

돼지 폐렴병소에서 분리한 *Pasteurella multocida*의 특성 및 항생제 감수성 양상

손준형 · 최성균 · 조길재*

경북대학교 수의과대학

Received January 8, 2009 / Accepted May 22, 2009

Characteristics and Antimicrobial Susceptibility Patterns of *Pasteurella multocida* Isolated from Pneumonic Lung Lesions of Swine. Jun-Hyung Shon, Seong-Kyoon Choi and Gil-Jae Cho*. *College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea* - The present study was conducted to investigate the species-specific gene detection and antimicrobial susceptibility of *Pasteurella (P.) multocida* isolated from pneumonic lung lesions of Youngnam swine herds during the period from July 2006 to September 2007. A total of 91 (36.3%) strains of *P. multocida* were isolated from 251 pneumonic lung lesions. The species-specific *P. multocida* gene was detected at 460 bp amplicons by PCR. The *P. multocida* tested was susceptible to florofenicol (93.4%), amikacin (91.2%), cephalothin (87.9%), cefoxitin (84.6%), ofloxacin (80.2%) and norfloxacin (65.9%) in 27 antimicrobial susceptibility tests. Most of strains were resistant to more than 5 drugs.

Key words : Antimicrobial susceptibility test, *Pasteurella multocida*, pneumonic lung lesions, swine

서 론

*Pasteurella*균은 Family pasteuraceae에 속하는 Gram 음성, 비운동성의 단간균으로 소의 출혈성 폐렴증, 조류의 fowl cholera, 돼지의 위축성 비염 및 출혈성 폐렴, 토끼의 snuffles 등과 같은 다양한 질병을 유발할 뿐만 아니라 양, 염소, 야생동물과 사람에게 있어서도 pneumonic pasteurellosis 및 septicemic pasteurellosis를 유발하기도 한다[3]. 현재까지 알려진 *Pasteurella*균속은 *Pasteurella multocida (P. multocida)*를 위시하여 19개의 종이 알려져 있다[9].

*P. multocida*는 통상 건강한 돼지의 상부기도점막에서 분리된다. 이와 같은 *P. multocida*가 병원성을 나타내기 위해서는 돼지에 경도의 호흡기 감염, 돈사의 환기불량, 장거리의 수송, 기후의 급변 등의 요인이 필요하다. 균의 전파는 감염돼지의 구강이나 비강의 분비물이나 삼출물을 포함한 비말을 흡입하거나 이 균에 의해 오염된 물건과의 접촉에 의해 일어난다. 균은 상부기도점막에 정착하여 증식하고 보균돈은 감염의 지속이나 전파에 중요한 역할을 하며 숙주의 체외에서는 수 주간 밖에 생존할 수 없고 열이나 직사일광에도 약한 것으로 알려져 있다[5,7,14].

*P. multocida*의 감염 시 주로 발생하는 돼지의 질병은 심한 복식 호흡과 기침, 40~42°C 정도의 발열 등의 증상을 나타내는 폐렴과 *Bordetella bronchiseptica*와 혼합 감염 시 비갑개의 완전용해를 유발하는 위축성 비염 등이 있다. 또한 기타 호흡기세균, mycoplasma, virus 등과의 혼합감염을 일으

키는 경우가 많으며, 본 균이 2차 감염균으로 작용하여 다른 원인에 의한 폐렴을 악화시키는 경우도 있다[5]. *P. multocida*에 의한 돼지의 질병은 전 세계적으로 발생하고 있으며 주로 초가을과 이른 봄의 기후변화가 급격한 시기에 산발적으로 발생하지만 다두사육의 경우는 집단적으로 발생하기도 한다[7].

