

## 젖소송아지에서 ELISA를 이용한 소 바이러스성 설사병 바이러스 검출률

전승기\* · 김남수<sup>1</sup>

전북대학교 수의과대학

\*와우동물병원

(게재승인: 2007년 6월 7일)

### Detection Rate of Bovine Viral Diarrhea Virus in Dairy Calves with Capture-ELISA

Seung-Ki Chon\* and Nam-Soo Kim<sup>1</sup>

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 detect bovine viral diarrhea virus (BVDV) from calves in Chonbuk province. Blood samples were taken from ninety-two dairy calves. Capture enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect BVDV. BVDV were detected in eight out of ninety-two (8.6%) dairy calves. BVDV were detected in one of twenty five of female calves and one of twenty three of male calves of 4 months old, whereas in the 5 months age group, BVDV were detected in four of twenty three of female calves and two of twenty one of male calves. There were no significant differences ( $p > 0.05$ ) in the detection rate of BVDV on the basis of sex. On the other hand, ages of calves had significant differences ( $p < 0.05$ ) on the prevalence of BVDV.

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

## 서 론

송아지에 있어 소화기질환과 호흡기질환은 대동물임상수의 사들이 흔하게 접하는 중요한 질환일 것이다. 출생 후 이유기 사이의 치사율이 9%(유효숫자를 맞추기 바람. 예 9.0%)이며, 이중 치사율 80%에서 89%가 생후 1개월에 발생되며, 그 원인으로는 설사와 호흡기질환이다(10). Bovine viral diarrhea virus (BVDV)는 단독 또는 세균성 병원체와 어린 송아지에서 소화기질환과 호흡기질환을 일으킨다(6,9,14). 1940년대 북미 지역에서 소에서 설사와 위장관의 궤양의 발병을 특징으로 하는 급성장염질환이 보고되었으며, 이 질병을 소 바이러스성 설사병(Bovine viral disease, BVD) 그리고 원인체를 BVDV 라 명명되었다. 오늘날 BVDV에 관한 분자생물학적, 병인론적, 역학적 측면에서 과거와 비교하면 눈부신 발달을 보이고 있다.

BVDV감염에 대한 임상반응은 다양한 상관요인에 의하여 결정된다. 임상증상 발현에 영향을 주는 숙주요인으로는 숙주가 BVDV에 대하여 면역능 또는 면역관용을 보이는 것, 임신 상태, 태아의 임신일령, 능동면역 또는 수동면역의 면역상태, 환경스트레스 등이 있다(2). 준임상형 감염의 증상으로 약간의 체온상승, 백혈구감소증, 산유량의 저하 등이 나타난다

(15). 임상형 감염을 BVD라 부르며, 감수성을 보이는 우군의 6개월령에서 1세 사이에 있어 폭발적인 설사를 보일 수 있으며, 높은 이환율이 특징적이다. 5-7일 정도의 잠복기를 거쳐 일 시적 발열과 백혈구감소증을 보인다. 감염 후 4-5일에 바이러스혈증이 나타나며 15일 정도 지속된다. 증상으로는 침울, 식욕저하, 안비분비물, 구강의 미란과 궤양, 설사 등을 보인다(7).

이와 같이 감염에 의해 준임상형부터 임상형까지 다양한 증상을 보이고 있는 BVDV의 감염상태를 조사하고자 4개월령과 5개월령의 젖소송아지를 대상으로 본 연구를 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 대상동물

BVDV 백신을 접종하지 않은 육안적으로 건강해 보이는 생후 4개월령, 5개월령 젖소송아지를 대상동물로 선정하였으며, 총 92두의 혈액을 전라북도 익산시 함라면(총 32두, 암컷 16두, 수컷 16두), 정읍시 칠보면(총 30두, 암컷 16두, 수컷 14두), 군산시 임피면(총 30두, 암컷 16두, 수컷 14두)에 위치한 개인 젖소목장에서 채취하였다. 생후 4개월령의 젖소송아지는 총 48두였으며, 암컷과 수컷의 비율은 각각 25두, 23두였다. 그리고 생후 5개월령의 젖소송아지는 총 44두였으며, 암컷과 수컷의 비율은 각각 23두, 21두였다.

