

< Original Article >

한우에서 BVDV 지속감염우의 정액 성상에 관한 연구

김찬란 · 김민수 · 김남태 · 전익수 · 김성우*
농촌진흥청 국립축산과학원 가축유전자원센터

Semen Properties of a Hanwoo bull persistently infected by BVDV

Chan-Lan Kim, Min Su Kim, Namtea Kim, Ik Soo Jeon, Sung Woo Kim*

Animal Genetic Resources Research Center, National Institute of Animal Science, RDA, Namwon 55717, Korea

(Received 26 August 2017; revised 25 September 2017; accepted 28 September 2017)

Abstract

BVDV causes significant infections in ruminants, resulting in reproductive disorders, diarrhea, reduced milk production and enormous damage to farms. In particular, identification and culling of persistent infectious calf is an important task to eliminate infectious nidus in cattle households. However, studies on physiological characteristics of PI bull are still insufficient to understand reproductive effects of BVDV. In this study, one PI bull was confirmed in herd and complete blood analysis was performed. The lymphocyte count of PI at age 4 was below the normal range and the number of WBCs was also in the lower level of normal range in blood. The sperm number produced by PI male becomes lower and the viability of fresh sperm comes to poor with ages ($P < 0.05$). The sperm abnormality was also increased, especially in nuclear vacuoles of head and droplets of midpiece ($P < 0.05$). The PI male becomes infertile due to poor semen quality at age 4. With these results, we concluded that BVDV in PI bull cause decreased sperm cell and abnormality in semen so causes infertility. However, it appears that BVDV could not be transmitted by indirect contact of PI bull, because there was no evidence of BVDV infection in the herd, when regular vaccination program was applied.

Key words : Persistent infection, BVDV, Hanwoo bull, Semen

서 론

소 바이러스성 설사(BVDV)는 가축뿐만 아니라 야생 반추류에서 설사 뿐 아니라 번식 장애, 면역이상, 신경 이상 증세 등을 일으키는 질병으로 알려져 있다. 그 존재는 1940년대 후반 북미지역에서 최초로 보고되었으나, 아직까지도 많은 연구를 진행하고 있으며 특히 최근 한우에 있어서 감염이 전국적으로 보고된 바 있다(Olafson 등, 1946; Bae 등, 2007; Cho 등, 2013). 그 원인은 단쇄성 RNA 바이러스(single-stranded RNA virus)로 pestivirus속으로 Flaviviridae과에 속한다고 알려져 있다(Murphy 등, 1999). 소 바이러스성 설

사 바이러스(bovine viral diarrhea virus, BVDV)는 접촉성 감염으로 감염된 개체의 분비물로 직접 전파되며 방문자나 농장 장비의 오염으로 간접적으로 전파된다. 개체에 침입한 바이러스는 혈액을 통하여 신경계, 림프절, 소화기, 호흡계 및 피부에서 증식되나, 감염된 개체에서 뚜렷한 외관상의 증상을 나타내지 않는다(Bielefeldt-Ohmann, 1988; Baker, 1995). 그러나, 천천히 분열하여 생식기, 내부기관에 침입하게 되어 감염상태가 유지되게 되면 암컷에서는 유산 및 사산율을 증가시키며 신경증상과 왜소증을 가진 후대를 생산한다(Brownlie 등, 1987; Baker, 1995). 임신 30일에서 120일에 임신된 암소가 감염되면 태아는 면역 관용(immune tolerance)을 통하여 발생 과정 동안 바이러스를 자신으로 인식하게 되므로 생존하는 동안 지속

*Corresponding author: Sung Woo Kim, Tel. +82-63-620-3542, Fax. +82-63-620-3591, E-mail. sungwoo@korea.kr

적으로 바이러스를 생산하는 송아지(persistently infected calf, PI)가 된다(Brownlie 등, 1987; Taylor 등, 1995; Brock 등, 1998). 살아남은 PI는 바이러스 근절을 위하여 백신 프로그램을 실시하더라도 치료가 되지 않기 때문에 전체 사육군의 백신 역가가 떨어지면 재감염의 원인을 제공하게 되어 지속적인 농장 감염을 일으키므로, 바이러스 항원 검사와 항체 검사를 통하여 집단에서 제거해야만 하는 것으로 알려져 있다(Brownlie 등, 1987; Taylor 등, 1995; Sandvik과 Krog-srud, 1995; Houe 등, 2006; Bae 등, 2007).

