



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

博士學位論文

제주도 내 돼지 살모넬라증의
발생양상 분석 및 병리학적 연구

濟州大學校 大學院

獸醫學科

梁 亨 碩

2013年 7月



제주도 내 돼지 살모넬라증의
발생양상 분석 및 병리학적 연구

指導教授 裴宗熙

梁亨碩

이 論文을 獸醫學 博士學位 論文으로 提出함

2013年 7月

梁亨碩의 獸醫學 博士學位 論文을 認准함

審査委員長 _____

委 員 _____

委 員 _____

委 員 _____

委 員 _____

濟州大學校 大學院

2013年 7月

목 차

Abstract	iii
List of Tables	vi
List of Figures	x
총 설	1
제 1 장. 돼지에서 <i>Salmonella</i> Typhimurium 항체가 조사	5
I. 서 론	6
II. 재료 및 방법	8
III. 결 과	10
IV. 고 찰	14
제 2 장. 돼지 살모넬라증에 대한 병리학적 연구.....	16
I. 서 론	17
II. 재료 및 방법	20
III. 결 과	29
IV. 고 찰	48

제 3 장. PCV2 및 PRRSV가 <i>Salmonella</i> Typhimurium 장염 에 미치는 영향	53
I. 서 론	54
II. 재료 및 방법	56
III. 결 과	59
IV. 고 찰	66
 총 결 론	 69
 참고문헌	 71
 요 약	 82

Prevalence and Pathologic Study of Porcine Salmonellosis in Jeju

Hyoung-Seok Yang

(Supervised by professor Jong-Hee Bae)

Department of Veterinary Medicine

Graduate School, Jeju National University, Jeju, Korea

Abstract

Porcine salmonellosis is an economically important disease affecting the global pig industry today. *Salmonella* (S.) Typhimurium is highly contagious, and infection may rapidly spread within pig populations of herd.

To investigate the infectious rate of swine 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 in Jeju, and the mean seropositive rate of individual pigs was 18.8%. The mean seropositive rate of salmonella 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 that 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.

According to survey using 1,191 pigs from 2003 to 2012, 155 pigs (13.0%) were diagnosed as salmonellosis in Jeju. Major porcine salmonellosis cases (88.4%) were focused in 4~12 weeks-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 (PRRSV) and porcine circovirus type 2 (PCV2) 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. Two pigs infected with *S. Rissen* showed similar histopathologic lesions such as ulcerative colitis and paratyphoid nodules in the case of *S. Typhimurium* infection.

In this study, we applied MALDI-TOF MS to identify *S. spp.* from isolated bacteria using porcine large intestinal contents or feces. A total of 41 strains were confirmed as *S. spp.* by MALDI-TOF, and this was consistent with the results of polymerase chain reaction (PCR). MALDI-TOF MS has great benefits such as reducing the time for identification less than ten minutes and easy system to operate.

To examine the presence of *S. Typhimurium* and viral antigens such as PRRSV and PCV2 in enteric lesions of porcine salmonellosis, 64 cases were classified as group A (24 cases, *S. Typhimurium*), group B (11 cases, *S. Typhimurium* + PCV2), group C (16 cases, *S. Typhimurium* + PRRSV) and group D (13 cases, *S. Typhimurium* + PCV2 + PRRSV). Comparing with group A, ulcerative enteritis in large intestine was little more prevalent in the PCV2 infected pigs in group B and D. And also lymphoid depletion in gut-associated lymphatic tissue (GALT) of large intestine were detected in

PCV2 positive group B (36.4%) and D (30.8%).

According to the results of immunohistochemistry (IHC), PCV2 antigens (20/24 pigs, 83.3%) were more prevalently distributed in the intestinal lesions of porcine salmonellosis than PRRSV antigens (3/29 pigs, 10.3%). PCV2 were also detected in the lymphoid depleted GALT of the large intestine from 7 of the 8 pigs (87.5%), but PRRSV were not found in all cases. It may explain that PCV2 can play a certain immunological role to enhance secondary bacterial infection in porcine alimentary tracts.

Key words : IHC, lymphoid depletion, MALDI-TOF MS, PCR, PCV2, PRRSV,
Salmonella Typhimurium

List of Tables

Chapter 1

Table 1-1. Number of pigs examined for seroprevalence of <i>S.</i> Typhimurium in Jeju from 2009 to 2012	8
Table 1-2. Annual seroprevalence for <i>Salmonella</i> Typhimurium in tested pigs	11
Table 1-3. Seasonal seroprevalence for <i>Salmonella</i> Typhimurium in tested pigs	12
Table 1-4. Regional seroprevalence for <i>Salmonella</i> Typhimurium in tested pigs in Jeju	13

Chapter 2

Table 2-1. Oligonucleotide primer sets for the serotyping of <i>Salmonella</i> spp.	24
--	----

Table 2-2. PCR condition for the serotyping of <i>Salmonella</i> spp.	24
Table 2-3. Meaning of score values by matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry	27
Table 2-4. Oligonucleotide primer sets for the detection of <i>Salmonella</i> spp.	27
Table 2-5. PCR condition for the classification of <i>Salmonella</i> spp.	28
Table 2-6. Annual prevalence of porcine salmonellosis in Jeju from 2003 to 2012	29
Table 2-7. Seasonal prevalence of porcine salmonellosis in Jeju from 2003 to 2012	31
Table 2-8. Prevalence of porcine salmonellosis according to pig ages in Jeju from 2003 to 2012	31
Table 2-9. Regional occurrences of porcine salmonellosis in Jeju	32
Table 2-10. Frequency of clinical signs associated with porcine	

salmonellosis	33
Table 2-11. Frequency of gross findings in major target organs of porcine salmonellosis	34
Table 2-12. Frequency of histopathologic lesions in major target organs of porcine salmonellosis	36
Table 2-13. Infection status of <i>Salmonella</i> spp. and other pathogens in 155 pigs in Jeju	38
Table 2-14. PCR results of <i>Salmonella</i> species analysis using bacterial colony and paraffin block	40
Table 2-15. Number of isolates identified as <i>Salmonella</i> spp. by matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry analysis	42

Chapter 3

Table 3-1. Experimental pig groups according to infectious status

.....	56
Table 3-2. The number of tested pigs for the detection of porcine circovirus type 2 and porcine reproductive and respiratory syndrome virus using immunohistochemistry	
.....	58
Table 3-3. Primary antibodies for the detection of porcine circovirus type 2 and porcine reproductive and respiratory syndrome virus	
.....	58
Table 3-4. Comparison of the frequency of histopathologic lesions in four experimental groups	
.....	60
Table 3-5. Results of antigen detection for porcine circovirus type 2 and porcine reproductive and respiratory syndrome virus in large intestines using immunohistochemistry	
.....	61
Table 3-6. Comparison of histopathologic lesions in large intestine of experimental pig groups	
.....	62
Table 3-7. Result of antigen detection for porcine circovirus type 2 and porcine reproductive and respiratory syndrome virus in lymphoid depleted GALT using immunohistochemistry	
.....	63

List of Figures

Chapter 2

Fig. 2-1. Annual prevalence of porcine salmonellosis in Jeju from 2003 to 2012.
..... 30

Fig. 2-2. Co-infected pathogens associated with the case of porcine salmonellosis in Jeju.
..... 39

Fig. 2-3. PCR products of *Salmonella* Typhimurium from isolated bacterial colonies.
..... 41

Fig. 2-4. PCR products of *Salmonella* spp. from isolated bacterial colonies.
..... 42

Fig. 2-5. Spiral colon showed severe diffuse thickening. Note multifocal pale to white foci in the liver.
..... 44

Fig. 2-6. Note diffuse fibrinous exudates (A) and multifocal to coalescing ulceration (B) on colonic mucosa.
..... 44

Fig. 2-7. Pig showed marked abdominal distension associated with rectal stricture.

..... 45

Fig. 2-8. Note severe distended mega-colon (A) and rectal stricture (B).

..... 45

Fig. 2-9. Colonic mucosa was covered with diffuse fibrinous exudates and necrotic cellular debris. Gut associated lymphatic tissues showed sparse lymphocyte population.

..... 46

Fig. 2-10. Severe ulceration (arrows) and submucosal infiltration of inflammatory cells (arrow heads) in the colon.

..... 46

Fig. 2-11. Severe lymphoid depletion were observed at the gut associated lymphatic tissues in colon.

..... 46

Fig. 2-12. Note numerous basophilic intracytoplasmic inclusion bodies in infiltrated histiocytes of gut associated lymphatic tissues.

..... 46

Fig. 2-13. Paratyphoid nodule in liver. Insert: Note infiltrated macrophages and lymphocytes in necrotic foci.

..... 47

Fig. 2-14. Cholangitis and bile duct hyperplasia (arrow) were observed in the portal triad of liver.
 47

Chapter 3

Fig. 3-1. The colon of Group B. Numerous positive reaction for PCV2 antigens in the GALT and lamina propria.
 65

Fig. 3-2. The colon of Group C. Positive reaction for PRRSV antigens in the GALT.
 65

Fig. 3-3. The colon of Group D. Positive reaction for PCV2 antigens in the GALT and lamina propria.
 65

Fig. 3-4. The colon of Group D. PCV2 antigens were demonstrated in lymphoid depleted GALT. Note strong positive reactions in intracytoplasmic inclusion bodies. Insert: PCV2 antigens in the cytoplasm of multinucleated giant cell.
 65

총 설

1886년 Smith와 Salmon은 돼지 열병(classical swine fever)으로 폐사된 돼지에서 살모넬라(*Salmonella*; *S.*) 속 균인 *S. Choleraesuis*를 최초로 분리하였다 [Molorny 등, 2001]. 살모넬라 속 균은 장내세균과(Enterobacteriaceae)에 속하는 그람음성의 통성 혐기성 간균으로 *S. bongori* 및 *S. enterica*로 나뉜다. 이 2개의 종(species) 중 사람과 동물에서 병원성을 발현하는 종은 *S. enterica*이며, 이 종은 다시 6개의 아종(subspecies; subsp.)인 *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizoanae*, *houtenae* 및 *indica*로 구분된다. 이 중에 가장 문제시 되는 아종은 *S. enterica* subsp. *enterica*이며, 이 균체들은 혈청형, 생물형 및 과지형에 따라 좀 더 세분된다 [Koneman 등, 1997; Popoff 등, 2004]. 살모넬라 균체의 표면항원은 균체항원(O-antigen), 편모항원(H-antigen) 및 표면캡슐항원(Vi-antigen)이 있으며, Kauffman-White serological scheme에 의해 균체의 혈청형이 구분되고 있다 [Edwards와 Ewing, 1986]. 현재까지 알려진 혈청형은 약 2,500여 종이 있으며 그 중 200여종이 비교적 높은 발생을 보이고 있다 [Baggesen 등, 2000; Chiu 등, 2005a].

살모넬라균은 숙주에 대한 적응력이 뛰어나 종 특이성이 있는 균체와 그렇지 않은 균체로 뚜렷하게 구분된다. 종 특이성이 있는 균체 혈청형 중 *S. enterica* subsp. *enterica* serotype Typhi (*S. Typhi*) 및 *S. Paratyphi*는 사람에, *S. Dublin*은 소, *S. Choleraesuis*는 돼지, *S. Pullorum* 및 *S. Gallinarum*은 닭, *S. Abortusovis*는 양에 감염된다. 종 특이성이 낮은 혈청형에는 *S. Typhimurium* 및 *S. Enteritidis*가 대표적이며, 이 균체들은 사람을 포함한 거의 모든 동물에 감염되어 장염 및 패혈증을 유발시킨다 [Baggesen 등, 2000; Rabsch 등, 2002].

*S. Typhimurium*은 거의 전 세계적으로 분포하고 있으며 사람, 소, 말, 양, 개, 조류, 설치류 등 대부분의 동물에 감염되어 장염, 패혈증, 유산 등을 유발시킨다. 특히 사람에서는 식중독도 유발할 수 있기 때문에 공중보건학적으로 매우 중요하다 [Davies 등, 2004; Rabsch 등, 2002; van Duijkeren 등, 2002]. 사람에서 식

품에 오염된 균체에 의해 유발되는 식중독에서 살모넬라균은 매우 빈번하게 관여하고 있으며, 미국에서는 전체 발생 식중독 중 약 30%를 차지하고 있다 [Taibtt 등, 2004]. 국내에서도 식중독 유발 세균 중 가장 높은 발생 빈도를 나타내고 있다 [김, 2000]. 최근에는 해외뿐 아니라 국내에서도 국민의 건강 증진을 위하여 축산물의 안전성과 철저한 위생관리를 확보하기 위하여 축산물의 생산과 유통과정 전반에 대한 위해요소중점관리기준(hazard analysis critical control point; HACCP) 제도가 도입되었다 [Hong 등, 2008; Hulebak과 Schlosser, 2002]. 이 제도는 축산물의 생산 단계부터 식탁에 오르기까지 전 과정에서 사람에게 위해를 가할 수 있는 각종 병원체를 제거하는 내용이 포함되며, 그 중 살모넬라 균체의 부재는 매우 엄격하게 규정되어 있다.

돼지에서 살모넬라증은 이유자돈, 육성돈 및 비육돈에서 패혈증과 장염을 유발한다. 패혈증은 *S. Choleraesuis*가 주로 관여하고, 장염은 대부분 *S. Typhimurium* 감염에 의해 발생하지만 때로 *S. Choleraesuis*에 의해서도 발생할 수 있다 [Griffith 등, 2006].

살모넬라균을 비롯한 장내세균 병원체가 동물의 장관 내로 유입되었을 경우 중요한 면역기능을 수행하는 장기에 있는 장 관련 림프조직(gut-associated lymphatic tissue; GALT)이 있다. 조직학적으로 GALT는 홀림프소절(solitary lymphatic nodules)과 무리림프소절(aggregated lymphatic nodules)로 크게 나눌 수 있고 점막상피 밑 결합조직에서 주로 관찰된다. 특히 소장에서 관찰되는 무리림프소절을 파이어판(Peyer's patch)이라 명명하고 있으며 회장에서 가장 현저하게 관찰된다. 또한 대장 부위인 결장 또는 직장에서도 무리림프소절과 홀림프소절이 산재하여 있다. GALT의 점막밑 림프소절 위로 솟아오른 둥근지붕모양부위의 장관 상피에는 M 세포(microfold cell)가 있다 [Nicader 등, 1993]. M 세포는 항원을 포획하여 세포내로 이동시켜 면역반응을 일으키게 하는 역할을 한다. 균체에 오염된 환경 또는 사료 등과 함께 살모넬라균이 섭취되어 소장에 이르면 장관 내 M 세포를 통하여 체내로 유입되어 GALT에 이르게 된다. 이 후 균체는 장간막 림프절로 이동한 다음 큰포식세포 및 중성호성 백혈구 등의 탐식세포에 포획되어 혈류를 타고 순환하여 간과 비장으로 이동하게 된다 [Carter와 Collins, 1974; Gewritz 등, 1999; Sansonetti와 Phalipon, 1999; Siebers와 Finlay, 1996].

따라서 살모넬라증의 발생 기전에서 장관 내 GALT는 균체의 감염과 체내 전파에 매우 중요한 역할을 하고 있다.

최근 전 세계적으로 돼지 농장에서 막대한 경제적 피해를 입히고 있는 소모성 질병의 원인체로는 돼지 썬코바이러스 2형(porcine circovirus type 2; PCV2)과 돼지 생식기 호흡기 증후군 바이러스(porcine reproductive and respiratory syndrome virus; PRRSV)가 있다. 이 중 PCV2는 이유 자돈에서 전신적인 위축, 면역저하 등의 증상을 보이는 이유후 전신 소모성 증후군(postweaning multisystemic wasting syndrome; PMWS), 돼지 피부염 및 신증 증후군(porcine dermatitis and nephropathy syndrome; PDNS), 번식장애 등 다양한 형태의 질병을 유발하는 것으로 알려져 있으며, 육안적으로 전신 림프절의 현저한 종대를 특징적으로 나타낸다 [Gillespie 등, 2009; Opriessnig 등, 2007; Segalés, 2012]. 자연 감염 시 PCV2의 1차 증식은 편도 혹은 국소 림프절의 큰포식세포 및 항원제시세포(antigen-presenting cell) 등에서 이뤄지며, 증식된 바이러스는 림프액과 혈액을 통해 전신 장기로 확산되게 된다. PCV2 감염 시 나타나는 림프기관의 림프구 고갈과 말초 혈액에서 림프구감소증의 원인으로는 골수의 림프구 생성 감소, 림프조직에서의 림프구 증식 감소 및 바이러스에 의한 림프구 괴사 혹은 세포자멸사 등이 제시되었다 [Opriessnig 등, 2007]. PRRSV는 자돈에서 호흡기 증상, 임신돈에서는 유, 사산 등의 번식장애를 유발하는 질병으로서, 바이러스에 감염된 자돈에서 나타나는 림프절의 주요 병변은 림프소절의 증식과 함께 종자중심의 단핵 세포 괴사가 특징이다 [Kawashima 등, 1999; Rossow, 1998]. 따라서 PRRSV도 돼지에서 면역기능을 저하시킬 수 있는 중요한 원인체로 간주되어지고 있다.

돼지에서 이와 같은 소모성 바이러스 병원체에 감염되어 면역이 억제된 상태에서 살모넬라증의 혼합 감염이 증가하고 있음이 여러 나라에서 보고되고 있다. 국내에서는 24개 돼지 농장을 대상으로 검사한 결과 37두가 살모넬라증으로 진단되었으며, 그 중 22두(59.5%)에서 PCV2와의 혼합 감염이 확인되었다 [Ha 등, 2005]. 살모넬라균 감염으로 확인된 37예에서는 균체 혈청형별로 *S. Typhimurium* 23두(62.2%), *S. Choleraesuis* 2두(5.4%) 및 기타 혈청형은 12두(32.4%)로 검출되었다. 일본에서는 40-90일령 돼지 14두를 대상으로 면역조직화

학 염색 기법을 이용하여 조직 내 살모넬라균, PRRSV 및 PCV2 항원을 검사하였다 [Murakami 등, 2006]. 그 결과 세 가지 병원체가 혼합 감염되어 있는 예가 5두(55.6%)로 나타났으며, 나머지 4두(44.4%)의 경우 살모넬라와 PCV2 또는 PRRSV의 혼합 감염이 각각 2두(22.2%)로 확인되었다. 따라서 살모넬라 균체의 단독 감염보다는 다른 바이러스와의 혼합 감염이 더욱 빈발하고 있음을 보고하였다.

