

# 구제역 감염 확인을 위한 비구조단백질(NSP) 항체 검출에 대한 고찰



**박종현**  
농림수산검역검사본부  
구제역진단과 수의연구관  
parkjhvel@korea.kr

구제역은 급성 발열, 파행을 일으키며, 혀, 발굽, 콧등, 유두 등에 수포형성이 특징인 질병으로 소와 양, 염소는 지속감염(캐리어)동물이 될 수 있으며, 감염된 소의 경우 2-3년 동안 바이러스를 체내에 보유할 수 있다. 따라서 구제역의 정확한 진단 및 예찰은 구제역 청정화를 유지하고 관리하는 데 있어서 매우 중요한 일이다.

우리나라는 2010년 구제역이 발생하여 전국적으로 확산되는 상황에서 백신을 접종했다. 구제역 감염항체로 알려져 있는 비구조단백질(non-structural protein : NSP) 항체를 검출하면 감염동물과 백신접종동물을 감별하는 것이 가능하다고 알려져 있으나, 전국적인 백신접종으로 복잡한 축산현장에서는 NSP 검사결과를 해석하는 것이 어려운 경우가 생길 수 있다. 따라서 역학 등과 진단 결과를 종합하여 그 의미를 적절히 파악하는 것은 중요하다. 본 글에서는 구제역 방역에 있어서 중요한 실험법인 NSP 검사법의 실제와 결과의 의미에 대한 이해를 돕고자 하였다.

## 세계동물보건기구(OIE)에서 규정하는 구제역 감염의 정의

구제역 바이러스 감염에 대해 OIE는 다음과 같이 정의하고 있다.

- 1) 구제역 바이러스가 동물(야생 또는 사육)이나 그 동물에서 유래한 제품에서 분리·동정된 경우,
- 2) 하나 이상의 구제역바이러스 혈청형에 특이적인 바이러스 항원 또는 바이러스 RNA가, 구제역과 일치하는 임상증상을 나타내거나, 구제역 확진 또는 의심견과 역학적으로 관련되었거나, 구제역바이러스와 이전에 관련 또는 접촉하였다고 의심되는 하나 이상의 동물(야생 또는 가축) 시료에서 확인된 경우,
- 3) 예방 접종으로 인한 것이 아닌 구제역바이러스의 구조 또는 비구조 단백질에 대한 항체가 구제역 확진 또는 의심견과 역학적 관련이 있거나, 구제역바이러스에 대한 최근의 감염과 일치하는 임상증상을 나타내는 하나 이상의 동물(야생 또는 가축)에서 확인된 경우를 말한다.

우리나라에서는 최근 전국 단위로 구제역 감염유무를 적극적으로 검사하고 있기 때문에 국내의 현황과 연관지어 구제역 감염의 정의를 살펴볼 필요가 있다. 1번 항에서 언급된 것과 같이 바이러스가 확인된 경우는 확실하게 감염으로 볼 수 있고, 살아 있는 바이러스가 아닌 항원 또는 RNA가 검출된 경우에도 임상증상을 보이거나 역학적으로 관련성이 있어야 한다. 3번 항과 같이 항체만 형성된 경우에도 역학적으로 연결되어 있거나 임상증상을 보여야 감염된 것으로 볼 수 있다.

## 구제역 항체검사법의 종류

구제역 바이러스는 4개의 구조단백질(VP1, VP2, VP3, VP4)과 8개의 비구조 단백질(L, 2A, 2B, 2C, 3A, 3B, 3C, 3D)로 이루어져 있다. 구조단백질은 바이러스 캡시드를 구성하고, 비구조 단백질은 바이러스 증식과 숙주세포와의 상호작용을 한다(그림 1). 비구조 단백질의 일부는 3ABC와 3AB 단백질 등으로 복합적으로 결합되어 형성된다.

