

## 면역조직화학염색법을 이용한 소 합포체성 폐렴바이러스의 검출 및 병리학적 소견

윤순식, 황의경, 문운경, 배유찬, 김재훈, 엄현중, 조재진, 진영화, 최상호  
농촌진흥청 수의과학연구소

### The Detection of Bovine Respiratory Syncytial Virus Using Immunohistochemistry and Pathologic Findings

Soon-Seek Yoon, Eui-Kyung Hwang, Oun-Kyong Moon, You-Chan Bae,  
Jae-Hoon Kim, Hyun-Jong Eom, Jae-Jin Cho, Young-Hwa Jean,  
Sang-Ho Choi

National Veterinary Research Institute, Rural Development Administration

**Abstract.** Two, 2 and 7 months-old Holstein, and one 3 months-old native Korean calf, suffering from respiratory illness were submitted to the National Veterinary Research Institute for euthanasia and pathologic examination. At necropsy, diffuse lobar pneumonia was present in apical, cardiac and diaphragmatic lobes in all calves. Microscopically, acute multifocal bronchiolitis and interstitial syncytial cell formation were frequently observed. In addition, occlusion of bronchiolar lumen due to cellular proliferation and fibrosis accompanied by interlobular septal emphysema were also present. Immunohistochemically, bovine respiratory syncytial virus antigen were positively identified in lung lesions including bronchial and bronchiolar epithelium, alveolar macrophages and lymphocytes.

**Key words :** BRSV, immunohistochemistry, pathology, calf

송아지에서 호흡기질병은 소화기질병과 함께 가장 큰 피해를 주고 있는 질병이다. 특히 국내에서는 분유떼기를 구입하여 집단 비육하는 농가가 많은데 이런 농가의 경우 송아지 구입후 1-2개월 사이에 호흡기 질병이 발생하여 막대한 피해를 입고 있다. 소에서 호흡기질병을 일으키는 원인중 바이러스성에는 bovine respiratory syncytial virus(BRSV), parainfluenza-3 virus(PI3), bovine viral diarrhea - mucosal disease(BVD-MD), infectious bovine rhinotracheitis(IBR)등이 있으며, 세균성에 *Pasteurella* 속균, *Haemophilus* 속균, *Actionomyces* 속균, *Mycoplasma* 속균 등이 있다.<sup>1)</sup>

이중 BRSV는 RNA 바이러스로서 Paramyxoviridae

과의 Pneumovirus속에 속하는 바이러스이며 소의 바이러스성 호흡기질병중 가장 중요한 원인체로 알려져 있다. 국내에서는 1988년 진 등이 도축장에서 채취한 폐조직을 면역염색하여 BRSV를 검출한 바 있다. BRSV에 감염된 소 폐의 병리조직학적 소견은 기관지의 염증과 합포체를 형성하는 것으로서 PI-3 바이러스 감염예와 거의 비슷하기 때문에 두 질병의 감별진단을 위해 형광항체검사 및 면역조직화학염색법 등의 적용이 필요하다. 본 논문에서는 호흡기질병에 이환된 송아지 폐에 대한 병리조직학적 소견이 BRSV 감염증으로 의심되어 면역조직화학염색을 통해 조직내 항원을 확인한 바 BRSV 감염증으로 판명되었고, 국내에서는 현재까지 BRSV

야의 감염에 대한 병리학적 보고가 없었기에 본예를 보고하고자 한다.

1997년 1월부터 6월까지 수의과학연구소에 병성감정 의뢰된 각기 다른 3건의 소 가검물에 대하여 검사하였으며 사육지역은 경기도 평택 및 용인지역이었다. 2개월 및 7개월령 홀스타인 각 1두와 3개월령 한우 1두 등 총 3두에 대하여 검사하였다.

일반적인 방법에 준하여 부검한 후 각종 실질장기를 10% 중성 포르말린에 고정하였으며 파라핀 포매 처리한 다음 세절하여 hematoxylin & eosin 염색 후 광학현미경으로 병리조직소견을 관찰하였다.

