

## 경북지역 산란계에서 *avian pneumovirus*에 대한 항체가 조사

김순태<sup>1</sup>, 김성국, 조민희, 김영환

경상북도가축위생시험소  
(접수 2003. 1. 15, 게재승인 2003. 2. 8)

### **Serological survey of *avian pneumovirus* infection in laying hens of Gyeongbuk province**

Soon-Tae Kim<sup>1</sup>, Sung-Kuk Kim, Min-Hee Cho, Young-Hoan Kim

*Gyeongbuk Veterinary Service Laboratory, Daegu, 702-210, Korea*  
(Received 15 January 2003, accepted in revised form 8 February 2003)

#### **Abstract**

*Avian pneumovirus*(APV), also known as *avian rhinotracheitis virus*(ARTV), affects both turkeys and chickens and is known to be the primary causative agent of turkey rhinotracheitis (TRT). The aim of this study was to establish the presence or absence of antibodies to *avian pneumovirus* in the commercial poultry population of Korea. For this purpose, chicken serum samples were obtained and tested by an enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA). The tested serum was collected in laying hens with reduction of egg production or normal in Gyeongbuk province. A total of 184 sera representing 42 different poultry farms of the Gyeongbuk region of Korea were included in this study.

Laying hens of 16 different farms with reduction of egg production and laying hens of 26 different farms with clinically healthy at the time of serum sampling were considered positive to antibody against APV. In the farms with reduction of egg production, positive farm to antibody against *avian pneumovirus* were 11 of 16 different farms(68.8%) and positive sera were 47(58.8%) of 80 different serum. In the farms with clinically healthy flock, positive farm to antibody against *avian pneumovirus* were 12(46.2%) of 26 different farms and positive serum sample were 39(37.5%) of 104 different sera.

According to the results tested to 42 different farms in 14 city, 8 of 14 city have flocks

---

<sup>1</sup>Corresponding author

Phone : +82-53-326-0013, Fax : +82-53-326-0014

E-mail : stkim@gb.go.kr

with antibody positive laying hens against APV, 1 of 14 city have antibody suspicious and 5 of 14 city shown antibody negative, respectively.

Key words : *Avian pneumovirus*(APV), *Avian rhinotracheitis*(ARTV), ELISA antibody

## 서 론

*Avian rhinotracheitis virus*(ARTV)로 알려진 *avian pneumovirus*(APV)는 칠면조와 닭에 감염되며 turkey rhinotracheitis(TRT)의 주 원인체로 알려져 있으며 이것은 또한 닭에서 swollen head syndrome(SHS), 산란을 저하 그리고 호흡기 질환과 관련되어져 있다<sup>1-5)</sup>.

조류에서 호흡기 질병을 일으키는 mycoplasma, *avian influenza virus*, *infectious bronchitis virus* 및 *newcastle disease virus*(NDV)는 APV 감염과 비슷한 증상을 나타낸다<sup>2)</sup>. TRT는 1978년 남아프리카에서 처음 보고되었고 지금은 칠면조를 사육하는 대부분의 국가에서 발생되고 있다<sup>6,7)</sup>. APV 또는 TRTV로 알려진 TRT의 원인체는 family *paramyxoviridae*, subfamily *pneumovirinae*, genus *metapneumovirus*에 속하는 바이러스이다. APV는 single-stranded, nonsegmented RNA이며 사람 및 *bovine respiratory syncytial virus*와 유전적으로 밀접하다<sup>1,8-10)</sup>.

APV는 남아프리카, 프랑스, 이스라엘, 스페인, 이탈리아, 일본, 네덜란드, 독일, 멕시코, 헝가리, 영국, 벨기에, 칠레, 그리스, 타이완, 미국 등에서 칠면조 및 닭에서 분리보고 되어있다<sup>1,4,8)</sup>. 유럽에서는 APV가 type A 및 B로 분류되어지고 있으나 최근에 미국에서 분리 보고된 APV는 유전학적 및 항원적으로 유럽의 2종 type과는 달라 현재 type C APV로 불리어지고 있다<sup>3)</sup>.

