

도축장 출하축의 폐병변에서 분리한 *Pasteurella multocida*의 생화학적 특성 및 약제감수성

김성국, 이양수, 정종식, 김수웅

경상북도 가축위생시험소

Biochemical properties and antimicrobial susceptibility of *Pasteurella multocida* isolated from pneumonic lungs in slaughtered animals

Sung-Kook Kim, Yang-Soo Lee, Jong-Sik Jyeong, Soo-Woong Kim

Kyongbuk Veterinary Service Laboratory

Abstract

This study was carried out to investigate isolation of *Pasteurella multocida* from pneumonic lungs of slaughtered animals in Kyungsan abattoir to examine the antimicrobial susceptibility and biochemical properties. The results were summarized as follows ;

P. multocida was isolated from 50(29.2%) of the 171 pneumonic lungs collected individually from cattle(3/40), goats(0/31) and pigs(47/100), All of the isolated *P. multocida* showed biochemical and cultural properties similar to reference strains. All isolates were very susceptible to AK, AM, ENR, CF, GM, OT, whereas resistant to SDM.

Key word : Slaughtered animals, *P. multocida*, Biochemical properties, Antimicrobial susceptibility

서 론

Pasteurella multocida (*P. multocida*)는 1880년 Louis Pasteur에 의해 fowl cholera에 걸린 닭에서 처음으로 분리되어 fowl cholera의 원 인체임이 밝혀진 이래, 여러 학자들에 의해 *Micrococcus gallicidus*, *Micrococcus cholera gallinarum*, *Octopsis cholera gallinarum*, *Bacillus cholera gallinarum* 등으로 명명되어졌다¹⁾.

1887년 Trevisan은 이 균을 처음 분리한 Pasteur의 업적을 기리기 위해 균명을 *Pasteurella cholera gallinarum*이라고 개명할 것을 주장하였고, 이 후에 이 균이 분리되는 동물의 종에 따라 *P. aviseptica*, *P. bovisseptica*, *P. muriseptica*, *P. suisseptica* 등으로 구분하였으나, 1929년 Topley와 Wilson이 *P. septicum*로 통일할 것을 제안하여 상당 기간 동안 이 균명으로 통용되었다. 그러나, 이 균의 속성상 *P. multocida*로 명명하는 것이 타당하다 하여 Bergey's Manual에 공식적인 이름으로 받아들여져 현재까지 전 세계적으로 통용되고 있다²⁾.

*Pasteurella*속은 현재 *P. multocida*, *P. pneumotropica*, *P. hemolytica*, *P. ureae*, *P. aerogenes*, *P. gallinarum* 등 6종으로 분류되어 있다³⁾.

*P. multocida*는 광범위한 숙주역은 물론 항원구조도 복잡하여, 5종의 capsular serotype(A, B, D, E, F)와 16종의 somatic serotypes으로 분류되어 있다^{2,3)}. 지금까지 연구에 의하여 밝혀진 바로는, serotype B : 2, E : 3가 소와 물소에서 hemorrhagic septicemia를 일으키고, serotype A는 소, 양, 돼지에서 상재하면서 폐질병과 관련되며, serotype D는 dermonecrotin을 산생하여 돼지의 위축성 비염(atrophic rhinitis, AR)을 발생시키는데 관여하며, serotype A : 1, A : 3, A : 4, A : 5는 fowl cholera를 일으키는 것으로 나타났다. *P. multocida*는 포유류, 조류, 설치류 등 각종 동물의 호흡기 계통에 친화성이 있으며, 많은 질병과정 중에 2차적으로 기회 감염하여 나타난다.

이 균에 의한 질병으로 나타나는 증상은 돼지에서 급성 감염시, 호흡곤란, 심한 복식호흡, 유산, 고열(42.2°C) 등으로 폐사율이 5~40%

까지 나타나며, 아급성의 경우, 기침, 복식호흡이 주증상으로 만성으로 진행되어 돈균에 오래 상재하기도 한다³⁾.

돼지 이외의 소, 양, 염소 기타 동물에서 폐렴을 주로 유발하며, 토끼에서 snuffles를 일으키고, 착유우, 양에서는 유방염의 원인으로 작용하기도 한다.