제주도를 비롯한 국내 대부분의 돼지 농장에서는 살모넬라증을 근절하지 못하고 있는 상황이며, PRRSV 또는 PCV2 같은 바이러스나 다른 세균들과 혼합 감염으로 인한 피해가 증가하고 있는 실정이다 [Kim 등, 2004; Kim 등, 2006; Chae 등, 2012]. 특히 제주의 경우 한반도에서 떨어져 있는 차단된 지역이며, 정책 상 국내 다른 지역의 돼지가 제주도로 유입되지 못하는 특수한 상황에 놓여 있다. 따라서 살모넬라증을 포함하는 생산성 저해 질병의 발생이 타 지역과 큰 차이가 있을 것으로 추정되고 있으나, 이에 대한 심도 깊은 연구가 미흡한 실정이다.

본 연구는 제주도 내 돼지를 대상으로 혈청학적 기법을 통한 살모넬라 항체 검사와 함께 야외 돼지 시료에 대한 부검을 실시한 후 균체 분리를 시도하였으며, 또한 살모넬라증으로 진단된 예의 병리학적 병변의 특징을 조사하였다. 분리된 균체에 대하여 혈청형 검사를 수행하였으며, 균체 동정에 MALDI-TOF 질량 분석법(matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry)을 적용하여 보았다. 특히 *S. Typhimurium* 감염으로 확진된 돼지의장에서 PRRSV, PCV2 등의 면역억제 바이러스의 존재 여부를 검사하였으며, 세균 단독 감염과 바이러스와의 혼합 감염에 따른 병리조직학적 병변의 차이를 규명하고자 하였다.

제 1 장

돼지에서 *Salmonella* Typhimurium 항체가 조사

Seroprevalence of *Salmonella* Typhimurium
in Pigs

I. 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].

국내외에서는 살모넬라증 발생의 위험요인(risk factor)에 대한 분석을 위하여 활발한 연구가 진행되고 있다. Funk와 Gebreyes [2004]는 살모넬라증 발생의 돼지 농장 내 위험요인으로 모돈, 설치류나 야생동물, 오염된 사료, 사료의 성상, 환경온도, 돈군의 건강상태 등을 제시하였다. Beloeil 등 [2007]은 89개 돼지 농장에서 사육형태, 항생제 처치 유무 및 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. 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 [Stege 등, 2000]. 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 장간막 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]. 그러나 MAT 검사에 이용되는 키트는 ELISA에 비하여 비용이 저렴하고, ELISA reader와 같은 기기를 필요로 하지 않기 때문에 많은 시료를 검사할 경우에는 매우 경제적이다 할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 제주도 전역에서 수집된 돼지 혈청에 대하여 MAT 방법을 적용한 혈청검사를 통하여 제주도내 살모넬라증의 발생 상황을 파악하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시동물

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 1-1). 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 1-1. Number of pigs examined for seroprevalence of *Salmonella* Typhimurium in Jeju from 2009 to 2012

Animal (age)	Year				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

2. Microplate agglutination test (MAT)

혈청검사는 *S. Typhimurium*을 배양하여 불활화시킨 균체항원으로 제작된 ST MAT Reagent (MEDIAN Diagnostics Inc., Korea)를 사용하는 마이크로 플레이트 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 μl 씩의 희석액을 분주하였다. 비동화된 혈청들은 첫 번째 well에 10 μl 씩 첨가한 후 2번에서 11번 well까지 50 μl 씩 2진 계단 희석하였다. MAT 항원을 모든 well에 50 μl 씩 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 평판한 장소에서 검은 종이 위에 플레이트를 놓고 응집을 판독하였다. 실험의 유효성 검증은 양성대조의 경우 응집역가가 160배 이상, 음성대조는 40배 미만인 것으로 판단하였다. 결과 판정은 응집반응이 억제된 마지막 희석배수를 가검 혈청의 역가로 판정하였으며, 40배 이상에서 응집반응을 보인 경우 양성으로 간주하였다.

Ⅲ. 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 1-2). 2010년 이후에는 14.3-16.0% 정도로 매년 비슷한 수준의 양성률을 나타내었다.

돼지의 연령별로 혈청 검사 결과를 비교하였을 때 20일령에서 130일령까지의 자돈에서는 6.7%로 나타난 반면, 처녀돈을 포함한 모돈에서는 46.7%를 보이고 있어 약 7배 이상의 높은 항체 양성률을 나타내었다. 자돈에서는 20일령의 포유 자돈에서 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.

Table 1-2. Annual seroprevalence for *Salmonella* Typhimurium in tested pigs

Animal (age)	Year				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%)	
≤ P2	220 (73.3%)	116 (38.5%)	199 (39.0%)	141 (51.3%)	676 (48.8%)	1,816/3,889 (46.7%)
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%)	
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%)	602/8,996 (6.7%)
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 (18.8%)

* sero-positive pigs (%), P: parity, D: day

계절별로는 겨울에 가장 높은 42.7%의 항체 양성률을 나타내었고, 봄 22.3%, 가을 17.2%, 여름 15.3%의 순으로 낮아지고 있었다(Table 1-3). 검사한 모든 연령에서 겨울철에 가장 높은 항체 양성률을 보이다가 봄철에 현저하게 떨어진 뒤 여름철을 지난 후 다시 양성률이 증가하는 경향을 나타내었다.

Table 1-3. Seasonal seroprevalence for *Salmonella* Typhimurium in tested pigs

Animal (age)	Season				Total (n=12,885)
	Winter (n=260)	Spring (n=3,734)	Summer (n=2,961)	Autumn (n=5,930)	
Gilt	15 (68.2%)*	121 (36.9%)	70 (27.8%)	162 (31.3%)	368 (32.9%)
≤ P2	22 (84.6%)	218 (53.3%)	142 (44.4%)	294 (46.0%)	676 (48.8%)
P3 ≤	20 (76.9%)	268 (65.7%)	148 (47.0%)	336 (53.0%)	772 (55.8%)
20 D	15 (21.4%)	55 (5.7%)	21 (2.7%)	57 (3.7%)	148 (4.4%)
40 D	5 (17.2%)	17 (4.2%)	6 (1.9%)	14 (2.2%)	42 (3.0%)
70 D	7 (24.1%)	43 (10.6%)	9 (2.7%)	34 (5.2%)	93 (6.6%)
100 D	14 (48.3%)	49 (12.1%)	18 (5.5%)	52 (7.9%)	133 (9.4%)
130 D	13 (44.8%)	62 (15.3%)	39 (11.9%)	72 (11.0%)	186 (13.1%)
Total	111 (42.7%)	833 (22.3%)	453 (15.3%)	1,021 (17.2%)	2,418 (18.8%)

* sero-positive pigs (%), P: parity, D: day

지역별로 항체 양성률을 비교한 결과 서귀포시와 제주시가 각각 19.1% 및 18.6%로 나타나 큰 차이를 보이지는 않았다(Table 1-4).

검사 의뢰된 농장별로 제주도 66개 농장 및 서귀포시 30개 농장 모두 *S. Typhimurium* 항체 양성 농장으로 확인되었다.

Table 1-4. Regional seroprevalence for *Salmonella* Typhimurium in tested pigs in Jeju

Animal (age)	Location		Total (n=12,885)
	Jeju-si (66 farms, n=8,308)	Seogwipo-si (30 farms, n=4,577)	
Gilt	261 (36.3%)*	107 (26.8%)	368 (32.9%)
≤ P2	439 (49.3%)	237 (47.9%)	676 (48.8%)
P3 ≤	513 (57.3%)	259 (53.1%)	772 (55.8%)
20 D	96 (4.4%)	52 (4.4%)	148 (4.4%)
40 D	21 (2.3%)	21 (4.2%)	42 (3.0%)
70 D	41 (4.5%)	52 (10.3%)	93 (6.6%)
100 D	70 (7.7%)	63 (12.5%)	133 (9.4%)
130 D	103 (11.3%)	83 (16.5%)	186 (13.1%)
Total	1,544 (18.6%)	874 (19.1%)	2,418 (18.8%)

* sero-positive pigs (%), P: parity, D: day

IV. 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%, 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 [Funk 등, 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. 제주도에서 항체 양성률이 낮은 것은 한 국가 내에서도 지역별로 본 질병에 대한 감염 양상이 다르고, 지역별로 돼지 사육 형태도 다르기 때문인 것으로 판단된다. 제주 지역의 경우 국내 다른 지역에 비하여 남쪽에 위치하고 있기 때문에 연평균 기온이 높고, 일교차도 크지 않으며 겨울철 기간도 짧은 편이다. 따라서 다른 지역보다 온도 및 계절 변화로 인한 스트레스 요인이 비교적 적기 때문에 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 닛뿔 2주, 사료 1주 및 농장 중 사자의 손에서 1주가 분리되었다. 이들 균체에 대하여 파지형과 유전형을 분석한 결과 3개 농장에서 분리된 균체에서 동질성이 확인되었으며, 이는 환경에 오염되어 있던 살모넬라 균체가 돼지로 감염될 수 있음을 시사하고 있다. 본 연구에서 치너돈을 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, 이 후 연령이 증가할수록 점차 양성률은 증가하는 추세를 보이고 있었다. 이러한 결과는 모체이행 항체가 거의 소실되는 이유 시기가 지난 후 살모넬라 균체에 노출되어 감염이 이루어지고 그로 인하여 항체 양성률이 증가하고 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. 따라서 혈중 항체 양성률을 근거로 살모넬라증의 발생을 파악하기에는 다소 문제점이 있는 상황이며, 병원체에 대한 검사가 병행되어야 할 것으로 판단된다. 제 1장에서는 *S. Typhimurium*에 대한 항체 조사에 초점을 맞추었으며, 자돈의 경우 이유자돈 시기인 40일령에서 항체 양성률이 가장 낮은 것으로 파악되었다. 돼지에서 이유 시기는 각종 스트레스 요인이 증가하고 모체이행 항체가 떨어지는 시기로 질병에 대한 저항성이 현저히 저하된다. 따라서 제 2장에서는 야외 돼지 시료에서 살모넬라증을 진단하고, 다른 병원체와 혼합 감염되는 양상을 분석하고자 한다.

제 2 장

돼지 살모넬라증에 대한 병리학적 연구

Pathologic Study for Porcine Salmonellosis

I. 서 론

돼지에서 발생하는 살모넬라증은 패혈증형과 장염형으로 나타난다. 패혈증형에는 *S. Choleraesuis*가 주로 관여하며 이유자돈과 비육돈의 귀, 사지 말단부와 복부 피부의 청색증, 간과 비장의 종대, 위의 기저부에 발적 등이 관찰된다. 신장의 피질부에서는 암적색의 불규칙한 점상출혈소가 산재하여 나타나게 되는데 이를 “turkey egg kidney”라 부른다. 소화기계에서는 장간막 혈관의 노장과 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. 조직학적으로는 간에서는 간세포의 응고괴사와 파라티푸스 결절(paratyphoid nodule)을 형성한다. 기타 장기에서는 패혈증의 일환으로 위의 기저부, 피부, 신장, 폐 등의 혈관 내에 섬유소양 혈전을 형성하는 병변이 나타난다 [Griffith 등, 2006; Wilcock 등, 1976].

*S. Typhimurium*의 감염에 의해 대부분 발생하는 장염형의 발생연령도 패혈증형과 비슷한 시기이며, 임상적으로는 황색의 수양성 설사를 보인다 [Griffith 등, 2006]. 만성으로 경과한 일부 돼지에서는 복부팽만을 동반한 직장 협착으로 진행되기도 한다 [Wilcock과 Olander, 1977a; Wilcock과 Olander, 1977b]. 설사로 인해 폐사한 돼지에서의 주요 육안적 병변은 국소성 또는 미만성의 괴사성 장염, 결장염 또는 맹장염이다. 병변은 주로 나선 결장, 맹장 또는 회장에 분포하고 점막 면의 발적과 섬유소의 석출이 관찰된다. 조직학적으로는 점막과 장선 상피세포에는 국소성에서 미만성의 괴사가 나타난다. 심한 경우에는 괴사가 점막면에 한정되지 않고, 점막 근층, 점막하직 및 GALT까지 파급되어 깊은 궤양을 형성하기도 한다. 점막고유관 및 점막하직에는 다수의 큰포식세포 및 중등도의 림프구 침윤이 관찰된다. 궤양 부위에서 *Balantidium (B.) 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, 전

반적인 간 병변의 정도와 간세포의 괴사는 패혈증형에 비하여 경미하게 나타난다 [Griffith 등, 2006; Wilcock 등, 1976].

이유자돈에서 살모넬라증과 감별해야하는 질병으로는 돼지 적리(swine dysentery)와 돼지 증식성 장염(porcine proliferative enteritis)이 있다. 설사 양상의 경우 돼지 적리는 점액성 및 출혈성 설사로 나타나는 반면, 살모넬라증에서는 다량의 황색 설사를 보인다. 돼지 증식성 장염은 점막의 증식 또는 괴사를 동반한 급성 장 출혈 또는 급성 내지 만성 설사를 일으킨다. 세 가지 질병은 부검 시 장 병변의 발생 분포가 다르게 나타나는 특징을 가지고 있다. 살모넬라증은 대부분 결장에 병변을 형성하며, 장간막 림프절의 종대가 동반되어 나타난다. 때때로 소장에도 병변을 형성하기도 하지만 국소적으로 회장에 국한되어 나타난다. 돼지 적리는 대장에 국한되어 미만성으로 나타나며 장간막 림프절의 변화는 거의 발생하지 않는다. 돼지 증식성 장염은 주로 회장에서 출혈성 내지 괴사성 또는 증식성으로 병변을 형성하며 결장에서의 병변은 회장보다 심하지 않다 [Griffith 등, 2006].

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*(41균), *S. Enteritidis*(20균), *S. Typhimurium*(18균) 순으로 확인되었다 [최 등, 1986]. 최근에도 건강한 돼지와 설사 증상을 보이는 돼지로부터 살모넬라균을 분리하고 그 혈청형을 비교한 결과 설사하는 돼지에서 107주의 균체가 분리되었으며, 그 중 96주가 *S. Typhimurium*인 것으로 판명되었다 [Lim 등, 2009]. 기타 균주로는 *S. Enteritidis* 9주, *S. Schwarzengrund* 2주로 확인되었다. 따라서 과거와는 달리 *S. Typhimurium*이 국내 돼지의 설사에 가장 밀접하게 관련되어 있음을 알 수 있었다. 또한 새로운 혈청형의 살모넬라 균체가 문제시 될 가능성도 있는 것으로 확인되었다.

살모넬라 균체의 동정 방법으로는 균 분리 후 생화학검사, API 키트, 바이텍 및 PCR이 주로 이용되고 있다 [Baggesen 등, 1996; Barry 등, 1990; Griffith 등, 2006; Villasante 등, 1987]. 최근에는 MALDI-TOF 질량분석법이 세균 동정 분야에도 응용되어 활용되고 있으며, 균체 동정에 소요되는 시간이 수분 이내로 가능

하기 때문에 신속 검사 기법으로 가치가 높아지고 있고 재현성 또한 높은 것으로 알려져 있다 [Emonet 등, 2010; Saffert 등, 2011; van Veen 등, 2010].

본 연구에서는 2003년부터 2012년까지 검사 의뢰된 돼지 시료를 대상으로 제주도에서 살모넬라증의 발생 상황을 조사하였다. 살모넬라증의 주요 임상증상, 병리학적 특징 및 다른 병원체와의 혼합 감염에 대해서 분석하였다. 살모넬라균 혈청형의 동정을 위하여 분리된 균체와 파라핀 조직 블록을 이용한 PCR 검사를 실시하여 제주도에서 문제시되고 있는 살모넬라 균체의 혈청형을 파악하였다. 또한 분리된 균주에 MALDI-TOF 질량분석법을 적용하여 살모넬라 균체 동정 가능 여부를 확인하였다.

II. 재료 및 방법

야외 시료를 이용한 돼지 살모넬라증 발생상황 조사

1. 공시동물

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

2. 병리학적 검사

검사 의뢰된 돼지는 외관 검사 후 통상적인 부검술식에 준하여 흉강과 복강을 노출시켜 각 장기의 병변을 확인하였다. 특히 살모넬라증 발생 시 특징적인 병변이 호발하는 소장, 대장 및 간 등에 중점을 두어 육안적 소견을 관찰하였다. 부검 시 채취한 내부 장기는 10% 중성완충포르말린 용액에 고정하였다. 고정이 완료된 조직은 병변부위를 세절한 뒤 일반적인 조직처리 방법에 따라 파라핀 포매하여 3~4 μm 두께로 절편을 제작한 다음 hematoxylin and eosin (H&E) 염색을 실시하였다. 염색이 끝난 절편은 봉입 후, 광학현미경(Olympus BX51, Japan)으로 검경하였다.

3. 병원체 검사

돼지 시료에 대한 병원체 검사는 세균과 바이러스로 구분하여 일반적인 진단 기법을 동원하여 실시하였다. 특히 소모성 질병의 원인체인 PCV2 감염을 확진하기 위하여 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction; PCR)과 면역조직화학염색법(immunohistochemistry; IHC)을 수행하였다. PCR은 Larochelle 등 [1999]이 제시한 PCV2 바이러스의 open reading frame 2 유전자를 검출하기 위하여 제작된 primer를 사용하였으며, IHC는 rabbit anti-PCV2 antibody (Iowa State University, USA)를 이용하였다. PRRSV 항원 검사는 역전사효소 PCR (reverse transcriptase PCR; RT-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 부검 시 확인한 각 장기의 병변부에서 무균적으로 조직을 채취하여 혈액 배지 및 MacConkey agar plate (BD Difco, USA)에 도말하여 균체 증식 여부를 확인하였다. 도말한 배지는 37°C에서 24~48시간 동안 배양하였다. 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 candle jar를 이용하여 균체를 분리하였다. *Streptococcus* spp.는 혈액배지에서 증식된 균체의 성장, 그람 염색 결과 및 catalase test를 통하여 확인하였다. 구포자충(Coccidia)은 소장 및 대장에 대한 병리조직학적 검사를 통하여 감염을 확인하였다.

살모넬라 균체 동정 시험

1. 공시동물

2003년부터 2012년까지 제주대학교 수의과대학 병리학교실에 의뢰된 시료에서 돼지 살모넬라증으로 진단된 총 155두 중에서 41두 돼지로부터 분리된 살모넬라 균주와 돼지 66두의 회장 및 맹결장이 포함된 파라핀 블록을 포함시켜 총 107두를 대상으로 실험을 하였다.

2. PCR 검사

1) 균체로부터 DNA 추출

순수 분리된 살모넬라균주 41점을 동정하기 위하여 PCR을 실시하였다. 균체를 Rambach agar plate에 도말하여 37℃에서 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 집락을 현탁하였다. 각 현탁액을 12,000 rpm에서 10분 동안 원심분리 후 상층액을 제거하였다. 침전물에 DNase RNase free distilled water 300 μ l를 넣은 후 100℃에 10분간 정치하고 바로 -20℃에 냉동시켰다. 해동된 침전물을 12,000 rpm에서 10분간 원심 분리한 후 상층액에서 DNA를 추출하였다. .

