

사향쥐에서 *Pasteurella multocida* 및 *Bordetella bronchiseptica*에 의한 bronchopneumonia와 Klebsiellosis의 동시감염 증례

박미영* · 전오숙 · 조윤경 · 최경묵 · 우종태

경기도축산위생연구소 남부지소

(접수 2009. 3. 20, 게재승인 2009. 6. 23)

Coincident finding of bronchopneumonia by *Pasteurella multocida*, *Bordetella bronchiseptica* and Klebsiellosis in muskrat

Mi-Young Park*, Oh-Sook Jeon, Yun-Kyoung Cho, Kyung-Mook Choi, Jong-Tae Woo

Southern Branch of Gyeongido Veterinary Service, An-sung 456-823, Korea

(Received 20 March 2009, accepted in revised from 23 June 2009)

Abstract

Suppuratives bronchopneumonia was found in a 3-month old domestic muskrat (*Ondatra zibethicus*). Dead muskrat showed hemorrhagic nasal discharge, severe hemorrhage and consolidation were observed in the lungs in necropsy. Histologically, severe polymorphic neutrophils and alveolar macrophages were infiltrated in the bronchus, bronchioles, alveoli. *P. multocida* and *B. bronchiseptica* were identified from the lungs, Klebsiella was isolated from the cecum. We demonstrated those organisms by biochemical test and confirmed *P. multocida* capsular type A by means of polymerase chain reaction (PCR).

Key words : Muskrat, Pneumonia, *Pasteurella multocida*

서 론

최근 사향쥐 사육이 고부가가치 창출사업으로 인식되어 늘어나고 있는 추세이다. 사향쥐 학명은 *Ondatra zibethicus*로 쥐목 비단털쥐과이다. 야생 사향쥐는 북미, 유럽, 중국 등의 강, 호수, 연못에서 서식하며 몸길이는 40~60cm, 꼬리가 25cm를 차지하며 체중은 0.8~2kg 정도이다. 번식은 1년에 2~3회 정도 가능하며 임신기간은 20~26일로 비교적 짧다. 사향쥐의 사육은 노지에서도 가능하지만 짚장기, 새끼 기르기 등 물이

꼭 필요하다. 사향은 2년차 봄부터 수컷에서만 채취가 가능하다. 보통 1마리가 한번에 0.5g 정도, 일 년에 3~5g이 채취 가능하다. 사향은 한약재, 화장품 등의 원료로 쓰이며 국제적 수요량이 많아 고가에 매매되는 실정이다. 그 외 털이나 꼬리, 고기도 여러 가지 제품으로 상품화할 연구가 이루어지고 있어 앞으로도 사향쥐의 사육은 더욱 증가할 것으로 생각된다. 사향쥐의 질병은 *Clostridium piliforme* (과거 *Bacillus piliformis*)에 의한 Tyzzer's disease와 *Francisella tularensis*에 의한 Tularemia가 알려져 있으며(Wobeser 등, 1979; Karstad 등, 1971; Williams와 Barker, 2001), Adenovirus감염의 현미경적 증거(Web과 Woods, 2001) 등이 있으나 그

* Corresponding author: Mi-young Park, Tel. +82-31-651-2037, Fax. +82-31-651-1614, E-mail. pmy4709@gg.go.kr

외에는 잘 알려지지 않은 상태이고 이 또한 외국 야생 사향쥐에 대한 것이며, 국내에서 사육되고 있는 사향쥐에 대한 질병 발생보고는 거의 없는 실정이다. 국내 사향사육농가가 증가함에 따라 질병의뢰도 증가하고 있는 상태이다.

본 증례에서는 병성감정 의뢰된 사향쥐에서 토끼의 snuffles (Pasteurellosis)에서처럼 *Pasteurella multocida*와 *Bordetella bronchiseptica*에 의한 기관지폐렴과 장내세균인 *Klebsiella* spp. 감염증례가 관찰되었기에 보고하고자 한다. *P. multocida*는 그람음성 단간균으로 주로 흉막염을 동반하는 폐렴을 일으키며 가금류에서는 가금콜레라를 유발하는 세균으로 다양한 축종을 속주로 전 세계에 널리 분포하고 있다(Quinn 등, 1994). *B. bronchiseptica*도 그람음성 단간균으로 건강한 동물의 상부호흡기에도 존재하며 돼지의 위축성비염, 개의 Kennel cough, 토끼 등 설치류의 기관지 폐렴 및 패혈증을 유발한다(Quinn 등, 1994).

