
碩士學位論文

濟州地方 돼지로부터 分離된 *Pasteurella multocida*의

生化學的 特性 및 藥劑 感受性

濟州大學校 大學院



金 玉 女

1995年 12月

濟州地方 돼지로부터 分離된 *Pasteurella multocida*의
生化學的 特性 및 藥劑 感受性

指導教授 李 斗 植


金 玉 女

이 論文을 獸醫學 碩士學位 論文으로 提出함

1995年 12月


金玉女の 獸醫學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長

이 종 희 


委

員

안 승 개 

委

員

의 주 석 

濟州大學校 大學院

1995年 12月

**Antimicrobial Drugs Susceptibilities and Biochemical
Properties of *Pasteurella multocida*
isolated from Swine in Cheju**

Og-Nyeo Kim

(Supervised by professor Du-Sik Lee)

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF MASTER
OF VETERINARY SCIENCE**

DEPARTMENT OF VETERINARY MEDICINE

GRADUATE SCHOOL

CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

1995. 12

목 차

| | |
|-------------------|----|
| Summary | ii |
| I. 서 론 | 1 |
| II. 재료 및 방법 | 4 |
| III. 결 과 | 9 |
| IV. 고 찰 | 18 |
| V. 결 론 | 22 |
| VI. 참고 문헌 | 24 |



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

**Antimicrobial Drugs Susceptibilities and Biochemical
Properties of *Pasteurella multocida*
isolated from Swine in Cheju**

Og-Nyeo Kim

Department of veterinary medicine

Graduate School, Cheju National University

Cheju, Korea

(Supervised by Professor Du-Sik Lee)



The present study was conducted to investigate the incidence of *Pasteurella multocida* infection of swine in Cheju from March 1994 to September 1995. A total of 126 cases were isolated, as *Pasteurella multocida* 96 cases from 188 pneumonic lungs and 30 cases from 54 nasal turbinates of slaughtered pigs. Isolated organism were identify and characterized by biochemical properties, capsular serological type, antibiotic susceptibilities, and

immunohistochemical method

The isolation rate of *Pasteurella multocida* from nasal turbinate was increased as 25.5%, 33.3%, 66.6%, 57.1%, 100% and 60.8%, accordingly to the intensity of its snout lesion grade 0-5. respectively

According to the capsular type, 99 isolates were type A(78.6%), 19 were type D(15.0%) and 8 were other types (6.3%).

Susceptibility of 126 isolates of *Pasteurella multocida* was high as more than 87% to ampicillin(Am), cephalotin(Ce), erythromycin(Em), and comparatively high as 75-85% to gentamycin (Gm), kanamycin(Km), lincomycin(Lm), neomycin(Nm),penicillin(Pc), streptomycin(Sm), trimetho-prim/sulfamethoxazole(Sxt) and tetracycline(Te)

By immunohistochemical findings, *Pasteurella multocida* antigen were recognized in the bronchiolar epithelial cells and macrophages in the alveolar and interstitial tissues. The immunoreactivity of *Pasteurella multocida* antigen was prominently the bronchiolar epithelial cells and alveolar macrophages.

I. 서론

돼지의 호흡기 질병은 다양한 병원체들인 세균, 바이러스, 기생충에 의해 발생할 수 있으나 (Collins, 1977), (Morrison 등, 1985), (김, 1985) 실제적으로 임상에서 가장 문제시 되고 있는 병원체들은 세균들이라 할 수 있으며 이들 세균 중에서도 *Pasteurella multocida*(*P. multocida*)는 건강한 가축의 상부호흡기도 내에 정상 세균총의 하나로서 흔히 존재하며 단독감염(Bentley, 1980), (Hall, 1990), (Smith 등, 1955) 혹은 다른 호흡기 세균들과 함께 혼합감염으로 발병한다.

*P. multocida*는 돼지뿐만 아니라 여러 종류의 동물에서 폐렴을 비롯한 호흡기 질병을 일으킨다 (Rhoades와 Rimler, 1984), (Timoney 등, 1988), (Farrington, 1986), (오 등, 1990). 또한 소에 있어서는 출혈성 패혈증을 일으킨다는 보고도 있다(Cater, 1955). 돈콜레라 생독백신의 접종이나 축사내 환기불량, 밀집사육, 스트레스, 기후의 급변, 건강상태 불량 및 환경관리 소홀 등에 의하여 저항성이 약화되었을 때도 비후두점막에서 증식하여 하부 호흡기도에 발병하게 된다 (김, 1985), (Collins, 1973), (Cater, 1967), (Morrison, 1985).

이 병으로 인하여 돼지가 폐사되는 예는 극히 드물지만 병증이 심할 경우 성장률을 크게 지연시키며 사료효율 감소 및 출하일령이 길어지는 등 양돈

업계에 막대한 경제적 손실을 입히는 질병으로 알려져 있다 (Giles, 1986), (Taylor, 1989), (Alexander 등, 1980), (Runnels, 1982), (Young, 1959).

*P. multocida*는 Louis Pasteur(1880)에 의해 닭에서 처음 분리 보고되었으며 현재 *Pasteurella*속에는 *P. multocida*를 위시하여 *P. pneumotropica*, *P. hemolytica*, *P. ureae*, *P. aerogenes*, *P. galinarum* 등 6종이 분류되어 있다 (Cater, 1955), (Rilmer, 1987) (Hedleston 등, 1972). Serotype으로는 협막항원의 차이에 따라 4가지 type과 somatic antigen의 차이에 따라 16가지 type으로 분류된다. 이중 돼지에서 폐렴 및 위축성 비염을 일으키는 *P. multocida*는 협막항원 A, D에 속하는 것이 대부분이다 (Timoney 등, 1988), (Farrington, 1986). 돼지에 있어서 *P. multocida*는 폐렴과 위축성 비염의 원인균 또는 2차 감염균으로 작용한다 (Kielstein 등, 1986), (Little, 1980). *P. multocida*는 toxin을 생성하며 그로 인하여 전염성 위축성 비염(Infectious Atropic Rhinitis:AR)과 폐렴을 일으키는 것으로 밝혀져 있다(Pedersen, 1984), (Pedersen, 1988), (Rutter, 1982), (Schimmel, 1988).

