

경기지역 도축돈의 *Bordetella bronchiseptica*에 관한 조사
여운창, 박병옥, 백미순, 권기호, 우기방
경기도 가축위생시험소

Survey on Atrophic Rhinitis Caused by *Bordetella Bronchiseptica*
from Slaughtered Pig in Kyeonggi Province

Un-Chang Yeo, Byoung-Ok Park, Mi-Soon Back, Ki-Ho Kwon, Ki-Bang Woo

Kyeonggi Veterinary Service Laboratory

Abstract

The present study was conducted to investigate the isolation frequency, biochemical properties and antimicrobial susceptibility of *B. bronchiseptica* isolated from slaughtered pigs during the period from March to December, 1992. in Kyeonggi province. A serological survey for antibody of *B. bronchiseptica* in 200 slaughtered pigs was carried out by agglutination and tetrazolium reduction methods.

The results were summarized as follows :

1. From 80 slaughtered pigs, 27(33.8%) case were isolated and all isolate strains were resistant to Penicillin, Streptomycin, Chloramphenicol, Tetracycline and Ampicillin, while the majority of them were susceptible to Gentamicin, Cloxacin, Colistin, Neomycin, and Kanamycin.
2. Incidence of *B. bronchiseptica* antibody in 200 slaughtered pigs were measured by agglutination and tetrazolium reduction methods. Agglutination method was shown 38(19%) of 200 with a titer of below 1 : 20 and 20(10%) of 200 with a titer of above 1 : 640. Tetrazolium reduction method was observed 33(16.5%) of 200 with a titer of below 1 : 20 and 32(16%) of 200 with a titer of above 1 : 640.
3. LSD analysis indicated that the difference of the responses between agglutination test and tetrazolium reduction test was not significant.

Key Words : *B. bronchiseptica*, isolation rate, susceptibility, agglutination and Tetra zolium reduction titer.

서 론

위축성 비염(Atrophic Rhinitis)은 돼지의 세균성 호흡기 질병으로서 비강점막의 만성염증과 비감개골의 탈석회증 및 조직의 융해와 위축에 의한 안면골의 변형을 일으킨다. 발명농장에서는 전 돈균에 만연되어 발육부진, 사료효율저하 및 2차감염 등 많은 경제적 손실을 주는 전염성 질병으로 본병은 1830년 독일에서 Frangue¹⁾가 최초로 임상보고한 이래 우리나라에서는 1959년 정²⁾에 의하여 임상학적 조사결과 감염률이 약 25%라고 보고한 바 있다.

*Bordetella bronchiseptica*가 AR의 주요 원인균으로 확립된 것은 1960년대로써 Cross³⁾ 등, Ross 등⁴⁾, Duncan⁵⁾, Shimizu⁶⁾ 등 여러학자들에 의해서 확인되었다. 최근에는 *Pasteurella multocida*의 toxicogenic type A, D 균주도 관련이 있다고 보고되어 그 중요성이 대두되고 있다.^{7, 8)}

*B. bronchiseptica*는 주로 돼지, 개에 질병을 유발시키며 실험동물, 야생포유동물 등 넓게 분포되어 있다.⁹⁾ 위축성 비염에 걸린 돼지에서 분리된 *B. bronchiseptica*에 대하여 여러측면으로 많은 연구가 이루어졌으나 AR은 현재 세계적으로 발생하고 있으며 양축 규모가 커지고 집약화됨에 따라 이병의 발생이 증가하고 있는 추세이다.^{10, 11, 12, 13)} 우리나라에서도 1976년 박 등¹⁴⁾이 양돈장과 도축장에서 *B. bronchiseptica*를 분리하였으며 그후 이등¹⁵⁾, 강¹⁶⁾, 장¹⁷⁾, 박등¹⁸⁾, 정 등¹⁹⁾의 연구 보고에 의하면 현재 국내에 *B. bronchiseptica*균이 상재되어 있는 것으로 보고되었다. 꾸준한 방역과 백신사용으로 많은 효과를 보았으나 여전히 발생되고 있어 본병에 대한 보균돈의 역학적 조사가 매우 중요한 것으로 사료된다.

