韓國臨床獸醫學會誌 第3卷 第1號
J. Korean Soc. Vet. Clin. Med.
Vol. 3, No. 1, June, 1986.

屠畜豚에서의 *Haemophilus pleuropneumoniae* 感染에 關한 硏究

李 學 喆·兪 炳 三

嶺南大學校 農畜産大學 畜産學科

緖 論

最近 國內養豚産業이 急進的으로 發展됨에 따라 돼지의 飼育管理體系가 集團化 또는 多頭化되어 가고 있어 이에 따라 惹起되는 疾病의 類化 및 發生樣相도 크게 變化하게 이르렀으며, 그에 隨伴하여 特히 傳染性呼吸器疾患이 그 産業의 癌的存在가 될 程度로 크게 問題視되고 있다.

돼지의 Haemophilus(H.)感染症은 오늘날까지 傳染性呼吸器疾患중 養豚産業에서 重要視되는 主要疾患의 하나로 注目되고 있으며,[19,29,56,59] 病原學的으로 보아 本病은 *H. suis*, *H. parasuis*, *H. parainfluenzae* 및 *H. pleuropneumoniae*(*H. parahaemolyticus*) 등에 의하여 惹起되고[1,12,17,30,31,32,50] 또한 이들 原因菌은 종종 돼지의 呼吸器道에 常在하여 菌增殖을 容易하게 하는 要因이 內外로 作用되었을때 비로소 發病하는 경우가 많은 疾病으로 알려지고 있다.[3,15,36,57]

이와 같은 돼지 Haemophilus感染症의 病因에 있어서 過去에는 原因菌의 多樣함이 論議되었으나 最近에 돼지由來 Haemophilus屬菌에 대한 檢討가 進展되어 *H. parasuis*와 *H. pleuropneumoniae*가 主로 돼지에 病原性을 나타내는 것으로 크게 注目됨에 이르렀다.[4,22,23,34,36,44] 즉 이들중 *H. parasuis*는 從前에 輸送病이라 불리어온 Glässer病[12]의 主된 原因菌으로서 또한 *H. pleuropneumoniae*는 前者보다 病原性이 强하고, 높은 流行性과 致死性으로 舍內에 密飼되고 있는 肥育豚에 主로 纖維素性 胸膜肺炎과 肺의 梗塞性病變을 特徵으로 하는 呼吸器疾患의 原因이 되며 特히 *H. pleuropneumoniae*에 의한 胸膜肺炎의 發生이 最近에 이르러 歐美여러나라를 비롯하여 全世界的으로 報告되고 있을 뿐만 아니라 많은 硏究者들에 의하여 感染豚의 肺臟器에서 本病의 原因菌인 *H. pleuropneumoniae*가 많이 分離, 報告되고 있다.[5,6,25,33,40,41,43,44,45,52,53]

이러한 *H. pleuropneumoniae*에 의한 돼지 胸膜肺炎이 發生하는 疫學的趨勢를 볼때 우리나라에서도 그 被害가 甚히 憂慮되는 바, 最近에 이르러 1983年 Kang 등[20]이 처음으로 極히 少數例이나 全南地方의 豚血淸에 대하여 *H. pleuropneumoniae*에 대한 抗體檢出을 試圖한바 있고, 이어서 1985年 朴 등[60]이 서울을 비롯한 忠南, 全南地方의 屠殺豚을 對象으로 그 感染實態와 分離菌에 대한 微生物學的 性狀에 關하여 硏究, 報告하였다.

本 硏究에서는 大邱市 屠畜場에 搬入되는 慶北一圓의 肥育豚을 對象으로 하여 肺材料로 부터 *H. pleuropneumoniae*의 分離 同定을 試圖하는 한편 屠畜豚에 대한 *H. pleuropneumoniae*의 抗體分布調査 및 分離株에 대한 抗生物質 感受性試驗을 實施하였다.

材料 및 方法

試驗材料

供給豚 肺臟 : 大邱市屠畜場에서 1986年 7月 5日과 7月 15日의 2回에 걸쳐 屠殺된 生體重 85~130kg의 肥育豚을 對象으로 하여 1回째 80頭,

2回째 40頭 計 120頭의 肺臟을 供試하였다.

供試豚 血淸 : 上記屠畜場에서 1986年 4月 4日, 4月 11日의 2回에 걸쳐 屠殺된 生體重 80~220kg의 肥育豚 216頭와 上記 菌分離用 供試豚 120頭 計 336頭로부터 採血, 分離한 血淸을 56°C 30分間 非動化하여 −60°C에 保存하여 두었다가 抗體檢出試驗時 融解시켜 使用하였다.

菌分離 및 增菌培地

分離培地 : 基礎培地인 tryptic soy agar(TSA, Difco)에 5%의 比로 緬羊血液을 또한 crystal violet 1 : 25,000倍와 bacitracin 1.6mg/ml를 各各 添加한 chocolate 平板培地를 使用하였다.

增菌培地 : nicotinamide adenine dinucleotide, disodium salt(NADH) 5μg/ml를 添加한 tryptic soy broth(TSB, Difco)를 使用하였다.

對照菌株 : 1986年 5月 農村振興廳 家畜衛生硏究所로 부터 分讓받은 各 血淸型別 標準菌株인 4674(type 1), 1536(type 2), 1421(type 3), M62 (type 4), 966(type 5), Hemϕ(type 6)을 對照菌株로 使用하였으며, 이들 菌株는 Denmark 및 日本에서 分讓된 것임.

抗生物質 : 日本, 榮硏化學株式會社(榮硏)製 細菌感受性試驗用 monodisk를 penicillin系로서 ampicillin, benzylpenicillin, cloxacillin 및 piperacillin의 4種類, cefam系로서 cephalothin, cepazolin, cefamandole, cefoperazon 및 lactam-oxycefa의 5種類, tetracycline系로서는 tetracycline 및 monocycline의 2種類, chloramphenicol 系로서 chloramphenicol 1種類, macrolide系로서 erythromycin, kitasamycin 및 oleandomycin의 3種類, lincomycin系로서는 lincomycin 1種類, aminoglycoside系로서 gentamicin, kanamycin 및 amikacin의 3種類, 기타로서 bacitracin, colistin 및 nalidixic acid의 3種類을 包含하여 總 22種類의 抗生劑 disk를 使用하였다.

