

닭 전염성빈혈 감염률 및 유전자 분석

추금숙* · 강미선 · 송희종¹ · 이정원

전라북도축산위생연구소 정읍지소, ¹전북대학교 수의과대학

(접수 2010. 2. 10, 게재승인 2010. 3. 21)

Investigation of infection rate and genetic sequence analysis of chicken infectious anemia virus

Keum-Suk Chu*, Mi-Seon Kang, Hee-Jong Song¹, Jeong-Won Lee

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

¹College of Veterinary Medicine and Korea Zoonoses Research Institute,

Chonbuk National University, Jeonju 561-756, Korea

(Received 10 February 2010, accepted in revised from 21 March 2010)

Abstract

Chicken anemia virus (CAV) has been recognized as an immunosuppressive agent and plays role as an etiological agent of multifactorial diseases in chicken. In this study, we investigated distribution of CAV antibody by ELISA and the virus gene by PCR in poultry farms in Jeongeup, Jeonbuk province. In the test using ELISA kit, 41 (95.3%) of 43 flocks and 88.6% of the individual chickens were positive, respectively. By PCR, 90.9% of the broiler breeders and 75.0% of White-semi breeders were found positive, respectively. All hatchery was negative by PCR. Of the clinical cases from 49 poultry flocks, 87.5% of flocks and 54.7% for each samples were found positive by ELISA, respectively. By PCR test, 21 (42.9%) of 49 flocks were positive. Major clinical signs of the infected flocks were growth retardation, femoral subcutaneous bleeding, depression, limping, and continuing selection. The genetic analysis of separate N genes of CAV showed highly homologous each other. The nucleotide sequence of field isolates had homology ranged from 99.9% to 97.5% with Chinese strains, and 99.9% to 99.6% with Japanese strain. Phylogenetic analysis based on the N gene of CAV isolates showed the closely relation with Chinese strains. The results of this survey could be used as basic data for development of vaccine.

Key words : Chicken anemia virus, ELISA, Genetic analysis

서 론

최근 국내 축산업은 소비자의 인식변화와 안전한 먹을거리에 대한 관심 증가로 고품질 축산물에 대한 소비자의 구매 욕구가 증가하고 있다. 이러한 사회적 분위기에 의해 축산업 또한 고품질 축산물의 생산과 더 나아가 동물복지의 개념이 도입된 새로운 사육형태에

대한 규제 등이 이루어지고 있다. 동물복지 차원에서 오스트리아는 2009년 산란계의 케이지 사육을 금지하였고 유럽연합은 2012년 케이지 사육을 전면 금지하기로 되어있다. 이러한 제도는 아직 우리나라의 축산에 도입하는 것은 많은 어려움이 있으나 체계적인 준비가 이루어져야 할 것이다. 최근 사육농장에서부터 축산물 가공업체까지 식품위해요소 중점관리기준(HACCP)에 의해 식품의 최종검사에서 안전성을 확보하는 것이 아닌 생산, 유통, 소비의 전과정을 지속적인

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

로 관리하는 예방적인 개념으로 이루어지고 있다. 또한, 사양관리 측면에서 친환경 및 무항생제 인증 등의 제도가 도입되어 안전한 먹을거리에 대한 축산인의 인식 변화와 노력이 이루어지고 있다.

가축통계에 의하면 산란계와 육계농가는 2000년 10,000수 이하의 사육농가가 98.6%, 사육수수는 8.7% 이었고 50,000수 이상은 410호로 0.2%, 사육수수는 34.8%이었으나 2009년에는 50,000수 이상 사육농가는 870호로 26.7%, 사육수수는 56.8%로 사육규모가 점점 증가하는 추세이다. 이러한 대규모 전업 양계 농가의 증가는 시설의 현대화 및 자동화를 동반하였고 품종별 사료 및 백신 프로그램 등이 세분화되어 체계적인 사양관리가 이루어지고 있으나 질병유입으로 인한 높은 폐사율과 발육불량 등으로 생산성과 경제적 피해를 일으키기 때문에 질병을 사전에 방지하는 것이 중요시 되고 있다. 특히 잔류물질 검사의 강화로 항생제의 사용에 많은 제약이 따르며 무항생제 사육농가는 질병 발생시 특별한 대책이 없어 질병관리에 어려움을 호소하고 있다. 또한, 일반 양계농가에서는 질병 발생이 없음에도 예방을 목적으로 초기에 항생제를 사용하는 경우도 있어 항생제 남용의 우려가 있다. 그리고 다른 면에서 최근 양계질병 발생 동향을 분석해 보면 단일 감염보다 복합감염이 증가하고 있어 신속한 원인규명과 방역대책이 중요하며 사육환경이 개선되었음에도 성장지연 등의 질병은 면역억제성 질병과 연관이 있는 것으로 사료된다. 닭에서 면역력저하를 유발하는 것으로 알려진 감보로병(infectious bursal disease virus, IBDV), adenovirus 관련 봉입체간염(inclusion body hepatitis, IBH), 심낭수종증후군(hydropericardium syndrome, HPS) 및 닭 전염성 빈혈(chicken anemia virus, CAV), 마렉(Marek's disease, MD) 등이 최근 농가에서 문제되고 있다. 이러한 면역관련 질병은 종계 및 산란계 등과 같이 부화하여 병아리를 생산하는 종계의 관리가 중요하므로 정기적인 모니터링 검사를 통한 항원 및 항체 검사를 실시하여 백신접종 대상 질병은 예방접종과 함께 차단방역을 기본적으로 실천해야 하며 최근 면역력 저하와 관계되는 질병 중 닭 전염성 빈혈(chicken anemia virus, CAV)이 빈번히 검출되고 있어 농가 감염 실태 조사와 예방대책이 병행하여 이루어져야 할 것으로 본다.

