

< Case Report >

홀스타인에서 BSE (bovine spongiform encephalopathy) 검사용 뇌 조직 채취를 위한 진동톱 사용례

이종원^{1*} · 이은미² · 이정우² · 정은혜² · 도재철² · 허성은³

경상북도동물위생시험소¹, 경상북도동물위생시험소동부지소², 경상북도동물위생시험소북부지소³

A case of using a vibrating saw to collect brain tissue for BSE (bovine spongiform encephalopathy) test in Holstein

Jong-Won Lee^{1*}, Eun-Mi Lee², Jung-Woo Lee², Eun-Hye Jung², Jae-Cheul Do², Sung-Eun Hur³

¹Gyeongbuk Veterinary Service Laboratory, Daegu 41405, Korea

²East-Branch, Gyeongbuk Veterinary Service Laboratory, Gyeongju 38101, Korea

³North-Branch, Gyeongbuk Veterinary Service Laboratory, Andong 36621, Korea

(Received 19 September 2016; revised 21 September 2016; accepted 21 September 2016)

Abstract

BSE (bovine spongiform encephalopathy)-like symptoms salivation, gait disorder, and the downer syndrome occurred to 8 heads of cattle at six cattle farms in Gyeonju, east eastern Gyeongsang province in 2013. Eight brain tissue samples using a vibration saw (Multimaster[®] FEIN, Germany) were collected referring to "The brain removal technique of transmissible spongiform encephalopathy sampling DVD" by Animal And Plant Quarantine Agency. Brain removal technique using a vibration saw on the thick, solid frontal bone of cattle is more convenient for incision and removal than an ax for BSE testing.

Key words : BSE (Bovine Spongiform Encephalopathy), Collect brain tissue, Vibrating saw

서 론

소 해면상뇌증(BSE; bovine spongiform encephalopathy)은 초기 빛, 소리, 자극 등에 쉽게 흥분 하지만 점차 진행되며 유연, 보행 장애, 기립 불능 등을 나타내는 신경증상을 특징으로 하는 소에서 발생하는 만성 신경성 질병이다. 1986년 영국에서 처음 보고된 이후 2000년까지 약 190,000건이 유럽전역뿐만 아니라 일본(2001), 이스라엘(2002), 캐나다(2003)에서도 발생하였다(Kim 등, 2005; Lee 등, 2012). 그리고 2009년까지 총 25개국에서 발생보고 되었다(Bradley와 Liberski, 2004; Yoo, 2009).

BSE의 병인체가 스크래피(scrapie)와 관련이 있는 scrapie prion protein (PrP^{Sc})으로 알려져 있으며, 사람

의 크로이츠펠트야콥병(CJD; Creutzfeldt-Jakob disease)과의 상관 가능성이 발표되었다(Brown 등, 2001). 프리온 질환(prion disease)으로 명칭되는 전염성 해면상 뇌증(TSE; transmissible spongiform encephalopathy)은 발병되는 숙주에 따라 전염성 밍크뇌증(TME; transmissible mink encephalopathy), 사슴의 만성 소모성질명(CWD; chronic wasting disease), 사람의 질병인 CJD, Gerstman-Straüssler syndrome (GSS), 쿠루병(kuru) 등이 알려져 있으며(Kim, 2001), 이 질병은 진행성 뇌 기능 장애를 유발하고 사후 뇌조직 검사상 뇌에 많은 공포(vacuole)를 동반하는 특징적인 병리소견을 갖으며 감염된 동물의 조직을 다른 동물에 주입하거나 복 용케 함으로써 전파될 수 있는 질환을 모두 가리킨다(Hamir 등, 2011; Kim 등, 2008).

