

한우송아지에서 ELISA를 이용한 소 바이러스성 설사병 바이러스 항원 검출

전승기* · 박진호 · 김남수¹

전북대학교 수의과대학
*와우동물병원

(게재승인: 2007년 5월 4일)

Seroprevalence of Antigens to Bovine Viral Diarrhea Virus in Korean Calves of the Shown Healthy, Digestive and Respiratory Symptom

Seung-Ki Chon*, Jin-Ho Park and Nam-Soo Kim¹

College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University, Jeonbuk 561-756, Korea

*Wow Animal Clinic, Iksan 570-210, Korea

Abstract : The aim of this study was to investigate the prevalence of bovine viral diarrhea virus (BVDV) infection in Chonbuk province. Blood samples were taken from 92 Korean calves to determine their serological status against BVDV. Capture enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to test for antigen. The number of seropositive calves ranged from 3.3% to 12.9%. Antigens against BVDV were detected in 3.3% of healthy calves, 6.4% of digestive symptom calves, 12.9% of respiratory symptom calves, respectively. Sex and age of calves had no significant differences on the prevalence of BVDV. The results indicate that transmission of BVDV may have become exposed as a result of contact with acute infected or persistently infected cattle.

Key words : Bovine viral diarrhea virus, Enzyme-linked immunosorbent assay, Antigen detection.

서 론

소의 bovine viral diarrhea virus(BVDV), 돼지의 classical swine fever virus(CSFV) 그리고 면양의 border disease virus (BDV)는 단일가닥의 RNA를 갖는 Pestivirus에 속하는 바이러스이다(18). BVDV는 배양세포의 세포변성의 유무에 따라 세포변성독주와 비세포변성독주로 구분되는 두 가지 형태의 생물학적 타입으로 나뉜다(3). 또한 유전형 타입으로 5' untranslated region, N^{pro}, 와 E2 region의 염기서열의 변화에 따라 BVDV type1과 type 2 나뉜다(22,24).

준임상형태부터 급만성으로 임상증상은 소화기질환, 호흡기 질환, 생식기질환, 태아감염 및 유사산 등을 나타낸다(16,6,5,14,7). BVDV type 2에 의해 발병하는 것으로 알려진 출혈성증후군은 어미 소와 송아지에서 급성BVDV 감염에 의해 나타나는 것으로 혈소판감소증을 보인다(21,20). 감염된 어미 소에 있어서는 혈액성 설사, 비출혈, 점상 및 반상출혈, 주사부위에서의 출혈 등이 특징적이다. 또한 발열과 백혈구 감소증이 나타난다(21).

오늘날, 대동물 임상에서는 급성BVDV 감염에 대한 처치는 보존적인 요법으로 2차적인 세균 감염을 차단하기 위하여 항생제요법을 취하며, 부신피질호르몬 계통의 약제사용은 바이러스에 의해 야기된 면역억압을 더 강하게 유발시킬 수 있기 때문에 처방하지 않는다. 심한 탈수를 보이는 송아지에 있어서는 포도당액 및 하트만 액의 수액이 치료예후 평가에 있어 좋은 결과를 나타내는 것 같다.

이와 같이 BVDV에 의해 발생하는 질환으로 인해 소뿐만 아니라 다른 산업동물에게도 피해를 나타낼 수 있으며, 또한 경제적인 큰 손실을 초래할 수 있는 것이 현실이다. 이에 본 연구는 육안 적으로 건강해 보이는 생후 4개월령, 5개월령 한우송아지와 소화기 및 호흡기증상을 보이는 생후 4개월령, 5개월령 한우송아지에서 BVDV의 항원을 혈청 내에서 검출하여 BVDV의 감염 실태를 조사하고자 실시하였다.

재료 및 방법

대상동물

BVDV 백신을 접종하지 않은 건강한 생후 4개월령, 5개월령 한우송아지의 혈액을 10두씩 3개의 농장에서 채혈했으며, 2006년 8월부터 소화기 및 호흡기증상을 보이며 BVDV 백

¹Corresponding author.
E-mail : namsoo@chonbuk.ac.kr

신을 접종하지 않은 생후 4개월령, 5개월령 한우송아지의 혈액을 31두씩 채혈하여 시료로 이용하였다.

