韓家衛誌 第18 卷 第2號
Korean J. Vet. Serv. (1995), 18(2) : 133~151

충남 서부지역 돈군에서 분리된 *Bordetella bronchiseptica*의 성상에 대한 연구

박세종, 안식욱, 신인환, 정태수, 전무형*
충청남도가축위생시험소홍성지소, 충남대학교수의과대학*

Studies on the properties of *Bordetella bronchiseptica* isolated from the pig herds in Western Chungnam

Se-Jong Park, Shin-Uk An, In-Hwan Shin, Tae-Su Chung, Moo-Hyung Jun*
Hongseong Branch of Chung Nam Veterinary Service Labratory
College of Veterinary Medicine, Chungnam National University*

Abstract

During 2 years from Octorber 1992 to April 1994, prevalence of general respiratory diseases and atrophic rhinitis in the pig herds located in the Western Chungnam was investigated, and isolation of *B. bronchiseptica* was attempted for the pigs manifested with the clinical signs of atrophic rhinitis(AR).

The isolates were characterized and identified in aspects of biochemical properties, antigenicity, drug sensitivity and pathogenicity.

The results obtained through the experiments are summarized as follows;

1. During 2 years of investigation, the overall prevalence of the general respiratory diseases in the pig herds in Western Chungnam was 35.3%, consisting of 35.1% in the pig farms and 38.8% in a slaughter house. The prevalence by age groups accounts for 9.2% in adults, 44.7% in rearings and 25.3% in sucklings. By farm size, The highest prevalence of 56.5% was observed in the smallest farm with 1 to 200 heads.

2. The prevalence of clinical cases of artrophic rhinitis was recorded by 12.7% in the group that is the sows and piglets vaccinated, 28.9% in the group that is the sows only vaccinated and 39.8% in the group of the non-vaccinated groups. In the slaughter house, 53(24.8%) of 214 pigs examined exhibit the AR lesions.

3. A total of 189 strains of *B. bronchiseptica* were isolated from the pig herds. Isolation rates were 12.6% in the group that is the sows and piglets vaccinated, 34.1% in the group that is the sows only vaccinated and 45.7% in the group of the non-vaccinated groups. Isolation rate in the specimen from the slaughter house was 93(43.5%) of 214 pigs examined. Of the AR-non-vaccinated group, the piglets aged between 61 to 90 days revealed the highest isolation rate of 58.5%.

4. The titers of antibody against *B. bronchiseptica* were measured by tube agglutination test. The group that is the sow and piglet-vaccinated showed the highest

titer of 640-2,560 in sow and 640－〉5,120 in piglet. The group that is the sows only-vaccinated revealed 640－2,560 in sows and 640－1,280 in piglets. Both of the vaccinated groups showed 100% positive reaction. The group of the non-vaccinated showed relatively lower titer of 0－1,280 in both of sows and piglets. The positive rate of the sera obtained from the slaughter house was 53.3% with the antibody titer of 0－1,280.

5. Biochemical and serological properities of 189 isolates were very similar to those of the reference *B. bronchiseptical* phase I type, indicating that most of isolates are *B. bronchiseptica* phase I type.

6. In antimicrobial drug susceptibility, 87.3% of 189 isolates was susceptible to chloramphenicol, 79.9%, to amikacin, 64.6%, to cephalothin and less than 35.4% to others.

7. In agar-gel immunodiffusion and SDS-PAGE analysis, the isolates presented the identical antigenicity and protein profiles to the reference standard strains.

8. The whole cells and bacterial filtrates of the isolates were inoculated to guinea pigs and mice. The isolates showed the high pathogenicity and dermonecrotoxiciy.

Key word : *agar-gel immunodiffusion. SDS-PAGE, dermonecrotoxicity.*

서 론

*Bordetella bronchiseptica*이하 (*B. bronchiseptica*)는 1910년 Ferry[1]에 의해 디스템퍼에 이환된 개의 상부 호흡기에서 처음 분리되었으며, Thorp와 Tanner[2] 및 Philips[3]는 폐렴에 걸린 돼지의 폐에서 이 균을 분리하였고, 자돈의 기관지 폐렴의 병원체라고 보고하였다. Switzer[4]는 *B. bronchiseptica*가 돼지의 비갑개골에 감염하여 hypoplastic changes을 유발하여 위축성 비염(atrophic rhinitis, 이하 AR)을 일으키는 병원체임을 보고하였다. 그 후 Cross 및 Claflin[5], Ross등[6], Duncan등[7], Shimizu등 및 Elias등[9]은 *B. bronchiseptica*를 돼지 비강에 인공감염시킨 결과 호흡기 증세와 AR소견이 나타남을 증명하였다. 또한 Ross등[6], Ogata등[10] 및 Cameron등[11]은 각각 미국, 일본 및 영국에서 돼지로 부터 *B. bronchiseptica*를 분리하였던 바 분리율은 54.0%, 17.2% 및 50.2%라고 보고하였고, 아울러 분리균주의 성상을 규명하였다.

*B. bronchiseptica*는 그람음성 간균 또는 구간균이며 약 1.5×0.3㎛의 크기로 양단염색성을 띠며, 주연성 편모와 섬모를 가지고 있으며 운동성이 있다.[12,13,14] 또한 본 균은 호기성균으로 용혈성이며 탄수화물을 분해하지 않고 이열성의 dermonecrotic toxin을 산생하는 것으로 보고된 바 있으며,[12,14] 이와같은 exotoxin은 세포벽의 lipopolysaccharide, envelope proteins, fimbrial antigens과 함께 본 균의 병인기전에 중요한 역할을 한다고 보고된 바 있다.[15,16,17]

Kang등[18], Elias와 Krkuger[19] 및 Magyar등[20]은 exotoxin은 돼지에서 분리된 phase I type *B. bronchisepica*에서 주로 산생되고, 본 균이 비강내 집락을 형성하여 갑개골의 위축을 일으키게 하는데 중요한 역할을 한다고 보고한 바 있고, Sawata 및 Kume[21]은 *B. bronchiseptica* phase I을 마우스의 비강에 접종한 바 접종 2주후에 40%, 80%에서 병변과 임상증상이 관찰되었다고 보고하였다.

Williams 등[22], Baars 등[23], Sawata 등[24], Nakai 등[25] 및 Eliae *et al*[26]은 돼지의 AR의 exotoxin 생산능을 가진 *B. bronchiseptica*와 *P. multocida* D 및 B형의 상호작용에 의해 발병하며, *B. bronchiseptica*는 비강점막에 쉽게 정착하여 조직손상을 일으키고, toxigenic *P. mul-*

*tocida*가 정착하여 병변을 심화시킬 수 있는 primary agent로 작용한다고 보고한 바 있다. 1980년대는 본균의 envelope proteins에 대한 연구가 수행되어 major protein은 37kD-60kD이고 최소한 6개 이상의 저분자 minor protein이 있음이 보고되었고[16], 이중 68kD의 outer membrane protein은 방어에 중요한 항체임이 입증되었다.[27] 또한 pilus protein은 21kD, 22kD 및 24 kD의 subunit로 구성되어 있다고 보고된바 있다.[28]

우리나라에서는 1959년 Schofield[29]가 AR증상을 나타내는 돈군에서 *P. multocida*를 분리 보고하였고, 1976년 박 등[30]은 경기도지역 6개 양돈장에 사육중인 419두 중 77두(18.4%), 그리고 도축돈 106두 중 43두(50.5%)에서 비갑개골의 위축이 있었고, 이 중 23두(53.5%)에서 *B. bronchiseptica*가 분리되었다고 보고하였다.

이 등[31]은 순천지방 돈군에서 301두 중 140두(46.5%)에서 *B. bronchiseptica*를 분리하였고, 일령별로는 8-10 주령에서 54.1%로 가장 감염율이 높았다고 보고했다. 또한 장 및 김[32]은 영남지방에서 사육중인 자돈 70두 중 25두(35.7%), 도축돈 115두 중 58두(50.4%)에서 *B. bronchiseptica*를 분리하였다고 보고했으며, 박 등[33]은 전남지방의 도축돈에 대한 검사결과 91두 중 34두(37.4%)에서 균분리가 되었다고 하였고, 정 등[34]은 경남지방의 사육돈 113두 중 47두(41.6%)에서 균분리가 되었음을 보고하였다.