폐렴에 있어 *P. multocida*는 마이코플라즈마 폐렴에 2차적으로 흔히 감염된다. 이로 인해 기관지 간질성 폐렴을 다발성 농양과 때로는 심한 화농성 기관지 폐렴으로 악화시킬 수도 있다.

위축성비염의 원인은 아직 완전히 밝혀져 있지 않은 상태이다. 비갑개의

손상은 *P. multocida* 가 생산하는 독소에 의해 비갑개골 위축 및 상악골의 발육 부전 등의 비갑개 손상이 발생하는 것으로 보고된 바 있다. *Bordetella bronchiseptica*와 *Haemophilus parasuis*도 원인체로 대두되고 있다 (Rutter, 1982), (Gois 등, 1983), (Chanter 등, 1986).

특히 환경조건은 양돈의 기업화에 따른 다두 밀집사육으로 인해 크게 문제되기 쉬운 위축성 비염을 비롯한 호흡기질병문제가 심각해지고 있다는 박 등(1983), 조 등(1989)의 연구보고로 그 중요성이 점차 확대되고 있음에도 불구하고 제주도에서는 아직까지 호흡기질병에 관한 연구보고가 미흡한 실정이다.

이 연구는 제주지역 양돈산업의 생산성에 크게 문제시되고 있는 돼지 *P. multocida*에 기인한 폐렴 및 위축성 비염의 효과적인 예방 관리를 위한 기초 자료를 제공하기 위하여 제주지방에서 사육되고 있는 돼지를 대상으로 *P. multocida*의 감염상황을 조사하였으며 분리균의 배양성상 및 생화학적인 특성, 혈청학적 성상 및 항균제에 대한 감수성, 병리조직학적 검사 및 면역조직화학적 동정을 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시동물

1994년 3월부터 1995년 9월 사이에 제주지방에서 사육되어 도축 출하되는 비육돈(체중 약 90-100kg) 188두에서 폐렴병변을 보이는 폐와 54두의 비갑개골을 대상으로 검사하였다.

2. 분리재료 채취

도축장에서 출하되는 돼지의 두부는 Runnels(1982)의 방법에 따라 절단하여 재료를 채취하였고 nasal swab에 사용된 재료 채취용 면봉은 brain heart infusion broth(Difco)에 침적시킨 후 고압증기멸균(121°C 30분)하여 1주일 이내에 사용하였으며 폐 병변부는 잘라서 멸균된 유리병에 넣었다. Nasal swab 및 폐장가검물은 실험실로 즉시 운반하여 균 분리배양을 실시하였다.

3. *P. multocida* 분리

무균적으로 채혈한 면양 혈액을 tryptose blood agar base(Difco)에 7%되게 첨가한 혈액한천배지를 균 분리배지로 이용하였다. 무균적으로 접종하여 37°C에서 18-24시간 배양한 후 집락형태, Gram 및 협막염색성, 그리고 균

형태를 확인한 후 *P. multocida*로 추정되는 집락을 분리하여 blood agar plate에 10-15일 간격으로 계대하면서 실험에 사용하였다.

4. 비갑개골의 병변조사

도축돈의 비갑개골 위축병변의 정도를 조사하기 위하여 비갑개골을 톱으로 상악골의 제1구치와 견치의 사이에서 수직으로 절단하여 Straw 등(1983)의 방법에 준하여 위축 정도를 판정하였다. (Table. 1)

Table 1. Scale for scoring turbinate atrophy

| Total turbinate space left and right (mm) | score | interpretation |
|---|-------|----------------|
| 0 to 2 | 1* | negative |
| 3 to 6 | 0 | negative |
| 7 to 9 | 1 | negative |
| 10 to 12 | 2 | suspect |
| 13 to 16 | 3 | positive |
| 17 to 20 | 4 | positive |
| ≥21 | 5 | positive |

1/2 point is added to the score for turbinate asymmetry and for septal deviation. Maximum total score = 5.

* 3 to 6 mm of space in considered to exist in the normal pig. When there is less than 3 mm of space, inflammation or collapse of the turbinates may have occurred

5. *P. multocida* 동정시험

*P. multocida*를 동정하기 위한 생화학적 성상시험은 Cowan(1974)과 Hedleston(1976)의 방법에 따라 용혈성 및 MacConkey agar 발육여부, oxidase 시험, catalase 시험, indole 산생시험, urease 시험, gelatin 액화시험, MR-VP 시험, nitrate 환원시험, hydrogensulfide 산생시험, motility 시험 및 당분해 시험을 실시하였다.

6. *P. multocida*의 협막혈청형 동정

*P. multocida*균의 협막혈청형 동정은 Carter와 Rundell(1975) 및 Subronto(1973)의 방법에 준하여 실시하였다. Type A는 Carter와 Rundell(1975)의 방법에 따라 분리균을 tryptose blood agar에 5-10mm간격으로 획선도말을 한 후 바로 *Staphylococcus aureus* NCTC9393로 수직으로 도말하여 37℃에서 18-24시간 배양한 후 *Staphylococcus aureus* 집락주위에 *P. multocida*의 발육이 위축 또는 소실된 것을 양성으로 판정하였다. Type D는 Carter와 Subronto(1976)의 방법에 준하여 분리균을 3ml의 brain heart infusion broth(Difco)에 접종하고 37℃에서 18시간 배양한 후 3000rpm에서 30분간 원심분리하여 얻은 침균액 0.5ml에 0.1% acriflavine neutral(sigma)을 동량 혼합하여 5-30분간 방치한 후 침전물이 생기는 것을 양성으로 판정하였다.

