

## 혈청학적조사를 통한 한국 양돈장에서의 *Mycoplasma hyopneumoniae* 감염 시점의 분석

김혜권 · 김은미 · 문형준 · 김태용 · 임종성<sup>1</sup> · 이양호<sup>1</sup> · 박봉균\*

서울대학교 수의과대학

<sup>1</sup>메리알 코리아 (주)

(게재승인: 2004년 10월 22일)

## Analysis of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection by seroepidemiological investigation in Korean swine herds

Hye-kwon Kim, Eun-mi Kim, Hyoung-joon Moon, Tae-yung Kim, Jong-sung Lim<sup>1</sup>, Yang-ho Lee<sup>1</sup> and Bong-kyun Park\*

College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

<sup>1</sup>Merial Korea Ltd., Seoul 137-040, Korea

(Accepted: October 22, 2004)

**Abstract :** Blood samples from 622 pigs of 44 farms which were sero-positive to *Mycoplasma hyopneumoniae* (*M. hyo*) by ELISA method were collected from May 2003 to July 2004. And they were divided into 2 categories : *M. hyo*-vaccinated group (7 swine farms) and *M. hyo*-non-vaccinated group (37 swine farms). Then, each swine farm was analysed by sero-positive percentage per weeks of age. It was observed that the sero-positive percentage to *M. hyo* is directly proportional to weeks of age in the 44 swine farms that were selected. This meant that there has been a chronic infection of *M. hyo* in Korean swine herds and control of *M. hyo* infection did not have worked efficiently. In 7 *M. hyo*-vaccinated swine farms, there were no reliable patterns between sero-positive percentage to *M. hyo* and weeks of age. Although the swine farms have been used *M. hyo* vaccine, they had only little sero-positive percentage that was less than 50% at 6 to 11 weeks of age. This means a present vaccination program does not induce sufficiently a seroconversion expected. In 37 *M. hyo*-non-vaccinated swine farms, it was observed that sero-positive percentage was higher at above 15 weeks of age. This result showed that infection of *M. hyo* occurred commonly at between 7 and 12 weeks of age, at which pigs moved to the growing house. Because a risk of natural infection is severe at growing stage as well as nursery stage, it suggested that *M. hyo* vaccination at several weeks prior to the growing stage will give efficient effect to control the enzootic pneumonia.

**Key words :** *Mycoplasma hyopneumoniae*, Seroepidemiology, ELISA, Korean swine herd

### 서 론

*Mycoplasma hyopneumoniae*(*M. hyo*)는 돼지에서 enzootic pneumonia를 유발하는 중요한 인자로서 국내에서는 거의 모든 양돈장에서 문제시되는 병원체이다 [2]. 임상증상은 간헐적인 마른 기침과 성장률 저하, 사료효

율 저하 등이다. 조직학적 병변은 호흡기 섬모의 유실과 탈락으로서 병이 진행되면 특징적으로 기도과 혈관 주변에 임파구가 침윤되어 germinal center를 형성한다 [1, 3, 4]. 그 발병 기전에 대해서는 아직 정확히 알려지지 않았으며, *in situ* hybridization을 통해 *M. hyo*가 기관지 상피, 세기관지 상피세포 뿐만 아니라 alveolar

본 과제는 서울대학교 수의과학연구소의 지원으로 수행되었음

\*Corresponding author: Bong-kyun Park

College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea  
[Tel: +82-2-880-1255, Fax: +82-2-885-0263, E-mail: parkx026@snu.ac.kr]

macrophage, interstitial macrophage 및 Type 2 pneumocyte 에도 감염된다는 것이 알려졌다 [7].

Enzootic pneumonia의 발병 양상은 양돈장별로 차이가 크며, 이는 사육 환경, 사육 방식, 돼지생식기호흡기 증후군바이러스(PRRSV, porcine reproductive and respiratory syndrome virus) 감염여부, circovirus 감염여부, *M. hyo*의 유전적 다양성, 모체이행항체 등 여러 요인에 의한 것으로 생각되어져 왔다. 하지만 현재까지 각각의 요인과 *M. hyo*에 대한 연관성에 대하여 정확하게 알려져 있지 않다. 특히 사육 환경, 사육 방식과의 연관성 및 PRRSV, circovirus와의 연관성은 그다지 큰 것이 아니라는 것이 최근에 제기되었다 [13]. 이렇듯 양돈장별 발병 양상의 차이와 그 요인의 불분명함으로 인해 역학적인 조사에 있어서 절대적인 감염 연령을 예측하기 보다는, 대부분의 돼지가 감염되는 상대적인 연령을 결정하는 것이 더욱 타당하다 [13]. 이미 유럽의 벨기에, 덴마크, 이탈리아, 네덜란드, 영국 등에서는 *M. hyo* 폐렴의 감염 시기에 대한 역학적인 조사가 이루어졌으며, 우리나라에서도 1999년도에 조사가 이루어져 이유자돈에서 자연 감염이 흔하게 이루어지는 것으로 보고되었다 [11, 14].

