

## 國內 돼지에서 分離한 *Erysipelothrix rhusiopathiae*의 性狀 및 病原性에 관한 연구

예 재 길 · 석 호 봉\*

바이엘 동물의약연구소 · 단국대학교 농과대학\*

(1991. 1. 7 접수)

### Studies on properties and pathogenicity of *Erysipelothrix rhusiopathiae* isolated from pigs in Korea

Jae-gil Yeh, Ho-bong Seok\*

Bayer Veterinary Medical Research Institute

College of Agriculture, Dankook University.\*

(Received Jan 7, 1991)

**Abstract:** In studies on *Erysipelothrix rhusiopathiae* infection of pigs, a series of investigations were conducted for isolation, biochemical properties, pathogenicity, serotyping and susceptibility to antimicrobial agents.

The results could be summarized as follows:

1. A total of 14 isolates of *E rhusiopathiae* were made from an acute form of swine erysipelas and the incidence was high during the hot summer season.
2. The biochemical properties of the 14 isolates were identical to the reference strain of *E rhusiopathiae*.
3. Pathogenicity of the isolated strain(89368) were ascertained that LD<sub>50</sub> for mice was  $1.8 \times 10$  cfu and also typical urticarious lesions and acute septicemia for pigs were induced by intradermal and intravenous inoculation with isolates, respectively.
4. All isolates were serotyped by the agarose gel slide double-diffusion system and proved to be serotype 1.
5. In susceptibility test to antimicrobial agents, 14 isolates of *E rhusiopathiae* were highly sensitive to ampicillin, baytril, cephalothin, chloramphenicol, penicillin and tetracycline.

**Key words:** *erysipelothrix rhusiopathiae*, swine, serotype, pathogenicity, antimicrobial susceptibility.

### 緒 論

돼지丹毒은 *Erysipelothrix rhusiopathiae*에 감염되어 발열, 피부병변, 관절염, 우상심내막염 및 폐렴증 등의 증상을 보이고 급성 또는 만성으로 경과되며 폐사율이 높은 돼지의 주요 전염병이다.<sup>1</sup>

돼지에서 *E rhusiopathiae*의 分離同定<sup>2,3</sup>, 血清型<sup>4,5</sup>

및 病原性<sup>6</sup>에 관한 연구가 이루어져 있으며 생균 및 사균액신도 개발되어<sup>7-10</sup> 사용되고 있다.

그러나 최근 전 세계적으로 돼지丹毒의 발생이 증가되고 있으며<sup>11,12</sup> 우리나라에서도 돼지丹毒이 산발적으로 발생하여<sup>13</sup> 경제적 피해가 커지고 있으므로 이에 관한 연구가 필요하다고 사료된다.

본 연구는 돼지丹毒으로 폐사한 돼지에서 *E rhusiop-*

*pathiae*를 分離하여 生化學的 性狀, 分離株의 病原性, 血清型 및 菌群에 대한 감수성을 조사하였다.

### 材料 및 方法

**E rhusiopathiae의 分離 및 同定:** 국내에서 돼지丹毒의 발생을 조사하고자 1987년 11월부터 1990년 5월까지 마이엘 동물의약연구소에 의뢰된 돼지시료 520例 중 돼지丹毒으로 추정되는 가검물에서 *E rhusiopathiae* 분리를 시도하였다. 즉 폐사된 돼지의 미장, 간, 신장 등 내부장기를 무균적으로 채취하여 실험실내에서 면양 혈액이 합유된 배지에 도말하여 37°C에서 48시간 배양하였다. 짐락의 모양이 작고  $\alpha$ -hemolysis를 보이면 제대하여 生化學的 性狀을 Wood와 Harrington<sup>5</sup> 및 Atkinson<sup>14</sup>의 방법에 따라 시험하였다. Gram 염색으로 양성의 단간균 형태를 보이고 H<sub>2</sub>S 양성, catalase, indole 및 urease 음성, glucose 및 lactose를 분해하는 성상을 보이면 *E rhusiopathiae*로 동정하였다.

