

< Original Article >

안동과 합천 지역 양돈장의 돼지생식기호흡기증후군(PRRS) 조사

강혜원 · 오윤이 · 송재영 · 최은진*

농림축산검역본부 바이러스질병과

Survey of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) on pig farms in Andong and Hapcheon region

Hye-Won Kang, Yooni Oh, Jae-Young Song, Eun-Jin Choi*

Viral Disease Division, Animal and Plant Quarantine Agency, Anyang 430-757, Korea

(Received 10 January 2013; revised 3 March 2014; accepted 13 March 2014)

Abstract

Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) causes a significant economic loss in the swine industry not only in Korea but also all over the world. Andong and Hapcheon region were selected for Area Regional Control (ARC) programme to reduce the shedding of PRRS virus (PRRSV) and decrease PRRS outbreaks. Before conducting the PRRS ARC, sera of pigs were tested for both antibody using ELISA and antigen using RT-PCR, then phylogenetic classifications was analysed. Pigs of 138/275 (50.2%) in Andong and 352/425 (82.8%) in Hapcheon were seropositive. Also, the RT-PCR results revealed that 27 heads (8.2%) in Andong, 112 heads (22.0%) in Hapcheon were positive for PRRSV antigen. PRRSVs were mainly detected between the ages of 40 to 60 days. PRRSV ORF5 regions were used to determine genetic clusters based on previous report. All PRRSV type I detected in both Andong and Hapcheon were classified as Cluster I. The PRRSV type II isolates in Andong were assorted to Cluster II, whereas the PRRSV type II isolates in Hapcheon were the viruses were un-assembled into any cluster except one identified to Cluster III. Phylogenetic analysis indicated that new clusters of PRRSVs type II were prevalent in Hapcheon.

Key words : PRRSV, Area Regional Control (ARC), ELISA, RT-PCR, Phylogenetic analysis

서 론

돼지생식기호흡기증후군(porcine reproductive and respiratory syndrome, PRRS)은 PRRS 바이러스(PRRS virus, PRRSV) 감염에 의한 질병으로(Baron 등, 1992), 임신돈의 유산, 사산, 조산 등의 번식 장애와 호흡기 장애, 비육돈의 성장 저하 등의 증상을 나타내고(Cavanagh, 1997), 또한 혈관염, 심근염, 뇌염, 비염 등 다른 질병들과의 합병증이 동반되기도 한다(Rossow 등, 1995). 이처럼 PRRSV는 단독으로 임상 증상을 발현할 뿐만 아니라, 다른 원인체와 복합으로 질병을

유발해 양돈산업의 막대한 경제적 손실을 초래하고 있다(Neumann, 2005). PRRSV는 두 종류의 유전자형이 존재하는데, Lelystad virus(LV)로 대표되는 유럽형(type I)과 VR-2332으로 대표되는 북미형(type II)이 있다(Collins 등, 1992). PRRS의 발생은 1987년 미국에서 처음으로 보고되었고(Albina, 1997), 1990년 독일에서 type I에 의한 발생이 처음 관찰되었다(Wills 등, 1997). 한국에서는 1990년 초 type II 유전자형의 PRRSV가 처음 출현하였고(Kweon 등, 1994), type I 바이러스는 2005년에 처음 검출되었다(Kim 등, 2006). PRRSV는 9개의 open reading frame(ORF)를 포함하는데 그 중 ORF5는 virion의 표면에 노출되는 GP5 단백질을 발현시키는 유전자로써 증화항체반응

*Corresponding author: Eun-Jin Choi, Tel. +82-31-467-1799, Fax. +82-31-467-1797, E-mail. choiej@korea.kr

을 유도하고, 바이러스간 매우 높은 유전자 변이를 보이기 때문에 PRRSV의 분자역학적 분석 대상 부위이다(Ansari 등, 2006; Key 등, 2001). 따라서 ORF5의 계통수 분석을 통해 바이러스의 변이에 따른 분류를 통해 전반적인 분포상황을 파악할 수 있다. PRRSV간 유전자 변이가 상대적으로 낮은 ORF7은 PRRSV 진단에 주로 이용되고 있는 부위이다(Pesente 등, 2006).

