

碩士學位論文

제주지역 도축돼지의 폐렴병변에서 *Mycoplasma hyopneumoniae*의 면역조직화학적 발생 분포

Immunohistochemical Prevalence of *Mycoplasma hyopneumoniae*  
in pneumonic lungs of slaughtered pigs in Cheju



獸醫學科

金勝一

2000年 2月

제주지역 도축돼지의 폐렴병변에서 *Mycoplasma hyopneumoniae*의 면역조직화학적 발생 분포

指導教授 裴宗熙

金勝一

이 論文을 獸醫學 碩士學位 論文으로 提出함



金勝一의 獸醫學 碩士論文을 認准함

審査委員長

이주석

委員

이종호

委員

이진호



濟州大學校 大學院

2000年 2月

# 초 록

## 제주지역 도축돼지의 폐렴병변에서 *Mycoplasma hyopneumoniae*의 면역조직화학적 발생 분포

(지도교수 : 배종희)

김 승 일

제주대학교 대학원 수의학과



돼지 마이코플라즈마 폐렴은 *Mycoplasma hyopneumoniae*에 의해 발생하는 만성 호흡기 질병으로, 양돈산업에 심각한 경제적 손실을 주고 있다. *Mycoplasma hyopneumoniae*는 돼지 호흡기복합증후군(porcine respiratory disease complex; PRDC)의 일차적인 원인체로도 알려져 있다. 본 연구는 2년(1998-1999)에 걸쳐 제주지역 도축돼지 214두를 대상으로 *Mycoplasma hyopneumoniae*의 발생 분포를 조사하고자 수행하였다. 대상동물의 폐장을 전복측과 후배측으로 나누어 육안검사를 통한 경화소의 분포를 조사하였으며, 경화소의 병리조직학적 검사를 통하여 폐렴을 분류하였다. 폐장에서 *Mycoplasma hyopneumoniae*에 대한 면역조직화학적 검사를 실시하였고, 혈청은 ELISA(enzyme linked immunosorbent assay)로 항체가를 조사하였다.

육안검사에서 폐장의 경화소는 163두(76.1%)의 돼지에서 관찰되었으며, 평균 6.0%의 분포율을 나타내었다. 백신접종군은 비접종군에 비해 육안적인 경화소의 분포율이 유의

성있게 감소되었다( $P < 0.05$ ). 폐렴의 병리조직학적 분류에서 기관지간질성 폐렴이 168두 (78.5%)로 가장 많이 관찰되었다. 면역조직화학적 검사 결과, 174두의 돼지(81.3%)에서 *Mycoplasma hyopneumoniae* 항원에 대해 양성반응을 나타냈다. *Mycoplasma hyopneumoniae*에 대한 항체는 154두(72.0%)에서 양성으로 나타났다.

본 연구를 통하여 제주지역 도축돼지에서 폐렴의 양상, *Mycoplasma hyopneumoniae*의 감염율과 항체 양성율을 확인하였으며, 이는 돼지 마이코플라즈마 폐렴과 돼지 호흡기복합증후군의 예방 관리에 기초 자료로 활용될 것으로 기대된다.

---

주요어 : *Mycoplasma hyopneumoniae*, 폐렴, 면역조직화학, ELISA, 백신.

# 목 차

I. 서 론 .....	1
II. 재료 및 방법 .....	3
III. 결 과 .....	8
IV. 고 찰 .....	12
V. 결 론 .....	15
VI. 참고문헌 .....	18
VII. 영문초록 .....	24



# I. 서 론

돼지 마이코플라즈마 폐렴(Mycoplasmal pneumonia of swine; MPS)은 *Mycoplasma hyopneumoniae*에 의해 발생하는 만성 호흡기 질병으로, 양돈산업에 심각한 경제적 손실을 주고 있다(Goodwin, 1971; Straw 등, 1989). Pullar(1948)와 Guajani와 Beveridge(1951)에 의해 돼지 인플루엔자와는 다른 특징적인 유행성 폐렴이라고 보고되었고, 이 세균이 매우 작은 여과성의 세균이라 바이러스성 폐렴으로 명명되기도 하였다.

Mare와 Switzer(1965)와 Goodwin 등(1965)에 의해 *Mycoplasma hyopneumoniae*는 처음으로 돼지 폐렴에서 분리되었는데 성장속도가 매우 느리고 배양조건이 까다로운 것이 특징이다. *Mycoplasma hyopneumoniae*의 생물학적 및 생화학적 특성과 함께 동정법이 Ross와 Whittlestone(1983)에 의해 정립되었다. 돼지 폐에 흔하게 상재하는 비병원성인 *Mycoplasma flocculare*와 돼지에서 폐렴과 관절염을 일으키는 *Mycoplasma hyorhinis*는 *Mycoplasma hyopneumoniae*와 형태, 성장양상, 항원성 등이 매우 유사하여 항원적 교차반응을 일으켜 진단에 어려움을 주고 있다(Armstrong 등, 1983; Freeman, 1984; Bolske 등, 1987; Sorensen 등, 1992). 다른 중요한 특징으로 *Mycoplasma hyopneumoniae*는 표면항원을 변환시킬 수 있는 능력이 있으며, 분리주들 사이에 항원의 다양성에 대해 보고된 바 있다(Artiushin과 Minion, 1996).

*Mycoplasma hyopneumoniae*의 전파는 주로 감염된 동물의 호흡기 분비물을 통한 직접접촉이나 공기전파 등에 의해 호흡기도로 감염되며 일단 몇 마리만 감염되면 동거군간에 감염이 발생하는데 특히 이유기 자돈에 빠르게 전파된다(Ross와 Whittlestone, 1983). *Mycoplasma hyopneumoniae*에 대해 돼지의 연령에 따른 감수성의 차이는 없는 것으로 보고된 바 있다(Piffer와 Ross, 1984). Betts(1952)는 MPS를 높은 이환율과 낮은 치사율을 보이며 비노력성 호흡을 주요 증상으로 나타내는 만성 호흡기 질환으로 보고하였다. 임상증상은 6주령까지는 나타나지 않고, 주로 2-4개월령의 육성돈에서 발견되어 지속적인 건성 기침, 성장지연, 사료효율 저하 등이 나타난다. 4-6개월령에 이차감염이나 심한 스트레스를 받을 경우를 제외하고는 거의 폐사가 일어나지 않는다.

MPS의 혈청학적 검사방법으로는 보체결합반응(Lloyd 등, 1984), 간접혈구응집반응(Armstrong 등, 1983), enzyme linked immunosorbent assay(ELISA)(Sheldrake 등,

1990; Sorrensen 등, 1992), immunoblotting(Young과 Ross) 등이 알려져 있다. *Mycoplasma hyopneumoniae* 항원을 검출하는 방법으로는 세균분리동정(Goodwin 등, 1967), 주사전자현미경과 투과전자현미경을 통한 관찰(Tajima와 Yagihashi, 1982; Tajima 등, 1984), 면역형광항체법(Amanfu 등, 1984), immunoperoxidase법(이 등, 1995; Doster와 Lin, 1988), *in situ* hybridization (Kwon과 Chae, 1999), polymerase chain reaction(Baumeister 등, 1998) 등이 알려져 있다.

