

<원 저>

국내 서식 한우에서 큐열 항체 양성을 조사

김지연 · 성소라 · 편지인 · 허 문* · 강성일 · 이향근 · 정석찬

농림축산검역본부 동식물위생연구부 세균질병과

(접수: 2014년 3월 12일, 수정: 2014년 7월 18일, 게재승인: 2014년 8월 8일)

Seroprevalence of Q-fever in Korean native cattle

Ji-Yeon Kim, So-Ra Sung, Ji-In Pyun, Moon Her*, Sung-Il Kang, Hyang-Keun Lee, Suk Chan Jung

Bacterial Disease, Department Animal and Plant Health Research, Animal and Plant Quarantine Agency, Anyang 430-757, Korea

(Received: March 12, 2014; Revised: July 18, 2014; Accepted: August 8, 2014)

Abstract : Q-fever is a vector-borne (*Coxiella [C.] burnetii*) zoonotic disease that is an increasing public health concern. To date, some research about Q-fever prevalence in dairy herds and human patients has been reported in Korea, but information about Korean native cattle is scarce. To measure the prevalence rates of *C. burnetii* in Korean native cattle, a total of 1,095 bovine serum samples collected during 2010~2013 were analyzed with an enzyme-linked immunosorbent assay. Sixty-eight heads of cattle were diagnosed as positive and while 19 heads were suspected (positive rate = 6.2%). Interestingly, Jeju province had a seropositivity rate six times greater than that of other provinces (18.9% vs. 3.2%). High seroprevalence might be caused by wide distribution of ticks in Jeju province compared to other regions. Based on these data, extensive monitoring of *C. burnetii* infection in cattle, tick distribution, and climate changes is required.

Keywords : enzyme-linked immunosorbent assay, Korean native cattle, Q-fever, seroprevalence, ticks

서 론

*Coxiella(C.) burnetii*는 그람 음성의 세포 내 기생세균으로서 큐열(Q-fever)의 원인체다. 큐열은 인수공통전염병의 하나로 뉴질랜드를 제외하고 전 세계적인 발생 분포를 나타내고 있으며, 이 원인체는 가축을 비롯하여 야생동물 등 다양한 동물종에 감염되는데 그중에서도 대표적인 반추동물인 소, 염소, 양이 사람 감염의 주된 요인으로 꼽히고 있다 [2, 18, 20].

사람으로의 전파는 주로 감염된 반추동물이 배출한 오염된 비말의 흡입이나 감염 가축의 멸균하지 않은 우유, 또는 생고기 섭취를 통한 경구 감염, 큐열 병원체가 포함된 감염 가축의 분뇨나 분만 시 태반을 통한 접촉 등 다양한 경로로 전파된다 [18, 23]. 한편, 동물 간 *C. burnetii* 전파는 주로 진드기 같은 절지동물을 통해 가축 또는 야생동물로 전파가 이루어진다 [16, 18]. 일반적으로 큐열은 동물에서 무증상(subclinical) 감염 형태를 보이는데, 반추동물에서는 자궁염, 불임, 유산 등 주로 생식기 계통의 질환이 발생한다. 젖소에서는 유산 발생 사례가 드물지만, 염소와 양에서는 유산 및 사산이 빈

번하게 발생하는 것으로 보고되고 있다 [3, 5, 15, 18].

국내에서 현재 큐열은 제2종 가축전염병이자 제4군 법정 감염병으로 지정된 상황으로, 2010년 13건, 2011년 8건, 2012년 10건 및 2013년 11건 등 매년 사람에서 10건 내외의 큐열 발생 건수가 꾸준히 보고되고 있다 [11]. 보통 가축과의 접촉 빈도가 높은 직업군, 즉 수의사, 목장주, 도축장 종사자 등이 큐열에 대한 항체 양성률이 높은 것으로 알려졌다 [17].

