韓家衛誌 第27卷 第3號
Korean J Vet Serv(2004) 27(3) : 257~263

호흡기증세 자돈으로부터 파스튜렐라 속균 분리 및 약제감수성시험

이우원[1], 우병길, 김홍태, 이강록, 이동수

부산광역시보건환경연구원
(접수 2004. 1. 8, 게재승인 2004. 3. 23.)

Isolation and antimicrobial susceptibility test of *Pasteurella multocida* from respiratory disorder piglets

Woo-Won Lee[1], Byung-Gil Woo, Hong-Tae Kim,
Gang-Rok Lee, Dong-Soo Lee

Busan Metropolitan Health and Environmental Research Institute, Busan, 616-810, Korea
(Received 8 January 2004, accepted in revised from 23 March, 2004)

Abstract

This study were carried out to investigate isolation of *Pasteurella multocida* from respiratory disorder piglets, to examine the biochemical properties and antimicrobial susceptibility. The results were summarized as follows;

P multocida was isolated from 31(10.3%) of the 302 respiratory disorder or growing piglets of 4~10 week olds. The majority of biochemical and cultural properties of the *P multocida* isolates were identical to those of the standard strains. The isolates were highly susceptible to norfloxacin(100.0%), enrofloxacin(96.8%) and ampicillin(87.1%), but resistant to streptomycin (77.4%), penicillin(61.2%) and neomycin(54.8%).

Key words : Respiratory disorder piglets, *P multocida*, Biochemical properties, Antimicrobial susceptibility

서 론

돼지의 파스튜렐라성 폐렴은 여러 가지 요인들이 관여하는 복합성 호흡기 질병 중 하나로서 *Pasteurella multocida*가 주원인체로 작용하는 질병이다[1)]. *P multocida*는 1880년 Louis Pasteur에 의해 fowl cholera에 걸린 닭에서 처음으로 분리되어 fowl cholera의 원인체임이 밝

[1]Corresponding author
Phone : +82-51-331-0094, Fax : +82-51-338-8266
E-mail : wwlee@metro.busan.kr

혀진 이래, 여러 학자들에 의해 *Micrococcus gallicidus* 등으로 명명되어졌다[2]. 1887년 Trevisan은 fowl cholera의 원인체를 처음 분리·보고한 Pasteur의 이름을 기리기 위해 *Pasteurella*속의 신설을 제안하였으며, 이 균을 *P cholera gallinarum*이라고 개명할 것을 주장하였다. 이 이후에도 분리되는 동물의 종에 따라 몇가지 종명이 붙여졌으나 이것을 통일하기 위해 1929년 Topley와 Wilson은 *P septica*로 할 것을 제안하여 상당한 호응을 받았으나 여러 동물에 병원성을 가지고 있는 이 균의 특성을 들어 *P multocida*로 명명하는 것이 타당하다는 Rosenbusch와 Merchant의 주장이 받아들여져 현재까지 전세계적으로 통용되고 있다[2,3].

*Pasteurella*속은 현재 *P multocida, P pneumotropica, P hemolytica, P ureae, P aerogenes, P gallinarium* 등 6종으로 분류되어 있다[3]. *P multocida*는 capsular polysaccharide를 바탕으로 5종의 serogroup(A, B, D, E, F)으로 구분되며, somatic antigen을 바탕으로 하여 16종의 serogroup으로 구분된다[4]. 지금까지 연구에 의하여 밝혀진 바로는 serotype B:2, E:3가 소와 물소에서 출혈성 패혈증을 일으키고, serotype A는 소, 양, 돼지에서 상재하면서 폐질병과 관련되며, serotype D는 dermonecrotic toxin(DNT)을 산생하여 돼지의 위축성비염(atrophic rhinitis, AR)을 발생시키는데 관여하며, serotype A:1, A:3, A:4, A:5는 fowl cholera를 일으키는 것으로 밝혀져 있다. 이들 중 전세계적으로 돼지 파스튜렐라성 폐렴에 관련된 균주들은 A:3, A:5, D:5, D:3 등으로 알려져 있다. 이들 균주들의 주요한 병원성 인자들로는 capsular polysaccharide, lipopolysaccharide(LPS), exotoxin 및 outer membrane protein(OMP) 등을 들 수 있는데 이들 중에 capsular polysaccharide의 anti-phagocytic activity에 부가하여 최근에 OMP와 toxigenic *P multocida*에서 분비되는 DNT가 본 질병의 발병기전에 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀져 있다[1,5].

