

# 경남지역 양돈장의 돼지증식성회장염 감염률에 대한 연구

박동엽\* · 박애라 · 정은희 · 배재형 · 이국천 · 황보원 · 이민권

경상남도축산진흥연구소 중부지소

(접수 2009. 9. 10, 게재승인 2009. 12. 28)

## Survey of porcine proliferative enteritis for the pig farms in Gyeongnam district

Dong-Yeop Park\*, Ae-Ra Park, Eun-Hee Jung, Jae-Hyeong Bae, Guk-Cheon Lee, Bo-Won Hwang, Min-Kwon Lee

Central Branch of Gyeongnam Livestock Veterinary Research Institute, Kimhae 621-833, Korea

(Received 10 September 2009, accepted in revised from 28 December 2009)

### Abstract

Porcine proliferative enteritis (PPE) is a transmissible gastroenteric disease caused by *Lawsonia intracellularis*. Clinically, PPE causes hemorrhagic diarrhea and sometimes death in growing pigs, but when the disease progresses to a chronic phase, the infected pig no longer displays significant symptoms. The purpose of the present studies were carried out to determine *L. intracellularis* in the pig farms and slaughter house, in Gyeongnam area. A survey of proliferative enteritis in pig was conducted using polymerase chain reaction (PCR) testing method, total 1,495 samples. PCR products showed a specific band at the 210bp, 329bp in the specimens of feces and mucosal scraping. Of 420 fecal specimens, 113 (26.9%) were identified as positive to PPE. Of 1,075 mucosal scraping specimens, 109 (10.1%) were identified as positive to PPE. Of total 1,495 specimens, 222 (14.8%) were identified as positive to PPE.

**Key words** : *Lawsonia intracellularis*, Porcine proliferative enteritis (PPE), PCR

### 서 론

증식성 회장염은 *Lawsonia intracellularis*에 의해 발생하는 질병으로 전 세계에 만연하여 양돈농가에 큰 피해를 주고 있다. 전 세계적으로 발병률은 약 30% 정도인 것으로 알려져 있으며(McOrist와 Gebhart, 1999) 돼지출혈성장염(proliferative hemorrhagic enteropathy)으로 알려진 급성과 돼지장선종증(intestinal adenomatosis)으로 진행되는 만성형의 두 가지 임상형으로 대별된다. 농가 피해는 주로 육성돈, 비육돈에서의 급성 출혈성 장염과 폐사, 그리고 만성형 설사에 의

한 비육과 증체율 감소에 비롯되고 있는 실정이다. 비육 성적 저하와 폐사율 증가는 생산성 감소로 연계되어 양돈 산업에 경제적으로 피해가 나타나고 있다(Roberts 등, 1977; Lawson과 McOrist, 1993). 급성형 및 만성형의 증식성 장염은 이제 현대 양돈 산업에 매우 중요한 질병으로 대두되고 있으며, 2000년에 미국의 국립동물건강모니터링시스템(NAHMS)의 조사결과 육성돈과 비육돈에서 가장 문제가 되는 질병으로 확인된 바 있다. 이 조사에서는 전체농가의 1/3이상, 대규모 농가의 75%가 감염된 것으로 보고되었다(Anon, 2002). 국내에서도 전국 양돈장을 표본으로 조사한 개체별 양성율은 56.4%(Lee 등, 2001), 53%(Lee 등, 2004)가 감염된 것으로 보고 된 바 있다. 증식성회장염은 국내에

\*Corresponding author: Dong-Yeop Park, Tel. +82-55-211-5776, Fax. +82-55-211-5779, E-mail. dong04@korea.kr

서 이미 가장 중요한 장 관계 질환의 하나가 된 것이다.

이 질병의 원인균은 이 질병이 처음 알려진 초창기에는 캄필로박터균(*Campylobacter (Vibrio) sputorum* subspecies *mucosalis* 및 *C. hyointestinalis*)으로 믿어 왔으나 이들 균체에 대한 DNA 분석결과 DNA의 염기 서열이 다른 것으로 밝혀졌으며(Gebhart 등, 1989), 그 후 순수분리 배양한 ileal symbiont *intracellularis* 균을 돼지에 인공감염시켜 PPE를 유발시킴으로써 PPE의 원인체임을 확인하였으며, 1995년 공식적으로 *L. intracellularis*로 명명되었다(Gebhart 등, 1993; McOrist 등, 1993; Smith와 McOrist, 1997). 이 세균은 그람음성의 혐기성균으로 세포내에서 증식하는 특징을 보이며, 단간균으로 곡선모양의 끝이 가늘거나 둥근 모양이며 길이가 1.25~1.75um, 직경이 0.25~0.43um 이며(Lawson과 McOrist, 1993), 일반 인공배지에서는 자라지 않으며, IEC-18(ATCC CRL 1589)이라는 랫트의 장세포주에서 가장 잘 자라고, 계태아에 접종하면 증식은 하지만 증식된 균을 돼지에 재접종할 경우 병원성을 상실하는 것으로 알려져 있다(Ward와 Jones, 1991; Jones 등, 1993).