*M. hyo*의 백신은 herd의 type이나 생산 체계, 감염의 패턴에 따라 다른 방식으로 이루어진다. 생산 초기단계에 *M. hyo* 감염이 이루어지는 경우 분만시 및 이유자돈 시기에 double-vaccination을 하는 것이 일반적이다. 하지만 최근에 3주령 또는 그 이상의 돼지에 single-shot vaccine을 하는 경우에도 비슷한 효과를 나타낸다고 알려졌다. 그리고 비육말기에 감염이 이루어지는 경우에는 10주령 정도에 late vaccination을 하는 것이 권고되고 있다 [5]. 그리고 *M. hyo* 감염의 효과적인 방어를 위해서는 점막 면역과 세포 매개성 면역반응이 중요하다고 알려져 있다 [12]. 우리나라의 경우 주로 3주령 정도에 백신을 접종하고 있으나 실제로 큰 효과를 보지 못하고 있으며, 아직도 *M. hyo* 폐렴은 양돈장마다 산재해 있는 실정이다.

따라서 본 실험에서는 우리나라의 양돈장에서 *M. hyo*의 감염 양상과 시기를 파악하여 보다 효과적인 백신 접종 시기를 예측하고자 2003년 5월부터 2004년 7월까지 호흡기 증상으로 실험실에 의뢰된 샘플 중 ELISA(*M. hyo* specific, commercial kit) 결과 양성인 44개 농장 샘플을 통해 연령별 양성 비율을 통계적으로 비교하였다.

## 재료 및 방법

### 실험 양돈장의 선별

2003년 5월부터 2004년 7월까지 호흡기 증상으로 서

울대학교 수의과대학 바이러스학 실험실로 의뢰된 양돈장별 샘플 중에서 *M. hyo* 진단이 이루어지고, 혈청학적 검사에서 양성이 나타난 44개 양돈장을 선별하였다. 양돈장 선별에 있어 엄격한 기준을 정하지 않았으며, 사육 환경 및 규모는 양돈장별로 다양하고 의뢰된 혈액 샘플의 연령도 양돈장마다 그 범위가 다양하였다.

선별된 44개의 양돈장을 *M. hyo* 백신 접종의 유무에 따라, 37개의 백신 미접종 양돈장과 7개의 백신 접종 양돈장으로 구분하였고, 의뢰서에 *M. hyo* 백신에 대한 기록이 없는 양돈장은 백신 미접종 양돈장으로 간주하였다.

### 혈액샘플

혈액샘플은 담당 수의사에 의해 채혈되어 본 실험실로 의뢰되었으며, 실험에 사용된 전체 혈액 샘플 수는 622개였다. 3주령에서 24주령까지 각 주령별 혈액 샘플 수를 구분하였고, 각 연령대별 혈액 샘플 수는 2개에서 6개로 양돈장마다 차이가 있었다. 각각의 혈액을 2,500 rpm에서 25분간 원심 분리하여, 혈청을 회수하였으며, 분리된 혈청을 혈청검사 때까지 -20°C에서 냉동보관하였다.

### ELISA에 의한 혈청학적 검사

분리된 혈청에서 *M. hyo*에 대한 항체는 간접 Enzyme Linked Immunosorbent Assay(ELISA)로 검출하였으며, IDEXX®의 *Mycoplasma hyopneumoniae* antibody test kit와 제일바이오®의 *Mycoplasma hyopneumoniae* antibody test kit를 사용하였다. 실험방법은 제품 매뉴얼에 따라 수행하였다. 2003년 5월에서 2004년 5월까지 IDEXX kit를 사용하였고, 그 이후엔 제일 바이오 kit를 사용하였다. IDEXX kit의 경우 A650 흡광도에서 OD값을 측정 후 positive control과 negative control의 값에 따라 S/P ratio 값을 구하였다. 즉,  $S/P \text{ ratio} = (\text{Sample OD} - \text{Negative OD}) / (\text{Positive OD} - \text{Negative OD})$ 로써 S/P ratio 값이 0.4 이상일 경우 양성이고, 0.3-0.4일 경우 의양성으로 판정하게 되는데, 본 실험에서 의양성은 양성으로 취급하지 않았다. 제일바이오 kit의 경우는, A410 흡광도에서 OD값을 측정하였으며, 마찬가지로 S/P ratio가 0.4 이상일 경우만 양성으로 판정하였다.

