

碩士學位論文

제주지역 돼지 폐렴병소에서

Influenza 바이러스 감염을 조사

The prevalence of swine influenza virus
in pneumonic lungs in Cheju



獸醫學科

全 容 徹

2000年 2月

제주지역 돼지 폐렴 병소에서
Influenza 바이러스 감염을 조사

指導教授 裴宗熙

全容徹

이 論文을 獸醫學 碩士學位 論文으로 提出함



全容徹의 獸醫學 碩士論文을 認准함

審査委員長

委員

委員

이득식
김영준
이종희

濟州大學校 大學院

2000年 2月

제주지역 돼지 폐렴병소에서 Influenza 바이러스 감염을 조사

(지도교수 : 배중희)

전 용 철

제주대학교 대학원 수의학과

Swine influenza virus(SIV)는 돼지폐렴의 일차적인 원인체로서, 이차 세균 감염을 용이하게 하고 폐렴을 더욱 악화시켜 양돈농가에 경제적인 피해를 주고 있다. 본 연구는 1995년과 1999년 사이 제주도 내 10개 농장에서 제주대학교에 병성 감정 의뢰한 90두의 돼지와 도내 5개 농장에서 1998년과 1999년에 도축 출하한 돼지 218두 등 총 308두의 돼지를 대상으로 폐장의 병리학적 검사와 SIV 항원형 A에 대한 면역조직화학적 항원 검사를 실시하였다. SIV 항원형 A 아형 H1N1과 H3N2에 대한 혈청 항체 검사는 혈청이 확보된 274두에 대하여 수행하였다.

폐장의 병리조직학적 검사 결과, 총 308두에서 폐렴은 267두(86.6%)가 관찰되었으며 그 중 기관지간질성 폐렴이 205두(66.5%)로 가장 많았다. 면역조직화학적 항원 양성율은 44.1%를 나타내었다. 또한 항체 분포율은 44.2%이었고, heamagglutinin의 아형별로는 H1이 23%, H3은 16.8%, 혼합 감염된 예는 4.4%이었다. 돼지 influenza의 특징적인 병리조직학적 소견인 괴사성 기관지염은 검사한 전체 돼지 폐장의 28.5%에서 관찰되었으며, 항원 양성 돼지에서는 41.4%가 관찰되었다.

본 연구 결과에서 SIV 항원의 높은 분포율로 보아 제주지역 내 돼지폐렴의 원

인 중 SIV가 중요한 원인체로서 작용하고 있음을 알 수 있었다.

중심어: swine influenza virus, 돼지 폐렴, 면역조직화학, 혈구응집억제반응



목 차

I. 서 론	1
II. 재료 및 방법	4
III. 결 과	7
IV. 고 찰	12
V. 결 론	15
VI. 참 고 문 헌	17
영 문 초 록	23



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

I. 서론

Swine influenza virus(SIV)는 직접 돼지폐렴을 일으키거나 다른 병원체와 혼합 감염되어 쉽게 폐렴을 유발하는 것으로 알려져 있다(Brown 등, 1993b; Pol 등, 1997). 또한 비육돈에서 성장을 저하(Kay 등, 1994)와 모돈에서 허약자돈의 출산 및 유·사산을 일으킨다는 보고가 있다(Brown 등, 1980). SIV는 최근 porcine reproductive and respiratory syndrome virus(PRRSV), pseudo rabies virus, porcine respiratory corona virus(PRCV)와 함께 돼지에서 문제되고 있는 porcine respiratory disease complex의 원인체 역할을 하며, 흔히 *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Actinobacillosis pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Hemophilus parasuis*, *Salmonella choleraesuis* 등의 세균들과 혼합 감염 된다(Christensen 등, 1999).

SIV는 *Orthomyxoviridae*에 속하는 single stranded RNA 바이러스이며 계놈은 분절형이고 RNA는 핵에서 합성된다. SIV는 다양한 형태를 나타내며 크기는 직경 80~120 nm이고 filamentous form을 나타내기도 한다. Influenza 바이러스는 nucleoprotein과 matrix protein의 항원성 차이에 따라 A, B, C 3가지 형으로 나뉘고, A 형은 다시 haemagglutinin과 neuraminidase의 특성에 따라 여러 아형으로 나뉜다. Influenza A 바이러스는 간상의 haemagglutinin과 버섯모양의 neuraminidase인 2종류의 spike가 있는데, 이것들은 소수성 아미노산 서열을 이용하여 viral lipid envelope에 부착되어 있다. Envelope 내에는 matrix protein이 있고 그 안에는 8개의 분절형 single stranded RNA 분자가 있다(Murphy와 Webster 1990).

현재까지 돼지에서 자연 발생되어 유행된 swine influenza(SI)는 주로 항원형 A의 아형인 H1N1과 H3N2이다. 주로 H1N1은 미국, H3N2는 유럽에서 유행하고 있다. 돼지는 전형적인 돼지 H1N1 influenza 바이러스, 항원성이 조류와 유사한 H1N1 바이러스, 사람의 독주와 유사한 H1N1과 H3N2에 감수성이 있다(Brown 등 1995; Ito 등, 1998; Stech 등, 1999).

SIV가 연구되기 시작한 것은 1918~1919년 사람에서의 세계적인 대규모 유행

이후이며, 아시아를 포함한 유럽 및 미주 국가에서 influenza 바이러스의 발생과 특히 중간 전파에 대한 연구가 계속 진행되고 있다(Hinshaw 등, 1978; Stephen 등, 1992; Noble 등, 1993).

