

<원 저>

## 제주도 내 돼지 살모넬라증의 발생 양상 분석 및 병리학적 연구

양형석<sup>1</sup> · 강상철<sup>3</sup> · 김애란<sup>4</sup> · 정병열<sup>4</sup> · 김재훈<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>제주특별자치도 동물위생시험소, <sup>2</sup>제주대학교 수의과대학 및 수의과학연구소, <sup>3</sup>옵티팜, <sup>4</sup>농림축산검역본부

(접수: 2017년 10월 10일, 수정: 2017년 12월 10일, 게재승인: 2017년 12월 20일)

### Prevalence and pathologic study of porcine salmonellosis in Jeju

Hyoung-Seok Yang<sup>1</sup>, Sang-Chul Kang<sup>3</sup>, Ae-Ran Kim<sup>4</sup>, Byeong-Yeal Jung<sup>4</sup>, Jae-Hoon Kim<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>Jeju Self-Governing Provincial Veterinary Research Institute, Jeju 63344, Korea

<sup>2</sup>College of Veterinary Medicine and Veterinary Medical Research Institute, Jeju National University, Jeju 63243, Korea

<sup>3</sup>Optipharm Inc., Cheongju 28158, Korea

<sup>4</sup>Animal and Plant Quarantine Agency, Gimcheon 39660, Korea

(Received: October 10, 2017; Revised: December 10, 2017; Accepted: December 20, 2017)

**Abstract:** *Salmonella* (*S.*) Typhimurium is highly contagious, and its infection may rapidly spread within pig populations of herd. According to the survey (1,191 pigs) from 2003 to 2012, 155 pigs (13.0%) were diagnosed as salmonellosis in Jeju. Major porcine salmonellosis cases (88.4%) were concentrated in 4- to 12-week-old weaned pigs, but 6 pigs (3.9%) under 4 weeks old were also diagnosed. Based on the histopathologic examinations, ulcerative enteritis (63.9%) in the large intestine and/or paratyphoid nodules formation (57.4%) in the liver were most prevalent lesions in porcine salmonellosis. Single infection of *S.* Typhimurium and mixed infection with more than 2 pathogens were detected in 38 (24.5%) and 117 (75.5%) in pigs, respectively. Co-infections of *Porcine reproductive and respiratory syndrome virus* and *Porcine circovirus type 2* were very common in porcine salmonellosis in Jeju and detected in 84 (54.2%) and 59 (38.1%) pigs, respectively. Based on the serotyping tests using 41 bacterial isolates, *S.* Typhimurium and *S.* Rissen were confirmed in 39 (95.1%) and 2 (4.9%) cases, respectively.

**Keywords:** Salmonella infections, *Salmonella* Typhimurium, coinfection, paratyphoid nodule, ulcerative enteritis

## 서 론

돼지에서 발생하는 살모넬라증에는 패혈증형과 장염형이 있다. 패혈증형에는 *Salmonella* (*S.*) *Choleraesuis*가 주로 관여하며 이유자돈과 비육돈의 귀, 사지 말단부와 복부 피부의 청색증, 간과 비장의 종대, 위의 기저부에 발적 등이 나타난다. 신장의 피질부에서는 암적색의 불규칙한 점상 출혈소가 산재하여 나타나게 되는데 이를 ‘turkey egg kidney’라 부른다. 소화기계에서는 장간막 혈관의 확장과 장간막 림프절의 종대 또는 출혈이 관찰된다. 결장의 병변은 일반적으로 카타르성 결장염이 나타나며, 일부 개체에서 폐사하지 않고 만성 상태로 경과된 경우에는 괴사성 또는 섬유소성 결장염으로 진행되기도 한다. 조직학적으로 간에서는 간세포의 응고 괴사와 파라티푸스 결절(paratyphoid nodule)이 관찰된다. 기타

장기에서는 패혈증의 일환으로 위의 기저부, 피부, 신장, 폐 등의 혈관 내에 혈전이 관찰된다 [7, 18].

대부분 *S.* Typhimurium의 감염 때문에 발생하는 장염형의 발생연령도 패혈증형과 비슷한 시기이며, 임상적으로는 황색의 수양성 설사를 보인다 [7]. 만성으로 경과한 일부 돼지에서는 복부팽만을 동반한 직장 협착으로 진행되기도 한다 [19, 20]. 설사로 인해 폐사한 돼지에서 주요 병변은 국소성 또는 미만성의 괴사성 장염, 결장염 또는 맹장염이다. 이들 병변은 주로 나선 결장, 맹장 또는 회장에 분포하고 점막 면의 발적과 섬유소의 석출이 관찰되고 조직학적으로는 점막과 점막 면의 장선 상피세포에는 국소적으로 미만성의 괴사가 나타난다. 심한 경우에는 괴사가 점막 면에 한정되지 않고, 점막 근층, 점막하직 및 장 관련 림프조직(gut-associated lymphatic tissue, GALT)까지 파급되어 깊은 궤양을 형성하

\*Corresponding author

Tel: +82-64-754-3387, Fax: +82-64-702-9920

E-mail: kimjhoon@jejunu.ac.kr

기도 한다. 점막고유관 및 점막하직에는 다수의 큰포식세포 및 중등도의 림프구 침윤이 관찰된다. 궤양 부위에서 *Balantidium coli*가 흔히 관찰되기는 하지만 병원성은 없는 것으로 알려져 있다. 회장의 병변은 일반적으로 점막 표층에 나타나며 용모의 위축이 관찰된다. 폐사된 돼지에서는 GALT 내 림프구의 비대 또는 재생성 증생이 주로 관찰된다. 간에서는 파라티푸스 결절을 형성하지만, 전반적인 간 병변의 정도와 간세포의 괴사는 패혈증형에 비하여 경미하게 나타난다 [7, 18].

국내에서는 동물의 살모넬라증에 대한 많은 연구가 진행되어 있다. 과거의 연구에 의하면 돼지 농장과 도축장에서 분리된 살모넬라 319균주의 혈청형을 분석한 결과 *S. Derby*(77균)가 가장 많았고 *S. Infant*(41균주), *S. Enteritidis*(20균주), *S. Typhimurium*(18균주) 순으로 확인되었다 [2]. 최근에도 건강한 돼지와 설사 증상을 보이는 돼지로부터 살모넬라균을 분리하고 그 혈청형을 비교한 결과 설사하는 돼지에서 107주의 균체가 분리되었으며, 그중 96주가 *S. Typhimurium*인 것으로 판명되었다 [13]. 기타 균주로는 *S. Enteritidis* 9주, *S. Schwarzengrund* 2주로 확인되었다. 따라서 과거와는 달리 *S. Typhimurium*이 국내 돼지의 설사에 가장 밀접하게 관련되어 있음을 알 수 있다. 또한 *S. Rissen* 등 새로운 혈청형의 살모넬라 균체가 문제시될 가능성도 있는 것으로 확인되었다 [12].

