

慶北地方 젓소로 부터 *Brucella abortus*의 分離 및 菌型別

鄭宗植 · 趙鏞煥 · 朴清圭*

慶尙北道 家畜衛生試驗所

慶北大學校 獸醫科大學*

(1988. 7. 15 접수)

Isolation and biotyping of *Brucella abortus* from dairy cattle in Kyungpook area, Korea

Jong-sik Chung, Yoong-jun Cho, Cheong-kyu Park*

Kyungpook Animal Health Laboratory

College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University*

(Received July 15, 1988)

Abstract: Serological study and isolation of Brucellae from dairy cattle were carried out in Kyungpook area of Korea during the period from 1984 to 1985. Biotyping of the isolates was done.

Of the 11168 cattle in 2479 herds examined, 27 cattle (0.24%) in the 17 herds (0.69%) were serologically positive for brucellosis. *Brucella abortus* was recovered from 20 (74.1%) of the 27 infected cattle, and all the strains of the isolates belonged to biotype 1.

Of the tissues cultured for brucellae, the supramammary lymph nodes had the highest rate (55.6%) of recovery of brucella organisms.

Key words: *Brucella abortus*, isolation, biotyping.

緒 論

브루셀라病은 가축에서 流産 및 不妊症으로 인한 경제적인 손실 뿐만 아니라 사람에게서도 感染 發病되는 主要한 人獸共通傳染病으로서 各國에서는 本病의 豫防 및 根絶을 위해 많은 노력을 기울이고 있으며 특히 소의 브루셀라病 防除에 상당한 역점을 두고 있다.

*Brucella*屬菌은 培養性, 生化學的 및 血清學的 性狀의 差異에 따라 6菌種에 알려져 있고 이들 菌種에는 數個의 菌型이 있어¹ 야외에서 分離된 브루셀라菌에 대한 菌種과 菌型의 결정은 本菌의 疫學的 研究手段에 크게 도움이 되고 있다. 소의 브루셀라病은 주로 *Brucella abortus*에 의해 야기되지만 이 菌外에 *B suis*² 또는 *B melitensis*³에 의한 感染도 報告된 바 있다.

國內에서 소의 브루셀라病은 1956년부터 發生이 報告되어 1983年까지는 少數의 陽性牛가 검색되면서 산발적인 發生을 보여 왔으나, 1984年 부터는 本病의 發生이 현저히 증가하는 추세에 있다.⁴ 그러나 지금까지 극히 少數의 感染牛로 부터 *B abortus*의 分離報告는 있으나^{5,6}, 血清學的 檢査에 의한 브루셀라病 陽性牛들에 대해 브루셀라菌의 分離頻도와 菌型의 分布에 관한 體系의인 研究는 거의 찾아 볼 수 없다.

本 研究는 慶北地方에서 사육되고 있는 젓소에 대해 브루셀라病의 血清檢診을 실시하고 陽性牛들의 가검체로 부터 브루셀라菌을 分離同定함과 아울러 菌型別을 시도하여 本病의 疫學的 研究에 참고자료를 提示하고자 遂行되었다.

材料 및 方法

브루셀라病 陽性牛檢索: 1984年 8月부터 1985年 7月 사이 慶北地方에서 사육되고 있는 泌乳中인 젖소 2479 牛群의 11168頭를 대상으로 하였다. 檢索方法은 1차로 10頭以內의 集合乳에 대해 milk ring test(MRT)를 行하고 陽性으로 判定된 牛群에서는 個體別로 採血하여 試驗管凝集反應을 실시하였다. 이들 反應用 抗原은 농

촌진홍청 가축위생연구소에서 제조된 診斷液을 사용하였으며 抗體價는 凝集을 일으킨 血清의 最終稀釋倍數로 表示하였다.

菌分離 培地: Kuzdas와 Morse⁷가 提示한 10% serum-tryptose agar(Difco)에 抗菌劑를 첨가한 選擇培地를 사용하였다.

