

돼지분변에서 PCR에 의한 *Lawsonia intracellularis* 검색

장성준, 김정화, 김영태, 김기향, 김종규, 김영욱, 최일영*

경상북도가축위생시험소 동부지소, 대구광역시보건환경연구원*
(접수 2001. 4. 4, 게재승인 2001. 4. 14)

Detection of *Lawsonia intracellularis* in swine feces by polymerase chain reaction

Sung-Jun Jang, Jung-Hwa Kim, Young-Tae Kim, Ghi-Hang Kim,
Jung-Gyu Kim, Young-Uk Kim, Il-Young Choi*

Eastern Branch, Gyeongbuk Veterinary Service Laboratory, Gyeongju, 780-933, Korea
Daegu Veterinary Service Laboratory*, Daegu, 706-090, Korea
(Received 4 April 2001, accepted in revised form 14 April 2001)

Abstract

Swine proliferative enteritis(SPE) caused by *Lawsonia intracellularis* is a common enteric disease of grower and finisher pig. Swine affected with SPE show variable clinical signs including diarrhea, weight loss, aberrant growth and death. The characteristic lesion of ileitis at necropsy is marked thickening of the last section of the small intestine. The inner lining of the thickened intestine proliferates almost like a cancer and curved rod bacteria(*L intracellularis*) are always seen inside the intestinal wall. Infected swine shed the organism in the feces. Isolation and growth of pure *L intracellularis in vitro* requires a suitable cell culture. This procedure is difficult and not a practical means of diagnosis, thus the polymerase chain reaction(PCR) test of feces can be used to determine whether a pig is shedding the infective organism. A sensitive assay based on amplification of a 319 bp DNA fragment of the *L intracellularis* of Swine proliferative enteritis was attempted for the detection of the organism in the 62 feces of swine. *L intracellularis* was identified on three herds and detected in 6 fecal samples, representing a infection rate of 9.7%. The PCR was very sensitive and specific on the individual level. The PCR technique could be very useful for the diagnosis of this disease.

Key words : *Lawsonia intracellularis*, Swine feces, Polymerase chain reaction

Corresponding author : Sung-Jun Jang, Eastern Branch, Gyeongbuk Veterinary Service Laboratory, Gyeongju, 780-933, Korea. Tel) 054-748-6624, Fax) 054-748-6685

서 론

돼지 증식성장염의 병명은 porcine proliferative enteropathy, ileitis, regional or terminal enteritis, porcine intestinal adenomatosis¹⁾, necrotic enteritis, 또는 porcine hemorrhagic enteropathy 등 다양하다. 발생지역은 유럽, 북미주, 호주, 뉴질랜드, 남아프리카공화국, 브라질, 멕시코, 일본, 태국, 대만 등 세계적으로 발생하고 있다. 성장촉진용의 몇가지 중요한 항생제에 대한 유럽연합(EU)의 사용금지 조치로 유럽에서 회장염 발생이 증가하고 있으며, 또한 미국의 National Animal Health Monitoring Service (NAHMS)에서 도축돈을 대상으로 조사한 결과 전체 돈군의 1/3정도가 회장염에 감염된 것으로 나타났다.

회장염의 유래는 wet tail, proliferative ileitis (PI) 또는 hamster enteritis란 병명으로 햄스터에 흔한 질병으로 알려졌으나, 햄스터 외에 다른 동물에서도 유사증상을 발견하게 되었으며, 햄스터의 소화관 병변부에서 세균분리 동정결과 PI와는 무관한 *E coli* 또는 *Campylobacter species*(*C jejuni*)가 종종 분리되기도 하였다.

