

우리나라의 닭에서 분리한 *Salmonella pullorum*과 *Salmonella gallinarum*의 항원형

우 용 구 · 김 봉 환*

농림부 수의과학검역원
정북대학교 수의과대학*
(1998년 5월 28일 접수)

Antigenic-types of *Salmonella pullorum* and *Salmonella gallinarum*
isolated from poultry in Korea

Yong-ku Woo, Bong-hwan Kim*

National Veterinary Research and Quarantine Services, Anyang, Korea
College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Taegu, Korea*
(Received May 28, 1998)

Abstract : Antigenic types of 114 *Salmonella pullorum* and 152 *Salmonella gallinarum* field isolates were evaluated. All 3 antigenic types were identified among field isolates of *S. pullorum* by factor-serum analysis but the majority of them were standard type(90.4%). Of the 114 *S. pullorum* isolates, only eight(7.0%) were intermediate type and 3(2.6%) were variant type. Using the ammonium sulfate precipitation(ASP) test, one-hundred and three(90.4%) *S. pullorum* isolates were standard type, while intermediate and variant types were 8.4% and 1.4%, respectively. One-hundred and fifty-two *S. gallinarum* isolates were identified as standard type by ASP test and serological analysis.

According to the random amplified polymorphisms of DNA(RAPD) patterns, most of *S. pullorum* isolates were differentiated with 3 types in their fragment-patterns. No correlations were found between SDS-PAGE profiles and antigenic types of *S. pullorum* isolates.

Key words : *S. pullorum*, *S. gallinarum*, antigenic types, factor serum, ASP, RAPD.

서 론

Salmonella pullorum (*S. pullorum*)은 1899년 Rettger에 의해 최초로 분리보고 되었으며 특히 이 균은 계란을 통하여 다음세대로 병원균이 전파되는 난계대전염방식을 취하는 최초의 동물의 질병으로 밝혀진 병인체로서 가금에서 추백리(pullorum disease; PD)의 원인균이다¹. Jones et al¹은 PD의 효과적인 검색을 위한 혈청학적인 진단법으로 macroscopic tube agglutination test를 개발하여 추백리혈액검사의 효시가 되었다. Coburn et al¹은 Bunyea et al (1929)이 개발한 바 있는 전혈평판응집법을 stained-antigen을 이용한 whole blood test로 개량하여 판정을 더욱 용이하게 함으로써 실용화에 활기를 띠게 되었다¹. 우리나라에서는 1925년 混夜가 전염성 하리에 감염된 병아리로부터 *S. pullorum*을 최초로 분리보고한 것으로 알려져 있다. 한편 우리나라에서도 이와 같은 염색항원을 이용한 whole-blood agglutination test을 1933년 이후 추백리-티푸스 보균계의 검색을 위한 검색법으로서 야외농장에서 사용해왔던 것으로 알려지고 있다².

Snoeyenbos et al⁴은 *S. pullorum*의 항원 구성성분중에서 factor-[XII₂] 항원이 *S. pullorum*의 항원형 변이현상을 유발하는 주체임을 확인하였다. 그리고 Edward와 Brunner⁵도 *S. pullorum*의 항원구조는 IX, XII₁, XII₂, XII₃이며 그 중에서 [XII₂]가 항원변이 및 탈락변이를 일으키는 주체라고 확인함으로써 Snoeyenbos et al⁴이 주장한 *S. pullorum*의 form-variation 현상의 존재를 재확인하게 되었다. 그리고 Kauffmann⁷도 form-variation 현상의 존재를 확인한 바 있다. *S. pullorum*의 항원형의 분석은 주로 factor-serum을 이용하는 혈청학적인 분석법을 적용하여 크게 3가지 types으로 구분하고 있으나^{2,4-10} Williams(1953)^{11,12}는 이 방법과는 대조적으로 기존의 혈청학적인 방법과 달리 화학적인 분석법으로서 ammonium sulfate를 사용하여 첨가약의 변화에 따른 반응양상의 양적인 비교분석을 통하여 *S. pullorum*의 항원형을 역시 standard, intermediate, variant-types의 3가지 유형으로 구분을 시도한 바 있다.