양돈 및 양계에서 최근 문제시 되는 *Circoviridae*는 외피가 없는 14~25nm의 single-stranded circular DNA 바이러스로 porcine circovirus (PCV), psittacine beak

and feather disease virus (PBFDV), chicken anemia virus (CAV)를 포함하나 CAV는 PCV 및 PBFDV와 유전자 구조로 구분되며 human TT virus와 비슷하다. CAV는 일본에서 Yuasa 등(1979)이 최초로 보고, 이후 전 세계적으로 확인되고 있으며 단일 혈청형을 가지고 있다(McNulty, 1991; Saif 등, 2003). CAV는 종종 면역 억제를 동반한 lymphoid의 위축과 바이러스 및 세균, 곰팡이 감염 등의 이차감염이 이루어지고 hemorrhagic syndrome이나 aplastic anemia과 연계되어 질병의 원인체 역할을 하는 것으로 나타나고 있다. 또한, 2~4주 닭에서 전염성빈혈 증후군을 유발하여 성장부진이 나타나고 폐사율이 10~20%에서 60%까지도 가능하다(McNulty, 1991). 6주 이상의 일령에서는 aplastic anemia-hemorrhagic syndrome 발생의 병인론에서 중요한 역할을 한다. CAV는 바이러스 입자에 따라 type I, II로 분류되며(Gelderblom 등, 1989), 수직 및 수평감염이 가능하며 수평감염시 감염 5~7주 후에 분변으로 바이러스가 다량 배출되며(Hoop 등, 1992) 경구 및 호흡기를 통하여 감염이 이루어지고, 부화란이나 인공수정 및 수탉을 통하여도 수직 전파가 이루어진다(Hoop 등, 1993). CAV 감염시 빈혈은 14~16일령에 hematocrit가 6~27%로 감소되고 침울 및 창백 증상과 어린 일령에서는 빈혈과 흉선, 골수, F낭의 위축으로 인한 면역억제 및 다리와 가슴근육에 출혈, 날개의 괴사 등을 나타낸다(Goryo 등, 1985; Saif 등, 2003). 실험적으로 10~20일령에 성장부진과 12~21일령에는 폐사가 발생하나 폐사율이 30%를 넘지 않고 20~28일령에 회복되면 침울 증상이 사라지나 이차 세균 및 바이러스 감염시 폐사율은 증가한다. 또한 면역을 억제하는 질병인 MDV, reticuloendotheliosis virus (REV), IBDV, reovirus 및 cryptosporidiosis와 중복 감염시 CAV의 병원성은 증가하는 것으로 보고되었다(Davidson, 2008; Otaki, 1987; Rosenberger 등, 1989; Toro 등, 2009, 2000, 1997).

CAV는 저항성이 강하여 iodine, hydrochlorits 10% 이상의 농도에서 37°C에 2시간 이상 필요하며 일반 세정제에는 효과가 없고 pH 3의 산성에 3시간 처리하여도 저항성을 가지며 열에도 비교적 안정적이어서 80°C에 30분과 100°C에 15분 이상 처리하여야 한다(Saif 등, 2003; Urlings HA, 1993; Yuasa, 1979). 따라서 CAV가 한번 발생한 농가는 계분 제거 및 철저한 소독 실시 등의 사양관리가 중요하다. 종계의 경우는 사양관리에 대한 점검과 백신접종 등의 대책과 계군에 대한 항체

검사 등을 통한 모니터링 검사가 요구되며 일부 농가에서는 백신을 접종하고 있으나 국내에서 유행되고 있는 CAV에 대한 유전적 분석 등을 통한 전반적인 예방 대책이 이루어져야 한다.

최근 국내에서는 CAV에 대한 질병 발생이 인식되면서 종계에 대한 백신접종과 실태조사 등을 실시하고 있으나 품종별 감염실태 및 질병 발생에 대한 통계가 부족한 실정이므로 본 연구에서는 품종별 항체가 및 항원 검사와 병성감정 의뢰측에 대한 조사를 병행하여 닭 전염성빈혈에 대한 감염 실태를 파악하고 분리된 유전자열기 서열을 분석하여 외국 분리주와의 유전적 특성을 비교 분석하였다.

재료 및 방법

공시재료

2009년 1월부터 2009년 12월까지 전북 정읍지소 관내 종계장 및 부화장 가금질병 모니터링 사업에 의거 종계장 19농가, 백세미 종계장 9농가 및 산란계 10농가, 부화장 5개소 등 총 43개소를 대상으로 항체검사를 실시하였고 항원검사는 종계장 11농가, 백세미 종계장 8농가, 부화장 병아리 5개소의 총 24개소에 대한 폐사 및 도태계와 병성감정 의뢰된 24농가 가검물 49건은 항체 및 항원검사를 실시하였으며 CAV의 유전자를 품종별로 구분하여 분석을 실시하였다.

