

< Original Article >

시험 가축 매몰지 토양 및 침출수 내에서의 구제역 바이러스 검출

조호성*

전북대학교 수의과대학 수의학과 및 전북대학교 생체안전성연구소

Detection of foot-and-mouth disease virus and coxsakievirus in the soil and leachate of modeled carcass burial site

Ho-Seong Cho*

College of Veterinary Medicine and Bio-Safety Research Institute, Chonbuk National University, Jeonju 561-756, Korea

(Received 19 December 2012; revised 23 December 2012; accepted 24 December 2012)

Abstract

Foot and mouth disease (FMD) is highly infectious disease of cloven-hoofed animals, particularly cattle, sheep, pigs and goats. Last outbreak reported in November, 2010 induced the enormous social and economical impacts. Culling of infected animals, movement control, and vaccination are the major control measures of FMD. The aim of this study was to detection foot-and-mouth disease virus (FMDV) in the soil and leachate from modeling burial for pig carcass as measured by real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). FMDV and Coxsakievirus B1 (CVB1) were detected in soil by week 16 and Coxsakievirus B1 (CVB1) by weeks 12, respectively. FMDV and CVB1 also detected by weeks 8 in the leachate. Results from this study provides an evidence that FMDV could be inactivated for safe of pig carcasses infected with FMDV within 4 month in the carcass burial site.

Key words : Foot-and-mouth disease, Coxsakievirus, Modeled carcass burial site, Leachate

서 론

구제역(Foot and mouth disease)은 소, 돼지, 양, 염소, 사슴 등의 우제류 동물에서 발열 및 입, 혀, 유두 및 발굽 사이에 수포가 생기는 급성 바이러스성 질병이다(Bachrach, 1968). 구제역에 걸린 동물은 수포에 의한 통증으로 발육, 운동 및 비유장애가 유발되고 이에 따라 생산성이 현저하게 저하될 뿐 아니라 구제역이 발생하면 살처분 등 질병방제 비용, 생산성 감소, 동물 및 축산물의 국제적인 교역 제한 등으로 막대한 경제적인 피해가 발생하기 때문에 세계동물보건기구(Office International des Epizooties, OIE)에서 List A 질병으로 분류하고 있고 우리나라에서도 제1종 가축전염병으로 지정하여 관리하고 있다(Grubman

등, 1985; Krystynak와 Charlebois, 1987; Sáiz 등, 2002; Yoo, 2011).

국내 구제역은 1917년 처음 발생한 이래 1934년까지는 전국적으로 발생하였다. 이후 2000년 3월에 경기도, 충북 및 충남지역의 소에서 다시 발생하여 182농가에서 2,216두를 살처분하였고, 25,914농가 1,522,470두의 우제류 동물에 대하여 이동통제 및 예방 접종을 하였고 그 후 2002년 5월 경기도와 충북지역의 돼지에서 발생하여, 162농가 160,155두를 살처분, 매몰하여 근절하였다(농림수산식품부, 2012). 최근에는 2010년 1월 경기도 포천의 소에서 8년 만에 6농가 29두에서 발생하여, 55농가 5,956두의 우제류에 대하여 살처분을 하였고 4월과 5월에 인천광역시 강화군, 경기도 김포시, 충청북도 충주시 및 충청남도 청양군 지역에서 11농가에서 총 26두가 발생하여, 49,784두의 우제류 동물을 살처분하였다(환경부, 2011).

*Corresponding author: Ho-Seong Cho, Tel. +82-63-270-4872, Fax. +82-63-270-3780, E-mail. hscho@jbnu.ac.kr

그 후 2010년 11월부터 2011년 4월까지 발생한 구제역으로 996만 마리 가축이 살처분, 매몰되었고 이로 인한 가축 매몰지는 4,799곳으로 확인되었다(농림수산식품부, 2012).

