

## 개의 *Helicobacter* species 감염 실태

남현우 · 김 두

강원대학교 동물자원과학대학 수의학과  
(2000년 8월 24일 게재승인)

### Prevalence of *Helicobacter* species infection in dogs

Hun-woo Nam, Doo Kim

Department of Veterinary Medicine, Kangwon National University  
(Accepted by August 24, 2000)

**Abstract :** *Helicobacter* species have commonly been isolated from the gastric mucosa of humans and animals, however have not been known its association with clinical signs. This study was aimed to detect and identify *Helicobacter* species in the canine stomach by urease test and polymerase chain reaction(PCR). A total of 87 dogs in Kangwon and Kyunggi areas from August, 1998 to June, 1999 were examined. The detection rate of *Helicobacter* species by urease test for fundal biopsy samples was 83.9%, and positive rate was increased as incubation time was increased. *Helicobacter* species was detected in the seventy seven dogs(88.5%) of total 87 dogs by PCR. The fifty five strains of the 77 strains of *Helicobacter* species were identified as *H heilmannii* and the three strains were identified as *H felis* by PCR, but the nineteen strains were not identified.

**Key words :** canine, *Helicobacter felis*, *Helicobacter heilmannii*, PCR

### 서 론

위내 나선모양 세균은 1881년에 최초로 개에서 보고되어 spirillae 또는 spirochaetes로 불렸으나 나중에 *Campylobacter* 속으로 분류되었으며, 그후 *Helicobacter* species로 분류되었다<sup>1,2</sup>. *Helicobacter* species 또는 이와 유사한 세균은 개, 고양이, 치이타와 담비 등 여러 정상적인 동물의 위에서 흔히 관찰되며, 이들 동물의 위장관염 발생에도 직접적인 연관이 있는 것으로 여겨진다<sup>3-6</sup>.

개와 고양이의 위에서는 *H heilmannii*와 *H felis*가 가장 흔히 관찰되며, 그 외에도 *H bilis*, *H canis*, *H bizzozeronii*, *H salomonis* 등이 분리되었다<sup>7,8</sup>. 실험용 쥐에서도 *H rodentium*, *H hepaticus*, *H muridarum*과 *H bilis*가 검출되어, 동물에서 총 18종의 *Helicobacter* species가 검출되었다<sup>4,9-14</sup>.

각 동물의 위장관에서 *Helicobacter* species를 검출하는 방법에는 배양, Warthin-Starry silver 염색, Gram 염색, HE 염색, urease test, urea breath test, polymerase chain

reaction(PCR)과 enzyme-linked immunosorbent assay가 있다<sup>14-17</sup>. PCR 기법은 이미 다른 여러 세균의 확인에 사용되고 있으며 실험실에서 수행되어야 하고 특별한 기구가 필요하며 비용이 비싸지만, 배양이 어려운 *Helicobacter* species의 검출에 적합한 방법으로 인식되고 있다<sup>17,19-21</sup>. 그리고 PCR 기법은 배양, 전자현미경 또는 조직학적 검사보다 민감하고 특이적이며 빠르기 때문에 *Helicobacter* species를 검출하기에 우수한 방법이다<sup>22</sup>.

*Helicobacter* species는 동물에서 사람으로 전염될 수 있고 사람에서 위염, 위궤양과 위암의 유발인자로 인식되고 있어, 동물과 사람에서 *Helicobacter* species 감염의 중요성이 점차 증가되고 있다<sup>23,24</sup>. 국내에서도 실험동물로 사용하는 비글견과, 정상적인 개에서 *Helicobacter* species의 감염실태가 최근에 조사되어 대부분의 개가 *Helicobacter* species에 감염되었다고 보고되었다<sup>25,26</sup>. 그러나 개의 위에 감염된 *Helicobacter* species의 종에 대한 동정이 이루어지지 않아 이들 세균의 상대적인 중요성이 알려지지 않았다. 그러므로 본 연구에서는 국내 개

Adress reprint requests Dr. Doo Kim, Department of Veterinary Medicine, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea.

에 주로 감염되어 있는 *Helicobacter* species의 종을 확인하기 위하여 urease test와 PCR 방법으로 *Helicobacter* species 감염실태를 조사하고 PCR 방법으로 *Helicobacter* species의 종을 확인하였다.