지역단위 청정화(area regional control, ARC) 사업은 지역단위 개념으로 PRRS를 관리하여 청정화를 달성하기 위해 시작되었다. ARC 사업은 지리적 거리를 고려해 일정 지역을 묶어 지역단위로 PRRS를 관리하는 프로그램으로, 종돈장, 이유 및 비육 농장과 사료, 도축장 등 양돈관련 시설을 포함해, 개별 농장에 대한 관리와 지역 관리가 함께 이루어져 근본적으로 항원 유입을 차단한다(Wayne 등, 2012). PRRSV는 감염 돼지와와의 접촉, 공기, 감염된 웅돈의 정액 등 감염경로가 다양하고, 전파속도 또한 매우 빠르다(Zimmerman 등, 1997). PRRSV에 감염된 돼지는 장기간 바이러스를 배설하기 때문에 PRRS의 예방 및 근절이 어렵다(Christianson과 Joo, 1994). 따라서 개별 농장 단위에서 청정화 또는 안정화를 달성했다 하더라도, 주변 농장으로부터 PRRS 재유입 가능성이 남아있어 청정상태를 지속적으로 유지하기가 쉽지 않다(Cho와 Dee, 2006). 우리나라 양돈농장의 경우, 돈군 밀집지역이 많아서 환경적 전파요인에 의해 쉽게 영향을 받을 수 있기 때문에 ARC 사업이 새로운 PRRS 해결방안으로 각광받고 있다. 우리나라에서는 안동과 합천이 대한한돈협회에서 주관하는 2013년 PRRS ARC 사업 대상 지역으로 선정된 바 있다.

이 연구는 PRRS ARC 사업의 첫 단계로서, 수행 전 안동과 합천 지역의 PRRS 상황을 이해하고 PRRSV의 유전적 차이 정도를 파악하기 위한 조사이다. 연구 결과를 통해서 바이러스의 다양한 변이의 분포를 파악하고 그에 맞는 효과적인 예방 및 박멸 대책을 수립하는데 기초 자료로 활용하고자 실시하였다.

재료 및 방법

공시재료

대한한돈협회 주관으로 2013년부터 PRRS ARC 사업 해당 지역인 경상북도 안동 지역 11농가와 경상남

도 합천 지역 17농가로부터 혈청 시료를 확보하였다. 각 농가 별로 이유자돈, 40, 60, 100, 130 일령과 모돈 구간에서 5두씩 채취하여, 안동에서 총 330두, 합천에서 총 510두의 돼지 혈청을 확보하였다.

항체검사

PRRSV 항체 유무를 측정하기 위하여 각 농가의 40, 60, 100, 130 일령과 모돈 구간을 대상으로 PRRS X3 Ab Test (IDEXX Laboratories, USA)를 이용하여 검사한 다음 ELISA reader (Tecan, Austria)를 사용하여 흡광도를 측정하였다. ELISA 결과는 kit 판정 기준에 따라 sample to positive (S/P) ratio가 0.4 이상일 경우 양성, 0.4 미만일 경우 음성으로 판정하였다.

항원검사

RNA는 혈청으로부터 RNeasy mini Kit (QIAGEN, USA)를 이용하여 추출하였다. RT-PCR은 OneStep RT-PCR Kit (QIAGEN, USA)를 사용하여 제조사에서 공급하는 실험 방법에 따라 실시하였다. 즉, RNA 5 μ L, 5X RT-PCR buffer 5 μ L, 10 mM dNTPs 1 μ L, enzyme mix 1 μ L, forward and reverse primers 0.5 μ L (20 pmole each), 12 μ L of RNase-free water를 각각 혼합하여 전체 25 μ L가 되도록 하였고, 특히 primer set는 type I과 type II의 검출 및 감별이 가능하도록 하였다(Choi 등, 2011). RT-PCR 조건은 50°C에서 30분간 reverse transcription 시킨 후, RNA polymerase inactivation 및 pre-denaturation을 95°C에서 15분간 실시한 다음 94°C에서 denaturation 20초, 55°C에서 annealing 20초, 72°C에서 elongation 30초 과정을 35회 반복 하였고, final extension은 72°C에서 10분간 반응하였다.

계통수 분석

각각의 유전자형에 해당하는 primer set로 증폭한 다음 마크로젠(Macrogen, Korea)에 DNA 서열분석을 의뢰하여 ORF5 서열을 확보하였다(Choi 등, 2013). 계통수 분석은 유전자 정보 분석 소프트웨어인 CLC Main Workbench 프로그램(CLC bio, Denmark)을 이용하였고, bootstrap 분석은 1000회 반복을 통하여 수행되었다. 비교 분석을 위해 NCBI의 GenBank에 등재된 국내외 분리주의 염기서열 정보를 확보하여 실시하

였다(Supplementary Table 1). 각 개체의 유전적 유연 관계는 Unweighted pair group method using arithmetic mean (UPGMA) 방법을 사용하여 계통수를 작성하였고, clustering은 이전 연구 결과에 근거하여 실시하였다(Choi 등, 2013).