국내 큐열에 관한 연구는 국외보다 아직까진 활발하지 않은 편이지만, 일부 젖소의 혈청 및 집합유, 그리고 질병관리본부에서 큐열 환자로 진단된 환자들을 대상으로 혈청학적 검사 등을 이용하여 항체 보유율을 조사한 연구 결과가 발표된 바 있다 [10, 12, 17]. 이들 보고에 따르면 젖소에서 혈청 내 항체 보유율은 25.6%로 나타났으며 [10], 경북 지역 내 젖소 집합유의 항체 보유율은 40% 이상으로 높게 나타났다 [17]. 한편 대학병원에 내원한 무증상을 보이는 일반 건강검진 환자들 205명을 대상으로 시행한 큐열 항체가 검사에서는 3명(1.5%)이 간접미세면역형광반응법(indirect microimmunofluorescence)으로 항체 양성반응을 보였다 [10].

*Corresponding author

Tel: +82-31-467-1776, Fax: +82-31-467-1778

E-mail: herm@korea.kr

큐열은 앞서 소개했듯이 인수공통전염병의 하나로 우유 등을 통해 균체를 배설하고 [21], 또한 멸균하지 않은 우유 섭취를 통해 사람에게 전파될 수 있어서 젖소의 항체 보유율 조사는 많이 시행된 바 있으나, 한우에 대한 큐열 항체 보유율 조사 결과는 부족한 실정이다. 따라서 이번 연구에서는 2010~2013년 4년간 전국에서 수집한 한우의 혈청을 이용하여 큐열 항체가 보유율을 조사해 보고자 하였다.

재료 및 방법

가검혈청

2010~2013년 기간에 소 브루셀라병 검사를 위하여 살처분 당일에 직접 채혈하여 수집하였거나, 각 시도 가축방역기관에서 브루셀라병 검진사업 후 냉동 보관 중인 소 혈청 1,095점을 확보하여 큐열 항체가 보유율 검사를 했다. 연도 별로는 2010년 305점, 2011년 230점, 2012년 235점, 2013년에 325점을 본 연구에 적용하였다. 지역별로는 경기 186점, 강원 67점, 충청 132점, 호남 373점, 영남 125점, 제주 212점의 혈청 샘플을 확보하였다. 대체로 브루셀라병 발생률이 높은 지역에서 직접 채혈하였거나 브루셀라병 일제 검진사업 후 보관 중인 혈청 샘플을 제공받아 일부 지역(호남과 제주)은 다른 지역에 비해 많은 혈청 샘플을 확보할 수 있었다.

큐열 항체가 검사

소 혈청 내 큐열 항체가 조사는 ID Screen Q-Fever Indirect ELISA Test Kit(IDvet, France)를 사용하여 제조사의 사용설명서에 따라 실시하였다. 실험 전 키트 내 모든 시약은 사용 전 실온에 정치시키고 나서 흔들어서 고루 섞이도록 한 뒤에 사용하였다. 먼저, 키트 내 희석액 2(dilution buffer 2)를 각 microplate well에 90 µL씩 분주하고 음성 대조액(2 wells)과 양성 대조액(2 wells), 그리고 소 혈청 샘플을 각각 10 µL씩 분주한 뒤 21°C(±5°C)에서 40~50분 반응시켰다. 이후 20배 희석한 세척액(1×)을 300 µL씩 분주하여 3회 반복 세척하고 10× conjugate 용액을 희석액 3(dilution buffer 3)으로 10배 희석하여 각 well에 분주한 다음, 실온에서 30분간 반응시켰다. 그리고 다시 세척액으로 3회 반복 세척한 뒤 TMB substrate 용액을 각 well에 100 µL씩 분주하고, 빛에 노출되지 않도록 어두운 곳에서 15분

간 반응시켰다. 이후 각 well에 반응정지액(H₂SO₄, 0.5 M)을 100 µL씩 혼합하여 발색 반응을 정지시킨 뒤 spectrophotometer(Multiskan GO Microplate spectrophotometer; Thermo Scientific, Finland)를 이용하여 450 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. Sample/positive control(S/P) ratio는 제조사의 판정 기준에 따라 다음과 같은 공식에 의해 계산하였다.

$$S/P \text{ ratio } (\% \text{ 흡광도}) =$$

$$\frac{(\text{sample 흡광도} - \text{음성대조액 흡광도})}{(\text{양성대조액 흡광도} - \text{음성대조액 흡광도})} \times 100$$

결과 판정은 % 흡광도 값에 따라 4그룹으로 분류하였다: 1) 음성(≤ 40%), 2) 감염 의심우(40% < S/P ≤ 50%), 3) 양성우(50% < S/P ≤ 80%), 4) 강양성우(> 80%). Enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) 실험은 양성대조액의 흡광도치가 0.350이 넘고, 양성대조액/음성대조액 값이 3 이상일 때 유효한 것으로 인정하였다.

