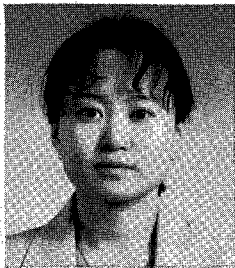


추백리의 올바른 진단방법



이 영 주

국립수의과학검역원 조류질병과 연구사

추백리(Pullorum disease)는 주로 초생추에서 백색의 설사를 유발하는 소화기계 질병으로 살모넬라 폴로룸(*Salmonella pullorum*)이라는 세균에 의해 발생하는 제1종 법정전염

병중의 하나이다.

이 질병은 성계에서는 불현성 감염되어 특이한 임상증상없이 보균계로 존재하면서 난계대전염을 일으키거나 혹은 난소에 병변을 형성하여 산란저하를 유발한다.

1900년에 세계적으로 처음 이 병원체가 분리, 보고된 이후 국내에서도 1940년부터 발생되어 그 피해가 많았으나 종계에 대해서 의무적으로 철저하게 검색, 도태하도록 근절대책이 시행됨에 따라 현재의 발생율은 현저하게 감소되었다. 국내에서 실시하고 있는 종계의 추백리 진단은 혈청학적 방법중 평판응집반응으로 실시하고 있으나, 이는 야외에서도 이미 잘 알려진바와 같이 많은 비특이반응을 유발하고 있다.

세균의 특성상 나타날 수밖에 없는 비특이반응과 더불어 용혈등 잘못된 혈청의 사용 및 진단방법의 미비등으로 평판응집반응의 판정에 많은 오차가 유발되고 있으나, 평판응집반응은 다수의 수수를 단시간내 검사하기위한 방법으로 현재까지도 전세계적으로 일반화 되어있다.

따라서 시술자의 잘못으로 인한 진단상의 오차를 최소화하고, 또한 표준화된 정밀한 진단법을 소개하고자 국제수역사무국(1996)과 미국가금개량계획(National Poultry Improvement Plans, 1997)에서 공인된 방법들을 기술하고자 한다.

추백리 방역에 있어서 추백리 진단액에 대한 여러 의견들이 계속 제기되어왔었기 때문에 이번에는 추백리 진단에 대하여 좀 더 자세하고 전문적인 부분까지도 언급을 하였다.

따라서 본 글이 양축기뿐만 아니라 닭질병 전문수의사에게도 도움이 될 수 있었으면 한다.

1. 원인체의 특성

현재까지 세계적으로 알려져 있는 살모넬라균종의 수는 약 3,000여종에 이르고 있다.

그 중 가금에만 질병을 유발하는 원인체는 추백리를 유발하는 살모넬라 풀로룸 (*Salmonella pullorum*)과 가금 티푸스 원인균으로 잘 알려져 있는 살모넬라 갈리나룸 (*Salmonella gallinarum*)이다.

일반적으로 살모넬라속균은 균체항원(O 항원)과 편모항원(H 항원)으로 나누어 많은 혈청형으로 구분된다.

균체항원은 모든 살모넬라속균이 다 가지고 있는 항원임에 반하여 편모항원은 운동성을 가지는 항원구조를 일컫는 것으로 추백리균과 가금티푸스균만은 이들 편모항원을 함유하고 있지 않다.

따라서 균을 동정함에 있어서 살모넬라균인 것이 확인되면 운동성 유무로 다른 살모넬라속균과 이들 두종류의 살모넬라균을 구분하는 것이 가능해진다.

추백리균과 가금티푸스균은 같은 D1 혈청형으로 구분되나 생화학적 성상과 닭에 대한 병원성에 약간의 차이가 난다.

추백리균은 일반적으로 1, 9, 121, 122, 123의 균체항원구조를 가지며 그 중 122와 123의 조성량에 따라 표준형, 중간형 및 변이형으로 구분된다.

