

국내분리 Aujeszky's disease virus의 실험적 감염 자돈에 대한 바이러스학적 연구

박정우 · 전무형* · 안수환**

충북가축위생시험소 남부지소

충남대학교 수의학과*

농촌진흥청 가축위생연구소**

(1990. 1. 10 접수)

Experimental infection of piglets with a field isolate of Aujeszky's disease virus in Korea: Pathogenicity, excretion, distribution and immunogenicity of virus

Jeong-woo Park, Moo-hyung Jun,* Soo-hwan An**

Southern Branch of Chung Buk Animal Health Laboratory

*Department of Veterinary Medicine, Chungnam National University**

*Veterinary Research Institute, Rural Development Administration***

(Received Jan 10, 1990)

Abstract: To investigate the etiology, pathogenicity and virological properties of NYJ-1-87 strain of Aujeszky's disease virus (ADV) that was isolated from the diseased piglet in Korea, the virus at $10^{6.0}$ TCID₅₀/0.1ml was inoculated intranasally and subcutaneously into 30 to 35 days-old piglets.

Results obtained through the experiments were summarized as follows.

1. Ten of the infected piglets were clinically observed for 15 days. On the 2nd day post-inoculation(pi), the signs of pyrexia, anorexia and convulsion were noted. On the 4th to 7th days pi, nervous signs of incoordination and intermittent spasm were shown in the most of piglets, and one out of 5 piglets infected intranasally was died with severe nervous signs at the 7th day pi. The signs became relieved on the 8th day pi and all of remainder were completely recovered on the 13th to 14th days pi.
2. In hematological study, prominent decrease in the number of total leukocyte and lymphocyte was shown in the ADV-infected piglets on the 6th day pi. On the 8th day pi, the cell numbers were slightly increased and returned to normal level on the 10th day pi.
3. Viral excretion of the ADV-inoculated piglets was examined by swabbing of nasal and oral cavities, and rectal feces. During the periods of the 3rd to 11th days pi, the virus was excreted intermittently from nasal and oral cavities, and rectal feces. The nasal excretions were shown the highest virus concentration of $10^{5.2}$ TCID₅₀/0.1ml at the 5th day pi.
4. Recovery of the inoculated virus from various organs of the piglets that were died or experimentally slaughtered was attempted, and the virus was isolated from the tissues of brain and tonsil by the cultured cell-inoculation method. The highest recovery rate was noted in the tonsil. By indirect immunofluorescence antibody assay using ADV-mono-clonal antibody,

the viral antigens were detected in tissues of spleen and liver as well as brain and tonsil on the 7th to 9th days pi. The virus was not isolated from blood and the tissues of lung and kidney throughout the experiments.

5. Titers of virus neutralizing antibody in the piglets experimentally infected with ADV became increased after the 6th to 9th days pi in both of intranasal and subcutaneous inoculation showing the highest titers of 64 to 128 on the 29th day pi. When the antibody levels were measured by radial immunodiffusion enzyme assay, the reactive diameter was enlarged to be positive after the 4th to 6th days pi in both of intranasal and subcutaneous inoculation showing the largest diameter of 13 to 14mm on the 29th day pi.

Key words: virologic studies, experimentally infected piglets, Aujeszky's disease virus, Korean isolates.

서 론

오제스키병(Aujeszky's disease) 일명 가성광견병(pseudorabies)은 herpesviridae의 alpha herpesvirinae에 속하는 Aujeszky's disease virus(ADV)의 감염에 의해 발병되는 가축의 전염병으로써¹, 1902년 헝가리의 Aujeszky가 개, 소 및 고양이에서 광견병양 임상소견을 나타내는 환축에서 처음 보고하였다.² 그리고 1933년 Traub³는 virus의 인공증식에 성공하였다.

본 병은 돼지^{4,5}, 소⁶, 양⁷, 개⁸ 등의 일반 가축과 랫트⁹, 마우스¹⁰, 기니픽^{11,12}, 토끼¹², 밍크¹³ 및 각종 조류^{14,15}에 감염 발병하므로 숙주 영역이 광범위하다. 본 병은 돼지 이외의 동물에서는 거의 대부분 심한 양각증세, 경련 및 마비 등의 신경증상을 나타낸 후 폐사되며, 치사율이 높은 전염병으로 알려져 있다.^{1,14,16}

또한 임상증상이 광견병과 유사하여 pseudorabies라고도 하며¹⁶, 심한 소양증상을 주증으로 하기 때문에 mad itch라고도 한다.¹⁷ 그리고 본 병은 돼지에 감염되었을 때, 타 동물에서 나타나는 특징적인 소양증상은 일반적으로 없지만¹⁶, 자돈에서 높은 폐사율, 비육돈의 성장저하 및 임신돈의 유산 및 사산 등으로 피해를 주기 때문에 일단 발병하면 막대한 경제적 손실을 야기한다.^{1,16,18} 또한 ADV는 herpesviridae의 특징인 잠복 감염이 되기 때문에 회복되더라도 계속 바이러스를 방출하여 중요한 natural reservoir로 작용하므로 돼지의 ADV감염증은 방역상 여러가지 문제를 유발할 수 있다.^{1,16,19}

본 병은 유럽²⁰, 미주지역^{21,22}, 소련²³, 인도¹⁴, 대만²⁴ 및 일본²⁵ 등 세계 거의 대부분의 나라에서 발생 보고가 있었으며, 근래 축산물의 국제간 교역이 증대됨으로 국가간의 전파가 확산될 가능성이 높아지고 있다.

우리나라에서는 1987년 경남 양산지역 양돈장에서

처음 발생하였고²⁶, 이어서 경기도 일부 지방의 양돈장에서 발생 보고 되었다.²⁷ 그리고 이환자돈으로부터 원인바이러스를 분리하였고, 분리 바이러스의 생물학적 성상에 대한 연구와 동시에 유전자형에 대한 분석도 시도하였으며^{27,28}, 그 결과 경남 및 경기도 지방에서 분리된 ADV의 유전자형은 대만형에 유사하다고 보고된 바 있다.²⁸ 그러나 분리주된 돼지에 접종했을 때 나타나는 병원성상 및 바이러스학적 소견에 대해서는 아직 체계적으로 연구된 바 없다.

