

< Original Article >

도축돈에서의 *Actinobacillus pleuropneumoniae* 분리, 동정 및 감염률 조사

김경언* · 구경녀 · 고재형 · 문형준 · 최권락 · 송은아 · 박미영
경기도축산위생연구소

Isolation, identification and serological investigation of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in slaughtered pigs

Kyung-Eon Kim*, Kyung-Nyer Ku, Jae-Hyung Ko, Hyeong-Jun Moon,
Kwon-Rag Choi, Eun-Ah Song, Mi-Young Park

Gyeonggi Province Veterinary Service Center, Suwon 441-460, Korea

(Received 19 April 2013; revised 20 June 2013; accepted 12 August 2013)

Abstract

This study was conducted to isolate the *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP) and to find out the distribution of 15 serovars mainly in southern Gyeonggi province, Korea. From July 2011 to Nov. 2012, a total of 2,204 slaughter pigs (110 herds) were inspected for evaluation of APP like pneumonic lesions. 48 (33.8%) APP strains were isolated from the 142 lungs and identified using PCR assays (*cps*, *apx/omlA*, biovar). Consequently, the serotype ratio were as in the following; type2 41.7% (n=20), type5 33.3% (n=16), type12 10.4% (n=5), type1 6.2% (n=3), type4 and 7 2.1% (n=1) and unknown 4.2% (n=2). Also serological test was implemented for 452 (83 herds) serum samples randomly collected from above slaughter pigs using commercial ELISA kits. The positive ratio of each serotype for tested pigs were 19.1% (77/404) on [2], 7.1% (32/452) on [3, 6, 8], 6.9% (28/404) on [5a, 5b], 6.2% (28/452) on [4, 7], 2.8% (9/320) on [12], 2.0% (9/452) on [1, 9, 11] and 0.0% (0/452) on [10]. And 49.3% (223/452) of pigs were positive on *apxIV* antibody. On the basis of latter screening test, the infected farm ratio accounted for 71.1% (59/83) and that was much higher than previously reported data.

Key words : *Actinobacillus pleuropneumoniae*, Slaughter pigs, PCR, ELISA

서 론

돼지 흉막폐렴은 전 세계에 널리 퍼진 대표적인 호흡기 질병으로 양돈산업에 막대한 피해를 주고 있으며 국내에서도 예외는 아니다. 원인체인 *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP)는 협막으로 둘러싸인 그람 음성의 단간균으로 폐의 출혈성괴사나 화농성병변을 특징으로 하며 주로 급성과 심급성의 경과를 취해 세균성폐렴 중에서 치사율이 가장 높은 것으로 알

려졌다(Tonpitak, 2010). 특히 돼지 생식기호흡기증후군바이러스나 돼지 썩코바이러스 2형 등과 함께 복합 감염되면 피해는 더욱 심해진다. 주요 전파경로는 직접접촉 혹은 비말에 의한 호흡기 전파가 대부분이며, 갑작스런 기후변화나 수송, 밀집사육 등과 같은 스트레스와 연관되어 발병하는 경우가 대부분이다(Gottschalk, 2012).

APP는 성장인자로써 NAD 의존성에 따라 두 가지 생물형과 협막을 구성하는 다당류의 차이에 따라 15종의 혈청형(serovar)으로 분류된다(Tonpitak, 2010). 과거에는 혈청형 동정을 위해 공동응집반응이 통상

*Corresponding author: Kyung-Eon Kim, Tel. +82-31-8008-6313,
Fax. +82-31-8008-6249, E-mail. vetlove@gg.go.kr

