

## 돼지 폐렴병변에서 PCR을 이용한 썬코바이러스 2, 돼지생식기호흡기증후군, 마이코플라즈마 폐렴 감염실태 조사

추금숙\*, 강미선, 조영숙, 이정원

전라북도축산위생연구소 정읍지소  
(접수 2008. 1. 15, 게재승인 2008. 3. 26.)

### Detection of porcine circovirus 2, porcine reproductive and respiratory syndrome virus and *Mycoplasma hyopneumoniae* from swine lungs with lesions by PCR

Keum-Suk Chu\*, Mi-Seon Kang, Young-Suk Jo, Jeong-Won Lee

\*Jeongeup-Branch, Jeonbuk Institute of Livestock & Veterinary Research, Jeong-eup, 580-814, Korea  
(Received 15 January, 2008, accepted in revised from 26 March 2008)

#### Abstract

Today swine respiratory disease is one of the most important diseases because of its economic losses and severe infection nationwide, and swine society as well as veterinary service are trying to prevent the diseases in Korea. This study would like to obtain some information useful for the control of the diseases. A total of 174 lung specimens with lesion consisted of 3 sorts; 60 were collected from nurse pig requested for diagnostic service from March of 2006 to October of 2007, 58 finishing pigs and 56 sows were selected from slaughterhouse from September to November 2007. In the detection test of pathogens by PCR, porcine circovirus 2 (PCV2), porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) and *Mycoplasma hyopneumoniae* were positive in 95.4%, 31.6%, and 20.1%, respectively. Double infection rate with PCV2 and PRRS was 30.4%, PCV2 and *M hyopneumoniae* was 19.5%, triple infection with PCV2, PRRS and *M hyopneumoniae* was 5.7%, respectively.

Key words : PCV2, PMWS, PRRS, *M hyopneumoniae*.

<sup>1</sup>Corresponding author

Phone : +82-63-535-3526, Fax : +82-63-535-9118

E-mail : chuks1103@hanmail.net

## 서 론

1990년대 후반부터 돼지 썩코바이러스 (porcine circovirus, PCV)는 전 세계적으로 검출되기 시작하면서 1974년 기존의 돼지 신장세포주에서 분리된 비병원성의 PCV1과 이유자돈전신소모성증후군 (postweaning multisystemic wasting syndrome, PMWS)의 증상을 나타내는 PCV2로 구분되고 있다. PCV2는 *Circoviridae*에 속하고 small, nonenveloped, single stranded circular-arranged DNA 바이러스로 1767-1768 nucleotides를 보유하고 있고 계통학적으로는 핵산 염기서열의 동일성이 93%이상으로 조사되고 있다<sup>1-3)</sup>. PCV2의 감염은 PMWS, 돼지 피부염·신장증후군 (porcine dermatitis and nephropathy syndrome, PDNS), 호흡기질병 복합증후군 (porcine respiratory disease complex, PRDC), 번식장애 질병과 관련이 있으며 최근에는 porcine circovirus disease (PCVD)라 분류되고 PMWS 이외에도 양돈 산업에 심각한 피해를 주고 있으며 유럽, 캐나다 및 미국의 양돈 산업에 경제적 피해가 증가하는 것으로 분석되고 있다. PCV2는 PCVD의 1차적인 원인체로 주목받고 있으나 반드시 PMWS와 같은 심각한 질병을 나타내지는 않고 돼지 파보바이러스 (porcine parvovirus, PPV), 돼지 생식기호흡기 증후군 (porcine reproductive and respiratory virus, PRRS), 유행성폐렴 (enzootic pneumonia-mycoplasmal), 살모넬라감염증 (salmonellosis) 및 면역체계를 자극하는 환경 요인이나 다른 병인체의 노출과 관련성이 있는 것으로 보고되고 있다<sup>4-7)</sup>.