본 연구에서는 2003년부터 2012년까지 검사 의뢰된 돼지 시료를 대상으로 제주도에서 살모넬라증의 발생 상황을 조사하였다. 살모넬라증의 주요 임상 증상, 병리학적 특징 및 다른 병원체와의 혼합 감염에 대해서 분석하였다. 살모넬라균 혈청형의 동정을 위하여 분리된 균체와 파라핀 조직 블록을 이용한 PCR검사를 하여 제주도에서 문제시되고 있는 살모넬라 균체의 혈청형을 파악하였다.

## 재료 및 방법

### 야외 시료를 이용한 돼지 살모넬라증 발생상황 조사

**공시동물:** 2003년 7월부터 2012년 10월까지 돼지 농장으로부터 제주대학교 수의과대학 병리학교실에 질병 진단 의뢰된 총 1,191두의 돼지를 실험에 공여하였다. 이 중 육안검사, 병리학적 검사 및 실험실 진단을 통하여 살모넬라증으로 진단된 예를 대상으로 본 질병의 제주도 내 발생상황을 조사하였다. 살모넬라증으로 진단된 예를 연도별, 계절별, 연령별, 지역별 및 임상 증상별로 구분하여 발생 상황을 분석하였다.

**병리학적 검사:** 검사 의뢰된 돼지는 외관 검사 후 통상적인 부검술식에 의해 흉강과 복강을 노출하여 각 장기의 병변을 확인하였다. 특히 살모넬라증 발생 시 특징적인 병변이 호발하는 소장, 대장 및 간 등에 중점을 두어 육안으로 관찰하였다. 부검 시 채취한 내부 장기는 10% 중성완충포르말린 용액에 고정된 후 일반적인 조직처리 방법에 따라 파라핀 포

매하여 3~4 µm 두께로 절편을 제작한 다음 hematoxylin and eosin 염색 후 광학현미경(Olympus BX51; Olympus, Japan)으로 검사하였다.

**병원체 검사:** 돼지 시료에 대한 병원체 검사는 세균과 바이러스로 구분하여 일반적인 진단 기법을 동원하여 실시하였다. 특히 소모성 질병의 원인체인 돼지 썩코바이러스 2형(*Porcine circovirus type 2*, PCV2) 감염을 확진하기 위해 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)과 rabbit anti-PCV2 antibody(Iowa State University, USA)를 이용한 면역조직화학염색법(immunohistochemistry, IHC)을 수행하였다. PCR은 Larochelle 등 [11]이 제시한 PCV2의 open reading frame 2 유전자를 검출하기 위하여 제작된 primer를 사용하였다. 돼지생식기호흡기증후군바이러스(*Porcine reproductive and respiratory syndrome virus*, PRRSV) 항원 검사는 역전사효소 PCR(reverse transcriptase PCR)과 mouse anti-PRRSV(SDOW17) antibody(South Dakota State University, USA)를 이용한 IHC를 실시하였다. 기타 바이러스로 돼지 인플루엔자 바이러스(*Swine influenza virus*), *Cytomegalovirus* 등은 PCR 또는 간접형광항체법(indirect fluorescent antibody test) 등을 수행하여 확인하였다.

세균 검사의 경우 각 장기의 병변부에서 무균적으로 조직을 채취하여 혈액 배지와 MacConkey agar plate(BD Difco, USA)에 도말하여 37°C에서 24-48시간 동안 배양한 후 균체 증식 여부를 확인하였다. 살모넬라균을 순수 분리하기 위하여 Rambach agar plate(Merck, Germany)를 사용하였으며, *Actinobacillus pleuropneumoniae*와 *Haemophilus parasuis*는 chocolate agar plate(Hanil KOMED, Korea)에 도말한 후 혐기배양하여 균체를 분리하였다. *Streptococcus* spp.는 혈액배지에서 증식된 균체의 성상, 그람 염색 결과 및 catalase test를 통하여 확인하였다. 구포자충(Coccidia)은 소장 및 대장에 대한 병리조직학적 검사를 통하여 감염을 확인하였다.

### 살모넬라 균체 증 동정 시험

**공시동물:** 2003년부터 2012년까지 돼지 살모넬라증으로 진단된 총 155두 중에서 41두 돼지로부터 분리된 살모넬라 균주와 균 분리가 되지 않은 돼지 66두의 회장 및 맹결장이 포함된 파라핀 블록을 합해 총 107두를 대상으로 실험을 하였다.

### 중합효소연쇄반응:

#### 균체로부터 DNA 추출

순수 분리된 살모넬라균주 41점을 증 동정하기 위하여 PCR을 실시하였다. 균체를 Rambach agar plate에 도말하여 37°C에서 48시간 호기 배양한 다음 전형적인 빨간색 집락을 형성하고 있는 신선한 균체로부터 DNA를 추출하였다. 1.5 mL Eppendorf tube에 1 mL의 DNase Rnase-Free Distilled Water(Invitrogen, USA)를 넣고 각각의 세균 집락

을 현탁하였다. 각 현탁액을 13,800 × g에서 10분 동안 원심 분리 후 상층액을 제거하였다. 침전물에 DNase Rnase-Free Distilled Water 300 μL를 넣은 후 100°C에 10분간 정치하고 바로 -20°C에 냉동시켰다. 해동된 침전물을 13,800 × g에서 10분간 원심분리한 후 상층액에서 DNA를 추출하였다.

**장 파라핀 블록에서 DNA 추출**

생 조직 시료가 없어 세균이 동정되지 않은 개체는 포르말린 고정된 돼지의 장 조직에서 감염된 살모넬라 균체를 동정하기 위해 파라핀 블록을 이용한 PCR을 수행하였다. 각 블록으로부터 오염되지 않은 조직 절편을 채취하기 위하여 DNA 추출 키트 제조사(Takara Bio, Japan)에서 제시한 방법에 따라 3% 과산화수소수(3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 및 70% 에탄올을 이용하여 박절기(microtome)와 박절기용 칼날 표면에 부착된 이물질 제거하였다. 장기간 외부 환경에 노출되어 파라핀 블록 표면의 조직 내 DNA가 변성될 수 있으므로 표면 조직을 제거한 뒤, 그 이후의 조직 절편을 DNA 추출용 시료로 선택하였다. 조직 절편은 약 10 μm 두께로 제작하였으며, 개체 당 3~5개의 절편을 멸균된 1.5 mL Eppendorf tube에 넣어 DNA 추출 전까지 실온에서 보관하였다.