1970년대 말 이후 국내 양돈산업은 대형화 기업화되면서 급속히 발전하였다.[30,31,32,33,34] 이와 때를 맞추어 충남 서부지역은 홍성, 예산 및 보령지역을 중심으로 다두밀집 사육형의 기업식 양돈산업이 번창했고 사육규모도 급격히 증가하여 이 지역 1차산업의 주요한 근간을 이루고 있다. 그러나 양돈장이 대형화되고 다두밀집 사육형태로 전환됨에 따라 만성 호흡기질병의 발병율이 높아졌고, 이로 인한 양돈농가의 경제적 피해가 증대되고 있으나, 이에 대한 체계적인 연구가 수행된 바 없다.

본 연구에서는 충남 서부지역 돈군에서 발생하는 호흡기질병에 대해 역학적 조사를 실시하고 그중 피해가 비교적 심하고 병인기전이 특이한 위축성비염(AR)의 1차 원인체인 *B. bronchiseptica*의 분리를 시도하고, 분리균의 생화학적 및 혈청학적 특성, 약제감수성, 병원성, 항원성 및 균체단백질 성상에 대한 일련의 시험을 수행하였다.

재료 및 방법

1. 표준균주

국내 돼지에서 분리된 *B. bronchiseptica phase* I type인 P4주 및 American Type Culture Collection에서 도입된 ATCC-31437균주를 가축위생연구소로부터 분양받았으며, brain heart infusion broth(BHI broth, Difco, USA)에 계대배양하여 사용하였다.

2. 호흡기병 및 AR 역학조사

1992년 10월부터 1994년 4월까지 주로 가을과 겨울철에 충남 서부지역에 위치한 36개 양돈장을 방문하여 사육중인 총 84,984두의 돼지중 16,659두에 대해 임상적으로 호흡기병에 이환된 것을 포유자돈, 육성돈 및 모돈군별로 산정 누계하였으며, 1개 도축장을 선정하여 도축돈의 폐장기를 육안적으로 검색하였다. 또한 호흡기병에 이환된 돼지 가운데 AR의 발생율을 구명하기 위해 모돈과 자돈에 공히 AR백신을 접종한 돈군(A군) 13개소, 모돈에만 백신을 접종한 돈군(B군) 5개소, 그리고 최근 1년 이내 AR백신을 전혀 접종하지 않은 돈군(C군) 9개소를 선정하여, 임상적으로 AR에 유사한 증세, 즉 비출혈, 카달성 또는 화농성 비염 소견을 보이거나 상악골 위축 및 비중격의 만곡증세를 나타내는 이환돈을 조사하였다. 또한 관내 1개 도축장에 출하된 비육돈(D군) 863두에 대해 제1견치부를 수직으로 절개하는 방법 및 육안적 관찰법으로 AR의 병변을 조사하였다.(Fig. 1)

3. *B. bronchiseptica* 분리

가. 대상동물

AR 역학조사에서 AR소견을 나타내는 돼지를 대상으로 균분리를 시도하였다.

나. 가검물 채취

장 및 김[32]의 방법을 응용하였다.

면봉은 길이 15cm되는 것으로 BHI broth에 충분히 침적 시킨 후 고압멸균(121℃, 15분)하여 1주일 이내에

사용하였다. 균채취는 각 양돈장에서 사육중인 공시돈의 비경부를 알콜면으로 깨끗이 소독한 후 면봉을 제1견치 부근의 비갑개골 부위까지 삽입하여 채취하였다. 출하된 비육돈에 대해서는 도살되는 즉시 돼지의 두부를 따로 받아 제1견치부위에서 수직으로 절단하여 비갑개골을 노출시킨 뒤 면봉으로 균분리 재료를 채취하였다.

다. 균분리 및 동정

Ogata 등[10]과 박 등[30]의 방법을 응용하여 수행하였다.

MacConkey agar(Difco, USA)에 1% dextrose 및 penicillin(20㎍/ml), gentamycin(0.5㎍/ml) 및 fungizone(0.5㎍/ml)을 무균적으로 혼합한 modified Farrington Switzer medium과 blood agar base(Difco, USA)에 5% 면양혈액을 첨가한 혈액한천배지를 초대배양배지로 사용하였다. 가검물 접종후 37℃에서 48시간 배양한 후 집락형태, 그람염색성 및 균형태를 확인한 후 집락을 채취하여 G20f배지[35]에 penicillin(20㎍/ml), fraltadone(20㎍/ml), gentamycin(0.5㎍/ml) 및 fungizone(10㎍/ml)을 첨가한 선택배지에 접종하고 37℃에서 24-48시간 배양하여 특이한 녹색을 띠는 집락을 BHI agar slant에 계대 보존하면서 공시하였다.

4. 가검혈청에 대한 항체분포 조사

위의 A, B, C 및 D군에 대한 *B. bronchiseptica* 혈청항체가 분포를 조사하기 위하여 공시동물로 부터 이정맥이나 경정맥에서 혈액을 채취하여 혈청을 분리한 다음 비동화(56℃ 30분)한 후 Kang 등[18]의 방법에 준하여 시험관응집반응법을 실하였다.

응집원은 가축위생연구소에서 분양받았으며, 공시혈청을 phosphate buffered saline(PBS, pH 7.0)으로 단계희석 한 후 항원(0.5ml)을 가하고, 혼합 후 37℃로 24시간 반응시킨 다음, 4~5℃에서 18~20시간 반응시킨 후 후판정하였으며, 응집역가는 혈청희석배수의 역수로 표현하였다.

5. 분리균의 성상시험

분리균의 생화학적 성상시험은 이 등[36] 및 Pittman 등[14]의 방법을 이용하였다.

분리균에 대해 용혈성, 운동성, oxidase와 catalase 산생시험, tetrazolium 환원시험, citrate이용능, 질소환원시험, urease activity, gelatin 분해시험 및 DNase 활성시험을 수행하였다. 또한 glucose, maltose, lactose, dextrose, saccharose 및 starch 분해능 그리고 MR-VP 시험과 고농도식염에 대한 저항성을 시험하였다. 혈청학적 동정시험은 *B. bronchiseptica* P4주에 대한 표준토끼항혈청을 사용하여 평판응집반응[37]으로 수행하였다.

6. 약제감수성 시험

Bryant[38]의 디스크확산법을 이용하였다.

공시균을 Müller-Hinton broth(Difco, USA)에 24시간 증균시킨 후 균의 탁도를 McFarland standard No 0.5에 조정하고 Müller-Hinton agar평판에 도포한 다음 Sensidisk(BBL, USA)을 설치하여 37℃ 배양한 후 24시간에 저지대를 판독하였다. 항균제로는 amikacin, ampicillin, cephalothin, chloramphenicol, clindamycin, colistin, erythromycin, gentsamycin, kanamycin, neomycin, streptomycin, penicillin, tetracycline 및 trimetoprim/sulfamethoxazol을 선정하여 시험하였다.

7. Agar-gel immumodiffusion(AGID) test

분리균의 항원성을 밝히기 위한 AGID시험은 조[39]의 방법을 응용하였다. *B. bronchiseptica* 표준균주(P4, ATCC-31437)와 분리균 18주를 Bordet-Gengou agar (BG agar, Difco, USA) 평판에 도말 접종하고 37℃에서 24시간 배양한 후, PBS로 채취하고, formalin을 0.5%되게 가한 후 37℃에서 12시간 교반한 다음, 5,000 Xg에 30분간 원심하여 얻어진 상층액을 membrane filter(0.45㎛)로 여과하여 항원으로 사용하였다. 또한 veronal buffer(pH 8.6)에 agarose(Sigma, USA)를 1%되게 용해하여 만든 gel을 pertridish(직경 90mm)에 2 mm 두께로 부어서 굳힌 후 Fig. 2에서와 같이 well을 만들었다. 중앙 well에는 *B. bronchiseptica* phase I의 토끼항혈청 그리고 주변 well에는 표준 및 분리항원을 주입한 후 습윤상자에 넣고 실온에서 72시간 반응시킨 후 침전대를 검사하였다.

