

산란계 밀집지역의 산란저하성 질병에 관한 연구

이정원¹, 엄성심, 박인규, 배정준, 정동석, 송희중*

전라북도 축산진흥연구소

(접수 2004. 9. 23, 게재승인 2004. 12. 18.)

Studies of the egg drop laying diseases from the mass zone layer

Jeoung-Won Lee¹, Sung-Shim Eum, In-Gyu Park, Joung-Jun Bea,
Dong-Suk Joung, Hee - Jong Song*

¹*Jeonbuk Livestock Development & Research Institute, Jeonju, 560-243, Korea*

**Bio-Safety Research Institute, Chonbuk. National University, 561-756, Korea*

(Received 23 September 2004, accepted in revised from 18 December 2004)

Abstract

Newcastle disease (ND), infectious bronchitis (IB), low pathogenic avian influenza (LPAI) and fowl typhoid (FT) have been known as egg drop laying diseases because of the serious layer damage from mass zone layer. In this study, such egg drop laying diseases were investigated. To access this study, we performed to evaluate antibody titers in serum and isolated bacteria and virus from organs and feces on May, July and September in 2003.

The distribution of ND from January to May, IB and LPAI from October to February of the next year, and FT from March to September were inspected by the question survey in 21 farms. ND revealed to be positive rates of 490 to 474 (96.7%) in May, 510 to 506 (99.2%) in July and 510 to 510 (100%) in September with hemagglutination inhibition (HI) test. The mean antibody titers were 10.2, 9.9 and 10.2, respectively. With regard to IB, 484 out of 490 samples (98.7%) in May, 508 of 510 (99.6%) in July and 509 of 510 (99.8%) in September showed positive results and the mean antibody titers were gradually increased with 8.2, 9.0 and 9.4, respectively. According to HI test of LPAI, the positive

¹ Corresponding author

TEL : +82~63~220~6500, FAX : +82~63~220~6511

E~mail : leejeoungwon@hanmail.net

results were shown in 442 of 480 (92.1%), 394 of 494 (79.8%) and 402 of 483 (83.2%) in May, July and September, respectively. The mean antibody titers were decreased with 4.6, 4.3 and 4.0. The distribution of LPAI also elicited the positive rates of 480 to 475 (99.0%) in May, 494 to 485 (98.2%) in July, 483 to 472 (97.7%) in September as determined by ELISA and the mean S/P ratio were 2.319, 2.557 and 2.380, respectively. Compared ELISA results with HI test of LPAI the positive results were 480 to 422 (92.1%), 475 (99.0%), 494 to 394 (79.8%), 485 (98.2%) and 483 to 402 (83.2%), 472 (97.7%). Therefore, the positive rate determined by ELISA was higher than that of HI test with 6.9, 18.4 and 14.5%, respectively. When performed RT-PCR for ND using organ and feces samples, the pathotypes were detected 5 (15.6%) in May, 2 (5.3%) in July, 2 (7.1%) in September but there is no samples showing positive band for LPAI. In attempt to isolate *Salmonella gallinarum*, bacteria were obtained from 4 cases (12.5%) in May, 9 (23.6%) in July, 5 (17.8%) in September. Thus the highest rate for isolation revealed to be shown in July. When evaluated the antimicrobial susceptibility to 18 isolated strains of *S. gallinarum*, bacteria were sensitive to trimethoprim/sulfamethox (61.1%), kanamycin (55.5%), ampicillin (55.5%) and amoxicillin/clavulanic acid (55.5%), cephalothin (50.0%), but resistant to penicillin (88.9%), streptomycin (88.9%), erythromycin (83.4%) and tetracycline (61.1%). According to HI test of ND and LPAI using captured 164 wild Korean tree sparrows (*Passer nontanus*), the positive rates were 47.6% and 57.3%, and the mean HI titers were 5.32 and 4.02, respectively. 71 (43.2%) and 58 (35.3%) in captured sparrows also showed more than 4 titers for HI test to ND and LPAI, respectively. However, the attempt for isolation of viruses failed in all samples.

Key words : Egg drop laying diseases, Mass zone layer, Newcastle disease, Infectious bronchitis, Avian influenza, Fowl typhoid, HI test, ELISA, Antimicrobial susceptibility.

서 론

국제적으로 닭에서 산란율에 영향을 미치는 질병으로는 뉴캐슬병 (Newcastle disease, ND), 전염성기관지염 (infectious bronchitis, IB), 조류인플루엔자 (avian influenza, AI), 산란저하증후군 '76 (egg drop syndrome 1976, EDS 76), 조류백혈병 (avian leukosis), 닭 뇌척수염 (avian encephalomyelitis, AE), 전염성 후두기관지염 (infectious laryngotracheitis, ILT), 계두 (fowl pox), 추백리 (pullorum disease, PD), 닭 마이코플라즈마병 (avian myco-

plasmosis), 가금티푸스 (fowl typhoid, FT), 가금콜레라 (fowl cholera) 등이 있으나, 국내에서 발생되어 산란저하를 일으키는 대표적인 질병은 ND, IB, AI 중 저병원성조류인플루엔자 (low pathogenic avian influenza, LPAI), FT 등으로 파악되고 있다.

ND는 오세아니아 대륙을 제외하고 전 세계적으로 발생되고 있으며, 조류 약 236종에서 인공 또는 자연감염 될 수 있으나 닭에서 가장 피해를 주고 있어 국제수역사무국 (office international des epizooties, OIE)과 우리나라에서는 각각 List A 및 제1종 가축전염병으로 분류하고 있다.

ND는 인도네시아의 Java 섬에서 1926년 처음 발생되었으며 영국의 Doyle가 1927년 Newcastle-upon-Tyne에 보고된 이후 뉴캐슬병이라 불리워졌다^{1,2)}. 국내에서는 1924년 일본의 Ochi와 Hashimoto에 의해 처음 확인되었으며 1927년 경기도와 평안남도에서 발생되기 시작하여 1938년에는 전국적으로 확산되어 많은 피해가 속출하였으며 1947년에는 ND virus (NDV) 사독백신이 개발되게 되었고 1954년부터 예방접종을 실시하여 다소 발생률이 감소하였다^{3,4)}.

ND 원인체는 Paramyxoviridae과의 Avula virus에 속하는 RNA 바이러스이며 가끔에서 Paramyxovirus는 9종의 혈청형으로 구분되고, NDV는 APMV - 1에 속하며 APMV - 2, APMV - 3, APMV - 6, APMV - 7형 등은 조류에서 질병을 유발하는지는 정확히 알려져 있지 않다^{3,5)}.

야외농장에서 자연감염은 상부 호흡기 점막이나 소화기 점막을 통하여 이루어지며, 점막상피세포에 침입한 NDV는 세포질 내에서 증식하여 1차적으로 viremia를 일으키고 2차적으로 비장이나 골수로 전이되어 전 장기로 확산되는 것으로 알려져 있다^{3,5)}.

NDV의 genome 크기는 약 15 kbp로 피막을 지닌 negative sense, single strand RNA virus이고 복제에 관여하는 RNA-directed RNA polymerase (L), 혈구응집 중화에 관여하는 hemagglutinin-neuraminidase (HN), 숙주의 세포막에 침입시 작용하는 fusion (F), matrix (M), phosphoprotein (P), nucleoprotein (N) 등 6종의 단백질로 coding되어 있다³⁾.

ND는 임상증상에 따라 장친화성 강독형 (viscerotropic velogenic form, VVND), 신경친화성 강독형 (neurotropic velogenic form, NVND), 중간독형 (mesogenic form), 약독형 (lentogenic form), 무증상 장관형 (asymptomatic enteric form) 등 5종으로 분류하고 있으나 이러한 병원성의 구분은 감염체에 따라 명확하게 구분하기 어려운 경우가 많다³⁻⁵⁾. Hanson과 Brandy⁶⁾는 병원성을

분류하는 기초를 부화란의 요막강에 NDV를 접종한 후 60시간 이내에 계태아가 폐사하면 강독형 (velogenic), 60 - 90시간에 폐사하면 중간독형 (mesogenic), 90시간 이상에서 폐사하면 약독형 (lentogenic)이라고 하였다.

강병원성 NDV에 감염되는 경우 호흡기계, 소화기계, 신경계 등 범장기성으로 임상증상을 나타내기도 하며, 질병의 경과가 매우 빠르게 진행되어 면역형성이 불완전한 계군에서는 90% 이상의 높은 폐사율을 보이기도 한다. 또한 예방접종을 실시한 성계군에서는 뚜렷한 임상증상이나 부검소견을 보이지 않는 불현성감염이 나타나고, 육성계군에서는 호흡기 증상과 더불어 다리 · 날개의 마비 등 신경증상을 보인다. 한편 야생조류인 참새 (*Passer montanus*), 올빼미 (*Strix aluco*), 산비둘기 (*Streptopelia orientalis*), 까마귀 (*Corvus corone orientalis*) 등 광범위한 감염숙주를 가지고 있어 질병 차단에 어려움이 따른다²⁻⁵⁾.

중간독형의 경우 일반적으로 호흡기 증상이 발현되고 성계에서는 몇 주 동안 산란저하나 산란정지 및 기형란 등 산란에 영향을 미치고 약 5%의 폐사가 나타나기도 한다. 1개월 미만의 어린 일령에서는 50 - 90%의 폐사가 나타날 수 있으며, 육안적인 병변은 기관 점막의 충혈과 수종성 비루, 기낭의 혼탁, 경도의 폐렴, 심장지방과 뇌막하지방의 충·출혈, 선위의 출혈, 맹장편도의 출혈과 괴사 등이 나타나기도 하고, 병리학적으로 호흡기 점막의 괴사와 뇌척수의 비화농성염증이 관찰되기도 한다³⁻⁵⁾.

약독형의 경우 성계에서는 특이증상을 보이지 않고 어린 병아리에서는 약간의 호흡기 증상과 병원성 LaSota strain 감염형태로 나타나기도 한다³⁾. 또한 야생조류 및 소조류에서는 일반적으로 불현성감염을 일으키나 소조류 중 앵무새목에서는 감수성이 강하여 중증의 증상으로 기침, 호흡곤란 등 호흡기가 심하고 때로는 황색 또는 출혈성 설사와 함께 높은 폐사율을 보이기도 하며, 회복된 후에는 사경, 반장, 날개마비 및 경부

염전 등의 신경증상이 나타나는 경우도 있다⁴⁾.

야생조류인 꿩 (*Phasianus colchicus karpowi*), 바위자고류 (*Rock partridge*) 및 비둘기의 감염은 닭과 유사하며 일반적으로 참새는 저항성이 강하다고 하였으나 영국참새에서는 간대성 경련, 반장 등의 신경증상을 보인다고 하였다³⁻⁵⁾.

진단방법으로는 혈청학적 검사, 바이러스 분리 및 분자생물학적으로 reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) 등이 이용되며, 혈청학적 항체검사방법으로는 agar gel precipitin (AGP), VN in chick embryos, hemagglutination inhibition (HI), plaque neutralization, enzyme-linked immunosorbant assays (ELISA) 등이 있으나 HI와 ELISA 검사방법이 가장 많이 사용되고 있다^{3,4,9,10)}.

바이러스 분리는 9 - 10일령의 specific-pathogen-free (SPF) 부화란에 장기나 분변에서 채취한 가검물 0.2 ml를 접종하고 2 - 6일 동안 배양한 다음 요막강액을 분리하여 hemagglutination (HA)를 실시 한 후 HI로 동정한다^{3,4,9,10)}.

IB는 coronavirus속의 IB virus (IBV)가 원인체이고 잠복기가 18 - 36시간으로 매우 짧고 눈 점막 및 호흡기상피세포를 통하여 기관, 폐, 기낭, 난소, 수란관, 신장으로 전이되며, 닭 질병 중 전파속도가 가장 빠르며 폭발적으로 발생하는 급성 호흡기 질병이다. 또한 호흡기 외에 신장과 생식기를 침해하여 체중감소, 사료효율 저하, 산란율과 난질의 현저한 저하를 일으키며, 2차적으로 대장균이나 마이코플라즈마 등이 감염되는 경우 양계농가에 막대한 경제적 손실을 끼친다. 특히, 어린 병아리에 감염시 수란관에 영구적인 손상을 끼쳐 무산란계가 되기도 하고, 개구호흡, 재채기, 골골하는 호흡기 증상과 함께 2 - 3일내에 폐사가 나타나며, 신장형의 경우 신장의 비대와 요산침착으로 치사율이 40%에 이르는 경우도 있다^{3-5,11)}.

