

< Original Article >

도축장 출하차량에서 *Lawsonia intracellularis* 분포율 조사

이수지 · 이희선 · 서지수 · 김태겸 · 정재교*

전라북도동물위생시험소 남부지소

Distribution of *Lawsonia intracellularis* in livestock transport car of slaughterhouse, Korea

Su-Ji Lee, Hee-Seon Lee, Ji-Soo Seo, Tae-Gyeom Kim, Jae-Kyo Jeong*

North-Branch, Jeonbuk Veterinary Service Laboratory, Iksan 54531, Korea

(Received 27 May 2018; revised 26 September 2018; accepted 1 December 2018)

Abstract

Lawsonia intracellularis is the pathogenic agent of porcine proliferative enteritis (PPE). The bacterial pathogen infects the intestinal crypt cells which causes hyperplasia of the infected cells and leads to the process of intestinal pathogenesis. PPE includes some clinical manifestations, including acute hemorrhagic diarrhea with sudden death in growing pigs and porcine intestinal adenomatosis, to a chronic diarrhea with reduced productivity of the infected pigs. The purpose of the present studies were carried out to determine *L. intracellularis* in livestock transport car of slaughterhouse. Distribution of *L. intracellularis* in livestock transport car were conducted using real-time polymerase chain reaction (real-time PCR) testing method, total 300 samples. Of 300 samples, 119 (39.7%) were detected as positive to *L. intracellularis* in livestock transport car. In seasonal analysis, 42 (28.0%) out of 150 samples in spring and summer season. 77 (51.3%) out of 150 sample in autumn and winter season. In regional analysis, 53 (88.3%) out of 60 cars and the detection ratio showed that regional variation in livestock transport car.

Key words : *L. intracellularis*, Livestock transport car, Real-time PCR

서 론

돼지증식성장병증(porcine proliferative enteropathy, PPE)은 *L. intracellularis*에 의해 발생하는 소화기 질병으로써 전 세계에 만연하여 양돈농가에 큰 피해를 주고 있는 것으로 알려져 있으며, 개체별 검출률은 약 57~100%인 것으로 알려져 있다(Roerink 등, 2018). 따라서 PPE는 현대 양돈 산업에서 매우 중요한 세균성질병이라고 할 수 있으며, 우리나라에서도 1995년 발생이 확인된 이후 지속적으로 발생이 보고되고 있다. 실제로 전국 양돈장을 표본으로 조사한 개체별 양성률은 56.4%로 나타난바 있기에, 국내에서도 이미

PPE는 중요한 장관계 질환의 하나로 보고 있는 실정이다(Lee 등, 2001). PPE는 발병시기가 6~20주령의 육성기 및 비육기인 출하를 앞둔 시기에 다발하는 질병으로써, 급성형인 돼지출혈성장염(proliferative hemorrhagic enteropathy)과 만성형인 돼지장선중증(intestinal adenomatosis)으로 대별된다(Park 등, 2009). 감염돈에서의 급성 출혈성 장염과 폐사 그리고 만성형 설사에 의한 증체율 감소로 비육 성적 저하와 폐사율 증가가 생산성 감소로 연계되어 양돈 농가에 경제적 피해를 나타내는 것으로 알려져 있다(Roberts 등, 1977; Lawson과 McOrist, 1993a; Park 등, 2009). PPE는 임상 증상으로 식욕부진, 증체량 감소 및 갑작스런 폐사 등을 나타내며, 병리적 소견에 따라 장의 병변은 4가지 형태로 설명할 수 있다. 돼지 장선중증형(intestinal

*Corresponding author: Jae-Kyo Jeong, Tel. +82-63-290-6574, Fax. +82-63-290-6598, E-mail. jjk7909@korea.kr

adenomatosis)은 염증성 변화가 적고 장점막 특히 음와세포가 두꺼워지며, 괴사성 장염(necrotic enteritis)은 장선종증이 나타난 장점막 표면에 심한 응괴괴사가 생겨 초기에는 얇은 괴사성 막이 만성형으로 되어 매우 두꺼운 막을 형성한다. 말단회장염(regional ileitis)은 소장의 하단부가 딱딱하고 궤양을 관찰할 수 있으며, 증식성 출혈성 장증후군형(proliferative hemorrhagic enteropathy)은 장선종증이 발생한 장점막면에 광범위한 출혈이 나타나 소장 전반에 걸쳐 혈괴가 나타나게 된다.