## 재료 및 방법

### 시료채취

1998년 8월부터 1999년 6월까지 강원도와 경기도 지역의 도견장에서 도축한 개 중 위에서 육안적 병변이 관찰되지 않은 53두, 강원대학교 부속동물병원에서 사육 중인 임상적으로 정상적인 7두와 강원대학교 수의병리 학실험실에 부검 의뢰된 27두를 포함한 총 87두를 대상으로 하였다. 실험견 중 80두에서는 안락사 직후에 위저부와 유문부 부위의 조직을 2×2 mm의 크기로 채취하였으며, 강원대학교 부속동물병원에서 사육 중인 7두의 개에서는 위 내시경을 사용하여 상기 부위의 조직을 채취하여 urease test와 PCR 검사에 사용하였다.

공시동물의 연령은 3개월령에서 12세로 다양하였고, 87두 중 수컷은 45두(51.7%), 암컷은 42두(48.3%)이었다. 품종별로는 잡종이 64두(73.6%)로 가장 많았으며, 순종은 German Shepherd가 20두(23.0%), Poodle이 1두(1.1%), Golden Retriever가 1두(1.1%), Cocker Spaniel이 1두(1.1%), Yorkshire Terrier가 1두(1.1%)이었다.

### 조직의 urease test

채취한 조직의 urease test를 위하여 Christensen's urease broth를 사용하였으며<sup>27</sup>, 배지 ml 당 trimethoprim (Sigma, USA) 2.5 µg, vancomycin (Sigma) 5 µg, polymyxin B (Sigma) 1.25IU 및 amphotericin B (Sigma) 2 µg을 각각 첨가하였다.

채취한 조직은 멸균된 증류수로 세척하여 상기의 broth 500 µl에 접종한 뒤 37°C에서 0.5시간, 1시간, 3시간 배

양한 후, urease의 반응여부를 색상의 변화로 확인하였다.

### DNA의 추출

*Helicobacter* species의 특이 유전자를 증폭하는데 주형으로 이용할 DNA는 Germani 등<sup>28</sup>의 방법으로 조직에서 추출하였다.

### Oligonucleotide primers

*Helicobacter* species의 검출을 위한 PCR을 위하여 Germani 등<sup>28</sup>이 설계한 *Helicobacter* species의 16S rRNA 유전자를 증폭할 수 있는 *Helicobacter* species의 genus-specific primer 1쌍 (HG-1, HG-2)을 사용하였다. *H. felis*의 동정을 위하여 Solnick 등<sup>29</sup>이 설계한 urease B 유전자를 증폭할 수 있는 *H. felis*-specific primer 1쌍 (HF-1, HF-2)을 사용하였다. 그리고 *H. heilmannii*의 동정을 위해서는 Neiger 등<sup>30</sup>이 설계한 urease B 유전자를 증폭할 수 있는 *H. heilmannii*-specific primer 1쌍 (HH-1, HH-2)과 urease B 유전자의 nested PCR을 위해 Solnick 등<sup>29</sup>이 보고한 *H. heilmannii*의 염기서열을 참고하여 설계한 primer 1쌍 (HH-3, HH-4)을 합성 (Bioneer, Korea)하여 사용하였다(Table 1).

### *Helicobacter* genus-specific 16S rRNA 유전자 증폭

*Helicobacter* species를 검출하기 위한 PCR 반응액은 5 mM deoxynucleotide triphosphate (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 0.1 mM HG-1 primer, 0.1 mM HG-2 primer, 5 unit의 *Taq* DNA polymerase (Promega, USA), 10× PCR buffer, 25 mM MgCl<sub>2</sub>, DNA template 100 ng과 멸균된 증류수를 혼합하여 총 부피가 50 µl 되도록 조성하였다. PCR 반응액을 thermal cycler (GeneAmp PCR System 9600; Perkin Elmer, USA)를 이용하여 94°C에서 5분간 denaturation 시킨 뒤, 94°C에서 1분간 denaturation, 55°C에서 1분간 annealing, 72°C에서 1분간 extension하는 과

**Table 1.** Oligonucleotide primers used for amplification of nucleotide fragments of *Helicobacter* species

Species	Primer designation	Nucleotide sequence(5'→3')	Product size(bp)	Reference
<i>Helicobacter</i> spp	HG-1	AACGATGAAGCTTCTAGCTTGCTAG	399	Germani <i>et al</i> <sup>28</sup>
	HG-2	GTGCTTATTC*TN*AGATACCGTCAT		
<i>H. felis</i>	HF-1	AATGGTGTGCCACCACTT	1,000	Solnick <i>et al</i> <sup>29</sup>
	HF-2	AAGCCCACTAACTCCGTTGC		
<i>H. heilmannii</i>	HH-1	GGGCGATAAAGTGCCTTG	580	Neiger <i>et al</i> <sup>30</sup>
	HH-2	CTGGTCAATGAGAGCAGG		
	HH-3	GACAAACCAACAGCCCCAGC	357	
	HH-4	CGGGAGTGATGGTGGTGG		

\*S = C or G; N = A, G, C or T.