1994년, 영국의 Edinburgh's 왕립수의학교수의병리학자는 돼지에서 햄스터로 전파되는 증식성회장염의 병원체를 확인하였으며, 1997년, 미국의 과학자는 돼지 회장염의 원인균을 *Lawsonia intracellularis*(synonym : *Candidatus intracellularis*, *Ileal symbiont intracellularis*)로 명명하였다. *L intracellularis*는 편성 세포내 기생성의 그람음성인 curved rod 형태의 세균으로, 돼지 외에 말, 개, 여우, ferrets, primates, 사슴, 타조, 랫트, 햄스터 등에서 질병을 발생시킨다. 돼지간의 전파는 주로 분변을 통한 경구감염이며, 자돈은 포유과정에서 오염된 모돈의 유두를 통해 감염이 되며, 이유 후에 발병하게 된다.

돼지 외에 조류나 설치류, 출입자의 신발, 의복 및 오염된 축사기구에 의해서도 전파될 수 있다.

*L intracellularis*의 발병기전은 감염후 8~10일경에 처음으로 장점막 부위에 조직학적 변화가 나타나기 시작하여 10~14일경에는 임상증

상이 관찰되고 21일경에는 절정에 달하는 긴 잠복기를 가지며 분변을 통해 수주간 균을 배설한다.

증식성 회장염은 증세에 따라 급성형과 만성형으로 구분하며, 급성형은 검붉은 혈변 또는 빈혈이나, 외부증상없이 폐사된 상태로 관찰되기도 하고, 만성형은 사료섭취량 감소와 수양성 갈색변이 관찰된다^{2,3)}. 증식성 회장염의 특징적인 육안 병변은 회장 병변이며 회장말단의 비후와 염증을 유발하여 혈변중 혈괴가 배설되는 경우가 있으며, 증체율 감소를 일으켜 양돈농가에 많은 경제적 손실을 초래하고 있다.

이 질병의 진단은 세균배양을 통한 원인균의 분리 동정, 혈청학적 방법으로 간접면역형광분석법(indirect fluorescent antibody test, IFAT), IgM, IgG를 이용한 enzyme linked immunosorbent assay(ELISA) 및 병변부의 병리조직학적 검사로 가능하나 최종 진단까지 수일이 소요되어 왔으나, 최근 PCR 기법을 이용한 설사변에서 원인균의 DNA를 확인하여 검사하는 방법이⁴⁻⁸⁾ 개발되어 신속한 질병 진단에 많은 도움이 되고 있다.

본 연구에서도 이와 같은 방법으로 경북동부지역 양돈농가를 대상으로 돼지에서의 회장염 감염율을 조사하여 질병진단의 기초자료로 활용코자 하였다.

재료 및 방법

시료채취

도축장에 도축되는 돼지 62두의 회장 내용물을 채취하여 검체로 사용하였다.

장내용물에서의 DNA 추출

장내용물 0.2g을 lysis buffer[5M guanidine thiocyanate(GuSCN), 22mM EDTA, 0.05M Tris-HCl(pH6.4), Triton X-100]에 부유시키고 충분히 혼합하여 14,000g 20초간 원심한 후 실온에 1시간 두었다. 상층을 취하여 50 μ l의 DE suspension(20% diatomaceous earth suspension in 0.17M HCl)을 넣고 실온에 10분 방치

하고 충분히 혼합하여 14,000 g 20초 원심한 후 상청의 lysis buffer를 제거하고 washing buffer[5.5M GuSCN, 0.05M Tris-HCl, pH 6.4]로 2회 세척한 후 마지막으로 아세톤으로 1회 세척하였다. 아세톤을 완전히 증발시키고 75 μ l의 TE buffer를 넣어 Total DNA를 녹여 내어 원심한 후 상층을 취하여 4 $^{\circ}$ C에 보관하면서 Template DNA로 실험에 사용하였다.