국내에서는 한 등⁹에 의해서 1962년도에 혈청학적인 분석법을 이용하여 *S. pullorum*에 대한 항원형의 분포양상이 조사보고된 바 있으며 또한 최 등²에 의해서도 역시 혈청학적인 분석법으로서 야외분리 *S. pullorum*의 항

원형의 조사결과 3종의 항원형의 *S. pullorum*이 거의 동일한 분포양상으로 존재하고 있음을 보고한 바 있다. 이 성적은 추후에 우리나라의 야외 종계장의 추백리 검색에 사용되는 추백리-티푸스 진단액의 제조를 위한 근거 자료로 사용되면서 이때 이후로 우리나라에서는 3종의 *S. pullorum* 항원을 포함하는 다가항원의 진단액을 사용하게 되었으며, 이를 이용하여 야외농장에서는 추백리와 가금티푸스의 양성 및 보균계의 검색을 위해서 현재 까지 30여년동안 사용해온 실정이다.

이 연구에서는 최근들어 또다시 추백리의 발생이 폭증하고 있는 실정에 감안하여 이와 관련된 역학적 특징을 규명하기 위한 연구의 일환으로서 1993년 이후부터 최근 4년동안에 우리나라 가금에서 분리된 *S. pullorum*뿐만 아니라 *S. gallinarum*에 대해서도 동시에 항원형의 분석을 시도하였으며, 이를 통하여 최근들어 국내 추백리 균주의 항원형의 분포에 있어서 어떠한 역학적인 변화의 존재유무에 대해서 그 특징을 분석해 보고자 시도하였다. 이를 위해서 이 시험에서는 지금까지 가장 많이 이용되어 왔던 factor serum을 이용한 혈청학적 분석법과 ammonium sulfate precipitation(ASP) test를 적용한 화학적 분석법을 이용하여 야외분리주의 항원형의 분포양상을 비교 조사하였으며 이와 더불어 항원형별로 분류된 각 균형들간에 대한 특성을 조사하기 위해서 random amplified polymorphism of DNA(RAPD)와 SDS-PAGE 분석법에 대해서도 함께 비교하였던 바 그 성적을 보고하고자 한다.

재료 및 방법

사용균주 : *S. pullorum*의 표준균주로서는 현재 우리나라에서 추백리-티푸스 진단액 제조를 위해서 사용하고 있는 균주들인 *S. pullorum* No. 11, No. 4, No. 296을 사용하였으며, factor serum을 제조하기 위해서 *S. reading* ATCC 6967과 *S. paratyphi* A variant Durazzo ATCC 1254를 이용하였다. 야외분리주로서는 우 등¹³에 의하여 1993년부터 최근 4년간에 걸쳐서 야외농장 유래 추백리-티푸스 의심제로부터 분리 및 동정된 114주의 *S. pullorum* 분리주와 152주의 *S. gallinarum* 분리주를 사용하였다.

인자혈청(factor-serum)의 제조 : *S. pullorum* (IX, XII₁, [XII₂], XII₃)의 개별 factors의 확인을 위해서 immune-serum의 제조는 분변 및 혈액검사결과 *Salmonella-free*로

확인된 건강한 3kg정도의 토끼를 사용하여 Wright et al⁸의 방법에 준하여 제조하였다. factor-XII₂ serum은 *S reading* 항혈청에 포함되어 있는 agglutinins 중 factor-XII₁은 *S paratyphi A* variant durazzo로 흡수한 후 소량의 chloroform (Sigma Co.)을 첨가하여 잘 혼합하여 4°C에 냉장보관하며 시험에 사용하였다. 반면에 factor-XII₃ serum의 제조는 *S paratyphi A* variant durazzo균으로 면역시킨 혈청을 *S reading* 항원으로 흡수시켜 제조 사용하였다.

Ammonium sulfate precipitation(ASP) assay : Williams^{11,12}의 방법에 준하여 실시하였으며 먼저 시험균주는 MacConkey agar(Merck Co.)에 계대시킨 후 독립집락을 100ml의 tryptic soy broth(Biolife Co.)에 접종하고 37°C에서 48시간동안 진탕배양하였다. 원심첨전법으로 균을 수거하고 멸균식염수로서 불필요한 물질을 수세해주었다. 그리고 균의 탁도를 MacFarland scale No. 3으로 조정하였으며, 조정된 항원과 각 농도별(280g/ml, 330g/ml, 420g/ml)로 제조된 8ml의 ammonium sulfate(Merk Co.) 용액을 투명한 유리시험관에 첨가하고 55°C에서 1시간동안 수욕조에서 배양하면서 Williams^{11,12}의 방법에 따라서 결과를 판독하였다.