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

대상동물의 경정맥에서 채혈한 혈액으로부터 혈청을 분리한 후 -70°C에 보관 및 사용하였다. ELISA에 의한 BVDV 항원을 검출하기 위하여 HerdChek BVDV Antigen/Serum Plus kit(Idx Lab. USA)을 이용하였으며 제조사가 권장하는 방법에 준하여 검사하였다. 먼저 BVDV의 표면항원물질인 당단백질 gp48에 대한 단클론항체로 전 처리된 96-well microplate에 detection항체를 50 µl을 분주한 후 양성대조 및 음성대조를 위해 제공된 양성과 음성시료를 각각 두 개의 well에 50 µl씩을 분주했으며, 나머지 well에 시료를 50 µl씩 분주하였다. 그리고 18시간, 2°C-8°C에서 반응시킨 후 wash solution으로 5회 세척하였다. 여기에 100 µl의 conjugate를 각각의 well에 분주 후 30분간 실온에서 반응시킨 후 다시 5회 세척한 다음 100 µl의 TMB substrate를 각각의 well에 분주 후 10분간 실온에서 반응시킨 뒤 100 µl의 stop solution을 분주함으로써 반응을 정지시켰다. ELISA 역가를 ELISA reader (Molecular Devices Emax®, USA)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정 후 BVDV 항원의 존재유무에 따라

사료흡광도에서 음성대조흡광도를 제외한 보정흡광도(Sample optical density-Negative control optical density)를 산출하였다. 제공된 프로그램에 준하여 S-N ≤ 0.3이면 음성, S-N > 0.3이면 양성으로 간주하였다.

통계처리

모든 실험성적은 Mean ± SD로 표시하였으며 유의성 검증은 Student t-test를 실시하여 p값이 0.05미만인 경우 유의성을 인정하였다.

결 과

BVDV의 감염여부를 조사하기 위하여 전라북도 지역의 한우농가를 대상으로 육안적 소견상 건강해 보이는 30두의 한우송아지, 임상증상으로 소화기증상을 보이는 31두의 한우송아지 그리고 호흡기증상을 보이는 31두의 한우송아지 총 92두의 한우송아지 혈청을 준비하였다. 총 92두 중 7두의 한우송아지에서 검출되어 7.6%의 감염율을 보였으며 양성 보정흡광도는 2.051 ± 0.011이었다(Fig 1). 그 결과는 다음과 같다(Table 1). 총 30두의 건강한 한우송아지에서는 생후 5개월령 수컷 1두에서 BVDV가 검출되었으며(3.3%), 4개월령에서

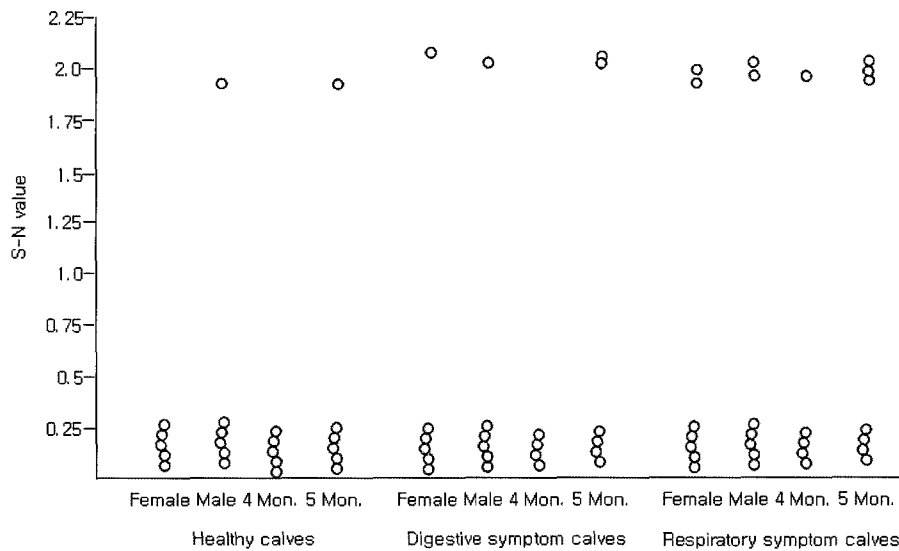


Fig 1. Distribution of S-N values from serum samples from healthy, digestive symptom and respiratory symptom calves tested in the Erns antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay. The calves were between 4 and 5 months of age.

