

돼지의 Leptospira 屬菌에 대한 血清抗體調查 －江原道 地域을 中心으로－

鄭東秀·金政基·朴良柱·金教承

江原道 家畜衛生試驗所

Serological Study on Leptospirosis in Pigs

Dong-Soo Jung, Jung-Kee Kim, Rhang-Zoo Park, Kyo-Seung Kim

Kangwon Veterinary Service Laboratory

Abstract

This experiment was to investigate the Leptospiral antibody in the pigs with the serological test in two areas of Kangwondo from March to April, 1989.

Twelve different living antigen (*L. icterohaemorrhagiae*, *L. pomona*, *L. hardjo*, *L. australis*, *L. canicola*, *L. autumnalis*, *L. grippotyphosa*, *L. tarassovi*, *L. pyrogenes*, *L. bataviae*, *L. lai* and *L. ballum*) of *Leptospira interrogans* was used for the serological test in the pigs.

The blood sample of 280 pigs collected from the slaughter houses were detected by microscopic-agglutination test.

The results were as follows:

1. Among the serum sample of 280 heads of the pigs, 6 heads of the swine (2.14%) were positive.
2. Among the positive sample of 6 heads, 3 heads of the swine (1.1%) showed the antibody of *L. icterohaemorrhagiae*, 2 heads of the swine (0.7%) showed the antibody of *L. canicola*, and 1 head of the swine (0.4%) showed the antibody of *L. pomona*.
3. The positive rate of *Leptospira interrogans* in the swine of Kangwondo appeared to be very low.

緒論

렙토스피라病은 여러 血清型을 갖는 *Leptospira* (以下 L이라 약함) *interrogans*에 의한 急性全身性 人獸共通感染疾患으로써 1896年 Weil에 의해 처음 기술되었으며^{17·27} 1916年 Inda와 Ulbenbuth 등이 Weil's病의 원인균으로써 스피로헤타樣菌을 처음 發見한 後 1918年 Noguchi에 의해서 *Leptospira* 라命名되었고¹⁰ 렙토스피라증의 원인균인 *L. interrogans*는 현재까지 23血清群(serogroup)에 187여 血清型이 알려지고 있다.^{14·15}

스피로헤타속으로 分類되는 이 菌은 원추形의 가는 간균으로 직경이 0.1~0.2μm, 길이가 3~10μm이다. 살아있는 菌은 가늘고 휘기 쉬운 필라멘

트型으로 다른 細菌이 통과할 수 없는 여과체를 통과할 능력이 있으며 암실조명(dark-field-illumination) 下에서만 관찰된다.²⁵⁾

세계보건기구에서는 이들을 크게 두가지 血清型인 病原性이 있는 *L. biflex*로 分類하고 있다.^{18·24)}

우리나라에서는 1919年 Takaki가 죽은 족제비에서 처음 *L. icterohaemorrhagiae*²⁸⁾ 分離하였고, 그후 소, 돼지, 개, 쥐 등에서 血清學的 또는 細菌學的方法으로 *L. icterohaemorrhagiae*, *L. pomona*, *L. canicola*, *L. hebdomadis*, *L. grippotyphosa*, *L. tarassovi*, *L. autumnalis* 및 *L. australis* 등이 確認되었고, 動物에 따라 0.6~4.9%의 抗體保有率이 報告되어 人體感染이 있을 가능성을 시사했다.³¹⁾

며 수화기를 前後하여 人體에 심한 오한과 두통, 근육통, 폐출혈증세와 객혈 및 호흡곤란등의 호흡기 증상을 보이며,^{9·21·22·28·30} 怪疾症으로 일컬었던 病의 원인균이 렙토스피라로 確認됨에 따라 공중위생학 축면에서 아주 重要한 人獸共通傳染病(zoonoses)으로 認定받게 되었다.^{18·19·20·29}

렙토스피라症은 全世界에 걸쳐 가축 혹은 野生動物들(skunks, raccoons, foxes, rats)을 숙주로 하여 20~30개월이상 이들 동물의 尿를 통해서 菌體를 배설함으로 자연환경을 汚染시키며, 汚染된 물, 흙 및 채소등에 간접적으로 접촉하므로써 人體感染이 誘發되는 것으로 보고 있다.^{22·25·27}

사람에 있어서의 주된 침입로는 손상된 피부(특히 발 근처), 노출된 결막, 비강 혹은 구강의 점막등으로 알려져 있으며¹³⁾ 가축에 있어서도 菌은 점막이나 피부를 離고 動物體內로 들어가서 증식하여 초기에는 렙토스피라가 조직으로 移動하면서 모세혈관벽에 손상을 주어 국소출혈이 나타나고 이차적으로 신장, 간장 및 부신등에 국소빈혈을 수반하여 용혈소의 作用에 의한 血尿症^{7·12)} 유산 및 사산을 일으키고, 菌體의 運動과 移動때문에 거의 全般에 걸쳐 조직과 기관에 出血을 야기한다.^{18·24)}