7. 항균제 감수성 시험

*P. multoida*에 대한 항균제 감수성 검사는 ampicillin(Am), cephalotin(Ce), erythromycin(Em), gentamycin(Gm), kanamycin(Km), lincomycin(Lm), neomycin(Nm), penicillin(Pc), streptomycin(Sm), trimethoprim/sulfamethoxazole (Sxt), tetracycline(Tc) 12종의 Sensi-disk(BBL)를 이용한 디스크 확산법으로 실시하였다. 디스크 확산법의 술식과 결과 판독은 Bryant(1972)의 방법에 준하여 실시하였다. Blood agar에 배양된 집락을 mueller-hinton broth(Difco)에 접종하여 37°C 에서 18-24시간 배양시킨 후 멸균된 면봉으로 mueller-hinton agar(Difco)의 전체에 골고루 도말하여 Sensi-disk를 심은 후 37°C 에서 14시간 배양시킨 후 억제대의 직경으로 감수성 여부를 판정하였다.

8. 병리조직학적 검사

폐렴병변과 *P. multocida*와의 관련성을 유추하기 위하여 *P. multocida*가 분리된 폐조직을 중심으로 조직검사를 실시하였다. 10% 중성포르말린에 고정된 조직은 통상적인 방법에 따라 paraffin포매 절편을 만들었다. 조직절편은 Hematoxylin-eosin염색을 실시하여 병변을 확인하고 Avidin-Biotin Complex Kit(ABC Kit:Vector, CA)을 이용하여 면역염색을 실시하였다. 면역염색을 위하여는 paraffin을 제거한 후 조직내에 자연적으로 존재하는 peroxidase를

제거하기 위하여 과산화수소가 0.03% 첨가된 methanol에 20분간 처리한 후 비특이반응을 방지하기 위하여 20% normal goat serum으로 30 분간 반응시켰다. 그후 1차 항체로 anti-*Pasteurella multocida* rabbit serum(수의과학연구소)을 1:1000-1:8000으로 희석하여 조직위에 적하하고 4°C에서 overnight 처리한 후 2차 항체로 biotinylated goat anti-Rabbit IgG(Vector,CA)로 45분간 반응시켰다. 그후 peroxidase가 결합된 Avidin biotin complex-Horse radish peroxidase (ABC-HRP:Vector, CA) 용액으로 45분간 반응시켰다. 각항체처리시 단계간 수세는 0.05M phosphate beffer saline(pH 7.2)을 이용하였고 매회마다 5분간 3회씩 실시하였다. 다음으로 tris buffer saline에 0.05M되게 용해한 3,3'-diaminobenzidine-tetrahydrochloride(Sigma)에 과산화수소수를 0.00003%첨가한 액에서 5-10 분간 발색시킨 후 증류수에 반응정지를 시켰다. 대조 slide로는 normal Rabbit serum을 적용하였다. Hematoxylin에 대조염색시킨 후 세척과정을 거쳐 봉입 후 황갈색으로 발색되는 세포를 양성으로 간주하였다.

III. 결 과

1. 도축돈의 병변폐로부터 *Pasteurella multocida*의 분리

비육돈 188두의 병변폐로부터 *P. multocida*를 분리한 성적은 Table 2와 같이 188두 중 96두로 51.0%의 분리율을 보였으며 비갑개로 부터 분리된 내역은 Table 3과 같이 54두 중 30주로 55.5%의 감염율을 보였다.

Table 2. The isolation frequency of *P. multocida* from pneumonic lungs of slaughtered pigs

| Herds | No. of pigs examined | No. of <i>P. multocida</i> isolated(%) |
|-------|----------------------|---|
| A | 10 | 4(40.0) |
| B | 27 | 6(22.2) |
| C | 20 | 12(60.0) |
| D | 25 | 14(56.0) |
| E | 20 | 6(30.0) |
| F | 28 | 8(28.5) |
| G | 28 | 22(78.5) |
| H | 30 | 24(80.0) |
| Total | 188 | 96(51.0) |

Table 3. The isolation frequency of *P. multocida* from nasal turbinates of slaughtered pigs

| Herds | No. of nasal turbinates | No. of <i>P. multocida</i> isolated(%) |
|-------|-------------------------|--|
| A | 12 | 6(50.0) |
| B | 12 | 7(58.3) |
| C | 10 | 6(60.0) |
| D | 10 | 3(30.0) |
| E | 10 | 8(80.0) |
| Total | 54 | 30(55.5) |



2. 비갑개골 위축 정도에 따른 *P. multocida*의 분리율

Straw등(1983)의 'snout lesion grading system'에 따라 균 분리빈도를 조사한 결과는 Table 4에 나타난 바와 같이 비갑개골의 위축이 없는 grade에서는 25%가 분리되었고 grade 1, 2, 3, 4에서는 각각 33.3%, 66.6%, 57.1%, 100% 분리되었고 grade 5에서는 60.8%가 분리되었다.

Table 4. The isolation frequency of *P. multocida* from nasal turbinate
in relation to pig snout lesion grade

| Snout lesion grade | No. of nasal turbinate | No. of <i>P. multocida</i> isolated(%) |
|--------------------|------------------------|---|
| 0 | 4 | 1(25.0) |
| 1 | 12 | 5(33.3) |
| 2 | 6 | 4(66.6) |
| 3 | 7 | 4(57.1) |
| 4 | 2 | 2(100) |
| 5 | 23 | 14(60.8) |
| Total | 54 | 30(55.5) |

3. *P. multocida*의 생화학적 성상

공시한 96주의 *P. multocida*에 대한 생화학적 성상은 Table 5와 6에 나타난 바와 같이 모든 균주가 MacConkey agar에서는 성장하지 못하였으며, catalase 시험, oxidase 시험, indole 산생시험, H₂S 산생시험, nitrate 환원시험 등에는 양성반응을 나타낸 반면 motility 시험, urease 시험, methyl-red 시험,

voges-proskauer 시험, gelatin 액화시험, blood agar에서 용혈성 시험 등에는 음성반응을 나타내었다.

