

중국산 수입말에서 분리된 *Taylorella equigenitalis* 의 특성

조현호 · 배찬의 · 남향미 · 송시욱 · 조남인 · 강두황 · 이기욱 · 김옥경 · 김용환 *

국립동물검역소 / 경상대학교 수의과 대학 *

Characteristics of the *Taylorella equigenitalis* isolated from the imported Chinese horse

Hyun-ho Cho, Chan-eui Bae, Hyang-mi Nam, Si-wook Song, Nam-in Jo, Du-hwang Kang,
Gee-ock Lee, Ok-kyeong Kim, Yong-hwan Kim*.

National Animal Quarantine Service
College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University*

Abstract

Investigation of contagious equine metritis (CEM) in 497 imported horses from several countries during 1997 was performed, and one strain of *Taylorella equigenitalis* was isolated from a Chinese horse.

To identify, we studied on the biochemical properties and antimicrobial susceptibility of the isolated strain.

The isolate was positive reaction to catalase, oxidase, alkaline phosphatase, CO₂ enhances growth, negative reaction to hemolysis, urease, indole, CAMP test.

The isolate was highly susceptible to ampicillin, erythromycin, streptomycin, penicillin, and tetracycline etc.

Key words : *Taylorella equigenitalis*, Biochemical properties, Antimicrobial susceptibility

서 론

말전염성 자궁염(Contagious equine metritis)은 *Taylorella(T.) equigenitalis* 균에 의해 발생하는 전염력이 높은 말의 중요한 생식기 질병이다¹⁻¹⁰.

T. equigenitalis 균에 의해 발생하는 말전염성 자궁염은 주로 교미, 생식기의 검사, 치료, 교미 작업 등에 종사하는 사람들의 부적절한 위생처리에 의하여 전파되며, 감염시의 주요증상은 교미 후 7일 이내에 자궁경관염, 질염, 자궁내막염에 의해 다량의 삼출물이 음분 부위에서 유출되며, 이러한 개체는 보통 불임 및 보균동물이 된다^{1,3,4,11,14}.

T. equigenitalis 균은 1978년 Taylor 등¹⁷이 말전염성 자궁염의 원인체가 *Haemophilus equigenitalis*라고 하였으나, 1983년 Sugimoto 등¹⁵에 의하여 *Haemophilus*속균과는 다른 *Taylorella equigenitalis*로 명명되었다.

본 균은 그람음성, 비항산성의 운동성이 없는 직경 0.8 μ m, 길이 5~6 μ m의 단간균이며, 호기성 조건에서는 발육되지 않고, 반드시 5~10% CO₂가 공급되는 37 $^{\circ}$ C 조건하의 펌톤이 첨가된 초콜렛 한

천배지에서 2~5일만에 잘 자라며, 발육시에는 *Haemophilus* 속균이 필요로하는 X 및 Vfactor를 필요로 하지 않는 세균으로서, DNA G+C함량이 36.5 mol%이다^{4,7,9,11,13,16,18}.

T. equigenitalis 에 의해 유발되는 말전염성 자궁염은 Crowhurst 등⁵이 1977년 초봄 영국의 종마장에서 처음으로 이 질병의 발생을 보고한 이후 호주, 독일, 미국, 영국, 프랑스, 체코, 일본, 덴마크, 네덜란드, 노르웨이 등에서 전세계적으로 발생되고 있으며^{3,4,7,8,9}, 우리나라에서는 지금까지 *T. equigenitalis* 균에 의한 말전염성 자궁염의 감염증에 대한 조사 및 보고가 없으나, 제2종 가축전염병으로 관리하는 말의 중요한 생식기 질병이다.