결 과

총 1,095두의 소 혈청 샘플 중, 강양성은 43건, 양성 25건, 감염 의심우에 해당하는 샘플은 19건으로 양성률(강양성과 양성)은 6.2%로 나타났으며, 감염 의심우 범위까지 포함하면 7.9%로 소폭 상승하였다. 지역별 혈청 샘플 수에 차이가 있어 지역에 따른 항체 분포도 차이는 명확히 구분하기 어려웠으나, 제주 지역에서는 총 212점 혈청 샘플 중 양성 40점으로 18.9%에 해당하는 양성률을 보였고 감염 의심우 샘플 13건까지 포함하면 53건에 달해 25%의 개체가 큐열 항체가 검사에서 큐열 양성우로 의심되어 확연히 높은 양성률을 보였다(Table 1). 따라서 제주 지역을 제외한 국내 한우 큐열 항체 양성률은 약 3.2%(28두/883두), 감염 의심우 포함 시 3.9%(34두/883두)에 이르는 것으로 확인되었다. 한편 확보된 소 개체의 연령은 브루셀라병 일제 검진사업에 포함되었던 개체로 대부분 1세 이상 성우였으나, 브루셀라병 양성우 도태 시 함께 사육되었던 송아지의 혈청도 일부(11두) 포함되었다. 이중 강원도 철원에서 확보한 송아지 1두가 강양성으로 확인되었으며, 이 송아지의 모우 역시 ELISA 검사 결과 강양성으로 판정되었다.

Table 1. Sample distribution and prevalence rate by province in this study

Province	Number of samples	Number of positive	Number of suspected	Prevalence rate (%) (positive/suspected)	95% CI (%) (positive + suspected)
Gyeonggi	186	4	1	2.1/2.7	0.4 ~ 5.0
Gangwon	67	3	0	4.5/4.5	0.0 ~ 9.4
Chungcheong	132	8	3	6.1/8.3	3.6 ~ 13.0
Jeolla	373	10	2	2.7/3.2	1.4 ~ 5.0
Gyeongsang	125	3	0	2.4/2.4	0.0 ~ 5.1
Jeju	212	40	13	18.9/25	19.2 ~ 30.8
Total	1,095	68	19	6.2/7.9	6.3 ~ 9.5

고 찰

큐열은 진드기 매개 질병으로서 보통 진드기가 활발히 활동하는 계절인 봄과 여름에 그 발생이 높다고 하지만 [5, 19], 큐열로 인한 유산이 여름이 아닌 추운 계절에 발생이 더 높다는 보고도 있다 [18]. 국내 가축 중 특히 젖소에 관한 큐열 항체가 보고는 Kim 등 [10]과 Ouh 등 [17]이 발표한 논문에서 이미 알려진 바 있는데, 비록 두 논문 모두 젖소에 국한되어 있긴 하지만 414두의 젖소 혈청 중 약 25.6%와 집합유 수집 농가의 54%가 항체 양성이었다고 발표하였다. 이러한 높은 양성률은 곧 *C. burnetii*가 농장 주변 환경 또는 가축에 많이 퍼져 있음을 의미한다. 따라서 큐열은 사람으로도 전파되는 인수공통전염병인 만큼 차후 공중보건학적 측면으로도 주목할 필요가 있다 [10].

