

< Original Article >

제주지역 돼지에서 *Salmonella* Typhimurium 항체가 조사

양형석¹ · 강완철¹ · 고진아¹ · 배종희² · 김재훈^{2*}

제주특별자치도 동물위생시험소¹, 제주대학교 수의과대학, 수의과학연구소²

Seroprevalence of *Salmonella* Typhimurium in the pigs raised in Jeju Province, Korea

Hyoung-Seok Yang¹, Wan-Choul Kang¹, Jin-A Ko¹, Jong-Hee Bae², Jae-Hoon Kim^{2*}

¹Jeju Self-Governing Provincial Veterinary Research Institute, Jeju 695-968, Korea

²College of Veterinary Medicine and Veterinary Medical Research Institute, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

(Received 17 March 2015; revised 22 April 2015; accepted 28 April 2015)

Abstract

Porcine salmonellosis is an economically important disease affecting the global pig industry today. *Salmonella* (*S.*) Typhimurium is highly contagious and may rapidly spread within pig populations of herd. To investigate the prevalence of porcine salmonellosis in Jeju, a total of 12,885 blood sera of 96 pig farms from 2009 to 2012 were analyzed by microplate agglutination test. Antibodies to *S.* Typhimurium were detected in all of pig farms tested in Jeju Province, and the mean of seropositive rate of individual pig was 18.8%. The mean seropositive rate of *S.* Typhimurium in sows (46.7%) was 7 times higher than that of weaned or growing pigs (6.7%). The lowest seropositive rate (3.0%) was detected in 40 day-old pigs, and this result might be closely associated with the marked decrease of maternal passive immunity. The seropositive rate in winter (42.7%) was higher than in other seasons.

Key words : *Salmonella* Typhimurium, Pig, Microplate agglutination test, Jeju

서 론

돼지에서 소화기 질병을 유발하는 주요 세균으로는 괴사성 장염균(*Clostridium perfringens*), 돼지 적리균(*Brachyspira hyodysenteriae*), 돼지 증식성 장염균(*Lawsonia intracellularis*), 대장균(*Escherichia coli*), 살모넬라균 등이 있다. 이 중 살모넬라균은 다른 세균에 비하여 포유자돈에서 비육돈에 걸쳐 거의 전 연령대에 감염될 수 있기 때문에 돼지 농장에 큰 피해를 주고 있는 상황이다(Griffith 등, 2006; Straw 등, 2006).

Funk와 Gebreyes (2004)는 살모넬라증 발생의 돼지 농장 내 위험요인으로 모든, 설치류나 야생동물, 오염된 사료, 사료의 성상, 환경온도, 돈군의 건강상태

등을 제시하였다. Beloeil 등(2007)은 89개 돼지 농장에서 사육형태, 항생제 처치 유무 및 돼지 생식기 호흡기 증후군 바이러스(Porcine reproductive and respiratory syndrome virus; PRRSV) 항체 양성률이 육성돈과 비육돈의 살모넬라 항체 양전 위험률에 미치는 영향을 비교 분석하였다. 항체 양전 위험률은 비육기간에 항생제를 처치한 경우 2.4배, 비육돈 돈사에 살모넬라균의 오염이 잔존한 상태에서 돼지가 입식되는 경우는 1.9배, 비육기 PRRSV 항체 양성일 때는 1.6배 증가하는 것으로 분석되었다(Beloeil 등, 2007).

덴마크에서는 준 임상형 살모넬라증의 발생 상황을 분석하기 위하여 무작위로 추출한 96개 돼지 농장과 살모넬라 항체 양성률(33.0% 이상)이 높은 39개 농장을 대상으로 혈청검사와 세균검사를 병행하여 본 질병의 역학적 상황을 비교하였다(Stegge 등, 2000).

*Corresponding author: Jae-Hoon Kim, Tel. +82-64-754-3387, Fax. +82-64-702-9920, E-mail. kimjhoon@jejunu.ac.kr

무작위 농장에서는 살모넬라 균체가 20농장(21.0%)에서 분리된 반면 항체 양성률이 높은 농장에서는 30농장(77.0%)에서 검출되어 3.5배 높은 균 검출률을 나타내고 있었다. 또한 분리된 총 54균주 중 44균주(81.5%)가 *S. Typhimurium*으로 동정되어 살모넬라 항체는 대부분 본 균체의 감염에 의해 형성된 항체인 것으로 확인되었다. 그러나 제주도의 경우 최근까지 돼지 살모넬라증에 대한 발생 상황조차 제대로 조사되어 있지 않은 상황이다.