결 과

안동 지역의 PRRSV 항체 · 항원 양성률

경상북도 안동 지역 PRRSV 항체검사 결과 275두

중 138두(50.2%)가 양성이었고 이유자돈을 포함한 전 구간의 PRRSV 항원검사에서는 총 330두 중 27두 (8.2%)가 양성이었다(Table 1). PRRSV 유전자형 감별 결과, type I 16두(59.3%), type II 9두(33.3%), type I과 type II가 모두 검출된 혼합 감염형은 2두(7.4%)였다 (Table 2). 일령별 항원검사 결과를 분석해보면 이유 자돈 1두, 40일령 6두, 60일령 11두, 100일령 9두가 항원양성이었으며, 130일령과 모돈에서는 항원이 검출되지 않았다. 일령별 항체 양성률 분석 결과, 40일령의 44%, 60일령의 60%, 100일령의 51%, 130일령의 49%, 모돈군의 47%가 PRRSV 항체를 보유한 것으로

Table 1. Antibody and antigen detection of PRRSV in Andong and Hapcheon regions

Region	No. of heads positive / No. of heads tested (%)	
	Antibody	Antigen
Andong	138/275 (50.2)	27/330 (8.2)
Hapcheon	352/425 (82.8)	112/510 (22.0)

Table 2. Genotype differentiation of PRRSV isolates in Andong and Hapcheon pig farms

Region	No. of heads infected (%)		
	Type I	Type II	Coinfection of type I and II
Andong	16 (59.3)	9 (33.3)	2 (7.4)
Hapcheon	41 (36.6)	66 (58.9)	5 (4.5)