당분해 시험에서는 galactose, glucose, mannitol, sorbitol, xylose, sucrose 등이 양성반응을 보인 반면, arabinose, dulcitol, inositol, inulin, lactose, maltose, raffinose, salicin 등에서는 대부분의 균주가 음성반응으로 나타났다.

Table 5. Biochemical and cultural properties of *P. multocida* isolated from pig

| Characters | No. of positive culture | % of positive culture |
|-----------------------------|-------------------------|-----------------------|
| Growth on MacConkey | 0 | 0 |
| Catalase | 126 | 100 |
| Oxidase | 126 | 100 |
| Indole production | 126 | 100 |
| Hydrogen sulfide production | 126 | 100 |
| Motility | 0 | 0 |
| Urease production | 0 | 0 |
| Hemolysis | 0 | 0 |
| Nitrate reproduction | 126 | 100 |
| Methyl-red reaction | 0 | 0 |
| Voges-Proskauer reaction | 0 | 0 |
| Gelatin liquefaction | 0 | 0 |

Table 6. Fermentative properties of 126 culture of *P. multocida* isolated from pig

| Fementatable substrates | No. of positive culture | %. of positive culture |
|-------------------------|-------------------------|------------------------|
| Gas from Glucose | 126 | 100 |
| Galactose | 126 | 100 |
| Arabinose | 0 | 0 |
| Xylose | 126 | 100 |
| Lactose | 0 | 0 |
| Maltose | 9 | 7.1 |
| Sucrose | 126 | 100 |
| Raffinose | 0 | 0 |
| Inulin | 5 | 3.9 |
| Salicin | 0 | 0 |
| Dulcitol | 10 | 7.9 |
| Manntol | 126 | 100 |
| Sorbitol | 126 | 100 |
| Inositol | 0 | 0 |



4. *P. multocida*의 협막혈청형

분리된 126주의 *P. multocida*균에 대한 협막혈청형 동정시험 성적은 table 7에 나타난 바와 같이 공시균 126주 중 type A는 99주(78.6%)이며, type D는 19주(15.0%), 그리고 기타 혈청형은 8주(6.3%)로 나타났다.

Table 7. Capsular serotype of 126 *P. multocida* isolated from pig

| Sources of strains | No. of strains tested | No. (%) of cultures belong to : | | |
|-----------------------|--------------------------|---------------------------------|----------|-----------|
| | | Type A | Type D | Untypable |
| Nasal turbinate | 30 | 11(36.6) | 17(56.6) | 2(6.6) |
| Lung | 96 | 88(91.6) | 2(2.1) | 6(6.2) |
| Total | 126 | 99(78.6) | 19(15.0) | 8(6.3) |



5. *P. multocida*의 항균제 감수성 조사

공시한 *P. multocida* 126주는 Table 8에서 보는 바와 같이 cephalothin에 97.6%, ampicillin에 96.0%, chloramphenicol에 89.6%, trimethoprim/sulfamet-hoxazole에 89.6%, erythromycin에 87.3%의 감수성을 보였으며 gentamycin, kanamycin, lincomycin, penicillin, streptomycin, tetracycline 등에도 비교적 높은 감수성을 나타내었다.

Table 8. Antimicrobial Drug susceptibility of 126 *P. multocida* cultures isolated from pig

| Antimicrobial agents | No. (%) of susceptible <i>Pasteurella multocida</i> |
|------------------------------------|---|
| Ampicillin(Am) | 121(96.0) |
| Cephalotin(CF) | 123(97.6) |
| Erythromycin(Em) | 110(87.3) |
| Chloramphenicol(Cp) | 113(89.6) |
| Gentamycin(Gm) | 108(85.7) |
| Kanamycin(Km) | 108(85.7) |
| Lincomycin(Lm) | 98(77.0) |
| Neomycin(Nm) | 106(84.1) |
| Penicillin(Pc) | 106(84.1) |
| Streptomycin(Sm) | 95(75.4) |
| Trimethoprim/Sulfamethoxazole(Sxt) | 113(89.6) |
| Tetracycline(Tc) | 105(83.3) |

6. 병리조직학적 소견

Hematoxylin-eosin 염색소견으로는 기관지 폐포에 호중구, 섬유소, 세포파편물들로 구성된 염증성 삼출물이 다양한 양으로 존재하는 것이 관찰되었다 (Fig.1). 그리고 기관지 주위 원형세포의 침윤과 섬유아세포의 증식을 보였고 폐포의 파괴 및 폐포내 원형세포의 침윤이 현저하였으며 섬유아세포 증식이 관찰되었다 (Fig.2).

*P. multocida*의 항원분포를 조사하기 위해 실시된 immunoperoxidase 검사결과 폐조직내의 *P. multocida* 항원은 기관지 상피세포, 폐포강 및 간질내의 원형세포에서 강한 양성반응을 보였으며 특히 기관지 상피세포 및 폐포내 원형세포가 강한 양성반응을 보였다(Fig.3).

