

유행성 연쇄상구균 감염에 의해 폐사된 기니픽의 병리학적 연구

손우찬, 이상구

LG 화학 기술연구원 바이오텍 연구소

Pathological studies on Expired Guinea Pigs due to Epizootic Streptococcal Infection

Woo-Chan Son, Sang-Koo Lee

Biotech Research Institute, LG Chem. Research Park,

Abstract. Epizootic streptococcal infection is one of the common disease in guinea pig. We have confirmed 54 cases of epizootic streptococcal infection in guinea pig by histopathology and epidemiology. Grossly, infection is characterized by the presense one to several enlarged lymph nodes particularly of the mandible, cervical lymph nodes and accompanied by pleuropneumonia. Histologically, there were lymphadenitis with abscesses surrounded by loose connective tissue, fibrinopurulent pneumonia, pleuritis, myocarditis, pericarditis and peritonitis. Epidemiological survey revealed that mortality was high in young adult, female(15.1%) and changeable weather season such as spring and fall. From findings, it was suggested that epizootic streptococcal infection of guinea pig begin to infect in breeding colony around weaning period and died from that infection at animal facility during the quarantine period.

Key words: guinea pig, epizootic streptococcal infection, lymphadenitis, epidemiology

서 론

실험동물로서의 기니픽은 면역에 관련된 실험에 주로 쓰이며¹ LG화학 실험동물실에서는 1년에 약 2,000여 마리의 기니픽을 구입하여 각종 실험에 사용한다. 외부 동물공급원으로 부터 실험용으로 입수된 기니픽의 경우 폐사되는 경우가 자주 발견되었으며 주된 폐사원인은 유행성 연쇄구균의 감염이었다. 기니픽의 유행성 연쇄상구균 감염은 Lancefield group C srteptococci 에 의해서 발병되는 것으로 알려져 있다.^{2,7,8,10} 1년여 동안 LG화학 병리실에 의뢰되었던 사체에 대해서 부검 및 조직병리학적 진단을 실시하여 사인을 규명하였으며 또한 유행성 연쇄상구균 감염에 대한 역학적인 조사를 실시하여 감염의 발생상황을 파악하였다.

재료 및 방법 실험동물

LG화학 병리실에 부검의뢰된 기니픽은 주로 백신개발관련 항체가 측정용 실험에 사용된 동물들로서 3주령의 이유 직후인 기니픽을 각기 다른 3곳의 동물공급업체로 부터 구입하였다. 입수된 동물은 약 2-3주 동안 검역실에서 검역을 실시하였고 검역기간중 외견상 이상이 발견되지 않은 동물은 백신의 항체가 측정용 실험에 사용하였다. 본 조사에 사용된 기니픽은 검역 및 실험중

폐사되어 병리실에 부검 의뢰된 것들이었다.

실험동물실 및 사육환경

기니픽의 동물실은 온도 22℃, 상대습도 50%, 환기횟수 12-15회/hr, 조명 12hr(08:00-20:00), 조도 150-300Lux, 소음 60dB 이하, 암모니아 20ppm 이하 이었으며 플라스틱 사육상자(352×490×243mm)에 상자당 2-3마리씩 사용하여 사육하였다. 사료는 기니픽 전용 고품사료(RC4, Oriental Yeast Co., Japan)를 자유섭취시켰으며 음수는 상수도수를 필터로 여과한 후 자외선으로 소독하여 자유섭취 시켰다. 비타민의 보충을 위하여 주 2회 양배추를 공급하였으며 고온 증기멸균한 대팻밥을 깔짚으로 깔아주었다.

기니픽의 구입처

기니픽은 국내의 A, B 및 C 회사등 3군데에서 구입하여 사용하였는데 C사의 동물은 특정병원체 부재동물(Specific Pathogen Free, SPF) 이었다.

