

<증례보고>

페렛에서 발생한 coronavirus 감염 증례 보고

이수형¹ · 고두민¹ · 이정하¹ · 장운기² · 김대영³ · 김대용^{1,*}

¹서울대학교 수의과대학, ²미래지 동물병원, ³College of Veterinary Medicine, University of Missouri

(접수: 2016년 6월 8일, 수정: 2016년 9월 12일, 게재승인: 2016년 9월 22일)

Ferret coronavirus infection in a domestic ferret (*Mustela putorius furo*)

Su-Hyung Lee¹, Du-Min Go¹, Jeong-Ha Lee¹, Woonki Jang², Dae Young Kim³, Dae-Yong Kim^{1,*}

¹Department of Veterinary Pathology and Research Institute for Veterinary Science, College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Seoul 08826, Korea

²Miraeji Animal Clinic, Seoul 04598, Korea

³Veterinary Medical Diagnostic Laboratory, College of Veterinary Medicine, University of Missouri, MO 65211, USA

(Received: June 8, 2016; Revised: September 12, 2016; Accepted: September 22, 2016)

Abstract: A female domestic ferret (*Mustela putorius furo*) presented to a veterinary clinic with a clinical history of anorexia and poor body condition. Due to gradual deterioration of the body condition, explorative laparotomy was performed. Diffusely, the mesentery was severely thickened and adhered with prominent mesenteric lymph nodes. A portion of the mesentery and mesenteric lymph nodes were biopsied and fixed. Microscopic analysis revealed severe pyogranulomatous peritonitis and lymphadenitis, but staining revealed no bacterial organisms. However, immunohistochemistry for feline coronavirus exhibited strong immunoreactivity, primarily in the macrophages. Based on these results, the case was diagnosed as ferret coronavirus infection.

Keywords: coronavirus infection, ferret, immunohistochemistry, peritonitis

페렛(*Mustela putorius furo*)에서의 전신성 coronavirus 감염은 2004년 최초의 발생 보고 이후 미국, 스페인, 영국, 일본 등에서도 그 발생이 드물게 보고되고 있는 새로운 전염성 질환이다 [3, 5, 6, 9]. 림프병증 및 고감마글로불린혈증을 주증으로 하는 이 질환은 고양이에서 발생하는 전염성 복막염(feline infectious peritonitis)의 dry form에서 관찰되는 것과 비슷한 양상의 병변을 유발하며, 원인체인 ferret systemic coronavirus(FRSCV)는 epizootic catarrhal enteritis (ECE)의 원인체인 ferret enteric coronavirus(FRECV)와 유사한 유전체적 특성이 있다는 것이 밝혀졌다 [4, 11, 13].

FRSCV의 감염 경로 및 병인론은 정확히 밝혀지지 않았으며, 2개월령에서 36개월령에 이르기까지 다양한 연령층에서 발생하나 주로 나이 어린 개체에서 더 흔하게 발생하는 것으로 나타났다 [4, 10]. 또한 대부분의 감염 개체에서 설사, 구토, 체중감소, 무기력 등의 비특이적 임상증상과 장간막과 장막층의 결절성 병변 등의 육안 소견이 공통으로 관찰됐으

며, 조직 검사상에서 결절은 육아종성 염증성 결절로 밝혀졌다 [1, 4, 10]. 이러한 육안 및 조직학적 소견은 dry form의 고양이 전염성 복막염과 매우 유사한 양상을 띠지만, 전신성 육아종성 염증의 경우 mycobacteriosis나 nocardiosis 등의 세균 감염 또는 blastomycosis, cryptococcosis 등의 곰팡이 감염에서도 유사하게 관찰될 수 있으므로 정확한 진단을 위해서는 통상적인 병리조직학적 검사 외에도 면역조직화학염색이나 특수염색, 역전사-중합효소연쇄반응(RT-PCR) 등이 요구된다 [8, 12]. 본 증례에서는 육안 및 병리학적 소견과 periodic acid-Schiff stain(PAS), Gram 및 항산균 등의 특수 염색 및 feline coronavirus의 항원에 대한 면역조직화학염색을 통해 국내에서 처음으로 확인된, 페렛에서의 coronavirus 감염 증례를 보고하고자 한다.

