韓家衛誌(1991) 第14卷 第2號
Korean J. Vet. Serv.(1991), 14(2) : 121-126

호흡기질병 감염 송아지에서 분리한 *Pasteurella haemolytica*의 생화학적 특성 및 약제 감수성

조광현, 박노찬, 권헌일, 김이준, 박덕상

경북 가축위생시험소

Biochemical Properties and Antimicrobial Drug Susceptibility of *Pasteurella haemolytica* Isolated from Pneumonic Calves

Kwang-Hyŏn Cho, No-Chan Park, Hun-Ill Keun, Lee-Zun Kim, Duk-Sang Park

Kyŏngbuk Veterinary Service Laboratory

Abstract

The present study was conducted to investigate biochemical properties and antimicrobial drug susceptibilities of 36 strains of *Pasteurella haemolytica(P haemolytica)* isolated from pneumonic calves in Kyongbuk province during the period from January 1990 to December 1990.

P haemolytica was isolated from 36 of 111(32.4%) pneumonic calves of 1 to 6 months of age.

The majority of biochemical and cultural properties of *P haemolytica* isolated from calves were identical to those of the reference strains employed.

All isolated were susceptible to baytril, gentamicin, and kanamycin, some of them were resistant to tetracycline, amikacin, streptomycin, and ampicillin.

Key words: *Pasteurella haemolytica*, Biochemical properties, Drug susceptibility, Pneumonic calves

서 론

송아지의 세균성 호흡기 질병은 일반적으로 설사 다음으로 다발하는 질병으로서 다두밀집사육하는 비육장에서 환절기에 발생율 및 폐사율이 가장 높고 빠른 것으로 알려져 있다. 특히 장거리 수송과 집단사육시 환기가 잘 되지 않고 보온이 잘 되지 않으며 축사내 습기가 많아지고 호흡시 배출되는 탄산가스와 분뇨 및 깔짚이 발효되면서 나오는 암모니아 가스 등에 의한 환경스트레스와 영양장해 또는 원발성 vitamin A 부족 및 하리증 등으로 인한 속발성의 vitamin A 결핍 송아지에서 쉽게 발생되는 경향이 있다.[1,2,3,4,5,6]

이러한 송아지의 세균성 호흡기 질병의 대표적인 것이 shipping fever pneumonia(수송열)로서 수송열은 송아지에서 급성경과를 취하며 발열, 쇠약, 콧물을 흘리는 것을 특징으로 이병

율이 약 25%이고 폐사율이 약 20%에 달하는 질병으로 소를 사육하는 양축농가에서는 경제적 손실이 매우 큰 질병중의 하나이다.[2,6,7,8,9]

또한 이 질병발생의 직접적인 원인은 병원미생물이지만 더욱 중요한 것은 병원미생물의 침범을 용이하게 하는 각종 환경적 요인과 신체적 요인 등에 의한 스트레스로서, 송아지가 이러한 스트레스를 받는 동시에 parainfluenza-3(PI-3) virus나 infectious bovine rhinotracheitis (IBR) virus에 감염되고 아울러 Pasteurella haemolytica(P haemolytica), Pasteurella multocida(P multocida), Mycoplasma spp 등이 감염되면 쉽게 shipping fever를 일으키게 된다.[1,2,3,4,7,8,9,10,11]

최근들어 축산농가의 사육규모가 커지고 집약화됨에 따라 호흡기 질병의 문제가 심각히 대두되고 있는 바 반추류의 폐렴과 젖소의 유방염, 양의 septicemia의 중요한 인자로서 송아지의 shipping fever에 필수적으로 관여하는 병원체인 P haemolytica의 감염에 의한 폐렴의 예방치료를 위한 기초자료를 마련할 목적으로 호흡기질병 감염 송아지에서 분리한 P haemolytica에 대한 생화학적 특성과 각종 화학요법제에 대한 감수성을 조사하였다.