菌分離材料 및 培養: 血清學的 檢査에 의한 브루셀라病 陽性牛의 乳房上 淋巴節, 子宮, 肝臟, 脾臟 및

Table 1. Results of serological and bacteriological examination of samples for brucellae from dairy cattle in Kyungpook area of Korea

Herd	No of cattle tested	Milk ring test (bulk sample)*	Reactor cattle no	Agglutinin titers**	Cultural examination
1	13	+	18	400	-
2	6	+	21	400	-
3	41	+	35 3260	1600 400	+ -
4	21	+	41	400	+
5	10	+	51 57	1600 6400	+ +
6	2	+	61	400	+
7	31	+	77 710	400 1600	+ +
8	29	+	85 811	3200 1600	+ +
9	15	+	915	400	+
10	15	+	105 101 103 1023 1030	3200 800 400 200 400	+ + + + +
11	5	+	L206	800	+
12	4	+	B177	400	-
13	3	+	131	3200	+
14	3	+	1415	200	-
15	45	+	1543 155 1539	200 200 200	+ + +
16	4	+	162	400	-
17	13	+	177	400	-
The other 2462 herds	10908	-	--	ND	ND

*: samples containing the milk of up to 10 cattle.

** : titers are expressed as the reciprocal of serum dilution.

ND : not done, + positive, - negative.

Table 2. Isolation and biotyping of *Brucella* from serological reactor cattle

Cattle no	CO ₂ requirment	H ₂ S production	Growth on dyes*						Agglutination with monospecific serum**		Species/biotype
			Thionin			Basic fuchsin			A	M	
			a	b	c	a	b				
35	+	+	--	--	--	+	+	+	-	<i>B abortus 1</i>	
41	+	+	--	--	--	+	+	+	-	<i>B abortus 1</i>	
51	+	+	--	--	--	+	+	+	-	<i>B abortus 1</i>	
57	+	+	--	--	--	+	+	+	-	<i>B abortus 1</i>	
61	+	+	--	--	--	+	+	+	-	<i>B abortus 1</i>	
77	+	+	--	--	--	+	+	+	-	<i>B abortus 1</i>	
710	+	+	--	--	--	+	+	+	-	<i>B abortus 1</i>	
85	+	+	--	--	--	+	+	+	-	<i>B abortus 1</i>	
811	+	+	--	--	--	+	+	+	-	<i>B abortus 1</i>	
915	+	+	--	--	--	+	+	+	-	<i>B abortus 1</i>	
105	+	+	--	--	--	+	+	+	-	<i>B abortus 1</i>	
101	+	+	--	--	--	+	+	+	-	<i>B abortus 1</i>	
103	+	+	--	--	--	+	+	+	-	<i>B abortus 1</i>	
1023	+	+	--	--	--	+	+	+	-	<i>B abortus 1</i>	
1030	+	+	--	--	--	+	+	+	-	<i>B abortus 1</i>	
L206	+	+	--	--	--	+	+	+	-	<i>B abortus 1</i>	
131	+	+	--	--	--	+	+	+	-	<i>B abortus 1</i>	
1543	+	+	--	--	--	+	+	+	-	<i>B abortus 1</i>	
155	+	+	--	--	--	+	+	+	-	<i>B abortus 1</i>	
1539	+	+	--	--	--	+	+	+	-	<i>B abortus 1</i>	

* : Thionin, 1 : 25,000(a), 1 : 50,000(b), 1 : 100,000(c) ; basic fuchsin, 1 : 50,000(a), 1 : 100,000(b).