Table 1. The prevalence of BVDV obtained with Erns antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay from serum samples from healthy, digestive symptom and respiratory symptom calves tested in the Erns antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay

Test results	No. of BVDV infection from healthy calves	No. of BVDV infection from digestive symptom calves	No. of BVDV infection from respiratory symptom calves
Positive	7	2	4
Negative	85	29	29
Total	92	31	31

는 검출되지 않았다. 소화기증상을 보이는 총31두의 한우송아지에서는 5개월령 암컷과 수컷에서 각각 1두씩 검출되었으며(6.4%), 4개월령에서는 검출되지 않았다. 호흡기증상을 보이는 총31두의 한우송아지에서는 5개월령의 암컷과 수컷에서 각각 2두와 1두가 검출되었으며, 또한 4개월령의 수컷 1두에서 BVDV가 검출되었다(12.9%). 육안적 소견상 건강해 보이는 한우송아지, 소화기증상을 보이는 한우송아지 그리고 호흡기증상을 보이는 한우송아지에서 BVDV 감염율에 대해 암수 및 연령별에 있어서 유의성 ($p > 0.05$)은 인정되지 않았다. 소화기증상을 보이며 BVDV에 감염된 5개월령의 암컷과 수컷은 항생제 및 감마세린의 처치에도 불구하고 폐사하였으며 호흡기증상을 보이며 BVDV에 감염된 4개월령의 수컷 1두 역시 항생제 및 감마세린의 처치에도 불구하고 폐사하였다.

고 찰

전 세계적으로 BVDV 감염에 의해 초래되는 경제적 손실은 막대하며, 그 추정치는 송아지 백만 마리당 일백 억에서 사백 억에 달한다고 보고되어 있다(12). 이와 같이 BVDV에 의한 막대한 경제적 손실을 막기 위하여 몇몇 국가에서는 BVDV 근절을 위한 프로그램을 실시하고 있다(11). 영구감염(persistently infected, PI)동물의 직접 접촉에 의한 전파가 가장 흔하여 PI동물의 확인 및 제거가 근절프로그램에 있어 중요하다(13). 이러한 프로그램의 일환으로 몇몇 국가에서는 간접항체 ELISA 방법을 이용한 우유 및 착유에서 조사함으로써 BVDV 청정을 유지하려고 노력하고 있다(19,2,15).

본 연구에서는 한우송아지의 혈청에서 BVDV의 감염율을 조사한 결과 건강한 한우송아지, 소화기증상을 보이는 한우송아지, 호흡기증상을 보이는 한우송아지에서 각각 3.3%, 6.4%, 12.9%의 감염율을 보였다. Cornish 등(4)은 Immunochemistry, 항원ELISA, 바이러스검출, RT-PCR을 이용하여 2개월령에서 6개월령의 송아지 559두 중 17두에서 BVDV 항원이 검출되어 12.0%의 감염율을 보고하였다. 이러한 결과는, 본 연구에서 조사된 7.6% (7두/92두) 보다 높았으나 호흡기증상을 보이는 한우송아지의 감염율과 일치하는 결과이다. BVDV의 고전염력은 가축시장에서 또는 개인 간의 어린 송아지 거래가 되므로 PI송아지는 반듯이 제거되어야 한다. 임신 42일에서 125일 중인 어미 소가 비세포변성독주 BVDV에 감염될 때 PI송아지를 분만하게 되며 초기 바이러스 감염된 태아는 면역관용을 나타내며 일생동안 바이러스를 전파하게 된다(17,1).

Fulton 등(8,9)은 BVDV 검출은 건강한 송아지 보다는 호흡기증상을 보이는 경우에 더 많이 검출되었으며 BVDV와 bovine herpesvirus type 1, parainfluenza-3 virus, bovine respiratory syncytial virus 등은 소 호흡기 질환의 원인체이며 *Mannheimia haemolytica*와 *Pasteurella multocida* 등의 감염으로 급성 소 호흡기 질환이 발생된다고 보고하였다. 본 연구에서 역시 소화기증상을 보이는 한우송아지와 호흡기증

상을 보이는 한우송아지에서 감염율을 비교시 각각 6.4%와 12.9%로 호흡기증상을 보이는 한우송아지에서 감염율이 높게 나타났다.

많은 연구에서 보면 입식되는 송아지의 0.4%가 PI송아지이며, 분리된 바이러스의 생물학적 type은 비세포변성독주이며, 5 'UTR의 염기서열 분석결과 Fluton 등(10)은 45.8%의 BVDV1b, 28.2%의 BVDV1a 그리고 26.0%의 BVDV2a, Tajima 등(23)은 49.1%의 BVDV1b, 11.3%의 BVDV1a 그리고 39.33%의 BVDV2a라고 보고하였다. 본 연구의 결과에서 나타난 한우송아지의 BVDV 감염에서 BVDV의 생물학적 type과 유전형 type을 조사하지 않았으나 Fluton 등(10)과 Tajima 등(23)의 결과와 유사하리라 추정할 수 있다.

