

## Age-specific Prevalence of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus, Porcine Circovirus Type 2, and *Mycoplasma hyopneumoniae* in Korea Pig Farms

Ikjae Kang<sup>1</sup> and Heejin Ham<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Dong Bang Co LTD, Farm Animal Disease Research Center, Seoul 06301, Korea

<sup>2</sup>Anyang University, College of Liberal Arts, Anyang 14028, Korea

### Corresponding

Heejin Ham

Anyang University, College of Liberal Arts,  
Anyang 14028, Korea

**Phone** : +82-31-463-1353

**Fax** : +82-31-463-1386

**E-mail** : hhj3814@anyang.ac.kr

**Received** : November 20, 2019

**Revised** : December 27, 2019

**Accepted** : January 3, 2020

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

Porcine respiratory disease complex (PRDC) continues to be a significant economic problem to the swine industry. Porcine circovirus type 2 (PCV2), porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), and *Mycoplasma hyopneumoniae* (MH) are considered to be the most important pathogens that cause PRDC. In this study, we investigated the prevalence of antibodies against PRRSV and MH in the serum of sows and piglets from 89 domestic commercial pig farms by ELISA, and the presence of viral nucleic acids of PRRSV, including North American and European PRRS, and PCV2 was also investigated in the serum of sows and piglets from 89 domestic commercial pig farms by real-time PCR. In case of PRRSV, 78.7% (70/89) of sows were positive for PRRSV antibody, and 96.6% (86/89) of piglets were positive for PRRSV antibody. For MH, 76.4% (68/89) of sows showed positive for MH antibody. In the PRRSV viral nucleic acid detection experiment, 36.0% (32/89) of sows were positive for PRRSV nucleic acids, and virus nucleic acid was detected in 83.1% (74/89) of piglets. In case of virus type, both North American and European types were detected. In case of PCV2, 15.7% (14/89) of sows were positive for PCV2 nucleic acids. Conclusively, PCV2, PRRSV, and MH were widely distributed in pig farms in Korea. These prevalence data related with PRDC provides clinical information for vaccination strategy and development for the control of PRDC.

**Key Words:** porcine respiratory disease complex, porcine reproductive and respiratory syndrome virus, porcine circovirus type 2, *Mycoplasma hyopneumoniae*, real-time PCR, ELISA

## INTRODUCTION

돼지 복합 호흡기 질병 (porcine respiratory disease complex, PRDC)은 바이러스와 세균, 혹은 원인불명의 병원체 및 스트레스, 환경인자 등 여러 가지 인자들이 복합적으로 작용하여 발생하는 감염성 질병으로, 주요 바이러스 원인체로는 porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), porcine circovirus type 2 (PCV2), swine influenza virus (SIV) 등이 있으며, 세균으로는 *Mycoplasma hyopneumoniae* (MH), *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP), *Pasteurella multocida* (PM) *Haemophilus parasuis* (HP), *Streptococcus suis* 등이 있다 (1). 이들 중 PRRSV와 MH가 돼지 복합 호흡기 질병의 임상증상을 보이는 10-22주령의 돼지에서 가장 많이 분리되고 있으며, PCV2는 이유 후 전신성 소모성 증후군(post-weaning multisystemic wasting syndrome, PMWS)의 주요한 원인체임이 밝혀졌다 (1, 2). MH는 국내외적으로 문제시되는 유행성폐렴을 일으키는 세균 병원체이나 반드시 임상증상을 보이는 것은 아니며, 특별한 외부증상이 없이 만성으로 경과하는

Copyright © 2020 Journal of Bacteriology and Virology

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>).

경우도 많다. MH는 기도의 섬모에 부착하여 섬모의 손상 및 소실을 일으키며, 이로 인해 2차 감염의 확률이 높아진다 (3). PCV2는 single-stranded DNA virus로서 전세계적으로 검출되기 시작하면서 PRRSV의 감염과 관련이 있는 것으로 보고되고 있다 (4). PRRSV는 *Arteriviridae* 과의 *Arterivirus* 속에 속하는 RNA 바이러스로서 항원적, 유전적 특성이 서로 다른 2개의 유전형 즉, 유럽형과 북미형으로 각각 구분된다. 과거에는 각 유전형의 바이러스가 해당 대륙에서만 독립적으로 발생하였지만 최근에는 대부분의 국가에서 두 가지 유전형의 바이러스들이 혼합 감염되고 있어 질병의 진단 및 예방에 곤란을 겪고 있고, 국내 양돈장에서도 두 가지 유전형의 바이러스 및 다양한 한국형 변이주가 단독 또는 혼합 감염되고 있어 방제에 어려움이 있다 (5).

