

ADV 국내 분리주를 접종한 실험 동물의 조직병리 소견과 항체가 연구

최준식, 육동현, 김성삼, 박석기

서울특별시 보건환경연구원 인수공통전염병과

Histopathological Findings and Antibody Titers of the Experimental Animals Infected with Aujeszky's Disease Virus(Korea Isolates)

Joon-Sig Choi, Dong-Hyeun Yuk, Sung-Sham Kim, Seok-Gee Park

Seoul Metropolitan Government Institute of Health and Environment Division of Zoonosis

Abstract

We surveyed the antibody titers in the slaughtered pigs by enzyme immunodiffusion method for the epidemiological distribution of Aujeszky's disease in Korea. And also we observed the clinical symptoms, histopathological findings and antibody titers by serologic neutralization test in experimental animals infected with Aujeszky's disease virus(ADV) isolated from Korea.

The results of the experiments were summarized as follows.

1. We detected 2 pigs infected with ADV of 1000 in 1990 and 1 of 600 in 1991 by enzyme immunodiffusion method.
2. In histopathological findings of experimental animals inoculated ADV, the typical characteristics of Aujeszky's disease were not observed in pig, but edema and degeneration in the epidermis were observed in rats, vasculoendotheliosis, perivascular cuffing and cellular infiltration in the cerebrum were appeared in rabbits and perivascular cuffing and focal infiltration of glial cells in the cerebrum were appeared in mice.
3. The increasing antibody titers(1:64) in the serological neutralization test were ascertained in 2 carrier pigs inoculated ADV.
4. Rabbits, mice and rats died all about 5 days after inoculation, but pigs and chickens didn't die.
5. In 1 cat and 2 rabbits inoculated with the Aujeszky's disease virus(ADV), the typical clinical findings of Aujeszky's disease were observed in rabbit, but not in cat and so we slaughtered without any signs of Aujeszky's disease.

서 론

오제스키병(Ajeszkey's Disease) 바이러스(ADV or PRV) 일명 가성광견병(Pseudorabies) 바이러스는 1902년 헝가리인 Aujeszky¹가 개·소·고양이에서 처음 보고한 이래 전세계적으로 발생되고 있다.^{2,3,4,5,6,7,8)} 본 병의 특징인 소양증세가 돼지에서는 없으며,⁹⁾ 특히 자돈의 높은 폐사율과 성돈의 불현성 감염은 경제적 손실과 막대한 대책에 많은 어려움을 주고 있어 돼지의 가장 부서운 전염병중의 하나이다.^{10,11)}

이 질병은 중동부 유럽지역과 미국, 남미, 멕시코, 이란, 북아프리카, 대만, 싱가포르, 타이, 말레이시아, 뉴질랜드, 일본 등지에서 발생하고 있으며, 일본에서 1981년 본 병이 발생됨으로써 우리나라는 본 병에 대해 1982년 가축전염병 예방법의 전문 개정시 제1종 전염병으로 분류하였다.¹²⁾

국내에서는 1987년 6월 경남 양산에서 처음 발생하였으며, 그 후 경남 및 경기 지역에서 계속 발생하여 6~12월 사이에 5개 농장에서 471두가 양성으로 판정되었고,¹³⁾ 경남 지역과 경기도 지역에서 발생된 일부 농장의 환돈으로부터 원인 바이러스의 분리 및 성상에 대한 연구 결과는 농촌진흥청 가축위생연구소에서 보고한 바 있다.¹⁴⁾

또한 1990년 3월 당 연구원에서 임의 추출한 돼지 1,000두에 대한 효소 면역 확산법을 이용한 간이 진단 검사¹⁵⁾에서 양성 반응을 보인 3두에 대한 혈청 중화 시험결과 2두만 양성으로 그 역가는 1:128과 1:512였으며, 추적 조사를 한 결과 충남 홍성 갈산 지역임이 확인되었다. 그 다음해 5월 동일한 방법으로 실시한 결과 경기도 용인군 포곡면에서 1두가 양성으로 나타났고 그 역가는 1:256임이 확인된 바 있다.