*P. multocida*에 의한 폐렴의 예방을 위해서는 주로 bacterin 등을 이용한 vaccine의 개발 및 예방적인 항생제의 사용 등의 방법을 사용하여 왔다[19]. 하지만 국내의 경우 본 질병의 예방을 위하여 무분별한 항생제의 사용으로 인한 내성균 출현으로 많은 문제점들이 대두되어 주기적인 항생제 감수성 조사가 요구되고 있는 실정이다. 일반적으로 항생제는 질병 발생의 억제와 예방뿐만 아니라 사료효율을 높이기 위해 식용 동물의 치료 및 사료 첨가제 등으로 널리 사용되고 있다. 이처럼 무분별한 항생제 사용은 세균으로 하여금 항생제 저항 유전자를 유도하거나 획득하게 하여 식용 동물과 식품 내에 서식하는 세균 중에 항생제 내성균이 출현하기 시작하였으며, 결국에는 인체 치료용 항생제 내성균 출현여부에 관심이 집중되기 시작하였다. 따라서 식용 동물에 대한 항생제 감수성 양상에 대한 주기적인 조사는 동물의 질병 발생 시 효율적인 치료 및 예방에 있어서 중요할 뿐만 아니라 공중보건학적 측면에 있어서도 중요한 의미를 가지고 있다. 하지만 여러 연구자들에 의해 국내에서 분리되는 *P. multocida*의 약제 내성양상이 조사되어 왔으나 지역적 국한성과 지속적인 약제 내성 양상의 조사가 이루어지지 못하는 문제점을 가지고 있다.

따라서 본 연구에서는 분자 생물학적 방법을 이용하여 영남 지방에서 사육중인 돼지의 폐렴 병소로부터 분리된 *P. multocida* 균주에 대한 약제 내성 양상을 조사하였다.

*Corresponding author

Tel : +82-53-950-5978, Fax : +82-53-950-5955

E-mail : chogj@knu.ac.kr

재료 및 방법

공시 재료

2006년 7월부터 2007년 9월까지 영남지방 5개 양돈장에서 사육되고 있는 돼지 중 호흡기 질병 증세를 보이는 돼지 251두의 폐 가검물을 본 연구의 공시재료로 사용하였다. *P. multocida*의 분리를 위한 시료의 채취는 폐 병변부의 경계면을 중심으로 폐 표면을 무균적으로 처리한 다음, 폐의 일부를 절개하여 멸균 면봉으로 폐조직 내부를 충분히 swab한 후 4시간 이내에 실험에 이용하였다.

*P. multocida*의 분리 및 동정

환돈의 폐렴 병소로부터 swab한 시료를 혈액배지에 도말한 후 37°C에서 18~24시간 배양하였다. 배양한 혈액배지로부터 *P. multocida*가 의심되는 colony 2~3개를 선발하여 순수 분리한 후 Gram stain, Catalase test, Oxidase test, OF test, MacConkey agar에서의 발육 유무 등을 바탕으로 1차 동정하였으며, 최종 동정은 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction: PCR)을 통해 실시하였다.

*P. multocida*로부터 DNA의 추출

분리균 *P. multocida*로부터 DNA의 추출은 Zoetendal 등 [21]의 방법에 준하여 실시하였다. 먼저 Luria-Bertani broth (Becton Dickinson, USA) 3 ml에 colony를 접종하여 37°C에서 overnight시켜 배양한 후 1.5 ml의 Eppendorf tube (Eppendorf, USA)에 1 ml를 분주하고 13,000 rpm으로 1분 동안 원심분리한 다음 상층액 800 µl를 제거하였다. 그 후 100°C에서 15분간 가열한 후 다시 13,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 얼음에서 10분동안 침지시킨 다음 상층액 150 µl를 회수하여 PCR을 위한 template DNA로 사용하였다.

PCR을 이용한 *P. multocida* species-specific 유전자 검출

PCR을 이용한 *P. multocida* species-specific gene의 검출은 Townsend [20]의 방법을 응용하여 실시하였다. *P. multocida* species-specific gene의 검출을 위한 primer 염기서열은 KMT1 F-ATCCGCTATTTACCCAGTGG, R-RGCTGTAACGAAGCTCGCCAC이다. PCR을 위한 조성은 PCR premix buffer (Intron Biotechnology, Korea)에 template DNA 1 µl, 10 pmole의 forward 및 reverse primer 각각 1 µl, 멸균증류수 17 µl를 혼합하여 총 20 µl로 조정된 후 GeneAmp PCR system 2720 (Applied Biosystems, USA)으로 증폭하였다.