DNA 추출은 TaKaRa DEXPAT(Takara Bio)을 이용하였다. 절편이 들어있는 1.5 mL Eppendorf tube에 0.5 mL의 DEXPAT액을 가하고 잘 혼합한 다음, 100°C에서 10분간 방치하였다. 열 처리가 끝난 시료는 4°C, 13,800 × g에서 10분간 원심분리하고, 상층액 표면에 형성된 파라핀 층을 조심스럽게 제거한 후 DNA가 포함된 상층액 약 70 μL 정도를 채취하여 새로운 1.5 mL Eppendorf tube에 옮겨 담았다. DNA가 포함된 상층액은 검사 전까지 -70°C에서 보관하였다.

**Oligonucleotide primer의 제작 및 PCR**

*S. Typhimurium*을 동정하기 위한 primer는 Kim 등 [10]이 보고한 STM4497-F(5'-AACAAACGCTCCGGTAATGA-3') 및 STM4497-R(5'-TGACAAACTCTTGATTCTGA-3')을 제작하여 이용하였다. *S. Choleraesuis* 및 *S. Paratyphi C*는 Chiu 등 [1]이 제시한 FlinC-F(5'-AAGGAAAAGATCATGGCACAA-3'), FlinC-R(5'-GAACCCACCATCAAT AAC TTTG-3')을 이용하였다.

살모넬라균 동정을 위하여 세균에서 추출한 DNA 2 μL와 각각의 primer 1 μL(20 pmol) 및 DNase Rnase-Free Distilled Water 16 μL를 AccuPower HotStart PCR Premix(K-5050; Bioneer, Korea)에 첨가하여 최종 반응 용량이 20 μL가 되도록 하였다.

*S. Typhimurium*에 대한 PCR 반응 조건은 94°C에 5분 동안 초기 denaturation시킨 후, 95°C에 45초간 denaturation, 63°C에서 30초간 annealing, 72°C에 30초간 extension시키는 과정을 30회 반복한 후, 최종 72°C에서 final extension을 3분간 반응시켰다 [10]. *S. Choleraesuis* 및 *S. Paratyphi C*는 94°C에 10분 동안 초기 denaturation시킨 후, 95°C에 45초간 denaturation, 55°C 30초간 annealing, 72°C에 60초간 extension시키는 과정을 35회 반복한 후, 최종 72°C에서 final extension을 7분간 반응시켰다 [1].

PCR 증폭은 Dice TP600 PCR Thermal Cycler(Takara Bio)를 이용하였다. 반응 종료 후, 각각의 반응액 8 μL씩을 취하여 1.5% agarose gel 상에서 전기영동을 실시한 다음 RedSafe Nucleic Acid Staining Solution(iNtRON Biotechnology, Korea) 용액(0.5 μL/mL in distilled water)으로 염색하였다. UV transilluminator로 각각의 병원체에 대한 특이적인 밴드 유무를 확인하였다 [1, 10].

**세균 serotyping**

PCR기법으로 동정되지 않은 살모넬라 균주는 *Salmonella*-O와 H 항혈청(BD Difco)을 이용하여 균체 동정을 하였다. 균체 항원의 동정은 고행배지에서 여러 개의 세균 집락을 채취하여 평판응집반응으로 검사하였다. 편모항원의 검사는 brain heart infusion broth에 배양 후 시험관응집반응법(tube agglutination test)으로 먼저 Phase I 항원을 검사하였다. Ditch plate method를 이용하여 Phase II 항원 검사를 하였다. Phase II 항원이 유도된 균주는 Phase II 양성 항혈청을 이용하여 시험관응집반응법으로 검사하였다. 검사 후 최종 serotyping은 Kauffmann-White scheme에 따라 실시하였다 [3].

**결 과**

**돼지 살모넬라증 검색 상황**

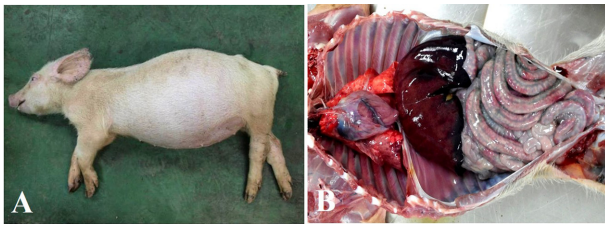
2003년 7월부터 2012년 10월까지 1,191두의 돼지를 검사한 결과 155두(13.0%)가 살모넬라증으로 진단되었다.

살모넬라증으로 진단된 돼지를 연도별로 분류하여 살펴본 결과, 2006년(28.1%) 가장 많은 발생을 보이다가 2008년(0.9%)까지 점차 낮아진 후 2009년 이후에는 차츰 증가하는 경향을 보였다(Table 1). 계절별로는 돼지 살모넬라증이 여름에 56두(36.1%)로 가장 많이 발생하였으며, 봄이 39두(25.2%), 겨울과 가을이 각각 30두(19.4%)로 나타났다(data not shown).

연령별로 4주령 이하의 포유자돈, 4~8주령 및 8~12주령의

**Table 1.** Annual prevalence of porcine salmonellosis in Jeju from 2003 to 2012

Year	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	Total
Number of pigs	78	91	126	135	138	114	185	136	97	91	1,191
Number of salmonellosis (%)	9 (11.5)	9 (9.9)	25 (19.8)	38 (28.1)	18 (13.0)	1 (0.9)	7 (3.8)	19 (14.0)	12 (12.4)	17 (18.7)	155 (13.0)



**Fig. 1.** Representative gross findings. (A) Pig showed marked abdominal distension associated with rectal stricture. (B) Spiral colon showed severe diffuse thickening. Note multifocal pale to white foci in the liver.

**Table 2.** Clinical signs and their frequency in salmonellosis

Clinical sign	Number of pigs (n = 155)	Frequency (%)
Wasting	132	85.2
Diarrhea	108	69.7
Dyspnea	52	33.5
Anorexia	14	9.0
Abdominal distention	8	5.2

