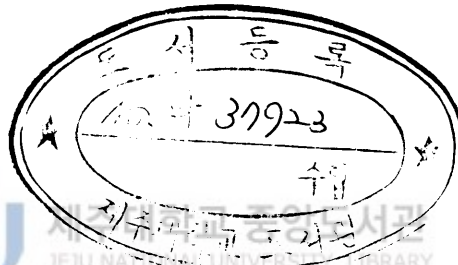


H
f28.3
7P332

碩士學位論文

제주지역 돼지 폐렴병소에서 분리한
Actinobacillus pleuropneumoniae 의
생물화학적 특성 및 혈청형에 관한 연구



濟州大學校 大學院

獸醫學科

金 珠 雅

1998年 12月

제주지역 돼지 폐렴병소에서 분리한
*Actinobacillus pleuropneumoniae*의
생물화학적 특성 및 혈청형에 관한 연구

指導教授 李 斗 植

金 珠 雅

이 論文을 獸醫學 碩士學位 論文으로 提出함



金珠雅의 獸醫學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長 _____ (인)

委 員 _____ (인)

委 員 _____ (인)

濟州大學校 大學院

1998年 12月

**Studies on biochemical characteristics and
serotypes of *Actinobacillus
pleuropneumoniae* isolated from pneumonic
lungs of swine
in Che-ju**

Ju-Ah Kim

(Supervised by professor Du-Sik Lee)



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF MASTER
VETERINARY MEDICINE**

**DEPARTMENT OF VETERINARY MEDICINE
GRADUATE SCHOOL
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY**

1998. 12.

목 차

Summary	ii
I. 서론	1
II. 재료 및 방법	3
III. 결과	6
IV. 고찰	12
V. 결론	15
VI. 참고 문헌	16

Summary

The present study was conducted to investigate the incident *Actinobacillus pleuropneumoniae* infection in the pneumonic lung slaughter pigs from July 1996 to June 1997 and to examine biochemical and cultural properties, the antimicrobial susceptibility serotypes of the isolates.

The biochemical and cultural properties of *A. pleuropneumoniae* from the pneumonic lungs of swine were identical to those of reference strains used.

Twenty-four(8.1%) strains of *A. pleuropneumoniae* were isolated from 298 pneumonic lungs of slaughter pigs.

The majority of isolates were highly susceptible to ampicillin, cephalotin, oxacillin and moderately susceptible to cefazolin, gentamicin, kanamycin, chloramphenicol, although the majority of them were resistant to neomycin, streptomycin, erythromycin, lincomycin, and sulfamethoxazole.

Of the 24 *A. pleuropneumoniae* isolates, 12(50.0%) were serotype 1, 11(45.8%) were serotype 2 and 1(4.2%) was serotype 7.

Key words: *Actinobacillus pleuropneumoniae*, biochemical properties, serotype

I. 서 론

*Actinobacillus pleuropneumoniae*는 급성 및 만성 경과를 취하는 돼지 막폐렴의 원인균으로 혐기성 혐기성 흉막염은 출혈성 괴사성 병변을 동반한다. 병의 발생에는 여러 가지의 인자가 관여 하지만 어느 인자가 발병에 주요한 인자인지는 확실하지 않다. 그러나 협막의 다당질 리포다당류 이열성 용혈소와 세포독소가 주된 병원 인자로 간주되고 있다 (Bendixen 등, 1981 ; Fenwick 등, 1986 ; Inzanz 등, 1988 ; Kamp 1989 ; Udeze 등, 1987 ; Inzana 등, 1991).

이 병은 호흡기전염병으로써 감염원은 환경이 불량하거나 밀집사육 상태에서 흔히 발병되며 폐사를 비롯한 발육지연과 사료효율의 저하를 가져와 양돈업에 많은 경제적인 손실을 주는 질병이다(Nielsen 등, 1977 ; Rogers 등, 1990 ; Schiefer와 Greenfield, 1974 ; Schiefer 등, 1974 Schultz 등, 1982 ; Veary, 1989).

*A. pleuropneumoniae*는 그람음성의 다형태성 단간균으로 종종 쌍은 연쇄를 취하는 통성 혐기성균이며, 혈액배지에 증식시 혈액에 포함되어 있는 nicotinamide adenine dinucleotide(NAD 또는 V factor)를 요한다. 소혈액배지에서 용혈성은 *Staphylococcus aureus*와 협동작용으로 CAMP-test 양성을 나타낸다(Nicolet 등, 1968a ; Nicolet 등, 1981b). 협을 갖는 균은 M집락을 형성하며 이들은 빠르게 S집락 또는 협막을 잃은 R집락을 형성한다. *A. pleuropneumoniae*의 혈청형은 협막 polysaccharide와 lipopolysaccharide의 성상에 따라 1~12형으로 나누 (Mittal 등, 1992 ; Komal 과 Mittal, 1990), Nielsen(1987)은 혈청형 5 다시 subtype 5a 및 5b로 세분하였다. 국내에서는 2, 3, 4, 5, 7, 10, 및