조직의 작성 및 검경

폐사체의 부검의뢰가 있는 것에 한해서 부검을 실시하여 육안소견을 기록하고 부검한 동물의 조직은 10%

중성 포르말린에 고정한 후 이상병변으로 여겨지는 부위를 중심으로 삭정하였다. 수세, 탈수 및 파라핀 침투 과정을 거친 후 파라핀에 포매하여 조직절편기로 3-5 μ m 두께의 절편을 만들었다. 조직은 Hematoxyline & Eosin 으로 염색 후 병변을 광학현미경으로 관찰 하였다. 검경시 이상에 중 일부에 한하여 미생물의 조직내 존재 여부를 확인하려고 그람염색을 실시하였다. 조직소견은 모두 Pathos 5.03프로그램에 입력한 후 분석하였다.

역학적조사

각 사망예에 대하여 발병 연령별, 성별, 공급원별, 진단명별, 발생 계절별, 실험제공형태별 등으로 사망유형을 구분하여서 분석하였다.

결과 및 고찰

임상소견

사망하는 동물은 활동이 둔하며 피모등이 거칠게 보이고 안구주위가 저저분하며 결막이 충혈된 상태로 관찰되었다. 임상증상을 보이는 동물은 경부림프절이 촉지될 정도로 커져 있었으며 증상발현 후 1주 이내에 사망하였다. 간혹 아무런 임상증상이 없이 죽은채로 발견되는 동물도 있었다.

부검소견

경부림프절의 종대가 특징적인 소견으로 직경 1.3cm 부터 직경 2mm정도의 림프절이 하악 및 경부 기관 주위에 관찰되었으며 (Fig 1) 단면에는 농양이 형성되어 있었다. 림프절이 터진 예는 부검시에 발견되지 않았다. 흉강내에는 투명한 또는 심한 폐렴의 경우 암적색의 혼탁한 흉수가 보이며 흉강내의 각 장기는 섬유소성 막으로 덮혀 서로 유착되어 있었으며 분리가 쉽지 않았다. 심한 폐렴, 흉막폐렴, 심외막염이 특징적으로 관찰되었으며 많은 예에서 심장의 표면이 불투명한 흰색의 균질한 막이 0.2mm정도 두께로 덮혀 있었다. 복강병변으로는 4마리의 동물에서 복강내의 각 장기가 서로 유착되어 있었으며 3예에서는 복수가 관찰되기도 하였다.

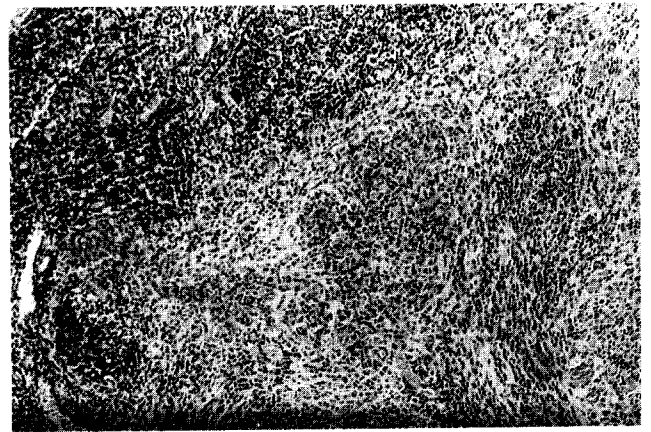
조직학적 소견

림프절의 농양이 특징적으로 관찰되는 림프선염이 주 병변이었으며 농양은 주로 피질부위에 분포하였다(Fig. 2). 림프절은 정상적인 림프절의 구조가 파괴된 채로 관찰되었고 농양의 중심부위는 괴사괴괴가 있었으며 호중구가 침윤되어 있었다. 괴사조직 주변으로는 섬유소성 결제조직이 둘러싸고 있었다. 림프절의 혈관은 발달되어 있었고, 형질세포가 증가되어 있었으며, 림프양 조직과



Fig. 1. Enlarged cervical lymph nodes of guinea pig.