본 실험에서는 1997년 중국등의 여러나라에서 수입된 말을 대상으로 말전염성 자궁염의 원인체인 *T. equigenitalis* 를 분리하여, 이에대한 생화학적 성상 및 약제감수성 시험을 실시하여

T. equigenitalis 의 특성에 대한 기초자료를 제시하고자 한다.

재료 및 방법

공시재료 1997년 1월부터 12월 사이에 미국, 중국 등에서 수입된 말(거세한 숫말 제외) 497두를 대상으로 하였으며, 시료의 채취부위는 암말에서는 질점액, 음핵동, 음핵와, 거세안된 숫말에서는 음경포피 점액, 요도, 요도와 부위를 swabbing하여 채취된 시료를 수송배지에 넣어 36시간 이내에 실험실로 운반하여 균 분리용 재료로 사용하였다^{4,10}.

표준균주 네덜란드로부터 구입한 *T. equigenitalis* 표준균주(NCTC 11226)를 시험에 공시하였다.

***T. equigenitalis* 균의 분리** Eugon agar base(Difco)에 면양혈액을 5% 첨가 및 amphotericin B, clindamycin의 최종농도가 5 μ g/ml, trimethoprim의 최종농도가 1 μ g/ml이 첨가된 초콜렛배지(Timoney's medium)를 균 분리용 선택배지로 사용하였다. 말의 질점액, 음핵동, 음핵와 또는 음경포피 점액, 요도, 요도와 부위를 swabbing하여 수송배지에 보존하여 운반된 시료를 Timoney's 선택배지에 도말한 다음 5~10% CO₂가 공급되는 37 $^{\circ}$ C 배양기에서 배양 2, 4, 6일째에 의심되는 집락을 취하여 그람염색성, catalase시험, oxidase시험 등을 거쳐서 *T. equigenitalis*로 추정되는 균을 분리하였다^{3,4,7,11}.

생화학적 성상시험 *T. equigenitalis* 동정을 위한 생화학적 성상시험은 국제수역사무국에서 발간된 질병 진단방법 및 예방약지침(OIE manual, 1996 ; manual of standards for diagnostic tests and vaccines) 등의 방법에 따라 실시하였다^{4,7,11}.

약제 감수성시험 gentamycin 등 12종의 약제가 일정 농도로 함유된 디스크(Difco)를 이용하여 감수성 정도를 측정하였다^{12,16}. 항생제가 첨가되지 않은 초콜렛 한천배지에 균을 도말하여 5~10% CO₂가 공급되는 37℃ 배양기에서 48시간 배양한 다음 멸균 생리식염수에 균수를 약 10⁸CFU/ml로 조정하여 초콜렛 한천배지에 도포한 후 약제 디스크를 접종하여 37℃ 5~10%가 공급되는 CO₂ 배양기에서 48시간 배양 후 감수성 정도를 측정하였다.

분리균의 동정 분리균의 최종적인 동정은 시판중인 급속응집반응용 항혈청 키트(Bionor monotayl kit, 노르웨이)를 사용하여 다음과 같이 실시하였다⁴.

분리된 *T. equigenitalis* 균주를 항생제가 첨가되지 않은 초콜렛 한천배지에서 순수배양(37℃ 배양기, 5-10% CO₂)한 다음 평판카드에 검사용 시약을 한방울 적하하여 응집유무를 확인하였다. 응집이 일어난 균주는 반드시 대조시약을 사용하여 비교한 후 최종적으로 *T. equigenitalis*로 동정하였다.

결 과

Table 1. Isolation of *T. equigenitalis* from imported horses in 1997

Country of imported	No. of Samples	No. of isolate
China	91	1
U.S.A.	277	0
Australia	115	0
Germany	3	0
Belgium	2	0
France	9	0
Total	497	1

1997년 1월부터 12월 사이에 미국 등으로부터 수입된 말 497두의 시료에서 *T. equigenitalis*의 분리한 결과 Table 1에서와 같이 중국으로부터 수입된 말 91두 중 1두에서 *T. equigenitalis* 1주가 분리되었다.

분리균은 Eugon based 초콜렛 평판배지(Timoney's medium)를 사용하여 37℃, 5~10% CO₂ 배양기에서 48시간 배양시의 성상은 집락크기가 작고 평활한 회색 또는 베이지색이며, 그람염색에서는 직경 0.8μm, 길이가 5~6μm 정도인 매우 작은 그람음성 간균 또는 구간균으로 나타났다.