12형이 보고되고 있다(정, 1993 ; 박 등, 1985 ; 예 와 서, 1989). 이 균은 돼지의 호흡기에 제 일차 감염균으로 작용하며, 한 동물당 $10^4 \sim 10^5$ 의 균을 정맥내로 감염시 폐사되었으며 이러한 높은 용량은 빠른 독성을 갖기 때문이다. 그러나 10^3 균량을 정맥내 주사시는 만성 감염 병 경과를 취한다(Joachim, 1987).

본 질병은 세계적으로 발생하고 있으며(박 과 임, 1979 ; 예 와 서, 1981 ; 이 등, 1984 ; 박 등, 1986 ; 심 등, 1994 ; 조, 1994), 국내에서는 1979년에 첫 보고가 있는 이래 전국적으로 발생보고가 있다. 박 등(1979)은 돼지의 폐렴병변으로부터 *H. parahaemolyticus*를 분리하였음 보고하였고, 이 등(1984)은 경북지방의 비육자돈의 폐렴에서 발생을 보고하였다. 박 등(1985)은 도축돈에서 균을 분리하여 혈청형 2, 3, 4 및 5임을 보고하였으며, 예 와 서(1981)는 경기지방의 분리주로 주로 혈청형 2와 5 임을 보고하였고, 정(1993)은 영남지방의 분리주를 혈청형 2, 5, 7, 10 및 12임을 보고하였다. 이 등(1997)과 박 등(1986)은 홍막폐렴 균의 면역원성을 조사하였다.

우리 나라의 양돈업은 전업화, 집약화, 자동화 등으로 괄목할 만한 성장을 이루었으나, 최근 수입완전개방에 따른 무한경쟁시대에 돌입하여 양돈업의 기반확보 및 경제적인 생산, 유통과 수출여건의 개선 등을 필요로 하고 있다. 따라서, 본 질병의 정확한 진단 및 적절한 예방을 위한 기초자료를 마련하고자 제주지역에서 사육되고 있는 돼지를 대상으로 홍막폐렴 발생 상황의 파악, *A. pleuropneumoniae*의 생화학적 성 및 항균제에 대한 감수성, 혈청형 등을 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시재료

1996년 7월부터 1997년 6월 사이에 제주지역 12개 양돈장에서 출하되는 비육돈중 육안적인 폐렴병변을 가진 도축돈 298두의 돼지 폐를 시험재료로 사용하였다.

2. *A. pleuropneumoniae*의 분리

1:25,000의 crystal violet, 1.6 IU/ml bacitracin, 0.1% β -nicotina adenine dinucleotide (NAD, Sigma)를 여과 멸균하여 혼합한 Tryptic agar(TSA, Difco)에 무균적으로 폐병변을 도말한 후 37℃, 5 ~ 10% CO₂에서 24 ~ 48시간 배양하여 1차적으로 그람음성 단간균을 분리하였다. 이렇게 분리한 균은 Tryptose blood agar base(Difco) 면양혈액을 7% 합한 혈액한천배지에 도말한 후 *Staphylococcus aureus* Cowan I을 획선 말하여 37℃, 5 ~ 10% CO₂에서 24 - 48시간 배양한 뒤 용혈성, 위성현상, Gram 염색성 및 균 형태를 통해 *A. pleuropneumoniae*로 추정되 균을 분리하여 5일 간격으로 계대하면서 실험에 사용하였다.

3. 공시균

공시한 가검물로부터 분리 동정한 *A. pleuropneumoniae* 24주와 수 과학연구소에서 분양받은 표준균주 1, 2, 5, 7, 12형의 5주를 각종 생화학적 정상시험, 혈청형 동정, 항균제 감수성시험에 공시하였다.

4. 생화학적 정상시험

*A. pleuropneumoniae*를 동정하기 위한 생화학적 정상시험 Cowan(1974), MacFaddin(1980), Kilian(1976), Isenberg(1977) 등의 방법에 따라 SBA에서의 hemolysis, TSA배지 SBA배지에서의 위성현상, CAMP test, ONPG test, Catalase test, 운동 시험, Urease test, Indole 반응시험, H₂S 생성시험, Nitrate 환원시험, 분해시험 등을 실시하였다.