2) 장 파라핀 블록에서 DNA 추출

포르말린 고정된 돼지의 장 조직에서 감염되어 있는 살모넬라 균체를 동정하기 위하여 파라핀 블록을 이용한 PCR을 수행하였다. 각 블록으로부터 오염되지 않은 조직절편을 채취하기 위해 박절기(microtome)와 박절기용 칼날은 3% 과산화수소수(3% H₂O₂) 및 70% 에탄올을 이용하여 표면에 부착되어 있는 이물질을

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, Japan)을 이용하였다. 절편이 들어있는 1.5 ml eppendorf tube에 0.5 ml의 DEXPAT™액을 가하고 잘 혼합한 다음, 100°C에서 10분간 방치하였다. 열처리가 끝난 시료는 4°C, 12,000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 원심분리가 끝난 시료는 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.

3) Oligonucleotide primer의 제작

S. Typhimurium, *S. Choleraesuis* 및 *S. Paratyphi C*를 동정하기 위한 primer는 Table 2-1에 제시한 염기서열에 준하여 제작하였다.

4) PCR 반응 조건

살모넬라균 동정을 위하여 세균에서 추출한 DNA 2 μl 와 각각의 primer 1 μl (20 pmol) 및 DNase RNase free Distilled water 16 μl 를 AccuPower HotStart PCR Premix (Bioneer K-5050, Korea)에 첨가하여 최종반응 용량이 20 μl 가 되도록 하였다. PCR 반응 조건은 Table 2-2와 같이 설정하였으며, PCR 증폭은 Dice TP600 PCR Thermal Cycler (TaKaRa, Japan)을 이용하였다.

5) PCR 증폭산물의 확인

반응 종료 후, 각각의 반응액 8 μl 씩을 취하여 1.5% agarose gel 상에서 전기영동을 실시한 다음 RedSafe™ Nucleic Acid Staining Solution (iNtRON

biotechnology, Korea) 용액(0.5 $\mu\text{l}/\text{ml}$ in DW)으로 염색하였다. UV transilluminator로 각각의 병원체에 대한 특이적인 밴드 유무를 확인하였다.

Table 2-1. Oligonucleotide primer sets for the serotyping of *Salmonella* spp.

Species	Primer	Sequences (5' to 3')	Size (bp)	Reference
<i>Salmonella</i> Typhimurium	STM4497-f	AAC AAC GGC TCC GGT AAT GA	310	Kim <i>et al.</i> , 2006
	STM4497-r3	TGA CAA ACT CTT GAT TCT GA		
<i>Salmonella</i> Choleraesuis and <i>Salmonella</i> Paratyphi C	FlinC-F	AAG GAA AAG ATC ATG GCA CAA	963	Chiu <i>et al.</i> , 2005b
	FlinC-R	GAA CCC ACC ATC AAT AAC TTT G		

Table 2-2. PCR condition for the serotyping of *Salmonella* spp.

Species	PCR condition		
	Pre-cycle heating	Cycle reactions	Post extension
<i>Salmonella</i> Typhimurium	94°C, 5min	95°C for 45sec, 63°C for 30sec, 72°C for 30sec (30 cycles)	72°C, 3min
<i>Salmonella</i> Choleraesuis and <i>Salmonella</i> Paratyphi C	94°C, 10min	95°C for 45sec, 55°C for 30sec, 72°C for 1min (35 cycles)	72°C, 7min

3. Serotyping

PCR 기법으로 동정되지 않은 살모넬라 균주는 Salmonella-O와 H 항혈청 (Difco, USA)을 이용하여 균체 동정을 하였다. 균체항원의 동정은 고형배지에서 여러 개의 세균집락을 채취하여 평판응집반응으로 검사하였다. 편모항원의 검사는 BHI (brain heart infusion) broth에 배양 후 시험관 시험법(Tube-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 시험관 시험법으로 검사하였다. 검사 후 최종 serotyping은 Kauffmann White scheme에 따라 구분하였다 [Edwards와 Ewing 등, 1986].

MALDI-TOF 질량분석법을 이용한 *Salmonella*. spp. 신속 검출

1. 공시균주

제주대학교 수의과대학 병리학교실에서 돼지 살모넬라증으로 진단된 돼지 41두에서 분리된 균주를 실험에 공여하였다.

2. MALDI-TOF 질량분석법 검사

분리된 균주 41점을 동정하기 위하여 MALDI-TOF 질량분석법을 적용하였다. 균체를 Rambach agar plate에 도말하여 37°C에서 48시간 호기 배양한 다음 전형적인 빨간색 집락을 형성하고 있는 신선한 균체를 실험에 사용하였다. 각 균주에 대해 직접법과 추출법으로 검사를 실시하였다. 직접법은 가는 나무 막대를 이용하여 Rambach agar plate에서 증식된 신선한 세균집락 1~2개를 채취하여 MSP 96 target polished steel plate (Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Germany)의 각 well에 직접 도말하여 5분 동안 건조시킨 후, 1 μ l의 matrix solution (α -cyano-4-hydroxycinnamic acid solution)을 떨어뜨려 건조시켜서 수행하였다. 추출법은 신선한 세균 집락 1~2개를 채취한 다음 1.5 ml 튜브에 증류수 300 μ l를 넣고 혼합시킨 후 100% 에탄올을 첨가하였다. 각 튜브는 16,000 \times g로 2분간 원심분리하였다. 원심분리 후 상층액을 제거하고 70% formic acid와 acetonitrile을 각각 50 μ l 첨가하여 재부유 하였다. 다시 16,000 \times g로 2분간 원심분리하여 상층액 2 μ l를 MSP plate의 각 well에 도말하여 건조한 후 수행하였다. MALDI-TOF에 의한 분석은 MALDI Bruker microflex LT instrument (Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Germany)와 MALDI Biotyper 3.0 software를 이용하였다. 분석된 결과는 표 2-3과 같이 점수로 표시되며, 2,000점 이상인 경우 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

Table 2-3. Meaning of score values by matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry

Score value	Strength of Identification Achieved
2.300-3.000	Highly probable species identification
2.000-2.299	Secure genus identification, probable species identification
1.700-1.999	Probable genus identification
0.000-1.699	Not reliable identification

3. PCR 검사

균주 41점에 대한 MALDI-TOF 질량분석법의 동정 결과와 비교하기 위하여 *S. spp.*에 대한 PCR을 실시하였다. 각 균주의 DNA 분리, PCR 증폭 및 산물의 확인은 앞에 기술한 살모넬라 균체 종동정 시험 방법에 준하여 실시하였다. *S. spp.*의 동정을 위한 primer의 염기서열은 Table 2-4와 같이 제작하여 Table 2-5와 같은 조건으로 PCR을 수행하였다.

Table 2-4. Oligonucleotide primer sets for the detection of *Salmonella* spp.

Species	Primer	Sequences (5' to 3')	Size (bp)	Reference
<i>Salmonella spp.</i>	Replicon P1	TTA TTA GGA TCG CGC CAG GC	163	Widjoatmodjo <i>et al.</i> , 1991
	Replicon P2	AAA GAA TAA CCG TTG TTC AC		

Table 2-5. PCR condition for the detection of *Salmonella* spp.

Species	PCR condition		
	Pre-cycle heating	Cycle reactions	Post extension
<i>Salmonella</i> spp.	94°C, 5min	95°C for 30sec, 52°C for 30sec, 72°C for 1min (30 cycles)	72°C, 5min

Ⅲ. 결 과

돼지 살모넬라증 발생상황 조사

1. 돼지 살모넬라증 발생상황

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 2009년(3.8%)까지 점차 낮아진 후 2010년 이후에는 차츰 증가하는 경향을 보이고 있었다(Table 2-6, Fig. 2-1).

Table 2-6. Annual prevalence of porcine salmonellosis in Jeju from 2003 to 2012

Year	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	Total
No. of pigs	78	91	126	135	138	114	185	136	97	91	1,191
No. of salmonellosis	9	9	25	38	18	1	7	19	12	17	155
%	11.5	9.9	19.8	28.1	13.0	0.9	3.8	14.0	12.4	18.7	13.0

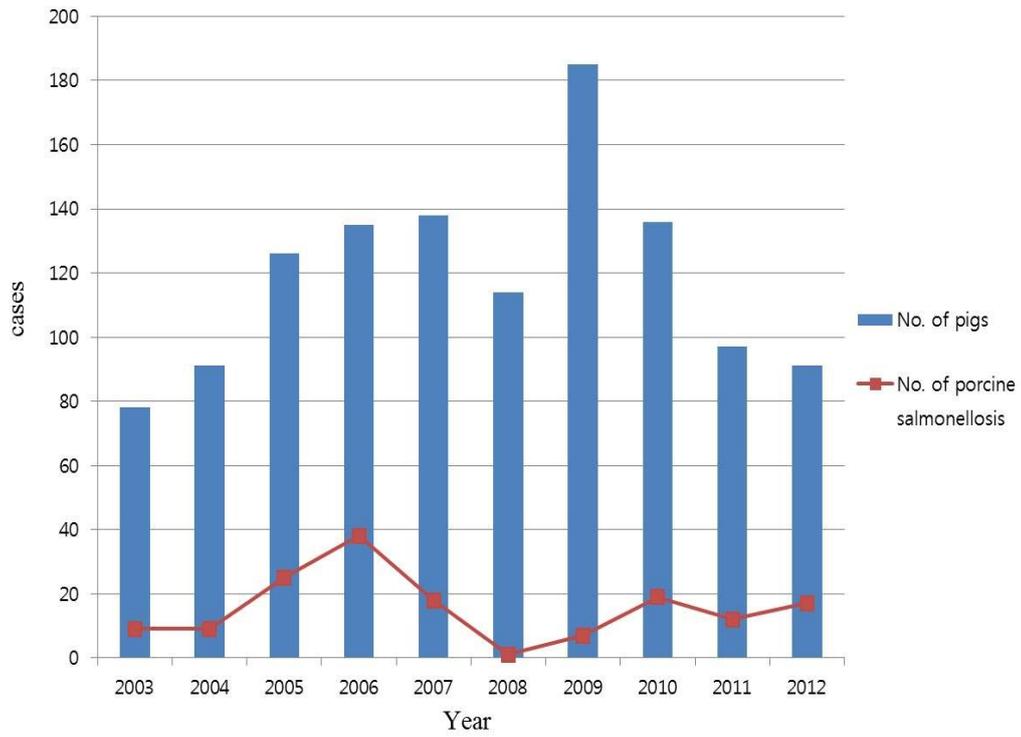


Fig. 2-1. Annual prevalence of porcine salmonellosis in Jeju from 2003 to 2012.

돼지 살모넬라증으로 진단된 예를 계절별로 분류하여 본 결과 여름에 36.1%로 가장 많이 발생하고 있었으며, 봄이 25.2%, 겨울과 가을이 각각 19.4%로 나타났다(Table 2-7).

Table 2-7. Seasonal prevalence of porcine salmonellosis in Jeju from 2003 to 2012

Season	Winter*	Spring	Summer	Autumn	Total
No. of salmonellosis	30	39	56	30	155
Prevalence (%)	19.4	25.2	36.1	19.4	100

*Winter: December to February, Spring: March to May, Summer: June to August, Autumn: September to November

연령별로 4주령 이하의 포유자돈, 4-8주령 및 8-12주령의 이유자돈, 12주령 이상의 육성돈과 비육돈 및 성돈으로 구분하여 살모넬라증의 발생 상황을 살펴보았다(Table 2-8). 살모넬라증은 대부분 이유자돈 구간인 4-8주령(57.4%)과 8-12주령(31.0%)에서 발생하고 있었으며, 육성돈과 모돈에서도 간헐적으로 발생하였다. 특히 포유자돈에서도 6두(3.9%)가 살모넬라증으로 진단되었다.

Table 2-8. Prevalence of porcine salmonellosis according to pig ages in Jeju from 2003 to 2012

Ages (weeks)	≤ 4	4-8	8-12	12 <	adult	Total
No. of pigs	6	89	48	9	3	155
%	3.9	57.4	31.0	5.8	1.9	100

제주도를 제주시와 서귀포시의 두 행정구역으로 구분하여 살모넬라증의 발생 상황을 조사한 결과 서귀포시(40.0%) 보다는 제주시(60.0%)에서 많은 발생을 보이고 있었다(Table 2-9).

Table 2-9. Regional occurrences of porcine salmonellosis in Jeju

City	Jeju-si	Seogwipo-si	Total
No. of pigs	93	62	155
%	60.0	40.0	100

2. 병리학적 검사

살모넬라증으로 진단된 돼지에서 나타난 주요 임상증상은 위축, 설사, 호흡곤란, 식욕부진과 복부팽만(Fig. 2-7) 등이었다(Table 2-10). 이 중에서 피모가 거칠고 역립되어 있는 위축(85.2%)을 동반한 설사(69.7%)가 살모넬라증의 가장 주된 임상증상이었다.

Table 2-10. Frequency of clinical signs associated with porcine salmonellosis

Clinical sign	No. of pigs (n= 155)	%
Wasting	132	85.2
Diarrhea	108	69.7
Dyspnea	52	33.5
Anorexia	14	9.0
Abdominal distention	8	5.2

살모넬라증으로 진단된 돼지 155두에 대하여 육안 소견을 관찰한 결과 주로 대장, 소장 및 간에서 병변이 확인되었다(Table 2-11). 소장에서의 병변으로는 점막면에 섬유소의 석출이 12두(7.7%), 다병소성 또는 미만성 발적이 3두(1.9%)에서 관찰되었다. 대장의 경우 현저한 장벽의 비후(Fig. 2-5)와 함께 점막에 다양한 크기의 단추양 궤양(Fig. 2-6B)이 60두(38.7%)에서 확인되어 가장 많은 발생 빈도를 나타내었다. 대장 점막면에 섬유소성 삼출물(Fig. 2-6A)의 석출과 미란 형성은 각각 35두(22.6%)와 12두(7.7%)에서 관찰되었다. 직장협착(Fig. 2-8B)은 9두(5.8%)에서 관찰되었으며 이로 인한 인한 거대결장(Fig. 2-8A)이 5두(3.2%)에서 확인되었다. 간에서는 주위 정상조직과 뚜렷이 구분되는 유백색 반점(Fig. 2-5)이 22두(14.2%)에서 관찰되었다.

Table 2-11. Frequency of gross findings in major target organs of porcine salmonellosis

Organ	Gross findings	No. of pigs (n=155)	%
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

살모넬라증으로 진단된 돼지에서는 주로 대장, 소장 및 간에서 특징적인 병리 조직소견이 관찰되었다(Table 2-12). 소장에서는 점막에 술잔세포의 수가 증가하고 고유층에 다소간의 급성 염증세포가 침윤되어 있는 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 맹결장염(Fig. 2-10)이 99두(63.9%)에서 나타나 가장 많았고, 만성 및 괴사성 장염이 각각 26두(16.8%)로 나타났다. 괴사성 장염의 경우 점막 상피세포의 괴사와 탈락이 동반된 얇은 조직 결손인 미란이 형성되어 있으며, 고유층에는 울혈 및 출혈이 관찰되었다(Fig. 2-9). 궤양성 장염 예에서는 점막 손상에 의한 궤양이 점막하직까지 파급되어 있으며, 궤양부 점막면에는 심하게 괴사된 세포들과 섬유소가 섞여 두꺼운 층을 형성하고 있었다(Fig. 2-10). 점막하직에는 림프구와 큰포식세포로 구성된 만성 염증세포가 침윤되어 있고 섬유아세포가 증가된 섬유화 소견을 보이며, 때로 큰 혈관의 내강에 혈전이 형성되기도 하였다. 병변이 현저하게 진행된 예에서는 장막면 까지 궤양이 파급되어 대장 장막의 비후와 함께 염증이 동반된 장막염까지 관찰되기도 하였다. 심한 궤양이 형성되어 있는 대장의 점막면에는 표면에 다수의 섬모를 가지고 있는 *B. coli* (14.2%)가 계재되어 있었으며, 일부 예에서는 점막하직에 까지 파급되어 있었다. 대장 장샘에 다량의 점액과 붕괴된 세포가 축적되어 플라스크 모양으로 확장된 병변을 보이고 있는 심재성 낭포성 결장염(*colitis cystica profunda*)은 16두(10.3%)에서 관찰되었다. 일부 예(8.4%)에서는 대장 점막하직의 GALT에서 림프구가 고갈되고(Fig. 2-9 and 11), 다수의 조직구 침윤이 관찰되었다. 때로 GALT에 침윤된 조직구의 세포질 내에서 포도송이와 같은 PCV2 특이 호염성 봉입체(Fig. 2-12)가 관찰되기도 하였다.

간에서는 파라티푸스 결절(Fig. 2-13)이 89두(57.4%), 담관염(Fig. 2-14)이 56두(36.1%)에서 관찰되었다. 파라티푸스 결절은 국소 또는 다발성으로 관찰되었으며 간 세포의 괴사와 함께 큰포식세포, 림프구와 중성호성 백혈구 등의 염증세포가 침윤되어 다양한 크기의 결절을 형성하고 있었다(Fig. 2-13). 담관염의 경우 문맥 삼각주에 분포하고 있는 담관 주위로 염증세포가 침윤하고, 때로 담관의 증생이 동반되기도 하였다(Fig. 2-14).

Table 2-12. Frequency of histopathologic lesions in major target organs of porcine salmonellosis

Tissue	Histopathologic lesions	No. of pigs (n=155)	%
Small intestine	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
	CCP [§]	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

* Enteritis: mucopurulent enteritis

§ CCP: Colitis cystica profunda

† GALT: gut-associated lymphatic tissue

3. 살모넬라증과 기타 병원체와의 혼합 감염 조사

검사 의뢰된 돼지 시료 중 최종 살모넬라증으로 진단된 155두에 대하여 살모넬라를 비롯한 각 질병의 감염 양상을 분석하였다. 살모넬라균 단독 감염은 38두(24.5%)로 적은 반면 살모넬라와 다른 병원체가 혼합 감염된 예는 117두(75.5%)로 대다수를 차지하고 있었다(Table 2-13). 혼합 감염된 돼지의 경우 적게는 2가지에서 많게는 5가지 병원체가 혼합 감염되어 있었으며, 각각은 2중 감염 52두(33.5%), 3중 감염 51두(32.9%), 4중 감염 12두(7.7%) 및 5중 감염 2두(1.3%)로 분석되었다. 전체적으로 두 가지 또는 세 가지 병원체가 혼합 감염된 돼지가 103두(66.5%)로 가장 많았으며, 이는 제주도내 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 그 다음 순으로 나타났다(Fig. 2-2). 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 보이고 있었고 돼지 적리(1.3%)와 포유 및 이유초기 자돈에서 구포자충(3.2%)이 혼합 감염되어 있었다.