당 연구원에서는 서울이 돼지를 집산 도축하기 때문에 전국의 질병 monitoring system으로서 적지라고 생각된다. 따라서 도살 돼지에서 ADV의 혈청학적 역학 분포도를 조사하기 위하여 면역 확산법의 간이 진단 키트를 이용한 혈청 검사를 실시하였다. 그리고 분리된 ADV 바이러스의 임상학적 특성과 전파 양상을 조사하기 위

하여 돼지, 닭, 마우스, 랫트, 토끼 및 고양이에 접종한 후 오제스키병의 조직병리학적 소견과 임상적 특성을 관찰하였다. 또한 실험 동물의 혈청에 대한 바이러스 중화 시험에 의한 혈청학적 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

실험 동물

본 실험에 사용한 실험 동물은 체중 1.8~2.0kg 백색 가토 8두, 랫트 200~250g 18두, 마우스 19~21g 26마리, 45일령 자돈 3두, 고양이 1.0kg 1두 및 닭 60일령과 120일령 각각 2수였다.

동물 접종 시험

공시 바이러스는 국내에서 분리 동정한 Pseudorabies virus (PRV)로서 서울대학교 수의과 대학에서 분양받아 건강한 실험 동물에 $10^{6.1}$ TCID₅₀/0.1ml 역가의 PRV를 돼지 2두의 피하에 0.5ml와 1ml, 토끼와 랫트 3개의 실험군 (I, II, III)에 0.25ml, 0.5ml 및 1.0ml 양을 피하 접종하였고, Mouse는 I, II 군에 1.0ml와 0.5ml 양을 복강 접종, III군과 IV군에 0.25ml와 0.1ml 양을 피하 접종하였다. 닭은 60일령 2수와 120일령 2수에 0.5ml와 1.0ml를 피하 접종하고 관찰하였다. 그리고 대조군에는 Eagle's medium을 접종하였다.

병리조직학적 시험

병리 표본의 작성은 가검 조직을 10% 완충 포르말린으로 고정하고 표준 방법으로 파라핀 조직 절편을 만들어 hematoxylin eosin 염색법으로 수행하였다.

혈청 중화 시험

돼지의 경우 PRV를 접종 후 항체가 형성되는 시기에서부터 이를 간격으로 경정맥에서 그리고 마우스, 랫트 및 토끼는 폐사 직전 경동맥과 심장에서 채혈하였으며, 항체 증명 시험¹⁶⁾으로는 단크론 항체를 이용하였다.

PRV를 접종한 실험 동물에서의 바이러스 분리

및 재접종

실험에서 바이러스 분리를 위하여 진 동,¹⁷⁾ Mocsari¹⁸⁾와 Hsiung¹⁹⁾의 방법을 응용하여 실험 동물에 접종 후 폐사한 마우스의 상기를 균질화시킨 뒤 3000rpm에서 30분간 원심분리하고, 그 상층액을 취하여 Baytril(바이엘)을 0.2ml 혼합한 후 체중 0.8kg 고양이 1마리와 1.8~2.0kg 도끼 2마리에 피하 접종하여 그 증상을 관찰하였다.

결과 및 고찰

도살 돼지에서의 오제스키병에 대한 혈청학적

분포

돼지의 오제스키병에 감염 현황을 조사하기 위하여 서울 지역 도살돈에 대한 면역확산법에 의한 혈청학적 검사의 결과는 다음과 같았다. 즉 1990년 1000두의 혈청중 2두(0.2%)에서 양성 반응을 나타내었고 1991년 600두의 혈청 검사중 1두(0.2%)에서 양성 반응을 나타내었다. 추적 시험을 한 결과 충남 홍성군 갈산 지역과 경기도 용인군 포곡면으로 밝혀졌다. 국내에서 발병한 오제스키병의 현황^{19,20)}은 Table 1과 같았다.

Table 1. The present conditions of Aujeszky's disease in Korea.