Pijoan과 Fuentes⁴⁾ 등은 *P. multocida*를 돼지에 인공감염시켜 폐렴을 유발시킨 연구 결과를 보고한 바 있으나, *P. multocida*는 주로 폐렴의 주요 2차 감염균으로 마이코플라즈마 폐렴, 홍막폐렴, pseudorabies virus에 의한 폐렴 등의 호흡기 질병에 관여하는 것으로 알려져 있다³⁾. 마이코플라즈마 폐렴 등에 2차적으로 *P. multocida*가 감염하면 심한 호흡기 증상을 나타내며 폐사하는 예도 많기 때문에 이러한 폐렴을 pneumonic pasteurellosis라고 한다³⁾.

*P. multocida*는 5% 혈액함유배지에서 잘 자라며, 하룻밤(18~24시간) 배양 후 집락의 성상을 관찰해 보면 직경 1~2mm 정도로 반투명성의 점조성이 매우 강하며 특유의 냄새를 발산한다. 혈액배지상에서 용혈성은 없으며, 실온에 방치하면 1~2주 내에 사멸하고 MacConkey agar에서는 자라지 않는다. 반면에 송아지에서 장거리 운송으로 인한 스트레스 시에 발생하는 수송열에 관여하는 *P. hemolytica*는 혈액배지에서 용혈성을 나타내며 MacConkey agar에서도 성장한다.

*P. multocida*는 그람염색시 음성으로 단구간균으로 보이고, 편모나 섬모가 없어 운동성이 없으며, 아포를 형성하지 않으나 협막을 가지고 있어 염색시에 양단염색성을 보인다.

우리나라에서는 *P. multocida*에 의한 폐렴에 대한 연구가 미흡한 편으로 박 등⁵⁾이 도축돈의 폐 재료 21.9%에서 *P. multocida*를 분리보고한 바 있으며, 김 등⁶⁾은 폐렴 병변이 있는 폐 재료 22.9%에서 *P. multocida*를 분리한 바 있다. Cho⁷⁾는 영남지방의 돼지를 대상으로 연구를 하여 총 101두의 폐에서 42주(41.8%)를 분리하였고, 분리균 중 serotype A가 73.3%, serotype D가 9.5%, serotype unknown이 16.7% 이었다고 보고하였으며, 안⁸⁾은 도축장 출하돈 450두 중

80주(17.7%)를 분리하였으며, *P. multocida* 80주의 혈막혈청형은 type A가 77주(96.3%), type D가 3주(3.7%)이라고 보고하였다. 이와 같이 *P. multocida*는 돼지에서는 많이 분리되어 보고되었으며, 생성하는 독소에 대한 연구도 활발히 이루어졌다.

이에 도축장에 출하되는 가축을 대상으로 도축 후 폐 가검물에서 *P. multocida*를 분리하여 균 성장 및 생화학적 특성을 조사하였기 보고하는 바이다.

재료 및 방법

실험재료 및 채취방법

경산도축장에 출하되는 소(40두), 돼지(100두), 양(31두)의 폐를 육안적으로 검사하여 폐렴 소견이 인정될 경우 가검물로 채취하여 오염 부위를 제거하고 비닐 팩에 수거한 후 냉장 상태를 유지하여 신속히 실험실로 운반한 후 균분리를 시도하였다.

균 분리 및 동정

소 혈액을 5% 함유한 혈액한천배지(blood agar base, Difco)를 분리배지로 사용하였으며, 우선 폐 병변 부위를 알콜솜으로 깨끗이 닦아내고 spatula로 주위를 멸균한 후 절개하고 멸균 면봉으로 채취하여 혈액한천배지와 MacConkey agar에 도말하였다. 도말한 배지를 37°C, O₂, 18~24시간 배양하여 균의 집락형태, Gram 염색성 및 균의 현미경적 형태 등을 확인한 후, *P. multocida*로 추정되는 집락을 분리하여 혈액한천배지에 1주일 간격으로 계대, 냉장보존하면서 시험에 사용하였다.

생화학적 성장검사

*P. multocida*를 동정하기 위하여 hemolysis, MacConkey agar에서의 발육유무, catalase시험, oxidase시험, indole 생성시험, urease시험, H₂S 생성시험, MR-VP시험, gelatin 액화시험, nitrate 환원시험 및 당분해능을 확인하였으며, 이 모든 시험은 Cowan⁹⁾ 및 MacFaddin¹⁰⁾의 방

법에 따라 실시하였다.

