

육계에서 아데노바이러스, 전염성빈혈 및 뉴캐슬병 복합감염 증례

추금숙* · 강미선 · 임상현 · 이정원

전라북도축산위생연구소 정읍지소

(접수 2010. 1. 10, 게재승인 2010. 3. 20)

Coinfected cases with adenovirus, chicken infectious anemia virus and Newcastle disease in broiler chickens

Keum-Suk Chu*, Mi-Seon Kang, Sang-Hyun Rim, Jeong-Won Lee

Jeongeup-Branch, Jeonbuk Institute of Livestock & Veterinary Research, Jeongeup 580-814, Korea

(Received 10 January 2010, accepted in revised from 20 March 2010)

Abstract

There are several immunosuppressive viral diseases in chickens such as avian adenovirus (AAV), chicken anemia virus (CAV), infectious bursal disease (IBD) and Marek's disease (MD). In this study, we have investigated two broiler chicken farms suffered from high mortality in Jeonbuk in July to August 2009. Clinically high fever and growth retardation were observed in the diseased chicken. In necropsy, the hemorrhages in thigh leg and thymus, hemorrhages and enlargement of liver, kidney and proventriculus, and yellowish fluid in heart were seen. Histologically, necrotic foci and basophilic intranuclear inclusion bodies of hepatocytes, hemorrhages and infiltrated lymphocytes in kidney and proventriculus were observed. By using polymerase chain reaction (PCR), the genes of avian adenovirus, CAV and ND virus were detected in specimens. We suggested that these coinfection cases with high mortality were due to primarily infection of immunosuppressive diseases such as avian adenovirus, CAV, followed by secondary infection of Newcastle disease (ND) virus.

Key words : Avian adenovirus, Chicken anemia virus, Newcastle disease, PCR

서 론

최근 국내 양계산업은 사육시설의 자동화된 대규모 사육 관리와 규격화된 백신프로그램에 의한 체계적인 관리가 이루어지고 있으며, 특히 육계 사육은 무항생제 및 HACCP 인증제도 도입과 사육시설 현대화로 인한 사육환경의 개선이 빠르게 변화되고 있다. 그러나

사육 규모가 커짐에 따라 질병 발생시 높은 폐사율로 농가의 경제적 피해 규모가 크며, 단일 감염보다 복합 감염의 발생 증가와 질병의 다양화로 신속한 원인 규명과 방역대책의 수립의 중요성이 강조되고 있다. 이러한 복잡화된 질병 발생은 사육환경이 개선되었음에도 증가하고 있어 면역 억제성 질병과 연관이 있는 것으로 사료된다. 닭에서 면역력 저하를 유발하는 것으로 알려진 질병으로는 infectious bursal disease virus (IBDV), adenovirus 관련 봉입체간염(inclusion body

* Corresponding author: Keum-Suk Chu, Tel. +82-63-290-6540,
Fax. +82-63-290-6568, E-mail. chuks1103@korea.kr

hepatitis, IBH)과 심낭수종증후군(hydropericardium syndrome, HPS) 및 닭 전염성 빈혈(chicken anemia virus, CAV), 마렉병(Marek's disease, MD) 등이 최근 농가에서 문제되고 있으나 질병 발생시 방역 및 예방 대책에 관한 자료는 미비한 실정이다.

조류에서 adenovirus는 I, II, III group으로 분류되며 group I의 genotype은 A-E, serotype은 12종으로 분류되고 다형태성으로 외피가 없는 70~90nm의 이중구조 DNA 바이러스이며 IBH를 일으키는 혈청형은 다양하고 주로 3~7주령에 다발하여 10~30%의 폐사율, 원기 소실, 침울 및 우모역립 등의 임상증상과 간의 종대, 점상 및 반상출혈, 조직소견에서 간세포내 핵내봉입체를 특징으로 한다(Saif 등, 2003). HPS는 주로 serotype 4형이며 폐사율이 20~80%로 IBH보다 높고 발생 일령 또한 다양하고 심낭에 수종을 일으키며 특히 면역반응을 억제하는 CAV 및 IBD 등 초기 감염시 질병발생이 높은 것으로 알려져 있다(Saif 등, 2003; Anjum 등, 1989; Charlton과 Bickford, 1995; Hess, 2000; Balamurugan과 Kataria, 2006; Cowen, 1992).