돼지에서 살모넬라증의 감염을 확인하는 방법으로 세균학적 검사와 혈청학적 검사가 주로 이용되고 있다(Griffith 등, 2006). 세균배양의 경우 특이성은 높지만 세포내에 기생하는 살모넬라 균체의 특성 때문에 균체가 장관에서 간헐적으로 배출되거나 장관막 림프절 등에 잠복 감염되어 있을 때에는 검출률이 떨어지는 단점이 있다(정 등, 2006). 혈청학적 검사는 세균배양에 비하여 민감도가 높은 편이며, 특히 돼지 농장에서 사육단계별로 항체 양성률을 분석함으로써 살모넬라균의 감염 시기를 판단할 수 있는 장점이 있어 널리 활용되고 있다. 국내에서 살모넬라증 검사에 이용되는 혈청학적 검사 방법에는 ELISA와 마이크로플레이트 응집반응(microplate agglutination test; MAT)이 있다. ELISA 방법은 살모넬라 균체의 표면항원과 돼지 혈청 내 항체와의 반응을 측정하는 방법으로 민감도와 특이성이 높아 전 세계적으로 널리 사용되고 있다(Farzan 등, 2007). 그와 달리 MAT 방법은 불활화시킨 균체 항원에 혈청 시료를 계단희석하여 분주하고 반응 시킨 뒤 혈청 희석 단계별 응집 여부를 검사하여 항체역가를 측정하는 기법으로 민감도는 높으나 특이성이 낮은 단점이 있다(심 등, 1994). 그러

나 MAT 검사에 이용되는 키트는 ELISA에 비하여 비용이 저렴하고, ELISA reader와 같은 기기를 필요로 하지 않기 때문에 많은 시료를 검사할 경우에는 매우 경제적이라 할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 제주도 전역에서 수집된 돼지 혈청에 대하여 MAT 방법을 적용한 혈청검사를 통하여 제주도내 살모넬라증의 발생 상황을 파악하고자 하였다.

재료 및 방법

공시시료

2009년부터 2012년까지 총 96개 농장으로부터 제주특별자치도 동물위생시험소에 의뢰된 12,885두의 돼지 혈청을 대상으로 *S. Typhimurium*에 대한 항체검사를 실시하였다. 의뢰된 혈청 시료는 연도별, 연령별, 계절별 및 지역별로 구분하여 실험에 공여하였다. 연도별로는 2009년 2,890두, 2010년 2,745두, 2011년 4,690두, 2012년 2,560두가 의뢰되었다(Table 1). 연령별로는 20일령 포유자돈 3,338두, 40일령 이유자돈 1,407두, 70일령 자돈 1,418두, 100일령 육성돈 1,418두, 130일령 비육돈 1,415두로 세분하였다. 모돈의 경우 처녀돈 1,120두, 2산차 이하 1,386두, 3산차 이상 1,383두로 구분되었다. 계절별로는 겨울철(12~2월) 260두, 봄(3~5월) 3,734두, 여름(6~8월) 2,961두, 가을(9~11월)에 5,930두가 의뢰되었다. 지역별로는 제주시 소재 66개 농장 및 서귀포시 30개 농장으로부터 각각 8,308두와 4,557두가 의뢰되었다.

Table 1. The tested number of pigs for seroprevalence of *Salmonella* Typhimurium in Jeju Province 2009 to 2012

Animal (age)	No. of pigs examined				Total (96 farms)
	2009 (34 farms)	2010 (35 farms)	2011 (55 farms)	2012 (30 farms)	
Gilt	248	244	408	220	1,120
≤ P2	300	301	510	275	1,386
P3 ≤	300	298	510	275	1,383
20 D	743	711	1,224	660	3,338
40 D	325	297	510	275	1,407
70 D	324	299	510	285	1,418
100 D	325	298	510	285	1,418
130 D	325	297	508	285	1,415
Total	2,890	2,745	4,690	2,560	12,885

P: parity, D: day-old.