PCR 반응

PCR premix(Bioneer cat No. K-2016)을 사용하였다. Primer는 Jones et al⁹의 것을 주문 합성하여 사용하였다. Template DNA 1 μ l, Primer 각 1 μ l씩 넣고 총반응액을 20 μ l되게 distilled water로 채웠다. 반응조건은 Jones et al⁹의 방법으로 다음과 같이 하였다. 99 $^{\circ}$ C에서 10분간 predenaturation 시킨후 95 $^{\circ}$ C에서 30초간 denaturation, 56 $^{\circ}$ C에서 30초간 annealing, 72 $^{\circ}$ C에서 30초간 polymerization과정을 35회 반복한 다음 72 $^{\circ}$ C에서 5분간 최종 polymerization 시켰다.

Table 1. Nucleotide sequences of primers used in this study

Nucleotide sequence	Nucleotides
Primer A	
5'-TATGGCTGTCAAACACTCCG-3'	5~24
Primer B	
5'-TGAAGGTATTGGTATTCTCC-3'	304~323

전기영동

1.8% agarose gel을 사용했고, 전기영동 완충액은 TAE buffer를 이용하였고, gel loading buffer는 0.25% bromophenol blue + 40% sucrose 용액을 사용하였다. 염색액은 ethidium bromide(0.5 μ g/ml)에 약 30분정도 담구어 염색했다.

결 과

동부지소 관내 영덕군, 포항시에 소재하는

사육규모 60~700두의 7개 농장에서 사육한 도축 돼지를 대상으로 분변(회장 내용물)를 채취하고 DNA 추출하여 PCR을 실시하였다. Table 2에 나타난 바와 같이 전체 7개 돈군중에서 3개 돈군에서 회장염의 감염이 확인되어 조사돈군의 42.5%가 감염되었다. 검체 62건중 6건에서 *L intracellularis*의 319 bp DNA fragment에서 증폭되는 특이밴드(Specific oligonucleotides)를 확인할 수 있었으며(Fig 1), 9.7%의 감염률을 나타내었다.

Table 2. Result of PCR for detection of *L intracellularis* from fecal specimens of 7 herds

Herd* no	Herd size	No of Sample	PCR <i>Lawsonia intracellularis</i>
1	300	10	1
2	400	10	-
3	500	10	-
4	660	10	2
5	60	2	-
6	700	10	3
7	500	10	-

* Herd no 1-3 : Young-duk, 4-7 : Po-hang

Table 3. Presence of bacterial agents and parasite from fecal specimens of 7 herds

Herd* no	Salmonellae	<i>Brachyspria hyodysente- riae</i>	<i>Trichuris suis</i>
1	Ab**	Ab	Ab
2	Ab	Ab	Pr
3	Ab	Ab	Ab
4	Ab	Pr	Ab
5	Ab	Ab	Pr
6	Ab	Ab	Ab
7	Ab	Ab	Ab

* Herd no 1-3 : Young-duk, 4-7 : Po-hang

** Pr : present ; Ab : absent

증식성회장염과 임상증상이 유사한 질병으로 살모넬라증, 돼지적리 및 편충감염증에 대하여 조사한 결과는 Table 3에서 나타낸 바와 같이 조사 대상농가 7호중 살모넬라균은 분리되지 않았으며, 돼지적리는 1호에서 *Brachyspira hyodysenteriae*를 분리하였으며, 돼지 편충은 2호에서 충체와 충란이 검출되어 감염을 확인할 수 있었다.

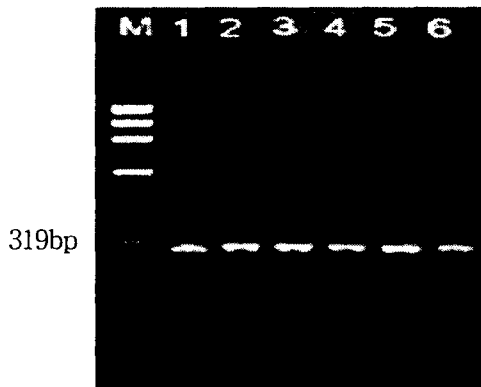


Fig 1. Results of the PCR for detection of *Lawsonia intracellularis* from porcine intestinal feces.

