

< Original Article >

경북지역 양돈장의 돼지생식기호흡기증후군, 돼지썩코바이러스-2 항체가 조사

손준형¹ · 신성호¹ · 김순태¹ · 이성삼¹ · 윤문조¹ · 조길재^{2*}

¹경북가축위생시험소, ²경북대학교 수의과대학

Seroprevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) and porcine circovirus-2 (PCV-2) in pig farms in Gyeongbuk province

Jun-Hyung Sohn¹, Sung-Ho Shin¹, Soon-Tae Kim¹, Sung-sam Lee¹, Mun-Jo Yun¹, Gil-Jae Cho^{2*}

¹Gyeongbuk Veterinary Service Laboratory, Daegu 41405, Korea

²College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea

(Received 15 September 2015; revised 20 September 2015; accepted 25 September 2015)

Abstract

The purpose of this study was to survey seroprevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus and porcine circovirus-2 (PCV-2) in Gyeongbuk province by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). A total of 966 samples collected from 21 pig farms were tested. The sero-positive rate of PRRS and PCV-2 were 77.6% (750/966) and 76.4% (738/966), respectively.

Key words : PRRS, PCV-2, Seroprevalence, ELISA

서 론

돼지 호흡기복합감염증(porcine respiratory disease complex, PRDC)은 바이러스, 세균 등의 원인체와 스트레스 및 사육환경 불량과 같은 여러 가지 요소가 복합적으로 작용하여 발생하는 질병으로 양돈농가에 지속적인 피해를 주고 있다. 주요 원인체로는 돼지생식기호흡기증후군(porcine reproductive and respiratory syndrome virus, PRRSV), 돼지썩코바이러스 2형(porcine circovirus-2, PCV-2), *Mycoplasma hyopneumonia*, swine influenza virus (SIV), porcine respiratory corona virus (PRCV), pseudorabies virus (PRV) 등이 알려져 있으며, 2차적으로 흉막폐렴(pleuropneumonia), 파스튜렐라성 폐렴(pneumonic pasteurellosis), 글래서씨병(Glasser's disease) 등이 발생하여 증상을 악화시킨다(Allan and

Ellis, 2000; Kawashima 등, 2007; Rovira 등, 2002).

PRRSV는 *Arteriviridae*과에 속하는 RNA 바이러스로 피막이 있고 strain간의 변이가 심한 것으로 보고 되었으며 감염 시 유산, 사산 등의 번식장애와 자돈의 폐사, 비육돈에서의 호흡기 증상을 나타낸다(Cavanagh, 1997; Keffaber, 1989; Loula, 1991). 국내에서는 1993년 최초로 바이러스가 분리되었으나 혈청학적 조사에 의해 그 이전부터 국내에서 발생되고 있었음이 증명되었다(Kong 등, 2003). 약 15 kb 크기의 바이러스 유전자를 가지며 최소 10개의 open reading frame (ORF: 1a, 1b, 2a, 2b, 3, 4, 5a, 5b, 6, 7)들이 구조단백질과 비구조단백질을 encoding하는 것으로 알려져 있다(Johnson 등, 2011; Seo 등, 2014). 돼지는 PRRSV에 감염되어도 특별한 임상증상을 관찰하기 힘든 경우가 많아 잠재적인 피해가 매우 클 것으로 추정되며 농장의 사양관리, 환경개선, 단계별 분리사육 및 백신접종으로 개선할 수 있다고 보고되어 있으며 감염

*Corresponding author: Gil-Jae Cho, Tel. +82-53-950-5978,
Fax. +82-53-950-5974, E-mail. chogj@knu.ac.kr

된 돼지는 PRRSV의 전염원이 되고 혈중항체가 존재하는 경우에도 상당기간 체내에 바이러스가 잔류하는 것으로 보고되었으며, 웅돈의 경우 정액을 통한 바이러스 배출로 농장간 질병전파의 원인이 될 수도 있다(Kim 등, 2000; Park 등, 1996).