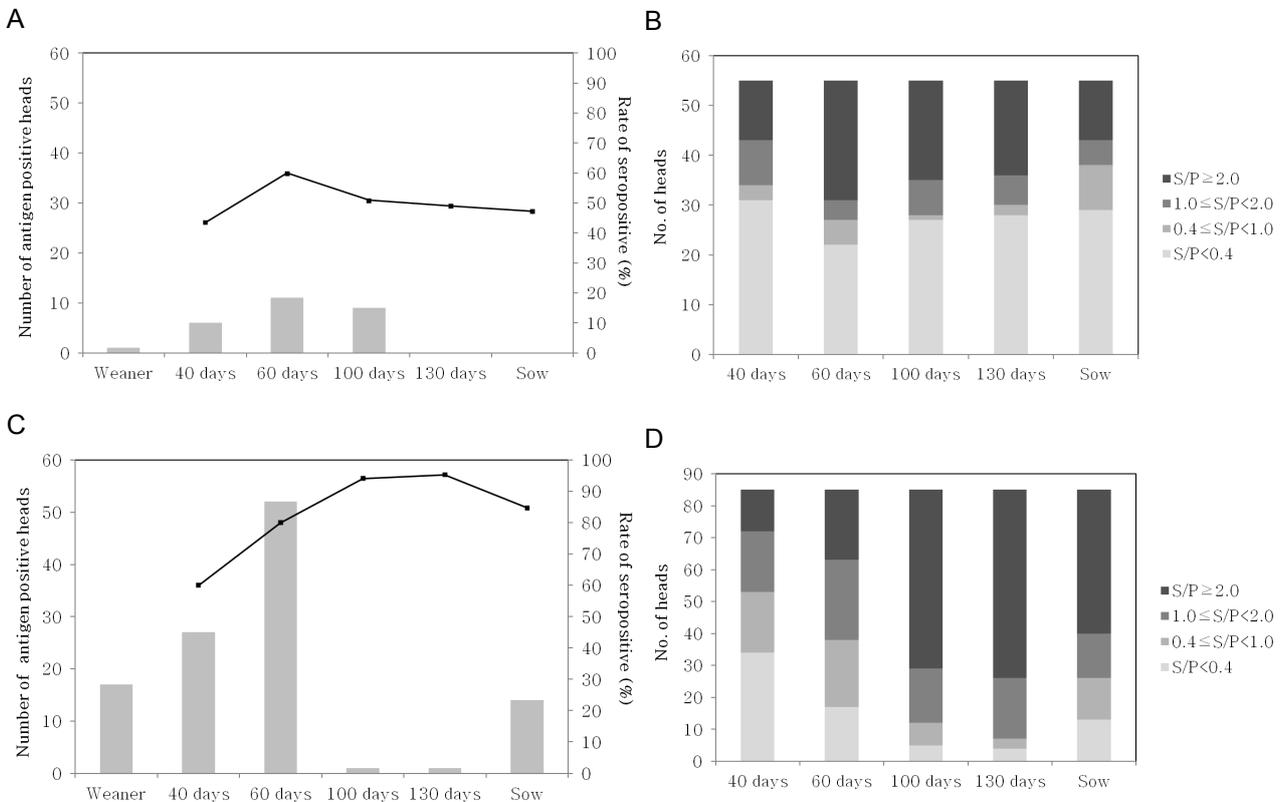


Fig. 1. Detection of antibody and antigen to PRRSV at different age groups of pigs in Andong (A) and Hapcheon (C). A bar chart means antigen positive heads. And graph of broken line means seropositivity rate at different age group. Distribution of S/P ratios from PRRSV ELISA at different age groups of pigs in Andong (B) and Hapcheon (D).

나타났다(Fig. 1A). S/P ratio 분석 결과 각 일령 구간 별 총 275두 중 137두가 0.4 미만으로 음성으로 나타났고, 항체양성 중 0.4 이상, 2.0 미만의 수치를 보이는 개체는 51두, 2.0 이상의 고역가 개체는 87두로 조사되었다(Fig. 1B).

합천 지역의 PRRSV 항체 · 항원 양성률

합천 지역 농가의 PRRSV 항체 검사 결과, 425두 중 352두(82.8%)가 항체를 보유하고 있었고, PRRSV

항원검사에서는 510두 중 112두(22.0%)가 양성으로 나타났다(Table 1). PRRSV 유전자형 감별 결과, type I 41두(36.6%), type II 66두(58.9%), 혼합 감염형은 5두(4.5%)인 것으로 확인되었다(Table 2). 항원 양성을 일령별로 비교하면 이유자돈 17두, 40일령 27두, 60일령 52두, 100일령 1두, 130일령 1두 그리고 모돈 14두로 분포되어 있고, 일령별 항체 양성률 분석 결과 40일령 60%, 60일령 80%, 100일령 94%, 130일령 95%, 모돈 85%의 양성률을 보였다(Fig. 1C). S/P ratio 분석 결과 총 425두 중 음성은 73두, S/P ratio가 0.4

Table 3. Information of PRRSV isolates collected in this study

Isolate	Region	Age	Farm	Genotype	Remarks*
K13-0013_H_SH	Hapcheon	Weaner	SH	Type II	K13-0014_H_SH (Weaner)
K13-0018_H_DH	Hapcheon	Weaner	DH	Type II	K13-0082_H_DH (40 days) K13-0370_H_DH (60 days)
K13-0021_H_IS	Hapcheon	Weaner	IS	Type II	K13-0023_H_IS (Weaner)
K13-0027_H_DK	Hapcheon	Weaner	DK	Type II	K13-0231_H_DK (60 days)
K13-0031_H_IW	Hapcheon	Weaner	IW	Type I	
K13-0033_H_IW	Hapcheon	Weaner	IW	Type II	
K13-0037_H_SK	Hapcheon	Weaner	SK	Type II	
K13-0044_H_HH	Hapcheon	Weaner	HH	Type II	K13-0045_H_HH (Weaner)
K13-0049_A_SC	Andong	Weaner	SC	Type I	K13-0101_A_SC (40 days) K13-0104_A_SC (40 days)
K13-0062_H_SJ	Hapcheon	40 days	SJ	Type II	K13-0342_H_SJ (60 days)
K13-0064_H_SJ	Hapcheon	40 days	SJ	Type II	
K13-0072_H_DK	Hapcheon	40 days	DK	Type II	K13-0074_H_DK (40 days)
K13-0076_H_HS	Hapcheon	40 days	HS	Type II	
K13-0078_H_HS	Hapcheon	40 days	HS	Type I	K13-0362_H_HS (60 days)
K13-0084_H_DH	Hapcheon	40 days	DH	Type II	
K13-0088_H_IS	Hapcheon	40 days	IS	Type I	K13-0090_H_IS (40 days)
K13-0095_H_SO	Hapcheon	40 days	SO	Type II	
K13-0099_H_IW	Hapcheon	40 days	IW	Type I	K13-0100_H_IW (40 days)
K13-0119_A_JH	Andong	40 days	JH	Type I	K13-0196_A_YS (70 days)
K13-0121_H_WJ	Hapcheon	60 days	WJ	Type II	K13-0123_H_WJ (60 days)
K13-0138_H_JK	Hapcheon	60 days	JK	Type II	
K13-0139_H_JK	Hapcheon	60 days	JK	Type II	
K13-0141_H_CH	Hapcheon	60 days	CH	Type I	
K13-0143_H_CH	Hapcheon	60 days	CH	Type II	
K13-0151_H_KS	Hapcheon	60 days	KS	Type I	K13-0153_H_KS (60 days)
K13-0156_H_TY	Hapcheon	60 days	TY	Type II	
K13-0158_H_TY	Hapcheon	60 days	TY	Type I	
K13-0162_A_WR	Andong	60 days	WR	Type II	K13-0164_A_WR (60 days) K13-0328_A_WR (100 days)
K13-0188_A_KS	Andong	70 days	KS	Type I	
K13-0234_H_DK	Hapcheon	60 days	DK	Type II	
K13-0344_H_SJ	Hapcheon	60 days	SJ	Type II	
K13-0351_H_DK	Hapcheon	60 days	DK	Type I	K13-0355_H_DK (60 days)
K13-0364_H_DK	Hapcheon	60 days	DK	Type I	
K13-0367_H_DH	Hapcheon	60 days	DH	Type I	K13-0368_H_DH (60 days) K13-0369_H_DH (60 days)
K13-0380_H_HH	Hapcheon	60 days	HH	Type I	