돼지에서의 마이코플라즈마 폐렴은 양돈장에서 만성적으로 상재하여 실질적인 경제적 손실을 초래하고 있음에도 불구하고 제주지역에서는 아직까지 발생분포에 대한 조사가 미흡한 실정이다. 본 연구는 제주지역에서 자연발생된 도축돼지의 경화소 발생율과 폐렴병변에서 *Mycoplasma hyopneumoniae*에 대한 분포 및 백신접종에 따른 효능을 조사하고자 수행하였다.



## II. 재료 및 방법

### 1. 공시동물

본 연구의 공시동물은 도내 5개 농장에서 1998년도 도축된 돼지 98두와 1999년도 도축된 돼지 116두, 총 214두의 돼지를 대상으로 폐장의 병리학적 검사, *Mycoplasma hyopneumoniae*에 대한 면역조직화학적 항원검사 및 혈청항체검사를 수행하였다. 이 중 *Mycoplasma hyopneumoniae* Bacterin을 사용한 백신접종군은 105두였으며 비접종군은 109두였다.

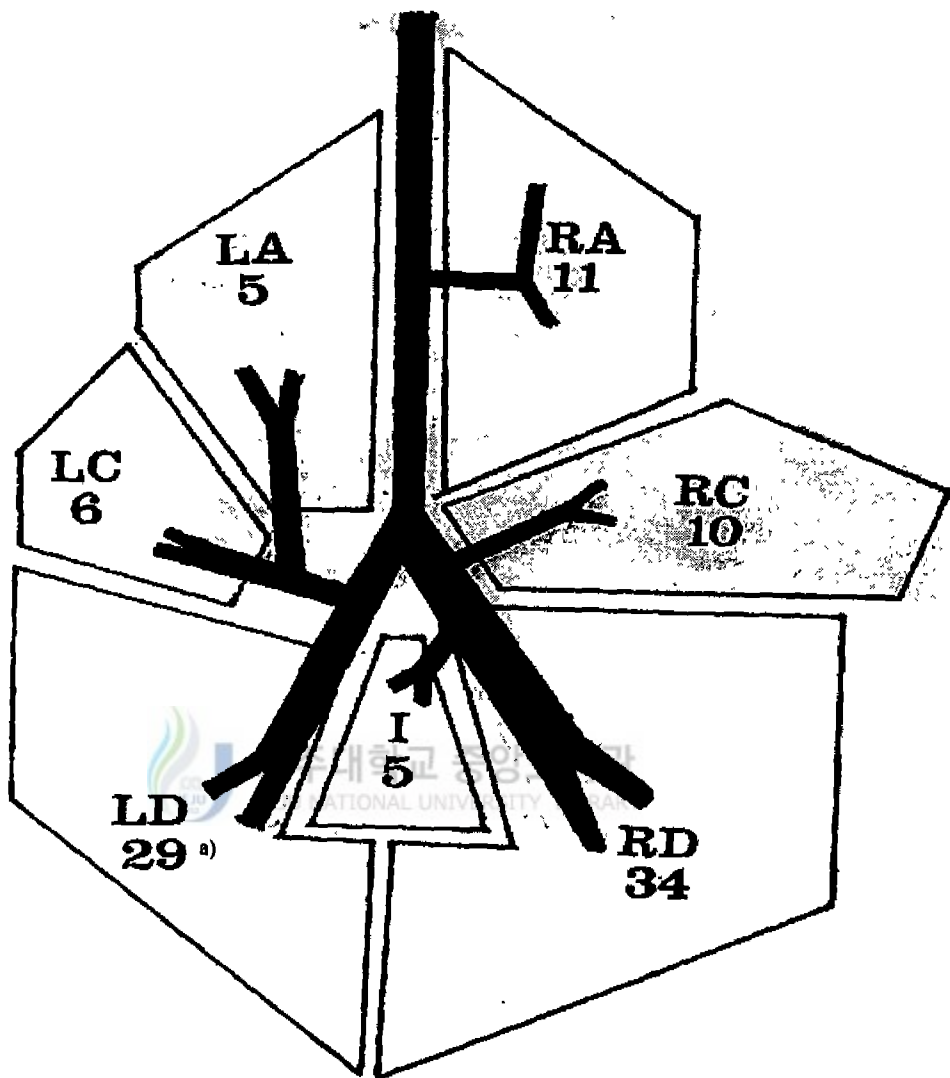
### 2. 병리학적 검사



#### 1) 육안적 검사

폐장의 경화소 분포율은 Leman 등(1992)의 방법에 따라, 각 폐엽의 실질적인 무게를 기준으로 전체 폐장을 100%로 한 후, 좌측 첨엽, 심엽, 횡격막엽에 대해 각각 5%, 6%, 29%로 하였으며, 우측 첨엽, 심엽, 횡격막엽에 대해서는 각각 11%, 10%, 34%로 하고, 부엽은 5%로 구분하여 각 폐엽에 발생된 경화소의 비율을 산정한 후, 이 수치들을 합하여 계측하였다(Text-figure 1).





**Text-figure 1. Gross scoring method**

LA, RA ; left and right apical lobes, LC, RC ; left and right cardiac lobes  
 LD, RD ; left and right diaphragmatic lobes, I ; intermediate lobe

a) relative lobe weight as percent of total lung weight

## 2) 병리조직학적 검사

폐장의 조직학적 검사는 전복축엽(첨엽, 심엽)과 후배축엽(횡격막엽)의 병변부위를 절취하여 10% 중성 포르말린에 고정한 다음 통상적인 조직처리로 만들어진 파라핀 포매조직을 3~5  $\mu\text{m}$  두께로 절편하여 hematoxylin과 eosin(H&E)으로 염색한 후 현미경으로 관찰하여 Jubb 등 (1993)의 분류에 따라 기관지 간질성 폐렴, 간질성 폐렴, 화농성 기관지 폐렴, 섬유소성 기관지 폐렴으로 진단하였다(Pointon 등, 1996).

Livingstone 등(1972)의 방법을 응용하여 *Mycoplasma hyopneumoniae*의 주요 병리조직학적 소견인 기관지와 세기관지 주위성 및 혈관주위성의 림프구계열 세포의 증식과 결절 형성 정도에 따라 다음과 같이 분류하였다. 정상 폐조직은 0점, 기관지, 세기관지 및 혈관주위에 미약한 림프구계열 세포의 증식이 국소적으로 관찰되고 가벼운 간질조직의 비후가 관찰되면 1점, 림프소절 또는 림프구계열 세포가 기관지나 세기관지의 점막근층까지 확장되거나 다병소성으로 1점의 소견이 관찰되면 2점, 림프소절 또는 림프구계열 세포의 증식이 심하여 기관지나 세기관지를 압박하거나 2점의 병변이 다병소성으로 관찰되면 3점 그리고, 3점의 병변이 미만성으로 관찰되면 4점으로 구분하였다(Fig. 1).