최근 연구에 따르면, BVD바이러스는 정액으로 전파가 가능한 것으로 보고되었으며 감염된 암컷에서 수컷으로 전파 또한 가능할 것으로 추정되므로 번식에 사용되기 전 수컷의 감염 여부 판단은 매우 중요하다 알려져 있다(Meyling과 Jensen, 1988; Kommisrud 등, 1996; Hoey, 1999). 그러나, 우리나라에서 육종 농가에서 생산된 개체가 PI로 보고되는 경우는 없으며, 이러한 개체의 정액으로 얼마나 많은 바이러스가 생산되는지 보도된 바는 찾아보기 어렵다. 해외의 경우, BVD 바이러스는 PI 개체 뿐만 아니라 급성 BVD감염 개체의 정액에서 바이러스의 검출이 보고된 바 있으며 그러므로 바이러스의 전파 위험성은 더욱 높아지고 있다(Kirkland 등, 1991; Guerin 등, 1992; McGowan과 Kirkland, 1995; Givens 등, 2009). 한우의 경우 95% 이상이 인공수정에 의하여 증식되므로 종축의 특성상, 수컷은 많은 암컷에게 전파시킬 수 있어 정액 내 BVDV 존재 유무를 판단하는 것은 가축 방역을 위하여 매우 중요한 문제라고 추정된다(Meyling과 Jensen, 1988; Guerin 등, 1992; Kommisrud 등, 1996; Walz 등, 2008).

본 연구에서는 악설질병에 대한 가축 유전자원의 안정성을 확보하기 위하여 가축유전자원센터에서 보유하고 있는 희소한우 및 황우 집단에서 항원 및 항체 조사를 실시하였다. 수컷 1두를 PI개체로 판정되었고 전혈구 분석(complete blood count)을 실시하였다. PI개체의 위험성을 추정하기 위하여 정액의 생산량과 품질에 관한 기초 자료를 확보하기 위하여 정액의 활력도, 정액의 양, 함유된 바이러스의 수를 추정하였으며 약 2년간에 걸친 개체의 정액 성상에 관한 자료를 확보하였다.

재료 및 방법

시약 및 일회용품

본 연구에 사용된 시약은 Sigma-Aldrich 제품을 사용하였으며 FBS, penicillin/streptomycin stock solution는 Gibco (Thermo Fisher Scientific, USA)사에서 구매하여 실험을 실시하였다. 특별히 언급되지 않은 세포 배양 관련 일회용품은 BD Falcon 제품을 사용하였으며 4 well dish는 Nunc 제품을 사용하였다.

BVDV 항원 및 항체 검사

총 253두(암컷 211두, 수컷 42두)의 공시축 혈청에서 BVDV 항체 검사를 우선 실시하였으며 BVDV antibody test ELISA kit (IDEXX, Switzerland)를 사용하였다. 항원 검사 또한 혈청을 이용하였으며 BVDV antigen capture ELISA kit (IDEXX, Switzerland)를 이용하여 ELISA reader (TECAN, Austria)로 판독하였다. 제조사의 사용 설명서에 의거 450 nm 파장대에서 흡광도(optical density, OD)를 측정하였으며 항체 검사는 양성 대조군 흡광도의 비율(S/P ratio)가 0.3이면 양성으로 판독하였고, 항원검사는 음성대조 흡광도의 차이(S/N ratio)가 0.3이상이면 양성으로 추정하였다.

PI 확인 및 사육

1차 항원 검사를 실시하고 3~4주 후 혈액에서 1차와 동일한 방법으로 항원 검사를 실시할 때, 항원이 다시 검출될 경우 지속감염으로 판정하였으며 본 연구에서 수컷 1두가 선정되었다. PI로 판정된 숫소는 개별 사육을 실시 중이었으며, 개체의 나이는 4세로 외부에서 도입된 개체로 추적되었다. 개체에서 유출되는 바이러스의 감염성을 억제하기 위하여 비어 있는 사육 공간을 1칸 더 배치하여 격리 공간으로 마련하였으며 분변 처리 작업 시 생석회를 일부 도포하여 사육 시설의 소독을 강화하였다.

전혈구 계산(complete blood counting)

경정맥에서 채혈된 혈액은 EDTA/K2 채혈관으로 옮겨 15회 이상 혼합 30분 내에 실험실로 이송하였으며 IDEXX사의 ProCyte Dx Hematology Analyzer를 이용하여 전혈구 분석을 실시하였다.

정액 채취 및 정자의 검사

정액은 멸균된 인공질(artificial vagina)을 이용하여 채취하였으며 28~32°C로 조정된 보온병에 담아 10분 이내로 실험실로 이송하였다. 정자의 농도는 글리세롤과 난황이 포함되어 있지 않은 Tris-Citrate-Fructose 희석액(Triladyl/-)으로 희석하였으며 세포배양액 제조용 물을 이용하여 100 mL 당 TRIS 2.42 g, Citric acid 1.48 g 및 Fructose 1.0 g이 함유되도록 조제하였으며, penicillin/streptomycin 농축액($\times 100$)을 1 mL 투입하여 오염균의 증식을 억제하였다. 원 정액의 농도는 10 μ L 원정액을 Triladyl/- 희석액으로 적절히 희석하여 Makler counting chamber를 이용하여 20~40 $\times 10^6$ 개/mL 농도로 조정하고 3회 이상 측정 후 희석 배율을 고려하여 농도를 계산하였다.

