

국내 양돈장에서 돼지글래셔병을 동반한 PMWS에 대한 M+ parapac[®]의 방어효과

안나경, 서태원, 정현규¹, 윤병일, 한정희*

강원대학교 수의학부대학, ¹도드람 양돈조합

(접수 2008. 05. 27. 계재승인 2008. 09. 22)

Efficacy of M+ parapac[®] on protection against PMWS with Glässer's disease

Na-kyoung Ahn, Tae-won Seo, Hyun-kyu Jeong¹, Byung-il Yoon, Jeong-hee Han*

Department of Veterinary Pathology, School of Veterinary Medicine and Institution of Veterinary
Science, Kangwon National University, 200-701, Korea; ¹Dodram Pig Farmer's
Co-operative, Echun

(Received May 27, 2008, accepted in revised from September 22, 2008)

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the efficacy and cross-protection of serovar 12 against serovar 4 or 5 of *H. parasuis* with M+Parapac[®]. A total of 141 piglets from 2(A and B) farms were used and divided into experimental group and control group in each farm. Farm A has been detected *H. parasuis* serovar 12, whereas farm B has been detected *H. parasuis* serovar 4 or 5 from post-weaned pigs with PMWS. The piglets were vaccinated intramuscularly with 2.0ml of M+Parapac[®] in experimental group or normal saline in control group at 1 week of age. A same booster dose was given at 3 weeks of age. In order to value the antibody titer to *H. parasuis* using by tube agglutination test, blood samples were collected from piglets at the aged of 1 week, 6 and 14 weeks. In experimental group and control group, the average antibody titers were 32.5±21.0, 114.5±34.0, 98.1±55.4 and 32.9±18.6, 25.8±36.9, 746.7±1,215.8 at the aged of 1 week, 6 and 14 weeks, respectively. The cumulative clinical sign indexes by standard guideline of Schering-Plough Animal Health Corp were 486 and 1,069, respectively. The average daily gains and feed conversion rates were 0.553±0.016kg

* Corresponding author

Phone : +82-33-250-8657

Fax : +82-33-256-3722

E-mail : hanjh@kangwon.ac.kr

and $0.492 \pm 0.004\text{kg}$, and 1.99 and 2.24, respectively. The average gross lesion scores were 1.0 ± 0.8 and 1.9 ± 0.6 , respectively. According to these results, the M+ Parapac[®] containing *H. parasuis* serovar 12 may be induce circulating antibodies that cross-react with serovar 4 or 5 and have a protection of PMWS with *H. parasuis*.

Key words : *Haemophilus parasuis*, Glässer's disease, M+Parapac[®], Cross-react

서 론

*Haemophilus(H) parasuis*는 돼지 다발성 장막염 및 관절염(porcine polyserositis and arthritis, Glässer's disease)의 일차 병원체로, 글래셔병의 임상증상으로는 식욕부진, 의기소침, 운동거부, 발열, 경련, 운동실조, 폐사 등을 보이며, 섬유소성 장막염, 흉막염, 심낭염, 뇌막염, 관절염 등이 특징이다¹⁾.

1910년 Glässer에 의해 그람음성 간균이라고 알려진 후, 1952년 Bakos 등에 의해 여러 serotype이 있음이 밝혀졌으며 지금까지 15종 이상의 *H. parasuis* serotype이 분리되었으며 지역에 따라 다양하고, 병원성 또한 다양하다. Serotype 1, 4, 5, 10, 12, 13, 14는 비교적 병원성이 높으며, serotype 3, 6, 7, 8, 9는 없거나 낫다¹⁾. *H. parasuis*는 건강한 돼지의 호흡기 분비물에서 검출되기도 하고, 네마크에서 실시한 호흡기계 감염 돼지의 혈청학적 검사에 따르면 *H. parasuis*의 검출이 70%에 달하여 양돈장에 전반적으로 산재되어 있음을 알 수 있다^{4,5)}. 어린 연령의 돼지에서는 보돈으로부터 이행된 항체로 인하여 질병을 일으키지 않는다고 알려져 있으나, 1주령의 어린 자돈에서도 검출되므로 양돈장에서 피해는 커질 수 있다^{4,5)}. 돼지 글래셔병은 주로 이유 적후인 5-8주령에 가장 많이 발병하나, SPF 돼지에서는 나이 많은 돼지에도 쉽게 감염되며 이환율도 매우 높다^{6,7)}. 육안적인 특징이 뚜렷하기 때문에 쉽게 진단이 가능하나 발병 예에서 균 분리율은 높지 않다⁸⁾. 다발성 감염병의 특

성 때문에 *H. parasuis*의 감염만으로는 발병 하기 어려우며 발병하더라도 산발적이고 한 농장에 그치는 것이 보통이다⁶⁾. Choi 등⁹⁾의 보고에 따르면 미국에서의 PRRSV의 단독감염은 96건(3.3%)에 불과하였으나 PRRSV와의 복합감염은 176건(6.1%)에 달하였다. 이는 감염 병원체 간의 상호작용에 의한 것으로 바이러스와 같은 병원체가 먼저 감염된 후에 세균이 이차적으로 침입함으로써 질병을 진행시키거나 악화시킬 수 있기 때문이다¹⁾.