M : 100bp ladder,
Lane1~6 : *Lawsonia intracellularis*

고 찰

회장염은 주로 6~20주령의 비육돈에서 특이적인 회장염 소견을 나타내며, 혈변, 식욕부진, 허약 등의 임상증상과 더불어 폐사, 사료효율 저하, 증체량 감소, 출하지연 등으로 인하여 양돈농가에 경제적인 손실이 큰 질병이다. 회장염은 포유자돈을 제외한 모든 돼지에서 발생하며, 국내에서 발생된 증식성 회장염의 연령을 보면 종돈장에서 새로 구입한 후보돈과 비육돈에서 가장 흔하게 관찰되며, 후보돈의 경우 분양직전에 설사를 하면 가장 흔한 질병중의 하나가 증식성 회장염이다. 돼지에 있어서 회장염을 일으키는 세균은 장내 정상 세균총은 아니지만 많은 돼지들이 이들 세균을 보균하는 경우가 많이 있기 때문에 장에서 기생하는 세

균들의 균형이 인위적으로 깨지는 경우가 자주 발생한다. 인위적으로 장내 세균의 균형을 깨뜨리는 요인 중의 하나가 급격한 사료의 교체이며, 장내에 기생하는 세균의 급격한 변화를 일으켜 증식성 회장염의 발생을 증가시키게 된다. 또 다른 요인은 급격한 온도의 변화이다. 급격한 온도변화로 인한 스트레스는 돼지의 장내 세균을 급격히 변화시켜 증식성 회장염을 유발한다.

육성돈과 비육돈에서 증식성 회장염과 임상증상이 유사한 질병으로는 살모넬라증, 돼지적리 및 돈편충 감염증 등이 있으며, 이들 질병과 감별 진단이 필요하다. 돼지 살모넬라증은 흔히 농장에서 간헐적으로 발생하는 질병으로 돼지가 살모넬라증에 감염된 후 회복되었지만 후유증으로 직장이 막혀서 발생하게 되며, 살모넬라증은 급성으로 발생하면 진신성 질병이기 때문에 임상증상은 오히려 돼지콜레라와 매우 유사하다. 특히 급성인 경우에는 귀끝 등이 창색증으로 푸른색이 감도는 붉은색으로 관찰된다. 돼지적리는 심한 혈변을 동반하는 비육돈 설사증이며 이유자돈을 여러농장에서 구입하여 사육하는 농장에서 다발하며, 급성으로 폐사한 비육돈을 보면 창백한 상태가 관찰된다. 돈편충도 혈변을 동반하는 질병이지만, 세균성 질병과 다르게 급사는 자주 관찰되지 않으며 육안적으로 대장을 관찰하여 보면 돈편충의 성충을 쉽게 관찰할 수 있다. *Brachyspira pilosicoli* 감염에 의한 스피로헤타증은 배양시 약한 β-용혈현상을 나타내고 감염된 개체는 2~6주간 설사와 발육부진을 나타내며 임상증상은 3~6주령의 돈돈에서 특이하게 나타난다.

*Trichuris suis*에 감염된 돈돈은 또한 *L. intracellularis*에 감염될 위험성이 높다. Mansfield 등¹⁰⁾은 편충감염시 회장염 원인세균에 대한 점막면역을 억제하거나 반대로 회장염 발생시 편충감염에 대한 점막면역을 억제하므로써, *T. suis*와 *L. intracellularis*간의 공동작용에 의한 괴사를 동반하는 증식성대장염을 유발한다고 보고하였다. 즉, 세포외부에 존재하는 기생충은 Th-2 lymphocytes 유래 cytokine (IL-4, IL-5 및 IL-10)을 생산¹¹⁾하는 반면에,