8. 분리균주의 병원성 및 독성 시험

분리된 *B. bronchiseptica* 균주의 병원성 및 피부괴사독성(dermonecrotoxicity) 시험은 Sawata 및 Kume[21] 그리고 Elias 등[40]의 방법에 따라 수행하였다. 병원성 시험은 BG agar에 배양된 균을 PBS로 채취한 다음 10^5 $^{-8}$ colony forming unit/ml 되게 농도를 조절한 균액을 마우스(15－16g)에는 0.2ml, 기니픽(300－400g)에는 1.0ml를 각각 복강에 접종한 후 7일간 폐사율을 관찰하였다. 피부괴사독성 시험은 10^8 colony forming unit/ml 되게 농도로 조절한 균액을 고속초음파(Sonics model VC 375-VC 600, tapered microtip, 375w) 처리한 다음 15,000Xg에 30분간 원심분리하였다. 그 다음 상층액을 0.45㎛ membrane filter로 여과한 다음 여과액을 PBS로 2배 단계희석한 후 기니픽의 흉복측 피내에 0.2ml씩 주사한 다음 25시간에 피부병변의 직경을 calipers로 측정하였다. 표준균주 P4 및 ATCC-31437를 양성대조 그리고 PBS를 음성대조로 공시하였다.

9. SDS-PAGE

Janet와 S⁄4en[41] 및 Hames와 Rickwood[42]의 방법을 응용하여 수행하였다.

B. bronchiseptica 분리균주 7주 및 표준균주 2주를 BG agar에 배양하고 PBS로 채취한 다음 5,000Xg로 30분간 원침하여 침전균체를 PBS로 20% 균부유액을 만들고, 여기에 sample buffer(0.125M tris-HCl, pH 6.8, 4% SDS, 20% glycerol, 10% 2-ME)를 동량으로 가하여 100℃에서 5분 동안 끓인 후 10,000Xg로 원심한 상층액을 전기영동 재료로 사용하였다.

SDS-PAGE는 separation gel 20ml, running gel buffer 15ml, 10% SDS 0.6ml, H_2O 24.1ml, ammonium persulfate 300㎕, TEMED 20㎕, stacking gel등으로 조성된 10% polyacrylamide gel의 각 well에 재료 20㎕을 넣고 60V에서 12－15시간 전기영동한 후 0.125% coomassie brilliant blue로 염색하고 destaining solution II로 1차 탈색한 다음 다시 destaining solu-tion I로 2차 탈색한 후 나타난 분획을 molecular weight marker(HW-SDS-70 kit, 200 kit, Sigma, USA)와 비교하여 단백질 분자량을 계산하였다.

결　　과

1. 호흡기병 발생빈도

1992년 10월에서 1994년 4월 사이에 충청남도 서부지역에 위치한 36개 양돈장에서 사육중인 84,984두의 돼지와 1개 도축장을 대상으로 돼지 호흡기병 발생상황을 조사한 바 Table 1과 같았다. 홍성지역에서는 10,263두 중 3,561두(34.7%), 예산지역은 2,512두 중 945두(37.6%), 보령은 3,021두 중 1,039두(34.4%)가 호흡기증세를 보였다. 도축돈 863두의 호흡기계를 조사한

Table 1. Prevalence of respiratory diseases in swine in Western Chungnam from October 1992 to April 1994

Districts	No.of farms examined	Total No. of swine	No. of swines examined	Mean (%)
Hongsong	24	52,542	10,263	3,561 (34.7)
Yesan	7	16,748	2,512	945 (37.6)
Poryong	5	15,694	3,021	1,039 (34.4)
Slaughter house	1	－	863	335 (38.8)
Total	37	84,984	16,659	5,880 (35.3)

바 335두(38.8%)에서 폐병변이 관찰되었다. 총검사두수 16,659두에 대한 발병율은 35.3%(5,880두)로 나타났다.

연령별 호흡기병 발생율을 분석한 바 (Table 2), 성돈에서는 1,472두 중 136두(9.2%), 육성돈에서 9,184두 중 4,108두(44.7%) 그리고 포유자도에서는 5,140두 중 1,301두(25.3)가 호흡기병에 이환되어, 육성돈에서 호흡기병 이환율이 가장 높았다.

사육두수에 따른 농장규모별 호흡기병 발생율을 분석한 바 (Table 3), 200두 이하 규모에서는 56.5%로 가장 높았으며, 201-500두에서는 43.2%, 501-1,000두에서는 34.7%, 1,001-5,000두에서는 33.5%이었고, 5001두 이상은 23.1%로 가장 낮았다.

2. AR 발생빈도

호흡기병 이환돈 중 AR의 발병빈도를 모돈과 자돈에 AR백신을 접종한 돈군(A군), 모돈에만 AR백신을 접종한 돈군(B군), 백신접종을 하지않은 돈군(C군) 그리고 백신접종상탬가 불분명한 도축돈(D군) 별로 조사한 바 Table 4와 같은 결과를 얻었다. AR발생빈도는 A군이 12.7%(451/3,545)로 가장 낮았고, B군은 28.9%(566/1,956)이었고, C군은 39.8%(919/2,309)로 가장 높았다. 그리고 D군에서 폐병변을 나타낸 것 중 비강에 AR병변을 보인 것은 24.8%(53/214)로 나타났다.

3. *B. bronchiseptica* 분리

AR 증세를 보이는 589두의 돼지에 대해 *B. bronchiseptica* 분리를 시도한 바 189두(32.1%)에서 균이 분리되었다. AR 백신접종 상태별로는 C군이 45.7%로 가장 높았으며, A군과 B군은 각각 12.6%와 34.1%였고 도축돈인 D군은 43.5%였다.(Table 5) AR백신 비접종돈군(C군)에 대해 *B. bronchiseptica* 분리빈도를 일령별로

Table 2. Prevalence of respiratory diseases in swine by age groups

Age groups	Districts (%)			Mean(%)
	Hongsong	Yesan	Poryong	
Adults	91/1,024* (8.9)	21/205 (10.2)	24/243 (9.9)	136/1,472 (9.2)
Rearings	2,651/6,003 (44.2)	641/1,311 (48.9)	816/1,870 (43.6)	4,108/9,184 (44.7)
Sucklings	819/3,236 (25.3)	283/996 (28.4)	199/908 (21.9)	1,301/5,140 (25.3)
Total	3,561/10,263 (34.7)	945/2,512 (37.6)	1,039/3,021 (34.4)	5,545/15,796 (35.1)

* No. of swines affected/No. of swines examined.

Table 3. Prevalence of respiratory diseases in swine by farm sizes

Farm size by No. of heads	No. of farms	No. of swines examined	No. of swines affected	Rate (%)
1 ~ 200	2	459	259	56.5
201 ~ 500	9	3,382	1,461	43.2
501 ~1,000	6	2,941	1,021	34.7
1,001 ~5,000	16	6,931	2,323	33.5
over 5,001	3	2,083	481	23.1
Total	36	15,796	5,545	35.1

Table 4. Prevalence of clinical case of atrophic rhinitis in the swine affected with respiratory diseases in Western Chungnam by AR-vaccination stauts

Division	Groups	No. of farms	No. of swines examined	No. of swines affected*	Rate (%)
Farms	A	13	3,545	451	12.7
	B	5	1,956	566	28.9
	C	9	2,309	919	39.8
Slaughter house	D	1	214	53**	24.8
Total		28	8,024	1,989	24.9

A : sows and piglets vaccinated B : sows only vaccinated C : non-vaccinated

* The pigs exhibiting catarrhal rhinitis accompanied with hemorrhage of purulent nasal discharge, shortening of upper jaws and twisting of the snout.

** Number showing turbinate atrophy.

Table 5. Isolation frequency of *B. bronchiseptica* from nasal swab of the swines with AR-symptoms by vaccination status

Groups	No. of farms	No. of swines tested	No. of strains isolated	Rate (%)
A	13	198	25	12.6
B	5	85	29	34.1
C	9	92	42	45.7
D	1	214	93	43.5
Total	28	589	189	32.1

A : sows and piglets vaccinated B : sows only vaccinated C : non-vaccinated

Table 6. Relationship between age of swine and isolation of *B. bronchiseptica* in the AR-non-vaccinated herds

Age(days) groups	No. of swines examined	No. of strains isolated	Rate (%)
below 30	52	18	34.6
31 - 60	48	22	45.8
61 - 90	53	31	58.5
over 91	45	13	28.9
Total	198	84	42.4

분석한 바(Table 6), 61-90일령에서 58.5%(31/53)으로 가장 높았고, 91일령이상돈에서는 28.9%(13/45)로 가장 낮았다. 30일령이하 및 31-60일령에서는 34.6%(18/52) 및 45.6%(22/48)로 나타났다.