적으로 사용되었는데 공통 항원결정부위로 인한 혈청형간 교차반응 때문에 한천겔확산법과 간접혈구응집법이 병행되어야 했다(Mittal 등, 1987). 이와 같이 세포막 지질다당류의 유사 항원으로 인한 혈청형간의 교차반응이 존재하는 문제점을 해결하기 위해 outer membrane lipoprotein (*omlA*), *apx* toxin, capsular polysaccharide (*cps*) 유전자를 이용한 PCR 기법이 개발되었다(Jessing 등, 2003; Gram과 Ahrens, 1998). 이러한 유전자 진단 기술을 바탕으로 90년대부터 지금까지 국내에서 혈청형 2, 3, 5, 6, 7, 10 및 12 등이 분리되었으며 가장 유행하는 혈청형은 2, 5형으로 알려져 있다. APP는 혈청형에 따라 교차 방어능이 일부 보고되어 있지만, 효과적인 예방을 위해서는 지속적인 지역별 유행 혈청형 조사가 필수적이다(Shin 등, 2011). 그밖에 Oliveira (2009)는 상업용 ELISA가 돈군의 스크리닝과 혈청형별 준임상형 감염을 진단하는데 특이도와 민감도 면에서 매우 유용하고 정확한 방법이라는 결론을 내렸다. 국내에서는 아직 준임상형 감염을 고려하여 시판 ELISA를 APP 혈청형 분포 조사에 사용한 문헌은 확인할 수 없었다.

이 연구는 주로 경기 지역 남부와 충남 소재의 양돈장에서 도축 출하되는 비육돈에 대한 폐 병변 육안 검사, 세균분리, 혈청형 동정, ELISA를 이용한 혈청학적 분석을 통해 경기도 지역과 인근 지역에서 유행하고 있는 APP 감염상태와 혈청형 분포를 더욱 정확히 파악하여 향후 효과적인 질병 방제를 위한 대책을 제시하고 관련 검사기법을 정립하여 지속적인 모니터링 체계를 구축하는데 그 목적이 있다.

재료 및 방법

폐 병변 육안검사

2011년 7월부터 2012년 11월까지 경기도 소재 도축장(안양 협신, 화성 스마일, 부천 농협)에 출하된 돼지에 대해 농가당 20두씩 총 2,204두에 대한 폐 병변 육안검사를 실시하였다. 검사 항목으로는 폐에서 병변이 확인되는 위치, 진행경과, 농양의 숫자, 크기 등을 조사하였으며, 대부분 경기 지역과 일부 충남 지역의 농가를 대상으로 검사를 진행하였다.

세균분리

도축장에서 육안검사를 통해 흉막폐렴으로 의심되는 폐 병변 부위를 무균적으로 채취하고 5°C 냉장 상태에서 실험실로 운반하여 6시간 이내에 세균분리를 시도하였다. 접종 방법은 폐 병변 부위를 무균적으로 절개하고 멸균된 면봉으로 절개면을 충분히 문지른 뒤 준비된 용액이 담긴 1.5 mL 튜브에 40분간 정치하였으며, 이후 초콜릿 한천배지(한일코메드, 한국)에 접종하여 10% CO₂ 37°C 인큐베이터에 18~24시간 배양하였다. 준비된 용액은 기존의 선택배지 제조법(Branka 등, 2004)을 변형하여 NAD (Sigma, USA), bacitracin (Sigma, USA), lincomycin (Sigma, USA), nystatin (Sigma, USA)을 각각 0.0025%, 8 IU/mL, 2 µg/mL, 450 µg/mL의 농도로 혼합하여 필터를 통과시킨 멸균 용액이며, 사용 편의를 위해 1.5 mL 튜브에 300 µL씩 분주하여 -40°C에 냉동 보관하여 사용하였다.

혈청형 동정

순수 배양된 세균 집락은 동물질병표준검사법(국립수의과학검역원, 2008)에 따라 boiling법으로 DNA를 추출하였으며, -20°C에서 보관하면서 PCR을 위한 template DNA로 사용하였다. APP 혈청형 분포 조사를 위한 PCR은 공통유전자와 1, 7 및 12 혈청형은 Angen 등(2008), 2, 5 및 6 혈청형은 Jessing 등(2003), 그리고 8 혈청형은 Schuchert 등(2004)이 제시한 염기서열을 이용하여 1차 동정을 실시하였으며, 2차로 Gram 등(2000)과 Serrano-Rubio 등(2008)이 각각 제시한 *apx/omlA*와 biovar 1, 2형 유전자에 대한 프라이머를 사용하여 혈청형을 최종 동정하였다(Table 1). Multiplex PCR에 AccuPower[®] multiplex PCR premix (Bioneer, Korea)를 사용하였으며 template DNA 1 µL, primer mix 2 µL (각각 2 pmole/µL), DNase free water 17 µL를 첨가하여 총량 20 µL에 제품설명서의 반응조건을 적용했으며, 일반 PCR은 AccuPower[®] PCR premix (Bioneer, Korea)를 사용하여 template-DNA 4 µL, primer 2 µL (10 pmole/µL), DNase free water 14 µL를 첨가하여 총량 20 µL에 문헌의 반응조건을 적용하였다. PCR 증폭산물은 전기영동자동화장비(Multina, Shimadzu, Japan)를 사용하여 특이밴드를 확인하였다.