이 질병의 진단은 양돈장내 발병상황, 임상증상, 육안적 및 조직 병리학적 병변을 관찰하여 진단할 수 있으며, 감염된 장 조직이나 분변에서 원인체를 순수 분리한 후 IEC-18 세포에 감염시켜 단클론 항체를 이용한 간접형광항체법과 감염된 조직에 Warthin-Stary와 같은 도염색을 실시하여 검경하면 음와 상피세포의 선단 세포질에 수많은 간균을 볼 수 있으며, 전자현미경상에서 이 간균이 세포내에 존재하는 것을 관찰 할 수 있다(Guedes 등, 2002; Lawson 등, 1993; Thompson과 Hart, 1966; McOrist 등, 1987). 하지만, 분변을 이용한 도염색이나 형광항체법은 비 특이반응이 많이 나타나며 민감하지 못하기 때문에 널리 활용되지 못하며 장 조직을 이용할 경우 폐사된 돼지에서만 가능하기 때문에 역학조사나 경제적인 피해정도를 조사하는데 어려움이 많았다(임 등, 1999).

그래서 최근에는 DNA probe를 이용한 hybridiza-

tion 기법이나 *L. intracellularis*만을 특이적으로 수십만 배 증폭하여 검출하는 중합효소연쇄반응(PCR)이 이용되고 있으며, 진단 특이성이 높고 미량의 균이 감염되어 있어도 검출할 수 있어 분리, 배양이 어려운 이 질병의 진단에 가장 많이 이용하고 있다(Jones 등, 1993; McOrist 등, 1994; Cooper 등, 1997; McCormick 등, 1995).

이와같이 돼지증식성회장염은 농가의 경제적 피해를 주는 매우 중요한 질병으로 인식되어지고 있는데, 질병의 특성상 설사 외의 임상증상이 뚜렷하지 않아 축산농가들이 자신의 농장에 질병이 발생되고 있는지 조차 파악하기 어려운 형편이다. 경남지역 역시 아직까지 증식성 회장염에 대한 감염 실태조사가 체계적으로 이루어진 적이 없어, 본 질병에 대한 예방 및 질병 치료의 자료가 부족한 실정이다. 이에 본 연구에서는 경남지역 내 양돈농가를 중심으로 만성적인 설사로 많은 피해를 주는 농장과 도축장에 출하 되는 돼지에 대하여 중합효소연쇄반응(PCR)법을 이용하여 감염 실태를 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 공시재료

2006년부터 2007년까지 2년에 걸쳐 경상남도 동부지역(김해, 양산, 밀양, 진해, 창원)을 중심으로 임상적으로 혈변이나 만성적인 설사를 하는 개체 돼지의 분변을 직접 농장에 출장하여 채취하였고, 김해 및 양산 등의 3개 도축장에 출하되는 농장별 5두씩 돼지의 회장부분을 무작위로 채취 공시재료로 활용하였으며, 농장에서 채취한 분변시료는 45농가 420건 이었으며, 도축장시료는 188농가 1,075건이었다.

### Template DNA 추출

DNA의 분리는 임 등(1999)과 Jones 등(1993)의 방법을 변형하여 감염된 장 조직으로부터 점막을 유제한

**Table 1.** Primer sets used for the optimization for the PCR and their expected size of amplified DNA

Primer	Sequences (5'→3')	Position	Target	Amplified size (bp)
PPE1-F PPE1-R	GCAGCACTTGCAAACAATAAACT TTCTCCTTCTCATGTCCCATAA	110-132 297-319	16S rRNA sequences of <i>L. intracellularis</i>	210bp
PPE2-F PPE2-R	TATGGCTGTCAAACACTCCG TGAAGGTATTGGTATTCTCC	5-24 314-333		

후 750×g에서 10분간 원심분리하여 5μm와 1.2μm, 0.8μm로 여과한 후 다시 8,000×g에서 10분간 원심분리하여 침전물을 phosphate-buffered saline (PBS)로 부유시켰다. 부유액을 Genomic DNA Extraction Kit (Bioneer K-3032)로 DNA를 추출하였다.

분변시료는 Jones 등(1993) 및 Suto 등(2003)의 방법을 변형하여 phosphate-buffered saline (PBS)로 부유시켜 진탕한 후 14,000×g에 20초 동안 원심하여 앞에 방법과 같이 추출하였다.

### Primer 제작

이 실험에 사용한 PPE1 Primer는 Suh 등(2000)과 Suh와 Song(2005)이 *L. intracellularis*의 진단을 위하여 특이성이 확립된 23 nucleotide의 primer를 DNA synthesizer로 합성(Bioneer Co. Cheongju)하여 사용하였다.

정확성을 기하기 위하여 또 다른 PPE2 primer는 Suto (2003) 등이 확립한 20 nucleotide의 primer를 인용하여 합성 제작하여 사용하였다(Table 1).

### PCR 반응조건

PCR을 위한 혼합액에는 10×PCR buffer 5μl와 25mM MgCl<sub>2</sub> 3μl, 10mM deoxynucleotide triphosphate mixture 4μl, 각각 primer 20 pmol 1μl, DNA template 1μl, Taq Polymerase 0.5unit를 PCR tube에 넣은 후 증류수로 최종 50μl로 맞추었다. 혼합액을 thermal cycler (Biometra Tgradient, Germany)에서 증폭을 시도하였다.