닭 전염성 빈혈(chicken anemia virus, CAV)은 *Circoviridae*의 Gyrovirus로 envelope가 없는 25~26.5nm이고 바이러스의 particle에 따라 type I, II로 분류된다(Saif 등, 2003). CAV는 수직 및 수평감염이 가능하며 수평감염시 감염 5~7주 후에 분변으로 바이러스가 다량 배출되어 경구 및 호흡기를 통하여 이루어지고, 부화란이나 인공수정 및 수탉을 통하여도 수평전파가 이루어진다(Saif 등, 2003). CAV 감염시 빈혈은 14~16일령에 hematocrit가 6~27%로 감소되고 침울, 창백 증상과 어린 일령에서는 빈혈과 흉선, 골수, F낭의 위축으로 인한 면역억제 및 다리와 가슴근육에 출혈, 날개의 괴사 등을 나타낸다(Saif 등, 2003; Goryo 등, 1985). 실험적으로 10~20일령에 성장부진과 12~28일령에는 폐사가 발생하나 폐사율은 30%를 넘지 않고 20~28일령에 회복되면 침울 증상이 사라지나 이차 세균 및 바이러스 감염시 폐사율은 증가하고, 또한 CAV는 면역을 억제하는 질병인 MDV, reticuloendotheliosis virus (REV), IBDV, reovirus 및 cryptosporidiosis와 중복 감염시에도 CAV의 병원성은 증가하는 것으로 보고되었다(Saif 등, 2003).

Newcastle disease (ND)는 전국적으로 고병원성조류 인플루엔자가 발생했던 2006년 16건, 2008년 30건, 2009년 4건이 발생되었는데 이 중 3건이 전북 정읍에서 발생되었다. 국내에서는 일반적으로 장친화성 강독

형이 주로 발생하는 것으로 알려졌으며 전파속도가 빠르고 폐사율이 90%에 달하는 급성질병이다. 또한 사람에서는 오한, 두통, 발열 및 결막염 등을 일으키는 것으로 알려져 있다(Saif 등, 2003).

ND 원인체는 *Paramyxoviridae*과의 *Avulavirus*에 속하는 RNA 바이러스이며 가끔에서 *Paramyxovirus*는 9종의 혈청형으로 구분되고, NDV는 APMV-1에 속하며 APMV-2, APMV-3, APMV-6, APMV-7형 등은 조류에서 질병을 유발하는지는 정확히 알려져 있지 않다(Saif 등, 2003; Alexander, 2000). NDV의 genome 크기는 15kb로 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 있다(Saif 등, 2003). ND는 임상증상에 따라 장친화성 강독형(visceroecrotic velogenic form, VVND), 신경친화성 강독형(neuroecrotic velogenic form, NVND), 중간독형(mesogenic form), 약독형(lentogenic form), 무증상 장관형(asymptomatic enteric form) 등 5종으로 분류하고 있으나 이러한 병원성의 구분은 감염개체에 따라 명확하게 구분하기 어려운 경우가 많다(Alexander, 2000; Saif 등, 2003).

최근 양계질병 발생 동향을 보면 adenovirus의 IBH, HPS 및 CAV 등 감염 후 2차적으로 세균이나 다른 바이러스질병으로 양계농가에 많은 경제적 피해를 주고 있다. 본 증례는 육계사육 농가에서 adenovirus, CAV 및 ND가 복합감염으로 진단되어 보고하고자 한다.

증 례

2009년 7~8월 전북정읍 소재 A농장 삼계 26일령과 B농장 육계 23일령의 가검물이 의뢰되었다. A농장은 57,000수 규모의 철골계사로 4동에서 사육되고 축주의 품고에 의하면 입추시부터 지속적으로 1,000여수의 폐사가 발생하여 5일령에 항생제 엔노제를 투여하였다. ND 백신은 1일령에 부화장에서 분무, 14일령에 에비뉴를 음수 백신 후 17일령에 폐사가 증가하기 시작하여 18일령에 플로로페니콜제 및 스트레스 해소제를 투여하였으나 20일령 1일 폐사가 800여수로 증가하여 병성감정을 의뢰하였으며, 25~26일령에 폐사가 다시

증가하여 재검사를 의뢰하였다.