*The viruses isolated from the same pig farms and with a sequence homology of above 99% were excluded from the phylogenetic analysis.

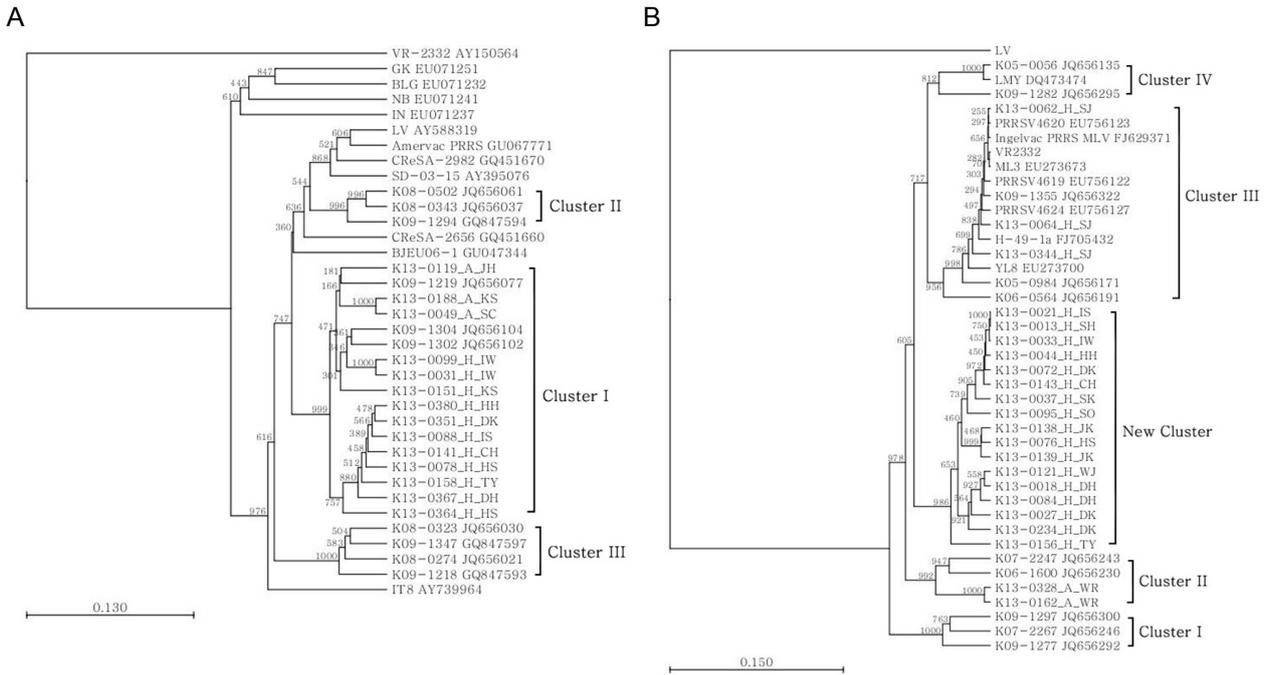


Fig. 2. Phylogenetic analysis of the type I (A) and type II (B) PRRSVs ORF5 in Andong and Hapcheon. Sequences are denoted by isolate name_region_farm, that the ‘H’ means the isolate from Hapcheon area and ‘A’ means Andong. The tail names of PRRSV strains were presented as the name and GenBank accession number.