세포내부에 존재하는 세균은 Th-1 cells에서 IFN- γ 와 TNF같은 cytokines을 생산하도록 자극한다¹²⁾. Th cells의 2종류 cytokine 생산물은 Th subset에 상호 방해작용을 하여, Th-1(주로 세포성 면역) 또는 Th-2(주로 체액성 면역) 면역반응으로 대립하게 된다. 따라서 선충류(*T suis*)에 대항하기 위한 본래의 Th-2 반응으로 인하여 세포내 기생세균(*L intracellularis*)과 대항하기 위한 Th-1 반응을 조절하는 작용을 저하시키게 되며, 반대로도 작용할 수 있다. 기생충과 장내 세균간의 상호작용의 유사한 예는, 최근에는 마우스에서도 관찰되었음을 보고하였다¹³⁾.

회장염의 예방은 돈사의 청결과 동시입식-출하 방법이며, 돈사의 수세는 가급적 95°C 정도의 뜨거운 물로 돈사바닥을 청소하는 스티프수세법이 좋다. 증식성 회장염의 치료는 항생제를 이유자돈 시기부터 치료 용량으로 2~3주간 투약하고, 2~3주간 휴약하는 프로그램도 효과적이며, 항생제 투여는 최초 감염에 의해 형성된 면역항체로 세균의 재감염을 방지하여 증식성 회장염 발병을 억제하는 방법으로 유효한 항생제로는 carbadox, tylosin, lincomycin, chlortetracyclines, tiamulin 등이 있다^{14,15)}.

*L intracellularis*에 대한 면역학적인 진단방법으로 1993년, Holyoake와 Cutler^{16,17)}는 3주령 자돈에서부터 24주령의 출하돈 까지 혈청 항체를 조사한 결과 약 1/3은 18주령 이전에 항체가 형성된 반면 나머지 돼지는 24주령이 되어야 항체형성이 되므로, 24주령에 도달하기 까지 SPE 발병은 SPE에 감염되지 않은 돼지에서 나타나는 현상이므로 출하돈에서 피해를 줄이기 위해서는 *L intracellularis*에 가능한 빨리 노출시켜 항체를 획득하는 사육방법을 제시하였으며, 사료내 항생제 첨가에 의한 *L intracellularis*에 대한 항체 형성을 조사를 위해 5~10주령 돼지에 ollaquinox(사료 톤당 25g)와 chlortetracyclines(사료 톤당 220g)비율로 투여한 결과, ollaquinox투여군은 5~10주 후에 항체형성이 된 반면에 chlortetracyclines 투여군은 항체형성이 되지 않고 일단 10주령에 항생제 투여를 중단하더라도 15주령이 되어서

야 항체형성이 되므로 ollaquinox는 예방적 투여 용량에서도 무증상과 항체형성을 보이는 반면 chlortetracyclines의 경우 감염을 억제하여 면역형성을 저해하는 결과를 초래하였다. 1997년, Bane¹⁸⁾은 tylosin을 사료 톤당 100g, 40g, 20g의 비율로 첨가한 결과, tylosin 무투여군과 비슷한 60% 항체 형성율을 나타내었으며 tylosin 무투여군은 실험중 임상증상과 함께 증체를 저하를 나타낸 반면, tylosin 투여군은 아무런 임상증상이 없고 증체율에서도 변화가 없었음을 보고 하였으며, tylosin 투여는 돼지간의 *L intracellularis* 전파를 방지하고 항체형성에 아무런 영향을 주지 않음이 증명됨에 따라 미국에서는 증식성회장염 예방목적으로 tylosin을 사료 톤당 100g 비율로 첨가하는 것을 허용하였다.

