

< Original Article >

영천지역 구제역 바이러스 구조단백질 항체가 조사

손준형* · 황유선 · 손규희 · 신성호 · 이은미 · 김순태 · 조민희 · 윤문조

경북가축위생시험소

Survey of foot-and-mouth disease virus structural protein antibody titer in Yeongcheon

Jun-Hyung Sohn*, You-Sun Hwang, Kyu-Hee Sohn, Sung-Ho Shin,
Eun-Mi Lee, Soon-Tae Kim, Min-Hee Cho, Mun-Jo Yun

Gyeongbuk Veterinary Service Laboratory, Daegu 702-911, Korea

(Received 12 December 2014; revised 6 February 2015; accepted 23 February 2015)

Abstract

Three serotypes (O, A and Asia1) of the foot-and-mouth disease (FMD) vaccine were injected into domestic cloven-hoofed animals in Korea after the nationwide spread at the end of 2010. The purpose of this study was survey of FMD virus structural protein (SP) antibody titer in Yeongcheon by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Total 1,324 samples collected from 89 farms were tested. The overall seroprevalence of FMD virus SP antibodies was 58.8% (778/1,324). The seroprevalence of FMD virus SP antibody varied with species. Results in cattle (over 12 month old) and pig (90 to 130 day old) were 58.8% and 44.9% respectively.

Key words : Foot-and-mouth disease, Structural protein (SP), Percentage inhibition (PI) titer, ELISA

서 론

구제역(Foot-and-mouth disease, FMD)은 소, 돼지, 양, 사슴 등 우제류 동물에서 발열, 심한 타액분비, 수포성 병변형성을 특징으로 하는 바이러스성 가축전염병으로 발생시 발생동물의 살처분, 백신 접종, 교역상의 제한 등 국가 경제에 미치는 영향이 매우 커서 세계동물보건기구(OIE)에서 지정한 List A 질병이다(Leforban, 1999). 어린 동물에서는 폐사가 발생하는 경우도 종종 있는데 이 질병의 병원성은 축종에 따라 다양하다. 일반적으로 소의 경우에는 구강의 병변이 많이 나타나고, 돼지의 경우는 족부병변의 발생이 많은 것으로 알려져 있다(Alexandersen와 Mowat, 2005).

FMD는 *Picornaviridae Aphthovirus*에 속하는 non-enveloped FMD 바이러스(FMDV)가 원인체로 이 바이

러스는 7종류의 serotype (O, A, C, Asia1, SAT1, SAT2, SAT3)이 있으며 각각의 serotype 내에서도 서로 방어를 하지 못하는 subtype이 있어 백신개발이 어렵고 질병의 근절이 쉽지 않다(Sur 등, 2000). 우리나라에서는 2000년 3월 경기 파주에서 발생하여 살처분과 백신접종으로 2002년, 2010년초 발생상황에서는 살처분 정책으로 신속한 청정화를 유지하였으나, 2010년 10월 경북 안동에서 발생한 FMD의 경우 전국적인 질병확산으로 긴급 백신접종을 실시하였고 정기적인 추가접종 정책을 유지하고 있는 상황이다. 질병의 예방과 확산방지를 목적으로 지금까지 연구, 개발된 백신으로는 inactivated vaccine, live vector vaccine, subunit vaccine, nucleic acid vaccine, novel attenuated vaccine 등이 있다(Acharya 등, 1989; Pfaff 등, 1982; Zhang 등, 2011). 현재 우리나라에서는 3가지 serotype (O, A, Asia1) 혼합백신을 접종하고 있는데 임

*Corresponding author: Jun-Hyung Sohn, Tel. +85-53-326-9411,
Fax. +85-53-326-9412, E-mail. vetsohn@korea.kr

상증상이 없고 자연감염시에만 형성되는 Non structural protein (NSP) 항체가 검출되지 않는 경우 SP 항체의 형성 정도로 백신항체 유지수준을 측정하고 있다. 2010년말 발생한 구제역의 발생지 중 영천지역의 소와 돼지의 FMDV의 SP 항체를 ELISA법으로 측정하여 축종별, 사육규모별 백신항체 유지수준을 살펴보고 이를 향후 FMD방역관리와 백신접종과 관련한 연구 및 정책수립시에 참고자료로 활용하고자 이번 연구를 실시하였다.