따라서 본 연구에서는 국내에서 분리된 ADV를 자돈에 인공감염시켰을 때 나타나는 병원성상과 바이러스의 배설상태, 조직내 바이러스의 분포 및 ADV함체 역가의 추이 등과 관련된 제반 성상을 규명하고자 일련의 실험을 수행하여 몇가지 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

세포 및 바이러스: 바이러스 분리 및 증식을 위하여 돼지신장세포주인 pk-15 cell line을 사용하였다. 세포 배양액은 Eagle's minimum essential medium(EMEM Gibco USA)에 우레아 혈청(Gibco USA)을 시험에 따라 5~10%되게 가하고 penicillin(100IU/ml) 및 streptomycin sulfate(100 μ g/ml)를 첨가하여 사용하였다.

접종용 ADV는 전등²⁷이 경기도 남양주에서 분리한 NYJ-1-87 strain을 pk-15 cell에 3대 계대 증식시켜 10^{6.0}TCID₅₀/0.2ml로 조정된 바이러스를 사용하였다.

실험동물: 임상적으로 건강하며 ADV-radial immunodiffusion enzyme assay(RIDEA)에서 항체음성으로 판명된 30~35일령의 랜드레이스 자돈 13두를 Table 1과 같이 3개 시험군으로 나누어 공시하였다.

혈액 및 혈청채취: 전대정맥으로 부터 무균적으로 혈액을 채취하여 일부는 혈액학적 검사와 viremia test

Table 1. Experimental design

Group	Inoculation route	No. of animals	Doses
I	I N	5	2.0 ml*
II	S C	5	2.0 ml
III	I N	3	2.0 ml(PBS)

IN: intranasal, SC: subcutaneous,

* $10^{6.0}$ TCID₅₀/0.2 ml

를 위해서 테파린(10~20 units/ml)을 처리하여 공시하였고, 일부는 항체검출시험을 위해서 응고시킨 후 혈청을 분리하여 56°C에서 30분간 비등화한 후 -20°C에 냉동 보관하였다.

분비물 채취 : 평균한 된봉을 사용하여 시험돈의 비강, 구강 및 직장으로 부터 분비물을 채취한 후 1ml 정도의 EMEM배지(항생제 3배 첨가)가 담긴 스크류캡 시험관에 넣어 실험실로 옮긴 다음 4°C에 보관하였고, 채취 후 24시간 이내에 세포에 접종하였다.

혈액학적 검사 : 혈구계산판(Superior Co Germany)을 이용하여 통상 방법에 따라 총 백혈구수를 계산하였고 백혈구의 감별계산은 혈액도말표본을 작성하여 Giemsa 염색을 하고 형태적으로 감별계산한 후 백분율을 적용하여 산출하였다.²⁹

바이러스 회수시험 : 분비물, 장기재료 및 혈액으로부터 바이러스를 회수하기 위해서 Hsiung³⁰과 Mocsari et al.³¹의 방법을 응용하였다.

요약하면, 부검시 채취한 장기는 5배량의 EMEM(항생제 3배 첨가)에 넣어서 균질화시킨 후 분비물 가검 재료와 같이 냉장원심(3,000rpm. 30분)시키고 그 상층액과 테파린 처리된 혈액을 각각 pk-15 cell에 접종하였다. 바이러스 흡착 및 배양은 Hsiung³⁰의 방법에 준하여 실시하여 cytopathic effects(CPE)를 관찰하였다. 7일 간 관찰해서 CPE가 출현하지 않은 시험관은 2대 blind passage하였고, CPE가 확인된 것은 ADV양성현상으로 증화시험을 하여 확인하였다.

비강, 구강 및 직장으로 배설되는 바이러스의 역가는 위에서 기술한 마와 같은 냉장 원심한 후 그 상층액을 EMEM으로 10진 희석하고 pk-15 cell이 배양된 tissue culture microplate(Linbro USA 96 wells)에 100 μ l씩 접종한 후 5일 간 관찰하였다. 그리고 CPE가 일어난 well의 최대 희석배수를 기점으로 하여 50% tissue culture infective dose(TCID₅₀)를 Reed와 Muench³² 방법으로 산정하였다.

혈청증화시험 : Hill et al³³이 제시한 표준 마이크로플레이트 방법을 응용하여 수행하였다.

효소면역확산법(radial immunodiffusion enzyme assay) : 혈청 중의 ADV항체가를 radial immunodiffusion enzyme assay(RIDEA)법으로 측정하기 위해 ADV-RIDEA kit(가축위생연구소)을 이용하여 추천된 시험술식에 의해 항체역가를 측정하였다.³⁴

간접형광항체시험 : 장기조직에서 바이러스항원을 검출하기 위해 부검시 채취한 장기들을 동결조직절편기(Bright Co UK)를 이용하여 8 μ m로 세절하고 슬라이드 글라스 위에 부착시킨 후 acetone으로 10분간 고정 한 다음 ADV-monoclonal antibody³⁵를 도포하여 37°C에서 60분간 반응시켰다. 그 다음 PBS로 세척하고 anti-mouse immunoglobulin-FITC conjugate(Cappel Co USA)를 60분 간 작용시킨 후 PBS로 세척하고 형광현미경(Olympus, Japan)으로 관찰하였다.

결 과

임상증상 : ADV, NYJ-1-87 strain을 접종한 Group I 및 II의 모든 시험돈에서 접종 후 2일부터 발열을 수반한 식욕부진과 간헐성 기침이 관찰되었다. 접종 후 4~7일에는 임상증세의 발현이 극기에 달하여, 체온이 40.5~41.3°C에 달하였고(Fig 1), 접종군 전두수에서 식욕결핍, 격심한 호흡곤란, 근진전 및 운동실조가 관찰되었다. 특히 비강 점종균인 Group I에서는 간헐성 발과, 선회운동, 배부만곡 및 견과자세 등의 신경증상

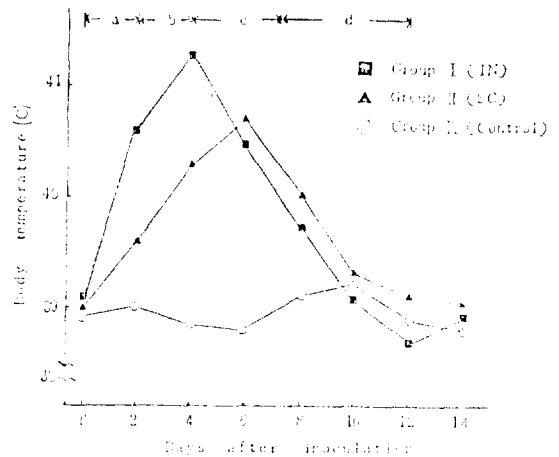


Fig 1. Clinical signs of the piglets experimentally infected with NYJ-1-87 strain of AD virus. a: incubation period(0~1 days) b: incipient period(2~3 days) c: extreme period(4~7 days): all showed typical signs of Aujeszky's disease, and one of the piglets in Group I died at 7th day pi d: convalescent period (8~12 days).