**供試標準株:** 본 실험에 사용한 供試標準株는 *E rhusiopathiae* NL-11株와 T-2株로써 병원성 시험과 혈청형 조사에 사용하였다.

**分離株의 病原性 시험:** 국내에서 分離한 *E rhusiopathiae*의 病原性은 Wood 등<sup>4</sup>의 方法에 따라 마우스와 돼지에서 조사하였다. 供試마우스는 ICR계 마우스(체중 12~15g)를 사용하였으며 供試돼지는 바이엘 동물의약연구소의 실험농장에서 사육중인 돼지(체중 40~50kg) 4두를 사용하였다.

分離株 89368株와 標準株 *E rhusiopathiae* T-2株를

BHI broth에 배양하여 供試마우스에 피하 접종한 후 폐사한 마우스를 조사하여 Reed와 Muench의 方法<sup>15</sup>에 의하여 LD<sub>50</sub>를 산출하였다. 또 分離株 89368株를 1×10<sup>7</sup>개/ml로 조정하여 供試내지에 하복부 피내 0.1ml, 근육 2ml 및 혈관 2ml씩 각각 주사한 후 체온, 임상증상, 반응현상 등을 관찰하였으며, 폐사한 돼지의 내부장기 및 혈액에서 세균분리를 시도하였다.

**血清型 조사:** 分離한 *E rhusiopathiae*의 血清型은 Wood et al<sup>4</sup>, Wood<sup>10</sup>, Kucsera<sup>16</sup>, Mansi<sup>17</sup>의 方法에 따라 면역확산반응으로 조사하였다. 分離株와 標準株를 면양 혈액배지에 38°C 48시간 배양하여 plate상 5ml의 PBS로 집균한 후 121°C 1시간 autoclave하고 원심하여 상층액을 항원으로 사용하였다.

면역血清은 Kucsera<sup>16</sup>와 Norrung<sup>18</sup>의 方法에 준하여 제조하였다.

**항균제 감수성 시험:** Bauer et al<sup>19</sup>의 方法에 따라 Sensi disk(BBL)를 이용한 디스크 확산법으로 *E rhusiopathiae*의 항균제에 대한 감수성을 시험하였다. 공시한 항균제는 amikacin, ampicillin, baytril, cephalothin, chloramphenicol, colistin, erythromycin, gentamicin, neomycin, penicillin, streptomycin, tetracycline 등 12종이었다.

### 結 果

***Erysipelothrix rhusiopathiae의 分離:*** 바이엘 동물의약연구소에서 *E rhusiopathiae* 14株를 分離하였으며 돼지丹毒의 발생일과 지역은 표 1과 같다. 1988년

Table 1. Incidence of *Erysipelothrix rhusiopathiae* infection in swine

Date of outbreaks	Region	Designation of strains	Remarks
Dec. 4, 1987	Yongin	87397	Finishing pig
June 24, 1988	Kimpo	88258	Growing pig
June 30, 1988	Pocheon	88266	Finishing pig
Feb. 20, 1989	Chuncheon	8985	Finishing pig
June 26, 1989	Kimpo	86368	Finishing pig
July 19, 1989	Icheon	89417	Finishing pig
July 24, 1989	Kimpo	89448	Finishing pig
July 26, 1989	Kimpo	89450	Sow
July 27, 1989	Yongjong island	89455	Finishing pig
Aug. 17, 1989	Kimpo	89473	Finishing pig
Sep. 1, 1989	Hanam	89517	Finishing pig
Nov. 15, 1989	Icheon	89666	Finishing pig
Jan. 29, 1990	Kimcheon	9053	Finishing pig
Apr. 25, 1990	Pyungtak	90299	Sow

**Table 2.** Biochemical properties of *Erysipelothrix rhusiopathiae* isolated from piglets

Biochemical properties	Reference strain	Isolated strains
Morphology	Gram positive, rods & slender	Gram positive, rods & slender
Catalase	—	0/14*
Indole	—	0/14
Motility	—	0/14
H <sub>2</sub> S	+	14/14
Urease	—	0/14
Simmon's citrate	—	0/14
Glucose fermentation	+	14/14
Lactose fermentation	+	14/14
Sucrose fermentation	—	0/14
Hemolysis	α-hemolysis	α-hemolysis
Growth in acriflavin medium(0.02%)	No growth	No growth
MR	—	0/14
VP	—	0/14

\* : No. of positive/No. of examined strains.

