

유우농장에서 발생한 소바이러스성 백혈병의 병리학적 및 혈청학적 조사

조영숙, 장세군, 추금숙, 최은영, 천희웅, 홍재희*, 임채웅^{*1}

전라북도 축산진흥연구소 익산지소, 전북대학교 생체안전성연구소*
(접수 2005. 12. 10, 게재승인 2006. 3. 14.)

Pathological and serological detection of bovine viral leukosis in a dairy farm in Jeonbuk province

Young-Suk Jo¹, Sae-Gun Jang, Keum-Suk Chu, Eun-Young Choi,
Hee-Woong Chon, Jae-Hee Hong*, Chae Woong Lim^{*1}

Jeonbuk Livestock Development & Research Institute, Iksan, 570-390, Korea

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

(Received 10 December 2005, accepted in revised from 14 March 2006)

Abstract

Bovine viral leukosis is a viral disease of cattle characterized by the development of tumors in the lymphatic tissue. A female Holstein, 3-year-old, was submitted for diagnosis at the Diagnostic Laboratory, Chonbuk National University. Clinical sign of the affected animal showed emaciation, enlargement of superficial lymph node and mild diarrhea. Remarkable lesions were enlargement of many internal lymph nodes. Histopathology revealed excessive neoplastic lymphoid cells characteristic of BVL infection. Subsequently, serums from all cattle were collected and serological examination was done where a 85% seropositive rate was detected using ELISA test. ELISA method showed a comparatively 75% higher detection rate than the agar gel immunodiffusion (AGID) test (85% vs 40%). Serologically positive cattle were variably detected in all ages from under 1 year to over 6 year of age. Hematological examination consistently showed leukocytosis and a differential lymphocytosis of seropositive

¹Corresponding author

phone :+ 82-63-270-3788, Fax :+ 82-63-270-3780

E-mail: lcw@chonbuk.ac.kr

cattle. Detailed comparative pathological and serological data diagnosed the presence of bovine viral leukosis.

Key words : Bovine viral leukosis, Histopathology, Serology, ELISA

서 론

소백혈병 (enzootic bovine leukosis)은 림프구성 망상조직계조직의 이상증식을 주증으로 하는 소의 전신성 혈액 종양성 질병으로 역학 및 임상병리학적 소견에 따라 지방병형과 산발형으로 나뉜다. 지방병형의 경우 3세 이상의 성우에서 RNA virus인 Retrovirus의 소백혈병바이러스 (bovine leukemia virus, BLV)의 감염에 의해 유행성으로 발생하여 성우형이라고도 하며 산발형은 주로 2세 이하의 유약우에서 발생하나 발생원인은 불명확하다. 다시 산발형의 경우는 1세 이하에서 다발하는 송아지형, 흉선을 침해하는 흉선형, 피부를 침해하는 피부형으로 세분된다¹⁻⁴⁾.

소백혈병의 감염경로는 지방병형 (성우형)은 수평전파 (주사침, 우유, 타액, 비루, 분뇨, 분비액, 예방 접종, 흡혈곤충을 매개로 한 경구, 경비 및 피내 경로를 통한 감염우에서 비감염우로의 전파)와 감염된 모우에서 출생한 자우의 수직전파의 경우가 보고된바 있다⁵⁾.

성우형에서는 식욕부진, 체표 림프절 종대, 체중감소, 부종, 비유량감소, 설사, 가시점막 창백, 4위 천공에 의한 복막염시 급사 등 종양 발생 장기에 따라 증상이 다양하며²⁾ 흉선형은 하경부흉선의 종대, 호흡곤란, 경부부종, 식욕부진 등을 나타내나 경과가 지속되면 성우형과 증상이 유사하게 되어진다. 송아지형에서는 식욕부진, 호흡곤란, 체표림프절 종대, 발열, 소화장애, 기립곤란을 보이며 피부형의 경우는 전신피부의 담마진양 변화 후에 회백색 가피 형성 및 탈모로 이행, 자연 소멸된 후 다시 담마진양 결절형성, 피부 비후 및 경부, 구간부, 회음부에 유취, 종양의 증식이 나타나며 차차 성우형의 증상과 유사하게 된다.

이러한 소백혈병 (EBL)의 가장 중요한 특징은 체표림프절의 종대가 심하고 골반강내 림프절의 종대는 직장검사시에 촉진될 수 있을 정도로 종대되어 있다는 것이다.

