大韓獸醫學會誌(1989) 第29卷 第4號
Korean J Vet Res (1989) 29(4)

영남지방 돼지에서 분리한 *Pasteurella multocida*의 협막혈청형 및 항균제 감수성 조사

조 길 재·김 봉 환·탁 연 빈
경북대학교 수의과대학
(1989. 8. 7 접수)

Capsular serogrouping and antimicrobial drug susceptibility of *Pasteurella multocida* isolated from Youngnam swine herds

Gil-jae Cho, Bong-hwan Kim, Ryun-bin Tak
College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University
(Received Aug 7, 1989)

Abstract: The capsular serogroupes and drug susceptibility of 111 isolates of *Pasteurella multocida* from pigs with atrophic rhinitis and pneumonic lesions were investigated.

Of the 111 *P multocida* isolates, 42 were from lung lesions, 47 from nasal turbinate lesions and the remaining 22 from the nasal swabs. *P multocida* isolates were typed for capsular serogroupes A by hyaluronidase inhibition of capsule and D by acriflavine auto-agglutination. Most isolates (64.9%) were type A, 23.4% were type D and the remaining 11.7% were untypable.

Resistance to triple sulfa(97.3%) was most frequent, followed by resistance to tiamulin (71.2%), tylosin(56.8%), streptomycin(36.9%), and neomycin(36.0%). The majority of the organisms were susceptible in order of prevalence to baytril(100%), ampicillin(98.2%), linsmycin(97.3%), colistin(97.3%), cephalothin(94.6%), gentamicin(93.7%), amikacin(92.3%), tetracycline(91.9%), trimethoprim/sulfamethoxazole(91.0%), and kanamycin(90.1%).

No differences in drug resistance in relation to capsular serogroupes of *P multocida* and the origin of lesions were noted. A high prevalence of multiple drug resistance was observed and the most common resistant patterns were Sss, Tm, Ty(12.6%) and Sm, Sss, Tm, Ty(8.1%) patterns.

Key words: *Pasteurella multocida*, capsular serogroup, drug susceptibility, atrophic rhinitis, pneumonic pasteurellosis.

서 론

Pasteurella multocida(*P multocida*)의 혈청학적 분류는 mouse passive protection test나 passive haemagglutination(PHA) test에 의한 협막항원 동정법과 응집반응이나 gel diffusion precipitin(GDP) test에 의한 균체항원 동정법이 널리 알려져 있다. 현재 가장 일반적으로 응용되고 있는 혈청학적 동정은 Carter[1]의 PHA test에 의한 capsular serogrouping과 Heddleston et al[2]의 GDP test에 의한 somatic serotyping에 따른다.[3]

*P multocida*는 PHA test에 의해 종래에는 4종의 capsule serogroup(A, B, D, E)으로 분류되어졌으나 최근에 Rimler와 Rhoades[3]는 칠면조에서 새로운 capsule serogroup F를 분리·동정함으로 말미암아 5종의 capsule serogroup이 알려졌으며 GDP test에 따라 16종의 somatic serotype(1~16)로 분류되고 있다.[1,2,3]

Capsule serogroup A 및 D의 고도면역혈청을 만드는데는 많은 어려움이 있으며, 이것은 A 및 D균이 산생하는 불활성 협막물질이 항원인식을 방해하기 때문인 것으로 알려져 있다.[3] capsule serogroup A균이 산생하는 hyaluronic acid는 PHA test에 있어서 항원-항체 반응을 억제한다. PHA test를 수행하는데 있어서 이러한 문제점들을 극복하기 위해서 *Staphylococcus aureus*에 의한 capsule serogroup A균이 산생하는 hyaluronic acid의 depolymerization phenomenon과 serogroup D균의 acriflavine에 의한 flocculation reaction에 근거한 비혈청학적 방법이 고안되어 capsule serogroup A 및 D의 동정에 널리 응용되고 있으나 B, E, F등의 serogroup을 동정하기 위한 비혈청학적 방법은 아직 없다. *P multocida*의 capsule serogroup을 동정하기 위해서 PHA test로 B, E, F group을 동정하고 비혈청학적 방법으로 A 및 D를 동정하는 것이 가장 보편적으로 많이 응용되고 있다.[1,2,3,5,6]