구제역 발생으로 인한 가축의 살처분 및 매몰은 가축전염예방법에 따르며 가축 매몰지의 생물학적 안전을 위해 구제역 매몰지 발굴을 3년간 금지하도록 규정하고 있으나 2011년 1월 개정된 내용에는 제 24 조에 매몰한 토지의 발굴 금지 및 관리에 있어 시장·군수·구청장이 농림수산식품부, 환경부 장관의 협의 하에 매몰지 용도 변경을 허가할 수 있다고 명시되어 있다. 이미 조성된 매몰지의 이전의 경우는 농식품부의 구제역 긴급행동지침(2012.03.30 개정)에 의거 사전에 구제역 정밀검사 실시하여 음성으로 판정된 경우에 이전하여야 한다고 명시되어 있다. 검사방법으로는 매몰지 유공관을 통해 채취한 침출수(1점, 15 ml 원심분리관에 10 ml)와 매몰지 상층에서 약 30 cm 하부 지점의 흙(3점, 50 ml 원심분리관에 1/3)을 채취하여 원심분리관에 담아 외부를 소독(채취된 시료를 직접 소독하지 말 것)하고, 농림수산검역검사본부로 의뢰하는 것으로 되어있다. 그러나 아직까지 이들 법령에서 규정한 사항들을 충족시키는 매몰지 토양 내 환경 조건을 반영한 기초 실험 자료가 없는 실정이다.

따라서 이 논문에서는 가축 매몰지 내에서의 구제역 바이러스의 생존력을 확인하기 위해 실험적인 간이 가축 매몰 장치를 제작하고 구제역 바이러스 백신(FMDV O1 Manisa strain)과 구제역 바이러스와 같은 형태적 특징을 갖는 Coxsackievirus B1 (CVB1) strain을

돼지에 접종한 후 안락사 및 매몰한 다음 매몰 토양과 침출수 내에서의 이들 바이러스의 검출 양상을 확인하여 가축 매몰지 내에서의 매몰 기간에 따른 구제역 바이러스에 안전성에 대해 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

공시 바이러스

구제역 바이러스는 구제역 백신인 O1 Manisa (Merial, UK)를 사용하였으며 CVB1 strain은 가톨릭대학교 미생물학과에서 분양받아 실험에 사용하였다. Real-time RT-PCR의 조건 확립을 위한 바이러스 RNA는 RNeasy MINI kit (QIAGEN, USA)를 이용하여 제조사에서 추천한 방법대로 추출하였으며 실험이 사용되기 전까지 -70°C 에 보관하였다. 각각의 바이러스에 대한 정량은 바이러스 RNA를 10배 연속 희석하여 real-time RT-PCR을 시행하여 standard curve를 완성하였다(Fig. 1, 2).

공시 동물 및 시험 매몰장치

시험에 사용된 돼지는 체중 10 kg으로 안락사시킨 후 CVB1 ($2 \times 10^{10}/\text{ml}$) 및 FMDV vaccine (6PD_{50})을 각각 10 ml씩 피하 접종하여 인공적인 수포 병변을 유발한 후 매몰하였다. 실험군은 실험개시 1주, 2주, 3주, 4주, 8주, 12주, 16주, 20주까지 사체 부패정도와

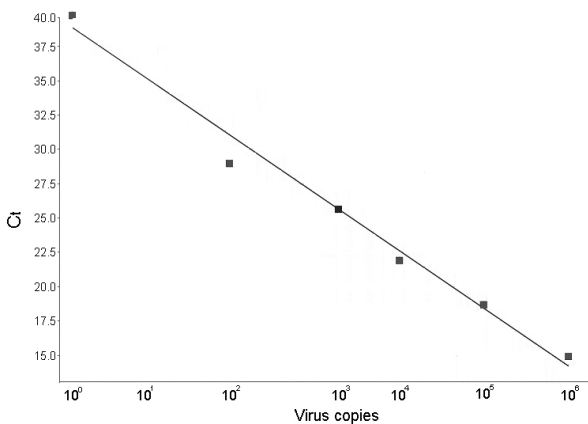


Fig. 1. Sensitivity of the real-time RT-PCR assay for the detection of coxsackievirus B1. Serial 10-fold dilutions of viral RNA (from 1×10^6 to 1×10^0 TCID₅₀) were plotted against the threshold cycle (Ct).