PCV-2는 피막이 없는 icosahedral 형태를 가지는 single-stranded circular DNA 바이러스이다. 바이러스의 유전자는 약 1.76 kb의 크기로 2개의 중요한 open reading frames (ORFs)으로 구성되어 있으며, ORF 1 (930 bp)은 바이러스 복제에 관여하는 replication protein을 encoding하고 ORF 2 (690 bp)는 면역학적으로 중요한 capsid protein을 encoding하는 것으로 알려져 있다(Chung, 2003; Fenaux 등, 2000). 실험적으로 돼지에 감염시켰을 때 임상증상이 나타나지 않아 병원성이 없는 것으로 추정되는 PCV-1과 달리 이유자돈전신소모성증후군(post-weaning multisystemic wasting syndrome, PMWS)증상을 보이는 돼지 유래의 PCV는 PCV-1과는 80%이하의 상동성을 나타내어 서로 다른 바이러스임이 확인되었고 이를 PCV-2로 명명하였다(Fenaux 등, 2003; Hamel 등, 2000; Meehan 등, 1998).

PRRSV의 혈청학적 진단법으로는 간접형광항체법(indirect immunofluorescent antibody assay, IFA)과 효소면역법(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA), 혈청중화시험법(virus neutralization test) 등이 사용되고 있으며 그 중 ELISA는 다량의 시료를 동시에 처리할 수 있고 민감도와 특이도가 매우 높아 PRRSV의 혈청학적 진단에 주로 사용되고 있다. 이번 연구에서 ELISA를 이용한 PRRSV와 PCV-2의 항체가를 조사하여 돼지 호흡기질병 방역을 위한 기초자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

공시재료

경산시, 경주시, 영천시, 고령군, 예천군, 청도군 등 경북지역 6개 시군의 양돈농장 21호에서 2015년 1월부터 6월까지 농장별 46두씩 채취한 총 966점의 돼지 혈액을 재료로 사용하였다. 이들 농장에서는 유산, 사산, 호흡기증상 등 PRRSV, PCV-2 감염으로 인한 특이증상은 없는 것으로 확인되었다. 채취한 혈액으로부터 원심 분리하여 얻은 혈청은 실험을 실시할 때까지 -20°C 에서 냉동 보관하였으며, 검사 시에 보관

혈청을 해동하여 56°C , 30분간 비동화한 다음, 시험에 제공하였다.

검사방법

ELISA kit를 이용한 항체검사: 먼저 PRRSV에 대한 항체가 검사는 IDEXX Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Antibody Test Kit (IDEXX Laboratories, USA)를 사용하여 제조사의 매뉴얼에 따라서 실시하였으며, 흡광도는 Infinite M200 Pro NanoQuant (TECAN, Switzerland)자동화장비로 측정하였다. 음성 및 양성 대조액과 sample diluent로 40배 희석한 비동화 혈청을 ELISA 혈청검사 plate에 각각 100 μL 씩 분주하고, 실온($18\sim 26^{\circ}\text{C}$)에서 30분간 반응시킨 후 검체와 대조액을 plate에서 제거하였다. 검체와 대조액을 제거한 plate는 300 μL 의 wash solution으로 5회 반복 세척하였고 conjugate 100 μL 를 각 well에 분주하여 실온에서 30분간 반응시켰다. 반응이 끝난 plate를 wash solution으로 5회 반복 세척한 후 TMB substrate solution 100 μL 를 각 well에 분주하여 15분간 반응시킨 후 stop solution 100 μL 로 반응을 정지하여 그 결과는 흡광도(OD 650 nm)로 측정하였다. 제조사에서 제공한 계산식에 따라 얻은 sample to positive (S/P) ratio값이 0.4미만일 경우 음성, 0.4이상일 경우 양성으로 판정하였다.

PCV-2에 대한 항체검사는 시판 VPro PCV2 NC AB ELISA kit (MEDIAN Diagnostics, Korea)를 사용하여 검사를 실시하였다. 1/100으로 희석한 혈청과 양성대조 및 음성대조를 plate에 100 μL 를 각 well에 분주하고 실온에서 30분간 반응한 후 3회 세척, conjugate 100 μL 를 각 well에 분주하여 실온에서 30분간 반응 후 3회 세척, TMB substrate solution 100 μL 를 각 well에 분주하여 15분간 반응시킨 후 stop solution 50 μL 로 반응을 정지하여 OD 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 결과의 판정은 sample to positive (S/P) ratio값이 0.4미만일 경우 음성, 0.4이상일 경우 양성으로 판정하였다.

검사결과 분석검사

검사결과는 사육단계별, 일령별로 구분하여 살펴보고, S/P값을 이용하여 농장별 PRRSV와 PCV-2 항체 보유현황을 분석하였다.