렙토스피라症에 대해 가장 보편적으로 쓰이고 있는 血清學的 진단방법은 Galton⁶⁾과 Cole³⁾에 의해 제시된 현미경 응집검사(microscope agglutination-test)이며, 그밖에 혈구응집검사,⁸⁾ 보체결합검사,¹¹⁾ 혈구용해검사⁴⁾ 등이며, 生菌抗原이 필요치 않으며 많은 양을 동시에 검진할 수 있는 효소면역측정법(enzyme-linked-immuno sorbent-assay, ELISA)이 유용하다고 보고되고 있다.^{1·16)}

著者は 江原地域 豚의 Leptospira 屬菌에 대한 血清學的인 陽性率과 그 血清型을 파악하고자 현미경 응집반응으로 本 調査를 실시하였다.

材料 및 方法

1. 供試家畜

성별과 연령은 고려하지 않고, 강원도 춘천, 춘성과 원주지역에서 飼育된 豚이 供試되었다.

2. 供試血清

춘천 및 원주 도축장에서 3月 및 4月에 屠殺된 돼지 280頭로부터 경정액에서 3cc정도 씩 採血하여 室溫에 응고시킨 뒤 시험실로 운반하여 24hrs 後 1500RPM으로 원심하여 血清을 分離하였다.

分離된 血清은 water bath에서 56℃ 30분간 비동화시켜 냉동실에 保管하였다.

3. 供試抗原

이 調査에 사용된 抗原인 Leptospira菌의 血清型(serotype)은 L. pomona, L. canicola, L. icterohaemorrhagiae, L. hardjo, L. lai, L. ballum, L. australis, L. autumnalis, L. grippotyphosa, L. tarassovi, L. pyrogenes 및 L. bataviae 등 12種이며, 이 抗原은 국립가축위생연구소에서 분양받은 것이다.

4. 血清検査

本 血清抗體検査에는 현미경응집반응(microscope-agglutination-test: 以下 MAT라 약함)을 이용했다.

이 反應에 사용된 抗原은 EMJH 배지에 1주일간 培養된 것을 암시야현미경으로 200倍率에서 鏡檢하여 그대로 사용하거나 菌數가 많을 때는 한시야당 $3\sim5\times10^3$ 개의 菌數로 細胞하여 使用했다.

시험관에서 1:50으로 細胞한 可檢血清을 microplate에서 1:100으로 抗原과 細胞시켜 28℃에서 1½~2hrs 感作시킨 다음 200倍率의 암시야현미경으로 調査하였으며, 判定기준은 응집의 정도에 따라서 다음과 같이 나누었다.

- 1) 4:100% agglutination : no free leptospires seen
- 2) 3:75% agglutination : few free leptospires seen
- 3) 2:50% agglutination : approx, ½ agglutinated, and ½ leptospires
- 4) 1:25% agglutination : few less leptospires than control
- 5) 0:5% agglutination : as control

血清細胞 1:100에서 50% 응집을 보이는 것을 陽性으로 判定하였다.

結果 및 考察

江原地方에서 3月과 4月의 2개월간 춘천 및 원주 屠畜場에서 도살된 豚 280頭에 대하여 Leptospira 屬菌에 대한 血清抗體를 MAT로 檢查한 결과는 Table 1에서 보여주는 바와 같다.

血清 희석 1:100에서 50%이상 응집이 나타나는 것을 陽性判定했는데 280頭중 6例(2.14%)였고 陽性反應을 보이는 것 중 血清型別 및 抗體價는

Table 1. Result of leptospirosis in pigs

Animals tested	District	No. of examined	No. of positive
Pig	Choon sung	160	3(1.8%)
	Choon chun		
	Won ju	120	3(2.5%)
Total		280	6(2.14%)

Table 2에서 보여주는 바와 같다.

Table 2. Antibody titer of positive pigs with leptospira antigen

Antigen	Titration					Total
	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1000이상	
L. pomona	1					1
L. canicola	1	1				2
L. icterohaemorrhagiae	1	2				3

L. pomona가 1例(0.4%), L. canicola가 2例(0.7%) 그리고 L. icterohaemorrhagiae가 3例(1.1%)로 매우 낮은 陽性率을 보이고 있다. 本 실험에서 隱性으로 判定된 血清中 1:50에서 陽性反應을 나타낸 것은 L. canicola가 3例, L. pomona가 6例, L. icterohaemorrhagiae가 5例 그리고 L. grippotyphosa 가 2例 등이었다.