재료 및 방법

공시재료

2014년 9월에서 11월까지 2개월동안 영천지역 축산농가 89호(소 33호, 돼지 56호)에서 최소 1~2회 이상 FMD백신을 접종했어야 하는 연령(소의 경우 12개월이상, 돼지의 경우 90~130일령)의 가축 1,324두의 혈액으로부터 분리한 혈청을 실험에 사용하였다. 사육두수 감소등 농장상황에 따라 각각 5~17두를 채취하였고 이들 농장에서 침흘림, 수포병변등 FMD의 특이증상은 없는 것을 확인하였으며 분리한 혈청은 실험을 실시할 때까지 -20°C 에서 냉동·보관하였다.

검사방법

ELISA kit를 이용한 NSP 항체검사: FMDV의 자연감염 여부를 조사하기 위하여 상품화된 ELISA Kit로 NSP 항체의 존재유무를 조사하였다. VPro[®] FMDV NSP AB ELISA kit (Median diagnostics, Korea)를 사용하여 제조사에서 공급하는 매뉴얼에 따라 검사를 실시하였으며 흡광도는 Infinite M200 Pro NanoQuant (TECAN, Switzerland) 자동화장비로 측정하였다. 먼저 흡착플레이트를 실온에서 10~20분간 방치한 후 각 well에 희석액을 80 μL 씩 분주하였다. 준비한 가검혈청과 음성 및 양성 대조액을 20 μL 씩 분주하여 실온($25\pm 3^{\circ}\text{C}$)에서 1시간 반응시킨 후 검체와 대조액을 제거하였다. Washing buffer로 3회 반복세척한 다음 HRPO anti-FMDV NSP conjugate를 각 well에 100 μL 씩 분주하여 실온에서 1시간 반응시켰다. 같은 방법으로 3회 반복세척한 다음 TMB buffer를 100 μL 씩 분주하여 15분간 반응시킨 후 stop solution을 50 μL 씩 분주하여 반응을 정지하였다. 정확한 측정을 위하

여 각 well내에 기포 등의 방해물을 제거한 후 450 nm의 파장에서 흡광도(optical density, OD)를 측정하였고 제조사의 계산식(가검시료 평균 OD/음성대조 평균 OD)에 따라 얻은 sample to positive (S/P) ratio 수치가 0.6이하일 경우 양성, 0.6초과일 경우 음성으로 판정하였다.

ELISA kit를 이용한 SP 항체검사: SP항체검사는 PrioCHECK[®] FMDV type O ELISA kit (Prionics, Netherlands)를 사용하여 제조사의 매뉴얼에 따라 실시하고 NSP 항체검사마찬가지로 450 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 실험결과는 제조사의 계산식 $\{100 - (\text{corrected OD}_{450} \text{ test sample} / \text{corrected OD}_{450} \text{ max})\}$ 으로 얻은 Percentage inhibition (PI) 수치를 확인하였다. PI 수치가 50이상일 경우 양성, 50미만일 경우 음성으로 판정하였다.

검사결과 분석

검사결과는 축종별(소, 돼지), 사육규모별로 구분하여 살펴보고, S/P ratio 수치와 PI 수치를 이용하여 농장별 NSP 항체와 SP항체의 보유현황을 분석하였다.

결 과

영천지역 89개 농장에서 채취한 1,324점의 검체에서 NSP 항체는 전두수 음성임을 확인하였고, SP항체는 778점이 양성으로 판정되어 58.8%의 양성률을 나타내었다.

축종별 SP항체가 분석

축종별로 FMDV SP 항체를 살펴본 결과 소의 경우 529두 중 421두 양성으로 79.6%의 양성률을 보였고 돼지의 경우 795두 중 357두 양성으로 44.9%의 양성률을 나타내었다(Table 1). 소와 돼지 모두 농장별 0~100%의 다양한 항체형성률을 보였고 검사대상 농장 중 5개의 농장(소 3호, 돼지 2호)에서는 전두수 음성으로 나타났다.

