



전염성후두기관염, 계두 및 세망내피증 바이러스 3종 동시 유전자 진단법 개발과 적용

농림축산검역본부 동식물위생연구부 조류질병과 송혜순 연구사

전염성후두기관염(ILT)은 전염성후두기관염바이러스(Gallid herpesvirus type 1, GaHV-1 또는 ILTV)에 의한 닭의 호흡기성 질병으로 후두염 및 기관염이 주된 병변이다. ILTV에 감염된 닭은 기관에 염증이 생겨 재채기, 기침 등의 호흡기 증상이 나타나고, 심한 경우에는 기관 점막내 섬유소성 화농성 염증 결절이 기관 내강을 막아 호흡곤란으로 폐사가 발생된다.

계두(Fowlpox; FP)는 계두바이러스(Fowlpox virus: FWPV)에 의해 닭과 칠면조의 피부, 구강 및 호흡기 점막에 결절이 형성되는 질병으로 피부형(건성)과 점막형(습성)으로 나뉜다. 임상증상은 발병 부위 및 전염경로 등에 따라 다양하게 보이는데, 주로 벼슬, 눈꺼풀, 입, 날개와 다리의 털이 없는 부위에 결절성 병변이 유발되는 피부형이 가장 많다. 피부형은 폐사율이 낮지만, 점막형은 구강, 식도, 혀, 기관 내에 황백색의 결절이 다양한 크기로 형성되어 호흡곤란과 다른 질병과의 복합감염으로 폐사율이 높은 것으로 알려져 있다.

또한 계두는 기관 내 삼출물이 형성되어 호흡곤란이 나타나는 전염성후두기관염의 임상증상과 유사하고, ILTV와 계두바이러스의 복합 감염 사례도 발생되고 있어 감별진단이 반드시 필요하다. 전통적인

감별진단법은 조직학적 병변으로 계두의 세포질 내 봉입체와 닭전염성후두기관염의 핵내 봉입체로 감별하였으나 이는 병리조직학적 전문가를 필요로 하는 단점과 시간이 2~3일 소요되는 단점이 있다(그림1).

세망내피증(Reticuloendotheliosis)은 감마-레트로바이러스(Gamma-retrovirus)에 의한 증체를 저하로 왜소증후군이 나타나는 비종양성 형태와 간과 비장 등에 종양이 유발되는 종양성 형태로 구분된다. 왜소증후군을 보이는 닭은 흥선과 F낭의 심한 위축으로 빈혈 및 면역억제가 나타나 2차 감염이 유발될 수 있으며, 특히 전염성후두기관염이나 계두와 같은 바이러스성 질병에 쉽게 노출되어 농가에 경제적 피해가 발생하는 것으로 보고되어 있다. 무엇보다 계두바이러스 유전자 내에 세망내피증 프로바이러스의 유전자가 삽입되어 계두바이러스의 병원성에 영향을 끼친다는 보고가 있어 계두바이러스와 세망내피증바이러스를 동시에 정확하게 감별할 수 있는 진단법이 중요하다.

따라서 농림축산검역본부 조류질병과에서는 전염성후두기관염바이러스, 계두바이러스 및 세망내피증바이러스를 정확하고 신속하게 감별하고 계두바이러스 유전자 내에 삽입되어 있는 세망내피증바이러스 유전자까지 검출할 수 있는 다중중합효소연쇄반응(Multiplex PCR) 방법을 개발하여 다음과 같이 소개하고자 한다.