닭에서 SHS는 1984년 남아프리카에서 처음 보고되었다<sup>11)</sup>. 이러한 증상이 많은 국가의 닭에서 보고되었으며<sup>2)</sup> 국내에서도 닭에서 원인체는 명확히 밝혀지는 못하였으나 SHS증상을 가진 닭들의 발생이 보고되고 있다. SHS의 병인론은 충분히 밝혀지지 않고 있으나 여러 실험에

의하여 SHS 증상을 나타내는 일부개체에서 칠면조 TRT의 원인체인 TRTV, 항체 또는 TRTV gene의 존재가 SHS의 경우에 입증되어 TRTV가 SHS 발생의 1차 원인 virus로 고려되어지고 있다<sup>11)</sup>.

아직까지 국내 양계산업에서 APV 감염과 관련된 충분한 과학적인 정보는 없다. 야외에서 발견된 닭의 swollen head의 대부분은 대장균과 관련된 IB감염에 기인한 것으로 알려져 있다. 국내의 경우 닭의 산란을 저하와 관련하여 APV의 관련여부는 아직까지 밝혀진 바 없다.

본 연구의 목적은 2002년도 경북지역내 산란을 저하를 나타내는 양계농가가 증가되어 산란을 저하를 나타내는 일반적인 질병인 뉴캐슬병, 가금인플루엔자, 산란저하증, 마이코플라즈마병 등의 질병 검색에서 명확한 결과가 나오지 않은 경우가 많이 있어서 이러한 산란을 저하의 원인이 APV의 감염과 관련 유무를 조사하고자 일차적으로 ELISA법을 이용하여 APV의 혈중항체를 조사하기 위하여 실시되었다.

## 재료 및 방법

### 계군 및 혈청

2002년 1월부터 8월까지 경북지역에서 사육 중인 산란계 농가에서 시험소에 산란을 저하의 원인을 밝히고자 병성감정 의뢰된 계군의 혈청 및 임상적으로 건강한 계군의 혈청으로 42개 농장, 184개의 혈청을 대상으로 ELISA법을 이용하여 APV에 대한 항체를 측정하였다.

### ELISA Kit 검사

ELISA kit는 State Veterinary Laboratory of Stuttgart(Germany) 제품이며, 진단키트 사용지침에 따라 모든 시약은 사용 전 18~25℃

의 실온에 방치 후 사용하였다. 요약하면, 실험은 혈청 50 $\mu$ l와 PBS-tween buffer 50 $\mu$ l를 각 well에 분주 후 혼합하여 plate를 봉한 후 실온에서 30분간 incubation 후 PBS-tween buffer를 사용하여 plate를 3회 세척하였다. 각 well에 100 $\mu$ l의 HRP conjugate를 첨가하여 30분간 실온에서 방치 후 PBS-tween buffer를 사용하여 plate를 3회 세척하고 각 well에 100 $\mu$ l substrate 용액을 첨가 후 실온에서 10분 방치하였다. 그 후 각 well에 50 $\mu$ l의 반응 정지액을 첨가하여 450nm에서 optical density(OD)를 측정하였다.

#### 계산 방법 및 결과 판정

OD 측정 후 시료의 percent inhibition (PI)을

계산하여 PI값이 40% 보다 클 경우 APV에 대한 항체 양성, 30~40% 일 경우 의양성(재검사) 및 30% 미만일 경우 음성으로 판정하였다. Percent inhibition (PI)를 구하기 위한 공식은 다음과 같다.

$$PI = \frac{(\text{Negative control OD} - \text{Sample OD}) \times 100}{\text{Negative control OD}}$$

#### 결 과

본 연구에서는 임상적으로 건강한 서로 다른 지역 26개 농장의 닭 및 산란율 감소가 발생 중인 16개 농장의 닭의 혈청을 사용하였다. ELISA kit를 이용한 APV에 대한 항체검사 결과 Table 1 및 2에서와 같이 산란율 감소를 나

Table 1. Presence of ELISA antibodies to APV in layer farms with reduction of egg production

		Positive	Suspicious	Negative	Total
Farms	No	11	2	3	16
	%	68.8	12.5	18.8	100.0
Chickens	No	47	6	27	80
	%	58.8	7.5	33.8	100.0