PCR은 먼저 95°C에서 5분간 가열하여 변성을 유도하고, 95°C에서 30초간 denaturation, 55°C에서 30초간 annealing, 그리고 72°C에서 30초간 extension의 3단계를 총 30회 반복하였으며 마지막으로 72°C에서 5분간 final extension 과정을 거쳤다. PCR 산물은 2% Seakem ME agarose gel (Cambrex

Bioscience사, USA)로 전기영동한 후 ethidium bromide (Corebio사, Korea)로 20분 동안 염색하여 UV transilluminator (Corebio사, Korea)상에서 PCR 산물의 크기를 확인하였다.

*P. multocida*에 대한 항생제 감수성 양상

분리균을 대상으로 national committee for laboratory standard (NCCLS)의 기준에 따라 디스크 확산법[2]으로 항생제 감수성 시험을 실시하였다. 분리된 세균은 4 ml의 Muller-Hinton broth (BBL, USA)에 접종하고 37°C에서 2~8시간 증균시킨 후 McFarland No. 0.5 turbidity standard (1.5×10⁸ CFU/ml)의 농도로 조절한 다음, Muller-Hinton agar (BBL, USA) plate에 도말하여 항균제 disc (BBL, USA)를 균등한 간격으로 놓고, 4°C에서 2시간 두었다가 37°C에서 18~24시간 배양한 후 발육저지대 범위의 크기를 측정하여 감수성 유무를 결정하였다.

본 연구에 사용한 항균제는 BBL (BBL, USA)과 Oxoid (Oxoid, UK)사의 제품으로 amikacin, amoxicillin, ampicillin, apramycin, cefoxitin, ceftiofur, cephalothin, chloramphenicol, ciprofloxacin, clindamycin, doxycycline, enrofloxacin, erythromycin, florfenicol, gentamicin, kanamycin, lincomycin+spectinomycin, neomycin, norfloxacin, ofloxacin, spectinomycin, streptomycin, sulfonamides, tetracyclin, tiamulin, trimethoprim/sulfamethoxazole, tylosin 등 총 27종의 항균제에 대한 감수성 시험을 실시하였다.

결 과

*P. multocida*의 분리 및 동정

영남지방에서 사육중인 돼지 폐렴병소로부터 *P. multocida*를 분리한 결과는 Table 1에서 보는 바와 같다. 5개 농장에서 사육중인 돼지 251두의 폐렴병소로부터 91주의 *P. multocida*가 분리되어 분리율은 36.3%로 나타났다. 각 농장별 분리율을 조사한 결과 A농장은 36두의 시료로부터 11주(30.6%), B농장은 121두의 시료로부터 49주(40.5%), C농장은 37두의 시료로부터 17주(46.0%), D농장은 32두의 시료로부터 12주(37.5%), E농장은 25두의 시료로부터 2주(8.0%)가 분리되어 각 농장 별 분리

Table 1. Prevalence of *P. multocida* isolated from pneumonic lung lesions of swine

Farm	No. of pneumonic lung lesions	No. of <i>P. multocida</i> isolates (%)
A	36	11 (30.6)
B	121	49 (40.5)
C	37	17 (46.0)
D	32	12 (37.5)
E	25	2 (8.0)
Total	251	91 (36.3)

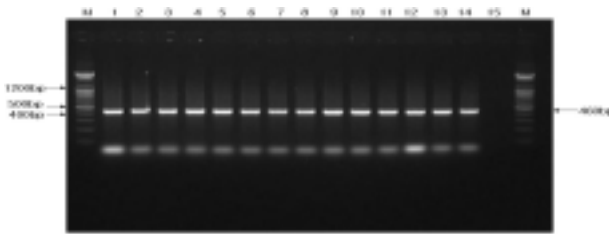


Fig. 1. Gel electrophoresis of *P. multocida* species-specific gene by PCR. Predicted 460 bp amplicons observed from *P. multocida* suspected strain. Lane M: molecular size marker (100 bp ladder, Bioneer, Korea); Lane 1-14: *P. multocida* strains isolated from pneumonic lung lesions of swine; Lane 15: negative control strain.

율은 최소 8%에서 최대 46.0%까지 관찰되었다.

또한 혈액배지에서부터 *P. multocida*가 의심되는 colony 2~3 개를 선발하여 순수분리한 후 Gram stain, Catalase test, Oxidase test, OF test, MacConkey agar에서의 발육 유무 등을 바탕으로 1차 동정한 후 PCR로 최종 확인한 결과 Fig. 1에서 보는 바와 같이 *P. multocida* species-specific 유전자 460 bp의 특이 증폭산물을 관찰하였다.