Table 2-13. Infection status of *Salmonella* spp. and other pathogens in 155 pigs in Jeju

Infection	Pathogen	Year										Total (%)
		2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	
Single	Salmonella	2	4	9	4	1		2	7	1	8	38 (24.5)
2 agents	PRRSV*	2	1	4	6	3		2	3	4	3	28 (18.1)
	PCV2				9	3				1	1	14 (9.0)
	Polyserositis									1		1 (0.6)
	APP			1								1 (0.6)
	PM	1	1									2 (1.3)
	BH							2				2 (1.3)
	Coccidia									1	1	2 (1.3)
	PA		1	1								2 (1.3)
3 agents	PRRSV+PCV2	2	2	8	9	1				1	1	24 (15.5)
	PRRSV+PM	1					1		1			3 (1.9)
	PRRSV+Strep				1	1			5	1	2	10 (6.5)
	PRRSV+BB			1								1 (0.6)
	PRRSV+SIV	1										1 (0.6)
	PRRSV+APP								1			1 (0.6)
	PRRSV+Polyserositis								1			1 (0.6)
	PRRSV+PA										1	1 (0.6)
	PCV2+Strep					3			1			4 (2.6)
	PCV2+PM					1						1 (0.6)
	PCV2+Cyto				1							1 (0.6)
	PCV2+Polyserositis				1	1						2 (1.3)
	PCV2+PA				1							1 (0.6)
4 agents	PRRSV+PM+Strep					1						1 (0.6)
	PRRSV+PCV2+Strep				3	1				1		5 (3.2)
	PRRSV+PCV2+PM			1		1		1				3 (1.9)
	PRRSV+PCV2+APP					1						1 (0.6)
	PRRSV+PCV2+Coccidia				1							1 (0.6)
	PRRSV+HP+Coccidia				1							1 (0.6)
5 agents	PRRSV+PCV2+PM+Coccidia									1		1 (0.6)
	PRRSV+PCV2+PM+Strepto				1							1 (0.6)
Total		9	9	25	38	18	1	7	19	12	17	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, Strep: *Streptococcus* spp., SIV: swine influenza virus, Cyto: cytomegalovirus, HP: *Haemophilus parasuis*

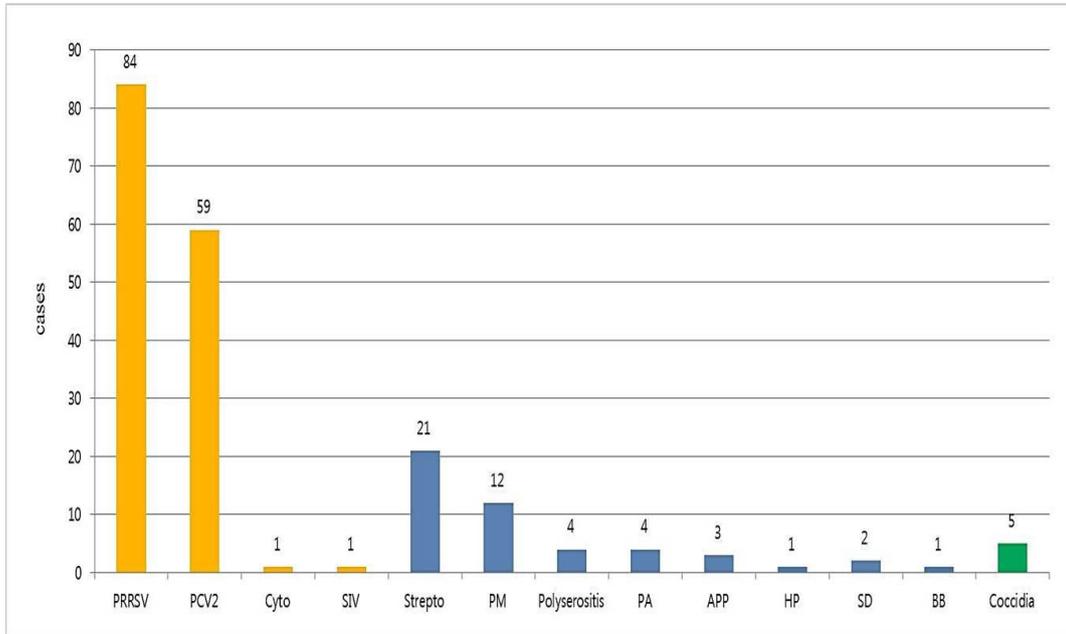


Fig. 2-2. Co-infected pathogens associated with the case of porcine salmonellosis in Jeju.

살모넬라 균체 종동정 시험

야외 돼지 시료에서 분리된 세균 41주에 대하여 PCR 검사를 수행한 결과 총 39균주(95.1%)가 *S. Typhimurium*으로 판명되었다(Table 2-14). 세균 집락에서 추출한 DNA에 대한 PCR 검사 결과 310 bp의 *S. Typhimurium* 특이 산물이 확인되었다(Fig. 2-3). PCR 검사로 혈청형이 확정되지 않은 2균주는 균체항원 및 편모항원에 대한 항혈청 검사를 통하여 최종 *S. Rissen* (4.9%)으로 동정되었다. 소장 또는 대장이 포함된 66개 파라핀 블록에 대한 PCR 검사 결과 43점(65.2%)에서 *S. Typhimurium*의 유전자가 확인되었다. 따라서 총 107두 시료에 대한 검사결과 *S. Typhimurium*이 82두(76.6%), *S. Rissen*이 2두(1.9%)에 감염되어 있음이 확인되었다.

Table 2-14. PCR results of *Salmonella* species analysis using bacterial colony 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

항혈청을 이용한 균 동정 시 *S. Rissen* 감염으로 확진된 돼지 2두는 30일령과 70일령 이유자돈이었으며, 설사를 동반한 위축을 나타내었다. 병리조직학적 병변으로는 맹결장의 궤양성 장염 및 간의 파라티푸스 결절 형성과 담관염 등이 관찰되었으며, 전반적인 조직 병변의 양상은 *S. Typhimurium* 감염과 거의 유사하였다.

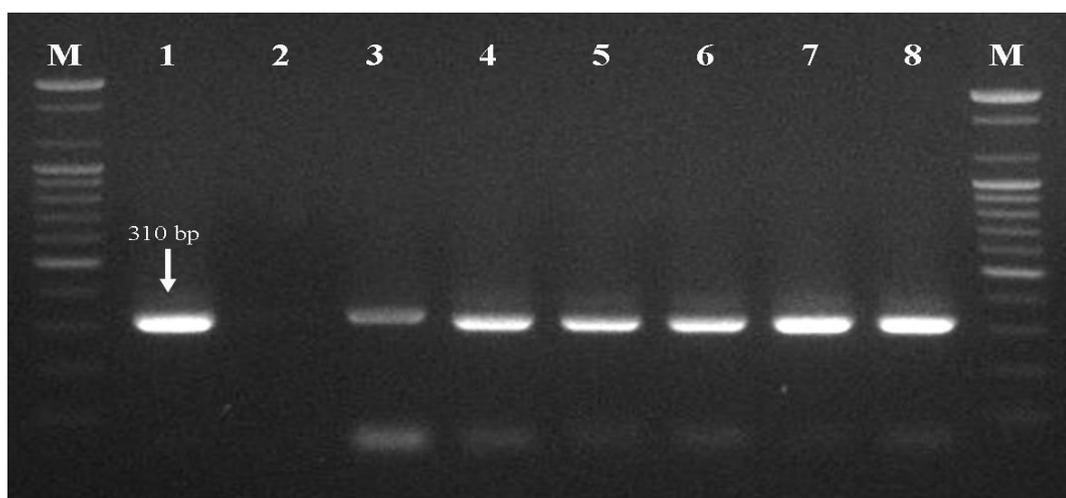


Fig. 2-3. PCR products of *Salmonella* Typhimurium from isolated bacterial colonies. Lane M: 100 bp DNA ladder; lane 1: positive control; lane 2: negative control; lane 3~8: bacteria isolates.

MALDI-TOF 질량분석법을 이용한 *Salmonella*. spp. 신속 검출 결과

공시 균주 41주에 대하여 MALDI-TOF 질량분석법을 적용하여 분석한 결과 직접 도말법과 추출법 모두에서 살모넬라균으로 확인되었다. 직접 도말법에서는 2.000이상의 유의성이 있는 결과가 18개 균주(43.9%)에서 나타났으나, 추출법에서는 41개 균주 모두 2.300점 이상으로 확인되어 살모넬라 균체임을 확정할 수 있었다(Table 2-15). 균체에 대한 PCR 검사에서는 41개 균주 모두 164 bp의 *S. spp.* 특이 산물을 확인할 수 있었다(Fig. 2-4). 따라서 MALDI-TOF 질량분석법은 PCR 검사와 동일한 결과를 보이고 있었고, 특히 균체 동정까지의 시험시간이 수 분 정도 밖에 소요되지 않는 큰 장점을 가지고 있었다.

Table 2-15. Number of isolates identified as *Salmonella* spp. by matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry analysis

Score Value	Direct smear method (n=41)		Extraction method (n=41)	
	Subtotal (%)	Total (%)	Subtotal (%)	Total (%)
2.300-3.000	1 (2.4)	18 (43.9)	41 (100)	41 (100)
2.000-2.299	17 (41.5)		0 (0)	
1.700-1.999	17 (41.5)		0 (0)	
0.000-1.699	6 (14.6)	23 (56.1)	0 (0)	0 (0)

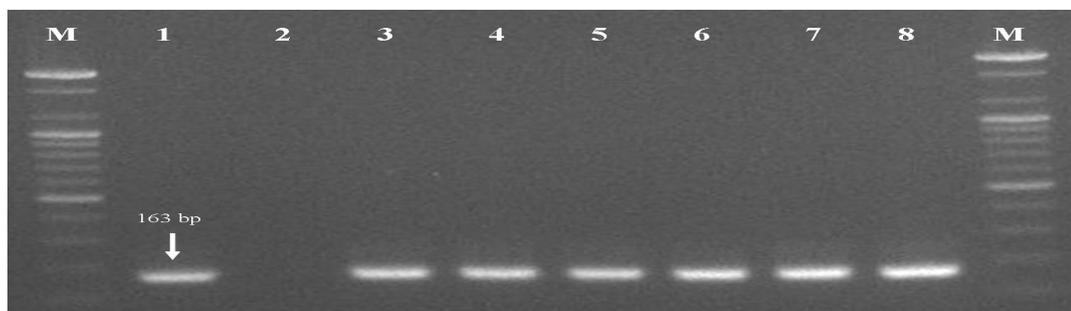


Fig. 2-4. PCR products of *Salmonella* spp. from isolated bacterial colonies. Lane M: 100 bp DNA ladder; lane 1: positive control; lane 2: negative control; lane 3~8: bacteria isolates.

Legends for Figures

Fig. 2-5. Spiral colon showed severe diffuse thickening. Note multifocal pale to white foci in the liver.

Fig. 2-6. Note diffuse fibrinous exudates (A) and multifocal to coalescing ulceration (B) on colonic mucosa.

Fig. 2-7. Pig showed marked abdominal distension associated with rectal stricture.

Fig. 2-8. Note severe distended mega-colon (A) and rectal stricture (B).

Fig. 2-9. Colonic mucosa was covered with diffuse fibrinous exudates and necrotic cellular debris. Gut associated lymphatic tissues showed sparse lymphocyte population. H&E. Bar=200 μm .

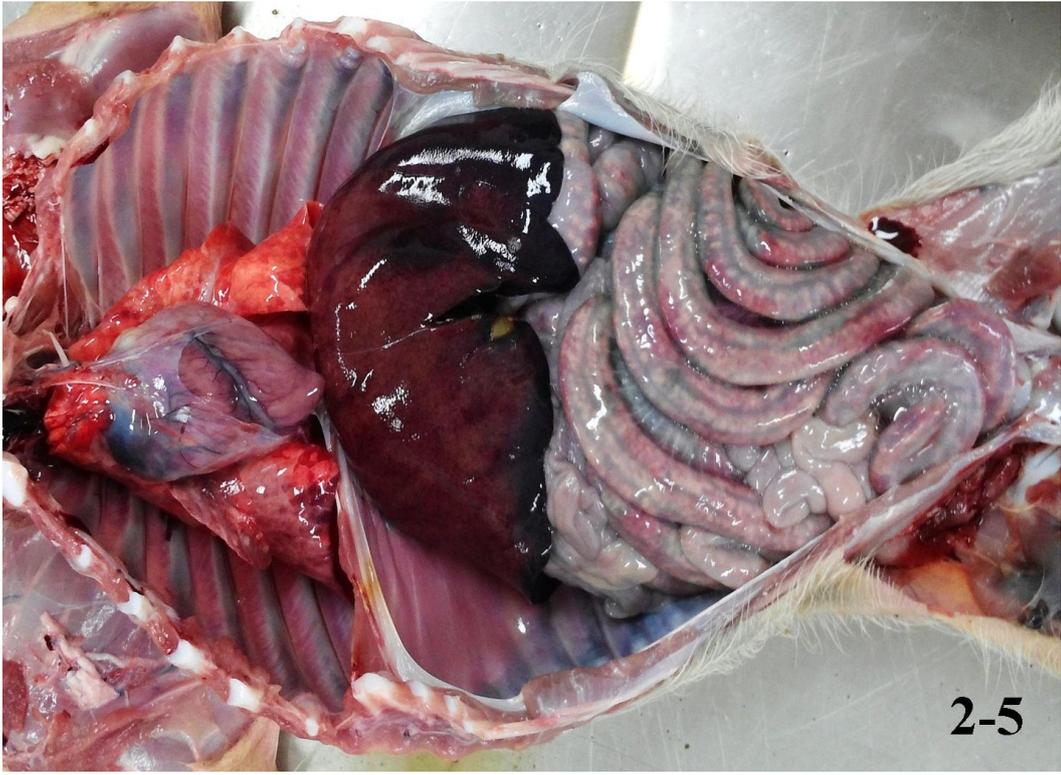
Fig. 2-10. Severe ulceration (arrows) and submucosal infiltration of inflammatory cells (arrow heads) in the colon. H&E. Bar=100 μm .

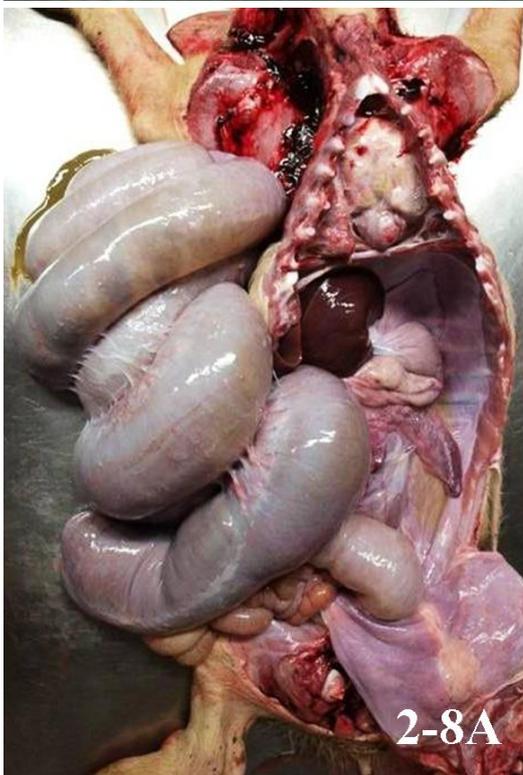
Fig. 2-11. Severe lymphoid depletion were observed at the gut associated lymphatic tissues in colon. H&E. Bar=50 μm .

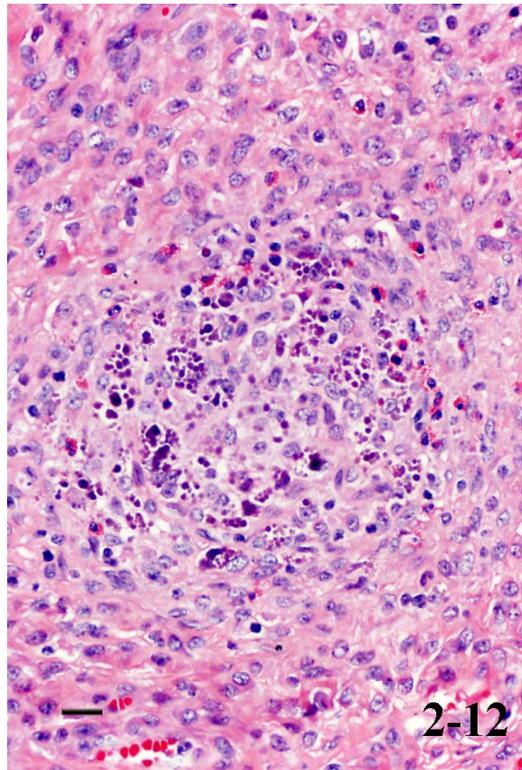
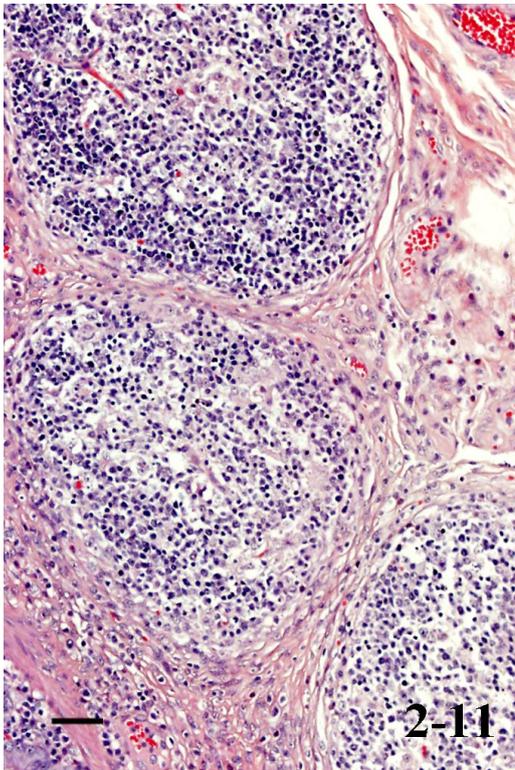
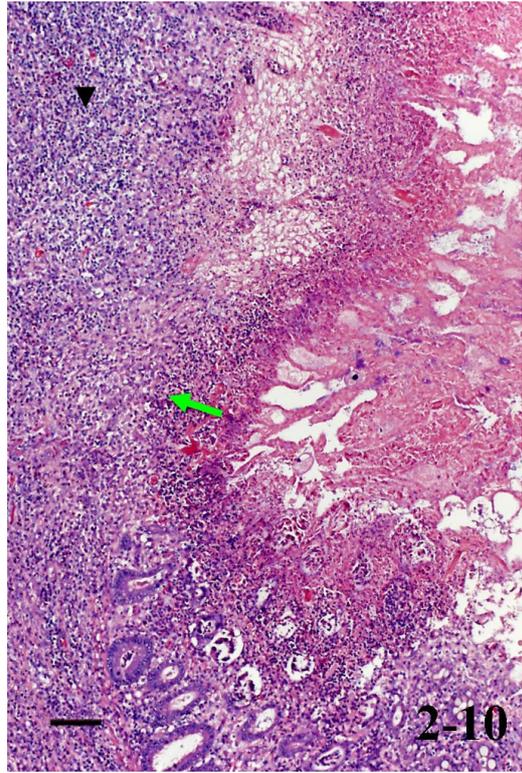
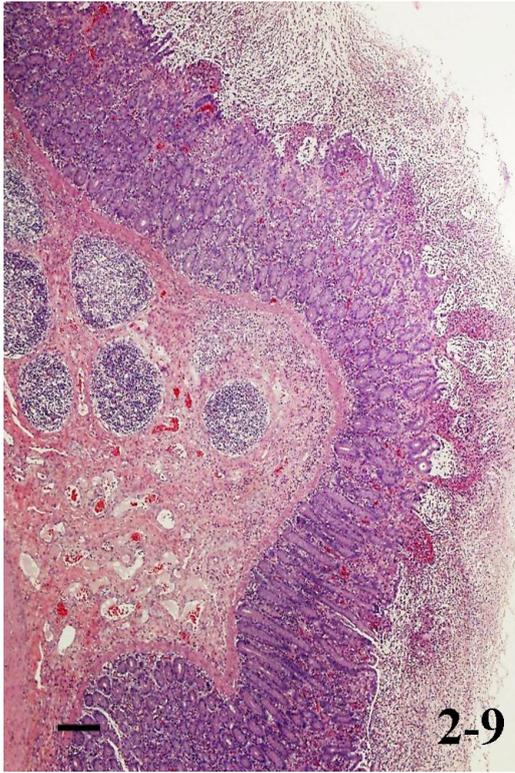
Fig. 2-12. Note numerous basophilic intracytoplasmic inclusion bodies in infiltrated histiocytes of gut associated lymphatic tissues. H&E. Bar=20 μm .