SIV의 전염은 비인후두 경로에 의한 돼지에서 돼지로의 직접전파가 주 전염 경로이다. 감염은 호흡기도에 제한적으로 발생하며, 바이러스혈증은 드물게 나타난다(Brown 등, 1993a). 바이러스의 복제는 비강 점막, 편도, 기관, 기관기관지림프절, 그리고 폐장에서 이루어지며(Lanza 등, 1992; Easterday와 Van Reeth, 1999), 여러 연구자들에 의해 바이러스는 기관지 상피에 대해 높은 특이적 친화성을 지닌 것으로 밝혀졌다. 바이러스 항원은 면역형광항체법에 의해 바이러스 접종 후 2시간 안에 기관지 상피에서 양성 반응을 보이며, 16시간째 기관지 상피에서 광범위하게 나타난다. 또한 항원은 감염 후 4시간 안에 폐포 중격에서도 검출된다고 하였다. 형광발색 반응은 기관지와 폐포 모두에서 9일째 사라진다(Easterday와 Van Reeth, 1999). 면역형광항체법에 의한 양성 반응은 거의 모든 기관지에 나타난다(Haesebrouck 등, 1985). SIV에 대한 특이적인 항체는 3일째 혈청과 4일째 비강 점막 가검물에서 검출할 수 있다(Brian 등, 1995). 항체 검사 방법은 혈구응집억제반응과 enzyme linked immunosorbent assay(ELISA)(Brian 등, 1993) 등이 알려져 있다. 항원 검사 방법으로는 바이러스의 분리, 면역조직화학검출(Renee 등, 1994; Vincent 등, 1996), 직·간접면역형광법(Barigazzi 등, 1996) 및 중합효소연쇄반응(Schorr 등, 1994) 등이 이용되고 있다.

SI의 병리조직학적 소견으로는 기관지 및 세기관지 상피의 광범위한 변성과 괴사가 일어나고, 호흡기도 내에는 호중구와 탈락된 세포를 함유한 삼출물이 관찰되며, 기관지 및 혈관주위에 단핵세포의 침윤을 보인다(William과 Donald, 1988; Gian과 Norman, 1986). 또한 모세혈관의 확장과 다양한 출혈, 림프구와 조직구 그리고 형질 세포가 폐포 중격에 침윤하는 간질성 폐렴의 특징을 나타낸다(Brown 등, 1993a; Bachman, 1989; Jakab 등, 1983). 한편 SIV에 의해 나타나는 전형적인 병변과는 다른 소견인 심한 증식성 괴사성 폐렴을 일으키는 새로운 변이주에 대해 보고되었다(Morin 등, 1990; Girad 등, 1992; Dea 등, 1992; Renee 등, 1994).

본 연구는 제주지역 돼지의 폐장에서 SIV 항원의 검출을 통하여 감염율을 파악하고, 조직항원의 검출과 항체가와의 관계 및 병리조직학적 병변과 항원과의 관

계를 분석하여 제주지역에서 SI의 발생특성을 조사 하고자 실시하였다



II. 재료 및 방법

1. 공시동물

1995년과 1999년에 사이 병성 감정 의뢰된 돼지 90두(1~120일령)와 도내 5개 농장에서 1998년과 1999년에 도축 출하된 돼지 218두를 대상으로 폐장의 병리학적 검사와 SIV 항원형 A에 대한 면역조직화학적 항원 검사를 실시하였다. SIV 항원형 A 아형 H1N1 및 H3N2에 대한 혈청 항체 검사는 도축돼지 274두에 대하여 수행하였다.

2. 병리학적 검사



폐렴의 육안적 검사는 전복측엽의 경화소를 위주로 관찰하였다. 전체 폐장을 100%로 한 후 좌측 침엽, 심엽, 횡격막엽을 각각 5%, 6%, 29%로 하였으며 우측 침엽, 심엽, 횡격막엽은 각각 11%, 10%, 34%로 하고, 부엽은 5%로 하여 경화소 분포비율을 검사하였다(Leman 등, 1992). 폐장의 조직학적 검사는 전복측엽(침엽, 심엽, 부엽)과 후배측엽(횡격막엽) 경화소를 채취하여 10% 중성 포르말린에 고정 한 후 조직 처리하여 파라핀 블록을 만들었다. 3~5 μ m두께로 조직을 절편하고, hematoxylin-eosin 염색을 하여 Jubb 등(1993)의 분류에 따라 기관지간질성 폐렴, 간질성 폐렴, 화농성 기관지 폐렴 및 섬유소성 기관지 폐렴으로 나누어 검사하였다.

3. 혈청항체 검사

혈구응집억제(heamagglutination inhibition: HI) 반응을 위하여 모든 혈청은 56℃에서 30분 간 혈청을 비동화 시킨 후, 혈청 내에 존재할 수 있는 비특이 흡착 물질들을 제거하기 위하여 0.01M KIO₄ 를 0.3 ml씩 0.1 ml 혈청에 가하고, 15분간 실온에 정치시킨 후 0.3 ml의 1% glycerol-saline solution, 0.3 ml의 PBS, 0.1 ml의 50% chicken RBC를 첨가하여 4℃에서 1시간 동안 반응을 실시하였으며, chicken RBC는 원심분리로 제거하였다. HI test는 96 well microtiter-U-plate에서 0.5% chicken RBC를 사용하여 실시하였다. 25 μl PBS를 plate에 첨가한 후, 첫 well에 전 처리된 50 μl의 혈청을 가하여 2배 계단희석을 한 후 25 μl의 바이러스를 8HA unit로 역가를 조절하여 plate에 첨가하였다. 혈청과 바이러스 희석액을 잘 섞은 후 plates를 30분 동안 실온에서 반응시키고, 0.5% chicken RBC를 첨가하였다. 바이러스나 혈청 및 바이러스 혼합액이 전혀 가해지지 않은 대조군의 chicken RBC가 완전히 가라앉았을 때를 기준으로 결과를 판독하였다.



