

318068-0

3

보안 과제( ), 일반 과제( O ) / 공개( O ), 비공개( )발간등록번호( O )  
가축질병대응기술개발사업 2021년도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-003462-01

# HPAI 발생농가의 전파 위험성 평가 기술 개발

2021.04.09

주관연구기관 / 서울대학교  
협동연구기관 / 강원대학교

농림축산식품부  
(전문기관)농림식품기술기획평가원

HPAI 발생농가의 전파 위험성 평가 기술 개발

2021

농림식품기술기획평가원  
농림축산식품부

<제출문>

## 제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “HPAI 발생농가의 전파 위험성 평가 기술 개발”(개발기간 : 18. 07. 01 ~ 20. 12. 31.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2021. 04. 09

주관연구기관명 : 서울대학교 산학협력단 (대표자) 김 용 천 (인)



협동연구기관명 : 강원대학교 산학협력단 (대표자) 신 대 용 (인)



주관연구책임자 : 권 혁 준

협동연구책임자 : 김 으 뜸

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

<보고서 요약서>

보고서 요약서

과제고유번호	318068-03	해 당 단 계 연 구 기 간	2018.07.31. ~2020.12.31	단 계 구 분	3차년도/ 2년 6개월
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	가축질병대응기술개발사업			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	HPAI 발생농가의 전파 위험성 평가 기술 개발			
연구책임자	권 혁 준	해당단계 참여연구원 수	총: 14 명 내부: 12 명 외부: 2 명	해당단계 연구개발비	정부:200,000천원 민간: 천원 계:200,000천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 14 명 내부: 12 명 외부: 2 명	총 연구개발비	정부: 천원 민간: 천원 계: 천원
연구기관명 및 소속부서명	서울대학교 산학협력단			참여기업명	
국제공동연구	상대국명:			상대국 연구기관명:	
위탁연구	연구기관명:			연구책임자:	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및 사유	
-------------------------	--

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설 ·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품중	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호											

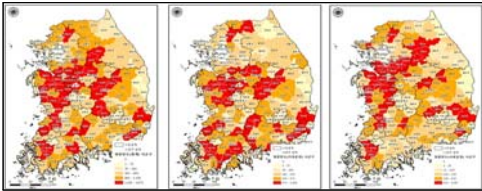
국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

구입기관	연구시설· 장비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호

요약(연구개발성과를 중심으로 개조식으로 작성하되, 500자 이내로 작성합니다)      보고서 면수



<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ HPAI 발병 시 해당농가의 축종, 입지조건, 질병유입경로 등을 종합적으로 검토하여 AI가 다른 농가로 전파될 위험성에 따라 방역대를 설치할 수 있는 평가기준 마련</li> <li>○ HPAI 발생농가의 질병전파 위험성 분석</li> <li>○ 발병농가의 질병 전파 위험도 분석을 위한 평가기준 마련</li> </ul>				
<p>연구개발성과</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ HPAI 발생농가의 질병전파 위험성 분석                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- HPAI 발생 농가의 질병 전파 위험 요인을 선정 및 실험적 위험성 검증.</li> <li>- 다양한 환경에서의 HPAI 및 LPAI의 생존성 분석을 통한 전파 위험성 검증.</li> <li>- HPAI 바이러스의 돌연변이 빈도 조사를 통한 중간 전파 위험성 평가.</li> <li>- 가금 간 수평 전파 관련 위험요인 평가 (가금류 종별 위험성 평가).</li> <li>- 가금의 AIV에 대한 저항성과 면역형성에 중요한 선천성면역 저하(가금티푸스 등) 및 체액성면역부전(감보로 등) 관련 전염병위험성 평가</li> </ul> </li> <li>○ 발병농가의 질병 전파 위험도 분석을 위한 평가기준 마련                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- HPAI의 유입경로, 전파 가능성 등 위험도 평가 지표, 가중치, 평가표 등 개발</li> <li>- 평가 결과에 따른 방역 매뉴얼 개발(방역대 설정, 살처분 범위 설정 등)</li> <li>- HPAI 발생농가 질병 확산 네트워크 구축</li> <li>- HPAI 발생농가와 비발생농가 비교연구</li> <li>- 가금농가 차량이동정보 및 도계장 시각화</li> </ul> </li> </ul> <div style="text-align: center; margin: 10px 0;">  </div> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ SCI급 논문 4건 발표(평균 IF 3.34), 학술발표 4건, 인력양성 1건, 정책활용 2건 특허균주기탁 1건 및 특허 출원 1건.</li> </ul>				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 신규 위험요인 검증을 통한 기존 발생농장 전파위험도에 대한 재평가</li> <li>○ HPAI 확산 네트워크를 활용한 방역사항 도출</li> <li>○ 방역당국과 생산자 상호신뢰 기반의 공동 방역체계 구축</li> </ul>				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>고병원성 조류인플루엔자</p>	<p>전파</p>	<p>사례-대조</p>	<p>평가</p>	<p>시각화</p>
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>HPAI</p>	<p>spread</p>	<p>case-control</p>	<p>evaluation</p>	<p>visualization</p>

※ 국문으로 작성(영문 핵심어 제외)

<본문목차>

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요 .....	9
2. 연구수행 내용 및 결과 .....	17
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도 .....	177
4. 연구결과의 활용 계획 등 .....	179
붙임. 참고 문헌 .....	179

<별첨> 주관연구기관의 자체평가의견서

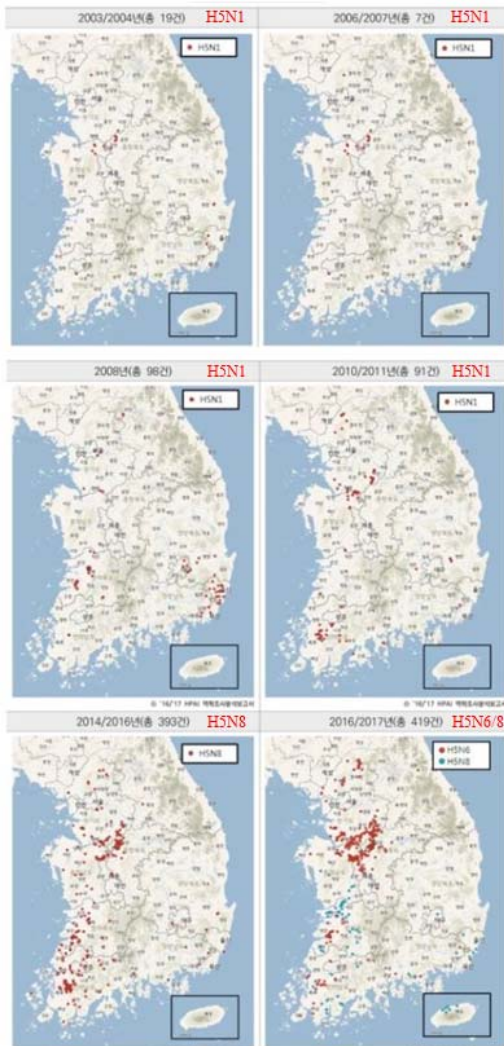
# 1. 연구개발과제의 개요

## 1-1. 연구개발 목적

- HPAI 발생시 해당농가의 축종, 입지조건, 질병유입경로 등을 종합적으로 검토하여 AI가 다른 농가로 전파될 위험성에 따라 방역대를 설치할 수 있는 평가기준 마련

## 1-2. 연구개발의 필요성

- 국내 발생 HPAI는 7차례 발생하였으며 7차 발생 사례를 제외(위험지역 오리농가 휴지기 실시) 하고, 발생건수가 증가하는 추세임. 1-4차 발생은 H5N1 아형 바이러스가 원인이었고, 5차는 H5N8, 6차는 H5N6와 H5N8, 7차는 H5N6 아형 바이러스가 원인이었음.



- 국내 HPAI 원인 바이러스의 병원성에는 차이가 있는데 1차발생의 원인이었던 H5N1 바이러스의 닭에 대한 반수치사역가는  $10^{2.00-2.50}EID_{50}$ 이지만 5차발생의 원인이었던 H5N8 바이러스는  $10^{5.30}EID_{50}$ 로 동일한 H5형 바이러스라도 닭에 대한 병원성에 차이가 있어 질병 양상과 전파 양상에 차이를 보이므로 바이러스 특성을 조기에 파악하는 것이 발생농가의 전파위험도를 낮추고, 효과적인 방역대책을 세우는데 중요함.

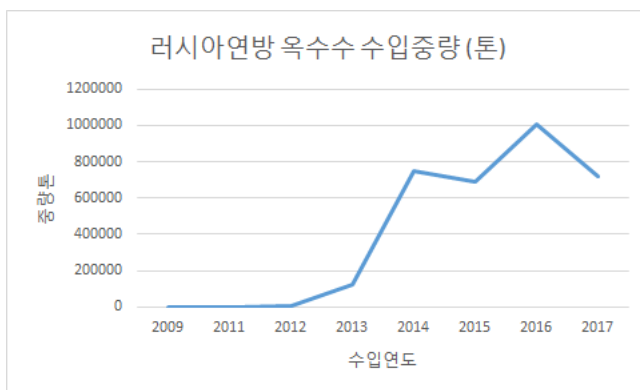
- 최근 유행하고 있는 H5Nx(H5N6, H5N8) 바이러스들은 cloaca 시료보다는 oropharynx 시료에 더 높은 농도로 분비되는 것으로 알려져 있어 진단 및 전파위험도 평가에 반영해야함.
- 축종별로는 1-3차, 6차 발생에서는 닭에서의 발생이 상대적으로 많았으나 4차와 5차 발생에서는 오리농장에서의 발생 빈도가 월등히 높았음.

축종	1차발생	2차발생	3차발생	4차발생	5차발생	6차발생
닭	10	4	79	34	84	197
오리	9	2	18	54	290	136

- 종계와 산란계 농장의 경우 계사 구조가 현대화 되어있고, 방역 수준이 다른 가금농장 대비 수월한 것으로 평가되나 사육기간이 길어 다량의 사료를 급이 해야 하므로 대부분의 농장에서 낱옥수수를 분쇄하여 첨가한 mash 사료를 공급하고 있음. 따라서 옥수수 원료를 통한 바이러스 유입의 가능성이 상존하므로 원산지과 유통과정의 철저한 관리가 중요함. 특히, 러시아와 유럽(우크라이나) 산 옥수수의 경우 벌크선 운송기간 동안 바이러스 생존 가능하므로 주의가 필요하며 HPAI 발생 기간 동안 국내에 러시아 및 우크라이나 산 옥수수 수입 실적이 있음. 따라서 이러한 옥수수 원료가 어느 축종의 어떤 사료에 사용되었는지 추적조사와 현재와 미래에 수입되는 옥수수 원료에 대한 유통 경로 추적이 필요함.



군산항 5부두가 해를 지어 물러다니는 비둘기 때문에 골치를 앓고 있다.



- 오리와 육계의 경우 열처리한 펠릿 사료를 급이하고 있으나 평사 사육을 위한 깔짚으로 왕겨가 외부로부터 다량 공급되어야 하며 낙곡 혼입으로 참새, 쥐 등의 농장 출입의 주요 원인이 되므

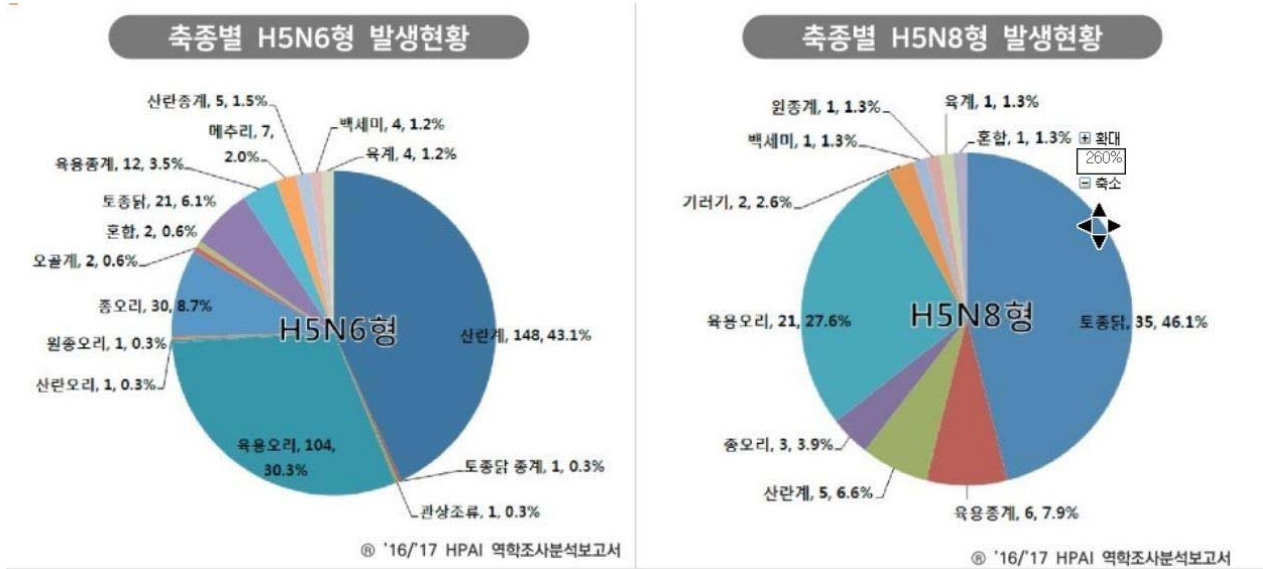
로 바이러스 유입 위험성을 높임. 왕겨는 주로 벼 수확 후 햅쌀수요가 급증하는 가을과 초겨울 사이 대량 생산되므로 건조 및 유통과정에서 겨울철새, 텃새, 쥐 등의 분변 노출이 되지 않도록 철저한 관리가 필요하며 유통과정 및 품질 평가를 위한 방안을 마련해야 함(국내 오리농장 깔짚 왕겨에 혼입된 조수분변).



국내 미곡처리장 분포

- 국내 육계 농장의 경우 오리 농장대비 방역 수준이 나은 것으로 평가되나 왕겨를 깔짚으로 사용한다는 공통점이 있으므로 발생 빈도가 낮지 않을 것으로 예상되나 2016/2017 HPAI 역학조사보고서에 따르면 H5N6 바이러스의 경우 전체 발생사례의 1.2%, H5N8 바이러스의 경우 전체 발생사례의 1.3%를 차지하여 육용오리의 30.3%, 27.6% 대비 매우 낮은 빈도를 보여 또 다른 위험요인(오리농장의 철새도래지 인근 분포 등 원인 이외)이 존재하는 것으로 판단됨.





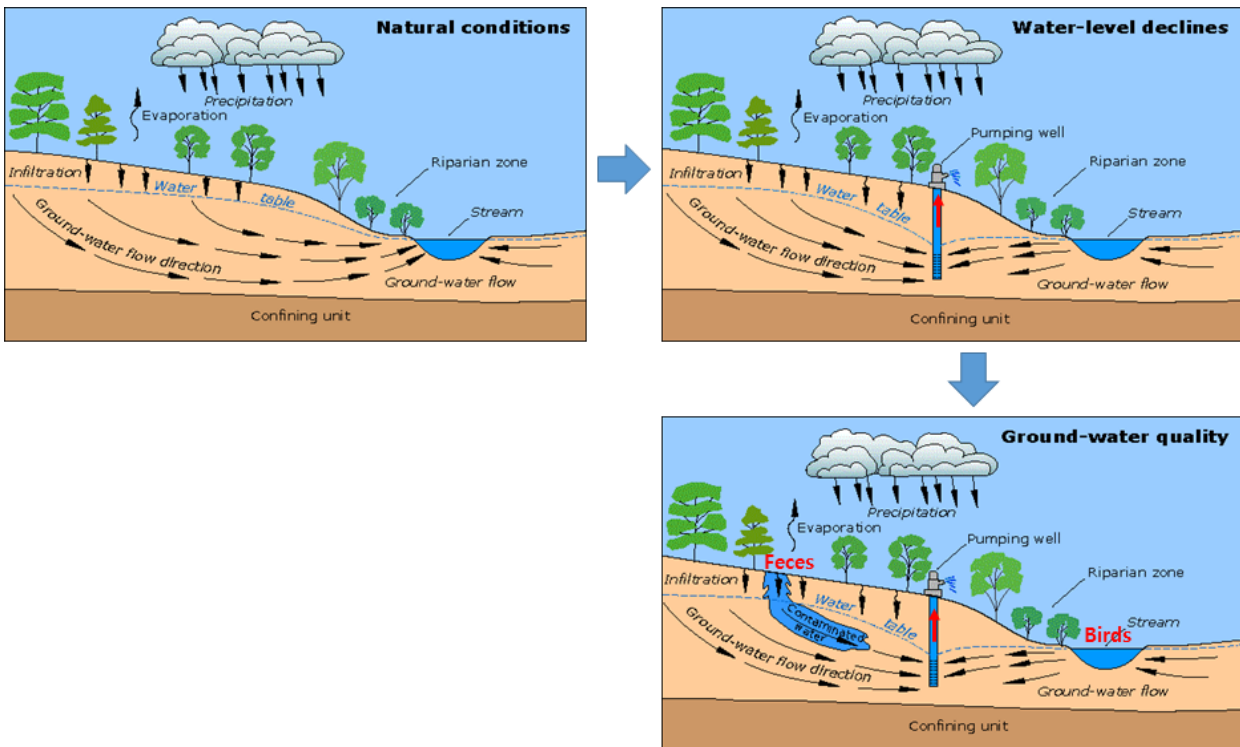
- 오리는 닭에 비해 10배 이상의 음수를 섭취하는데 대부분 농장의 경우 관정을 통해 지하수를 음수로 사용하고 있음. 지하수는 경수이므로 소독제 효능을 방해하며 실제로 대부분의 농장에서 소독제 처리를 하지 않고 있음. 특히 철새도래지역 인근 오리농장의 경우 철새 분변이 지하수에 오염되는 경우 음수를 통해 부지불식간에 농장으로 유입될 수 있는 위험성이 있으나 이에 대한 평가가 제대로 이루어지지 않았으므로 중요 위험요인으로 편입하여 위험도 평가를 실시해야 함.



- 2016-2017년의 6차 발생은 전국동시 다발적 발생을 특징으로 하는데 2016년 11월 16일에 전남 해남과 충북 음성에서 발생하였고, 11월 19일에 경기 양주, 11월 21일에 전북 김제에서 발생함. 2016년 11월은 예년에 비해 강수량이 많았고, 기온도 높았던 것으로 기상청에서 보고하고 있음. 상당수 오리농장의 관정은 비가 오지 않는 경우 물이 나오지 않아 강수 후 펌프를 통해 퍼 올린 물을 탱크에 저장하여 공급하고 있음. 따라서 겨울 철새가 배설한 지표면의 분변이 지하수에 오염될 확률은 강수량이 많은 경우 증가할 수 있음. 그러나 반대로 강수량이 줄어드는 경우 오염 농도는 증가하게 됨 (11월 발생 시작하여 12월 급증하는 발생 양상; 11월 오리농장

발생 상대빈도 높음). 특히, 겨울 철새들이 북상하는 시기 역학적으로 관련 없는 농장에서 간헐적으로 발생한 사례들(특히 농장 비발생 지역인 경북에서 발생하는 사례 등)에 대해 발생 시점 이전 강수 유무 확인이 필요함(올해의 경우 강수 후 발생). 따라서 지하수 수질 조사, 지하수 내 다양한 조건에서 바이러스 생존성 검사가 필요하며 상습 발생지역의 지하수 성분 유사성 조사(분원성 세균수, 질산성 질소 등)와 기후조건에 따른 HPAI 발생과의 관련성 연구가 필요함.

- 지하수 흐름과 양수의 영향: 지하수를 퍼 올리는 경우 지하수 뿐 아니라 하천수도 지하수와 합쳐져서 올라오게 되며 지표면 및 하천 오염원도 퍼올린 물에 혼입되게 됨. 그러나 이러한 연구 결과에도 불구하고, HPAI 발생과 지하수와의 관련성 연구는 활발하지 않은 상황임.



- 호주 인플루엔자 바이러스 감염 역학 조사에서 500m 이내 존재하는 water body가 주요 위험요인으로 분석되었으며 이는 다른 국가들의 역학조사 결과에서 공통적인 주요 위험요인으로 제시되고 있음.

- 2014년 12월 19일부터 2015년 6월 17일까지 미국에서 발생한 H5Nx 바이러스에 의한 HPAI는 초유의 상황이었으며 역학조사 결과 발생한 산란계 농장 사례들의 경우 case control study 결과 농장단위의 위험요인들로는 방역대의 control zone에 위치, 농장 쓰레기 처리 및 렌더링 차량이 계사 가까이 위치, 방문객 의복 교체 후 출입 여부, 지난 14일 내 계열화 직원 방문 여부 등이 중요한 것으로 보고되었고, 계사단위에서는 세척/소독된 출입패드 계사 반입, 폐사계 근거리 처리(9.3m이내), 환기구 타입이 중요한 것으로 보고됨. 또한, 감염 산란계 농장 공기포집 시료에서 계사 내 78%, 계사 밖 5m 24%, 계사 밖 70-150m 4%에서 양성을 보였으나 500-1,000m에서는 음성을 보여 가까운 거리가 아닌 경우 바이러스 직접 전파의 가능성은 매우

낮았음(2015 국제수의역학 워크숍).

- 인플루엔자 A형 바이러스의 돌연변이 빈도에 대한 조사가 충분히 조사되어 보고되었으나 닭 및 오리 감염 후 돌연변이 빈도에 대한 연구는 부족한 상황임. 그러나 HPAIV 감염 후 구강이나 분변 배출 바이러스 역가 비교 연구, 오리의 세포 수준에서의 바이러스 저항 기전과 관련 숙주 유전자가 규명되어 보고되었음.

농림축산  
식품부

**정부 3.0**

**국민행복**

영양예보로의 전환을 통한 기상재해 리스크 경감

보도자료

Press Release

광주지방기상청

백문일시 2016. 11. 23.(수) 10:00 (총 14대)

보도시점 **즉 시**

담당부서 기후서비스과

담당자 과장 남효원  
사무관 우중택

전화번호 062-720-0669

**3개월 전망(2016년 12월~2017년 2월)**

[기온] 대체로 평년과 비슷하거나 다소 낮은 기온 분포를 보이겠음  
기온 변화가 크겠으며, 찬 대륙고기압이 확장하면서 기온이 큰 폭으로 떨어질 때가 있겠음  
[강수량] 평년과 비슷하거나 적겠으며, 맑고 건조한 날이 많겠음

**I. 가을철 기상특성**

**1. 기온과 강수량(2016.9.1~11.20)**

- 가을철 평균기온은 17.9°C로 평년(16.9°C)보다 1.0°C 높았음.
- 9월, 10월, 11월 평균기온은 22.6°C, 17.4°C, 11.5°C로 평년(9월: 21.8°C, 10월: 16.1°C, 11월: 10.7°C)보다 0.8°C, 1.3°C, 0.8°C 높았음.
- 가을철 강수량은 514.5mm로 평년(242.7mm)대비 213%였음.
- 9월 강수량은 250.5mm로 평년(166.9mm)보다 많았고, 10월에는 195.0mm로 평년(47.2mm)보다 많았으며, 11월에도 69.1mm로 평년(30.1mm)보다 많았음.

평균기온 편차: **+1.0°C**

강수량 평년비: **213%**

[그림 1] (왼쪽) 가을철 평균기온 편차와 강수량 평년비 분포. (오른쪽) 일평균기온 편차와 일강수량 시계열(2016.9.1~11.20)



- 오리의 경우 HPAI 바이러스에 대한 항병성이 높은 것으로 알려져 있으나 오리농장마다 폐사율의 차이를 보여 사육 환경 및 오리의 건강 상태에 폐사율이 영향을 받는 것으로 보임. 오리의 HPAI 바이러스 저항성 관련 유전자들이 알려져 있으나 특히 혈액 중에 존재하는 비항체 혈구 응집억제단백질이 중요한 것으로 판단되며 이 단백질이 주로 간장에서 만들어지므로 간기능과 오리 폐사율과의 상관관계가 있을 수 있음. 육계/산란계 품종과 토종닭은 H5N8 바이러스에 대한 감수성의 차이를 보여 토종닭의 반수치사역가가 더 높아 항병성이 있는 것으로 알려져 있고, 토종닭에서도 오리와 유사한 비항체 혈구응집억제단백질이 존재함. 따라서, **가금의 품종, 사양관리수준, 가금의 건강상태에 따라 바이러스의 농장 유입 시점부터 감염의심 시점까지 기간이 달라지고, 그 기간 동안의 바이러스 분비량에 차이를 보이므로 발생농가의 전파위험도 평가에 가금 품종, 사양관리수준, 가금의 건강상태를 종합적으로 평가해야함.**

- '16/17 HPAI 발생농장 주변의 농장에 대한 검사 후 양성인 농장에 대해 예방적 살처분을 실시함. 즉, 감염 신고 농장 주변에 이미 감염 농장이 존재하고 있었으며 이는 이상 상황을 인지하



였으나 최초 신고에 의한 불이익 회피 노력 때문 이었거나 오리농장의 경우 오리 건강상태와 사양관리가 양호하여 폐사 등 이상 상황을 전혀 인지하지 못했을 수도 있음(폐사는 되지 않아도 바이러스는 분비되므로 농가의 전파위험성 증가; 항체 양성인 농가도 다수 확인되는 상황). 따라서 닭 농장의 경우 폐사한 닭의 수를 파악하여 바이러스의 농장 유입 시점을 추정하고, 오리농장의 경우 항체 역가 측정을 통해 유입 시점을 추정하여 물류이동 상황을 파악한 후 발생 농가의 전파위험도를 평가해야함.

구분	닭(197)				오리(136)			기타(10)				계
	산란계	토종닭	종계	육계 백세미	육용 오리	종오리	산란 오리	메추리	혼합 사육	기러기	관상 조류	
신고 등 (역학, 병성감정, 예찰)	53	14	9	2	38	20	1	1	2	-	1	141
예방적 살처분	95	10	8	6	66	11	0	6	-	-	-	202
계	148	24	17	8	104	31	1	7	2	-	1	343

- H1N1 및 H2N2 인플루엔자 바이러스의 세포 감염 후 돌연변이 발생율은  $1.9 \times 10^5$  및  $7.9 \times 10^5$  뉴클레오타이드 당 1개인 것으로 알려져 있음(Sanjuan et al., 2010). 따라서 8개 게놈 분절의 전체 뉴클레오타이드가 13,559개인 A/parrot/Guangdong/C99/2005(H5N1) (Jiao et al, 2012) 바이러스는 1회 세포배양에 의해 돌연변이는 거의 나타나지 않아 모든 게놈 서열이 100% 일치할 것으로 예상된다.
- 국내 가금의 경우 HPAI 바이러스에 대한 항체를 가지고 있지 않으므로 면역압력이 없고, 고병원성이므로 단기간 내에 숙주가 폐사하므로 replication cycle 수도 많지 않아 돌연변이 빈도는 높지 않을 것으로 판단되지만 국내 분리 HPAIV를 오리나 닭에 감염시킨 후 게놈 전장 염기서열 분석을 통한 돌연변이 빈도 조사가 이루어지지 않아 실측 데이터가 전무한 실정임.
- 농림축산검역본부의 역학조사보고서의 내용을 살펴보면 2017년 국내 발생 H5N8형 바이러스간 HA 유전자(1,700bp) 상동성은 99.71-99.94%로 1-5개 뉴클레오타이드 차이를 보였고, 이 들 바이러스들은 동일한 바이러스가 원인인 것으로 추정하였음('16/'17년 고병원성 조류인플루엔자 역학조사 분석보고서)]. 이러한 추정은 과학적이며 사실에 가까울 것으로 판단됨. 그러나 실제적 진실을 규명하기 위해서는 농장 별로 분리된 모든 바이러스들의 전체 게놈 전장 서열을 밝혀야 하며 가금의 품종에 따라 감염 바이러스의 돌연변이 발생 빈도를 측정하여 농장 별 바이러스의 직접 관련성 여부를 판단하는 기준으로 삼아야 함.
- 과거에는 발생한 농장에서 문제가 될 수 있는 위험요인들을 조사하는데 그쳤으나 최근에는 코

호트 분석을 이용한 역학연구가 활발하게 이루어졌으며 이를 통해 다양한 농가전파 위험요인들이 발굴되었음. 따라서 새로운 위험요인들이 도출되는 경우 이들을 적용한 코호트 분석 연구가 필요함.

### 1-3. 연구개발 범위

#### ○ 주관연구기관(서울대학교: HPAI 발생농가의 질병전파 위험요인 도출 및 실증)

##### - 기존 HPAI 발생농가의 질병전파 사례 분석을 통해 위험요인 검증 및 도출

###### □ 과거 발생 사례 중 원발농가와 후발농가의 역학적 관련성 검증

- ① 사례 수집 및 분류
- ② 사례 별 위험요인 도출 및 현장 조사
  - 분자역학 데이터 분석
  - 지하수 요인, 기후 요인, 깔짚 요인, 사료원료 요인

##### - 원발농가와 후발농가의 각 질병전파 위험요인 특정 및 위험도 실증 실험

- ① 고병원성 조류인플루엔자 바이러스 가금 계대에 의한 돌연변이 빈도 및 환경 저항성 조사
- ② 고위험 농장 계절별 지하수 수질 검사, 바이러스 생존성 평가 및 소독법 평가
- ③ 가금 간 수평전파 관련 위험요인 평가
- ④ 사료 관련 위험요인 평가

##### - 발병농가의 질병 전파 위험도 분석을 위한 평가기준 마련

###### □ HPAIV의 유입경로, 전파 가능성 등 위험도 평가 지표, 가중치, 평가체계 완성

- ① 유입매개/경로에 따른 전파위험도 평가 지표 및 가중치 설정
- ② 감염 바이러스 특성에 따른 전파위험도 평가 지표 및 가중치 설정
- ③ 숙주 항병성에 따른 전파위험도 평가 지표 선정 및 가중치 설정
- ④ 가금품종 별 물류이동 특성에 따른 전파위험도 평가 지표 및 가중치 설정
- ⑤ 입지/기후요건을 고려한 전파위험도 평가 지표 및 가중치 설정
- ⑥ 상기 모든 지표들을 통합(선후 관계 및 경중에 따라)한 평가 지표 체계 완성

#### ○ 협동연구기관(강원대학교: HPAI 발생농가의 질병전파 위험도 평가)

##### - HPAI 발생농가의 질병전파 위험도 평가 모델 설계

###### □ GIS 기반 통계분석기술을 활용한 위험도평가 모델 설계

- ① 위험도 평가(질병전파 위험성 평가서) 모델 설계
- ② 개발 모델 아키텍처 개발 및 DB 구축 : 위험도 평가 모델에 적용할 연관 데이터 수집 및 정제 가공

##### - HPAI 발생농가의 질병 확산 네트워크 구축을 통한 허브 농가 도출

###### □ HPAI 질병전파 위험도 평가를 위한 확산 네트워크 구축

- ① 과거 HPAI 발생 기반 국내 HPAI 확산 네트워크 구축

② 확산 네트워크 결과 분석을 통한 질병 전파 주요 원인 검증 및 질병 전국적 확산에 기여하는 허브 농가 추정

- HPAI 발생농가 위험성 평가서 개발

① HPAI 확산 네트워크 분석 결과 기반 발생농가 전파 위험성 평가

② 주관연구기관의 실증실험 결과와 확산 네트워크 분석 결과를 종합한 가금농가별 위험성 평가서 개발

- 사례-대조군(case-control) 연구를 통한 발생/전파 위험 추정 및 차량이동정보 시각화

① 사례-대조군 연구를 통한 확산위험 요인분석

② 차량이동정보 시각화 및 도계장 중심의 차량 이동지도 작성

## 2. 연구수행 내용 및 결과

### 2-1. 연구수행 내용

#### 2-1-1. 1차년도

연구개발 목표	연구수행 내용
HPAI발생농가의 질병전파 위험요인 도출 및 실증	기존 HPAI 발생 농가의 질병 전파 사례 분석을 통해 위험 요인 검증 및 도출 -사례 수집 및 분류 -사례 별 위험요인 도출 및 현장 조사
HPAI 발생농가의 질병전파 위험도 평가 모델 개발	HPAI 발생농가의 질병전파 위험도 평가 모델 설계

#### 2-1-2. 2차년도

연구개발 목표	연구수행 내용
HPAI 발생농가의 질병 유입 요인별로 질병전파 위험성 실험실 평가	고병원성 조류인플루엔자 바이러스 가금 계대에 의한 돌연변이 빈도 및 환경 저항성 조사
	고위험 농장 계절별 지하수 수질 검사, 바이러스 생존성 평가 및 소독법 평가
	가금 간 수평전파 관련 위험요인 평가
	사료 관련 위험요인 평가
HPAI 발생농가의 질병전파 위험도 평가	HPAI 발생농가의 질병 확산 네트워크 구축을 통한 허브 농가 도출

#### 2-1-3. 3차년도

연구개발 목표	연구수행 내용
발병 농가의 질병 전파 위험도 분석을 위한 평가기준 마련 및 방역매뉴얼 개선	바이러스 유입 경로별 전파 위험성 평가
	바이러스 특성별 전파 위험성 평가
	농장 내 질병(살모넬라, 감보로 등)에 의한 면역부전 관련 전파 위험성 평가

	방역매뉴얼 개선 (정책 제안서)
HPAI 발생농가 질병전파 위험성 평가서 개발 및 사례-대조군 연구를 통한 발생/전파 위험 추정 및 차량이동정보 시각화	HPAI 발생농가 전파 위험성 평가서 개발 사례-대조군 연구를 통한 발생/전파 위험 추정 및 차량이동정보 시각화

## 2-2. 연구수행 결과

### 2-2-1. 1차년도

#### 주관연구기관(서울대학교: HPAI 발생농가의 질병전파 위험요인 도출 및 실증)

##### 1. 2017년도 H5N6 고병원성 인플루엔자 바이러스의 분자 역학 분석

###### ○ 2017년 발생 H5N6 고병원성 인플루엔자 바이러스 발생 역학

- H5 Goose/Guang-lineage (GsGd) 고병원성 인플루엔자 바이러스가 1996년 중국에서 처음 발생한 이래로 H5 유전자는 단일 돌연변이를 축적해가며 (Antigenic drift) 진화해 왔으며 다양한 조류 인플루엔자 바이러스 유전자와의 유전자 재조합 (Antigenic shift)을 통하여 진화하여 왔음.
- 국내에서는 2016년 겨울, clade 2.3.4.4. group C (clade 2.3.4.4c) 에 속하는 H5N6 고병원성 인플루엔자 바이러스가 발생하여 많은 피해를 입혔음. 특히 다양한 PA와 NS 유전자의 재조합을 통하여 C-1에서 C-5까지 5개 이상으로 구분되는 genotype들이 국내에서 유행하였음 (Lee et al., 2017).
- 2017년 겨울에는 clade 2.3.4.4 group B (clade 2.3.4.4b) 유형의 H5N6 바이러스가 철새를 통하여 국내로 유입되었음. 2016년 유입된 clade 2.3.4.4c 바이러스와는 달리 clade 2.3.4.4b 유래의 H5N8 바이러스와 유전적으로 연관되어 있는 것이 확인되었으며 NA 유전자는 유라시아 H3N6 조류 인플루엔자 바이러스와 연관되어 있는 것이 확인됨 (Lee et al., 2018).

###### ○ 2017년 발생 H5N6 고병원성 인플루엔자 바이러스 특성 분석

- 2017년 11월에 최초 발생한 A/duck/Korea/HD1/2017 (HD1) 바이러스와 A/mallard/Korea/Jeju-H24/2017 (Jeju-H24) 바이러스는 상당한 유전적 유사성을 보였으며 clade 2.3.4.4b H5 바이러스 중 그리스, 일본, 그리고 대만에서 발생한 H5N6 바이러스와 동일한 B3.2.1 genotype의 바이러스임이 확인됨.
- 하지만 그 이후인 2017년 12월부터 발생한 바이러스들은 모두 국내와 네덜란드에서 발견된 clade 2.3.4.4b의 B3.1.1 genotype인 것이 확인되었음 (Lee et al., 2018). 즉 2017년도 H5N6 고병원성 인플루엔자 바이러스 유입시에도 2016년도 겨울과 유사하게 2종류 이상의 genotype이 야생 철새를 통하여 국내에 유입되었음을 추론할 수 있음. 또한 그리스와 네덜란드에서 각각 분리된 H5N6 바이러스들과의 유전자 유사성을 바탕으로 각 유전형은 독립적으로 그들의 breeding site (시베리아 등)에서 바이러스의 유전자 재조합을 통하여 발생하였

으며 이 바이러스들의 철새들의 이동경로를 따라 유럽 또는 아시아로 다양하게 전파되었음을 확인할 수 있음 (Lee et al., 2018).

- 2017년도 발생 H5N6 바이러스는 닭에서는 접촉 4일내에 전수 폐사, 접촉 그룹과 같이 사육한 contact 그룹은 접촉 5일내에 전수 폐사할 정도로 높은 병원성을 지님 (Kim et al., 2018). 오리에서는  $10^7$  EID<sub>50</sub>/ml의 고농도의 바이러스에서도 폐사를 일으키지 않는 것이 확인되었으나 감염된 장기에서는 상대적으로 높은 바이러스 재분리 역가를 나타냄 (Kim et al., 2018). 즉 2017년 겨울 발생한 clade 2.3.4.4b H5N6 바이러스는 2014년 발생한 clade 2.3.4.4b H5N8 바이러스 대비 높은 바이러스 증식성을 지니는 것이 확인됨. Antigenic drift에 의한 돌연변이들 이외에 새롭게 유입된 N6 유전자가 바이러스의 증식성 및 적응에 영향을 미쳤을 것으로 예측됨 (Lee et al., 2018; Lee et al., 2015).

○ 2017년 발생 H5N6 고병원성 인플루엔자 바이러스 유전자 분석을 통한 발생농가 전파 요인 분석

① H5N6 고병원성 바이러스의 지역별, 유전자별 역학 분석

- 2017년 11월에 발생한 clade 2.3.4.4b 3.2.1 바이러스 중, HD1의 경우는 고창 (35°31'N, 126°42'E)의 육용오리 농장에서 발생하였으나 그 이후로 다른 농장으로의 전파는 확인되지 않음. 단지 비슷한 시기에 제주도에서 같은 유전형의 바이러스가 야생철새에서 검출되었음 (Jeju-H24 strain).

표 1. 2017년도 발생 clade 2.3.4.4b 3.1.1 유전형 H5N6 고병원성 인플루엔자 바이러스

Virus Strains	Collection Date	Avian Species	Location	Area
A/duck/Korea/H35/2017	171210	Breeder duck	34°54'N, 126°41'E	Yeongam
A/Anas platyrhynchos/Korea/W612/2017	171213	Mallard	Gyeonggi province	Gyeonggi province
A/Anas platyrhynchos/Korea/W613/2017	171213	Mallard	Gyeonggi province	Gyeonggi province
A/Anas platyrhynchos/Korea/W614/2017	171213	Mallard	Gyeonggi province	Gyeonggi province
A/duck/Korea/H56/2017	171219	Broiler duck	34°50'N, 126°35'E	Yeongam
A/mandarin duck/Korea/H69/2017	171219	Mandarin duck	36°44'N, 127°08'E	Cheonan
A/mandarin duck/Korea/H71/2017	171220	Mandarin duck	36°45'N, 127°06'E	Cheonan
A/duck/Korea/H70/2017	171222	Broiler duck	35°40'N, 126°48'E	Jeongeup
A/Mallard/Korea/K17-1825/2017	171222	Mallard	37°06'56.9"N, 127°25'18.3"E	Anseong
A/Mandarin duck/Korea/K17-1815/2017	171222	Mandarin duck	37°06'56.9"N, 127°25'18.3"E	Anseong
A/Mandarin duck/Korea/K17-1817/2017	171222	Mandarin duck	37°06'56.9"N, 127°25'18.3"E	Anseong
A/Mandarin duck/Korea/K17-1826/2017	171222	Mandarin duck	37°06'56.9"N, 127°25'18.3"E	Anseong
A/Mandarin duck/Korea/K17-1828/2017	171222	Mandarin duck	37°06'56.9"N, 127°25'18.3"E	Anseong
A/Mandarin duck/Korea/K17-1862/2017	171223	Mandarin duck	36°45'12.3"N, 127°07'12.7"E	Cheonan
A/Mandarin duck/Korea/K17-1866/2017	171223	Mandarin duck	36°45'12.3"N, 127°07'12.7"E	Cheonan
A/Mandarin duck/Korea/K17-1869/2017	171223	Mandarin duck	36°45'12.3"N, 127°07'12.7"E	Cheonan
A/Mandarin duck/Korea/K17-1873/2017	171223	Mandarin duck	36°45'12.3"N, 127°07'12.7"E	Cheonan

A/Mandarin duck/Korea/K17-1879/2017	171223	Mandarin duck	36°45'12.3"N, 127°07'12.7"E	Cheonan
A/Mandarin duck/Korea/K17-1881/2017	171223	Mandarin duck	36°45'12.3"N, 127°07'12.7"E	Cheonan
A/Mandarin duck/Korea/K17-1885/2017	171223	Mandarin duck	36°45'12.3"N, 127°07'12.7"E	Cheonan
A/Mandarin duck/Korea/K17-1887/2017	171223	Mandarin duck	36°45'12.3"N, 127°07'12.7"E	Cheonan
A/Mandarin duck/Korea/K17-1889/2017	171223	Mandarin duck	36°45'12.3"N, 127°07'12.7"E	Cheonan
A/Mandarin duck/Korea/K17-1891/2017	171223	Mandarin duck	36°45'12.3"N, 127°07'12.7"E	Cheonan
A/Mandarin duck/Korea/K17-1893/2017	171223	Mandarin duck	36°45'12.3"N, 127°07'12.7"E	Cheonan
A/Mandarin duck/Korea/K17-1894/2017	171223	Mandarin duck	36°45'12.3"N, 127°07'12.7"E	Cheonan
A/Mandarin duck/Korea/K17-1896/2017	171223	Mandarin duck	36°45'12.3"N, 127°07'12.7"E	Cheonan
A/duck/Korea/H80/2017	171226	Breeder duck	34°49'N, 126°40'E	Yeongam
A/duck/Korea/H81/2017	171226	Broiler duck	34°48'N, 127°20'E	Goheung
A/duck/Korea/H103/2017	171227	Broiler duck	34°50'N, 126°35'E	Yeongam
A/duck/Korea/H107/2017	171227	Breeder duck	34°57'N, 126°35'E	Naju
A/mandarin duck/Korea/H119-3/2017	171227	Mandarin duck	36°44'N, 127°07'E	Cheonan
A/Mandarin duck/Korea/K18-3/2018	180118	Mandarin duck	36°45'12.3"N, 127°07'12.7"E	Cheonan

- 국내에서 2017년 겨울 발생한 clade 2.3.4.4b 3.1.1. 유전형의 바이러스는 다음의 표와 같으며 2017년 12월부터 2018년 1월까지 집중 발생하였음. 바이러스의 유전자 차이를 발생 지역별로 구분하여 확인하기 위하여 29개의 바이러스의 PB2, PB1, PA, HA, NP, NA, M, 그리고 NS 유전자를 선형으로 합친 concatenated full genome을 제작하여 분리지역에 따른 바이러스 single nucleotide polymorphism을 분석함. 분리된 바이러스별 polymorphism을 보이는 서열만을 선택적으로 모은 서열을 이용하였으며 Popart 프로그램을 이용한 Median-joining network 분석 방법을 이용하여 유전자를 분석함 (그림 1).

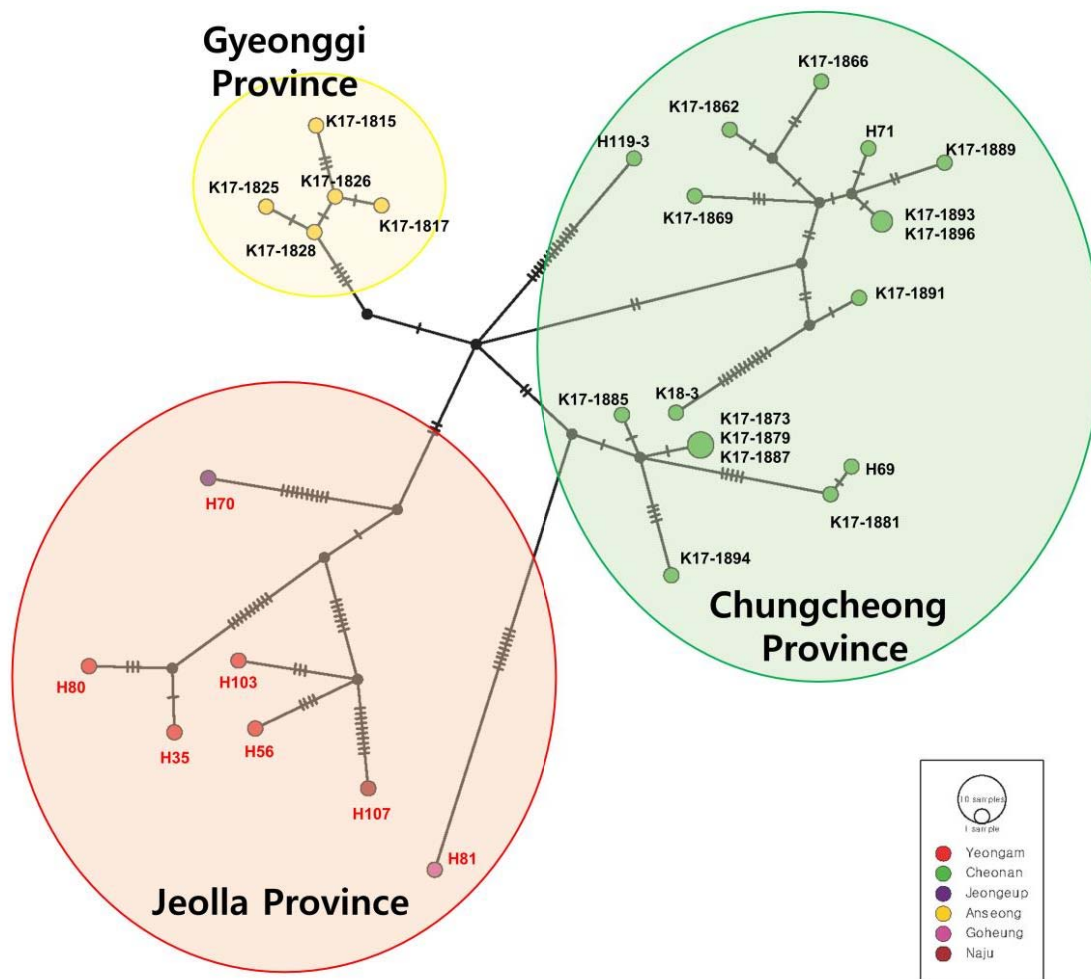


그림 1. H5N6 concatenated 유전자의 Median-joining network 분석.

Clade 2.3.4.4b 3.1.1 유전형의 국내 분리 H5N6 바이러스 유전자의 변이부분을 합친 concatenated genome을 제작하여 median-joining network를 통하여 분석을 진행함. 원의 크기는 동일 바이러스의 개수이며 원의 색깔은 분리지역을 의미함. 빨간색 글씨는 오리 농장에서 분리된 strain임.

- Clade 2.3.4.4b 3.1.1 유전형의 H5N6 바이러스들은 경기도, 충청도 그리고 전라도에 구분되게 발생하는 것을 확인할 수 있었으며 특히 같은 지역에서 분리된 바이러스들은 서로 유전적으로 더 가까운 것을 확인할 수 있었음 (그림 1).
- 경기도의 한 철새도래지에서 2017년 12월 22일 분리된 5개 바이러스는 단일한 클러스터를 형성하는데 이 중 4개(K17-1815, K17-1817, K17-1826, K17-1828)는 Mandarin duck에서 분리되었으며 K17-1825 바이러스는 mallard에서 분리되었음. 단정하기 어렵지만 바이러스의 빈도 상 mandarin duck에 의해 유입된 바이러스 중 K17-1828 류의 바이러스가 mallard에 감염되어 K17-1825 바이러스로 변이된 것으로 추정할 수 있음. 또한 median joining network 분석 결과를 근거로 보면 경기도 지역 클러스터의 경우 K17-1828이 나머지 바이러스들의 최근 ancestor 바이러스이며 같은 종(mandarin duck)이나 다른 종(mallard)의 조류에 1차 감염되는 경우 8개 계승 분절의 전체 코딩 염기서열의 변화는 1개

에 불과하거나 K17-1816처럼 1차감염 이외의 경우에도 변이율이 매우 낮음을 알 수 있음 (표 1, 그림 1). 따라서, 철새의 경우 2017년 당시 유행했던 H5N6 바이러스에 대한 항체를 보유하지 않았을 것으로 추정되며 동종/이종 조류 간 전파 시 유전자 염기서열의 변이율은 높지 않은 것으로 판단됨. 이러한 결과는 철새 유래 H5N6 바이러스가 가금에 1차 감염되는 경우 가금이 항체를 보유하고 있지 않으므로 분리된 바이러스의 유전자 염기서열 변이율은 철새와 비슷한 수준일 것이라는 추정의 근거가 될 수 있음.

- 충청도 지역에서 분리된 바이러스들에서는 크게 3개의 유전형을 확인할 수 있었음. H69 바이러스는 12월 19일에 분리되었지만 다른 날짜에 분리된 K17-1881과 1개의 nucleotide만 차이가 나는 것이 확인되었으며, H71 바이러스는 12월 20일에 분리되었지만 K17-1889, K17-1893, 그리고 K17-1896 바이러스와 2-3개의 nucleotide만 차이가 나는 것을 확인할 수 있었음.
- 종합하면 지역에 따라 구분되는 H5N6 바이러스는 다른 종간의 전파와 다른 채취 날짜에도 불구하고 유전자 염기서열의 변이율이 낮아 가금에 1차 전파되어 분리 되는 바이러스의 유전자 염기서열 변이율도 매우 낮을 것이라는 추정을 재확인 함.

② 2017년 H5N6 고병원성 인플루엔자 발생 농가간 직접 전파 가능성 평가

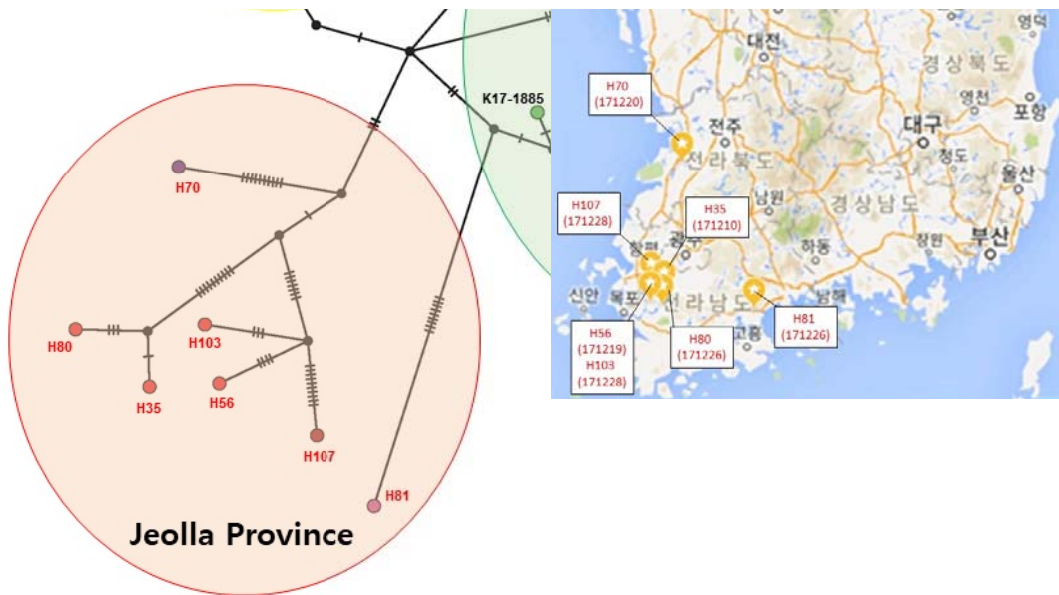


그림 2. 2017년 겨울 고병원성 인플루엔자 발생 농가들간의 발생시기, 지역, 그리고 유전자 차이 비교

- Clade 2.3.4.4b 3.1.1 유전형 중 가장 먼저 12월 10일에 검출된 H35 바이러스는 16일 후에 검출되는 H80 바이러스와 지리적 그리고 유전적으로 유사함 (그림 2). 그렇기에 H80 바이러스의 발생은 H35 바이러스와 직접적인 연관성을 가질 가능성이 있음. 하지만 발생 시기의 차이를 비교하였을 때 H35 발생 농가보단 비슷한 바이러스에 감염된 야생조류 및 다



른 외부의 요인이 원인일 가능성 역시 존재함.

- H35와 H80 바이러스를 제외한 모든 오리 농장 유래의 바이러스는 서로 유전적 차이가 최소 7 nucleotide에서 최대 32개 nucleotide까지 차이가 나는 것을 확인할 수 있음. 특히 고흥의 육용오리 농장에서 분리된 H81 바이러스는 지리적으로나 시기적으로 다른 오리 농장 유래 바이러스와 밀접한 반면, 유전적 차이는 상당히 벌어져 있는 것을 확인할 수 있었음.
- 즉 2017년 전라도 지역의 오리 농장에서 집중적으로 분리된 H5N6 바이러스 유전형의 다양성은 원발농가에서 후발농가로의 직접 전파 방식으로 설명하기에는 변이율이 너무 높음. 따라서, 야생조류가 보유하고 있던 유사하지만 직접 관련성(1차 감염에서 관찰되는 변이율)이 없는 다양한 clade 2.3.4.4b 3.1.1 유전형 바이러스들이 미확인 분변 오염 매개체를 통해 동시다발적으로 농장에 유입되었기 때문인 것으로 추정되므로 관련 추가실험이 필요함.

표 2. H5N6 바이러스들의 Consensus 서열 대비 뉴클레오타이드 차이

Strains	PB2	PB1	PA	HA	NP	NA	MP	NS	Total
A/duck/Korea/H35/2017	6	4	0	3	1	1	0	0	15
A/Anas platyrhynchos/Korea/W612/2017	-	1	1	0	1	1	6	10	20+a
A/Anas platyrhynchos/Korea/W613/2017	-	1	0	0	3	1	6	10	21+a
A/Anas platyrhynchos/Korea/W614/2017	-	1	0	0	2	1	6	10	20+a
A/duck/Korea/H56/2017	2	1	1	4	2	4	0	1	15
A/mandarin duck/Korea/H69/2017	2	1	1	3	0	1	0	1	9
A/mandarin duck/Korea/H71/2017	1	2	1	1	0	1	0	0	6
A/duck/Korea/H70/2017	4	2	2	3	2	0	0	0	13
A/Mallard/Korea/K17-1825/2017	1	2	0	0	1	1	6	4	15
A/Mandarin duck/Korea/K17-1815/2017	2	1	0	1	2	2	6	2	16
A/Mandarin duck/Korea/K17-1817/2017	2	1	0	0	2	1	6	4	16
A/Mandarin duck/Korea/K17-1826/2017	1	1	0	0	2	1	6	4	15
A/Mandarin duck/Korea/K17-1828/2017	1	1	0	0	1	1	4	2	10
A/Mandarin duck/Korea/K17-1862/2017	1	2	1	0	0	1	3	2	10
A/Mandarin duck/Korea/K17-1866/2017	1	2	1	1	0	0	4	2	11
A/Mandarin duck/Korea/K17-1869/2017	1	3	1	0	1	0	3	2	11
A/Mandarin duck/Korea/K17-1873/2017	0	2	0	1	0	0	2	3	8
A/Mandarin duck/Korea/K17-1879/2017	0	2	0	1	0	0	2	3	8
A/Mandarin duck/Korea/K17-1881/2017	2	1	0	3	0	1	2	3	12
A/Mandarin duck/Korea/K17-1885/2017	0	1	0	1	0	1	2	3	8
A/Mandarin duck/Korea/K17-1887/2017	0	2	0	1	0	0	2	3	8
A/Mandarin duck/Korea/K17-1889/2017	1	2	1	0	1	3	2	2	12
A/Mandarin duck/Korea/K17-1891/2017	0	1	3	0	0	0	3	2	9
A/Mandarin duck/Korea/K17-1893/2017	1	2	2	0	0	1	2	2	10
A/Mandarin duck/Korea/K17-1894/2017	0	2	1	1	0	1	3	3	11
A/Mandarin duck/Korea/K17-1896/2017	1	2	2	0	0	1	2	2	10
A/duck/Korea/H80/2017	6	4	2	3	1	0	0	1	17
A/duck/Korea/H81/2017	0	2	3	2	0	3	0	1	11
A/duck/Korea/H103/2017	2	1	2	3	3	3	0	0	14
A/duck/Korea/H107/2017	2	3	2	4	2	6	2	0	21
A/mandarin duck/Korea/H119-3/2017	2	2	4	0	1	4	1	0	14
A/Mandarin duck/Korea/K18-3/2018	5	3	4	2	0	2	9	5	30

## 2. 지역별 지하수 수위/이동방향 및 발생시기 기후 조사

- 지하수 흐름과 양수의 영향: 지하수를 퍼 올리는 경우 지하수 뿐 아니라 하천수도 지하수와 합쳐져서 올라오게 되며 지표면 및 하천 오염원도 퍼올린 물에 혼입되게 됨. 그러나 이러한 연구 결과에도 불구하고, HPAI 발생과 지하수와의 관련성 연구는 활발하지 않은 상황임.
- 호주 인플루엔자 바이러스 감염 역학 조사에서 500m 이내 존재하는 water body가 주요 위험요인으로 분석되었으며 이는 다른 국가들의 역학조사 결과에서 공통적인 주요 위험요인으

로 제시되고 있음.

- 2016-2017년의 6차 발생은 전국동시 다발적 발생을 특징으로 하는데 2016년 11월 16일에 전남 해남과 충북 음성에서 발생하였고, 11월 19일에 경기 양주, 11월 21일에 전북 김제에서 발생함. 2016년 11월은 예년에 비해 강수량이 많았고, 기온도 높았던 것으로 기상청에서 보고하고 있음. 상당수 오리농장의 관정은 비가 오지 않는 경우 물이 나오지 않아 강수 후 펌프를 통해 퍼 올린 물을 탱크에 저장하여 공급하고 있음. 따라서 겨울 철새가 배설한 지표면의 분변이 지하수에 오염될 확률은 강수량이 많은 경우 증가할 수 있음. 그러나 반대로 강수량이 줄어드는 경우 오염 농도는 증가하게 됨 (11월 발생 시작하여 12월 급증하는 발생 양상; 11월 오리농장 발생 상대빈도 높음). 특히, 겨울 철새들이 북상하는 시기 역학적으로 관련 없는 농장에서 간헐적으로 발생한 사례들(특히 농장 비발생 지역인 경북에서 발생하는 사례 등)에 대해 발생 시점 이전 강수 유무 확인이 필요함(올해의 경우 강수 후 발생). 따라서 지하수 수질 조사, 지하수 내 다양한 조건에서 바이러스 생존성 검사가 필요하며 상습 발생지역의 지하수 성분 유사성 조사(분원성 세균수, 질산성 질소 등)와 기후조건에 따른 HPAI 발생과의 관련성 연구가 필요함.

