



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

돼지열병 백신주(LOM)가 검출된 제주지역
포유자돈에 대한 병리학적 연구

제주대학교 대학원

수의학과

김재범

2019년 8월

돼지열병 백신주(LOM)가 검출된 제주지역
포유자돈에 대한 병리학적 연구

지도교수 김 재 훈

김 재 범

이 논문을 수의학 석사학위 논문으로 제출함

2019년 6월

김재범의 수의학 석사학위 논문을 인준함

심사위원장

손 원 근



위 원

임 윤 기



위 원

김 과 료



제주대학교 대학원

2019년 6월



Pathologic Study on Suckling Piglets Detected Classical Swine Fever Live Vaccine Strain (LOM) in Jeju

Jae-Beom Kim

(Supervised by professor Jae-Hoon Kim)

College of Veterinary Medicine

Graduate school, Jeju National University, Jeju, Korea

Abstract

Classical swine fever (CSF) is a highly contagious, multi-systemic hemorrhagic viral disease in pigs that may manifest as peracute, acute, chronic, or prenatal form diseases. CSF virus (CSFV) is small, enveloped, positive, single-strand RNA virus in the genus *Pestivirus* of the *Flaviviridae* family. Various CSF vaccines such as live vaccine, DNA vaccine, subunit vaccine, and recent marker vaccine are available in many countries. Since 1974, CSF live vaccines (LOM strain) have been widely used to control CSF in domestic pigs in Korea. In contrast with Korea mainland, Jeju province had been CSF free and pigs reared in Jeju had not been vaccinated against CSF for more than twenty years. In the present study, we describe the detection of LOM vaccine strain virus in suckling piglets in Jeju for recent five years.

A total of 60 suckling piglets from 21 pig farms of Jeju island were submitted to the Diagnostic Laboratory of Jeju Self-Governing Provincial Veterinary Research Institute and the Pathology Department in the College of Veterinary Medicine, Jeju National University from 2014 to August 2018. Necropsy was

performed and collected visceral tissues were fixed in 10% buffered formalin, embedded in paraffin, sectioned at 3 μm and stained with hematoxylin and eosin. Many laboratory tests such as bacterial cultures, polymerase chain reaction, and immunohistochemistry (IHC) were performed to clarify the causative pathogens in piglets.

CSF LOM vaccine strain virus were detected in 60 suckling piglets. Based on the histopathologic examination and laboratory tests for 51 piglets, 37 (72.5%) piglets were confirmed as mixed infected with LOM and other viral or bacterial pathogens such as porcine epidemic diarrhea virus, porcine reproductive and respiratory virus, rotavirus, and *Streptococcus* spp. However, only LOM vaccine strain was detected in 14 (27.5%) suckling piglets. According to IHC, CSFV antigens were demonstrated in 52.1% (25/48) suckling piglets. CSFV antigens were more prevalent in LOM single infected individual piglets (57.1%, 8/14) than mixed infected piglets (50.0%, 17/34).

Keyword: Classical swine fever vaccine strain (LOM), histopathology, IHC, Jeju, piglets

목 차

I. 서 론	-----	1
II. 재료 및 방법	-----	4
III. 결 과	-----	8
IV. 고 찰	-----	15
V. 결 론	-----	21
VI. 참고문헌	-----	27
초 록	-----	31

I. 서 론

돼지열병(classical swine fever)은 모든 연령의 사육 돼지 및 야생 멧돼지에 발병하는 바이러스성 질병으로 전염성이 강하고 폐사율이 매우 높다 [10, 19]. 원인체는 Flaviviridae과의 Pestivirus속에 속하는 단일가닥의 RNA 바이러스이다 [19]. 질병의 발생기전은 돼지열병 바이러스(classical swine fever virus; CSFV)가 구강 및 비강을 통해 돼지 체내로 들어온 후 편도에서 1차 증식을 하고 인근 림프절로 이동한 후 바이러스 혈증을 일으킨다 [19]. 바이러스가 비장과 림프절 등 림프조직에서 2차 증식하면서 심한 백혈구 감소증, 혈소판 감소증 및 전신의 출혈성 병변을 일으켜 개체가 폐사하게 된다. 돼지열병의 임상증상은 고열, 피부 발적, 식욕부진 또는 결핍, 변비 또는 설사, 후구마비 등의 신경증상, 유사산 등의 임상 증상을 나타낸다 [10, 22].

돼지열병의 임상형은 크게 심급성형, 급성형 및 만성형으로 분류되며 태반 감염을 통한 유사산을 일으킬 수 있다 [10, 19]. 급성형의 경우 감염된 돼지에서 약 1주일의 잠복기를 거친 후 40℃ 이상의 고열, 침울, 식욕부진 등의 증상을 나타낸 후 돼지열병의 특징적인 증상인 후구마비, 경련, 청색증 및 전신 출혈반점을 보이게 된다. 만성형은 약 1개월 이상의 잠복기를 거치는데 침울, 성장지연, 미만성 피부염 등의 임상증상을 보이며 1~3개월 동안 바이러스를 배출하게 되고 폐렴 등의 2차 감염이 일어난다. 그리고 돼지열병의 가장 특징적인 육안 병변인 비장의 출혈성 경색 및 맹결장의 단추양 궤양이 관찰된다. 또한 돼지열병은 이환율 및 폐사율이 매우 높아 전 세계 양돈 산업에 막대한 경제적 피해를 초래함은 물론 국제적인 교역에도 심각한 위협을 야기 시킬 수 있다 [12]. 따라서 본 질병은 국내에서 가축전염병예방법 상에 제1종 가축전염병으로 지정하여 관리하고 있는 매우 중요한 전염병이다.

전 세계적으로 많은 국가에서는 본 질병을 제어하기 위하여 발생 농장의 감염 돼지를 도태시키는 살처분 정책과 사전 예방을 하기 위한 백신정책을 실시하고 있다 [28]. 돼지열병 백신은 생독백신, DNA 백신, subunit 백신, 그리고 최근에는 마커 백신 등이 다양하게 개발되어 사용되고 있다 [19, 24]. 하지만 백신정책을 실시하는 대부분의 국가에서는 CSFV가 변형된 생독백신(modified live vaccine; MLV)을 주로 사용하고 있다 [16]. 국내에서는 돼지열병 백신주인 LOM주가 개발되어 1974년 이후 양돈농가에 보급되어 이 전염병을 예방하기 위하여 폭 넓게 이용되어 양돈산업에 많은 도움을 주었다 [4, 7, 8].

이후 대한민국 정부에서는 1996년에 돼지열병 근절 대책 기본 계획을 수립하여 돼지열병 예방접종 100% 실시와 발생농장 살처분 범위 확대 실시 등을 통한 돼지열병 발생 최소화 및 청정화 준비 단계를 거쳤다. 그 결과 2001년 12월 예방접종 전면 중단 및 청정화 선언으로 OIE (Office International des Epizooties, 세계동물보건기구)로부터 돼지열병 청정화 지위를 획득하였다 [4]. 그러나 2002년 4월 철원지역에서 돼지열병이 2건 발생하였고 같은 해 10~12월 강화, 김포 및 이천 등에서 총 11건이 추가로 발생하였다 [4]. 2003년 3~5월에는 제주도를 제외한 전국 6개도 25개 시·군에서 총 65건의 돼지열병이 발생함에 따라 제주도를 제외한 전국에서 돼지열병 예방접종을 재실시하게 되었다.

제주도는 내륙지역을 제외하고 지역단위로 처음으로 1999년 12월 18일 청정화 선언을 하여 돼지열병 예방접종을 전면 중단했다 [4]. 하지만 청정화 선언 5년만인 2004년 11월 종돈장 위생 점검 시 CSFV 항체가 검출된 이후, 2005년 4월까지 총 34개 농장에서 돼지열병 항체 또는 항원이 확인되었고 항원에 대한 유전자 분석결과 야외 바이러스 또는 변이 바이러스가 아닌 타·시도에서 사용 중인 백신주(LOM주)로 확인되었다 [3]. 또한 제주도 돼지열병 백신주(LOM주) 검출관련 역학조사 보고서에 따르면 백신주가 검출된 돼지의 육안 병변이 야외주 감염 돼지와 유사점은 피부의 자반(청색증), 편도의 궤양, 신장의 점상출혈, 맹장·결장의 단추양 궤양, 비장의 경색(흑변) 등이었다 [3]. 차이점으로는 야외주 감염 시에는 피부가 얇은 부위인 사지말단·귀·코·주둥이 등에서 피부 발적 [19]이 나타나지만 LOM주가 검출된 돼지의 경우 전신에 무작위로 나타나는 경향을 보였다고 한다. 야외주 감염 시 나타나는 병리조직소견으로는 뇌염 및 림프장기의 세망내피계세포가 현저하게 증식하여 부피질 영역이 증가하는 특징을 보인다 [19]. 하지만 LOM주가 검출된 돼지에서는 중추신경계에서 뇌막염이 관찰되지만 림프장기의 경우 림프소절 위축 외에 부피질 영역의 증가는 거의 없었다고 하였다. 그리고 국립수의과학검역원(현 농림축산검역본부)은 그 당시 LOM주 검출농장에서 폐사한 돼지들에 대한 정밀검사 결과 세균성 패혈증, 호흡기 질병, 돼지 생식기 호흡기 증후군(porcine reproductive and respiratory syndrome; PRRS) 등의 감염에 의해 폐사한 것으로 종합 결론을 내렸다 [3]. Kim 등 [17]에 의하면 CSFV 항체에 대한 정기검사와 지방 정부의 현행 규제 상황을 고려할 때 제주도 양돈 농장주의 의도적인 예방 접종의 가능성은 매우 낮다고 보았다. 하지만 부적절한 열처리 후 돼지 사료 내에 혼합되는 돼지 유래 면역 혈장이나 혈액 성분이 LOM주를 비롯한 여러 가지 병원체의 전파 원인이 될 수 있음을 지적하였다.

