



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

박사학위논문

제주지역 소 요네병 청정화에
관한 연구

제주대학교 대학원

수의학과

강완철

2013년 7월

제주지역 소 요네병 청정화에 관한 연구

지도교수 이 두 식

강 완 철

이 논문을 수의학 박사학위 논문으로 제출함

2013년 7월

강 완 철 의 수의학 박사학위 논문을 인준함

심사위원장 손 원 근 (인)

위 원 윤 영 민 (인)

위 원 김 재 훈 (인)

위 원 조 길 재 (인)

위 원 이 두 식 (인)

제주대학교 대학원

2013년 7월

목 차

Abstract	iii
List of Tables	vi
List of Figures	x
제 1 장. 제주도 축산업의 현황과 외국의 소 요네병 근절 프 로그램	1
I. 제주도 축우산업의 현황과 전망	2
II. 제주지역 요네병의 발생 및 피해 상황	6
III. 외국의 소 요네병 근절 노력 및 연구배경	9
제 2 장. 소 요네병 진단법 비교	18
I. 서 론	19
II. 재료 및 방법	23
III. 결 과	29
IV. 고 찰	41

제 3 장. 제주지역 소 요네병 청정화 인증 프로그램 개발	44
I. 서 론.....	45
II. 재료 및 방법	47
III. 결 과.....	52
IV. 고 찰.....	67
 총 결 론	 71
 참고문헌	 74
 요 약	 86

Studies on Johne's Disease-Free Cattle Herds in Jeju

Wan-Choul Kang

(Supervised by professor Dusik Lee)

Department of Veterinary Medicine

Graduate School, Jeju National University, Jeju, Korea

Abstract

Mycobacterium avium subspecies *paratuberculosis* (*Map*) is a causative agent of Johne's disease (JD), a chronic progressive intestinal disease of cattle. Johne's disease is common in all countries with a significant impact on cattle industry. The control of JD is difficult for many reasons. First, the long subclinical phase of the disease often allows the infection to spread without occurrence of any clinical evidence of illness. Also, although a range of diagnostic tests is available, they are often not sensitive enough to detect infected animals in the subclinical phase of the disease.

This study introduced JD eradication program to assure and maintain farms disease free in Jeju cattle herds based on analysis of critical management points adopted in 6 model cattle farms.

1. Infection with *Map* was examined for serum samples collected from a

total of 554 cattle with chronic diarrhea in 310 farms by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) during 2010 to 2013. *Map* positive sera were 313 (56.5%), containing 10.5% from cattle younger than 2-year-old, 61.3% from between 2- and 4-year-old, 22.4% from between 5- and 7-year-old, and 5.8% from over 8-year-old cattle.

2. The results observed using several JD diagnostic tools were evaluated for their association with ELISA S/P ratio in 27 slaughter cattle positive for the disease. Cattle with higher ELISA S/P ratio had more reduced the average live weight and carcass weight. In IS900 PCR and acid fast staining (AFS) of ileum tissue, 15 (55.5%) and 16 samples (59.2%) were positive for *Map*, respectively. In both PCR and AFS, *Map* was detected in all 5 samples with over 200% of ELISA S/P ratio, while it was not in all 9 samples with below 150% of that. Different gross and histological finding were observed in the ileum samples according to ELISA S/P ratio. Ileum samples from all 5 cattle with over 200% of ELISA S/P ratio had been prominently thickened, indicating that they were much more corrugated in cattle with higher ELISA S/P ratio. Chronic enteritis lesions were found in 3 samples from cattle with between 100 and 149% of ELISA S/P ratio, while granulomatous enteritis was observed in 5 samples from cattle with over 200% of that. These findings indicate that the owners might be used to preplan for the culling and slaughtering of cattle in subclinical phase of JD based on the score of ELISA S/P ratio.

3. A total 6 *Map* were isolated from 14 fecal samples of JD positive cattle and were identified by IS900 PCR technique. Only 5 isolates possessed IS1311 insertion sequences, Cattle type (4 isolates) and Bison type (1 isolate) found in IS1311 PCR-REA using *Hinf*I restriction enzyme, and 1 isolate was nontypeable due to IS1311 PCR negative.

4. The prevalence of JD was examined using 915 cattle from 27 farms to select model farms for planning of JD eradication program in 2010. The JD

positive farms were 22 (81.5%), containing 106 (11.6%) cattle positive for the disease. Based on the prevalence of JD, breeding regions and scales of breeding cattle, 6 model farms were selected to adopt critical management points for JD eradication program. The critical management points were focused on control plans of JD positive animals, purchasing plans of animals, and management plans of calves, of community pastures and of livestock markets. Finally, the prevalence of JD was decreased during 3 times examination for JD every 10 to 12 months and each prevalence was 12.0%, 5.5%, and 2.1%.

5. This successful example of 6 model farms marked the beginning of widespread participation in JD eradication program. The prevalence of JD was 12.2% of cattle at 2010, the first testing year, however it was 3.2% at 2013, forth testing year. Numbers of voluntary farms participated in JD eradication program were also 25 in 2012 and 43 (75% point increased) in 2013 operated the program.

Therefore, the JD certification system obtained from this study provided an opportunity to minimize JD infecting cattle in Jeju.

Key words : Johne's disease certification program, Bovine Johne's disease, *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, Jeju

List of Tables

Chapter 1

Table 1-1. The number of breeding cattle and the sex ratio of Korean Native Cattle (Hanwoo) in Jeju
..... 2

Table 1-2. The sex ratio of Korean Native Cattle (Hanwoo) by age in Jeju
..... 3

Table 1-3. The classification of breeding scale on farms and breeding cattle
..... 4

Table 1-4. Reported Johne's disease outbreaks by year in Jeju and Korea from 2001 to 2009
..... 6

Table 1-5. Presumptive direct losses due to Johne's disease in Jeju cattle farms
..... 7

Chapter 2

Table 2-1. Oligonucleotide primer pairs for the detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*
..... 25

Table 2-2. Oligonucleotide primer pairs for <i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i> strain typing by IS1311 PCR	28
Table 2-3. Sero-prevalence of Johne's disease by ELISA method	29
Table 2-4. Sero-prevalence of Johne's disease according to the age of cattle	30
Table 2-5. The average live and carcass weight of slaughtered cattle according to ELISA S/P ratio	31
Table 2-6. The severity of gross corrugations in ileac mucosa according to ELISA S/P ratio	32
Table 2-7. The severity of histopathologic lesions in ileum according to ELISA S/P ratio	34
Table 2-8. Comparison of the results using antigen detection methods such as PCR and Acid-fast stain according to ELISA S/P ratio	36

Chapter 3

Table 3-1. Number of cattle and farms of new participants in the program	49
Table 3-2. The sero-positive rates of Johne's disease by ELISA in 2010	52
Table 3-3. The positive rate of Johne's disease according to breeding types of cattle	54
Table 3-4. Johne' disease status of farm participated in eradication program	54
Table 3-5. Critical management points for management of model animal farms	56
Table 3-6. Change of sero-positive rates of Johne's disease in 6 model farms which participated in eradication program	57
Table 3-7. Annual positive rates of <i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i> by region	58

Table 3-8. Age distribution of cattle positive for Johne's disease
..... 59

Table 3-9. Distribution of cattle farms according to sero-positive rates
for Johne' disease
..... 60

List of Figures

Chapter 1

Fig. 1-1. Outline of the thesis.
..... 17

Chapter 2

Fig. 2-1. Ileum of Johne's disease sero-positive slaughtered cattle showed severe thickening with serosal reticulation.
..... 33

Fig. 2-2. Histopathologic lesions of ileum in Johne's disease sero-positive slaughtered cattle (A-C, H & E stain; D, Ziehl-Neelsen staining).
..... 35

Fig. 2-3. Gel electrophoresis of IS900 PCR product from bovine ileum tissues of slaughtered cattle.
..... 37

Fig. 2-4. IS900 PCR amplicons for isolated bacteria from fecal samples.
..... 38

Fig. 2-5. Gel electrophoresis of IS1311 PCR product from 5 of 6 *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* isolates (Lanes 1-5).
..... 39

Fig. 2-6. Agarose gel electrophoresis analysis for IS1311 PCR product of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* digested with *Hinf*I restriction enzyme.

..... 40

Chapter 3

Fig. 3-1. Distribution of cattle farms according to sero-positive levels for Johne' disease.

..... 53

Fig. 3-2. Feedback for Johne's disease certification program in Jeju.

..... 66

제 1 장

제주도 축산업의 현황과 외국의 소 요네병 근절 프로그램

Current Status of Livestock Industry in Jeju
and Bovine Johne's Disease Eradication
Programs in Foreign Countries

I. 제주도 축우산업의 현황과 전망

제주도는 총면적이 1,826km²의 타원 모양의 화산섬으로서 섬의 중심에 한라산이 위치하고 해발 200-500m의 중산간 지역을 중심으로 면적의 약 25%가 목야지로 형성된 지역이다. 따뜻한 기후와 청정한 자연환경과 더불어 섬이라는 지리적 여건은 가축질병의 방역을 위한 천혜의 유리한 여건을 제공하고 있어 축산환경에 큰 장점이 된다.

제주지역의 축우 사육두수는 37,153두로 이중 81.1%인 30,154두가 한우이며 다음이 젓소(12.5%), 육우(6.3%)의 순으로 사육되고 있다(제주도, 2013). 한우에 있어 암소의 성비가 63.0%로 수소(37.0%)의 성비보다 1.7배 높고, 지역별 성비의 차이는 없었다(Table 1-1).

Table 1-1. The number of breeding cattle and the sex ratio of Korean Native Cattle (Hanwoo) in Jeju

Region	Cattle					Total
	Hanwoo (%)			Beef	Dairy	
	Female	Male	Subtotal			
Jeju-si	11,051 (63.8)	6,283 (36.2)	17,334 (100)	2,206	4,067	23,607
Seogwipo-si	7,947 (62.0)	4,873 (38.0)	12,820 (100)	130	596	13,546
Total	18,998 (63.0)	11,156 (37.0)	30,154 (100)	2,206	4,663	37,153

제주지역에서 사육중인 한우의 연령별 조사결과 2세 이하는 수소의 사육두수가 높았으나 2세 이상에서는 암소의 비율이 높았다(Table 1-2). 이 성비의 차는 2세 이상에서 비육 수소가 지속적으로 도축 출하되어 개체수가 감소하기 때문이며 암소의 경우 송아지 생산을 위한 번식 목적으로 사육되기 때문인 것으로 분석되었다.

Table 1-2. The sex ratio of Korean Native Cattle (Hanwoo) by age in Jeju

Region	Age (year) and sex						Total	
	<1		1-2		2<		F	M
	F	M	F	M	F	M		
Jeju-si	2,161	2,238	2,163	2,427	6,727	1,618	11,051	6,283
Seogwipo-si	1,855	2,049	1,320	1,686	4,772	1,138	7,947	4,873
Total	4,016	4,287	3,483	4,113	11,499	2,756	18,998	11,156
(%)	(48.3)	(51.6)	(45.8)	(54.1)	(80.6)	(19.3)	(63.0)	(37.0)

F; Female; M; Male

초식동물에 있어 초지 면적의 확보는 조사료 구입비를 줄이고 방목시기에는 다른 농업분야에 종사할 수 있는 여건이 마련되기 때문에 제주지역의 축산업의 경우 타 지역에 비해 소규모 목장의 비율이 높다(Table 1-3). 초지는 다년생 개량목초의 재배에 이용되는 토지 및 사료작물 재배지와 목도, 진입도로 등과 가축 분뇨처리시설, 운동장, 그늘막, 말 조련용 주로 및 말 조련용 수영장과 그 보조시설을 포함한 부대시설을 말한다(법제처, 2013). 전국의 초지 면적은 37,675ha로서 이중 제주지역은 17,144ha(45.5%)를 보유하고 있기 때문에 생산비를 절약하고 조사료 공급측면에서 축우산업의 발전 가능성은 매우 높다. 제주도의 소 사육목장은 1,104호의 37,153두가 사육되고 있다(제주도, 2013). 사육 규모에 따라 소규모 목장(Small farm), 준전업 목장(Semi-large farm), 전업형 목장(Large farm), 기업형(Enterprise farm) 목장의 4분류로 구분할 수 있다(Table 1-3).

전체 사육규모 중 30두 미만의 소규모 목장이 65.9%로 가장 많은 비율을 나타내고 있으나 이들 목장에 사육되는 두수는 23.5%(8,735두)에 불과하다. 이처럼 소규모 목장의 비율이 높은 것은 과수, 경종농업 등 1차산업을 병행하기 때문이다. 반면, 기업형 사육형태의 경우 목장수는 8.6%를 차지하고 있으나 사육두수는 50%(18,692두)를 상회하고 있다. 또한 전업형 이상의 사육 목장수는 20.5%, 사육

두수는 61.0%를 차지하고 있으며 소규모 목장과 준전업형 목장은 목장수와 사육 두수가 각각 79.5%와 39.0%를 나타내어 상반된 분포의 점유율 경향을 나타내었다.

Table 1-3. The classification of breeding scale on farms and breeding cattle

Item	Breeding scale (herds)				Total
	Small (<30)	Semi-large (30-49)	Large (50-99)	Enterprise (100<)	
No. of farm	728	150	131	95	1,104
(%)	(65.9)	(13.6)	(11.9)	(8.6)	(100)
No. of breeding cattle	8,735	5,741	3,985	18,692	37,153
(%)	(23.5)	(15.5)	(10.7)	(50.3)	(100)

제주도는 육지와 격리된 지리적인 이점을 활용하여 가축의 핵심 전염병에 대한 지역 청정화를 추진해왔으며, 그 대표적인 전염병이 돼지열병과 소 브루셀라병이다. 브루셀라병은 1955년 경기도지역의 수입 젖소에서 국내 최초로 확인된 이후 현재까지 전국적으로 문제가 되고 있으나 제주도는 자체 청정화사업을 통하여 2003년 이후부터 현재까지 소 브루셀라병 청정지역을 유지하고 있다. 제주지역의 브루셀라병 발생은 1958년 미국으로부터 제주 송당목장으로 수입된 소 288두 중에서 60두에서 확인된 것이 최초이다. 브루셀라병은 종모우의 정액을 공급한 목장과 공동목장 내의 자연종부에 의해 도내 여러 지역으로 확산되기 시작하였다. 정부는 매년 브루셀라병에 의한 농가피해가 증가되어 발생률 감소를 위해 1985년부터 체계적인 특별 검진사업을 수행하였다. 소 브루셀라병 근절을 위해 1985년부터 2003년까지 제주지역에 투자된 예산은 약 8,560백만 원으로 이중 양성개체의 살처분 보상금이 4,027백만 원이나 되었다. 이러한 방역활동을 통하여 제주지역에서는 2000년 11월 23일 마지막으로 브루셀라병이 확인된 이후 3년간 양성개체가 확인되지 않아 2003년에 최초 발생 46년 만에 브루셀라병 청정지

역으로 선포되었다(제주도, 2003). 소 브루셀라병 근절은 제주 자연의 청정화 이미지와 더불어 축산업의 브랜드 가치를 높이는 계기가 되었으며 발전 가능성이 높은 산업으로서 자리를 잡게 하였다. 그러나 제주지역은 이러한 축산업의 발전 가능성이 높음에도 불구하고 산업발전을 더디게 하는 요소들이 많다. 이러한 요소들 중 외적 요인들은 도외 반출에 따른 운송비 부담, 타 지방 가축전염병의 발생으로 개량된 우수품종 한우의 반입 규제, 고급육 생산을 위한 한우 개량의 한계 등의 요소들이며 내적인 요인으로서 목장의 질병발생 피해에 대한 인식부족과 이를 근절하기 위한 체계적인 제도의 결여, 그리고 농가의 자발적인 참여의지 부족 등이 있다. 따라서 목장주는 적극적이고 자발적인 참여로 체계화된 사양관리, 농장출입 관리, 수의사와 협력도, 목장주의 지속적인 검사의지, 가축의 이동과 양성축우의 관리와 처리대책 등 농장경영에서 축산물 생산까지 다양한 문제점을 극복할 수 있는 대책을 수립해야 한다. 제주지역은 섬이라는 특성상 한정된 지역 내에서 한우가 거래되고 있어 일부 가축전염병, 특히 만성 질병의 경우 지역적 토착화의 우려가 있다. 그 대표적인 질병이 만성적인 설사병을 일으키며 경제적 피해를 일으키는 소 요네병으로서, 긴 잠복기를 가지는 특성과 균 배양의 어려움, 다양한 임상증상 발현시기 등으로 인해 제주 축우산업의 발전을 저해하는 고질적인 질병문제로 부각되고 있다.

II. 제주지역 요네병의 발생 및 피해 상황

제주지역의 공수의 제도는 읍면동에 배치된 수의사가 질병이 의심될 경우 검사의뢰, 농가 방역활동 등을 수행하는 제도이다. 그리고 생산자 단체의 수의사는 현장에서 관찰되는 질병을 모니터하고 많은 건수의 시료를 채취하여 질병검사를 의뢰하고 있다. 국가동물방역시스템상에 등록된 전국 요네병(Johne' disease; Paratuberculosis) 발생현황을 분석한 결과 요네병은 매년 발생되고 있다. 특히 제주지역은 2007년부터 보고되는 건수와 개체수가 크게 증가되었고, 2008년도에는 전국 발생건수의 50% 이상을 차지할 정도로 만연되면서 축우산업에서 문제시 되는 질병으로 인식되기 시작하였다(Table 1-4).

Table 1-4. Reported Johne's disease outbreaks by year in Jeju and Korea from 2001 to 2009

Item	Year									
	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	
Jeju	No. of cases	1	1	6	2	7	2	17	36	52
	No. of animals	2	7	16	5	10	4	21	53	98
The whole country	No. of cases	1	6	10	28	30	20	26	48	111
	No. of animals	2	45	39	73	69	122	53	93	277

요네병은 제주지역을 포함하여 타 시도에서도 꾸준히 발생건수가 증가되고 있다. 그 이유는 발생 목장의 사육 여건이 다두 밀집 사육되고 환축에 대한 별도의 격리시설이 부족하여 목장 내 질병순환이 용이하기 때문이다. 특히, 제주지역의 경우 양성 개체 검색비율이 타 지역보다 높은 것은 행정에서 요네병 감염축우에

대한 도태 보상비 지원으로 검사의뢰 시료가 증가되었기 때문으로 생각된다. 또한 잠복감염 상태의 개체가 농장 내에 전염원으로 작용하고 질병에 대한 검사없이 무분별하게 가축을 구입하면서 질병이 확산되고 있다. 이러한 소 요네병 발생 건수의 증가는 축산농가의 직접 또는 간접 손실액이 증가되고 있음을 시사한다. 송 등(2006)에 따르면 요네병에 의한 젓소농가의 피해액은 2006년 9월 기준으로 가축 사육두수를 46만 8천두, 질병 발생률 15%, 질병 유병률 및 피해 발생 정도를 각각 50%로 가정하고 단위당 손실액이 2.5백만 원/두로 설정하여 피해액을 산정한 결과 요네병에 의한 전체 젓소 농가의 직접 피해액은 연간 약 43,900백만 원에 이르는 것으로 보고하였다.

제주지역에서 요네병에 의한 직접 피해액은 송 등(2006)이 제시하고 있는 가축 질병 경제성 영향분석을 응용하여 산출하였다. 파라미터 값은 2012년도 가축 사육두수 33,000두로 가정하고 질병 발생률 11.6%(2010년도), 질병 유병률과 피해 발생 수준을 각각 50%, 단위당 손실액은 평균 한우가격 374만 원(2012년 말 기준, 한국농촌경제연구원 축산물 관측정보)을 적용하여 계측하였다.

계측 결과, 제주지역의 소 요네병에 의한 직접 피해액은 연간 약 3,579백만 원에 달하는 것으로 분석되었다. 그러나 2010년 기준인 요네병 발생률을 6.6% 감소시켜 5.0%로 가정하였을 때, 제주지역의 요네병에 의한 직접 피해액은 연간 1,543백만 원으로서 약 2,036백만 원이 절감되는 것으로 예측되었다(Table 1-5).

Table 1-5. Presumptive direct losses due to Johne's disease in Jeju cattle farms

Parameter	Unit	Reference	If 5% incidence
Herds	EA	33,000	33,000
Incidence	%	11.6	5.0
Prevalence	%	50	50
Attack rate	%	50	50
Annual Loss estimate	₩	3,740,000	3,740,000
Direct damages	₩	3,579,180,000	1,543,000,000

이처럼 소 요네병에 의한 피해예측 결과에서 알 수 있듯이 제주도의 축우산업은 요네병을 근절 또는 최소화 대책 수립이 시급한 실정이며, 만성적이고 고질적인 질병의 특성상 축산농가의 요네병 관리에 대한 체계적인 방안이 요구되고 있다. 따라서 제주지역에서 요네병을 청정화하기 위한 전략을 수립하기 위하여 먼저 주요 축산 선진국에서 추진하고 있는 요네병 근절 대책과 구체적인 수행전략을 고찰하였다.