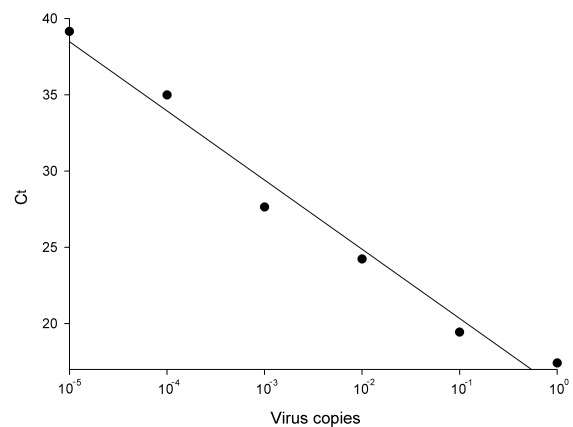


Fig. 2. Sensitivity of the real-time RT-PCR assay for the detection of foot and mouth disease virus. Serial 10-fold dilutions of viral RNA (from 1×10^5 to 1×10^0 6PD₅₀) were plotted against the threshold cycle (Ct).

바이러스 검출 양상을 확인하였다. 시험 매몰장치는 Fig. 3과 같은데 총 50 kg의 흙을 이용하여 매몰하였고 매몰장치 하부에 침출수가 배출될 수 있게 하였고 상부에는 가스가 배출되도록 설계하였다. 또한, 상층부 사체 상부와 하부에 1 cm 두께의 생석회를 도포한 그룹과 도포하지 않은 그룹으로 구분하여 실험하였다.

토양 및 침출수 회수 및 바이러스 RNA 추출

각 실험 기간에 따라 매몰 장치를 해체하고 부패 정도를 확인한 후 생석회 층을 기준으로 한 내부와 외부에서 토양 1 kg을 채취하고 침출수는 회수된 양을 10배 phosphate buffered saline (PBS)에 혼합한 후 상층액을 회수하여 일차 필터링한 후 초원심분리를 통해 바이러스를 수집하였다. 수집된 바이러스는 RNeasy Mini Kit (QIAGEN, Germany)를 이용하여 제조사에서 추천한 방법대로 바이러스 RNA를 추출한 다음, 실험에 이용될 때까지 -70°C에서 보관하였다.



Fig. 3. Structure of modeled carcass burial site used in this study.

Real-time RT-PCR 수행

CVB1의 검출을 위한 primer는 GenBank accession no. M88483을 기준으로 Primer Express Software v3.0 (Applied Biosystems, USA)를 이용하여 primer_F: 5'-AGTAACACACTCCGATCAACA-3' (115~135) 및 primer_R: 5'-GAGCAGICTATTGATACTCAGTCC-3' (208-185)를 설계한 후 합성(Bioneer, Korea)하여 실험에 이용하였다. Real-time RT-PCR은 SYBR® Green one-step RT-PCR master mix (Applied Biosystems, USA)를 이용하였다. 25 µl의 2× SYBR® Green PCR Master Mix, 0.25 µl의 MultiScribe™ Reverse Transcriptase (50 U/ml), 1 µl의 RNase inhibitor (20 U/ml), 각각 2 µl의 primer_F와 primer R, 2 µl의 template 및 RNase free water를 섞어 총 50 µl로 반응을 진행하였다. Real-time RT-PCR 반응은 ABI 7500® real-time PCR System (Applied Biosystems, USA)을 사용하였으며 반응 조건은 50°C에서 30분, 95°C에서 10분간 반응시킨 후 94°C에서 15초, 50°C에서 30초, 72°C에서 1분을 1회로 하여 40 cycle을 반응시켰다. Ct value (threshold cycle)는 형광 커브와 역치선이 만나는 cycle 값으로 ABI 7500® software (Applied Biosystems, USA)에서 분석하였다.

한편 FMDV 검출을 위한 primer 및 probe는 유전자를 증폭할 primer와 probe는 Hindson 등(2008)의 3D region의 증폭 방법을 일부 변형하여 사용하였으며 염기서열은 Table 1과 같다.