5. 항균제 감수성시험

*A. pleuropneumoniae*에 대한 항균제 감수성 검사는 Bryant(1972)의 법에 준하여 Ampicillin(AM), Cephalotin(CF), Cefazolin(C), Erythromycin(EM), Gentamicin(GM), Kanamycin(KM), Lincomycin, Oxacillin(OX), Streptomycin(SM), Neomycin(N), Pencilli Chloramphenicol(CP), Sulfamethoxazole/Tremetoprim(SXT) 등 1 Sensi-disk(BBL)를 이용한 디스크확산법으로 실시하였다. Tryptic broth(0.1% NAD첨가)에 균을 접종하여 37℃, 24시간 배양한 뒤

Macfarland number 0.5에 맞게 혼탁도를 조정하여 Tryptic soy agar(0.1% NAD)에 0.5ml를 전면 도말한 후 sensi-disk를 심고 37℃, 5~10% CO₂ 24시간 배양하여 생긴 억제대의 직경으로 감수성 여부를 판정하였다.

6. *A. pleuropneumoniae*의 serotype 등정

*A. pleuropneumoniae*의 혈청형 2, 5, 7에 대한 가토면역혈청 Gunnarsson 등(1977), Mittal 등(1989), 정 (1993)의 방법에 준하여 제조였다. TSA(NAD첨가)배지에서 37℃, 5~10% CO₂ 18시간 배양한 표준균주를 0.3%(v/v) formol-saline으로 집균하여 실온에 2일 방치한 뒤, 2원심 수세하여 현탁액을 항원으로 사용하였다. 혈청형 등정은 Mittal 등(1983) 과 정(1993)의 방법에 따라 coagglutination test로 혈청형을 동하였다. Staphylococcal coagglutination reagent의 제조과정은 다음과 같 *Staphylococcus aureus* Cowan I을 TSA배지에 접종하여 37℃에서 18시간 배양하였다. 이를 PBS로 집균하여 2회 원심 수세한 후, 0.5% formalin이 첨가된 PBS에 부유시켜 실온에서 3시간 방치하였다. 이것을 다시 원심 수세하여 10%(v/v) cell suspension으로 조정하여 80℃ 항원수조 5분간 방치하였다. 이 staphylococcal suspension 1ml와 serotype specific antiserum 0.025ml를 혼합하여 실온에 30분 방치한 후, 원심 수세하여 19%(v/v) cell suspension으로 조정한 것을 사용하였다. 깨끗한 slide glass에 각 serotype별로 staphylococcal coagglutination reagent 0.03 ml를 하고, 신선배양균을 백금선으로 채균하여 slide glass에서 reagent와 혼합하여 응집여부를 판독하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 도축돈의 폐병변으로부터 *A. pleuropneumoniae* 분리

1996년 7월부터 1997년 6월 사이에 제주지역 12개 양돈장에서 출하되는 비육돈을 대상으로 육안적인 폐렴병변을 가진 298두의 폐에서 균 분리를 실시한 결과 Table 1과 같다. 12개 농장 중 9개 농장에서 균이 분리되었으며, 폐렴병변이 있는 총 298두의 도축돈 중 24두(8.1%)에서 분리되었다.

Table 1. The isolation frequency of *A. pleuropneumoniae* from 298 slaughter pigs with pneumonic lungs.

Farm	No. of pigs	No. of <i>A. pleuropneumoniae</i> isolated (%)
A	21	2(9.5)
B	58	5(8.6)
C	12	0(0.0)
D	21	0(0.0)
E	40	2(5.0)
F	20	0(0.0)
G	21	4(19.0)
H	20	2(15.0)
I	20	1(5.0)
J	21	3(14.3)
K	24	2(8.3)
L	20	2(10.0)
Total	298	24(8.1)

Table 2. Seasonal isolation frequency of *A. pleuropneumoniae* from 298 slaughter pigs with pneumonic lungs.

Season	No. of lungs	No. of <i>A. pleuropneumoniae</i> isolated (%)
Spring	61	7(11.5)
Summer	65	3(4.6)
Fall	91	5(5.5)
Winter	81	9(11.1)
Total	298	24(8.1)

2. *A. pleuropneumoniae* 의 계절적 분리율

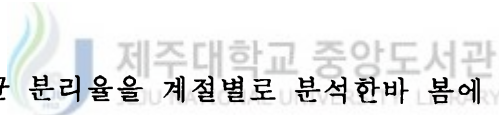

 흉막폐렴의 균 분리율을 계절별로 분석한바 봄에 7두(11.5%), 겨울에 9두(11.1%)로 가을 5두(5.5%), 여름 3두(4.6%)에 비해 분리율이 높게 나타났다.

Table 3. Biochemical and cultural properties of 5 reference strains and 24 isolates of *A. pleuropneumoniae* isolated from pigs.