PPE의 원인체인 *L. intracellularis*는 세포내 기생성을 갖는 그람음성 혐기성균인 것으로 알려져 있고, 모양은 단간균 형태의 곡선모양으로 끝은 가늘거나 둥근모양이며 길이는 1.25~1.75 μm , 직경이 0.25~0.43 μm 이다(Lawson과 McOrist, 1993b). *L. intracellularis*균을 증식시킨 순수 배양액을 돼지에 경구 접종시 이 질병이 발현되며, 일반 인공배지에서는 자라지 않으며 IEC-18 (ATCC CRL 1589) 세포주에서 잘 자라고 계태아 접종 시 증식은 하지만 증식된 세균을 돼지에 접종할 경우 병원성을 나타내지 않는 것으로 알려져 있다(Ward와 Jones, 1991; Jones 등, 1993a). *L. intracellularis*의 검출을 위해서는 감염된 장 조직 또는 분변에서 원인체를 순수 분리하여 IEC-18 세포주를 이용한 간접형광항체법 또는 감염된 조직을 도염색하여 검경하면 장관 음와상피세포에서 이 균을 확인할 수 있다(McOrist 등, 1987; Lawson 등, 1993a; Guedes 등, 2002). 그러나 분변을 이용한 도염색이나 형광항체법은 민감하지 못하고 비특이반응이 많이 나타나기 때문에 널리 활용되지 못하며 장 조직을 이용할 경우, 폐사된 돼지에서만 가능하여 이 균에 대한 검출에 많은 제약이 따른다(Lym 등, 1999). 최근에는 진단 특이성이 높고 미량의 균 검출을 위하여 DNA probe를 이용한 hybridization기법 또는 중합효소 연쇄반응(PCR)을 가장 많이 이용하고 있다(Jones 등, 1993b; McOrist 등, 1994; McCormick 등, 1995; Cooper 등, 1997).

국내 구제역, AI 등 축산농가에 피해를 미치고 있는 가축전염병의 역학조사 결과에서 축산관련 차량이 질병 전파와 밀접하게 관련이 있는 것으로 보고 있어, 질병 전파의 방어를 축산 관련차량 관리의 중요성이 대두되고 있다 (질병관리본부, 2017a; 질병관리본부 2017b). 그럼에도, 축산관련 차량의 질병전파에 대한 연구는 미흡하여, 국내에서는 나 등(2013)이 노계 운반 전용 차량에서의 살모넬라 오염율을 조사

한 것 한편만 확인할 수 있었기에, 축산관련 차량과 질병 전파에 대한 체계적인 연구의 필요성이 요구된다.

*L. intracellularis*는 농가에 경제적 피해를 주는 주요 세균성 원인체로 인식되고 있음에도 원인체의 순수 분리 및 증식이 어려워 양돈 축산 농가에 대한 감염실태 자료가 부족한 실정이다. 또한, 축산관련 차량의 질병 전파에 대한 연구는 거의 확인할 수 없었기에, 본 연구에서는 축산관련차량 중에서도 특히, 전국 각 지역의 양돈 차량에서 샘플을 채취할 수 있는 도축장 출하 차량에서 *L. intracellularis*의 분포 실태를 조사하여 방역 기초자료를 확보 하고자 실시하였다.

재료 및 방법

공시재료

2017년 1~12월까지 전북 남부지역 관할 도축장에서 매월 가축운반차량 5대씩 운전석발판, 운전자 방역복 및 신발, 짐칸, 차량 외부, 타이어 등의 5부위를 swab하여 총 300건을 대상으로 하였으며, 시료는 실험을 실시하기 전까지 4°C에서 냉장보관 하여 24시간 이내에 실시하였다.

