

닭에서 분리한 *Salmonella Gallinarum*의 약제내성 및 PFGE 양상

배종철 · 김성국 · 김영환 · 조민희 · 이영주* · 박창규^{1*}

경상북도 가축위생시험소, ¹경북대학교

(접수 2009. 5. 12, 게재승인 2009. 6. 23)

Antimicrobial resistance and pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) patterns of *Salmonella Gallinarum* isolated from chicken

Jong-Chul Bae, Seong-Guk Kim, Young-Hoan Kim, Min-Hee Jo,
Young-Ju Lee*, Cheong-Kyu Park*¹

Gyeongbuk Veterinary Service Laboratory, Daegu 702-210, Korea

¹College of Veterinary medicine, Kyungpook national University, Daegu 702-701, Korea*

(Received 12 May 2009, accepted in revised from 23 June 2009)

Abstract

Fowl typhoid (FT) is a septicemic disease caused by *Salmonella Gallinarum*. The purpose of this study was to investigate the antimicrobial resistance and pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) patterns of *S. Gallinarum* isolated from chicken. During 1999 to 2004, there was isolated a total of 100 strains in liver and spleen. The biochemical characteristics of *S. Gallinarum* isolates was nonmotile, no production of H₂S, glucose gas, non-fermented rhamnose, indole-negative, fermentation of dulcitol, mannitol, maltose, and ornithine decarboxylase. At antimicrobial susceptibility, all of isolates were susceptible to amoxicillin/clavulanic acid, amikacin, neomycin, kanamycin, norfloxacin and enrofloxacin. One hundred isolates were divided into 54 resistant patterns and 37 strains was 6-multi drug resistance. PFGE of *Xba* I restriction fragments of *S. Gallinarum* isolates was 20 patterns.

Key words : *Salmonella Gallinarum*, Antimicrobial susceptibility, PFGE

서 론

Salmonella enterica subsp. *enterica* serovar *Gallinarum* (*S. Gallinarum*)은 닭, 칠면조 등 조류에서 일령과 관계없이 패혈증에 의한 높은 폐사율이 특징인 급·만성의 제2종 가축전염병인 가금티푸스(fowl typhoid, FT)의 원인균이다. 가금티푸스는 병아리, 중추 및

성제에서 높은 폐사율과 푸른색 또는 황갈색의 설사 및 빈혈 등을 특징으로 하며, 부검소견으로는 갈색 또는 청동색을 띠는 비대한 간과 비장의 종대, 복막염 및 수란관염 등을 나타낸다(Calnek 등, 1997; Christensen 등, 1992; Edward 등, 1948; Saif 등, 2003; Smith 등, 1980).

가금티푸스는 Klein(1889)이 1888년 영국에서 처음 발생 보고하였으며 국내에서는 1992년 경기도 김포지역의 산란계 농장에서 공식 발생 보고된 이래 전국적

* Corresponding author: Cheong-Kyu Park, Tel. +82-53-950-5973,
Fax. +82-53-950-5955, E-mail. ckpark@knu.ac.kr

으로 발생되고 있다(김 등, 1995)..

*S. Gallinarum*은 닭과 칠면조뿐만 아니라 사람, 소, 개, 돼지, 토끼 등의 포유동물에도 감수성이 있어 넓은 숙주영역을 가지고 있으며, 우 등(1998)은 *S. Gallinarum*의 산란계 품종별 내병성 인공감염 실험에서 백색계보다 갈색계에서 병원성의 발현이 더 높다고 보고한 바 있다.

Lee 등(2003)은 닭에서 분리한 *S. Gallinarum*에 대한 약제감수성조사 결과 enrofloxacin, ciprofloxacin 및 norfloxacin에 대한 감수성이 각각 6.5%, 10.9%, 52.2%로 보고한 바 있으며, 오 등(2002)은 penicillin과 colistin에 대하여 79.2%와 95.8%의 내성을 보고한 바 있다. 또한 김 등(2006)은 육계에서 분리한 *S. Gallinarum* 26주에 대한 약제감수성 조사에서 ciprofloxacin, norfloxacin 및 enrofloxacin에 대하여 각각 23주(88.4%), 19주(73.0%), 23주(88.4%)의 감수성 결과를 보고한 바 있다.

박 등(1995)의 1994년 경북지방 20개 농장에서 분리한 *S. Gallinarum*에 대한 각 항균제들의 최소발육억제농도(MIC) 조사에서는 각 항균제의 MIC가 같거나 편차가 매우 작아 거의 일정하며, 1992년 이후 4년간의 야외분리주들은 일정한 감수성 양상을 보였으나, 1996년 이후 분리주들은 gentamicin, tetracycline 등에 내성을 보이는 것으로 보고한 바 있다.

Pulsed-field gel electrophoresis(PFGE)는 특성의 제한효소처리된 DNA를 전기영동시켜 전기파장을 다각도에서 전달하여 절단된 DNA분절의 형태학적 양상을 비교하는 것으로 보통의 전기영동에서는 분리할 수 없었던 큰 DNA 분절(40-1,000kbp)을 분리해 낼 수 있으며, 여러 조건에 따라 다양한 DNA 분절 형태를 관찰하는 방법으로 우수한 감별력과 재현성을 가지고 다양한 역학자료와 높은 유전적 상관관계를 제시함으로써 여러 유전학적 molecular typing 방식 중에서 gold standard로 인식되고 있다(Allardet-servent 등, 1988; McPeck 등, 1986; Olson 등, 1989).