2004년 11월 제주도에서 돼지열병 백신주(LOM주)가 검출된 이후 지방 정부의 백신 항체 근절 대책 추진을 통한 모든 도태 및 갱신, 오염원인 사료 첨가제에 대한 열처리 등의 규제를 강화하여 2008년에 돼지열병 백신항체 출현을 근절시켰다. 하지만 2014년부터 부지불식간에 LOM주가 혼입된 양돈백신이 제주도에 유입되고 돼지에 접종됨에 따라 돼지열병 백신주 항체 또는 항원이 다시 검출되기 시작하여 최근까지도 지속적으로 발생하고 있는 실정이다 [6].

2018년 12월 기준으로 제주도에 278호 농가에 552,402마리의 돼지가 사육되고 있으며, 2017년 축산분야 총 생산액은 992,450백만원으로 그 중에 양돈 분야가 421,827백만원(42.5%)으로 가장 높은 비중을 차지하고 있다. 따라서 2004년 제주도 양돈 농가에서 확인된 LOM주 발생으로 인한 피해는 양돈 산업은 물론 제주 지역 경제에도 영향을 미칠 수 있을 것으로 생각된다.

따라서 본 연구는 돼지열병 백신주로 인한 피해를 호소하는 농장의 포유자돈(환돈 또는 폐사축)을 대상으로 병리학적 검사를 포함한 정밀 실험실 검사를 실시하였다. 이를 통하여 농장 내 환돈 또는 폐사 발생의 원인을 찾고, 돼지열병 백신주를 비롯한 다른 병원체 감염과의 연관성을 규명하고자 하였다. 또한 양돈 농가의 피해 예방과 제주도 내 돼지열병 백신주 근절대책 마련을 위한 기초자료를 제공하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시재료

공시재료는 2014년부터 2018년 8월까지 제주대학교 수의과대학 수의병리학교실 및 제주특별자치도 동물위생시험소로 총 21개 양돈농장에서 의뢰된 포유자돈 60마리의 시료를 사용하였다. 지역별로는 제주시 한림읍 19개 농장, 제주시 애월읍 1개 농장, 서귀포시 대정읍 1개 농장으로부터 검사 의뢰되었으며, 연도별로는 2014년 5마리, 2015년 5마리, 2016년 9마리, 2017년 26마리, 2018년 15마리를 대상으로 검사를 실시하였다.

2. 육안 및 병리조직학적 검사

검사 의뢰된 개체를 일반적인 술식에 준하여 부검을 실시하였으며, 피부를 포함한 내부 실질 장기의 육안적 병변을 관찰하였다. 부검 시 채취한 실질 장기 또는 병변이 확인된 각 장기의 일부는 10% 중성완충포르말린 용액에 고정하였다. 고정이 완료된 조직은 병변 부위를 세절한 뒤 일반적인 조직처리 방법에 따라 파라핀 포매하여 3~4 μm 두께로 절편을 제작하였다. 슬라이드에 제작된 조직 절편은 통상적인 hematoxylin and eosin (H&E) 염색을 실시하였다. 염색이 끝난 절편은 봉입 후, 광학현미경(Leica DM LB2, Germany)을 이용하여 검경하였다.

3. 면역조직화학 염색법(Immunohistochemistry; IHC)

조직 내 CSFV 항원의 분포를 확인하고자 EnVision™ peroxidase-conjugated polymer reagent (Dako, Denmark)를 이용하여 IHC를 수행하였다. 각 조직은 3 μm 두께로 박절하여 silane coating micro slides glass (MUTO PURE CHEMICALS, Japan)에 부착하였다. 조직 절편이 완전히 부착된 다음, 일반적인 조직처리 방법으로 탈파라핀 및 함수과정을

거쳐 자연적으로 존재하는 peroxidase를 제거하기 위하여 3% H₂O₂가 첨가된 phosphate buffered saline (PBS, pH 7.2)에 10분간 반응하였으며, 항원성의 부활을 위해 0.05% proteinase XIV (Sigma, USA)로 37°C에서 20분간 반응시켰다. 1차 항체로 mouse anti-CSFV antibody (WH303, Animal and Plant Health Agency, New Haw, Addlestone, UK)를 1:100의 농도로 희석한 다음 절편에 적하하여 37°C에서 1시간 반응시켰다. 그 후 EnVision™/HRP, Rabbit/Mouse (EVN) reagent (DAKO, Denmark)를 적하하여 37°C에 40분간 반응시켰다. 각 단계별로 반응 후에는 PBS로 10분씩 2회에 걸쳐 세척하였다. 모든 반응이 끝난 절편은 3, 3'-diamino-benzidine tetrahydrochloride (DAB; DAKO, Denmark)로 발색시킨 후, 3차 증류수에서 반응을 종결하였다. 대조염색은 Mayer's hematoxylin (Sigma, USA)으로 핵 대조염색을 하였으며, 탈수와 투명과정을 거쳐 봉입하였다. 염색이 끝난 조직 슬라이드는 광학현미경(Leica DM LB2, Germany)으로 양성 대조군 및 음성 대조군과 비교하여 항원의 존재 여부를 관찰하였다. 돼지열병 항원이 존재하는 부위는 암갈색의 DAB 발색이 있는 부위를 양성으로 판단하였다.

4. 역전사 중합효소연쇄반응(Reverse transcription-polymerase chain reaction; RT-PCR)

1) 검사 시료

RT-PCR 검사에 시용할 수 있는 시료는 돼지의 혈장 및 조직시료를 대상으로 하였다. 검사 시료는 부패되지 않은 신선한 것을 사용하고 -20°C에 냉동 보관하였다.

2) 바이러스 핵산 추출

10% 유제액 300 μl로부터 RNeasy Mini Kit (Qiagen®)를 사용하여 50μl DEPC treated water로 추출한다. 유전자 추출 방법은 제조사의 사용 설명서를 참고하였다. 추출한 유전자 5 μl를 RT-PCR 검사에 사용하였다.

3) RT-PCR 검사

RT-PCR 검사는 VDX® CSFV 5'NCR RT-PCR Kit (MEDIAN Diagnostics)를 사용하였다. 건조된 RT-PCR premix (CSFV)에 CSFV primer mix 15 μl를 넣은 후, 추출한 유전자

5 μ l를 넣고, PCR 프로그램에 준하여 RT-PCR (Table 1)을 실시하였다. PCR 검사의 유효성을 확인하기 위하여 control DNA를 동일한 방법으로 첨가한다. PCR cycle이 종료되면 PCR 증폭산물 5 μ l를 EtBr이 첨가된 1.5% agarose gel에서 통상적인 방법으로 전기영동한 후 특이 유전자의 존재 여부를 확인하였다.

Table 1. CSFV RT-PCR program

Step	Temperature	Time	Cycle
cDNA synthesis	50°C	30 min	1
Initial inactivation	95°C	15 min	1
Denaturation	94°C	30 sec	35 cycles
Annealing	55°C	30 sec	
Extension	72°C	40 sec	
Final extension	72°C	10 min	1

4) RT-PCR 결과 판정

Control DNA는 309 bp의 증폭 산물을 확인할 수 있다. 시료에서 421 bp의 증폭 산물이 확인되면 돼지열병 바이러스 양성으로 판정하였다.

5) 제한 효소(Xho I)를 이용한 돼지열병 백신주(LOM주) 및 야외주의 감별진단

돼지열병 LOM주의 경우 제한 효소 처리 시 절단되지 않는 반면 야외주의 경우 2개의 band로 절단되어 두 바이러스를 감별할 수 있다. 검사 방법은 돼지열병 정밀검사법(발간 등록번호: 11-1380644-000033-01)을 참고하였다.

5. 병원체 검사

돼지 시료에 대한 병원체 검사는 세균과 바이러스로 구분하여 일반적인 진단 기법을 동원하여 실시하였다. 돼지 소모성 질병의 원인체인 porcine circovirus type 2 (PCV2) 감염을 확진하기 위하여 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction; PCR) 또는 IHC를 수행하였다. PCR은 Larochelle 등 [18]이 제시한 PCV2 바이러스의 open reading frame 2 유전자를 검출하기 위하여 제작된 primer를 사용하였으며, IHC는 rabbit anti-PCV2 antibody (Iowa State University, USA)를 이용하였다. 돼지 생식기 호흡기 증후군 바이러스(porcine reproductive and respiratory syndrome virus; PRRSV), 돼지유행성설사바이러스(porcine epidemic diarrhea virus; PEDV) 및 돼지 로타바이러스 항원 검사는 RT-PCR을 이용하였다.

세균 검사의 경우 부검 시 확인한 각 장기의 병변부에서 무균적으로 조직을 채취하여 혈액 배지 (HANIL KOMED, Korea) 및 MacConkey agar plate (BD Difco, USA)에 도말하여 균체 증식 여부를 확인하였다. 도말한 배지는 37°C에서 24 ~ 48시간 동안 호기 또는 혐기조건으로 배양하였다. 연쇄상구균(*Streptococcus* spp.), 포도상구균(*Staphylococcus* spp.), *Pasteurella multocida*, 대장균(*Escherichia coli*) 등은 혈액배지에서 증식된 균체의 성장, 그람 염색 결과 및 VITEK 2 system (Biomerieux, USA)을 이용하여 동정하였다. 또한 *Clostridium* spp. 및 대장균 독소 검사는 PCR 검사를 병행하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 임상증상 및 육안 병변

제주 및 서귀포 지역 21농장 포유자돈 60마리에서 돼지열병 LOM주 항원이 검출되었으며 지역별 분포는 한림읍이 19개 농장으로 대다수를 차지하였고 애월읍 및 대정읍이 각각 1개 농장씩 검출되었다(Fig. 1). 포유자돈의 주요 임상증상은 설사 51마리, 위축 37마리, 폐사 35마리, 탈수 7마리, 고열 6마리 등의 순으로 확인되었다(Table 2). 기타 증상으로는 기립불능, 진전과 같은 신경계 증상도 있으며 일부 개체에서는 비출혈, 복부 피하 출혈을 나타내기도 하였다.

