



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)



석사학위논문

최근 제주도의 돼지유행성설사  
발생 상황과 병리학적 고찰

제주대학교 대학원

수의학과

김 현 주

2016년 2월

# 최근 제주도의 돼지유행성설사 발생 상황과 병리학적 고찰

지도교수 김 재 훈

김 현 주

이 논문을 수의학 석사학위 논문으로 제출함.

2015년 12월

김현주의 수의학 석사학위 논문을 인준함

심사위원장

인 윤규



위 원

한 정희



위 원

김 재 훈



제주대학교 대학원

2015년 12월



# Prevalence and Pathologic Study of Porcine Epidemic Diarrhea in Jeju

Hyeon-Ju Kim

(Supervised by professor Jae-Hoon Kim)

Department of Veterinary Medicine

Graduate School, Jeju National University, Jeju, Korea

## Abstract

After the last outbreak of porcine epidemic diarrhea (PED) recorded in March 2004 in Jeju, there were no official reports for this disease for 10 years. The purpose of this study was to investigate the prevalence of PED and the pathologic studies for piglets with PEDV in Jeju. To clarify the distribution of porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) antigens in intestines of piglets by immunohistochemistry (IHC) and the presence of PEDV in feces by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). Also, we performed genetic analysis for spike gene of 12 PEDV strains isolated from piglets based on RT-PCR, cloning and sequencing. And phylogenetic tree was made for these PEDV strains.

A total of 153 pigs from 52 farms were referred to Jeju Special Self-Governing Provincial Veterinary Research Institute from April 2014 to September 2015. Based on histopathologic examinations and the results of IHC and RT-PCR, 153 piglets were diagnosed as PED. Major cases of PED were focused in suckling pigs (144 piglets, 94.1%), especially in 1~7 day-old

piglets. Although PED occurred throughout the year in Jeju, it explosively occurred in the reemerged period from April to May 2014 and increased in winter season. Outbreaks of PED was confirmed in 52 pig farms in Jeju. Seventeen pig farms (32.7%) referred twice and more times for the diagnosis of PED. Histopathologically, severe villous atrophy was observed in small intestine of piglets, especially in jejunum and ileum. Mean villous height to crypt depth ratio of jejunum and ileum were measured at 1.4:1 and 1.5:1, respectively. The major histopathologic findings in small intestine were cytoplasmic vacuolation, cuboidalization, squamation, exfoliation of mucosal enterocytes in villi. The cytoplasmic vacuolations in enterocytes were most prevalent lesions in small intestine, and were more severe in ileum than in jejunum. According to IHC methods, PEDV antigens were presented in the cytoplasm of enterocytes, and were more prevalently distributed in ileum than in jejunum. PEDV antigens were also detected in 29 colon (21.3%) of piglets. Sequence comparison and phylogenetic analysis indicated that 12 PEDV had more than 98.9% homology with each other. These PEDV strains were highly homologous with the genogroup 2 North American group.

---

Key words : porcine epidemic diarrhea, pig, immunohistochemistry, Sequence analysis, S gene

# 목 차

I. 서	론	-----	1
II. 재료 및 방법		-----	3
III. 결	과	-----	12
IV. 고	찰	-----	31
V. 결	론	-----	38
VI. 참 고 문 헌		-----	44
초	록	-----	49

## I. 서 론

돼지에서 장염을 유발하는 주요 바이러스에는 돼지전염성위장염바이러스(transmissible gastroenteritis virus; TGEV), 돼지유행성설사바이러스(porcine epidemic diarrhea virus; PEDV) 및 로타바이러스(rotavirus) 등이 있다 [24]. 이 중 특히 PEDV는 포유자돈에서 성돈에 이르기까지 거의 전 연령에 감염되어 설사를 유발하기 때문에 양돈 농가에 큰 피해를 주고 있다 [20]. 이 바이러스에 의해 발생하는 돼지유행성설사(porcine epidemic diarrhea; PED)는 매우 전염성이 강하며, 특히 포유자돈에서 치명적인 수양성 설사와 함께 심한 탈수를 일으켜 높은 폐사율을 나타내는 질병이다. 이 질병은 최근까지 아시아, 유럽, 북미 등지에서 지속적으로 발생하고 있으며, 급속한 전파로 인하여 양돈 산업에 막대한 경제적 손실을 야기하고 있다 [11, 20, 21].

PEDV는 *Nidovirales*목 *Coronaviridae*과 *Alphacoronavirus*속에 속하는 외피를 가지는 단일가닥의 RNA 바이러스로서 원형이며 외곽에 왕관모양으로 다수의 스파이크를 가지는 것이 특징이다 [17, 22]. PEDV는 TGEV와 같은 coronavirus이지만 서로 항원성이 상이하다. PED는 1971년 영국에서 최초로 발생하여 포유자돈을 제외한 육성 비육돈에서 급성 설사증을 나타내어 기존에 알려져 있는 TGE와 매우 유사한 증상을 나타내었다 [18]. 이 후 다른 유럽 국가들로 전파되어 이 질병을 epidemic viral diarrhea (EVD)로 명명되었다. 그 후 1976년 영국에서 포유자돈을 포함한 모든 연령층의 돼지에서 TGE와 같은 급성 설사증이 발생하였다 [29]. 이러한 두 번의 설사증 발생 돼지에서 TGEV와 기타 장병원성 원인체는 검출되지 않았으며, 두 질병을 구분하기 위하여 1971년 발생한 설사증은 EVD 1형으로, 포유자돈 설사증이 동반된 1976년 발생 설사증은 EVD 2형으로 명명하였다. 이 후 EVD 2형 발생돼지에서 코로나바이러스 유사 병원체가 분리되었고, 이 바이러스가 EVD 1형 발생에도 관여하였던 점이 밝혀져 이 설사병을 PED로 명명할 것을 제안하였으며, 현재까지 전 세계적으로 통용되고 있다 [20].

아시아에서는 일본에서 1983년 발생 보고가 있었으며 [26], 국내에서는 1992년 설사



증상을 보이는 자돈으로부터 PEDV를 처음으로 분리하였다 [2]. 수의과학연구소의 보고에 따르면, 1992년 1월부터 1993년 12월까지 의뢰된 71건의 바이러스성 설사 예 중 56.3%가 PED로 진단되었으며, 그 중 90% 정도가 10일령 이하의 포유자돈에 집중되어 있었다 [8]. 그 이후에는 전국적으로 확산되어 지속적으로 발생하였으나 2011~2012년 사이에는 다소 소강상태를 나타내었다. 그러나 2013년부터 한국 내륙지역 양돈 농가에서 PED가 재발하여 빠르게 확산되어 돼지 사육농가에 큰 피해를 주고 있다 [14, 15]. 제주에서는 2004년 3월 PED가 마지막으로 발생한 후 약 10년간 없었으나, 2014년 4월부터 다시 발생하여 현재까지 양돈 산업에 큰 경제적 피해를 주고 있는 실정이다.

따라서, 본 연구는 2014년부터 최근까지 제주지역에서 PED 발생 상황을 분석하고, PEDV에 감염된 돼지에 대한 병리학적 검사와 함께 분리된 바이러스에 대한 유전학적 분석을 실시하였다. 또한 중국과 미국에서 발생하였던 PEDV와 제주지역 PEDV의 유전형을 비교하고자 하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 공시재료 및 PED 발생현황 조사

공시동물은 2014년 4월부터 2015년 9월까지 제주도내 양돈 농가 52호에서 72회에 걸쳐 제주특별자치도 동물위생시험소에 병성감정 의뢰된 돼지 153마리를 대상으로 하였다. 의뢰된 돼지에 대한 임상증상 관찰, 병리해부학적 검사, 병리조직학적 검사, 장 조직 내 PEDV 항원을 검출하기 위한 면역조직화학염색 (immunohistochemistry; IHC)과 함께 대장에서 채취한 분변에 대한 역전사 중합효소연쇄 반응(reverse transcription polymerase chain reaction; RT-PCR) 검사를 실시하였다. 또한 검출된 12주의 PEDV에 대한 유전학적 검사도 수행하였다.

농가에서 의뢰된 돼지에 대한 PED 진단은 RT-PCR 검사와 IHC 결과를 종합하여 최종 확진하였다. PED로 진단된 예를 연령별, 계절별 및 지역별로 구분하여 발생 상황을 분석하였다.

### 2. 육안검사

동물위생시험소에 의뢰된 돼지에 대하여 임상증상을 확인하고, 외관 검사 후 일반적인 부검술식에 따라서 내부장기의 병변을 관찰하였다. 특히 위장관을 포함한 소화기계의 변화상을 면밀히 관찰하였다. 의뢰된 돼지의 육안 병변 발생 빈도를 포유 연령에 따라 4일령 미만, 4일 이상 7일 이하, 8일 이상으로 세분하여 비교하였다.

### 3. 병리조직학적 검사

돼지 부검 시 주요 내부 실질 장기를 채취하였다. 특히, 소화기계는 위, 소장(십이지장, 공장 및 회장), 대장(맹장 및 결장)을 구분하여 채취하였으며, 채취한 시료는 10% 중성완충포르말린에 고정하여 일반적인 조직처리 방법에 따라 파라핀 포매하여 3~4  $\mu\text{m}$  두께로 절편을 제작한 다음 hematoxylin and eosin (H&E) 염색을 실시하여 광학현미경으로 검경하였다.

병리조직학적 검사가 수행된 총 153마리의 돼지 중 사후변화와 인위적 손상(artifact)이 수반되지 않은 124마리의 소장 조직에서 용모의 위축 정도를 수치화하기 위하여 용모의 높이(villous height; VH)와 음와의 깊이(crypt depth; CD)를 비교하였다. 특히 소화기에 감염되는 바이러스의 주요 공격대상인 공장과 회장에 대하여 광학현미경을 사용하여 40배 시야에서 장기별로 각각 무작위로 10개 부위를 측정하여 평균치 및 표준편차를 산출하였으며, 이를 토대로 용모 높이: 음와 깊이의 비율(VH:CD ratio)을 산정하였다. 또한 바이러스 감염으로 인해 손상 받은 용모가 서로 융합(fusion)하는 정도를 세분하여 분류하였다. 공장 및 회장을 광학현미경으로 관찰하였을 때, 100배 시야에서 용모 융합(fusion)의 정도가 10% 미만일 경우 focal (G1), 10~49%인 경우 multifocal (G2), 50% 이상은 diffuse (G3)로 구분하였다(Table 1).

사후변화와 인위적 상피 탈락이 동반되어 있지 않은 개체를 선별하여 바이러스 감염으로 인한 소장 상피세포의 형태학적 변화를 관찰하였다. 총 153마리 중 126마리의 공장과 120마리의 회장을 대상으로 소장 점막을 피복하고 있는 상피세포의 변화상을 좀 더 면밀히 관찰하고 세분하여 기록하였다. 광학현미경 100배 또는 200배 시야에서 용모 상피세포의 탈락(exfoliation), 편평화(squamation) 및 세포질의 공포화(vacuolation)의 정도에 따라 10% 미만인 경우 focal (G1), 10~49%인 경우 multifocal (G2), 50% 이상 diffuse (G3)로 구분하였다(Table 1).

병리조직학적 병변도 육안 병변과 마찬가지로 돼지의 연령에 따라 4일령 미만, 4일 이상 7일 이하, 8일 이상으로 세분하여 발생 빈도를 비교하였다.