## 3. 면역조직화학적 항원검사

폐장을 3~5  $\mu\text{m}$ 의 두께로 절편하여 0.01% poly-L-lysine이 도말된 슬라이드에 부착하였다. 파라핀을 제거한 후, 조직내에 자연적으로 존재하는 peroxidase를 제거하기 위해 3%  $\text{H}_2\text{O}_2$ 가 첨가된 methanol에 30분간 반응시켰으며, proteinase K로 37°C에서 30분간 처리하였다. 비특이반응을 방지하기 위하여 10% normal goat serum으로 실온에서 30분간 반응시켰으며, 자연적으로 존재하는 avidin과 biotin의 활성을 막기 위해 avidin-biotin blocking kit(Vector SP-2001, Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA)를 실온에서 15분간 반응시킨 후, *Mycoplasma hyopneumoniae* 토끼 항혈청(Theresa F. Young, Iowa State University)을 10% normal goat serum에 1:10으로 희석하여 조직 위에 적하하고, 4°C에서 12~24시간 반응시켰다. 이차항체로는 biotinylated goat anti-rabbit

IgG(Vector, U.S.A.)를 37℃에서 60분간 반응시켰으며, avidin-biotin peroxidase complex(Vector, U.S.A.)로 37℃에서 30분간 반응시켰다. 각 단계별 반응 후에는 phosphate buffered saline(PBS, pH 7.2)으로 10분씩 3회에 걸쳐 세척하였다. 면역반응이 끝난 조직은 3,3'-diamino-benzidine tetrahydrochloride(DAB; Vector, SK-4100, U.S.A)용액으로 2-5분간 발색시킨 후, 증류수에서 면역반응을 중지시켰다. Mayer's hematoxylin으로 대조 염색하여 탈수와 투명과정을 거쳐 봉입 후, 광학현미경으로 관찰하여 황갈색 반응이 나타난 부위를 양성 대조군과 비교하여 판독하였다. 음성 대조군은 유산태자의 폐장을 이용하였고 양성 대조군은 Doster와 Lin(1988)으로부터 *Mycoplasma hyopneumoniae*에 감염된 돼지의 폐장을 기증받아 사용하였다.

#### 4. 혈청항체검사

*Mycoplasma hyopneumoniae*에 대한 혈청항체를 검사하기 위해 ELISA를 이용하였다. *Mycoplasma hyopneumoniae*를 배양하여 sonicator로 균질화시킨 후 sephacryl S-300gel(Pharmacia)에 정제한 항원을 coating buffer에 100배 희석하여 분주한 후 4℃에 1일간 부착하였다. PBS(pH 7.4)로 세척하고 blocking buffer(2% Bovine serum albumin in PBS)를 처리한 후 37℃에서 1시간동안 비특이반응을 차단하였다. PBS로 3회 세척하고 80배 희석한 가검혈청을 100  $\mu$ l씩 분주하여 37℃에서 2시간 감작시킨 다음 PBS로 3회 세척하고 anti-swine IgG peroxidase로 37℃에서 1시간 반응시켰다. PBS로 4회 세척하고 발색제(o-phenylenediamine)를 10분간 처리한 후 3 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 반응을 정지시킨 다음 ELISA 판독기로 492 nm에서 P/N ratio가 2.0 이상인 것을 양성으로 판독하였다(Sorensen 등, 1992).

#### 5. 통계처리

본 실험결과 중 백신집종에 따른 육안병변과 병리조직학적 병변은 pc-SAS package  
를 이용하여 *t*-test로 통계분석을 실시하였다.



### Ⅲ. 결 과

#### 1. 육안검사

폐장에 대한 육안검사에서 전복측 폐장의 경화소는 214두 중 76.1%인 163두(백신접종돼지 74두, 비접종돼지 99두)에서 관찰되었다. 경화소의 평균 분포율은 6.0%였다. 백신접종군은 105두 중 74두에서 경화소가 발생하여 70.4%의 발생율을 보인 반면, 비접종군은 109두 중 99두에서 경화소가 발생하여 81.6%의 높은 발생율을 보였다. 백신접종군의 경화소 분포율은 평균 4.7%를 보인 반면, 비접종군은 평균 7.3%를 보여 백신접종군에서 유의성( $P<0.05$ )있게 감소하였다(Table 1).



Table 1. Incidence and gross score for cranioventral consolidation of lungs

Group	Incidence (%)	Gross score (mean±SD)
Vaccinated	74/105 (70.4) <sup>a)</sup>	4.7±9.1*
Not vaccinated	99/109 (81.6)	7.3±6.5
Total	163/214 (76.1)	6.0±7.8

a) No. of pigs observed cranio-ventral pneumonia / No. of pigs examined (%).

\* Differences were detected between not vaccinated group in mean score of gross consolidation( $P<0.05$ ).

## 2. 병리조직학적 검사

폐장의 병리조직학적 검사에서 폐렴 소견은 216두 중 89.7%인 192두에서 관찰되었다. 그 중 기관지 간질성 폐렴이 가장 많은 168두(78.5%)에서 관찰되었고 간질성 폐렴은 13두(6.1%), 화농성 기관지 폐렴은 11두(5.1%)에서 관찰되었다. 백신접종 여부에 따른 폐렴 발생율을 비교하였을 때, 백신접종군은 84.8%로 비접종군의 95.4%에 비해 낮은 발생율을 보였다(Table 2).

Table 2. Histopathological classification and incidence of porcine pneumonia

Group	No. of pigs examined	Classification of pneumonia			Incidence
		BIP <sup>a)</sup>	IP <sup>b)</sup>	SIP <sup>c)</sup>	
Vaccinated	105	77 (73.3) <sup>d)</sup>	5 (4.8)	7 (6.7)	89/105 (84.8) <sup>e)</sup>
Not vaccinated	109	91 (83.5)	8 (7.3)	4 (3.7)	104/109 (95.4)
Total	214	168 (78.5)	13 (6.1)	11 (5.1)	192/214 (89.7)

- a) Bronchointerstitial pneumonia
- b) Interstitial pneumonia
- c) Suppurative bronchopneumonia
- d) No. of pigs (%)
- e) No. of pigs observed pneumonia / No. of pigs examined (%)

MPS의 특징적인 병리조직소견인 기관지와 세기관지 주위성 및 혈관주위성의 림프구계열 세포의 증식 및 결절형성정도는 전체 평균 3.1점으로 나타났고 백신접종군은 3.0점, 비접종군은 3.3점으로 백신접종군에서 다소 낮은 점수를 나타내었다(Table 3). 검사한 214두의 폐에서 117두(54.7%)가 4점 수준의 가장 심한 병변을 보였다. 4점을 보인 117두에서 백신접종군은 105두 중 49두(46.7%), 비접종군은 109두 중 68두(62.4%)로 백신접종군에서 기관지와 세기관지 주위성 및 혈관주위성의 림프구계열 세포의 증식이 억제된 것으로 나타났다(Fig. 1).