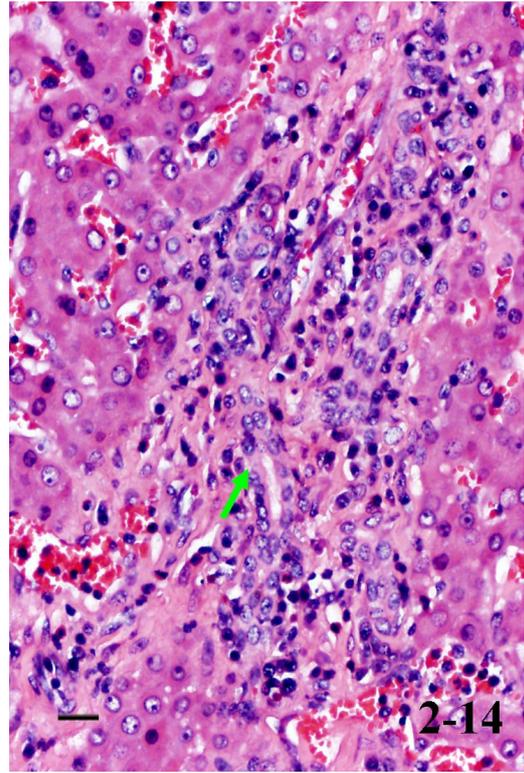
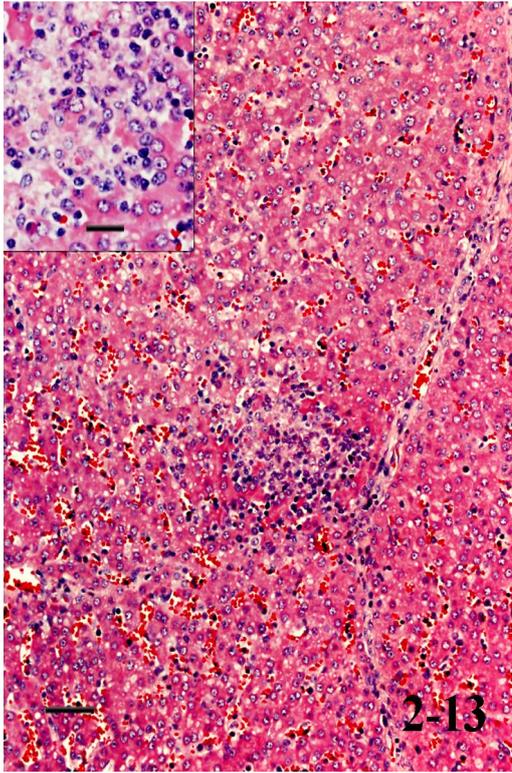
Fig. 2-13. Paratyphoid nodule in liver. H&E. Bar=50 μm . Note infiltrated macrophages and lymphocytes in necrotic foci. H&E. Bar=20 μm .

Fig. 2-14. Cholangitis and bile duct hyperplasia (arrow) were observed in the portal triad of liver. H&E. Bar=20 μm .









IV. 고 찰

제주도 내 돼지 농장으로부터 의뢰된 총 1,191두의 야외 돼지 시료 중 155두 (13.0%)에서 살모넬라증으로 최종 진단되었다. 계절별로 살모넬라증의 진단 현황을 살펴보았을 때 겨울철(19.4%) 보다는 여름철(36.1%)에 더욱 빈발하는 경향을 보이고 있었다. 이는 제 1장에서 검사한 혈청 검사상의 *S. Typhimurium* 항체 양성률이 겨울철에 높게 나타난 계절적 차이와는 다른 양상을 보이고 있었다. 따라서 외국의 경우와 마찬가지로 제주도에서도 살모넬라증 발생과 항체 양성률과의 상관성은 낮은 것으로 판단된다. 그러나 다소간의 계절적 편차가 있다할지라도 질병 발생률과 항체 양성률 모두 연중 고르게 나타나고 있기 때문에 살모넬라증이 제주도에서 계절 구분 없이 발생하고 있음을 간접적으로 확인할 수 있었다.

살모넬라증으로 진단된 돼지를 연령별로 분류하였을 때 4-8주령 및 8-12주령이 각각 89두(57.4%) 및 48두(31.0%)로 나타나 약 90%의 살모넬라증이 주로 이유 후 시기에 집중적으로 발생하고 있는 것으로 확인되었다. 이런 현상은 제 1장에서 *S. Typhimurium*에 대한 항체 양성률이 모체 이행항체가 거의 소실되는 40일령(5-6주령, 3.0%)에서 가장 낮았던 제주도 돼지 농장 상황과 밀접하게 연관되어 있을 것으로 판단된다. 돼지 농장에서 항체 수준이 가장 낮아 면역 방어 기전이 약해진 이유 시기에 돈사 내외 또는 모돈에 오염되어 있던 살모넬라 균체에 노출되어 설사와 위축을 동반한 살모넬라증으로 발전하는 것으로 설명되어 진다. 또한 이유 후 스트레스 요인이 증가된 상태에서 만성 소모성 질병을 유발하는 PRRSV와 PCV2와 같은 바이러스에 감염되고 이차적으로 살모넬라증의 혼합 감염이 증가할 수도 있을 것으로 추정된다 [Gillespie 등, 2009; Harding 등, 1998]. 그런 반면 12주령 이상의 육성돈에서는 살모넬라증이 5.8%로 매우 낮게 나타났다. 제주지역에서는 2011년 417두의 육성돈 설사 분변에 대하여 맹결장 나선균(*Brachyspira pilosicoli*), 돼지 적리균, 돼지 증식성 장염균 및 살모넬라균을 PCR로 검사한 결과 각각 75두(18.0%), 33두(7.9%), 13두(3.1%)

및 12두(2.9%)로 나타났음을 보고하였다 [박 등, 2011]. 따라서 타 지역과 달리 제주도에서는 육성돈 설사 문제에 살모넬라균 보다는 맹결장 나선균이나 돼지 적리균이 주로 관여하고 있을 것으로 추정된다.

이번 연구에서 4주령 이하의 포유자돈에서도 살모넬라증이 6두에서 발생하였다. 이는 장염형 살모넬라증이 주로 이유부터 4개월령까지 문제시 된다는 보고와는 매우 다른 상황이다 [Griffith 등, 2006]. 더욱이 살모넬라증으로 진단된 포유자돈 6두에서 소장외의 괴사성 장염, 대장의 괴사성 또는 궤양성 장염과 간에서 파라티푸스 결절도 관찰되어 전형적인 살모넬라증의 특징을 모두 가지고 있었다. 따라서 어린 연령의 포유시기에 이미 균체에 노출되어 짧은 잠복기를 거친 후 현증을 나타내고 폐사까지 이르는 것으로 판단된다. 포유자돈에서 살모넬라증의 발생은 모돈의 초유를 통한 면역능의 전달이 약하여 발생할 수도 있겠으나, 제주도가 다른 지역에 비하여 살모넬라 균체에 만연되어 있어 질병에 노출될 기회가 많아서 발생할 수도 있을 것으로 추정된다.

돼지에서 장염형 살모넬라증의 경우 악취를 동반한 수양성 설사 증상이 가장 일반적이며 특징적인 임상 증상이다 [Griffith 등, 2006]. 본 연구에서 살모넬라증으로 진단된 155두 돼지의 임상증상으로 위축(85.2%)이 가장 많은 비중을 차지하고 있었다. 각 돼지에서 감염된 질병을 원인체별로 조사하였을 때 살모넬라 단독 감염은 38두(24.5%)에 불과하고 117두(75.5%)는 다른 병원체와 혼합 감염되어 있었다. 특히 만성 소모성 질병의 대표적 원인체인 PRRSV와 PCV2와의 혼합 감염이 143두(92.3%)에서 진단되었다. 따라서 검사한 돼지에서 나타난 위축 증상은 살모넬라 단독 감염에 의한 증상이라기보다는 다른 바이러스와의 혼합 감염에 의해 발생한 증상으로 설명하는 것이 가장 타당성이 있을 것으로 판단된다.

연변 내지 수양성의 설사 증상은 두 번째로 많은 108두(69.7%)에서 관찰되었다. 이는 분변에서 분리된 균체 또는 대장 파라편 조직을 이용하여 살모넬라균 동정을 실시한 결과 대부분의 균체가 장염을 유발하는 *S. Typhimurium*이었기 때문인 것으로 해석된다. Griffith 등 [2006]은 돼지 살모넬라증 예에서 돼지 적리균, 돼지 증식성 장염균, 구포자충 또는 대장균 등과 혼합 감염이 자주 나타난다고 하였다. 본 연구에서는 소화기 병원체로 돼지 적리균(1.3%)과 구포자충(3.2%)이 혼합 감염되어 있기는 하였으나 그 빈도는 현저하게 낮았다. 따라서 제주도에서 발생

하는 살모넬라증의 경우, 전신 감염에서는 다른 병원체와 혼합 감염이 많은 반면 소화기 질병으로는 혼합 감염보다는 단독 감염으로 발생하는 경우가 월등히 많은 것으로 풀이된다.

또 다른 임상증상인 호흡곤란은 52두(33.5%)에서 관찰되었다. 이러한 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 패혈증시 전신 감염의 일환으로 폐렴을 유발하는 것으로 알려져 있다. 돼지의 체내에 감염된 *S. Choleraesuis* 균체가 혈류를 타고 전신으로 파급되어 폐장에 도달하여 폐포벽의 비후를 특징으로 하는 간질성 폐렴을 유발한다 [Wilcock 등, 1976; Griffith 등, 2006]. 그러나 본 연구에서는 분리된 균체 및 조직 파라핀 PCR 검사 결과 *S. Choleraesuis*는 전혀 검출되지 않았다. 복부 팽만 증상은 총 8두(5.2%)에서 관찰되었으며, 이는 부검 시 관찰한 직장 협착에 의해 나타난 임상증상이다. 직장 협착은 살모넬라증이 만성적으로 경과 시 발생하는데, 직장에 형성된 궤양이 만성화되면서 결합조직이 증가하여 나타는 병변으로 주로 *S. Typhimurium* 감염 시 발생하는 것으로 알려져 있다 [Wilcock과 Olander, 1977a; Wilcock과 Olander, 1977b].

살모넬라증으로 진단된 돼지에서 육안 병변은 장기에 따라 소견 상 차이가 있으나 소장, 대장 및 간에서 각각 19두(12.3%), 136두(87.7%) 및 22두(14.2%)에서 관찰되었다. 따라서 살모넬라증의 주요 병변 형성부위는 대장인 것으로 확인되었다. 대장의 점막의 병변은 궤양 형성 60두(38.7%), 섬유소 석출 35두(22.6%), 미란 12두(7.7%) 순으로 관찰되어 살모넬라증의 특징적인 병변은 대장의 궤양 형성임이 입증되었다. 병리조직학적 병변에서도 맹결장에 궤양을 형성하는 장염이 가장 많은 비중을 차지하고 있었다. 육안적으로 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 장기에서 살모넬라증 특이 병변은 관찰되지 않았으며 이를 토대로 제주

도에서 문제시되고 있는 살모넬라증은 패혈증형이 아닌 장염형임을 확인할 수 있었다 [Griffith 등, 2006; Wilcock 등, 1976]. 또한 살모넬라증 시 육안적 병변의 형성 비율보다 조직학적 병변 형성이 월등히 많이 발생하고 있으므로, 야외 시료에서 살모넬라증 감염이 의심되는 경우 대장과 간을 비롯한 대상 장기에 대한 병리조직학 검사가 반드시 이루어져야 확실한 진단을 할 수 있을 것으로 판단된다.

특히 검사한 돼지 13두에서는 대장의 점막하직에 분포하고 있는 GALT에서 림프구의 소실 또는 고갈이 관찰되었다. 이런 병변은 기존 장염형 살모넬라증에서 나타는 림프구 비대 또는 재생성 증생 병변과는 많은 차이를 보이고 있었다. 이와 같은 병변은 PCV2 감염으로 인한 전신 림프절 병변과 매우 유사한 양상을 띠고 있다 [Segalés 등, 2004b]. 따라서 GALT에 형성된 병변의 발생 기전을 밝히기 위하여 제 3장에서 추가적인 실험을 실시하였다.

각 국가별 또는 시대별로 문제시되는 살모넬라균의 혈청형은 지속적으로 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 7%로 낮게 나타났다 [Foley 등, 2013]. 일본의 경우 1998년부터 1999년 사이 조사에서는 *S. Agona* (28.4%), *S. Typhimurium* (17.9%), *S. Infantis* (16.4%)의 순으로 나타난 반면 2004년부터 2005년에는 *S. Typhimurium* (32.5%), *S. Anatum* (24.6%), *S. Infantis* (13.5%) 순으로 확인되었다 [Futagawa-saito 등, 2008]. 따라서 국가별로 유행하는 살모넬라균의 혈청형은 지속적으로 변화하고 있으며, 특히 *S. Typhimurium*이 많이 증가하는 양상을 보이고 있다. 본 연구에서 살모넬라증으로 진단된 107두에서 살모넬라균에 대한 혈청형 동정 결과 *S. Typhimurium*이 82두(76.6%)로 가장 높게 검출되어 다른 국가와 유사한 균체 혈청형의 변화상이 확인되었다. 비록 *S. Choleraesuis*의 발생 빈도가 적어지기는 하였지만, 패혈증 발생 시 급격하게 질병이 발생하여 큰 피해를 입히기 때문에 본 살모넬라 균체에 대한 꾸준한 모니터링은 질병 방역에 있어서 매우 중요할 것으로 사료된다.

본 연구에서 PCR 기법으로 균 동정이 되지 않은 2개의 균주에 대한 응집 반응 검사 결과 *S. Rissen*으로 확인되었다. *S. Rissen*은 최근 국내 소, 돼지 등의

다양한 축종에서 자주 검출되고 있는 혈청형으로 동물에서 장염을, 사람에서는 식중독을 유발한다 [Lim 등, 2009; Lim 등, 2011]. 그러나 아직까지 이 균체가 돼지에 병원성이 있는지 여부는 알려져 있지 않은 상황이다. 이번 연구에서 *S. Rissen* 감염으로 확진된 돼지는 30일령과 70일령 이유자돈이었으며, 설사를 동반한 위축을 나타내었다. 병리조직학적 병변으로는 맹결장의 궤양성 장염과 간의 파라티푸스 결절 형성으로 확인되어 *S. Typhimurium* 감염에 의한 병변과 대동소이하였다. 또한 다른 병원체인 PRRSV, PCV2 및 *Streptococcus* spp.가 혼합 감염되어 있는 것으로 확인되었다. 국내에서 돼지 시료에서 *S. Rissen*이 분리되었다는 보고는 있으나 병변에 대한 보고는 본 연구가 최초인 것으로 사료되며, 분리된 균체를 이용한 감염 실험 등을 통하여 균체의 병원성에 대한 좀 더 추가적인 실험이 필요할 것으로 판단된다.

본 실험에서 살모넬라 균체를 확인하기 위해 PCR 기법과 MALDI-TOF 질량분석법을 적용하여 두 가지 실험법의 결과를 비교하였다. MALDI-TOF 질량분석법의 경우 순수배양 된 41균주를 살모넬라 균체로 동정하기까지 검사 시간이 짧게 소요되어 수분 이내에 균체 동정이 가능하였으나, 2,500여개가 넘는 살모넬라균의 혈청형까지 동정하지는 못하였다. 그런 반면 PCR 기법은 혈청형 동정은 가능하지만 검사 시간이 길게 소요되고 DNA 추출 등의 과정이 복잡한 단점을 지니고 있었다. 따라서 MALDI-TOF 질량분석법 기법은 순수 분리된 균체의 간이 신속 진단 실험에 충분히 활용될 수 있는 가능성이 높을 것으로 사료된다.

제주도에서는 살모넬라증이 거의 연중 발생하고 있으며, 단독 감염되는 경우보다 다른 병원체와 혼합 감염되는 경우가 빈번하게 발생하고 있다. 특히 혼합 감염 예에서는 만성 소모성 질병을 유발하는 PCV2와 급성 또는 만성 호흡기 질병을 유발하는 PRRSV와의 혼합 감염이 가장 많은 빈도를 차지하고 있었다. 이러한 결과는 국내외의 다른 보고와 대체로 일치하고 있는 상황이었다 [Ha 등, 2005; Murakami 등, 2006; Takada-Iwao 등, 2011]. 따라서 제 3장에서는 살모넬라균의 표적 장기에서 두 바이러스의 혼합 감염에 따른 항원 분포 상황과 장 병변의 정도를 비교 분석하였다.