즉, 122보다 123을 많이 함유하고 있으면 표준형균이며, 123보다 122를 많이 함유하면 변이



형균, 122와 123을 거의 동일하게 함유하면 중간형균으로 구분한다.

가금티푸스균은 표준형 추백리균과 거의 동일한 성상을 가진 것으로 알려지고 있다.

1) 추백리의 진단

추백리를 최종 진단하는데 있어서는 크게 혈청학적 진단법과 균분리, 동정법이 있다.

2) 혈청학적 진단법

추백리의 혈청학적 진단법은 급속전혈평판응집반응법, 급속혈청평판응집반응법, 표준시험관응집반응법 및 미세응집반응법으로 크게 네가지로 구분된다.

① 급속전혈평판응집반응법

다량의 수수를 검사하기 위한 방법으로 야외에서 바로 적용이 가능하다.

진단액 약20ul(0.02ml)를 유리평판의 중앙에 올려놓고, 날개쪽 정맥에서 채혈침을 이용하여 신선한 전혈 한방울을 취한 다음, 진단액과 잘

표1. 급속전혈 평판응집 반응법

판 정	반응시간	반응양상
양성반응	1분 이내	○ 뚜렷한 응집괴와 함께 혼합액 주위가 맑아짐
의양성반응	1분~2분	○ 응집괴는 작으나 응집괴 주위가 맑아짐
음성반응	2분 이상	○ 응집괴가 전혀 나타나지 않음 ○ 과립의 형성 ○ 혼합액이 마르면서 주위에 응집이 형성

표2. 표준 시험관 응집 반응법

판 정	반응시간	반응양상
양성반응	37°C에서 18~24시간	○ 뚜렷한 응집괴와 액체부분이 맑을 경우
의양성반응		○ 응집이 부분적이거나 불완전할 경우
음성반응		○ 혈청과 진단액의 혼합액이 일정하게 혼탁하게 나타날 경우

표3. 미세응집 반응법

판 정	반응시간	반 응 양 상
양성반응	37°C에서	○ 부정확한 모양의 퍼져있는 침전물
음성반응	18~24시간	○ 단추모양의 항원침전물

혼합해준다.

2분간 유리판을 돌려주며 관찰하는데, 이 시간동안 혼합액이 마르지 않도록 주의하여야 한다.

응집괴의 형성유무로 결과를 판정하며, 응집력이 클수록 응집괴의 형성이 빠르고 응집괴가 크게 나타난다.

양성반응은 진단액의 뚜렷한 응집괴와 함께 혼합액의 주위부분이 맑게 나타나며, 좀 더 약한 양성반응은 응집괴는 작으나 맑은 부분들이 응집괴 주위에 둘러 싸여져 있다.

이러한 약한 양성반응과 음성반응과의 사이에서 때때로 과립들이 보이는 경우도 있는데 이 경우는 판정에서 제외시켜야 하며 혼합액이 마르기전에 발생할 수도 있는 가장자리의 응집도 음성반응으로 간주한다.

또한 반응이 전혀 나타나지 않을 경우는 혼합액이 균질하게 보이며 이는 음성반응이 된다.

국내에서는 반응시간 1분 이내에 응집괴의 형성을 양성으로 판정하며, 1분에서 2분 사이에 응집괴가 나타날 경우를 의양성, 2분이상이 되어도 응집괴가 나타나지 않을 경우를 음성으로 간주한다.

② 급속혈청평판응집반응법

이 진단법은 급속전혈평판응집반응법과 진단항원 제조방법에 약간의 차이가 있을 뿐, 전혈을 혈청으로 대신하는 것이 외에 모든 방법은 동일하다.

이때 주의해야할 점은, 반드시 신선한 혈청을 사용하여야만 하며 또한 용혈된 혈청의 경우는 시험에서 제외시켜야 한다.

③ 표준시험관응집반응법

무색투명하고 바닥이 둥근 시험관을 이용하여, 시험관응집반응용으로 제조된 진단액 1ml을 실험할 혈청 40ul(0.04ml)과 혼합한 후 37°C에서 18~24시간 배양한다.

