

## 돼지 오제스키病에 관한 研究： 1. 感染仔豚으로 부터 원인체의 分離 및 同定

李重馥 · 安壽煥 · 金柄漢 · 宋載永 · 金龍熙 · 薛東攝  
農村振興廳 家畜生研究所  
(1988. 2. 5 접수)

### Studies on Aujeszky's Disease in Korea: 1. Isolation and Characterization of the Agent from Infected Pigs

Jung-bok Lee, Soo-hwan An, Byoung-han Kim, Jae-young Song,  
Yong-hee Kim and Dong-sup Sul  
Veterinary Research Institute, Rural Development Administration  
(Received Feb. 5, 1988)

**Abstract:** The first outbreak of Aujeszky's disease(AD) was identified from piggery located at the southern part of Korea in July, 1987. This piggery suffered from a significant economic loss caused by unexpected piglet mortality and reproductive failure.

Etiologic viral agents were isolated from tonsil and spleen of the infected piglets, and the isolates produced a typical cytopathic effects of herpesvirus with giant cell formation when inoculated in many different cells. Subsequently the field isolates were characterized as suid herpesvirus I by cross-neutralization test and indirect fluorescence assay utilizing specific monoclonal antibody, and were proved to be a pathogenic strain of AD virus(ADV).

#### 緒 論

오제스키병(Aujeszky's disease: AD)은 Herpesviridae의 Alpha herpesvirus에 속하는 Suid herpesvirus I의 감염에 의한 법정전염병으로 일명 가성광견병이라 통용되었으나, 국내에서 병명 자체가 주는 이미지가 사회적으로 문제시 되므로 오제스키병으로 일단 공식화 한 바 있다.

이 병은 1902년 헝가리 과학자 Aujeszky에 의하여 소와 개에서 처음 발생 보고된 이래(Aujeszky, 1902), 돼지에서도 다수의 발생 피해를 보고하고 있다(Barskerville, 1973; Onodera 등 1981).

돼지에서의 이 병은 호주, 캐나다, 핀란드 등을 제외한 세계 각국에서 발생하고 있으며 특히 주요 교역국인 미국, 영국, 덴마크 등 뿐만 아니라(Basinger,

1980; Gustafson, 1975) 인접국인 대만, 일본, 태국 및 말레이시아 등에서도 발생하고 있어 더욱 중요시하여 왔다.

저자 등은 1980년 초반부터 이 병의 중요성을 감안하여 여러가지 진단법을 개량 또는 개발하는 연구를 수행하였으며 아울러 해외질병 초동방역 차원에서 수입돼지의 검역을 지원하여 우발적인 국내반입을 차단하는데 노력하고 있다(An 등 1987; Kweon 등 1986).

한편, 국내에 이 병의 존재 여부를 파악하기 위하여 수년간 전국적인 혈청학적 역학조사를 실시하여 오던 중 불행히도 1987년 7월 경상남도 양산군 하북면 삼감리 WH 농원에서 국내 최초로 이 병의 발생이 확인되었다(안수환, 1987).

이 연구에서는 WH 농장으로 부터 의뢰된 가검재료에서 오제스키 바이러스(Aujeszky's disease virus:

ADV)를 분리 동정하였기에 그 결과를 보고하는 바이다.

### 材料 및 方法

**공시동물** : 야외 분리주의 병원성을 조사하기 위하여 ICR mouse, 백색 레그혼계의 SPF 초생추, Hartley계의 성숙한 guinea pig, 시중에서 구입한 체중 2kg 내외의 토끼 및 생후 10일령의 자돈을 공시하였다.

**공시세포** : 바이러스 분리 및 분리바이러스의 세포병원성을 조사하기 위하여 초대 돼지콩팥세포(primary pig kidney: PKP), 계태아 섬유아세포(chick embryo fibroblast: CEF), 돼지 콩팥세포주인 PK-15, 재래흑색산양의 콩팥세포주인 BGK, 토끼 콩팥세포주인 RK-13, 소 콩팥세포주인 MDBK 세포 등을 공시하였다.