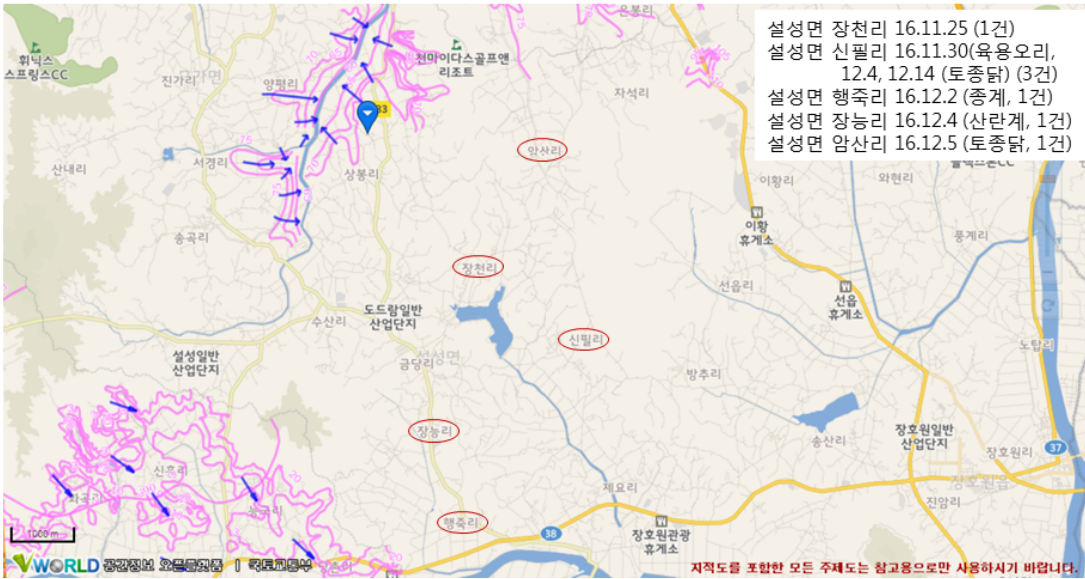
#### ○ 지하수 수위/이동방향 조사 결과

- 국토교통부의 VWORLD 지도 (<http://map.vworld.kr/map/maps.do#>) 사이트에서 지역 검색 (KAHIS 발생 정보 주소지)
- 분홍색선: 등수위선
- 파란색 화살표: 지하수 이동 방향
- 2016년 동일면에서 4회 이상 발생 농장 보고된 지역 조사 중

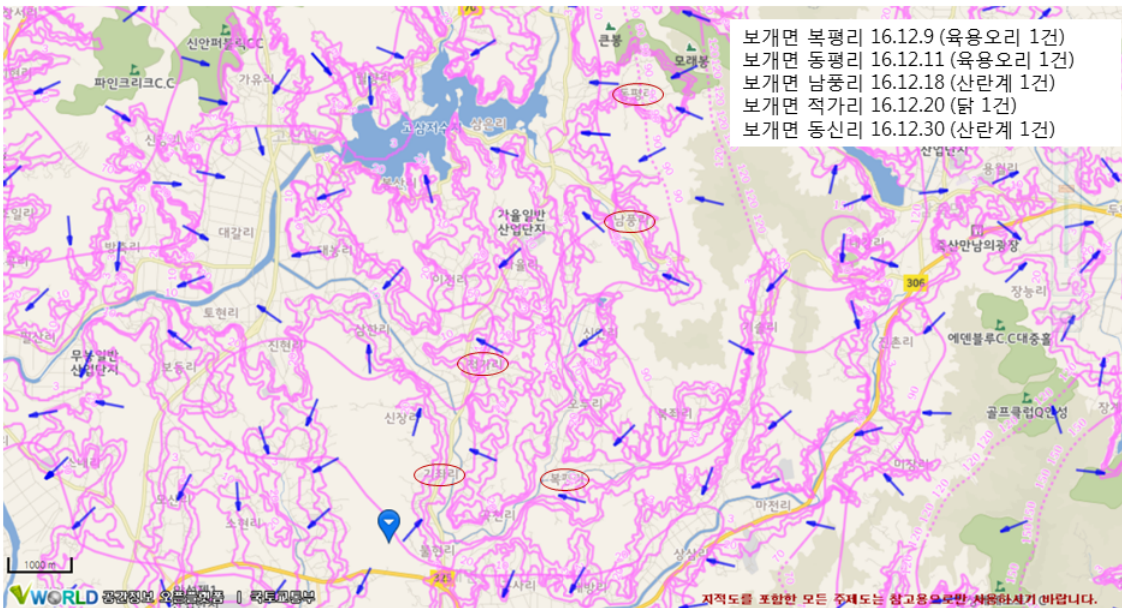
#### ○ 기후조사 결과

- 기상자료개발센터(<https://data.kma.go.kr/climate/>) 자료 검색
- 발생지역에 가장 가까운 기상조사지의 데이터 사용
- 기온과 강수량 조사

경기 이천시 설성면 : 지하수 수위 및 이동 방향

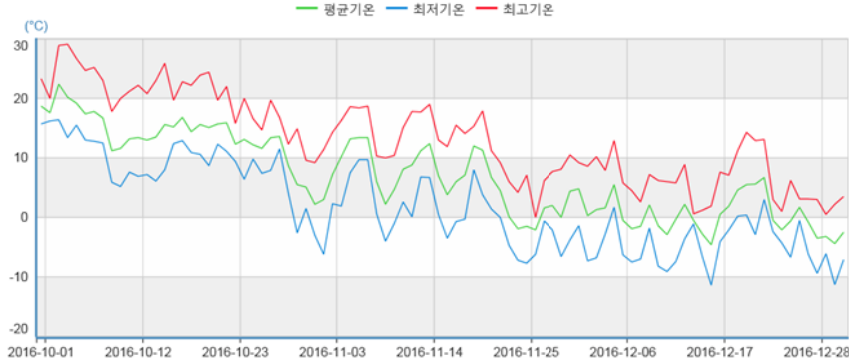


경기 안성시 보개면 : 지하수 수위 및 이동 방향



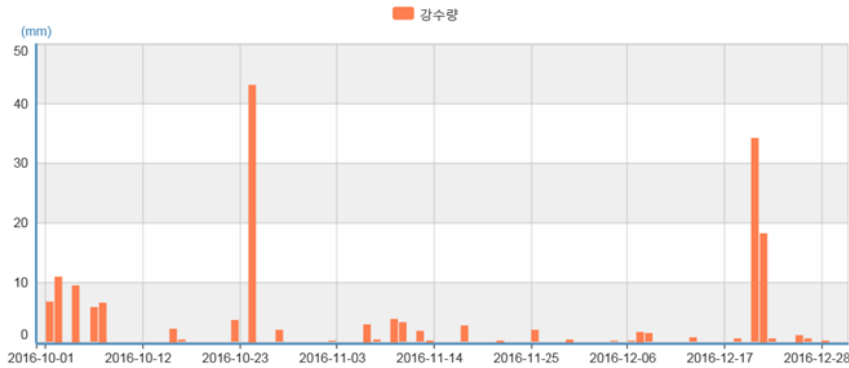
- 경기도 이천 기상데이터 사용: HPAI 발생 기간 2016.11.25.-12.14(이천), 2016.12.9.-12.30(안성) 사이 최고기온 높아 토양 동결 없었으며 발생 전과 발생 기간 중 강수량은 많지 않았으나 11.10-11.18 까지 11.6mm의 누적 강수량 보였음.

이천(203) 기온분석 일 자료 (기간 : 2016 ~ 2016년 10~12월 01~31일)



발생시기 최고온도 영상 유지

이천(203) 강수량분석 일 자료 (기간 : 2016 ~ 2016년 10~12월 01~31일)



- 2016.11.10 3.9mm
- 2016.11.11 3.2mm
- 2016.11.13 1.8mm
- 2016.11.18 2.7mm
- 2016.11.26 2.0mm
- 2016.12.8-9 3.1mm
- 2016.12.21-22 52.3mm

충북 맹동면: 지하수 수위 및 이동 방향



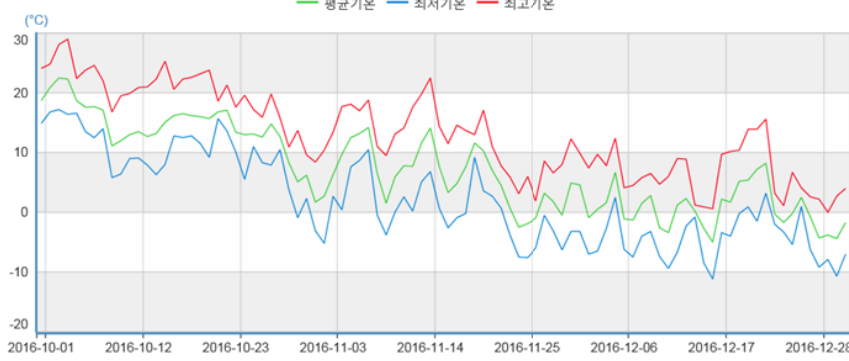
- 용촌리: 16.11.17, 22, 26 (3건)
- 봉현리: 16.11.22-29 (13건)
- 마산리: 16.11.23-25 (5건)
- 신둔리: 16.11.24 (1건)
- 본성리: 16.11.25 (1건)

대부분 지하수 등위선(지하 80m) 일치

- 충북 음성과 가장 가까운 충주 기상데이터 사용: HPAI 발생 기간 2016.11.17.-29 사이 최고기온 높아 토양 동결 없었으며 발생 전과 발생 기간 중 강수량은 많지 않았으나 11.10, 11.18의 강수량의 영향에 대한 조사 필요함.

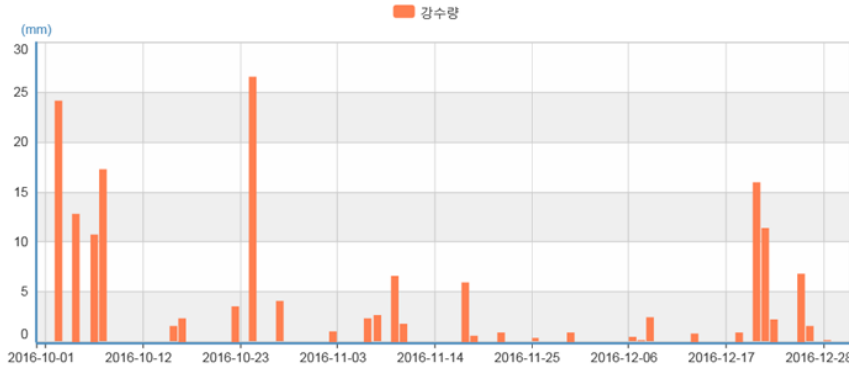


충주(127) 기온분석 일 자료 (기간 : 2016 ~ 2016년 10~12월 01~31일)



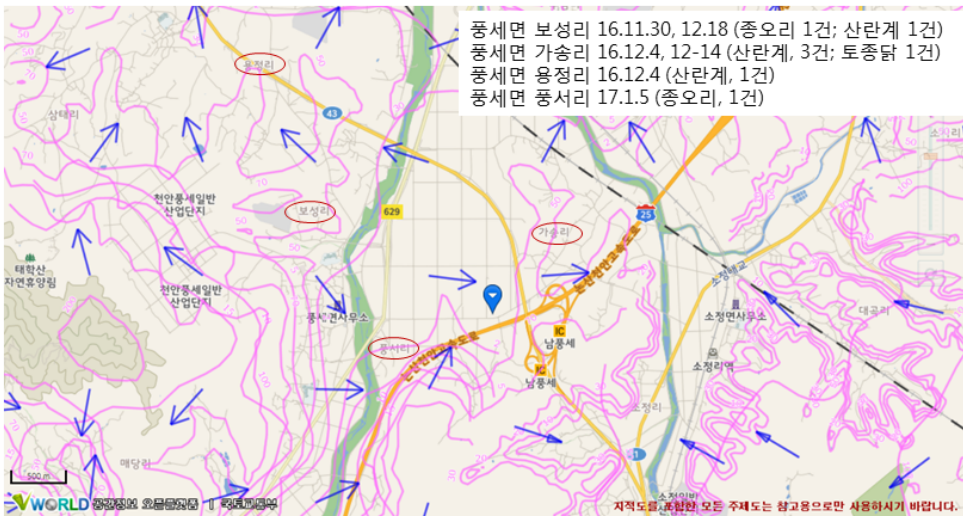
발생시기 최고온도  
영상 유지

충주(127) 강수량분석 일 자료 (기간 : 2016 ~ 2016년 10~12월 01~31일)



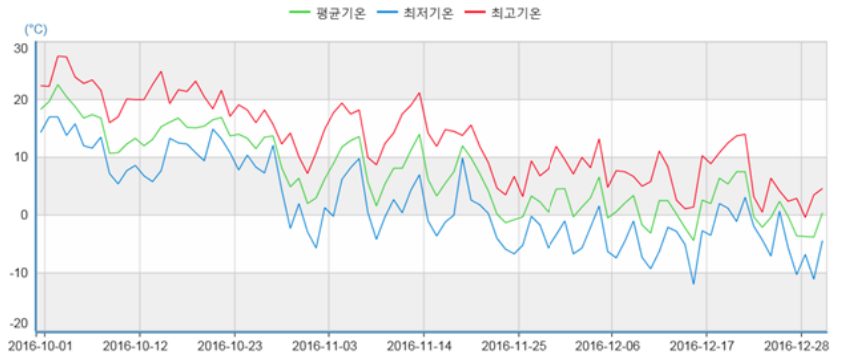
**2016.11.10 6.6mm**  
2016.11.11 1.8mm  
**2016.11.18 5.9mm**  
2016.11.22 0.9mm  
2016.11.26 0.3mm

충남 천안시 풍세면 : 지하수 수위 및 이동 방향



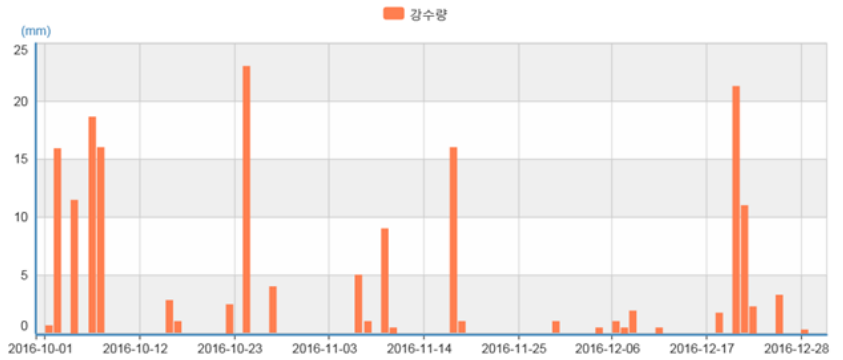
- 충남 천안 기상데이터 사용: HPAI 발생 기간 2016.11.30.-2017.1.5 사이 최고기온 높아 토양 동결 없었으며 발생 전과 발생 기간 중 강수량은 많지 않았으나 발생 전 강수 확인 됨.

천안(232) 기온분석 일 자료 (기간 : 2016 ~ 2016년 10~12월 01~31일)



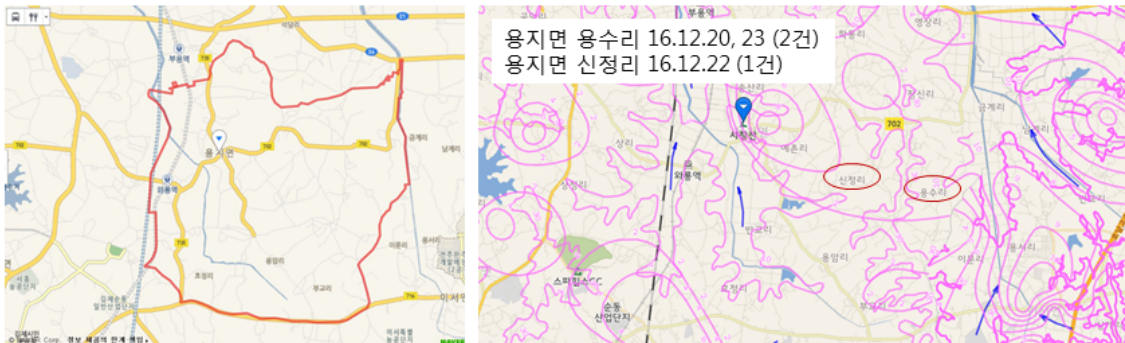
발생시기 최고온도 영상 유지

천안(232) 강수량분석 일 자료 (기간 : 2016 ~ 2016년 10~12월 01~31일)



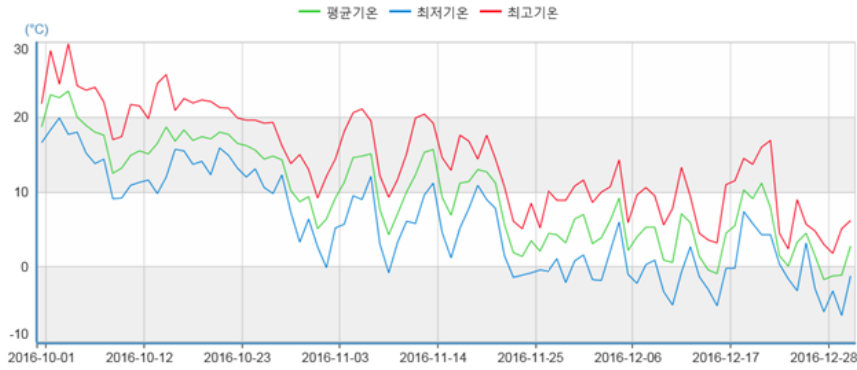
2016.11.10-11 9.5mm  
 2016.11.18-19 17.0mm  
 2016.11.26 2.0mm  
 2016.12.7-9 3.4mm  
 2016.12.21-23 34.6mm

### 전북 김제시 용지면 : 지하수 수위 및 이동 방향



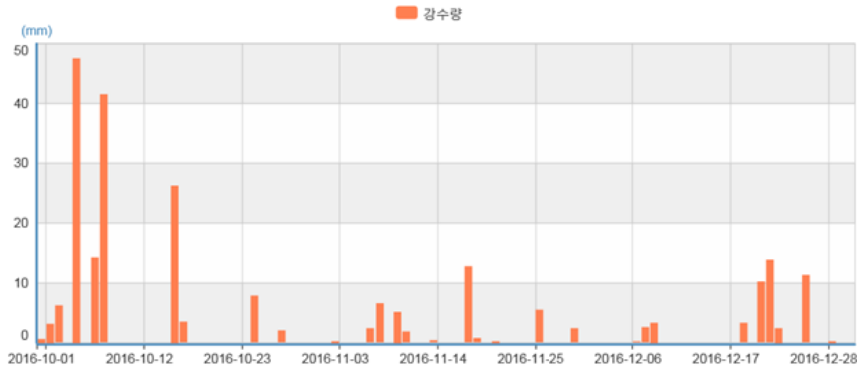
- 전북 김제와 가까운 전주 기상데이터 사용: HPAI 발생 기간 2016.12.20.-2017.12.22 사이 최고기온 높아 토양 동결 없었으며 발생 전과 발생 기간 중 강수량은 많지 않았으나 발생 전 강수 확인 됨.

전주(146) 기온분석 일 자료 (기간 : 2016 ~ 2016년 10~12월 01~31일)



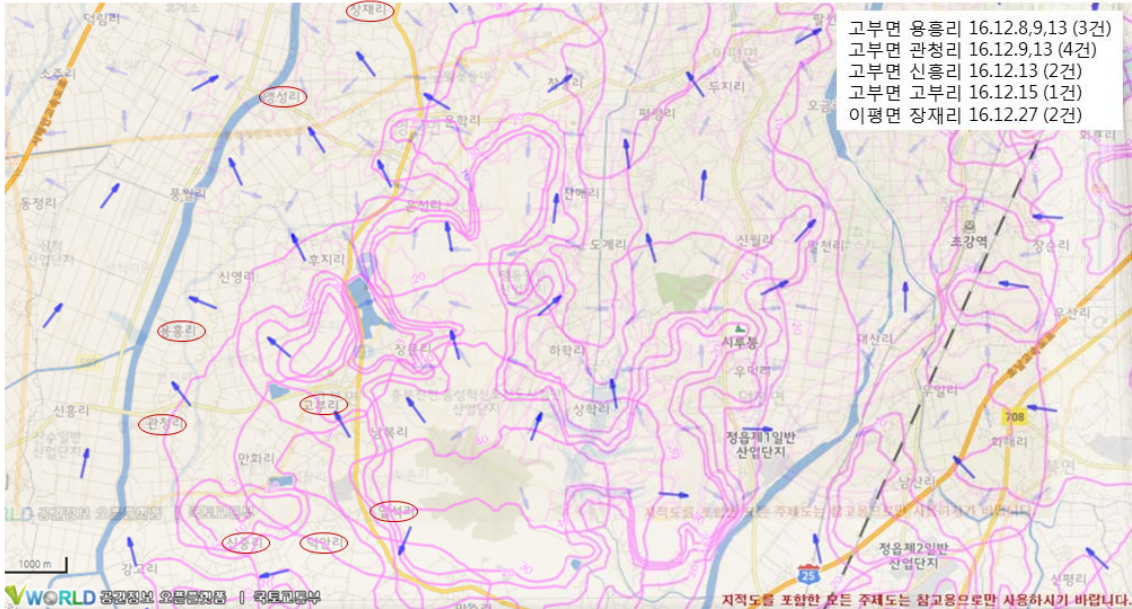
발생시기 최고온도  
영상 유지

전주(146) 강수량분석 일 자료 (기간 : 2016 ~ 2016년 10~12월 01~31일)

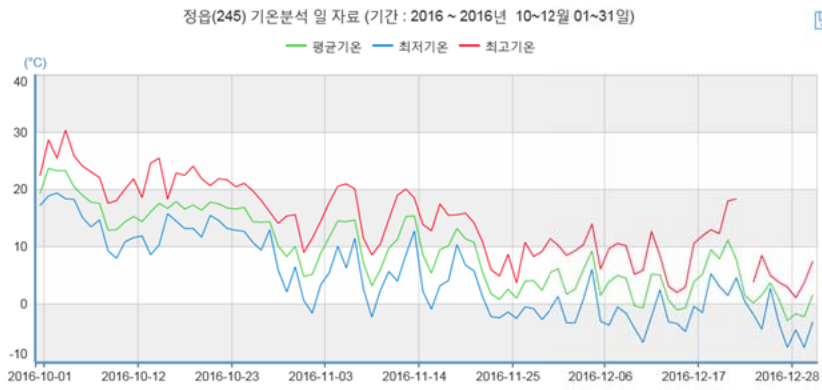


2016.11.26 5.4mm  
2016.11.30 2.3mm  
2016.12.7-9 5.9mm  
2016.12.19 3.2mm  
2016.12.21 10.1mm

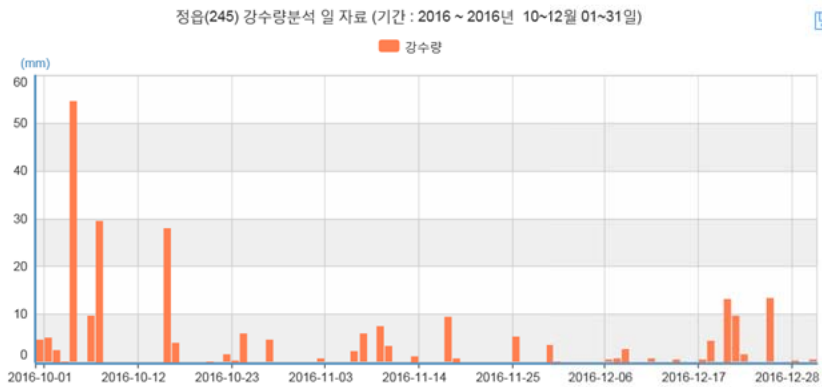
전북 정읍시: 지하수 수위 및 이동 방향



- 전북 정읍 기상데이터 사용: HPAI 발생 기간 2016.12.8.-2017.12.27 사이 최고기온 높아 토양 동결 없었으며 발생 전과 발생 기간 중 강수량은 많지 않았으나 발생 전 강수 확인 됨.

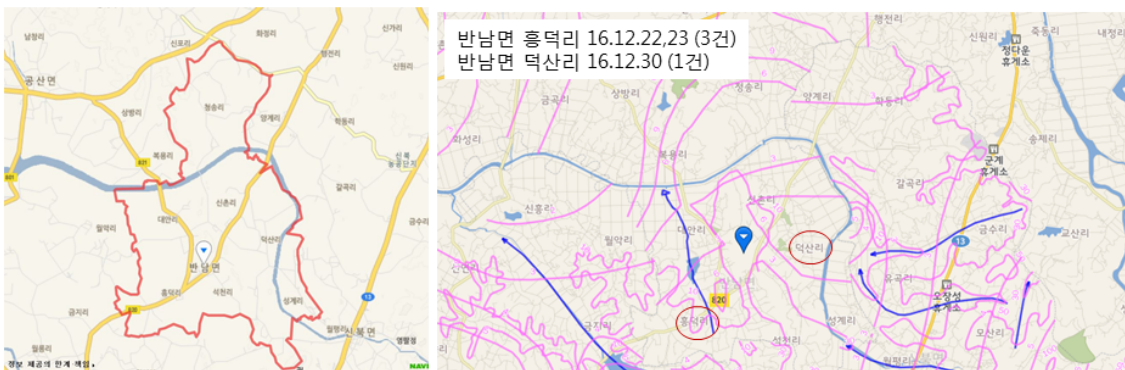


발생시기 최고온도  
영상 유지



2016.11.7-8 7.9mm  
2016.11.10-11 10.6mm  
2016.11.18-19 10.0mm  
2016.11.26 5.2mm  
2016.11.30-12.1 3.6mm  
2016.12.7-9 3.8mm  
2016.12.18-19 4.8mm  
2016.12.21-26 37.5mm

### 전남 나주 반남면: 지하수 수위 및 이동 방향



- 전남 나주 반남면과 가장 가까운 목포 기상데이터 사용: HPAI 발생 기간 2016.12.8.-2017.12.27 사이 최고기온 높아 토양 동결 없었으며 발생 전과 발생 기간 중 강수량은 많지 않았으나 발생 전 강수 확인 됨.

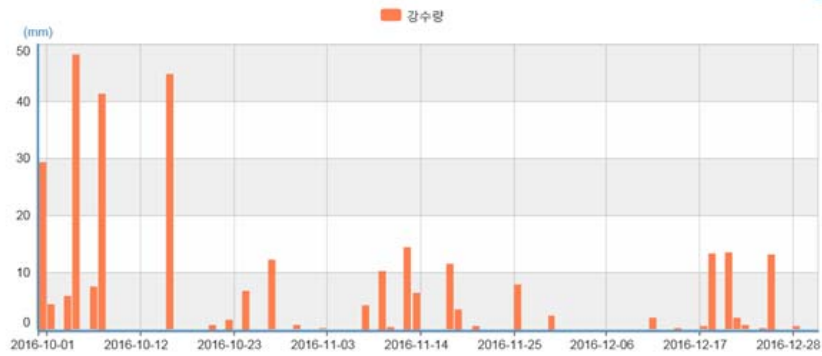


목포(165) 기온분석 일 자료 (기간 : 2016 ~ 2016년 10~12월 01~31일)



발생시기 최고온도  
영상 유지

목포(165) 강수량분석 일 자료 (기간 : 2016 ~ 2016년 10~12월 01~31일)



2016.11.26 7.9mm  
2016.11.30 2.4mm  
2016.12.12 2.0mm  
2016.12.18-19 13.8mm  
2016.12.21 13.4mm  
2016.12.25-26 13.1mm

○ 전국 HPAI 발생지역 지하수 수질측정망 결과

- 음수 소독을 위한 소독제가 판매되고 있으며 유기염소제제(차아염소산나트륨, 시안산나트륨; 3-10ppm)와 4급 암모늄제제(200ppm)가 사용되고 있음. 또한 자외선을 이용한 음수 살균기가 일부 농장에 보급되어 있음.
- 오리는 닭에 비해 10배 이상의 음수를 섭취하는데 대부분 농장의 경우 관정을 통해 지하수를 음수로 사용하고 있음. 지하수는 경수이므로 소독제 효능을 방해하며 실제로 대부분의 농장에서 소독제 처리를 하지 않고 있음. 특히 철새도래지역 인근 오리농장의 경우 철새 분변이 지하수에 오염되는 경우 음수를 통해 부지불식간에 농장으로 유입될 수 있는 위험성이 있으나 이에 대한 평가가 제대로 이루어지지 않았으므로 중요 위험요인으로 편입하여 위험도 평가를 실시해야 함.

표1. 소독제의 효과에 영향을 미치는 요인

소독제	요 인 별		
	pH	유기물	물의 경도
페놀류	+	±	±
산성제(구연산 등)	+	+	±
알칼리제(가성소다 등)	+	+	±
염소제(차아염소산염 등)	+	+	±
요오드제	+	+	+
4급 암모늄제	+	+	+
비구아니드계	+	+	+
글루타르알데하이드	+	-	
포르말린	-	+	
포르말린가스	-	+	
알코올	-	+	
과산화수소(H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	-	+	

+ : 영향을 받음, ± : 종류에 따라 다양한 차이, - : 영향이 없음  
(Cancellotti '95)

- 위의 표에서와 같이 소독제는 물의 pH, 유기물 수준, 물의 경도 등에 의해서 소독 효과가 다양하게 나타날 수 있음.
- 현재 다음과 같은 수질 평가 키트가 시중에 판매되고 있으며, 이와 같은 수질 평가 키트를 사용하여, 오리 농장에 음수로 사용되는 지하수의 경도, pH, 질산성 질소(NO<sub>3</sub>) 및 아질산(NO<sub>2</sub>) 등의 수준을 측정하고자 함.



(Eco-check 5 in 1, ITS)



(WAK-NO<sub>3</sub>/NO<sub>2</sub>, Kyoritsu)

- 2016년 하반기에 검사한 내역은 다음의 표와 같음. 지점위치 파악 후 경도(전기 전도도), 분원성 질소(NO3-N) 및 대장균 수를 바탕으로 지하수 오염도 예측에 활용 예정임.

지점번호	지점명	용도	음용 여부	전기 전도도	pH	대장균군	NO3-N	크실렌
KH0104	한강청	농업	X	204	7.9	-10000	1.8	불검출
KH0103	한강청	농업	X	269	8.1	-10000	1.5	불검출
SH0202	한강청	농업	X	112	8.5	20	0.1	불검출
SH0203	한강청	농업	X	417	8	62	9.9	불검출
SH0201	한강청	농업	X	213	8.1	-10000	0.1	불검출
PK0502	금강청	농업	X	297	7.5	-10000	6.3	불검출
KK0201	금강청	농업	X	169	7.3	-10000	2.2	불검출
OK0403	금강청	농업	X	385	6.6	-10000	8.5	불검출
NK0102	금강청	농업	X	373	6.5	4	19.3	불검출
NK0104	금강청	농업	O	88	6.9	불검출	1.3	불검출
SK0103	금강청	농업	O	241	6.7	불검출	2.7	불검출
SK0101	금강청	농업	X	447	7	-10000	8.5	불검출
SK0104	금강청	농업	X	미검사	미검사	미검사	미검사	미검사
TK0205	금강청	농업	X	미검사	미검사	미검사	미검사	미검사
SY0103	영산강청	농업	X	258	6.1	3	9.7	불검출
SY0104	영산강청	농업	X	415	6	-10000	19.3	불검출
SY0101	영산강청	농업	X	208	7.8	238	-10000	불검출
PY0403	영산강청	농업	X	605	7.3	-10000	12.9	불검출
PY0402	영산강청	농업	X	254	7	-10000	-10000	불검출
NY0104	영산강청	농업	X	113	7.8	-10000	1.3	불검출

- 무엇보다도 농장 내에 음수로 사용되는 물에 존재하는 인플루엔자 바이러스의 오염을 감지하기 위해서 인플루엔자 바이러스의 NP단백질에 대한 항체를 결합시킨 magnetic bead를 이용하여 적은 양의 바이러스 오염도 잡아낼 수 있는 기술을 개발하고자 함.
- 다음과 같은 과정을 통하여 호스를 지나가는 모든 음수에 대하여 인플루엔자 바이러스 입자를 감지할 수 있는 방법을 실험 중임.



① 음수를 공급하는 호스에 강력한 자석인 네오디뮴 자석을 삽입함.



② anti-mouse IgG antibody가 coupling된 magnetic beads로 호스 내에 삽입된 자석의 표면을 둘러쌘.

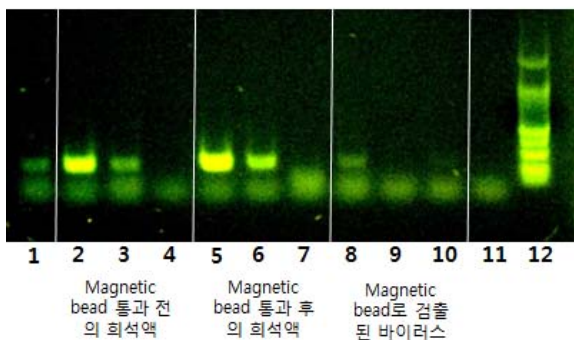


③ 인플루엔자 바이러스의 NP 단백질에 대한 항체 (mouse anti-NP antibody)를 magnetic bead에 coupling되어있는 mouse IgG 항체에 결합시킴.



④ 다음과 같이 호스 사이에 연결하여 음수가 나오는 동안 음수 내에 인플루엔자 바이러스 particle 및 유전자가 존재할 경우, bead에 붙어있는 인플루엔자 NP단백질 항체에 결합되도록 함. 음수가 모두 나간 뒤에는 bead가 있는 호스 부분만 분리하여 RNA extraction을 통한 PCR로 바이러스의 존재 여부를 확인함.

- 위의 실험 방식을 이용하여 실제로 물 내에 존재하는 바이러스를 잡아내는지 테스트하였음.



Lane 1; magnetic beads 400 $\mu$ l 사용  
Lane 2-10; magnetic beads 35 $\mu$ l 사용

Lane 1, 2, 5, 8; 바이러스 10<sup>7</sup>EID/ml 농도의 1XPBS 50ml  
Lane 3, 6, 9; 바이러스 10<sup>5</sup>EID/ml 농도의 1XPBS 50ml  
Lane 4, 7, 10; 바이러스 10<sup>3</sup>EID/ml 농도의 1XPBS 50ml

Lane 11; negative control  
Lane 12; 100bp DNA ladder

1    2    3    4    5    6    7    8    9    10    11    12  
Magnetic bead 통과 전의 회색역    Magnetic bead 통과 후의 회색역    Magnetic bead로 검출된 바이러스

- 위의 실험에서는 PBS 50ml이라는 소량의 액체에 다량의 바이러스를 넣어서 흘린 것으로 실

제 바이러스의 양이 너무 많았기 때문에 beads를 통과한 액체에서도 바이러스가 detection 된 것을 알 수 있음.

- 실제 농장에서 사용되는 음수에는 매우 소량의 바이러스 입자나 유전자가 매우 다량의 액체에 존재하기 때문에 흘려주는 물의 양 및 바이러스의 양을 조절하여 아주 적은 양의 바이러스도 잡아낼 수 있는 진단 방법을 개발할 계획임.

### 3. 국내 사료 원료 수입/관리 실태 및 전 세계 사료원료에 의한 가금 농장 유입 사례 조사

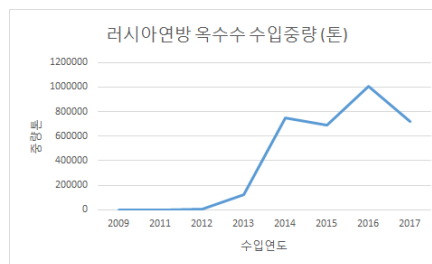
- 종계와 산란계 농장의 경우 계사 구조가 현대화 되어있고, 방역 수준이 다른 가금농장 대비 수월한 것으로 평가되나 사육기간이 길어 다량의 사료를 급이 해야 하므로 대부분의 농장에서 낱 옥수수를 분쇄하여 첨가한 mash 사료를 공급하고 있음. 따라서 옥수수 원료를 통한 바이러스 유입의 가능성이 상존하므로 원산지 및 유통과정의 철저한 관리가 중요함. 특히, 러시아와 유럽(우크라이나) 산 옥수수의 경우 벌크선 운송기간 동안 바이러스 생존 가능하므로 주의가 필요하며 HPAI 발생 기간 동안 국내에 러시아 및 우크라이나 산 옥수수 수입 실적 있음. 따라서 이러한 옥수수 원료가 어느 축종의 어떤 사료에 사용되었는지 추적조사와 현재와 미래에 수입되는 옥수수 원료에 대한 유통 경로 추적이 필요함.



군산항 5부두가 댐을 지어 물러다니는 비둘기 때문에 굴처를 잃고 있다.

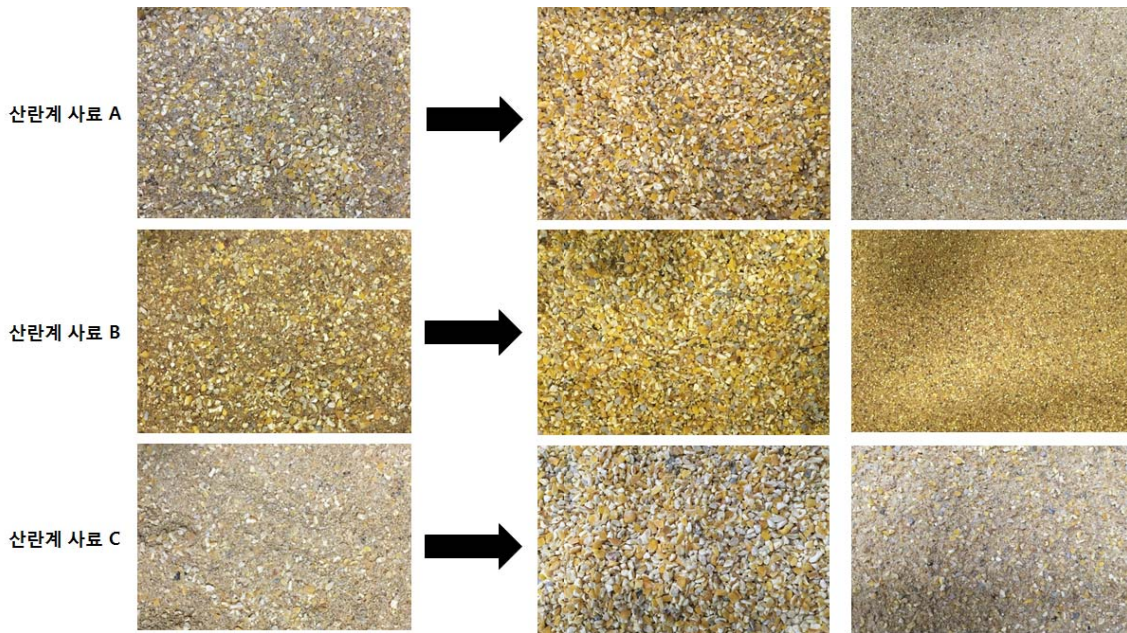


인천항 대두박 야적장-비둘기

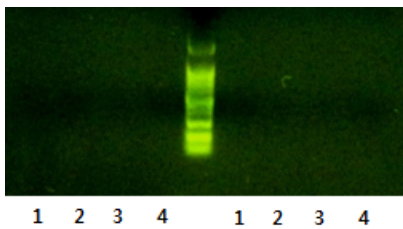


- 세 종류의 산란계 사료 및 한 종류의 육계 펠릿 사료에 대해서 사료 내 야생조류 분변 및 깃털 오염이 있는지 검사하였음. 확인 결과, 육안으로 확인되는 분변 오염 등은 찾을 수 없었음.



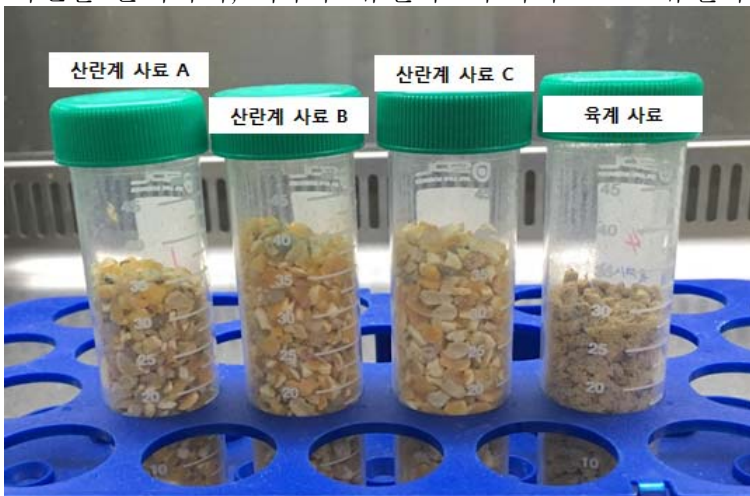


- 육안으로 확인되지는 않지만 존재할 수 있는 분변오염에 대하여는 조류의 유전자를 detection할 수 있는 primer set을 사용하여 분자적으로 확인하였으며, 그 결과 분변 오염은 확인되지 않았음.



Lane 1; 산란계 사료 A  
 Lane 2; 산란계 사료 B  
 Lane 3; 산란계 사료 C  
 Lane 4; 육계 사료

- 세 종류의 사료에 사용된 옥수수가 수입원이 어디인지 확인하고자 사료에 사용된 옥수수 입자만을 분리하여, 옥수수 유전자로부터의 GMO 유전자 검사를 시행함.



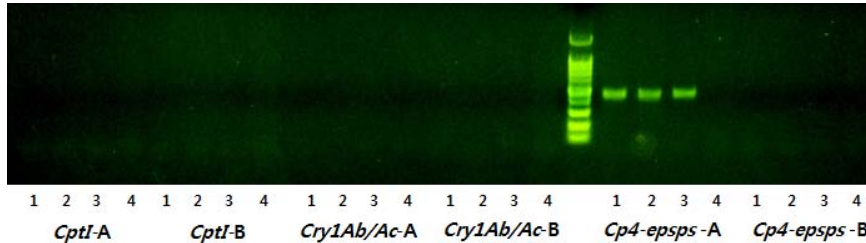
- Fast genomic DNA isolation kit (iNtRON biotechnology)를 이용하여 옥수수의 genomic DNA를 추출하고, 세 가지 GMO 유전자에 대하여 각각 2세트의 primer (Wang, Tang et al.

2014)를 제작해 PCR 진행하였음.

*CpTI* ; cowpea trypsin inhibitor gene (insect tolerance 증가)

*Cry1Ab/Ac* ; insect resistance gene

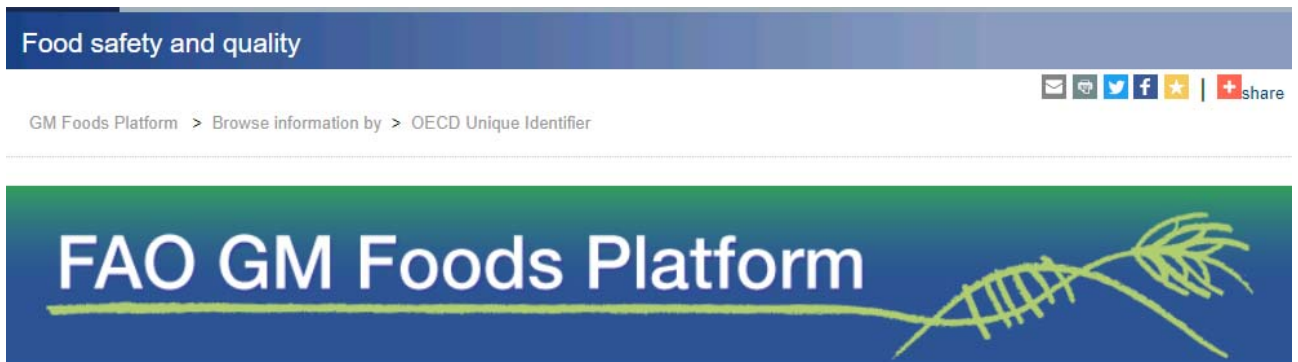
*Cp4-epsps* ; herbicide tolerance gene



Lane 1; 산란계 사료 A  
Lane 2; 산란계 사료 B  
Lane 3; 산란계 사료 C  
Lane 4; 육계 사료

- GMO 유전자 확인 결과 세 종류의 산란계 사료에 사용된 옥수수 모두에서 *Cp4-epsps* (herbicide tolerance gene) GMO 유전자가 확인되었으며, 같은 수입 옥수수를 사용한 것으로 보여짐. [FAO GM Foods Platform](http://www.fao.org/food/food-safety-quality/gm-foods-platform)

(<http://www.fao.org/food/food-safety-quality/gm-foods-platform/browse-information-by/oecd-unique-identifier/oecd-unique-identifier-details/en/?ui=169603>)에서 검색한 결과 몬산토 사의 옥수수가 유럽연합, 브라질, 캐나다, 인도네시아, 일본, 말레이시아, 필리핀, 미국, 우루과이에서 식품과 사료원료로 허가되었으며 호주, 콜롬비아, 이란, 멕시코, 뉴질랜드, 한국(Dupont 사), 러시아연방, 터키는 식품원료로 허가되어 있음.



#### OECD Unique Identifier details

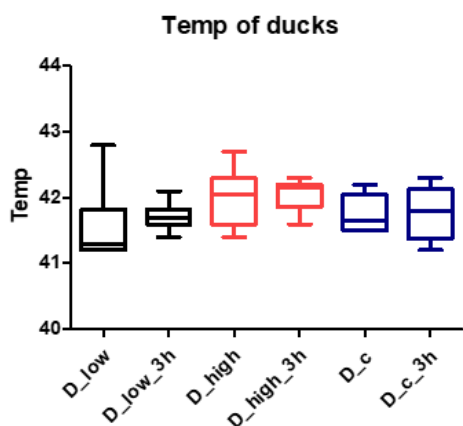
#### 4. 오리 종 특이적인 항바이러스 인자 연구

##### ○오리 혈액화학 검사

- 대장균 발현 AI 항원 접종 시 오리 체온 및 혈액화학 변화 관찰(접종 3시간 후)
- 2주령 Pekin duck 30수를 3개 군으로 나눔[고농도 항원군 (D\_high), 저농도 항원군 (D\_low), 대조군 (D\_c)].
- 혈액화학 검사를 위해 total protein (TP), total cholesterol (T-CHOL), phosphate (P),

albumin (Alb), glucose (GLU), aspartate aminotransferase (AST), gamma-glutamyl transpeptidase (GGT), lactate dehydrogenase (LDH), calcium (Ca), alkaline phosphatase (ALP), uric acid (UA) 수치를 측정함.

- 통계처리: 체온의 변화는 접종 전과 후의 그룹을 t-test로 평균을 비교하여 유의성을 검정하였고, 혈액화학 검사는 one way ANOVA로 분석하고 Tukey's multiple comparison test로 사후검정 진행하였음 (모두 95% 신뢰구간).



- 오리에서 두 실험군 모두가 컨트롤과 다르게 나오는 항목은 GLU와 AST로 확인됨. GLU는 컨트롤에서도 증가하여 변별력은 없는 것으로 판단되며 또한 이 항목은 흥분할 경우 값이 증가할 수 있는데 채혈 및 체중을 측정하는 과정에서 상승한 것으로 추측됨. AST와 LDH는 증가 시 간 손상을 알려주는 수치이지만 오히려 감소하는 쪽으로 변화를 보였기 때문에 의미가 없는 것으로 판단됨. 그 외 TP, T-CHOL, Alb, P, Ca의 경우 고농도에서는 증가하였지만 저농도에서는 오히려 감소하였음.

	TP	T-CHOL	P	Alb	GLU	AST	GGT	Ca	ALP	LDH
오리 고농도 (10) <sup>a</sup>	2.92 <sup>b</sup>	151.11	8.01 <sup>c</sup>	1.04	164.67 <sup>c</sup>	<b>27.67<sup>c</sup></b>	<b>1.67</b>	9.73 <sup>c</sup>	<b>873.56</b>	<b>1384.56</b>
오리 저농도 (9)	3.37 <sup>c</sup>	166.78	7.34	1.23 <sup>c</sup>	155.00 <sup>c</sup>	<b>33.00<sup>c</sup></b>	<b>0.33</b>	10.10	<b>613.11</b>	<b>1633.78</b>
오리 컨트롤 (8)	3.04	164.25	8.35 <sup>c</sup>	1.09	157.88 <sup>c</sup>	<b>37.50</b>	<b>0.00</b>	9.61	<b>818.75</b>	<b>1615.38</b>

- 본 실험 결과 오리의 간 기능과 관련된 AST, GGT, ALP, LDH의 정상 범위(대조군)를 알 수 있으며 향후 추가적인 실험을 통해 정상 범위를 설정하여 농장 오리의 간 기능과 HPAIV 억제인자 역가의 관련성 연구에 활용할 계획임.

- 오리 혈청 내에는 닭의 혈청보다 인플루엔자의 HA 단백질에 대한 비특이적인 inhibitor들이 더 많이 존재하고 있음. 이 단백질에 의해서 닭보다도 HPAI에 대한 저항성이 높은 것으로 추정되어짐. 실제로 오리 혈청을 이용한 HI test 결과 백신 접종을 하지 않았음에도 다양한 H5N1 바이러스나 H9 바



이러스에 대하여 HI(Hemagglutinin inhibition), 즉 바이러스의 HA의 기능을 억제하는 결과가 나타났음.

- 특히, 이 비특이적인 저항인자는 RDE(Receptor destroying enzyme)을 처리하면 그 저항성이 사라지는 것을 알 수 있었으며, 이러한 선행연구 결과를 통해 오리 혈청 내에 존재하는 비특이적인 억제인자에 대한 연구를 진행할 계획임.

항원	HI titer (log2)		
	no treatment	비동화(56℃,30분)	RDE처리 후 비동화
H5N1	1.75±1.04	1.75 ± 1.28	0.00 ± 0.00
H5N6	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
H5N8	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
H9N2	3.38 ± 0.52	3.38 ± 0.52	0.00 ± 0.00

## 협동연구기관(강원대학교: HPAI 발생농가 위험도평가 모델 설계)

### I. HPAI 발생농가의 질병전파 위험도 평가 모델 설계

#### 1. 야생조류 고병원성 조류인플루엔자 항원 검출과 가금 사육농장에서 질병 발생 간 역학적 연관성 분석

- 농림축산검역본부는 국내에 오리류 등의 야생조류에 고병원성 조류인플루엔자 바이러스가 상존하고 있을 가능성이 낮을 것으로 추정하여 국내 가금 사육농장에서 고병원성 조류인플루엔자 발생의 일차적인 원인은 해외에서 유입된 것으로 판단한 바 있다. 국립생물자원관에서는 전국 200개 철새도래지를 대상으로 개체수와 종수를 조사하고 있으며 그 결과 연간 약 200종 120만수의 철새가 도래하고 있는 것으로 나타났다. 1999년부터 2017년까지 겨울철 조류 동시 센서스 관찰 종수 및 개체수를 요약하면 표 2-2-1-1과 같다.

표 2-2-1-1. 1999~2017 겨울철 조류 동시 센서스 관찰 종수 및 개체수

구분	1999.2	2000.2	2001.1	2002.1	2003.1
조사 지역수	69	100	114	118	118
종 수	185	198	197	179	197
개체수	1,068,309	1,182,405	963,845	932,258	975,516
구분	2004.2	2005.1	2006.1	2007.1	2008.1
조사 지역수	118	124	127	128	141
종 수	185	182	195	198	201
개체수	1,112,746	1,186,295	1,227,278	1,596,697	1,483,891
구분	2009.1	2010.1	2011.1	2012.1	2013.1
조사 지역수	143	172	192	192	195
종 수	204	204	201	200	209
개체수	1,944,065	1,452,215	1,259,717	1,087,506	1,133,394
구분	2014.1	2014.12	2015.1	2015.12	2016.1
조사 지역수	195	200	200	200	200
종 수	209	186	193	194	194
개체수	1,276,293	1,133,239	1,266,638	1,790,987	1,584,438
구분	2016.12	2017.1			
조사 지역수	200	200			
종 수	195	190			
개체수	1,198,348	1,332,180			

출처: 환경부, 2017

- 가금 사육농장에서 HPAI 발생에 기여하는 요인은 차량과 사람의 이동, 사육환경, 생축 유통경로, 차단방역 수준, 농장의 지리적 특성, 기상조건, 야생조류, 농장 인근의 철새도래지(저수지), 철새 개체수 및 종수, 기타 매개동물(설치류) 등 매우 다양하기 때문에 야생조류에서 HPAI 항원 검출과 농장의 HPAI 발생 간의 연관성을 직접적으로 규명하는 것은 불가능하다. 국내에 도래하는 철새와 HPAI 바이러스를 매개하는 위험이 높은 보균체(carrier birds)에서 HPAI 유병률에 대한 학술정보가 거의 없는 상황에서 HPAI 바이러스의 향후 국내 유입 가능성은 역학정보에 근거하여 기술적으로 추정하는 것이 타당한 것으로 판단한다. 야생조류와 발생농장에서 검출된 바이러스의 유전형이 동일하다고 하더라도 시간적 선후 관계가 명확하다면(철새가 먼저 감염된 경우로 가정) 철새가 바이러스를 매개하여 농장으로 직접 전파하였을 가능성이 있다.
  - 바이러스 항원 검출 여부는 야생조류에 대한 HPAI 예찰 강도에 따라 다르기 때문에 야생조류에서 항원이 최초로 분리된 시점과 농장에서 최초로 발생한 지점 간 차이가 있을 수 있다. 농림축산검역본부에서는 HPAI 상시 예찰을 추진하고 있으나, 일반적으로 예찰기간은 HPAI 발생 위험이 상대적으로 높은 동절기와 이듬해 봄까지 집중되어 있어 야생조류에서 HPAI 항원이 처음으로 검출된 시점을 농장 발생의 직접적인 원인으로 추정하기는 어렵다. 농림축산검역본부의 HPAI 역학조사보고서를 토대로 검출내역을 요약하면 다음과 같다.
    - (H5N6형): 2016.10.28.일 충남 천안 봉강천 야생조류 분변에서 검출되었으며, 20일 후인 2016.11.16.일 전남 해남 산란계 농장과 충북 음성 옥용오리 농장에서 발생
    - (H5N8형): 2016.12.13.일 경기 안성의 야생조류 분변에서 최초로 검출되었으며, 2017.2.6.일 전북 김제 산란계 농장에서 최초로 발생
 이상에서 살펴보았듯이 야생조류에서 바이러스 항원이 최초로 검출된 시점이 국내에 HPAI 바이러스가 최초로 유입된 시점으로 단정하기는 어려운 것으로 나타났다.
- 농림축산검역본부의 HPAI 발생농장에 대한 역학조사 결과보고서(농림축산검역본부, 2018)에서는 원

인과 결과 간의 역학적 연관성(epidemiological association)을 규명하는 방법론 중 “다른 가능성의 배제(rule out other possibility)”라는 기준에 근거하여 국내 HPAI 발생의 원인이 철새에 기인한 것으로 추정하고 있다. 야생조류에서 HPAI 항원이 검출된 지점 인근 지역(반경 500m, 3km, 10km, 30km)의 가금 사육농장 분포와 HPAI 발생 농가수를 분석한 결과는 표 2-2-1-2 및 표 2-2-1-3과 같다.