B농장은 30,000수 규모의 철골계사로 4동에서 사육되고 입추초기 폐사가 발생하여 축주가 대장균증으로 판단 2~5일령에 엔노제를 사용하였고, 10일령에 감보로 백신 후 13일령에 1일 100~150여수의 폐사가 발생하기 시작하였으며, ND 백신은 1일령에 부화장에서 분무, 15일령에 음수백신을 실시한 후 폐사가 1일 300~350여수 증가하고 성장부진으로 인한 층아리 현상이 심하였으며 25일령에 1일 폐사가 800여수로 증가하여 병성감정을 재 의뢰되었다.

임상증상 및 부검소견

가검물이 의뢰된 A, B 농장은 입추시부터 약추 발생과 발육불량으로 약추의 지속적인 도태 및 폐사가 이루어졌으며 15일령에 폐사가 약간 증가하여 임상수의사에 의해 일부 개체에서 심낭수종이 확인되어 봉입체 감염으로 진단하였다. 그러나 폐사가 꾸준하게 발생하다 갑자기 1일 800여수로 증가하고 성장 불균형도 심각하여 입추초기 폐사를 제외하고 사육수수의 약 30% 이상의 폐사가 4~5일에 발생하였다.

의뢰된 가검물은 심한 발열과 층아리를 동반하였으며 부검소견에서 다리 근육에 출혈, 심낭에 젤리양 액체 저류 및 심근의 지방변색, 간의 종대 및 창백과 점상출혈, 신장종대 및 충출혈, 선위 및 맹장 편도 충출

혈, 흉선종대 및 충출혈이 관찰되었다(Fig. 1).

병리조직 검사결과

병변이 관찰된 조직을 10% 완충포르말린에 고정하고 일반적인 조직 처리과정을 거쳐 파라핀에 포매한 후 5µm의 조직절편을 만들고, H&E 염색하여 광학 현미경으로 관찰한 결과 간세포의 심한 다발성 괴사, 충출혈 및 핵내 봉입체, 신장의 출혈과 사구체내 림프구 침윤, 선위 출혈과 림프구의 침윤이 관찰되었다(Fig. 2).

PCR 검사소견

부검 후 실질장기(간장, 비장, 신장 및 폐 등)를 균질화시킨 후 5% PBS 부유액을 원심분리하여 상층액을 -70°C에 보존하였고, viral gene spin viral DNA/RNA extraction kit (iNtRON)를 이용하여 추출하였다. 검사 방법은 수의과학검역원 동물질병표준검사법에 따라 실시하였고 HPS와 CAV는 추출한 nucleotides 3µl와 각 primer 1µl (10pmol)를 PCR premix (Maxime PCR Premix, iNtRON)에 첨가하여 HPS는 94°C에서 2분, 94°C에 30초 62°C에 30초 및 72°C에 30초씩 35회 반복 반응시킨 후 최종 72°C에서 10분간 반응시켰고 CIA는 94°C에서 5분, 94°C에 1분 50°C에 1분 및 72°C에 2분씩 35회 반복 반응시킨 후 최종 72°C에서 10분 반응시