유전자 추출

Swab 시료는 1.5 mL의 Phosphate buffered saline (PBS)로 희석하여 DNA 추출에 사용하였다. DNA 추출은 QIAamp cadior Pathogen (Qiagen, USA)을 이용하여 공시된 방법에 준하여 수행하였다. Sample 200 μL 에 RLT buffer 400 μL 를 넣고 2분 이상 Vortexing 하였다. 70% ethanol 400 μL 첨가한 후 1분간 Vortexing 하여 mini column에 반응액 1.0 mL 중 500 μL 를 넣고 12,000 rpm에서 1분간 원심한 후 tube속의 용액을 제거하고 남은 반응액을 넣고 반복적으로 원심하였다. RW1 buffer 700 μL 를 column에 넣고 12,000 rpm에서 1분간 원심한 후 column을 새로운 collection tube에 넣고 RPE buffer 500 μL 를 넣은 다음 12,000 rpm에서 1분간 원심하여 tube속의 용액을 제거하였다. RPE buffer 500 μL 를 넣고 12,000 rpm에서 1분간 원심한 후 tube속의 용액을 제거하였다. Column을 새로운 Eppendorf tube에 넣고 RNase-free water 30 μL 를 첨가하여 14,000 rpm에서 2분간 원심하여 DNA를 추출하였다.

Polymerase chain reaction (PCR)

L. intracellularis 검출은 PowerChek™ *Lawsonia intracellularis* Real-time PCR Kit (Kogenebiotech, Korea) 제품을 사용하여 다음과 같은 방법으로 realtime-PCR 을 실시하였다. 즉, 반응액 50 µL를 50°C 2분, 95°C 10분의 반응조건에서 1회 시행한 다음 계속하여 95°C 15초, 60°C 1분의 반응조건에서 40회 반복 시행 하였다. 증폭결과는 ABI7500 Fast (Applied Biosystems, USA) 프로그램을 이용하여 확인하였으며, CT값이 38 이내인 경우 양성으로 판독하였다.

결 과

출하차량의 월별 양성률

월별로 각 5대씩 운전석발판, 운전자 방역복 및 신발, 짐칸, 차량 외부, 타이어 등 출하차량 5부위에서 채취한 총 300건의 검사 결과는 119건(39.7%)의 시료에서 *L. intracellularis*균의 항원이 검출 되었으며, 채 취 부위별로는 운전자 방역복 및 신발 26건(43.3%), 운전석발판 25건(41.7%), 짐칸 23건(38.3%), 타이어 23건(38.3%) 그리고, 차량외부 23건(36.7%)의 순으로 나타났다(Table 1).

Table 1. Isolates of *L. intracellularis* from livestock transport car

Sampling site	No. of samples	No. of isolation (%)
Footrest	60	25 (41.7%)
Protective clothing and shoes	60	26 (43.3%)
Livestock trailer (inner)	60	23 (38.3%)
Livestock trailer (outer)	60	22 (36.7%)
Tire	60	23 (38.3%)
Total	300	119 (39.7%)

출하차량의 계절별 양성률

출하차량의 월별 양성률은 1월 15건(60.0%), 2월 14건(56.0%), 3월 8건(32.0%), 4월 7건(28.0%), 5월 7건(28.0%), 6월 8건(32.0%), 7월 4건(16.0%), 8월 8건(32.0%), 9월 7건(28.0%), 10월 13건(52.0%), 11월 13건(52.0%), 12월 15건(60.0%)으로 나타났으며(Table 2), 계절별로는 봄 22건(29.3%), 여름 20건(26.7%), 가을 33건(44.0%), 겨울 44건(58.7%)으로 계절에 따라 양성률이 차이남을 확인할 수 있었다(Table 3).