제 3 장

PCV2 및 PRRSV가 *Salmonella* Typhimurium 장염에 미치는 영향

The Correlation of PCV2 and PRRSV in *Salmonella*
Typhimurium Enteritis

I. 서 론

돼지 농장에서는 연간 모돈 1두당 출하 돼지수(marketed pig/sow/year; MSY)를 생산성 지표로 활용하고 있다. 일부 국내 연구에서는 돼지 농장의 포유자돈에서 육성돈을 대상으로 PRRSV, PCV2 및 살모넬라균에 대한 항원검사 및 항체조사를 실시하여 질병 발생 정도와 생산성 지표를 비교 분석하였다 [정 등, 2011]. 농장을 MSY가 19두 이상과 19두 미만으로 구분하여 각 병원체와 연관성을 분석한 결과 MSY가 높은 농장이 낮은 농장에 비하여 PCV2 및 PRRSV 항원 발현율과 항체 양성률이 낮고 세균인 살모넬라균 항체 양성률 또한 낮은 것으로 확인되었다. 따라서 PCV2, PRRSV 및 살모넬라균과 같은 병원체의 감염이 낮은 돼지 농장일수록 전체적인 생산성이 증가하고 있음을 증명하였다.

돼지에서 장염형 살모넬라증은 주로 이유자돈부터 약 4개월령까지의 돼지에서 발생한다 [Griffith 등, 2006]. 이와 유사한 시기에 돼지에 감염되어 만성적인 질병 상태를 유발하는 바이러스 원인체로는 PCV2와 PRRSV가 있다 [Zimmerman 등, 2006; Opriessnig 등, 2007]. PCV2는 PMWS의 원인체로 1991년 캐나다에서 최초로 발생 보고되었으며, 그 이후 거의 전 세계적으로 문제시되고 있는 바이러스이다 [Allan 등, 1999; Allan과 Ellis, 2000; Ellis 등, 1998; Morozov 등, 1998]. 국내에서는 1998년 PCV2에 의한 PMWS가 최초로 발생 보고되었다 [김 등, 2003; Lyoo 등, 1999]. 최근에는 PCV2 감염으로 발생하는 PMWS, PDNS 등의 다양한 질병 균을 통칭하여 돼지 썩코바이러스 관련 질병(porcine circovirus associated disease; PCVAD)으로 명명하고 있다 [Gillespie 등, 2009; Opriessnig 등, 2007]. PCVAD에서는 PRRSV와 같은 다른 바이러스 및 세균의 혼합 감염이 일반적이며, 이는 PCV2가 큰포식세포와 수지상 세포에 감염되어 면역을 억제시킨 상태에서 다른 바이러스 또는 세균의 감염을 증진시키기 때문인 것으로 알려져 있다 [노 등, 2007; Opriessnig와 Halbur, 2012].

그러나 PCV2 감염에 의한 장염은 PCVAD에 포함되는 질병 중에서 가장 덜 알려져 있는 상황이다. 최근 해외에서는 PCV2가 장 병변 발생에 미치는 영향을

규명하기 위하여 PCV2, 살모넬라균 및 증식성 장염균을 각각 단독 감염시킨 실험군과 병원체를 혼합 감염시킨 군으로 구분하여 인공 감염을 돼지에 실시하였다 [Opriessnig 등, 2011; Opriessnig과 Halbur, 2012]. 감염 후 14일까지는 단독 감염군과 혼합 감염군에서 병변의 큰 차이는 보이지 않았으나, 28일에서는 단독 감염군에 비하여 혼합 감염시킨 군에서 각 질병의 특징적인 병변이 증가하는 양상을 보였으며, 개체별 일당 증체량은 낮아지고 있었다. 특히 다른 병원체의 유무와 상관없이 PCV2 단독 감염으로도 장 병변이 형성될 수 있음을 보고하였다. 또한 림프장기에서의 경우 감염 후 14일에 PCV2 단독 감염보다 다른 장내 세균과 혼합 감염되었을 경우 림프절 병변이 증가하고 있었다. PRRSV의 경우 포유자돈에 감염 시 설사 증상을 유발할 수 있다 [Rossow, 1998].

따라서 본 연구에서는 제주도에서 가장 많은 질병 발생 양상을 보이고 있는 살모넬라증과 PCV2 및 PRRSV 혼합 감염 예와 살모넬라증 단독 감염 예에서 각 바이러스의 항원 분포를 조사하고 군별 병리조직학적 병변을 비교 분석하여 각 병원체의 상호 관련성을 규명하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시동물

제 2장에서 *S. Typhimurium*에 의한 살모넬라증으로 확진된 82두 중 PCV2 및 PRRSV 이외의 다른 병원체가 혼합 감염된 18두를 제외한 64두의 돼지를 실험에 공여하였다. 살모넬라 단독 감염 예와 PCV2 및 PRRSV의 혼합감염 예에서 병리조직학적 병변의 정도를 비교 분석하기 위하여 총 4개의 실험군을 설정하였다(Table 3-1). 실험군은 *S. Typhimurium* 단독 감염(A군, 24두), PCV2와 혼합 감염(B군, 11두), PRRSV와 혼합 감염(C군, 16두), PCV2와 PRRSV의 3중 혼합 감염(D군, 13두)으로 나누어 조직 내 바이러스 항원의 분포와 병변의 정도를 비교하였다.

Table 3-1. Experimental pig groups according to infectious status

Group	Pathogens	No. of pigs
A	<i>Salmonella</i> Typhimurium	24
B	<i>Salmonella</i> Typhimurium + PCV2	11
C	<i>Salmonella</i> Typhimurium + PRRSV	16
D	<i>Salmonella</i> Typhimurium + PCV2 + PRRSV	13
Total		64

2. 병리학적 검사

돼지는 일반적인 부검술식에 따라 외관 검사 후 흉강 및 복강을 노출하여 각 장기의 병변을 확인하였다. 특히 살모넬라균에 의한 병변이 주로 나타나는 소장, 대장 및 간 등에 대해 중점적으로 육안적 소견을 관찰하였다. 병변이 확인된 각

장기의 일부를 10% 중성완충포르말린 용액에 고정하였다. 고정이 완료된 조직은 병변부위를 세절한 뒤 일반적인 조직처리 방법에 따라 파라핀 포매하여 3-4 μm 두께로 절편을 제작한 다음 H&E 염색을 실시하고 광학현미경으로 검경하였다.

3. IHC

살모넬라증 병변이 가장 자주 나타나는 대장에서 PCV2 및 PRRSV 항원의 분포를 확인하고자 EnVisionTM peroxidase-conjugated polymer reagent (Dako, Denmark)를 이용하여 IHC를 수행하였다. PCV2의 경우 B군과 D군의 시료 총 24두를 대상으로, PRRSV의 경우에는 C군과 D군 총 29두를 대상으로 IHC를 실시하였다(Table 3-2).

두 바이러스를 검출하기 위한 1차 항체는 rabbit anti-PCV2 antibody 및 mouse anti-PRRSV (SDOW17) antibody를 사용하였다(Table 3-3). 대장 파라핀 조직을 4-5 μm 두께로 박절하여 silane coating micro slides glass (MUTO PURE CHEMICALS, Japan)에 부착하고 탈파라핀 및 함수과정을 거쳤다. 조직 내 자연적으로 존재하는 peroxidase를 제거하기 위하여 3% H_2O_2 가 첨가된 phosphate buffered saline (PBS, pH 7.2)에 10분간 반응하였으며, 항원성의 부활을 위해 0.05% proteinase X IV (Sigma, USA)로 37°C에서 20분간 반응하였다. 각각의 1차 항체를 antibody diluent solution (DAKO, USA)으로 적정 희석 배율로 희석한 다음 절편에 적하하여 37°C에서 1시간 반응하였다. 2차 항체로 EnVisionTM/HRP, Rabbit/Mouse (EVN) reagent (DAKO, Denmark)를 슬라이드에 적하하여 37°C에서 40분간 반응하였다. 각 단계별로 반응 후에는 PBS로 10분씩 2회에 걸쳐 수세하였다. 모든 반응이 끝난 절편은 3, 3'-diamino-benzidine tetrahydrochloride (DAB; DAKO, Denmark)로 발색시킨 후, 3차 증류수에서 반응을 종결하였다. 대조염색은 Mayer's hematoxylin (Sigma, USA)으로 염색하였으며, 탈수와 투명과정을 거쳐 봉입하였다. 면역 염색이 끝난 조직 슬라이드는 광학현미경으로 양성 대조군 및 음성 대조군과 비교하여 조직 내 각 바이러스의 항원 존재 여부를 관찰하였다. IHC를 실시한 시료는 Table 3-3과 같다.

Table 3-2. The number of tested pigs for the detection of porcine circovirus type 2 and porcine reproductive and respiratory syndrome virus using immunohistochemistry

Target virus	A* (n=24)	B (n=11)	C (n=16)	D (n=13)	Total (n=24 or 29)
PCV2	-	11	-	13	24
PRRSV	-	-	16	13	29

* A group: S. Typhimurium, B group: S. Typhimurium + PCV2, C group: S. Typhimurium + PRRSV, D: S. Typhimurium + PCV2 + PRRSV

Table 3-3. Primary antibodies for the detection of porcine circovirus type 2 and porcine reproductive and respiratory syndrome virus

Antibody	Target virus	Source	Dilution	Antigen retrieval
Rabbit anti-PCV2	PCV2	Iowa State University, USA	1 : 1,000	Protease XIV 0.05%; 37°C, 20 min
Mouse anti-PRRSV (SDOW17)	PRRSV	South Dakota State University, USA	1 : 5,000	Protease XIV 0.05%; 37°C, 20 min

Ⅲ. 결 과

1. 병리조직학적 검사 결과

각 실험군 별로 병리조직학적 소견의 정도를 비교 조사한 결과 소장의 병변은 전군에서 카타르성 또는 화농성 장염(85.9%)이 대다수를 차지하였다(Table 3-4). 살모넬라균과 PRRSV가 혼합 감염된 C군에서 93.8%로 가장 많은 반면 살모넬라균과 PRRSV 및 PCV2가 혼합 감염된 D군에서는 가장 낮은 76.9%의 발생 빈도를 보이고 있었다. 괴사성 및 궤양성 장염의 경우 군별로 특별한 차이를 나타내지는 않았다.

대장 병변의 경우 전체 군에서 궤양성 장염이 43두(67.2%)로 가장 많이 관찰되었으며, 만성 장염 및 괴사성 장염이 각각 11두(17.2%) 및 10두(15.6%) 순으로 확인되었다. 각 군별로는 궤양성 장염이 C군에서 가장 많아 14두(87.5%)에서 관찰되었고, 살모넬라와 PCV2가 혼합 감염된 B군, D군 및 살모넬라 단독 감염군인 A군의 순으로 발생하고 있었다. 그러나 C군을 제외하고는 뚜렷한 발생 빈도의 차이는 거의 없었다. 괴사성 장염은 살모넬라 단독 감염군인 A군이 다른 혼합 감염군보다 높은 발생 빈도를 보이고 있었다.

간의 병리조직학적 병변으로 파라티푸스 결절 형성(81.8%) 및 담관염(54.5%) 모두 B군에서 많이 발생하는 경향을 보이고 있었다. 대장의 점막하직에 분포하고 있는 GALT에서 림프구의 고갈은 살모넬라증에 PCV2가 혼합 감염된 B군과 D군에서만 각각 4두씩 총 8두(12.5%)에서 관찰되었다. 발생 빈도는 B군이 36.4%로 D군의 30.8%에 비하여 다소 높았으나, 큰 차이는 없었다.

Table 3-4. Comparison of the frequency of histopathologic lesions in four experimental groups

Tissue	Histopathologic lesions	A* (n=24)	B (n=11)	C (n=16)	D (n=13)	Total (n=64)
Small intestine	Enteritis [§]	20 (83.3%)	10 (90.9%)	15 (93.8%)	10 (76.9%)	55 (85.9%)
	Necrotic enteritis	3 (12.5%)	1 (9.1%)	0 (0%)	2 (18.2%)	6 (9.4%)
	Ulcerative enteritis	1 (4.2%)	0 (0%)	1 (5.6%)	1 (9.1%)	3 (4.7%)
Large intestine	Chronic enteritis	4 (16.7%)	2 (18.2%)	1 (6.3%)	4 (30.8%)	11 (17.2%)
	Necrotic enteritis	6 (25%)	2 (18.2%)	1 (5.6%)	1 (9.1%)	10 (15.6%)
	Ulcerative enteritis	14 (58.3%)	7 (63.6%)	14 (87.5%)	8 (61.5%)	43 (67.2%)
Liver	Paratyphoid nodules	14 (58.3%)	9 (81.8%)	12 (75.0%)	7 (53.8%)	39 (60.9%)
	Cholangitis	8 (33.3%)	6 (54.5%)	7 (43.8%)	3 (23.0%)	21 (32.8%)
GALT in large intestine	Lymphoid depletion	0 (0%)	4 (36.4%)	0 (0%)	4 (30.8%)	8 (12.5%)

* A: *S. Typhimurium*, B: *S. Typhimurium* + PCV2, C: *S. Typhimurium* + PRRSV, D: *S. Typhimurium* + PCV2 + PRRSV, §, mucopurulent enteritis, GALT: gut-associated lymphatic tissue

2. IHC 검사결과

대장 조직 내 바이러스 항원의 유무 및 분포 정도를 확인하기 위하여 PCV2와 PRRSV 특이 항체를 이용한 IHC 결과 각각 20두(83.3%) 및 3두(10.3%)에서 항원이 검출되었다(Table 3-5). 실험군 별로 PCV2는 B군(90.9%)과 D군(76.9%)에서 각각 10두씩 바이러스 항원이 검출되어 B군에서의 발현 빈도가 높게 관찰되었다. PRRSV는 C군 3두(16.7%)에서만 바이러스 항원이 검출되었다. 대장 조직에서 바이러스 항원의 분포를 검사한 결과 PCV2 항원은 점막하직의 GALT에 다량의 항원이 존재하고 일부 점막고유판에 침윤된 큰포식세포의 세포질에서도 항원이 확인되었다(Fig. 3-1). 그러나 PRRSV 항원은 주로 GALT내 조직구의 세포질에 국한되어 검출되었다(Fig. 3-2).

Table 3-5. Results of antigen detection for porcine circovirus type 2 and porcine reproductive and respiratory syndrome virus in large intestines using immunohistochemistry

Antigen	B* (n=11)	C (n=16)	D (n=13)	Total (n=24 or 29)
PCV2	10 (90.9%)	NT	10 (76.9%)	20/24 (83.3%)
PRRSV	NT	3 (16.7%)	0 (0%)	3/29 (10.3%)

* B: S. Typhimurium + PCV2, C: S. Typhimurium + PRRSV, D: S. Typhimurium + PCV2 + PRRSV, NT: not tested

살모넬라균과 두 가지 바이러스의 상관 관계를 좀더 면밀히 살펴보기 위하여 대장 조직에서 IHC를 이용하여 바이러스 항원이 검출되었던 예 만을 따로 분리하여 각 군별 병리조직학적 병변의 정도를 비교 분석하였다. 즉, S. Typhimurium 단독 감염 A군 24두, 살모넬라와 PCV2 항원이 동시에 검출된 B군과 D군의 20두 및 살모넬라와 PRRSV가 혼합 감염된 것으로 확인된 C군의 3두 만을 따로 분리하여 각 군의 조직 소견을 비교하였다(Table 3-6). 대장에서 가장 심한 병변이라 할 수 있는 궤양성 맹결장염은 살모넬라와 PRRSV 혼합 감염군에서 3두(100%), 살모넬라와 PCV2 혼합 감염군에서 13두(65.0%)로 확인되어 살모넬라 단독 감염군의 14두(58.3%)에 비하여 높은 발생 빈도를 보이고 있었다. 그러나 괴사성 장염은 단독 감염군에서의 발생(25.0%)이 가장 많았다. 맹결장 점막하직의 GALT에서 림프구 고갈되어 림프 소절의 세포 밀도가 낮아지는 병변은 살모넬라와 PCV2의 혼합 감염된 B군과 D군의 7두(35.0%)에서만 관찰되었다.

Table 3-6. Comparison of histopathologic lesions in large intestine of experimental pig groups

Tissue	Histopathologic lesions	A* (n=24)	B & D (PCV2 co-infected) (n=20)	C (PRRSV co-infected) (n=3)
Large intestine	Chronic enteritis	4 (16.7%)	5 (25.0%)	-
	Necrotic enteritis	6 (25.0%)	2 (10.0%)	-
	Ulcerative enteritis	14 (58.3%)	13 (65.0%)	3 (100%)
GALT in large intestine	Lymphoid depletion	0 (0.0%)	7 (35.0%)	0 (0.0%)

* A: S. Typhimurium, B: S. Typhimurium + PCV2, C: S. Typhimurium + PRRSV, D: S. Typhimurium + PCV2 + PRRSV, GALT: gut-associated lymphatic tissue

각 실험군에서 병리조직학적 검사 시 대장 점막하직의 GALT에서 림프구의 소실 또는 고갈 병변은 8두에서 관찰되었으며, 살모넬라와 PCV2가 혼합 감염된 B군과 살모넬라와 PCV2 및 PRRS가 혼합 감염된 D군에서 각각 4두씩 확인되어 총 8두(12.5%)에서 발생하였다(Table 3-4).

이를 토대로 림프구 소실이 있는 개체 8두를 대상으로 대장 조직 내 바이러스 항원의 존재를 검사한 결과 PCV2 바이러스 항원은 7두에서 검출된 반면 PRRSV 항원은 전 두수에서 검출되지 않았다(Table 3-7). 실험군 별로 PCV2 항원은 B군과 D군에서 각각 4두(100%) 및 3두(75.0%)가 검출되었다. 병리조직학적으로 PCV2 바이러스 항원은 점막하직의 GALT 부위에서 가장 많이 존재하고 있었으나, 점막고유판과 점막하직에 침윤된 큰포식세포 또는 조직구의 세포질에서도 항원이 발현되고 있었다(Fig. 3-3). 일부 예에서는 다핵거대세포의 세포질 및 포도송이와 같은 모양의 PCV2 특이 세포질내 봉입체에서도 바이러스 항원이 검출되었다(Fig. 3-4).