Table 1. Histopathologic grade for the lesions of small intestine

Lesions	Grade		
	G1	G2	G3
Fusion of villi / Exfoliation, squamation and vacuolation of mucosal enterocytes	Focal  < 10%	Multifocal  10-49%	Diffuse  ≥ 50%

#### 4. IHC 검사

의뢰된 돼지 시료 중 심한 사후변화가 진행된 것을 제외하고 136마리의 공장, 127마리의 회장 및 136마리의 결장에서 PEDV 항원의 분포를 확인하기 위하여 EnVision™ peroxidase-conjugated polymer reagent (Dako, Denmark)를 이용하여 IHC를 수행하였다. 파라핀 조직을 4~5  $\mu\text{m}$  두께로 박절하여 silane coating micro slides glass에 부착하고 탈파라핀 및 합수과정을 거쳤다. 조직 내 자연적으로 존재하는 peroxidase를 제거하기 위해 3%  $\text{H}_2\text{O}_2$ 가 첨가된 phosphate buffered saline (PBS, pH 7.2)에 10분간 반응하고, 3차 증류수로 5분간 2회 수세하였으며, 항원성의 부활을 위해 citrate buffer solution으로 97°C에서 60분간 반응하였다. 조직 내 바이러스 항원을 확인하기 위한 1차 항체로는 mouse monoclonal anti-PEDV antibody (Median Diagnostics, Korea)를 1:500배로 희석한 다음 조직절편에 적하하여 37°C에서 1시간 또는 4°C에서 12시간 반응하였다. 2차 항체로 EnVision™/HRP, rabbit/mouse (EVN) reagent (Dako, Denmark)를 슬라이드에 적하하여 37°C에서 40분간 반응하였다. Citrate buffer solution 반응 이후 각 단계별로 반응 후에는 PBS로 5분씩 2회에 걸쳐 수세하였다. 모든 반응이 끝난 절편은 3, 3'-diamino-benzidine tetrahydrochloride (DAB; Dako, Denmark)로 40초~1분간 발색시킨 후, 3차 증류수로 세척하여 반응을 종결하였다. 대조염색은 Mayer's hematoxylin (Sigma, USA)으로 37°C에서 10분간 염색하였으며, 탈수와 투명과정을 거쳐 봉입하였다.

면역염색이 끝난 조직 슬라이드는 광학현미경으로 관찰하여 PEDV 항원의 분포를 확인하였다. 특히 조직 내 PEDV 항원의 발현정도를 알아보기 위하여 기존의 보고를 토대로 3단계(expression grade; EG)의 항원 분포 정도로 평가하였다 [3, 4]. 광학현미경 200배 시야에서 공장, 회장 및 결장 점막 상피세포에서 PEDV 항원이 전체 상피세포의 10% 미만에서 국소적으로 발현되는 경우는 focal (EG1), 10~49%에서 다병소성으로 분포하는 경우 multifocal (EG2), 50% 이상의 미만성 분포를 가지는 경우 diffuse (EG3)로 구분하였다(Table 2).

Table 2. Grade of the expression of porcine epidemic diarrhea viral antigens in intestinal mucosal enterocytes using immunohistochemistry

	Grade		
	EG1	EG2	EG3
Distribution of PEDV	Focal	Multifocal	Diffuse
Area of antigen expression in mucosal enterocytes	< 10%	10-49%	≥ 50%

## 5. 병원체 검사

### 1) 검사시료의 RNA 추출

설사 유발 병원체를 검사하기 위하여 총 153두의 돼지 대장에서 무균적으로 분변을 채취하여  $-70^{\circ}\text{C}$  냉동고에 보관하여 바이러스 검사에 활용하였다. RNA 바이러스인 PEDV 및 TGEV에 대한 RT-PCR을 실시하였다. 유전자 검사를 위하여  $-70^{\circ}\text{C}$ 에 냉동 보관된 153마리의 분변시료를 DNase RNase free distilled water (Invitrogen, USA)와 1:10 비율로 혼합하여 상층액을 이용하였다. RNA 추출은 RNeasy<sup>®</sup> Mini kit (QIAGEN, GmbH, Germany)를 이용하여 제조사가 제시한 실험방법에 준하여 실시하였다. 1.5 ml effendorf tube에 분변 상층액 150  $\mu\text{l}$ 와 RLT buffer 300  $\mu\text{l}$ 를 넣고 70% ethanol 300  $\mu\text{l}$ 을 첨가 후 혼합하였다. Mini column에 750  $\mu\text{l}$ 의 반응액을 넣고  $4^{\circ}\text{C}$ , 12,000 rpm에서 1분간 원심분리 하였다. Collecting tube내 용액을 제거하고 column에 RW1 buffer 680  $\mu\text{l}$ 을 분주한 후  $4^{\circ}\text{C}$ , 12,000 rpm에서 다시 1분간 원심분리 하였다. Column을 새로운 collecting tube에 넣고 RPE buffer 500  $\mu\text{l}$  분주 후  $4^{\circ}\text{C}$ , 12,000 rpm에서 다시 2분간 원심분리 하였다. Collecting tube내의 용액을 버리고 다시 RPE buffer 500  $\mu\text{l}$  분주 후  $4^{\circ}\text{C}$ , 12,000 rpm에서 다시 2분간 원심분리 하였다. Column에 용액이 남지 않도록  $4^{\circ}\text{C}$ , 12,000 rpm에서 1분간 원심분리 후 column을 새로운 1.5 ml effendorf tube에 넣고 Dnase RNase free water를 50  $\mu\text{l}$  분주하여  $4^{\circ}\text{C}$ , 12,000 rpm에서 1분간 원심분리 하여 최종 추출물을 RT-PCR 검사에 이용하였다.

### 2) RT-PCR 반응 조건

RT-PCR은 PEDV 및 TGEV를 검출하기 위한 primer가 함유되어 있는 제품화된 premix인 *i*-TGEV/PEDV detection Kit (Intronbiotechnology, Korea)에 추출한 RNA 2  $\mu\text{l}$  및 DNase RNase free distilled water (Invitrogen, USA) 18  $\mu\text{l}$ 를 분주하였다. 반응 조건은 reverse transcription 단계는  $45^{\circ}\text{C}$ 에서

30분, Pre-denaturation은 94℃에서 5분, cycle reactions 단계는 94℃에서 20초, 55℃에서 30초, 72℃에서 50초간 40회 반복하고 최종 72℃에서 5분간 반응하였다.

### 3) RT-PCR 증폭산물의 확인

반응 종료 후, 각각의 반응액 8  $\mu$ l씩을 1.5% agarose gel 상에서 전기영동을 실시한 다음 RedSafe™ Nucleic Acid Staining Solution (Intronbiotechnology, Korea) 용액(0.5  $\mu$ l/ml in DW)으로 염색하였다. UV transilluminator로 각각의 유전자에 대한 특이적인 밴드 유무를 확인하였다. 증폭산물의 크기를 확인하기 위하여 100 bp DNA ladder (Bioneer, Korea)를 molecular size marker로 사용하였다. 제조사에서 제시한 PEDV 및 TGEV의 RT-PCR 증폭산물의 크기는 각각 525 bp 및 755 bp이다.



## 6. PEDV의 유전학적 검사

제주도 돼지 시료에서 검출된 PEDV 중 12주(2014년 8주; KOR/JJ-1~8/2014, 2015년 4주; KOR/JJ-1~4/2015)에 대한 유전학적 검사를 실시하였다. PEDV spike (S) 유전자 검출을 위한 primer는 Chen 등 [10]의 방법에 따라 제작하였다(Table 3). PEDV RNA는 설사분변이나 소장조직으로부터 TRIzol LS를 이용하여 추출하였다. RT-PCR은 reverse transcription 단계는 50℃에서 30분, pre-cycle heating 단계는 95℃에서 5분, cycle reactions 단계는 94℃에서 30초, 52℃에서 2분30초, 72℃에서 1분30초간 35cycles을 수행한 후 증폭된 산물을 pGEM-T vector system II (Promega, Cat. No. A3610, USA)를 이용하여 클로닝하였다.

Table 3. Oligonucleotide primers sets for the spike gene of porcine epidemic diarrhea virus (Chen Q *et al.*, 2014)

Primer name	Sequence (5'→3')	Primer location	Products (bp)
PEDV-S1F	GTGGCTTTTCTAATCATTTGGTC	20,604-23,103	2,499
PEDV-S1R	CTGGGTGAGTAATTGTTTACAACG		
PEDV-S2F	GGCCAAGTCAAGATTGCACC	22,936-24,886	1,950
PEDV-S2R	AGCTCCAACCTCTTGGACAGC		

PEDV 유전자를 분석하기 위하여 클로닝된 유전자를 T7과 SP6 sequencing primer를 이용하여 마크로젠 회사(Macrogen Co., Ltd.)에 ABI Prism<sup>®</sup>3730xi DNA Sequencer로 유전자 염기서열을 판독하였으며, 판독된 S 유전자들을 나열하기 위해 CLUSTALX alignment program과 BIOEDIT 7.053 program을 사용하여 분석하였다.

이후, 유전자 검사결과를 토대로 계통학적 트리를 만들기 위해 Mega 6.0 프로그램 내에 들어있는 Neighbor-joining method를 사용하였다 [13].

### Ⅲ. 결 과

#### 1. 제주도내 PED 진단현황

제주특별자치도 동물위생시험소로 2014년 4월부터 2015년 9월까지 병성감정 의뢰되어 PED로 진단된 예는 총 153마리로 확인되었다. 확진된 돼지를 연령별로 살펴보면, 4일령 미만의 돼지가 101마리(66.0%)로 가장 많은 발생 빈도를 보였으며, 4~7일령이 43마리(28.1%), 8일령 이상이 9마리(5.9%)의 순으로 확인되었다(Table 4). 이 중, 8일령 이상의 돼지는 9일령 2마리, 10일령, 14일령, 15일령, 및 17일령이 각각 1마리, 21령 3마리로 구분되었다.

Table 4. Prevalence of porcine epidemic diarrhea in Jeju according to pig ages

Ages (days)	< 4	4 ~ 7	≥ 8	Total
Number of pigs	101	43	9	153
(%)	(66.0)	(28.1)	(5.9)	(100)

제주특별자치도 가축통계조사 자료에 따르면, 2014년 현재까지 제주도내 전체 양돈 농가수는 304호이며 행정시 별로는 제주시 214호, 서귀포시 90호로 나타나 있다. 특히 PED가 발생한 지역인 서부 지역의 양돈 농가는 한림읍 137호, 대정읍 36호 및 한경면 24호로 알려져 있다. PED로 진단된 양돈 농가는 총 304호 중 52호로 약 17.1%에 달하고 있었다(Table 5). 질병 발생 농가를 지역별로 구분하여 보면, 제주시 19.6%(42/214), 서귀포시 11.1%(10/90)로 나타나 제주시에서의 PED 발생이 비교적 높은 것으로 확인되었다. PED 발생 농가를 읍·면별로 세분하여 살펴보았을 때, PED 발생은 제주도의 서부지역인 한림읍 29.9%(41/137), 대정읍 27.8%(10/36), 한경면 4.2%(1/24)에 국한되어 발생하고 있었다(Fig. 1).