항균제 감수성 시험

Bryant¹¹⁾의 방법에 따라 sensi disk(BBL)를 이용한 디스크 확산법으로 *P. multocida*에 대한 약제 감수성 시험을 실시하였다. *P. multocida*를 Mueller-Hinton broth(Difco)에 접종하여 37°C에서 2~8시간 동안 증균시킨 후에 이 균액을 멸균생리식염수로 100배 희석한 것을 Mueller-Hinton agar(Difco) plate에 접종균액으로 사용하였다. 공시한 항균제는 amikacin(AK), ampicillin(AM), gentamicin(GM), cephalothin(CF), enrofloxacin(ENR), erythromycin(EM), kanamycin(KM), lincomycin(LM), tylosin(TY), oxytetracycline(OT), penicillin-G(PG), streptomycin(SM), sulfadimethoxin(SDM) 등 13종이며, 이에 대한 감수성을 조사하였다.

결 과

경산도축장에서 도축되는 소, 염소, 돼지에서 육안적으로 폐렴이 인정되는 폐로부터 *P. multocida*를 분리한 내역은 Table 1과 같다.

Table 1. The isolation frequency of *P. multocida* from pneumonic lung of slaughtered animals

Animal	No of lungs examined	No of <i>P. multocida</i> isolated(%)
Cattle	40	3(7.5)
Goat	31	0
Pig	100	47(47)
Total	171	50(29.2)

도축되는 축종별 폐렴 병소에서 *P. multocida*를 분리한 결과는 Table 1에 있는 바와 같이 총 171두의 폐 재료에서 50주가 분리되어 분리율은 29.2%이었다. 소에서 40두 중 3주(7.5%), 염소는 31두 중 한 주도 분리되지 않았으며,

돼지에서는 100두 중 47주(47%)의 *P. multocida*가 분리되었다. 소와 염소에서는 분리율이 다소 낮았으나 돼지에서는 분리율이 비교적 높은 경향을 나타내었다. 분리한 *P. multocida* 50주의 배양성상 및 생화학적 특성은 Table 2와 같다.

37°C, 18~24시간 소혈액배지에서 배양된 *P. multocida*의 집락은 직경 1~2mm, 반투명의 회색, 특유의 냄새를 발산하고, 높은 점조성을 나타냈으며 용혈성은 나타내지 않았다. MacConkey agar에서는 자라지 않았으며, catalase 시험, oxidase 시험, hydrogen sulfide 생성 시험, indole 생성 시험, nitrate 환원 시험에서는 양성 반응을 나타내었고, 운동성 시험, urease 시험, MR-VP 시험, gelatin 액화 시험에서는 음성 반응을 나타내었다. 분리균을 당배지에 접종한 후 당분해능 시험을 실시한 결과는 Table 3과 같다. glucose, galactose, sucrose, mannitol에서는 대부분의 균주가 양성을 나타내었고, arabinose, lactose, maltose에서는 대부분 음성 반응으로 나타났다.

Table 2. Biochemical and cultural properties of 50 strains of *P. multocida* isolated

Properties	No of positive isolates (%)
Hemolysis on blood agar	0
Growth on MacConkey agar	0
Catalase	50(100)
Oxidase	50(100)
Hydrogen sulfide production	46(92)
Motility	0
Urease	0
Nitrate reduction	50(100)
Indole production	44(88)
MR-VP reaction	0
Gelatin liquefaction	0

분리한 50주에 대한 AM 등 항균제 13종의 감수성 시험 결과는 Table 4와 같다. 모든 분리

Table 3. Fermentive properties of 50 strains of *P. multocida* isolated

Fermentable substrates	No of positive isolates (%)
Glucose	50(100)
Galactose	50(100)
Arabinose	0
Lactose	2(4)
Maltose	5(10)
Sucrose	47(94)
Mannitol	42(84)

균은 AM를 비롯한 대부분의 약제에 감수성을 가지고 있으며, TY, SM에 대해서는 중등도의 감수성을 나타내었고, SDM에는 내성을 가지는 것으로 나타났다.

Table 4. Antimicrobial susceptibility of 50 strains of *P. multocida* isolated

Antimicrobial agents	No of susceptible strains (%)
Amikacin(AK)	47(94)
Ampicillin(AM)	48(96)
Gentamicin(GM)	46(92)
Enrofloxacin(ENR)	50(100)
Cephalothin(CF)	49(98)
Tylosin(TY)	23(46)
Colistin(CL)	43(86)
Kanamycin(KM)	41(81)
Lincomycin(LM)	42(84)
Oxytetracyclin(OT)	46(92)
Penicillin-G(PG)	44(88)
Streptomycin(SM)	28(56)
Sulfadimethoxin(SDM)	4(8)

고 찰

*P. multocida*는 동물의 구강, 편도 등에서 공생하는 비율이 높으며, 거의 모든 가축들에 광범위한 숙주역을 가지고 있다¹²⁾. 돼지에 있어서 *P. multocida*는 위축성 비염 및 폐렴을 일으키는

균으로서 주목되었으며, 소, 양, 물소에서 출혈성 패혈증을 일으키는 것을 비롯해서 대부분의 동물에서 2차 기회감염하여 호흡기 계통의 질병과 관련하여 여러 학자들의 인공감염 시험이 이루어져 그 병원성이 확인되었다.