Table 1. Overview of identification and serotyping scheme for *A. pleuropneumoniae* isolation

Target gene	APP serotype															bp
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
Common	○*	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	950
<i>apxICA</i>	○				○				○	○	○			○		826
<i>apxIIICA</i>	○	○	○	○	○	○	○	○	○		○	○	○		○	1068
<i>apxIIIICA</i>		○	○	○		○		○							○	635
<i>apxIBD</i>	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	1447
<i>apxIIIBD</i>		○	○	○		○		○							○	968
<i>omlA 1</i>	○								○		○	○	‡			809
<i>omlA 2</i>		○						○								687
<i>omlA 3(4)</i>			○	⊙ [†]		○	○									577 (627)
<i>omlA 5</i>					○					○						418
Biovar 1	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○			○	800
Biovar 2													○	○		350

*Positive. †627 bp. ‡No data.

Table 2. Identification of isolates from slaughter pigs having pleuropneumonia lesions

No. of cases tested (%)	No. of APP* isolated (%)	No. of APP isolates for each serotype (%)							NT [†]
		1	2	4	5	7	12		
142 (100.0)	48 (33.8)	3 (6.2)	20 (41.7)	1 (2.1)	16 (33.3)	1 (2.1)	5 (10.4)	2 (4.2)	

**Actinobacillus pleuropneumoniae*. †Nontypeable.

ELISA

도축장 병변검사와 함께 농가당 5두 내외의 혈액 시료를 무작위로 채취하였으며 83농가 452두의 혈청을 수집하여 -40°C에 냉동 보관하였다. 이후 수집된 혈청에 대한 APP 항체 수준을 검사하기 위해 시판중인 APP *apxIV* antibody ELISA kit (IDEXX, USA), APP [1, 9, 11], [2], [3, 6, 8], [4, 7], [5a, 5b], [10], [12] antibody test kit (Biovect, Canada)을 사용하였으며 실험 방법은 각 제조사의 설명서에 따라 수행되었다.

결 과

균 분리 및 혈청형 동정

도축장에서 흉막폐렴 특이 병변을 나타내는 328두 중 142두에 대해 균 분리를 시도하여 그 중 33.8% (n=48)에서 흉막폐렴균이 분리되었으며, 분리된 균주에 대한 혈청형 동정 결과 2형 41.7% (n=20), 5형

33.3% (n=16), 12형 10.4% (n=5), 1형 6.2% (n=3), 4형과 7형이 각각 2.1% (n=1)순으로 확인되었으며 그밖에 4.2% (n=2)에서는 혈청형이 확인되지 않았다 (Table 2).

혈청형별 폐 병변 비교

폐 병변 육안검사와 균 분리 및 혈청형 동정 결과를 토대로 APP 균주가 분리된 농장에서 흉막폐렴 증상이 관찰된 개체들을 혈청형별로 그룹화하여 감염 경과, 농양 개수, 병변 크기를 비교하였다. 그 결과 감염 경과는 [acute/subacute/chronic] 1형(n=11) [0.0%/45.5%/54.5%], 2형(n=80) [13.8%/25.0%/61.2%], 5형(n=48) [43.8%/29.2%/25.0%], 12형(n=7) [28.6%/14.3%/57.1%]이었으며, 농양 개수는 [0개/1개/2개 이상] 1형 [0.0%/90.9%/9.1%], 2형[47.5%/33.8%/18.7%], 5형[10.4%/56.3%/33.3%], 12형[0.0%/85.7%/14.3%]으로 확인되었다. 또한, 병변의 크기는 [1 cm 이하/2~5 cm/5 cm 초과] 1형[9.1%/90.9%/0.0%], 2형[43.8%/43.8%/12.4%], 5형[12.5%/60.4%/27.1%], 12형[14.3%/85.7%/0.0%]을 차지하였다(Table 3).