CAV 항체 검사

CAV 항체 검사는 IDEXX사의 chicken anemia virus antibody test kit를 사용하였다. 백신 비접종 계군은 혈청을 희석액으로 10배 희석하고, 백신접종 계군은 100배 희석하여 ELISA 검사용 plate에 100 μ l씩 첨가하고 실온에서 60분간 반응시켰다. 반응이 끝난 후 세척액 350 μ l으로 5회 세척하여 anti-CAV: horseradish peroxidase conjugate를 100 μ l씩 첨가하고 실온에서 30분간 반응시켰다. 그 후 plate를 5회 세척하고 TMB substrate를 100 μ l씩 첨가하여 실온에서 15분간 반응시키고, stop solution을 100 μ l씩 첨가하여 반응을 정지시킨 후 흡광도 650nm에서 측정하여 S/P ratio 0.6 이상을 양성 판정하였다.

Primer 합성 및 증합효소 연쇄반응(PCR)

CAV N gene의 증폭에 사용한 primer는 Carterina 등 (2004)과 동일하게 합성하여 forward primer (5'-GAC-TGTAAGATGGCAAGACGAGCTC-3')와 reverse primer (5'-GGCTGAAGGATCCCTCATT-3')를 사용하여 PCR을 다음과 같이 수행하였다. 즉, 부검 후 장기(흉선, 간 등)를 균질화 후 5% PBS 부유액을 원심분리하고 상층액을 -70°C에 보존하였다. viral gene spin viral DNA/RNA extraction kit (iNtRON) 및 bioneer exiprep 16 automated nucleic acid extraction system을 이용하여 추출한 nucleotides 3 μ l와 각 primer 1 μ l를 PCR premix (Maxime PCR Premix, iNtRON)에 첨가하여 94°C에서 5분, 94°C에 1분 50°C에 1분 및 72°C에 2분씩 35회 반복 반응시킨 후 최종 72°C에서 10분 반응시켰다.

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 확인하였다.

염기서열의 분석

염기서열 분석은 N gene에서 증폭된 675bp의 PCR 생성물을 정제한 후 cosmo geneteck DNA sequencing service (Cosmo, Korea)를 이용하여 양방향으로 분석하였고 분석된 염기서열은 multialian과 CLUSTALW를 이용하여 비교분석 및 phylogenetic tree를 작성하였다.

결 과

임상증상 및 육안병변 소견

2009년 의뢰된 가검물 중 닭전염성빈혈 진단은 7건으로 백세미 2, 육계 3, 토종닭 2농가로 20~40일령이었으며 입추 초기 뚜렷한 임상증상이 없이 침울, 원기소실 등을 보이다가 10일령 이후 뚜렷한 성장부진으로 인한 도태수의 꾸준한 증가와 20일령 이후 개체별 층아리 현상이 뚜렷이 나타나고 육안부검 소견으로 대퇴부 및 흉근의 피하출혈과 고관절 부실에 의한 보행곤란과 흉부피하의 염증 등이 관찰되었다.

혈청검사 결과

부화를 목적으로 알을 생산하는 종계장 19농가 및 백세미 종계장 9농가 중 종계장 2농가에서만 항체가 검출되지 않았고 조사대상 2,041수 중 1,810수(88.7%), 종계는 1,042수 중 925수(88.8%), 백세미종계 661수 중 619수(93.6%)의 양성율을 보였다. 또한, 식용란을 생산하는 산란계 10농가(100.0%), 227수 중 155수(68.3%), 부화장 5개소의 1일령 병아리 111수에서 100%의 양성율을 보였다(Table 1).

병성감정 의뢰된 가검물 항체검사결과 24농가 중 21농가(87.5%), 398수 중 218수(54.8%), 이중 백세미 3농가 중 2농가, 70수 중 32수(45.7%), 육계 14농가 중 12농가, 190수 중 81수(42.6%), 토종닭은 7농가 모두와 138수 중 105수(76.1%)가 양성으로 나타났다(Table 2).

PCR 검사결과

종계장의 폐사 및 도태계를 대상으로 항원검사결과 11농가 중 10농가(90.9%), 백세미종계장 8농가 중 6농가(75.0%)의 양성율을 보였으며 부화장 5개소 1일령 병아리에서는 항원이 검출되지 않았다. 또한 병성감정 의뢰된 가검물 49건 검사에서는 21건(42.9%), 이중 백세미 11건 중 6건(54.5%), 육계 24건 중 9건(37.5%), 토종닭 14건 중 6건(42.9%)이 양성으로 조사되었다.