백혈병으로 인한 피해는 우유와 고기의 생산감소, 병우의 폐사, 면역기능의 저하로 인한 타질환에 대한 감수성의 증대 등이다²⁾. 이와 같은 소백혈병의 진단법으로는 혈액 중 림프구 절대 수치의 증가 및 이상 림프구 수의 증가를 통하여 진단하는 혈액학적 진단법과 면역학적방법으로 면역확산법 (agar gel immunodiffusion test, AGID)과 효소면역법 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)이 상용화 되어 진단에 가장 많이 사용되고 있으며 항원을 검출하는 방법인 유전자진단법 (polymerase chain reaction, PCR)과 배양 림프구에 대한 전자현미경을 이용한 바이러스의 직접관찰 방법이 사용되고 있다^{6,7)}. 현재까지 소백혈병에 대한 유효한 실용적 예방법 및 치료법이 없으며 몇몇 유럽국가 (덴마크, 독일, 네덜란드, 벨기에)의 경우 검사 후 양성우에 대해 도태 처분하는 test and slaughter 정책을 강력히 추진함으로써 실효를 거두고 있다⁸⁾. 미국의 경우 방역 정책의 일환으로 예방약 개발에 주력하고 있으며 국내에서는 가축질병근절대책으로 일환으로 2005년도부터 유우에 대한 백혈병 검진 사업이 실시되어지고 있다. 이번 연구보고는 국내에서 발표된 백혈병 관련 논문이 1968년 이래 젓소를 중심으로 경기지역과 충청지역에서 여러 번 보고된 바 있으나 전북지역에서는 아직까지 보고된바가 없어, 백혈병으로 판정된 환우에 대한 조사와 나머지 동거우 전 두수에 대한 백혈병검사를 실시하여 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료

2005년 3월말 전라북도 군산시에 위치한 소 74두 사육규모의 젖소농장에서 식채 및 식욕부진과 유량감소, 미약한 설사를 주 증상으로 하여 전북대학교 수의과대학 병리학교실에 의뢰된 3살의 젖소 1두와 그 동거우 전두수를 실험대상으로 하였고, 본 연구소에는 대상 환우의 부검과 환우 및 동거우 전두수에 대한 혈청학적 검사를 실시하였다.

채취재료의 처리 및 관찰

환우는 일반적인 생체검사를 실시하고 부검하여 병변으로 의심되는 종괴를 채취하여 포르말린 고정액에 고정시킨 후 조직절편을 만들어서 hematoxylin & eosin (H & E) 염색을 하여 조직소견을 확인하였다. 그리고 환우를 비롯한 동거우들의 혈액을 채혈하여 일반혈액 검사와 혈청을 이용한 AGID와 ELISA를 실시하여 백혈병의 항체 출현빈도를 확인하였다.

조직의 처리

육안적 병소를 중심으로 1×1cm 크기로 절단하여 10% 중성 포르말린 고정액에서 고정하였다. 일반적인 방법을 따라 파라핀 포매한 후 3-5 μm의 두께로 조직절편을 제작하여 H & E 염색을 실시하고 광학현미경으로 관찰하였다.

혈청학적 검사 항목

ELISA : 효소면역법은 HerdChek Anti-BLV test (IDEXX)를 사용하였다. BLV antigen이 코팅되어 있는 plate에 희석(1:25)한 혈청, 음성혈청, 양성혈청을 200 μl씩 분주한 후

20-25℃에서 90분간 정치한 뒤 세척하였고, anti-bovine IgG:HRPO conjugate를 100 μl씩 분주하고 20-25℃에서 30분간 정치한 후 세척하였다. 그 후 TMB substrate 반응액을 100 μl씩 분주 후 15분간 반응시킨 후 100 μl의 stop액을 넣어 반응을 중지시키고 650nm에서 흡광도를 측정하였다.

AGID : 면역확산법실험은 가축질병 표준혈청검사법에 따라 실시하였다. 그 과정을 요약하면 0.2% NaOH, 0.9% H₃BO₃, 7% NaCl로 만들어진 용액에 Noble's agar를 0.7% 되게 혼합한 것을 사용하였으며 90mm 페트리디쉬에 분주한 후 중앙에 1개의 구멍과 주위에 6개의 구멍을 뚫어 사용하는데 well의 구경은 2mm로 well간격은 8mm로 제작하여 사용하였다. 항원은 중앙 well에 주입하고 양성혈청과 가검혈청을 외각 well에 25 μl씩 주입한 후 습윤상자에서 72시간 반응시킨 후 표준항원과 표준양성 혈청간에 띠를 이루고 표준음성 혈청간에는 띠가 형성되지 아니한 상태에서 표준항원과 가검혈청간에 띠를 이루면 양성으로 판정하였다.