본 시험은 경기지역의 도축돈을 대상으로 *B. bronchiseptica* 분리율, 야외분리균주의 생화학적 성상, 항생제 감수성 및 시험관응집법과

Tetrazolium환원법으로 혈청응집항체가 측정 등을 실시하였던 바 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

공시동물 및 혈청

경기지역 4개 도축장에서 도축된 돼지 200두에 대한 항체가 측정과 아울러 *B. bronchiseptica* 분리는 도축돈 80두를 대상으로 하였다. 도축된 돼지의 두부 제1견치 부위를 수직으로 절단하여 비감개골을 노출시킨 뒤 복측비감개와 안면골과의 간격이 10mm이상된 것을 비감개골 위축으로 판정하고 멸균된 면봉으로 균분리 시험재료를 채취하였다.

*B. bronchiseptica*의 분리 및 동정

5% 면양 혈액배지와 Fungizone($5\mu\text{g}/\text{ml}$), Furazolidone($25\mu\text{g}/\text{ml}$), Gentamicin($2\mu\text{g}/\text{ml}$)을 포함한 MacConkey agar를 분리배지로 사용하였다.

37°C 48시간 배양 후 접락형태, Gram 염색성 및 균형태를 확인하고 표준항혈청으로 평판응집반응을 실시하여 1분이내 양성반응을 나타내는 접락을 채취, Semisolid agar에 보존하면서 검사하였다. *B. bronchiseptica*를 동정하기 위한 생화학적 성상시험, 가수분해시험, 당분해시험 등은 Cowan²⁰⁾, Johnson과 Sneath²¹⁾의 방법에 준하여 실시하였다.

항생제 감수성 시험

디스크는 Difco 제품과 BBL 제품을 사용하였으며 공시균을 Muller-Hinton broth(Difco)에 증균시킨 후 표준탁도액(99.5ml의 0.36N H₂SO₄에 0.5ml의 0.048M BaCl₂를 함유)과 같은 농도로 맞추어 Muller-Hinton agar 평판 접종법으로 실시하였다.

표준균주 및 항혈청

안양가축위생연구소에서 분양받은 *B. bronc*

Bronchiseptica P₄주를 정제하여 FCA(Freund's Complete Adjuvant)로 토끼의 근육, 피하에 총 1ml되게 접종하고 2주 후 채혈하여 혈청을 분리, 56°C 30분간 비동화시켜 역가를 측정한 후 분리 소분하여 -20°C에 보관하였다.

항원제조

Tube Agglutination Method – 가축위생연구소에서 분양받은 불활화 진단액으로 사용하였다.

Tetrazolium Reduction Method – Blood Agar에 균을 접종하여 37°C에서 하룻밤 배양 후 PBS(pH7.2)로 채취하여 절반은 1% tetrazolium red를 1/10되게 가하고 다른 절반은 PBS(pH7.2)를 1/10되게 첨가시켜 37°C에서 1시간 방치시켰다. 여기에 formalin을 0.5%되게 가한 후 37°C에서 24시간 불활화시켰다. 그후 Blood Agar에 재접종하여 불활화 여부를 확인 후 4°C에 보관시켰다.^{22, 23)}

함체가 측정

Tube Agglutination Method – Jenkins²⁴⁾,

Kang²⁵⁾ 등의 방법에 준하고 Spectrophotometer를 사용하여 540nm에서 흡광도 0.45가 되게 항원농도를 맞추어 시험관용집액으로 실시하였다.

Tetrazolium Reduction Method – 비염색된 균의 농도를 Spectrophotometer 540nm에서 흡광도 0.45로 맞춘 희석 비율과 같이 염색된 균을 희석시켰다. 96well microplate를 사용하여 2진 희석한 혈청에 희석염색 항원을 동량 첨가하여 밀봉시킨 후 37°C에서 하룻밤 방치하였다. 판독의 종말점은 50% 항원 응집을 마지막으로 읽었다.^{22, 23)}

결 과

도축돈에서의 *B. bronchiseptica* 균 분리성적은 다음과 같다.(표1) 총 검사두수 80두중 27두에서 균이 분리되어 33.8%의 검출율을 나타내었다. 도축장별로는 A도축장에서 20두중 9두에서 균이 검출되어 45%이었으며 D도축장은 검사두수 20두에서 4두로서 20%의 비교적 낮은 균 검출율을 나타내었다.