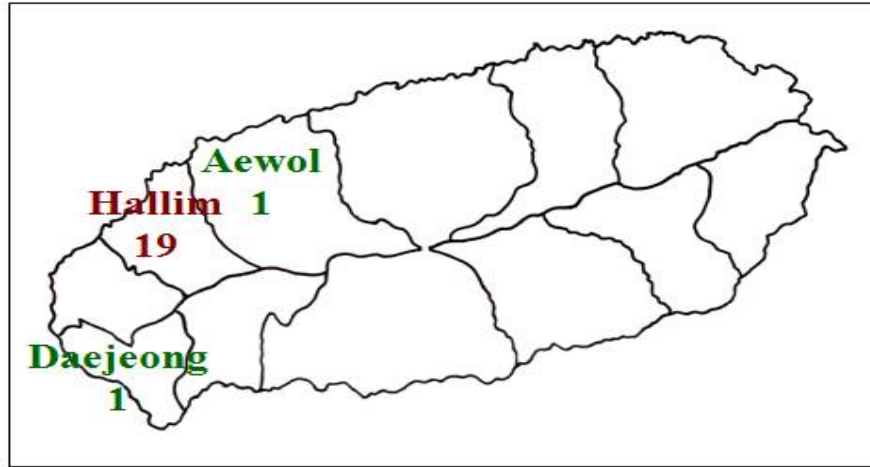


Fig. 1. Regional prevalence of classical swine fever vaccine detected in 21 farms of jeju.

Table 2. Summary for major clinical signs of suckling piglets with classical swine fever LOM vaccine strain (N = 60 piglets)

Clinical signs	Diarrhea	Atrophy	Death	Dehydration	Fever	Astasia or tremor
No. of pigs (%)	51 (85.0)	37 (61.7)	35 (58.3)	7 (11.7)	6 (10.0)	3 (5.0)

포유자돈의 주요 임상증상이 설사 및 위축인 것과 유사하게 육안 병변도 대체적으로 소화기 병변이 높은 비율을 차지하고 있었으며 주요 병변은 거친 피모 51마리, 위내의 응유 저류 20마리, 소장 장벽 위축 12마리, 대장 내강 수양성 분변 14마리, 맹결장 장간막 부종 14마리(Fig. 3)로 관찰되었다. 그러나 소화기 질병과는 특별한 관련성이 없는 전신 패혈증성 질병 감염 시 나타날 수 있는 병변인 폐장의 폐렴, 울혈 및 출혈, 심장, 비장 및 신장의 출혈 소견(Fig. 4)이 관찰되기도 하였다(Table 3).

Table 3. Major gross findings of internal organs in suckling piglets with classical swine fever LOM vaccine strain (N = 60 piglets)

Organs	Gross lesions	No. of piglets (%)
Skin	Rough hair coat	51 (85.0%)
	Hemorrhage	1 (1.7%)
Stomach	Milk curd	20 (33.3%)
Small intestine	Atrophy of intestinal wall	12 (20.0%)
	Watery diarrhea	14 (23.3%)
	Soft stool	5 (8.3%)
Large intestine	Mesocolonic edema	14 (23.3%)
	Ulcer	3 (5.0%)
Lungs	Pneumonia	4 (6.7%)
	Congestion	3 (5.0%)
	Hemorrhage	1 (1.7%)
Heart	Hemorrhage	16 (26.7%)
Kidney	Hemorrhage	28 (46.7%)
Spleen	Hemorrhage	4 (6.7%)
Other organs	Hepatic hemorrhage	1 (1.7%)

2. 병리조직학적 병변 및 최종 진단

부검을 실시한 시료 중 사후변화가 심하거나 냉동 상태로 의뢰되어 내부 장기의 병변 관찰이 용이하지 않은 개체들을 제외하고 대체로 조직의 상태가 양호한 51마리의 내부 장기에 대하여 병리조직학적 검사를 실시하였으며 바이러스와 세균 등의 병원체 진단을 위하여 PCR, 세균 분리 동정 등의 실험을 통하여 각 개체별로 병원체 감염 여부를 확인한 후 병리조직학적 병변과 비교 분석을 하여 최종 진단을 도출하였다.

병리조직 검사와 실험실 결과를 토대로 포유자돈 51마리에 대한 최종 진단은 돼지열병 백신주 단독으로 검출된 개체는 총 14마리(27.5%)로 판명되었다. 그러나 37마리(72.5%)는 다른 바이러스 또는 세균이 혼합 감염되어 있었다. 혼합 감염 양상은 *Clostridium* spp.와 혼합감염이 6마리, 대장균 혼합감염 6마리, PEDV 혼합감염 3마리, 돼지 로타바이러스 혼합감염이 4마리로 총 19마리가 소화기 질병 원인체와 혼합 감염되어 있었다. 호흡기 질병으로는 PRRSV와 혼합감염이 3마리 관찰되었고 화농성 세균인 연쇄상구균과의 혼합감염은 7마리, 포도상구균과의 혼합 감염은 2마리로 관찰되었다. 그리고 소화기 질병이 혼합 감염되어 있는 포유자돈의 경우 맹결장 장간막의 부종 및 염증(*Clostridium difficile* 감염의 특징), 소장 융모(villi)의 위축(atrophy), 융합(fusion), 상피세포의 입방화(cuboidalization) 및 탈락(exfoliation, PED 및 rota virus 감염), 소장 고유층 혈관의 확장 및 염증(대장균증) 등 감염된 병원체와 밀접하게 관계되는 병리조직학적 병변이 관찰되었다. 호흡기 질병의 경우 폐포장 내 염증세포의 유괴사(PRRSV의 특징적 병리조직학적 소견)를 특징으로 하는(기관지) 간질성 폐렴이 확인되었다. 또한 화농성 세균에 의한 실질 장기의 농양 형성 또는 염증은 연쇄상구균 또는 포도상구균 혼합 감염 예에서 관찰되었다 (Table 4).

Table 4. Infection status of classical swine fever LOM vaccine strain and other pathogens in suckling piglets in Jeju

Infection pattern	Pathogen (or disease)	Year					Total
		'14	'15	'16	'17	'18	
	Porcine epidemic diarrhea (PED)			1	2		3
	Rotaviral enteritis				2	2	4
	Rota viral enteritis + Streptococcal or Staphylococcal pneumonia			1		1	2
	Colibacillosis				4	2	6
	<i>Clostridium difficile</i> associated disease	2			1		3
Mixed infection	Clostridium enteritis (+ Exudative epidermitis)			1	2 (1)		4
	Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS)		2				2
	PRRS + Pasteurella pneumonia			1			1
	Streptococcal infection (abscess etc)			1	3	3	7
	Staphylococcal infection				2		2
	Viral encephalitis suspect or bacterial meningitis			1		2	3
Single infection	Classical swine fever LOM vaccine strain			3	6	5	14
	Total	2	2	9	22	15	51

또한 혼합 감염된 37마리에서는 전신 패혈증성 병변인 내부 장기의 출혈 병변과 비화농성 뇌염 병변이 빈번하게 관찰되는 특징을 가지고 있었으며 특히 신장 피수질 실질의 출혈(18마리, 48.6%, Fig. 4C), 심장 심내막 또는 심외막의 출혈(12마리, 32.4%, Fig. 4B), 위관성 원형세포 침윤(perivascular cuffing, PVC, Fig. 5D), 소교세포증(gliosis), 신경 세포 식작용(neuronophagia) 등을 특징으로 하는 비화농성 뇌염(14마리, 37.8%) 및 폐출혈(9마리, 24.3%, Fig. 4A) 병변이 자주 관찰되었다. 그리고 일부 포유 자돈에서는 간의 다발성 출혈(Fig. 4D), 림프절의 주연성 출혈(Fig. 5A), 비장의 충혈(Fig. 5B), 편도의 부피질의 증생(Fig. 5C) 등의 병변이 관찰되었다. 포유 자돈 중 돼지열병 백신주 단독으로 검출된 14마리의 내부 실질 장기에서 관찰된 공통 병변으로는 신장의 출혈(8마리, 57.1%), 심장 심내막, 심근 또는 심외막의 출혈(6마리, 42.9%), 비화농성 뇌염(6마리, 42.9%) 및 폐출혈(3마리, 21.4%) 병변이 주로 관찰되었으며 14마리 중 돼지열병의 특징적인 소견인 비화농성 뇌염, 실질 장기의 출혈 등을 전형적으로 나타낸 개체는 7마리로 최종 확인되었다(Table 5).

Table 5. Frequency of histopathologic features for non-specific septicemic lesions in mixed infected cases and common lesions in classical swine fever LOM vaccine strain single infected cases in suckling piglets

Organs	Histopathologic lesions	No. of piglets with lesions (%)	
		Mixed infected case (N=37)	LOM single case (N=14)
Lungs	Hemorrhage	9 (24.3%)	3 (21.4%)
Heart	Hemorrhage	12 (32.4%)	6 (42.9%)
Spleen	Hemorrhage	1 (2.7%)	-
Kidney	Hemorrhage	18 (48.6%)	8 (57.1%)
Liver	Hemorrhage	1 (2.7%)	1 (7.1%)
GI tract	Hemorrhage	5 (13.5%)	2 (14.3%)
	Ulcer in large intestine	3 (8.1%)	-
Lymph node	Hemorrhage	3 (8.1%)	2 (14.3%)
	Paracortex hyperplasia	5 (13.5%)	-
Tonsil	Necrosis / Ulcer	1 (2.7%)	-
	Paracortex hyperplasia	2 (5.4%)	-
CNS	Nonsuppurative encephalitis	14 (37.8%)	6 (42.9%)
Skin	Hemorrhage	1 (2.7%)	-

3. 면역조직화학 염색 기법을 이용한 내부장기에서의 LOM주 항원 분포 조사

포유자돈 개체별로 돼지열병 바이러스 항원은 52.1%(25/48)의 자돈에서 검출되었으며 다른 병원체와 혼합 감염된 개체에서는 50.0%(17/34), LOM주 단독 감염 예에서는 57.1%(8/14)의 자돈에서 양성 반응을 나타내었다. 포유자돈의 내부 장기별로 돼지열병 바이러스 항원 발현 정도는 편도(40.0%), 비장(22.9%), 림프절(15.0%) 및 폐장(14.6%)에서는 높게 나타났으며 소화기(4.3%), 신장(4.2%), 간장(2.1%)에서는 매우 낮게 나타났다. 돼지열병 LOM주만 단독 감염된 포유자돈의 림프절에서는 항원 발현율이 30.0%로 다른 병원체와 혼합 감염된 자돈의 10.0%에 비하여 매우 높게 나타났으나 다른 장기에서는 대체로 낮은 경향을 보였다. 돼지열병 바이러스 항원은 편도와 음와 상피세포(crypt epithelial cells)에서 발현되고 있으며(Fig. 6), 편도를 포함한 비장(Fig. 7) 및 림프절과 같은 림프장기에서는 증식된 세망내피계 세포(reticular cells) 및 림프구(lymphocytes)에서도 발현되었다. 폐장에서는 기관지 또는 세기관지 상피세포와 폐포벽 또는 폐포강에 침윤된 큰포식세포에서 항원이 발현되었다. 일부 개체에서는 신장의 혈관내피세포에서도 바이러스 항원이 검출되었다. 기타 장기의 경우 실질에 침윤된 큰포식세포 또는 림프구에서 바이러스 항원이 분포하고 있었다(Table 6).