IB는 1930년 미국의 North Dakota에서 처

음 발생되어 1931년 Schalk와 Hawn¹²⁾에 의해 보고되었고, 국내에서는 1968년 유¹³⁾와 1980년 김 등¹⁴⁾이 IBV에 대한 항체 양성계군이 있음을 보고하였으며 1986년 이 등¹⁵⁾이 산란저하 증계군에서 바이러스를 분리하여 처음 보고된 이후 지속적으로 발생되고 있다. 또한 권 등¹⁶⁾은 1980년부터 1985년에 분리한 11개 분리주에 대한 특성을 RT-PCR 및 유전자 염기서열 분석결과 1986년 이전에도 유행하고 있었던 것으로 확인되었다. IBV는 유전자 변이가 심하여 다양한 혈청형이 보고되어 있으며 특히, 메사추세스형이 가장 많은 피해를 주는 것으로 알려져 있다. 최근에도 새로운 IBV 변이형이 계속 보고되고 있어 질병의 진단은 물론 예방대책의 수립이 쉽지 않다. 즉, IBV는 야외 농장에서 쉽게 변이되면서 서로 다른 변이형이나 혈청형들 간에는 상호 교차 반응이나 교차면역이 이루어지지 않아 예방백신 접종만으로는 완벽한 방어효과를 기대하기 어렵다^{3,4,17)}. 따라서 일부 농가에서는 예방접종을 기피하는 경향도 있다.

IBV는 직경이 약 120 nm이며 곤봉모양의 표면에 약 20 nm의 spikes가 있고, spike (S), membrane (M) glycoprotein과 nucleoprotein (N)의 3가지 단백질로 구성되어 있으며 S protein은 S1과 S2로 나뉜다³⁾. 물리 및 화학적 저항성을 보면 56 °C에서 15분, 45 °C에서 90분이면 불활화되며 -30 °C에서는 수년간 생존할 수 있고, 50% chloroform에서 10분이나 0.1% sodium deoxycholate에 18시간이면 감염력을 상실하게 된다^{3,5)}.

항체검사방법으로는 AGP, HI, ELISA 및 VN 등이 있으나 ELISA의 경우 감염 1주일 이내에 항체가 검출되지만 HI 및 VN 검사에서는 일주일의 지나야 항체가 검출된다고 De Wit가 보고하였으며¹⁸⁾, 최근 Handberg 등¹⁹⁾은 IBV를 감염시킨 닭의 기관조직으로부터 RT-PCR로 N protein gene을 검출하였다.

Avian influenza virus (AIV)는 사람, 돼지, 포유류 및 가금류 등에 감염되어 동물에

서의 경제적 손실뿐만 아니라 사람의 건강을 위협하는 인수공통전염병으로 공중보건 위생에도 중요성이 인정되어 많은 연구와 방역대책이 요구되는 질병이다.

사람에서 주로 발생한 혈청형은 1918 - 1919년 스페인에서 H1N1형, 1957년 아시아에서 H2N2형, 1968년 홍콩에서 H3N2형, 1977년 러시아에서 H1N1형이 대유행하였다(20,21).

AIV는 0.8 - 1.0% RNA, 5 - 8% Carbohydrate, 20%의 lipid, 70% protein으로 구성되어 있으며, 70% 단백질은 다시 10종으로 분리되는데 표면단백질(surface protein), 내부단백질(internal protein) 및 바이러스 입자 구성에 포함되지 않는 비구조단백질(nonstructural protein)로 분류되고, 3종의 표면단백질은 HA, NA 및 matrix 2(M2) 단백질이며, 내부단백질에는 3종의 중합효소 단백질(PA, PB1 및 PB2)과 nucleoprotein, M1, NS1 및 NS2 단백질을 포함하고 있다³⁾. 그리고 RNA는 8개의 분절로 나누어지고 15종의 HA와 9종의 NA가 있어 135종의 혈청형으로 분류되며, 사람에서는 H1N1, H2N2, H3N2, H5N1, H7N7, H9N2 등의 혈청형에 의한 감염이 보고되었다²²⁻³⁰⁾.

최초의 AIV는 1878년 이탈리아에서 발생되었으나 1981년도까지 고병원성 조류인플루엔자(highly pathogenic avian influenza, HPAI)는 fowl plague, fowl pest, Geflugelpest, typhus exudativus gallinarum, Brunswick bird plague, Brunswick disease, fowl disease, fowl 또는 bird grippe 등 다양한 이름으로 불리워지고 있었으나 1981년 제1회 AI 국제 심포지움에서 HPAI로 확정하였다³⁾.

HPAI는 1959년 스코틀랜드에서 H5N1형이 최초 발생되었으며, 이후 국가별로 발생한 혈청형을 보면 1961년 남아프리카 H5N3형, 1963년 영국 H7N3형, 1966년 캐나다 H5N9형, 1976년 오스트레일리아와 1979년 독일 및 영국의 H7N7형, 1983년 미국 H5N2형, 아이슬란드 H5N8형, 1997년 New

South Wales의 H7N4형, 1999년 이탈리아 H7N1형이 닭 및 칠면조 등에서 발생되었다^{3,29)}. 1983년 미국 펜실베이니아와 버지니아주에서는 H5N2형이 발생되어 1,500 - 1,700만 마리가 살처분되었으며 근절사업에만 5 - 6천만 달러가 투자되었다^{25,31)}. 또한, 1997년 홍콩에서 H5N1 혈청형이 3개의 가금 농장에서 발생되어 70% 이상의 폐사율을 보였고, 동일한 혈청형이 사람에게 감염되어 6명이 사망하였다는 보고가 있었으며³²⁻³⁷⁾, H9N2형도 홍콩, 중국남부, 유라시아에서 조류와 사람에서 분리되었으나 사람에게는 커다란 영향을 주지 않는 것으로 알려져 있다³⁸⁻⁴³⁾.

2003년 네덜란드에서는 H7N7형 HPAI가 발생되어 농장을 방문한 의사가 사망하였으며, 덴마크에서는 H5H7형 LPAI가 발생되기도 하였다. 이 후 AIV의 중요성이 강조되면서 더 많은 연구가 진행되어 왔으나⁴⁴⁻⁴⁶⁾, 최근 아시아의 베트남과 태국 등 11개국에서 HPAI인 H5N1형이 조류에서 대유행하였고 사람에게도 감염되어 많은 사상자가 발생되었으며, 미국에서는 H7N2, H2N2, H5N2, H7N3형, 캐나다에서 H7N3형이 발생되어 살처분 조치를 취하였다.

가금에서의 주요 임상증상은 산란저하와 기형란, 연각란, 탈색란 등 난질의 저하, 육수와 비슬의 청색증, 0 - 100%의 폐사 등 다양하게 나타나며 동일한 혈청형이라도 닭, 칠면조, 오리, 메추리 등 감염숙주에 따라 임상증상이 각각 다르게 나타난다^{3,4,5,8)}. 특히 오리는 대부분 불현성감염으로 특이 임상증상 없이 바이러스만 배출하고, 조기 발견이 쉽지 않아 방역상 문제점으로 대두되고 있으며 질병발생시 역학조사에 따른 전파 경로 등의 추적에 어려움을 주고 있다.

현재 일부 국가에서는 AIV에 대한 예방접종과 살처분정책을 실시하고 있지만 대부분의 국가에서는 살처분정책을 실시하여 전파의 요인을 사전에 차단하고 있다. AIV는 난계대를 통하여 전파되지 않는 것으로 알려져 있지만 일반 바이러스처럼 비말, 공기,

물 등에 의해 전파될 수 있으며, 특히 분변의 직접접촉 즉, 농장출입자의 발, 사료차, 기구, 계란표면의 분변 등이 가장 중요한 원인이 될 수 있으며 분변 1g에 약 10^6 EID₅₀의 바이러스가 존재하기 때문에 농장내의 소독 및 차단방역이 매우 중요하다.

Salmonella species는 1886년 Salmon에 의해 처음 보고된 이후 지속적으로 변화를 진행하고 있는 세균으로 균체표면 항원성분 중 serogroups의 특이성을 부여하는 주체성분인 lipopolysaccharide (LPS, O-antigen)와 편모항원인 flagellin protein (H-antigen)의 다양성에 근거하여 Kauffmann-White scheme에 따라서 최종 혈청형이 결정되어 진다^{5,47)}. Bergy's manual의 분류기준에 따르면 *Salmonella* spp는 *S. bongori*와 *S. choleraesuis*라는 단지 2개의 species로 대별되며 그 중 10여종의 혈청형만이 *S. bongori*란 종내에 포함될 뿐 나머지의 혈청형은 *S. choleraesuis*에 포함된다. 또한 *S. choleraesuis*는 표현형질과 유전학적인 특성에 따라서 다시 6개의 subspecies로 세분되며, 이들 subspecies 중 사람과 동물에서 많은 질병을 일으키는 *S. enteritidis* 및 *S. typhimurium* 등의 혈청형 90% 이상이 subspecies I에 속하고 있다⁴⁷⁾. 또한 *Salmonella* spp는 동물과 사람에서 장염, 위장염 및 패혈증을 일으키는 병원성 세균으로 숙주가 다양하고 인수공통전염병의 원인균이며, 특히 자연계에서 확인된 *Salmonella* spp 중 절반 이상이 조류에서 분리된 것과 같이 가금과 그의 생산물을 통하여 사람에게 감염이 될 수 있어 공중보건학상 중요시 취급되고 있는 장내세균 중의 하나이다⁴⁸⁾.

살모넬라균의 혈청형은 매우 많아 3,000종 이상이 보고되고 있으며 닭에서 살모넬라감염증으로는 *S. pullorum*에 의한 추백리, *S. gallinarum*에 의한 가금티푸스, 그밖에 사람에서의 식중독원인체로 알려진 *S. enteritidis* 및 *S. typhimurium*에 의한 파라티푸스감염증으로 구분되고 있으며, 1982 - 1992년 사람에서 장염을 일으킨 458,081건 중 *S. pullo-*

*rum*이 18건, *S. gallinarum*이 8건 분리되기도 하였다^{3,5)}.

FT의 원인체는 *S. gallinarum*으로 닭, 칠면조, 메추라기, 오리, 공작 및 거위 등에 감수성이 있고, 정액이나 수란관을 통한 난계대 질병이며 항원구조는 O 항원인 1, 9, 12 항원의 구조를 가지고 간과 신장의 종대, 청동색 간 및 회백색 결절을 일으켜 패혈증으로 폐사를 일으키게 된다^{3,5,48,49)}. 난계대로 전염될 경우에는 부화 중 죽거나 부화 후 2-3일령부터 백색설사를 하면서 폐사가 시작되고 약 1주일 경에 폐사가 급증하며 이때 감수성 항생제를 투여하지 않으면 많은 폐사가 나타나기도 한다.

FT는 1888년 Klein에 의해 전염성 장염으로 처음 보고된 이후, 1902년 Curtice에 의해 가금티푸스로 명명되었으며, 최근 Bergey's Manual에서는 *S. pullorum*과 *S. gallinarum*을 병인학적으로 유사하여 *S. pullorum-gallinarum* 단일종으로 분류하기도 하였다³⁾.

혈청학적 진단방법으로는 추백리와 동일한 전혈급속응집반응(whole blood agglutination, WB), 급속혈청응집반응(rapid serum agglutination, RSA), 시험관응집반응(tube agglutination, TA), microagglutination(MA) 및 ELISA 등이 있다^{3,4)}.

국내에서는 1992년 최초 발생보고¹¹⁾가 있는 이후, 현재는 전국적으로 확산되어 많은 피해를 주는 것으로 알려져 있으며, 산란계에서 특히 여름철에 많은 피해를 주고 있어 대부분의 산란계농장에서 백신을 실시하고 있지만 충분한 항체가 형성되지 않으면 언제나 재감염 될 수 있으므로 우선 수직 및 수평감염이 될 수 있는 요인들을 하나하나 분석하여 감염경로를 차단하는 것이 중요하다고 사료된다.

본 연구는 산란계 밀집지역에서 산란저해를 일으켜 많은 피해를 주고 있는 ND, IB, LPAI의 혈중 항체의 변동과 바이러스 및 FT균 분리를 통하여 질병예방 및 방역의 기초 자료를 제시하고자 실시하였다.

제 료 및 방 법

1. 설문조사

농장현황, 질병발생상황, 백신접종 등 일

반적인 사항들은 농가 선정시 아래와 같이 설문조사 양식을 만들어 축주의 품고에 의해 조사하였다.

설문조사양식 :

설문조사에 앞서 양계농가 여러분들께서 솔직하고 사실 그대로 답변해 주시기 바라며 양계질병발생동향 파악 및 연구자료 외 타 용도로 사용하지 않을 것을 약속합니다.

