

항혈청 투여에 의한 돼지 전염성 위장염의 예방효과 II. 임상검사, 병리조직학적 검사, 면역조직화학적 검사

지영철¹ · 한정희¹ · 권혁무¹ · 정현규²

¹강원대학교 수의학과, ²도드람 양돈조합

Preventive Effects on Transmissible Gastroenteritis Using by TGEV Antiserum

II. Clinical Sign, Histopathological and Immunohistochemical Findings

Yong-Zhe Chi¹, Jeong-Hee Han¹, Hyuk-Moo Kwon¹, Hyun-Kyu Jeong²

¹Department of Veterinary Medicine, Kangwon National University

²Dodram Pig Farmers' Cooperative

Abstract: The purpose of this study was to investigate protective effects against transmissible gastroenteritis virus (TGEV) infection in piglets by administration of the TGEV antiserum orally at 2hrs, 24hrs and 36hrs after birth. Five piglets administered with the TGEV antiserum were experimentally challenged with TGEV at four-day-old. Control group was four piglets challenged with TGEV only. Clinical signs and gross, histopathological and immunohistochemical findings were examined. In clinical signs, piglets of the control group appeared the typical signs such as severe watery diarrhea, depression and anorexia but piglets of the TGEV antiserum administered group recovered progressively. In clinical signs, piglets of the control group appeared the typical signs such as severe watery diarrhea, depression and anorexia but piglets of the TGEV antiserum administered group recovered progressively. In mortality, control group showed 75%, but TGEV antiserum administered group showed 20.0%, respectively. In gross findings, piglets of the control group appeared the typical findings of congestion, distension of lumen, containing curdes of undigested milk in stomach. But gross findings of piglets of the TGEV antiserum administered group appeared milder than them of control group.

In histopathological findings, piglets of the control group appeared the typical findings of villous atrophy and severe congestion, exfoliation, vacuolation, squamation, loss of cilia and proliferation of crypt. But histopathological findings of piglets of the TGEV antiserum administered group appeared milder than them of control group. In immunohistochemical findings, piglets of the TGEV antiserum administered group showed more intensive in reaction for IgA and IgG than them of control group. The reaction for IgA was stronger than that of IgG. It was concluded that oral administration of TGEV antiserum to piglets was effective to prevent TGEV infection and reduce their mortality.

Key words: clinical sign, gross, histopathological and immunohistochemical findings, protective effect, TGEV antiserum

서 론

돼지 전염성 위장염(transmissible gastroenteritis; TGE)은 구토, 설사 등을 주된 증상으로 하는 급성 바이러스성 전염병으로 모든 일령의 돼지가 감수성이 있지만 특히 2주령 이하의 포유자돈이 감염되었을 경우 폐사율이 거의 100%에 달하여 양돈산업에 막대한 경제적 손실을 주고 있다.¹⁻⁴

Coronaviridae의 coronavirus로 분류되는 TGE virus (TGEV)는 다형태의 envelope를 가지고 있으며 genome은 single-

stranded RNA로 구성되어 있다.⁵⁻⁷ TGEV는 소장 상피세포와 음와상피세포에 정착, 증식하여 용모상피세포의 변성 또는 괴사에 의한 용모의 위축과 탈락을 일으키며⁸ 소장에서 소화와 흡수의 능력을 현저하게 저하시키고 유당분해효소의 생산도 저하시켜 장관내의 유당 농도를 증가시키므로 삼투압도 증가시켜 체액 중의 수분이 장관내로 역류하며 구토, 수양성 설사 및 탈수를 일으킨다.⁹⁻¹¹

유행성 TGE (epizootic TGE)는 잠복기가 18~22시간으로 전파가 빠르고 구토와 수양성 설사로 인한 심한 탈수를 일으

켜서 1~2일후에 폐사시킨다.^{12,13} TGEV에 대한 면역이 잘 형성된 모돈의 초유와 상유를 충분하게 섭취한 포유자돈은 TGEV의 감염시에 심하게 발병되지 않는다.³ 지방성 TGE (enzootic TGE)는 감수성이 있는 돼지나 면역이 제대로 형성되지 않은 돼지에서 지속적으로 발병되며 유즙면역의 형성여부와 자돈의 일령에 따라 다르며 출생후 1~4주령에 다발하고 유행성 TGE와 유사하다.^{14,15} 유행성 TGE에 비해 이병률은 높으나 폐사율은 10~20%로 낮으며 돈군에 상재화되어 지속적인 감염을 일으킨다.⁴

TGE의 방어에는 국소면역이 중요한데 소화기나 호흡기에 있어서 국소면역은 체액성 면역과 세포성 면역으로 이루어지며 분비형 IgA가 중요한 작용을 한다.¹⁶ TGE의 경우에는 강독백신, 약독화 백신, 불활화 백신, subunit 백신을 경구, 비강, 근육, 피하 또는 유방에 접종하여 국소면역항체 및 혈중 항체를 높여 주는 방법을 많이 이용하고 있다.¹⁷⁻²²

본 연구는 국내 양돈산업에 많은 피해를 주고 있는 TGE에 대한 방어대책으로 신생 포유자돈에 고농도의 TGEV 항혈청을 투여하여 효과적인 수동면역을 형성시켜 TGEV의 공격에 대한 방어효과를 조사하고자 실시하였다.

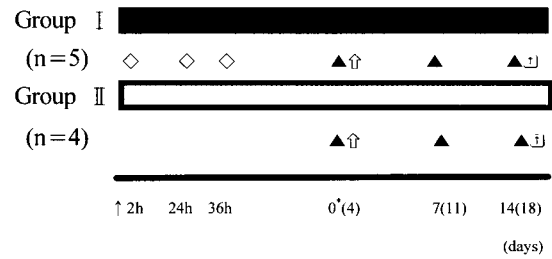
재료 및 방법

TGE 항혈청

자돈 투여용 항혈청은 TGEV에 감염되어 전형적인 병변을 보이는 양돈장에서 모돈을 비롯한 돼지의 혈액을 채취하여 응고시킨 후에 4℃, 3000 rpm에서 15분간 원심하여 상층액을 56℃, 30분간 비동화하여 냉동보관하여 사용하였다. 혈청 중화검사는 Kusanagi et al²³ 방법을 일부 변경하여 실시하여 평균항체가(geometric mean titer; GMT)가 1028인 항혈청을 사용하였다.

공격접종 TGEV

공격접종용 TGEV는 형광항체법으로 검사하여 TGE 양성 반응을 나타낸 전형적인 설사 소견을 보이는 3~5일령 포유자돈의 소장을 homogenizer로 유제하여 사용하였다. Phosphate buffered saline (PBS, pH 7.2)로 10%되게 한 다음 1,000 rpm에서 5분간 원심하여 얻은 상층액을 다시 12,000 rpm에서 20분간 고속원심하여 상층액을 membrane filter (0.2 μm)에 통과시켜 ampicilin (Sigma, USA)과 kanamycin (Sigma)을 각각 50 μg/ml되게 첨가하였다. 권 등²⁴의 방법에 따라 돼지 고환세포(swine testicular cell, STC)를 이용하여 바이러스를 증식시켜 분리하였으며 바이러스 역가는 3×10⁶ plaque-forming units (PFU)/ml이었다.