김과 한(25)은 BVDV는 포유기에 44.5%의 높은 발병율을 보이며, 임상형은 대부분 6개월에서 24개월령 사이에 발생되며 드물게 4개월 미만의 송아지와 2세 이상의 소에서도 발생되며, 발병율은 보통 5% 미만이며, 또한 BVDV 중화항체가 높은 송아지는 BVDV 중화항체가 낮은 송아지 보다 발병율이 낮았다고 보고하였다. 본 연구에서도 4개월령과 5개월령 있어 BVDV에 대한 감염율을 비교시 유의성이 인정되지 않았으나 건강한 한우송아지에서는 5개월령에서 BVDV의 감염을 확인했으며, 소화기증상을 보이는 한우송아지에서도 5개월령의 2두에서 BVDV의 감염을 확인했으며, 호흡기질환을 앓고 있는 한우송아지에서는 5개월령에서 3두, 4개월령에서 1두가 BVDV에 감염된 것을 알 수 있었으며, 감염 개체 수에 있어 차이를 보였다. 이유시기에 일반적으로 BVDV에 이환될 수 있었던 이유는 2개월령 이후에 어미 소와 함께 방목시킨 것이 stress로 작용했을 가능성과 어미 소에 사용된 BVDV 백신과 다른 strain의 바이러스가 BVDV 발생에 관여하였을 가능성과 그리고 생후 8주령 이후 BVDV 항체가 평균 $4.78 \log_2$ 이하로 낮아져 BVDV 감수성이 높았던 것으로 보고하였다. 또한 김과 한(26)은 정기적으로 BVDV 예방접종한 한우 어미 소의 분만 후 BVDV 혈청중화항체는 $8.7 \pm 1.5 \log_2$ 이며 초유중의 BVDV 혈청중화항체는 $10.1 \pm 1.4 \log_2$ 로 초유중의 바이러스 항체가 어미 소의 혈청의 것보다 높았으며, 이러한 초유중의 혈청중화항체가 질병발생에 영향을 미치고 있다고 보고하였다.

결 론

건강한 한우송아지, 소화기증상을 보이는 한우송아지와 호흡기증상을 보이는 한우송아지에서 BVDV의 감염율을 조사하였다. 이미 여러 연구자들에 의해 BVDV가 국내에서도 오래 전부터 발생했음을 추측할 수 있다. BVDV의 근절대책은 PI송아지를 제거하는 것이 가장 중요하다 할 수 있겠다. 현재 국내에서 이 바이러스에 의한 감염이 급성감염에 의한 것인지, 또는 PI송아지와 PI소에 의한 전파인지를 먼저 파악해야 할 것이다. 또한 현재 사용되고 있는 약독화 생독백신이 BVDV 1을 근간으로 생산되고 있어 고독성 BVDV type2에

대한 방어력에 대해 생각해야 될 것이다.