돼지에 있어서 *P multocida*는 비갑개골 위축, 상악골 발육부전, 기침, 재채기, 비출혈 등의 증상을 나타내는 전염성 위축성비염은 물론 폐렴의 원인균인 것으로, 증상은 급성 감염시 호흡곤란, 심한 복식호흡, 유산, 고열(42.2℃) 등으로 폐사율이 5~40%까지 나타나며, 아급성의 경우 기침, 복식호흡이 주증상으로 만성으로 진행되어 양돈산업에 막대한 경제적인 피해를 일으키는 호흡기 전염병이다[6~8].

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

*P multocida*는 5% 면양 혈액 함유배지에서 잘 자라며, 18~24 시간 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 수송으로 인한 스트레스 시에 발생하는 수송열에 관여하는 *P hemolytica*는 혈액배지상에서 용혈성을 나타내며 MacConkey agar에서도 성장한다. *P multocida*는 그램염색 음성, 단간균으로 보이고, 편모나 섬모가 없어 운동성이 없으며, 아포를 형성하지 않으나 협막을 가지고 있어 염색시에 양단염색성을 보인다.

Little과 Harding[7]은 영국의 돼지 20% 이상이 *Pasteurella*에 기인되어 폐사되었다고 보고하였으며, Kobisch와 Tillon[9]은 프랑스 Brittany 지방의 돼지 49%가 AR에 감염되었다고 보고했다. 또 Rosa 등[10]은 브라질의 Santa Catarina주의 돼지 24%가 AR에 감염되었다고 보고한 바 있다. 우리나라에서는 AR 및 *Pasteurella*에 기인된 폐렴은 박 등[11]이 도축장의 돼지와 자돈에서 AR 26.2%, *Pasteurella*성 폐렴 21.9%를 분리 보고한 바 있고, 김 등[12]은 폐렴병변이 있는 폐에서 *P multocida* 22.9%를 분리한 바 있으며, Cho[13]는 영남지방의 돼지에서 41.8%를, 안[14]은 도축장 출하돈에서 17.7%를 분리 보고한 바 있다.

이와 같이 *P multocida*는 돼지에서 많이 분리 보고되고 있으며 생성하는 독소에 대한 연구도 활발히 이루어지고 있으나 자돈에서 *P*

multocida 분리 보고는 우리나라에서는 다소 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 2003년 1월부터 2003년 11월까지 부산지방 자돈을 대상으로 비즙에서 *P multocida*를 분리하여 균 성상, 생화학적 특성 및 약제감수성을 조사하였기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

공시재료

공시재료는 2003년 1월부터 2003년 11월까지 부산지방에서 사육되고 있는 자돈 및 호흡기증세를 보이는 4~10주령 자돈 302두를 대상으로 하였다. 채취는 nasal swab법으로 공시자돈의 비경부를 70% 알콜 솜으로 깨끗이 소독한 후 멸균된 면봉을 비갑개골 부위까지 넣어서 비즙을 채취한 후 냉장상태를 유지하여 신속히 실험실로 운반한 후 균분리를 시도하였다.

균 분리 및 동정

면양 혈액을 5% 함유한 혈액한천배지 (blood agar base, Difco)를 분리배지로 사용하였다. 37℃에서 18~24시간 배양한 후 집락 형태, 그람염색성 및 협막염색성 등 균형태를 확인한 후 *P multocida*로 추정되는 집락을 분리하여 혈액배지에 1주일 간격으로 계대, 냉장보존하면서 시험에 공시하였다.

분리균의 생화학적 성상검사

*P multocida*의 생화학적 성상시험은 Cowan의 방법[15]과 MacFaddin의 방법[16]에 따라 용혈성 및 MacConkey agar에서의 발육여부, oxidase, catalase, indole 산생, urease, hydrogen sulfide 산생, motility, nitrate 환원, gelatin 액화, MR-VP 및 당분해 시험 등을 실시하였다.