**공시 바이러스** : 오제스키바이러스의 표준 강독주는 Shope strain을 그리고 표준 약독주는 Norden사의 vaccine virus를 공시하였다.

**표준 양성혈청** : 오제스키바이러스에 대한 표준 양성혈청은 미국 미네소타대학 및 일본 가축위생시험장 등에서 분양된 항혈청을 공시하였다.

**조직내 항원증명** : 가검 장기에 오제스키바이러스의 유무를 확인하기 위하여 편도선, 비장 등의 동결절편을 형광항체법으로 검사하였다. 형광항체법은 직접법과 간접법을 동시에 수행하였으며 직접법에 사용한

conjugate는 미국 National Veterinary Service Laboratory(NVSL)에서 분양받은 것이며 간접법에 사용한 항혈청은 오제스키 바이러스에 특이한 mouse monoclonal antibody(Kweon 등 1986)를 그리고 anti-mouse FITC conjugate는 Cappel사 제품을 사용하였다.

**바이러스 분리** : 10%의 가검 장기유체액을 1000kg에서 15분간 원심분리한 후 상층액을 항생제와 혼합 37°C에서 1시간동안 감작하였다. 이 감작된 재료를 PK-15 세포에 접종하고 90분후 접종세포를 PBS로 3회 씻은 다음 37°C에서 5일간 세포변성여부를 관찰하였다. 접종세포에 herpesvirus의 특징적인 세포변성이 관찰되면 즉시 직접 및 간접형광항체법으로 바이러스 분리 여부를 확인하였다.

**혈청반응** : 분리 바이러스의 혈청학적 동정을 위하여 교차중화시험을 실시하였으며 공시 세포는 PK-15를 사용하였다.

**분리 바이러스의 병원성** : 야외 분리바이러스의 동물에 대한 병원성을 조사하기 위하여 10,000TCID<sub>50</sub>의 분리바이러스를 mouse, guinea pig, 토끼, 초생추 및 자돈 등에 접종한 후 일정기간동안 임상증상 또는 폐사율을 조사하였다.

### 結 果

**바이러스 분리 및 동정** : 돼지콜레라 방역 프로그램

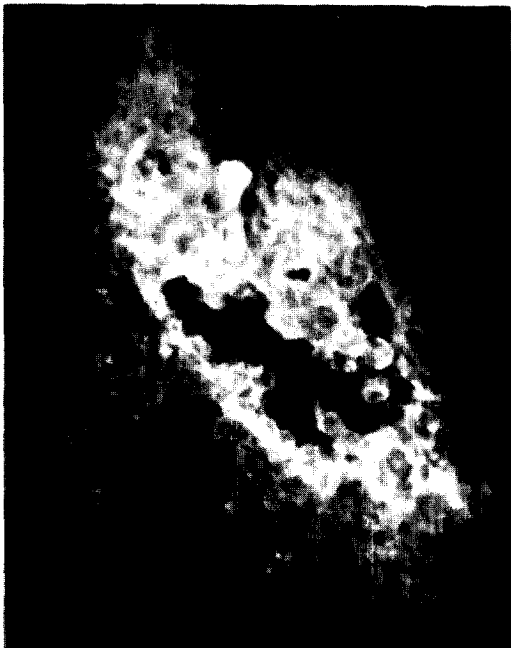


Fig. 1. Immunofluorescence of the tonsil from a piglet affected with Aujeszky's disease.



Fig. 2. Immunofluorescence of the spleen from a piglet affected with Aujeszky's disease.

이 적절히 실시된 이후에도 이 병의 발생이 의심된다는 WH 농원에서 구토, 설사, 보행실조와 진전 등 신경증상을 수반하는 포유자돈 2두가 가축위생연구소 병성감정실에 의뢰되었다. 병성감정결과 돼지콜레라 등의 특별한 육안적 소견이 전혀 인지되지 않았으므로 오제스키병에 대한 검사를 실시하였다.

우선 이환된 자돈의 편도선 및 비장의 동결절편을 직접 또는 간접형광항체법으로 검사한 바 전형적인 pattern의 오제스키바이러스 항원분포를 쉽게 관찰할 수 있었으며(Fig. 1 및 2), 돼지콜레라 바이러스항원은 전혀 증명되지 않았다.