이상, 2.0 미만인 개체는 157두이었으며, 2.0 이상의 시료는 195두로 이중 115두가 100일령과 130일령에 분포하였다(Fig. 1D).

계통수 분석 결과

PRRSV type I은 안동 6건, 합천 18건의 서열을, type II는 안동 3건, 합천 29건의 ORF5 염기서열을 확보하였고 동일 농가의 염기서열이 2개 이상일 경우 서열 유사성이 99%이상이면 1개의 서열만을 분석에 포함하고 나머지는 제외하였다(Table 3). Cluster를 분석한 결과 안동 및 합천 분리주들의 type I은 모두 cluster I에 포함되는 것으로 조사되었다(Fig. 2A). 안동 지역의 type II 분리주들은 cluster II에 모두 포함되었고, 합천 type II 분리주의 경우 cluster III에 분포하는 바이러스(13.8%)를 제외하고 대부분의 바이러스(86.2%)는 어느 cluster에도 포함되지 않고 새로운 그룹을 형성하였다(Fig. 2B).

고 찰

PRRS에 의한 양돈 산업에서의 피해액은 미국의 경

우 연간 약 5억 6천만달러로 알려져 있으며(Neumann 등, 2005), 우리나라의 경우 연간 1천 200억 원에 달하고 있다. 이러한 막대한 피해를 입히는 PRRS는 여러 경로를 통해 쉽게 전파되므로 지역단위에서의 질병 관리가 매우 중요하다. 이번 연구는 2013년도 지역단위 청정화 사업 시행 지역으로 선정된 경상북도 안동과 경상남도 합천 일부 지역에서 ARC 시행 개시 시점의 PRRS 감염 상태를 정확히 파악하고자 PRRSV에 대한 항체 및 항원 상태를 조사하였다. PRRSV 항체를 측정하기 위해서는 ELISA를 이용하였고, 항원 검사를 위해서는 ORF7을 target으로 RT-PCR을 실시하였다. 안동 지역의 조사 대상 농장들은 약 20 km에 걸쳐 산발적으로 위치하고 있고, 합천 지역 대상 농가들은 양돈 단지 형태를 이루고 있는 곳이다. PRRSV 조사 결과, 안동보다는 합천에서 항체와 항원 양성률이 모두 높게 나타났다. 이는, 합천은 양돈단지 형태로 농장간 거리가 매우 인접해 있고, 단지 내에서 주민간 접촉의 기회도 많아 PRRSV의 순환감염이 이루어지고 있기 때문인 것으로 보인다. 합천 지역의 PRRS 상황을 살펴보면, 40일령과 60일령에서 항원 양성이 많이 검출되었고, 60일령과 100일령에서의 항체 양성률이 증가하였다. 100일령과 130일령에서는 각각 1두씩의 항원 양성이 확인되었고, 항체 양

성률은 더 이상의 증가 없이 유사한 수준으로 유지되었다. 100일령과 130일령에서는 S/P ratio가 2.0 이상으로 높은 값을 보인 개체가 집중되어 있었는데, 이는 육성기에 바이러스에 의한 노출이 되고 있는 것으로 보여진다. 또한, 모돈에서의 항원 양성은 후보돈 입식시 외부에서 야외주가 유입되었거나 농장 내 순환 감염이 의심된다.

유전자형 분석 결과 안동에서는 type II보다 type I이 두 배 정도 많이 검출되었고, 합천에서는 type I보다 type II가 22.3% 높게 검출되었다. PRRSV의 계통수 분석에서는 중화항체반응을 일으키는 주요 envelope 단백질을 발현하는 ORF5 부위를 이용하였다 (Ansari 등, 2006). 계통수 분석 결과 type I은 기존의 연구 결과에서 알려진 분리주들과 동일한 cluster에 포함되었다(Choi 등, 2013). Type II의 경우, 합천의 한 농가에서 채취된 바이러스들은 Ingelvac PRRS MLV 백신주가 포함된 cluster III에, 안동의 한 바이러스는 cluster II와 같은 계열이었다. 특히 기존 연구에서 분류된 계열에 포함되지 않고 새롭게 cluster를 형성한 group이 있었는데, 모두 합천 지역의 분리주들이었다. 이는 유전자 변이가 심하게 일어난 PRRSV가 합천 지역에서 유행하였거나, 외부에서 새로운 PRRSV가 유입된 것으로 추정된다. Type II의 새롭게 형성된 cluster가 합천 지역에서만 유행하는 것인지 아니면 전국적으로 새로운 바이러스가 유행하고 있는지는 추가적인 연구를 통해서 구명되어야 할 것으로 판단된다.