재료 및 방법

공시재료

1990년 1월부터 1990년 12월 사이에 경북지방 13개 목장에서 사육되고 있는 1-6월령의 호흡기 질병에 이환된 송아지 108두와 호흡기 질환으로 폐사된 3두를 포함하여 총 111두를 대상으로 하였다.

재료 채취 방법

재료 채취용 면봉(150×0.8mm되는 stainless steel)을 brain heart infusion broth에 충분히 침적시킨 후 고압증기 멸균(121℃, 30분)하여 1주일 이내에 사용하였으며 1-6월령 송아지의 nasal swab는 각 목장에서 공시동물의 비경부를 알코올 솜으로 깨끗이 소독한 후 면봉을 비 갑개부위까지 넣어서 채취하였고 폐사된 송아지에서는 부검하여 폐의 병변부를 잘라 고압멸균된 유리병에 넣었다. 이와 같이 채취한 nasal swab 및 폐 병변은 실험실로 즉시 운반하여 균 분리 배양을 실시하였다.

*P. haemolytica*의 분리 및 동정

tryptose blood agar base(Difco)에 재래종 산양으로 부터 무균적으로 채취한 탈 fibrin 혈액을 7% 혼합한 혈액한천배지를 분리배지로 사용하였으며 37℃에서 18-24시간 배양한 후 집락형태, Gram 및 협막염색성, 균형태를 확인한 후 *P haemolytica*로 추정되는 집락을 분리하여 blood agar plate에 10일 간격으로 계대 냉장보존하였다.

*P haemolytica*를 동정하기 위해 생화학적 성상시험은 용혈성 및 MacConkey agar에서의 발육여부 등을 위시하여 catalase 시험, oxidase 시험, indol산생시험, urease 시험, motility 시험, 당 분해시험 등을 실시하였으며, 모든 시험은 Cowan[12]의 방법과 Wessman과 Hilker[13]의 방법에 따라서 수행하였다.

항균제 감수성 시험

Bryant의 방법에 따라 sensi disk(BBL)를 이용한 디스크 확산법으로 *P haemolytica*에 대한 약제감수성 시험을 실시하였다.

*P haemolytica*를 tryptose broth(Difco)에 접종하고 37℃에 2-8시간 증균시킨 후 표준탁도액(99.5㎖의 0.36M H_2SO_4에 0.5㎖의 0.04M $BaCl_2$를 혼합하여 screw cap tube에 밀봉한 것)의 농도와 일치시킨 것을 blood agar plate에 접종균액으로 사용하였다.

공시한 항균제는 amikacin(Ak), ampicillin (Am), baytril(Bt), cephalotin(Cf), chloramphenicol(Cp), gentamicin(Gm), Kanamycin(Km), streptomycin(Sm), tetracycline (Tc) 등 9종으로 이에 대한 감수성을 조사하였다.

결 과

*P haemolytica*의 감염상황을 알아보기 위해 경

북지방의 13개 농장에서 호흡기 질환으로 감염된 1-6월령의 송아지 108두의 nasal swab 및 호흡기 질환으로 폐사된 3두의 폐로 부터 분리된 *P haemolytica*의 성적은 표 1에 있는 바와 같다.

1-6월령 송아지의 nasal swab에서 *P haemolytica*의 분리율은 표 1에 나타나 있는 바와 같이 108두중 33두에서 분리되어 개체별 감염율은 30.6%이었으며 목장별 감염율은 13개 농장 중 11개 농장에서 분리되어 84.6%이었다. 한편 호흡기 질환으로 폐사된 3두의 폐에서는 *P haemolytica*가 모두 분리되었으며 특징적인 임상소견으로는 심한 기침과 비루, 고열, 호흡곤란 등이 관찰되었다.