국내에서는 Bak 등¹⁰⁾에 의해 최초로 자돈에서 *H. parasuis*가 검출되어 보고되었고, Lee 등¹¹⁾은 *H. parasuis* serotype 2, 3, 4, 5가 검출되었다고 하였다. 국내 분리된 *H. parasuis* 중 serotype 5와 12이 가장 많았다¹²⁾. Kang 등¹³⁾은 1997년부터 2002년까지 *H. parasuis*의 혈청형을 분류하여 보았을 때 25건 중 12건은 분류 할 수 없었으나, serotype 12가 6건(24%), serotype 5가 4건(16%), serotype 2, 4, 11이 각각 1 건(4%)씩 분류되어 serotype 12의 발생빈도가 비교적 높았다고 하였다.

Serotype 간의 교차면역이 항상 성립되지는 않으나 실험적으로 *H. parasuis*의 serotype 4 또는 5로 serotype 12, 13, 14에 대해서는 방어할 수 있었으나 serotype 2는 방어하지 못하였다¹⁴⁾. Serotype 2와 5는 서로 교차면역이 안되는 것으로 알려져 있다¹⁵⁾. 유럽에서는 serotype 1, 12, 13, 14와의 교차면역이 가능한 *H. parasuis* serotype 5 백신이 개발되어 사용되고 있다¹⁶⁾.

본 실험에서는 *Mycoplasma(M) hyopneumoniae*와 *H. parasuis* serotype 12의 혼합백신인 M+ Parapac[®] (Schering-Plough Animal

Health, USA)을 사용하여 *H. parasuis* 감염을 동반한 PMWS이 발생된 이유자돈에 있어서 방어효과와 양돈장을 대상으로 국내에서 다발한다고 알려져 있는 *H. parasuis* serotype 4 또는 5에 대한 교차방어 반응 여부를 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

시험동물 및 실험설계

PMWS에 의한 이유자돈의 폐사를 보인 2개 양돈장을 대상으로 PCR 검사법을 통해 *H. parasuis* serotype 12가 검출된 양돈장(A)에서 97두, *H. parasuis* serotype 4 또는 5가 검출된 양돈장(B)에서 44두, 총 141두의 포유자돈을 대상으로 하였다.

시험자돈은 체중과 암수를 고려하여 선정하였고, 시험군은 M+ parapac®을 접종한 실험군(A-1, B-1)과 생리식염수를 접종한 대조군(A-2, B-2)으로 구분하여 1, 3주령 포유자돈의 경부에 각각 2㎖씩 균육접종한 후에 14주령이 될 때까지 실험을 진행하였다. 시험 전체 기간 동안 모든 시험자돈은 동일한 사육환경과 사양 관리 조건하에서 실시하였으며, 사료급이는 시험양돈장의 급이 프로그램에 의해 급이하였고, 음수는 자유 급이하도록 하였다.

M+ Parapac®의 구성

*M. hyopneumoniae*와 *H. parasuis* serotype 12의 혼합백신으로 구성은 Table 1과 같다.

혈청검사

시험자돈에 있어서의 백신 접종에 따른 방어효과에 대해 확인하기 위하여 백신접종 전인 1주령, 2차 백신접종 후 3주인 6주령과 14주령에 각각 실험군 15두, 대조군 9두를 채혈하여 혈청검사를 실시하였다.

*H. parasuis*에 대한 항체검사는 Collins 등¹⁷⁾과 Gunnarsson 등¹⁸⁾의 방법에 준하는 시험관 응집반응을 실시하였다. 국립수의과학검역원에서 분양받은 *H. parasuis* 항원을 1:100으로 희석시킨 후 첫번째 시험관에는 0.4㎖, 나머지 시험관에는 0.2㎖씩 분주하였다. 가검 혈청을 첫번째 시험관에 넣어 잘 섞어준 후 0.2㎖씩 2진 단계 희석하였다. 37℃에서 48시간 반응시킨 후 응집상태를 관찰하여 8배를 기준으로 8배 이하는 음성으로 판정하고 16~512배는 백신접종 항체수준, 1,024 이상은 야기감염 항체수준으로 판정하였다.