N gene 염기서열 분석

국내 분리 염기서열을 중국(AM407847)과 비교한 결과 KCAVKC08주와 1개 부위, KCAVSG05, KCA-VVB07, KCAVSG06, KCAVB02, KCAVL04와 4~5개 부위에 nucleotides가 점돌연변이(point mutation)가 되었으며 KCA-VL03과 10개, KCABB01과 16개, KCA-VKC09와 22개 및 KCAVKC10와 24개 부위 점돌연변

Table 1. Detection of CAV antibodies in monitor samples

Flock type	No. of flocks			No. of sera		
	Total	Positive	Negative	Total	Positive (%)	Negative (%)
Broiler breeder	19	17	2	1,042	925 (88.8)	117 (11.2)
White-semi breeder	9	9	0	661	619 (93.6)	42 (6.4)
Layer	10	10	0	227	155 (68.3)	72 (31.7)
Hatchery	5	5	0	111	111 (100.0)	0 (0.0)
Total	43	41	2	2,041	1,810 (88.7)	231 (11.3)

Table 2. Detection of CAV antibodies in clinical sign samples

Flock type	No. of flocks			No. of sera		
	Total	Positive (%)	Negative (%)	Total	Positive (%)	Negative (%)
White-semi broiler	3	2 (66.7)	1 (33.3)	70	32 (45.7)	38 (54.3)
Broiler breeder	14	12 (85.7)	2 (14.3)	190	81 (42.6)	94 (57.4)
Korean native chicken	7	7 (100.0)	0 (0.0)	138	105 (76.1)	33 (23.9)
Total	24	21 (87.5)	3 (12.5)	398	218 (54.8)	180 (45.2)

Table 3. Percentage homology of nucleotide acid sequence in isolated samples

Strain	KCAVBB01	KCAVB07	KCAVSG05	KCAVSG06	KCAVBB02	KCAVKC08	KCAVKC09	KCAVKC10	KCAVL03	KCAVL04
KCAVBB01										
KCAVB07	97.9									
KCAVSG05	97.8	99.9								
KCAVSG06	97.3	98.8	99.0							
KCAVBB02	97.3	98.8	99.0	99.1						
KCAVKC08	97.6	99.7	99.6	99.4	99.4					
KCAVKC09	97.0	96.4	96.6	96.3	96.3	96.6				
KCAVKC10	97.2	96.6	96.7	96.4	96.4	96.7	96.6			
KCAVL03	97.2	98.4	98.5	98.1	98.4	98.4	96.1	96.3		
KCAVL04	97.9	99.1	99.3	98.8	99.1	99.1	96.9	97.0	99.3	

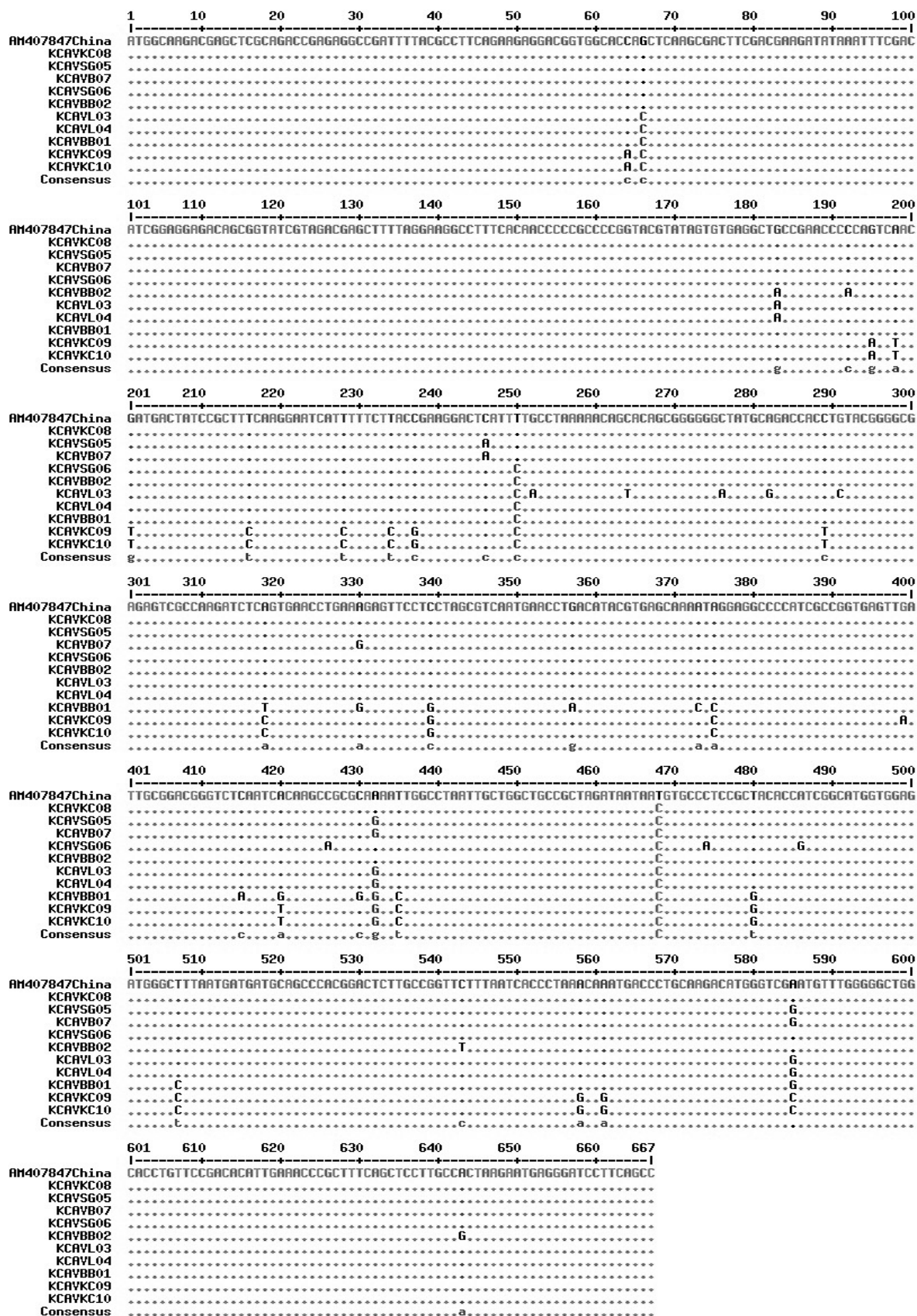


Fig. 1. The nucleotide sequence comparison of N gene in KCAV and AM407847 (China) by Multalin.