Table 5. Prevalence of porcine epidemic diarrhea in Jeju

	City		Total
	Jeju-si	Seogwipo-si	
Number of pig farms	214	90	304
Number of farms with PED (%)	42 (19.6)	10 (11.1)	52 (17.1)

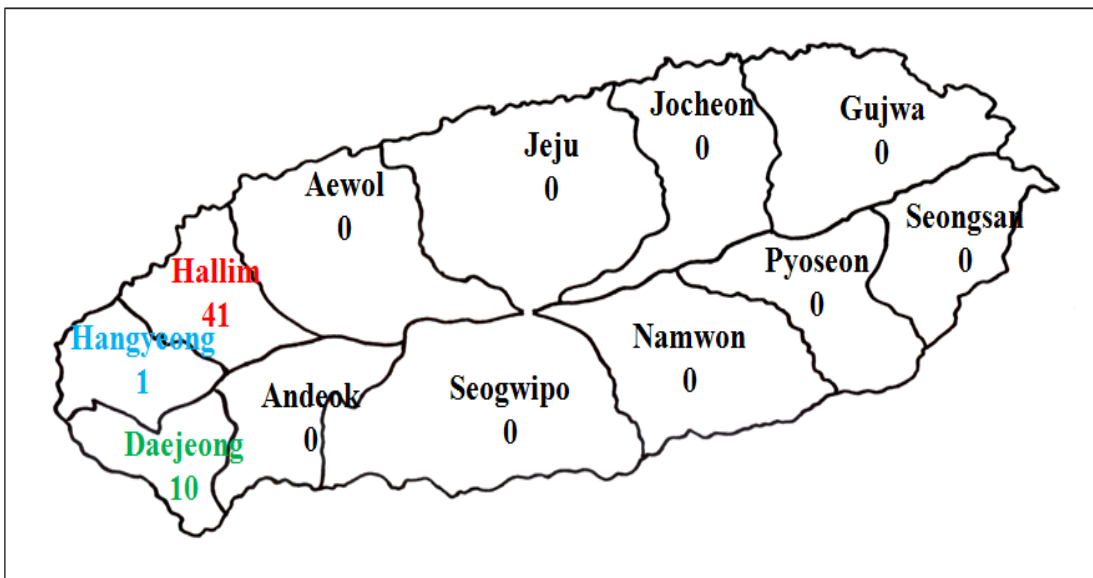


Fig. 1. Regional prevalence of porcine epidemic diarrhea in Jeju from April 2014 to September 2015.

검사 기간 동안 동일한 농장에서 여러 차례 검사 의뢰된 농가를 포함하여 PED로 진단된 예는 총 72건(15마리) 이었다(Fig. 2). 이를 월별로 세분하여 PED 발생을 분석한 결과 2014년 4월 13건(18.1%), 5월 14건(19.4%), 6월과 7월이 각각 1건(1.4%), 8월 3건(4.2%), 9월 4건(5.6%), 10월 1건(1.4%), 11월과 12월 2건(2.8%), 2015년 1월 9건(12.5%), 2월 5건(6.9%), 3월 6건(8.3%), 4월 1건(1.4%), 5월 3건(4.2%), 6월과 7월 1건(1.4%), 9월 5건(6.9%)으로 나타났다. 따라서 제주도 내 최초 재발생 시점인 2014년 4월과 5월에 폭발적인 발생을 보이다가 하절기에 소강상태로 접어들다가 이후 동절기에 들어서면서 다시 발생이 증가하는 양상을 보이고 있었다.

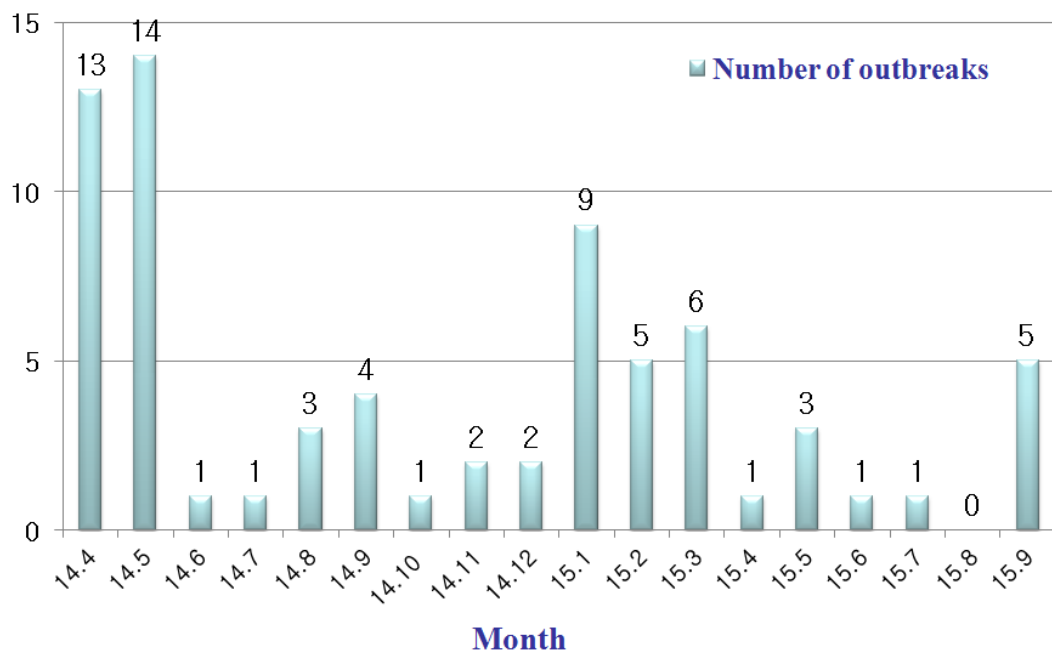


Fig. 2. Monthly outbreaks for the cases of porcine epidemic diarrhea in Jeju from 2014 to 2015.

제주도 내에서 PED가 발생한 양돈농가는 총 52호이며, 일부 양돈 농가에서는 여러 차례에 걸쳐 검사가 의뢰되었다. 검사 의뢰하여 PED로 확진된 상황을 양돈 농가별로 분석한 결과 1회 검사 의뢰 농가는 35농가(67.3%)였으며 2회, 3회 및 4회 의뢰 농가는 각각 15농가(28.8%), 1농가(1.9%) 및 1농가(1.9%)로 나타났다(Table 6).

Table 6. Confirmed cases of porcine epidemic diarrhea according to pig farms in Jeju

	Number of confirmed case (times of request)				Total
	1	2	3	4	
Number of farms	35	15	1	1	52
%	67.3	28.8	1.9	1.9	100

## 2. 육안검사 결과

검사 의뢰되어 PED로 확진된 돼지의 경우 현저하게 위축되어 늑골이 노출되어 있었으며(Fig. 5), 일부 개체는 안구가 함몰되어 있었다. 항문 주위 피부에는 담황색 또는 황색의 수양성 변내용물이 부착되어 있었다(Fig. 6). 위내에는 소화되지 않은 유백색의 응유가 다량 들어 있었다. 소장은 담색조로 퇴색되어 있거나 무기력하였으며, 장벽이 현저하게 얇아져 장강 내의 수양성 내용물이 명료하게 관찰되었다(Fig. 7). 소장 장막과 장간막의 혈관 및 림프관의 관찰은 용이하지 않았다. 상당수 개체의 대장 내강에도 황색의 수양성 내용물이 다량 충전되어 있었다. 신장의 단면상에서는 유두부 또는 신우 부위에 황갈색의 요산염이 침착되어 있었으며(Fig. 8), 일부 개체의 방광 내에서도 관찰할 수 있었다.

확진된 총 153마리에서 각 장기별로 특징적인 병변의 발생 빈도를 살펴본 결과, 소장 내 수양성 내용물의 저류(98.0%)가 위내 응유의 존재(62.7%) 및 신장의 요산염 침착(60.1%)에 비하여 높은 빈도로 관찰되었다(Table 7). 돼지의 연령별로는 큰 차이를 보이지는 않았지만, 신장의 요산염 침착이 8일령 이상의 돼지에서 현저하게 낮았다.

Table 7. Frequency of characteristic gross findings in major target organs of pigs associated with porcine epidemic diarrhea

Ages (day)	Gross findings (%)		
	Milk curd in the stomach (%)	Watery contents in the intestine (%)	Urate in the renal papillae (%)
< 4 (N = 101)	67 (66.3)	99 (98.0)	63 (62.3)
4 ~ 7 (N = 43)	22 (51.1)	42 (97.6)	27 (62.7)
≥ 8 (N = 9)	7 (77.7)	9 (100)	2 (22.2)
Total (N = 153)	96 (62.7)	150 (98.0)	92 (60.1)



### 3. 병리조직학적 검사 결과

PED로 확진된 총 153마리 돼지의 소장에서 광학현미경 저배율 시야에서 가장 두드러진 병리조직학적 병변으로는 용모의 현저한 위축과 융합이 관찰되었다. 사후변화 등이 수반되지 않은 124마리의 소장 조직 중 공장과 회장에 대하여 VH:CD ratio를 산출하였으며, 의뢰된 돼지의 연령별로 구분하여 비교하였다. 전체적으로 공장(1.4:1)이 회장(1.5:1)에 비하여 VH:CD ratio가 다소 낮게 나타났으며, 다른 연령에 비하여 4~7일령의 돼지들이 공장과 회장 모두에서 1.3:1로 가장 낮았다(Table 8).

Table 8. Mean villous height, crypt depth, and villous height/crypt depth (VH/CD) ratio of small intestine from 124 pigs

Organ	Ages	Number of pigs	Mean villous height (μm)	Mean crypt depth (μm)	VH/CD ratio (Mean ±SD)
Jejunum	< 4	78	212.6	162.1	1.6 ± 0.6
	4 ~ 7	38	205.7	177.3	1.3 ± 0.5
	≥8	8	225.5	179.9	1.4 ± 0.5
	Total	124	214.6	173.1	1.4 ± 0.5
Ileum	< 4	78	206.1	154.0	1.6 ± 0.6
	4 ~ 7	38	179.5	162.0	1.3 ± 0.6
	≥8	8	217.7	174.6	1.6 ± 0.7
	Total	124	201.1	163.5	1.5 ± 0.6

바이러스 감염에 따른 용모의 위축뿐만 아니라, 손상 받은 용모가 서로 융합하는 병변도 소장에서 주로 관찰되었다. 소장의 부위별로는 공장(72.6%, 90마리)보다는 회장(78.2%, 97마리)에서 용모의 융합이 더욱 빈번하게 관찰되었다(Table 9). 또한 용모 융합 병변의 정도를 수치화하였을 때, 광학현미경 시야에서 50% 이상의 용모가 융합되어 있는 심한 병변 등급 G3가 공장(50.0%, 62마리)과 회장(54.0%, 67마리)에서 모두 높게 관찰되었다.

Table 9. Histopathologic grade for the villous fusion of small intestine from 124 pigs according to ages

Organ	Ages	Grade of villous fusion				Negative
		G1	G2	G3	Subtotal	
Jejunum	< 4 days (N = 81)	10	6	40	56	25
	4 ~ 7 days (N = 35)	2	8	17	27	8
	≥8 days (N = 8)	1	1	5	7	1
	Total	13	15	62	90	34
Ileum	< 4 days (N = 81)	5	16	40	61	20
	4 ~ 7 days (N = 35)	1	6	21	28	7
	≥8 days (N = 8)	0	2	6	8	0
	Total	6	24	67	97	27

병리조직학적으로 소장외의 점막층에서 가장 특징적인 변화상이 관찰되었으며, 점막하직, 근육층 및 장막에서는 특별한 병변을 관찰할 수 없었다. 특히 점막 또는 용모 상피세포의 탈락(Fig. 9A), 입방화(Fig. 9B) 및 편평화(Fig. 9C), 미세용모(microvilli)의 소실이 관찰되었으며, 상피세포의 세포질에 하나 또는 여러 개의 투명한 공포(Fig. 9D)가 형성되어 있었다. 대부분의 돼지 소장에서 음와의 병변은 거의 없었으나, 일부 개체에서 음와를 구성하고 있는 장선이 호염성으로 농염되어 있고 술잔세포가 거의 소실된 재생의 흔적이 존재하고 있었다. 그러나 고유층에서의 염증 반응은 거의 없거나 매우 미약하였다. 기타 장기의 병변으로는 신장 수질부의 원위극세뇨관 또는 집합관 내강에 호산성의 과립상 물질인 요산이 자주 관찰되었다.