정자의 기형을 조사

정자의 기형율을 조사하기 위하여 calcium/magnesium free PBS (PBS/-)로 10배 희석한 후 300 G에서 7분간 원심 분리하여 정자를 회수하였다. 회수된 정액 펠릿에 PBS/-로 10~20 $\times 10^6$ 개/mL 농도로 조정하고 2~4 μ L를 슬라이드 글라스 끝에 점적하고 다른 슬라이드 글라스를 접촉시켜 도말하였다. 도말된 슬라이드는 37°C로 가온된 슬라이드 건조대에서 공기 중에 1~2 h 노출시켜 건조하였으며, 완전히 건조된 슬라이드는 Diff Quik 염색 키트(Dade Behring inc. USA)을 활용하여 염색하였다. 먼저 키트의 고정제에 5~10초간 노출하였고 건조 후, Eosin염색 용액과 Thiazin 염색 용액에 연속적으로 5~10초간 노출하였으며 증류수에 1~2회 노출하여 과도한 염색을 제거하였다. 염색된 슬라이드는 상온에 보관하였으며 100배 오일 렌즈에서 관찰하였고 형태적 이상을 가진 정자와 정상적인 형태를 가진 정자를 한 시료 당 전체 정자가 200개 이상이 되도록 최소 4군데 이상에서 측정하였다. 균일한 결과가 얻을 수 있도록 훈련된 2~3명의 연구자가 동일한 시료를 관찰 및 비교하여 균일하고 반복성 있는 실험을 유지하였으며 기형율은 Barth와 Oko의 방법(1989)에 의하여 비정상성이 분류되었다.

통계 자료 분석

각 실험은 3~5회 반복 실시하였으며, 정자의 생존율에 대한 분석은 Student's *t*-test를 이용하여 실시하

였다. *P*값이 0.05보다 낮은 실험군은 통계적으로 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

결 과

PI 개체 출현율

가축유전자원센터에서 보유중인 희소한우 및 황우에 있어서 BVD 지속감염우를 탐색하기 위하여 총 253두 전체군의 BVDV 항체 및 항원 검사를 독립적으로 수행하였다. Table 1에서 암컷 211두 중에서 항체 반응은 전두수를 나타내었으며 항원 반응은 존재하지 않았으나, 수컷 41두에서 항체 양성율은 97.6%였으며 성숙 1두가 항체 음성 및 항원 양성반응을 보여 PI 개체로 판정하였다.

PI 개체의 혈액 분석(complete blood count) 및 체중 변화

PI로 판정된 개체의 혈액분석에 관한 자료는 Table 2에서 살펴볼 수 있다. 총 적혈구 농도(red blood cell count, RBC)는 8.12 $\times 10^6$ / μ L로 참고치의 일반 범주에 속하였으나, 적혈구용적률(hematocrit, HCT)는 41%로 높은 편에 속하였으며, 평균적혈구혈색소(mean corpuscular hemoglobin, MCH)는 16.9 pg, 평균적혈구색소농도(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC)는 33.4 g/dl로 약간 높게 나타났다. 적혈구 분포지수(red cell distribution width, RDW)는 정상범위에 속하였으나 백혈구수(white blood cell count, WBC)는 3.5 $\times 10^3$ / μ L로 정상범위에 속하나 낮은 편이었으며 호중구(neutrophil, NEU), 단구(monocyte, MON), 호산구(eosinophil, EOS) 및 호염기구(basophil, BASO) 세포수도 동일하였으나, 림프구(lymphocyte, LYM)의 경우 0.59 $\times 10^3$ / μ L 농도로 정상범위로 추정되는 1.2~

Table 1. Results of the BVDV antibody and BVDV PI bull detection

No. of tested		No. of antibody positive (%)		No. of PI (%)	
Female	Male	Female	Male	Female	Male
211	42	211 (100)	41 (97.6)	0 (0)	1 (2.4)
	253		252 (99.6)		1 (0.4)

10.62×10³/μL 수치 보다 낮은 세포수를 관찰할 수 있었다. 혈소판의 수도 195×10³/μL 농도로 낮은 편이었으며 혈소판 관련 수치인 평균혈소판용적(mean platelet volume, MPV)와 PWD는 낮았으며 혈소판용적률(platelet crit, PCT) 또한 낮은 경계치에 속하였다. PI 수컷의 성장을 추정하기 위하여 한우 수컷의 표준사양에 의한 성장곡선과 PI 개체의 체중 체중의 변화도를 Fig. 1에 표현하였다. 간략하여 수치화 하면, PI의

체중은 24개월에 240 kg, 34개월에 380 kg, 46개월은 395 kg, 56개월에서 362 kg로 변화하였다.