PMWS는 1996년 캐나다에서 보고된 후 미국, 유럽 및 아시아에서 확인되고 있으며 국내에서는 1998년 발생이 보고<sup>8-10)</sup> 되었고, 2-4개월령에 감염되어 4-30% 이병율을 나타내고 폐사율은 4-20%이며 임상증상은 체중감소, 창백, 호흡곤란, 빈혈, 설사 및 황달 등을 보이고 초기감염 개체에서는 피하 림프절 종대와

육아종성 간염, 신장염 및 간질성 폐렴 등의 육안적 병변이 관찰되기도 한다<sup>11)</sup>. 1990년 후반부터 조기 질병 발생시 이유자돈에서의 30-40%의 높은 폐사율을 보였으나 유럽 등에서는 질병감소를 위한 중점 사양관리 포인트로 스트레스 감소, 돼지간의 접촉 최소화 및 사육환경 개선 등의 노력으로 0-10%의 폐사율을 감소시키고 있지만 질병이 만성화되는 경향을 보이며 감염축과 비감염축의 발육불량 면에서 차이가 발생하여 일명 “30kg syndrome”이라 불리울 정도로 정상 개체는 100kg 성장한 반면 성장이 지연되어 양돈산업에 커다란 경제적 피해를 발생시키고 있다<sup>12)</sup>. 이러한 PCVD의 발생은 우리가 알지 못하는 다른 바이러스의 존재나 PCV의 변이, 백신에 의한 면역자극, 다른 바이러스나 세균감염으로 인한 면역억제, 유전적요인, 사료 및 마이코톡신 등의 여러 요인과 관계가 있는 것으로 추정되며 단일감염 및 복합감염으로 인한 질병 발현의 변화 등의 연구가<sup>13-15)</sup> 이루어지고 있다.

조직내에서 PCV2의 검출은 면역조직화학염색법 (immunohistochemistry, IHC), 조직내교잡법 (*in situ* hybridization, ISH), 중합효소연쇄반응법 (polymerase chain reaction, PCR) 등<sup>16)</sup>이 있으며 타 질병과의 혼합감염 감별진단을 위하여 임상증상, 병리조직소견 및 PCV2의 검출이 만족되어야 한다. 그러나 일선 방역기관에서 병성감정의 업무는 질병발생에 따른 방역대책이 동반되기 때문에 신속 정확성이 요구되며 농가지도 자료로 활용을 위한 지침 등이 필요하나 기본적인 국내 질병발생의 양상 및 지역적 및 농장간 특성과 타 질병과의 복합감염에 대한 기초 자료가 부족한 실정으로 농가지도에 어려움이 있다.

이에 본 연구자는 사육단계별 질병감염이 의심되는 이유자돈, 비육 및 모돈의 폐 병변에서 PCV2, PRRS, 마이코플라스마 검사를 실시하고 복합감염 상황을 조사하여 농가 사양관리 지도 자료로 활용하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 공시재료

전북지역내 양돈장에서 2006년 3월부터 2007년 10월까지 호흡기 증상으로 병성감정 의뢰된 이유자돈과 2007년 9월에서 11월까지 축산물작업장에 도축 의뢰된 비육돈 및 도태모돈에서 육안적 폐 병변 소견이 보이는 개체의 폐 및 폐 림프절을 채취하여 냉동 보관하면서 실험에 사용하였다.

### 항원검사

폐 및 폐 림프절을 균질화하여 5% PBS 부유액을 원심분리하고 상층액을 보관하면서 Viral Gene-spin Viral DNA/RNA Extraction kit (iNtRON)를 이용하여 DNA 및 RNA를 추출하였다. 폐병변에서 유전자를 검출하기 위해 primer를 제작하여 검사를 실시하였으며 (Table 1) PCV2 검사는 추출한 nucleotides 5

$\mu\text{l}$ 와 각 primer  $1\mu\text{l}$  (10 pmol)를 PCR premix (Maxime PCR Premix, iNtRON)에 첨가하여  $96^{\circ}\text{C}$ 에서 5분 반응시켰고,  $94^{\circ}\text{C}$ 에 30초,  $55^{\circ}\text{C}$ 에 30초 및  $72^{\circ}\text{C}$ 에 40초씩 30회 반복 반응시킨 후 최종  $72^{\circ}\text{C}$ 에서 5분간 반응시켰고, PR-RSV는 추출한 nucleotides와 primer를 one-step kit (Qiagen)에 첨가하여  $45^{\circ}\text{C}$ 에 10분 반응시킨 후  $94^{\circ}\text{C}$ 에 5분 반응시키고  $94^{\circ}\text{C}$ 에 30초,  $54^{\circ}\text{C}$ 에 30초,  $72^{\circ}\text{C}$ 에 40초씩 40회 반복 반응시킨 후 최종적으로  $72^{\circ}\text{C}$ 에 5분 반응시켰다. 또한 마이코플라즈마는  $94^{\circ}\text{C}$ 에서 5분 반응시켰고,  $94^{\circ}\text{C}$ ,  $55^{\circ}\text{C}$  및  $72^{\circ}\text{C}$ 에 각각 1분씩 30회 반복 반응시킨 후 최종  $72^{\circ}\text{C}$ 에서 7분간 반응시켰다. PCR이 완료되면 반응액  $8\mu\text{l}$ 와 loading dye  $2\mu\text{l}$ 를 1.5% agarose gel (ethidium bromide  $0.5\mu\text{g}/\text{ml}$  in DW)에 100 bp DNA Mark와 같이 TAE buffer가 함유된 전기영동 tank에 gel을 침적시킨 후  $100\text{V}/\text{cm}$ , 50분간 (Owl EasyCast Minigel system) 전기영동을 실시하여 자외선 하에서 특이 band 증폭 유무를 확인하였다.