BSE는 소가 스크래피에 감염된 면양이나 BSE에 감염된 소의 뇌, 척수, 골수 및 골분이 함유된 육골분

*Corresponding author: Jong-Won Lee, Tel. +82-54-748-6682,
Fax. +82-54-748-6685, E-mail. JWL5110@korea.kr

사료의 섭취로 전염된다고 알려져 있으며, 영국에서 스크래피에 감염된 면양의 내장과 육골분을 이용한 동물성 단백질을 초식동물인 소의 농후사료에 혼합하여 급여하였기 때문이라는 주장이 있다(Aguzzi, 2006). 감염경로는 변형프리온 단백질이 소장의 Peyer's patch를 통하여 흡수된 후 말초 신경계를 통하여 중추신경계로 이동하여 뇌에 침착하게 된다. 이러한 감염경로에 따라서 소에서 광우병 원인 물질인 변형 프리온이 침착되었을 가능성이 높은 부위를 특정위험물질(SRM; specified risk material)이라고 하며 30개월령 이상 된 소에서 유래한 뇌, 눈, 척수, 머리뼈, 척추 등이 해당된다. 이 부위는 식품의 안정성 확보차원에서 국제적인 거래시 많은 제약이 있다(Yoo, 2009).

국내에서는 아직 BSE 발생이 보고되지 않고 있지만 외국과 잦은 교역이 있는 현 상황을 고려하여 본다면 언제까지 우리나라가 BSE 청정지역이라고는 말할 수 없다. 현재 국내에서도 산발적으로 CJD, CWD가 발생보고가 있으며, 한국인의 식습관이 광우병 SRM에 노출될 가능성이 높고, 한국인의 프리온 유전자 다형성 분석 연구 결과, 프리온 감염에 취약하다는 보고는 우리나라에서 BSE 발생가능성을 완전히 배제할 수 없음을 말해준다(Lee 등, 2012; Yoo, 2009).

농림축산식품부에서는 TSE 비 발생 확인 및 국내 유입시 신속하게 발견하기 위한 국내예찰을 실시하고자, 시료채취, 검사항목, 시료채취기관, 검사기간 그리고 검사방법을 마련하였다. 시료채취는 농림수산검역본부 동식물위생연구부 해외전염병과에서 제작한 “전염성 해면상 뇌증(TSE) 채취요령 DVD” 준하여 실시하고, 검사항목은 BSE, 스크래피, CWD 이다. BSE 신속검사는 시도가축방역기관에서 효소면역법(ELISA), 확진검사는 농림축산검역본부 해외전염병과에서 면역조직화학염색법(IHC), 병리조직검사법, 면역브로딩검사법(WB)이 행하여진다(Okada 등, 2011; Sarasa, 2013).

BSE 유사증상소 발생시 “전염성 해면상 뇌증(TSE) 시료 채취요령 DVD”에 준하여 BSE 검사 시료인 뇌 조직을 도끼를 사용한 전뇌 적출법(brain removal technique)으로 전두골(frontal bone)을 제거하여 뇌 조직을 채취 하였다. 그러나, 도끼를 사용하는 경우 두꺼운 전두골 아래에 위치하는 뇌조직의 손상 없이 전두골을 제거하기가 현실적으로 매우 어렵다. 따라서, 진동 톱(Multimaster[®] FEIN, Germany)을 사용한 전두골 절개, 제거 후 뇌 조직 채취가 도끼 사용 시보다 손상되지 않은 깨끗한 뇌 조직을 쉽게 채취하는 유용함을

알아보고자 한다.

증 례

BSE 검사를 위한 뇌조직 채취방법

2013년 경상북도 경주시에서 6개 농가, 홀스타인 8두가 BSE 유사증상인 유연, 보행 장애, 기립불능 증상이 나타나 경상북도동물위생시험 소동부지소에 병성감정 의뢰되어, BSE 검사를 위한 뇌조직 채취를 실시하였다.

BSE 검사를 위해 뇌 조직 채취 방법은 “전염성 해면상 뇌증(TSE) 시료 채취요령 DVD” 준하여 전뇌 적출법을 사용 하였으나, 전두골 절개, 제거를 위해 기존에 사용했던 도끼 대신 진동 톱(Multimaster[®] FEIN, Germany)을 이용하여 전두골을 상, 중, 하 3개 부분으로 절개 하여 두개골에서 뇌 조직을 채취하는 방법을 사용 하였다. BSE 검사를 위한 뇌 조직 채취 공구는 부검용 칼, 볼크만 리트렉타(Volkman, retractor sharp), 정(chisel), 진동 톱, 망치를 이용하였다(Fig. 1). BSE 유사 증상이 발생한 소 8두의 머리를 절단하기 위하여 후두골(occipital bone)과 제 1경추 사이를 부검용 칼을 사용하였다. 절단된 머리의 전두골(frontal bone) 부위를 볼크만 리트렉타와 부검용 칼을 사용하여 박피하여 전두골이 노출되면 Fig. 2A와 같이 점선부위를 3등분으로 절개 하였다(Fig. 2).