Table 2. Biochemical characteristics of reference and isolated strain of *T. equigenitalis*

Properties	reference strain	isolated strain
Catalase	+	+
Oxidase	+	+
CO ₂ enhances growth	+	+
Aerobic growth(Blood agar)	-	-
Hemolysis(Sheep blood)	-	-
Urease	-	-
Motility	-	-
Indole	-	-
CAMP reaction	-	-
V, X-factor requirement	-	-
Alkaline phosphatase	+	+
Acid production from		
Sucrose	-	-
Lactose	-	-
Glucose	-	-
Raffinose	-	-
Dulcitol	-	-
Inositol	-	-

분리주 및 표준균주는 Table 2에서와 같이 catalase, oxidase, phosphatase 시험은 양성반응, urease, indole, CAMP 시험은 음성반응, 당분해시험에서는 sucrose 등 6개 당을 분해하지 못하였으며, 항혈청 급속응집반응은 양성반응을 나타내었다.

한편 분리주 및 표준균주에 대하여 ampicillin 등 13종의 약제 감수성 정도를 시험한 결과, Table 3에서와 같이 본 시험에 공시한 13종의 모든 약제에 100%의 감수성을 나타내었다.

Table 3. Susceptibility of *T. equigenitalis* reference and isolated strain from horse to antimicrobial agents

Antimicrobial agents	Concentration of disk	Susceptibility	
		reference strain	isolated strain
Ampicillin (Am)	10 mcg	S(17)	S(17)
Carbencillin (Cb)	100 mcg	S(28)	S(28)
Cephalothin (Cf)	10 mcg	S(20)	S(20)
Chloramphenicol(C)	30 mcg	S(20)	S(20)
Erythromycin (E)	15 mcg	S(25)	S(25)
Gentamycin (Gm)	10 mcg	S(21)	S(25)
Kanamycin (K)	30 mcg	S(21)	S(21)
Nalidixic acid(NA)	30 mcg	S(25)	S(25)
Neomycin (N)	30 mcg	S(20)	S(25)
Penicillin (P)	10 unit	S(30)	S(30)
Polymyxin B (PB)	300 unit	S(25)	S(25)
Streptomycin (S)	10 mcg	S(20)	S(20)
Tetracycline (Te)	30 mcg	S(25)	S(25)

고찰

T. equigenitalis 는 말에서 교미 또는 생식기의 검사, 치료, 교미작업 등에 종사하는 사람등의 비위생적인 처치에 의하여 발생하는 자궁경관염, 질염, 자궁내막염의 증상을 나타내는 암말의 주요한 생식기 질병으로 알려져 있으며, 본균에 의하여 일어나는 질병은 말전염성 자궁염으로 보고되어 있다¹⁻¹¹.

본 균은 그람음성, 비항산성의 운동성이 없는 직경 0.8 μ m, 길이는 5~6 μ m의 단간균이며, 호기성 조건에서는 발육되지 않고, 5~10% CO₂가 공급되는 37 $^{\circ}$ C조건하의 펩톤이 첨가된 초콜렛 한천배지에서 2~5일만에 잘 자라며, 발육시에는 *Haemophilus* 속균이 필요로하는 X 및 Vfactor를 필요로 하지 않는 세균으로서 DNA G+C함량이

36.5mol%이다^{4,7,9,11,13,16,18}.