ARC의 목적인 지역별 안정화를 달성하기 위해서 개시검사를 정밀하게 실시하여 분석하였으며, 향후 사업 중간과 종료 시 세부적인 조사를 통해 바이러스의 부재를 입증해야 할 것이다. 특히, 중간 모니터링 검사 시 항원 양성률이 가장 높았던 40일령과 60일령 구간을 반드시 포함해서 실험실 정밀진단을 실시해야 할 것이다. 이번 연구에서 분석된 개시검사 결과는 안동 및 합천지역의 ARC 사업 추진에 매우 귀중한 자료가 될 것이다.

결 론

2013년도 ARC 사업 대상 지역으로 선정된 안동과 합천에 대하여 개시검사를 통해 PRRS 상황을 이해하고자 정밀진단을 실시하였다. PRRSV 항체검사 결과 안동 지역 275두 중 138두(50.2%), 합천 지역 425두

중 352두(82.8%)가 항체양성으로 확인되었다. 또한 항원검사에서는 안동 지역 330두 중 27두(8.2%), 합천 지역 510두 중 112두(22.0%)가 항원양성으로 나타났다. 일령별 항원 검사를 진행한 결과, 두 지역 모두 40일령과 60일령에서 다른 구간보다 높은 항원 양성률을 보였다. 항체의 경우 60일령과 100일령에서 항체 양성률이 매우 높게 나타났다. PRRSV ORF5 유전자 분석 결과, type I은 기존에 밝혀진 한국형 PRRSV와 크게 다르지 않았지만, 합천 대부분의 type II 바이러스는 새로운 cluster를 형성하고 있음을 확인하였다.

감사의 글

이 연구는 농림축산검역본부 농림축산검역검사기술개발사업(N-1541780-2012-14-0101) 지원에 의하여 수행되었다.

참 고 문 헌

- Albina E. 1997. Epidemiology of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS): an overview. *Vet Microbiol* 55: 309-316.
- Ansari IH, Kwon B, Osorio FA, Pattnaik AK. 2006. Influence of N-linked glycosylation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus GP5 on virus infectivity, antigenicity, and ability to induce neutralizing antibodies. *J Virol* 80: 3994-4004.
- Baron T, Albina E, Leforban Y, Madec F, Guilmo H, Plana Duran J, Vannier P. 1992. Report on the first outbreaks of the porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) in France. Diagnosis and viral isolation. *Ann Rech Vet* 23: 161-166.
- Cavanagh, D. 1997. *Nidovirales*: a new order comprising *Coronaviridae* and *Arteriviridae*. *Arch Virol* 142: 629-633.
- Cho JG, Dee SA. 2006. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Theriogenology* 66: 655-662.
- Choi EJ, Lee CH, Song JY, Song HJ, Park CK, Kim BH, Shin YK. 2013. Genetic diversity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Korea. *J Vet Sci* 14: 115-124.
- Choi EJ, Lee CH, Song JY, Song HJ. 2011. Survey on porcine reproductive and respiratory disease virus infection in pig farms associated with wasting and respiratory syndrome during 2005~2009 in Korea. *Kor J Vet Publ Hlth* 35: 29-33.
- Christianson WT, Joo HS. 1994. Porcine reproductive and respiratory syndrome: a review. *Swine Health Prod* 2: 10-28.
- Collins JE, Benfield DA, Christianson WT, Harris L, Christopher-