4. 면역조직화학적 항원 검사

폐장을 3~5 μm의 두께로 절편하여 0.01% poly-L-lysine이 도말된 슬라이드에 부착하였다. 파라핀을 제거한 후, 조직 내에 자연적으로 존재하는 과산화효소를 제거하기 위해 3% H₂O₂가 첨가된 methanol에 30분 간 반응시켰으며, proteinase K로 37℃에서 30분 간 처리하였다. 비특이 반응을 방지하기 위하여 10% 정상 염소혈청으로 실온에서 30분 간 반응시켰으며, 자연적으로 존재하는 avidin과 biotin의 활성을 막기 위해 avidin-biotin blocking kit(Vector SP-2001, Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA)로 15분 간 실온에서 반응시킨 후, SIV에 대한 1차 항체로 Yewdell 등(1981)이 보고한 influenza A virus의 nucleoprotein에

대한 단클론 항체(hybridoma 65, ATCC, USA)를 10% 정상 염소 혈청에 1: 2000으로 희석하여 조직 위에 적하하고 37℃에서 1시간 반응시켰다. Anti-mouse IgG(1: 200)로 실온에서 45분 간 반응시켰으며 avidin-biotin peroxidase complex(Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA)로 37℃에서 30분 간 반응시켰다. 각 단계별 반응 후에는 phosphate buffered saline(pH 7.2)로 10분 간 3회 충분히 세척하였다. 면역반응이 끝난 조직은 3,3'-diamino-benzidine tetrahydrochloride(DAB, 0.5 mg/ml)용액에 H₂O₂가 0.009%되게 희석한 용액으로 1~3분간 발색한 후 증류수에서 면역 반응을 중지시켰다. Mayer's hematoxylin으로 대조 염색하여 탈수와 투명 과정을 거쳐 봉입 후 광학현미경으로 관찰하여 세포질에 황갈색반응이 나타난 세포를 양성으로 간주하였다. 대조군은 음성대조군(SI 항원, 항체 음성)과 수의과학 검역원으로부터 제공받은 양성대조군 슬라이드를 사용하였다.



III. 결 과

1. 폐장의 경화소 분포

도축돼지 폐장의 육안검사 결과, 218두 중 164두에서 전복측 폐장의 경화소가 관찰되어 75.2%의 발생율을 보였다. 경화소의 분포 비율은 218두의 폐장에서 평균 6.0%로 나타났다(Table 1).

Table 1. Incidence and gross score for cranioventral consolidation of lungs

Group	Incidence	Score (mean±SD)
Necropsied pigs	N.T ^{a)}	N.T
Slaughtered pigs	164/218 (75.2) ^{b)}	6.0±7.7
Total	164/218	6.0±7.7

a) Not tested

b) No. of pigs observed cranioventral consolidation/No. of pigs examined(%).

2. 폐렴의 병리조직학적 분류

폐장의 병리조직학적 검사 결과, 308두 중 267두에서 폐렴이 관찰되어 86.6%의 발생률을 보였다. 기관지간질성 폐렴이 205두(66.5%)로 가장 많이 관찰되었고, 간질성 폐렴은 40두, 화농성 기관지 폐렴은 19두, 섬유소성 폐렴은 3두에서 관찰되었다. 특히 도축돼지 218두 중 기관지간질성 폐렴은 171두(78.4%)의 높은 발생을

보였으며, 병성감정 돼지 90두 중 기관지간질성 폐렴의 발생은 34두(37.7%)로 낮은 반면 상대적으로 간질성 폐렴이 27두(30%)로 높은 발생율을 보였다(Table 2).

Table 2. Incidence of porcine pneumonia according to pneumonic types

Group	Classification of pneumonia ^{a)}				Total
	BIP	IP	SBP	FBP	
Necropsied pigs	34 (37.7) ^{b)}	27 (30.0)	8 (8.8)	3 (3.3)	90
Slaughtered pigs	171 (78.4)	13 (6.0)	11 (5.0)	0 (0.0)	218
Total	205 (66.5)	40 (12.9)	19 (6.1)	3 (0.9)	308

a) BIP : bronchointerstitial pneumonia; IP : interstitial pneumonia

SBP : suppurative bronchopneumonia; FBP : fibrinous bronchopneumonia

b) No. of pigs observed pneumonia/No. of pigs examined(%)



3. Swine influenza virus의 항체 분포

혈청항체 검사 결과는 274두 중 121두가 항체 양성을 나타내어 44.2%의 분포를 보였다. 바이러스의 아형별로 H1N1에 대한 항체만 검출된 경우가 23%, H3N2에 대한 항체만 검출된 경우가 16.8% 그리고 두가지 모두 검출된 경우가 4.4%이었다 (Table 3).

Table 3. Incidence of antibody to swine influenza H1N1 and H3N2 by HI test

Subtype	Incidence (%)
H1N1 only	63 (23.0)
H3N2 only	46 (16.8)
H1N1+H3N2	12 (4.4)
Total	121/274 (44.2)

4. 폐장의 swine influenza virus 항원 분포

면역조직화학적 검사에 의한 폐장의 SIV 항원은 308두 중 136두에서 검출되어 44.1%의 양성율을 보였으며, 병성감정 돼지에서는 90두 중 51두(56.6%)가, 도축돼지에서는 218두 중 85두(38.9%)에서 관찰되었다(Table 4). 항원의 분포를 폐엽에 따라 조사한 결과, 검사한 48두 중 침엽은 41두, 심엽은 43두, 횡격막엽은 40두에서 검출이 되었다. SIV 항원은 대부분 기관지와 세기관지 상피세포에 광범위하게 분포하였다(Figure 1b & 2b).

Table 4. Incidence of swine influenza type A antigen in lungs by immunoperoxidase stain

Group	Incidence	Rate (%)
Necropsied pigs	51/90 ^{a)}	56.6
Slaughtered pigs	85/218	38.9
Total	136/308	44.1

a) No. of positive pigs/ No. of tested pigs

5. 자연발생 swine influenza의 발생특성

1) Swine influenza virus 항원 양성 예의 병리조직학적 소견

항원 양성 돼지 136두에 대한 병리조직학적 검사 결과, 병리조직학적 병변은 전 복측엽에서 주로 관찰되었다. 기관지와 세기관지의 강내에는 림프구와 단핵구, 다형핵 백혈구, 그리고 탈락된 상피세포로 구성된 삼출물로 채워져 있었고, 세기관지 상피세포는 변성 및 괴사가 관찰되었다(Figure 2a & 2a).