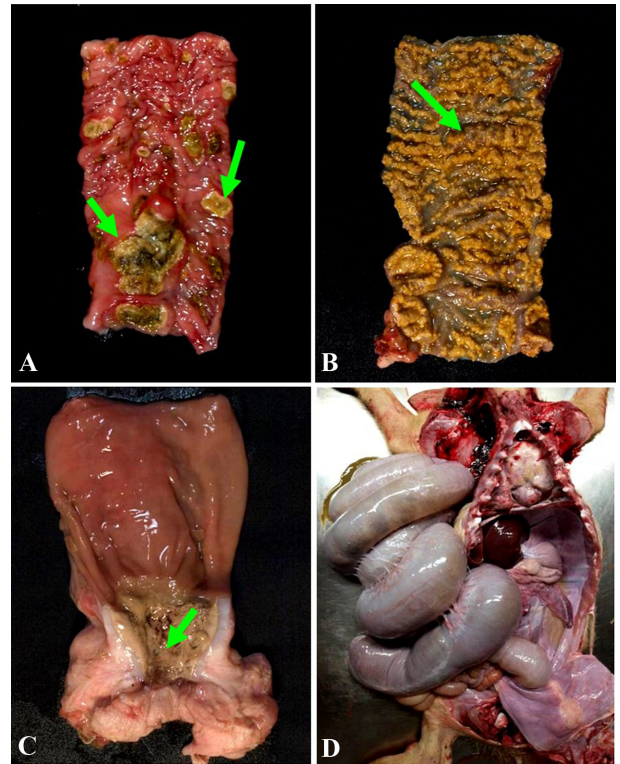
**Table 3.** Gross findings and their frequency in salmonellosis

Organ	Gross findings	Number of pigs (n = 155)	Frequency (%)
Small intestine	Fibrinous exudate	12	7.7
	Redness	3	1.9
	Thickening	2	1.3
	Erosion	1	0.6
	Corrugation	1	0.6
Large intestine	Ulcer	60	38.7
	Fibrinous exudate	35	22.6
	Erosion	12	7.7
	Thickening	9	5.8
	Redness	6	3.9
	Mega-colon	5	3.2
	Rectal stricture	9	5.8
Liver	White foci	22	14.2

이유자돈, 12주령 이상의 육성돈과 비육돈 및 성돈으로 구분하여 살모넬라증의 발생 상황을 살펴보았다. 살모넬라증은 대부분 이유자돈 구간인 4~8주령(89두; 57.4%)과 8~12주령(48두; 31.0%)에서 발생하였으며, 육성돈(9두; 5.8%)과 모돈(3두; 1.9%)에서는 간헐적으로 발생하였다. 특히 포유자돈에서도 6두(3.9%)가 살모넬라증으로 진단되었다(data not shown).

#### 병리학적 검사

살모넬라증으로 진단된 돼지에서 나타난 주요 임상 증상은 위축, 설사, 호흡곤란, 식욕부진과 복부팽만(Fig. 1A) 등



**Fig. 2.** Gross findings. Note multifocal to coalescing ulceration (A; arrows) and diffuse fibrinous exudates (B; arrow) on colonic mucosa. Note rectal stricture (C; arrow) and severe distended mega-colon (D).

이었다(Table 2). 이 중에서 피모가 거칠고 역립되어 있는 위축(85.2%)을 동반한 설사(69.7%)가 살모넬라증의 가장 주된 임상 증상이었다.

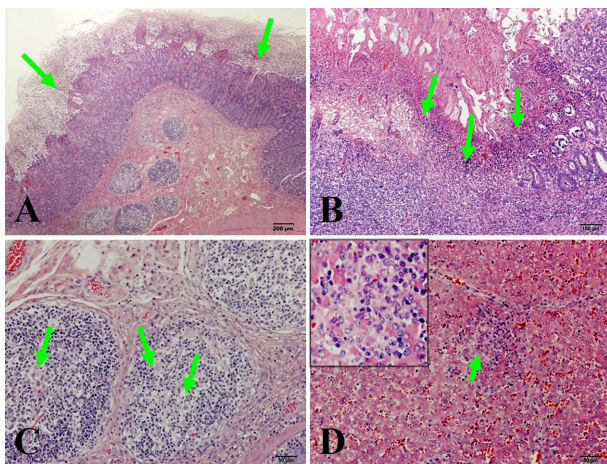
살모넬라증으로 진단된 돼지 155두에는 주로 대장, 소장 및 간에서 육안으로 병변이 확인되었다(Table 3). 소장 병변으로는 점막 면에 섬유소의 석출이 12두(7.7%), 다병소성 또는 미만성 발적이 3두(1.9%)에서 관찰되었다. 대장의 경우 현저한 장벽의 비후(Fig. 1B)와 함께 점막에 다양한 크기의 단추양 궤양(Fig. 2A)이 60두(38.7%)에서 확인되어 가장 많은 발생 빈도를 나타내었다. 대장 점막 면에 섬유소성 삼출물(Fig. 2B)의 석출과 미란 형성은 각각 35두(22.6%)와 12두(7.7%)에서 관찰되었다. 직장협착(Fig. 2C)은 9두(5.8%)에서 관찰되었으며 이로 인한 거대결장(Fig. 2D)이 5두(3.2%)에서 확인되었다. 간에서는 주위 정상조직과 뚜렷이 구분되는 유백색 반점(Fig. 1B)이 22두(14.2%)에서 관찰되었다.

특징적인 병리조직학적 소견도 주로 대장, 소장 및 간에서 관찰되었다(Table 4). 소장에서는 점막에 술잔세포의 수가 증가하고 고유층에 다소간의 급성 염증세포가 침윤된 카타르성 장염이 136두(87.7%)에서 관찰되어 가장 많았고, 괴사성 또는 궤양성 장염이 각각 12두(7.7%) 및 5두(3.2%)에서 확인되었다. 대장에서는 궤양성 맹결장염이 99두(63.9%)에서 나타나 가장 많았고, 만성 및 괴사성 장염이 각각 26두(16.8%)로 나타났다. 괴사성 장염의 경우 점막 상피세포의

**Table 4.** Histopathologic findings and their frequency in salmonellosis

Tissue	Histopathologic lesions	Number of pigs (n = 155)	Frequency (%)
Small intestine	Mucopurulent enteritis	136	87.7
	Necrotic enteritis	12	7.7
	Ulcerative enteritis	5	3.2
Large intestine	Chronic enteritis	26	16.8
	Necrotic enteritis	26	16.8
	Ulcerative enteritis	99	63.9
	Colitis cystica profunda	16	10.3
	<i>Balantidium coli</i> infection	22	14.2
Liver	Paratyphoid nodules	89	57.4
	Cholangitis	56	36.1
GALT in large intestine	Lymphoid depletion	13	8.4

GALT, gut-associated lymphatic tissue.



**Fig. 3.** Histopathologic findings. (A) Colonic mucosa was covered with diffuse fibrinous exudates and necrotic cellular debris (arrows). (B) There were severe ulceration (arrows) and submucosal infiltration of inflammatory cells in the colon. (C) Severe lymphoid depletion (arrows) was observed at the gut associated lymphatic tissues in colon. (D) There was paratyphoid nodule (arrow) in liver. (Insert of D) Note the infiltrated macrophages and lymphocytes in necrotic foci. H&E stain. Scale bars = 200 µm (A), 100 µm (B), 50 µm (C and D), 20 µm (Insert).

