# 구제역 임상관찰과 진단체계

**박 종 현**
농림수산검역검사본부
서울지역본부 가축질병방역센터장/수의연구관
parkjhvet@korea.kr

구제역은 동물의 가축 전염병 중에서 공기전파로 인하여 가장 전파력이 강하며, 동물에 피해와 경제적으로도 영향을 주는 질병이다. 이 바이러스는 O, A, Asia1, C, SAT1, SAT2, SAT3의 7가지 혈청형이 존재한다. 각 혈청형에 대한 면역반응이 교차되지 않으며, 임상증상도 돼지수포병, 수포성 구내염, 수포진 등과도 구분할 수 없다. 따라서 구제역으로 보이는 의심축이 발생할 경우 지체하지 않고 실험실 진단이 빠르게 수행되어 진단되어야 한다.

구제역의 재발 방지를 위해서는 빠른 신고와 신속 진단이 중요하므로 임상증상 발현시기, 샘플의 채취와 연계된 구제역 진단에 대한 전반적인 체계에 대해 알아보도록 하자.

## 1. 구제역의 임상관찰

2010-2011년 구제역 발생을 기초로 분석한 결과, 구제역의 임상증상이 많이 나타난 순서로 보면 주로 타액분비, 수포형성, 식욕부진, 궤양, 파행 및 발굽탈락 등이다.

임상적 예찰은 감수성 동물에 대해 치밀하게 신체적 변화를 조사하여 구제역의 임상증상을 확인하는 것이다. 반면 여러 바이러스 및 혈청학적인 검사에 비해 임상예찰은 그 중요도에 있어서 다소 과소평가 되어있다. 충분하게 감수성 동물에 대해서 임상검사가 확인 조사되었다면, 구제역 검출 가능성이 높아지게 되므로 이어지는 예찰 및 진단결과에 높은 신뢰를 제공할 수 있을 것이다. 의심되는 동물이 있다면 감염되지 않았다는 증거가 실험실적 진단으로 확인되기까지는 감염된 것으로 간주하여 처리되어야 한다. 임상 예찰은 그 관찰 횟수가 중요하며, 임상증상의 확인 절차는 구제역 예찰에 있어서 기초가 된다. 구제역 감염상황이라면 임상증상이 보이면 이미 바이러스를 배출하고 있는 상황이므로 바이러스가 전파되지 않도록 매우 주의하여야 한다(그림 1 및 2).

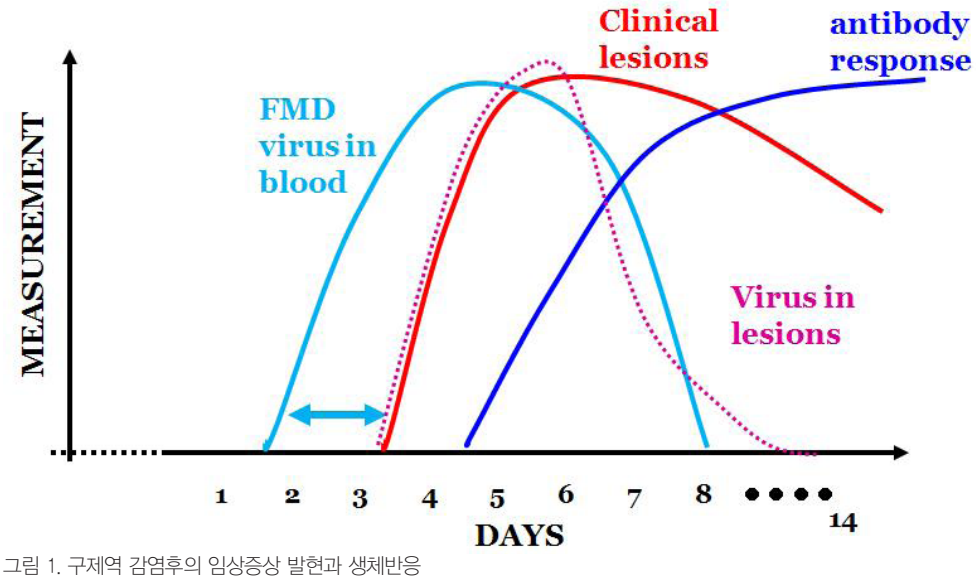


그림 1. 구제역 감염후의 임상증상 발현과 생체반응
(Representative "in contact" cattle data from Alexandersen et al., 2003 and unpublished data from IAH)