● 농장현황

▷ 기사형태 :

① 재래식보온덮개	② 반유창계사 (슬레이트)	③ 반유창계사 (갈바륨)	④ 무창계사
-----------	----------------	---------------	--------

▷ 사육규모 및 질병발생상황

품 종	주 령	사육수수	현재 질병이 있다면 이 환 수	일 일 폐사수	발병일령 (추 정)	현 재 산란율	비고

● 품 고

▷ 입추는?

자가육성 , 중추를 입추하였다면 _____ 농장에서 _____ 주령을 입추

▷ 입추 전 혈청검사를 받았는지 (O, X)

받았다면 어떤 질병을 검사했는지: _____

① ND (뉴캐슬병) ② IB (전염성기관지염) ③ IBD (감보로) ④ MG (마이코플라스마), ⑤ SP · FT (추백리 및 가급티푸스) ⑥ 저병원성조류인플루엔자,

또한 입추 후 정기적인 혈청검사를 실시하고 있는지 (O, X)

▷ 과거 질병발생이 있었는지 (O, X) 질병이 있었다면 농장출입 수의사 등의 진단결과는? : _____

▷ 질병발생시 정확한 진단을 위해 가검물 의뢰는

① 제약회사 ② 사료회사 ③ 담당관리수의사 ④ 축산진흥연구소 ⑤ 대학교 ⑥ 컨설팅 ⑦ 기타 :

▷ 최종 백신접종 현황 :

① ND: ② IB: ③ IBD: ④ MD: ⑤ ILT: ⑥ AE: ⑦ EDS: ⑧ MG: ⑨ SG:

▷ 상기 질병 중 최종 백신접종 후 보강 접종을 하신다면

() 질병을 ()주 간격으로 ① 음수 ② 분무 ③ 주사

▷ 출입차량 소독시설 (유, 무), 기사 내외 소독을 실시한다면 주 ()회, 또는 ()일 간격으로 하시는지?

▷ 정기적인 약제 투여가 있다면 ()약을 ① 음수 ② 사료첨가 ③ 주사

▷ 최근 치료를 실시하였다면 그 효과가 ① 있다 ② 없다 ③ 그저 그렇다

● 현재 질병발생이 있었다면 상세히 대답해 주세요.

▷ 외 관 : 식재 (여, 부), 벼슬이상 (유, 무), 안면종창 (여, 부), 기립 (곤란, 마비) 경련, 관절염, 발육불량, 신경증상 (경부, 날개, 다리), 상처 (부위: _____), 외부기생충 (유, 무), 기타 : _____

▷ 눈 : 눈물, 안구염, 결막염, 눈꼽, 실명, 백탁, 부종, 기타 :

▷ 호흡기 : 호흡 (개구, 촉박), 콧물, 객담출, 기성 :
기타 : _____

▷ 분 변 : 변비, 연변, 하리 (_____ 색, 수양, 혈액성, 악취),
기타 : _____

▷ 산 란 : 산란저하 (_____ %), 연란 (물란), 이상란, 무각란, 퇴색란, 기형란,
기타 : _____

● 계사 시설

▷ 사료급여방법 : ① 자동 ② 반자동 ③ 인력 ④ 기타

▷ 음수급여방법 : ① nipples ② 일자급수기 ③ 기타

▷ 환기시설 : ① 자동 ② 반자동 ③ 자연 ④ 기타

▷ 계란수집 : ① 자동 ② 반자동 ③ 인력 ④ 기타

▷ 계란선별 : ① 자동 ② 반자동 ③ 인력 ④ 기타

▷ 외부인 (차량)통제 상황 : ① 한다 ② 안한다

▷ 야생조류 및 들짐승 (쥐, 고양이 등)의 계사내 출입 여부 : ① 여 ② 부

● 도태 및 폐사계 처리

▷ 사육 중 도태 및 폐사계 처리는 ① 가축사료 ② 처리업자 ③ 매몰 ④ 소각 또는 ()

● 농장의 애로사항 및 하고 싶은 말 :

♡ 답변해 주셔서 감사합니다. ♡

2. 공시재료

본 연구소 관내의 산란계 밀집지역 (약 100호, 150만수)에서 농장 간 20 - 50 m의 거리에 위치한 21농가 (15 - 43주령)를 선정 한 후 2003년 5월, 7월, 9월 3회에 걸쳐 계 군당 20 - 30여수를 채혈하여 실온에서 혈액을 응고시킨 다음, 원심분리 (2,000 rpm, 10 mins)하여 혈청을 분리하였고, 56 °C에서 30 분간 비동화시킨 후 혈청검사용 재료로 사

용하였다. 바이러스 및 세균분리를 위해 이 환축의 장기 및 분변을 채취하였고, 빈 계사 및 농장주변에서 8회에 걸쳐 포획한 참새 164마리의 혈액은 심장 채혈하여 혈청검사 재료로, 내부 장기는 유제하여 바이러스 분 리용으로 사용하였다.

3. 혈청학적 검사

ND 및 LPAI의 혈구응집억제반응 (hemagglutination inhibition, HI test)은 우선 혈구

응집반응을 실시하여 항원의 역가를 판독하고 가검혈청의 항체가는 U-bottomed microplate (96 wells)을 사용하여 혈구응집억제 반응법으로 검사하였으며, 항원농도는 4 HA units, 닭 적혈구는 1% 부유액, 항원과 혈청은 PBS로 희석하였으며 HI역가는 \log_2 값으로 산출한 다음 ND는 5 이상, LPAI는 2 이상을 양성으로 판정하였다.

IB 혈청검사는 혈구응집반응을 실시하여 항원 역가를 판독하고 가검혈청을 12.5% Kaolin 현탁액에 1시간 동안 처리하여 비특이 반응을 배제시킨 후 항체는 V-bottomed microplate (96 wells)을 사용하여 혈구응집억제 반응법으로 검사하였으며, 항원농도는 4 HA units, 닭 적혈구는 1% 부유액, 항원과 혈청은 HBS로 희석하였으며 HI역가는 \log_2 값으로 산출한 다음 5 이상을 양성으로 판정하였다.

LPAI 효소면역측정법 (ELISA) 진단키트는 IDEXX (USA)사의 제품을 사용하였다. 검사방법을 요약하면 우선 가검혈청을 혈청 희석액에 1 : 500으로 희석한 다음 코팅된 plate에 가검혈청, 음성 및 양성 대조군을 100 μ 씩 각 well에 분주하고 30분 동안 실온에 정치한 후 350 μ 의 세척액으로 4회 세척하고 100 μ 의 HRPO conjugate (Sigma) 용액을 각 well에 분주한 다음 실온에 30분간 방치하였다. 이후 350 μ 의 세척액으로 4회 다시 세척하고 100 μ 의 TMB substrate를 각 well에 분주한 다음 15분간 실온에 방치한 후 100 μ 의 stop 용액을 넣어 흡광도 650 nm에서 ELISA reader로 측정하였다. 가검혈청에 대한 S/P ratio는 아래의 술식에 의거 계산하였고, 0.5 이하는 음성, 0.5 이상은 양성으로 판정하였다.

S / P ratio =

가검혈청 - 음성대조 평균흡광도

양성대조 평균흡광도 - 음성대조 평균흡광도

4. ND 항원검사

병원성 NDV 검출 특이 primer는 병원성주와 비병원성주간의 F 유전자 cleavage site의 차이점을 이용하여 아래와 같이 제작하였다. 즉, F1 유전자의 일부에 반응하는 NDPt-R (5'-TGC CAC TGM TAG TTG YGA TA-3')과 병원성주 cleavage site 유전자에 반응하는 NDPt-F (5'-GGA AGG AGA CRR AAA CGC T-3')를 각각 합성하여 양성인 경우 204 bp로 증폭시키고, 모든 NDV에 증폭 가능한 primer는 각각 F1 및 F2 일부 유전자에 반응하도록 하여 cleavage site 유전자가 증폭되도록 하였다. 즉, NDcomF156 (5'-ATA CAC CTC RTC YCA GAC AG-3')와 NDPt-R (5'-TGC CAC TGM TAG TTG YGA TA-3')를 합성하여 양성인 경우 379 bp로 증폭되도록 하였다. 먼저 뉴캐슬병 항원검사를 위해 농장에서 채취한 분변, 장기, 포획한 참새는 내부 장기를 5배의 PBS에 유체를 만든 다음 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 후 상층액을 항원분리용으로 사용하였다.

검사방법을 요약하면, 우선 NDV 유전자를 추출하기 위하여 가검 재료 상층액 150 μ 에 Lysis buffer 250 μ 를 섞어준 후 15초간 강하게 vortexing하고, 실온에서 10분간 2-3회 진탕하면서 반응시켰다. 이어서 binding buffer 350 μ 를 첨가하고 용액이 잘 섞일 수 있도록 가볍게 진탕한 후 collecting tube가 장착된 silica-membrane filter column으로 반응 용액을 옮긴 후 13,000 rpm으로 1분간 원심분리 하였다. 그 후 2차례에 걸쳐 collecting tube에 여과된 용액을 제거한 후 column에 washing buffer 500 μ 를 넣고 13,000 rpm에서 1분간 원심한 다음 collecting tube에 여과된 용액을 제거하였다.

Column을 eppendorf tube로 옮긴 후 elution buffer 40 μ 를 넣어 실온에서 1분간 반응시킨 후 13,000 rpm에서 1분간 원심분리 후 새로운 eppendorf tube에 원심분리 된

용액을 옮겼다.

역전사효소-종합효소 연쇄반응법 : One-step RT-PCR : 각각의 튜브에 common type 및 pathotype용 One-step RT-PCR premix 용액 8 μ l를 넣고 RNA template 3-6 μ l를 첨가한 후 총량이 20 μ l가 될 수 있도록 DEPC 처리된 증류수를 6-9 μ l 첨가하여 반응 혼합물을 잘 섞은 다음 아래와 같은 조건으로 One-step RT-PCR을 실시하였다. 판정은 One-step RT-PCR 반응물을 전기영동 (1.5% agarose gel, 110 V, 50분)하여 UV lamp로 관찰한 후 common type은 379 bp, pathotype은 204 bp에서 판독하였다.

Table 1. One-step RT-PCR

	Temperature and time	Cycles
Reverse transcription	45 °C, 30 mins	
Pre-denaturation	94 °C, 5 mins	
Denaturation	94 °C, 20 secs	
Annealing	50 °C, 30 secs	40
Extension	72 °C, 30 secs	
Final extension	72 °C, 5 mins	

5. LPAI 바이러스 분리 및 항원검사

LPAI 바이러스분리를 위해 가검물 유체 상층액을 여과멸균한 후 8-11일령 부화란 요막강에 0.2 ml을 접종하고 부화기에서 3-4일간 배양한 다음 요막강액을 채취하여 2,000 rpm에서 원심한 후 PBS (pH 7.2)를 사용하여 혈구응집반응을 실시하였다.

항원검사는 국내에서 개발된 Avian Influenza Virus Antigen Rapid Test Kit (Standard Diagnostics, Inc.)를 사용하여 다음과 같이 실시하였다.

멸균된 면봉을 사용하여 분변을 채취한 다음 1차 희석액에 넣어 혼합한 이후 dropper로 검체 상층액 4-5방울을 진단키트에

점적하고 20-30분 후에 판정하였다.

6. FT균 분리 및 약제 감수성검사

이환 및 폐사계를 현지 부검 후 실질장기를 멸균된 면봉으로 직접 채취한 다음 선택 배지인 MacConkey 배지, Salmonella Shigella (SS) 배지, 혈액배지에 직접 도말하여 분리하였으며, 분변은 Tryptic soy broth에 24시간 (37 °C)동안 증균 배양한 다음, 선택배지에 접종 후 Salmonella group D 항혈청에 응집이 일어난 균주를 대상으로 운동성유무, 황화수소 (H₂S) 생산능, 포도당 분해시 gas 생산능, dulcitol 분해능, D-tartrate 이용능, ornithine 이용능, lysine 이용능 등의 생화학적 성상을 검사하였다.

분리균주에 대한 약제감수성은 생리식염수에 분리균주를 부유시킨 후 MacFarland No. 0.5가 되도록 탁도를 맞추어 Mueller-Hinton agar (Difco.) 평판배지에 도말한 다음, BBL사의 ampicillin (AM, 10 μ g), cephalothin (CF, 30 μ g), ciprofloxacin (CIP, 5 μ g), erythromycin (EM, 15 μ g), gentamycin (GM, 20 μ g), kanamycin (KM, 30 μ g), norfloxacin (NF, 10 μ g), penicillin (PC, 10 U), streptomycin (SM, 10 μ g), trimethoprim / sulfamethoxazole (SXT, 1.25/ 23.75 μ g), tetracycline (TC, 30 μ g), amoxicillin / clavulanic acid (AMC, 30 μ g), neomycin (NM, 30 μ g) 과 Bayer사의 enrofloxacin (ENR, 5 μ g) 등 14종을 이용하여 표준평판 디스크 확산법으로 검사하였다.