6월 말과 1989년 6월 말부터 9월 초까지의 하절기에 많은 발생을 보였다.

**E rhusiopathiae** 分離株의 생화학적 성상：國內各地에서 분리한 *E rhusiopathiae* 14株와 표준주의 生化學的性狀를 비교한 결과 Gram 양성, H<sub>2</sub>S 양성, α-용혈성, catalase 음성, indole 음성, motility 음성 및 urease 음성의 性狀를 보여 분리주와 표준주의 성상은 일치하였다(표 2).

**分離株의 病原性**：國內에서 分리한 *E rhusiopathiae* 89368株와 표준주인 *E rhusiopathiae* T-2株는 마우스

에 病原성이 인정되었으며 LD<sub>50</sub>의 세균수는 89368株가 1.8×10cfu/0.1ml, T-2株는 4.5×10cfu/0.1ml로서 分離株가 病原성이 강한 경향을 보았다(표 3). 또 分離株 89368株를 돼지에 皮內注射한 후 48시간에 직경 30mm 크기의 발적현상을 보았다(Fig 1).

혈관주사한 돼지는 접종후 62시간에 폐사하였으며 폐사직후 부검소견으로 악하림파절, 간 및 비장의 종대(Fig 2), 신장의 충출혈 등 급성 폐렴증의 증상을 보였다.

폐사된 돼지의 비장, 폐, 신장, 간, 췌낭수 및 혈액

**Table 3.** Virulence of *Erysipelothrix rhusiopathiae* 89368 strain(isolated) and T-2 strain(reference) in mice exposed by subcutaneous inoculation

Strain of <i>E rhusiopathiae</i>	Inoculum (Viable cells/0.1ml)	Mice		Total		Percent mortality	LD <sub>50</sub> (cfu/0.1ml)
		Alive	Dead	Alive	Dead		
89368	8.2×10 <sup>3</sup>	0	5	0	16	100	1.8×10
	8.2×10 <sup>2</sup>	0	5	0	11	100	
	8.2×10	1	4	1	6	86	
	8.2	3	2	4	2	33	
	0.82	5	0	9	0	0	
T-2	3×10 <sup>3</sup>	0	5	0	12	100	4.5×10
	3×10 <sup>2</sup>	0	5	0	7	100	
	3×10	3	2	3	2	40	
	3	5	0	8	0	0	
	0.3	5	0	13	0	0	

**Table 4.** Susceptibility of 14 isolates of *E rhusiopathiae* to antimicrobial agents

Antimicrobial agents	No. of susceptible strains	% of susceptible strains
Amikacin	3	21.4
Ampicillin	14	100.0
Baytril	14	100.0
Cephalothin	13	92.9
Chloramphenicol	13	92.9
Colistin	0	0
Erythromycin	9	64.3
Gentamicin	3	21.4
Neomycin	1	7.1
Penicillin	13	92.9
Streptomycin	2	14.3
Tetracycline	11	78.6

에서 *E rhusiopathiae*를 순수분리할 수 있었다. 그러나 근육주사한 2두의 돼지는 3일간 41°C까지 체온 상승을 보인 후 내과하였다.

**分離株의 血清型 :** *E rhusiopathiae* NL-11株(serotype 1)과 T-2株(serotype 2)의 면역 혈청으로國內에서 분리한 *E rhusiopathiae* 14株의 血清型 조사 결과 14株 모두 血清型 1이었다(Fig 3, 4).

**항균제에 대한 감수성 :** *E rhusiopathiae* 14株의 각종 항균제에 대한 감수성은 표 4와 같다. Ampicillin, baytril, cephalothin, chloramphenicol, penicillin, tetracycline 등의 항균제에 감수성이 우수하였다.