Fig. 2. Streptococci in the section of lymph node of Guinea pig. Notice the cortically located lesion of suppurative fibrinous lymphadenitis. H&E. x100



림프구의 양이 감소되어 관찰 되었다. 그람염색결과 병소에 연쇄상 구균이 양성으로 염색되어 발견되었다(Fig. 3). 폐렴은 괴사성 화농성 폐렴으로 폐의 전엽에 걸쳐, 또는 소상으로 발견되었으며 병변의 중심부에서는 괴사괴괴와 대식구, 호중구 등이 발견되었으며 병소의 주변부위를 섬유소성 결제조직이 둘러싸고 있었다(Fig. 4). 흉막은 섬유화되어 있었으며 중피세포가 과염되어 관찰되었다. 좀더 병변이 진행된 경우에는 흉막의 외측 및 내측면에 섬유조직이 두껍게 발달하였다. 심장의 심막은 인접장기와 유착되어 있었고 두께가 증가되어 있었다. 심근에는 미세농양이 특징적인 심근염이 관찰되었는데 심근섬유는 분리, 위축되어 있었고 부종소견이 관찰되었다. 또한 심내막염이 드물게 발견되기도 하였다.

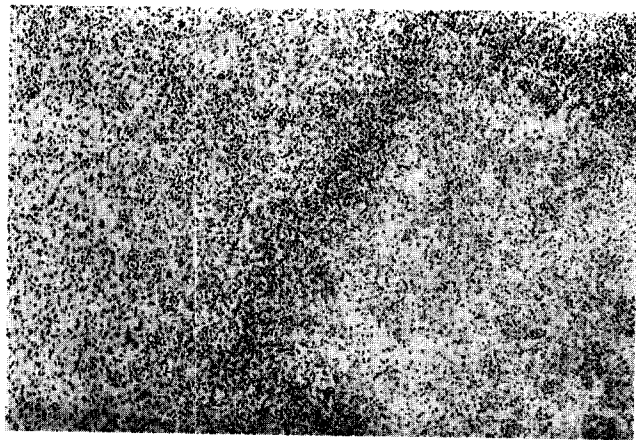
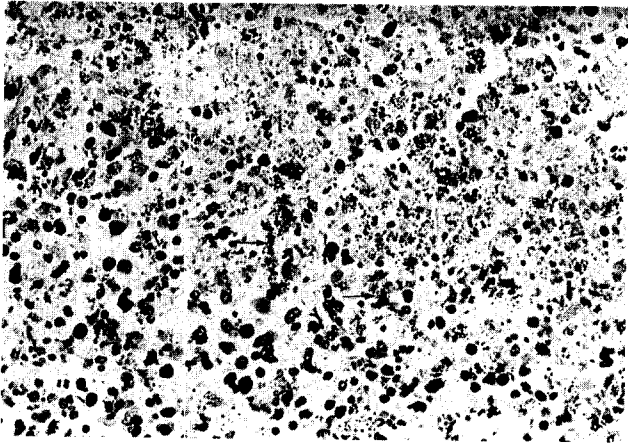


Fig. 3. Abscessed cervical lymph node of Guinea pig. Streptococcus are seen (arrow). Gram. x 600

Fig. 4. Necrotizing suppurative pneumonia. Notice the necrotic foci circumscribed by a layer of loose fibrous connective tissue. H&E. x 100

본 연구과정에서는 중이염을 부검시 주의깊게 관찰하지 못하였으나 외견상 보이지 않은 중이염이 문헌의 보고³에서 보는 것처럼 상당수 있었을 것으로 추정된다. 암수 각 10예중 수컷 3예, 암컷 2예에서 간장의 실질조직에 다양한 크기의 괴사가 관찰되었다.