Group I : piglets from unvaccinated sows were administrated with TGEV antiserum orally but challenged with TGEV.

Group II : piglets from unvaccinated sows were not administrated with TGEV antiserum but challenged with TGEV.

◇ : administration of TGEV antiserum orally.

▲ : blood collection.

↑ : TGEV challenge.

Ⓜ : autopsy.

↑ : delivery.

* : Days postchallenge.

Fig-text. 1. Schematic draws of experimental design.

시험동물 및 시험설계

TGE에 대한 백신을 실시하지 않은 양돈장을 대상으로 항체유성인 모돈에서 분만되고 혈청중화검사에 의해 음성인 포유자돈 9두를 선발하였으며 실험군(Group I)은 5두를 출생후 2시간, 24시간, 36시간에 각각 5 ml/두씩 TGEV 항혈청을 경구 투여하였고, 대조군(Group II)은 4두로써 TGEV 항혈청을 투여하지 않았다. 실험자돈은 3일령에 실험사육돈방(2.5 m×2.5 m×0.5 m)으로 이동하여 사육하였으며 보온시설하에서 주위환경을 통제하였고 돈방의 온도와 습도는 일정하게 유지시켰으며 돈사바닥은 매일 청소를 실시하였다.

실험군과 대조군의 포유자돈은 각각의 실험돈방에 넣어 24시간 적응시킨 후 4일령에 공격접종을 실시하였다. 포유자돈에 TGEV 공격접종은 카테타를 이용하여 공격접종용 TGEV를 5 ml/두씩 1회 경구투여한 후에 2주간 관찰하였다. 실험자돈은 시기별로 채혈하고 체중을 측정하였다(Fig-text. 1).

실험기간 동안에는 대용유(돈돈밀크 (주)제일제당사료)를 제조사의 권장사하에 따라 급여하였고 음수는 자유롭게 섭취하도록 하였으며 돈방 주위는 정기적으로 소독하였다.

임상검사 및 병리학적 검사

임상증상

실험자돈은 TGEV를 공격접종하기 전부터 실험종료까지 체중, 구토, 설사, 발열, 식욕부진 등의 임상증상을 매일 일정한 시간에 관찰하여 기록하였다.

체온변화

TGEV를 공격접종하기 전부터 실험종료까지 매일 직장에서 체온을 측정하였다.

육안검사

실험도중 폐사되거나 실험종료시 2.2 mg/kg ketamine (Ketala®, 유한양행)과 3.5 mg/kg xylazine (Rompun®, 한국바이엘)으로 안락사시킨 후 부검을 실시하여 육안소견을 관찰하였다.

병리조직학적 검사

육안소견으로 병변을 보이는 십이지장, 공장, 회장의 조직은 10% neutral buffered formalin에 고정하여 파라핀포매 과정을 거친 뒤 4 µm 두께로 조직절편을 제작한 다음 hematoxylin & eosin (H&E) 염색을 실시하여 광학현미경으로 관찰하였다.

면역조직화학적 검사

살생직후 포유자돈에 TGEV 항혈청을 경구투여한 후 TGEV를 공격접종시 효과적인 방어에 대한 국소면역의 형성 여부를 알아보기 위하여 소장에서 IgA와 IgG의 분포를 면역조직화학적 검사를 하였다. 소장을 동결절편하여 O.C.T. Compound (Tissue-TEK®, USA)로 포매한 후 6 µm 두께로 잘라서 3-aminopropyltriethoxysilane (Sigma)으로 coating 처리된 슬라이드에 부착시켜 냉동아세톤으로 2분간 처리하여 건조시켰다. PBS (pH 7.2)로 3분씩 3회 세척한 다음 0.3% H₂O₂를 함유한 methanol에 10분간 처리하였다. PBS로 3분씩 3회 세척한 다음 normal rabbit serum (Vector Laboratories, USA)으로 37°C에서 30분간 처리하였다. 1,000배 희석된 goat anti-pig IgG (Koma Biotech, Korea) 또는 goat anti-pig IgA (Koma Biotech)를 흡착시킨 뒤 37°C에서 1시간 30분 반응시켰다. PBS로 3분씩 3회 세척한 다음 rabbit anti-goat IgG biotinylated antibody (Vector Laboratories)를 흡착시켜 실온에서 30분간 반응시켰다. PBS로 3분씩 3회 세척한 다음 ABC reagent (Vector Laboratories)로 실온에서 30분간 반응시켰다. 냉각된 PBS로 3분씩 3회 세척한 다음 3, 3'-diaminobenzidine 4 HCl (DAB) substrate solution (Vector Laboratories)을 흡착시켜 4분간 반응시켰다. PBS로 3분씩 2회 세척한 다음 1% methyl green에 10분간 염색하였다. 증류수에서 dipping한 다음 ethanol이 3분간씩 2회 탈수하고 xylene에 3분간씩 2회 처리하여 mounting하여 광학현미경으로 관찰하였다.

결 과

양돈산업에 막대한 경제적 손실을 주고 있는 바이러스성

소화기질환인 TGE에 대한 TGEV 항혈청요법의 방어효과를 관찰하기 위하여 TGEV에 대한 항체음성인 포유자돈에 TGEV 항혈청 경구투여하고 TGEV를 공격접종하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

임상검사와 병리학적 검사

임상증상

실험기간 동안 실험군의 포유자돈의 변 상태, 원기, 식욕, 구토, 폐사 등 관찰된 임상증상은 Table 1과 같다. TGEV 항혈청을 경구투여한 포유자돈에 TGEV를 공격접종한 실험군의 포유자돈은 공격접종 후 1일째 또는 2일째부터 설사변 또는 수양성설사를 시작하여 2~6일간 지속된 후 공격접종 후 3일째 또는 7일째부터 설사변으로, 공격접종 후 5일째 또는 8일째부터 연변으로 완화되는 경향을 나타내었다. 원기소실과 식욕절폐는 공격접종 후 1일째부터 나타나 3~5일간 지속된 후 정상으로 회복되었다. 공격접종 후 4일째와 7일째에 폐사한 2두는 지속적인 원기소실과 식욕절폐를 보이다가 폐사하였으며 실험군의 폐사율은 40.0% (2/5) 이었다.

TGEV 항혈청을 투여하지 않고 TGEV를 공격접종한 대조군의 3두 포유자돈은 공격접종 후 1일째부터 심한 수양성 설사, 원기소실, 식욕절폐, 구토를 보였고, 공격접종 후 2일째, 3일째, 6일째에 폐사하여 75.0% (3/4)의 폐사율을 나타내었다. 실험종료시까지 생존한 1두의 포유자돈은 공격접종 후 1~5일째에는 심한 수양성 설사, 6~8일째에는 설사변, 9일째에는 연변, 10일째부터 정상으로 회복되었고 원기와 식욕은 5일째부터 정상으로 회복하였다.