** : A : monospecific abortus serum, M : monospecific melitensis serum.

Table 3. Results of bacteriological examinations on specimens from 27 cattle for the detection of *Brucella*

Specimen	No positive cattle by cultural examination
Supramammary lymph node, uterus, milk	5
Supramammary lymph node, uterus	1
Supramammary lymph node, milk	1
Milk, uterus	1
Supramammary lymph node	8
Milk	4
Total	20

乳汁을 供試하였다. 膣筋, 肝臟 및 脾臟片은 표면을 火熱처리시켜 滅菌유발에 갈아서 사용하였고, 子宮은

切開하여 滅菌면봉으로 內膜面을 swab하였으며, 乳汁은 원심분리하여 지방층과 침전물을 混合하여 數枚의 分離用 培地에 塗抹하였다. 接種한 平板培地는 CO₂ incubator內에서 10% CO₂ 상태가 유지되게 하고 37°C 에서 5日間 培養하였다.

分離菌의 同定 및 菌型別 : 分離菌의 染色性, 集落의 形態, 凝集性, CO₂要求性, H₂S產生性 및 色素에 대한 感受性의 檢査는 tryptose agar(Difco)를 사용하여 Alton 등¹의 方法에 따라 실시하였다. *B abortus* 및 *B melitensis*의 單相血清은 *B abortus* 544와 *B melitensis* H38菌株의 가열처리 抗原으로 토끼를 면역시켜 얻은 抗血清에 異種菌을 加하여 交叉吸收시켜 준비하였다.¹ 이들 單相血清과 分離菌의 血清反應은 slide凝集反應에 의하였다.

結 果

慶北地方에서 사육되고 있는 泌乳中인 젖소에 대해

브루셀라病的血清學的 檢査와 陽性牛들로부터 브루셀라菌의 分離成績을 보면 Table 1에서와 같다. 총 2479牛群中(11168頭), 集乳에 대한 MRT陽性은 17牛群(0.69%)이었다.

이들 17個陽性牛群에서 個體別로 採血하여 試驗管凝集反應을 실시하였던 바 27頭가 200~6400倍의 血清凝集價를 가지고 있어 檢査對象 總 11168頭에서 브루셀라病 陽性牛 檢索率은 0.24%였다. 血清學的 檢査에 의한 브루셀라病 陽性牛 27頭中 20頭(74.07%)에서 培養檢査에 의해 브루셀라菌이 分離되었다.

分離된 브루셀라菌 20株의 菌種과 菌型은 Table 2에서와 같다. 分離菌 모두는 發育에 CO₂를 필요로 하였고, lead acetate濾紙에서 H₂S產生을 관찰할 수 있었다. thionin에 대해서는 感受性이었으나, basic fuchsin에는 耐性을 보임으로서 *Brucella abortus*로 同定되었다. 그리고 이들菌株는 單相血清A에서 凝集性を 나타냄에 따라 biotype 1에 속하였다.

血清學的 診斷에 의한 브루셀라病 陽性牛 27頭의 各種 檢査材料로부터 브루셀라菌의 分離成績은 Table 3에서와 같다. 供試材料中 乳房上임과節이 가장 높은 菌檢索率을 나타내었다(55.6%). 乳汁에서는 11例(40.7%) 그리고 子宮에서 7例(25.9%)의 分離率을 보였으나, 肝臟 및 脾臟으로부터는 브루셀라菌이 分離되지 않았다.

考 察

慶北地方에서 브루셀라病에 感染된 糞소들로부터 原因菌을 分離하여 菌種과 菌型の 分布를 보았던 바 11個牛群으로 부터 分離된 브루셀라菌들은 生化學的 및 血清學的의 性狀에 따라 單一하게 *B abortus*로 固定되었다. 그리고 이들 菌株의 菌型은 모두가 biotype 1에 속함을 확인할 수 있었다. Harrington과 Brown² 그리고 Norton과 Thomas⁸는 感染牛들로부터 *B suis*를 分離하였고, 國內에서 金⁹과 李⁵는 集團發生한 돼지 流産症에서 *B suis*의 分離를 報告한 바 있다. 한편 卓과 全¹⁰은 流産犬의 胎兒에서 *B suis*를 分離하고 이菌에 의한 개의 感染은 感染된 돼지나 소와의 접촉에 의해서 이루어졌을 것으로 推定한 바 있다. 이와 같이 國內에서 *B suis*에 의한 브루셀라病이 확인되고 있고 또한 家畜의 移動 등 여러가지 환경조건으로 미루어 보아 우리나라에서도 소에서 *B suis*에 의한 브루셀라病이 發生할 가능성은 있다고 본다.