## 2. 구제역 검사를 위한 샘플링

구제역 감염에 의심이 되는 경우, 구제역을 증명하기 위하여 모든 역학정보가 확보되어야 한다. 바이러스 검사를 위해서는 구제역에 대한 임상증상에 맞는 시료가 채취되어야 한다. 예를 들어 타액분비, 수포형성, 궤양, 발굽탈락 등의 임상증상을 보인다면 타액, 수포, 궤양조직, 발굽조직 등 증상에 맞는 시료가 채취되어야 정확히 진단이 가능하다.

감염항체로 알려진 비구조단백질 (NSP: non-structural protein) 항체가 양성으로 확인된 경우, 적어도 NSP 항체검사에 대한 양성반응을 포함하여 적어도 1마리 이상에 대한 동물의 샘플이 적용되어야 한다. 임상적인 검사에 따라 처음 조사된 동물로부터 두 번째 혈청 샘플이 적절한 간격을 두고 채취되어야 한다. 샘플링 되었던 동물은 실험결과가 나오기까지 개체표식이 가능하도록 해야 한다. 대표적인 수량 단위로 채취되고 통계학적으로 유의성이 있어야 한다. 임상검사에 이어 역학적으로 연관성이 있는 동물군을 혈청학적으로 검사해야하고, 만약 바이러스가 순환되고 있지 않다면 그 증거될만한 결과들을 확보하여야 한다.

감시동물을 이용하여 확인하고자 한다면 어리고 백신 미접종 동물이나 모체이행항체가 없는 동물이 사용될 수 있으며, 양성으로 판정된 처음 샘플 채취군내에서 같은 종으로 사육할 수 있다. 만약 바이러스가 순환되지 않는다면 혈청학적으로는 음성이 될 것이며, 만약 다른 축종으로 백신 미접종인 감수성 반추수 (양, 염소 등)이 사육된다면, 그 감시축은 추가적인 혈청학적 증거로 활용할 수 있다.

실험결과는 역학적 상황을 고려하여 조사되어야 하며 바이러스의 순환 가능성을 평가하는 것이 필요하다. 이것은 현재 농장관리의 특징, 의심축 및 동거축의 임상적 예찰의 결과, 그 지역에서 수행된 백신접종 수, 양성 반응에 대한 기록 및 위생적인 절차, 동물의 확인, 이동제한, 이미 확인된 질병 전파에 대한 지역적인 연관성 등에 대한 내용 등이 포함될 수 있다.