괴사와 탈락이 동반된 얇은 조직 결손인 미란이 형성되어 있었으며, 고유층에는 울혈 및 출혈이 관찰되었다(Fig. 3A). 궤양성 장염 예에서는 점막 손상에 의한 궤양이 점막하층까지 파급되어 있었으며, 궤양부 점막 면에는 심하게 괴사한 세포들과 섬유소가 섞여 두꺼운 층을 형성하고 있었다(Fig. 3B). 점막하층에는 림프구와 큰포식세포로 구성된 만성 염증세포가 침윤되어 있었고 섬유아세포가 증가한 섬유화 소견을 보이며, 때로 큰 혈관의 내강에 혈전이 형성되어 있기도 하였

**Table 5.** Coinfection with other pathogens in salmonellosis

Infection	Pathogen	Total (%)	
Single	<i>Salmonella</i>	38 (24.5)	
2 agents	PRRSV*	28 (18.1)	
	PCV2	14 (9.0)	
	Polyserositis	1 (0.6)	
	APP	1 (0.6)	
	PM	2 (1.3)	
	BH	2 (1.3)	
	Coccidia	2 (1.3)	
	PM	2 (1.3)	
	3 agents	PRRSV + PCV2	24 (15.5)
		PRRSV + PM	3 (1.9)
PRRSV + Strepto		10 (6.5)	
PRRSV + BB		1 (0.6)	
PRRSV + SIV		1 (0.6)	
PRRSV + APP		1 (0.6)	
PRRSV + Polyserositis		1 (0.6)	
PRRSV + PA		1 (0.6)	
PCV2 + Strepto		4 (2.6)	
PCV2 + PM		1 (0.6)	
4 agents	PRRSV + PM + Strepto	1 (0.6)	
	PRRSV + PCV2 + Strepto	5 (3.2)	
	PRRSV + PCV2 + PM	3 (1.9)	
	PRRSV + PCV2 + APP	1 (0.6)	
	PRRSV + PCV2 + Coccidia	1 (0.6)	
	PRRSV + HP + Coccidia	1 (0.6)	
5 agents	PRRSV + PCV2 + PM + Coccidia	1 (0.6)	
	PRRSV + PCV2 + PM + Strepto	1 (0.6)	
Total		155 (100)	

PRRSV, *Porcine reproductive and respiratory syndrome virus*; PCV2, *Porcine circovirus type 2*; APP, *Actinobacillus pleuropneumoniae*; PM, *Pasteurella multocida*; BH, *Brachyspira hyodysenteriae*; PA, pulmonary abscess; Strepto, *Streptococcus* spp.; SIV, *Swine influenza virus*; Cyto, cytomegalovirus; HP, *Haemophilus parasuis*; BB, *Bordetella bronchiseptica*.

다. 병변이 현저하게 진행된 예에서는 장막 면까지 궤양이 파급되어 대장 장막의 비후와 함께 염증이 동반된 장막염이 관찰되기도 하였다. 심한 궤양이 형성되어 있는 대장의 점막 면에는 표면에 다수의 섬모를 가지고 있는 *Balantidium coli*(14.2%)가 계재되어 있었으며, 일부 예에서는 점막하층까지 파급되어 있었다. 대장 장생에 다량의 점액과 붕괴된 세포가 축적되어 플라스크 모양으로 확장된 병변을 보이는 심재성 낭포성 결장염(colitis cystica profunda)은 16두(10.3%)에서 관찰되었다. 일부 예(8.4%)에서는 대장 점막하

직의 GALT에서 림프구가 고갈되고(Fig. 3A and C), 다수의 조직구 침윤이 관찰되었다. 때로 GALT에 침윤된 조직구의 세포질 내에서 포도송이와 같은 PCV2 특이 호염성 봉입체가 관찰되기도 하였다.

간에서는 파라티푸스 결절이 89두(57.4%), 담관염이 56두(36.1%)에서 관찰되었다. 파라티푸스 결절은 국소 또는 다발성으로 관찰되었으며 간 세포의 괴사와 함께 큰포식세포, 림프구와 중성 호성 백혈구 등의 염증세포가 침윤되어 다양한 크기의 결절을 형성하고 있었다(Fig. 3D). 담관염의 경우 담관 주위로 염증세포가 침윤하고, 때로 담관의 증생이 동반되기도 하였다.

**살모넬라증과 기타 병원체와의 혼합 감염 조사**

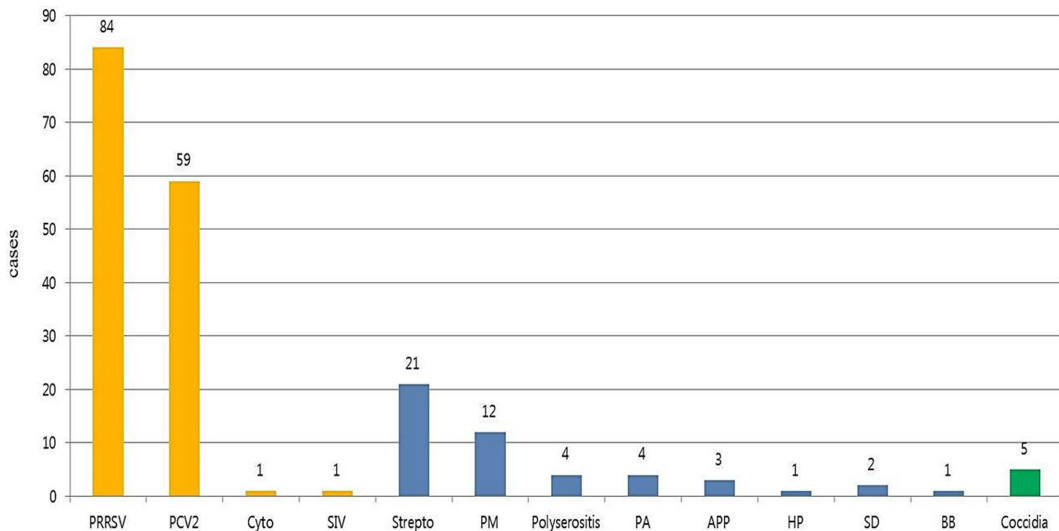
최종 살모넬라증으로 진단된 155두에 대하여 살모넬라를 비롯한 각 질병의 감염 양상을 분석하였다. 살모넬라균 단독 감염은 38두(24.5%)로 비교적 적었지만 살모넬라와 다른 병원체가 혼합 감염된 예는 117두(75.5%)로 대다수를 차지하고 있었다(Table 5). 혼합 감염된 돼지의 경우 적게는 2가지에서 많게는 5가지 병원체가 혼합 감염되어 있었으며, 각각은 이중 감염 52두(33.5%), 삼중 감염 51두(32.9%), 사중 감염 12두(7.7%) 및 오중 감염 2두(1.3%)로 분석되었다. 전체적으로 두 가지 또는 세 가지 병원체가 혼합 감염된 돼지가 103두(66.5%)로 가장 많았으며, 이는 제주도 내 돼지에

살모넬라증뿐만 아니라 다른 병원체가 복합적으로 감염되어 농장의 생산성을 떨어뜨리고 있는 것으로 해석된다.