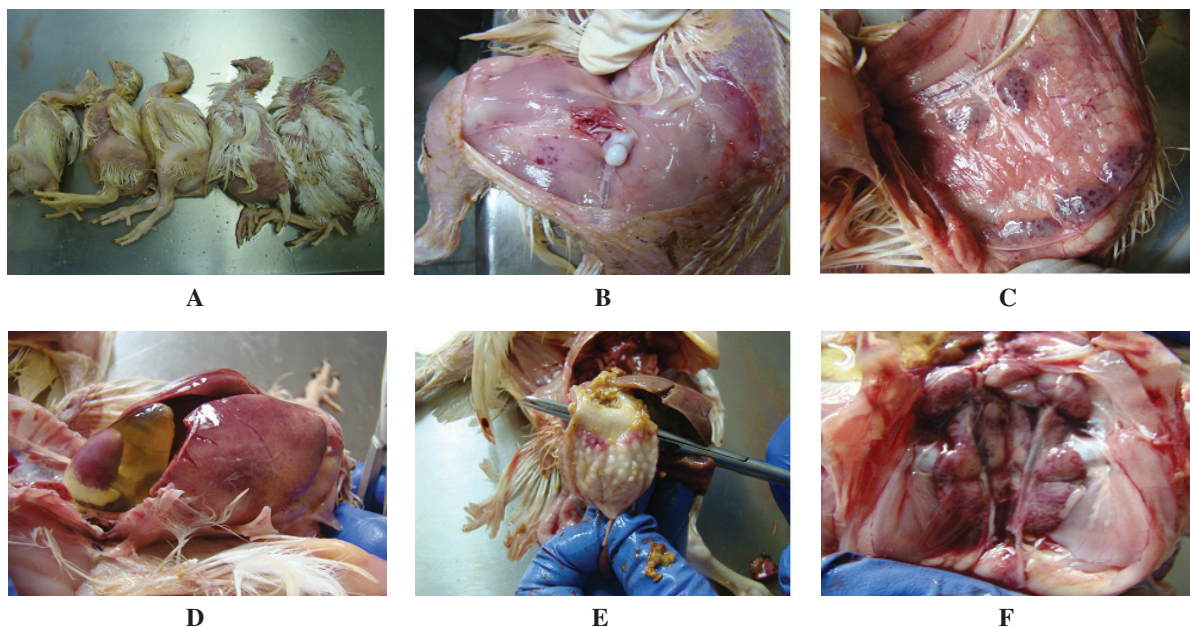


Fig. 1. Growth was retarded in broiler chickens (A), Hemorrhagic in thigh leg (B), Enlarged and hemorrhage in thymus (C), An infected enlarged liver and heart with yellowish pericardial fluid (D), Hemorrhage in proventriculus (E), Kidney is enlarged and hemorrhage (F).

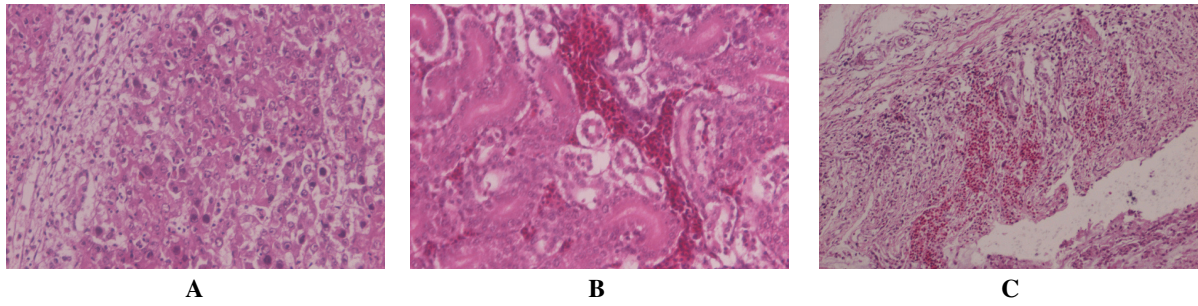


Fig. 2. Liver with necrosis and intranuclear inclusion bodies of hepatocyte (A), Hemorrhages in kidney (B), Hemorrhages and infiltrated lymphocytes in proventriculus (C).

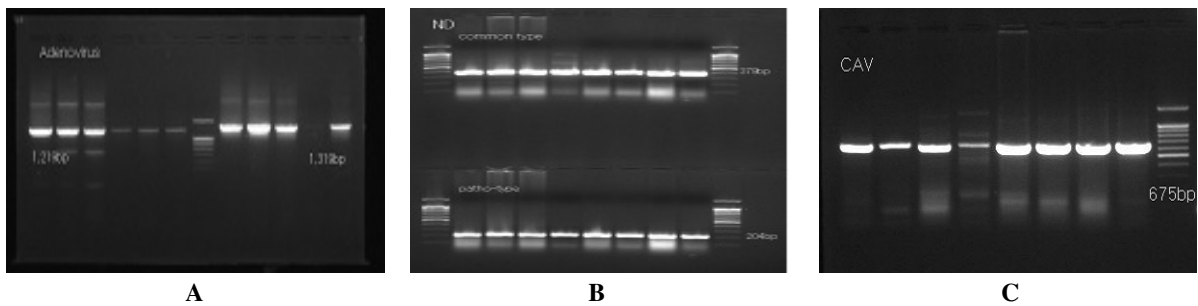


Fig. 3. Agarose gel after electrophoresis of the amplified products of PCR.

켰다. ND는 NDV-master kit(common type, pathotype)를 사용하여 45°C에 30분, 94°C에서 5분 반응하고, 94°C에 20초, 50°C에 30초 및 72°C에 30초씩 40회 반복 반응시킨 후 최종 72°C에서 5분 반응하였다.