Table 1. The isolation frequency of *B. bronchiseptica* from pig snout in Kyeonggi Slaughter house

Slaughter houses	No. of pigs Examined	Age range (months)	No. of <i>B. bronchiseptica</i> isolated	Incidence rate(%)
A	20	5~7	9	45
B	20	5~7	7	35
C	20	5~7	7	35
D	20	5~7	4	20
Total	80		27	33.8

분리균주 27주의 생화학적 성상은 다음과 같다.(표2) Oxidase activity, Catalase test, Urease activity, Citrate utilization, Tetrazolium reduction test, Reduction of nitrates, Motility test 등에서 양성반응을 나타낸 반면 Methyl Red test, Voges Proskauer test, DNase activity, Indole test, Tween(20, 40,

60, 80) 가수분해시험, 유화수소생산시험, 당분해시험 등에서 음성반응을 보였다. 이들에 대해 표준항혈청으로 시험관용집반응을 실시한 결과 *B. bronchiseptica*로 동정할 수 있다.

분리된 27주의 균에 대한 약제감수성시험을 실시한 결과는 다음과 같다.(표3) Gm은 100%의 감수성을 보였고, Cx, Cl, Nm, Km, An 등이

Table 2. Biochemical properties of 27 *Bordetella bronchiseptica* isolated from swine

Properties	No. of Positive	Percent-	tage
Hemolysis of blood agar	26	96.3	
Oxidase activity	26	96.3	
Catalase test	26	96.3	
Urease activity	25	92.6	
Citrate utilization	26	96.3	
Tetrazolium reduction test	27	100	
Reduction of nitrates	27	100	
Motility test	27	100	
MR-VP test	0	0	
Production of H ₂ S	0	0	
DNase activity	0	0	
NaCl 6%	27	100	
7%	26	96.3	
9%	20	74.1	
Indole	0	0	
Litmus milk(alkaline reaction)	21	77.8	
Hydrolysis of Tween 20	0	0	
40	0	0	
60	0	0	
80	0	0	
Acid from 1% Carbohydrates*	0	0	

* Carbohydrates : Arabinose, Fructose, Galactose, Glucose, Lactose, Maltose, Sucrose.

비교적 높은 감수성을 나타냈으며 B, Sxt, Pc, Sm, Cm, Em, Tc, Am에서는 저항성을 나타내었다.

Table 3. Drug resistance of 27 *Bordetella bronchiseptica* isolated from swine

Drugs	No. of susceptible	Percent-	tage
Amikacin 300mcg(An)	19	70.4	
Ampicillin 10mcg(Am)	11	40.7	
Bacitracin(B)	0	0	
Cephalothin 30mcg(Cf)	10	37	
Colistin 10mcg(Cl)	25	92.6	
Cloxacin(Cx)	26	96.3	
Chloramphenicol 30mcg(Cn)	3	11.1	
Gentamycin 10mcg(Gm)	27	100	
Erythromycin 15mcg(Em)	8	29.4	
Kanamycin 30mcg(Km)	23	85.2	
Neomycin 30mcg(Nm)	24	88.9	
Penicillin 10unit(Pc)	0	0	
Streptomycin 10mcg(SM)	2	7.4	
Sulfamethoxazole / Trimethoprim 1.25mcg(Sxt)	0	0	
Tetracycline 30mcg(Tc)	9	33.3	

도축장에서 채혈한 돼지 200두에 대한 혈중 항체가 분포는 다음과 같다. 시험관응집법으로 측정한 항체가중 20배이하가 42두로 21%를 차지했고 20배는 36두(18%), 40배는 38(19%), 80배는 26두(13%), 160배는 30두(15%), 320배는 12두(6%), 640배 이상은 20두(10%)를 나타냈다. 동일 혈청으로 Tetrazolium 환원법에 의한 항체가를 측정한 결과 20배 이하가 33두로 16.5%를 보였으며 20배는 31두(45%), 40배는 42두(21%), 80배는 22두(11%), 160배는 24두

Table 4. Incidence of *B.bronchiseptica* antibody in 200 slaughtered pigs.