The t.me of origion	The place of origion	The size of breeding	Examined number	Positive number
1987. 6	Kyongnam Yangsan Habuk	954	45	16
11	Kyonggi Hwasong Osan	6,945	133	100
12	Kyongnam Yangsan Ungsang	700	579	2
12	Kyongnam Yangsan Ungsang	1,500	1,300	12
12	Kyonggi Namyangju Chinjop	200	10	10
1988. 3	Kyongnam Yangsan Habuk	257	168	1
1988.11	Kyonggi Kimpo Komdan	3,292	1,2,3th 2,938	57
1989. 1	Kyonggi Yongin Pogok	1,028	1,2th 103	99
1989. 1	Kyonggi Yongin Pogok	600	1,2th 71	50
1989. 3	Kyonggi Yongin Pogok	12,194	429	286
1989. 4	Kyongnam Yangsan Chonggwan	200	1,2th 214	72
1989. 4	Kyongnam Samchok Kundok	69	69	69
1989. 4	Kyongnam Kimhae Saeagnim	706	1,2th 723	22
1989. 5	Kyongnam Uichang Chinjou	776	30	2
*1990. 3	Chungnam Hongsong Kalsan	767	40	6
1990. 4	Chungnam Sosan Haemi	776	30	2
**1991. 5	Kyonggi Yongin Pogok	?	?	?

* 당 연구원에서 양성 판정하여 농림수산부에 통보 추적조사 한 결과 충남 홍성 이보씨농장에서 양성으로 판정되어 전두수 폐기 처분하였다.

** 당 연구원에서 양성 판정하여 추적조사 한 결과 경기도 용인군 포곡면임이 밝혀졌다.

임상증상

돼지의 피하 접종 후 오제스키병의 특징인 신

경 증상과 마비 증상을 발견할 수 없었고, 보균돈이 된 것으로 생각되어 15일만에 도살하여 부

검한 결과 특별한 병리적 소견을 발견할 수 없었다. 전¹²⁾에 의하면 자돈이 이유돈과 비육돈보다 폐사율이 높은 것으로 보고되었다. 본 연구에서는 이유돈을 실험 대상으로 설정하였기 때문에 폐사율이 낮아져 보균돈이 된 것으로 생각된다.

토끼는 피하 접종시 I, II, III 접종군 중 72시간경에 I군과 III군에서 각각 1두씩 폐사하였고, 특히 I군은 접종 부위에 심한 신경 증상, 마비 증상 및 소양증을 관찰할 수 있었다. 그 후 24시간이 경과하기 전 모두 폐사하였다.

마우스는 72시간을 전후로 I군과 III군에서 약간의 소양증을 보였으며, 각각 1마리씩 폐사하였다. 그 후 24시간내에 I군 4두, II군 4두씩 폐사하였고, 가장 심한 신경 증상, 마비 증상 및 소양증은 III군과 IV군에서 관찰할 수 있었다. 6일전에 III군은 모두 폐사하였고, 6일 경과후 II군과 IV군에서 각각 1마리씩 생존하였으나, 신경 증상과 마비 증상을 동반한 후 곧 폐사하였다.

랫트는 I군은 신경 증상, 마비 증상 및 소양증의 증상없이 5일경 모두 폐사하였고, II군은 1마리만 생존한 후 오제스키병의 특징인 신경 증상, 마비 증상 및 소양증을 보이며 그 다음날 폐사하였다. III군은 모두 폐사하였는데 본 병의 특징을 관찰할 수 있었다.

닭은 I군과 II군에서 특별한 증상을 관찰할 수 없어 도살하였다.

병리조직학적 소견

실험 동물의 접종 시험 후 부검하여 육안적으로 관찰하였으며, 각 장기를 절취하여 조직을 관찰한 결과 도살한 돼지의 경우는 뚜렷한 오제스키병의 소견을 찾을 수 없었으나, 랫트는 탈모된 표피 부위에서 부종과 변성(Fig 1)을 볼 수 있었고, 토끼의 대뇌에서는 이²¹⁾의 Rat에서 나타난 혈관주위원형세포침윤과 혈관내피증 및 세포침윤(Fig 2, 3)등이 인정되었고, 마우스의 대뇌에서 혈관주위원형세포침윤(Fig 4)과 김 등²²⁾이 돼지에서 보고한 신경교세포증가증(Fig 5)을 관찰할 수 있었다.