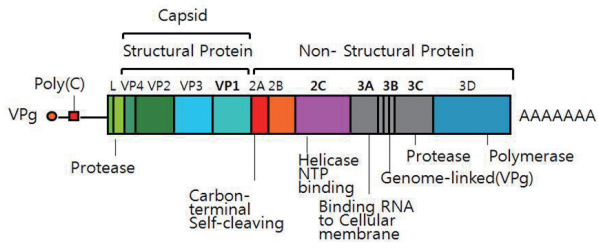


그림 1. 구제역 바이러스 유전자 및 암호된 단백질의 구성과 역할

구제역 항체검사는 구조단백질 (structural protein : SP) 와 비구조 단백질 (NSP)에 대한 항체를 검출하는 방법이 있다. SP 항체검사는 바이러스 중화시험 (VNT), 액상차단 효소면역법 (LPBE), 고형경쟁 효소면역법 (SPCE)으로 검사하며, 백신접종에 의하거나 자연 감염시 모두 형성될 수 있는 항체검출을 위한 검사법이다. 이 방법은 검사하고자 하는 구제역 혈청형에 맞도록 구분하여 검사방법을 사용하여야 한다. NSP 항체검사법은 감염된 바이러스가 증식할 때 체내에서 NSP가 발현되어 이 단백질에 대응하여 생성된 항체를 검출하는 방법이다. 일반적으로 감염시에만 NSP 항체가 형성된다고 알려져 있다.

### NSP 항체와 검출방법

NSP 항체를 검출하는 방법으로 주로 효소면역법 (ELISA) 가 이용되며, 또 다른 방법으로 면역블롯법 (EITB), 간이항체검사법(lateral flow assay) 등이 있다.

7개로 알려진 구제역 혈청형에 상관없이 모든 혈청형에 대해서 공통적으로 검출이 가능하며, 백신항체와의 감별이 가능하다는 장점이 있다.

구제역바이러스의 NSP 항원이 여러 종류이므로 NSP 항체 검사는 사용되는 항원에 따라 검출방법이 달라진다. 현재까지는 NSP 항체를 검출하는 방법으로 3A, 3B, 3C, 2C, 3AB, 3ABC 등의 항원을 이용할 수 있다.

구제역에 감염된 동물은 구제역 바이러스가 증식되어 NSP와 SP항체 모두를 형성하게 된다. 구제역 백신은 조직배양으로 구제역 바이러스를 배양하여 불활화한 형태로 생산되며, 세포를 포함한 NSP 구성 성분들은 항원정제 과정에서 제거된다. 일반적으로 이 정제과정에서 NSP가 완벽하게 제거되는 것으로 생각되나, 백신에 따라 일부는 생산 공정에서 NSP

가 잔존하여 여러번 백신 접종시 NSP 항체를 형성시키기도 한다. 정제과정이 단순해지거나 최소화된다면 NSP 항원이 잔존할 가능성이 커지며 동물에 접종후 항체 형성도 가능하게 된다.

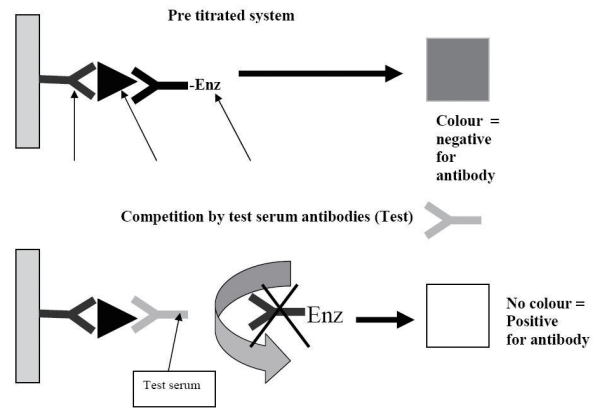


그림 2. NSP ELISA에 의한 경쟁적 항체 검출방법 (Competition NSP ELISA)의 모식도(AEA, 2007)

대부분의 NSP 항체진단 방법은 간접 효소검출법 및 경쟁적 효소검출법을 사용하고있으며, 항체 검출에 사용되는 NSP 항원은 대부분 대장균에서 발현된 재조합 단백질을 많이 사용되고 있으며, 일부는 곤충세포에서 발현된 재조합단백질을 이용하고 있다. 우리나라에서 사용하고 있는 NSP 검사방법은 효소가 표지된 단클론 항체(Mab)와 세균 발현 또는 곤충바이러스를 이용한 재조합된 3ABC 항원의 사용하고 있다 (그림 2).