PI 개체의 정액 성상 및 농도의 변화

PI 개체에서 2011년에서 2013년까지 3년, 4년 및 5년 차 정액을 채취하고 정액의 부피, 농도, 신선 정액 생존율, 활력도 및 정자 기형율을 비교 분석하였다. Table 3에서 한우의 한 갈래로서 최소의 정액과 PI개체의 정액성상을 비교하였다. PI 개체는 나이가 들어갈수록 정액의 사출량은 3년차에는 5.5±1.1 mL에서 5년차에는 4.3±0.9 mL로 낮아졌으며 정자의 농도는 3년차에는 26±5.1×10⁶/mL에서 4년차에는 18.3±0.9×10⁶/mL 및 5년차에는 8.0±3.6×10⁶/mL로 유의적 차이를 관찰하였다 (*P*<0.05). 대조군의 정액농도인 456.7±80.2×10⁶/mL 농도에 비하여 매우 낮은 수치로 관찰되었으며 생존율 또한 대조군은 94.4±2.4 %로 나타났으며 PI개체는 3년차에 82.7±10.9%와 차이가 없었으나, 4년차에는

Table 2. Results of analysis of complete blood taken from the PI bull at age 4

Parameter (Unit)	Hematology results of	
	PI bull	Normal range
RBC (×10 ⁶ /μL)	8.12	4.47~9.35
HCT (%)	41*	22.5~39.9
HGB (g/dl)	13.7*	7.4~12.8
MCV (fl)	50.5	40.4~56.4
MCH (pg)	16.9	11.5~18.5
MCHC (g/dl)	33.4*	30.2~33.5
RDW (%)	27.7	20.0~35.9
% RETIC (%)	0	-
RETIC (×10 ³ /μL)	0.8	0.0~3.9
WBC (×10 ³ /μL)	3.5	2.71~17.76
NEU (%)	64.5	-
LYM (%)	16.9	-
MONO (%)	16.3	-
EOS (%)	2.3	-
BASO (%)	0	-
NEU (×10 ³ /μL)	2.26	0.68~6.94
LYM (×10 ³ /μL)	0.59*	1.20~10.62
MONO (×10 ³ /μL)	0.57	0.02~2.17
EOS (×10 ³ /μL)	0.08	0.01~1.23
BASO (×10 ³ /μL)	0	0.00~0.04
PLT (×10 ³ /μL)	195	147~663
MPV (fl)	6.4	5.8~8.2
PDW (fl)	7.8	6.0~10.1
PCT (%)	0.12*	0.12~0.42

*Marked value means out of normal range or on the threshold value that was provided by analyzer manufacturer.

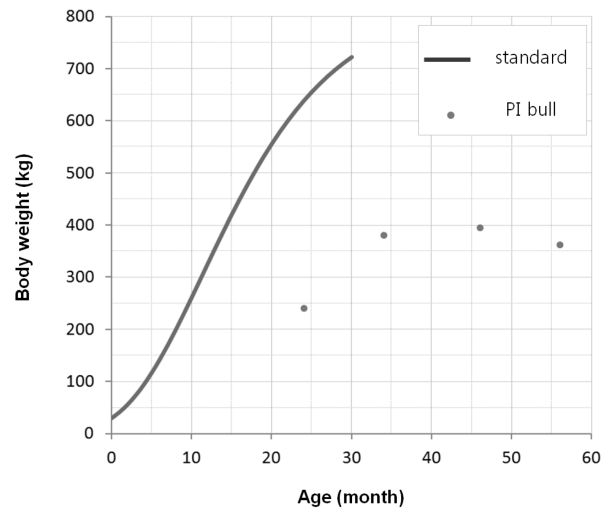


Fig. 1. Body weight changes of PI hanwoo bull.

Table 3. Semen characteristics of PI bull

Bull (year)	n	Volume (mL)	Concentration (×10 ⁶ /mL)	Viability (%)	Activity	Abnormality (%)
PI (3)	3	5.5±1.1 ^a	26.3±5.1 ^a	82.7±10.9 ^a	+++	17.2±5.9 ^{a,b}
PI (4)	3	5.9±1.7 ^a	18.3±3.5 ^b	60.5±4.6 ^a	++	28.6±7.6 ^b
PI (5)	3	4.3±0.9 ^b	8.0±3.6 ^b	26.6±7.5 ^b	++	21.7±2.1 ^b
CON (4)	3	7.2±1.1 ^a	456.7±80.2 ^c	94.4±2.4 ^c	++++	16.2±0.8 ^a

The ejaculates of control bull (CON) were prepared from 3 different bulls of Korean brindled cattle which were confirmed as antibody positive and antigen negative test results.