과 유연, 구토 및 응서소견 등을 나타냈으며 접종 후 7일에 1두가 폐사되었다. 임상증세는 접종 후 8일부터 완화되기 시작하여 체온이 하강하면서 13~14일에는 정상으로 회복되었다.

혈액학적 소견 : 시험돈의 말초혈액 중 백혈구 및 임파구수의 변화는 Fig 2에서 요약된 바와 같다.

즉, 대조군의 총 백혈구수와 임파구수는 시험기간 동안 각각 14,000~16,000/mm³ 및 6,500~8,200/mm³ 로써 정상 범위를 나타내었다. 그러나 접종군은 접종 후 4일에 총 백혈구수가 대조군에 비해 약간 증가되다가 6일에는 유의한 감소추세를 나타내었으며, 그 비율은 임파구수에서 더욱 현저하였다. 회복기인 접종 후 8일에는 백혈구수와 임파구수 모두 증가하였으며, 10일에는 다소 감소하여 14일 까지 대조군과 유사한 수준을 보여 주었다.

분비물 및 분변의 바이러스분리 : 실험 접종돈의 분비물과 분변재료에 대한 바이러스 회수시험 결과는 Table 2와 같다.

비강접종군(Group I)은 접종 후 3일에서 9일 까지 비강과 구강분비물로부터 50~100% 비율로 바이러스가 분리되었으며, 4~6일 간에는 전 두수에서 바이러스 회수가 가능하였다. 직장분변에서는 4~5일에 25~50%의 분리율을 나타내었다.

피하접종군(Group II)에서는 비강과 구강분비물 및 직장분변으로부터 접종 후 4일부터 분리되기 시작해서 비강에서는 11일, 구강에서는 7일 그리고 분변에서

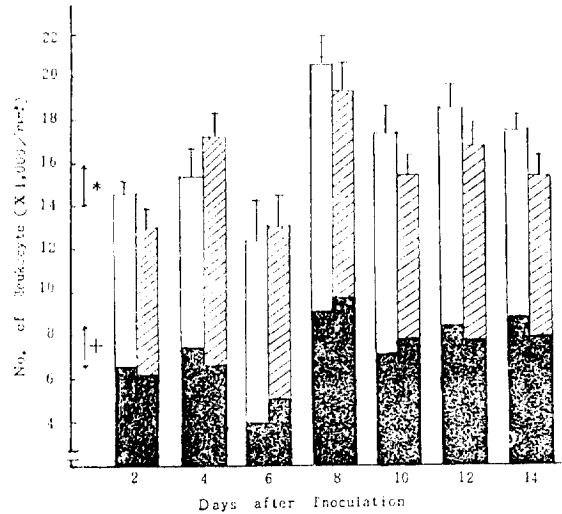


Fig 2. Effects of NYJ-1-87 strain of AD virus infection on the number of total leukocyte and peripheral blood lymphocyte in piglets. The mean value of total leukocyte(*) and peripheral lymphocyte counts(+) of the control group. The values represent the mean of the groups±SD. □▨ : group I : □ : total leukocyte, ■ : lymphocyte counts. ▨■ : group II : ▨ : total leukocyte, ■ : lymphocyte counts.

Table 2. Results of virus isolation from swabs and blood of the piglets experimentally infected with NYJ-1-87 strain of Aujeszky's disease virus

Groups	Inoculation routes	Specimens	Days after inoculation										
			0	2	3	4	5	6	7	9	11	13	15
I	I N	NS	0/5 ⁺	0/5	4/5	5/5	5/5	5/5	4/5	2/4	0/3	0/3	0/3
		OS	0/5	0/5	2/5	4/5	5/5	2/5	3/5	1/4	0/3	0/3	0/3
		RS	0/5	0/5	0/5	1/5	2/5	0/5	0/5	0/4	0/3	0/3	0/3
		Blood	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/4	0/3	0/3	0/3
II	S C	NS	0/5	0/5	0/5	4/5	5/5	5/5	4/5	0/5	1/4	0/4	0/4
		OS	0/5	0/5	0/5	2/5	5/5	3/5	2/5	0/5	0/4	0/4	0/4
		RS	0/5	0/5	0/5	1/5	2/5	1/5	0/5	0/5	0/4	0/4	0/4
		Blood	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/4	0/4	0/4
III (Control)	I N*	NS	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/2	0/2	0/2
		OS	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/2	0/2	0/2
		RS	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/2	0/2	0/2
		Blood	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/2	0/2	0/2

* PBS inoculated, + No. virus isolated/No. tested, NS=nasal swabs, OS=oral swabs, RS=rectal swabs.

는 6일 까지 바이러스를 분리할 수 있었으며, 분리율은 접종 후 5일에서 가장 높았다. 또한 분비물과 분변으로부터 배출되는 바이러스의 역가를 측정한 바 Fig 3과 같은 결과를 얻었다. 즉, 시험기간 중 분비물 및 분변의 바이러스역가는 접종 후 4일 부터 증가하여 5일에 가장 높았으며, 그 이후는 점차 감소하였다. 접종 후 5일에는 비강분비물에서 평균 $10^{5.2}$ TCID₅₀/0.1 ml의 역가가 인정되어 가장 높았고, 분변에서는 평균 $10^{1.9}$ TCID₅₀/0.1ml의 바이러스가 인정되어 가장 낮았다.