연쇄상구균 감염에서 가장 특징적인 병변은 림프절의 병변이다.¹⁰ 림프선염이 수컷에서 8 마리중 6마리, 암컷에서 7마리중 3마리가 나타났다(Table 1). 악하림프절의 종대 및 단면절개시 농양의 존재여부 등이 진단의 유용한 참고가 될 수 있다. 그러나 림프선염은 에르시니아 등 다른 병인에 의해서도 유발될수 있기 때문에 감별에 조심해야 한다.⁴ 육안적으로 농양이 보이지 않았던 림프절에서도 현미경 조직소견상 정도가 미약한 미세농양의 조직소견이 관찰되었다(Fig. 2). 이는 Olson et al의 육안적으로 정상인 림프절에서는 농양소견이 없었다고 보고

한 것과 다른 결과이다.⁵ Olson et al은 실험적 유행성 연쇄상 구균의 감염예에서 경부림프절이외의 림프절에서의 병변은 관찰되지 않았다고 하였다.⁵ 폐렴은 수컷 15 마리중 14마리, 암컷 12 마리중 7 마리에서 관찰되었다. 심장에서는 변성/괴사소견을 보이는 동물이 수컷에서 9 마리중 2마리, 암컷에서 13 마리중 5마리가 관찰되었다. 그외 심근염, 심외막염, 심내막염 등이 함께 나타나기도 하였다. 간장에서도 괴사를 비롯한 변성이 관찰되는 곳으로 보아 복강장기에 까지 병변이 나타나는 것을 알 수 있었다.⁴ 이상의 결과로 보아서 심장 및 폐장의 병변, 특징적인 악하림프절의 림프선염 그리고 간괴사를 비롯한 복강의 병변 등이 연쇄상구균 감염시에 나타나는 병리소견임을 관찰 할 수 있었다.

사망예의 분석

Table 2에 계절별로 사망예의 차이가 있었는가를 보기 위하여 동물입수일별로 입수한 동물의수, 사망한 동물의 수를 나타내고 총입수한 동물대비 사망한 동물을 비율로 표시하여 나타내었다. 또한 동물공급원별로 사망율의 차이가 있었는지를 보기 위하여 동물공급원도 동시에 표시하였다.

사망율, 암수의 비

총 동물의 사망률은 12.3% (총 533 마리중 66마리) 이었고 암수 비율은 수컷 10.5%(34/322), 암컷 15.1%(32/211)였다. 사망한 기니픽중 유행성 연쇄상구균에 의한 감염으로 진단된 예는 54예(81%)로 전체 기니픽중 유행성 연쇄상구균의 감염에 의한 사망률은 10.1%였다. 나머지 12마리의 동물은 전형적인 유행성 연쇄상구균의 감염 증상이 없이 폐렴만 나타난 동물이 6마리, 장염 마리, 기타 사인추정이 어려운 동물이 5마리였다. 유행성 연쇄상구균 감염에 의한 사망예 중 성별, 사망율을 보면 암컷의 사망율이 좀더 높았다. 이것은 유행성 연쇄구균 감염이 암컷에서 좀더 많이 발견된다는 보고와 일치되는 것이다.⁴

동물공급원 및 계절에 의한 차이

사망률에 있어서 동물공급원별 차이는 크지 않은 것으로 나타났으나 SPF인 C사의 경우 45마리중 3마리만 사망하였으며 이중 유행성 연쇄상구균 감염으로 사망한 예는 발견되지 않았다(Table 2). 계절별의 차이를 보면 3-5월 및 9-11월에 들어온 동물에서 사망율이 높은 것으로 나타났다.

동물의 입수후 사망까지의 시간

Fig 5에서 보는것과 같이 주로 발병하는 연령은 대개 낮은 연령인 4-6주령 미만인 예에서 발병되며 30주 이

Table 1. Histological Summary Findings of Dead Guinea Pig Due to Streptococcal Infection in LG Chem Animal facility

Tissue	Male	Female
Heart		
Number examined	9	13
Degeneration	0	1
Necrosis	2	4
Myocarditis	3	4
Endocarditis	0	3
Epicarditis	4	4
Liver		
Number examined	10	10
Degeneration	1	3
Necrosis	3	2
Inflammatory cell foci	1	0
Abscess	1	0
Lymph node		
Number examined	8	7
Lymphadenitis	6	3
Lung		
Number examined	15	12
Necrosis	2	1
Pleuritis	3	1
Pneumonia	14	7
Bronchitis/bronchiolitis	2	1

Table 2. Mortality profiles of Guinea Pigs due to Stretpcocal Infection in LG Chem Animal Facility