Table 1. Component of the M+ Parapac®

Component	Quantity per 2㎖ dose
<i>M. hyopneumoniae</i> concentrate	0.05㎖
<i>H. parasuis</i> concentrate	0.33㎖
Ethyl alcohol	0.04㎖
Glycerin	0.1㎖
Aluminum hydroxide	0.192㎖
Normal saline	0.87㎖
Sodium bisulfite(35% solution)	0.001㎖
Thimerosal(2.5%)/EDTA(17.5%) solution	0.008㎖
Gentamicin solution(250mg/ml)	≤30.0µg/ml
Oil adjuvant	0.4㎖

임상증상 및 육안소견

6주령 자돈에서부터 시험종료시까지 매일 정한 시간에 식욕부진/절폐, 의기소침 등의 임상증상을 관찰하여 임상증상지수를 기록하였다(Table 2). 시험종료시까지 폐사두수와 성장률도 관찰하였다. 시험종료시에는 위축을 보이는 실험군 15두와 대조군 9두, 총 24두의 부검을 실시하여 심낭염, 흉막염, 복막염, 관절염 등의 병변을 관찰하여 육안병변지수를 기록하였다(Table 3).

Table 2. Clinical sign score for *H. parasuis* infection by Schering-Plough Animal Health

Clinical sign	Score
Normal	0
Loss of appetite	1
Mild or moderate depression	2
Severe depression, lameness and CNS sign	3
Death	20

Table 3. Gross lesion score for *H. parasuis* infection by Schering-Plough Animal Health

Gross lesion	Score
Normal	0
Moderate fluid and slight thickening of serosa	1
Thickening of serosa with fibrinous inflammation	2
Adhesion and fibrinous inflammation	3

PCR 검사

부검 후 폐를 5% PBS를 이용하여 균질화한

후, AccuPrep® Genomic DNA extraction kit (BIONEER, Korea)를 사용하여 DNA를 추출하였다. *H. parasuis* 유전자를 검출하기 위한 primer (F: GTGATGAGGAAGGGTGGTGT, R: GGCTTCGTCACCCTCTGT)를 제작하여 AccuPower® PCR premix (BIONEER, Korea)에 첨가하여 반응시켰다. PCR 완료 후에는 반응액 10μl와 loading dye 2μl를 1.5% agarose gel에 침적시킨 후 100V/cm에 40분간 전기영동을 시켜 band의 유무를 확인하였다.

결과

혈청검사 결과

M⁺ parapac®의 접종에 따른 평균항체가는 실험군에서 1주령 자돈은 32.5±21.0를, 6주령 자돈은 114.5±34.0를, 14주령은 98.1±5.4을 보였다. 반면에 *M⁺ parapac*®의 무접종군인 대조군에서 32.9±18.6, 25.8±36.9로 낮게 판찰되었다가 14주령 자돈에서는 64에서 2,048까지 판찰되었으며 평균항체가는 746.7±1215.8을 보였다(Table 4).

Table 4. Serological results by microtubular aggregation test after vaccination

Group*	1**	Mean antibody titer by age	
		6	14
Experimental	A-1	27.2 ± 12.2	130.2 ± 20.5
	B-1	43.2 ± 25.0	83.2 ± 35.8
Mean ± SD	32.5 ± 21.0	114.5 ± 34.0	98.1 ± 55.4
Control	A-2	30.7 ± 12.4	13.4 ± 7.1
	B-2	37.3 ± 17.8	50.7 ± 51.6
Mean ± SD	32.9 ± 18.6	25.8 ± 36.9	746.7 ± 1215.8

*A-1: vaccinated with *M⁺ parapac*®, detected *H. parasuis* serotype 12,B-1: vaccinated with *M⁺ parapac*®, detected *H. parasuis* serotype 4 or 5,A-2: non-vaccinated *M⁺ parapac*®, detected *H. parasuis* serotype 12,B-2: non-vaccinated *M⁺ parapac*®, detected *H. parasuis* serotype 4 or 5.

**age(week) after vaccination.

성장률

H. parasuis serotype 12가 분리된 양돈장에서 *M⁺ parapac*®의 접종에 따른 실험군의

성장률은 실험개시 평균체중 5.7kg, 종료 평균체중 48.3kg으로 평균두당증체는 42.6kg, 두당일당증체는 0.553kg, 사료요구율은 1.99를 보였다. *M⁺ parapac*®의 무접종군인 대조군의

성장률은 실험개시 평균체중 5.8kg, 종료 평균체중 43.7kg으로 평균두당증체는 37.9kg, 두당일당증체는 0.492kg, 사료요구율은 2.24를 보였다. 폐사율에서도 M+ parapac® 접종군은 4두가 폐사하여 2.2%를 보여 9두가 폐사하여 17.6%를 보인 대조군에 비해 낮았다(Table 6).