4. AR 항체분포

백신접종 상태별로 AR 항체역가를 시험한 결과는 Table 7에 요약한 바와 같다. A군에서 모돈의 항체가는 640-2,560이었고, 자돈은 생후 30일령에서는 1,280-

Table 7. Antibody responses against *B. bronchiseptica* in swine in Western Chungnam by AR-vaccination status

Division	Groups	Range of agglutination titers						Total No. of swines tested	No. of positive (%)*
		Sow	Age of swines(days)						
			7	14	30	60	80		
Farms	A	640–2,560 [10]	640–1,280 [21]	320–1,280 [19]	1,280–5,120 [13]	〉5,120 [17]	〉5,120 [15]	85	85 (100)
	B	640–2,560 [10]	640–1,280 [15]	320–640 [16]	160–320 [17]	160–1,280 [15]	160–1,280 [17]	80	80 (100)
	C	0–1,280 [10]	0–160 [13]	0–80 [10]	0–160 [12]	0–1,280 [11]	20–1,280 [9]	55	32 (58.2)
Slaughter house	D	–	–	–	–	–	0–2,560	45	24 (53.3)
Total								265	221 (83.4)

A : sows and piglets vaccinated. B : sows only vaccinated.
C : non-vaccinated. [] : No. of swine tested.
* The positive represent agglutination titer over 20.

Table 8. Biochemical and serological properties of 189 strains of *B. bronchiseptica* isolated from swine with respiratory disesase

Tests	Reference strain(n=5)		Isolates(n=189)	
	No. of positive	%	No. of positive	%
Hemolysis of blood agar		100	189	100
Motillity	5	100	187	98.9
Oxidase activity	5	100	188	99.5
Catalase test	5	100	188	99.5
Tetrazolium reduction test	5	100	189	100
Citrate utilization	5	100	187	98.9
Nitrate reduction	5	100	182	96.3
Urease activity	5	100	188	99.5
Gelatin hydrolysis	0	0	0	0
DNase activity	0	0	0	0
Glucose	0	0	0	0
Maltose	0	0	0	0
Lactose	0	0	0	0
Dextrose	0	0	0	0
Saccharose	0	0	0	0
Hydrolysis of starch	0	0	0	0
M R test	0	0	0	0
V P test	0	0	0	0
NaCl 6%	5	100	189	100
NaCl 9%	5	100	143	75.7
Serological test*	5	100	189	100

* Plate agglutiation test was performed.

5,120이었으며, 60-80일령에서는 5,120이상으로 나타났다. B군의 모돈 항체가는 640-2,560이었고, 자돈은 생후 7일령에서 보다 30일령에서 160-320으로 항체가의 하락이 인정되었고, 60-80일령에서는 160-1,280으로 다소 증가하였다. C군의 모돈 항체가는 0-1,280이었고, 자돈은 30일령에서 0-160, 60일령에서 0-1,280으로 낮았으며, 검사두수에 대한 양성율은 58.2%였다. D군(도축돈)은 0-2,560의 항체가를 보였고 양성율은 53.3%(24/45)이었다.

5. 분리균주의 성상

분리균 189주에 대한 생화학적 및 혈청학적 성상을 표준균주와 비교시험한 결과(Table 8), 분리균주의 용혈성, tertrazolium 환원시험, 6% Nacl에서의 증식능 그리고 표준 항혈청에 대한 응집반응성은 100% 양성으로 phase I type인 표준균주와 일치하였고, gelatin 가수분해능, DNase 활성능, glucose, maltose, lactose, dextrose, saccharose 및 starch 분해능과 MR-VP 시험에서는 모든 균주가 음성반응을 나타내어 표준균주와 완전 일치하였다. 또한 운동성, nitrate 환원시험, oxidase 활성능, catalase 시험, citrante 이용능 및 urease 활성시험에서 96.3-99.5%의 양성율을 나타내어 표준균주의 성상과 매우 유사하였다.

6. 약제 감수성

14종의 약제에 대한 분리균의 감수성을 시험한 바(Table 9), 189주 중 87.3%(165주)가 chloramphenicol, 79.9%(151주)가 amikacin 그리고 64.6%(122주)가 cephalothin에 감수성을 보였다. 그외 공시약제에 대한 감수성은 35.4% 이하였으며, colistin, neomycin 및 streptomycin은 감수성이 전혀 없었다.

7. Agar-Gel Immunodiffusion(AGID) test

Table 9. Antimicrobial drug susceptibility of *B. bronchiseptica* isolated from the swine in Western Chungnam

Drugs	Disc potency	Susecptible zone diameter (mm)	Susceptible strain(n=189)	
			Number	Rate(%)
Amikacin	30mcg	≥17	151	79.9
Ampicillin	10mcg	≥20	67	35.4
Cephalothin	30mcg	≥18	122	64.6
Chloramphenicol	30mcg	≥18	165	87.3
Clindamycin	2mcg	≥17	67	35.4
Colistin	10mcg	≥11	0	0
Erythromycin	15mcg	≥18	66	34.9
Gentamycin	10mcg	≥15	34	18.0
Kanamycin	30mcg	≥18	64	33.9
Neomycin	30mcg	≥17	0	0
Streptomycin	10mcg	≥15	0	0
Penicillin	10units	≥28	35	18.5
Tetracycline	30mcg	≥19	37	19.6
Trimetoprim/ Sulfametoxazol	1.25/ 23.75mcg	≥16	40	21.2

분리균 중 18주를 선정하여 표준균주 P4 및 ATCC-31437과의 항원성을 AGID법으로 비교시험한 바, Fig. 2에서 나타낸 바와 같이 분리균주와 표준균주가 동일

Table 10. Pathogenicity of *B. bronchiseptica* isolates in mouse and guinea pig

Organims	Pathogenicity			
	Mouse(ip,0.2ml)		Guinea pig(ip,1.0ml)	
	10^{5}*	10^{8}	10^{5}	10^{8}
Isolates				
No. 1	14/15**	15/15	6/10	7/10
	(93.3)	(100)	(60.0)	(70.0)
No. 2	13/15	15/15	8/10	8/10
	(86.7)	(100)	(80.0)	(80.0)
No. 3	13/15	15/15	6/10	7/10
	(86.7)	(100)	(60.0)	(70.0)
Standards				
P 4	14/15	15/15	7/10	9/10
	(93.3)	(100)	(70.0)	(90.0)
ATCC 31437	15/15	15/15	8/10	9/10
	(100)	(100)	(100)	(100)
Control(PBS)	0/15	0/15	0/10	0/10
	(0)	(0)	(0)	(0)

* Colony forming unit/ml

** No. of dead animals/No. of inoculated animals. ( ) : Percentage.

Table 11. Dermonecrotoxicity of *B. bronchiseptica* isolates in guinea pig

Organisms	Dilution of bacterial filtrate*			
	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16
Isolates				
No. 1	141×147**	124×125	91×92	63×63
No. 2	140×142	120×121	89×89	56×57
No. 3	151×151	130×132	94×94	67×68
Standard				
P 4	145×145	125×126	91×91	61×62
ATCC-31437	150×151	133×134	95×96	66×67
Control(PBS)	0	0	0	0

* The diluted bacterial filtrates were inoculated intradermally on the flank of guinea pig.

** Diameter(mm) of the inflammatory lesions

항원성을 가지고 있음이 입증되었다.

8. 분리균주의 병원성 및 독성 시험

분리균 중 3주를 선정하여 마우스 및 기니픽에 대한 병원성을 시험한 바 마우스의 경우 10^5 CFU/ml에서는 86.7−93.3%를 나타냈고 주로 3일이내에 폐사하였으며, 10^8 CFU ml에서는 48시간 이내에 100%의 치사율을 나타내었다. 기니픽의 경우 10^5 CFU/ml에서 60−80%, 10^8 CFU/ml에서는 70−80%의 치사율을 나타내었다. 표준균주 P4 및 ATCC-31437주는 분리균주와 유사한 치사율을 나타내었다.