Table 3-7. Result of antigen detection for porcine circovirus type 2 and porcine reproductive and respiratory syndrome virus in lymphoid depleted GALT using immunohistochemistry

Antigen	B* (n=4)	D (n=4)	Total (n=8 or 4)
PCV2	4 (100%)	3 (75.0%)	7/8 (87.5%)
PRRSV	NT	0 (0.0%)	0/4 (0.0%)

* B: S. Typhimurium + PCV2, D: S. Typhimurium + PCV2 + PRRSV, GALT: gut-associated lymphatic tissue, NT: not tested

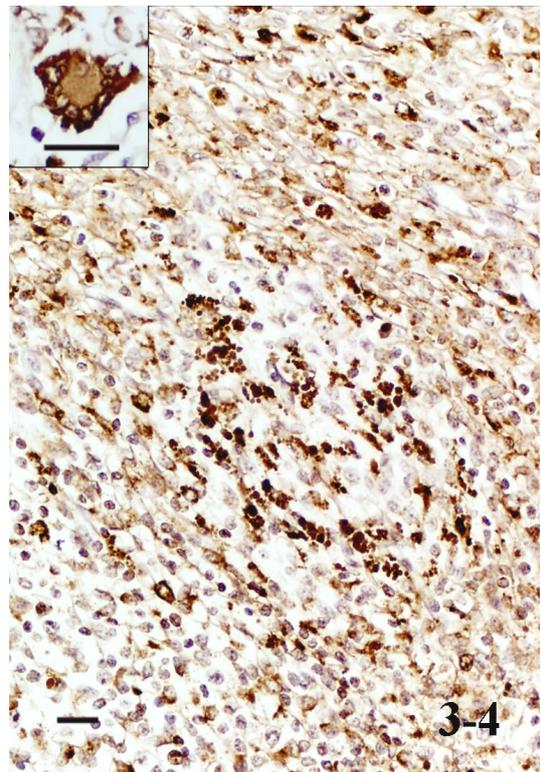
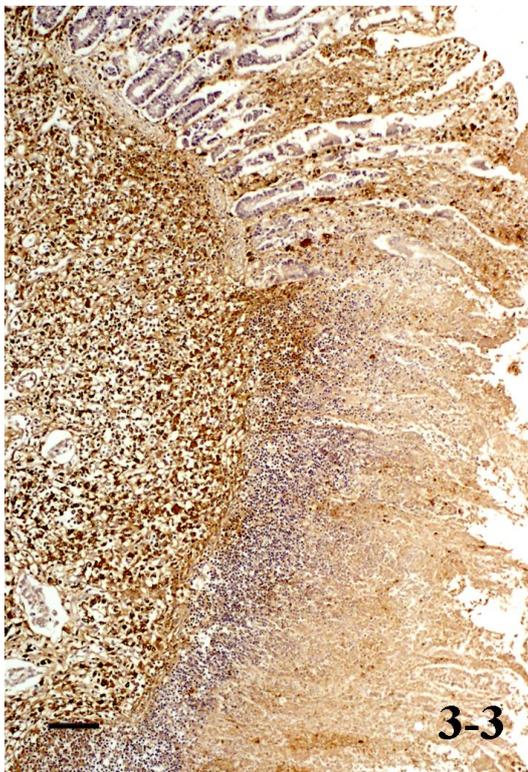
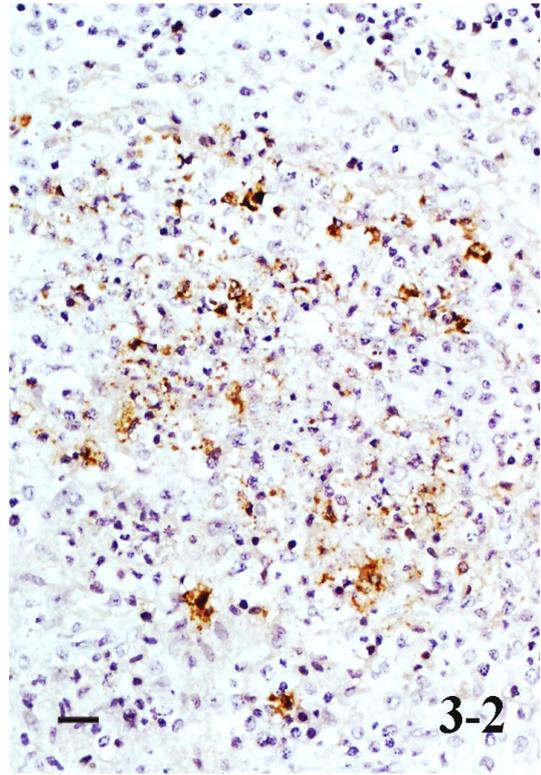
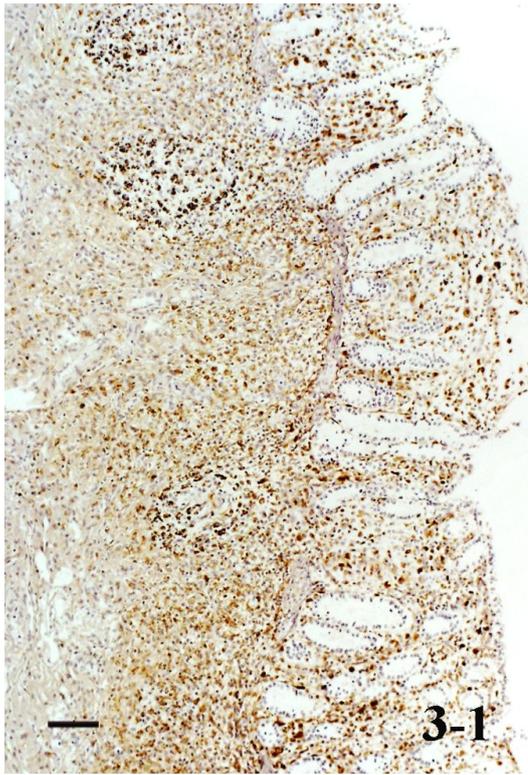
Legends for Figures

Fig. 3-1. The colon of Group B. Numerous positive reaction for PCV2 antigens in the GALT and lamina propria. IHC. Bar=100 μm .

Fig. 3-2. The colon of Group C. Positive reaction for PRRSV antigens in the GALT. IHC. Bar=20 μm .

Fig. 3-3. The colon of Group D. Positive reaction for PCV2 antigens in the GALT and lamina propria. IHC. Bar=100 μm .

Fig. 3-4. The colon of Group D. PCV2 antigens were demonstrated in lymphoid depleted GALT. Note strong positive reactions in intracytoplasmic inclusion bodies. IHC. Bar=20 μm . Insert: PCV2 antigens in the cytoplasm of multinucleated giant cell. IHC. Bar=20 μm .



IV. 고 찰

돼지에서 PCVAD는 PCV2 감염에 의해 발생하는 질병을 통칭하는 것으로 이 유 자돈에서 전신 소모성 질병인 PMWS, 피부병과 신증을 주 증상으로 하는 PDNS, 괴사성 림프선염을 특징으로 하는 준임상형 PCV2 감염, 호흡기 질병, 장염 및 번식 장애를 포함한다. 이 중 PCV2와 연계된 소화기 질병은 다른 질병군에 비하여 상대적으로 적은 편이다 [Opriessnig 등, 2007]. PCV2에 의한 장염은 주로 8-16주령의 자돈에서 발생하고, 육안적으로는 증식성 장염균에 의한 아급성 내지 만성 회장염과 매우 유사한 병변을 형성한다. 현미경적으로는 만성 육아종성 장염을 특징으로 한다. 이 질병에 대한 진단은 1) 임상적으로 설사 증상이 있고, 2) 전신 림프절이 아닌 소화기 GALT에 병변이 있으며, 3) 장 병변 내에 PCV2 항원 또는 핵산이 존재하는 것을 토대로 이루어진다. PRRSV는 모돈에 감염 시 주로 임신 말기에 유산이 발생하거나, 허약 자돈을 분만한다. 포유자돈에서는 호흡곤란, 위축, 기아 등의 전신 증상과 진전, 다리 벌림, 폐들링 등의 다양한 신경 증상 등을 특징으로 한다. 특히 영국에서는 포유자돈의 수양성 설사가 보고되기도 하였다 [Zimmerman 등, 2006]. 기타 자돈에서는 호흡 곤란, 식욕부진, 발열, 기침 등의 호흡기 질병이 주로 나타난다. 이 두 질병은 해외뿐만 아니라 국내에서도 수 년 전부터 거의 전국적으로 발생하여 돼지 농장에 많은 피해를 주고 있는 실정이다.

본 연구의 제 2장에서 돼지 살모넬라증과 혼합 감염되는 병원체로 PRRSV와 PCV2가 가장 많아 전체 진단 된 예에서 각각 54.2%(84두) 및 38.1%(59두)를 점유하고 있었다. 제 2장에서의 질병 진단은 살모넬라증의 경우 소화기에 특징적인 병변이 있고 균체 분리가 된 것을 토대로 하였고, PRRSV와 PCV2에 대한 진단은 편도, 림프절 및 폐장에서 바이러스 항원의 검출을 근거로 하였다. 따라서 두 바이러스에 대한 진단은 전신 감염을 전제로 하였기 때문에 소화기 질병인 살모넬라증과의 연관성을 규명하기에는 다소 문제점이 있었다. 그러므로 제 3장에서는 *S. Typhimurium* 감염에 의한 장염형 살모넬라증에서 두 바이러스가 소화기

병변에 미치는 영향을 규명하고자 하였다. 실험군은 *S. Typhimurium* 단독 감염 예와 상기 두 바이러스가 혼합 감염된 예를 구분하여 설정하였으며, 병변이 있는 대장 병변에서 바이러스 항원의 발현 여부 및 분포를 살펴보았다. 두 바이러스의 특이 항체를 이용한 IHC 결과 PCV2 항원은 83.3%(20/24두)에서 검출되었으나, PRRSV 항원은 10.3%(3/29두)에서만 검출되었다. 또한 살모넬라증 단독 감염군에 비하여 PCV2와 혼합 감염된 실험군에서 대장의 궤양성 장염의 발현 빈도도 다소 높게 발생하고 있었다. 이를 토대로 PRRSV 보다는 PCV2가 살모넬라증의 장염 발생에 더욱 밀접하게 연관되어 있음을 확인할 수 있었다. 외국과 유사하게 국내에서도 설사 증상을 보이는 40-60일령의 자돈 6두에서 소장 및 대장에 육아종성 장염 병변을 보이고, PCV2 항원이 병변 내에서 검출된 PCV2 장염이 보고되었다 [Kim 등, 2004]. 호주에서는 PCVAD로 진단된 42두의 돼지 예에서 24두가 살모넬라증과 혼합 감염되어 있으나, 두 질병의 상호 관련성은 낮은 것으로 보고하였다 [O'dae 등, 2011]. 인공적으로 PCV2와 살모넬라균을 감염 시킨 돼지에서 접종 후 28일째에 단독 감염군의 돼지와 병리조직학적 소견을 비교 분석하였을 때, PCV2의 특징적인 병변인 회장에서의 육아종성 장염 병변에는 큰 차이가 없었으나, 살모넬라증의 병변인 화농성 또는 궤양성 대장염 병변은 다소 증가하는 경향을 보이고 있었다 [Opriessnig 등, 2011; Opriessnig과 Halbur, 2012]. 따라서 본 연구의 병리조직학적 대장 병변의 군별 차이와 대체로 유사하였다.

외국의 연구에 따르면 PRRSV와 패혈증 살모넬라증의 원인체인 *S. Choleraesuis*를 각각 단독 및 혼합 감염시켰을 때 단독 감염군에서는 특별한 임상증상이 나타나지 않았으나 혼합 감염된 군에는 위축, 호흡곤란, 설사 등의 증상을 나타내었다 [Wills 등, 2000]. 또한 혼합 감염군에서는 증체량이 감소하고 분변으로 살모넬라균의 배출도 현저히 높게 검출되었다. 따라서 PRRSV와 *S. Choleraesuis*의 혼합 감염 시 각 질병의 상승작용이 있음을 증명하였다. 그러나 현재까지 PRRSV와 장염형 살모넬라증과의 연관성에 대한 보고는 없는 실정이다. 본 연구에서 장염형 살모넬라증과 전신 감염으로의 PRRSV가 혼합 감염된 돼지 29두에 대하여 소화기 장기에서 PRRSV 항원의 분포를 검사한 결과 단지 3두의 대장에서만 항원이 검출되었다. 따라서 PRRSV의 소화기 질병으로서의 역할은 극히 제한적인 것으로 판단된다.

돼지에서 PCV2 감염으로 인한 PCVAD의 발생 기전과 체내에서 PCV2가 증식하는 가장 주된 세포에 대해서는 아직 완전히 밝혀져 있지 않다 [Opriessnig 등, 2007]. 대체로 PCVAD 증상을 보이는 돼지에서 일관되게 나타나는 병변으로는 림프구 소실과 말초 혈액에서 림프구 감소증이 알려져 있다. 또한 IHC 또는 제자리 부합법(in situ hybridization)을 통한 검사 시 PCV2 항원 또는 유전자는 큰포식세포와 수지상 세포의 세포질에서 검출되고 있다. 따라서 림프장기의 림프구 소실과 조직구로의 대체, 활성화된 림프구에 바이러스의 감염 등으로 PCV2가 면역억제를 유발하여 다른 이차적인 감염을 용이하게 하고 있음이 알려져 있다 [Segalés 등, 2004a]. PCV2 장염의 경우 PMWS 또는 PDNS와는 달리 전신 림프장기의 림프구 소실이나 림프소질의 조직구로의 대체 등의 병변은 없고, 단지 소화기에 분포하는 GALT에서의 림프구 소실만이 관찰되는 특징을 가지고 있다 [Ha 등, 2005; Kim 등, 2004; Opriessnig 등, 2007]. 본 연구에서 대장 점막하직의 GALT에서 림프구의 소실 또는 고갈 병변은 8두에서 관찰되었으며, 살모넬라균과 PCV2가 혼합 감염된 군과 살모넬라균과 PCV2 및 PRRS가 혼합 감염된 군에서 각각 4두씩 확인되었다. 이를 토대로 GALT에서 림프구 소실이 있는 개체 8두를 대상으로 대장 조직 내 바이러스 항원의 존재를 검사한 결과 PCV2 바이러스 항원만이 7두에서 검출되었다. 따라서 PCV2 감염으로 인해 대장의 GALT에 림프구 고갈을 유발하여 돼지의 면역 기능을 저하시킴으로써 소화기 세균의 감염을 증강시킬 가능성이 높을 것으로 추정된다.

총 결 론

제주도 내에서 돼지 살모넬라증의 발생양상을 파악하기 위하여 돼지 혈청에 대한 항체 검사, 야외 돼지 시료에 병리학적 검사 및 세균학적 검사, 소화기에서 살모넬라균과 만성 소모성 질병을 유발하는 PCV2 및 PRRSV와의 관련성을 분석하기 위한 연구를 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 보이고 있어 약 7배 이상의 높은 항체 양성률을 나타내었다. 이유 후 40일령에서 가장 낮은 항체 양성률을 나타내었고, 이는 모체 이행 항체의 소실과 관련이 있을 것으로 추정된다. 계절별로는 겨울철에 항체 양성률이 가장 높았고, 여름철에 가장 낮았다.

야외에서 의뢰된 돼지 시료 1,191두에 대한 검사 결과 155두(13.0%)가 살모넬라증으로 진단되었다. 제주도에서 살모넬라증은 4-12주령의 이유자돈에서 가장 많은 발생을 보이고 있었으며, 때로는 포유 자돈 시기에서도 발생하고 있었다. 살모넬라증에 이환된 돼지에서 가장 주된 임상증상은 위축을 동반한 설사였으며, 육안 병변은 대장의 섬유소 석출과 궤양, 간의 유백색 반점 형성이 주로 관찰되었다. 병리조직학적 궤양성 맹결장염(63.9%)과 간에서 파라티푸스 결절 형성(57.4%)이 가장 많이 관찰되는 병변이었다.

살모넬라증으로 진단된 돼지에서 살모넬라 단독 감염은 24.5%로 적은 반면 다른 병원체가 혼합 감염된 예는 75.5%로 대다수를 차지하고 있었고, PRRSV(54.2%) 또는 PCV2(38.1%)와의 혼합 감염이 가장 많았다.

야외 돼지 시료에서 분리된 세균 41주에 대하여 균체 동정을 수행한 결과 39균주(95.1%)는 *S. Typhimurium*으로, 2균주는 *S. Rissen* (4.9%)으로 동정되었다. 공시 균주 41주에 MALDI-TOF 질량분석법을 적용하여 분석한 결과 모든 균주가 살모넬라균으로 확인되어, 간편하고 신속한 균체 동정에 활용될 수 있는 새로운 기법임이 입증되었다.

살모넬라균과 PCV2 및 PRRSV 감염이 돼지의 소화기 병변에 미치는 영향을 분석하였다. 소화기에서 살모넬라균과 PCV2 항원이 동시에 검출된 예는 83.3% 인 반면, 살모넬라균과 PRRSV 항원이 같이 검출된 예는 10.3%에 불과하였다. 병리조직학적으로 PCV2 바이러스 항원은 점막하직의 GALT 부위에서 가장 많이 존재하고 있었다. 살모넬라균과 PCV2 혼합 감염 시 궤양성 맹결장염의 발생 빈도가 다소 증가하였으며, 특히 PCV2 감염으로 인해 대장의 GALT에 림프구 고갈을 유발하여 돼지의 면역 기능을 저하시켜 소화기 세균의 감염을 증강시킬 개연성이 있을 것으로 추정된다.

이상의 연구 결과를 종합하여 볼 때 살모넬라증은 제주도 전역의 양돈 농장에 만연되어 있으며, 거의 연중 발생하고 있다. 살모넬라증은 포유자돈 시기에서 발생하기 시작하여 모체 이행 항체가 떨어지는 이유자돈 시기에 발생 빈도가 급격히 증가하고 있었다. 특히 돼지에서 만성 소모성 질병을 유발하는 PCV2 및 PRRSV와 혼합 감염됨으로써 병증이 더욱 심해지고 돼지 농장에 더 큰 손실을 초래할 것으로 판단된다. 따라서 제주도에서는 소모성 바이러스 질병에 대한 철저한 예방접종과 살모넬라균 감염원을 제거하는 적극적인 차단방역이 반드시 필요할 것으로 사료된다.

참고문헌

김상윤. 경북지역 가축에서 분리된 Salmonella속 균의 역학적 특성 및 병원성. 안동대학교 대학원 박사학위 논문 2001.

김재훈, 노인순, 손현주, 진영화, 황의경, 윤경진. 국내 이유자돈의 썬코바이러스 감염에 의한 이유후전신소모성 증후군. 대한수의학회지 2003, **43**, 463-469.

노인순, 이경우, 김재훈, 한정희, 진영화. 국내 분리 porcine circovirus 2의 이유자돈에 대한 병원성 시험연구. 대한수의학회지 2007, **47**, 175-185.

박석준, 정지열, 강상철, 고문석, 이성수, 손원근, 김재훈. 제주도 육성돈에서 세균성 소화기 병원체의 감염양상. 한국임상수의학회지 2011, **28**, 81-86.

심항섭, 우종태, 조중현, 전무형. 돼지에서 *Actinobacillus pleuropneumoniae*의 혈청학적 진단법에 대한 비교연구. 한국가축위생학회지 1994, **17**, 95-113.