사육규모별 SP항체가 분석

FMDV SP 항체를 사육규모별로 나누어 살펴본 결과 소의 경우 50두 이하 98.8% (79/80), 51~200두

Table 1. FMDV SP antibody titer in each species and farm size

	Farm size (No of head)	No of examined	No of seropositive	Positive ratio (%)
Total		1,324	778	58.8
Cattle	Cattle total	529	421	79.6
	1~50	80	79	98.8
	51~200	385	290	75.3
	201~	64	52	81.3
Pig	Pig total	795	357	44.9
	1~1,000	257	136	52.9
	1,001~5,000	480	185	38.5
	5,001~	58	36	62.1

이하 75.3% (290/385), 200두 초과 81.3% (52/64)의 항체양성률을 보였고 돼지의 경우 1,000두이하 52.9% (136/257), 1,001~5,000두 이하 38.5 (185/480), 5,000두 초과 62.1% (36/58)의 항체양성률을 나타내었다 (Table 1, Table 2).

고 찰

FMD는 현재 전 세계적으로 발생하고 있으나 동남아시아, 중동, 아프리카, 남미를 상재지역으로 구분할 수 있는데(Hammond, 2009a; Hammond, 2009b), 아프리카 일부지역에서 발생하는 SAT 혈청형을 제외하면 O, A, Asia1형이 대부분의 발생하는 혈청형이다. 최근 주변국가들의 FMD 발생상황을 보면 중국은 2005년부터 Asia1 혈청형이 지속적으로 발생하고 있으며 2009년에는 A 혈청형까지 발생하여 심각한 타격을 받았고(Hammond, 2009a; Hammond, 2009b), 대만에서는 2004년 이후 백신접종 청정국으로 인정받았으나 2009년 O 혈청형이 돼지에서 발생하였다. 베트남에서도 2006년 대규모 발생으로 큰 피해를 입은 후 지속적으로 O, A, Asia1형이 발생하고 있으며, 캄보디아, 라오스, 말레이시아등 동남아시아에서도 O, A 혈청형이 지속적으로 발생하여 우리의 국내방역에 위협이 되고 있다(www.OIE.int). 특히 중국에서 발생한 Asia1 혈청형의 경우 우리나라에서 확보하고 있는 백신주와의 면역학적 성상이 일부 다른 것으로 알려져 백신 접종에도 신중을 기할 필요가 있다(Park 등, 2009). 우리나라에서 2000년, 2002년, 2010년 발생한 FMD 역시 O, A 혈청형으로 현재 진행하고 있는 O, A, Asia1 혈청형에 대한 백신접종은 비교적 적절한 선택으로 판단된다.

이번 연구에서는 과거 FMD가 발생한 지역 중 영천지역의 감수성동물에 대한 백신항체 유지수준에 대하여 살펴보았는데 그 결과 소는 76.6%, 돼지는 44.9%의 양성률을 나타내어 전체 58.8%를 보였다. 이는 2013년 경북지역 전체 73.8% (소 97.1, 돼지 64.8%)에 비해서도 항체형성율이 상당히 낮아지고 있음을 보여준다(경상북도가축위생시험소, 2014). 사육규모별 SP항체 형성률은 소의 경우 50두 이하 98.8% (79/80), 51~200두 이하 75.3% (290/385), 200두 초과 81.3% (52/64)의 항체양성률을 보였고 돼지의 경우 1,000두이하 52.9% (136/257), 1,001~5,000두 이하 38.5 (185/480), 5,000두 초과 62.1% (36/58)의 항체형성률을 나타내었다. 영세농가로 지정되어 백신접종비용이 지원되는 규모(소 50두이하, 돼지 1,000두이하)의 농장은 소와 돼지 모두에서 일정수준 이상의 항체형성률을 보였지만 지원대상에서 제외되는 농장 특히 중간정도 규모의 농장들에서 두 축종 모두 가장 낮은 수치를 나타내었다. 주변국에서 지속적으로 FMD가 발생하고 있는 상황에서 국내 재발생을 방지하기 위해서는 이런 농장들에서 일정수준 이상으로 항체형성률을 높이기 위해 적극적으로 백신접종을 유도하는 대책이 필요하다고 판단된다. 상대적으로 대규모 전업농들(소 200두이상, 돼지 5,000두이상)은 각각 81.3%, 62.1%로 조사되어 자발적인 백신접종, 방역관리 등에 중점을 두고 있는 것으로 추정할 수 있었다.

