

# PCR 기법을 이용한 돼지 2종 세균성설사병 (*Salmonella*, *Lawsonia*)의 정밀진단

축산물위생검사소

김홍태 · 정경태 · 우병길 · 강신영 · 박미희 · 이강록 · 김금향

## Detection of 2 Bacterial Disease (*Salmonella*, *Lawsonia*) in Swine Feces by PCR

*Veterinary Service Laboratory*

Hong-Tae Kim, Kyung-Tae Chung, Byung-Gil Woo, Shin-Young Kang,  
Mi-Hee Park, Gang-Log Lee and Gum-Hyang Kim

### Abstract

The result of studying the epidemiological characteristics of *Salmonella* and *Lawsonia* strains which have been isolated from the swine in Busan.

Isolation rate of *Salmonella* were 2.0%(10 strains), but *Lawsonia* were not detected from swine feces.

As a result of *Salmonella* serotyping, *S. typhimurium* 2 strains, *S. enteritidis* 4 strains, *S. derby* 1 strain and untypable 3 strains were isolated.

PCR produced a specific 275bp and 182bp product by *Salmonella* and *Lawsonia*.

As a result of antimicrobial susceptibility test, all *Salmonella* were susceptible to amoxicillin, norfloxacin, orfloxacin.

Key Words : PCR, *Salmonella*, *Lawsonia*, swine feces

## 서론

1885년 Salmon 및 Smith에 의해 보

고된<sup>1)</sup> *Salmonella* 속균은 사람과 동물의 장관에 분포하는 장내세균으로서 어린 돼지에서는 패혈증, 설사, 장염 등을 유발할 수 있을 뿐만 아니라 이환율과 폐사율이

높으며, 성돈에서는 불현성감염으로 인한 보균돈이 많아 질병전파의 매개체 역할을 하며, 특히 식육 및 환경오염의 원인이 되기도 한다.<sup>2,3)</sup>

*Lawsonia*는 돼지 증식성회장염의 원인균으로 검붉은 혈변, 빈혈, 폐사 등의 증상을 나타내는 급성형과, 사료섭취율 저하와 수양성 갈색변이 관찰되는 만성형으로 나타날 수 있으며, 돼지간의 전파는 주로 분변을 통한 경구감염으로 자돈은 포유과정에서 오염된 모돈의 유두를 통하여 감염이 되며, 이유 후 발병이 되는 것으로 알려져 있다.<sup>4,5)</sup>

이 두 종류의 세균은 양돈농가에 상당한 피해를 주는 세균으로서 많은 연구가 이루어지고 있으며, 특히 *Lawsonia*는 균분리가 용이하지 않아 여러 가지 진단방법들이 제시되고 있으며, 최근에는 PCR에 의한 신속진단법들이 개발되고 있다.<sup>6,7,8)</sup>

항생물질은 양돈농가에서 세균성질병의 치료 및 성장촉진을 위하여 사료에 혼합

투여하는 등으로 인해 약물의 오·남용으로 인한 약제내성균을 선택적으로 증가시켜 질병치료 및 예방에 많은 문제점을 야기하고 있다.<sup>9)</sup>

따라서, 본 연구의 목적은 부산지방 양돈농가의 *Salmonella* 및 *Lawsonia*의 오염상황을 파악하고 항생물질 내성을 파악함으로써 질병진단 및 치료에 적용하고자 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 시료채취 및 균 분리시험

2002년 3월부터 11월까지 부산시내 양돈농가가 있는 강서구 31농가, 기장군 26농가로부터 460두의 돼지분변을 채취하여 균분리 시험을 실시하였으며, 균 분리배양은 Edward 및 Ewing의 방법<sup>17)</sup>에 준하여 채취한 분변 약 1g을 selenite F broth에 24시간 증균배양 후 SS agar에 도말하여 24시간 배양하였다.

*Salmonella* 균속으로 의심되는 집락 2

Table 1. Specific primer for PCR according to microorganisms

Microorganism	Primer	Sequence(5'to 3')	PCR product
<i>Salmonella</i>	<i>inv A</i>	TATCGCCACGTTTCGGGCAA	275 bp
		TCGCACCGTCAAAGGAACC	
<i>Lawsonia</i>	<i>16s RNA</i>	TAACGCGTTAAGCACC	182 bp
		GTCTTGAGGCTCCCCGAAAGGCACC TCTTAATC	

개 이상을 채취하여 triple sugar iron agar 사면배지에 24시간 배양후 alkaline/acid균을 선별하여 urease 시험을 실시, 음성균에 대하여 생화학적 및 혈청학적 검사를 실시하였다.

### 2. 생화학적 성상검사

Edward 및 Ewing의 방법에 따라 IMViC 시험, 당분해시험, malonate 이용성, KCN 시험, 운동성, gas산생 및 H<sub>2</sub>S 산생능 등을 검사하였다.