사후변화가 없거나 적은 돼지 소장 조직을 선별하여 공장 126마리 및 회장 120마리에 대하여, 바이러스 감염 시 유발되는 상피세포의 특징적인 병변인 탈락, 편평화 및 세포질 내 공포화 병변의 정도를 소장의 부위별로 구분하여 비교하였다(Table 10). 상피세포의 병변으로는 세포질에 공포 형성 병변이 가장 높은 비율로 관찰되었고 편평화 및 상피 탈락 순으로 나타났다. 특히 세포질의 공포화는 50% 이상의 상피세포가 영향을 받은 미만성의 심한 정도 등급 G3 비율이 가장 높았고, 소장 부위별로 공장(75.4%, 95마리) 보다는 회장(81.7%, 98마리)에서 더욱 빈번한 것으로 확인되었다. 상피세포의 탈락은 공장과 회장 모두에서 국소적인 경미한 등급(G1) 또는 미만성의 심한 등급(G3) 비율이 높은 반면, 편평화 병변은 공장에서의 미만성의 심한 등급(G3) 비율이 회장에 비하여 높게 관찰되었다.

Table 10. Grade of histopathologic lesions in the mucosal enterocytes of small intestine

Organ	Histopathologic lesions	Grade of lesion			
		G1	G2	G3	Sub-total (%)
Jejunum (N = 126)	Exfoliation	24	4	26	54 (42.9)
	Squamation	11	15	37	63 (50.0)
	Vacuolation	12	13	70	95 (75.4)
Ileum (N = 120)	Exfoliation	21	7	17	45 (37.5)
	Squamation	19	18	16	53 (44.1)
	Vacuolation	12	13	73	98 (81.7)

검사한 돼지의 공장 및 회장에서 상피세포의 탈락, 편평화 및 세포질 내 공포화 병변의 정도를 돼지의 연령별로 구분하여 비교하였다(Table 11, 12). 공장의 경우 돼지의 일령에 상관없이 상피세포의 공포화가 가장 많이 관찰되었으며 편평화 및 상피세포탈락 순으로 나타났다(Table 11). 공포화와 편평화 병변은 미만성의 심한 등급이 많은 빈도를 차지하는 반면, 상피세포의 탈락 병변은 경미한 등급에서 심한 등급까지 비교적 다양하게 관찰되었다.

Table 11. Prevalence and grade of histopathologic lesions in the mucosal enterocytes in jejunum according to pig ages (N = 126 pigs)

Ages	Histopathologic lesions	Grade of lesion			
		G1	G2	G3	Sub-total (%)
< 4 days (N = 82)	Exfoliation	17	2	18	37 (45.1)
	Squamation	10	8	24	42 (51.2)
	Vacuolation	9	10	44	63 (76.8)
4 ~ 7 days (N = 36)	Exfoliation	4	1	8	13 (36.1)
	Squamation	1	5	10	16 (44.4)
	Vacuolation	1	2	23	26 (72.2)
≥8 days (N = 8)	Exfoliation	3	1	0	4 (50.0)
	Squamation	0	2	3	5 (62.5)
	Vacuolation	2	1	3	6 (75.0)

회장의 경우 4일령 미만 및 4~7일령의 돼지에서는 상피세포의 공포화가 가장 많이 관찰되는데 비하여, 8일령 이상에서는 뚜렷한 차이를 나타내고 있지 않았다(Table 12). 또한 공포화 병변은 4일령 미만 및 4~7일령의 돼지에서 미만성의 심한 등급 발현이 높게 나타났다. 그러나 편평화와 상피 탈락은 매우 다양한 병변 분포 정도를 보이고 있었다. 특히 8일령 이상의 돼지에서는 공포화에 비하여 편평화와 상피 탈락 병변이 다소 높은 경향을 보이고 있었다.

Table 12. Prevalence and grade of histopathologic lesions in the mucosal enterocytes in ileum according to pig ages (N = 120 pigs)

Ages	Histopathologic lesions	Grade of lesion			
		G1	G2	G3	Sub-total (%)
< 4 days (N = 80)	Exfoliation	12	5	12	29 (36.3)
	Squamation	14	14	11	39 (48.8)
	Vacuolation	10	9	48	67 (83.8)
4 ~ 7 days (N = 34)	Exfoliation	6	1	5	12 (35.3)
	Squamation	4	3	3	10 (29.4)
	Vacuolation	2	3	23	28 (82.4)
≥8 days (N = 6)	Exfoliation	3	1	0	4 (66.7)
	Squamation	1	1	2	4 (66.7)
	Vacuolation	0	1	2	3 (50.0)

#### 4. 면역조직화학 검사 결과

돼지의 소화기관 중 소장 및 대장에 대하여 PEDV 항원을 검출하기 위한 IHC를 실시하였다. 소장은 병리조직학적 검사 방법과 마찬가지로 공장 및 회장으로 구분하여 IHC를 수행하였다. 소장에서 PEDV 항원은 대부분 위축된 용모 또는 점막을 피복하고 있는 공포화 및 입방화가 진행된 상피세포의 세포질 또는 솔변연에서 발현되고 있었으며(Fig. 10A, 10B), 일부 탈락 상피 또는 음와 상피세포에서도 항원 발현을 관찰할 수 있었다. 조직학적으로 항원은 국소적(EG1) 또는 다발병소성(EG2) 으로 분포하거나 심한 경우 미만성(EG3)의 분포를 보이기도 하였다. 그러나 점막 고유층, 점막하직 및 기타 근육층에서는 바이러스 항원을 검출할 수 없었다. 특히 PEDV의 표적장기가 아닌 것으로 알려져 있는 결장의 점막상피세포에서도 바이러스 항원이 검출되기도 하였다(Fig. 10C). 소장과는 달리 결장에서 PEDV 항원은 미만성보다는 국소적 분포를 보이고 있었다.

소장의 부위별로는 회장(85.8%, 109마리)에서의 PEDV 항원 발현이 공장(81.6%, 111마리)에 비하여 높게 나타났다(Table 13). 조직 내 바이러스의 분포는 국소적인 분포보다는 미만성의 광범위한 항원 발현이 항원 양성 개체 중 80% 이상을 점유하고 있었다. 결장의 경우 검사한 136마리 개체 중 21.3%에서 PEDV 항원이 검출되었다.

Table 13. The expression grade of porcine epidemic diarrhea viral antigen in small and large intestine

Organs	Negative	Grade of antigen expression			
		EG1	EG2	EG3	Sub-total (%)
Jejunum (N = 136)	25	8	15	88	111 (81.6)
Ileum (N = 127)	18	7	11	91	109 (85.8)
Colon (N = 136)	107	17	4	8	29 (21.3)



소장 및 대장에서 PEDV 항원의 발현을 돼지의 연령별로 구분하여 비교하였다(Table 14). 연령별로는 4~7일령의 돼지 공장(90.0%, 36마리)과 회장(92.1%, 35마리) 모두에서 PEDV 항원이 가장 많이 검출되고 있었다. 그러나 8일령 이상의 돼지의 경우 공장(55.6%, 5마리)과 회장(66.7%, 6마리) 모두에서 현저하게 감소하고 있는 경향을 보이고 있었다. 소장에서의 항원 발현 분포는 대다수 미만성의 분포(EG3)를 보여주고 있었다. 결장의 경우 4일령 미만 돼지 19마리, 4~7일령의 돼지 6마리 및 8일령 이상 돼지 5마리 등 총 29마리에서 PEDV 항원이 검출되었다. 돼지의 연령별로 검사 두수에 차이가 있으나, 대체로 8일령 이상의 돼지(33.3%)에서의 항원 발현 빈도가 다소 높은 것으로 확인되었다. 또한 결장에서의 PEDV 항원 분포는 소장과는 달리 미만성 분포보다는 국소적인 항원 분포 양상을 보이고 있었다.

Table 14. The expression grade of porcine epidemic diarrhea viral antigen in small and large intestine according to pig ages

Organ	Age of pigs	Negative	Grade of antigen expression			
			EG1	EG2	EG3	Sub-total (%)
Jejunum	< 4 (N = 86)	16	7	9	54	70 (81.4)
	4 ~ 7 (N = 40)	4	1	6	29	36 (90.0)
	$\geq 8$ (N = 9)	4	0	0	5	5 (55.6)
Ileum	< 4 (N = 80)	12	3	9	56	68 (85.0)
	4 ~ 7 (N = 38)	3	3	2	30	35 (92.1)
	$\geq 8$ (N = 9)	3	1	0	5	6 (66.7)
Colon	< 4 (N = 88)	69	9	3	7	19 (21.6)
	4 ~ 7 (N = 36)	30	5	1	0	6 (16.7)
	$\geq 8$ (N = 12)	8	3	0	1	4 (33.3)

## 5. 병원체 및 유전학적 검사 결과

총 153마리의 돼지의 대장에서 채취한 분변에 대하여 PEDV 및 TGEV 유전자를 검출하기 위한 RT-PCR 검사를 수행하였으며, 각각의 바이러스에 대한 증폭산물의 크기는 525 bp 및 755 bp에 해당한다(Fig. 11). TGEV는 전 개체에서 음성이었으며, PEDV는 98.6% 인 151마리에서 양성 반응을 보였으나 나머지 2두는 음성이었다. 음성인 개체는 3일 및 4일령 각각 1마리로 확인되었다.

제주도 돼지 시료에서 검출된 12주의 PEDV의 S 유전자를 검출하기 위한 RT-PCR을 실시한 후 클로닝된 유전자의 염기서열을 판독하여 12주 PEDV 바이러스 상호간의 유전자를 분석한 결과 98.9% 이상의 상동성을 보이고 있었다(Fig. 3).

Seq->	KOR/JJ-1/2014	KOR/JJ-2/2014	KOR/JJ-3/2014	KOR/JJ-4/2014	KOR/JJ-5/2014	KOR/JJ-6/2014	KOR/JJ-7/2014	KOR/JJ-8/2014	KOR/JJ-1/2015	KOR/JJ-2/2015	KOR/JJ-3/2015	KOR/JJ-4/2015
KOR/JJ-1/2014	ID	0.997	0.997	0.996	0.997	0.998	0.998	0.997	0.991	0.996	0.993	0.995
KOR/JJ-2/2014	0.997	ID	0.997	0.997	0.997	0.997	0.997	0.997	0.992	0.996	0.993	0.994
KOR/JJ-3/2014	0.997	0.997	ID	0.996	0.997	0.997	0.997	0.997	0.991	0.996	0.993	0.995
KOR/JJ-4/2014	0.996	0.997	0.996	ID	0.997	0.997	0.997	0.997	0.991	0.995	0.993	0.994
KOR/JJ-5/2014	0.997	0.997	0.997	0.997	ID	0.998	0.998	0.997	0.991	0.996	0.993	0.995
KOR/JJ-6/2014	0.998	0.997	0.997	0.997	0.998	ID	0.998	0.997	0.991	0.996	0.993	0.995
KOR/JJ-7/2014	0.998	0.997	0.997	0.997	0.998	0.998	ID	0.997	0.991	0.996	0.993	0.995
KOR/JJ-8/2014	0.997	0.997	0.997	0.997	0.997	0.997	0.997	ID	0.991	0.996	0.993	0.995
KOR/JJ-1/2015	0.991	0.992	0.991	0.991	0.991	0.991	0.991	0.991	ID	0.99	0.99	0.989
KOR/JJ-2/2015	0.996	0.996	0.996	0.995	0.996	0.996	0.996	0.996	0.99	ID	0.992	0.994
KOR/JJ-3/2015	0.993	0.993	0.993	0.993	0.993	0.993	0.993	0.993	0.99	0.992	ID	0.991
KOR/JJ-4/2015	0.995	0.994	0.995	0.994	0.995	0.995	0.995	0.995	0.989	0.994	0.991	ID

Fig. 3. Homology of the nucleotide sequence for spike gene of 12 porcine epidemic diarrhea viral strains in Jeju.