- Hennings J, Shaw DP, Goyal SM, McCullough S, Morrison RB, Joo HS, Goreyca D, Chladek D. 1992. Isolation of swine infertility and respiratory syndrome virus (isolate ATCC VR-2332) in North America and experimental reproduction of the disease in gnotobiotic pigs. *J Vet Diagn Invest* 4:117-126.
- Key KF, Haqshenas G, Guenette DK, Swenson SL, Toth TE, Meng XJ. 2001. Genetic variation and phylogenetic analyses of the ORF5 gene of acute porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates. *Vet Microbiol* 83: 249-263.
- Kim JY, Lee SY, Sur JH, Lyoo YS. 2006. Serological and genetic characterization of the European strain of the porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolated in Korea. *Korean J Vet Res* 46: 363-370.
- Kweon CH, Kwon BJ, Lee HJ, Cho JJ, Hwang EK, Shin JH, Yoon YD, Kang YB, An SH, Kim YH, Huh W, Jun MH, Wensvoort G. 1994. Isolation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in Korea. *Korean J Vet Res* 34: 77-83.
- Neumann EJ, Kliebenstein JB, Johnson CD, Mabry JW, Bush EJ, Seitzinger AH, Green AL, Zimmerman JJ. 2005. Assessment of the economic impact of porcine reproductive and respiratory syndrome on swine production in the United States. *J Am Vet Med Assoc* 227: 385-392.
- Pesente P, Rebonato V, Sandri G, Giovanardi D, Ruffoni LS, Torriani S. 2006. Phylogenetic analysis of ORF5 and ORF7 sequences of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) from PRRS-positive Italian farms: showcase for PRRSV epidemiology and its consequences on farm management. *Vet Microbiol* 114: 214-224.
- Rossow KD, Collins JE, Goyal SM, Nelson EA, Christopher-Hennings J, Benfield DA. 1995. Pathogenesis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in gnotobiotic pigs. *Vet Pathol* 32: 361-373.
- Wayne SR, Morrison RB, Odland CA, Davies PR. 2012. Potential role of noncommercial swine populations in the epidemiology and control of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J Am Vet Med Assoc* 240: 876-882.
- Wills RW, Zimmerman JJ, Yoon KJ, Swenson SL, Hoffman LJ, McGinley MJ, Hill HT, Platt KB. 1997. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: routes of excretion. *Vet Microbiol* 57: 69-81.
- Zimmerman JJ, Yoon KJ, Wills RW, Swenson SL. 1997. General overview of PRRSV: a perspective from the United States. *Vet Microbiol* 55: 187-196.

Supplementary Table 1. Information of reference sequence selected from NCBI GenBank

Name	GenBank accession no.	Genotype	Country	Collection date
Amervac PRRS	GU067771	Type I	Spain	
BJEU06-1	GU047344	Type I	China	2006
BLG	EU071232	Type I	Russia	2006
CRSA-2656	GQ451660	Type I	Spain	2005
CRSA-2982	GQ451670	Type I	Spain	2005
GK	EU071251	Type I	Russia	2005
H-49-1a	FJ705432	Type II	Germany	2004
IN	EU071237	Type I	Russia	2005
Ingelvac PRRS MLV	FJ629371	Type II	USA	
IT8	AY739964	Type I	Italy	2004
K05-0056	JQ656135	Type II	South Korea	2005
K05-0984	JQ656171	Type II	South Korea	2005
K06-0564	JQ656191	Type II	South Korea	2006
K06-1600	JQ656230	Type II	South Korea	2006
K07-2247	JQ656243	Type II	South Korea	2007
K07-2267	JQ656246	Type II	South Korea	2007
K08-0274	JQ656021	Type I	South Korea	2008
K08-0323	JQ656030	Type I	South Korea	2008
K08-0343	JQ656037	Type I	South Korea	2008
K08-0502	JQ656061	Type I	South Korea	2008
K09-1218	GQ847593	Type I	South Korea	2009
K09-1219	JQ656077	Type I	South Korea	2009
K09-1277	JQ656292	Type II	South Korea	2009
K09-1282	JQ656295	Type II	South Korea	2009
K09-1294	GQ847594	Type I	South Korea	2009
K09-1297	JQ656300	Type II	South Korea	2009
K09-1302	JQ656102	Type I	South Korea	2009
K09-1304	JQ656104	Type I	South Korea	2009
K09-1347	GQ847597	Type I	South Korea	2009
K09-1355	JQ656322	Type II	South Korea	2009
LMY	DQ473474	Type II	South Korea	2003
LV4.2.1	AY588319	Type I	Netherlands	
ML3	EU273673	Type II	Taiwan	2006
NB	EU071241	Type I	Russia	2006
PRRSV4619	EU756122	Type II	Canada	2006
PRRSV4620	EU756123	Type II	Canada	2006
PRRSV4624	EU756127	Type II	Canada	2006
SD-03-15	AY395076	Type I	USA	2003
VR-2332	AY150564	Type II	USA	1990
YL8	EU273700	Type II	Taiwan	2006