현재까지 우리나라 돼지에서 밝혀진 Leptospira 屬菌의 血清型은 L. pomona, L. canicola, L. icterohaemorrhagiae 및 L. grippotyphosa 등이 報告되어 있으며²³⁾ L. grippotyphosa는 미국 및 유럽에 많이 發生되고 있고^{23·24)} 동남아에서는 필리핀에

서만 보고된 바 있다.²⁾ L. tarassovi는 여러 나라에서 돼지의 렙토스피라등의 원인균으로 作用하며, 돼지가 重要한 숙주인 同時에 1차적인 傳染源이다.²⁴⁾

1972年 徐²³⁾등이 調査한 韓國과 아시아 몇나라의 돼지 Leptospirosis의 血中抗體 陽性率과 著者가 調査한 成績과의 比較는 Table 3과 같다.

일본이 5.8%, 대만이 9.7%, 태국이 29.2%, 필리핀이 27%, 한국은 5.8%였다. 著者의 調査成績 2.1%와 比較検討해 볼 때 徐等의 調査결과보다 낮은 陽性率을 나타내고 있으며 다른 나라에 비해 훨씬 낮은 比率을 보여주고 있다.

Table 3. Comparison of serological test on leptospirosis in other countries

Nations	Animal species	Percentage of positive	Method applied	Antigens used
*Korea	Pigs	2.1%	Microscopic agglutination test	12
**Korea	"	5.8%	Rapid Microscopic agglutination test	10
Japan	"	10.9%	Microscopic agglutination test	6
Taiwan	"	9.7%	Rapid Microscopic agglutination test	6
Thailand	"	29.2%	Microscopic agglutination test	18
Philippines	"	27.0%	Slide agglutination test	22

* 著者調査

** 徐등이 調査

이 같은 원인은 지역적인 차이도 있겠지만, 17年前보다 抗生劑 使用의 증가와 방역관리 체제가 향상 되었기 때문인 것으로 생각된다.

렙토스피라증은 태아폐사로 인한 경제적 손실 및 保菌豚이 다른 가축이나 사람에 까지 感染을 일으킨다는 점에서 매우 重要한 人獸共通傳染病이다. 미국내 여러 곳에서 血清學的 檢查를 실시한 결과 어떤 주는 되지의 30%가 렙토스피라증에 感染된 것으로 밝혀졌으며 그외 유럽, 남아메리카 및 호주에서도 이와 비슷한 수준의 流行을 보여 이 疾病이 世界的 疾病임을 알 수 있다.²⁴⁾

이 원인균은 자연상태에서 생존하기 위해 水分이 필수적 요건이므로 웅덩이, 물구덩이 또는 습지를 없애고 건조한 환경을 만들어 주는 것은 렙토스피라증 예방에 대단히 중요한 일이다.

結論

江原道 地域에서 돼지에 대한 Leptospira 屬菌의 感染實態와 그 血清型을 파악하기 위하여 2개지역 屠畜場에서 屠殺된 豚血清 280例에 대한 L. pomona, L. canicola, L. icterohaemorrhagiae, L. hardjo, L. lai, L. australis, L. ballum, L. autumnalis, L. grippotyphosa, L. tarassovi, L. pyrogenes 및 L. bataviae등 12種의 抗原을 使用하여 현미경 응집반응(MAT)으로 血中抗體를 調査한 결과는 다음과 같다.

1. 豚 280頭中 陽性豚은 6頭로써 2.1%의 陽性率을 보였다.
2. 陽性豚의 血清型은 L. icterohaemorrhagiae 가 3頭(1.1%), L. canicola가 2頭(0.7%) 그리고 L. pomona가 1頭(0.4%)의 分布를 보였다.
3. 江原地域에서 豚의 Leptospirosis에 대한 陽性率은 대단히 낮았다.