Real-time RT-PCR 반응은 Guan 등(2010)의 방법을 변형하였고 Real-Time PCR System 7500 (Applied Biosystems, USA)을 이용하였다. 토양 시료에서 회수한 검체는 TaqMan® One-Step RT-PCR Master Mix Reagents (Applied Biosystems, USA)를 이용하여 반응물을 제조하였다. 2.5 µl의 바이러스 RNA를 12.5 µl의 2× RT-PCR buffer, 1 µl의 25× RT-PCR enzyme mix, 각각의 primer (0.5 µM)와 probe (0.3 µM)를 넣어 전체 25 µl가 되도록 하였다. Real-time RT-PCR 증폭 온도 조건은 처음 45°C에서 15분간 reverse transcription

Table 1. Sequences of the oligonucleotide primers and TaqMan probe for the detection of foot and mouth disease virus by real-time RT-PCR

Primers /probes	Sequences	Nucleotide positions (AF536534)	Gene	Fragment length
Forward	5'-GACAAAGGTTTTGTTCTTGGTCA-3'	107-129	3D	183 bp
Reverse	5'-TGCGAGTCCTGCCACGGA-3'	289-272		
Probe	5'-FAM-ATTCTCTCCTTTGCACGCCGTGGGACCAT-TAMRA-3'	227-255		

를 수행하고 95°C 15분 동안 반응시킨 뒤 95°C 15초, 56°C 1분으로 45 cycles를 반복하였다. Real-time RT-PCR을 통해 얻어진 자료는 7500 software (Applied Biosystems, USA)를 이용하여 Ct 값으로 변환한 후 분석하였다.

검출한계 측정

검출 한계 측정을 위해 CVB1 (1×10⁶/ml) 및 FMDV vaccine (6PD₅₀)에서 각각 RNA를 추출하고 10배 계단 희석하여 real-time RT-PCR을 수행하였다.

결 과

매몰 장치 내 사체 부패 과정

매몰 장치 내 사체는 실험 5일째 부패가 육안적으로 확인되었고 12일째에 액상 성분이 매몰장치 내에서 확인되었으며 21일째 사체의 몸통 부분이 부패하면서 그 부피가 감소하여 사체를 덮고 있던 상층 토양 일부가 함몰되었으며 미량의 침출수가 측정되었다. 또한, 4주에서 상층 토양의 함몰 정도가 심화되었으며 두개골과 일부 뼈들을 제외한 대부분의 사체가 부패과정에 있었다(Fig. 4). 실험 8주에는 두개골만 관찰되었으며 12주 이후에는 소량의 뼈만 남아 있었다. 침출수는 3주째 처음 방출된 이후 계속해서 증가하였으며 8주까지 지속적으로 방출되었다.

바이러스 검출 한계

Real-time RT-PCR에 의한 각각의 바이러스에 대한 검

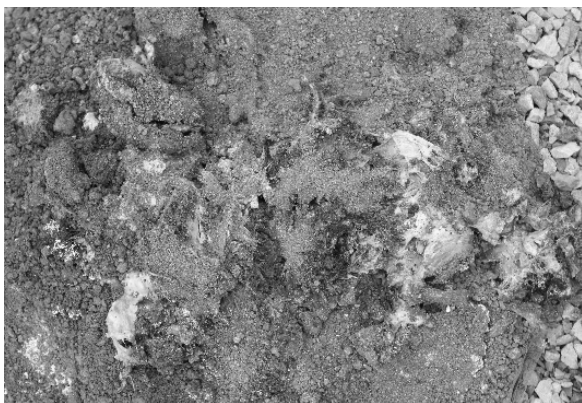


Fig. 4. Inside of modeled carcass burial site by weeks 4.

출 한계는 CVB1에서 1×10¹/ml, FMDV에서 10⁻⁴6PD₅₀로 확인되었다.

매몰 장치 토양에서의 바이러스 검출

매몰 장치 토양에서의 CVB1 검출을 1주, 2주, 3주, 4주, 8주, 12주, 16주, 20주까지 사체 주변 내부와 생석회 바깥쪽의 외부로 구분하여 바이러스 유전자를 검출한 결과 실험 개시 1주부터 12주까지 내부에서 바이러스 유전자가 지속적으로 검출되었으며 16주부터 검출한계 이하로 감소하였다(Fig. 5). 한편 생석회 바깥쪽의 외부에서는 전 실험기간동안 바이러스 검출은 되지않았다.