Ⅲ. 외국의 요네병 근절 노력 및 연구배경

소 요네병은 독일의 과학자인 Johne와 Frothingham에 의해 처음 보고(Johne와 Frothingham, 1895)되었으며 1910년에는 *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map, 요네균)를 배양하여 실험적으로 소에게 감염시키는 데 성공하였다(Twort와 Ingram, 1992). 현재 이 질병은 거의 전 세계적으로 발생하고 있다(OIE, 2000). 우리나라의 경우 이 등(1982)이 수입된 소에서 요네병과 유사한 증상이 관찰되었음을 보고하여 요네병의 국내 유입 가능성을 처음으로 시사하였다. 전 등(1984)은 요네병으로 의심되는 소의 변에서 요네균을 분리 동정함으로써 요네병 발생을 처음으로 확진하였고 국내에서도 많은 연구자들의 관심의 대상이 되고 있다. 주요 축산 선진국들의 경우 요네병에 대한 근절정책의 대책과 질병 피해의 최소화 방안에 관한 연구가 오래전부터 진행되어 왔다. 그러나 요네병의 가장 큰 특징 중의 하나인 오랜 잠복기와 잠복기 이후에도 불현성 혹은 준임상형 감염상태가 지속되면서 경제적 피해를 유발하고 감염 초기에 요네병 진단이 어려운 문제점으로 인해 스웨덴을 제외하면 근절에 성공한 나라는 없는 실정이다(Groenendaal 등, 2003). 따라서 이 연구에서는 먼저 네덜란드, 호주, 미국의 요네병 근절 프로그램을 문헌적으로 분석하여 제주지역 소 요네병 근절 정책 수립에 활용하고자 하였다.

1. 네덜란드(Netherlands)

Benedictus 등(2000)에 따르면 네덜란드의 경우 젓소의 요네병 감염률은 6%이며, 농장 감염률은 44%로 양성 목장 중 70%는 1두 혹은 2두만이 혈청학적으로 양성이었다고 보고하였다. 네덜란드에서 요네병 예방대책의 초기 프로그램은 피내검사와 분변검사를 이용한 검사 및 도태에 초점을 맞추어 1922년부터 시작되었다. 체계적인 요네병 대책 프로그램은 1942년 138개 목장을 대상으로 시작되었으며 1952년부터 임상적 의심우에 대한 보상이 이루어졌고, 요네병의 정확한 진

단을 위해 1954년부터 보체결합반응법을 사용하였다. 그러나 그동안 추진해 온 대책은 요네병 근절에 있어 불충분하다고 판단되어 1979년에 요닌 피내반응법을 4-18개월의 소에 연간 2회 검사하는 등 더욱 많은 노력을 기울였다. 9년간의 노력에도 불구하고 근절이 계속 실패(115개 목장 중 단 2곳만 성공)하자 송아지 사균백신을 1983년에 실시하였고 예방접종의 결과 요네병 임상증상으로 발현되는 개체수를 감소시키는 데 성공하였다. 이는 살처분 방법과 비교하면 훨씬 경제적이었다(Franken, 2002).

네덜란드는 1997년 요네병의 박멸 계획을 새롭게 개발하였고, 이 프로그램은 1998년 7월부터 자발적 참여목장에 한하여 본격적으로 시작되었다. 이 프로그램의 목적은 요네균에 노출될 수 있는 소비자의 위험도 감소와 요네균에 의한 경제적 손실을 최소화하는 데 있으며 네덜란드의 반추동물 목장으로부터 요네균을 박멸하기 위한 것이었다. 이를 위하여 임상증상 발현 개체를 조기에 진단하고 도태함으로써 사람에게 노출되는 위험도를 감소시켰으며, 감염목장과 감염되지 않은 목장을 조사하여 감염 목장은 요네균 박멸을 위해 프로그램을 꾸준히 적용하였으며 요네병이 없는 목장은 청정한 상태의 목장유지를 위해 노력하였다(Franken, 2002).

이 프로그램은 도태대상, 착유우 선발, 사양관리 및 송아지 포유와 관련된 9개의 중점관리요소를 설정하였다. 즉 요네병 임상 증상 개체의 즉각적 도태와 임상 증상이 있는 모축의 송아지 모두 도태, 감염목장은 착유용 대체우로 송아지를 사육하지 말아야 한다. 요네병이 없거나 감염이 없다고 판단되는 목장에서 12개월 이상 된 소를 구입하여야 하며, 임신된 개체는 별도의 깨끗하고 건조한 장소에서 분만(송아지 박스이용)하고 분만 즉시 송아지는 모축과 분리시키도록 하였다. 송아지는 첫 6개월 간(가능하면 1년간) 성축과 별도의 장소에서 사육되게 하고, 최적의 위생적인 관리를 하도록 하였다. 특히, 농장 내부에서 성축의 분변과 접촉된 기구 등은 송아지와 다시 접촉되지 않도록 하였다. 송아지 초유는 모축의 초유 혹은 요네병이 의심되지 않은 개체의 초유만을 먹이도록 하였고, 송아지는 생유대신에 분유를 먹여야 한다는 원칙을 적용하였다(Muskens 등, 2000; Nielsen, 2008).

이 프로그램의 차별화된 방역대책은 목장의 요네병 방역수준을 평가하여 10

단계의 등급으로 목장을 분류하여 적용하였다. 즉, 1-4 등급은 감염된 목장과 송아지 이력이 불분명한 목장의 수준을 평가하고 요네병 음성 목장화로 추진하려는 축주 의지정도에 따라 분류되었다. 이들 농가는 재순환 감염의 원인을 찾기 위한 관리법을 채택하고 요네균 배설 축우를 도태하기 위한 축주의 의지에 초점을 두었으며 이 등급에 해당되는 농가는 예방접종을 실시하였다. 5 등급은 축주가 요네병 청정화를 선언한 목장, 6 등급은 3세 이상의 모든 소가 ELISA 검사에서 음성인 목장, 7 등급은 2세 이상의 모든 소가 분변검사(5두 혼합)에서 음성인 목장, 그리고 8, 9 및 10 등급은 7 등급 획득 이후 2년, 3년 및 4년간 검사에서 음성인 목장을 대상으로 하며, 자격 6 등급과 10 등급 사이는 최소 4년의 기간을 두었으며 10 등급의 자격을 부여받은 목장은 매년 재검사를 실시하여 청정화 유지 여부를 지속적으로 확인하고 있다(Groenendaal 등, 2003).

2. 호주(Victoria)

호주의 요네병 근절대책은 Victoria 지역에서 가장 활발하게 진행되어 왔기 때문에 이 지역의 근절 추진상황을 중심으로 조사하였다. 호주는 브루셀라병과 결핵병과 같은 질병의 근절과 박멸을 성공한 국가로서 우리나라의 요네병 근절 프로그램을 수립하는 데 있어 국가적 표준이 될 수 있다. 호주의 Victoria 지역은 호주 전체 젖소의 약 절반을 차지할 정도로 큰 규모이기 때문에 가장 오래 전부터 소 요네병 근절사업을 추진하여 왔다. 이 지역은 젖소목장 당 평균 사육두수가 160여 두이며, 8,500개의 목장에서 약 130만 두가 사육되고 있다(Wraight 등, 2000).

호주 낙농산업에서 요네병에 의한 직접적 손실액은 3,820,000 호주달러(AUS\$)로 측정하고 그 중에서 임상증상을 보이는 환축과 준임상 증상을 보이는 환축의 생산을 감소로 인한 손실은 각각 690,000 AUS\$와 2,040,000 AUS\$로 측정된다고 보고되었다(Milner와 Wood, 1989). 공식적으로 약 15.5%의 목장이 요네병을 가지고 있으나 비공식적으로는 50%이상에서 목장이 요네병에 영향을 받고 있는 것으로 평가하였다(Kennedy와 Allworth, 2000). 검사와 근절 프로그램(Test and

Control Program [TCP])은 1996년부터 시작되었고 약 600개 목장에서 이 프로그램에 참가해 오고 있으며 매년 200만 AU\$S의 예산이 소요되고 있다.

이 프로그램의 목적은 목장 내에서와 목장 간 요네병의 전파를 억제하며, 참여 목장은 감염 동물의 수를 감소시켜 낮은 수준의 요네병 감염목장을 유지하는 것이다. TCP의 핵심적인 검사법은 약 50%의 민감도와 99.8%의 특이도를 나타내는 흡수 ELISA법이다. 모든 참여 목장은 과거에 요네 병력이 있거나 의심되는 목장들이며 목장 내의 가축에 대한 검사와 도태 프로그램 및 근절 대책은 *Mycobacterium paratuberculosis*에 송아지가 노출되는 위험도를 최소화하는 데 있었다(Jubb 와 Galvin, 2004).

호주의 요네병 근절을 위한 중점관리요소는 네덜란드보다 더욱 엄격하게 관리되었다. 깨끗한 방목장에서 분만에서 이유까지 송아지가 사육되도록 하고 분만 후 12시간 이내에 모축에서 송아지 분리하여 사육되었다. 성축의 분변이나 낙농장에서 나온 유출물들은 송아지나 송아지를 사육할 장소와 유입 또는 접촉되지 않도록 하였다. 성축은 송아지가 방목될 장소에 방목되거나 들어가지 못하도록 관리하였다. 일반적인 진입로와 우유 수집차가 다니는 도로는 송아지 사육장소로부터 이중으로 울타리를 설치하며 대체우 혹은 소 요네병에 음성이라고 인정되는 소에서 생산된 우유를 공급하였다. 음용수는 깨끗한 탱크의 물이나 흐르는 물만을 주었으며 송아지 사육장을 들어갈 때에는 반드시 분변이 묻지 않은 장화, 작업복 등의 장비를 사용하였다. 또한, 분만되었거나 구입한 송아지의 기록은 정확하게 남기도록 하고 있다(Whittington과 Sergeant, 2001).

이유에서 12개월까지 반드시 송아지는 적어도 12개월간 성축이 방목되지 않는 곳에서 방목을 해야 하며 방목지는 배수가 잘되고 착유장과 떨어져 있으며 착유장 유출물과 접촉되지 않는 장소이어야 한다. 또한 송아지는 성우가 사용했던 울타리 내에 사육되지 않게 관리하고 송아지를 위탁 사육하는 목장은 원 목장과 동일한 송아지 사육기준을 적용하여 요네병 오염에 대한 잠재적인 위험성을 최대한 없도록 하였다(Ridge 등, 2010).

3. 미국

Ott 등(1999)은 미국에서 요네병에 의한 손실을 USDA (The United States Department of Agriculture)의 National Animal Health Monitoring System에 의해 분석한 결과, 요네병 양성 목장은 음성 목장에 비해 소 한 두당 약 100 미국 달러(US\$)의 경제적 손실이 있다고 보고하였다. 이러한 손실은 산유량의 감소와 대체우의 구입비용 증가에 따른 것이다. 양성 목장에서 도태된 소 중 적어도 10% 이상이 JD로 인한 임상증상을 나타내었고 두당 200 US\$ 이상의 높은 손실과 유병률을 보인 농가는 두당 700kg 이상의 유량이 감소되었다. 그리고 JD 음성 목장에 비해 훨씬 높은 폐사율을 보였으며 결과적으로 JD에 의한 생산을 저하로 미국 낙농산업은 소 한 두당 22-27 US\$ 즉, 연간 200-250백만 US\$의 손실을 본다고 추정하였다.

미국 미시건 주의 경우 집단 크기, 도태율, 평균체중의 감소는 요네병의 유병률이 10% 증가할 때마다 연간 약 1,150 US\$의 손실을 일으키며 지육량의 감소와 대체우의 구입비용을 고려할 때, 요네병에 의한 치사율의 증가로 인한 손실액은 약 1,607-4,400 US\$이라고 보고되었다(Johnson-Ifeorlundu와 Kaneene, 1999). 1999년 미국 동물위생협회(USAHA; United States Animal Health Association)의 요네병 위원회는 주(State) 단위의 분과 위원회가 활성화되어 27개 주가 요네병 관련 위원회를 두고 있으며, 이중 17개 주는 자발적 요네병 목장 인증 프로그램(VJDHSP; The Voluntary Johne's Disease Herd Status Program)을 이행하고 있고, 10개 주는 요네병 프로그램에 대한 예산을 배정하고 있다(Kovich 등, 2006). 각 주에서 시행하고 있는 프로그램은 다음의 최소한의 요구 조건을 제시하고 있다. i) 소 요네병 목장 인증 프로그램을 시작하기 전에 축산업자와 수의사를 위하여 이해가 쉽고 흥미로운 교육 프로그램을 수립한다. ii) 프로그램 개발, 수행 및 문헌조사를 지원할 요네병 자문 위원회를 구성한다. iii) 각 주의 실험실은 요네병을 검사할 수 있는 능력이 되어야 한다. iv) 매년 요네병 진단능력을 갖추도록 정도검사를 실시하며 이는 중앙 수의과학 연구 실험실에 의해 수행된다. v) 요네병 감염목장의 축주가 발생률을 줄이고자 하거나

목장에서 요네병 박멸을 희망할 경우 지원한다. 즉, 축주가 목장의 요네병 최소화
 화를 희망할 경우 위해도 평가, 적절한 경영관리의 변경 및 검사를 포함하는 일
 련의 계획서를 각 개인 목장에 맞도록 컨설팅 작업을 지원한다. vi) 모든 검사용
 시료는 공수의사 혹은 주 정부나 중앙정부의 동물 위생 공무원의 감독 하에서,
 아니면 이들이 직접 채취하여야 한다. vii) 사용되는 특수 검사를 위해 국립수의
 과학 실험실이 인증하는 실험실들에 의해 수행되기를 장려한다. viii) 요네병은 주
 정부산하의 수의 관련기관에 보고되도록 한다. 요네병 검사를 수행한 실험실에서
 검사기록서 및 결과서의 사본을 검사가 끝난 후 10일 이내에 보내야 한다. ix)
 주 정부 수의사, 목장 수의사 및 목장주에 대해 검사기록에 대한 접근을 적절히
 제한할 필요가 있다. 검사 기록과 결과에 대한 비밀유지는 요네병 프로그램을 성
 공하기 위한 필수 조건이다. x) 요네병에 대한 예방접종은 주 정부 수의기관의
 동의를 얻어 수행될 수 있다.

실행 프로그램 중 뉴욕 주에서 실행하는 3 등급화 프로그램을 요약하였다. 참
 여 목장(participating herds)은 요네병 감염 여부를 모르는 목장, 대책수립 목장
 (control herds)은 요네병에 감염 여부를 알고 있는 목장, 인증 프로그램 목장
 (status program herds)은 요네병에 음성이고 요네병이 목장 내에서 전파되거나
 목장내로 유입되는 위험도를 최소화하려고 경영관리 전략을 수행하고 있는 목장
 이다. 참여 목장이 요네병 검사를 받을 필요는 없지만, 결과적으로 요네병을 진
 단받을 수 있도록 장려해야 한다. 대책 수립목장은 요네병에 대한 진단검사를 받
 아 왔고 감염이 확인된 목장이거나, 개별목장 관리/대책 계획을 수행하고 있는
 목장이다(Sockett, 1996; Wells 등, 1999). 인증 프로그램 목장은 요네병에 음성인
 목장, 소에 대한 VJDHSP에 참여할 요구조건이 부합하는 목장, VJDHSP의 요구
 조건에 등록되었고 동의한 목장이다. 이와 같은 목장은 이 프로그램에 계속 참여
 할 수 있도록 인센티브를 부여하여야 하며 일반인에게도 목장 인증과 관련된 정
 보를 제공할 필요가 있다(Garry, 2011).

4. 외국 사례에서의 시사점

네덜란드의 경우 체계적인 관리 프로그램과 목장의 등급을 설정하여 요네병 근절을 추진하였다. 많은 시행착오로 요네균의 재감염에 대한 원인을 분석하고 검사법과 농장관리의 세부적인 사항에 대한 설정 등 근절 프로그램의 적용은 시사하는 바가 크다. 분변배양 만으로 모든 감염우 혹은 감염을 완벽하게 진단할 수 없으며 과거 IBR 예방프로그램에서 IBR 백신이 BVD에 오염된 적이 있어 백신에 대한 신뢰성이 부족한 문제를 안고 있다(Franken, 2002). 요네병이 없다고 믿었던 목장에 대해 5년 후 다시 검사했을 때 다시 양성개체가 재검출되는 문제가 있다. 이러한 이유로 강제적으로 모든 목장이 요네병 프로그램에 참여하도록 할 수 없는 상황을 지적하고 있다.

호주의 경우 비교적 성공적으로 요네병 근절사업을 이루고 있다. 요네병의 유입을 차단하는 것은 목장의 bio-security와 quality assurance program의 부분이어야 하며, 육우와 낙농 모두에서 요네병의 실제 감염률은 불명확한 상태로 남아 있지만 경험을 가진 수의사들에 의하면 공식적인 보고에서보다 훨씬 광범위한 것으로 간주해야 한다. 모든 목장 즉, 요네병의 감염이 확인되지 않았거나 이미 요네병을 가지고 있는 목장에서도 송아지 관리 방법을 실행하는 것이 요네병의 전파를 막거나 최대한 느리게 하는 유일한 방법으로 제시하고 있다(Jubb 와 Galvin, 2004).

미국의 경우 중앙정부 차원에서의 기본적인 프로그램과 함께 주단위의 VJDHSP에 의해 자발적인 참여목장의 수는 증가되고 있으며 아직까지는 근절 정책의 초기과정이지만 이 프로그램을 운영하는 주정부는 물론 참여하는 목장의 수가 점차 증가하고 있는 실정이다. 그러나 한국의 경우 브루셀라병, 결핵, 구제역 등 주요 질병의 근절이 우선시 되고 있기 때문에 국가 차원에서 요네병 근절에 큰 관심을 보이지 않는 상황이다. 그럼에도 불구하고 축산 선진국의 요네병 근절 정책의 노력은 향후 증가하는 축산물의 국제적인 교역에서 있어 통상무역의 문제로서 유발될 가능성을 배제할 수 없다. 따라서 외국의 사례에서 시사하는 바처럼 자발적인 참여목장을 중심으로 한 지역적 또는 목장 단위별로 적합한 요

네병 최소화를 위한 프로그램 개발과 정책이 빠른 시일 내에 마련될 필요가 있다.

5. 연구배경

이와 같이 세계 주요 국가는 요네병에 의한 피해를 최소화하기 위해 다각도의 노력을 기울이고 있다. 따라서 제주도의 축산업의 발전과 선진화를 위하여 농가와 생산자 단체 그리고 행정과 함께 증가하는 요네병의 발생을 최소화해 나가기 위한 특별한 정책이 요구되고 있는 시점이다. 농가는 자발적인 검색 사업을 정기적으로 추진하여 양성개체에 대한 확고한 처리 의지가 필요하다. 아울러 정부에서도 요네병에 대한 적극적인 정책 발굴과 최소화 방안이 마련되어야 한다. 송아지를 구입할 경우 모축의 질병검사 없이 송아지를 구입하거나 번식우를 무분별하게 입식하는 것에 대한 농가의 방역의식 전환이 반드시 요구된다. 생산자 단체는 개체의 이력을 관리함에 있어 목장 간 이동에 대한 상호 질병 검색 내력을 홍보하여야 한다. 이러한 노력으로 구입자 또는 구매자의 향후 질병발생으로 인한 2차적인 분쟁을 미연에 방지해야 한다. 정부는 요네병 근절에 대한 관심을 가지고 정책과 예산반영 등 매년 적극적으로 목장의 검색 사업을 지원하여야 한다. 요네병 양성축 보상에 따른 농가 피해 최소화나 요네병 검사는 축산사업 추진에 있어 의무적인 검색질병으로 관리되어야 한다. 아울러 축산농가 지원사업의 경우 지금부터라도 요네병 검색사업에 참여하는 농가에 한하여 지원하는 시스템을 명문화하고 시행할 때 요네병 근절 및 최소화 방안의 효과가 배가 될 것이다.

따라서 이 연구에서는 Fig. 1과 같은 구성으로 제주지역의 소 요네병 청정화를 위하여 제주도 내 축우에서 요네병의 감염률을 조사하고 시범목장의 중점관리기준을 토대로 제주지역에 적합한 소 요네병 인증 프로그램을 마련하고자 하였다.