Random Amplified Polymorphisim of DNA(RAPD)를 이용한 분석 : 야외분리 *S pullorum*의 균형별에 따라서 DNA 분자상의 특성을 규명하기 위하여 Fadl et al¹⁶과 Lin et al¹⁷의 random amplified polymorphic DNA(RAPD) 분석법을 적용하였으며, polymerase chain reaction(PCR)의 조건과 PCR-mixture 등은 역시 개발자의 방법에 준하여 실시하였으며, 총40-cycles을 thermal cycler(Bio-Rad, USA)를 사용하여 수행하였고, 결과산물의 분석을 위해서는 1.2%-agarose gel을 사용하여 전기영동법으로 증폭 산물을 확인분석하고 사진촬영을 하였다.

SDS-PAGE 분석법을 이용한 항원형간의 분석 : *S pullorum* 항원형간의 유형분석을 비교하기 위하여 균의 세포추출물을 sodium sarcosin(Sigma)를 이용하여 추출한 후, 추출된 단백질 성분(outer membrane protein; OMP)의 분석을 위해서는 Sambrook et al¹⁸의 SDS-PAGE 방법에 준하여 분석을 하였다.

결과 및 고찰

추백리-티푸스로 의심되는 가금에서 1993년 이후 분리된 총114주의 *S pullorum* 분리주에 대한 항원형의 분

석시험에서 시험한 균주중 103주(90.4%)가 standard-type의 균형으로 확인되었으며 intermediate-type은 8주(7.0%) 그리고 variante-type은 3주(2.6%)인 것으로 조사되었다. 특히 야외분리 *S gallinarum* 분리주의 경우 모든 분리주가 standard-type(100%)인 것으로 확인되어 *S gallinarum*의 항원형은 *S pullorum*의 표준형과 동일한 항원형인 것으로 확인되었다. 그리고 특히 *S gallinarum*의 경우 모든 균주가 동일한 항원형이란 사실에서 *S gallinarum*은 *S pullorum*과는 달리 형변이현상이 없음을 짐작할 수 있었다. 이와같은 성적은 한 등⁹이 조사한 성적과는 거의 일치하는 양상인 것으로 간주되었으나 1965년과 1966년도의 최 등²의 조사성적에서는 3~4년이 경과한 사이에 variant와 intermediate type 균주가 상당히 많이 증가하였다는 성적과는 차이가 있는 것으로 확인되었다. 특히 이 시험의 결과성적에서도 알 수 있듯이 야외분리 *S gallinarum* 균주 모두는 *S pullorum*의 standard type과 일치함이 확인되므로서 야외 혈액검사시에 가금티푸스 감염 및 보균양성계도 기준에 사용되고 있는 추백리-티푸스 진단액을 이용한 검색법으로 교차검색될 수 있음을 미루어 짐작할 수 있었다.

Table 1. Antigenic types of 114 *S pullorum* and 152 *S gallinarum* isolates

	Antigenic types(%)		
	standard	intermediate	variant
<i>S pullorum</i> (114)	103(90.4)	8(7.0)	3(2.6)
<i>S gallinarum</i> (152)	152(100)	0	0

한편 Edward와 Bruner^{5,6}는 *S pullorum*의 항원형(IX, XII₁, [XII₂], XII₃)의 조사를 위해서 factor 혈청을 제조하여 동정하였던 결과 standard-type(XII₂±)의 *S pullorum*은 factor-XII₃ 항원성분이 상대적으로 많은 비율을 차지하고 있었으며, 이에 반하여 variant-type(XII₂++)의 균주는 factor-XII₂에 해당하는 항원성분이 오히려 많은 비율을 차지하고 있다는 사실을 확인하게 되었으며, 이들 2균형과는 달리 intermediate-type은 표준형과 변이형의 양자의 성질을 균등하게 취하고 있음을 확인하였다. 그리고 특히 이들 양자의 factor들은 어느 한쪽의 균형에만 전적으로 존재하고 다른 균형에는 전혀 존재하지 않는 그런 성

질의 것이 아니라고 하였다. 이러한 이유에서 Edward와 Bruner^{5,6}는 또한 표준형의 균주라고 하더라도 응집반응 시험에서는 비록 응집할 수 있을 정도의 충분한 factor-XII₂ 성분을 포함하지 않더라도 이들 균주가 동물에 접종 또는 감염되었을 경우 그 동물의 항혈청내에는 어느 정도의 역가를 발현할 수 있는 응집소를 산생할 수 있어서 혈청을 희석하거나 장시간 반응시에는 factor-XII₂에 대해서도 응집반응을 나타낼 수 있다고 하였다. 물론 variant-type의 균주들도 XII₃에 대해서는 마찬가지의 결과를 초래하게 된다는 사실이다. 결국 혈청학적인 항원 형 분석법은 [XII₂±]형과 [XII₂+++]형간을 감별하기 위한 방법이라 할 수 있다.