면역조직화학염색을 위해서 먼저 조직을 Probe on plus 슬라이드 글라스(Fisher Scientific, USA)에 얹은 후 탈파라핀 및 수화과정을 거친 후 0.5% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 함유 methanol 및 0.1% protease XXVII (Sigma, USA)으로 각각 30분 및 10분씩 처리하였다. 일차항체는 수의과학연구소 바이러스과에서 분양받은 BRSV 단클론항체를 사용하였으며 배양상청액 원액을 상온에서 18시간 반응시켰다. 면역염색은 Vectastain ABC kit(Vector, USA)를 이용하였고 발색은 DAB kit(Vector, USA)를 이용하였다.<sup>3,4)</sup>

병성감정을 의뢰한 세농장 모두 분유떼기 송아지를 구입하여 사육하는 전형적인 비육전문농가였으며 이들 농가에서는 송아지 구입 후 계속하여 호흡기질병이 문제되고 있었다. 이들 농가에서의 호흡기질병 이환율은 25%-100%로 매우 높은 편이었으나 폐사율은 4%-6%로 높지 않았다. 임상증상으로는 눈물 및 눈꼽이 끼고 기침을 심하게 하였으며 일부 송아지에서는 백색 또는 노란색 콧물도 관찰되었다. 고열 및 식욕결핍도 감염된 대부분의 송아지에서 관찰되었다.

육안적으로 3두 모두에서 폐는 적색 및 회색 간변화가 대엽성 또는 아대엽성으로 진행되고 있었으며 심한 경우에는 침엽, 심엽 및 횡격엽 모두에 병변이

형성되어 전체 폐의 약 50~70%가 폐렴소견을 나타내었는데 이는 Bryson 등<sup>5)</sup>이 감염실험한 결과와 동일하였다. 이중 1두에서는 기관지 및 세기관지 강내에 회백색의 젤리양 화농성 내용물이 관찰되었는데 이는 세균검사 결과 파스튜렐라의 2차 감염에 의한 병변으로 확인되었다.