Properties	No. of positive isolates (%)	NO. of reference isolates (%)
Hemolysis(Sheep blood)	24(100)	5(100)
Satellitism in TSA	24(100)	5(100)
Satellitism in SBA	24(100)	5(100)
CAMP reaction(Sheep blood)	24(100)	5(100)
ONPG test	24(100)	5(100)
Catalase	5(20.8)	0(0)
Indole production	0(0)	0(0)
Urease production	24(100)	5(100)
H ₂ S production	24(100)	5(100)
Nitrate reduction	24(100)	5(100)
Motility	0(0)	0(0)

3. *A. pleuropneumoniae* 의 생화학적 성상

제주지역의 도축돈에서 분리한 24주의 *A. pleuropneumoniae*와 표준균주 5주에 대한 생화학적 성상시험 결과는 Table 3에 있는 바와 같다. SBA배지에서의 β -hemolysis, TSA배지와 SBA배지에서의 위성현상 ONPG 시험, urease 생성시험, H₂O 생성시험, Nitrate 환원시험에서 모든 균주가 양성반응을 나타냈으며 Indole 생성시험 및 운동성 시험에서는 모두 음성반응을 보였다. 한편 Catalase 생성시험에서는 표준균주 5주 모두 양성반응을 보였으나 분리균주에서는 5주(20.8%)만이 양성반응을 보였다.

Table 4. Carbohydrate fermentation of 5 reference strains and 24 isolates of *A. pleuropneumoniae* isolated from pigs.

Fermentable substrates	No. of positive isolates (%)	No. of positive reference strains (%)
Dulcitol	0(0)	0(0)
Fructose	24(100)	5(100)
Glucose	24(100)	5(100)
Inositol	2(2.0)	0(0)
Inulin	1(1.0)	0(0)
Lactose	11(45.8)	2(40)
Maltose	20(83.3)	5(100)
Mannitol	18(75.0)	5(100)
Raffinose	8(33.3)	3(60)
Rhamnose	24(100)	5(100)
Sorbitol	7(29.2)	0(0)
Sucrose	24(100)	5(100)
Trehalose	0(0)	0(0)
Xylose	24(100)	5(100)

당분해시험(Table 4)에서는 분리균주와 표준균주 모두 fructose, glucose, rhamnose, sucrose, xylose에서 양성반응을 보였으며, dulcitol, trehalose에서는 모든 균주가 음성을 나타내었다. 그러나 maltose, mannitol에서는 표준균주 모두 양성인 반면 분리균주는 각각 83.3%, 75.0%의 양성반응을 보였으며, inositol, inulin, sorbitol에서는 표준균주 모두 음성인 반면 분리균주 모두 음성인 반면 분리균주는 각각 2%, 1%, 7%의 양성반응을 보였다.

Table 5. Susceptibility of isolates of *A. pleuropneumoniae* to various antimicrobial drugs.

Antimicrobial drugs	No. of susceptible <i>A. pleuropneumoniae</i> (%) (n=24)
Ampicillin	18(75.0)
Cephalotin	22(91.6)
Cefazolin	12(50.0)
Erythromycin	5(20.8)
Gentamicin	11(45.8)
Kanamycin	12(50.0)
Lincomycin	0(0.0)
Oxacillin	18(75.0)
Streptomycin	7(29.2)
Neomycin	4(16.7)
Penicillin	15(62.5)
Chloramphenicol	14(58.3)
Sulfamethoxazole, Tremetoprim	0(0.0)

4. *A. pleuropneumoniae* 의 항균제 감수성 조사

분리균 24주에 대한 13종의 항균제 감수성 조사결과는 Table 5에서 보는 바와 같이 Ampicillin(75.0%), Cephalotin(91.6%), Oxacillin(75.0%)에 높은 감수성을 나타냈으며, Cefazolin(50.0%), Gentamicin(45.8%) Kanamycin(50.0%), Penicillin(62.5%), Chloramphenicol(58.3%)에도 중등도의 감수성을 나타내었다. 그러나 Erythromycin(20.0%), Streptomycin(29.2%), Neomycin(16.7%)에 비교적 저항성을 나타냈으며, Lincomycin(0.0%), Sulfamethoxazole(0.0%)에는 완전히 내성을 나타냈다.

Table 6. Serotypes of *A. pleuropneumoniae* isolated from pigs in Cheju.

Herds	Serotypes of <i>A. pleuropneumoniae</i>		
	type 2	type 5	type 7
A	0/2	2/2	0/2
B	3/5	1/5	1/5
E	2/2	0/2	0/2
G	2/4	2/4	0/4
H	1/3	2/3	0/3
I	1/1	0/1	0/1
J	1/3	2/3	0/3
K	1/2	1/2	0/2
Total(%)	11/24(45.8)	12/24(50.0)	1/24(4.2)

5. *A. pleuropneumoniae* 의 혈청형

Coagglutination test에 의한 *A. pleuropneumoniae*의 혈청형 동정시 결과는 Table 6에 나타난 바와 같이 혈청형 5형이 12두(50.0%), 2형이 11두(45.8%), 그리고 7형이 1두(4.2%)로 나타났다.