Table 3 . Incidence and scoring of lymphoid cell hyperplasia

Group	Incidence	Score
Vaccinated	95/105 (90.4) <sup>a)</sup>	3.0±1.1 <sup>b)</sup>
Not vaccinated	96/109 (88.0)	3.3±1.0
Total	191/214 (89.3)	3.2±1.1

a) No. of pigs observed lymphoid cell hyperplasia / No. of pigs examined (%).

b) Mean ± SD

### 3. 면역조직화학적 항원검사

면역조직화학적 검사에서 전체 214두 중 174두(81.3%)에서 양성반응을 보였으며 이중 백신접종군은 83.8%, 비접종군은 78.9%의 양성율을 나타내었다(Table 4). *Mycoplasma hyopneumoniae* 항원은 기관지와 세기관지의 상피세포 표면에서 주로 관찰되었다(Fig. 2).

Table 4. Incidence of *Mycoplasma hyopneumoniae* in lungs by immunoperoxidase test

Group	No. of pigs examined	No. of positive pigs (%)
Vaccinated	105	88 (83.8)
Not vaccinated	109	86 (78.9)
Total	214	174 (81.3)

*Mycoplasma hyopneumoniae*에 대한 면역조직화학 검사에서 양성 반응을 보인 폐조직인 경우, 기관지간질성 폐렴이 88.5%로 가장 많은 분포를 보였으며 정상인 폐장은 6.3%를 나타내었다. 음성으로 나타난 폐조직에서는 기관지간질성 폐렴이 35%, 간질성

폐렴이 32.5%, 화농성기관지 폐렴이 7.5%, 그리고 정상인 폐조직이 25%로 다양한 분포를 보였다(Table 5).

Table 5. Incidence of *Mycoplasma hyopneumoniae* in lungs according to pneumonic types.

Result of IHC <sup>a)</sup>	N <sup>b)</sup>	BIP <sup>c)</sup>	IP <sup>d)</sup>	SBP <sup>e)</sup>	Total No. of pigs
Positive	11 (6.3) <sup>f)</sup>	154(88.5)	1 (0.5)	8(4.5)	174
Negative	10(25.0)	14(35.0)	13(32.5)	3(7.5)	40
Total	21 (9.8)	168(78.5)	14 (6.6)	11(5.1)	214

- a) Immunohistochemistry
- b) Normal lung
- c) Bronchointerstitial pneumonia
- d) Interstitial pneumonia
- e) Suppurative bronchopneumonia
- f) No. of pigs (%)



#### 4. 혈청항체검사

ELISA에 의한 혈청항체검사 결과, 양성을 보인 두수는 214두 중 154두로 72.0%의 양성율을 나타냈다. 백신접종 여부에 따른 양성율은 백신접종군이 60%, 비접종군이 83.5%의 양성율을 보여 백신접종시, 항체 양성율은 낮게 나타났다(Table 6).

Table 6. Incidence of antibody to *Mycoplasma hyopneumoniae* by ELISA

Group	No of pigs examined	No. of positive pigs (%)
Vaccinated	105	63 (60.0)
Not vaccinated	109	91 (83.5)
Total	214	154 (72.0)



## IV. 고 찰

MPS의 특징적인 육안병변으로는 자적색에서 회색조의 경화소로 폐의 심엽, 침엽의 복측과 부엽 그리고 횡격막엽의 전복측에 주로 나타난다. 질병 초기와 중기에는 보통 기도에 카타르성 삼출물이 존재하며 만성인 경우, 마치 무기폐와 유사한 경계명료한 경화소로 관찰된다(Ross와 Whittlestone, 1983). 본 조사에서는 전복측 폐렴이 214두 중 163두(76.1%)의 돼지에서 발생되었다. 자연 감염된 도축돼지의 폐렴 발생율에 대한 보고는 해외에서 39.5%(Osborne 등, 1981), 27%(Armstrong 등, 1984), 30-80%(Lloyd 등, 1984), 71.2%(Pointon과 Sloane, 1984)로 다양하게 보고된 바 있다. 국내에서의 도축 돼지에 대한 폐렴 발생율은 경기도 81%(박 등, 1977), 영남지방 64.8%(조 등, 1999)로 보고되었다. 이 등(1998)은 사육방식에 따른 도축돼지의 폐렴 발생율을 비교하여 all-in/all-out을 실시하는 농가는 71.9%인 반면, 일반농가는 85.2%로 보고한 바 있다. 현재, 제주지역에서의 육안검사시 폐렴 발생율은 다른 지역에서 최근에 보고한 발생율과 비교해 볼 때 유사한 수준에서 발생되고 있음을 알 수 있었다. 경화소의 분포율에 대해서는 국내에서는 보고된 바 없으나, Morrison 등(1985)은 캐나다의 도축돼지에서 3.9%로 보고한 바 있다. 본 조사에서는 평균 6.0%로 나타나 이보다는 높은 수준의 분포율을 보였다.

MPS의 특징적인 병리조직학적 소견은 초기에 폐포, 기도 주위와 강내에 호중구와 단핵구들이 증가되고 혈관과 기도 주위에 림프구계열 세포의 침윤이 나타난다. 시간이 경과함에 따라 기관지와 세기관지 주위성 및 혈관주위성 림프구계열 세포의 증식이 뚜렷해지고, 회복기에는 림프구계열 세포의 증식소견은 주위 조직과 경계가 명확해지며 보다 광범위하게 나타난다(Livingstone 등, 1972). 본 조사에서 병변 부위 또는 병변이 나타나지 않을 때는 전복측 부위를 채취하여 병리조직학적으로 폐렴을 검사한 결과, 폐렴 소견은 214두 중 192두(89.7%)에서 관찰되었다. 그 중 기관지간질성 폐렴이 168두(78.5%)로 가장 많았다. 기관지간질성 폐렴으로 진단된 폐조직은 모두 MPS의 특징적인 병리조직소견인 기관지, 세기관지 및 혈관주위성 림프구계열 세포의 침윤을 보였고, 간질조직이 비후되어 있었다. 이 중 기관지, 세기관지 및 폐포강에서 화농성 삼출물을 보인 조직은 72두(37.5%)였고 Type II cell의 증생을 보인 것은 73두(38%)로 주로

*Mycoplasma hyopneumoniae*가 일차적으로 감염된 후 다른 이차적인 병원체들에 의해 혼합감염된 병변으로 추정되었다. 이는 Halbur 등(1993)과 Halbur(1996)가 보고한 돼지 호흡기복합증후군처럼 제주도의 돼지의 호흡기 질병이 심하고 복합적인 양상으로 발생하고 있음을 말해준다. 본 조사에서는 특징적인 섬유소성 폐렴과 기생충성 폐렴은 관찰되지 않았다. 이는 섬유소성 폐렴에 걸린 돼지들은 대부분 도축 전에 폐사되거나 도태처리가 되고 있고 기생충에 대한 구제가 올바르게 시행되고 있기 때문이라고 사료된다.