<sup>1</sup>Corresponding author.  
E-mail : namsoo@chonbuk.ac.kr

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

대상동물의 경정맥에서 채혈한 혈액으로부터 혈청을 분리한 후 -70°C에 보관 후 사용하였다. ELISA에 의한 BVDV 항원을 검출하기 위하여 HerdChek BVDV Antigen/Serum Plus kit(Idexx Lab., USA)을 이용하였으며, 제조사가 권장하는 방법에 준하여 검사하였다. 먼저 BVDV의 표면항원물질인 당단백질 gp 48에 대한 단클론항체로 전처리된 96-well microplate에 detection 항체를 50 µl을 분주한 후 양성대조 및 음성대조를 위해 제공된 양성과 음성시료를 각각 두 개의 well에 50 µl씩을 분주하였으며, 나머지 well에 시료를 50 µl씩 분주하였다. 그리고 18시간, 4°C에서 반응시킨 후 wash solution 으로 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 nm 에서 흡광도를 측정 한 후 BVDV 항원의 존재유무에 따라 시료흡광도에서 음성대조흡광도를 제외한 보정흡광도(Sample optical density-Negative control optical density)를 산출하였다. 제공된 프로그램에 준하여 S-N ≤ 0.3이면 음성, S-N > 0.3 이면 양성으로 간주하였다.

통계처리

모든 실험성적은 Mean ± SD로 표시하였으며, BVDV의 월령별, 성별 검출율의 유의차 검증은 Student t-test를 실시하였으며 p값이 0.05 미만인 경우 유의차가 있는 것으로 인정하였다.

결 과

BVDV의 감염여부를 조사하기 위하여, 전라북도 지역의 3 개의 젖소농장에서 사육 중인 92두의 송아지를 조사한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

양성 송아지의 보정흡광도는 1.918 ± 0.118이었으며, 음성 송아지의 보정흡광도는 0.025 ± 0.011이었다(Fig 1). 총 92 두 중 8두의 젖소 송아지에서 BVDV가 검출되어 8.6%의 검출율을 보였으며, 월령별 및 암수별 BVDV 검출 결과는 Table 1과 같았다. 생후 4개월령의 젖소송아지 48두 중 2두 (4.1%)에서 BVDV가 검출되었으며, 암컷과 수컷 각각 1두에서 BVDV가 검출되었다. 생후 4개월령의 젖소 송아지에서

성별에 따른 BVDV 감염율에 유의차가 인정되지 않았다 ( $p > 0.05$ ). 생후 5개월령의 젖소송아지 44두 중 6두(13.6%)에서 BVDV가 검출되었으며, 그 중 암컷 4두와 수컷 2두에서 BVDV가 검출되었다. 생후 5개월령의 젖소송아지에서도 암컷과 수컷간의 BVDV 감염율에 유의차가 인정되지 않았다 ( $p > 0.05$ ). 그러나 월령에 따른 BVDV 감염율에서 4개월령의 송아지(2/48두)와 5개월령의 송아지(6/44두) 사이에 유의차가 인정되었다( $p < 0.05$ ).

고 찰

본 연구는 전라북도 지역의 젖소송아지에서 BVDV의 감염을 조사하고자 3개의 젖소농장의 육안적으로 건강해 보이는 젖소송아지 총92두에서 antigen capture ELISA을 이용하여 BVDV감염을 조사한 결과, 8두(8.6%)에서 검출되었다. Liebler-Tenorio 등(12)은 mucosal disease 증상을 보이는 311두의 다양한 연령을 가진 소에서 편도선, 인후림프절, 장간막림프절, 회장 peyer's patch와 비장에서 30두(9.6%)에서 BVDV가 검출되었으며, 또한 Kozasa 등(11)도 설사, 폐렴,