병원체별로 살모넬라증과의 혼합 감염 빈도를 살펴보았을 때, PRRSV와의 혼합 감염이 84두(54.2%)로 가장 많았으며 PCV2와의 혼합 감염이 59두(38.1%)로 그다음 순으로 나타났다(Fig. 4). 돼지에서 화농성 기관지 폐렴을 유발하는 *Streptococcus* spp. 및 *Pasteurella multocida*가 각각 21두(13.5%) 및 12두(7.7%)에서 살모넬라와 혼합 감염되어 있었다. 다른 소화기 질병과의 혼합 감염은 비교적 낮은 발생 빈도를 보였고 돼지 적리(1.3%)와 포유 및 이유초기 자돈에서 구포자충(3.2%)이 혼합 감염되어 있었다.

**살모넬라 균체 종 동정 시험**

야외 돼지 시료에서 분리된 세균 41주에 대하여 PCR검사를 수행한 결과 총 39균주(95.1%)가 *S. Typhimurium*으로 판명되었다(Table 6). 세균 집락에서 추출한 DNA에 대한 PCR검사 결과 310 bp의 *S. Typhimurium* 특이 산물이 확인되었다. PCR검사로 혈청형이 확정되지 않은 2 균주는 균체 항원 및 편모 항원에 대한 항혈청 검사를 통하여 최종 *S. Rissen*(4.9%)으로 동정되었다. 소장 또는 대장이 포함된 66개 파라핀 블록에 대한 PCR검사 결과 43점(65.2%)에서 *S. Typhimurium*의 유전자가 확인되었다. 따라서 총 107두 시료에 대한 검사 결과 *S. Typhimurium*이 82두(76.6%), *S.*



**Fig. 4.** Co-infected pathogens in porcine salmonellosis. SD, swine dysentery.

**Table 6.** Polymerase chain reaction results in isolated bacteria and paraffin block

Sample	<i>Salmonella</i> Typhimurium (%)	<i>Salmonella</i> Coleraesuis and <i>Salmonella</i> Paratyphi C (%)	<i>Salmonella</i> Rissen (%)	ND (%)
Bacterial colony (n = 41)	39 (95.1)	0 (0.0)	2 (4.9)	-
Paraffin block (n = 66)	43 (65.2)	0 (0.0)	-	23 (34.8)
Total (n = 107)	82 (76.6)	0 (0.0)	2 (1.9)	23 (21.5)

ND, not detected.

Rissen이 2두(1.9%)에 감염되어 있음이 확진되었다.

## 고 찰

제주도 내 돼지 농장에서 의뢰된 총 1,191두의 시료 중 155두(13.0%)가 살모넬라증으로 최종 진단되었다. 계절별로는 겨울철(19.4%)보다는 여름철(36.1%)에 더욱 빈발하는 것으로 보이지만, 전반적으로 계절 구분 없이 연중 발생하고 있었다. 의뢰된 돼지의 연령별로는 4~8주령 및 8~12주령이 각각 89두(57.4%) 및 48두(31.0%)로 나타나 약 90%의 살모넬라증이 주로 이유 후 시기에 집중적으로 발생하는 것으로 확인되었다. 12주령 이상의 육성돈에서는 살모넬라증이 5.8%로 매우 낮게 나타났으며, 매우 어린 4주령 이하의 포유자돈에서도 6두(3.9%)가 살모넬라증으로 진단되었다. 따라서 돼지 농장에서 모체 이행 항체 수준이 낮아져 면역 방어 기전이 가장 약해진 이유 시기에 돈사 내외 또는 모돈에 오염되어 있던 살모넬라 균체에 이유자돈이 노출되어 설사와 위축을 동반한 살모넬라증으로 발전하는 것으로 설명된다. 또한 이유 후 스트레스 요인이 증가한 상태에서 만성 소모성 질병을 유발하는 PRRSV와 PCV2 같은 바이러스에 감염된 다음 이차적으로 살모넬라증의 혼합 감염이 증가할 수도 있다고 추정된다 [6, 9]. 제주지역에서는 2011년 417두의 육성돈 설사 분변에 대하여 맹결장나선균(*Brachyspira pilosicoli*), 돼지적리균, 돼지증식성장염균 및 살모넬라균을 PCR로 검사한 결과 각각 75두(18.0%), 33두(7.9%), 13두(3.1%) 및 12두(2.9%)로 나타났음을 보고하였다 [15]. 따라서 국내 타 지역과 달리 제주도에서는 육성돈 설사 문제에 살모넬라균보다는 맹결장나선균이나 돼지적리균이 주로 관여하고 있을 것으로 추정된다.

이번 연구에서 4주령 이하의 포유자돈에서도 살모넬라증이 6두에서 발생하였다. 이는 장염형 살모넬라증이 주로 이유부터 4개월령까지 문제시된다는 보고와는 매우 다른 상황이다 [7]. 특히 포유자돈 6두에서는 소장의 괴사성 장염, 대장의 괴사성 또는 궤양성 장염과 간에서 파라티푸스 결절도 관찰되어 전형적인 살모넬라증의 특징을 모두 보였다. 따라서 장관 내 방어기전이 완벽하게 형성되지 않은 어린 포유 시기에 이미 균체에 노출되어 짧은 잠복기를 거친 후 현증을 나타내고 폐사에까지 이른 것으로 판단된다. 포유자돈에서 살모넬라증의 발생은 모돈의 초유를 통한 면역능의 전달이 충분치 않아 발생할 수도 있겠으나, 제주도 내에 살모넬라 균체가 상재되어 질병에 노출될 기회가 많아서 발생할 수도 있다고 추정된다. 이에 대한 근거는 Yang 등 [21]에 의한 보고를 보면 알 수 있다. 이 연구에서는 2009년부터 2012년까지 제주지역 총 96개 농장 돼지 12,885두의 혈청을 대상으로 *S. Typhimurium*에 대한 항체검사를 하였다. 그 결과 20일령은 4.4%의 항체 양성률을 보인 후 이유자돈 시기인 40일령에서 가장 낮은 3.0%를 나타내었고, 이후 연령이 증가할수록 점차 양성률이 증가하는 양상을 보였다고 하였다. 따라서 모체이행 항체가 거의 소실되는 이유 시기를 거

치면서 농장 내에 상재되어 있던 살모넬라 균체에 노출 및 감염되어 항체 양성률을 증가시킨 것으로 판단하였기 때문이다.