PCR 완료 후 반응액 6 μ l와 loading dye 1 μ l를 1.5% agarose gel (ethidium bromide 0.5 μ g/ml in DW)에 100bp DNA marker와 함께 1 \times TAE buffer가 함유된 전기영동 tank에 gel을 침적시킨 후 100V/cm, 50분간 (Owl Easy Cast Minigel system) 전기영동을 실시하여 자외선 하에서 특이 band 증폭 유무를 확인한 결과 아데노바이러스, 닭전염성빈혈 바이러스, 뉴캐슬 병원성 주의 특이 밴드가 확인되었다(Fig. 3).

고 찰

최근 닭 아데노바이러스로 인한 심낭수종증후군 (HPS)과 봉입체간염(IBH)이 다발하는 추세이며 이중 HPS는 농장에서 부검시 육안병변 소견이 뚜렷하여 축주 및 동물약품 취급자 등에 의해 쉽게 진단하고 처방되는 경우가 많으나 대부분 단일감염보다는 복합감염

에 의한 피해 농가가 증가하고 있으므로 주의가 필요하다. 특히 입추 초기 약추의 도태와 폐사, 20일령 전후의 개체별 성장부진으로 인한 층아리 현상, HPS 발생 후 2차 세균감염과 CAV 혼합감염시 출하 일령까지 폐사가 줄지 않고 지속적으로 이어져 농가에 커다란 경제적 손실을 초래한다. 전북지역에서 2007년 닭 질병 중 바이러스성 질병으로 진단된 64건 중 25건이 봉입체간염으로 39.0%, 2008년 58건 중 36건으로 62.1%, 2009년 147건 중 85건으로 57.8%로 나타나 아데노바이러스로 인한 봉입체간염 발생이 증가하고 있는 추세이다. 그러나 최근 봉입체간염은 심낭수종과 간종대 및 출혈을 동반하여 아데노바이러스 serotype 4가 관계가 있는 것으로 사료되며 CAV 및 IBH의 복합감염 후 2차 대장균감염증으로 인한 폐사를 고려할 때 육계 및 토종닭농가의 피해가 많을 것으로 추측된다. 이와 같이 HPS는 육안 부검소견으로 쉽게 진단되기 때문에 정밀진단을 실시하지 않을 경우 타 질병과의 복합감염에 대한 대책이 소홀하게 취급될 수 있으며 높은 폐사율로 무조건 봉입체간염으로 오인하는 경우도 발생 할 수 있다. 또한 입추시부터 약추와 층아리로 인한 도태수의 증가로 백신을 적기에 접종하지 못하여 ND 등의

질병유입 기회가 증가하여 이에 따른 사양관리가 더욱 요구되고 있지만 뚜렷한 방역대책을 제시할 수 없어 안타까울 따름이다. 증례의 A, B농가도 1차적인 원인이 아데노바이러스 및 CAV인지는 불분명하지만 복합감염 후 2차적으로 ND 감염이 이루어진 것으로 추정되며 아데노바이러스의 경우 ND가 끝나는 시점까지 지속되어 더 많은 폐사를 동반한 것으로 사료된다.

국내에서 닭 adenovirus의 항체가는 이 등(1979)의 보고에 의하면 도계장 21.5%, 산란계 13.5%, 도계장에서 분리된 16주 중 serotype 1이 12주, serotype 2가 1주, serotype 4가 2주로 동정되었으며 1주는 동정하지 못하였다. 이 등(2007)은 육계에서 IBH 및 IBD 감염 사례를 통하여 양계농가의 피해 상황을 보고하였고, 추 등(2007)에 의해 심낭수종증후군을 보고하였다. 또한 박(2009)은 IBH를 일으키는 혈청형은 serotype 2, 12형, CAV의 항체양성율은 20주령 이상의 계군에서 95%, 종계군에서 69%라고 보고하였다. Miles 등(2001), Toro 등(2000, 2009)은 면역억제와 관련된 CAV, HPS, IBD 등의 상관관계와 유발요인에 대한 연구 보고가 있었지만 국내에서는 이러한 질병의 상관관계와 피해상황, 혈청형에 대한 연구 및 다른 질병과의 복합감염 등에 대한 조사가 부족하여 앞으로 이에 대한 활발한 연구를 통하여 농가 방역지도를 위한 지침이 필요하리라 본다.