증 례

2008년 8월 28일, 9월 1일 경기도 안성시 H씨 농장에서 3개월령 사향쥐 2마리가 본 연구소로 병성감정 의뢰되었다. 사육규모는 20두로 기침 등 약간의 호흡

기 증상을 보이다가 폐사가 일어나 의뢰되었다. 가검물의 부검은 일반적인 부검술식에 준하여 실시하였으며 부검소견은 2두 모두 폐에서 두드러졌는데 폐의 50%이상(특히, 배측엽)에서 출혈 및 경화소가 존재하였고 특히, 2차 의뢰된 사향쥐에서는 혈액성 콧물이 발견되었다(Fig. 1, 2). 미생물 검사를 위하여 기도분비물, 폐, 간, 맹장 등에서 무균적으로 시료를 채취하여 혈액배지, MacConkey배지, XLD배지에 도말하였다.

1차 의뢰된 사향쥐 폐를 도말한 혈액배지에서 작은 용혈성 colony, MacConkey배지에서 작고 창백한 colony, 맹장을 도말한 배지에서 mucoid한 colony가 배양되었다.

2차 의뢰된 사향쥐 폐를 도말한 혈액배지에서는 먼저 의뢰된 것과 동일한 성상의 colony와 더불어 용혈성이 없고 백색의 mucoid한 colony도 관찰되었다(Fig. 3, 4, 5). 배양된 균들은 그람염색키트(Diffco®)로 염색하여 광학 현미경에서 1,000배로 관찰하였다. 모든 균은 그람음성 단간균으로 장내세균으로 의심되는 colony는 API 20E kit (Biomeriux®), 폐에서 분리된 colony는 API 20NE kit(Biomeriux®)를 이용하여 37°C에서 1~2일 배양한 후 생화학검사를 실시하였다. 그 결과 장내세균은 *Klebsiella oxytoca*, 폐에서 분리된 2가지 균은 각각 *B. bronchiseptica*와 *P. multocida*로 확인되었다(Table 1).

Table 1. Results of API 20 kit

Tissue	Biochemical test																			Kit	Ident.	
	NO ₃	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNG	GLU	ARA	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT			PAC
lung1	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	20NE	<i>Bordetella bronchiseptica</i>
lung2	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Cecum	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	20E	<i>Klebsiella oxytoca</i>

Table 2. Primers sequences of capsular type *P. multocida*

Target gene	Primer sequences	Product size (bp)	Capsular type
KMT1	F: ATCCGCTATTTACCCAGTGG R: GCTGTAAACGAACCTGCCAC	460	common
hyaD-hyaC	F: TGCCAAAATCGCAGTCAG R: TTGCCATCATTGTCAGTG	1,044	A



Fig. 1. Hemorrhagic nasal discharge.



Fig. 2. Hemorrhage, consolidation of the cranial-caudal ventral lobe of lung.

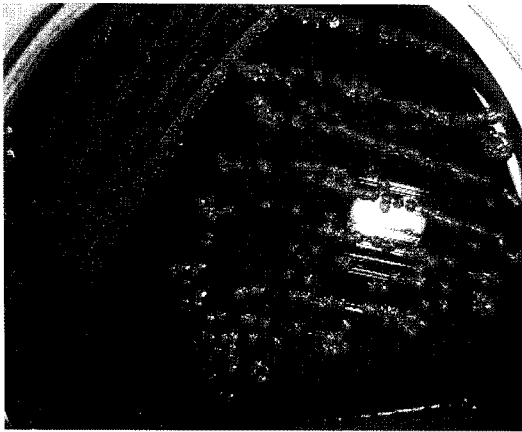


Fig. 3. *Bordetella bronchiseptica* in blood agar.

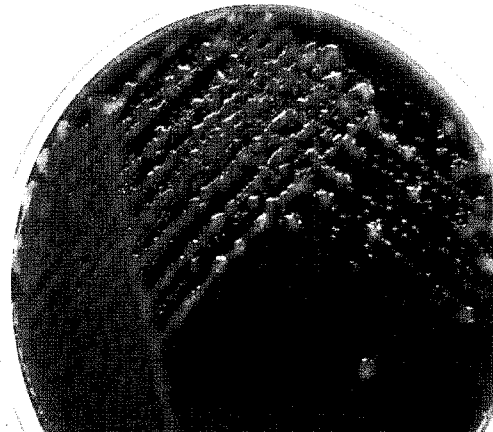


Fig. 4. *Pasteurella multocida* in blood agar.