TGEV 공격접종전과 실험종료까지의 체중을 시기별로 측정하였던 결과는 Table 3과 같다. 실험군에서 생존한 3두의 포유자돈의 체중은 0.20~0.45 kg 증가하였으나 폐사한 2두는 0.12~0.17 kg 감소하였다.

대조군의 폐사한 3두의 포유자돈의 체중은 0.18~0.50 kg 감소하였으나 생존한 1두의 포유자돈은 0.55 kg 증가하였다.

체온변화

실험기간동안 매일 일정한 시간에 실험자돈의 직장에서 체온을 측정한 결과는 Table 2와 같다. TGEV 항혈청을 경구투여하고 TGEV를 공격접종한 실험군의 포유자돈은 공격접종전에는 체온이 37.7~39.1°C이었지만 공격접종 후 1일째에는 39.9~41.1°C로 높아지는 경향을 보였으며 공격접종 후 2일째 또는 3일째부터 38.4~39.0°C로 정상으로 회복되었으며, 2두의 포유자돈은 공격접종 후 2일째와 6일째에 각각 36.0°C와 39.0°C로 나타내었다가 폐사하였다.

TGEV 항혈청을 투여하지 않은 대조군의 포유자돈은 공격접종전 37.4~39.2°C였지만 공격접종 후 1일째에는 39.9~41.3°C로 상승하였으며 3두의 포유자돈은 공격접종 후 1일째 또는 5일째에 38.0~41.3°C이다가 폐사하였으며 실험

Table 1. Clinical signs, mortality and body weight of piglets challenged with TGEV

Group	Piglet No.	Clinical signs														Mortality (%)	Body weight (kg)		Difference (kg)			
		Days postchallenge															(kg)	(PCD ^d)				
		↓	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14				
I ^{a)}	1	- ^{b)} 0 ^{c)}	-	0	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	-	-	-	-	-	1.30 (0)	1.55 (14)	0.25	
	2	-	0	-	+++ ii @	+++	++	++	++	++	D								1.15 (0)	0.98 (7)	-0.17	
	3	-	0	0	+++ iii	+++	++	++	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-	2/5 ^{e)} (40.0)	1.45 (0)	1.90 (14)	0.45
	4	-	0	0	+++ iii	+++	++	D											1.05 (0)	0.93 (4)	-0.12	
	5	-	0	0	+++ iii	+++	+++	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1.55 (0)	1.75 (14)	0.20	
II	1	-	0	0	+++ iii	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+	-	-	-	-		1.45 (0)	2.00 (14)	0.55	
	2	-	0	0	+++ iii	+++	D												1.50 (0)	1.15 (3)	-0.35	
	3	-	0	0	+++ iii @	+++ iii @	+++	+++	+++	++	D								3/4(75.0)	1.50 (0)	1.00 (6)	-0.50
	4	-	0	0	+++ iii @	D													1.20 (0)	1.02 (2)	-0.18	

a) Group I: piglets from unvaccinated sows were administrated with TGEV antiserum orally but challenged with TGEV.

Group II: piglets from unvaccinated sows were not administrated with TGEV antiserum but challenged with TGEV.

b) feces= - ; normal, + ; mild diarrhea, ++ ; moderate diarrhea, +++ ; severe diarrhea.

c) depression and anorexia=0 ; normal, i ; mild, ii ; moderate, iii ; severe. @ ; vomiting, D ; died.

d) PCD=postchallenge day.

e) : No. of died piglets/No. of tested piglets.

↓ TGEV challenge.

Table 2. Body temperature of piglets challenged with TGEV

Group	Piglet No.	Body temperature (°C)																
		↓	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
I ^{a)}	1		38.6	39.1	40.3	40.8	39.0	39.5	38.9	37.9	38.4	39.0	38.7	39.4	39.1	38.6	39.8	39.6
	2		38.5	38.3	41.2	38.5	38.1	39.1	37.8	36.0	D ^{b)}							
	3		38.0	38.4	39.9	38.4	38.9	38.2	38.4	37.9	38.5	39.1	38.8	39.0	38.7	38.5	39.5	39.3
	4		38.0	37.7	40.6	39.0	39.0	D										
	5		38.2	38.0	40.9	39.4	38.7	38.8	37.9	38.3	38.4	38.7	38.9	38.9	38.9	38.3	38.9	39.2
II	1		38.4	38.1	41.0	38.4	39.0	39.1	38.3	37.8	38.2	38.8	39.0	38.8	38.7	38.4	39.2	39.0
	2		38.6	37.4	40.3	39.9	D											
	3		38.5	39.2	39.9	38.3	38.6	39.0	38.0	D								
	4		38.9	38.5	41.3	D												

a) Group I: piglets from unvaccinated sows were administrated with TGEV antiserum orally but challenged with TGEV.

Group II: piglets from unvaccinated sows were not administrated with TGEV antiserum but challenged with TGEV.

b) D=died.

↓ : TGEV challenge.

Table 3. Histopathological findings in the small intestine of piglets challenged with TGEV

Group	Piglet No.	Small intestine	Vill				Epithelial cell				
			Atrophy	Fusion	Congestion	V : C ratio	Exfoliation	Vacuolation	Squamation	Loss of cilia	Proliferation of Crypt
I ^a	1	Duodenum	+ ^{b)}	-	++	4~6 : 1	-	-	-	-	-
		Jejunum	+	++	-	2~4 : 1	-	-	-	-	+
		Ileum	+	-	-	2~3 : 1	-	-	-	-	+
	2	Duodenum	++	-	+	1~2 : 1	+++	+	+	+++	+
		Jejunum	++	++	++	1~2 : 1	++	-	++	++	+++
		Ileum	++	+	+++	1~2 : 1	++	-	++	+++	+++
	3	Duodenum	-	-	-	3~5 : 1	+	-	+	+	-
		Jejunum	-	-	-	5~7 : 1	-	-	-	-	+
		Ileum	+	-	-	3~4 : 1	-	-	-	-	-
	4	Duodenum	-	-	-	4~5 : 1	++	++	-	++	+
		Jejunum	++	++	-	2~3 : 1	-	-	++	+	+
		Ileum	++	++	-	2~3 : 1	-	-	+	+	+
	5	Duodenum	-	-	-	5~6 : 1	-	-	-	-	+
		Jejunum	++	++	-	2~3 : 1	-	-	+	+	++
		Ileum	+	+	-	3~4 : 1	-	-	+	+	-
II	1	Duodenum	+	-	-	4~5 : 1	-	-	-	-	+
		Jejunum	++	+++	-	1~2 : 1	-	-	++	++	+++
		Ileum	+++	+++	-	1 : 1	+	-	+++	++	++
	2	Duodenum	+++	+++	+++	1 : 1	+++	-	+	+++	+++
		Jejunum	+++	+++	+++	1 : 1	+++	-	+	+++	+++
		Ileum	++	+++	+++	1~2 : 1	+	+	+++	+++	+++
	3	Duodenum	++	+	++	1~3 : 1	++	-	+++	+++	+
		Jejunum	+++	+++	+++	1 : 1	+++	+	++	+++	+
		Ileum	+++	+++	+++	1 : 1	+++	-	++	+++	++
	4	Duodenum	++	+	++	2~3 : 1	-	-	-	-	-
		Jejunum	+++	+++	+++	1 : 1	+++	-	++	+++	++
		Ileum	+++	+++	+++	1 : 1	+++	-	++	+++	++

I: Group I: piglets from unvaccinated sows were administrated with TGEV antiserum orally but challenged with TGEV.