同一種의 細菌에서도 種以下의 型別은 原因菌의 疫學的研究手段에 크게 도움이 될 수 있다. Harrington과 Brown²은 美國의 여러 州에서 分離된 *B abortus*菌

型的 分布를 報告함에 있어 1型이 86.4%, 2型이 4.6%, 4型菌이 2.1%, 그리고 strain 19가 6.3%를 보였고, Luchsing 등¹¹은 Minnesota州의 糞소에서 1型이 51%, 2型이 5%, 4型이 38% 그리고 strain 19가 3%의 分布를 보였음을 報告한 바 있다. MacLaren과 Morgan¹²은 英國에서 *B abortus*의 菌型分布는 1型이 84%, 2型이 0.26%, 3型이 0.86%, 4型이 0.34%, 5型이 13.9%, 6型이 0.17%, 7型이 0.09%, 8型이 0.09% 그리고 9型이 0.26%를 보였다고 하였다. Bale와 Kumi-Diaka¹³는 Nigeria의 축우에서 分離한 8株의 브루셀라菌은 모두 *B abortus*였고 이들은 1型, 3型 그리고 4型에 각각 속함을 報告하였다. 그러나 本 調査에서는 感染牛들로부터 *B abortus*의 biotype 1만 分離할 수 있었는데 本 研究의 成績만으로 國內의 糞소에 있어서 브루셀라菌의 菌型別 分布의 眞相을 把握하기는 어려우며 더 광범위한 지역을 포함하여 많은 例에 대한 調査가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

本 研究에서 가검체료에 따른 브루셀라菌의 分離率은 生殖器管에서 보다 乳房上임과節과 乳汁에서 더 높게 나타남을 볼 수 있었다. 이와같은 所見은 Nelson 등¹⁴, Manthei와 Carter¹⁵ 그리고 Nicoletti와 Muraschi¹³의 成績과도 一致하였다. 따라서 感染牛로부터 브루셀라菌을 分離하고자 할 때 乳房上임과節을 포함하여 여러 組織을 供試함으로써 보다 높은 分離率을 나타낼 수 있을 것으로 판단된다.

브루셀라菌은 體內에 침입하여 血流 또는 淋巴管을 통해 초기에는 近접부위의 淋巴節에 도달하여 增殖하게 되고 增殖이 進行됨에 따라 全身의 體組織으로 광범위하게 전파되어 特定組織에 局所化함으로써 宿主는 장기간 保菌狀態가 된다.¹⁷⁻²⁰ 本 研究에서 感染牛 27頭는 200~6400倍의 血清凝集價를 나타내었다. 이들 血清凝集價와 菌分離사이에는 밀접한 관련성이 인정되어 대체로 높은 血清凝集價를 보인 個體에서는 여러 組織에서 原因菌을 쉽게 分離할 수 있었으나 感染牛의 血清凝集價가 200~400倍인 個體에서의 原因菌檢出率은 낮음을 볼 수 있었다. 이러한 傾向은 이들 個體가 感染經過의 差異에 따라 體組織에 있어 브루셀라菌의 分布와 菌數가 相異한데서 基因된 것이라 추측된다.

結 論

慶北地方에서 사육되고 있는 泌乳中인 糞소에 대해 브루셀라病的 血清檢診을 실시하고 陽性牛들로부터 브루셀라菌을 分離하여 菌型別을 시도하였다.

檢査對象인 總 2479牛群의 11168頭에서 血清學的 檢査에 의해 17個牛群(0.69%)의 27頭(0.24%)가 陽性으

로 판정되었고, 陽性牛 27頭中 20頭(74.1%)에서 브루셀라菌이 分離되었다.