특히 [XII₂] 항원의 변이현상은 자연계에서 지속적으로 발생되는 관계로 야외분리주의 경우에 있어서는 심지어 동일계군 유래의 닭의 경우에서도 variant 균형과 standard 균형의 균주들이 동시에 분리될 수 있다는 것이다. 이와같은 *S pullorum*의 형변이현상 때문에 야외에서의 추백리-티푸스 진단액은 단일종의 항원형만을 포함한 진단액 보다는 2종 이상의 다가항원을 포함한 진단액을 제조사용하고 있는 이유이기도 하다.

특히 Williams^{11,12}는 특정농도의 ammonium sulfate 용액을 개발하여 *S pullorum*의 반응양상에 따라서 즉, 많은 응집과의 형성과 상충액이 투명한 standard-form과 응집반응이 없는 variant-form 그리고 이들 2가지 항원형의 중간형태를 취하는 intermediate-form으로 구분할 수 있었다고 보고하였다. 이와같은 성적을 토대로 하여 이 시험에서는 Williams^{11,12} 등의 방법에 따라서 ammonium sulfate (AS) precipitation assay법을 이용하여 화학적인 방법으로 분석하였던 결과 *S pullorum*과 *S gallinarum* 분리주에 대하여 적용하였던 결과 *S pullorum* 분리주중 90.2%가 standard-form이었으며, intermediate-form은 8.4%, variant-form은 1.4%의 빈도를 차지하는 것으로 조사되었다. 그리고 *S gallinarum* 분리주 모두는 역시 *S pullorum*의 standard-type의 양상과 일치하는 항원형인 것으로 조사되었다(Table 2). 이와같은 성적은 factor-serum을 이용한 항원형분석 성적과 거의 일치하는 시험성적으로서 이들 2가지 시험법간에는 매우 높은 일치도를 확인할 수 있었다.

그리고 국내분리 *S pullorum*에 대하여 유전자 분석법의 일환으로서 RAPD 분석법을 적용하여 보았던 결과 그림에서 보이는 바와 같이 시험한 균주들은 크게 3가지의 DNA-patterns를 나타내어 국내분리 추백리 균주들은

Table 2. Antigenic types of 114 *S pullorum* isolates according to ammonium sulfate precipitation method

Treatment	Antigenic-types of <i>S pullorum</i> (%)		
	standard	intermediate	variant
AS(330g/L)	90.2	8.4	1.4
AS(280g/L)	57.3	26.1	14.6
AS(470g/L)	65.8	27.9	6.2

3가지 antigenic-types이 존재하는 것을 짐작할 수 있었다 (Fig 1. 참조). 그리고 그림에는 나타나지 않았지만 이 시험과 함께 실시한 *S gallinarum*의 경우에는 2가지 유형의 DNA-pattern을 나타냄을 확인할 수 있었다. 한편 Christensen et al¹⁹⁻²¹에 따르면 *S pullorum*과 *S gallinarum* 간에 ribotyping을 이용한 감별은 가능하였지만 Wilson²²은 *S pullorum*의 항원형들간에 대해서 DNA-fingerprint 법을 적용하여 유전자 분석을 시도하였던 결과 항원형간의 뚜렷한 감별점을 찾을 수 없었다고 하였다.

지금까지의 혈청학적인 분석법과 화학적인 분석법 그리고 DNA-pattern을 이용한 분석법을 이용하여 우리나라에서 분리된 *S pullorum*의 항원형을 분석한 결과, 국내 분리 *S pullorum*는 3가지의 항원형이 존재하고 있었으며, 그중 표준형이 많은 비중을 차지함을 짐작할 수 있었다. 그러나 *S gallinarum*의 경우에는 단일한 항원형을 갖고 있음이 2가지의 분석방법에서 공통적으로 확인되었다.