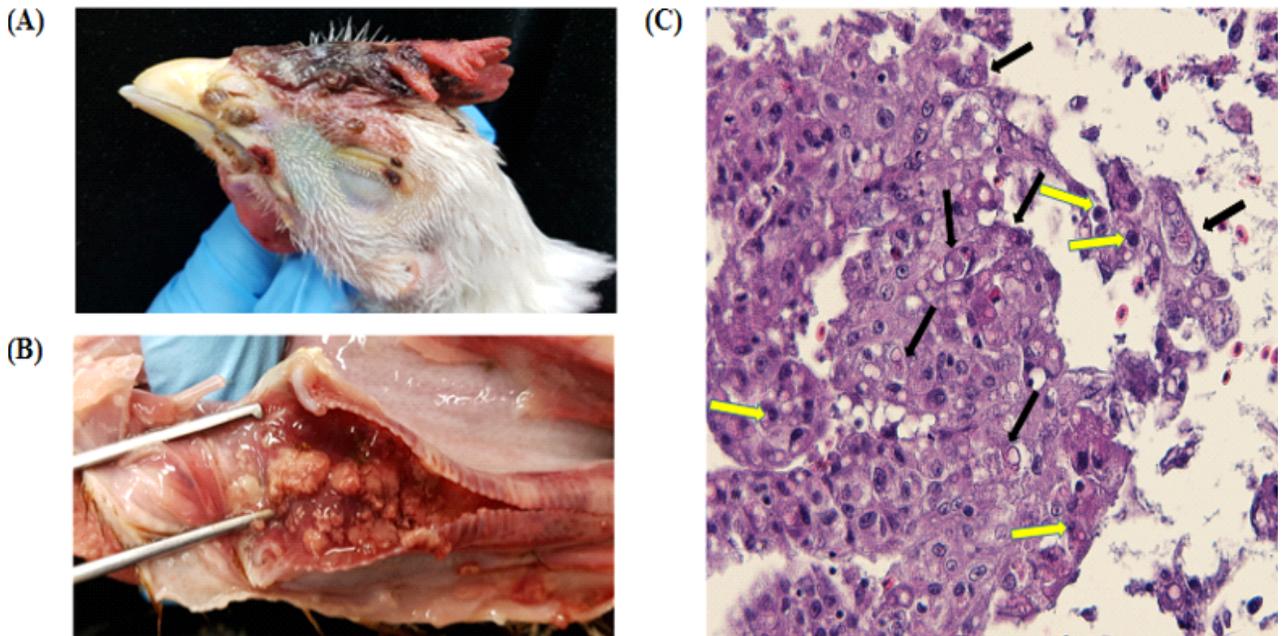


그림1. 닭전염성후두기관염바이러스와 계두바이러스에 복합 감염된 토종닭 사례
 (A) 계두바이러스 감염에 따른 닭의 육안적 병변(피부형),
 (B) 닭전염성후두기관염바이러스 및 계두바이러스의 감염에 따라 형성된 기관 내 염증 결절,
 (C) 닭전염성후두기관염바이러스 감염에 따른 핵내 봉입체(노란색 화살표) 및 계두바이러스 감염에 따른 세포질 내 봉입체(검은색 화살표).

다중중합효소연쇄반응(Multiplex PCR)을 이용한 검출법 개발

• 특이도 조사

4종의 바이러스에 대한 민감도와 특이도가 우수한 유전자 부위를 선정하여 4쌍의 특이적 프라이머를 제작한 후 다중중합효소연쇄반응(Multiplex PCR)을 실시하여 전기영동을 한 결과, 표적 바이러스를 정확하게 검출하고 세망내피증바이러스가 삽입된 계

두바이러스도 동시에 검출할 수 있음을 확인하였다(그림2).

• 민감도 조사

4종의 바이러스로부터 유전자(genomic RNA)를 각각 추출하여 재조합 플라스미드를 제작한 후 일정한 농도로 희석하여 민감도를 조사한 결과, 그림3의 다중중합효소연쇄반응에서 5^4 copies/ μ l의 민감도로 목표 유전자를 정확하게 검출할 수 있음을 확인하였다(그림3).

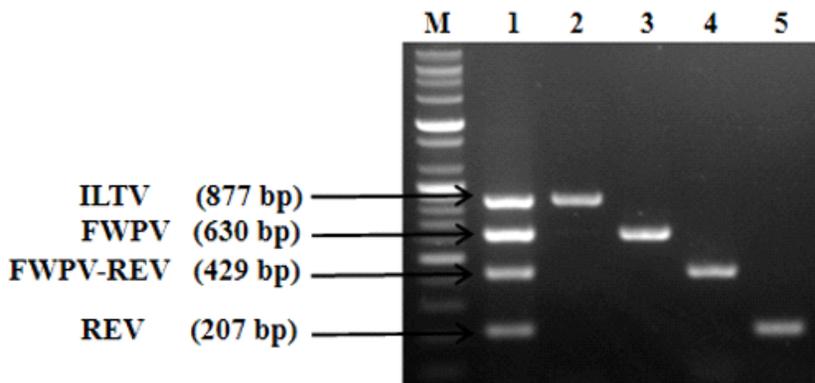


그림2. 다중중합효소연쇄반응법을 이용한 4종 바이러스의 특이도 분석 결과

맺음말

전염성후두기관염은 1982년 국내 산란계 농가에서 처음 발생하였고, 그 뒤 약 4개월만에 전국적으로 확산되면서 산란저하와 폐사에 따른 경제적 손실이 유발되었다. 계두는 모기를