결 과

생체검사 소견

환우는 식욕부진으로 인한 전신삭쇄가 심하였으며 미약한 설사, 비유량감소, 가시점막 창백, 안구돌출과 각막에 함몰부위가 다수 있었다. 제 1위 운동은 거의 정지하여 희미하게 운동음을 들을 수 있었으며 체온은 39℃, 심박수는 1분에 110회, 호흡은 1분에 45회로 정상범위보다 약간 높은 것을 알 수 있었다. 또한, 일반적으로 소백혈병의 특징인 체표림프절의 종대가 관찰되어졌다 (Fig 1).

이에 비해 환우와 동거하는 동거우의 경우는 개체별로 약간씩의 차이는 있었으나 환우에서처럼 뚜렷한 임상증상을 나타내는 개체는 확인되지 않았다.



Fig 1. The affected cattle was shown severe emaciation and enlargement of superficial lymph node. (insert)

일반혈액검사 소견

환우는 일반혈액검사상 백혈구 수 특히 림프구의 수가 높은 수치로 나타났고 동거우의 경우는 혈청검사를 통하여 양성으로 판정된

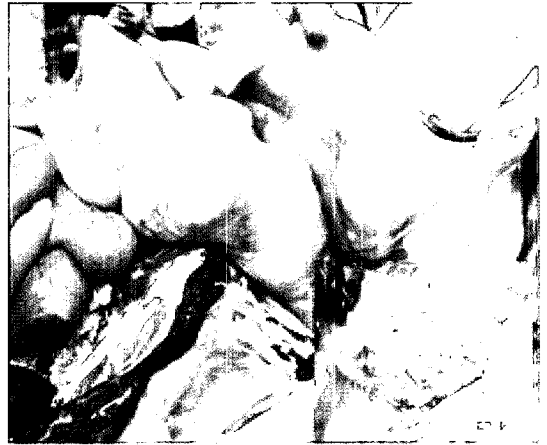


Fig 2. The multiple masses were shown in the abdominal cavity. The lymph node was markedly enlarged and edematous. (insert)

개체가 음성으로 판정된 개체보다 높은 백혈구 수치를 나타내었고 또한 림프구 수치도 높게 나타났으나 일반적인 일반 혈액검사상 소에서 볼 수 있는 평균기준치내에 있는 수치였다 (Table 1). 그 밖의 다른 혈액상의 변화는 음성과 비교하여 크지 않았다.

Table 1. Hematological Findings of the Patient and BLV antibody-positive dairy cattle

Blood cell	Patient results(%)	ELISA	
		Positive	Negative
WBC (K/ μ l)	50.38	9.9	7.0
LY (K/ μ l)	26.16 (51.93)	5.3	3.1
RBC (K/ μ l)	5.94	1.5	1.3
PLT (K/ μ l)	272	182	208

* Normal range : WBC(K/ μ l) 4.0-12.0, LY(K/ μ l) 2.5-7.5, RBC(K/ μ l) 5.1-10.0, PLT(K/ μ l) 200-800

병리학적 검사 소견

환우의 부검시 다른 장기의 이상병변은 관찰되어지지 않았으나 반면에 복강내 장간막에 있는 장간막림프절 종대와 충혈을 볼 수 있었고 복막염증상으로 복강내 다량의 액체가 저류되어 있었으며 흉강에도 흉수가 관찰되었다. 장간막

에서 관찰된 종대 림프절은 크기의 차이는 있었으나 장간막 전체에 다수로 관찰되었고 종대된 림프절은 크게 돌출되어 약간의 회색빛이 도는 흰색의 림프절 형태로 림프절을 절개해보면 우유빛을 띠는 액체가 유출되어 있었다 (Fig 2).

혈청학적 검사 소견

환우의 경우는 면역확산법과 효소면역법을 이용한 검사에서 모두 양성을 나타내었으며 동거우의 경우 73두중 면역확산법에서는 29두만이 양성으로 나타났으나, 효소면역법에서는 62두가 양성으로 나타나 면역확산법에 비해 높은 양성율을 보였다(Table 2).