### 구제역 감염에 따른 항체형성

대체적으로 감염 후 5-7일에 구제역 항체(SP 포함)가 최초 검출될 수 있으며, 21-28일에 가장 높은 역가 수준을 보이고 그 이후 구제역 항체가 서서히 감소하게 된다. 높은 항체 수준을 보이는 개체들은 8개월까지 항체가 검출될 수 있고, 중간 항체수준을 보이는 개체들은 4-5개월까지, 낮은 항체수준일 경우는 3개월까지 검출이 가능하다(그림 3). 항체 수준의 범위가 크고, 각 항체의 특이성은 양적 질적으로 다양할 수 밖에 없으므로 이러한 성질은 검사의 특성에도 영향을 준다. 일부 동물에서는 SP 항체는 쇠퇴하나 NSP 항체는 유지되는 경우가 있다. 약 45일 이상 일정하게 유지된다면, 그 동물은 캐리어로서 좋은 증거가 될 수 있다. 그러나 모든 캐리어가 NSP에 대한 항체를 생산하는 것은 아니다. 항체검출을 위한 가검물 채취 시기가 중요하며, 그 항체가

유지되는 지를 확인하기 위하여 일정 간격으로 검사하는 것이 바람직하다. 이를 통해 동일농장 사육동물의 항체 전수검사에서 감염된 동물이 증가되고 있거나 캐리어가 생산되는 증거를 확실히 확인할 수 있다. 개체별로 다양하게 형성되므로 SP 및 NSP 역가에 대한 수준을 비율로 정하기는 매우 어렵다. 감염군에서 동물이 같은 시점에 동시에 구제역 감염이 시작되지 않기 때문에 항체 변화는 매우 복잡하게 이루어진다. 보통 감염후 항체는 7-28일에 형성되며, 3-15개월 정도 지나면 항체를 검출할 수 없는 수준으로 항체역가가 감소하게 된다.

### 구제역 백신접종과 NSP항체

OIE에서는 구제역 백신접종시 NSP 항체검사로 감염유무를 증명할 수 있는 공식 검사법으로 인정하고 있으며, NSP 항체검사 결과는 구제역 감염을 확인할 수 있는 효과적인 증거자료가 될 수 있다. 감염후 NSP 항체는 보통 7-10일 만에 형성된다. 그러나 백신 접종시에는 구제역 감염을 저지시켜 임상증상이 심하지 않거나 무증상이 될 수 있다. 따라서 증상이 없는 경우라도 모든 감수성 동물을 검사하는 것이 필요하다. 혈청검사는 농장내 구제역의 부재를 증명하는 기초가 된다. 임상증상이 없으나 NSP 항체가 검출된 동물의 방역조치는 애매하고 어렵다. 그런 동물은 다른 동물에게 바이러스를 재감염 시키는 원인이 되고 캐리어가 될 수 있는 가능성이 있다. 백신을 사용한 경우에도 SP 항체를 생성시키기 때문에 감염유무를 판단하는 데 SP 항체검사에 대한 해석이 다소 복잡해진다. 일부 국가에서 생산된 백신은 NSP에 대한 항체가 높은 빈도로 형성될 수 있다. 따라서 확진검사 결과로서 면역 블롯팅과 같은 NSP 항체의 프로파일링으로 평가하여 검사결과 신뢰성을 확보하는 것도 중요하다.

구제역 발생 이후 다시 청정국 지위를 회복하기 위해서는 사육동물들이 구제역에 이미 감염되었다는 것으로 가정하고 모든 방역절차를 추진해야 한다. 모든 동물에서 어떤 구제역 임상증상도 관찰되지 않아야 하는 것이 1차적으로 중요한 부분이다. 또한 NSP 검사에서는 한 마리 보다는 사육동물군에서 다수의 양성동물이 확인되는 것이 일반적이다. 동물의 일정비율에 대하여 NSP 검사를 실시하여 그 개체군의 감염여부를 평가할 수 있다. NSP 항체검사는 역가는 측정하지 않고 양음성만 판정한다. 백신접종 지역에서는 대부분의 동물들이 고르게 면역되어 있어야 한다. 백신 접종이 누락되었거나 야외 유행바이러스와 다른 백신 혈청형의 접종 또는 1차 접

종후 2차 접종사이에 있는 동물의 경우 임상관찰에서 전향적인 증상이 나타나지 않아 검색에서 놓치는 경우가 가장 위험하지만 NSP 항체검출을 실시한다면 감염유무를 쉽게 판정할 가능성이 있다.