Mckean과 Ross(1972)와 Doster와 Lin(1988)은 MPS의 육안 소견 및 병리조직학적 소견이 특징적이기는 하나 확진은 병력, 임상소견, 병변, 세균분리, 혈청학적 검사 등의 다양한 방법을 복합적으로 이용할 것을 권장했다. 폐장에서 *Mycoplasma hyopneumoniae*에 대한 항원을 증명하는 많은 방법 중에서 Doster와 Lin(1988)은 immunoperoxidase법이 간접면역형광항체법보다 정확성이 있다고 보고하였다. 본 조사에서 제주지역 도축돼지의 폐장에서 *Mycoplasma hyopneumoniae* 항원에 대한 immunoperoxidase법을 실시한 결과, 1998년에 70.4%와 1999년에 90.5%로 전체 81.3%의 양성율을 보였다. 이런 결과는 제주지역의 *Mycoplasma hyopneumoniae*의 감염이 1998년에 비해 1999년에 더욱 확산되어 있음을 보여준다. 양성반응은 주로 기관지와 세기관지의 섬모상피세포 표면에서 나타났는데 이는 다른 보고들과 같았다(Livingstone 등, 1972; Tajima와 Yagihashi, 1982. Amanfu 등, 1984; Ross 등, 1984; Morrison 등, 1985; Doster와 Lin, 1988; Sheldrake 등, 1990; 이 등, 1995; Kwon과 Chae, 1999).

MPS를 보다 빠르고 정확하게 진단하기 위해 많은 혈청 검사 방법들이 개발되어 이용되었다. 이중 ELISA는 널리 이용되는 검사방법으로 Armstrong 등(1983)과 Piffer 등(1984)은 ELISA가 보체결합반응이나 간접혈구응집반응보다 항체검출율이 우수하다고 보고하였다. Freeman(1984)은 ELISA와 complement fixation test 등의 혈청검사에서는 *Mycoplasma hyopneumoniae*가 *Mycoplasma hyorhinitis*와 *Mycoplasma flocculare* 등과 혈청학적인 교차반응이 있다고 보고하였다. 이에 대해 Sheldrake 등(1990)은 Tween 20 ELISA에서는 *Mycoplasma hyopneumoniae*가 *Mycoplasma hyorhinitis*와 교차반응을 나타내지 않는다고 보고하였으며 Sorensen 등(1992)은 보다 정확성이 높은 ELISA를 개발하여 보완하였다. 본 조사에서 ELISA에 의한 *Mycoplasma hyopneumoniae*항체 검사 결과, 전체 214두 중 154두가 80배 이상의 혈청희석배수에서 양성으로 나타나 72.0%의 항체 양성율을 보였다. 이는 100배 이상의 혈청희석배수에서 항체 양성율이 70.4%로 류

등(1997)이 제주지역에서의 ELISA에 의한 *Mycoplasma hyopneumoniae* 항체검사 결과와 유사하게 나타났다.

Goodwin 등(1965)과 Ross 등(1984)은 세균부유액으로 만든 백신을 접종하였을 때, 육안 병변의 발생을 억제하는 것으로 보고한 바 있다. Kristensen 등(1981)은 세균부유액으로 만든 백신을 접종하였을 때, 항체 형성은 접종후 3-4주에 ELISA로 감지되며 백신 접종후 자연감염을 유도했을 때, 항체가 4개월 이상 높게 유지되나 병리조직학적으로 질병을 방어하지는 못했다고 보고한 바 있다. 최근 보조제를 첨가한 불활화백신이 일반 농가에 보급되면서 폐렴 발생을 감소시켰다고 보고된 바 있다(Schatzmann 등 1996). 본 조사에서의 백신접종에 따른 효능 비교에서, 경화소 발생율은 백신접종군이 70.4%의 발생율을 보인데 비해 비접종군이 81.6%의 발생율을 보여 백신접종 효과가 나타났으며, 특히 폐장 경화소의 분포율은 백신접종군이 4.7%로 7.3%의 병변분포율을 보인 비접종군보다 유의성있게 감소하였다. MPS의 특징적인 병리조직소견인 기관지, 세기관지 및 혈관주위성 림프구계열 세포의 침윤을 기준으로 한 비교에서 백신접종군에서 평균 3.0점의 병변점수를 보인 반면 비접종군은 평균 3.3점의 병변점수로 조금 높게 나타났다. 4점 수준의 가장 심한 병변은 117두(54.7%)에서 관찰되었으며 그 중 백신접종군에서는 105두 중 49두(46.7%), 비접종군에서는 109두 중 68두(62.4%)였다. 백신접종시 기관지와 세기관지 주위성 및 혈관주위성의 림프구계열 세포의 증식이 억제된 것으로 나타났다.

제주지역 도축돼지에서 *Mycoplasma hyopneumoniae*에 의해 발생하는 폐장의 경화소 발생율은 76.1%, *Mycoplasma hyopneumoniae*에 대한 폐장의 면역조직화학적 검사에서의 항원 양성율은 81.3%, ELISA를 이용한 혈청항체검사에서의 항체 양성율은 72%로 다른 지역과 유사하게 발생하고 있었다. *Mycoplasma hyopneumoniae*는 제주지역에서 발생하는 돼지의 호흡기 질병의 주요 원인체로 나타났으며, 백신접종을 통해 돼지 마이코플라즈마 폐렴의 발생을 어느 정도 예방할 수 있었다. 이는 제주지역의 양돈산업에 많은 경제적 손실을 일으키는 돼지 마이코플라즈마 폐렴과 돼지 호흡기복합증후군에 대한 예방 관리에 기초 자료로 활용될 것으로 기대된다.

## V. 결 론

도축돼지에서 폐장 경화소의 발생을, 폐렴병변에서 *Mycoplasma hyopneumoniae*에 대한 분포 및 백신접종에 따른 효능을 조사하고자 도내 5개 농장의 214두를 대상으로 폐장의 병리학적 검사, *Mycoplasma hyopneumoniae*에 대한 면역조직화학적 항원검사 및 혈청항체검사를 수행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 제주지역 도축돼지에서 마이코플라즈마 폐렴의 주요 병변인 경화소 발생율은 214두 중 76.1%인 163두에서 관찰되었고 경화소 분포율은 평균 6.0%였다.
2. 백신접종을 하지 않은 농가는 평균 7.3%의 폐장 경화소 분포율을 보인 반면, 백신접종을 한 농가는 평균 4.7%의 분포율을 보여 유의성있게 감소하였다( $P < 0.05$ ).
3. 전복측 폐엽에 대한 병리조직검사에서 폐렴 소견은 214두 중 89.7%인 192두에서 관찰되었으며, 그 중 기관지간질성 폐렴이 168두(78.5%)에서 관찰되었다.
4. 면역조직화학적 검사에서 214두 중 81.3%인 174두에서 양성 반응을 보였다.
5. ELISA에 의한 항체검사 결과, 214두 중 72%인 154두가 양성이었다.