장기별 바이러스증명 : ADV, NYJ-1-87 strain을 접종 후 viremia test와 폐사 자돈과 시험 도살돈의 뇌,

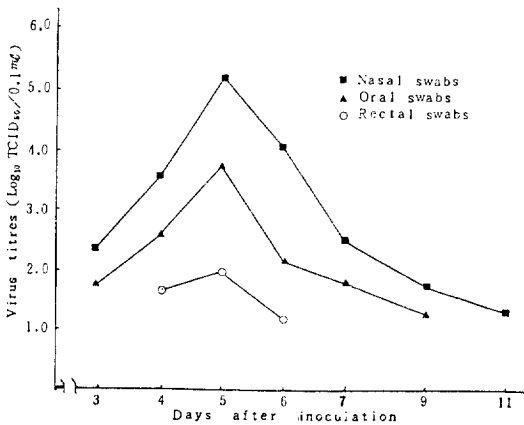


Fig 3. Changes of the titres of virus recovered from swabs. The values represent the mean titres of the swabs.

임파절, 편도, 비강, 폐, 간장 및 신장으로 부터 바이러스 재 분리시험을 하였고, ADV-mono-clonal antibody를 이용한 간접형광항체법으로 항원검출을 시도한 성적은 Table 2 및 Table 3에서 요약한 바와 같다.

ADV 접종 후 15일 까지 전 시험돈에 대해서 실시한 말초혈액 중의 ADV분리시험에서는 모두 음성 결과를 나타내었다(Table 2). 접종 후 7일에 폐사한 자돈에서는 편도와 뇌조직에서 바이러스가 회수되었으며, 간접형광항체시험에서는 편도, 뇌 및 비강조직에서 바이러스항원이 검출되었다. 9일에 Group I 및 II의 자돈을 시험 도살한 바 편도에서는 두 군 공히 바이러스 분리 및 ADV항원 증명이 가능하였고, 뇌, 비강 및 간장에서는 간접형광항체법에 의한 ADV항원이 일부 인정되었다(Fig 4). 접종 후 15일에 시험 도살한 경우 Group I에서는 편도에서 바이러스 분리 및 ADV항원증명이 가능하였고, Group II에서는 바이러스는 분리되지 않았고 ADV항원은 일부 예외 편도에서 만 증명할 수 있었다. 접종 후 97일에 시험 도살한 돼지는 바이러스 분리시험에서 음성이었고, ADV항원도 전혀 인정되지 않았다.

항체가의 변동 : 혈청중화항체시험법과 효소면역확산법으로 ADV항체역가의 변동을 측정 한 결과는 Fig 5 및 6에 나타난 바와 같다.

혈청중화시험법에서 대조군은 시험기간 동안 모두 음성역가(<2)를 나타냈으나 Group I 및 II는 접종 후 6~9일 사이에 일부 접종돈의 항체가가 증가하기 시작해서 22일에 32~64, 29일에 64~128로 최고치에 달하였다(Fig 5). 또한 RIDEA에서는 접종 후 4~6일 사

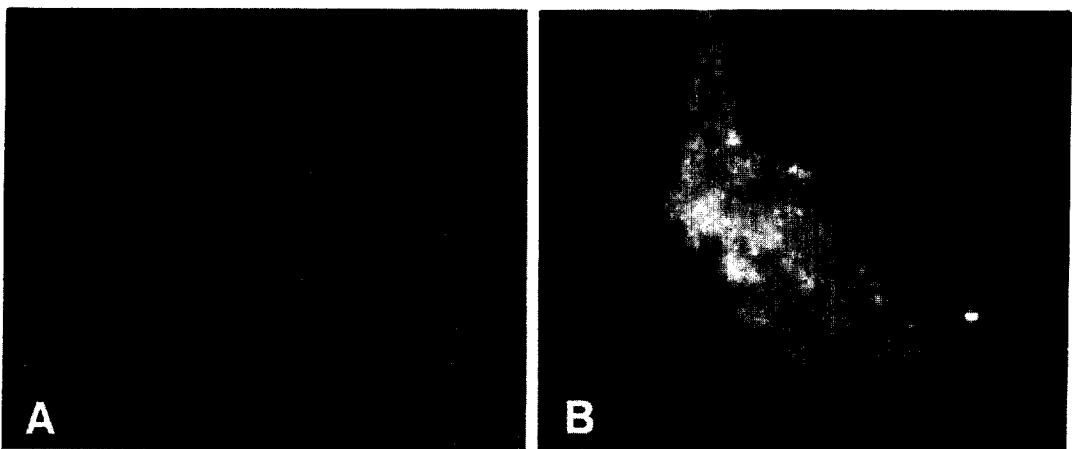


Fig 4. Immunofluorescence patterns of the tissues from the piglets experimentally infected with NYJ-1-87 strain. The specimen was reacted indirectly with ADV-mono-clonal antibody and anti-mouse IgG FITC conjugate. A: tonsil at the 9th day pi $\times 200$, B: spleen at the 9th day pi $\times 200$.

Table 3. Summary of the results obtained from virus isolation and indirect immunofluorescence antibody assay for the organs of the piglets experimentally infected with NYJ-1-87 strain of Aujeszky's disease virus

Days after inoculation*	7			9			15			97		
Groups	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
No. piglets	1**	1	1	1	1	1	2	2	1	1	2	1
Brains	1/1 ⁺	0/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Submaxillary lymphnode	0/NT	0/NT	0/NT	0/NT	0/NT	0/NT	0/NT	0/NT	0/NT	0/NT	0/NT	0/NT
Tonsil	1/1	1/1	1/1	0/0	1/2	0/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Spleen	0/1	0/1	0/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Lung	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Liver	0/0	0/0	0/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Kidney	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0

Group I = intranasal route, group II = subcutaneous route, group III = control-PBS, NT = not tested, *ADV: 2ml of 10^{6.0}TCID₅₀/0.2ml, **: died with Aujeszky's disease symptoms, +: No. positive by virus isolation test./No. positive by indirect immunofluorescence antibody test using ADV monoclonal antibody.

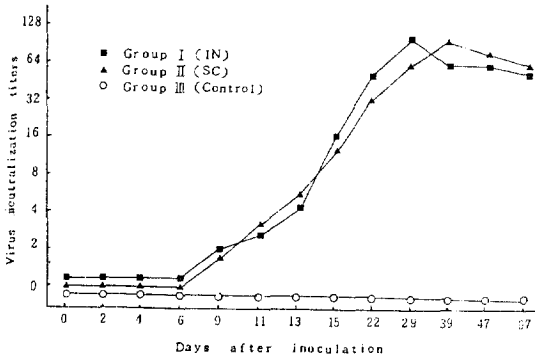


Fig 5. Changes of the virus neutralization titres of the sera obtained from the piglets experimentally infected with the NYJ-1-87 strain of AD virus. The values represent the mean titres of the groups.