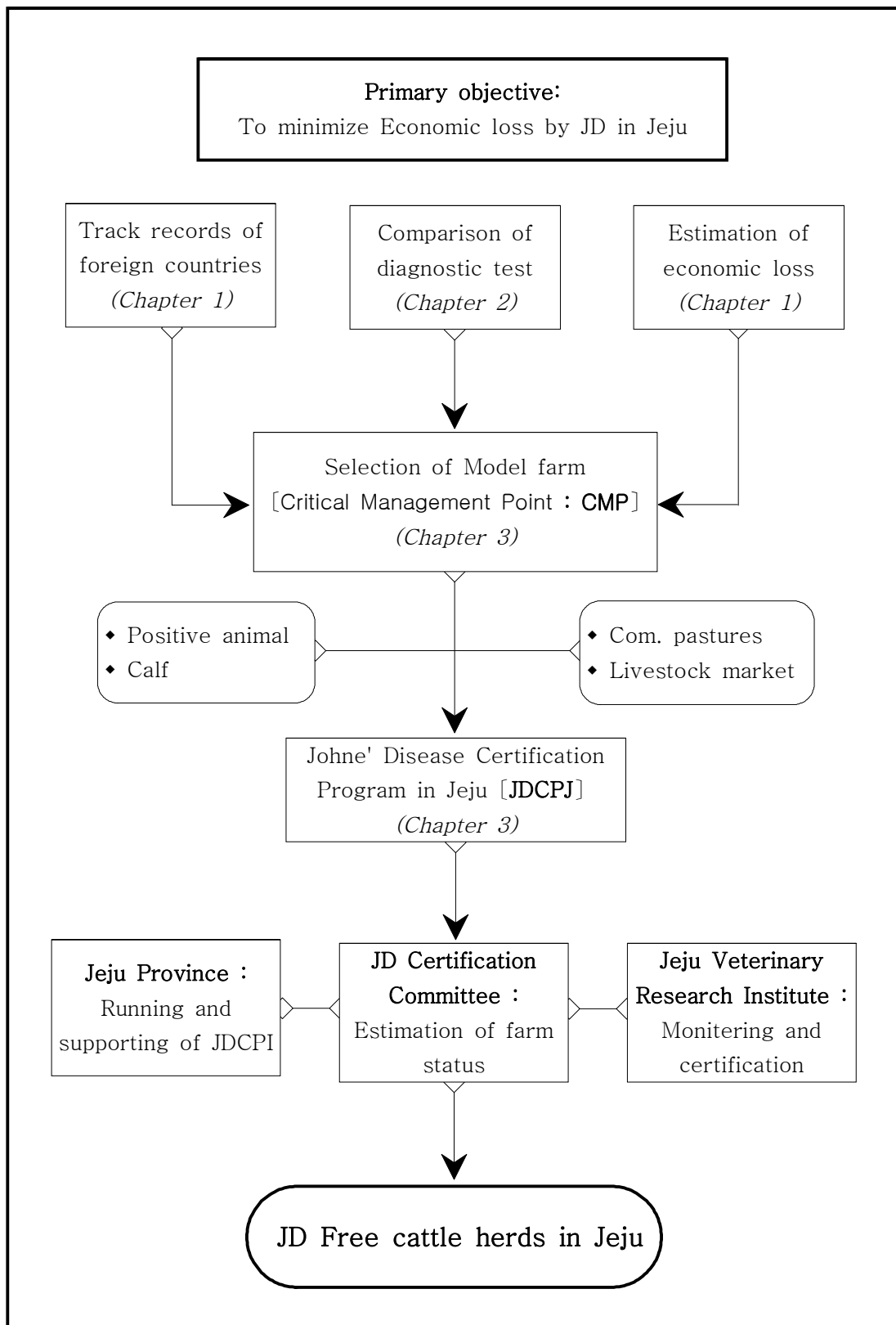


Fig. 1-1. Outline of the thesis.

제 2 장

소 요 네 병 진단법 비교

Comparison of Diagnostic Methods
for Johne's Disease

I. 서 론

요네병은 소, 양, 산양, 사슴 등 대부분의 반추동물에서 발생하는 만성 소모성 전염병으로 우유 생산의 현저한 감소는 물론 수태율 저하, 고질적 유방염 등에 따른 조기 도태로 축산업에 막대한 경제적 손실을 초래하는 질병이다(Braun 등, 1990; Buergelt와 Duncan, 1978; Markal, 1984). 소에서 요네병은 대부분 2-3세 연령의 암소, 특히 처음 또는 두 번째 수유기 초기 많은 스트레스로 인하여 항병력이 떨어지는 시기에 설사 증상과 함께 발생되기 때문에 큰 경제적 손실을 주는 질병으로 간주되고 있다(Timoney 등, 1988). 요네균은 감염 동물의 생체 내에서 느리게 증식할 뿐만 아니라 실험실에서의 배양도 까다롭기 때문에 요네병의 진단에는 많은 어려움이 있는 실정이다. 이 균체는 감염된 동물의 분변을 비롯하여 장, 장간막 림프절, 간, 유즙, 오줌, 정액, 자궁 및 태아를 포함한 체액에서 분리할 수 있다(Chiodini 등, 1984). 주로 균체에 오염된 모유 또는 분변 등을 통하여 경구 감염되며, 감염 후 6개월에서 3년에 걸쳐 잠복기를 거친다. 이 기간 동안 감염된 세균의 대부분은 위장관 및 장간막 림프절의 큰포식세포에 존재한다(Murray와 Smith, 1996).

요네병은 소화기 중 주로 파이어판(Peyer's patches)이 발달한 회장에 특징적인 병변을 형성한다(Van Kruiningen, 1992). 질병 말기에는 육안적으로 십이지장에서 직장까지 거의 전체 장벽이 비후되어 주름지며, 점막면에는 두꺼운 추벽을 형성하여 겹겹이 부풀어 오르는 병변을 형성한다. 병리조직학적 소견으로는 장점막 및 점막하직에 다량의 유상피세포가 침윤하는 육아종성 장염 병변을 나타내고, 침윤된 유상피세포 또는 다핵거대세포의 세포질에서 무수히 증식된 항산성 세균 집락을 확인할 수 있다(Chiodini 등, 1984; Van Kruiningen 등, 1986).

요네균을 분리하기 위하여 가장 많이 사용되는 배지는 Herrold's egg yolk 배지로서 amphotericin B, nalidixic acid, polymyxin B, trimethoprim/sulfamethoxazole 등의 항생제가 첨가된다. 또한 균체 스스로 mycobactin을 생성하지 못하기 때문에 mycobactin J를 성장인자로 첨가하여 준다. 균체 분리를 위해서는 분변이나 장 시료 내에 있는 오염균을 hexadecylpyridinium chloride

(HPC)로 전 처리하여 억제시킨 다음 시료를 배지에 접종한다(Dundee 등, 2001; Timoney 등, 1988). 그러나 이 과정에서 HPC 처리로 인하여 요네균체도 10^3 CFU 정도 감소할 수 있으며(Reddacliff 등, 2003), 전처리를 하여도 분변의 약 7%와 조직의 0.2% 정도는 오염 상태가 개선되지 않을 수 있다(Whittington, 2009). 요네균의 최소 균수가 분변 내에 100 CFU/g 정도 존재하고 있을 때 실험실적 배양을 통한 균체의 분리가 가능한 것으로 알려져 있다(Markal, 1970). 임상형 요네병 감염우의 경우에는 100 CFU/g 이상의 균체를 분변으로 배출하지만 이 보다 적은 양의 균을 배설하는 개체에서는 단지 15-25%의 시료에서만 요네균을 검출할 수 있다(Whitlock과 Buergelt, 1996). 외국의 보고에 따르면 임상형 단계 시료에서 균체의 배양 성공 가능성은 91%에 달하지만, 준임상형의 경우에는 45-72%로 성공률이 낮아지게 된다. 게다가 균체의 인공적인 배양에는 많은 시간과 경제적 비용이 소요된다(Alinovi 등, 2009; Crossley 등, 2005).

최근에는 요네균의 유전자를 검출하기 위한 진단법으로 PCR 기법이 많이 활용되고 있으며, 특히 요네균체의 속을 동정하기 위하여 IS900 삽입유전자를 검출 대상으로 하는 PCR 기법도 개발되었다. IS900 삽입유전자는 크기가 1,451 bp로서 요네균체 유전체 속에 15내지 20개의 copy를 가지고 있다(Collins 등, 1989; Li 등, 2005). 또한 IS900 유전자를 제한효소(IS900-RFLP)로 처리하면 3가지 유전자형으로 세분되는데 이들을 각각 Bovine type, Sheep type, Intermediate type으로 명명하였다(Mundo, 2005). 그러나 일부 연구자들은 IS900과 유사한 유전자가 다른 세균에도 존재하고 있기 때문에 f57, ISMav2, ISO2, ISO4 및 IS1311 유전자를 검출하여 요네균체의 유전체 동정에 활용하기도 하였다(Li 등, 2005; Paustian 등, 2010; Stanchi, 2007). IS900-RFLP 실험의 경우 양질의 많은 양의 DNA를 필요로 하는 단점이 있기 때문에 이를 극복하기 위한 방안으로 IS1311 유전자를 제한효소로 처리하는 IS1311-REA 기법이 개발되어 요네균의 유전자형 구분에 활용되고 있다. 이 방법은 기존 방법보다 간편하고 빠르게 Cattle type, Sheep type 및 Bison type으로 요네균을 분류할 수 있는 장점을 가지고 있다(Kaur 등, 2011). 그럼에도 불구하고 PCR 기법은 분변이나 조직 시료에서 직접 수행할 경우 위음성이나 위양성의 결과를 초래할 가능성이 있기 때문에 반드시 시험 마다 요네균이 첨가되거나 첨가되지 않은 양성 및 음성 대조균을 배치

할 필요성이 있다(Alinovi 등, 2009; Enosawa 등, 2003; Moravkova 등, 2008).

요네병은 잠복기가 길고 임상증상 발현시기가 개체별로 매우 다양하기 때문에 임상형보다 준임상형에 의한 농가 피해가 큰 편이다. 따라서 임상형으로 이행되기 전의 준임상형 개체를 색출하기 위한 진단이 매우 중요하며, 최근까지 다양한 혈청학적 검사법들이 개발되어 왔다. 혈청학적 검사법으로는 세포성 면역반응 또는 체액성 면역반응을 이용하는 방법으로 크게 나눌 수 있다. 세포성 면역반응 중 하나인 피내반응은 생체에서 직접 수행하는 방법으로 민감도와 특이도가 각각 54% 및 79% 정도이다(Cicuta, 1999). 인터페론- γ (Interferon gamma; IFN- γ) 검출법은 1-2세 사이의 비교적 어린 감염우를 검출할 때 사용되고 있지만, 타 결핵균 속과의 교차반응, 혈액 채취 후 신속한 검사 수행의 필요, 비용에 비해 낮은 민감도 등의 단점이 있는 것으로 알려져 있다(Paolicchi 등, 2003; Stabel, 1996). 체액성 면역반응을 이용한 진단법에는 보체결합반응(Complement fixation test; CF test), 한천겔 침강반응(Agar gel immunodiffusion; AGID), 효소면역측정법(Enzyme-linked immunosorbent assay; ELISA)이 있다(Nguyen와 Buergelt, 1983). AGID와 ELISA는 검사가 빠르고 저렴할 뿐만 아니라 비교적 쉽게 실험을 실시할 수 있으나 CF test의 경우 실험과정이 복잡하고 어렵기 때문에 전문 실험실에서만 수행하고 있다.

따라서 요네병을 근절할 목적으로 진단하는 경우에는 소의 연령에 따라 다른 진단법을 적용하여야 한다. 설사 등의 증상을 발현하고 있는 임상형 소는 미생물학적 검사, 분자생물학적 검사, CF test, AGID 법을 적용한다. 그에 비하여 준임상형의 소 중에서 2세 이상의 경우에는 주로 ELISA 법을 활용하고, 6개월에서 2세 이하의 소에는 IFN- γ 시험법과 요닌 피내반응을 이용하고 있는 상황이다(Giladoni 등, 2012). 특히 ELISA 검사법은 준임상형 단계의 요네 감염우를 검출하는 데 가장 많이 이용되고 있다(Tsai 등, 1989; Cox 등, 1991), 그러나 혈청학적인 진단법은 편리하고 신속한 기법이기는 하지만 민감도와 특이도가 낮아 질병을 확진하기에는 불충분 면이 있다. 따라서 혈청검사와 함께 항원검사를 위한 PCR 또는 병리조직검사 등을 추가함으로써 요네병 진단의 정확도를 높여가고 있다(Giladoni 등, 2012).

이 연구는 만성 설사병 진단을 목적으로 제주 동물위생시험소에 검사 의뢰

된 혈청을 대상으로 요네병 감염 여부를 분석하였으며, 요네병 양성으로 판정된 분변시료로부터 요네균을 분리하여 분리균의 유전자형을 조사하였다. 또한 요네병 근절 프로그램에 참여하는 목장의 항체 양성개체의 관리방향을 설정하고자 도축장으로 출하된 일부의 양성 개체에 대하여 병리학 및 미생물학적 검사를 수행하여 혈청검사에서 나타난 ELISA 값과 비교 분석하였다.

II. 재료 및 방법

설사 축우의 소 요네병 항체 양성을 조사

1. 혈청시료

2010년부터 2013년까지 제주지역에서 설사 증상을 보이는 축우에 대해 질병진단을 목적으로 제주 동물위생시험소에 의뢰된 310개 목장 554두의 혈액을 실험에 사용하였다. 각각의 혈액들은 3,000 rpm, 4°C에서 15분간 원심 분리한 후 상층액을 1.5 ml microtube에 분주한 후 검사 전까지 -20°C 냉동고에 보관하였다.

2. 효소면역측정법(ELISA)

ELISA는 ID screen paratuberculosis indirect ELISA kit (ID.Vet. innovative diagnostics, France)를 사용하여 제조사의 설명에 따라 실험을 수행하였다. 최종 희석된 가검혈청(1:20)과 양성 및 음성 대조혈청을 96-well plate의 각 well에 100 μ l씩 분주하여 24°C에서 45분 동안 반응시킨 후 300 μ l의 PBS로 3회 세척하고, anti-ruminant IgG-peroxidase conjugate를 100 μ l씩 가한 다음 21°C에서 30분 동안 반응시켰다. 이후 PBS로 3회 세척하고 TMB 기질 용액을 100 μ l씩 분주하여 암실의 실온에서 10분간 반응시킨 후, stop solution을 100 μ l씩 가하여 반응을 정지시킨 상태에서 분광광도계로 흡광도(450 nm)를 측정하였다. 각 흡광도에서 음성대조 흡광도로 나눈 값을 백분율로 환산하여 70% 미만을 음성, 70% 이상을 양성으로 판정하였다.

도축장 출하 ELISA 양성 개체에 대한 검사법 비교

1. 양성개체 도축시료

2011년부터 2012년까지 혈청검사에서 요네병 항체 양성판정을 받고 도축장으로 출하된 16개 목장의 27두 축우를 실험에 공여하였다.

2. 병리학적 검사

각 개체에 대한 생체량, 지육량 및 회장 점막의 추벽 형성 여부를 확인하여 기록하였다. 육안적인 추벽 형성의 정도는 경미(mild), 중등도(moderate) 및 심한 정도(severe)로 세분하였다. 회장의 일부는 10% 중성완충포르말린 용액에 고정하였다. 고정이 완료된 회장은 병변부위를 세절한 뒤 일반적인 조직처리 방법에 따라 파라핀 포매하여 3-4 μm 두께로 절편을 제작한 다음 병리조직검사를 위하여 hematoxylin and eosin (H&E) 염색 및 회장 내 *Mycobacterium paratuberculosis*를 확인하기 위하여 항산성 염색법인 Ziehl-Neelsen 염색을 실시하였다. 염색이 끝난 조직 절편 슬라이드를 봉입한 후 광학현미경(Olympus BX51, Japan)을 이용하여 병변 및 균체 존재 여부를 검경하였다.

병리조직학적으로 회장의 병변은 경미한 장염(mild enteritis), 만성 및 육아종성 장염(chronic and granulomatous enteritis)으로 분류하였다. 점막고유판과 점막하직에 호중구 및 림프구 등의 염증세포가 경미하게 침윤되어 있는 경우는 경미한 장염, 림프구와 큰포식세포가 침윤되어 있는 경우는 만성 장염, 유상피세포가 융합하여 다핵거대세포(multi-nucleated giant cell)의 출현까지 있는 경우는 육아종성 장염으로 판독하였다.

3. 종합효소연쇄반응(PCR)

3.1 검사 시료에서 핵산 추출

요네병 항체 양성인 도축우에서 회장 말단부위를 채취하여 요네균 동정을 위한 PCR을 수행하였다. 회장 조직 1 g에 멸균증류수(distilled water; DW) 10 ml를 넣어 유제한 후 1,500 rpm에서 원심 분리하고 상층액 300 μ l를 취하여 QIAGEN DNA mini Kit (Qiagen, Germany)로 DNA를 추출하였다. 최종 DNA 추출물은 검사 전까지 -70°C 에서 보관하였다.

3.2 PCR primer의 염기서열

요네균의 검출을 위한 primer는 IS900 삽입유전자를 특이적으로 증폭할 수 있는 염기서열로서 Table 2-1에 나타낸 바와 같다(Vary 등, 1990).

Table 2-1. Oligonucleotide primer pairs for the detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*

Primer	Sequences (5' to 3')	Size (bp)
Forward	CCG CTA ATT GAG AGA TGC GAT TGG	229
Reverse	AAT CAA CTC CAG CAG CGC GGC ATG C	

3.3 PCR 반응조건

요네균의 검출을 위해 추출한 DNA 2 μ l와 각각의 primer 0.5 μ l (20 pmol) 및 DNase RNase free distilled water 17 μ l를 PCR premix (Maxime PCR premix, iNtRON biotechnology, Korea)에 첨가하여 최종 반응용량이 20 μ l가 되도록 하였다. PCR 조건은 94°C 에 5분간 반응한 다음 94°C , 60°C 및 72°C 에 각각 30초씩 35회 반복하고 최종 72°C 에서 10분간 반응하였다. PCR 증폭은 PCR Thermal Cycler Dice TP600 (TaKaRa, Japan)을 이용하였다.

3.4 PCR 증폭산물의 확인

반응 종료 후, 각각의 반응액 7 μ l씩을 취하여 1.5% agarose gel 상에서 전기영동을 실시한 다음 ethidium bromide 용액(0.5 μ l/ml in DW)으로 염색하였다. UV transilluminator (Mupid-Scope WD, TaKaRa, Japan)로 회장의 말단부 시료 및 배양균에 대한 특이적인 밴드 유무를 확인하였다.

요네균의 유전학적 특성 조사

1. 요네균 분리배양

만성 설사증상으로 제주 동물위생시험소에 의뢰된 개체의 혈청 시료 중 요네균 양성으로 판정된 14두의 분변을 채취하여 요네균을 배양하였다. 분변 2 g을 30 ml의 멸균 증류수가 포함된 50 ml의 시험관에 넣고 교반하여 실온에서 30분간 정치하였다. 상층액 5 ml을 취하여 25 ml의 0.9% hexadecylpyridinium chloride (Sigma, USA)가 함유된 1/2 × brain heart infusion (BHI) broth의 50 ml 시험관에 첨가하였다. 시험관을 반복적으로 뒤집어 섞고 교반하여 실온에서 18-22시간 동안 정치하였다. 정치 완료 후 900 rpm에서 10분 동안 원심 분리하여 상층액을 버리고 침전물은 amphotericin B (Gibco, USA)가 첨가된 항생제 용액 1 ml에 재부유하여 37°C에서 24시간 동안 처리하였다.

이와 같이 전 처리된 분변 시료액을 항생제와 mycobactin-J가 함유된 Herrold's egg yolk (HEY) medium 3 tube와 mycobactin J가 포함되지 않은 HEY medium 1 tube에 각각 0.2 ml씩 접종하여 시험관 마개를 느슨하게 조인 배지를 비스듬히 세워 1주일 동안 37°C에서 배양 후 수분이 사면으로부터 완전히 증발하였을 때 수직으로 세우고 마개를 완전히 닫아 37°C에서 배양하였다. 이 사면 배지는 6주 후부터 매주 균체의 증식 여부를 관찰하면서 15-20주 동안 배양하였다(Chiodini 등, 1984).

2. 요네균 동정

분리된 요네균에 대한 동정은 IS900 PCR 기법으로 수행하였다(Table 2-1). 먼저 증식된 세균 집락을 면봉으로 취하여 1 ml의 멸균 증류수에 혼합하여 12,000 rpm에서 10분간 원심 분리하였다. 상층액은 버리고 멸균 증류수 300 μ l를 넣어 끓는 물에 정치 후 냉동하였다. 냉동시료를 해동하여 12,000 rpm에서 10분간 재 원심 후 제조사의 술식에 따라 DNA를 추출하였다.

3. *Map* strain typing

Map strain typing은 Marsh 등(1999)과 Whittington 등(2001)의 방법에 준하여 수행하였다. IS1311 유전자 증폭을 위한 PCR primer는 Table 2-2와 같이 제작하였다. 요네균 동정을 위해 준비한 DNA 추출물을 PCR premix (AccuPower™ PCR HotStart PreMix kit, Bioneer, Korea)에 넣어 다음의 조건으로 증폭하였다. PCR 조건은 94°C, 5분간 둔 후 94°C에서 30초, 62°C에서 15초, 72°C에서 1분의 조건으로 35회 반복하고 최종 72°C에서 10분간 반응하였다. 증폭된 608 bp의 PCR 산물을 제한효소 *Hinf*I (Enzynomics™, Korea)로 처리하고 (37°C, 1hr) 2% agarose gel에서 전기영동을 실시하여 절편 다양성을 관찰하였다 (Whittington 등, 2001).

Table 2-2. Oligonucleotide primer pairs for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* strain typing by IS1311 PCR

Primer	Sequences (5' to 3')	Size (bp)
M56	GCG TGA GGC TCT GTG GTG AA	608
M119	ATG ACG ACC GCT TGG GAG AC	

Ⅲ. 결 과

설사 축우의 소 요네병 항체 양성을 조사

1. 설사 축우의 항체 양성을

질병 진단을 목적으로 제주 동물위생시험소에 의뢰된 설사증상을 보이는 개체에 대한 요네병 항체 양성율은 Table 2-3과 같다. 목장별로는 총 310개 목장 중 227개 목장(73.2%)에서, 의뢰된 개체별로는 554두 중 313두(56.5%)에서 항체 양성으로 확인되었다.

소 목장별로는 2012년 가장 높은 항체 양성율(91.3%)을 보이고 있는 반면, 개체별로는 2011년(65.0%) 가장 높게 나타난 후 점차 감소하는 경향을 보이고 있었다.

