

**최종 연구보고서**

야생조류로 인한 가금인플루엔자  
바이러스분리 및 감염경로에 관한 연구  
Studies on findings of Mechanism and Separation  
of Avian Influenza Virus

이화여자대학교

충북대학교

부경대학교

농 립 부

## 제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “야생조류로 인한 가금인플루엔자 바이러스분리 및 감염경로에 관한 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2007 년 08 월 17 일

주관연구기관명 : 이화여자대학교

총괄연구책임자 : 이 상 돈

협동연구기관명 : 충북대학교

협동연구책임자 : 모 인 필

협동연구기관명 : 부경대학교

협동연구책임자 : 왕 수 균

# 요 약 문

## I. 제 목

야생조류로 인한 가금인플루엔자 바이러스분리 및 감염경로에 관한 연구

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

조류 인플루엔자는 1878년 이태리에서 Perrocito에 의해 처음 알려졌으나 원인체는 모르고 있었으며, 그후 1901년에 여과성 바이러스임이 Centanni와 Savunozzi에 의해 밝혀졌으며 인플루엔자 바이러스 A 형으로 인하여 발생한다는 것은 1955년 Schafer에 의해서 밝혀졌다(Frolich 등, 2002). 현재는 가금인플루엔자(혹은 조류독감)로 부르고 있다.

우리나라는 1920년대 발생하였다고 하나 정확한 피해는 알려지지 않았으며 현재는 발생하여 상당한 피해를 주고 있다. 이 병의 감수성 동물은 닭, 오리, 칠면조, 물오리, 꿩, 메추리 등 야생조류에 의해 전염된다. 또한 사람, 돼지 등 포유동물에게 감염될 가능성도 매우 높다.

2003년 12월에 처음 국내 충청북도 음성에 조류 인플루엔자 바이러스에 의한 감염이 보고되었다. 조류인플루엔자는 닭·칠면조·오리·야생조류 등 야생동물과 집에서 사육(domestic animals)하는 조류에 감염되는 바이러스로 알려져 있다. 2003년도에 발생한 조류독감은 충북 음성을 중심으로 충북 및 충남지역 그리고 전국적으로 확산되어 경북지역에 조류독감이 발생하였으며, 2006년 양주시를 중심으로 발생하였으며, 2007년도에는 충남 천안, 아산시에 발생하였으며, 전북 익산 및 김제에 발생하는 등 발생이 지속적으로 나타나고 있다. 연구기간 중에도 조류독감의 발생은 지속적으로 일어나 규모도 점차 대형화되어가는 추세이다.

본 연구는 우리나라에 2003년부터 발생한 조류독감에 대한 야생동물에 의한 조류인플루엔자 이동메카니즘을 파악하기 위하여 우리나라 겨울철새 도래지에

대한 군집조사를 실시하였다. 겨울철물새인 오리류뿐만 아니라 텃새인 까치, 멧비둘기 등을 포함하였다. 철새는 우리나라에 겨울에만 도래하므로 연구의 성과를 높이기 위해 텃새 수종을 포획하고 이들 중에 대한 바이러스 출현확률을 실시하였다. 또한, 야생동물에 의한 조류인플루엔자 발생기작을 파악하기 위한 적정밀도 연구를 수행하여 이를 모델링에 반영하였으며, 야생동물과 가금류가 집단으로 서식하는 지역에 대한 현지조사를 실시하고 이를 통해 바이러스의 감염경로를 파악하였다.

현재까지 조류인플루엔자바이러스에 대한 역학조사를 수행하였던 바 조류인플루엔자(H5N1형)바이러스는 국내에서 사육하는 닭이나 오리에게 발생된 사례가 없었기 때문에 야생동물에 의해 전파된 것으로 추정된다. 그러나 현재까지 야생동물에 의한 감염경로는 명확하게 파악되지 않고 있다. 접촉에 의한 감염은 이 질병의 중요한 감염경로로 보고 있다. 닭에 감염된 바이러스는 침입된 바이러스의 종류에 따라 다르나 일반적으로 계군간에 빠른 속도로 전파된다. 잠복기는 수 시간에서부터 수일까지이며 바이러스의 양과 바이러스의 침입범위, 감염된 조류의 종류에 따라 잠복기의 범위도 달라진다. 본 세부과제의 연구 목적은 국내 철새도래지에서 지역별 조류인플루엔자 (Avian Influenza: AI)를 시험기간동안 분리하는 것이 첫 번째 목표이며 분리된 바이러스에 대한 유전학적 및 생물학적 특성을 조사하여 타과제에 대하여 정보를 제공하여 유기적인 분석을 통하여 국내 AI 발생양상을 분석하는 것이 두 번째 목표이다.

지역간 또는 국가간 인적·물적 교류가 극대화되는 현실 속에서 국지적으로 발생한 치명적인 전염성 질병이 단기간 내에 급속도로 확산될 가능성은 어느 사회에나 상존하고 있다. 이러한 질병의 발생과 확산을 미연에 방지하고 발생후의 피해를 최소화하기 위해서는 통합적인 질병예측 및 관리 시스템이 필요하며, 이러한 시스템의 개발은 질병의 발생 기작과 확산 경로를 예측할 수 있는 수학적 모델의 개발을 통하여 이루어질 수 있다. 그러나 현재까지 국내에서는 전염성 질병의 시·공간적 확산을 모의하기 위한 수학적 모델의 개발 연구가 보고된 바가 거의 없는 실정으로, 이러한 연구와 함께 수학적 모델의 신뢰성을 제고하기 위한 다양한 단계의 실험적 연구가 요구되고 있다.

### III. 연구개발 내용 및 범위

현재 우리나라에 오는 겨울철새는 주로 시베리아와 중국내륙지방에서 여름을 지난 뒤 11월 이후에 남하하게 된다. 우리나라는 그동안 많은 해안매립으로 인해 다수의 간척지를 가지고 있다. 이들 간척지에는 많은 철새들이 도래하게 되어 매년 수백만마리의 물새가 겨울철에 우리나라를 찾게 되며, 이들은 많은 종류가 내륙의 저수지나 호소 및 하천으로 이동하게 된다. 이렇게 내륙지방으로 이동하는 물새에 의해 다른 가금류들과 접촉이 일어나게 되어 조류인플루엔자에 의한 감염이 시작된다. 직접 접촉하지는 않더라도 배설물에 의한 오염, 분변 및 깃털, 죽은 등에 의한 수질 및 토양 오염등이 발생하게 되며 이를 통해 바이러스의 감염이 일어나게 되는 것이다.

겨울철 야생오리의 종류 및 조류인플루엔자 연관 중 발굴을 시도하였다. 이를 통해 우리나라 겨울 도래철새를 파악할 수 있었으며, 겨울철 한반도에 도래하는 철새를 중심으로 야생동식물의 유전자를 이용하여 이들의 이동경로를 파악하는 보전생물학적 방법을 응용하였다. 이는 개체군의 이동을 파악하는 집단연구를 시도한 우리나라 최초의 연구이며 이런 유전자를 이용한 집단연구파악은 새로운 학문 분야이다.

본 연구를 통해 유전자를 통한 정확한 계통분류가 가능하다는 것을 확인하였다. 이런 연구를 통해 그 종의 생태학적 특징이 무엇이며, 어떻게 번식하며, 어떠한 서식조건이 필요하며, 어떠한 질병이 잘 발생하는가에 대한 메카니즘 파악이 가능하였다. 개체군 유전적 다양성 측정 기능이 가능하였다. 유전적 다양성 연구에 의한 겨울철새 개체군의 유전적 건강성과 근친번식의 정도를 측정할 수 있었다. 겨울도래 철새를 비롯한 멸종위기에 처한 개체군의 유전적 다양성 정도를 측정하고 다른 건강한 상태의 개체군과 비교하면 이들이 유전적으로 얼마나 건강한가를 알 수 있다. 즉 개체군의 근친번식의 정도, 다른 개체군과의 교류 정도, 개체군의 생존능력 등에 관한 중요한 정보를 얻을 수 있어서 어느 개체군이 건강한지, 어느 개체군이 위협에 처해 있는지를 알 수 있고 이에 대한 대책을 세울 수 있게 된 것이다.

개체수의 포획이 현실적으로 매우 어려운 상황이므로 이를 보완할 수 있는 야생동물 연구기법이 절실한 상황이었다. 따라서 본 연구는 이를 극복하는 방법으로 철새의 분변을 활용하는 연구기법을 개발하였다. 본 연구가 시작되기

전에는 이를 통한 연구의 체계적인 목표달성이 매우 어려운 상황이었으나 본 연구를 통해 우리는 종에게 침해적이지 않고 유전적 정보를 얻을 수 있는 방안으로 철새의 분변을 활용하였으며, 우리나라의 지역적으로 구분된 곳에서 분변을 수거하여 종의 유전 정보를 획득하였다.

우리나라 철새도래지에 이동하는 야생조류에서 조류 인플루엔자 바이러스 분리를 통해 국내 철새도래지에서 수집한 철새분변을 철새별, 계절별, 지역별로 분류하여 조류인플루엔자 바이러스를 국제수역 사무국에서 규정한 방법을 사용하여 분리하였다. 즉, 분변을 중합효소반응을 이용하여 조류인플루엔자 바이러스의 존재를 확인한 후 9-11일된 SPF 란에 접종하여 바이러스의 증식을 확인하였다. 분리된 인플루엔자 바이러스는 HI(Hemmagglutination inhibition test) 및 NI(Neuraminidase inhibition test) 검사를 이용하여 HA 및 NA형을 분류하여 동정하였다.

분리된 야생조류 유래 AI 바이러스의 생물학적 및 유전학적 특성조사를 수행하므로써 분리 동정된 조류인플루엔자 바이러스를 유형별로 분류하여 대표적인 바이러스에 대한 생물학적 및 유전학적 특성조사를 4주령 SPF 닭 접종 후 폐사율 및 체내 바이러스 침투능을 기본으로 하여 수행한 후 HA의 cleavage site 및 주요 유전자에 대한 염기서열을 분석하여 유전학적 특성을 분류하였다. 이를 통하여 분리된 바이러스의 국내 가금산업에서의 잠재적 위험성을 평가하여 향후 예방대책에 대한 기초자료를 제공할 예정이다. 국내 철새도래지 서식 야생조류로부터 조류 인플루엔자 바이러스를 분리하여 혈청형 등을 확인한 후 가금에서 병원성조사를 국제규격에 맞추어 실시하며 최종적으로는 분리된 바이러스의 유전학적 특성조사를 함으로서 역학적 관계를 분석하는데 기초자료로 활용한다.

본 연구에서 제안된 수학적 모델은 개체군내 및 개체군간 질병의 전파를 예측하기 위하여 생태환경에 따른 환경용량과 개체군 성장, 질병의 전파로 인한 질병보유개체군 내 개체군밀도의 변화, 이종 개체군간 질병의 교차 감염, 질병보유개체군과 비전염개체군의 공간적 분포에 따른 질병의 확산, 질병의 변형과 전염 등 질병의 발생 이후 확산에 관련된 일련의 기작들을 포함하고 있다. 모델을 활용한 모의 결과를 통하여 전염성 질병의 확산이 개체군의 성장에 미치는

영향과 개체군의 시공간적인 분포가 질병의 확산에 미치는 영향을 검토하고, 질병 확산 예측 및 관리시스템으로의 적용성을 검토하였다.

#### IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

- 1) 본 연구는 계절별, 지역별로 AI 바이러스의 분리가 확인되었으며 특히 내륙하천에서의 AI 바이러스 및 ND 바이러스의 분리는 현재까지 연구결과를 토대로 이에 대한 정보를 방역당국에 제공하였으며, 좀더 연구가 확대되면 방역대책 수립에 기여할 수 있을 것으로 판단된다.
- 2) 본 연구를 통해서 분리된 AI 바이러스에 대한 집중적인 분석이 추후에도 지속적으로 수행될 필요가 있는 실정이다. 이에 대한 연구는 본 과제가 종료된 시점에 결과로서 보고하고 방역당국에 결과물을 제출할 예정이다.
- 3) 본 연구는 야생동물에 의한 조류독감메카니즘을 규명하기 위한 야생동물밀도조사, 서식지 현지조사, 배설물수거, 출현종에 대한 분류를 실시하고, 이에 대한 조류인플루엔자 분리 및 특성조사를 지역별, 계절별, 철새군집별로 실시하여 조류인플루엔자 바이러스를 분리하고, 국내 지역, 계절, 철새별 유형조사를 완성할 계획이다. 또한 분리바이러스에 대한 특성조사를 실시하여 위험도를 예측하고 이를 바탕으로 국내 가금산업의 예방체계를 마련하여 국내 가금농가에 질병예방 시스템을 마련하므로써 향후 조류독감으로 인해 나타나는 질병의 감염대책을 마련할 예정이다. 또한 질병에 대한 예방경보를 알 수 있는 조류독감발생 수리모델을 개발하여 야생동물종별, 군집별 조류독감 발생기작을 파악하여 향후 발생에 대한 예측시스템을 마련하여 가금농가에 실질적인 도움을 줄 수가 있다.
- 4) 야생동물로 인한 감염경로를 파악하고 이에 대한 대책을 마련하는 데 본 연구는 초점을 둔다. 따라서 본 연구과제를 위해 겨울철새인 조류의 이동경로의 파악, 시료의 분석, 바이러스의 분리 및 특성조사와 관련된 총체적 기술을 확보하여 국가 방역예찰시스템에 제공하고자 한다. 국내에 도래하는 철새로부터 다양한 조류인플루엔자 바이러스를 분리함으로써 향후 국제적으로 관심이 많은 유전자원의 확보를 목적으로 연구를 수행하였다. 분리된 조류 인플루엔자 바이러스의 생물학적, 유전학적 특성을 파악함으로써 향후 위급한 상황에 필요한 백신개발에 기본적인 자료를 제공하고자 한다

- 5) 본 과제에의 연구를 통하여 질병의 확산과 이로 인한 개체군의 밀도 변화를 예측할 수 있는 수학적 개념모델이 제안되었다. 이러한 모델의 예측 결과를 통하여 개체군내 또는 개체군간 질병의 확산을 확률적으로 예측할 수 있는 토대가 마련되었으며, 향후 통합적인 질병 확산 예측 및 관리시스템의 개발에 활용될 수 있을 것으로 판단된다.
- 6) 본 과제에서 제안된 개념모델은 통합적인 질병관리 시스템의 개발에 기여할 수 있다. 환경밀도를 고려한 전염성 개체의 시·공간적 밀도 변화 예측이 가능한 본 모델을 조류인플루엔자 예방 및 대응시스템 개발에 적용하여 전염성 질병으로부터 위협받는 가금류의 방역계획 수립에 활용하고, 더 나아가 변종 바이러스의 발현으로 인한 조류인플루엔자의 인간 전염 가능성을 예측하고 이에 대한 방재대책을 수립하는데 활용될 수 있다.
- 7) 또한 본 모델에 적용된 수식들은 질병 등 외부환경과 관련된 다양한 수리생태학적 연구에 활용될 수도 있다. 개체군의 성장에 제한요소로 작용되는 다양한 외부환경을 수학적으로 표현함으로써 개체군의 생존과 적응을 예측하는 모델의 개발에 기본 개념을 제공할 수 있을 것으로 판단된다.



## SUMMARY

(영문 요약문)

In Korea, outbreaks of highly pathogenic avian influenza (HPAI) has been occurred in 2003 and several times during our study including this year and caused severe economic losses in poultry industry. Migrating water fowl is one of the sources for introduction of avian influenza virus in the domestic fowls. We attempted to isolate AI virus from both wild birds and domestic birds near the wild bird habitats. In this study, more than 1,000 samples were assessed from domestic chickens or migrating wild birds. From these samples 59 viruses were identified and 29 viruses were confirmed as avian influenza (AI) virus among them. Most AI viruses isolated from domestic chickens were H9 subtype and other isolates from wild birds were either H2, H5 or H7 subtypes. To find out the source of the infection and relation between isolates using molecular epidemiology further study such as sequencing the major gene of the AI isolates has been conducted.

The proposed numerical model includes a series of ordinary differential equations for epidemiological aspects related to spread of diseases. The effects of diseases on demological structure of hosts and receptors, and the effects of spatial distribution of population on cross-infection and spread of diseases are explicitly examined through various numerical experiments. Further investigation on mechanism of occurrence and spread of virulent diseases is needed to develop a comprehensive disease control system.

# 목 차

제 1 장 연구개발의 개요	
1. 연구개발의 필요성 .....	1
2. 연구의 목적 .....	7
가. 야생동물에 의한 조류인플루엔자의 발생메카니즘 규명 .....	7
나. 철새도래지에서.의 조류인플루엔자 바이러스 분리 .....	11
다. 조류인플루엔자의 군집과 발생기작 수리학적 모델 규명 .....	13
제 2 장. 국내외 기술개발 현황	
1. 우리나라 조류독감 발생기작 현황 .....	15
제 3 장. 연구개발수행 내용 및 결과 .....	19
가. 야생동물에 의한 조류인플루엔자의 발생메카니즘 규명 .....	19
나. 철새도래지에서.의 조류인플루엔자 바이러스 분리 .....	29
다. 조류인플루엔자의 군집과 발생기작 수리학적 모델 규명 .....	68
제 4 장. 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	
1. 연구개발 목표와 내용 .....	87
2. 연차별 연구개발 목표와 내용에 대한 확인 .....	90
제 5 장. 연구개발결과의 활용계획 .....	95
참 고 문 헌 .....	103

# 제 1 장 연구개발과제의 개요

\* 연구개발의 목적, 필요성 및 범위 등을 기술

## 1. 연구개발의 필요성

### 1) 기술적 측면

- 조류 인플루엔자는 1878년 이태리에서 Perrocito에 의해 처음 알려졌으나 원 인체는 모르고 있었으며, 그후 1901년에 여과성 바이러스임이 Centanni와 Savunozzi에 의해 밝혀졌으며 인플루엔자 바이러스 A 형으로 인하여 발생한다는 것은 1955년 Schafer에 의해서 밝혀졌다(Frolich 등, 2002). 현재는 가금 인플루엔자(혹은 조류독감)로 부르고 있다.
- 우리나라는 1920년대 발생하였다고 하나 정확한 피해는 알려지지 않았으며 현재는 발생하여 상당한 피해를 주고 있다. 이 병의 감수성 동물은 닭, 오리, 칠면조, 물오리, 꿩, 메추리 등 야생조류에 의해 전염된다. 또한 사람, 돼지 등 포유동물에게 감염될 가능성도 매우 높다.
- 2003년 12월 11일 국내 충청북도 음성에 조류 인플루엔자 바이러스에 의한 감염이 보고되었다. 조류인플루엔자는 닭·칠면조·오리·야생조류 등 야생동물과 집에서 사육(domestic animals)하는 조류에 감염되는 바이러스로 알려져 있다. 2003년도에 발생한 조류독감은 충북 음성을 중심으로 충북 및 충남지역 그리고 전국적으로 확산되어 경북지역에 조류독감이 발생하였으며(그림 1), 2006년 양주시를 중심으로 발생하였으며, 2007년도에는 충남 천안, 아산시에 발생하였으며, 전북 익산 및 김제에 발생하는 등 발생이 지속적으로 나타나고 있다(그림 2). 연구기간 중에도 조류독감의 발생은 지속적으로 일어나 규모도 점차 대형화되어가는 추세이다.
- 본 바이러스는 주로 오염된 먼지·물·분변 또는 사람의 의복이나 신발·차량·기구 및 장비·달걀 등에 묻어 일어날 수 있는 것으로 알려져 있으며, 달걀 속에 감염되어 난계대 전염은 이루어지지 않고 있다. 하지만 이에 대한 명확한 경로는 아직 파악되지 않고 있다. 닭의 인플루엔자에 대한 전파방법이 명확하게 규명되지 않고 있는 실정이며 칠면조의 경우 감염되면 수개월 동안 바이러스를 보유하고 있음이 확인되었다(김순재 외 1997). 따라서 감염된 칠면조에서 건강한 칠면조에 또는 다른 조류에 전파시킬 수도 있다.
- 현재까지 조류인플루엔자바이러스에 대한 역학조사를 수행하였던 바 조류인

플루엔자(H5N1형)바이러스는 국내에서 사육하는 닭이나 오리에게 발생된 사례가 없었기 때문에 야생동물에 의해 전파된 것으로 추정된다. 그러나 현재까지 야생동물에 의한 감염경로는 명확하게 파악되지 않고 있다. 접촉에 의한 감염은 이 질병의 중요한 감염경로로 보고 있다. 닭에 감염된 바이러스는 침입된 바이러스의 종류에 따라 다르나 일반적으로 계군간에 빠른 속도로 전파된다. 잠복기는 수시간에서부터 수일까지이며 바이러스의 양과 바이러스의 침입범위, 감염된 조류의 종류에 따라 잠복기의 범위도 달라진다.

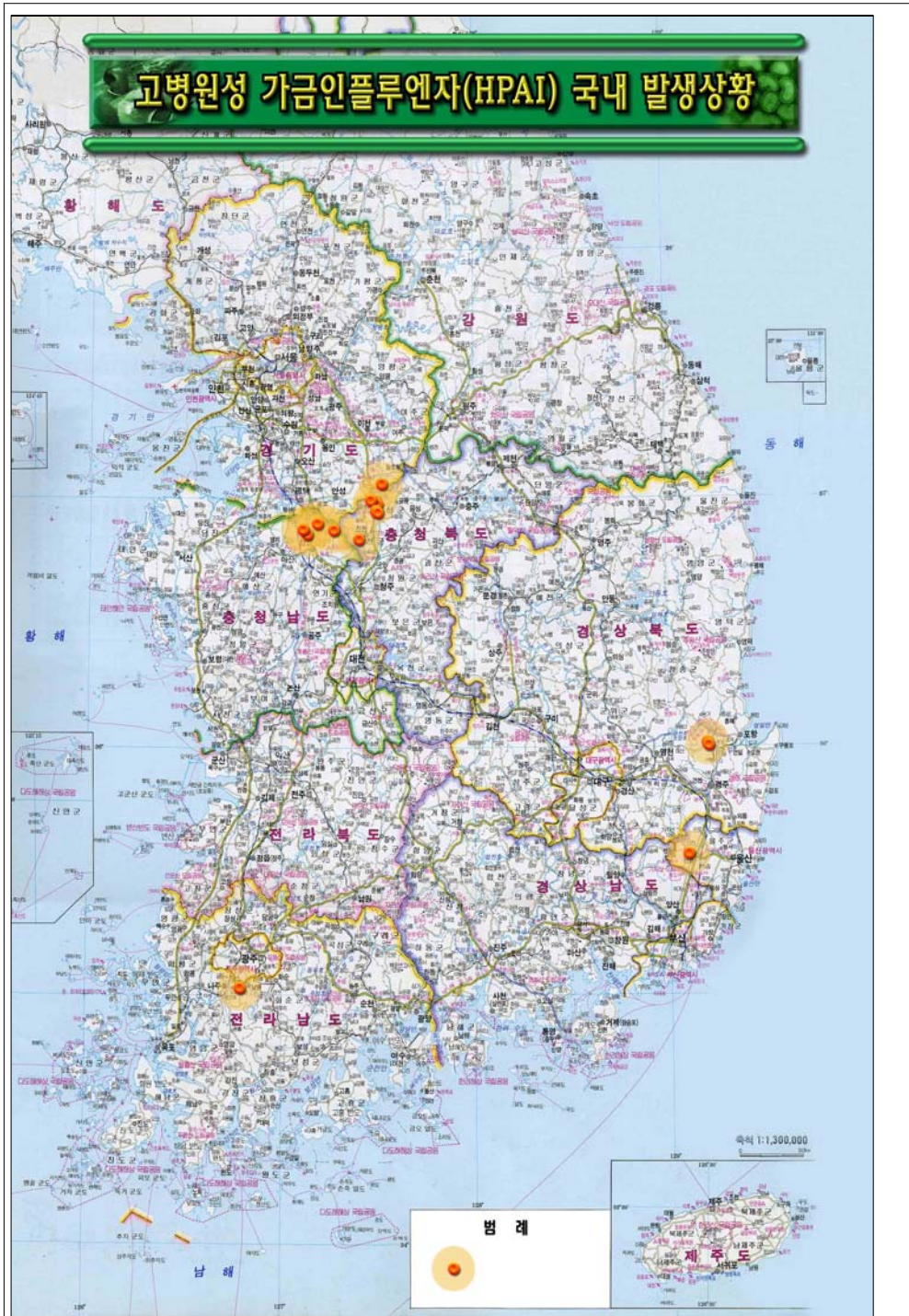
- 조류 인플루엔자는 인플루엔자 A 형 바이러스로 병원성이 다양하며 그 중 고병원성 조류인플루엔자는 호흡기 및 장기 또는 신경계의 증상을 나타내는 전신성 또는 급성 질병으로 경과가 짧고 폐사율이 매우 높은 전염병이다(Beard 1970, 1975). 현재까지 조류인플루엔자 바이러스는 HA 단백질의 종류에 따라 15종, NA 단백질의 종류에 따라 9종으로 구분하고 있다.
- 또한, 조류인플루엔자에 감염된 청둥오리 등 야생조류가 닭이나 사육 오리와 접촉하거나 또는 분변을 배설하여 전파되는 가능성은 매우 높으나 이를 차단하는 것이 어렵다(Barr 외 1986). 한편, 이번에 국내에서 발생한 조류인플루엔자의 원인체는 원발 산란계농장에서 분리되어 혈청형으로는 H5N1형으로 추정되나 명확한 감염경로는 아직 밝혀지지 않았다.

## 2) 경제·산업적 측면

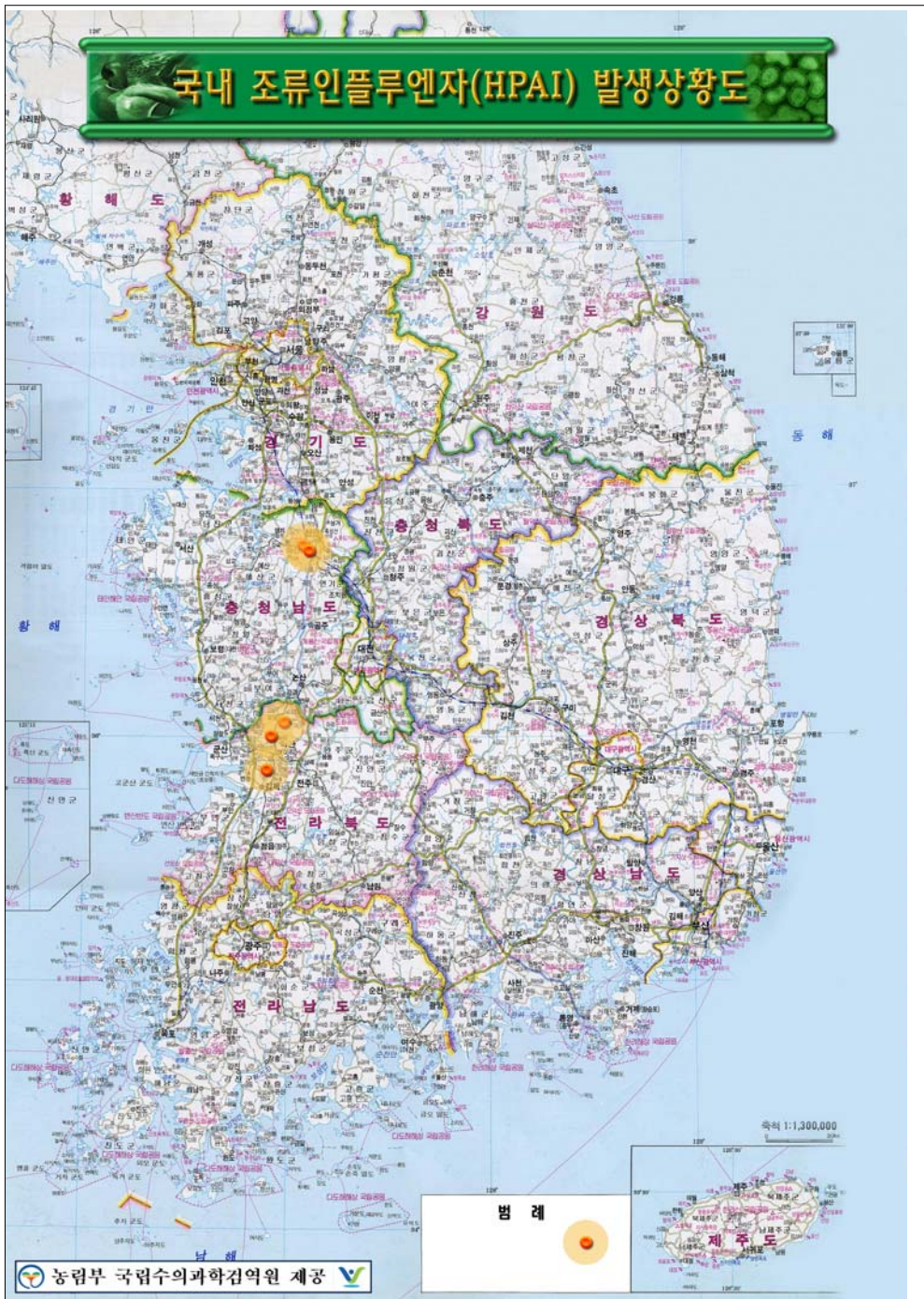
- 조류인플루엔자 발생농장 뿐만 아니라 3km이내의 닭이나 오리·달걀은 전부 폐기 조치되고 있는 실정이다. 또한 반경 3-10km사이의 조류 및 그 생산물에 대하여도 이동통제를 실시하고 있으므로 그 피해는 엄청나다.
- 우리나라에 출현한 조류인플루엔자로 인해 충북음성군 음성군과 진천군은 그동안 조류인플루엔자 위험. 경계지역내 70농가 74만여 마리의 닭과 오리를 매립했다. 한편 충북도는 59개 농가의 닭과 오리 등 90만마리가 매몰 처분됐다. 충남도는 그동안 천안지역에서 조류인플루엔자에 감염된 것으로 확인된 두 군데오리농장에서 1만3천여마리의 오리를 살처분했으며 50만개 가량의 오리 중판도 매몰처리했다.
- 이번 조류인플루엔자의 피해는 충북과 충남에 국한된 것이 아니라 전국에 축산농가에 많은 피해를 입혔다. 경북의 울주군은 농가의 닭 7만8천여마리를 도살처분하는 것을 시작으로 추가로 친천리 일대 17농가의 닭과 오리 9만여마리를 도살 처분하였다. 이에 울주군은 조류인플루엔자 발생지역으로부터 3km이내의 19농가 9만마리의 닭을 29일부터 매몰 처분키로 했다. 또한 전남 나주

지역에서는 방역팀은 조류인플루엔자 감염 가능성을 배제할 수 없다고 판단, 검사 결과와 관계없이 예방 차원에서 농장 닭 4만3천여마리를 모두 살(殺)처분, 매립하기로 했다. 경기도 이천지역, 방역팀은 조류인플루엔자 감염 가능성을 배제할 수 없다고 판단, 검사 결과와 관계없이 예방 차원에서 농장 닭 4만3천여마리를 24일 모두 살(殺)처분, 매립하였다.