Group II: piglets from unvaccinated sows were not administrated with TGEV antiserum but challenged with TGEV.

) - ; without normal limits, + ; mild, ++ ; moderate, +++ ; severe.

;) length of villi : length of crypt ratio.

총료시까지 생존한 1두의 포유자돈은 공격접종 후 2일째부터 정상으로 회복하였다.

육안검사

실험군의 포유자돈은 실험도중에 폐사되거나 실험종료시까지 부검을 실시하여 육안소견을 관찰하였던 결과는 TGEV 항혈청을 경구투여하고 TGEV를 공격접종한 실험군의 폐사된 2두의 포유자돈 소장은 전반적으로 장막면이 적색조로

충혈되었으며 소장외에 일부에 가스가 들어차 팽만되었고 장막면이 다소 얇아져 있었다. 생존한 3두의 포유자돈은 특징적인 육안소견이 관찰되지 않았다(Fig. 1).

TGEV 항혈청을 투여하지 않고 TGEV를 공격접종한 대조군의 폐사된 3두의 포유자돈은 전반적인 소장외에 가스가 들어차 팽만되어 장내 내용물이 보일 정도로 장막이 얇아졌고 장막면의 충혈, 장관막 림프절의 출혈, 장관막 혈관의 충혈, 맹장과 결장내에는 황녹색의 수양성 내용물이 다량

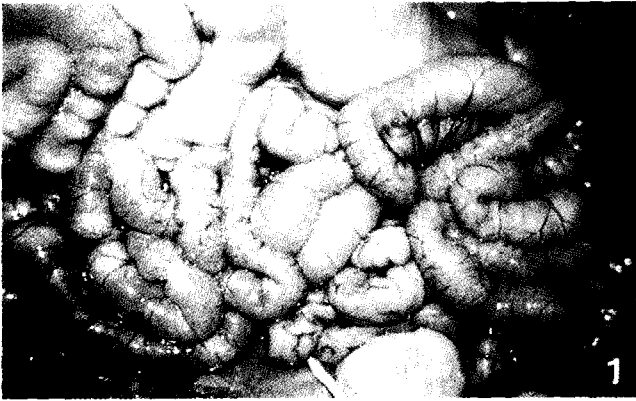


Fig. 1. Small intestine; piglet challenged with TGEV after administration of TGEV antiserum. There is a congestion of serosal surface.



Fig. 2. Small intestine; piglet challenged with TGEV after no administration of TGEV antiserum. Note congestion of serosal surface and ballooning appearance by distention of lumen contained with gas.



Fig. 3. Duodenum; piglet challenged with TGEV after administration of TGEV antiserum. Note normal appearance of villi. H&E, $\times 100$.

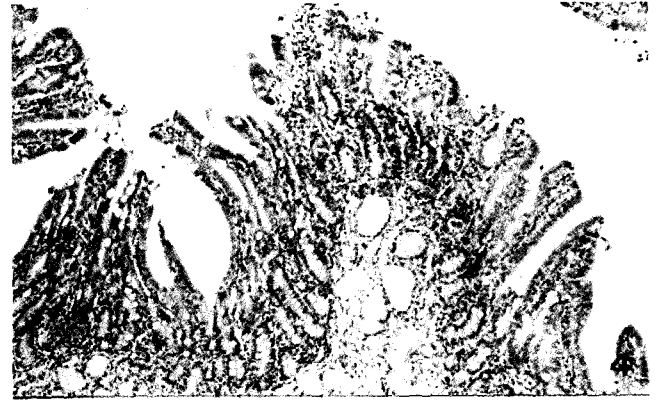


Fig. 4. Duodenum; piglet challenged with TGEV after no administration of TGEV antiserum. Villi are severely atrophied with loss of cillum and desquamation of epithelial cell. H&E, $\times 100$.



Fig. 5. Jejunum; piglet challenged with TGEV after administration of TGEV antiserum. There are mild atrophy and edema of villi. H&E, $\times 100$.



Fig. 6. Jejunum; piglet challenged with TGEV after no administration of TGEV antiserum. Note severe atrophy of villi with desquamation of epithelial cell. H&E, $\times 100$.

들어 있었다(Fig. 2). 생존한 1두의 포유자돈은 특징적인 육안소견이 관찰되지 않았다.

병리조직학적 검사

실험군과 대조군의 포유자돈의 십이지장, 공장, 회장을 병리조직학적으로 검사한 결과는 Table 3과 같다. TGEV 항혈청을 경구투여하고 TGEV를 공격접종한 실험군의 4두 포유자돈의 십이지장은 용모상피세포의 일부 탈락과 편평상피세포화, 가벼운 섬모소실과 음와상피세포의 증식을 보였고 용모 : 음와 길이의 비율이 5~6 : 1에서 3~5 : 1로 관찰되었다(Fig. 3). 공장은 용모의 중등도 위축과 융합, 중등도 편평상피세포화, 가벼운 섬모소실과 음와상피세포의 증식을 보였고 용모 : 음와 길이의 비율이 5~7 : 1에서 2~3 : 1로 관찰되었다(Fig. 5). 회장은 용모의 가벼운 위축과 융합, 편평상피세포화, 섬모소실, 음와상피세포의 가벼운 증식을 보였고 용모 : 음와 길이의 비율이 3~4 : 1에서 2~3 : 1로 관찰되었다(Fig. 7). 공격접종 후 7일째에 폐사된 1두의 포유자돈은 십이지장, 공장, 회장에서 용모의 중등도 위축과 충혈, 상피세포의 심한 탈락, 가벼운 공포화, 중등도 편평상피세포화, 심한 섬모소실 및 음와상피세포의 증식을 보였고 용모 : 음와 길이의 비율이 1~2 : 1로 관찰되었다.