또한 면역확산법에서 음성으로 확인되었던 44두의 경우 효소면역법을 이용하여 실험한 결과 33두가 양성으로 나타나 면역확산법에 비해 효소면역법이 진단에 민감성이 높은 것으로 나타났다. 양성으로 판정된 젖소의 경우 연령별 발생양상을 보면 면역확산법이나 효소면역법에서 유사하게 연령이 증가함에 따라 양성율이 증가하는 뚜렷한 모습은 관찰할

수 없었으나 2세 이상부터는 그 이하의 연령에서의 발생율보다 높은 양성율을 나타내고 있음을 확인할 수 있었다(Table 3).

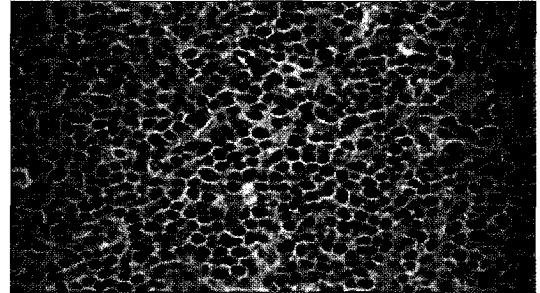


Fig 3. Some nuclei are sharply indented, and chromatin is characteristically densely stained. Nucleoli are inapparent in most cells.

Table 2. Relationship between the results of the ELISA and immunodiffusion test of 73 dairy cattle

Immunodiffusion test	No. of reactor	ELISA (%)	
		Positive	Negative
Positive	29	29 (100.0)	0 (0.0)
Negative	44	33 (75.0)	11 (25.0)
Total	73	62 (84.9)	11(15.1)

Table 3. Prevalence of BLV antibody-positive dairy cattle according to age

Age in years	No. of sera tested	ID (%)	ELISA (%)
<1	21	5 (24.0)	15 (71.0)
2	15	8 (53.0)	13 (87.0)
3	8	4 (50.0)	7 (88.0)
4	5	2 (40.0)	5 (100.0)
5	15	5 (33.0)	14 (93.0)
>6	9	5 (56.0)	8 (89.0)
Total	73	29 (40.0)	62 (85.0)

조직학적 검사 소견

환우의 부검 시 발견된 종괴를 조직 처리하여 관찰한 결과 몇몇 일부 림프구는 정상 림프구에 비하여 세포질이 풍부하였고, 핵은 염색질의 특이적인 진한 염색 상으로 인해

농염되어 나타났고, 핵소체가 불분명하고 분명하고 불규칙적으로 관찰되어 핵이 마치 균열 되어진 것처럼 보이고 어떤 경우는 핵이 날카롭고 울퉁불퉁한 모양을 나타내는 경우도 있었다(Fig 3). 이러한 종괴들은 서로 밀집된 형태로 넓게 분포하여 미만성 림프종(diffuse lymphoma)의 특징을 나타내었다.

고 찰

소백혈병은 1876년 독일의 Schiedam-grotzky에 의해 최초로 보고되었으며 우리나라에서의 백혈병에 대한 조사 연구로는 1968년에 손과 김⁹⁾이 미국, 캐나다 및 일본에서 수입한 젖소에 대해 혈액학적 검사를 수행하여 조사우의 1.3-2.9%가 양성이었음을 처음 보고하였다. 그 뒤 1972년 정 등¹⁰⁾이 서울 근교에서 폐사한 1예의 유우가 병리조직학적으로 백혈병으로 진단되었음을 보고한 바 있으며, 1982년에는 Jun 등³⁾이 전국의 젖소를 대상으로 혈액학적 및 면역확산법에 의한 혈청학적 검사기법을 응용하여 역학조사를 실시한 결과 소백혈병 항체 양성률은 20-30%로 보고하였으며 지역적으로는 경기 및 충청지역이 높았다고 보고하였다.