정병열, 추지훈, 김지훈, 정재윤. 돈군의 Salmonella 모니터링을 위한 림프절 추출액 사용에 대한 평가. 대한수의학회지 2006, **46**, 119-125.

정호경, 선우선영, 류영수. 양돈 생산성에 따른 주요 질병 분포 조사. 한국임상수의학회지 2011, **28**, 415-421.

최원필, 이희석, 여상건, 이현준, 정석찬. 양돈장에 있어서 Salmonella 감염증의 역학적인 연구: II. Salmonella 속균의 약제내성 및 전달성 R plasmid. 대한수의학회지 1986, **26**, 229-235.

Allan GM, Mc Neilly F, Meehan BM, Kennedy S, Mackie DP, Ellis JA, Clark EG, Espuna E, Saubi N, Riera P, Bøtner A, Charreyre CE. Isolation and characterisation of circoviruses from pigs with wasting syndromes in Spain, Denmark and Northern Ireland. *Vet Microbiol* 1999, **66**, 115-123.

Allan GM, Ellis JA. Porcine circoviruses: a review. *J Vet Diagn Invest* 2000, **12**, 3-14.

Baggesen DL, Wegener HC, Bager F, Stege H, Christensen J. Herd prevalence of *Salmonella enterica* infections in Danish slaughter pigs determined by microbiological testing. *Prev Vet Med* 1996, **26**, 201 - 213.

Baggesen DL, Sandvang D, Aarestrup FM. Characterization of *Salmonella enterica* serovar typhimurium DT104 isolated from Denmark and comparison with isolates from Europe and the United States. *J Clin Microbiol* 2000, **38**, 1581-1586.

Barry T, Powell R, Gannon F. A general method to generate DNA probes for microorganisms. *Biotechnology* 1990, **8**, 233-236.

Beloil PA, Chauvin C, Proux K, Fablet C, Madec F, Alioum A. Risk factors for salmonella seroconversion of fattening pigs in fallow-to-finish herds. *Vet Res* 2007, **38**, 835-848.

Carman S, Cai HY, DeLay J, Youssef SA, McEwen BJ, Gagnon CA, Tremblay D, Hazlett M, Lulis P, Fairles J, Alexander HS, van Dreumel T. The emergence of a new strain of porcine circovirus-2 in Ontario and Quebec swine and its association with severe porcine circovirus associated

disease--2004-2006. *Can J Vet Res* 2008, **72**, 259-268.

Carter PB, Collins FM. The route of enteric infection in normal mice. *J Exp Med* 1974, **139**, 1189-1203.

Chae C. Porcine circovirus type 2 and its associated diseases in Korea. *Virus Res* 2012, **164**, 107-113.

Chiu CH, Tang P, Chu C, Hu S, Bao Q, Yu J, Chou YY, Wang HS, Lee YS. The genome sequence of *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis, a highly invasive and resistant zoonotic pathogen. *Nucleic Acids Res* 2005a, **33**, 1690-1698.

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* 2005b, **68**, 1575-1580.

Davies RH, Dalziel R, Gibbens JC, Wilesmith JW, Ryan JM, Evans SJ, Byrne C, Paiba GA, Pascoe SJ, Teale CJ. National survey for *Salmonella* in pigs, cattle and sheep at slaughter in Great Britain (1999-2000). *J Appl Microbiol* 2004, **96**, 750-760.

Dupont K, Nielsen EO, Bækbo P, Larsen LE. Genomic analysis of PCV2 isolates from Danish archives and a current PMWS case-control study supports a shift in genotypes with time. *Vet Microbiol* 2008, **128**, 56-64.

Edwards PR, Ewing WH. Identification of Enterobacteriaceae, 4th ed. pp. 17-21. Elsevier Science Publishing, New York, USA. 1986.

Ellis J, Hassard L, Clark E, Harding J, Allan G, Willson P, Strokappe J, Martin K, McNeilly F, Meehan B, Todd D, Haines D. Isolation of circovirus from lesions of pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *Can Vet J* 1998, **39**, 44-51.

Emonet S, Shah HN, Cherkaoui A, Schrenzel J. Application and use of various mass spectrometry methods in clinical microbiology. *Clin Microbiol Infect* 2010, **16**, 1604-1613.

Farzan A, Friendship RM, Dewey CE. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) tests and culture for determining *Salmonella* status of a pig herd. *Epidemiol Infect* 2007, **135**, 238-244.

Foley SL, Lynne AM, Nayak R. *Salmonella* challenges: prevalence in swine and poultry and potential pathogenicity of such isolates. *J Anim Sci* 2008, **86**, 149-162.

Funk J, Gebreyes WA. Risk factors associated with *Salmonella* prevalence on swine farms. *J Swine Health Prod* 2004, **12**, 246-251.

Futagawa-Saito K, Hiratsuka S, Kamibeppu M, Hirosawa 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.

Gewritz AT, Siber AM, Madara JL, McCormick BA. Orchestration of neutrophil movement by intestinal epithelial cells in response to *Salmonella typhimurium* can be uncoupled from bacterial internalization. *Infect Immun* 1999, **67**, 608-617.

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.

Griffith RW, Schwartz KJ, Meyerholz DK. Salmonella. In: Straw BE, Zimmermann JJ, D'Allaire S, Taylor DJ. (Eds.), *Diseases of Swine*, 9th ed. pp. 739-754. Blackwell Publishing, Ames, USA. 2006.

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.

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.

Hong CH, Todd EC, Bahk GJ. Aerobic plate counts as a measure of hazard analysis critical control point effectiveness in a pork processing plant. *J Food Prot* 2008, **71**, 1248-1252.

Hulebak KL, Schlosser W. Hazard analysis and critical control point (HACCP) history and conceptual overview. *Risk Anal* 2002, **22**, 547-552.

Kawashima K, Narita M, Yamada S. Changes in macrophage and lymphocyte subpopulations of lymphoid tissues from pigs infected with the porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *Vet Immunol Immunopathol* 1999, **71**, 257-262.

Kim D, Ha Y, Oh Y, Chae C. Prevalence of porcine circovirus types 2a and b in pigs with and without post-weaning multi-systemic wasting syndrome. *Vet J* 2011, **188**, 115-117.

Kim YH, Kwon IK, Han JH. Seroprevalence of Swine Salmonellosis in Korean Swine Herds. *Korean J Food Sci Ani Resour* 2010, **30**, 62-65.

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.

Kim J, Ha Y, Jung K, Choi C, Chae C. Enteritis associated with porcine circovirus 2 in pigs. *Can J Vet Res* 2004, **68**, 218-221.

Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn Jr WC. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 5th ed. pp. 570-650. Lippincott Williams and Wilkins Publishers, New York, USA, 1997.

Kranker S, Alban L, Boes J, Dahl J. Longitudinal study of *Salmonella enterica* aerotype Typhimurium infection in three Danish farrow-to-finish swine herds. *J Clin Microbiol* 2003, **41**, 2282-2288.

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.

Lim SK, Byun JR, Nam HM. Phenotypic and genotypic characterization of *Salmonella* spp. isolated from pigs and their farm environment in Korea. *J Microbiol Biotechnol* 2011, **21**, 50-54.

Lim SK, Lee HS, Nam HM, Jung SC, Koh HB, Roh IS. Antimicrobial resistance and phage types of Salmonella isolates from healthy and diarrheic pigs in Korea. Foodborne Pathog Dis 2009, **6**, 981-987.

Lyo YS, Kim JH, Park CK. Identification of porcine circoviruses with genetic variation from lymph nodes collected in pigs with PMWS. Korean J Vet Res 1999, **39**, 353-358.

Molorny B, Schoreter A, Bunge C, Hoog B, Steinbeck A, Helmuth R. Evaluation of molecular typing methods for Salmonella enterica serovar Typhimurium DT 104 isolated in Germany from healthy pigs. Vet Res 2001, **32**, 119-129.

Morozov I, Sirinarumitr T, Sorden SD, Halbur PG, Morgan MK, Yoon KJ, Paul PS. Detection of a novel strain of porcine circovirus in pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. J Clin Microbiol 1998, **36**, 2535-2541.

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.

Nicader L, Brown EM, Dellmann HD, Landsverk T. Lymphatic organs. In: Dellmann HD, (Eds), Textbook of veterinary histology, 4th ed. pp. 120-135. Lea and Febiger, Philadelphia, USA. 1993.

O' Dea MA, Kabay MJ, Carr J, Wilcox GE, Richards RB. Porcine circovirus-associated disease in weaner pigs in Western Australia. Aust Vet J 2011, **89**, 122-130.

Offit PA, Clark HF. Protection against rotavirus-induced gastroenteritis in a murine model by passively acquired gastrointestinal but not circulating antibodies. J Virol 1985, **54**, 58-64.

Opriessnig T, Halbur PG. Concurrent infections are important for expression of porcine circovirus associated disease. Virus Res 2012, **164**, 20-32.

Opriessnig T, Madson DM, Roof M, Layton SM, Ramamoorthy S, Meng XJ, Halbur PG. Experimental reproduction of porcine circovirus type 2 (PCV2)-associated enteritis in pigs infected with PCV2 alone or concurrently with *Lawsonia intracellularis* or *Salmonella typhimurium*. J Comp Pathol 2011, **145**, 261-270.

Opriessnig T, Meng XJ, Halbur PG. Porcine circovirus type 2 associated disease: update on current terminology, clinical manifestations, pathogenesis, diagnosis, and intervention strategies. J Vet Diagn Invest 2007, **19**, 591-615.

Opriessnig T, Ramamoorthy S, Madson DM, Patterson AR, Pal N, Carman S, Meng XJ, Halbur PG. Differences in virulence among porcine circovirus type 2 isolates are unrelated to cluster type 2a or 2b and prior infection provides heterologous protection. J Gen Virol 2008, **89**, 2482-2491.

Popoff MY, Bockemühl J, Gheesling LL. Supplement 2002 (no. 46) to the Kauffmann-White scheme. Res Microbiol. 2004, **155**, 568-70.

Rabsch W, Andrews HL, Kingsley RA, Prager R, Tschape H, Adams LG, Baumler LJ. Salmonella enterica serotype Typhimurium and its host-adapted variants. Infect Immun 2002, **70**, 2249-2255.

Rossow KD. Porcine reproductive and respiratory syndrome. Vet Pathol 1998, **35**, 1-20.

Saffert RT, Cunningham SA, Ihde SM, Jobe KE, Mandrekar J, Patel R. Comparison of Bruker Biotyper matrix-assisted laser desorption ionization - time of flight mass spectrometer to BD Phoenix automated microbiology system for identification of gram-negative bacilli. J Clin Microbiol 2011, **49**, 887 - 892.

Sansonetti P, Phalipon A. M cells as ports of entry for enteroinvasive pathogens: mechanisms of interaction, consequences for the disease process. Semin Immunol 1999, **11**, 193-203.

Segalés J. Porcine circovirus type 2 (PCV2) infections: clinical signs, pathology and laboratory diagnosis. Virus Res 2012, **164**, 10-19.

Segalés J, Domingo M, Chianini F, Majó N, Domínguez J, Darwich L, Mateu E. Immunosuppression in postweaning multisystemic wasting syndrome affected pigs. Vet Microbiol 2004a **98**, 151-158.

Segalés J, Rosell C, Domingo M. Pathological findings associated with naturally acquired porcine circovirus type 2 associated disease. Vet Microbiol 2004b, **98**, 137-149.

Siebers A, Finlay BB. M cells and the pathogenesis of mucosal and

systemic infections. *Trends Microbiol* 1996, **4**, 22-29.

Stege H, Christensen J, Nielsen JP, Baggesen DL, Enøe C, Willeberg P. Prevalence of subclinical *Salmonella enterica* infection in Danish finishing pig herds. *Prev Vet Med* 2000, **44**, 175 - 188.

Straw BE, Dewey CE, Wilson MR. Differential diagnosis of disease. In: Straw BE, Zimmermann JJ, D'Allaire S, Taylor DJ. (Eds.), *Diseases of Swine*, 9th ed. pp. 241-283. Blackwell Publishing, Ames, USA. 2006.

Taitt CR, Shubin YS, Angel R, Ligler FS. Detection of *Salmonella enterica* serovar typhimurium by using a rapid, array-based immunosensor. *Appl Environ Microbiol* 2004, **70**, 152-158.

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.

van Duijkeren E, Wannet WJ, Houwers DJ, van Pelt W. Serotype and phage type distribution of salmonella strains isolated from humans, cattle, pigs, and chickens in the Netherlands from 1984 to 2001. *J Clin Microbiol* 2002, **40**, 3980-3985.

van Veen SQ, Claas EC, Kuijper EJ. High-throughput identification of bacteria and yeast by matrix-assisted laser desorption ionization - time of flight mass spectrometry in conventional medical microbiology laboratories. *J Clin Microbiol* 2010, **48**, 900-907.

Villasante PA, Agulla A, Merino FJ, Pérez T, Ladrón de Guevara C, Velasco AC. Rapid automated method for screening of enteric pathogens from stool specimens. *J Clin Microbiol* 1987, **25**, 584-585.

Widjojatmodjo MN, Fluit AC, Torensma R, Keller BH, Verhoef J. Evaluation of the magnetic immuno PCR assay for rapid detection of *Salmonella*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1991, **10**, 935-938.

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.

Wilcock BP, Olander HJ. The pathogenesis of porcine rectal stricture. I. The naturally occurring disease and its association with salmonellosis. *Vet Pathol* 1977a, **14**, 36-42.

Wilcock BP, Olander HJ. The pathogenesis of porcine rectal stricture. II. Experimental salmonellosis and ischemic proctitis. *Vet Pathol* 1977b, **14**, 43-55.

Wills RW, Gray JT, Fedorka-Cray PJ, Yoon KJ, Ladely S, Zimmerman JJ. Synergism between porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) and *Salmonella choleraesuis* in swine. *Vet Microbiol* 2000, **71**, 177-192.

Zimmerman J, Benfield DA, Murtaugh MP, Osorio F, Stevenson GW, Torremorell M. Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (Porcine Arterivirus). In: Straw BE, Zimmermann JJ, D'Allaire S, Taylor DJ. (Eds.), *Diseases of Swine*, 9th ed. pp. 387-418. Blackwell Publishing, Ames, USA. 2006.

요 약

제주도 내 돼지 살모넬라증의 발생양상 분석 및 병리학적 연구

돼지 살모넬라증은 거의 전 세계적으로 발생하고 있으며, 양돈 산업에 있어서 큰 경제적 손실을 주고 있는 질병이다. 살모넬라균의 혈청형 중 *S. Typhimurium*은 전염성이 높아 감염 시 돈군에 급속히 전파하고 심한 설사를 동반한 장염을 유발한다.

제주도 내에서 돼지 살모넬라증의 발생양상을 파악하기 위하여 96개 돼지 농장에서 채취한 12,885두의 혈청에 대하여 MAT 검사를 실시하였다. 검사한 모든 농장이 살모넬라 항체 양성으로 나타났으며, *S. Typhimurium* 항체 양성률은 18.8%(2,418두)로 확인되었다. 돼지 연령별로 포유자돈에서 비육돈에 이르는 자돈에서는 양성률은 6.7%로 나타난 반면, 처녀돈을 포함한 모돈에서는 46.7%를 보이고 있어 약 7배 이상의 높은 항체 양성률을 나타내었다. 자돈의 경우 이유 후 40일령에서 가장 낮은 항체 양성률을 나타내었고, 이는 모체 이행 항체의 소실과 관련이 있을 것으로 추정된다. 계절별로는 겨울철에 항체 양성률이 가장 높았고, 여름철에 가장 낮았다.

야외에서 의뢰된 돼지 시료 1,191두에 대한 검사 결과 155두(13.0%)가 살모넬라증으로 진단되었다. 제주도에서 살모넬라증은 4-12주령의 이유자돈(88.4%)에서 가장 많은 발생을 보이고 있었으며, 때로 4주령 이하의 포유 자돈 시기에서도 발생하고 있었다. 살모넬라증에 이환된 돼지에서 가장 주된 임상증상은 위축을 동반한 설사였으며, 육안 병변은 대장의 섬유소의 석출과 궤양, 간의 유백색 반점 형성이 주로 관찰되었다. 병리조직학적 검사에서는 궤양성 맹결장염(63.9%)과 간에서 파라티푸스 결절 형성 (57.4%)이 가장 많은 병변이었다.

살모넬라증으로 진단된 돼지에서 살모넬라균 단독 감염은 24.5%로 적은 반면

다른 병원체가 혼합 감염된 예는 75.5%로 대다수를 차지하고 있었고, 그중 PRRSV (54.2%) 또는 PCV2 (38.1%)와의 혼합 감염이 가장 많았다.

야외 돼지 시료에서 분리된 세균 41주에 대하여 균체 동정을 수행한 결과 39 균주(95.1%)는 *S. Typhimurium*으로, 2균주는 *S. Rissen* (4.9%)으로 동정되었다. 대장 조직이 포함된 파라핀 블록에 대한 균 동정 결과 65.2%(43/66점)에서 *S. Typhimurium* 감염으로 확인되었다. *S. Rissen*에 감염된 돼지에서는 *S. Typhimurium* 감염과 유사한 간의 파라티푸스 결절 형성 및 대장의 궤양성 장염이 관찰되었다. 공시 균주 41주에 MALDI-TOF 질량분석법을 적용하여 분석한 결과 모든 균주가 살모넬라균으로 확인되어, 간편하고 수 분 내에 신속히 균체를 동정할 수 있는 새로운 기법임이 입증되었다.

살모넬라균과 PCV2 및 PRRSV 감염이 돼지의 소화기 병변에 미치는 영향을 분석하기 위하여 살모넬라균 단독 감염균, PCV와 혼합 감염균, PRRSV와 혼합 감염균 및 PCV2와 PRRSV의 3중 혼합 감염균으로 세분하여 조직 내 바이러스 항원의 분포와 병변의 정도를 비교하였다. 소화기에서 살모넬라균과 PCV2 항원이 동시에 검출된 예는 83.3%인 반면, 살모넬라균과 PRRSV 항원이 같이 검출된 예는 10.3%에 불과하였다. 병리조직학적으로 PCV2 바이러스 항원은 점막하직의 GALT 부위에서 가장 많이 존재하고 있었다. 살모넬라균과 PCV2 혼합 감염 시 궤양성 맹결장염의 발생 빈도가 다소 증가하였으며, 특히 PCV2 감염으로 인해 대장 GALT에 림프구 고갈을 유발하여 돼지의 면역 기능을 저하시켜 소화기 세균의 감염을 증강시킬 가능성이 있을 것으로 추정된다.

주요어: 림프구 고갈, 면역조직화학염색, MALDI-TOF 질량분석법, PCR, PCV2, PRRSV, *Salmonella Typhimurium*