- 따라서 본 조류인플루엔자로 인한 농가의 피해는 우리나라 경제, 산업에 미친 영향이 너무 크며 위에서 언급하지 않은 2차피해(가금류 소비의 감소 및 조류인플루엔자로 인한 사회전반의 심리적 공황 등)를 계산하면 국가에 미친 경제적 피해는 천문학적이라 할 수 있다.
- 본 연구는 조류인플루엔자에 대한 이동경로를 파악하고 바이러스를 분리하여 조류인플루엔자 백신개발의 기초를 삼고자 한다. 또한 감염경로가 야생동물로 인한 것을 밝혀 급속한 환경파괴로 인한 야생동물의 질병출현과 사람 및 가축에 전염되는 이동경로를 파악하여 대처 방안을 수립하고자 한다.
- 또한 조류독감은 사람에게 질병이 감염되는 경우까지 발생하였다. 지난 2003년 말에서 2004년 초 국내에 조류인플루엔자가 유행했을 때 방역과정에 참여했던 인부 등 4명이 조류 인플루엔자에 감염된적이 있었으며, 다행이도 4명은 증상이 없었기 때문에 조류인플루엔자 환자가 아닌 무증상 감염이었으며 현재 건강한 상태이었다.



<그림 1. 2003-2004년도 조류독감발생지역에 대한 표시>



<그림 2. 2007년에 나타난 조류독감 발생지역에 대한 권역별 표시>

### 3) 사회·문화적 측면

- 이번에 국내 발생한 조류인플루엔자 바이러스의 혈청형은 H5N1형으로 나타났으며 저병원성인 H9 타입도 나타나는 등 매우 다양한 형태의 바이러스가 출현하고 있는 실정이다. 사람에게 사망에 이르는 피해를 입히지 않는 것으로 나타났으나 비슷한 사례인 홍콩의 조류인플루엔자는 인체에 피해를 입히고 사망자가 발생한바 있다.
- 또한 현재 사용되는 인플루엔자 백신은 사람에서 흔히 감염되는 바이러스(A/H3N2, A/H1N1, B형 바이러스)에 대한 백신이며, 조류인플루엔자 A/H5N1에 대해서는 예방효과가 없다(Wobeser, 1997). 조류인플루엔자가 현재까지 전국적으로 만연되지는 않았으나 항시 가능성이 있어 주의하여 관찰하여야 한다. 특히, 현재까지는 처음 발생원인이 밝혀져 있지 않기 때문에 가장 가능성이 큰 야생조류 혹은 동물에 대한 철저한 연구가 필요하다.
- 야생동물에 의한 질병은 매우 다양하다. 그 중 바이러스와 박테리아를 통해 발생하는 질병이 가장 강력하고 흔하게 일어나는 데, 이들 종류를 표로 나타내면 다음과 같다(표 1). 그 밖의 여러 가지 질병이 야생동물에게 감염되며 인간의 전염여부는 잘 알려져 있지 않다. 또한 이들 질병경로가 파악된 것은 전무하다.



<표 1. 야생동물로 인한 각종 질병에 대한 출현 현황과 감염원 및 증상>

질병종류	타입	병원균	영향을 받는 그룹	증상
오리 바이러스성 장염(DVE)	바이러스	Herpevirus	물새류(waterfowl)	피똥, 행동이 느려지며 장내의 출혈이 발생함. 몸을 떠는 경향이 있음
흑반증(IH NV)	바이러스	Rhodovirus	물고기 등 어류	산란지에 나타나며 근육과 내장에 피가 보임. 10도이하의 물에서 사망률이 높음
가금콜레라	박테리아	Pasteurella multocida	물새류	행동이 느리며 심낭의 파괴 및 출혈, 높은 사망률
툴라레미아	박테리아	Francisella tularensis	포유류(설치류, 토끼류)	느린 행동을 보이며 림프가 붓고 간과지라의 흑반점. 높은 사망률

## 2. 연구의 목적

본 과제는 모두 3개의 주제로 조류인플루엔자 발생기작과 바이러스에 대한 연구를 수행하고자 하였다.

### 가. 야생동물에 의한 조류인플루엔자의 발생메카니즘 규명

야생동물에 의한 조류인플루엔자 이동메카니즘을 파악하기 위하여 우리나라 겨울철새 도래지에 대한 군집조사를 실시하였다. 겨울철새인 오리류뿐만 아니라 텃새인 까치, 멧비둘기 등을 포함하였다. 철새는 우리나라에 겨울에만 도래하므로 연구의 성과를 높이기 위해 텃새 수종을 포획하고 이들 중에 대한 바이러스 출현확률을 실시하였다. 또한, 야생동물에 의한 조류인플루엔자 발생기작을 파악하기 위한 적정밀도 연구를 수행하여 이를 모델링에 반영하였으며, 야생동물과 가금류가 집단으로 서식하는 지역에 대한 현지조사를 실시하고 이를 통해 바이러스

스의 감염경로를 파악한다.

○ 겨울철 야생오리의 종류 및 조류인플루엔자 연관 종 발굴

가창오리, 큰기러기 등을 비롯한 우리나라의 겨울을 찾는 철새는 해마다 190여종, 100만여 마리에 이른다. 우리나라 환경부에서는 해마다 “조류동시센서스”를 실시하여 우리나라에 머무는 조류를 조사해왔다. 이를 기반으로 하여 곳곳에서 다양한 방법으로 많은 연구들이 진행되고 있다.

하지만 이들 중에 대한 연구는 현재까지 마리수, 개체수를 카운트하는 매우 초보적인 수준에 머무르고 있다. 또한 개체를 통한 종의 이동 상황과 질병에 대한 연관성을 가진 연구의 시도는 그간 전무하였다. 따라서 본 연구는 겨울철 한반도에 도래하는 철새를 중심으로 야생동식물의 유전자를 이용하여 이들의 이동경로를 파악하는 보전생물학적 방법을 응용하여 개체군의 이동을 파악하는 집단연구를 시도하였다. 이런 유전자를 이용한 집단연구파악은 새로운 학문 분야이다. 보전유전학의 연구에 가장 필수적인 것이 유전적 샘플이다. 연구대상 자체가 희귀하다면 종의 샘플을 수집하는 것은 굉장히 어려운 일이므로 이를 극복할 수 있는 방안이 마련되어야 한다. 이 보전유전학이 야생동물의 보전에 기여할 수 있는 분야에는 다음과 같은 것들이 있다.

가) 유전자를 통한 정확한 계통분류가 가능

야생동물을 보전하려면 그 종의 특성을 제대로 알아야 한다. 즉, 그 종의 생태학적 특징이 무엇이며, 어떻게 번식하며, 어떠한 서식조건이 필요하며, 어떠한 질병이 잘 발생하는가 등의 지식이 있어야 보전을 위한 대책을 세울 수 있다는 것이다. 그런데 특정종에 대한 이러한 생물학적 이해를 얻기 위하여는 먼저 연관된 종들 및 인근 지역의 아종과의 관계가 정립되어야 한다. 예를 들어 한국의 사회와 문화를 이해하기 위하여는 한국 뿐 아니라 중국, 일본, 몽고, 러시아 등 한국과 관련이 있는 동아시아 국가들과의 역사적 관계, 문화교류에 대한 배경지식이 있어야 하며, 나아

가 아시아 전체와 세계 속에서 한국을 연구하여야만 한국에 대한 올바른 이해가 가능한 것과 같은 이치이다.

#### 나) 개체군 유전적 다양성 측정 가능

크게 말하자면 유전적 다양성 연구에 의하여 멸종위기 야생동물 개체군의 유전적 건강성과 근친번식의 정도를 측정할 수 있다. 유전적 다양성이란 종 내에 존재하는 여러 다양한 유전적 형태를 말한다. 인류라는 종 안에 황인종, 백인종, 흑인종 등의 다양한 인종이 존재하고, 한국인 안에서도 그 생김새와 성격이 제각각인 다양한 개인들이 존재하는 것은 바로 이 유전적 다양성 때문이다. 한 종이 야생에서 생존해 나가는데 있어 이 **유전적 다양성**은 필수적이다. 혹시 급격한 환경의 변화나 질병의 위협 속에서도 유전적 다양성 덕분에 살아남는 개체에 의하여 종이 존속되는 것이다. 그러나 동물원에서와 같이 개체군의 숫자가 제한되거나 자연에서도 어떤 개체군의 숫자가 급격히 줄어들면 필연적으로 근친번식 정도가 증가하게 되고 개체들의 유전적 구조가 서로 비슷하게 된다. 즉 유전적 다양성이 줄어드는 것이다. 이렇게 되면 근교약세 현상에 의하여 동물들의 생존 능력이 퇴화하게 된다. 바로 이러한 근친번식에 의하여 순종의 애견이 만들어지게 된다. 푸들(Poodle)이라는 견종을 만들기 위하여는 여러 대에 걸친 근친번식이 필요하며 이 때문에 순종 푸들의 모양은 모두 비슷하고 유전적 다양성은 매우 낮다. 반면에, 잡종견은 그 다음 세대에 어떤 개가 나올지 예측이 힘들 정도로 유전적 다양성이 풍부하다. 그러므로 잡종견일수록 병치레도 별로 없고 새끼도 많이 낳으며 수명도 길다. 사람이 푸들을 집에서 기를 때는 유전적 다양성이 적다는 것이 큰 문제가 안되지만, 푸들이 야생에서 살아갈 능력은 없다. 즉 유전적 다양성이 적어진다는 것은 동물들이 자연상태에서 생존해 나갈 능력이 떨어진다는 것을 의미한다. 그러므로 멸종위기에 처한 개체군의 유전적 다양성 정도를 측정하고 다른 건강한 상태의 개체군과 비교하면 이들이 유전적으로 얼마나 건강한가를 알 수 있다. 즉 개체군의 근친번식의 정도, 다른 개체군과의 교류 정도, 개체군의 생존능력 등에 관한 중요한 정보를 얻을 수 있어서 어느 개체군이 건강한지, 어느 개체군이 위협에 처해 있는지를 알 수 있고 이에 대한 대책을 세울 수 있는 것이다.

## 다) 생태 연구

보전유전학 연구는 멸종위기종의 생태적 연구에도 중요한 도움을 줄 수 있다. 이것은 최근 유전자검사법의 발달에 의하여 아주 적은 양의 DNA도 중합효소연쇄반응(PCR)이라고 하는 기술을 이용하여 증폭 후 분석하는 것이 가능하게 되었고, 또 Microsatellite이라고 하는 표지유전자를 이용하면 개체간의 구별도 가능하기 때문이다. 이것은 사람에서 유전자감식에 의한 친자감별이나 개인식별을 범죄수사와 시신확인 등에 응용하는 것과 같은 원리이다. 예를 들어 미국의 세계무역센터 붕괴 시 훼손된 시신에서 추출한 DNA와 피해자의 면도기에 남아있는 미량의 유전자를 비교하여 시신의 신원을 확인하는 것도 똑같은 원리를 응용한 것이다. 또한 반달가슴곰의 분변이나 털 등에서도 유전자를 추출하여 증폭하여 각 개체를 구별하는 것이 가능할 수 있다. 그러므로 한 지역에서 분변이나 털을 광범위하게 수집하여 분석한다면 그 지역의 개체군의 크기, 성별, 서식범위, 개체군 내 구성원들의 혈연관계, 사회적 구조, 유전적 다양성 정도 등 보전대책을 세우는데 필수적인 정보를 얻을 수 있다.

## 라) 서식지의 보전의 번식계획 수립에 이용

서식지의 보전을 위하여 멸종위기종을 동물원이나 증식센터에서 번식을 시킬 때 가장 문제가 되는 것은 그 수가 적음으로 인한 근친번식이다. 이것은 필연적으로 유전적 다양성을 감소시키게 되므로 나중에 방사하더라도 생존능력이 떨어지게 된다. 그러므로 동물원에서는 유전적 다양성을 최대한 보전하는 방법으로 번식계획을 세워야 한다. 이를 위하여는 번식되는 모든 개체의 정확한 가계도를 작성하고 이에 근거하여 근교계수(Inbreeding coefficient; 근친사이의 정도를 나타내는 계수 1에 가까울수록 근친의 정도가 높다)를 계산하여 그 계수가 낮은 방향으로 번식계획을 수립하여야 한다. 그러나 여러 개체로 구성되어 있는 야외방사 집단의 경우에 친자확인이 어려워 정확한 가계도 작성이 불가능하거나 어려울 수 있다. 또, 많은 경우, 동물원의 혈통등록이 사육사의 실수나 고의에 의하여 부정확하게 기록된다. 이 때 유전학적 분석에 의하여 근연관계와 가

계도를 정확하게 작성할 수 있다. 증식장 내 개체들 사이에 혈연관계가 정확히 파악되면 이들의 사회구조와 번식구조, 개체군 내 역학관계를 알 수 있어 효과적인 증식계획을 세울 수 있다.

따라서 이런 보전유전학의 다양한 접근을 위해서는 샘플을 확보하는 것이 중요하다. 이를 위해 우리는 종에게 침해적이지 않고 유전적 정보를 얻을 수 있는 방안으로 철새의 분변을 활용하였으며, 우리나라의 지역적으로 구분된 곳에서 분변을 수거하여 종의 유전 정보를 획득하였다.

#### 나. 철새도래지에서의 조류인플루엔자 바이러스 분리

본 연구는 국내 철새도래지의 지역별 조류인플루엔자 바이러스 분리를 시도하여, 국내 철새도래지의 계절별 조류인플루엔자 바이러스 분리를 수행하고자 한다. 또한, 국내 야생조류(털새포함)의 종류별 조류인플루엔자 바이러스 분리를 시도하여 오리류 뿐만 아니라 다른 종류의 야생조류에 의한 인플루엔자 발생에 대해서도 접근하고자 한다.

본 세부과제의 연구 목적은 국내 철새도래지에서 지역별 조류인플루엔자 (Avian Influenza: AI)를 시험기간동안 분리하는 것이 첫 번째 목표이며 분리된 바이러스에 대한 유전학적 및 생물학적 특성을 조사하여 타과제에 대하여 정보를 제공하여 유기적인 분석을 통하여 국내 AI 발생양상을 분석하는 것이 두 번째 목표이다. 궁극적으로는 본 사업을 통하여 확보된 정보를 바탕으로 국내 AI 방제에 기초자료를 제공하여 효율적인 방제대책을 수립하는 것이다.

##### 1) 연구의 필요성

- 현재까지 조류인플루엔자바이러스에 대한 역학조사를 수행하였던 바 2003년과 2006년에 발생한 AI (H5N1형)바이러스는 국내에서 사육하는 닭이나 오리에게 발생한 사례가 없었기 때문에 야생동물에 의해 전파된 것으로 추정된다. 그러나 현재까지 야생동물에 의한 감염경로는 명확하게 파악되지 않고 있으며 이 질병의 전파는 접촉감염에 의한 것으로

로 판단된다.

- 또한, 조류인플루엔자에 감염된 청둥오리 등 야생조류가 닭이나 사육 오리와 접촉하거나 또는 분변을 배설하여 전파되는 가능성은 매우 높으나 이를 차단하는 것이 어렵다. AI가 현재까지 전국적으로 만연되지는 않았으나 항상 가능성이 있어 주의하여 관찰하여야 한다. 특히, 현재까지는 처음 발생원인이 밝혀져 있지 않기 때문에 가장 가능성이 큰 야생조류 혹은 동물에 대한 철저한 연구가 필요하다.

## 2) 연구의 범위

- 국내 철새도래지 서식 야생조류로부터의 조류 인플루엔자 바이러스의 분리 : 국내 철새도래지에서 수집한 철새분변을 철새별, 계절별, 지역별로 분류하여 조류인플루엔자 바이러스를 국제수역사무국에서 규정한 방법을 사용하여 분리한다. 즉, 분변을 중합효소반응을 이용하여 조류인플루엔자 바이러스의 존재를 확인한 후 9-11일된 SPF 란에 접종하여 바이러스의 증식을 확인한다. 분리된 인플루엔자 바이러스는 HI (Hemmagglutination inhibition test) 및 NI (Neuraminidase inhibition test) 검사를 이용하여 HA 및 NA형을 분류하여 동정한다.
- 분리된 야생조류 유래 조류인플루엔자 바이러스의 가금에서의 병원성 조사 및 역학적 특성조사 : 생물학적 및 유전학적 특성조사가 종료된 조류인플루엔자 바이러스를 국내에서 주로 사육하고 있는 닭과 오리에서의 병원성조사를 실시한다. 닭은 4주령된 SPF 닭을 이용하며 오리는 사전 혈청검사를 하여 인플루엔자에 대한 항체가 없는 개체를 선택하여 사용한다. 병원성 조사는 국제수역사무국의 기본 병원성 기준인 폐사율과 장기내에서의 항원분포를 중점으로 실시한다. 이를 통하여 분리된 바이러스의 국내 가금산업에서의 잠재적 위험성을 평가하여 향후 예방대책에 대한 기초자료를 제공한다.

- 분리된 야생조류 유래 조류인플루엔자 바이러스의 생물학적 및 유전학적 특성조사 : 분리 동정된 조류인플루엔자 바이러스를 유형별로 분류하여 대표적인 바이러스에 대한 생물학적 및 유전학적 특성조사를 1) 4주령 SPF 닭에 대한 병원성 변화 2) 4주령 SPF 닭접종후 체내 바이러스 침투능을 기본으로 하여 수행한 후 HA의 cleavage site 등의 염기서열을 분석하여 유전학적 특성을 분류한다.

#### 다. 조류인플루엔자의 군집과 발생기작 수리학적 모델 규명

본 연구 과제는 야생동물과 조류인플루엔자의 수리학적 모델 정립의 기초 단계로 야생조류의 성장을 위한 환경용량을 파악하고 단일 개체군 내 생태학적 밀도 변화에 질병 발생이 미치는 영향을 분석하기 위한 동력학적 수리모형의 기본 개념을 설계하고, 기본 수식들을 연계한 기초적인 형태의 모형을 개발하고자 한다.

지역간 또는 국가간 인적·물적 교류가 극대화되는 현실 속에서 국지적으로 발생한 치명적인 전염성 질병이 단기간 내에 급속도로 확산될 가능성은 어느 사회에나 상존하고 있다. 이러한 질병의 발생과 확산을 미연에 방지하고 발생후의 피해를 최소화하기 위해서는 통합적인 질병예측 및 관리 시스템이 필요하며, 이러한 시스템의 개발은 질병의 발생 기작과 확산 경로를 예측할 수 있는 수학적 모델의 개발을 통하여 이루어질 수 있다. 그러나 현재까지 국내에서는 전염성 질병의 시·공간적 확산을 모의하기 위한 수학적 모델의 개발 연구가 보고된 바가 거의 없는 실정으로, 이러한 연구와 함께 수학적 모델의 신뢰성을 제고하기 위한 다양한 단계의 실험적 연구가 요구되고 있다.

본 연구에서 제안된 수학적 모델은 개체군내 및 개체군간 질병의 전파를 예측하기 위하여 생태환경에 따른 환경용량과 개체군 성장, 질병의 전파로 인한 질병보유개체군 내 개체군밀도의 변화, 이종 개체군간 질병의 교차 감염, 질병보유개체군과 비전염개체군의 공간적 분포에 따른 질병의 확산, 질병의 변형과 전염 등 질병의 발생 이후 확산에 관련된 일

련의 기작들을 포함하고 있다.



## 제 2 장    국내외 기술개발 현황

\* 국내·외 관련분야에 대한 기술개발현황과 연구결과가 국내·외 기술개발 현황에서 차지하는 위치 등을 기술

### 1. 우리나라 조류독감 발생기작 현황

- 현재 조류인플루엔자 바이러스의 주요 생물학적 보고인 야생조류에 의한 전파와 관련된 연구가 국내에서는 거의 없는 형편이다. 다만 국내의 가금류에 대한 주기적인 검사결과 아직까지 바이러스의 출현이 없었으므로 출현된 H5N1 바이러스는 새로이 등장하는 바이러스이므로 야생동물에 의해 감염된 것으로 추정된다.
- 아직까지 인플루엔자에 대한 감염경로에 대하여 알려진 바가 거의 없다. 현재는 우리나라에 오는 겨울철새인 물새(waterfowl)에 의한 분비물, 배설물에 의한 전염가능성이 유력한 실정이다. 또한 조류독감에 감염된 물새개체가 가금류 농장근처의 닭이나 오리와 직접접촉에 의해 감염되었을 가능성이 매우 높다.
- 2003년 첫 번째 발견지인 충남북지역은 지리적으로 겨울물새의 도래지인 서산만방조제와 매우 인접하여 있으며 여름에 인플루엔자에 감염된 물새가 겨울철에 우리나라에 도래하므로써 이 질병이 전파될 가능성이 높다. 이 지역에는 청둥오리(*Anas platyrhynchos*) 및 흰뺨검둥오리(*A. poecilorhyncha*), 고방오리(*A. acuta*), 가창오리(*A. formosa*) 등 조류 30여종 수백만이 매년 도래하는 곳으로 이들 야생동물에 의해 감염될 가능성이 매우 높다. 따라서 본 연구는 이들 가금류가 전염된 경로를 파악하여 이를 밝힘으로써 향후 인플루엔자에 의한 질병을 차단하고자 한다.
- 1997년 홍콩에서 고병원성 조류인플루엔자(A/H5N1)가 사람에게 감염되어 18명이 발생하여 6명이 사망하였으며, 2003년 네덜란드에서는 A/H7N7형에 의해 83명이 감염(경증)하고 1명이 사망한 사례가 있다.
- 감염자는 주로 감염된 종사자나 감염된 생닭, 오리에 폭로된 사람이며, 닭고기 및 오리고기 섭취로 인하여 감염된 사례 보고는 없다.
- 한탄 바이러스나 웨스트 나일 바이러스 등 치명적인 전염성 질병의 발생과 확산을 모의하기 위한 예측 모델의 개발은 국외에서는 1960년대부터 진행되고 있다. 질병에 감염된 개체를 보유하는 개체군으로부터 비감염 개체군으로

의 질병의 전이는 환경제한요인과 개체군 간 및 개체군 내 질병의 전파 등 각 개체군 내부의 밀도 변화에 영향을 미치는 요소 뿐만 아니라 개체군간 시간적 또는 공간적 접촉 정도에 의해 영향을 받게 되는데, 이러한 질병의 전파특성을 고려한 이론적 모델들은 개체군 내에서의 감염 개체의 확산, 이종 개체군간의 질병전이, 질병전이에 영향을 미치는 개체군의 공간적 분포에 관한 확정적 또는 추계학적 예측 등을 포함하고 있다. 그러나 지금까지 대다수의 연구 결과는 질병의 전파 특성을 고려한 이론적인 모델의 개발에 국한되어 왔는데, 이는 모델 모의결과의 보정 및 검증을 통한 신뢰성 제고에 극히 중요한 실제 관측 자료의 부족에 기인한다고 할 수 있다. 그럼에도 불구하고 이러한 모델을 구성하는 수학적 동력학 수식들은 질병의 예측 및 관리 시스템의 개발에 포함되어 합리적인 대응 전략의 수립에 활용되고 있다.

- 이에 비하여 아직까지 국내에서 전염성 질병의 시·공간적 확산을 모의하기 위한 수학적 모델의 개발 연구가 보고된 사례는 거의 전무한 실정이다. 특히 조류인플루엔자와 같은 전염성 질병의 경우 질병의 발생 주체나 기작, 전염 경로에 관하여 밝혀진 바가 거의 없기 때문에 이를 수학적으로 모의하기 위한 모델의 개발은 시도된 바 없다. 따라서 본 과제에서 제안된 모델은 질병의 전파를 표현하기 위한 일반적인 밀도변화식을 기반으로 조류인플루엔자 확산에 관한 다양한 가설들을 수식화하여 포함하고 있다. 본 모델로부터 생산되는 모의결과의 신뢰성을 제고하기 위해서는 적용된 가설들을 증명하기 위한 다양한 관측자료의 확보가 절실한 실정이다. 이와 함께 정확한 동력학적 계수들을 구하기 위한 다양한 형태의 실험 자료의 축적이 요구되고 있다. 이러한 문제점들이 개선된 이후에는 본 과제에서 제안된 개념적 모델을 확장하고 공간자료에 관한 데이터베이스와 연계하여 통합적인 질병관리 시스템의 개발로 연결될 수 있을 것이다.
- 현재 조류인플루엔자와 관련된 국내연구가 진행이 되고 있으나 AI 바이러스의 주요 생물학적 보고인 야생조류에 의한 전파와 관련된 연구가 국내에서는 거의 없는 형편이다.
- 2003년와 2006년도 국내에서 발생한 고병원성 조류인플루엔자 감염이 제한적이지만 전국적인 발생이 확인되었다. 현재 철새에 의한 것으로 확인이 되고 있지만 국내에서의 전파방법은 알려지지 않고 있어 이에 대한 연구도 필요한 실정이다.

- 국내에서 철새도래지에 대한 조사는 본 연구를 포함하여 최근에 많은 연구가 진행이 되고 있다. 그러나 이러한 연구를 통해서 현재까지 알려진 것은 조류 인플루엔자 바이러스의 분리가 대부분이며 실제 이와 관련된 역학은 사실 밝혀진 바가 별로 없는 실정이다. 따라서 본 사업에서도 역학관련 특히, 생태학적 분석이 광범위하고 정밀하게 이루어져야 한다.



## 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

\* 이론적, 실험적 접근방법, 연구내용, 연구결과를 기술

### <제1세부과제 : 야생동물에 의한 조류인플루엔자 발생메카니즘 규명>

본 연구는 조류인플루엔자의 감염경로를 파악하는 데 주력하였으며, 우리나라에 유행하는 조류독감바이러스형(H5N1)을 구체적으로 밝히는 것을 목적으로 한다. 따라서 계절별로 우리나라에 도래하는 철새 및 텃새에서 나타나는 조류인플루엔자의 규명을 위하여 그동안 수행되었던 지역별 출현 겨울철새에 대한 개체군동태학에 대한 연구를 지속적으로 수행하였으며, 조류포획을 위한 장치를 개발하여 이를 현장에 적용하는 실험을 수행하였다.

#### 1) 겨울철새인 야생동물의 밀도조사를 수행

야생동물에 의한 조류인플루엔자 이동메카니즘을 파악하기 위하여 겨울철물새에 대한 개체군 조사를 수행하였다. 개체군 조사는 김포공항, 오산비행장, 제주, 인천 강화군 등에서 실시되었다.

<표 1. 조사기간 중 조사된 야생동물의 출현종 및 개체군 밀도현황>

조사 지역	출현종	학명	개체군 크기(단위 : 마리)
김포공항	청둥오리	<i>Anas platyrhynchos</i>	>500
	까치	<i>Pica pica</i>	>100
	쇠오리	<i>Anas crecca</i>	58
	멧비둘기	<i>Streptopelia orientalis</i>	36
	왜가리	<i>Ardea cinerea</i>	5
	꿩	<i>Phasianus colchicus</i>	2
오산비행장	청둥오리	<i>Anas platyrhynchos</i>	57
	까치	<i>Pica pica</i>	>50
	쇠오리	<i>Anas crecca</i>	10
	고방오리	<i>Anas acuta</i>	6
	멧비둘기	<i>Streptopelia orientalis</i>	30
	꿩	<i>Phasianus colchicus</i>	2
	청딱다구리	<i>Picus canus</i>	2
	왜가리	<i>Ardea cinerea</i>	5
제주비행장	까치	<i>Pica pica</i>	15
	청둥오리	<i>Anas platyrhynchos</i>	10
	멧비둘기	<i>Streptopelia orientalis</i>	5
	꿩	<i>Phasianus colchicus</i>	5
인천(강화도 길상면)	까치	<i>Pica pica</i>	>50
	청둥오리	<i>Anas platyrhynchos</i>	>150
	멧비둘기	<i>Streptopelia orientalis</i>	32
	꿩	<i>Phasianus colchicus</i>	4
서울북부지역	까치	<i>Pica pica</i>	15
	멧비둘기	<i>Streptopelia orientalis</i>	4

2) 야생동물의 포획(겨울철새 및 텃새별)

야생동물에 겨울철새인 오리류 뿐만 아니라 텃새인 까치, 멧비둘기 등을 포함한다. 또한 조류에 대한 포획을 실시하여 바이러스에 대한 출현확률을 높인다.

<표 2. 조사기간 중 포획된 야생동물의 밀도 및 출현종 현황>

조사 지역	출현종	학명	포획마리수
김포공항	청둥오리	<i>Anas platyrhynchos</i>	1
	까치	<i>Pica pica</i>	1

	쇠오리	<i>Anas crecca</i>	1
오산비행장	청둥오리	<i>Anas platyrhynchos</i>	1
	까치	<i>Pica pica</i>	3
	멧비둘기	<i>Streptopelia orientalis</i>	5
	꿩	<i>Phasianus colchicus</i>	2
	청딱다구리	<i>Picus canus</i>	1
	왜가리	<i>Ardea cinerea</i>	2
	까마귀	<i>Corvus corone</i>	3
제주비행장	꿩	<i>Phasianus colchicus</i>	2
인천(강화도 길상면)	꿩	<i>Phasianus colchicus</i>	4
서울북부지역	까치	<i>Pica pica</i>	3
계			26

출현지역별로 야생동물의 배설물 및 흔적조사를 실시하였으며 개체를 포획하였다. 하지만 개체군의 크기에 비해 포획된 개체의 수가 적은 것으로 나타났다.