SIV 항원과 괴사성 기관지염 발생에 대한 분포비율을 본 결과 308두 중 괴사성 기관지염과 항원이 모두 음성인 경우가 140두(45.5%), 괴사성 기관지염이 있으면서 항원이 음성인 경우가 32두(10.4%), 괴사성 기관지염이 없으면서 항원이 양성인 경우가 80두(25.9%), 괴사성 기관지염과 항원이 모두 양성인 경우는 56두(18.2%)이었다. 총 308두 중 괴사성 기관지염이 관찰된 경우는 88두(28.6%)였으며 도축돼지 218두 중 60두(27.5%)와 병성감정 돼지 90두 중 28두(31.1%)이었다. 한편 항원 양성 돼지 136두 중 56두(41.1%)와 항원 음성 돼지 172두 중 32두(18.6%)에서 괴사성 기관지염이 관찰되었다(Table 5).

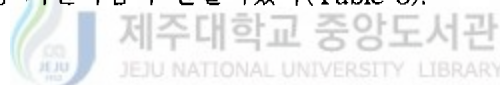


Table 5. Incidence of swine influenza virus in lungs with necrotizing bronchitis

NEB ^{a)}	IHC ^{b)}	Necropsied pigs	Slaughtered pigs	Total
-	-	33 (36.7) ^{c)}	107 (49.1)	140 (45.5)
+	-	6 (6.7)	26 (11.9)	32 (10.4)
-	+	29 (32.2)	51 (23.4)	80 (25.9)
+	+	22 (24.4)	34 (15.6)	56 (18.2)
No. of pigs examined		90	218	308

a) NEB : Necrotizing bronchitis

b) IHC : Immunohistochemistry

c) No. of pigs/No. of pigs examined(%)

2) SIV 항원과 항체의 분포 비교

항원과 항체의 양성율에 대한 분포를 조사한 결과, 전체 274두 중 항원과 항체 검사에서 모두 음성인 경우는 96두(35%), 항체 검사에서만 양성인 경우는 80두(29.2%), 항원 검사에서만 양성인 경우는 57두(20.8%), 항원과 항체 모두 양성인 경우는 41두(15.0%)로 나타났다(Table 6).

Table 6 Incidence of antigen and antibody in spontaneous SIV infection

HI ^{a)}	IHC ^{b)}	Necropsied pigs			Slaughtered pigs	Total
		<30days	30-120days	Total		
-	-	3 (11.1) ^{c)}	7 (24.1)	10 (17.9)	86 (39.4)	96 (35.0)
-	+	13 (48.1)	7 (24.1)	20 (35.7)	37 (17.0)	57 (20.8)
+	-	4 (14.8)	4 (13.8)	8 (14.3)	72 (33.0)	80 (29.2)
+	+	7 (26.0)	11 (38.0)	18 (32.1)	23 (10.6)	41 (15.0)
No. of pigs examined		27	29	56	218	274

a) HI : haemagglutination inhibition test

b) IHC : Immunohistochemistry

c) No. of pigs/No. of pigs examined(%)

IV. 고 찰

돼지에 SIV가 감염되면 1% 미만의 폐사율을 나타내지만, 100%에 가까운 이환율을 보인다(Easterday와 Van Reeth, 1999). 임상증상은 모든 일령에 거의 동시에 나타나며, 경과가 매우 짧은 것이 특징이다. 세균이나 바이러스가 복합감염 안된 돼지의 경우 2~6일의 다양한 임상경과를 보이다가 빠르게 회복된다. 폐렴이 발생하게 되면 임상경과는 더욱 길어지고, 세균의 2차 감염은 잘 발생하며, 폐사에 이르기도 한다(Bruner 등, 1988).

도축돼지의 폐장을 육안검사한 결과 218두 중 164두(75.2%)의 전복측 폐장에서 경화소를 관찰할 수 있었으며, 폐장의 경화소 분포 비율은 평균 $6.0 \pm 7.7\%$ 이었다. 국내에서는 아직 경화소 분포 비율에 대한 보고는 없으며, 본 조사에서의 결과는 Morrison 등(1985)이 캐나다의 도축돼지에서 보고한 경화소 분포 비율인 39% 보다 높은 수치로서 제주지역 도축돼지의 폐렴 중 전복측 폐렴이 차지하는 비율이 높았음을 알 수 있었다. 따라서 폐렴 병변 모니터링을 지속적으로 실시하여 체계적인 호흡기 질병관리 체계가 이루어져야 할 것으로 사료된다. 본 조사 대상 돼지 중 병변의 존재 여부와는 상관없이 전복측 부위를 채취하여 병리조직학적으로 검사한 결과, 308두 중 267두(86.6%)에서 폐렴 소견을 관찰할 수 있었다. 이는 경기지역에 all-in/all-out을 실시하지 않은 양돈장에서의 폐렴 발생율인 85.2%(이 등, 1998)와 비슷한 수준이었다. 돼지 폐렴의 발생을 병리조직학적으로 분류한 결과, 기관지간질성 폐렴이 308두 중 205두(66.5%)로 가장 많이 관찰되었고 특히 도축돼지에서는 218두 중 171두(78.4%)로 높은 비율을 차지하고 있었다. 이는 Gardner와 Hird(1990)의 일령에 따른 폐렴발생을 조사에서 일령이 증가할수록 폐렴 발생이 증가하며, 특히 비육돈에서 높은 발생율을 보였다는 보고와 일치하였다. 병성감정 돼지에서는 간질성 폐렴의 발생율이 30.0%로서 도축돼지에서의 6.0%에 비하여 높게 나타났다. 이는 제주지역에서 간질성 폐렴이 포유기와 육성기 일령의 돼지 호흡기 질병에 많은 영향을 미치고 있는 것으로 추정된다.

혈청항체 검사 결과 제주 지역에서 SIV에 대한 혈청 항체 양성율은 44.2%이었

고, 그 중 H1N1이 23%, H3N2가 16.8%, 혼합감염된 예가 4.4%이었다. 류와 김(1998)의 보고에 의하면 SIV의 국내 혈청항체 양성율은 59%이고 H1N1이 15%, H3N2가 24% 그리고 혼합 감염된 예가 20%였다. 또한 류 등(1997)은 제주지역 도축돼지에서 H1N1과 H3N2에 대한 혈청항체 양성율을 각각 47%와 78.3%로 보고한 바 있다. 본 조사에서 항체 양성율은 다른 국내 보고에 비해 낮은 수치였으며 아형별 분포 역시 다른 보고와 달리 H1N1이 H3N2보다 많이 발생하였다. 이는 지역별, 농장별 및 조사 시기별 차이에 따른 결과로 추정된다.