### 考 察

돼지丹毒은 오랜 역사를 가진 돼지의 전염병으로서 1878년 Robert Koch가 최초로 원인균을 분리하였다. 그 후 1928년부터 돼지에서 중요성이 인식되었으며, 1950년대 발병이 증가되었으나 예방약의 개발과 항균물질로 치료하여 발병이 감소하였다. 그러나 1980년대 발병의 증가를 보고하였다.<sup>11</sup> 최근 김<sup>12</sup>은 미국 뉴저지 주에서도 돼지丹毒의 발병을 보고하였다. 본 연구에서도 1987년 12월부터 돼지에서 *E rhusiopathiae*를 분리하였으며 1988년, 1989년 하절기에 주로 분리할 수 있었다.

우리나라에서는 주 등<sup>20</sup>이 도살돈 및 발병돈에서 *E rhusiopathiae*를 분리하여 생화학적 성상, 혈청형, 마우스에서의 병원성 및 항생제 감수성을 조사하였으며 심 등<sup>21</sup>도 이와 유사한 연구결과를 보고하였다.

그러나 본 연구에서는 급성 패혈증으로 폐사한 돼지에서 *E rhusiopathiae* 14株를 분리하여 생화학적 성상, 병원성, 혈청형 및 항균제에 대한 감수성을 조사하였다.

*E rhusiopathiae*의 病原性은 균체내의 neuraminidase에 기인하며<sup>6</sup>, 마우스와 돼지에서 확인하고 있다.<sup>2,5</sup> 본 연구에서는 國內 돼지에서 分離한 *E rhusiopathiae* 89368株의 마우스에 대한 LD<sub>50</sub>의 세균수는 1.8×10cfu/0.1ml이었으며 표준주 T-2株의 4.5×10cfu/0.1ml보다 항원성이 강하였다. Wood<sup>10</sup>은 *E rhusiopathiae* 病原性 균주의 마우스에 대한 LD<sub>50</sub>의 세균수는 1.1~10.7 cfu/0.1ml라고 발표하여 본 성적과 유사하였다. 또 돼지에서의 병원성은 돼지에 피내주사후 48시간에 특징적인 발적현상을 관찰할 수 있으며 직경이 18mm 이상이면 病原性을 인정하고 있다.<sup>2,10</sup> 본 연구에서도 分離한 *E rhusiopathiae* 89368株를 돼지에 피내주사후 48시간에 직경 30mm 크기의 발적현상을 보여 병원성이 강함을 알았다.

*E rhusiopathiae*는 면역 확산반응으로 혈청형을 구분하고 있으며 slide gel diffusion precipitation test<sup>17</sup>, double agar-gel diffusion method<sup>16, 20, 21</sup>, agarose gel slide double-diffusion system<sup>4</sup>, gel precipitation test<sup>18</sup>, double diffusion precipitation test<sup>22</sup> 등으로命名하며 시험하고 있으나 유사한 방법이라 할 수 있다. She et al<sup>23</sup>은 counter immunoelectrophoresis test로 혈청형을 구분하고 있다. *E rhusiopathiae*의 血清型은 현재까지 24種으로 구분하고 있으며<sup>18</sup> 주요한 血清型은 血清型 1a, 1b, 2, 5, 6 등이며 다른 혈청형은 주로 건강한 돼지에서 분리된다. 돼지에 병원성이 확인된 혈청형은 혈청형 1, 2, 3, 4, 9, 10, 11, 20, 21 등으로 알려져 있다.<sup>5, 23</sup> She et al<sup>23</sup>은 血清型 1은 주로 급성형에서, 血清型 2는 만성형에서 육안적으로 건강한 돼지에서는 血清型 6과 2가 주로 분리된다고 보고하였다. 주 등<sup>20</sup>은 감염돈에서는 혈청형 1이 3株, 혈청형 2가 4株, 도살돈에서는 혈청형 1이 18株, 혈청형 2가 28株, 혈청형 9가 1株, 혈청형 10이 2株씩 각각 분리 보고하였고 심 등<sup>21</sup>은 도살돈에서 血清型 1, 2, 9, 10, 12 등을 分離 보고하였다. 본 연구에서는 급성으로 폐사한 돼지에서 *E rhusiopathiae* 14株를 분리하여 혈청형을 구분하였던 바 모두 血清型 1이었으므로 본 연구에 공시된 돼지가 검출은 급성형의 돼지丹毒임을 알 수 있었다.