정을 35회 반복하여 증폭시킨 후, 최종적으로 72°C에서 10분간 extension 시켰다. 증폭된 PCR 생산물의 확인은 TBE buffer (0.1M Tris base, 0.1M boric acid, 1.8 mM EDTA)를 전해질로 사용한 1.5% agarose gel에서 전기영동을 실시한 후, ethidium bromide 용액 (10 µg/ml)으로 염색한 뒤, UV-transilluminator (BIO-RAD, USA)를 이용하여 관찰하였다.

***H felis*의 urease B 유전자의 증폭**

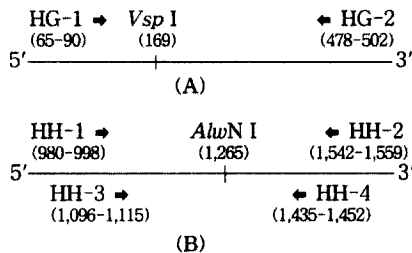
*H felis*를 검출하기 위한 PCR 반응액은 위와 같았고, *H felis*-specific primer (HF-1, HF-2)를 사용하였다. PCR 반응은 95°C에서 3분간 denaturation 시킨 뒤, 94°C에서 1분간 denaturation, 62°C에서 1분간 annealing, 72°C에서 2분간 extension 하는 과정을 35회 반복하여 증폭시킨 후, 최종적으로 72°C에서 10분간 extension 시켰다.

***H heilmannii*의 urease B 유전자의 증폭**

*H heilmannii*를 검출하기 위한 1차 PCR 반응액은 위와 같았고, *H heilmannii*-specific primer (HH-1, HH-2)를 사용하였다. PCR 반응은 94°C에서 1분간 denaturation 시킨 뒤, 94°C에서 30초간 denaturation, 45°C에서 30초간 annealing, 72°C에서 1분간 extension 하는 과정을 35회 반복하여 증폭시킨 후, 최종적으로 72°C에서 10분간 extension 시켰다. Nested PCR을 위하여 1차 PCR 생산물 5 µl를 취하여 PCR template로 사용하였고, PCR primer (HH-3, HH-4)를 제외한 기타 반응액은 위와 동일하였다. PCR 반응은 95°C에서 1분간 denaturation 시킨 뒤, 94°C에서 30초간 denaturation, 50°C에서 30초간 annealing, 72°C에서 1분간 extension 하는 과정을 35회 반복하여 증폭시킨 후, 최종적으로 72°C에서 10분간 extension 시켰다.

**제한효소 분석**

PCR 생산물의 특이성을 확인하기 위하여, *Helicobacter*



**Fig 1.** (A) *Vsp I* site of 16S rRNA gene of *Helicobacter* species. (B) *AlwN I* site of urease B gene of *H heilmannii*. Number in parenthesis indicate nucleotide sequence in 16S rRNA or urease B gene.

genus-specific PCR에서 생산된 증폭산물 25 µl를 채취하여 *Vsp I* (Promega)으로 37°C에서 4시간 동안 소화시킨 후 2% agarose gel에서 전기영동하여 UV-transilluminator에서 확인하였다. 그리고 *H heilmannii*-specific PCR에서 생산된 증폭산물 25 µl를 채취하여 *AlwN I* (Promega)으로 37°C에서 3시간 동안 소화시킨 후 2% agarose gel에서 전기영동하여 UV-transilluminator에서 확인하였다 (Fig 1).

**결 과**

국내의 개에 광범위하게 감염되어 있는 *Helicobacter* species의 동정을 위하여 개 87두의 위저부와 유문부를 채취하여 urease test와 PCR로 *Helicobacter* species의 감염실태를 조사하고 동정을 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

**조직의 urease 활성에 의한 Helicobacter species의 검출**

임상적으로 정상적인 개 87두의 위저부와 유문부의 *Helicobacter* species의 감염을 확인하기 위하여 상기 부위의 조직을 Christensen's urease broth에서 배양한 성적은 Table 2와 같았다.