### 3) 야생동물에 의한 조류인플루엔자의 발생메카니즘 규명

야생동물에 의한 조류인플루엔자 이동메카니즘을 파악하기 위하여 겨울철물새인 오리류뿐만 아니라 텃새인 까치, 멧비둘기 등을 포함하였다. 철새는 우리나라에 겨울에만 도래하므로 연구의 성과를 높이기 위해 텃새 수종을 포획하고 이들 중에 대한 개체군 동태학을 파악하고 이들로 인한 조류독감의 연결성을 찾기 위한 연구를 실시하였다. 또한, 야생동물에 의한 조류인플루엔자 발생기작을 파악하기 위한 연구를 수행하였으며, 야생동물과 가금류가 집단으로 서식하는 지역에 대한 현지조사를 실시하고 이를 통해 바이러스의 감염경로를 파악한다.

### 4) 겨울철새인 야생동물의 밀도조사를 수행

야생동물에 의한 조류인플루엔자 이동메카니즘을 파악하기 위하여 겨울철물새에 대한 개체군 조사를 수행하였다. 개체군 조사는 서산방조제, 시화호지역, 갈대습지공원(안산시), 당진군 석문방조제 지역, 인천 강화군, 서천군 해안

지역 등 주로 서해안 철새도래지에서 실시되었다.

<표 3. 조사기간 중 조사된 야생동물의 출현종 및 개체군 밀도현황>

조사 지역	출현종	학 명	개체군 크기(단위 : 마리)
서산방조제	청둥오리	<i>Anas platyrhynchos</i>	>500
	까치	<i>Pica pica</i>	>100
	쇠오리	<i>Anas crecca</i>	400
	멧비둘기	<i>Streptopelia orientalis</i>	150
	왜가리	<i>Ardea cinerea</i>	50
갈대습지공원	청둥오리	<i>Anas platyrhynchos</i>	97
	쇠오리	<i>Anas crecca</i>	50
	고방오리	<i>Anas acuta</i>	100
	멧비둘기	<i>Streptopelia orientalis</i>	50
	왜가리	<i>Ardea cinerea</i>	50
	까마귀	<i>Corvus corone</i>	10
석문방조제지역	까치	<i>Pica pica</i>	10
	청둥오리	<i>Anas platyrhynchos</i>	>200
	고방오리	<i>Anas acuta</i>	>100
	흰뺨검둥오리	<i>Anas poecilorhyncha</i>	>100
	황오리	<i>Tadorna ferraginea</i>	50
	쇠오리	<i>Anas crecca</i>	>100
	큰기러기	<i>Anser fabalis</i>	>1,000
인천(강화도길상면)	까치	<i>Pica pica</i>	>50
	청둥오리	<i>Anas platyrhynchos</i>	>150
	멧비둘기	<i>Streptopelia orientalis</i>	32
	평	<i>Phasianus colchicus</i>	4
서천군	까치	<i>Pica pica</i>	20
	청둥오리	<i>Anas platyrhynchos</i>	>700
	고방오리	<i>Anas acuta</i>	>200
	흰뺨검둥오리	<i>Anas poecilorhyncha</i>	>200
	황오리	<i>Tadorna ferraginea</i>	54

5) 야생동물의 포획(겨울철새 및 텃새별)

야생동물에 겨울철새인 오리류 뿐만 아니라 텃새인 까치, 멧비둘기 등을 포함한다. 또한 조류에 대한 포획을 실시하여 바이러스에 대한 출현확률을 높인다.



<표 4. 조사기간 중 포획된 야생동물의 밀도 및 출현종 현황>

조사 지역	출현종	학 명	포획마리수
서산방조제	청둥오리	<i>Anas platyrhynchos</i>	1
	까치	<i>Pica pica</i>	3
	쇠오리	<i>Anas crecca</i>	1
갈대습지공원	청둥오리	<i>Anas platyrhynchos</i>	1
	까치	<i>Pica pica</i>	3
	멧비둘기	<i>Streptopelia orientalis</i>	3
	꿩	<i>Phasianus colchicus</i>	2
	청딱다구리	<i>Picus canus</i>	1
	왜가리	<i>Ardea cinerea</i>	2
석문방조제지역	까마귀	<i>Corvus corone</i>	3
	꿩	<i>Phasianus colchicus</i>	1
인천(강화도 길상면)	꿩	<i>Phasianus colchicus</i>	2
서천군	까치	<i>Pica pica</i>	25
계			48

출현지역별로 야생동물의 배설물 및 흔적조사를 실시하였으며 개체를 포획하였다. 하지만 개체군의 크기에 비해 포획된 개체의 수가 적은 것으로 나타났다. 현재 1차년도 에는 총 26개체가 확보되었으며, 2차년도에도 지속적인 개체 포획을 위해 총 48여 개체가 확보되었다.

#### 6) 조류 포획을 위한 포획장치의 개발

또한 조류수집을 위한 다양한 방안이 강구되었으며, 이에 대한 결과로 우리나라에서 현재 총포의 사용이 매우 제한되어 있으므로 이를 위해 비침식적 포획방법(non-invasive method)으로 조류를 포획하는 방안이 제안되어 2차년도 연구기간에 특허를 획득하였다(특허번호 제10-0692628호).



<그림 3. 조류포획장치의 모습. 앞부분은 개방형의 문이 있으며 오리가 들어오게 되면 나갈 수 없도록 고안되어 있음. 크기는 대략 한면이 2m, 높이도 2m 정도로 직사각형의 구조를 가지고 있음>

#### 7) 겨울철새에 대한 현황 파악

지구상에서 기러기목(目)(Anseriformes) 조류는 146종이 알려져 있다. 그 중에서 순 기러기류는 14종에 불과하다. 우리나라에는 7종의 기러기류가 도래한다. 이 중에서 사라져가는 개리와 흑기러기의 2종만을 천연기념물로 지정 보호하고 있다. 그러나 일본에서는 쇠기러기와 큰기러기까지 천연기념물로 지정하여 보호하고 있다. 개리는 희귀종으로서 생존 집단이 적은 점차 사라져가는 기러기의 일종으로서 한국에서는 매우 희귀한 겨울새가 되어 버렸다. 한국에서는 1967년 2월 10일 전남 무안군 신정리 해변의 논에서 쉬고 있는 7마리의 작은 무리가 관찰된 이래, 1988년 2월 20일에는 경남 창원군 주남저수지에서 큰기러기 및 쇠기

러기 무리 속에 섞인 2마리가 관찰되었으며, 1989년 11월에는 제주도에서 2마리가 관찰되었다. 곳에 따라서는 4-5마리까지 통과 또는 월동하는 적은 무리가 해마다 주로 해안지역의 한두 곳에서 눈에 띄곤 했다. 북한지역에서는 평북 용암포 압록강변이나 평남 청천강 하구와 해안이나 습지 혹은 경지에서 10마리 내외의 적은 집단이 관찰된다(정중열, 1987). 그런데 뜻밖에도 1992년-1993년 겨울에 한강하류에서 667마리(최대치)나 도래하여 월동하였다. 현재 지구상의 생존집단은 약 10만 마리 정도로 추산한다(Joseph, 1992). 1999-2000년間に 실시한 월동실태조사 결과 한강하류 행주산성일대 강변 및 오두산 부근의 갯벌 간석지에서 1,000여마리가 월동하고, 금강하구지역에서 60여마리가 월동하는 것으로 조사되었다. 흑기러기는 희귀종이다. 유라시아 대륙과 북미 등지에 널리 분포된 3종은 모두 42,000마리에서 140,000마리에 이르는 대집단이었으나 점차 사라져가고 있다. 북극 시베리아에서 레나(Lena) 강변을 거쳐 아나디르(Anadyr) 분지와 인접한 북극 도서에 번식하는 본 아종은 한국 남해안과 중국 해안에서 주로 월동하는 바, 전 집단의 크기는 알 수 없지만 가장 적은 생존집단인 것으로 추산되는 아종이다(Tohnsgard, 1978). 일본은 북해도, 본주(本州), 좌도(佐渡), 사국(四國), 구주(九州), 대마(對馬) 등지에서 월동하나 한국에서는 남해안 연안에 해마다 규칙적으로 도래하는 흔하지 않은 겨울새이다. 이동시에는 동서 해안에서도 관찰된다. 주로 전라남도 여수, 완도군 보길도 해상의 해태 양식장 부근에서 10여 마리에서 37마리까지의 무리를 볼 수 있다. 그러나 남해의 부산 다대포 앞바다에서 거제도과 진해 앞바다에 이르는 해상에서도 적은 무리가 관찰되며 1984년 1월 22일 목포에서 진해 용원리에 이르는 곳에서 700마리, 1987년 2월 5일 부산 다대포 해안과 낙동강 하구 일원에서 118마리, 남해안에서 1,000마리 안팎의 집단이 규칙적으로 도래, 월동함이 관찰되었다. 현재 지구상에는 약 20만 마리가 생존하리라 추산된다(Ellis-Joseph, 1992).

본 연구에서 샘플링을 실시하였을 때, 육안으로 관찰된 2종은 쇠기러기(*Anser albifrons*)와 큰기러기(*Anser fabalis*)이다.

쇠기러기 : <i>Anser albifrons frontalis</i> [ 기러기 목 / 오리 과 ]
--

쇠기러기는 몸빛깔은 약 75cm 이며 보통 회갈색인데 앞면은 등면보다 연한 색이다. 이마의 백색무늬, 핑크색 부리, 오렌지(등황)색 다리와 배쪽의 불규칙적인 넓은 무늬(가로 무늬) 등은 가까운 거리에서 뚜렷하다. 한국에서는 흔한 겨울새로, 100마리 또는 1,000마리 이상의 무리를 쉽게 볼 수 있는데, 11~3월의 월동기간에 해안지역과 평지에서도 눈에 띈다. 한국에 도래 하는 기러기 중 가장 많은 종이며 대부분의 월동 무리는 한반도의 중부보다 남부 지역에서 많이 볼

수 있다. 논·밭·소택 습지·해만·간척지 및 하구와 하천 부근의 얕이 탁 트인 광활한 지역을 좋아하며, 겨울의 큰 무리가 낮에는 과도가 잔잔한 해만이나 호소 또는 간척지에서 잠을 자고, 아침과 저녁에는 농경지로 날아와 짧은 다리로 어정어정 걸어다니면서 머리를 땅으로 향하고 주로 식물성 먹이를 찾아 먹는다. 광활한 툰드라 하천의 섬, 소택지의 풀밭에 접시 모양의 둥우리를 튼다. 산란기는 5월 중순~7월 상순이고 한배의 산란수는 3~7(보통 4)개이다. 매일 1개씩 알을 낳은 다음 암컷이 포란한다. 포란 후 21~28(보통 23)일에 부화되는데, 45일간(캐나다 북서부) 또는 55~65일간(요콘 삼각주) 육추되어 둥우리를 떠난다. 크기는 부리 36~41 mm, 날개 248~288 mm, 꼬리 83~116 mm, 부척 63~73.5 mm 이며, 번식지는 유럽·아시아·북아메리카 등지에서 번식하며, 북위 30°까지의 남쪽에서 월동한다. 도래지로는 우리나라 전역의 큰 저수지, 특히 경남 을숙도, 의창군 주남저수지에 많이 도래한다.

큰기러기 : *Anser fabalis* (LATHAM) [ 기러기 목 / 오리 과 ]

암컷과 수컷의 이마, 머리꼭대기, 뒷머리, 뒷목은 어두운 갈색, 부리 주위에 폭이 좁은 흰색 띠가 있다. 뺨, 귀깃, 턱밑, 목, 목옆은 머리꼭대기보다 다소 옅고 어두운 갈색. 아랫목은 옅은 갈색이고, 어깨 사이와 어깨깃은 잿빛을 띤 어두운 갈색. 아랫목은 옅은 갈색, 어깨 사이와 어깨깃은 잿빛을 띤 어두운 갈색. 등, 허리, 위꼬리덮깃은 더러운 갈색. 위꼬리덮깃 옆과 끝부분은 흰색. 가슴과 배는 옅은 갈색이며 아랫부분일수록 옅은 색. 옆구리는 어두운 갈색. 날개깃은 검은 갈색. 꼬리는 어두운 갈색이며 끝에는 흰색의 폭 넓은 가장자리가 있고 옆가장자리는 희며 가늘다. 꼬리깃의 수는 16~18개이다. 부리는 검은색이며 끝 근처에는 황색 띠가 있고 끝은 검은색. 다리는 오렌지색. 발톱은 검은색.

겨울새로 전역에서 월동하나 쇠기러기보다는 한정된 곳에서 월동하는 흔한 겨울새. 10월 하순이 되면 한국에 도래하기 시작하여 3월 하순이면 완전히 떠난다. 울음소리는 가까이에서는 구구구구, 과우, 과우, 가우-, 가우- 하고 멀리서는 과아한 과아한 소리로 들린다. 수컷이 땅을 볼 수 있는 곳에 집단으로 때로는 15m 이상의 거리를 두고 둥우리를 튼다. 한배의 산란 수는 4~5(보통 4)개이며 7개 까지도 낳는다. 알단 포란을 시작하면 암컷은 좀처럼 둥우리를 떠나지 않으며 하루에 한 번 정도 먹이를 찾아 나선다. 초식성으로 농작물인 밀과 보리의 푸른 잎, 버려진 낱알, 옥수수, 밀, 보리, 감자, 고구마, 등과 잡초의 잎, 줄기, 열매, 등 다양한 식물성을 먹는다. 구북구 북부, 북극에서 몽고 북부까지. 겨울에는 남쪽 온대까지 남하 월동한다.

우리나라 전역에서 분포하는 기러기류의 유전정보를 획득하기 위해 기러기류가 월동하는 시기에 총 4지역에 걸쳐 분변을 수거하였다.

<표 5. 기러기류 분변 샘플링 수거에 대한 정보>

Date	site		GPS
2007 -01- 11	시화호(형도선착장)	site1	N 37°16'53.9"
			E 126°41'04.5"
	시화호(외지도방수제)	site2	N 37°16'35.8"
			E 126°38'00.4"
	시화호(음섭)	site3	N 37°17'08.3"
			E 126°44'50.1"
	시화호(갈대습지공원)	site4	N 37°16'16.7"
			E 126°50'23.9"
2007 -01- 18	석문방조제(송산지구6단지)	site1	N 36°59'20.6"
			E 126°40'09.7"
	석문방조제(송산19단지)	site2	N 36°57'36.0"
			E 126°38'30.0"
	석문방조제(석문44단지)	site3	N 36°57'45.9"
			E 126°38'04.9"
2007 -01- 25	철원(동송읍강산리)	site1	N 38°17'37.9"
			E 127°14'55.6"
	철원(동송읍오동리학저수지앞)	site2	N 38°14'30.4"
			E 127°13'33.7"
	철원(학보교아래)	site3-1	N 38°13'30.5"
			E 127°13'09.2"
철원(학보교아래)	site3-2	N 38°13'30.8"	
		E 127°13'01.9"	
2007 -03- 10	주남저수지옆	site1	N 35°18'18.9"
			E 128°41'10.8"
	주남저수지옆	site2	N 35°18'22.6"
			E 128°41'02.1"
	주남저수지옆	site3	N 35°18'15.8"
			E 128°40'54.0"
	주남저수지옆	site4	N 35°18'17.6"
			E 128°41'02.2"

유전적 분석의 샘플 간 오염을 막기 위하여 야외 필드의 샘플은 각각

50ml falcon tube에 담도록 하였다. 분변에서 얻어지는 DNA 분석의 효율을 높이기 위하여 준비된 아이스박스에 바로 담아 실험실 -20℃ 냉동고에 보관한다.

샘플은 녹지 않도록 얼음 위에서 작업하고 180-220mg 정도의 분변을 잘라 2ml tube에 담는다. DNA extraction 과정은 QIAamp DNA Stool Mini Kit(QIAGEN)을 따른다. PCR은 2번의 PCR 과정을 거치는데 먼저 mtDNA 중 ND2 region을 증폭할 수 있는 primer인 L-5212, H-5766을 이용한다. 또한 그 안의 primer를 새로 제작하여 nested PCR을 수행한다. 새로 제작된 primer는 ND2\_AA\_F와 ND2\_AA-R로 명명하였다. 1차 PCR은 2ul의 10× BSA와 2ul의 10× buffer, 1.6의 dNTPs, 1ul의 양방향 primer와 3ul의 genomic DNA를 넣고 0.2의 taq DNA polymerase를 넣고 total volume을 20ul로 맞추었다. 2차 PCR은 1차 PCR product 샘플을 template로 하여 2ul의 10× BSA와 2ul의 10× buffer, 1.6의 dNTPs, 1ul의 양방향 primer와 0.2의 taq DNA polymerase를 넣고 total volume을 20ul로 맞추었다. PCR 반응조건은 94℃에서 denaturation 30초, 58℃에서 annealing 1분, 72℃에서 extension 1분으로 하여 총 40회 반복하였다. PCR DNA 산물은 Zymoclean Gel DNA Recovery kit을 이용하여 gel purification하고 자동 DNA 서열분석기(ABI 3700, PE Applied Biosystems)에서 direct sequencing을 실시하였다. 확인된 sequence 를 NCBI에 등록되어 있는 종들에게서 Blast Search 하여 종을 확인하였다.

기러기류 분변을 통해 얻어진 DNA를 이용하여 PCR 하여 sequencing 확인 결과, 총 29개의 쇠기러기(*Anser albifrons*) 유전샘플을 얻을 수 있었다. 그 중 10개 샘플을 다음 그림과 같이 phylogeny tree를 작성해보았다.

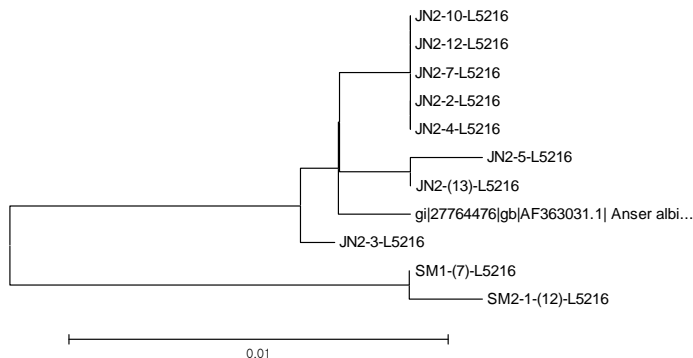


그림 4. 10개 샘플을 이용한 phylogeny tree의 예

우리나라 4개 지역별로 유전정보가 획득되면 각 개체군 간의 유전적 변이가 어느 정도 되는지 확인해볼 수 있다. 또한 각 개체군 내의 유전적 다양성도 파악하여 우리나라에 서식하는 월동 기러기류의 유전적 건강성을 알아볼 수 있다. 이런 유전적 data가 년차별로 늘어나게 되면 년도별 기러기류의 개체군이 어떤 변화 양상을 보이는지도 확인해볼 수 있다.

## <제2세부과제 : 철새도래지에서의 조류인플루엔자 바이러스 분리>

### 1. 연구방법

#### 가. 시료채취장소의 선정

##### 1) 철새도래지의 선정

- 국내에서의 철새도래지는 매년 차이가 있지만 대부분은 일정하기 때문에 과거부터 알려진 곳을 해변가와 내륙으로 나누어 선정하였다. 선정된 철새 도래지는 충남 천수만 일대, 전남 해남일대, 부산 을숙도, 제주 일원 등이었다.
- 내륙으로는 지역적 제한성과 2003년 고병원성 조류인플루엔자 발생된 점을 감안하여 충북지역을 선정하였으며 특히 내륙하천과 논이 동시에 존재하는 지역에 철새가 도래하기 때문에 미호천을 중심으로 6군데에서 시료를 채취하였다.

##### 2) 국내 텃새채취장소의 선정

- 텃새를 생포하는 것이 현실적으로 쉽지 않아 전국의 수렵관련 단체와 협조체제를 구축하여 시료를 송부 받음으로서 사전에 시료채취장소를 선정하는 것이 불가능하였다. 결과적으로 텃새와 관련된 시료의 채취는 조류의 종류는 다양할 수 있었으나 채취장소가 국한 적이었고 숫자도 매우 제한적일 수밖에 없었다.

#### 나. 시료의 채취

- 시료의 채취는 기존의 분변채취방법을 기본으로 하여 조류인플루엔자 바이러스의 특성을 감안하여 다소 변형을 하였다. 즉, 조류인플루엔자 바이러스는 온도에 매우 민감하고 주변환경에 따라 바이러스가 쉽게 불활화하는 점을 감

안하여 가능한 시료를 냉장이나 냉동을 하지 않고 신선한 재료 그 자체를 실험실로 가급적 빠른 시간 내에 운송을 하였다.

- 시료는 각 개체별로 채취하기가 용이하지 않고 시료가 너무 많은 점을 감안하여 분변 10개당 1개의 시료로 pooling 하였다. 단, 비행장 등 조류를 직접 생포하여 채취한 경우는 개체별로 시료를 채취하였다.
- 분변시료는 분변의 모양에 따라 오리류(그림 3), 기러기류(그림 4)로 구별하여 분변 10개별로 서로 교차오염이 되지 않도록 1회용 polyglove, 설합자, 비닐 등을 사용하였다.
- 조류 사체 시료는 부검을 하였으며 기관, 맹장편도, 신장을 채취하여 바이러스 분리시료로 처리를 하였으며 병변이 발견이 되었을 경우에는 조류 인플루엔자 바이러스의 분리와 관계없이 원인을 밝히고자 진단에 관련된 세균학적, 조직학적 및 바이러스학적 실험을 진행하였다.



<그림 6. 오리 분변>



<그림 7. 기러기 분변>

다. 시료의 처리

- 채취된 시료는 앞에서 언급한바와 같이 가능한 동일에 실험실로 운반을 하였으며 늦은 가을과 겨울인 점을 감안하여 별도의 냉장이나 냉동처리를 하지 않았다.
- 분변의 경우는 분변 대 PBS를 1:2가 되도록 하지만 전체 용량이 40ml이 되지 않도록 한다. 조직의 경우는 조직대 PBS를 1:10 으로 유제를 한 뒤에 원심을 걸어 상층액을 취한다. 이때의 PBS는 1% SPK 또는 1% gentamicin이 포함되어 있는 PBS를 사용한다. 일반적으로 채취한 상층액에 원래 농도에 10배



이상의 항생제를 처리한 후 15분에서~1시간정도 항생제 반응시간을 주어 세균을 불활화한다.

- 야외에서 채취된 분변시료에는 바이러스의 농도가 낮을 수 있는 점을 감안하여 가능한 filtration를 하지 않는다. 그러나 오염도가 높을 경우에는 항생제처리와 0.45 μ filter을 사용할 수 있다.
- 항생제 처리된 상층액은 0.1 ~ 0.2 ml 씩 10-11일령 SPF 계란에 AC route로 접종을 한다. 분변에서의 상층액 추출 후 접종은 시간차가 없이 이루어지는 것이 제일 좋다. 상층액 추출에서 접종이 바로 이루어지기 어려울 경우 분변을 -80°C냉동고에 보관한다.

#### 라. 조류 인플루엔자 바이러스 분리 및 확인

- 국내 철새도래지에서 수집한 철새분변을 철새별, 계절별, 지역별로 분류하여 조류인플루엔자 바이러스를 국제수역 사무국에서 규정한 방법을 사용하여 분리하였다.
- 조류인플루엔자 바이러스가 야생조류 분변에 낮은 농도로 존재하거나 10개의 분변을 1개의 시료로 pooling 하는 점과 바이러스가 외부 환경에서 쉽게 사멸되는 점을 감안하여 시료 처리 후 PCR (Polymerase chain reaction: 중합효소반응)을 이용하여 조류인플루엔자 바이러스의 존재를 다음과 같이 확인하였다.
- Viral Gene-Spin™ Viral DNA/RNA Extraction Kit(iNtRON biotechnology, Sungnam Korea)를 이용하여, 그 protocol에 따라 원시료 또는 계란접종 후의 AC fluid에서 RNA를 추출하였다. 추출된 RNA는 AI 바이러스 (AI common type) 검출용 PCR kit(iNtRON biotechnology, Sungnam, Korea)를 사용하여 AI 바이러스 유전자를 검색하였다.
- SPF 계란에 접종하여 채취한 AC fluid를 가지고 혈구응집능을 확인하고자 HA titration을 실시하였다. 만약 응집반응이 존재하면, AI 및 ND(Newcastle disease)에 대한 항혈청을 사용하여 HI 검사를 실시하여 중화여부에 따라 바이러스를 확인한다. 다른 한편으로는 AI PCR를 통하여 재차 확인한 다음 AI subtyping을 실시한다.
- Virus의 분리와 동정이 확인되면 cryotube에 무균적으로 분주하여 -80°C 냉동고에 보관한다.

## 2. 연구결과

### 가. 조류인플루엔자 바이러스의 분리 및 확인

#### 1) 바이러스의 분리

##### 가) '04 - '05 기간에서의 바이러스 분리

- 1년차 사업기간 중 시료 채취는 주로 철새도래지와 내륙하천을 중심으로 수행을 하였으며 총 168점의 시료가 채취되었다 (표 5). 실제 분변 10점을 1개의 시료로 만들었기 때문에 1,680개의 분변을 채취한 것과 같다. 168건 중 총 5주의 AI바이러스가 분리되었다. 천수만에서 4주, 미호천에서 1주가 분리되었다. 이는 분변수로는 약 0.3%의 분리율이고 건수로서는 3%로서 일반적인 분리율 수준이다.

<표 5. 2004년도 국내 철새도래지 지역별 조류인플루엔자 바이러스 분리>

철새도래지	기러기류	오리류	기타	분리바이러스
충남 천수만	0/10*	4/11	-	- AIV 4주
충남 병천	-	0/34	0/3	-
충북 미호천	-	1/98	-	- AIV 1주
전남 해남	-	0/11	0/1	-
계	0/10	5/154	0/4	5/168

\* AIV 분리 바이러스 수 / 시료 수: AIV로 확인된 것임

- 1년차 사업기간중 채취된 시료와 분리 바이러스를 채취 분변의 모양에 따라 종류별로 표시하면 표2와 같다. 분리된 AI 바이러스 모두 오리류 분변에서 유래되었으며 기러기류에서는 분리되지 않았다 분리되는 시점도 11월과 12월로서 철새들이 처음 도래할 때 분리율이 가장 높다는 기존의 이론과 일치하는 경향을 보였다

<표 7. 2004년도 국내 철새도래지의 계절별 조류인플루엔자 바이러스 분리>

조류 \ 월	11	12	1	2	계
오리류	4/11*	1/25	0/56	0/62	5/154
기러기류	0/10	-	-	-	0/10
기타	-	-	-	0/4	0/4
계	4/21	1/25	0/56	0/66	5/168

\* AIV 분리 바이러스 수 / 시료 수: AIV로 확인된 것임

나) '05 - '06 기간에서의 바이러스 분리

- 2년차 기간 중에도 1년차와 마찬가지로 주로 철새도래지와 국내 하천을 중심으로 분변을 채취하였다. 1년차와 동일한 방법으로 시료 채취수를 가능한 최대로 하기 위하여 분변 10개를 1개의 시험관에 pooling 하였다. 또한, AI 바이러스가 온도의 변화에 따라 쉽게 불활화하는 점을 감안하여 가능한 시료를 냉장이나 냉동을 하지 않고 신선한 재료 그 자체를 실험실로 가급적 빠른 시간 내에 운송을 하였다. 동 기간중에 모두 546개의 시료를 채취하였으며 이 중 3개의 시료에서 AI 바이러스가 분리되었다. 이 중 H5형과 H6형이 각각 1개였으며 나머지 1주는 당시에는 분류되지 않았지만 추후 H2형으로 분류되었다. 이 시기에 바이러스 분리율은 0.5%로서 이전에 비하여 많이 낮아진 상태였다. 실제 시료수는 많이 늘었지만 분리율이 낮아 시료처리에 문제가 있었던 것으로 판단이 되었다. 1년차와 마찬가지로 바이러스는 주로 천수만의 오리 분변에서 분리되었다.

< 표 8. 2005년도 국내 철새도래지의 지역별, 계절별 조류인플루엔자 바이러스 분리 >

조류 \ 월	'05.10	'05.11	'05.12	'06.01	'06.02	계
충남 천수만	-	0/50	-	-	3/120	3/170
충남 당진	-	-	-	-	0/33	0/33
충북 미호천	-	0/62	0/131	0/60	-	0/253
전남 해남	-	-	0/64	-	-	0/64
전남 흑산도	0/26	-	-	-	-	0/26
계	0/26	0/112	0/195	0/60	3/153	3/546*

\* 분리된 AI 바이러스: 1(H5N2), 1(H6N2), 1(Unknown)

- 2년차 기간 중에는 철새도래지의 분변 뿐만 아니라 내륙지역의 텃새를 포함하여 바이러스 분리를 시도하였다. 총 26수의 새에서 구강, 총배설강 및 맹장 편도로부터 AI 바이러스 분리를 시도하였으나 AI 바이러스는 분리되지 않았지만 오산비행장에서 수집된 멧비둘기로부터 일반 닭에서 유행하고 있는 뉴캐슬병 바이러스가 1주 분리되었다. 현재 이 바이러스에 대해서는 생물학적 검사가 진행 중에 있다.