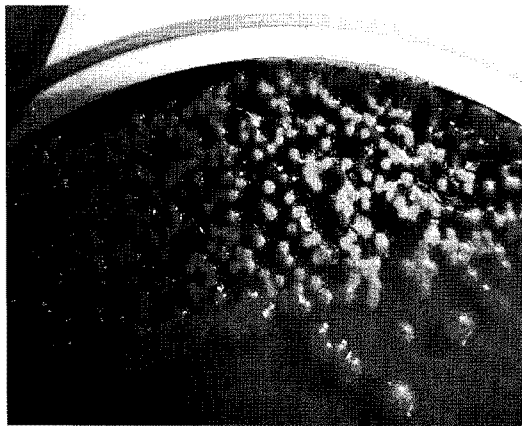


Fig. 5. *Klebsiella* spp. in XLD agar.



Fig. 6. Suppurative bronchopneumonia: congestion, inflammation in the periphery of the vessel, bronchioles.

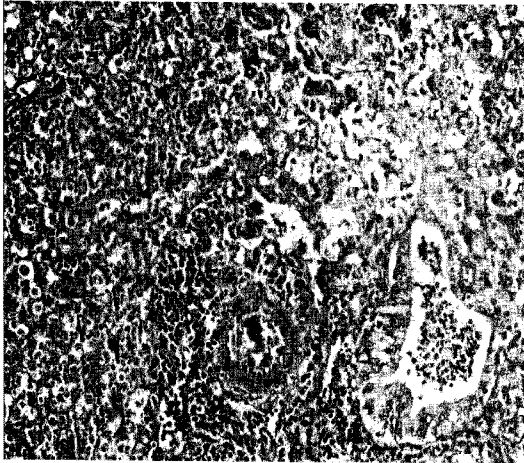


Fig. 7. Neutrophils aggregation in bronchiolar and alveolar lumen.

조직검사를 위해서 폐를 포함한 내부 장기를 10% 중성포르말린에 고정하고 고정된 조직은 일반적인 조직처리과정을 거쳐 파라핀 포매한 후 4 μ m의 조직 절편을 만들고, H&E 염색하여 광학 현미경으로 관찰하였다. 병리조직 검사에서 폐는 전형적인 화농성 기관지폐렴 소견을 나타냈는데 폐포강내는 eosinophilic한 삼출성 물질로 가득차 있고 기관지, 세기관지, 폐포강내 neutrophils 및 alveolar macrophage의 침윤이 두드러졌다. 간에도 혈관 및 담관 주위에 염증세포의 침윤이 있었으며 장점막하에도 염증소견이 있었다(Fig. 6, 7).

또한, PCR검사를 위하여 폐를 균질화 한 후 protpcol에 따라 AccuPrep[®] Genomic DNA Extraction Kit (Bioneer[®])를 이용하여 DNA를 추출하였다. Primer는 Table 2와 같이 제작하였고 추출한 nucleotide 5 μ l와 각각의 primer 1 μ l를 AccuPower[®] PCR PreMix (Bioneer[®])에 첨가하여 95 $^{\circ}$ C에서 5분간 반응시켰고 95 $^{\circ}$ C 30초, 55 $^{\circ}$ C 30초, 72 $^{\circ}$ C 30초씩 35회 반응시킨 후 72 $^{\circ}$ C에서 5분간 반응시켰다. PCR이 끝난 후 PCR product 7 μ l를 1.5% agarose gel (ethidium bromide 0.5 μ g/ml in DW)에 100bp marker와 함께 100V, 25분간 전기영동을 실시한 후 자외선 하에서 특이 band 증폭 유무를 확인한 결과 KMT1(*Pasteurella* common)은 460bp, hyaD-hyaC (*Pasteurella* type A)은 1,044bp에서 증폭 되어 *P. multocida* capsular type A임이 확인되었다(Townsend 등, 2001).

이후, 다른 사향쥐 농가에서 병성감정 의뢰된 건에서도 모두 세균성 감염이 확인되었는데 분리된 세균은

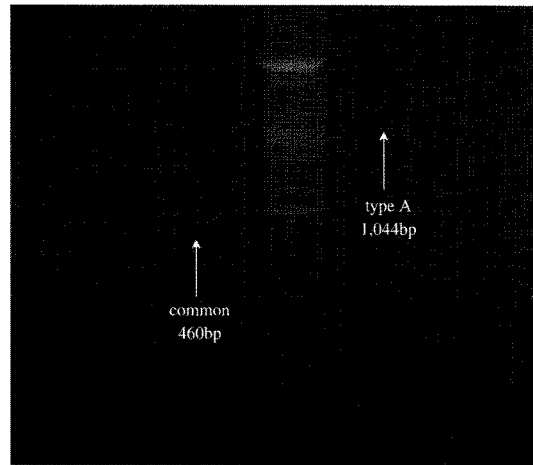


Fig. 8. Detection of *P. multocida* capsular type A in PCR.