위저부와 유문부의 조직을 37°C에서 0.5시간 배양한 후 각 부위의 urease 양성률은 각각 73.6%(64/87)와 48.3%(42/87)이었고, 1시간 배양 후 양성률은 각각 82.8%(72/87)와 63.2%(55/87)이었으며, 3시간 후 양성률은 각각 83.9%(73/87)와 65.5%(57/87)로 배양시간이 길어질수록 양성률이 증가하였다(Table 2).

**PCR에 의한 Helicobacter species의 검출**

총 87두의 위에서 *Helicobacter* species를 검출하기 위하여 urease test에서 높은 양성률을 나타낸 위저부를 대상으로 *Helicobacter* genus-specific 16S rRNA 유전자들 PCR 기법으로 확인한 결과, 77두(88.5%)의 개에서 399bp 크기의 band가 관찰되었다(Fig 2와 Table 3).

**Table 2.** Degree of urease activity for the tissues from stomach according to incubation time

Tissue	Urease activity(%)		
	0.5hr	1hr	3hrs
Fundus	64/87*(73.6)	72/87(82.8)	73/87(83.9)
Antrum	42/87 (48.3)	55/87(63.2)	57/87(65.5)
Total	66/87 (75.9)	73/87(83.9)	76/87(87.4)

\*positive samples/tested samples.

**Fig 2.** Detection of *Helicobacter* species in biopsy samples by PCR. Lane M, DNA size standard (Amplisize™, BIO-RAD); lane 1, PCR product of urease B gene of *H heilmannii*; lane 2, PCR product of urease B gene of *H felis*; lane 3, PCR product of 16S rRNA gene of *Helicobacter* species.

**Table 3.** Detection of *Helicobacter* species by PCR in 87 biopsy samples

	Detection	
	No	Rate(%)
Helicobacter species	77/87*	88.5
H felis	3/77	3.9
H heilmannii	55/77	71.4
Nonidentified species	19/77	24.7

\*positive samples/tested samples.

#### PCR에 의한 *H heilmannii*의 동정

*Helicobacter* species의 동정을 위한 PCR에 의하여 *Helicobacter* species에 감염된 것으로 확인된 77두를 대상으로 *H heilmannii*-specific primer(HH-1, HH-2)를 사용한 PCR을 실시한 결과 580bp 크기의 band가 관찰되지 않았다. 그리하여 PCR의 민감성을 증가시키기 위하여 nested PCR을 실시한 결과 357bp 크기의 band가 55두(71.4%)에서 관찰되어 *H heilmannii*로 동정하였다(Fig 2와 Table 3).

#### PCR에 의한 *H felis*의 동정

*Helicobacter* species의 동정을 위한 PCR에 의하여 *Helicobacter* species로 확인된 77두를 대상으로 *H felis*-specific primer를 사용하여 urease B 유전자의 증폭을 PCR 기법으로 확인한 결과, 1,000bp 크기의 band가 77두 중 3두(3.9%)에서 관찰되어 *H felis*로 동정하였다(Fig 2와 Table 3).

그러나 77두 중 19두(24.7%)는 *H heilmannii*와 *H felis* 검출용 primer를 사용한 PCR에서 반응을 보이지 않아

종을 동정할 수 없었다(Table 3).

#### *Helicobacter* species의 PCR 생산물의 제한효소분석

*Helicobacter* genus-specific 16S rRNA 유전자의 증폭에 의해 *Helicobacter* species으로 확인된 77두의 PCR 생산물의 특이성을 확인하기 위하여 PCR 생산물을 *Vsp I*으로 소화시켜 확인한 결과 399bp 크기의 *Helicobacter* species PCR 생산물이 예상하였던 295bp와 104bp 크기의 두 band로 나누어졌다(Fig 3).

#### *H heilmannii*의 PCR 생산물의 제한효소분석

*H heilmannii*로 확인된 55두의 PCR 생산물의 특이성을 확인하기 위하여, *H heilmannii* urease B 유전자의 PCR 생산물을 *AlwN I*으로 소화시켜 확인한 결과 357bp 크기의 *H heilmannii* PCR 생산물이 예상하였던 187bp

**Fig 3.** Restriction enzyme analysis of the PCR products of *Helicobacter* species. Lane M, DNA size standard (Amplisize™, BIO-RAD); lane 1, undigested PCR product of *Helicobacter* species; lane 2, *Vsp I* digested PCR product of *Helicobacter* species.