검출된 12주의 PEDV S 유전자를 Neighbor-joining method를 활용하여 계통학적 트리를 작성한 결과, 제주도에서 분리된 PEDV는 genogroup 2 (G2)에 속하여 있음이 입증되었다(Fig. 4).

최근 미국에서는 병원성이 경미한 INDELS 그룹 PEDV와 병원성이 강한 North American 그룹 PEDV 2종이 분리되었으며 [28], 이번 연구에서 검출된 12주의 PEDV는 모두 North American 그룹에 속하고 있음을 알 수 있었다.

Fig 1

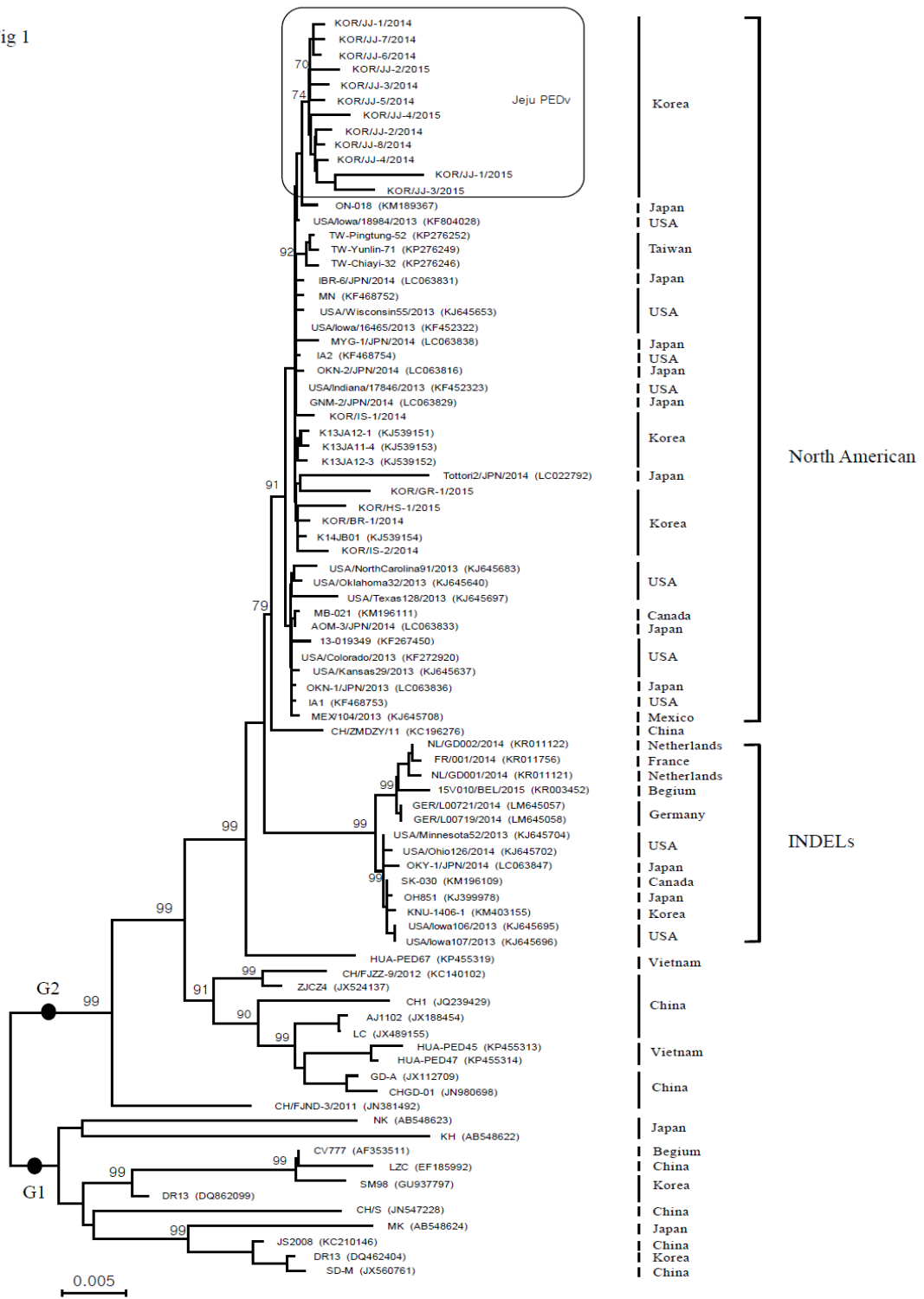


Fig. 4. Phylogenetic tree based on complete genome sequences for the spike gene of 12 porcine epidemic diarrhea virus strains in Jeju.

## IV. 고 찰

뚜렷한 동절기의 계절 발생을 보이는 TGE와는 달리 과거 국내에서 유행하던 PED는 거의 연중 발생하였지만, 대체로 동절기에 해당하는 기간이 11월에서 3월까지 집중하여 발생하는 경향을 보이고 있었다 [8]. 이번 제주에서 2014년 4월에서 2015년 8월까지 PED 발생양상을 살펴보았을 때, 재발생 시점인 2014년 4월부터 5월에 걸쳐 폭발적인 발생이 있는 후 거의 계절에 관계없이 연중 발생하고 있으며, 특히 동절기에 해당하는 2015년 1월에서 3월 사이에 발생이 증가하고 있었다. 또한 한 돼지 농장에서 질병 발생 후 6개월에서 수년간 지속되는 면역을 형성하여 재발이 거의 없는 TGE와 달리, PED는 계절과 회수에 상관없이 지속적으로 반복 발생하는 특징을 가지고 있다 [27]. 이번 제주에서도 전체 PED 발생 농장 52농가 중 17개(32.7%) 농가에서 2회에서 많게는 4회까지 지속 발생하는 양상을 나타내고 있었다. 또한 지역적으로는 제주도 내 양돈농가가 밀집되어 있는 서부지역(한림읍, 대정읍 및 한경면)에서 집중적으로 발생하고 있었다. 따라서 농장 간에 질병 전파를 예방하기 위한 차단방역이 제대로 수행되고 있지 않을 뿐만 아니라, PED 발생 농가에서 부실한 예방접종, 인공 면역 실시, 부적절한 환돈 관리 등이 지속적 질병 발생의 원인으로 추정되고 있다. 과거 국내 양돈장을 대상으로 실시한 PED 역학 조사 결과에 따르면, PEDV의 농장 내 순환 감염의 원인으로 분만사 환돈에 대한 부적절한 조치, 부적절한 예방접종에 따른 모돈의 면역 수준 불균형, 유즙불량 모돈에 의한 자돈의 초유항체 전달 실패, 모돈수 과다에 따른 분만사 공간 부족 등으로 분석된 바 있다 [7].

PED는 돼지에서 설사를 일으키는 주요 바이러스성 전염성 질병 중 하나이며, PEDV의 주요 표적 장기는 돼지의 소장 특히, 공장 및 회장의 용모 상피세포에 감염되어 용모의 위축을 초래하여 흡수불량성 설사를 유발시킨다. PEDV 감염 시 육안적으로 소장은 팽윤되고 황색의 수양성 내용물을 함유하고 있으며,

병리조직학적으로는 VH:CD ratio가 정상범위인 7~8:1에서 3:1까지 감소하는 것으로 알려져 있다 [20]. 국내에서는 PED 감염이 처음으로 확진된 1992년에서 1993년까지 2년간의 돼지 시료 총 71건을 검사한 결과 공장 및 회장에서 VH:CD ratio가 평균 3:1~2:1 정도로 감소하였으며, 심한 예에서는 1:1에서 1:2까지의 비율을 나타내는 경우도 있었다 [8]. 최근 2013년 미국에서는 PED로 확진된 자돈의 장내용물에서 분리된 PEDV를 10~35일령 무균돼지에 경구감염시킨 결과 접종 24~48시간 후 심한 설사 및 구토 증상을 보였으며, 소장에서 VH:CD ratio가 개체별로 1.2~3.4:1 정도로 심한 용모의 위축을 보였다고 하였다 [14]. 이번 연구에 이용된 124마리의 제주도 돼지의 경우 공장과 회장의 평균 VH:CD ratio가 각각 1.4:1 및 1.5:1로 나타나 용모의 위축이 매우 심하게 관찰되었다. 특히 4~7일령의 자돈의 경우 다른 연령층의 돼지보다 공장 회장 모두에서 1.3:1로 가장 낮은 비율을 나타내고 있었다. 또한 위축된 용모의 융합 소견도 빈번하게 관찰되었으며, 용모 융합 병변 중 심한 등급 G3의 비율이 공장 및 회장 모두에서 50% 이상 관찰되고 있었다. 따라서 과거 국내에서 발생한 PED에 비하여 최근 제주도에서 발생하고 있는 PED의 병원성이 좀 더 강한 것을 간접적으로 시사하고 있는 것으로 추정된다.

PED에 감염된 돼지의 소장에서는 병리조직학적으로 장 용모의 위축과 함께 상피세포의 탈락 및 세포질 내 공포 형성 소견이 특징적인 것으로 알려져 있다 [14, 20]. 1990년대 국내에서 발생한 PED 감염 돼지에서 병리조직학적 소견은 소장에 국한되어 관찰되었으며, 십이지장보다는 공장과 회장에서 주로 병변이 관찰되었다. 용모상피세포의 세포질에 무수히 많은 작은 공포가 형성되어 있고, 원주상피세포의 높이가 낮아져 입방화되거나 심한 경우 편평하게 되었으며 때로 상피세포가 박리되어 점막고유층이 노출되어 있기도 하였다 [1, 8]. 본 연구에서 검사한 돼지의 소장 조직을 공장과 회장으로 구분하여 조직학적 소견의 발생 빈도를 살펴보았을 때, 세포질 내 공포 형성, 상피세포의 입방화 또는 편평화 및 탈락의 순으로 나타나고 있었다. 또한 심한 개체에서는 미세용모의 소실 또한

관찰되었다. 소장의 부위별로는 상피세포 세포질의 공포화 병변은 회장에서 많이 관찰되는 반면 편평화와 탈락 병변은 공장에서 다소 높은 비율로 관찰되었다. 상피세포의 변화 정도를 경미한 등급에서 심한 등급으로 구분하여 보았을 때, 편평화와 공포화 소견은 50% 이상의 상피세포가 영향을 받은 심한 등급인 G3 등급에 해당하는 개체가 매우 높게 나타나고 있었다. 전자현미경을 이용하여 PED에 감염된 소장의 상피세포에서 초미세구조의 변화를 살펴보면, 세포질에서 세포소기관의 감소로 인한 투명한 공간의 형성이 가장 먼저 나타나고, 이후 미세융모 및 종말그물(terminal web)이 소실되면서 세포질의 일부가 장의 내강으로 돌출된다 [20]. 상피세포는 납작해지고, 치밀이음(tight junction)이 소실되면서 상피세포는 박리되어 장 내강으로 탈락하게 된다. 그러므로 PEDV 감염에 따른 융모의 위축, 상피세포의 공포화 및 이에 따르는 일련의 변화로 인하여 소장에서의 흡수 기능은 현저하게 떨어지게 되어 심한 흡수불량성 설사와 함께 탈수를 유발하고 어린 돼지에서 높은 폐사율을 보이게 된다.