Tenover 등(1995)은 DNA 분절 양상을 분석하는 표준화된 체계를 제시하여 PFGE에 의한 분자유전학적 균형별 방법을 마련하고 세균별로 DNA를 처리하는 표준제한효소를 제시한 바 있다.

PFGE는 현재까지 *S. Gallinarum* 뿐만 아니라 다른 살모넬라 혈청형의 DNA fingerprinting에서 가장 훌륭한 marker로서 분자역학적 형별분석에 가장 신뢰성이 있으며 감별력과 재현성이 높은 유전형별 방법임이 인

정되고 있다(Garaizar 등, 2000; Gerner-Smidt, 1998; Hudson 등, 2000).

Seo 등(2006)은 1992~2001년 29개 지역에서 분리한 38주의 *S. Gallinarum*을 이용하여 PFGE기법을 활용하여 조사한 결과 *Xba* I에서 12개 유형을 보고한 바 있고, 김 등(2006)은 경북지방 육계분리 26주의 *S. Gallinarum*에 대한 PFGE분석 결과 22개 유형을 보고한 바 있다.

본 연구에서는 가금티푸스 발생이 의심되는 경북지방 닭에서 분리한 *S. Gallinarum*을 이용하여 PFGE기법을 활용하여 연도별, 지역별 분자역학적 상관관계를 비교분석함과 동시에 생물학적 특성 및 약제내성양상을 조사하여 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

균의 분리

2000~2004년 사이에 질병검사 의뢰된 산란계 및 육계를 대상으로 무균적으로 간 및 비장 1g을 취하여 9ml tryptic soy broth(TSB, Difco, USA)에 접종한 후 37°C, 18시간 배양하고 배양액을 직접 MacConkey agar(MA, Difco, USA)에 도말하여 37°C, 24시간 배양하였다. *Salmonella*속 균으로 의심되는 유당 비분해성 집락을 선택하여 tryptic soy agar(TSA, Difco, USA)에 계대하여 4°C 냉장상태에 보관하면서 생화학적, 혈청학적 검사 및 약제 감수성시험을 실시하였다.

생화학적 성상검사

분리주에 대하여 Ewing 등(1986)의 방법에 따라 운동성, indole 생성능, H₂S 생성능, urease, phenylalanine deaminase, lysine decarboxylase, arginine decarboxylase, ornithine decarboxylase 및 lactose, sucrose, mannitol, dulcitol, adonitol, inositol, sorbitol, raffinose, rhamnose, maltose, cellobiose, arabitol의 당분해능 검사, esculin 가수분해능, nitrate 환원능, glucose 가스생성능 등의 성상검사를 실시하였다.

열청명 동정

Difco(Detroit, USA) *Salmonella* O 항혈청인자 1, 9, 12를 구입하여 분리한 균체를 1ml의 멸균생리식염수에 희석한 후 희석액 30μl과 O 항혈청인자 30μl를 혼

합하여 slide 응집반응을 실시하였다.

항균제 감수성 시험

항균제 감수성 시험은 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)의 기준에 따라 디스크 확산법 (disc diffusion method)을 이용하여 항균제 감수성 시험을 실시하였다(2002). 공시한 항균제는 BBL sensidisc (BD[®], USA)제품인 amikacin (AN, 30μg), ampicillin (AM, 10μg), cephalothin(CF, 30μg), gentamicin (GM, 10μg), kanamycin (K, 30μg), streptomycin (S, 10μg), norfloxacin (NOR, 10μg), tetracycline (TE, 30μg), neomycin (N, 30μg), amoxicillin/clavulanic acid (AMC, 30μg), trimethoprim/ sulfamethoxazole (SXT, 1.25μg, 23.75μg), Oxoid[®] (UK)제품인 enrofloxacin (ENR, 5μg) 등 12종을 사용하였다.

Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE)

분리주의 molecular typing을 위해 다음과 같이 PFGE를 실시하였다. agarose plug의 주조, 세균의 용해, 제한효소의 처리, agarose gel의 주조, 전기영동의 실시, 염색, 상관관계 분석의 단계로 나누어 수행하였으며, 제한효소는 *Xba* I (Takara. Co, Japan)를 이용하였으며, 미국 질병통계센터(CDC)에서 운영중인 PFGE network인 'PulseNet'에서 사용되는 표준실험법에 준하여 실시하였다(2004).

Dendrogram에 의한 상관관계 분석

전기영동 후 촬영한 gel 사진은 TIFF 그림파일로 전환하여 분석프로그램인 Fingerprinter II Informatix software (Bio-Rad[®], USA)를 이용하여 유전자수준에서의 상동성을 분석하는 절차를 따랐다. DNA 분절의 위치는 5% 허용범위(tolerance)를 적용하였고 개별 DNA 분절의 분자량은 표준 marker의 DNA 분절 lane에 기

초하여 normalization하였다. 균주간의 clustering은 unweighted pair group method of average linkage (UPGMA)에 의해 dendrogram을 작성하였다.

결 과

5. Gallinarum 분리

2000~2004년까지 질병검사 의뢰된 닭 가검물을 대상으로 간장 및 비장에서 *S. Gallinarum*을 분리한 농장은 총 45호 100주이며, 분리농장 및 분리주 내역은 Table 1과 같다. 육계농장 24호에서 56주와 산란계 농장 21호에서 44주가 분리되었다.