항균제 감수성시험

*P multocida*에 대한 약제 감수성시험은 Bauer 등[17]과 Bryant 법[18]에 따라 sensi disk (BBL)를 이용한 디스크 확산법으로 실시하였다. *P multocida*를 Mueller-Hinton broth (Difco)에 접종하여 37℃에서 3~8시간 동안 증균시킨 후에 멸균 생리식염수로 희석하여 혼탁도를 MacFarland No. 0.5와 같은 농도로 맞추어 이 균액을 Mueller-Hinton agar(Difco) plate에 접종하였다. 사용한 디스크의 종류는 amikacin 30μg, ampicillin 10μg, carbenicillin 100μg, cephalothin 30μg, chloramphenicol 30μg, colistin 10μg, enrofloxacin 10μg, gentamicin 10 μg, kanamycin 30μg, lincomycin 2μg, nalidixic acid 30μg, neomycin 30μg, norfloxacin 10μg, penicillin 10 IU, streptomycin 10μg, sulfamethoxazole-trimethoprim 23.75μg/1.25μg, tetracycline 30μg 등 17종의 약제를 사용하여 감수성을 확인하였다.

결 과

*P multocida*의 분리율

*P multocida*의 감염상황을 알아보기 위하여 부산지방에서 사육되고 있는 자돈 및 호흡기증세를 보이는 4~10주령 자돈 302두로부터 *P multocida*의 분리율은 Table 1에서 나타나 있는 바와 같이 302두중 31두에서 분리되어 10.3%였다.

분리균의 생화학적 성상

분리한 31주의 *P multocida*에 대한 생화학적 성상은 Table 2에 나타난 바와 같이 catalase 시험, oxidase 시험, indole 산생시험, hydrogen sulfide 산생시험, nitrate 환원시험 등에서는 양성반응을 나타낸 반면, motility 시

Table 1. The isolation frequency of *P multocida* from nasal swabs of 4~10 week old piglets

Animal	Kind of samples	No of tested	No of isolated
Piglets	Nasal swab	302	31(10.3%)

Table 2. Biochemical and cultural properties of 31 strains of *P multocida* isolated from piglets

Properties	No of positive isolates	% of positive isolates
Hemolysis on blood agar	0	0.0
Growth on MacConkey agar	0	0.0
Motility	0	0.0
Catalase	31	100.0
Oxidase	31	100.0
Urease	0	0.0
H_2S production	30	96.8
Nitrate reduction	31	100.0
Indole production	29	93.6
MR-VP reaction	0	0.0
Gelatin liquefaction	0	0.0

험, gelatin 액화시험, MR-VP 시험, urease 시험 등에서는 음성반응을 나타내었다. 모든 균주가 MacConkey agar에서는 성장하지 못하였으며 blood agar에서 용혈성도 나타내지 않았다.

당분해시험에서는 Table 3에 나타난 바와 같이 galactose, glucose, mannitol, sorbitol, sucrose, xylose 등에서 양성반응을 보인 반면, arabinose, inositol, lactose, maltose, raffinose 등에서는 대부분의 균주가 음성반응을 나타내었다.

Table 3. Fermentative properties of 31 strains of *P multocida* isolated from piglets

Fermentable substrates	No of positive isolates	% of positive isolates
Arabinose	0	0.0
Galactose	31	100.0
Glucose	31	100.0
Inositol	0	0.0
Lactose	1	3.2
Mannitol	26	83.9
Maltose	3	9.8
Raffinose	0	0.0
Sorbitol	30	96.8
Sucrose	30	96.8
Xylose	30	96.8

*P multocida*의 항균제 감수성

약제 감수성시험 결과는 table 4에서와 같이 norfloxacin, enrofloxacin, ampicillin 등에 대하여는 공시균주의 약 90% 이상의 감수성을 나타내었으나 streptomycin, penicillin, neomycin에 대하여는 낮은 감수성을 나타내었고, 기타 약제에 대하여는 중등도의 감수성을 나타내었다.

고 찰

돼지 폐렴은 다양한 원인에 의해서 유발될 수 있으나 그 원인들 중에서 병원성세균이 가장 중요한 작용을 한다. *P multocida*는 1880년 Louis Pasteur가 fowl cholera에 걸린 닭에서 처음으로 분리·보고한 이래 많은 종의 동물로부터 분리된 바 있으며 전세계적으로 분포하고 있다. 동물의 편도, 구강 등에서 공생하는 비율이 높으며 거의 모든 가축들에 광범위한 숙주역을 가지고 있다[2,3].