**Fig 4.** Restriction enzyme analysis of the PCR products of *H heilmannii*. Lane M, DNA size standard (Amplisize™, BIO-RAD); lane 1, undigested PCR product of *H heilmannii*; lane 2, *AlwN I* digested PCR product of *H heilmannii*.

\*The numbers at left are size of DNA marker.

\*\*The numbers at right indicates the expected size of PCR product.

와 170bp 크기의 두 band로 나누어졌다(Fig 4).

## 고 찰

*Helicobacter* species는 각종 위장관 질환의 원인균으로 추정되고 있으며, 특히 International Agency for Research on Cancer에서 발암물질(definite carcinogen group)로 분류하면서 관심이 증대되고 있다<sup>31</sup>.

각 동물의 위장관에서 *Helicobacter* species를 검출하는 방법으로 urease test, urea breath test, Warthin-Starry silver 염색, PCR 기법과 혈청학적 검사 등이 이용된다<sup>15,16,18,32</sup>. 이중 urease test는 *Helicobacter* species가 효소를 분해하는 특성을 이용한 것으로 사람에서 *Helicobacter* species 감염의 진단에 가장 흔히 이용되는 방법이다<sup>18</sup>. 그러나 검사 조직에 104개 이상의 *Helicobacter* species가 존재하여야 양성반응이 나타나며 민감도는 70~90%이다.

본 연구에서 위저부의 urease 활성을 0.5시간, 1시간, 3시간 배양 후 조사한 결과, 각각 73.6%, 82.8%와 83.9%의 양성률을 보였으며, 유문부를 조사한 결과 각각, 48.3%, 63.2%와 65.5%의 양성률을 보였다. 이 결과는 Happonen 등<sup>15</sup>이 urease 활성을 1시간 배양 후 조사하여 보고한 위저부의 95%, 유문부의 62%의 양성률보다 위저부의 양성률은 12.2% 정도 낮게 나타났고, 유문부의 양성률은 1.2% 높게 나타났다. 그리고 안 등<sup>26</sup>의 검출률과 비교시 urease 활성 3시간 후 위저부의 양성률이 다소 낮을 뿐 다른 부위별 검출률은 거의 같은 경향을 보였다. Urease test 결과 판정기준은 urea broth의 색 변화인데 Norris 등<sup>33</sup>은 urease test 양성 판정 기준 시간을 24시간으로 정하였으며, 안 등<sup>26</sup>은 urease test 양성 판정 기준 시간을 0.5시간, 1시간, 3시간으로 정하여 각 연구마다 양성판정 시간에 차이가 있어 양성률에 차이가 있었다고 생각되었다. 그리고 24시간 이후에 urease test 결과를 확인하면 *Proteus mirabilis*와 *Pseudomonas aeruginosa* 등과 같은 urease를 생산하는 위내 세균 때문에 위양성이 나올 가능성이 있다<sup>15</sup>. 본 연구에서는 안 등<sup>26</sup>의 연구에서와 같이 urease test 양성 판정 기준시간을 0.5시간, 1시간, 3시간 단위로 양성률을 조사하여 위저부와 유문부의 0.5시간 후와 1시간 후의 양성률 차이는 9.2%와 12.7%로 크게 나타났으나, 1시간 후와 3시간 후의 양성률 차이는 1.1%와 2.3%로 그 차이가 근소하여 *Helicobacter* species 검출을 위한 urease test는 37°C에서 1시간 배양 후 반응 결과를 평가하는 것이 빠른 시간내에 *Helicobacter* species를 검사할 수 있는 적당한 방법이라고 생각되었다.

PCR 기법은 채취한 샘플에서 *Helicobacter* species의

특이적인 유전자를 증폭시켜 검사하는 방법으로 민감도와 특이도가 높다<sup>18,28</sup>. *Helicobacter* species를 검출하기 위한 본 연구 PCR의 특이성을 확인하기 위하여, *Vsp I*으로 소화시켜 확인한 결과 예상하였던 295bp와 104bp 크기의 두 band가 확인되었다. 이것은 Germani 등<sup>28</sup>의 연구와 동일한 결과로서 본 연구에서 검출한 세균이 *Helicobacter* species임을 확인할 수 있었다.