배양 후 항원의 뚜렷한 응집괴가 있으며 응집괴이외의 액체부분이 맑을 경우를 양성으로 판정하고, 응집이 부분적이거나 불완전할 경우를 의양성, 혈청과 진단액과의 혼합액이 일정하게 혼탁하게 보이면 음성으로 판정한다.

④ 미세응집반응법

마이크로 플레이트에서 실시하며, 실험하고자 하는 혈청의 수대로 0.85% 생리식염수를

100ul(0.1ml)씩 넣는다.

혈청을 10ul(0.01ml)씩 각각 첨가한 후 표준화된 미세응집반응용 진단액을 100ul(0.1ml)씩을 첨가하고 37°C에서 18~24시간 배양한 후 판정한다.

양성반응은 플레이트 밑부분에 부정확한 모양으로 퍼져있는 침전물이 나타나며, 음성반응은 밑부분에 단추모양의 항원침전물이 나타난다.

다수의 검사를 위한 평판응집반응시 추백리균은 가금티푸스균이외에 공중보건학적 위험성이 큰 살모넬라 엔테리티디스(Salmonella enteritidis)와 같은 혈청형인 D1 그룹에 속하는 균이기에 이들의 감염시에도 양성반응이 나타날 수 있다.

따라서 평판응집반응에서 양성반응이 나타날 경우 표준시험관응집반응과 미세응집반응으로 확인검사를 실시하는 것이 가장 효과적이다.

그러나 궁극적으로 추백리균과 가금티푸스균을 혈청학적 검사로 감별하기는 전세계 어느곳에서도 불가능하다.

따라서 우리가 흔히 말하는 '추백리 진단액'이 일반적으로 '추백리-가금티푸스 진단액'으로 불려지고 있다.

국내와 같이 가금티푸스가 만연되어있는 상황에서는 종계에서 혈청학적 양성반응이 나올 경우 추백리와 가금티푸스 감염계를 구별하는데 노력을 들이기보다는 양성계를 도태해 나가는 것이 가장 바람직한 일이다.

미국, 영국 및 독일등 한동안 가금티푸스로 심각한 문제가 유발되었던 선진국에서도 현재에는 추백리의 발생뿐만이 아니라 가금티푸스의 발생이 완전히 차단된 것을 보면 두 질병

을 따로 분리시키는 방역보다는 같이 박멸정책을 추구하는 것이 훨씬 효과적일 것으로 판단된다.

2. 균분리 동정법

추백리균을 최종 동정하기 위해서는 우선 의심되는 집락이 살모넬라균인지 아닌지를 파악해야만 한다.