표 2-2-1-2. 2016-2017년 야생조류 HPAI 항원 검출 지점 인근의 가금 사육농장(N=11,721) 및 HPAI

발생 가금농장(N=421) 분포(반경 500m, 3km)

항원검출 지점(ID)	시료채취일	지점	종명	가금 농장			HPAI 발생 농장			
				농장수	HPAI 발생 농장수	감염률 (%)	농장수	HPAI 발생 농장수	감염률 (%)	
1	82	2016-10-28	충남 천안시 원양	1	0	-	58	9	15.5	
2	83	2016-11-05	강원 원주시 수리부엉이	0	0	-	4	0	0.0	
3	84	2016-11-10	전북 익산시 흰뺨검둥오리	0	0	-	4	0	0.0	
4	85	2016-11-13	충남 천안시 원양	1	0	-	58	9	15.5	
5	86	2016-11-15	충남 아산시 야생조류	0	0	-	1	0	0.0	
6	87	2016-11-17	충남 아산시 원양	1	0	-	6	0	0.0	
7	88	2016-11-17	충남 아산시 원양	1	0	-	1	0	0.0	
8	89	2016-11-17	충남 아산시 원양	0	0	-	7	1	14.3	
9	90	2016-11-18	세종 연서면 청둥오리	1	0	-	4	1	25.0	
10	91	2016-11-20	전남 강진군 큰고니	0	0	-	0	0	-	
11	92	2016-11-20	전남 강진군 큰고니	0	0	-	1	0	0.0	
12	93	2016-11-22	충남 천안시 야생조류	0	0	-	34	3	8.8	
13	94	2016-11-22	충남 부여군 야생조류	2	0	-	13	0	0.0	
14	95	2016-11-22	충남 아산시 원양	0	0	-	6	0	0.0	
15	96	2016-11-22	충남 천안시 야생조류	0	0	-	11	2	18.2	
16	97	2016-11-24	충북 증평군 흰뺨검둥오리	0	0	-	8	0	0.0	
17	98	2016-11-24	충북 증평군 청둥오리	0	0	-	8	0	0.0	
18	99	2016-11-23	전남 강진군 큰고니	0	0	-	7	3	42.9	
19	100	2016-11-24	경기 이천시 흰뺨검둥오리	1	0	-	5	0	0.0	
20	101	2016-12-02	경남 창원군 큰고니	0	0	-	3	0	0.0	
21	102	2016-11-30	전남 해남군 흰뺨검둥오리	0	0	-	0	0		
22	103	2016-11-30	전남 해남군 쇠오리	ID 21번과 조류 종은 다르나 시료채취 지점 중복						
23	104	2016-12-02	강원 철원군 수리부엉이	0	0	-	4	0	0.0	
24	105	2016-12-05	충남 아산시 청둥오리	0	0	-	9	1	11.1	
25	106	2016-12-12	경북 경산시 큰고니	0	0	-	0	0	-	
26	107	2016-12-12	충남 아산시 원양	0	0	-	6	0	0.0	
27	108	2016-12-13	경기 안성시 쇠오리	0	0	-	4	0	0.0	
28	109	2016-12-12	충남 천안시 원양	0	0	-	39	6	15.4	
29	110	2016-12-15	경북 김천시 야생조류	0	0	-	41	0	0.0	
30	111	2016-12-20	경남 창원시 야생조류	0	0	-	1	0	0.0	
31	112	2016-12-23	대구 동구 큰고니	0	0	-	0	0	-	
32	113	2016-12-12	전남 강진군 고니	0	0	-	9	3	33.3	
33	114	2016-12-22	경북 경산시 알락오리	0	0	-	0	0	-	
34	115	2016-12-26	부산 광역시 야생조류	0	0	-	0	0	-	
35	116	2016-12-29	충남 천안시 흰뺨검둥오리	0	0	-	0	0	-	
36	117	2016-12-27	부산 광역시 쇠기러기	0	0	-	3	0	0.0	
37	118	2016-12-28	경남 창원시 큰고니	0	0	-	3	0	0.0	
38	119	2017-01-05	제주 제주시 청둥오리	0	0	-	3	0	0.0	
39	120	2017-01-05	제주 제주시 개리	ID 38번과 조류 종은 다르나 시료채취 지점 중복						
40	121	2017-01-04	경기 안성시 야생조류	0	0	-	2	0	0.0	

41	122	2017-01-04	충남	미호천	야생조류	0	0	-	5	2	40.0
42	123	2017-01-06	경남	창원시	큰고니	0	0	-	3	0	0.0
43	124	2017-01-06	경남	창원시	큰고니	0	0	-	3	0	0.0
44	125	2017-01-09	제주	제주시	청머리오리	0	0	-	1	0	0.0
45	126	2017-01-17	경기	이천시	참매	1	0	-	15	3	20.0
46	127	2017-01-24	충남	서산시	청둥오리	0	0	-	0	0	-
47	128	2017-01-27	전북	전주시	왜가리	0	0	-	0	0	-
48	129	2017-01-24	전북	정읍시	청둥오리	0	0	-	5	0	0.0
49	130	2017-01-30	서울	성동구	빨논병아리	0	0	-	1	0	0.0
50	131	2017-02-03	전북	고창군	가창오리	0	0	-	11	0	0.0
51	132	2017-02-03	경기	용인시	수리부엉이	0	0	-	1	0	0.0
52	133	2017-02-02	전남	여수시	수리부엉이	0	0	-	0	0	-
53	134	2017-02-01	충남	홍성군	청둥오리	0	0	-	3	0	0.0
54	135	2017-02-04	전북	고창군	가창오리	0	0	-	11	0	0.0
55	136	2017-02-04	전북	고창군	쇠기러기	0	0	-	11	0	0.0
56	137	2017-02-06	전북	전주시	왜가리	0	0	-	0	0	-
57	138	2017-02-06	전북	전주시	중대백로	0	0	-	0	0	-
58	139	2017-02-09	전북	순창군	청머리오리	0	0	-	4	0	0.0
59	140	2017-02-02	경기	용인시	흰뺨검둥오리	0	0	-	16	4	25.0
60	141	2017-02-10	경남	하동군	큰고니	0	0	-	0	0	-
61	142	2017-02-15	서울	특별시	쇠기러기	0	0	-	1	0	0.0
62	143	2017-02-20	경남	사천시	청둥오리	0	0	-	0	0	-
63	144	2017-02-19	경북	구미시	청둥오리	0	0	-	1	0	0.0
64	145	2017-02-23	충남	청양군	원앙	0	0	-	7	1	14.3
65	146	2017-02-24	서울	강북구	쇠기러기	0	0	-	0	0	-
66	147	2017-03-07	충남	예산군	야생조류	0	0	-	1	0	0.0
67	148	2017-03-21	충남	당진시	야생조류	0	0	-	6	0	0.0
68	149	2016-12-17	경기	과천시	황새					동물원	
69	150	2016-12-17	경기	과천시	황새					동물원	
70	151	2016-12-18	경기	과천시	원앙					동물원	
71	152	2016-12-18	경기	과천시	원앙					동물원	
72	153	2016-12-18	경기	과천시	원앙					동물원	
73	154	2016-12-18	경기	과천시	원앙					동물원	
74	155	2016-12-24	경기	과천시	따오기					동물원	
75	156	2016-12-24	경기	과천시	노랑부리저어새					동물원	

- 가금: 닭이나 오리를 1,000수 이상 사육하는 농가(N=11,721)
- 야생조류 항원 검출지점: 총 75건 중 동물원 8건과 중복 레코드 2건(ID 21은 22와 중복, 38은, 39와 중복)을 제외하면 65건임

표 2-2-1-3. 2016-2017년 야생조류 HPAI 항원 검출 지점 인근의 가금 사육농장(N=11,721) 및 HPAI 발생 가금농장(N=421) 분포(반경 10km, 30km)

순번	항원검출 지점(ID)	시료채취일	지점	종명	반경 10km			반경 30km		
					가금 농장수	HPAI 발생 농장수	감염률 (%)	가금 농장수	HPAI 발생 농장수	감염률 (%)
1	82	2016-10-28	충남 천안시	원앙	145	27	18.6	793	90	11.3
2	83	2016-11-05	강원 원주시	수리부엉이	53	1	1.9	210	2	1.0
3	84	2016-11-10	전북 익산시	흰뺨검둥오리	164	9	5.5	903	30	3.3
4	85	2016-11-13	충남 천안시	원앙	145	27	18.6	793	90	11.3
5	86	2016-11-15	충남 아산시	야생조류	73	4	5.5	874	53	6.1
6	87	2016-11-17	충남 아산시	원앙	103	12	11.7	868	87	10.0
7	88	2016-11-17	충남 아산시	원앙	96	7	7.3	891	86	9.7
8	89	2016-11-17	충남 아산시	원앙	109	14	12.8	886	91	10.3
9	90	2016-11-18	세종 연서면	청둥오리	66	11	16.7	557	59	10.6
10	91	2016-11-20	전남 강진군	큰고니	40	4	10.0	387	15	3.9
11	92	2016-11-20	전남 강진군	큰고니	25	1	4.0	157	10	6.4
12	93	2016-11-22	충남 천안시	야생조류	134	22	16.4	797	88	11.0
13	94	2016-11-22	충남 부여군	야생조류	80	0	0.0	806	16	2.0
14	95	2016-11-22	충남 아산시	원앙	102	12	11.8	865	86	9.9
15	96	2016-11-22	충남 천안시	야생조류	136	26	19.1	896	118	13.2
16	97	2016-11-24	충북 증평군	흰뺨검둥오리	58	1	1.7	719	80	11.1
17	98	2016-11-24	충북 증평군	청둥오리	58	1	1.7	719	80	11.1
18	99	2016-11-23	전남 강진군	큰고니	33	4	12.1	220	15	6.8
19	100	2016-11-24	경기 이천시	흰뺨검둥오리	112	7	6.3	735	74	10.1
20	101	2016-12-02	경남 창녕군	큰고니	74	0	0.0	199	0	0.0
21	102	2016-11-30	전남 해남군	흰뺨검둥오리	6	0	0.0	237	8	3.4
22	103	2016-11-30	전남 해남군	쇠오리	ID 21번과 조류 종은 다르나 시료채취 지점 중복					
23	104	2016-12-02	강원 철원군	수리부엉이	40	0	0.0	251	26	10.4
24	105	2016-12-05	충남 아산시	청둥오리	113	15	13.3	883	90	10.2
25	106	2016-12-12	경북 경산시	큰고니	24	1	4.2	196	1	0.5
26	107	2016-12-12	충남 아산시	원앙	107	11	10.3	868	86	9.9
27	108	2016-12-13	경기 안성시	쇠오리	158	19	12.0	1,118	148	13.2
28	109	2016-12-12	충남 천안시	원앙	139	26	18.7	799	92	11.5
29	110	2016-12-15	경북 김천시	야생조류	91	0	0.0	338	0	0.0
30	111	2016-12-20	경남 창원시	야생조류	10	0	0.0	167	0	0.0
31	112	2016-12-23	대구 동구	큰고니	16	1	6.3	212	1	0.5
32	113	2016-12-12	전남 강진군	고니	34	4	11.8	277	15	5.4
33	114	2016-12-22	경북 경산시	알락오리	23	0	0.0	191	1	0.5
34	115	2016-12-26	부산 광역시	야생조류	9	0	0.0	83	2	2.4
35	116	2016-12-29	충남 천안시	흰뺨검둥오리	55	11	20.0	1,085	150	13.8
36	117	2016-12-27	부산 광역시	쇠기러기	27	0	0.0	143	4	2.8
37	118	2016-12-28	경남 창원시	큰고니	19	0	0.0	191	1	0.5
38	119	2017-01-05	제주 제주시	청둥오리	24	0	0.0	66	1	1.5
39	120	2017-01-05	제주 제주시	개리	ID 38번과 조류 종은 다르나 시료채취 지점 중복					
40	121	2017-01-04	경기 안성시	야생조류	158	21	13.3	1,115	145	13.0
41	122	2017-01-04	충남 미호천	야생조류	66	9	13.6	534	56	10.5

42	123	2017-01-06	경남 창원시	큰고니	17	0	0.0	197	1	0.5
43	124	2017-01-06	경남 창원시	큰고니	17	0	0.0	197	1	0.5
44	125	2017-01-09	제주 제주시	청머리오리	22	0	0.0	74	3	4.1
45	126	2017-01-17	경기 이천시	참매	115	12	10.4	686	65	9.5
46	127	2017-01-24	충남 서산시	청둥오리	40	1	2.5	459	2	0.4
47	128	2017-01-27	전북 전주시	왜가리	30	2	6.7	930	28	3.0
48	129	2017-01-24	전북 정읍시	청둥오리	170	5	2.9	1,000	41	4.1
49	130	2017-01-30	서울 성동구	빨논병아리	2	0	0.0	161	5	3.1
50	131	2017-02-03	전북 고창군	가창오리	240	20	8.3	802	32	4.0
51	132	2017-02-03	경기 용인시	수리부엉이	19	0	0.0	433	20	4.6
52	133	2017-02-02	전남 여수시	수리부엉이	22	0	0.0	81	0	0.0
53	134	2017-02-01	충남 홍성군	청둥오리	57	0	0.0	479	3	0.6
54	135	2017-02-04	전북 고창군	가창오리	240	20	8.3	802	32	4.0
55	136	2017-02-04	전북 고창군	쇠기러기	240	20	8.3	802	32	4.0
56	137	2017-02-06	전북 전주시	왜가리	33	2	6.1	940	28	3.0
57	138	2017-02-06	전북 전주시	증대백로	47	4	8.5	937	28	3.0
58	139	2017-02-09	전북 순창군	청머리오리	124	0	0.0	648	7	1.1
59	140	2017-02-02	경기 용인시	흰뺨검둥오리	134	15	11.2	992	136	13.7
60	141	2017-02-10	경남 하동군	큰고니	7	0	0.0	87	1	1.1
61	142	2017-02-15	서울 특별시	쇠기러기	2	0	0.0	132	4	3.0
62	143	2017-02-20	경남 사천시	청둥오리	13	0	0.0	125	4	3.2
63	144	2017-02-19	경북 구미시	청둥오리	17	0	0.0	402	0	0.0
64	145	2017-02-23	충남 청양군	원앙	93	1	1.1	588	2	0.3
65	146	2017-02-24	서울 강북구	쇠기러기	1	0	0.0	330	11	3.3
66	147	2017-03-07	충남 예산군	야생조류	84	0	0.0	666	11	1.7
67	148	2017-03-21	충남 당진시	야생조류	113	2	1.8	762	29	3.8
68	149	2016-12-17	경기 과천시	황새				동물원		
69	150	2016-12-17	경기 과천시	황새				동물원		
70	151	2016-12-18	경기 과천시	원앙				동물원		
71	152	2016-12-18	경기 과천시	원앙				동물원		
72	153	2016-12-18	경기 과천시	원앙				동물원		
73	154	2016-12-18	경기 과천시	원앙				동물원		
74	155	2016-12-24	경기 과천시	따오기				동물원		
75	156	2016-12-24	경기 과천시	노랑부리저어새				동물원		

- 가금: 닭이나 오리를 1,000수 이상 사육하는 농가(N=11,721)
- 야생조류 항원 검출지점: 총 75건 중 동물원 8건과 중복 레코드 2건(ID 21은 22와 중복, 38은, 39와 중복)을 제외하면 65건임
- 야생조류에서 HPAI 항원검출 지점 반경 500m내에서는 가금 사육농장에서 HPAI가 발생한 사례는 없었으며, 야생조류가 농가에서 지리적으로 멀리 떨어진 저수지(하천, 댐 등)나 인적이 드문 야산에서 검출된 경우 인근에 가금 사육농가가 없을 수 있는 것으로 나타났다. 야생조류에서 HPAI 항원검출 지점 반경 3km에서는 가금 사육농장에서 HPAI가 발생한 사례는 65건 중 14건이었다. 야생조류에서 HPAI 항원검출 지점 반경 10km에서는 가금 사육농장에서 HPAI가 발생한 사례는 65건 중 40건이었다. 야생조류에서 HPAI 항원검출 지점 반경 30km에서는 가금 사육농장에서 HPAI가 발생한 사례는 65건 중 60건이었다.

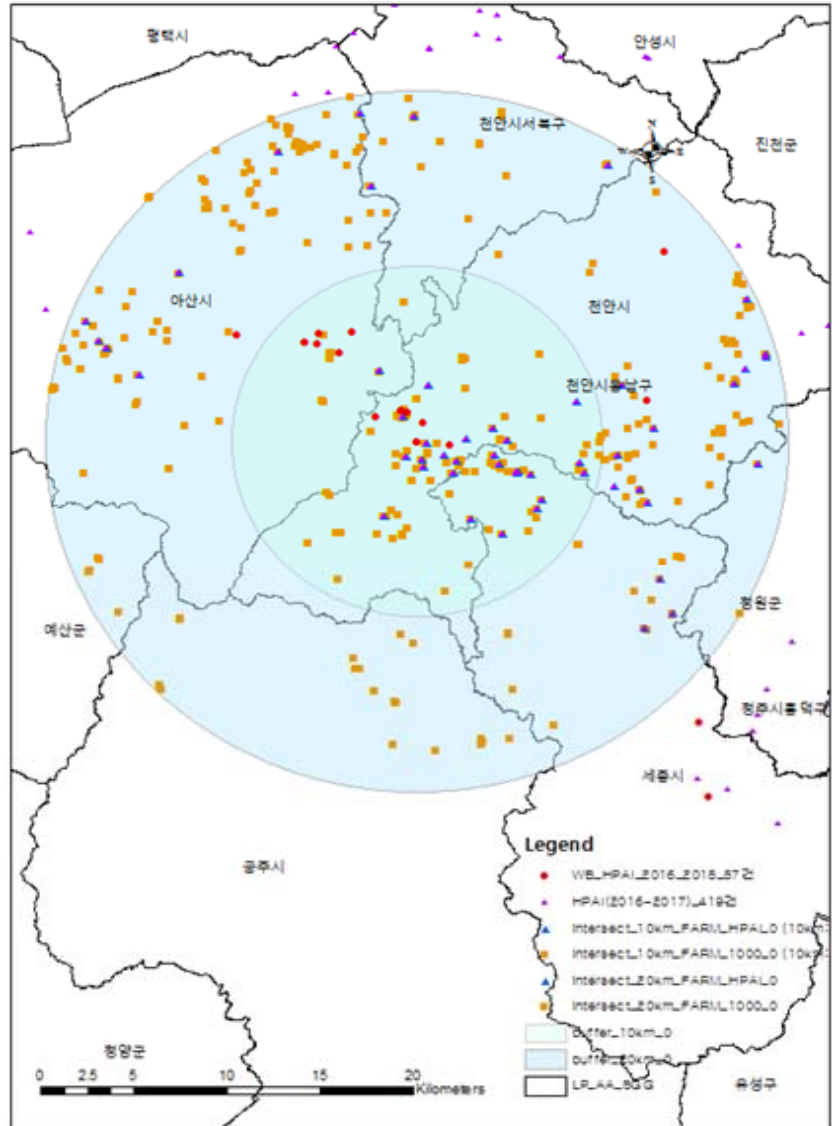


그림 2-2-1-1. 2016.10.28. 충남 천안시 봉강천 야생조류 분변에서 HPAI 항원 검출 지점 반경 10km와 20km 이내 가금 사육농가 분포

<범례>

- 중앙 동심원: 야생조류에서 HPAI 항원이 검출된 지점 반경 10km 버퍼
  - 바깥 동심원: 야생조류에서 HPAI 항원이 검출된 지점 반경 20km 버퍼
  - 붉은색 원: 야생조류에서 HPAI 항원이 검출된 지점
  - 보라색 삼각형: HPAI 발생 농장 지점(2016.11~2017.4월까지의 HPAI 발생 자료)
  - 사각형: 야생조류 HPAI 항원이 검출된 지점 반경 10km(20km) 이내 소재 가금 사육농가
  - 삼각형: 야생조류 HPAI 항원이 검출된 지점 반경 10km(20km) 이내 소재 HPAI 발생 농가
  - 가금 사육농가: 닭 혹은 오리를 1,000수 이상 사육하는 농장(N=11,721)
- 2016.10.28. 충남 천안시 봉강천 야생조류 분변에서 HPAI 항원 검출 지점 반경 10km와 20km 이내



가금 사육농가 분포를 살펴본 결과, 야생조류에서 HPAI 항원검출 지점 반경 500m 이내에 가금 사육농가는 1개가 있으며, 해당 농장은 HPAI가 발생하지 않았다. 야생조류에서 HPAI 항원검출 지점 반경 3km 이내에 가금 사육농가는 58개가 있으며, 이 중 9개 농장(15.5%)에서 HPAI가 발생하였다. 야생조류에서 HPAI 항원검출 지점 반경 10km 이내에 가금 사육농가는 145개가 있으며, 이 중 27개 농장(18.6%)에서 HPAI가 발생하였다. 야생조류에서 HPAI 항원검출 지점 반경 20km 이내에 가금 사육농가는 793개가 있으며, 이 중 90개 농장(11.3%)에서 HPAI가 발생하였다.

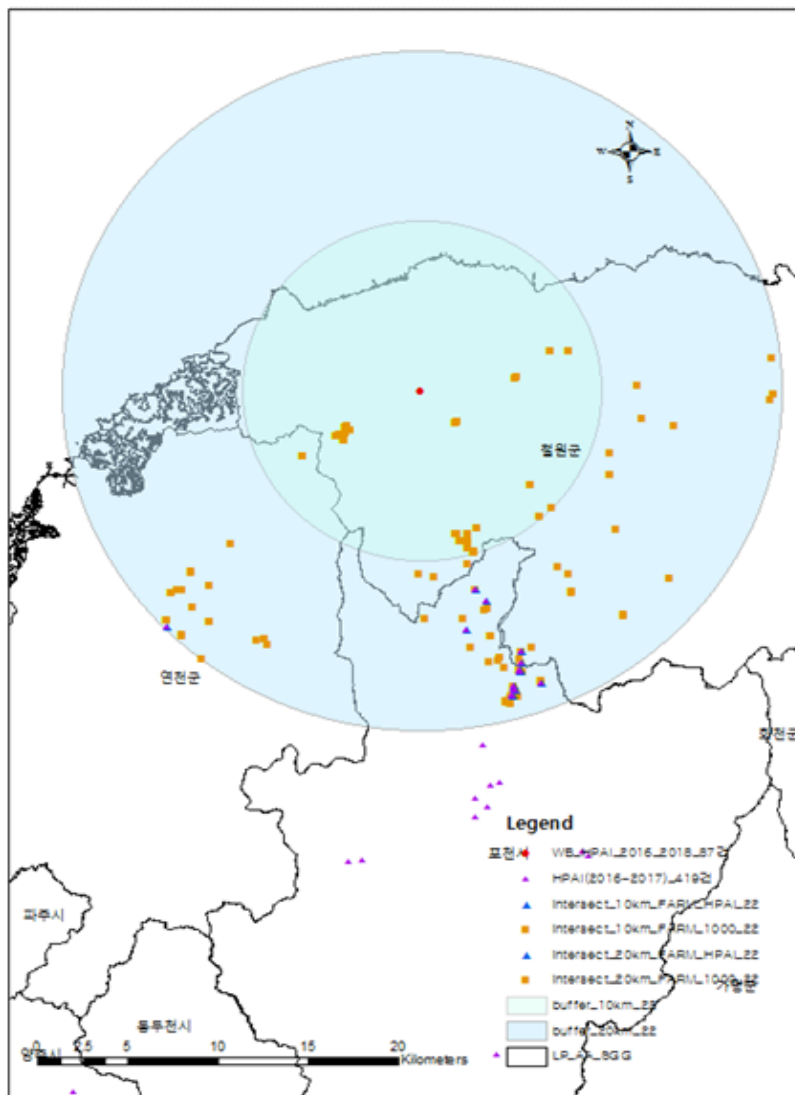


그림 2-2-1-2. 2016.12.2. 강원도 철원군 수리부엉이 폐사체에서 HPAI 항원 검출 지점 반경 10km와 20km 이내 가금 사육농가 분포

- 2016.12.2일 강원도 철원군 수리부엉이 폐사체에서 HPAI 항원 검출 지점 반경 10km와 20km 이내 가금 사육농가 분포를 살펴본 결과, 야생조류에서 HPAI 항원검출 지점 반경 500m 이내에 가금 사육농가가 없으며, HPAI 발생농가도 없었다. 야생조류에서 HPAI 항원검출 지점 반경 3km 이내에 가금 사육농가는 4개가 있으며, 이 중 HPAI 발생농가는 없었다. 야생조류에서 HPAI 항원검출 지점 반경 10km 이내에 가금 사육농가는 40개가 있으며, 이 중 HPAI 발생농가는 없었다. 야생조류에서 HPAI 항원검출 지점 반경 20km 이내에 가금 사육농가는 135개가 있으며, 이 중 16개 농장(11.9%)에서 HPAI가 발생하였다. 야생조류에서 HPAI 항원검출 지점 반경 30km 이내에 가금 사육농가는 251개가 있으며, 이 중 26개 농장(10.4%)에서 HPAI가 발생하였다.

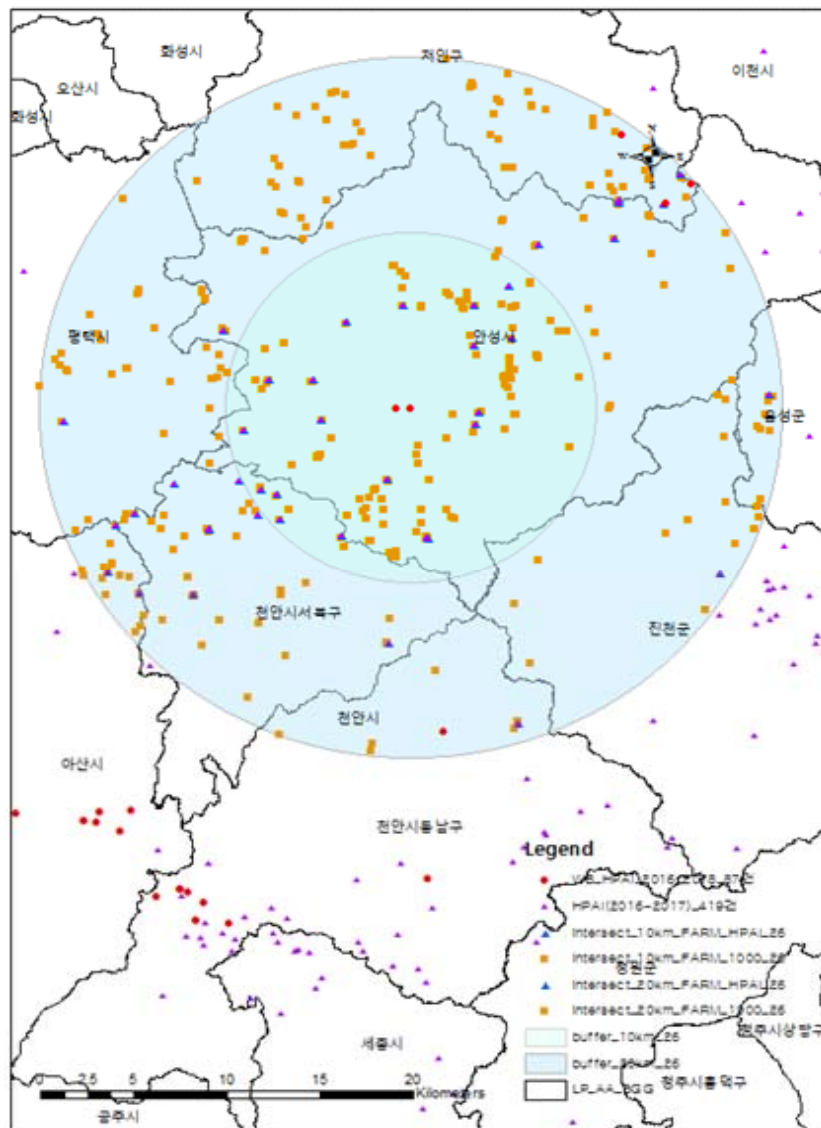


그림 2-2-1-3. 2016.12.13. 경기도 안성시 쇠오리 분변에서 HPAI 항원 검출 지점 반경 10km와 20km 이내 가금 사육농가 분포

- 2016.12.13.일 경기도 안성시 쇠오리 분변에서 HPAI 항원 검출 지점 반경 10km와 20km 이내 가금 사육농가 분포를 살펴본 결과, 야생조류에서 HPAI 항원검출 지점 반경 500m 이내에 가금 사육농가가 없으며, HPAI 발생농가도 없었다. 야생조류에서 HPAI 항원검출 지점 반경 3km 이내에 가금 사육농가는 4개가 있으며, 이 중 HPAI 발생농가는 없었다. 야생조류에서 HPAI 항원검출 지점 반경 10km 이내에 가금 사육농가는 158개가 있으며, 이 중 19개 농장(12.0%)에서 HPAI가 발생하였다. 야생조류에서 HPAI 항원검출 지점 반경 20km 이내에 가금 사육농가는 410개가 있으며, 이 중 41개 농장(10.0%)에서 HPAI가 발생하였다. 야생조류에서 HPAI 항원검출 지점 반경 30km 이내에 가금 사육농가는 1,118개가 있으며, 이 중 148개 농장(13.2%)에서 HPAI가 발생하였다.

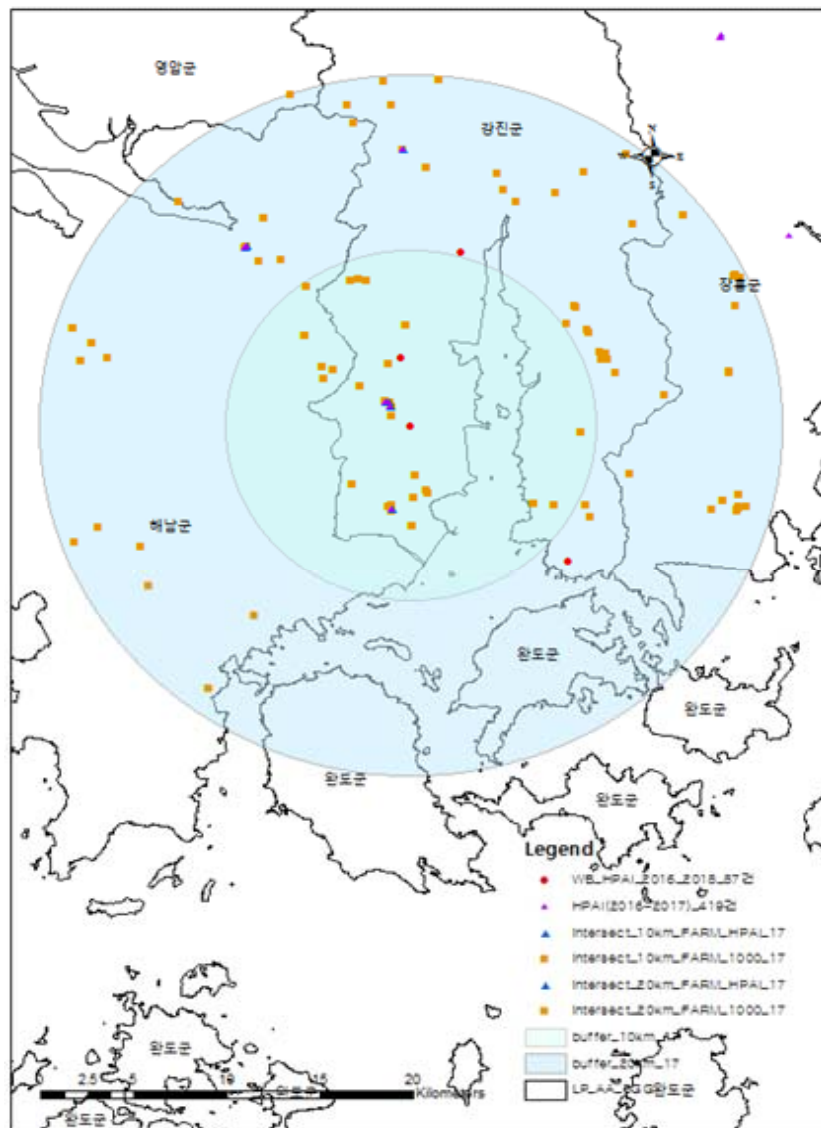


그림 2-2-1-4. 2016.11.24. 경기도 이천시 흰뺨검둥오리 포획 개체에서 HPAI 항원 검출 지점 반경 10km와 20km 이내 가금 사육농가 분포

- 2016.11.24. 경기도 이천시 흰뺨검둥오리 포획 개체에서 HPAI 항원 검출 지점 반경 10km와 20km 이내 가금 사육농가 분포를 살펴보면, 야생조류에서 HPAI 항원검출 지점 반경 500m 이내에 가금 사육농가가 없으며, HPAI 발생농가도 없었다. 야생조류에서 HPAI 항원검출 지점 반경 3km 이내에 가금 사육농가는 5개가 있으며, 이 중 HPAI 발생농가는 없었다. 야생조류에서 HPAI 항원검출 지점 반경 10km 이내에 가금 사육농가는 112개가 있으며, 이 중 7개 농장(6.3%)에서 HPAI가 발생하였다. 야생조류에서 HPAI 항원검출 지점 반경 20km 이내에 가금 사육농가는 405개가 있으며, 이 중 49개 농장(12.1%)에서 HPAI가 발생하였다. 야생조류에서 HPAI 항원검출 지점 반경 30km 이내에 가금 사육농가는 735개가 있으며, 이 중 74개 농장(10.1%)에서 HPAI가 발생하였다.
- 야생조류에서 HPAI 항원이 검출된 사례를 공간역학 측면에서 분석한 결과에 근거할 때 야생조류 항원검출 지점과 가금 사육농장 발생 간의 지리적 상관성은 일부 인정되는 것으로 나타났다. 그러나 월동을 위하여 국내에 도래하는 야생조류(털새 포함)의 남하시점과 이동경로, 서식범위, 북상시점과 이동경로 등에 대한 자료는 매우 부족하여 관련 정보를 추가로 확보하여야 한다.

## 2. 미국과 일본의 조류인플루엔자 역학조사서 분석

- 고병원성 조류인플루엔자 발생 시 자료수집을 위한 설문지 개발을 위해 미국과 일본의 조류인플루엔자 역학조사서를 분석하였다.

### 2-1) 미국 조류인플루엔자 역학조사서

#### A. 기본정보

##### 1) 농가 축종

양계장명, 주소, 농장ID, 등록번호

#### B. 인적사항

소유주 및 근로자 인적사항(연락처)

#### C. 양계장 상세정보

1) 가금종류(육계, 산란계, 칠면조 등)

2) 생산형태(육류, 달걀, 번식 등)

3) 연령(단일, 다양)

4) 성별(암컷, 수컷, 모두)

5) 양계규모

6) 시설형태(산란, 육성, 교배 등)

7) 산란과 육성을 동시에 하는 경우, 동일 계사 내 산란 및 육성여부

- 8) 계사 수 및 규모
- 9) 계사 환기형태(커튼, 자연, 슬라이드 등)
- 10) 냉패드(cool cell pads) 사용여부 및 사용 시 용수 공급원
- 11) 인근 수원과의 거리
- 12) 수원 종류(연못, 호수, 개천, 강 등)
- 13) 양계장 내 타 동물(소, 말, 양, 염소, 돼지, 개, 고양이 등)여부
- 14) 양계장 용수 공급원(상수도, 지하수, 표층수 등)
- 15) 양계장 용수 전처리 여부

#### D. 양계장 차단방역

- 1) 양계장 내 거주시설 여부
- 2) 양계장 및 거주시설 진입로 공유여부
- 3) '접근금지' 등과 같은 팻말 비치여부
- 4) 양계장 입구 게이트 설치여부
- 5) 입구 게이트 시건여부
- 6) 양계장 둘레 펜스여부
- 7) 양계장 내 제초작업 빈도
- 8) 양계장 내 각종 시설 위생수준
- 9) 차량소독시설여부
- 10) 근로자 및 방문자를 위한 독립된 주차시설여부
- 11) 근로자용 환복시설여부
- 12) 근로자 시설 출입 시 의복세척여부
- 13) 계사 내 근로자 고무작업화 착화여부
- 14) 계사 출입문 시건여부
- 15) 신발소독조 구비여부
- 16) 신발건조기 구비여부
- 17) 신발소독조 액상소독제 사용여부
- 18) 신발소독조 소독제 교체주기
- 19) 계사 내 입구지역(entry area)여부
- 20) 해충 및 야생동물 방역사항
  - a. 설치류 미끼설치여부
  - b. 설치류 미끼 교체주기
  - c. 파리 방역여부
  - d. 주거지역 조류방역



- e. 야생조류 관찰여부(횟수 및 종류)
- f. 야생동물(너구리, 여우 등) 관찰여부(횟수 및 종류)
- g. 야생칠면조, 야생비둘기, 야생메추라기 관찰여부(횟수 및 종류)

- 21) 차단방역에 대한 평가여부
- 22) 과거 조류인플루엔자 감염여부

E. 양계장 근로자

- 1) 근로자 수
- 2) 양계장 내 거주 근로자 수
- 3) 근로자의 모든 시설 접근 허용여부
- 4) 근로자 공통 휴식시간여부
- 5) 외부 가금 관련 시설 근로자 파견여부
- 6) 근로자 대상 차단방역교육 빈도
- 7) 외부 과금 관련 시설 근로자의 가족 고용여부
- 8) 근로자 휴가 및 공휴일 시 파트타임 근무자 채용여부
- 9) 근로자의 백야드 접근금지여부

F. 양계장 설비기기

- 1) 전용차량 구비여부(미비시 공동사용처 기술)
- 2) 전용사료차량 구비여부(미비시 공동사용처 기술)
- 3) 전용게이트 사용여부(미사용시 공동사용처 기술)
- 4) 전용잔디관리사 채용여부(미비시 공동관리처 기술)
- 5) 전용로더(live haul loader) 구비여부(미비시 공동사용처 기술)
- 6) 전용계사이동차량 구비여부(미비시 공동사용처 기술)
- 7) 전용프리로더(pre-loaders) 구비여부(미비시 공동사용처 기술)
- 8) 전용고압분무기 구비여부(미비시 공동사용처 기술)
- 9) 전용불도저(skid-steer loaders) 구비여부(미비시 공동사용처 기술)
- 10) 전용트랙터(tillers) 구비여부(미비시 공동사용처 기술)
- 11) 전용트럭 구비여부(미비시 공동사용처 기술)
- 12) 기타 전용장비 구비여부(미비시 공동사용처 기술)

G. 깔개 방역

- 1) 깔개 형태
- 2) 공급처

- 3) 깔개보관소(litter shed) 설치여부
- 4) 부분 클린아웃(cleanout) 실시여부
- 5) 클린아웃 빈도 및 최근 시행 날짜
- 6) 클린아웃 시행주체(근로자 혹은 계약자)
- 7) 양계장 내 깔개처리여부

#### H. 사체처리

- 1) 일별 폐사율
- 2) 일별 사체처리 방식
  - a. 양계장 내부 처리: 저장고/소각/퇴비/기타
  - b. 양계장 외부 처리: 매장/랜더링/기타
  - c. 양계장 외부 처리주체: 근로자/기타
  - d. 저장고 이용시 매일 봉토작업여부
    - 3) 사체처리 계약업체 이름
    - 4) 사체처리 주기
    - 5) 사체용기 밀폐여부

#### I. 양계장 방문자

- 1) 일별 방문자수
- 2) 방명록 구비여부
- 3) 방문자를 위한 의복 제공여부
- 4) 계군 관련 근로자 근무사항 기록여부
  - a. 계군관리
  - b. 백신접종
  - c. 이동관리
  - d. 출하관리
  - e. 출하차량
  - f. 랜더링
  - g. 깔개관리
  - h. 클린아웃
  - i. 기기사용
  - j. 사료운반
    - 5) 계군 이동 후 계사 단속여부
    - 6) 사료 밀폐여부

J. 야생조류

- 1) 야생조류 출현여부
- 2) 년중 지속적 출현여부
- 3) 조류 출현 시 주기여부
- 4) 조류 출현 시 양계장과의 관계
  - a. 근방 서식지이나 양계시설에서 멀리 떨어져 있음
  - b. 양계장 내 출현하나 계사 내에서는 관찰되지 않음
  - c. 양계장 내 계사 내에 출현

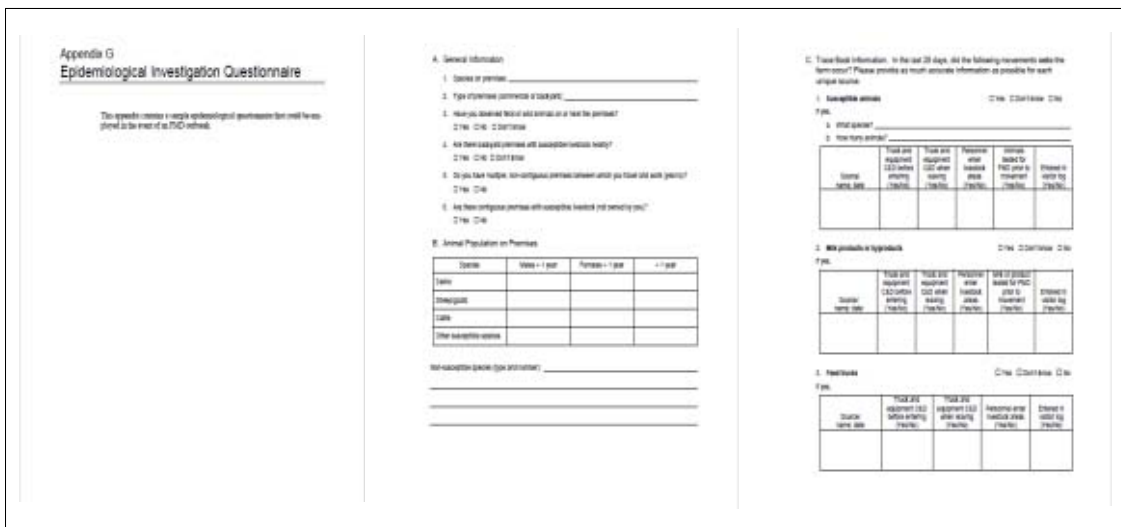


그림 2-2-1-5. 미국 조류인플루엔자 역학조사 설문서

2-2) 일본 조류인플루엔자 역학조사서

A. NAI 및 NAI 발병의 정의에 관한 법령과 규정

- 1) NAI 방제를 위한 법령, 규정, 비상대책의 명칭과 각각에 대한 간단한 설명
- 2) NAI 발병의 정의와 법령 및 규정의 사례

B. 진단 방법

- 1) (선별검사 및 질병 확진을 위한) NAI 진단 담당 기관/단체
- 2) 임상검사 또는 질병 확진을 위한 선별 검사에 의해 검출된 의심사례를 통한 검사 절차도
- 3) 다른 가금류 질병(예, 뉴캐슬병)과 구별하는 방법

### C. 감시

- \* 참고: (NAI이 있다면) NAI 발병의 검출, 통지, 확산을 하기 위한 행동 규정을 설명하는 발병 대비 매뉴얼과 가이드라인(영어 또는 일본어)을 제공

#### 가. 수동적(소극적) 감시 관련

- 1) 임상 관찰과 의심 사례 통지 담당자 (예, 소유자, 농장직원, 민간 수의사, 공공 수의사)
- 2) 법령 및 규정에서 통지에 대한 법적 의무와 불이행시 처벌
- 3) 통보 받을 기관/단체. 초기 통지를 받은 후 취해야 할 행동
- 4) 조기 신고를 장려하기 위한 노력 (예, 발병농장에 대한 보상 체계, 농장주와의 소통 강화, 교육활동)
- 5) 최근 2년간 접수된 신고 건수 (발병 시, NAI 양성 사례 건수)

#### 나. 능동적 감시 관련

- 1) 능동적 감시에 사용되는 진단 방법, 능동적 감시 이행 기관/단체/실험실(연구소)
  - 2) 표적집단(예, 지역, 종, 농장유형(번식, 육계, 산란)을 포함하는 자세한 샘플링 방법, 모집단에서 추출된 표본의 개체 수(근거 포함), 추출된 표본의 선택 방법, 표본 추출의 시점과 빈도, 표본 추출 담당 인력
  - 3) 최근 2년간 지역 및 종별로 실시된 능동적 감시 결과, 자료는 지역내 축사와 조류의 수, 조사된 축사의 수, 조사된 표본의 수, 양성반응의 축사와 조류의 수를 포함해야 함.
- \* 참고: 발병시에는 상기 정보를 포함하는 감시 보고서를 제공

#### 다. 야생조류 감시 관련

- 1) 권한 관리, 조사 방법, 대상 지역, 대상 조류종, 그리고 가장 최신의 결과(있는 경우)를 포함한 야생 조류 조사에 관한 정보
- 2) 야생 조류에서 NAI가 확진되었을 때 NAI 양성 사례에 대한 대응

### D. NAI 발병 대응

- \* 참고: 아래 내용을 포함하는 비상계획(영어 또는 일본어)을 제공하고 대응 부분 강조

- 1) 발병 상황에서 중앙/지방 정부 및 기타 관련 기관/단체의 명령, 역할, 책임 계통
- 2) 제한구역 설정, 구역내 통제 사항(이동통제 등), 제한구역 해제 요건
- 3) 발병 농장에 대한 조치 (예, 조류 살처분, 사체처리, 세척 및 소독)
- 4) 역학 추적 작업과 조사의 개요
- 5) 관련 농장(예, 역학적 관련 농장, 고위험 농장)과 해당 농장에 대한 조치(예, 조류 살처분, 이동제한, 긴급 백신접종, 표적감시, 도축관리)에 대한 정의

- 6) 구체적 청정 확인 방법(검사방법, 표본조사 방법, 대상 조류 및 계사, 검사시기)
- 7) 보상 방식(특히, 보상 대상, 보상 비율, 정부와 사업체 간의 비용 분담 비율)과 법적 근거

#### E. 백신

- 1) NAI 백신의 생산, 마케팅, 유통, 사용에 대한 감독과 승인, 수입에 대한 책임 기관/단체
- 2) NAI 백신접종 정책 (예, 필수 백신접종, 긴급 백신접종, 백신접종 금지)
- 3) (백신접종이 허용된 경우) 제조사, 승인된 백신 균주, 대상 종, 단계별 백신접종 시기, 백신 접종에 의한 감염 구별 방법을 포함하는 승인된 NAI 백신의 자세한 정보
- 4) (백신접종이 금지된 경우) 제조사, 승인된 백신 균주, 대상 종, 단계별 백신접종 시기, 백신 접종에 의한 감염 구별 방법을 포함하는 사용된 NAI 백신의 자세한 정보
- 5) 제조사, 승인된 백신 균주, 대상 종, 단계별 백신접종 시기, 백신 접종에 의한 감염 구별 방법을 포함하는 NAI 발병 대비 긴급용도의 정부 비축 백신에 대한 자세한 정보와 긴급 백신접종 매뉴얼 제공 (있을 경우)

#### F. NAI에 대한 국경 통제 조치

- 1) 생축 및 축산물 수입에 대한 국경 통제 조치;
- 2) NAI 발병 국가로부터 수입된 NAI 의심 가금류와 가금류 제품에 대한 요구사항 및 검역 조치 (있는 경우) (예, 건강 진단서, 생축 및 축산물 검사서 첨부)
- 3) 백신접종 사례가 있는 NAI 청정 국가로부터 수입된 NAI 의심 가금류와 가금류 제품에 대한 요구사항 및 검역 조치 (있는 경우) (예, 건강 진단서, 생축 및 축산물 검사서 첨부)
- 4) 백신접종 사례가 없는 NAI 청정 국가로부터 수입된 NAI 의심 가금류와 가금류 제품에 대한 요구사항 및 검역 조치 (있는 경우) (예, 건강 진단서, 생축 및 축산물 검사서 첨부)
- 5) (국내 NAI 발병 시) NAI 발병(또는 의심사례 발견) 상황시 교역 상대에게 통지하는 시기와 OIE에 통지하는 시기(NAI 사례 확진 이전 또는 이후)
- 6) 인근 국가에서 NAI 발병시 조치

#### G. NAI 발병 이력 및 현재 상황

- 1) 최근 10년간 NAI 발병 상태 이력, 최근 10년 동안 발병 사례가 없다면 해당 국가에서 마지막으로 NAI이 발병한 날짜를 명시
- 2) 최근 3년동안 각각의 NAI 발병에 대한 아래의 정보를 제공 (불가능할 경우, 마지막 발병에 대한 정보 제공);

\* 참고: 아래 각 문항에 대한 답변 대신 OIE에 접수한 기록서류(있는 경우)와 같은 관련 발병 보고서 제공



- 첫 발병사례부터 종식까지의 발병 기록 및 요약
- 격리된 바이러스의 특성
- 발병에 대응한 조치의 과정 (예, 구역 설정, 이동제한, 긴급 백신접종, 살처분, 세척 및 소독)
- 사체와 오염 물품의 폐기
- 발병에 대응한 집중 감시의 결과와 검사방법, 대상 축사, 대상 가축 및 검사 표본의 수, 검사결과가 포함된 정보
- 감염된 농장(의심사례 포함)과 조류의 전체 수
- NAI 바이러스 발병 원인과 전파 경로 (가능한 경우)

H. 기타

- 1) NAI 관리 그리고/또는 NAI 의심 야생조류 모니터링 프로그램에 관한 정보 (있는 경우)
- 2) NAI과 관련하여 해당 국가에서 구역 설정과 구획화를 하는가? 예를 들어, NAI 상황에 따라 서로 다른 상태로 지정되는 지역이 있는가?
- 3) 의심사례가 뉴캐슬병으로 진단되었을 경우 조치

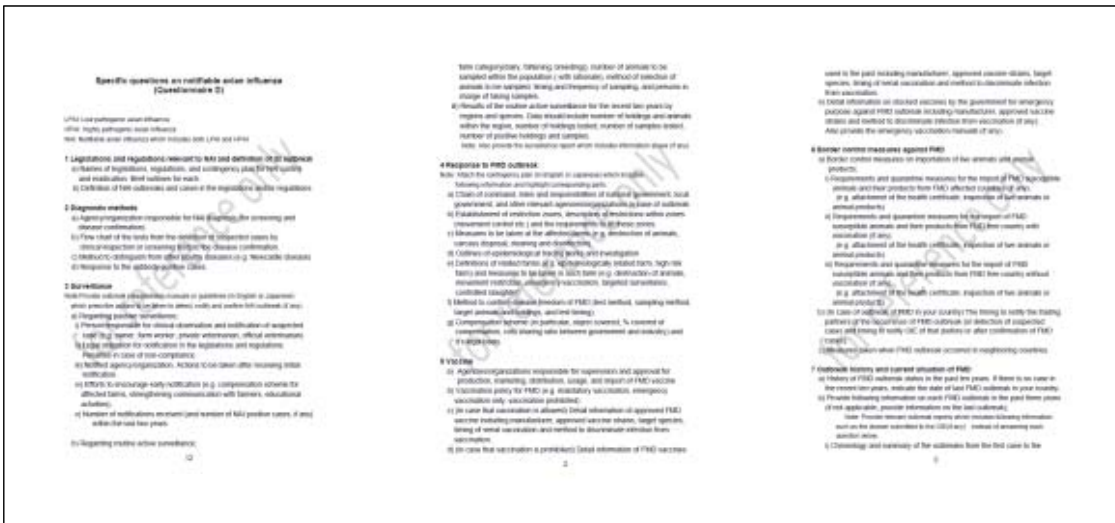


그림 2-2-1-6. 일본 조류인플루엔자 역학조사 설문서

### 3. 위험도 평가 모델에 적용할 연관 데이터 정제

#### 3-1) 고병원성 조류인플루엔자 발생정보

- 2003년부터 2016년 4월까지 국내에서 발생한 고병원성 조류인플루엔자는 총 624건이 발생하였으며, 경기(서울특별시 2건 포함) 104건, 강원 3건, 충북 102건, 충남(세종자치시 5건 포함) 61건, 전북 134건, 전남(광주광역시 3건 포함) 166건, 경북(대구광역시 4건, 울산광역시 19건 포함) 40건, 경남(부산광역시 7건 포함) 14건으로 나타났다. 시군구별 고병원성 조류인플루엔자 발생현황을 조사하였

다. 전국 253개 시군구 중 82개(32.4%) 시군구에서 HPAI가 적어도 1회 이상 발생하였으며, 2회 이상 발생 시군구 56개(22.1%), 3회 이상 발생 시군구 43개(17.0%), 4회 이상 발생 시군구 34개(13.4%), 10회 이상 발생한 시군구는 16개(6.3%)로 분석되었다. 고병원성 조류인플루엔자가 20회 이상 발생한 시군구는 총 10개(4.0%) 지역으로, 충북 2개(음성군, 진천군) 충남 1개(천안), 전북 4개(김제, 정읍, 부안군, 고창군), 전남 2개(나주시, 영암군)로 나타났다.

### 3-2) GIS 기반 농장정보 및 축산차량 이동정보

- 국가가축방역통합시스템(Korea Animal Health Integrated System, KAHIS)에 2017년 10월 기준으로 등록된 가금농가(닭, 오리, 거위, 꿩, 타조 등)의 GIS 기반 위치정보와 GPS를 부착한 축산차량의 이동정보 데이터베이스를 구축하였다. 예를 들어, 강원도 내 위치한 758개 가금농가에 관한 데이터베이스를 살펴보면 표 2-2-1-4와 같으며, KAHIS GPS 등록차량의 이동정보 데이터베이스 예시를 살펴보면 표 2-2-1-5와 같다.

표 2-2-1-4. 강원도 내 가금농가 데이터베이스 예시

순번	농가ID	농장주명	지역	축종	축종세부
1	196	이**	강원도	닭	토종닭
2	211	확*****	강원도	닭	토종닭
3	318	싱***	강원도	닭	산란계
4	321	우***	강원도	오리	육용오리
5	321	우***	강원도	닭	토종닭
6	357	최**	강원도	닭	토종닭
7	406	김**	강원도	닭	토종닭
8	410	김**	강원도	닭	토종닭
9	410	김**	강원도	오리	육용오리
10	416	박**	강원도	닭	산란계
11	420	이**	강원도	닭	토종닭
12	506	이**	강원도	닭	토종닭
13	514	김**	강원도	닭	토종닭
14	525	안**	강원도	거위	
15	525	안**	강원도	오리	육용오리
16	525	안**	강원도	닭	토종닭
17	528	우**	강원도	닭	토종닭
18	540	유***	강원도	닭	토종닭
19	565	김**	강원도	닭	토종닭
20	571	김**	강원도	닭	토종닭
21	596	박**	강원도	닭	토종닭
22	618	현***	강원도	닭	육계

...

748	13143	이**	강원도	닭	토종닭
749	13150	이*	강원도	닭	토종닭
750	13250	김**	강원도	닭	토종닭
751	13316	지***	강원도	닭	산란계
752	13335	경***	강원도	닭	토종닭
753	13355	지***	강원도	닭	산란계
754	13398	석***	강원도	닭	토종닭
755	13404	상***	강원도	닭	산란계
756	13409	설****	강원도	칠면조	
757	13409	설****	강원도	닭	토종닭
758	13411	김**	강원도	닭	토종닭

표 2-2-1-5. 국가가축방역통합시스템 내 차량이동정보 데이터베이스 예시

순번	이동발생ID	차량번호*	관련농장번호	이동유형	등록정보
1	20141101000005	*****	172973	1933	경기-시흥-13-0033
2	20141101000005	*****	172973	1933	경기-시흥-13-0033
3	20141101000005	*****	172973	1933	경기-시흥-13-0033
4	20141101000014	*****	31760	1690	경기-시흥-13-0033
5	20141101000020	*****	50742	1217	경기-평택-13-0105
6	20141101000043	*****	996078	36347	충북-진천-14-0038
7	20141101000154	*****	924524	398	충남-천안-14-0075
8	20141101000233	*****	1010384	42743	경기-용인-12-0017
9	20141101000240	*****	996073	126143	전북-익산-12-0145
10	20141101000313	*****	921013	2716	충남-천안-12-0096
11	20141101000318	*****	1012853	101525	전북-익산-12-0145
12	20141101000341	*****	924658	2620	충남-천안-12-0096
13	20141101000355	*****	250379	714	전북-익산-13-0219
14	20141101000504	*****	928890	1938	전남-목포-12-0001
15	20141101000516	*****	588519	222	경남-함양-14-0002
16	20141101000516	*****	588519	222	경남-함양-14-0002
17	20141130235233	*****	996076	19609	충북-청주-12-0072
18	20141130235235	*****	996076	19612	충북-청주-12-0072
19	20141130235308	*****	285129	440	충북-충주-12-0184
20	20141130235351	*****	996078	39027	충북-진천-12-0148
21	20141130235422	*****	311083	118	충북-진천-12-0029
22	20141130235430	*****	1026173	480	전북-부안-13-0102
23	20141130235433	*****	986696	26127	충북-충주-12-0026

24	20141130235454	*****	996620	51862	경기-용인-12-0093
25	20141130235501	*****	1012964	21037	충북-충주-12-0026
26	20141130235530	*****	996645	39488	세종--14-0013
27	20141130235558	*****	996504	36589	세종--14-0013
28	20141130235625	*****	1019510	277	전북-군산-13-0051
29	20141130235631	*****	258425	95	전북-군산-13-0051
30	20141130235645	*****	996076	19610	충북-청주-12-0099
31	20141130235658	*****	1014021	6430	경북-영주-13-0107
32	20141130235702	*****	986689	15385	충남-논산-12-0267
33	20141130235708	*****	184570	1717	전남-구례-13-0014
34	20141130235709	*****	996102	30072	전남-나주-12-0384
35	20141130235718	*****	99981	573	경남-합천-13-0024
36	20141130235718	*****	1010109	42719	전북-부안-13-0122
37	20141130235724	*****	986694	11543	충남-아산-12-0167
38	20141130235725	*****	1077565	192	경남-합천-13-0024
39	20141130235747	*****	581683	321	전북-정읍-14-0046
40	20141130235813	*****	1012964	21038	충북-충주-12-0035
41	20141130235818	*****	41389	1445	경기-여주-12-0095
42	20141130235823	*****	996078	39028	충북-진천-12-0119
43	20141130235827	*****	996077	18097	경기-용인-12-0113
44	20141130235830	*****	80001267	166	전남-순천-14-0048
45	20141130235837	*****	986696	26128	충북-충주-12-0035
46	20141130235843	*****	1012462	43764	경북-상주-13-0092
47	20141130235903	*****	996078	39029	충북-진천-12-0094
48	20141130235917	*****	1030216	358	경남-진주-13-0014
49	20141130235932	*****	564981	728	강원-춘천-13-0231
50	20141130235932	*****	564981	728	강원-춘천-13-0231
51	20141130235933	*****	875949	700	전북-부안-14-0053

\* 개인정보보호법에 의거 무기명처리함

### 1-3) GIS기반 철새이동 정보

- 국제 동물 이동 및 추적 데이터 수집 및 제공 단체인 Movebank([www.movebank.org](http://www.movebank.org))로부터 2012년 10월부터 2017년 5월까지의 철새 이동정보를 수집한 뒤, GIS DB변환을 실시하였으며, 국내 도래 철새 개체수와 야생조류 내 고병원성 조류인플루엔자 바이러스 검출내역 등의 GIS 자료와 농림축산검역본부에서 수행하고 있는 GPS 부착 야생조류 이동경로 자료를 이용하여 시각화를 실시하였다. 2017년 기준 국내 도래 철새의 이동현황을 살펴보면 그림 2-2-1-7과 같으며, 종별 이동현황은 그림 2-2-1-8 ~ 그림 2-2-1-23과 같다. 농림축산검역본부에서 2013년부터 2016년까지 수행한 GPS 부착 야생조류 이동경로 자료 분석결과는 그림 2-2-1-24 및 그림 2-2-1-25와 같다.