돼지에서 장염형 살모넬라증의 경우 악취를 동반한 수양성 설사 증상이 가장 일반적이며 특징적인 임상 증상이다 [7]. 본 연구에서 살모넬라증으로 진단된 155두 돼지의 임상 증상으로 위축(85.2%)이 가장 많은 비중을 차지하였다. 각 돼지에서 감염된 질병을 원인체별로 조사하였을 때 살모넬라 단독 감염은 38두(24.5%)에 불과하고 117두(75.5%)는 다른 병원체와의 혼합 감염이었다. 특히 만성 소모성 질병의 대표적 원인체인 PRRSV와 PCV2와의 혼합 감염이 143두(92.3%)에서 진단되었다. 따라서 확진된 돼지에서 나타난 위축 증상은 살모넬라 단독 감염에 의한 영향도 있지만 다른 바이러스와의 혼합 감염 때문에 발생한 증상으로 설명하는 것이 타당하다고 생각한다.

연변 내지 수양성의 설사 증상은 두 번째로 많은 108두(69.7%)에서 관찰되었다. 이는 분변에서 분리된 균체 또는 대장 파라핀 조직을 이용하여 살모넬라균을 동정한 결과 대부분의 균체가 장염을 유발하는 *S. Typhimurium*이었기 때문에 해석된다. Griffith 등 [7]은 돼지 살모넬라증 예에서 돼지적리균, 돼지증식성장염균, 구포자충 또는 대장균 등과 혼합 감염이 자주 나타난다고 하였다. 본 연구에서 소화기 병원체로는 돼지적리균(1.3%)과 구포자충(3.2%)이 혼합 감염되어 있기는 하였으나 그 빈도는 현저하게 낮았다. 따라서 제주도에서 발생하는 살모넬라증의 경우, 전신 감염에서는 다른 병원체와 혼합 감염이 많지만 소화기 질병으로는 혼합 감염보다는 단독 감염으로 발생하는 경우가 월등히 많은 것으로 풀이된다.

호흡기 증상에 해당하는 호흡곤란은 52두(33.5%)에서 관찰되었다. 이 증상은 *S. Typhimurium* 감염에 따른 증상은 아니며, 혼합 감염된 PRRSV나 PCV2와 같은 바이러스 또는 *Streptococcus spp.*나 *Pasteurella multocida*와 같은 폐렴 유발 병원체의 혼합 감염에 의한 증상으로 판단된다. 특히 살모넬라증과 혼합 감염된 화농성 기관지염 유발 세균으로 *Streptococcus spp.*와 *Pasteurella multocida*가 각각 13.5% 및 7.7%의 예에서 진단되어 위의 설명을 뒷받침하고 있다. 외국의 경우 *S. Choleraesuis*에 의한 패혈증 시 전신 감염의 일환으로 폐렴을 유발하는 것으로 알려져 있다. 그러나 본 연구에서는 분리된 균체 및 조직 파라핀 PCR검사 결과 *S. Choleraesuis*는 전혀 검출되지 않았다. 직장 협착으로 인한 복부팽만 증상은 8두(5.2%)에서 관찰되었다. 이 병변은 장염형 살모넬라증이 만성적으로 경과하여 발생하는데, 직장에 형성된 궤양이 만성화되면서 결합조직이 증가하여 나타나는 병변으로 주로 *S. Typhimurium* 감염 시 발생하는 것으로 알려져 있다 [19, 20].

살모넬라증으로 진단된 돼지에서 병변이 소장, 대장 및 간에서 각각 19두(12.3%), 136두(87.7%) 및 22두(14.2%)에서 육안으로 관찰되었다. 따라서 살모넬라증의 주요 병변 형성 부위는 대장인 것으로 확인되었다. 또한 대장의 점막 병변은

퀘양 형성 60두(38.7%), 섬유소 석출 35두(22.6%), 미란 형성 12두(7.7%) 순으로 관찰되어 살모넬라증의 특징적인 병변은 대장의 퀘양 형성임이 입증되었다. 병리조직학적 병변에서도 맹결장에 퀘양을 형성하는 장염이 가장 많은 비중을 차지하고 있었다. 육안으로 간에서는 유백색 또는 퇴색된 반점이 22두(14.2%)에서 관찰되었으며, 조직학적 검사 결과 파라티푸스 결절 또는 문맥 삼각주의 담관염에 의한 병변임을 알 수 있었다. 장과 간의 병변을 제외하고 다른 실질 장기에서 살모넬라증 특이 병변은 관찰되지 않았으며 이를 토대로 제주도에서 문제시되고 있는 살모넬라증은 패혈증형이 아닌 장염형임을 확인할 수 있었다 [7, 18]. 특히 살모넬라증에서 육안으로 병변을 관찰하지 못한 예에서도 병리조직학적 병변이 확인된 경우가 매우 많았다. 그러므로 살모넬라증 감염이 의심되는 야외 시료에 대해서는 대장과 간을 비롯한 대상 장기에 대한 병리조직학 검사가 반드시 이루어져야 확실한 진단을 할 수 있을 것으로 판단된다.

살모넬라증으로 확진된 13두 돼지에서는 대장의 점막하층에 분포하고 있는 GALT에서 림프구의 소실 또는 고갈이 관찰되었다. 이 병변은 장염형 살모넬라증에서 나타나는 림프구의 변화상과는 다르며, PCV2 감염으로 인한 전신 림프절의 병변과 매우 유사한 양상을 띠고 있다 [16]. 따라서 GALT에 형성된 림프구 소실 병변의 발생기전이 PCV2에 의한 것인지 밝히기 위한 추가적인 실험이 필요할 것으로 생각한다.

전 세계적으로 국가별 또는 시대별로 문제시되는 살모넬라균의 혈청형은 지속해서 바뀌는 양상을 나타낸다. 미국에서는 1986년 검사 시에는 *S. Choleraesuis*가 71%로 가장 높고, *S. Typhimurium*은 10% 이하였으나, 2005년에는 *S. Typhimurium*이 36%, *S. Choleraesuis*는 9%로 낮게 나타났다 [4]. 일본의 경우 1998년부터 1999년 사이 조사에서는 *S. Agona*(28.4%), *S. Typhimurium*(17.9%), *S. Infantis*(16.4%)의 순으로 나타났지만 2004년부터 2005년에는 *S. Typhimurium* (32.5%), *S. Anatum*(24.6%), *S. Infantis*(13.5%) 순으로 확인되었다 [5]. 따라서 국가별로 유행하는 살모넬라균의 혈청형은 지속해서 변화하고 있으며, 특히 *S. Typhimurium*이 많이 증가하는 양상을 보인다. 본 연구에서 살모넬라증으로 진단된 107두에서 살모넬라균에 대한 혈청형 동정 결과 *S. Typhimurium*이 82두(76.6%)로 가장 높게 검출되어 다른 국가의 최근 상황과 대체로 유사한 것으로 확인되었다. 비록 최근 *S. Choleraesuis*의 발생 빈도가 낮아지는 상황이지만, 이 균체 감염에 의한 패혈증 발생 시 양돈장에 큰 피해를 줄 수도 있기 때문에 본 균체를 포함한 살모넬라에 대한 꾸준한 모니터링은 질병 방역에 있어서 매우 중요할 것으로 생각한다.