면역조직화학염색 기법을 이용하여 PED로 진단된 돼지의 장에서 바이러스의 항원 분포를 살펴본 결과, 공장과 회장에서는 미만성의 광범위한 상피세포에서 항원이 발현되었으며 공장(81.6%)보다는 회장(85.8%)에서 높은 발현율을 나타내고 있었다. 또한 약 21.3%(29마리)의 돼지 결장에서도 PEDV 항원을 검출할 수 있었고, 국소적인 부위에서 발현되고 있었다. 그러나 결장에서의 병리조직학적 병변은 거의 없는 것으로 확인되었다. 과거 연구에 따르면, 형광항체 검사를 이용하여 PEDV에 자연감염되거나 인공감염시킨 돼지에서 소장의 융모 상피세포와 결장 점막에서 바이러스 항원을 검출하였다 [20]. 이에 반하여 과거 국내 또는 일본에서 발생한 PED의 경우 결장에서 바이러스는 검출되지 않았다. 그러나 최근 2013년 미국에서 PEDV를 실험감염시킨 돼지에서는 5마리 전 두수에서 맹장 및 결장에서 항원이 검출된 바 있다. 따라서 이번 제주도에서 발생한 PED는 과거 국내에서 발생한 PED와 장 조직 내 바이러스 항원의 분포가 다르며, 결장 내 항원의 존재는 일정정도 돼지의



임상증상을 더욱 심하게 만들 수도 있었을 것으로 추정된다.

PED의 임상증상, 병리해부학적 및 병리조직학적 소견은 TGE와 매우 유사하기 때문에 두 질병에 대한 감별진단은 매우 중요하다 [1, 6, 14, 20]. 두 질병을 감별하기 위한 바이러스 또는 바이러스 항원 진단 기법으로는 형광항체검사법, IHC, 전자현미경 검사법, 면역전자현미경 기법, 바이러스분리기법, ELISA 기법, RT-PCR 등이 활용되고 있다. 본 연구에서는 돼지 153마리의 분변을 대상으로 RT-PCR 검사를 수행한 결과, TGEV는 전 두수 음성이었으며 PEDV의 경우 151마리는 양성이었으나 나머지 2마리는 음성을 나타내었다. 음성인 개체의 경우 연령이 매우 어린 3일 및 4일령이었다. 그러나 이 두 마리는 병리조직학적으로 소장 용모의 위축과 융합 및 상피세포의 병변이 있었을 뿐만 아니라, IHC 검사 결과 공장 및 회장에서 PEDV 항원 양성으로 판명되었다. 따라서 돼지에 바이러스가 감염된 후 소장 용모 상피세포에 손상을 주기는 하였으나 세포 내에서 충분한 양의 바이러스 증식이 이루어지지 않았거나 적은 상태이기 때문에 분변으로 바이러스 배출이 되지 않고 있는 감염 초기로 해석될 수 있을 것으로 판단된다. PEDV의 원형(prototype)으로 받아들여지고 있는 CV777 분리주를 경구로 인공감염 시킨 돼지에서 형광항체 검사법을 이용하여 바이러스 항원을 검사한 결과 감염 후 약 12~18시간에 소장 상피세포에 감염이 이루어지고 24~36시간에 최대치에 달하며, 이 후 바이러스의 증식과 함께 상피세포의 변성과 용모의 위축이 발생한다 [20]. 최근 미국형 PEDV를 인공감염시킨 돼지의 경우 감염 후 24~48시간 후에 분변을 통해 바이러스가 배출되었다고 하였다 [14]. RT-PCR 검사 기법은 PEDV와 TGEV를 감별진단하기에 매우 용이하고 민감한 진단기법이기는 하지만, 분변 내 바이러스 배출이 매우 적은 감염 초기 또는 말기에는 검출되지 않을 개연성이 있다. 또한 IHC 기법은 병리조직학적 병변의 관찰과 함께 조직 내 바이러스의 유무까지 확인할 수 있는 매우 유용한 진단기법으로 증상 발현 후 2일 이내의 급성기 돼지의 장조직 시료에 적용할 수

있다. 특히 설사 증상을 보이는 개체의 신선한 조직 또는 분변이 없는 상황에서 포르말린 고정 조직만이 있을 경우 IHC 기법은 PEDV 검출을 위해 유용하게 적용될 수 있다. 그러나 사후변화가 심하게 진행되어 있거나, 상피세포의 탈락이 현저한 소장에는 진단법 적용에 제한이 따른다. 따라서 바이러스의 감염 시기와 감염량, 감염된 돼지의 병변 정도, 검사에 활용할 수 있는 시료의 종류와 보관 상태 등에 따라 진단 기법의 적용에 제한이 따를 수 있기 때문에, RT-PCR과 IHC 기법을 같이 활용하면 좀 더 정확한 PED 진단이 이루어질 수 있을 것으로 사료된다.

2010년 말 이전에 풍토병성 PED는 유럽과 아시아의 여러 나라에서 발생 보고가 있었으나, 그 영향은 그리 크지 않았다. 그러나 2010년 10월 중국 남부 10개 주 이상에서 포유 자돈에 80~100%에 달하는 높은 폐사율을 보이는 PED가 발생한 이후 다른 아시아 국가들로 급속히 전파되었으며 [25]. 미국에서는 2013년 5월 아이오와주에서 본 질병이 최초로 발생한 후 전국으로 확산되었다 [14]. 국내에서도 2013년 말부터 충남과 경남 지역에서 PED가 잇달아 발생한 후 전국적으로 확산된 상황이다. 제주는 국내 내륙지역과 분리되어 있는 섬이라는 특수성을 가지며, 2002년 4월부터 돼지열병 및 오제스키병 등 악성 돼지질병 청정화를 달성하여 다른 지역으로부터 돼지 생축 및 돼지고기의 반입이 전면 금지되어 있고, 일부 수입육 등에 한하여만 반입이 허용되고 있는 상태이다. 따라서 2014년 4월 이후 발생하고 있는 제주도 PED의 경우 가축 등에 의한 전파보다는 타시도에서 출입하는 축산관계자, 차량 등에 의한 기계적 전파에 의해 유입되었을 것으로 추정되고 있다.

과거 국내에서 분리된 PEDV는 CV777 분리주와 매우 유사한 것으로 알려져 왔다 [2]. 그러나 최근 농림수산검역검사본부 연구에 따르면, 한국 내륙지역의 양돈농가 돼지 설사 분변에서 분리한 바이러스 2010년 8개주, 2012년 및 2013년 9개주 등 총 17주의 PEDV의 S, open reading frame 3 (ORF3), envelope (E), membrane (M), nucleoprotein (N) 유전자에 대한 염기서열을 분석하여

분자생물학적 특성을 조사하였다 [5]. 국내에서 검출된 PEDV는 각 유전자별로 크게 2개의 그룹(G1 및 G2)으로 나뉘며, 기존 국내 사용 백신주와는 다른 그룹을 형성하고 있었다. PEDV S 유전자의 경우 크게 백신주가 속한 그룹(G1)과 대부분의 야외주가 속하는 그룹(G2)으로 나뉘며, G2는 다시 G2-1과 G2-2로 나뉘었다, 또한 국내분리주의 상동성을 분석한 결과 최대 10% 이상 차이를 나타내었다. 또한 국내에서 시판되고 있는 백신주와 국내분리주간 각 유전자별 상동성 분석결과 ORF3, E, S, N, M 순으로 상동성이 낮았으며, S 유전자의 경우 91.8~99.3%(90.0~98.9%)로 약 10%의 차이를 나타내고 있었다. 더욱이 해외에서도 2010년 이후 중국 및 북미 등지에서 발생한 PEDV는 서로 상동성이 높고 병원성이 강하여, 2010년 이전의 PEDV와 유전적 및 병원성의 차이가 있었다 [23, 30]. 이러한 PEDV의 변이로 인하여 국내를 비롯한 외국에서도 기존에 사용하고 있던 백신의 방어 효과에 대한 문제점이 제기되고 있는 실정이다. 따라서 각국에서는 최근 발생하고 있는 PED에 대한 신속 정확한 진단 기법의 확립뿐만 아니라 질병 발생 기전 및 유효성이 있는 백신 개발 등의 연구에 박차를 가하고 있다 [9, 16, 19].

이번 연구에서 제주도 돼지 시료 중 2014년 4월 8점, 2015년 1월과 4월 각 1점 및 7월의 2점에서 분리된 총 12주의 PEDV S 유전자를 대상으로 염기서열을 분석한 결과 각 바이러스의 상동성은 98.9~99.8%에 달하는 것으로 확인되었다. 따라서 제주지역에서 10년 만에 재발생한 2014년 4월부터 2015년 7월까지 거의 유전적으로 동일한 PEDV가 양돈농가 간에 전파되고 있는 것으로 사료된다. 또한 제주도 돼지 시료에서 검출된 12주의 PEDV에 대한 계통학적 트리를 작성한 결과 이들 바이러스는 모두 2013~2014년 한국 내륙에서 발생한 PEDV [12] 및 북미형 PEDV에 속하는 G2 그룹에 속하였다. 국내 내륙에서 분리된 PEDV의 일부는 같은 G2 그룹에 속하지만 병원성이 비교적 약한 것으로 알려져 있는 INDELs 그룹에 속하는 것으로 밝혀졌으나 [28], 이번 제주에서 검출된 12주의 PEDV는 INDELs 그룹과는 동질성에 차이가 있는 것으로

확인되었다. 따라서 제주에서 문제시되고 있는 PEDV와 국내 내륙지역에서 발생하고 있는 PEDV와의 병원성의 차이 및 바이러스의 유연 관계를 비교 분석하는 연구와 함께 적절한 백신주의 선별 및 효과적인 백신 개발을 통하여 PED로 인한 양돈 농가의 피해를 최소화하는데 노력을 경주해야 할 것으로 판단된다.

국내에서는 PEDV와 돼지 썩코바이러스 2형(porcine circovirus type 2, PCV-2)의 상호 작용을 알아보기 위한 실험 감염도 진행되었다 [4]. 3일령 돼지에 PEDV와 PCV-2를 공격접종한 결과 PCV-2와 PEDV를 혼합 감염시킨 실험군 돼지가 PEDV 단독 감염된 개체에 비하여 설사와 위축 등의 임상 증상이 더욱 두드러지고 폐사율 또한 높았다. 병리조직학적으로 PEDV 단독 감염군에 비하여 혼합 감염 돼지에서 VH:CD ratio는 낮아지고, PEDV 항원 발현은 높게 나타나고 있었다. 따라서 어린 돼지에서 PCV-2의 감염이 PEDV의 병원성을 증가시키는 역할을 하는 것으로 확인되었다. 국내에서는 2008년부터 PCV-2 백신 지원 정책이 전국적으로 시행되고 있으며, 그에 따라 양돈농가에서 PCV-2 감염이 감소하는 추세를 보이고 있다. 그러나 최근 제주지역 양돈농가에서 PCV-2 감염이 점차 증가하고 있는 경향을 보이고 있기 때문에 좀 더 철저한 백신 접종이 이루어져야만 PED로 인한 피해를 경감시킬 수 있을 것으로 사료된다.

## V. 결 론

제주지역 양돈농가에서 동물위생시험소로 병성감정 의뢰된 153마리 돼지에 대한 병리학적 검사, 면역조직화학염색, 병원체 및 유전학적 검사를 실시하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 병리조직학적 검사, 면역조직화학염색 및 RT-PCR을 통하여 공시동물 153두는 PED로 확진되었으며, 자돈에서 PED 발생은 1~7일령의 돼지에서 가장 많은 발생 빈도를 보였다.
2. 제주지역에서 PED는 연중 발생하고 있었으며, 최초 재발생 시기인 2014년 4월과 5월 폭발적인 발생을 보이다가 동절기에 증가하는 양상을 보이고 있었다.
3. 제주지역에서 PED로 진단된 농가는 52호로 밝혀졌으며, 동일 농가에서 2회 이상 의뢰된 농가는 17농가(32.7%)에 달하였다.
4. PED로 진단된 돼지의 소장 용모는 현저하게 위축되어 있고, VH:CD ratio를 측정한 결과 공장과 회장에서 각각 1.4:1 및 1.5:1로 나타났다.
5. 소장에서 주로 관찰되는 병리조직학적 소견으로는 용모 상피세포 세포질 내 공포 형성, 상피세포 편평화 및 탈락 순으로 나타났다. 상피세포 내 공포 형성은 공장보다 회장에서 더욱 빈번하게 관찰되었다.