Chuanfu 등<sup>34</sup>은 *Helicobacter* species의 검출을 위한 위 조직의 PCR 기법의 민감도와 특이도는 각각 100%이었으며, 타액과 변을 이용한 PCR의 *Helicobacter* species 검출률은 각각 84%와 25% 이었다고 보고하였다. Neiger 등<sup>30</sup>은 49두 고양이의 PCR 검사에서 77.6%의 *Helicobacter* species 검출률을 보고하였으며, Norris 등<sup>33</sup>은 15두 고양이의 PCR 검사에서 66.7%의 검출률을 보였다고 보고하였다. 본 연구에서는 임상적으로 정상인 개 87두의 PCR에 의한 *Helicobacter* species의 검출률은 88.5%로서 Neiger 등<sup>30</sup>, Norris 등<sup>33</sup>과 안 등<sup>26</sup>의 결과보다는 다소 높은 편이었다.

본 연구에서 *H felis*로 동정된 3두는 *Helicobacter* species-specific primer에 의한 PCR에 의하여 *Helicobacter* species로 확인되었고 *H felis* 특이적인 urease B 유전자를 증폭할 수 있는 PCR로 검사한 결과 예상하였던 1,000bp 크기의 band가 확인되었다. 이것은 Solnick 등<sup>29</sup>의 연구 결과와 동일한 결과를 나타내어 본 연구에서 동정한 세균이 *H felis*임을 확인할 수 있었다. 그리고 본 연구에서 *H heilmannii*를 검출하기 위하여 Neiger 등<sup>30</sup>이 설계한 urease B 유전자를 증폭할 수 있는 primer(HH-1, HH-2)를 사용하여 PCR을 실시한 결과 예상한 580bp 크기의 band가 확인되지 않아 nested PCR을 위하여 본 연구에서 primer(HH-3, HH-4)를 설계하여 1차 PCR 반응물을 DNA template로 사용하여 nested PCR을 실시한 결과 *Helicobacter* species로 확인된 77두 중 55두(71.4%)에서 예상했던 357bp 크기의 band가 확인되었다. 그리고 nested PCR의 특이성을 확인하기 위하여 Solnick 등<sup>29</sup>이 보고한 *H heilmannii*의 urease B 유전자 염기서열을 분석하여 nested PCR 생산물을 제한효소 *AlwNI*으로 소화시킨 결과 357bp 크기의 band가 예상하였던 170bp와 185bp 크기의 두 band로 절단되어서 55두(71.4%) 전체가 *H heilmannii*로 확인되었다. Neiger 등<sup>30</sup>은 4개월에서 13세의 58마리의 건강한 고양이를 조사한 결과 78%가 *H heilmannii*에 감염되었다고 보고하였으며, Eaton 등<sup>10</sup>은 임상적으로 건강한 6개월에서 4세의 잠종 실험 개 31마리, shelter에서 보호되고 있는 개 8마리와 질병에 이환된 개 15마리를 조사한 결과, 실험 개 및 보호되고 있는 개의 100%와 질병에 이환된 개의 67%가 *Gastrospirillum hominis* (최근에 *H heilmannii*로

개명되었음) 또는 *H felis*에 감염되었다고 보고하였다. 본 연구의 *H heilmannii*의 감염율은 71.4%로서 Neiger 등<sup>30</sup>의 감염률 및 Eaton 등<sup>10</sup>의 평균 감염률 보다는 다소 낮았다. 이와 같이 *H heilmannii*의 감염률에 차이가 나타나는 이유는 *H heilmannii*가 개체간의 전파가 용이하게 일어나므로 개체간에 접촉할 수 있는 기회의 차이에 기인하는 것으로 생각되었다<sup>10</sup>.

본 연구에서 대상동물 대부분은 *Helicobacter species*에 감염된 것으로 확인되었고 나이, 성별, 품종에 따른 *Helicobacter species* 검출률에는 차이가 없어 안 등<sup>26</sup>의 결과와 유사하였다. 그리고 한 종류의 *Helicobacter species*에 감염된 개체가 다른 *Helicobacter species*에 중복 감염되었는지를 확인하기 위하여 *Helicobacter species*가 검출된 모든 샘플을 *H felis*-specific primer와 *H heilmannii*-specific primer를 사용하여 PCR 기법으로 조사한 결과 한 개체에서 다른 종의 *Helicobacter species*가 중복 감염된 증거는 확인할 수 없었다.