분리균 *P. multocida*에 대한 약제 감수성 양상

분리균 91주의 *P. multocida*에 대한 약제 감수성 양상은 Table 2에서 보는 바와 같다. 분리된 *P. multocida*균주는 amikacin (91.2%), cephalothin (87.9%), cefoxitin (84.6%), florofenicol (93.4%), norfloxacin (65.9%), ofloxacin (80.2%) 등의 약제에 비교적 높은 감수성을 나타내었다. 하지만 apramycin, clindamycin, erythromycin, neomycin spectinomycin, sulfonamides에 대해서는 분리된 모든 균주가 내성을 나타내었으며, kanamycin (93.4%), streptomycin (91.2%), doxycycline (85.7%), tetracycline (68.1%), amoxicillin (65.9%), enrofloxacin (61.5%) 등의 약제에 대해서도 비교적 높은 약제 내성 양상을 나타내었다. 또한 대부분의 분리주는 5종 이상의 약제에 대해 다재 내성 양상을 나타내었다.

고 찰

*P. multocida*는 그람 음성의 병원성 세균으로 여러 동물에서 다양한 질병을 일으킬 뿐만 아니라 사람에게 있어서도 pneumonic pasteurellosis 및 septicaemic pasteurellosis를 유발하기도 한다. 일반적으로 사람의 감염에 있어서는 감염 동물과의 접촉에 의해 발생하며, 주된 감염요인은 개와 고양이에게 물리거나 긁혔을 때 발생하는 것으로 알려져 있다[10]. 이와 같이 *P. multocida*는 다양한 종의 동물에 있어 감염증을 유발할 수 있으나 각각의 동물에 감염하는 *P. multocida* 균주는 숙주 친화성, 병원성, 당 분해능력, colony의 형태, 고유 항원성, 혈청학적 특성 등에 있어 상당한 차이를 나타낸다.

Table 2. Antimicrobial susceptibility tests of 91 *P. multocida* isolated from pneumonic lung lesions of swine

Antimicrobial agents	Susceptible (%)	Intermediate (%)	Resistance (%)
Amikacin	83 (91.2)	3 (3.3)	5 (5.5)
Amoxicillin	21 (23.1)	10 (11.0)	60 (65.9)
Ampicillin	60 (65.9)	12 (13.2)	19 (20.9)
Apramycin	0 (0.0)	0 (0.0)	91 (100.0)
Cephalothin	80 (87.9)	8 (8.8)	3 (3.3)
Cefoxitin	77 (84.6)	10 (11.0)	4 (4.4)
Ceftiofur	53 (58.2)	20 (22.0)	18 (19.8)
Chloramphenicol	51 (56.0)	15 (16.5)	25 (27.5)
Ciprofloxacin	48 (52.8)	17 (18.7)	26 (28.5)
Clindamycin	0 (0.0)	0 (0.0)	91 (100.0)
Doxycycline	13 (14.3)	0 (0.0)	78 (85.7)
Enrofloxacin	25 (27.5)	10 (11.0)	56 (61.5)
Erythromycin	0 (0.0)	0 (0.0)	91 (100.0)
Florofenicol	85 (93.4)	0 (0.0)	6 (6.6)
Gentamicin	32 (35.1)	20 (22.0)	39 (42.9)
Kanamycin	6 (6.6)	0 (0.0)	85 (93.4)
Lincomycin+spectinomycin	49 (53.9)	11 (12.0)	31 (34.1)
Neomycin	0 (0.0)	0 (0.0)	91 (100.0)
Norfloxacin	60 (65.9)	9 (9.9)	22 (24.2)
Ofloxacin	73 (80.2)	10 (11.0)	8 (8.8)
Spectinomycin	0 (0.0)	0 (0.0)	91 (100.0)
Streptomycin	8 (8.8)	0 (0.0)	83 (91.2)
Sulfamethoxazole	50 (55.0)	14 (15.3)	27 (29.7)
Sulfonamides	0 (0.0)	0 (0.0)	91 (100.0)
Tetracycline	21 (23.1)	8 (8.8)	62 (68.1)
Tiamulin	23 (25.3)	25 (27.5)	43 (47.2)
Tylosin	30 (33.0)	5 (5.5)	56 (61.5)

특히 균종간의 혈청학적 특성의 차이를 바탕으로 Carter에 의해 협막형의 분류방법이 개발되었으며, Carter의 방법에 따라 현재까지 serogroup A, B, D, E 및 F의 5가지의 혈청형으로 분류되고 있다[6].