말전염성 자궁염의 진단방법은 주로 혈청학적 검사, 균 분리 및 동정법이 사용되고 있다. 혈청학적인 검사 방법으로는 혈청응집반응검사 (serum agglutination test), 보체결합반응검사 (complement fixation test), 효소면역법 (enzyme linked immunoassay test), 면역확산법 (agar gel immunodiffusion test) 등이 있으며, 이와 같은 검사방법은 급성 감염상태의 암말에서는 진단적인 가치가 있으나, 만성적인 감염 또는 보균상태의 말을 진단시에는 효용가치가 없는 검사 방법으로 알려져 있다. 따라서 본 원인에 의하여 발생하는 말전염성 자궁염을 진단 및 박멸하기 위해서는 종마 또는 번식용 암말에 대하여 규칙적이

고 주기적인 균분리 및 동정을 실시하여 보균말을 도태시키는 것이 가장 좋은 박멸대책으로 알려져 있다^{4,7,11}. *T. equigenitalis*에 의한 말전염성 자궁염은 Crowhurst⁵이 1977년 영국의 종마장에서 처음으로 이 질병의 발생을 보고한 이후 호주, 독일, 미국, 영국, 프랑스, 체코, 일본, 덴마크, 네덜란드, 노르웨이 등에서 전세계적으로 발생되고 있다^{3,4,7,8,9}.

저자들은 1997년 1월~12월까지 수입된 말 497두를 대상으로 시료를 채취하여 *T. equigenitalis*를 분리한 결과 중국산 말 91두중 한 마리에서 *T. equigenitalis* 1균주를 분리하였는데, 이것은 여러나라에서 보고된 본 균의 분리 성적과 비슷하였다^{3,4,7,8,9,11}. 그러나 우리나라에서는 지금까지 *T. equigenitalis* 균에 의한 말전염성 자궁염의 감염증에 대한 조사 및 보고가 없으므로, 앞으로 본 균에 의해 발생하는 말의 생식기 질병에 대한 많은 연구가 지속적으로 실시되어야 할 것이다.

본 실험에서 분리된 *T. equigenitalis*는 catalase, oxidase, CO₂ enhance growth, alkaline phosphatase 시험에는 양성반응, indole, CAMP시험, urease, sucrose, lactose, glucose 등의 시험에서 음성반응을 보인 것은 국제수역사무국에서 발간된 질병 진단방법 및 예방약지침서의 말전염성 자궁염의 원인체 동정법(OIE manual, 1996) 및 여러 연구자들의

성적과 일치하였다^{4,7,11,13}.

*T. equigenitalis*는 스트렙토마이신 감수성 및 내성균주가 보고되어 있는데, 내성균주는 256-512µg/ml농도에서 발육되나, 감수성 균주는 1µg/ml농도에서도 발육할 수 없는 2가지의 균주가 알려져 있다.

따라서 가검시료에서 *T. equigenitalis*를 분리하고자 할때에는 스트렙토마이신 첨가 및 비첨가 선택배지를 사용하는 것이 좋다^{4,7,11}. 하지만 배지제조시의 시간과 경비절약을 위하여 스트렙토마이신 대신 다른 종류의 항생제가 첨가된 Timoney's 배지¹⁸를 사용한, 균 분리시에도 동등 이상의 결과를 얻을 수 있다. *T. equigenitalis* 감염증에 대한 효력있는 백신은 현재까지 상용화되어있지 않으며, 따라서 *T. equigenitalis* 균 감염시에는 약제를 이용한 질병의 통제가 필요하리라 사료된다.

T. equigenitalis 감염시에는 chloramphenicol, ampicillin, nitrofurazone 등의 약제를 사용하여 치료를 실시하는 방법이 권장되고 있다^{8,11,12}.

분리주의 약제에 대한 감수성 검사 결과 ampicillin, erythromycin, penicillin, tetracycline등 시험에 사용한 13종의 모든 약제에서 감수성을 나타내어 여러 연구자들의 보고와 일치하는 결과를 나타내었다^{4,6,7,11,12}.

결 론

1997년 1월~12월에 중국, 미국 등으로부터 수입된 말 497두의 가검시료에서 말전염성 자궁염의 원인체인 *T. equigenitalis* 1균주를 분리하여 분리균의 생화학적 성상 및 약제감수성 등을 조사하였다.