H. parasuis serotype 4 또는 5가 분리된 양돈장에서 M+ parapac®의 접종에 따른 실험군에서도 사료요구율이 2.05로 대조군의 2.3에 비해 낮았으며 폐사율에서도 7.1%로 대조군의 18.8%에 비해 낮았다(Table 5).

임상증상

H. parasuis serotype 12가 분리된 양돈장에서 M+ parapac®을 접종한 실험군에서 관

찰된 임상증상은 3주령까지는 패혈증을 동반한 급사한 1두 이외에는 뚜렷한 증상을 관찰할 수 없었다. 51일령의 포유자돈에서는 전형적인 글래셔병의 임상증상인 심한 정도의 의기소침, 운동거부, 신경증상, 위축 등을 보이다가 46일령과 49일령에서는 각각 1두가 폐사하였고, 식욕부진, 가벼운 정도에서 중등도의 의기소침도 관찰되었으며 임상증상 누적지수는 115를 보였다. 66일령까지는 1두의 폐사와 식욕부진, 가벼운 정도에서 중등도의 의기소침을 보였으며 임상증상 누적지수는 93을 보였고, 81일까지는 식욕부진, 가벼운 정도에서 중등도의 의기소침을 보이다가 시간이 경과할수록 심한 정도의 의기소침, 운동거부, 신경증상, 위축 등을 보였으며 임상증상 누적지수는 258을 나타내었다(Table 4).

Table 5. Growth performance after M+ parapac® vaccination

Group*	Total feed intake(kg)	Total weight gain(kg)	Weight at the start(kg)	Weight at the finish(kg)	Weight gain(kg)	Daily weight gain / head(kg)	FCR	Mortality (%)
Experimental	A-1	5,055	2,574	5.7	48.7	43.0	0.557	1.96 2/62 (3.2)
	B-1	2,236	1,091	5.7	17.7	42.0	0.545	2.05 2/28(7.1)
	Subtotal	7,291	3,665	5.7	48.3	42.6	0.553	1.99 4/90(4.4)
Control	A-2	2,776	1,105	6.0	44.1	38.1	0.495	2.51 6/35(17.1)
	B-2	1,118	486	5.5	42.9	37.4	0.486	2.3 3/16(18.8)
	Subtotal	3,894	1,591	5.8	43.7	37.9	0.492	2.24 9/51(17.6)

* A 1: vaccinated with M+ parapac®, detected *H. parasuis* serotype 12,

B 1: vaccinated with M+ parapac®, detected *H. parasuis* serotype 4 or 5,

A-2: non-vaccinated M+ parapac®, detected *H. parasuis* serotype 12,

B-2: non-vaccinated M+ parapac®, detected *H. parasuis* serotype 4 or 5.

**Number of died pigs/tested pigs.

M+ parapac®의 무접종군인 대조군에서 관찰된 임상증상소견은 36일령까지는 식욕부진, 가벼운 정도에서 중등도의 의기소침, 점진적으로 심한 정도의 의기소침, 신경증상, 위축 등을 보이다가 폐사한 1두가 관찰되었고, 임상증상 누적지수는 98을 보였다. 51일령까지는 전형적인 글래셔병의 임상증상인 심한 정도의 의기소침, 운동거부, 신경증상, 위축 등을 보이다가 7두가 폐사하였고, 임상증상 누적지수는 338을 보였다. 66일령까지는 1두의 폐사와 식욕부진, 가벼운 정도에서 중등도의

의기소침을 지속적으로 보였으며 임상증상 누적지수는 239를 보였고, 81일령까지는 식욕부진, 가벼운 정도에서 중등도의 의기소침을 보이다가 시간이 경과할수록 심한 정도의 의기소침, 운동거부, 신경증상, 위축 등을 보였으며 임상증상 누적지수는 394를 나타내었다. M+ parapac®의 접종을 실시한 실험군은 실험 81일간의 총 임상증상 누적지수는 486으로 M+ parapac®의 무접종군인 대조군의 1,069에 비하여 현저히 낮은 임상증상지수를 보였다(Table 6).

H. parasuis serotype 4 또는 5가 분리된 양돈장에서 M+ parapac[®]을 접종한 실험군도 대조군에 비하여 낮은 육안병변지수와 분리율을 보였다. *H. parasuis* serotype 4 또는 5

가 분리된 실험군에서도 총 임상증상 누적지수는 203으로 대조군의 366에 비해 낮았다 (Table 6).