7개월령의 암컷 페렛이 식욕부진 및 체중감소, 우울 등의 임상증상으로 지역병원에 내원했다. 일반적인 신체검사 상에서 대부분의 수치가 평균을 밑돌았으며 전반적인 신체상태

*Corresponding author

Tel: +82-2-880-1249, Fax: +82-2-879-2736

E-mail: daeyong@snu.ac.kr

가 좋지 않았다. 항생제 처치 및 수액 처치 등의 통상적인 치료법을 적용하였으나 환축의 상태는 개선되지 않았고, 정확한 원인을 알기 위해 탐색적 개복술을 실시했다. 개복 시 복수는 관찰되지 않았으며 복강 내의 장간막은 다발성으로 비후되어 있었고, 장간막 림프절 역시 다양한 정도로 비후되어 있었다. 비후된 장간막 및 장간막 림프절 일부를 절제한 뒤 10% 중성 포르말린에 충분히 고정해 통상적인 조직처리 과정을 거쳤다. 파라핀에 포매한 후 4 µm 두께로 연속 절편한 조직에 대해 hematoxylin and eosin(H&E) 염색 및 특수 염색, 면역조직화학염색을 하였으며, coronavirus의 항원 존재 여부를 확인하기 위한 면역염색은 EnVision+ system (Dako, USA)과 AEC Chromogen(Biocare Medical, USA)을 이용하여 실시하였고, 1차 항체는 monoclonal mouse anti-feline coronavirus antibody(Custom Monoclonals International, USA)를 1 : 600으로 희석해서 사용했다.

H&E 염색을 통한 병리조직학적 검사상에서, 비후된 장간막 조직에서는 다발성으로 다양한 크기의 염증성 결절이 관찰되었으며 일부 결절들은 서로 융합되어 광범위하게 존재하고 있었고, 결절 사이사이 또는 결절 내부에서는 다양한 정도의 섬유화 소견이 관찰되었다(Fig. 1). 각 결절의 중심부에는 괴사소와 호중구 침윤이 뒤섞여 있었으며 그 주변으로 다수의 대식세포 및 일부 유상피성 대식세포가 침윤되어 있었다(Fig. 1). 또한 결절의 사이사이에도 다양한 정도의 대식구, 호중구, 림프구 등의 염증세포가 무질서하게 침윤해 있었다(Fig. 1). 한편, 이와 유사한 염증성 병변은 장간막 림프절에서도 광범위하게 관찰되었으며 이로 인해 림프절의 정상 조직학적 구조는 거의 관찰되지 않았다(Fig. 1). 이후, 장간막 조직 및 장간막 림프절 조직에서 feline coronavirus 항원에 대해 면역조직화학염색을 한 결과, 염증성 결절에 침윤된 대식세포 또는 유상피성 대식세포의 세포질에서 강한 양성 반응이 관찰되었다(Fig. 2). 반면, PAS, Gram 및 Fite 염색 실시 결과 원인체는 관찰되지 않았다(Fig. 3).

페렛의 전신성 coronavirus 감염증은 feline infectious peritonitis virus(FIPV)에 의해 유발되는 고양이 전염성 복막염과 달리 병리조직학적으로 뚜렷한 혈관 친화성을 보이지는 않지만, 임상증상과 병변의 양상이 전염성 복막염과 상당히 유사한 것으로 알려져 있다 [2, 6]. 장간막이나 장간막

림프절 외에도 간, 폐, 신장 등의 복강 장기와 장막층에서 육아종성 염증을 유발할 뿐 아니라 대뇌를 비롯한 중추신경계에서 뇌막염을 유발하기도 한다 [5]. 한편, 전신성 coronavirus 감염증의 육안 및 병리조직학적 소견은 비교적 전형적이거나, 정확한 진단을 위해서는 페렛에서 육아종성 염

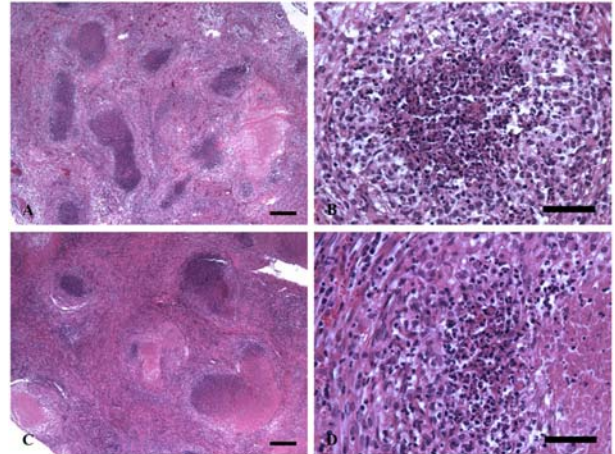


Fig. 1. Coronavirus infection, ferret. Representative photomicrographs of thickened mesentery (A and B) and enlarged mesenteric lymph node (C and D). Note multifocal to coalescing pyogranuloma formation characterized by central necrosis with neutrophils and circumferential epithelioid macrophages. H&E stain. Scale bars = 400 µm (A and C), 50 µm (B and D).