Table 2-3. Sero-prevalence of Johne's disease by ELISA method

Year	No. of farms tested	No. of positive farms (%)	No. of animals tested	No. of positive animals (%)
2010	104	71 (68.2)	179	87 (48.6)
2011	98	69 (70.4)	137	89 (65.0)
2012	69	63 (91.3)	166	106 (63.9)
2013	39	24 (61.5)	72	31 (43.1)
Total	310	227 (73.2)	554	313 (56.5)

2. 항체 양성 개체의 연령별 분포

ELISA 검사로 항체 양성으로 확인된 개체를 연령별로 분석한 결과는 Table 2-4와 같다. 총 313두의 항체 양성개체 중 2세 미만 10.5%, 2에서 4세 61.3%, 5에서 7세 22.4%, 8세 이상이 5.8%로 나타났다. 항체 양성율이 가장 높은 연령은 2에서 4세 사이의 개체로 조사되었으며, 이들 중 최소 연령대는 18개월인 것으로 확인되었다.

Table 2-4. Sero-prevalence of Johne's disease according to the age of cattle

	Age (year)				Total
	<2*	2-4	5-7	8<	
No. of positive cattle	33	192	70	18	313
(%)	(10.5)	(61.3)	(22.4)	(5.8)	(100)

*; Minimum age of sero-positive cattle was 18 months.

도축장 출하 ELISA 양성 개체에 대한 검사법 비교

1. ELISA S/P 값에 따른 도축우 생체량 비교

도축장에 출하된 27두의 항체 양성 도축우를 대상으로 산출된 평균 생체량 (average live weight)과 평균 지육양(average carcass weight)을 ELISA S/P 값과 비교 분석하였다. 총 27두의 평균 생체량은 415kg, 평균 지육양은 249kg으로 확인되었다(Table 2-5). 평균 생체량과 지육양 모두 ELISA S/P 값이 증가할수록 감소하는 경향을 나타내고 있었다. 특히 ELISA S/P 값이 100-149에서 150-199로 증가할 때 생체량과 지육양 모두 가장 많은 감소 폭을 보이고 있었다.

Table 2-5. The average live and carcass weight of slaughtered cattle according to ELISA S/P ratio

S/P ratio of ELISA (%)	No. of animals	Average live weight (kg)	Average carcass weight (kg)
70-99	6	507	304
100-149	3	500	300
150-199	13	390	234
200<	5	318	191
Total	27	415	249

2. 도축우에 대한 항원 검사법 비교

2.1 병리학적 검사

도축장에 출하된 27두 축우에서 회장의 육안적 추벽 형성 정도를 세분하여 검사한 결과 경미, 중등도 및 심한 정도의 개체가 각각 8두, 4두 및 15두로 확인되었다(Table 2-6, Fig. 2-1). 이를 항체 검사 기법인 ELISA S/P 값과 비교하여 분석한 결과 S/P 값이 150% 미만으로 낮은 개체에서는 경미하거나 중등도의 추벽 형성을 보이고 있는 반면, 150% 이상의 S/P 값을 가지고 있는 개체에서는 심한 정도가 현저하게 증가하고 있는 경향을 나타내었다. 특히 S/P 값이 200% 이상인 개체 5두는 모두 심한 정도의 추벽 형성을 보이고 있었다.

Table 2-6. The severity of gross corrugations in ileac mucosa according to ELISA S/P ratio

S/P ratio of ELISA (%)	Corrugation levels			Total
	Mild	Moderate	Severe	
70-99	5	1	0	6
100-149	1	2	0	3
150-199	2	1	10	13
200<	0	0	5	5
Total	8	4	15	27

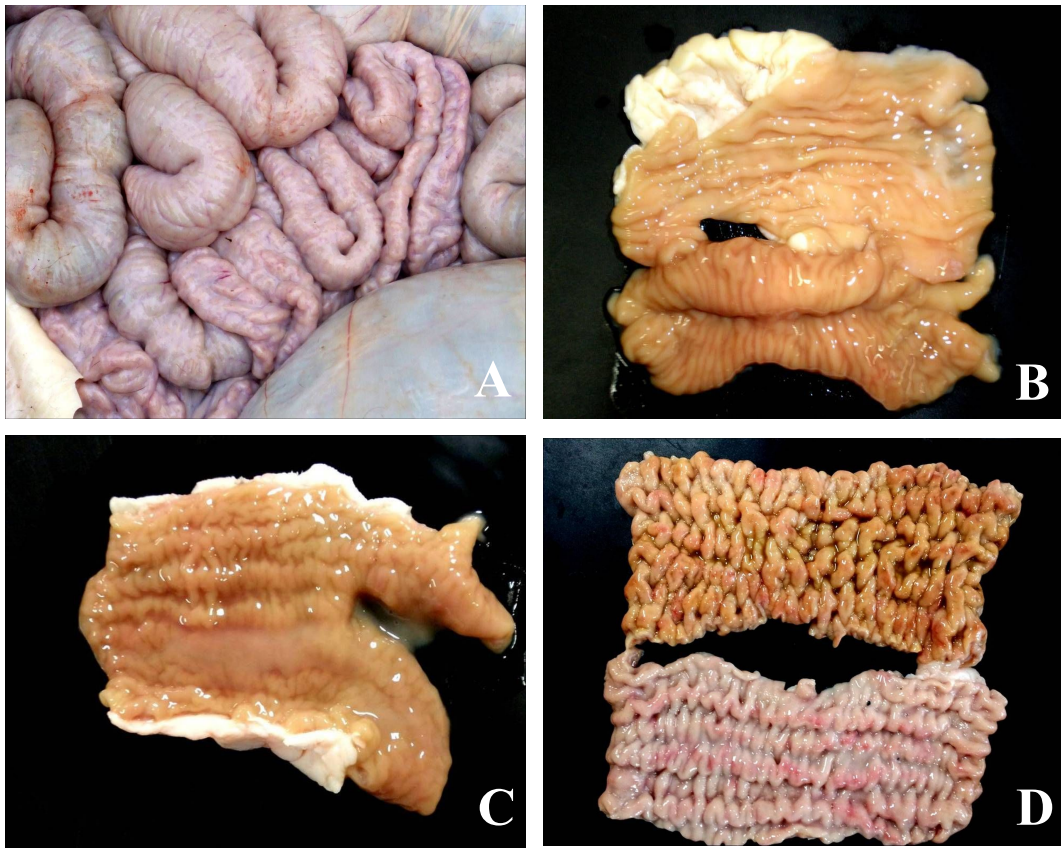


Fig. 2-1. Ileum of Johne's disease sero-positive slaughtered cattle showed severe thickening with serosal reticulation. (A) Note mild (B), moderate (C), and severe (D) mucosal corrugation.

도축우 27두의 회장에 대한 병리조직학적 병변을 염증세포의 침윤 정도에 따라 경미한 장염, 만성 장염 및 육아종성 장염으로 세분하여 검사한 결과 각각 1두, 13두 및 13두로 분류되었다. 개체별 조직학적 병변의 정도를 ELISA S/P 값과 비교하여 분석한 결과 S/P 값이 100% 미만인 경우 경미한 장염과 만성 장염이 각각 1두 및 5두로 나타났으며, ELISA S/P 값이 100-149%인 개체 3두는 모두 만성 장염소견이 관찰되었다. 그러나 S/P 값이 150% 이상인 개체에서는 육아종성 장염의 발생 빈도가 뚜렷하게 증가하고 있는 경향을 나타내었고, S/P 값이 200% 이상인 개체 5두는 모두 육아종성 장염 병변을 형성하고 있었다(Table 2-7).

Table 2-7. The severity of histopathologic lesions in ileum according to ELISA S/P ratio

S/P ratio of ELISA (%)	Severity of enteritis			Total
	Mild	Chronic	Granulomatous	
70-99	1	5	0	6
100-149	0	3	0	3
150-199	0	5	8	13
200<	0	0	5	5
Total	1	13	13	27

병리조직학적으로 경미한 장염의 경우 점막 고유판에 소수의 호중구와 림프구의 침윤이 관찰되었다. 만성 장염으로 구분된 개체의 회장에서는 점막고유판과 점막하직에 림프구와 큰포식세포가 광범위하게 침윤되어 점막층이 두껍게 증가되어 있었으며, 육아종성 장염 예에서는 만성 장염소견에 더하여 유상피세포의 증가와 함께 다핵거대세포의 출현이 동반되어 있었다(Fig. 2-2). 대부분의 다핵거대세포는 풍부한 세포질을 가지고 핵들은 세포의 변연부에 위치하고 있었다. 병

변부에 대한 항산성 염색 결과 주로 유상피세포와 다핵거대세포의 세포질에서 다수의 항산성 양성 세균이 분포하고 있었다.

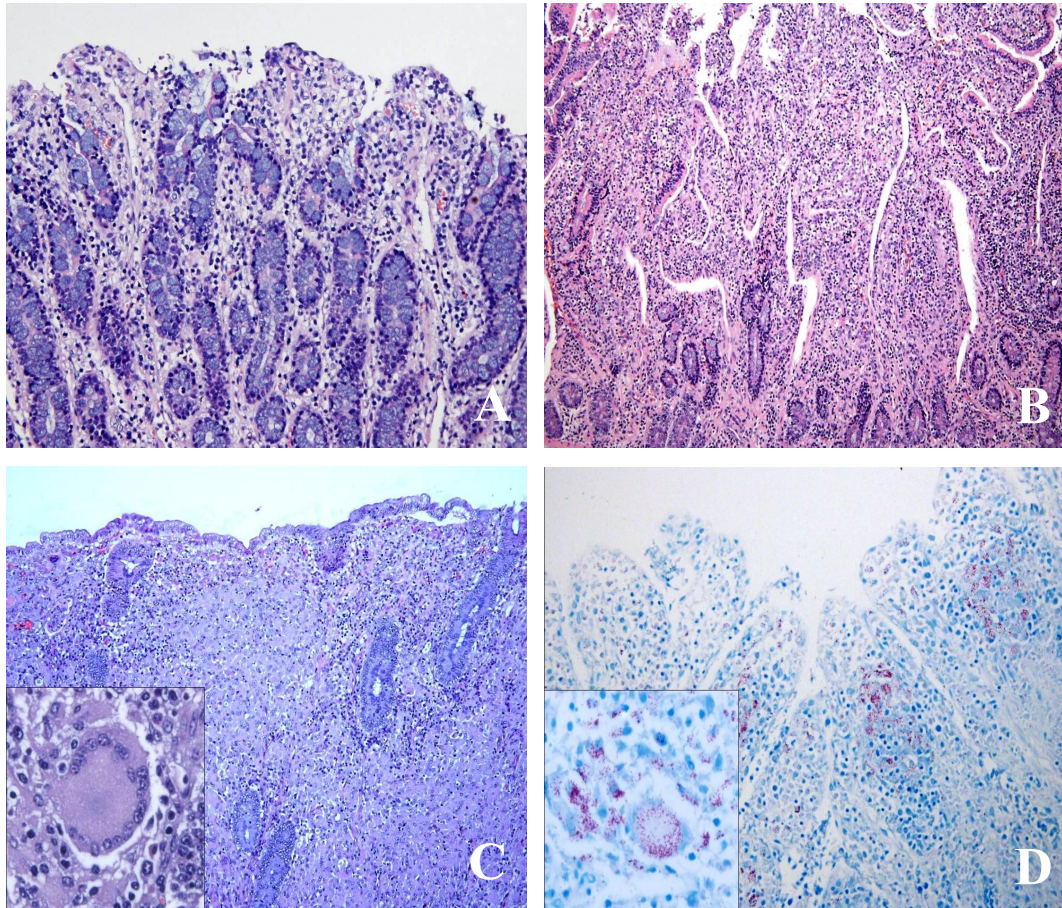


Fig. 2-2. Histopathologic lesions of ileum in Johne's disease sero-positive slaughtered cattle (A-C, H & E stain; D, Ziehl-Neelsen staining). Note mild enteritis (A), chronic enteritis (B), granulomatous enteritis (C), and multinucleated giant cell (C, Insert). Acid-fast staining demonstrated numerous red-colored bacteria in epithelioid cells and multinucleated giant cells (D, Insert).

2.2 PCR

도축장에 출하된 요네병 항체 양성 개체 27두의 회장 말단부 조직 시료에 대한 PCR 결과 15두(55.6%)에서 229 bp의 요네병 특이 유전자가 검출되었다(Fig. 2-3).

항체 검사인 ELISA S/P 값과 항원 검사 기법인 PCR 및 항산성 염색 결과를 비교 분석하였다. ELISA S/P 값이 150% 미만으로 낮은 개체에서는 PCR 및 항산성 염색 모두에서 음성을 나타내 항원이 검출되지 않았으나, S/P 값이 높아질수록 항원 양성율이 증가하였다(Table 2-8). 항원 검사 중 PCR의 경우 ELISA S/P 값이 150-199%인 개체 13두 중 10두(76.9%), 200% 이상의 개체 5두 모두(100%) 양성을 나타내었다. 또한 항산성 염색에서는 ELISA S/P 값이 150-199%인 경우 11두(84.6%), 200% 이상인 개체는 5두 모두(100%) 균체 양성 반응을 보이고 있었다(Fig. 2-2). 두 가지 항원검사 기법을 비교한 결과 PCR 기법 보다 항산성 염색에서 양성 개체가 1두 많이 검출되었다.

Table 2-8. Comparison of the results using antigen detection methods such as PCR and Acid-fast stain according to ELISA S/P ratio

S/P ratio of ELISA (%)	No. of animals	No. of positive cattle (%)	
		PCR	Acid-fast stain
70-99	6	0 (0.0)	0 (0.0)
100-149	3	0 (0.0)	0 (0.0)
150-199	13	10 (76.9)	11 (84.6)
200<	5	5 (100)	5 (100)
Total	27	15 (55.6)	16 (59.3)

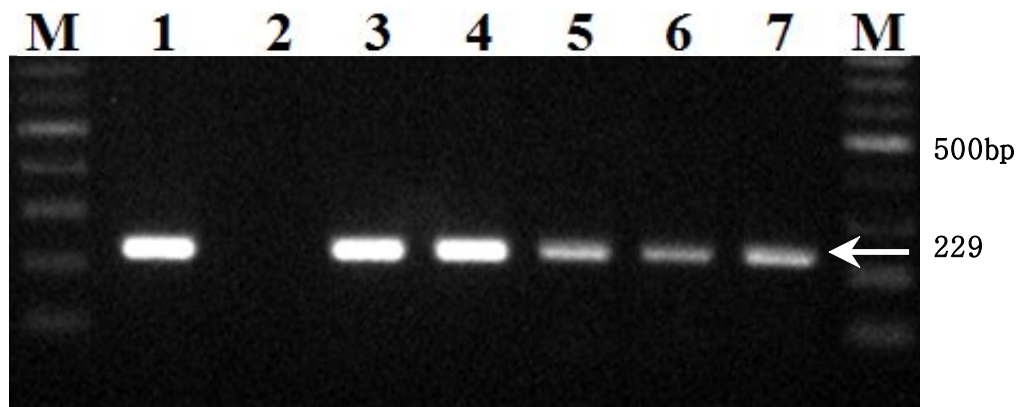


Fig. 2-3. Gel electrophoresis of IS900 PCR product from ileum tissues of slaughter cattle. Lane M, 100 bp DNA ladder; lane 1, positive control; lane 2, negative control; lane 3-7, representative tissue samples.

요네균의 유전학적 특성 조사

1. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*의 분리 및 동정

검사 의뢰된 요네병 의심우들 중 ELISA 검사에서 항체 양성으로 나타난 총 14두의 설사 시료를 Herrold's 사면배지에 접종하여 20주 동안 배양하면서 균체의 증식을 관찰한 결과 6두(42.9%)에서 요네균으로 의심되는 세균집락이 관찰되었다. 배지 상에서 육안적으로 요네균의 증식이 확인된 시기는 평균 12주였으며, 가장 빠른 경우 7주 만에 가장 늦은 경우는 17주 이후에 균체의 집락을 관찰할 수 있었다. 증식이 확인된 6두의 세균 균주에 대하여 PCR 기법을 적용하여 동정한 결과 229 bp의 요네균 특이 산물이 확인되었다(Fig. 2-4).



Fig. 2-4. IS900 PCR amplicons for isolated bacteria from fecal samples. Lane M, 100 bp DNA ladder; lane 1, positive control; lane 2, negative control; lane 3-8, *Map* isolates.

2. *MAP* strain typing

분리한 6개의 요네균주를 대상으로 IS1311 삽입 유전자를 검출할 수 있는 PCR을 수행한 결과 5균주에서 608 bp의 특이 산물이 증폭되었다(Fig. 2-5). 증폭된 608 bp의 PCR 증폭산물을 제한효소 *Hinf*I (EnzynomicsTM, Korea)으로 절단한 결과 4개의 균주는 각각 323 bp, 285 bp, 218 bp 및 67 bp로 절단되어 Cattle type으로 분류되었고, 나머지 1개 균주는 323 bp, 218 bp 및 67 bp로 절단되어 Bison type으로 분류되었다(Fig. 2-6). IS900 PCR에서는 양성이었으나 IS1311 PCR은 음성으로 나타난 1개의 균주는 미분류 균주로 판명되었다.

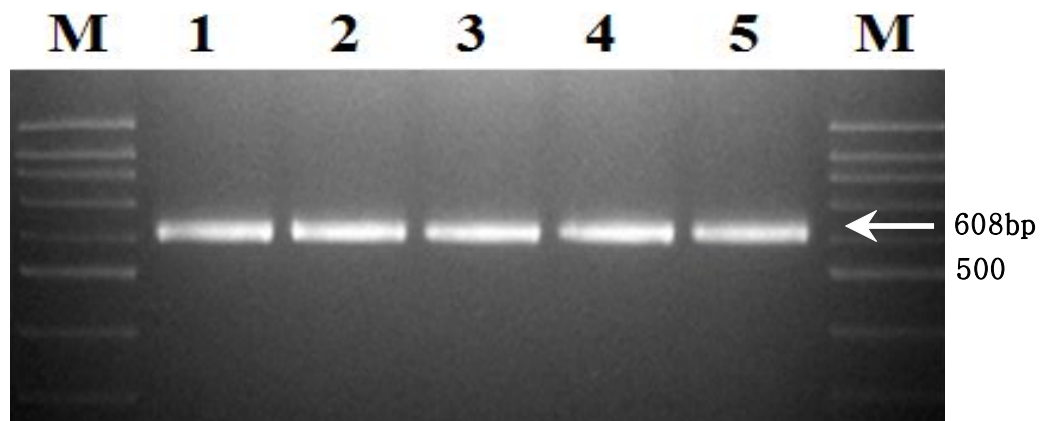


Fig. 2-5. Gel electrophoresis of IS1311 PCR product from 5 of 6 *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* isolates (Lanes 1-5). Lane M, 100 bp DNA ladder.

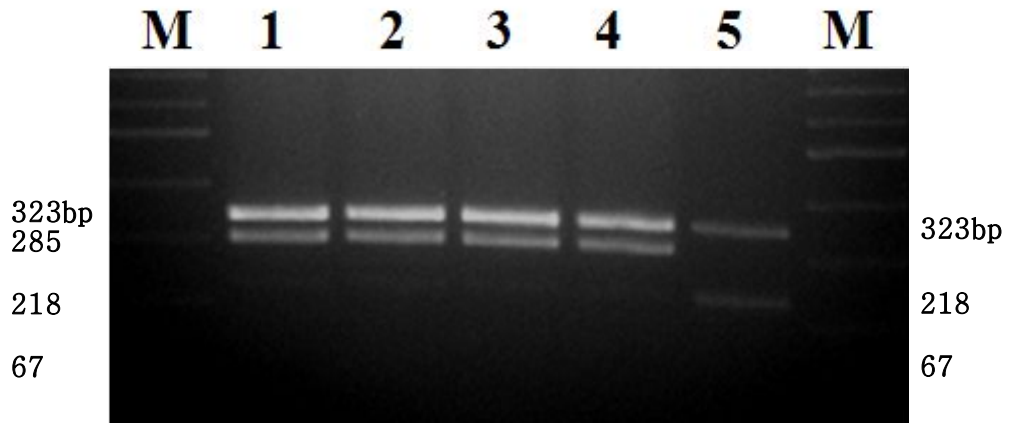


Fig. 2-6. Agarose gel electrophoresis analysis for IS1311 PCR product of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* digested with *Hinf*I restriction enzyme. Lane M, 100 bp DNA ladder; lane 1-4, Cattle type; lane 5, Bison type.

IV. 고 찰

요네병은 소에서 발생하는 대표적인 만성설사병으로서 소의 대사성 설사병이나 살모넬라증, 만성 기생충감염증과 감별이 필요한 질병이다(Blowey와 Weaver, 2003). 2010년부터 2012년 3년간 제주지역의 요네병 진단을 위해 검사 목장 수는 감소 경향을 보이고 있으나 요네병 양성 진단 개체의 수는 증가되고 있는 경향을 보였다. 만성 설사증상을 나타낸 축우는 ELISA 검사에서 56.5%(313/554두)가 요네병으로 진단되었고 요네병으로 판정되지 않은 241두는 다른 시료를 확보하여 추가적인 검사가 이루어져야 한다. 요네균에 감염된 소는 일반적으로 24개월 이후에 검출할 수 있는 정도의 항체가 생성되는 것으로 알려져 있다. 요네병 양성개체 313두의 연령별 분석 결과 2에서 4세까지 61.3%로 가장 많았으며, 2세 미만에서도 10.5%를 양성을 나타냈다. 특히 이들 양성 개체중 최소 연령은 1년 6개월로 확인되어 한우의 경우 적어도 18개월의 연령부터 항체검출이 가능한 것으로 나타났다.