돼지 복합 호흡기 질병은 16-22주령에 다발하고, 폐사율은 약 20-30%이며, 약 10-20%의 성장정체를 유발하고, 호흡곤란을 일으킨다. 일반적으로 돼지 복합 호흡기 질병은 바이러스 또는 마이코플라스마 등의 복합 감염이기 때문에 항생제 치료 효과가 없는 것이 특징이다. 따라서 대부분의 농장에서는 백신을 사용하여 이들 질병을 예방하고 있다. 백신이 효과적으로 질병을 예방하기 위해서는 병원체에 감염이 되기 전에 접종되어야 하기 때문에 백신을 이용한 돼지 복합 호흡기 질병 예방에서는 이들 병원체의 감염 일령을 정확하게 이해하는 것이 매우 중요하다. 본 연구는 국내에서 돼지 복합 호흡기 질병을 유발하는 3대 병원체인 PRRSV, PCV2, 그리고 MH에 대하여 농장에서의 감염률과 자돈의 감염 일령을 분석하고자 하였다.

## MATERIALS AND METHODS

### 시험 검체

2016년 3월에서 2018년 12월까지 2년 10개월 동안 경기 남부 지역과 충청 남 북부 지역에 소재하는 89곳의 돼지 농장에서 모돈과 자돈에서 채취한 혈청을 대상으로 PRRSV에 대한 항체 검사와 바이러스 항원 검사, PCV2에 대한 항원검사를, 그리고 MH에 대한 항체 검사를 각각 실시하였다. 각 농장 당 모돈의 경우 산차별로 5마리씩, 자돈의 경우 주령별로 5마리씩 혈청을 채취하여 산차별 및 주령별로 혈청 검체를 pooling한 후, ELISA kit를 이용한 특이항체 검사와 real-time PCR assay를 이용한 바이러스 항원검사를 실시하였다.

혈액 샘플들은 채취한 후 원심 분리하여 혈청을 분리하였으며, 모든 혈청은 냉동 보관하면서 시험 바로 직전에 꺼내어 사용하였다.

### Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA)

**PRRSV:** 검사 대상 혈청을 DW로 1:40으로 희석한 후 PRRSV ELISA kit (HerdCheck PRRS X3 Ab test, IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, MA, USA)의 PRRS well과 control well에 각각 100  $\mu$ l씩 분주하고, 양성 대조군 및 음성 대조군 샘플을 각각 2개의 PRRS well과 2개의 control well에 100  $\mu$ l씩 분주한다. 검사할 각 well을 필름으로 덮고, 실온(18-25°C)에서 30분 동안 반응시킨 후 세척액을 이용하여 5회 반복하여 세척한다. Horseradish peroxidase (HRP)-conjugated-anti-porcine antibody 용액을 각 well에 100  $\mu$ l씩 분주하고 실온(18-25°C)에서 30분 동안 반응시킨다. 각 well을 동일하게 세척한 후 발색제 tetramethylbenzidine (TMB) substrate solution를 100  $\mu$ l씩 분주하고 빛을 차단하여 실온(18-25°C)에서 15분간 반응시킨다. 반응 중지 용액(2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)을 100  $\mu$ l씩 분주하여 반응을 멈추고 ELISA reader (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)에서 650 nm 파장으로 optical density (OD) 값을 측정한다. Control well의 양성 대조군의 OD 평균값이 0.120 이하, 음성 대조군의 OD 평균값이 0.250 이하일 때 유효한 값으로 간주하며, 검사 혈청의 sample/positive (S/P) ratio가 0.4 미만인 경우 음성으로, 0.4 이상인 경우 양성으로 판정한다.

**MH:** 채취 혈액의 혈청을 분리한 후 HerdCheck M.hyo (IDEXX Laboratories Inc)를 이용하여 MH에 대한 항체를 측정한다. 측정하기 10-20분 전에 해당 ELISA kit를 미리 상온에서 방치한 후 항원이 흡착된 plate에 원액의 양성대조혈청 및 음성대조혈청을 100  $\mu$ l씩 각 2개의 well에 분주하고, 가검물 혈청을 40배 희석하여 각각 100  $\mu$ l씩 분주한 후 실온(18-25°C)에서 30분간 반응시킨다. 반응이 끝나면 상층액을 제거하고 1x 세척액을 350  $\mu$ l씩 분주하여 털어버리는 방법으로 3회 세척한다. 세척 후에 HRP-conjugated-anti-porcine IgG를 각 well에 100  $\mu$ l씩 분주하고 실온에서 30분 동안 반응시킨다. 반응이 끝나면 상층액을 제거하고 1x 세척액을 350  $\mu$ l씩 분주하여 털어버리는 방법으로 3회 세척한다. 세척 후에 TMB 발색제를 각 well에 100  $\mu$ l씩 분주하고 15분간 실온에서 반응시킨다. 반응이 끝나면 정지액을 각 well에 100  $\mu$ l씩 분주하여 반응을 정지시키고 ELISA reader (Thermo Fisher Scientific)에서 650 nm의 흡광도로 측정한다. 결과는 sample/positive (S/P) ratio가 0.4 이상일 경우 양성으로 판정하며

0.4 미만인 경우 음성으로 판정한다.