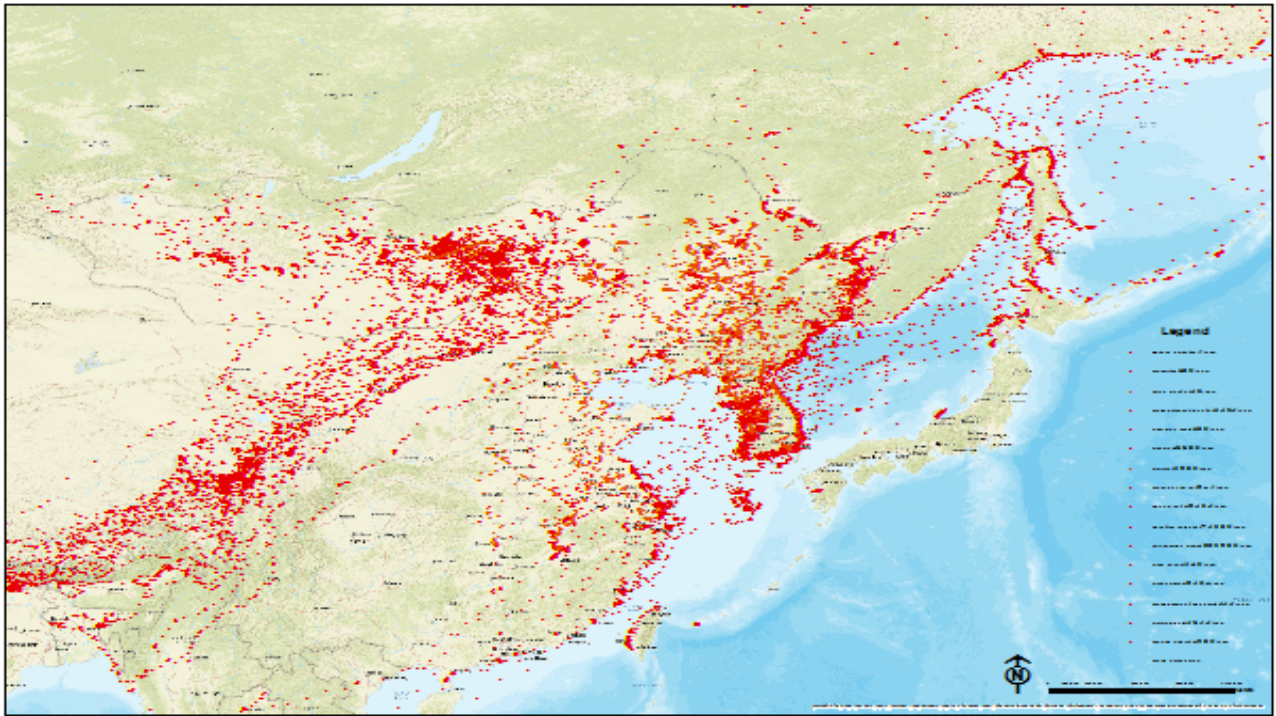


그림 2-2-1-7. 2012.10. ~ 2017.5. 국내 도래 철새 이동현황



그림 2-2-1-8. 2012.10. ~ 2017.5. 국내 도래 고니(*Cygnus columbianus*) 이동현황

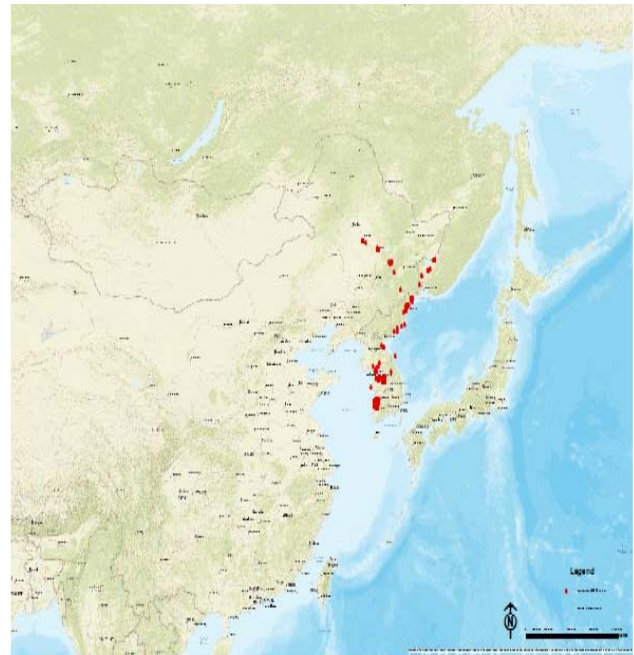


그림 2-2-1-9. 2012.10. ~ 2017.5. 국내 도래 고방오리(*Anas acuta*) 이동현황





그림 2-2-1-10. 2012.10. ~ 2017.5. 국내 도래  
개리(*Anser cygnoides*) 이동현황

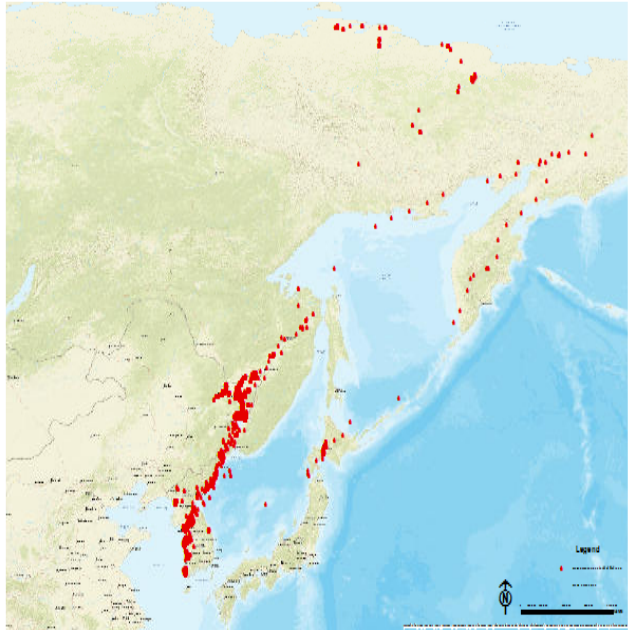


그림 2-2-1-11. 2012.10. ~ 2017.5. 국내 도래  
쇠기러기(*Anser albifrons*) 이동현황

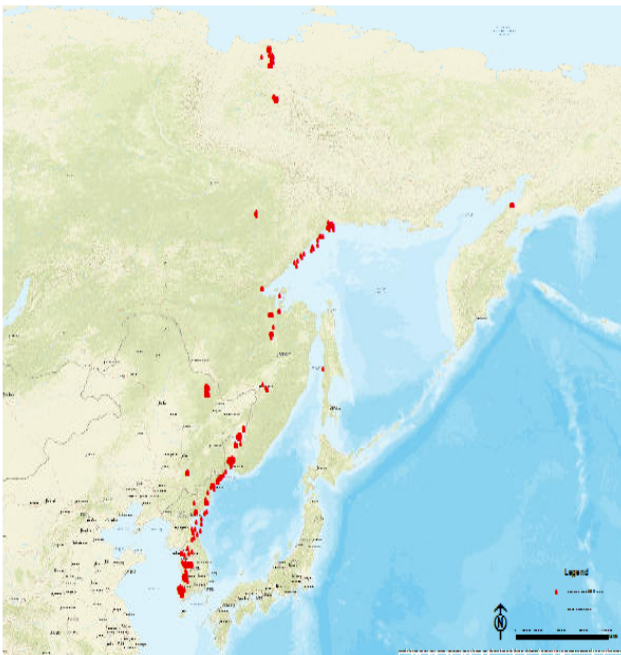


그림 2-2-1-12. 2012.10. ~ 2017.5. 국내 도래  
쇠오리(*Anas crecca*) 이동현황

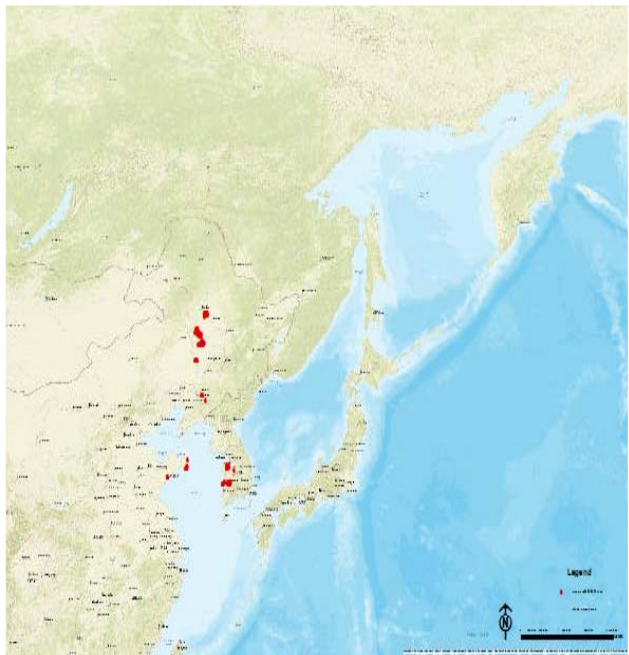


그림 2-2-1-13. 2012.10. ~ 2017.5. 국내 도래  
알락오리(*Anas strepera*) 이동현황

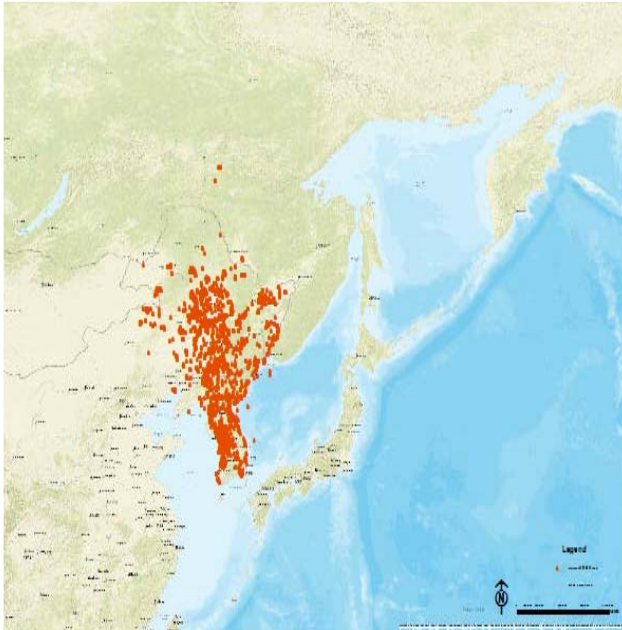


그림 2-2-1-14. 2012.10. ~ 2017.5. 국내 도래 청둥오리(*Anas platyrhynchos*) 이동현황

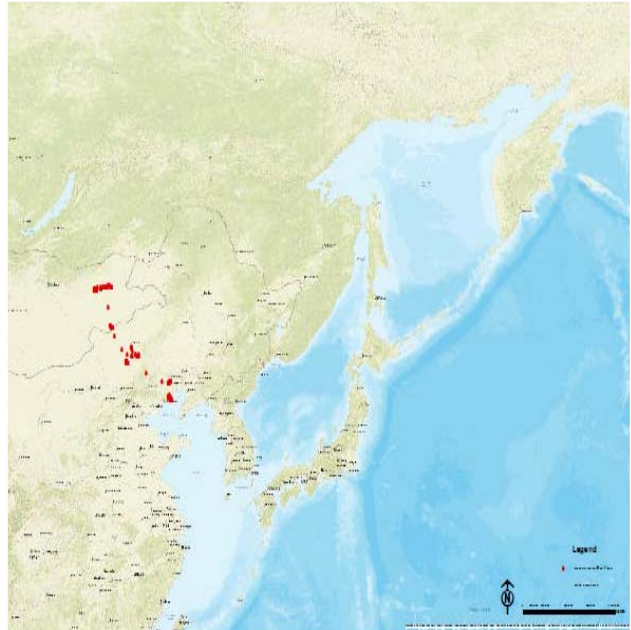


그림 2-2-1-15. 2012.10. ~ 2017.5. 국내 도래 큰고니(*Cygnus cygnus*) 이동현황

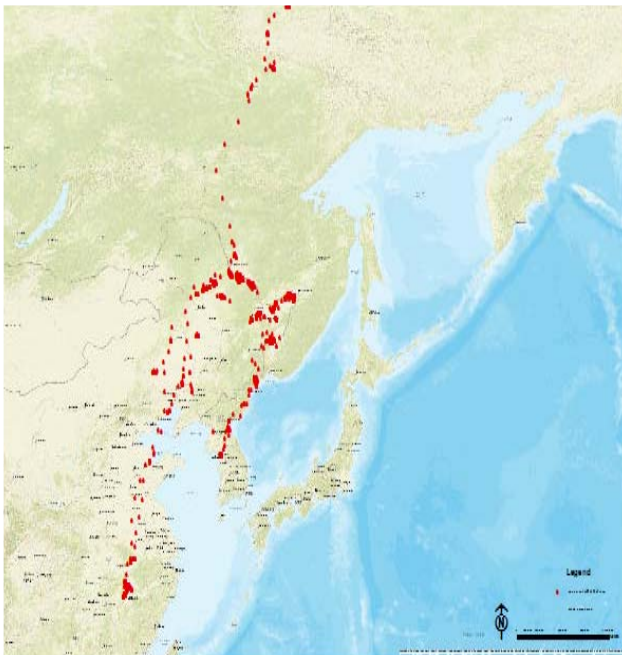


그림 2-2-1-16. 2012.10. ~ 2017.5. 국내 도래 큰기러기(*Anser fabalis*) 이동현황

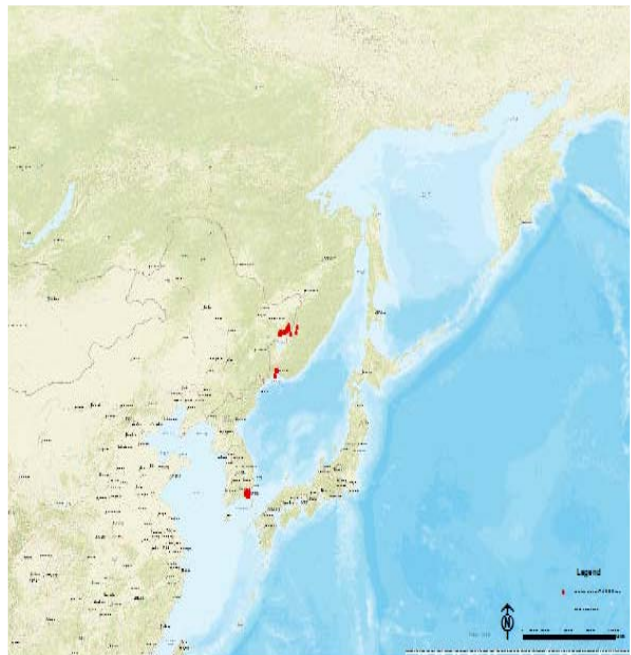


그림 2-2-1-17. 2012.10. ~ 2017.5. 국내 도래 홍머리오리(*Anas penelope*) 이동현황



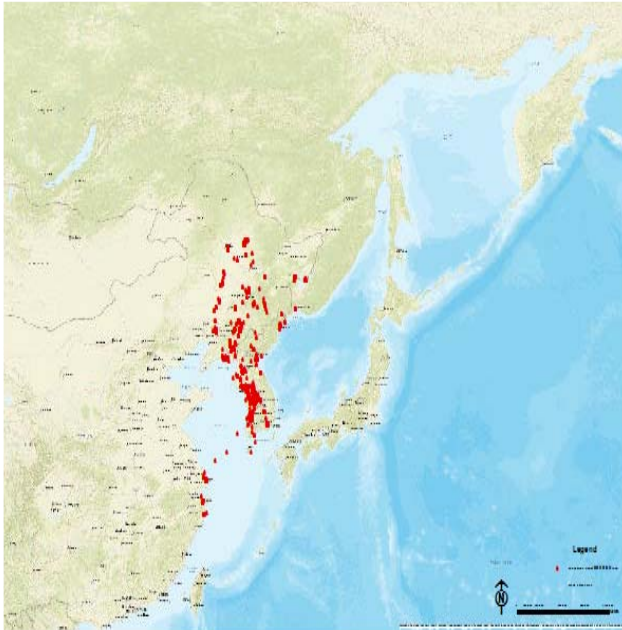


그림 2-2-1-18. 2012.10. ~ 2017.5. 국내 도래  
 흰뺨검둥오리(*Anas poecilorhyncha*)  
 이동현황



그림 2-2-1-19. 2012.10. ~ 2017.5. 국내 도래  
 왜가리(*Ardea cinerea*) 이동현황

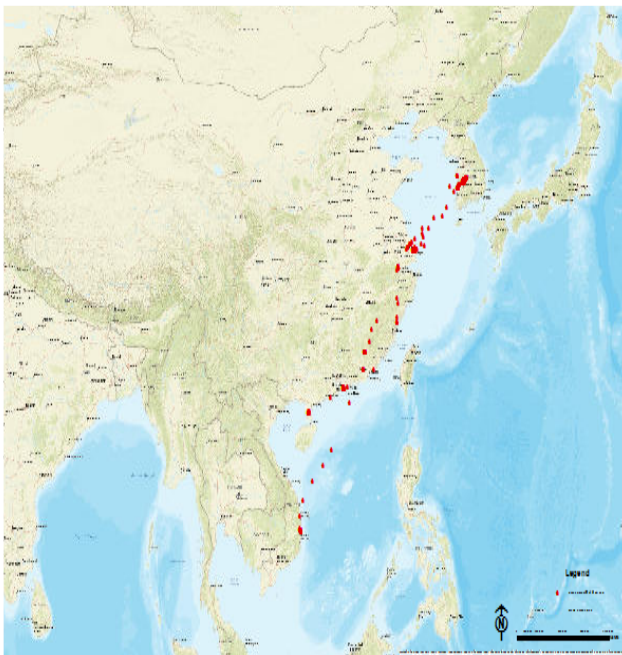


그림 2-2-1-20. 2012.10. ~ 2017.5. 국내 도래  
 중대백로(*Ardea modesta*) 이동현황

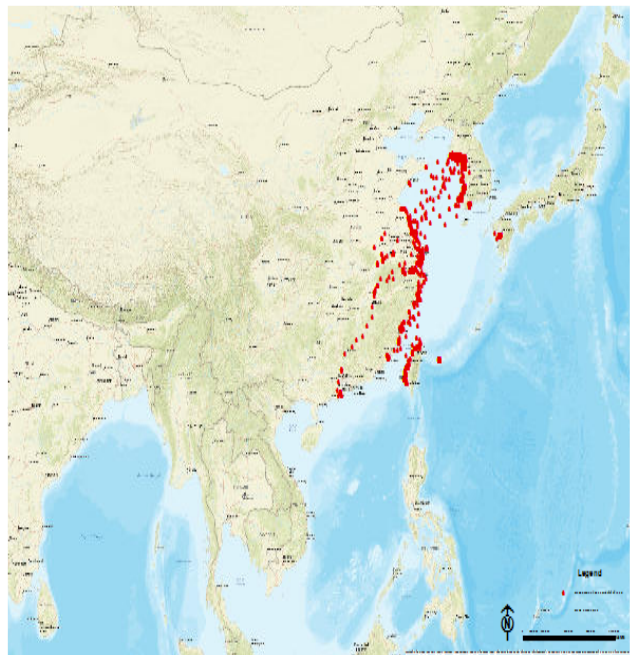


그림 2-2-1-21. 2012.10. ~ 2017.5. 국내 도래  
 저어새(*Platalea minor*) 이동현황

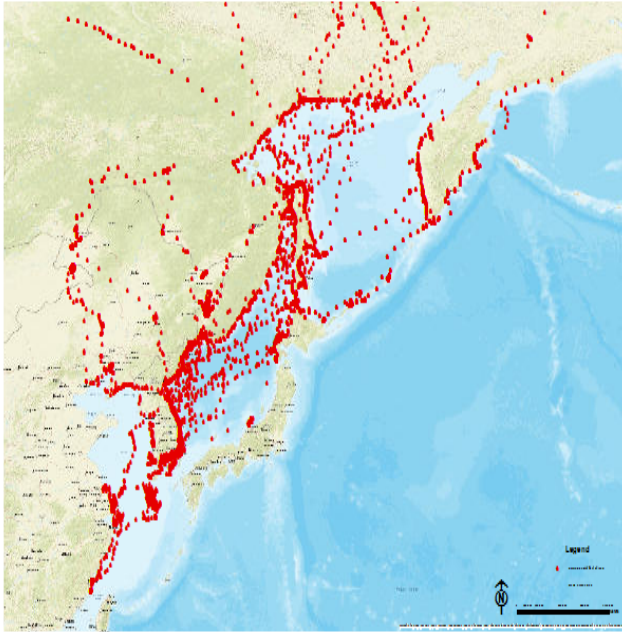


그림 2-2-1-22. 2012.10. ~ 2017.5. 국내 도래  
재갈매기(*Larus argentatus*) 이동현황

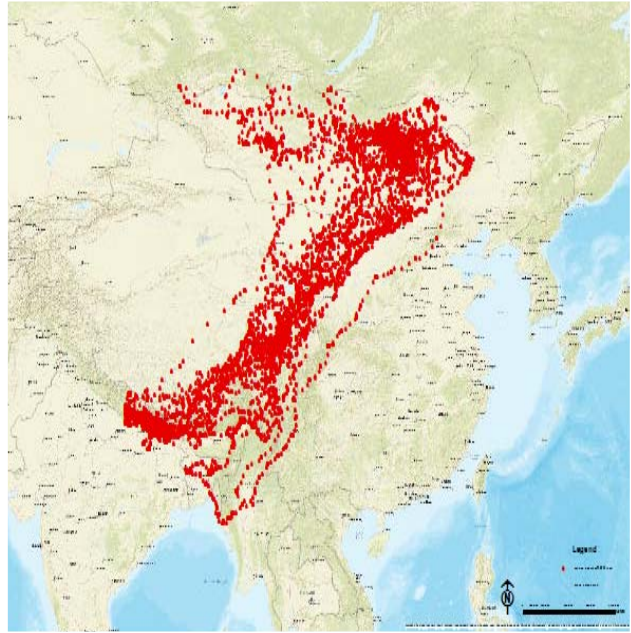


그림 2-2-1-23. 2012.10. ~ 2017.5. 국내 도래  
초원수리(*Aquila nipalensis*) 이동현황

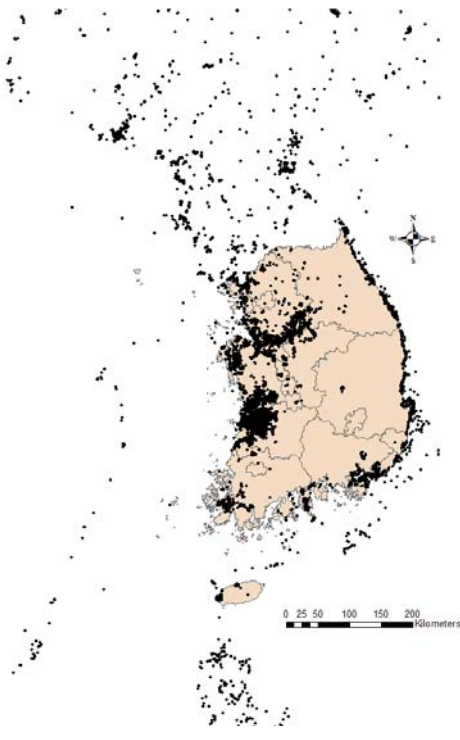


그림 2-2-1-24. 2013-2016 GPS무삭 야생소두  
이동현황1

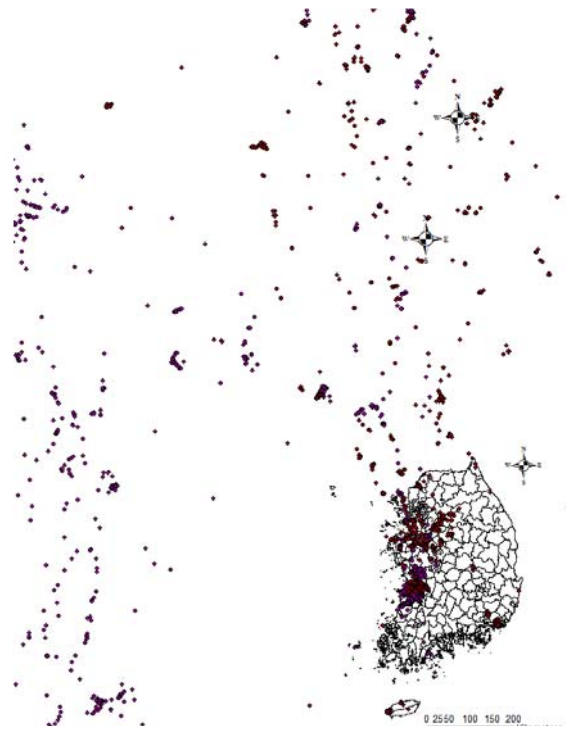


그림 2-2-1-25. 2013-2016 GPS무삭 야생소두  
이동현황2

2-2-2. 2차년도

주관연구기관(서울대학교: HPAI 발생농가의 질병 유입 요인별로 질병전파 위험성 실험실 평가 )

1. 고병원성 조류인플루엔자 바이러스 가금 계대에 의한 돌연변이 빈도 및 환경 저항성 조사

1) 고병원성 조류인플루엔자 바이러스 돌연변이 빈도 조사

- 고병원성 인플루엔자 바이러스 (Highly Pathogenic Avian Influenza Virus, HPAIV) 중 1996년 이래로 중국에서 발생하기 시작한 H5N1바이러스는 현재까지 매우 다양한 유전적 진화가 진행되어왔음 (Sonnberg et al., 2013, Smith et al., 2015).
- PB2 유전자 돌연변이 빈도 조사: PB2는 PB1, PA와 함께 RNA-dependent RNA polymerase trimer를 구성하며 조류 유래의 다양한 type A 인플루엔자 바이러스들의 포유류 병원성 획득에 가장 중요한 유전자 중의 하나이며 관련 돌연변이가 알려져 있음 (표). 본 연구자들은 조류 PB2 유전자의 포유류 병원성 관련 돌연변이 획득을 위해 가장 기본적인 돌연변이(MVV, Lee et al., 2017)를 동정하였으며 여기에 다양한 돌연변이의 축적 과정과 축적된 돌연변이 유전형들의 사람, 돼지, 조류에서의 빈도를 분석함. 특히, 노란색 원들이 연결된 돌연변이 축적 과정과 유전형 (147T-339T-627K and 147T-339T-588T)의 경우 조류에서의 빈도가 높아 향후 새로운 포유류 병원성 바이러스 출현에 중요한 역할을 할 수 있을 것으로 판단됨. 따라서, 이러한 돌연변이 유전형 바이러스의 향후 출현 빈도를 모니터링 하고, 상대적 병원성 평가를 진행 할 계획임.

표 1. Mammalian pathogenic PB2 mutations and frequency in different hosts.

Species	N	Domain/% of mammalian pathogenic mutation of PB2 gene																			
		N1		N2		Lid		Mid		Cap-binding		Cap-627		627 linker		NLS					
		D	I	E	E	A	D	T	K	F	K	T	A	G	Q	Q	E	A	D	K	S
		9	147	158	192	199	253	271	339	404	526	588	588	590	591	591	627	674	701	702	714
		N	T	G	K	S	N	A	T	L	R	I	T	S	R	K	K	T	N	R	R
Bird	11,649	0.75*	11.22	0.02	0.04	0.12	0.04	0.4	8.8	0.18	0.09	0.09	4.02	8.4	0.15	0.15	2.77	0.41	0.1	3.75	0.01
Bird-human	293	0.00	16.72	0.00	1.37	2.39	0.00	0.34	34.13	0.00	20.48	0.34	5.46	7.85	0.34	2.39	40.96	0.34	6.14	1.71	0.00
Pig	3,191	3.35	79.16	0.06	0.03	1.54	0.03	79.66	0.56	0.06	3.17	4.86	74.55	77.28	79.35	0.97	1.25	1.69	18.02	2.16	0.00
pdmH1N1	4,721	0.32	100.00	0.02	0.02	0.00	0.02	99.94	0.00	0.00	2.37	2.50	97.12	99.49	99.92	0.00	0.00	0.06	0.06	0.04	0.04
Human	7,748	95.43	0.49	0.00	0.03	99.69	0.00	99.72	0.04	0.00	94.72	77.58	21.05	74.21	0.31	0.01	99.63	97.44	0.25	98.94	0.08
Ref		13	46	10	33	13	16	47,32	46	12	14	11	46	22	22	53	3,417	23,54	19,20	18	15

\*Percentage of viruses containing specific amino acid residue.

Bird-human: human isolates of avian subtypes other than H1 and H3 subtypes

Pig-human: human isolates from pigs

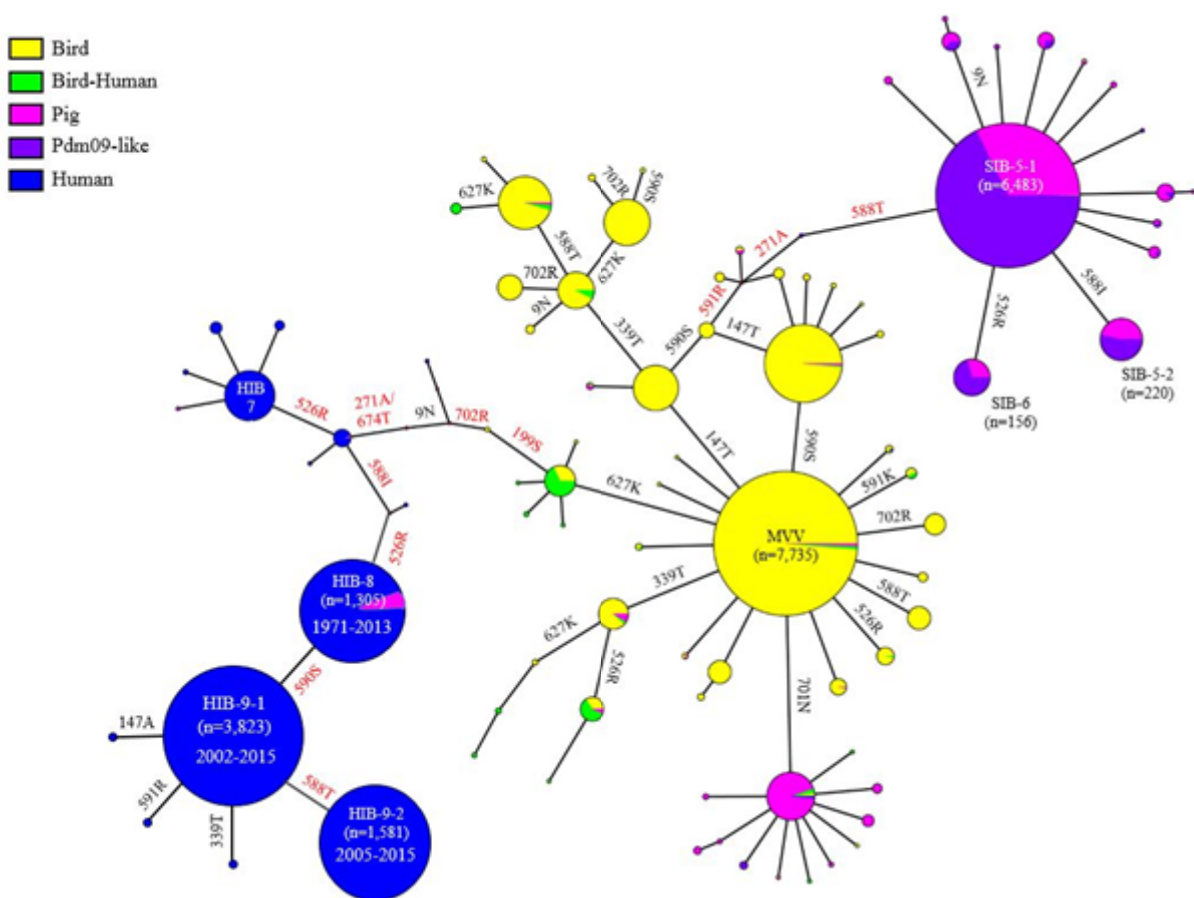


그림 1. Phylogenetic network analysis of avian, swine and human PB2 genes and mutational steps of MPMs during mammalian adaptation. The profiles of MPMs of PB2 genes (n=24,825) were analysed by median joining network analysis with Network 5.0.0. Major genotypes were represented in the circles and the size of circle is proportional to its frequency. Five different categories were represented in different colors. According to the manual chronology and frequency analysis of MLMs mutational steps of major genotypes (SIB-5-1, SIB-5-2, SIB-6, HIB-8, HIB-9-1, and HIB-9-2) were hypothesized and represented in red color letters.



- The 2<sup>nd</sup> sialic acid-binding site (2SBS, Wenjuan et al., 2019) 돌연변이 조사: 2SBS는 neuraminidase의 hemadsorption 능력과 관련된 부위로 효소활성 부위(NA active site) 인근에 있으며 370-, 400-, 430-loop으로 이루어져 있음. 조류인플루엔자 바이러스에서는 활성이 있으나 포유류에 적응한 바이러스들의 경우 기능이 사라지는 것으로 알려져 있음. 2SBS는 조류형 수용기인 a2,3-sialosides에 대한 친화도가 높고, 포유류 수용기인 a2,6-sialosides에는 친화도가 없는 것으로 알려져 있음. 흥미로운 것은 1957년 H2N2, 1968년 H3N2 팬데믹 바이러스들의 경우 모두 2SBS를 구성하는 loops에서 돌연변이를 획득하였고, 기능을 상실하면서 팬데믹이 가능한 것으로 보도됨. 따라서, 최근 유행하고 있는 H5Nx 바이러스들의 2SBS 돌연변이 양상을 분석한 결과 돌연변이가 축적되고 있음을 확인하였고, HA 돌연변이와의 상관관계 분석을 통해 포유류 간 유행 가능성이 증가하고 있는 것으로 판단됨 (특히, H5N2). 따라서, 빈발하는 돌연변이를 갖는 H5N2, H5N8, 또는 H5N6 재조합 바이러스 제작하여 병원성 측정 예정.

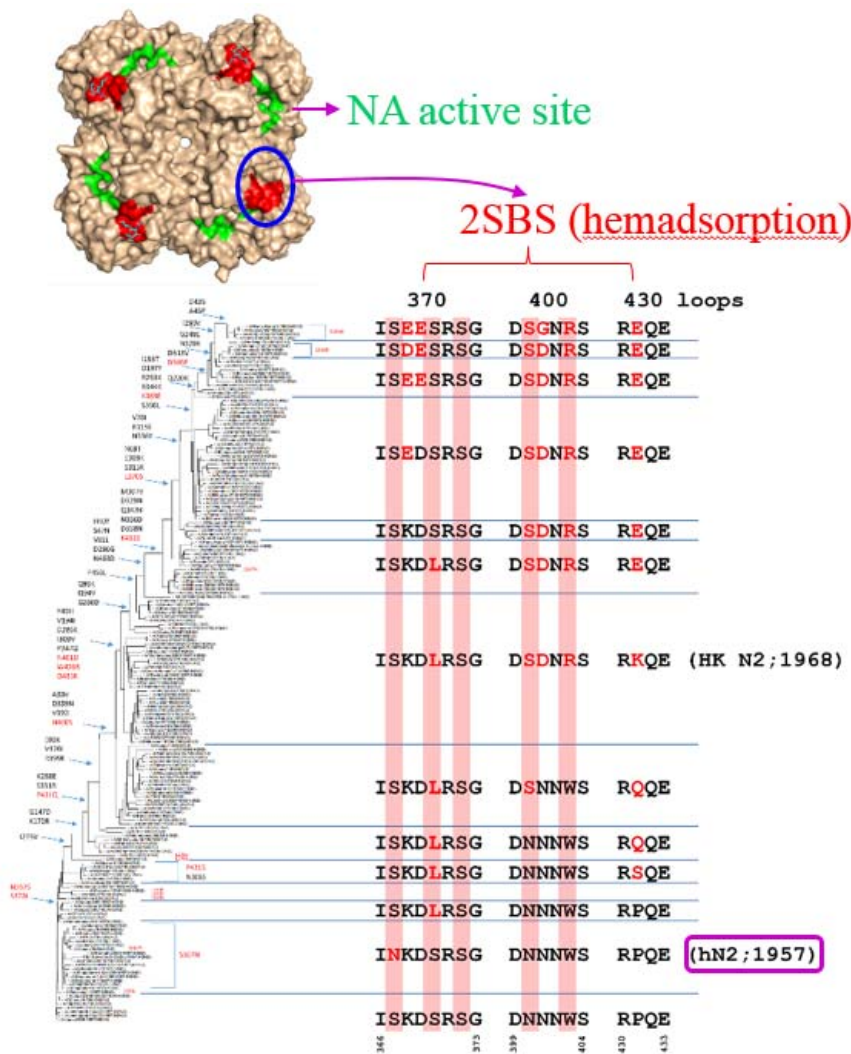


그림 3. NA 단백질의 2SBS의 3차 구조 상의 위치 및 조류인플루엔자 간 서열비교

그림 4. H5N2 2SBS (2017-2019 present) 2SBS 서열비교

A/environment/Georgia/UGAI17-2179/2017   EPI_ISL_307666   AVN99881   A / H5N2	ISKDSRSG	DNNNWS	RPQE
A/chicken/Bangladesh/34722/2018   EPI_ISL_379703   AYE19408   A / H5N2	IKKDSRAG	ESDNRS	RPQE
A/chicken/Bangladesh/34725/2018   EPI_ISL_379712   AYE19390   A / H5N2	IKKDSRAG	ESDNRS	RPQE
A/duck/Egypt/VG1099/2018   EPI_ISL_346255     A / H5N2	IKKDSRAG	DSDSWS	RPQE
A/chicken/Bangladesh/34722/2018   EPI_ISL_379703   AYE19408   A / H5N2	IKKDSRAG	ESDNRS	RPQE
A/chicken/Bangladesh/34725/2018   EPI_ISL_379712   AYE19390   A / H5N2	IKKDSRAG	ESDNRS	RPQE
A/duck/Egypt/VG1099/2018   EPI_ISL_346255     A / H5N2	IKKDSRAG	DSDSWS	RPQE
A/ruddy turnstone/New Jersey/UGAI17-2072/2017   EPI_ISL_309584   AVO00303   A / H5N2	ISRDSRSG	DNNNWS	RPQE
A/ruddy turnstone/New Jersey/UGAI17-2072/2017   EPI_ISL_309584   AVO00303   A / H5N2	ISRDSRSG	DNNNWS	RPQE
A/turkey/Wisconsin/17-007981-6/2017   EPI_ISL_328414   AWX61339   A / H5N2	ISKDSRSG	DHNNWS	RPQE
A/turkey/Wisconsin/17-007146-2/2017   EPI_ISL_328434   AWX61315   A / H5N2	ISKDSRSG	DHNNWS	RPQE
A/turkey/Wisconsin/17-007981-6/2017   EPI_ISL_328414   AWX61339   A / H5N2	ISKDSRSG	DHNNWS	RPQE
A/turkey/Wisconsin/17-007146-2/2017   EPI_ISL_328434   AWX61315   A / H5N2	ISKDSRSG	DHNNWS	RPQE
A/turkey/Wisconsin/17-007319-3/2017   EPI_ISL_328435   AWX61327   A / H5N2	ISKDSRSG	DDNNWS	RPQE
A/turkey/Wisconsin/17-007319-3/2017   EPI_ISL_328435   AWX61327   A / H5N2	ISKDSRSG	DDNNWS	RPQE

그림 5. H5N8 2SBS (2017-2019 present) 2SBS 서열비교

A/environment/Georgia/UGAI17-2179/2017   EPI_ISL_307666   AVN99881   A / H5N2	ISKDSRSG	DNNNWS	RPQE
A/turkey/Italy/17VIR9106-2/2017   EPI_ISL_316550     A / H5N8	ISRTSRSG	DNLNWS	RPEE
A/chicken/Italy/17VIR9107/2017   EPI_ISL_316551     A / H5N8	ISRTSRSG	DNLNWS	RPEE
A/chiken/Voronezh/1491/2018   EPI_ISL_336931     A / H5N8	ISRTSRSG	DNLNWS	RPEE
A/chicken/Voronezh/1504/2018   EPI_ISL_336932     A / H5N8	ISRTSRSG	DNLNWS	RPEE
A/turkey/Rostov-on-Don/1117/2018   EPI_ISL_336930     A / H5N8	ISLTSRSG	DNLNWS	RPEE
A/turkey/Italy/17VIR9775-1/2017   EPI_ISL_316563     A / H5N8	ISRASRSG	DNLNWS	RPEE
A/laughing gull/Delaware Bay/486/2018   EPI_ISL_373066   AZR38957   A / H5N8	ISRTSRSG	DNSNWS	KPEE
A/laughing gull/Delaware Bay/486/2018   EPI_ISL_373066   AZR38957   A / H5N8	ISRTSRSG	DNSNWS	KPEE
A/chicken/Samara/679/2018   EPI_ISL_320685     A / H5N8	ISRTSRSG	DDLNWS	RPEE

그림 6. H5N8 2SBS (2017-2019 present) 2SBS 서열비교

	ISKDSRSG	DNNNWS	RPQE
A/Mute Swan/Netherlands/17017367-012/2017_GENES2048405	ISKDSRSG	NNPNWS	RPKE
A/Mute Swan/Netherlands/17017377-001/2017_GENES2048406	ISKDSRSG	NNPNWS	RPKE
A/mandarin duck/Korea/H119-3/2017_GENES2048429	ISKDSRSG	NNPNWS	RPKE
A/white-tailed_eagle/Denmark/3073-1w/2018_GENES2048430	ISKDSRSG	NNPNWS	RPKE
A/Jiangsu/1/2018_GENES2048543	ISKDSRSG	NNQNWS	RPKE
A/Jungle crow/Hyogo/2803E023C/2018_GENES2048575	ISKDSRSG	NNQNWS	RPKE
A/Chicken/Suzhou/j5/2019_GENES2048607	ISKDSRSG	NNQNWS	RPKE
A/Chicken/Suzhou/j6/2019_GENES2048608	ISKDSRSG	NNQNWS	RPKE
A/pochard_duck/England/AVP_18_003254/2018_GENES2048480	ISKDSRSG	NNPNWS	IPKE
A/pochard_duck/England/AVP_18_003254/2018_GENES2048480	ISKDSRSG	NNPNWS	IPKE

- HA activation pH 증가시키는 돌연변이 축적 과정 및 cleavage site 아미노산 서열에 따른 등전점 (isoelectric point, pI) 변화

	T115I	P221S	E216K	N104D	D131E	S114R	pI	Subtype			
ACZ48499 A/goose/Hong Kong/437-6/1999	T	P	E	N	D	R	6.34	H5N1			
AAL75839 A/Chicken/Hong Kong/317.5/2001	T	P	E	N	D	R	6.34	H5N1			
ABR37341 A/teal/Italy/3931-38/2005	T	P	E	N	D	S	5.87	H5N2			
ABG75831 A/teal/Italy/3931/2005	T	P	E	N	D		5.79	H5N2			
ACY80608 A/avian/New York/448534/2006	T	P	E	N	D	S	5.84	H5N2			
ACZ48585 A/tem/South Africa/1959	T	P	E	D	D	S	5.84	H5N3			
AII31067 A/chicken/Scotland/1959	T	P	E	D	D	S	6.71	H5N1			
AEZ68718 A/turkey/Ontario/6213/1966	T	P	E	D	D	S	5.69	H5N1			
AEA04387 A/turkey/Ontario/6213/1966	T	P	E	D	D	S	5.69	H5N1			
ADV76653 A/turkey/Wisconsin/1/1968	T	P	E	D	D	N	5.57	H5N9			
ACF40957 A/turkey/England/N28/1973	T	R	P	D	D	S	6.01	H5N2			
AKI34469 A/duck/Japan/11OG1032/2011	T	P	E	D	D	S	5.69	H5N2	RETR	6.1	RERRRKKR
AAC32078 A/Chicken/Hong Kong/220/97	I	P	E	D	D	R	6.42	H5N1	RERRRKKR	5.92	RETR
AB194754 A/chicken/Hubei/wh/1997	I	P	E	D	D	R	6.14	H5N1	RERRRKKR	5.74	RETR
AAT12024 A/duck/Fujian/19/2000	I	P	E	D	D	R	6.71	H5N1	RERRRKKR	6.1	RETR
AGI65009 A/duck/AB/329/2006	I	P	E	D	D	S	5.77	H5N9	RETR	6.2	RERRRKKR
ADE06891 A/aquatic bird/Korea/w347/2008	I	P	E	D	D	S	5.88	H5N2	RETR	6.34	RERRRKKR
AEZ68721 A/tern/South Africa/1961	T	P	K	D	D	S	6.01	H5N3	RETRRQKF	5.76	RETR
ABO52731 A/turkey/Italy/1980	T	P	K	D	D	S	6.1	H5N2	RETR	6.71	RERRRKKR
AHM99793 A/mallard/Wisconsin/598/1983	T	P	E	D	E	S	5.58	H5N2	RETR	5.97	RERRRKKR
ABV25967 A/duck/PA/454069/2005	T	P	E	D	E	S	5.77	H5N1	RETR	6.2	RERRRKKR
ADG59073 A/duck/Hunan/29/2006	I	P	K	D	E	R	6.42	H5N1	RERRRKR	6.01	RETR
AEH59173 A/chicken/Kulon Progo/BBVW-667	I	P	K	D	E	R	6.42	H5N1	RESRRKKR	6.01	RETR
AEH26088 A/chicken/Pakistan/SPVC-7/2007	I	P	K	D	E	R	6.3	H5N1	GERRRKKF	5.93	RETR
ACC07033 A/chicken/Vietnam/NCVD-016/2008	I	P	K	D	E	R	6.55	H5N1	REGRRRRF	6.1	RETR
AGH55515 A/chicken/India/85459/2008	I	P	K	D	E		6.2	H5N1	GERRRKKF	5.84	RETR
AAL31382 A/Duck/Hong Kong/ww381/2000	I	S	K	D	D	R	6.45	H5N1	RERRRKKR	5.97	RETR
ADG59062 A/chicken/Tibet/6/2008	I	S	K	D	D		6.2	H5N1	RERRRKKR	5.76	RETR
ABI98938 A/chicken/Jilin/xw/2003	I	S	E	D	E	R	6.24	H5N1	RERRRKKR	5.81	RETR
ADG59078 A/chicken/Xinjiang/17/2005	I	S	E	D	E	R	6.01	H5N1	REGRRKKF	5.69	RETR
AAT37563 A/chicken/Guangdong/174/04 2004	I	S	K	D	E	R	6.55	H5N1	RERRRKKR	6.01	RETR
BAK23400 A/chicken/Egypt/RIMD12-3/2008	I	S	K	D	E	R	6.45	H5N1	GKSRKKF	5.97	RETR

그림 7. HA 단백질의 pH에 영향을 주는 아미노산과 인플루엔자 H5 바이러스 서열 내 변이

## 2) 바이러스의 분변 내 생존성 조사(겨울철 외부 온도/습도 상정)

- H5N1 및 H5N8 바이러스가 주로 발생하였던 지역들의 12월 ~ 1월 3개월 간의 겨울철 평균 온도를 조사하였음 (기상청 자료 이용).
- 2018년 12월부터 2019년 2월까지의 3개월간 온도를 기상청의 기상자료개방포털을 이용하여 평균 온도를 계산하였음(표 ).

(<https://data.kma.go.kr/data/grnd/selectAsosReportList.do?pgmNo=135>)

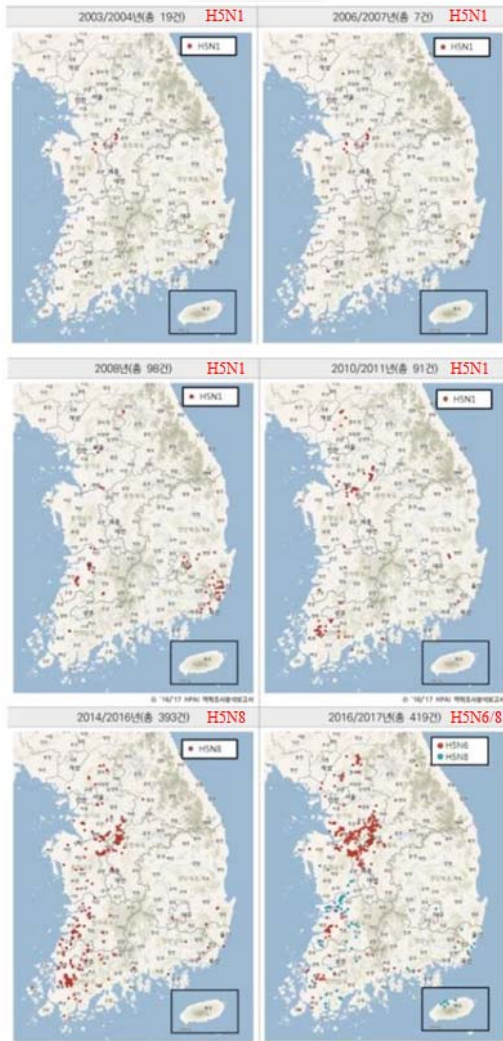


그림 8. 국내 HPAI 바이러스 주요 발생 지역

표 2. HPAI 주요 발생 지역 별 겨울철 (12월~1월) 평균 온도

지역	겨울철 평균 온도 (12월 ~ 1월, °C)
경기도	- 1.49
충청북도	- 0.92
충청남도	- 0.09
전라북도	0.82
전라남도	3.11
평균	0.29

- 겨울철 평균온도를 0 °C 로 산정 후, 해당 온도에서의 바이러스 생존성을 평가하고자, 겨울철에 획득한 야생조류(철새류) 분변에 H5N1(clade2.3.2.1c), H5N8(clade2.3.4.4), H5N6(clade2.3.4.4) 바이러스를 spiking후, 0 °C에서 0일, 3일, 1주, 2주, 4주 등으로 놔둔



뒤에 발육란에 접종하여 바이러스 생존성을 평가. (현재 실험 진행 중)

## 2. 고위험 농장 계절별 지하수 수질 검사, 바이러스 생존성 평가 및 소독법 평가

### 1) 분원성 세균 및 질산성 질소 조사: 과거 역학적 관련 농장 복수 시료 채취 및 강수 전 후 수질 변화 조사

- 5개의 오리 농장에서 음수로 사용되는 지하수를 취수하여 수질 변화를 시행하였음.

표 3. 지하수 취수 농장 정보

번호	농가명	광역시도	지역	사육규모
1	C농장	충북	음성군	18,000 수
2	M농장	충북	음성군	19,000 수
3	J농장	충북	음성군	18,000 수
4	H농장	충북	음성군	12,000 수
5	K농장	경기	안성시	14,000 수

- 수질검사를 위해서 다음 아래의 2가지의 수질검사 키트를 사용하였음.

- strip type은 NO<sub>3</sub>(질산), NO<sub>2</sub>(아질산), 경도, 알칼리도, pH 측정 가능하며, 다른 두 kit는 각각 NO<sub>3</sub>(질산), NO<sub>2</sub>(아질산)만을 색 변화로 측정할 수 있음.



(Eco-check 5 in 1, ITS)



(WAK-NO<sub>3</sub>/NO<sub>2</sub>, Kyoritsu)

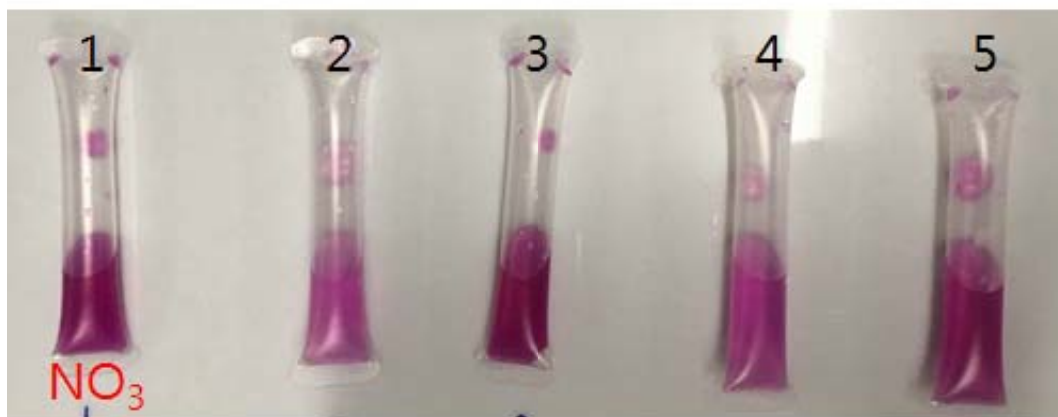
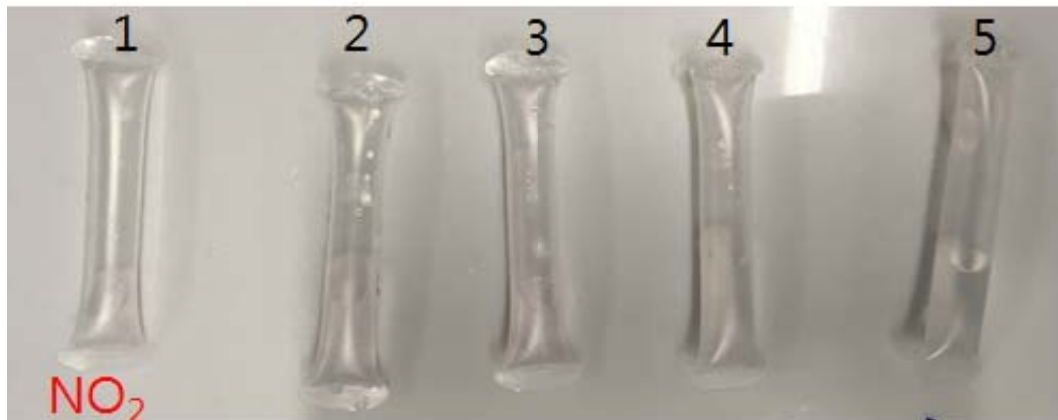


그림 9. 5개 오리 농장의 수질 검사 결과

표 4. 5개 농장의 수질검사 결과표 (Strip type)

농장 번호	NO <sub>3</sub>	NO <sub>2</sub>	경도	알칼리도	pH
1	80	0	150	180	8.0
2	20	0	150	300	8.0
3	80	0	75	180	5.5
4	40	0	25	80	7.5
5	40	0	75	120	7.5

표 5. 5개 농장의 NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub> 검사 결과표 (WAK kit)

농장 번호	NO <sub>3</sub>	NO <sub>2</sub>
1	45	0.02
2	5~10	0.02
3	45	0.02
4	20	0.02
5	20~45	0.02

표 6. 지하수 수질 검사 항목별 특성 및 기준 (환경부 자료 참고)

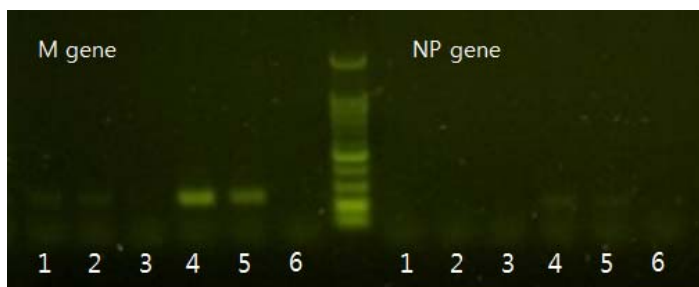
항목	오염원	기준(농어업용수용)
경도	자연원천의 퇴적층 암석 침출수 등에서 배출됨	없음
수소이온농도(pH)	조류 번식에 의한 pH 증가, 공장 및 광산폐수의 영향	6.0 ~ 8.5
질산성질소(NO <sub>3</sub> )	비료 사용, 소화조 침출수, 하수, 자연적 토양 및 암반의 침식	40 mg/L 이하

- 환경부 기준 수질 검사 항목 중에서 경도, 수소이온농도, 질산성질소가 포함되어 있으며, 5개 농장 중에서 두 농장이 질산성질소가 기준보다 약간 높음을 알 수 있음.
- 그 밖에 분뇨 오염이 있는지 측정하기 위한 암모니아성 질소 측정이 필요할 것으로 보여짐.



## 2) 지하수 이용 바이러스 유전물질 농축/정제/검출기술 평가

- 음수 내 미량의 바이러스가 혼입되었을 경우, 바이러스의 유전자를 농축하여 detection할 수 있는 방법을 개발하고자 함.
- 인플루엔자 바이러스는 8개의 단일가닥의 RNA 분절로 이루어져 있으며, 이 각각의 RNA 분절은 NP단백질로 감아져서 싸여있는 상태로 존재하고 있음.
- 즉, NP단백질에 대한 항체를 사용하면 모든 유전자 분절을 잡아낼 수 있으며, 유전물질 농축 시 사용할 수 있기 때문에 이를 이용해 음수 내 바이러스 유전물질 농축/정제/검출 방법을 개발하였음.
- 시험 과정은 다음과 같이 수행하였음.
  - ① magnetic bead (Dynabeads-mouse IgG Ab, Invitrogen)를 2회 washing 후, 호스에 끼워 넣은 2개의 10mm X 1mm X 5mm 정도 크기의 납작한 자석에 pipette을 이용하여 고루 코팅한다.
  - ② 인플루엔자 바이러스 유전자를 싸고 있는 NP 단백질에 대한 항체 (Mouse anti-NP antibody, SantaCruze SC-80481)를 1시간 stirring하면서 magnetic beads와 반응시켜준다.
  - ③ 반응시킨 뒤, 아래 입구에 솜을 끼워주고 음수통에 호스를 연결하여 물이 천천히 떨어지도록 해준다.
  - ④ 물이 모두 떨어지고 나면 호스만 따로 빼서 유전물질 검출에 사용한다.
  - ⑤ 호스에서 유전물질을 검출하기 위해서 RNA Extraction Kit(인트론) 및 TRIzol 두 가지를 사용하여 비교하였으며, 호스 전체에 Lysis buffer를 처리하여 최대한 붙어있는 모든 유전물질이 나오도록 하였다.
  - ⑥ kit 제작회사의 방법에 따라 RNA를 추출한 뒤, 조류 인플루엔자 바이러스 진단용 primer (NP, M gene)를 이용하여, RT-PCR(QIAGEN)을 진행하였음.
- 물을 내리기 전과 후에 유전물질이 제대로 농축되었는지를 확인하고자, 음수에 아주 미량의 바이러스 (100EID<sub>50</sub>/5L = 0.02EID<sub>50</sub>/ml)을 첨가하고, 위와 같은 시험을 수행하였음.
- 물을 내리기 전(물통), 내린 후, 2개의 자석 중 위쪽 자석과 아래쪽 자석에서 모두 유전물질을 검출하여서 검사를 진행하였음.



1. 바이러스 10<sup>5</sup> EID/ml
2. 물 내리기 전 (물통)
3. 물 내린 후 (내린 후 나온 물)
4. 자석 위
5. 자석 아래
6. 음성컨트롤

그림 10. 10<sup>5</sup>EID/ml을 물통에 넣었을 때 유전물질 농축/정제/검출기술 평가 결과

- $10^5$  EID/ml을 5L 물통에 넣고, 시험했을 때에는 물 내리기 전 샘플 및 자석에서만 검출되었고, 흘리고 난 후의 샘플에서는 검출되지 않았음. 또한, 물통 속에 있었던 바이러스보다 훨씬 높은 농도의 유전자가 검출되어 해당 방법이 유전물질 농축에 효과가 있음을 알 수 있음.
- 더 미량의 바이러스까지 농축하고 검출할 수 있는지 평가하기 위해  $10^2$ EID/ml을 5L에 넣고 같은 방식으로 시험을 진행함.



그림 11.  $10^2$ EID/ml을 물통에 넣었을 때 유전물질 농축/정제/검출기술 평가 결과(RNA extraction kit로 유전자 정제)

- $10^2$  EID/5L인 경우에도 진행 시 NP유전자에 대해서는 물을 내리기 전과 자석에서만 유전물질이 검출되었으나, M 유전자에 대해서는 음성컨트롤이 나와서 시험이 제대로 이루어지지 않았음을 확인하여 TRIzol 방식을 사용하여 재시험을 진행하였음.

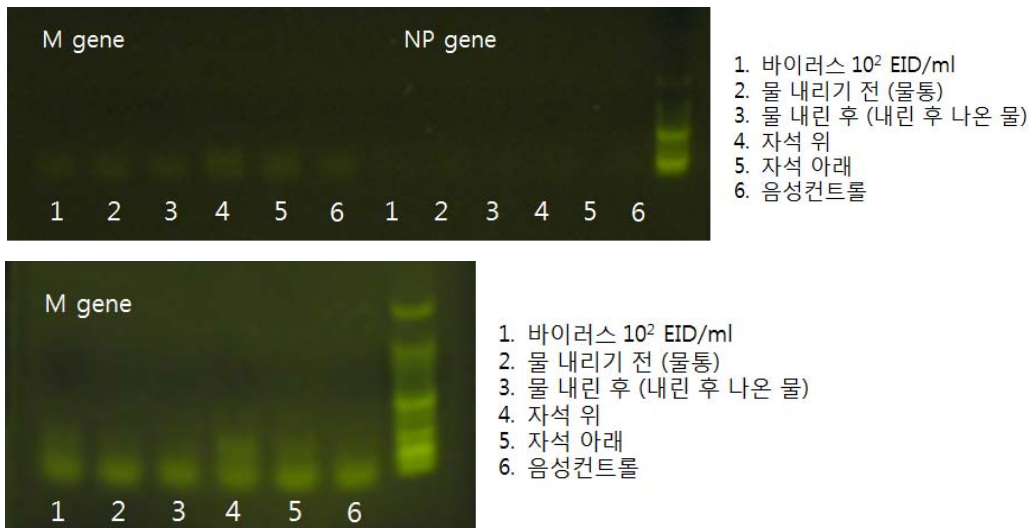


그림 12.  $10^2$ EID/ml을 물통에 넣었을 때 유전물질 농축/정제/검출기술 평가 결과(TRIzol 방식으로 유전자 정제)

- TRIzol을 사용하여 30 cycle로 PCR을 진행한 경우 M gene에 대해서 미약하게 자석에서 유전물질이 검출되었음. 40 cycle로 PCR을 진행하였더니  $10^2$ EID/ml 바이러스 원액과 자석에

서만 바이러스가 검출되었으며, 원액보다도 더 밴드가 진해서 유전물질이 잘 농축되었고, 추출되었음을 확인할 수 있었음.

- 위와 같은 아주 미량의 바이러스도 농축, 정제, 검출이 가능함을 확인 후, 실제 5개 오리농장 지하수 샘플에서도 동일하게 시험을 진행하였음.

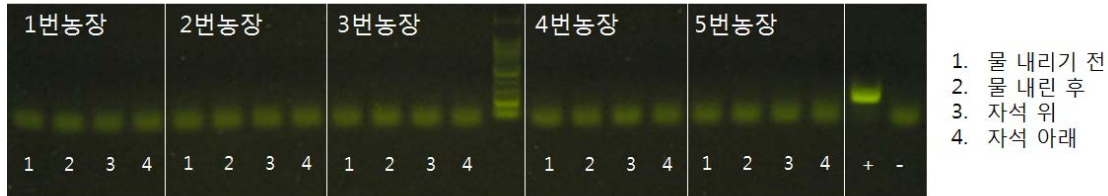


그림 13. 5개 오리농장 음수 내 인플루엔자 유전물질 농축/정제/검출 시험 결과

- 5개 오리 농장의 음수에서 조류인플루엔자 유전물질 농축/정제/검출 시험을 수행한 결과 5개 농장 모두에서 검출되지 않았음을 확인함.

### 3) 표준 조류인플루엔자 바이러스를 지하수 시료에 spiking 한 후 온도 별(원수 온도 및 계사 내 온도 모사) 생존성 조사

- 농장 내 지하수와 음수 내에서 바이러스가 얼마나 생존하는지 확인하고자, 음수에 바이러스 spiking 후 시간 별(취수 후 소진 시까지의 시간 설문 후 결정) 생존성을 발육란 또는 배양세 포에 접종하여 평가하였음.
- 농장 내 온도는 평균적으로 상온 정도이고, 지하수 온도는 평균적으로 4°C 정도로 확인됨.
- 세 종류의 바이러스를 음수 내에 spiking하고 상온과 4°C에 0일, 1일, 1주, 2주, 4주 둔 뒤에 MDCK cell에서의 TCID<sub>50</sub>으로 바이러스의 역가를 평가하여 비교하였음.
- 음수 내 생존성 조사를 위해서 국내에서 발생했던 clade2.3.2.1c H5N1의 HA, NA를 사용한 재조합 바이러스, clade2.3.4.4 H5N8 및 H5N6의 HA, NA를 가지는 재조합 바이러스를 사용함(표 ).

표 7. 음수 내 생존성 조사를 위해 사용한 바이러스 목록

바이러스	HA	NA	내부유전자	log10 EID <sub>50</sub> /0.1ml
rH5N1	H5 (clade2.3.2.1c)	N1 (clade2.3.2.1c)	PR8	7.43
rH5N8	H5 (clade2.3.4.4a/b)	N8 (clade2.3.4.4a/b)	PR8	7.33
rH5N6	H5 (clade2.3.4.4c)	N6 (clade2.3.4.4c)	PR8	7.50

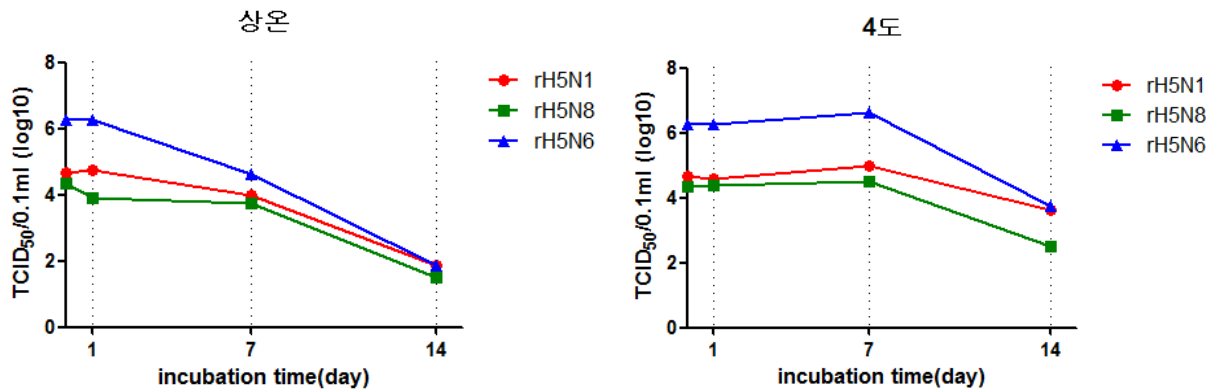


그림 12. 상온과 4도에서의 일별, 조류인플루엔자 바이러스의 subtype별 역가 변화

- 상온과 4°C에 바이러스를 둔 후, 각각의 일자별 바이러스역가 (TCID<sub>50</sub>)를 측정한 결과 상온 보다 4°C에서 바이러스 역가가 더 오래 유지되어 바이러스가 더 많이 생존하였음을 확인하였음. 7일째까지는 비교적 유지가 되다가 2주째에는 급격히 바이러스 역가가 감소하는 것을 알 수 있음.

#### 4) 최적의 지하수 소독법 선정

- 음수 소독법을 평가하기 위해서 시중에 판매되고 있는 고려BNP-라이프가드를 기존에 널리 사용되는 일반 소독제인 버콘S와 비교평가함.
- 라이프가드와 버콘S의 경우 기존의 사용방법을 그대로 사용해서 소독하고, 대조군까지 4개의 샘플을 1일 동안 4°C에 둔 후, 10일령 발육란에 접종하여 소독여부를 확인하였음.

표 8. 소독제 평가에 사용된 소독제 성분 및 용법

소독제	성분	희석배수
라이프가드	이염화이소시아눌산나트륨 (Sodium dichloroisocyanurate),	6,400배 ( 1 정 / 물 83L)
	탄산수소나트륨 (Sodium bicarbonate), 구연산 (Citric acid)	
버콘S	모노퍼설페이트 화합물 (Monopersulfate compound),	2,000배
	염화나트륨 (Sodium chloride), 사과산 (Malic acid),	
	설파민산 (Sulphamic acid),	
	헥사메타인산나트륨 (Sodium hexamethaphosphate), 도데실벤젠설포산나트륨 (Sodium dodecyl benzene sulphononic acid)	
벤잘크린/ 라이소탄 (평가예정)	염화 벤잘코니움 (Benzalkonium chloride)	2,000 ~3,000배

- 위의 소독제들과 성분이 같은 소독제는 배제하였음.
- 소독 시험을 위해서 clade 2.3.2.1c H5N1의 HA, NA를 가지는 재조합바이러스와 clade 2.3.4.4 H5N6의 HA, NA 유전자를 가지는 재조합 바이러스를 사용하였음.
- 라이프가드, 버콘S, UV, 대조군 네 개의 소독 시험군에서 대조군 외에 3개의 소독법으로 소독 후 10일령 발육란에 접종하여 3일간 37°C에서 배양 후 HA test로 바이러스의 증식을 확인하였음.
- 실험 결과, 대조군을 제외한 세 소독시험 샘플에서는 모두 바이러스가 사멸되고, 발육란에서 인플루엔자 바이러스가 증식하지 않아 모두 소독이 되었음을 확인함.
- 향후 다른 성분의 음수 소독제 확인 시 평가 예정이며, 실제로 사용되는 음수(지하수)에서의 소독 효과를 확인할 예정임.