돼지에 분포하여 위축성 비염과 폐렴의 원인이 되고 있는 *P multocida*는 capsule serogroup A와 D에 속하는 것이 대부분인 것으로 알려져 있으나 지역에 따라서는 상당한 차이가 인정되기도 한다.[4]

근년에 와서 대구 및 부산근교를 중심으로 한 영남지방의 양돈산업이 기업양돈으로의 성장을 이루게 됨에 따라 다두사육시 발생되는 질병의 양상도 많은 변화를 가져왔으며 특히 위축성 비염을 위시한 *Pasteurella* 폐렴등의 호흡기질병이 심각해지고 있는 실정이다.

이와같은 배경하에서 본 연구는 우리나라에서 크게 문제시되고 있는 돼지 위축성 비염 및 *P multocida*에 의한 폐렴의 효과적인 예방과 치료를 목적으로 영남지방 돼지에서 분리한 *P multocida*의 협막혈청형을 동정함과 아울러 약제 선택의 기초자료를 마련하고자 각종 화학요법제에 대한 감수성을 조사하였다.

재료 및 방법

공시균주 : 1988년 3월부터 1989년 2월사이에 영남지방 10개 양돈장에서 사육되고 있는 4~12주령 자돈 51두와 12개 양돈장으로 부터 출하되는 비육돈(체중 약 90kg) 113두(90두는 snout와 폐를 동시에 공시하였으며 12두는 snout, 그리고 11두는 폐만을 공시하였음)를 포함하여 총 164두를 대상으로 한 실험에서 분리한 *P multocida* 111주를 공시균주로 하였다.

***P multocida*의 협막혈청형 동정시험** : 분리균에 대한 협막혈청형 동정시험은 Carter와 Rundell[5] 및 Carter와 Subronto[6]의 방법에 따라 수행하였다.

*P multocida*의 type A는 Carter와 Rundell[5]의 방법에 준하여 분리균을 tryptose blood agar에 5~10mm 간격으로 획선도말한 후 바로 *Staphylococcus aureus*로 수직도말하여 37°C에서 18~24시간 배양한 후 *Staph aureus* 집락 주위의 *P multocida*가 위축 및 소실된 것을 양성으로 판정하였다.

Type D는 Caster와 Subronto[6]의 방법에 준하여 분리균을 3ml의 brain heart infusion에 접종하고 37°C에서 18시간 배양한 후 3,000rpm에서 30분간 원심분리하여 얻은 침전균액 0.5ml에 1,000배의 acriflavine neutral(Sigma)을 동량으로 혼합하여 5~30분간 방치한 후 축모양의 침전물이 일어나는 것은 양성으로 판정하였다.

항균제감수성 시험 : Bryant[7]의 방법에 따라 sensi disk(BBL)를 이용한 디스크 확산법으로 *P multocida*에 대한 약제감수성 시험을 실시하였다. *P multocida*를 Mueller-Hinton broth(Difco)에 접종하고 37°C에서 2~8시간 증균시킨 후 표준탁도액(99.5ml의 0.36M H_2SO_4에 0.5ml의 0.04M $BaCl_2$를 혼합하여 screw cap tube에 밀봉한 것)의 농도와 일치시킨 것을 Mueller-Hinton agar plate에 접종균액으로 사용하였다. 공시한 항균제는 amikacin(Ak), ampicillin(Am), baytril(Bt), bicozamycin(Bm), cephalothin(Cf), colistin(Cl), gentamicin(Gm), kanamycin(Km), linsmycin(Lm), neomycin(Nm), streptomycin(Sm), tetracycline(Tc), tiamulin(Tm), trimethoprim/sulfamethoxazole(Sxt), triple sulfa(Sss), tylosin(Ty)등 16종으로 이에 대한 감수성을 조사하였다.