## Real-time polymerase chain reaction (PCR) assays

**PCV2:** 채혈한 혈액을 원심분리(4000 rpm/2min)하여 혈청을 분리하고 QIAamp DNA mini kit (Qiagen Inc, Valencia, CA, USA)를 이용하여 제조사의 설명에 따라 DNA를 분리하였다 (6, 7). Cloning vector (pCR 2.1 TOPO, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)를 이용하여 PCV2 open reading frame 2 (ORF2)를 vector에 삽입하고  $10^8$ 에서  $10^1$ 개/ml로  $10^{-1}$ 씩 단계별로 희석한 후, ORF2 부분(GenBank Accession: HQ148879, Bethesda, MD, USA)을 확인하기 위한 primer 쌍 (전방향: 5'GCACAGAGCGGGGTTTG, 역방향: 5'ACCGCTGGAGAAGGAAAAAT)을 이용하여 standard curve를 측정한다. 시료에서 추출된 DNA 1  $\mu$ l를 주형으로, 2x SYBR<sup>®</sup> green reaction mix 5  $\mu$ l (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), 각각의 primer 0.5  $\mu$ M, 증류수와 혼합하여 최종 10  $\mu$ l로 만든다. 반응 조건은 95°C에서 10분간 denaturation시킨 후, 95°C에서 30초, 59°C에서 1분, 72°C에서 30초간 총 40회 반복하여 반응시킨다. 모든 반응이 끝난 후 59°C에서 95°C까지 점진적으로 온도를 올리면서 해리 곡선(dissociation curve)을 측정한다. 절대 정량을 위해 각 시료의 측정된 Ct 값 (cycle threshold value)을 표준커브 (standard curve)에 대입하여 DNA copy 수/ml를 산정한다.

**PRRSV:** 북미주 및 유럽주의 유전자 검출을 위하여 채혈한 혈액을 원심분리(4000 rpm/2min)하여 혈청을 분리하고 QIAamp RNA mini kit (Qiagen Inc)를 이용하여 제조사의 설명에 따라 RNA를 분리하였다 (8, 9). 북미 형 PRRSV의 경우, ORF7의 172 base pairs (Gen Bank Accession: SNU090690/851)을 확인하기 위한 primer 쌍 (전방향: 5'TGTGCCAGATGCTGGGTAAGATCA, 역방향: 5'ATTGACGACAGACACAATTGCCGC)을 이용하여, 유럽형 PRRSV의 경우, ORF5의 603 base pairs (GenBank Accession: SNU090690/851)을 확인하기 위한 primer 쌍(전방향: 5'TGGCCAGTCAGTCAATCAAC, 역방향: 5'AATCGATTGCAAGCAGAGGGAA)을 이용하여 PCR을 수행한다(primer melting temperature, primer Tm: 60°C). 증폭된 PCR product를 cloning vector (TOPcloner<sup>™</sup> TA kit, Enzymomics, Daejeon, Korea)에 삽입하고  $10^8$ 에서  $10^1$ 개/ml로  $10^{-1}$ 씩 단계별로 희석한 후, 위의 primer를 이용하여 real time PCR을 수행하여 standard curve를 측정한다. 시료에서 추출된 DNA 1  $\mu$ l를 주형으로, 2x SYBR<sup>®</sup> green reaction mix 5  $\mu$ l (Applied Biosystems), primers 0.5  $\mu$ M, 증류수 3.5  $\mu$ l와 혼합하여 최종 10  $\mu$ l로 만든다. 반응 조건은 95°C에서 10분간 denaturation시킨 후, 95°C에서 30초, 60°C에서 30초, 다시 60°C에서 30초간 총 40회 반복하여 반응시킨다. 모든 반응이 끝난 후 60°C에서 95°C까지 점진적으로 온도를 올리면서 해리 곡선 (dissociation curve)을 측정한다. 절대 정량을 위해 각 시료의 측정된 Ct 값을 표준커브 (standard curve)에 대입하여 DNA copy 수/ml를 산정한다.

**Table 1.** Primer sequences used by real time PCR for the survey of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) and porcine circovirus type 2 (PCV2) in Korea

Pathogen	Primers ('5-3')	PCR production	Reference†
North American PRRSV	forward: 5' TGTGCCAGATGCTGGGTAAGATCA backward: 5' ATTGACGACAGACACAATTGCCGC	172 base pairs	Wasilk et al, 2004
European PRRSV	forward: 5' TGGCCAGTCAGTCAATCAAC backward: 5' AATCGATTGCAAGCAGAGGGAA	603 base pairs	Wasilk et al, 2004
PCV2	forward: 5' GCACAGAGCGGGGGTTTG backward: 5' ACCGCTGGAGAAGGAAAAAT	168 base pairs	Gagnon et al., 2008