결 론

영천지역 89호의 농장에서 채취한 1,324점의 시료를 대상으로 ELISA법으로 실시한 FMDV SP 항체를 조사한 결과 전체 58.8% (778/1,324)의 항체양성률을 보였으며, 사육규모별로 분석해본 결과 소와 돼지의 경우 모두에서 중간정도의 규모를 가진 농장에서 항체 형성률이 가장 저조한 것으로 조사되었다(소 75.3%, 돼지 38.5%). 이상의 결과는 농가의 적극적인 백신접종을 유도하고 FMD 백신항체 유지를 위해 지속적인 검사와 교육과 함께 백신접종 전반에 대한 점검이 요구된다고 할 수 있으며, FMD에 대한 백신접종 관련 정책 수립, 방역실태조사, 양돈농가 지도 등에 유용한 자료로 활용할 수 있을 것으로 판단된다.

Table 2. FMDV SP antibody titer in each farm

Farm		No of heads	No of exam	No of positive	Positive ratio (%)	Farm		No of heads	No of exam	No of positive	Positive ratio (%)
Cattle	c-1	21	16	16	100	Pig	p-1	17	5	2	40
	c-2	30	16	16	100		p-2	50	10	5	50
	c-3	45	16	16	100		p-3	300	10	3	30
	c-4	45	16	16	100		p-4	500	16	12	75.0
	c-5	50	16	15	93.8		p-5	550	13	4	30.8
	c-6	53	16	16	100		p-6	600	13	9	69.2
	c-7	55	16	0	0		p-7	600	13	3	23.1
	c-8	57	16	16	100		p-8	650	16	7	43.8
	c-9	58	16	16	100		p-9	700	16	8	50.0
	c-10	65	16	12	75.0		p-10	800	16	2	12.5
	c-11	71	16	16	100		p-11	850	12	0	0
	c-12	72	16	12	75.0		p-12	900	16	9	56.3
	c-13	77	16	16	100		p-13	900	16	10	62.5
	c-14	81	16	16	100		p-14	900	16	5	31.3
	c-15	82	16	16	100		p-15	950	16	16	100
	c-16	87	16	9	56.3		p-16	1,000	14	11	78.6
	c-17	87	16	14	87.5		p-17	1,000	13	7	53.8
	c-18	98	16	0	0		p-18	1,000	13	11	84.6
	c-19	100	16	16	100		p-19	1,000	13	12	92.3
	c-20	106	16	16	100		p-20	1,100	13	4	30.8
	c-21	109	16	14	87.5		p-21	1,180	16	16	100
	c-22	118	16	13	81.3		p-22	1,200	13	1	7.7
	c-23	122	16	11	68.8		p-23	1,305	14	1	7.1
	c-24	122	16	16	100		p-24	1,470	14	11	78.6
	c-25	136	16	16	100		p-25	1,500	13	13	100
	c-26	157	17	10	58.8		p-26	1,500	16	5	31.3
	c-27	157	16	0	0		p-27	1,500	13	3	23.1
	c-28	164	16	10	62.5		p-28	1,500	16	7	43.8
	c-29	197	16	9	56.3		p-29	1,500	16	10	62.5
	c-30	276	16	16	100		p-30	1,600	16	7	43.8
	c-31	302	16	16	100		p-31	1,800	14	9	64.3
	c-32	305	16	13	81.3		p-32	1,800	16	5	31.3
	c-33	330	16	7	43.8		p-33	2,000	13	4	30.8
					p-34	2,000	16	1	6.3		
					p-35	2,450	14	10	71.4		
					p-36	2,500	14	5	35.7		
					p-37	2,500	13	4	30.8		
					p-38	2,500	16	6	37.5		
					p-39	2,700	14	0	0		
					p-40	2,800	13	1	7.7		
					p-41	2,800	16	7	43.8		
					p-42	3,000	13	5	38.5		
					p-43	3,000	13	2	15.4		
					p-44	3,000	16	10	62.5		
					p-45	3,100	16	3	18.8		
					p-46	3,500	16	3	18.8		
					p-47	3,500	10	0	0		
					p-48	4,000	13	3	23.1		
					p-49	4,000	16	7	43.8		
					p-50	4,200	16	3	18.8		
					p-51	4,500	16	14	87.5		
					p-52	4,500	16	5	31.3		
					p-53	6,000	13	4	30.8		
					p-54	8,500	13	8	61.5		
					p-55	11,000	16	14	87.5		
					p-56	24,000	16	10	62.5		