혈청중화시험에 의한 항체 역가의 분포

국내분리주 PRV를 피하와 복강에 $10^{6.4}$ TCID₅₀/0.1ml 접종한 후 10일째부터 0.5ml 접종돈에서 항체가 8, 32 그리고 64배, 12일째부터 1.0ml 접종돈에서 항체가 16, 32배로 나타나기 시작하였으나 항체가 계속 증가하는 14일째 마지막 채혈 후 도살하였기 때문에 전 등¹⁷⁾이 보고한 높은 항체가를 확인할 수 없었다.

마우스와 랫트는 항체가 형성되기 전 폐사하여 항체가를 확인할 수 없었다.

분리 바이러스의 재접종

실험 동물에 접종한 후 폐사한 마우스의 장기에서 바이러스를 분리하여 고양이 1두와 토끼 2두에 재접종하였고, 그 소견을 관찰한 바, 토끼는 5일경 모두 신경 증상, 마비 증상 및 소양증을 나타낸 후 폐사하였고, 고양이²³⁾의 경우는 불안과 초조 및 괴로운 소리를 내었으나 오제스키병의 특징적 소견을 관찰할 수 없었고 1주일 경과 후 정상으로 회복되어 도살하였다.

그러나 접종한 때의 바이러스 역가($10^{6.4}$ TCID₅₀/0.1ml)와 분리 바이러스의 역가를 비교하고자 하였으나 성공하지 못하였다.

결 론

역학 및 방역적 차원에서 추적 조사를 하여 오제스키병의 발생 지역을 조사하였고, 국내 분리주 PRV $10^{6.4}$ TCID₅₀/0.1ml을 실험 동물의 복강과 피하로 접종한 후 임상증상 및 병리조직학적 소견과 혈청중화 시험을 이용하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 도살돈에서의 오제스키병 감염에 대한 혈청학적 조사에서 90년 1000두 검사중 2두(0.2%) 그리고 91년 600두중 1두(0.2%)에서 양성 혈청을 검출하였다.

2. 돼지에서는 오제스키병의 병리조직학적 특징을 관찰할 수 없었으나, 랫트의 피하에서 부종과 변성이 인정되었고, 토끼의 대뇌에서는 혈관

주위세포침윤, 혈관내피증식 및 세포침윤이 나타났다. 마우스의 대뇌에서도 신경교세포증가증과 혈관주위세포침윤이 확인되었다.