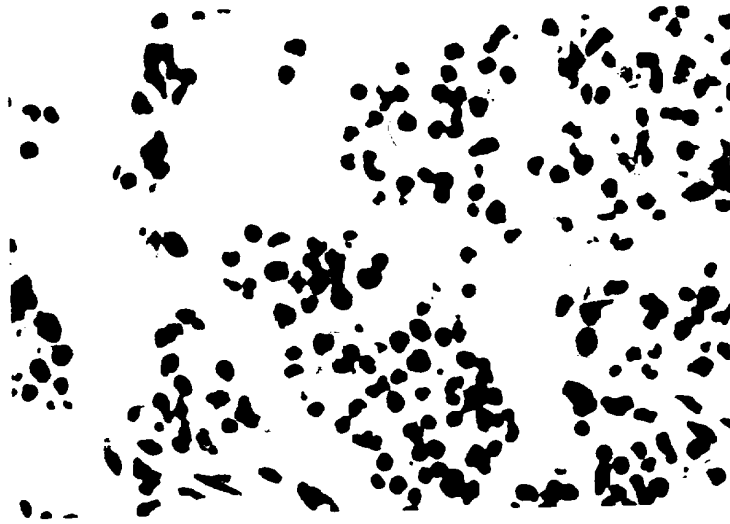


Fig. 1. Infiltration of macrophage and neutrophils in alveoli X400, H &E stain

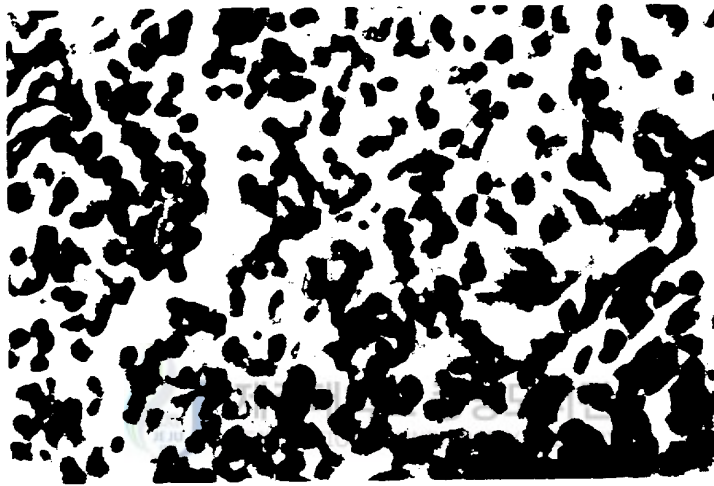


Fig. 2. Fibroblast proliferation in peribronchial interstitial tissue X400, H & E stain



Fig. 3 *Pasteurella multocida* antigens was distributed to peri-macrophage, Note brown-colored positive reaction, ABC. X400

IV. 고 찰

*P. multocida*는 전 세계적으로 분포하며 많은 종의 동물에서 분리되었다. 동물의 호흡기도인 구강과 인두 중에서 정상 세균총으로서 공생하는 비율은 높은 편이라 하겠으며, 거의 모든 동물들을 포함하는 광범위한 숙주역을 가지고 있는 전염병이다 (Cater, 1981), (Smith, 1955).

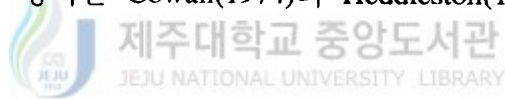
우리나라에서는 박 등(1983)이 서울근교 및 호남지방 돼지의 nasal swab(26.2%) 및 폐 병변(29.2%)에서 분리하였으며 김 등(1986)은 폐렴중세가 있는 폐(22.9%)와 비강(26.2%)에서 분리하였다. Pijoan 등(1984)은 폐렴에 걸린 돼지 133두중 70.8%, Osborne 등(1981)은 191의 폐렴 병변중 105두(55.0%)에서 *P. multocida*의 분리를 보고하였다.

제주지방 돼지를 대상으로 조사한 본 연구에서는 도축 출하되는 돼지의 폐병변 188예에서 96주인 51.0%의 분리율을 나타내어 박 등(1983)의 29.2%, 김 등(1986)의 22.9%, Pijoan 등(1984)의 70.8%라는 성적과는 차이를 보였으나 Osborne 등(1981)의 55.0%, 조 등(1989)의 41.6%의 결과와는 유사하였다. 비갑개에서는 55.5%의 분리율을 보였다.

비갑개골위축에 따른 *P. multocida*의 분리율은 snout lesion grading system에 따라 각각 25.0%, 33.3%, 66.6%, 57.1%, 100%, 60.8%가 분리되어

Straw 등(1983)의 성적과는 차이가 있었지만, 위축성 비염의 병변이 심하면 심할수록 *Bordetella bronchiseptica*의 분리율은 낮아지고 *P. multocida*의 분리 빈도는 증가한다는 Pijoan(1987)의 보고와 일치하였다.

공시된 분리균의 생화학적 성상을 비교 검토한 결과, 모든 균주가 blood agar에서 용혈성을 보이지 않았으며 MacConkey agar에서 성장하지 못하였다. Catalase 시험, oxidase 시험, indole 산생시험, H₂S 산생시험, nitrate 환원시험 등에서는 전 균주가 양성반응을 나타낸 반면, motility 시험, urease 시험, methyl-red 시험, voges-prolauer시험, gelatin 액화시험 등에는 공시균주 전체가 음성반응을 나타내었다. 당분해 시험에서도 glucose를 위시하여 galactose, xylose, sucrose, sorbitol, mannitol의 항목에는 거의 모든 균주가 양성반응을 나타내어 본 실험의 성적은 Cowan(1974)와 Heddleston(1976)의 분류기준과는 거의 일치하였다.