Table 1. List of primers for the detection of pathogens

Pathogens	Primers	Sequences ('5'-3')	PCR production
PCV2	pPCKF2	CATGGTTACACGGATATTG	501 bp
	pPCKR2	CGCACCTTCGGATATACTG	
PRRSV	PRRSF1	GGGAATGGCCAGCCAGTCAATCAACTGT	312 bp
	PRRSR1	TGTAGAAGTCACGCGAATCAGGCGCACT	
<i>M hyopneumoniae</i>	LDHF1	CCATACACACCAGCAGCACC	837 bp
	LDHR1	ACCTGAGCTGGCCTAATTGC	

Table 2. Detection of pathogens in lung by PCR

Stages	No of samples	PCV2		PRRSV		<i>M hyopneumoniae</i>	
		Positive	%	Positive	%	Positive	%
Nursery	60	59	98.3	35	58.3	15	25.0
Finishing	58	57	98.3	11	19.2	16	27.6
Sow	56	50	89.2	9	14.1	4	7.2
Total	174	166	95.4	55	31.6	35	20.1

## 결 과

호흡기 증상을 보인 이유자돈 60두 및 축산물작업장의 비육돈 58두 및 도태 모돈 56두의 폐 및 폐 림프절에서 PCR을 이용하여 PCV2는 501 bp, PRRS는 312 bp 및 *M hyopneumoniae*는 837 bp에서 증폭산물을 확인하였다 (Fig 1-Fig 3).

PCV2, PRRS 및 *M hyopneumoniae*를 검사한 결과 총 174두에서 PCV2는 166두 (95.4%), PRRS는 55두 (31.6%), *M hyopneumoniae*는 35두 (20.1%) 양성이었으며, 이유자돈에서는 59두 (98.3%), 35두 (58.3%), 15두 (25.2%) 각각 양성이고, 비육돈은 57두 (98.3%), 11두 (19.0%), 16두 (37.6%), 모돈은 50두 (89.2%), 9두 (16.1%), 4두 (7.2%)의 결과로 나타났다 (Table 2).

또한, 174두의 복합감염 결과는 PCV2 + PRRS는 53두 (30.4%), PCV2 + *M hyopneumoniae*는 34두 (19.5%), PCV2 + PRRS + *M hyopneumoniae*는 10두 (5.7%)로 조사되었고 이유자돈에서의 복합감염이 높은 결과를 보였다 (Table 3).

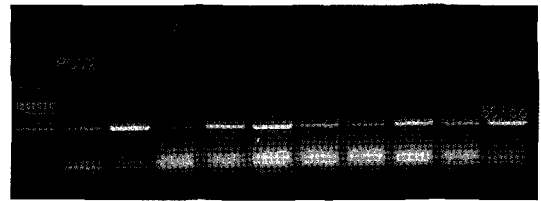


Fig 1. Detection of PCV2 by PCR  
Lane M : 100 bp ladder,  
Lanes 1-10 : Field samples

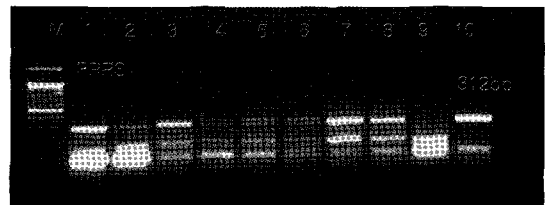


Fig 2. Detection of PRRS by PCR  
Lane M : 100 bp ladder, Lanes 1-8 :  
Field samples, 9 : negative, 10 : positive