< 표 9. 국내 야생조류(텃새포함)의 종류별 조류인플루엔자 바이러스 분리 >

지역	오리	까치	쇠오리	멧비둘기	평	청딱다구리	왜가리	까마귀	계
김포공항	0/1	0/1	0/1	-	-	-	-	-	0/3
오산비행장	0/1	0/3	-	0/5*	0/2	0/1	0/2	0/3	0/17
제주	-	-	-	-	0/2	-	-	-	0/2
인천	-	-	-	-	0/4	-	-	-	0/4
계	0/2	0/4	0/1	0/5	0/8	0/1	0/2	0/3	0/26

\* 멧비둘기에서 NDV 1주 분리

다) '06 - '07 기간에서의 바이러스 분리

- 2006년도에는 다른 년도와는 달리 환경부에서 시료채취가 가능하여 전반적인 시료채취수가 증가하였다(표 10). 물론 목적이 다른 시료채취였지만 철새에 대한 시료를 공유할 수 있어 본 사업을 수행하는데 다소 도움이 되었다. 전국을 대상으로 하였으며 특히 2006년 국내에 고병원성 조류인플루엔자가 발생한 이후 집중적으로 시료를 채취하였으며 바이러스 분리는 표에 기타 년도와 종합하여 표시하였다.

<표 10. 2006년도 국내 철새도래지 지역별 조류인플루엔자 바이러스 분리>

철새도래지	'06.1	'06.2	'06.4	'06.5	'06.10	'06.11	'06.12	'07.1	'07.2
충남 천수만		120	91		59				
충북 무심천	60								6
충북 미호천						89		20	
경기 철원							64		
전남 해남							47		
부산 을숙도				50			33		
경기 평택							47		
경기 양평							20		
충남 금강							77		
전북 익산							25		
전북 군산							29		
충남 서산							85		
서울 한강							50	29	
충남 아산							17		
충남 천안								20	
계	60	120	91	50	59	89	494	69	6

\* AIV 분리 바이러스 수 / 시료 수: AIV로 확인된 것임

2) 바이러스의 확인

- 시험기간 중('04-'07년) 분리된 바이러스 종류는 모두 65종류로서 이중 인플루엔자 바이러스가 28종이었으며 혈구응집능력이 있는 바이러스가 16종, 나머지 21종의 바이러스는 현재 진행 중이거나 종류를 알 수 없는 상태이다(표 11)
- 이 바이러스에 대해서는 좀더 정밀 검사가 필요한 실정이다. 대부분의 AI 바이러스는 철새도래지에서 분리되었으나 상당수는 3년차에 시도되었던 일반 양계장 혹은 주변에서 분리된 바이러스이다. 현재까지 분리된 AI 바이러스는 모두 저병원성으로서 아직 고병원성 바이러스가 분리되지는 않았다. 파라믹소 바이러스는 철새나 일반 닭에서도 많이 분리되는 바이러스로서 본 연구조사에서도 16종류 이상이 분리되었다. 그러나 대부분의 바이러스는 일반 양계장 혹은 주변에서 분리됨으로서 일반적인 예상과 크게 다르지 않았다.

<표 11. 시험기간 ('04-'07) 내 국내 철새도래지 및 일반지역에서의 바이러스 분리>

바이러스종류	분리주수	장소	병원성
조류인플루엔자 바이러스(AIV)	28	철새도래지 및 기타지역	저병원성
파라믹소(Paramyxo)	16	철새도래지 및 기타지역	-
종류미상 및 진행중	21	철새도래지 및 기타지역	-
계	65		

<표 12. 시험기간 ('04-'07) 내 분리 조류 인플루엔자 바이러스의 혈청형>

분리지역 \ 혈청형	H2	H3	H5	H6	H7	H9	H10	H11	계
	철새도래지	4		2	1	1	1	2	1
일반지역		1				14		2	17
계	4	1	2	1	1	15*	2	3	29

\* H5와 H9 바이러스가 혼합된 경우도 1례 있음

- 시험기간 중에 분리된 AI 바이러스는 모두 28종이지만 이 중 1개 바이러스 시료는 H5형과 H9형이 혼합되어 있어 실제 바이러스 총량은 29종류이다. 분리된 바이러스의 혈청형은 H2, H3, H5, H6, H7, H9, H10, H11으로 인플루엔자 종류 16종 중 8종이 분리되어 약 50%를 확보할 수 있었다. 이 바이러스에 대한 NA(Neuramidase)형도 모두 완료가 되면 확실한 바이러스의 종류를 확인할 수 있을 것이다. 예상했던 대로 다양한 종류의 바이러스가 분리됨으로서 국내에 도래되는 철새들이 다양한 AI 바이러스를 포함하고 있음이 확인되었다. H9형의 경우는 대부분 국내 양계장에서 분리됨으로서 국내 유행하고 있는 바이러스로 판단이 된다. 이번에 분리된 H5, H7형 바이러스는 고병원성 바이러스의 혈청형이지만 저병원성으로 판정이 되었다. 그러나 저병원성 바이러스가 고병원성으로 변이되는 경우가 많기 때문에 철새 유래 H5, H7형에 대해서는 앞으로도 지속적인 감시가 필요할 것으로 판단된다.

## 나. 분리 주요 인플루엔자 바이러스의 유전자 염기서열 분석

- 분리된 AI 바이러스에 대한 염기서열 분석은 분리된 29종으리 바이러스 모두에 대하여 실시되어야 하고 각 바이러스의 8개 segment에 대하여 모두 할 수는 없지만 가능한 HA, NA, NP 등에 대해서는 염기서열 분석이 이루어져야 한다. 하지만 현재 분리된 바이러스에 대해서는 일부만이 진행이 되어 있는 형편이며 추후 모두 염기서열을 분석하여 기존의 바이러스와 비교할 예정이다. 이번에는 대표적인 바이러스에 대해서만 염기서열을 비교하였다.

### 1) H2 염기서열비교

- 기존에 등재된 Influenza A virus (A/duck/Nanchang/2-0486/2000(H2N9))의 HA 유전자와 국내 분리주 VI04016 (A/wildbird/cheong-ju/strain명없음/2006(H2N3)) 바이러스와 염기서열을 비교한 결과 homology가 96% 였다 (그림 8).

2-0486  
AGCAAAAGCAGGGG-TTATACCATAGACAATCAAAAGCAAGACAATGGC  
CATCATTTATC 59

VI04016  
.....G.....  
..... 60

2-0486  
TAATTCCTTCTGTTTACAGCAGTGAGAGGAGACCAGATATGCATTGGATAC  
CATTTCCAACA 119

VI04016  
.....T.....G.....C.....  
..... 120

2-0486  
ATTCCACAGAAAAGGTCGACACAATTCTAGAGAGGAATGTCACCGTGACT  
CACGCTCAAG 179

VI04016  
.....T.....  
...G.. 180



2-0486  
ACATTCTTGAGAAGACTCACAATGGAAAATTATGCAA**ACT**GAAATGGAA  
TCCCTCC**ACTT**G 239

VI04016  
.....T.....  
.....C.. 240

2-0486  
AATTGGGAGATTGCAGCATCGCCGGATGGCT**ACTT**GGGAATCCAGAATGT  
GATAGGCTTC 299

VI04016  
.....C.....A.....  
..... 300

2-0486  
TAACTGTGCCAGAATGGTCATATATAATGGAGAAAGAAAATCC**GAGG**AA  
TGGTTTGTGCT 359

VI04016  
.....A...A.....  
..... 360

2-0486  
ACCCAGGCAGTTTCAATGATTATGAAGAATTGAAACACCTCCTTAGTAG  
TGTAACACACT 419

VI04016  
.....A.....C.....  
..... 420

2-0486  
TCGAGAAAGTGAAGATTTTGCCCAAAGATAG**AT**GGACACAGCATAACAAC  
AACTGGAGGTT 479

VI04016  
.....G.....  
..... 480

2-0486  
CACGGGC**AT**GCAGTATA**AT**GGTA**AT**CCGTCATTCTTCAGGAACATGGTC  
TGGTTGACAA 539

VI04016  
.....C.....C.....C.....  
..... 540

2-0486  
AGAAAGGGTTCGAATTACCCAGTTGCCAAAGGATCATACAATAATACAAGT  
GGGGAACAAA 599

VI04016  
.....A.....  
..... 600

2-0486  
TGCTGATCATTTGGGGGGTGCATCACCCCAATGATGAAGCTGAACAAAGG  
ACATTGTATC 659

VI04016  
.....AA..A.....  
..... 660

2-0486  
AGAATGTCGGGACCTATGTATCAGTAGGAACATCGACACTGAACAAAAG  
ATCAGTTCCAG 719

VI04016  
.....G..G..G.....A...  
..... 720

2-0486  
AAATAGCCACAAGACCTAAGGTGAATGGACAAGGAGGCAGAATGGAATT  
CTCGTGGACTA 779

VI04016  
.....A.....G.....  
..... 780

2-0486  
TATTGGATGTGTTGGACACCATAAATTTCGAGAGTACTGGTAATCTAAT  
TGCACCG-GAA 838

VI04016  
.....AC.....C..T.....  
A..... 840

2-0486  
TATGGCTTTAAAATATCCAAACGGGGTAGTTCAGGGATCATGAAAACGG  
AA-GGAACACT 897

VI04016  
.....A.....A.....G  
..... 900

2-0486  
TGAAAACCTGCGAAACTAAATGCCAAACTCCCTTGGGAGCAATAAATACA  
ACATTGCCCTT 957

VI04016  
.....  
..... 960

2-0486  
TCATAATATCCACCCACTGACCATTGGTGAATGCCCCAAATATGTAAAT  
CGGAGAGATT 1017

VI04016  
.....T.....A.....  
..... 1020

2-0486  
AGTCTTGGCAACAGGATTAAGAAATGTCCCTCAGATTGAATCAAGAGGAT  
TGTTTGGGGC 1077

VI04016  
.....T.....C.....  
..... 1080

2-0486  
AATAGCTGGTTTTATAGAAGGGGGATGGCAAGGAATGGTTGATGGTTGG  
TATGGATATCA 1137

VI04016  
.....C.....C.....  
..... 1140

2-0486  
TCACAGCAATGATCAAGGATCCGGCTATGCAGCAGACAAAGAGTCCACTCA  
AAAGGCAAT 1197

VI04016  
.....G.....  
..... 1200

2-0486  
TGATGGAATCACCAACAAGGTAAACTCTGTAATTGAGAAAATGAACACTC  
AATTCGGGGC 1257

VI04016  
.....T.....C.....  
A..... 1260

2-0486  
TGTGGGAAAAGAATTCAGTAATTTGGAGAAAAGACTGGGAGAACCTGAAT  
AAAAAGATGGA 1317

VI04016  
.....G.....A.....A.....T.....  
..... 1320

2-0486  
GGACGGATTCCCTAGATGTGTGGACATACAATGCTGAGCTTCTAGTTCTAA  
TGGAAAATGA 1377

VI04016  
.....T.....  
..... 1380

2-0486  
GAGGACACTTGACTTTCATGACTCCAATGTAAGAATCTATATGACAAA  
GTCAGAATGCA 1437

VI04016  
.....C.....C.....  
..... 1440

2-0486  
ACTGAGGGACAATGCAAAAGAACTAGGGAATGGATGTTTTGAATTTTAT  
CATAAATGTGA 1497

VI04016  
...T.....C.....  
..... 1500

2-0486  
TGATGAATGCATGAATAGCGTAAAGAATGGGACATATGATTATCCCAAG  
TATGAAGAGGA 1557

VI04016  
.....A.....  
..... 1560

2-0486  
GTCTAAACTAAACAGGAATGAGATCAAAGGAGTAAAATTGAGCAACATG  
GGGGTTTATCA 1617

VI04016  
.....C.....  
..... 1620

2-0486  
AATCCTTGCAATTTATGCTACAGTAGCAGGCTCCCTGTCACTGGCAATCAT  
GATAGCTGG 1677

VI04016  
.....G.....T.....  
..... 1680

2-0486  
GATCTCCTTATGGATGTGCTCTAACGGGTCTCTGCAATGCAGGATCTGCAT  
ATGATCATC 1737

VI04016  
.....  
T..... 1740

2-0486      AGTCATTTTATAATTAAAAACACCCTTGTTTCTACT 1773  
VI04016      ..... 1776

<그림 8. 본 조사에서 분리된 AI 바이러스 VI04016와 기존에 등재된 AI 바이러스 (2-0486)와의 HA 염기서열 분석(비교 바이러스의 유전자형은 Genbank에서 참조)>

2) H5 염기서열 비교

- 기존에 등재된 Influenza A virus (A/R(duck/Mongolia/54/01-duck/Mongolia/47/01)의 HA 유전자와 국내 분리주 VI06205 (A/wild duck/cheon-su/strain명 없음/2006) 바이러스와 염기서열을 비교한 결과 homology가 97% 였다(그림 9).

54/47  
TACTTCTTTTTGCA**A**TAGTCAGTCT**T**GTCAAAAGTGACCAAATTTGCAT  
TGGTTACCATG 87  
VI06205  
.....-.....**.C**.....  
..... 77

54/47  
CAAACA**A**CTCA**A**CAGAGCAGGTTGACACAATAATGGAAAAGAATGTTAC  
TGTCACGCATG 147  
VI06205  
.....**G**.....  
..... 137

54/47  
CCAAGACATACTGGAAAAGACACACAATGG**G**AAGCTCTGCAGTCTAAAT  
GGAGTTAAGC 207  
VI06205  
.....**.T**.....**.A**.....  
..... 197

54/47  
CTCTC**A**TTTTGAGGGATT**G**TAGTGTAGCTGGATGGCTCCTCGGAAACCC  
CATGTGTGATG 267  
VI06205  
.....**.C**.....  
..... 257

54/47  
AATTCCTCAATGTGCCGGAATGGTCTTACATAGTGG**G**AAGGACAGCCCA  
ATCAATGGCC 327

VI06205  
.....A.....  
..... 317

54/47  
TCTGCTACCCAGGGGATTTCAACGACTATGAAGAGCTGAAACACCTGTTG  
AGCAGTACAA 387

VI06205  
.....T.....  
..... 377

54/47  
ACCATTTTGGAGAAAATTCAAATCATCCCCAGGAGTTCTTGGTCCGATCA  
TGATGCCTCAT 447

VI06205  
.....A.....  
..... 437

54/47  
CAGGAGTGAGCTCCGCATGTCCATATAATGGGAGGTCCTCCTTTTTCAG  
AAATGTAGTGT 507

VI06205  
.....  
G..... 497

54/47  
GGCTCATCAAAAAGAACAATGCATACCCAACAATAAAAAGGAATTACAA  
TAATACTAACC 567

VI06205  
.....G.....C.....  
...T... 557

54/47  
AAGAAGATCTTTTGGTACTGTGGGGGATTACCCATCCTAATGATGCAAC  
AGAGCAGACAA 627

VI06205  
.....G.....  
..... 617

54/47  
AGCTCTATCAAAAACCCAACCAC**CTAT**TGTTTCTGTTGG**A**ACATCAACACTG  
AAC**C**AGAGAT 687

VI06205  
.....T...C.....G.....  
..... 677

54/47  
CGGTCCCAGAAATAGCTACCAGGCCCAAAGTAAAT**T**GGGCAAAG**T**GGAAG  
AAT**A**GAGTTTT 747

VI06205  
.....C.....C.....A.....G...  
..... 737

54/47  
TCTGGACAATCTTAA**A**AGCCAAATGATGCCATCAATTT**C**GAGAGTAATGG  
AAATTTTATTG 807

VI06205  
.....C.....T.....G.....  
..... 797

54/47  
CTCCAGAATATGCATACAAAAT**T**GCCAAGAAAGGAGACTCAGCAATCAT  
GAAAAGTGGAT 867

VI06205  
.....T.....  
..... 856

54/47  
TGGAGTATGGTAACTGCAACACCAAGT**T**CAAACTCCAATGGGTGCAAT  
AA**A**CTCCAGCA 927

VI06205  
.....C.....T...  
..... 916

54/47  
TGCCATTT**C**ACAACATACACCCTCTCACCATTGGG**G**AATGCC**C**AGATAC  
GTGAAGTCAG 987



VI06205  
.....A.....A.....  
..... 976

54/47  
ATAGATTAGTCCTTGCAACAGGGCTCAGGAATGTCCCTCAAAGAGAAACA  
AGAGGACTAT 1047

VI06205  
.....  
..... 1036

54/47  
TTGGGGCCATAGCAGGCTTCATAGAAGGAGGGTGGCAAGGAATGGTAGAC  
GGTTGGTATG 1107

VI06205  
.....C...  
..... 1096

54/47  
GATACCACCATAGCAACGAGCAAGGGAGTGGATACGCTGCAGACAAAGAGT  
CCACTCAA 1167

VI06205  
.....A.....  
C..... 1156

54/47  
AGGCAATAGATGGAATCACTAATAAGGTCAACTCAATCATTGACAAAAT  
GAACACTCAGT 1227

VI06205  
.....  
..... 1216

54/47  
TTGAGGCCGTTGGAAAGGAATTTAATAACTTAGAAAGGAGGATAGAGAA  
TTTGAACAAGA 1287

VI06205  
.....G.....  
..... 1276

54/47  
AAATGGAAGACGG**A**TTCCCTAGATGTCTGGACTTATAATGCTGAACTTCT  
GGTTCTCATGG 1347

VI06205  
.....G.....  
..... 1336

54/47  
AAAATGAGAGAACCCTAGACTTTCATGACTCAAATGTCAAGAACCTTTAC  
GACAAGGTTCC 1407

VI06205  
.....A.....T.....  
..... 1396

54/47  
GACTACAGCTTAGGGATAATGCAAAGGAGCTGGGTAATGGTTGTTTCGA  
GTTCTATCACA 1467

VI06205  
.....  
..... 1456

54/47  
AATGTGATGATGAATGTATGGAAAGTGTAAGAAACGGAACGTATGACTA  
CCCGCAGTATT 1527

VI06205  
.....  
..... 1516

54/47  
CAGAAGAGGCAAGAC**C**TAAACAGAGAGGAAATAAGTGGAGTAAAATTGGAA  
TCAATAGGAA 1587

VI06205  
.....T.....A.....  
..... 1576

54/47  
CTTACCAAATAT**T**TGTCAATTTATTCAACAGTGGCGAGTTCCTTAGCACT  
GGCAATCATGG 1647

VI06205  
.....C.....  
..... 1636

54/47  
TAGCTGGTCTATCTTTCTGGATGTGCTCCAATGGATCATTGCAATGCAG  
AATT 1700

VI06205  
.....G.....  
1689

<그림 9. 본 조사에서 분리된 AI 바이러스 VI06205와 기존에 등재된 AI 바이러스 (A/R(duck)/Mongolia/54/01-duck/Mongolia/47/01)와의 HA 염기서열 분석(비교 바이러스의 유전자형은 Genbank에서 참조)>

3) H10 염기서열비교

- 기존에 등재된 Influenza A virus (A/duck/Hokkaido/18/00(H10N4)) HA 유전자와 국내분리주 VI061323 (A/wild duck/kun-san/strain명 없음/2006(H10N4))의 염기서열을 비교한 결과 93%의 일치성을 보여주었다(그림 10).

18  
ATAATCG**T**GCTCCTTGGAGC**A**GTGAGAGGTCTTGATA**A**AAATCTGCCTAG  
GACATCATGCA 83  
VI061323  
.....C.....T.....A.....C.....  
..... 67

18  
GT**A**GCCAATGGA**A**CCCATCGT**G**AAGACTCTCACAAACGAACAGGA**A**GAAGT  
GACCAATGCT 143  
VI061323  
...G.....G.....A.....G.....  
..... 127

18  
ACCGAAACAGTGGAGAGT**A**CAAG**T**CTAAACAGGTTATGTATGAAAGGAA  
GGAGCCATAAA 203  
VI061323  
...T.....G.....C.....A.....  
..... 187

18  
GACCTGGGCAACTGCCATCCGATAGGAATGTTGATAGGA**A**ACACCAGCTTG  
TGAT**T**TACAT 263  
VI061323  
.....G.....C.....  
..... 247

18  
CTTACCG**A**ACATGGGACACTCTCATTGAGCGAGAGAATGCCATTGCTTA  
TTGCTACCCT 323

VI061323  
.....G.....A.....T.....C.....  
..... 307

18  
GGAGCGACCA**T**A**A**AATGAAGAAGCACTGAGGCAGAAAATAATGGAGAGTGG  
AGGAATCAGC 383

VI061323  
.....A.....GC.....G.....  
..... 367

18  
AAAATAAGCACTGGCTTCACTTATGGGTCTTCCATCAATTCGGCCGGGAC  
CACTAAAGCA 443

VI061323  
...G...T.....C.....A...C.....A.....C.....  
..... 427

18  
TGTATGAGAAATGGAGGGAATAGCTTTTATGCAGAGCTCAAATGGCTAG  
TATCAAAGAGT 503

VI061323  
.....C.....G.....G.....  
.....C 487

18  
AAAGGACAAAACCTCCCTCAGACTACGAACACTTATAGAAACACGGACAC  
GGCTGAACAT 563

VI061323  
.....C.....C.....C.....T.....T.....  
..... 547

18  
CTCATAATATGGGGAATTCATCACCTTCTAGCACTCAAGAGAAGAATG  
ATCTATATGGG 623

VI061323  
.....G.....  
..... 607

18  
ACACGATCATTGTCTATAT**T**AGTTGGGAGTTCCACTTACCAGAATAAT  
TTTGTTCGGTT 683

VI061323  
.....C.....CG.....C.....  
..... 667

18  
GTTGGGGCCAGACCTCAGGTCAATGGACAAAGTGGAAGAATCGATTTCCA  
CTGGACACTA 743

VI061323  
.....A.....C.....T.....  
..... 727

18  
GTACAACCAGGCGATAATATCACCTTCTCACACAATGGGGGTCTGATAGCA  
CCGAGCCGA 803

VI061323  
.....G.....T.....T.....  
..... 787

18  
GTCAGCAAATTGATTGGGAGAGGGTTGGGGATTCAATCAGAAGCACCAAT  
AGACAATGAT 863

VI061323  
.....T.....G.....A.....A.....C.....  
A... 847

18  
TGTGAGTCTAAATGTTTTTGGAGAGGGGTTCTATAAATACAAAGCTC  
CCTTCCAAAAC 923

VI061323  
.....GA.....  
..... 907

18  
TTGTCACCAAGGACAGTGGGTCAATGCCCTAAATACGTGAACAAAAAGA  
GTTTGATGCTT 983

VI061323  
.....A.....C.....T.....G...G.....C.....  
... 967

18  
GCAACAGGAATGAGAAAACGTGCCAGAAATAATGCAAGGGAGAGGTCTGTT  
TGGTGCAATA 1043

VI061323  
.....T.....A.....  
..... 1027

18  
GCAGGATTTATAGAAAATGGATGGGAGGGAATGGTGGATGGCTGGTATGG  
TTTCAGACAC 1103

VI061323  
...G.....G.....A.....A.....T.....C.....  
..... 1087

18  
CAAAACGCTCAGGGCACAGGCCAAGCCGCCGATTACAAGAGTACTCAAGCA  
GCTATTGAC 1163

VI061323  
CAAAACGCTCAGGGCACAGGCCAAGCCGCCGACTACAAGAGTACTCAGGCAG  
CCATTGAC 1147

18  
CAGATCACTGGAAAAGCTGAATAGGCTCATTGAGAAAACCAATACTGAGT  
TCGAGTCAATA 1223

VI061323  
.....A.....A...T.....C.....  
..... 1207

18  
GAGTCCGAATTCAGTGAGATCGAACACCAGATTGGTAACGTCATCAATTG  
GACTAAGGAT 1283

VI061323  
...A...T.....A.....  
.....1267

18  
TCAATAACCGACATCTGGACTTATCAGGCTGAGCTACTGGTAGCAATGGA  
GAACCAGCAC 1343

VI061323  
.....T...A.....T.....A.....  
..... 1327

18  
ACAAT**T**GATATGGCTGAT**T**TCAGAGATGTTAAATCTATATGAA**A**AGAGTGA  
GGAAACA**A**CTC 1403

VI061323  
.....C.....C.....G.....  
..... 1387

18  
AGGCAGAATGC**A**GAAGAG**G**GACGG**G**AAAGGATGTTTTGAA**A**ATATATCATGC  
TTGTGATGAC 1463

VI061323  
.....G.....A.....A.....G.....  
... 1447

18  
TCATG**T**ATGGAA**A**AGCATAAGAAACAACACCTATGACCATT**C**ACATT**A**CA  
GAGAAGA**A**GCT 1523

VI061323  
.....C.....G.....T.....A.....G  
..... 1507

18  
CTTTTGAACAGACTGAATATCAATCCAGTGAAACTCTCTTCTGG**C**TATA  
AAGACATCATC 1583

VI061323  
.....C...A.....  
... 1567

18  
CTTTGGTTT**A**GCTTCGGGGCATCG**T**GTTTTGT**T**CTTCTAGCCG**C**TGT**C**AT  
GGGTCTTGTC 1643

VI061323  
.....A.....T.....  
..... 1627



18 TTCTTCTGTCTGAAGAATGGAAACATGCGATGCACAATC  
1682  
VI061323 ..... 1666

<그림 10. 본 조사에서 분리된 AI 바이러스 VI061323 (A/wild duck/kun-san/2006(H10N4))  
와 기존에 등재된 AI 바이러스(A/duck/Hokkaido/18/00(H10N4))와의 NA 염기서열 분석(비  
교 바이러스의 유전자형은 Genbank에서 참조)>

4) N3 염기서열 비교

- 기존에 등재된 Influenza A Virus (A/mallard/Italy/208/00(H5N3)) NA 유전자와 국내분리주 VI04016 (A/wildbird/cheong-ju/strain명없음/2006(H2N3))의 염기서열을 비교한 결과 97%의 일치성을 보여주었다(그림 11).