이가 되어 있는 것으로 확인되었다. 검출된 N gene의 염기서열은 품종별로 육용종계(KCAVB01) 1개, 토종닭 종계(KCA-VBB02) 1개, 백세미종계(KCAVL03, 04) 2개, 토종닭(KCAVKC08-10) 3개, 육계(KCAVB07) 1개, 백세미(KCAVSG05,06) 2개 총 10개를 비교·분석하였다. 염기서열 상동성 분석 결과 종계인 KCAV-BB01과 KCA-VBB02는 97.3%, 산란계 KCAVL03과 KCAV04는 99.3%, 토종닭 KCAVKC08과 KCAVKC09, KCAV-KC10은 96.6~96.7%, 백세미 KCAVSG05와 KCAVS-G06은 99.0의 상동성을 나타내었다. 또한 이전 외국 분리주와 비교하여 중국(AM407847)과 KCAVKC08, KCAVSG05, KCAVB07, KCAVSG06, KCAVBB02, KCAVL04와는 99.9~99.1%의 높은 상동성을 KCA-VBB01은 97.5%, 중국(DQ141670)과 KCAVKC10은 100%, KCAVKC09와는 99.9%, 일본(AB001893)과 KCAVL03은 99.6%, 중국(AM407822)주와 KCAVB-B01은 98.2%의 상동성을 보였다(Table 3, Fig. 1).

N gene 아미노산서열 분석

본 실험에서 검출된 CAV N gene의 아미노산 서열을 중국분리주(AM407847)와 비교한 결과 KCAVB07, KCAVBB02, KCAVKC08, KCAVSG06, KCAVSG05와 일치하였으며 KCAVL03, KCAVL04, LCAVKC09, KCAVKC10은 1개 부위, KCAVBB01은 3개 부위에서 다른 서열을 나타내었다. 아미노산 서열에 대한 상동성 분석결과 중국 분리주(AM407847)와 99.1~99.6%의 상동성을 나타내었다(Fig. 2).

N gene의 Phylogenetic tree 분석

염기서열 Phylogenetic tree 분석한 결과 CAVBB01, KCAVKC09, KCAVKC10은 중국 분리주(AM407849, DQ141670)와 같은 계열에 속하였고, KCAVSG05, KCAVB07은 미국(AF311900)과 인도(EU424059)주 계열, 아르헨티나(EU871781) 및 일본(AB001893)분리주는 KCAVL03, KCAVKC08, LCAVSG06, KCAV-BB02은 비교 대상인 중국(AM407847)과 같은 계열을 구성하였으며 분리주 모두 중국주, 미국, 아르헨티나와