Table 6. Results of the immunohistochemistry for CSFV antigens in internal organs of suckling piglet

Group	Internal organs (No. of IHC positive piglets / No. of tested, %)									Total
	Tonsil	Lymph node	Spleen	Lungs	Heart	Kidney	Liver	GI tract	CNS	
Mixed infection	11/24 (45.8)	3/30 (10.0)	8/34 (23.5)	4/29 (13.8)	0/32 (0)	2/34 (5.9)	1/34 (2.9)	2/33 (6.1)	0/26 (0)	17/34 (50.0%)
LOM single	3/11 (27.3)	3/10 (30.0)	3/14 (21.4)	2/12 (16.7)	0/13 (0)	0/14 (0)	0/13 (0)	0/13 (0)	0/12 (0)	8/14 (57.1%)
Total	14/35 (40.0)	6/40 (15.0)	11/48 (22.9)	6/41 (14.6)	0/45 (0)	2/48 (4.2)	1/47 (2.1)	2/46 (4.3)	0/38 (0)	25/48 (52.1%)

4. RT-PCR 검사 결과

포유자돈 60마리에 대한 검사 결과 전두수에서 421bp에서 항원 양성을 확인하였으며 제한 효소 처리 결과 RT-PCR 산물이 절단되지 않아 전 두수에서 돼지열병 야외주가 아닌 백신주로 판명되었다(Fig. 8).

IV. 고 찰

전 세계적으로 돼지열병은 1833년 미국에서 최초 발병한 것으로 보고되었다 [14]. 그러나 1822년 프랑스에서도 돼지 열병과 유사한 질병이 발생했다는 기록이 있어 유럽에서 미국으로 돼지열병이 유입된 것으로 추정하고 있다 [12]. 산업혁명으로 인한 철도 등의 교통수단이 발달되어 1860년대에는 돼지열병이 미국 및 유럽의 여러 나라로 확산되었고 그 후에는 전 세계의 많은 국가에서 발생하고 있다. 이와 같이 CSFV는 감염된 돼지 및 설치류를 포함한 동물에 의한 직접적인 전파뿐만 아니라, 공기 또는 에어로졸에 의한 전파 및 사람을 비롯한 기계 또는 기구 등에 의한 간접 전파가 가능한 것으로 알려져 있다 [19].

돼지열병을 예방하기 위한 백신은 1936년 최초로 개발되었다. 이 백신은 감염된 돼지 혈액에서 CSFV 입자(virion)를 불활화 시킨 crystal-violet 백신이었으나 안정성 및 효율성이 매우 낮았다 [26]. 1940년대에는 토끼에서 생산된 약독화된 생독백신이 만들어졌다. 이후 돼지열병 백신주로는 토끼에서 계대를 반복하여 약독화된 가토화 생독 바이러스인 ROVAC (USA), SFA (UK), LPC, C-strain (chinese vaccine strain) 등을 이용한 백신이 활용되었다 [11]. 현재 국내에서 사용 중인 LOM 백신주의 유래는 Sato 등 [25]이 개발한 조직 배양 순화 바이러스인 LOM-850주를 1964년 일본 농림성 동물의약품 검사소에서 분양받아 국내에서 다시 소 신장(bovine kidney) 세포에서 연속 계대하여 LOM-BK⁺주를 cloning하여 사용하고 있다 [7, 8]. LOM-BK⁺ 백신주는 END (exaltation of Newcastle disease virus) 법에 양성을 보이고, 돼지 체내에서의 증식성, 자돈에 대한 안전성 및 면역원성 등에 좋은 결과를 나타내었으며, 야외 시험을 통하여 효과가 입증되어 1974년부터 현재까지 국내에서 사용되고 있다. 또한 김 등 [1]은 LOM-BK⁺ 주에서 cloning한 END 음성주(수리주)와 LOM BK⁺주를 SPF 돼지에 접종하여 안전성을 비교 검토하는 실증시험을 실시하였다. 그 결과 두 백신 주간에 다소간의 차이는 있으나, 림프절의 충혈 및 종대, 방광의 점상출혈과 같은 육안적 및 병리조직학적 소견은 접종 후 5일 쯤 일부 개체에서 나타난 후 10일 쯤에는 점차 완화되고 접종 후 21일에는 모두 완전히 정상으로 회복되었다. 따라서 이러한 경미한 병변은 백신 바이러스 접종에 수반된 돼지의 면역 반응으로 추정되며, 실험에 사용한 두 가지 백신 모두 SPF 돼지에 대한 병원성은 거의 없는

것으로 보고하였다. 그러나 생독 백신의 경우 임신 모돈에 접종 시 태반 감염이 이루어져 유산, 사산 및 기형 태아 분만 등의 부작용을 일으킬 수 있기 때문에, 국내에서는 LOM 백신의 경우 임신 모돈에는 접종하지 말 것을 권장하고 있다. 또한 LOM 백신주와 같은 생독백신의 경우 백신 접종 돼지와 야외 감염 돼지를 혈청학적으로 감별하기에 어렵다는 큰 단점이 있다. 이러한 생독백신의 단점을 극복하고 돼지열병에 감염된 돼지를 백신 접종된 개체와 감별하기 위한 DIVA (differentiating infected from vaccinated animals) 백신으로 활용할 수 있는 E2 마커백신(marker vaccine)이 개발되고 있다 [11, 15].

돼지열병은 감염된 돼지의 연령과 바이러스의 독력(virulence)에 따라 치명적(fatal)에서 준임상형(subclinic)까지 다양하게 발현된다 [24]. CSFV는 임신 모돈에 감염되었을 경우 임신 기간 전반에 걸쳐 태반을 통과하여 태아에 감염될 수 있다. 감염된 바이러스 균주의 독력 및 모돈의 임신 시기에 따라 유산, 사산, 미이라 태아 및 태아 기형을 일으킬 수 있다 [19, 24]. 이런 질병의 유형을 후발성 돼지열병(Late-onset CSF)이라 하며, 반추동물에서 소바이러스성 설사병 바이러스(Bovine viral diarrhea virus)의 감염과 매우 유사한 양상을 나타내는 특징을 가진다. 후발성 CSF는 모돈이나 태아를 감염 즉시 폐사시키지 못하는 저병원성 또는 중등도 병원성 CSFV 주의 감염에서 전형적으로 발생한다. 돼지에서 후발성 CSF는 임신 50-70일령에 자궁 내 감염되거나 분만 후 매우 이른 시간에 포유자돈에 감염(early post-natal infection)되어 나타나는 현상으로 오랜 기간 동안 바이러스 혈증을 나타내는 지속감염(persistent infection; PI)을 특징으로 한다 [19, 22, 24]. PI 자돈의 경우 초기에는 임상적으로 정상 상태를 보이지만 성장이 더디고 점진적으로 피부의 출혈 반점이나 소모성 질환 등의 임상증상을 보이며, 일부 개체는 수 주 또는 수 개월까지 살아남아 끊임없이 다량의 바이러스를 배출하는 매우 위험한 바이러스 보균자로 작용한다.

제주특별자치도 동물위생시험소에서 발간한 ‘제주 돼지열병 백신주 검출 역학조사 보고서 (2014-2015) [6]’에 따르면, 2004년 LOM주에 오염된 돼지 혈분을 사용한 사료가 제주도내 유입되어 돼지에게 급여됨으로써 돼지열병 백신주 바이러스와 항체가 총 47농가에서 검출되었으나 대상 농가의 모돈을 도태 처리하는 등의 강력한 방역 정책을 실시하여 2008년 12월 백신 항체 근절을 완료하였다. 이후에도 간헐적으로 돼지열병 항체 발생이 있었으나 해당 농장의 돼지에 대한 검사 후 항체 양성축을 전두수 도태 처리 또는 도외 반출을 하는 정책을 실시하였다. 그러나 2014년부터 LOM 백신 바이러스가 혼입된 돈단독

백신이 제주도에 유입되어 돼지열병 백신주 바이러스 항원 및 항체가 검출되기 시작하여 2015년까지 약 42개 농장으로 급격히 확대되었다. 이들 돼지 농장과 백신 회사 간에 피해 보상을 위한 협의가 진행되었고, 이 과정에서 바이러스 전파에 가장 중요한 요소인 백신 항원 또는 항체 양성 모돈에 대한 철저한 기록 관리와 도태 처리를 유도하였으나 정작 해당 농장에서는 그 이행이 제대로 이루어지지 않은 것으로 알려져 있다. 따라서 방역 조치에 의거 제거되었어야 할 양성축이 양돈장에 상존함으로써 꾸준히 바이러스를 양산하는 감염원으로 작용하였을 가능성이 매우 높은 것으로 추정될 뿐만 아니라 백신주 발생이 근절되지 않고 확산되는 가장 큰 요인으로 볼 수밖에 없는 상황이다. 특히 이번 연구에서 총 60마리의 LOM 양성 포유자돈 중 2015년 까지는 10마리에 불과하였으나, 이 후 50마리가 검출되어 이러한 상황을 대변하고 있는 것으로 판단된다. 더욱이 야외에서는 LOM 백신주에 대한 안전성 문제, 농장 내 또는 농장 간 LOM주의 전파 또는 순환 감염 가능성 등에 대한 의구심이 현저하게 증폭되었다.

