푸스는 우리나라에서는 가축전염병 예방법 중 2종 법정전염병으로 고시되어 있으나, OIE ListB에서는 추백리와 동일하게 등록되어 있는 가금의 세균성 질병으로 4~5일의 잠복기를 거쳐 발병하며, 대부분 폐사계의 출현은 5~10일이내에 나타나는 전형적인 패혈성 감염증이다<sup>3,21</sup>. 우 등<sup>21</sup>은 갈색산란계에 대한 *S. gallinarum*의 인공 감염시험에서 구강접종한 경우 폐사계는 4주령의 경우 6일째부터 폐사계가 나타났으며, 접종 9일째에 가장 많은 5수(29.4%)가 폐사하였고, 폐사계의 출현은 접종 11일까지 지속되었으며, 구강접종시 폐사계의 대부분은 균 접종 후 6~9일째에 나타났다고 보고하였다. 야외분리 *S. gallinarum* 4주를 이용한 본 시험의 인공감염시험에서의 폐사율이나 폐사계의 출현양상은 Calnek 등<sup>3</sup>, 우 등<sup>21</sup>의 보고 성적과 거의 일치하였으며, 높은 폐사율을 나타낸 것으로 미루어 본 실험에서 사용된 균주들은 병원성이 강한 균주로 판단된다.

일반적으로 알려져 있는 가금티푸스의 병인론에 의하면 섭취된 *S. gallinarum*은 장의 조직내로 침습하여 일시적인 균혈증을 일으킨 후 대부분의 균들은 비장과 간 그리고 장벽 등에 국소 집락 형성을 일으키며, 이들 장기에서 2차적인 균혈증을 일으키며, 이때에 닭은 폐사하거나 또는 내과하여 만성보균계로 살아남게 되는 질병경과를 거치는 것으로 알려져 있다. 우 등<sup>21</sup>은 *S. gallinarum*의 인공 감염 시험 후 각 장기별 균분리율 조사에서 경구 접종한 4주령에서는 비장에서 100%, 간에서 95.2% 그리고 맹장에서 81.8%의 비율로

*S. gallinarum*이 재분리 되었다고 보고하였다. 본 시험에서도 간과 비장에서 100%의 재분리율을 나타내어 국소장기로의 집락화에 있어서 중요한 장기임을 짐작할 수 있었으며, 맹장에서의 높은 재분리 성적으로 보아 감염 및 보균계는 가금티푸스의 수평전파에 중요한 역할을 할 것으로 사료되었다.

*Salmonella*속 균의 여러 혈청형에서 다양한 크기의 plasmid들이 발견되어 왔는데 이들은 사람과 동물에서 전신성 감염을 유발하는 병원성과 매우 밀접한 관계가 있는 것으로 밝혀지고 있다. 본 실험에서 plasmid를 분리하기 위하여 사용된 PFGE방법으로 ccc 형태의 plasmid를 분리할 경우 주어지는 pulsed time에 의하여 이동거리가 달라 plasmid의 길이를 측정할 수 없었으나 박<sup>18</sup>에 의하면 1992년부터 1996년까지 분리한 *S. gallinarum* 분리주 44주는 85, 2.7, 1.4 kb의 3개의 plasmid를 보유하고 있는 pattern과 85 kb를 가진 pattern 등 2가지 유형의 plasmid를 보유하고 있음을 보고하였다. 그리고 이 등<sup>22</sup>에 의하면 plasmid를 전혀 갖고 있지 않는 것이 pattern, 85 kb만 갖고 있는 pattern, 85, 5, 2.8 및 2.4 kb의 4개의 plasmid를 갖고 있는 pattern, 그리고 85, 12, 7, 4.5 및 3.2 kb의 5개의 plasmid를 갖고 있는 pattern 등 4가지 유형을 보고하였다. 김 등<sup>16</sup>의 보고에 의하면 85 kb만 갖고 있는 pattern과 85 kb와 4 kb 및 2.3 kb의 3개의 plasmid를 갖고 있는 pattern 등 2가지 유형을 보고하였다. 본 실험의 분리주들은 Fig 1과 Table 5에서 보는 바와 이 5가지 유형의 plasmid를 보유한 양상을 나타내었다. 이중 검출된 plasmid수가 3개인 것이 5주(50%)로 가장 많았고, plasmid수가 4개인 것이 4주(40%), 그리고 plasmid수가 5개인 것이 1주(10%)였다.

## 결론

1998년 11월부터 1999년 11월까지 병성감정 의뢰한 농가 중 가금티푸스로 확인된 24개 농장의 *S. gallinarum* 야외분리주에 대하여 항생제 내성, 병원성 분석 및 plasmid profile을 실시하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 야외분리 *S. gallinarum* 24주의 항균물질 15종에 대한 최소발육저지농도(MIC)를 조사한 결과 분리주 모두가 2종 이상의 약제에 내성을 가진 다제 내성균이었으며, 약제별로는 Co에 95.8%, Pm에 79.2%, Po에 75.0%, Sm에 62.5%, Gm에 54.2% 그리고 Te에 33.3%의 내성을 나타내었다.

2. 병원성 분석의 일환으로 야외분리주 4주의 인공감염 시험결과 접종 5일째부터 폐사계가 나타나기 시작하였고, 접종 5일째에 가장 많은 8수(40%)가 폐사하였다. 폐사계의 출현은 접종 13일까지 지속되었고, 접종한 20수 모두 폐사하였다.