출생 후 TGEV 항혈청을 투여하지 않고 TGEV를 공격접종한 대조군의 폐사한 3두의 포유자돈은 십이지장에서 용모의 중등도 위축과 융합, 중등도 충혈, 상피세포의 중등도 탈락, 일부 편평상피세포화, 심한 섬모소실 및 음와상피세포의 가벼운 증식을 보였고 용모 : 음와 길이의 비율이 2~3 : 1에서 1 : 1로 관찰되었다(Fig. 4). 공장에서는 용모의 심한 위축과 융합, 충혈, 상피세포의 심한 탈락, 중등도 편평상피세포화, 심한 섬모소실 및 음와상피세포의 증식을 보였으며 용모 : 음와 길이의 비율이 1 : 1로 관찰되었다(Fig. 6). 회장에서 용모의 심한 위축과 융합, 충혈, 상피세포의

심한 탈락, 편평상피세포화, 심한 섬모소실, 음와상피세포의 중등도 증식을 보였고 용모 : 음와 길이의 비율이 1 : 1로 관찰되었다(Fig. 8). 생존한 1두의 포유자돈은 십이지장에서 용모의 가벼운 위축, 음와상피세포의 가벼운 증식을 보였고, 공장에서는 용모의 중등도 위축과 심한 융합, 중등도 편평상피세포화, 섬모소실, 음와상피세포의 뚜렷한 증식을 보였으며, 회장에서 용모의 심한 위축과 융합, 상피세포의 가벼운 탈락, 심한 편평상피세포화, 중등도 섬모소실, 음와상피세포의 중등도 증식을 보였고 용모 : 음와 길이의 비율이 4~5 : 1에서 1 : 1로 관찰되었다.

면역조직화학적 검사

TGEV 항혈청의 경구투여에 따른 소장에서 면역글로블린의 분포를 알아보고자 십이지장, 공장, 회장을 면역조직화학염색을 실시하였다. 소장에서의 IgG의 분포를 관찰하였던 결과는 출생 후 TGEV 항혈청을 경구투여하여 면역시킨 다음 TGEV를 공격접종한 실험군의 포유자돈의 십이지장에서는 점막고유층, 장샘의 상피세포 및 용모상피세포에서 중등도 양성반응을 보였다(Fig. 9). 공장에서는 용모상피세포와 음와상피세포에서 미약한 양성반응을 보였으며(Fig. 11), 회장에서는 점막고유층과 Peyer's patch의 중심부에서 중등도 양성반응을 나타내었다(Fig. 13).

TGEV 항혈청을 투여하지 않고 TGEV를 공격접종한 대조군의 십이지장에서는 탈락된 용모상피세포와 장샘의 상피세포에서 미약한 양성반응을 보였으며(Fig. 10), 공장에서는 탈락된 용모상피세포와 음와상피세포에서 미약한 반응을 나타내었으며(Fig. 12), 회장에서는 Peyer's patch 및 점막고유층에서 약한 양성반응을 관찰할 수 있었다(Fig. 14).

소장에서 부위별 양성반응두수를 관찰하였던 결과는 출생 후 TGEV 항혈청을 경구투여하여 면역시킨 다음 TGEV를 공격접종한 실험군의 포유자돈에서 십이지장은 4두, 공



Fig. 7. Ileum; piglet challenged with TGEV after administration of TGEV antiserum. Mild atrophy and fusion of villi are seen. H&E, ×100.

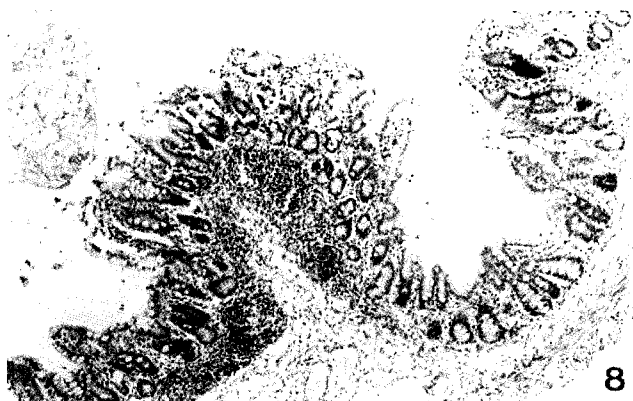


Fig. 8. Ileum; piglet challenged with TGEV after no administration of TGEV antiserum. Severe atrophy and fusion of villi are observed. H&E, ×100.

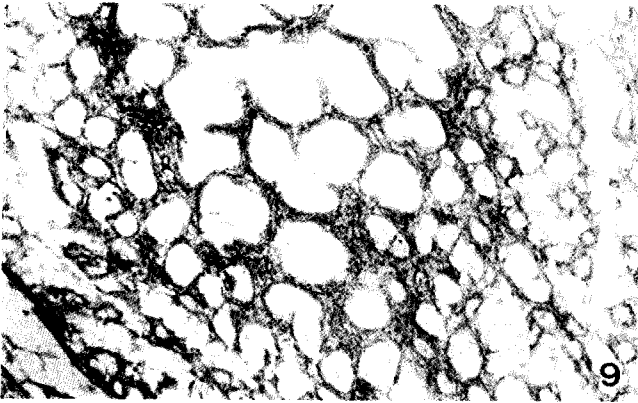


Fig. 9. Duodenum; piglet challenged with TGEV after administration of TGEV antiserum. Many IgG positive cells are found in the lamina propria. ABC, $\times 100$.

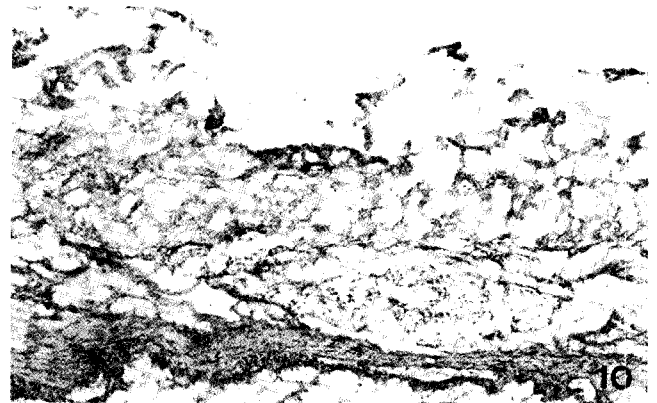


Fig. 10. Duodenum; piglet challenged with TGEV after no administration of TGEV antiserum. A few of IgG positive cells are seen in the lamina propria. ABC, $\times 100$.

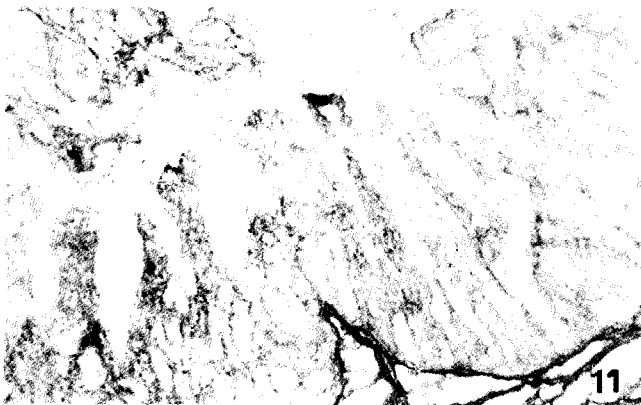


Fig. 11. Jejunum; piglet challenged with TGEV after administration of TGEV antiserum. Note many IgG positive cells in the lamina propria. ABC, $\times 100$.