제주지역의 도축돼지에서 *Mycoplasma hyopneumoniae* 감염을 및 이로 인한 폐렴 발생율이 높은 것으로 나타났다. 백신접종을 통해 돼지 마이코플라즈마 폐렴의 주요 병변인 폐장의 전복측부 경화소의 발생을 어느 정도 예방할 수 있었다. 이는 제주지역에서 돼지 마이코플라즈마 폐렴과 돼지 호흡기복합증후군의 예방 관리에 기초 자료로 활용될 것으로 기대된다.

## Legends for Figures

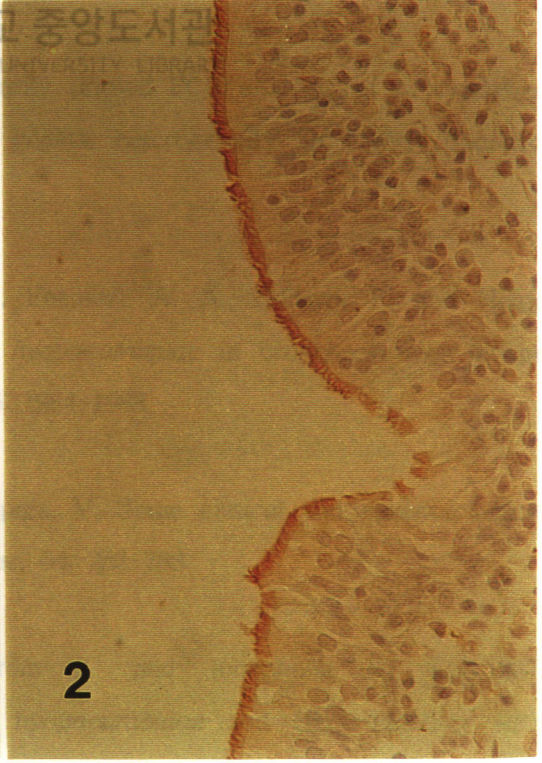
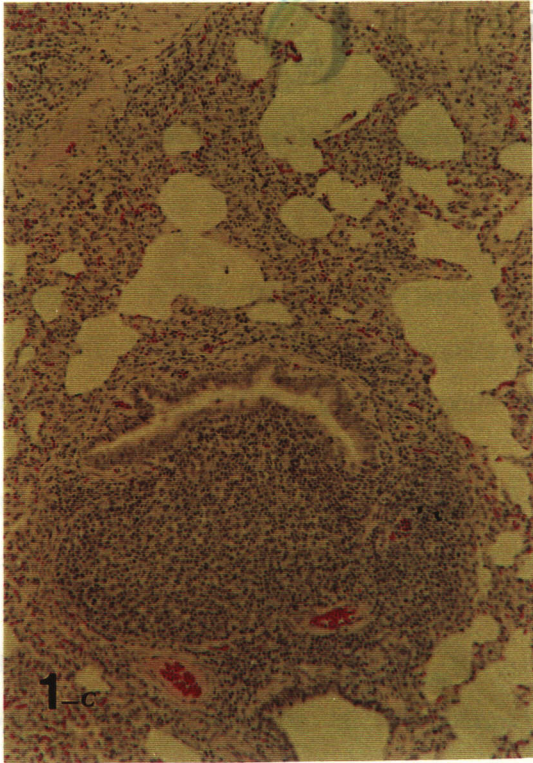
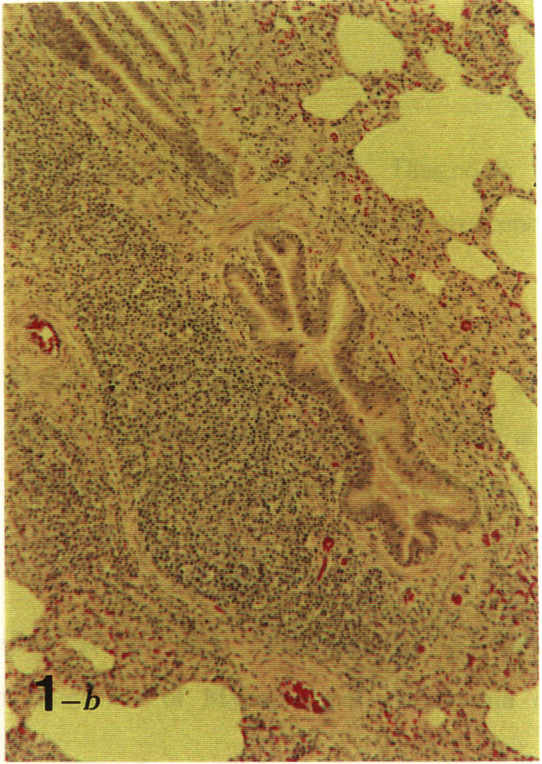
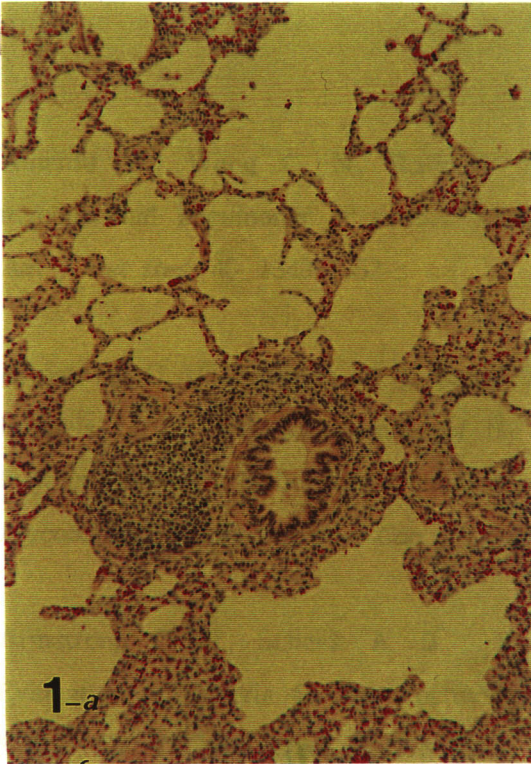
Figure 1-a. Mild lymphoid cell hyperplasia in mucosa and peribronchial area(Grade 1). HE stain, ×100

Figure 1-b. Moderate hyperplasia of peribronchial lymphoid nodule with mild invasion toward muscularis mucosa(Grade 2). HE stain, ×100

Figure 1-c. Severe hyperplasia of peribronchial lymphoid nodule with obliteration of a bronchiole(Grade 3). HE stain, ×100

Figure 2. A bronchiole of pig, showing positive reaction for *Mycoplasma hyopneumoniae* on the microvilli of epithelium. ABC stain, ×400





## VI. 참고문헌

Amanfu W., Weng C. N., Ross R. F. and Barnes H. J., 1984. Diagnosis of mycoplasmal pneumonia of swine. Sequential study by direct immunofluorescence. *Am J Vet Res*, 45: 1349-1352 .