Dermonecrotoxicity를 측정한 결과 Table 11과 같다. 1 : 2로 희석된 여과액을 접종한 경우 140×142mm−151×151mm의 병변이 관찰되었고, 희석배율이 1 : 4, 1 : 8 및 1 : 16으로 높아질수록 병변의 크기가 감소하여 1 : 16에서 56×57mm−67×68mm으로 나타났다(Fig. 3). 표준균주 P4 및 ATCC-31437의 경우 분리균주와 유사한 크기의 병변이 나타났고 대조균은 음성이었다.

9. SDS-PAGE

분리균 7주를 선정하여 표준균주(P4, ATCC-31437)와 균체 단백질 성상을 비교하기 위해 SDS-PAGE를 실시한 바 Fig. 4에서 나타낸 바와 같이 분리균주와 표준균주 공히 30kD, 32kD, 33.5kD, 38kD, 44.5kD, 48 kD, 55kD, 59.5kD, 66kD, 70kD, 73kD, 97.4kD 및 138 kD에서 밴드를 형성하였으며 균주간 분획상에는 유의한 차이가 관찰되지 않았다.

고 찰

돼지의 위축성비염(atrophic rhinitis, AR)은 전염성 호흡기병으로써 주로 포유자돈의 호흡기계에 *B. bronchiseptica*가 감염되어 초기에는 재치기 및 수양성비루 등 급성 카달성 비염증상을 보이다가 발병 1개월경부터 비갑개골의 위축, 비강출혈 및 상악골 발육부전 등 안면의 변형을 일으키는 질병이다.[5,12,43] 본 병에 이환된 돼지는 사료효율 및 증체율이 떨어짐으로써 양돈농가에 심한 경제적 손실을 주는 것으로 알려져 있다.[5,6,8,12,43,44]

호흡기질병 중 AR의 발병율은 나라 또는 지역에 따라 다르며, 미국, 캐나다 및 스웨덴에서는 대개 20−40%로 보고된 바 있다.[5] 우리나라에서는 1959년 Scholfield[29]가 미국으로부터 도입한 버크샤에서 본 병이 발생된것을 처음 보고한 이래 박 등[30]은 경기도 지역 사육돈 419두를 검사하여 18.4%, 그리고 AR임상 발현돈 43두에서 53.5% 빈도로 *B. bronchiseptica*를 분리하였음을 보고하였고, 이 등[31]은 순천지방 사육돈 301두에서 본 균이 46.5%의 빈도로 분리되었고, 연령별로는 4−6주령에서 40.0%, 8−10주령에서 54.1%, 50주령 이상에서 39.1%가 감염되었음을 보고하였다. 강 등[45]은 AR 백신 상태에 따른 균분리율을 60일령 자돈을 기준으로 검사한 바, 모돈과 자돈에 AR백신을 4회 접종한 돈군에서 8.6%, 임신돈에 2회 접종한 돈군에서 29.4%, 자돈에 만 2회 접종한 군에서 40.0%, 자돈에 1회 접종한 돈군에서 42.9%, 비면역군에서 53.7%였다고 보고하였다. 또한 장 등[32]은 영남지방 사육돈에서 35.7%, 도축돈에서 도축돈 91두에서 37.4%의 분리율을 보고하였고, 정 등[34]은 경남지역 사육돈 113두를 검사하여 41.6%, 그리고 백신접종군은 28.8%, 비접종군은 65.0%의 감염율을 보고하였다.

외국의 경우 Ross 등[6]은 미국 아이오와주에서 87두 중 54.0%, Ogata 등[10]은 일본에서 372두 중 17.2% 그리고 Cameron[11]은 영국 남부지방의 돼지 844두 중 424두(50.2%)에서 균분리되었음을 보고했다. 또한 Jenkins 등[46]은 알라바마주 남부에 사육중인 4,524두 중 503두에서 균을 분리하여 11%의 분리율을 보고하였으며, Shashidhar와 Norman[47]은 미국 동부에 위치한 네브라스카주에서 220두 중 16.8%에서 *B. bronchiseptica*가 분리되었음을 보고한 바 있다.

본 성적에서는 충청남도 일원 *27*개 양돈장에서 AR 임상소견을 보인 375두를 대상으로 균 분리를 실시하였던 바 96두(25.6%)에서 *B. bronchiseptica*가 분리되었으며, 도축돈 214두 중 93두(43.5%)로부터 균이 분리되었고, 모돈과 자돈에 AR백신을 실시한 돈군에서는 12.6%, 모돈만 2회 실시한 돈군에서는 34.1%, 비접종 돈군에서는 45.7%의 균분리율을 보여(Table 5), 장 과 김[32]의 35.7%와 균분리율이 유사했으며 박 등[30]의 18.4

%, Ogata 등[10]의 17.2%, Jenkins 등[46]의 11.0%, Shashidhar와 Norman[47]의 16.8%와 비교해 균분리율이 높았으며, 이 등[31]의 46.5%, 정 등[34]의 41.6%, Ross 등[6]의 54.0%, Cameron 등[11]의 50.2%보다는 균분리율이 낮았다. 도축돈에 대한 균분리율은 박 등[33], 장 과 김[32]h의 성적과 유사했으며 박 등[30]의 53.5%와 비교해 균분리율이 낮았다. 백신접종 유무에 따른 분리율은 강 등[45] 및 정 등[34]의 성적과 유사하였다.

역학적 조사의 일환으로 AR백신을 실시하지 않은 돈군 중 호흡기병 이환돈을 대상으로 일령별 균분리를 실시하였던 바, 61−90일령에서 58.5%로 가장 높았으며 그 후 일령이 높아질수록 분리율이 감소하는 경향을 보였다.(Table 6) 이와 같은 경향은 Ogata 등[10], Kang 등[48] 및 Ross 등[6]에 의해 보고된 바 있으며, 주된 원인은 자연감염 예에서 비갑개 병변이 진행됨에 따라 비강내부 특히, 사골부위로 균이 이동하여 면봉으로는 검사 재료를 정확히 채취하기 어려운 여건이 되기 때문이라고 지적한 바 있다.

본 시험 결과 충남 서부지역 돈군에서 *B. bronchiseptica*의 감염율은 높으며, 호흡기병의 중요한 요인으로 작용함을 알 수 있었고 AR백신접종은 *B. bronchiseptica*의 감염을 저하시키는데 효과가 있음이 입증되었다. B. *bronchiseptica*에 대한 항체 분포조사를 실시한 결과, 백신접종한 돈군의 항체 양성율은 100%였고, 백신 비접종돈군은 58.2%, 그리고 백신접종상태가 불분명한 도축돈은 53.3%의 양성율을 보여 검사두수 265두 중 221(83.4%)두가 양성으로 나타나 Kang 등[48]의 68.9%, 박 등의 52.4% 및 정 등의 41.5%와 비교시 높은 양성율을 나타내었으며 항체가의 분포는 320배가 가장 높은 빈도로 나타나서 선인들의 성적과 일치하였다. 또한 백신접종돈군에서 높은 항체가가 관찰된 것은 이군에서 균분리율이 낮았다는 사실과 상관관계가 있다고 사료되었다.[49] *B. bronchiseptica*는 건강돈의 호흡기계에 정상균총으로 존재하며, 숙주가 저항성이 약화될 때 질병을 일으키며 비염, 비갑개 위축등 임상증상을 거친 후 만성화되면 성장저하를 유발하고 복합감염성 폐염을 일으켜 폐사되는 경우도 있으며, 본 병이 일단 발생되면 치료에 의한 완치는 어렵다.[5,8,35,43] 분리균의 생화학적 성상 시험결과(Table 8), 모든 분리균주는 면양혈구에 대한 용혈성을 나타내어 phase I type으로 추정되며 표준균주와 생화학적 성상 뿐만아니라 혈청학적 반응이 일치하여 *B. bronchiseptica* phase I type으로 동정되었다. 약제감수성 시험결과 14종의 약제중 chlorampenicol이 가장 높은 감수성을 보였고, amikacin과 cephalothin도 비교적 높은 감수성을 나타내었으나 다른 약제에서는 35.4%이하의 감수성을 보였고, 특히 colistin, neomycin, streptomycin에서는 모든 분리주가 저항성을 나타내어 이지역에 대한 AR의 치료제 선정시 참고가 될 것으로 사료된다(Table 9). 국내 분리주에 대한 항생제 감수성은 연구자에 따라 다양하게 보고된 바 있다. 이 등[31]은 gentamycin, kanamycin, tetracycline, chloramphenicol, erythromycin 및 oleandomycin, 장 과 김[51]은 chloramphenicol, colistin, gentamycin, kanamycin 및 tetramycin, 정 등[34]은 gentamycin, neomycin, kanamycin, cephalothin 및 ampicillin등에 감수성이 있다고 보고했다. 국외에서는 Carmeron[11]은 sulfonamide가 감수성이 있다고 보고하였으며, Rutter와 Mckenzie[52]는 oxytetracycline이 감수성이 있으나 sulfonamide에는 저항성을 갖는다고 했으며, Smith 및 Baskerville[35]는 chloramphenicol, tetracycline 및 erythromycin이 감수성이 있고 penicillin과 sulfa제에는 강한 내성을 갖는다고 보고했다. 이상의 연구보고를 종합해 볼 때 *B. bronchisepticaet*의 약제감수성은 지역이나 사육환경등에 따라 다양하며, 치료약제를 남용할 경우 내성균주가 발생되기 때문에 효과적인 치료약제를 선택하기 위해서는 약제감수성 시험을 수행해야 한다고 사료된다.