Different superscripts within the same column are significantly different (*P*<0.05).

Table 4. Sperm abnormalities of PI and KPN bull

Bull	Nor (%)	Abm (%)	Head defects (%)					Midpiece defects (%)				Tail defects (%)	
			Dh	Dss	Nv	Ad	Ect	Dmr	B	Dp	ect	Bt	Co
PI	71.0±0.7 ^a	29.6±10.3 ^a	5.2±0.8 ^a	3.2±1.1 ^a	4.1±1.8 ^a	1.3±0.2 ^a	2.3±1.0 ^a	5.6±2.0 ^a	0.9±0.3 ^a	3.7±0.3 ^a	2.1±1.8 ^a	0.4±0.6 ^a	0.2±0.3 ^a
CON	84.0±3.9 ^b	16.2±9.1 ^b	2.9±1.3 ^a	1.3±1.1 ^a	0.9±0.7 ^b	1.0±0.4 ^a	0.7±0.5 ^a	2.1±1.0 ^a	0.8±0.2 ^a	1.2±0.2 ^b	2.1±1.9 ^a	2.3±1.4 ^a	1.0±0.4 ^a
					16.2±3.5 ^a					12.2±2.0 ^a			0.5±0.9 ^a
					6.7±1.8 ^b					6.2±0.9 ^b			3.2±1.0 ^b

The spermatozoa of PI bull cattle showed various sperm abnormality (Dh: detached head, Dss: head-size defects, Nv: nuclear vacuoles, Ad: acrosome defect, Dmr: distal midpiece reflex, B: bowed midpiece, Dp: proximal or distal droplet, Bt: bent tail, Co: coiled tail). The frozen semen of Korean Proven Bull (KPN 757) was used as a control (CON).

Different superscripts within the same column are significantly different ($P < 0.05$).

60.5±4.6%로, 5년차에는 26.6±7.5%로 급격하게 낮아졌다($P < 0.05$). 육안으로 관찰한 정자의 운동성 또한 ++에서 +++정도로 판정하였으며 이는 정자의 활력 또한 정상 개체보다 육안으로 차이가 난다는 것을 의미한다. 정자 기형율도 동일한 경향으로 대조군은 16.2±0.8%로 비교적 낮게 관찰되었으나 4년차, 5년차에는 각각 28.6±7.6%, 21.7±2.1%로 유의적 차이가 존재하였다($P < 0.05$).

PI 개체의 정자 기형율

Table 4에서 정자 기형율을 정자의 두부, 중편부, 미부로 나누어 세밀하게 관찰하였으며 PI 개체에서 정자 기형율을 보증씨수소 KPN 757의 정자 기형율과 비교하였다. 4년차 PI 개체 정자는 정상비율이 71.0±0.7%로 대조군 84.0±3.9%보다 유의적으로 낮았으며 두부와 중편부의 기형율이 각각 16.2±3.5%와 12.2±2.0%로 대조군의 6.7±1.8%와 6.2±0.9%로 유의적으로 높게 나타났다($P < 0.05$). 그러나 미부 기형율은 대조군이 3.2±1.0%로 나타나 PI개체 0.5±0.9%로 높게 관찰되었다. PI개체 정자에서 두부의 경우 공포(Nv)가 많았으며, 중편부의 소적이 잔존한 정자(Dp)가 더 많이 관찰되었다.

고 찰

1940년대 북미 지역의 젖소에서 설사와 궤양을 일으키는 것으로 보고된 BVD는 비교적 초기에 알려졌으나 연구를 진행함에 따라 그 심각성이 점차 더 많이 보고된 질병이다. 특히 면역 관용상태 바이러스의 위험성이 보고되어, 실제 농장주는 손실을 입었고 현

재도 진행 중임에도 뚜렷한 임상적 증상 없이 번식 장애를 일으켜 숨어 있는 손실이 더 많은 것을 늦게 알아차리는 경우가 많다고 보고되었다(Houe 등, 2006; Bae 등, 2006; Cho 등, 2009; Walz 등, 2010). 북미와 유럽에서는 BVD에 의한 경제적 손실이 지대함을 인식하고 전국적인 질병 관리를 실시하여 백신프로그램의 활용과 동시에 PI의 도태를 실시하였으나, 우리나라는 2000년도 후반에 와서 그 전파의 실태가 보고되기 시작하였으며 2009년에 전국적인 감염율에 관한 보고가 존재한다(Cho 등, 2009). 또한 번식에 활용되고 있는 수컷의 감염 실태나 그 특성에 관한 보고는 찾아보기가 힘들다.