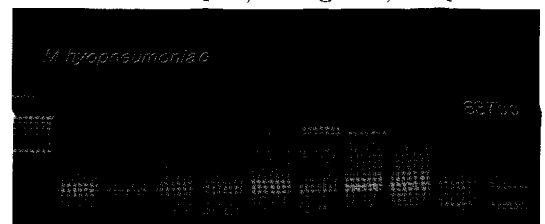


Fig 3. Detection of *M hyopneumoniae* by PCR  
Lane M : 100 bp ladder,  
Lanes 1-10 : Field samples

Table 3. Result of combined infection

Stages	No of samples	PCV2 + PRRS		PCV2 + <i>M hyopneumoniae</i>		PCV2 + PRRS + <i>M hyopneumoniae</i>	
		Positive	%	Positive	%	Positive	%
Nursery	60	35	58.3	15	25.0	9	15.0
Finishing	58	11	19.0	15	25.8	1	1.7
Sow	56	7	12.5	4	7.1	0	0
Total	174	53	30.4	34	19.5	10	5.7

## 고 찰

국내에서 PMWS는 1998년 처음보고 이 후 최근 몇 년간 40-60일령의 이유자돈에서 위축, 폐렴 및 설사 등으로 인한 주요 폐사 원인

으로 알려져 있다. 특히, 성장지연, 위축 및 폐사 증가로 인한 생산성 감소로 양돈농가의 경제적 손실을 초래하고 있다. PCV2는 PMWS의 주요 원인중의 하나로 지목되고 있으며 단독감염시 보다 PPV, PRRS, 유행성 폐렴 등과 복합감염되면 병원성이 증가하는 것으로

보고되고 있다. 또한 이유자돈 및 육성돈의 성장 지연, 식욕감퇴, 호흡곤란 등을 유발하는 PRDC는 PRRS, swine influenza virus (SIV), PCV2, *M hyopneumoniae*, *A pleuropneumoniae*, *P multocida* 및 Glasser's disease 등과의 복합감염으로 이루어지고 있어 감별 진단 또한 어려운 실정이다. 양돈농장에서 발생하는 이러한 복합감염에 대한 체계적인 조사와 사육단계별 발병 원인에 대한 규명이 미비한 실정이어서 앞으로 백신접종에 대한 시기와 접종방법 및 치료에 대한 지침이 절실하게 요구되고 있다. 특히 PRRS는 국내에서 1993년 발생이 확인된 이후 1996년부터 백신이 도입되었고 현재 생독 및 사독백신이 혼합 사용되고 있으나 양돈장에서의 백신에 대한 정확한 지침이 전무한 상태일 것이라 말할 수 있을 것이다. 본 조사결과에서 PCV2의 양성률은 이유자돈, 육성돈, 모돈에서 98.3%, 98.3%, 89.2%로 높게 조사되어 이제는 양돈농장에 상재 질병이 되어버린 것도 같아 PCV2의 병원성에 대한 연구가 절실히 요구되며 차단방역에 대한 대책과 아울러 효과 있는 백신개발에 많은 연구와 노력이 필요할 것으로 사료된다. PRRS는 58.3%, 19.2%, 16.1%, *M hyopneumoniae*는 25.2%, 27.6%, 7.2%로 확인되었으며, 또한 중복감염율을 보면 이유 및 모돈은 PCV2와 PRRS의 중복감염률이 58.3%, 12.5%, 이유 및 육성돈은 PCV2와 *M hyopneumoniae*의 감염률이 25.2%, 25.8%로 조사되어 폐사 발생이 많은 이유자돈에서의 PCV2와 PRRS의 호흡기 복합감염에 대한 예방책이 최우선으로 실시되어야 할 것이다. 임 등<sup>17)</sup>이 조사한 PCV2와 PRRS 복합감염률은 1998년 12.0%, 1999년 14.7%, 2000년 37.0%, 박 등<sup>18)</sup>은 이유자돈에서 PCV2와 PRRS의 복합감염률은 47.4%, 연도별로는 1999년 20.1%, 2000년 50.0%, 2001년 45.5%, 2002년 54.2%이었으나 본 조사에서는 약간 증가하는 추세로 조사되었다. 또한 김 등<sup>19)</sup>이 유산태아에서 조사한 결과 PCV2 26.3%, 다른 유사산 질병과 복합감염은 25%로 조사되