결 과

간이 동정법에 의한 *P multocida*의 협막혈청형 동정시험 성적은 Table 1에 있는 바와 같다. 공시균 111주중 type A가 72주로서 64.9%나 되었으며, type D는 26주(23.4%), 그리고 동정이 되지 않은 균주는 13주(11.7%)로 나타났다.

공시균의 각종 항균제에 대한 감수성 시험을 수행하여 얻은 성적은 Table 2에 있는 바와 같다. 공시한 111주의 *P multocida*는 Sss에 내성인 균이 97.3%로 가장 많았으며 Tm 71.2%, Ty 56.8%, Sm 36.9%, Nm 36.0%였으며, Km 9.9%, Sxt 9.0%, Tc 8.1%, Ak·Bm이 각각 7.2%, Gm 6.3%, Cf 5.4%, Cl·Lm이 각각 2.7%, Am 1.8%, Bt 0%의 순으로 내성을 나타내었다. 공시균의 capsular serogroup이나 분리된 병변재료에 따른 약제감수성의 차이는 인정되지 않았다.

공시균의 각종 약제에 대한 내성양상과 다제 내성균

Table 1. Capsular types of *P multocida* isolated from swine

Sources of strains	No. of strains isolated	Type A	Type D	Untypable
Nasal swab	22	14 (63.6)*	5 (22.7)	3 (13.6)
Nasal turbinate	47	27 (57.4)	17 (36.2)	3 (6.4)
Lung	42	31 (73.8)	4 (9.5)	7 (16.7)
Total	111	72 (64.9)	26 (23.4)	13 (11.7)

* Figures in parentheses are percentages.

Table 2. Drug resistance of 111 *P multocida* isolated from swine

Drugs	No. of resistant strains	% of resistant strains
Amikacin(Ak)	8	7.2
Ampicillin(Am)	2	1.8
Baytril(Bt)	0	0
Bicozamycin(Bm)	8	7.2
Cephalothin(Cf)	6	5.4
Colistin(Cl)	3	2.7
Gentamicin(Gm)	7	6.3
Kanamycin(Km)	11	9.9
Linsmycin(Lm)	3	2.7
Neomycin(Nm)	40	36.0
Streptomycin(Sm)	41	36.9
Tetracycline(Tc)	9	8.1
Tiamulin(Tm)	79	71.2
Trimethoprim/sulfamethoxazole(Sxt)	10	9.0
Triple sulfa(Sss)	108	97.3
Tylosin(Ty)	63	56.8

Table 3. Drug resistance patterns of 111 *P multocida* from swine

Multiplicity of resistance drugs	Resistance patterns*	No. of strains
8	Ak Bm Cf Gm Km Nm Sm Sss	1
7	Ak Bm Nm Sss Tc Tm Ty	1
	Ak Gm Km Nm Sss Tm Ty	1
6	Ak Bm Gm Km Sss Tm	1
	Bm Nm Sss Tc Tm Ty	1
	Cf Nm Sss Sxt Tm Ty	1
	Gm Km Sss Sxt Tm Ty	1
	Nm Sm Sss Sxt Tm Ty	1
5	Am Nm Sss Tm Ty	1
	Ak Km Nm Sm Sss	1
	Bm Nm Sss Tc Ty	1
	Bm Sm Sss Tm Ty	1
	Cf Cl Nm Sss Tm	1
	Cf Nm Sss Tm Ty	2
	Gm Sss Sxt Tm Ty	1
	Km Nm Sss Tm Ty	1
	Km Nm Sm Sss Tc	1
	Nm Sss Sxt Tm Ty	4
	Nm Sm Sss Tm Ty	7
	Nm Sss Tc Tm Ty	2
4	Ak Km Sss Tm	1
	Ak Lm Sm Sss	1
	Cl Sm Sss Ty	1
	Gm Km Sm Sss	1
	Nm Sss Tm Ty	6
	Nm Sm Sss Tm	1
	Sm Sss Tm Ty	9
	Sss Sxt Tm Ty	1
3	Ak Sss Ty	1
	Cl Nm Sm	1
	Gm Sm Sss	1
	Km Sss Tm	1
	Nm Sss Tm	2
	Nm Tm Ty	1
	Sm Sss Tm	3
	Sm Sss Tc	1
	Sm Sss Ty	1
	Sss Sxt Tc	1
	Sss Tm Ty	14
2	Bm Ty	1
	Nm Sss	3
	Sm Sss	8
	Sss Ty	1
	Sss Tm	8
	Tm Ty	2
1	Sss	8
	Tm	1

* Abbreviations for drugs : see Table 2.