Table 6. Results of clinical sign index after M+ parapac[®] vaccination

Group*	Score**	Clinical sign index by age(days)				Cumulative score
		0~36	37~51	52~66	67~81	
Experimental	1	0	15	36	36	283
	2	0	13	6	35	
	3	0	4	0	12	
	20	0	1	1	0	
	Subtotal	0	33	43	150	
Experimental	1	0	9	13	27	203
	2	0	5	6	31	
	3	0	1	0	9	
	20	1	1	0	0	
	Subtotal	1	48	62	217	
Cumulative total score		20	115	93	258	486
Control	1	23	0	52	64	703
	2	11	40	29	64	
	3	8	16	0	28	
	20	1	5	0	0	
	Subtotal	62	171	174	414	
Control	1	9	2	14	20	366
	2	0	25	46	34	
	3	0	6	1	10	
	20	0	2	1	0	
	Subtotal	71	204	235	478	
Cumulative total score		98	338	239	394	1,069

*A-1: vaccinated with M+ parapac[®], detected *H. parasuis* serotype 12,

B-1: vaccinated with M+ parapac[®], detected *H. parasuis* serotype 4 or 5,

A-2: non-vaccinated M+ parapac[®], detected *H. parasuis* serotype 12,

B-2: non-vaccinated M+ parapac[®], detected *H. parasuis* serotype 4 or 5.

**0: Normal, 1: loss of appetite, 2: mild or moderate depression, 3: severe depression, lameness and CNS sign, 20: death.

육안병변

M+ parapac[®]의 접종에 따른 육안병변지수는 *H. parasuis* serotype 12를 보이며 M+ parapac[®] 접종군에서는 8, *H. parasuis* serotype 4 또는 5를 보이며 M+ parapac[®]의 접종군에서는 7로

총 15이며, 평균 두당 육안병변지수는 1.0이었다. 대조군은 12와 5로 총 17이며, 평균 두당 육안병변지수는 1.89로 M+ parapac[®] 접종군에 비해 높게 관찰되었다(Table 7).

H. parasuis 검출

Table 7. Results of gross lesion score after M+ parapac® vaccination

	Group*	Gross lesion score**
Experimental	A-1	0
		3
		1
		1
		0
	B-1	2
		0
		0
		0
		1
Control	A-2	Subtotal (Average score/pig) 8 (0.8)
		3
		1
		0
		1
	B-2	2
		2
		2
		1
		Subtotal (Average score/pig) 7 (1.4)
	Total (Average)	15 (1.0)
	B-2	3
		2
		2
		2
		1
	Subtotal (Average score/pig)	12 (6.0)
	A-2	3
	B-2	2
		0
	Subtotal (Average score/pig)	5 (1.7)
	Total (Average)	17 (1.89)

*A-1: vaccinated with M+ parapac®, detected *H. parasuis* serotype 12, B-1: vaccinated with M+ parapac®, detected *H. parasuis* serotype 4 or 5, A-2: non-vaccinated M+ parapac®, detected *H. parasuis* serotype 12, B-2: non-vaccinated M+ parapac®, detected *H. parasuis* serotype 4 or 5. **1: Moderate fluid and slight thickening of serosa, 2: Thickening of serosa with fibrinous inflammation, 3: Adhesion and fibrinous inflammation.

H. parasuis serotype 12를 보이며 M+ parapac®을 접종한 실험군에서 *H. parasuis* 검출은 총 5예로 평균 33.3%의 검출률을, 대조군에서는 총 7예로 평균 77.8%의 검출률을 보여 대조군에 비해 낮게 관찰되었다.

H. parasuis serotype 4 또는 5를 보이며 M+ parapac®의 접종군에서도 대조군에 비해 낮은 육안 병변지수 및 *H. parasuis* 검출률을 보였다(Table 8).

Table 8. Results of gross lesion score and *H. parasuis* detection after M+ parapac® vaccination

	Group*	Detection of <i>H. parasuis</i> **(%)
Experimental	A-1	3/10(30.0)
	B-1	2/5 (40.0)
Total (average)		5/15 (33.3)
Control	A-2	5/6 (83.3)
	B-2	2/3 (66.7)
Total (average)		7/9 (77.8)

*A-1: vaccinated with M+ parapac®, detected *H. parasuis* serotype 12, B-1: vaccinated with M+ parapac®, detected *H. parasuis* serotype 4 or 5, A-2: non-vaccinated M+ parapac®, detected *H. parasuis* serotype 12, B-2: non-vaccinated M+ parapac®, detected *H. parasuis* serotype 4 or 5. **No. of pig with *H. parasuis* detected/No. of pig tested.