### 통계학적 검사

우선 전체 44개 양돈장에서의 각 샘플을 주령별로 구별하여, 각 주령별 총 샘플수와 양성인 샘플수를 측정 후 양성률(%)은  $(\text{양성수} \div \text{총 샘플수}) \times 100$ 로 계산하였다. 그리고 다시 44개의 양돈장을 *M. hyo* 백신을 접종하지 않은 양돈장 37개와 백신을 접종한 양돈장 7개로 구별하여 주령별 양성률을 구하였다. 이렇게 구한

전체 양돈장, 백신 미접종 양돈장, 백신 접종 양돈장의 주령별 양성률을 분산형 그래프로서 분석하였고, 각각의 linear regression 그래프를 통해 R-value를 측정하였다.

### 결 과

#### 전체 양돈장에서의 *M. hyo*에 대한 양성률

우리나라 양돈장에서의 *M. hyo* 감염에 대한 전반적인 양상을 알아보기 위해 전체 44개 양돈장에서의 주령별 양성률을 조사하였다(Fig. 1). 3주령부터 24주령까지 각 주령별 양성률을 조사한 결과 일반적으로 주령이 높아 질수록 양성률도 증가하는 것을 관찰할 수 있었다. 10주령을 제외한 5주령에서 15주령 사이에서의 양성률은 약 20-30% 이내에서 큰 변화 없이 나타났으나 15주령 이후에 급격한 증가 양상을 보였다. 특히 22주령 이후에는 80% 정도의 높은 양성률을 나타내었다.

#### *M. hyo*백신 미접종 양돈장에서의 *M. hyo*에 대한 양성률

전체 44개 양돈장 중에서 *M. hyo* 백신을 하지 않은 37개의 양돈장에서 주령별 양성률을 조사하였다(Fig. 2). 3주령에서 24주령까지의 각 주령별 양성률을 조사한 결과, 전체 양돈장에서의 양상과 비슷하게 전체적으로 증가되는 양상을 나타내었다. 3주령에서 6주령 사이에 10% 내외로 유지되던 양성률이 7주령에서 15주령 사이에서는 약 20-30% 이내로 증가되었다. 그리고 15주령 이후에는 전체 양돈장에서와 마찬가지로 높은 양성률을 나타내었다.

#### *M. hyo*백신을 사용하고 있는 양돈장에서의 *M. hyo*에 대한 양성률

전체 44개 양돈장 중에서 백신에 대한 기록이 명백하

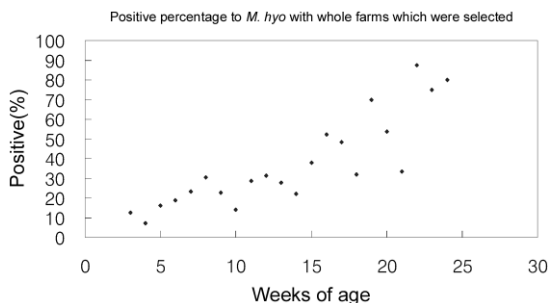


Fig. 1. A sero-positive percentage (%) distribution to *M. hyopneumoniae* per weeks of age in the 44 swine farms. R value is 0.7396 and  $Y = 3.0645x - 3.8624$  in linear regression curve.

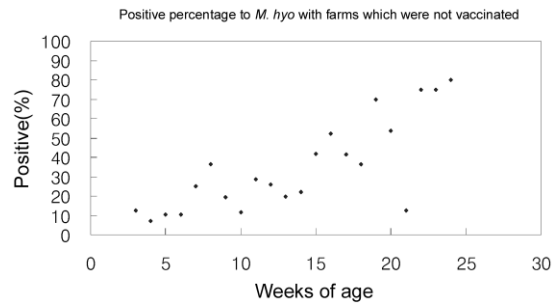


Fig. 2. A sero-positive percentage (%) distribution to *M. hyopneumoniae*(*M. hyo*) per weeks of age in 37 *M. hyo*-non-vaccinated swine farms. R value is 0.6351 and  $Y = 2.8835x - 4.0503$  in linear regression curve.