분리균의 생화학적 성상

*S. Gallinarum*의 생화학적 성상을 검사한 결과는 Table 2와 같다.

100주 모두 동일한 생화학적 성상을 나타내었으며, 운동성, indole 및 H₂S 생성능, urease, phenylalanine deaminase 시험에서 모두 음성으로 나타났으며, 단백질분해능에서 lysine만 분해하였고, ornithine과 arginine에 대해서는 반응을 나타내지 않았다. 당분해능 시

Table 2. Biochemical properties of *S. Gallinarum* isolates (n=100)

Test or substrates	Positive strains	
	No.	%
Motility	0	0.0
Indole production	0	0.0
H ₂ S production	0	0.0
Urease	0	0.0
Phenylalanine deaminase	0	0.0
Lysine decarboxylase	100	100.0
Arginine decarboxylase	0	0.0
Ornithine decarboxylase	0	0.0
Esculin hydrolase	0	0.0
Nitrate	100	100.0
Gas production of glucose	0	0.0
Fermentation of lactose	0	0.0
sucrose	0	0.0
mannitol	100	100.0
dulcitol	100	100.0
adonitol	0	0.0
inositol	0	0.0
sorbitol	0	0.0
raffinose	0	0.0
rhamnose	0	0.0
maltose	100	100.0
cellobiose	0	0.0
arabitol	0	0.0

Table 1. *S. Gallinarum* isolates in this study (n = 100)

Year	No. of farm		No. of isolates	
	Broiler	Layer	Broiler	Layer
2000	1	1	2	3
2001	11	9	34	19
2002	4	6	9	15
2003	7	4	10	5
2004	1	1	1	2
Total	24	21	56	44

험에서 12종의 당 중에서 dulcitol, mannitol 및 maltose에 대해서만 분해능이 인정되었고 나머지 당들에 대해서는 모두 반응을 보이지 않았다. 생화학적 성상 결과

*S. Pullorum*과 감별이 필요한 glucose gas 산생능(-), dulcitol (+), maltose (+), ornithine decarbo-xyase (+)에서 일치하는 결과를 나타내었고 *Salmonella* O 항혈청의 group D와 factor 1, 9, 12에 대한 슬라이드 응집 반응검사를 실시한 결과 모두 응집 반응을 나타내는 것으로 확인되었다.

Table 3. Antimicrobial drugs susceptibility of *S. Gallinarum* isolates (n=100)

Antimicrobial drugs	Susceptibility		
	Total	Broiler (n=56)	Layer (n=44)
Amikacin	100	56 (100%)	44 (100%)
Neomycin	75	39 (69.6%)	36 (81.8%)
Gentamicin	36	16 (28.6%)	20 (45.5%)
Kanamycin	94	51 (91.0%)	43 (97.7%)
Streptomycin	9	1 (0.20%)	8 (18.2%)
Cephalothin	27	11 (19.6%)	16 (36.4%)
Norfloxacin	79	42 (75.0%)	37 (84.1%)
Enrofloxacin	81	45 (80.4%)	36 (81.8%)
Amoxicillin/ clavulanic acid	100	56 (100%)	44 (100%)
Ampicillin	33	16 (28.6%)	17 (38.6%)
Tetracycline	66	37 (66.1%)	29 (65.9%)
Trimethoprim/ sulfamethoxazole	24	14 (25.0%)	10 (22.7%)

분리균의 항균제 감수성

디스크확산법에 의한 항균제 감수성 시험 결과는 Table 3과 같다.

Amikacin 및 amoxicillin/clavulanic acid에 대해서는 전 균주가 중등도 이상에서 감수성을 나타내었으며, neomycin은 75주(75.0%), kanamycin은 94(94.0%)의 균주가 중등도 이상의 감수성을 가진 것으로 조사되었고, norfloxacin 및 enrofloxacin에 대하여 각각 79주 (79.0%), 81주(81.0%)가 중등도 이상의 감수성을 가지는 것으로 조사되었다. 한편, streptomycin, gentamicin,

Table 4. Antimicrobial resistance patterns of *S. Gallinarum* isolates (n=100)