폐에서 분리된 96주에 대한 협막 혈청형 동정시험을 비교검토한 결과 Carter와 Rundell(1975) 및 Carter와 Subronto(1973)의 방법으로 동정한 Capsular serotype은 type A가 88주(91.6%), type D가 2주(2.0%), 기타의 type이 6주(6.2%)였으며 nasal turbinate에서 분리된 30주에서는 type A가 11주(36.6%), type D가 17주(56.6%), 기타의 type이 2주(6.6%)였다. 박 등(1983)은 nasal swab 와 폐 병변에서 분리한 *P. multocida* 중 type D는 26.7%였다고 하였고

Kielstein(1986)은 nasal mucosa에서 분리한 *P. multocida*는 type A가 32.7%, type D가 49.0%였으며 폐 병변에서 분리한 것은 type A가 23.0%, type D가 12.0%로 폐 병변에서는 type A의 분리빈도가 높다고 하였다. Pijoan 등(1986)은 폐 병변에서는 type A가 절대적으로 많이 분리되며 위축성 비염 병변에서는 type D가 분리되는 예가 많다고 보고하였다.

이상의 실험결과와 비교해 볼 때, 본 실험에서는 폐에서 분리된 공시균 96주 중 88주(91.6%)가 type A로서 Pijoan 등(1986)의 보고와 유사하였으며 박 등(1983), Kielstein 등(1986)의 보고와는 큰 차이를 나타내었다. 또한 비갑개골에서 type D가 56.6% 분리된 결과도 Pijoan 등(1986)의 성적과 유사하였다.

*P. multocida*가 분리된 폐의 병리조직학적 소견을 관찰한 결과, 이 균이 폐에서 만성병변을 유발하여 기관지성 폐렴과 간질성 폐렴을 일으킨다는 보고와 일치하였다. 면역조직학적 시험결과 기관지 상피세포 및 폐포내 원형세포에 강한 양성반응을 보였다. 이와 같은 소견은 *P. multocida*가 호흡기도를 통하여 감염된 후 조직탐식세포와 반응하여 폐조직에 손상을 줄 것으로 생각된다.

분리된 *P. multocida* 균주들은 cephalothin에 97.6%, ampicillin에 96.0%, chloramphenicol에 89.6%, trimethoprim/sulfamethoxazole에 89.6%, erythromycin에 87.3%가 감수성을 보였으며 gentamycin, kanamycin, lincomycin, penicillin,

streptomycin, tetracycline 등에도 75-85%의 비교적 높은 감수성 나타내었다. 이러한 성적은 김 등(1987)의 결과와 대동소이 하였으며, 김 등(1986)과 박 등(1983)은 Am, CF, Gm, Km에 감수성이 높았다고 보고한 결과와도 같았다. 한편 Chang 등(1976)의 성적은 *P. multocida*가 streptomycin과 tetracycline에 내성을 가진다고 하였고, Sharma 등(1974)은 streptomycin은 75%, tetracycline은 83.3%의 비교적 높은 감수성을 나타낸다고 보고한 것과 비교하면 제주 지역에서 분리된 *P. multocida*가 타지역에서 분리된 것에 비해 아직까지 여러 항생제에 대해 높은 감수성을 보이는 것으로 생각된다. 이상의 결과로 보아 제주도 지방에도 이미 *P. multocida*가 만연되어 있어 경제적인 손실을 입히는 것으로 생각된다. 이에 대한 대책으로는 높은 감수성을 보이는 항생제를 선택하여 예방적으로 투여해야 할 것이며, 백신에 의한 예방과 사육 위생관리를 철저히 시행하여 출하시기를 앞당길 수 있도록 함이 바람직 할 것으로 생각된다.

V. 결 론

1994년 3월부터 1995년 9월 사이에 제주지방에서 사육되어 도축출하되는 돼지 중 폐렴병변을 보이는 폐 188건과 비갑개골 54건을 대상으로 *P. multocida*의 분리를 시도하였다. 분리된 균은 생화학적 성상, 협막혈청형 동정, 항균제 감수성검사를 실시하였으며, *P. multocida*가 분리된 폐조직을 대상으로 면역조직화학염색을 실시하였다. 폐조직으로부터의 *P. multocida*의 분리율은 51.0%(96/188)이었으며 비갑개골에서는 55.5%(30/54)였다. 비갑개골에서 *P. multocida*의 분리율은 위축의 정도가 심할수록 높았다.

분리된 *P. multocida* 126주의 협막혈청형 typing시험결과 type A는 99주(78.6%), type D는 19주(15.0%), 기타 type의 균주가 8주(6.3%)였다. 대부분의 분리주들은 cephalothin, ampicillin, chloramphenicol, trimethoprim/sulfamethoxazole, erythromycin에 87% 이상의 높은 감수성을보였으며 gentamycin, kanamycin, lincomycin, penicillin, streptomycin, tetracycline에는 75-85%의 비교적 높은 감수성을 나타냈다. 병리조직학적 검사 결과로는 기관지성 폐렴을 나타내었으며 폐포강 내에 다수의 탐식세포가 침윤한 것이 관찰되었다. 면역

조직화학염색 결과 *P. multocida* 항원은 기관지상피세포 및 간질내의 원형세포에서 확인되었으며 특히 기관지 상피세포 및 폐포내 원형세포에서 강한 양성 반응을 보였다.

VI. 참고문헌

- Alexander T JL, Thornton K, Boon G, et al., 1980. Medicated early weaning to obtain pigs free from pathogens endemic in the herd of origin. *Vet Rec.*, 106:114-119.
- Bently OE, Farrington DO. 1980. Evaluation of an induced *Pasteurella multocida* Swine pneumonia model *AM J Vet Res.*, 41(1):1870-1873
- Bryant MC.1972. Antibiotics and their laboratory control. 2nd ed. *London: Butterworth* 34-65
- Carter GR. Pasteurellosis.1967. 1. *Pasteurella multocida* and *Pasteurella hamolytica*. *Adv Vet Sci .*, 11:321-379.
- Carter GR. 1955. Studies on *Pasteurella multocida* from atrophic rhinitis of pigs. *Vet Rec.*114:393-396. and toxin production. *Am J Vet Res.*, 47(4):730-737.
- Carter GR, Rundell SN. 1975. Identification of type A strains of *Pasteurella multocida* using staphylococcal hyaluronidase. *Vet Rec.*, 93:393-395.
- Carter GR, Suburonto P. 1973. Identification of type D strains of *Pasteurella multocida* with acriflavine. *Am J Vet Res.*, 34:293-294.
- Carter GR. 1981. The Genus *Pasteurella*, the Prokaryotes, Vol. 2. *New york: Spriger-Verlag Berlin Hidelberg.*, :1383-1391.