공시한 36주의 *P haemolytica*에 대한 생화학적 성상은 표 2에 나타난 바와 같이 모두 균주가 MacConkey agar에서 성장하였으며 blood agar에서 용혈성을 나타내었고 catalase 시험과

Table 1. The isolation frequency of *Pasteurella haemolotica* from nasal swabs of 1-6 months old calves

Farms	No of nasal swabs	No of *P haemolytica* isolated(%)
A	8	3(37.5)
B	10	5(50.0)
C	5	2(40.0)
D	6	2(33.3)
E	6	0(0)
F	7	0(0)
G	4	1(25.0)
H	13	5(38.4)
I	7	2(28.6)
J	7	1(14.3)
K	16	6(37.5)
L	8	3(37.5)
M	11	3(27.3)
Total	108	33(30.6)

Table 2. Biochemical and cultural properties of 36 cultures of *Pasteurella haemolotica* isolated from calves

Characters	No of postive culture	% of postive culture
Growth on MacConkey agar	36	100
Hemolysis	36	100
Indol production	0	0
Catalase	36	100
Oxidase	36	100
Motility	0	0
Urease production	0	0
Hydrogen Sulfide production	0	0

oxidase 시험에서는 양성반응을 보였으며 motility 시험, urease 시험, hydrogen sulfide산생 시험에는 음성반응을 나타내었다.

당 분해시험(표 3)에서는 분리균 모두 maltose, mannitol, sorbitol, sucrose 등에 양성반응을 보였으며 trehalose, mannose, salicin, cellobiose에서는 모든 균주가 음성을 나타내었다.

이들 분리균의 각종 항균제에 대한 약제별 내성균의 출현빈도를 알아보고자 9종에 대한 감수성 시험을 수행하여 얻은 성적은 표 4에 있는 바와 같다. 공시한 36주의 *P haemolytica*중 Tc에 내성균이 25.0%로 가장 많았으며 Ak 16.6%, Sm 11.1%, Am 8.3%, Cf, Cp가 2.7% 순으로 내성을 나타내었다.

Table 3. Fermuntotive properties of 36 cultures of *Pasteurella haemolotica* from calves

Fermentable substractes	No of positive cultures	% of positive cultures
Arabinose	23	63.9
Trehalose	0	0
Maltose	36	100
Sorbitol	36	100
Sucrose	36	100
Mannose	0	100
Salicin	0	0
Cellobiose	0	0

Table 4. Drug resistance of 36 *Pasteurella haemolotica* isolated from calves

Drugs	No of resistant strains	% of resistant strains
Amikacin(Ak)	6	16.6
Ampicillin(Am)	3	8.3
Baytril(Bt)	0	0
Cephalotin(Cf)	1	2.7
Chloramphenicol(Cp)	1	2.7
Gentamicin(Gm)	0	0
Kanamycin(Km)	0	0
Streptomycin(Sm)	4	11.1
Tetracyclin(Tc)	9	25.0

고 찰

송아지의 shipping fever pneumonia를 일으키는 중요한 인자인 *P haemolytica*는 각종 스트레스를 받고 있는 송아지에 PI-3 virus나 IBR virus가 침범한 후 2차적으로 *P haemolytica*, Mycoplasma bovis, M borirhinis 등과 복합 감

염되어 호흡기 질병의 증세를 더욱 악화시키고 폐사되는 등 경제적 피해를 가중시킨다.[2,3,7,8,10,15]

송아지의 폐렴에서 병원체인 *P haemolytica*의 감염에 관한 발생 경위에 대한 보고서를 보면 1987년 Frank등[10]은 실험적으로 스트레스를 주지 않고 초유를 먹인 건강한 송아지에 *P haemolytica*를 장기간 상부기도에 정착시켜 폐렴을 유발시키기 위하여 비강내로 *P haemolytica*를 접종한 다음 PI-3 virus를 감염시키면 폐렴이 발생되지 않지만, 반대로 PI-3 virus를 감염시킨 다음 *P haemolytica*를 접종하면 쉽게 발생되고 *P haemolytica*가 기도내에 colonization됨을 증명하였다.