이번 연구에서는 요네병 항체 양성 도축우 27두를 대상으로 생체량과 지육량 비교, 항원 및 병리학적 검사 결과를 비교 분석하였다. ELISA S/P 값이 높을수록 평균 생체량 및 지육량이 감소하였고, ELISA S/P 값이 200% 이상인 5두는 모두 PCR 및 항산성 염색에서 양성을 나타내었다. 또한 ELISA의 S/P 값이 높아질수록 회장부위의 육안적인 추벽 형성 정도가 심해졌으며 조직학적인 장염 및 육아종성병변의 형성이 뚜렷하였다. 따라서 이와 같은 결과로 볼 때 ELISA S/P 값이 150%이하인 경우에는 요네균에 대한 항체의 생성량은 병변이 심해질수록 높아지며, 향후 요네병의 진단 시 ELISA 양성수치를 분석하여 축우의 예후를 예측하여 농가에서의 개체 관리방안을 수립하는데 활용할 수 있을 것이다. 요네병 진단을 위해 혈액을 제외한 분변, 회장 말단부위의 조직 등의 시료는 항산성 염색과 PCR 기법으로 항원을 검출한다. 점막에서 항산성 염색의 민감도는 약 60% 정도로 알려져 있으며(Gelberg, 2007), PCR 기법의 경우 IS900에서 특이 primer를 가장 많이 활용하고 있으나 PCR 민감도는 분변으로 배출되는 균의 양에 따라 다양하다. Huntley 등(2005)은 14두의 요네병 양성 Bison에서는 모두

PCR에 의해 양성인 것으로 보고하였으나 준임상형 소를 포함할 경우 평균적으로 약 23%정도인 것으로 보고되었다(Wells 등, 1999).

요네균을 분변에서 배양할 경우 그 민감도는 50% 이하이며(Gelberg, 2007; Whitlock 등, 2000), 분변 내에서 요네균을 배양할 수 있는 최소 농도는 100 CFU/g 이상인 것으로 알려져 있다(Chiodini 등, 1984). 전형적인 요네병 임상증상을 보이면서 ELISA에서 양성을 나타낸 14두 중 6두(42.9%)에서 요네균이 배양되었다. 이를 동정하기 위해 IS900 유전자 특이 PCR 기법에서는 6균주 모두 양성을 나타내었으나 IS1311 유전자 특이 PCR 기법에서는 5균주만이 양성을 나타내었다. 세균의 병원성이나 항생제 감수성의 차이는 물론 세균의 분포, 진화적인 차원에서 병원성 세균의 유전자형을 분류하는 것은 중요한 의미를 가진다. 요네균의 유전형에 대한 연구보고는 아직 많은 편은 아니지만 지형학적인 위치와 관계없이 요네균주들이 숙주에 어느 정도로 적응되어 있다는 보고는 여러 나라에서 있었다(Sevilla 등, 2005; Bauerfeind 등, 1996; Whittington 등, 2001). 주로 Cattle type은 소와 산양, 알파카, 사람에서 발견되어 왔으며, Sheep type은 양에서 월등하게 분포한다. 인도 북쪽지역에서 분리한 요네균의 83.8%가 Bison type인 반면, Cattle type은 16.2%라는 보고가 있으며(Singh 등, 2009), 요네병에 걸린 소, 물소, 양, 산양 및 Chrones 병에 걸린 사람에서 분리한 균주에서 Bison type의 요네균이 검출되었다는 보고들이 있다(Sevilla 등, 2005; Singh 등, 2010). 특히 Kaur 등(2011)은 Bison type의 경우 숙주 특이성이 없이 모든 동물에 분포하고 있는 것으로 보인다고 하였다. 요네균의 IS1311 PCR 산물을 *Hinf*I 제한효소로 절단할 경우 Cattle type, Bison type 및 Sheep type의 3가지 형이 알려져 있다(Whittington 등, 2001). 제주지역 축우에서 분리한 요네균 6균주의 type을 조사한 바 Cattle type이 4균주, Bison type이 1균주로 확인되어 국내에서 주로 분리되고 있는 요네균에서 보고된 결과(Kim 등, 2013)와 일치하였으나 IS1311 산물이 증폭되지 않은 1균주는 미분류 균으로 분류하였다. IS900 유전자가 요네균을 PCR로 진단할 때 가장 많이 활용되고는 있으나 다른 *Mycobacterium*에도 IS900 유사 유전자가 있기 때문에 여러 연구자들이 IS900이외의 유전자를 요네균의 진단에 활용하고자 노력하고 있다(Rajeev 등, 2005). 따라서 이 미분류균의 경우 향후 추가적인 연구를 통해 요네균인지 여부에 대한 분석이 필요할 것이다.

결론적으로 만성 설사로 병성감정 의뢰된 소에서 혈청학적으로 요네병으로 진단된 경우는 50%를 넘었으며, 제주지역에서 분리한 요네균의 경우 여러 나라에서 분리 보고된 Cattle type과 Bison type이 분포하고 있었다. 또한, ELISA의 S/P 값이 높을 경우 임상형 및 진행성 요네병일 가능성이 높은 것으로 관찰되었다. 따라서 향후 제주지역의 요네병 근절 정책을 추진하는데 양성개체는 ELISA의 S/P 값을 참고로 하여 빠른 시일 내 도태, 비육처리 등의 방향을 설정하는데 활용할 필요성이 있을 것으로 보인다.

제 3 장

제주지역 소 요네병 청정화 인증 프로그램 개발

Development of Certification Program for Johne's
Disease-Free Cattle Herds in Jeju

I. 서 론

요네병은 가축의 회장과 광범위한 림프절에 영향을 미치는 *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map)에 의해 발생하며, 소, 산양, 사슴 등 모든 종류의 반추동물에서 지속적이고 만성적으로 진행되기 때문에 눈에 보이지 않는 손실이 크다(Cho 등, 2012; Raizman 등, 2009). 이 균은 사람에게 있어 Crohn's disease를 유발하여 주로 소장과 대장의 소화기관에 육아종성 염증 등을 일으켜 사람의 보건과도 관련된 질병이다(Gitnick 등, 1989). 구제역, 조류인플루엔자, 광우병 등의 가축질병은 국민의 보건과 산업, 축산물의 국가간 교역에 있어 중요하며 이러한 질병의 발생으로 국가에 파급되는 경제적 영향은 매우 크다. 또한 축산물의 안전성을 강조하는 계기가 되어 사육단계에서 식탁까지 일련의 위생과정인 위해요소중점관리기준(hazard analysis critical control point; HACCP) 인증제도에 대한 국민의 관심을 증가시켰다(Son 등, 2013).

요네균은 장벽과 장간막 림프절에 침입하여 세포면역을 일으켜 과민반응을 유도하고 단백질 혈장성분이 장관내 유출로 지속적인 설사가 일어나 영양분 흡수 장애로 결국 폐사하게 된다(Singh 등, 2009). 주요 임상증상은 3-5살된 암소에서 많이 볼 수 있으며 분만 후에 호발하는 경향이 있다. 주로 만성 및 간헐적인 설사 이외에 피모가 거칠고 만성적인 체중감소를 나타내지만 식욕은 정상이다(Van Mere 등, 1995). 준임상형 보균 개체는 분변으로 적은 수의 요네균을 배설하나 대부분 임상증상이 발현되면서 많은 병원체를 배설한다. 또한 감염된 개체는 뚜렷한 임상증상 없이 2에서 10년 등 오랜 잠복기와 함께 진행되고 병원체를 지속적으로 배출하기 때문에 검색사업 및 강력한 방역대책 없이는 근절이 어려워 미국, 유럽에서는 소 전염병 중 가장 경제적 피해를 주는 만성 질병 중 하나로 규정하고 있다(Franken, 2002; Johnson-Ifearulundu와 Kaneene, 1999).

이와 같은 질병특성 때문에 요네병 근절은 다른 질병보다도 어려운 것으로 알려져 있지만 세계 주요 축산선진국은 이 질병의 근절에 많은 노력을 기울이고 있다. 이 질병의 근절이 필요한 이유는 눈에 보이는 경제적인 피해를 예측하기 어려워 목장이나 국가적 차원의 낮은 관심으로 인해 질병 발생률과 경제적인 피

해 정도가 꾸준히 증가하고 있기 때문이다.

미국에서 연구한 결과를 보면 우유 생산이나 대체우 구입비용의 증가와 임상 증상우의 도태 처리 등을 고려할 때 매년 2-2.5억만 불 정도의 피해가 있는 것으로 분석하였다(Ott 등, 1999). 또한 분석 시기는 다르지만 호주의 경우 연간 2.4백만 불(Milner와 Wood, 1989), 뉴질랜드는 연간 8.8백만 불(Brett, 1998), 네덜란드는 매년 42.5백만 불(Groenendaal 등, 1999)의 손실이 있는 질병으로 분석하고 있다.

이처럼 요네병은 세계 각국이 중요한 전염병으로 관리되고 있음에도 불구하고 제주를 포함한 국내에서는 이 질병의 발생상황 및 피해계측에 대해 체계적이고 일관되게 조사되어 있지 않고 예방 및 근절 정책이 정립되어 있지 않다. 국내에서는 전 등(1984)이 젓소에서 요네병 원인균을 분리하여 요네병의 발생을 처음으로 공식 확인하였고 우리나라는 가축전염병예방법에서 제2종 가축전염병으로 규정하고 있다(법제처, 2013). 요네병 양성으로 판정된 개체라도 식품 공급으로 가능한 법률 근거인 축산물 위생관리법 상의 허용은 그나마 양축농가의 경제적 손실을 일정 부분이나마 해소하고 있는 실정이다. 그리고 육종기관에서 당대 또는 후대검정 목적으로 농가를 선정할 때 반드시 의무 검사질병으로 관리되고 있는 실정으로 극히 일부 기관만이 국한적으로 비중있게 다루어지고 있다. 하지만 가축전염병예방법과 육종기관의 관리 대상 질병임에도 요네병은 국가 지원의 살처분 대상 질병이 아니므로 경제적 손실 예방과 확실한 방역정책 수행을 추진함에 있어 한계가 있다. 따라서 이 연구에서는 시범목장으로 지정된 6개 목장을 대상으로 설정된 중점관리기준에 따라 목장을 관리하고 요네병 항체 양성율을 분석하였다. 또한 추가적으로 요네병 근절 프로그램에 참여하는 목장을 대상으로 요네병에 대한 항체 조사를 실시하여 제주지역 실정에 맞는 프로그램을 제안함으로써 축우에서 요네병 근절 모델을 제시하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

소 요네병 근절을 위한 중점관리기준 설정

1. 시범목장 선정을 위한 혈청시료

제주지역 축우에서 요네병 항체 양성율을 조사하기 위하여 2010년 27개 목장에서부터 915두의 혈액을 채취하였다. 또한 사육형태에 따른 요네병 항체 양성율을 조사하기 위해 2010년부터 2012년까지 마을 공동목장에 방목하는 24개 목장 294두와 연중 축사 내에서 사육되는 10개 목장 592두를 실험에 공여하였다. 각각의 혈액들은 3,000 rpm, 4℃에서 15분간 원심 분리한 후 상층액을 1.5 ml microtube에 옮겨 검사 전까지 -20℃ 냉동 보관 후 ELISA검사를 실시하였다.

2. 효소면역측정법(ELISA)

ELISA는 ID screen paratuberculosis indirect ELISA kit (ID.Vet. innovative diagnostics, France)를 사용하여 제조사의 설명에 따라 실험을 수행하였다. 최종 희석된 가검혈청(1:20)과 양성 및 음성 대조혈청을 96-well plate의 각 well에 100 μ l씩 분주하여 24℃에서 45분 동안 반응시킨 후 300 μ l의 PBS로 3회 세척하고, anti-ruminant IgG-peroxidase conjugate를 100 μ l씩 가한 다음 21℃에서 30분 동안 반응시켰다. 이후 PBS로 3회 세척하고 TMB 기질 용액을 100 μ l씩 분주하여 암실의 실온에서 10분간 반응시킨 후, stop solution을 100 μ l씩 가하여 반응을 정지시킨 상태에서 분광광도계로 흡광도(450 nm)를 측정하였다. 각 흡광도에서 음성대조 흡광도로 나눈 값을 백분율로 환산하여 70% 미만을 음성, 70% 이상을 양성으로 판정하였다.

3. 요네병 근절 모델 목장의 선정

제주지역에서 요네병을 근절하기 위한 시범목장은 2010년도 요네병에 대한 혈청검사를 위한 목장들 중 요네병에 대한 근절의 의지가 높고 향후 근절 프로그램에 높은 신뢰도를 가진 목장 6개소를 선정하였다. 선정기준은 지역별, 사육두수, 요네병 유병률을 기준으로 하여 선정하였다.

4. 요네병 근절을 위한 중점관리기준 설정

시범목장의 효율적인 관리를 위하여 외국의 사례와 비교하여 제주지역 실정에 적합한 중점관리기준을 마련하였다. 이 설정 기준에는 요네병 항체 양성개체의 처리방안, 가축의 생산 및 송아지 관리, 공동목장 및 가축시장의 관리를 포함하였다.

소 요네병 청정화를 위한 인증 모델 개발

1. 요네병 근절 프로그램 참여 목장의 공시재료

요네병 근절의지가 높고 프로그램에 높은 신뢰도를 갖는 시범목장 6개소에 대한 혈청시료는 1,486두였다. 각각의 목장의 시료는 2010년부터 2013년까지 10에서 12개월 간격으로 1에서 3차에 걸쳐 채혈한 후 결과를 비교분석 하였다. 이 과정에서 새롭게 프로그램에 참여하기를 희망하는 목장들은 제주도 소재 29개소 목장과 서귀포시 소재 82개소 목장으로 총 111목장에 5,150두의 혈청을 채취하였다(Table 3-1). 각각의 혈액들은 3,000 rpm, 4℃에서 15분간 원심 분리한 후 혈청을 1.5 ml microtube에 옮겨 ELISA 검사 전까지 -20℃ 냉동 보관하였다. 마을 공동목장과 개별사육 목장의 시료를 비교 분석하고 검사 횟수에 따른 항체 양성율의 경향을 분석하였다.

Table 3-1. Number of cattle and farms of new participants in the program

Year	No. of farms		No. of animals		Total (farms/animals)
	Jeju-si	Seogwipo-si	Jeju-si	Seogwipo-si	
2010	9	18	526	389	27/915
2011	1	15	194	280	16/474
2012	9	16	726	901	25/1,627
2013	10	33	554	1,580	43/2,134
Total	29	82	2,000	3,150	111/5,150

2. 시범목장의 관리

시범목장의 경우 생산자단체의 수의사와 공조 체계를 유지하면서 요네병 근절을 위한 중점관리기준에 따라 목장을 관리하고 컨설팅하였다. 다른 목장이나 가축시장으로부터 새로운 송아지 입식은 가능한 한 자제시켰으며, 부득이한 경우 요네병이 없다고 인정되는 목장 혹은 요네병 근절 프로그램에 참여하는 목장간의 송아지 거래를 권장하였다.

요네병으로 진단된 축우의 경우 별도의 격리공간을 마련하여 관리하였으며, 임상형 요네병 감염우는 즉시 도태하였다. 비임상형 요네 양성축의 경우 별도의 비육 프로그램을 마련하여 조기 비육후 출하시켰다. 임신우가 비임상형 요네병으로 진단된 경우 송아지는 분만 후 조기 비육프로그램을 적용하도록 지도하였다. 요네병 양성개체 축사에서 사용되는 모든 기구와 재료는 그 공간 내에서만 사용하도록 하였다.

3. 요네병 항체 양성 개체의 관리

혈청검사에서 양성이지만 임상 증상이 없는 개체는 농가의 경제적 손실을 줄이기 위해 생산자 단체에서 제시하고 있는 조기출하 비육 프로그램을 일부 개선하여 적용하였다. 먼저 임신축과 비임신축으로 나누어 프로그램을 적용하였다.

대부분 농가 상황은 별도의 격리사가 부족한 여건이기 때문에 요네병 양성 개체가 별도 격리가 불가능할 경우 요네병 음성 개체와 가능한 한 떨어져 있는 사육공간을 선정하였다. 비임상형 요네병의 경우 분변으로 배출되는 요네균의 양은 많지 않을 것으로 추정되나 주 2내지 3회의 소독을 강도높게 수행하였고 해당 농가에는 소독약을 공급하였다. 스트레스에 보다 민감한 임신축은 별도의 사육공간에서 사육하였다. 비임신축이 요네병 양성판정을 받은 직후부터 비육을 시작하였으며 초기에는 4-5kg의 사료를 급여하고 점차 그 양을 증가시켰다. 비육후기에는 10-12kg까지 사료량을 증가시켜 출하하였다.

임신축의 경우 초기에 5-6kg의 사료를 급여하였으며, 지나치게 비육되지 않도록 관리에 중점을 두고, 분만후에서 일정기간 동일한 양의 사료를 공급하였다.

월 2회 이상 목장을 방문하여 양성축의 상태를 확인하고 축우의 상태를 주의하여 관찰할 수 있게 목장주에 설명하였다. 암소의 경우 발정으로 인한 스트레스가 요네병의 임상형으로 발현될 가능성이 있다고 판단하여 사료에 일정량의 발정억제제를 투여하였다. 임신축의 경우는 이유 후부터 출하시기까지 사료 내에 발정억제제를 투여하였다.

Ⅲ. 결 과

소 요네병 근절을 위한 중점관리기준 설정

1. 시범목장 선정을 위한 유병률 조사

제주지역 축우에서 요네병 항체 양성율을 조사하기 위하여 2010년 27개 목장에서 915두의 혈청을 채취하여 ELISA에 의한 항체 양성율을 조사한 결과 22개 목장에서 요네병 항체 양성개체가 검출되어 81.5%의 목장 감염률을 나타내었다. 개체별 항체 양성율은 11.6%로서 106두가 양성을 나타내었다(Table 3-2).

Table 3-2. The sero-positive rates of Johne's disease by ELISA in 2010

	No. of tested	No. of positive (%)
Farms	27	22 (81.5)
Animals	915	106 (11.6)

요네병 항체 양성개체의 비율을 목장별로 분석한 결과 10에서 20% 미만의 양성율을 나타낸 목장이 25.9%로 가장 높았으며 30% 이상 중감염된 목장도 3개소로서 11.1%나 되었다(Fig. 3-1). 요네병 항체 음성목장은 5개소로서 향후 요네병 근절 정책 수립시 대체 축우 공급이 가능한 목장의 확보 가능성을 제시하고 있다.

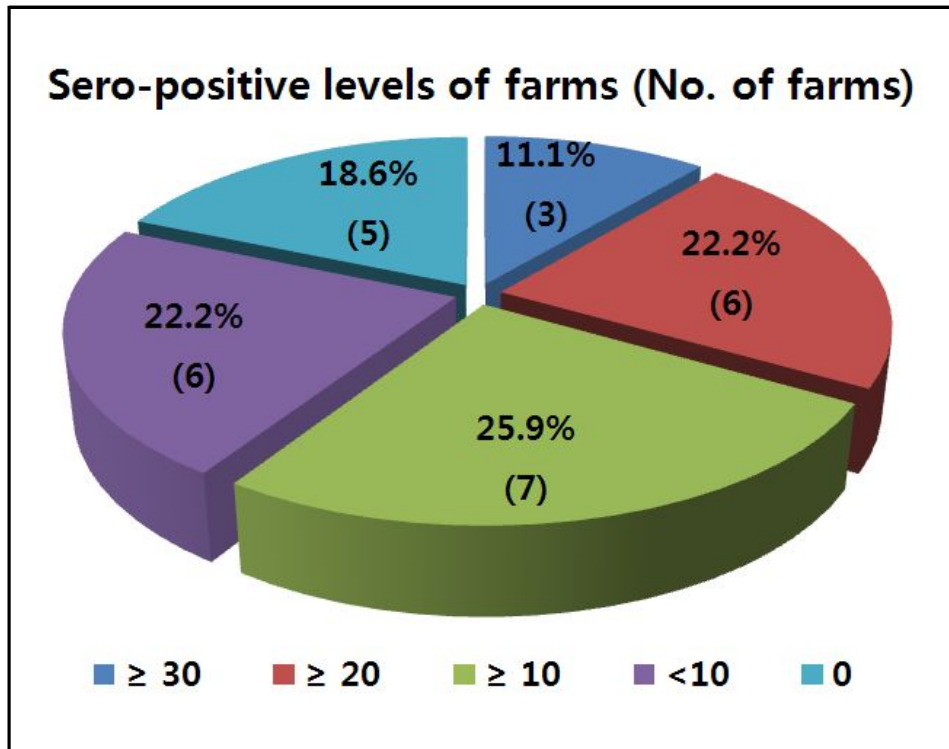


Fig. 3-1. Distribution of cattle farms according to sero-positive levels for Johne' disease.

2. 사육 형태에 따른 요네병 감염률

2010년부터 2012년까지 관내의 소 사육목장 중 동절기는 축사에서 사육되고 하절기에는 마을 공동목장으로 방목 사육되는 목장의 개체와 연중 개별 축사에서 사육하는 개체들에 대한 검사결과 요네병 양성율은 Table 3-3과 같았다. 년중 개별목장에 사육되는 개체의 항체 양성율은 5.2%인 반면 방목지에 사육 경험이 있는 목장의 개체 항체 양성율은 14.4%를 나타내어 사육환경에 따른 비교 결과 방목지에 사육 경험이 있는 개체의 항체 양성율이 2.7배 높게 나타났다. 또한, 목장간 비교에서는 개별목장의 양성율은 90%를 나타내었고 하절기 방목지에 사육되는 목장의 양성율은 62.5%로 조사되었다.