- ① 중국산 수입말 91두의 가검시료중 1두에서 *T. equigenitalis*가 분리되었으나, 미국, 호주, 독일, 벨지움, 프랑스산 수입말 406두의 가검시료에서는 본 균이 분리되지 않았다.
- ② 분리균주는 catalase, oxidase, alkaline phosphatase, CO₂ enhances growth에서는 양성반응을, 호기성 배양, urease, indole, CAMP시험, sucrose, lactose, glucose, raffinose, inositol 분해능 등의 검사에서는 음성반응, 항혈청 응집반응 검사 결과 양성반응을 나타내어 최종적으로 *T. equigenitalis*로 동정되었다.
- ③ 약제에 대한 감수성 검사 결과 ampicillin, erythromycin, penicillin, tetracycline등 공시된 13종의 모든 약제에서 감수성을 나타내었다.

참고 문헌

- ① Anon. Contagious equine metritis. Bull. off. int. epizoot, 94:12-13, 1982a.
- ② Atherton, J.C. Isolation of CEM organism. Vet. Rec. 102:67, 1987b.
- ③ Brewer R.A. Contagious equine metritis : A review/summary. Veterinary bulletin, 53:881-889, 1983.
- ④ Chanter, N. Contagious equine metritis. Manual of standards for diagnostic tests and vaccines(OIE manual), 1996.
- ⑤ Crowhurst, R.C., Simpson, D.J., Greenwood, R.E.S., et al. Contagious equine metritis. Vet. rec. 104:465, 1977.
- ⑥ Dabernat, H.J., Delams, C.F., Tainturier, D.J., et al. In vitro susceptibility of *Haemophilus equigenitalis*, the causative organism of contagious equine metritis 1977 to antimicrobial agents. Antimicrob. agents chemother, 18:841-843, 1980b.
- ⑦ Garcia, M.M., Eaglesome, M.D., Stewart B. Standard procedure for the isolation and identification of *Taylorella equigenitalis*, ADRI, Nepean, Ontario, Canada.
- ⑧ Hughes, K.L., Bryden, J.D., Macdonald, F., Equine Contagious metritis. Aust. Vet. J, 54:101, 1978.
- ⑨ Kamada, M., Akiyama, Y., Oda, J, et al. Contagious equine metritis : isolation of Jap. J. Vet. Sci, 43:565-568, 1981.
- ⑩ Ricketts S.W. Bacteriological examination of the mare's cervix : techniques and interpretation of Result. Vet. rec, 108:46-51, 1981.
- ⑪ Rogerson B. Contagious equine metritis. Australian Standard diagnostic techniques for animal disease. 1980.
- ⑫ Rommel, F., Dardirt, A.H., Sahu, S.P. Sensitivity of Contagious equine metritis bacteria to antibiotics : evaluation by in vitro disk method. proc. 82nd ann. meet. US anim. hlth Ass. pp. 237-247, 1978a.
- ⑬ Sahu, S.P., Dadiri, A.H. Contagious equine metritis : Isolation and Characterization of the etiologic agent. Am.J.Vet. res. 42:45-48, 1980.
- ⑭ Stuart R.D. Transport medium for specimens in public health bacteriology. public health report(washington), 74:341-344, 1959.
- ⑮ Sugimoto, C., Isyama, Y. Sakazaki, R. et al. Transfer of *Haemophilus equigenitalis*, Taylor et al. 1978 to the genus *Taylorella* gen. nov. as *Taylorella equigenitalis* Comb.nov. Current Microbial 9:155-162, 1983.
- ⑯ Sugimoto, C., Miyagama, E., Mitani, K., et al. Cellular fatty acid composition of *Haemophilus equigenitalis*. J. Clin. microbiol. 15:791-794, 1982.
- ⑰ Taylor, C.E.D., Rosenthal, R.O., Brown, D.F.J., et al. The causative organism of contagious equine metritis 1977 : proposal for a new species to be known as *Haemophilus equigenitalis*. Equine vet. 10:136-144, 1978.
- ⑱ Timoney, P.J., Shin. S.J., Jacobson, R.H. Improved selective medium for isolation of the contagious equine metritis organism. Vet. rec. 111:107-108, 1982.