

돼지의 유행성폐렴 원인균(*Mycoplasma hyopneumoniae*)에 대한 항체가 분포도 조사

어용준, 육동현, 이재문, 김윤기, 이정학

서울특별시 보건환경연구원 축산물부 인수공통전염병과

Studies on Enzyme-Linked Immunosorbent Assay(ELISA) for Detection of antibody to *Mycoplasma hyopneumoniae*

Yong-Jun Eo, Dong-Hyun Yook, Jae-Moon Lee, Yun-Ki Kim, Jung-Hak Lee

Seoul Metropolitan Health and Environment Institute

Abstract

Mycoplasmal pneumonia of swine(MPS) cause by *Mycoplasma hyopneumoniae* has been recognized as a serious impediment to swine production due to chronic respiratory disorder which result in the weight loss and decreased feed conversion. The disease causes a great economic losses in pig industry by characterizing with high morbidity, low mortality, growth retardation and low feed efficiency.

The present study was conducted to investigate the titers of antibody against *M hyopneumoniae* from the regional and seasonal groups of the slaughtered pigs by enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA).

The result have shown that the average seropositive rate of *M hyopneumoniae* infection was 84.6%. The regional seropositive rate in Korea showed 87.4% in Kyonggi, 83.4% in Kangwon, 89.2% in Chungnam and 77.6% in Chungbuk area, respectively. Also the seasonal seropositive rate was appeared as 78.6% in spring, 90.1% in summer, 76.9% in autumn and 83.8% in winter, respectively.

Key words : Antibody titer, *Mycoplasma hyopneumoniae*, Slaughtered pigs, Seasonal seropositivity.

서 론

*Mycoplasma hyopneumoniae*에 의한 돼지의 유행성 폐렴은 전 세계적으로 널리 발생되고 있으며 이환시 만성경과를 보이며 증체를 감소 및 사료효율저하로 인해 큰 경제적 손실을 초래한다^{2,14)}.

또한 *Actinobacillus pleuropneumoniae*와 *Pasteurella multocida*와 같은 호흡기 원인세균과 2차 혼합감염시에는 증상이 더욱 악화되어 큰 피해를 초래한다^{7,10,11)}. 그러나 지극히 만성경과를 보여 이환군의 발견이 쉽지 않아 실제 양돈장에서 사전 감염차단 및 예방에 어려움이 많은 질병이다.

우리나라에서는 1965년 정 등⁸⁾에 의해 처음으로 발생보고되었으며 1981년 박 등⁹⁾에 의해 원인체가 분리동정된 후, 1977~1983년까지 김과 반²⁾의 조사결과 돼지 유행성폐렴의 감염률은 28.0~55.6%으로 보고되어있다.

본 실험에서는 도축돈에 대한 혈청항체를 조사해서 지역적으로 항체가 분포도 및 계절별 연관성을 조사함으로써 정확한 역학조사 및 이상적인 예방대책을 수립하는데 도움이 되고자 하였다.

재료 및 방법

공시재료

서울시 가락동 소재 축협도축장에서 4월~12월까지 도축돈 3,500두의 혈청을 사용하였다.

ELISA 항원 제조

ELISA에 사용할 항원은 Satoshi¹⁴⁾등의 방법에 의하여 제조하였다. *M. hyopneumoniae* 표준주인 J1101의 배양균액을 원심(10,000×g, 4℃, 30분)하여 균체를 수거한 다음 phosphate buffered saline(PBS)로 3회 세척하고 균체 pellet을 PBS에 부유시켰다. 이것을 Sephacryl S-300 gel(Pharmacia)을 이용하여 정제시킨 것을 40배 희석하여 사용하였다.

항체가 측정

M. hyopneumoniae 항체가측정을 위하여 효소면역흡착시험법(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)을 사용하였다.

시험방법 : 항원을 coating buffer(Na_2CO_3 1.59g, NaHCO_3 2.93g, H_2O 1ℓ, pH 9.6)로 희석한 다음 microplate에 well당 100 μl 씩 분주 후, 4℃에서 하룻밤 배양하였다. 다음날 항원액을 제거한 후, 세척액으로 3회 세척하고 blocking buffer(2% bovine serum albumin in PBS)를 150 μl 씩 분주한 다음 37℃에서 1시간 배양하였다.