결 과

1. 설문조사 결과

실험대상으로 선정된 양계농가의 설문조사결과 계사형태는 21농가 중 보온덮개식이 11농가, 반유창 슬레이트식 및 반유창 갈바림식이 10농가로 50%이상이 재래식 계사에서 사육되고 있었다. 주된 사육품종은 이사브라운 및 하이라인이었고, 사육규모는

10,000수 이하가 4농가, 10,000 - 20,000 수가 7 농가, 20,000 - 30,000수가 6 농가, 30,000수 이상이 4농가이었다.

ND에 대한 정기적인 추가예방접종은 4농가에서 분무 또는 음수로 실시하고 있었고, 가금티푸스 백신은 20농가에서 2회 이상 실시한 것으로 조사되었다. 질병발생시 농장출입 수의사의 임상진단결과 ND가 8농가, IB가 6농가, LPAI가 11농가, FT가 13농가로 FT의 발생율이 가장 높게 나타났다 (Table 2). 또한 대부분의 농가들이 FT에 대한 약

제 감수성은 실시하지 않고 수의사의 처방에 의존하는 것으로 조사되었다.

방역실태 조사결과에서는 21농가 모두 차량소독 시설은 갖추지 못하였으며 대부분 동력 분무기로 계사소독은 주 1-2회 정도 실시하고 있었다. 도태 및 폐사계 처리는 21농가 중 6농가가 분변 퇴비사에 매몰처리하고 15농가는 인근 개 사육장에서 가져가는 것으로 파악되어 폐사계 처리에 있어 문제점이 있는 것으로 조사되었다.

Table 2. The distribution of monthly outbreak egg drop laying diseases of 21 farms in mass zone layer

Diseases	Farms	No. of monthly occurrence												Total
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
ND	21	1	2	1	1	1	0	0	0	1	0	1	0	8
IB	21	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	6
LP AI	21	2	1	0	0	0	0	0	0	0	1	3	4	11
FT	21	0	0	1	1	1	3	2	4	1	0	0	0	13

2. ND 및 IB 혈구응집억제반응에 대한 항체가

선정된 21농가 23계군 1,510수를 대상으로 ND에 대한 월별 혈청검사결과 양성수 및 평균 HI titers를 요약하면, 5월은 490수 중 474수 (96.7%) 및 10.2, 7월에는 510수 중 506수 (99.2%) 및 9.9, 9월에는 510수 중 510수 (100%) 및 10.2로 나타나 전체 1,510수 중

1,490수 (98.7%)가 양성이었으며 평균 HI titers는 10.1로 나타났다 (Table 3 및 Fig 1).

IB에 대한 월별 양성수 및 HI titers는 5월에 490수 중 484수 (98.7%) 및 8.2, 7월에 510수 중 508수 (99.6%) 및 9.0, 9월에는 510수 중 509수 (99.8%) 및 9.4로 나타나 전체 1,510수 중 1,501수 (99.4%)가 양성이었으며 평균 HI titers는 8.9로 나타났다 (Table 3 및 Fig 1).

Table 3. Results of HI test for ND and IB virus

Months	No. of tested	No. of positive (%)		Mean HI titers	
		ND	IB	ND	IB
May	490	474 (96.7)	484 (98.7)	10.2	8.2
July	510	506 (99.2)	508 (99.6)	9.9	9.0
September	510	510 (100.0)	509 (99.8)	10.2	9.4
Total	1,510	1,490 (98.7)	1,501 (99.4)	10.1	8.9

3. LPAI 혈구응집억제반응에 대한 항체가

LPAI의 HI 항체가 검사결과 21농가 23계군 1,457수에서는 5월 480수 중 양성인 442수 (92.1%), 평균 HI titers는 4.6이었으며 7월에는 494수 중 양성인 394수 (79.8%), 평균 HI titers는 4.3, 9월에는 483수 중 402 (83.2%)가 양성이었으며 평균 HI titers는 4.0의 결과를 보였으며 총 검사된 1,457수 중 1,238수 (85.0%)가 양성으로 나타났으며, 평균 HI titers는 4.3의 결과를 보였으나 4.6, 4.3, 4.0으로 0.3씩 감소하였다 (Table 4 및 Fig 1).

Table 4. Results of HI test for LPAI virus

Months	No. of tested	No. of positive (%)	Mean HI titers
May	480	442 (92.1)	4.6
July	494	394 (79.8)	4.3
September	483	402 (83.2)	4.0
Total	1,457	1,238 (85.0)	4.3

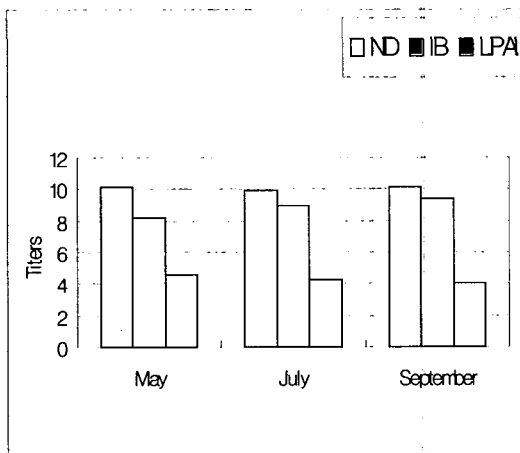


Fig 1. The HI titers of ND, IB and LPAI

4. LPAI ELISA에 대한 항체가

21농가 23계군에 대한 5월 검사 결과는 480수 중 양성인 475수 (99.0%), 평균 S/P ratio는 2.319, 7월에는 494수 중 양성인 485수 (98.2%), 평균 S/P ratio는 2.557, 9월은 483수 중 양성인 472수 (97.7%), 평균 S/P ratio는 2.380를 보였으며 총 검사결과는 1,457수 중 1,432수가 양성으로 양성율은 98.3%이었으며, 평균 S/P ratio는 2.419의 결과를 보였다 (Table 5).

Table 5. Results of ELISA test for LPAI virus

Months	No. of tested	No. of positive (%)	Mean S/P ratio
May	480	475 (99.0)	2.319
July	494	485 (98.2)	2.557
September	483	472 (97.7)	2.380
Total	1,457	1,432 (98.3)	2.419

5. LPAI의 HI 및 ELISA의 월별 항체가 비교

HI 및 ELISA에 의한 결과를 비교해 보면 5월에는 480수 중 양성수가 각각 442수 (92.1%), 475수 (99.0%), 7월은 494수 중 각각 394수 (79.8%), 485수 (98.2%), 9월은 483수 중 402수 (83.2%), 472수 (97.7%)의 결과를 보였으며 검사한 총 1,457수 중 HI는 1,238수 (85.0%), ELISA는 1,432수 (98.3%)가 양성인 결과를 보였다 (Table 6 및 Fig 2). 또한, ELISA 검사에서 HI보다 5월 6.9%, 7월 18.4%, 9월 14.5%의 높은 양성율을 보였으며 HI titers와 평균 S/P ratio를 비교해 보면 5월 4.6, 2.319, 7월 4.3, 2.557, 9월 4.0, 2.380으로 나타났으며, 총 검사수에 대하여는 4.3일때 2.419로 HI와 ELISA와의 커다란 유의성은 없는 것으로 조사되었다 (Table 6 및 Fig 3).

Table 6. Comparison of HI and ELISA to LPAI virus

Months	No. of tested	No. of positive		Mean HI titers	Mean S/P ratio
		HI(%)	ELISA(%)		
May	480	442 (92.1)	475 (99.0)	4.6	2.319
July	494	394 (79.8)	485 (98.2)	4.3	2.557
September	483	402 (83.2)	472 (97.7)	4.0	2.380
Total	1,457	1,238 (85.0)	1,432 (98.3)	4.3	2.419

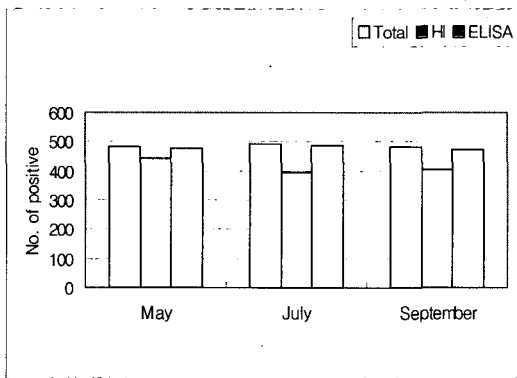


Fig 2. The positive of HI and ELISA to LPAI

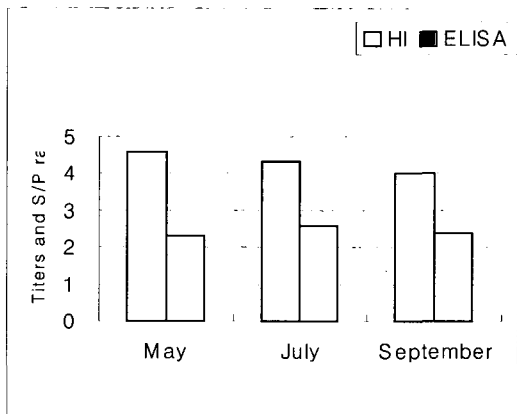


Fig 3. Comparison of HI titers and ELISA S/P ratio to LPAI

6. ND의 RT-PCR 결과

ND에 대한 항원검사 결과 5월에 채취한 비장 및 맹장편도 등의 장기 8점에서 common type 1건, pathotype 2건, 분변 24점에서는 common type 2건, pathotype 3건 분리되었고 7월에는 장기 12점 중 pathotype 1건, 분변 26점 중 common type 1건, pathotype 1건, 9월에는 장기 7점 중 pathotype 1건, 분변 21점에서 pathotype 1건 분리되어 총 장기 27점 중 common type 1건 (3.7%), pathotype 4건 (14.8%), 분변 71점에서는 common type 3건 (4.2%), pathotype 5건 (7.0%) 이 분리되었다 (Table 7 및 Fig 4).

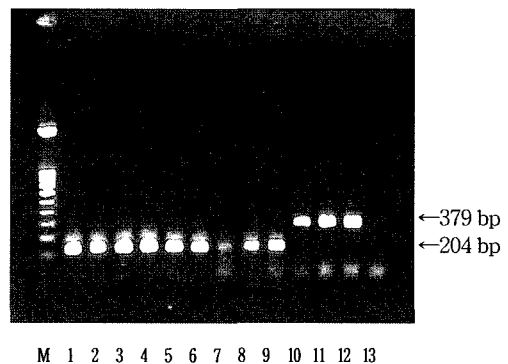


Fig 4. Results of agarose gel electrophoresis NDV. M : 100 bp ladder lane, 1~ 9 : Pathotype, 10~13: Common type

Table 7. Detection of ND virus by RT-PCR

Months	No. of farms	No. of tested		No. of positive			
		Organs	Feces	Organs		Feces	
				Common type(%)	Pathotype (%)	Common type(%)	Pathotype (%)
May	21	8	24	1(12.5)	2(25.0)	2(8.3)	3(12.5)
July	21	12	26	0	1(8.3)	1(3.8)	1(3.8)
September	21	7	21	0	1(14.2)	0	1(4.7)
Total	63	27	71	1(3.7)	4(14.8)	3(4.2)	5(7.0)

7. LPAI 바이러스 분리 및 항원검사 결과

5월, 7월, 9월에 채취한 장기 27점 및 분변 71점에서 모두 바이러스는 분리되지 않았으며, 분변에서 항원 진단키트를 이용한 검사 결과 71점 모두 음성으로 나타났다 (Table 8 및 Table 9).

Table 8. The isolation of LPAI virus

Months	No. of farms	No. of tested		No. of positive	
		Organs	Feces	Organs	Feces
May	21	8	24	0	0
July	21	12	26	0	0
September	21	7	21	0	0
Total	63	27	71	0	0

Table 10. The isolation of *S. gallinarum*

Months	No. of tested		No. of positive	
	Organs	Feces	Organs (%)	Feces (%)
May	8	24	3 (37.5)	1 (4.2)
July	12	26	6 (50.0)	3 (11.5)
September	7	21	2 (28.6)	3 (14.2)
Total	27	71	11 (40.7)	7 (9.8)

분리한 18균주에 대한 항생제 감수성결과 SXT (61.1%), KM (55.5%), AM (55.5%), AMC (55.5%), CF (50%) 등의 순으로 감수

Table 9. Antigen test of LPAI virus

Months	No. of farms	No. of feces	No. of positive	No. of negative
May	21	24	0	24
July	21	26	0	26
September	21	21	0	21
Total	63	71	0	71

8. FT균 분리 및 분리균의 항생제 감수성검사

선정된 21농가에서 5월 중 비장 및 간 등의 장기 8점에서 3건 (37.5%), 분변 24점에서는 1건 (4.2%), 7월에는 장기 12점 중 6건 (50.0%), 분변 26점 중 3건 (11.5%), 9월에는 장기 7점 중 2건 (28.6%), 분변 21점 중 3건 (14.2%)이 분리되어 총 장기 27점 중 11건 (40.7%)이 분리되었고 분변 71점에서는 7건 (9.8%)이 분리되었다 (Table 10).