Armstrong C. H., Freeman M. J., Sands-Freeman L., Ropez-Osuna M., Young T. and Runnels L. J., 1983. Comparison of the Enzyme-linked Immunosorbent Assay and Indirect Hemagglutination and Complement Fixation Tests for Detecting Antibodies to *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Can J Comp Med*, 47: 464-470.

Armstrong C. H., Scheidt A. B., Runnels H. L. and Freeman M. J., 1984. Evaluation of Criteria for the Postmortem Diagnosis of Mycoplasmal Pneumonia of Swine. *Can J Comp Med*, 48: 278-281.

Artushin S. and Minion F., 1996. Arbitrarily primed PCR analysis of *Mycoplasma hyopneumoniae* field isolates demonstrates genetic heterogeneity. In *J Syst Bacteriol* 46: 324-328.

Baumeister A. K., Runge M., Ganter M., Feenstra A. A., Delbeck F. and Helga Kirchhoff, 1998. Detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* in bronchoalveolar lavage fluids of pigs by PCR. *J Clin Microbiol* 36: 1984-1988.

Betts A. O., 1952. Respiratory disease of pigs, V. Some clinical and epidemiological aspects of virus pneumonia of pigs. *Vet Rec*, 64; 283-288.

Bolske G., Strandberg M. L., Bergstrom K. and Johansson K. E., 1987. Species-specific antigens of *Mycoplasma hyopneumoniae* and cross-reaction with

other porcine mycoplasma, *Curr Microbiol*, 15: 233-239, 1987.

Doster A R. and Lin B. C., 1988. Identification of *Mycoplasma hyopneumoniae* in formalin-fixed porcine lung, using an indirect immunoperoxidase method. *Am J Vet Res*, 49(1): 1719-1721.

Freeman M. J. 1984. Serological cross-reactivity of porcine reference antisera to *Mycoplasma hyopneumoniae*, *M. flocculare*, *M. hyorhinis* and *M. hyosynoviae* indicated by the Enzyme-linked Immunosorbent Assay, Complement fixation and indirect hemagglutination tests *Can J Comp Med*, 48; 202-207.

Goodwin R. F. W., Pomeroy A. P. and Whittlestone P., 1965. Production of enzootic pneumonia in pigs with a mycoplasma. *Vet Rec*, 77: 1247-1249.

Goodwin R. F. W., Pomeroy A. P. and Whittlestone P., 1967. The detection of enzootic pneumonia of pigs. *Vet Rec*, 116: 690-694.

Goodwin R. F. W., 1971. The economics of enzootic pneumonia. *Vet Rec*, 89; 77-81.

Gulajani T. S. and Beveridge W. I. B., 1951 Studies on respiratory diseases of pigs, IV. Transmission of infectious pneumonia and its differentiation from swine influenza. *J Comp Pathol*, 61; 118-139.

Halbur P. G., 1996. Changing trends in the porcine respiratory disease complex. In Proc. 96 Pork Summit, Tempe, Ariz, 2-5 May: 76-80.

Halbur P. G., Paul P. S. and Janke B. H., 1993. Viral contributors to the porcine respiratory disease complex. *Proc Am Assoc Sw Pract* 24: 343-350.



Jubb K. V. F., Kennedy P. C. and Nigel Palmer., 1993. Respiratory system. Pathology of domestic animals 4th. Vol. 2, Chap. 6: 539-699.

Kristensen B., Nicolet J., Wanner M. and de Weck A. L., 1981. Cell-mediated and humoral immune response in swine after vaccination and natural infection with *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Am J Vet Res*, 42(5): 784-788.

Kwon D. and Chae C., 1999. Detection and localization of *Mycoplasma hyopneumoniae* DNA in lungs from naturally infected pigs by In Situ Hybridization using a Digoxigenin-labeled probe. *Vet. Pathol.* 36: 308-313.

Leman A. D., Straw B. E. and Mengeling W. L., 1992. Respiratory system, Disease of swine 7th edition, Chap. 7; 138-162.

Livingston C. W., Stair E. L., Underdahl N. R. and Mebus C. A., 1972. Pathogenesis of Mycoplasmal Pneumonia in Swine. *Am J Vet. Res.*, 33(11): 2249-2258.

Lloyd L. C., Badman R. J., Ethfridge J. R., McKfchnif K. and Iyer H., 1984. Assessment of a complement fixation test to detect *Mycoplasma hyopneumoniae* infection in pigs. *Aust Vet J*, 61(7): 216-218.

Mare C. J. and Switzer W P., 1965. New species: *Mycoplasma hyopneumoniae*, a causative agent of virus pig pneumonia. *Vet Med*. 60: 841-846.

McKean S. and Ross R. F., 1972. Evaluation of diagnostic procedure for detection of mycoplasmal pneumonia of swine. *JAVMA*, 174: 177-180.

Morrison R. B., Pijoan C., Hilley H. D. and Rapp V., 1985. Microorganisms associated with pneumonia in slaughter weight swine. *Can J Comp Med*, 49: 129-137.

Osborne A. D. , Saunders J. R. and K-Sebunya T., 1981. An abattoir survey of the incidence of pneumonia in Saskatchewan swine and an investigation of the microbiology of affected lungs. *Can. Vet.*, 22: 82-85.

Piffer I. A. and Ross R. F., 1984. Effect of age on susceptibility of pigs to *Mycoplasma hyopneumoniae pneumoniae* *Am J Vet Res*, 45(3): 478-481.

Piffer I. A., Young T. F., Ademir Petenate and Ross R. F., 1984. Comparison of Complement Fixation Test and Enzyme-linked Immunosorbent Assay for detection of early infection with *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Am J Vet Res*, 45: 1122-1126.

Pointon A. M. and Sloane M, 1984. An abattoir survey of the prevalence of lesions of enzootic pneumonia of pigs in south Australia. *Aust Vet J*, 58; 16-17.

Pointon A. M., Davies P., Bahnson P., Dial G. and Marsh W., 1996. Slaughter inspection procedures manual, Unniversity of Minnesota.

Pullar E. M., 1948. Infectious pneumonia of pigs, I. General description, differential diagnosis and epidemiology. *Aust Vet J*, 24, 320-330.