IV. 고 찰

*A. pleuropneumoniae*는 출혈성 괴사성 섬유소성 흉막폐렴이 특징인 돼지 흉막폐렴의 원인체로 급성 및 만성 호흡기질환을 일으키며 환기 불량 기후급변 갑작스런 환경변화 등의 스트레스가 가해져 저항력이 저하되었을 때 발병하여 폐사를 비롯한 성장지연과 사료효율 저하로 인해 양돈업에 많은 경제적 손실을 초래한다(Brandreth 와 Smith, 1985 ; Hommez 등, 1990 ; Lombin 등, 1982 ; Mittal 등, 1992 ; Saunders 등, 1981).

국내에서는 박 등(1985)이 폐렴병소가 있는 도축돈 90두중 23두(26%)에서 *H. pleuropneumoniae*를 분리하였으며 예 와 서(1989)는 339두의 막폐렴 병소로부터 71주(20.9%)의 *H. pleuropneumoniae*를 분리 동정하고 양 등(1990)은 흉막폐렴 이환돈 48두에서 10주(20.8%)를 분리 보고하였다. 또한 정(1993)은 영남지방의 호흡기 증상을 보인 돼지 63두에서 17주(27%)를 분리하였고 육안적 폐렴병변을 가진 도축돈 330두의 폐렴병소에서 21두(6.4%)의 *A. pleuropneumoniae*를 분리하였으며 이 (1997)은 충남북부지역의 도축돈 3,995두 중 425두(10.6%)에서 흉막폐렴 소견을 관찰하고 그중 22주(5.2%)의 *A. pleuropneumoniae*를 분리 동정하였다.

제주지역 돼지를 대상으로 조사한 본 시험에서는 도축 출하되는 돼지 중 육안적으로 폐렴병변이 인정되는 도축돈 298두로부터 24두(8.1%)의 균이 분리되었다. 이런 결과는 박 등(1985), 예 와 서(1989), 양 등(1990)의 결과보다 분리율이 낮았지만, 정(1993), 이 등(1997)의 결과와는 비슷하였다. 이는 만성 흉막폐렴에서는 균 분리율이 아주 저조하다는 Gilbride 등(1989), Nicolet(1992), 정(1993)의 성적과 유사하였으며,

또 분리율은 사용한 분리배지에 따라 다소 차이가 난다고 보고하였다 (Little 과 Harding, 1971). 계절별 상황을 조사해본 결과 연중 발생이 있었으나 여름 가을에 비해 봄 겨울에 다소 높은 발생률을 보였다. 정 등은 경북지방에서의 계절별 발생 상황을 조사해본 결과 봄에 57.1%, 겨울에 33.3%, 가을에 12.5%, 여름에 8.7% 이었다. 제주와 경북지방의 계절별 발생률의 차이는 제주지역은 겨울에도 0℃ 이상을 보이는 아열대성 기후 때문으로 사료된다.

돼지폐렴병변으로부터 분리된 *A. pleuropneumoniae* 24주에 대한 생화학적 정상검사를 실시한 결과 면양적혈구에서의 용혈현상, TSA와 SBA에서의 위성현상, CAMP test, urease 생성시험, nitrate 환원시험, ONPG 시험, 유화수소 생성시험에서는 모두 양성을 나타낸 반면, indole 생성시험, 운동성 시험 등은 음성을 나타내었다. 당 분해시험은 fructose, glucose, rhamnose, sucrose 및 xylose에서는 분리균주의 90%이상 양성을 나타내었고, dulcitol, inositol, inulin, raffinose, sorbitol, trehalose에서는 90%이상 음성을 나타내어 Biberstein 등 (1977), Kilian 과 Biberstein(1984), 정 (1993) 및 이 등(1997)의 보고와 일치하였다.

분리된 *A. pleuropneumoniae* 24주에 대한 항균제 감수성 검사에서는 ampicillin, cephalotin, oxacillin에 대해서는 높은 감수성을 나타냈으며, cefazolin, gentamincin, kanamycin, penicillin, chloramphenicol 중등도의 감수성을 나타내었고, erythromycin, lincomycin, streptomycin, neomycin, sulfamethoxazole에 대하여서는 높은 저항성을 나타내었다. 항생제감수성검사에 대해서는 지금까지 외국에서는 Gutierrez 등 (1995), Libal 과 Gates (1982), Inoue 등(1984), Nadeau 등(1988) 및 Gilbride 등(1989)에 의하여, 국내에서는 예 와 서(1989), 박 등(1985), 양 등(1990), 정 (1993) 및 이 등(1997)에 의하여 조사되어 졌다. 그러나