참 고 문 헌

- Baker JC. The clinical manifestations of bovine viral diarrhoea infection. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 1995; 11: 425-445.
- Bitsch V, Ronsholt L. Control of bovine viral diarrhoea virus infection without vaccines. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 1995; 11: 627-640.
- Bolin SR, McClurkin AW, Cutlip RC, Coria MF. Severe clinical disease induced in cattle persistently infected with noncytopathic bovine viral diarrhoea virus by superinfection with cytopathic bovine viral diarrhoea virus. *Am J Vet Res* 1985; 46: 573-576.
- Cornish TE, van Olphen AL, Cavender JL, Edwards JM, Jaeger PT, Vieyra LL, Woodard LF, Miller DR, O'Toole D. Comparison of ear notch immunohistochemistry, ear notch antigen-capture ELISA, and buffy coat virus isolation for detection of calves persistently infected with bovine viral diarrhoea virus. *J Vet Diagn Invest* 2005; 17: 110-117.
- Done JT, Terlecki S, Richardson C, Harkness JW, Sands JJ, Patterson DS, Sweasey D, Shaw IG, Winkler CE, Duffell SJ. Bovine virus diarrhoea-mucosal disease virus: pathogenicity for the fetal calf following maternal infection. *Vet Rec* 1980; 106: 473-479.
- Dubovi EJ. Genetic diversity and BVD virus. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 1992; 15: 155-162.
- Flores EF, Gil LH, Botton SA, Weiblen R, Ridpath JF, Kreutz LC, Pilati C, Driemeyer D, Moojen V, Wendelstein AC. Clinical, pathological and antigenic aspects of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) type 2 isolates identified in Brazil. *Vet Microbiol* 2000; 77: 175-183.
- Fulton RW, Purdy CW, Confer AW, Saliki JT, Loan RW, Briggs RE, Burge LJ. Bovine viral diarrhoea infections in feeder calves with respiratory disease: interactions with *Pasteurella* spp., parainfluenza-3 virus, and bovine respiratory syncytial virus. 2000; 64: 151-159.
- Fulton RW, Ridpath JF, Saliki JT, Briggs RE, Confer AW, Burge LJ, Purdy CW, Loan RW, Duff GC, Payton ME. Bovine viral diarrhoea virus (BVDV) 1b: predominant BVDV subtype in calves with respiratory disease. *Can J Vet Res* 2002; 66: 181-190.
- Fulton RW, Briggs RE, Ridpath JF, Saliki JT, Confer AW, Payton ME, Duff GC, Step DL, Walker DA. Transmission of bovine viral diarrhoea virus 1b to susceptible and vaccinated calves by exposure to persistently infected calves. *Can J Vet Res* 2005; 69: 161-169.
- Greiser-Wilke I, Grummer B, Moennig V. Bovine viral diarrhoea eradication and control programmes in Europe. *Biologicals* 2003; 31: 113-118.
- Houe H. Economic impact of BVDV infection in dairies. *Biologicals* 2003; 31: 137-143.
- Houe H. Epidemiology of bovine viral diarrhoea virus. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 1995; 11: 521-547.
- Kahrs RF. Effects of bovine viral diarrhoea on reproduction. In: Morrow DA ed. *Current therapy in theriogenology* 2. Philadelphia, WB Saunders Co. 1980: 254.
- Lindberg AL, Alenius S. Principles for eradication of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in cattle populations. *Vet Microbiol* 1999; 64: 197-222.
- Martin SW, Bateman KG, Shewen PE, Rosendal S, Bohac JE. The frequency, distribution and effects of antibodies, to seven putative respiratory pathogens, on respiratory disease and weight gain in feedlot calves in Ontario. *Can J Vet Res* 1989; 53: 355-362.
- McClurkin AW, Littledike ET, Cutlip RC, Frank GH, Coria MF, Bolin SR. Production of cattle immunotolerant to bovine viral diarrhoea virus. *Can J Comp Med* 1984; 48: 156-161.
- Murphy F, Famfuet C, Bishop D, Ghabrial S, Jarvis A, Martelli G, Mayo M, Summers M. Virus taxonomy, sixth report on taxonomy of the international committee on taxonomy of viruses. *Arch Virol Suppl* 1995; 10: 415-427.
- Niskanen R, Alenius S, Larsson B, Jacobsson SO. Determination of level of antibodies to bovine virus diarrhoea virus (BVDV) in bulk tank milk as a tool in the diagnosis and prophylaxis of BVDV infections in dairy herds. *Arch Virol Suppl* 1991; 3: 245-251.
- Perdrizet JA, Rebhun WC, Dubovi EJ, Donis RO. Bovine virus diarrhoea: Clinical syndromes in dairy herds. *Cornell Vet* 1987; 77: 46-74.
- Rebhun WC, French TW, Perdrizet JA, Dubovi EJ, Dill SG, Karcher LF. Thrombocytopenia associated with acute bovine viral diarrhoea infection in cattle. *J Vet Intern Med* 1989; 3: 42-46.
- Ridpath J, Bolin SR, Dobovi EJ. Segregation of bovine viral diarrhoea virus into genotypes. *Virology* 1994; 205: 66-74.
- Tajima M, Dubovi EJ. Genetic and clinical analyses of bovine viral diarrhoea virus isolates from dairy operations in the United States of America. *J Vet Diagn Invest* 2005; 17: 10-15.
- Van Rijn PA, van Gennip HGP, Leendertse CH, Brusckhe CJM, Panton DJ, Moormann RJM, van Oirschot JT. Subdivision of the pestivirus genus based on envelope glycoprotein E2. *Virology* 1997; 237: 337-348.
- 김두, 한홍율. 한우 송아지의 초유섭취에 의한 수동면역이 포유기간중의 질병발생에 미치는 영향. *대한수의학회지* 1989; 29: 91-98.
- 김두, 한홍율. 초유를 섭취한 한우 송아지의 출생후 12주 동안의 혈청 면역글로블린과 각종 바이러스 항체의 변화. *대한수의학회지* 1989; 29: 83-90.