### 3. 혈청학적 검사

Edward 및 Ewing의 방법에 따라 균체(O) group serotype 동정은 slide 응집반응으로 O factor 및 편모(H)serotype는 시험관응집반응법으로 동정하였다.

### 4. PCR분석

Cheng-Hsun Chiu<sup>10)</sup> 및 Cooper 등의<sup>6)</sup> 방법에 준하여 실시하였으며, primer는 *Salmonella invA* 부위를 *Lawsonia*는 *16s RNA* 부위를 사용하였다.(Table 1)

### 5. 항생제 감수성 시험

Bauer 등<sup>11)</sup>과 Bryant<sup>12)</sup>의 방법에 따라 Sensi disk(BBL)를 이용한 Disk 확산법으로 실시하였으며, 사용한 항생제는 amikacin, amoxicillin, carbenicillin, colistin, gentamicin, kanamycin, lincomycin, neomycin, norfloxacin, ofloxacin, penicillin, streptomycin, SXT, tetracyclin 등 14종이었다.

## 결과 및 고찰

돼지의 *Salmonella* 및 *Lawsonia*균 감염증은 육성돈 및 비육돈에 다발하며 설사 등으로 인하여 위축, 출하일령 지연 등 경제적 피해를 주는 질병이다.

부산관내 57농가 460두의 돼지분변으로부터 *Salmonella* 및 *Lawsonia* 분리시험을 실시한 결과 Table 2와 같이 7농가 9두에서 10주의 *Salmonella*가 분리되었으며 *Lawsonia*는 분리되지 않았다.

*Salmonella* 보균상태는 김 등<sup>13)</sup>이 경북지역에서의 분리율 9.5%, 중강 등<sup>14)</sup>이 보고한 4.69% 보다는 낮았으며, *Lawsonia*는 검출되지 않아 장 등<sup>15)</sup>이 보고한 경북 지역 9.7%와는 차이가 있으나, 이는 최

Table 2. Isolation frequency of *Salmonella* and *Lawsonia* in farms

Location	Farms	Samples	Isolation frequency	
			<i>Salmonella</i>	<i>Lawsonia</i>
Gangseo-gu	31	275	7(5Farms)	0
Gijang-gun	26	173	3(2Farms)	0
Haeundae-gu	4	12	0	0

Table 3. Serovars specificity of *Salmonella* isolates

Location	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>S. derby</i>	others
Gijang-gun	-	1	-	2
Gangseo-gu	2	3	1	1

Table 4. Antimicrobial resistance of 10 *Salmonella* isolates

Drugs	Susceptible strains
Amikacin	9
Amoxicillin	10
Carbenicillin	1
Colistin	9
Gentamicin	9
kanamycin	4
Lincomycin	0
Neomycin	3
Norfloxacin	10
Ofloxacin	10
Penicillin	0
Streptomycin	1
SXT	5
Tetracyclin	2

근 콜레라, 구제역 발생여파로 각 농가에  
서 철저한 소독에 의하여 오염원을 사전  
에 차단한 결과라 사료되며, 지속적인 소  
독이 이루어진다면 이들 세균에 의한 피  
해는 거의 없어지리라 판단된다.

분리된 *Salmonella* 균에 대하여 혈청  
형별 동정을 실시한 결과 Table 3과 같  
이 *S. typhimurium* 2주, *S. enteritidis*  
4주, *S. derby* 1주, 기타 미동정 3주가  
분리되었다.

김 등<sup>13)</sup>은 *S.typhimurium*이, 윤 등<sup>16)</sup>  
은 *S.enteritidis*가 돼지에서 많이 분리된

다고 보고하여 차이는 있으나 우리나라에  
서는 이 2균종이 돼지에 가장 많이 분포  
하는 균종이며, 이는 농장의 상재균에 따  
라 차이가 있을 수 있다고 사료된다.

*Salmonella* 및 *Lawsonia* 균의 동시  
검출을 위하여 PCR을 수행한 결과 *Sal-*  
*monella*는 275bp의 산물을 *Lawsonia*는  
182bp의 산물을 얻을 수 있어 동시에 두  
균의 분리 방법으로 이용될 수 있다고 판  
단되며, PCR에 의한 검사는 1~2일만에  
검사결과를 볼 수 있는 이점이 있어 질병  
진단에 큰 도움이 되리라 사료되며, 특히

*Lawsonia*는 인공배지에서는 자라지 않고 랫트의 장세포에서만 자라기 때문에 분리 동정이 어려워 이 질병의 진단은 주로 병리조직학적 소견에 의존하였으나, PCR을 이용하면 정확한 진단이 이루어지므로 좋은 진단법이라 사료된다.