Microplate agglutination test (MAT)

혈청검사는 *S. Typhimurium*을 배양하여 불활화시킨 균체항원으로 제작된 ST MAT Reagent (MEDIAN Diagnostics Inc., Korea)를 사용하는 마이크로플레이트 응집반응을 이용하였다. 검사 전 각각의 돼지 혈청은 56°C 항온수조에서 30분간 처리하여 비동화하였다. 96 well U-bottom microplate의 첫 번째 well에는 90 µL, 나머지 well에는 각각 50 µL씩의 희석액을 분주하였다. 비동화된 혈청들은 첫 번째 well에 10 µL씩 첨가한 후 2번에서 11번 well까지 50 µL씩 2진 계단 희석하였다. MAT 항원을 모든 well에 50 µL씩 첨가한 후 밀봉하여 37°C에서 24시간 동안 배양하였다. 각각의 microplate에는 양성 및 음성 대조를 두어 결과 판독의 유효성 검증에 활용하였다. 배양 후 플레이트를 실온에서 15분간 정치시킨 후 밝고 평편한 장소에서 검은 종이 위에 플레이트를 놓고 응집여부를 판독하였다. 실험의 유효성 검증은 양성대조의 경우 응집여가가 160배 이상, 음성대조는 40배 미만인 것으로 판단하였다. 결과 판정은 응집반응이 억제된 마지막 희석배수를 가검 혈청의 역가로 판정하였으며, 40배 이상에서 응집반응을 보인 경우 양성으로 간주하였다.

도로 매년 비슷한 수준의 양성률을 나타내었다. 돼지의 연령별로 혈청검사 결과를 비교하였을 때 20일령에서 130일령까지의 자돈에서 양성률이 6.7%로 나타난 반면, 처녀돈을 포함한 모돈에서는 46.7%를 보이고 있어 약 7배 이상의 높은 항체 양성률을 나타내었다. 자돈에서는 20일령의 포유자돈에서 4.4%의 양성률을 나타낸 후 이유자돈 시기인 40일령에서 가장 낮은 3.0%로 떨어진 다음 점차 연령이 증가할수록 항체 양성률이 증가하는 추세를 보이고 있었다. 모돈에서는 처녀돈 32.9%, 2산차 이하 48.8%, 3산차 이상 55.8% 순으로 나타나 자돈에서와 유사하게 연령이 증가할수록 양성률은 증가하고 있었다. 계절별로는 겨울에 가장 높은 42.7%의 항체 양성률을 나타내었고, 봄 22.3%, 가을 17.2%, 여름 15.3%의 순으로 낮아지고 있었다(Table 3). 검사한 모든 연령에서 겨울철에 가장 높은 항체 양성률을 보이다가 봄철에 현저하게 떨어진 뒤 여름철을 지난 후 다시 양성률이 증가하는 경향을 나타내었다. 지역별로 항체 양성률을 비교한 결과 서귀포시와 제주시가 각각 19.1% 및 18.6%로 나타나 큰 차이를 보이지는 않았다(Table 4). 검사 의뢰된 농장별로 제주시 66개 농장 및 서귀포시 30개 농장 모두 *S. Typhimurium* 항체 양성 농장으로 확인되었다.

결 과

응집반응에서 *S. Typhimurium* 항체 양성으로 판명된 개체는 총 2,418두(18.8%)로 나타났으며, 연도별로는 2009년에 31.5%로 가장 높은 항체 양성률을 보이고 있었다(Table 2). 2010년 이후에는 14.3~16.0% 정

고 찰

Kim 등(2010)은 국내 돼지 1,592두를 대상으로 살모넬라균에 대한 항체 검사를 실시한 결과 전체적인 양성률은 38.1%임을 보고하였다. 계절별 항체 양성률은 겨울에 가장 높아 62.8%에 달하였으며, 가을 38.5%,

Table 2. Seroprevalence of *Salmonella* Typhimurium infection in the pigs raised in Jeju Province 2009 to 2012