-
- Chanter N, Rutter JM, Mackenzie A. 1986. Partial purification of an osteolytic toxin from *Pasteurella multocida*. *J Gen Microbiol.*, 132:1089-1097.
- Chang WH, Carter Gr. 1976. Multiple Drug Resistance in *Pasteurella multocida* and *Pasteurella haemolytica* from cattle and swine. *JAVMA.*, 169(1):710-712
- Collins FM. 1977. Mechanism of acquired resistance to *Pasteurella multocida* infection. A review. *Cor Vet.*, 67:103-138.
- Collins FM. 1973. Growth of *Pasteurella multocida* in vaccinated and normal mice. *Infect Immunol.*, 8:868-87
- Cowan ST. 1974. Manual for the Identification of Medicine Bacteria. 2nd. ed. London : Cambridge University Press., 89-90.
- Cross RF, Claflin RM. 1962. *Bordetella bronchiseptica* induced porcine atrophic rhinitis. *J Am Vet Med Assoc.*, 141:1467.
- de Jong MF. 1983. Atrophic rhinitis caused by intranasal or intramuscular administration of broth culture and filtrates containing Atrophic rhinitis toxin of *Pasteurella multocida*.
- de Jong MF, Oci HL, Tetenburg GJ. 1980. Atrophic rhinitis pathogenicity tests for *Pasteurella multocida* isolates. *Proc 6th Int Pig Vet Soc Cong.*, 211.

- Dirks C, Schoss P, Schimmelpfenning H. 1970. Etiology of atrophic rhinitis of swine. *Deut Tierarztl Wochenschr.*, 80:342-345.
- Duncan JR, Ross RF, Switzer WP, et al., 1966. Pathology of experimental *Bordetella bronchiseptica* infection in swine: Atrophic rhinitis. *Am J Vet Res.*, 27:457-466.
- Farrington DO. 1986. Pneumonic Pasteurellosis, Diseases of swine. 6th ed. *Iowa State University Press.*, :436-444 .
- Giles CJ. Atrophic rhinitis. In : Leman AD et al, 1986. ed. Diseases of swine. 6th ed. *Ames: Iowa State Univ. Press.*, 455-469.
- Giles CJ, Smith IM, Baskerville AJ, et al. 1980. Clinical, Bacteriological and epidemiological observations on infectious atrophic rhinitis of pigs in southern England. *Vet Rec.*, 106:25-28.
- Gois M, Barnes HJ, Ross RF. 1983. Potentiation of turbinate atrophy in pigs by long-term nasal colonization with *Pasteurella multocida*. *Am J Vet Res.*, 44:372-378.
- Hanada M, Shimoda K, Tomita S, et al. 1979. Production of lesions similar to naturally occurring swine atrophic rhinitis by cell free sonicated extract of *Bordetella bronchiseptica*. *Jpn J Vet Sci.*, 41:1-8.
- Hall WJ, Bane DP, Kilroy CR, Essex-Sorlie DL. 1990. A model for the

- induction of *Pasteurella multocida* type-A pneumonia in pigs. *Can J Vet Res.*, 54:238-243
- Harris DL, Switzer WP. 1968. Tubinate atrophy in young pigs exposed to *Bordetella bronchiseptica*, *Pasteurella multocida*, and combined inoculum. *Am J Vet Res.*, 33:777- 785.
- Heddleston KI, Gallagher JE, Rebers PA. 1972. Fowl cholera. Gel diffusion precipitation test for serotyping *Pasteurella multocida* from avian species. *Avian Dis.*, 16:929-936.
- Heddleston KL. 1976. Physiologic characteristics of 1268 cultures of *Pasteurella multocida*. *Am J Vet Res.*, 37: 745-747.
- 조길재.1989. 영남지방 돼지에서 분리한 *Pasteurella multocida*의 협막 혈청형 및 항균제 감수성 조사. *Korean J Vet Res.*, 29(4): 487-492.
- 조길재, 김봉환 .1989. 영남지방 돼지의 *Pateurella multocida* 감염상태 및 분리균의 생화학적 특성. *Korean J Vet Res.*, 29(4):479-485
- 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.
- Kielstein P. 1986. On the occurrence of toxin producing *Pasteurella multocida* strains in atrophic rhinitis and in pneumonia of swine and cattle. *J Vet Med.*, 33:418-423

- Kim JY, Park JM, Kim ON. 1986. Studies on the immunogenicity of *Pasteurella multocida* from lungs of pneumonic swine in Korea. *Res Reports of the Rural Development Administration.*, 28:77-93.
- 김봉환, 장희경, 박창수. 1987. 영남지방 가축유래 병원세균의 항균제감수성 조사. *Res. Bull.Inst. Agr. Sci. Tech. Kyungpook Natl. Univ.*, 4:139-148.
- 김종념. 1985. 돈유래 *Pasteurella multocida*의 면역원성에 관한 연구. 전남대학교 5.
- Little TWA, Harding JDJ. 1980. The interaction of *Haemophilus paraahaemolyticus* and *Pasteurella multocida* in the respiratory tract of the pig. *Brit Vet J.*, 136:371-383.
- Miniats OP, Johnson JA. 1980. Experimental atrophic rhinitis in gnotobiotic pigs. *Can J Comp Med.*, 44:358-365.
- Morrison RB, Pijoan C, Hilley HD, Rapp V. 1985. Microorganisms associated with pneumonia in slaughter weight swine. *Can J.Com med.*, 49:129-137.
- Morrison RB, Pijoan C. 1985. Microorganism associated with pneumonia in slaughter weight swine. *Can J Comp Med.*, 49:129-137.
- 오강희, 박노찬, 김이준. et al. 1990. 돈 폐렴 유래 *Pasteurella multocida* 혈청형 및 약제 감수성. *Korean J Vet.*, 13(1):69-74.