면역조직화학적 항원 검사 결과, 폐장에서 SIV 항원은 308두 중 136두(44.1%)에서 검출되었다. 1~120일령의 병성감정 돼지는 90두에서 51두(56.6%)가 양성 반응을 보여 218두 중 85두(38.9%)가 양성인 도축돼지보다 높은 감염율을 보였다. 특히 30일령 이하의 포유기 자돈 27두에서 20두(74.0%)가 양성 반응을 보여 가장 높게 나타났다. 이런 결과는 SIV가 제주지역에서 포유시기에 가장 흔히 감염되는 것으로 사료된다. SIV 항원의 폐엽별 분포를 관찰한 결과, 항원 양성 돼지의 전복측 및 후배측엽에서 모두 조직항원을 관찰할 수 있었으며, 몇 예에서 전복측과 후배측엽 중 한 엽에서만 국한되어 나타난 경우도 있었다. Lanza 등(1992), Brown 등(1993a)이 SIV를 실험접종한 후 바이러스의 회수 가능 시기와 장기별 회수여부를 조사한 보고에서 기관지 림프절, 편도, 폐장의 전복측엽과 후배측엽에서 모두 바이러스를 회수할 수 있었던 점과 비교하여 볼 때 본 연구 결과와 일치하는 것으로 사료된다.

본 조사에서 SIV 항원 양성을 보인 폐장의 병리조직학적 검사 결과, 주로 전복측엽의 기관지와 세기관지 강내에 림프구와 단핵구, 다형핵 백혈구, 그리고 탈락된 상피세포로 구성된 삼출물이 채워져 있었다. 세기관지 상피세포는 변성 및 괴사소견이 관찰되었으며, William과 Donald(1988), Gian과 Norman(1986)이 보고한 SIV의 병리조직학적 소견과 일치하는 결과이었다. Morin 등(1990), Girad 등(1992), Dea 등(1992), Renee 등(1994)은 증식성 괴사성 폐렴소견을 보고하였지만, 본 조사에서는 관찰되지 않았다.

SIV 감염시 관찰되는 소견인 괴사성 기관지염(Bachmann 등, 1989)은 전체 검사 대상 돼지 308두 중 88두(28.6%)에서 관찰되었다. 이 중 SIV 항원 양성 돼지 136두 가운데 56두(41.1%)가 관찰되어, 172두 중 32두(18.6%)가 관찰된 SIV 항

원 음성돼지 보다 높은 발생율을 보였다. 한편 항원 음성돼지에서 피사성 기관지염이 관찰된 경우는 308두 중 32두(10.4%)이었고 항원 양성돼지에서 피사성 기관지염이 관찰 안 된 경우는 308두 중 80두(25.9%)이었다. Brown 등(1993a)은 SIV의 자연감염시, 돼지에서 세기관지 상피의 파괴에 따른 호흡기계통 섬모 방어 기전의 억제로 2차감염이 잘 발생한다고 보고한 바 있다. 반면 PRRSV와 PRCV 감염 시에도 SIV 감염시 나타나는 호흡기도 상피의 괴사와 변성을 보고하였다(Pol 등, 1991; Cox 등, 1990). 본 조사 결과로 피사성 기관지염이 SIV 감염시 관찰될 수 있는 소견이긴 하나 항원 음성인 돼지에서도 피사성 기관지염이 관찰되는 것으로 보아 제주지역에서는 다른 원인에 의해서도 피사성 기관지염이 발생하고 있는 것으로 사료되며 앞으로 이런 원인을 규명해야 할 것으로 사료된다. 또한 항원 양성 돼지 중 피사성 기관지염이 관찰 안 된 경우는 병변이 형성되기 이전의 초기 감염 상태인 것이 그 원인 중 하나일 것으로 추정된다.

SIV 항원과 항체의 양성율에 대한 분포를 비교한 결과, 항원과 항체 모두 음성인 경우는 96두(35%), 항원만 양성인 경우는 57두(20.8%), 항원이 양성이면서 항체 양성인 경우는 41두(14.9%)이었고, 항체만 양성인 경우가 80두(29.1%)였다. 혈청 항체 음성을 나타낸 조직항원 양성 돼지 57두(20.8%)는 SIV 감염초기로 예상되며, Kay 등(1994)은 벨기에의 도축돼지에서 SIV의 항체 및 항원검사를 통해 유사한 결과를 보고하였다.

본 연구에서는 돼지 폐장의 육안검사와 병리조직학적 검사를 수행하였으며, SIV의 폐장내 면역조직화학적 항원 분포와 혈구응집억제반응 시험으로 항체 검사를 실시하여 항체분포에 대해 조사하였다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때, 제주지역에서 SIV가 돼지 호흡기 질병의 주요 원인체였으며, 돼지폐장에서 면역조직학적 항원검출은 SIV 진단에 유용하였다.

V. 결 론

제주 지역에서 자연 발생 SIV 항원과 항체 분포율 및 병리조직학적 특성을 조사하기 위해 1995년과 1999년 사이 제주도 내 10개 농장에서 제주대학교에 병성 감정 의뢰된 출하전 일령 돼지 90두와 도내 5개 농장에서 1998년과 1999년도 도축 출하된 돼지 218두 등 전체 308두의 돼지를 대상으로 병리조직학적, 면역조직학적, 혈청학적 검사를 실시한 후 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1 육안검사에서, 75.2%의 돼지 폐장에서 경화소가 발생되었으며, 폐장에서 경화소의 분포비율은 평균 $6.0 \pm 7.7\%$ 이었다.
- 2 병리조직학적 검사에서, 86.6%의 돼지에서 폐렴을 보였으며, 이 중 기관지간 질성 폐렴은 66.5%로 가장 흔하였다.
- 3 폐장의 SIV에 대한 면역조직화학적 검사에서 44.1%의 양성 반응을 보였으며, 기관지와 세기관지의 상피세포 세포질에서 주로 관찰되었다.
- 4 전체 검사 돼지 중 28.6%의 돼지에서 괴사성 기관지염이 발생하였으며, 항원 음성돼지에서 18.6%의 발생을 보인데 비해 항원 양성돼지에서 41.1%로 높은 발생을 보였다.
- 5 SIV에 대한 혈청 검사에서, 44.2%의 양성율을 나타내었으며, 이 중 H1N1은 23%이었고, H3N2는 16.8%, 혼합 감염된 경우가 4.4%이었다.