McOrist^{19,20)}는 *L intracellularis* 감염돼지에 대한 항생제 투여와 항체 형성의 중요성과 항체의 역할을 조사하기 위해 항생제를 먼저 투여한 돈군에서 항체가 형성된 돼지에 *L intracellularis*균을 공격접종한 후 분변을 통한 *L intracellularis*균 배설을 조사하고, 증식성회장염 발병 후 chlortetracyclines 투여군에서 균의 배설을 비교 조사하였다. 실험 결과는 항생제 투여군의 경우에는 균을 공격접종한 후에도 분변을 통한 균의 배설이 억제된 반면, 이미 발병한 군에 항생제를 투여한 군에서는 분변에서 계속하여 균 배설을 확인할 수 있었으므로, 적당량의 항생제 투여는 치료 효과와 항체형성으로 질병 전파억제와 생성된 면역항체에 의해 재감염이 되더라도 임상증상을 최소화할 수 있는 방법임을 보고하였다.

비육돈 설사의 근절에서 가장 중요한 것은 만성으로 진행된 보균돈의 도태이며, 보균돈은 신속한 분변검사를 통하여 확인한 후 도태하는 것이 효과적인 것으로 사료된다.

*L intracellularis*는 5°C~-15°C의 외부환경 조건하에서 1~2주간 생존할 수 있으며, 소독제에 대한 저항성 실험 결과는 4급 암모늄염(3% cetrimide)에서는 30분만에 완전한 사멸되었고, 1% Povidone-iodine에서 30분간에는 소독효과가 약간 떨어졌으나, 1% Potassium

peroxymonosulfate나 0.33% Phenolic mixture에서 30분간 적용한 결과는 소독효과가 낮은 것으로 조사되었다²¹⁾.

*L. intracellularis*는 일반 인공배지에서는 자라지 않고 랫트의 장세포에서만 자라기 때문에 분리동정이 어려워²²⁻²⁵⁾ 이 질병의 진단은 주로 병리조직학적 소견에 의존해 왔으며, 김 등²⁶⁾이 포르말린 고정된 파라핀 절편 장조직을 Warthin-Starry silver 염색이나 단클론 항체를 이용한 면역조직화학적 염색방법으로 균체를 확인하였다. 대부분의 비육돈이 폐사되어 있기 때문에 병리조직학적 검사를 통한 진단과 원인체 분리를 이용한 진단은 제한이 있게 되므로, 회장염의 효과적인 진단 방법은 발병 돼지의 분변을 이용하는 검사법이다. 최근에는 특이 primer를 이용한 PCR 진단기법²⁷⁾이 여러 연구자들에 의해 개발되어 신속 정확한 진단이 가능하게 되었다. 진단기술 표준화를 위하여 인공 감염시킨 돼지를 이용한 실험에서는 실험 가능한 DNA 최소함량은 장점막에서는 3.72 ng이며, 장점막을 정상의 분변에 섞었을 경우에는 12.4 ng의 DNA 추출량을 필요로 하였다.

회장염은 계속 발병율이 증가하여 유럽의 전체 양돈농가의 30% 정도가 감염되어 있는 것으로 보고하고 있으며, Pearce 등²⁸⁾은 영국 West-Midland 지역의 25개 양돈농가를 대상으로 회장염을 조사한 결과 조사돈군의 15%가 감염되었음을 보고하였고, Stege 등²⁹⁾은 덴마크의 무작위로 선정한 79개 돈군 790개 돈방의 1,580건 분변샘플을 조사한 결과 돈군의 93.7%가 감염되었음을 보고하였으며, 또한 Adrina 등³⁰⁾은 브라질의 5대 양돈단지에서 무작위로 선정한 75개 돈군의 636두를 대상으로 조사한 결과 평균 20%의 발생율을 보고하였다.

본 실험에서는 도축되는 돼지의 분변에서 PCR기법을 이용하여 이 질병을 검색해 본 결과 7개 농장 62건중 6건(9.7%)에서 *L. intracellularis*의 특이밴드가 확인되었으며, 김 등³¹⁾의 보고에 의하면 국내 35개 돈군중 7개 돈군에서 양성인 확인되었고, 490건의 돼지 분변중 16건이 *L. intracellularis*에 대하여 양성으로 검색되어 3.4%의 검색율을 나타내었다. 이

것은 본 보고의 검색율보다 낮은 검색율을 나타내고 있으며, 이는 경북동부지역의 회장염의 감염율이 높으며, 이에 의한 피해도 많을 것이라는 것을 간접적으로 확인할 수 있었다.