参考文獻

1. Adler, E., S. Faine and L.M. Gordon. 1981 : The enzyme-linked-immunosorbent assay(ELISA) as a serological test detecting antibodies against leptospira interrogans serover hardjo in sheep. Aust. Vet. J. 57 : 414.
2. Carlos, R.E., D.W. Kundin, C.C. Tsai and C. Batungbakal, 1970 : Leptospirosis in the Philippines I-isolation studies, Acta Medica philippina in Press.
3. Cole, J.R., H.C. Ellinghausen and H.L. Rubin. 1979 : Laboratory diagnosis of Leptospirosis of domestic animals. Proc. Annu. Meet. us Anim. Health Assoc. 83 : 189.
4. Cox, C.D. 1957 : Standardization and stabilization of an extract from Leptospira biflexa and its use in the hemolytic test for Leptospirosis. J. Infect. Dis. 101 : 203.
5. Faine, S. 1982 : Guidelines for the control of Leptospirosis WHO. Geneva.
6. Galtan, M.M., D.K. Powers, A.D. Hall and R.G. Cornell. 1958 : A Rapid microscopic slide screening test for the serodiagnosis of Leptospirosis Am. J. Vet. Res. 19 : 505.
7. Johnson, R.C. and V.G. Harris. 1967 : Differentiation of pathogenic and saprophytic Leptospires I. Growth at low temperature. J. Bacteriol. 94 : 27.
8. Palit, A. and J. Gulaskharam. 1973 : Genus-specific leptospiral antigen its possible use in laboratory diagnosis J. Clin. Path. 26 : 3.
9. Mandell, G.L. 1985 : Leptospira species(Leptospirosis) 1338, Mandell G.L., Douglas R.G., Jr. Bennett J.E. Principles and practices of infectious disease, 2nd edition, John Wiley and Sons Inc., New York.
10. Noguchi, H. and A.J. Exper. 1918 : Med. 27 : 575, B.J. Exper. Med. 27 : 593.
11. Randall, R., P.W. Wetmore and A.R. Warner. 1949 : Sonic-Vibrated Leptospirae as antigens in the complement fixation test for the diagnosis of Leptospirosis. J. Lab. Clin. Med. 34 : 1411.
12. Russell, C.M. 1956 : A "hemolysin" associated with Leptospirae, J. Immuno I. 77 : 405.
13. Sanford, J.P. 1983 : Leptospirosis, 1048 petesdorf R.G., Adams R.D., Bracnwald E., Isselbacher K.J., Martin J.B., Wilson J.D., Harrison's principles of Internal Medicine. 10th edition, McGraw Hill book company New York.
14. The subcommittee on Taxonomy of Leptospira

- X IV International Congress of Microbiology in Manchester 5 / 6 september. 1986.
15. Tansil, B. 1984 : Bergy's manual of systematic bacteriology. William and Wilkins. Baltimore. 62 ~70.
 16. Waltman, W.D. and D.L. Dawe. 1983 : Enzyme-linked immuno sorbent assay for the detection of leptospiral antibodies in swine sera. An. J. Vet. Res. 44 : 1120.
 17. Weil, A. : Ueber Eile Eligenthumliche, Mit Milz tumor Icterus.
 18. 강승원 : 가축의 렙토스피라病. 대한수의사회지. 22(3) : 156.
 19. 국립보건원. 1986 : 한국에서 유행하는 렙토스피라증에 관한 연구(I). 59~108.
 20. 국립보건원. 1987 : 한국에서 유행하는 렙토스피라증에 관한 연구(II). 99~153.
 21. 김주덕, 이태윤, 이원영, 이봉기. 1986 : 유행성 출혈형, 폐염양 질환의 병원체에 관한 연구. 대한미생물학회지. 21(2) : 191~192.
 22. 대한수의공중보건학회편. 1982 : 수의공중보건학. 287~289.
 23. 徐錢洙, 劉榮標. 1972 : Leptospira 속균에 대한 韓牛와 豚의 血中抗體調査. Korean J. Vet. Res. 12(1) : 91~95.
 24. 양돈연구. 1989 : 렙토스피라증. 4 : 77~82.
 25. 이종훈. 1984 : 병원 미생물학. 수문사. pp.319~321.
 26. 이정상, 김성권, 박용호외 8인 : 혈청학적 방법으로 확인된 렙토스피라병의 임상상. 대한의학협회지. 29(5) : 37~47.
 27. 이현범. 1985 : 돼지 질병학. 유한문화사. 115.
 28. 장우현, 박경희, 이정빈. 1988 : 단세포균, 항체를 이용한 국내분리 렙토스피라균의 혈청학적 분석. 대한미생물학회지. 23(3) : 277~278.
 29. 조규장. 1987 : 사람과 동물의 Leptospirosis에 대하여. 대한수의사회지. 23(11) : 712.
 30. 조민기, 민창홍, 김윤원, 윤창순. 1988 : 교차응집소 흡수방법에 의한 국내분리 렙토스피라균의 혈청형 동정(1984~1987). 대한미생물학회지. 23 : 169.
 31. 崔源弼, 李熙碩. 1985 : Leptospira에 대한 한우 및 유우의 혈청항체 조사. 대한수의사회지. 25 : 49.