성을 보였으나 저항성은 PC (88.9%), SM (88.9%), EM (83.4%), TC (61.1%) 등의 순으로 나타났다 (Table 11).

Table 11. Antimicrobial susceptibility of 18 isolated *S. gallinarum*

Antimicrobial drugs	Susceptible (%)	Intermediate (%)	Resistant (%)
Ampicillin (AM)	10 (55.5)	3 (16.7)	5 (27.8)
Cephalothin (CF)	9 (50.0)	4 (22.2)	5 (27.8)
Ciprofloxacin (CP)	4 (22.2)	5 (27.8)	9 (50.0)
Erythromycin (EM)	1 (5.5)	2 (11.1)	15 (83.4)
Gentamicin (GM)	8 (44.4)	5 (27.8)	5 (27.8)
Kanamycin (KM)	10 (55.5)	5 (27.8)	3 (16.7)
Trimethoprim/sulfamethox (SXT)	11 (61.1)	3 (16.7)	4 (22.2)
Norfloxacin (NF)	5 (27.8)	8 (44.4)	5 (27.8)
Penicillin (PC)	1 (5.5)	1 (5.5)	16 (88.9)
Streptomycin (SM)	0 (0.0)	2 (11.1)	16 (88.9)
Tetracycline (TC)	2 (11.1)	5 (27.8)	11 (61.1)
Amoxicillin/clavulanic acid (AMC)	10 (55.5)	5 (27.8)	3 (16.7)
Neomycin (NM)	5 (27.8)	6 (33.3)	7 (38.9)
Enrofloxacin (ENR)	4 (22.2)	2 (11.1)	12 (66.7)

9. 참새에서의 ND 및 LPAI 혈청검사 결과

포획한 참새에서 ND와 LPAI의 혈구응집 억제 반응을 통한 혈청검사 결과 전체 포획 수 164마리 중 ND는 78마리 (47.6%)에서 양성 반응을 보였으며 LPAI는 94마리 (57.3%)가 양성 반응을 나타냈다 (Fig 5). 또한 양성 반응을 나타낸 개체들의 혈중 ND 평균 HI titers는 5.32이었으며, LPAI의 경우에는 4.02의 결과를 보였다 (Fig 6). ND와 LPAI에 대한 양성을 나타낸 개체 중 HI titers 4 이상을 나타낸 개체는 각각 71마리 (43.2%), 58마리 (35.3%)로 조사되었다 (Fig 7).

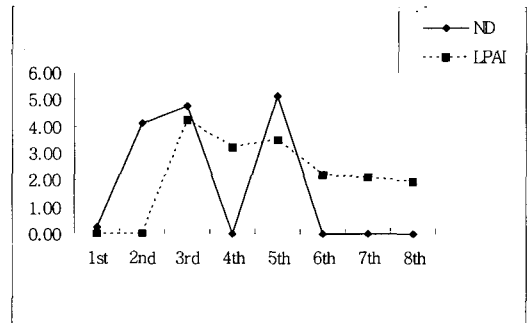


Fig 6. The mean HI titers of ND and LPAI

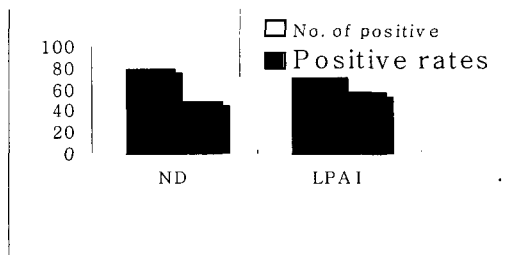


Fig 5. The positive numbers and rates to ND and LPAI

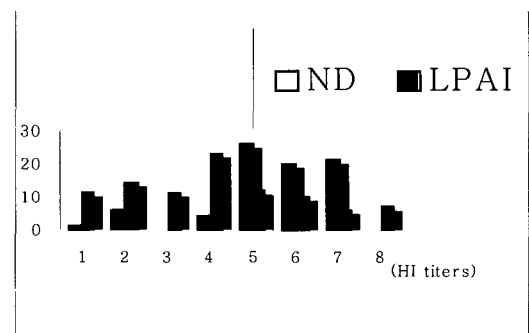


Fig 7. The HI titers distribution of ND and LPAI

참새에서의 ND 및 LPAI 항원검사 결과

포획한 참새 164마리의 장기를 유제하여 ND RT-PCR검사결과 모두 음성의 결과를 보였으며 또한, LPAI 바이러스도 분리되지 않았다 (Table 12).

Table 12. The isolation of ND and LPAI virus

No. of samples	ND PCR		LPAI	
	No. of positive	No. of negative	No. of positive	No. of negative
164	-	164	-	164

고 찰

최근 베트남 및 태국 등에서는 치명적인 H5N1형 HPAI가 사람에게 감염되어 WHO 발표결과 베트남에서는 27명이 감염환자로 확진되어 20명이 사망하였으며, 태국에서는 17명 중 12명이 사망했을 뿐만아니라 Sri Racha Tiger Zoo의 호랑이에게도 전염되어 83마리가 폐사되었고 현재까지 일부 국가에서는 재발되고 있는 실정이다.

국내에서는 2003년 말부터 2004년 초까지 발생하였으나 다행히 태국과 베트남에서 발생한 바이러스와 다른 것으로 판명되어 인명의 피해 없이 종식되었으며 철저한 방역으로 재발되지 않아 이제는 OIE로부터 종식국가로 인정받아 HPAI의 청정국이 되었다.

그러나 HPAI 발생으로 양계관련 생산물의 소비가 둔화되어 양계농가의 어려움이 지속되고 있는 가운데 지역적으로 토착화된 질병으로 인한 피해는 늘어만 가고 있는 실정이다.

또한, ND 발생으로 인하여 국제 규약의 규제를 받아 수출 길에도 걸림돌이 되고 있으며 전국적으로 ND 발생현황은 2002년도 89건 (2,500,139수), 2003년 51건 (1,052,665

수), 2004년 9월말 현재 26건 (315,412수)이 지역적, 산발적으로 발생되어 양계농가에도 커다란 피해가 유발되었다. 이렇게 피해를 유발하게 된 근본적인 원인을 짚어보면 첫째, 상당수의 농장에서 ND 백신접종을 기피하였고 둘째, 백신접종을 하였더라도 집단면역을 위한 백신접종방법 및 프로그램 선정상에 문제가 있어 충분한 면역능을 갖추지 못하였으며 셋째, 양계장이 밀집되어 있는 지역이나 일부 양계농가의 차단방역에 대한 의식부족으로 발생된 것으로 조사되었다. 한편, 정부차원에서 질병발생을 최소화하기 위한 예방접종을 의무적으로 실시토록 하고 있으나 일부 양계농가에서는 백신접종에 따른 부작용 등으로 백신접종을 기피하고 있으며 특히, 종계 및 산란계 등에서는 정기적인 보강 예방접종의 필요성을 인식하고 있지만 예방접종에 따른 경제적인 부담, 사육환경 열악과 스트레스로 인한 피해 의식으로 대부분의 농가에서 실시하지 않아 이로 인한 질병 발생 피해는 양계농가 스스로 부담하고 있는 실정이다.

육계에서 주로 사용하고 있는 ND 생독백신은 약독주인 B1주와 LaSota주가 있으며 예방접종 방법으로는 분무접종, 점안접종, 음수접종을 주로 사용하고 있으나 접종시기와 접종방법 등에 따라 방어 효과에 커다란 차이를 나타낼 수 있으며, 주로 점막면역에 의존하기 때문에 앞으로 방어항체 수준까지 유지할 수 있는 획기적인 새로운 백신 개발과 접종 방법 및 접종시기 등에 대한 연구가 지속적으로 이루어져야 할 것이고, 또한 양계농가에서는 농장을 출입하는 사람과 차량에 대한 통제 및 소독 등 차단방역을 실시하고 "all in-all out"으로 농장내 계군간의 순환감염의 고리를 차단할 뿐만아니라 예방접종을 철저히 실시해야 할 것이다.

1987년 김 등⁵⁰⁾은 경기도 일원을 중심으로 480계군에서 3-5 HI titers를 나타낸 계군은 254 (52.9%), 7이상은 120계군 (25%), 송 등⁵¹⁾은 2000년 전국 종계, 산란계 20주령 이상에서 항체수준 모니터링결과 평균 HI

titers는 7.0, 이 등⁵²⁾은 도축 육계에서 ND의 평균항체가 2차까지 예방접종한 계군에서 품종별 약간의 차이는 있으나 1.52 - 2.13으로 보고하였고 송 등⁵¹⁾도 15 - 30일령 때 평균 항체가 2.0이하로 보고하였다. 또한, 국내에서 사용된 ND 사독백신 면역지속능에 대한 연구결과에서도 평균항체는 7.0 - 9.0으로 나타났으며, 본 연구소에 의뢰된 종계 및 산란계 혈청검사결과에서도 대부분 평균항체는 7.0 - 9.0 수준의 결과를 보였으나 본 연구 대상인 산란계 밀집지역의 검사결과 5월에는 평균 10.2, 7월에는 9.9, 9월에는 10.2로 높게 나타나 야외바이러스 감염이 의심되는 항체 수준의 결과를 보였다 (Table 3 및 Fig 1).

IB는 세계 대부분의 나라에서 발생되고 있고 국내에서는 1986년 처음 확인되었으며 신장형 IB는 1992년에 보고되었고¹¹⁾, 최근 Lee 등⁵³⁾은 국내 IBV 분리 15주 S1 glycoprotein gene을 분리하였다. 국내 발생건수는 2001년도에 57건, 2002년 37건, 2003년 11건, 2004년 9월 현재 14건으로 감소하다가 다시 증가 추세에 있으며 2000 - 2001년도 육계에서 유행했던 신장형 IB는 최근 감소하는 경향을 보이고 있다.

산란계에서 IB는 산란저하와 기형란인 물란, 파란, 연란이 특징적으로 나타나고 2주령 이하의 어린 일령에서 미성숙된 수란관이 IBV의 공격을 받으면 상피세포의 발육이 안되고 상피세포 대신 기능이 없는 결합조직의 증식으로 수란관 안쪽의 공간을 메우게 된다. 특히 이런 현상이 잘 일어나는 곳은 수란관의 끝인 질부위로 각종 분비액이나 체액이 고임으로써 낭종이 생기게 되기도 한다. 이와 같이 수란관 발달형성의 결손으로 무산란계가 되어 산란계로서의 의미가 없다는 것이 문제점으로 대두되고 있을 뿐만 아니라 다양한 혈청형 및 변이로 인하여 백신접종에 따른 방어 효과를 예측하기 어려우며 예방대책 수립시에도 혼란을 초래하게 된다.

1968년 유¹³⁾는 1962 - 1963년의 IBV의 항

체가 검사결과 서울, 경기, 강원, 충북, 전북, 경남 등에서 neutralizing antibody titers 2.0 이상의 양성계체를 확인하였고, 1980년 김 등¹⁴⁾도 서울, 경기, 경북, 전남지방의 21개 종계장 152계군 2,064수를 AGP로 검사한 결과 348수 (16.9%), 152계군 중 84계군 (55.3%)이 양성임을 보고하였으며, 이 등¹⁵⁾은 처음 바이러스를 확인하면서 산란저하 종계군 대부분이 HI titers 5이상으로 Mass. 41형에 노출된 것으로 조사되었다.

산란계 밀집지역에서 IB 혈청 검사결과 5, 7, 9월 평균 HI titers는 각각 8.2, 9.0, 9.4로 약간 증가하는 경향을 보였고 감염 계군으로 의심할만한 항체는 보이지 않았으나 개체에 따라 높은 항체를 보여 감염되었던 개체가 있음을 짐작할 수 있었다 (Table 3 및 Fig 1).