Methods	No. of pigs Examined	B. bronchiseptica antibody titers(%)						
		<20	20	40	80	160	320	>640
Tube agglutination	200	38 (19)	36 (18)	38 (19)	26 (13)	30 (15)	12 (6)	20 (10)
Tetrazolium reduction	200	300 (16.5)	31 (15.5)	42 (21)	22 (11)	24 (12)	16 (8)	32 (16)

(12%), 320배는 16두(13%), 640배이상은 32두(16%)를 나타내었다.

고 쟈

돼지 위축성 비염(AR)의 원인균은 종전에는 *Bordetella bronchiseptica*로 알려져 왔으나 최근에는 *Pasteurella multocida* A, D형 균이 크게 관여한다고 보고되고 있다.^{7, 8)} *Bordetella bronchiseptica*가 1차적으로 비강점막에 정착하여 균이 산생하는 독소에 의해 골아세포가 변성 피사되고 *P. multocida*가 2차적으로 감염되어 위축된다.

본병에 대한 균분리는 Harris 등²⁶⁾, Jenkins 등²⁷⁾, Cameron 등²⁸⁾은 11%~50%의 다소 폭넓은 분리율을 보였다. 우리나라에서는 1976년 박 등¹⁴⁾이 경기지역의 도축장에서 21.7%, 양돈장 4%의 균분리율을 보고하였고, 1988년 박등¹⁸⁾은 전남지역의 도축장에서 AR의 심돈 91두 중 37.4%인 34두에서 균을 분리하였다. 같은해 장¹⁷⁾이 영남지방에서 출하되는 비육돈 115두 중 50.4%, 1990년 정등¹⁹⁾은 경남지역 양돈장의 총검사두수 113두 중 균 분리율은 41.6%이었다. 본 조사에서는 4개 도축장에서 총 검사두수 80두 중 27두로부터 검출되어 33.8%의 균 분리율을 보여 박등⁴⁾ 보다는 높았으나 장¹⁷⁾의 50.4% 보다는 낮은 균 분리율을 보였다.

Ghoshal 등²⁹⁾은 정산돈과 AR감염돈의 혈장에서 성장호르몬 농도를 측정함으로써 AR감염 여부를 구별할 수 있다고 보고하였으며, 이는 균 분리의 단점을 보완할 수 있는 측면적인 진단법으로 사료되어 진다.

분리균주 27주의 생화학적 성상을 비교 검토한 바 Tetrazolium reduction test, Citrate utilization, Urease activity, Catalase test, Oxidase Activity, MRVP test의 분류기준은 Cowan²⁴⁾, Johnson과 Sneath²⁵⁾, Pittman³⁰⁾ 등과 일치하였으며, 박¹⁸⁾, 장¹⁷⁾, 정등¹⁹⁾의 성적과도 유사하였다.

분리된 *B. bronchiseptica*균주들의 약제감수성 실험결과 Pc, Sxt, Sm, Cm, Em, Tc에는 높은 내성을 보였고, Gm Cx, Cl, Nm, Km, Am 순으로 감수성이 높은 것으로 나타났다. 1979년 이 등¹⁵⁾이 조사한 바 Pc, Sm, Lm, Cl, Am 등에 저항성을 보였고 Gm, Tc, Km, Cm에는 감수성이 있다고 하였으며, 1982년 강¹⁶⁾이 전남지역에서 조사한 바 Pc, Sm, Cm, Sulfa 등에 내성이 있었고 Km, Gm, Cl 등에는 감수성이 있다고 보고 하였으며, 1988년 장¹⁷⁾은 영남지방에서 조사하여 Pc, Am, Sm, Sxt 등에 내성이 있었고 Gm, Cm, Cl, Km, Tc 등에 감수성이 있다고 보고하였다. 또한 1988년 박등¹⁸⁾이 전남지역 도축장에서 조사한 결과 Pc, Sm이 내성이 있고 Cm, Gm, Cm, Cl, Km, Tc 등이 감수성을 보였다고 보고하였으며 1990년 정등¹⁹⁾이 경남지역에서 조사한 바 B, Pc, Lm, Sxt, Cm, Sm, Fm에 저항을 보였고 Mc, Gm, Nm, Cl, Km, Cf, Am에는 감수성을 나타내어 여러 연구자들의 성적과 거의 일치하였으나 Gm과 Tc는 정등의 성적과 같이 내성을 보였다.