결 론

경북동부지역 양돈농가의 돼지 회장염 감염율을 조사하기 위하여 PCR 기법을 이용한 신속한 진단방법으로 도축장에 출하되는 돼지 62두의 회장 내용물을 채취하여 검체로 사용하여 *L. intracellularis*의 DNA를 확인한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 조사대상농가 7개 돈군중에서 3개 돈군에서 회장염의 감염이 확인되었다.
2. 62건의 돼지 분변중 6건에서 *Lawsonia intracellularis*의 319bp DNA Fragment에서 증폭되는 특이밴드(Specific oligonucleotides)를 확인할 수 있었으며, 9.7%의 감염율을 나타내었다.
3. PCR은 민감성과 특이성이 높아서 PCR기법을 이용한 돼지 회장염의 진단은 아주 적합하였다.

참고문헌

1. Rowland A, Lawson G, Maxwell A. 1973. Intestinal adenomatosis in the pig: occurrence of a bacterium in affected cells. *Nature(London)* 243: 417.
2. McOrist S, GHK, Rowland AC, MacIntyre N. 1989. Early lesions of proliferative enteritis in pigs and hamster. *Vet Pathol* 26: 260~264.
3. Rowland AC, Lawson GHK. 1992. Porcine proliferative enteropathies. In: Leman AD, Straw BE, Mengeling WL, et al. Ed, *Diseases of Swine*, 7th Ed. Iowa State University Press, Ames: 560~569.
4. Cooper D, Swanson D, Gebhart C. 1997.

- Diagnosis of proliferative enteritidis in frozen and formalin-fixed, paraffin-embedded tissues from a hamster, horse, deer and ostrich using *Lawsonia intracellularis*-specific multiplex PCR assay. *Vet Microbiol* 54 : 47~62.
5. Jones G, Ward G, Gebhart C, et al. 1993a. Use of a DNA probe to detect the intracellular organism of proliferative enteritis in swine feces. *Am J Vet Res* 54 : 1585~1590.
 6. Jones G, Ward G, Murtaugh M, et al. 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.
 7. Jordan DM, Knittel JP, Hoffman LJ, et al. 1996. Detection of *Lawsonia intracellularis* in Iowa swine using polymerase chain reaction methodology. *American Association of Swine Practitioner*(Am. Assoc. Swine. Pract.) 179~182.
 8. McOrist S, Gebhart C, Lawson G. 1994. Polymerase chain reaction for diagnosis of porcine proliferative enteropathy. *Vet microbiol* 41 : 205~212.
 9. Jones GF, Ward GE, Murtaugh MP, et al. 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.
 10. Mansfield LS, Urban JF. 1996. The pathogenesis of necrotic proliferative colitis in swine is linked to whipworm induced suppression of mucosal immunity to resident bacteria. *Vet Immunol Immunopathol* 50 : 1~17.
 11. Urban JF, Madden KB, Svetic A, et al. 1992. The importance of Th2 cytokines in protective immunity to nematodes. *Immunol Rev* 127 : 205~220.
 12. Moll H. 1996. Immune response to parasites: the art of distinguishing the good from the bad. *Immunol Today* 17 : 551~552.
 13. Rubio M, Tato P, Govezensky, et al. 1998. Depressed immunity to a *Salmonella typhimurium* vaccine in mice experimentally parasitized by *Taenia crassiceps*. *Vet Parasitol* 74 : 179~189.
 14. McOrist S, Mackie RA, Gordon H, et al. 1995. Antimicrobial susceptibility of ileal symbiont intracellularis isolated from pigs with proliferative enteropathy. *J Clin Microbiol* 33(5) : 1314~1317.
 15. Ward, G.E., Winkelman, N.L., 1990. Diagnosing, treating and controlling proliferative enteritis in swine. *Vet. Med.* 3 : 312~318
 16. Holyoake, P.K., 1993. Immune development may determine the susceptibility of pigs to proliferative enteritis. *Proceedings of the Allen D.Leman Swine Conference.* 20 : 143~147.
 17. Holyoake, P.K, Cutler,R.S., 1995. Outbreaks of proliferative haemorrhagic enteropathy on two farms. *Australian Veterinary Journal* 72 : 253~256.
 18. Bane, D, Firkins. L, Calhoun, J., 1998. Effect of tylan premix administration on transmission of, and seroconversion to, a spontaneous *Lawsonia intracellularis* infection in growing pigs. *Proceedings of the Allen D.Leman Swine Conference.* 25 : 33~34.
 19. McOrist S, Gebhart C.J., 1995. In vitro testing of antimicrobial agents for proliferative enteropathy(ileitis). *Journal of Swine Health and Production*(Swine. Health. Prod.) 3 : 145~150.
 20. McOrist S, Shearn MFH, Morgan J. 1999.