젖소의 경우 주된 전파 경로가 우유라는 이유로 국내는 물론 국외에서도 젖소의 집합유에서 *C. burnetii* 항체 양성률 조사와 polymerase chain reaction(PCR, 중합효소연쇄반응) 검사를 비롯하여 유방염이나 유산성 질병과의 연관성을 조사한 연구는 많이 발표된 바 있다 [3, 4, 6, 8, 17, 19]. 또한 젖소에서 큐열 항체 양성률은 매우 높은 편으로, 특히 집합유 대상 농장 수준의 양성률은 영국, 아일랜드, 스페인 등 유럽 지역에서 30~50%에서 달하는 높은 양성률을 보였으며, 가까이 태국에서도 PCR을 이용하여 조사한 결과 전체 63곳의 농장 중 양성 농가가 24곳(38%)에 달한다고 발표하였다 [24]. 이는 앞서 소개한 국내 젖소 내 큐열 항체 보유율과도 유사한 수준으로, 젖소에서는 이처럼 국내외에서 큐열 항체가에 대하여 많은 정보가 알려졌다. 이에 반해, 식용으로 쓰이는 한우에서의 큐열 항체가 보유율에 대한 보고는 거의 없어 4년간 브루셀라병 검진을 위해 확보한 한우 혈청 샘플을 대상으로 commercial ELISA kit을 이용하여 큐열 항체 양성률을 조사하게 되었다. 일반적으로 큐열 진단에서 indirect immunofluorescence assay(IFA, 간접면역형광 항체법)가 표준진단법으로 알려졌으나, 최근에는 ELISA(효소면역측정법)와 complement fixation assay(CFA, 보체결합 반응)의 비교실험을 통해 ELISA도 유용한 큐열 항체진단법으로 권장되고 있다 [7, 9, 14]. 물론 혈청검사를 통해 결과가 양성으로 판정된다고 하더라도 현재 감염 상태로 판정할 수 없다는 한계가 있지만 [1, 15], 농장 단위로 양성률을 조사하는 경우에는 ELISA가 적합한 방법으로 꼽히고 있다 [1]. 본 연구에서 사용된 commercial ELISA kit의 경우 영국에서 포식동물과 피식동물을 대상으로 한 큐열 항체가 조사 결과, 민감도는 89.0~93.5%, 특이도는 97.9~99.2%를 보여 큐열 항체가 스크리닝에는 적절한 것으로 생각되었다 [14].

ELISA 실시 결과, 제주 지역을 제외한 국내 한우의 큐열 항체 양성률은 약 3.2%(감염 의심우 포함 3.9%)에 이르는 것으로 확인되었다. 이 수치는 기존에 발표된 젖소 집합유 대상 양성률보다 매우 낮은 수치로, 육우가 젖소보다 낮은 양성률을 보인다는 기존 논문과 유사하다 [1, 13, 20, 22]. 이러한 원인의 하나로 젖소와 한우 간 사육 방법의 차이를

꼽을 수 있는데, 국내에서도 젖소 농장에서는 같은 착유기를 여러 개체가 공동으로 이용하는 만큼 한 개체가 *C. burnetii*에 감염된 경우 한우보다 전파될 기회가 높아지므로 이에 따른 유병률이 증가하는 것으로 생각된다. 그리고 식용으로 사육되는 한우는 일반적으로 어릴 때 도축되어 감염 기회가 상대적으로 적은 데 반해, 젖소는 산차 수도 많고 더 오랜 기간 농장 내에서 사육되므로 농장 환경과 동거우에 전파된 *C. burnetii*에 의한 감염 기회가 많아지게 된다. 이는 소의 연령이 높을수록 큐열 항체 보유율도 증가한다는 기존 문헌과도 일치하는 내용이다 [1, 17, 20].

한편, 본 연구에서는 특히 제주 지역이 다른 지역보다 6배 이상 높은 항체 양성률(18.9%)을 보인 점이 흥미로운 결과였다. 95% 신뢰 구간 적용 시, 제주 지역의 하한 값(19.2%)이 다른 지역의 상한 값(5.0~13.0%)보다 높아 통계학적으로도 유의한 수준으로 실제 다른 지역보다 큐열 항체 양성률이 높음을 확인할 수 있었다(Table 1). 채혈 개체의 산차 수나 연령 등 큐열 항체 보유율에 영향을 미칠 수 있는 인자들은 다른 지역과 큰 차이가 없었으나, 다른 지역과 달리 방목하여 사육하는 농가의 비율이 높은 만큼 진드기와 접촉할 기회가 많아 그로 인해 매개되는 질병 중의 하나인 큐열의 항체 양성률이 높은 것으로 생각된다. 따라서 제주 지역에서 서식하는 소, 직무 관련자들(수의사, 농장주, 도축장 종사자 등)을 대상으로 전반적인 큐열 감염 여부에 관한 모니터링이 필요하다.