Animal (age)	No. (%) of sero-positive pigs				Subtotal (n=12,885)	Total (n=12,885)
	2009 (n=2,890)	2010 (n=2,745)	2011 (n=4,690)	2012 (n=2,560)		
Gilt	163 (65.7)	60 (24.6)	87 (21.3)	58 (26.4)	368 (32.9)	1,816/3,889 (46.7)
≤ P2	220 (73.3)	116 (38.5)	199 (39.0)	141 (51.3)	676 (48.8)	
P3 ≤	237 (79.0)	138 (46.3)	246 (48.2)	151 (54.9)	772 (55.8)	
20 D	56 (7.5)	34 (4.8)	46 (3.8)	12 (1.8)	148 (4.4)	602/8,996 (6.7)
40 D	24 (7.4)	4 (1.3)	12 (2.4)	2 (0.7)	42 (3.0)	
70 D	53 (16.4)	23 (7.7)	11 (2.2)	6 (2.1)	93 (6.6)	
100 D	64 (19.7)	32 (10.7)	28 (5.5)	9 (3.2)	133 (9.4)	
130 D	92 (28.3)	33 (11.1)	40 (7.9)	21 (7.4)	186 (13.1)	
Total	909 (31.5)	440 (16.0)	669 (14.3)	400 (15.6)	2,418 (18.8)	2,418/12,885 (18.8)

P: parity, D: day-old.

Table 3. Seasonal seroprevalence for *Salmonella* Typhimurium infection in the pigs raised in Jeju Province 2009 to 2012

Animal (age)	No. (%) of sero-positive pigs				Total (n=12,885)
	Winter (n=260)	Spring (n=3,734)	Summer (n=2,961)	Autumn (n=5,930)	
Gilt	15/22 (68.2)	121/328 (36.9)	70/252 (27.8)	162/518 (31.3)	368/1,120 (32.9)
≤ P2	22/26 (84.6)	218/409 (53.3)	142/320 (44.4)	294/631 (46.0)	676/1,386 (48.8)
P3 ≤	20/26 (76.9)	268/408 (65.7)	148/315 (47.0)	336/634 (53.0)	772/1,383 (55.8)
20 D	15/70 (21.4)	55/969 (5.7)	21/764 (2.7)	57/1,535 (3.7)	148/3,338 (4.4)
40 D	5/29 (17.2)	17/405 (4.2)	6/324 (1.9)	14/649 (2.2)	42/1,407 (3.0)
70 D	7/29 (24.1)	43/405 (10.6)	9/328 (2.7)	34/656 (5.2)	93/1,418 (6.6)
100 D	14/29 (48.3)	49/405 (12.1)	18/329 (5.5)	52/655 (7.9)	133/1,418 (9.4)
130 D	13/29 (44.8)	62/405 (15.3)	39/329 (11.9)	72/652 (11.0)	186/1,415 (13.1)
Total	111/260 (42.7)	833/3,734 (22.3)	453/2,961 (15.3)	1,021/5,930 (17.2)	2,418/12,885 (18.8)

P: parity, D: day-old.

Table 4. Regional seroprevalence for *Salmonella* Typhimurium in tested pigs in Jeju

Animal (age)	No. (%) of sero-positive pigs		Total (n=12,885)
	Jeju-si (66 farms, n=8,308)	Seogwipo-si (30 farms, n=4,577)	
Gilt	261/720 (36.3)	107/400 (26.8)	368/1,120 (32.9)
≤ P2	439/891 (49.3)	237/495 (47.9)	676/1,386 (48.8)
P3 ≤	513/895 (57.3)	259/488 (53.1)	772/1,383 (55.8)
20 D	96/2,164 (4.4)	52/1,174 (4.4)	148/3,338 (4.4)
40 D	21/902 (2.3)	21/505 (4.2)	42/1,407 (3.0)
70 D	41/912 (4.5)	52/506 (10.3)	93/1,418 (6.6)
100 D	70/912 (7.7)	63/506 (12.5)	133/1,418 (9.4)
130 D	103/912 (11.3)	83/503 (16.5)	186/1,415 (13.1)
Total	1,544/8,308 (18.6)	874/4,577 (19.1)	2,418/12,885 (18.8)

P: parity, D: day-old.