이에 일부 점종돈에서 반응환의 직경이 증가되기 시작해서, 29일에는 13~14mm로 최고치에 달하였으며, 접종 후 97일 까지 강한 양성반응이 지속적으로 나타났다. 그러나 대조군은 시험기간 동안 모두 음성 반응치(6.3mm 이하)를 보여 주었다(Fig 6).

고 찰

ADV 감염에 의해 유발되는 돼지의 임상증세는 감염돈의 연령 및 면역상태 바이러스의 병원성, 감염문호 및 감염량 등에 따라 다양하게 나타난다.^{16,36} 특히 돼지의 일령과 병원성은 밀접한 관계가 있어 10일령 이하는 80~90%, 11~20일령은 50~70% 그리고 21~35일령은 10~30%의 폐사율을 나타낸다고 보고된 바 있

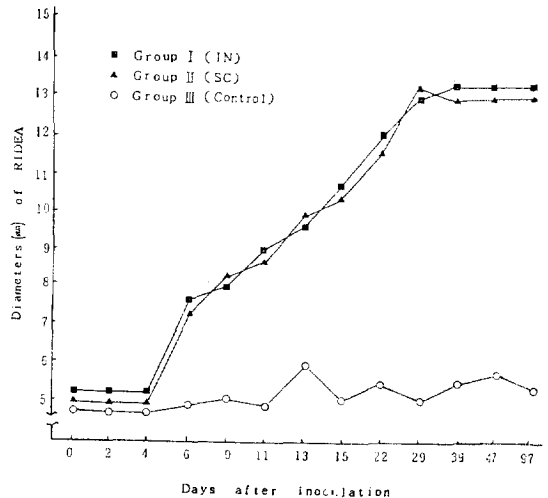


Fig 6. Changes of the diameters of radial immunodiffusion enzyme assay(RIDEA) of the sera obtained from the piglets experimentally infected with the NYJ-1-87 strain of AD virus. The values represent the mean diameters of the groups.

으며^{16,36}, 주 증세는 호흡곤란, 고열, 유연, 식욕부진, 구토, 설사, 운동실조 및 간대성 발작 등의 신경증상을 나타내며 comma상태가 되어 폐사한다.^{14,36} 이와 같은 증세는 돼지가 성숙될수록 약하게 발현되어, 성돈에서는 불현성 감염되는 경우가 많다. 그러나 임신돈에서는 태반감염에 의한 유사산 및 SMEDI 증후군이 발생하여, 번식장애를 유발한다.^{16,36} 이와 같은 증세는 ADV의 병독주에 따라서 많이 다르다는 보고가 있다.^{16,36} Narita et al.³⁷은 Yamagata strain을 80일령의 자돈

에 집중했을 때 처음에는 발열, 식욕결핍, 침울 및 근진전을 나타내며 발병기에는 간대성 경련 등의 신경증상을 나타냈으며 2주 후에 8두의 점종돈 모두가 정상으로 회복되었다고 했다. 또한 Kluge와 Mare³⁸는 미국에서 분리된 Be strain을 초임돈에 접종한 바 2일 부터 발열 및 침울 등의 증상을 나타냈고, 임상발현 극기에는 체온이 40.3~41.4°C에 달하였고, 식욕결핍, 기침, 근진전, 구토 및 현저한 소양증을 나타낸 후 집중 7~8일 사이에 8두 중 4두가 폐사되었고, 나머지 일부 생존 임신돈은 유산, 사산 및 생식기 질환을 일으켰다고 했다. 한편, Lai³⁹는 대만에서 발병된 돼지의 임상증세는 호흡곤란, 발열, 과도한 유언, 식욕결핍, 구토, 설사, 진전, 침울, 발작, 간헐적 경련 및 혼수 상태를 보인 후 폐사했다고 보고한 바 있다.

본 시험에서 국내 분리주 ADV, NYJ-1-87 strain을 30~35일령의 자돈에 실험 접종할 때 나타난 임상증세는 돼지에서 소양증을 나타낸 미국의 Be Strain³⁸과는 다소 차이가 있으나, 기타 외국주^{37,39}와는 유사한 것으로 사료된다.

국내 분리주는 점종돈의 일령과 폐사율을 감안할 때 중등도의 병원성을 가진 병독주로 사료된다. 그러나 신생 포유자돈에서는 매우 높은 병원성상을 보일 것으로 생각되며, 일령에 따른 병원성 특히 임신돈에 대한 병인기전 연구가 요구된다.

시험돈의 혈액학적 소견(Fig 2)은 임상증세와 밀접한 관련이 있는 것으로 나타났다. 즉 증세 발현 최극기인 집중 후 5~6일에는 백혈구수와 임파구수가 현저하게 감소되었다. 이는 돼지에서 hog cholera, 그리고 소의 infectious bovine rhinotracheitis 및 닭의 Marek's disease 등 herpesviridae 감염초기에 원인 바이러스가 당상피 내피세포계 특히 임파조직에 침범하여 백혈구 감소증 및 면역저하증을 유발하는 기전과 유사하다.^{1,39,40} 그리고, 회복기인 8일에 백혈구의 일시적 증가는 면역기능회복에 기인된 생리적 현상으로 사료된다.

ADV를 실험 접종한 돼지의 비강 및 구강분비물 그리고 분변으로부터 바이러스 회수시험은 여러 학자들에 의해 수행된 바 있으며 이런 결과를 토대로 질병 전파에 대한 기전을 규명하고자 노력하였다. Donaldson et al⁵은 영국의 AD74/33 strain, 북아일랜드의 NIA-2 strain 및 덴마크의 U298/81 strain을 자돈에 실험접종한 결과 모두 정도의 차이는 있으나 집중 후 1~10일 사이에 비강, 구강 및 직장에서 간헐적으로 바이러스가 분리되었다고 보고한 바 있다. 또한 McFerran과 Dow⁴¹는 ADV를 비강 접종한 감염돈의 비강과 구강분

비물에서 집중 후 1~10일 까지 계속적으로 바이러스를 회수할 수 있었고, 일부 감염돈에서는 17일 까지 간헐적으로 회수할 수 있었다고 하였다. 그러나 이들은 분변과 뇨에서는 바이러스를 회수할 수 없었다고 보고했으며, 이와 같은 바이러스 분비상태는 혈청내의 항체형성과 밀접한 관련이 있다고 하였다.⁴¹ 또한 Corner⁴는 집중 후 4~7일에 분변에서 바이러스를 분리할 수 있었다고 보고한 바 있다.