PCR 반응 조건은 임 등(1999), Suh 등(2000) 및 Suh와 Song(2005)의 방법을 변형하여 실시하였다. 94°C에서 5분간 pre-denaturation 시킨 후, 94°C에서 5분 denaturation, 56°C에서 30초 annealing, 72°C에서 1분 동안 extension을 45회 반복 실시한 후 마지막 extension은 72°C에서 5분간 실시하였다.

### PCR 산물의 확인

10μl의 PCR 증폭산물을 6배 농도의 loading buffer (0.03% bromophenol blue, 30% glycerol, 30mM EDTA, 0.03% xylene cyanol) 2μl와 혼합한 후 0.002% ethidium bromide를 첨가한 1% agarose gel에 loading 하여 100V에서 1시간동안 전기 영동하여 UV light로 조사

하여 확인하였다.

### 장조직 면역염색 (Immuno-stain)

PCR에서 양성반응을 보인 소장말단 부위를 채취하여 10% 중성 포르말린에 1차 고정 및 2차 고정 과정을 거쳐, 하루저녁 수세 후 순차적으로 알코올 및 자이렌에 탈수, 파라핀 블록 제작과정을 거쳐 3~4μm의 두께로 잘라 각각 2장씩 조직 슬라이드를 제작하였다. 이 중 하나는 Harris hematoxylin 및 eosin 염색하여 광학현미경으로 병리학적 소견을 관찰하였다.

그리고 면역염색을 위하여 남은 조직슬라이드는 자이렌 및 순차적 알코올을 거쳐 재 함수시켜, 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 농도의 methanol-용액으로 25분간 전 처리하고, 200배 희석한 polyclonal antibody로 37°C 30분간 반응시키고, 5분간 3회 phosphate-buffered saline (PBS)에 세척하였으며, 100배 희석한 biotinylated goat anti-rabbit IgG (VECTASTAIN ABC Systems)로 37°C 30분간 반응시켜 세척하고, abidin-biotin complex로 37°C 30분간 반응시켜 세척하였다. 발색은 3, 3'-diaminobenzidine tetrahydro-chloride (DAB)으로 처리하였으며, hematoxylin으로 대조염색 후 광학현미경으로 관찰하였다.

### 회장염 치료를 위한 항생제 선택시험

혈변 등 급성의 임상증상을 보이며 PCR검사결과 양성을 보인 16주령 비육돈을 각각 5두씩 A와 B군으로 나누어, A군 tylosin phosphate를 사료 1톤당 100g 농도로, B군은 thiamulin 1톤당 50g 농도로 각각 20일간 매

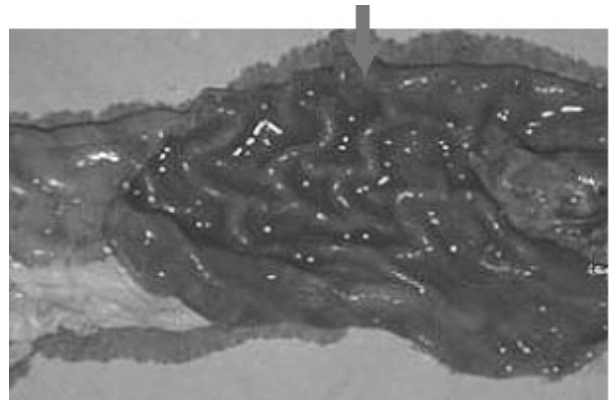
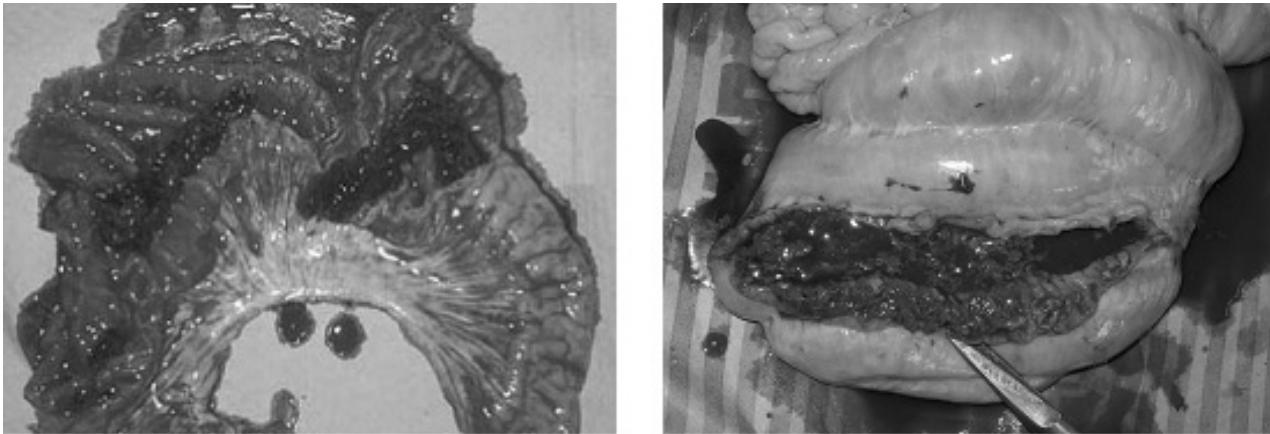


Fig. 1. Gross lesion of the small intestine from a pig with the chronic form of proliferative enteropathy, porcine intestinal adenomatosis (PIA). [Note the thickened, ridged mucosa].