### 3. 가금 간 수평전파 관련 위험요인 평가

#### 1) 수평전파 빈도 증가시키는 바이러스 돌연변이의 *in vitro/ex vivo* 평가

- clade 2.3.4 H5N1 바이러스와 clade 2.3.4.4 H5N6 바이러스를 마우스에 접종했을 때, clade 2.3.4 H5N1은 마우스에서 병원성이 높게 나타났으나  $\alpha$ -2,3 sialic acid에 대해서만 receptor binding affinity가 나타났음. 반면, clade 2.3.4.4 H5N6 바이러스는 마우스에 대한 병원성은 없었으나  $\alpha$ -2,3 와  $\alpha$ -2,6 sialic acid 둘 다에 binding affinity를 보였으며 바이러스의 shedding에 의한 접촉 감염도 높게 나타났음 (Honglei sun et al., 2014). 즉, human receptor에 대한 binding affinity가 낮더라도 포유류에서 병원성이 나타날 수 있으며 이는 HA가 감염되는 과정 중 pH dependent fusion 과정에서 차이가 나타나기 때문임.
- 포유류 인플루엔자 A 바이러스는 낮은 activation pH를 가지고 있고, 조류 인플루엔자 A 바이러스는 높은 activation pH를 가지고 있는 것이 다양한 연구를 통해 많이 밝혀져 있으며 이는 저병원성 조류인플루엔자 바이러스가 낮은 activation pH를 가지고 있어 조류에서는 병원성이 낮으나 포유류에서는 병원성이 높게 나타나는 것과도 결부시킬 수 있음.
- Dubois. Et al.의 논문에서도 high pathogenic virus (HP)의 경우 더 높은 pH에서 activation되고 moderate pathogenic virus(MP)의 경우 더 낮은 pH에서 activation됨 (Dubois. Et al. 2011).
- 선행 연구를 통해서 본 연구실에서는 LPAI H5N1이 마우스에서 높은 병원성을 가지고 있음을 밝혀냈으며, Dubois. Et al. 2011에서 밝힌 HP와 MP의 HA 단백질이 차이나는 부분과 국내에서 분리된 LPAI H5N1, clade 2.3.4.4 H5N8의 HA 서열을 비교해보았음 (Kim et al., 2013).

표 9. MP, HP, LPAI H5N1, clade 2.3.4.4 H5N8의 HA서열 비교

H3 humbering	LPAI H5N1	clade 2.3.4.4 H5N8	MP	HP
104	D	D	N	D
114	S	T	S	T
115	T	I	T	I
131	D	E	D	E
216	E	K	E	K
221	P	S	P	S

- 5개 아미노산 중에서 LPAI H5N1은 104번을 제외하고 MP와 동일하였으며, clade 2.3.4.4 H5N8은 HP와 동일한 서열을 나타냈음.
- 104번, 114번, 115번은 HA의 vestigial esterase subdomain인 110-helix에 위치하며, 131번은 receptor binding site의 130-loop에, 216번과 221번은 220-loop에 위치하고 있음.

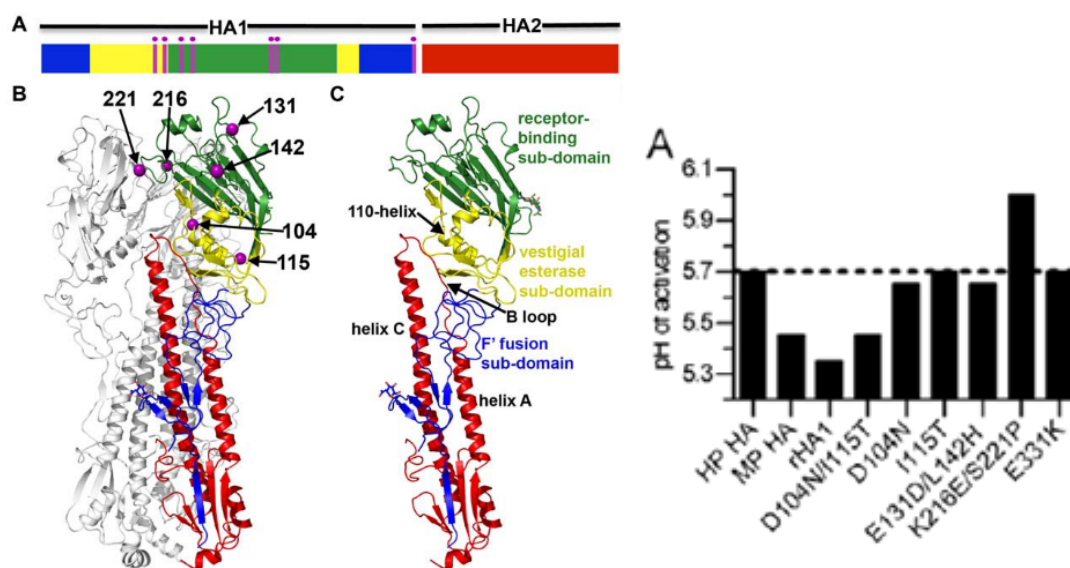


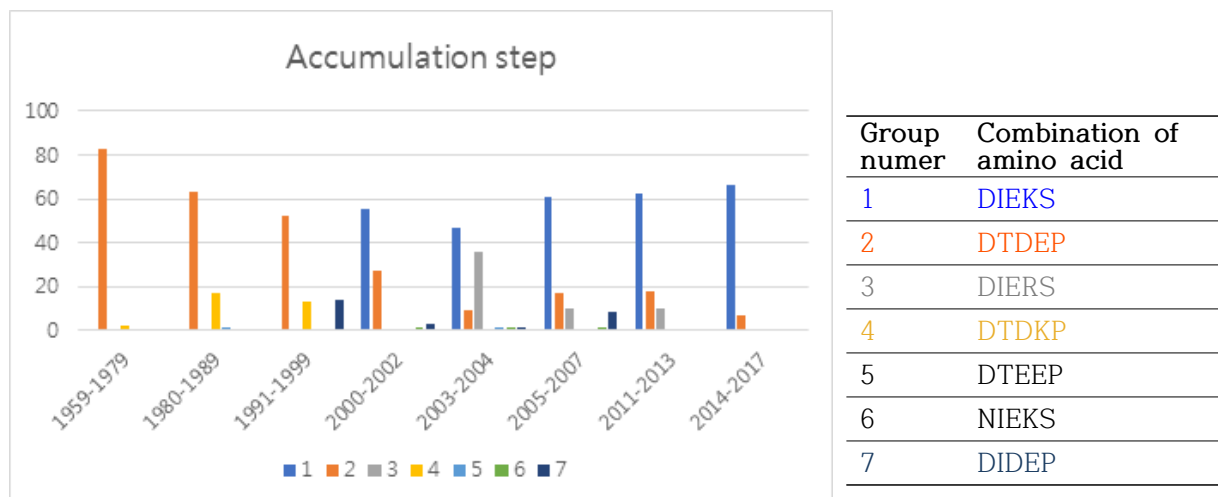
그림 13. 병원성과 관련된 아미노산 변이의 단백질 3차 구조 상에서의 위치 및 activation pH 비교 (Dubois. Et al. 2011)

- HP에 위의 다섯 개 아미노산 변이를 적용하였을 때, D104N만 적용한 경우와 D104N, I115T를 같이 적용한 경우 activation pH가 감소했으며 반대로 K216E와 S221P를 적용한 경우 activation pH가 증가하였음.
- 즉, 104D, 115I, 216E, 226P를 적용하면 activation pH가 변화하여 조류에서의 병원성이 변할 수 있음을 알 수 있음. activation pH와 관련된 다섯 개의 아미노산의 인플루엔자 바이러스 H5 subtype HA에서의 빈도를 확인해보았음.

표 10. H5 HA에서의 activation pH에 영향을 주는 아미노산 빈도

amino acid residue (H3 numbering)		prevalance
104	115	(n=3496)
D	I	2445
D	T	810
D	A or L or V	3
N	I	143
N	T	65
A,E,G,S,V or Y	I or T	29

amino acid residue (H3 numbering)		prevalance
216	221	(n=3496)
K	S	2077
E	P	784
K	P	79
R	S	395
T	P	45
K	C or T	9
E	L or S	9
R	P or T	2
A, I, N, P, Q, V, or X	K, P, R or S	89



- 자연계에서는 대부분 DIEKS나 DTDEP를 가지는 H5 바이러스가 많고, 처음에는 DTDEP가 많다가 점차 DIEKS를 가지는 방향으로 진화함을 알 수 있음.
- DTDEP를 가지는 LPAI H5N1 바이러스를 이용하여, DIEKS로 변이시킨 경우와 activation pH를 높이는 변이인 T115I를 적용했을 때 실제로 activation pH가 높아지고 조류에서의 병



원성이 증가하는지 실험할 예정이며, 이것이 호흡기가 아닌 소화기로 바로 들어갔을 경우에 전신감염으로 이어져서 고병원성조류인플루엔자가 병원성이 더 높게 나타날 수 있는 것인지 확인해볼 예정.

## 2) 토종닭 및 오리의 선천성 바이러스 억제물질 효능 비교 평가

- 토종닭과 오리는 산란계나 육계에 비해서 인플루엔자 바이러스에 대한 저항성이 높아 고병원성조류인플루엔자 감염 시에도 무증상 감염으로 전파시킬 가능성이 있음.
- 그 중에서도 계란 및 오리알의 난백에 존재하고 있는 조류인플루엔자의 감염을 막아줄 수 있는 비특이적인 저항인자에 대해서 확인하고자 함.
- 계란 및 오리알의 난백에는 ovostatin (ovomacroglobulin) 이라는 것이 존재하는데 이 단백질은 proteinase inhibition의 기능을 가지고 있어 HA의 cleavage를 방해해 HPAI의 감염을 억제할 수 있음. 닭의 ovostatin의 구조 내에는 오리와 달리 thiol ester가 없어서 모든 proteinase를 방해할 수 없지만, 오리의 ovostatin 내에는 존재하여 더 많은 proteinase의 기능을 억제할 수 있음 (Nagase et al. 1986). 즉, 오리의 혈액 내에는 난백에 존재하는 a2M과 유사한 단백질이 존재할 가능성이 높으며, 이로 인해 HPAI에 대한 저항성이 높을 수 있음.
- 청란, 토종닭 유정란, 청둥오리알, 오리종란, SPF(white leghorn) 계란을 이용하여, 여러 가지 항원에 대한 HI test를 진행하여, 비특이적인 저항인자의 차이를 확인하였음.
- 다섯 가지 알의 난백을 따로 분리하여, PBS로 4배 희석 후 13000rpm에 10분간 원심분리 하였음. 상층액을 다시 PBS로 2배 희석하여 최종적으로 8배 희석된 난백을 96well plate를 이용하여 2진 희석함. 4HAU로 희석한 인플루엔자 바이러스 항원을 2진 희석한 난백과 1:1fh 30분간 상온에서 반응시킴. 30분 반응 후 1% RBC와 40분간 4°C에서 반응시킨 뒤 결과를 확인하였음.

표 11. 난백 비특이적 저항인자 HI test에 사용한 항원 정보

항원	항원 정보	원액의 HAU (log2)
rH5N1	clade 2.3.2.1c H5N1	5
rH5N6	clade 2.3.4.4c H5N6	6
rH5N8	clade 2.3.4.4a/b H5N8	6
SNU50-5	LPAI H5N1	7
r01310 E20	LPAI H9N2	9

표 12. 난백을 이용한 HI test 결과

	HI titer (log2)				
	rH5N1	rH5N6	rH5N8	SNU50-5	r01310E20
청란	2	3	4	2	6
유정란	3	3	5	3	7
청둥오리알	3	4	5	3	7
오리종란	2	3	4	2	5
SPF계란	3	4	5	3	6

- 알의 종류에 따른 난백 내 비특이적 저항인자 차이는 없었으나, 바이러스 subtype에 따른 저항성 차이가 확인되었음. HPAI H5N1과 LPAI H5N1 둘 다 가장 inhibition되지 않았으며, H5N6, H5N8, H9N2 순서로 저항성이 감소하는 것을 확인하였음. 따라서 난백에 저항성이 높은 바이러스가 유행하는 경우 피해 및 확산 가능성 높으므로 미리 대비해야 함.

3) 토종닭 및 오리의 간기능과 바이러스 억제 능력 관련성 평가(간기능 관련 요인: 토종닭 가금 티푸스, 곰팡이독소 등; 오리 오리 간염, 곰팡이 독소 등)

- 오리 평균 혈액검사 수치를 알기 위해서 아무 것도 접종하지 않은 오리의 일령별 혈액검사 결과를 측정하였음. 특이적인 것은 1일령에 T-CHOL이 매우 높게 나타났으며 일령이 지날 수록 감소하였는데 이는 난황 흡수에 의한 것으로 보여짐. 또한, AST, LDH, ALP가 1일령에서 2주령 사이에 매우 급격이 높아졌다가 다시 점차 감소하는 경향을 보임.

표 13. 오리 음성대조군(미접종군)의 일령별 혈액화학검사 결과

	1일령	2주령	3주령	4주령	5주령
T-CHOL	721.75	172.71	148.14	143.14	136.14
GLU	204.5	188.29	209.29	173.86	174.29
AST	10	68.00	35.43	15.14	21.57
GGT	-0.5	1.43	1.43	0.86	1.14
LDH	694	1392.29	797.29	320.71	359.82
ALP	644	1205.43	862.29	704.71	767.00

- 갈색 산란계 50일령에 SG0197 균주(야외분리 Salmonella serovar Gallinarum biovar Gallinarum)를 구강으로  $1.0 \times 10^6$ cfu/수 접종(세균성 급성 간염 모델)한 후 2주째에 혈청 채취하여 혈액화학 분석하였고, outer membrane protein X 유래의 peptide epitope으로 제작한 ELISA 키트(자체 제작)를 사용하여 특이적인 항체를 측정(OD 값) 하여 상관성을 분석한 결과 LDH 수치와 항체 역가(OD값)가 비례하는 것을 발견함. 또한 ALP도 개체 간 뚜렷한 차이를 보임. 향후 가금티푸스 감염 후 LDH/ALP 수치에 따른 조류인플루엔자 바이러스 감수성 검사 실시 예정(가금티푸스 감염 후 H9N2 결막염 모델 적용 등 추후 결정).

표 14. 가금티푸스균 감염에 갈색산란계 혈액(혈청 2배 희석액) 화학치 영향

Sample	T-Chol	Glu	AST	GGT	LDH	ALP
1	35	24	64	8	1209	127
2	33	20	46	7	366	83
3	21	10	37	8	673	41
4	30	47	32	5	211	659
5	28	12	41	8	504	113
6	18	4	45	6	784	26
7	34	45	29	7	192	175
8	26	21	40	6	390	75
평균(x2)	56.25	45.75	83.5	13.75	1082.25	324.75

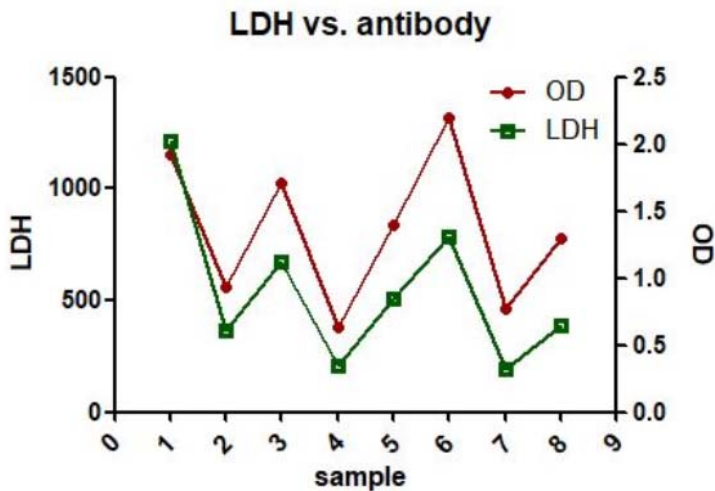


그림 14. LDH와 항체역가와의 상관분석

- 오리 및 토종닭 난황을 이용한 혈액화학수치 측정 결과: 난황과 인산완충용액을 50:50의 비율로 섞어 혼합한 후 12,000xg에서 15분간 원심분리한 후 상층액을 분리하여 측정함. 그 결과 ALP에서 개체 간 유의적인 차이를 확인 함.

표 15. 오리알과 토종닭알 난황 내 성분 분석 표

<b>오리알</b>	T-Chol	Glu	AST	GGT	LDH	ALP
1	765	57	3	0	132	8
2	817	54	2	0	151	12
3	840	67	4	0	113	7
4	886	57	6	0	-82	6
5	824	54	4	-1	94	8
6	886	54	2	-2	-61	8
7	796	59	4	-1	17	7
8	806	61	4	0	99	10
9	758	74	6	-1	4	8
10	802	48	5	-2	45	9

<b>청둥오리알</b>	T-Chol	Glu	AST	GGT	LDH	ALP
1	962	62	14	-1	-31	12
2	803	65	5	-1	22	7
3	784	56	3	3	-209	13
4	829	63	2	-1	-38	12
5	916	73	4	-1	151	15
6	971	71	9	1	-154	10
7	871	59	3	2	27	12
8	869	59	3	1	17	30
9	819	55	7	3	-275	19
10	1007	73	3	-1	-88	8

<b>토종청담</b>	T-Chol	Glu	AST	GGT	LDH	ALP
1	894	68	6	12	36	342
2	769	56	6	31	-434	412
3	689	70	5	6	-57	52
4	790	76	5	11	-173	491
5	752	61	9	30	-460	233
6	835	67	10	21	-356	298
7	846	69	9	18	-341	205
8	927	58	12	39	-694	210
9	777	66	11	9	-142	32
10	1002	60	5	15	-173	159

<b>한협3호</b>	T-Chol	Glu	AST	GGT	LDH	ALP
1	846	81	10	10	-5	154
2	872	80	10	11	106	95
3	883	70	14	17	-264	72
4	905	68	11	17	-255	58
5	849	94	15	8	96	104
6	842	79	15	14	94	90
7	847	82	12	7	168	26
8	988	76	6	9	117	142
9	626	69	9	11	-261	30
10	1155	75	10	31	-663	144

#### 4. 사료 관련 위험요인 평가

- 1) HPAI 발생 위험시기(11월-12월) 생산된 mash 사료를 제조사 별로 20kg 이상 2회에 걸쳐 이물질(깃털 및 쥐 분변) 혼입 조사
  - 11월 ~ 2월 사이 생산된 사료를 확보하여 1차년도와 동일하게 사료 내 이물질 혼입 조사 예정.
  - 이물질 혼입이 확인된 경우, 분변이나 깃털에서을 이용하여 Genus를 동정해볼 예정임.

- 또한, 중국 및 러시아에서는 non-GMO 옥수수를 사용하기 때문에 plant RNA를 추출하여, GMO 유전자 진단을 함으로써 사료원료로 사용되는 옥수수의 원산지를 추적할 수 있도록 할 예정임.

5. 지하수 관정 현황(한국수자원공사 지하수관정정보, 2017)

- 전국 관정 중 지표수의 직접 영향을 받는 소공의 분포가 적지 않으며 이들에 대한 관리가 필요함.

지역	30m 이하 관정 개수	20m 이하 관정 개수	10m 이하 관정 개수
경기도 연천군	4,179	1,514(36.2%*)	249
안성시	7,655	2,522(32.9%)	630
포천시	2,291	406(17.7%)	47
충남 서산시	12,306	3,521(28.6%)	217
천안시	3,916	1,431(36.5%)	483
아산시	2,318	633(27.3%)	193
전북 김제시	9,057	2,922(32.3%)	73
충북 음성군	2,521	122(4.8%)	6
전남 영암군	1,025	79(0.7%)	8

\* 20m 이하 관정 개수/30m 이하 관정 개수 x 100 (%)

# 협동연구기관(강원대학교: HPAI 발생농가의 질병 확산 네트워크 구축을 통한 허브 농가 도출)

## 1. HPAI 발생농가의 질병 확산 네트워크 구축을 통한 허브 농가 도출

○ 국가동물방역통합시스템(Korea Animal Health Integrated System: KAHIS)의 DB는 축산차량등록제를 통한 축산관련차량의 축산관련시설 출입정보를 실시간 기록함으로써 가축질병 방법업무처리를 위한 IT 기반의 가축방역체계 지원 통합시스템이다. 이 시스템의 구축 및 운용 목적은 가축질병 예찰 및 통제를 통한 신속한 질병전파 차단에 있으며 가축질병 발생 시 전파 및 확산경로를 효과적으로 추적하는 것도 포함한다.

○ KAHIS DB로부터 2013년 10월부터 2015년 3월까지 월 단위로 총 18개월분의 축산관련차량의 축산관련시설 출입에 관한 원시자료(raw data)를 텍스트파일로 추출하였다. 이 자료에는 해당 기간 동안 전국 축산관련차량의 축산시설 방문정보가 건 단위로 기록되어 있다. 각 건별로 방문목적, 방문시간, 차량번호, 축산관련시설 고유ID, 시설의 유형, 주소, 최대적재량, 축종 등의 정보를 포함한다. 이러한 정보를 포함하는 각 방문 건은 텍스트파일 상에서 한 줄(record) 단위로 기록되어 있다.

○ 축산관련차량 월별 이동현황의 변화추이를 분석한 결과를 아래 그림 2-2-2-1과 그림 2-2-2-2의 그래프와 표로 요약하였다. 분석기간 동안 월별 평균 방문횟수는 전국적으로 월 250,656회로 집계되었다. 특이한 점은 2014년 2월을 기점으로 방문횟수가 급증하고 있는데 특히 시료채취 및 방역 목적의 방문횟수의 증가가 이에 기여한 것으로 보인다. 또한 유형별 방문횟수를 보면 가축운반과 사료운반이 각각 40.31%(101,038건)와 26.97%(67,591건)으로 전체에서 약 67%를 차지하고 있다.

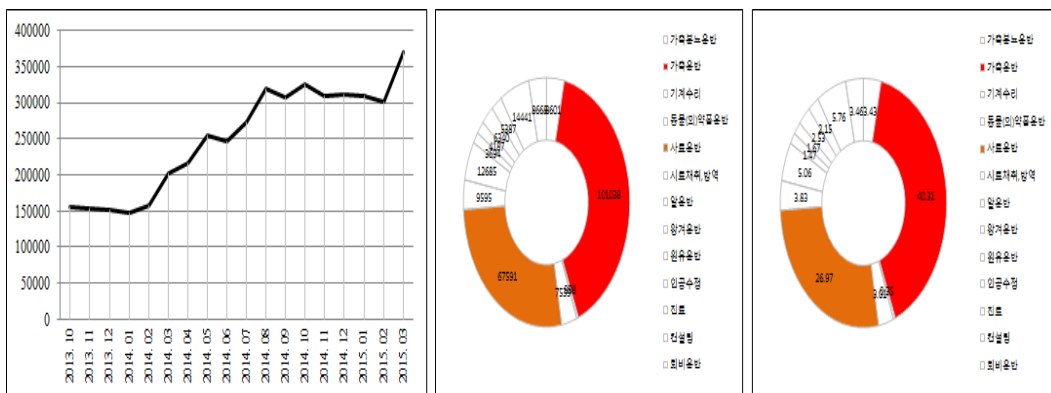


그림 2-2-2-1. 방문횟수 변화추이 및 방문유형별 비중



자료	가족분노운반	가족운반	기계수리	동물(의)약품운반	사료운반	시료채취방역	알운반	황겨운반	원유운반	인공수정	진료	컨설팅	퇴비운반	총합계
2013. 10	4323	62699	723	5488	44876	6845	3	1657	3698	5354	4157	10893	3892	154608
2013. 11	4454	61820	694	5138	46261	6289	0	1481	3570	4673	4223	10924	3854	153381
2013. 12	4655	60568	963	5529	46223	5349	2	1680	3576	4666	3737	10719	4251	151918
2014. 01	4981	57140	734	5027	46959	5644	0	1807	3485	4687	3651	9958	4296	148369
2014. 02	5048	60659	647	3924	49092	8694	1351	2201	3247	4752	3966	9123	5719	158423
2014. 03	6016	79164	796	4982	56707	11360	7364	2745	3797	5731	4840	10766	7702	201970
2014. 04	7605	83867	860	6213	57603	10366	12271	2797	3746	5383	5042	12783	7627	216163
2014. 05	8317	103021	1081	7523	66631	11577	14025	2907	4191	6871	5934	14931	7809	254818
2014. 06	7652	100028	946	7923	65512	9794	13044	2901	3841	8115	5430	14551	6951	246688
2014. 07	7837	114709	702	8873	69184	11503	14122	3331	4060	8396	6138	16653	6846	272354
2014. 08	9581	135634	906	9711	80752	11458	18835	4433	5077	8876	7182	17611	8760	318816
2014. 09	9981	124974	900	9865	78872	10767	18404	4336	5053	8011	6288	19069	10208	306728
2014. 10	10958	132903	833	9694	84780	12055	20322	4569	5053	7402	6503	18608	11245	324925
2014. 11	10725	125138	988	8945	81771	11182	19333	4854	4828	6527	6021	17284	12318	309914
2014. 12	11826	125165	1022	9727	84423	9294	21234	5408	4842	5934	5303	16447	11539	312164
2015. 01	12133	121871	1159	8421	83573	9780	22042	6281	4594	5346	5720	14690	13091	308701
2015. 02	12103	119509	879	8418	80185	8895	21634	6315	4192	5833	5751	15802	12620	302136
2015. 03	16628	149809	1154	10299	93225	11865	24350	6794	4507	7562	7071	19119	17287	369670
평균	8601	101038	888	7539	67591	9595	12685	3694	4187	6340	5387	14441	8668	250653

그림 2-2-2-2. 월별 방문유형별 방문횟수 집계

○ 축산관련시설의 현황은 KAHIS로부터 축산관련시설 대장정보에 해당하는 자료를 추출하여 파악하였다. 그림 2-2-2-3은 축산관련시설에 관한 정보(시설번호, 시설코드, 시설명, 시설주소, 축종 등)를 담고 있는 원시자료(raw data) 텍스트파일(frmhs\_info.txt)을 예시한다. 그림 4는 축산관련시설 대장정보를 분석한 결과를 집계한 것이다.

FRMHS_NO	INDUTY_CL	INDUTY_CL_NM	FRMHS_NM	LTKRSR_NM	FRMHS_DETAIL_ADRES	LSTKSP_NM
01445535	101	장	서종석	서종석	충청남도 아산시 신동 406-2 닭-토종닭(13)	
01520825	101	장	황만환	황만환	강원도 속초시 노학동 451 닭-일갈(50)	
00381831	101	장	박성갑	박성갑	전라남도 함평군 함평읍 수호리 526 소-한우(0), 소-육우(0), 소-젖소(0), 닭-토종닭(20), 개(5)	
01001199	101	장	김선조	김선조	경상남도 양산시 주남동 0202-0004 닭-육계(15000)	
01521561	101	장	신근수	신근수	경기도 양평군 개근면 내리 0040-0001 닭-육계(0)	
00021726	101	장	이우섭	이우섭	강원도 화천군 사내면 명월리 994-2 소-한우(0), 닭-토종닭(8)	
00017326	101	장	최동형	최동형	강원도 평창군 평창읍 약수리 85-6 소-한우(0), 소-육우(0), 소-젖소(0), 닭-토종닭(8), 닭-기타(20)	
01029149	101	장	이수영	이수영	강원도 삼척시 근덕면 동막리 564-88 닭-일갈(35), 닭-토종닭(17)	
00590760	101	장	이신애	이신애	강원도 정선군 여량면 고양리 504-2 소-한우(0), 산양(3), 염소(7), 닭(8), 닭-토종닭(4), 개(0)	
01528741	101	장	김연영	김연영	경기도 고양시 일산서구 법곶동 1540 닭-토종닭(50)	
00656074	101	장	신바위	신바위	강원도 양구군 양구읍 석현리 60-4 소-한우(0), 닭(0), 닭-산란계(8000)	
01445463	101	장	김홍석	김홍석	전라남도 구례군 구례면 용정리 765-7 오리-육용오리(11500)	
01371269	101	장	변환수	변환수	강원도 원주시 부론면 단강리 1412-8 소-한우(1), 닭-토종닭(7)	

그림 2-2-2-3. 축산관련시설 대장정보 (KAHIS DB로부터 추출)



텍스트파일(frmhs\_lstksp.txt)을 예시한다.

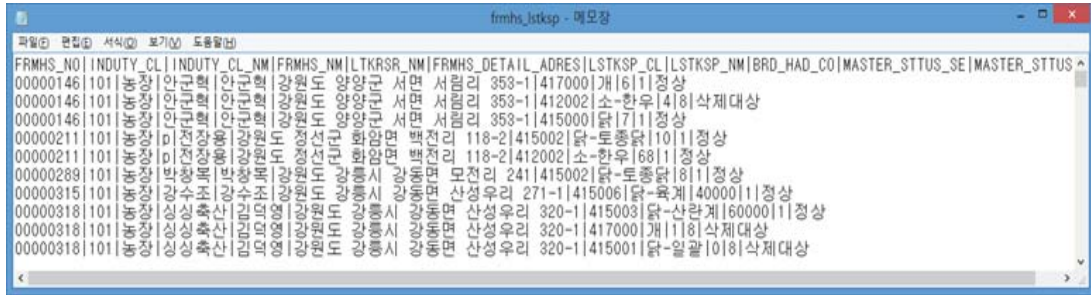


그림 2-2-2-5. 축산관련시설 축종별 이력자료 (KAHIS DB로부터 추출)

○ 축산관련시설 축종별 이력정보에는 축종운영상태에 관한 정보가 포함되어 있다. 그림 2-2-2-6은 축종운영상태별 축산관련시설의 개수와 비중을 집계한 표이다. 그림 6에서 볼 수 있듯이 축종운영상태는 정상, 폐업, 삭제대상, 역학, 이동 등의 범주로 구분된다. 전체 103,438개의 시설 중 85,629개의 시설이 정상적으로 운영되는 것으로 집계되었다. 한 가지 주목할 사항은 동일 시설의 경우에도 축종별로 구분이 되어있다는 점이다. 가령 그림 2-2-2-7에서 보면 시설번호 '146'에 해당하는 시설의 경우 농가로써 소유자 및 주소가 동일하지만 축종별(개, 소, 닭)로 구분되어 있음을 알 수 있다. 즉, 한 농가에서 세 가지 다른 축종의 가축을 사육하는데 이를 별도의 레코드(텍스트파일에서 가로 줄에 해당하는 정보로 row로도 지칭됨)로 기록되어 있는 것이다.

축종운영상태명	개수	%
<b>자료 없음</b>	<b>2,217</b>	<b>2.14</b>
도태	2	0.00
<b>삭제대상</b>	<b>4,192</b>	<b>4.05</b>
살처분	1	0.00
소독	20	0.02
승인대기	85	0.08
알수없음	24	0.02
역학	32	0.03
이동	82	0.08
정비	43	0.04
<b>정상</b>	<b>85,629</b>	<b>82.78</b>
중복	905	0.87
<b>폐업</b>	<b>9,931</b>	<b>9.60</b>
휴업	275	0.27
총합계	103,438	100

그림 2-2-2-6. 축종운영상태별 집계 자료

○ 그런데 축종운영상태를 보면 '146'번 농가의 경우 개와 닭은 '정상'으로 표기되어 있는 반면, 소의 경우는 '삭제대상'으로 표기되어 있음을 알 수 있다. 이는 '146' 농가의 경우 원래 세 축종(개, 닭, 소) 모두를 사육하였지만 현 KAHIS DB를 기준으로 보면 소는 더 이상 사육하지 않는 것으로 추론해 볼 수 있다. 시설번호 '318'의 경우에는 개는 삭제대상이고 닭의 경우 삭제대상과 정상이 모두 표기되어 있다. 이는 닭의 경우 정상적으로 사육되었다가 현 KAHIS DB 기준으로 더 이상 운영되지 않는 것으로도 해석이 가능하다. 물론 이에 대한 정확한 사실관계는 직접적 확인을 통해서만 가능하다는 점을 밝혀둔다.

FRMHS_NO	INDUTY_CL	INDUTY_CL_NM	FRMHS_NM	LTKRSR_NM	FRMHS_DETAIL_ADRES	LSTKSP_CL	LSTKSP_NM	BRD_HAD_CO			
00000146	101	보령공장	안단현	안단현	강원도 양양군 서면 서림리 353-1	417000	개	611	정상		
00000146	101	보령공장	안단현	안단현	강원도 양양군 서면 서림리 353-1	412002	소	한우	418	삭제대상	
00000146	101	보령공장	안단현	안단현	강원도 양양군 서면 서림리 353-1	415000	담	711	정상		
00000211	101	보령공장	미전장	웅강원도	정선군 화암면 백전리 118-2	415002	담	토종담	101	정상	
00000211	101	보령공장	미전장	웅강원도	정선군 화암면 백전리 118-2	412002	소	한우	681	정상	
00000289	101	보령공장	박항재	박항재	강원도 강릉시 강동면 모전리 241	415002	담	토종담	811	정상	
00000315	101	보령공장	강수조	강수조	강원도 강릉시 강동면 산성우리 271-1	415006	담	육계	40000	11	정상
00000318	101	보령공장	싱싱축산	김덕영	강원도 강릉시 강동면 산성우리 320-1	415003	담	산란계	60000	11	정상
00000318	101	보령공장	싱싱축산	김덕영	강원도 강릉시 강동면 산성우리 320-1	417000	개	118	삭제대상		
00000318	101	보령공장	싱싱축산	김덕영	강원도 강릉시 강동면 산성우리 320-1	415001	담	일몰	118	삭제대상	
00000318	101	보령공장	싱싱축산	김덕영	강원도 강릉시 강동면 산성우리 320-1	415000	담	118	삭제대상		

그림 2-2-2-7. 동일 시설의 축종별 구분 현황

○ 축산관련시설 축종별 이력정보는 결국 축종별 구분으로 인하여 동일농가가 여러 번 합산되는 결과를 낳고 있다. 즉, 그림 2-2-2-6의 집계자료에 ‘정상’ 범주에 해당하는 시설의 개수가 85,629로 집계되었지만 이는 축종별 구분에 의한 중복 합산의 결과인 셈이다. 따라서 고유한 시설번호(ID)로 시설을 집계해보면 총 73,061개의 시설이 ‘정상’ 운영되는 것으로 집계된다.

○ 축산관련시설 대장정보(frmhs\_info.txt)에서의 시설 개수는 주소정보가 누락되어 지오코딩이 불가능한 33개를 제외한 76,741개인 반면 축산관련시설 축종별 이력자료(frmhs\_lstksp.txt)에는 73,061개로 이들 간의 차이가 3,680개로 나타나고 있다. 이러한 차이는 실제 조사를 통하여 정확한 사실관계를 확인해 볼 필요가 있겠지만 자료 자체만으로는 축종별 이력자료의 경우 ‘폐업’이나 ‘삭제대상’, ‘자료없음’ 등의 범주에서 실제 현장에서의 현황을 신속하고 정확하게 반영하기 어려운 현실적 자료수집 및 관리에 있어서의 제약의 결과인 것으로 추정된다. 이러한 부분은 현장에서의 정확한 자료수집 방안 등의 강구와 연계하여 개선의 노력이 필요한 부분으로 사료된다.

○ 본 연구에서 수행하고자 하는 축산관련차량의 축산관련시설 방문에 따른 이동패턴을 파악하기 위해서는 축산관련차량과 축산관련시설 간 네트워크 연결정보가 필요하다. 그렇다면 축산관련시설 대장정보(frmhs\_info.txt)와 축산관련시설 축종별 이력자료(frmhs\_lstksp.txt) 중 어떤 것을 사용할 것인가라는 문제가 발생한다.



○ 이에 대한 대안으로 본 연구에서는 KAHIS의 축산관련차량 방문정보에 포함된 고유 시설번호는 축산 관련시설 정보에 역시 포함된 고유 시설번호와 완전히 일치해야 됨을 전제한다. 이를 토대로 우선 축산관련시설 대장정보의 73,061개의 시설과 2013년 10월부터 2015년 3월까지 18개월분 자료를 모두 대조한 결과 축산관련차량 방문 자료에 포함된 고유 시설번호와 대장정보의 고유 시설번호는 100% 일치하는 것을 확인할 수 있었다. 반면에, 축산관련시설 축종별 이력자료와의 비교결과는 2013년 10월분 자료에서만 8,510개의 불일치 사례가 발생하였다. 즉, 차량이 방문한 농가의 번호가 축종별 이력자료에 없는데 그 숫자가 8,510개라는 결과이다. 따라서 축산관련시설 대장정보(frmhs\_info.txt)에 포함된 76,741개의 시설자료를 축산관련차량과의 네트워크 연결정보 생성을 위한 기본자료(base data)로 설정하였다. 결국, 76,741개의 시설 정보의 지오코딩 결과는 차량이 방문한 공간적 위치에 대한 베이스맵(base map)인 셈이다. 그림 2-2-2-8은 지오코딩 결과 베이스맵으로 설정한 76,741개 시설의 위치를 나타낸 지도(왼쪽)와 속성정보(오른쪽)를 나타낸다.

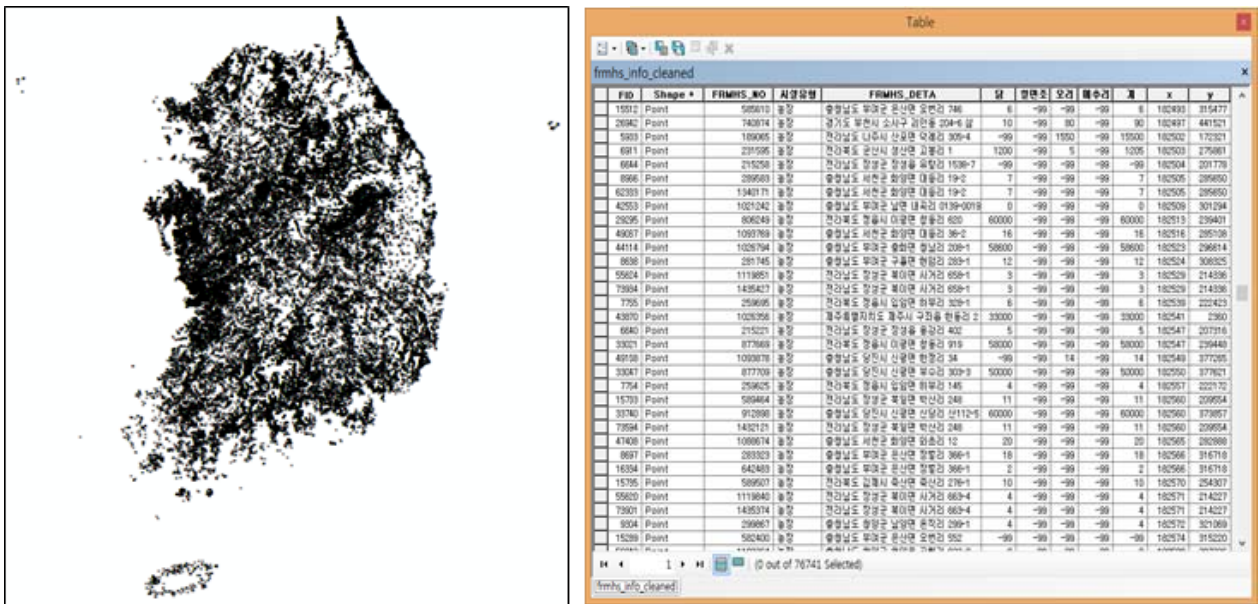


그림 2-2-2-8. 축산관련시설 기본자료 지오코딩 결과(시설위치 + 속성정보)

○ 속성정보의 경우 네 축종의 가금(닭, 오리, 칠면조, 메추리)을 오른쪽 표에서 볼 수 있듯이 별도의 열(column 혹은 field)로 구분한 것이다. 원래 축산관련시설 대장자료에는 축종이 열 구분자(파이프: |)로 구분되어 있지 않고 기술적(descriptive) 자료로 구축되어 있다. 이 기술적 자료 중 네 축종(닭/오리/칠면조/메추리)만을 각각 추출하여 별도의 열로 변환하였다. 변환을 위하여 MS Excel의 VBA(Visual Basic for Application)를 이용하여 스크립트 프로그램을 작성하여 변환작업을 수행하였다.



○ 그림 2-2-2-9는 그림 2-2-2-8의 베이스맵과 2013년 10월 축산관련차량 이동자료를 연계·결합하여 해당 기간 동안 축산관련차량이 1회 이상 방문한 시설(파란색 큰 X 기호)과 그렇지 않은 시설(검은색 작은 X 기호)을 구분하여 표시한 것이다. 여기에서 한가지 의문사항은 축산관련시설을 1개월 동안 축산관련차량이 1회도 방문하지 않는 것이 가능한 것인가라는 점이다. 이와 관련하여 본 분석에서는 차량이동자료의 경우 가금 관련 축산시설만을 방문한 차량에 한정되어 KAHIS DB로부터 자료를 추출했다는 점이다. 따라서 1개월 동안 1회도 축산관련차량이 방문하지 않은 시설은 가금류 이외에 다른 축종(소, 돼지, 개 등)도 함께 사육하는 형태의 가금사육농가로 KAHIS에 기록이 되었다가 차량방문자료 시점 기준으로 가금류는 더 이상 사육하지 않는 농가일 가능성이 있는 것으로 추정해볼 수 있다.

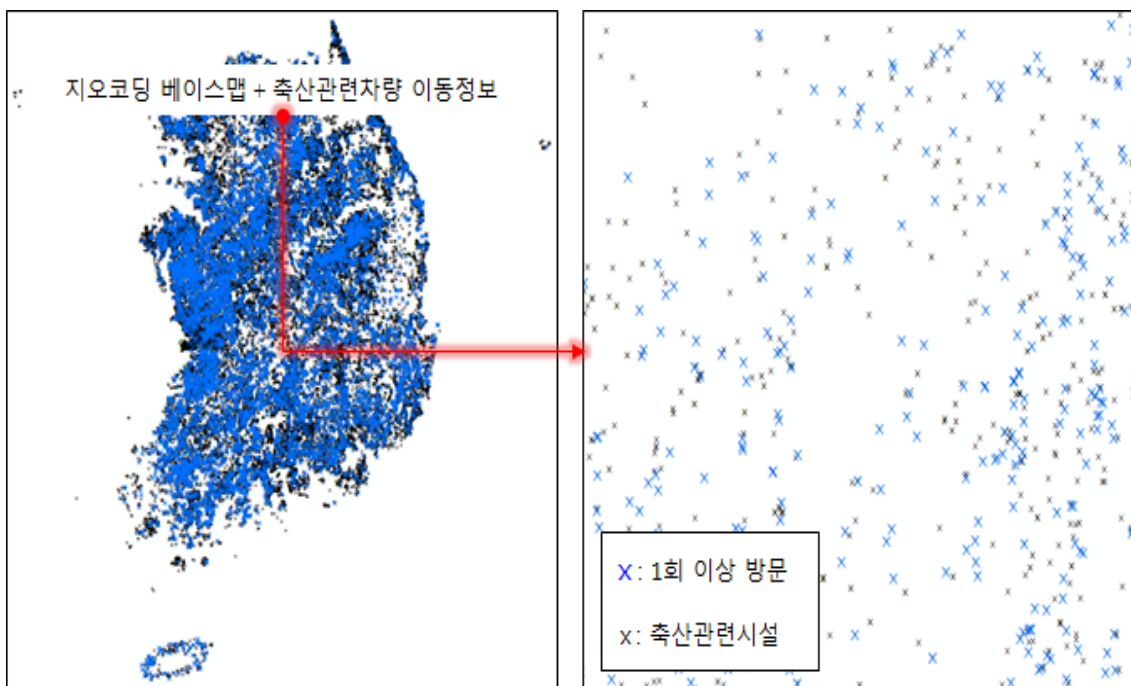


그림 2-2-2-9. 축산관련차량 1회 이상 방문/미방문 축산관련시설의 공간적 분포

○ 그림 2-2-2-10은 역시 같은 기간(2013년 10월) 동안 축산관련차량이 1회 이상 방문한 시설별 방문 빈도를 색상에 따른 단계구분도(choropleth map)로 나타낸 것이다. 농가를 나타내는 기호(X)의 색상이 진한 톤의 빨간색일수록 방문빈도가 높은 시설임을 의미하고 파란색은 상대적으로 방문빈도 하위 40%이하로 상대적으로 낮은 시설의 위치를 나타낸다.

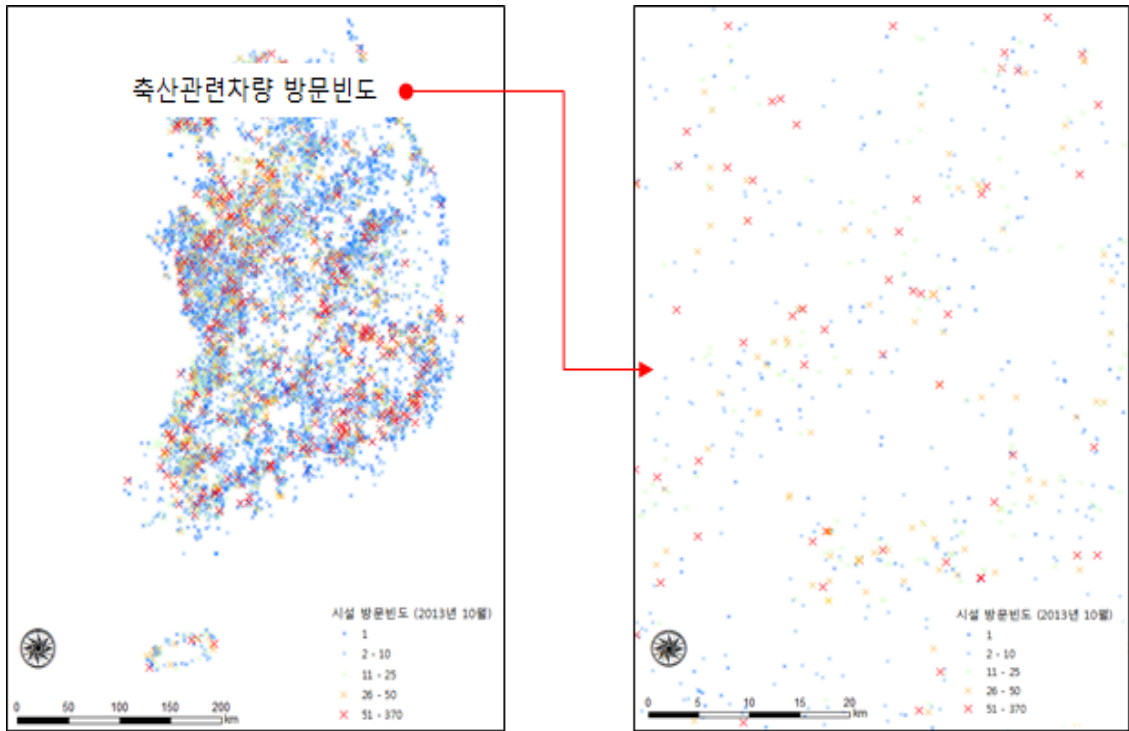


그림 2-2-2-10. 축산관련차량 방문빈도 집계 결과

○ 그림 2-2-2-11은 17개 광역시도별로 모든 유형의 방문목적에 대한 방문빈도를 집계한 결과를 나타내는 표이다. 또한 그림 2-2-2-12는 가축운반과 사료운반이 가장 비중이 높은 방문목적임을 감안하여 이들을 총 방문빈도와 함께 광역시도 단위의 단계구분도로 나타낸 것이다. 집계결과를 보면 모든 유형을 망라한 방문빈도의 경우 경기도와 충청남도, 경상북도 지역에서 높은 빈도를 보이고 있다. 사료운반의 경우 역시 이와 동일한 패턴을 나타낸다. 가축운반의 경우 충청남도와 전라남도, 그리고 경상남도 지역에서 높은 빈도가 나타나고 있다. 그러나 시도 단위의 광역적 공간범위에서는 집계단위들 간 차이를 파악하는데 한계가 있다. 따라서 좀 더 미시적 범위에서의 방문빈도를 지도로 표현하여 현황을 좀 더 정밀하게 파악하는데 도움이 될 수 있다.

시도명	농장수	가축분뇨운반	기계수리	약품운반	사료운반	시료채취, 방역	말운반	왕겨운반	원유운반	인공수정	진료	컨설팅	퇴비운반	총계
서울특별시	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
부산광역시	42	0	150	4	8	28	35	0	11	9	2	13	11	40
대구광역시	41	0	254	0	3	356	8	0	0	0	9	17	3	650
인천광역시	66	80	141	1	39	305	41	0	17	25	13	15	118	797
광주광역시	19	0	56	0	8	40	11	0	8	0	3	1	3	140
대전광역시	49	247	224	0	4	70	19	0	0	0	10	13	8	595
울산광역시	139	28	611	3	9	435	80	0	2	0	127	25	69	1421
세종특별자치시	124	122	697	5	77	1067	36	1	6	63	37	58	205	2383
경기도	1113	1125	5604	61	1229	6472	1227	0	441	1054	461	370	1735	865
강원도	1412	257	3841	30	326	3671	1015	0	131	256	656	391	778	518
충청북도	999	91	5615	86	485	2619	620	0	73	177	347	300	600	100
충청남도	2043	720	9909	299	1048	8227	951	0	203	630	1141	732	2036	695
전라북도	1291	740	6580	67	745	5328	428	2	303	30	454	542	1240	594
전라남도	1592	110	10529	48	558	4282	859	0	341	240	479	434	1120	238
경상북도	1867	353	8204	80	638	7444	834	0	85	570	1012	681	1980	504
경상남도	1301	396	9486	38	276	4091	635	0	36	643	597	461	899	285
제주특별자치도	100	54	798	1	35	440	46	0	0	1	6	104	88	0

그림 2-2-2-11. 17개 광역시도별 방문목적별 방문빈도 집계 결과

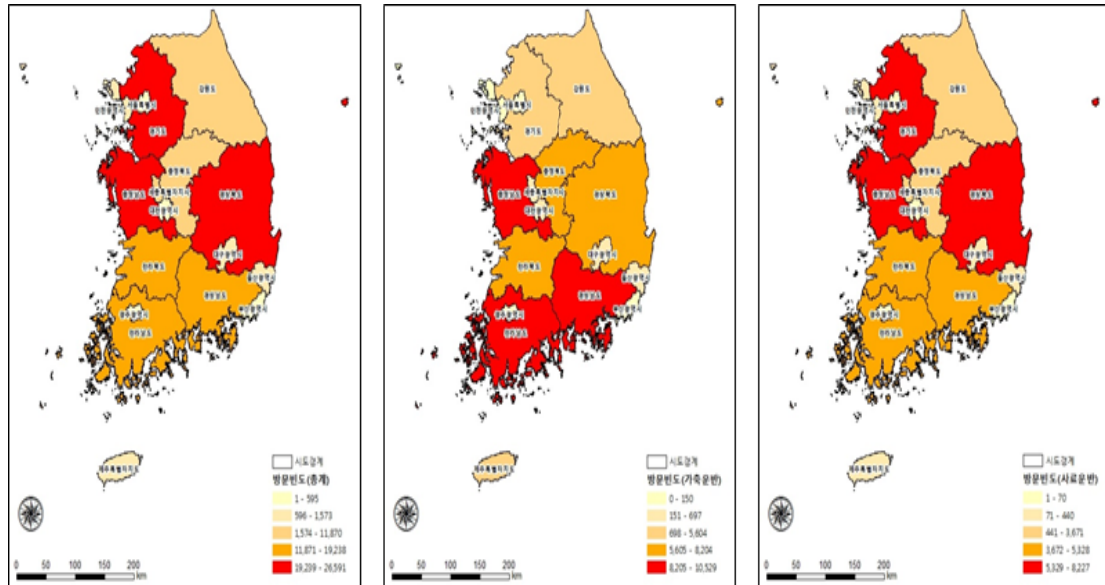


그림 2-2-2-12. 17개 광역시도별 방문빈도(모든 유형/가축운반/사료운반) 집계 결과

○ 그림 2-2-2-13은 동일한 자료를 시군구 단위로 집계한 결과를 나타낸다. 미시적으로 파악하기 어려웠던 시군구 단위의 좀 더 정밀한 방문빈도 분포를 파악할 수 있으며 지역 간 뚜렷한 패턴의 차이 역시 살펴볼 수 있다.

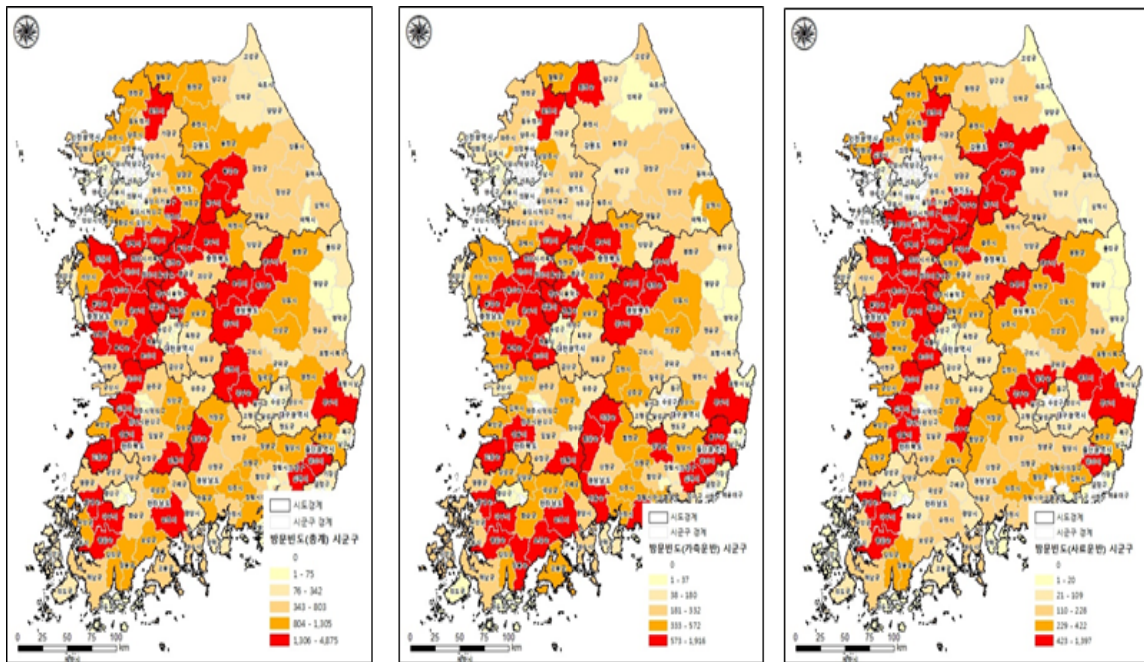


그림 2-2-2-13. 251개 시군구별 방문빈도(모든 유형/가축운반/사료운반) 집계 결과

○ HPAI 전파-확산 추정모형을 설계하기 위해서는 AI가 발생한 농가의 시설ID를 KAHIS DB로부터 추출한 축산관련시설 대장정보(frmhs\_info.txt) 베이스맵과 일치시키는 과정이 필요하다. 즉, AI 발생농가 시설ID에 대장정보에 일치하는 시설ID를 부여하는 과정이다.

○ 2014년 신고일 기준으로 HPAI가 발생한 농가는 총 208개로 집계되었다. 이 중 축산관련시설 대장정보(frmhs\_info.txt) 베이스맵 상의 시설ID와 일치하는 농장은 133개로 나타났다. 나머지 75개 중 55개 농가는 주소는 정확히 일치하지 않지만 본번-부번이 가장 유사하거나 최근린거리 등의 기준을 적용하여 유사농가의 시설ID를 부여하였다. 나머지 20개는 유사농가를 찾을 만한 정보가 없어서 시설ID 부여에 실패하였다. 그림 2-2-2-14는 HPAI발생농가의 시설ID 일치작업을 수행한 결과를 일부 예시한다. 그림 2-2-2-15의 빨간색 × 표시는 시설ID가 정확히 일치한 153개 농가와 유사농가의 위치를 나타내고 파란색 사각형은 20개의 시설ID 부여에 실패한 농가의 위치를 나타낸다.

주소	구분	년도	축종	신고일	농장번호	유사 주소
전북 고창 신림면 무림리 488	발생	2014	오리	2014-01-16	807246	전라북도 고창군 신림면 무림리 479-54
전북 부안 줄포면 신리 352-47	발생	2014	오리	2014-01-17	242038	
전북 부안 줄포면 신리 747	발생	2014	오리	2014-01-18	N/A	
전북 고창 해리면 사반리 1241	발생	2014	오리	2014-01-19	803113	
전남 해남 송지면 마봉리 1621-1	발생	2014	오리	2014-01-20	640433	
충남 부여 홍산면 북촌리 438-10	발생	2014	닭	2014-01-21	337062	
전남 나주 세지면 오봉리 34	발생	2014	오리	2014-01-22	N/A	
전북 부안 계화면 양산리 2458-1,2,3	발생	2014	오리	2014-01-23	519806	
충남 천안 서북구 직산읍 판정리 177-2	발생	2014	오리	2014-01-24	799458	충청남도 천안시 서북구 직산읍 판정리 177-1
충북 진천 이월면 삼흥리 614-11	발생	2014	오리	2014-01-25	326234	
경기 화성 서신면 전곡리 19-4	발생	2014	닭	2014-01-26	615065	
전남 영암 덕진면 장선리 83-1	발생	2014	오리	2014-01-27	50933	
경남 밀양 초동면 덕산리 126	발생	2014	닭	2014-01-28	1026617	
충북 진천 덕산면 인산리 636-1	발생	2014	오리	2014-01-29	325743	
충북 음성 대소면 삼정리 764-1	발생	2014	오리	2014-01-30	1015563	충청북도 음성군 대소면 삼정리 764
경기 화성 온석동 488-3	발생	2014	닭	2014-01-31	1007899	경기도 화성시 남양읍 온석리 488-3
전남 영암 도포면 덕하리 1-3	발생	2014	닭	2014-02-01	1026988	
전남 영암 영암읍 송평리 461-35	발생	2014	오리	2014-02-02	695051	전라남도 영암군 영암읍 송평리 461-21

그림 2-2-2-14. HPAI 발생농가자료 + 축산관련시설 대장정보 : 시설ID 일치작업 결과

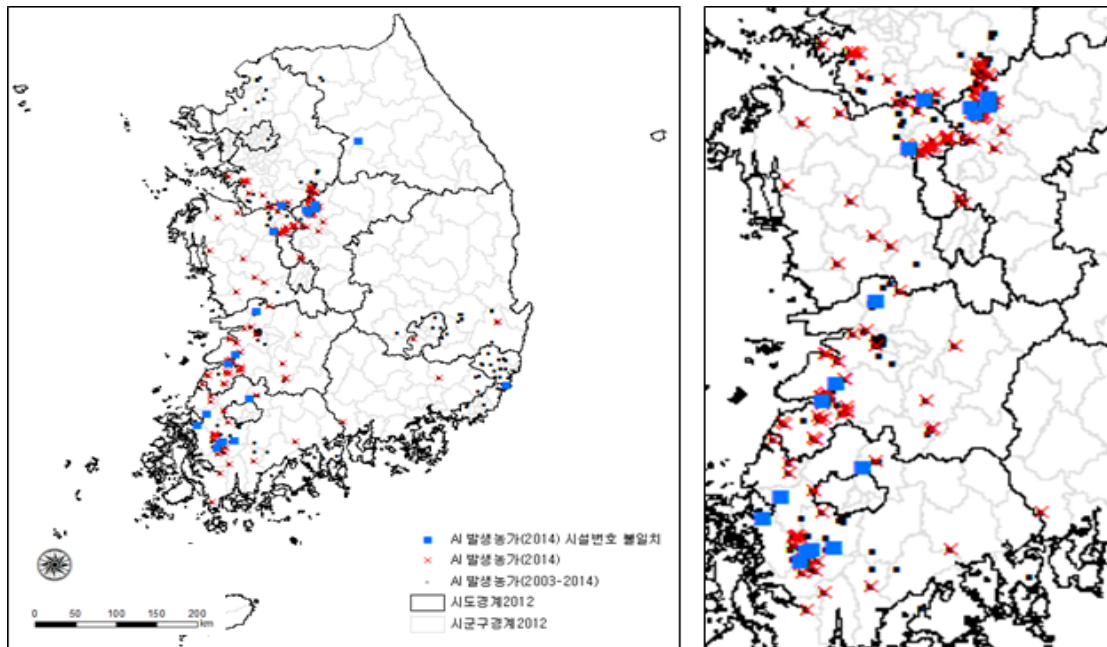


그림 2-2-2-15. HPAI 발생농가자료 + 축산관련시설 대장정보 : 시설ID 일치작업 결과



## 2. HPAI 확산 네트워크 분석

### 1. 가금농가 네트워크 분석 데이터

○ 국내 HPAI 확산 네트워크 분석은 2016년 1월 기준 국가가축방역통합시스템(Korean Animal Health Integrated System, KAHIS) 내 등록 농가 중 가금류를 해당시점에 사육하고 있거나 혹은 가금류 사육경험이 있던 농가를 대상으로 실시하였다. 분석의 편의를 위하여 데이터는 주 단위 평일 기준으로 정제되었으며 이를 요약하면 다음과 같다.