Table 3. Comparison of Lung lesions for each group based on carcass inspection and APP serovar identification

	APP1 (n=11)			APP2 (n=80)			APP5 (n=48)			APP12 (n=7)		
	A*	SA [†]	C [‡]	A	SA	C	A	SA	C	A	SA	C
Progression (%)	0 (0.0)	5 (45.5)	6 (54.5)	11 (13.8)	20 (25.0)	49 (61.2)	21 (43.8)	14 (29.2)	12 (25.0)	2 (28.6)	1 (14.3)	4 (57.1)
No. of abscess (%)	0	1	2≤	0	1	2≤	0	1	2≤	0	1	2≤
	0 (0.0)	10 (90.9)	1 (9.1)	38 (47.5)	27 (33.8)	15 (18.7)	5 (10.4)	27 (56.3)	16 (33.3)	0 (0.0)	6 (85.7)	1 (14.3)
Size of lesion (%)	≤1 cm	2~5 cm	5 cm<	≤1 cm	2~5 cm	5 cm<	≤1 cm	2~5 cm	5 cm<	≤1 cm	2~5 cm	5 cm<
	1 (9.1)	10 (90.9)	0 (0.0)	35 (43.8)	35 (43.8)	10 (12.4)	6 (12.5)	29 (60.4)	13 (27.1)	1 (14.3)	6 (85.7)	0 (0.0)

*Acute. [†]Subacute. [‡]Chronic.**Table 4.** Results of the ELISA test for the serum samples randomly collected from slaughter pigs

ELISA kit	Biovet*							IDEXX [†]
	[1, 9, 11]	[2]	[3, 6, 8]	[4, 7]	[5a, 5b]	[10]	[12]	<i>apxIV</i> Ab
No. of samples (herd)	452 (83)	404 (79)	452 (83)	452 (83)	404 (79)	452 (83)	320 (65)	452 (83)
No. of positive (herd)	9 (2)	77 (28)	32 (12)	28 (10)	28 (13)	0 (0)	9 (3)	223 (59)
Positive ratio, %	2.0	19.1	7.1	6.2	6.9	0.0	2.8	49.3
Infected herd, %	2.4	35.4	14.5	12.0	16.5	0.0	4.6	71.1

*Serotype specific antibody ELISA kit. [†]*apxIV* antibody ELISA kit.

ELISA

도축장에서 수집된 83농가 452점의 혈청에 대한 serotype-specific ELISA 결과 양성율은 [2]형 19.1% (77/404), [3, 6, 8]형 7.1% (32/452), [5a, 5b]형 6.9% (28/404), [4, 7]형 6.2% (28/452), [12]형 2.8% (9/320), [1, 9, 11]형 2.0% (9/452), [10]형 0.0% (0/452)로 확인되었으며, *apxIV* Ab ELISA 양성률은 49.3% (223/452)이었다. 또한 농가 감염률은 [2]형 35.4% (28/79), [5a, 5b]형 16.5% (13/79), [3, 6, 8]형 14.5% (12/83), [4, 7]형 12.0% (10/83), [12]형 4.6% (3/65), [1, 9, 11]형 2.4% (2/83), [10]형 0.0% (0/83) 순이었으며, *apxIV* Ab ELISA에서는 71.1% (59/83)이었다(Table 4).

고찰

돼지에서의 흉막폐렴을 진단하고 평가하기 위해서는 혈청학적으로 여러 가지 고전적인 방법이 동원될 수 있으나 균 분리 이후 유전자 검사를 통한 혈청형 동정이 가장 정확하고 신속하다. 돼지의 편도에서 APP 분리율을 높이기 위해 선택배지에 항생제가 첨가되면 배지의 종류에 따라 분리율이 4.3% (Columbia

agar, 3.2%→7.5%)에서 13.9% (Modified PPLO agar, 6.5%→20.4%)까지 높아진다는 연구 결과가 있다 (Branka 등, 2004). 여기에 사용된 항생제와 화학제제를 응용하여 이 연구에서도 앞서 재료 및 방법에서 기술한 대로 2012년 5월부터 실험에 적용한 결과 APP 분리율이 15.4% (10/65)에서 49.4% (38/77)로 34% 상승하는 효과가 있었다(Data not shown). 이 방법의 가장 큰 장점은 항생물질 첨가제를 상용화된 초콜릿 한천배지에 직접 적용하기 때문에 선택배지를 제조하는 시간과 노동력을 절감할 수 있다는 것이다.