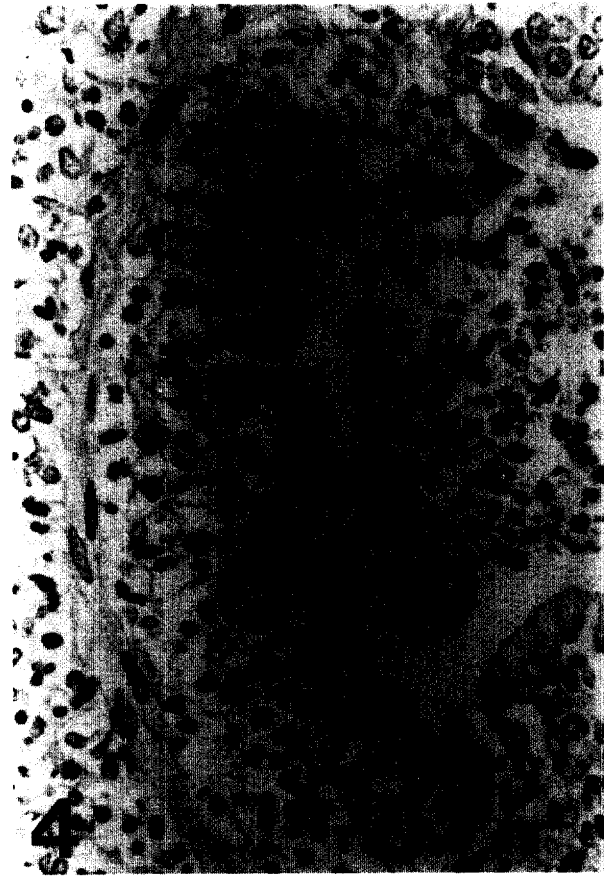
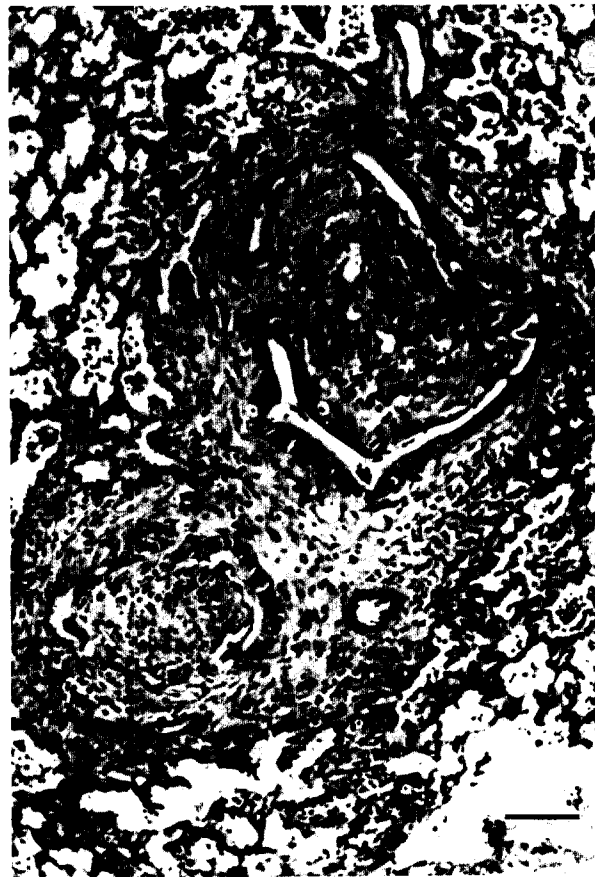
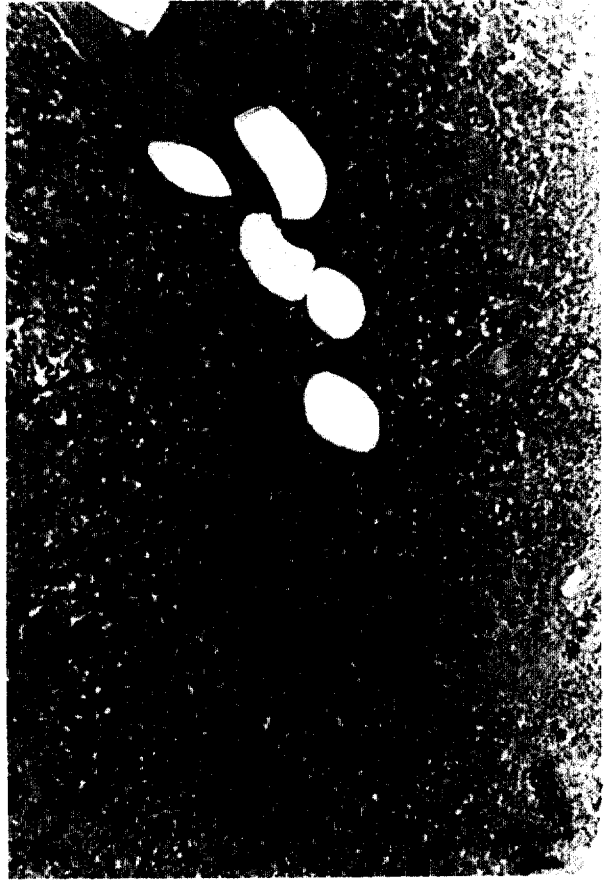
병리조직검사서 다양한 크기의 합포체가 세기관지강 및 폐포강내에서 관찰되었으며 급성경과를 취한 개체에서 보다 많은 수가 관찰되었다(Fig.1). 기관지 및 세기관지벽은 단핵구와 중성호성백혈구 등의 염증세포 침윤으로 인하여 비후되어 있었으며 상피세포의 괴사 및 탈락소견도 관찰되었는 바 이는 Haines 등<sup>4)</sup>과 Bryson 등<sup>6)</sup>의 보고와 일치하였다. 기관지강내 및 폐포내에 단핵구의 침윤도 보였으며 심한 경우 기관지 및 세기관지강내에 점액물질, 변성 또는 괴사된 염증세포와 삼출물 및 탈락상피세포 등이 가득차 기관지강을 완전히 채워 공기의 흐름을 막고 있었고 이로 인한 소엽간 결합조직의 심한 기종도 관찰되었는 바(Fig. 2) 이는 Bryson 등<sup>5)</sup>의 보고와 일치하였다. 만성적으로 진행된 1두에서는 폐포벽의 심한 섬유화가 관찰되었으며 섬유소성 용종(polyp)이 기관지 강내로 증식하여 들어오는 폐쇄성기관지염 소견을 보였는데(Fig. 3) 이러한 소견은 Bryson 등과 Kimman 등이 보고한 회복기 병변과 일치하였다.<sup>5, 7)</sup>