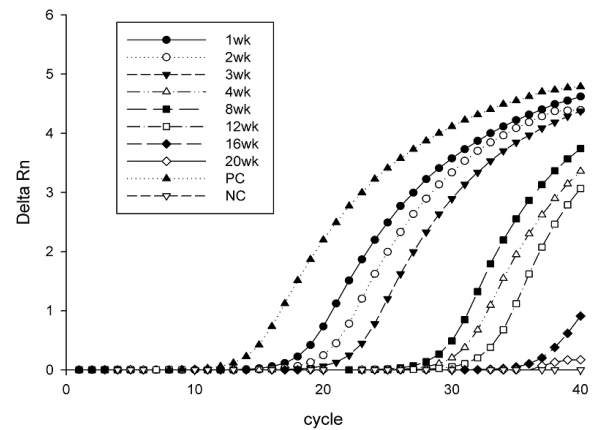


Fig. 5. Results of the real-time RT-PCR assay for the detection of coxsackievirus B1 in the soil of modeled carcass burial site.

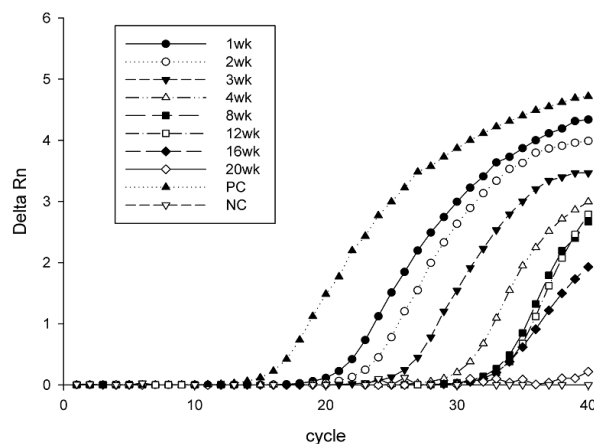


Fig. 6. Results of the real-time RT-PCR assay for the detection of foot and mouth disease virus in the soil of modeled carcass burial site.

Table 2. Detection of coxsackievirus B1 (CVB1) and foot and mouth disease virus (FMDV) in lime lined and no-lime lined groups of modeled carcass burial site

		Week							
		1	2	3	4	8	12	16	20
Lime lined group	Leakage	-	-	+	+	+	-	-	-
	CVB1	-	-	-	-	-	-	-	-
	FMDV	-	-	-	-	-	-	-	-
No-lime lined group	Leakage	-	-	+	+	+	-	-	-
	CVB1	-	-	+	+	+	-	-	-
	FMDV	-	-	+	+	+	-	-	-

한편 FMDV 검출은 CVB1의 경우와 동일 기간에 사체 주변 내부와 생석회 바깥쪽의 외부로 구분하여 바이러스 유전자를 검출한 결과 실험 개시 1주부터 16주까지 지속적으로 내부에서 바이러스 유전자가 검출되었으며 20주부터 검출한계 이하로 감소하였다 (Fig. 6). 그러나 생석회 외부의 경우 전 실험기간동안 바이러스 검출은 되지않았다.

침출수에서의 바이러스 검출

침출수에서의 CVB1 검출은 20주까지의 실험 기간 동안 생석회 도포 그룹과 도포하지 않은 그룹을 구분하여 바이러스 유전자를 검출한 결과 침출수가 처음 발생한 실험 개시 3주부터 8주까지 석회 도포층에서는 음성이었으며 석회를 도포하지 않은 그룹의 침출수에서는 모두 양성의 결과를 확인하였다(Table 2).

한편 침출수에서의 FMDV 검출 결과는 실험 개시 3주부터 8주까지 회수한 침출수 모두에서 석회 도포층에서는 음성이었고 석회를 도포하지 않은 그룹에서는 모두 양성의 결과를 확인하였다(Table 2).

고 찰

국내에서는 2010년 11월부터 2011년 4월까지 구제역 발생으로 가축전염병예방법에 의거하여 4,799곳에 달하는 가축 매몰지를 조성하게 되었다. 그러나 다수의 가축 매몰지가 단기간에 조성된 이유로 법령에서 규정한 절차를 완벽하게 이행하지 못한 매몰지가 일부 발생하였고 악취 등의 다양한 민원이 제기되고 있다. 환경부(2011) 자료에 의하면 이러한 부실 매몰지는 전국적으로 412곳에 달하며 단계적인 이설을 추진하고 있다. 이 이설과정에서 작업자들은 차단방역

절차(Cho와 Kim, 2012)를 준수하여 처리하고 있으며 FMDV에 대한 안전성 검사를 농림수산검역검사본부에 의뢰하여 확인하고 있다. 그러나 매몰지 토양 및 침출수 내 FMDV 부재 검사와 가축전염병예방법에서 규정한 3년간의 발굴 금지 규정 사이에서 매몰지 토양 내 FMDV의 안정성을 확인하고자 이번 연구를 수행하였다.