OIE 규정에 의하면 AIV는 닭에 대한 병원성 시험결과에 따라 LPAI와 HPAI로 구분되어지는데 이는 바이러스를 접종한 계태아의 요막강액을 채취하여 1 : 10으로 희석한 다음, 4 - 6주령 된 SPF 닭 정맥내로 접종하였을 때 10일 내에 8수 중 6수 이상 폐사할 경우, H5나 H7 혈청형이 아니면서 닭 8수에 접종하여 1 - 5수의 폐사를 보이지만 세포배양 중 트립신 첨가 없이도 세포변성 효과가 나타날 경우, H5나 H7 혈청형 바이러스가 혈구응집소 단백질 분절부위 (HA cleavage site) 유전자분석결과 고병원성조류인플루엔자와 유사한 아미노산염기가 확인되거나 세포에서 트립신 첨가 없이도 세포변성효과가 나타날 경우, H5나 H7 혈청형이 아닌 바이러스 중 트립신 첨가 없이도 세포변성효과를 나타내는 바이러스가 혈구응집소 단백질분절부위 유전자 분석결과 고병원성조류인플루엔자와 유사한 아미노산염기가 확인될 경우 HPAI로 분류하고 있다. 또한, 인플루엔자 A형 변이는 항원 소변이 (antigenic drift)와 항원 대변이 (antigenic shift)의 두 가지 형태로 일어난다. 인플루엔자 바이러스는 RNA 중합효소 (replicase)의 안정성이 비교적 낮아 교정능력 (proof

reading capacity)이 떨어지기 때문에 증식 과정 중에 바이러스의 구조유전자 (genome)가 빠른 속도로 변이하게 된다. 이러한 변이가 지속되게 되면 병원성이 약하거나 생존 능력이 떨어지는 바이러스들이 생산되기도 하지만, 기존 숙주의 항체나 새로운 숙주의 선택적 압력 (selective pressure)으로 인해 원래의 바이러스보다 증식이 잘되는 새로운 변이주가 나타나게 되며, 이들 변이주는 생존이 용이하기 때문에 자신의 세력을 확장하게 된다.

항원 소변이 (antigenic drift)는 바이러스의 표면항원 (NA와 HA)을 구성하는 유전자들이 순차적으로 바이러스가 매번 증식할 때 마다 변이되는 것을 말한다. 바이러스 입자상에 있는 이들 단백질들이 충분히 달라진다면 숙주의 항체들이 바이러스를 중화시키지 못하게 되며, 이러한 변이주는 숙주의 면역반응을 회피함으로써 질병을 유발할 수 있게 된다.

이러한 예는 사람의 인플루엔자 바이러스에서 찾아볼 수 있다. 사람의 인플루엔자 바이러스는 동일한 아형 내에서도 지속적으로 진화하여 항원적 변이를 일으키고 있으며, 이러한 항원 소변이에 따라 기존 인플루엔자 백신의 효과가 감소하게 된다. 따라서 현재 사용하고 있는 백신주가 실제 야외에서 유행하고 있는 야외 바이러스와 얼마나 유사한지 여부를 모니터링해서 매년 평가하고 있으며, 일반적으로 가장 최근의 야외 분리주를 이용하여 백신의 조성을 재조정함으로써 최근 유행하고 있는 인플루엔자 바이러스에 대해 적절한 방어 효과를 가지도록 하고 있다. 그러나 닭의 경우에는 항원 소변이에 대하여 훨씬 내성이 강하기 때문에 HPAI 공격접종시험에서 HA 유전자의 염기서열 상동성이 90% 이하인 백신이라도 양호한 방어 효과를 나타내는 것으로 보고되어 있다. 그러나 백신주와 공격접종 바이러스 간에 염기서열의 상동성이 높을수록 호흡기로부터의 바이러스 배설량이 더 감소된다는 보고에 근거한다면 가능한 야외주와

상동성이 높은 백신주를 선발하는 것이 질병예방 효과를 높여줄 것이다.

항원 대변이 (antigenic shift)는 훨씬 낮은 빈도로 일어나는 또 다른 항원의 변화형태로써 2개의 각기 다른 바이러스가 돼지와 같은 숙주 개체에 동시 감염되었을 때 일어난다. 이때 돼지에 일종의 “mixing vessel”로 작용하게 되며, 양 바이러스의 구조유전자 분절들이 재배열 (reassortment)됨에 따라 원래의 두 바이러스의 유전자를 나눠 갖는 새로운 바이러스가 생겨나게 된다.

이러한 과정을 거쳐 병원성을 예측할 수 없는 새로운 바이러스가 생겨나게 되는데, 이는 필요한 병독성 인자들이 결합될 수도 있고, 동물 유래 바이러스로부터 받은 HA와 같은 새로운 표면항원을 추가하여 사람에게 대하여 완전한 병독성을 가지게 될 수도 있다. 이러한 바이러스는 본질적으로 사람에게 대한 병원성을 갖고 있고, 사람에서는 이 바이러스의 표면항원에 대한 면역이 결여되어 있기 때문에 범유행성 (pandemic)으로 될 가능성이 있다. 그리고 일단 범유행성 바이러스 (pandemic strain)가 출현하게 되면 이 바이러스는 숙주동물에서 증식을 계속하면서 숙주에 대한 적응성이 높아지는 방향으로 변이가 일어나게 된다. 조류에서는 15개의 HA 및 9개의 NA 아형들 모두가 발견되어 온 반면에 사람에서는 오랜 기간 동안 3개의 HA 아형 (H1, H2 및 H3)과 2개의 NA 아형 (N1, N2)만이 확인되어 왔다. 조류는 인플루엔자 유전형들의 세계적인 거대한 이동식 감염원 (reservoir)이라고 할 수 있으며, 이들 조류로부터 범유행성으로 될 수 있는 새로운 아형의 바이러스가 만들어질 가능성은 언제나 상존하고 있다.^{3,54,55)}

AIV는 닭, 칠면조 등 88종의 조류에서 다양한 혈청형이 보고되었으며 특히 철새 중 오리가 가금류에 질병을 전파시키는데 커다란 역할을 하는 것으로 알려져 있다.²⁴⁾

국내에서도 AIV에 기인된 HPAI가 2003년 12월 10일 충북 음성 종계 농장에서 처음 확인되었으나 유입은 2003년 10월 말에

서, 11월초 천안의 증오리에서 먼저 감염된 것으로 추정하고 있으며, 농장간의 전파는 가축이동으로 1, 오염된 사람 1, 오염차량 및 기구로 11, 야생조류 1, 발생농장 인근농가 5건으로 확인되었고, 2004년 3월 20일까지 총 19건으로 닭 10건 (종계 1, 산란계 7, 육계 2), 오리 9건 (증오리 8, 육용오리 1) 이 발생하였다.

시도별로는 울산 1, 경기 2, 충북 6, 전남 1, 경북 2, 경남 1건으로 인근 농가를 포함하여 392농가에서 5,285천수가 살처분되었으며 추정 피해액은 1,531억으로 조사되었다.

국내분리주의 유전자 염기서열 분석결과 RKKR/GLFG로 고병원성 바이러스의 특성을 가지고 있었으며 다른 나라의 HA유전자와 핵산염기서열을 비교분석한 결과 96.1 - 96.5%, NA 유전자 또한 91.1 - 97.1%로 1997년, 2001년 중국의 H5N1형과 상동성이 높게 나타났고, 국내 발생요인을 분석한 결과 철새에 의한 가능성이 높은 것으로 조사되었으나 아직까지 정확한 역학조사는 되지 않았고, 최근 동남아시아에서 재발되고 있어 우리나라도 안전한 지대로 안심할 수 없어 지속적인 예찰과 차단방역이 이루어져야 할 것이다.

2004년 OIE에 보고된 HPAI의 혈청형과 감염 숙주는 한국 H5N1 (닭, 오리, 까치), 베트남 H5N1 (닭, 오리, 메추라기, 사람), 일본 H5N1 (닭, 까마귀), 대만 H5N2 (닭, 오리, 꿩), 태국 H5N1 (닭, 오리, 거위, 메추라기, 칠면조, 사람), 캄보디아 H5N1 (닭, 오리, 거위, 칠면조, 야생조류), 홍콩 H5N1 (매), 라오스 H5N1 (닭, 오리, 메추라기), 파키스탄 H7N3와 H9N2 (닭), 인도네시아 H5N1 (닭, 오리, 메추라기), 중국 H5N1 (닭, 오리, 거위, 비둘기, 메추라기, 흑고니), 미국 H5N2 (닭), 캐나다 H5N2 (닭, 사람), 남아프리카공화국 H5N2 (타조), 말레이시아 H5N1형 (닭, 오리, 메추라기)이 보고되었고 이중 베트남과 태국에서는 사람에게 전염되어 사망자가 발생되었으나 캐나다에서는 사람에게서 결막염을 일으킨 것으로 보고되었다.

LPAI는 1996년 3월 경기도 화성의 8,000수 육용종계 농장에서 20% 폐사율과 심한 산란저하가 보고되어 처음으로 확인되었으며 5월과 8월 전북 정읍, 경북 영천의 종계장에서 발생되어 97,963수와 종란 1,066,000여개가 각각 살처분 및 매몰되었으나 1999년 초부터 경기지역에서 재발하여 전국적으로 확산되고 있으며 지역에 따라 항체 양성율이 50%에 이르는 곳도 있다. 또한 국내분리주 (H9N2)에 대한 연구 결과를 국제 AI 심포지움에서 발표⁴³⁾된 이후 국내 분리주에 대한 연구가 지속적으로 이루어지고 있다⁵⁶⁾.

미국에서는 1983년 봄 펜실바니아주에서 동일혈청형 (H5N2)이 산란계농장에서 발생하였으나 처음에는 병원성이 강하지 않은 것으로 판정되어 살처분을 실시하지 않고 감시만하다가 10월에 갑자기 30%의 폐사와 급격한 산란율 감소로 병원성이 높아져 양성계군에 대해서 살처분한 예가 있다³¹⁾. 또한, 멕시코 (H5N2)에서도 1994년 LPAI가 발생되었으나 이후 HPAI로 변이되었고, 1999년 이탈리아 (H7N1)에서도 처음에는 LPAI로 판정하여 살처분 정책을 실시하지 않고 있다가 질병이 확산되면서 같은 년도 12월에 칠면조에서 HPAI로 변이되면서 413개 농장에서 1,300만수가 살처분되기도 하였다.

AIV의 진단은 바이러스 분리와 혈청학적 검사방법이 이용되고 있으며 혈청학적 검사 방법에는 AGP, HI와 ELISA 등이 있고⁵⁷⁻⁶⁰⁾, 최근에는 국내에서 개발되어 발생농장에서 직접 검사할 수 있는 항원 진단키트가 사용되고 있다.

이들 검사 방법 중 AGP 반응은 공통항원인 NP와 M단백질 항체가 검출되고, HI는 하나의 특정항체만 검출되며, ELISA는 어떤 항원을 사용하느냐에 따라 다르게 검출될 수 있는데 시판되는 IDEXX (USA) 진단 키트는 16가지 혈청형을 검출할 수 있으나 Fatunmbi 등⁶⁰⁾의 보고에 의하면 ELISA 검사에서 혈청형 중 가장 많은 교차반응을 보이는 혈청형이 H9이라고 하였다.

LPAI에 대한 HI 및 ELISA 검사 결과 5월에는 총 480수 중 HI는 442수 (92.1%), ELISA는 475수 (99.0%)로 ELISA 결과가 6.9% 높았으며, 7월에 채혈한 총 494수 중 HI에서는 394수 (79.8%), ELISA는 485수 (98.2%)로 18.4%가 높았다. 9월은 483수 중 HI는 402수 (83.2%), ELISA에서는 472수 (97.7%)로 14.5% 높게 나타났다. 또한, HI 검사 결과, 21농가 23계군 중 5월과 7월에 음성계군이 1농가 1계군으로 확인되었으나 9월에는 19수 중 3수가 양성으로 확인되었다. 그러나 ELISA검사에서는 5월과 7월 모두 양성계군으로 확인되어 HI검사와는 상이한 결과를 보였다 (Table 6 및 Fig 2).

이 결과로 미루어 HI검사에서는 H9N2형 단일항체만 측정할 수 있고, ELISA에서는 16종 혈청형 (H7N2, H1N7, H7N3, H13N6, H5N9, H11N6, H3N8, H9N2, H5N2, H4N8, H10N7, H2N9, H8N4, H14N5, H6N5, H12N5)이 검출되도록 다양한 혈청형이 포함되어 HI보다 높은 결과를 보인 것인지, H9 혈청형이 ELISA에서 교차반응을 일으켜 높게 나타난 것인지, 아니면 H9N2형의 변이가 이루어지고 있는지에 대하여 지속적인 연구가 이루어져야 할 것이다.