국내에서 시판 사용하고 있는 LOM 백신의 안전성을 조사하기 위하여 임신 초기(임신 38일령) 모돈 3마리 및 임신 중기(임신 49-59일령) 모돈 11마리에 각각 상용화된 백신을 접종하였다 [2, 21]. 임신 초기 모돈 3마리 중 2마리는 정상 분만하였으나, 모돈 1마리에서는 태아 9마리가 유산되어 사산 또는 미이라화가 관찰되어 LOM 백신이 임신 초기 모돈에서 부분적인 접종 부작용이 있음이 확인되었다. 임신 중기에 접종한 모돈 중 3마리를 접종 3주 후 부검한 결과 모돈 및 태아의 내부장기에서 돼지열병 항원이 검출되었다. 또한 임신 중기 모돈 7마리와 비접종 대조군 모돈 2마리에 대하여 자연 분만을 유도하여 자돈의 유사산 발생을 조사한 결과 대조군의 경우 82%의 정상 분만율을 보인 반면 백신 접종 모돈에서는 37%의 정상 분만율을 보였고 자돈에서의 면역관용 현상은 인정되지 않았다. 따라서 돼지열병 LOM 백신은 임신 모돈에서 면역학적 항체 형성능은 우수하지만, 모돈의 일부 장기에서 백신 바이러스가 검출되었다. 또한 모돈에 접종된 약독화 백신주 바이러스가 태반을 통과하여 태아에 감염되고 일부 사산 또는 미이라 태아를 분만한 결과를 토대로 LOM 백신주가 임신돈을 폐사 시키지는 않지만 태아에 다소 병원성이 있는 것으로 확인되었다. 더욱이 최근 연구 보고(제주도 돼지열병 백신주(LOM)의 조직 병리학적 연구, 관리 번호: Z-1543083-2017-18-01)에 따르면 제주도 시료에서 분리된 백신주(LOM)를 임신 중기 모돈에 접종한 후 분만된 허약 자돈 1마리에서 면역관용에 의한 PI의 가능성이 제기되기도 하였다 [5]. 해외의 보고에 의하면 모돈에서 임신 중기에 CSFV가 태반을 통과하여 태아에 감염될 경우 때로 바이러스에 감염된

상태의 새끼 돼지가 분만될 수 있다 [13, 27]. 이러한 PI 돼지는 보균자로 작용하고 심지어는 태어난 후 153일 이상 바이러스혈증이 지속되었음을 보고한 바 있다 [27]. 제주도에서는 1999년 12월 돼지열병 청정화 선언을 하였고, 그 이후 돼지열병 백신 접종 및 타 시도로 부터의 돼지 도입을 전면 중단하고 있기 때문에 제주도 내에서 사육하고 있는 모든 돼지는 매우 순수한 상태(*naive state*)라고 말할 수 있다. 이러한 상황에서 순수한 임신 모돈 (*naive pregnant sow*)에 약독화 생독 백신인 LOM이 유입될 경우 사산, 미이라 태아 분만 등의 유사산 문제가 발생하고, 일부 살아서 태어난 개체의 경우 면역관용 현상을 보일 수도 있다. 때로는 면역이 제대로 형성되지 않은 매우 어린 개체에 LOM 백신주 바이러스가 유입되었을 경우에는 PI 돼지로 진전될 가능성도 매우 높다. 본 연구에서 조직 검사가 가능했던 51마리의 포유자돈 중 LOM 백신주만 검출된 개체는 총 14마리(27.5%)였으며, LOM 백신주가가 혼입된 돈단독 백신이 제주도에 유입된 2014년 이후 시점인 2016년부터 발생하였다. 이 포유자돈의 경우 매우 위축되어 있었으며 평균 연령은 7일령 이하이고, IHC 검사 결과 CSFV 항원이 주로 림프장기(편도, 림프절 및 비장)에만 분포하고 있었다. 따라서 이들 포유자돈은 임신 모돈에서 허약자돈으로 분만된 PI의 가능성이 매우 높다. 또는 CSFV가 감염된 돼지에서 바이러스의 체내 전파가 6일 이하에 완료되는 것 [19]에 비추어, 태어난 포유자돈이 매우 이른 시기에 LOM 백신주에 노출된 출생 후(*postnatal*) PI의 가능성도 있는 것으로 사료된다 [22].

Belák 등 [9]은 이유 자돈 64마리를 실험군 I(강독형 ISS/60 바이러스) 24마리, 실험군 II(중등도 Wingen'93 바이러스) 24마리 및 실험군 III(약독화 생독 백신 Riems주) 16마리로 구성하여 CSFV 및 백신 접종 실험을 실시하였다. 각각의 돼지에 대한 임상증상 관찰, 육안 및 병리조직학적 검사와 더불어 IHC를 이용한 바이러스 항원의 조직 내 분포를 조사하였다. 바이러스를 접종한 2개의 실험군에서는 돼지열병의 전형적인 임상증상과 함께 육안 및 병리조직학적 병변이 관찰되었으며 II군에 비하여 I군에서 더 심한 변화상이 확인되었고 일부 개체는 접종 후 5-7일 경에 폐사하였다. 그러나 생독 백신을 접종한 실험군에서는 약간의 체온 상승 이외에는 특별한 임상증상이 나타나지 않았고 부검 소견도 일부 돼지에서 림프절의 종대와 경미한 출혈만이 확인되었다. IHC를 통하여 내부 장기별 CSFV 항원의 분포를 검사한 결과 바이러스를 접종한 2개의 실험군에서는 편도, 비장, 신장, 림프절, 폐장, 뇌 등에서 항원이 검출된 반면 백신을 접종한 실험군에서는 접종한 개체 중 극히 일부의 개체의 편도와 악하 또는 장간막 림프절에서만 항원이 검출되었다.

CSFV 항원은 편도의 음와 상피세포, 편도를 포함한 비장, 림프절 등의 세망내피세포, 폐 및 신장의 큰포식세포 및 림프구양 세포 등에서 관찰되었다. 본 연구에서도 LOM주에 감염된 포유자돈에 대하여 IHC 검사를 실시한 결과 전체적으로 CSFV 항원은 편도(40.0%), 비장(22.9%), 림프절(15.0%) 및 폐장(14.6%)에서 많이 검출되었다. 다른 병원체와 혼합 감염된 개체의 경우 신장, 간장 및 소화기에서도 항원이 검출된 반면, LOM 단독 감염 개체에서는 주로 림프 장기에 집중되어 발현되는 양상을 보이고 있었다. 그러므로 혼합감염이 백신주의 광범위한 체내 분포에 일정 정도 영향을 미치고 있는 것으로 분석된다.

제주도에서 2004년부터 2005년까지 혈분을 통한 LOM 백신주 항원이 검출되었던 시기에도 돼지열병 백신주 관련 역학조사를 실시하였으며 [3], 그 일환으로 제주도의 총 11개 농장에서 48마리에 대한 정밀 병성감정을 실시하였다. 그 결과 유산태아 3마리는 돼지뇌심근염바이러스 감염으로, 포유자돈(28일령 이하) 6마리는 PRRSV와 PCV-2 혼합감염 및 대장균성 패혈증으로, 이유자돈 39마리는 대부분 세균성 패혈증과 호흡기 질병 등으로 진단되었다. 또한 폐사돈에 대한 LOM주 항원 검사 결과 48마리 중 28마리(7농가, 58.3%)에서만 항원이 확인되었다. 본 연구에서도 이와 유사한 검사 결과를 보이고 있는데, LOM주만 검출된 14마리를 제외하고 37마리(72.5%)의 포유자돈은 소화기 또는 호흡기 질병을 유발하는 다른 병원체인 PRRSV, PEDV, rota virus, *Clostridium* spp., 병원성 대장균, 연쇄상구균 등과 혼합 감염되어 있었다. 따라서 이러한 결과는 과거로부터 제주도내 양돈장에 매우 다양한 질병 유발 병원체가 상재화 되어있는 상태에서 돼지열병 백신주가 유입되어 그 병증을 더욱 악화시키는 것으로 풀이된다.

시험관 내(in vitro) 실험을 통하여 PCV-2에 의해 유발된 유괴사(apoptosis)가 동일한 세포에 혼합감염되어 있는 약독화 CSFV의 증식에 장애를 초래할 수 있으며, 따라서 야외 돼지에서 PCV-2 감염이 약독화 CSFV 백신의 효능을 감소시킬 수 있음이 보고되었다 [29]. 또한 여러 가지 생체 감염 실험을 통하여 PCV-2가 숙주의 면역을 억제시킴으로써 야외 CSFV 감염을 증강시키고, CSFV 백신의 효능을 떨어뜨릴 수 있음이 입증되었다 [23]. 국내에서도 PRRSV와 PCV-2가 LOM 백신의 효능에 미치는 영향에 대한 실험이 수행되었다 [2, 20]. 돼지열병이 감염되어 있지 않은 40-50일령 자돈에 PRRSV와 PCV-2를 단독 및 혼합 감염을 시키고 그 전후에 LOM 백신을 접종하였다. 또한 PRRSV와 PCV-2가 감염된 자돈을 야외 농장에서 구입하여 LOM 백신을 접종하였다. 그 결과 PRRSV와

PCV-2의 단독 또는 혼합 감염이 돼지 체내 돼지열병 중화항체 형성에는 영향을 미치지 않았다. 그러나 PRRSV 또는 PCV-2가 감염된 자돈에 LOM 백신을 접종하였을 때 돼지 체내에 LOM 백신 바이러스가 다소 오래 남아 있으며, 이 두 바이러스가 혼합감염되어 있는 돼지에서 2주 이상 백신 바이러스가 배출될 가능성이 있음이 확인되었다. 따라서 PRRSV, PCV-2, PED 등과 같은 면역억제 질병이 상재화되어 있는 제주도의 양돈장에 LOM 백신주가 유입되었을 경우 각각의 병원체의 상승 작용으로 인하여 더욱 심각한 문제를 초래할 수밖에 없을 것으로 판단된다. 그러므로 LOM 백신주의 영향을 최소화하기 위해서는 양돈 농가 차원에서 농장 내 면역억제 질병을 제어하기 위한 최대한의 노력이 반드시 수행되어야 할 것이다.