고 칠

M+ parapac®의 접종한 실험에서 혈청검사를 통한 평균항체가의 경우 실험군은 실험기간 동안 일정하게 유지된 반면 대조군은 6주령에 실험군보다 낮은 수치를 보이다 14주령에는 매우 높게 관찰되었는데 이는 야외감염에 의한 것으로 추측된다. 임상증상 누적지수는 실험군이 486으로 대조군 1,069에 비하여 현저히 낮았다. 성장률의 경우 실험군이 대조군에 비해 높은 증체율과 낮은 FCR과 폐사율을 보였다. 평균 육안지수의 경우 실험군은 1.0으로 대조군 1.89에 비하여 낮게 나타났다.

*H parasuis*의 분리율에서도 실험군이 33.3%인데 비하여 대조군은 77.8%로 높게 나타났다. 육안병변은 나타났으나 *H parasuis* 검출률이 실험군에서 33.3%, 대조군에서 77.8%로 나타난 것은 쉽게 진단이 가능하나 발병 예에서 균분리를 시도해도 분리율은 높지 않다⁸⁾는 기존 연구 사실과 일치한다. 석 등¹⁹⁾의 보고에 의하면 비강, 폐, 흉수를 이용하여 *H parasuis*를 분리해 보았을 때, 연령별 분리율은 4-8 주령이 가장 높은 분리율을 보였다고 하였다.

H parasuis serotype 12에 대한 백신인 M+ parapac[®]으로 *H parasuis* serotype 4와 5의 예방이 가능하다는 결과가 나타났다. 이는 *H parasuis* serotype 12에 대한 백신이 *H parasuis* serotype 4와 5를 예방할 수 있다^{20,21)}는 이전의 연구 결과와 동일하였다. *H parasuis* serotype 4가 *H parasuis* serotype 5를 예방할 수 있으나 반대로는 예방할 수 없었고,^{14,15)} *H parasuis* serotype 4와 5 백신이 *H parasuis* serotype 13과 14는 예방할 수 있었으나 *H parasuis* serotype 2와 12는 예방할 수 없었다²²⁾. Takahashi 등¹⁵⁾은 *H parasuis* serotype 2와 5는 서로 예방할 수 없다고 하였다. M+ parapac[®]으로 *H parasuis* serotype 4를 예방하는 Jayappa 등²⁰⁾의 실험에서 백신을 실시한 실험군과 백신을 하지 않은 대조군의 폐사율이 각각 0%, 62.5%로 나타나, 실험군의 임상증상 누적지수나 육안병변지수가 대조군에 비해 낮게 나타난 이번 실험의 결과와 동일했다. 항체가 측정의 경우 대조군의 항체가가 실험군에 비해 낮은 값을 보여, 64에서 2,048까지 관찰된 이번 실험의 대조군과 차이를 보였으며²⁰⁾, 이는 야외감염의 요인 때문으로 추측된다. 또한 대조군의 혈청 항체가가 6주령에서 14주령 사이에서 급격히 상승한 것으로 보아 이 시기에 감염이 일어났을 것이라 추정할 수 있었다.

혈청검사 결과와 임상증상누적지수를 비교하여 보았을 때, *H parasuis* serotype 12가 검출된 양돈장과 *H parasuis* serotype 4와 5

가 검출된 양돈장의 대조군의 14주령 평균 혈청 항체가는 각각 384와 1,472를 나타낸 반면 임상증상누적지수는 703과 366를 나타내었다. *H parasuis* serotype 4와 5가 검출된 양돈장의 대조군의 평균 혈청 항체가는 *H parasuis* serotype 4와 5가 검출된 양돈장의 대조군에 비해 높지만 임상증상누적지수는 낮게 나타난 것으로 보아 *H parasuis* serotype 4와 5가 *H parasuis* serotype 12에 비해 병원성이 낮은 것으로 추측된다. 이는 Straw 등¹⁾의 *H parasuis* serotype 1, 4, 5, 10, 12, 13, 14이 비교적 병원성이 높으며, *H parasuis* serotype 3, 6, 7, 8, 9는 없거나 낮다는 보고와 차이를 보였다. Choi 등⁹⁾은 호흡기질병을 보인 돼지 2872두 중 88.2%가 2개 이상의 병원체에 의한 복합감염으로 감염원간 상호작용으로 질병 초기 바이러스나 마이코플라즈마에 의해 면역계의 억제가 나타나면 2차적으로 세균이 감염되어 증상을 악화시킬 수 있다는 결과와 유사한 결과를 보였다. Solano 등²⁴⁾은 in vitro에서 폐포대식세포의 탐식기능이 바이러스 감염 2시간 후에는 증가하였으나 168시간 후 부터는 시간의 흐름에 따라 현저히 감소하였는데 이는 바이러스에 의해 폐의 면역작용이 감소함과 동시에 다른 병원체의 노출에 대한 감수성이 증가할 수 있다고 하였다. 양돈장에서 만연하고 있는 소모성 질병 중의 하나인 PRRSV에 감염된 돼지는 *H parasuis*에 감염될 가능성이 증가하며 경제적 피해도 증가할 수밖에 없다. 돼지 클래셔병을 동반한 PMWS의 예방을 위해서는 무엇보다 면역력이 떨어지지 않도록 유지해 주는 것이 중요하다. 일차적인 병원체로서 작용하는 바이러스의 감염을 예방하여 방어체계의 보존이 필요하며 백신이나 항혈청 등의 사용은 질병으로부터의 피해를 줄이는데 중요한 역할을 할 수 있다. 백신의 경우 serotype에 따라 방어 양상이 다양하지만²⁰⁻²³⁾ 항혈청 제제는 혈청 중 gammaglobulin만 추출하여 체내 면역글로불린의 수치를 높여 줌으로써 치료와 예방이 가능하나 항혈청 제제는