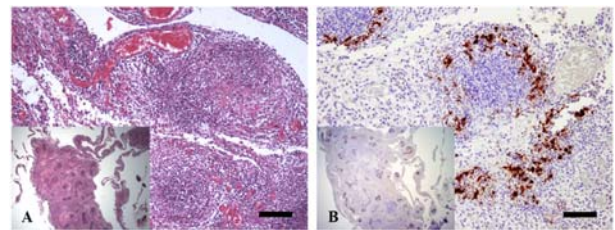


Fig. 2. Coronavirus infection, ferret. Representative photomicrographs of H&E stain (A) and immunohistochemical stain for feline coronavirus antigen (B). Strong positive immunoreactivity was observed in macrophages and epithelioid macrophages of inflammatory nodules. 12.5× (inserts). Scale bars = 200 µm.

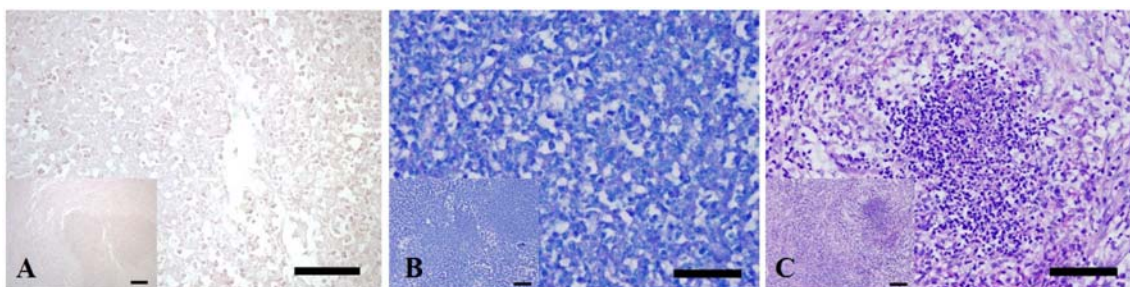


Fig. 3. Coronavirus infection, ferret. Representative photomicrographs of Gram stain (A), Fite's stain (B) and periodic acid-Schiff stain (C). No organism was noted in the special stains for detection of bacteria, *Mycobacterium spp.* or fungus. Scale bars = 50 µm (A-C), 200 µm (inserts).

증을 유발하는 다른 질환과의 감별이 필요하다. Blastomycosis나 cryptococcosis의 경우 폐에서 육아종을 형성하는 것이 일반적이지만, 전신 감염 시 다른 장기에서도 육아종이 관찰될 수 있다 [6-8]. 또한 *Mycobacterium* 감염 시 육안으로 림프병증이 관찰되며 이는 림프절 내 화농육아종성 또는 육아종성 염증에 기인하기 때문에 전신성 coronavirus 감염증과 유사한 양상을 나타낼 수 있다 [4, 12]. 이러한 이유로, 더 정확한 진단을 위해서는 육안검사와 병리조직학적 검사 외에도 GMS, PAS 염색 및 Fite 염색 등의 특수 염색과 면역조직화학염색 또는 원인체의 분리, 동정이 요구된다. 본 증례에서는 feline coronavirus 항원을 감지하는 항체를 이용해 면역조직화학염색을 함으로써 병변 내 coronavirus의 존재를 확인했고, 다른 특수염색에서 곰팡이나 세균의 존재가 관찰되지 않아 coronavirus 감염에 의한 질환으로 확진할 수 있었다.

본 질환의 경우, 원인체와 병변의 양상이 고양이 전염성 복막염과 유사한 것을 고려할 때 병인론 또한 그와 유사할 것으로 추측되지만 정확한 병인론은 아직 밝혀지지 않았다. 병원성이 극히 낮거나 없는 feline enteric coronavirus(FECV)는 임상증상 없이 고양이의 장 점막에 지속 감염 상태로 존재하다가 분변을 통해 외부로 유출, 전파되기 때문에 주변 환경에 만연해 있다. 또한 이 과정에서 FECV의 일부 유전자의 변이가 일어나 병원성이 높은 FIPV가 생성된다 [4, 14]. 이와 마찬가지로 페렛에서 ECE의 원인체로 알려진 FRECV와 전신성 coronavirus 감염증의 원인체인 FRSCV 사이의 유전체적 유사성에 대한 연구도 이루어졌는데, 부분적 서열 분석(partial sequence analysis)을 통해 FRSCV의 구조 단백질(structural protein) 중 막(membrane) 단백질과 뉴클레오캡시드(nucleocapsid) 단백질, 그리고 비구조 단백질(non-structural protein) 일부의 염기서열은 FRECV의 그것과 96% 이상 일치하며, 돌기(spike) 단백질의 염기서열 및 아미노산 서열은 FRECV와 79.5% 일치한다는 것을 증명했다 [13, 14]. 이러한 사실은 FRSCV가 다른 여러 종류의 group 1 coronavirus보다 FRECV와 가장 높은 계통학적 유사성을 가진다는 것을 뒷받침하지만 두 바이러스 간의 상이한 배양 조건으로 인해 생체 내 변이(*in vivo* mutation)를 확인하지 못함으로써 FRSCV가 FRECV의 변종인지, 다른 group 1 coronavirus의 변종인지에 대한 것은 아직 밝혀지지 않았다 [13].