凝集反應用抗原과 對照 陽性 및 陰性血淸 : 1986年 3月 日本, 日本生物科學硏究所(日生硏)로부터 分讓 받은 Latex抗原과 對照血淸으로는 *H. pleuropneumoniae* SHP-1株로서 SPF돼지를 免疫하여 얻은 抗體價 32-64인 抗血淸 및 陰性血淸으로는 SPF돼지 正常血淸을 使用하였다.

凝集反應用 稀釋液 : pH 7.2의 隣酸緩衝液(PBS)을 使用하였다.

試驗方法

試料의 前處理 및 培養 : 供試豚 肺臟을 肉眼的으로 보아 病變部로 보여지는 部分을 頭當 3~5個所 澤하여 그 部位로 부터 약 1~2cm 平方 肺實質을 各各 切取, 乳鉢에서 乳劑化하였으며 1回째 80頭에 대하여는 10^{-3}, 2回째 40頭에 대하여는 10^{-2}로 生理的食鹽水로 稀釋하여 chocolate平板 培地에 0.1ml 滴下한후 곤라지棒으로 全面에 고루 接種, candle jar(5~10% CO_2)에서 37°C, 24~48時間 培養하였다.

集落의 選擇과 保存 : 培養이 끝난후 形成된 集落에 대하여 크기, 形態 및 潤澤性 등의 外觀的 觀察을 하여 典形的인 Haemophilus 集落으로 보여지는 獨立集落을 3~4個 選擇하여 β-NADH 5μg/ml를 添加한 TSA平板培地에 各各 純粹培養한 다음 TSA斜面培地에 移植, 保存하면서 各種 實驗目的에 供試하였다.

生物學的性狀試驗

Gram染色 : 純粹培養된 集落을 TSA培地에 18~24時間 培養한 菌의 塗沫標本을 만들어 Hucker와 Conn[18]의 變法에 따라 染色하여 鏡檢하였다.

運動性檢査 : 半流動寒天培地인 motility test medium(MTM, Difco)에 NADH를 添加하여 試驗管에 5ml씩 分注, 高層培地를 만들어 中央에 穿刺培養한후 培地의 混濁有無로 判定하였다.

溶血性試驗 : 緬羊血液 및 yeast extract를 各各 5% 添加한 heart infusion agar(HIA, Difco) 培地에 TSA斜面培地 保存菌을 streaking하여 candle jar에서 37°C, 18~24時間 培養한 다음 集落周圍의 溶血環形成 有無로 判定하였다.

CAMP試驗 : 5% 緬羊血液을 添加한 HIA培地에 TSA斜面培養菌을 streaking한 후 *Staphylococcus aureus*를 staph streak하여 candle jar에서 37°C, 18~24時間 培養, staphylococcus의 β溶血帶내에 *Haemophilus* 菌의 微細한 集落 形成有無로 判定하였다.[26]

成長因子要求性試驗

X, V因子要求性試驗 : 增菌用 TBS培地에 18~24時間 培養한 菌을 muller hinton agar(MHA, Difco) 平板培地에 고루 接種하여 그위에 X 및 V因子 strip를 約 1cm 間隔으로 올려 놓고 candle

jar에서 37°C, 18~24時間 培養한 다음 X 및 V 因子 周圍에 *Haemophilus*菌의 集落形成 有無로서 判定하였다.

Porphyrin試驗 : Kilian의 方法,[21] 즉 31.8mg의 δ-aminolevulnic acid hydrochloride와 9.62mg의 $MgSO_4$를 100ml의 PBS(pH 6.9)에 溶解한 enzyme substrate液 0.5ml에 可檢液 1白金耳를 接種하여 37°C 18~24時間 培養한 後 Ehrlich의 試藥(190ml의 alcohol와 40ml의 濃鹽酸 混合液에 p-dimethylamincbenzaldehyde 2g을 溶解시킨것)을 0.5ml 添加해서 培地의 變色有無로 判定하였다.

酵素活性檢査

Urease試驗 : Lautrop의 方法[28]에 따라 分離菌을 接種하여 37°C, 24時間 培養한후 培地色의 赤色有無로 判定하였다.

Catalase試驗 : slide glass에 3% H_2O_2 溶液을 滴下한후 分離菌 1白金耳를 混合하여 氣泡의 形成有無로 判定하였다.

Oxidase試驗 : TSA 平板培地에 分離菌을 streaking하여 37°C, 24時間 培養한후 1% dimethyl-p-phenylendiamine液을 平板上의 集落에 滴下한 다음 集落이 pink色이 된후 約 10分후에 黑變與否에 따라 判定하였다.

生化學的性狀試驗

Indol生成試驗 : tryptophan液體培地(Difco)에 分離菌을 接種하여 37°C, 18~24時間 培養한후 黑色變化 有無로 判定하였다.

MR-VP試驗 : MR-VP medium(Difco)에 分離菌을 接種하여 24時間 培養한후 21ml를 다른 滅菌試驗管에 넣어 α-naphtal 0.6ml과 40% KOH 溶液 0.2ml를 各各 添加하여 잘 흔들어 pink色의 形成有無로 VP試驗의 結果를 判定하였으며, VP試驗을 하고 남은 菌培養液 5ml를 37°C, 24時間 더 培養하여 methyl red 指示藥을 5~6방울 滴下하여 즉시 觀察하여 培地의 色調變化로서 判定하였다.

Nitrate還元試驗 : nitrate agar(Difco)에 分離菌을 接種하여 18~24時間 培養한후 試藥 A(α-naphthylamine 0.5g을 100ml의 5N醋酸에 溶解시킨 것)와 試藥 B(sulfanilic酸 0.8g을 100ml의 5N醋酸에 溶解시킨 것)를 넣어 培地의 赤色變化 有無로 判定하였다.