3. 인공감염 후 폐사한 개체에 대하여 간, 비장 및 맹장내용물로부터 접종균의 분리를 시도하였던 바, 간(100%), 비장(100%) 및 맹장(80%)에서 각각 균을 재분리 할 수 있었다.

4. 야외 분리 *S. gallinarum* 10주에 대한 plasmid 보유상태를 분석한 결과 모두 5가지 유형의 plasmid를 보유한 양상을 나타내었다. 이중 검출된 plasmid수가 3개인 것이 5주

(50%)로 가장 많았고, plasmid수가 4개인 것이 4주(40%), 그리고 plasmid수가 5개인 것이 1주(10%)였다.

## 참 고 문 헌

- Barrow PA, Lovell MA. 1989. In-vitro and *in-vivo* characteristics of Tnpho A mutant strains of Salmonella serotype Gallinarum not invasive for tissue culture cells. *J Med Microbiol* 36: 389-397.
- Brown PA, Simpson JM, Lovell MA. 1987. Contribution of Salmonella gallinarum large plasmid toward virulence in fowl typhoid. *Infect immun* 55: 388-392.
- Calnek BW, Barnes HJ, *et al.* 1995. Diseases of Poultry. 9th ed, Iowa State University Press, Ames, Iowa: 81-129.
- Dibb-Fuller MP, Allen-Vercocoe E, Thorns CJ, *et al.* 1999. Fimbriae and flagella mediated association with and invasion of cultured epithelial cells by Salmonella enteritidis. *Microbiol* 145: 1023-1031.
- Ewing WH. 1986. Edwards and Ewing's identification of enterobacteriaceae. 4th ed New York Elsevier.
- Gillespie JH, Timoney JF, Scott FW, *et al.* Hagan and Bruner's microbiology and infectious diseases of domestic animals. 8th ed. Comstock Pub. Assoc. Ithaca and London: 1988; 74-88.
- Linton AH. 1983. Guidelines on prevention and control of Salmonellosis. WHO Geneva 10-128
- MacLowry JD, Jaqua MJ, Selepak ST. 1970. Detailed Methodology and implementation of a semiautomated serial dilution microtechnique for antimicrobial susceptibility testing. *Appl Microbiol* 20: 46-53.
- Ronald LS, Michele TK, Lisa MK, *et al.* 1998. Magnesium transport in Salmonella typhimurium : regulation of mgt A and mgt CB during invasion of epithelial and macrophage cells. *Microbiol* 144: 1835-1843.
- Michael JM. 1986. Salmonella : Virulence factors and enteric Salmonellosis. *JAVMA* 1986: 145-147.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. 1989. Molecular Cloning in A laboratory manual. 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Steers E, Foltz EL, Graves BS, *et al.* 1959. An inocula replicating apparatus for routine testing bacterial susceptibility to antibiotics. *Antibiot Chemother* 9: 307-321.
- Terakado N, Ohya T, Ueda H, *et al.* 1980. A survey on drug resistance and R plasmids in Salmonella isolated from domestic animals in Japan. *JPN J Vet Sci* 24: 543-550.
- Watanabe T. 1963. Infective heredity of multiple drug resistance in bacteria. *Bacteriol Rev* 27: 87-115.
- 김기석, 이희수, 모인필 등. 1995. 국내 닭에서의 가금티푸스 발생. *RDA. J Agri Sci* 37(1): 544-549.
- 김원용, 장영효, 박경윤 등. 1995. 가금에서 분리한 Salmonella속균의 항균물질에 대한 감수성 및 plasmid profile. *Kor J Vet Res* 35: 537-542.
- 김영자, 인선동, 유영해. 1971. 우리나라 닭에서 분리된 살모넬라속균의 동정에 관한 보고. *국립보건원보* 8: 31-35.
- 박경윤. 1999. 국내 가금류에서의 살모넬라감염증 발생상황과 살모넬라 분리주의 특성조사. 서울대학교 박사학위논문.
- 박노찬, 도재철, 조광현 등. 1995. 닭티푸스의 발생상황과 Salmonella gallinarum의 항균제 감수성. *한가위지* 18: 113-123.
- 오강희, 박노찬, 김영환 등. 2000. 최근 경북지역의 양계농장에서 발생한 Salmonellosis의 역학적 특성. *한가위지* 23: 45-49.
- 우용구, 김봉환. 1998. 가금티푸스균의 인공감염에 대한 백색 및 갈색 산란계 계통간의 내병성 비교. *대한수의학회지* 38: 784- 792.
- 이동석, 한태욱. 2000. 국내에서 분리한 Salmonella gallinarum의 병원성, 항생제 감수성 및 Plasmid profile. *Kor J Vet Publ Hlth* 24: 49-57.
- 이희수, 김순재, 김기석 등. 1994. Salmonella gallinarum 분리균주로부터 추출한 세포외막 단백질의 닭에 대한 면역원성. *대한수의학회지* 37: 501-510.
- 최재영, 이시영, 이창구. 1969. 닭의 추백리병에 관한 연구, 우리나라에서 분리한 추백리균의 항원형에 관한 연구. *농사시험연구보고서* 11: 47-51.