分離된 브루셀라菌은 *B abortus*였고, 이들菌株의 菌型은 모두가 biotype 1에 속하였다. 感染牛들의 檢査材料中 乳房上입과節이 가장 높은 菌分離率을 나타내었다.

參 考 文 獻

1. Alton GG, Jones LM, Pietz DE. *Laboratory techniques in brucellosis*. 2nd ed. Geneva: World Health Organization 1975.
2. Harrington R, Brown GM. Laboratory summary of brucella isolation and typing. *Am J Vet Res* 1976;37:1241~1242.
3. Boak RA, Carpenter CM. *Brucella melitensis* infection in cattle. *J Bact* 1934;27~73.
4. 농림수산부, 농림수산통계연보 1956~1987.
5. 李鉉洙, 金丙九, 宋炳均. 韓國에서 分離된 *Brucella*菌型에 關하여. 家畜衛生研究所報 1961;7:13~18.
6. 禹鍾泰, 徐鈺洙. 홀스타인 乳牛로부터 *Brucella abortus*의 分離와 分離菌의 性狀에 關한 研究. 서울大學校獸醫大論文集 1986;11:103~118.
7. Kuzdas CD, Morse EV. A selective medium for the isolation of brucellae from contaminated materials. *J Bact* 1953;66:502~504.
8. Norton JH, Thomas AD. *Brucella suis* infection in pregnant cattle. *Aust Vet J* 1979;55:525~527.
9. 金丙九, 宋炳均, 李澤柱. Brucellosis에 關한 研究. 第二報. 家畜 Brucellosis에 對한 免疫學的 調查報告. 農林部農事院 家畜衛生研究所 研究報告 1959; 6:9~21.
10. 卓鍊斌, 全燕基. 流產犬 胎兒로부터 *Brucella suis*의 分離. 大韓微生物學會誌 1972;7:17~20.
11. Luchsinger DW, Angus RD, Gue CS, et al. The utilization of *Brucella abortus* culturing and biotyping results in the epizootiologic investigation of bovine brucellosis. *Pro Annu Meet US Anim Health Assoc* 1973;77:85~99.
12. MacLaren APC, Morgan WJ Brinley. The incidence of the various biotypes of *Brucella abortus* in cattle in the south-west of Scotland. *Vet Rec* 1973;93:392~396.
13. Bale O O J, Kumi-Diaka J. Serological and bacteriological study of bovine brucellae from livestock investigation and breeding centres in Nigeria. *Br Vet J* 1981;137:256~261.
14. Nelson CJ, Anderson RK, Kimberling CV, et al. Epizootiologic factors of bovine brucellosis: Comparative bacteriologic studies of infected herds. *Am J Vet Res* 1966;27:1515~1520.
15. Manthei CA, Carter RW. Persistence of *Brucella abortus* infection in cattle. *Am J Vet Res* 1950;11:173~180.
16. Nicoletti PL, Muraschi TF. Bacteriologic evaluation of serologic test procedures for the diagnosis of brucellosis in problem cattle herds. *Am J Vet Res* 1966;27:689~694.
17. Kaneene JMB, Anderson RK, Muscoplat CC, et al. Cell mediated immune response in cattle vaccinated with *Brucella abortus* strain 19 vaccine and nonexposed control animals of the same age. *Am J Vet Res* 1979;40:999~1004.
18. Freeman BA, Pearson GR, Hines WD. Host-parasite relationship in brucellosis: III. Behavior of avirulent brucella in tissue culture monocytes. *J Inf Dis* 1964;114:441~449.
19. Ueda K, Imaizumi K. Studies on experimental brucellosis: *Brucella abortus* infection in the male guinea pig effect of sensitization on various organs. *Jpn J Vet Sci* 1969;31:287~302.
20. Trichard CJV, Herr S, Bastianello SS, et al. Unilateral orchitis in a bull caused by *Brucella abortus* biotype 1. *J South Afr Vet Ass* 1982; 53:60~62.