Fig. 2A와 같이 점선부위를 진동 톱으로 3등분으로



Fig. 1. (A) Knife, (B) Volkman retractor sharp, (C) Chisel, (D) Multimaster, (E) Mallet.

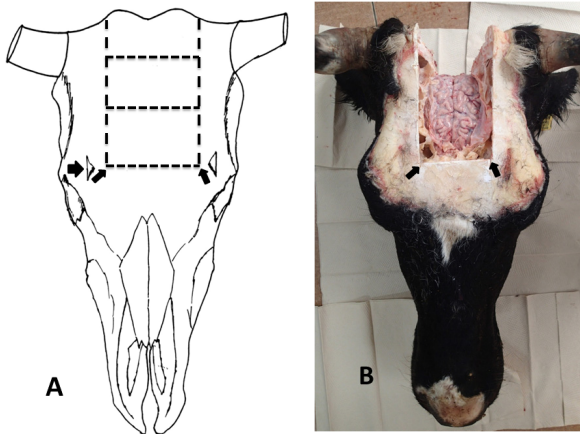


Fig. 2. Bovine skull (A, B). Supraorbital foramen (large arrow), Frontal incision site (small arrow).

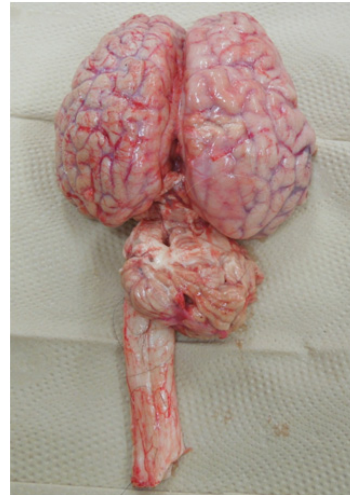


Fig. 4. Bovine brain tissue.

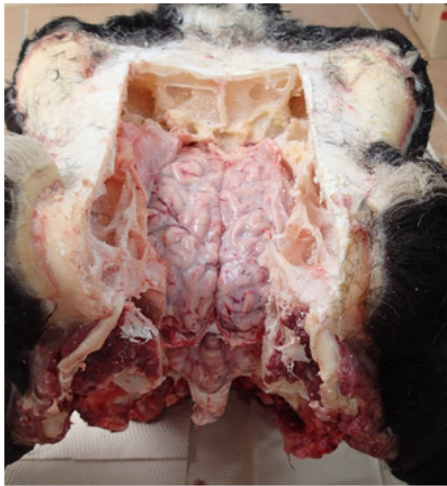


Fig. 3. View of partly occipital bone removal.

절개 하였다(Fig. 2). 정과 망치를 지렛대 원리를 이용하여 절개된 전두골과 뼈 조각을 제거한다(Fig. 2B & 3). 3등분 절개한 전두골 제거 후 박피된 후두골 부위를 두정골(Parietal bone)이 위치한 부위에서 후두골에 위치하는 대후두공(foramen magnum) 부위까지 좌, 우를 수직으로 나란한 2개선 모양으로 절개하여 절개된 뼈 조각을 제거 하였다(Fig. 2B & 3). 절개한 전두골, 후두골 뼈 조각을 제거 후 노출된 경질막(dura mater)을 대뇌 세로틈새부분(cerebral longitudinal fissure)에서 절개 좌, 우로 경질막을 제거 후 뇌 조직을 채취하였다(Fig. 4).

BSE 검사를 위한 뇌 조직 채취 결과

BSE 유사 증상이 발생한 소 8두를 Fig. 5 같이 두

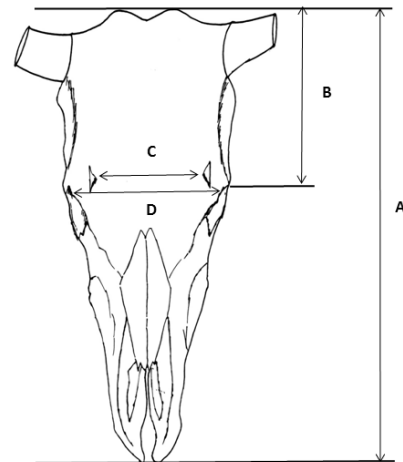


Fig. 5. Bovine skull measure a log line.