3. ADV를 접종한 실험보균은 2두에 대한 혈청 중화 시험의 결과 항체가가 증가하고 있음을 확인하였다(1 : 64).

4. ADV를 접종한 토끼, 마우스, 랫트 등을 접종 후 5일 전후에 모두 폐사하였으나, 돼지와 닭은 폐사하지 않았다.

5. ADV를 접종한 실험 마우스에서 분리한 바이러스를 고양이 1두와 토끼 2두에 재접종하였을 때, 토끼는 오제스키병의 임상적 특징을 관찰할 수 있었으나 고양이는 본병의 특징이 관찰되지 않았다.

참 고 문 헌

1. Aujeszky A. 1902. Ueber eine neue infections krankheit bei Haustieren. Zentibl. Parasitkde Abt I Orig. 32: 353-357.
2. Baskerville A. and Mcferran JB. 1973. Aujeszky's disease in pigs, Excretion, survival and transmission of the virus. 113: 490-494.
3. Gillespie JH. and JF. Timoney. 1981. Hagan and Bruner's infectious disease of domestic animals. Cornell Univ. Press. Ithaca and London, 7: 568-578.
4. Itakura C. Nakatsuka J. and Goto M. 1981. An incidence of pseudorabies (Aujeszky's disease) in piglets in Japan. J Vet Sci. 43: 923.
5. Pensareri M. Maes L. and Andries K. 1982. Aujeszky's disease current situation in Belgium in Wittmann G. and Hall SA. (ed). Aujeszky's disease. Martinus Nijhoff Pub London: 249.
6. Pittler H. 1982. The occurrence and control of Aujeszky's disease in the Federal Republic of Germany in Wittmann G. and Hall SA. (ed). Aujeszky's disease. Martinus Nijhoff Pub. London: 259.
7. Baskerville A. Mcferran JB. and Dow C. 1973. Aujeszky's Disease in pigs. Vet Bulletin, 43: 465.
8. Moscardi E. Toth CS. Moder M. Saghy E. and Glavitis R. 1987. Aujeszky's disease of Sheep: Experimental studies on the excretion and horizontal transmission of the virus. Vet Microbiol. 13: 353.
9. Hurst EW. 1933. Studies on pseudorabies(infectious bulbar paralysis, mad itch I. Histology of the disease with a note on symptomatology. J Exp Med. 58: 415-433 and 3 plates.
10. Davies EB. 1980. Spontaneous shedding of pseudorabies virus from a clinically recovered post parturient sow. J Am Vet Med Assn. 176: 1345.
11. Van Virschot TT. and Gielkens ALJ. 1984. In vivo and in vitro reactivation of latent pseudorabies virus in pigs born to vaccinated sows. Am J Vet Res. 46: 567.
12. 손무애. 1987. 돼지가성광간병의 실험과 대책. 대한수의사회지. 1987, 23, 7: 433.
13. 농림수산부. 1988. 가축전염병발생현황 월보. 1. 12.
14. 이중복, 안수환, 김병한, 송재영, 김용희, 설동섭. 1988. 돼지오제스키병에 관한 연구. I. 감염 자돈으로부터 원인체의 분리 동정. 대한수의사회지. 28, 1: 99-100.
15. 권창희, 안수환, 이중복, 김병한, 김용희. 1985. 가성광간병 야외진단 키트를 이용한 역학조사. 시험연구보고서(가위). 88-90.
16. Biotech Lab of Virology Division. 1991. Workshop on production and use of Monoclonal Antibody. Vet Res Ins RDA. Korea.
17. 전부형, 조성환, 안수환, 박성국, 윤석민과 하용공. 1988. 이환자돈으로부터 오제스키병 바이러스 분리와 생물학적 성상. 대한수의사회지. 24, 3: 163-171.
18. Hsiung GD. 1982. Diagnostic Virology,

- 3rd ed. Yale Univ Press USA: 17-34.
19. 안수환. 1988. 한국의 Aujeszky병 발생현황 및 방역 대책. 대한수의사회지. 24. 7: 422-430.
 20. 전부형. 1991. 돼지 오제스키병 발생현황과 대책. 바이엘화학(사보). 60: 23-29.
 21. 이철호. 1990. Aujeszky's disease virus의 실험적 감염 Rat의 병리조직학적 관찰과 면역조직학적 항원 검출. 충남대학교 수의학과 석사학위논문.
 22. 김순복과 곽수등. 1986. 가성광견병에 관한 병리학적 연구; I. 인공감염돈의 병리조직학적 소견. 대한수의사회지. 22. 5: 294-298.
 23. 강분일. 1987. 돼지의 동물의 가성광견병. 23. 10: 649-653.