바이러스 항원이 검출된 편도선과 비장조직을 유제하고 원심상층액을 PK-15 세포에 접종 배양한 바 접종 48시간 부터 히피스바이러스의 특징적인 세포변성 소견이 관찰되었다. 즉 감염세포는 대체로 초기엔 refractile하게 되며 round-up 형태를 취하다가 후기엔 감염세포가 서로 융합하여 다핵의 거대세포를 형성하고 또한 감염세포가 밀집하여 포도송이처럼 뭉쳐지며 이때 감염세포 사이엔 긴 cytoplasmic bridge가 흔히 관찰되었다(Fig.3). 이후 시간이 경과하면 감염변성된 세포집단들은 탈락되어 환상의 여백을 남기고 pock를 형성하는 경향이 있었다.

감염후 세포변성이 관찰되는 세포와 정상 PK-15 세포의 cover slip을 cold acetone으로 10분간 고정한 후 오제스키 바이러스에 특이한 단크론항체를 이용하여 간접형광항체법으로 검사하였다(Fig.4). 검사결과 감염조직 유제액을 접종한 세포에서 특이항원을 쉽게 증명할 수 있었다.

이상의 실험에서 분리한 오제스키바이러스를 혈청학

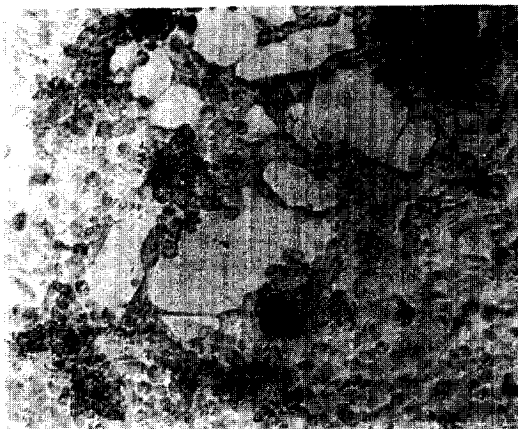


Fig. 3. PK-15 cells infected with a field isolate of Aujeszky's disease virus. Note the characteristic CPE with cytoplasmic bridges and multinucleated giant cells.

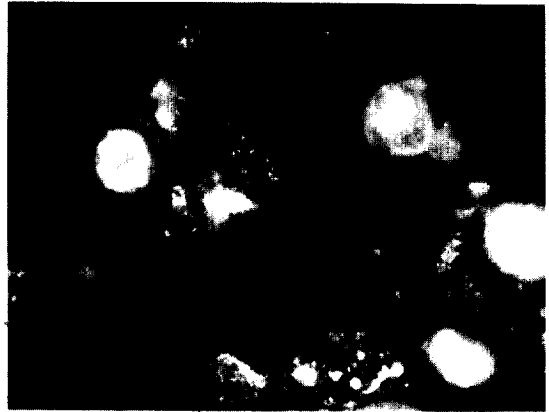


Fig. 4. Immunofluorescence of PK-15 cells infected with a field isolate of Aujeszky's disease virus.

적으로 동정하기 위하여 미국 및 일본에서 도입한 표준 양성혈청과 대면에서 수입한 종돈용 양성판정된 개체에서 채취한 양성혈청을 이용 100TCID<sub>50</sub>의 표준강독주(Shope strain), 표준약독주(Norden virus) 및 야의 분리주(WH-1, WH-2)에 대하여 교차중화시험을 실시했다. Table 1에서 보는 바와 같이 바이러스의 종류에 관계없이 각 양성혈청의 역가가 동일하게 나타남으로 분리바이러스를 오제스키바이러스로 동정할 수 있었다. 이상 결과로 WH-1과 WH-2 virus는 동일한 바이러스임으로 이후 WH strain으로 명명하였다.

WH strain을 PK-15 세포에 대량 증식시켜 농축 정제한 후 전자현미경으로 바이러스의 형태를 관찰한 바 직경 150~180nm의 envelope를 가진 전형적인 herpes virus임을 알 수 있었다(Fig. 5).