**Fig. 2.** Gross lesion of the small intestine from a pig with the acute form of proliferative enteropathy, proliferative haemorrhagic enteropathy (PHE). [Note the thickened mucosa and blood clot in the lumen].

일 투여하였으며, 투여 후 3일, 10일, 20일에 분변을 채취하여 *L. intracellularis*의 감염률을 조사하여 치료효율이 높은 효과적인 항생제 선택시험을 실시하였다.

## 결 과

### 임상 해부학적 소견

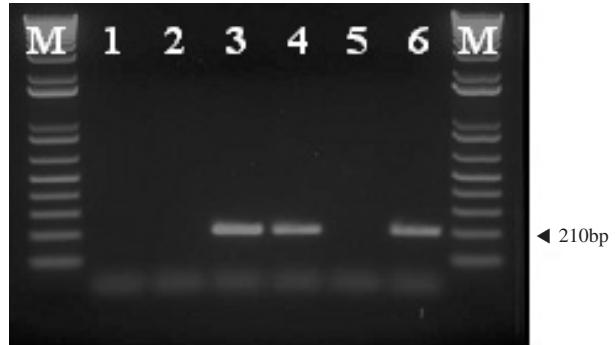
본 연구에 이용된 개체 중에 부검결과 만성형으로 장점막의 두꺼운 비후와 위막이 형성되어 있는 것을 관찰할 수 있었으며(Fig. 1), 급성형으로 장벽이 심하게 두꺼워져 있으며 심한 출혈성의 혈괴를 관찰할 수 있었다(Fig. 2).

### 유전자 검출

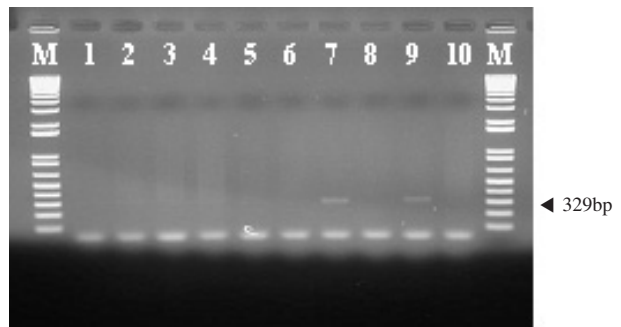
PCR 반응온도 조건은 94°C에서 5분간 predenaturation 시킨 후 94°C에서 5분 denuaturation, 56°C에서 30초 annealing, 72°C에서 1분 동안 extension을 45회 반복 실시한 후 마지막 extension은 72°C에서 5분간 실시하였다. 이와 같은 반응조건으로 임상 및 병리해부 소견으로 회장염 가능성이 높은 개체(Fig. 1, 2)의 분변 및 회장점막을 검사한 결과 *L. intracellularis* DNA에서 PPE1은 210bp크기, PPE2는 329bp크기의 *L. intracellularis* 특이 유전자를 증폭할 수 있었다(Fig. 3, 4).

### 장 조직내의 병리조직학적 관찰

병리조직학적 검사에서는 소장 용모의 고유층에서 충·출혈소견과 호중구의 침윤소견이 있었고, 내강에



**Fig. 3.** Results of the PCR for detection of individual of bacterial agent from porcine intestinal feces. [M: 1kb plus DNA Ladder; Lanes 1, 2, 5: Negative; Lanes 3, 4, 6: *L. intracellularis* genomic DNA].



**Fig. 4.** Results of the PCR for detection of individual of bacterial agent from porcine ileum mucosal scrapings. [M: 1kb plus DNA Ladder; Lanes 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10: Negative; Lanes 7, 9: *L. intracellularis* genomic DNA].

는 점액질과 cell debris로 충만되어 있었다(Fig. 5). 음와 부위의 상피세포가 증생되어 있었으며 상피세포 주

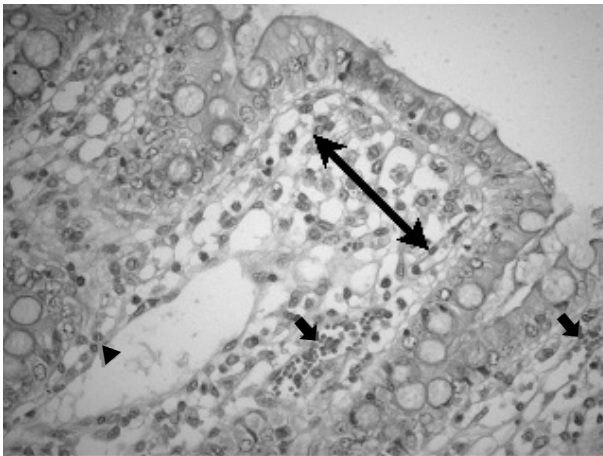


Fig. 5. Terminal ileum villus. [Congestion and hemorrhage(➡), edema (▶) and neutrophil infiltration (↔) in lamina propria. H&E stain (400×)].