어 모돈에서의 PCV2의 감염에 의한 유사산의 가능성도 무시할 수 없음을 증명하였고 김 등<sup>20)</sup>은 PCV2, PRRS 및 *H parasuis*의 복합감염을 확인하였고, 김 등<sup>21)</sup>은 경북지방의 병성감정 의뢰율을 조사한 결과 PCV2 단독 감염은 39.7%, 세균성질병과 2종 복합감염은 38.5%, 3종 복합감염은 18.1%, 4종 복합감염은 3.9%, 노 등<sup>22)</sup>은 임상실험을 실시하여 PCV2, PRRS, PPV 혼합감염군에서 PMWS의 증상을 확인하였다. 이러한 연구 결과를 보면 PCV2는 양돈장에서 질병발생과 긴밀한 관계가 있는 것으로 추정되나 명확한 방역대책 및 치료책이 없는 실정으로 양돈장에서의 사육단계별 위생관리 지침과 혈청검사 및 항원검사를 통한 맞춤형 농가 서비스의 제공이 절실히 요구되어 진다고 생각된다.

유럽 및 미국에서는 PCV2의 백신이 개발되어 2006년부터 사용되고 있으며 모돈 및 후보돈과 3주령의 자돈에서 1-2회 접종, 자돈의 경우 1회 접종보다 2회 접종으로 이병을 및 폐사율의 감소로 생산성을 향상시키는데 도움이 된다는 연구보고가 있다. 국내에서도 최근 백신이 개발되어 농장에서 활용하고 있지만 아직 백신 효과에 대한 정확한 자료 축적되지 않아 농장에서의 많은 자료 분석이 이루어져야 할 것이다. 또한 국내 PCV2의 질병발생 현황에 대한 조사와 국내 분리주의 유전적 상관관계 및 분리주간의 상동성과 변이에 대한 연구가 미비할 뿐만 아니라 현장적용을 위한 혈청검사 방법도 모호하여 백신접종을 위한 감염시점의 분석이 없는 무작위적인 백신접종은 오히려 농가에 경제적 부담만을 가중시킬 가능성도 있다. PRRS의 경우 백신을 실시한지 10년이 경과하였으나 아직도 PRRS를 박멸하는 것은 불가능하며 양돈장에서 백신에 대한 정답을 찾지 못하는 실정이다. 그러므로 백신 실시 전 혈청검사 및 이환축에 대한 정밀진단을 바탕으로 백신시점과 방법을 결정하여야 하며 지역별, 사육단계별 바이러스의 변이에 대한 연구가 이루어져야 할 것이다. 또한 국가 방역기관에서는 PCV2,

PRRS 질병에 대한 지속적인 모니터링이 이루어져야 하며 주요 질병 진단을 위한 신속하고 편리한 효소면역법적 혈청검사 키트 개발 및 보급과 환축 발생시 즉시 방역기관에 질병검사를 의뢰하여 원인규명에 따른 농장 컨설팅 수의사와 협조하여 항생제 및 백신프로그램의 조절에 대한 체계적인 관리 등이 이루어진다면 일시적인 농장의 소득증대 효과는 어렵겠지만 양돈산업의 미래를 위해 근본적인 문제에 대한 점검과 해결방법의 도출이 가능하여 결국 양돈농가 생산성 향상으로 이어질 것으로 확신한다.

## 결 론

전북지역 양돈장에서 병성감정 의뢰된 이우자돈 60두, 축산물작업장에 도축 의뢰되어 폐 병변 소견을 보이는 비육돈 58두, 도태 모돈 56두의 폐 및 폐 림프절에서 PCR을 이용하여 PCV2, PRRS, *M hyopneumoniae* 항원 검사를 실시한 결과 95.4%, 31.6%, 20.1%의 양성을 확인하였다. 또한 중복감염은 PCV2와 PRRS 30.4%, PCV2와 *M hyopneumoniae* 19.5%. PCV2, PRRS, *M hyopneumoniae*는 5.7%로 나타났으며 이우자돈에서 감염율이 가장 높게 조사되었다.