돼지에 있어서 *P multocida*는 위축성 비염 및 폐렴을 일으키는 균으로서 주목받게 되었으며 여러 학자들에 의해 병원성이 인정되었다. 위축성비염에 감염된 돼지는 폐사하는 경우가 드물지만 감염된 돼지는 성장이 지연되고 사료효율이 현저하게 저하되어 경제적으로 막대한 손실을 가져오게 된다[19]. 우리나라에서도 본병

Table 4. Results of antimicrobial susceptibility test of 31 strains of *P multocida* isolated from piglets

Antimicrobials	No of isolates (n=31)		
	R	I	S (%)
Amikacin(AN)	10	2	19 (61.3)
Ampicillin(AM)	1	3	27 (87.1)
Carbenicillin(CB)	1	10	20 (64.5)
Cephalothin(CF)	2	4	25 (80.1)
Chloramphenicol(CM)	3	3	25 (80.1)
Colistin(CL)	15	1	15 (48.4)
Enrofloxacin(ENR)	0	1	30 (96.8)
Gentamicin(GM)	5	6	20 (64.5)
Kanamycin(KM)	3	3	25 (80.1)
Lincomycin(LM)	6	1	24 (77.4)
Nalidixic acid(NA)	4	7	20 (64.5)
Neomycin(N)	5	12	14 (45.2)
Norfloxacin(NOR)	0	0	31 (100.0)
Penicillin(P)	7	12	12 (38.8)
Streptomycin(S)	8	16	7 (22.6)
Tetracycline(Te)	9	1	21 (67.8)
Sulfamethoxazole/trimethoprim(SXT)	12	3	16 (51.6)

R : Resistance, I : Intermediate, S : Susceptible

에 의한 피해가 적지 않으며, *Pasteurella*에 기인된 폐렴은 박 등[11]이 도축장의 돼지와 자돈에서 AR 26.2%, *Pasteurella*폐렴 21.9%를 분리 보고한 바 있고, 김 등[12]은 폐렴병변이 있는 폐에서 *P multocida* 22.9%를 분리한 바 있으며, Cho[13]는 영남지방의 돼지에서 41.8%를, 안[14]은 도축장 출하돈에서 17.7%를 분리 보고한 바 있다.

부산지방 자돈을 중심으로 302두의 자돈에서 31두의 nasal swab에서 *P multocida*가 분리되어 개체별 감염율은 10.3%로서 박 등[11], 김 등[12]의 성적보다는 훨씬 낮았으나 안[14]의 성적보다는 약간 낮았다. 이와 같은 결과는 최근 돼지 사양관리 기술, 환경개선 및 질병 근절 등이 과거 1980년대에 비하여 훨씬 좋아진 것으로 판단되며, 또한 이유 후 스트레스 감소 및 호흡기와 소화기 질병 예방 목적으로 투여하는 약제들에 의하여 본 균이 사멸 또는 억제된 것으로 추측된다.

공시된 분리균의 생화학적 성상 및 당분해능을 비교 검토한 결과 모든 균주가 MacConkey agar에서 성장하지 못하였으며 blood agar에서 용혈성도 나타내지 않았다. catalase 시험, oxidase 시험, nitrate 환원시험에서 전균주가 양성반응을 나타낸 반면, motility 시험, gelatin 액화시험, MR-VP 시험, urease 시험 등에서는 음성반응을 나타내었다. 당분해시험에서도 galactose, glucose 등에서 양성반응을 나타내어 Cowan[15]의 분류기준과 유사하게 나타났고, Carter 등[2]과 Heddleston[20]의 분류기준과도 거의 일치하였으나 안[14]의 당분해능 시험 결과와 비교해 볼 때 lactose, maltose, inositol 등에서 다소 차이가 있었다.

공시된 분리균주에 대한 amikacin 등 17종의 항균제 감수성시험을 실시한 결과 norfloxacin, enrofloxacin, ampicillin 등에 대하여는 높은 감

수성을 나타내었으나 streptomycin, penicillin, neomycin에 대하여는 낮은 감수성을 나타내었고, 기타 약제에 대하여는 증등도의 감수성을 나타내어 신 등[21]의 결과와 유사하였다.