출현빈도를 알아보기 위하여 내성을 나타내는 약제의 수 및 내성 pattern 별로 분류한 성적은 Table 3에 있는 바와 같다. 분리균 111주중 5약제 이상에 내성을 가진 균이 31주(27.9%)로서 다제 내성균도 상당히 많음을 알 수 있었다. 가장 빈번히 나타나는 내성 pattern은 Sss, Tm, Ty 내성형으로 전체의 12.6%이었으며 그 다음이 Sm, Sss, Tm, Ty 내성형으로 8.1%이었다.

고 찰

*P multocida*의 협막혈청형을 동정하기 위하여 Carter와 Rundell[5] 및 Carter와 Subronto[6]의 방법으로 동정한 결과, 본실험의 nasal swab에서는 type A 및 type D가 각각 59.4%, 31.9%로 분류되었으며, 폐병변에서는 type A가 73.8%인 반면 type D는 9.5%이었으며, 동정할 수 없는 균주는 16.7%이었다. 전체적인 공시돈의 nasal turbinate 및 폐병변에서 type A 및 type D의 분리율은 각각 64.9%, 23.4%이며 11.7%는 동정이 되지 않았다. 우리나라의 경우 김등[8]은 nasal swab와 폐병변에서 type A를 37.0%, type D를 29.9% 분리하였다고 보고하였으며, 박등[9]도 type A와 type D를 각각 40.0%, 26.7%라고 보고 한 바 있다. Pijoan et al[10]은 폐병변에서 분리한 *P multocida*는 type A 및 type D가 각각 87.5%, 11.5%라고 보고하였으며, Kielstein[11]은 nasal mucosa에서는 type A 및 type D가 각각 32.7%, 49.0%이었으며 도축장의 돼지 폐병변으로 부터 분리한 *P multocida*의 협막혈청형은 type A가 23.0%, type D가 12.0%, 그리고 동정이 되지 않은 균주는 29.0%라고 보고하였다. 또 Pijoan et al[12]은 폐병변에서 type A 및 type D가 각각 97.3%, 2.7%라고 보고한 바 있다.

이상의 성적을 비교해 볼때 본실험에서 분리한 *P multocida*중 type A는 64.9%로서 김등[8]과 박등[9]의 성적(37.0%, 40.0%)보다는 높았으며 type D는 23.4%, 29.9%, 27.0%로서 유사하였다. 또 Kielstein[11]과 Pijoan et al[10,12]이 위축성 비염에서의 협막혈청형은 type A보다 type D가 많으며 폐병변에서는 type A가 많다고 보고하였지만, 본실험의 nasal turbinate에서는 type A가 59.4%, type D가 31.9%로 분리되어 상당한 차이가 인정되었다. 폐병변에서는 type A가 73.8%, type D가 9.5%로 분리되어 Kielstein[11]과 Pijoan et al[10,12]의 성적과 유사하였다.