항체수치가 올라가는데 시간이 걸리며 혈액 공급이 되지 않을 경우에는 효과가 없다는 점이 문제시 되고 있다²⁵⁾. *H. parasuis* serotype 12에 대한 백신인 M+ parapac®으로 *H. parasuis* serotype 4와 5의 예방이 가능하다는 결과를 통해 우리나라에서 발생이 비교적 높은 serotype 4, 5, 12에 대한 방어효과와 동시에 2차적인 세균감염을 예방함으로써 PMWS의 예방에도 도움이 될 수 있다고 사료된다.

결 론

*M. hyopneumoniae*와 *H. parasuis* serotype 12의 혼합백신인 M+ parapac®(Schering-Plough Animal Health, USA)은 국내에서 많은 피해를 주고 있는 *H. parasuis*에 의한 다양한 섬유소성 장막염 및 관절염인 글래셔병에 대한 방어 효과와 serotype과의 교차 방어 반응에 대해 다음과 같은 결과를 얻었다.

H. parasuis serotype 12이 문제가 되는 양돈장에서 M+ parapac®의 접종에 따른 혈청 검사를 통해 백신역가 형성 추이를 관찰할 수 있었으며, *H. parasuis* serotype 4 또는 5가 분리된 접종군에서도 같은 양상을 보였다. M+ parapac®의 접종에 따른 임상증상에서 *H. parasuis* serotype 12이 문제가 되는 양돈장에서 실험군은 대조군에 비하여 현저히 낮은 임상증상지수를 보였다. *H. parasuis* serotype 4 또는 5가 분리된 양돈장에서도 실험군이 대조군에 비하여 낮았다.

M+ parapac®의 접종에 따른 성장률에서 *H. parasuis* serotype 12가 분리된 실험군은 대조군에 비하여 11.2%의 개선효과를 보였고, 폐사율에서도 낮게 관찰되었다. *H. parasuis* serotype 4 또는 5가 분리된 실험군도 대조군에 비하여 높은 성장률과 낮은 폐사율을 보였다.

M+ parapac®의 접종에 따른 육안병변지수에서 *H. parasuis* serotype 12가 분리된 실험군은 대조군에 비하여 낮은 육안병변지수를, 폐에서 *H. parasuis*에 대한 낮은 검출률을 보였다.

따라서 *M. hyopneumoniae*와 *H. parasuis* serotype 12의 혼합백신인 M+ parapac®의 방어효과는 유효하였으며 serotype 4 또는 5와의 교차방어도 가능하리라 사료되어진다.

감사의 글 : 본 연구는 지식경제부/한국산업 기술평가원이 지정한 진주산업대학교 동물생명산업센터의 연구비 지원으로 수행되었습니다.