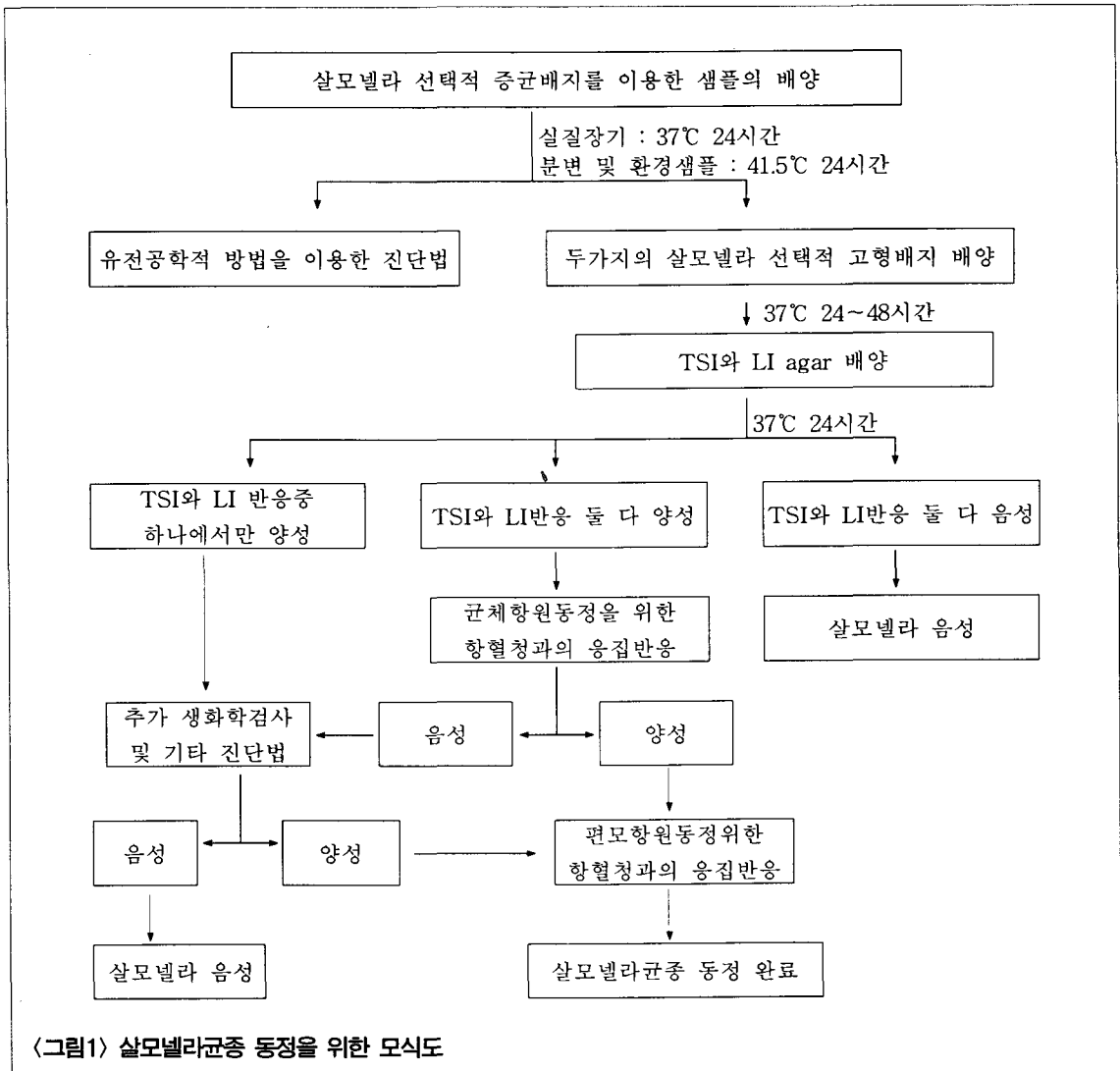
미국가금개량협회에서 공인된 환경이나 실질장기, 장내용물에서의 균분리, 동정법으로는, 먼저 샘플을 살모넬라 선택증균배지에 1/10정도의 비율이되게 첨가하여 배양한다(실질장기는 37°C에서 24시간, 장내용물이나 환경샘플의 경우는 41.5°C에서 24시간).

배양이 확인되면 유전공학적 방법을 이용하여 바로 진단을 하거나 그렇지 못할 경우 두가지 정도의 살모넬라선택 고형배지에 배양액을 접종한 후 37°C에서 24~48시간 배양한다. 의심되는 집락이 확인될 경우 triple sugariron(TSI)와 lysine-iron(LI) 고형사면배지에 배양한후 37°C에서 24시간 배양한다.

살모넬라균의 경우 TSI와 LI 고형사면배지에서 사면부위는 붉게, 시험관 밑부분은 노란색 및 H₂S의 산생으로 검은색으로 나타내게 된다.

이 반응에서 하나는 살모넬라균 양성반응, 하나는 음성반응이 나올 경우 추가적인 생화학 실험과 다른 진단방법들을 실시하여야 하며 추가시험에서 양성으로 판정될 경우 균체항원에 대한 항혈청을 이용하여 혈청형을 판정한다.