Pasteurellosis는 돼지에 있어 많은 경제적 손실을 유발하는 감염증으로 중요시 되어왔다. 하지만 돼지의 pasteurellosis의 진단에 있어서 *P. multocida* 감염증 발생시 감염된 돼지가 다양한 임상 증상을 나타내는 점과 실험실 검사에 있어 비교적 많은 시간을 요구되는 점 등의 문제로 인해 많은 어려움이 있었다.

기존의 *P. multocida*의 협막혈청형 동정은 Carter [6]의 passive haemagglutination (PHA) test에 의한 serogrouping (serogroup A,B,D,E 및 F)과 Heddlston 등[12]의 gel diffusion precipitin test (GDP)에 의한 somatic serotyping (serotype 1~16)에 의존하여 왔으나 최근 분자 생물학적인 실험기법의 발달로 인해 PCR 기법을 이용한 임상 시료로부터 *P. multocida* 협막혈청형 동정 기술의 개발이 가속화 되어 종전의 진단 방법에 비해 빠르고 정확하며 재현성 있는 실험 과정의 단순화를 이루게 되었다[15].

돼지에서 폐렴은 다양한 원인에 의해서 유발될 수 있으나 그 원인들 중에서 미생물 원인이 중요한 작용을 하며 이들 미생물 중에서도 세균성 원인이 돼지 폐렴 유발에 가장 중요한 원인으로 작용하고 있다[16]. 이들 원인 미생물 중 *P. multocida*는 돼지의 호흡기에 정상 세균총의 하나로 존재하기도 하면서 혈청형에 따라서 돼지의 폐렴 또는 위축성 비염의 유발에 관여하고 있으며 전 세계적으로 돼지 폐렴과 관련된 혈청형으로는 A:3, A:5, D:5 및 D:3가 알려져 있으며 국내에서는 대부분이 *P. multocida* type A가 주로 돼지 폐렴에 관여하는 것으로 조사 보고되어 있다[8,17].

본 연구에서 영남지역에서 사육중인 돼지의 폐렴병소로부터 분리한 *P. multocida*에 대한 분리율 및 혈청형, toxigenic *P. multocida*의 분리율에 관해 조사한 결과 전체 251개의 시료로부터 91(36.3%)주의 *P. multocida*를 분리하였다. 이러한 결과는 Park 등[17]의 폐병변에서의 *P. multocida* 분리율 21.9%와 Kim 등[13]의 폐병소에서의 분리율 26.2%보다는 높게 나타났지만 Cho 등[8]의 분리율 43.1%보다는 낮은 성적을 나타내었다.

본 연구에서 분리한 91주의 *P. multocida*에 대한 항생제 감수성 검사를 실시한 결과 amikacin (91.2%), cephalothin (87.9%), cefoxitin (84.6%), florfenicol (93.4%), norfloxacin (65.9%), ofloxacin (80.2%) 등의 약제에 비교적 높은 감수성을 나타내었다. 하지만 apramycin, clindamycin, erythromycin, neomycin spectinomycin, sulfonamides에 대해서는 분리된 모든 균주가 내성을 나타내었으며, kanamycin (93.4%), streptomycin (91.2%), doxycycline (85.7%), tetracycline (68.1%), amoxicillin (65.9%), enrofloxacin (61.5%) 등의 약제에 대해서도 비교적 높은 약제 내성 양상을 나타내었다. 본 연구 결과 돼지의 폐렴 병소에서 분리한 *P. multocida*의 경우 일부 약제를 제외한 다수의 약제에 대해 높은 저항성을 나타내었다. 이와 같은 결과는 Cho 등[8]의 결과와 비교하였을 때 비교적 높은 감수성을 나타내었던 enrofloxacin, ampicillin, kanamycin 등의 약제가 본 연구의 결과와는 상당한 차이를 보였으며, amikacin, kanamycin, gentamicin 등의 약제에 높은 감수성을 보고 하였던 Kim 등[13]의 연구와도 상당한 차이를 볼 수 있었다. 또한 최근 Ahn 등[1]의 보고에 의하면 ciprofloxacin, ampicillin, cephalothin 등의 약제에 높은 감수성을 나타낸 것으로 보고되었지만 이들 결과에 비해 본 연구에서 조사한 약제 내성양상이 전반적으로 더 심각한 것으로 조사되었다. 하지만 Shin 등[16]의 연구 결과는 다른 연구에 비해서는 본 연구와는 비교적 유사한 결과를 볼 수 있었으며, 비교적 최근에 개발되어 사용되고 있는 enrofloxacin, norfloxacin, ofloxacin 등의 항생제의 경우 과거의 보고에서 100% 감수성으로 나타났으나 본 연구 결과 이러한 약제에 대해서도 많은 균주들이 내성을 가지는 것으로 조사되었다. 따라서 이들 항생제의 선택에 있어서는 신중을 기하여야 할 것으로 판단된다. Burton [4],