Resistance patterns	No. of isolates			Resistance patterns	No. of isolates				
	Total	Broiler	Layer		Total	Broiler	Layer		
1 CF	1	-	1	5 N SXT GM S ENR	1	-	1		
SXT	1	-	1	SXT GM CF NOR S	1	-	1		
2 CF S	1	1	-	SXT GM NOR S ENR	1	1	-		
GM S	3	3	-	SXT TE GM CF S	2	1	1		
S ENR	1	1	-	SXT TE GM NOR S	1	-	1		
SXT CF	2	-	2	6 AM N SXT CF S ENR	2	2	-		
SXT S	1	1	-	AM N SXT GM CF S	4	2	2		
3 AM CF S	2	-	2	AM N SXT GM NOR S	1	1	-		
AM SXT CF	1	-	1	AM N TE GM CF S	1	1	-		
GM CF S	2	2	-	AM SXT CF NOR S ENR	1	1	-		
NOR S ENR	1	-	1	AM SXT GM CF NOR S	3	3	-		
SXT CF S	3	2	1	AM SXT TE GM CF S	6	4	2		
SXT GM S	1	-	1	AM SXT TE K GM CF	1	-	1		
SXT TE S	1	-	1	N SXT TE GM CF S	1	1	-		
TE GM S	1	-	1	7 AM N SXT TE GM CF S	4	4	-		
4 AM GM CF S	1	1	-	AM N SXT TE GM S ENR	1	-	1		
AM N SXT S	1	-	1	AM N TE K GM S ENR	1	1	-		
AM SXT CF S	8	4	4	AM SXT GM CF NOR S ENR	2	2	-		
AM SXT NOR S	1	-	1	AM SXT K GM CF NOR S	1	1	-		
N SXT TE S	1	-	1	AM SXT TE GM CF NOR S	1	1	-		
SXT GM NOR S	1	1	-	AM SXT TE K GM CF S	1	1	-		
5 AM N SXT CF S	3	3	-	SXT TE GM CF NOR S ENR	1	-	1		
AM N SXT S ENR	1	-	1	8 AM N SXT GM CF NOR S ENR	2	1	1		
AM SXT GM CF S	7	3	4	AM SXT TE GM CF NOR S ENR	1	-	1		
AM SXT GM S ENR	1	-	1	N TE K GM CF NOR S ENR	1	1	-		
AM SXT TE GM S	2	1	1	9 AM SXT TE K GM CF NOR SENR	1	1	-		
AM TE GM CF S	5	2	3	-	3	1	2		
Total	27 pattern	54	25	29	Total	26 pattern	46	31	15

cephalothin, ampicillin 및 trimethoprim/sulfamethoxazole은 각각 9주, 36주, 27주, 33주 및 24주만이 중등도 이상의 감수성을 가지는 것으로 조사되어 분리균주가 이들 항생제에 대해 높은 내성을 가지고 있는 것으로 조사되었다. 품종별 항균제 감수성 시험결과 산란계 유래 분리주가 육계유래 분리주보다 neomycin과 gentamicin에 대한 감수성이 상대적으로 높은 것으로 조사되었다. 또한 streptomycin의 경우 육계 유래주는 1주(0.2%)가 감수성을 나타내었으나 산란계 유래주는 8주(18.2%)가 감수성이 있는 것으로 나타나 상대적으로 육계의 경우 streptomycin에 대한 내성이 높은 것으로 조사되었다.

분리균의 항생제에 대한 내성 양상

분리한 *S. Gallinarum*의 항생제에 대한 내성 양상은 Table 4와 같다. 분리균주 100주는 총 53개의 약제내성형으로 분류되었다. 실험한 모든 항생제에 감수성을 가지는 균주는 3주가 확인되었고, 1제 내성균형은 2가

지 형으로 각각 cephalothin과 trimethoprim/sulfamethoxazole에 내성을 가지는 균주가 2주로 확인되었으며 나머지 균주들은 2가지 이상의 항생제에 내성을 가지는 것으로 조사되었으며, 6제 이상의 다제내성균주가 37주이었고 이중에서 육계유래주가 28주(50.0%)이었고, 산란계 유래주가 9주(20.5%)로 조사되어 육계유래주의 항생제에 대한 내성이 높은 것으로 나타났다.

품종별로 육계 유래주는 32가지 약제내성양상을 보였고 산란계 유래주는 31가지의 내성양상을 나타내었다.

PFGE 결과

100주의 *S. Gallinarum*을 대상으로 제한효소 *Xba* I을 처리하여 PFGE를 실시하여 전기영동 완료 후 agarose gel을 ethidium bromide로 염색하여 화상장치로 촬영한 사진은 Fig. 1과 같다.