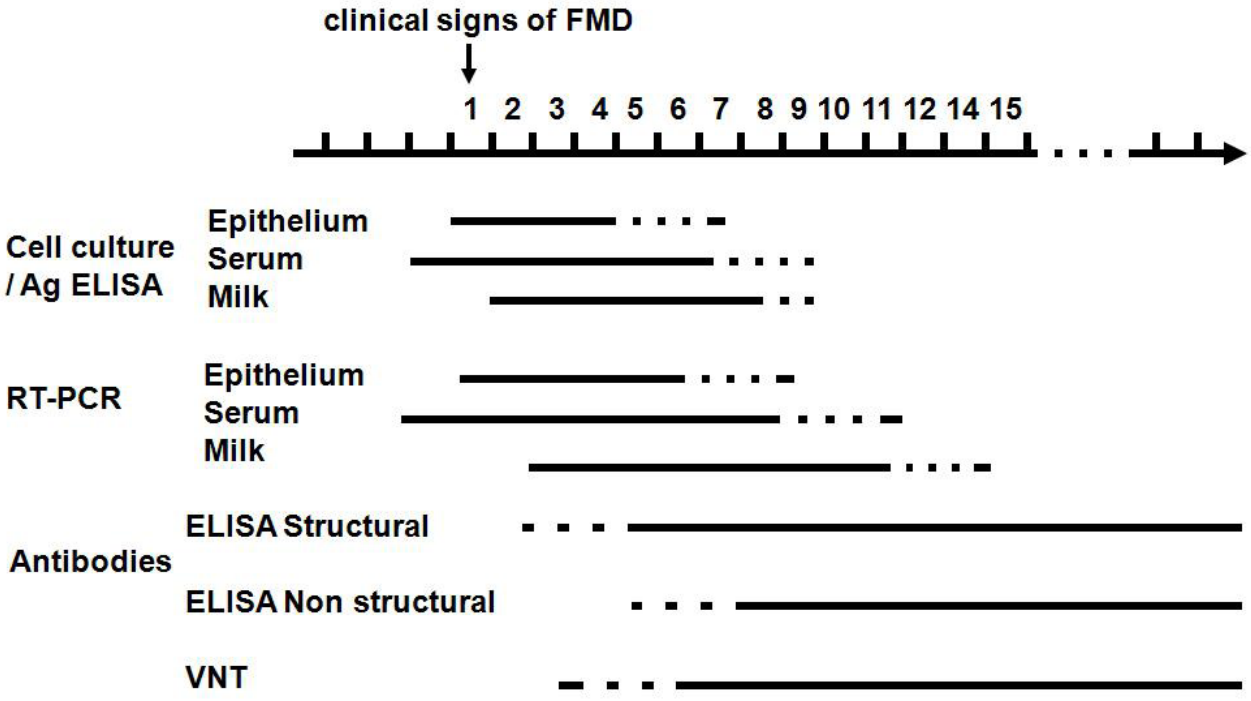


그림 2. 구제역 감염상황에서 실험실적 진단 가능시기와 적용 진단법

(FMD outbreak investigation procedures, PPT from fmdlaboratorynetwork.wikispaces.com, 실선 : 검출가능, 점선 : 검출 가능하기도 하나 상황에 따라 검출이 안될 수 있음)

## 3. 구제역 진단을 위한 검사법

바이러스 검사는 위험군을 모니터링하는 것으로 임상적으로 의심 건에 대한 확인, 양성 혈청검사에 따른 추가적 항원검사와 더불어 매일 질병 폐사율을 조사하게 된다. 또한 백신접종 상황에 있어서 초기 감염의 검출을 확인하거나 발생과 연계된 역학적인 상황에 대한 기초를 작성하기 위해서 필요한 절차이다.

구제역 항원을 검사하는 방법은 유전자 검사법(RT-PCR)으로서는 IRES 부위를 증폭하여 진단하는 방법으로 7가지 혈청형을 모두 진단할 수 있는 공통 검사법이다. 이 진단법 이외에도 혈청형에 대한 감별 PCR법도 확립되어 있다. 항원 ELISA는 Indirect sandwich ELISA법을 이용하고 있다. 이 방법은 구제역 바이러스의 7가지 혈청형에 대한 항체를 플레이트에 부착시킨 후, 조직 유제액, 수포액 및 세포배양액과 같은 검사재료를 반응시키고, 구제역 혈청형별 특이 검출항체, 효소표지 항체 및 기질의 순으로 반응시킴으로써 특이항원을 검출하는 진단법이다. 항원 간이진단법은 구제역에 대한 SP 및 NSP 항체를 장착한 항원을 검출하는 간이 진단킷트로 민감도도 항원 ELISA와 비슷하며, 수포액만 사용이 가능하다. 이것은 약 15 ul의 수포액을 떨어뜨려 15분 이내에 결과를 판독이 가능하다. 바이러스 분리는 바이러스의 특성에 따라 감수성이 달라 질 수 있으므로 초대배양세포로서 소 갑상선세포, 돼지, 송아지, 양의 신장세포를 이용할 수 있고, 어린 햄스터 신장세포주(BHK-21), 돼지 신장세포주(IBRS-2), 염소 태아(BgFL) 및 염소의 혀세포(ZZR)를 이용하여 분리할 수 있다. 접종 후 48-72시간동안 세포변성효과 (CPE) 여부를 관찰한다. 염기서열분석은 RT-PCR 산물의 경우는 정제를 통하여 그 결과를 얻을 수 있으며, 보통은 VP1 유전자의 분석을 통하여 그 바이러스의 유래와 그 바이러스의 혈청형을 추정할 수 있으나, 실제 역학적인 상황을 충분히 감안해야 한다. 최근에는 전체 유전자를 분석하는 추세로 더욱 정확하고 발생시 전파된 바이러스 간에서도 그 분자 역학적인 관계를 유추해 낼 수 있기 때문에 분석이 더욱 정밀하다.