國內에서 分離한 *E rhusiopathiae* 14株의 각종 항균제에 대한 감수성은 ampicillin, baytril, cephalothin, chloramphenicol, penicillin 및 tetracycline에 감수성이 우수하였으며 주 등<sup>20</sup>, 심 등<sup>21</sup>의 성적과도 유사하

였다.

돼지丹毒의 효과적인 예방, 치료 및 박멸방법을 수립하기 위하여 앞으로 원인균분리방법<sup>3,24</sup>, 혈청형별 병원성<sup>25,26</sup>, 혈청형별 교차 면역원성<sup>7,9,10</sup>, 면역형성 억제요인<sup>27</sup>, ELISA를 이용한 혈청형별 특이면역물질<sup>28</sup>, 방어 항원 인자인 glyco-lipoprotein<sup>29</sup>, 개량된 생균 및 사균백신<sup>8,30</sup>에 관한 더 많은 연구가 필요하다고 사료된다.

## 結 論

돼지丹毒으로 폐사한 돼지에서 *E rhusiopathiae*를 분리하여 生化學的 性狀, 分離株의 病原性, 血清型 및 각종 항균제에 대한 감수성을 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 돼지丹毒으로 폐사한 돼지에서 *Erhusiopathiae* 14株를 分離 同定하였으며, 하절기에 많은 발생을 보

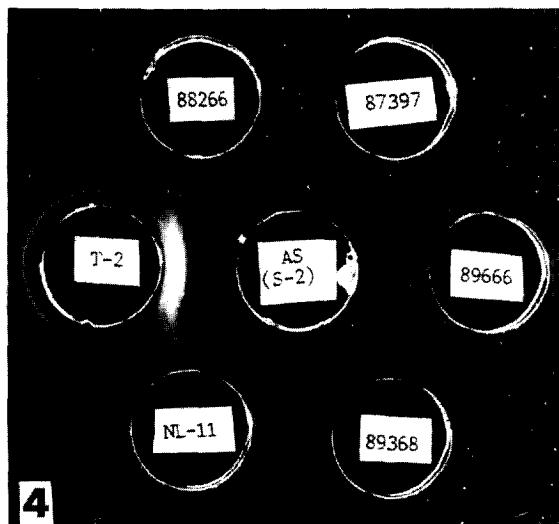
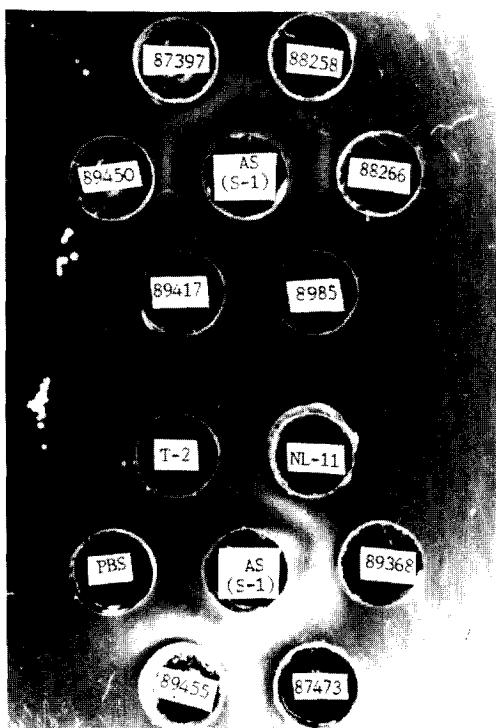
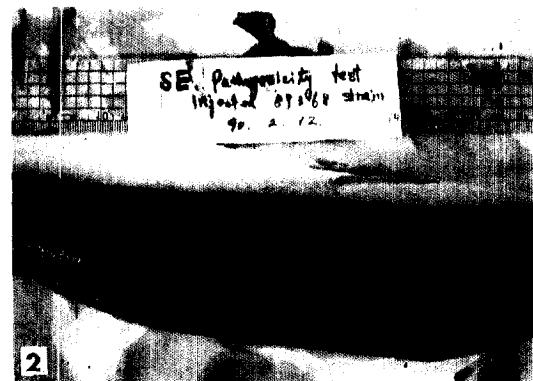
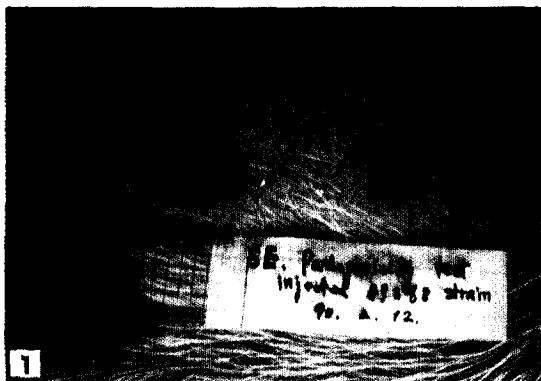
였다.