Table 2. Presence of ELISA antibodies to APV in layer farms randomly collected

		Positive	Suspicious	Negative	Total
Farms	No	12	2	12	26
	%	46.2	7.7	46.2	100.0
Chickens	No	39	6	59	104
	%	37.5	5.8	56.7	100.0

Table 3. Regional distribution of positive farms for ELISA antibody to APV in layers

	Region*														Subtotal
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	
Positive	8	1	2	1	0	0	5	2	3	1	0	0	0	0	23
Suspicious	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	1	0	4
Negative	0	1	1	0	1	1	3	3	2	0	1	1	0	1	15
Positive %	100	50.0	66.6	100	0.0	0.0	62.5	33.3	42.8	100	0.0	0.0	0.0	0.0	54.7
Total	8	2	3	1	1	1	8	6	7	1	1	1	1	1	42

\* Tested to layer farms in 14 city

타내는 16개 농장 80개의 혈청 시료의 APV에 대한 항체 양성농가는 11개(68.8%) 농장이며, 80개의 혈청 중 47개(58.8%)에서 양성으로 나타났다.

또한 임상적으로 건강한 상태를 보인 26개의 농장 104개의 혈청 시료에서는 12개(46.2%)의 농장에서 APV 양성이었으며, 개체별 검사에서는 104개 혈청 시료 중 39개(37.5%)의 시료에서 양성으로 나타났다.

ELISA kit를 사용한 APV에 대한 지역별 항체 양성 농가의 분포는 Table 3에서와 같이 임상적으로 정상 및 산란을 저하 발생농가를 포함한 14개 시·군의 42개 농장에 대한 항체 검사결과 8개 시·군에서 양성, 1개 시·군에서 양성 및 5개 시·군에서 항체 음성이었다.

## 고 찰

APV에 의해 야기되는 호흡기 질병은 1970년대 후반 South Africa에서 알려졌으며 칠면조에서 이 질병은 부비강염 및 비염을 야기하며 turkey rhinotracheitis로 불리어졌다<sup>68)</sup>. 이후 세계 여러나라에서 칠면조 및 닭에서 발생 보고가 되면서 현재는 TRT, ART, 또는 APV 감염으로 명칭 되어지고 있다.

APV 감염은 칠면조에서 재채기, swollen sinuses, 콧물, 사료섭취량 감소 및 음수량 감소를 특징으로 하는 칠면조에 대한 호흡기 질병이다. 일부 국가에서는 칠면조에 대한 APV 감염을 TRT로 그리고 닭에서의 APV 감염은 swollen head syndrome(SHS)로 불려지고 있다<sup>12)</sup>. 그러나 SHS는 APV에 의하여만 발생되는 것이 아니라 다른 원인에 의해서도 발생되는 증상으로 알려져 있어 SHS를 나타낸다고 해서 반드시 APV 감염으로 생각 할 수는 없다.

닭에서의 SHS 역시 1984년 South africa에서 처음 보고 되었다<sup>12)</sup>. SHS는 바이러스 및 세균의 혼합 감염에 의한 것으로 추측되어지고 있으나 원인체는 아직까지 명확하지 않다. 이러한 증상은 주로 육계에서 발생되며 두부의 피하부종을 나타낸다.

Shirai 등(1993)은 일본에서는 칠면조의 수가

극히 적고, SHS 증상을 보인 계군을 ELISA kit로 TRTV에 대한 항체를 조사한 결과 모두 음성이 나온 것을 근거로 일본에서의 SHS에 대한 원인체는 TRTV가 아닌 것으로 보고된 바 있으며, Goodwin 등(1994) 및 Droual 등(1994)은 미국의 경우도 SHS증상을 보인 계군에서 TRTV에 대한 항체를 검출 할 수 없었고 *coronavirus*, *adenovirus* 등의 다른 병원체가 분리됨으로써 미국에 있어서의 SHS의 원인체는 TRTV가 아닌 것으로 보고하였다<sup>13)</sup>.

국내에서는 SHS를 보이는 계군들이 일부 관찰되어 왔으며 TRTV에 대한 항체조사 결과 양성으로 확인되어 국내계군에서도 TRTV 감염이 있는 것으로 보고하였으나 산란을 저하와 관련된 보고는 없었다<sup>13)</sup>.