Table 1. Seroprevalence of PRRSV and PCV-2 in pig farms in Gyeongbuk Province

Farms in counties	No of examined	No of PRRSV seropositive (%)		No of PCV-2 seropositive (%)	
Total	966	750	77.6	738	76.4
Cheongdo 1	46	46	100	45	97.8
Goryeong 1	46	38	82.6	0	0
Goryeong 2	46	43	93.5	46	100
Gyeongsan 1	46	36	78.3	33	71.7
Gyeongsan 2	46	43	93.5	46	100
Gyeongsan 3	46	46	100	44	95.7
Gyeongju 1	46	26	56.5	44	95.7
Gyeongju 2	46	32	69.6	25	54.4
Gyeongju 3	46	27	58.7	39	84.8
Gyeongju 4	46	35	76.1	46	100
Gyeongju 5	46	0	0	44	95.7
Gyeongju 6	46	28	60.9	37	80.4
Gyeongju 7	46	30	65.2	45	97.8
Gyeongju 8	46	46	100	46	100
Gyeongju 9	46	23	50.0	46	100
Yecheon 1	46	38	82.6	15	32.6
Yecheon 2	46	36	78.3	30	65.2
Yeongcheon 1	46	43	93.5	12	26.1
Yeongcheon 2	46	45	97.8	46	100
Yeongcheon 3	46	43	93.5	29	63.0
Yeongcheon 4	46	46	100	20	43.5

결 과

경북지역 21개 양돈장에서 채취한 966점의 검체 중에서 PRRSV 750두, PCV-2 738두가 항체 양성으로 판정되어 각각 77.6%, 76.4%의 양성률을 나타내었다.

농장별 항체가 분석

양돈장별로 PRRSV와 PCV-2의 항체가를 살펴본 결과 21개 농장중 각각 단 1개씩의 농장(4.8%)만이 항체음성으로 나타났다. 항체양성돈 보유상황을 농장별로 조사한 결과 PRRSV의 경우 음성농장을 제외한 20개 양돈장 모두 50% 이상의 항체양성돈을 보유하고 있었으며, PCV-2는 음성농장을 포함하여 4개 농장(19.1%)만이 50%미만의 양성돈 보유율을 보였으며 다른 17개의 농장은 50%이상의 보유율을 나타내었다. 특히 PRRSV는 4개의 농장(13.3%), PCV-2는 6개의 농장(28.6%)에서 전 두수 항체 양성으로 나타났다 (Table 1).

고 찰

PRRSV와 PCV-2는 현재 많은 나라에서 발생하여 양돈산업에 경제적 피해를 주고 있다. 이 질병들은 virus에 의한 것으로 접촉감염, 공기감염 등 다양한 경로로 전파되며 전파속도 또한 매우 빨라서 일단 감염이 이루어진 농장은 단시간에 농장 내에 만연하게 되고 장기간 바이러스를 배출하기 때문에 근절이 매우 어렵고, 만성 소모성 호흡기 질병으로 진행되어 다른 원인체들과 혼합감염시 피해를 증가시킨다. 이번 연구의 결과 양돈농가의 PRRSV와 PCV-2의 항체양성돈 보유 상황은 각각 77.6%, 76.4%로 지역적, 시간적인 차이를 고려하더라도 65.9%, 69.8%의 양성률을 보인 이전의 연구에서보다 매우 높게 나타났다(Kong 등, 2003; Chu 등, 2007). 이로 볼 때 PRRSV와 PCV-2는 여전히 양돈장에 만연해 있는 것으로 추정되어 지속적인 검사가 요구된다고 볼 수 있다. 이상의 결과는 PRRSV와 PCV-2에 대한 질병방역대책 수립에 유용한 자료로 활용할 수 있을 것으로 판단된다.

결 론

경북지역 21호의 양돈농장에서 채취한 966점의 시료를 대상으로 ELISA법으로 PRRSV와 PCV-2의 항체가를 조사한 결과 각각 77.6% (750/966)와 76.4% (738/966)의 항체 양성률을 보였으며, 95.2% (20/21)의 농장이 PRRSV와 PCV-2 항체 양성돈을 보유한 것으로 나타났다. 각각의 양돈장은 0%에서 100%까지 다양한 양성률을 보였으며, 특히 PRRSV는 4개의 농장(13.3%), PCV-2는 6개의 농장(28.6%)에서 검사대상 전 두수에서 항체 양성으로 나타났다.