표 2-2-2-1. 2016년 1월 주별 국내 가금농가 네트워크 노드(node) 및 엣지(edge) 현황

	첫째 주	둘째 주	셋째 주	넷째 주
노드	31,310	31,015	29,850	30,611
엣지	40,552	39,641	38,273	38,373

1	2	3	4	1	2	3	4	5	6
Source	province	latitude	longitude	edge.id	Source	Target	onset	terminus	duration
4	44210	36.73154166	126.4157311	16	4	133118	201601052016010504		
15	42730	37.48475035	127.9476725	49	4	133118	201601062016010804		
21	43720	36.54760096	127.7402451	21	4	120233	201601072016010704		
28	48870	35.43733927	127.7340933	38	4	124167	201601052016010504		
47	46890	34.32859269	126.6892521	72	4	124167	201601062016010804		
48	46820	34.48441217	126.6770734	2	4	69652	201601052016010614		
49	44270	37.01394326	126.5327754	47	4	124167	201601062016010604		
50	44270	36.9646018	126.6246419	10	4	40624	201601052016010614		
51	43750	36.9941881	127.4215282	49	15	127029	201601072016010614		
67	48270	35.50063779	128.7226294	29	15	68504	201601052016010504		
69	41220	37.0109922	126.8797517	31	15	146875	201601052016010504		
79	46810	34.56456876	126.8399464	37	15	127029	201601062016010604		
84	44230	36.13580517	127.1616826	46	15	127029	201601072016010704		
86	43114	36.68944743	127.4834366	24	15	127029	201601042016010404		
89	47111	35.95864456	129.3510812	27	15	146875	201601042016010514		
94	46170	34.99655462	126.8637273	35	15	15	201601062016010604		
99	44810	36.7185363	126.7679226	36	15	15	201601062016010604		
116	43800	37.11421436	128.3986826	40	15	127029	201601062016010714		
125	42720	37.5899561	127.8553455	21	15	146875	201601042016010404		
138	48890	35.5265774	128.0749357	43	15	127029	201601072016010704		
141	43750	36.89470387	127.4887158	14	21	83124	201601042016010404		
143	45790	35.3995526	126.6293065	10	47	40179	201601052016010504		
145	45750	35.4957067	127.2832758	119	47	47	201601062016010604		
155	47830	35.798138	128.2983274	121	47	131954	201601062016010604		
157	45190	35.3472699	127.2044294	120	47	47	201601062016010604		
159	42750	37.1220913	128.6055326	17	48	124895	201601062016010604		
162	31710	35.6091471	129.1181506	20	49	9836	201601052016010504		
168	45180	35.5831077	127.0464542	116	49	22008	201601062016010804		

그림 2-2-2-16. 2016년 1월 주별 국내 가금농가 네트워크 노드(좌) 및 엣지(우) 현황 예시

### 2. 가금농가 네트워크 분석방법

○ 본 연구에서는 Yifan Hu 알고리즘을 이용하여 가금농가 간 네트워크를 분석하였다. Yifan Hu 알고리즘은 Force Atlas 알고리즘과 유사한 방법으로 네트워크 레이아웃(layout) 계산 시 노드 간 반발(internode repulsion)을 최적화한다. 그러나 Yifan Hu의 경우 Force Atlas와 다르게 노드를 쌍(pairs)으로 구성하여 반발력(repulsive force)을 고려하는 특징이 있으며 이 때 쌍으로 구성되는 노드는 오직 근접한 노드들에 국한된다. 그러나 Force Atlas 알고리즘의 경우 반발력 계산 시 모든 노드를 고려한다. 이러한 Yifan Hu 알고리즘의 특징으로 인해 Yifan Hu의 경우 본 연구에서와 같은 대용량 네트워크 데이터를 이용할 때 계산속도가 빠르다는 장점이 있다.

○ 본 연구에서 Yifan Hu 알고리즘을 이용하여 2016년 1월 각 주별 가금농가 네트워크 분석을 실시한 항목은 average degree, average weighted degree, network diameter, modularity, average clustering coefficient 및 average path length 등 총 여섯 가지 항목이다.

- average degree: 본 가금농가 네트워크 분석에서 degree는 각 노드와 연관된 엣지갯수를 의미한다. 따라서, 평균 degree는 네트워크 내 각 노드와 연관된 엣지갯수의 합을 노드갯수로 나눈 값을 말한다.

- average weighted degree: 모든 노드에 대해 가중치가 부여된 엣지갯수의 합을 노드갯수로 나눈 값을 말한다.

- network diameter: 본 가금농가 네트워크 내 모든 노드 쌍에 대해서 계산된 최단거리(shortest path) 중 가장 긴 거리를 의미한다.

- modularity: 본 가금농가 네트워크 내 모듈(module) 혹은 커뮤니티(community)를 이루는 정도를 말한다. 네트워크 내 모듈에 대한 전체 엣지갯수 대비 특정 모듈 엣지갯수의 비율을 의미한다.

- average clustering coefficient: 본 가금농가 네트워크 내 노드가 군집을 이루는 정도를 말하며, 이는 하나의 노드와 관련이 있는 이웃 노드들 간 관련 정도를 나타낸다.

- average path length: 본 가금농가 네트워크 내 노드 간 엣지 평균 길이를 말한다.

○ 본 연구에서는 2016년 1월 각 주별 네트워크분석 이외에도 해당 기간에서 일 1회 이상 엣지가 존재하는 가금농가(degree  $\geq 5$ )를 추출한 후 average degree, average weighted degree, network diameter, modularity, average clustering coefficient 및 average path length를 추정하였다.

### 3. 가금농가 네트워크 분석결과

○ 2016년 1월 주별 가금농가 네트워크 분석결과 각 노드(농가)는 평균 1.2개의 엣지가 존재하는 것으로 나타났으며, 가중치를 부여하면 약 2.8개의 엣지가 존재하였다. 또한 네트워크의 평균직경은 44였으며, 모듈 형성정도는 0.91이었다. 군집형성계수는 0.06이었으며, 노드 간 엣지 길이의 평균은 13.96인 것으로 조사되었다.



표 2-2-2-2. 2016년 1월 주별 국내 가금농가 네트워크 분석결과

	첫째 주	둘째 주	셋째 주	넷째 주
average degree	1.29	1.28	1.28	1.29
average weighted degree	2.85	2.76	2.79	2.80
network diameter	46	46	45	40
modularity	0.91	0.91	0.91	0.91
average clustering coefficient	0.06	0.06	0.06	0.06
average path length	13.83	13.98	14.05	14.01

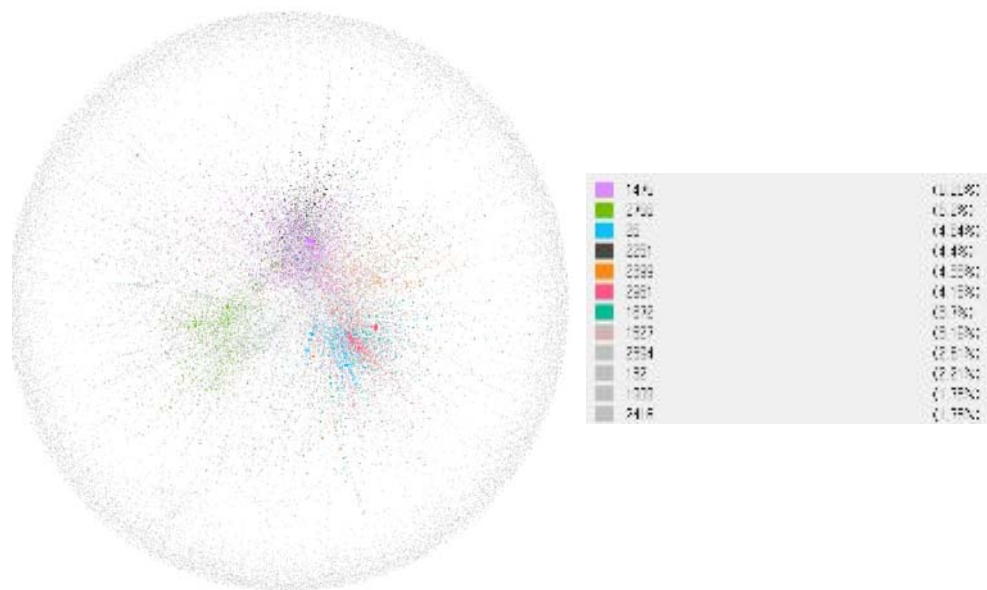


그림 2-2-2-17. 2016년 1월 첫째 주 국내 가금농가 네트워크 시각화(좌) 및 모듈분포(우)

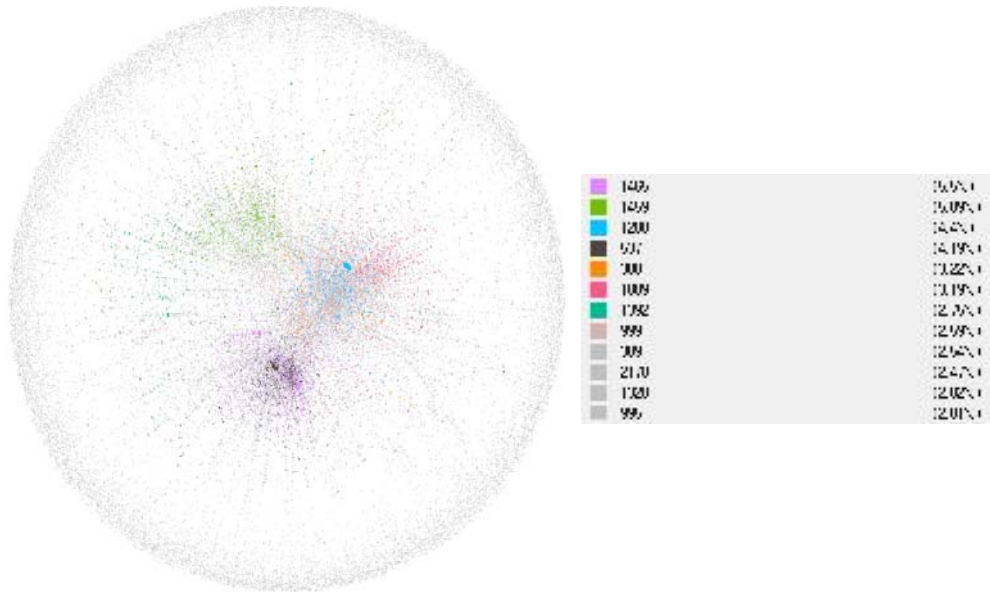


그림 2-2-2-18. 2016년 1월 둘째 주 국내 가금융가 네트워크 시각화(좌) 및 모듈분포(우)

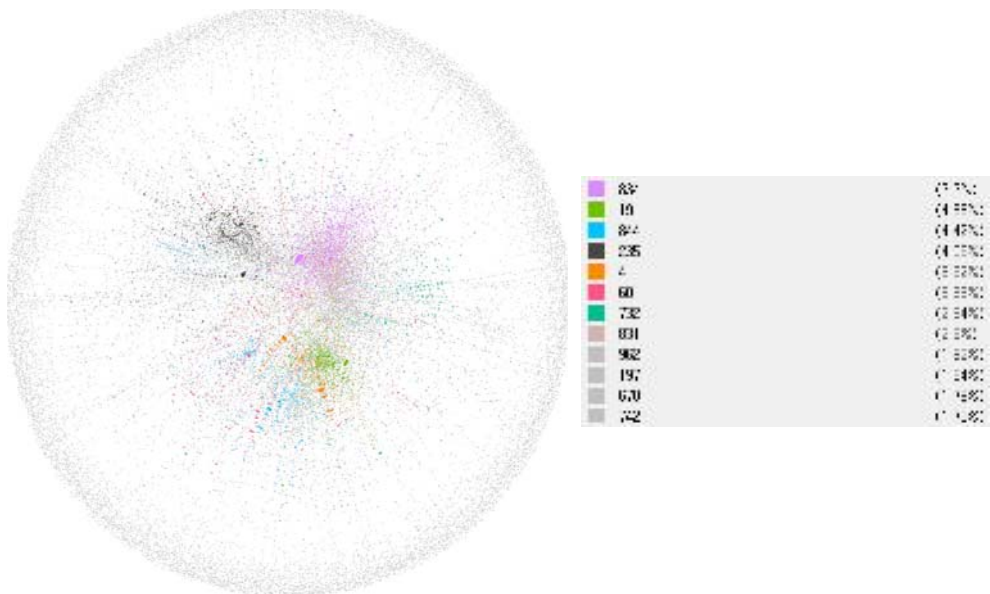


그림 2-2-2-19. 2016년 1월 셋째 주 국내 가금융가 네트워크 시각화(좌) 및 모듈분포(우)

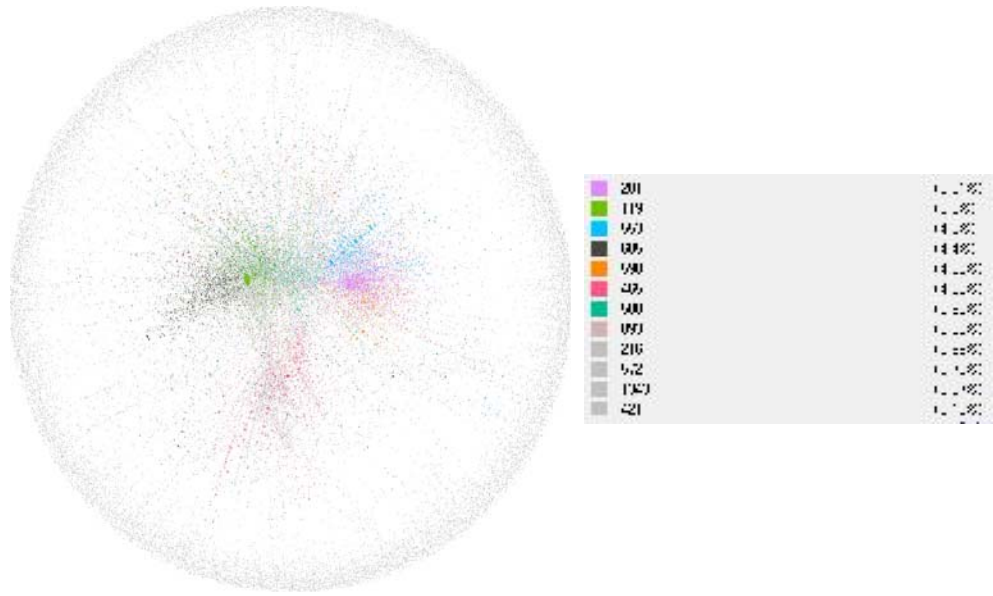


그림 2-2-2-20. 2016년 1월 넷째 주 국내 가금융가 네트워크 시각화(좌) 및 모듈분포(우)

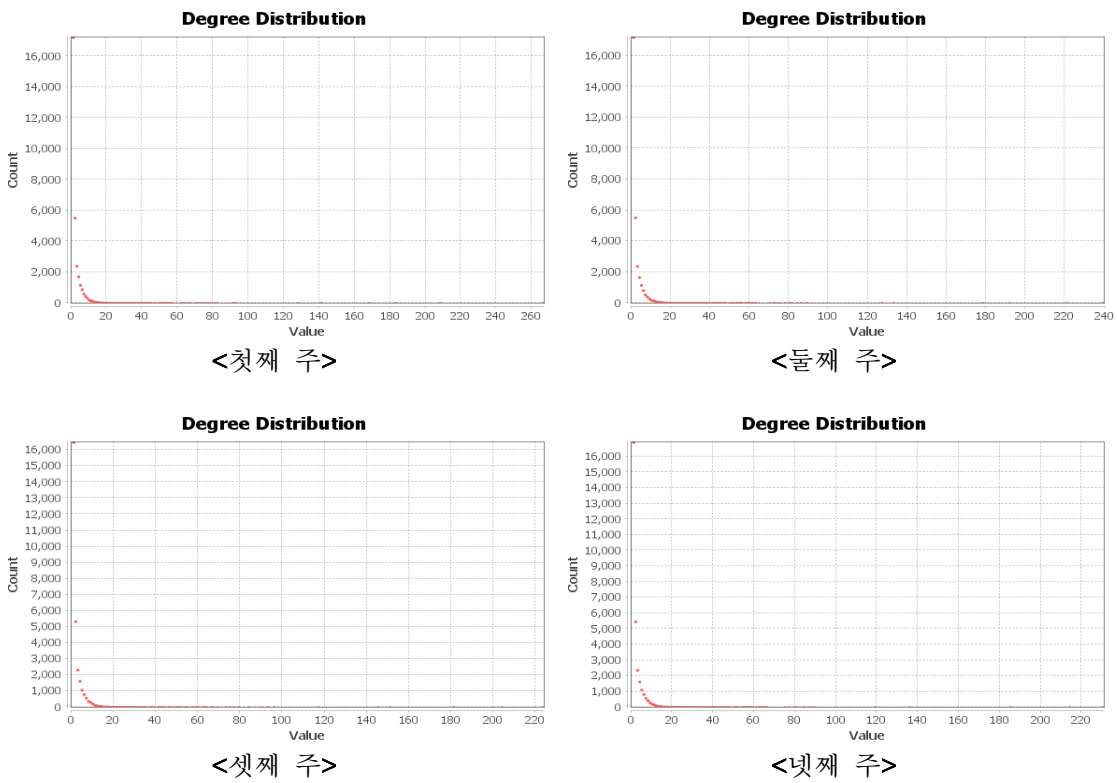
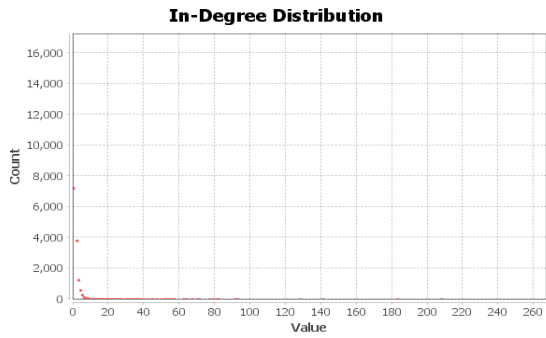
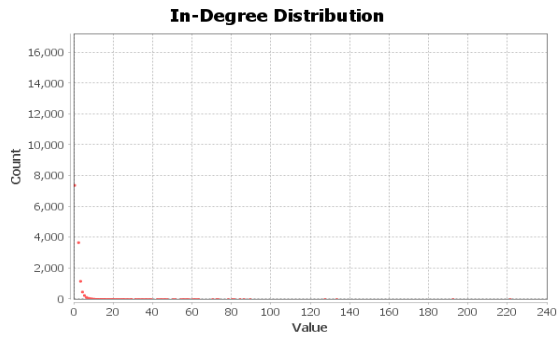


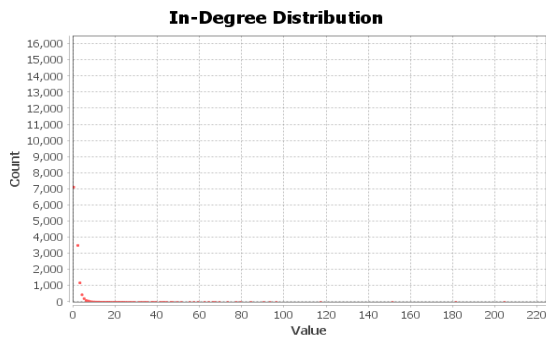
그림 2-2-2-21. 2016년 1월 국내 가금융가 네트워크 degree 분포



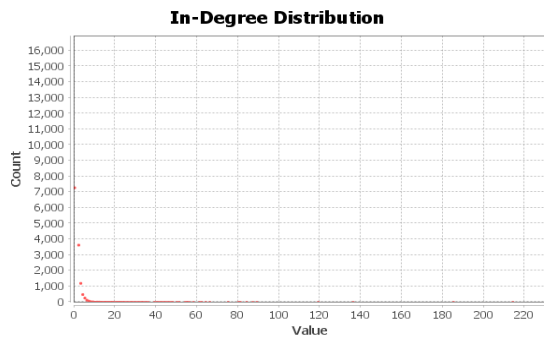
<첫째 주>



<둘째 주>

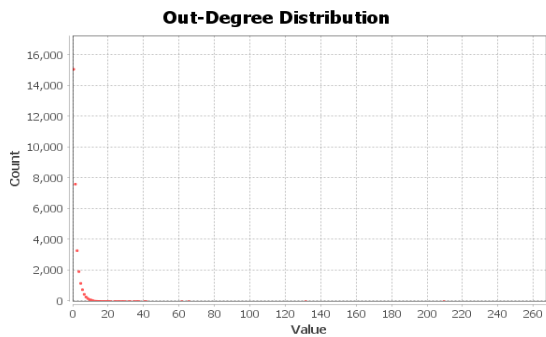


<셋째 주>

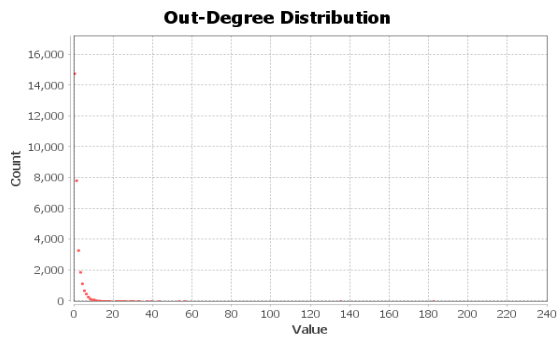


<넷째 주>

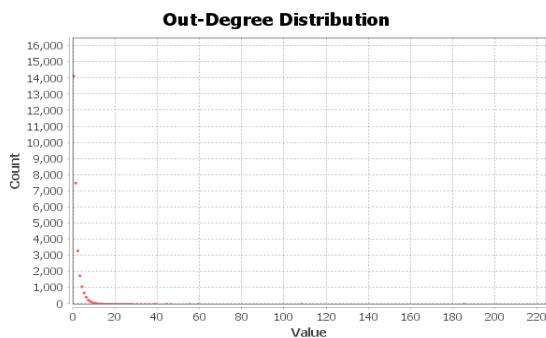
그림 2-2-2-22. 2016년 1월 국내 가금농가 네트워크 in-degree 분포



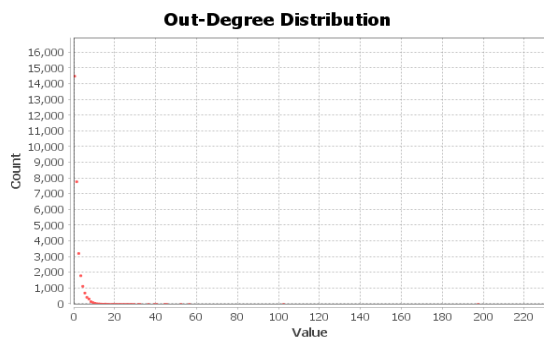
<첫째 주>



<둘째 주>



<셋째 주>



<넷째 주>

그림 2-2-2-23. 2016년 1월 국내 가금농가 네트워크 out-degree 분포

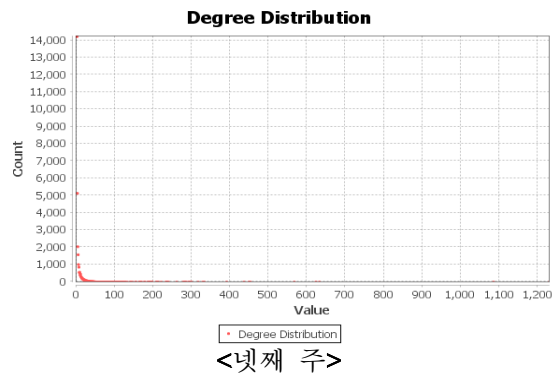
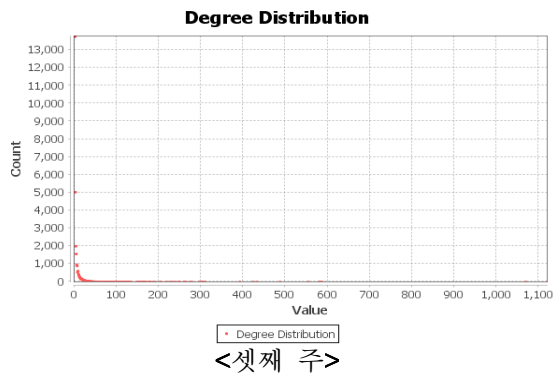
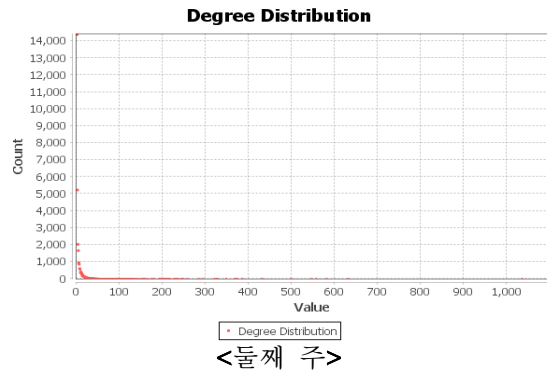
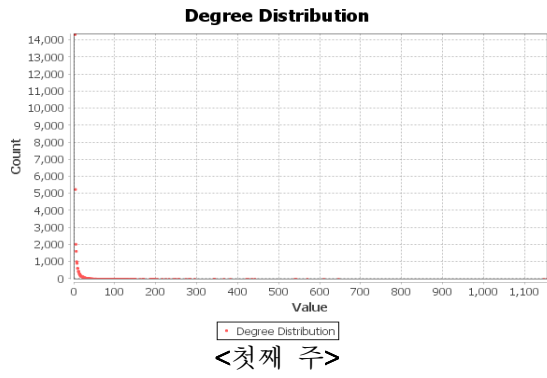


그림 2-2-2-24. 2016년 1월 국내 가금융가 네트워크 가중치 부여 degree 분포

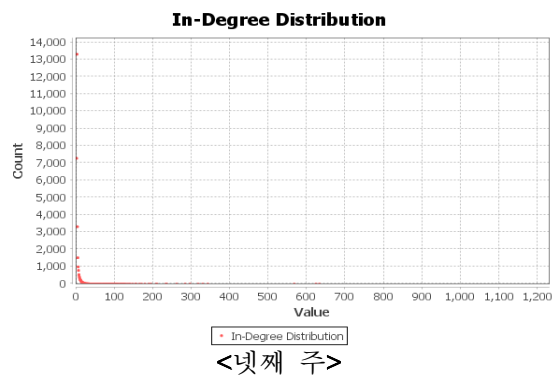
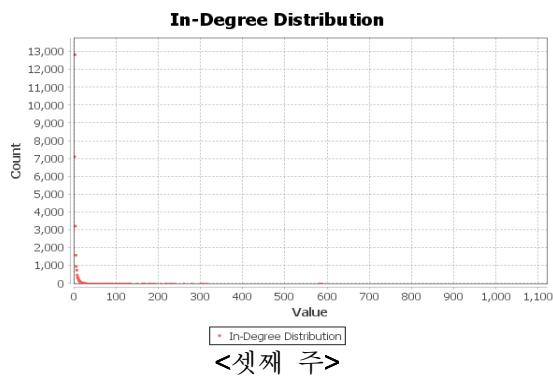
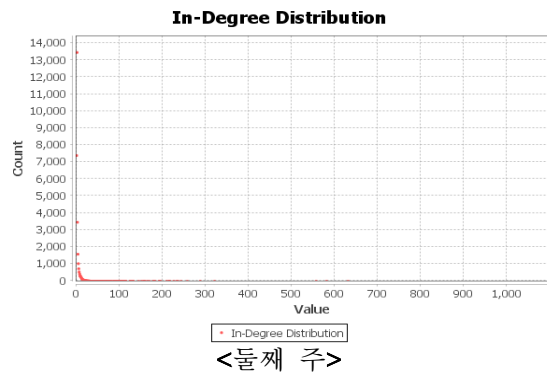
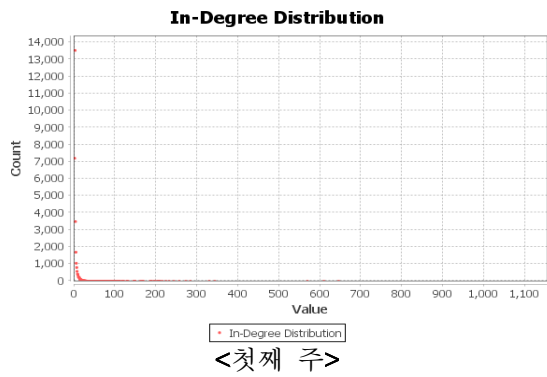


그림 2-2-2-25. 2016년 1월 국내 가금융가 네트워크 가중치 부여 in-degree 분포

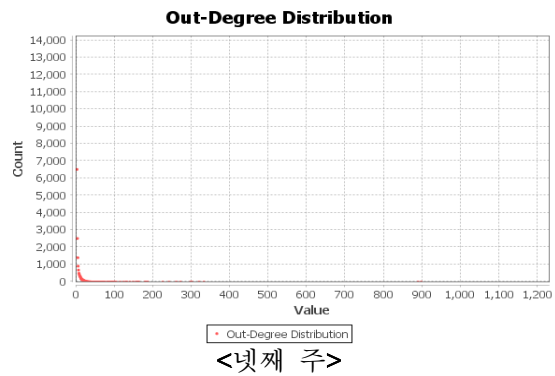
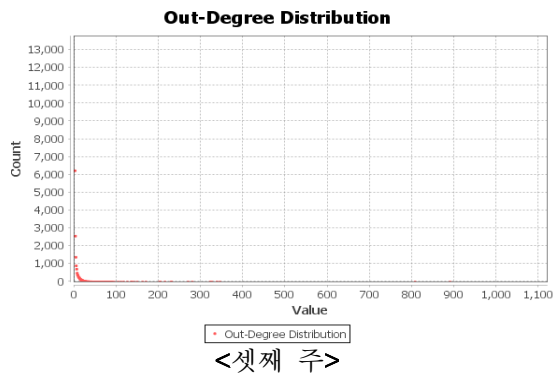
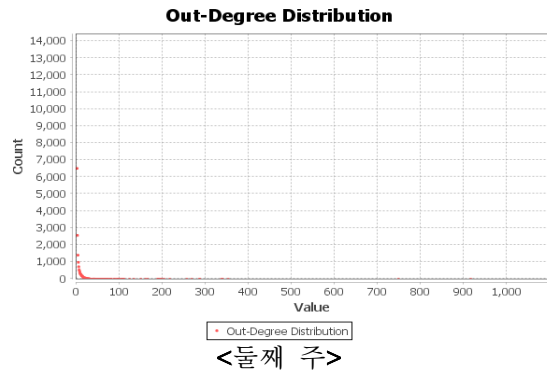
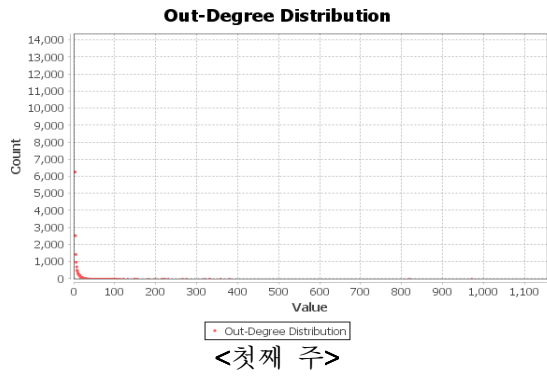


그림 2-2-2-26. 2016년 1월 국내 가금농가 네트워크 가중치 부여 out-degree 분포

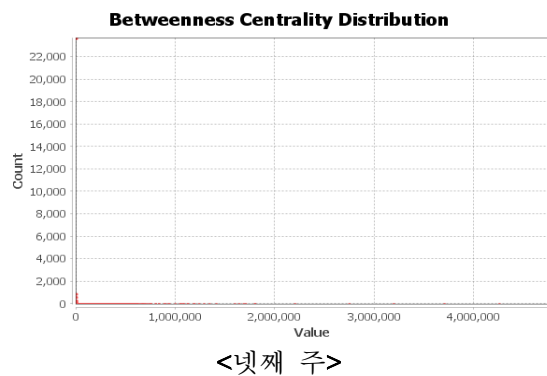
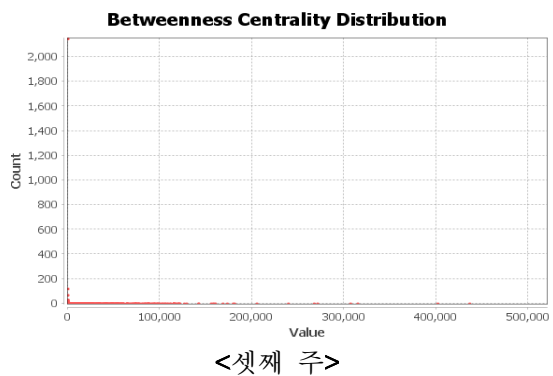
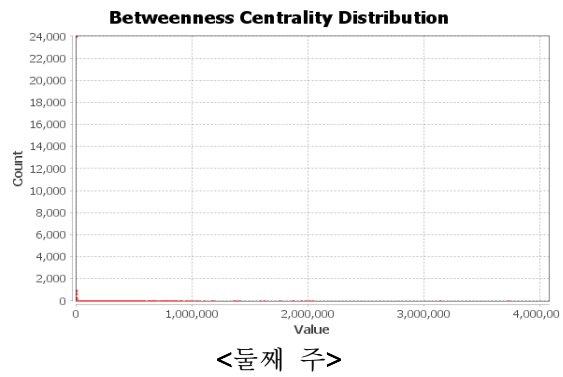
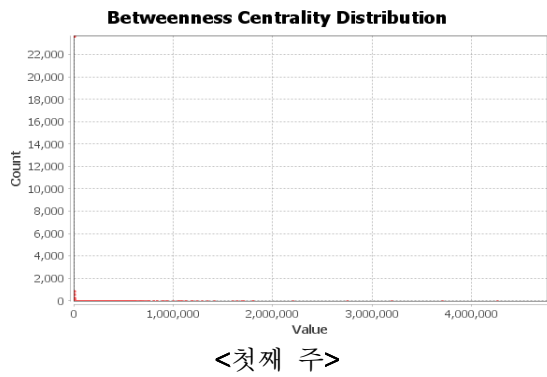


그림 2-2-2-27. 2016년 1월 국내 가금농가 네트워크 betweenness centrality 분포

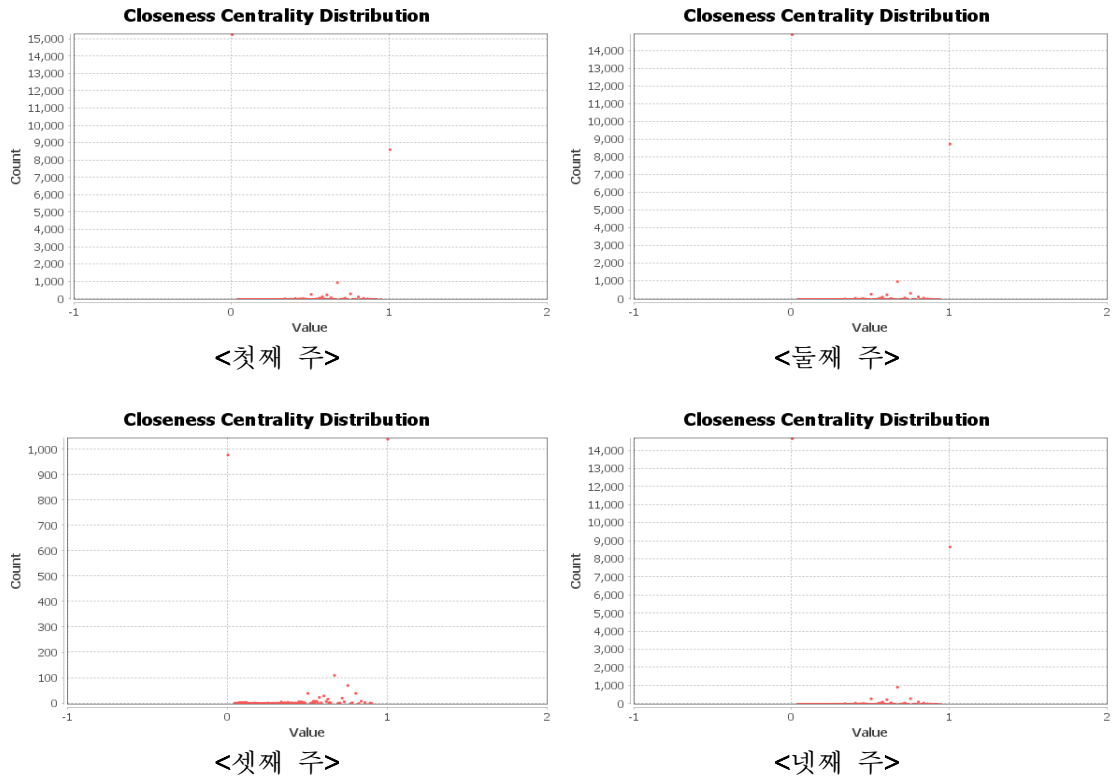


그림 2-2-2-28. 2016년 1월 국내 가금융가 네트워크 closeness centrality 분포

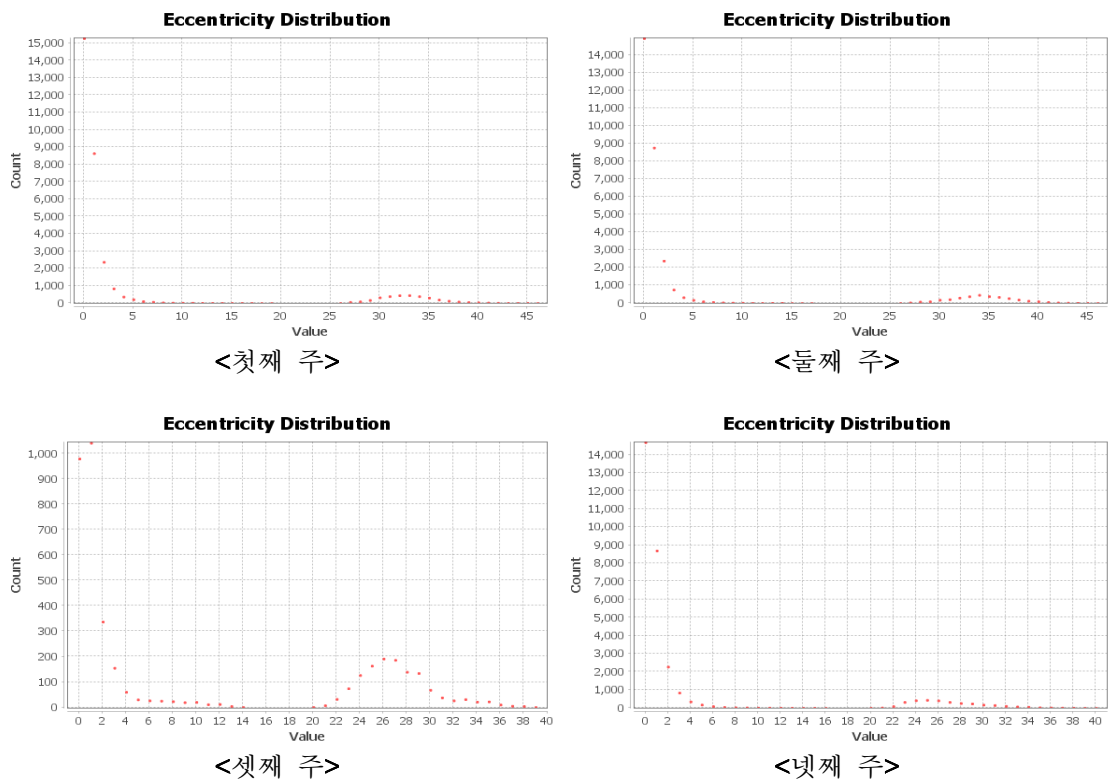
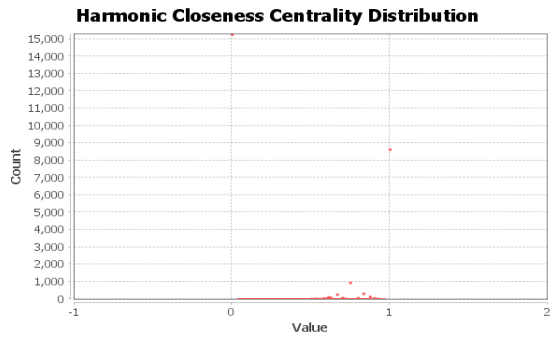
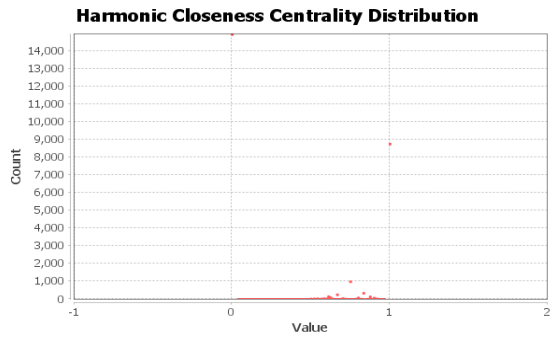


그림 2-2-2-29. 2016년 1월 국내 가금융가 네트워크 eccentricity 분포

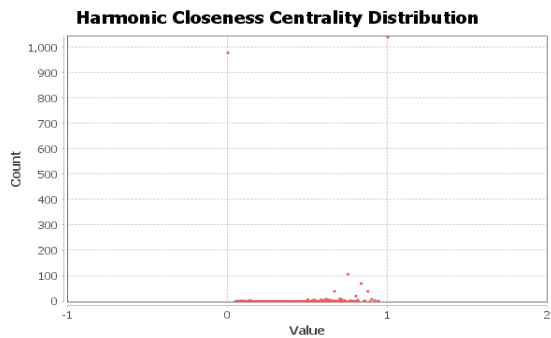




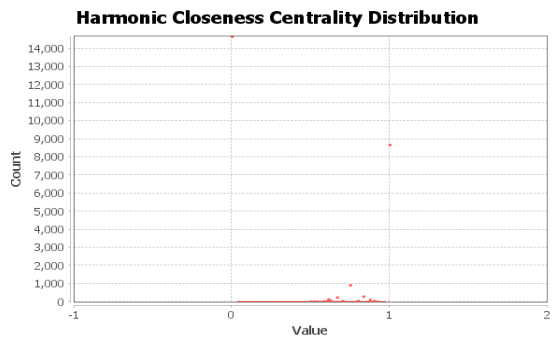
<첫째 주>



<둘째 주>

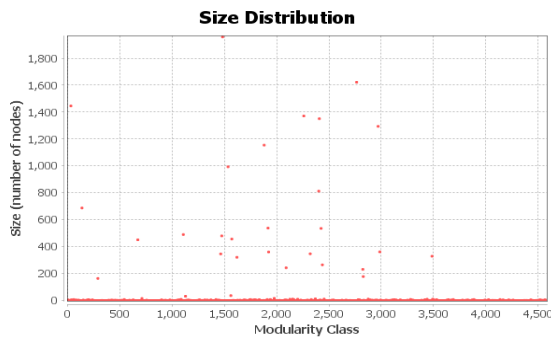


<셋째 주>

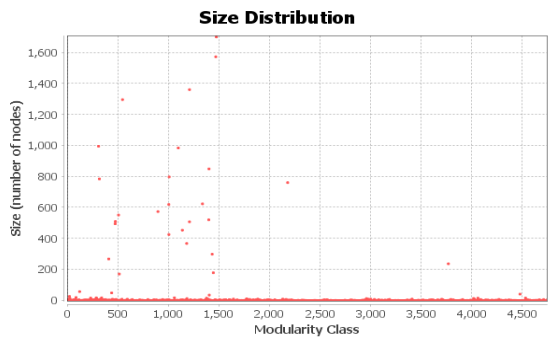


<넷째 주>

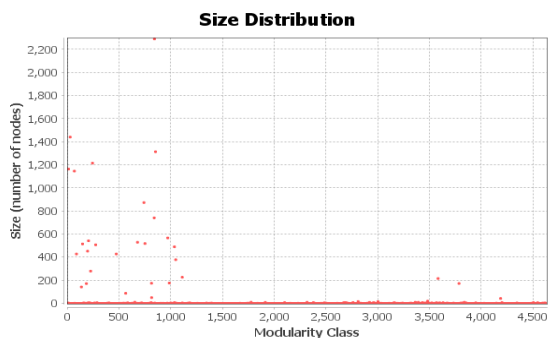
그림 2-2-2-30. 2016년 1월 국내 가금농가 네트워크 harmonic closeness centrality 분포



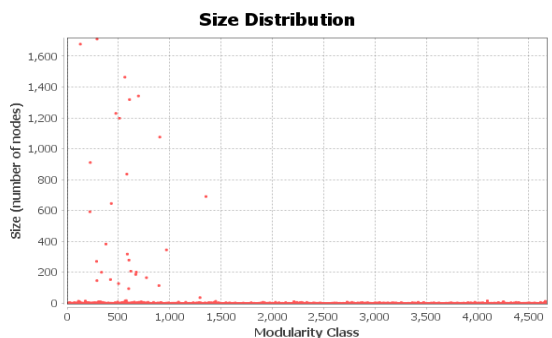
<첫째 주>



<둘째 주>



<셋째 주>



<넷째 주>

그림 2-2-2-31. 2016년 1월 국내 가금농가 네트워크 모듈(module) 크기 분포

○ 2016년 1월 주별 가금농가 중 엣지갯수가 5개 이상인 농가(다시 말해, 일 1회 이상 교류가 있는 경우)를 대상으로 한 네트워크 분석결과 각 노드(농가)는 평균 2.7개의 엣지가 존재하는 것으로 나타났으며, 가중치를 부여하면 약 8.8개의 엣지가 존재하였다. 또한 네트워크의 평균직경은 37이었으며, 모듈 형성정도는 0.63이었다. 군집형성계수는 0.24이었으며, 노드 간 엣지 길이의 평균은 12.21인 것으로 조사되었다.

표 2-2-2-3. 2016년 1월 주별 국내 가금농가 네트워크 분석결과

	첫째 주	둘째 주	셋째 주	넷째 주
average degree	2.66	2.68	2.69	2.70
average weighted degree	8.76	8.69	8.88	8.84
network diameter	35	36	39	37
modularity	0.63	0.62	0.63	0.64
average clustering coefficient	0.23	0.23	0.24	0.24
average path length	12.31	12.17	12.37	11.97

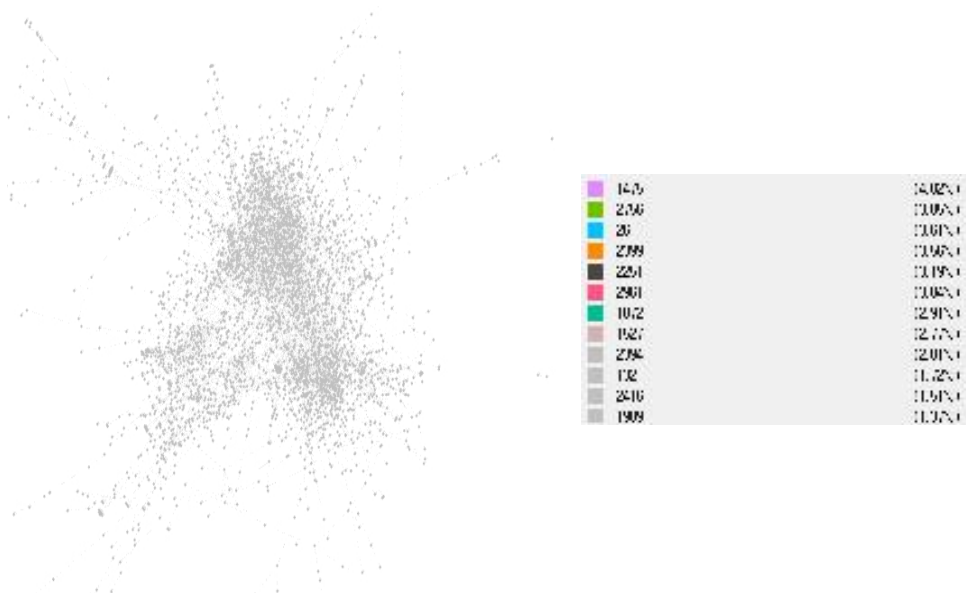


그림 2-2-2-32. 2016년 1월 첫째 주 degree 5 이상 가금농가 네트워크 시각화(좌) 및 모듈분포(우)

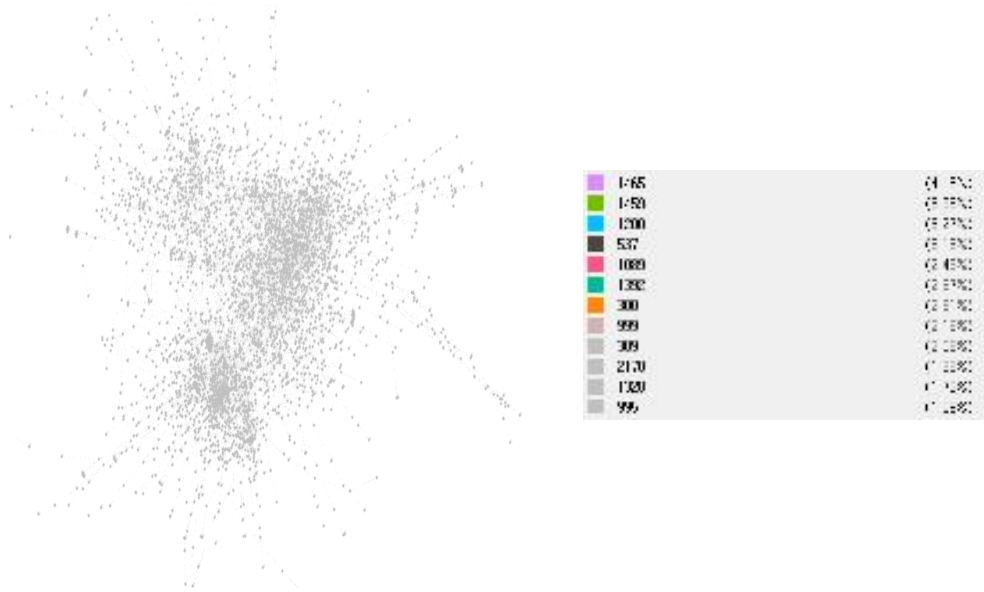


그림 2-2-2-33. 2016년 1월 둘째 주 degree 5 이상 가금융가 네트워크 시각화(좌) 및 모듈분포(우)

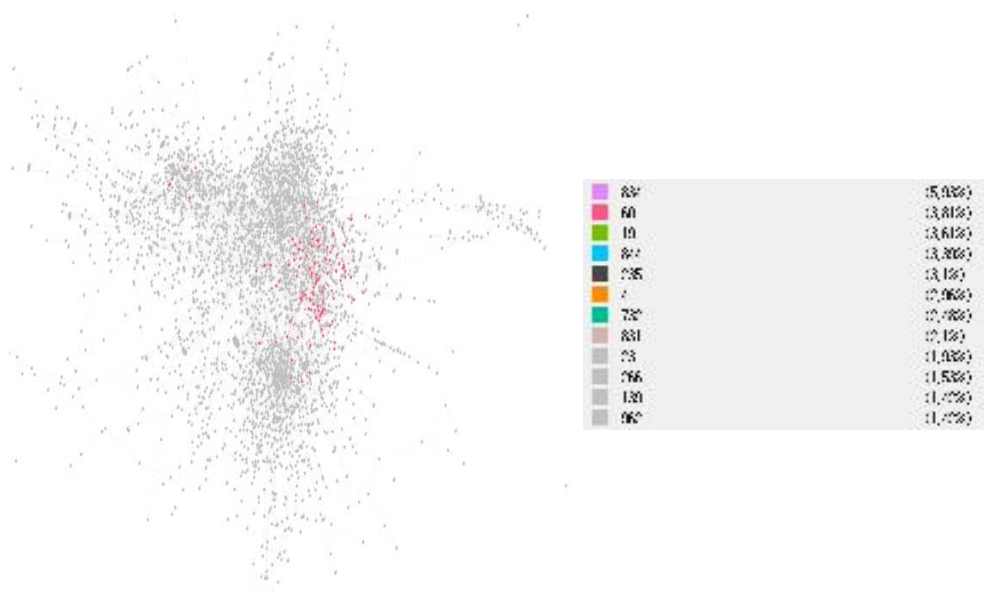


그림 2-2-2-34. 2016년 1월 셋째 주 degree 5 이상 가금융가 네트워크 시각화(좌) 및 모듈분포(우)

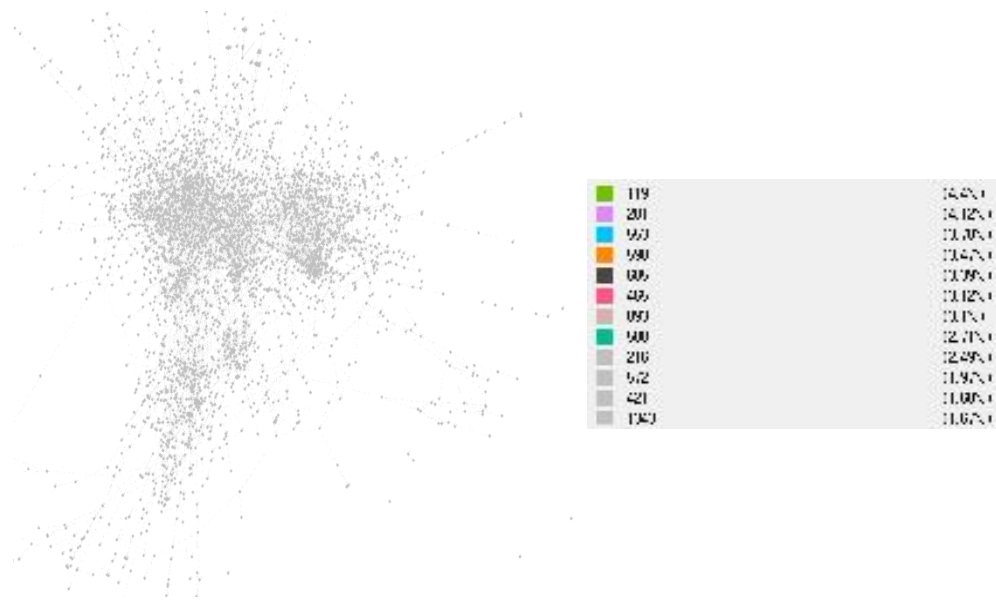


그림 2-2-2-35. 2016년 1월 넷째 주 degree 5 이상 가금융가 네트워크 시각화(좌) 및 모듈분포(우)

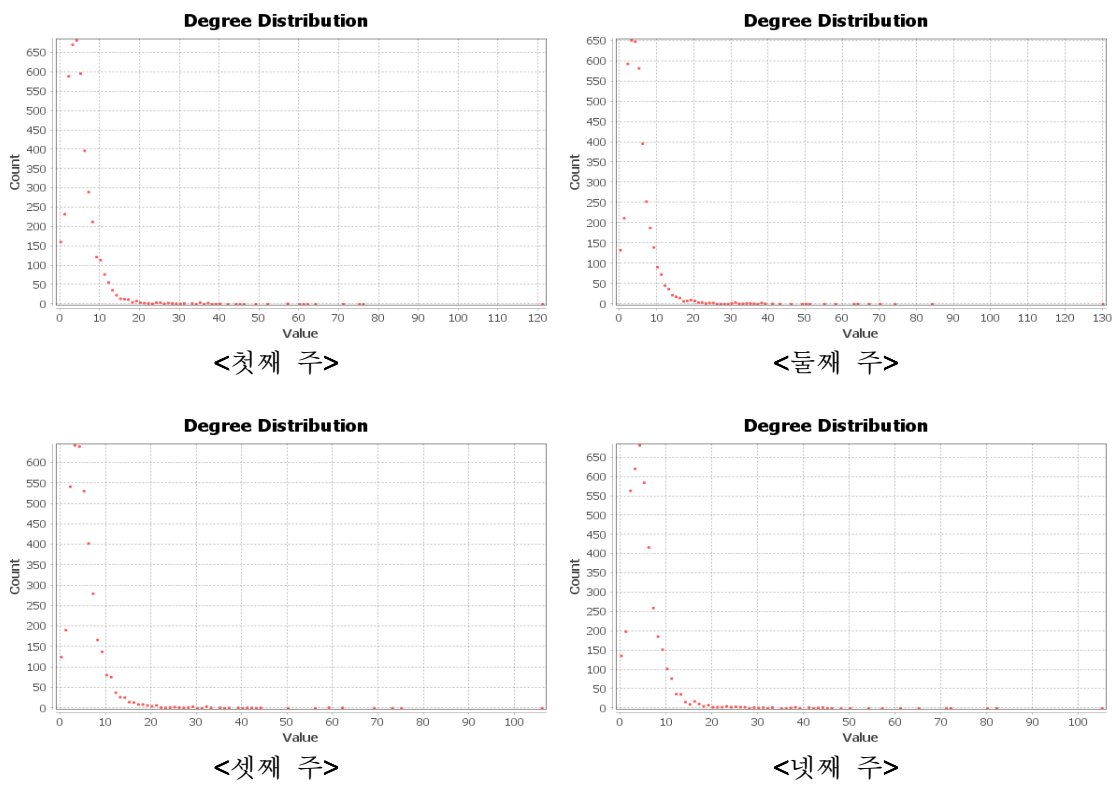


그림 2-2-2-36. 2016년 1월 국내 degree 5 이상 가금융가 네트워크 degree 분포

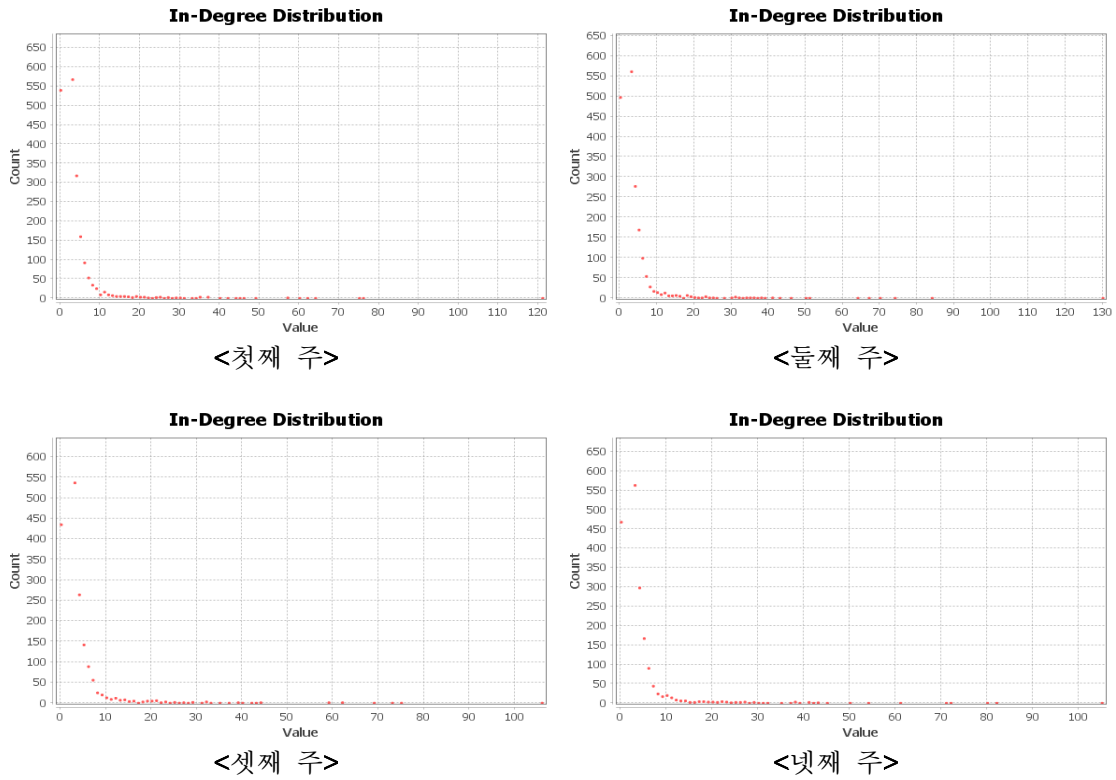


그림 2-2-2-37. 2016년 1월 국내 degree 5 이상 가금융가 네트워크 in-degree 분포

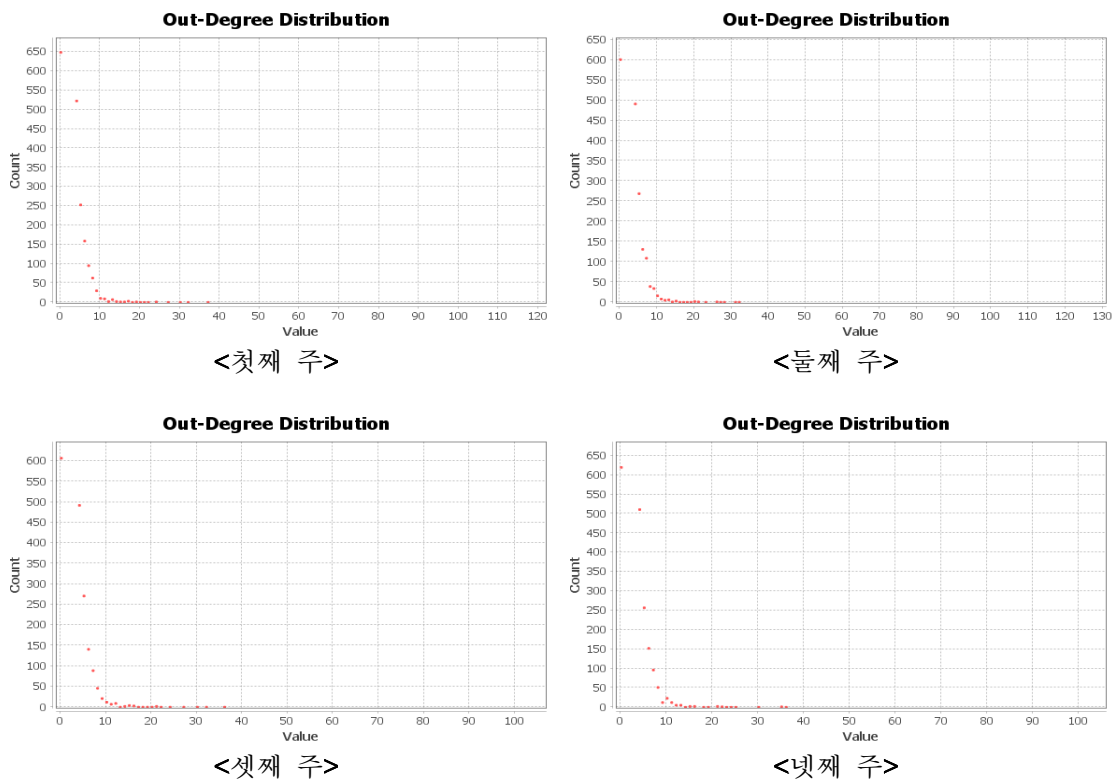


그림 2-2-2-38. 2016년 1월 국내 degree 5 이상 가금융가 네트워크 out-degree 분포

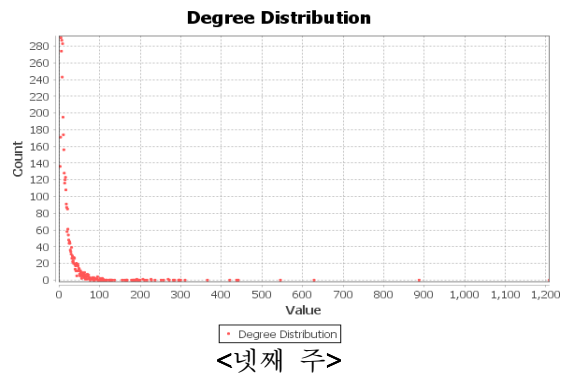
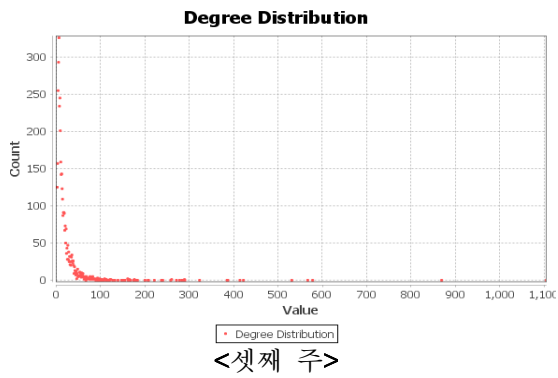
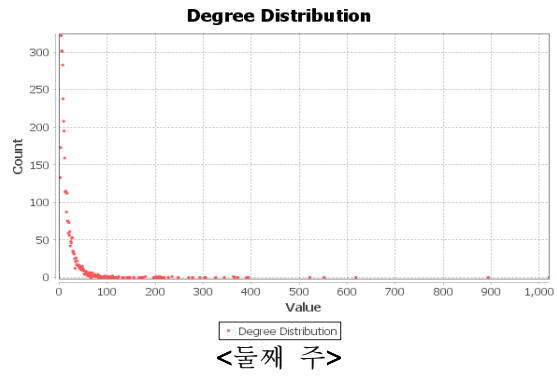
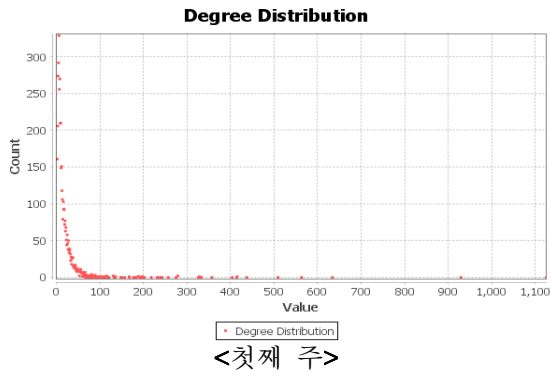