- Control of proliferative enteropathy by oral administration of chlortetracycline. *Vet Rec* 144 : 48~49.
21. Collins A, Love RJ, Pozo J, et al. 2000. Studies on the *ex vivo* survival of *Lawsonia intracellularis*. *Journal of Swine Health and Production*(Swine Health. Prod.) 5 : 211~215.
 22. Gebhart C, Lin G, McOrist S, et al. 1991. Cloned DNA probes specific for the intracellular *Campylobacter*-like organism of porcine proliferative enteritis. *J Clin Microbiol* 29 : 1011~1015.
 23. Lawson G, McOrist S, Jasni S, et al. 1993. Intracellular bacteria of porcine proliferative enteropathy: cultivation and maintenance *in vitro*. *J Clin Microbiol* 31 : 1136~1142.
 24. Lawson G.H.K, Mackie R.A, Smith D.G.E, et al. 1995. Infection of cultured rat enterocytes by ileal symbiont *intracellularis* depends on host cell function and actin polymerisation. *Vet Microbiol* 45 : 339~350.
 25. McOrist S, Gebhart C, Boid R, et al. 1995. Characterisation of *Lawsonia intracellularis* gen. Nov, sp. nov., the obligately intracellular bacterium of porcine proliferative enteropathy. *Int J Syst Bacteriol* 45 : 820~825.
 26. Kim J, Choi C, Cho W, et al. 2000. Immunohistochemistry and polymerase chain reaction for the detection of *Lawsonia intracellularis* in porcine intestinal tissues with proliferative enteropathy. *J Vet Med Sci* 62(7) : 771~773.
 27. Moller K, Jensen T, Jorsal S, et al. 1998. Detection of *Lawsonia intracellularis*, *Serpulina hyodysenteriae*, weakly beta-haemolytic intestinal spirochaetes, *Salmonella enterica* and haemolytic *Escherichia coli* from swine herds with and without diarrhea among pigs. *Vet Microbiol* 62 : 59~72.
 28. Pearce GP. 1999. Interactions between dietary fiber, endo-parasites and *Lawsonia intracellularis* bacteria in grower-finisher pigs. *Vet Parasitol* 87 : 51~61.
 29. Stege H, Jensen TK, Moller K, et al. 2000. Prevalence of intestinal pathogens in Danish finishing pig herds. *Prev Vet Med* 46 : 279~292.
 30. Adriana EC, Chiriboga N, Guimarães WV, et al. 1999. Detection of *Lawsonia intracellularis* in faeces of swine from the main producing region in Brazil. *Can J Microbiol* 45(3) : 230~234.
 31. Kim O, Kim B, Chae C. 1998. Prevalence of *Lawsonia intracellularis* in selected pig herds in Korea as determined by PCR. *Vet Rec* 143 : 587~589.