Gutierrez Martin [11], Raemdonck 등[18]의 경우 ceftiofur, danofloxacin 등과 같은 3세대 cephalosporin계열 항생제와 fluoroquinolones 등의 약제에 대하여 높은 감수성을 나타내는 것으로 보고되고 있어 본 연구 결과와 유사한 결과를 볼 수 있었다.

기존의 연구와 본 연구를 바탕으로 약제 내성 양상에 대한 고찰 결과는 다음과 같다. 일반적으로 80년대에는 aminoglycoside계 항생제에 대해 비교적 높은 감수성을 나타내었으나 90년대 중반에 들어 이들 약제에 대한 내성이 높게 관찰되고 있다. 이후 90년대 중반 이후부터 quinolone계 항생제에 높은 감수성을 나타내었으나 90년대 후반부터 비교적 빠른 시간 내에 이들 약제에 대한 내성을 나타내기 시작하였다. 최근에 이르러서는 80~90년대에 주로 내성을 보인 약제에 대해 지속적으로 내성 양상을 나타내고 있으며, tetracycline계 항생제 및 sulfa계 항생제, ampicillin 등의 약제에 대해서도 모두 높은 내성이 관찰 되었다. 하지만 ceftiofur와 같은 3세대 cephalosporin계 항생제와 chloramphenicol 유도체인 florfenicol 및 비교적 최근에 개발되어 사용되고 있는 quinolone계 약물인 ofloxacin 약제 등에는 비교적 높은 감수성을 나타내고 있는 것을 알 수 있었다.

이와 같이 본 연구 결과, 특히 약제내성 연구의 경우 기존의 연구들과 많은 차이를 나타내는 것을 알 수 있었다. 지속적인 항생제 투여로 인한 약제 내성 세균에 대한 지속적인 약제내성 양상의 모니터링을 통하여 더욱 효과적인 치료 및 예방법의 확립이 필요할 것으로 사료된다.

요 약

영남지방 5개 농장에서 사육중인 돼지 251두의 폐렴병소로부터 *P. multocida*를 분리한 결과 91주의 *P. multocida*가 분리되어 분리율은 36.3%로 나타났다.

생화학적 특성을 조사한 후 PCR로 최종 확인한 결과 *P. multocida* species-specific 유전자 460 bp의 특이 증폭산물을 관찰하였다.

분리된 91주의 *P. multocida*에 대한 약제 감수성 검사 결과 amikacin (91.2%), cephalothin (87.9%), cefoxitin (84.6%), florfenicol (93.4%), norfloxacin (65.9%), ofloxacin (80.2%) 등의 약제에 비교적 높은 감수성을 나타내었다. 또한 대부분의 분리주는 5종 이상의 약제에 대해 다제 내성 양상을 나타내었다.