혈청학적인 검사는 구제역바이러스에 대한 항체를 검출하는 데 목적이 있으며, 구제역 항체 검사시 결과가 양성의 경우 다음의 4가지의 원인 등으로 판단될 수 있다. 첫째, 구제역바이러스의 자연감염, 둘째, 구제역 백신접종, 셋째, 면역된 어미로 부터의 모체이행항체, 넷째로는 교차반응 (이형반응)의 원인일 수 있다. 최근에 발생되는 바이러스의 유형 (혈청형, 아형, 계통, 지역형 등)에 대한 항체를 검출하기에 적절한 항원으로 진단해야 한다. 구제역 바이러스가 어느 분류에 속하는 지 알지 못하는 상황이거나, 외부 유래 바이러스가 존재하는 상황이 의심된다면, 바이러스의 각 혈청형 대표주들 모두나 공통항원성이 있는 구제역바이러스의 NSP에 대한 항체를 검출할 수 있는 실험이 수행되어야 한다. 구제역 예찰을 위해서는 다른 목적으로 채취되었던 혈청을 사용하는 것도 가능하나 혈청예찰 계획의 원칙과 구제역바이러스 존재 확인을 위한 기본적 통계 유효성에 대한 요구조건은 지켜져야 한다. 구제역 바이러스에 감염된 동물은 바이러스의 구조단백질 (Structural protein: SP)와 비구조단백질 (NSP)에 대한 항체를 생산한다.

구조단백질 항체검사에는 SP-ELISA와 바이러스 중화시험(virus neutralization test : VNT)이 포함되며, 구조단백질 항체검사는 혈청형에 특이적이며, 적절한 실험 민감도를 위하여 야외주와 밀접한 관련성이 있는 항원 또는 바이러스를 사용하여야 한다.

NSP 항체검사의 경우는 NSP-ELISA 및 전기면역 블롯팅 (Electro-immuno transfer blotting technique : EITB)법이 추천된다. SP와는 다르게 NSP는 구제역바이러스의 모든 혈청형을 검출할 수 있다. 백신접종 후 구제역에 감염된 경우 NSP 항체가 보이나 일부 그 역가는 감염된 동물에서 보이는 것보다 훨씬 낮을 수 있다. NSP-ELISA와 EITB는 소에서 광범위하게 사용되고 있고, 다른 동물종의 평가는 현재 진행 중에 있다. 백신은 NSP 항체검사에서의 간섭을 피하도록 NSP 단백질이 제거된 형태로 제작되어야 한다.

구제역 예찰을 위해 적절한 방법 중의 하나는 혈청학적 검사이다. 혈청학적 예찰 계획은 그 나라의 백신의 접종상황에 의존하여 달라질 수 있다. 백신접종이 없이 청정국인 나라는 높은 위험 단위군 만을 선택하여 검사될 수 있다. 구제역 구조단백질(SP) 검사는 만약 특별한 바이러스에 대하여 심각한 위협이 있을 경우와 바이러스의 특징이 잘 밝혀진 경우 구제역 감염/순환의 증거를 확인하기 위하여 스크리닝 혈청을 통하여 그 상황에서 사용될 수 있다. SP 및 NSP 항체검사 두 가지 모두 임상 예찰에 대하여 추가적으로 하는 보조 수단으로 사용될 수 있다. 백신을 접종하지 않는 나라에서는 SP 또는 NSP 검사가 사용되어지는 것과 관계없이 어떤 혈청의 양성 결과에 대한 검증방법으로 추가 실험법이 확립되어 있어야 한다. 양성 반응이 나오는 모든 동물군은 검사되어야 하