208  
TAAAGC**A**GAAAAGCATTTC**A**AGTCCTCACTGCCACTGTGCC**C**CTTCCGAG  
GTTTCTTCCC 296  
VI04016  
.....**.G**.....  
.....**. 318**

208  
CTTTCACAAGGACAATGCAATACGATTGGGTGAGAACAAAGACGTAATA  
GTCACAAGGGA 356  
VI04016  
.....  
.....**. 378**

208  
GCCTTATGTCAGTTGTGACAATGAT**G**ATTGCTGGTCTTTTGCCCTCGCC  
CAAGGGG**CTCT** 416  
VI04016  
.....**.A..C**.....  
.....**.CT.. 438**

208  
ACTGGGGACTAAACACAGCAATGGAACCATCAAGGACAG**G**ACACCATATA  
GATCGCT**GAT** 476  
VI04016  
.....  
.....**.A.....C.....A...** 498

208  
CCGGTTCCCAATAGGGACAGCTCCAGTACTGGG**T**AATTACAAGGAGATAT  
GT**G**TTGCTTG 536

VI04016  
.....  
C.....A..... 558

208  
GTCAAGTAGCAGTTGCTTCGATGGAAAGGAATGGATGCATGTTTGCATG  
ACTGGGAACGA 596

VI04016  
.....  
..... 618

208  
CAATGATGCGAGTGGCCAAATAATGTATGCAGGGAAAATGACAGACTCC  
ATTAAATCATG 656

VI04016  
.....A.....  
.....A..... 678

208  
GAGAAAGGATATACTAAGAACTCAAGAGTCTGAATGTCAATGCATTGAC  
GGGACCTGTGT 716

VI04016  
.....  
..... 738

208  
TGTCGCTGTTACAGATGGTCCTGCGGCTAATAGTGCAGACCACCGAATTT  
ACTGGATACG 776

VI04016  
.....A.....  
..... 798

208  
AGAAGGGAAGATAATAAAGTATGAAAACATTCCCAAACAAAGATACA  
ACATTTGGAGGA 836

VI04016  
.....  
..... 858

208  
GTGTTCTTGTTATGTGGACATCGATGTG**T**ACTGCATATGTAGGGACAAT  
TGGAAAGGTTCC 896  
VI04016  
.....A.....  
..... 918

208  
CAACAGGCCTTGGATGAG**G**ATCAACAATGAGACCATACTAGAAACAGGG  
TATGTATGTAG 956  
VI04016  
.....A.....  
..... 978

208  
CAAATTCCATT**C**AGATACCCCCAGGCCAGCCGATCCTTCAACAGTATCAT  
GTGATTCCCC 1016  
VI04016  
.....A.....  
..... 1038

208  
AAGTAACGTCAATGGAGGACCTGGAGTCAAAGGATTTGGCTTCAAAA**A**CGG  
GTAATGATGT 1076  
VI04016  
.....T.....  
..... 1098

208  
ATGGTTGGGAAGGACTGTATCCACTAGTGGAAGATCAGGCTTTGAAATCA  
TCAAAGTCAC 1136  
VI04016  
.....A.....  
..... 1158

208  
AGAGGGGTGGATCAACTCCCCAATCATGCCAAGTCAGTTACACAA**A**ACAT  
TAGTGTCAAA 1196  
VI04016  
.....T.....  
.....G..... 1218

208  
CAACGATTGGTCAGGTTACTCAGGGAGTTTCATTGTTGAGAACAATGGCT  
GCTTTCAGCC 1256  
VI04016  
.....  
...G....., 1278

208  
CTGCTTCTATATTGAACTTATACGGGGGAGGCCCAATAAGAACGATGACG  
TTTCTTGAC 1316  
VI04016  
.....  
....., 1338

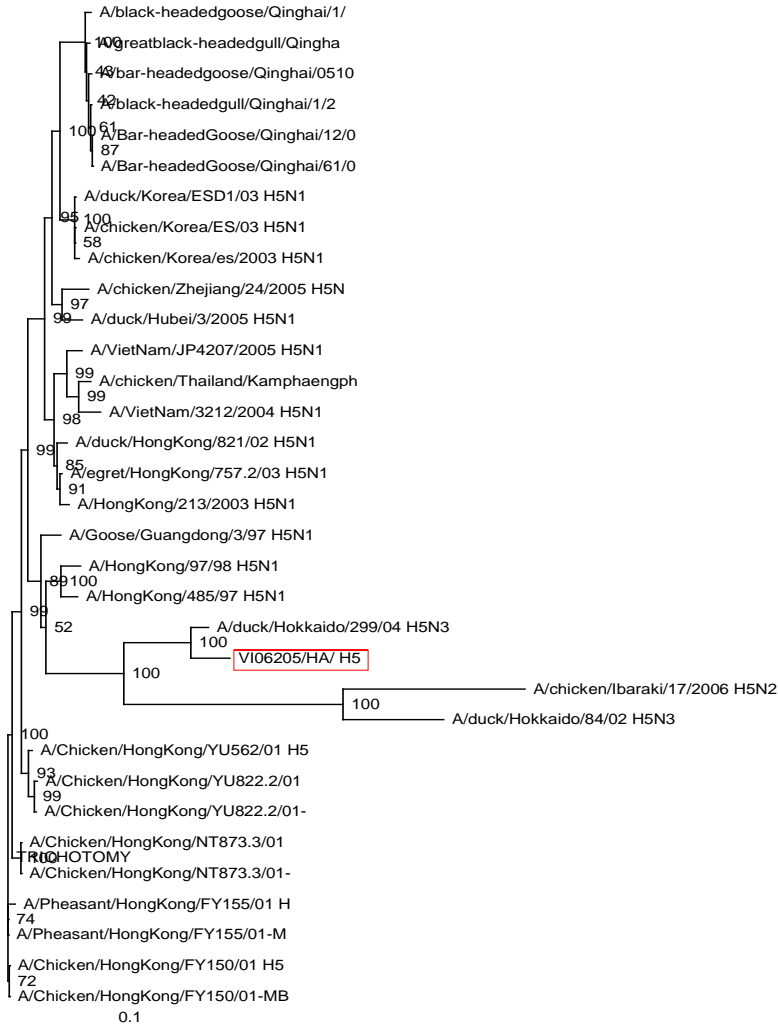
208  
AAGCAATAGTATAGTTACTTTCTGTGGACTAGACAATGAACCTGGATCGG  
GAAATTGGCC 1376  
VI04016  
.....G.....  
....., 1398

208 TGATGGTTCCAACATTGGGTTTATGCCCAAG 1407  
VI04016  
....., 1429

<그림 11. 본 조사에서 분리된 AI 바이러스 VI04016 (A/wildbird/cheong-ju/2006(H2N3))와  
기존에 등재된 AI 바이러스(A/mallard/Italy/208/00(H5N3))와의 NA 염기서열 분석(비교 바  
이러스의 유전자형은 Genbank에서 참조)>

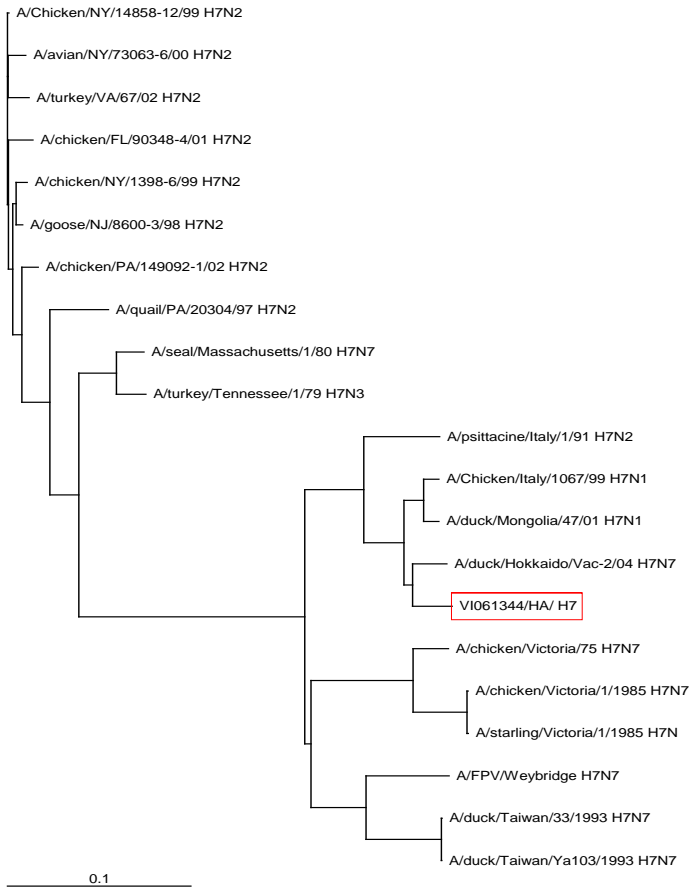
다. 분리 주요 인플루엔자 바이러스의 유전자 염기서열 비교

1) 분리 H5 바이러스의 phylogenetic analysis



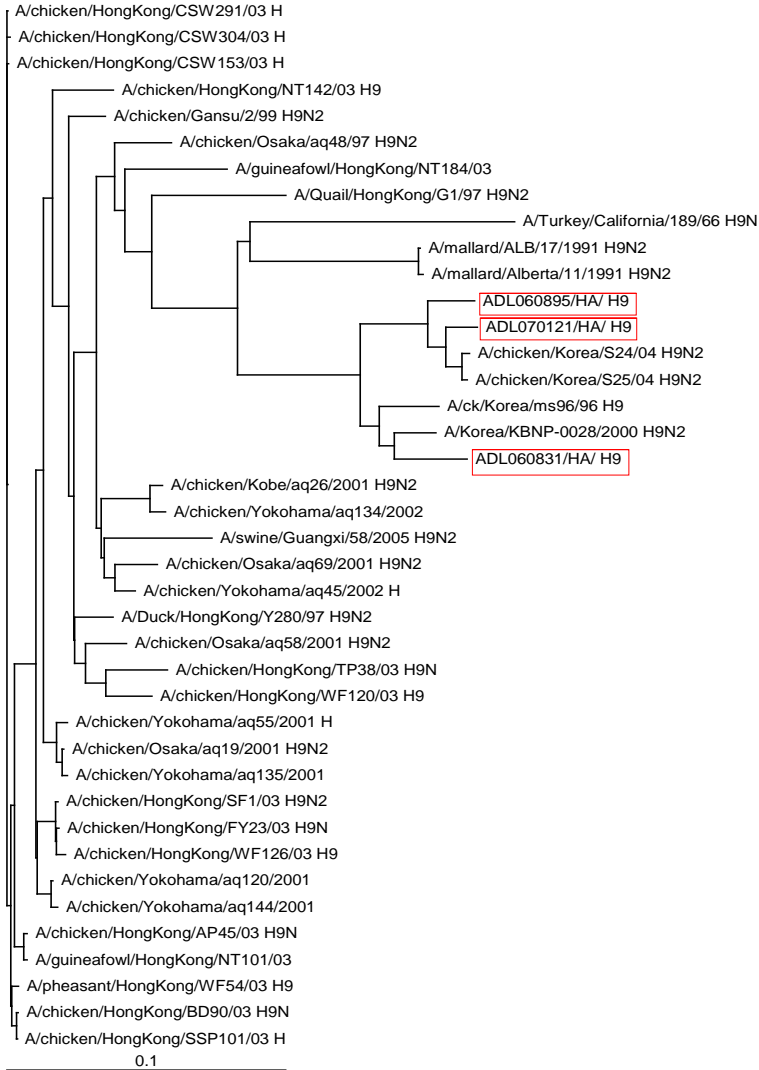
<그림 12. Phylogenetic tree of AIV HA(H5) gene>

## 2) 분리 H7 바이러스의 phylogenetic analysis



<그림 13. Pylogenetic tree of AIV HA H7)gene>

### 3) 분리 H9 바이러스의 phylogenetic analysis



<그림 14. Phylogenetic tree of AIV HA(H9) gene>



## 라. 조류인플루엔자 바이러스의 생물학적 특성조사

### 1) 분리바이러스의 병원성

- 분리된 바이러스 중 가장 많은 혈청형인 H9에 대한 병원성 검사를 국제수역 사무국의 기준에 맞추어 SPF닭을 이용하여 수행을 하였다(표 13). 그 결과 접종한 8수 모두 접종 후 2주동안 폐사가 없었으나 침울 등의 임상증상이 관찰되었다. 조직병리 검사에서도 특별한 병적인 소견이 발견되지 않아 바이러스에 의한 병리학적 변화가 크지 않다는 것을 알 수 있었으며 저병원성 바이러스의 생물학적 특징을 가지고 있는 것으로 판단되었다.

<표 13. 분리 AI 바이러스(H9N2) 접종 후 SPF 닭의 병원성 조사>

구분	접종 (EID <sub>50</sub> /mℓ)*	시험수	병원성		
			폐사율	임상증상**	조직병리***
H9N2	10 <sup>7.7</sup>	8	0/8	8/8	0/8
대조군	무접종	8	0/8	0/8	0/8

\* : 공격접종량:10<sup>7.7</sup>EID<sub>50</sub>/mℓ

\*\* 주된 임상증상으로 움직이지 않는 등의 침울증상이 관찰되었음

\*\*\* Brain, lung, liver, pancreas+duodenum, heart, kidney, thymus, bursa, spleen, proventriculus, cecal tonsil

- 분리된 바이러스 중 고병원성 바이러스의 혈청형과 동일한 H5N3 바이러스에 대하여 병원성 조사를 실시하였다. 이 검사도 H9N2와 마찬가지로 국제수역 사무국의 규정에 따라 SPF닭에서 실시하였으며 접종 후 2주동안 바이러스를 접종하지 않은 대조군과 동일하게 폐사율, 임상증상 및 조직검사를 실시하였다. H9N2 바이러스와 마찬가지로 폐사를 보여주지 않았으며 임상증상도 관찰되지 않았다. 또한, 뇌를 포함하여 실시한 12종류의 조직에서도 병변은 관찰되지 않았다. 따라서 이 바이러스도 전형적인 약병원성 바이러스로 판정이 된다.

< 표 14. 분리 AI 바이러스(H5N3) 접종 후 SPF 닭의 병원성 조사 >

구분	접종 (EID <sub>50</sub> /ml)*	시험수	병원성		
			폐사율	임상증상	조직병리**
H9N2	10 <sup>6.5</sup>	8	0/8	0/8	0/8
대조군	무접종	8	0/8	0/8	0/8

\*: 공격접종량:10<sup>6.5</sup>EID<sub>50</sub>/ml

\*\* : Brain, lung, liver, pancreas+duodenum, heart, kidney, thymus, bursa, spleen, proventriculus, cecal tonsil

○ 일반적으로 AI 바이러스에 관련된 실험은 한가지 종류의 바이러스만을 대상으로 하는 것이 안전하다. 특히 생독바이러스를 취급할 때는 바이러스의 reassortment 등을 고려하여야 한다. 본 실험에서도 이러한 이유로 분리바이러스 별로 각각 실험을 수행하였다. 특히, 안전성실험과 바이러스 분리를 동시에 수행을 하였기 때문에 다양한 바이러스를 동시에 수행할 수가 없었다. H7에 대한 병원성 검사에서도 특별한 임상증상이나 조직병변이 관찰되지 않았으며 전형적인 저병원성 AI 바이러스의 특징을 가지고 있었다.

< 표 15. 분리 AI 바이러스(H7) 접종 후 SPF 닭의 병원성 조사 >

구분	접종 (EID <sub>50</sub> /ml)*	시험수	병원성		
			폐사율	임상증상	조직병리**
H9N2	10 <sup>7.1</sup>	8	0/8	0/8	0/8
대조군	무접종	8	0/8	0/8	0/8

\*: 공격접종량:10<sup>7.1</sup>EID<sub>50</sub>/ml

\*\* : Brain, lung, liver, pancreas+duodenum, heart, kidney, thymus, bursa, spleen, proventriculus, cecal tonsil

2) 분리바이러스의 재분리율

- H9N2 바이러스의 공격접종 후 재분리율 조사에서는 국내 표준 AI 바이러스인 MS96과 같이 비교를 하였다. 바이러스의 재분리는 계란접종 방법과 Quantitative RT-PCR 방법으로 하였다. 계란접종 실험결과 MS96은 접종 2일에서 4일후까지 기관에서 바이러스가 분리되었으며, 접종 6일후 부터는 분변으로 배출을 시작하여 접종 10일후까지 지속되었다. 분리된 H9N2 AI 바이러스도 유사한 양상을 보였으나 총배설강의 재분리율이 다소 높게 나타나 분변으로의 배출이 다소 높은 것으로 판단되었다 (표 16).

<표 161. 분리 AI 바이러스 공격접종 후 각종 장기에서의 바이러스 재분리율 비교>

구분	공격접종 경과 일 수*															
	2			4			6			8			10			
	T**	C	K	T	C	K	T	C	K	T	C	K	T	C	K	
MS96	3/3 <sup>7</sup>	0/3	0/3	1/3	0/3	0/3	0/3	3/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	1/3	0/3
H9N2	3/3	0/3	0/3	3/3	0/3	0/3	0/3	1/3	0/3	0/3	2/3	0/3	0/3	1/3	1/3	0/3
Control	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3

\* : 공격접종량:10<sup>7.7</sup>EID<sub>50</sub>/ml

\*\* : T-기관, C-총배설강, K-신장

† : 바이러스 재분리된 시험계의 수/시험계의 수

NT: not tested

- H5N3 접종군에서는 바이러스 배출이 확인되지 않았으나 혈청검사에서 H5에 대한 혈구응집억제를 하는 것으로 보아 바이러스의 감염을 확인할 수 있었다 (표17). 이러한 경우는 야생철새로부터 유래된 바이러스의 경우 매우 흔한 현상으로서 닭에서 계대를 통한 적응(adaptation)이 필요하다.

<표 17. 분리 AI 바이러스 공격접종 후 각종 장기에서의 바이러스 재분리율 비교>

Groups <sup>a</sup>	공격접종 경과 일 수											
	0		3		5		10		14		21	
	T <sup>b</sup>	C	T	C	T	C	T	C	T	C	T	C
H5N3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Control	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3

a : ADL0408 (H5N3) with dose of  $10^{7.7}$  EID<sub>50</sub>/ml were used for inoculation.

b : T : Trachea swab, C : Cloaca swab

c : Number of birds reisloated / number of birds tested

### 3) 분리바이러스의 면역반응

- 국내 분리 AI 바이러스를 접종한 후 혈청역가를 측정하였다. 국내 분리주 중 H9의 경우 접종 후 10일부터 역가가 형성하기 시작하여 접종 21일에는 매우 높게 형성을 하였다. H5의 경우에도 H9에 비하여 다소 낮게 형성이 되었지만 접종 후 10일부터 형성이 시작되어 접종 21일 이후에도 항체가 검출되었다.

<표 18. 국내분리 H9N2 및 H5N3 AI 바이러스 접종 후 SPF 닭에서의 혈청학적 변화>

Groups	HI titers (HA9) at days post-inoculation								
	5			10			21		
ADL0401 (H9N2)	<2	<2	<2	128	256	128	1024	256	512
ADL0408 (H5N3)	<2	<2	<2	32	16	128	64	512	32
Control	<2	<2	<2	NT*	NT	NT	<2	<2	<2

\* NT : not tested.

## <제3세부과제: 조류인플루엔자의 군집과 발생기작 수리학적 모델 규명>

- 질병에 감염된 개체를 보유하는 한 개체군(host)으로부터 다른 개체군(receptor)으로의 질병의 전이는 환경제한요인과 개체군 간 및 개체군 내 질병의 전파 등 각 개체군 내부의 밀도 변화에 영향을 미치는 요소뿐만 아니라 개체군 간 시간적·공간적 접촉 정도에 의해 영향을 받게 된다. 이러한 질병의 감염과 전이에 관한 전체 시스템을 모의할 수 있는 수학적 모형을 구성하기 위해서는 우선적으로 동일한 성분을 가진 개체군 내에서 질병 감염의 영향으로 인한 개체 밀도의 변화를 동력학적인 일련의 식으로 표현해야 한다.
- 동일 개체군 내에서의 질병의 확산에 관한 수학적 모형은 서식 생태계의 개방성에 따라 외부로부터 단절된 폐쇄형 생태계와 외부로부터의 유입 유출이 발생하는 개방형 생태계로 나누어질 수 있다. 조류인플루엔자의 전염원으로 의심되는 철새의 경우 월동기간 동안 도래지로 유입되는 개체수의 증가에 따라 점차적으로 서식지역이 확대되고, 평형밀도에 도달하게 되면 열새개체가 새로운 서식처를 찾아 이동하는 개방형 생태계의 특성을 나타낸다.
- 단일 개체군 내에서의 질병의 전이는 서식지를 공유하는 동종 개체간의 빈번한 접촉에 의해 발생하는데 반하여, 이종 개체군간의 질병의 전파는 공간적으로 같은 위치를 공유하여 발생하는 직·간접적인 접촉에 의해 발생하므로 개체의 위치에 관한 확률밀도함수를 통하여 정의될 수 있다.
- 조류인플루엔자와 같은 전염성 질병의 위험성은 돌연변이 바이러스의 발현으로 인한 치사율이 높은 변종질병의 발생과 인간으로의 전파 가능성이다. 특히 국가간의 인적 물적 교류가 빈번한 현대 사회의 경우 치명적인 전염성 질병이 국지적으로 발생할 경우 급격하게 전세계로 확산될 가능성이 큼으로 과거에 비하여 훨씬 큰 피해가 야기될 수 있다.

### 1. 생태환경에 따른 환경용량과 개체군 성장 비교

#### 가. 폐쇄형 생태계 (Closed system)

- 질병에 노출되지 않은 개체군의 성장은 개체군이 서식하는 공간적 영역이 허용하는 개체군의 밀도에 의해 조절된다. 식 (1)은 자연상태에서 개체군의 성

장이 출생률과 사망률에 의해 결정되는 평균생존률과 개체군의 크기, 평형밀도에 의해 결정됨을 나타낸다.

$$\frac{dN}{dt} = rN \left(1 - \frac{N}{K}\right) \quad (1)$$

여기서  $N$ 은 개체군의 밀도 [ $L^{-2}$ ],  $K$ 는 질병에 노출되지 않은 개체의 평형상태 밀도 [ $L^{-2}$ ]를 나타내며,  $r$ 은 개체의 생존 ( $a$ : 평균출생률 [ $T^{-1}$ ],  $b$ : 자연사망률 [ $T^{-1}$ ])을 모두 고려한 ( $a - b$ ) 자연적인 개체성장계수 [ $T^{-1}$ ]이다. Fig. 1과 2는 표 1에 가정된 모델계수들에 대하여 무차원 시간  $\tau$ 에 따라 개체군이 각각의 초기밀도로부터 성장되는 추세를 나타낸 것이다. 개체군의 상대밀도(개체군의 밀도/평형밀도)는 생존률이 양의 값을 가질 때 증가하며, 그 증가율은 개체의 밀도가 평형상태로 다가갈수록 낮아지는 현상을 나타낸다.

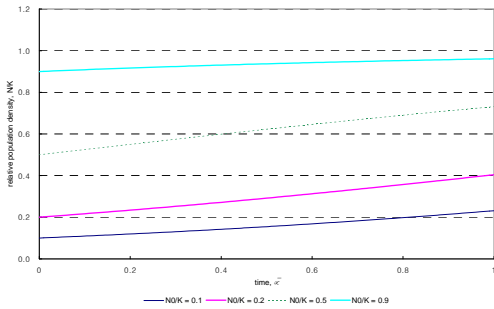


Fig. 1. 초기상대밀도 0.1, 0.2, 0.5, 0.9 에 대한 무차원시간 1 동안 개체군 성장

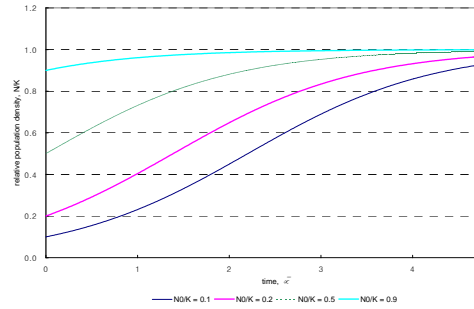


Fig. 2. 초기상대밀도 0.1, 0.2, 0.5, 0.9 에 대한 무차원시간 10 동안 개체군 성장

표 1. 개체군 밀도변화 모의에 적용된 모델입력계수

모델입력계수	적용값	
$a$	2	개체의 평균출생률 [ $T^{-1}$ ]
$b$	1	개체당 자연사망률 [ $T^{-1}$ ]
$K$	10000	밀도에 따른 제한계수 [ $L^2 T^{-1}$ ]

○ 자연상태에서 개체군 밀도의 증가율은 출생률과 사망률의 차이로 결정되는

평균생존률에 가장 큰 영향을 받는다. 그림 3과 4는 평균생존률에 따른 개체군의 증가를 나타낸다. 그림에서 보는 바와 같이 개체군의 밀도가 평형상태에 도달하는 시간은 평균생존률이 클수록 짧아진다.

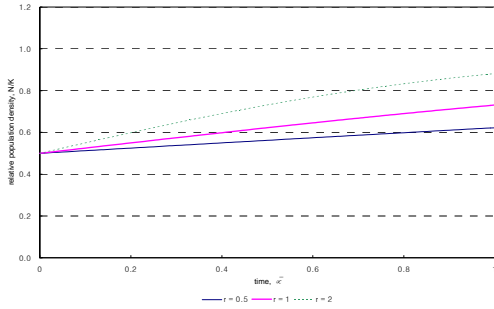


Fig. 3. 평균생존률 0.5, 1, 2 에 대한 무차원시간 1 동안의 개체군 성장

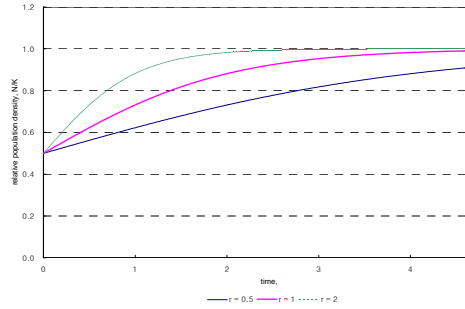


Fig. 4. 평균생존률 0.5, 1, 2 에 대한 무차원시간 10 동안의 개체군 성장

#### 나. 개방형 생태계 (Open system)

- Closed system과 달리 자연상태에서 일반적으로 나타나는 Open system에서는 개체의 자연생존률 외에 외부로부터의 유입과 유출이 함께 고려되어야 한다.

$$\frac{dN}{dt} = rN \left(1 - \frac{N}{K}\right) + Q_{in} - Q_{out} \quad (2)$$

- 외부 개체의 유입과 유출로 인한 순증가-또는 감소-는 해당 생태계 내부 뿐만 아니라 외부의 환경요소들이 복합적으로 영향을 미칠 수 있으나, 이를 수학적으로 단순화 하기 위하여 외부 개체의 유입은 생태계 내부의 환경과 무관하게 이루어지며, 개체군의 자연증가와 유입으로 인한 생태계 내부의 개체군 밀도의 증가가 생존요소들에 대한 경쟁을 증가시키고 이것이 외부 유출을 야기하는 것으로 가정하여 식(3)과 같이 표현하였다.

$$Q_{out} = \begin{cases} 0 & \text{if } N \leq K \\ \varepsilon(N - K) & \text{if } N > K \end{cases} \quad (3)$$



- 즉, 해당 생태계 내부의 개체군 밀도가 유입 이후에도 평형밀도 이하인 경우에는 유출이 일어나지 않지만, 평형밀도를 초과하게 되면 그 초과밀도의 일부가 경쟁에 밀려 새로운 서식환경을 찾아 유출되는 것으로 가정하였다. 여기서  $\varepsilon$ 는 초과개체의 유출률  $[T^{-1}]$ 이다.

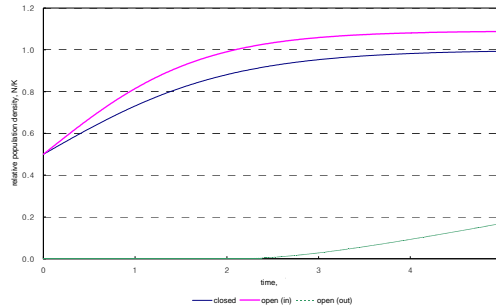


Fig. 5. 개방형 생태계에서 외부 개체의 유입과 평형초과개체의 유출로 인한 개체군 밀도의 변화

- Fig. 5에 나타난 바와 같이 초기에는 외부로부터의 유입으로 개체군의 증가가 자연증가율을 상회하여 개체군의 밀도가 증가하다가 그 밀도가 평형밀도에 다다르게 되면 경쟁에서 밀려난 개체군들의 유출이 발생하게 된다. 이 때 지속적인 유입이 일어나는 경우 해당 생태계는 과포화되어 평형밀도를 상회하는 개체가 상시적으로 존재하게 되는데, 그 과포화율은  $1-\varepsilon$ 로 나타난다.

## 2. 질병의 전파로 인한 질병보유개체군(Host)내 개체군밀도의 변화

- 만성적으로 질병을 보유하고 있는 개체군(Host)의 개체군 밀도의 변화는 질병으로 인한 직접적인 영향에는 무관하지만, 질병의 외부 전달가능성에 따라 개체군을 세분할 수 있다 [Zhou and Wethcote, 1994; Brauer and van den Driessche, 2001; Fan et al., 2001; Iwami et al., 2007;].

$$H_T = H_X + H_I + H_Y \quad (4)$$

- 여기서  $H_X$ 는 미감염 개체군의 밀도  $[L^{-2}]$ ,  $H_I$ 는 감염되었으나 아직 전염성

을 띄지 않는 개체군의 밀도  $[L^{-2}]$ ,  $H_Y$  는 감염되어 전염성을 나타내는 개체군의 밀도  $[L^{-2}]$ 이다. 따라서 질병에 감염된 총 개체군의 밀도의 변화는  $H_X$ ,  $H_I$ ,  $H_Y$  세 개체군 각각의 밀도 변화의 합으로 나타낼 수 있는데, 이는 환경 제한인자와 질병의 영향에 따른 개체의 성장과 사망, 질병 전이의 함수로 표현될 수 있다. 미감염 개체군의 밀도의 변화는 식 (5)와 같이 나타낼 수 있다.

$$\frac{dH_X}{d\tau} = a_H H_T - b_{HX} H_X - \gamma_H H_X H_T - \beta_H H_X H_Y \quad (5)$$

- 식 (5) 우변의 첫 번째 항은 자연적인 개체군의 출생을 나타낸다. 이 때 질병은 후천적인 전염으로만 전파되어 새로 출생하는 자손에게 유전적으로 전달되지 않는다면 새로 태어나는 모든 자손은 미감염 상태로 태어나고 이는 출생률과 전체 개체수의 곱으로 표현된다. 세 번째 항은 개체군의 성장으로 야기된 서식지나 먹이의 부족 등 환경적 제한으로 인한 개체군의 감소를 나타내는 항으로  $\gamma_H$  는 밀도에 따른 제한계수  $[L^2 T^{-1}]$  이다. 마지막 항은 질병의 감염으로 인한 개체군의 감소로, 이러한 감소부분은 차례로 비전염성 감염 개체군과 전염성 개체군의 증가로 전이된다. 여기서  $\beta_H$  는 질병의 전이계수  $[L^2 T^{-1}]$ 로,  $1/\beta_H$  은 개체간 접촉의 평균시간간격에 비례한다. 식 (5)에서 개체군의 감소를 나타내는 세 항은 각각 미감염 개체군의 밀도, 미감염 개체군과 총 개체군의 밀도, 미감염 개체군과 비전염성 감염 개체군의 밀도에 비례하는 함수로 표현되었다.
- 비전염성 감염 개체군,  $H_I$ , 에 대한 밀도의 변화는 식 (6)과 같이 나타낼 수 있다.

$$\frac{dH_I}{d\tau} = \beta_H H_X H_Y - b_{HI} H_I - \gamma_H H_I H_T - \sigma_H H_I \quad (6)$$

- 우변 첫 번째 항은 새롭게 감염된 개체의 밀도를 나타내며, 두 번째 항은 개체군의 감소를 나타낸다. 여기서  $1/\sigma_H$  는 질병의 평균잠복기간  $[T]$ 으로,  $\sigma_H H_I$  는 전염성 개체로 전이되는 개체 밀도의 변화율을 나타낸다.
- 전염성 개체군 밀도,  $H_Y$  의 변화는 비전염성 감염 개체군으로부터 전이된 밀

도에서 자연적으로 또는 질병에 의해 사망한 밀도를 제외한 것으로, 식 (7)과 같이 나타낼 수 있다.

$$\frac{dH_Y}{d\tau} = \sigma_H H_I - b_{HY} H_Y - \gamma_H H_Y H_T \quad (7)$$

- 만약 이 개체군에게 이 질병이 만성적으로 잠복할 뿐 개체군의 수명에는 영향을 미치지 않는다고 가정하면,  $b_{HX} = b_{HI} = b_{HY} = b_H$ 로 나타낼 수 있으며, 식 (5)~(7)을 식 (4)에 대입하여 질병의 전파로 인한 질병보유개체군(Host)의 총개체군밀도를 다음의 식 (8)로 표현할 수 있다[Brauer and van den Driessche, 2001].

$$\begin{aligned} \frac{dH_X}{d\tau} &= a_H H_T - b_H (H_X + H_I + H_Y) - \gamma_H (H_X + H_I + H_Y) H_T \\ &= a_H H_T - b_H H_T - \gamma_H H_T^2 \\ &= (a_H - b_H) H_T - \gamma_H H_T^2 \\ &= r_H H_T - \gamma_H H_T^2 \end{aligned} \quad (8)$$

- 식 (8)은 질병을 만성적으로 보유하는 개체군의 경우, 개체군의 밀도 변화는 질병보유 여부와 관계없이 개체군의 자연생존률과 환경요인의 제한에 의해서만 영향을 받는다는 것을 나타낸다. 또한 식 (8)을 식 (1)과 비교하여, 밀도에 따른 제한계수와 평형밀도 간에 식 (9)와 같은 관계를 도출할 수 있다.

$$\gamma_H = \frac{a_H - b_H}{K_H} \quad (9)$$

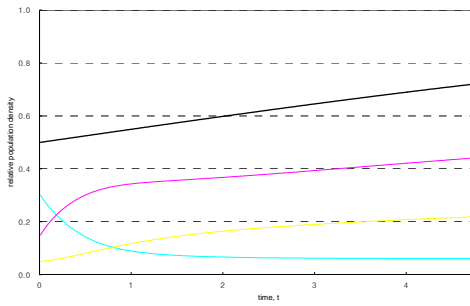
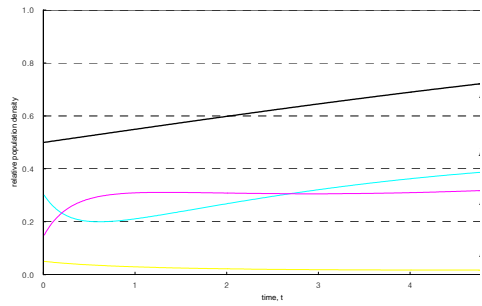
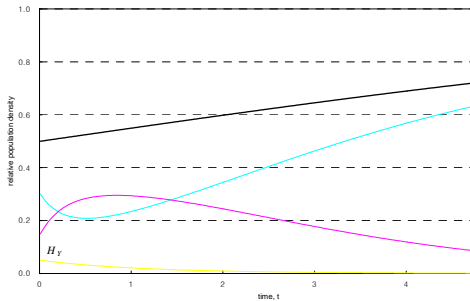
(a)  $\beta = 0.005, 1/\sigma = 2$ (b)  $\beta = 0.005, 1/\sigma = 20$ (c)  $\beta = 0.005, 1/\sigma = 200$ 

Fig. 6. 질병의 전염률과 잠복기에 따른 세부 개체군의 밀도 변화

- 그림 6은 개체군 내 질병의 전염과 전이에 따른 각 세부 개체군 간의 밀도 분포를 나타낸 것이다. 식 (8)에 나타난 바와 같이 개체군의 총 밀도는 질병에 의해 영향을 받지 않지만, 개체군 전체를 구성하는 세부 개체군 간의 개체 분포는 질병의 전염률과 전염성을 나타내기 까지의 잠복기에 의해 좌우된다. 동일한 질병 전이계수( $\beta = 0.005 [L^2 T^{-1}]$ )를 적용하였을 때, 가장 짧은 잠복기( $1/\sigma$ )가 적용된 Fig. 6(a)의 경우에는 감염과 전이로 이루어지는 질병의 순환이 매우 빠르게 일어나 감염된 개체의 수가 빠르게 증가하고 상대적으로 미감염 개체군의 밀도는 감소하는 것으로 나타났다. 이에 반하여 잠복기가 매우 긴 Fig. 6(c)의 경우에는 감염된 이후에도 전염성을 나타내는데 까지 걸리는 시간이 길어서 상당 비율의 개체가 전염성 개체군으로 전이되기 이전에 사망하므로 시간이 지남에 따라 질병이 자연 소멸되는 것으로 나타났다.