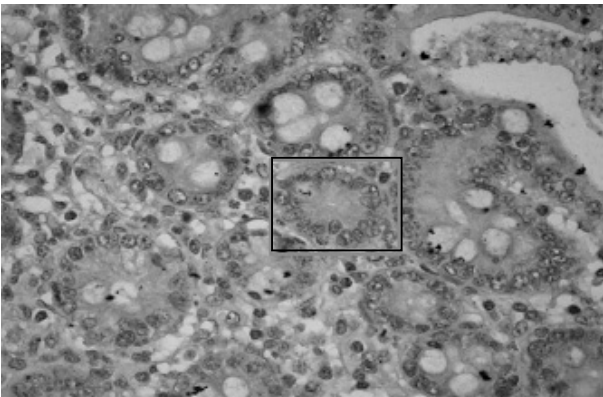


Fig. 6. Terminal ileum. Staining of *L. intracellularis* organisms (polyclonal antibody) within cytoplasm of epithelial cells and few goblet cells were observed. [Avidin-biotinperoxidase complex method. Hematoxylin counterstain (400×)].

변에는 호중구 침윤소견이 관찰되었다.

면역염색(Immuno-stain) 관찰에서는 회장 말단부위의 증생이 나타난 음와는 분지되어 있었으며, 음와 내강과 인근 고유층, 상피세포에서 세포질에 암갈색으로 염색되는 *L. intracellularis*의 감염을 관찰할 수 있었다 (Fig. 6). 또한, 음와 상피세포에서는 극히 적은 수의 goblet cells만이 관찰되었다.

돼지 증식성회장염 감염률

임상적으로 회장염이 의심되는 양돈장에서 채취된 분변시료 45농가 420건을 PCR법으로 검사한 결과 농가별 양성농가는 26농가가 감염되어 57.8%의 감염률

을 보였으며, 검사 건수별로는 420건 중 113건이 양성으로 판정되어 26.9%의 감염률을 보였다(Table 2).

도축장에 출하되는 돼지의 회장 말단 부분의 점막 부분을 스크래핑한 시료를 검사한 결과 188농가의 1,075건 중 109건이 양성으로 판정되어 10.1%의 감염률을 보였고, 농가별 감염률은 188농가 중 29농가가 양성으로 판정되어 15.4%를 나타내었다(Table 3).

증식성회장염 치료를 위한 항생제 선택

혈변 등 급성의 임상증상을 보이며 PCR검사 결과 양성을 보인 16주령 비육돈을 각각 5두씩 A와 B군으로 나누어, A군은 tylosin phosphate를 사료 1톤당 100g 농도로, B군은 thiamulin 1톤당 50g 농도로 각각 20일간 매일 투여하였으며, 투여 후 3일, 10일, 20일에 분변을 채취하여 *L. intracellularis*의 감염률을 조사한 결과, 육안적으로 혈변 등 뚜렷한 임상증상들이 두 항생제 공히 투여 5일부터 점차 감소하였으며, PCR검사 결과 3일차에는 두 군 모두 *L. intracellularis*가 분변을 통하여 배출되고 있었으며, tylosin phosphate로 치료한 A군은 10일에 2두가 검출되었으며, 20일에는 전혀 검

Table 2. Detection of *L. intracellularis* using PCR methods for faeces in the pig farms

Specimens	PCR for <i>L. intracellularis</i>		
	Total no. of samples	No. of positive samples	Positive rate (%)
Faeces	420 (45)*	113 (26)	26.9 (57.8)

\*Farms number

Table 3. Detection of *L. intracellularis* using PCR methods for mucosal scrapings of ileum from the slaughter pig

Specimens	PCR for <i>L. intracellularis</i>		
	Total no. of samples	No. of positive samples	Positive rate (%)
Mucosal scrapings	1,075 (188)*	109 (29)	10.1 (15.4)

\*Farms number

Table 4. Detection of *L. intracellularis* in using PCR methods after control with tylosin phosphate and thiamulin

Day of administration	No. PCR positive	
	A group (Tylosin phosphate)	B group (Thiamulin)
3	5	5
10	2	3
20	0	1

출되지 않았다. 반면에 thiamulin으로 치료한 B군은 10일 3두, 20일에 1두가 검출되어 20일 이후까지 배출되는 것으로 조사되었다.

## 고 찰

PPE는 장 선종이라는 이름으로 1931년에 처음 보고되었다. 이후 그 원인체가 *L. intracellularis*로 확인되었고 사람 이외의 영장류, 새끼 말, 새끼 양 및 백색꼬리 사슴 등과 같은 유제동물, 개, 여우, 흰 담비를 포함하는 식육동물, 생쥐, 쥐, 기니피그 및 햄스터 같은 설치류 등을 포함하는 광범위한 숙주 세계가 밝혀졌다. 세계적으로 주요 돼지 생산사육 국가에서 생산성을 저하시키는 주요 관여 인자로 이 질병이 알려졌으며 따라서 농장 단위의 역학과 개체별 진단을 위한 실험실 방법의 개선에 대한 많은 새로운 정보들이 나오고 있다.