糖分解試驗 : phenol red broth base(Difco)에 arabinose, glucose, lactose, inulin, maltose, mannose, mannitol, raffinose, trehalose, xylose 등의 各種 糖을 最終濃度 1%로 되게 添加한후 10分間 高壓滅菌하여 濾過滅菌한 β-NADH 10μg/ml를 加하여 pH 7.6으로 修正, TSB에 增菌培養한 分離菌을 1白金耳를 接種, 37°C에 5日間 培養하면서 培地의 變色有無로 判定하였다.[21]

抗生物質 感受性試驗 : 榮研[54]이 指示하는 方法에 準하여 增菌用 TSB에 培養된 菌을 10^8~10^9 CFU/ml로 되게 滅菌食鹽水로 稀釋하여 NADH 5μg/ml를 加한 MH平板培地에 0.05ml 滴下하여 곤라지棒으로 均等히 塗沫한후 抗生劑 disk를 얹어 candle jar에서 37°C, 18~24時間 培養한후 disk 對角線上의 周邊部로 부터 1mm 以上의 菌發育沮止帶의 形成有無로 判定하였다.

Latex 凝集反應 : 日生研[58]이 指示하는 方法에 準하여 可檢血淸 및 對照血淸을 PBS로 2倍稀釋후 56°C 30分間 非動化하여 Table 1에서 表示한 바와 같이 microtiter法에 依據하여 可檢血淸에 대한 抗體調査를 實施하였으며, 完全凝集을 나타내는 最高血淸稀釋度를 抗體力價로 表示하였으며, 8倍以上을 陽性으로 判定하였다.

Table 1. Procedure of Latex-Agglutination Test by Microtiter Method

Serum dilution degree	8	16	32	64	128	256	512	Control
Phosphate buffer solution(pH 7.2)	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025
Serum(1 : 2, inactivation)	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	— (discard last 0.025)
Latex antigen(1 : 8)	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025	0.025

Senstization for 18 hours at 37°C

結　果

屠畜豚 肺臟으로 부터 *H. pleuropeumoniae*의 分離：供試豚肺로 부터 *H. pleuropneumoniae*의 分離成績은 Table 2에 表示한 바와 같다. 즉 1次에 供試한 80頭에서는 6頭(7.5%), 2次에 供試한 40頭에서는 4頭(10%), 計 120頭의 豚肺중 10頭(8.33%)의 肺에서 *H. pleuropneumoniae*菌株가 各各 分離되었다.

分離 *H. pleuropeumoniae*株의 生物學的 및 生化學的性狀：分離한 10株의 *H. pleuopneumoniae*와 對照菌株인 6株 標準菌株의 生物學的 및 生化學的性狀은 Table 3. 4에 表示한바와 같다. 즉 生物學的性狀에 있어서 分離菌株는 모두 chocolate寒天培地에 24時間培養으로 直徑 1～2mm의 灰色 半透明의 光澤性 集落을 形成하였으며, Gram 陰性의 兩端染色性顆粒을 갖는 球桿菌의 形態를 나타냈다. 그리고 이들 菌株는 MTM培地를 使用한 運動性檢査에서는 穿刺培養을 한 部位에서만 增殖하는 非運動性菌이었고 또한 血液寒天培地上의 集落은 β溶血性을 나타냈다. 生化學的性狀에 있어서 分離菌株는 모두 V因子 strip周邊에 微細한 集落을 形成하였으나 X因子 strip周邊에는 形成되지 않았고, CAMP試驗에서 *Staphylococcus aureus*의 β溶血帶에 微細集落을 形成하는 衛星現象이 認定되었다.

酵素活性檢査에 있어서 分離菌株 모두 urease를 分解하지 않았으며, catalase와 oxidase는 分離株에 따라 酵素生成能에 差異를 나타냈다. 또한 porphyrin, nitrate 還元은 모두 陽性이었으며, indol反應, H_2S生産, MR 및 VP試驗에서는 모두 陰性을 나타냈다. 糖分解試驗에서는 分離株 모두 glucose, maltose, mannose, mannitol, xylose를 分解하였으나 adonitol, arabinose, inulin, trehalose는 전혀 分解하지 않았고, lactose와 raffinose는 菌株에 따라 差異를 나타내었다. 한편 以上과 같은 分離株의 生物學的 및 生化學的性狀은 對照菌株인 6株 標準菌株와 同一하였다.

分離 *H. pleuropeumoniae*株의 抗生物質感受性：分離한 10株 *H. pleuropneumoniae*와 對照菌株인 6株의 標準菌株에 대한 22種 抗生物質에 대한 感受性 試驗成績은 Table 5에 表示한 바와 같다. 즉 penicillin系의 4種중 ampicillin, benzylpenicillin, peperacillin의 3種, cefam系의 5種중 cephalothin, cefazolin, cefamandole, cefoperazone, lactamoxycefa 등 모두, tetracycline系의 2種중 tetracycline, minocycline 등 모두 chloramphenicol系의 1種인 chloramphenicol, aminoglycoside系의 3種중 gentamicin, kanamycin, amikasin 등 모두 그리고 기타 3種중 colistin, nalidixic acid의 2種 計 16種의 抗生物質에 대하여 感受性을 나타냈으나 penicillin系의 cloxacillin, macrolides系의 3種중 erythromycin, kitasamycin, oleandamycin 등 모두, lincomycin系의 1種인 lincomycin 그리고 기타로서 bacitracin 등 計 6種 抗生物質에 대해서는 抵抗性을 나타냈다.

한편 以上과 같은 分離株의 抗生物質에 대한 感受性은 對照菌株인 6株 標準菌株에 있어서도 同一하였다.

***H. pleuropneumoniae*에 대한 抗體調査**：屠畜豚을 對象으로 Latex凝集反應에 의하여 *H. pleuropneumoniae*에 대한 抗體分布調査를 한 試驗成績은 Table 6에 表示한 바와 같다. 즉 供試한 336頭의 可檢血清중 106例(32.1%)가 抗體價 8～32로서 陽性反應을 나타내었고, 나머지 228例(67.9%)는 抗體價 ≤4로서 陰性을 나타냈다.