우리나라의 경우 한우의 증식은 95% 이상 동결 정액에 의하여 번식되기 때문에 수컷을 통한 바이러스의 전파 위험성은 더욱 더 중대하다고 판단된다. 더욱이 Givens 등(2009)에 따르면 1b형 BVDV는 정소에 감염성이 더 오랫동안 유지된다고 보고하였으며 이는 약 12개월에서 3년간 지속할 가능성이 있음을 입증하였으며 실제 수컷에게 인공적인 감염을 실시하고 번식에 활용한 결과 실제 감염된 개체는 탐색할 수 없었다고 보고하였다. 그럼에도 불구하고 수컷의 정소 감염은 지속적일수 있으며, 유출된 바이러스가 감염원으로 작용할 가능성이 낮을 것으로 추정되나 그 위험성을 완전히 배제하지는 못한다. 또한, PI 수컷의 정액을 활용한 체외수정에 관한 보고(Guerin 등, 1992)에 따르면, 체외수정 유래 배반포 생산율이 19.6%에서 2.1%로 낮아지는 것으로 보아 감염의 위험을 제외하더라도 경제적인 손실을 유도함은 분명한 것으로 판단된다. PI개체의 정액을 활용한 인공수정의 경우, 실제 암컷에게 감염을 일으키는 것으로 보고되었으며 후대에서 또한 PI개체가 생산된 보고(Meyling과 Jensen, 1988)가 있어 그 위험성은 더욱 크다고 판단

된다. 암컷의 경우, 홀스타인에 관한 자료를 살펴보면 첫 임신 암컷에서 BVD항체 양성인 경우와 음성인 경우를 비교하면 첫 인공수정일이 항체 양성군에서는 583일이며 음성인 경우 538일로 약 한달 반 정도의 차이가 있음을 보고하였고, 임신이 되지 않았던 미 임신상태를 유지하고 있었던 미경산우의 경우 항체 양성인 경우 689일, 항체 음성인 경우 530일로 보고되었다(Kale 등, 2006; Kale 등, 2011). 비록 암컷의 경우 임신 자체에 영향을 미치지 않는으나, 경제적 손실이 막대하다는 것을 보여주고 있으며 여기에서 DVDV 감염이 미치는 경제적 손실을 쉽게 알아차리지 못하는 특징을 살펴볼 수 있다.

본 연구에서는 가축유전자원센터에서 사육 중인 한우를 대상으로 PI 개체를 검사하였으며 그 출현율은 253두에서 1두로 0.4%로 나타났다. 이러한 수치는 Cho 등이 보고(2013)한 일반 농가의 수치 0.6%와 Bae 등이 보고(2006)한 0.7%보다 낮은 수치라고 판단되며, 이는 가축유전자원 보존되고 있는 생축의 안정성을 고려하여 정기적인 백신프로그램에 의한 효과라고 추정된다. 특히, PI개체가 약 2살을 전후하여 폐사한다는 점을 고려하면, 6살 까지 살아남은 PI성축에 관한 보고 예는 매우 드물다. 또한 PI 개체의 이력을 추적하면, 일반 농가에서 도입된 개체로 판정되었으며 4년간 개체 간 감염이 전혀 없는 경우인데 이 또한 전 두수 백신 처리에 의하여 안정성이 보장되었다고 판단된다. 그러므로 PI개체의 위험성은 보고된 바에 따라 치료가 불가능하나, 정기적인 BVD 백신 프로그램의 존재 여부가 매우 중요하다는 것을 간접적으로 증명하고 있다. PI개체의 전혈 검사에서도 적혈구 수치는 높게 측정되었으나, 백혈구 수치 중 임파구 수가 낮게 나타났으며 이는 혈액에 존재하는 BVDV가 임파구 손실을 유도하고 있음을 짐작할 수 있다. 더욱이 24개월령 체중은 표준체중에 비하여 무려 218 kg의 차이가 존재하였다. 그러므로, PI 수컷은 왜소증을 보이며 성숙이 완료되더라도 400 kg을 넘지 못하였다. 정액의 경우, 나이가 들수록 정액의 부피가 작아졌으며 특히 3살때의 정자 농도는 약 $26.3 \times 10^6/\text{mL}$ 로 동일한 연령의 숫소의 평균 농도인 $456 \times 10^6/\text{mL}$ 보다 매우 낮았으며 이러한 수치는 불임에 가까운 수치로 판단된다. 아마도 PI개체는 성성숙이 개시됨과 동시에 정소에 문제를 야기하는 것으로 추정되며 점차 정자 생산 능력과 생산된 정자의 생존율도 급속도로 저하되어 불임이 되는 것으로 판단된다. 생산된 정자의 경우에도 기형율이 30%에 가까웠