최근에는 Dot-blot hybridization, PCR/Southern hybridization, nested PCR, multiplex PCR 등의 분자생물학적 기법들을 이용하여 장 조직뿐만 아니라 분변에서도 이 질병을 진단하는데 널리 활용하고 있다(Jones 등, 1993; McOrist 등, 1994; Cooper 등, 1997; McCormick 등, 1995). DNA probe를 이용한 dot-blot hybridization 기법은 분변 1g당  $10^7$  cfu의 *L. intracellularis*가 감염되어 있을 경우 검출가능하나 PCR 기법은 분변 1g당  $10^5$  cfu 감염시에도 검출할 수 있어 PCR 기법이 좀 더 민감한 방법으로 알려져 있으며, 증식성 장염에 감염되어 임상증상을 나타내는 돼지는 분변 1g당  $10^7 \sim 10^8$  cfu의 균을 분변으로 배출하기(McOrist 등, 1994) 때문에 PCR기법을 이용한다면 소량의 균을 배출하면서 만성적으로 농장에서 문제를 일으키는 보균돈이나 균이 많이 존재하지 않은 돈사바닥, 사료통 등 주위환경에서도 검출이 가능 할 것으로 생각된다(임 등, 1999).

이 실험의 경남도내 돼지의 회장염 감염률 조사에서는 Jones 등(1993)과 Suh 등(2000)이 *L. intracellularis*를 검출하는데 이미 특이성이 확보된 primer로 알려진 PPE1, PPE2를 합성하여 이용하였다.

PCR product는 예상된 DNA 절편의 분자량과 일치하였다. 게다가 *L. intracellularis* DNA에서 PPE1은 210bp 크기, PPE2는 329bp 크기의 *L. intracellularis* 특이 유전자를 증폭할 수 있었으며, 특이밴드를 확인할 수 있었다.

PCR에서 양성을 나타낸 농장으로부터 출혈성장염

과 설사를 주증으로 하는 환돈을 선별하여 부검을 실시하고 채취된 장관을 이용하여 조직염색을 실시한 결과, 증식성 장염의 전형적인 부검소견과 현미경적 소견을 보이고 있었으며, 면역염색에서 많은 수의 Lawsonia균이 병변부 용모와 음와 부위세포의 세포질 침단에서 관찰되었다.

이 실험에서는 임상적으로 문제가 되었던 농가에서 분변을 채취하여 45농가 420건을 PCR법으로 검사한 결과 농가별 양성농가는 26농가가 감염되어 57.8%의 감염률을 보였으며, 검사 건수별로는 420건 중 113건이 양성으로 판정되어 26.9%의 감염률을 보였다(Table 2). 그리고 도축장에 출하되는 돼지의 회장 말단 부분의 점막 부분을 스크래핑 한 시료를 검사한 결과 188농가의 1,075건 중 109건이 양성으로 판정되어 10.1%의 감염률을 보였다. 농장에서 채취한 분변에서 개체별 감염률이 도축장에서 채취한 개체보다 16.8% 높은 것으로 조사 되었으며, 농장별 감염률 역시 도축장에서 채취한 농가보다 농장에서 채취한 농가 감염률이 42.4% 높게 조사되었다. 이와 같은 결과는 농장시료는 회장염의 임상증상이 있거나 의심우려 개체를 대상으로 채취한 반면에, 도축장에서 채취한 시료는 농장별 무작위 채취한 결과로 사료된다. 경남 지역 내 조사된 개체별 전체 감염률은 1,495건 중 222건이 양성으로 판정되어 14.8%의 감염률을 보였다. 이는 Lee 등(2004)이 전국 양돈장을 대상으로 조사한 전체 감염률 56.4%, 미국 및 영국 등의 개체별 감염률 50%(Anon, 2002) 수준보다 낮은 감염률을 보였다. 감염률의 차이는 검사방법의 차이나 시료 채취 대상의 차이로 오는 결과로 생각되어지며, 비록 경남도내 돼지 회장염의 감염률이 이 등이 조사한 전국 평균 감염률 보다 낮게 조사되었지만, 농장별 전체 감염률은 233농장 중 55농장이 감염되어 23.6%로 광범위하게 발병을 보이고 있으며 경제적 피해를 주고 있는 것으로 조사되었다.

돼지 증식성회장염 치료를 위한 몇가지 치료제가 소개되고 있지만 실제로 실험실내 및 생체 시험에서 효과가 있었던 약제들이며, 이들 항생제를 이용하여 농장에서 병원체를 근절시킬 수는 없는 것으로 보고되고 있다(Ward와 Winkelman, 1990).