한편 국내분리 *S pullorum* 균주중 각 항원별로 균주를 선택하여 표준균주의 *S pullorum*의 추출된 균체항원성분에 대해서 SDS-PAGE patterns을 비교하여 보았던 결과 *S pullorum* 항원형들간에 있어서 특히 표준균주(SP-11)와

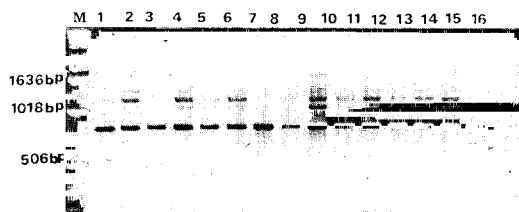


Fig 1. Random Amplified Polymorphism of DNA(RAPD) of domestic *S pullorum* isolates. Lane 1 : 1kb-Marker, 2 : SP-296, 3 : SP-11, 4 : SP-4, 5~16 : field isolates of *S pullorum*.

변이형 및 중간형균주간의 minor-band상에서의 다소의 차이는 인정이 되었지만 전체적으로는 뚜렷한 구분점은 찾을 수 없는 것으로 나타났다. 이와같은 성적으로 미루어 동일한 균체항원성분을 갖고 있는 관계로 인하여 균체 표면항원성분의 분석으로서는 기타의 방법에서처럼 균형간의 뚜렷한 감별이 되지 않음을 알 수 있었다(Fig 2. 참조).

Table 3. Antigenic types of 152 *S gallinarum* isolates according to ammonium sulfate precipitation method

Treatment	Antigenic-types of <i>S gallinarum</i> (%)		
	standard	intermediate	variant
AS(330g/L)	100	0.0	0.0
AS(280g/L)	100	0.0	0.0
AS(470g/L)	100	0.0	0.0

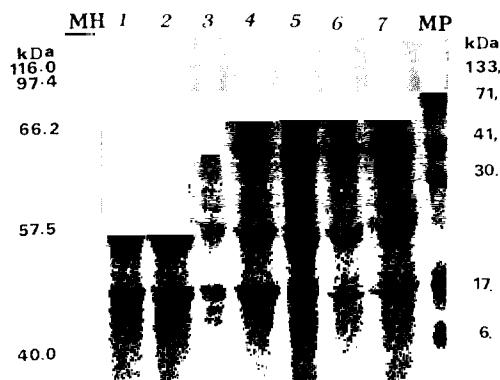


Fig 2. SDS-PAGE patterns of somatic-antigen components of domestic *S. pullorum* isolates. Lane 1; high molecular marker, 2; field isolate of SP, 3; *S. enteritidis*, 4-5; field isolates, 6; standard-form of SP, 7; intermediate-form of SP, 8; variant-form of SP, o; prestained protein marker.

1933년 이래로 추백리-티푸스 진단액이 국내 양계장에서 추백리 검색용으로 사용되어온지 65년이란 시간이 경과하였음에도 불구하고 우리나라의 야외실정은 자율방역체계가 도입되면서 오히려 추백리의 발생은 증가추세를 보이고 있는 실정이다²⁹. 국내에서는 1968년²에 가금티푸스의 최초보고 이후 그동안 보고성적이 없었던 가금티푸스도 1992년 이후 다시 발생하기 시작하면서

급기야 최근에는 거의 전국적인 상황으로 확산되면서 국내 채란업계 전체를 위협하는 가장 피해가 큰 질병의 하나로 자리잡아가고 있는 실정이다.

그러나 검색양성체의 철저한 도태정책을 채택하고 있으며 또한 야외에서 사용하는 진단액도 항원형의 구성비율만 우리와 다를뿐 동일한 균주와 동일한 제조방법으로 제조되는 추백리-티푸스 진단액을 사용하면서도 네덜란드, 미국 및 영국 등을 비롯한 양계 선진국에서는 추백리와 가금티푸스의 근절에 성공을 한 좋은 예도 있다^{1,23-25}. 만일 장래에 우리나라에서도 추백리-티푸스 진단액의 제조사에 고려해볼 사항으로서는 항원형의 성상이 불안정한 균주로 알려져 있는³⁻⁸ intermediate-type 항원의 사용을 배제시킨 즉, standard-type과 variant-type 균주의 2가항원만을 사용한 진단액의 제조사용을 고려해볼 필요가 있는데 이 경우 사용항원의 안정성을 확보할 수 있을 뿐만 아니라 제조공정의 축소로 공정절감 효과는 물론이지만 생산단가의 감소효과도 아울러 얻을 수 있어 농가소득에도 기여할 수 있을 것으로 사료되었다.