APP는 균체 협막에 있는 다당류에 따라 혈청형이 분류된다. 90년대부터 지금까지 국내에 보고된 문헌으로는 주로 유행하는 APP의 혈청형은 2, 5형이며 그밖에 1, 3, 4, 6, 7, 10, 12형이 분리되었다(Jung과 Jang, 2012; Shin 등, 2011; Lee 등, 1999; Jung 등, 1996). 이번 연구 결과에서도 1, 2, 4, 5, 7, 12형 균주가 분리되었으며 이 중 2형 41.7% (20/48), 5형 33.3% (16/48)로 확인되어 경기 남부와 충남 일대의 양돈농가에 이 두 가지 혈청형이 유행하고 있는 것을 확인할 수 있었으며, 그 외에 분리된 균주는 12형 10.4% (5/48), 1형 6.3% (3/48), 4형 2.1% (1/48), 7형 2.1% (1/48)을 차지하였다. 특히 Shin 등(2011)이 처음 분리한 1형 균주는 경북, 경기, 충남 지역의 시료에서 확인되었는

데 이 실험에서 분리된 1형(n=3)은 충남과 충북에서 각각 분리된 것으로 국내 전역에 분포하고 있는 것으로 추정되며 향후 이에 대한 지속적인 모니터링과 함께 백신의 개선 및 개량이 시급한 것으로 보인다.

북미에서는 1, 5형, 유럽에서는 2, 9, 11형 균주가 타 균주보다 병원성이 상대적으로 강한 것으로 분류된다(Gottschalk, 2012). 또한, 국내에서는 APP 균주의 biofilm 형성능을 평가하여 1형과 5형의 병원성이 2형보다 높다는 것을 증명하였다(Shin 등, 2011). 이번 연구에서도 혈청형별 폐 병변을 비교해 본 결과 주로 5형이 타 혈청형보다 급성 경과를 나타내며 병변의 정도가 더 심한 것으로 확인되어 국내에서 유행하는 균주 중에 가장 병원성이 큰 것을 확인할 수 있었으나 1형에서는 다른 혈청형과 비교하여 병원성이 더 크다는 결론은 내릴 수 없었다(Table 4).

보통 혈청형의 병원성은 *apx* toxin (I, II, III)의 조합에 따라 나뉘는데 병원성이 가장 높은 1, 5, 9, 11형은 *apxI*과 II; 2, 4, 6, 8형은 *apxII*와 III; 병원성이 낮은 7, 12, 13형은 *apxII*; 10, 14형은 *apxI*; 3형은 *apxIII*를 분비한다(Fery, 2003). 이번 연구에서 분리된 균주의 serotype specific PCR에서 12형으로 확인된 균주(n=5) 모두 *apx/omlA* PCR에서 *apxIIICA*, *apxIBD* 이외에 *apxIIICA*, *apxIIIBD* 유전자가 확인되고 *omlA* 3 그룹으로 분류되어 비정형의 혈청형으로 확인되었다. 이는 병원성이 상대적으로 낮은 것으로 알려진 12형 균주의 병원성이 국내에서는 2, 4, 6, 8형과 동일한 수준일 수 있다는 것을 의미하므로 앞서 언급한 1형과 함께 국내 12형 균주에 대한 병원성과 유전적 특성에 관한 집중적인 연구가 필요할 것으로 보인다.

APP 항체를 감지하기 위한 혈청학적 검사법에는 hemolysin neutralization test (HNT), complement fixation test (CT), ELISA와 같은 여러 가지 방법들이 있다. 그 중 long chain-lipopolysaccharide (LC-LPS)를 항원으로 하는 ELISA가 가장 민감도와 특이도가 높은 것으로 알려져 가장 많이 사용되고 있다. 그 밖에 *apxIV*를 항원으로 하는 ELISA도 2000년대 초반부터 널리 사용되고 있는데 이는 *apxIV* 유전자가 모든 APP 혈청형에서 확인되고 생체 내에서만 분비되는 특성을 이용한 것으로 종 특이성이 매우 높은 것으로 보고되어 있다(Schaller 등, 1999).