분리 바이러스의 세포 및 동물에 대한 병원성 : 야의 분리주인 WH-1 및 WH-2, 강독주인 Shope strain 그



Fig. 5. Electron-micrograph of Aujeszky's disease virus field isolate(WH strain)

**Table 1.** Serological Identity of Aujeszky's Disease Virus Isolates by Cross-neutralization Test

| Virus<br>(100 TCID <sub>50</sub> ) | SN titers of positive sera from countries |       |        |
|------------------------------------|---|-------|--------|
|                                    | USA                                       | Japan | Taiwan |
| Shope                              | 64  | 236   | 32     |
| Norden*                            | 64  | 256   | 32     |
| WH-1**                             | 64  | 256   | 32     |
| WH-2**                             | 64  | 256   | 32     |

\* : Vaccine virus    \*\* : Field isolates of ADV.

**Table 2.** Cytopathogenesis of Aujeszky's Virus Isolates

| Viruses | Cells |       |      |      |       |      |
|---------|-------|-------|------|------|-------|------|
|         | PKP   | PK-15 | CEF  | BGK  | RK-13 | MDBK |
| WH-1    | R, S  | R, S  | R, S | R, S | R, S  | R, S |
| WH-2    | R, S  | R, S  | R, S | R, S | R, S  | R, S |
| Shope   | R, S  | R, S  | R, S | R, S | R, S  | R, S |
| Norden  | R     | R     | R    | R    | R     | R    |

R : Round up,    S : Syncyathial formation.

리고 백신 virus인 Norden virus를 PKP, PK-15, CEF, BGK, RK-13 그리고 MDBK 등에 배양하여 본 결과 약독주인 Norden virus는 round-up형의 세포변성을 수반하나 감독주인 Shope주와 야의 분리주는 round-up 이외에도 다핵거대세포를 형성하는 특징이 관찰되었다 (Table 2).

분리바이러스(WH strain)의 병원성을 조사하기 위하여 mouse, 토끼, guinea pig 초생추 및 자돈에 10<sup>4</sup> TCID<sub>50</sub>의 바이러스를 접종한 결과 (Table 3) 토끼, mouse, guinea pig 등은 심한 가려움증을 수반함이 관찰되었으며 접종 3~5일 후에 폐사함을 알 수 있었다. 초생추는 접종후 식욕부진과 원기쇠약후에 전형적인

신경형 뉴렛슬병과 유사한 신경증상을 나타낸 후 폐사하였다. 그러나 초생추에서는 가려움증은 관찰할 수 없었다. 경비감염 또는 피하접종 감염된 자돈은 접종 약 10일후 부터 이 병의 전형적인 임상증상과 더불어 신경마비 현상을 나타낸 후 폐사하였다. 감염폐사한 자돈의 비장, 편도선 등으로 부터 오제스키바이러스를 분리할 수 있었다.

## 考 察

돼지에 오제스키병의 발생여부는 1982년 돼지 콜레라가 대 유행할 때부터 시사되기 시작하였으나 병성감정 및 지역적인 역학조사를 실시한 결과 국내에 발생이 없는 것으로 사료되었다(An 등 1987). 그러나 1987년 6월 경남 양산군 WH 농장으로 부터 의뢰된 가검자돈에서 이병을 국내에서 처음으로 확인할 수 있었으며 원인체를 분리 동정하게 되었다.

축주의 품고에 의하면 철저한 돼지콜레라 방역이 실시되었어도 자돈에서 돼지콜레라양 질병으로 피해가 많으며, 임신돼지에 유산, 사산 등이 수반되었음에도 불구하고 이유자돈 및 비육돈에는 피해가 없다는 것이었다.

병성감정 결과 육안적으로 돼지콜레라 등의 소견이 관찰되지 않아 편도선, 비장 등의 동결절편을 형광항체법으로 검사한바 돼지콜레라가 아닌 전형적인 오제스키병으로 진단할 수 있었다. 이어 각 감염장기로 부터 분리한 바이러스를 각종 세포에 감염시 야기되는 세포변성효과, 형태 및 크기 등으로 허피스 바이러스임이 판명되었다(Fig. 1, 2, 3 등).