PRRSV, porcine reproductive and respiratory syndrome virus; PCV2, porcine circovirus type 2; PCR, polymerase chain reaction

## RESULTS

### PRRSV 측정 결과

국내 농장의 돼지 혈청에서 PRRSV 특이 항체를 측정한 결과 모돈에서는 78.7% (70/89), 자돈에서는 96.6% (86/89)에서 PRRSV 항체가 검출되었다. PRRSV 특이 항체와 PRRSV 감염과의 연관성을 알아보기 위하여 북미형과 유럽형 PRRSV에 대한 특이 프라이머를 이용하여 모돈과 자돈의 혈청에서 바이러스의 존재 여부를 real-time PCR을 이용하여 측정하였다. 그 결과 모돈에

서는 36.0% (32/89)에서 PRRSV 바이러스 핵산이 확인되었고, 그 중 16.9% (15/89)가 북미형, 유럽형이 12.4% (11/89), 그리고 6.7% (6/89)에서 북미형과 유럽형이 동시에 검출이 되었다. 자돈에서는 83.1% (74/89)에서 PRRSV 바이러스 핵산이 확인되었고, 북미형이 28.1% (25/89), 유럽형이 24.7% (22/89), 그리고 30.3% (27/89)에서 북미형과 유럽형이 동시에 검출이 되었다. 따라서 모돈과 자돈에서 검출된 PRRSV 특이 항체는 이전에 감염이 되었거나 백신 투여로 인하여 생성된 것으로 추측된다 (Table 2). 국내 자돈의 PRRSV 감염 주령은 북미형 바이러스의 경우 5주령 (16개 농장), 7주령 (15개 농장), 10주령 (8개 농장), 유럽형 바이러스의 경우 5주령 (13개 농장)과 10주령 (4개 농장)에서 각각 높게 나타남을 확인할 수 있었다 (Table 3).

**Table 2.** Detection rate of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), porcine circovirus type 2 (PCV2), and *Mycoplasma hyopneumoniae* (MH) antibodies and antigens in pigs during 2016-2018 in Korea

PRRSV pattern of sows				PRRSV pattern of piglets				PCV2 infection pattern			MH antibody pattern		
Antibody	Antigen Type		Farm number	Antibody	Antigen Type		Farm number	Sows	Piglets	Farm number	Sows	Piglets	Farm number
	North American	European			North American	European							
+	+	+	6	+	+	+	27	+	+	5	+	+	46
+	+	-	14	+	+	-	25	+	-	9	+	-	22
+	-	+	11	+	-	+	22	-	+	18	-	+	15
+	-	-	39	+	-	-	12	-	-	57	-	-	6
-	+	-	1	-	+	-	0						
-	-	-	18	-	-	-	3						
Total			89	Total			89	Total		89	Total		89

**Table 3.** Age distribution of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), porcine circovirus type 2 (PCV2), and *Mycoplasma hyopneumoniae* (MH) antibodies and antigens in piglets during 2016-2018 in Korea

Age (weeks)	North American PRRSV positive	European PRRSV positive	PCV2 positive	MH antibody positive
1	4	2	0	6
2	0	0	0	2
3	1	1	0	1
5	16	13	6	13
6	0	2	0	0
7	15	15	5	3
8	0	0	1	1
9	1	0	0	1
10	8	4	4	9
16	4	5	5	12
20	2	0	2	9
21	0	0	0	1
Total	51	42	23	58

\*Serum samples were taken and pooled from five pigs at each week of age (n=89).

## MH 측정 결과

국내 농장의 돼지 혈청에 MH에 대한 특이 항체를 측정한 결과 모돈에서는 76.4% (68/89), 자돈에서는 68.5% (61/89)의 혈청에서 MH 항체가 검출되었고, 모돈과 자돈 모두에서 MH 항체가 검출된 경우는 51.7% (46/89)로 나타나는 등 모돈과 자돈 모두에서 MH 항체 검출율이 높았다 (Table 2). 국내 돼지의 MH에 대한 항체 검출 주령은 1-21주령 모두에서 높게 나타났으나, 그 중에서도 특히 1주령 (6개 농장), 5주령 (13개 농장), 10주령 (9개 농장), 16주령 (12 농장), 20주령 (9개 농장)에 많이 있는 것으로 나타났다 (Table 3).

## HCV2 측정 결과

국내 농장의 돼지 혈청에서 바이러스 특이 프라이머를 이용하여 PCV2의 존재 여부를 모돈과 자돈의 혈청에서 real-time PCR을 이용하여 측정하였다. 그 결과 모돈에서는 15.7% (14/89), 자돈에서는 25.8% (23/89)의 검체에서 PCV2가 검출되었고, 모돈과 자돈 모두 검출된 경우는 5.6% (5/89)로 나타났다. 모돈과 자돈 모두에서 PCV2 바이러스 핵산 검출율이 낮았고 모돈보다는 자돈에서 검출율이 높았으며 (Table 2), 국내 돼지의 PCV2 감염 주령은 자돈 5-9주령과 육성 시기인 10-21주령으로 각각 나타났다 (Table 3).