2. 국내에서 分離한 *E rhusiopathiae* 14株는 Gram 양성, H<sub>2</sub>S 양성,  $\alpha$ -hemolysis, catalase 음성, indole 음성 등의 生化學的 性狀을 보였다.

3. 分離株 *E rhusiopathiae* 89368株는 마우스에서 病原성이 강하여 LD<sub>50</sub>의 세균수는  $1.8 \times 10$ cfu/0.1ml이었다. 돼지에서도 전형적인 피부 발적반응과 급성 패혈증을 보였으며 혈액 및 실질 장기에서 *E rhusiopathiae*를 순수 분리하였다.

4. 면역학반응으로 分離株의 血清型을 조사하였던 바 14株 모두 血清型 1이었다.

5. 分離한 *E rhusiopathiae* 14株의 각종 항균제에 대한 감수성은 ampicillin, baytril, cephalothin, chloramphenicol, penicillin 및 tetracycline에 감수성이 우수하였다.



#### Legends for figures

- Fig 1.** Local urticarial lesions induced in swine by intradermal injection of *Erysipelothrix rhusiopathiae* isolates (89368 strain) from porcine.
- Fig 2.** Enlargement of spleen induced in swine by intravenous injection of *Erysipelothrix rhusiopathiae* isolates(89368 strain) from porcine.
- Fig 3.** Specific serotype reactions of *Erysipelothrix rhusiopathiae* serotype 1 in the agarose gel slide double-diffusion system. All isolates were precipitated with serotype 1(As=rabbit antiserum, number=autoclaved extract of isolates).
- Fig 4.** Specific serotype reactions of *Erysipelothrix rhusiopathiae* serotype 2 in the agarose gel slide double-diffusion system (As=rabbit antiserum, number=autoclaved extract of isolates).