항균제에 대한 분리균의 감수성은 지역과 사양환경에 따라 서로 다르게 나타났다. 지역에 관계없이 ampicillin, cephalotin, penicillin-G, mecillinam, tetracycline, colistin 및 chloramphenicol에 대해서는 대부분 높은 감수성을 나타내었으며, streptomycin, tylosin, spectinomycin, lincomycin, neomycin 및 sulfamerazine에 대해서는 강한 저항성을 나타내었다. 그러나 gentamycin, erythromycin, kanamycin 및 tylosin에 대해서는 지역마다 감수성이 다르게 나타났다. 이런 감수성의 차이는 사양환경과 지역에 따라 사용하는 항균제 종류가 다르기 때문에 내성균의 출현도 다르게 나타나는 것으로 사료되며, 이러한 내성균의 출현은 *A. pleuropneumoniae*의 R-plasmid에 의하여 중재된다고 하였다 (Gilbride 등, 1989), (Hirsh 등, 1982).

분리균에 대한 혈청형 동정은 coagglutination 시험법으로 실시한 결과 혈청형 2형 및 5형이 대부분을 차지하였으며 국내의 다른 지역과 같은 혈청형이 분포하고 있음이 밝혀졌다. 현재 본 균에는 1~12형의 혈청형이 있음이 알려져 있으며, 국내에서는 박 등(1985)이 2형, 3형, 4형, 및 5형, 예 와 서(1989)는 2형, 3형, 5형 및 7형, 정(1993)은 2형, 5형, 7형, 10형, 및 12형 그리고 이 등(1997)은 2형, 3형 및 5형의 혈청형을 동정 보고한 바 있다.

V. 결 론

1996년 7월부터 1997년 6월 사이에 제주지역 12개 양돈장에서 출하되는 비육돈 중 육안적인 폐렴병변을 가진 도축돈 298두의 폐를 시험재료로 사용하여 *A. pleuropneumoniae* 균 분리를 시도하였고, 분리균주의 생화학적 성상검사, 항균제 감수성 검사 및 혈청형을 조사하였다.

1. 육안적인 폐렴병변이 있는 도축돈 298두 중 24두(8.1%)에서 균이 분리되었으며, 계절별로는 봄 11.5%, 겨울 11.1%, 여름 4.6%, 가을 5.5%로 봄과 가을에서 여름과 가을보다 약간 분리율이 높았다.

2. 분리균에 대한 항균제 감수성 시험결과 ampicillin, cephalotin, oxacillin에 대하여 높은 감수성을, cefazolin, kanamycin, chloramphenicol, gentamycin, penicillin에 대하여는 중등도의 감수성을 보였다. 그러나 erythromycin, streptomycin, neomycin, lincomycin, sulfamethoxazole에는 내성을 나타내었다.

3. 분리된 *A. pleuropneumoniae* 24주에 대한 혈청형 동정 결과 serotype 2(50.0%), serotype 5(45.%), serotype 7(4.2%)로 나타나 혈청형 2와 5가 대부분을 차지했다.

VI. 참고 문헌

- Bendixen PH, Shewen PE, Rosendal S, et al. Toxicity of *Haemophilus pleuropneumoniae* for porcine lung macrophage peripheral blood monocytes, and testicular cells. *Infect Immun* 33(3):673-676, 1981.
- Biberstein EL, Gunnarsson A, Hurvell B. Cultural and biochemical criteria for the identification of *Haemophilus spp* from swine. *Am J Vet Res*, 38:7-10, 1977.
- Brandreth SR, Smith IM. Prevalence of pig herds affected by pleuropneumoniae associated with *Haemophilus pleuropneumoniae* in eastern England. *Vet Rec*, 117:143-147, 1985.
- Bryant MC. Antibiotics and their laboratory control. 2nd ed. *London Butterworth*, 34-65, 1972.
- Cowan ST. Manual for the identification of medical bacteria. *Cambridge Univ Press London*. 1974
- Fenwick BW, Osburn BI, Olander OJ, Isolation and biological characterization of two lipopolysaccharides and a capsular-enriched polysaccharide preparation from *Haemophilus pleuropneumoniae*. *Am J Vet Res* 47(7):1433-1441, 1986.
- Gilbride KA, Rosendal S, Brunton JL. Plasmid mediated antimicrobial resistance in Ontario isolates of *A. pleuropneumoniae*. *Can J Vet Res*, 53:38-42, 1989.
- Gunnarsson A, Biberstein EL, Hurvell B. Serologic studies on