考　察

돼지의 傳染性呼吸器 疾患중 *H. pleuropneumoniae*가 關與하여 壞死性, 纖維素性 肺炎을 일

Table 2. Isolation of *Haemophilus pleuropneumoniae* from the Lungs of Slaughtered Pigs in Daegu

Experiment	No. of pigs examined	No. of pigs isolated	Percentage of isolation
I	80	6/ 80	7.5
II	40	4/ 40	10.0
Total	120	10/120	8.33

Table 3. Biological and Biochemical Characteristics of *Haemophilus pleuropneumoniae* Isolated from Pigs

Isolates	Biological characteristics					Requirement of V and X factor		Enzyme activity			Biochemical characteristics					
	Gram stain	Morphology	Motility	Hemolysis	CAMP[1] reaction	V	X	Urease[2]	Catalase	Oxidase	Indol	MR	VP	H_2S	Porphyrin[3]	Nitrate
L4	−	bipolar coccorod	−	+	+	+[4]	−[5]	+	+	+	−	−	−	−	+	+
L7	−	bipolar coccorod	−	+	+	+	−	+	+	−	−	−	−	−	+	+
L15	−	bipolar coccorod	−	+	+	+	−	+	−	+	−	−	−	−	+	+
L21	−	bipolar coccorod	−	+	+	+	−	+	+	+	−	−	−	−	+	+
L31	−	bipolar coccorod	−	+	+	+	−	+	+	+	−	−	−	−	+	+
L45	−	bipolar coccorod	−	+	+	+	−	+	+	−	−	−	−	−	+	+
L48	−	bipolar coccorod	−	+	+	+	−	+	+	−	−	−	−	−	+	+
L57	−	bipolar coccorod	−	+	+	+	−	+	−	+	−	−	−	−	+	+
L92	−	bipolar coccorod	−	+	+	+	−	+	+	−	−	−	−	−	+	+
L113	−	bipolar coccorod	−	+	+	+	−	+	+	+	−	−	−	−	+	+
S1-S6*	−	bipolar coccorod	−	+	+	+	−	+	+	−	−	−	−	−	+	+

* : Standard strains tested were 4674, 1536, 1426, M62, 966 and Hemϕ of *H. pleuropneumoniae* respectively.
1 : Haemophilus colonies observed within the hemolytic zone adjacent to the *Staphylococcus colonies*.
2 : This test was employed Lautrop's urea medium.
3 : This test was employed kilian's medium. 4 : Positive reaction. 5 : Nagative reaction.

Table 4. Cabohydrate Fermentation of *Haemophilus pleuropneumoniae* Strains Isolated from Pigs

Carbohydrates	Isolates										Standard strains S1-S6*
	L7	L7	L15	L21	L31	L45	L48	L57	L92	L113	
Adonitol	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Araginose	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Glucose	+[1]	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Inulin	−[2]	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Lactose	+	−	−	−	+	+	−	+	−	−	−
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Raffinose	−	−	−	+	−	+	+	+	−	+	+
Trehalose	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Xylose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

* : Standard strains tested were 4674, 1536, 1421, M62, 966, and Hemϕ of *H. pleuropneumoniae*, respectively.
1 : Positive reaction. 2 : Negative reaction.

Table 5. Antimicrobial Susceptibility of Isolates and Standard Strains of *Haemophilus pleuropneumoniae*

Class of anti-microbiological agents	Specific agent	Content of disc	Isolates										Standard strains S1-S6*
			L4	L7	L15	L21	L31	L45	L48	L57	L92	L113	
	Ampicillin	5 μg	+**	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Penicillins	Benzyl penicillin	1 μ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Cloxacillin	1 μg	−**	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	Piperacillin	5 μg	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Cephalothin	5 μg	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Cefazolin	5 μg	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cefams	Cefamandole	5 μg	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Cefoperazon	2 μg	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Lactamoxycefa	2 μg	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tetracyclines	Tetracycline	5 μg	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Minocycline	5 μg	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Chloramphenicols	Chloramphenicol	5 μg	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Erythromycin	0.5μg	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Macrolides	Kitasamycin	1 μg	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	Oleandamycin	1 μg	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Lincomycines	Lincomycin	1 μg	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	Gentamycin	2 μg	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Aminoglycosides	Kanamycin	5 μg	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Amikacin	5 μg	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Bacitracin	2 μ	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Others	Colistin	50 μ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Nalidixic acid	2 μg	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

* : Standard strains tested were 4674, 1536, 1421, M62, 966 and Hemφ of H. pleuropneumoniae, respectively.
** : Positive of negative reactions were based on 1mm <, Or 1mm ≥ of inhibition zone produced, respectively.

Table 6. Latex-Agglutination Test for Swine Sera Obtained from Daegu Slaughter House

	Agglutination titer								Results
	≤4	8	16	32	64	128	256	512	
No. of sera shown positive and percentage		30 (8.9)	56 (16.7)	22 (6.5)	—	—	—	—	108 (32.1)
No. of sera shown negative and percentage	228 (67.9)	—	—	—	—	—	—	—	228 (67.9)
Total	228 (67.9)	30 (8.9)	56 (16.7)	22 (6.5)					336 (100)

으켜 養豚産業에 많은 被害를 주고 있다는 것은 이미 알려진 事實이며, 이로 因한 感染症은 養豚의 發展과 特히 關聯되고 또한 世界的으로 널리 發生되고 있다는 點에서 本菌感染症의 疫學上 크게 注目된다.[36,38]

最近 國內에서도 本菌感染症의 發生에 의한 被害가 臨床的으로 흔히 나타나고 있으며 특히 甚하게 汚染된 農家에서는 集團的으로 發生한 例도 報告되고 있다.[60]

各國의 本菌의 感染과 그로 因한 疾病의 發生은 그 나라의 돼지管理體系와 取해지는 豫防手段에 따라서 다르며 Denmark의 경우 1968~69年 사이의 調査豚 22~26%가 胸膜肺炎이었음을 Nielsen[40]이 報告하였으나, 一定한 프로그램에

따라 防疫措置가 取해진 Switzerland에서는 農家의 過 6.5%에서만 發生되었으며,[35] Sanford와 Josephson[48]은 Canada의 Ontario地方의 養豚場을 對象으로 調査한 바 80%의 農場이 本病에 感染되어 있음을, 또한 Rosendal와 Mitchell[46]는 肥育豚을 包含한 豚群에서 34.3%에 達하는 本菌感染症의 發生을 認定하였다.