으며 종축으로 이용되는 정액의 16.2%에 비하여 유의적 차이가 존재한다. 정자의 두부에서 공포가 많이 나타났으며 중편부에 소적이 많은 것으로 보아 정자세포(spermatid)의 생성과정(spermatogenesis)뿐 아니라 정자형태형성과정(spermeogenesis)에서도 문제를 야기하고 있음을 판단할 수 있다. 그러나 정자의 기형율의 변이보다 정자수의 감소현상이 더욱 심하게 나타나는 현상을 보면, PI개체 정소에서는 정원세포의 증식시기에 정자세포수가 충분히 만들어지지 않는 현상이 점차 강화되고 있음을 알 수 있다. 그러므로 PI개체는 정자 생산에 문제가 있으며, 체중이 작은 특징이 한우에서 나타나며, 전 두수를 BVD항체 항원 반응도를 조사한 결과에 따르면 PI에 의한 BVD전파는 존재하지 않는 것으로 판단되었다. 이는 가축 관리에 있어 지속적인 백신프로그램 실행되고 있는 상태에서 BVD감염을 방어할 수 있는 충분한 역가가 전 두수에서 유지되었기 때문이라고 판단된다. Givens 등에 따르면(2009), 번식으로 활용하는 수컷의 경우 BVD cytopathic strain에 노출되어야 정소의 지속적인 감염을 방지할 수 있어 나이가 들더라도 안전하다고 보고되었으며, 번식에 이용되기 최소 30일 이전에 백신 처리를 하여야 안정성을 보장할 수 있음을 강조하였다. 본 연구 결과에 따르면, PI 수컷은 체중이 작으며, 정자의 성상이 나빠지며 변이가 심하다는 것을 알 수 있었다. 또한 PI 수컷의 존재는 번식에 이용할 경우 암컷의 감염을 유도하며 농장 내 지속적인 감염으로 인하여 유량의 감소, 수태율의 감소, 설사 등을 유발하여 농장의 생산선을 저하한다고 보고되었으나, 적절한 백신 프로그램이 실행되는 경우 간접적인 BVDV 확산을 방지할 수 있음을 보여 주고 있다.

적 요

소에 있어서 BVDV는 반추류에서 중대한 감염을 야기하여 번식장애, 설사 및 유량감소를 야기하여 농가에 막대한 피해를 야기하고 있다. 특히 지속감염우의 확인과 도태는 농가 내 감염원을 제거하는 중요한 일이나 아직까지 PI개체의 바이러스의 감염과 전파에 관한 연구는 미진한 것으로 추정된다. 본 연구에서는 도입된 수컷에서 PI를 확인하였으며 전혈 검사를 실시 하면, PI 혈액 성상에서 림프구가 낮게 관찰되며 전체 WBC의 수는 정상범위에 속하나 낮게 나타나는 것을 알 수 있었다. PI 수컷에서 생산된 정액

은 정자 수가 매우 낮으며, 신선 정액의 생존성도 불량한 것으로 조사되었다. 정자 기형을 또한 증가되었으며 특히 공포와 중편부의 소적을 가진 기형정자의 비율이 높았다. PI수컷은 나이가 들수록 정액 성상이 불량하여 불임화되었고 이는 BVDV가 정소의 정자 생산능력을 낮추어 사출된 정액내 정자수 감소 현상을 야기한다는 것을 알 수 있었다. 그럼에도 불구하고 확인된 PI 개체에 의한 전체군의 감염 현상은 관찰할 수 없었는데, 이는 적절한 백신 프로그램에 의하여 PI에 의한 간접적인 전파의 위험성이 낮다고 판단된다.

사 사

본 연구는 2017년도 농촌진흥청 연구사업(세부과제명: 정액의 성조절 기술개발을 통한 희소한우 조기 증식 과제번호: PJ010967012017)과 2017년도 농촌진흥청 국립축산과학원 전문연구원 연수과정지원사업에 의하여 수행되었습니다.