- porcine strains of *Haemophilus pleuropneumoniae*: Agglutination reactions. *Am J Vet Res*, 38(8): 1111-1114, 1977.
- Gutierrez CB, Rodriguez BJI, Tascon RI, et al. Serologica characterisation and antimicrobial susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains isolated from pigs Spain. *Vet Rec*, 137:62-64, 1995.
- Hirsh DC, Martin LD, Libal MC. Plasmid-mediated antimicrobial resistance in *Haemophilus pleuropneumoniae*. *Am J Vet* 43(2):269-272, 1982.
- Hommez J, Devriese LA, Castryck F, et al. Slide precipitation: a simple method to type *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *V Microbiol*, 24:123-126, 1990.
- Inoue A, Yamamoto K, Hirano N, et al. Drug susceptibility of *Haemophilus pleuropneumoniae* strains isolated from pigs. *J Vet Sci*, 46(2):175-180, 1984.
- Inzana TJ, Todd J, Ma J, et al. Characterization of a non-hemolytic mutant of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 5: role the 110 kilodalton hemolysin in virulence and immunoprotection. *Microbial Pathogenesis*, 10(4):281-296, 1991.
- Inzana TZ, Ma J, Workman T, et al. Virulence properties and protective efficacy of the capsular polymer of *Haemophilus(Actinobacillus) pleuropneumoniae* serotype *Infect Immun*, 56(8):1880-1889, 1988.
- Isenberg HD. Microbiology Procedures Handbook. Vol I;1.19-1.20. ASM, 1992.

- Joachim Beer. Infektionskrankheiten der Haustiere. *VEB Gustav Fischer Verlag Jena*, Teil II:601-602, 1987.
- Kamp EM, Leengoed LAMG. Serotype-related difference in production and type of heat-labile hemolysin and heat-labile cytotoxin of *Actinobacillus(Haemophilus) pleuropneumonia* *Clin Microbiol*, 27(6):1187-1191, 1989.
- Kilian M, Biberstein EL. Bergey's manual of systemati bacteriology. Williams and Wilkins: Vol I:558-568. 1984.
- Kilian M. A taxonomic study of the genus *Haemophilus*, with th proposal of a new species. *J Gen Microbiol*, 93:9-62, 1976.
- Komal, J. P. S. and Mittal, K. R. Grouping of *A. pleuropneumoniae* strain of serotypes 1 through 12 on the basis of their virulence in mice. *Vet. Microbiol.*, 25:229-240, 1990.
- Libal MC, Gates CF. Antimicrobial sensitivity patterns o *Haemophilus pleuropneumoniae* isolates from pigs w pneumonia. *J Am Vet Med Assoc*, 180:399, 1982.
- Little TWA, Harding JDJ. The comparative pathogenicity of two porcine *Haemophilus species*. *Vet Res*, 88:540-545, 1971.
- Lombin LH, Rosendal S, Mitchell WR. Evaluation of the complement fixation test for the diagnosis of pleuropneumoniae of swin caused by *Haemophilus pleuropneumoniae*. *Can J Comp* 46:109-114, 1982.
- MacFaddin JF. Biochemical tests for identification of medica bacteria. 2nd ed. Williams and Wilkins, 1980
- Mittal KR, Higgins R, Lariviere S, et al. Serological characterizatio of *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains isolated from p

- in Quebec. *Vet Microbiol.*, 32:135-148, 1992.
- Mittal KR, Higgins R, Lariviere S. *Actinobacillus(Haemophilus)pleuropneumoniae* serotype-8 isolates and their antigen relationships with other *A. pleuropneumoniae* serotypes. *Am Vet Res*, 50(2):259-262, 1989.
- Mittal KR, Higgins R, Lariviere S. Identification and serotyping of *Haemophilus pleuropneumoniae* by coagglutination test. *J Microbiol*, 18(6):1351-1354, 1983.
- Nadeau M, Lariviere S, Higgins R, et al. Minimal inhibitory concentrations of antimicrobial agents against *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Can J Vet Res*, 52:315-318, 1988.
- Nicolet J, Klawinkler M, Baumgartner A. An enzyme-linked immunosorbent assay, using an EDTA-extracted antigen for the serology of *Haemophilus pleuropneumoniae*. *Am J Res*, 42(12):2139-2142, 1981b.
- Nicolet J. Sur l'hémophilose du porc. I. Identification d'un agent fréquent : *Haemophilus parahaemolyticus*. *Path Micro* 31:215-255, 1968a.
- Nicolet J. Disease of swine. 7th ed., Ames, IA, Iowa State University press : 401-408, 1992.
- Nielsen R, Mandrup M. Pleuropneumonia in swine caused by *Haemophilus parahaemolyticus*. A study of the epidemiology of the infection. *Nord Vet Med*, 29:465-473, 1977.
- Nielsen R. Serology of *Haemophilus(Actinobacillus) pleuropneumoniae* serotype 5 strains: Establishment of subtypes A and B. *Act Vet Scand*. 27:49-58, 1987.