봄 24.6%이고 여름에는 가장 낮은 17.9%로 나타났다. 이에 비하여 제주도 돼지를 대상으로 혈청검사를 실시한 본 연구에서는 *S. Typhimurium*에 대한 항체 양성률은 18.8%를 나타내어 국내 다른 지역보다 비교적 낮은 수준을 보이고 있었다. 또한 본 연구에서 계절별 항체 양성률은 겨울철에 가장 높은 반면 여름에 가장 낮아 Kim 등(2010)의 보고와 일치하였다. 미국과 덴마크의 연구에 따르면 살모넬라증의 발생이 겨울에서 봄까지의 기간에 집중되고 있음이 확인되었다(Funk와 Gebreyes, 2004). 따라서 큰 일교차로 인한 스트레스 요인과 추운 계절에 농장내의 보온 유지를 위해 충분한 환기를 시키지 않는 상황이 계절과 관련된 살모넬라증 발생의 위험요인으로 작용할 수 있음을 보고하였다. 본 연구의 조사결과 제주도에서 항체 양성률이 낮은 것은 한 국가 내에서도 본 질병에 대한 감염양상이 지역별로 다르고, 돼지 사육형태도 다르기 때문인 것으로 판단된다. 이는 제주 지역의 경우 국내 다른 지역에 비하여 남쪽에 위치하고 있어

연평균 기온이 높고, 일교차가 크지 않으며 겨울철 기간도 짧기 때문에 온도 및 계절 변화로 인한 스트레스 요인이 비교적 적어 전반적인 살모넬라 항체 양성률이 타 지역보다 낮은 것으로 추정된다.

국내에서 Lim 등(2011)은 16개 돼지 농장을 대상으로 돼지 분변과 퇴비, 돈사 내 칸막이, 돈사 바닥 등의 환경시료로부터 살모넬라균을 분리하고 분리된 균체에 대한 유전적 상관성을 조사하였다. 살모넬라 균체는 6개 각기 다른 농장에서 총 36개 균주가 분리되었으며 대부분 *S. Typhimurium*으로 동정되었고, 시료별로 돼지 분변 및 환경시료에서 각각 18점씩 검출되었다. 균체가 분리된 분변 시료는 이유자돈과 육성-비육돈 분변 시료가 각각 16점 및 2점으로 확인되었다. 환경시료에서 분리된 살모넬라 균주는 총 18주로 슬러지 및 퇴비에서 5주, 칸막이 6주, 돈사 바닥 2주, 환기장치 1주, 물과 닻뿔 2주, 사료 1주 및 농장 종사자의 손에서 1주가 분리되었다. 이들 균체에 대하여 파지형과 유전형질을 분석한 결과 3개 농장에서 분리된

균체에서 동질성이 확인되었으며, 이는 환경에 오염되어 있던 살모넬라 균체가 돼지로 감염될 수 있음을 시사하고 있다. 본 연구에서 처녀돈을 포함한 모돈(46.7%)에서의 *S. Typhimurium*에 대한 항체 양성률이 자돈(6.7%)에 비해 약 7배정도 높은 수준을 보이는 것으로 확인되었다. 또한 같은 모돈이라 할지라도 산차가 높아질수록 항체 양성률은 증가하는 경향을 보이고 있었다. 이러한 결과는 본 균체에 오염되어 있는 돈사에서 오랜 기간 생육되어 질수록 균체에 노출될 가능성이 높기 때문에 나타난 현상으로 추정된다.

모돈으로부터 초유를 통하여 포유자돈으로 이행되는 모체이행항체(immunoglobulin A)는 포유기에 감염되는 각종 질병에 대한 저항성을 가지게 하는 중요한 방어 기전이며, 돼지의 연령이 증가하면서 점차 소실된다(Offit과 Clark, 1985). 이번 연구에서 자돈의 연령별로 *S. Typhimurium*에 대한 항체 양성률을 비교 분석한 결과 20일령에서는 4.4%를 보인 후 이유자돈 시기인 40일령에서 가장 낮은 3.0%를 나타내었고, 이후 연령이 증가할수록 점차 양성률은 증가하는 추세를 보이고 있었다. 이러한 결과는 모체이행 항체가 거의 소실되는 이유 시기가 지난 후 살모넬라 균체에 노출되어 감염이 이루어져 항체 양성률을 증가시키고 있기 때문인 것으로 판단된다.