현재까지 국내에서는 동물들의 *Helicobacter species* 감염이 중요하게 인식되지 않아, 이에 대한 연구가 미흡하였으나 본 연구를 통하여 국내에서 사육되는 개들의 *Helicobacter species* 감염률이 상당히 높은 것으로 조사되어 이 세균에 대한 수의학 분야의 관심이 요구된다. 그리고 개의 *Helicobacter species*는 사람에게 전파될 가능성이 있는 것으로 보고되고 있으므로 이들 세균에 대한 역학적인 연구가 필요할 것으로 생각되었다. 또한 본 연구에서는 정상 개에서 *Helicobacter species*의 검출 및 종의 동정만을 실시하였지만 앞으로는 위장 질환이 있는 개에서의 *Helicobacter species*의 역할, *Helicobacter species*에 대한 치료법 개발 및 예방백신의 개발을 위한 연구가 추가적으로 이루어져야 할 것이라고 생각되었다.

## 결 론

국내의 정상 개에 광범위하게 감염되어 있는 *Helicobacter species*의 동정을 위하여 1998년 8월부터 1999년 6월까지 강원도와 경기도 지역의 총 87두의 개에서 위저부와 유문부를 채취하여 urease test와 PCR을 실시하였다.

Urease test에 의한 *Helicobacter species*의 검출률은 83.9% 이었으며, urease test의 양성률은 조직의 배양시간이 길어질수록 증가하였다. 그리고 PCR에 의하여 총 87두 중 77두(88.5%)에서 *Helicobacter species*가 검출되었다.

PCR에 의하여 *Helicobacter species*에 감염된 것으로 확인된 총 77두 중 55두(71.4%)는 *H heilmannii*, 3두(3.9%)는 *H felis*에 감염된 것으로 확인되었으며, 19

(24.7%) 두는 *Helicobacter species*의 종을 분류할 수 없었다.

## 참 고 문 헌

- Rappin. Contribution à l'étude des bactéries de la bouche à l'état normal. 1881:68 (quoted by Breed RS, Murray EGD, Hitchens AP in : *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 6th ed. Baltimore : Williams and Wilkins Co, 1948).
- Fox JG, Yan L, Dewhirst FE, et al. *Helicobacter bilis* sp nov, a novel *Helicobacter species* isolated from bile, livers, and intestines of aged, inbred mice. *J Clin Microbiol* 33:445-454, 1995.
- Fox JG, Edriss BM, Cabot EB, et al. *Campylobacter*-like organisms isolated from gastric mucosa of ferrets. *Am J Vet Res*, 47:236-239, 1986.
- Lee A, Hazell SL, O'Rourke J, et al. Isolation of a spiral-shaped bacterium from the cat stomach. *Infect Immun*, 56:2843-2850, 1988.
- Lee A, Krakowka S, Fox JG, et al. Role of *Helicobacter felis* in chronic canine gastritis. *Vet Pathol*, 29:487-494, 1992.
- Eaton KA, Dewhirst FE, Radin MJ, et al. *Helicobacter acinonyx* sp nov, isolated from cheetahs with gastritis. *Int J Syst Bacteriol*, 43:99-106, 1993.
- Fox JG, Drolet R, Higgins R, et al. *Helicobacter canis* isolated from a dog liver with multifocal necrotizing hepatitis. *J Clin Microbiol*, 34:2479-2482, 1996.
- Jalava K, On SLW, Vandamme PAR, et al. Isolation and identification of *Helicobacter species* from canine and feline gastric mucosa. *Appl Environ Microbiol*, 64:3998-4006, 1998.
- Shen Z, Fox JG, Dewhirst FE, et al. *Helicobacter rodentium* sp nov, a urease-negative *Helicobacter species* isolated from laboratory mice. *Int J Syst Bacteriol*, 47:627-634, 1997.
- Eaton KA, Dewhirst FE, Paster BJ, et al. Prevalence and varieties of *Helicobacter species* in dogs from random sources and pet dogs: animal and public health implications. *J Clin Microbiol*, 34:3165-3170, 1996.
- Hänninen ML, Happonen I, Saari S, et al. Culture and characteristics of *Helicobacter bizzozeronii*, a new canine gastric *Helicobacter* sp. *Int J Syst Bacteriol*, 46:160-166, 1996.
- Owen RJ. *Helicobacter*-species classification and identification. *British Medical Bulletin*, 54:17-30, 1998.
- Riley LK, Franklin CL, Hook RR, et al. Identification of murine *Helicobacters* by PCR and restriction enzyme analyses. *J Clin Microbiol*, 34:942-946, 1996.
- Stanley J, Linton D, Burnens AP, et al. *Helicobacter canis* sp nov, a new species from dogs: an integrated study of phenotype and genotype. *J Gen Microbiol*, 139:2495-2504, 1993.
- Happonen I, Saari S, Castren L, et al. Comparison of