본 연구에서 국내 양돈 농장의 돼지에서 돼지 호흡기 병원체의 감염과 항체보유율을 확인하였다. PRRSV 특이 항체 측정 결과 모돈에서는 78.7%, 자돈에서는 96.6%에서 검출되어 모돈과 자돈 모두에서 높은 항체 양성율을 나타내었고, PRRSV에 대한 특이 프라이머를 이용하여 바이러스 핵산의 존재 여부를 측정한 결과 모돈에서는 36.0%, 자돈에서는 83.1%에서 확인되어 모돈보다는 자돈에서 높은 바이러스 감염율을 확인할 수 있었다. MH에 대한 특이 항체를 측정한 결과 모돈에서는 76.4%, 자돈에서는 68.5%의 혈청에서 검출되어 자돈과 모돈 모두 높은 항체 양성율을 확인할 수 있었으며, PCV2에 대한 특이 프라이머를 이용하여 바이러스 핵산의 존재 여부를 측정한 결과 모돈에서는 15.7%, 자돈에서는 25.8%의 검체에서 각각 확인되어 PRRSV와 비교하여 모돈과 자돈 모두에서 상대적으로 낮은 감염율을 확인할 수 있었다.

## DISCUSSION

국내 농장의 돼지에서 PRRSV 항체는 모돈에서는 78.7% (70/89), 자돈에서는 96.6% (86/89)가 검출되었고, PRRSV의 바이러스 핵산의 존재 여부를 측정 결과 모돈에서는 36.0% (32/89)에서 바이러스 핵산 양성이 확인되었으며, 이 중 북미형이 16.9% (15/89), 유럽형이 12.4% (11/89), 그리고 6.7% (6/89)에서 북미형과 유럽형이 동시에 검출이 되었다. 자돈에서는 83.1% (74/89)에서 바이러스 핵산 양성이 확인되었고, 이 중 북미형이 28.1% (25/89), 유럽형이 24.7% (22/89), 그리고 30.3% (27/89)에서 북미형과 유럽형이 동시에 검출이 되었다. 이러한 결과는 Kang 등 (1)이 2012년 9월에서 12월까지 전북 남원 소재 도축장에 출하된 230건의 돼지 혈청을 조사하여 보고한 93.0% (214/230)의 PRRSV 항체 양성율과 유사하였다. 바이러스 검출율에 대한 연구결과를 보면 Lee 등 (3)은 2010년 8월부터 2011년 7월까지 인천지역 소재 도축장에서 도축되는 돼지 288건의 폐 병변에서 PRRSV를 검출하여 12.5% (36/288)의 바이러스 검출율을, Cheong 등 (10)은 oral fluids 214건에서 52.3% (112/214)의 PRRSV 검출율을, 그리고 Chu 등 (4)은 2006년 3월부터 2007년 11월까지 전북지역 양돈장의 돼지들의 폐병변에서 31.6% (55/174)의 PRRSV 검출율을 보고하였다. 본 연구에서는 모돈에서의 높은 항체 양성율 (78.7%)과 더불어 36%의 낮은 바이러스 검출율을 확인함으로써 실제 보고되는 PRRSV의 바이러스 검출율에 비해 국내 항체 양성율이 상당히 높음을 알 수 있었다. 이는 국내 많은 돼지농장의 돼지에 대한 PRRSV백신 접종이 이루어지고 있음을 알 수 있으며, 이로 인하여 높은 항체가를 유지하는 것으로 보여진다.

Chu 등 (4)은 모돈에서의 PRRSV 바이러스 검출율 16.1%, 자돈에서의 PRRSV 바이러스 검출율 58.3%로 각각 보고하였으며, 이는 모돈에서 PRRSV 바이러스 검출율 36.0%, 자돈에서 PRRSV 바이러스 검출율 83.1%를 보인 본 연구결과와 비교하면 지역은 다르다 할지라도 2006-2007년보다 2016-2018년의 국내 돼지에서 PRRSV에 대한 바이러스 검출율이 증가한 것으로 판단된다. 한편, 국내에서 PRRSV감염을 북미형 PRRSV와 유럽형 PRRSV로 나누어 조사한 경우가 없어 본 연구와 비교할 수 있는 참고 연구가 없으나, 모돈에서는 북미형 (16.9%) 항원이, 유럽형 (12.4%) 항원보다 높음을 알 수 있었고, 자돈에서도 북미형 (28.1%) 이, 유럽형 (24.7%) 보다 바이러스 항원이 다소 높은 것으로 나타남으로써, 국내에서는 북미형이 유럽형에 비해 분포가 대체적으로 많은 것을 알 수 있었다 (Table 2). 항체 형성율과 감염율 간의 관계는 백신 투여하지 않은 경우에만 해당된다고 볼 수 있는데,



자돈에서 관찰되는 90% 이상의 높은 항체 양성율은 아마도 모돈에서 백신 접종에 의하여 형성된 PRRSV에 대한 특이항체가 자돈으로 전달된 모체이행항체의 영향으로 보여진다.