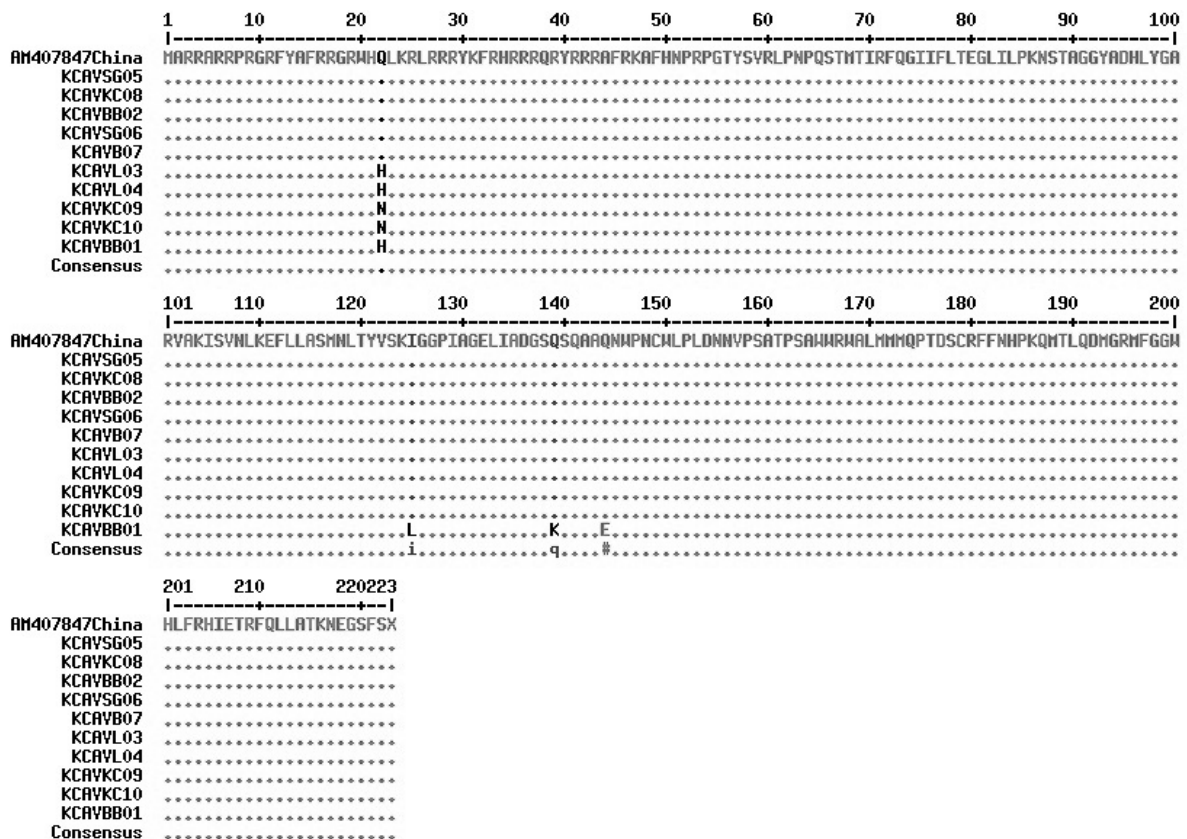


Fig. 2. Comparison of the deduced amino acid of KCAV and AM407847 (China) by Multalin.

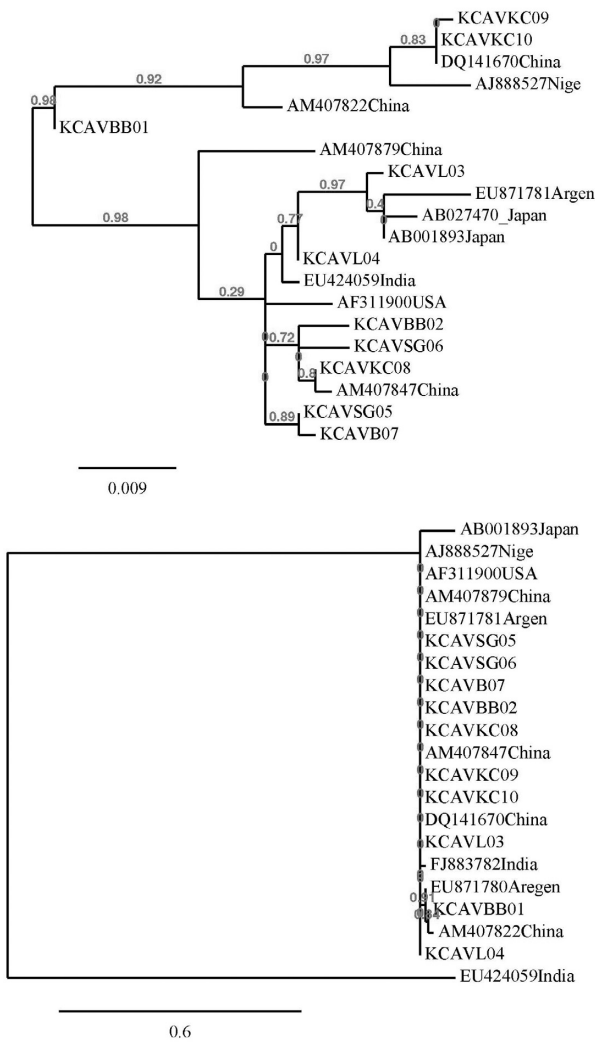


Fig. 3. The phylogenetic tree were produced by CLUSTALW on the genomic nucleotide sequence (A) and amino acid (B) of CAV isolated.

유전적으로 밀접한 관계를 나타냈으며 일본 및 인도주는 중국주(AM407822)에 포함되어 같은 계열에 속하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3).

고 찰

닭 전염성빈혈은 면역력을 저하시키는 질병으로 1979년 일본에서 최초 보고된 후 전 세계적으로 문제 시되고 있다. 특히 면역저하가 일차적인 원인으로 작용하여 세균, 바이러스 및 기생충 질병 등이 이차적으로 감염시에는 폐사율의 증가로 인하여 농가에 경제적인 피해를 준다. 그러나 면역력 저하는 특별한 임상증

상이 없는 경우도 있어 농가에서는 질병에 대한 대처와 관리 등도 어려울 뿐만 아니라 질병 발생 시 사육기간이 짧은 육계, 백세미 및 토종닭에서는 CAV로 인한 질병의 피해를 인식하지 못하여 더욱 큰 피해가 발생하는 경우가 있어 CAV에 대한 근본적인 대책의 마련이 시급한 실정이다. 또한, 개체간의 수직감염 뿐만 아니라 난계대에 의한 수직감염이 가능한 질병으로 부화를 목적으로 사육하는 종계에 대한 질병 모니터링과 지속적인 관찰이 요구되며 질병 발생을 최소화하기 위해서는 발생 농장에 대한 항체 및 항원 검사와 유전자 분석을 실시하고 상용화된 백신과의 상관관계를 확인하여 종계에 대한 백신 접종과 위생관리 강화의 노력이 요구된다.