이번 연구에서의 매몰지 토양내 CVB1과 FMDV 검출은 모두 15°C 온도 조건에서 각각 16주와 20주까지 검출되었으나 실험에 이용된 바이러스가 각각 FMDV 유사 바이러스와 백신주이기 때문에 실제 구제역 바이러스는 이보다 더 생존 가능성이 높을 수 있음을 추정할 수 있다. 그러나 이번 실험에서의 검사법이 바이러스 유전자를 증폭하는 검사임을 고려하면 바이러스가 검출되는 시기보다 짧은 기간 동안 바이러스가 감염력을 가진 상태로 존재한다고 판단할 수 있다. 한편, 침출수에서의 바이러스 검출은 석회층의 통과 여부가 바이러스 검출에 중요하게 작용하였다. 생석회층 외부의 토양 시료에서는 어떠한 바이러스도 검출되지 않아서 최적 조건으로 조성된 매몰지의 경우 바이러스 누출은 우려하지 않아도 될 것으로 판단되는 반면 매몰지의 조성과정에 문제가 있으면 조성 초기 매몰지 내부의 바이러스가 누출될 가능성이 충분히 있음을 확인하였다.

이러한 결과는 일반적으로 알려진 FMDV의 생존 기간 등의 특성과 비교해 볼 필요가 있다. FMDV는 여러 가지 환경조건에서 다양한 생존력을 보이는 것으로 알려졌다. FMDV는 동물과 육류, 저장온도(냉장, 냉동)에 따라서 저항성이 다양하여 짧게는 6~8일에서 길게는 210~352일까지 감염력을 유지할 수 있다고 하였다(Choud와 Yang, 2004). 오염된 환경에서의 바이러스의 생존은 오염된 물질에 따라서 다르게 나타나는데 18~20°C의 소 털에서는 4주, 건조된

분변에서 14일까지, 오줌에서 39일까지, 토양에서 여름에는 3일, 가을에는 28일까지 살아남을 수 있다고 하였다(Park 등, 2008). 또한, FMDV를 실험적으로 감염시킨 동물에서 유래된 내장 시료에서 FMDV가 250일 까지 존재한 보고가 있다(Wijnker 등, 2007). 건조에서는 200일 이상 생존하며, 사료는 12~20°C에서 52일간, 2~5°C에서는 70일간 생존한다. 퇴비에서는 냉장 시 66일, 냉동 시 168일, 실온에서는 12일, 밀짚(2°C)에서 232일, 초지의 경우 양지에서 수일간, 가을에는 195일, 겨울에는 262일 이상 생존 가능하다고 하였다(Park 등, 2009; You, 2011).

가축 매몰지 내 바이러스 생존률은 온도와 다른 변수로 pH가 중요하게 관여한다고 하였다(Guan 등, 2010). 일반적으로 구제역 바이러스는 pH 6.7~9.5에서 생존이 가능하며 pH 6.0 미만 또는 pH 11.0 이상에서는 빠르게 사멸되는 것으로 알려졌다. 그러나 국내 조성된 구제역 매몰지 내부의 침출수에 대한 pH가 6.0~8.0 정도의 중성임을 고려하면 이러한 pH 조건은 구제역 바이러스가 더 오랫동안 생존할 조건을 조성해주고 있는 상황이라 할 수 있다.

또한, FMDV는 건조에 민감하여 50% 이하로 상대 습도가 저하되면 급격히 그 생존력이 상실되며 일반적으로 냉장 또는 냉동 상태에서는 감염력이 유지되나, 50°C 이상의 온도에서는 급격히 불활성화되고 온도와 pH 상태에 따라 다르나 일반적으로 오염된 사료에서 1개월 동안 생존할 수 있다고 하였다(Chou와 Yang, 2004; Cottral 등, 1960; Park 등, 2009).