Table 3-3. The positive rate of Johne's disease according to breeding types of cattle

	No. of farms	No. of positive farms (%)	No. of cattle	No. of positive cattle (%)
Pen	10	9 (90)	592	31 (5.2)
Pastures	24	15 (62.5)	294	43 (14.6)

3. 요네병 시범목장의 선정

2010년 요네병 항체검사에 참여한 27개 목장 중 시범목장 선정은 6개소로서 목장의 유병률은 12.0%를 나타내었다. 목장 유병률이 20-30% 사이인 목장, 10-20% 사이의 목장, 10%미만인 목장 각 2목장씩 선정하였다. 지역별로 제주시 및 서귀포시 목장이 각각 3개소가 되게 선정하였으며, 사육 규모면으로 분류하였을 경우, 번식우가 100두 이상 목장, 50에서 100두 사이 목장, 30두 전후를 사육하는 목장 각 2개소를 선정하고 위 조건을 충족하고 요네병 근절의지가 높은 6 목장을 최종 선정하였다(Table 3-4).

Table 3-4. Johne' disease status of farm participated in eradication program

Farms	Regions	No. of positive/cattle tested	(%)
A	Jeju-si	15/56	(26.8)
B	Seogwipo-si	8/33	(24.2)
C	Seogwipo-si	4/30	(13.3)
D	Seogwipo-si	7/59	(11.9)
E	Jeju-si	14/162	(8.6)
F	Jeju-si	9/135	(6.7)
Total		57/475	(12.0)

4. 요네병 근절을 위한 중점관리기준

요네병 근절 시범목장의 축우 관리를 위한 중점관리기준은 요네병 항체 양성 개체의 처리방안, 가축의 구입 및 송아지 관리방안, 임신우의 관리방안 및 목장의 청결유지 방안, 공동목장 및 가축시장의 관리방안에 초점을 두었으며 그 세부적인 사항은 Table 3-5에서와 같다.

요네병 항체 양성개체가 목장에서 확인될 경우 가능한 한 신속히 처리하도록 하였다. 이들 개체는 별도의 격리사를 두거나 구획하여 관리하며 설사 등의 임상증상을 보이는 개체는 빠른 시일 내 도태 처리한다. 임상증상이 없는 개체는 조기 비육과정을 적용하여 사육되게 하고 도축장으로 출하하도록 지도하였다. 축주는 이에 대해 사육중인 개체별 기록관리를 유지하여야 한다. 깨끗한 환경에서 송아지를 분만해야 하며 분만 후 항체양성 모축은 조기 비육 프로그램을 적용하여 비육후 도축장에 출하하도록 하고 분만된 송아지는 성별에 관계없이 비육과정을 통해 도축장으로 출하하여야 한다.

송아지 사육장을 들어갈 때에는 반드시 분변이 묻지 않은 장화, 작업복 장비를 사용해야 하며, 송아지는 오염의 잠재력이 없는 곳에서 방목되게 하고 대체 축우가 필요할 경우 요네병 근절프로그램에 참여하는 목장 간 거래만 허용하였다.

공동목장은 입식하는 가축의 수와 목장에 대해 기록하고 관리해야 한다. 공동목장 내 입식을 희망하는 목장에 대해서는 요네병 검사 결과지를 첨부하도록 한다. 방목을 위해 입식하는 목장내역, 가축의 수, 성별 등을 기록 관리한다. 겨울철 목장에서 퇴목시 가축의 변동(폐사, 송아지 생산 등) 내역, 임상증상 발생 여부 등을 관찰하고 기록한다. 또한, 방목장의 물웅덩이를 제거하고 관수 시설로 교체하여야 한다.

가축시장 경매 송아지는 어미 소의 요네병 검사여부를 확인하여 경매에 참여하도록 한다. 생산자 단체는 송아지 경매참여를 위해 사전 농가에게 모축의 검사 결과지를 인수받고 목장과 개체에 대한 요네병 검사 결과지를 경매장에 게시한다. 가축시장에서 요네병 결과지의 게시 경위와 목적에 대해 경매 참여자들에게 자세히 홍보할 수 있도록 하였다.

Table 3-5. Critical management points for management of model animal farms

References	Critical management points
Johne's disease positive animal	<ul style="list-style-type: none"> • Prompt culling of clinical cattle • Separation of subclinical cattle from other animals • Slaughtering of subclinical cattle through rapid breeding process
Calf	<ul style="list-style-type: none"> • Bring the clean cattle to a separate and clean shed • Early weaning and separation of new born calf from subclinical cattle • Separation of facility and pasture from adult animals • Use clean facilities in calf housing • Secure replacements and additions from herds that participate in the Johne's disease eradication program
Community pastures	<ul style="list-style-type: none"> • Documentation of number of animals and information of farms • Appending the report on ELISA test • At exit, documentation of the recording on the number of animals (death, rearing etc.) and on the other disease occurring • Removal of ponds and then replacement to irrigation facilities
Livestock market	<ul style="list-style-type: none"> • Providing of document of ELISA test for dams of calves that auctioned • Providing of separated paddock for calves from Johne's disease negative farms

소 요네병 청정화 확립을 위한 인증 모델 개발

1. 시범목장의 요네병 항체 양성을 변화

요네병 근절 시범목장 6개소 목장에 대하여 중점관리기준을 적용하여 목장을 관리하면서 요네병 양성을 변화 결과는 Table 3-6과 같다. 10에서 12개월의 간격으로 세 번의 검사결과 20% 이상의 양성율을 보였던 A, B목장은 각각 26.8%, 24.2%에서 0.0%와 3.4%로 감소하였으며 10% 이상의 양성율을 보였던 C, D목장은 13.3%, 11.9%에서 1.3%와 5.9%로, 10% 이하의 양성율을 보였던 E, F목장은 8.6%, 6.7%에서 2.1%와 1.0%로 감소하였다. 이들 목장들은 목장주의 자발적인 검사 참여의지로 검사를 수행하였으며 1차 검사결과는 12.0%(57/475)의 항체 양성율을 보였으며 2차 검사결과 5.5%(25/451)로 감소하였다. 3차 검사결과 2.1%(12/560)를 나타내어 1차 검사결과보다 양성율이 평균 9.9%가 감소하였다.

특히, 1차 검사에서 가장 높은 유병률을 보인 A목장은 3년 이상 진행된 관리 프로그램에 의해 우군 내에서 요네병 항체 양성 개체가 완전히 제거된 것으로 확인되었다.

Table 3-6. Change of sero-positive rates of Johne's disease in 6 model farms which participated in eradication program

Farm	No. of positive/No. of cattle					
	1st	(%)	2nd	(%)	3rd	(%)
A	15/56	26.8	2/31	6.5	0/49	0.0
B	8/33	24.2	8/64	12.5	3/88	3.4
C	4/30	13.3	2/58	3.4	1/77	1.3
D	7/59	11.9	6/46	13.0	3/51	5.9
E	14/162	8.6	6/148	4.1	4/193	2.1
F	9/135	6.7	1/104	1.0	1/102	1.0
Total	57/475	12.0	25/451	5.5	12/560	2.1

2. 요네병 근절 프로그램 참여 목장의 유병률

시범목장의 요네병 근절 프로그램을 적용하고 시행하는 과정에 이 프로그램에 참여하기를 희망하는 목장의 년도별 요네병 유병률 조사 결과는 Table 3-7과 같다. 2010년도 총 검사두수 915두 중 106두가 양성으로 확인되어 11.6%를 나타내었고, 2013년도 3.0%(64/2,134)로 확인되었다.

유병률의 변화를 비교하였을 때 2013년도는 2010년에 비해 3.9배 감소되는 것으로 조사되었다. 요네병 근절사업에 참여를 희망하는 목장의 지역별 결과 참여도가 높은 서귀포시 지역이 다소 높은 요네병 항체 양성율을 보였다. 또한, 년도별 요네병 유병률 조사 결과, 2010년도의 제주시와 서귀포시의 유병률은 각각 8.4% 및 15.9%로 조사되어 연도 중 가장 높은 양성율을 나타내었다.

Table 3-7. Annual positive rates of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* by region

Year	No. of positive/ No. of animals (%)		Total (%)
	Jeju-si	Seogwipo-si	
2010	44/526 (8.4)	62/389 (15.9)	106/915 (11.6)
2011	1/194 (0.5)	9/280 (3.2)	10/474 (2.1)
2012	22/726 (3.0)	67/901 (7.4)	89/1,627 (5.5)
2013	20/554 (3.6)	44/1,580 (2.8)	64/2,134 (3.0)

2.1 양성 개체의 연령별 분포

시범목장을 포함하여 목장주의 자발적인 의사에 따라 소 요네병 인증프로그램에 참여한 목장의 양성 개체에 대한 연령분포는 Table 3-8과 같다. 총 양성개체 269두 중 2세 미만은 17.8%, 2에서 4세까지 57.3%, 5에서 7세까지 17.8%, 8세 이상의 개체에서 7.1%가 분포되는 것으로 나타났으며 2에서 4세까지 연령에서 가

장 높게 양성개체가 확인되는 것으로 조사되었다. 일반적으로 ELISA에 의한 요네 항체의 검출은 축우 연령이 최소 24개월 이상이어야 하나 이번 검사의 경우 2세 미만에서도 양성으로 상당수가 확인되어 요네병 근절 프로그램에는 18개월 이상을 대상으로 항체검사를 확대 실시할 필요성이 있다.

Table 3-8. Age distribution of cattle positive for Johne's disease

	Age (year)				Total
	<2	2-4	5-7	8<	
No. of positive	48	154	48	19	269
(%)	(17.8)	(57.3)	(17.8)	(7.1)	100

2.3 목장의 양성을 분포

요네병 감염정도에 따른 목장 분포도를 연도별로 분석한 결과는 Table 3-9와 같았다. 총 검사목장 111호 중 유병률 $\geq 30\%$ 인 목장이 5호, $\geq 20\%$ 의 목장 7호, $\geq 10\%$ 인 목장 18호, 10% 미만인 목장 40호, 음성인 목장 41호로 나타났다. 2010년부터 유병률 $\geq 10\%$ 이상인 목장은 17호(63%)였으나 2013년도 5호(12%)로 확인되어 3.4배 감소되었다. 또한 10% 미만인 목장은 10호(37%)에서 38호(88%)로 확인되어 3.8배가 증가된 것으로 조사되었다. 음성 목장의 분포도를 비교한 결과 2010년 5호에서 2013년 23호로 4.6배 증가되었음을 알 수 있었다.

Table 3-9. Distribution of cattle farms according to sero-positive rates for Johne' disease

Sero-positive rates	No. of farm (%)			
	2010	2011	2012	2013
≥30	3 (11.1)	0 (0.0)	2 (8.0)	0 (0.0)
≥20	6 (22.2)	1 (6.2)	0 (0.0)	0 (0.0)
≥10	8 (29.1)	1 (6.2)	4 (16.0)	5 (11.6)
<10	5 (18.5)	5 (31.3)	15 (60.0)	15 (34.9)
0	5 (18.5)	9 (56.3)	4 (16.0)	23 (53.5)
Total	27 (100)	16 (100)	25 (100)	43 (100)

3. 제주 축우 요네병 근절 인증 프로그램

제주지역 소 요네병 인증 프로그램은 개별목장과 공동목장의 사양 여건을 고려하여 적용이 가능한 관리 방안을 제시하는 것으로서 요네병 최소화 또는 근절을 위해 적극 활용할 필요가 있다.

3.1 개별목장 및 공동목장의 선정

3.1.1 개별목장의 우군 및 목장선정

우군이라 함은 제주지역 사육되는 모든 축우를 말하며 쇠고기 이력 추적제 상의 등록된 소와 분만 예정의 송아지를 포함한다. 개별목장은 우선 50두 미만의 사육 규모의 목장에 대해 우선 조사하고 이후 50두 이상의 목장에 대해 선정한 다.

3.1.2 공동목장의 우군 및 목장선정

공동목장 내 방목 사육을 하는 모든 개체를 대상으로 하고 방목기간 중에 태어난 송아지를 포함한다. 이 경우 방목중인 개체의 모든 축주가 참여하는 것을 원칙으로 한다.

3.2 검사 개체의 선택

검사 대상은 18개월 이상의 개체는 모두 포함하여야 하며 연차적 검사에 따라 어린 송아지가 18개월 이상이 되었을 때 이들 개체도 검사대상 개체에 포함시킨다.

3.3 검사 시료 및 검사법

검사의 시료는 인증에 참여하는 목장의 개체를 대상으로 한 혈청을 기본 시료로 공여한다. 또한 필요시 분변 또는 폐사축 발생시 부검하여 필요한 시료를 활용할 수 있다. 검사법으로는 효소면역측정법(ELISA) 및 균 배양시험, 조직시험, 중합효소연쇄반응(PCR) 등을 이용할 수 있다.

3.4 우군 내 개체표식

목장에서 사육되고 있는 각각의 개체는 쇠고기 이력 추적제에 등록된 개체로서 전산관리 체계를 갖추어야 한다. 쇠고기 이력제 상의 12자리의 개체번호를 부여한 개체를 대상으로 표식하여 관리한다.

3.5 검사주기

인증을 위한 목장 또는 우군은 12개월(± 3 개월) 마다 검사를 실시하여야 하며 4년간 검사를 의무화한다. 그러나 일정 기간 동안 반복적인 검사를 이행하지 않는

목장 또는 우군은 인증자격을 상실한다.

3.6 요네병 근절 인증 프로그램 등급 부여

3.6.1 개별목장 등급 부여

개별목장에 대한 요네병 인증 프로그램 등급은 1 등급과 2 등급으로 분류하며 1 등급은 4년간 검사에서 음성인 목장과 2 등급은 2년간 검사에서 음성인 목장으로 구분한다. 첫째 검사와 3년째 검사한 목장의 인증제 표시는 등급표시 상단에 1와 3을 표시하여 검사 중인 시점을 알아볼 수 있도록 표시한다.

1⁴ 등급 : 4년간 요네병 검사에서 음성인 개별목장

1³ 등급 : 3년간 요네병 검사에서 음성인 개별목장

2² 등급 : 2년간 요네병 검사에서 음성인 개별목장

2¹ 등급 : 1년간 요네병 검사에서 음성인 개별목장

3.6.2 공동목장 등급 부여

공동목장에 대한 요네병 인증 프로그램 등급은 1 등급과 2 등급으로 분류하며 1 등급은 4년간 검사에서 음성인 목장과 2 등급은 2년간 검사에서 음성인 목장으로 구분한다. 첫째 검사와 3년째 검사한 목장의 인증제 표시는 등급표시 상단에 1과 3을 표시하여 검사 중인 시점을 표시한다.

1⁴ 등급 : 4년간 요네병 검사에서 음성인 공동목장

1³ 등급 : 3년간 요네병 검사에서 음성인 공동목장

2² 등급 : 2년간 요네병 검사에서 음성인 공동목장

2¹ 등급 : 1년간 요네병 검사에서 음성인 공동목장

3.7 인증제 농장(목장)의 사후관리

3.7.1 양성개체의 정의

목장에서 사육중인 축우의 혈청에 대해 효소면역측정법을 이용한 검사결과에서 양성인 개체를 의미하며 추가로 분변 내 세균배양, 조직검사, PCR 등에서 양성인 개체를 포함한다.

3.7.2 인증등급 부여 농가(목장)의 양성개체 확인

인증받은 농가에서 양성개체가 확인되면 등급이 한 단계 하향 부여되며 이들 양성 개체는 별도 격리 사육과 함께 원칙적으로 빠른 시일 내에 도태해야 한다. 이들 양성개체에 대해 도태완료하고 3-5개월 내에 재검사를 실시하여 음성일 경우 기존 등급을 회복한다.

3.7.3 인증 우군의 농가에서 사온 소가 양성으로 확인

인증 우군이 확보된 농가는 폐쇄우군 유지를 위해 노력해야 하며 부득이 외부에서 소를 구입할 경우 인증목장 또는 인증제 참여목장에서 구입함을 원칙으로 한다. 다만, 인증목장에서 구입한 소가 검사에서 양성으로 확인될 경우

가. 소를 판매한 목장에 대해 재검사를 추진하고 해당 목장은 등급을 1단계 하향 부여하며 3개월 내 재검사에서 음성 시 기존 단계를 회복한다.

나. 소(송아지)를 구입한 목장은 모축의 검사여부를 서류로 확인하여 목장내 입식 시 별도 사양관리를 실시하여야 한다.

3.8 가축시장의 관리

요네병 근절을 위해서는 가축시장의 역할이 중요하다. 송아지 경매 출품에 따른 모축의 검사확인 여부가 반드시 수행되어야 하나 방목중인 번식한우의 경우

검사시행은 방목사육 여건상 현실적으로 불가능하다. 방목장에 축우 방목을 희망하는 농가의 요네병 검사는 방목시기 이전에 검사를 시행해야 한다. 지방정부는 농장별 인증 프로그램 참여 목장의 검사 내역을 생산자단체에게 제공하고 생산자 단체는 축우 경매 시 이에 대해 적극 홍보하여 한다. 송아지를 구입하고자 하는 목장은 인증 프로그램 참여여부를 확인하여 구입하여야 한다. 경매 출하 시 송아지 출처(모축의 검사여부 등)와 목장에 대한 인증 또는 인증 참여여부 내역을 생산자 단체가 경매현장에서 경매 참여 목장에 대해 일괄적으로 홍보하는 방법을 활용하는 것이 바람직하다.

3.9 공동 목장의 관리

3.9.1 음용수 관리

공동목장 내 음용수는 반드시 지하수 또는 관수로에서 공급된 물을 공급하여야 한다. 우수 등 자연적으로 생성된 노천수는 음수에 의한 요네병 확산의 중요한 원인으로 작용될 수 있으므로 빠른 시일 내 매립하여 우수가 고여 있지 못하도록 하거나 부득이한 경우 노천수 내 축우가 들어가지 못하도록 필요한 울타리 시설 등을 설치한다.

3.9.2 울타리(목책) 관리

요네병은 염소, 노루 등 감수성 동물의 범위가 광범위하다. 제주 중산간 지역의 공동목장에서 노루는 흔히 관찰된다. 노루가 목장 내 입식되지 못하도록 목책 시설 등 울타리 시설을 설치하여야 한다.

3.9.3 종모우 관리

요네병은 정액을 통해 감염될 위험성은 적으나 임상증상이 발현된 종모우나 무증상 개체의 종모우를 공동목장에 혼합 사육할 경우 감염의 위험성은 증가될

것이다. 따라서 공동목장 내 자연 증부를 위한 종모우 입식을 금지하고 부득이 입식할 경우 검사 후 입식함을 원칙으로 하며 가급적 인공수정을 실시함으로써 교차 감염의 가능성을 최소화 한다.

제주지역 요네병 근절을 위한 인증 프로그램은 지방정부가 주관이 되어 시행하고 제주지역 축우의 사육여건을 고려하여 적용할 수 있는 요네병 관리 프로그램으로서 개별목장과 공동목장의 사양환경에 맞게 적용할 수 있다. Fig. 3-2에서와 같이 요네병 근절 프로그램의 적용은 첫 해 검사에서 음성인 목장을 시작으로 요네병 인증 위원회의 심의 결과에 따라 인증여부를 결정하고 매년 검사를 추진한다. 양성개체의 확인시 등급 기준을 한 단계 하향 조정하고 양성 개체에 대한 신속한 도태 등 사후관리가 포함된다. 또한, 매년 검사에서 음성 목장으로 확인될 경우 1⁴ 등급의 최고 등급을 부여하고 모든 목장의 관리와 정기적인 검사 등은 생산자 단체의 협조를 얻어 지방 정부에서 주관하여 관리하여야 한다.

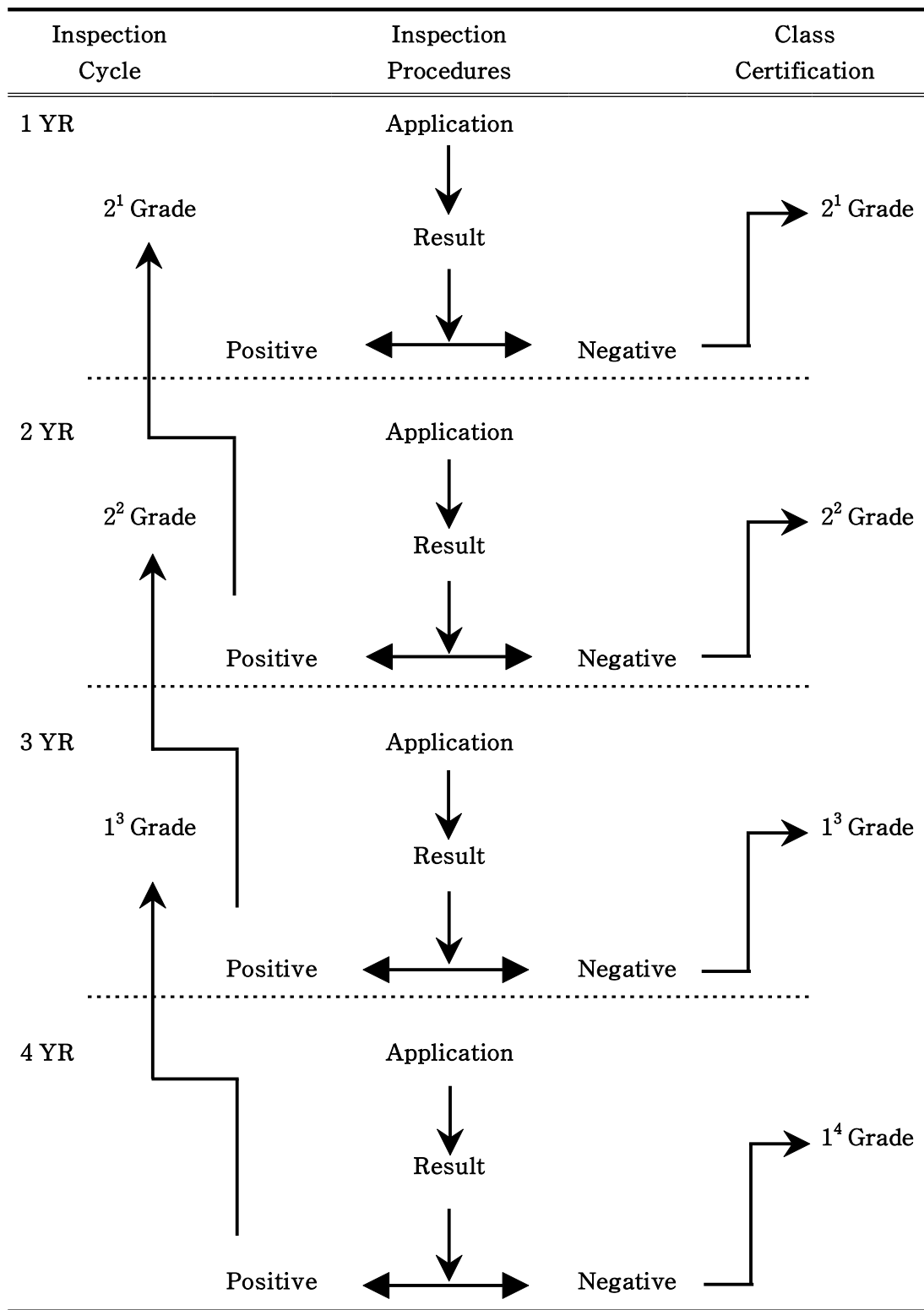


Fig. 3-2. Feedback for Johne's disease certification program in Jeju.