## 参考文献

1. Ose EE. Erysipelas. Proceedings of the twelfth annual Nebraska SPF conference, Nebraska 1972: 4~6.
2. Wood RL, Packer RA. Isolation of *Erysipelothrix rhusiopathiae* from soil and manure of swine-raising premises. Am J Vet Res 1972;33: 1611~1620.
3. Stephenson EH, Berman DT. Isolation of *Erysipelothrix rhusiopathiae* from tonsils of apparently normal swine by two methods. Am J Vet Res 1978;39:187~188.
4. Wood RL, Haubrich DR, Harrington Jr R. Isolation of previously unreported serotypes of *Erysipelothrix rhusiopathiae* from swine. Am J Vet Res 1978;39:1958~1961.
5. Wood RL, Harrington Jr R. Serotypes of *Erysipelothrix rhusiopathiae* isolated from swine and from soil and manure of swine pen in the United States. Am J Vet Res 1978;39:1833~1840.
6. Nikolov P, Abrashev J, Ilieva K, et al. Virulence and neuraminidase activity in *Erysipelothrix rhusiopathiae*. Acta Microbiologica Bulgarica 1978;2:62~65.
7. White TG. Type specificity in the vaccination of pigs with killed *Erysipelothrix rhusiopathiae*. Am J Vet Res 1962;23:752~755.
8. Shuman RD. Comparative experimental evaluation of swine Erysipelas bacterins and vaccines in weanling pigs, with particular reference to the status of their dams. Am J Vet Res 1959; 20:1002~1009.
9. Wood RL, Booth GD, Cutlip RC. Susceptibility of vaccinated swine and mice to generalized infection with specific serotypes of *Erysipelothrix rhusiopathiae*. Am J Vet Res 1981;42:608~614.
10. Wood RL. Specificity in response of vaccinated swine and mice to challenge exposure with strains of *Erysipelothrix rhusiopathiae* of various serotypes. Am J Vet Res 1979;40:795~801.
11. Wood RL. Swine erysipelas-a review of prevalence and research. JAVMA 1984;184:944~949.
12. 김진수. 미국 뉴저지주에서 빈발하는 돼지의 급사에 대한 소견. 대한수의사회지 1990;26:223~225.
13. 전무형. 최근 문제되는 돼지의 주요 전염병의 성상과 대책. 대한수의사회지 1989;25:513~518.
14. Atkinson N. A study of some Australian strains of *Erysipelothrix*. Austral J Exp Biol & Med Sci 1941;19:45~50.
15. Reed LJ, Muench H. A simple method estimating fifty percent end points. Am J Hyg 1938;27: 493~497.
16. Kucsera G. Proposal for standardization of the designations used for serotypes of *Erysipelothrix rhusiopathiae*(Migula) buchanan. International Journal of Systemic Bacteriology 1973;23:184~188.
17. Mansi W. Slide gel diffusion periclitin test. Nature 1958;181:1289~1290.
18. Norrung V. Two new serotypes of *Erysipelothrix rhusiopathiae*. Nord Vet Med 1979;31:462~465.
19. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, et al. Antibiotics susceptibility testing by a standardized single disk method. Am J Clin Pathod 1966;45:493~496.
20. 주이석, 김종만, 박정문 등. 돼지로 부터의 돈단독균 분리동정에 관한 연구. 가축위생시험연구 1986;103~105.
21. 심중무, 정기수, 김종술 등. 돈으로 부터 분리된 돈단독균의 혈청형 및 항체가에 관한 연구. 한국수의공중보건학회지 1990;14:1~7.
22. Kucsera G. Detection of new serotypes among *Erysipelothrix rhusiopathiae* strains of different origin. Acta veterinaria academiae scientiarum hungaricae 1971;21:211~219.
23. She YJ, Huang W et al. Serotyping E. rhusiopathiae proceedings of 11th IPVS 1990: p. 193.
24. Harrington Jr R, Wood RL, Hulse DC. Comparison of a fluorescent antibody technique and cultural method for the detection of *Erysipelothrix rhusiopathiae* in primary broth cultures. Am J Vet Res 1974;35:461~462.
25. Kalf GF, White TG. The antigenic components of *Erysipelothrix rhusiopathiae*. II. Purification and chemical characterization of a type-specific antigen. Archives of biochemistry and biophysics 1963;102:39~42.
26. Bratberg AM. Selective adherence of *Erysipelo-*

- thrix rhusiopathiae* to heart valves of swine investigated in an in vitro test. Acta Vet Scand 1981;22:39~45.
27. Cysewski SJ, Wood RL, Pier AC, et al. Effects of aflatoxin on the development of acquired immunity to swine erysipelas. Am J Vet Res 1978;39:445~448.
28. Chin JC, Eamens GJ. Immunoreactivity of fractionated antigens obtained from autoclaved extracts of an arthritogenic isolate of *Erysipelo-*
- thrix rhusiopathiae*. Australian veterinary journal 1986;63:355~359.
29. White RR, Verwey WF. Solubilization and characterization of a protective antigen of *Erysipelothrix rhusiopathiae*. Infection and Immunity 1970;1:380~386.
30. White RR, Verwey WF. Solubilization and characterization of a protective antigen of *Erysipelothrix rhusiopathiae*. Infection and Immunity 1970;1:387~393.