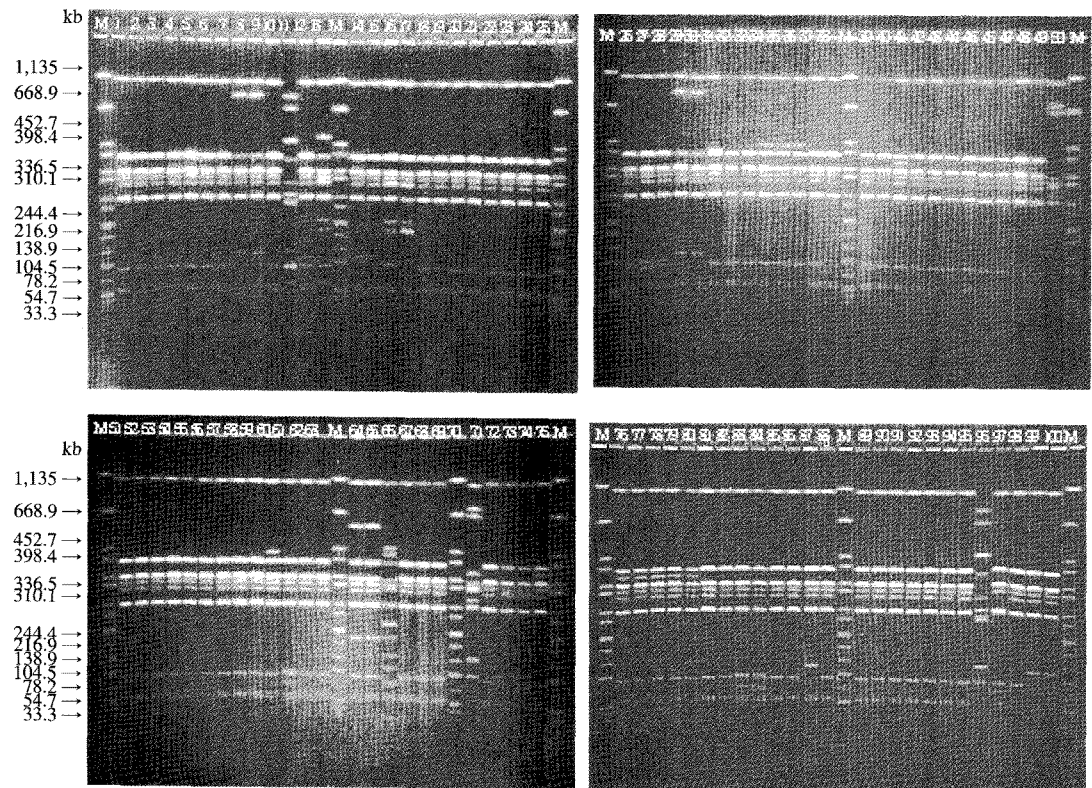


Fig. 1. PFGE of *Xba* I restriction fragments of *S. Gallinarum* isolates [lane M: PFGE marker (*S. Breanderup*), lane 1-100: Field isolates. Condition of gel electrophoresis: 14°C, 6V/cm, 2.16~63sec, 18hrs.]



Fig. 2. Dendrogram of *S. Gallinarum* isolates (n=100) by PFGE pattern (*Xba* I)

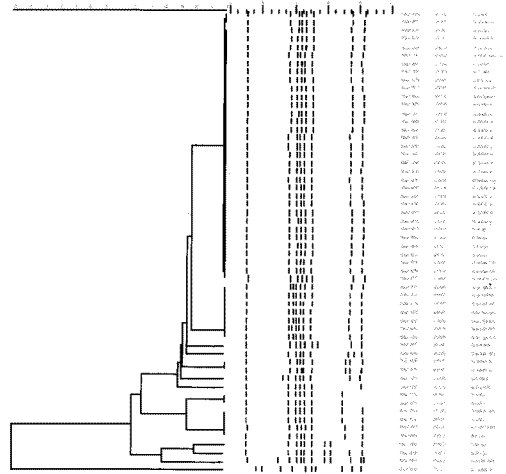


Fig. 3. Dendrogram of *S. Gallinarum* (n=56) isolated from broiler farms by PFGE pattern (*Xba* I)

다형성을 분석한 결과

촬영한 gel 사진은 TIFF 그림화일로 전환하여 PFGE 분석프로그램을 이용하여 각각 분리주의 유전자 수준에서의 다형성을 분석한 결과 분리균주는 모두 20개의 유전자형으로 분류되는 것으로 조사되었으며, 그 중에서 D형이 가장 많은 58주를 가지는 것으로 조사되었다(Fig. 2).

품종별 분리주의 PFGE 양상

분리주의 PFGE 양상을 품종별로 나누어 분석한 결과는 Fig. 3, 4와 같다. 육계유래주 56주는 14가지 유전형으로 분류되었으며 유전적 유사성은 99.33~29.73% 까지 다양하게 확인되었으며, 80%의 유전적인 상관관계 내에서는 2003년도 상주, 김천, 청도지역에서 분리된 4주를 제외한 대부분의 분리주가 유전적으로 매우 유사한 근연의 관계가 있는 것으로 조사되었고 산란계 유래주는 88.89~40.0%의 유전적인 근연관계를 나타내는 11가지 유전형으로 분류되었다.

경북 의성 지역 5호에서 분리한 18주를 대상으로 PFGE 양상을 조사한 결과 2003년에 분리한 1호 1주를 제외하고 모든 균주가 2001년에 분리한 균주였으며, 분석프로그램으로 분석한 결과 D형과 G형의 2형으로 분류되었으며 87.13%의 유전적인 유사도를 가진 것으로 조사되어 유전적으로 매우 근연의 관계가 있는 것으로 조사되었고, 2003년에 육계농장에서 분리된 1

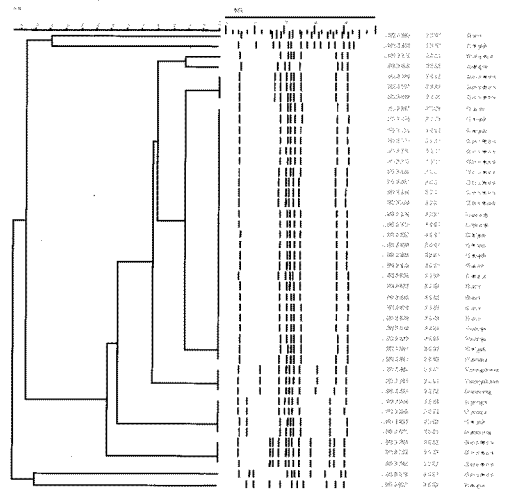


Fig. 4. Dendrogram of *S. Gallinarum* (n=44) isolated from layer farms by PFGE pattern (*Xba* I)

주는 2001년에 분리된 균주와 유전적인 양상이 동일한 것으로 조사되어 의성지역 농가에 지속적인 감염이 있는 것으로 조사되었다(Fig. 5).

연도별로 2002년도에 분리한 10호 24주는 8가지 유전형으로 분류되었으며, 분리된 지역에 따른 유사성은 나타나지 않았고, D형으로 분류되는 14주에서도 다양한 지역적인 특성을 나타내었다(Fig. 6).