이 실험에서 농장에 만연되고 있는 돼지 증식성회장염 치료에 효과가 있는 항생제 선별을 위하여 혈변 등 급성의 임상증상을 보이며 PCR검사결과 양성을 보인 16주령 비육돈을 각각 5두씩 A와 B군으로 나누어, A군은 tylosin phosphate를 사료 1톤당 100g 농도로, B군

은 Thiamulin 1톤당 50g 농도로 각각 20일간 매일 투여하였으며, 투여 후 3일, 10일, 20일에 분변을 채취하여 *L. intracellularis*의 감염률을 조사한 결과, 육안적으로 혈변 등 뚜렷한 임상증상들이 두 항생제 공히 투여 5일부터 점차 감소하였으며, PCR검사결과 3일차에는 두 군 모두 *L. intracellularis*가 분변을 통하여 배출되고 있었으며, tylosin phosphate로 치료한 A군은 10일에 2두가 검출되었으며, 20일에는 전혀 검출되지 않았다. 반면에 thiamulin로 치료한 B군은 10일 3두, 20일에 1두가 검출되어 20일 이후까지 배출되는 것으로 조사되었다. 이와 같이 항생제 투여는 지속적으로 20일 이상 투여하여야 효과적인 것으로 조사되었으며, 특히 본 조사에서는 국내에서 PPE 감염증에 일반적으로 사용되고 있는 tylosin phosphate가 분변으로부터의 균배출을 억제하는 것이 확인되어 치료에 커다란 도움을 줄 것으로 조사되었다. 하지만 연속투여방법은 비용면에서 부담이 되며 항생제 이용면에서 최선의 방법은 아니다. 감염형식에 기초한 전략적 치료가 가장 경제적이고 효과적인 방법이며 항생제의 사용량도 줄일 수 있을 것이며 치료에 효과적인 제제를 선별하게 된다면 돼지증식성회장염으로 인한 양돈산업의 피해를 최소화 할 수 있고, 항생제남용으로 인한 내성균의 출현과 식품내 잔류와 같은 문제점을 해결할 수 있어서 농가의 경쟁력 제고와 국민건강의 증진 등 양돈산업의 경쟁력 제고에 큰 도움이 될 것이다.

## 결 론

돼지 증식성 장염(PPE)은 세포내 그람 음성 균인 *L. intracellularis*에 의하며 6~20주령의 비육돈의 출하시기에 소장 점막의 비후는 물론 대장 점막까지 비후되는 특징으로 혈변, 설사, 식욕결핍, 우둔, 허약 등의 임상증상을 보이며 폐사와 더불어 증체율 감소, 사료효율 저하 등으로 경제적 피해가 심각하다.

이 실험에서는 이런 경제적 피해가 심각한 돼지 증식성 회장염의 감염률을 경상남도 내 양돈 농가를 중심으로 조사하였다. 감염률 조사를 위한 *L. intracellularis*의 검출을 위한 특이 primer를 적용하여 PCR 진단기법을 실정에 맞게 개선하여 민감도 및 특이성을 검사한 결과 *L. intracellularis*에서만 특이적인 210bp, 329bp의 PCR의 산물을 확인할 수 있었다. PCR에서 양성을 나타낸 농장으로부터 채취된 장관을 이용하여

조직염색을 실시한 결과, 증식성 장염의 전형적인 부검소견과 현미경적 소견을 보이고 있었으며, 면역염색에서 많은 수의 *Lawsonia*균이 병변부 용모와 음와 부위세포의 세포질 침단에서 관찰되었다.

임상적으로 문제가 되었던 농가에서 분변을 채취하여 45농가 420건을 PCR법으로 검사한 결과 농가별 양성농가는 26농가가 감염되어 57.8%의 감염률을 보였으며, 검사 건수별로는 420건 중 113건이 양성으로 판정되어 26.9%의 감염률을 보였다. 그리고 도축장에 출하되는 돼지의 회장 말단 부분의 점막 부분을 스크래핑한 시료를 검사한 결과 188농가의 1,075건 중 109건이 양성으로 판정되어 10.4%의 감염률을 보였다.

돼지증식성회장염 치료제 선별시험에서 tylosin phosphate 및 thiamulin을 사료에 투여한 결과 두 제제 모두 치료효과가 있는 것으로 조사되었으며, 분변 중에 배출되는 균체의 수가 점차적으로 억제되는 것이 관찰되었고, 적어도 20일 이상은 투여하는 것이 효과적인 것으로 조사되었다.