日本의 경우 加藤[55]는 屠畜場에서 蒐集한 豚血淸을 對象으로 *H. pleuropneumonia*에 대한 抗體調査를 한 結果 높은 陽性率을 認定하여 本菌이 日本國內의 飼育豚에 깊히 浸潤되어 있음을 推定하였으며, Kume 등[27]은 200列의 屠育豚 血淸중에서 103例(51.5%)가 CF陽性反應이었음을 報告하였다.

우리나라에서는 Kang 등[20]이 처음으로 全南地方의 豚血淸 39例를 對象으로 凝集反應에 의한 抗體調査를 하였던바 5%以下의 血淸에서 陽性을 認定하였고, 이어서 朴 등[60]이 서울을 비롯한 忠南, 全南地方의 1,332例의 屠畜豚 血淸을 對象으로 抗體分布 調査를 하였던바 74例(5.6%)에서 陽性이었을 認定하는 한편 慢性胸膜肺炎을 나타낸 90頭 豚肺에서 *H. pleuropneumoniae*의 分離를 試圖하였던바 23例(25.5%)에서 本菌이 分離되었다고 報告하였다.

여기에서 本 硏究를 通해서 얻은 成績을 이들 硏究者의 成績[20,60]과 比較해 볼 때 本 硏究에서의 抗體檢出率이 越等히 높았는데, 이것은 위에서 述한 바와 같이 世界 各國에서의 本病 發生의 疫學的 趨勢와 養豚要件이 極히 우리나라와 類似한 日本에서 最近 本菌에 대한 抗體檢出이 大端히 高率이었다는 것[27,55]과 아울어 現在 우리나라에서의 養豚管理體系의 集團化 또는 多頭化 傾向 등과 符合되는 것이라고 보며 또한 Koneman 등[26]은 *Haemophilus*菌과 같은 多糖體莢膜을 가진 細菌의 抗體調査에 Latex 凝集反應을 應用하면 慣行의 凝集反應에 比해 微量의 抗體까지도 銳敏하게 檢出될 수 있다고 하였다. 그리고. *H. pleuropneumoniae*의 豚肺으로 부터의 分離率에 있어서는 朴 등[60]의 成績이 本 硏究에서의 成績보다 越等히 높았는데, 이것은 많은 可檢例중 慢性胸膜肺炎의 病變을 나타낸 豚肺材料만을 選擇하여 分離對象으로 하였기 때문이라고 본다.

그리고 本 硏究에서 分離된 10株 *H. pleuropneumoniae*의 生物學的 및 生化學的性狀은 Killian과 Biberstein[24]이 Bergey's manual of systematic bacteriology에 記載한 成績과 全的으로 一致하였다. 溶血性에 있어서 Nielsen[42]은 分離菌 150株(血淸型 2)에 대하여 모두 溶血性임을 認定한 바 있고 Gunnarson[13]은 血淸型 1型과 5型菌株는 溶血性인 반면에 2,3 및 4型菌株는 非溶血性으로 血淸型에 따라 溶血性에 差異가 있음을 報告하였다.

朴 등[60]도 分離한 23株중에는 溶血性이 있는 것과 없는 것이 있음을 報告하였으나 本 硏究에서의 分離株는 모두 溶血性이었으며 여기에서 分離株의 血淸型을 밝히지 못 하였던 것이 크게 遺憾이다.

*H. pleuropneumoniae*의 感染症 制禦에 있어 抗生物質 感受性은 그 重要性이 매우 强調되고 있으므로 最近에는 많은 硏究者에 의해 硏究, 報告되었다. 즉 Nicolet와 Schifferli[37], Gilbride와 Rosendal[9] 등은 penicillin, ampicillin, chloramphenicol, tetracycline, colistin, sulfonamide, cortimoxazole 및 gentamicin은 높은 感受性이며, streptomycin, spiramycin 및 lincomycin은 比較的 높은 感受性을 나타냈다고 하였으며, Schimizu 등[51]은 ampicillin, cephaloridin, chloramphenicol, oxytetracycline, colistin, rifampicin 및 frazolidon은 感受性이 높았으며, penicillin G, cloxacillin, erythromycin 및 nalidixic acid는 中等度 感受性이며, sulfadimethoxin과 bacitracin은 感受性이 낮음을 報告하였다.

한편 朴 등[60]은 國內 分離 23株에 대한 抗生物質 感受性試驗에서 ampicillin, cepalothin, chloramphenicol, gentamicin 및 tetracycline은 全供試株에 대하여, carbencillin, colistin, erythromycin, kanamycin, neomycin, novomycin 및 penicillin은 供試菌株중 17~22株에 대하여 中等度 내지 높은 感受性을 나타냈으나 streptomycin은 供試菌株중 6株에 대해서만 中等度의 感受性이었고 bacitracin과 vancomycin은 抵抗性이었다.