2009년부터 실시하는 가금질병모니터링 사업을 시점으로 전반적인 방역 대책의 수립과 종계에서 수직감염되는 질병에 대한 예방접종과 차단할 수 있는 기틀을 마련했으면 한다. 또한 육계농가에서는 바이러스성 면역저하 질병 발생시 철저한 올인 올아웃과 계분 및 계사에 대한 소독이 중요하며 원종계 및 종계농장의 위생 및 방역을 강화하여 난계대 질병의 원발지를 차단함으로써 육계사육 농가에 대한 피해를 최소화 할 수 있을 것으로 사료된다.

결 론

2009년 7~8월 전북 정읍지역 양계농장에서 심한 발열 및 충아리를 동반한 폐사가 발생되어 병성감정 결과 부검소견은 다리근육 출혈, 심낭 젤리양 액체 저류 및 심근 지방 변색, 간 종대 및 점상출혈, 신장종대 및 충출혈, 선위 및 맹장편도 충출혈, 흉선 종대 및 충출혈이 관찰되었다. 조직소견에서는 간세포의 심한 다발성

괴사, 충출혈 및 핵내 봉입체, 신장의 출혈과 사구체내 림프구 침윤, 선위 출혈과 림프구의 침윤이 관찰되었고 PCR 검사결과 아데노바이러스, 닭전염성 빈혈 바이러스 및 뉴캐슬병바이러스 유전자 양성으로 확인되었다. 본 증례에서는 면역력을 저하시키는 질병의 복합감염과 2차적으로 뉴캐슬병이 감염되어 출하전까지 높은 폐사율을 나타내 농가에 경제적 피해가 크게 발생한 증례이다.

참 고 문 헌

- 박경윤. 2009. 육계에서 발생한 닭 아데노바이러스 감염증과 닭전염성빈혈 비교. 양계연구 229: 76-79.
- 이영옥, 유병문, 김순복, 김순재, 박근식, 김선중. 1979. 우리나라 계군의 닭 Adenovirus 감염상황. 농시보고 21: 45-50.
- 이지영, 권미순, 추금숙, 조현웅, 이정원, 서재식, 송희중. 2007. 육계에서 봉입체성간염 및 전염성F낭병 발생 증례. 한국가축위생학회지 30(3): 321-327.
- 추금숙, 이정원, 송희중. 2007. Avian adenovirus 관련 심낭수종-봉입체간염 증후군 진단에 관한 연구. 한국가축위생학회지 30(3): 313-319.
- Alexander DJ. 2000. Newcastle disease and other avian paramyxoviruses. *Rev Sci Tech* 19(2): 443-462.
- Anjum AD, Sabri MA, Iqbal Z. 1989. Hydropericarditis syndrome in broiler chickens in Pakistan. *Vet Rec* 124 (10): 247-248.
- Balamurugan V, Kataria JM. 2006. Economically important non-oncogenic immunosuppressive viral diseases of chicken-current status. *Vet Res Commun* 30(5): 541-566.
- Charlton BR, Bickford AA. 1995. Gross and histologic lesions of adenovirus group I in guinea fowl. *J Vet Diagn Invest* 7(4): 552-554.
- Cowen BS. 1992. Inclusion body hepatitis-anaemia and hydropericardium syndromes: etiology and control. *World's Poultry Sci J* 48(3): 247-254.
- Goryo M, Sugimura H, Matsumoto S, Umemura T, Itakura C. 1985. Isolation of an agent inducing chicken anaemia. *Avian Pathol* 14(4): 483-496.
- Hess M. 2000. Detection and differentiation of avian adenoviruses: a review. *Avian Pathol* 29(3): 195-206.
- Miles AM, Reddy SM, Morgan RW. 2001. Coinfection of specific-pathogen-free chickens with Marek's disease virus (MDV) and chicken infectious anemia virus: effect of MDV pathotype. *Avian Dis* 45(1): 9-18.
- Saif YM, Barnes HJ, Glisson JR, Fadly AM, McDougald LA, Swayne DE. 2003. Diseases of poultry, 11th ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa: 63-87, 181-202, 213-227.

Toro H, van Santen VL, Hoerr FJ, Breedlove C. 2009. Effects of chicken anemia virus and infectious bursal disease virus in commercial chickens. *Avian Dis* 53(1): 94-102.

Toro H, Gonzalez C, Cerda L, Hess M, Reyes E, Geissea C. 2000. Chicken anemia virus and fowl adenoviruses: association to induce the inclusion body hepatitis/hydropericardium syndrome. *Avian Dis* 44(1): 51-58.