REFERENCES

- 경상북도가축위생시험소. 2014. 가축위생시험사업연보. pp. 57-59.
- Acharya R, Fry E, Stuart D, Fox G, Rowlands D, Brown F. 1989. The three dimensional structure of foot-and-mouth disease virus at 2.9 Å resolution. *Nature* 337: 709-716.
- Ahn GH, Bae JG, Jung K, Wang YI, Jung JY, Kang SK, Kwon HM. 2013. Development of antibodies after foot and mouth disease vaccination in pigs. *Korean J Vet Serv* 36(1): 15-21.
- Alexandersen S, Mowat N. 2005. foot-and-mouth disease : host range and pathogen-Alexandersen S, Zhang Z, sis. *Curr Top Microbiol Immunol* 288: 9-42.
- Forman AJ, Gibbs EP, Baber DJ, Herniman KA, Barnett IT. 1974. Studies with foot-and-mouth disease virus in British deer (red, fallow and roe). II. Recovery of virus and serological response. *J Comp Pathol* 84(2): 221-229.
- Hammond J. 2009a. OIE/FAO World Reference Laboratory report, April-June 2009, foot-and-mouth disease. World Reference Laboratory report, Pirbright. pp. 1-29.
- Hammond J. 2009b. OIE/FAO World Reference Laboratory report, January-March 2009, foot-and-mouth disease. World Reference Laboratory report, Pirbright. pp. 1-33.
- Klein J, Parlak U, Ozyoruk F, Christensen LS. 2006. The molecular epidemiology of foot-and-mouth disease virus serotypes A and O from 1998 to 2004 in Turkey. *BMC Vet Res* 2: 35.
- Park JH, Ko YJ, Kim SM, Lee HS, Lee KN, Cho IS. 2009. Immunological relationships of FMD vaccine strain and Asia1 field isolate from East Asia. *Korean J Vet Res* 49(3): 221-229.
- Park JH, Lee KN, Ko YJ, Lee HS, Cho IS. 2009. Geographical distribution and molecular epidemiology of foot-and-mouth disease viruses of major groups. *Korean J Vet Serv* 32(4): 315-323.
- Pfaff E, Mussgay M, Böhm HO, Schulz GE, Schaller H. 1982. Antibodies against a preselected peptide recognise and neutralise foot and mouth disease virus. *EMBO J* 1: 869-874.
- Rodriguez LL, Grubman MJ. 2009. foot and mouth disease virus vaccines. *Vaccine* 27: D90-94.
- Sakamoto K, Yoshida K. 2002. Recent outbreaks of foot and mouth disease in countries of east Asia. *Res Sci Tech* 21(3): 459-463.
- Sobrinho F, Saiz M, Jimenez-Clavero MA, Nunez JI, Rosas MF, Baranowski E, Ley V. 2001. foot-and-mouth disease: a long known virus, but a current threat. *Vet Res* 40: 719-727.
- Sur JH, Shin JH, Juan L, Max Y, Ku BK, Choi KS, Kweon BJ, Sohn HJ, Ko YJ, Choi CH, Kim JY, An SH, Kim KS, Moon OK, Kim JH, Choi SH, Lee HG, Hwang EK, Kim SB, Kang SS, Kim OK. 2000. In vivo characterization, and transmission of korean foot-and-mouth disease virus(FMDV). *Korean J Res* 40: 719-727.
- Zhang L, Zhang J, Chen HT, Zhou JH, Ma LN, Ding YZ, Liu YS. 2011. Research in advance for FMD novel vaccines. *Virology* 8: 268.