며, 역학적인 사항 및 추가적인 실험실 검사결과가 구제역 바이러스의 감염/ 순환의 등을 확인할 수 있어야 한다. 확인에 사용되는 실험법은 가능한 많은 위양성 스크리닝 결과를 제거하기 위하여 높은 진단의 특이도가 있어야 한다. 확인 검사의 진단 민감도는 스크리닝 검사와 필적할 수 있어야 한다.

## 4. 구제역 진단에 대한 고찰

임상증상과 더불어 구제역 바이러스 항원 또는 핵산의 증명은 구제역 양성으로 진단하기에 충분하다. 만약 샘플이 실험하기에 부적절하고, 진단이 확실하지 않은 결과를 얻었다면, 바이러스를 증폭시키기 위해 그 가검물은 2-7일령 포유 마우스 또는 감수성 세포에 접종될 수 있다. 그 세포 배양액 또는 마우스의 근육-결합조직 유제액 등을 위한 검출법은 ELISA 및 RT-PCR 등의 방법이 사용된다. RT-PCR과 같은 핵산을 확인하는 방법은 빠르고 민감도가 높은 진단법으로 사용되고 있다. 때론 전자현미경학적 검사가 다른 바이러스와의 감별진단을 위하여 사용된다. 현재 우리나라는 바이러스학적 예찰은 발생농장 개체, 축사등 환경검사, 유입 가능한 수입건초, 발생국산 불법 휴대육류 및 황사 등의 역학적 사항에 초점을 맞춰 능동적인 예찰을 실시하고 있다. 그러나 모든 샘플을 채취하여 검사하는 것은 불가능한 상황을 비춰 보면 해외에서 유입되는 구제역에 대한 완전한 대비는 어려운 실정이므로, 피해를 최소화하기 위하여 사육농가, 외국인 근로자 또는 여행객에 대한 지속적인 홍보와 교육은 필수적이라 할 것이다.

혈청학적인 방법으로 비구조단백질(NSP)에 대한 항체 검사는 백신접종 유무에 상관없이 숙주에서 예전에 또는 현재 바이러스가 복제되고 있다는 증거로 제공하는 데 유용한 실험법이다. NSP는 바이러스간 매우 상동성이 높아 혈청형에 상관없이 검출되므로 실험을 적용하는 데 한가지 혈청형을 검사하는 구조단백질 검사법에 비해 상대적으로 손쉬운 방법이다. 구조단백질(SP)에 대한 항체검출을 위해 중화시험법 또는 SP-ELISA의 적용은 특이 혈청형에 대한 검사법이며, 중화시험(VNT)은 세포배양에 의존하므로 ELISA보다 더 변수가 많으며, 진행이 느리고, 실험 반응시 세균 등의 오염소지가 있는 단점이 있다. SP-ELISA는 빠르고 세포배양에 의존하지 않는 장점이 있으며, 불활화 항원으로 수행될 수 있고, 다소 덜 제한적 공간에서 사용할 수 있다.

한국에서 실시되는 임상예찰, 바이러스 및 혈청학적 예찰은 통계학적 예찰은 국제적 기준을 충실히 지키고 있으며 진행 중인 예찰 프로그램은 매년 세계동물복건기구(OIE)를 통하여 국제 사회에 보고되고 있다.

## 참 고 문 헌


- 박종현 등. 구제역 예찰체계 및 적용. 한국수의공중보건학회지. 33(3). 2009.
- Office International de Epizooties (OIE), Terrestrial animal health code, Foot and Mouth Disease
- Office International de Epizooties (OIE), Foot and Mouth Disease. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animal (mammals, birds and bees)