특히 추백리는 다른 질병과 달리 난계대전파 등과 같이 질병의 전파방법 또한 복잡다양하여 그만큼 질병방제를 위해서는 어려움이 뒤따를 수 밖에 없는 질병임은 틀림없는 사실이다. 특히 *Salmonella* 속균은 잘 알려져 있는 바와 같이 그 특성이 facultative intracellular pathogen인 만큼 항생제나 사균백신의 사용등과 같이 기타의 세균성 질병에 대해서 대처해오던 관행의 치료 및 예방법으로서는 완전한 치료나 방제가 불가능하다는 사실이다. 이와같은 이유에서 추백리의 효과적인 방제를 위해서는 가금티푸스 뿐만이 아니라 특히 이제는 안전축산물의 확보차원에서 사람과의 관련성이 더욱 중요시되고 있는 혈청형들인 가금파라티푸스도 마찬가지로 동일하게 취급하여 범국가적인 차원에서 근원적인 방법으로 편의주의적이나 형식에 치우친 대책이 아니라 원리원칙에 입각한 방제대책을 세우고 이제까지와는 다른 강력한 실천이 선행되어야만이 우리의 양계업계에서 *Salmonella* 균을 몰아내는 것이 가능할 것으로 사료되었다.

결 론

1993년부터 1997년사이 국내 가금에서 분리된 *S. pullorum*과 현재 야외에서 폭발적인 발생을 보이고 있는 *S. gallinarum*에 대한 antigenic-types의 분포양상을 조사하

기 위하여 추백리 및 가금티푸스 의심병례에 대해서 *S pullorum*(114주) 균주와 *S gallinarum*(152주) 균주를 분리하여 이들 분리주에 대하여 factor-serum을 이용한 혈청학적인 분석법과 ammonium sulfate 침전법을 이용한 화학적 분석법을 각각 이용하여 antigenic-types을 분석하였다. 이들 방법으로 분류된 항원형들간의 간별을 위해서 random amplified polymorphism of DNA(RAPD)와 SDS-PAGE 분석법을 이용하여 동시에 그 특성을 비교하였던 바 성적은 아래와 같았다.

1. 우리나라의 닭에서 분리한 총114주의 *S pullorum* 분리주에 대하여 factor-serum을 이용한 항원형의 분포조사에서는 standard-form의 균주가 103주(90.4%)로 분리주의 대부분을 차지하였으며, intermediate-form 균주는 8주(7.0%)였고, variant-form 균주는 3주(2.6%)인 것으로 각각 조사되었다. 그리고 *S gallinarum*의 모든 균주(100%)는 *S pullorum*의 standard-type의 항원형과 동일한 항원형을 나타내었다.

2. Ammonium sulfate를 이용한 화학적 항원분석법을 이용한 국내분리 *S pullorum* 와 *S gallinarum*에 대한 항원형의 조사에서는 특히 330g/L의 ammonium sulfate를 처리한 시험에서는 90.2%의 균주가 standard-form이었으며, 8.4%는 intermediate-form 그리고 1.4%가 variant-form의 항원형인 것으로 나타나 혈청을 이용한 시험과 매우 흡사한 성적을 나타내었다. 그리고 이 시험에서도 역시 *S gallinarum*의 전부(100%)는 *S pullorum*의 standard-form과 일치하는 성적을 나타내었다.

3. 유전자 분석을 위하여 random amplified polymorphism of DNA(RAPD) 방법을 이용한 시험에서 *S pullorum*은 크게 3가지 유형의 DNA-patterns을 나타냄을 확인할 수 있었으며 특히 대부분의 균주들이 standard-form 균주의 유전자 패턴과 유사한 것으로 나타났다. 그리고 *S gallinarum* 균주는 이 시험에서 2가지 유형의 DNA-pattern을 보였다. 그리고 SDS-PAGE를 이용한 세포막 성분에 대한 항원형 상호간의 비교시험에서는 항원형들간에 있어서 minor-band에서의 다소의 차이는 있었으나 전반적으로 항원형간의 뚜렷한 구분점을 찾을 수 없었다.