외국의 많은 연구보고에 의하면 SHS를 나타내는 닭의 혈청에서 TRTV에 대한 항체의 증가를 보고하고 있으며, 임상적으로 SHS를 나타내고 있는 닭의 대부분은 TRTV에 대한 항체 양성으로 나타난다. 이러한 결과로 APV는 현재 SHS를 유발시키는 주요한 바이러스로 고려되어지고 있다. 그러나 SHS를 나타내는 닭으로부터 TRTV의 분리는 단지 소수의 경우에서만 보고되어지고 있다. 그 이유로는 TRTV는 chicken kidney cell, chicken embryo fibroblast, embryonating eggs를 사용하는 일반적인 바이러스 분리방법으로는 분리가 어렵기 때문이다. 일반적으로 APV의 감염은 serology, RT-PCR, virus 분리에 의하여 진단하고 있으며 최근에 APV 감염의 혈청학적 진단은 ELISA에 의하여 수행되고 있다<sup>15)</sup>.

본 실험의 결과 산란을 저하를 나타내었던 산란계 농장에 대한 혈청검사 결과 16개 농장 중 11개 농장에서 APV항체 양성을 나타내어 국내에서도 산란을 저하 원인의 하나로 고려하여야 될 것으로 판단되며, 실험의 대상이 된 농장은 대부분 10~50%정도의 산란을 저하를 나타낸 농장으로 기타 검사 결과 뉴캐슬병, 가금 인플루엔자, 마이코플라즈마에 단독 감염 또는 APV와 복합감염의 양상을 나타낸 농장도 있으며, APV에만 항체양성 또는 전혀 산란저하 원인을 찾을 수 없는 농장도 있었다.

일본의 경우 1998년 7월부터 1999년 2월 사이에 산란계 농장 38호 336수에 및 난용종계장 9호 88수에서 APV에 대한 혈청 증화항체를 검사한 결과 산란계농장의 경우 38호중 25호(65.8%), 336수 중 182수(54.2%)의 항체양성을 나타내었으며, 난용종계장의 경우 9호중 5호(55.6%), 88수 중 44수(50.0%)의 항체 양성을 나타내어 많은 농장에서 APV에 노출되었음을 보고한바 있으며, 지역별로 볼 때 8개현 중 6개 지역에서 항체 양성분포를 나타내었다고 보고하였다<sup>14)</sup>.

본 실험의 결과 42개 농장 중 23호(54.7%)에서 항체 양성을 나타내었으며, 개체별로 볼 때 184수 중 86수(46.7%)에서 양성을 나타낸 바 검사 대상농장에 산란을 저하를 나타내는 농장이 포함된 점을 고려하면 검사 대상 농가 및 검사 수수가 적어 대표성은 없으나 1999년경의 일본보다는 항체보유율이 낮은 경향을 나타내고 있다. 한편 채혈 당시 산란저하를 나타내지 않은 농장(과거의 산란저하는 알 수 없음)을 대상으로 APV 항체를 조사한 결과 26농가 중 12농장에서 APV 항체 양성을 나타내었으며 14개 시·도를 대상으로 검사한 결과 8개 시·군에서 항체 양성을 나타낸 바 일본과 같이 국내 대부분의 지역에서 APV에 노출되어 있을 것으로 추정된다.

세계의 여러나라에서 분리된 APV는 genomic sequences가 서로 다른 것으로 보고되고 있다<sup>3)</sup>.

G gene의 염기서열 분석에 의하면 1994년 전 영국에서 분리된 APV는 type A에 속하며 대부분의 지역에서 분리된 APV는 type B로 보고되어져있다<sup>10)</sup>. 이들 두 type의 분류는 matrix (M) protein을 싸고 있는 gene의 염기 배열의 비교로 구분한다.

한편 본 실험에 사용된 ELISA kit는 APV에 대한 항체 중 type A 및 B를 측정 할 수 있는 바 현재 미국에서 보고된 type C와 관련된 항체 유무는 알 수가 없는 상태이다<sup>12)</sup>.

## 결 론

경북지역내 산란을 저하를 나타내는 농장 및

임상적으로 정상적인 농장의 산란계를 대상으로 산란을 저하의 원인이 될 수 있는 avian pneumovirus(APV)의 항체 존재유무를 조사한 결과 다음과 같은 결과를 나타내었다.