최근 OIE 규정에 따르면 국가 또는 지역 단위 돼지열병 청정화 조건은 일반적 기준을 제외하고 4개 조항으로 구성되어 있다. 즉, 최소 12개월 동안 감시체계를 실시할 것, 과거 12개월 동안 사육 및 사육화된 야생돼지에서 돼지열병 발생 및 CSFV 감염 증거가 없을 것, 백신축과 감염축을 구별할 수 있는 수단이 없는 경우 지난 12개월 동안 사육 돼지에 돼지열병 백신을 하지 않을 것, 수입하는 돼지 및 부산물은 돼지열병 청정 지역에서 반입할 것이다. 따라서 제주도의 경우 큰 선택의 기로에 서 있다고 할 수 있다. 기존의 청정화를 유지하기 위해서는 돼지열병 백신주의 근절이 선행되어야 한다. 이를 위하여 백신주 항원 또는 항체 양성축의 과감한 도태, 모든 갱신 등의 엄격한 방역 정책 실시와 병행하여 음성 확인을 위한 철저한 검사 체계 구축이 반드시 필요하다. 또 다른 방안으로는 제주도의 양돈 실정에 가장 부합하고 백신축과 감염축을 감별할 수 있는 마커 백신을 도입하여 돼지열병을 안정화 시키는 것이 선택될 수 있다. 이러한 정책적인 방안뿐만 아니라, 정해진 정책을 믿고 따르는 양돈 농가를 비롯한 생산자 단체의 전폭적인 지지와 신뢰가 매우 중요하다. 농가 차원에서 나의 돼지는 내가 지킨다는 신념으로 외부로부터 돼지열병 백신주를 비롯한 병원체가 농장 내로 유입되지 못하게 하는 철저한 차단 방역과 농장 내 상재화되어 있는 면역억제 질병을 제어, 통제 및 퇴치할 수 있는 최대한의 방안을 마련해야 할 것으로 사료된다. 이를 통하여 돼지열병 백신주 문제의 조기 근절과 양돈 생산성 향상 기반을 공고히 하고 나아가 제주도의 청정화 이미지를 더욱 오랜 기간 유지할 수 있을 것이다.

V. 결 론

2014년부터 2018년 8월까지 의뢰된 제주도 내 21개 양돈농장의 포유자돈 60마리에 대한 돼지열병 백신주 및 다른 병원체와의 혼합 감염 여부를 검사한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 실험실 정밀 검사결과 21농장 60마리 전 두수에서 돼지열병 백신주 항원이 검출되었다.
2. 60마리 중 51마리에 대한 병리조직 검사를 포함한 실험실 검사결과 LOM주 바이러스만 검출된 포유자돈은 14마리로 판명되었으며 37마리는 PEDV, PRRSV, rota virus 및 연쇄상구균 등의 다른 바이러스 또는 세균이 혼합 감염된 것으로 확인되었다.
3. 면역조직화학염색 결과 포유자돈 개체별 돼지열병 바이러스 항원은 52.1%(25/48)의 자돈에서 검출되었으며 다른 병원체와 혼합 감염된 개체에서는 50.0%(17/34), 백신주 단독 감염 예에서는 57.1%(8/14)의 자돈에서 양성 반응을 나타내었다.
내부 장기별 돼지열병 바이러스 항원 발현 정도는 편도(40.0%), 비장(22.9%), 림프절(15.0%), 폐장(14.6%) 순으로 높게 나타났으며 소화기(4.3%), 신장(4.2%), 간장(2.1%)에서는 매우 낮은 검출율을 보였다.

이상의 결과를 종합해 볼 때, 제주 지역 돼지에 대한 정밀 검사 결과 돼지열병 백신주가 검출되기는 하였으나, 소화기 또는 호흡기 질병을 유발하는 다른 바이러스 또는 세균이 혼합 감염으로 진단된 사례가 월등히 많았다. 이러한 결과는 제주도의 돼지열병 및 기타 면역 억제 질병 방제에 기초 자료로 활용할 수 있을 것으로 판단된다.

Legends for Figures

Fig. 2. Mesocolonic edema (arrows) in piglets infection with *C. difficile* and classical swine fever LOM vaccine strain.

Fig. 3. Multifocal hemorrhage (arrows) in renal cortex of suckling piglet.

Fig. 4. Severe multifocal hemorrhages (arrows) in lung (A), heart (B), kidney (C) and liver (D) of suckling piglets. H&E, × 100 (A and C), × 400 (B and D).

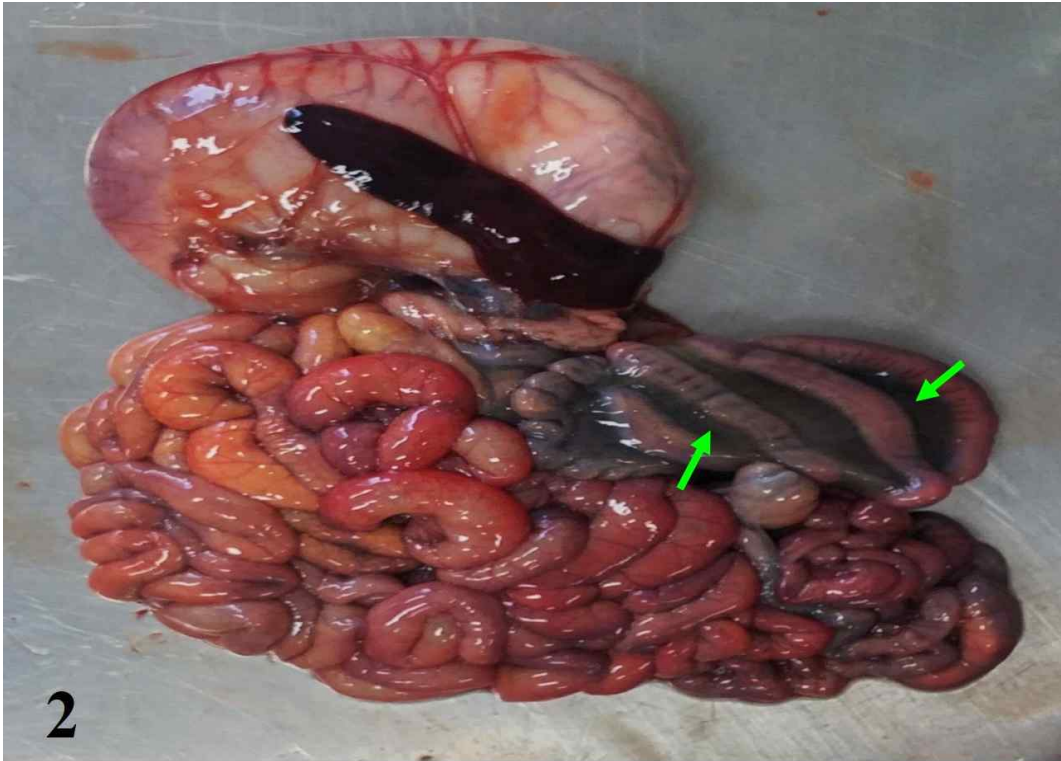
Fig. 5. Severe peripheral hemorrhage (arrows) in lymph node (A), splenic congestion (arrows) (B), paracortex hyperplasia (arrows) in tonsil (C), and non-suppurative encephalitis with perivascular cuffings (arrows) (D). H&E, × 40 (A and C), × 100 (B), × 400 (D).

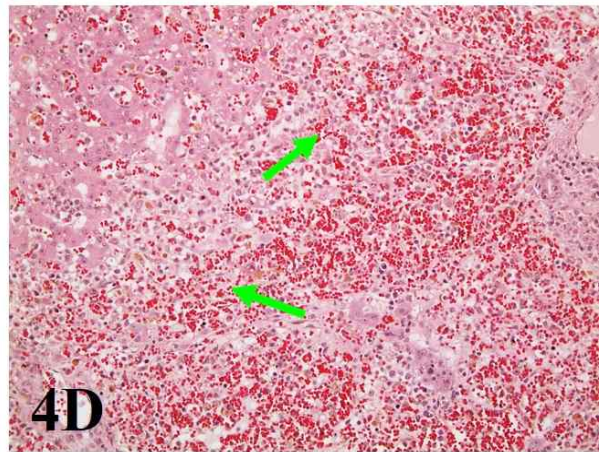
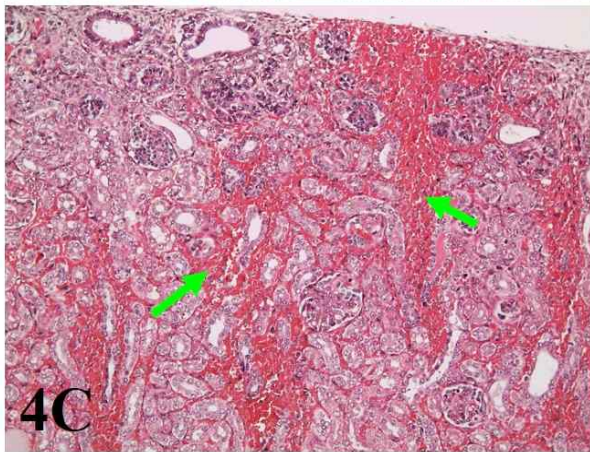
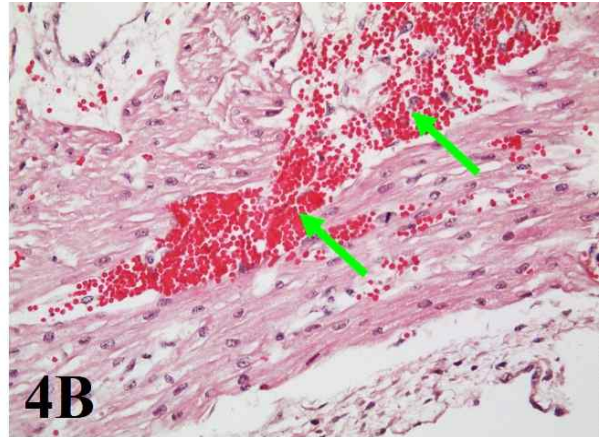
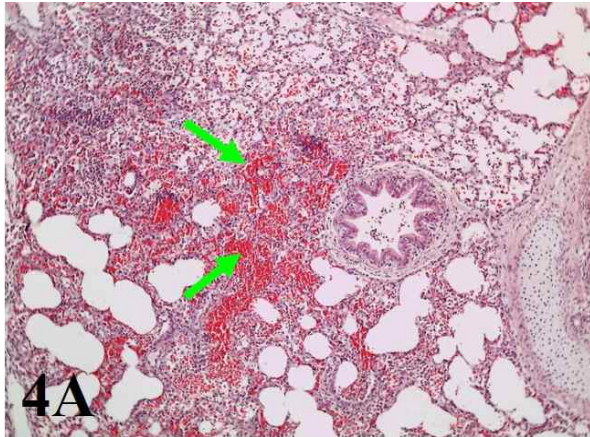
Fig. 6. Brown colored CSFV antigens (arrows) in cryptal epithelium of tonsil. IHC, × 400.