REFERENCES

- Allan GM, Ellis JA. 2000. Porcine circoviruses : a review. *J Vet Diagn Invest* 12: 3-14.
- Cavanagh D. 1997. Nidovirales : A new order comprising Coronaviridae and Arteriviridae. *Arch Virol* 142: 629-633.
- Cheung AK. 2003. Transcriptional analysis of porcine circovirus. *J Virol* 305: 168-180.
- Chu KS, Hyong SG, Lee JY, Kim JY, Seo LW, Jung BW. 2007. Seroprevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS), porcine circovirus 2 (PCV-2), and mycoplasma pneumoniae of swine farms in Jeonbuk-Iksan. *Korean J Vet Serv* 30: 305-312.
- Fenaux M, Halbur PG, Gill M, Toth TE, Meng XJ. 2000. Genetic characterization of type 2 porcine circovirus (PCV-2) from pigs with post-weaning multisystemic wasting syndrome in different geographic regions of North America and development of a differential PCR-restriction fragment length polymorphism assay to detect and differentiate between infections with PCV-1 and PCV-2. *J Clin Microbiol* 38: 2494-2503.
- Fenaux M, Opriessnig T, Halbur PG, Meng XJ. 2003. Immunogenicity and pathogenicity of chimeric infectious DNA clones of pathogenic porcine circovirus type 2 (PCV2) and nonpathogenic PCV 1 in weanling pigs. *J Virol* 77: 11232-11243.
- Hamel AL, Lin LL, Sachvie C, Grudeski E, Nayar GP. 2000. PCR detection and characterization of type-2 porcine circovirus. *Can J Vet Res* 64: 44-52.
- Johnson CR, Griggs TF, Gnanandarajah J, Murtaugh MP. 2011. Novel structural protein in porcine reproductive and respiratory syndrome virus encoded by an alternative ORF5 present in all arteriviruses. *J Gen Virol* 92: 1107-1116.
- Justel. 1991. Animal disease control: infectious late abortion of pigs. *Deutschestierarzblatt* 39: 404-406.
- Kawashima K, Katsuda K, Tsunemitsu H. 2007. Epidemiological investigation of the prevalence and features of postweaning multisystemic wasting syndrome in Japan. *J Vet Diagn Invest* 19: 60-68.
- Kang HW, Oh YN, Song JY, Cjoi EJ. 2014. Survey of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) on pig farms in Andong and Hapcheon region. *Korean J Vet Serv* 37: 11-18.
- Keffaber K. 1989. Reproductive failure of unknown stiology. *Am Assoc Swine Peact News* 1: 1-10.
- Kim HS, Kim CJ, Shin KS. 2000. Isolation and identification of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus from swine sera with antibodies to PRRS virus. *J. Vet Sci CNU* 8: 11-17.
- Kong SK, Lee GT, Lee KB, Hong JP, Kang SJ, Moon SH. 2003. Seroprevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) in Dangjin. *Korean J Vet Serv* 26: 227-231.
- Landis JR, Koch GG. 1977. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 33: 159-174.
- Loula T. 1991. Mystery pig disease. *Agri-practice* 12: 23-24.
- Meehan BM, McNeilly F, Todd D, Kennedy S, Jewhurst VA, Ellis JA, Hassard LE, Clark EG, Haines DM, Allan GM. 1998. Characterization of novel circovirus DNAs associated with wasting syndrome in pigs. *J Gen Virol* 79: 2171-2179.
- Meldrum KC. 1991. New pig disease. *Vet Rec* 128: 483.
- Park CK, Kim HS. 2004. Seroprevalence of antibodies to porcine reproductive and respiratory syndrome virus from pig sera collected from breeding herds. *Korean J Vet Serv* 27: 89-94.
- Park CK, Lyoo YS, Choi SH. 1996. An elimination of microbiological pathogens in the newly established swine herd from contaminated farm by modified medicated early weaning. *Proc 14th IPVS*: 486.
- Rosow KD, Collins JE, Goyal SM, Nelson EA, Christopher-Hennings J, Benefield DA. 1995. Pathogenesis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in gnotobiotic pigs. *Vet Pathol* 32: 361-373.
- Rovira A, Balasch M, Segalés J, García L, Plana-Durán J, Rosell C, Ellerbrok H, Mankertz A, Domingo M. 2002. Experimental inoculation of conventional pigs with porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus 2. *J Virol* 76: 3232-3239.
- Seo BJ, Kim HI, Kim WI. 2014. Comparative evaluation of two commercial ELISA kits for detection of PRRS antibodies using sera collected from pigs in various stages of PRRSV infection. *Korean J Vet Serv* 37: 151-156.
- Zimmerman JJ, Yoon KJ, Wills RW, Swenson SL. 1997. General overview of PRRSV: a perspective from the United States. *Vet Microbiol* 55: 187-196.