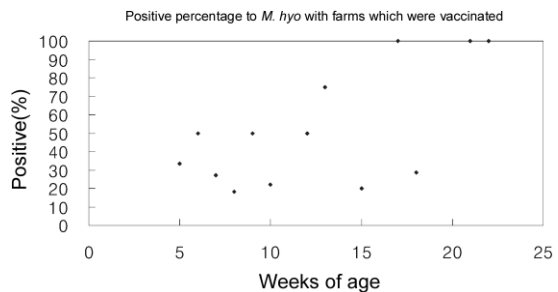


Fig. 3. A sero-positive percentage (%) distribution to *M. hyopneumoniae*(*M. hyo*) per weeks of age in 7 *M. hyo*-vaccinated swine farms. R value is 0.4251 and  $Y = 3.6317x + 6.3544$  in linear regression curve.

게 제시되었던 7개의 양돈장에 대한 주령별 양성률을 조사하였다(Fig. 3). 7개중 4개의 양돈장에서는 *M. hyo* 백신의 시기가 정확히 기록되어 있었으며, 이 중 1개 양돈장은 생후 15일경에 백신을 접종하였고, 나머지 3개의 농장은 3주령에 접종을 한 것으로 기록되어 있었다. 그 외 나머지 3개 농장의 경우 *M. hyo* 백신의 시기에 대한 기록은 나타나 있지 않았다. 양돈장수가 적음에도 불구하고, 5주령에서 22주령 사이에서 각 주령별 양성률을 계산하였으며, 샘플의 부재로 인해 11, 14, 16, 19, 20주령에서의 양성률은 그래프에서 제외되었다. 실험 결과 주령과 양성률에 있어서는 큰 유의성을 관찰할 수 없었다. 그러나 백신을 하게 되면 높은 양성률을 보여야 하지만 12주까지 20-50% 정도만 양성을 나타내었고, 그 변화 폭 또한 크게 나타났다.

### 고 찰

전체 44개 양돈장에서의 *M. hyo*에 대한 양성률과, 37개의 *M. hyo*백신 미접종 양돈장에서의 *M. hyo*에 대한

양성률의 변화 양상은, 주령이 경과함에 따라 꾸준히 양성률이 증가하는 것을 관찰할 수 있었다(Figs. 1과 2). 전체 양돈장에서의 주령별 양성률의 변화양상을 linear regression curve로 그려본 결과 R value는 0.7396로 계산되었는데, 비록 통계적으로 믿을만한 유의성을 나타내지는 못했지만, 적어도 우리나라에서 *M. hyo* 감염이 주령과 비례해서 증가하는 양상을 보인다는 것을 제시해 준다고 볼 수 있다. 이는 양돈장마다 *M. hyo*에 대한 예방이 제대로 이루어지지 않고 있으며, 만성적인 *M. hyo* 감염이 계속적으로 이루어지고 있음을 나타낸다고 볼 수 있다.

*M. hyo* 백신을 접종한 7개 양돈장의 경우, 양성률의 변화폭이 큰 유의성을 보이지 않았고(R value = 0.4251) 불규칙하게 나타났다(Fig. 3). 보통 *M. hyo*에 대한 seroconversion은 *M. hyo* 감염 후 3주에서 8주 정도가 걸린다고 알려져 있는데 [6, 9, 10], 대체로 우리나라 양돈장 대부분이 3주령 정도에 백신을 접종하므로 적어도 6주령에서 11주령 사이에서 높은 양성률을 보여야 한다. 하지만 이번 실험결과 백신을 접종한 양돈장에서 그 시기의 양성률은 50% 이하에 그치고 있는 것으로 나타났다. 이는 백신의 효과가 제대로 나타나지 않고 있음을 보여준다. *M. hyo*의 모체이행항체는 최대 9주까지 지속될 수 있으므로 [8] 모체이행항체가 백신의 효과를 간접한 것이라 생각되지만, 아직 모체이행항체가 *M. hyo* 백신의 효과를 어느 정도 간섭하는지에 대한 연구가 이루어지지 않았기 때문에, 이 부분에 대한 자세한 연구가 필요하다. 따라서, 이번 실험결과 *M. hyo* 백신을 접종하지 않은 37개 양돈장에서 9주령까지 나타난 양성 개체는 자연 감염보다는 모체 이행 항체에 의한 것일 가능성이 높다(Fig. 2). 하지만 실험결과 3-6주령 자돈에서는 약 10% 정도로 유지되던 양성률이 7-15주령에 20-30%로 증가되었는데, 이는 자연감염이 이때부터 서서히 진행된 결과로 보여진다. 즉, 실험 데이터가 2년간 실험실로 의뢰된 *M. hyo*에 대한 진단 기록에 기인했고 백신을 했다는 기록이 명백하지 않은 것은 백신을 접종하지 않은 것으로 간주한 것이 정당하였음을 의미하는 것으로 생각된다. 9주령에서 15주령까지는 양성률의 변화가 크게 증가되거나 감소되지 않았는데, 이는 자연감염, *M. hyo* 백신, 모체이행 항체의 감소 등이 복합되어 보여지는 양상이라고 생각된다. 하지만 무엇보다도 주목할 만한 것은 15주령 이후 양성률이 크게 증가하고 있다는 사실이다. 보통 3개월에서 4개월 정도에 발견되는 *M. hyo*에 대한 seroconversion은 자연감염에 의한 것임을 제시한다고 보고되고 있다 [15]. 따라서 이번 실험 결과에서 나타난 15주령 이후의 양성률 증가는 자연감염에 의한 것이라는 것을 유추해 볼 수 있다. 이는 곧 우리나라