BRSV에 대한 면역조직화학염색 결과 3두 모두에서 기관지 및 세기관지 상피세포, 폐포내에 존재하는 폐포큰포식세포 및 림파구 등 단핵구의 세포질내에서 진한 갈색의 양성반응이 관찰되었는 바(Fig. 4) 이는 Bryson 등과 Viuff 등이 호흡도관의 상피세포에서 이 바이러스가 검출되었다는 보고와 일치하였다.<sup>3, 8)</sup>

호흡기 증상으로 의뢰된 송아지 가검물 3두에 대한 육안병변, 병리조직학적 소견 및 면역조직화학염

→

- Fig. 1.** Calf lung. Formation of variable sized syncytial cells. Acute bronchiolitis and thickening of bronchiolar wall due to infiltration of inflammatory cells. H&E. Bar=30 $\mu$ m
- Fig. 2.** Calf lung. Bronchioles are occluded by massive infiltration of inflammatory cells. There are also many emphysemas in the interlobular septa. Bar=30 $\mu$ m
- Fig. 3.** Calf lung. Chronic case. Fibrosis of bronchiolar walls and bronchiolitis obliteration. H&E. Bar=70 $\mu$ m
- Fig. 4.** Calf lung. Positive reaction of BRSV antigens in the bronchiolar epithelium and desquamated epithelial cells and inflammatory cells. ABC stain. Bar=280 $\mu$ m



색 결과를 종합하여 볼 때 3례 모두 BRSV 에 감염된 것으로 확인되었다.

### 참 고 문 헌

- 1 Rebhun WC, Guard C, et al. Diseases of dairy cattle. Lea and Febiger. pp.65-105, 1995.
- 2 Jean YH, Hwang EK, et al. Detection of bovine parainfluenza-3 virus and bovine respiratory syncytial virus by immunoperoxidase method. Res Rept RDA(V) 30(3):29-35, 1988.
- 3 Bryson DG, Cush PF, et al. An immunoperoxidase method of detecting respiratory syncytial virus antigens in paraffin sections of pneumonic bovine lung. Am J Vet Res 49(7) 1121-1126, 1988.
- 4 Haines DM, Clark EG, et al. The detection of bovine respiratory syncytial virus in formalin fixed bovine lung with commercially available monoclonal antibodies and avidin biotin complex immunohistochemistry. Can J Vet Res 53:366-368, 1989.
- 5 Bryson DG, McNulty MS, et al. Respiratory syncytial virus pneumonia in young calves: clinical and pathologic findings. Am J Vet Res 44(9):1648-1655, 1983.
- 6 Pirie HM, Petrie L, et al. Acute fetal pneumonia in calves due to respiratory syncytial virus. Vet Record 108:411-416, 1981.
- 7 Kimman TG, Straver PJ, et al. Pathogenesis of naturally acquired bovine respiratory syncytial virus infection in calves: Morphological, and serological findings. Am J Vet Res 50(5):684-693, 1989.
- 8 Viuff B, Uttenthal A, et al. Sites of replication of bovine respiratory syncytial virus in naturally infected calves as determined by In Situ Hybridization. Vet Pathol 33:383-390, 1996.