- Rogers RJ, Eaves LE, Blackall PJ, et al. The comparative pathogenicity of serovars of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Aust Vet J*, 67:9-12, 1990.
- Saunders JR, Osborne AD, Sebunya TK. Pneumonia in Saskatchewan swine: Abattoir incidence of intrathoracic lesion in pigs from a herd infected with *Haemophilus pleuropneumoniae* and from other herds. *Can Vet* 22:244-247, 1981.
- Schiefer B, Greenfield J. Porcin *Haemophilus paraheolyti* pneumonia in Saskatchewan. II. Bacteriological and experimental studies. *Can J Comp Med*, 38(2):105-110, 1974.
- Schiefer B, Moffatt RE, Greenfield J, et al. Porcine *Haemophilus parahemolyticus* pneumonia in Saskatchewan. I. Natural occurrence and findings. *Can J Comp Med*, 38(2):99-104, 1974.
- Schultz RA, Young TF, Ross RF, et al. Prevalence of antibodies to *Haemophilus pleuropneumoniae* in Iowa swine. *Am J Vet* 43(10):1848-1851, 1982.
- Udeze FA, Latimer KS, Kadis S. Role of *Haemophilus pleuropneumoniae* lipopolysaccharide endotoxin in the pathogenesis of porcine *Haemophilus pleuropneumoniae*. *Am Vet Res*, 48(5):768-773, 1987.
- Veary CM. *Haemophilus pleuropneumoniae* in pigs: A review. *Afr Vet*, 60(1):56-61, 1989.
- 박웅복, 임창형. 양돈단지의 증식을 저하에 대한 병인학적 연구. 2. 병리학적 조사. 서울대학교 수의대 논문집. 4(2):93-105, 1979.
- 박정문, 김종엽, 변정옥, 김봉환. *Haemophilus pleuropneumoniae*

- 분리, 혈청형 및 항체조사. 농시논문집(축산,가위), 27(2):45-52, 1985.
- 박정문, 김종염, 조성근, 김봉환. 돼지흉막폐렴 유래 *Haemophilus pleuropneumoniae*의 면역원성에 관한 연구. 농시논문집 28(2):67-76, 1986.
- 심항섭, 우종태, 조현웅, 전무형. 돼지에서 *Actinobacillus pleuropneumoniae*의 혈청학적 진단법에 대한 비교연구. 한국가축위생학회지, 17(2):95-113, 1994.
- 양찬근, 김순재, 조성근. 돼지의 *Haemophilus* 감염증에 관한 조사연구 한국수의공중보건학회지, 14(1):21-33, 1990.
- 예재길, 서익수. 섬유소성 흉막폐렴균의 폐병변소로부터 분리한 *Haemophilus parahaemolyticus*에 관한 연구. 서울대학교 수의논문집. 6(1):41-57, 1981.
- 예재길, 서익수. 한국에서 돼지 *Haemophilus pleuropneumoniae* 감염에 관한 연구. 서울대학교 수의 논문집, 14(2):129-177, 1989.
- 이종훈, 안신욱, 정영재, 장경수, 전무형. 충남지역 도축돈의 폐병변으로부터 분리한 *Actinobacillus pleuropneumoniae*의 생물학적 및 역학적 특성. 한국가축위생학회지, 20(1):103-126, 1997.
- 이현범, 이근우, 박후열, 권오덕. 돼지흉막폐렴의 발생. 대한수의학회지. 24(1):99-104, 1984.
- 정병열. 돼지 폐렴병소에서 분리한 *Actinobacillus pleuropneumoniae* 생물화학적 특성 및 혈청형. 경북대학교 대학원, 1993.
- 조성근. 국내 분리 *Actinobacillus pleuropneumoniae*의 outer membrane protein의 면역원성. 서울대학교 대학원, 1994.

감사드립니다.

늘 감사의 마음을 가지고 있으면서도 말로는 그 마음을 전할 수 없었던 분들께 글로나마 감사의 뜻을 전합니다.

항상 변함없이 따뜻한 가르침으로 부족함을 채워주시고 이끌어 주신 이두식 교수님께 깊이 감사드립니다. 그리고 바쁘신 가운데도 지도를 아끼지 않으시고 격려해 주신 김희석 교수님, 우호춘 교수님, 임윤규 교수님, 배종희 교수님께도 감사드리며, 실험과정에 많은 도움을 주신 김승일 원우, 강병선 원우를 비롯하여 실험실 선배님, 후배들에게도 진심으로 감사드립니다.

직장생활을 하면서도 학문에 전념할 수 있도록 격려해주신 문유찬 과장님, 김창아 과장님, 김병학 계장님과 동료 여러분들의 도움에 감사드립니다.

끝으로, 언제나 아낌없는 사랑으로 후원해 주신 부모님, 언니, 형부, 사랑하는 동생들과 이 기쁨을 함께 나누고자 합니다.