REFERENCES

- Bae YC, Kim HY, Park JW, Yoon SS, Woo GH, Lee OS, Kang MI. 2007. Prevalence for persistent infection with bovine viral diarrhea virus in Korean native calves. *Korean J Vet Res* 47: 163-167.
- Baker JC. 1995. The clinical manifestation of bovine viral diarrhea infection. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 11: 425-445.
- Barth AD, Oko R. 1989. *Abnormal Morphology of Bovine Spermatozoa*. Iowa State University Press, Ames. P285 (Book).
- Bielefeldt-Ohmann H. 1988. BVD virus antigens in tissues of persistently viraemic, clinically normal cattle: implication for the pathogenesis of clinically fatal disease. *Acta Vet Scand* 29: 77-84.
- Brock KV, Grooms DL, Ridpath J, Bolin SR. 1998. Changes in levels of viremia in cattle persistently infected with bovine viral diarrhea virus. *J Vet Diagn Invest* 10: 22-26.
- Brownlie J, Clarke MC, Howard CJ, Pocock DH. 1987. Pathogenesis and epidemiology of bovine virus diarrhoea virus infection of cattle. *Ann Rech Vet* 18: 157-166.
- Cho JS, Kim GD, Park HJ, Lin YS, Hong SH, Seo CW, Ryu HJ, Sin RJ. 2013. Prevalence for persistently infected cattle with bovine viral diarrhea virus in Korea. *Korean J Vet Serv* 36: 105-110.
- Givens MD, Riddell KP, Edmondson MA, Walz PH, Gard JA, Zhang Y, Galik PK, Brodersen BW, Carson RL, Stringfellow DA. 2009. Epidemiology of prolonged testicular infections with bovine viral diarrhea virus. *Vet Microbiol* 139: 42-51.
- Guerin B, Chaffaux S, Marquant Le Guienne B, Allietta M, Thibier M. 1992. IVF and IV culture of bovine embryos using semen from a bull persistently infected with bvd. *Theriogenology* 37: 217 (Abstr).
- Houe H. 1999. Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) infections. *Vet Microbiol* 64: 89-107.
- Houe H, Lindberg A, Moennig V. 2006. Test strategies in bovine viral diarrhea virus control and eradication campaigns in Europe. *J Vet Diagn Invest* 18: 427-436.
- Kale M, Ata A, Yavru S, Yapkiç O, Bulut O, Gulay MS. 2006. The effect of infection with bovine viral diarrhea virus on the fertility of cows and heifers. *Acta Vet* 56: 467-477.
- Kale M, Yavru S, Ata Aa, Lu MK, Yapıcı O, Lu SH. 2011. Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) Infection in Relation to Fertility in Heifers. *J Vet Med Sci* 73: 331-336.
- Kirkland PD, Richards SG, Rothwell JT, Stanley DF. 1991. Replication of bovine viral diarrhoea virus in the bovine reproductive tract and excretion of virus in semen during acute and chronic infections. *Vet Rec* 128: 587-590.
- Kommisrud E, Vatn T, Lang-Ree JR, Løken T. 1996. Bovine virus diarrhoea virus in semen from acutely infected bulls. *Acta Vet Scand* 37: 41-47.
- Laureyns J, Pardon B, Letellier C, Deprez P. 2011. Periparturient infection with bovine viral diarrhea virus type 1 causes hemorrhagic proctocolitis in a cow. *Can Vet J* 52: 1135-1139.
- Lindberg A, Alenius S. 1999. Principles for eradication of bovine viral diarrhea virus (BVDV) infections in cattle populations. *Vet Microbiol* 64: 197-222.
- McGowan MR, Kirkland PD. 1995. Early reproductive loss due to bovine pestivirus infection. *Br Vet J* 151: 263-270.
- Meyling A, Jensen AM. 1988. Transmission of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) by artificial insemination (AI) with semen from a persistently-infected bull. *Vet Microbiol* 17: 97-105.
- Murphy FA, Gibbs EPJ, Horzinek MC, Studdert MJ. 1999. *Flaviviridae*. In: *Veterinary Virology*, Academic Press, Boston, pp. 555-569.
- Sandvik T, Krogsrud J. 1995. Evaluation of an antigen-capture ELISA for detection of bovine viral diarrhea virus in cattle blood samples. *J Vet Diagn Invest* 7: 65-71.
- Taylor LF, Van Donkersgoed J, Dubovi EJ, Harland RJ, van den Hurk JV, Ribble CS, Janzen ED. 1995. The prevalence of bovine viral diarrhea virus infection in a population of feedlot calves in western Canada. *Can J Vet Res* 59: 87-93.
- Walz PH, Givens MD, Cochran A, Navarre CB. 2008. Effect of dexamethasone administration on bulls with a localized

- testicular infection with bovine viral diarrhea virus. Can J Vet Res 72: 56-62.
- Walz PH, Grooms DL, Passler T, Ridpath JF, Tremblay R, Step DL, Callan RJ, Givens MD. 2010. Control of bovine viral diarrhea virus in ruminants. J Vet Intern Med 24: 476-486.