에서 7-12주령 정도에 *M. hyo*에 대한 자연 감염이 흔하게 이루어지기 시작한다는 것을 나타낸다. 즉, 우리나라에서 전에 밝혀졌던 이유 자돈기 뿐 아니라 [11] 육성 단계로 들어간 이후에도 *M. hyo*에 대한 자연 감염이 흔하게 이루어지고 있음을 보여준다. 따라서 육성 단계로 들어서는 돈군에 있어서의 *M. hyo* 예방관리가 중요함을 알 수 있다.

본 실험을 통해 현재 우리나라에 *M. hyo*에 의한 enzootic pneumonia가 상재해 있고, 특히 육성단계에서의 감염이 심각하다는 것을 알 수 있었다. 특히, 우리나라에서 실시되고 있는 백신 프로그램은 *M. hyo*의 예방에 큰 효과를 나타내고 있지 못하고 있다는 것을 알 수 있었다. 그러므로 육성단계에 *M. hyo* 감염이 높게 발생한다는 점에서 볼 때, 육성 단계로 들어가기 몇 주 전에 *M. hyo*에 대한 백신을 접종하는 것이 enzootic pneumonia의 예방에 도움을 줄 수 있을 것으로 생각된다. 그리고 앞으로 *M. hyo*의 감염에 영향을 줄 수 있는 여러 요인에 대한 연구를 통해 *M. hyo* 폐렴의 적절한 예방을 도모해야 할 것이다.

## 결 론

2003년 5월부터 2004년 7월까지 호흡기 질환으로 검사 의뢰가 들어온 양돈장 중에서, *M. hyo*에 대한 항체 검사(간접 ELISA)에서 양성을 나타낸 44개 양돈장을 선별한 후 *M. hyo* 백신을 투여한 양돈장(7개)과 *M. hyo* 백신을 투여하지 않은 양돈장(37개)으로 구분하였다. 그리고 전체 양돈장, *M. hyo* 백신을 접종하지 않은 양돈장, *M. hyo* 백신을 접종한 양돈장에서 각각의 주령별 양성률을 조사하였다.

전체 양돈장(44개)에서의 주령별 *M. hyo*에 대한 양성률의 변화를 조사한 결과 우리나라에 *M. hyo*에 의한 감염이 주령에 따라 비례하여 증가되는 양상을 보임을 알 수 있었고, 아직 우리나라에서는 *M. hyo*에 대한 효과적인 예방이 이루어지지 않고, 만성적인 감염이 지속되고 있음을 알 수 있었다.

*M. hyo* 백신을 접종한 농장(7개)에서는 주령별 양성률에 있어서 유의적인 패턴을 발견할 수 없었으나 6-11주령 사이의 돼지에서 50% 이하의 양성률을 나타내고 있으므로, 백신에 의한 seroconversion이 의도대로 이루어지지 않고 있음을 알 수 있었다.