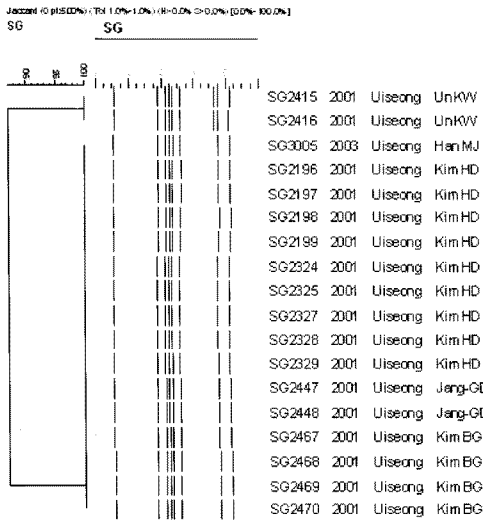


Fig. 5. Dendrogram of *S. Gallinarum* (n=18) isolated from broiler farms in Uiseong county by PFGE pattern (*Xba* I)

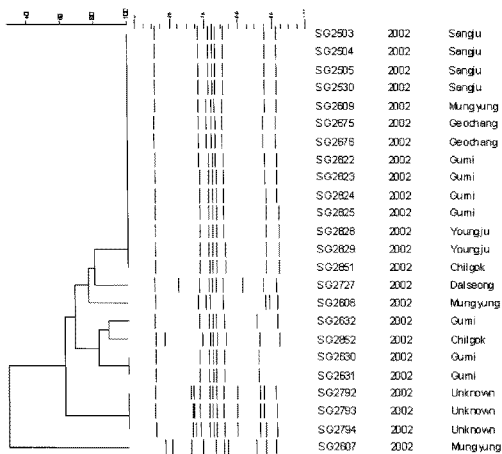


Fig. 6. Dendrogram of *S. Gallinarum* isolated in 2002 by PFGE pattern (*Xba* I)

2003년에 분리한 11호 15주의 *S. Gallinarum*의 PFGE 양상을 보면 7가지 PFGE 패턴으로 분석되었으며, 2002년과 같이 지역적인 연관성은 없는 것으로 조사되었다(Fig. 7).

항균제 내성패턴중 AM-SXT-CF-S의 4제 내성을 가진 *S. Gallinarum*의 8주를 대상으로 PFGE 양상을 조사한 결과는 Fig. 8과 같다. 동일 약제내성양상을 나타내는 8주는 PFGE에 의한 유전적 분석 결과 66.67에서

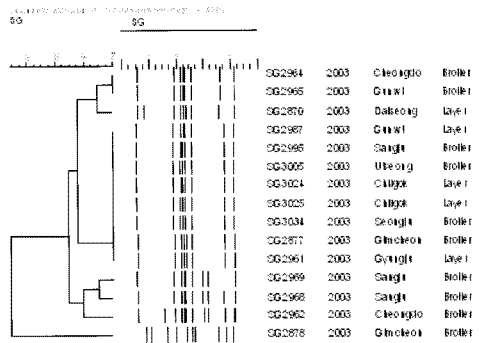


Fig. 7. Dendrogram of *S. Gallinarum* (n=15) isolated in 2003 by PFGE pattern (*Xba* I)

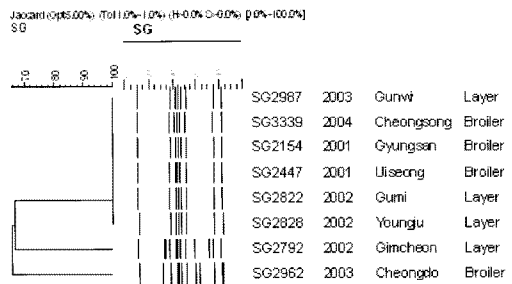


Fig. 8. Comparison of PFGE pattern and resistance pattern (Am, Sxt, Cf, S)

65.72%의 유전적인 유사성을 가지는 D, P 및 G형의 3 가지 유형으로 분류되는 것으로 조사되었다.

고 찰

*S. Gallinarum*은 1992년 이후 국내 양계산업에 큰 경제적 손실을 초래하는 질병 중의 하나인 가금티푸스의 원인균이며 닭에서 발생하는 추백리의 원인균과 매우 유사한 성상을 나타내어 두 혈청형간의 생화학적 성상, 분자생물학적 성상과 병원에 대한 연구가 비교적 많이 축적되어 있다(박 등, 1999; 이 등, 2000; 이 등, 1997). 본 실험에서 분리한 *S. Gallinarum*의 생화학적 성상을 조사한 결과 100주 모두 비운동성을 나타내었고, 혈청형인자 O1, 9, 12에 모두 응집반응을 나타내었고 생화학 성상에서 glucose 가스 산생능이 없었으며, dulcitol, mannitol, maltose의 분해능이 확인되었고, lysine decarboxylase에 양성으로 조사되어 모두 *S.*

Gallinarum임이 확인되었다.

분리주에 대한 약제감수성 결과 amoxicillin/clavulanic acid, amikacin에 대하여 중등도 이상에서 100주 모두 감수성을 나타내었으며, neomycin과 kanamycin에 대해서는 각각 75주 및 94주가 중등도 이상에서 감수성을 가진 것으로 조사되었고, 퀴놀론계열의 norfloxacin과 enrofloxacin에 대하여 각각 79주, 81주가 감수성을 나타내었으나 streptomycin, cephalothin 및 ampicillin 등에 대해서는 각각 9주, 27주 및 33주 만이 중등도 이상에서 감수성을 가지는 것으로 조사되어 향후 약제선정 및 사용에 신중을 기울여야 할 것으로 생각된다.