1. 산란을 저하를 나타낸 16개 농장 80개의 혈액에 대한 항체검사 결과 항체양성농가는 11호(68.8%)로 나타났으며 개체별 검사 결과는 80수 중 47수(58.8%)에서 항체 양성으로 나타났다.
2. 임상적으로 정상적인 농장인 경우 26호 104개의 시료 중 12호(46.2%)에 39수(37.5%)에서 APV에 대한 항체 양성을 나타내었다.
3. 지역별 항체 양성 분포는 14개 시·군중 8개 지역에서 항체양성을 나타내었다.

이상의 실험 결과로 보아 국내 대부분의 산란계 농장에서 APV감염을 의심할 수 있으며 농장에서의 산란을 저하시 APV감염 유무를 조사하여야 할 것으로 생각되며 더 나아가 바이러스 분리를 통하여 virus의 type도 조사하여야 할 것으로 생각된다.

## 참고문헌

1. Shin HJ, McComb B, Back A, et al. 2000. Susceptibility of broiler chicks to infection by avian pneumovirus of turkey origin. *Avian Dis* 44 : 797~802.
2. Pedersen JC, Reynolds DL, Ali A. 2000. The sensitivity and specificity of a reverse transcription polymerase chain reaction assay for the avian pneumovirus (Colorado strain). *Avian Dis* 44 : 681~685.
3. Ali A, Reynolds DL. 1999. A reverse transcription polymerase chain reaction assay for the detection of avian pneumovirus(Colorado Strain). *Avian Dis* 43 : 600~603.
4. Heckert RA, Myers DJ, Afshar A, et al. 1994. Development and Evaluation an enzyme linked immunosorbent assay for

- the detection of antibodies to avian pneumovirus. *Avian Dis* 38 : 694~700.
5. Hafez HM, Hess M, Prusas C, et al. 2000. Presence of avian pneumovirus type A in continental Europe during the 1980. *J Vet Med B* 47 : 629~633.
  6. Toro H, Hidalgo H, Ibanez M, et al. 1998. Serological evidence of pneumovirus in Chile. *Avian Dis* 42 : 815~817.
  7. Panigrahy B, Senne DA, Pedersen JC, et al. 2000. Experimental and serologic observations on avian pneumovirus(APV/turkey/Colorado/97) infection in turkeys. *Avian Dis* 44 : 17~22.
  8. Shin HJ. 2002. Murine susceptibility to avian pneumovirus(APV) of turkey origin. *Korean J Vet Res.* 41(4) : 529~533.
  9. Bayon-Auboyer MH, Arnauld C, Toquin D, et al. 2000. Nucleotide sequences of the F, L, and G protein genes of two non-A/non-B avian pneumoviruses(APV) reveal a novel APV subgroup. *J Gen Virol* 81 : 2723~2733.
  10. Bayon MH, Jestin V, Toquin D, et al. 1999. Comparison of F-, G- and N-based RT-PCR protocols with conventional virological procedures for the detection and typing of turkey rhinotracheitis virus. *Arch Virol* 144 : 1091~1109.
  11. Mase M, Asahi S, Imai K, et al. 1996. Detection of turkey rhinotracheitis virus from chickens with swollen head syndrome by reverse transcriptase-polymerase chain reaction(RT-PCR). *J Vet Med Sci* 58(4) : 359~361.
  12. Gough RE, Manvell RJ, Drury SEN, et al. 1994. Isolation of an avian pneumovirus from broiler chickens. *Vet Rec* 134 : 353~354.
  13. 이윤정. 1995. 단크론성 항체 및 polymerase chain reaction을 이용한 turkey rhinotracheitis virus 검출에 관한 연구. 건국대학교대학원 석사학위논문.
  14. 矢澤慈人, 柴田 勳. 2000. 国内の商業採卵鶏農場および 卵用種鶏農場における七面鳥鼻氣管炎ウイルス(TRTウイルス)の抗体調査. *鶏病研報* 36(1) : 37~39.
  15. Gulati BR, Munir S, Patnayak DP, et al. 2001. Detection of antibodies to U.S. isolates of avian pneumovirus by a recombinant nucleocapsid protein-based sandwich enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 39(8) : 2967~2970.