또한 PI-3 virus와 IBR virus를 접종한 다음 *P haemolytica*를 접종하였을 때도 쉽게 폐렴이 발병됨을 보고하였다. 특히 IBR virus(10^6 $TCID_{50}$/㎖)를 송아지 비강내로 2㎖을 접종한 다음 5-7일 후에 *P haemolytica*에 노출시키면 100% *P haemolytica*가 기관내에 정착되어 질병이 유발됨을 밝혔다.

1987년 Chang등[15]은 *P haemolytica*에 의해서 폐렴을 일으키는 중요한 병원성 인자는 이들 세균이 발육 증식하면서 생산하는 leukotoxin (cytotoxin)이며 이들 leukotoxin은 체내에 있는 leukocyte를 죽이는 역할을 하기 때문에 본 균에 감염된 소는 면역기능이 약화되므로 질병을 방어할 수 있는 기능이 약하게 되어 폐렴이 점점 악화되어 폐사하게 된다고 하였다.

이러한 *P haemolytica*에 의한 호흡기 질병은 일반적으로 송아지에서 많이 발생되는데 계절적으로는 가을철과 겨울철이 봄과 여름철보다 발생율이 월등히 높고 밤과 낮의 기온차가 심한 환절기에 발생율이 높다.

국가별 송아지 호흡기 질병 발생 상황을 보면 미국의 경우 독우에서 낮게는 7%부터 67%까지 조사자와 조사대상 송아지의 조건에 따라 발생율이 다양하였으며 카나다에서도 16%에서 96%까지 다양하였다.[2,8,9,16,17,18]

우리나라의 경우는 가축위생연구소에서 *Mycoplasma* spp 와 *Pasteurella* spp 에 의한 폐렴이 20.4%와 26.9%임을 보고하였으며[19], 특히 폐렴 독우의 경우 *P haemolytica*에 의한 폐렴을 미국에서 Collier등[20], Jensen등[18]이 67%, 42%로 보고하였고, 카나다의 경우는 Carter[16]와 Carter & Mcsherry[17]가 보고한 96%, 82%의 발생율과 본 실험 성적 30.8%와 비교할때 상당한 차이가 인정되었다.

공시된 분리균의 생화학적 성상을 비교 검토한 결과 모든 균주가 MacConkey agar에서 성장하였으며 blood agar에서 용혈성을 나타내었고, catalase, oxidase에서는 양성을 나타낸 반면, indole 산생시험, motility 시험, urease 산생시험, hydrogen sulfide 산생시험에는 공시 균주 전체가 음성반응을 보였으며, 당 분해시험에서는 maltose, mannitol, sorbitol, sucrose 등에 양성반응을 보였으며 trehalose, mannose, salicin, cellobiose에는 음성반응을 나타내었는데 이들은 Cowan[12]의 분류기준과 거의 일치하는 성적이었다.

*P haemolytica*에 의한 폐렴의 예방과 치료를 위하여 약제내성을 조사한 결과 9종의 약제중 Tc, Ak, Sm, Am에는 몇몇 균주가 내성을 나타내었으며 Bt, Gm, Km 등에는 감수성이 있는 것으로 나타났다.

Chang & Carter[21]는 송아지에서 분리한 *P haemolytica*의 항균제 내성검사에서 Sm, Tm, Penicillin 등에는 내성을 가지며 Cp에는 감수성이 있는 것으로 보고하였는데 본 실험에서의 결과와 거의 유사하였다.

결 론

1990년 1월부터 1990년 12월 사이에 경북도내 13개 목장에서 사육되고 있는 1-6월령의 송아지 108두에서 채취한 nasal swab specimen과 호흡기 질병으로 폐사된 3두의 폐에서 *Pasteurella haemolytica*(*P haemolytica*)의 분리를 시도하고 분리균의 생화학적 특성을 조사한 바

1-6월령 송아지의 *nasal swab* 108예중 33예(30.8%)에서 *P haemolytica*가 분리되었으며 농장별 감염율은 13개 농장중 11개 농장(84.6%)에 *P haemolytica*가 감염되어 있었다.