### 지속 감염동물의 확인

바이러스가 지속 감염되어 있는 캐리어의 존재는 소, 양, 염소, 물소, 버팔로, 사슴, 등에서 보고된 바 있다. 일반적으로 구제역바이러스는 감염 후 3개월 동안 후두에 적은 양으로 존재한다. 구제역에서 회복된 소에서 캐리어가 될 비율은 약 50% 정도인 것으로 알려져 있다. 시간이 지남에 따라 캐리어 수는 감소하는 데 감염 후 2년 정도에는 캐리어의 수는 매우 적어진다. 구제역바이러스에 노출된 백신 접종된 소는 임상증상이 없는 캐리어가 될 수 있다. 캐리어의 경우 혀와 발의 상처부위의 상피조직에는 바이러스가 없으며, 매우 적은 양의 바이러스만이 인후두 부위에 존재하므로 검출이 용이하지 않다. 캐리어는 높은 구제역 항체수준을 나타내며, 혈액, 골수, 입파기관, 근육에서 바이러스를 검출하기 어렵다.

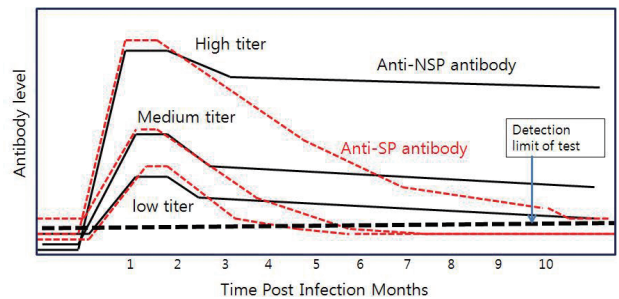


그림 3. 감염 후 지속감염(캐리어) 동물에서의 NSP 항체 수준의 유지 (IAEA, 2007).

인후두 세포를 긁어 구제역바이러스를 확인하는 프로방(probang) 검사법이 있으나 실제로 현장에서는 그 작업이 너무 수고스럽고 어려워 적용이 쉽지 않다. 이 캐리어로부터 바이러스가 배출되어 다른 동물과 구제역을 전파할 수 있다는 증거도 사실상 미약하다. 도축장에서 인후두에 존재하는 바이러스에 의한 정육의 오염은 생각할 수 있는 위험요소 이기는 하나 관련 근육, 장기의 세척과정과 랜더링 등의 처리 절차를 생각하면 거의 무시해도 될 만한 수준으로 보인다.

또 다른 방법으로 감염의심 동물의 체액에서 IgA항체 수준을 ELISA로 검출하는 방법이다. 이 방법은 캐리어 검출을 위해 사용할 수 있으나 일반적으로 많이 사용하는 방법은 아니

며, 일부 캐리어 동물에서 낮게 형성되어 검출되지 않는 경우도 있으나 개체검사가 아닌 사육 동물군을 대상으로 검사하는 체계에서는 유용하게 사용될 수 있는 방법이며, 민감도는 개선이 필요한 상황이다.

소에서 2C 항체는 12개월 동안 검출이 가능하며, 반면에 3ABC 항체는 더 오랜 기간 동안 유지될 수 있다 (그림 4). 감염의 심각한 정도에 따라 그 수준, NSP 항체의 검출기간에 영향을 줄 수 있다.

구제역 백신 접종된 소의 경우 100% 감염을 방어 할 수는 없고, 일부 동물은 바이러스에 감염되어 바이러스가 체내 증식 할 수 있으나, 구제역 임상증상이 보이지 않을 뿐더러 NSP에 대한 항체도 형성되지 않을 수 있다. 따라서 농장내 전체 사육동물군을 대상으로 항체 검사를 실시하는 것이 구제역 감염동물 색출가능성을 높일 수 있다.