국내뿐 아니라 전 세계적으로 반려동물 중 페렛의 비율이 점차 증가하고 있으나 선행 연구의 한계 상 페렛에서 발생하는 다양한 질환에 대한 인식은 아직 부족한 상태다. 특히, 페렛에서의 전신성 coronavirus 감염증은 비교적 최근에 발견된, 폐사율이 높은 치명적인 질환이며, 일부 연구에서는 항생제 처치 및 항산화 치료, 영양적 보충 등의 종합적인 치료적 접근을 시도했지만 큰 효과를 보지 못했다 [10]. 본 증례는 국내에서 최초로 보고된 페렛의 coronavirus 감염 사례로, 이 보고가 향후 페렛에서의 새로운 질병에 대한 인식과 진단, 그리고 치료에 도움이 될 것으로 생각한다.

감사의 글

본 논문은 서울대학교 수의과학연구소 및 BK21 수의연구인력양성사업단의 지원으로 이뤄졌습니다.

References

1. Dominguez E, Novellas R, Moya A, Espada Y, Martorell J. Abdominal radiographic and ultrasonographic findings in ferrets (*Mustela putorius furo*) with systemic coronavirus infection. *Vet Rec* 2011, **169**, 231.
2. Doria-Torra G, Vidaña B, Ramis A, Amarilla SP, Martínez J. Coronavirus infection in ferrets: antigen distribution and inflammatory response. *Vet Pathol* 2016, **53**, 1180-1186.
3. Fujii Y, Tochitani T, Kouchi M, Matsumoto I, Yamada T, Funabashi H. Glomerulonephritis in a ferret with feline coronavirus infection. *J Vet Diagn Invest* 2015, **27**, 637-640.
4. Garner MM, Ramsell K, Morera N, Juan-Sallés C, Jiménez J, Ardiaca M, Montesinos A, Teifke JP, Löhr CV, Evermann JF, Baszler TV, Nordhausen RW, Wise AG, Maes RK, Kiupel M. Clinicopathologic features of a systemic coronavirus-associated disease resembling feline infectious peritonitis in the domestic ferret (*Mustela putorius*). *Vet Pathol* 2008, **45**, 236-246.
5. Gnirs K, Quinton JF, Dally C, Nicolier A, Ruel Y. Cerebral pyogranuloma associated with systemic coronavirus infection in a ferret. *J Small Anim Pract* 2016, **57**, 36-39.
6. Graham E, Lamm C, Denk D, Stidworthy MF, Carrasco DC, Kubiak M. Systemic coronavirus-associated disease resembling feline infectious peritonitis in ferrets in the UK. *Vet Rec* 2012, **171**, 200-201.
7. Lenhard A. Blastomycosis in a ferret. *J Am Vet Med Assoc* 1985, **186**, 70-72.
8. Malik R, Alderton B, Finlaison D, Krockenberger MB, Karaoglu H, Meyer W, Martin P, France MP, McGill J, Lester SJ, O'Brien CR, Love DN. Cryptococcosis in ferrets: a diverse spectrum of clinical disease. *Aust Vet J* 2002, **80**, 749-755.
9. Martínez J, Ramis AJ, Reinacher M, Perpiñán D. Detection of feline infectious peritonitis virus-like antigen in ferrets. *Vet Rec* 2006, **158**, 523.
10. Murray J, Kiupel M, Maes RK. Ferret coronavirus-associated diseases. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract* 2010, **13**, 543-560.
11. Perpiñán D, López C. Clinical aspects of systemic granulomatous inflammatory syndrome in ferrets (*Mustela putorius furo*). *Vet Rec* 2008, **162**, 180-184.
12. Saunders GK, Thomsen BV. Lymphoma and *Mycobacterium avium* infection in a ferret (*Mustela putorius furo*). *J Vet Diagn Invest* 2006, **18**, 513-515.
13. Wise AG, Kiupel M, Garner MM, Clark AK, Maes RK. Comparative sequence analysis of the distal one-third of the genomes of a systemic and an enteric ferret coronavirus. *Virus Res* 2010, **149**, 42-50.
14. Wise AG, Kiupel M, Maes RK. Molecular characterization of a novel coronavirus associated with epizootic catarrhal enteritis (ECE) in ferrets. *Virology* 2006, **349**, 164-174.