92년도 경기지역 도축장에서 도축한 돼지의 항체가 분포 범위는 20배 이하에서 최고 5,120배 이었으며 그중 시험판 응집법으로 측정한 분포율은 20배 이하가 19%, 640배 이상은 10%로 나타났고, Tetrazolium 환원법으로 측정한 분포율은 20배이하가 16.5%, 640배이상은 16%를 보여 항체가 높을수록 감수성이 향상되었다.

전체적인 항체가 분포는 박등¹⁸⁾이 조사한 항체가 분포와 비교할 때 다소 낮게 나타나 백신접종누락과 비면역자돈의 2차접종 미흡 등으로 보며, 본병에 대한 예방대책 특히 백신접종적기를 택하여 면역을 증강시켜야 할 것으로 생각된다.

위축성 비염이 양돈산업에 있어서 차지하는 비중은 경제성, 사양관리 척도 및 개선의 기준이 될 수 있다는 관점에서 볼때 앞으로 본 질병에 대한 정기적이고 다각적인 조사와 연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다.

결 론

경기지역에서 도축된 돼지에서 위축성 비염 원인 *B. bronchiseptica* 균분리와 약제감수성시험 및 혈청응집항체가 등을 조사한 결과 다음과 같은 성적을 얻었다.

1. 4개 도축장의 도축돈 총 80두중 27두에서 원인균을 분리하여 33.8%의 균분리율을 보였으며, 분리균에 대한 약제감수성시험을 실시한 바 Gentamicin, Cloxacin, Colistin, Neomycin, Kanamycin 등이 감수성을 보였고, Bacitracin, Penicillin, Streptomycin, Chloramphenicol, Tetracycline 등에서 저항성을 나타내었다.

2. 도축돈 200두에 대한 항체가 분포는 시험관응집법으로 측정하였을 때 20배 이하가 38두(19%), 640배 이상의 20두(10%)로 나타났고, Tetrazolium 환원법으로 측정결과 20배이하가 33두(16.5%), 640배 이상이 32두(16%)로 나타났다.

3. 시험관응집법과 Tetrazolium 환원법의 항체가 분포 결과를 LSD로 분석한 결과 두 실험방법간의 차이는 없는 것으로 나타났다.

참고문헌

1. Switzer WP and Farrington DO. 1986. In Disease of swine. Iowa State Univ Press, Ames Iowa, 26th ED. 455-467.
2. Chung UI and Schofield FW. 1959. Occurrence of Atrophic Rhinitis of swine in Korea. J Am Vet Med Assoc. 135:1375-1376.
3. Crass RF and Claflin RM. 1962. *Bordetella bronchiseptica* induced porcine atrophic rhinitis. J Am Vet Med Assoc. 141 : 1467.
4. Ross RF, Duncan JR and Switzer WP. 1963. Turbinete atrophy produced by pure culture of *Bordetella bronchiseptica*. J Am Vet Med Assoc. 58 : 566.
5. Duncan JR, Ross RF, Switzer WP, et al. 1966. Pathology of experimental *Bordetella bronchiseptica* infection in swine : Atrophic rhinitis. Am J Vet Res. 27(45) : 457-466.
6. Shimizu T, Nakagawa M, Shibata S, et al. 1971. Atrophic rhinitis produced colostrum deprived pigs. Cornell Vet. 61 : 696-705.
7. Pedersen KR and Elling F. 1984. Persistant atrophic rhinitis induced by dermonecrotic *Pasteurella multocida*. IPVS Congress. Ghent Belgium, Proc 8th. 159.
8. Rutter JM, Nicola, Rolling J, et al. 1984. The toxigenicity of *Pasteurella multocida* in atrophic rhinitis. Proc IPVS Congress, Ghent. 156.
9. Timoney JF and Gillespie JH, Scott FW, Barlough JE. 1988. Hagan and Bruners, microbiology and infection disease of domestic animals, Cornell University Press, 6th ED. 117-121.
10. Daniel GM, Freese W, Henry S, Stevermer E, Straw B and Switzer WJP. 1986. An up-to-date review of atrophic rhinitis. Vet Med. 81(8) : 735-744.
11. Giles CJ. 1986. Disease of swine. Iowa State University Press, 6th ED. 444-468.
12. 김봉환. 1982. 우리나라의 돼지 질병 발생동향과 대책(상). 대한수의사회지. 18 : 8-20.
13. 김봉환. 1983. 우리나라의 돼지 질병 발생동향과 대책(하). 대한수의사회지. 19 : 17-26.
14. 박정문, 석호봉, 윤용덕 등. 1976. 돼지의 전염성 위축성 비염에 관한 연구 1. 돼지에 대한 *Bordetella bronchiseptica*의 항체, 분리균 및 병변검사. 대한수의사회지. 16 : 230.
15. 이성희, 위성하, 김성충 등. 1979. 돈 전염성 위축성 비염의 발생 역학적 조사와 약제 치료시험. 대한수의사회지. 15 : 323-330.
16. 강병규. 1980. 전염성 위축성 비염으로부터 분리한 *Bordetella bronchiseptica*의 화학요법제에 대한 감수성 시험. 대한수의사회지. 20 :