위축성 비염 및 *P multocida*에 의한 폐렴의 예방과 치료를 위한 기초자료를 얻기 위하여 약제내성을 조사한 결과, 16종의 약제중 Nm, Sm, Sss, Tm, Ty에는 각각 36.0%, 36.9%, 97.3%, 71.2%, 56.8%로서 상당히 높은 내성을 나타내었으나 Ak, Am, Bm, Cf, Cl, Gm, Km, Lm, Sxt, Tc등에는 내성이 각각 7.2%, 1.8%, 7.2%, 5.4%, 2.7%, 6.3%, 9.9%, 2.7%, 9.0%, 8.1%로서 이들 약제에는 감수성이 있는 것으로 나타났으며 Bt에는 0%로서 내성이 있는 균은 1주도 없었다. 박등[9]은 서울근교 및 호남지방에서 분리한 *P multocida*에 대해 감수성을 조사한 바 Am, Cf, Gm, Km에는 감수성을 가지며 Sm에는 내성이 있는 것으로 나타나 본실험의 성적과 거의 일치하였다. 김등[13]은 소와 돼지의 폐렴병소에서 분리한 33주의 *P multocida*에 대한 감수성을 조사한 결과 Am, Bm, Cf, Gm, Km, Sxt, Tc등에는 비교적 높은 감수성을 나타냈으며 Sm, Sss에는 45.5%만이 감수성이 있는 것으로 보고한 바 있다. 또 Chang과 Carter[14]는 돼지유래 *P multocida*는 Sm에 84.0%, Tc에 20.0%가 내성을 가진다고 보고하였으며, Hogle[15]은 *P multocida*는 Sm에 100%감수성이었다고 보고하였다.

본실험에서는 *P multocida*가 Sm에 36.9%의 내성을 나타내어 김등[13]의 성적(45.5%)과는 유사하였지만 Hogle[15]의 성적(100%)에 비해서 내성균이 많음을 알 수 있었으며 Chang과 Carter[14]의 성적(Sm 84.0%, Tc 20.0%)보다는 내성균이 적음을 알 수 있었다. 이와같이 *P multocida*는 넓은 범위의 항균제에 감수성이 있는 것으로 나타났으며 협막혈청형에 따른 약제내성은 거의 차이가 없음을 본실험에서 알 수 있었다.

Perino와 Didier[16] 및 Prescott et al[17]은 돼지유래 *P multocida*는 Am, Gm, Sxt, Tc등에는 높은 감수성을 가지고 있으며 Nm, Sm, Sss 등에는 내성을 나타낸다고 보고하였고, Meliota et al[18]은 *P multocida*가 Sss, Ty에는 저항성을 가진다고 보고하였다. Sharma et al[19]은 *P multocida*가 Nm, Sss에 내성을 가진다고 하였고 Gois et al[20]은 oxytetracycline이 *P multocida*에 유용하다고 하였으며 Oura et al[21]은 위축성 비염의 방제에는 kanamycin spray가 유효하다고 보고한 바 있다.

위의 성적과 비교해 볼때 Sharma et al,[19] Gois et al,[20] Perino와 Didier,[16] Meliota et al,[18] Prescott et al,[17] Oura et al[21]의 견해와 본실험의 성적과는 유사함이 인정되었다. 본실험을 통해서 설파제는 돼지유래 *P multocida*에 내성인 약제로 나타나 현재 우리나라에서 위축성 비염을 위시하여 호흡기 질병을 예방할 목적으로 설파제를 사료에 첨가하고 있는 실정이지만 앞으로는 이에 대한 집중적인 추구가 있어야 할 것으로 사료된다.

결 론

1988년 3월부터 1989년 2월사이에 영남지방 10개 양돈장에서 사육되고 있는 4~12주령 자돈 51두와 12개 양돈장으로 부터 출하되는 비육돈(체중 약 90kg) 113두를 포함하여 총 164두를 대상으로 한 실험에서 분리한 111주의 *P multocida*에 대한 협막혈청형 동정 및 항균제감수성을 조사하였다.

공시균 111주중 type A가 64.9%, type D가 23.4%, 그리고 동정이 되지 않은 균주는 11.7%로 나타났다.

분리한 *P multocida*는 neomycin, streptomycin, tiamulin, triple sulfa, tylosin 등에는 대부분 내성을 나타내었으며 amikacin, ampicillin, baytril, bicozamycin, cephalothin, colistin, gentamicin, kanamycin, linsmycin, tetracycline, trimethoprim/sulfamethoxazole 등에는 감수성이 있었다.

분리균 111주중 5약제 이상에 내성을 가진 균이 31주(27.9%)로서 다제 내성균도 상당히 많음을 알 수 있었다. 가장 빈번히 나타나는 내성 pattern은 Sss, Tm, Ty 내성형으로 전체의 12.6%이었으며 그 다음이 Sm, Sss, Tm, Ty 내성형으로 8.1%이었다.