개골 길이와 무게를 측정한 결과 Table 1과 같았다. 홀스타인 8두의 평균 연령은 71개월 이고, 평균 넓이는 215 mm, 평균 길이는 552.5 mm, 평균 뇌 무게는 462.7 g이었다.

고 찰

BSE 검사는 현재까지 살아있는 소에서 혈청학적 진단방법이 없으므로 뇌 조직을 정밀검사를 해야만 한다. BSE는 신속검사는 사도 가축방역기관에서 효소면역법(ELISA), 확진검사는 농림축산검역본부 해외전염병과에서 면역조직화학염색법(IHC), 병리조직 검사법, 면역브로팅검사법(WB)으로 진단이 되고 있

Table 1. Result of bovine skull measure a log line

	Age (month)	A	B	C	D	Weight (g)
Mean	71.8	552.5	172.5	130	215	462.7
1	38	560	160	130	180	450
2	86	540	160	150	200	482
3	68	540	180	130	220	450
4	32	540	180	120	230	460
5	85	560	170	110	220	470
6	77	560	180	130	220	450
7	131	560	180	140	230	460
8	58	560	170	130	220	480

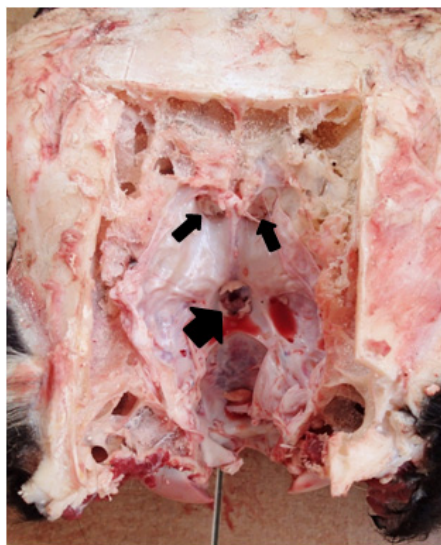


Fig. 6. View of brain tissue. Olfactory bulb (small arrow), Optic chiasm (large arrow).

으므로 반드시 뇌조직을 필요로 한다. 따라서, 신속한 BSE 검사를 위해서는 정확하고, 신선한 뇌조직 채취가 요구된다.

2013년 경주 지역에서 BSE 유사증상이 발생한 홀스타인 8두에 대하여 도끼 대신 빠르고, 안전하게 전두골 제거를 위해 진동톱(Multimaster® FEIN, Germany)을 사용하였다.

진동톱을 이용한 전뇌 적출법을 실시하기전 농림축산검역본부 동식물위생연구부 해외전염병과에서 제작한 “전염성 해면상 뇌증(TSE) 시료 채취요령 DVD”에 준하여 검사시료의 채취전 준비, 채취 및 시료처리를 실시하였다.

소 두개골(Skull bone)은 전두골(frontal bone), 측두골(temporal bone), 두정골(parietal bone), 후두골(occipital bone) 등으로 구성되어 있다(Bragulla 등, 2009; Frandson, 2009). 전뇌 적출법은 두개골중 가장넓고, 단단한 전

두골(frontal bone)을 제거하기 위하여 도끼, 톱 등을 사용하여 절개 후 제거 하였다. 도끼를 사용하여 두개골을 타격하여 제거하는 방식은 전두골에 정확한 지점의 타격이 어려우며 여러 번에 걸쳐 타격 시 채취자에 많은 경험적인 기술이 요구되며, 잘못된 타격에 의한 채취하고자 하는 뇌 조직의 손상을 일으키기도 하였다. 또한, 톱을 이용하여 절개방식도 편평하고, 단단한 전두골 평면을 절개하는 방식이고 채취자에 두꺼운 전두골을 절단해야 하는 무리한 노동이 요구 된다. 그러나, 진동 톱을 이용하는 경우 원형의 톱날이 11,000~18,000회/Min 진동하므로 단단한 고체 물질은 톱날의 진동에 의해 절단되고, 유동성이 있는 물질은 원형의 톱날이 회전하지 않고 진동만 하므로 절단되지 않는 특성이 있으므로 채취자는 기술시 안전하게 뇌 조직의 손상을 최소한으로 할 수 있는 장점이 있다.