### 3. 이종 개체군간 질병의 교차 감염 (Cross-infection)

- 전염성 질병을 보유한 개체군이 서식 영역을 확장하거나 이동함에 따라 그 질병에 대한 면역성이 없는 다른 개체군과 공간적·시간적으로 서식 영역의 일부 또는 전체를 공유하게 되면, 다양한 질병의 전파 경로를 통해 이종 개체군으로 질병을 전이시킬 수 있다. 이 때 감염된 개체군(Receptor) 내에서 질병의 확산으로 인한 세부 개체군 간의 밀도 변화를 나타내는 지배방정식들은 식 (10)-(14)에서 나타난 바와 같이 앞서 설명된 만성적 질병보유 개체군(Host)의 경우와 대부분 유사하게 이루어질 수 있다.

$$R_T = R_X + R_I + R_Y \quad (10)$$

$$\frac{dR_X}{d\tau} = a_R R_T - b_{RX} R_X - \gamma_R R_X R_T - \beta_{HR} R_X H_Y - \beta_{RR} R_X R_Y \quad (11)$$

$$\frac{dR_I}{d\tau} = (\beta_{HR} H_Y + \beta_{RR} R_Y) R_X - b_{RI} R_I - \gamma_R R_I R_T - \sigma_R R_I \quad (12)$$

$$\frac{dR_Y}{d\tau} = \sigma_R R_I - b_{RY} R_Y - \gamma_R R_Y R_T \quad (13)$$

$$\frac{dR_T}{d\tau} = (a_R - b_R) R_T - \gamma_R R_T^2 \quad \leftarrow \gamma_H = \frac{a_H - b_H}{K_R} \quad (K_R = \frac{a_H - b_H}{\gamma_H}) \quad (14)$$

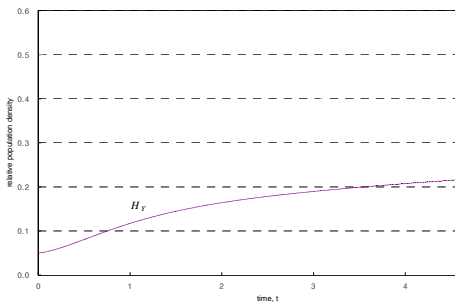
- Host와 Receptor의 지배방정식 중 상이점은 식 (11)의 우변 네 번째 항과 식 (12)의 우변 첫 번째 항으로, 이는 Host의 전염성 개체군으로부터 Receptor의 비전염성 개체군으로 질병이 전염되는 경로를 나타낸 것이다. 이 항들을 통하여 Host와 Receptor 지배방정식이 서로 연계된다. 여기서  $\beta_{RR}$ 은 Receptor 개체군 내에서의 질병 감염률을 나타낸다.
- 질병에 대한 면역성이 없는 개체군은 만성적으로 질병을 보유하고 있는 개체군에 비하여 일반적으로 해당 질병에 대해 훨씬 심각한 반응을 나타낸다. 이러한 경우 그 질병은 개체군의 평균 생존률에 부정적인 영향을 미칠 수 있으며, 각 세부 개체군의 사망률이 서로 다르게 나타난다 ( $b_{RX} \neq b_{RI} \neq b_{RY}$ ). 이러한 영향을 고려하면 Receptor 개체군의 총 밀도 변화는 다음과 같은 식

(15)로 나타낼 수 있다.

$$\begin{aligned} \frac{dR_T}{d\tau} &= a_R R_T - b_{RX} R_X - b_{RI} R_I - b_{RY} R_Y - \gamma_R R_T^2 \\ &= \left( a_R - b_{RX} \frac{R_X}{R_T} - b_{RI} \frac{R_I}{R_T} - b_{RY} \frac{R_Y}{R_T} \right) R_T - \gamma_R R_T^2 \end{aligned} \quad (15)$$

- Fig. 7은 서식 영역을 공유하는 두 개체군간 질병의 전이와, 이로 인한 피전이 개체군 내 세부 개체군의 밀도변화를 나타낸 것이다. Host 개체군 중 전염성 개체군이 증가함에 따라 Receptor 개체군 내에 질병이 전염된 개체가 나타나면 이후 Host 개체군과 유사한 양상으로 질병이 확산된다. Receptor의 경우 해당 질병에 대한 면역력 부족으로 질병의 진행 정도에 따라 증가하는 사망률이 적용되어 Receptor 개체군의 총 밀도는 지속적으로 감소하는 것으로 나타났다.

(a) 전염성 Hosrt



(b) Receptor

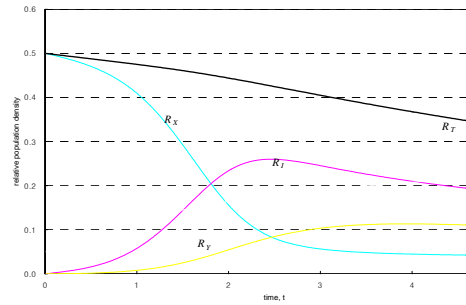


Fig. 7. 이종 개체군 간 질병의 전이와 이로 인한 세부 개체군 밀도의 변화  
(a) Host의 전염성 개체군 밀도 변화 (b) Receptor 세부 개체군 밀도의 변화

#### 가. 질병의 수직 전이 (Vertical transmission)

- 번식과정에서 질병이 2세에게 직접 전염되는 수직 전이가 발생하는 경우, 새로 태어나는 자손 중 질병에 감염된 모체로부터 태어난 자손은 선천적으로 질병을 보유하게 된다. 이 경우 태어난 개체는 감염 비전염성 개체의 특성을

나타내고 출생 후 일정 기간의 잠복기를 거친 후 전염성 개체로 발전하게 된다. 이에 반해 비감염 모체로부터 출생한 자손은 비감염 상태로 출생하게 되고 이를 수학적으로 표현하면 식 (16)과 같이 표현될 수 있다.

$$\frac{dR_X}{d\tau} = \underline{a_R R_X} - b_{RX} R_X - \gamma_R R_X R_T - \beta_{HR} R_X H_Y - \beta_{RR} R_X R_Y \quad (16)$$

$$\frac{dR_I}{d\tau} = \underline{a_R (R_I + R_Y)} + (\beta_{HR} H_Y + \beta_{RR} R_Y) R_X - b_{RI} R_I - \gamma_R R_I R_T - \sigma_R R_I \quad (17)$$

$$\frac{dR_Y}{d\tau} = \sigma_R R_I - b_{RY} R_Y - \gamma_R R_Y R_T \quad (18)$$

- 여기서 식 (16)과 (17)의 우변에서 밑줄로 표시된 항이 식 (12)와 (13)으로부터 수정된 항들이다.

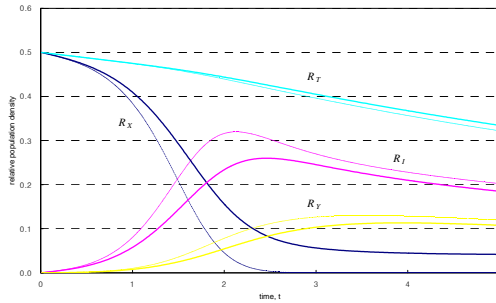


Fig. 8. 질병의 수직 전이를 고려한 Receptor 세부 개체군 간 밀도의 변화 (굵은 실선: 수직 전이를 고려하지 않은 경우; 가는 실선: 수직 전이를 고려한 경우)

- 그림 8은 질병의 수직 전이를 고려한 Receptor 세부 개체군 간 밀도의 변화를 나타낸 것이다. 수직 전이를 고려하는 경우 질병의 전이가 더 빠르게 이루어지므로 개체군 총 밀도나 미감염 개체군의 밀도는 수직전이를 고려하지 않은 경우에 비하여 낮게 나타나고, 감염된 개체군의 밀도는 더 크게 나타난다.

#### 4. 질병보유개체군과 비전염개체군의 공간적 분포에 따른 질병의 확산

- 두 개체군 간의 질병의 전파는 이종 개체간의 직접적인 접촉에 의한 직접 감염과 매개 생물이나 환경요인을 통한 간접 감염을 통하여 이루어질 수 있다. 조류인플루엔자의 경우 질병을 보유한 개체의 분변 등의 접촉을 통하여 전파되는 것으로 의심되고 있으므로, 질병보유개체군으로 부터 비감염개체군으로의 질병 전파율은 각 개체군의 서식지 및 활동 영역의 중복 정도와 영역 내에서의 개체밀도의 공간적인 분포에 의해 좌우된다. 한 개체군이 균일하게 분포되어 있는 일차원적인 영역 내에서 각 개체가 특정 지역의 서식지를 중심으로 무작위적으로 이동한다고 가정하는 경우, 각 개체의 공간적인 위치는 시간이 지남에 따라 편향적 무작위 이동(biased random walk)에 따라 변화하므로 분자의 확산이론을 적용할 수 있다. 이 때 생물체의 활동에 있어 의도성을 수식에 추가하기 위하여 개체가 서식의 중심지로부터 멀리 떨어질수록 서식지로 다시 회귀하려는 본능이 더욱 강하게 작용하여 이동에 영향을 미친다고 가정하면, 임의의 시간  $t$  에서 개체의 위치에 관한 확률밀도함수  $p$ 는 다음과 같은 미분방정식으로 표현될 수 있다 [Reluga et al., 2006; Fitzgibbon et al., 2007].

$$\frac{\partial p}{\partial t} = D \frac{\partial^2 p}{\partial x^2} + \alpha \frac{\partial}{\partial x} [(x - x_h) p] \quad (19)$$

- 여기서  $p$ 는 개체의 위치에 관한 확률밀도함수,  $D$ 는 확산계수 [ $L^2 T^{-1}$ ],  $\alpha$ 는 개체의 서식중심지를 향한 회귀본능의 강도 [ $L T^{-1}$ ],  $x$  와  $x_h$  는 각각 개체의 현재 위치와 서식중심지의 위치 [ $L$ ]이다. 식 (19)의 일반해를 구하기 위하여  $t = 0$  에서 개체의 위치를  $y$  라고 정의하면 다음과 같은 초기조건이 주어질 수 있으며,

$$p = \begin{cases} 1 & x = y \\ 0 & otherwise \end{cases} \quad (20)$$

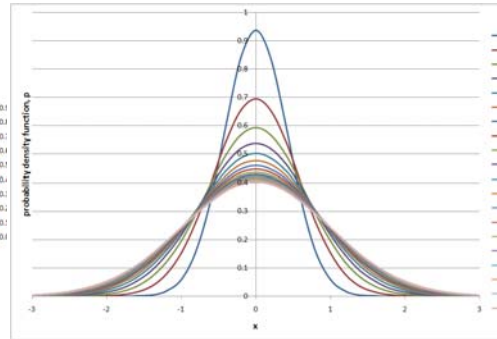
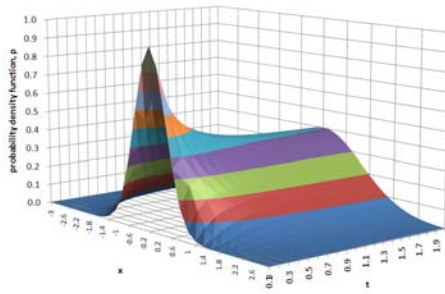
식 (20)의 초기조건을 만족하는 식 (19)의 일반해는 다음과 같다.



$$p = \frac{1}{\sqrt{2\pi(1-e^{-2\alpha t})}D/\alpha} \exp \left\{ \frac{-\alpha [(x-x_h)-(y-x_h)e^{-\alpha t}]^2}{2D(1-e^{-2\alpha t})} \right\} \quad (21)$$

- 식 (19)의 일반해인 식 (21)을 특정 조건에 대하여 모의한 결과를 Fig. 9에 나타내었다. Fig. 9 (a)는 초기 ( $t = 0$ )에 한 개체의 위치가 서식의 중심점에 위치하는 경우,  $y$ ,  $x_h$ ,  $t$ 의 함수로 정의되는 개체의 위치에 관한 확률밀도함수는 확산 이동에 의한 무작위 이동을 통하여 시간이 경과함에 따라 중심점에서의 확률밀도가 감소하면서 좌우 대칭으로 개체의 위치에 관한 확률밀도의 범위가 확대됨을 나타내고 있다. Fig. 9 (b)는 초기에 한 개체의 위치가 서식의 중심점과 다른 위치에 존재하는 경우 시간의 경과에 따라 확률밀도함수의 최대점이 서식의 중심점으로 이동하여 초기의 비대칭 분포구조가 대칭화되고 있음을 나타낸다.

(a)  $p = 1$  at  $y = 0$



(b)  $p = 1$  at  $y = 1$

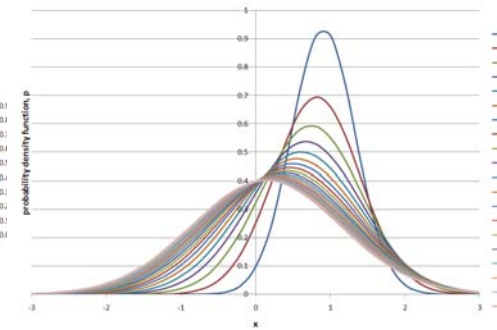
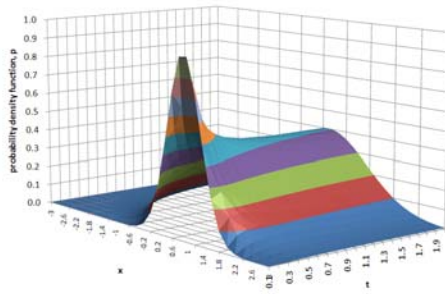


Fig. 9.  $x_h = 0$  일 때 시간 경과에 따른 개체의 확률적 분포밀도함수의 변화 ( $D = a = 1$ )

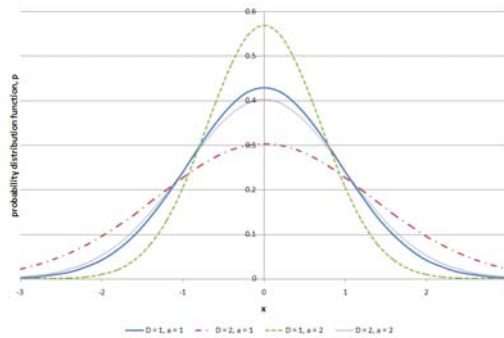


Fig. 10.  $x_h = 0$ ,  $t = 1$  일 때  $D$  와  $a$  변화에 따른 확률적 분포밀도함수의 변화

- 시간이 경과함에 따라 개체의 위치에 관한 확률밀도함수  $p$  는 식 (22)와 같은 정규분포에 접근한다. 즉 평형상태에서의 확률밀도함수는 개체의 초기 위치와 무관하게 서식의 중심점인  $x = x_h$  에서 최대값을 가지며, 대칭적인 공간 분포를 가지게 되며, 공간분포의 구조는  $D/a$  의 변화에 따라 결정된다.

$$p = \frac{1}{\sqrt{2\pi D/\alpha}} \exp\left[\frac{-\alpha(x-x_h)^2}{2D}\right] \quad (22)$$

- 이러한 개체의 공간적인 확률분포는 이중 개체군 간 질병의 감염률에 영향을 미친다. 질병을 보유하고 있는 개체의 분비물에 대한 접촉으로 인하여 질병이 전염되는 경우가 발생하기 위해서는 감염 개체와 비감염 개체가 공간적으로 일치하는 위치  $x$  를 공유하여야 한다. 따라서 질병을 보유한 개체군이 이동하며 질병을 전파하며, 비감염 개체군은 오래 전부터 고정된 지역( $x_{hR}$ )에 서식하고 있었다면 한 비감염 개체에 대한 질병의 감염률은 비감염개체의 확률분포 함수와 질병보균개체군의 밀도함수  $n$ , 그리고 감염 개체당 감염률로 정의될 수 있다.

$$\beta_{HR} = r \frac{1}{\sqrt{2\pi D/\alpha}} \exp\left[\frac{-\alpha(x-x_{hR})^2}{2D}\right] \int_{-\infty}^{\infty} n(x, x_{hR}, t) dx_{hR} \quad (23)$$

여기서  $\beta_{HR}$ 은 식 (11) 과 (12)에 나타난 질병보유개체군과 비감염개체군 간의 전염률,  $r$  은 감염 개체당 감염률이다.

## 5. 질병의 변형과 전염

- 돌연변이 바이러스에 의한 변종 조류인플루엔자의 인간 감염을 모의하기 위하여 조류 개체군과 인간 개체군 내에서의 감염과 변형을 표현하는 상미분방정식을 구성한다. 우선 조류 개체군을 식 (5)와 (7)에 나타난 바와 같은 미감염개체군( $H_X$ )과 전염성개체군( $H_Y$ )으로 구분하면 다음과 같은 개체군 밀도식

으로 표현할 수 있다[Zhou and Wethcote, 1994; Roberts and Kao, 1998].

$$H_T = H_X + H_Y \quad (24)$$

$$\frac{dH_X}{d\tau} = a_H H_T - b_{HX} H_X - \beta_H H_X H_Y \quad (25)$$

$$\frac{dH_Y}{d\tau} = \beta_H H_X H_Y - b_{HY} H_Y \quad (26)$$

- 질병을 보유하고 있는 조류 개체군의 밀도 변화에 관한 식 (25)와 (26)은 두 가지 평형상태를 가지는데, 첫 번째 평형상태는 질병이 존재하지 않는 상태 ( $dH_X/dt = 0, H_Y = 0$ )로

$$E_0 = (H_{X0}, 0) \quad \text{where } H_{X0} = \frac{a_H}{b_{HX}} \quad (27)$$

일 때 나타나며, 두 번째 평형상태는 질병의 만연상태( $dH_X/dt = 0, dH_Y/dt = 0$ )로

$$E_+ = (W_X^*, W_Y^*) \quad \text{where } W_X^* = \frac{b_{HY}}{\beta_H}, W_Y^* = \frac{a_H}{b_{HY}} - \frac{b_{HX}}{\beta_H} \quad (28)$$

- 여기서 조류 개체군에서의 조류인플루엔자 확산을 위해 필요한 기본적인 재생산 개체수를 정의할 수 있는데, 이 개체수는 모든 개체가 비감염상태일 때 한 감염개체로부터 생산될 수 있는 새로운 감염개체의 수로 식 (29)로 정의된다.

$$r_0 = \frac{a_H \beta_H}{b_{HX} b_{HY}} \quad (29)$$

- 또한, 조류로부터 인간에게 전염된 조류인플루엔자는 매우 작은 비율로 변종 질병으로 돌연변이화 하며, 변종 조류인플루엔자에 감염된 인간은 비감염된 인간을 변종 조류인플루엔자로 감염시킬 수 있지만, 이미 조류인플루엔자에 감염된 인간을 감염시킬 수 없으며, 변종 조류인플루엔자로부터 회복된 인간은 다시는 어떠한 형태의 조류인플루엔자에 대해서도 면역성을 가진다고 가정하면 인간 개체군의 밀도변화는 미감염 개체군( $W_X$ ), 원조 조류인플루엔자에 감염된 개체군( $W_B$ ), 변종 조류인플루엔자에 감염된 개체군( $W_H$ ), 변종 조류인플루엔자로부터 회복된 개체군( $W_R$ )의 밀도 변화로 나누어 표현할 수 있다.

$$W_T = W_X + W_B + W_H + W_R \quad (30)$$

$$\frac{dW_X}{d\tau} = a_W W_T - b_{WX} W_X - \beta_{HW} W_X H_Y - \beta_{WW} W_X W_H \quad (31)$$

$$\frac{dW_B}{d\tau} = \beta_{HW} W_X H_Y - b_{WB} W_B - \varepsilon W_B \quad (32)$$

$$\frac{dW_H}{d\tau} = \beta_{WW} W_X W_H + \varepsilon W_B - b_{WH} W_H - \gamma W_H \quad (33)$$

$$\frac{dW_R}{d\tau} = \gamma W_H - b_{WR} W_R \quad (34)$$

- 여기서  $e$  는 변종 조류인플루엔자로의 돌연변이률 $[T^{-1}]$ 이며,  $g$  는 변종 조류인플루엔자로 부터의 회복률 $[T^{-1}]$ 이다. 인간 개체군의 질병 전염과 변종 발생에 관한 밀도변화식 (31) - (34)는 세가지 평형상태( $dH_X/dt = dH_Y/dt = dW_X/dt = dW_B/dt = dW_H/dt = dW_R/dt = 0$ )를 가진다. 첫 번째 평형상태는 조류 개체군과 인간 개체군 내에 질병이 존재하지 않는 상태 ( $H_{Y0} = W_{B0} = W_{H0} = W_{R0} = 0$ )로 평형상태의 조건은 다음과 같다[Iwami et al., 2007].

$$E_0 = (H_{X0}, 0, W_{S0}, 0, 0, 0) \quad \text{where } W_{S0} = \frac{a_W}{b_{WX}} \quad (35)$$

- 두 번째 평형상태는 조류 개체군과 인간 개체군 내에 조류인플루엔자에 감염된 개체는 존재하지 않은 채 변종 조류인플루엔자에 감염된 인간 개체만이 존재하는 경우( $H_Y = W_B = 0$ )로, 평형조건은 다음과 같다.

$$E_b = (H_{X0}, 0, \tilde{W}_S, 0, \tilde{W}_H, \tilde{W}_R)$$

$$\text{where } \tilde{W}_S = \frac{b_{WH} + \gamma}{\beta_{WW}}, \quad \tilde{W}_H = \frac{\lambda}{b_{WH} + \gamma} - \frac{b_{WX}}{\beta_{WW}}, \quad \tilde{W}_R = \frac{\gamma}{b_{WX}} \tilde{W}_H \quad (36)$$

- 세 번째 평형상태는 조류와 인간 개체군 전체 내에서의 평형으로, 조류 인플루엔자에 감염된 조류와 인간, 변종 조류 인플루엔자에 감염된 인간이 모두 존재하는 경우로 평형조건은 다음과 같으며,

$$E_+ = (H_X^*, H_Y^*, W_S^*, W_B^*, W_H^*, W_R^*)$$

$$\text{where } W_S^* = \frac{a_W}{b_{WX} + \beta_{HW}H_Y^* + \beta_{WW}W_H^*}, \quad W_B^* = \frac{\beta_{HW}H_Y^*}{b_{WB} + \varepsilon} W_S^*, \quad W_R^* = \frac{\gamma}{b_{WX}} W_H^* \quad (37)$$

이 때,  $W_H^*$  는 다음 이차방정식의 근이다.

$$\beta_{HW} (b_{WH} + \gamma) W_H^2 + \left\{ (b_{WX} + \beta_{HW}H_Y^*) (b_{WH} + \gamma) - \beta_{WW}\lambda \right\} W_H^* - \frac{\varepsilon\beta_{HW}\lambda H_Y^*}{b_{WB} + \varepsilon} = 0 \quad (39)$$

- 여기서 인간 개체군에서의 변종 조류인플루엔자 확산을 위해 필요한 기본적인 재생산 개체수를 다음과 같이 정의할 수 있다.

$$R_0 = \frac{a_W \beta_{WW}}{b_{WX} (b_{WH} + \gamma)} \quad (40)$$

- 그림 11 - 14는 표 2에 주어진 반응계수와 초기조건에 대하여 질병을 보유한 조류 개체군과 초기 비감염 상태에서 질병에 감염되는 인간 개체군의 밀도

변화를 모의한 결과이다. Fig. 11은 조류인플루엔자에 감염된 인간 개체군의 밀도 변화를 나타낸 것이다. 모의 결과는 인간 개체군이 조류인플루엔자가 감염되면 감염 초기에는 급격하게 감염 개체수가 증가하지만 이후 다시 급격하게 감소한 후 장기적으로는 낮은 감염 밀도를 유지하는 것으로 나타났다. Fig. 2는 변종 조류인플루엔자에 감염된 인간 개체군의 밀도를 나타낸 것이다. 조류인플루엔자의 경우와 달리, 변종 조류인플루엔자에 감염된 개체군 밀도는 비교적 서서히 증가하고 최대값을 나타낸 후 서서히 감소하지만 최대값이나 이후 안정화 이후의 밀도 수준이 조류인플루엔자의 경우보다 훨씬 크게 나타난다. Fig. 3은 일반 및 변종 조류인플루엔자에 감염된 인간 개체군의 밀도 변화를 나타낸다. 초기의 밀도 증가는 일반 조류 인플루엔자 감염 개체밀도의 증가에 의한 것이고, 두 번째 다시 나타난 감염 개체밀도의 증가는 변종 조류인플루엔자에 의해 나타난 것이다. 첫 번째 밀도 증가에 비하여 두 번째의 경우가 훨씬 크고 오랜 시간에 걸쳐 나타나는데, 이는 초기 일반 조류인플루엔자의 발현 이후 감염 개체밀도가 감소하여 상황이 안정되었다 하더라도 변종의 발생 가능성 때문에 위험 상태가 지속될 수 있음을 시사하고 있다. Fig. 4는 조류인플루엔자에 의해 감염된 조류 개체군의 밀도 변화를 나타낸 것이다. 조류 개체군 내에서 조류인플루엔자가 발생한 이후에는 비록 작은 밀도라고 하더라도 조류인플루엔자가 풍토병처럼 개체군 내에 지속됨을 나타내고 있다. 따라서 이러한 수학적 모의 결과는 만약 조류인플루엔자의 확산이 적절하게 통제되지 않는다면 변종 조류인플루엔자의 발현 가능성은 상당 기간 사라지지 않을 수 있다는 것을 시사하고 있다.