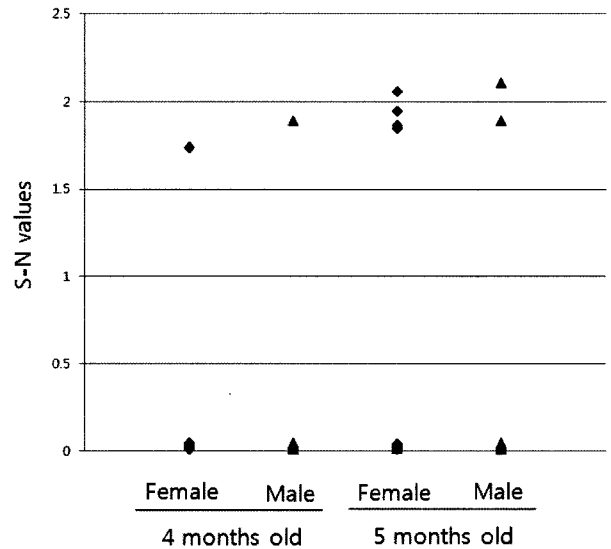


Fig 1. Distribution of serum S-N values from 92 healthy calves tested by antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay. Forty-eight calves of 4 months old were composed with twenty-five female and twenty-three male. Forty-four calves of 4 months old were composed with twenty-three female and twenty-one male.

Table 1. The prevalence of BVDV from 92 healthy calves.

Test results	No. of calves (4 months old)			No. of calves (5 months old)		
	Female	Male	Subtotal	Female	Male	Subtotal
Positive	8	1	2 <sup>a</sup>	4	2	6 <sup>b</sup>
Negative	84	24	46	19	19	38
Total	92	25	48	23	21	44

Means in a row under different effects bearing dissimilar superscripts differ significantly (<sup>a,b</sup> P<0.05).

유산 등과 같은 질병에 기초하여 높은 발병율과 낮은 발병율을 보이는 두 실험군에서 BVDV 감염을 조사한 결과, 높은 발병율을 보인 실험군에서 낮은 발병율을 보이는 실험군과 비교시 유의성이 인정됨을 보고하였다. BVDV 감염에 의한 이와 같이 다양한 증상을 유발하는 것은 바이러스의 strain, 생물학적 또는 유전적 type, 감염시 대상 동물의 연령 및 면역상태, 이에 대한 면역반응, 그리고 간헐적인 감염과 다른 스트레스 요인에 의하여 결정되는 것 같다(1,3,4,5,16,17). 본 연구에서 나타난 결과와 같이 BVDV 감염율이 생후 4개월령과 5개월령에서 각각 4.1%, 13.6%로 유의차가 인정되었다. Rush 등(19)은 다양한 연령대의 송아지에서 BVDV를 검출하였으며, 9개월령에서 높게 나타났으며, 최고의 BVDV 감염 위험성은 150-260일령의 송아지에서 발생함을 보고하였다. 이러한 결과는 Munoz-Zanzi 등(16)이 보고한 것과 같이 모체이행항체의 역가가 소실되는 시점에 따라 영향을 받는 것 같다. 김과 한(20)은 BVD는 포유기에 44.6%의 높은 발병율을 보이며, BVD 중화항체가 높은 송아지는 BVD 중화항체가 낮은 송아지보다 BVD 발병율이 낮다고 보고하였다. Fulton 등(8)은 BVDV 중화항체가 BVDV 유전형에 따라 약간의 차이를 보였으나 평균 157.8-192.2일 사이에 소실되었다고 보고하였다. Mockeliuniene 등(13)은 소에서 BVDV의 검출율이 11.9-100.0%로 매우 다양하며, 성별 즉 암컷과 수컷에 있어 BVDV 검출율의 유의차가 인정되지 않았다는 보고는 본 연구의 결과와 일치하였다.

## 결 론

본 연구의 결과는 BVDV의 감염에 있어 연령에 따른 유의성이 확인된바 BVDV로 인한 경제적 손실을 최소화하기 위해 예방접종 프로그램의 중요성을 인식해야 되며, 또한 예방접종의 효능을 극대화하기 위해 BVDV에 대한 모체이행항체의 역가를 확인할 필요성이 있겠다. 약독화 생독백신을 사용시 간과하기 쉬운 점 외래감염인자이다.