제주도에서는 돼지에서 살모넬라증이 거의 연중 발생하고 있으며, 포유자돈 시기에 발생하기 시작하여 모체 이행 항체가 떨어지는 이유자돈 시기에 발생 빈도가 급격히 증가하였다. 살모넬라 균체가 단독 감염되는 경우보다 다른 병원체와 혼합 감염되는 경우가 빈번하게 발생하고 있다. 특히 혼합

감염에서는 만성 소모성 질병을 유발하는 PCV2와 급성 또는 만성 호흡기 질병을 유발하는 PRRSV와의 혼합 감염이 가장 많은 빈도를 차지하였다. 이러한 결과는 국내외의 다른 보고와 대체로 일치하는 상황이었다 [8, 14, 17]. 따라서 제주도에서는 소모성 바이러스 질병에 대한 철저한 예방접종과 살모넬라균 감염원을 제거하는 적극적인 차단 방역이 필요하다.

## References

1. Chiu TH, Pang JC, Hwang WZ, Tsen HY. Development of PCR primers for the detection of *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis based on the *fliC* gene. *J Food Prot* 2005, **68**, 1575-1580.
2. Choi W, Lee H, Yeo S, Lee H, Jung S. A epizootiological study of *Salmonella* infection on piggery. II. A study on drug resistance and R plasmids in *Salmonella*. *Korean J Vet Res* 1986, **26**, 229-235.
3. Edwards PR, Ewing WH. Identification of Enterobacteriaceae. 4th ed. pp. 17-21. Elsevier Science, New York, 1986.
4. Foley SL, Lynne AM, Nayak R. *Salmonella* challenges: prevalence in swine and poultry and potential pathogenicity of such isolates. *J Anim Sci* 2008, **86** (E Suppl), E149-162.
5. Futagawa-Saito K, Hiratsuka S, Kamibeppu M, Hirasawa T, Oyabu K, Fukuyasu T. *Salmonella* in healthy pigs: prevalence, serotype diversity and antimicrobial resistance observed during 1998-1999 and 2004-2005 in Japan. *Epidemiol Infect* 2008, **136**, 1118-1123.
6. Gillespie J, Opriessnig T, Meng XJ, Pelzer K, Buechner-Maxwell V. Porcine circovirus type 2 and porcine circovirus-associated disease. *J Vet Intern Med* 2009, **23**, 1151-1163.
7. Griffith RW, Schwartz KJ, Meyerholz DK. Salmonellosis. In: Straw BE, Zimmerman JJ, D'Allaire S, Taylor DJ (eds.). *Diseases of Swine*. 9th ed. pp. 739-754. Blackwell, Ames, 2006.
8. Ha Y, Jung K, Kim J, Choi C, Chae C. Outbreak of salmonellosis in pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *Vet Rec* 2005, **156**, 583-584.
9. Harding JCS, Clark EG, Strokappe JH, Willson PI, Ellis JA. Postweaning multisystemic wasting syndrome: epidemiology and clinical presentation. *Swine Health Prod* 1998, **6**, 249-254.
10. Kim HJ, Park SH, Kim HY. Comparison of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium LT2 and non-LT2 *Salmonella* genomic sequences, and genotyping of salmonellae by using PCR. *Appl Environ Microbiol* 2006, **72**, 6142-6151.
11. Larochelle R, Antaya M, Morin M, Magar R. Typing of porcine circovirus in clinical specimens by multiplex PCR. *J Virol Methods* 1999, **80**, 69-75.
12. Lim SK, Byun JR, Nam HM, Lee HS, Jung SC. Phenotypic and genotypic characterization of *Salmonella* spp. isolated from pigs and their farm environment in Korea. *J Microbiol Biotechnol* 2011, **21**, 50-54.
13. Lim SK, Lee HS, Nam HM, Jung SC, Koh HB, Roh IS. Antimicrobial resistance and phage types of *Salmonella* isolates from healthy and diarrhetic pigs in Korea. *Foodborne Pathog Dis* 2009, **6**, 981-987.



14. **Murakami S, Ogawa A, Kinoshita T, Matsumoto A, Ito N, Nakane T.** Occurrence of swine salmonellosis in postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) affected pigs concurrently infected with porcine reproduction and respiratory syndrome virus (PRRSV). *J Vet Med Sci* 2006, **68**, 387-391.
15. **Park SJ, Jung JY, Kang SC, Ko MS, Lee SS, Son WG, Kim JH.** Prevalence of enteric bacterial pathogens in grower pigs in Jeju-do. *J Vet Clin* 2011, **28**, 81-86.
16. **Segalés J, Rosell C, Domingo M.** Pathological findings associated with naturally acquired porcine circovirus type 2 associated disease. *Vet Microbiol* 2004, **98**, 137-149.
17. **Takada-Iwao A, Nakanishi M, Souma J, Chikata S, Okuda Y, Imai Y, Sato S.** Porcine circovirus type 2 potentiates morbidity of *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis in Cesarean-derived, colostrum-deprived pigs. *Vet Microbiol* 2011, **154**, 104-112.
18. **Wilcock BP, Armstrong CH, Olander HJ.** The significance of the serotype in the clinical and pathological features of naturally occurring porcine salmonellosis. *Can J Comp Med* 1976, **40**, 80-88.
19. **Wilcock BP, Olander HJ.** The pathogenesis of porcine rectal stricture. I. The naturally occurring disease and its association with salmonellosis. *Vet Pathol* 1977, **14**, 36-42.
20. **Wilcock BP, Olander HJ.** The pathogenesis of porcine rectal stricture. II. Experimental salmonellosis and ischemic proctitis. *Vet Pathol* 1977, **14**, 43-55.
21. **Yang HS, Kang WC, Ko JA, Bae JH, Kim JH.** Seroprevalence of *Salmonella* Typhimurium in the pigs raised in Jeju Province, Korea. *Korean J Vet Serv* 2015, **38**, 71-75.