그림 2-2-2-39. 2016년 1월 국내 degree 5 이상 가금융가 네트워크 가중치 부여 degree 분포

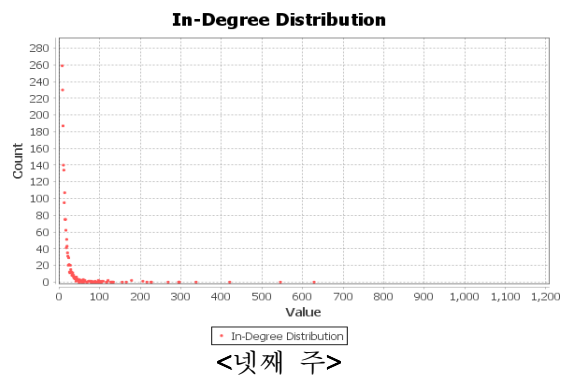
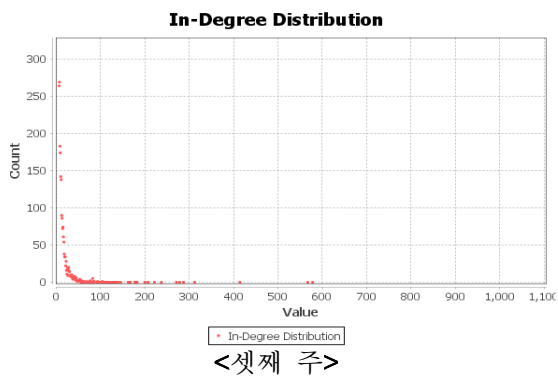
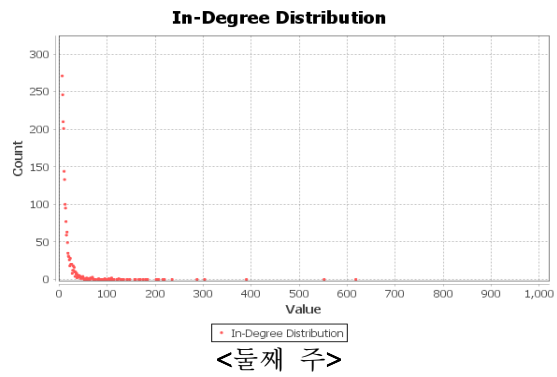
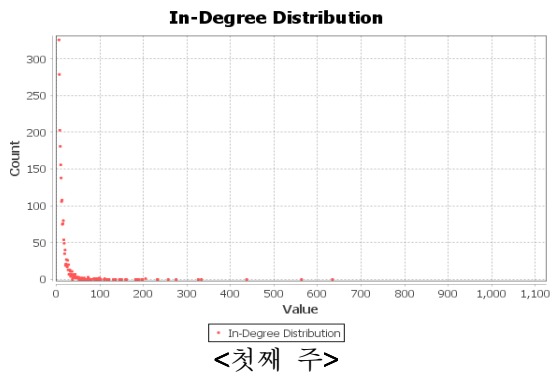


그림 2-2-2-40. 2016년 1월 국내 degree 5 이상 가금융가 네트워크 가중치 부여 in-degree 분포



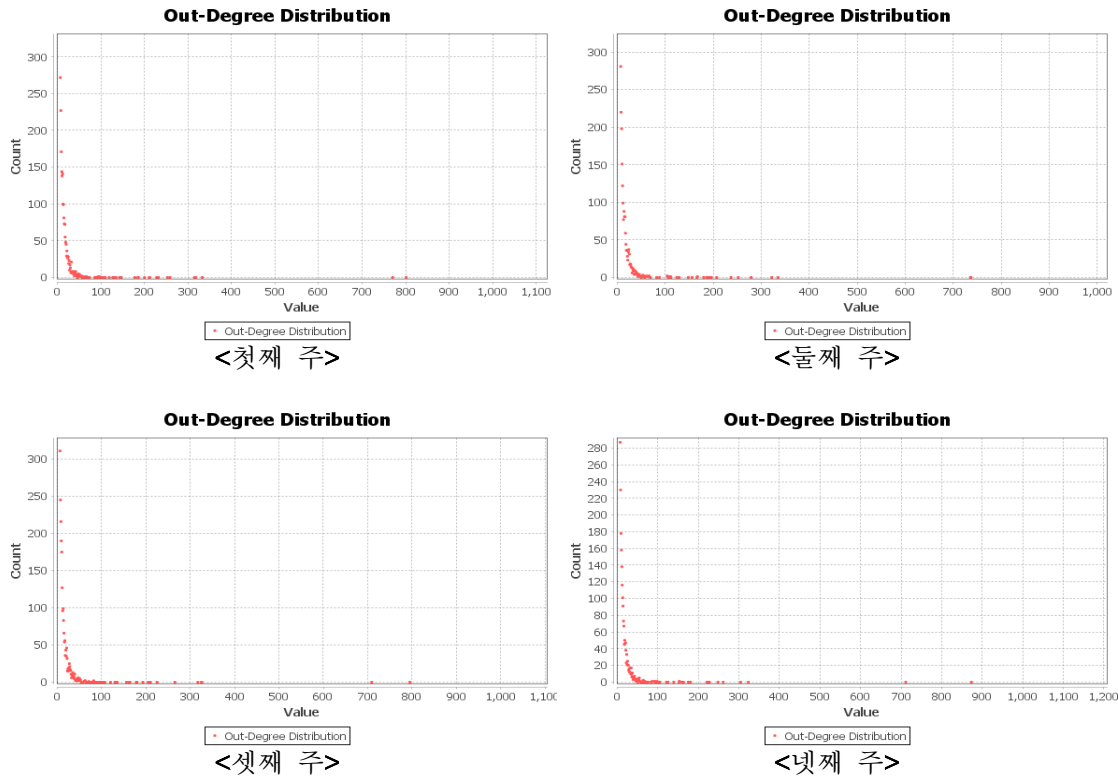


그림 2-2-2-41. 2016년 1월 국내 degree 5 이상 가금융가 네트워크 가중치 부여 out-degree 분포

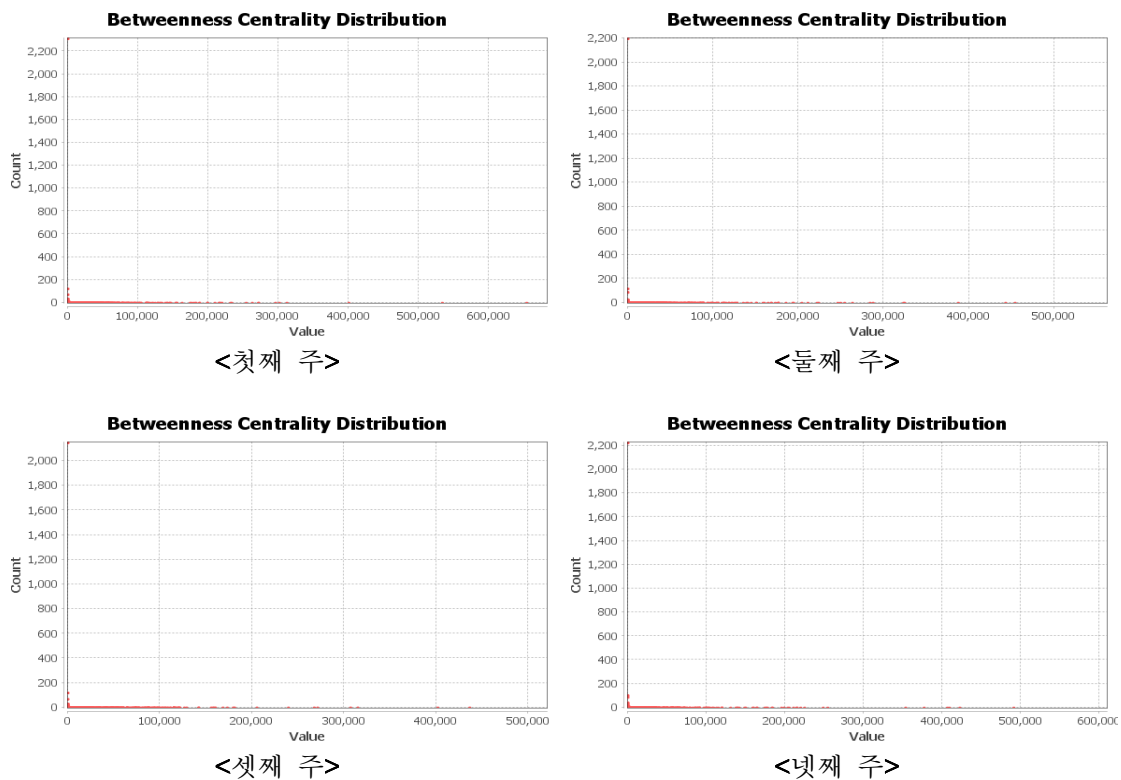


그림 2-2-2-42. 2016년 1월 국내 degree 5 이상 가금융가 네트워크 betweenness centrality 분포

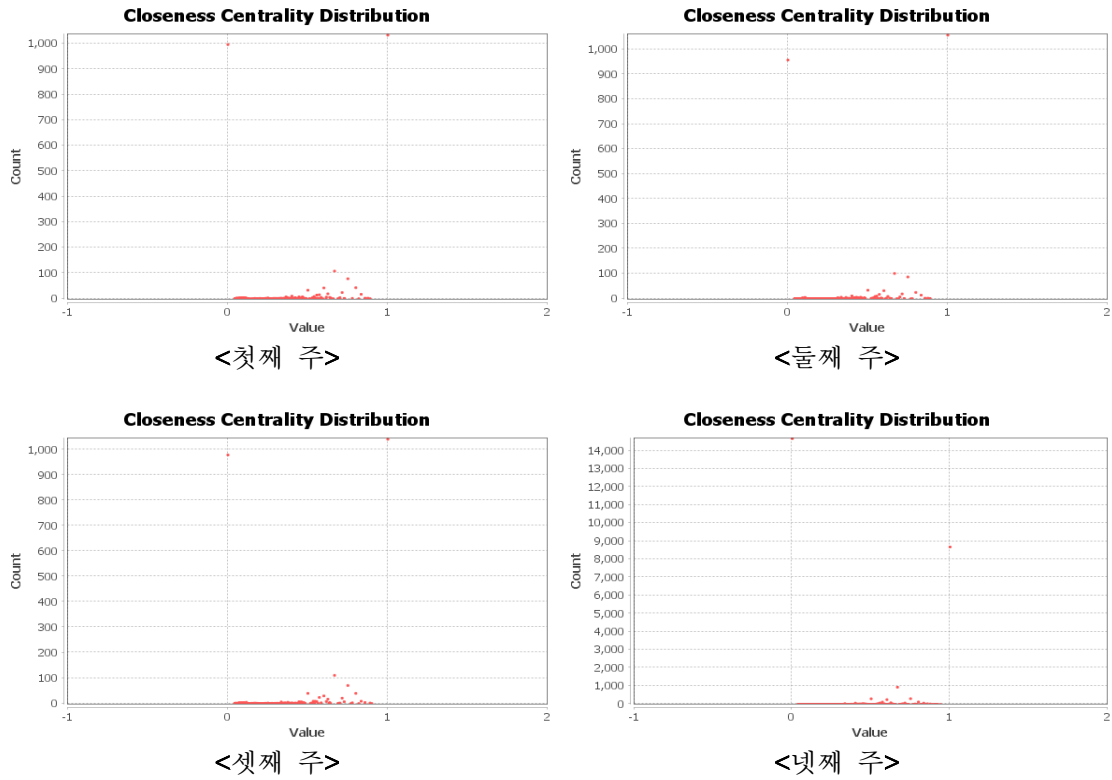


그림 2-2-2-43. 2016년 1월 국내 degree 5 이상 가금융가 네트워크 closeness centrality 분포

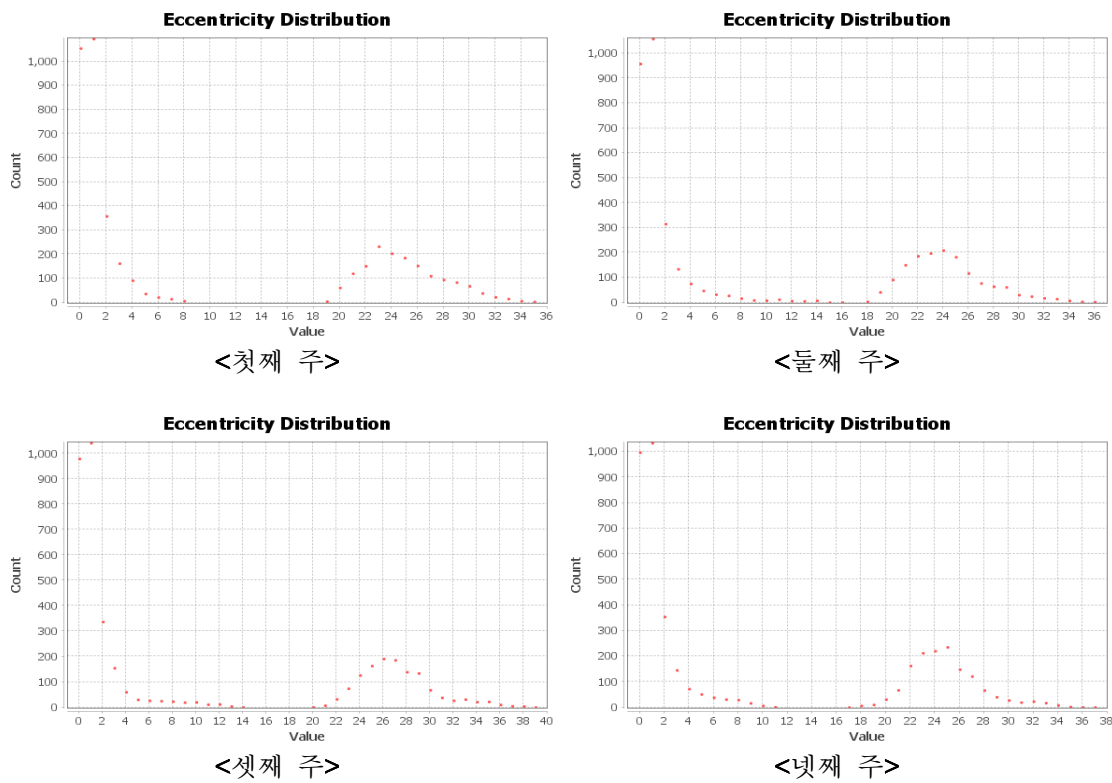


그림 2-2-2-44. 2016년 1월 국내 degree 5 이상 가금융가 네트워크 eccentricity 분포

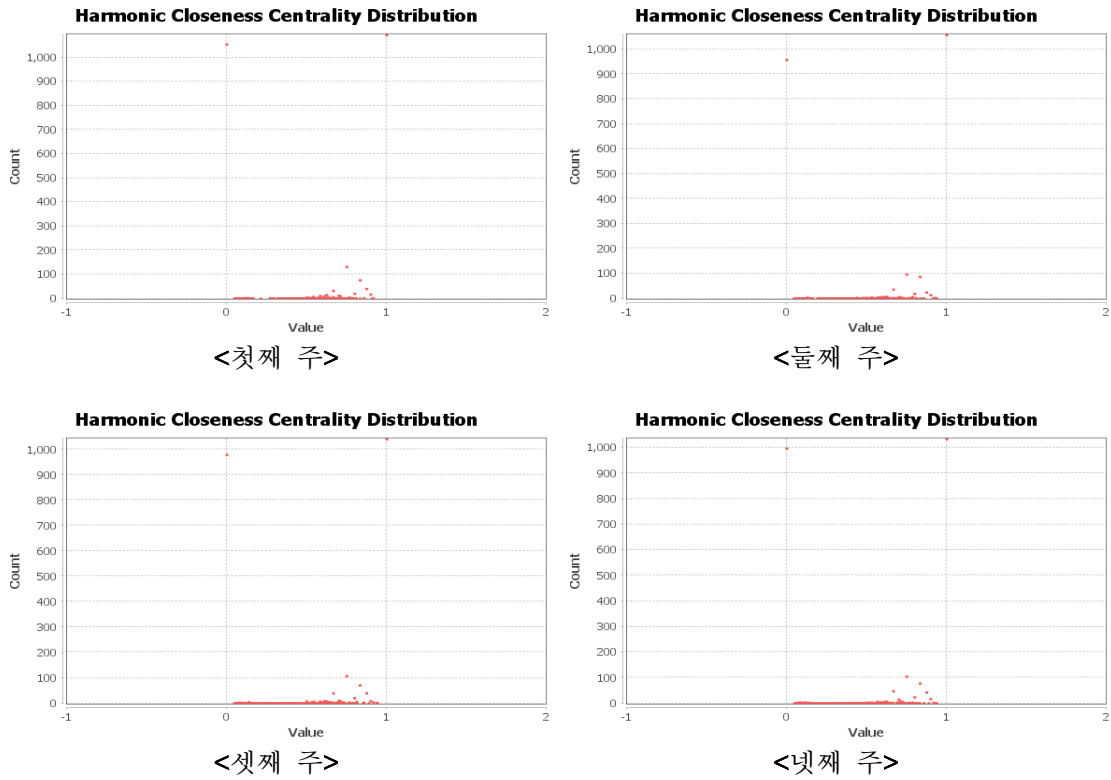


그림 2-2-2-45. 2016년 1월 국내 degree 5 이상 가금융가 네트워크 harmonic closeness centrality 분포

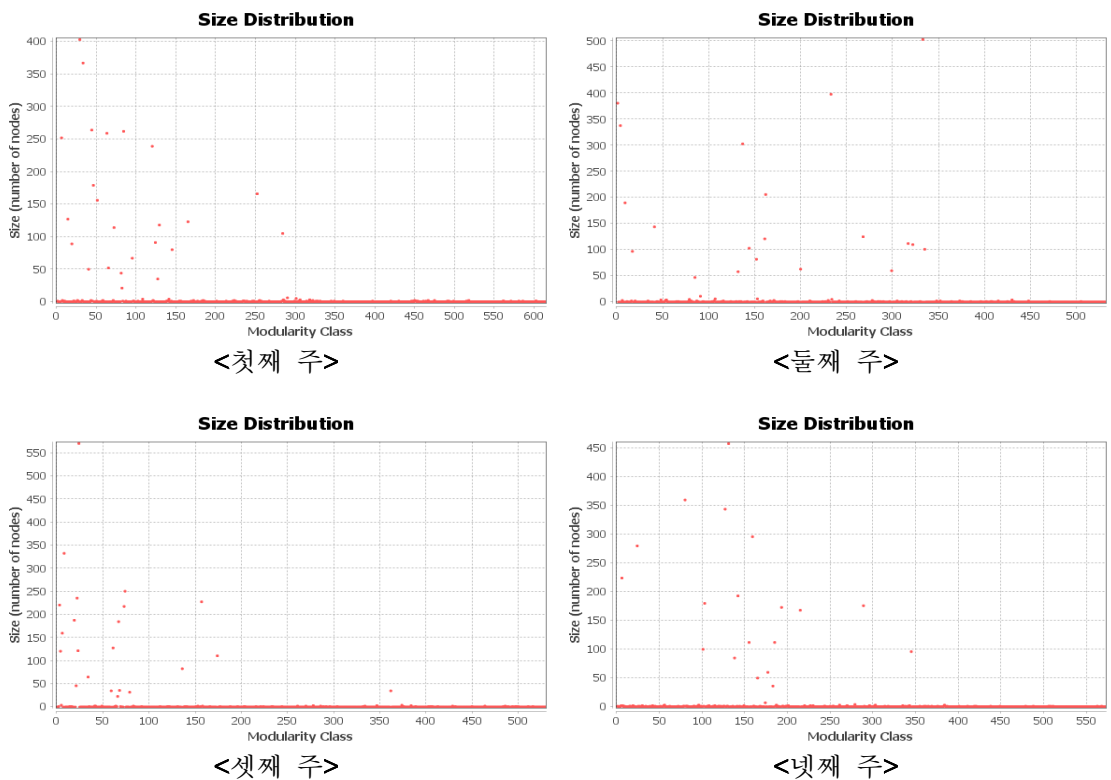


그림 2-2-2-46. 2016년 1월 국내 degree 5 이상 가금융가 네트워크 모듈(module) 크기 분포

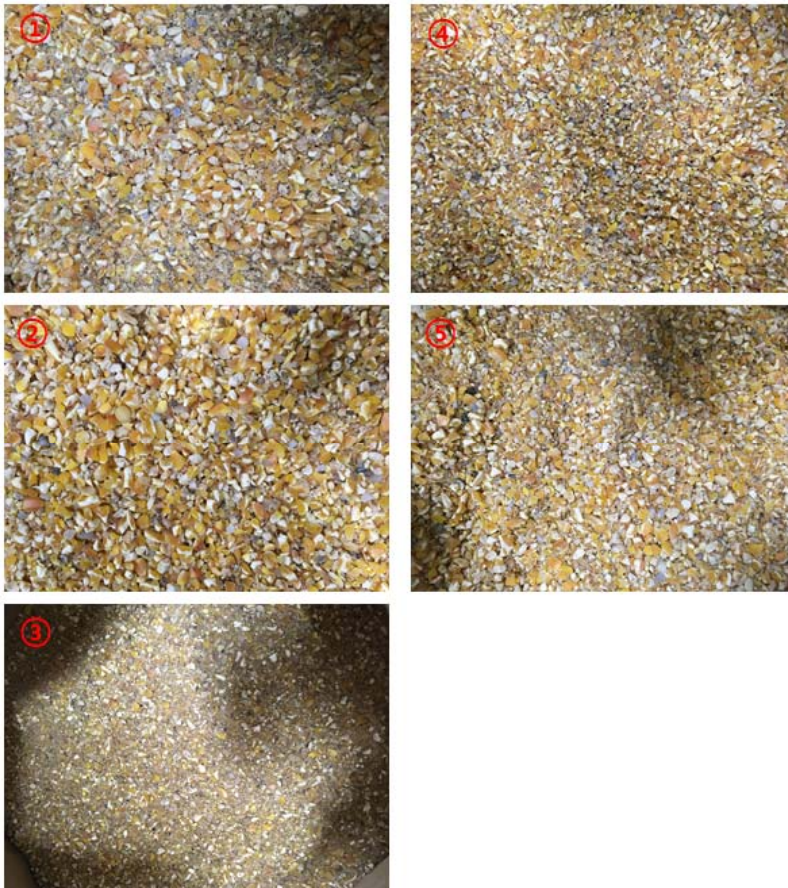
### 2-2-3. 3차년도

## 주관연구기관(서울대학교: 발병 농가의 질병 전파 위험도 분석을 위한 평가기준 마련 및 방역매뉴얼 개선)

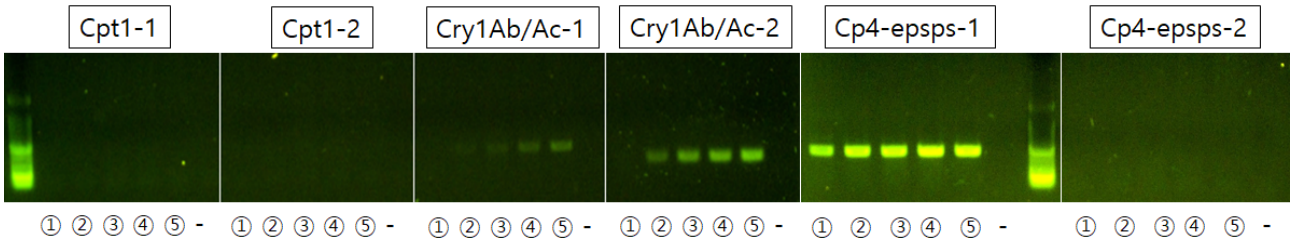
### 1. 유입매개/경로에 따른 전파 위험도 평가

#### 1) 사료 원료에 의한 바이러스 전파 위험성 평가

- 사료 원료로 사용되는 옥수수 등은 모두 해외로부터 수입되어 오며, 이러한 수입 원료로부터 바이러스의 유입의 가능성이 존재하기에 5종의 사료를 구매하여 사료 원료의 수입 여부를 GMO 유전자 검출을 통하여 확인하고, 사료 내 이물질 및 인플루엔자 바이러스 유전자 검출을 통해서 유입 가능성을 확인하였음.



- 5종의 사료 모두 사료 내 분변과 같은 이물질은 확인할 수 없었으며, 사료 원료 수입 여부를 확인하기 위해서 GMO 유전자가 가지고 있는 유전자에 대한 PCR을 진행하였음.
- Fast genomic DNA isolation kit (iNtRON biotechnology)를 이용하여 옥수수의 genomic DNA를 추출하고, 세 가지 GMO유전자에 대하여 각각 2세트의 primer (Wang, Tang et al. 2014)를 제작하였음.



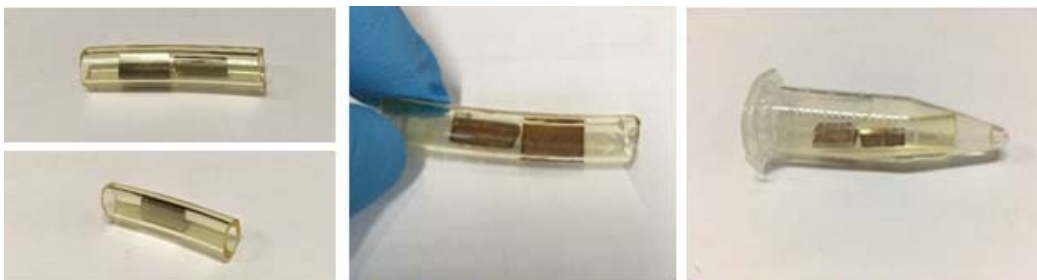
CpTI ; cowpea trypsin inhibitor gene (insect tolerance 증가)  
 Cry1Ab/Ac ; insect resistance gene  
 Cp4-epsps ; herbicide tolerance gene

-5종의 사료 모두 수입된 GMO 옥수수를 사용하였으며, 바이러스 유전자 검출을 위해 PCR을 진행하였으나 바이러스 유전자는 검출되지 않았음.

2) 관정지하수에 의한 바이러스 전파 위험성 평가

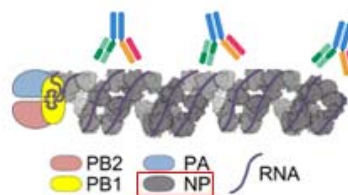
- 산란계 농장의 음수로 사용되고 있는 관정지하수에 의한 인플루엔자 바이러스 전파 위험도를 평가하기 위해서 10곳의 산란계 농장에 들어가는 관정지하수를 1L ~ 4L 정도 제공받아 바이러스 유전자를 검출 여부를 확인하였음.

- 지하수 내에 오염되어 있는 바이러스의 양은 매우 적은 양이기에 이를 검출하기 위해서는 유전자를 농축할 필요가 있었음. 그 방법으로 인플루엔자 바이러스의 8개 유전자 분절을 감싸고 있는 NP 단백질에 대한 항체를 이용하여 유전자를 농축하고자 하였음. 시험 방법은 1차 년도 결과에 기술한 것과 동일하게 anti-mouse IgG 항체가 붙어 있는 magnetic beads에 mouse anti-influenza NP antibody를 커플링하고 이를 자력이 강한 네오디움 자석에 붙여서 물을 천천히 흘려보내는 방식, PEG8000을 이용하여 농축하는 방식, TritonX-100을 사용하여 물 내에 있는 인플루엔자 바이러스를 모두 터뜨려 유전자만 남게 하는 방식 등을 추가하여 진행하였음.



Dynabeads(anti-mouse IgG Ab)를 자석에 붙임

Mouse anti-NP Ab와 coupling





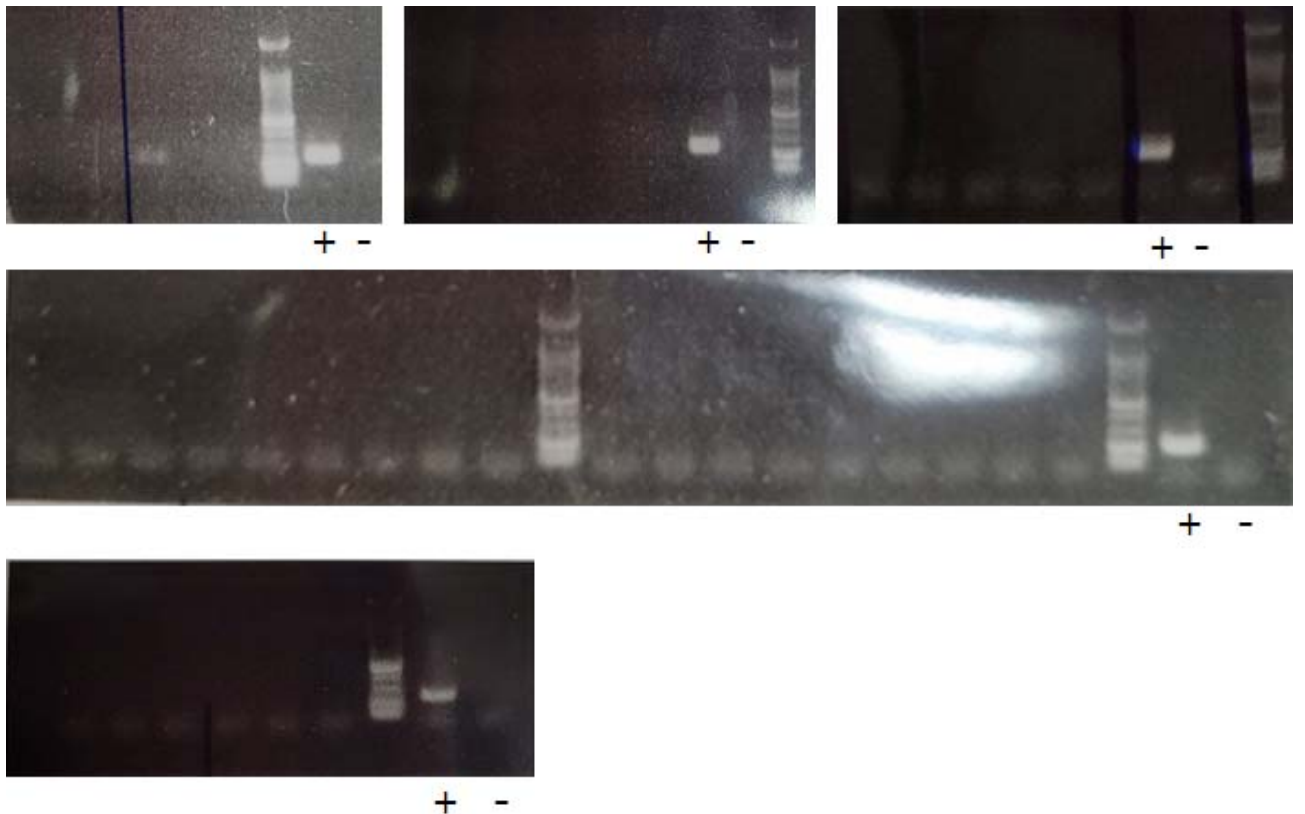
- RNA 추출을 위해서 상용화된 RNA 추출 kit를 사용하는 방식과 TRIzol을 사용하여 manual로 추출하는 방식 2가지를 사용하였고, PCR을 위해서는 RT-PCR과 높은 감수성을 갖는 real-time RT-PCR 2가지 방식으로 진행하였음.



음수를 천천히 흘려내려준 뒤,  
Dynabeads로부터 RNA 추출



- 실험 결과, 10곳의 산란계 농장 지하수에서 인플루엔자 바이러스 유전자는 검출되지 않았음.

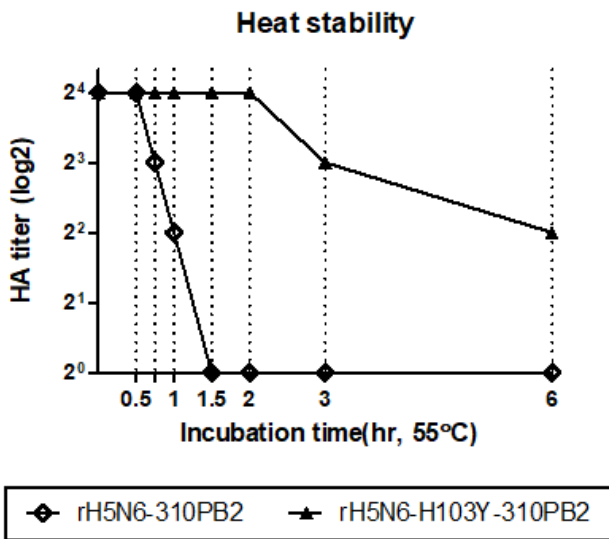
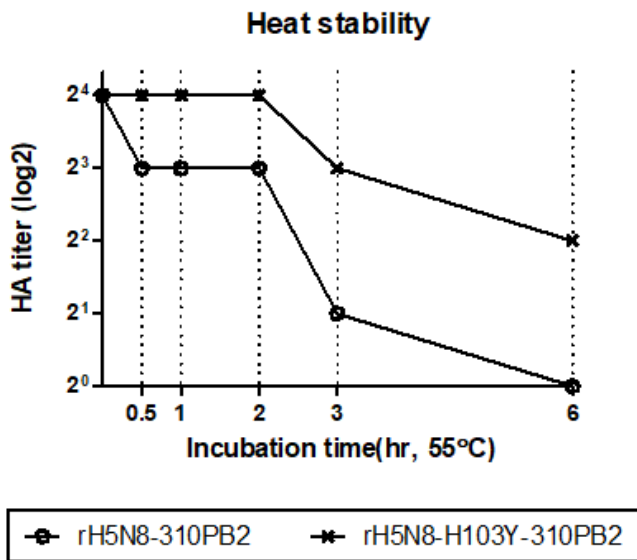
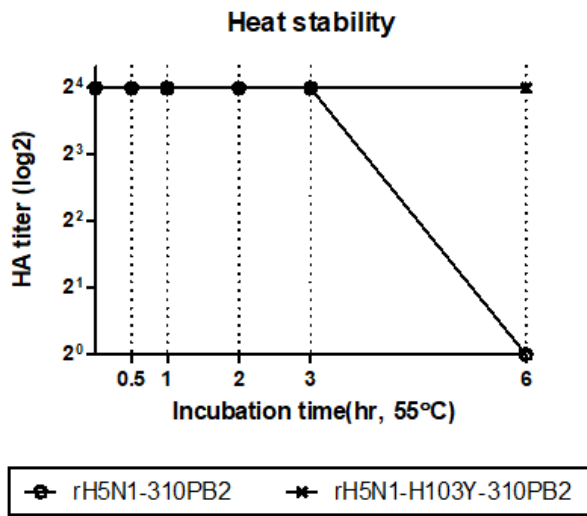




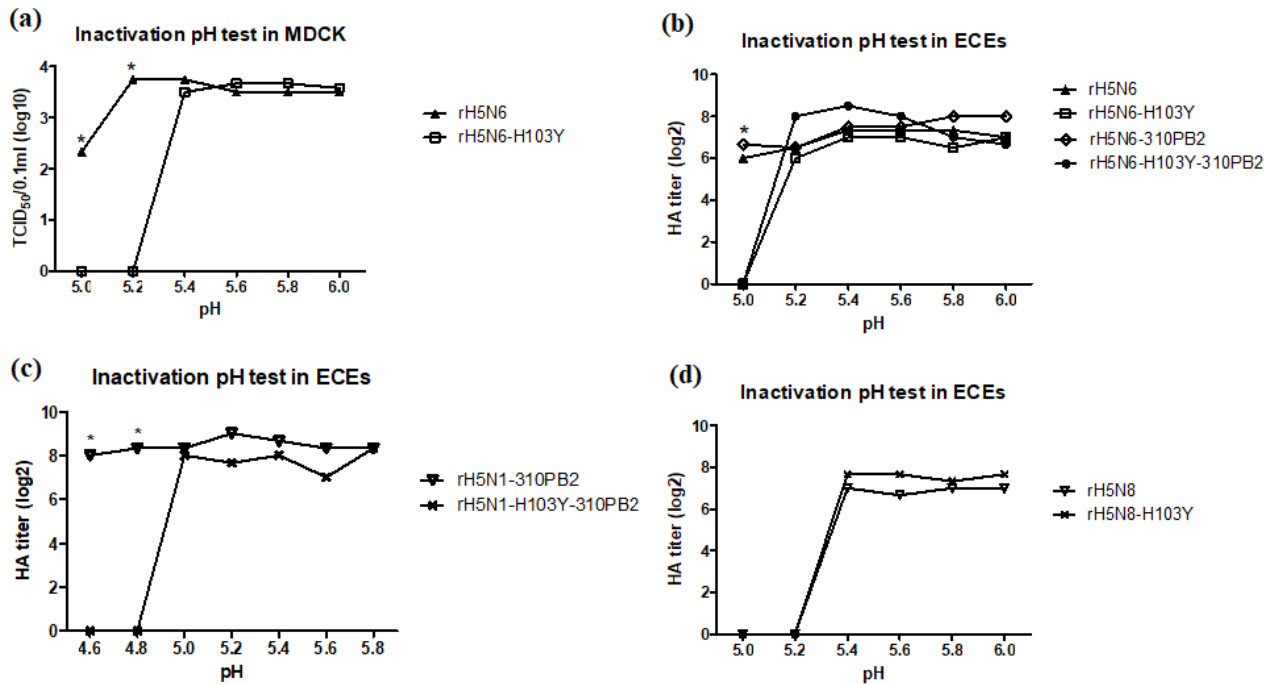
## 2. 감염 바이러스 특성에 따른 전파위험도 평가

### 1) 고병원성조류인플루엔자 바이러스의 환경 중 생존성 비교를 통한 전파 위험성 평가

- 조류인플루엔자 바이러스는 가금류에서 나타나는 병원성에 따라 고병원성조류인플루엔자 (HPAI)와 저병원성조류인플루엔자 (LPAI) 바이러스로 분류되며, 고병원성조류인플루엔자의 경우 H5와 H7 subtype이 있고 가금류 감염 시 급성 폐사를 유발하며 국내에서는 HPAI 감염 농장 및 반경 내에 존재하는 모두 농장의 계군을 살처분하는 방역 정책을 시행 중임. 고병원성조류인플루엔자 바이러스의 경우 사람에게도 감염된 사례가 꾸준히 보고되고 있으며, 국내에선 현재 발병 사례는 없으나 접촉 감염 시 감염의 위험성이 항상 존재하고 있음.
- 국내에서 발생한 HPAI는 H5N1, H5N8, H5N6 가 있으며 이 세 가지 subtype 바이러스는 중국 및 중동 등의 국가들에서 풍토병으로 자리 잡아 지속적으로 진화하고 있으며, 이 국가들에서 대량 백신 정책을 사용함에 따라 백신에 대한 면역을 회피하기 위한 변이가 생기고 있음.
- H5N1 HPAI를 페렛에 감염시킨 뒤, 호흡기를 통해 전파되는 변이주가 획득한 아미노산 변이 중 HA 단백질에 H103Y 변이가 있으며 이 변이는 H5N1 바이러스의 내열성을 높이고, HA단백질이 숙주 세포와 fusion되는 pH를 낮추는 것으로 알려져 있음 (Herfst, Schrauwen et al. 2012, Imai, Watanabe et al. 2012, de Vries, Zhu et al. 2014).
- 또한, 고병원성조류인플루엔자 바이러스는 사람 인플루엔자 바이러스나 저병원성조류인플루엔자 바이러스보다 HA단백질의 fusion pH가 상대적으로 높다고 알려져 있는데 이러한 fusion pH를 낮추는 변이가 실제로 포유류에서 호흡기 전파를 높일 수 있음 (DuBois, Zaraket et al. 2011).
- HA가 숙주 세포와 fusion되기 위해서는 pH가 낮아져서 HA 단백질의 구조 변화가 일어나거나 중성 pH에서는 온도가 높아지면 구조 변화가 일어날 수 있음. 즉, 열에 강한 특성은 인플루엔자 바이러스 감염을 촉진하고, 환경에서의 저항성이 강해져 전파 위험성을 높일 수 있음.
- 실제로 이러한 변이가 국내에서 발생한 H5 바이러스의 내열성과 내산성을 변화시키는지에 대한 평가를 위해서 H5 subtype 바이러스별로 H103Y변이를 추가한 바이러스를 제작하였고, 열처리 및 산성 환경에서 반응시킨 후 바이러스의 HA활성과 감염력을 측정하였음.

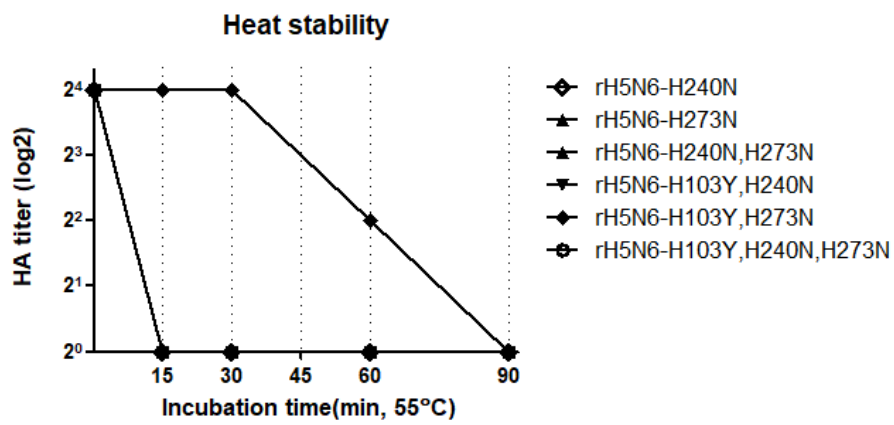
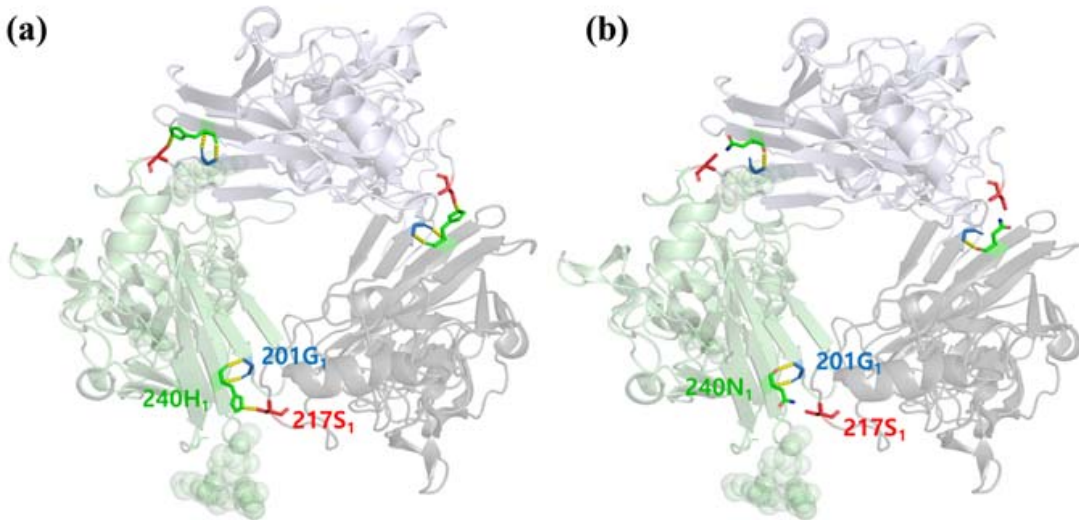
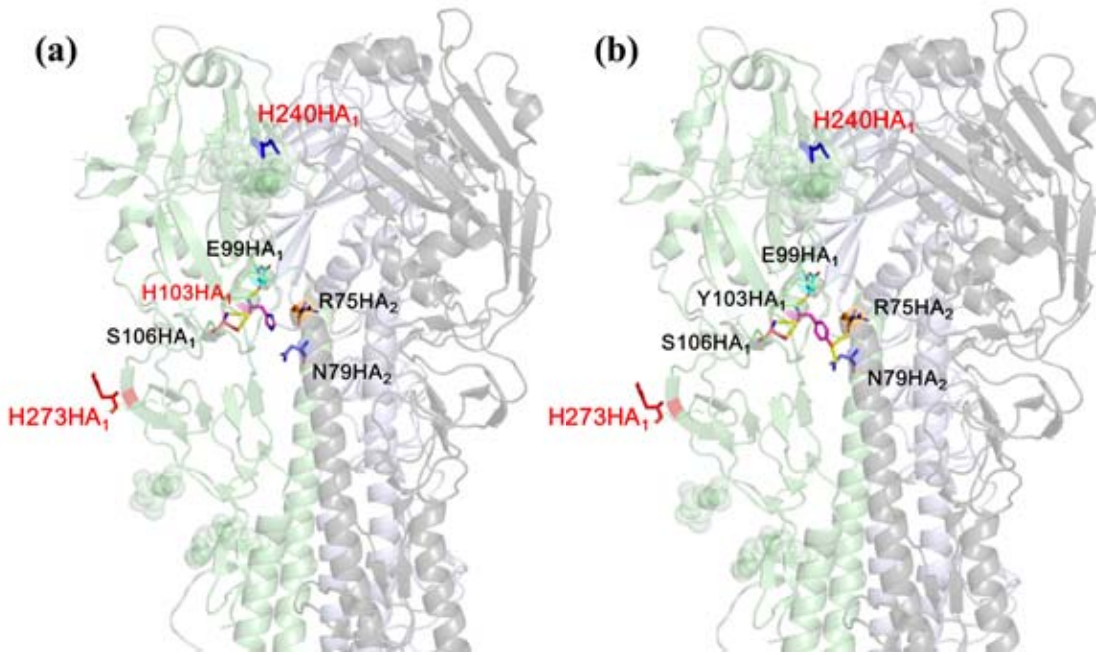


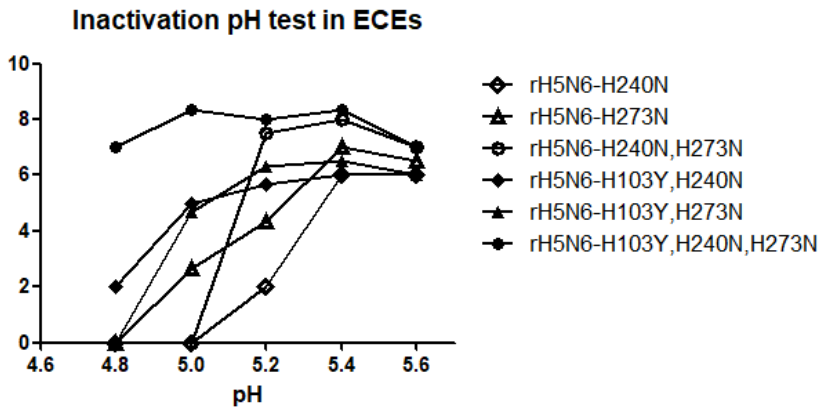
- H5N1, H5N6, H5N8 세 가지 바이러스 모두에서 H103Y변이를 적용한 경우 내열성이 증가해 56°C에서 6시간 반응 후에도 HA 단백질의 활성이 유지되는 것을 알 수 있었음. 또한, subtype별로 열에 대한 안정성이 달랐으며 H5N1이 가장 열에 강했고, H5N8, H5N6 순으로 열에 강한 것을 알 수 있었음.



- 여러 pH 환경에서 1시간 반응 후 HPAI subtype 별로 감염력이 유지되는지 발육란과 세포주에 접종하여 확인하였을 때는 내열성 시험과 반대로 H103Y를 변이시킨 경우 오히려 산에 약한 결과를 보였음. 그러나 H5N1이 가장 낮은 산성환경에서도 저항성이 강한 결과는 동일하게 관찰되어 환경 중에서 잘 살아남을 것으로 보여짐.

- 이 결과는 기존의 선행연구 결과와 상반된 결과이기 때문에 H5 단백질 서열 내에 어떤 차이가 있는지 확인해보았음. H103Y변이를 통해 fusion pH가 낮아진 A/Indonesia/5/H5N1 바이러스와 달리 국내 발생한 H5 바이러스는 Histidine을 2개 더 가지고 있었음 (240번, 273번). Histidine은 pH sensor의 역할을 하는 아미노산으로 알려져 있으며, 이는 pH 변화에 민감하게 반응하여 구조적 변화를 이끌어낼 수 있음.





- 240번과 273번에 있는 histidine을 asparagine으로 바꾼 경우 내산성이 감소하고, 이에 추가적으로 H103Y변이를 적용한 경우 기존 발표된 논문과 동일하게 산에 대한 저항성이 증가하는 것을 알 수 있었음.
- 즉, 같은 H5 HPAI여도 열에 대한 저항성이 다르기 때문에 환경 중에서 오래 살아 남아 전파위험성이 다를 수 있음을 알 수 있음. H5N1의 경우 가장 최초로 발생한 HPAI임에도 현재까지 진화를 거듭하며 살아남아 전세계적으로 발생되고 있으며, H5N8도 2014년에 최초 발생한 이후 지금도 세계적으로 유행하며 올 2020년 말 국내에 다시 발생한 것으로 미루어 보아 2016년 이후로는 어느 정도 발생이 감소한 H5N6와 상반되는 결과로 볼 수 있음.

## 2) H9 저병원성조류인플루엔자 바이러스의 환경 중 생존성 비교를 통한 전파 위험성 평가

- 저병원성조류인플루엔자 바이러스 중에서는 주로 H9 subtype이 가금류에서 분리되고 있으며, 높은 병원성은 없으나 산란 저하 등의 산업적 손실을 유발하기 때문에 국내에서는 H9 subtype의 국내 분리를 불활화한 사독백신을 접종하고 있음. 그러나 최근에는 이 H9 바이러스도 인체 감염과 관련된 변이를 다소 획득하고 있으며, 인체 감염 사례가 지속적으로 보고되고 있기 때문에 그 위험성이 높은 관심을 받고 있음 (Song and Qin 2020).
- 조류인플루엔자바이러스와 사람인플루엔자바이러스의 숙주 특이성을 결정하는 요소 중 하나는 숙주의 세포 표면에 있는 sialic acid에 대한 결합특이성이 다른 것으로 조류 바이러스는  $\alpha$  2,3-linked sialic acid에 더 친화도가 있지만 사람 바이러스는  $\alpha$  2,6-linked sialic acid에 친화도가 있음 (Lazniewski, Dawson et al. 2018). 그러나, 조류인플루엔자바이러스가 진화함에 따라  $\alpha$  2,6-linked sialic acid에 결합력을 갖는 변이를 점차 획득하고 있음이 여러 연구를 통해 밝혀지고 있음. H9 subtype의 LPAI 바이러스도 마찬가지로 이러한 변이를 획득하고 있으며, 특히 226번 아미노산이 glutamine (Q)에서 leucine (L)으로 변이되는 것은 모든 H9 바이러스가 가지고 있음 (Lazniewski, Dawson et al. 2018).
- 이와 더불어 인플루엔자 바이러스가 숙주 세포 내에서 증식한 후 퍼져나가는 과정에서 sialic acid와의 결합을 끊어내는 NA 단백질의 활성을 나타내는 부위 중 하나인 2nd sialic acid

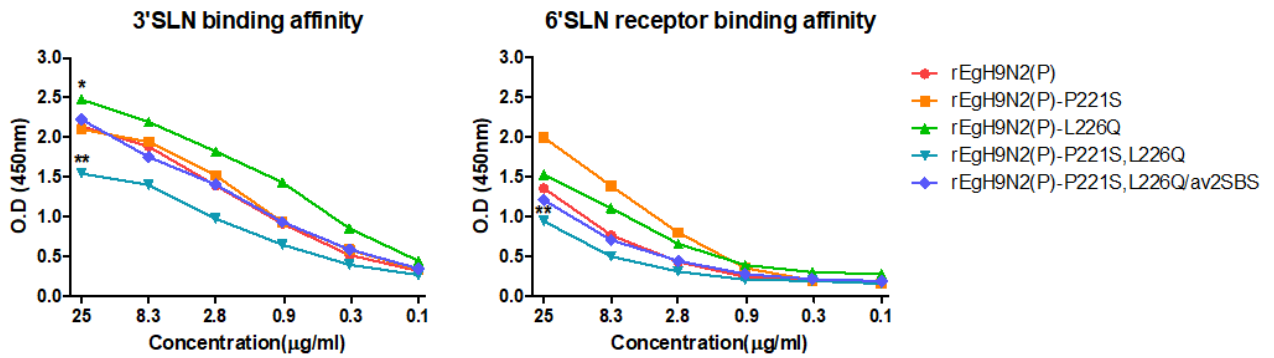
binding site (2SBS)는 조류 N2 바이러스에서만 보존적으로 나타났던 특징이 있었는데 현재 분리되고 있는 조류 N2바이러스는 HA 단백질 변이와 더불어 2SBS서열을 상실하고 있음이 확인되고 있음 (Du, Guo et al. 2019).

Isolation period	Frequency of HA mutation (% , <i>n.</i> = 362)				
	221 <sup>a</sup>		226		<i>n.</i>
	Proline	Serine	Glutamine	Leucine	
1970-1980	100.00	0.00	100.00	0.00	20
1980-1990	100.00	0.00	100.00	0.00	13
1990-2000	100.00	0.00	88.37	11.63	43
2000-2005	100.00	0.00	57.14	42.86	56
2005-2010	100.00	0.00	50.00	50.00	58
2010-2015	100.00	0.00	12.22	87.78	90
2015-2020	100.00	0.00	5.13	94.87	78

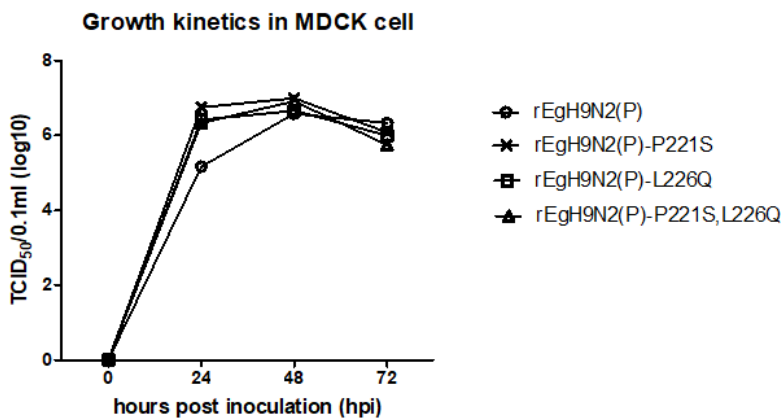
Isolation period	Frequency of NA mutation (% , <i>n.</i> = 616)			
	370-loop	400-loop	430-loop	<i>n.</i>
	ISKGSRSG	DNNNWS	RPQE	
1970-1980	87.50	87.50	100.00	8
1980-1990	70.00	100.00	100.00	10
1990-2000	23.53	27.45	91.80	61
2000-2005	10.64	8.33	72.92	96
2005-2010	26.26	24.80	80.62	129
2010-2015	5.49	5.49	86.59	164
2015-2020	9.46	10.81	79.05	148

- 실제로 인플루엔자바이러스 database에서 서열을 모아 분석해본 결과 Q226L과 2SBS서열의 변이를 대부분의 H9N2 바이러스가 가지고 있음을 알 수 있었음.
- 이러한 변이의 영향을 확인하기 위해서 현재 중동에서 유행하고 있는 G1 lineage의 H9N2 바이러스를 역유전학으로 제작하고, 226번 아미노산과 2SBS서열을 초기 H9N2 바이러스가 가지고 있었던 방향으로 역변이시킨 바이러스를 만들어 증식성 및 수용체 결합 친화도를 비교하였음.





- 221번, 226번 아미노산을 조류 친화도가 높은 serine 및 glutamine으로 각각 그리고 같이 바꾼 바이러스 중에서 226번을 glutamine으로 바꾼 경우에는 조류 receptor에 더 친화도가 증가하였고, 둘 다 바꾼 경우에는 오히려 감소하였음. 사람 receptor에 대해선 221번을 serine으로 바꾼 경우 오히려 친화도가 증가하였고, 둘 다 바꾼 경우에는 마찬가지였음. 그러나 NA의 2SBS서열을 함께 바꾼 바이러스는 다시 수용체 친화도를 회복하는 것을 알 수 있었음.
- 실제로 야외주 바이러스는 221번이 proline, 226번이 glutamine이었다가 221번 변이는 나타나지 않고 226번만 leucine으로 변하면서 NA의 2SBS서열을 상실한 것으로 미루어볼 때 H9N2 바이러스에 221번이 serine으로 바뀌는 것은 바이러스의 fitness에 좋지 않기 때문에 나타나지 않았고, 2SBS 서열이 함께 변해야지 수용체 결합력을 유지하는데 더 유리했음을 확인할 수 있었음.



- 포유류 세포주에서 증식 곡선을 그렸을 때, MDCK 세포주에서는 모두 증식성이 높았으나, 24시간에는 오히려 야외주의 증식성이 약간 떨어짐을 확인하였음. 각각의 변이는 숙주 수용체에 대한 결합력에는 약간 영향을 줬으나, 포유류 세포주 증식성에 있어서는 다른 유전자의 영향이 많기 때문에 큰 차이를 볼 수 없었음.
- 즉, H9N2 바이러스 분리주의 유전자 분석을 통하면 숙주 특이성에 영향을 줄 수 있는 변이 확인을 통해 인체로의 전파 위험성을 파악할 수 있음.