- 159–165.
17. 장희경. 1988. 영남지방 돼지의 *Bordetella bronchiseptica* 감염상황 및 분리균의 생화학적 특성. *한국가축위생시험연구회지*. 11 : 211–222.
 18. 박진열, 노용기, 강춘원. 1988. 전남지방 도살돈의 전염성 위축성 비염 조사. *한국가축위생시험연구회지*. 11 : 181–189.
 19. 정성진, 이양성, 조광제. 1990. 양돈장 사육돈의 *Bordetella bronchiseptica* 보균실태 및 항체가 수준에 따른 균 분리율 조사. *경상남도가축위생시험소연구보고서*. 33–41.
 20. Cowan ST. 1974. Manual for the Identification of Medical Bacterial. Cambridge University Press, London, 2nd ED. 89–90.
 21. Johnson R and Smeath HA. 1973. Toxonomy of *Bordetella* and related organisms of the Families Achromobacteraceae, Brucellaceae and Neisseriaceae. *Int J Sys Bac*. 23 : 381–404.
 22. Smith IM, Baskerville AJ, Brothwell E, Oliphant J. 1982. Immunogenicity of killed *B. b* vaccine in the mouse. *Res V Sci*. 32 : 248–252.
 23. Williams JE and Whittemore AD. 1973. Applied Microbiology. 26 : 1–3.
 24. Jenkins EM. 1978. An agglutination test for the detection of *Bordetella bronchiseptica* infection in swine of southeastern Alabama. *Am J Vet Res*. 38 : 2071–2074.
 25. Kang BK, Koshimizu K and Ogata M. 1971. Studies on the etiology of Infectious Atrophic Rhinitis of Swine of *B. bronchiseptica* and Turbinate Atrophy. *Jap J Vet Sci*. 33 : 17–23.
 26. Harris DL and Switzer WP. 1969. Nasal and tracheal resistance of swine against reinfection by *Bordetella bronchiseptica*. *Am J Vet Res*. 30 : 1161–1166.
 27. Jenkins EM, Anthony V, Vance RT, Cleveland J and Gbadamosi GS. 1977. Prevalence of *Bordetella bronchiseptica* infection in swine of southeastern Alabama. *Am J Vet Res*. 38 : 2071–2074.
 28. Cameron RDA, Giles CJ and Smith IM. 1980. The prevalence of *Bordetella bronchiseptica* and turbinate(conchal) atrophy in English pig herds in 1978–1979. *Vet Rec*. 107 : 146–149.
 29. Ghoshal NG and Niyo Y, Trenkle AH. 1991. Growth hormone concentrations in plasma of healthy pigs and pigs with atrophic rhinitis. *Am J Vet Res*. 52 : 1684–1687.
 30. Pittman M. 1984. Bergeys manual of systemic bacteriology. Williams and Wilkins London, 8th E. 388–393.
 31. 최인수, 김순재. 1992. *Bordetella bronchiseptica* 백신을 접종한 동물에서의 혈중응집 항체가 측정에 관한 연구. *한국수의공중보건학회지*. 16(3) : 163–168.