이상의 연구결과와 문헌 조사를 통해 가축 매몰지 내 토양에서 FMDV는 바이러스가 갖는 높은 감염력과는 달리 4개월 이후에는 거의 사멸하는 것으로 생각되며 이를 통해 가축전염병예방법에서 제시하는 3년간의 발굴 금지 기간 내에 충분히 불활화 될 수 있음을 확인할 수 있었다. 또한, 이 자료는 매몰지의 방역적 측면에서의 관리에 있어 기초 자료로 활용할 수 있을 것으로 판단된다.

결 론

이번 연구에서는 가축 매몰지 내에서의 FMDV의 생존력을 확인하기 위해 간이 가축 매몰 장치를 제작하고 구제역 바이러스 백신(FMDV O1 Manisa strain)과 구제역 바이러스와 같은 형태적 특징을 갖는 CVB1을 접종한 돼지를 매몰한 후 토양과 침출수 내

에서의 이들 바이러스의 검출 양상을 확인하였다. 토양에서의 CVB1와 FMDV는 각각 실험개시 12주와 16주까지 지속해서 검출되었고 침출수에서는 8주까지 검출되었다. 이 결과는 가축 매몰지내 FMDV가 질병의 전파 측면의 위험성과는 달리 비교적 조기에 불활성화 되는 것을 말해주며 방역적 측면에서의 매몰지 관리에 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

감사의 글

이 연구는 환경부 “토양·지하수오염방지기술개발사업”으로 지원받은 과제임.

참 고 문 헌

- 농림수산식품부. 2012. 구제역 긴급 행동 지침[SOP]. pp. 1-245.
- 환경부. 2011. 가축매몰지 환경관리지침. pp. 1-29.
- Bachrach HL. 1968. Foot-and-mouth disease. *Annu Rev Microbiol* 22: 201-244.
- Cho HS, Kim GH. 2012. Needs of Biosecurity and Protocols for the Environmental Management of Carcasses Burial. *J Korean Soc Water Environ* 28: 305-312.
- Chou CC, Yang SE. 2004. Inactivation and degradation of O Taiwan97 foot-and-mouth disease virus in pork sausage processing. *Food Microbiol* 21: 737-742.
- Cottral GE, Cox BF, Baldwin DE. 1960. The survival of foot-and-mouth disease virus in cured and uncured meat. *Am J Vet Res* 21: 288-297.
- Grubman MJ, Morgan DO, Kendall J, Baxt B. 1985. Capsid intermediates assembled in a foot-and-mouth disease virus genome RNA-programmed cell-free translation system and in infected cells. *J Virol* 56: 120-126.
- Guan J, Chan M, Grenier C, Brooks BW, Spencer JL, Kranendonk C, Copps J, Clavijo A. 2010. Degradation of foot-and-mouth disease virus during composting of infected pig carcasses. *Can J Vet Res* 74: 40-44.
- Hindson BJ, Reid SM, Baker BR, Ebert K, Ferris NP, Tammero LF, Lenhoff RJ, Naraghi-Arani P, Vitalis EA, Slezak TR, Hullinger PJ, King DP. 2008. Diagnostic evaluation of multiplexed reverse transcription-PCR microsphere array assay for detection of foot-and-mouth and look-alike disease viruses. *J Clin Microbiol* 46: 1081-1089.
- Krystynak RHE, Charlebois PA. 1987. The potential economic impact of an outbreak of foot-and-mouth disease in Canada. *Can Vet J* 28: 523-527.
- Park JH, Lee KN, Kim SM, Ko YJ, Lee HS, Cho IS. 2009. Resistance of foot-and-mouth disease virus in various environments. *Kor J Vet Publ Hlth* 33: 197-204.

- Park JH, Lee KN, Kim SM, Ko YJ, Lee HS, Heo EJ, Kweon CH, Yang CB. 2008. The condition for air-borne transmission of foot-and-mouth disease. *Kor J Vet Publ Hlth* 32: 205-212.
- Sáiz M, Núñez JI, Jimenez-Clavero MA, Baranowski E, Sobrino F. 2002. Foot-and-mouth disease virus: biology and prospects for disease control. *Microbes Infect* 4: 1183-1192.
- Wijnker JJ, Haas B, Berends BR. 2007. Removal of foot-and-mouth disease virus infectivity in salted natural casings by minor adaptation of standardized industrial procedures. *Int J Food Microbiol* 115: 214-219.
- Yoo HS. 2011. Foot and mouth disease: etiology, epidemiology and control measures. *Infect Chemother* 43: 178-185.