또한, 장기 및 분변에서 바이러스분리 및 항원 진단키트 검사결과 모든 시료에서 분리되지 않았다 (Table 8 및 Table 9). 이는 국내분리주의 감염접종 시험결과 기관과 분변에서 3일부터 바이러스가 검출되었으나 기관에서는 7일, 분변에서는 9일 후에는 검출되지 않았다는 점을 감안하면 야외에서 바이러스 검출을 위해서는 감염초기 (3-9일)의 시료를 채취하여야 할 것으로 사료된다.

일반적으로 AIV의 생존력은 배설된 분변에서 4℃일 경우 30-35일, 20℃에서 7일정도 활동성이 있는 것으로 알려져 있으나 최근 태국의 순트라진 박사는 기온이 4℃ 안팎으로 떨어지면 축축한 분변에서 최고 40일, 30-37℃에서는 최고 3시간까지 생존력

을 갖는 것으로 보고하여 앞으로 AIV의 방역 대책은 바이러스 특성을 고려하여 수립해야 할 것이다.

국내에서 이용되는 ND 진단방법에는 혈구응집반응, 혈구응집억제반응, 바이러스중화시험, ELISA 등의 혈청검사, 바이러스분리 및 계태아 접종시험 등이 있으나 혈청검사는 예방접종에 따른 항체형성으로 진단에 어려움이 있으며 바이러스분리시험 등은 진단시간이 많이 소요되기 때문에 최근 국내에서 개발된 RT-PCR 진단키트를 사용하여 빠른 시간에 진단을 하고 있다. 또한 RT-PCR은 야외 감염주와 백신주가 감별되며 장기나 분변에서도 검출이 가능한 이점이 있다⁶¹⁾.

ND 바이러스 검사에 대한 결과 (Table 7)를 보면 5월에 5건 (장기 2, 분변 3), 7월에 2건 (장기 1, 분변 1), 9월에는 2건 (장기 1, 분변 1)이 분리되어 5월에 야외바이러스 활동이 가장 빈번한 것으로 조사되었고, 비병원성인 common type도 5월에 3건 (장기 1, 분변 2), 7월에 분변에서 1건 분리되어 5월에 ND 발생에 따른 추가예방접종을 실시할 수 있었다.

세균성 질병으로 *S. gallinarum* 과 *S. pullorum* 은 일령에 관계없이 패혈증에 의한 높은 폐사율을 보이며 감염계의 분변을 통하여 지속적으로 병원균을 전파시키고, 동일한 균체항원구조를 가지고 있어 혈청검사상 구분하기 어려우며 최근 산란계 농가 대부분이 백신을 접종하고 있기 때문에 백신항체와도 감별이 어려워 균분리 방법이 가장 정확한 진단법이다. 생화학적 검사에서도 추백리균과의 차이점은 당 분해시 가스형성이 거의 없으며 dulcitol 분해능이 있고, tartrate 이용능이 있는 반면 ornithine 이용능이 없어 구분되어 진다^{3,62)}.

국내 발생상황을 보면 2002년도 191건 (2,851,164수), 2003년 150건 (1,584,922수), 2004년 9월 현재 33건 (315,412수)으로 감소하는 경향을 보이고 있다. 그러나 미국과 영

국에서는 오래전부터 부화장 및 양계농가가 참여하는 National Poultry Improvement Plan (NPIP), Poultry Health Scheme (PHS)을 제정하여 가금의 난계대 질병인 살모넬라나 마이코플라즈마 등의 질병감시를 통하여 현재는 찾아 볼 수가 없다고 한다³⁾. 우리나라도 단기적인 대책보다는 난계대 질병을 하나하나 근절할 수 있는 장기적인 대책이 강구되어야 할 것이다.

이 등⁶³⁾은 1995 - 2000년까지 병성감정의뢰 가검물 중 FT로 진단되어진 건수가 2,683건 중 273건으로 10.2%를 차지하며 품종별로 보면 육계에서 18.3%, 종계에서 4.8%, 산란계에서 76.9%로 산란계에서 발생률이 높으며 계절별로는 3 - 5월 15.8%, 6 - 8월 38.5%, 9 - 11월 32.6%, 12 - 2월에 13.2%로 하절기에 많이 발생하는 것으로 보고하였다.

오 등⁶⁴⁾도 경북지역에서 병성감정 의뢰된 산란계 17건 (100.0%)이 모두 FT로 진단되었고 계절별로는 여름에 45.5%로 발생률이 높은 것으로 보고하였으며, 우 등⁶⁵⁾은 산란계 중 백색 및 갈색 산란계 계통간의 내병성을 보면 갈색 산란계는 4주령 때 95.2%의 폐사율을 보였으나 백색 산란계는 전혀 폐사를 보이지 않아 저항성이 강한 것으로 나타났다고 보고하였다.

본 실험에서 FT에 대한 검사 결과 5월에는 총 가검물 32점 중 4건 (12.5%), 7월에는 38점 중 9건 (23.6%), 9월에는 28점 중 5건 (17.8%)이 분리되어 7월에 약 2배 정도 높게 검출되었다 (Table 10).

우 등⁶⁵⁾과 Smith 등⁶⁶⁾은 산란계 중 품종간의 약제감수성의 차이가 있음을 보고하였고 1995년 김 등⁶⁷⁾은 가금에서 분리한 *Salmonella* spp. 17주에 대한 약제감수성 결과 AM, GM, TC 등에는 감수성이 있는 반면 PC, CM, SM 등에는 저항성이 있다고 보고하였으며, 이 등⁶³⁾은 SXT (100%), CIP (96.6%), AM (93.3%), AMC (90.0%) 등의 순으로 감수성이 있었으나 저항성은

EM (0.0%), SM (3.4%)으로 보고하였으며 본 실험에서는 SXT (61.1%), KM (55.5%), AM (55.5%), AMC (55.5%), CF (50%) 등의 순으로, 저항성은 PC (88.9%), SM (88.9%), EM (83.4%), TC (61.1%) 등 순으로 유사한 결과를 보였다 (Table 11).

앞으로 FT 예방을 위해서는 계사소독과 닭 진드기 구제 등 차단방역 뿐만 아니라 6주령과 18주령에 예방접종을 실시하더라도 농장 상황에 따라 접종일령을 당기거나 추가접종을 고려해야 할 것이며, 무분별한 항생제의 사용에 앞서 필히 약제감수성을 실시하여 치료를 했으면 하는 바람이고 항생제투여 후 폐사가 지속적으로 나타날 경우 과감한 계군의 도태가 필요하다. 특히 인공수정을 실시하여 백세미를 생산하는 양계농가는 인공수정 과정에서 오염될 수 있는 요인을 제거할 뿐만 아니라, 위생적이고 체계적인 종계관리로 난계대전염병 고리 차단이 선행되어야 할 것이다.

또한, 산란계 밀집지역에서 서식하는 야생 참새를 포획하여 ND 및 LPAI의 혈중항체가 조사결과 포획한 164마리 중 ND의 경우 78마리 (47.6%)에서 양성 반응을 보였으며 LPAI는 94마리 (57.3%)에서 양성 반응을 나타냈다. 또한 양성반응을 나타낸 개체들의 혈중 ND 평균 항체가는 5.32이었고, LPAI는 4.02의 결과로 나타났으며 양성반응 개체 중 ND는 43.2%, LPAI는 35.3%가 HI titers 4이상의 높은 항체가를 보여 주었다 (Fig 5 및 Fig 7).

본 실험을 통해서 산란계 밀집지역 양계농가 주변에 서식하고 있는 야생조류인 참새가 지속적으로 ND와 LPAI에 노출되고 있음을 확인할 수 있었으며, 특히 LPAI가 Fig 6에서 보는 바와 같이 1 - 2차를 제외한 나머지 3 - 8차에서 모두 양성 반응을 보이는 것으로 나타나 지속적으로 LPAI가 만연되고 있음을 짐작할 수 있었다.

LPAI의 경우 국내에서 백신접종이 이루어지고 있지 않은 점을 감안하여 평균 HI

titers가 4.02를 나타낸다는 것은 참새들의 행동반경 등을 감안하여 볼 때 상당수의 농장에 LPAI가 만연되고 있는 것으로 사료되어 향후 야생 동물, 특히 조류에 대한 체계적인 질병전파에 대한 연구와 감시가 필요하며 혈청학적 연구에서도 H1 - H15에 대한 혈청형별 연구가 이루어져야 할 것이다.

본 실험 선정농가 대부분의 경우 ND는 1 - 5월, IB와 LPAI는 10월에서 이듬해 2월, FT는 주로 6 - 8월에 발생되어 질병 발생기간을 고려하여 추가예방접종 및 차단방역 등 예방에 철저를 기해야 할 것으로 사료되며, 우선적으로 집단밀집지역의 사육 시설 및 사양관리의 개선이 필요하고, IB, LPAI의 변이에 대한 지속적인 모니터링과 효율적인 방역체계를 확립하여 질병 없는 양계장을 만들어 가야 할 것이다.

결 론

산란계 밀집지역에서 산란저하에 가장 많은 피해를 주고 있는 ND, IB, LPAI 혈청항체가 변동과 바이러스 및 FT균 분리를 통하여 질병예방 및 방역의 기초자료를 제시하고자 2003년 5, 7, 9월, 3회에 걸쳐 시료를 채취하여 혈청검사, 세균 및 바이러스 분리를 실시하여 아래와 같은 결과를 얻었다.

1. 21농가 설문조사결과 ND는 1월에서 5월, IB 및 LPAI는 10월에서 이듬해 2월, 가금티푸스는 3월부터 9월까지 발생하는 것으로 조사되었다.
2. ND 항체가는 5월 490수 중 474수 (96.7%), 7월 510수 중 506수 (99.2%), 9월 510수 중 510수 (100.0%)가 양성이었으며 평균 HI titers는 각각 10.2, 9.9, 10.2로 나타났다.
3. IB 항체가는 5월 490수 중 484수 (98.7%), 7월 510수 중 508수 (99.6%), 9월 510수 중 509수 (99.8%)가 양성이었으며 평균 HI titers는 각각 8.2, 9.0, 9.4로 약간 증가하는 것으로 나타났다.

4. LPAI HI 항체가는 5월 480수 중 442수 (92.1%), 7월 494수 중 394수 (79.8%), 9월 483수 중 402수 (83.2%)가 양성이었으며 평균 HI titers는 각각 4.6, 4.3, 4.0으로 0.3씩 감소되는 결과를 보였다.
5. LPAI의 ELISA 항체가는 5월 480수 중 475수 (99.0%), 7월 494수 중 485수 (98.2%), 9월 483수 중 472수 (97.7%)가 양성이었으며 평균 S/P ratio는 각각 2.319, 2.557, 2.380의 결과를 보였다.
6. LPAI의 HI 및 ELISA 검사 결과는 각각 480수 중 442수 (92.1%) 및 475수 (99.0%), 494수 중 394수 (79.8%) 및 485수 (98.2%), 483수 중 402수 (83.2%) 및 472수 (97.7%)가 양성으로 ELISA에 의한 양성율이 각각 6.9%, 18.4%, 14.5% 씩 높게 나타났다.
7. ND pathotype RT-PCR 검사 결과 장기와 분변에서 5월 5건 (15.6%), 7월 2건 (5.3%), 9월 2건 (7.1%)이 분리되었으며 LPAI virus는 모두 음성이었다.
8. FT균 분리는 5월 4건 (12.5%), 7월 9건 (23.6%), 9월 5건 (17.8%)으로 7월에 가장 높게 검출되었으며, 약제감수성결과 SXT (61.1%), KM (55.5%), AM (55.5%), AMC (55.5%), CF (50.0%) 순으로 감수성을 보였으나 저항성은 PC (88.9%), SM (88.9%), EM (83.4%), TC (61.1%) 순으로 나타났다.
9. 포획한 참새 164마리에서 ND 및 LPAI의 양성율은 47.6%와 57.3%이었고 평균 HI titers는 5.32와 4.02로 각각 나타났으며 4 HI titers이상은 71마리 (43.2%)와 58마리 (35.3%)의 결과를 보였으나 바이러스는 분리되지 않았다.