References

- Ahn, B. C., K. H. Cho, and B. H. Kim. 1994. Studies on *Pasteurella multocida* isolated from pneumonic lungs of slaughter pigs. *Korea J. Vet. Res.* **34**, 511-516.
- Biemer, J. J. 1973. Antimicrobial susceptibility testing by the Kirby-Bauer disc diffusion method. *Nn. Clin. Lab. Sci.* **3**,

- 135-140.
3. Bisgaard, M. 1993. Ecology and significance of Pasteurellaceae in animals. *Zentralbl. Bakteriologie* **279**, 7-26.
 4. Burton, P. J., C. Thornsberry, Y. Cheung Yee, J. L. Watts, and R. J. Jr. 1996. Yancey. Interpretive criteria for antimicrobial susceptibility testing of ceftiofur against bacteria associated with swine respiratory disease. *J. Vet. Diagn. Invest.* **8**, 464-468.
 5. Carter, G. R. and E. Annau. 1953. Isolation of capsular polysaccharides from colonial variants of *Pasteurella multocida*. *Am. J. Vet. Res.* **14**, 475-478.
 6. Carter, G. R. 1988. Serological classification of pasteurella. *Vet. Rec.* **122**, 311.
 7. Carter, G. R. 1957. Studies on *Pasteurella multocida*. II. Identification of antigenic characteristics and colonial variants. *Am. J. Vet. Res.* **18**, 210-213.
 8. Cho, G. J., B. H. Kim and R. B. Tak. 1989. Capsular serogrouping and antimicrobial drug susceptibility of *Pasteurella multocida* isolated from young swine herds. *Korea J. Vet. Res.* **29**, 487-492.
 9. Confer, A. W. 1993. Immunogens of Pasteurella. *Vet. Microbiol.* **37**, 353-368.
 10. De Alwis, M. C. 1992. Haemorrhagic septicaemia—a general review. *Br. Vet. J.* **148**, 99-112.
 11. Gutierrez Martin, C. B. and E. F. Rodriguez Ferri. 1993. *In vitro* susceptibility of *Pasteurella multocida* subspecies multocida strains isolated from swine to 42 antimicrobial agents. *Zentralbl. Bakteriologie* **279**, 387-393.
 12. Heddleston, K. L., T. Goodson, L. Leibovitz, and C. I. Angstrom. 1972. Serological and biochemical characteristics of *Pasteurella multocida* from free-flying birds and poultry. *Avian Dis.* **16**, 729-734.
 13. Kim, J. Y., J. M. Park, and N. M. Kim. 1986. Studies on the immunogenicity of *Pasteurella multocida* isolated from swine in Korea. *Res. Report of the Rural Development Administration.* **28**, 77-93.
 14. Lax, A. J. and A. E. Grigoriadis. 2001. *Pasteurella multocida* toxin: the mitogenic toxin that stimulates signalling cascades to regulate growth and differentiation. *Int. J. Med. Microbiol.* **291**, 261-268.
 15. Lichtensteiger, C. A., S. M. Steenbergen, R. M. Lee, D. D. Polson, and E. R. Vimr. 1996. Direct PCR analysis for toxigenic *Pasteurella multocida*. *J. Clin. Microbiol.* **34**, 3035-3039.
 16. Shin, N. R., J. Y. Park, Y. H. Park, and H. S. Yoo. 1999. Characteristics of *Pasteurella multocida* isolated from pneumonic lung lesions of swine; antimicrobial susceptibility, plasmid profile and distribution of toxA. *Korean J. Vet. Res.* **39**, 1091-1098.
 17. Park, J. M., J. Y. Kim, and J. O. Byeon. 1983. Isolation and serotyping of *Pasteurella multocida* from pigs respiratory disease. *Res. Report of the office of rural development Korea.* **25**, 97-104.
 18. Raemdonck, D. L., A. C. Tanner, S. T. Tolling, and S. L. Michener. 1994. Antimicrobial susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida* and *Salmonella choleraesuis* isolates from pigs. *Vet. Rec.* **134**, 5-7.
 19. Rozengurt, E., T. Higgins, N. Chanter, A. J. Lax, and J. M. Staddon. 1990. *Pasteurella multocida* toxin: potent mitogen for cultured fibroblasts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **87**, 123-127.
 20. Townsend, K. M., J. D. Boyce, J. Y. Chung, A. J. Frost, and B. Adler. 2001. Genetic organization of *Pasteurella multocida* cap loci and development of a multiplex capsular PCR typing system. *J. Clin. Microbiol.* **39**, 924-929.
 21. Zoetendal, E. G., K. Ben-Amor, A. D. Akkermans, T. Abee, and W. M. de Vos. 2001. DNA isolation protocols affect the detection limit of PCR approaches of bacteria in samples from the human gastrointestinal tract. *Syst. Appl. Microbiol.* **24**, 405-410.