*Salmonella* 균에 대한 항생제 감수성 시험결과 Table 4와 같이 분리된 *Salmonella* 균에 대한 항생물질 감수성 시험결과 amoxicillin, norfloxacin, ofloxacin 등에는 내성을 나타내지 않아 이들 항생물질을 이용한다면 치료가 용이하리라 판단된다. 하지만, 무분별한 항생물질 사용으로 내성균이 증가되고 있는 실정으로 질병치료를 위하여는 반드시 정확한 사용량 및 휴약기간의 준수 등으로 내성균의 출현을 방지하여야 하리라 사료된다.

## 결 론

부산관내 61농가 460두의 돼지 분변으로부터 *Salmonella* 및 *Lawsonia* 균 검출시험을 실시한 결과는 다음과 같다.

1. 7농가로부터 10주의 *Salmonella*가 분리되었으며, *Lawsonia*는 검출되지 않았다.
2. 분리된 *Salmonella* 균의 혈청형은 *S. typhimurium* 2주, *S. enteritidis* 4주, *S. derby* 1주, 기타 3주이었다.
3. *Salmonella invA* 및 *Lawsonia 16s RNA* primer로 동시에 PCR을 수행한 결과 275bp 와 182bp의 산물을

얻을 수 있었다.

4. 분리된 *Salmonella* 균에 대한 항생물질 감수성 시험결과 amoxicillin, norfloxacin, ofloxacin 등에 감수성을 나타내었다.

## 참 고 문 헌

1. Salmon E. and Smith T. : Report on swine plague. 2nd. *Ann. Rep. Bureau Animal Industry*, 1885.
2. Gray JT, Fedorka-Cray PJ. : Salmonellosis in swine; A review of significant areas affecting the carrier state. 1st Int. Symposium : Ecology of *Salmonella* in pork production. *Ames. Iowa*, 80~103, 1996.
3. Wary C. : Salmonellosis : A hundred years old and still going strong. *Br. Vet. J*, 151: 339~340, 1995.
4. McOrist S GHK, Rowland AC, MacIntyre N. : Early lesions of proliferative enteritis in pigs and hamster. *Vet. Pathol*, 26:260~264, 1989.
5. Rowland AC, Lawson GHK. : Porcine proliferative enteropathies. In: Leman AD, Straw BE, Mengeling WL, et al. Ed Disease of Swine, 7th Ed. *Iowa State University Press, Ames*, 560~569, 1992.

6. Cooper D, Swanson D, Gebhart C. : Diagnosis of proliferative enteritidis in frozen and formal-fixed, paraffin embedded tissues from a hamster, horse, deer and ostriching *Lawsonia intracellularis* -specific mutiplex PCR assy. *Vet. Microbiol.* 54, 47~62, 1997.
- 7 Jones G, Ward G, Gebhart C, et al. : Use of a DNA probe to detect the intracellular organism of pro liferative enteritis in swine feces. *Am. J. Vet. Res.* 54, 1585~1590, 1993.
8. Jones G, Ward G, Murtaugh M, et al. : Enhanced detection of intracellular organism of swine proliferative enteritis, ileal symbiont intracellularis, in feces by polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.*, 31, 2611~615, 1993.
9. Sato G, Kodama H. : Appearance of R factor mediated drug resistance in *Salmonella typhimurium* excreted by carrier calves on a feedlot. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 22, 72~79, 1974.
10. Cheng-Hsun Chiu and Jonathan T Ou. : Rapid identification of *Salmonella* serovars in feces by specific detection of Virulence genes, *invA* and *spvC*, by an enrichment broth culture-multiplex PCR combination assy, 1996.
11. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC. : Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.*, 45, 493~496, 1966.
12. Bryant MC. Antibiotics and their laboratory control. 2nd ed. *Butterworth*, London, 411, 1972.
13. 김상운, 이희무, 김신, 홍현표, 권헌일. : 경북지역 가축에서 *Salmonella* 속균 감염증에 대한 역학적 특성. *한가위지* 24, 51~68, 2001.
14. 중강우사, 김종배, 마점술. 한국에서 분리한 동물유래 *Salmonella*의 약제 내성과 plasmid의 검출. *서울대학교 논문집* 10, 145~153, 1985.
15. 장성준, 김정화, 김영태, 김기향, 김중규, 김영욱, 최일영. : 돼지 분변에서 PCR에 의한 *Lawsonia intracellularis* 검색. *한가위지* 24, 43~50, 2001.
16. 윤용덕, 박정문, 김상의. 동물의 살모넬라속균에 관한 연구. 제II보 도살돈의 장간막림프절과 직장내용물로부터 분리된 살모넬라속균의 혈청학적 동정. *농사시험연구보고(가축위생편)* 19, 1~6, 1976.
17. Edward P R and Ewing W H. : Identification of enterobacteriaceae. *3rd. Burgess publ. co. Minneapolis*, 1~362, 1972.