만약 추가시험에서도 음성으로 판정될 경우는 더 이상의 추가시험없이 살모넬라균이 아닌



〈그림1〉 살모넬라균종 동정을 위한 모식도

표4. 살모넬라균의 감별진단을 위한 생화학적 성상비교

생화학적 시험법	<i>S. pullorum</i> (추백리)	<i>S. gallinarum</i> (가금티푸스)	기타 살모넬라종 (가금파티푸스)
운동성	없음	없음	있음
황화수소 산생능	없음	없음	있음
글루코즈 분해시 가스 산생능	있음(많음)	없음(소량)	있음(많음)
들시톨 분해능	없음	있음	있음
주석산 이용능	없음	있음	없음
오르니틴 이용능	있음	없음	없음

것으로 판단한다.

TSI와 LI agar 둘다에서 살모넬라 양성이 나올 경우는 균체항원진단용 다가 항혈청형(Poly A, B, C, D, E, F, G) 및 편모항원진단용 항혈청을 이용한 최종 동정을 실시하며, TSI와

LI 반응에서 둘 다 음성이 나올 경우는 살모넬라균이 아닌 것으로 판정한다. 살모넬라균 동정에 있어 일차적으로 적용되는 다가항혈청은 일반적으로 살모넬라균과 반드시 응집이 일어나야함을 뜻한다. 따라서 다가항혈청과 응집반응이 일어나지 않을 경우에는 추가적인 생화학 실험을 실시하거나 살모넬라균이 아닌 것으로 판정한다. 최근 국내에서는 살모넬라로 의심되는 집락의 동정시, 살모넬라균만이 발광하도록 제조된 Mucap 시약(Biolife, Italiana)을 이용하기도 한다.

즉, 집락위에 이 시약을 한방울 떨어뜨린후 3~5분후에 366nm의 자외선조사장치아래에서 발광이 되면 우선 살모넬라균으로 판정하고 운동성 유무를 확인한다.

운동성이 없을 경우는 추백리균이나 가금티푸스균 감별을 위한 생화학 검사를 실시하여

최종 균동정을 실시하며, 운동성이 있을 경우는 항혈청을 이용한 균종동정을 실시한다. 만약, 자외선조사장치아래에서 강하게 발광은 되지만 다가항혈청과 응집하지 않거나, 발광은 되지않지만 집락의 모양이 살모넬라균으로 의심될 경우는 TSI와 LI 시험등을 실시한다.

국내에서처럼 가금티푸스가 만연한 상황에서 균분리 병행없이 혈청학적 검사로만 추백리를 정확하게 진단하기란 불가능하다. 그러나 앞서 말한바와 같이 가금티푸스로 인하여 심각한 문제가 유발되었었던 일부 국가의 경우, 현재에는 가금티푸스뿐만이 아니라 추백리까지도 동시에 박멸된 것을 보면, 비록 국내에서 가금티푸스가 제2종 법정전염병으로 규정되어는 있지만 방역에 있어 두 질병을 하나로 생각하고 양성제는 도태시켜 나가는 것이 우리 양계산업의 발전에 큰 도움이 되리라 생각한다. **양계**

빠른 양계 정보 제공 안내

주간 양계속보

-주단위 양계관련 최신 정보-

계란, 육계, 병아리, 노계가격, 주간 배합사료 생산실적, 금후 양계산물 가격 주단위 전망 등

구독료 : (연간) 60,000원

난가 변동 FAX통보

-데이콤 메일 400, 팩스로 자동 수신-

수도권 지역 난가 변동시 당일 오전 중 발송, 전국 난가 및 전망사료 수시 송부

이용료 : 연간 누구나 100,000원

* 구독이나 이용을 희망하시는 분은 (사)대한양계협회(02)588-7651로 직접 문의하시거나, 온라인 농협 097-01-000953로 송금후, 전화연락 바람. 예금주 대한양계협회