그리고 경북에서는 Choi¹¹⁾, Lee 등¹²⁾ 및 박과 최¹³⁾ 등이 한우와 유우, 유약우에 있어서 지방유행성 백혈병을 보고하였으며 Lim과 Kim⁸⁾은 경기서부지역에서 백혈병의 양성항체를 조사하였다. 또한 김 등^{5,14)}은 한 농장에서 소 백혈병이 수평 또는 수직으로 전파되는 역학적 동태를 혈액학적검사와 병행하여 면역확산법에 의한 혈청학적 검사법으로 조사한 결과 두 방법간에는 높은 상관관계가 있으며 소백혈병이 수직 전파됨을 확인하여 본 병에 대한 역학조사가 이루어진 바 있고, 1992년 최 등¹⁵⁾에 의해 충북에서 소백혈병을 검사한 결과 15%가 항체 양성인 것으로 확인되어 보고된 바 있다. 이에 비해 전북지역에서는 처음으로 유우에서 백혈병으로 진단되었으며, 본 연구에서 환우는 임상적으로 확인한 소화기증상과 내장림프절종대가 확인되었다. 또한 일반혈액검사결과 고도의 백혈구수 증가와 림프구수의 증가가 나타났으며, 혈청을 이용한 면역진단법에서도 소백혈병 바이러스 항원에 특이적으로 반응하는 항체가 확인되어 본 환우는 지방병형(성우형) 소백혈병으로 진단할 수 있었다. 그리고 동거우의 경우 면역진단법에서 면역확산법과

효소면역법을 이용하여 항체를 확인하였는데 면역확산법의 경우 29(40%)두가 양성으로 확인되었고 효소면역법의 경우는 양성이 62(85%)두로 확인되어 효소면역법이 면역확산법보다 진단에 더욱 민감성이 높은 것을 알 수 있었으며⁷⁾ 한 농가에서 양성으로 확인된 개체가 80%이상 다수 존재하는 결과가 나온 것은 시사하는 점이 매우 많다고 할 수 있다.

소백혈병의 경우 증상이 다양하게 나타나는데 본 환우의 경우 환우는 식욕부진으로 인한 전신쇠약이 심하였으며 미약한 설사, 비유량감소, 가지점막창백, 안구돌출과 각막에 함몰부위가 다수 관찰되었으며 제 1위 운동은 거의 정지하여 희미하게 운동음을 들을 수 있었고 체온은 39℃, 심박수는 1분에 110회, 호흡은 1분에 45회로 정상범위보다 약간 높은 것을 알 수 있었다. 또한, 일반적으로 소백혈병의 특징인 체표림프절의 종대가 관찰되어 이것은 소백혈병의 특징적인 소견중에 하나이며 복강내 종괴의 림프구 조직염색소견에서도 특이적인 염색상을 확인할 수 있었다.

혈액내의 백혈구, 특히 림프구의 증가는 소백혈병 발병시 반드시 나타나는 것은 아니지만, 오랫동안 소백혈병의 보조적진단법으로 많이 사용되어져 왔고 본 환우의 경우도 고도의 백혈구, 림프구의 증가가 확인되었다. 함께 검사한 동거우의 경우 혈청검사에서 양성인 개체는 환우의 경우에서처럼 백혈구와 림프구의 수치가 고도로 증가하지는 않았으나 음성인 개체와 비교해서는 높은 수치를 나타내었다.

현재 소백혈병 바이러스가 PCR을 비롯한 여러 가지 진단법을 이용해 증명되고 있으나 이것은 지방병형(성우형)에서만 국한되며 산발형에 속하는 경우에는 검출되지 않는다. 또한 불현성 감염우에서는 항체나 바이러스가 어떠한 임상적 증상없이도 검출되어질 수 있다는 점을 고려할 때 소백혈병의 임상진단에서는 혈액소견 또는 조직학적소견을 비롯한

면역진단법등을 종합하여 진단되어야 할 것으로 생각되어진다.

소백혈병의 경우 아직도 불명확한 점이 많아서 예방 또는 치료방법이 없는 치명적인 질병이다. 유럽의 경우 백혈병을 근절하기 위해 test and slaughter 정책, 감염우의 격리, 이동 금지 등을 실시하고 있으나 많은 노력과 보상지급 등이 현실적으로 어려운 것이 사실이다. 현재 소백혈병은 국제수역사무국에서 정한 축산업에 문제되는 전염병 즉 List B에 속하며, 우리나라에서 소백혈병은 제2종 법정 가축전염병으로 지정되어 국가 관리대상 질병으로 감염된 소는 현행 축산물가공처리법에 따라 도축 및 집유가 금지되어있고 또한 본 환우의 동거우 예에서도 알 수 있듯이 환우의 형태로 발견되어지는 경우보다 불현성감염의 형태로 존재하는 것이 많아 소백혈병에 감염된 소의 확인이 어렵고 그러므로 방역도 어려운 실정이다. 이러한 이유로 미루어보아 앞으로 소백혈병의 방역과 공중위생을 위하여 좀 더 많은 역학적 조사와 기초연구를 실시하여야 할 것이다.