본 연구에서는 4년간 확보한 한우의 소 혈청을 대상으로 ELISA로 큐열 항체가 양성률을 조사하였다. 지역별 샘플 편차도 있고 개체별 연령, 산차 수 등 큐열 항체 양성률에 영향을 미치는 요인의 데이터가 부족한 만큼, 추후 이러한 데이터를 보완한 한우와 젖소를 대상으로 한 모니터링 연구가 필요할 것으로 생각된다. 앞으로 기후 변화에 따라 진드기의 분포 및 서식 밀도가 증가할 것으로 예상하므로 특히 제주 지역의 경우 사육 방법의 특성상 큐열을 비롯한 진드기 매개 질병의 위험성을 낮추기 위한 보완책이 요구된다.

감사의 글

본 연구는 농림축산식품부 농림축산검역본부 농림축산검역 검사기술개발 시험연구예산(B-1543081-2014-16-01)으로 수행되었습니다.

References

1. Alvarez J, Perez A, Mardones FO, Pérez-Sancho M, García-Seco T, Pagés E, Mirat F, Díaz R, Carpintero J, Domínguez L. Epidemiological factors associated with the exposure of cattle to *Coxiella burnetii* in the Madrid region of Spain. *Vet J* 2012, **194**, 102-107.
2. Anastácio S, Tavares N, Carolino N, Sidi-Boumedine K, da Silva GJ. Serological evidence of exposure to *Coxiella burnetii* in sheep and goats in central Portugal. *Vet Microbiol*