6. 장조직에 대한 면역조직화학염색 결과 공장보다는 회장에서 PEDV 항원 발현이 높게 나타났으며, 29마리(21.3%)의 결장 점막상피세포에서도 PEDV 항원을 확인할 수 있었다.
  
7. 제주도 돼지 시료에서 검출된 12주의 PEDV는 유전학적으로 98.9% 이상의 상동성을 보이고 있으며, genogroup 2 North American 그룹에 속하고 있었다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때, 제주지역에서 2014년 4월부터 현재까지 문제시되고 있는 PEDV는 최근 2010년부터 중국 또는 북미 지역에서 유행하고 있는 변이 PEDV와 유사하였다. 특히, PED는 생후 7일령 이하의 돼지에서 집중적으로 발생하고 있었으며, 일부 양돈농가에서는 PED의 지속 발생으로 많은 경제적 피해를 입고 있는 상황이다. 따라서 철저한 차단방역, 적절한 환돈 관리 및 예방접종 등을 통하여 피해를 경감시키는 노력이 필요하고, 궁극적으로 변이된 PEDV를 이용한 백신 개발이 절실한 상황이다.

## Legends for Figures

Fig. 5. Note rough hair coated and emaciated suckling piglets.

Fig. 6. Note yellowish watery feces around anus in suckling piglet.

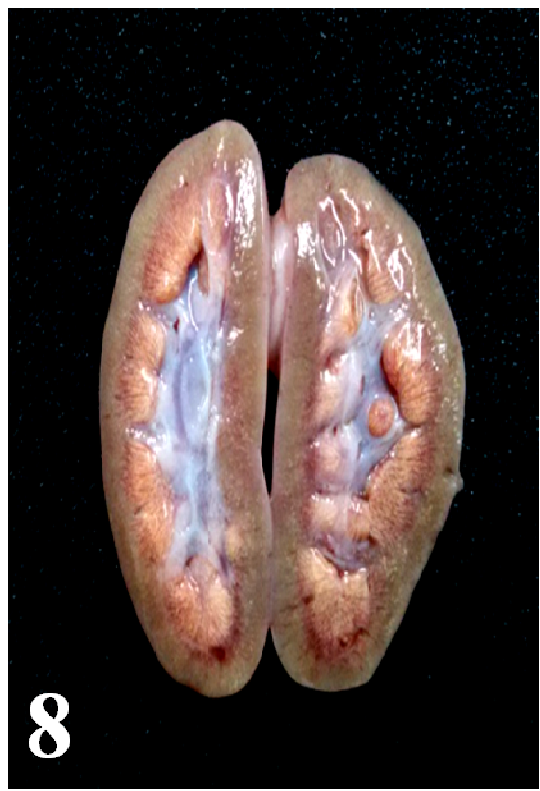
Fig. 7. The small intestine. Note thin and transparent intestinal wall and yellowish watery contents in the lumen.

Fig. 8. The kidney. Note yellowish brown materials in the renal papillae.

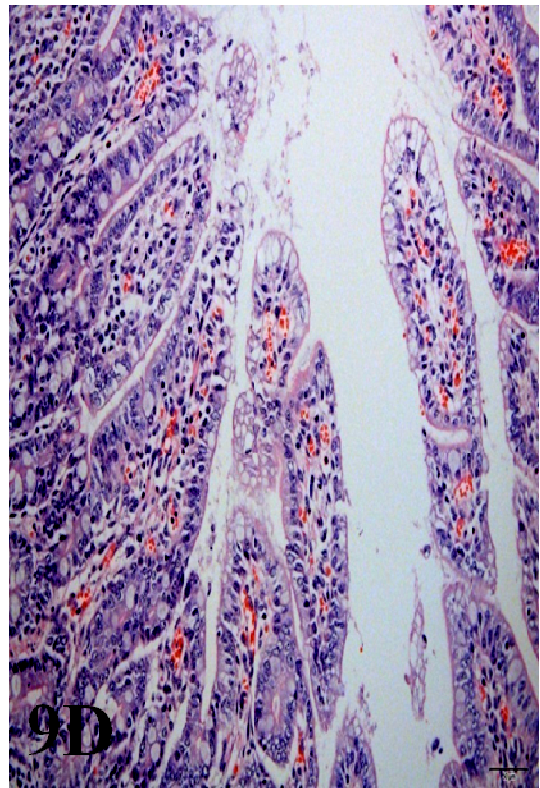
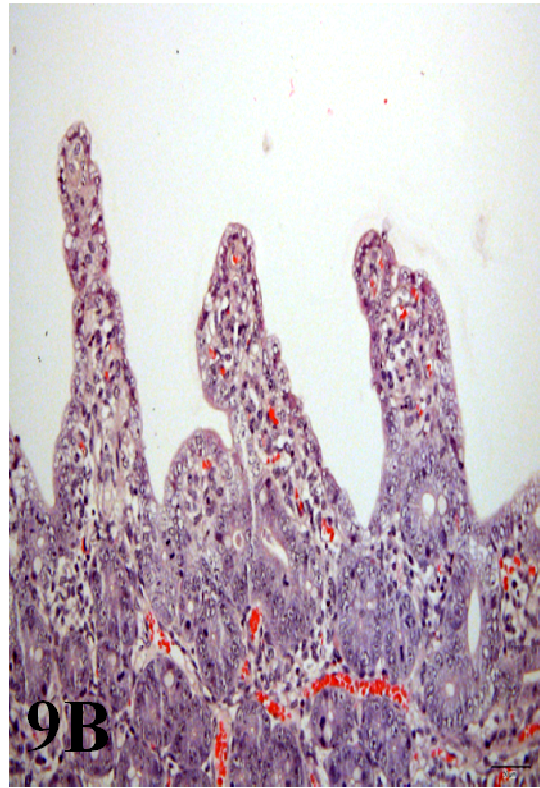
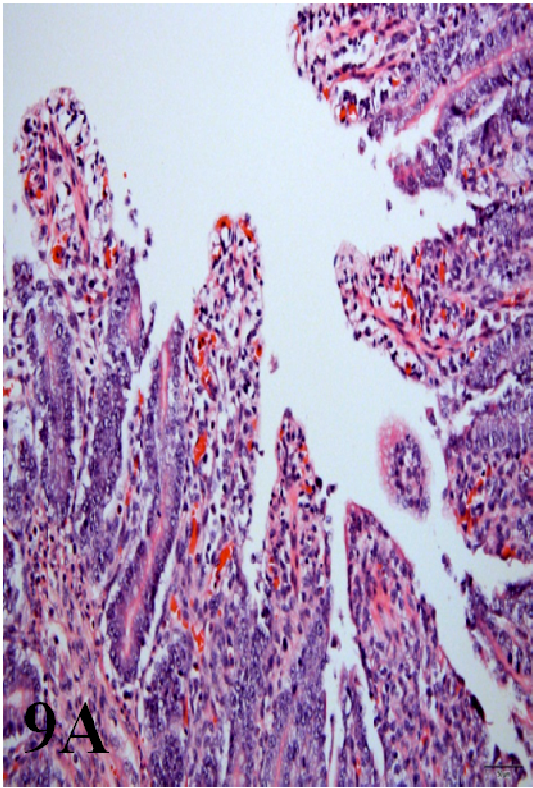
Fig. 9. The small intestine. Note epithelial exfoliation (A), cuboidalization (B), squamation (C), cytoplasmic vacuolation (D) in the enterocytes of small intestine. H&E (Bar = 50  $\mu\text{m}$ ).

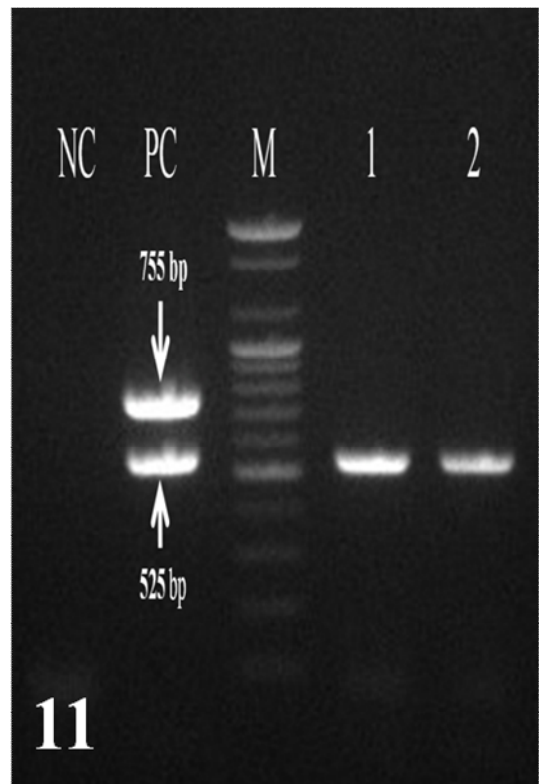
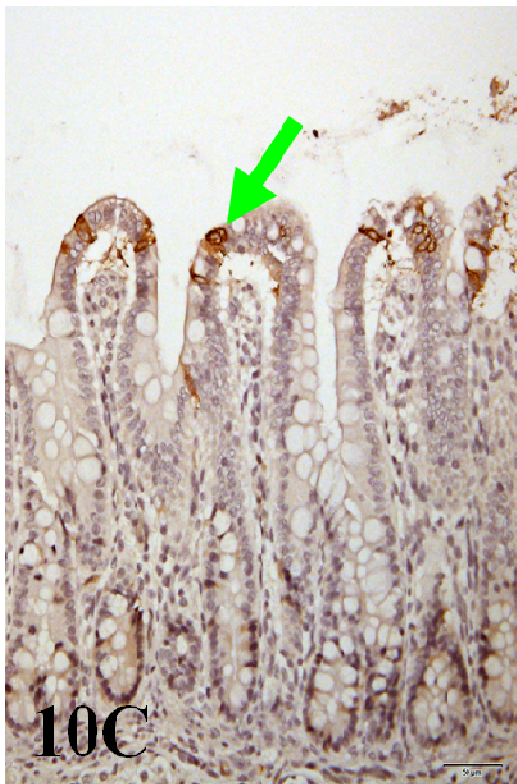
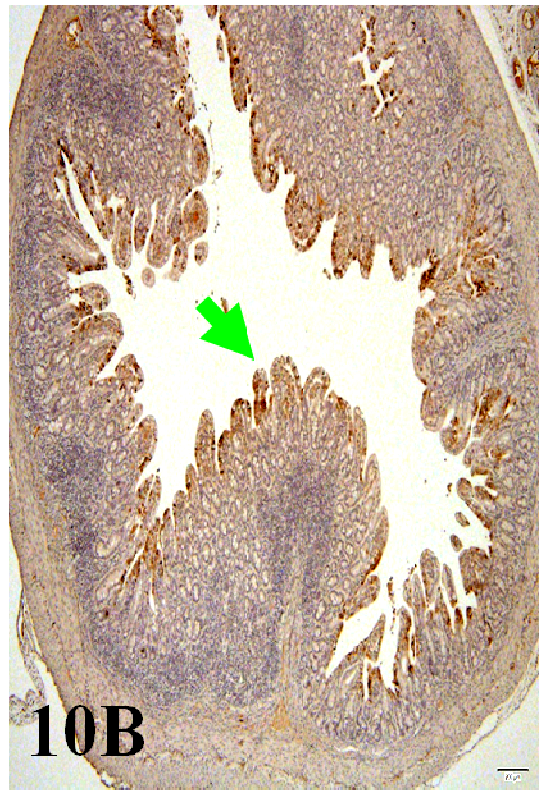
Fig. 10. Small and large intestine. Note PEDV positive signals (arrows) in the cytoplasm of intestinal enterocytes in jejunum (A) and ileum (B), IHC (Bar = 200  $\mu\text{m}$ ). Note PEDV positive signals (arrow) in colon (C). IHC (Bar = 100  $\mu\text{m}$ ).