## 참 고 문 헌

- 임숙경, 이희수, 우승룡, 윤순식, 문운경, 이유영, 고홍범. 1999. 중합효소연쇄반응을 이용한 돼지 증식성 장염 진단기법 확립. *대한수의학회지* 39(1): 118-125.
- Anon 2002 Highlights of NAHMS Swine 2000: Part II. [www.aphis.usda.gov/vs/ceah/cahm/Swine2000/Swine2\\_Highlights.pdf](http://www.aphis.usda.gov/vs/ceah/cahm/Swine2000/Swine2_Highlights.pdf). Fort Collins, United States Department of Agriculture: Animal and Plant Health inspection Service. Accessed June 18: 2003.
- Cooper DM, Swanson DL, Gebhart CJ. 1997. Diagnosis of proliferative enteritis in frozen and formalin-fixed, paraffin embedded tissue from a hamster, horse, deer, ostrich using a *Lawsonia intracellularis* specific multiplex PCR assay. *Vet Microbiol* 54: 47-62.
- Gebhart CJ, Barns SM, McOrist S, Lin GF, Lawson GH. 1993. Ileal symbiont intracellularis, an obligate intracellular bacterium of porcine intestines showing a relationship to *Desulfovibrio* species. *Int J Syst Bacteriol* 43(3): 553-538.
- Gebhart CJ, Ward GE, Murtaugh MP. 1989. Species-specific colored DNA probe for identification of *Campylobacter hyointestinalis*. *J Clin Microbiol* 27: 2717-2723.
- Guedes RM, Gebhart CJ, Winkelmann NL, Mackie-Nuss RA. 2002. A comparative study of an indirect immunofluorescent test and the immunoperoxidase monolayer assay for the diagnosis of porcine proliferative enteropathy. *J Vet Diagn Invest* 14: 420-423.
- Jones GF, Ward GE, Collins JE, Gebhart CJ. 1993. Trans-

- mission of proliferative enteritis to swine by use of embryonating chicken eggs. *Am J Vet Res* 54(8): 1256-1261.
- Jones GF, Ward GE, Murtaugh MP, Lin G, Gebhart CJ. 1993. Enhanced detection of intracellular organism of swine proliferative enteritis, ileal symbiont intracellularis, in feces by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 31(10): 2611-2615.
- Lawson GH, McOrist S, Jasni S, Mackie RA. 1993. Intracellular bacteria of porcine proliferative enteropathy; Cultivation and maintenance *in vitro*. *J Clin Microbiol* 31(5): 1136-1142.
- Lawson GHK, McOrist S. 1993. The enigma of the proliferative enteropathies: a review. *J Comp Pathol* 108: 41-46.
- Lee JD, Kim TJ, Park SY. 2004. Vaccine development for the prevention of porcine rotavirus infection and porcine proliferative ileitis using *Lactobacillus* or/and *Bifidobacter* vector. ARPC Research Report.
- Lee SW, Kim TJ, Park SY, Song CS, Chang HK, Yeh JK, Park HI, Lee JB. 2001. Prevalence of porcine proliferative enteropathy and its control with tylosin in Korea. *J Vet Sci* 2(3): 209-212.
- McCormick BM, Hasse D, Monkton RP. 1995. Detection of ileal symbiont intracellularis in porcine faecal sample by polymerase chain reaction. *Vet Microbiol* 47(3-4): 387-393.
- McOrist S, Boid R, Lawson GH, McConnell I. 1987. Monoclonal antibodies to intracellular *Campylobacter*-like organism of the porcine proliferative enteropathies. *Vet Rec* 121: 421-422.
- McOrist S, Gebhart CJ, Lawson GH. 1994. Polymerase chain reaction for diagnosis of porcine proliferative enteropathy. *Vet Microbiol* 41: 205-212.
- McOrist S, Gebhart CJ. 1999. Porcine proliferative enteropathies. In: Straw BE, D'Allaire S, Mengeling WL, Taylor DJ. (Eds.), *Disease of Swine*, 8th Eds. Iowa State University Press, Ames: 521-534.
- McOrist S, MacIntyre N, Stokes CR, Lawson GH. 1993. Relationship between ileal symbiont intracellularis and porcine proliferative enteritis. *Infect Immun* 60(10): 4184-4191.
- McOrist S, Mackie RA, Neef N, Aitken I, Lawson GH. 1994. Synergism of ileal symbiont intracellularis and gut bacteria in the reproduction of porcine proliferative enteropathy. *Vet Rec* 134(13): 331-332.
- Roberts L, Rowland AC, Lawson GHK. 1977. Experimental reproduction of porcine intestinal adenomatosis and necrotic enteritis. *Vet Rec* 100: 12-13.
- Smith SH, McOrist S. 1997. Development of persistent intestinal infection and excretion of *Lawsonia intracellularis* by piglets. *Res Vet Sci* 60: 6-10.
- Suh DK, Lym SK, Bae YC, Lee KW, Choi WP, Song JC. 2000. Detection of *Lawsonia intracellularis* in diagnostic specimens by one-step PCR. *J Vet Sci* 1(1): 33-37.
- Suh DK, Song JC. 2005. Simultaneous detection of *Lawsonia intracellularis*, *Brachyspira hyodysenteriae* and *Salmonella* spp. in swine intestinal specimens by multiplex polymerase chain reaction. *J Vet Sci* 6(3): 231-237.
- Suto A, Asano S, Goto Y, Murata J, Mori T, Adachi M. 2003. Survey of porcine proliferative enteritis in the Tohoku District of Japan. *J Vet Med Sci* 66(5): 547-549.
- Thompson SW, Hart RD. 1966. Select histochemical and histopathological methods. Charles C Thomas, Publisher, Springfield III.
- Ward GE, Jones GF. 1991. Use of embryonating eggs for isolation of *Campylobacter* species from intestine of swine with proliferative enteritis. *Am J Vet Res* 52(6): 810-812.
- Ward GE, Winkelman NL. 1990. Diagnosing, treating, and controlling proliferative enteritis in swine. *Vet Med* 3: 312-318.