本 硏究에서는 供試 10株 모두 ampicillin,

benzylpenicillin, cephalothin, cefazolin, cefoperazon, lactamoxycefa, tetracycline, minocycline, chloramphenicol, gentamicin, kanamycin, amikasin, colistin 및 nalidixic acid에 대하여 感受性이었으나 cloxacillin, erythromycin, kitasamycin, oleandamycin, lincomycin 및 bacitracin에는 抵抗性이었다. 이러한 本 硏究에서의 成績을 朴 등[60]의 成績과 比較할 때 供試에 있어 相互 共通되는 種類의 抗生劑의 感受性傾向은 erythromycin에서만이 相違되었고, 그와의 것들은 모두 一致하였으며 또한 Nicelet와 Schifferli[37] 및 Gilbride와 Rosendal[9] 등의 成績과는 lincomycin 그리고 Schmizu 등[51]의 成績과는 erythromycin에서 만이 相違되었음을 認定하였다. 이와 같은 成績差異는 그 나라 그 地域에서 使用되는 抗生劑의 種類 및 使用頻度의 差異에 起因된 것으로 본다. 이와 같은 問題에 關聯된 것으로서 Hirsh 등[16]이 抗生劑에 대한 plasmid 傳達性의 耐性에 關하여 또한 Sebunya 등[49] 및 Gilbride와 Rosendal[9]는 chloramphenicol 耐性株의 出現에 대하여 各各 報告하였으며, 이에 따라 抗生物質 應用프로그램의 重要性이 强調되고 있다.

結　論

最近 國內 養豚産業이 急進的으로 發展됨에 따라 돼지의 飼養管理體系가 集團化 또는 多頭化되어 가고 있어 惹起되는 疾病의 類型 및 發生樣相도 크게 變化하게 되었으며, 이에 따라 *Haemophilus*(*H.*) *pleuropneumoniae*로 因한 돼지의 急慢性 纖維素性 胸膜肺炎의 發生과 그 被害가 크게 憂慮되고 있다.

이와 같은 觀點에서 本 硏究에서는 大邱市 屠畜場에 搬入되는 慶北一圓의 肥育豚을 對像으로 肺材料로 부터 *H. pleuropneumoniae*의 分離와 同定을 試圖하는 한편 屠畜豚에 대한 本菌의 抗體分布 調査 및 分離菌株에 대한 抗生物質 感受性試驗을 實施하였다.

얻어진 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 供試豚肺 120例중 10頭肺(8.33%)로 부터 各各 *H. pleuropneumoniae*가 分離되었으며, 이들 菌株는 모두 對照株로서 使用한 6株의 標準菌株(血淸型 1～6型)와 生物學的 및 生化學的性狀에 있어 一致하였다.

2. 屠殺豚을 對象으로 latex 凝集反應에 의하여 *H. pleuropneumoniae*에 대한 抗體分布 調査를 試驗하였던바 336頭의 豚血淸에서 108例(32.1%)가 陽性反應을 나타냈다.

3. 分離한 10株의 *H. pleuropneumoniae*에 대한 抗生劑 感受性試驗에서는 供試한 22種의 抗生劑중 ampicillin, benzylpenicillin, piperacillin, cephalothin, cefazolin, cefamandol, cefoperazon, lactamoxycefa, tetracycline, minocycline, chloramphenicol, gentamicin, kanamycin, amikacin, colistin 및 nalidixic acid 등 16種의 抗生劑에 대해서는 感受性이었으나 cloxacillin, erythromycin, kitasamycin, oleandomycin, lincomycin 및 bacitracin 등 6種의 抗生劑에 대해서는 抵抗性이었다.

參 考 文 獻

1. Bachmann, P.H.: Beitrag zur Epidemiologie der Kontagiosen Pleuropneumonie beim Schwein. Schweiz. Arch. Tierheikd., (1972) 114:362.
2. Baskerville, A. and Dow, C.: Pathology of experimental pneumonia in pigs produced by Salmonella choleraesuis. J. Comp. Pathol. (1973) 83:207.
3. Bertschinger, H.U. and Nicod, B.: Untersuchungen uber die Nasenflora bei Schweinen Vergleich zwischens SPF-Herden schwedisch sanierte Herden. Schweiz. Arch. Tierheil kd. (1970) 112:493.
4. Biberstein, E.L., Gunnarsson, A. and Hurvell, B.: Cultural and biochemical criteria for the identification of Haemophilus culture from swine. Am. J. Vet. Res. (1976) 38:7.
5. Chan, C.N., Yamamoto, K., Konishi, S. and Ogata, M.: Isolation and identification of Haemophilus parahaemolyticus from porcine pneumonia, Jpn. J. Vet. Sci. (1978) 40:103.
6. Dholakia, P.M.: The isolation and identification of Haemophilus parahaemolyticus from the lungs of Danish pigs. Indian Vet. J. (1972) 49:883.
7. Easterday, B.C.: Swine Influenza. In "Disease of Swine."(A.D. Leman, B. Straw, R.D. Glock,

W.L. Mengeling, R.H.C. Penny and E. Scholl, eds). 6th ed., Iowa State University Press. Iowa. (1986) p.244.