## 참고문헌

1. Joaquim S, Gordon MA, Mariano D, et al. 2006. porcine circovirus disease. In : *Diseases of swine*. 9 eds. Iowa State University Press, Ames, Iowa : 299-307.
2. Allan GM, Ellis JA. 2000. Porcine circoviruses : a review. *J Vet Diagn Invest* 12(1) : 3-14.
3. Larochelle R, Magar R, D'Allaire S. 2002. Genetic characterization and phylogenetic analysis of porcine circovirus type 2 (PCV2) strains from cases

presenting various clinical conditions. *Virus Res* 90(1) : 101-112.

4. Opriessnig T, Thacker EL, Yu S, et al. 2004. Experimental reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs by dual infection with *Mycoplasma hyopneumoniae* and porcine circovirus type 2. *Vet Pathol* 41(6) : 624-640.
5. Opriessnig T, Mckeown NE, Harmon KL, et al. 2006. Porcine circovirus type 2 infection decreases the efficacy of a modified live porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccine. *Clin Vaccine Immunol* 13(8) : 923-929.
6. Rovira A, Balasch M, Segales J, et al. 2002. Experimental inoculation of conventional pigs with porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus 2. *J Virol* 76 (7) : 3232-3239.
7. Haruna J, Hanna P, Hurnik D, et al. 2006. The role of immunostimulation in the development of post-weaning multi-systemic wasting syndrome in pigs under field conditions. *Can J Vet Res* 70(4) : 269-276.
8. Ellis J, Hassard L, Clark E, et al. 1998. Isolation of circovirus from lesions of pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *Can Vet J* 39(1) : 44-51.
9. Choi C, Chae C. 1999. *In-situ* hybridization for the detection of porcine circovirus in pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *J Comp Pathol* 121(3) : 265-270.
10. Lyoo YS, Kim JH, Park CK. 1999. Identification of porcine circoviruses with genetic variation from lymph

- nodes collected in pigs with PMWS. *Korea J Vet Res* 39(2) : 353-358.
11. Harding J, Clark EG, Ellis JA. 1999. Recognizing and diagnosing postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Swine Health Prod* 5 : 201-203.
  12. <http://www.octagon-services.co.uk/articles/PMWSvaccine.htm>
  13. Mckeown NE, Opriessing T, Thomas PK, et al. 2005. Effects of porcine circovirus type 2 (PCV2) maternal antibodies on experimental infection of piglets with PCV2. *Clin Diagn Lab Immunol* 12(11) : 1347-1351.
  14. Gagnon CA, Tremblay D, Tijssen P, et al. 2007. The emergence of porcine circovirus 2b genotype (PCV-2b) in swine in Canada. *Can Vet J* 48(8) : 811-819.
  15. Krakowka S, Ellis JA, McNeilly F, et al. 2001. Activation of the immune system is the pivotal event in the production of wasting disease in pigs infected with porcine circovirus-2 (PCV-2). *Vet Pathol* 38(1) : 31-42.
  16. McNeilly F, Kennedy S, Moffett D, et al. 1999. A comparison of in situ hybridization and immunohistochemistry for the detection of a new porcine circovirus in formalin-fixed tissues from pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *J Virol Methods* 80(2) : 123-128.
  17. Lyoo KS, Park YH, Park BK. 2001. Prevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus, porcine circovirus type 2 and porcine parvovirus from fetus and pigs with respiratory problems in Korea. *J Vet Sci* 2(3) : 201-207.
  18. 박최규, 김현수. 2004. 이유자돈 전신소모성증후군 이환 자돈에서의 바이러스성 원인체 검색 및 porcine circovirus 2 분리 동정. *대한수의학회지* 44(4) : 561-569.
  19. 김영환, 조광현, 정영석 등. 2005. 경북지방 돼지의 유산태아에서 PCV2 감염률 조사. *한가위지* 28(3) : 267-273.
  20. 김재훈, 노인순, 손현주 등. 2003. 국내 이유자돈의 썬코바이러스 감염에 의한 이유후전신소모성 증후군. *대한수의학회지* 43(3) : 463-469.
  21. 김영환, 조광현, 김성국 등. 2004. 경북지방 돼지에서 이유후전신소모성증후군 및 porcine circovirus type2의 감염 양상. *한가위지* 27(2) : 139-146.
  22. 노인순, 이경우, 김재훈 등. 2007. 국내 분리 porcine circovirus 2의 이유자돈에 대한 병원성 시험연구. *대한수의학회지* 47(2) : 175-185.