이상의 결과로 산란계 밀집지역에서 ND, IB, LPAI, FT가 지속적으로 발생하는 것으로 조사되어 농장간의 차단방역 및 철저한 예방접종이 요구되며, IB 및 LPAI 변이형과 야생조류에 대한 지속적인 모니터링과 감시가 철저히 이루어져야 하며 장기적인 근절 대책을 수립하여야 할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Kraneveld FC. 1926. A poultry disease in the Dutch East Indies. *Ned Indisch BI Diergeneeskde* 38: 448-450.
2. Doyle TM. 1927. A hitherto unrecorded disease of fowl due to a filter-passing virus. *J Comp Pathol Therap* 40: 144-169.
3. Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, et al. 2003. *Diseases of Poultry*, 11th ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa: 63-92, 101-119, 135-160, 567-613.
4. 최원필, 송희중, 김순재 등. 1997. 수의전염병학. 경북대학교출판부, 대구: 423-427, 429-432, 428-429.
5. Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, et al. 1997. *Diseases of Poultry*, 10th ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa: 82-96, 511-526, 541-569, 583-605.
6. Hanson RP, Brandly CA. 1995. Identification of vaccine strains of Newcastle disease virus. *Science* 122: 156-157.
7. Alexander DJ, Allan WH. 1974. Newcastle disease virus pathotypes. *Avian Pathol* 3: 269-278.
8. Jordan FTW, Pattison M. 1996. *Poultry disease*. 4th ed: 139-155, 178-186.
9. Timoney JF, Gillepsie JH, Scott FW, et al. 1988. *Hagan and Bruner's Microbiology and Infectious Diseases of Domestic Animals*. 8th ed. Cornell University Press, Itacha, New York: 813-818, 905-908.
10. Charlton BR, Bermudez AJ, Boulianne M, et al. 1996. *Avian Disease Manual*. 4th ed. American Association of Avian Pathologist, Kennett Square, Pennsylvania: 49-52.
11. 윤용덕, 강영배, 김종염 등. 1998. 외래 동물질병 도감. 농림부, 국립수의과학검역원: 60-63, 70-76.
12. Schalk AF, Hawn MC. 1931. An apparently new respiratory disease of baby chicks. *JAVMA* 78: 413-422.
13. 유태석. 1968. 닭의 전염성 기관지염 바이러스에 관한 연구, 1. 전염성 기관지염 바이러스의 항체가에 대한 분포조사. *대한수의학회지* 8(1): 24-30.
14. 김순재, 이영옥, 김선중 등. 1980. 특정 전염성 병인체에 대한 국내 종계의 항체 보유상황. *대한수의학회지* 20(1): 59-64.
15. 이영옥, 김재홍, 김재학 등. 1986. 전염성 기관지염 국내 발생. *대한수의학회지* 26(2): 277-282.
16. 권혁준, 이동우, 안영기 등. 2001. 1986년 이전 국내 전염성 기관지염 바이러스의 확인. *대한수의학회지* 41(1): 59-65.
17. Song CS, Lee YJ, Lee CW, et al. 1998. Induction of protective immunity in chickens vaccinated with infectious bronchitis virus S1 glycoprotein expressed by a recombinant baculovirus. *J Gen Virol* 79: 719-723.
18. De Wit JJ, Mekkes DR, Kouwenhoven B, et al. 1997. Sensitivity and specificity of serological tests for detection of infectious bronchitis virus induced antibodies in broilers. *Avian Pathol* 26: 105-118.
19. Handberg KJ, Nielsen OL, Pedersen MW, et al. 1999. Detection and strain differentiation of infectious bronchitis virus in tracheal tissues from experimentally infected chickens by reverse transcriptase-polymerase chain reaction. Comparison with an immunohistochemical technique. *Avian Pathol* 28: 327-335.
20. Gorman OT, Bean WJ, Kawaoka Y, et

- al. 1991. Evolution of influenza A virus nucleoprotein genes: implications for the origins of H1N1 human and classical swine viruses. *J Virol* 65 : 3704-3714.
21. Horimoto T, Kaswaoka Y. 2001. Pandemic threat posed by avian influenza A viruses. *Clin Microbiol Rev* 14 (1) : 129-149.
22. Rohm C, Zhou N, Suss J, et al. 1996. Characterization of a novel influenza hemagglutinin, H15 : criteria for determination of influenza A subtypes. *Virology* 217 : 508-516.
23. Schild GC, Oxford JS, Newman RW. 1981. Evidence for antigenic variation in influenza A nucleoprotein. *Virology* 93 : 569-573.
24. Alexander DJ. 2000. A review of avian influenza in different bird species. *Vet Microbiol* 74 : 3-13.
25. 한명국, 박경윤, 권용국 등. 2002. 가금인플루엔자 바이러스 항체검출을 위한 혈청학적 진단 비교법. *대한수의학회지* 42 (1) : 73-80.
26. Zhou NN, Shortridge KF, Class ECJ, et al. 1999. Rapid evolution of H5N1 influenza viruses in chickens in Hong Kong. *J Virol* 73 (4) : 3366-3374.
27. Tumpey TM, Suarez DL, Perkins LEL, et al. 2002. Characterization of a highly pathogenic H5N1. A virus isolated from duck meat. *J Virol* 76 (12) : 6344-6355.
28. Dybing JK, Schultz-Cherry S, Swayne DE, et al. 2000. Distinct pathogenesis of Hong Kong origin H5N1 viruses in mice compared to that of other highly pathogenic H5 avian influenza viruses. *J Virol* 74 (3) : 1443-1450.
29. Donaelli I, Campitelli L, Trani LD, et al. 2001. Characterization of H5N2 influenza viruses from Italian poultry. *J Gen Virol* 82 (3) : 623-630.
30. Kawaoka Y, Naweww CW, Webster RG. 1984. Is virulence of H5N2 influenza viruses in chickens associated with loss of carbohydrate from the hemagglutinin. *Virology* 139 : 303-316.
31. Bean WJ, Kawaoka Y, Wood JM, et al. 1985. Characterization of virulent and avirulent A/chicken/Pennsylvania/83 influenza A viruses : potential role of defective interfering RNAs in nature. *J Virol* 54 : 151-160.
32. Govorkova EA, Leneva IA, Goloubeva OG, et al. 2001. Comparisons of efficacies of RWJ270201, Zanamivir, and Oseltamivir against H5N1, H9N2, and other avian influenza viruses. *Antimicrobial Agents Chemother* 45 (10) : 2723-2732.
33. Guan Y, Shortridge KF, Krauss S, et al. 1999. Molecular characterization of H9N2 influenza viruses : Were they the donors of the "internal" genes of H5N1 viruses in Hong Kong?. *Microbiology* 96 (16) : 363-367.
34. Xiuhua LU, Renshaw M, Terrence M, et al. 2001. Immunity to influenza A H9N2 viruses induced by infection and vaccination. *J Virol* 75 (10) : 4896-4901.
35. Hoffmann E, Stech J, Leneva I, et al. 2000. Characterization of the Influenza A virus gene pool in avian species in southern China: Was H5N1 a derivative or a precursor of H5N1?. *J Virol* 74 (14) : 6309-6315.
36. Suarez DL, Perdue ML, Cox N, et al. 1998. Comparisons of highly virulent H5N1 influenza A viruses isolated from Hong Kong. *J Virol* 72 (8) : 6678-6688.
37. Angela N, Cauthen DE. Swayne SSC,

- et al. 2000. Continued circulation in China of highly pathogenic avian influenza viruses encoding the hemagglutinin gene associated with the 1997 H5N1 outbreak in poultry and humans. *J Virol* 74 (14) : 6592-6599.
38. Gue YJ, Li JG, Cheng XW, et al. 1999. Discovery of men infected by avian influenza A(H9N2) virus. *J Exp Clin Virol* 13 : 105-108.
39. Mase M, Imada T, Sanada Y, et al. 2001. Imported parakeets harbor H9N2 influenza A viruses that are genetically closely related to those transmitted to humans in Hong Kong. *J Virol* 75 (7) : 3490-3494.
40. Lin YP, Shaw M, Gregory V, et al. 2000. Avian-to-human transmission of H9N2 subtype influenza A viruses: Relationship between H9N2 and H5N1 human isolates. *PNAS* 97 (17) : 9654-9658.
41. Suarez DL, Garcia M, Latimer J, et al. 1999. Phylogenetic analysis of H7 avian influenza viruses isolated from the live bird markets of the northeast United States. *J Virol* 73 (5) : 3567-3573.
42. Guan Y, Shortridge KF, Krauss S, et al. 2000. H9N2 influenza viruses possessing H5N1-like internal genomes continue to circulate in poultry in southeastern China. *J Virol* 74 (20) : 9372-9380.
43. Mo IP, Song CS, Kim KS, et al. 1997. An occurrence of non-highly pathogenic avian influenza in Korea. in *Proceedings. 4th International Symposium on Avian Influenza* : 379-383.
44. Abraham A, Sivanandan V, Newman JA, et al. 1984. Rapid purification of avian influenza virus for use in enzyme-linked immunosorbent assay. *Am J Vet Res* 45 : 959-962.
45. Beck JR, Swayne DE. 1997. Evaluation of ELISA for avian influenza serologic and diagnostic programs: Comparison with agar gel precipitin and hemagglutination inhibition tests. in *Proceedings. 4th International Symposium on Avian Influenza* : 297-303.
46. Toshihiro I, Hideo G, Eiji Y, et al. 2001. Generation of a highly pathogenic avian influenza A virus from an avirulent field isolate by passaging in chickens. *J Virol* 75 (9) : 4439-4443.
47. Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA et al. 1994. *Bergey's manual of Determinative bacteriology*, 9th ed. Williams & Wilkins, Maryland : 186-187.
48. Linton AH. 1983. *Guidelines on prevention and control of Salmonellosis*. Geneva, World Health organization : 10-128.
49. 이상규, 소병재, 허문 등. 2004. 가축전염병편람. 국립수의과학원, 건강기획인쇄 : 6-9.
50. 김순재, 이승이. 1987. 뉴캐슬병에 대한 야외계군의 항체 보유상황에 관한 연구. 한국수의공중보건학회지. 11 (2) : 35-40.
51. 송창선, 이윤정, 한명국 등. 2000. 최근 야외농장에서 실시하고 있는 뉴캐슬병 생독백신 접종효능에 대한 평가. 대한수의학회지 40 (3) : 563-573.
52. 이정원, 허철호, 이종환 등. 2001. 도축육계에서 뉴캐슬병 바이러스에 대한 혈중항체가 조사. 한국가축위생학회지 24 (3) : 217-222.
53. Lee SK, Sung HW, Kwon HM. 2004. S1 glycoprotein gene analysis of infectious bronchitis viruses isolated in Korea. *J Virol* 149 (3) : 481-494.
54. Suarez DL, Schultz-Cherry S. 2000. Immunology of avian influenza virus:

- a review. *Deveop Comp Immunol* 24 : 269-283.
55. 박종명. 2004. 2003-2004년 고병원성조류 인플루엔자 역학조사 보고서. *건강기획 인쇄* : 161-186.
 56. 성환우, 이재길, 이윤정 등. 2002. 국내유행 가금인플루엔자 바이러스의 특성 및 진단법 개선연구. *국립수의과학원, 건강인쇄사* : 510-520.
 57. Beard CW. 1970. Avian influenza antibody detection by immunodifusion. *Avian Dis* 14 : 337-341.
 58. Alexander DJ. 1982. Allan WH. Avian influenza in turkeys : a survey of farms in eastern England 1979/80. *Br Vet J* 138 : 473-479.
 59. Abraham A, Sivanandan V, Halvorson DA, et al. 1986. Standardization of enzyme-linked immunosorbent assay for avian influenza virus antibodies in turkey. *Am J Vet Res* 47 : 561-566.
 60. Fatunmbi A, Newman JA, Sivanandan V, et al. 1989. A broad spectrum avian influenza subtype antigen for indirect enzyme-linked immunosorbent assay. *Avian Dis* 33 : 264-269.
 61. 박남용, 최효임, 조호성 등. 2002. In situ RT-PCR 및 In situ hybridization 기법에 의한 닭 뉴캐슬병의 진단법 개발. *대한수의학회지* 42 (3) : 351-362.
 62. Quinn PJ, Carter ME, Markey GR, et al. 1994. *Clinical Veterinary Microbiology*. Wolfe : 284-234.
 63. 이영주, 강민수, 우용구 등. 2000. 가금티푸스 및 파라티푸스 예방효과 증진에 관한 연구. *국립수의과학원, 건강인쇄사* : 469-478.
 64. 오강희, 박노찬, 조민희 등. 2000. 최근 경북지역의 양계농장에서 발생한 Salmonellosis의 역학적 특성. *한국가축위생학회지* 23 (1) : 45-59.
 65. 우용구, 김봉환. 1998. 가금티푸스균의 인공감염에 대한 백색 및 갈색 산란계 계통간의 내병성 비교. *대한수의학회지* 38 (4) : 784-792.
 66. Smith HW, Tucker JF. 1979. The effect on the virulence and infectivity of *Salmonella typhimurium* and *Salmonella gallinarum* of acquiring antibiotic resistance plasmids from organisms that had caused serious outbreaks of disease. *J Hyg Camb* 83 : 305-317.
 67. 김원용, 장영효, 박경운 등. 1995. 가금에서 분리한 *Salmonella*속 균의 항균물질에 대한 감수성 및 plasmid profile. *대한수의학회지* 35(3) : 537-542.