진동에 의한 절개부위는 전두골 절개 부위는 안구 위쪽에 박피한 전두골위에 위치하는 안와위구멍(suparorbital foramen)에서 두개골 정중앙 쪽으로 약 2 cm 정도 안쪽에서부터 후두골 쪽으로 수직 절개를 하고 좌, 우 안와위구멍과 같은 높이에서 수평절개를 한다. 절단된 전두골 뼈를 임으로 3등분하여 수평 절개를 3곳을 하므로 정, 망치를 이용 절개된 전두골 조각을 보다 쉽게 제거 할 수 있다. 전두골 수평 절개시 원형 진동톱날이 전두골 안쪽으로 깊이 들어가면 뇌 조직의 손상을 줄 수 있으나, 원형톱은 진동하기 때문에 뇌 조직의 손상은 심하지 않다. 그러나, 원형 진동톱날이 전두골을 절개하고 경질막 사이 공간에 닿는 느낌은 느낄 수가 있다.

전두골이 3등분으로 절개 된 후 망치를 이용하여 두정골에 위치한 절개된 1개 부위를 두정골 부위에서 후두골 쪽으로 비스듬히 타격을 하면 쉽게 두정골이 제거가 가능하면 나머지 절개된 2개 부분의 전두

끝은 정과 망치를 지렛대 원리를 이용하여 제거 할 수 있다.

상, 중, 하 3등분된 전두골 제거 후 경질막 쌓여 있는 뇌 조직을 확인 후 두정골이 위치한 부분에서 박피된 후두골을 대후두골(foramen magnum)을 구멍 쪽으로 좌, 우 나란하게 원형 진동톱날을 이용하여 수직 절개를 실시 한 후 정과 망치를 이용하여 절개된 후두골을 제거한다. 절개된 전두골 조각, 후두골 조각이 제거된 머리뼈에서 뇌 조직을 채취하려면 전두골 부위에서 뇌를 싸고 있는 경질막(dura mater)을 대뇌 세로틈새부분(cerebral longitudinal fissure) 부위에서 절개하여 좌, 우로 경질막을 제거 후, 후두골부위의 경질막도 제거해야 한다. 경질막 제거 후 연질막(pia mater)으로 쌓여 있는 뇌를 전두골 쪽으로 들어오려서 뇌의 앞쪽에 위치하는 후각망울(olfactory bulb)과 뇌의 밑쪽 부위에 위치한 시각교차(optic chiasm)부위를 절단하면 쉽게 뇌 조직 전체를 두개골부위에서 분리 채취 할 수 있었다.

채취한 뇌 조직과 시술 후 뒤 처리는 “전염성 해면상 뇌증(TSE)시료 채취요령 DVD” 준하여 실시하였다.

BSE 유사증상이 있는 홀스타인 8두에 대해서 두개골 크기와 뇌의 무게를 측정 한 결과 소의 평균 연령이 71개월인 홀스타인 성축의 머리 크기와 뇌의 무게는 개체에 따라 편차가 심하지 않음을 알 수 있었다.

BSE 검사를 위한 뇌 조직 채취시 전뇌 적출법을 이용하는 경우 도끼보다 원형톱날을 장착한 진동 톱을 사용하는 경우 신속, 정확하게 손상되지 않은 깨끗한 뇌 조직을 채취 할 수 있다고 판단된다.