Date of Receiving	No of Receiving Animals		No of Dead Animals(%)			Breeder
	M	F	M	F	Total	
01/18/95		88		7(7.9)	7(7.9)	A
03/28/95	50	50	5(10.0)	9(18.0)	14(14.0)	A
05/19/95	44		9(20.4)		9(20.4)	B
08/31/95	80		2(2.5)		2(2.5)	A
09/15/95	40	40	3(7.5)	4(10.0)	7(8.7)	B
12/01/95	33	33	2(6.0)	9(27.2)	11(16.6)	A
12/09/95	30		4(13.3)		4(13.3)	A
04/08/96	45		0(0.0)		0(0.0)	C SPF

M: male, F: female

상에서 사망한 예도 1예 있으나 만성적인 경과를 보이는 예는 드물었다. 즉 동물공급원에서 약 3주령에 이주시킨 동물이 입수되어 1-2주의 검역기간을 지나면서 대부분 사망한 것을 알수 있다. 이는 유행성 연쇄상구균이 급성의 경과를 보여서 곧 사망하거나 간혹 적은 예에서 만성적인 경과를 보인다는 기존의 보고^{1,4}와 일치되고 발병연령이 주로 어린동물에서 발병한다는 기존의 보고와도 일치되는 것이다.⁴

발병원인의 분석

계절별 사망예에서 보듯이(Table 2) 호흡기 질환자체가 환경에 민감하기 때문에 환절기에 태어난 기니픽이 계절의 영향을 받아서 사망율이 증가 되었다고 생각된다. 반면에 한겨울 및 한여름엔 기온이 안정적이기 때문에 사망률이 낮았던 것으로 생각된다. 즉 연쇄상구균 감염이 폐렴을 동반하는 감염병이고, 동물번식회사 동물사육사의 사육환경이 외부 기온에 의한 영향을 많이

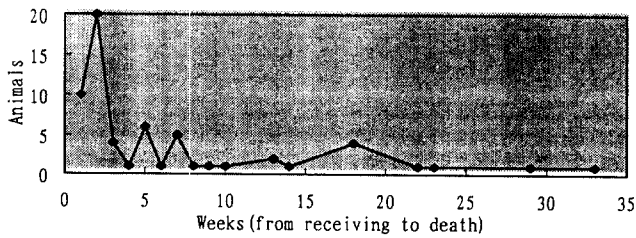


Fig. 5. Chronological mortality profiles of Guinea Pigs due to Epizootic streptococcal infection.

받는다면 환경스트레스에 의하여 환절기에 발병율이 높아졌다는 추측이 가능하다. 질병자체가 스트레스에 의해서 촉진되므로 운송에 의한 스트레스가 작용하여 입수직후 사망율이 증가했다고 볼 수도 있으나 A사는 운송거리가 짧고 B사는 운송거리가 김에도 불구하고 큰 사망율의 차이가 없었던 것을 보면 이미 번식시설에서 계절등의 환경영향에 의한 스트레스로 인하여 유행성 연쇄상구균이 감염된 상태에서 운송스트레스가 가해져서 발병율이 높아졌다는 추측도 가능하다. 또 다른 이유로 실험에 사용된 기니피크에 대하여 심장채혈을 하였으므로 심장채혈에 의한 스트레스를 생각해 볼 수 있다. 왜냐하면 유행성 연쇄상구균 감염이 심장을 비롯한 흉강장기의 병변을 동반하기 때문에 스트레스에 의한 병변의 유발가능성과 청결하지 않은 채혈조작에 의한 흉강내 병변의 유발가능성이 있다. 유행성 연쇄상구균 감염으로 진단된 54예 중 24예(40%)가 심장채혈을 한 동물이었으며 30예(55.5%)가 심장채혈을 하지 않은 동물이었다. 그러나 대부분의 동물이 동물입수 후 검역기간 2주 이내에 전형적인 유행성 연쇄상구균 감염에 의해 죽었다. 급성경과를 보인 동물은 어떠한 처치도 하지 않았기 때문에 심장채혈 등에 의한 스트레스에 관계없이 전형적인 병변이 유발됨을 알 수 있다. 나머지 만성적인 경과를 나타낸 동물은 대부분 동물실험의 일환으로 백신을 투여하고 심장채혈을 하였으므로 심장채혈이 병의 유발에 어느정도 영향을 주었는지는 파악하기는 힘들었다. 병이 급성으로 진행된다는 점과, 동물입수 후 2주 이내에 죽는다는 점, 그리고 계절에 따라서 발병율의 차이가 있다는 점 등은 이미 동물공급자측의 사육 시설에서 감염이 시작된 후에 동물이 입수되었다고 생각해 볼 수 있다. C사에서 들여온 SPF 동물의 경우 먼 운송거리, 심장채혈등의 스트레스, 백신투여실험 등을 하였어도 유행성 연쇄상구균 감염예가 없었던 사실도 이런 가정을 뒷받침 할 수 있다고 생각된다. 발병이 동