본 실험에서 6제 이상의 약제내성균이 37주로 나타났으며 산란계에 비해 육계유래 분리주에서 상대적으로 높은 비율로 분리된 것은 산란계의 경우 계란내 항생제 잔류방지 등의 이유로 항균제 사용이 제한적이거나 육계에서는 입식부터 질병방지를 위한 항균제 남용에 따른 결과로 생각된다.

박 등(1995)은 1994년 경북지역 분리한 *S. Gallinarum* 20주를 대상으로 항생제 최소발육억제농도(MIC)를 조사한 바 amikacin, ampicillin, cephalothin, chloramphenicol, furazolidone, neomycin, polymyxin B, gentamicin, kanamycin에 100% 감수성이 있으며, penicillin, streptomycin에는 내성을 가지는 것으로 보고하여 본 실험에 비해 높은 약제감수성 성적을 나타내었으며 이는 약제의 무분별한 사용에 의한 내성 출현 빈도가 높아진 것으로 생각된다. 또한 Lee 등(2003)은 1995년에서 2001년에 걸쳐 분리한 *S. Gallinarum*에 대한 연도별 약제감수성 추이를 조사한 결과 1995년에 분리한 18주에 대해서는 대체로 동일한 감수성 결과를 보고하였고, 2001년도에 분리한 46주에 대한 약제감수성검사 결과 퀴놀론계열의 항생제인 enrofloxacin, ciprofloxacin 및 norfloxacin에 대한 감수성이 각각 6.5%, 10.9%, 52.2%로 보고하여 퀴놀론계열 약제의 무분별한 사용에 따른 내성균주의 출현을 조사한 바 있으나 본 실험에서는 퀴놀론계열의 항생제가 감수성은 있는 것으로 조사되었다.

분리주를 이용하여 PFGE를 실시한 후 유전적 패턴 분석을 실시한 결과, 분리주들은 28.8~1,135kb 사이에서 7~14개의 분절을 가지며, 최종적으로 20개의 유전적 유형으로 분류되는 것으로 확인되었다. Lee 등(2004)은 Randomly amplified polymorphic DNA(RAPD)법을 이용하여 분리연도별 *S. Gallinarum*의

genotyping을 실시하여 네 가지 형으로 분류하여 다른 분석방법에 비하여 매우 유용하다고 보고한 바 있다. 본 실험에서는 생물형이나 생화학적 특성이 거의 동일하게 나타나는 100주의 *S. Gallinarum*을 대상으로 연도별, 지역별로 분리균주를 PFGE를 실시하여 유전형질을 조사한 바 20개 유형으로 분류되어 가금티푸스 발생과 관련하여 역학적인 특성을 밝히는데 매우 유용하게 이용할 수 있다고 판단되며, 대부분이 종계장 및 부화장에서 유래한 난계대 전염에 의한 티푸스발생으로 판단되나 원인체의 분리 및 PFGE에 의한 유전자분석에 대한 자료 축적이 미미하여 발생농장의 원인균을 분리하여 PFGE의 유전자양상을 분석함으로써 농장내 재감염에 의한 경우인지 감염된 중추 또는 병아리의 입식에 의한 것인지를 밝히기에는 아직 한계가 따르므로 지속적인 유전적 양상 분석 자료의 축적이 필요하다고 생각된다.

결 론

2000~2004년까지 경북지방 닭 사육농장에서 분리한 *S. Gallinarum*을 이용하여 생화학적, 약제감수성 및 PFGE 양상을 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 질병검사 의뢰된 닭을 대상으로 분리한 100주의 *S. Gallinarum*은 비운동성, indole 및 H₂S 산생능, urease, phenylalanine deaminase 음성으로 나타났고, lysine decarboxylase 양성, dulcitol, mannitol 및 maltose 당분해능이 인정되었고, glucose에서 가스 산생능은 없었다.

2. 항균제 감수성 시험 결과 AMC 및 AN에 전 균주가 감수성을 나타내었고, N 및 K는 75주 및 94주가 감수성을 가지는 것으로 조사되었다.

3. 분리주는 S, CF, AM 및 SXT, E 등에 대해서 높은 내성을 나타내었고, 실험균주의 내성유형은 모두 53형으로 나타났으며, 그 중 6종 이상의 약제에 내성을 보인 다제 약제내성주가 37주이며, 21형의 내성유형을 보였다.

4. *Xba* I 제한효소처리에 의한 PFGE에 의한 유전자 양상은 20가지의 유형이 확인되었으며 그 중 D형이 가장 많은 58주를 가지는 것으로 조사되었다.

참 고 문 헌

김기석, 이희수, 모인필. 1995. 국내 닭에서의 가금티푸스 발생. 농촌진흥청 농업과학논문집 37(1): 544-549.

김성국, 김영환, 엄현정, 장성준, 조광현, 이양수. 2006. 육계에서 분리한 *Salmonella gallinarum*의 약제내성 및 PFGE 양상. 한국가축위생학회지 29: 297-308.