8. Farrington, D.O.: Pneumonic Pasteurellosis. In "Disease of Swine"(A.D. Leman, B. Straw, R.D. Glock, W.L. Mengeling, R.H.C. Penny and E. Scholl, eds), 6th ed., Iowa State University Press, Iowa. (1986) p.436.
9. Gilbride, K.A. and Rosendal, S.: Antimicrobial susceptibility of 51 strains of Haemophilus pleuropneumoniae. Can. J. Comp. Med. (1984) 48:47.
10. Giles, C.J.: Bordetellosis. In "Disease of Swine" (A.D. Leman, B. Straw, R.D. Glock, W.L. Mengeling, R.H.C. Penny and E. Scholl, eds). 6th ed., Iowa State University Press, Iowa, (1986) p.444.
11. Giles, C.J.: Atrophic Rheinites. In "Disease of Swine"(A.D. Leman, B. Straw, R.D. Glock, W.L. Mengeling, R.H.C. Penny and E. Scholl, eds). 6th ed., Iowa State University Press, Iowa. (1986b) p.455.
12. Glasser, K.: Die fibrionose Serosen und Gelekentzundung der Ferkel. In Die Krankheiten des Schweines. M. & H. Shaper, Hannover. (1910) p.122.
13. Gunnarson, A.: Serologic studies on porcine strains of Haemophilus parahaemolyticus(pleuropneumoniae) extraction of type-specific antigen. Am. J. Vet. Res. (1979) 40:469.
14. Hani, H., König, H., Nicolet, J. and Scholl, E.: Zur Haemophilus-pleuropneumonie beim Schweines. V. Pathomorphologie. Schweiz. Arch. Tierheilkd. (1973a) 115:115.
15. Harris, D.L., Ross, R.F. and Switzer, W.P.: Incidence of certain microorganisms in nasal cavities of swine in Iowa. Am. J. Vet. Res, (1969) 30:1621.
16. Hirsh, D.C., Martin, L.D. and Libal, M.C.: Plasmid-mediated antimicrobial resistance in Haemophilus pleuropneumoniae. Am. J. Vet. Res. (1982) 43:269.
Hjarre, A.: Enzootic virus pneumonia and Gläs„ser's disease of swine. Adv. Vet. Sci. (1958) 4:235.
17. Hjarre, A. and Wramby, G.: Omfibrinos serosaled-inflamation (Glässer) hos svin. Skan. Vet. Tidskr. (1942) 32:257.
Hjarre, A. and Wramby, G.: Ueber die fibrinose serosagleenkent zundung(Glasser) bein Schwein. Z. Infektionskrankh. Parasit. Krankh. U. Hyg. Haustiere. (1943) 60:37.
18. Hucker, G.J. and Conn, H.J.: Method of Gram Staining. New York State Agricultural Experimental Station Technical Bulletin. (1923) 93:129.
19. Hungerford, T.G.: Disease of Livestock, 8th ed., McGraw-Hill Book Company, Sydny, (1975) p. 455.
20. Kang, B.K., Yamamoto, K. and Ogata, M.: Serologic studies on porcine strains of Haemophilus parahaemolyticus(pleuropneumoniae): Antigenic specificity and prevalence of antibodies to serotype, Korean J. Vet. Res. (1983) 23(2):153.
21. Kilian, M.: A rapid method for the differentation of Huemophilus strains. The porphyrin test. Acta. Pathol. Microbiol Scand(B). (1974) 82:835.
22. Kilian, M.: A taxonomic study of the genus Haemophilus with the proposal of new species. J. Gen. Microbiol. (1976) 93:9.
23. Kilian, M., Nicolet, J. and Biberstein, E.L.: Biochemical and serological characterization of Haemophilus pleuropneumoniae (Matthews and Pattison 1961) Shope 1964 and proposal of a neotype strain. Int. J. Syst. Bacteriol. (1978) 28:20.
24. Kilian, M. and Biberstein, E.: GenusII. Haemophilus. In "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol.1"(N.R. Krieg and J.G. Holt eds). Williams & Wilkins, Baltimore/London, (1986) p.558.
25. Kiupel, H.: Diagnostische und epizootologische Beobachtungen zum Vorkommen der Haemophilus pleuropneumoniae beim Schwein. Monatsh Veterinaermed. (1975) 30:685.
26. Koneman, E.W., Allen, S.D., Dowell, V.R. and Sommers, H.M.: Color atlas and textbook of diagnostic microbiology, 2nd ed. J.B. LIPPINCOTT COMPANY, Philadelphia and Toronto. (1983) p.235.
27. Kume, K., Nagano, J. and Nakai, T.: Bacteriological, serological, and pathological examinat-

ions of Haemophilus pleuropneumoniae infection in 200 slaughtered pigs. Jpn. J. Vet. Sci., Vol. (1986) 48:965.

28. Lautrop, H.: Laboratory diagnosis of whooping-cough or Bordetella infections. Bull. W.H.O. (1960) 23:15.
29. Leman, A.D., Straw, B., Glock, R.D., Mengeling, W.L., Penny, R.H.C. and Scholl, E.: Disease of Swine, 6th ed., Iowa State University Press, Ames, Iowa. (1986) p.1.
30. Lewis, P.A. and Shope, R.E.: Swine influenza. Ⅱ. A hemolytic bacillus from the respiratory tract of infected swine, J. Exp. Med. (1931) 54:361.
31. Little, T.W.A. and Harding, J.D.J.: The comparative pathogenecity of two porcine Haemophilus species. Vet. Rec. (1971) 88:540.
32. Matthews, R.R.J. and Pattison, I.H.: The identification of a haemophilus-like organism associated with pneumonia and pleurisy in the pigs. J. Comp. Path. (1961) 71:44.
33. Mylrea, P.J., Fraser, G., Macqueen, P. and Lambourne, D.A.: Pleuropneumonia in pigs caused by Haemophilus parahaemolyticus. Aust. Vet. J. (1974) 50:255.
34. Nicolet, J.: Sur l'hemophilose du porc. 1. Identification d'un agent frequent: Haemophilus parahaemolyticus. Pathol. Microbial. (1968) 32:215.
35. Nicolet, J., König, H. and Scholl, E.: Zur *Haemophiluspleuropneumoniae* beim Schwein. Ⅱ. Eine kontagiose Krankheit von wirtschaftlicher Bedeuting. Schweiz. Arch. Tierheilkd. (1969) 111:166.
36. Nicolet, J. and Scholl, E.: Haemophilus Infections. In "Disease of Swine, 5th ed." (A.D. Leman, R.D. Glock, W.L. Mengeling, R.H.C. Penny, E. Scholl and B. Straw eds). Iowa State University Press, Ames, Iowa. (1981) p.368.
37. Nicolet, J. and Schifferli, D.: In vitro susceptibility of *Haemophilus pleuropneumoniae* to antimicrobial substances. Proc. 7th Int. Congr. Pig Vet. Soc. Mexico City. (1982) p.71.
38. Nicolet, J.: Haemophilus infection. In "Disease of Swine, 6th ed." (A.D. Leman, B. Straw, R.D. Glock, W.L. Mengeling, R.H.C. Penny and E. Scholl eds). Iowa State University Press, Ames, Iowa. (1986) p.426.
39. Neil, D.H., McKay, K.A., L'Ecuyer, C. and Lambourne, D.A.: Glässer's disease of swine produced by intratracheal inoculation of Haemophilus suis. Can. J. Comp. Med. (1969) 33:187.
40. Nielsen, R.: *Haemophilus parahaemolyticus* as the cause of pleuropneumonia in swine. Ⅰ. Clinical, pathological, and epidemiological studies. Nord. Vet. Med. (1970a) 22:240.
41. Nielsen, R.: Haemophilus parahaemolyticus as the cause of *pleuropneumonia* in swine. Ⅱ. Studies on the identity and pathogenecity of the organism isolated. Nord. Vet. Med. (1970b) 22:246.
42. Nielsen, R.: Haemophilus pleuropneumoniae infection in pigs commisioned by Carl Fr. Mortensen A/S Bulowsve; Sc. DK-1870. Copenhagen. (1982)
43. Oda, S., Tsurumaki, T., Watanabe, T., Nabetani, I., Yasuhara, T., Tomidokoro, H., Miyata, I., Ikemaru, K. and Kamino, K.: Pleuropneumonia in pigs caused by infection with Haemophilus parahaemolyticus. J. Jpn. Vet. Med. Assoc. (1975) 28:584.
44. Olander, H.J.: A septicaemic disease of swine and its causative agent *Haemophilus parahaemolyticus*. Ph. D. diss. Univ. of California. (1963).
45. Pattison, I.H., Howell, D. G.and Elliot, J.: A Haemophiluslike organism isdated from pig lung and the associated *pneumonic* lesions. J. Comp. Pathol. (1957) 67:320.
46. Rosendal, S. and Mitchell, W.R.: Epidemiology of Haemophilus pleuropneumoniae infection in pigs: A survey of Ontario pork producers, 1981. Can. J. Comp. Med. (1983) 47:1.
47. Ross, R.F.: Mycoplasmal Diseases. In "Disease of Swine" (A.D. Leman, B. Straw, R.D. Glock, W.L. Mengeling, R.H.C. Penny and E. Scholl, eds). 6th ed., Iowa State University Press. Iowa. (1986) p.469,
48. Sanford, S.E. and Josephson, G.K.A.: Porcine Haemophilus pleuropneumoniae epizootic in South Western Ontario, clinical, microbiological, pat-