돼지의 위축성비염 발생에 관여하여 폐사하는 경우는 드물지만 감염된 돼지는 성장이 크게 지연되고 사료효율이 현저하게 저하되어 출하 일령이 약 1개월 정도 늦어져 경제적으로 막대한 손실을 가져오게 된다¹²⁾.

우리 나라에서도 본 병에 의한 피해가 적지 않으며 박 등⁵⁾이 서울 근교 및 호남 지방 돼지의 nasal swab 및 폐 병변에서 분리율이 각각 26.2%, 21.9%라고 보고한 바 있으며, 김 등⁶⁾은 폐렴 증세가 있는 폐와 nasal swab에서 각각 22.9%, 26.2%를 분리 보고한 바 있다.

도축장 출하축을 대상으로 한 본 조사에서는 소 40두, 돼지 100두, 양 31두, 총 171두의 폐에서 소 3주(7.5%), 돼지 47주(47%), 총 50주(29.2%)를 분리하였으나 양에서는 분리되지 않았다. Cho⁷⁾의 돼지 폐에서의 분리율 41.8%와는 유사한 성적이었으나, 박 등⁵⁾의 돼지 21.9%, 김 등⁶⁾의 22.9%, 안⁸⁾의 17.7%보다는 분리율이 높았다.

외국의 연구 사례를 살펴보면, Pijoan 등¹³⁾이 폐렴 증상이 있는 돼지 113두의 폐에서 80주(70.8%)를 분리하였고, Osborne 등¹⁴⁾은 191두의 폐재료에서 105주(55.0%)를 분리하였고, Morison 등¹⁵⁾, De Jong¹⁶⁾ 등은 각각 34.1%, 24.5%의 분리율을 보고하였다. 이와같이 *P. multocida*의 분리율은 연구자에 따라 많은 차이를 보이고 있으며, 본 실험의 축종별 분리율도 큰 차이를 나타내어 같은 폐렴병소에서도 분리율이 매우 다양한 것으로 나타났다.

본 조사에서 분리한 균의 생화학적 성상을 비교한 결과, 모든 균주가 MacConkey agar에서 성장하지 못하였으며, 5% 소혈액배지에서 용혈성이 나타나지 않았다. Catalase 시험, oxidase 시험, indole산생 시험, nitrate 환원 시험에서 대부분의 균주가 양성을 보였으며, 운동성 시험, urease산생 시험, MR-VP 시험, gelatin액화 시험에서는 대부분 음성반응을 보였다. 당분

해능 시험결과는 glucose, galactose, sucrose는 대부분 양성으로 나타났고, lactose, maltose, inositol은 분해하지 못하여 대부분 음성으로 나타났다.

생화학적 성상 및 당분해능 시험은 Cho⁷⁾, Carter¹⁷⁾ 등의 결과와 유사하게 나타났으나, 안⁸⁾의 당분해능 시험에서는 lactose, maltose, inositol 등에 각각 52.5%, 41.3%, 37.5%의 분해능이 있는 것으로 나타나 다소 차이를 나타냈다.

분리균주에 대한 AM 등 13종의 항균제 감수성을 측정한 결과는 모든 분리균은 ENR, CF, AM, AK, GM, OT, PG, CL, LM, KM에 높은 감수성을 보였고, TY, SM에 대해서는 중등도의 감수성을 가졌으나, SDM에는 대부분의 균주가 내성을 보여, 안⁸⁾의 *P. multocida*의 약제별 MIC 범위를 조사한 결과와 유사하게 나타났다.

결 론

경산 도축장 출하축을 대상으로 축종별 폐 재료에서 분리한 *P. multocida*의 생화학적 특성 및 항균제 감수성 시험의 결과는 다음과 같다.