- diagnostic methods for detecting gastric *Helicobacter*-like organisms in dogs and cats. *J Comp Path*, 115:117-127, 1996.
16. Jenkis CC, Bassett JR. *Helicobacter* Infection. *Small Animal Gastroenterology*, 19:267-279, 1997.
  17. Livingston RS, Riley LK, Steffen EK, et al. Serodiagnosis of *Helicobacter hepaticus* infection in mice by an enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol*, 35:1236-1238, 1997.
  18. Megraud F. Advantages and disadvantages of current diagnostic tests for the detection of *Helicobacter pylori*. *Scand J Gastroenterol Suppl*, 215:57-62, 1996.
  19. Akopyanz N, Bukanov NO, Westblom TU, et al. PCR-based RFLP analysis of DNA sequence diversity in the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nucleic Acids Res*, 20:6221-6225, 1992.
  20. Ho SA, Hoyle JA, Lewis FA, et al. Direct polymerase chain reaction test for detection of *Helicobacter pylori* in humans and animals. *J Clin Microbiol*, 29:2543-2549, 1991.
  21. Tiveljung A, Borch K, Mårdh S, et al. Identification of *Helicobacter* in gastric biopsies by PCR based on 16S rDNA sequences: a matter of little significance for the prediction of *H pylori*-associated gastritis?. *J Med Microbiol*, 47:695-704, 1998.
  22. Beckwith CS, Franklin CL, Hook RR, et al. Fecal PCR assay for diagnosis of *Helicobacter* infection in laboratory rodents. *J Clin Microbiol*, 35:1620-1623, 1997.
  23. Lee A, O'Rourke J. Gastric bacteria other than *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol Clin North Am*, 22: 21-42, 1993.
  24. Solnick JV, O'Rourke J, Lee A, et al. An uncultured gastric spiral organism is a newly identified *Helicobacter* in humans. *J Infect Dis*, 168:379-385, 1993.
  25. 박재학, 이범준, 김철규, 등. *Gastrospirillum* sp가 감염된 비글개의 위에 대한 병리학적 연구. *Korean J Lab Anim Sci*, 14:121-126, 1998.
  26. 안중호, 남현우, 김 두. 개에서 *Helicobacter*-like organism의 검출. *한국임상수의학회지*, 16:281-288, 1999.
  27. Quinn PJ, Carter ME, Markey B, et al. Clinical veterinary microbiology. In: *Bacterial pathogens: Microscopy, culture and identification*. London: Mosby, 21-66, 1994.
  28. Germani Y, Dauga C, Duval P, et al. Strategy for the detection of *Helicobacter* species by amplification of 16S rRNA genes and identification of *H. felis* in a human gastric biopsy. *Res Microbiol*, 148:315-326, 1997.
  29. Solnick JV, O'Rourke J, Lee A, et al. Molecular analysis of urease genes from a newly identified uncultured species of *Helicobacter*. *Infect Immun*, 62:1631-1638, 1994.
  30. Neiger R, Dieterich C, Burnens A, et al. Detection and prevalence of *Helicobacter* infection in pet cats. *J Clin Microbiol*, 36:634-637, 1998.
  31. IARC. Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. *International Agency for Research on Cancer (IARC) Scientific Publication*, 61:177-240, 1994.
  32. Hänninen ML, Happonen I, Jalava K. Transmission of canine gastric *Helicobacter salomonis* infection from dam to offspring and between puppies. *Vet Microbiol*, 62:47-58, 1998.
  33. Norris CR, Marks SL, Eaton KA, et al. Healthy cats are commonly colonized with *Helicobacter heilannii* that is associated with minimal gastritis. *J Clin Microbiol*, 37:189-194, 1999.
  34. Chuanfu L, Tuanzhu H, Ferguson DA, et al. A newly developed PCR assay of *H pylori* in gastric biopsy, saliva, and feces-Evidence of high prevalence of *H pylori* in saliva supports oral transmission. *Dig Dis Sci*, 41:2142-2149, 1996.