Magyar 등[20]은 *B. bronchiseptica* phase I type만이 AR의 원인체이며, 감염서 cytotoxin 생산능력을 가지며 이것이 주요 독성인자임을 보고했고, Sawata와 Kume[21]h는 phase I type을 5일령 쥐의 비강에 접종시험 결과 2주후에 40%와 4주후에 80%에서 병변과 임상증상이 관찰되었다고 했다. 그리고 강 등[18] 및 Elias와 Kruger[19,53]는 *B. bronchiseptica*균 중 phase I type만이 독성을 갖고 있으며 실험동물에 접종시 피부괴사를 유발시킨다고 했으며, 실험동물에 용혈성 *B. bronchiseptica*를 접종한 경우 폐사되는 원인은 외독소 및 내독소생성능과 밀접한 관계가 있다고 하였으며, William 등[22]

은 AR에 관련된 *P. multocida*와 *B. bronchiseptica*의 독소를 동시에 기니픽과 마우스에 0.2ml씩 접종한 바 72시간 이내 10mm 크기의 피부괴사병변이 유발됨을 보고했다.

본 시험에서 분리한 *B. bronchiseptica* phase I type 균주의 병원성 및 독성을 구명하기 위해 마우스와 기니픽에 접종시험한 결과(Table 10 및 11), 7일내 60-100%의 치사량을 보였으며, 기니픽의 피내접종시험에서는 현저한 피부괴사 독성이 관찰되어 공시분리주는 phase I type으로써 Sawata와 Kume[21], 강[54] 그리고 Elias 등[9], Elias와 Kruger[53] 및 Elias와 Ivanyi[55]가 지적한 바와 같이 AR의 일차병원체인 것으로 사료되었다. 강[54]은 *B. bronchiseptica*균주간의 항원성상 시험을 AGID법으로 수행하여 phase I 과 phase III type간에는 동질성 침강반응이 일어나지 않았다고 보고한 바 있었다. 본 시험에서 AGID 및 SDS-PAGE시험 결과 분리균주는 표준균주와 동일한 항원성상과 단백질 분획상을 나타내어 분리균주가 phase I type의 *B. bronchiseptica*임이 재확인되었다. 그러나 분리균주에 면역원성 및 화학적 세포조성을 구명하기 위해서는 outer membrane protein에 대한 성상연구가 수행되어야 한다고 사료된다.

결 론

1992년 10월부터 1994년 4월까지 충남 서부지역 돈군에 대해 호흡기병의 역학적 조사를 실시하고 그중 위축성 비염(AR)의 1차 원인체인 *B. bronchiseptica*를 분리하여 분리균의 생화학적 및 혈청학적 특성, 약제감수성, 병원성 및 독성에 대해 시험하고 아울러 agar-gel immunodiffusion test 및 SDS-PAGE법으로 분리주의 항원성과 단백성상에 대한 연구를 수행한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 2년동안 충남 서부지역의 36개 양돈장과 1개 도축장에서 돼지 호흡기 병 발생상황을 조사한 바 검사두수 16,659두 중 5,880두(35.3%)가 호흡기병에 이환되었고, 이중 양돈장에 사육중인 돼지는 35.1%, 도축돈에서는 38.2%의 이환율을 나타냈다.

2. 연령별 및 사육규모별로 호흡기병 발생상황을 조사한 바 성돈에서 9.2%, 육성돈에서 44.7%, 포유자돈에서 25.3%의 이환율을 나타냈으며, 사육규모별로는 200두 이하에서 56.5%로 가장 높은 이환율을 보였다.

3. 호흡기병 증상을 나타내는 돼지 중 AR의 이환율을 조사한 바, 모돈과 자돈에 백신을 접종한 돈군에서 12.7%, 모돈에만 백신을 접종한 돈군에서 28.9%, 백신을 실시하지 아니한 돈군에서는 39.8%였고, 도축돈에서는 24.8%였다.

4. AR의 임상증상을 나타내는 이환돈으로부터 총 189주의 *B. bronchiseptica*를 분리하였으며, AR백신접종 상태별로 분석한 바 이중 모돈과 자돈에 백신을 접종한 돈군에서는 12.6%, 모돈에만 백신을 접종한 돈군에서는 34.1%, 백신을 실시하지 아니한 돈군에서는 45.7% 그리고 도축돈에서는 43.5%의 균분리율을 나타내었다. 또한 백신을 실시하지 아니한 돈군의 균분리율은 연령별로 조사한 바 61-90일령의 돈군에서 58.5%로 가장 높았다.

5. *B. bronchiseptica*에 대한 항체분포를 조사한 바 모돈과 자돈에 백신을 접종하는 돈군의 항체역가가 가장 높았고, 모돈에만 백신을 접종하는 돈군에서는 모돈의 항체역가가 640-2,560으로 높았으나 자돈의 항체역가는 160-1,280으로 비교적 낮았다. 백신접종군은 모두 100%의 양성율을 보였다. 백신을 실시하지 아니한 돈군의 모돈과 자돈은 0-1,280의 낮은 항체역가를 보였으며 항체양성율은 58.2%였다. 또한 도축돈의 항체역가는 0-2,560이었고 양성율은 53.3%였다.

6. 생화학적 및 혈청학적 성상시험에서 분리균 189주는 *B. bronchiseptica* phase I type 의 특성을 나타내었다.

7. 약제감수성 시험에서 분리균 189주 중 87.3%가 chlorampenicol, 79.7%가 amikacin, 그리고 64.6%가 cephalothin에 대해 감수성을 나타냈으며, 기타 항생제에는 35.4% 이하의 감수성을 나타내었다.

8. agar-gel immunodiffusion test와 SDS-PAGE을 수행한 바 공시한 분리균주는 표준균주와 동일한 항원성 및 단백질 분획상을 보였다.

9. 공시한 분리균주는 기니픽과 마우스에서 높은 병원성과 피부괴사독성을 나타내었다.