이상의 결과를 종합해 볼 때, 제주지역에서 자연 발생한 돼지폐렴은 기관지간 질성 폐렴의 발생율이 가장 높았고, SIV 항원의 높은 검출율은 제주지역에서 SIV가 돼지폐렴 발생의 중요한 원인체로 작용하고 있음을 알 수 있었다. 또한 돼지 폐장에서 면역조직학적 항원검출은 SIV 진단에 매우 유용한 방법이었다.

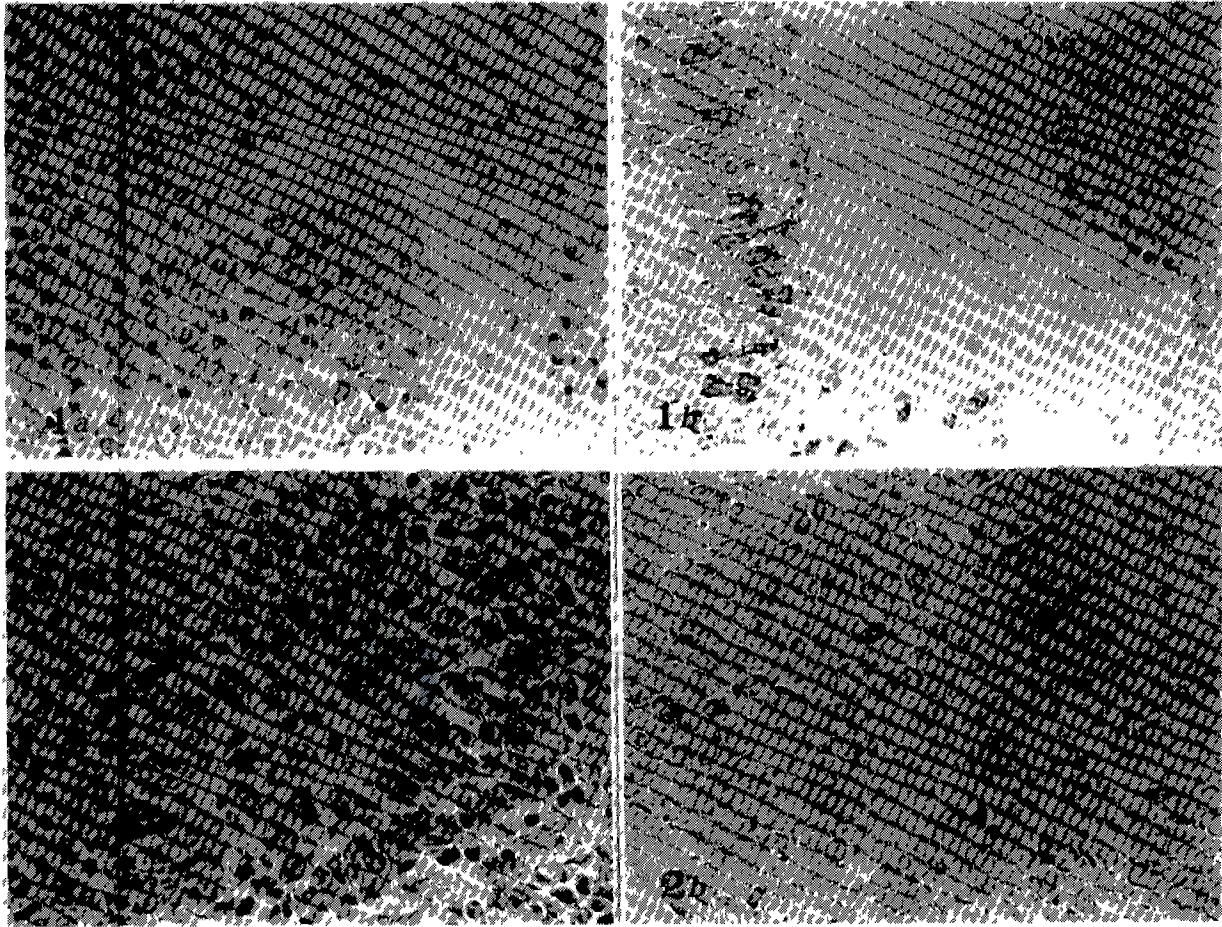


Fig. 1 (a). Necrotizing bronchitis. Necrotic bronchitis is characterized by degeneration, necrosis, and exfoliation of epithelial cells with a few of inflammatory cell infiltration. H&E $\times 400$ (b) SIV antigens are observed within the cytoplasm of epithelial cells in a bronchus. ABC. $\times 400$

Fig. 2 (a). Necrotizing bronchiolitis. Necrosis and exfoliation of bronchiolar epithelium with infiltrates of mononuclear cells in the lumen of bronchiolus H&E. $\times 400$ (b). SIV antigens are observed within the cytoplasm of bronchiolar epithelial cells showing degenerative changes. ABC. $\times 400$

VI. 참고 문헌

- Arikawa J., Yamane N., Odagiri T., Ishida N. 1979. Serological evidence of H1 influenza infection among Japanese hogs. *Acta Virol.* 23 : 508-511.
- Bachmann P.A. 1989. Swine influenza virus. In *Virus Infections of Porcines*. Ed. M. B. Pensaert. Amsterdam: Elsevier Science. pp 193-207.
- Barigazzi G., Foni E., Candotti P., Cataldi M. 1996. Antigenic analysis of swine influenza viruses isolated in Italy from 1976 to 1995. *Proceeding of the 14th IPVS Congress*. Bologna. Italy. p 100.
- Brian W.L., Russell F.B., Mary J.B., Robert B.M., Wayne F. 1993. Determination of hemagglutination inhibition titers to influenza A virus in porcine sera by use of an enzyme-linked immunosorbent assay. *Am J Vet Res.* 54 : 1270-1276.
- Brian W.L., Russell F.B., Mary J.B., Mary E.L. 1995. Class specific response to influenza A H1N1 infection in swine. *Vet Microbiology.* 43 : 241-250.
- Brown T.T., Mengeling W.L., Paul P.S., Pirtle E.C. 1980. Porcine fetuses with pulmonary hypoplasia resulting from experimental swine influenza virus infection. *Vet Pathology.* 17 : 455-468.
- Brown I.H., Done S.H., Spencer Y.I., Cooley W.A., Harris P.A., Alexander D.J. 1993a. Pathogenicity of a swine influenza H1N1 virus antigenically distinguishable from classical and European strains. *Vet Record.* 132 : 598-602.