출하차량의 출입농가 지역별 양성률

출하차량의 출입농가 지역별로는 18개 시군에 분포해 있었으며 전체 차량 60대 중 53대(88.3%), 119건(39.7%)이 양성으로 나타났으며, 전북지역 출하농가 차량 전체 시료 245건 중 99건(40.4%)에서 양성이었으며 시군 지역별로는 김제 3대 15건 중 3대 6건(40.0%), 남원 10대 50건 중 8대 21건(42.0%), 부안 2대 10건 중 2대 2건(20.0%), 삼례 1대 5건 중 1대 2건(40.0%), 순창 4대 20건 중 4대 12건(60.0%), 완주 3대

Table 3. Seasonal detection rates of *L. intracellularis* by real-time PCR

Sampling site	No. of detection rates (%)			
	Spring	Summer	Autumn	Winter
Footrest	5	5	6	9
Protective clothing and shoes	7	4	7	8
Livestock trailer (inner)	5	3	8	7
Livestock trailer (outer)	2	3	7	10
Tire	3	5	5	10
Total	22 (29.3%)	20 (26.7%)	33 (44.0%)	44 (58.7%)

Table 2. Monthly detection rates of *L. intracellularis* using real-time PCR

Sampling site	No. of monthly detection cases (%)											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Footrest	3	3	2	1	2	1	1	3	1	2	3	3
Protective clothing and shoes	3	2	2	3	2	1	1	2	2	2	3	3
Livestock trailer (inner)	3	2	3	1	1	1	0	2	2	3	3	2
Livestock trailer (outer)	4	2	0	1	1	2	1	0	1	3	3	4
Tire	2	5	1	1	1	3	1	1	1	3	1	3
Total	15 (60.0%)	14 (56.0%)	8 (32.0%)	7 (28.0%)	7 (28.0%)	8 (32.0%)	4 (16.0%)	8 (32.0%)	7 (28.0%)	13 (52.0%)	13 (52.0%)	15 (60.0%)

Table 4. Regional differences in the detection rate of *L. intracellularis*

Region	No. of samples(%)	
	Total	Detection
Jeollabukdo	245	99 (40.4)
Gochang	5	0 (0.0)
Gimje	15	6 (40.0)
Namwon	50	21 (42.0)
Buan	10	2 (20.0)
Samrye	5	2 (40.0)
Sunchang	20	12 (60.0)
Wanju	15	8 (53.3)
Iksan	30	12 (40.0)
Imsil	5	0 (0.0)
Jangsu	5	2 (40.0)
Jeonju	35	13 (37.1)
Jeongeup	50	21 (42.0)
Gyeongsangnamdo	20	4 (20.0)
Gimhae	5	0 (0.0)
Hamyang	15	4 (26.7)
Jeollanamdo	30	14 (46.7)
Gwangju	10	5 (50.0)
Jangseong	5	0 (0.0)
Hampyoung	15	9 (60.0)
Chungnam	5	2 (40.0)
Boryeong	5	2 (40.0)

15건 중 3대 8건(53.3%), 익산 6대 30건 중 6대 12건 (40.0%), 장수 1대 5건 중 1대 2건(40.0%), 전주 7대 35건 중 2대 13건(37.1%), 정읍 10대 50건 중 10대 21건(42.0%) 이었다. 경남지역 차량에서는 전체 시료 20건 중 4건(20.0%), 시군 지역별로는 함양이 3대 15건 중 3대 4건(26.7%)이었고, 전남은 전체 시료 30건 중 14건(46.7%)이 양성이었으며, 시군 지역별로는 광주가 2대 10건 중 2대 5건(50.0%), 함평이 3대 15건 중 3대 9건(60.0%), 충남 보령은 1대 5건 중 1대 2건 (40.0%)이 항원 양성인 것으로 나타났다(Table 4).

고 찰

*L. intracellularis*균의 숙주는 사람 이외의 영장류, 말, 양 사슴 등의 우제류, 개, 여우 등의 식육동물 및 쥐, 기니피그 햄스터 등의 설치류까지 매우 광범위하며, 과거 연구에서 *L. intracellularis*의 감염률은 돈군의 약 30% 이상이 감염 돈군이며, 그 중 5.0~20.0%가 발병되는 것으로 알려져 있다(McOrist와 Gebhart, 1999).