본 연구에서는 국내분리 ADV를 실험 접종한 자돈의 비강 및 구강분비물과 적장분변에서 집중 후 4~9일 사이에 대부분 바이러스가 회수되었으며(Table 2), 이는 ADV항체 형성시기와(Fig 5 및 6) 일치하는 것으로 나타나서, Corner,⁴ McFerran과 Dow⁴¹ 및 Donaldson et al⁵의 외국분리주에 대한 실험 성적과 부분적으로 일치하였다. 또한 비강에서 가장 높은 역가의 바이러스가 분비되었다는 사실(Fig 3)은 본 바이러스의 전파과정을 구명하는데 기초자료가 될 것으로 사료된다.

시험기간 동안 비강, 구강 및 직장으로 배설된 ADV의 농도를 측정된 결과 5일 차에 비강에서 평균 $10^{6.2}$ TCID₅₀/0.1ml(최고역가 $10^{5.5}$ TCID₅₀/0.1ml)으로 가장 높았다는 사실은 Csontos⁴²가 ADV의 자연 감염자돈의 비강분비물에서 회수된 바이러스의 최고역가가 $10^{7.0}$ TCID₅₀/0.1ml이었고, Narita et al³⁷이 Yamagata strain을 돼지에 인공 접종 시 감염 후 5일에 비강에서 가장 높은 역가의 virus($10^{5.8}$ TCID₅₀/ml)를 회수하였다는 성적 및 Mocsari et al³¹이 면양에 ADV를 인공접종 시 비강에서 채집한 바이러스의 최고역가는 $10^{6.0}$ TCID₅₀/0.1ml이라는 성적과는 다소 차이가 있었으나, 비강분비물에서 가장 많은 양의 바이러스가 회수되었다는 사실은 일치하였다. 또한 Gustafson¹⁴은 ADV의 1차 증식조직은 상부 호흡기관 및 편도선이며 olfactory epithelium과 편도조직에서 집중 후 18시간 부터 5일간 지속적으로 바이러스가 분리되어 본 병의 주요 감염경로는 naso-oropharyngeal route라고 보고한 바 있다. 본 시험에서 얻어진 결과를 보면 국내분리주 NYJ-1-87의 주요 배설기관은 상부 호흡기이며 구강을 통해서도 다소 배설된다고 인정된다.

그러나 NYJ-1-87 strain 점종돈에서 시험기간 동안 viremia를 인정할 수 없었다는 사실(Table 2)은 비강, 구강 및 직장으로는 바이러스가 분비된다는 점을 고려할 때 매우 흥미로운 점이라 생각된다. McFerran과 Baskerville¹⁶은 NIA-2 strain을 돼지에 실험접종하여 24시간 동안 1시간 간격으로 viremia test를 하였으나 음성 결과를 얻었다고 하였으며, Sabo et al⁴³도 Cvos

strain으로 실험한 결과 viremia를 인정할 수 없었다고 했다. 그러나 Hurst¹¹는 Hungarian strain으로 실험한 바 현저한 viremia가 관찰되었다고 보고했으나, Iowa strain으로 실험한 경우에는 viremia를 인정할 수 없었다고 보고했다. 따라서 ADV의 viremia는 strain에 따라 차이가 있다고 생각된다. 한편 Kovcs와 Hirt⁴⁴ 및 Corner⁴⁵는 viremia를 일으키지 않는 strain이라도 세포에 수대계대하면 viremia를 일으킨다고 보고하였다. 또한 Takhautdinov⁴⁶는 ADV는 heparin 처리에 민감하여 쉽게 파괴된다고 보고한 바 있어 viremia 시험시 혈액 취급에 특별한 주의가 요구된다고 사료된다. 또한 McFerran과 Dow⁴⁶는 ADV 접종돈에서 비록 viremia는 인정되지 않았지만 신경계 및 호흡기계 이외의 장기에서 ADV가 회수되거나 항원이 검출되는 것으로 보아 혈액 중 특히 백혈구에 의한 ADV의 순환이 가능하다고 지적한 바 있으므로 체혈간격, 혈액취급 및 바이러스 분리법의 감수성 등 viremia 시험에 영향을 줄 수 있는 요인을 고려해야 한다고 사료된다.

한편, Donaldson et al⁵은 ADV의 AD74/33 strain과 NIA-2 strain 및 U²⁰⁸/81 strain을 돼지에 접종한 결과, AD74/33 strain 접종 후 7일에 부검된 돼지에서는 뇌, 편도, 각 임파절, 폐, 비장 및 간장으로 부터 바이러스를 회수할 수 있었으며, NIA-2 strain 접종군에서는 뇌, 편도, 각 임파절 및 폐에서 바이러스가 분리되었고, U²⁰⁸/81 strain 접종군에서는 뇌 및 편도에서만 분리되었다고 보고하여, 조직내 바이러스 분포는 strain에 따라 다양함을 시사하였다. 따라서 본 시험에 공시한 NYJ-1-87 strain은 U²⁰⁸/81 strain의 바이러스 분리성과 유사한 것으로 사료된다. 또한 본 실험에서 회복 단계인 접종 9일에 도살한 돼지에서는 편도에서만 바이러스를 분리할 수 있었으며 뇌에서는 분리되지 않았다(Table 3). 이는 McFerran과 Dow⁴⁶가 뇌조직에서는 10일 까지 바이러스분리가 가능하다고 보고한 것과 상이하였다.

한편 Donaldson et al⁵은 접종 후 22일에 도살한 돼지에서는 오직 편도에서만 바이러스가 분리되었다고 보고하였고, Gustafson¹⁴은 편도가 ADV 증식에 중요한 기관임을 시사한 바 있다. 본 연구에서는 접종 후 15일 까지 편도선에서 바이러스가 회수되고 ADV 항원이 인정되어(Table 3) 국내 분리주 역시 편도가 주요 증식 기관임이 밝혀져 선인들의 보고와 일치함을 알 수 있었다.