정읍지소 관내 양계 사육농장에 대한 품종별 CAV의 항체검사를 결과 백신을 접종하지 않은 종계에서 항체양성율은 88.7%의 높은 양성율을 보여 종계의 감염이 심각함을 알 수 있었으며 항원검사에서는 11농가 중 10농가가 확인되어 지속적인 감염이 이루어짐을 확인할 수 있어 난계대전염으로 육계에서의 질병 발생 가능성을 예측할 수 있었다. 백세미종계 8농가 중 4농가에서는 백신을 접종하고 있었으나 백신 접종 여부와 관계없이 93.6%의 높은 항체양성율과 8농가 중 6농가(75.0%)에서 항원이 확인되어 CAV로 인한 질병 발생 가능성과 백신접종에 대한 사양관리의 전반적인 재고가 필요한 것으로 사료되었다. 즉 품종별, 농가별 항체 및 항원 검사를 실시한 후 백신 접종 시기를 결정하여야 질병의 예방에 도움이 될 것으로 사료된다. 또한 산란계 농가는 68.3%의 항체양성율을 보였으나 항원은 검출되지 않았으며 산란계는 식용란 생산을 목적으로 사육하므로 비교적 타 품종의 질병 전파 양상은 다르다고 생각되어지지만 식용란의 운반 과정에 철저한 소독을 실시해야 할 것으로 사료된다. 백세미 생산 부화장의 1일령 병아리는 100%의 항체양성율을 보였으나 항원은 검출되지 않아 약간의 의문점이 제기되었으나 이는 적은 수의 검사개체와 종계장 추적결과 관내에 위치하지 않아 감염여부를 확인할 수 없음이 아쉬움을 남겼다. 1993년 류 등은 국내에서 혈청중화시험법으로 육용 및 산란계에서 계군별 81.9%, 개체별은 59.6%의 양성을 확인하였고, 20주령 이상에서는 94.7%의 높은 항체 양성율을 보고하였다. 또한, Huseyin 등(2008)은 ELISA를 통한 항체검사로 계군별 89.5%, 개체별 66.0%, Roussan (2006)은 82.6%의 항체양성율과 주령이 증가할수록 양성율도 증가하였다는 보고와 같이 본 조사에

서도 계군별 항체 양성율 95.3%, 개체별은 88.7%로 증가하였으며, 조사대상 종계 20주 이하에서는 82.8%, 20주 이상은 96.4%의 양성율을 확인할 수 있었다.

국내에서는 성 등(1991년)이 산란 및 육용종계에서 CAV를 분리하였으며 SPF 병아리에 접종하여 14~16 일 후 심한 빈혈 증상을 확인하여 보고하였다. 본 실험의 병성감정 의뢰 가검물에서는 49농가 중 21농가에서 항원이 검출되었으며 이중 전염성빈혈 증상을 보인 농가는 7농가이었고 나머지 농가는 혼합감염이었다. 또한 병성감정의뢰 농가에서 54.8%의 항체 양성율을 보였으며 이중 육계 및 백세미에 비해 사육기간이 길은 토종닭이 76.1%의 양성율을 보여 CAV에 의한 농가의 피해가 많을 것으로 추정 되었다.

국내 분리 6주는 중국 분리주(AM407847)와 상동성이 높았으며 중국주(AM407822, DQ141670) 및 일본(AM001893)주와도 상동성을 보였다. 육용종계에서 분리된 KCAVBB01은 육계의 KCAVB07과 97.9%의 비교적 낮은 상동성을 보였으며 토종종계에서 분리된 KCAVBB02와 KCAVKC08과는 99.4%, KCAVKC09 및 KCAVKC10과는 96.3~96.4%, 백세미 종계에서 분리된 KCAVL03, KCAVL04는 98.1~99.3%의 상동성을 보였고 같은 계열에는 속하지만, 분리주의 점돌연변이가 발생한 것으로 추정된다.

아미노산 서열을 보면 육용종계(KCAVBB01)은 3개 부위, 토종종계(KCAVBB02)와 백세미 종계(KCAVL03, 04)는 1개 부위에서 점돌연변이가 발생한 것으로 추정된다. 그리고 중국 분리주(AM407847)와 본 실험에서 분리된 유전자는 99.1~99.6%의 높은 상동성을 보였으며 phylogenetic tree를 분석한 결과 같은 계열에 속하는 것으로 추정되어 국내에서 유행하는 CAV는 서로 밀접한 관계임을 확인할 수 있었다. 이러한 유전자 분석은 여러 연구자에 의해 분석되어지고 있으나 (Craig 등, 2009; Ducatez 등, 2006; van Santen 등, 2001) 국내에서 CAV에 대한 연구가 미비한 실정이므로 앞으로 많은 연구가 필요하리라 본다.