국내 자돈의 PRRSV 감염 주령은 북미형 바이러스의 경우 주로 5주령 (16개 농장), 7주령 (15개 농장), 10주령 (8개 농장)에서 높게 나타났고, 반면에 유럽형 바이러스의 경우 5주령 (13개 농장)과 10주령 (4개 농장)에서 높은 감염율을 나타내었다 (Table 3). 현재 국내에서 사용하는 북미형 PRRSV 백신의 경우 3주령 이상에서 접종하게 되어 있으며, 유럽형 PRRSV 백신의 경우 4주령 이상에서 접종하게 되어 있다 (11). 또한 PRRSV 백신의 경우 백신을 접종한 후 방어를 위한 충분한 면역을 형성하기까지 약 5주가 소요되어서 백신의 효능 평가에서는 백신을 접종하고 5주후에 바이러스를 공격 접종한다 (11). 따라서 본 연구에서 PRRSV 감염 연령을 분석한 결과 농장에서 감염 일령을 고려하고 5주령 돼지에서 바이러스의 감염이 유발되면 1주령 백신 접종이 효과적일 것 같으며, 7주령에서 10주령 사이의 돼지에서 바이러스의 감염이 유발되면 2주령에서 5주령 사이에 백신이 효과적일 것으로 판단되었다 (Table 3).

국내 돼지 농장들에서의 MH 특이항체 보유율을 보면, 모돈은 76.4% (68/89)에서 항체 양성율을 나타냈고, 자돈은 68.5% (61/89)가 항체 양성율을 나타냈으며, 모돈과 자돈 모두 항체 양성인 경우는 51.7% (46/89)로 나타나는 등 모돈과 자돈 모두에서 MH에 대한 항체 양성율이 높았다 (Table 2). Kang 등 (1)은 2012년 전북 남원 소재 도축장에 출하된 돼지 230건의 돼지 혈청에서 93.0% (214/230)의 MH 항체 양성율을 보고하여 본 연구결과와 비교하여 현저히 높은 항체양성율을 확인할 수 있었다.

국내 돼지의 마이코플라즈마 항체검출 주령은 1-21주령에서 넓은 항체양성을 분포를 포였으며, 그 중에서도 특히 1주령 (6개 농장), 5주령 (13개 농장), 10주령 (9개 농장), 16주령 (12개 농장), 20주령 (9개 농장)에 많이 있는 것으로 나타나 (Table 3), 모체 항체의 이행이 추정되는 초기의 어린 주령을 제외하면 농장에서 주로 5주령에서 10주령 사이에 마이코플라즈마에 감염이 되는 것으로 추정된다. 일반적으로 마이코플라즈마 백신은 백신을 접종하고 약 3주가 경과되어야 마이코플라즈마를 예방할 수 있는 방어면역이 형성되기 때문에 (12) 농장에서 마이코플라즈마를 효과적으로 예방하기 위해서는 1주령에서 5주령 사이에 백신을 접종하는 것이 효과적이다 (Table 3). 한편, Lee 등 (13)은 대부분의 시판 상용백신이 1주령 이후부터 2차접종하는 프로그램을 권장하고 있으나 국내에서의 편리성 때문에 농장의 면역상황에 관계없이 대부분 1-3주령에 접종하는 추세라고 보고하였고, 마이코플라즈마 폐렴 예방 백신은 2주 간격으로 2회 접종 시 1-3주령에 접종하는 것보다 3-5주령 또는 6-8주령에 접종할 때 더욱 효과가 높다고 보고함으로 본 실험 결과와 다소 차이를 보였다. 마이코플라즈마 폐렴은 양돈 농가에 막대한 피해를 입히는 것으로 전 세계적으로 발생하고 있으며, 돼지의 생산성을 저해하는 중요한 병원체이기 때문에 지속적인 관심과 예방대책이 요구되고 있다 (14).