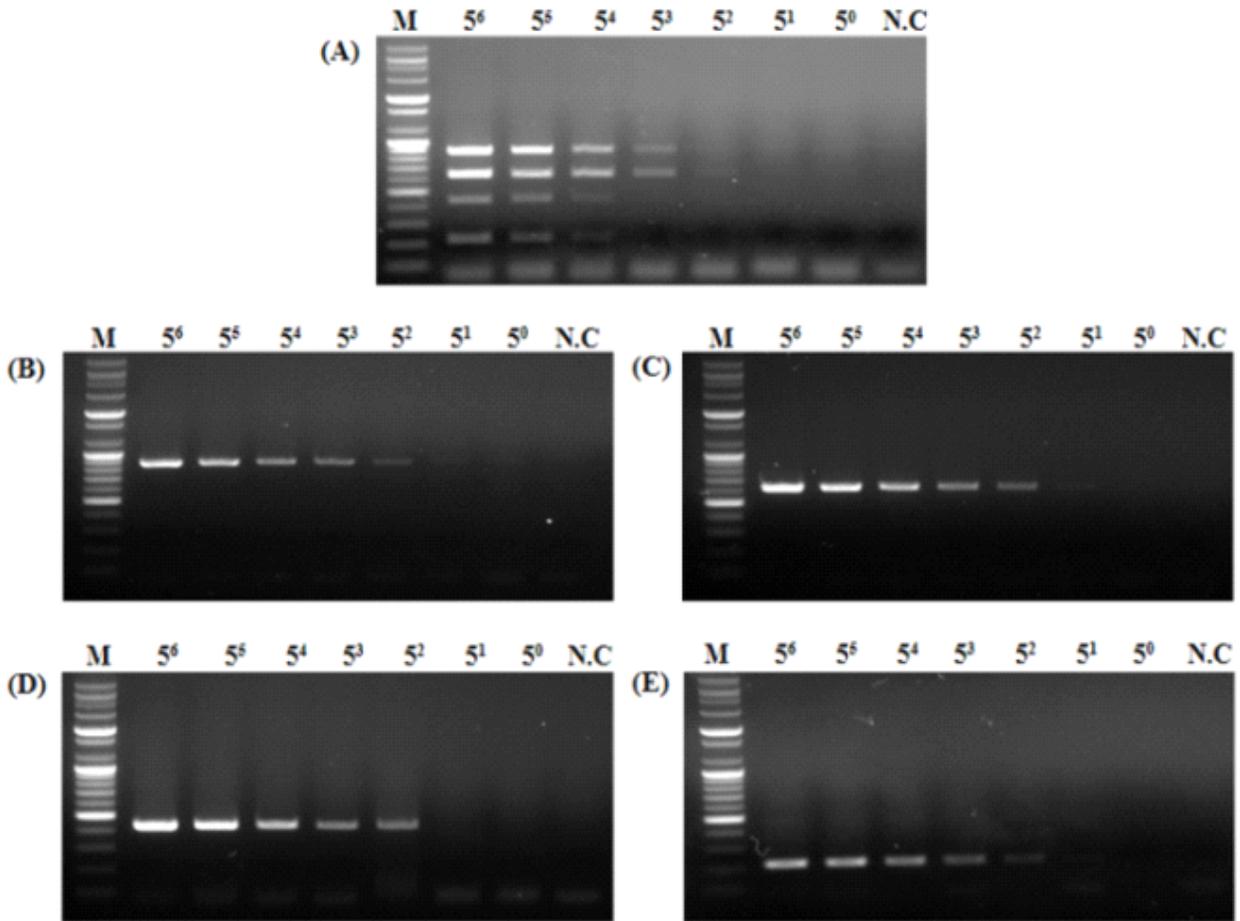


그림3. 다중중합효소연쇄반응 및 단일중합효소연쇄반응을 이용한 민감도 분석 결과
 (A) 4종의 특이적 유전자를 포함한 재조합플라스미드의 다중중합효소연쇄반응의 민감도
 (B) ILTV의 특이적 유전자에 대한 재조합플라스미드의 단일중합효소연쇄반응의 민감도
 (C) FWPV의 특이적 유전자에 대한 재조합플라스미드의 단일중합효소연쇄반응의 민감도
 (D) FWPV-REV의 특이적 유전자에 대한 재조합플라스미드의 단일중합효소연쇄반응의 민감도
 (E) REV의 특이적 유전자에 대한 재조합플라스미드의 단일중합효소연쇄반응의 민감도

매개로 전파되는 질병으로 여름철 이전에 백신접종을 완료하여 그 피해를 줄일 수 있지만 최근에는 무창계사에서 사육되는 닭이 많아 계두의 발생 빈도가 계절에 관계없이 나타나고 있다. 또한 세망내피증바이러스의 유전자가 계두바이러스 유전자에 삽입되어 있어 닭에 감염시 면역억제와 함께 계두의 병원성이 증대될 수 있어 조기 검색이 중요하다. 따라서 검역본부에서는 상기의 바이러스를 동시감별할 수 있는 진단법을 자체적으로 개발하여 특허 출원 및 실시권 계약을 진행하였다. 이렇게 개발된 3중(전염성후두기관염, 계두, 세망내피증) 전염병에 대한 동시 유전자 진단법을 시·도 방역기관과 민간병성감정지정기

관에서 적극 활용한다면, 질병을 신속하고 정확하게 진단할 수 있어 질병의 확산을 방지하고, 농가의 경제적 피해를 절감하는 효과를 가져올 것으로 생각된다. ☎ (Tel: 054-912-0816,

E-mail: hssong1217@korea.kr)

국민을 위해하는
적극행정