Brown I.H., Manvell R.J., Alexander D.J., Chakraverty P., Hinshaw V.S., Webster R.G. 1993b. Swine influenza outbreaks in England due to a new H1N1 virus. *Vet Record*. 132 : 461-462.

Brown I.H., Harris P.A., Alexander D.J. 1995. Serological studies of influenza viruses in pigs in Great Britain 1991-2. *Epidemiol Infect.* 114 : 511-520.

Bruner B.C, Gillespie V.A., Lois Scott., Enid Timoney. 1988. Infectious disease of domestic animals(8th). Cornell university press. Chapter 51. pp 780-783.

Christensen G., Sorensen V., Mousing J. 1999. Disease of swine(8th). Iowa state university press. Chapter 61. pp 913-940.

Cox E., Hooyberghs J., Pensaert M.B. 1990. Sites of replication of a porcine respiratory coronavirus related to transmissible gastroenteritis virus. *Res Vet Sci.* 48 : 165-169.



Dasco C.C, Couch R.B., Six H.R., Young J.F., Quarles J.M., Kasel J.A. 1984. Sporadic occurrence of zoonotic swine influenza virus infection. *J Clin Microbiol.* 20 : 833-835.

Dea S., Bilodeau R., Sauvgeau R., Montpetit C., Martineau G.P. 1992. Antigenic variant of swine influenza virus causing proliferative and necrotizing pneumonia in pigs. *J Vet Diagn Invest.* 4 : 380-392.

Easterday B.C and Van Reeth K. 1999. Disease of swine(8th). Iowa state university press. Chapter 22. pp 277-290.

Gardner I.A and Hird D.W. 1990. Host determinants of pneumonia in slaughter

weight swine. *Am J Vet Res.* 51 : 1306-1311.

Gian C.W and Norman F.C. 1986. Ultrastructural morphometric investigation of early lesions in the pulmonary alveolar region of pigs during experimental swine influenza infection. *Am J Pathol.* 122 : 541-552.

Girad C., Morin M., ElAzhary Y. 1992. Experimentally induced porcine proliferative and necrotizing pneumonia with an influenza A virus. *Vet Rec.* 130 : 206-207.

Haesebrouck F., Biront P., Pensaert M.B., Leunen J. 1985. Epizootics of respiratory tract disease in swine in Belgium due to H3N2 influenza virus and experimental reproduction of disease. *Am J Vet Res.* 46 : 1926-1928.

Haesebrouck F and Pensaert M. 1986. Effects of intratracheal challenge of fattening pigs previously immunized with an inactivated influenza H1N1 vaccine. *Vet Microbiol.* 11 : 239-249.



Hinshaw V.S, Bean Jr.W.J., Webster R.G., Easterday B.C. 1978. The prevalence of influenza viruses in swine and antigenic and genetic relatedness of influenza viruses from man and swine. *Virology.* 84 : 51-62.

Ito T., Kawaoka Y., Vines A., Ishikawa H., Asai T., Kida H. 1998. Continued circulation of reassortant H1N2 influenza viruses in pigs in Japan. *Arch Virol.* 143 : 1773-1782.

Jakab G.J., Astry C.L., Warr G.W. 1983. Alveolitis induced by influenza virus. *Am Rev Respir Dis.* 128 : 730-739.

Jubb K.V.F., Kennedy P.C. Nigel Palmer. 1993. Respiratory system. Pathology

of domestic animals 4th. Vol. 2, Chap. 6 : 539-699.

Kay R.M., Done S.H., Paton D.J. 1994. Effect of sequential porcine reproductive and respiratory syndrome and swine influenza on the growth and performance of finishing pigs. *Vet Record*. 135 : 199-204.

Lanza I., Brown I.H., Paton D.J. 1992. Pathogenicity of concurrent infection of pigs with porcine respiratory coronavirus and swine influenza virus. *Research in Veterinary Science*. 53 : 309-314.

Leman A.D., Straw B.E., Mengeling W.L. 1992. Disease of Swine(7th). Iowa state university press. Chapter 7 pp 138-162.

Morin M., Girad C., ElAzhary Y., Fajardo R., Lagace A. 1990. Severe proliferative and necrotizing pneumonia in pigs: A newly recognized disease. *Can Vet J*. 31 : 837-839.



Murphy B.R and Webster R.G. 1990. Influenza viruses. In *Virology*. Ed. B Fields. New York: Raven Press. pp 1091-1154

Noble S., McGregor M.W., Wentworth D.E. 1993. Antigenic and genetic conservation of the hemagglutinin in H1N1 swine influenza viruses. *J Gen Virology*. 74 : 1197-1200.

Pol J.M.A., Van Dijk J.E., Wensvoort G., Terpstra C. 1991. Pathological, ultra-structural, and immunohistochemical changes caused by Lelystad virus experimentally induced infections of mystery swine disease. *Vet Q*. 13 : 137-143.

Pol J.M.A., Van Leengoed L.A.M.G., Stockhove N., Kok G., Wensvoort G. 1997.