국내 농장의 돼지 혈청에서 PCV2 바이러스 존재 여부를 측정한 결과 모돈에서는 15.7% (14/89), 자돈에서는 25.8% (23/89)가 검출되었고, 모돈과 자돈 모두 검출된 경우는 5.6% (5/89)로 나타나 모돈과 자돈 모두에서 다른 호흡기 질환과 비교하여 상대적으로 바이러스 검출율이 낮았고, 모돈 보다는 자돈에서 높은 검출율을 확인할 수 있었다 (Table 2). Kang 등 (1)은 2012년 9월에서 12월까지 전북 남원 소재 도축 돼지들 200두 폐 조직에서 76.5% (153/200)의 PCV2 바이러스 검출율을 보고하였고, Lee 등 (3)은 2010년 8월부터 2011년 7월까지 인천지역 소재 도축장에서 도축되는 돼지 288건의 폐 병변에서 45.5% (131/288)의 PCV2 검출율을 보고하였다. Chu 등 (4)은 2006년 3월부터 2007년 11월까지 전북지역에서 병성감정으로 의뢰된 양돈장 돼지 174두의 폐 병변에서 95.4% (166/174)의 PCV2 검출율을 보고하였고, Choi 등 (15)은 2005년 2월에서 6월 동안 강원 영동지역 도축장에 출하된 80두의 돼지 림프절에서 55.0% (44/80)의 PCV2 검출율을 각각 보고하였다. 본 연구결과와 이전의 다른 연구결과들을 비교하여 볼 때, 지역은 다르다 할지라도 2016-2018년까지 조사한 PCV2 바이러스 검출율이 이전의 연구결과들과 비교하여 현저히 낮음을 알 수 있었다. 또한 Chu 등 (4)이 보고한 모돈에서 PCV2 바이러스 검출율 89.2%, 이유 자돈 PCV2 바이러스 검출율 98.3%와 비교하여도 모돈에서 검출율 14.6%, 자돈에서 검출율 25.8%로 각각 나타남으로써 지역은 다르다 할지라도 2006-2007년보다 2016-2018년에 PCV2 바이러스 감염이 모돈과 이유자돈 모두에서 각각 감소된 것으로 나타났음을 알 수 있었다.

국내 돼지의 PCV2 감염 주령은 자돈 5-9주령과 육성 시기인 10-21주령에서 높게 나타났는데 (Table 3), 농장에서는 PCV2 백신을 모돈에도 접종을 하고 자돈의 경우 3주령에 접종을 하였음에도 불구하고 모돈에서 이행된 항체에 의하여 자돈에서 3주령에 접종의 백신이 간섭현상을 받게 되어 백신이 충분한 면역을 유도하지 못하여 면역 지속기간이 짧아져서 육성시기인 10-21주령에 바이러스에 자연감염이 되는 것으로 추정된다. 따라서 자돈 3주령에 PCV2 백신을 접종함에도 불구하고, 육성시기인 10-21주령 이후에 쉼코바이러스 감염증이 나타나는 농장에서는 자돈백신을 3주령이 아닌 7-10주령에 접종하는 것이 모체 이행 항체에 의한 간섭현상을 줄여서 육성시기 및 비육시기까지 PCV2 감염증을 효과적으로 예방 할 수 있다고 본다 (16). 또한, 국내 농장의 특성

상 PCV2 바이러스의 경우 바이러스 자연감염에 의한 항체형성과 바이러스백신 투여로 인한 항체 형성간의 구별이 어려운 측면이 있어서 항원 검사에 의하여 감염여부를 측정함이 더 정확하다고 볼 수 있다.

본 실험에서는 농장에서 동일한 개체에서 주령별 항체 또는 항원 양성율을 추적 관찰하지 않았다. 따라서 동일 개체에서 추적 관찰한 연구결과가 아니기 때문에 샘플 채취 시기에 따른 병원체의 감염 시기에 차이가 있을 수 있을 것으로 생각된다. 하지만 돼지 농장에서 동일한 개체를 이용하여 1주령에서 21주령까지 추적해서 샘플을 채취하려면 140일 즉 4개월 이상이 소요되기 때문에 시간이 많이 걸릴 뿐만 아니라, 추적관찰 도중에 이들 개체가 폐사할 수도 있다. 또한 4개월 이상의 추적 관찰 동안 현재 농장에서 문제가 되는 병원체에 대한 예방 방법 등에 대한 처치를 못하는 문제가 있다. 뿐만 아니라, 4개월 이상의 추적 관찰 기간 동안 다른 병원체의 감염이 유발될 수도 있기 때문에 이론적으로는 추적 관찰이 이상적이지만 현실적으로는 농장에서 적용하는데 많은 제약이 따른다. 이러한 문제점을 극복하기 위하여 농장에서 일정시기에 주령별로 개체가 다른 돼지에서 샘플을 채취하여 분석하는 방법이 널리 사용되고 있다. 또한 이러한 결과를 이용하여 농장에서 특정 질병에 대한 감염여부를 감지하여 백신 접종 등을 통하여 예방하고 있다.