*M. hyo* 백신을 접종하지 않은 농장(37개)의 경우 15주령 이후에 양성률이 높게 증가하는 양상을 보였는데, 이는 돼지가 7-12주령 정도의 육성 단계로 들어가는 시점에서 자연감염이 흔하게 이루어지고 있다는 것을 나타내 준다. 따라서 이유자돈기 뿐 아니라 육성 단계에서도

자연감염의 위험이 높다는 것을 알 수 있었고, 육성 몇 주 전에 백신을 접종하는 것이 enzootic pneumonia의 예방에 효과가 있을 것이라 생각된다.

### 참고문헌

1. **Blanchard, B., Vena, M. M., Cavalier, A., Le Lannic, J., Gouranton, J. and Kobisch, M.** Electron microscopic observation of the respiratory tract of SPF piglets inoculated with *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Vet. Microbiol.* 1992, **30**, 329-341.
2. **Cho, K. H., Choi, J. S. and Kim, B. H.** Survey on mycoplasmal pneumonia of swine in Yongnam area and antimicrobial susceptibility of *Mycoplasma hyopneumoniae* isolated from slaughter pigs. *Korean J. Vet. Res.* 1998, **39**, 96-103.
3. **Dungworth, D. L.** The respiratory system. In *Pathology of domestic animals*, ed. Jubb, K. F. C., Kennedy, P. C. and Palmer, N. pp. 661-663, 4th ed. Vol. 2, Academic Press, New York, 1993.
4. **Goodwin, R. F. W., Pomeroy, A. P. and Whittlestone, P.** Production of enzootic pneumonia in pigs with a mycoplasma. *Vet. Rec.* 1965, **77**, 1247-1249.
5. **Haesebrouck, F., Pasmans, F., Chiers, K., Maes, D., Ducatelle, R. and Decostere, A.** Efficacy of vaccine against bacterial disease in swine: what can we expect? *Vet. Microbiol.* 2004, **100**, 255-268.
6. **Kobisch, M., Blanchard, B. and Le Potier, M. F.** *Mycoplasma hyopneumoniae* infection in pigs: duration of the disease and resistance to infection. *Vet. Res.* 1993, **24**, 67-77.
7. **Kwon, D. and Chae, C.** Detection and localization of *Mycoplasma hyopneumoniae* DNA in lungs from naturally infected pigs by *in situ* hybridization using a digoxigenin-labeled probe. *Vet. Pathol.* 1999, **36**, 308-313.
8. **Morris, C. R., Gardner, I. A., Hietala, S. K., Carpenter, T. E., Anderson, R. J. and Parker, K. M.** Persistence of passively acquired antibodies to *Mycoplasma hyopneumoniae* in a swine herd. *Prev. Vet. Med.* 1994, **21**, 29-41.
9. **Morris, C. R., Garner, I. A., Hietala, S. K., Carpenter, T. E., Anderson, R. J. and Parker, K. M.** Seroepidemiologic study of natural transmission of *Mycoplasma hyopneumoniae* in a swine herd. *Prev. Vet. Med.* 1995, **21**, 323-337.
10. **Nicolet, J., Zimmerman, W. and Chastonay, M.** Epidemiology and serodiagnosis of *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Zentralbl. Bakteriol.* 1990, **20(Suppl.)**, 249-253.
11. **Seok, H. B. and Joo, H. S.** Investigation of seroepidemiology of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection and establishment of on-farm eradication protocol. *Korean J. Vet. Res.* 1999, **39**, 1218-1223.
12. **Thacker, E., Thacker, B., Kuhn, M., Hawkins, P. and Waters, R.** Evaluation of local and systemic immune responses induced by intramuscular injection of a *Mycoplasma hyopneumoniae* bacterin to pigs. *Am. J. Vet. Res.* 2000, **61**, 1384-1389.
13. **Vicca, J., Maes, D., Thermote, L., Peeters, J., Haesebrouck, F. and de Kruijff, A.** Patterns of *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in Belgian farrow-to-finish pig herds with diverging disease-course. *J. Vet. Med.* 2002, **B49**, 349-353.
14. **Wiseman, A., Joris, E. and Debouck, P. A.** The time to vaccinate against *Mycoplasma hyopneumoniae* as determined by age at infection based on serology in 50 commercial herds in 5 European countries. In *Proceedings of the 16th International Pig Veterinary Society*, ed. Colin Cargill and Steve McOrist p. 496, Causal Productions, Melbourne, 2000.
15. **Yagihashi, T., Kazama, S. and Tajima, M.** Seroepidemiology of *Mycoplasma pneumoniae* of swine in Japan as surveyed by an enzyme-linked immunosorbent assay. *Vet. Microbiol.* 1993, **34**, 155-166.