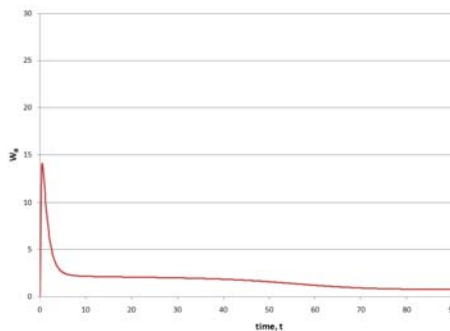


Fig. 11. 조류인플루엔자에 감염된 인간 개체군의 밀도

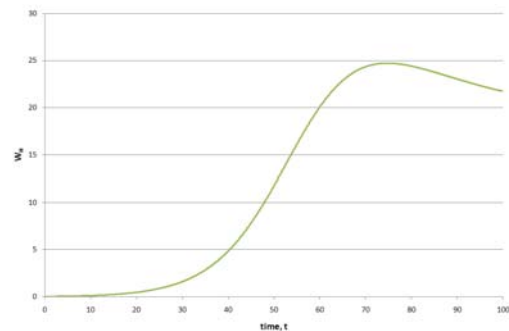


Fig. 12. 변종 조류인플루엔자에 감염된 인간 개체군의 밀도

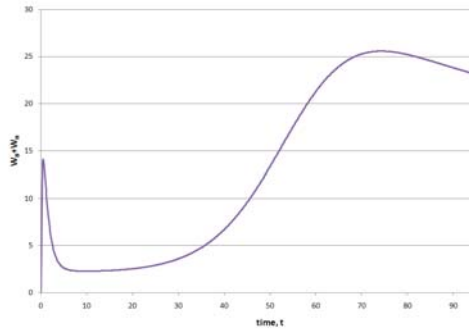


Fig. 13. 조류인플루엔자와 변종 조류 인플루엔자에 감염된 인간 개체군의 밀도

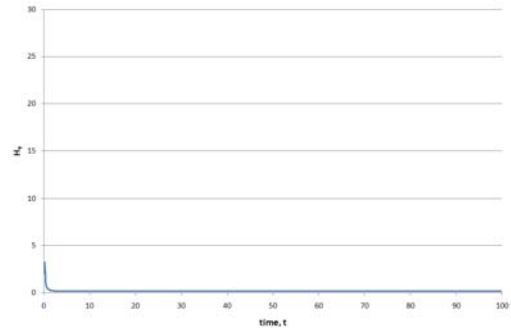


Fig. 14. 조류인플루엔자에 감염된 조류 개체군의 밀도

표 2. 개체군 밀도변화 모의에 적용된 모델입력계수와 각 개체군의 초기밀도

계수	적용값	계수	적용값
$a_H$	26.5	$b_{HX}$	5
$b_H$	2	$b_{HY}$	10
$a_W$	3	$b_{WX}$	0.015
$b_{WW}$	0.003	$b_{HW}$	0.2
$b_{WB}$	1.015	$e$	0.001
$g$	0.01	$b_{WH}$	0.075
$H_{X0}$	10	$H_{Y0}$	2
$W_{X0}$	100	$W_{B0}$	0
$W_{H0}$	0	$W_{R0}$	0



## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

\* 연도별 연구목표 및 평가착안점에 입각한 연구개발목표의 달성도 및 관련 분야의 기술발전예의 기여도 등을 기술

### 1. 연구개발 목표와 내용

- 현재 우리나라에 오는 겨울철새는 주로 시베리아와 중국내륙지방에서 여름을 지난 뒤 11월 이후에 남하하게 된다. 우리나라는 그동안 많은 해안매립으로 인해 다수의 간척지를 가지고 있다. 이들 간척지에는 많은 철새들이 도래하게 되어 매년 수백만마리의 물새가 겨울철에 우리나라를 찾게 된다.
- 이들은 인간의 주거지와 상당부분 떨어진 지역에 거주하기도 하지만 많은 종류가 내륙의 저수지나 호소 및 하천으로 이동하게 된다. 이렇게 내륙지방으로 이동하는 물새에 의해 다른 가금류들과 접촉이 일어나게 되어 조류인플루엔자에 의한 감염이 시작된다. 직접 접촉하지는 않더라도 배설물에 의한 오염, 분변 및 깃털, 죽은 등에 의한 수질 및 토양 오염등이 발생하게 되며 이를 통해 바이러스의 감염이 일어나게 되는 것이다.
- 따라서 본 연구는 조류독감의 감염경로가 야생동물로부터 발생한 것으로 추정되므로 이에 대한 역학조사를 통해 조류독감의 이동경로를 파악할 예정이다. 또한 각종 바이러스가 출현할 가능성이 높으므로 조류 인플루엔자 바이러스분리에 대한 연구가 수행되었다.
- 축적된 바이러스에 관한 자료는 향후 국내에서 발생할 수 있는 조류인플루엔자 바이러스의 혈청형을 예측함으로써 긴급 차단방역용 백신개발 등의 예방적 방역활동의 기초자료로 삼는다.
- 겨울철 야생오리의 종류 및 조류인플루엔자 연관 종 발굴을 시도하였다. 이를 통해 우리나라 겨울 도래철새를 파악할 수 있었으며, 겨울철 한반도에 도래하는 철새를 중심으로 야생동식물의 유전자를 이용하여 이들의 이동경로를 파악하는 보전생물학적 방법을 응용하였다. 이는 개체군의 이동을 파악하는 집단연구를 시도한 우리나라 최초의 연구이며 이런 유전자를 이용한 집단연구파악은 새로운 학문 분야이다.
- 본 연구를 통해 유전자를 통한 정확한 계통분류가 가능하다는 것을 확인하였

다. 이런 연구를 통해 그 종의 생태학적 특징이 무엇이며, 어떻게 번식하며, 어떠한 서식조건이 필요하며, 어떠한 질병이 잘 발생하는가에 대한 메카니즘 파악이 가능하였다. 본 연구는 향후 우리나라뿐 아니라 여름철 번식기에 서식하는 겨울철 철새에 대한 집단유전학적 연구를 수행하므로써 우리나라에 도래하는 겨울철새의 여름출현지(혹은 바이러스)를 파악하므로써 철새를 통한 이동경로에 기초자료가 되었다.

- 개체군 유전적 다양성 측정 가능성이 가능하였다. 유전적 다양성 연구에 의한 겨울철새 개체군의 유전적 건강성과 근친번식의 정도를 측정할 수 있었다. 겨울도래 철새를 비롯한 멸종위기에 처한 개체군의 유전적 다양성 정도를 측정하고 다른 건강한 상태의 개체군과 비교하면 이들이 유전적으로 얼마나 건강한가를 알 수 있다. 즉 개체군의 근친번식의 정도, 다른 개체군과의 교류 정도, 개체군의 생존능력 등에 관한 중요한 정보를 얻을 수 있어서 어느 개체군이 건강한지, 어느 개체군이 위협에 처해 있는지를 알 수 있고 이에 대한 대책을 세울 수 있게 된 것이다.
- 보전유전학 연구는 멸종위기종의 생태적 연구에도 중요한 도움을 줄 수 있다. PCR 또는 Microsatellite이라고 하는 표지유전자를 이용하면 개체간의 구별도 가능하기 때문이다. 그러므로 한 지역에서 분변이나 털을 광범위하게 수집하여 분석한다면 그 지역의 개체군의 크기, 성별, 서식범위, 개체군 내 구성원들의 혈연관계, 사회적 구조, 유전적 다양성 정도 등 보전대책을 세우는데 필수적인 정보를 얻을 수 있다.
- 서식지의 보전의 번식계획 수립에 이용이 가능하게 되었다. 유전적 다양성을 최대한 보전하는 방법으로 번식계획을 세워야 한다. 이를 위하여는 번식되는 모든 개체의 정확한 가계도를 작성하고 이에 근거하여 근교계수(Inbreeding coefficient; 근친사이의 정도를 나타내는 계수 1에 가까울수록 근친의 정도가 높다)를 계산하여 그 계수가 낮은 방향으로 번식계획을 수립하여야 한다.
- 개체수의 포획이 현실적으로 매우 어려운 상황이므로 이를 보완할 수 있는 야생동물 연구기법이 절실한 상황이었다. 따라서 본 연구는 이를 극복하는 방법으로 철새의 분변을 활용하는 연구기법을 개발하였다. 본 연구가 시작되기 전에는 이를 통한 연구의 체계적인 목표달성이 매우 어려운 상황이었으나 본 연구를 통해 우리는 종에게 침해적이지 않고 유전적 정보를 얻을 수 있는 방안으로 철새의 분변을 활용하였으며, 우리나라의 지역적으로 구분된 곳에서 분변을 수거하여 종의 유전 정보를 획득하였다.
- 우리나라 철새도래지에 이동하는 야생조류에서 조류 인플루엔자 바이러스 분리를 통해 국내 철새도래지에서 수집한 철새분변을 철새별, 계절별, 지역별로 분류하여 조류인플루엔자 바이러스를 국제수역 사무국에서 규정한 방법을 사

용하여 분리하였다. 즉, 분변을 중합효소반응을 이용하여 조류인플루엔자 바이러스의 존재를 확인한 후 9-11일된 SPF 란에 접종하여 바이러스의 증식을 확인하였다. 분리된 인플루엔자 바이러스는 HI(Hemmagglutination inhibition test) 및 NI(Neuraminidase inhibition test) 검사를 이용하여 HA 및 NA형을 분류하여 동정하였다.

- 분리된 야생조류 유래 AI 바이러스의 생물학적 및 유전학적 특성조사를 수행 하므로써 분리 동정된 조류인플루엔자 바이러스를 유형별로 분류하여 대표적인 바이러스에 대한 생물학적 및 유전학적 특성조사를 4주령 SPF 닭 접종 후 폐사율 및 체내 바이러스 침투능을 기본으로 하여 수행한 후 HA의 cleavage site 및 주요 유전자에 대한 염기서열을 분석하여 유전학적 특성을 분류하였다. 이를 통하여 분리된 바이러스의 국내 가금산업에서의 잠재적 위험성을 평가하여 향후 예방대책에 대한 기초자료를 제공할 예정이다.

## 2. 연차별 연구개발 목표와 내용에 대한 확인

구분	연구개발 목표	연구개발 내용 및 범위	달성 여부
1차 년도 (2004)	야생동물로 인한 조류인플루엔자의 발생기작을 파악(겨울철 물새 및 텃새포함)	○겨울철 물새 및 텃새에 대한 현황조사	
		-겨울물새 종별 분류작업 실시	●
		-물새의 겨울서식밀도 파악	●
		-텃새(멧비둘기, 까치 등) 포함	●
		-대상조류를 포획하여 바이러스 채취를 시도함	●
		○충남해안가를 중심으로 개체군집파악	
		-충남지역 서산만지역의 겨울물새 조사	●
		-전국의 내륙호소 및 하천 겨울물새 이동경로 파악	●
	-여름번식지에 대한 정보(중국, 러시아) 교환	▲	
	야생동물과 겨울물새에 대한 감염경로 조사	○겨울철새에 대한 감염여부 분석	
		-바이러스 분리용 배설물의 수집 및 축훈에 대한 분석	●
		-야생동물과 조류인플루엔자의 수리학적 모델 정립	●
		-가금류접촉여부 파악하고 질병감염경로 추정	●
		-조류인플루엔자의 발생기작 원인 분석	●
	철새도래지에서의 조류인플루엔자 바이러스 분리	○국내 철새도래지의 지역별 조류인플루엔자 바이러스 분리	
		-국내 철새도래지의 계절별 조류인플루엔자 바이러스 분리	●
		-국내 야생조류(텃새포함)의 종류별 조류인플루엔자 바이러스 분리	●

구분	연구개발 목표	연구개발 내용 및 범위	달성 여부
2차 년도 ( 2005 )	1년차에서 수집한 국내 철새도래지에서 의 분변으로부터 조류인플루엔자 바이러스의 분리 및 유형 분석	· 조류인플루엔자 바이러스 분리	●
		· 분리된 조류 인플루엔자 바이러스의 생물학적 특성조사	●
		· 분리된 조류 인플루엔자 바이러스의 유전학적 특성조사	●
	야생동물에 대한 대처방안 마련	· 겨울철새 도래지에 대한 각 분야별 현장조사	●
		· 현장 조사를 통한 조사방법론 및 야생동물 밀도조절에 대한 수리학적 검토	●
	감염대처 방안 수립	· 겨울철새에 대한 감염경로 파악하고 대책 마련	▲
		· 바이러스분리를 통해 향후 발생이 예상되는 지역을 우선관찰지역으로 지정	●
	조류인플루엔자 발생기작에 대한 수리학적 모델	· 조류인플루엔자 발생을 예측하는 예방체계 기법 마련	●
		· 조류인플루엔자에 의해 나타나는 환경요인 구별	●
		· 조류인플루엔자 발생기작에 대한 개체군동태 파악하고 발생을 예측하는 환경밀도 산정	●
3차 년도 ( 2006 )	야생동물에 대한 군집분석과 이를 통한 조류인플루엔자 발생예측 마련	· 조류인플루엔자 발생을 예측하는 예방체계 기법 마련	●
		· 조류인플루엔자 발생기작에 대한 개체군동태 파악하고 발생을 예측하는 환경밀도 산정	●
	조류인플루엔자 발생기작의 수리학적 모델 규명	· 수리학적 모델의 적용	●
		· 조류인플루엔자 경보체제 수립하고 이에 대한 저감방안 마련	▲
	야생 조류 분리 조류인플루엔자 바이러스의 가금에 대한 병원성 연구	· 겨울철새 군집을 통한 밀도요인을 구분하고 이를 통해 조류인플루엔자의 감염경로 파악	●
		· 조류인플루엔자와 개체군간의 상호요인 파악	●
		· 조류인플루엔자에 의한 발생기작과 요인분석하여 수리학적 모델 개발	●
야생 조류 분리 조류인플루엔자 바이러스의 가금에 대한 병원성 연구	· 지속적인 야생조류로부터의 인플루엔자바이러스 분리	●	
	· 분리바이러스 유형별 닭 및 오리에서의 국제기준에 따른 병원성 분류 및 예방대책 기초자료 제공	●	

(●: 달성, ▲: 다소 미흡)

## 가. 총괄 추진계획

세부과제 및 주요내용	연 도			가중치	비고
	2004 년 (1차년도)	2005년 (2차년도)	2006 년 (3차년도)		
○조류인플루엔자에 대한 현황 분석 및 감염경로 파악				38%	
-조류인플루엔자 발생경로파 악					
-조류인플루엔자와 야생동물 접촉관계 연구					
○조류인플루엔자의 바이러스 분리 및 특성조사				37%	
-조류인플루엔자 바이러스 분 리작업					
-조류인플루엔자 바이러스특성 조사					
○조류인플루엔자의 야생동물에 대한 수리모델정립 및 출현예 측기법 개발				25%	
-조류인플루엔자의 수리모델					
-군집과 조류인플루엔자 상관 성추적					
주요 연구 결과	감염메카 니즘규명	인플루엔 자바이러 스분리	감염수리 모델정립		

## 나. 향후 추진계획

### 1) 국내외 학술지개제(국내논문 2편, 국제학술지 4편 추후 개제예정)

2008년도

모인필 외. 논문발표(SCI급 1편) 2008년 6월 발간예정

이상돈 외. 논문발표(국내 학술등재(후)보지) 개제 예정

2009년도

왕수균 외. 논문발표(SCI 급 1편) 2009년 12월 발간예정

이상돈 외. 논문발표(SCI급 1편) 2009년 12월 발간예정

이상돈 외. 논문발표(국내 학술논문) 2009년 12월까지 개제 예정

2010년도

이상돈 외. 논문발표(SCI급 1편) 2010년 12월까지 발간예정

이상돈 외. 논문발표(국내 학술논문) 2009년 12월까지 개제 예정

### 2) 바이러스 병원성 실험

분리바이러스의 병원성 실험: 2008년 3월 이전

분리바이러스의 SUBTYPING: 2007년 12월 이전

### 3) 수리학적모델의 실용화를 위한 시험분석방안

질병의 발생 및 확산에 관한 사례 분석 자료가 극히 부족한 현 시점에서 수리모델의 실용화를 논하는 것은 어려운 일입니다. 따라서 지난 최종보고회 전후에 말씀드린 바와 같이 본 모델의 적용은 단순히 추세 분석을 위한 기초자료와 향후 조사의 방향성 제시를 위해서만 적용될 수 있다고 판단됩니다. 하지만 연구결과를 바탕으로 수립한 모델에 대한 모의실험결과를 국제학술지(SCI급)에 투고하여 본 연구결과에서 도출한 야생조류에 의한 가금인플루엔자의 바이러스 감염에 대한 메카니즘을 수리학적 모델로 규명할 예정입니다.





## 제 5 장 연구개발결과의 활용계획

### 제 1세부 : 야생동물에 의한 조류인플루엔자의 발생메카니즘 규명

#### 1) 겨울철새인 야생동물의 밀도조사를 수행

야생동물에 의한 조류인플루엔자 이동메카니즘을 파악하기 위하여 겨울철새인 오리류 중 개체수가 백만마리 이상인 종(청둥오리, 고방오리, 가창오리 등)에 대해 분변 및 족흔조사를 겨울철에 실시한다. 본 연구조사결과 모든 겨울철새 종에 대한 파악에 어려운 점이 발생하여, 청둥오리, 고방오리 등에 대한 개체밀도 및 군집변이를 파악하였다. 이를 통해 발생이 가능한 조류인플루엔자에 대한 야생동물내의 발생현황을 파악하였다(Lee 외 1985). 청둥오리는 여름철에 북쪽(시베리아 및 중국내륙 습지지역)의 습지지역에 번식을 하며 겨울철에 우리나라에 남하하게 된다. 우리나라에 현재 많은 철새도래지에 과밀화된 야생동물로 인해 스트레스가 상당히 높게 나타난다. 따라서 이들 지역에 대한 야생동물 밀도조사를 수행하여 매년 개체군에 대한 모니터링을 실시하였다. 야생동물에 겨울철새인 오리류 뿐만 아니라 텃새인 까치, 멧비둘기 등을 포함한다. 또한 조류에 대한 포획을 실시하여 바이러스에 대한 출현확률을 높인다.

#### 2) 야생동물의 배설물 및 흔적조사를 실시하고 바이러스 분석

야생동물에 의한 바이러스 전염은 배설물-호흡기를 통해 이동한다. 바이러스는 전염성이 매우 강하므로 다른 야생동물과의 접촉에 의해 빠른 속도로 번져간다. 따라서 본 조사는 야생동물의 배설물을 수거하여 바이러스를 규명한다. 바이러스는 변하는 속도가 매우 빠르므로 기본 바이러스에 대한 모형을 수립하고 이들로부터 변종이 나타나는 과정을 역으로 추적한다. 제3세부과제와 연결하여 이들의 감염경로를 파악하고 이를 수리학적모델로 도출하였다.

#### 3) 야생동물에 의한 조류인플루엔자 발생기작을 파악

바이러스 감염경로는 아직 명확하게 파악되지 않고 있으나 야생동물이 집단으로 서식하는 지역에 가금류와 접촉이 이루어지면 바이러스가 발생하게 된다. 따라서 본 연구는 야생동물과 가금류가 집단으로 서식하는 지역에 대한

현지조사를 실시하고 이를 통해 바이러스의 감염경로를 파악하였다. 채취된 샘플은 제2세부과제와 연결하여 발생된 야생동물로부터 조류인플루엔자를 파악하고 이에 대한 분리를 시도하였다.

#### 4) 야생동물로 인한 조류인플루엔자 이동경로 파악

바이러스는 매우 변화가 빠르게 나타난다. 우리나라에 전염되는 바이러스는 현재 홍콩에서 발견된 H5N1 바이러스일 가능성이 매우 높다. 하지만 이에 대한 이동경로는 잘 나타나지 않은 바 바이러스에 대한 역학조사를 지속적으로 수행하고 감염경로를 밝혀내어 향후 가금류 농가에 일어나는 피해를 미리 예측하고 감염경로에 대한 저감방안을 수립하였다. 현재까지 야생동물에 의한 바이러스의 감염경로가 명확하게 드러나지 않았으나 개체군의 이동에 대한 연구를 수행하고 겨울철 야생동물의 밀도조사를 파악하였다.

#### 5) 겨울철새의 분변을 통한 이동경로 파악

기러기류 분변을 통해 얻어진 DNA를 이용하여 PCR 하여 sequencing 확인 결과, 총 29개의 쇠기러기(*Anser albifrons*) 유전샘플을 얻을 수 있었다. 21개 DNA 샘플은 석문방조제에서 수집한 샘플이며, 8개 샘플은 주남저수지에서 얻은 샘플에서 획득하였다. 처음 8 well은 first PCR만 진행했을 때 gel image이며, 뒤의 8 well은 nested PCR까지 진행한 gel image이다.

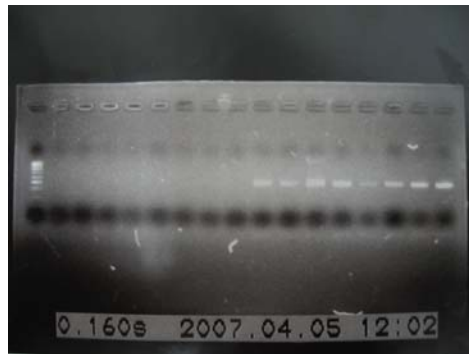


그림 72. PCR 증폭 사진

제2세부 : 국내 철새도래지 서식 야생조류에 의한 조류인플루엔자바이러스의 역학적 특성규명

1) 우리나라 철새도래지에 이동하는 야생조류에서 조류 인플루엔자 바이러스 분리

국내 철새도래지에서 수집한 철새분변을 철새별, 계절별, 지역별로 분류하여 조류인플루엔자 바이러스를 국제수역 사무국에서 규정한 방법을 사용하여 분리하였다. 즉, 분변을 중합효소반응을 이용하여 조류인플루엔자 바이러스의 존재를 확인한 후 9-11일된 SPF 닭에 접종하여 바이러스의 증식을 확인한다. 분리된 인플루엔자 바이러스는 HI(Hemmagglutination inhibition test) 및 NI(Neuraminidase inhibition test) 검사를 이용하여 HA 및 NA형을 분류하여 동정하였다(Mo 등 1997).

2) 분리된 야생조류 유래 조류인플루엔자 바이러스의 생물학적 및 유전학적 특성조사

분리 동정된 조류인플루엔자 바이러스를 유형별로 분류하여 대표적인 바이러스에 대한 생물학적 및 유전학적 특성조사를 1) 계태아 세포 (CEF) 배양시 세포변성 효과 (CPE) 형성능 2) 10일령 계태아에 대한 병원성 3) 4주령 SPF 닭에 대한 병원성 변화 4) 4주령 SPF 닭 접종후 체내 바이러스 침투능을 기본으로 하여 수행한 후 HA의 cleavage site 등의 염기서열을 분석하여 유전학적 특성을 분류하였다(Alexander, 1982).

3) 분리된 야생조류 유래 조류인플루엔자 바이러스의 가금에서의 병원성 조사 및 역학적 특성조사

생물학적 및 유전학적 특성조사가 종료된 조류인플루엔자 바이러스를 국내에서 주로 사육하고 있는 닭과 오리에서의 병원성조사를 실시하였다. 닭은 4주령 된 SPF 닭을 이용하며 오리는 사전 혈청검사를 하여 인플루엔자에 대한 항체가 없는 개체를 선택하여 사용하였다. 병원성 조사는 국제수역사무국의 기본 병원성 기준인 폐사율과 장기내에서의 항원분포를 중점으로 실시하였다. 이를 통하여 분리된 바이러스의 국내 가금산업에서의 잠재적 위험성을 평가하여 향후 예방대책에 대한 기초자료를 제공하였다.

○ 본 연구는 계절별, 지역별로 AI 바이러스의 분리가 확인되었으며 특히 내륙하천에서의 AI 바이러스 및 ND 바이러스의 분리는 현재까지 연구결과를 토대

로 이에 대한 정보를 방역당국에 제공하였으며, 좀더 연구가 확대되면 방역대책 수립에 기여할 수 있을 것으로 판단된다.

- 본 연구를 통해서 분리된 AI 바이러스에 대한 집중적인 분석이 추후에도 지속적으로 수행될 필요가 있는 실정이다. 이에 대한 연구는 본 과제가 종료된 시점에 결과로서 보고하고 방역당국에 결과물을 제출할 예정이다.

**제 3세부 : 조류인플루엔자 군집과 발생기작의 수리학적 모델 규명**

- 1) 겨울철새인 야생동물의 군집에 따른 밀도조사 수행하였으며, 질병에 감염된 개체를 보유하는 한 개체군에 대한 수리학적 모델을 개발하고 이를 통해 질병의 전이에 대한 환경제한요인과 개체간 질병의 전파 등 각 개체군 내부의 밀도 변화에 영향을 미치는 요소를 알아내었다. 이러한 개체군 내부에 질병에 감염된 개체가 발생하게 되면 총 개체군은 질병의 감염정도에 따라 식 (1)과 같이 분류될 수 있었다.

$$N = X + I + Y \quad (1)$$

여기서  $X$  는 미감염 개체군의 단위면적당 밀도,  $I$  는 감염되었으나 아직 전염성을 띠지 않는 개체군의 단위면적당 밀도,  $Y$  는 감염되어 전염성을 나타내는 개체군의 단위면적당 밀도이다. 따라서 질병에 감염된 총 개체군의 밀도의 변화는  $X, I, Y$  세 개체군 각각의 밀도 변화로 나타낼 수 있는데, 이는 환경제한인자와 질병의 영향에 따른 개체의 성장과 사망, 질병의 전이의 함수로 표현될 수 있다(May and Anderson 1979).

- 위의 개체군동태학의 개념을 적용하여 아래의 식과 같이 조류인플루엔자의 질병에 대한 예측과 발생에 대한 추정을 시도해 볼 수 있었다.

$$\frac{dN}{dt} = aX - (b + \gamma N)N - \alpha Y \quad (2)$$

여기서 개체의 총 밀도  $N$  은 질병 뿐만 아니라 자원의 부족으로 인한 환경적 제한요소에 함께 영향을 받는 것으로 정의될 수 있다. 위에서 간단히 설명된 식들은 단일 개체군 내에서의 질병의 확산과 개체 밀도의 변화를 나타내기 위한 수학적 표현이다.

○ 질병이 한 개체군에서 다른 개체군으로 전염되는 현상을 설명하기 위해서는 이상의 식들이 각 개체군 내에서 적용되는 가운데, 감염 개체군의 공간적·시간적인 서식지의 이동 또는 확산으로 인한 접촉 가능 면적의 변화, 타 개체군의 비감염 개체와의 접촉 빈도를 나타내기 위한 식들을 수립하여 각 개체군의 밀도 변화 식들을 연계하였다.

2) 조류인플루엔자발생에 대한 환경용량과악

○ 질병에 감염된 개체를 보유하는 한 개체군,  $N1$  으로부터 다른 개체군,  $N2$  로의 질병의 전이는 환경제한요인과 개체간 질병의 전과 등 각 개체군 내부의 밀도 변화에 영향을 미치는 요소 뿐만 아니라 개체군 간 시간적, 공간적 접촉 정도에 의해 영향을 받게 된다. 이러한 질병의 감염과 전이에 관한 전체 시스템을 모의할 수 있는 수학적 모형의 구성을 위해서는 우선적으로 동일한 성분을 가진 개체군 내에서 질병 감염의 영향으로 인한 개체 밀도의 변화를 동력학적인 일련의 식으로 표현해야 한다. 먼저, 질병에 노출되지 않은 상태에서 시간의 변화에 따른 한 개체군의 밀도 변화는 현재 밀도와 평형상태 밀도의 차이에 비례하여 변화하는 것으로 가정하여 식 (3)과 같이 표현될 수 있다 (Anderson 외 1981).

$$\frac{dN}{dt} = rN \left( 1 - \frac{N}{K} \right) \quad (3)$$

여기서  $N$  은 개체군의 밀도(density),  $K$  은 질병에 노출되지 않은 개체군의 평형상태밀도로 하나의 서식지가 수용할 수 있는 개체의 최대밀도를 나타내며,  $r$  은 개체의 생존 ( $a$  : 개체의 평균생존률)과 사망 ( $b$  : 개체당 자연사망률)을 모두 고려한 ( $a - b$ ) 자연적인 개체성장계수 이다. 식 (3) 우변의  $(1 - N/K)$ 는 현재 밀도와 평형상태 밀도의 차이를 나타내어, 개체의 밀도가 평형상태로 다가갈수록 시간에 따른 밀도의 변화율은 낮아지는 현상을 나타낸다.

3) 조류인플루엔자 발생에 대한 개체군의 조사수행과 밀도에 대한 조류인플루엔자 발생 예측모델 수립

○ 질병이 만연하는 상황에서 총 밀도의 변화가 평형상태에 이루게 되면 개체 밀도의 변화  $dN/dt$ 는 0이 되므로 식 (4)를 정리하면 질병으로 조정된 평형

상태의 개체 밀도  $N^*$  는 식 (4)로 표현할 수 있으며,

$$N^* = \frac{K[(\sigma + a)(\alpha + a) - ar]}{\sigma\beta K - ar} < N \quad (4)$$

질병으로 인한 개체 밀도의 감소도  $d$  는  $1 - N^*/K$  로 나타낼 수 있다.

- 개체군 내의 질병은 재발병률이 1보다 크면 개체군 내에 계속적으로 존재하게 된다. 재발병률은 미감염 개체 밀도가  $K$  인 개체군 내로 유입된 하나의 전염성 개체가 생존하는 동안 전염시키는 개체의 수로서, 개체군에 대하여 재발병률,  $R$ ,

$$R = \frac{\sigma\beta K}{(\sigma + a)(\alpha + a)} \quad (5)$$

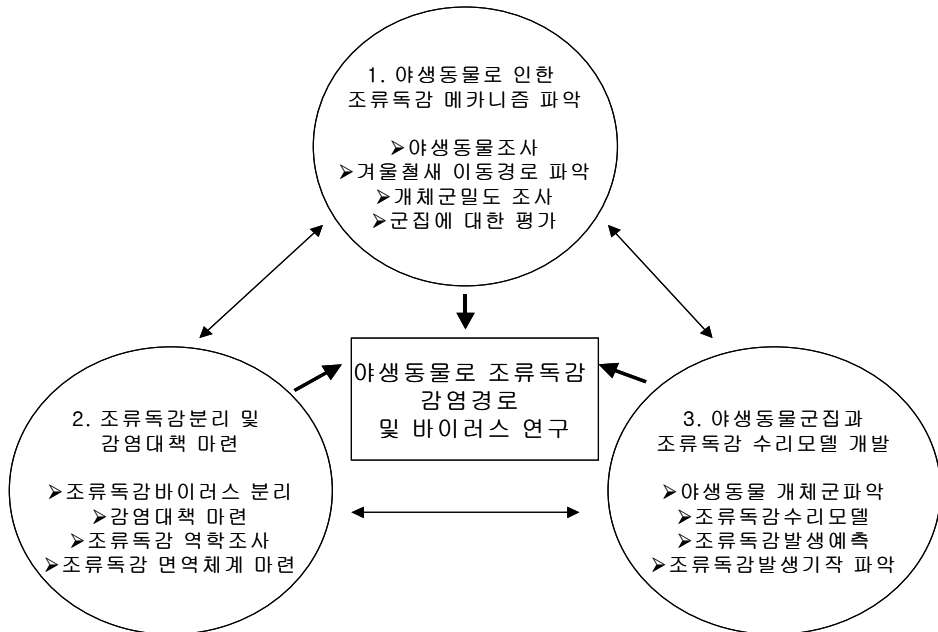
으로 정의될 수 있다. 따라서  $R$  이 1보다 작으면 질병은 시간이 지남에 따라 소멸하여 개체 밀도는 질병에 노출되지 않았던 시기의 밀도로 회귀할 것임을 나타낸다. 따라서 질병을 조절하기 위해서는 백신의 접종으로 질병의 전이를 감소시키거나, 감염된 개체를 선별적으로, 또는 필요시 감염 이전의 개체까지도 도태시키는 방법을 적용할 수 있으며, 식 (5)을 통하여 조류독감 적용 방법의 규모를 이론적으로 제시하였다.