참고문헌

1. Ferry NS. 1910. A preliminary report of the bacterial findings in canine distemper. Am Vet Res, 37 : 499-504.
2. Thorp FJ, Tanner FW. 1940. A bacteriological study of the aerobic flora occuring in pneumonic lungs of swine. JAMVA, 96 : 149.
3. Phillips CE. 1943. Alcaligenes(*Brucella*) bronchisepticus as factor in porcine pneumonias. Can J Comp Med, 7 : 58.
4. Switzer WP. 1956. Studies on infectious atrophic rhinitis V. Concept that several agents may turbinate atroph. Am J Vet Res, 17 : 478-484.
5. Cross RF, Claflin RM. 1962. *Bordetella bronchiseptica* induced porcin atrophic rhinitis. JAVMA, 141 : 1467.
6. Ross RF, Duncan JR, Switzer WP. 1963. Turbinate atrophy in swine produced by pure cultures of *Bordetella bronchiseptica.* Am Vet Med, 58 : 566-570.
7. Duncan JR, Ross RF, Switzer WP, et al. 1966. Pathology of experimental *Bordetella bronchiseptica* infection in swine atrophic rhinitis. Am J Vet Res, 27 : 457-466.
8. Shimizu T, Nakagawa M, Shibata S, et al. 1971. Atrophic rhinitis produced by intranasal innoculation of *Bordetella bronchiseptica* in hysterectomy produced colostrum deprivated pigs. Conell Vet, 61 : 696-705.
9. Elias B, Gergely P, Boros G. 1988. Epizootiological studies on porcine atrophic rhinitis XV. Results of local immunization with a live *Bordetella bronchiseptica* strain in a large scale pig herd affected by atrophic rinnitis. Acta Vet Hung, 36 : 195-204.
10. Ogata MK, Koshimizu H, Kang BK. 1970. Studies on the etiology of infectious atrophic rhinitis of swine. I. Relationship between the disease and bacterial flora of nasal cavity of pigs. Jap J Vet Sci, 32 : 185-199.
11. Cameron RDA, Giles CJ, Smith IM. 1980. The prevalance of *Bordetella bronchiseptica* and turbinate (conchal) atrophy in English pig herds in 1978-1979. London Vet Rec, 107 : 146-149.
12. Giles CJ. 1992. *Bordetelliosis,* In Disease of swine. 7th ed. eited by Leman AD, Straw BE, Mengeling WL, et al. Iowa State Uni Press, 436-445.
13. Goodwin RFW. 1890. Atrophic rhinitis of pigs. Vet Rec In practice. 2 : 5-11.
14. Pittman M. Genus *Bordetella* Bergey's manual of systemic bacteriology. 8th ed. London Williams and Wilkins : 388-393.
15. Chaby RG, Ayme A, Caroff M, et al. 1979. Structural features and separation of some of the biological activitie of the *Bordetella pertussis* endotoxin by chemical fraction. In I. Manclark and C. R. Hill II.eds., International Symposium on Pertussis. U.S. Government Printing Office, Washiton, D.C. 185-190.
16. Ezzell JW, Dobrogosy WJ, Kloos WE, et al. 1981. Phase-shift markers in *Bordetella* : Alterations in envelope proteins, J Infect Dis, 143 : 562-569.
17. Hansen GA, Pedersen KB, Riising HJ.1983. Protection against colonization of *Bordetella bronchiseptica* in the uper respiratory tract of the pig. In K.B. Pedersen and N.C. Nielsen, eds., Atrophic Rhinitis in pigs, Commission of the European Communities, Luxembourg : 89-97.
18. Kang BK, Koshimizu K, Ogata M. 1970. Studies on the etiology of infectious atrophic rhinitis of swine II. Agglutination test on *Bordetella bronchiseptica* infection. Jap J Vet Sci, 32 : 295-306.
19. Elias B, Kruger M. 1988. Studies into differentiation of *Bordetella bronchiseptica* strains. 5th communication : Factors of virulence in relation to phase transition of *Bordetella bronchiseptica* strains. Arch Exper Vet Med Leipzig, 42 : 859-

866.

20. Magyar T, Chanter N, Lax AJ. et al. 1988. The pathogenesis of turbinate atrophic in pigs caused by *Bordetella bronchiseptica.* Els Sci Pub B V Am Vet Mic, 18 : 135-146.
21. Sawata A, Kume K. 1982. Nasal turbinate atrophic in young mice innoculated with *Bordetella bronchiseptica* of pig origin. Am J Vet Res, 43 : 1845-1847.
22. Williams PP, Hall MR, Rimiler RB.1982. Effect of purifield *Pasteurella multocida* tubinate atrophy toxin on porcine peripheral blood lymphocytes *in vivo* and *in vitro.* USDA ARS Ames Iowa : 234.
23. Baars JC, Dejong MF, Stolm PK, et al. 1982. Atrophic rhinitis and its control with an aduvant vaccine consisting of *Bordetella bronchiseptica* and *Pasteurella multocida* strains. Proce 7th Int Cong Pig Vet Soc Mexico : 121.
24. Sawata A, Nakai T, Tsuji M, et al. 1984. Dermonecrotic activity of *Pasteurella multocida* strains isolated from pigs Japenes field. Jap J Vet Sci, 46 : 142-148.
25. Nakai T, Kume K, Yoshikawa H, et al. 1986. Change in the nasal mucosa of specific pathogen free neonatal pigs infected with *Pasteurella multocida* or *Bordetella bronchiseptica.* Jap J Vet Sci, 48 : 693-701.
26. Elias B, Albert M, Tuboly, S, et al. 1992. Interation between *Bordetella bronchiseptica* and toxigenic *Pasteurella multocida* on the nasal mucosa of SPF piglets. J Vet Med Sci, 54(6) : 1105-1110.
27. Montaraz JA, Novotny P, Ivanyi J. 1985. Identification of 68-Kilodalton protective protein antigen from *Bordetella bronchiseptica.* Infect Immun, 47 : 744-751.
28. Lee SW, Way AW, Osse E G. 1986. Purification and subunit heterogeneity of pili of *Bordetella bronchiseptica.* Infect. Immun, 51 : 586-593.
29. Schofield FW. 1959. Occurance of atrophic rhinitis of swine in Korea Proc Korean Vet Med Sci,
30. 박정문, 석호봉, 이현수등,1976. 돼지의 전염성위축성비염에 관한연구. I. 돼지에 대한 *Bordetella bronchiseptica*의 항체, 균분리 및 병변조사. 농사시험연구소. 18 : 53-61.
31. 이성희, 위성하, 김승중등, 1979. 돈의 전염성위축성비염의 발생역학적 조사와 약제치료 시험. 대한수의사회지. 15 : 323-330.
32. 장희경, 김봉환. 1988. 영남지방 돼지의 *Bordetella bronchiseptica* 감염상황 및 분리균의 생화학적 특성. 대한 수의사회지. 28 : 75-81.
33. 박진열, 노용기, 강춘원. 1988. 전남지방 도축돈의 전염성위축성비염조사. 가축위생시험연구회지. 11 : 181-189.
34. 정민성, 이양성, 조광제. 1991. 경남지역의 *Bordetella bronchiseptica* 보균실태 및 항체가 수준에 관한 균 분리율조사: 가축위생학지. 14 : 41-48.
35. Smith IM, Baskerville AJ. 1980. High prevalence of strains of *Bordetella bronchiseptica* resistant to potentiated sulphonamide in English pig herds in 1978-1979. Lon Vet Rec, 106 : 462-463.
36. 이건섭, 김승곤, 김영권등. 1989. 진단병원미생물학. 고려의학 : 112-152.
37. 강병규. 1978. *Bordetella* 감염증의 혈청학적 진단, 특히 보균돈 검색을 위한 급속 평판응집반응의 실용화. 대한수의학회지. 18(2) : 61-67.
38. Bryant MC. 1972. Antibiotics and their laboratory control. 2nd ed. Butt London : 34-65.
39. 조성근. 1994. 국내분리 *Actinobacillus pleuropneumoniae*의 Outer Membrane Protein 의 면역원성. 서울대학교 대학원.
40. Elias B, Boros G, Albert M, et al. 1990. Clinical and pathological effects of the demonecrotic toxin of *Bordetella bronchiseptica* and *Pasteurella multocida* in specific -pathogen- free piglets. Jpn J Vet Sci, 52 : 677-688.
41. Janet IM, Sϕren R. 1987. Analysis of major antigens of *Haemophilus (Actinobacillus) pleuropneumoniae* and related organisims. Infect Immun. 55(