Park 등(2009)의 *L. intracellularis* 감염률 보고에 의하면 농장 및 개체유병률은 57.8%, 26.9%였던 반면, Jung 등(2016)은 농장 및 개체유병률이 각각 16.0%, 4.5%로 큰 차이를 나타내었는데, 이는 Park (2009)의 경우 증식성회장염균이 검출될 가능성이 높은 설사 발생 양돈장을 대상으로 검사시료를 채취하였기 때문으로 생각된다. 또한, *L. intracellularis*의 검출률에 차이가 나는 이유는 검사방법, 시료 채취 대상, 계절 그리고 지역의 차이에 영향을 받기 때문인 것으로 사료된다. 이번 조사의 경우에도 직접적으로 양돈장에 대하여 실험을 진행한 것이 아니므로 개별 농장에 대한 유병률을 비교하기 어렵겠지만 출하 차량에서의 검출률은 상대적으로 높게 나타났는데 이는 출하농장의 설사 증상유무와 관련 없이 출하차량에 대한 검출률을 확인하였기 때문으로 보인다.

채취 부위별 검출률은 운전자 방역복 및 신발이 43.3%, 차량외부가 36.7%, 전체 검출률은 39.7%로 나타나 도축장 출하차량에 대한 소독 및 운전자에 대한 교육 등 철저한 방역 관리를 통하여 농장간의 전파요인이 될 수 있는 고리를 사전에 차단하는 것이 중요하다고 사료된다.

계절별로 *L. intracellularis*의 검출률은 큰 차이를 나타내었는데 특히, 가을에서 겨울사이의 검출률이 봄과 여름에 비하여 23.3% 높게 나타났는데 이는 가을에서 겨울 사이에 출하농장에서 돼지 증식성 회장염의 발병률이 증가되었음을 의미하므로 계절에 따른 출하차량 관리와 농장에서의 철저한 방역 관리가 요구된다. Lee 등(2001)은 간접형광항체법으로 65농가를 검사한 결과 100%의 양성률을 보고하였으나 본 조사에서의 차량 60대 중 53대(88.3%)로 농장보다는 낮게 나타났으며, 시군별에서는 0.0~60.0%로 큰 차이가 나타났는데 이는 시료 채취 시기, 농장 출하 시 차량의 세척과 소독 유무, 출하농장의 발병 유무 등의 영향 때문으로 사료된다. 또한, 검출되지 않은 시군이라고 하더라도 도축장 출입을 통하여 *L. intracellularis* 검출지역 출하차량에 의한 교차 오염이 일어날 수 있기 때문에 도축장 축산차량에 대한 오염 예방을 위한 강도 높은 노력이 필요하며, 현재 양돈농장의 설사 증상 유무와 관련 없이 *L. intracellularis*균의 감염 실태를 주기적으로 파악하여 질병근절 대책을 강구하여야 할 것으로 보인다. 또한, 출하농장의 유병률과 출하차량의 연관성에 대하여는 추가적인 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

결 론

전북 남부지역 도축장 출하차량 60대 300건을 대상으로 *L. intracellularis*의 검출률을 조사한 결과 양성은 119건(39.7%)이었으며, 운전자 방역복 및 신발이 26건(43.3%), 운전석발판이 25건(41.7%), 짐칸이 23건(38.3%), 타이어가 23건(38.3%) 그리고 차량외부가 23건(36.7%)으로 채취 부위에 따라 결과가 유사하였지만, 계절별로는 겨울 58.7%, 여름 26.7%로 약 두배의 차이가 나타나는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 차량 60대 중 53대(88.3%)로 높게 나타났지만 지역별에서는 0.0~60.0%로 다양하게 조사되었다. 상기의 조사결과로 *L. intracellularis*가 도축장 출하차량을 통하여 농장 간 전파 될 수 있으므로 차량에 대한 소독 등 사전예방을 위한 방역대책이 요구된다.