- Dual infections of PRRSV/influenza or PRRSV/*Actinobacillus pleuropneumoniae* in the respiratory tract. *Vet microbiology*. 55 : 259-264
- Renee L., Rene S., Ronald M. 1994. Immunohistochemical detection of swine influenza virus in porcine proliferative and necrotizing pneumonia cases from quebec *Can Vet J*. 35 : 513-515
- Rossow K.D., Collins J.E., Goyal S.M., Nelson E.A., Christopher-Hennings J., Benfield D.A. 1995 Pathogenesis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in gnotobiotic pigs. *Vet Pathol*. 32 : 361-373.
- Schorr E., Wentworth D., Hinshaw V.S. 1994. Use of polymerase chain reaction to detect swine influenza virus in nasal swab specimens. *Am J Vet Res*. 55 : 952-956.
- Stech J., Xiong X., Scholtissek C., Webster R.G. 1999. Independence of evolutionary and mutational rates after transmission of avian influenza viruses to swine. *J of Virology*. 73 : 1878-1884.
- Stephen M.W., Yoshihiro K., Gerald B.S., Dennis A.S., Robert G.W. 1992. Interspecies transmission and reassortment of influenza A viruses in pigs and turkeys in the United States. *Am J Epidemiology*. 136 : 488-497.
- Van Reeth K., Nauwynck H., Pensaert M. 1996. Dual infections of feeder pigs with porcine reproductive and respiratory syndrome virus followed by porcine respiratory coronavirus or swine influenza virus: clinical and virological study. *Vet microbiology*. 48 : 325-335.
- Vincent L.L., Janke B.H., Paul P.S., Halbur P.G. 1996. Demonstration of swine

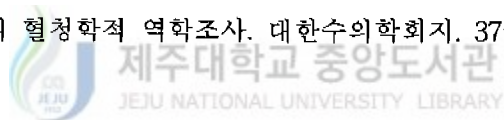
influenza virus in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues by use of an immunohistochemical test. *Proceeding of the 14th IPVS Congress*. p 97.

Wentworth D.E., Mcgregor M.W., Macklin M.D., Veronica N., Hinshaw V.S. 1997. Transmission of swine influenza virus to humans after exposure to experimentally infected pigs. *The Journal Infectious Disease*. 175 : 7-15.

William W.C and Donald M. 1988. Thomson's Special veterinary pathology second edition, Mosby. p 108.

Yewdell J.W , Frank E., Gerhard W. 1981. Expression of influenza A virus internal antigens on the surface of infected P815 cells. *The Journal of immunology*. 126 : 1814-1819.

류영수, 박최규, 김로미, 이창희, 최상호, 김성일, 배종희. 1997. 제주지역에 대한 돼지 주요 전염병의 혈청학적 역학조사. 대한수의학회지. 37권 제4호 : 756-772.



류영수, 김로미. 1998. 돼지 인플루엔자 바이러스의 혈청학적 역학조사 및 유전학적 분석. 대한수의학회지. 38권 제1호 : 53-63.

이석규, 한정희, 김준영, 김현주. 1998. 양돈장의 사양 및 위생관리에 따른 출하돈에서의 폐렴발생. 대한수의학회지. 38권 제4호 : 751-755

The prevalence of swine influenza virus in pneumonic lungs in Cheju

Yong-chul Jun

Department of Veterinary Medicine
Graduate School, Cheju National University
Cheju, Korea
(Advised by Professor Jong-hee Bae)

(Summury)

A total of 308 pigs, 90 necropsy-pigs at the diagnostic laboratory of Cheju National University and 218 slaughter-pigs in Cheju, were evaluated for the prevalence of swine influenza. The lungs of all pigs were divided into the cranio-ventral lobe and dorso-caudal lobe and were examined for gross and histopathological lesion. Lung tissues from the 308 pigs were tested for swine influenza virus type A antigen by immunohistochemistry. Sera from the 274 pigs were tested for antibody to SIV type A (subtype H1N1 and H3N2) by haemagglutinin inhibition test.

Pulmonary consolidation was observed in 164 cases of the 218 pigs (75.2%) with a mean gross score of 6.0% by gross examination. Pneumonia were observed in 267 cases of 308 pigs (86.6%). Bronchointerstitial pneumonia was showed 205 (66.5%) pigs out of pneumonia cases. In the screening of serum antibody to SIV, positive rates of H1N1 and H3N2 were 23%, 16.8%, respectively. Mixed positive rate of H1N1 and H3N2 was 4.4%.

SIV antigen was detected in 136 cases of the inspected 308 pigs (44.1%). SIV antigens were showed mostly in the epithelium of the brochi and bronchioli in antigen-positive pigs. Necrotizing bronchitis and bronchiolitis were observed in 88 (28.5%) cases of the inspected pigs.

These results revealed that swine influenza had an important role of swine pneumonia in Cheju. The diagnostic method of immunohistochemistry was useful for detection of swine influenza virus in the lung.

Key words: Swine influenza virus, Pneumonia, Immunohistochemistry,
Haemagglutinin inhibition test.



감사의 글

먼저 이 논문이 완성되기까지 많은 조언과 격려를 해주신 배종희 교수님께 깊은 감사를 드리며, 논문을 심사해 주신 이두식 교수님과 임윤규 교수님께 진심으로 감사드립니다. 아울러 김희석 교수님, 박전홍 교수님, 신태균 교수님, 우호춘 교수님, 이경갑 교수님, 이영재 교수님, 위명복 교수님, 정종태 교수님께 심심한 감사의 마음을 드립니다.

논문에 도움을 주신 축산진흥원 김우택 계장님과 강원명 선배님 그리고 수의과학연구원 박희규 선생님과 창희형, 김재훈 선생님께 감사 드립니다. 또한 병선이 형, 승일, 성현, 현수, 나연, 정수, 형석, 문성, 영성, 가연이에게 아낌없는 애정을 느끼며 감사의 마음을 전합니다.

아울러 대학원 생활동안 나에게 큰 힘이 되어준 상환, 성선, 창중, 석곤에게 감사하며, 진영일 선생님과 김정훈 조교, 김정훈 수의사에게도 이 글을 빌어 감사하다는 말을 대신합니다.

끝으로 항상 변함없는 사랑과 연정으로 나를 보살펴 주시는 부모님 그리고 사랑하는 동생 현주와 용덕에게 이 작은 결실을 드립니다.