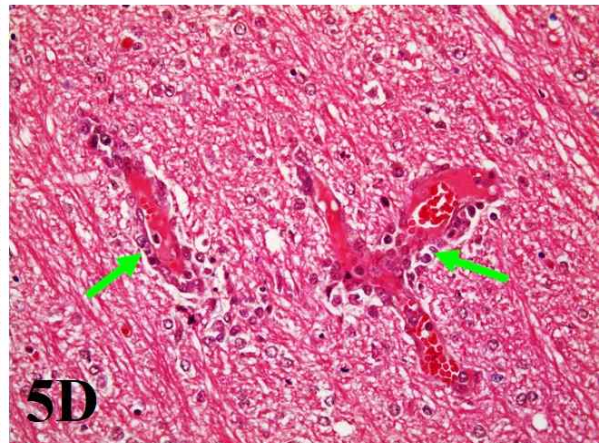
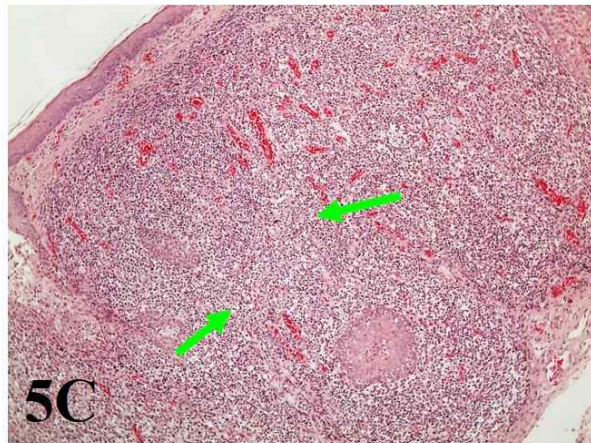
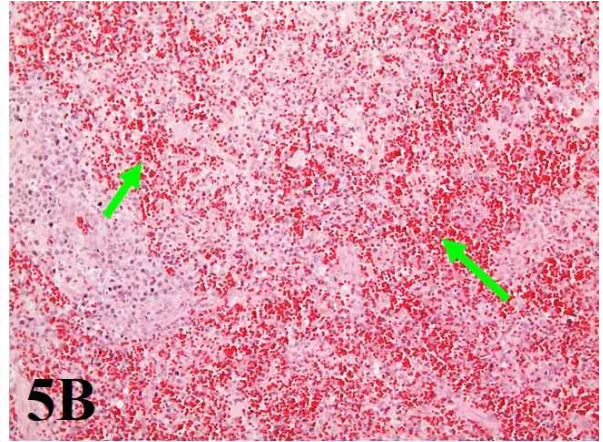
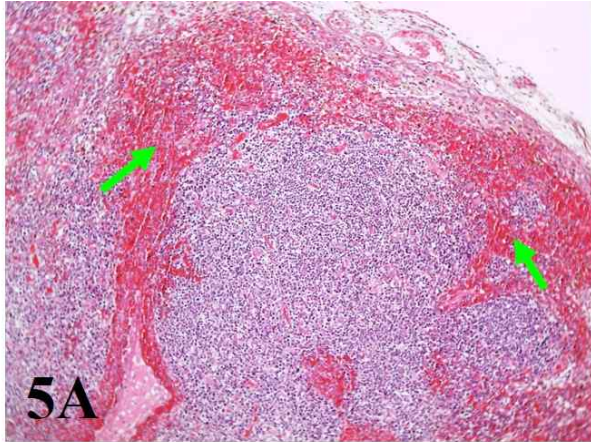
Fig. 7. Brown colored CSFV antigens (arrows) in infiltrated macrophages of spleen. IHC, × 400.

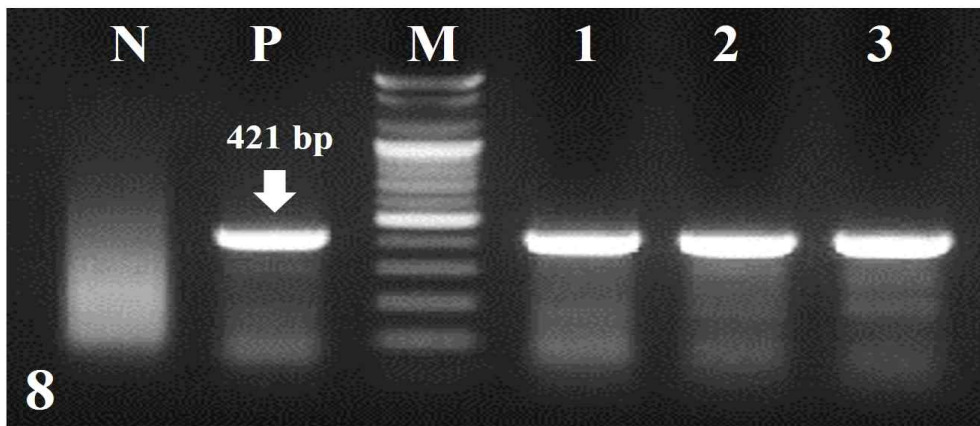
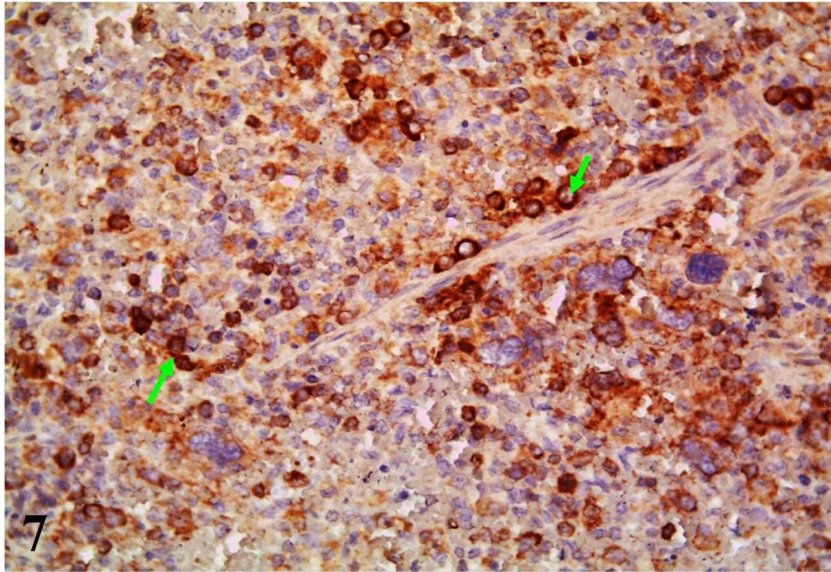
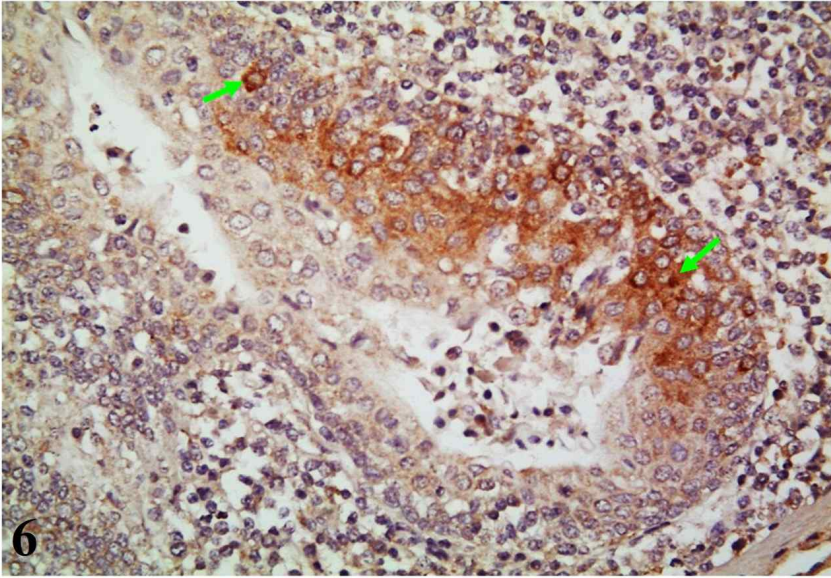
Fig. 8. RT-PCR products of classical swine fever LOM vaccine strain from internal organs of piglets. Lane N: negative control; Lane P: positive control; Lane M: 100 bp DNA ladder; Lane 1~3: field samples.

* ALL of the amplification products were confirmed to be classical swine fever LOM vaccine strain (The restriction enzyme (XhoI) treatment).