본 연구에서 ADV의 혈청중화항체는 접종 후 6~9일부터 일부 인정되기 시작했다(Fig 5). McFerran과 Dow⁴⁶는 자돈에 대한 ADV 접종실험에서 중화항체는

감염 후 7일 부터 검출되기 시작해서 35일 경에 그 역가가 가장 높게 형성된다고 보고하였으며 Skoda et al⁴⁷은 이와 같이 형성된 항체는 대개 수개월 지속된다고 했다. 또한 Gutekunst와 Pirtle⁴⁸은 ADV 불활화백신으로 접종한 자돈의 항체는 백신접종 후 7일 부터 일부 접종돈에서 형성되기 시작해서 14일에는 전 접종군 공히 항체가 형성되었으며, 3~4주 후에는 항체가 가장 높고에 도달해서 98일 까지 지속되었다고 했다.

본 실험에서는 ADV 항체 형성을 보다 정확히 규명하기 위해서 혈청중화항체 시험보다 감수성이 더욱 예민한 RIDEA법을 병행하여 실시하였다. 혈청중화항체 시험에서는 선인들의 성적과 유사하였으나 항체가 2일 정도 늦게 검출된다는 차이점이 있었다. 그러나 동일한 혈청을 RIDEA로 시험하였던 바 ADV 항체는 혈청중화항체 시험에서 보다 2~3일 먼저 상승한다는 사실이 밝혀져 RIDEA법이 ADV 항체 검출에 더욱 민감하다는 사실이 인정되었다.

결 론

국내에서 분리한 Aujeszky's disease virus(ADV), NYJ-1-87 strain의 돼지에 대한 병인학적 특성을 규명하기 위하여 분리주를 30~35일령 자돈에 비장 및 피하로 인공 감염시킨 후 바이러스학적 측면에 대한 일련의 실험을 수행하였던 바, 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. $10^{6.0}$ TCID₅₀/0.2ml 역가의 ADV 2ml를 자돈의 비장 및 피하로 접종한 후 15일 동안 임상적으로 관찰한 바 접종 2일부터 발열, 식욕부진, 구토 및 근진전이 나타났고 4~7일에는 간헐성 발작을 동반한 신경증상과 유연을 보이면서 1두는 7일에 폐사하였고, 나머지 돼지는 8일 부터 회복되어 13~14일에는 정상으로 회복되었다.

2. 혈액상은 접종 후 6일에는 총 백혈구수와 임파구수가 감소하였고 8일에는 다소 증가 추세를 보였으며, 10일 이후에는 정상 수준을 유지하였다.

3. 접종 후 3~11일 사이에는 비장, 구강 및 직장에서 바이러스가 분비되었으며, 전 시험기간 중 비장에서 가장 높은 역가의 바이러스가 분비되었으며 접종 후 5일에는 평균 $10^{5.2}$ TCID₅₀/0.1ml로 가장 높았다.

4. 폐사돈과 접종 후 9일, 15일 및 97일에 시험 도살한 자돈의 장기별 바이러스분리를 시도한 바, 배양된 세포를 이용했을 때는 뇌 및 편도조직에서 분리되었으며 분리율은 편도조직에서 가장 높았다. ADV-mono-clonal antibody를 이용한 간접 형광항체 시험에서는 뇌 및 편도에서 뿐만 아니라 바이러스가 분리되지

않은 비장 및 간장조직에서도 ADV항원이 인정되었다. ADV집종 후 15일 까지 세 및 신장조직과 혈액에서는 마이디스가 분리되지 않았다.

5. 실험적 감염돈의 중화항체역가는 ADV집종 후 6~9일 부터 증가하여 29일에 최고에 달하여 64~128의 중화항체역가를 보였으며, 효소면역확산법에서 반응환의 직경은 집종 후 4~6일부터 증가하여 29일에 최고에 달하여 반응직경은 13~14mm였으며, 양성반응은 97일 까지 지속되었다.

참 고 문 헌

- Gillespie JH, Timoney JF. The herpesviridae in *Hagan and Bruner's infectious diseases of domestic animals*. Cornell Univ press USA 7th ed. 1981;551~594.
- Aujeszký A. Ueber eine neue infektiöses krankheit bei Haustieren. *Zentralbl Bakteriol* (orig) 1902; 32:353~357.
- Traub E. Cultivation of pseudorabies virus. *J Exp Med* 1933;58:663.
- Corner AH. Pathology of experimental Aujeszký's disease in piglets. *Res Vet Sci* 1965;6:337~343.
- Donaldson AI, Wardley RC, Martin S, et al. Experimental Aujeszký's disease in pigs: excretion, survival and transmission of the virus. *Vet Rec* 1983;19:490~494.
- Dow C, McFerran JB. The pathology of Aujeszký's disease in cattle. *J Comp pathol* 1962;72: 337.
- McFerran JB, Dow C. The distribution of the virus of Aujeszký's disease in experimentally infected sheep. *Res Vet Sci* 1964;5:143.
- Hara M, Shimizu T, Fukuyama M, et al. A natural case of Aujeszký's disease in the dog in Japan. *Jpn J Vet Sci* 1987;49(4):645~649.
- McFerran JB, Dow C. Experimental Aujeszký's disease (pseudorabies) in rats. *Brit Vet J* 1970; 126(4):173~179.
- Jakubik J. Comparative susceptibility of rabbits, rats, mice and pigs to infection with Aujeszký's disease virus(ADV) in the development of an efficacy test for ADV vaccines. *Zbl Vet MedP* 1977;B24:765~766.
- Hurst EW. Studies on pseudorabies (infectious bulbar paralysis, mad itch) 1. Histology of the disease with a note on symptomatology. *J Exp Med* 1933;58:415~433.
- Hurst EW. Studies on pseudorabies (infectious bulbar paralysis, mad itch) 2. routes of infection in the rabbit, with remarks on the relation of the virus to other viruses affecting the nervous system. *J Exp Med* 1934;59:729~749.
- Kimman TG, Van Oirschot JT. Pathology of Aujeszký's disease in mink. *Vet Pathol* 1986; 23:303~309.
- Gustafson DP. Pseudorabies in *disease of swine* edited by Leman AD, et al. Iowa state univ press USA 6th ed. 1986;274~289.
- Kouwenhoven B, Davelaar FG, Burger AG, et al. A case of Aujeszký's disease virus infection in young chicks. *Vet Quarierly* 1982;4(4):145~ 154.
- Baskerville A, McFerran JB, Dow C. Aujeszký's disease in pigs. *Vet Bulletin* 1973;43:465.
- Shope RE. An experimental study of "mad itch" with special reference to its relationship to pseudorabies. *J Exp Med* 1931;54:233~248.
- Baskerville A. Aujeszký's disease: recent advances and current problems. *NZ Vet J* 1981;29:183~ 185.
- Clark RK, Jessup DA, Hird DW, et al.:Serological survey of California wild hogs for antibodies against selected zoonotic disease agents. *J Am Vet Med Assoc* 1983;183:1248~1251.
- Bang D. Pseudowut (Akute infektiöse Bulbärparalyse) beim Rinde in danemark. *Acta Path Microbiol Scand Suppl* 1932;11:180~182.
- Howarth JA, De paoli A. An enzootic of pseudorabies in swine in California. *J Am Vet Med Assoc* 1968;152:1114~1118.
- Hipolito O, Lamas da silva JM, Batista JA, et al. (Aujeszký's disease in pigs, in Brazil). *Arqs Esc Vet Minas Gerais* 1962;13:61~67.
- Nikitin MG. Role of rats in the spread of Aujeszký's disease. *Veterinariva Moscow* 1959;36(6): 44~45.
- Lin SC, Tung MC, Liu CI, et al. An outbreak of pseudorabies in swine in pintung. *Chin J Microbiol Taipei* 1972;5:56~68.
- Matsuoka T, Iljima Y, Sakurai K et al. Outbreak