## 참 고 문 헌

- Alenius S, Niskanen R, Juntti N, Larsson B. Bovine coronavirus as the causative agent of winter dysentery: serological evidence. *Acta Vet Scand* 1991; 32: 163-170.
- Baker JC. Clinical aspects of bovine virus diarrhoea virus infection. *Rev Sci Tech* 1990; 9: 25-41.
- Baker JC. The clinical manifestations of bovine viral diarrhoea infection. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 1995; 11: 425-445.
- Bolin SR, Ridpath JF. Differences in virulence between two noncytopathic bovine viral diarrhoea viruses in calves. *Am J Vet Res* 1992; 53: 2157-2163.
- Corapi WV, Elliott RD, French TW, Arthur DG, Bezek DM, Dubovi EJ. Thrombocytopenia and hemorrhages in veal calves infected with bovine viral diarrhoea virus. *J Am Vet Med Assoc* 1990; 196: 590-596.
- 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.
- Duffell SJ, Harkness JW. Bovine virus diarrhoea-mucosal disease infection in cattle. *Vet Rec* 1985; 117: 240-245.
- Fulton RW, Briggs RE, Payton ME, Confer AW, Saliki JT, Ridpath JF, Burge LJ, Duff GC. Maternally derived humoral immunity to bovine viral diarrhoea virus (BVDV) 1a, BVDV1b, BVDV2, bovine herpesvirus-1, parainfluenza-3 virus bovine respiratory syncytial virus, Mannheimia haemolytica and Pasteurella multocida in beef calves, antibody decline by half-life studies and effect on response to vaccination. *Vaccine* 2004; 22: 643-649.
- 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. *Can J Vet Res* 2000; 64: 151-159.
- Ganaba R, Belanger D, Dea S, Bigras-Poulin M. A seroepidemiological study of the importance in cow-calf pairs of respiratory and enteric viruses in beef operations from northwestern Quebec. *Can J Vet Res* 1995; 59: 26-33.
- Kozasa T, Tajima M, Yasutomi I, Sano K, Ohashi K, Onuma M. Relationship of bovine viral diarrhoea virus persistent infection to incidence of disease on dairy farms based on bulk tank milk test by RT-PCR. *Vet Microbiol* 2005; 106: 41-47.
- Liebler-Tenorio EM, Kenkies S, Greiser-Wilke I, Makoschey B, Pohlen JF. Incidence of BVDV1 and BVDV2 infections in cattle submitted for necropsy in Northern Germany. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 2006; 53: 363-369.
- Mockeliuniene V, Salomskas A, Mockeliunas R, Petkevicius S. Prevalence and epidemiological features of bovine viral diarrhoea virus infection in Lithuania. *Vet Microbiol* 2004; 99: 51-57.
- 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.
- Moerman A, Straver PJ, de Jong MC, Quak J, Baanvinger T, van Oirschot JT. Clinical consequences of a bovine virus diarrhoea virus infection in a dairy herd: a longitudinal study. *Vet Q* 1994; 16:115-119.
- Munoz-Zanzi CA, Thurmond MC, Johnson WO, Hietala SK. Predicted ages of dairy calves when colostrum-derived bovine viral diarrhoea virus antibodies would no longer offer protection against disease or interfere with vaccination. *J Am Vet Med Assoc* 2002; 221: 678-685.
- Pellerin C, van den Huk J, Lecomte J, Tussen P. Identification of a new group of bovine viral diarrhoea virus strains associated with severe outbreaks and high mortalities. *Virology* 1994; 203: 260-268.
- Perdrizet JA, Rebhun WC, Dubovi EJ, Donis RO. Bovine virus diarrhoea-clinical syndromes in dairy herds. *Cornell Vet* 1987; 77: 46-74.
- Rush DM, Thurmond MC, Munoz-Zanzi CA, Hietala SK. Descriptive epidemiology of postnatal bovine viral diarrhoea virus infection in intensively managed dairy heifers. *J Am Vet Med Assoc* 2001; 219: 1426-1431.
- 김두, 한홍을. 초유를 섭취한 한우 송아지의 출생후 12주 동안의 혈청 면역글로블린과 각종 바이러스 항체가의 변화. *대한수의학회지* 1989; 29: 83-90.