국내에서 유행하는 CAV는 유전적으로 연관되어 있는 것으로 추정되어 부화를 목적으로 하는 모든 종계부터 근본적인 질병 대책이 요구되며 주기적인 모니터링 검사를 통한 항원 및 항체 검사를 실시하여 백신 접종 여부와 시기에 대한 선택에 검토가 필요하다. 또한 일부 백신을 접종하고 있음에도 불구하고 질병의 발생은 증가 추세이므로 품종별 정확한 조사와 품종별 유전적 연관성에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

결 론

2009년 전북 정읍지역 양계장의 CAV에 대한 품종별 항체검사 결과 계군별 95.3%, 개체별 88.7%, 항원 검사에서는 육용종계는 90.9%, 백세미 종계 75.0%의 양성율을 나타냈으나 부화장 1일령 병아리에서는 항원이 검출되지 않았다. 또한, 병성감정 의뢰 가검물 항체검사에서 계군별 87.5%, 개체별 54.8%, 항원은 49건 중 21건(42.9%)의 양성율을 보였다. 또한 CAV 감염이 확인된 농가에서는 침울, 성장부진 등으로 인한 꾸준한 도태가 발생하였고 대퇴부 피하출혈과 보행곤란 등의 증상이 관찰되었다.

유전자 분석결과 검출된 10개의 유전자는 서로 높은 상동성으로 품종별 종계에 의한 CAV의 질병 발생 가능성을 추측 할 수 있었다. 또한, 염기서열 분석에서 기존에 보고된 중국 분리주와 연관성이 있는 것으로 조사되었으며 지속적인 N gene에 점돌연변이가 진행된 것으로 조사되었다. 또한, 품종별 높은 항체 양성율과 항원 검출은 CAV가 양계농장에 상재화 되고 있는 것으로 확인되었다.

참 고 문 헌

- 류광선, 고흥범. 1993. Virus 중화시험법에 의한 닭 전염성 빈혈인자의 항체조사. 대한수의학회지 33(2): 227-234.
- 성환우, 김선중. 1994. 자염감염된 닭으로부터 chicken anemia agent (virus)의 분리. 대한수의학회지 31(4): 471-477.
- Caterina KM, Frasca S Jr, Girshick T, Khan MI. 2004. Development of a multiplex PCR for detection of avian adenovirus, avian reovirus, infectious bursal disease virus, and chicken anemia virus. *Mol Cell Probes* 18(5): 293-298.
- Craig MI, Rimondi A, Delamer M, Sansalone P, König G, Vagnozzi A, Pereda A. 2009. Molecular characterization of chicken infectious anemia virus circulating in Argentina during 2007. *Avian Dis* 53(3): 331-335.
- Davidson I, Artzi N, Shkoda I, Lublin A, Loeb E, Schat KA. 2008. The contribution of feathers in the spread of chicken anemia virus. *Virus Res* 132(1-2): 152-159.
- Ducatez MF, Owoade AA, Abiola JO, Muller CP. 2006. Molecular epidemiology of chicken anemia virus in Nigeria. *Arch Virol* 151(1): 97-111.
- Gelderblom H, Kling S, Lurz R, Tischer I, von Bulow V. 1989. Morphological characterization of chicken

- anaemia agent. *Arch Virol* 109(1-2): 115-120.
- Goryo M, Sugimura H, Matsumoto S, Umemura T, Itakura C. 1985. Isolation of an agent inducing chicken anaemia. *Avian Pathol* 14(4): 483-496.
- Hoop RK. 1992. Persistence and vertical transmission of chicken anaemia agent in experimentally infected laying hens. *Avian Pathol* 21(3): 493-501.
- Hoop RK. 1993. Transmission of chicken anaemia virus with semen. *Vet Rec* 133(22): 551-552.
- Huseyin HADiML H, Osman ERGANIS, Leyla GULER, Sait UCAN U. 2008. Investigation of Chicken Infectious Anemia Virus Infection by PCR and ELISA in Chicken Flocks. *Turk J Vet Anim Sci* 32(2): 79-84.
- McNulty MS. 1991. Chicken anaemia agent: a review. *Avian Pathol* 20(2): 187-203.
- Otaki Y, Nunoya T, Tajima M, Tamada H, Nomura Y. 1987. Isolation of chicken anaemia agent and Marek's disease virus from chickens vaccinated with turkey herpesvirus and lesions induced in chicks by inoculating both agents. *Avian Pathol* 16(2): 291-306.
- Rosenberger JK, Cloud SS. 1989. The effects of age, route of exposure and coinfection with infectious bursal disease virus on the pathogenicity and transmissibility of chicken anemia agent (CAA). *Avian Pathol* 33(4): 753-759.
- Roussan DA. 2006. Serological Survey on the Prevalence of Chicken Infectious Anemia Virus in Commercial Broiler Chicken Flocks in Northern Jordan. *Int J Poult Sci* 5(6): 544-546.
- Saif YM, Barnes HJ, Glisson JR, Fadly AM, McDougald LA, Swayne DE. 2003. Diseases of poultry, 11th ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa: 181-202.
- 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.
- Toro H, Ramirez AM, Larenas J. 1997. Pathogenicity of chicken anaemia virus (isolate 10343) for young and older chickens. *Avian Pathol* 26(3): 485-499.
- Urlings HA, de Boer GF, van Roozelaar DJ, Koch G. 1993. Inactivation of chicken anaemia virus in chickens by heating and fermentation. *Vet Q* 15(3): 85-88.
- van Santen VL, Li L, Hoerr FJ, Lauerman LH. 2001. Genetic characterization of chicken anemia virus from commercial broiler chickens in Alabama. *Avian Dis* 45(2): 373-388.
- Yuasa N, Taniguchi T, Yoshida I. 1979. Isolation and some characteristics of an agent inducing anemia in chicks. *Avian Dis* 23(2): 366-385.