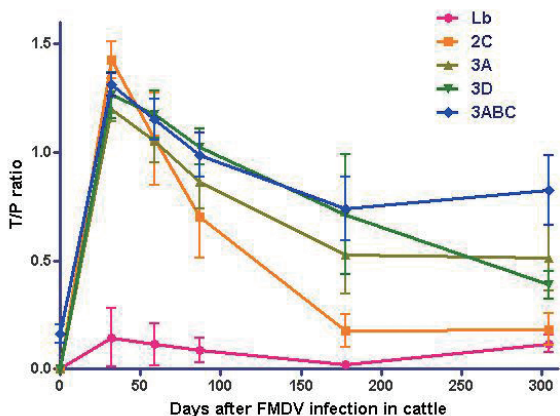


그림 4. 구제역 감염후 소에서의 NSP 항체수준의 변화 (Mackay 등, 1998)

캐리어에 의한 새로운 구제역 발생 가능성은 극히 적으나, 프로방 및 혈청검사에 의해 양성 축군을 지속적으로 제거한다면 구제역 추가 발생 가능성을 더욱 줄일 수 있을 것이다.

국제교역시 수입국가에서는 완벽한 검사결과를 요구하므로 모든 캐리어가 될 만한 적은 가능성이라도 확인하고 제거하는 절차가 필요하다. 캐리어 동물 검사로 100% 안전성이 확인될 때까지 구제역 감수성 동물 및 부산물의 교역은 불가능해 질 것이다.

### 결론

구제역 감염의 위험에 대한 평가요소는 감염지역으로 부터의 거리, 국가의 임상예찰 시스템과 경제적 투자 등이 포함될 수 있다. 구제역으로 부터 청정함(야외에서의 임상적인 평가 및 실험실 진단)과 감염(바이러스의 증식, 복제)의 부재를 증명하는 것, 이 2가지는 무엇보다도 중요한 일이다. 우리나라의 경우 구제역의 최종진단은 전국의 백신접종과 부분 매물 농가의 존재 등의 여러 역학적인 시나리오와 SP, NSP 항체 및 항원의 종합적인 진단결과 등을 모두 고려해서 판단해야 하므로 쉽지 않은 일이다.

또한 구제역 백신의 사용은 정제된 항원이라 할지라도 극미량의 NSP 항원의 잔존으로 인한 반복적인 접종으로 감염과 상관없이 NSP 항체를 생성할 수도 있기 때문에 결과를 판정하는 데 혼란을 초래할 수 있는 가능성이 있다. 이런 상황을 더욱 복잡하게 만드는 것은 임상증상을 보이지 않는 지속 감염된 소나 염소 등 반추수의 존재이다. 캐리어 동물은 면역이 안된 동물에 위험을 줄 수 있는 가능성은 적더라도 존재하므로, 이러한 위험이 현장에서 사실이든 아니든 위험을 제로로 만들 수는 없다. 따라서 OIE로 부터 구제역 백신을 접종하는 청정국으로 인증이 된다 하더라도, 국제무역의 입장에서는 수입국에서는 이 동물을 유입되지 못하도록 할 수 밖에 없을 것이다. 이러한 지속 감염된 동물을 완벽하게 확인하는 데 있어서 난관은 비록 대부분 감염동물이 NSP에 대해 오랫동안 지속적으로 항체를 생산한다 할지라도 사육되는 모든 동물에 대해 검사하지 못한다는 것일 것이다. 따라서, 가능한 많은 수의 검사를 통하여 NSP 양성반응 개체를 확인하고, 캐리어로 생각되는 동물이 포함된 농가의 반응 양성개체를 지속적으로 도태 유도하는 것이 바람직 할 것이다.🐾

### 참고 문헌

- IAEA. The use of non-structural proteins of FMDV to differentiate between vaccinated and infected animals. (J. R. Crowther. Review of the development in the detection of antibodies to non-structural proteins of foot and mouth disease virus, p3-46) May 2007.
- 박종현 등. 구제역 전파에 있어서 지속감염의 역할. 한국수의공중보건학회지. 32(3), 2008.
- Mackay et al. Differentiating infection from vaccination in foot-and-mouth disease using a panel of recombinant, non-structural proteins in ELISA. Vaccine, 16(5), 1998