- of Aujeszky's disease in cattle in Japan. *Jpn J Vet Sci* 1987;49(3):507~510.
26. 이중복, 안수환, 김병환, 등. 돼지 오제스키병에 관한 연구 : 1. 감염자돈으로부터 원인체의 분리 및 동정. 대한수의학회지 1988;28(1):99~103.
 27. 전무형, 조성환, 안수환, 등. 이환자돈으로부터 오제스키병 마이리스 분리와 생물학적 성상. 대한수의학회지 1988;24(3):163~171.
 28. 김병환, 이중복, 송제영, 등. 돼지 오제스키병에 관한 연구 : 2. 국내 돼지에서 분리한 오제스키바이러스의 DNA제한 효소분석. 농사시험 논문집 1988;30(2):37~41.
 29. 한홍불, 이정길, 이창우. 수의 임상 병리. 기전연구사 서울. 1982;23~58.
 30. Hsiung GD. *Diagnostic virology* Yale Univ press USA 3rd ed: 1982;17~34.
 31. Mocsari E, Toth CS, Meder M, et al. Aujeszky's disease of sheep: Experimental studies on the excretion and horizontal transmission of the virus. *Vet Microbiol* 1987;13:353.
 32. Reed LJ, Muench H. A simple method of estimating fifty percent endpoints. *Am J Hyg* 1938;7:493.
 33. Hill HT, Crandell RA, Kanitz CL, et al. Recommended minimum standard for diagnostic tests employed in the diagnosis of pseudorabies(Aujeszky's disease). *Proc Annu Meet Am Assoc Vet Lab Diagn* 1977;375~390.
 34. An SH, Kweon CH, Lee JB, et al. Modified radial immunodiffusion enzyme assay for diagnosis of pseudorabies infection in swine. *J Kor Virol* 1987;17:45~50.
 35. Kweon CH, An SH, Kim YH, et al. Studies on pseudorabies in swine: 1. Derivation of monoclonal antibody against pseudorabies virus. *Res Rept RDA(L & V)* 1986;28(1):71~76.
 36. Wittmann G. Aujeszky's disease. *Rev Set Tech off int Epiz* 1986;5(4):959~977.
 37. Narita M, Imada T, HaritaniM, et al. Pathological changes in HPCD pigs with prednisolone induced recrudescence of pseudorabies virus. *J Comp Path* 1987;97:309~319.
 38. Kluge JP, Mare CJ. Swine pseudorabies: abortion, clinical disease, and lesions in pregnant gilts infected with pseudorabies virus (Aujeszky's disease). *Am J Vet Res* 1974;35:911~915.
 39. Lai SS. 대만의 Aujeszky 병과 방역대책. 대한수의학회지 1988;24(7):433~436.
 40. Van Oirschot JT. Hog cholera in *disease of swine* edited by Leman AD, et al. Iowa state Univ Pre USA 6th ed 1986;289~300.
 41. McFerran JB, Dow C. The excretion of Aujeszky's disease virus by experimentally infected pigs. *Res Vet Sci* 1964;5:405~414.
 42. Csonotos L. Determination of virus content and possible diagnostic value of organs from pigs that died of Aujeszky's disease. *Acta Vet Acad Sci Hung* 1966;16:219~222.
 43. Sabo A, Rajcani J, Blaskovic D. Studies on the pathogenesis of Aujeszky's disease 1. Distribution of the virulent virus in piglets after peroral infection. *Acta Virol* 1968;12:214~221.
 44. Koves J, Hirt G. Uber die Aujeszky'sche krankheit der schweine. *Arch Wiss prakt Tierheilk* 1934;68:1~23.
 45. Takhautdinov FB. Mode of action of heparin as an inhibitor of the reproduction of Aujeszky's disease virus. *Uchen Zap Kazan Vet Inst* 1969;102:156~161.
 46. McFerran JB, Dow C. The distribution of the virus of Aujeszky's disease (pseudorabies virus) in Experimentally infected swine. *Am J Vet Res* 1965;26(112):631~635.
 47. Skoda R, Sadecky E, Molnar J. Uber die bei Mufferschweinen nach naturlicher infektionen serologisch nachweisbare immunitat gegen die Aujeszky'sche krankheit. *Arch exp Vet med* 1963;17:1363~1370.
 48. Gutekunst DE, Pirtle EC. Humoral and cellular immune responses in swine after vaccination with inactivated pseudorabies virus. *Am J Vet Res* 1979;40:1343~1346.