Fig. 11. RT-PCR products of PEDV. NC : Negative control; PC : PEDV (525 bp) and TGEV (755 bp) positive control; Lane M: 100 bp Ladder; Lane 1 and 2: fecal samples.









## VI. 참고문헌

1. 강완철, 김진희, 안미정, 강종철. 제주지역 양돈장에서 발생한 자돈 설사병 바이러스의 면역조직화학적 확인. 한국가축위생학회지 2000, **23**, 301-306.
2. 권창희, 권병준, 정태성, 기영진, 허동호, 황의경, 이재진, 안수환. 돼지 유행성 설사 바이러스(porcine epidemic diarrhea virus)의 국내 분리주 작성에 관한 연구. 대한수의학회지 1993, **33**, 249-254.
3. 김문. 돼지유행성설사바이러스(PEDV) 국내분리주와 돼지썩코바이러스 2형(PCV2) 국내분리주의 유전학적 특성 및 포유자돈에서 PCV2가 PEDV 감염에 미치는 영향. 2009, 강원대학교 대학원 박사학위 논문.
4. 김문, 김영훈, 한정희. 포유자돈에서 돼지썩코바이러스 2형이 돼지유행성설사 바이러스 감염에 미치는 영향 II. 임상증상, 병리조직학적 검사 및 면역조직학적 검사. 한국가축위생학회지 2009, **32**, 189-200.
5. 김성희, 이경기, 엄재구, 김연희, 진영화, 윤순식, 이경현, 정지열, 변재원, 김하영, 이명헌. 돼지유행성설사병(PED) 청정화 기반 조성을 위한 국가 모니터링 체계 구축. 농림수산검역검사본부 2013.
6. 김재훈, 황의경, 배유찬, 손현주, 박중원, 윤용덕. 면역전자현미경(IEM) 기법 및 immunogold conjugate 면역전자현미경(IGC-IEM) 기법을 이용한 돼지 분변내 PED 바이러스의 검출. 대한수의학회지 1995, **35**, 575-581.
7. 박취규, 이창희. 돼지유행성설사병 지속감염 양돈장의 임상검사 및 방제대책. 한국임상수의학회지 2009, **26**, 463-466.

8. 황의경, 김재훈, 진영화, 배유찬, 윤순식, 박최규, 권창희, 윤용덕, Ackermann M. 돼지 유행성 설사증의 최근 발생 동향. 농업과학논문집 1994, **36**, 587-596.
9. Chen F, Zhu Y, Wu M, Ku X, Ye S, Li Z, Guo X, He Q. Comparative genomic analysis of classical and variant virulent parental/attenuated strains of porcine epidemic diarrhea virus. *Viruses* 2015, **7**, 5525-5538.
10. Chen Q, Li G, Stasko J, Thomas JT, Stensland WR, Pillatzki AE, Gauger PC, Schwartz KJ, Madson D, Yoon KJ, Stevenson GW, Burrough ER, Harmon KM, Main RG, Zhang J. Isolation and characterization of porcine epidemic diarrhea viruses associated with the 2013 disease outbreak among swine in the United States. *J Clin Microbiol* 2014, **52**, 234-243.
11. Cheun-Arom T, Temeeyasen G, Srijangwad A, Tripipat T, Sangmalee S, Vui DT, Chuanasa T, Tantituvanont A, Nilubol D. Complete genome sequences of two genetically distinct variants of porcine epidemic diarrhea virus in the eastern region of Thailand. *Genome Announc* 2015, **3**, e00634-15.
12. Chung HC, Nguyen VG, Moon HJ, Lee JH, Park SJ, Lee GE, Kim HK, Noh YS, Lee CH, Goede D, Park BK. Isolation of porcine epidemic diarrhea virus during outbreaks in South Korea, 2013-2014. *Emerg Infect Dis* 2015, **21**, 2238-2240.
13. Cho YY, Lim SI, Kim YK, Song JY, Lee JB, An DJ. Complete genome sequence of K14JB01, a novel variant strain of porcine epidemic diarrhea virus in South Korea. *Genome Announc* 2014, **2**. e00505-14.

14. **Jung K, Wang Q, Scheuer KA, Lu Z, Zhang Y, Saif LJ.** Pathology of US porcine epidemic diarrhea virus strain PC21A in gnotobiotic pigs. *Emerg Infect Dis* 2014, **20**, 662-665.
15. **Lee SH, Ko DH, Kwak SK, Lim CH, Moon SU, Lee DS, Lee C.** Reemergence of porcine epidemic diarrhea virus on Jeju Island. *Korean J Vet Res* 2014, **54**, 185-188.
16. **Liu X, Lin CM, Annamalai T, Gao X, Lu Z, Esseili MA, Jung K, El-Tholoth M, Saif LJ, Wang Q.** Determination of the infectious titer and virulence of an original US porcine epidemic diarrhea virus PC22A strain. *Vet Res* 2015, **46**, doi: 10.1186/s13567-015-0249-1.
17. **Okda F, Liu X, Singrey A, Clement T, Nelson J, Christopher-Hennings J, Nelson EA, Lawson S.** Development of an indirect ELISA, blocking ELISA, fluorescent microsphere immunoassay and fluorescent focus neutralization assay for serologic evaluation of exposure to North American strains of porcine epidemic diarrhea virus. *BMC Vet Res* 2015, **11**, doi: 10.1186/s12917-015-0500-z.
18. **Oldham J.** Letter to the editor. *Pig Farming* 1972, Oct suppl, 72-73.
19. **Opriessnig T, Xiao CT, Gerber PF, Zhang J, Halbur PG.** Porcine epidemic diarrhea virus RNA present in commercial spray-dried porcine plasma is not infectious to naïve pigs. *PLoS One* 2014, **9**, e104766.
20. **Pensaert MB, Yeo SG.** Porcine epidemic diarrhea. In: Straw BE, Zimmermann JJ, D'Allaire S, Taylor DJ (eds.). *Diseases of Swine*, 9th ed. pp. 367-372. Blackwell Publishing, Ames, 2006.

21. **Puranaveja S, Poolperm P, Lertwatcharasarakul P, Kesdaengsakonwut S, Boonsoongnern A, Urairong K, Kitikoon P, Choojai P, Kedkovid R, Teankum K, Thanawongnuwech R.** Chinese-like strain of porcine epidemic diarrhea virus, Thailand. *Emerg Infect Dis* 2009, **15**, 1112-1115.
  
22. **Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC.** *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. pp. 413-421. Blackwell publishing, Oxford, 2002.
  
23. **Stevenson GW, Hoang H, Schwartz KJ, Burrough ER, Sun D, Madson D, Cooper VL, Pillatzki A, Gauger P, Schmitt BJ, Koster LG, Killian ML, Yoon KJ.** Emergence of porcine epidemic diarrhea virus in the United States: clinical signs, lesions, and viral genomic sequences. *J Vet Diagn Invest* 2013, **25**, 649-654.
  
24. **Straw BE, Dewey CE, Wilson MR.** Differential diagnosis of disease. In: Straw BE, Zimmermann JJ, D'Allaire S, Taylor DJ (eds.). *Diseases of Swine*, 9th ed. pp. 241-283. Blackwell Publishing, Ames, 2006.
  
25. **Sun RQ, Cai RJ, Chen YQ, Liang PS, Chen DK, Song CX.** Outbreak of porcine epidemic diarrhea in suckling piglets, China. *Emerg Infect Dis* 2012, **18**, 161-163.
  
26. **Takahashi K, Okada K, Ohshima K.** An outbreak of swine diarrhea of a new-type associated with coronavirus-like particles in Japan. *Nihon Juigaku Zasshi* 1983, **45**, 829-832.

27. **Timoney JF, Gillespie JH, Scott FW, Barlough JE.** Hagan and Bruner's microbiology and infectious disease of domestic animals. 8th ed. pp. 897-898. Comstock Publishing Associates, Ithaca, USA. 1988.
28. **Vlasova AN, Marthaler D, Wang Q, Culhane MR, Rossow KD, Rovira A, Collins J, Saif LJ.** Distinct characteristics and complex evolution of PEDV strains, North America, May 2013-February 2014. *Emerg Infect Dis* 2014, 20, 1620-1628.
29. **Wood EN.** An apparently new syndrome of porcine epidemic diarrhoea. *Vet Rec* 1977, 100, 243-244.
30. **Zhang X, Pan Y, Wang D, Tian X, Song Y, Cao Y.** Identification and pathogenicity of a variant porcine epidemic diarrhea virus field strain with reduced virulence. *Virology* 2015, 12, 88.

# 최근 제주도의 돼지유행성설사 발생 상황과 병리학적 고찰

지도교수 : 김 재 훈

김 현 주

제주대학교 대학원 수의학과

제주에서 돼지유행성설사(porcine epidemic diarrhea; PED)는 2004년 3월 마지막 발생한 후 약 10년간 발생하지 않았다. 본 연구는 제주지역에서 2014년 4월부터 최근까지 재발생하고 있는 PED 발생 상황을 분석하고, 돼지유행성설사 바이러스(porcine epidemic diarrhea virus; PEDV)에 감염된 돼지에 대한 병리학적 검사와 함께 분리된 바이러스에 대한 유전학적 분석을 실시하였다. 공시동물은 2014년 4월부터 2015년 9월까지의 52개 양돈 농가에서 72건에 걸쳐 제주특별자치도 동물위생시험소에 의뢰된 153마리의 돼지를 대상으로 하였다. 소장과 대장 조직 내 PEDV 항원의 분포를 조사하기 위하여 면역조직화학염색(immunohistochemistry; IHC)을 실시하였으며, 분변시료에서 PEDV를 검출하기 위하여 역전사 중합효소연쇄반응(reverse transcription polymerase chain reaction; RT-PCR)을 수행하였다. 또한 돼지에서 검출된 PEDV 12주에서 spike (S) gene을 증폭하고, 염기서열분석을 통해 계통학적 트리를 제작하였다.

153마리의 돼지는 병리조직학적 검사, IHC 및 RT-PCR을 통하여 PED로 진단되었다. 자돈에서 PED 발생은 1~7일령의 돼지에서 가장 많은 발생 빈도를 보였다. 제주지역에서 PED는 연중 발생하고 있었으며, 최초 재발생 시기인 2014년 4월과 5월 폭발적인 발생을 보이다가 동절기에 증가하는 양상을 보이고 있었다. 제주지역에서 PED로 진단된 농가는 52호로 밝혀졌으며, 동일 농가에서 2회 이상 의뢰된 농가는 17농가(32.7%)에 달하였다.



PED로 진단된 돼지의 소장 용모는 현저하게 위축되어 있고, VH:CD ratio를 측정할 결과 공장과 회장에서 각각 1.4:1 및 1.5:1로 나타났다. 소장에서 주로 관찰되는 병리조직학적 소견으로는 용모 상피세포 세포질 내 공포 형성, 상피세포 편평화 및 탈락 순으로 나타났다. 상피세포 내 공포 형성은 공장보다 회장에서 더욱 빈번하게 관찰되었다. 장조직에 대한 면역조직화학염색 결과 공장보다는 회장에서 PEDV 항원 발현이 높게 나타났으며, 29마리(21.3%)의 결장 점막상피세포에서도 PEDV 항원을 확인할 수 있었다. 제주도 돼지 시료에서 검출된 12주의 PEDV는 유전학적으로 98.9% 이상의 상동성을 보이고 있으며, genogroup 2 North American 그룹에 속하고 있었다.

---

중심어 : 돼지, 돼지유행성설사, 면역조직화학염색, 염기서열분석, S 유전자