- Osborne AD, Saunders Jrs, Sebunya TK. 1981. An abattoir survey of the incidence of pneumonia in Saskatchewan swine and an investigation of the microbiology of affected lungs. *Can Vet J.*, 22:82-85.
- Park JM, Kim JY, Byeon JO, 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.
- Pedersen KB, Elling F. 1988. the pathogenesis of atrophic rhinitis in pig induced by toxigenic *Pasteurella multocida*. *J Comp. Pathol* 1984., 94:203-214.
- Pedersen KB, Nielsen JP, Foged NT, et al. Atrophic rhinitis in pigs: proposal for a revised definition. *Vet Rec.*, 122:190-191.
- Pederson KB, Barfod K. 1967. The etiological significance of *Bordetella bronchiseptica* and *Pasteurella multocida* in atrophic rhinitis of swine *Nord Vet Med.*, 33:513-522
- Pijoan C, Pneumonic pasteurellosis Disease of swine. 6th. pp 552-559.
- Pijoan C, Lastra A, Ramirez C, et al. 1984. Isolation of toxigenic strains of *Pasteurella multocida* from lungs of pneumonic swine. *JAVMA.*, 185:522-523.
- Pijoan C. 1987. Atrophic rhinitis : A new look at an old disease *Agribusiness Worldwide.*, 6:16-17

- Rhoades KR, Rimler RB. 1984. Avian pasteurellosis, Diseases of Poultry. 8th ed Ames Iowa state University Press., :141-164.
- Rilmer RB, Rhoades KR, Serogroup F. 1987. A new capsule serogroup of *Pasteurella multocida*. *J Clin Microbiol.*, :615- 618.
- Runnels LJ. 1982. Infectious atrophic rhinitis of swine. *Veterinary Clinics of North America.*, 4:301-319.
- Rutter JM, Rojas X. 1982. Atrophic rhinitis in gnotobiotic piglets: difference in the pathogenicity of *Pasteurella multocida* in combined infections with *Bordetella bronchiseptica*. *Vet Rec.*, 110:531-535.
- Rutter JM, MacKenzie A. 1984. Pathogenesis of atrophic rhinitis in pigs. A new perspective. *Vet Rec.*, 114:89-90.
- Schimmel D. 1988. Pathogenesis of Pasteurellosis in swine. *schr vet Med.*, 43:84-86
- Schoss P, Dirks C, Schimmelpfenning H. 1972. Rhinitis atrophicans (R.A.): Investigation with nasal swabs and infection tests with *Pasteurella multocida*. *Proc Int Pig Vet Soc Cong.*, 9.
- Sharma KN, Nehrotra PK, Khanna VK. 1974. A note on characterization antibiotics sensitivity of *Pasteurella*. *Ind J Anim Sci.*, 49:142-145
- Shimizu T, Nakagawa M, Shibata S, et al. 1971. Atrophic rhinitis produced

- by intranasal inoculation of *Bordetella bronchiseptica* in historectomy produced colostrum deprived pigs. *Cornell Vet.*, 61:696-705.
- Smith IM, Hodges RT, Betts AO, Hayward AHS. Experimental infections of gnotobiotic piglets with *Pasteurella septica* (sero-group A) alone or with *Mycoplasma hyopneumoniae*
- Smith JE. 1955. Studies on *Pasteurella septica*. 1. The occurrence in the nose and tonsils of dogs. *J Comp Pathol.*, 65:239-245.
- Straw BE, Burget EJ, Hilley HD. 1983. Leman AD Pneumonia and atrophic rhinitis in pigs from a test station *JAVMA.*, 5:607-611.
- Switzer WP. 1956. Studies on infectious atrophic rhinitis. V. Concept that several agents may cause turbinate atrophy. *Am J Vet res.*, 17:478-484.
- Taylor DJ. 1989. Pig diseases. 5th ed. Cambridge: *Burlington Press.*, 128-143.
- Timoney JH, Gillespie JH, Scott FW, et al. 1988. Hagan and Infectious disease of Domestic animals. 8th ed. *Cornell University Press.*, :1104-1110.
- Young GA, Caldwell JD, Underdahl NR. 1959. Relationship of atrophic rhinitis and virus pig pneumonia to growth rate in swine. *J AM Vet Med Assoc.*, 134:231-234.

감사의 글

늘 감사의 마음을 가지고 있으면서도 말로는 그 마음을 전할 수 없었던 분들께 글로나마 감사의 뜻을 전합니다.

이 논문이 완성되기까지 지도를 아끼지 않으시고 항상 변함없이 따뜻한 가르침으로 이끌어 주셨던 이두식 교수님께 감사드립니다.

바쁘신 가운데도 좋은 논문이 되도록 다듬어 주신 배종희 교수님, 임윤규 교수님, 신태균 교수님께도 감사드리며 실험과정 중 많은 도움을 준 김승일 원우를 비롯한 모든 원우와 실험실 후배들, 친우들에게도 진심으로 감사드립니다.

특히 모든 편의를 제공해 주신 하순찬 원장님, 서문현 과장님, 김우택 계장님과 동료 여러분들의 도움에 감사드립니다.

그리고 사랑으로 보살펴주신 아버님, 어머님과 사랑하는 동생들과 이 조그마한 기쁨을 함께 나누고자 합니다.