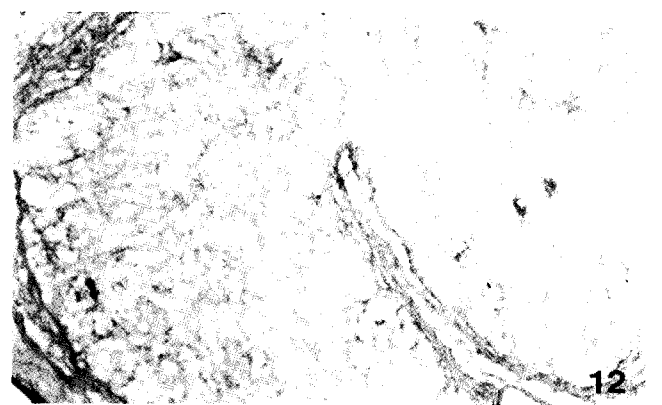


Fig. 12. Jejunum; piglet challenged with TGEV after no administration of TGEV antiserum. A few of IgG positive cells are detected in the lamina propria. ABC, $\times 100$.

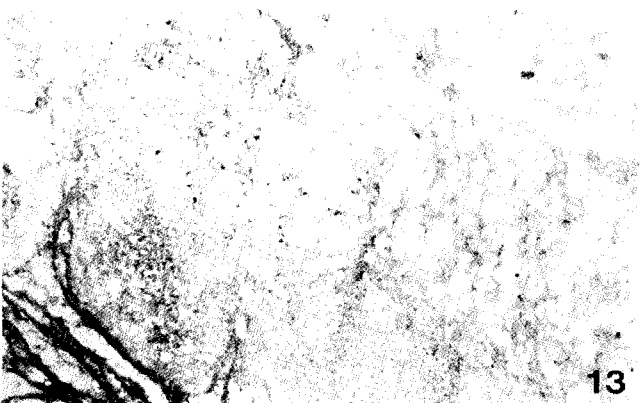


Fig. 13. Ileum; piglet challenged with TGEV after administration of TGEV antiserum. There are many IgG positive cells in the lamina propria and Peyer's patch. ABC, $\times 100$.



Fig. 14. Ileum; piglet challenged with TGEV after no administration of TGEV antiserum. There are a few of IgG positive cells in the lamina propria. ABC, $\times 100$.

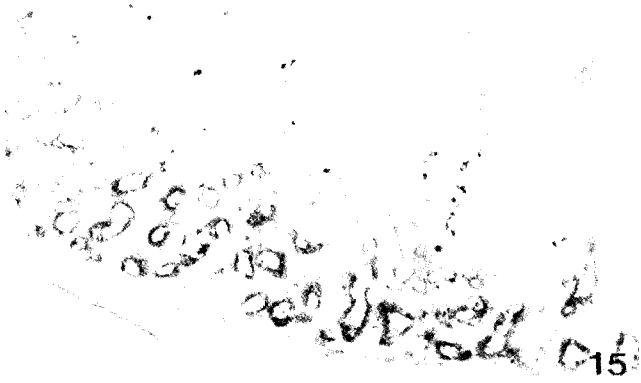


Fig. 15. Duodenum; piglet challenged with TGEV after administration of TGEV antiserum. Note many IgA positive cells in the lamina propria. ABC, $\times 100$.



Fig. 16. Duodenum; piglet challenged with TGEV after administration of TGEV antiserum. There are a few of IgA positive cells in the lamina propria. ABC, $\times 100$.



Fig. 17. Jejunum; piglet challenged with TGEV after administration of TGEV antiserum. Many IgA positive cells are detected in the lamina propria and crypt. ABC, $\times 100$.



Fig. 18. Jejunum; piglet challenged with TGEV after no administration of TGEV antiserum. A few of IgA positive cells are seen in the lamina propria. ABC, $\times 100$.



Fig. 19. Ileum; piglet challenged with TGEV after administration of TGEV antiserum. There are many IgA positive cells in the lamina propria and Peyer's patch. ABC, $\times 100$.



Fig. 20. Ileum; piglet challenged with TGEV after no administration of TGEV antiserum. A few of IgA positive cells are scattered in the lamina propria and Peyer's patch. ABC, $\times 100$.

장은 3두, 회장은 4두, 회장의 Peyer's patch는 2두에서 양성 반응이 관찰되었다. 대조군의 포유자돈에서 십이지장은 3두, 공장은 3두, 회장은 3두, 회장의 Peyer's patch는 2두에서 양성반응이 관찰되었다.

소장에서 IgA의 분포를 관찰하였던 결과는 출생 후 TGEV 항혈청을 경구투여하여 면역시킨 다음 TGEV를 공격집중된 실험군의 포유자돈의 십이지장에서는 장샘의 상피세포와 용모상피세포, 점막고유층에서 강한 양성반응을 관찰할 수 있었다(Fig. 15). 공장에서는 용모의 기저부, 음와상피세포 및 점막고유층에서 강한 양성반응을 보였으며(Fig. 17), 회장에서는 Peyer's patch의 중심부와 음와상피세포에서 강한 양성반응을 관찰할 수 있었다(Fig. 19).

TGEV 항혈청을 투여하지 않고 TGEV를 공격집중된 대조군은 용모의 손실이 비교적 심하였는데 십이지장에서는 여러 부위의 장음와상피세포에서 약한 양성반응을 관찰할 수 있었다(Fig. 16). 공장에서는 음와상피세포와 탈락된 용모상피세포에서 미약한 양성반응을 보였고(Fig. 18), 회장에서는 Peyer's patch의 중심부, 음와상피세포 및 탈락된 용모상피세포에서 약한 양성반응을 보였다(Fig. 20).

소장에서 부위별 양성반응두수를 관찰하였던 결과는 출생 후 TGEV 항혈청을 경구투여하여 면역시킨 다음 TGEV를 공격집중된 실험군의 포유자돈에서 십이지장은 5두, 공장 4두, 회장은 2두, 회장의 Peyer's patch는 3두에서 양성 반응이 관찰되었다. 대조군의 포유자돈에서 십이지장은 3두, 공장 2두, 회장은 3두, 회장의 Peyer's patch는 2두에서 양성반응이 관찰되었다.

소장에서 IgG의 분포는 출생 후 TGEV 항혈청을 투여하여 면역시킨 실험군은 대조군에 비해 십이지장과 회장에서 다소 뚜렷하게 양성반응을 보였고 IgA의 분포는 TGEV 항혈청을 투여하여 면역시킨 실험군이 십이지장, 공장, 회장, 회장의 Peyer's patch에서 대조군에 비해 강한 양성반응을 보였다. 전반적으로 소장에서 IgA 분포가 IgG의 분포에 비

해 강한 양성반응을 보였다(Table 4).