Ross R. F. and Whittlestone P., 1983. Recovery of, identification of and serological response to porcine mycoplasmas. In *Methods of Mycoplasmaology* 2: Ed. J. G. Tully and S. Razin. New York: Academic Press.

Ross R. F., Barbara Zimmermann-Erickson J. and Young T. F., 1984. Characteristics of protective activity of *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccine. *Am J Vet Res*, 45(10): 1899-1905.

Schatzmann E, Keller H., Grest P., Lorenz D. and Burri W., 1996. Field study with a vaccine against enzootic pneumonia of swine. *Schweiz Arch Tierheilkd*, 138(10): 483-489.

Sheldrake R. F., Gardner I. A., Saunders M. M. and Romalis L. F., 1990. Serum antibody response to *Mycoplasma hyopneumoniae* measured by enzyme-linked immunosorbent assay after experimental and natural infection of pigs. *Am. Vet. J*, 67(2): 39-42.

Sorensen V., Barford K. and Feld N. C., 1992. Evaluation of a monoclonal blocking ELISA and IHA for *Mycoplasma hyopneumoniae* in SPF-pig herds. *Vet Rec*, 130; 488-490.

Straw B. E., Tuovinen V. E. and Bigras-Poulin M., 1989. Estimation of the cost of pneumonia in swine herds. *JAVMA*, 195(12): 1702-1706.

Tajima M. and Yagihashi T., 1982. Interaction of *Mycoplasma hyopneumoniae* with the Porcine Respiratory Epithelium as observed by Electron microscopy. *Infection and immunity* 1162-1169.

Tajima M., Yagihashi T. and Nunoya T., 1984. Ultrastructure of mycoplasmal capsules as revealed by stabilization with antiserum and staining with Ruthenium Red. *Nippon Institute for Biological Science*, 217-223.

Young T. F. and Ross R. F., 1987. Assessment of antibody response of swine infected with *Mycoplasma hyopneumoniae* by immunoblotting. *Am J Vet Res*, 48(4): 651-656.

류영수, 박최규, 김로미, 이창희, 최상호, 김승일, 배종희. 1997. 제주지역에 대한 돼지·주

요 전염병의 혈청학적 역학조사. 대한수의학회지, 37(4): 765-772.

박용복, 임창형, 이준섭. 1977. 도축장에서 폐충성 폐렴과 마이코플라즈마 폐렴의 병리조직학적 비교. 서울대학교 수의대 논문집, 2(2): 43-54.

이석규, 한정희, 김준영, 김현주. 1998. 양돈장의 사양 및 위생관리에 따른 출하돈에서의 폐렴발생. 대한수의학회지, 38(4): 751-755.

이유경, 강문일, 고흥범, 이채용. 1995. *Mycoplasma hyopneumoniae*에 의한 돼지 폐렴의 免疫細胞化學的 研究. 한국수의공중보건학회지, 19(1): 89-102.

조광현, 최정수, 김봉환. 1999. 영남지방 도축돈의 *Mycoplasma* 폐렴조사 및 분리균에 대한 약제 감수성. 대한수의학회지, 39(1): 96-103.

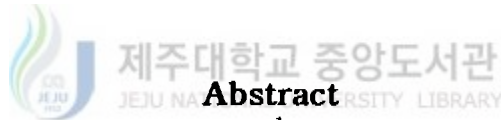


**Immunohistochemical prevalence of  
*Mycoplasma hyopneumoniae* in pneumonic  
lungs of slaughtered pigs in Cheju**

**Seung-il, Kim**

**Department of Veterinary Medicine  
Graduate School, Cheju National University  
Cheju, Korea**

**(Advised by professor Jong-hee Bae)**



**Abstract**

Enzootic pneumonia caused by *Mycoplasma hyopneumoniae* is responsible for major economic losses in pig herds world wide. *Mycoplasma hyopneumoniae* can also act as a primary agent of porcine respiratory disease complex followed by bacterial or viral infection. This study was carried out to investigate the prevalence of mycoplasmal pneumonia of slaughter pigs in Cheju for two years (1998-1999). The lungs and sera of 214 cases were examined for gross and microscopic lesions, indirect immunoperoxidase test for *Mycoplasma hyopneumoniae* detection and ELISA for antibody titer.

Pulmonary consolidation was observed in the lungs of 163 pigs (76.1%) with average gross lesion score of 6.0%. Bronchointerstitial pneumonia was most frequently (78.5%) observed. The incidence of pulmonary consolidation decreased in

vaccinated pigs compared to non-vaccinated pigs. The rate of consolidation also decreased significantly ( $P < 0.05$ ) in the vaccinated pigs. *Mycoplasma hyopneumoniae* was identified by immunoperoxidase test in lungs of 174 pigs (81.3%). ELISA antibodies to *Mycoplasma hyopneumoniae* were detected in 154 pigs (72.0%).

It was showed the prevalence of swine pneumonia and the incidence of *Mycoplasma hyopneumoniae* in slaughtered pigs of Cheju. We expect that this results would be helpful for control of swine mycoplasmal pneumonia and porcine respiratory disease complex in Cheju.

Key point *Mycoplasma hyopneumoniae*, pneumonia, immunohistochemistry, ELISA, vaccine.



## 감사의 글

이 논문이 쓰여지기까지 언제나 깊은 사랑과 격려를 주신 배종희 교수님께 진심으로 감사할 드리며 논문을 정성껏 심사해 주신 이두식 교수님과 우호춘 교수님께 감사드립니다. 아울러 양기천 교수님, 김승호 교수님, 김희석 교수님, 신태균 교수님, 임윤규 교수님, 이경갑 교수님, 박전홍 교수님, 정종태 교수님, 위명복 교수님, 이영재 교수님의 가르침에 감사할 드립니다.

논문을 쓰는 과정에 많은 도움과 조언을 주신 측산진흥원 김우택 선생님과 은주누나, 국립수의과학검역원 김재훈 선생님, 박취규 선생님과 창희형, 태선이형에게도 감사드립니다. 또한 같은 실험실에서 동고동락한 병선이형, 성현, 용철, 현수, 나연이와 정수, 형석, 문성, 영성에게도 따듯한 정을 전합니다. 그리고 논문을 쓸 수 있도록 많은 배려와 도움을 주신 제주농업시험장의 고서봉 과장님, 고문석 연구관님, 오운용 연구관님, 강승물, 이종언, 이성수 연구사님과 성룡이형, 영철이를 비롯한 모든 시험장 식구들에게 고마움을 느낍니다.

끝으로 언제나 마음 깊이 사랑으로 살아계신 부모님께 너무나도 감사드리며 언제나 곁에서 나를 사랑하고 걱정해주시는 누님과 매형, 동생 승남과 인숙, 그리고 조카 동욱이와 도연이 그리고 다정한 연인 미성에게 진심으로 사랑과 감사의 마음을 드립니다.