참고문헌

- Straw BE, Zimmerman JJ, D'Allaire S, et al. 2006. *Disease of Swine* 9 eds. Blackwell Publishing : 681-690.
- Enøe C, Mousing J, Schirmer AL, et al. 2002. Infectious and rearing-system related risk factors for chronic pleuritis in slaughter pigs. *Prev Vet Med* 54(4) : 337-49.
- Rautainen E, Oravainen J, Virolainen JV, et al. 2001. Regional eradication of *Mycoplasma hyopneumoniae* from pig herds and documentation of freedom of the disease. *Acta Vet Scand* 42(3) : 355-364.
- Oliveira S, Galina L, Pijoan C. 2001. Development of a PCR test to diagnose *Haemophilus parpasuis* infection. *J Vet Diagn Invest* 13 : 495-501.
- Cu HP, Nguyen NN, Do NT. 1998. Prevalence of *Haemophilus* sp infection in the upper respiratory tract of pigs and some characteristics of the isolates. *Khoa Hoc Ky Thuat Thu Y* 5 : 88-93.
- Hjarre A. 1958. Enzootic virus pneumonia and Glässer's disease of swine. *Adv Vet Sci* 4 : 235.
- Baehler JF, Burgisser H, Nicolet J, et al. 1974. *Haemophilus parasuis* chez le porc. *Scweiz. Arch. Tierhielk* 116 : 183-188.
- 이난주. 1994. *Haemophilus parasuis*균의

- 항원 특성과 분리균의 혈청학적 분류에 관한 연구. 단국대학교 박사학위논문.
- 9. Choi YK, Goyal SM, Joo HS. 2003. Retrospective analysis of etiologic agents associated with respiratory diseases in pigs. *Can Vet J* 44(9) : 735 - 737.
 - 10. Bak YB, Mah JS, Noh HY. 1982. A pathological study on the cases of Glässer's disease. *Res. Rep Kor Ins Anim Sci* 2 : 71-79.
 - 11. Lee RJ, Seok HB, Cho SG. 1994. Biochemical properties of *H parasuis* and serological classification of the isolates. *Kor J Vet Publ Hlth* 18 : 127-138.
 - 12. Won HK. 2003. Characterization of *Haemophilus parasuis* isolates from swine in Korea. M.S. Thesis. Kangwon National University, Chuncheon, Kangwon.
 - 13. Kang ZW. 2004. Studies on *Haemophilus parasuis* in pigs. M.S. Thesis. Kangwon National University, Chuncheon, Kangwon.
 - 14. Rapp-Gabrielson VJ, Kocur G, Clark F, et al. 1996. Efficacy and duration of immunity of the *Haemophilus parasuis* fractions of Suvaxyn RespiFend MH/HPS. *Proc Int Congr Pig Vet Soc* 14 : 300.
 - 15. Takahashi K, Nagai S, Yagihashi T, et al. 2001. A cross-protection experiment in pigs vaccinated with *Haemophilus parasuis* serovars 2 and 5 bacterins, and evaluation of a bivalent vaccine under laboratory and field conditions. *J Vet Med Sci* 63(5) : 487-491.
 - 16. Bak H, Riising HJ. 2002. Protection of vaccinated pigs against experimental infection with homologous and heterologous *Haemophilus parasuis*. *Vet Rec* 151 : 502-505.
 - 17. Collins CH, Lyne PM, Grange JM. 1995. *Collins and Lyne's Microbiological Method*. 7 eds. Oxford: Butterworth-Heinemann : 118-120.
 - 18. Gunnarsson A, Biberstein EL, Hurvell B. 1977. Serologic studies on porcine strains of *Haemophilus parahaemolyticus* (*Pleuropneumoniae*): Agglutination reaction. *Am J Vet Res* 38 : 1111-1114.
 - 19. 석호봉, 이관형, 이란주, 예재길. 1993. 돼지 다발성장막염 및 관절염의 원인균 조사 및 분리균의 병발성에 관한 연구. 대한수의공중보건학회지 17(1) : 1-12.
 - 20. Jayappa H, Lehr C, Wasmoen T. 2004. Evaluation of efficacy of *Haemophilus parasuis* bacterin in providing protection against heterologous challenge. *Allen D Leman Swine Conf Proc* 31 : 61.
 - 21. Jayappa H, Lehr C, Erskine J, et al. 2006. Cross protection of a *Haemophilus parasuis* serotype 12 vaccine(Parapac®) against serotype 4. *Am Assoc Swine Vet* : 181-185.
 - 22. Kocur G, Clark J, Muir S, et al. 1997. *Haemophilus parasuis* immunity in swine after vaccination. *Vet Med* 92 : 1-7.
 - 23. Olvera A, Calsamiglia M, Aragon V. 2006. Genotypic diversity of field strains. *Am Soc Microbiol* 72 : 3984-3992.
 - 24. Solano GI, Bautista E, Molitor TW, et al. 1998. Effect of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection on the clearance of *Haemophilus parasuis* by porcine alveolar macrophages. *Can J Vet Res* 62(4) : 251-256.
 - 25. Karpiński TM, Zórawski C, Skwarek P, et al. 1979. Comparison of the values of selected reagents for the diagnosis of swine brucellosis. I. Preparation and standardization of antiglobulin serum. *Pol Arch Weter* 22(1) : 29-40.