IV. 고 찰

만성 소모성 질환을 일으키는 요네병은 소, 돼지, 사슴, 양에서 지속적인 장염을 일으켜 만성설사, 쇠약, 증체율 감소 등을 유발한다(McFadden 등, 1987; Timoney 등, 1988). 또한, 뚜렷한 임상증상 없이 잠복기가 길고 병원체가 지속적으로 분변으로 배설되기 때문에 근절과 치료 등 목장의 질병관리가 매우 어렵다(Van Leeuwen 등, 2006).

Thoen과 Baum(1988)은 미국의 경우 5-20% 가량의 소가 요네병에 감염된 것으로 추정하였고 플로리다 주의 소 4,500두의 혈청을 ELISA로 검사한 결과, 젖소의 17.1%와 육우의 8.6%가 양성으로 보고하였다. 그리고 Collins 등(1994)은 미국 위스콘신 주 158개 젖소 목장 4,990두의 혈청을 대상으로 한 ELISA 검사에서 전체 목장의 50%에서 최소 1두 이상의 요네병 항체 양성반응을 보였고 전체 소의 7.29%가 양성으로 보고하였다. 또한 미시간 주의 121개 목장 2,886두를 ELISA로 검사한 결과 80개 목장에서 1두 이상의 양성개체가 진단되었고 총 267두(6.9%)가 양성반응을 나타내었다(Johnson-Ifearulundu와 Kaneene, 1999). 그의 국가의 경우에도 네덜란드 31-71%(Muskens 등, 2000), 덴마크 47%(Nielsen 등, 2000), 벨기에 18%(Boelaert 등, 2000)의 항체 양성율이 보고되었으며, 프랑스의 경우에는 연구자나 지역에 따른 차이가 뚜렷한 것으로 보고되고 있는데, 2001년 연구에서 Dufour 등(2004)은 지역에 따라 목장 감염률은 0.02-4.57% 사이이고, 반면에 Good 등(2009)은 아일랜드의 경우 목장 감염률이 9.6%를 나타내었고 젖소 20.6%, 비육우에서 7.6%의 양성율 차이가 난다고 보고하였다.

소 요네병에 대한 축산농가의 질병 인지도가 높아지면서 국내에서 요네병 진단 건수는 지속적으로 증가하고 있으며 2011년까지 전국적으로 607건에 1,560두가 발생하였다. 최근을 기준으로 과거 3년간 연도별 조사결과 2008년 48건 90두, 2009년 111건 277두, 2010년 168건 432두로 지속적으로 검사건수와 개체수가 증가하는 경향을 나타내고 있다. 이 연구에서 2010년 27개 목장에서 915두의 축우 혈청으로부터 요네병에 대한 항체 여부를 검사한 결과 81.5%의 목장 감염률을 나타내어 미국의 위스콘신 주(50% 이상), 미시간 주(66.1%)보다도 높게 조사되었

다. 반면, 11.6%의 개체 감염률은 네덜란드(31-71%), 덴마크(47%), 벨기에(18%) 보다는 낮게 나타났다. 국내에서는 김 등(2002)이 강원지역 젓소의 13.1%에서 24.3%까지 젓소 감염률을 보였다는 결과에 비해 낮은 수치를 나타내었다. 손 등(2013)은 경남 중부지역의 도축장 출하우 중 한우에 대한 요네병 감염실태를 조사한 결과 228두 중 3두(1.3%)에서 항체 양성을 보여 이번 연구의 결과와는 큰 차이가 있었다. 그 외에 김 등(2002)이 강원지역 젓소의 16.4%(372/2261두), 박 등(2007)이 울산지역 젓소의 5.3%(24/452두), Lee 등(2009)이 경북 동부지역 젓소의 6.9%(25/363두)와 한우의 6.8%(19/189두), 김(2010)이 전북 익산지역 축우의 18%(16/88두)가 요네병에 양성이었다는 보고를 하여 요네병 감염률은 우리나라의 경우도 대상지역이나 축우의 종류에 따라 다양한 것을 알 수 있다.

요네병을 진단하는데 사용하는 ELISA의 경우 2세 이상의 축우에 주로 적용하는 것으로 알려져 있으나 이번 연구에서 임상형의 소 중 2세 미만이 10.5%, 양성으로 확진된 최소 연령대는 18개월(Table 2-4)인 것으로 조사되었다. 2010년부터 2013년까지 요네병 근절프로그램에 참여한 목장의 준임상형 요네병 양성개체의 경우에도 총 269두 중 2세 미만이 17.8%를 나타내어 임상증상을 나타낸 소에서의 결과와 유사하게 나타났다. 따라서 요네병 근절 프로그램에 참여하는 목장의 경우 18개월 이상의 소를 대상으로 ELISA에 의해 요네병 진단을 하는 것이 바람직 할 것으로 보인다. 요네병 양성개체의 연령별 분석 결과는 2에서 4세까지 57.3%, 5에서 7세까지 17.8%, 8세 이상의 개체에서 7.1%였으며 2에서 4세에서 가장 높은 양성율을 나타내었다.

Timoney 등(1998)은 요네병은 잠복기가 긴 특징을 가지며 흔히 3-5세의 개체에서 확인된다고 보고하였다. 이는 제주지역이 2세부터 4세까지 요네병 양성율이 57.3%로 나타나 3에서 5세의 연령의 개체의 유병률이 가장 높게 나타난 조사결과와 일치하였다. 그러나 8세 이상의 소에서도 7.1%의 양성율을 나타내고 있어 요네병의 긴 잠복기를 확인할 수 있었다.

요네병에 의한 경제적 피해는 앞에서 언급한 바와 같이 평가 시기나 국가의 경제상황에 따라 다양하지만 개개 농가 차원의 이익과 생산성에서 발생하는 손실을 정확하게 산출하는 것이 어렵기 때문에 실제로는 이 질병에 의한 충격은 과소평가되고 있는 실정이다. 우리나라의 경우 요네병이 살처분 대상 질병이 아

니기 때문에 경제적 손실이 적을 수도 있겠으나 만성적이고 고질적인 질병의 특성상 축우 사육목장의 경제적 피해는 생각하는 것 이상으로 심각하게 평가되고 있다. 한국농촌경제연구원에 따르면 우리나라 한육우에서 40,300백만 원에서 165,900백만 원까지 손실되는 것으로 추정하였고 젓소의 예에서 요네병 발생은 43,800백만 원 이상의 직접 손실액이 발생되고 있다고 계측하였다(송 등, 2006). 제시하고 있는 기준을 응용하여 2012년을 기준으로 제주지역의 요네병에 대한 직접 손실액을 분석한 결과 연간 약 3,332백만 원에 달하는 것으로 분석되었다. 이는 제주도내 축우에서 요네병을 근절하는 것이 무엇보다 중요함을 나타낸다.

여러 나라에서 요네병에 대한 연구자들은 이 질병의 감염률과 근절 방안과 위험 요인분석 등에 대해 꾸준히 연구되고 보고되고 있다. 캐나다에서는 젓소의 요네병 예방을 위하여 12개월 이상의 송아지를 구입해야 하거나 겨울철 이유 후에 축사내로 흡사시켜야 하는 등 위험 요소에 대한 관리방안을 분석하여 보고하였으며(Tiwari 등, 2009), 캐나다 정부는 요네병 감염 우군을 조사하고 이들을 통제하기 위한 방법과 축주의 자발적인 참여 유도를 위해 손실부분, 프로그램 참여에 대한 인센티브의 부여 방안을 제안하고 보고하였다(McKenna 등, 2006; Sorge 등, 2010). 또한 호주, 미국, 네덜란드의 경우에도 국가적인 차원에서의 근절 정책에 앞서 자발적인 참여 목장을 대상으로 근절 프로그램을 운영하고 있다(Ridge 등, 2010; Groenendaal, 2005; Garry, 2011).

특히, 제주도의 경우 낙농업에 비하여 한우 산업의 비중이 높고 도외로부터 한우의 공급이 불가능한 상황으로 한정된 지역 내 거래만 이루어지고 있어 요네병 근절정책이 필요한 실정이다. 이 연구에서는 외국의 요네병 근절을 위한 목장의 중점관리기준을 토대로 하여 제주지역에 적합한 목장 관리방안과 체계적인 요네병 근절정책을 마련하고자 하였다. 2010년 요네병 검사를 받은 6개 목장을 시범적으로 선정하고 3년간의 검사와 설정한 중점관리기준에 따라 목장을 관리하였다. 1차 검사에서 이들 목장의 평균 유병률은 12.0%로 나타났으나 요네병 항체 양성 개체의 격리 및 도태, 신규입식 송아지의 구입방법 및 관리방법 등의 중점관리기준을 적용함으로써 평균 2.1%로 감소되었다. 이와 같이 시범목장에서의 요네병 근절 가능성은 전체적으로 제주도내 축산농가에서 요네병 근절 프로그램에 참여하고자 하는 목장의 수를 증가시켰다. 2010년도에 검사에 참여한 목장이

27개소였으나 2013년도에는 43개소로 늘어났다. 특히 요네병 음성 목장의 수도 5에서 23개소로 증가하여 향후 요네병 근절 프로그램에 참여하는 목장에서 대체 축우를 공급할 수 있는 목장의 확보 가능성을 증가하였다.

제주지역은 지역이 좁고 축산농가가 밀집되어 있으며 가축의 의료 수혜를 받기에 매우 용이한 지역이다. 각 지역별 공수의사와 생산자 단체 수의사의 목장방문은 농가의 입장에서 요네병의 지식을 습득하고 인지하는데 매우 쉽게 질병을 이해하고 자문을 구할 수 있다. 반면에 방목장이 많고 공동목장을 사용하고 있어 요네병의 목장간 전파가 용이한 편이다. 결론적으로 이번 연구의 중점관리기준에 포함된 요네병 항체 양성 개체의 처리방안, 가축의 구입 및 송아지 관리방안, 임신우의 관리방안 및 목장의 청결유지 방안, 공동목장 및 가축시장의 관리방안을 토대로 제주도내 요네병 근절 인증 프로그램이 마련되었다. 이 프로그램은 4단계 2 등급으로 분류되며 참여목장의 경우 연 1회 의무적인 검사는 물론 인증 서류의 체계적 관리방안이 마련되어 요네병 인증을 받고자 하는 목장의 수가 늘어나고 있다. 이는 제주지역 축우에서 요네병에 의한 피해를 최소화시킬 수 있는 가능성을 제시하고 있을 뿐만 아니라 향후 제주도내 축우산업에서 요네병을 완전히 근절하기 위한 정책수립 방안으로서 소 요네병 인증프로그램이 매우 유용함을 확인할 수 있었다.

총 결 론

제주지역 축우에서 요네병을 청정화를 위하여 2010년부터 2013년까지 요네병 감염률을 지역별, 연령별로 분석하였으며, 시범목장을 선정하여 요네병 근절 프로그램 개발을 위한 중점관리기준을 마련하였다. 이 프로그램에 참여하는 목장의 요네병 양성 개체를 관리하는데 활용하고자 요네병 양성 도축우의 미생물학적, 병리학적 진단 결과와 ELISA S/P 값 간의 연관성을 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 만성 설사병의 진단목적으로 2010년부터 2013년까지 검사한 310목장의 554두 중 313두가 요네병 양성(56.5%)으로 확인되었다. 검사의뢰 농가수와 건수는 2010년도(179두/104목장)에 가장 많았으며, 2011년도 검사에서 가장 높은 항체 양성율(65.0%)을 나타내었다. 요네병 항체 양성개체 중 2세 미만이 10.5%, 2에서 4세까지 61.3%, 5에서 7세까지 22.4%, 8세 이상의 개체가 5.8%를 나타내어 2세에서 4세의 연령이 가장 많았다.

2. 요네병 항체 양성 도축우 27두의 ELISA S/P 값과 평균 생체량 및 지육량을 비교하였다. 평균 생체량과 지육량은 S/P 값이 높을수록 감소하는 것으로 분석되었고, S/P 값이 70-99%인 경우 각각 507kg, 304kg, 100-149%에서는 500kg, 300kg, 150-199%에서는 390kg, 234kg이었으며 마지막으로 200%이상인 경우는 318kg 및 191kg으로 나타내었다.

3. 도축우의 회장 말단부 시료에 대한 IS900 PCR 결과, 15두(55.5%)에서 요네병 특이항원이 검출되었다. ELISA S/P 값 150-199%의 개체 13두 중 10두(76.9%)가, 200% 이상의 개체 5두 모두(100%) PCR 양성을 나타내었다. 또한, 16두(59.2%)가 항산성 염색에서 양성을 나타내었고, ELISA S/P 값이 150-199%인 개체 13두 중 11두(84.6%), 200% 이상인 개체 5두 모두 양성을 나타내었다. ELISA S/P 값이 150% 미만의 개체 9두는 이들 두 검사기법에서 모두 음성이었다. 도축우의 육안적인 소견 결과, ELISA S/P 값이 70-99%인 6두 중 1두, 100-149%인 3두 중 2두, 150-199%인 13두 중 1두에서 경미한 추벽이 관찰된 반

면, 심한 추벽형성은 150-199%인 13두 중 10두와 200% 이상인 개체 5두 모두에서 관찰되어 ELISA S/P 값이 높을수록 육안적 병변이 심해짐을 알 수 있었다. 조직학적 소견에서도 ELISA S/P 값이 70-99%인 6두 중 5두, 100-149%인 3두 모두, 150-199%인 13두 중 5두에서 만성 장염(Chronic enteritis)을 나타내었고, 육아종성 장염(Granulomatous enteritis)의 경우 150% 미만에서는 관찰되지 않았으나 150-199%인 13두 중 8, 200% 이상인 5두 모두에서 관찰되어 ELISA S/P 값이 높을수록 조직학적 병변 역시 심해짐을 알 수 있었다.

4. ELISA에서 요네병 양성을 나타낸 14두의 설사시료 중 6두(42.9%)에서 요네균으로 의심되는 균집락이 배양되었고 이들 균주는 IS900 PCR 기법에 의해 요네균으로 동정되었다. 이들 시료 중 IS1311 PCR에서 양성을 나타낸 균주는 5개였고 *HinfI* 제한효소를 이용한 IS1311 PCR-REA에서는 Cattle type 4균주, Bison type 1균주가 확인되었다. IS900 PCR에서 양성이었으나 IS1311 PCR에서 음성인 균주는 미분류 균으로 분류하였다.

5. 요네병 근절 프로그램을 수립하기 위한 시범목장을 선정하기 위하여 2010년 27개 목장 915두를 대상으로 요네병의 항체 보유율을 조사한 결과 22목장(81.5%)의 106두(11.6%)가 요네균 항체를 보유하는 것으로 관찰되었다. 27개 목장 중 시범목장으로는 요네병 양성율과 지역, 사육두수를 기준으로 하여 6개소의 목장을 최종 선정하였고 평균 유병률은 12.0%(57/475)였다. 요네병 근절을 위한 중점관리기준은 요네병 항체 양성개체의 처리방안, 가축의 구입 및 송아지 관리방안과 공동목장과 가축시장의 관리방안에 초점을 맞춰 설정하였다. 중점관리기준에 따라 목장을 관리하면서 10에서 12개월의 간격으로 3회를 검사하는 동안에 이들 목장의 요네병 평균 유병률은 각각 12.0%, 5.5%, 2.1%로 감소되었다.

6. 요네병 근절 프로그램 시범목장의 사례는 자발적 참여 목장의 수를 증가시키는 계기가 되었다. 요네병을 검사한 첫 해인 2010년 제주시 8.4%, 서귀포시 15.9%가 요네병 양성이었으나 검사 4년째인 2013년에는 각각 3.6%, 2.8%를 보여 요네병을 근절하기 위한 중점관리기준의 적용으로 요네병 유병률은 꾸준히 감소하였다. 또한 자발적 참여목장의 수는 2012년 25호에서 2013년 요네병 인증제의 실시로 43개소(72% 증가)로 증가하였고 특히 23개 목장의 경우 요네병 양성우가 없는 곳으로 판정되어 향우 대체우의 구입을 위한 목장의 확보도 용이할 것으로

생각된다.

결론적으로 이 연구에서는 제주도 내 사육중인 한우에서 요네병의 혈청학적 양성율을 조사하고 이를 토대로 요네병 근절을 위한 중점관리기준을 적용할 시범목장을 운영하여 요네병의 유병률이 점진적으로 감소함을 증명하였다. 이러한 성과는 요네병 근절 프로그램에 참여하기를 희망하는 한우농가의 수를 증가시켰으며 제주도가 축우 요네병 근절 인증 프로그램을 정책에 반영하게 되어 제주지역 축우에서 요네병을 최소화할 수 있는 계기가 마련되었다.

참고문헌

Alinovi CA, Ward MP, Lin TL, Moore GE, Wu CC. Realtime PCR, compared to liquid and solid culture media and ELISA, for the detection of *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis*. *Vet Microbiol* 2009, **136**, 177-179.

Bauerfeind R, Benazzi S, Weiss R, Schliesser T, Willems H, Baljer G. Molecular characterization of *Mycobacterium paratuberculosis* isolates from sheep, goats, and cattle by hybridization with a DNA probe to insertion element IS900. *J Clin Microbiol* 1996, **34**, 1617-1621.

Benedictus G, Verhoeff J, Schukken YH, Hesselink JW. Dutch Paratuberculosis programme history, principles and development. *Vet Microbiol* 2000, **77**, 399-413.

Blowey RW, Weaver AD. Color Atlas of Diseases and Disorders of Cattle. 2nd ed. p. 47, Mosby Inc, Edinburgh, 2003.

Boelaert F, Walravens K, Biront P, Vermeersch JP, Berkvens D, Godfroid J. Prevalence of paratuberculosis (Johne's disease) in the Belgian cattle population. *Vet Microbiol* 2000, **77**, 269-81.

Braun RK, Buergelt CD, Littell RC, Linda SB, Simpson JR. Use of an enzymelinked immunosorbent assay to estimate prevalence of paratuberculosis in cattle of Florida. *J Am Vet Med Assoc* 1990, **196**, 1251-1254.

Brett E. Johne's disease: An economic evaluation of control options for the New Zealand livestock industries. Agriculture New Zealand, Wellington, 1998.

Buergelt CD, Duncan JR, Age and milk production data of cattle culled from a dairy herd with paratuberculosis. *J Am Vet Med Assoc* 1978, **173**,

478-480.

Chiodini RJ, Van Kruiningen HJ, Merkal RS. Ruminant paratuberculosis (Johne's disease): The current status and future prospects. *Cornell Vet* 1984, **74**, 218-262.

Cho J, Tauer LW, Schukken YH, Gómez MI, Smith RL, Lu Z, Grohn YT. Economic analysis of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* vaccines in dairy herds. *J Dairy Sci* 2012, **95**, 1855-1872.

Cicuta ME. Validez de la prueba tuberculínica en el diagnóstico de paratuberculosis bovina en el NEA. *Rev Med Vet* 1999, **80**, 72-74.

Collins DM, Gabric DM, De Lisle GW. Identification of a repetitive sequence specific to *Mycobacterium paratuberculosis*. *FEMS Microbiol Lett* 1989, **51**, 175-178.

Collins MT, Socket DC, Goodger WJ, Conrad TA, Thomas CB, Carr DJ. Herd prevalence and geographic distribution of, and risk factors for, bovine paratuberculosis in Wisconsin. *J Am Vet Med Assoc* 1994, **204**, 636-641.

Cox JC, Drane DP, Jones SL, Ridge S, Milner AR. Development and evaluation of a rapid absorbed enzyme immunoassay test for the diagnosis of Johne's disease in cattle. *Aust Vet J* 1991, **68**, 157-160.

Crossley BM, Zagmutt-Vergara FJ, Fyock TL, Whitlock RH, Gardner IA. Fecal shedding of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* by dairy cows. *Vet Microbiol* 2005, **107**, 257-263.