모든 공시균은 산양 혈액한천배지상에서 용혈

을 일으켰으며 MacConkey agar에서 성장하였다.

분리한 *P haemolytica*는 tetracycline, amikacin, streptomycin, ampicillin에서는 몇몇 균주가 내성을 나타내었으며, baytril, gentamicin, kanamycin 등에는 감수성이 인정되었다.

참 고 문 헌

1. Biberstein EL, Thompson DA. 1966. Epidemiological studies on *Pasteurella haemolytica* in sheep. *J Comp Path.* 76: 83－94.
2. Collier JR, Brown WW, Chow TL. 1962. Microbiologic investigations of natural epizootics of shipping fever of cattle. *J Am Vet Med Assoc.* 140: 807－810.
3. Frank GH. 1986. The role of *Pasteurella haemolytica* in the bovine respiratory disease complex. *Vet Med.* Sep: 839－846.
4. Wilkie BN, Shewen P. 1988. Defining the role that *Pasteurella haemolytica* plays in shipping fever. *Vet Med.* Oct: 1053－1058.
5. 김종염, 조성근, 박정문. 1989. 소 Mycoplasma 폐렴에 관한 연구. 농시 논문집. 41(1): 30－35.
6. 윤용덕. 1990. 송아지의 세균성 호흡기 질병. 대한 수의학회지. 26: 469－476.
7. Frank GH, Smith PC. 1983. Prevalence of *Pasteurella haemolytica* in transported calves. *Am J Vet Res.* 44: 981－985.
8. Hamdy AH, Trapp AL. 1967. Nasal microflora of feedlot calves before and after weaning. *Am J Vet Res.* 28: 1019－1025.
9. Hoerlein AB, Saxena SP, Moursfieed MF. 1961. Prevalence of *Pasteurella* species in noses of normal and shipping fever cattle. *Am J Vet Res.* 122: 470－472.
10. Frank GH, Briggs RE, Gillette KG. 1987. *Pasteurella haemolytica* serotype 1 colonization of the nasal passages of virus-infected calves. *Am J Vet Res.* 48(12): 1674－1677.
11. John FT, James HG, Predric WS, et al. 1988. *Hagan and Bruner's Microbiology and infectious demestic animals.* 8th ed. Cornell University Press: 110－114.
12. Cowan ST. 1974. *Manual for the identification of medical bacteria.* 2nd ed. Cambridge University Press. London: 93－95.
13. Wessman GE, Hilker G. 1968. Characterization of *Pasteurella haemolytica* isolated from the respiratory tract of cattle. *Can J Comp Med.* 32: 498－504.
14. Bryant MC. 1972. *Antibiotics and their laboratory control.* 2nd ed. Butterworth. London: 34－65.
15. Chang YF, Young R, Post D, et al. 1987. Identification and characterization of the *Pasteurella haemolytica* leukotoxin. *Infect Immun.* 55(10): 2348－2354.
16. Carter GR. 1954. Pathology and bacteriology of shipping fever in Canada. *Can J Comp Med.* 18: 359－363.
17. Carter GR, Mcsherry BJ. 1955. Shipping fever in Canada. *Can J Comp Med.* 19: 177－181.
18. Jensen R, Pierson RE, Brady PM, et al. 1976. Shipping fever pneumonia in yearling feedlot cattle. *J Am Vet Med Assoc.* 169: 500－506.
19. 권영방, 1990. 동절기 젖소의 호흡기 질병 예방 대책. 월간 서울우유. 22(1): 30－37.
20. Magwood SE, Barnum DA, Thowson RG. 1969. Nasal bacteria of calves in healthy and pneumonia-prone herds. *Can J Comp Med.* 40: 385－391.
21. Chang WH, Carter GR. 1976. Multiple drug resistance in *Pasteurella multocida* and *Pasteurella haemalytica* from cattle and swine. *J Am Vet Med Assoc.* 169(7): 710－712.