희석한 가검혈청을 항원이 코팅된 microplate에 옮긴 다음 37℃에서 1시간 배양하였다. Washing buffer(PBS+Tween20)로 3회 세척하고 conjugate(anti-pig IgG peroxidase conjugated, SigmaA7042)를 넣어 37℃에서 1시간 배양하였다. 세척 후 substrate[O-phenylenediamine, 30% H_2O_2 , 0.1M phosphate citrate buffer(pH 5.0), 4N H_2SO_4]를 각 well에 100 μl 씩 분주하였다. 10분 후 stop solution(3M H_2SO_4)을 각 Well에 50 μl 씩 분주 후 492nm에서 OD치를 측정하였다. 이때 가검혈청 OD/음성 혈청OD ≥ 2.0 이상인 항체가를 유의성 있는 항체가로 판정하였다.

결 과

도축돈군(80~120Kg)의 혈청 3,500건으로부터 나타난 *M. hyopneumoniae*에 대한 항체가는 84.6%로 나타났다(Table 1). 도축장에 출하되는 돼지의 지역별 항체가 양성율은 각각 경기지역이 87.4%, 강원지역은 83.4%, 충남지역 89.2%, 그리고 충북지역은 77.6%로 나타났다(Table 2). 또, 계절에 따른 양성율 조사결과 여름(90.1%), 겨울(83.8%), 봄(78.6%), 가을(76.9%)의 순으로 높은 항체가를 나타냈다(Table 3).

Table 1. The Titer of antibodies against *M hyopneumoniae* in pigs sera

Area	No of samples	No of positive	No of pigs with ELISA titers							
			≤×20	×40	×80	×160	×320	×640	×1280	≥×1280
Kyonggi	1,000	874	35	21	70	56	155	425	171	67
Kangwuen	500	417	27	15	41	38	145	158	58	18
Chungnam	1,000	892	27	19	62	109	282	331	116	54
Chungbuk	1,000	776	45	30	149	178	241	252	73	32

Table 2. Presence of antibodies to *M hyopneumoniae* by ELISA in sera from slaughter-pigs

	Antibody titers								Total
	≤×20	×40	×80	×160	×320	×640	×1280	≥×1280	
Vol.	134	85	322	381	823	1,166	418	171	3,500
%	3.8	2.4	9.2	10.9	23.6	33.3	11.9	4.9	100

Table 3. Seasonal incidence of antibodies to of *M hyopneumoniae*

Season	Antibody titers								Total
	≤×20	×40	×80	×160	×320	×640	×1280	≥×1280	
Spring	27	10	71	40	71	201	57	27	504
Summer	19	41	89	200	485	507	101	58	1,500
Autumn	57	25	57	52	125	157	89	39	601
Winter	31	9	105	89	142	301	171	47	895
Total	134	85	322	381	823	1,166	418	171	3,500
%	3.8	2.4	9.2	10.9	23.6	33.3	11.9	4.9	100

고 찰

*M hyopneumoniae*에 의해 일어나는 돼지의 유행성 폐렴은 치사율은 낮지만 전염성이 극히 강하여 이환율이 높아 전세계적으로 만연되고 있으며 증체율, 사료효율 저하 등으로 양돈농가에 경제적 피해가 큰 질병이다¹³⁾.

우리나라에서는 1984년 김과 박²⁾의 조사결과 돼지 유행성 폐렴의 감염률은 28.0~55.6%으로 보고되었으며, 1981년 박 등⁶⁾은 도축돈에서 55.6%의 유행성 폐렴 감염률을 보고하였다. 박 등⁶⁾은 또 유행성 폐렴의 지역적 감염률에는 별 차이가 없어 유행성 폐렴이 전국적으로 만연되어 있음을 보고하였으며 1992년 권 등¹⁾은 ELISA 방법을 이용하여 도축돈에서 70.5%의

유행성 폐렴 양성율을 보고하였다. 본 실험에서는 양성율이 84.6%로 허 등⁵⁾이 보고한 전체 양성율 58.3%보다 높게 나타났으나, 연령별 양성율을 볼 때 25~30일령 이유자돈에서 21.5%, 60~70일령 육성돈이 41.3%, 140~160일령 도축돈에서 83.9%, 모돈에서는 82.6%의 양성율로 도축돈에서의 양성율은 거의 유사하였다.

도축장에 출하되는 지역별 항체가 양성율은 각각 경기지역 87.4%, 강원지역 83.4%, 충남지역 89.2%, 충북지역 77.6%로 지역별 항체가의 양성율이 비슷하여 박 등⁶⁾의 보고와 일치하였으나 지역별 양성율에서 차이를 보인 권 등¹⁾의 보고와는 차이를 나타내었다.

계절에 따른 항체가 양성율 조사결과 Edward 등¹⁾이 여름에 유행성 폐렴의 발현율이 높다고

하였던 바, 본 실험에서도 항체가 양성율이 여름, 겨울, 가을, 봄 순으로 높아서 위의 성적과 유사하였다. 그러나 1997년 이 등³⁾의 보고에 의한 가을, 겨울, 봄, 여름, 순의 항체가 양성율과는 상당한 차이를 보였다.