Dufour B, Pouillot R, Durand B. A cost/benefit study of paratuberculosis certification in French cattle herds. *Vet Res* 2004, **35**, 69-81.

Dundee L, Grant IR, Ball HJ, Rowe MT. Comparative evaluation of four decontamination protocols for the isolation of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* from milk. *Lett Appl Microbiol* 2001, **33**, 173-177.

Enosawa M, Kageyama S, Sawai K, Watanabe K, Notomi T, Onoe S, Mori Y, Yokomizo Y. Use of loop-mediated isothermal amplification of the IS900 sequence for rapid detection of cultured *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. *J Clin Microbiol* 2003, **41**, 4359-4365.

Franken P. Paratuberculosis control in the Netherlands; The target and an overview of the activities. *Proceedings of the 7ICP, Bilbao, Spain, 2002.*

Garry F. Control of paratuberculosis in dairy herds. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2011, **27**, 599-607.

Gelberg HB, Alimentary system. In: McGavin MD, Zachary JF (eds), *Pathologic basis veterinary disease*. 4th ed, pp. 301-391, Mosby Inc., Missouri, 2007.

Gilardoni LR, Paolicchi FA, Mundo SL. Bovine paratuberculosis: a review of the advantages and disadvantages of different diagnostic tests. *Rev Argent Microbiol* 2012, **44**, 201-15.

Gitnick G, Collins J, Beaman B, Brooks B, Arthur M, Imaeda T, Palieschesky M, Palieschesky M. Preliminary report on isolation of mycobacteria from patients with Crohn's disease. *Dig Dis and Sci* 1989, **34**, 925-932.

Good M, Clegg T, Sheridan H, Yearsely D, O'Brien T, Egan J, Mallowney P. Prevalence and distribution of paratuberculosis (Johne's

disease) in cattle herds in Ireland. *Ir Vet J* 2009, **62**, 597-606.

Groenendaal H. Epidemiologic and economic risk analysis of Johne's disease control. PhD-thesis Wageningen University and Research Centre, Department of Social Sciences, Business Economics Group 2005.

Groenendaal H, Jalvingh AW, Nielen M & Horst HS. An epidemiological and economic study to evaluate the control of Johne's disease on dairy herds in the Netherlands: a stochastic simulation model. *Soc for Vet Epidemiol Prevent Med Annual Conference* 1999, 24-26.

Groenendaal H, Nielen M, Hesselink JW. Development of the Dutch Johne's disease control program supported by a simulation model. *Prev Vet Med* 2003, **60**, 69-90.

Huntley JF, Whitlock RH, Bannantine JP, Stabel JR. Comparison of diagnostic detection methods for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in North American bison. *Vet Pathol* 2005, **42**, 42-51.

Johnson-Ifearulundu Y, Kaneene JB. Distribution and environmental risk factors for paratuberculosis in dairy cattle herds in Michigan. *Am J Vet Res* 1999, **60**, 589-596.

Johne HA, Frontingham L. Ein eigenthümlicher fall von tuberculose beim rind. *Deutsche Zeitschrift für Tiermedizin und Vergleichende Pathologie* 1895, **21**, pp. 438-454.

Jubb TF, Galvin JW. Effect of a test and control program for bovine Johne's disease in Victorian dairy herds 1992-2002. *Aust Vet J* 2004, **82**, 228-232.

Kaur P, Folia G, Singh SV, Patil PK, Ravi Kumar GV, Sandhu KS. Molecular epidemiology of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*: IS900 PCR identification and IS1311 polymorphism analysis from ruminants in the Punjab region of India. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2011, **34**, 163-169.

Kennedy DJ, Allworth MB. Progress in national control and assurance programs for bovine Johne's disease in Australia. *Vet Microbiol* 2000, **20**, 443-451.

Kim JM, Ku BK, Lee HN, Hwang IY, Jang YB, Kim J, Hyun BH, Jung SC. *Mycobacterium avium paratuberculosis* in wild boars in Korea. *J Wildl Dis* 2013, **49**, 413-417.

Kovich DA, Wells SJ, Friendshuh K. Evaluation of the Voluntary Johne's Disease Herd Status Program as a source of replacement cattle. *J Dairy Sci* 2006, **89**, 3466-3470.

Lee SM, Kim MS, Jang YS, Chon RH, Park NC. Seroprevalence of paratuberculosis of dairy cattle and Korean cattle in Eastern-Gyeongbuk area. *Korean J Vet Serv* 2009, **32**, 171-176.

Li L, Bannantine JP, Zhang Q, Amonsin A, May BJ, Alt D, Banerji N, Kanjilal S, Kapur V. The complete genome sequence of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005, **102**, 12344-12349.

Markal RS, Paratuberculosis : Advances in cultural, serologic and vaccination methods. *J Am Vet Med Assoc* 1984, **184**, 939-943.

Marsh I, Whittington R, Cousins D. PCR-restriction endonuclease analysis

for identification and strain typing of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* and *Mycobacterium avium* subsp. *avium* based on polymorphisms in IS1311. Mol Cell Probes 1999, **13**, 115-126.

McFadden JJ, Butcher PD, Chiodini R, Hermon-Talor J, Crohn's disease-isolated mycobacteria are identical to *Mycobacterium paratuberculosis*, as determined by DNA probes that distinguish between mycobacterial species. J Clin Microbiol 1987, **25**, 796-801.

McKenna SLB, Vanleeuwen JA, Barkema HW, Jansen JT, Hauer G, Hendrick SH, , Côte G, Salsberg EB, Edward, Empringham RE. Proposed canadian voluntary national Johne's disease prevention and control program. Can Vet J 2006, **47**, 539-541.

Milner A, Wood P. Johne's disease: current trends in research, diagnosis and management. In: Gill IJ (ed), The economic impact of Johne's disease in cattle in Australia. 1st ed, pp. 36-40, Common wealth Scientific and Industrial Research Organization, Melbourne, 1989.

Moravkova M, Hlozek P, Beran V, Pavlik I, Preziuso S, Cuteri V. Strategy for the detection and differentiation of *Mycobacterium avium* species in isolates and heavily infected tissues. Res Vet Sci 2008, **85**, 257-264.

Mundo SL. Respuesta inmune en bovinos frente a *Mycobacterium paratuberculosis*. PhD Dissertation. Facultad de Farmacia y Bioquímica-Universidad de Buenos Aires, 2005.

Murray MJ, Smith BP. Disease of the alimentary track. In: Smith BP (ed) Large Animal Internal Medicine. 2nd ed, pp. 899-904, Mosby-Year Book Inc., Missouri, 1996.

Muskens J, Barkema HW, Russchen E, van Maanen K, Schukken YH, Bakker D. Prevalence and regional distribution of paratuberculosis in dairy herds in the Netherlands. *Vet Microbiol* 2000, **77**, 253-261.

Nguyen HT, Buergelt CD, Indirect immunoperoxidase test for the diagnosis of paratuberculosis. *Am J Vet Res* 1983, **44**, 2173-2174.

Nielsen SS. Transitions in diagnostic tests used for detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infections in cattle. *Vet Microbiol* 2008, **132**, 274-282.

Nielsen SS, Thamsborg SM, Houe H, Bitsch V. Bulk-tank milk ELISA antibodies for estimating the prevalence of paratuberculosis in Danish dairy herds. *Prev Vet Med* 2000, **44**, 1-7.

OIE (Office International des Epizooties). World Animal Health 2000, Part 2, Paris, 2001.

Ott SL, Wells SJ, Wagner BA. Herd-level economic losses associated with Johne's disease on US dairy operations. *Prev Vet Med* 1999, **40**, 179-192.

Stanchi NO. Paratuberculosis. In: Paolicchi FA, Romano MI (eds), *Microbiología Veterinaria*. 1st ed. pp. 425-431, Editorial Inter-Médica SA, Buenos Aires Intermédica, 2007.

Paolicchi FA, Zumarraga M, Gioffre A, Zamorano P, Morsella C, Verna A, Cataldi A, Alito A, Romano M. Application of different methods for the diagnosis of paratuberculosis in dairy cattle herds in Argentina. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 2003, **50**, 20-26.

Paustian ML, Bannantine JP, Kapur V. *Mycobacterium avium* subsp.

paratuberculosis genome. In: Behr MA, Collins DM (eds), Paratuberculosis: organism, disease and control. pp. 73–81, CAB Oxfordshire, UK, 2010.

Raizman EA, Fetrow JP, Wells SJ. Loss of income from cows shedding *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* prior to calving compared with cows not shedding the organism on two Minnesota dairy farms. J Dairy Sci 2009, **92**, 4929–4936.

Rajeev S, Zhang Y, Sreevatsan S, Motiwal AS, Byrum B. Evaluation of multiple genomic targets for identification and confirmation of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* isolates using real time PCR. Vet Microbiol 2005, **105**, 215–221.

Reddacliff LA, Vadali A, Whittington RJ. The effect of decontamination protocols on the numbers of sheep strain *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* isolated from tissues and faeces. Vet Microbiol 2003, **95**, 271–282.

Ridge SE, Heuer C, Cogger N, Heck A, Moor S, Baker IM, Vaughan S. Herd management practices and the transmission of Johne's disease within infected dairy herds in Victoria, Australia. Prev Vet Med 2010, **95**, 186–197.

Sevilla Ix, Singh SV, Garrido JM, Aduriz G, Rodríguez S, Geijo MV, Whittington RJ, Saunders V, Whitlock RH, Juste RA. Molecular typing of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* strains from different hosts and regions. Rev Sci Tech 2005, **24**, 1061–1066.

Singh PK, Singh SV, Kumar H, Sohal JS, Singh AV. Diagnostic application of IS900 PCR using blood as a source sample for the detection of *Mycobacterium avium* subspecies *Paratuberculosis* in early and subclinical cases of caprine paratuberculosis. Vet Med Int. 2010; 2010(article ID 748621),

1-8.

Singh SV, Sohal JS, Singh PK, Singh AV. Genotype profiles of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis isolates recovered from animals, commercial milk, and human beings in North India. *Int J Infect Dis* 2009, **13**, 221-227.

Sockett DC. Johne's disease eradication and control: regulatory implications. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 1996, **12**, 431-440.

Son BG, Seok JM, Jang EH, Ji DH, Shin JS, Hwang BW. Prevalence of Johne's disease from slaughtered cattle in central area of Gyeongnam province, Korea. *Korean J Vet Serv* 2013, **36**, 31-36.

Sorge U, Kelton D, Lissemore K, Godkin A, Hendrick S, Wells S. Attitudes of Canadian dairy farmers toward a voluntary Johne's disease control program. *J Dairy Sci* 2010, **93**, 1491-1499.

Stabel JR. Production of gamma-interferon by peripheral blood mononuclear cells: an important diagnostic tool for detection of subclinical paratuberculosis. *J Vet Diagn Invest* 1996, **8**, 345-350.

Thoen CO, Baum KH. Current knowledge on paratuberculosis. *J Am Vet Med Assoc* 1988, **192**, 1609-1611.

Timoney JF, Gillespie JH, Scott FW, Barlough JE. The gene mycobacterium In: Hagan and Bruner's microbiology and infectious disease of domestic animal, 8th ed. pp. 270-289. Comstock, Ithaca, New York, 1988.

Tiwari A, VanLeeuwen JA, Dohoo IR, Keefe GP, Haddad JP, Scott HM, Whiting T. Risk factors associated with *Mycobacterium avium* subspecies

paratuberculosis seropositivity in Canadian dairy cows and herds. Pre Vet Med 2009, **88**, 32-41.

Tsai SJ, Hutchinson LJ, Zarkower A. Comparison of dot immunobinding assay, enzyme-linked immunodiffusion for serodiagnosis of paratuberculosis. Can J Vet Res 1989, **53**, 405-410.

Twort FW, Ingram WD. A method for isolating and cultivating *Mycobacterium enteritis choricæ pseudotuberculosis bovis johnei* and some experiments on the preparation of a diagnostic vaccine for pseudotuberculosis enteritis of bovis. Proc Soc Lond 1992, **84**, 517-543.

Van Kruiningen HJ. Gastrointestinal system. In: Thomson RG (ed), Special Veterinary Pathology. 1st ed, pp. 256-259, B.C. Decker Inc., Philadelphia and Toronto, 1992.

Van Kruiningen HJ, Chionini RJ, Thayer WR, Coutu JA, Merkal RS, Runnels PL. Experimental disease in infant goats induced by a *Mycobacterium* isolated from a patient with Crohn's disease. A preliminary report Dig Dis Sci 1986, **31**, 1351-1360.

Van Leeuwen JA, Tiwari A, Plaizier JC, Whiting TL. Sero-prevalences of antibodies against bovine leukemia virus, bovine viral diarrhea virus, *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*, and *Neospora caninum* in beef and dairy cattle in Manitoba. Can Vet J 2006, **47**, 783-786.

Van Mere DC, Tennant BC, Whitlock RH. Infectious disease of the gastrointestinal track. In: Divers TJ, Peek SF (eds), Rebhun's diseases of dairy cattle. 2nd ed. pp. 279-283. Saunders Elsevier Inc., Missouri, 1995.

Vary PH, Anderson PR, Green E, Hermon-Taylor J, Mc-Fadden. JJ.

Use of highly specific DNA probes and the polymerase chain reaction to detect *Mycobacterium paratuberculosis* in Johne's disease. J Clin Microbiol 1990, **28**, 933-937.

Wells SJ, Wagner BA, Dargatz DA. Factors associated with *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection in U.S. dairy herds. Proceedings of the 6 ICP, Melbourne, Australia 1999, 62-65.

Whitlock RH, Buergelt C. Preclinical and clinical manifestation of paratuberculosis (including pathology). Vet Clin North Am Food Anim Pract 1996. **12**, 345-356.

Whitlock RH, Wells SJ, Sweeney RW, Van Tiem J. ELISA and fecal culture for paratuberculosis (Johne's disease): sensitivity and specificity of each method. Veterinary Microbiology 2000, **77**, 387-398.

Whittington RJ. Factors affecting isolation and identification of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* from fecal and tissue samples in a liquid culture System. J Clin Microbiol 2009, **47**, 614-622.

Whittington RJ, Marsh IB, Whitlock RH. Typing of IS1311 polymorphisms confirms that bison (*Bison bison*), with paratuberculosis in Montana are infected with a strain of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* distinct from that occurring in cattle and other domesticated livestock. Mol Cell Probes 2001, **15**, 139-145.

Whittington RJ, Sergeant ES. Progress towards understanding the spread, detection and control of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in animal populations. Aust Vet J 2001, **79**, 267-278.

Wraight MD, McNeil J, Beggs DS, Greenall RK, Humphris TB, Irwin

RJ, Jagoe SP, Jemmeson A, Morgan WF, Brightling P, Anderson GA, Mansell PD. Compliance of victorian dairy Farmers with current calf rearing recommendations for control of Johne's disease. *Vet Microbiol* 2000, **77**, 429-442.

김광현. 한우 혈액에서 PCR법을 이용한 *Mycobacterium avian* subsp. *paratuberculosis* 의 검출. 전북대 석사학위논문 2010, 1-36.

김두, 전관준, 김종택, 신광순, 장국현, 김정기, 김옥성, 정재영. 강원지역 젓소의 요네병 감염실태. *대한수의학회지* 2002, **42**, 81-88.

박혜연, 원상민, 장지택, 정성진, 문수평, 함유식. 울산지역 젓소의 요네병 감염 실태 조사. *보건환경연구원보* 2007, 462-473.

손병국, 석주명, 장은희, 지대해, 신정섭, 황보원. 경남 중부지역 도축장 출하우의 요네병 감염실태 조사. *한국가축위생학회지* 2013, **36**, 31-36.

송주호, 우병준, 허덕, 박선일. 가축질병의 경제적 영향 분석. *한국농촌경제연구원* 2006, **159**, pp. 47-68.

이방환, 임봉호, 하창수, 성홍룡. 국내 발생의 우 파라결핵병(Johne's disease)에 대한 임상병리학적 추적조사 보고. *대한수의학회지* 1982, **19**, 8-20.

법제처. 가축전염병예방법, 초지법, 축산물위생관리법 2013.

전용성, 이방환, 김종배, 최철순, 김진구. 소 유래 Mycobactin 의존성 항산성균의 분리동정. *대한수의학회지* 1984, **24**, 58-63.

제주도. 2013년도 축산사업추진계획 2013, pp. 1-22.

제주도. 46년 소부루세라병 청정화 백서 2003, pp. 11-26

요 약

제주지역 소 요네병 청정화에 관한 연구

소 요네병은 *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* (요네균)의 감염에 의한 만성, 진행성 장관계 질병이다. 요네병은 현재 세계 여러 나라에서 발생하는 축우산업에 있어 중요하고도 일반적인 질병이며, 요네병 근절 추진은 여러 가지 이유로 어려운 것이 현실이다. 무엇보다 감염된 후 특별한 임상증상 없이 진행되는 준임상형 감염으로 발현까지의 시기가 긴 것이 문제이다. 게다가 많은 진단법들이 이용되고 있을지라도 준임상형 감염시기의 동물을 검출할 수 있을 정도로 민감한 진단법이 제공되지 못하는 점 또한 근절에 어려움을 초래하고 있다. 제주지역 축우에서 요네병 감염이 없는 우군의 확보와 유지를 위하여 시범목장을 선정하고 목장의 중점관리기준을 마련하여 소 요네병 근절 프로그램을 도입하였다.

1. 축우 만성설사병의 원인 중 요네병이 차지하는 비율을 조사하기 위하여 2010년부터 2013년까지 제주도동물위생시험소에 의뢰된 총 310개 목장의 554두의 혈청을 조사하였다. 그 중 313두가 요네병 양성(56.5%)이었다. 요네병 양성개체 313두에 대한 연령별 분포를 분석한 결과 2세 미만이 10.5%, 2에서 4세까지 61.3%, 5에서 7세까지 22.4%, 8세 이상의 개체가 5.8%를 나타내었다.

2. 요네병 양성 축우의 관리방안을 모색하기 위하여 요네병 항체 양성 도축우 27두를 대상으로 몇 가지 요네병 진단법에서 얻은 결과를 비교분석하였다. 평균 생체량 및 평균 지육량은 ELISA S/P 값이 높을수록 감소하였다. 회장 말단부 시료에 대한 PCR 및 항산성염색에서 각각 15두(55.5%)와 16두(59.2%)가 양성이고 ELISA S/P 값이 200% 이상의 개체 5두는 이 두 검사법에서 양성을 나타낸 반면 ELISA S/P 값 150% 미만의 개체 9두는 모두 음성이었다. 육안 및 조직학적인 병리소견에서도 ELISA S/P 값에 따른 차이가 인정되었다. ELISA S/P 값이 높을수록 추벽 형성 정도가 심해졌으며, ELISA S/P 값 200% 이상인 개체 5두 모두 심한 추벽형성을 나타내었다. 또한 ELISA S/P 값이 100-149%를 보인

3두 모두 만성 장염 소견인 반면, ELISA S/P 값이 200% 이상인 5두는 모두 육아종성 장염소견을 보였다.

3. 요네병 양성우 14두의 설사시료 중 6두(42.9%)에서 요네균을 분리하였으며 IS900 PCR에 의해 최종 동정하였다. 그러나 IS1311 PCR에서는 5균주만이 양성을 나타내었고 *Hinf*I 제한효소를 이용한 IS1311 PCR-REA 결과 Cattle type(4균주)과 Bison type(1균주)이 분류되었고 IS1311 PCR에서 증폭되지 않은 균은 미분류 균으로 분류하였다.

4. 요네병 근절 프로그램을 수립하기 위한 시범목장을 선정하기 위하여 2010년 27개 목장의 915두를 대상으로 요네병의 항체 보유율을 조사하였다. 요네병 양성목장은 22개(81.5%)였으며, 106두(11.6%)가 요네균에 대한 항체 양성이었다. 검사목장 중 시범목장으로는 요네병 양성율, 지역, 사육두수를 기준으로 하여 6개소를 선정하였다. 요네병 근절을 위한 중점관리기준은 요네병 항체 양성우의 처리방안, 가축의 구입 및 송아지 관리방안과 공동목장과 가축시장의 관리방안에 초점을 맞추어 설정하였다. 중점관리기준에 따라 목장을 관리하면서 10에서 12개월의 간격으로 3회를 검사하는 동안에 이들 목장의 요네병 평균 유병률은 각각 12.0%, 5.5%, 2.1%로 감소되었다.

5. 요네병 근절 프로그램 시범목장의 사례는 자발적 참여 목장의 수를 증가시키는 계기가 되었다. 요네병을 검사한 첫 해인 2010년 제주시 8.4%, 서귀포시 15.9%가 요네병 양성이었으나 검사 4년째인 2013년에는 각각 3.6%, 2.8%를 보여 요네병을 근절하기 위한 중점관리기준의 적용으로 요네병 유병률은 꾸준히 감소되었다. 또한 자발적 참여목장의 수는 2012년 25호에서 2013년 요네병 인증제의 실시로 43개소(72% 증가)로 증가되었고 특히 23개 목장의 경우 요네병 양성우가 없는 곳으로 판정되어 향우 대체우의 구입을 위한 목장의 확보도 용이할 것으로 생각된다. 따라서 이 연구를 통해 도출된 결과를 토대로 제주도는 축우 요네병 근절 인증 프로그램을 정책에 반영하게 되어 제주지역 축우에서 요네병을 최소화할 수 있는 계기를 마련하였다.

주요어: 요네병 인증 프로그램, 소 요네병, *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, 제주