- 이상에서 설명된 식들은 단일 개체군 내에서의 질병의 확산과 개체 밀도의 변화를 나타내기 위한 수학적 표현이었다. 질병이 한 개체군에서 다른 개체군으로 전염되는 현상을 설명하기 위해서는 이상의 식들이 각 개체군 내에서 적용되는 가운데, 감염 개체군의 공간적, 시간적인 서식지의 이동 또는 확산으로 인한 접촉 가능 면적의 변화, 타 개체군의 비감염 개체와의 접촉 빈도를 나타내기 위한 식들을 수립하여 각 개체군의 밀도 변화 식들을 연계하여야 하여야 할 것을 파악하였다.
- 본 과제에서 제안된 모델은 질병의 전파를 표현하기 위한 일반적인 밀도변화 식을 기반으로 조루인플루엔자 확산에 관한 다양한 가설들을 수식화하여 포함하고 있다. 따라서 본 모델의 신뢰성을 제고하기 위해서는 적용된 가설들을 증명하기 위한 다양한 관측자료의 확보가 절실한 실정이다. 이와 함께 정확한 동력학적 계수들을 구하기 위한 다양한 형태의 실험 자료의 축적이 요구되고 있다. 이러한 문제점들이 개선된 이후에는 본 과제에서 제안된 개념적 모델을 보다 실질적인 적용이 가능한 모델로 확대하기 위해서는 공간자료에 관한 테

이터베이스와 연계하고 이를 조류의 이동 특성 예측에 활용할 수 있도록 하는 추가적인 연구가 필요하다. 1차원으로 제시된 공간 분포를 2차원으로 확대하고, 두 개체군의 공간밀도의 중첩도를 질병의 전염률로 연결할 수 있는 실험 또는 관측데이터를 확보·적용함으로써 이중 개체군 간의 질병 전이를 확률적으로 보다 정확하게 예측할 수 있도록 모델을 개선할 필요가 있다.

- 본 과제에서 제안된 개념모델은 통합적인 질병관리 시스템의 개발에 기여할 수 있다. 환경밀도를 고려한 전염성 개체의 시·공간적 밀도 변화 예측이 가능한 본 모델을 조류인플루엔자 예방 및 대응시스템 개발에 적용하여 전염성 질병으로부터 위협받는 가금류의 방역계획 수립에 활용하고, 더 나아가 변종 바이러스의 발현으로 인한 조류인플루엔자의 인간 전염 가능성을 예측하고 이에 대한 방재대책을 수립하는데 활용될 수 있다.
- 또한 본 모델에 적용된 수식들은 질병 등 외부환경과 관련된 다양한 수리생태학적 연구에 활용될 수도 있다. 개체군의 성장에 제한요소로 작용되는 다양한 외부환경을 수학적으로 표현함으로써 개체군의 생존과 적응을 예측하는 모델의 개발에 기본 개념을 제공할 수 있을 것으로 판단된다.
- 본 연구는 야생동물에 의한 조류독감메카니즘을 규명하기 위한 야생동물밀도 조사, 서식지 현지조사, 배설물수거, 출현종에 대한 분류를 실시하고, 이에 대한 조류인플루엔자 분리 및 특성조사를 지역별, 계절별, 철새군집별로 실시하여 조류인플루엔자 바이러스를 분리하고, 국내 지역, 계절, 철새별 유형조사를 완성할 계획이다. 또한 분리바이러스에 대한 특성조사를 실시하여 위험도를 예측하고 이를 바탕으로 국내 가금산업의 예방체계를 마련하여 국내 가금농가에 질병예방 시스템을 마련함으로써 향후 조류독감으로 인해 나타나는 질병의 감염대책을 마련할 예정이다. 또한 질병에 대한 예방경보를 알 수 있는 조류독감발생 수리모델을 개발하여 야생동물종별, 군집별 조류독감 발생기작을 파악하여 향후 발생에 대한 예측시스템을 마련하여 가금농가에 실질적인 도움을 줄 수가 있다.
- 야생동물로 인한 감염경로를 파악하고 이에 대한 대책을 마련하는 데 본 연구는 초점을 둔다. 따라서 본 연구과제를 위해 겨울철새인 조류의 이동경로의 파악, 시료의 분석, 바이러스의 분리 및 특성조사와 관련된 총체적 기술을 확보하여 국가 방역예찰시스템에 제공하고자 한다.

- 국내에 도래하는 철새로부터 다양한 조류인플루엔자 바이러스를 분리함으로써 향후 국제적으로 관심이 많은 유전자원의 확보를 목적으로 한다.
- 분리된 조류 인플루엔자바이러스의 생물학적, 유전학적 특성을 파악함으로써 향후 위급한 상황에 필요한 백신개발에 기본적인 자료를 제공하고자 한다.





## 참고 문헌

김순재 외 8인. 1997. 조류질병학. 선진문화사. 1-371pp.

원병오 (1981) 한국동식물도감 제 25권 동물편 (조류생태). 문교부 pp.1-1126

문화재청 (2005) 천연기념물(야생동물)의 구조, 치료 관리. pp.1-478

Alexander, D.J. Avian influenza recent development. Veterinary Bulletin 1982; 52: 341-359.

Allan, W.H, Lancaste J.E. and Toth B. Newcastle disease vaccines their production and use. Animal Production and Health Series FAO, Rome, Italy 1978; No: 10.

Allwight, D.M., Burger, W.P., Geyer, A and Terbanch. Isolation of an influenza A virus from ostriches(*Struthio camelus*). Avian pathology 1993; 22: 59-65.

Anderson, R.M., H.C. Jackson, R.M. May, and A.M. Smith. Population dynamics of fox rabies in Europe 1981; 289: 765-771

Bahl, A.K. and Pomeroy. Efficacy of avian influenza oil emulsion vaccine in breeder turkeys. Journal of American Medical Association 1977; 171: 1105.

Banks. J.E., Speidel, C., Harris, P.A. and Alexander, D.J. Phylogenetic analysis of influenza A virus of H9 hemagglutinin subtype. Avian Pathology 2000; 29: 353-360.

Barr, P.J. Mammalian Subtilisins The long sought dibasic processing endoproteases Cell 1991; 66(1): 1-3.

- Barr, D.A., A.P.Kelly, R.T. Badman, A.R. Compey and M.D. O'Rourke. Avian influenza on a multi-age chicken farm. *Aust. Vet. J.* 1986; 63: 195-196.
- Beard, C.W. Demonstration of type-specific influenza antibody in mammalian and avian by immunodiffusion. *Bull. WHO* 1970; 42: 779-785.
- Beard, C.W. Avian influenza. In: Isolation and identification of avian pathogens, S.B. Hitchner, C.H. Domermuth, H.G. Purchase and J.E. Williams. American Association of Avian Pathologists, Ithaca. 1975; 174-181.
- Brauer, F. and van den Driessche, P., Models for transmission of disease with immigration of infectives, *Mathematical Biosciences*, 171, 143-154, 2001.
- Breytenbach, J.H. Guidelines for the Administration of Nobilis Influenza H5 Vaccine Part of Avian Influenza Control Strategy 2006.
- Bosch, F.X., Orlich, M., Klenk, H.D. and Rott, R. The structure of the hemagglutinin, a determinant for the pathogenicity of influenza viruses. *Virology* 1979; 95: 197-207.
- Brugh, M., Beard, C.W. and Stone, H.D. Immunization of chickens and turkeys against avian influenza with monovalent and polyvalent oil emulsion vaccines. *Am. J. Vet. Res* 1979; 40: 165-169.
- Cameron, K.R., Gregory, V., Banks, J., Brown, I.H., Alexander, D.J., Hay, A.J. and Lin, Y.P. H9N2 subtype influenza A viruses in poultry in Pakistan are closely related to the H9N2 viruses responsible for human infection in Hong Kong. *Virology* 2002; 278: 36- 41.
- Cappucci, D.T., Jr., Jojinson, D.C., Brugh, M., Smith, T.M., Jackson, C.F., Pearson, J.E. and Senne, D.A. Isolation of Avian influenza virus (subtype H5N2) from chicken eggs during a natural outbreak. *Avian Dis* 1985; 29: 1195-1200.

- Capual, I and Dennis J. Alexander. Avian influenza: recent developments. *Avian Pathology* 2004; 33(4): 393/404.
- Chan, P.K. Outbreak of avian influenza A(H5N1) virus infection in Hong Kong in 1997. *Clin. Infect. Dis* 2002; 34: S58- S64.
- Chen, H., Subbarao, K., Swayne, D., Chen, Q., Lu, X., Katz, J., Cox, N. and Matsuoka, Y. Generation and evaluation of a high- growth reassortant H9N2 Influenza A Virus as a pandemic candidate. *Vaccine* 2003; 21: 1974-1979.
- Choi. Y. K., Heui, B.S., Seoc, Kim J.A., Webbya, R.J. and Robert G. Webster, R.G. Avian influenza viruses in Korean live poultry markets and their pathogenic potential *Virology* 2005; 330: 529- 537.
- Crinion, R. A.P. Egg quality and production following infectious bronchitis virus exposure at one day old. *Poult Sci* 1972; 1: 582-585.
- De, B.K., Shaw, M.W., Rota, P.A., Harmon, M.W., Esposito, J.J., Rott, R., Cox, N.J. and Kendal, A.p. Production against virulent H5 avian influenza in chickens by inactivated vaccine produced with recombination vaccine virus. *Vaccine* 1988; 6: 257-261.
- Desselberger, u., Racaniello, V.R., Zazra, J.J. and Palese, P. The 3'-and 5'-terminal sequences of Influenza A, B and C virus RNA segments are highly conserved and show partial inverted complementarity. *Gene* 1980; 8: 315-328.
- Easterday, B.C., Hinshaw. V.S.and Halvorson. D.A. Influenza. In : *Diseases of Poultry*, 10th ed. B.W. Calnek., H.J. Barnes., C.W. Beard., L.R. Mcdougald. and Y.M. Saif, eds. (Iowa State University Press, Ames, IA)1997: 583-605.
- Fan, M., Li, M.Y. and Wang, K., Global stability of an SEIS epidemic model with recruitment and a varying total population size, *Mathematical*

- Bioscience, 170, 199–208, 2001.
- Fichtner, G. Problem associated with lethal avian influenza eradication, In Proceedings of the 88th Annual Meeting of the United States Health Associated, Richmond, Va 1984: 430–446.
- Fitzgibbon, W.E., Langlais, M. and Morgan, J.J., A mathematical model for indirectly transmitted diseases, *Mathematical Biosciences*, 206, 233–248, 2007.
- Frolich, K, S. Thiede, T. Kozikowski, and W. Jakob. A review of mutual transmission of important infectious diseases between livestock and wildlife in Europe in *The domestic animal/wildlife interface*. 2002; 1–4.
- Garcia, G.J., Rodriguez, V.H., Hernandez, M.A., Ceron, H.M. and Blasco, R.K. Evaluation of inactivated avian influenza vaccines in Mexico: laboratory and field trials. In: *Proc. 45th Western Poultry disease Conference 1995*: 404.
- Guo, Y.J., Krauss, S. and Senne. D.A. Characterization of the pathogenicity of members of the newly established H9N2 influenza virus lineages in Asia. *Virology* 2002; 267: 279–288.
- Halvoson, D.A., Frame, D.D., Friendshuh, A.J. and Shaw, D.P. Outbreaks of low pathogenicity avian influenza in USA. In *proceedings of the 4th International Symposium on avian influenza 1998*: 33–46.
- Henderson, J., Pickering, L., Dietzgin, R., Smith, G., Whittle, p. and Maclean, D. Real-time (TaqMan™)PCR assays to detect two RNA viruses infecting sugarcane. Abstracts of the XIth international Congress of Virology 1999; P.369. VP65. 47.
- Higgins, D.A. Comparative immunology of avian species. In Davison, T.F., Morris, T.R. and Payne, L.N. *Poultry immunology*. Carfax Publishing Co, Abingdon 1996: 149–205.

- Hinshaw, V.S., Nettles, V.E., Schorr, L.F., Wood, J.M. and Webster, R.D. Influenza virus surveillance in waterfowl in Pennsylvania after the H5N2 avian outbreak. *Avian Dis* 1986; 30:207-212.
- Hitchner, S.B. Virus propagation in embryonating eggs. In: Isolation and identification of avian pathogens. Hitchner, S.B.; Domermuth, C.H.; Purchase, H.G. and Williams, J.E. eds. Creative Printing Company, Endwell, N.Y. 1980, 120-121.
- Homme, P.J., Easterday, B.C. and Anderson, D.P. Avian influenza virus infections: II: Experimental epizootiology of influenza A/Turkey/Wisconsin/1966 viruses in turkey. *Avian Dis* 1970; 14: 240-247.
- Horimoto, T., Rivera, E., Pearson, J., Senne, D., Krauss, S., Kawaoka, Y. and Webster, R.G. Origin and molecular changes associated with emergence of a highly pathogenic H5N2 influenza virus in Mexico. *Virology* 1995; 213: 223-230.
- Iwami, S., Takeuchi, Y. and Liu, X., Avian-human influenza epidemic model, *Mathematical Biosciences*, 207, 1-25, 2007.
- Karen, D., Munch, M., Handberg, K.J. and Jorgensen, P.K. 2002 RT-PCR-ELISA as a Tool for Diagnosis of Low-Pathogenicity avian influenza. *Avian disease* 2003; 47: 1075-1078.
- Karunakaran, D., Newman, J.A., Halvorson, D.A. and Abraham, A. Evaluation of inactivated influenza vaccines in market turkeys. *Avian Dis* 1987; 31: 498-503.
- Katz, J.M., Lu, X., Renshaw, M., Tumpey, T.M. and Cox, N.J. Vaccines against avian influenza A H9N2 viruses. *International Congress Series* 2001; 1219: 783-788.
- Kenkre, V.M., Parmenter, R.R., Peixoto, I.D. and Sadasiv, L., A theoretical Framework for the analysis of the West Nile virus Epidemic,

Computers and Mathematics with Applications, 42, 313-324, 2005.

Kilbourne, E.D. The influenza viruses and infection. An introduction. In : E.D. Kilbourne, ed. The influenza viruses and influenza. Academic Press, New York 1975: 1-4.

Krug, R.M. and Lamb. R.A. Orthomyxoviridae: The viruses and their replication. In: Field virology, 4th ed. D.M. Knipe and P.M. Howlet, eds. Lippincott Williams and Wilkins 2001; 46: 1487-1532.

Kida, H., Yanagawa, R. and Matsuoka. Duck influenza lacking evidences of disease signs and immune response. Infect Immun 1980; 30: 547-553.

Koopmans, M., Wilbrink, B., Conyn, M., Natrop, G., van der, N.H., Vennema, H., Meijer, A., van Steenberghe, J., Fouchier, R., Osterhaus, A. and Bosman, A. Transmission of H7N7 avian influenza virus to human beings during a large outbreak in commercial poultry farms in the Netherlands 1. Lancet 2004; 363: 587-593.

Lamb, R.A. Orthomyxoviruses. In : Virology, B.N. Field, ed. (Raven Press, New York) 1990: 1091-1152.

Laudert, E., Sivanandan, V. and Halvorson. Effect of an H5N1 avian influenza virus infection on the immune system of mallard ducks. Avian Dis 1993; 37: 845-853.

Lee C.W., Senne, D.A and Suarez, D.L. Effect of vaccine use in the Evolution of Mexican Lineage H5N2 Avian Influenza Virus J. Virology 2004: 8372-8381.

Lee, S., Chang, P., Shien, M., Cheng, M. and Shieh, H. Identification and subtyping of avian influenza viruses by reverse transcription-PCR. Journal of Virological Method 2001; 97: 13-22.

Lee, S.D., Pence, D.B. and Gaines. *Haemoproteus antigonis* from the

- sandhill crane in western North America. Proc. Helminthological Society 1985; 52:311-312
- Li, K.S., Guan, Y., Wang, J., Smith, G.J.D., Xu, K.M., Duan, L., Rahardjo, A.P., Puthavathana, P., Buranathai, C., Nguyen, T.D., Estoepangestie, A.T., Chaisingh, A., Auewarakul, P., Long, H.T., Hanh, N.T., Webby, R.J., Poon, L.L.M., Chen, H., Shortridge, K.F., Yuen, K.Y., Webster, R.G., Peiris, J.S.M. Genesis of a highly pathogenic and potentially pandemic H5N1 influenza virus in eastern Asia. Nature 2004; 430: 209-213.
- Liu, M., Guan, Y., Peiris, M., He, S., Webby, R.J., Perez, D. and Webster, R.G. (2003) The quest of influenza A viruses for new hosts. Avian Dis 2003; 47(3): 849-856.
- Lu, H., Castro, A.E., Pennick, K., Liu, J., Yang, Q., Dunn, P., Weinstock, D. and Henzler, D. Survival of Avian Influenza Virus H7N2 in SPF chicken and their environments. Avian Disease 2003; 47: 1015-1021.
- Marangon, M., Bortolotti, L., Capua, I., Bettio, M. and Pozza, M.D. Low-Pathogenicity Avian Influenza (LPLA) in Italy (2000-01): Epidemiology and Control. Avian Disease 2003; 47: 1006-1009.
- Martell, M., Gomez, J., Esteban, J.I., Sauleda, S., Quer, J., Cabot, B. and Esteban, J. High-Throughput Real-Time RT-PCR Quantitation of Hepatitis C Virus RNA. J Clin Microbiol 1999; 37: 327-332.
- May, R. and R.M. Anderson. Population biology of infectious diseases: Part II. Nature 1975; 280:455-461
- Mo, I. P. Brugh, M., Fletcher, O.J., Rowland G.N. and Swayne, D.E. Comparative Pathology of Chickens Experimentally Inoculated With Avian Influenza Viruses of Low and High Pathogenicity. Avian Diseases 1996; 41: 125-136.
- Mo, I.P., Song, C.S., Kim, K.S., and Rhee, J.C. An occurrence of nonhighly

- pathogenic avian influenza in Korea. In: Swayne, D., Slemmons, R. (Eds.), Proceedings of the Forth International Symposium on Avian Influenza (United States Animal Health Association). Rose Printing Company, Tallahassee, FL 1997: 379- 383.
- Mohan, R., Saif, Y.M., Erickson, G.A., Gustafson, G.A. and Easterday, D.E. Serologic and epidemiologic evidence of infection in turkey with an agent related to the swine influenza virus. *Avian Dis* 1981; 25:11-16
- Munch, M., Nielsen, L., Handberg, K. and Jorgensen. Deterioration and subtyping (H5 and H7) of avian influenza A virus by reverse transcription PCR and PCR-ELISA. *Arch. Virol* 2001, 146: 87-97.
- Nguyen, D.C., Uyeki, T.M., Jadhao, S., Maines, T., Shaw, M., Matsuoka, Y., Smith, C., Rowe, T., Lu, X., Hall, H., Xu, X., Balish, A., Klimov, A., Timothy T.M., Swayne, D.E., Huynh, L.P., Nghiem, H.K., Nguyen, H.H., Hoang, L.T., Cox, N.J. and Katz, J.M. Isolation and characterization of avian influenza viruses, including highly pathogenic H5N1, from poultry in live bird markets in Hanoi, Vietnam. *J. Virol* 2001; 75:4201-4212.
- Nicholson K.G., Webster, R.G., and Haynes J.H. *Textbook of Influenza*. 1998; 25; 333-345.
- Nili H, and Asasi K. Natural cases and an experimental study of H9N2 avian influenza in commercial broiler chicken of Iran. *Avian pathology* 2002; 31(3); 247-52.
- North, M.O. *Commercial chicken production manual* Third Edition. 1984
- OIE Code Commission. *International animal health code*. Office International des Epizooties 6th, Paris 1992: 1-550.
- Palese, P. and Young, J.F. Variation of influenza A, B, and C viruses. *Science* 1982; 215: 1468-1474.



- Peiris, M., Leung, C.W., Chan, K.H., Ip, P.L., Lai, R.W., Orr, W.K., and Shortridge, K.F. Human infection with influenza H9N2. *Lancet* 1999; 354: 916-917.
- Peiris, J.S., Yu, W.C., Leung, C.W., Cheung, C.Y., Ng, W.F., Nicholls, J.M., Ng, T.K., Chan, K.H., Lai, S.T., Lim, W.L., Yuen, K.Y., Guan, Y. Re-emergence of fatal human influenza A subtype H5N1 disease 2. *Lancet* 2004; 363: 617-619.
- Perdue, M. L., Garcia, M., Beck, J., Brugh, M. and Swayne, D. Arg-Lys insertion at the hemagglutinin cleavage site of an H5N2 avian influenza isolate. *Virus Genes An 11420 Leetal J. Virol* 1996; 12: 77-84.
- Perkin, L.E. and Swayne, D.E. Pathobiology of A/Chicken/Hong Kong/220/97 (H5N1) avian influenza virus in seven gallinaceous species. *Vet Pathol* 2001; 38: 149-164.
- Qui, M., Fang, F., Chen, Y., Wang, H., Chen, Q., Chang, H., Wang, F., Wang, H., Zhang, H. and Chen, Z Protection against avian influenza H9N2 virus challenge by immunization with hemagglutination or neuraminidase expressing DNA in BALB/c mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 19: 343(4): 124-31.
- Reluga, T.C., Medlock, J. and Galvani, A.P., A model of spatial epidemic spread when individuals move within overlapping home ranges, 68, 401-416, 2006.
- Roberts, C.A; Dietzgen, R.G; Heelan,L.A; Maclean, D.J. Real-Time RT-PCR rfluorescent detection of tomato spotted Wilt vitus. *Journal of Virological Methods* 2000; 88: 1-8.
- Roberts, M.G. and Kao, R.R., The dynamics of an infectious disease in a population with birth pulses, *Mathematical Biosciences*, 149, 23-36, 1998.

- Ruben, F.L., Akers, I.W., Stanley, E.D. and Jackson, G.G. Protection with split and whole virus vaccines against influenza. *Arch Intern Med* 1973, 132, 568-71.
- Seo, S.H. and Webster R.G. Cross-reactive, cell-mediated immunity and protection of chickens from lethal H5N1 influenza virus infection Hong Kong poultry markets. *J Virol* 2001; 75(6): 2516-25.
- Skeeles, J.K., Beasley, J.N, Blore, P. and Klopp, S. Severe egg production drop in turkey breeders in Southcentral Missouri. *Avi disease* 1981; vol. 25 no. 3.
- Song, D.S., Lee, J.Y., Oh, J.S., Lyoo, K.S., Yoon, K.J., Park, Y.H. and Park, B.K. Isolation of H3N2 swine influenza virus in South Korea. *J. Vet. Diagn. Invest* 2003; 15: 30- 34.
- Slemons, R.D. and Swayne, D.E Replication of a waterfowl origin influenza virus in the kidney and intestine of chickens. *Avian Dis.* 1990; 34:277-284.
- Smyth, J.A., Platten, M.A. and McFerran. A study of the pathogenesis of egg drop syndrome drop in laying hens *Avian pathol* 1988; 17: 653-666.
- Spackman, E., Senne, D.A., Myers, T.J., Bulaga, L.L., Garber, L.P Perdue, M.L., Lohman, K., Daum, L.T. and D. L. Suarez. Development of a real-time reverse transcriptase PCR assay for type A influenza virus and the avian H5 and H7 hemagglutinin subtypes. *J. Clin. Microbiol* 2002; 40: 3256-3260.
- Starick E. A., Orfer, R.O. and Werner. O. Type and Subtype Specific RT-PCR Assays for Avian Influenza A Viruses (AIV) *J. Vet. Med. B* 1999; 47: 295-301.
- Stallknecht, D.E. and Shane, S. M. Host range of avian influenza virus in free-living birds. *Veterinary Research communication* 1988; 12:

125-141.

- Stieneke-G.A., Vey. M., Angliker, H., Shaw. E., Thomas. G., Robert. C., Klenk. H.D. and Garten, W. Influenza virus hemagglutinin with multibasic cleavage site is activated by furin, a subtilisin-like endoprotease. *EMBO J* 1992; 11(7): 2407-2414.
- Stone H. D., Brugh, M. and beard. C.w. Influenza of formulation on the efficacy of experimental oil- emulsion Newcastle disease vaccine. *Avian Dis.* 1983, 27, 688-697. 1983
- Stubbs, E. L Fowl Pest. In Biester H.E. and Schwarte(eds.).L.H. Disease of Poultry, 2nd ed. Iowa State University Press: Ames, IA 1948: 603-614.
- Suarez, D.L. and Schultz, C.S. Immunology of avian influenza virus: A riview . *Dev Comp Immunol* 2000; 24: 269-283.
- Swayne, D.E., Beck, J.R. and Mickle, T.R. Efficacy of recombinant Fowl Pox virus Vaccine in Protecting Chickens Against a Highly Pathogenic Mexican-Origin H5N2 Avian Influenza Virus. *Avian Diseases* 1997; 41: 910-922.
- Tiensin, T., Chaitaweesub, P., Songserm, T., Chaisingh, A., oonsuwan, W., Buranathai, C., Parakamawongsa, T., Premashthira, S., Amonsin, A., Gilbert, M., Nielen, M. and Stegeman, A., Highly pathogenic avian influenza H5N1, Thailand, *Emerging Infect. Dis* 2004; 11: 1664-1672.
- Trani, L.D, Cordioli, P., Falcone, E., Lombardi, G., Moreno, A., Sala, G. and Tollis. M. Standardization of an Inactivated H7N1 influenza virus vaccine and Efficacy against A/Chicken/Italy/1347/99 Highly Pathogenicity Virus Infection. *Avian Disease* 2003; 47: 1042-1046.
- Tam, J.S., Influenza A (H5N1) in Hong Kong: an overview. *Vaccine* 2002; 20 (Suppl. 2): S77- S81.

- Tumpey, T.M., Suarez., D.L., Perkins., L.E., Senne, D.A., Lee. Y.J., Mo, I.P., Sung.H.W. and Swayne. D.E. Evaluation of a high- pathogenicity H5N1 avian influenza A virus isolated from duck meat. *Avian Dis* 2003; 47: 951-955.
- Van Eck, J.H.H., Davelaar, F.G., Van den Heuvel Plesman, T.A.M., Kol, N.V., Kouwenkoven, B. and Guldie,F.A.M. Dropped egg production, Soft shell and shell-less eggs associated with appearance of precipitin to adenovirus in flocks of laying fowl. *Avian Pathology* 1976; 52: 261-272.
- Vieshakul, N., Thanawongnuwech, R., Amonsin, A., Suradhat, S., Payungporn, S., Keawchareon, J., Oraveerakul, K., Wongyanin, P., Plitkul, S., Theamboonlers, A. and Poovorawan, Y., 2004. The genome sequence analysis of H5N1 avian influenza A virus isolated from the outbreak among poultry populations in Thailand. *Virology* 2004; 328: 169-176.
- Villareal-Chavez, C.L. and Flores. A.O. The Mexican avian influenza (H5N2) outbreak. In Swayne, D.E. and Slemons, R.D. *Proceedings of the Fourth International Symposium on Avian Influenza*. United States Animal Health Association, Richmond, Va 1998: 18-22.
- Vindevogel, H. and Duchatel. J.P. Panzootic Newcastle disease virus in pigeons In Alexander, D.J. (ed). *Newcastle disease*. Kluwer Academic Publishers: Boston. MA 1988: 184-196.
- Walker, J.A., Sakaguchi, T., Matsuda, Y., Yoshida, T. and Kawaoka, Y. Location and character of the cellular enzyme that cleavage the hemagglutinin of a virulent avian influenza virus. *Virology* 1991; 190(1): 278-287.
- Webster, R.D., Bean, W.J., Gorman, O.T., Chambers, Y.M. and Kawaoka, Y. Evolution and Ecology of influenza A virus. *Microbio Reviews* Mar 1992: 152-179.

- WHO, Global influenza program surveillance network. Evolution of H5N1 avian influenza viruses in Asia. *Emerging Infect. Dis* 2005; 11: 1515-1521.
- Winfried G.J. Degen A., Jacqueline, S.B., Bartjan, S.A., Elizabeth, J., Glass. B., Dave, W., Burt, B., Virgil, E.J.C., Schijns A., Molecular Immunophenotyping of lungs and spleens in naive and vaccinated chickens early after pulmonary avian influenza A (H9N2) virus infection *Vaccine* 2006; 24: 6096-6109.
- Williams, J. and Dillard, H. Penetration patterns of *Mycoplasma gallisepticum* and newcastle disease virus through the outer structures of chicken egg. *Avian Dis* 1968, 12, 143-153.
- Wobeser, G.A. Investigation and management of disease in wild animals. Plenum Press. 1997
- Woolcock, M.D., McFarland, M.D., Lai, S. and Chin. R.P. Enhanced recovery of avian influenza virus isolates by a combination of chicken embryo inoculation methods. *Avian Dis* 2001; 45: 1030-1035.
- Xiuhua Lu, Edwards, L.E., Desheva, J.A., Nguyen, D.C., Andrey Rekstin, Iain Stephenson, Kristy Szretter, Cox, N.J., Rudenko, L.G., Alexander, K. and Katz, J.M. Cross-Protective immunity in mice induced by live-attenuated or inactivated vaccines against highly pathogenic influenza A (H5N1) viruses. *vaccine* 2006; 24: 6269: 1-6.
- Zanella, A., Dall'Ara, P. and Martino, P.A. Avian influenza Epidemic in Italy due to subtype H7N1. *Avian Diseases* 2001; 45: 257-261.
- Zhou, J. and Hethcote, H.W., Population size dependent incidence in models for diseases without immunity, *Journal of Mathematical Biology*, 32, 809-834, 1994.