Oliveira (2009)는 동일한 실험조건에서 준임상형 APP 감염을 찾아내기 위해 ELISA 종류별 성능 비교를 시도하였다. 당시 *apxIV* antibody ELISA kit (IDEXX)의 QA/QC 문제로 인해 이를 제외한 sero-

type-specific ELISA (Biovet)와 multi-APP ELISA (University of Montreal)를 사용하여 1, 3, 5, 7, 10, 12, 15형의 균주를 실험적으로 감염시킨 각각의 그룹에 대해 감염 후 49일 시점까지 주단위로 비교 실험을 하였으며 편도와 폐의 균 분리와 PCR이 병행되었다. 두 제품 모두 LC-LPS를 항원으로 하는 같은 방식임에도 검사 결과의 일관성과 초기의 혈청양전을 감지하는 민감도에 중요한 차이점이 확인되었다. Multi-APP ELISA에서 검사 결과의 일관성이 더 높게 나타났으며 serotype-specific ELISA보다 1주 빠르게 혈청양전을 감지하였다. 또한 serotype-specific ELISA의 혈청형별 교차실험을 통해 교차반응이 없음을 확인하여 전자는 돈군의 스크리닝에 후자는 혈청형 감별에 적합하다는 결론을 내렸다.

이 연구에서는 도축장에서 수집된 452점(83농가)의 혈청에 대해 serotype specific antibody ELISA kit와 *apxIV* antibody ELISA kit를 실험에 사용하였다. 전자는 혈청형 그룹(1, 9, 11; 2; 3, 6, 8; 4, 7; 5a, 5b; 10; 12)을 동정하기 위한 7가지의 키트로 구성되어 있으며, 후자는 *apxIV* 항체를 검출하기 위한 단일키트로 혈청형 감별은 불가능하지만 특이도가 매우 높다는 장점이 있다. Serotype-specific ELISA 검사 결과 [2]형의 항체 양성률은 19.1% (77/404)로 가장 높은 비율로 나타났으며 다음으로 [3, 6, 8]형, [5a, 5b]형, [4, 7]형 순으로 각각 7.1% (32/452), 6.9% (28/404), 6.2% (28/452)의 비슷한 양성률을 나타냈다. 이는 그동안 국내에서 주로 균 분리에 의한 혈청형 분포 조사 결과와는 다른 것으로 [3, 6, 8]형과 [4, 7]형의 준임상형 감염이 국내에 상재하고 있음을 의미하는 것이다. 이 외에도 2가지 이상의 혈청형 그룹에 양성인 혼합감염이 10.2% (17/166)에 이르는 것을 확인할 수 있었으며 약 12.0% (10/83)의 농장이 이에 해당하였다(Data not shown). 전체 검사대상의 APP 감염률은 serotype-specific ELISA 경우 최소한 한 개 혈청형그룹 이상에서 양성 비율이 36.7% (166/452), *apxIV* antibody ELISA는 49.3% (223/452)로 전자가 후자에 비해 현저히 낮은 것으로 확인되어 Oliveira(2009)가 지적한 serotype-specific ELISA kit의 민감도 문제가 이번 실험에도 반영된 것으로 생각된다. 그밖에 농장 오염도를 분석해보면 serotype-specific ELISA에서 최소한 한 개 이상의 키트에서 양성인 비율이 60.2% (50/83), *apxIV* antibody ELISA에서는 71.1% (59/83)로 확인되어 국내의 APP 농장 오염도가 상당히 높은 수준임을 알 수 있었다(Table 4).

결 론

경기도 소재 양돈농가의 APP 혈청형 분포 및 감염률 조사를 위해 도축장에 출하된 비육돈 2,204두(110농가) 중 폐 병변의 균 분리 및 동정 결과 2형과 5형이 75% (36/48)를 차지하였으며, 혈청형별 폐 병변을 비교한 결과 5형의 병원성이 가장 높은 것으로 확인되었다. 또한, 2011년 1형이 국내에서 처음 분리 보고된 이후 이번 연구에서도 3개 균주가 분리되었으며, 12형은 *apx/omlA* 및 biovar 유전자 검사에서 모두 비정형 패턴을 보였다. 앞서 기술한 균 분리에 의한 혈청형 분포와 달리 serotype-specific ELISA에서 [3, 6, 8]형, [4, 7]형 그룹의 양성률이 [5a, 5b]형과 비슷한 것으로 확인되었으며, 실제로 serotype-specific ELISA와 *apxIV* antibody ELISA에서 농장 감염률이 각각 60.2% (50/83), 71.1% (59/83)로 확인되어 국내에 준임상형 감염을 포함한 APP 오염도가 매우 높은 것이 확인되었다.