고 찰

양돈산업에 막대한 경제적 손실을 주는 TGEV는 경구 또는 호흡기를 통해 감염되며 7일령 미만의 포유자돈은 발병한 후 2~7일 이내에 폐사하고 폐사율은 일령의 증가에 따라 감소하지만 회복후의 돼지는 발육상태가 심하게 저하되어 위축돈으로 된다.^{3,17,25}

TGEV에 감염된 포유자돈은 12~24시간의 잠복기를 거친 다음 심한 수양성 설사를 나타내며 구토는 설사를 시작하기 직전부터 나타나는데 포유후에는 더욱 심해진다.³ 설사 변은 처음에 유백색에서 황녹색을 보이다가 말기에는 점액성으로 변한다. 설사와 더불어 급속한 탈수가 동반되어 체중이 감소되며 7일령 이하의 포유자돈은 발병후 2~7일 내에 대부분 폐사한다.²⁵ 본 연구에서 출생 후 TGEV 항혈청을 경구투여한 포유자돈에서는 TGEV 공격집중 후 24~36시간부터 원기소실, 식욕절폐, 수양성 설사를 보이다가 2두의 포유자돈이 폐사되었으나 나머지 3두는 시간이 경과함에 따라 수양성 설사에서 연변으로 실험종료시에는 정상으로 회복되었으며 40.0%의 폐사율을 나타내었다. 이에 반해 출생 후 TGEV 항혈청을 투여하지 않은 대조군의 포유자돈은 TGEV 공격집중 후 20시간부터 심한 원기소실, 식욕절폐, 심한 구토와 황색의 심한 수양성 설사를 보이다가 공격집중 후 3두가 폐사하여 75.0%의 폐사율을 나타내었다. 이상의 결과는 TGEV 항혈청의 경구투여에 의해 TGEV에 대하여 완벽하게 방어할 수는 없었지만 임상증상과 폐사율을 감소시킬 수 있음을 알 수 있었다. 포유자돈의 체중은 TGEV 항혈청을 경구투여한 실험군에서는 폐사된 2두를 제외하고 모두 증가하였지만 대조군의 대부분 포유자돈의 체중은 TGEV 공격전보다 감소하였다. 직장내 체온변화를 측정하

Table 4. Immunohistochemical findings in piglets challenged with TGEV

Group	IgG			IgA		
	Duodenum	Jejunum	Ileum [Peyer's patch]	Duodenum	Jejunum	Ileum [Peyer's patch]
I ^{a)}	+ ^{b)} ~++(4/5) ^{c)}	±~+(3/5)	+~++(4/5) [+~++(2/5)]	++~+++ (5/5)	+~++(4/5)	++~+++ (2/5) [+~++(3/5)]
II	±(3/4)	±(3/4)	±(3/4) [+~++(2/4)]	+(3/4)	±~+(2/4)	+(3/4) [+~++(2/4)]

a) Group I: piglets from unvaccinated sows were administrated with TGEV antiserum orally but challenged with TGEV.

Group II: piglets from unvaccinated sows were not administrated with TGEV antiserum but challenged with TGEV.

b) - ; without normal limits, ± ; slight, + ; mild, ++ ; moderate, +++ ; intensive.

c) No. of pigs with immunohistochemical lesions/No. of tested pigs.

37.4~39.2°C로 정상체온이었지만 공격접종 후 24시간부터는 체온이 39.9~41.3°C로 상승하였는데 이것은 TGEV 감염기전에 의한 것으로 생각된다.

TGEV의 전형적인 육안소견은 위에 소화되지 않은 유백색의 응유가 가득 차 점막이 충혈되고 얇아져 있으며 3일이내에 폐사된 약 50%의 포유자돈은 횡격막부위에 출혈소견을 보이며, 소장에는 황색의 악취가 심한 포말성의 수양성 내용물이 차 있으며 소장벽은 용모의 탈락과 위축으로 인하여 얇아져 투명하다.^{3,26,27} 본 연구에서 TGEV 항혈청을 투여하지 않은 대조군에서는 3두가 폐사하였고 부검시에 소장에 가스가 차있어 팽만되어 점막이 굉장히 얇아져 있었고 포말성의 심한 악취가 나는 황색의 수양성 내용물이 차 있어 전형적인 TGEV 감염소견을 나타내었고 전반적으로 TGEV 항혈청을 경구투여한 실험군에 비해 높은 발병률과 심한 육안소견을 보여 TGEV 항혈청 경구투여에 의한 TGEV에 대한 방어효과를 관찰할 수 있었다.

Hooper와 Haelterman²⁸은 정상적인 10일령 포유자돈의 소장용모와 음와의 길이가 795 μm와 110 μm로 용모 : 음와 길이의 비율은 7 : 1이지만 TGEV에 감염시 용모와 음와의 길이는 180 μm와 157 μm로 용모 : 음와 길이의 비율은 1 : 1로 심하게 위축되어 소장의 흡수면적이 감소된다고 보고하였다. 본 연구에서 TGEV 항혈청을 투여하지 않고 TGEV를 공격접종한 포유자돈은 십이지장, 공장, 회장 등의 소장 전반에 걸쳐 심한 용모의 위축과 용합, 상피세포의 탈락, 편평상피세포화, 섬모의 소실 및 음와상피세포의 증식이 관찰되었다. 공장과 회장에서 장상피세포의 탈락이 가장 심하게 나타났고 용모 : 음와 길이의 비율이 1 : 1로 전형적인 TGEV의 병리조직학적 소견을 보였다. TGEV 항혈청을 경구투여한 실험군에서는 TGEV 공격접종 후 7일째에 폐사한 1두는 비교적 심한 병리조직학적 소견을 보였으나 4두는 대조군에 비해 가벼운 소견을 보여 TGEV 항혈청의 경구투여에 의해 소장점막에 TGEV의 흡착과 증식이 억제되어 용모와 상피세포의 파괴가 저지되어 병변을 완화시키거나 억제시켰을 것으로 사료된다.

본 연구에서 TGEV 항혈청의 경구투여에 의한 소장에서의 항체 분포를 확인하고자 동결절편조직을 면역조직화학적 검사를 실시하였는데 IgG의 분포는 실험군의 십이지장과 회장에서는 약한 정도 또는 중등도 양성반응을 보였지만 TGEV 항혈청을 투여하지 않은 대조군에서는 십이지장, 공장, 회장 등의 소장 전반에 걸쳐 미약한 양성반응을 나타내었다. IgA의 분포는 TGEV 항혈청을 경구투여한 실험군에서 매우 강한 양성반응을 나타내었지만 대조군에서는 미약하거나 약한 양성반응을 보였다. IgA의 분포가 IgG에 비해 뚜렷한 양성반응을 나타냈던 것은 장관면역에 있어서는 IgG

에 의한 체액성 면역보다 IgA 특히 sIgA에 의한 효과인 국소면역이 관여되었음을 알 수 있었다.

본 연구에서 TGEV 항혈청을 출생직후 포유자돈에 경구투여함으로써 유즙대체 수동면역을 형성케하여 TGEV 항혈청이 TGEV의 소장벽 흡착과 증식을 억제하거나 바이러스를 중화시켜 TGEV에 의한 설사를 효과적으로 방어하는 것을 알 수 있었다. 따라서 본 연구의 결과를 토대로 앞으로 야외 양돈장에서 TGEV 항혈청요법을 효율적으로 활용한다면 TGEV를 효과적으로 예방하여 포유자돈의 폐사를 최대한으로 줄이므로써 경제적인 손실을 줄일 수 있을 것으로 사료된다.