1. 축종별 균분리빈도는 소 40두에서 3주(7.5%)가, 돼지 100두에서 47주(47.0%)가 분리되었으나 양 31두에서는 분리되지 않았다.
2. 분리균 50주의 생화학적 특성은 소혈액배지에서 비용혈성, MacConkey agar에서 비발육, 운동성이 없으며, oxidase, catalase 시험, indole산생 시험, nitrate 환원 시험 등에서 양성반응을, urease산생 시험, MR-VP 시험, gelatin액화 시험 등에서 음성반응을 보였다. 한편, galactose, glucose 및 sucrose는 대부분의 균주가 분해하였으나, lactose, maltose 및 inositol은 분해하지 못하였다.
3. 분리균주는 ENR, CF, AM, AK, GM, OT, PG, CL, LM, KM 등에는 높은 감수성을, TY, SM에 대해서는 중등도의 감수성을 보였으나, SDM에는 대부분이 내성을 보였다.

참고문헌

1. Rhoades KR, Rimler RB. 1991. *Diseases of poultry*. 9 ed. Iowa State University Press : 145~162.
2. Carter GR. Genus I. 1984. *Pasteurella Trevisan* 1887. In : Krieg NR, Holt JG, ed. Bergey's manual of systematic bacteriology 1. Williams & Wilkins. Baltimore : 552~558.
3. Pijoan C. 1991. *Pneumonic pasteurellosis. Diseases of Swine*. 7 ed. Iowa State University Press : 552~559.
4. Fuentes MC, Pijoan C. 1987. Pneumonic in pigs induced by intranasal challenge exposure with pseudorabies and *Pasteurella multocida*. *Am J Vet Res* 48 : 1446~1448.
5. Park JM, Kim JY, Byeon JO, et al. 1983. Isolation and serotyping of *Pasteurella multocida* from pigs with respiratory disease. *Res Reports of the Office of Rural Development(Korea)* 25 : 97~104.
6. Kim JY, Park JM, Kim ON. 1986. Study on the immunogenicity of *Pasteurella multocida* isolated from swine in Korea. *Res Reports of the Rural Development Administration(Korea)* 28 : 77~93.
7. Cho GJ. 1989. Incidence and biochemical properties of *Pasteurella multocida* in Youngnam swine herds. Master thesis, Kyungpook National University Graduate School : 9~17.
8. Ahn BC. 1993. Toxigenicity and capsular serotypes of *Pasteurella multocida* isolated from pneumonic lungs of slaughter pigs. Master thesis, Kyungpook National University Graduate School : 8~13.
9. Cowan ST. 1974. *Manual for the identification of medical bacteria*, 2 ed. Cambridge University Press : 414~416.
10. MacFaddin JF. 1980. *Biochemical tests for identification of medical bacteria*. Williams & Wilkins. Baltimore. London : 36~308.
11. Bryant MC. 1972. Antibiotics and their laboratory control, 2 ed. Butterworth. London : 34~65.
12. Rutter JM. 1987. Atrophic rhinitis in pigs. *Pig News and Information* 8 : 385~387.
13. Pijoan C, Lastra A, Ramires C, et al. 1984. Isolation of toxigenic strains of *Pasteurella multocida* from lungs of pneumonic swine. *JAVMA* 185 : 552~553.
14. Osborne AD, Saunders JR, Sebuya TK. 1981. An abattoir survey of the incidence of pneumonia in Saakatchewan swine and an investigation of the microbiology of affected lung. *Can Vet J* 22 : 82~85.
15. Morrison RB, Pijoan C, Hilley HD, et al. 1985. Microorganisms associated with pneumonia in slaughter weight swine. *Can J Comp Med* 49 : 129~137.
16. De Jong MF. 1985. Preliminary study of the occurrence of the atrophic rhinitis pathogens, *Bordetella bronchiseptica* and *Pasteurella multocida* among piglets on pig breeding farms, certified free from the disease. *Tijdschr. Voor Diergeneeskde* 110 : 4731487.
17. Chang WH, Carter GR. 1976. Multiple drug resistance in *Pasteurella multocida* and *Pasteurella hemolytica* from cattle and swine. *JAVMA* 169 : 7101712.
18. Kim BH, Jang HK, Park CS. 1987. Antimicrobial drug susceptibility of pathogenic bacteria isolated from animals in Youngnam province. *Res Bull Ins Sci Tech, Kyungpook National University* 4 : 139~148.
19. Blood DC, Radostits OM, Henderson JA. 1983. *Veterinary Medicine*. 6 ed. Bailliere Tindall : 590~603.
20. Timoney JF, Gillespie JH, Scott FW, et al. 1988. *Hagan and Bruner's microbiology and infectious diseases of domestic animals*. 8 ed. Comstock Publishing Associates. Ithaca : 104~116.