박경윤. 1999. 국내 가금류에서의 살모넬라감염증 발생상황과 살모넬라 분리주의 특성조사. 서울대학교 박사학위논문.

박노찬, 도재철, 조광현, 장성준, 권헌일, 박덕상. 1995. 닭티푸스균의 발생상황과 *Salmonella gallinarum*의 항균제 감수성. 한국가축위생학회지 18: 113-123.

오강희, 김석환, 이경현, 하중수, 박승준, 정규식, 정종식, 이근우, 송재찬. 2002. 닭에서 분리한 *Salmonella gallinarum*의 병원성 및 plasmid profile. 한국임상수의학회지 19(2): 159-164.

우용구, 김봉환. 1998. 가금티푸스균의 인공감염에 대한 백색 및 갈색 산란계 계통간의 내병성 비교. 대한수의학회지 38: 784-792.

이동석, 한태욱. 2000. 국내에서 분리한 *Salmonella gallinarum*의 병원성, 항생제 감수성 및 plasmid profile. 한국수의공중보건학회지 24(1): 49-57.

이희수, 김순재, 김기석, 모인필, 우용구, 권용국, 김태종. 1997. *Salmonella gallinarum* 분리주로부터 추출한 세포외막 단백질의 닭에 대한 면역원성. 대한수의학회지 37(3): 501-510.

Allardet-servent A, Bourg G, Ramuz M, Pages M, Bellis M, Roizes G. 1988. DNA polymorphism in strains of the genus *brucella*. *J Bacteriol* 170(10): 4603-4607.

Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, McDougald LR, Saif YM. 1997. *Diseases of poultry*, 10 ed. Mosby-Wolfe Co, London: 82-96.

CDC, Pulsenet. 2004. Standardized laboratory protocol for molecular subtyping of *Escherichia coli* O157:H7, nontyphoidal *Salmonella* serotypes, and *Shigella sonnei* by PFGE. <http://www.cdc.gov/pulsenet/protocols/>

Christensen JP, Olsen JE, Hansen HC, Bisgaard M. 1992. Characterization of *Salmonella enterica* serovar *gallinarum* biovars *gallinarum* and *pullorum* by plasmid profiling and biochemical analysis. *Avian Pathol* 21: 461-470.

Clinical and Laboratory Standards Institute. 2002. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests for bacteria isolated from animals. 2nd. NCCLS document M31-A3, Wayne, Pennsylvania.

Edward PR, Bruner DW, Dowell ER. 1948. *Salmonella* infections of fowls. *Cornell Vet* 38: 257-262

Ewing WH. 1986. *Edwards and Ewing's identification of Enterobacteriaceae*. 4ed. Elsevier, Amsterdam: 181-318.

Garaizar J, Lopez-Molina N, Laconcha I, Lau Baggesen D, Rementeria A, Vivanco A, Audicana A, Perales I. 2000. Suitability of PCR fingerprinting, infrequent-restriction-site PCR and pulsed-field gel electrophoresis, combined with computerized gel analysis, in library typing of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *Appl Environ Microbiol* 66(12): 5273-5281.

Gerner-Smidt P, Graves LM, Hunter S, Swaminathan B. 1998. Computerized analysis of restriction fragment length polymorphism patterns: Comparative evaluation of two commercial software packages. *J Clin Microbiol* 36(5): 1318-1323.

Hudson CR, Quist C, Lee MD, Keyes K, Dodson SV, Morales C, Sanchez S, White DG, Maurer JJ. 2000. Genetic relatedness of *Salmonella* isolates from nondomestic birds in Southeastern United States. *J Clin Microbiol* 38(5): 1860-1865.

Klein E. 1889. Über eine epidemische Krankheit der Hühner, verursacht durch einer Bacillus-Bacillus gallinarum. *Zentralbl Bakteriol. Paraxitenkd Abt I Orig* 5: 689-693.

Lee YJ, Kim KS, Kwon YK, Tak RB. 2003. Biochemical characteristics and antimicrobials susceptibility of *Salmonella gallinarum* isolated in Korea. *J Vet Sci* 4(2): 161-166.

Lee YJ, Kim BH, Kim KS. 2004. analysis of *Salmonella gallinarum* isolates by randomly amplified polymorphic DNA. *Kor J Vet Publ Hlth* 28(1): 1-5.

McPeck FD, Coyle-Morris JF, Gemmill RM. 1986. Separation of large DNA molecules by modified pulsed field gradient gel electrophoresis. *Anal Biochem* 156(2): 274-285.

Olson MV. 1989. Separation of large DNA molecules by pulsed-field gel electrophoresis. A review of the basic phenomenology. *J Chromator* 470(2): 377-383.

Saif YM, Barnes HJ, Fadly AM, Glisson JR, McDougald LR, Swayne DE. 2003. *Diseases of poultry*. 11 ed. Blackwell Publishing Co, Iowa: 567-579.

SeoYS, Lee HS, Shin KE, Kim SJ, Jung R, Hahn TW. 2006. Pulsed-field gel electrophoresis genotyping of *Salmonella gallinarum* and comparison with random amplified polymorphic DNA. *Vet Microbiol* 115(4): 349-357.

Smith HW, Tucker JF. 1980. The virulence of *Salmonella* strain for chickens : Their excretion by infected chickens. *J Hyg* 84: 479-488

Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, Swaminathan B. 1995. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis : criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol* 33(9): 2233-2239.