결론

출생직후 포유자돈에 TGEV 항혈청을 경구투여하여 자돈에 유즙대체 수동면역을 형성시킨 후 TGEV의 공격접종에 대한 방어효과를 관찰하고자 임상검사, 병리학적 검사, 면역조직화학적 검사를 실시하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 임상증상에서 TGEV 항혈청을 경구투여하고 TGEV를 공격접종한 실험군은 경미하여 빠르게 회복되었으나 대조군은 심한 임상증상을 나타내었다.
2. 병리학적 검사에서 TGEV 항혈청을 투여하지 않은 대조군은 전형적이고 특징적인 병리학적 소견을 보였으나 TGEV 항혈청을 경구투여한 실험군은 가벼운 소견을 보였다.
3. 면역조직화학적 검사에서 TGEV 항혈청을 경구투여한 실험군이 대조군에 비하여 소장에서 IgG와 IgA가 많이 분포되었고 IgA가 IgG에 비해 많이 분포되었다.

이상의 결과를 통하여 포유자돈에 TGEV 항혈청을 경구투여하였을 시에 유즙대체 수동면역을 형성하여 TGEV를 효과적으로 방어하였음을 알 수 있었다.

본 연구는 농림기술관리센터의 첨단기술개발사업 과제번호 0999011-1-3(2001538)에 의해 수행되었음.

참고문헌

1. Cook DR, Hill HT, et al. Oral transmission of transmissible gastroenteritis virus by muscle and lymphnode from slaughtered pigs. *Aust Vet J* 68:68-70, 1991.
2. Siegel JP, Hungerford LL, et al. Risk factors associated with transmissible gastroenteritis in swine. *J Am Vet Med Assoc* 199:1579-1583, 1991.
3. Saif LJ, Wesley RD. Transmissible Gastroenteritis and Porcine Respiratory Coronavirus. *Diseases of swine*, 8th ed.

- pp. 295-325, Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA, 1999.
4. 조광현, 박최규, 등. 경북지방 돼지의 전염성 위장염에 대한 혈청학적 역학조사. 가축위생시험지 **24**:271-277, 2001.
 5. Doyle LP, Hutchings LM. A transmissible gastroenteritis in pigs. *J Am Vet Med Assoc* **108**:257-259, 1946.
 6. Underdahl WR, Mebus CA, et al. Recovery of transmissible gastroenteritis virus from chronically infected experimental pigs. *Am J Vet Res* **36**:1473-1476, 1975.
 7. Schulman A. First case is TGE in finland. *Vet Rec* **107**:206, 1980.
 8. Saif LJ, Bohl EH. Passive immunity in transmissible gastroenteritis of swine. *Am J Vet Res.* **40**:115-117, 1979.
 9. Callebaut P, Pensaert MB, et al. Acompetitive inhibition ELISA for the differentiation of serum antibodies from pigs infected with transmissible gastroenteritis virus (TGEV) or with the TGEV-related porcine respiratory coronavirus. *Vet Microbiol* **20**:9-19, 1989.
 10. Cox E, Pensaert MB, et al. Intestinal replication of a porcine respiratory coronavirus closely related antigenically to the enteric transmissible gastroenteritis virus. *Vet Microbiol* **23**:237-243, 1990.
 11. Laude H, Rasschaert D, et al. Molecular biology of transmissible gastroenteritis virus. *Vet Microbiol* **23**:147-154, 1990.
 12. Laude H, Van Reeth K, et al. Porcine respiratory coronavirus: Molecular features and virus-host interactions. *Vet Res* **24**:125-150, 1993.
 13. Pensaert M, Cox E, et al. A sero-epizootiological study of porcine respiratory coronavirus in Belgian swine. *Vet Q* **15**:16-20, 1993.
 14. Pritchard GC. Transmissible gastroenteritis in endemically infected breeding herds of pigs in East Anglia, 1981-1985. *Vet Rec* **120**:226-230, 1987.
 15. Morin M, Solorzano RF, et al. The postulated role of feeder swine in the perpetuation of the transmissible gastroenteritis virus. *Can J Comp Med* **42**:379-384, 1978.
 16. Bohl EH, Gupta RK, et al. Antibody responses in serum, colostrum and milk of swine after infection or vaccination with transmissible gastroenteritis virus. *Infect Immun* **6**:289-301, 1972.
 17. Bohl EH, Frederick GT, et al. Passive immunity in transmissible gastroenteritis of swine: Intramuscular injection of pregnant swine with a modified live-virus vaccine. *Am J Vet Res* **36**:267-271, 1975.
 18. Kaji T, Shimizu Y. Passive immunization against transmissible gastroenteritis virus in piglets of ingestion of milk of sows inoculated with attenuated virus. *Natl Inst Anim Health Q(Tokyo)* **18**:43-52, 1978.
 19. Pensaert MB. Immunity in TGE of swine after infection and vaccination. In *Viral Enteritis in Humans and Animals*. Ed F. Bricout and R. Scherrer. INSERM(Paris) **90**:281-293, 1979.
 20. Voets MT, Pensaert M, et al. Vaccination of pregnant sows against transmissible gastroenteritis with two attenuated virus strains and different inoculation routes. *Vet Q* **2**:211-219, 1980.
 21. Moxley RA, Olson LD. Clinical evaluation of transmissible gastroenteritis virus vaccination procedures for inducing lactogenic immunity in sows. *Am J Vet Res* **50**:111-118, 1989.
 22. Saif LJ, Van Cott JL, et al. Immunity to transmissible gastroenteritis virus and porcine respiratory coronavirus infections in swine. *Vet Immunol Immunopathol* **43**:89-97, 1994.
 23. Kusanagi K, Kuwahara H, et al. Isolation and serial propagation of porcine epidemic diarrhea virus in cell cultures and partial characterization of the isolate. *J Vet Med Sci* **54**:313-318, 1992.
 24. 권혁무, 피재호. 돼지 전염성 위장염 바이러스(국내분리주)의 분자생물학적 특성 규명. *대한수의학회지* **38**:304-313, 1998.
 25. 兒玉義勝. 豚傳染性胃腸炎. 豚病學. 第四版. pp. 237-247, 東京, 日本, 1999.
 26. Hooper BE. Lesions of the gastrointestinal tract of pigs infected with transmissible gastroenteritis. *Can J Comp Med* **33**:29-36, 1969.
 27. Drolet R, Morin M, et al. Hypoglycemia: A factor associated with low survival rate of neonatal piglets infected with transmissible gastroenteritis virus. *Can J Comp Med* **48**:282-285, 1984.
 28. Hooper BE, Haelterman EO. Concepts of pathogenesis and passive immunity in transmissible gastroenteritis of swine. *J Am Vet Med Assoc* **149**:1580-1586, 1966.