이상의 결과로 미루어 볼 때 *M hyopneumoniae*에 의한 유행성 폐렴은 최초로 보고된 이후 지속적으로 전국적으로 발생, 유행하고 있으며 이로 인한 경제적 손실도 적지 않으리라 생각된다. 본 실험결과 여름과 겨울에 발생율이 높아 유행성 폐렴의 발생율을 낮추기 위해서는 축사환경을 개선하는 데 중점을 두어야 하며, 효과적인 백신이 개발되어 있지 않은 국내여건을 미루어 볼 때, 본 병에 대한 항체조사 및 균 분리 후 약제감수성 시험을 통한 효과적인 치료약제 개발이 광범위하게 이루어져야 할 것으로 사료된다.

결 론

도축돈에 대한 돼지 유행성 폐렴 원인균(*M hyopneumoniae*)의 혈중 감염항체를 효소면역흡착시험법을 이용해서 조사한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 출하돈의 *M hyopneumoniae*에 대한 항체가 양성율은 총 3,500두 중 84.6%로 나타났다.
2. 도축장에 출하되는 돼지의 지역별 항체가 양성율은 각각 경기지역이 87.4%, 강원지역은 83.4%, 충남지역 89.2%, 그리고 충북지역은 77.6%로 나타났다.
3. 계절별 조사결과 양성율은 여름(90.1%), 겨울(83.8%), 봄(78.6%), 가을(76.9%)의 순으로 높은 항체가를 나타냈다.

참고문헌

1. 권준현, 조성근, 이종복 등. 1992. 도살장 및 양돈장의 돼지로부터 *Mycoplasma hyopneumoniae*의 분리 및 혈청학적 조사. 한국

- 마이코플라스마학회지 3(1) : 46~53.
2. 김봉환, 박응복. 1984. 우리나라에서 문제되는 돼지질병의 역학적 특성과 대책. 대한수의사회지 25(10) : 577~579.
3. 이정아, 김성국, 조옥숙 등. 1997. 돼지의 호흡기질병 감염상황 조사. 한가위지 20(1) : 27~36.
4. 박응복. 1984. 돼지호흡기전염병. 대한수의사회지 20(1) : 594~599.
5. 허 문, 김순재, 조성근 등. 1994. Immunoblotting에 의한 *Mycoplasma hyopneumoniae* 항원분석 및 돼지 마이코플라즈마 폐렴의 특이진단법 개발. 한국마이코플라스마학회지 5(1) : 21~39.
6. 박정문, 김종엽, 김동성 등. 1981. 유행성 폐렴 감염돈으로부터 *Mycoplasma hyopneumoniae* 분리. 농시보고(축산, 가위편) 23 : 109~114.
7. Ciprian A, Colmenares C, Lopez-Revilla R, et al. 1988. *Mycoplasma hyopneumoniae* increases the susceptibility of pigs to experimental *Pasteurella multocida* pneumonia. *Can J Vet Res* 52 : 434~438.
8. Chung UI, Lee KW, Kwon YB. 1965. Pathological studies on the virus pneumonia of pigs in Korea. *Res Rep Off Rur Dep Korea* 8 : 178~181.
9. So EMH, Penny MV. 1971. Enzootic pneumonia of pigs. The incidence of pneumonic lesions seen in an abattoir in new South Wales. *Aust Vet J* 47 : 477~480.
10. Smith IM, Hodges RT, Betts AO, et al. 1973. Experimental infection of gnotobiotic piglets with *Pasteurella septica* (serotype A) alone or with *Mycoplasma hyopneumoniae*. *J Comp Path* 83 : 307~321.
11. Caruso JP, Ross RF. 1990. Effects of *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Actinobacillus* (*Haemophilus*) *pleuropneumoniae* infections on alveolar macrophage functions

- in swine. *Am J Vet Res* 51(2) : 227~231.
12. Salvik MF, Switzer WP. 1981. Comparison of a microtitration complement-fixation test and a tube Latex agglutination test for diagnosis fo *Mycoplasma hyopneumoniae* swine pneumonia. *Am J Vet Res* 42(5) : 862~864.
13. Ross RF. 1992. *Disease of swine, 7ed.*. Iowa State University Press, Ames, Iowa : 537~543.
14. Kazama S, Yagihashi T, Seto K. 1989. Preparation of *Mycoplasma hyopneumoniae* antigen for the enzyme-linked immunosorbent assay. *Can J Vet Res* 53 : 176~181.