참 고 문 헌

- Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, et al. Diseases of poultry, Iowa State University Press, USA:72-86, 1991.
- 최재윤, 이시영, 이창구. 닭의 추백리병에 관한연구; 우리나라에서 분리한 추백리균의 항원형에 관한 연구. 농사시험연구보고서, 11(5):47-51, 1969.
- Burton WH, Garrard EH. Non-pullorum agglutination reactions. IV. Reactions with pullorum antigen from fowl inoculated with coliform types. Canad. J Comp Med, 12:20-25, 1948.
- Snoeyenbos GH, Crotty AM, Roekel HV. Some antigenic characteristics of *Salmonella pullorum*. Am J Vet Res, 9:221-225, 1950.
- Edwards PR, Bruner DW. Forms variation in *Salmonella pullorum* and its relation to X-strains. Cornell Vet, 36:318-324, 1946.
- Edwards PR, Bruner DW, Doli ER, et al. Futher notes on variation in *Salmonella pullorum*. Cornell Vet, 36: 257-262, 1946.
- Kauffmann F. A typhoid variant and a new serological variation in the *Salmonella* group. J Bact 27: 127-139, 1940.
- Wright ML, Edwards PR. The serologic differentiation of *Salmonella pullorum* forms. Can Publ Hlth, 7:386-388, 1948.
- 한태우. 추백리 항원실태조사. 가축위생연구소보, 12:8-14, 1962.
- 우용구, 이영주, 김기석 등. 국내 종계장의 추백리 주오염원 검색 및 추백리 부재계군작성 연구. 농진 청 수의과학연구소 시험연구보고서, 323-354, 1996.
- Williams JE. Antigenic studies using ammonium sulfate. I. The relative sedimentation effect of ammonium sulfate on the various antigenic types of *Salmonella pullorum*. Am J Vet Res, 9:458-464, 1953.
- Williams JE. Antigenic studies using ammonium sulfate. II. The macroscopic ammonium sulfate sedimentation test for distinguishing the antigenic forms of *Salmonella pullorum*. Am J Vet Res, 9:465-470, 1953.
- 우용구, 이희수, 김기석 등. 국내 계군의 파라티푸스 감염실태조사. 농진청 수의과학연구소 시험연구보고서, 32-356, 1994.
- 김염환, 김경희, 우용구 등. 경북지방 유래 추백리 양성계에서의 균분리 및 혈청역가 추이. Korean J Vet Ser, 20(1):19-26, 1997.

15. Wright ML. Selection of suitable antigenic strains of *S pullorum* by single colony isolation. *Canad J Comp Med*, 6(3):68-74, 1947.
16. Fadl AA, Nguyen AV, Khan MI. Analysis of *Salmonella enteritidis* isolates by arbitrarily primed PCR. *J Clin Microbiol*, 33:987-989, 1995.
17. Lin AW, Usera MA, Barrett TJ, et al. Application of random amplified polymorphic DNA analysis to differentiate strains of *Salmonella enteritidis*. *J Clin Microbiol*, 34:870-876, 1996.
18. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. Molecular cloning, A laboratory manual, 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, U.S.A, 1989.
19. Christensen JP, Olsen JE, Hansen HC, Bisgaard M. Characterization of *Salmonella enterica* serovar *gallinarum* biovars *gallinarum* and *pullorum* by plasmid profiling and biochemical analysis. *Avian Pathology*, 21:461-470, 1992.
20. Christensen JP, Skov MN, Hinz KH, et al. *Salmonella enterica* serovar *gallinarum* biovar *gallinarum* in layers : epidemiological investigations of a outbreak in Denmark. *Avian Pathology*, 23:489-501, 1994.
21. Christensen JP, Olsen JE, Bisgaard M. Ribotypes of *Salmonella enterica* serovar *gallinarum* biovars *gallinarum* and *pullorum*. *Avian Pathology*, 22:725-738, 1993.
22. Wilson MA, Nordholm GE. DNA fingerprint analysis of standrad, intermediat, and variant antigenic types of *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serova *gallinarum* biovar *pullorum*. *Avian Diseases*, 39:594-598, 1995.
23. Barrow PA, Berchieri A, Al-Haddad O. Serological response of chickens to infection with *Salmonella gallinarum*-*S pullorum* detected by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Avian Diseases*, 36:227-236, 1992.
24. Gershman M, Chute HL, Cuozzo RF. The laboratory application of anhydrous *Salmonella pullorum* antigen. *Avian Diseases*, 33:107-115, 1961.
25. Jacob MS, MacDonald AD. A stained antigen for the rapid whole blood test for pullorum disease. *Can J Publ Hlth*, 13:236-243, 1931.