hological and some epidemiological finding. Can. J. Comp. Med. (1981) 45:2.
49. Sebunya, T.N.K., Saunders, J.R. and Obsborne, A.D.: Dose response relationship of Haemophilus pleuropneumoniae aerosols in pigs. Can. J. Comp. Med. (1983) 47:54.
50. Shanks, P.L.: Acute arthritis (in pigs). Vet. Rec. (1939) 51:783.
51. Shimizu, M., Kuninori, K., Sakano, T. and Terashima, T.: Antibiotic susceptibility of Haemophilus pleuropneumoniae and Pasteurella multocida isolates from swine. Jpn. J. Vet. Sci. (1982) 44:359.
52. Shope, R.E.: Porcine contagious pleuropneumonia. I. Experiment transmission, etiology and pathology. J. Exp. Med. (1964) 119:357.
53. Weng, C.N., Hsu, F. and Liu, J.L.: Haemophilus parahaemolyticus isolated from pigs with fibrinous pleuropneumonia in Taiwan, Chin. J. Microbiol. (1975) 8:300.
54. 榮研化學株式會社. 細菌感受性試驗用モノテイスク榮研. 作用說明書. (1984) p.1.
55. 加藤和好. ヘモフイルス感染症. 豚病學(熊谷哲夫, 波岡茂郎, 丹羽太左衛門, 笹原二郎編), 近代出版, 東京 (1979) p.447.
56. 熊谷哲夫, 波岡茂郎, 丹羽太左衛門, 笹原二郎, 豚病學, 近代出版, 東京 (1979) p.1.
57. 波岡茂郎. 豚ヘモフイルス感染症. 獸醫傳染病學(笹原二郎, 村瀨信雄, 柴田重孝, 清水悠紀臣, 椿原彥吉編), 近代出版, 東京 (1979) p.372.
58. 日本生物科學研究所. 動物用醫藥品, ワクチン, 診斷液, 試藥作用說明書, 第4版, 日生研 (1982) p.20.
59. 笹原二郎, 村瀨信雄, 柴田重孝, 清水悠紀臣, 椿原彥吉. 獸醫傳染病學, 近代出版, 東京 (1979) p.1.
60. 朴政文, 金鍾琰, 卞貞玉, 金鳳煥: Haemo philus의 分離, 血清型 및 抗體調査, 農試論文集(畜産・家衛), 서울 (1985) 27(2):45.

Studies on Infection of *Haemophilus pleuropueumoniae* in Slaughtered Pigs

Hak-Cheul Lee, D.V.M., Ph.D., Byong-Sam Yoo, B.S.

Department of Animal Science, Yeungnam University

Summary

In recent years much attention has been paid to swine respiratory infection caused by *Haemophilus*(*H.*) *pleuropneumoniae* with rapid expansion of pork industry in Korea.

The organism may cause an acute respiratory infection with high morbidity and mortality, or it may also cause chronic persistent infection, resulting in loss of body weight.

The present study was performed to observe the etiologic situation of *H. pleuropneumoniae* infection by evaluating bacteriological, serological examinations with the lungs and sera collected from slaughtered pigs in Daegu city, respectively. In addition, antibiotic susceptibility test was carried out against the isolated strains of *H. pleuropneumoniae*.

The results obtained are summarized as follows:

1. Only 10 strains of *H. pleuropneumoniae* were isolated from the 120 cases of swine lungs examined, and biological and biochemical characteristics of the isolates were identical with that of standard strains (serovar 1 to 6).
2. Out of 336 swine sera examined, 108(32.1%) were shown to be positive against *H. pleuropneumoniae* by latex agglutination test.
3. Antibiotic susceptibility test revealed that 10 isolates of *H. pleuropneumoniae* were sensitive to 16 kinds of antibiotic such as ampicillin, benzylpenicillin, piperacillin, cephalothin, cefazolin, cefamandol, cefoperazon, lactomoxycefa, tetracycline, minocycline, chloramphenicol, gentamicin, kanamycin, amikacin, colistin and nalidixic acid, whereas cloxacillin, erythromycin, kitasamycin, lincomycin, oleandamycin, and bacitracin were resistent.