7) : 1626-1634.
42. Hames BD, Rickwood DR. 1981. Gel electrophoresis of proteins a practical approach. IRL Press Oxford Eng.
43. Harris DL, Ross RF, Switzer WP. 1969. Incidence of certain microoganisims in nasal cavities of swine in Iowa. Am J Vet Res, 30 : 1621-1624.
44. 강병규. 1982. 돼지 전염성위축성비염 예방. 대한수의사회지. 18 : 10-19.
45. 강병규, 이정길, 위성하등. 1982. 전염성 위축성비염의 예방을 위한 *Bordetella bronchiseptica* 백신의 야외 응용성. 농어촌개발 연구. 17 : 125-130.
46. Jenkins EM, Anthony V, Vance RT, et al. 1977. Prevalence of *Bordetera bronchiseptica* infection in swine of south eastern Alabama Am J Vet Res, 38 : 2071-2079.
47. Shashidhar BY, Norman RU. 1983. Serologic survey for *Bordetell bronchiseptica* in Nebraska specific-pathogen-free pigs. Am J Vet Res, 44 : 1123-1125.
48. Kang BK, Koshimizu K, Ogata M. 1971. Studies on the etiology of infectious atrophic rhinitis of swine. III. Field survey by agglutination test in relation to incidence of *Bordetella bronchiseptica* and turbinate atrophy. Jap J Vet Sci, 33 : 17-23.
49. Goodnow RA, Shade FL, Switzer WP. 1979. Efficacy of *Bordetella bronchiseptica* bacterin in controlling enzootic atrophic rhinitis in swine. Am J Vet Res, 40 : 58-60.
50. Nakase Y. 1975. Studies on Hemophilus bronchisepticus. IV. Difference of biological properties between phase I and phase III of *H. bronchiseptius.* Kitasato Arch of Exp Med, 30 : 79-84.
51. 장희경, 김봉환. 1988. 영남지방 돼지에서 분리한 *Bordetella bronchiseptica*의 약제감수성. 대한 수의학회지. 28 : 83-87.
52. Rutter JM, Mckenzie A. 1984. Pathogenesis of atrophic rhinitis in pigs. A new perspective. Vet Rec, 114 : 89-90.
53. Elias B, Kruger M. 1983. Epizootologische untersuchungen der rhinitis des *schweines* III.Untersuchungen zu den eigenschaften des Bordetella bronchiseptica exotoxins. Zbl Vet Med B, 30 : 333-340.
54. 강병규. 1973. *Bordetella bronchseptica* 의 균체성분에 관한 연구. 특히, DEAE-cellulose chromatography 의한 분획 정제에 대하여. 대한수의학회지. 13 (1) : 47-52.
55. Elias B, Ivanyi S. 1981. Studies on swine atrophic rhinitis. Zbl Vet Med B, 28 : 363-370.

LEGENDS OF PHOTOS

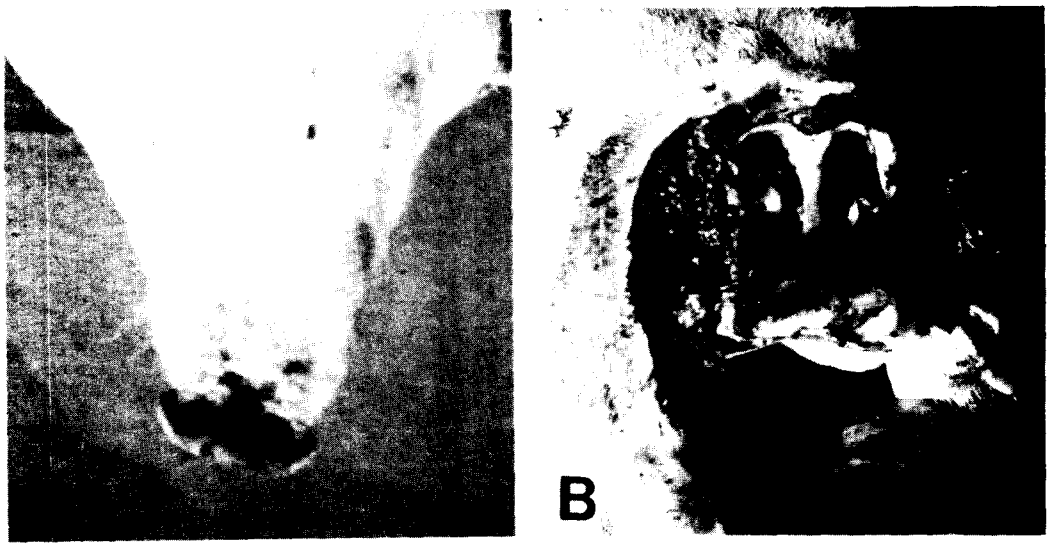
Photo 1. Clinical cases of atrophic rhinitis in swine
A : Snout deformation of the pig affected with AR.
B : 2 Cross section of the snout showing turbinate hypoplasia(arrows) in a 20-weeks-old pig infected with *B. bronchiseptica.*

Photo 2. The reactions of agar-gel immunodiffusion between the standard and the isolated *B. bronchiseptica*
Center well : antiserm
Well 1 : standard strain (P4)
Well 2 : standard strain (ATCC-31437)
Well 3 to 5 : isolated strains
Well 6 : control (PBS)

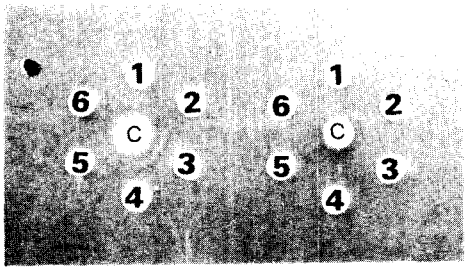
Photo 3. Dermonecrotoxicity test of B. bronchiseptica isolates in guinea pigs. Various degree of inflammatory reactions were induced by intradermal inoculation of varying concentration of bacterial filtrates, A : undiluted bacterial filtrate, B : diluted bacterial filtrate. The numbers represent the dilution ratio.

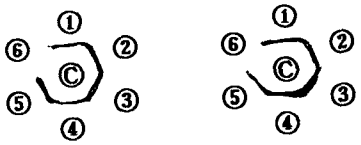
Photo 4. SDS-PAGE profiles of whole cell protein of *B. bronchiseptica*
Lane 1 : standard strain (P4)
Lane 2 : standard strain (ATCC-31437)
Lane 3 to 9 : the isolated strains
Left and right end lanes : molecular markers

PHOTOS I



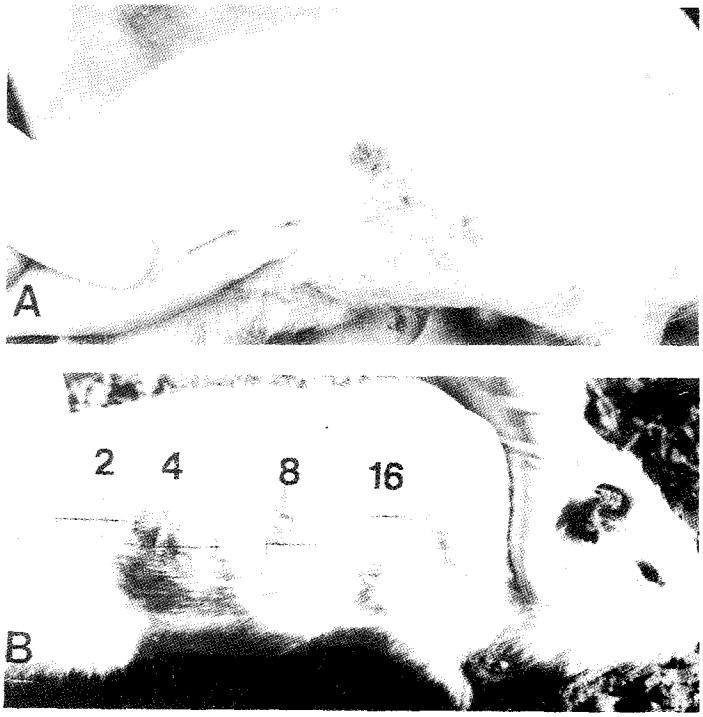
Photos 1



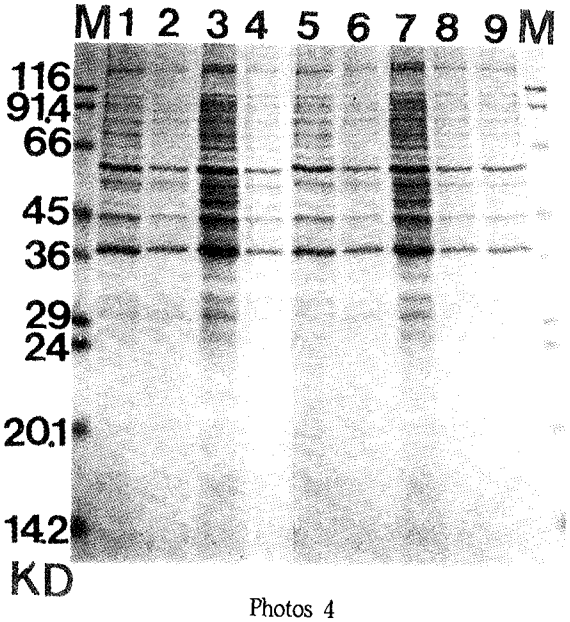


Photos 2

PHOTOS II



Photos 3



Photos 4