VI. 참고문헌

1. 김병한, 김용희, 진영화, 이오수, 최정업, 김춘기, 안수환, 이재진. 돼지콜레라 생독 백신개발에 대한 연구. 3. 순화백신주(수리주)의 야외 실증시험. 농사시험연구논문집 1990; 32: 49-55.
2. 김병한, 임성인, 김재조, 한규하, 송재영, 조인수, 이중복, 우계형, 김하영, 장미영, 최정업. 야외농장 상황에서의 돼지콜레라 백신(LOM주)의 생물학적 특성평가. 수의과학기술개발연구사업 시험연구보고서 2007; 154-197.
3. 농림부, 국립수의과학검역원, 역학조사위원회. 제주도 돼지콜레라 백신주(LOM주) 검출 관련 역학조사보고서 2005a.
4. 농림부, 국립수의과학검역원, 가축위생방역지원본부. 돼지콜레라 백신. 2005b.
5. 농림축산검역본부. 제주도 돼지 열병 백신주(LOM)의 조직 병리학적 연구. 2018.
6. 제주특별자치도 동물위생시험소, 제주특별자치도 역학조사반. 제주 돼지열병 백신주 검출 역학조사 보고서 (201402915). 2016.
7. 최정업, 이오수, 김용희, 안수환, 황의경. 돼지콜레라 생독 백신개발에 대한 연구. 1. 돼지콜레라 약독 순화주 분리. 농사시험연구논문집(가축위생편) 1988; 30: 41-48.
8. 최정업, 이오수, 황의경, 김용희, 안수환. 돼지콜레라 생독 백신개발에 대한 연구. 2. 분리된 순화백신주(수리주)의 안전성 및 면역원성 조사. 농사시험연구논문집(가축위생편) 1989; 31: 1-6.

9. Belák K, Koenen F, Vanderhallen H, Mittelholzer C, Feliziani F, De Mia GM, Belák S. Comparative studies on the pathogenicity and tissue distribution of three virulence variants of classical swine fever virus, two field isolates and one vaccine strain, with special regard to immunohistochemical investigations. *Acta Vet Scand* 2008; 50: 34. doi: 10.1186/1751-0147-50-34.
10. Blome S, Staubach C, Henke J, Carlson J, Beer M. Classical swine fever—an updated review. *Viruses* 2017; 9: 86. doi: 10.3390/v9040086.
11. Dong XN, Chen YH. Marker vaccine strategies and candidate CSFV marker vaccines. *Vaccine* 2007; 25: 205-230.
12. Edwards S, Fukusho A, Lefèvre PC, Lipowski A, Pejsak Z, Roehe P, Westergaard J. Classical swine fever: the global situation. *Vet Microbiol* 2000; 73: 103-119.
13. Frey HR, Liess B, Richter-Reichhelm HB, von Bente K, Trautwein G. Experimental transplacental transmission of hog cholera virus in pigs. I. Virological and serological studies. *Zentralbl Veterinarmed B* 1980; 27: 154-164.
14. Hanson RP. Origin of hog cholera. *J Am Vet Med Assoc* 1957; 131: 211-218.
15. Hulst MM, Moormann RJ. Classical swine fever virus diagnostics and vaccine production in insect cells. *Cytotechnology* 1996; 20: 271-277.
16. Ji W, Guo Z, Ding NZ, He CQ. Studying classical swine fever virus: making the best of a bad virus. *Virus Res* 2015; 197: 35-47.

17. Kim B, Song JY, Tark DS, Lim SI, Chol EJ, Kim J, Park BY, Lee BY, Wee SH, Bae YC, Lee OS, Kwon JH, Kwon WC, Kim TY, Kim JH, Lee JH, Kang MI. Feed contaminated with classical swine fever vaccine virus (LOM strain) can induce antibodies to the virus in pigs. *Vet Rec* 2008; 162: 12-17.
18. Larochelle R, Antaya M, Morin M, Magar R. Typing of porcine circovirus in clinical specimens by multiplex PCR. *J Virol Methods* 1999, 80: 69-75.
19. Kirkland PD, Le Potier MF, Vannier P, Finlaison D. Pestiviruses. In: Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW (eds.). *Diseases of Swine*. 10th ed. pp. 538-553, Wiley-Blackwell, Ames, 2012.
20. Lim SI, Jeoung HY, Kim BH, Song JY, Kim JJ, Kim HY, Cho IS, Kim B, Woo GH, Lee JB, An DJ. Impact of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus-2 infection on the potency of the classical swine fever vaccine (LOM strain). *Vet Microbiol* 2016a; 193: 36-41.
21. Lim SI, Song JY, Kim JJ, Hyun BH, Kim HY, Cho IS, Kim BH, Woo GH, Lee JB, An DJ. Safety of classical swine fever virus vaccine strain LOM in pregnant sows and their offspring. *Vaccine* 2016b; 34: 2021-2026.
22. Muñoz-González S, Ruggli N, Rosell R, Pérez LJ, Frías-Leuporeau MT, Fraile L, Montoya M, Cordoba L, Domingo M, Ehrensperger F, Summerfield A, Ganges L. Postnatal persistent infection with classical swine fever virus and its immunological implications. *PLoS One* 2015; 10(5): e0125692. doi: 10.1371/journal.pone.0125692. eCollection 2015.
23. Ouyang T, Zhang X, Liu X, Ren L. Co-infection of swine with porcine circovirus type 2 and other swine viruses. *Viruses* 2019, 11, 185; doi:10.3390/v11020185.

24. Postel A, Austermann-Busch S, Petrov A, Moennig V, Becher P. Epidemiology, diagnosis and control of classical swine fever: recent developments and future challenges. *Transbound Emerg Dis* 2018; 65 Suppl 1: 248-261.
25. Sato U, Hanaki T, Nobuto K. Attenuation of the hog cholera virus by continuous cell-virus propagation. 3. Growth interference of Newcastle disease virus by attenuated hog cholera virus and its application to virus titration and the neutralization test. *Arch Gesamte Virusforsch* 1969; 26: 1-10.
26. Saulmon EE. Hog cholera eradication—dream or reality. *J Am Vet Med Assoc* 1973; 163: 1103-1105.
27. van Oirschot JT. Experimental production of congenital persistent swine fever infections: I. Clinical pathological and virological observations. *Vet Microbiol* 1979; 4: 117-132.
28. van Oirschot JT. Vaccinology of classical swine fever: from lab to field. *Vet Microbiol* 2003; 96: 367-384.
29. Zhou N, Xing G, Zhou J, Jin Y, Liang C, Gu J, Hu B, Liao M, Wang Q, Zhou J. In vitro coinfection and replication of classical swine fever virus and porcine circovirus type 2 in pk 15 cells. *PLoS ONE* 2015, 10, e0139457.

초 록

돼지열병 백신주(LOM)가 검출된 제주지역 포유자돈에 대한 병리학적 연구

지도교수 : 김 재 훈

김 재 범

제주대학교 대학원 수의학과

돼지열병(classical swine fever)은 Flaviviridae과, Pestivirus속의 돼지 열병 바이러스(classical swine fever virus; CSFV)에 의해 감염되는 질병으로 모든 연령의 돼지에 고열, 피부 발적, 식욕부진 또는 결핍, 변비 또는 설사, 후구마비 등의 신경증상, 유사산 등의 임상 증상이 나타낼 수 있다. 돼지열병의 임상형은 크게 심급성형, 급성형 및 만성형으로 분류되며 태반 감염을 통한 유사산을 일으킬 수 있다. 또한 돼지열병은 이환율 및 폐사율이 매우 높아 전 세계 양돈 산업에 막대한 경제적 피해를 초래함은 물론 국제적인 교류에 심각한 위협을 야기 시킬 수 있다. 돼지열병을 예방하기 위하여 전 세계적으로 많은 국가에서 생독백신, DNA 백신, subunit 백신, 그리고 최근에는 마커 백신 등이 다양하게 개발되어 사용되고 있다. 국내에서는 돼지열병 LOM 백신주가 개발되어 1974년 이후부터 양돈농가에 보급되어 이 전염병을 예방하기 위하여 폭 넓게 이용되어 양돈산업에 많은 도움을 주었다. 하지만 제주특별자치도는 내륙지역과는 달리 약 20년 동안 백신을 실시하고 있지 않고 있음에도 불구하고 2014년부터 돼지열병 LOM주가 오염된 양돈 백신으로 인해 백신주 항체 또는 항원이 다시 검출되기 시작하여 최근까지도 이어지고 있는 실정이다. 따라서 본 연구는 제주지역 돼지열병 백신주 피해농장을 대상으로 자돈 폐사와

백신주와의 연관성을 확인하고 기타 다른 병원체와의 혼합 감염 여부를 파악하여 폐사 원인을 규명함으로써 양돈 농가의 피해를 줄이고 향후 조기 근절을 위한 기초 자료로 활용하는데 도움이 되고자 실시하였다.

2014년부터 2018년 8월까지 병성감정 등 의뢰된 21개 농장 포유자돈 60마리 시료를 사용하여 돼지열병 백신주 및 다른 병원체와의 혼합 감염 여부를 확인하기 위하여 병리조직학적 검사, 면역조직화학 염색법(Immunohistochemistry; IHC), 역전사 중합효소 연쇄반응(Reverse transcription-polymerase chain reaction; RT-PCR) 등 검사를 실시하였다. 21개 농장 60마리에 대한 정밀검사 결과 전두수에 대하여 돼지열병 백신주 항원이 검출되었다. 60마리 중 51마리에 대한 병리조직 검사 및 실험실 검사결과 LOM 단독으로 검출된 포유자돈은 14마리로 판명되었으며 37마리는 돼지 유행성 설사병 바이러스, 돼지 생식기 호흡기 증후군 바이러스, 로타바이러스 및 연쇄상구균 등 다른 바이러스 또는 세균이 혼합 감염된 것으로 확인되었다. 면역조직화학 염색 결과 포유자돈 개체별 돼지열병 바이러스 항원은 52.1%(25/48)의 자돈에서 검출되었으며 다른 병원체와 혼합 감염된 개체에서는 50.0%(17/34), LOM주 단독 감염 예에서는 57.1%(8/14)의 자돈에서 양성 반응을 나타내었다.

중심어 : 돼지, 돼지열병 백신주(LOM), 면역조직화학 염색법, 제주, 조직병리학