- 2013, **167**, 500-505.
3. **Astobiza I, Ruiz-Fons F, Piñero A, Barandika JF, Hurtado A, García-Pérez AL.** Estimation of *Coxiella burnetii* prevalence in dairy cattle in intensive systems by serological and molecular analyses of bulk-tank milk samples. *J Dairy Sci* 2012, **95**, 1632-1638.
 4. **Barlow J, Rauch B, Welcome F, Kim SG, Dubovi E, Schukken Y.** Association between *Coxiella burnetii* shedding in milk and subclinical mastitis in dairy cattle. *Vet Res* 2008, **39**, 23.
 5. **Cantas H, Muwonge A, Sareyyupoglu B, Yardimci H, Skjerve E.** Q fever abortions in ruminants and associated on-farm risk factors in northern Cyprus. *BMC Vet Res* 2011, **7**, 13.
 6. **Field PR, Mitchell JL, Santiago A, Dickeson DJ, Chan SW, Ho DWT, Murphy AM, Cuzzubbo AJ, Devine PL.** Comparison of a commercial enzyme-linked immunosorbent assay with immunofluorescence and complement fixation tests for detection of *Coxiella burnetii* (Q fever) immunoglobulin M. *J Clin Microbiol* 2000, **38**, 1645-1647.
 7. **Guatteo R, Beaudeau F, Berri M, Rodolakis A, Joly A, Seegers H.** Shedding routes of *Coxiella burnetii* in dairy cows: implications for detection and control. *Vet Res* 2006, **37**, 827-833.
 8. **Guatteo R, Beaudeau F, Joly A, Seegers H.** Assessing the within-herd prevalence of *Coxiella burnetii* milk-shedder cows using a real-time PCR applied to bulk tank milk. *Zoonoses Public Health* 2007, **54**, 191-194.
 9. **Herremans T, Hogema BM, Nabuurs M, Peeters M, Wegdam-Blans M, Schneeberger P, Nijhuis C, Notermans DW, Galama J, Horrevorts A, van Loo IH, Vlaminckx B, Zaaijer HL, Koopmans MP, Berkhout H, Socolovschi C, Raoult D, Stenos J, Nicholson W, Bijlmer H.** Comparison of the performance of IFA, CFA, and ELISA assays for the serodiagnosis of acute Q fever by quality assessment. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013, **75**, 16-21.
 10. **Kim WJ, Hahn TW, Kim DY, Lee MG, Jung KS, Ogawa M, Kishimoto T, Lee ME, Lee SJ.** Seroprevalence of *Coxiella burnetii* infection in dairy cattle and non-symptomatic people for routine health screening in Korea. *J Korean Med Sci* 2006, **21**, 823-826.
 11. **NIH, Korea Centers for Disease Control and Prevention.** Disease Web Statistics System. Cheongju, 2012.
 12. **Kwak W, Chu H, Hwang S, Park JH, Hwang KJ, Gwack J, Choi YS, Youn SK, Park MY.** Epidemiological characteristics of serologically confirmed Q fever cases in South Korea, 2006-2011. *Osong Public Health Res Perspect* 2013, **4**, 34-38.
 13. **McCaughey C, Murray LJ, McKenna JP, Menzies FD, McCullough SJ, O'Neill HJ, Wyatt DE, Cardwell CR, Coyle PV.** *Coxiella burnetii* (Q fever) seroprevalence in cattle. *Epidemiol Infect* 2010, **138**, 21-27.
 14. **Meredith AL, Cleaveland SC, Denwood MJ, Brown JK, Shaw DJ.** *Coxiella burnetii* (Q-fever) seroprevalence in prey and predators in the United Kingdom: evaluation of infection in wild rodents, foxes and domestic cats using a modified ELISA. *Transbound Emerg Dis* 2014, Epub ahead of print. doi: 10.1111/tbed.12211.
 15. **Muskens J, van Engelen E, van Maanen C, Bartels C, Lam TJGM.** Prevalence of *Coxiella burnetii* infection in Dutch dairy herds based on testing bulk tank milk and individual samples by PCR and ELISA. *Vet Rec* 2011, **168**, 79.
 16. **Norlander L.** Q fever epidemiology and pathogenesis. *Microbes Infect* 2000, **2**, 417-424.
 17. **Ouh IO, Seo MG, Do JC, Kim IK, Cho MH, Kwak DM.** Seroprevalence of *Coxiella burnetii* in bulk-tank milk and dairy cattle in Gyeongbuk province, Korea. *Korean J Vet Serv* 2013, **36**, 243-248.
 18. **Parisi A, Fraccalvieri R, Cafiero M, Miccolupo A, Padalino I, Montagna C, Capuano F, Sottili R.** Diagnosis of *Coxiella burnetii*-related abortion in Italian domestic ruminants using single-tube nested PCR. *Vet Microbiol* 2006, **118**, 101-106.
 19. **Paul S, Agger JF, Markussen B, Christoffersen AB, Agerholm JS.** Factors associated with *Coxiella burnetii* antibody positivity in Danish dairy cows. *Prev Vet Med* 2012, **107**, 57-64.
 20. **Paul S, Agger JF, Agerholm JS, Markussen B.** Prevalence and risk factors of *Coxiella burnetii* seropositivity in Danish beef and dairy cattle at slaughter adjusted for test uncertainty. *Pre Vet Med* 2014, **113**, 504-511.
 21. **Rodolakis A.** Q fever in dairy animals. *Ann N Y Acad Sci* 2009, **1166**, 90-93.
 22. **Ryan ED, Kirby M, Collins DM, Sayers R, Mee JF, Clegg T.** Prevalence of *Coxiella burnetii* (Q fever) antibodies in bovine serum and bulk-milk samples. *Epidemiol Infect* 2011, **139**, 1413-1417.
 23. **Sondgeroth KS, Davis MA, Schlee SL, Allen AJ, Evermann JF, McElwain TF, Baszler TV.** Seroprevalence of *Coxiella burnetii* in Washington State domestic goat herds. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2013, **13**, 779-783.
 24. **Yingst SL, Opaschaitat P, Kanitpun R, Thammasart S, Ekgatit M, Jirathanawat V, Wongwicharn P.** Q fever surveillance in ruminants, Thailand, 2012. *Emerg Infect Dis* 2013, **19**(12), 2056-2058.