참 고 문 헌

1. Carter GR. Studies on *Pasteurella multocida*. I. A hemagglutination test for the identification of serological types. *Am J Vet Res* 1955;16:481.
2. Heddleston KL, Gallagher JE, Rebers PA. Fowl cholera: Gel diffusion precipitin test for serotyping *Pasteurella multocida* from avian species. *Avian Dis* 1972;16:925~936.
3. Rimler RB, Rhoades KR. Serogroup F, a new capsule serogroup of *Pasteurella multocida*. *J Clin Microbiol* 1987;615~618.
4. Timoney JF, Gillespie JH, Scott FW, et al. *Hagan and Bruner's Microbiology and Infectious Diseases of Domestic Animals*. 8th ed. Cornell University Press, 1988;104~110.
5. Carter GR, Rundell SW. Identification of type A strains of *Pasteurella multocida* using staphylococcal hyaluronidase. *Vet Rec* 1975;96:343.
6. Carter GR, Subronto P. Identification of type D strains of *Pasteurella multocida* with acriflavine. *Am J Vet Res* 1973;34:293~294.
7. Bryant MC. *Antibiotics and their laboratory control*, 2nd ed. London: Butterworth, 1972;34~65.
8. Kim JY, Park JM, Kim ON. Studies on the immunogenicity of *Pasteurella multocida* isolated from swine in Korea. *Res Reports of the Rural Development Administration* 1986;28:77~93.
9. Park JM, Kim JY, Byeon JO, et al. Isolation and serotyping of *Pasteurella multocida* from pigs respiratory disease. *Res Reports of the Office of Rural Development Korea* 1983;25:97~104.
10. Pijoan C, Lastra A, Ramirez C, et al. Isolation of toxigenic strains of *Pasteurella multocida* from lungs of pneumonic swine. *JAVMA* 1984;185:522~523.
11. Kielstein P. On the occurrence of toxin-producing *Pasteurella multocida* strains in atrophic rhinitis and in pneumonias of swine and cattle. *J Vet Med* 1986;33:418~424.
12. Pijoan C, Morrison RB, Hilley HD. Serotyping of *Pasteurella multocida* isolated from swine lungs collected at slaughter. *J Clin Microbiol* 1983;17:1074~1076.
13. 김봉환, 장희경, 박창수. 영남지방 가축유래 병원세균의 항균제감수성 조사. 경북대농업과학기술연구소보 1987;4:139~148.
14. Chang WH, Carter GR. Multiple drug resistance in *Pasteurella multocida* and *Pasteurella haemolytica* from cattle and swine. *JAVMA* 1976;169:710~712.
15. Hogle RM. Antibacterial agent sensitivity of bacteria isolated from dogs and cats. *JAVMA* 1970;156:761~764.
16. Perino LJ, Didier PJ. Procine *pasteurella*, Swine Professional Topics. Univ Ill Coop Ext Serv, 1983;9:1~2.
17. Prescott JF, Bhasin JL, Sanford SE, et al. Serotypes and antimicrobial susceptibility of *Pasteurella multocida* isolated from cattle and pigs in Ontario. *Can Vet J* 1984;25:117~118.
18. Meliota F, Zavanella M, Nigrelli AD, et al. Isolation and properties of strains of *Pasteurella multocida* and *Bordetella bronchiseptica* from pigs with atrophic rhinitis. *Selezione Vet* 1984;25:1505~1510.

19. Sharma KN, Mehrotra PK, Khanna VK. A note on characterization and antibiotics sensitivity of Pasteurellae. *Ind J Anim Sci* 1979;49:142~145.
20. Gois M, Farrington DO, Barnes HJ, et al. Long-acting oxytetracycline for control of induced *Pasteurella multocida* rhinitis in swine. *JAVMA* 1983;183:445~447.
21. Oura K, Mikami Y, Imazu Y, et al. Prophylactic effects of intranasal spraying with kanamycin on atrophic rhinitis in swine. *J Jpn Vet Med Ass* 1987;40:587~591.