물입수시에 이미 시작되어있는 상태로 생각되므로 실험에 미치는 영향을 최소화 시키려면 동물입수시에 철저한 고리를 해야한다. 기온이 안정된 한겨울이나 한여름에 태어나서 이유를 거친동물이 환절기의 동물보다 발병이 적었으므로 환절기를 피하여 동물실험시기를 결정하는 것도 고려해 볼만하다. 실험시설에서 검역시 일상적인 외견관찰에서 그치지 말고 축진을 실시하여 림프절이 종대된 동물에 대해서는 유행성 연쇄상구균을 의심하여 미생물학적 및 병리학적 검사를 실시하는것도 확진을 하는데 필요하다. 유행성 연쇄상구균 감염에 대한 예방접종의 가능성을 놓고서 Mayrora et al이 백신접종을 시도하였고 그 효과도 있다고 보고 하였으나⁶ 예방접종이 현실적으로 실험동물에 적용이 가능한 방법으로 보기는 어렵다고 생각된다. 결론적으로 유행성 연쇄상구균 감염의 문제가 없는 건강한 동물을 사용하려면 번식시설에서부터 철저한 예방관리가 되어야 할 것으로 생각된다.^{1,9,10}

참고문헌

- 1 Manning PJ, Wagner JE, et al. Biology and Diseases of Guinea Pigs. *In: Laboratory Animal Medicine*, ed. Fox JG, Cohen BJ et al. pp. 149-181. Academic Press, Inc., Orlando, 1984.
- 2 Boxmeyer CH. Epizootic Lymphadenitis. A New Disease of Guinea Pigs. *J Infect Dis* 4:657-664, 1907.
- 3 Wagner DR, Owens DR, et al. Otitis Media of Guinea Pigs. *Lab Anim Sci* 26(6):902-907, 1976.
- 4 Fraunfelder FC, Schmidt RE, et al. Lancefield Type C Streptococcal Infections in Strain 2 Guinea Pigs. *Lab Anim* 5:1-13, 1971.
- 5 Olson LD, Schueler RL, et al. Experimental Induction of Cervical Lymphadenitis in Guinea Pigs with Group C Streptococci. *Lab Anim* 10:223-231, 1976.
- 6 Mayora J, Soave, et al. Prevention of Cervical Lymphadenitis in Guinea Pigs by Vaccination. *Lab Anim Sci* 28(6):686-690, 1978.
- 7 Parsons EI, Hyde RR. Spontaneous Streptococcus Infections in Guinea Pigs. *Am J Hyg* 8:356-385, 1928.
- 8 Bishop LM. Study of an Outbreak of Pseudotuberculosis in Guinea Pigs(cavies) due to B. pseudotuberculosis rodentium. *Cornell Vet* 22:1-9, 1986.
- 9 Cunningham JS. Epizootic Lymphadenitis in Guinea Pigs due to an Encapsulated Mucoid Hemolytic Streptococcus. *J Infect Dis* 45:474-484, 1929.
- 10 Megrail E, Hoyt RN. Epizootic Lymphadenitis in Guinea Pigs. *J Infect Dis* 44:243-249, 1979.