결 론

돼지 파스튜렐라성 폐렴의 예방 기초자료로 활용하여 양돈가의 경제적 피해 최소화를 목적으로 2003년 1월부터 2003년 11월까지 부산지방 자돈을 대상으로 비즙에서 *P multocida*를 분리하여 균 성상, 생화학적 특성 및 약제감수성을 조사한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. *P multocida*의 분리율은 4~10주령 자돈 302두중 31두에서 분리되어 10.3%의 분리율을 나타내었고, 분리된 *P multocida* 모든 균주가 MacConkey agar에서 비발육, blood agar에서 비용혈성, 운동성이 없었으며, catalase 시험, oxidase 시험, nitrate 환원시험에서 양성반응을 나타낸 반면, gelatin 액화시험, MR-VP 시험, urease 시험 등에서는 음성반응을 나타내었다.
2. 당분해시험에서는 galactose, glucose 등에서 양성반응을 나타내었으나 inositol, maltose, raffinose 등에서는 음성반응을 나타내었다.
3. 항균제 감수성시험 결과는 norfloxacin (100%), enrofloxacin(96.8%), ampicillin (87.1%) 순으로 높은 감수성을 나타내었으나 streptomycin, penicillin, neomycin에 대하여는 낮은 감수성을 나타내었고, 기타 약제에 대하여는 증등도의 감수성을 나타내었다.

참고문헌

1. Pijoan C. 1999. *Pneumonic pasteurellosis.* In: Straw BE et al. ed. *Diseases of Swine*, 8th ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa : 511~520.
2. Rhoades KR, Rimler RB. 1991. *Diseases of poultry.* 9th ed. Iowa State University Press : 145~162,
3. Carter GR. 1984. *Genus I.* Pasteurella In Kreig NR et al. ed. Bergey's manual of systematic bacteriology 1. Williams & Wilkins. Baltimore : 552~558.
4. Rimler RB. 1984. Comparison of serologic responses of white leghorn and new hampshire chickens to purified lipopolysaccharide of *Pasteurella multocida*. *Avian Dis* 28 : 894.
5. Yoo HS. 1991. Recent technology for the diagnosis and prevention of swine disease. *Proceedings of the International Symposium for the 50th Anniversary of the Gyeongsang National University* 32 : 395~402.
6. Kielstein P, Bocklisch H, Orthey G. 1986. *Pasteurella multocida* as a causal agent of infectious atrophic rhinitis in swine. *Mschr Vet Med* 41 : 46~50.
7. Little TWA, Harding JDJ. 1980. The interaction of *Haemophilus parahaemolyticus* and *Pasteurella multocida* in the respiratory tract of the pig. *Brit Vet J* 136 : 371~383.
8. Pedersen KB, Nielsen JP, Foged NT, et al. 1988. Atrophic rhinitis in pigs: proposal for a revised definition. *Vet Rec* 122 : 190~191.
9. Kobisch M, Tillon JP. 1985. Porcine respiratory diseases:epidemiological aspects. *Comp Immun Microbiol Infect Dis* 8 : 65~71.
10. Rosa JS, Nascimento MDAGFDO, Nascimento ERDO, et al. 1985. Prevalence of atrophic rhinitis in swine slaughtered in Santa Catarina State, Brazil. *Prequisa Vet Brasil* 5 : 73~76.
11. Park JM, Kim JY, Byeon HO, et al. 1983. Isolation and serotyping of *Pasteurella multocida* from pigs respiratory disease. *Res Reports of the Office of Rural*

Development Korea 25 : 97~104.

12. 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.
13. Cho GJ. 1989. Incidence and biochemical properties of *Pasteurella multocida* in Youngnam swine herds. Master thesis, Kyungpook National University Graduate School : 9~17.
14. 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.
15. Cowan ST. 1974. *Manual of the identification of medical bacteria.* 2nd ed. Cambridge University Press : 414~416.
16. MacFaddin JF. 1980. *Biochemical tests for identification of medical bacteria.* Williams & Wilkins. Baltimore, London : 36~308.
17. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol* 45 : 493~496.
18. Bryant MC. 1972. *Antibiotics and their laboratory control.* 2nd ed. Butterworth, London : 34~65.
19. Rutter JM. 1987. Atrophic rhinitis in pigs. *Pig News and Information* 8 : 385~387.
20. Heddleston KL. 1976. Physiologic characteristics of 1268 cultures of *Pasteurella multocida. Am J Vet Res* 37 : 745~747.
21. Shin NR, Park JU, Park YH, et al. 1999. Characteristics of *Pasteurella multocida* isolated from pneumonic lung lesions of swine; antimicrobial susceptibility, plamid profile and distribution of *tox*A. *Korean J Vet Res* 39(6) : 1091~1098.