국내 양돈 농장의 돼지에서 PRRSV 특이 항체 측정 결과 모돈에서는 78.7%, 자돈에서는 96.6%에서 PRRSV 항체가 검출되었고, MH에 대한 특이 항체를 측정한 결과 모돈에서는 76.4%, 자돈에서는 68.5%의 혈청에서 MH 항체가 검출되었으며, PRRSV에 대한 특이 프라이머를 이용하여 바이러스의 존재 여부를 측정한 결과 모돈에서는 36.0%, 자돈에서는 83.1%에서 PRRSV 바이러스 핵산이 확인되었고, PCV2에 대한 특이 프라이머를 이용하여 바이러스의 존재 여부를 측정한 결과 모돈에서는 15.7%, 자돈에서는 25.8%의 검체에서 PCV2 바이러스 핵산이 각각 확인되었는데 이들은 추후 이들에 대한 지속적인 조사와 연구가 필요하며, 지속적인 백신 개발과 함께 최적의 백신 접종 시기를 결정하고 판단하는데 필요한 매우 귀한 정보들을 판단할 수 있었다.

## REFERENCES

- 1) C Kang MS, Kang MW, Jung SH, Lee HS. Study on porcine respiratory disease complex from slaughtered pigs in Namwon, Korea. *Korean J Vet Serv* 2013;36:139-45.
- 2) Chae C. Porcine respiratory disease complex: Interaction of vaccination and porcine circovirus type 2, porcine reproductive and respiratory syndrome virus, and *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Vet J* 2016;212:1-6.
- 3) Lee CH, Hwang WM, Lee JG, Lee SM, Kim SJ, Kim NH, *et al*. Study on gross finding of lung lesions and causative pathogens of porcine respiratory disease complex from slaughtered pigs in Incheon. *Korean J Vet Serv* 2011;34:313-20.
- 4) Chu KS, Kang MS, Jo YS, Lee JW. Detection of porcine circovirus 2, porcine reproductive and respiratory syndrome virus and mycoplasma hyopneumoniae from swine lungs with lesions by PCR. *Korean J Vet Serv* 2008;31:71-7.
- 5) Jeong CG, Khatun A, Nazki S, Lee SI, Kim TH, Kim KS, *et al*. Production and evaluation of PRRS resistant pigs. *Korean J Vet Serv* 2019;42:1-7.
- 6) Gagnon CA, Del Castillo JR, Music N, Fontaine G, Harel J, Tremblay D. Development and use of a multiplex real-time quantitative polymerase chain reaction assay for detection and differentiation of Porcine circovirus-2 genotypes 2a and 2b in an epidemiological survey. *J Vet Diagn Invest* 2008;20:545-58.
- 7) Park KH, Oh T, Yang S, Cho H, Kang I, Chae C. Evaluation of a porcine circovirus type 2a (PCV2a) vaccine efficacy against experimental PCV2a, PCV2b, and PCV2d challenge. *Vet Microbiol* 2019;231:87-92.
- 8) Wasilk, A, Callahan JD, Christopher HJ, Gay TA, Fang Y, Dammen M, *et al*. Detection of US, Lelystad, and European-like porcine reproductive and respiratory syndrome viruses and relative quantitation in boar semen and serum samples by real-time PCR. *J Clin Microbiol* 2004;42:4453-61.

- 9) Kang IJ, Kang HS, Jeong JW, Park CH, Kim SU, Choi KH, *et al.* Improved growth performance by type 2 porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV)-based modified live vaccine in a herd with concurrent circulation of type 1 and type 2 PRRSV. *Thai J Vet Med* 2017;47:109-15.
- 10) Cheong Y, Oh C, Lee K, Cho KH. Survey of porcine respiratory disease complex-associated pathogens among commercial pig farms in Korea via oral fluid method. *J Vet Sci* 2017;18:283-9.
- 11) Oh T, Kim H, Park KH, Yang S, Jeong J, Kim S, *et al.* Comparison of 4 commercial modified-live porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) vaccines against heterologous Korean PRRSV-1 and PRRSV-2 challenge. *Can J Vet Res* 2019;83:57-67.
- 12) Park C, Jeong J, Choi K, Chae C. Efficacy of a new bivalent vaccine of porcine circovirus type 2 and *Mycoplasma hyopneumoniae* (Foster<sup>TM</sup> PCV MH) under experimental conditions. *Vaccine* 2016;34:270-5.
- 13) Lee HH, Rha J, Han JH. Evaluation of vaccination against *Mycoplasma hyopneumoniae* in pigs at different vaccination time-points. *Korean J Vet Serv* 2008;31:291-303.
- 14) Hong SH, Lee HA, Kim DW, Kim TW, Kim OJ. Simultaneous diagnosis and differentiation of *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Mycoplasma hyorhinis* infections by multiplex PCR. *Korean J Vet Serv* 2014;37:247-52.
- 15) Choi WZ, Hong GS, Jeong WH, Kim NS, Kim NS, Kim KT, *et al.* Prevalence of porcine circovirus type 2 from slaughtered pigs in eastern area of Gangwon province. *Korean J Vet Serv* 2006;29:249-56.
- 16) Oh Y, Seo HW, Park C, Chae C. Comparison of sow and/or piglet vaccination of 3 commercial porcine circovirus type 2 (PCV2) single-dose vaccines on pigs under experimental PCV2 challenge. *Vet Microbiol* 2014;172:171-80.