결 론

2013년 경상북도 경주시 지역에서 BSE 유사증상이 발생한 6개 농가 홀스타인 8두에 대한 BSE 검사를 위해 진동 톱(Multimaster® FEIN, Germany)을 사용한 전뇌 적출법으로 뇌 조직을 채취 하였다. 소에서 전뇌 적출법은 기존에는 도끼, 톱을 이용하여 전두골(frontal bone)을 절개, 제거하여 뇌 조직을 채취하는 방식으로 두껍고, 단단한 소 전두골을 절개, 제거 하였으나, 본 사례에서는 진동 톱을 사용한 소에서 전뇌 적출법은 시술자가 쉽고 안전하게 숙달 할 수 있었다. 또한, BSE 검사를 위해 주변 오염을 최소화 하면서 신속, 정확한 전두골을 절개, 제거가 가능하고, 뇌 조직을 손상 없이 깨끗한 상태로 채취 할 수 있었

으며, 향후 BSE 검사용 시료를 채취할 때 본 사례가 국내외 가축방역 기관에서 적극 활용 될수 있다고 판단된다.

REFERENCES

- 김무강, 김종섭, 김창기, 류시윤, 백영기, 신태균, 양홍현, 윤여성, 이성준, 이인세, 이홍식, 임정택, 장병준. 2009 새 김질동물류의 머리 및 목의 배쪽부분. pp. 683-701. in: 백영기(편집). 수의학부학. 초판. 정문각, 서울.
- Aguzzi A. 2006. Prion diseases of humans and farm animals: epidemiology, genetics, and pathogenesis. *J. Neurochem.* 97: 1726-1739.
- Bradley R, Liberski PP. 2004 Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE): The end of the beginning or the beginning of the end? *Folia Neuropathol. Suppl. A:* 55-68.
- Bragulla H, Budras KD, Cerveny C, Forstenpointner G, Maierl J, Mülling C, Probst A, Reese S, Ruberte J, Sötonyi P, Weissengruber G. 2009. Axial Skeleton. pp. 49-73. in: König HE, Liebich HG (ed). *Veterinary Anatomy of Domestic Mammals.* 4th ed. Schattauer. München, Germany.
- Brown P, Will RG, Bradley R, Asher David M, Detwiler L. 2001. Bovine Spongiform Encephalopathy and Variant Creutzfeldt-Jakov Disease: Background, Evolution, and Current Concerns. *Emerging Infectious Diseases No. 1: Vol. 7.*
- Fransson RD, Wilke WL, Fails AD. 2009. The Skeletal System. pp. 59-68. in: *Anatomy and Physiology of Farm Animals.* 7th ed. Blackwell Publishing. Ames, Iowa.
- Hamir AN, Kehrl ME, Kunkle RA, Greenlee JJ, Nicholson EM, Richt JA, Miller JM, Cutip RC. 2011. Experimental interspecies transmission studies of the transmissible spongiform encephalopathies to cattle: comparison to bovine spongiform encephalopathy in cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.* 23: 407.
- Kim SY, Cheong HK, An SS. 2008. Human Prion Diseases. *J. Korean Med. Assoc.* 54: 1125-1138.
- Kim TY, Kim YS, Kim JK, Shon HJ, Lee YH, Kang Chung-Boo, Park JS, Kang KS, Lee YS. 2005. Risk Analysis of Bovine Spongiform Encephalopathy in Korea. *J. Vet. Med. Sci.* 67: 743-752.
- Kim YS. 2001. Prion Diseases. *J Korean Neurol Assoc* 19: 1-9.
- Lee YH, Kim MJ, Tark DS, Sohn HJ, Yun EI, Cho IS, Choi YP, Kim CL, Lee JH, Kweon CH, Joo YS, Chung GS, Lee JH. 2012. Bovine spongiform Encephalopathy surveillance in the Republic of Korea. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz* 31(3): 861-870.
- Okada H, Iwamaru Y, Imamura M, Msujin K, Matsuura Y, Shimizu Y, Kasai K, Takata M, Fukuda S, Nikaido S, Fujii K, Onoe S, Mohri S, Yokoyama T. 2011. Neuroanatomical Distribution of Disease-Associated Prion

- Protein in Cases of Bovine Spongiform Encephalopathy Detected by Fallen Stock Surveillance in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 73: 1465-1471.
- Sarasa R, Becher D, Badiola JJ, Monzon M. 2013. A comparative study of modified confirmatory techniques and additional immun-based methods for non-conclusive auto-lytic Bovine spongiform encephalopathy cases. *BMC Vet. Res.* 9: 1746-6148.
- Yoo HS. 2009. The current status and control measures of BSE in the worldwide. *한국환경농학회 학술발표논문집*. 1호: 273-282.