REFERENCES

농림축산식품부. 2017. 2016/2017년 고병원성 조류인플루엔자 역학조사 분석 보고서. pp. 55-126.
 농림축산식품부. 2017. 2017 구제역 역학조사 분석보고서. pp. 61-67.
 Cooper DM, Swanson DL, Gebhart CJ. 1997. Diagnosis of proliferative enteritis in frozen and formalin-fixed, paraffin embedded tissue from a hamster, horse, deer and 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: 553-538.
 Gebhart CJ, Ward GE, Murtaugh MP. 1989. Species-specific cloned DNA probe for identification of *Campylobacter hyointestinalis*. *J Clin Microbiol* 27: 2717-2723.
 Guedes RM, Gebhart CJ, Winkelman NL, Mackie-Nuss RA. 2002. A comparative study of an indirect fluorescent antibody test and an 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. 1993a. Transmission of proliferative enteritis to swine by use of embryonating chicken eggs. *Am J Vet Res* 54: 1256-1261.
 Jones GF, Ward GE, Murtaugh MP, Lin G, Gebhart CJ. 1993b. Enhanced detection of intracellular organism of swine proliferative enteritis, ileal symbiont intracellularis, in feces by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 31: 2611-2615.
 Jung YS, Park YR, Kang DY, Han DH, Yoon D, Jung BY, Park

CK. 2016. Prevalence of major enteric pathogens in different feeding groups of pig in Korean pig farms. *Korea. J Vet Sci* 39: 211-219.
 Lawson GH, McOrist S, Jasni S, Mackie RA. 1993a. Intracellular bacteria of porcine proliferative enteropathy; cultivation and maintenance in vitro. *J Clin Microbiol* 31: 1136-1142.
 Lawson GH, McOrist S. 1993b. The enigma of the proliferative enteropathies: a review. *J Comp Pathol* 108: 41-46.
 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: 209-212.
 Lym SK, Lee HS, Woo SR, Yoon SS, Moon OK, Lee YY, Koh HB. 1999. Establishment of diagnostic method for porcine proliferative enteropathy using polymerase chain reaction. *Korean J Vet Res* 39: 118-125.
 McCormick BM, Hasse D, Monkton RP. 1995. Detection of ileal symbiont intracellularis in porcine faecal sample by polymerase chain reaction. *Vet Microbiol* 47: 387-393.
 McOrist S, Boid R, Lawson GH, McConnell I. 1987. Monoclonal antibodies to intracellular *Campylobacter*-like organisms 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. pp. 727-737. In: Straw BE, D'Allaire S, Mengeling WL, Taylor DJ(Eds). *Disease of Swine*. 9th. Wiley-Blackwell. Ames. Iowa.
 McOrist S, MacIntyre N, Stokes CR, Lawson GH. 1993. Relationship between ileal symbiont intracellularis and porcine proliferative enteritis. *Infect Immun* 60: 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: 331-332.
 Na DH, Hong YH, Yoon MY, Park EJ, Lim TH, Jang JH, Kim BY, Lee DH, Song CS. 2013. Prevalence of *Salmonella* Species Isolated from Old Hen Delivery Trucks in Korea and Application of Disinfectant for the Reduction of *Salmonella* Contamination. *Korean J Poult Sci* 40: 11-16.
 Park DY, Park AR, Jung EH, Bae JH, LeeGC, Hwang BW, Lee MK. 2009. Survey of porcine proliferative enteritis for the pig farms in Gyeongnam district. *Korean J Vet Serv* 32: 361-368.
 Roberts L, Rowland AC, Lawson GHK. 1977. Experimental reproduction of porcine intestinal adenomatosis and necrotic enteritis. *Vet Rec* 100: 12-13.
 Roerink F, Morgan CL, Knetter SM, Passat MH, Archibald AL, Ait-Ali T, Strait EL. 2018. A novel inactivated vaccine against *Lawsonia intracellularis* induces rapid induction

- of humoral immunity, reduction of bacterial shedding and provides robust gut barrier function. *Vaccine* 36: 1500-1508.
- Smith SH, McOrist S. 1997. Development of persistent intestinal infection and excretion of *Lawsonia intracellularis* by piglets. *Res Vet Sci* 60: 6-10.
- 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: 810-812.