Legends for figures

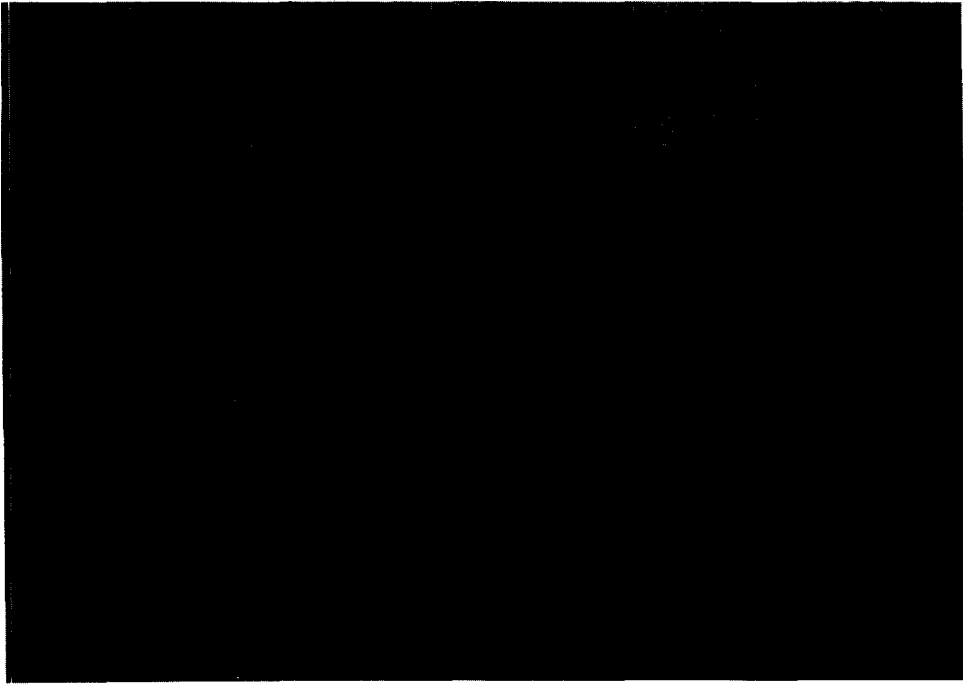


Photo 1

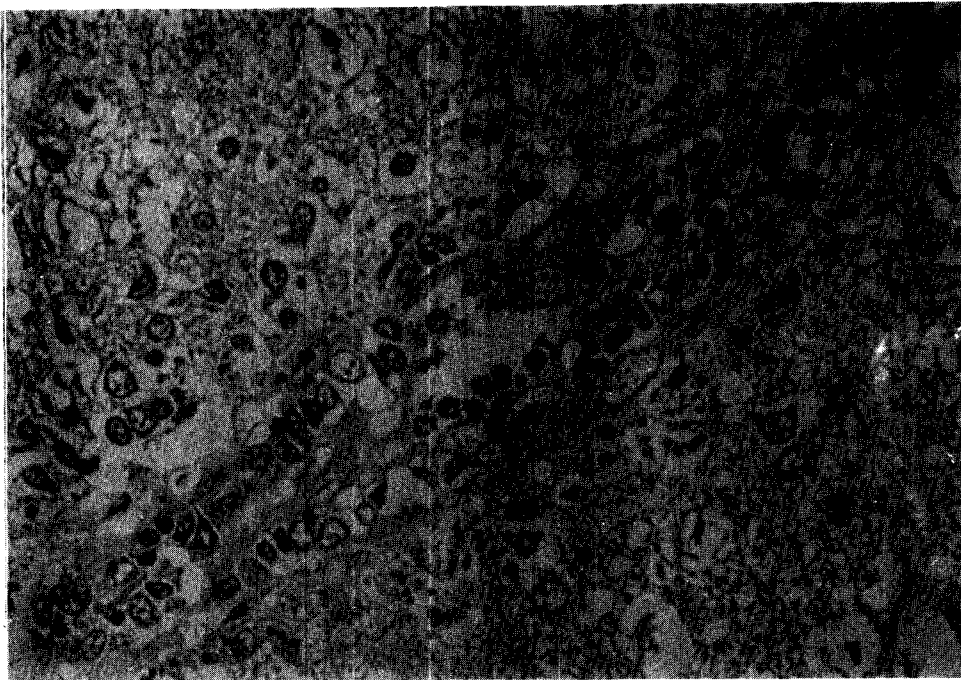


Photo 2

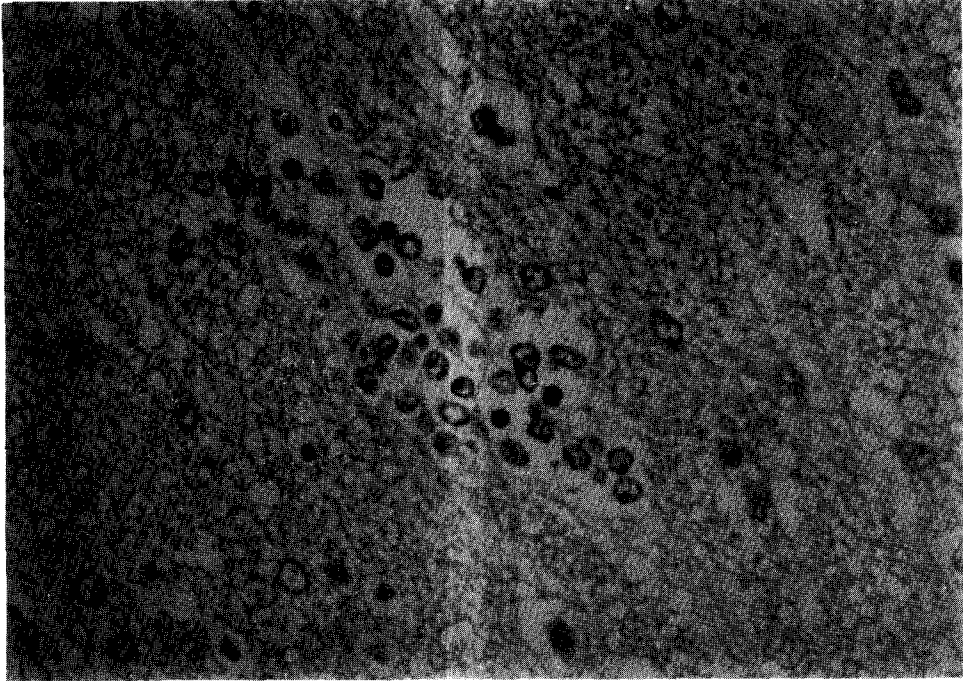


Photo 3

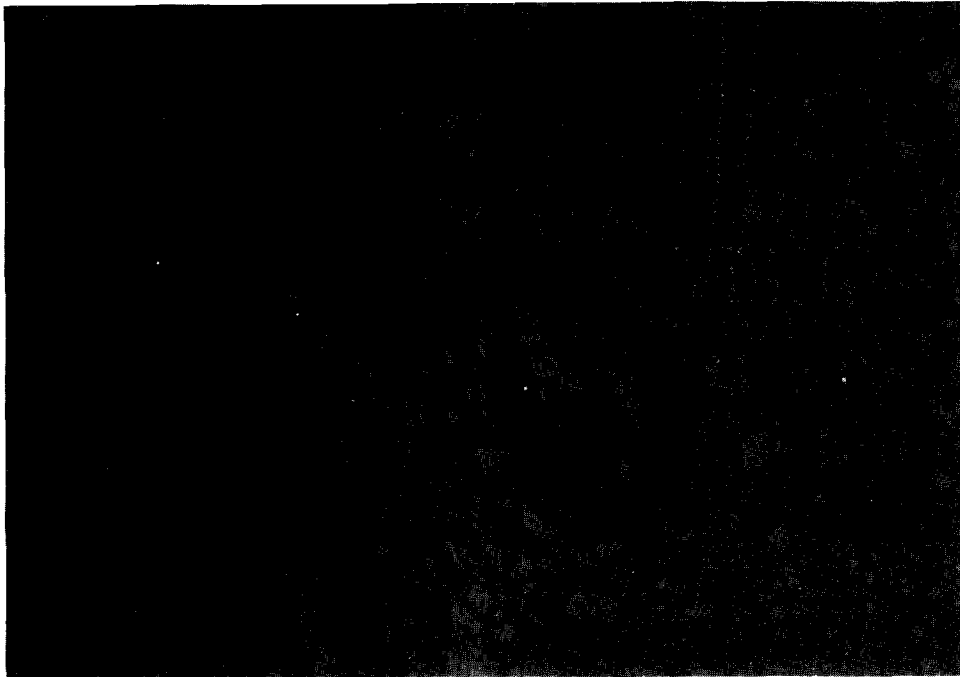


Photo 4



Photo 5

Legends for Photos

Photo 1. Edema and degeneration in the epidermis of skin. Rat.(H & E stain $\times 100$)

Photo 2. Vasculoendotheliosis and perivascular cuffing in the cerebrum Rabbit.(H & E stain $\times 100$)

Photo 3. Cellular infiltration in the cerebrum Rabbit.(H & E stain $\times 100$)

Photo 4. Perivascular cuffing in the cerebrum Mouse(H & E stain $\times 400$)

Photo 5. Focal infiltration of glial cells in the cerebrum Mouse.(H & E stain $\times 400$)