참 고 문 헌

- 국립수의과학검역원. 2008. 동물질병 표준검사법. 국립수의과학검역원 예규 제 65호
- Angen Ø, Ahrens P, Jessing SG. 2008. Development of a multiplex PCR test for identification of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovars 1, 7, and 12. *Vet Microbiol* 132: 312-318.
- Branka V, Grgic Z, Novakovic Z, Stojanovic D. 2004. Selective media for the isolation of *Actinobacillus pleuropneumoniae* from the pig. *Acta Veterinaria (Beograd)* 54: 395-401.
- Fery J. 2003. Detection, identification, and subtyping of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Methods Mol Biol* 216: 87-95.
- Gottschalk M. 2012. Actinobacillosis. pp. 653-669. In: Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW(ed.). *Disease of Swine*. 10th ed. Wiley-Blackwell, Ames, Iowa, USA.
- Gram T, Ahrens P. 1998. Improved diagnostic PCR assay for *Actinobacillus pleuropneumoniae* based on the nucleotide sequence of an outer membrane lipoprotein. *J Clin Microbiol* 36: 443-448.
- Gram T, Ahrens P, Andreasen M, Nielsen JP. 2000. An *Actinobacillus pleuropneumoniae* PCR typing system based on the *apx* and *omlA* genes—evaluation of isolates from lungs and tonsils of pigs. *Vet Microbiol* 75: 43-57.
- Jessing SG, Angen Ø, Inzana TJ. 2003. Evaluation of a multiplex PCR test for simultaneous identification and serotyping of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotypes 2, 5, and 6. *J Clin Microbiol* 41: 4095-4100.
- Jung BY, Cho GJ, Kim BH, Cho KH. 1996. Biochemical characteristics and serotypes of *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolated from pneumonic lungs of pigs. *Korean J Vet Res* 36: 181-186.
- Jung JY, Jang H. 2012. Serotype and antimicrobial susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolates from pigs in Korea. *Korean J Vet Res* 52: 177-181.
- Lee JH, Jeong JY, Jeon YS, Seok HB. 1999. Studies on serotyping and detection of *Actinobacillus pleuropneumoniae* by multiplex PCR techniques and immunodiffusion test. *Kor J Anim Sci* 41: 387-396.
- Mittal KR, Higgins R, Larivière S. 1987. An evaluation of agglutination and coagglutination techniques for serotyping of *Haemophilus pleuropneumoniae* isolates. *American J Vet Res* 48: 219-226.
- Oliveira S. 2009. Evaluation of *Actinobacillus pleuropneumoniae* diagnostic test using samples from naturally and experimentally infected pigs. *Pork checkoff NPB #08-095*.
- Schaller A, Kuhn R, Kuhnert P, Nicolet J, Anderson TJ, MacInnes JI, Segers RP, Frey J. 1999. Characterization of *apxIVA*, a new RTX determinant of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Microbiology* 145: 2105-2116.
- Schuchert JA, Inzana TJ, Angen Ø, Jessing S. 2004. Detection and identification of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotypes 1, 2, and 8 by multiplex PCR. *J Clin Microbiol* 42: 4344-4348.
- Serrano-Rubio LE, Tenorio-Gutiérrez V, Suárez-Güemes F, Reyes-Cortés R, Rodríguez-Mendiola M, Arias-Castro C, Godínez-Vargas D, de la Garza M. 2008. Identification of *Actinobacillus pleuropneumoniae* biovars 1 and 2 in pigs using a PCR assay. *Mol Cell Probes* 22: 305-312.
- Shin DH, Byun JW, Kim HY, Kim DK, Jang WN, Moon OK, Lee OS, Jung BY. 2011. Distribution of serotype and biofilm of *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolated from pigs. *Korean J Vet Publ Hlth* 35: 7-12.
- Tonpitak W. 2010. Isolation of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 15-like strain from a porcine tonsil in Thailand: A case report. *Thai J Vet Med* 40: 343-348.