결 론

소바이러스성백혈병은 림프조직의 종양성 증식을 특징으로 하는 질병으로 전라북도 군산시 성산면의 한 농장에서 환우 1두가 진단의뢰되었다. 환우는 생체검사에서 삭쇄를 나타내었고 미약한 설사와 체표림프절의 종대를 확인할 수 있었다. 부검시 내장림프절의 종대가 특징적으로 확인되었으며 조직병리학적인 검사에서는 소백혈병의 특징인 종양성 림프세포가 다수 관찰되었다. 환우와 동거우의 혈청을 이용한 ELISA검사결과 85%의 높은 수치가 양성으로 나타났고 AGID를 이용한 혈청검사에서는 40%의 양성율을 나타내어 ELISA법이 AGID에 비해 진단율이 높은 것으로 확인되었다. 혈청검사에서 양성우는 1세 미만에서 6세 이상에 걸쳐 다양하게 분포하고 있었고, 혈액검사결과 백혈구증가증과

특이한 림프구증가증을 보였다. 이처럼 병리학적인 진단과 혈액학적 검사를 통하여 소바이러스성 백혈병을 진단할 수 있었다.

참 고 문 헌

1. Timoney JF, Gillespie JH, Scott FW, et al. 1988. Enzootic bovine leukosis. In: *Hagan and Burnner's Microbiology and Infectious Disease of Domestic animals*. Comstock Pub Ass London: 867-870.
2. 전무형. 1980. 소백혈병. 한국수의공중보건학회지 4(1): 31-39.
3. Jun MH, Chung UI, Lee CK et al. 1982. Seroepizootiological study on bovine leukosis in Korea. *Korean J Vet Res* 22(2): 175-185.
4. Burney A, Burk C, Chantrene H, et al. 1980. Bovine leukemia virus: Molecular biology and epidemiology. In *viral Oncology*, Klein G Ed, Raven Press, NY. 1980.
5. 김찬주, 손제영, 고기환. 1990. 축우의 유행형(지방병성) 백혈병에 관한 연구 II. 한 유우군에서 출생한 송아지에 대한 우백혈병 바이러스 항체검사. *대한수의학회지* 30(3): 333-341.
6. Shim HS, Kook JH, Hwang YO, et al. 1998. Seroepizootiological survey on bovine leukosis of dairy cattle in Kyunggi province. *Korean J Vet Serv* 21(3): 255-260.
7. De Giuseppe A, Feliziani F, Rutili D, et al. 2004. Expression of bovine leukemia virus envelope glycoprotein (gp51) by recombinant baculovirus and its use in an enzyme-linked immunosorbent assay. *Clin Diagn Lab Immunol* 11(1): 147-151.
8. Lim CS, Kim TJ. 1992. A study on

- positive rate of antibodies against bovine leukosis virus of the dairy cattle in Western Kyeonggi area. *J Anim Sci Tech* 17 : 79-85.
9. 손제영, 김교준. 1968. Bovine Lympho-sarcoma(Enzootic Bovine Leukosis)에 관한 연구. Bovine Lymphosarcoma에 관한 대구 및 충남지역 유우군에 대한 혈액학적조사. *대한수의학회지* 8(1) : 31-38.
 10. 정운익, 정병택, 권영방 등. 1972. 유우 백혈병의 발생예보고. *대한수의학회지* 12(2) : 202.
 11. Choi WP. 1982. Survey for anti-body to bovine leukemia virus and Korean native cattle. *Korean J Vet Res* 22(1) : 23-26.
 12. Lee HB, Choi WP, Lee KW. 1982. A field case of bovine viral leukosis in young cattle. *Korean J Vet Res* 22(1) : 63-66.
 13. 박노찬, 최원필. 1986. 유우 백혈병바이러스에 대한 혈청항체 조사. *대한수의학회지* 26(1) : 61-68.
 14. 김찬주, 손제영, 고기환. 1990. 축우의 유행형(지방병성) 백혈병에 관한 연구 I. 한 유우군의 우백혈병 바이러스 항체와 혈중 임과구의 변동에 관하여. *대한수의학회지* 30(3) : 333-341.
 15. 최해연, 정운선, 유기조 등. 1992. 충청북도 소백혈병 항체 조사 연구. *대한수의학회지* 15(1) : 51-57.