덴마크에서의 조사에 따르면 살모넬라균은 30일령 이유자돈에서 검출되기 시작하여 60일령에 가장 높은 검출률을 보이지만, 항체 양성률은 120일령에서 최고치를 보였다고 하였다(Kranker 등, 2003). 또한 항체 양성률이 분변을 통한 균 분리율에 비하여 약 10% 정도 높게 나타났다. 그러므로 혈중 항체 양성률을 근거로 살모넬라증의 발생을 파악하기에는 다소 문제점이 있을 것으로 사료된다. 따라서 실험실 검사의 정확한 진단을 위해서는 혈청검사와 세균배양 등 살모넬라균체에 대한 검사가 병행되어야 할 것으로 판단된다.

결 론

제주도 내에서 돼지 살모넬라증의 발생양상을 파악하기 위하여 돼지 혈청에 대한 항체 검사를 실시하여 다음과 같은 결론을 얻었다. 제주도 돼지에서 응집반응을 통한 *S. Typhimurium* 항체 양성률은 18.8% (2,418/12,885두)로 나타났으며, 돼지 연령별로 자돈에서는 6.7%로 나타난 반면, 모돈에서는 46.7%를 보이

고 있어 약 7배 이상의 높은 항체 양성률을 나타내었다. 이유 후 40일령에서 가장 낮은 항체 양성률을 나타내었는데, 이는 모체 이행 항체의 소실과 관련이 있을 것으로 추정된다. 계절별로는 겨울철에 항체 양성률이 가장 높았고, 여름철에 가장 낮았다.

REFERENCES

- 심향섭, 우중태, 조중현, 전무형. 1994. 돼지에서 *Actinobacillus pleuropneumoniae*의 혈청학적 진단법에 대한 비교연구. *한국가축위생학회지* 17: 95-113.
- 정병열, 추지훈, 김지훈, 정재윤. 2006. 돈군의 *Salmonella* 모니터링을 위한 림프절 추출액 사용에 대한 평가. *대한수의학회지* 46: 119-125.
- Beloeil PA, Chauvin C, Proux K, Fablet C, Madec F, Alioum A. 2007. Risk factors for salmonella seroconversion of fattening pigs in fallow-to-finish herds. *Vet Res* 38: 835-848.
- Farzan A, Friendship RM, Dewey CE. 2007. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) tests and culture for determining *Salmonella* status of a pig herd. *Epidemiol Infect* 135: 238-244.
- Funk J, Gebreyes WA. 2004. Risk factors associated with *Salmonella* prevalence on swine farms. *J Swine Health Prod* 12: 246-251.
- Griffith RW, Schwartz KJ, Meyerholz DK. 2006. *Salmonella*. pp. 739-754. In: Straw BE, Zimmermann JJ, D'Allaire S, Taylor DJ(ed.). *Diseases of Swine*. 9th ed. Blackwell Publishing. Ames, Iowa.
- Kim YH, Kwon IK, Han JH. 2010. Seroprevalence of Swine Salmonellosis in Korean Swine Herds. *Korean J Food Sci Ani Resour* 30: 62-65.
- Kranker S, Alban L, Boes J, Dahl J. 2003. Longitudinal study of *Salmonella enterica* aerotype Typhimurium infection in three Danish farrow-to-finish swine herds. *J Clin Microbiol* 41: 2282-2288.
- Lim SK, Byun JR, Nam HM. 2011. Phenotypic and genotypic characterization of *Salmonella* spp. isolated from pigs and their farm environment in Korea. *J Microbiol Biotechnol* 21: 50-54.
- Offit PA, Clark HF. 1985. Protection against rotavirus-induced gastroenteritis in a murine model by passively acquired gastrointestinal but not circulating antibodies. *J Virol* 54: 58-64.
- Stege H, Christensen J, Nielsen JP, Baggesen DL, Enøe C, Willeberg P. 2000. Prevalence of subclinical *Salmonella enterica* infection in Danish finishing pig herds. *Prev Vet Med* 44: 175-188.
- Straw BE, Dewey CE, Wilson MR. 2006. Differential diagnosis of disease. pp. 241-283. In: Straw BE, Zimmermann JJ, D'Allaire S, Taylor DJ(ed.). *Diseases of Swine*. 9th ed. Blackwell Publishing. Ames, Iowa.