이 분리 바이러스를 오제스키 바이러스에 특이한 단크론성 항체와 자극에서 도입한 표준 양성혈청으로 동정한 결과 WH strain은 혈청학적으로 표준 오제스키 바이러스(Shope strain 및 Norden virus)와 동일한 바이러스임을 동정할 수 있었다.

**Table 3.** Pathogenesis of Aujeszky's Virus Isolate to Experimental Animals

| Animals            | No. of inoculated | Route of inoculation | Clinical signs                | Death(Days after inoculation) |
|--------------------|-------------------|----------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Rabbit(2kg)        | 3                 | S.C                  | Itching                       | 3~5                           |
| G. Pig(500 g)      | 5                 | S.C                  | Itching                       | 2~3                           |
| Mouse(Month old)   | 5                 | S.C                  | Itching                       | 2~3                           |
| Chicken(Day old)   | 5                 | I.C & I.V            | Neurological signs, paralysis | 3~5                           |
| Piglet(10 Day old) | 2                 | I.N & S.C            | Tremor & paralysis            | 15~17                         |

S. C : Subcutaneous,    I. C : Intracerebral.  
I. N : Intranasal,    I. V : Intravenous.

아울러 이 국내 분리주인 WH strain의 병원성을 조사하기 위하여 실험동물에 접종하였던 바 토끼, mouse 및 guinea pig 등에서 심한 소양증을 보이면서 폐사하였으며 또한 자돈에서 전형적인 임상증상과 더불어 폐사하는 것으로 보아 분리바이러스는 강독주로 사료된다.

## 結 論

1987년 6월 경남 양산군 WH 농장으로 부터 의뢰된 감염자돈에서 오제스키바이러스를 분리 동정하였으며 그 결과는 다음과 같다.

1. 감염자돈의 편도선과 비장조직의 동결절편을 형광항체법으로 검사한바 오제스키바이러스의 특이 항원을 증명할 수 있었으며 또한 PK-15 세포를 이용하여 오제스키바이러스를 분리하였다.

2. 분리된 바이러스는 Herpesvirus 특유의 세포변성 효과를 야기하였으며 형태학적으로도 150~180nm의 envelope가 있는 Herpesvirus로 확인되었다.

3. 분리된 바이러스는 특이 단크론성 항체와 혈청교차중화시험을 실시할 결과 Aujeszky's disease virus로 동정할 수 있었다.

4. 분리된 WH strain을 각종 세포 및 동물에 접종하여 병원성을 조사한 바 강독바이러스로 판명되었다.

## 參 考 文 獻

An, S.H., Kweon, C.H., Lee, J.B. and Kim, Y.

- H. (1987) Modified radial immunodiffusion enzyme assay for diagnosis of pseudorabies infection in swine. J. Kor. Soc. Virol., 17:45~50.
- Aujeszky, A. (1902) Ueber eine neue infektiöse Krankheit bei Haustieren. Centralbl. Bacteriol. Parasitkond. Infektionsker., I. Orig., 32:353~357.
- Basinger, D. (1979) A brief description of Aujeszky's disease in Great Britain and its relative importance. Br. Vet. J., 135:215~224.
- Baskerville, A., McFerran, J.B. and Dow, C. (1973) Aujeszky's disease in pigs. Vet. Bull., 43:465~480.
- Gustafson, D.P. (1975) Disease of swine, 4th ed., The Iowa University Press, Ames, Iowa, pp. 391~410.
- Kweon, C.H., An, S.H., Kim, Y.H. and Lee, Y.S. (1986) Studies on pseudorabies in swine: 1. Derivation of monoclonal antibody against pseudorabies virus. Res. Rept. RDA(L & V), 28:71~76.
- Onodera, M., Tsuruta, M. and Nuzeki, H. et al., (1981) The first outbreak of Aujeszky's disease in swine in Japan. 1. Clinical observation. Ann. Res. Rep. Jap. Vet. Res. Inst., 82:1~4.