Klebsiella pneumoniae, *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas* 등으로 주로 농양을 형성하는 기회감염 세균들이었다.

고 찰

*P. multocida*는 다양한 동물의 상부 호흡기 점막에 존재하는 기회 감염균으로 주로 폐렴과 패혈증을 일으킨다. 균을 배양하면 특유의 mucoid한 colony가 생성되는데 이는 풍부한 capsule때문이다. Capsular serotype에 따라 5종(A, B, D, E, F)으로 나뉘며, capsule이 virulence를 결정짓는 것으로 알려져 있다(Catry 등, 2005; Boyce와 Adler, 2000). Type A는 소의 shipping fever와 관련되어 있고 돼지 pleuropneumonia, fowl cholera 및 토끼의 snuffles의 원인균 중 하나로 알려져 있다(El Tayeb 등, 2004). Type B, E는 소에서 epizootic haemorrhagic septicemia를, type D는 돼지 atrophic rhinitis (AR)를 유발한다. 돼지의 AR, 토끼의 snuffles에 *P. multocida*와 함께 질병 발생에 기여한다. *Klebsiella*도 농양을 형성하는 기회감염세균이고 특히, *Aeromonas hydrophila*는 수인성 세균으로 포유류의 감염은 드물고 주로 어류, 파충류 등에서 염증 및 패혈증을 일으키는 것으로 알려져 있으며 한 번 발생하면 항생제 저항이 강해 제거하기 어려운 것으로 알려져 있다. 사향쥐의 습성상 물에서 생활을 하기 때문에 오염된 물에 의한 감염으로 추정된다. 본 증례에서는 폐

렴을 유발하는 2가지 세균 *P. multocida*, *B. Bronchiseptica*에 의한 화농성기관지폐렴 및 *Klebsiella* 복합감염으로 인한 폐사가 확인되었고 그 이후에도 여러 가지 세균의 기회감염이 확인되었다. 이는 오염된 환경, 기온, 스트레스, Virus 질병 등 면역력 저하를 유발하는 여러 원인에 의한 것으로 추정된다. Vahlenkamp 등 (1998)은 사향쥐에서 hantavirus 항원 및 항체가 검출되었으며 사향쥐가 유럽에서 발생하는 hantavirus의 새로운 reservoir로 보고하였는데 본 증례에서 바이러스의 검출이 이루어지지 못한 점은 앞으로 연구해야 할 과제로 남았다.

참 고 문 헌

- Boyce JD, Adler B. 2000. The capsule is virulence determinant in the pathogenesis of *Pasteurella multocida* M1404 (B:2). *Infect Immun* 68(6): 3463-3468.
- Catry B, Chiers K, Schwarz S. 2005. Fatal Peritonitis caused by *Pasteurella multocida* capsular type F in calves. *J Clin Microbiol* 43(3): 1480-1483.
- El Tayeb AB, Morishita TY, Angrick EJ. 2004. Evaluation of *Pasteurella multocida* isolated from rabbits by capsular typing, somatic serotyping and restriction endonuclease analysis. *J Vet Diagn Invest* 16(2): 121-125.
- Karstad L, Lusia P, Wright D. 1971. Tyzzer's disease in muskrats. *J Wildlife Dis* 7(2): 96-99.
- Quinn PJ, Carter ME, Markey B. 1994. *Clinical veterinary microbiology Mosby, Edimburgh* 245-258.
- Townsend KM, Boyce JD, Chung JY, Frost AJ, Adler B. 2001. Genetic organization of *Pasteurella multocida* cap loci and development of a multiplex capsular PCR typing system. *J Clin Microbiol* 39(3): 924-929.
- Vahlenkamp M, Müller T, Tackmann K, Löschner U, Schmitz H, Schreiber M. 1998. The muskrat (*Ondatra zibethicus*) as a new reservoir for puumala-like hantavirus strains in Europe. *Virus Res* 57(2): 139-150.
- Web DM, Woods LW. 2001. Microscopic evidence of adenoviral infection in a muskrat in Illinois. *J Wildlife Dis* 37(3): 643-645.
- Williams ES, Barker IK. 2001. *Infectious disease of wild mammals*. 3rd. ed: 303-309.
- Wobeser G, Barnes HJ, Pierce K. 1979. Tyzzer's disease in Muskrat: Re-examination of specimens of hemorrhagic disease collected by Paul Errington. *J Wildlife Dis* 15(4): 525-527.