3. 가금의 AIV에 대한 저항성과 면역형성에 중요한 선천성면역 저하(가금티푸스 등) 및 체액성면역부전(감보로 등) 관련 전염병위험성 평가

1) 가금티푸스가 field에서 산란계에 미치는 영향

1. 가금티푸스 원인체 Salmonella Gallinarum의 역학 분석

- 국내의 적극적인 백신 정책에도 불구하고 계속되는 가금티푸스의 발생은 원인체인 Salmonella Gallinarum (SG)의 변이 또는 백신주 SG9R의 병원성 회복 등이 일어났을 가능성을 제시

■ SG의 pseudogene 분석

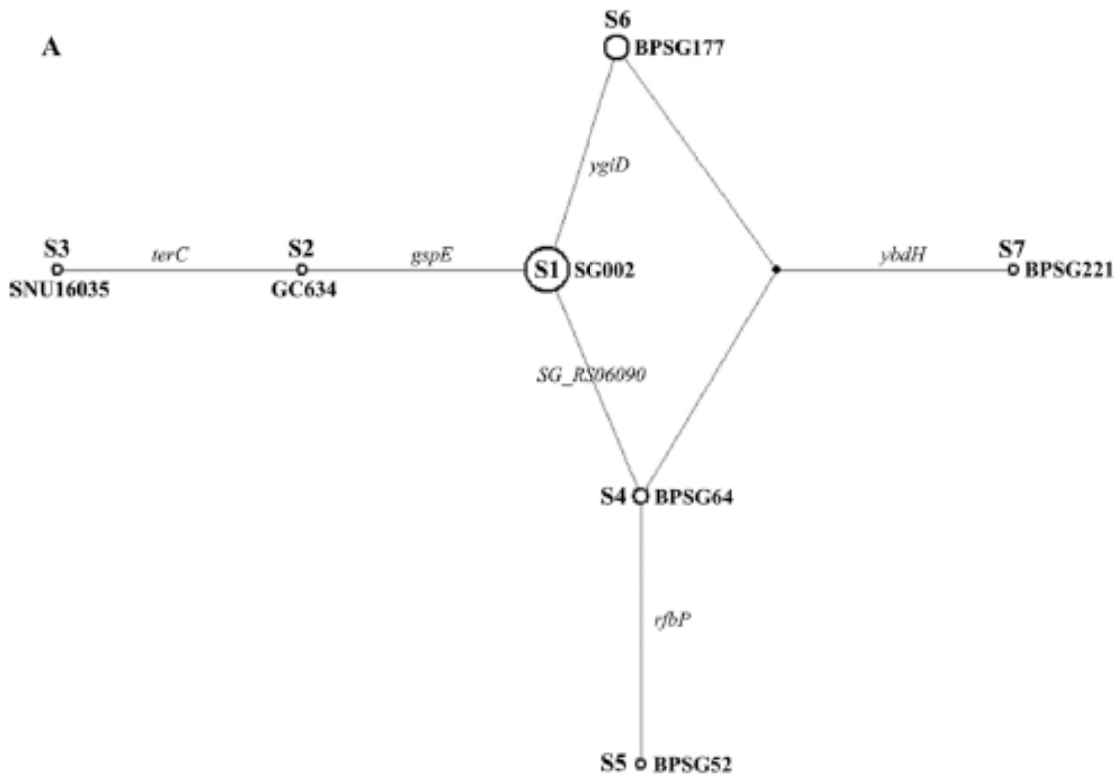


그림 1-1. SG와 S.Enteritidis(SE), 그리고 S.pullorum(SP)의 pseudogene profiling 분석

- SG는 SE나 SP와 다른 cluster를 구축, 국내 SG는 해외 reference 균주들과도 다른 cluster를 형성하여 더 분화가 이루어짐.

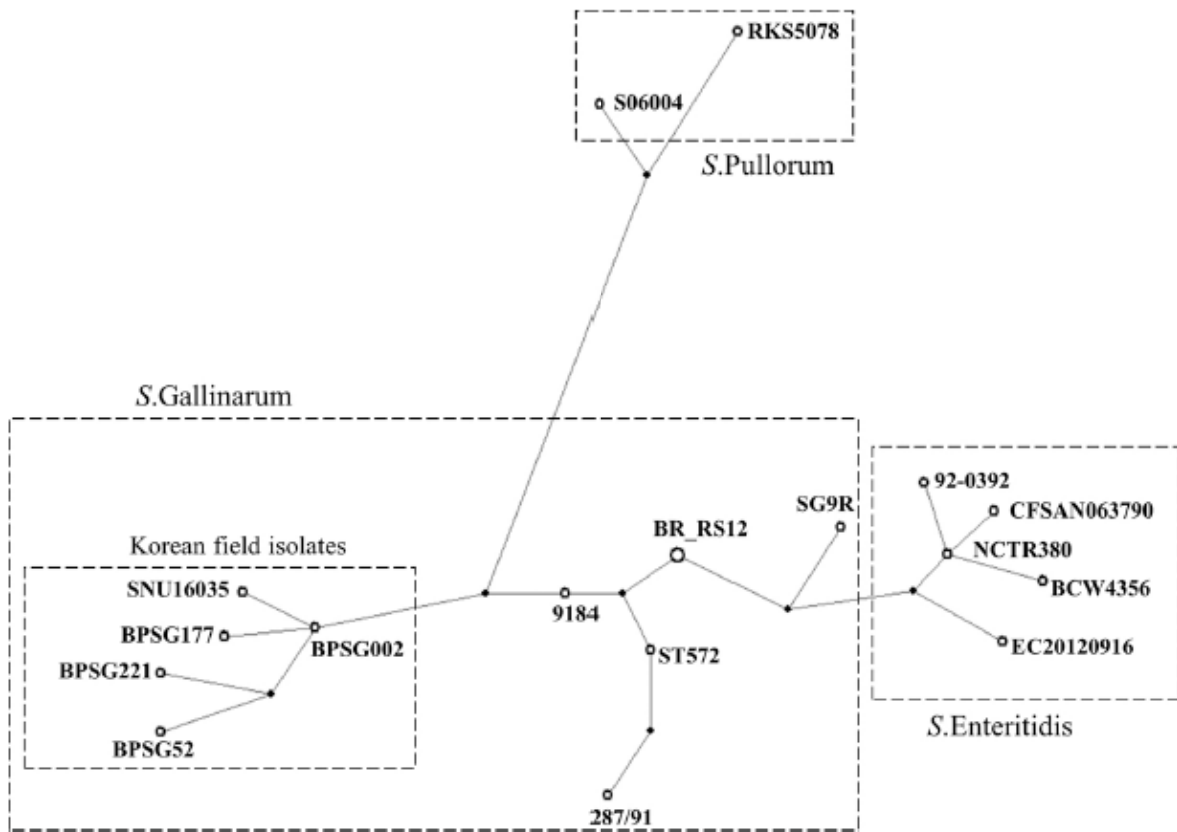


그림 1-2. pseudogene profiling을 통한 국내 SG 분류

- 국내 SG들은 7개의 subgroup으로 나뉘었으며 국내 최초 분리주인 SG001이 포함된 S1이 가장 우점하는 것을 확인

■ spvB 유전자의 Polyproline linker (PPL)

- spvB의 C terminal과 N terminal을 연결하는 PPL의 길이는 병원성과 연관이 있음. 국내 SG의 PPL은 그 길이가 훨씬 연장된 것을 확인 (SG9R 9개, 국내분리주 11개~21개).

표 1-1. PPL 길이가 다른 SG의 분리율 비교

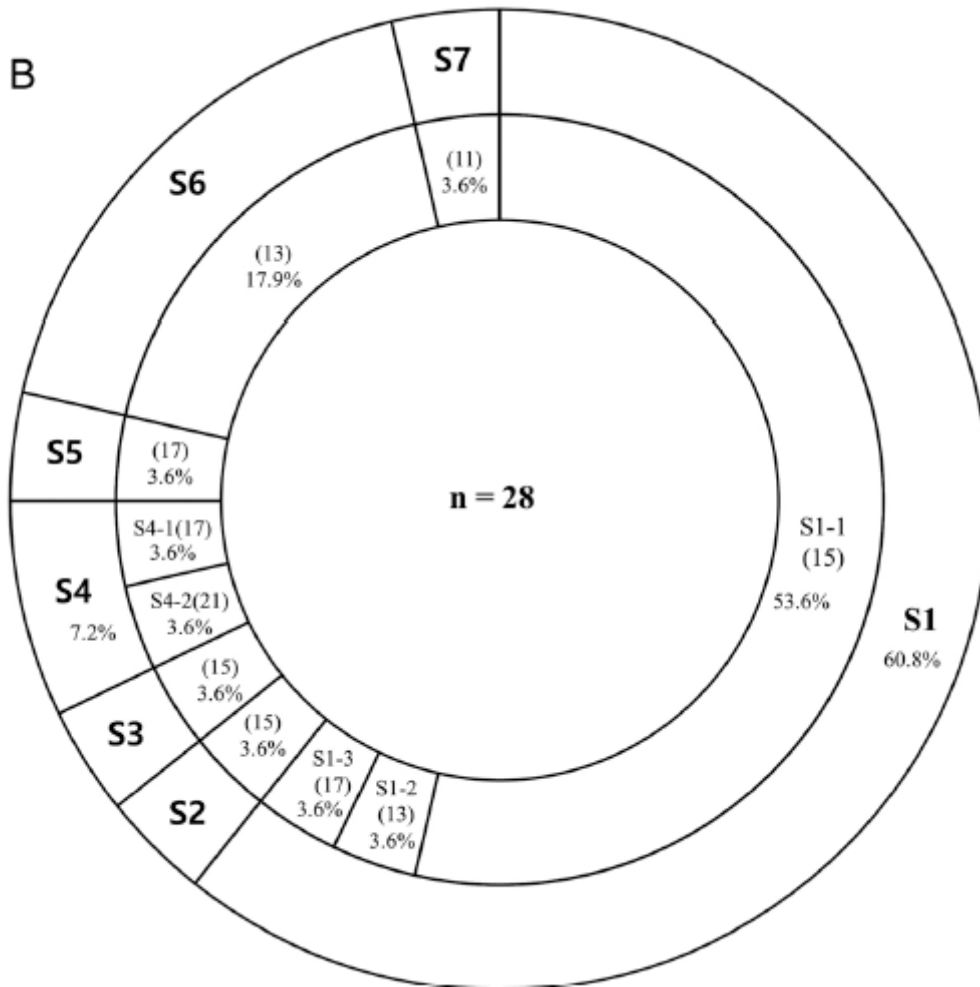
	7 dpi <sup>a</sup>	8 dpi	9 dpi	10 dpi	15 dpi
폐사한 닭의 수	2	3	1	1	1
간에서 분리된 SG의 수 (15/17) <sup>b</sup>	12/7	13/9	0/10	0/10	0/20
Bile에서 분리된 SG의 수 (15/17) <sup>b</sup>	-	-	0/7	0/7	0/10

<sup>a</sup>day post inoculation

<sup>b</sup>PPL길이가 긴 것 (17)과 짧은 것 (15)을 혼합 접종하여 분리된 균의 수

- 접종 후 시간이 지날수록 PPL길이가 긴 것이 우점하는 것을 확인.

그림 1-3. PPL길이로 세분화한 국내 SG subgroup



- 국내분리주의 pseudogene profile과 PPL 길이로 7개의 subgroup을 10개로 세분화.
- 국내분리주는 해외의 SG 대비 더 많은 pseudogene을 축적하고 PPL길이가 길어짐으로써 그 병원성이 증가된 것으로 추측됨.

2. 가금티푸스 감염에 의한 간 기능 저하 혈액화학적 분석  
 - 가금티푸스 생백신 및 공격접종에 의한 간 기능 저하여부 평가

표 2-1. 8 week-old (6주령 백신접종) 혈액화학 검사 결과 평균

	TP	T-CHOL	P	Alb	GLU	AST	GGT	LDH	Ca	ALP	UA
G1 (10) <sup>a</sup>	5.5*	158.0	7.4	1.5	271.5	169.9	36.6*	665.1	11.0	993.8	9.1
G2 (9)	4.9	164.6	7.0	1.4	280.8	180.4	32.7	566.6	11.0	1270.7	10.7
G3 (4)	4.9	148.8	7.8	1.4	283.2	162.4	28.8	625.4	11.0	1105.6	9.8

<sup>a</sup>시료수 \*G1 유의적으로 다른 그룹에 비해 높음 (P<0.05)

- G1 SG9R 백신접종, G2, G3 대조군
- 생독백신을 접종한 G1이 다른 그룹 대비 TP와 GGT에서 유의적으로 높은 값을 보임

표 2-2. 10 week-old (6주령 백신접종, 8주령 공격접종) 혈액화학 검사 결과 평균

	TP	T-CHOL	P	Alb	GLU	AST	GGT	LDH	Ca	ALP	UA
G1 (9)	5.28	125.38	8.46	1.63*	225.38	173.13	48.75	2154.75	11.10	686.00	6.38
G2 (6)	6.5*	110.33*	8.57	1.55	171.33*	195.3*	54.17*	2803.33*	11.33	468.17*	5.79
G3 (4)	4.28	142.00	8.25	1.40	265.50	175.75	30.50	1279.25	10.83	868.00	5.54

\*G3 대비 유의적인 차이

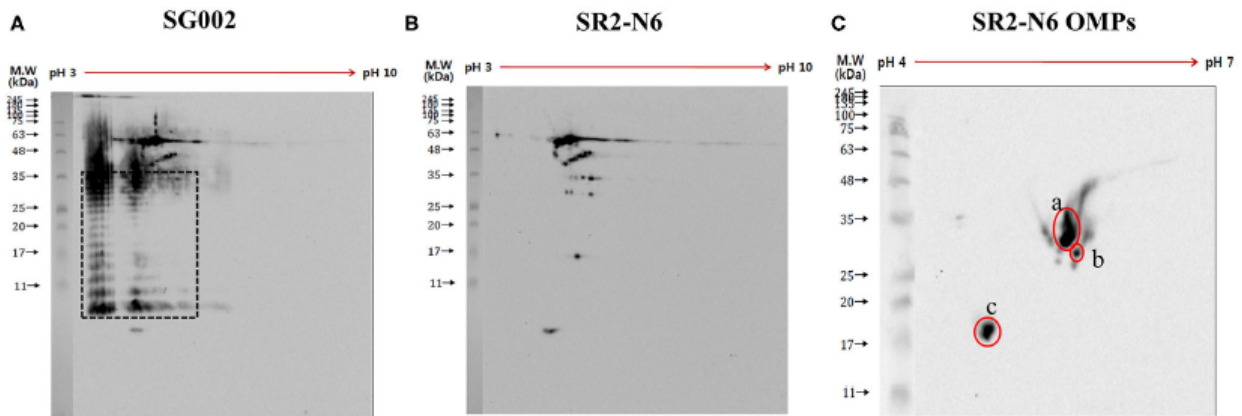
- G1 SG9R 백신접종 및 공격접종 G2 공격접종, G3 대조군
- 백신접종 없이 공격접종만 한 G2는 G3에 비해 TP, T-CHOL, GLU, AST, GGT, LDH, ALP에서 유의적인 차이를 보임. 반면, 백신접종 후 공격접종을 한 그룹은 Alb를 제외하고는 모두 차이를 보이지 않았음.
- 백신접종에 의해 간기능(GGT)과 염증반응(TP)에서 소견을 보였으나 공격접종을 하였을 때 전반적으로 큰 변화를 보이지 않아 백신의 효과를 보임. 백신 없이 가금티푸스 감염 시 염증 반응 (TP, T-CHOL)과 간 기능 (AST, GGT, LDH, ALP)의 심대한 저하를 보이는 것을 확인.

### 3. 가금티푸스 항원 종류에 따른 체액성 면역 반응 비교

#### ■ 체액성 면역 반응을 평가하기 위한 ELISA 제작

- 면역원성이 높은 외막 단백질 선별

그림 3-1. SG사균 및 SG 외막단백질을 항원으로 한 western blotting



- Rough strain 생백신 SR2-N6의 외막단백질을 항원, SR2-N6 항혈청을 사용하여 면역원성이 높은 외막 단백질을 LC-MS/MS로 분석

표 3-1. Immunoblot spot의 LC-MS/MS 분석

Spot	NCBI BLAST	Protein name	Score	Mass
a	WP_065702086.1	porin OmpA	4039	37640
b	WP_065702086.1	porin OmpA	1735	37640
c	WP_058343733.1	outer membrane protein OmpX	3409	17570

- OmpA와 OmpX가 SG에서 높은 면역원성을 지닌 외막단백질로 확인

표 3-2. 선별된 외막단백질의 B cell epitope

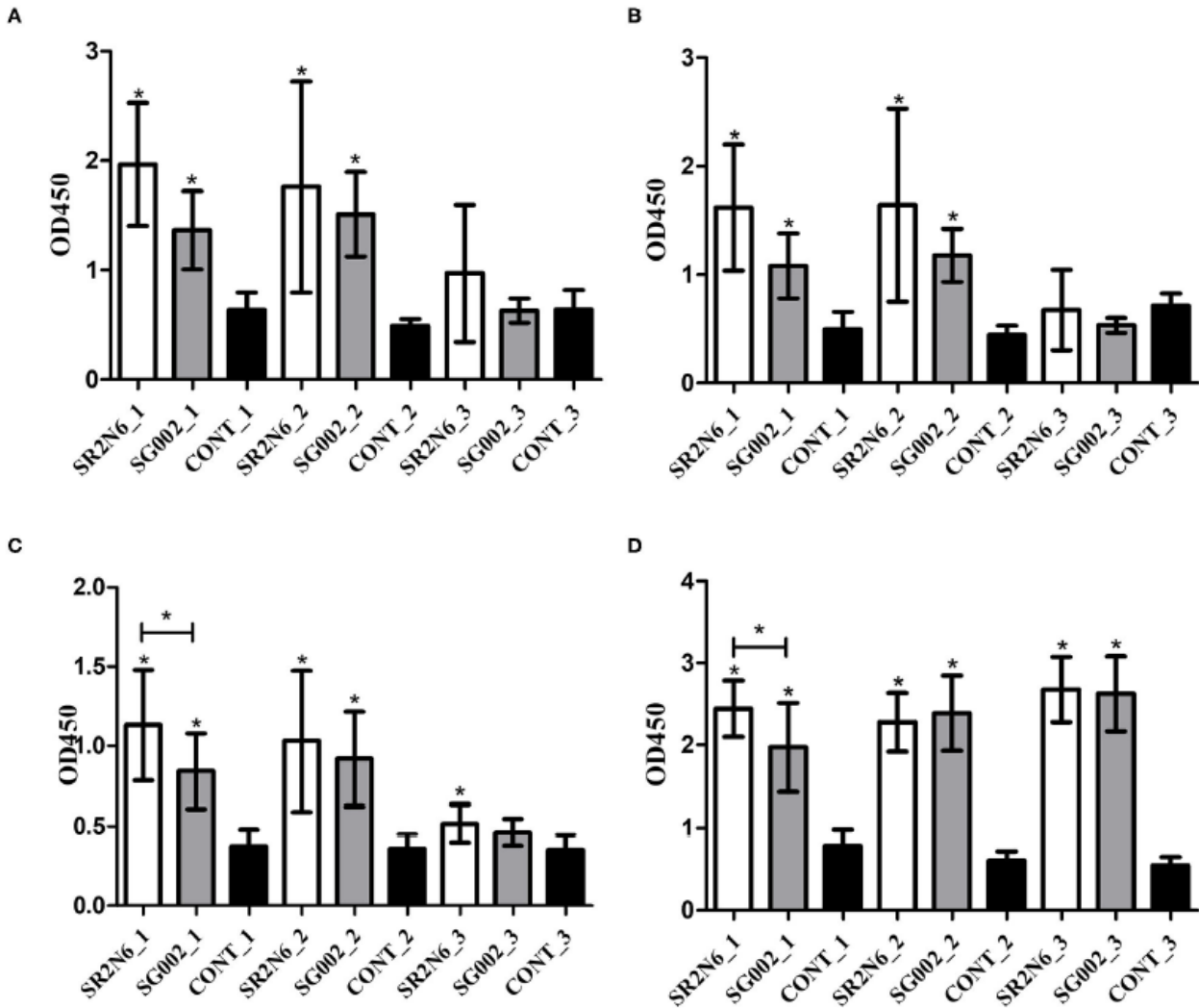
Protein	Sequence (N- to C-terminus)
OmpA_L3	TKSNV PGGPS
OmpA_L4	TNNIG DANTI GTR
OmpX	GKFQT TDYPT YKHDT

- 선별된 OmpA와 OmpX의 B cell epitope을 추측하여 peptide 합성한 후 ELISA 제작



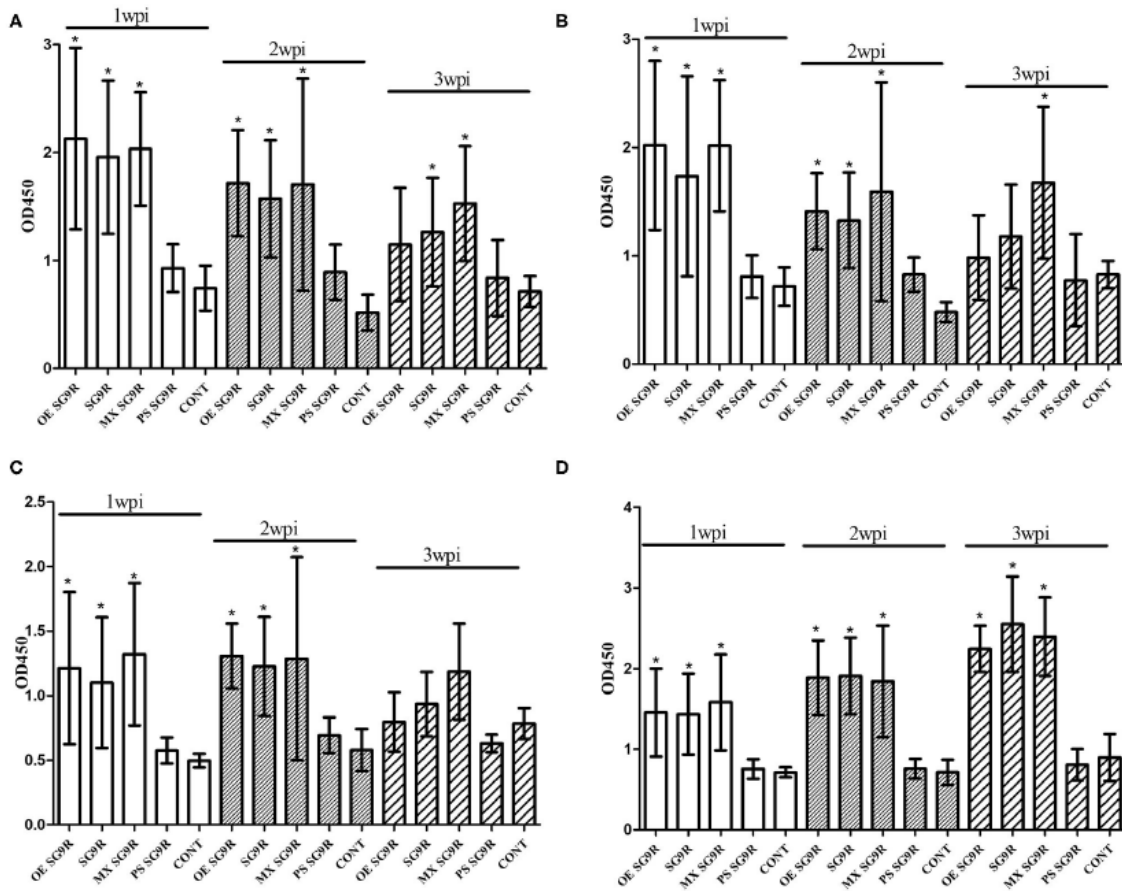
■ 제작된 ELISA로 면역반응 비교

그림 3-2. Smooth strain과 rough strain에 대한 체액성 면역반응



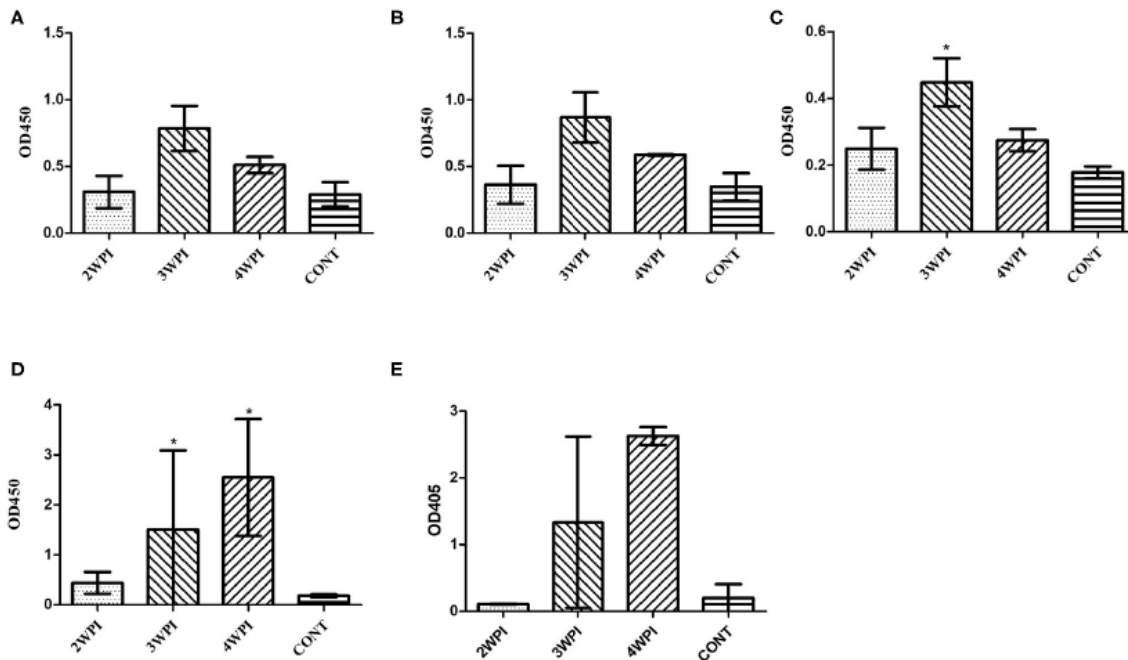
- Rough strain SR2-N6와 smooth strain SG002을 oil emulsion (OE) 백신형태로 접종 후 3주 동안 매주 얻은 항혈청으로 체액성 면역 반응을 비교한 결과, rough strain이 OMP에 대한 초기 항체 생성이 우월함을 확인 (A, D 그림 백신접종 1주차 유의적인 차이)

그림 3-3. 다양한 SG 항원에 대한 체액성 면역반응 비교



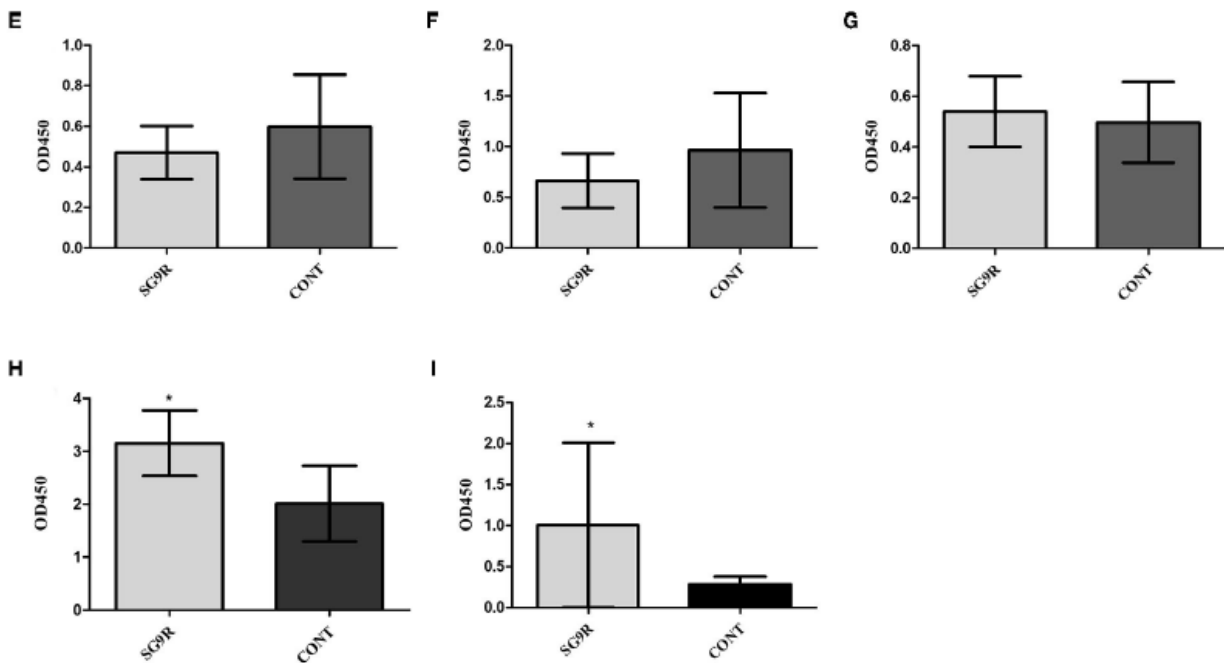
- SG9R 생백신과 OE SG9R은 거의 비슷한 체액성 면역 자극을 보이는 것을 확인하였으며, PBS에 부유시킨 사독항원은 거의 면역을 자극하지 못함. 하지만, 생백신과 혼합한 사독항원은 다른 조건들에 비해 더 항체를 오랫동안 유지하였음 (A, B, D 그림 MX SG9R 대조군 대비 유의적인 차이)

그림 3-4. 병원성 균주 공격접종에 대한 체액성 면역반응 비교



- 병원성 균주 SG0197을 접종한 후 얻은 항혈청을 분석한 결과, 백신주에 비해 약 2주 면역반응 지연을 보임

그림 3-5. 백신접종 후 공격접종에 대한 점막 면역반응

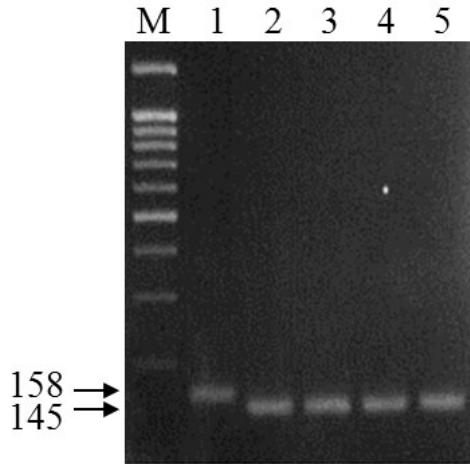


- 백신 접종만 하였을 때는 점막 면역을 자극하지 못했으나, 생백신을 접종 후 공격접종 진행 시 점막면역이 올라가는 것을 확인. 따라서, 백신 자체로는 항체를 올리지 못하나 priming 효과는 있음을 제시 (H 그림 대조군 대비 유의적인 차이)

#### 4. 생독백신주 SR2-N6 특성 분석

##### ■ SR2-N6의 약독화 기전 분석

그림 4-1. SR2-N6 계대 균주의 rfaL 유전자 증폭



Lane 1: SG002; 2: SR2-N6; 3: SR2-N6-p5; 4: SR2-N6-p10; 5: SR2-N6-p20. SG002 보다 SR2-N6에서 13nt만큼 amplicon이 작은 것 확인

##### ■ Next generation sequencing을 통한 SG002와 SR2-N6 유전자 비교

표 4-1. SG002와 SR2-N6 유전적 변이 비교

유전자	기능 / 위치	SR2-N6	
		Nucleotide change	Amino acid change
<i>flgD</i>	Flagellin protein / chromosome	6 nt-ins. (553-558)	inframe insertion
<i>gyrA</i>	DNA gyrase subunit A / chromosome	G81C	missense mutation
<i>rfaL</i>	O-antigen ligase / chromosome	13 nt-del. (846-858)	protein truncation
<i>spvB</i>	Mono-ADP-ribosyl transferase / virulence plasmid	- <sup>a</sup>	-
<i>spvC</i>	MAPK phosphothreonine lyase / virulence plasmid	-	-

<sup>a</sup>PCR 증폭시 amplicon 나타나지 않음

- *flgD*, *gyrA*, *rfaL*에서 변이를 보임

- Salmonella large virulence plasmid에서 병원성에 핵심적인 *spvB*와 *spvC*가 제거된 것 확인

■ SG002와 SR2-N6의 단백질 발현 비교

표 4-2. SG002와 SR2-N6의 단백질 발현 비교

Expression	Fold	NCBI BLAST	Protein name	Mass	Score
Up-expressed	2	gi 16766418	Acetyl-CoA hydrolase [ <i>Salmonella</i> Typhimurium LT2]	48392	157
	2	gi 16759749	DNA starvation/stationary phase protection protein (Dps) [ <i>Salmonella</i> Typhi CT18]	18706	213
Down-expressed	268	gi 213855344	Cysteine synthase A [ <i>Salmonella</i> Typhi M223]	30738	157
	372	gi 213648617	Chaperonin GroEL [ <i>Salmonella</i> Typhi J185]	31991	126

- 일부 단백질 발현량 차이가 보이는 것을 확인

■ 유전적 변이와 단백질 발현량 차이에 대한 표현형 확인

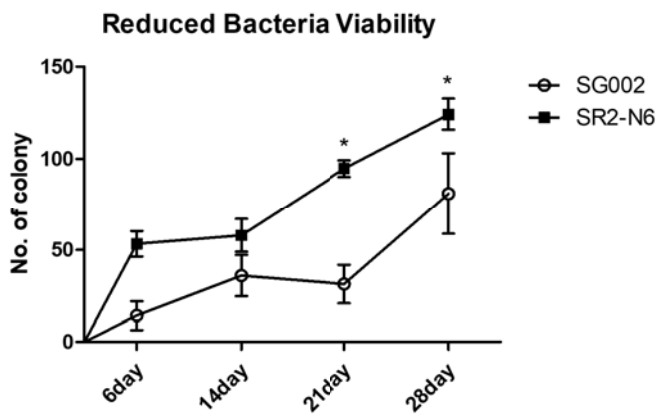
표 4-3. gyrA 유전자 변이에 따른 minimal inhibitory concentration (MIC)

	Enrofloxacin	Ofloxacin
SG9R	0.0625	0.25
SG002	0.125	0.25
SR2-N6	2	2
ATCC29213	0.25	0.25

- quinolone계 항생제에 대해 저항성을 부여하는 gyrA 유전자의 변이가 존재함에 따라 MIC로 그 표현형을 조사

- 해당 부위에 변이가 생긴 SR2-N6가 항생제 내성이 8~16배 증가

그림 4-2. 저온충격 감수성 비교



- DNA를 보호하는 dps 단백질의 발현량 차이에 따른 표현형을 분석하기 위해 4°C에서 장기간

보관 시 cfu의 감소를 비교

- dps의 발현량이 감소한 SR2-N6에서 21일, 28일 유의적인 colony 수의 차이를 보임을 확인

■ Salmonella D group antibody ELISA kit에서의 위양성 조사

Groups	Samples	No. of serum samples	No. of positives(%)
Experimental	SPF	27	0 (0)
	SE6 <sup>a</sup>	20	16 (80)
	SR2-N6 <sup>b</sup>	10	0 (0)
	SG 9R <sup>c</sup>	4	1 (25)
	Safe-9R	10	2 (20)
Field	Vaccinated with SG 9R	90	3 (3.3)
	Un-vaccinated with SG 9R	27	0 (0)

<sup>a</sup>열 불활화 Salmonella serovar Enteritidis oil emulsion 백신; 1.0x10<sup>10</sup>cfu/chicken 용량으로 2회 근육접종.

<sup>b</sup>2.8x10<sup>7</sup>cfu/chicken을 피하접종

<sup>c</sup>6.3x10<sup>7</sup>cfu/chicken을 피하접종

- 필드상의 SG9R 접종군의 혈청에서는 90개 sample 중 3개가 양성으로 나옴. 하지만, SG 야외주나 SE 등의 감염에 의한 것일 가능성이 있음

- 실험적으로 진행한 SG9R 접종군의 항혈청에서는 4개 중 1개의 양성률을 보였으나, SR2-N6 접종군은 10개 중 하나도 양성 나오지 않음

- SG9R이 smooth strain으로 병원성을 회복했을 가능성을 고려하여 rfaJ 유전자를 제거한 Safe-9R을 제작하여 실험하였으며, 이 경우 역시 10개 중 2개의 양성률을 보임

- 따라서 SG9R을 접종한 계군에서는 SR2-N6 접종계군과 다르게 위양성이 나타날 가능성이 있으며, Salmonella D group antibody ELISA를 이용한 SE 모니터링에 왜곡이 일어날 수 있음

5. 생독백신 개선 후보주 제시

■ Safe9R을 기반으로 한 약독화 백신 후보주 제작

그림 5-1. Safe-9R과 해독약독화 균주의 amplicon 확인

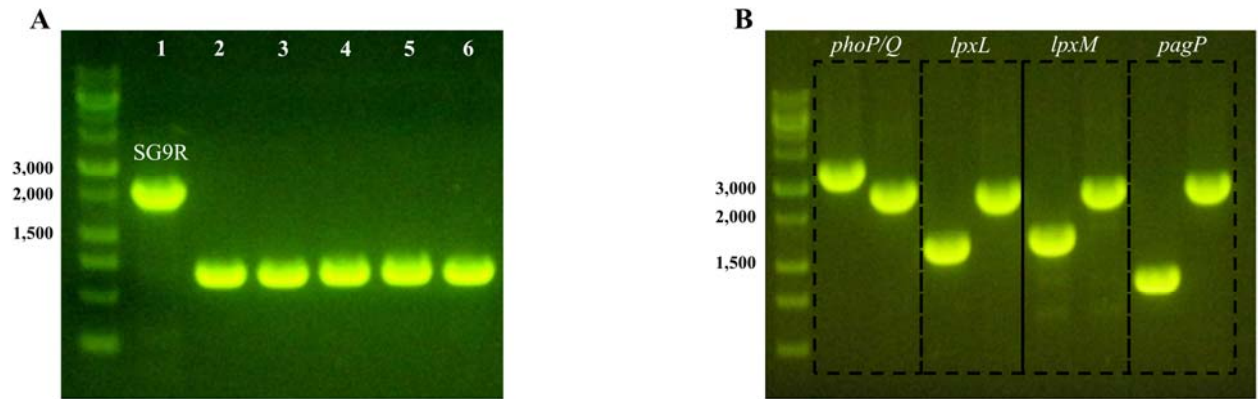
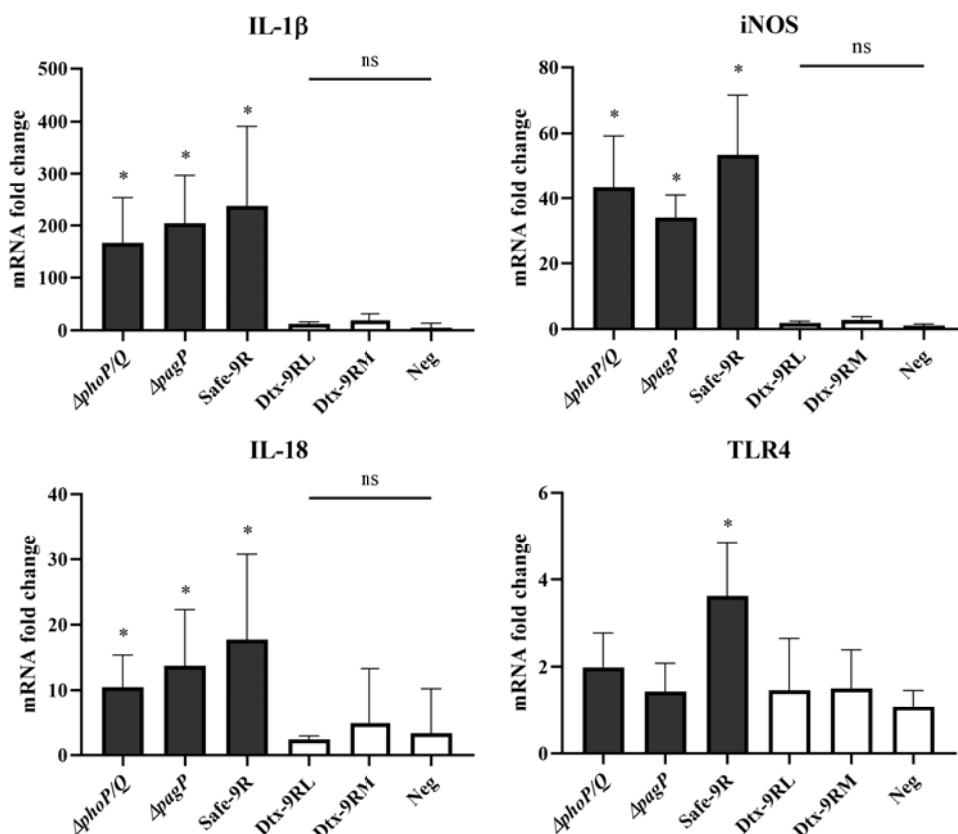


그림 A Lane 1:SG9R; 2:Safe-9R; 3:ΔphoP/phoQ; 4:ΔlpxL; 5:ΔlpxM; 6:ΔpagP Safe-9R을 포함하여 해독된 균주들은 모두 *rfaJ* 유전자가 제거되었음을 확인

그림 B 점선상자는 각각 표기된 유전자에 대한 PCR amplicon을 나타냄. 각 상자의 첫 lane은 비교균으로서 Safe-9R을 제시하였음. 변이주들이 모두 성공적으로 제작되었음을 확인

그림 5-2. 해독균주의 전염증 cytokine 및 관련 유전자 전사 비교



- 제작된 해독균주를 닭 대식세포주 HD11에 접종하여 cytokine 발현량을 비교. ΔlpxL (Dtx-9RL)과 ΔlpxM (Dtx-9RM)이 음성대조군과 차이가 나지 않음을 확인. 백신 후보주로서의 가능성을 제시



■ Safe-9R의 효능 평가

표 5-1. Safe-9R의 생독, 사독 효능평가

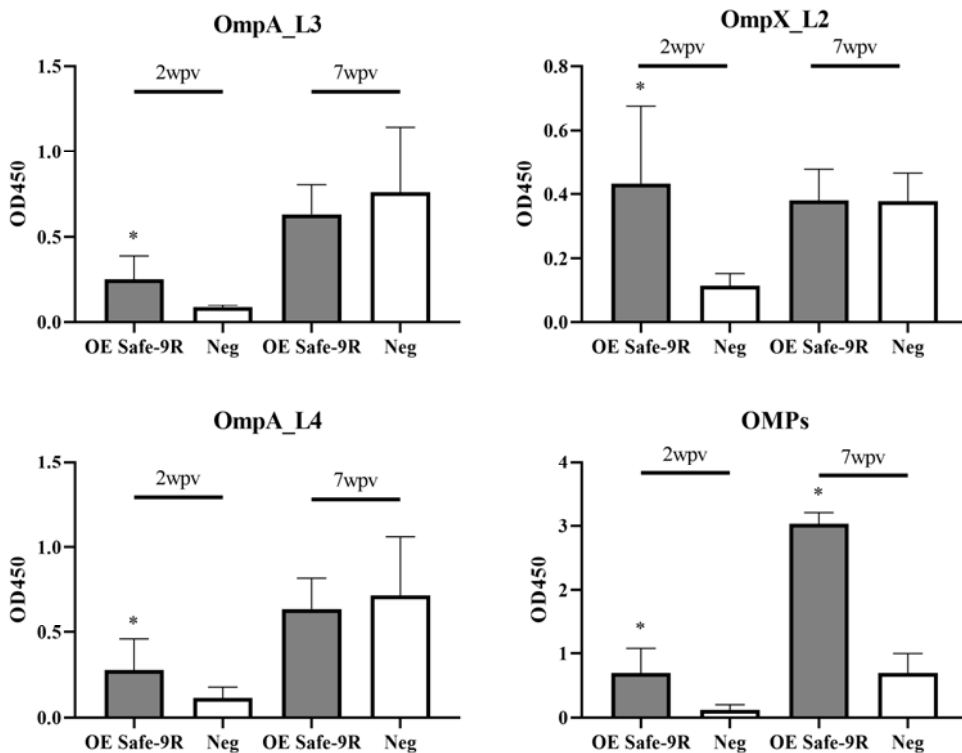
그룹	백신 접종	생존률		
Safe-9R 생백신	접종	100 (10/10)*		
	미접종	0 (0/10)		
OE Safe-9R 사백신 <sup>a</sup> - 2wpv <sup>b</sup>	접종	60 (6/10)*	50 (5/10)	80 (8/10)
	미접종	0 (0/10)	11.1 (1/9)	50 (5/10)
OE Safe-9R 사백신 <sup>a</sup> - 7wpv <sup>b</sup>	접종	87.5 (7/8)	50 (5/10)	70 (7/10)
	미접종	80 (8/10)	90 (9/10)	90 (9/10)

<sup>a</sup>Oil emulsion (OE) 사백신은 1주령에 접종하여 3주령 (2wpv)와 8주령 (8wpv)에 공격접종  
<sup>b</sup>wpv는 백신 접종 후 주 (week post-vaccination)

\*대조군 대비 유의적인 차이

- Safe-9R 생백신은 100%의 방어효과를 보였으며, OE 사백신도 2wpv에 공격접종 시 유의적인 차이를 보였음. 하지만 7wpv에서는 효과가 없었음.

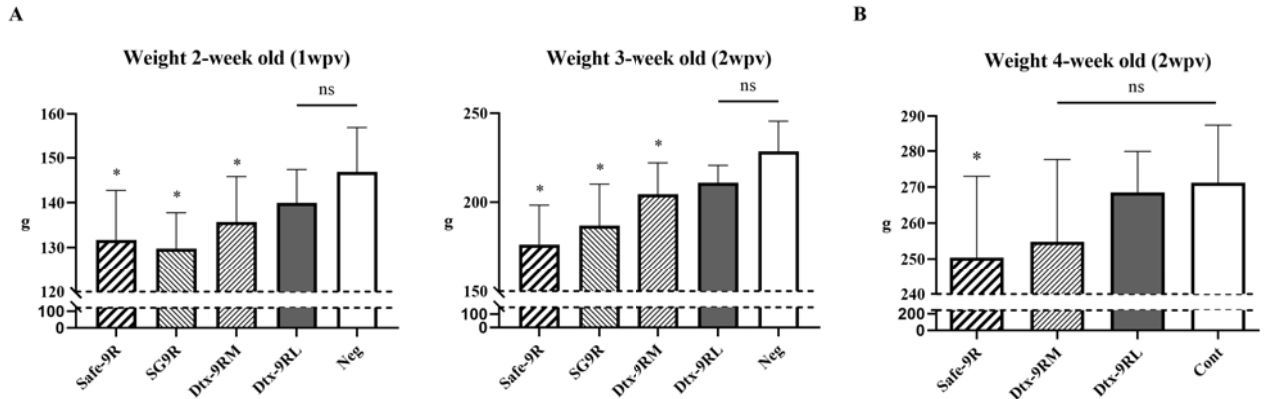
그림 5-3. OE Safe-9R의 체액성 면역 평가



- OmpA와 OmpX의 epitope으로 제작된 ELISA에서 2wpv의 항체가는 대조군 대비 유의적으로 높은 값을 보였으나, 7wpv에서는 차이가 없었음. 이는 OE-Safe9R의 방어효능과 경향성이 일치함.

- 따라서 OmpA와 OmpX에 대한 항체가 가금티푸스 방어에 실질적인 역할을 하는 것으로 추측됨.

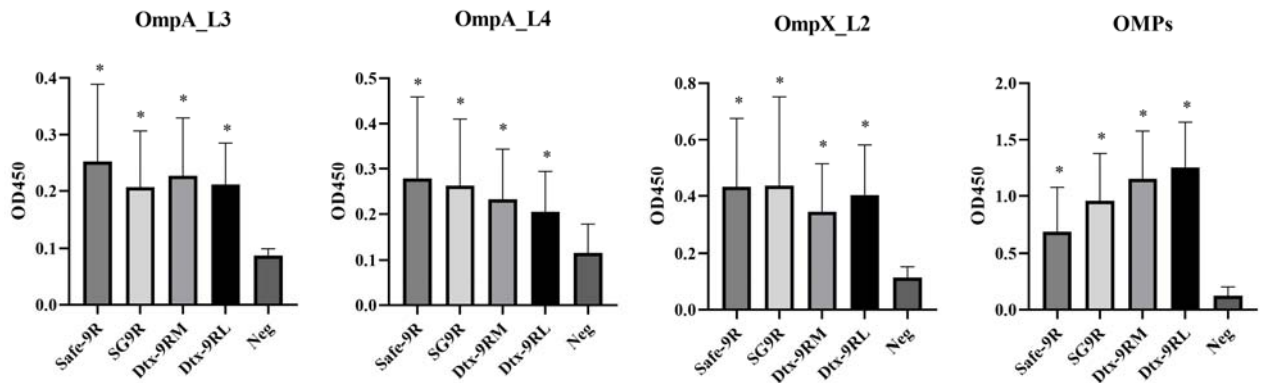
그림 5-4. 해독 백신후보주의 증체율 비교



- 그림 A는 Oil emulsion 형태의 사균백신을 1주령 병아리에 접종 후 2주동안 체중을 측정, 그림 B는 동일한 접종을 2주령 병아리에 한 후 체중을 측정

Dtx-9RL은 음성 대조군 대비 체중 감소가 적어 두 실험 모두에서 통계적으로 유의적 차이를 보이지 않았으며 Dtx-9RM 역시 2주령에 접종 시 차이를 보이지 않았음. 하지만, 해독을 하지 않은 균주는 모두 대조군 대비 유의적으로 체중이 감소함.

그림 5-5. 해독 백신후보주의 체액성 면역 자극 평가



- Oil emulsion 형태로 접종 뒤 2주 후 항체가를 측정하였으며, 모든 접종군에서 음성대조군 대비 유의적으로 항체가가 상승한 것을 확인

표 5-2. 단백질 영양 불량 모델에서의 균 재분리 비교

그룹	Dtx-9RL	Dtx-9RM	Safe-9R	SG9R	Negative
병변	0/5	5/5	5/5	5/5	0/5
재분리	0/5	0/5	4/5	3/5	0/5

- 백신접종 2주 후 3일 절식하고 부검 진행
- 해독균주에서는 균 재분리 되지 않았으며 Dtx-9RL은 병변 또한 나타나지 않음. 해독되지 않은 균주는 중등도 이상의 병변과 접종 균 재분리 나타남

표 5-3. 생독 해독균주의 방어효능 평가

그룹	Dtx-9RL		Dtx-9RM		Safe-9R		SG9R		Negative	
	A <sup>1</sup>	B <sup>2</sup>	A	B	A	B	A	B	A	B
0 <sup>a</sup>	7	4	2	2	2	2	3	2	4	5
1	1	0	8	4	0	1	1	1	0	1
2	0	1	0	3	3	5	5	3	2	0
3	1	1	0	1	5	2	1	4	2	1
4	1	4	0	0	0	0	0	0	2	3
심대한 간 병변 <sup>b</sup>	20%	60%	0%	40%	80%	70%	60%	70%	60%	40%
개체 수	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

11주령에 백신접종, 2주령에 공격접종

21일령에 백신접종, 2주령에 공격접종

<sup>a</sup>간 병변 평가는 다음과 같음. 0:정상; 1:5개 미만의 괴사소; 2:100개 미만의 괴사소; 3: 셀 수 없이 많은 괴사소 및 심대한 간비대

<sup>b</sup>간 병변 평가 2 이상의 비율

- 방어효능 면에서 Dtx-9RM은 방어효능이 우수하고 다른 그룹에 비해 약한 병변이 나타남
- Dtx-9RL은 폐사율 면에서 음성대조군과 차이를 보이지 않았음

표 5-4. 공격접종 후 균 분리 및 식별

그룹	1wpv <sup>a</sup> 공격접종					2wpv 공격접종				
	Dtx-9RL	Dtx-9RM	Safe-9R	SG9R	Negative	Dtx-9RL	Dtx-9RM	Safe-9R	SG9R	Negative
재분리	2/9 <sup>b</sup>	0/10	4/10	3/10	4/8 <sup>b</sup>	0/6 <sup>b</sup>	0/10	0/10	1/10	0/7 <sup>b</sup>
Smoot										
h/Rou	10/0	- <sup>c</sup>	10/0	5/0 <sup>d</sup>	10/0	-	-	-	0/4 <sup>d</sup>	-
gh <sup>c</sup>										

<sup>a</sup>wpv: week post-vaccination

<sup>b</sup>폐사한 닭에서는 재분리를 진행하지 않음

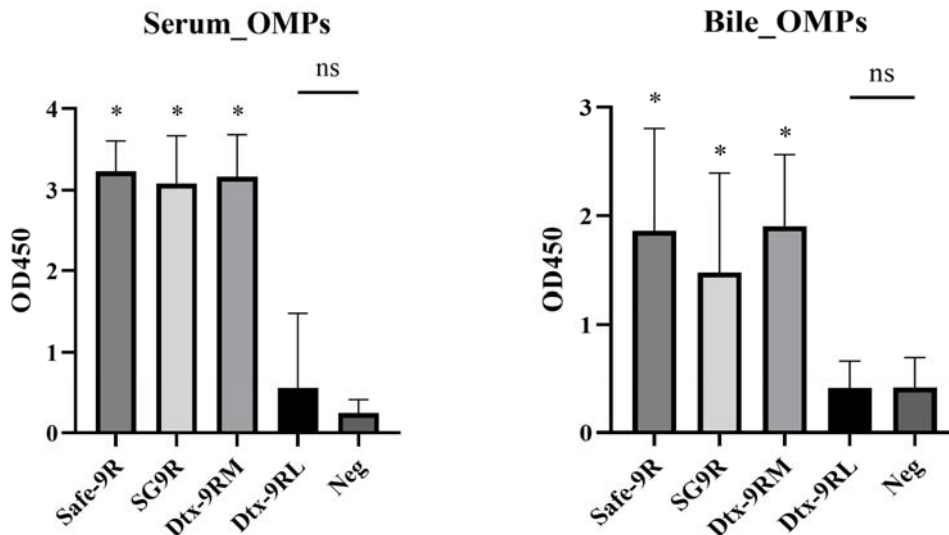
<sup>c</sup>Salmonella anti-O antigen 항혈청으로 plage agglutination test 진행

<sup>d</sup>최대 10개의 집락, 10개 미만 시 형성된 모든 집락에 대해서 검사

°집락이 형성되지 않음

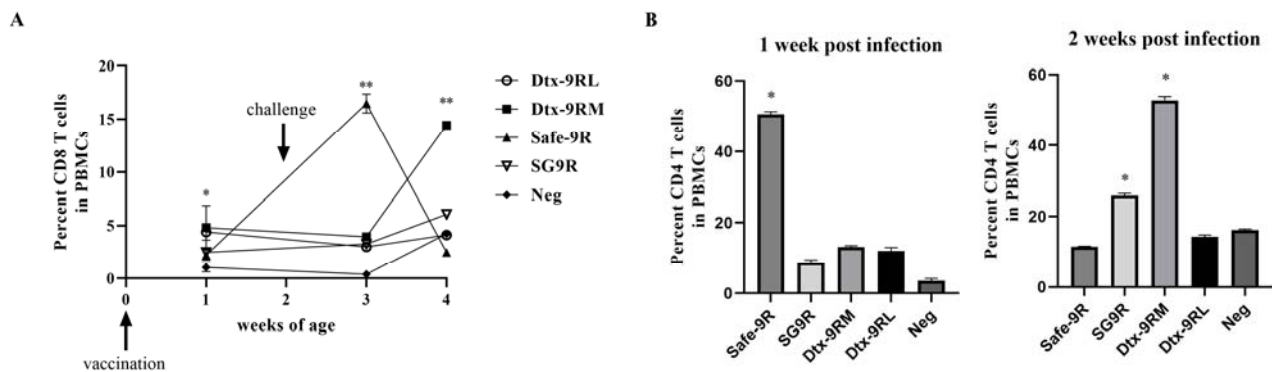
- 공격접종 후 균을 재분리하고, 재분리 된 균에 대해서는 smooth colony와 rough colony 식별 진행
- 백신접종 1주차에 공격접종 시 Dtx-9RM을 제외하고 모든 접종군에서 균이 재분리되었음. 분리된 균은 모두 smooth strain으로 공격접종주로 나타남
- 백신접종 2주차에 공격접종 시 SG9R을 제외하고 균이 재분리 되지 않았으며, 재분리 된 균 역시 모두 rough strain으로 백신주로 나타남
- 이에 따라, 백신 접종 1주차에 가금티푸스 감염 시 기존 백신으로는 충분히 방어가 되지 않고 병원성 야외주가 우점하게 됨을 확인하였음
- Dtx-9RM은 기존 백신주 대비 빠르게 면역을 형성하는 것으로 추측됨

그림 5-6. 백신접종 1주 후 공격접종 시 면역 자극 조사



- Dtx-9RL을 제외한 모든 백신 접종 그룹은 높은 체액성 그리고 점막 면역 자극을 보임
- Dtx-9RL은 방어효능과 면역자극 모두 충분한 효과를 보이지 못함

그림 5-7. 말초 혈액 단핵세포에서 T cell의 비율 조사



- 그림 A는 CD8+ T cell의 비율, 그림 B는 CD4+ T cell의 비율
- 백신접종 1주차에 해독된 백신 후보주들은 음성대조군보다 유의적으로 높은 CD8+ T cell의 비율을 보임
- 공격접종 후 Dtx-9RL과 음성대조군은 다른 그룹처럼 높은 T cell 비율을 보이지 않음
- 따라서 해독된 백신 후보주는 약독화 된 만큼 숙주에서 빠르게 극복하여 면역을 형성하는 것으로 추측되며, Dtx-9RL은 공격접종 후에도 T cell의 비율이 높아지지 않아 방어효능 및 ELISA를 통한 면역 평가와 같은 경향성을 보임

#### 4. 전파위험도 평가를 통한 방역매뉴얼 개선

##### 1) 방역매뉴얼 개선 방안책 (1AB-1903-004080)

- 철새 HPAI 바이러스 감염 모니터링의 선택과 집중
  - 선발 철새 도래시기(10월 초-중순), 후발 철새 도래시기(12월 초-중순), 중국남부/동남아 철새 북상시기(후발철새 북상시기, 3월에 전국-동시 분변 바이러스 모니터링)
- 철새 분변 HPAI 바이러스 양성인 경우
  - 기존 방역 요령 실시와 함께 농장 음수 소독 경보 및 관리
    - ∴ 토양(우천 시) 및 하천수의 HPAI 바이러스가 지하수 오염 가능성 있으므로 음수를 통한 HPAI 바이러스 농장 유입 차단 필요
- 철새 분변 HPAI 바이러스 음성인 경우
  - 음수 및 사료의 철저한 관리를 전제로 오리 휴식기 제도 재고
- 사료 원료 이력제 실시 및 차단 관리
  - 옥수수 수입국에 따른 사료 제조 방식 결정: 위험국(유럽/러시아) 수입 옥수수는 열처리 하는 펠릿 사료로 사용[위험 기간 동안(수출국 10월-2월 선적) 산란계나 종계용 비 열처리 mash 사료 사용 금지]
  - 수입 대두박의 국내 야생조수 노출 최소화(특히 중국 등 위험국 대두박)
  - 열처리 전 대두박과 옥수수 교차 오염 원천 차단(사료회사 SOP 점검)
- 오리농장 위축개체/폐사체 집중 관리
  - HPAI 위험 기간 동안(10월-3월) 고열/체중감소 보이는 위축체와 폐사체 집중/신속 진단 체계 확립(농장주 일간 폐사/산란율 전용앱 입력-> 계열사 매일 점검 -> 위축체/폐사체 증가 및 산란율 감소 시 익일 내 병성감정 기관 진단 의뢰)
- 모든 발생 농장 유전자 지문 검사 확대
  - 계놈 분석 확대 및 결과 공개: 농장 간 전파 인과 관계 및 귀책사유 특정을 위해 모든 발생 농장 바이러스 분리 및 계놈 분석 확대
  - 모든 발생 농장주 및 전문가에게 결과 공개

□ 오리 긴급 백신 선정 기준 및 접종법 표준화

- 긴급 백신 사용 요건(단회 접종 단기 고역가 달성 가능 백신)을 충족하는 백신주와 접종법을 공신력 있는 기관에서 모든 개발자, 방역당국, 학계, 산업계가 참여하는 위원회 구성하여 비교 평가 후 표준화

2) 선제적인 고위험농장 관리 및 위험경보 방안

1. 현황 및 문제점

- 최근 국내에서 발생하고 있는 HPAI 엔데믹은 이전과 마찬가지로 동시다발적인 발생의 특징을 보여주고 있어 감염 철새로부터 농장으로 유입되는 원인/경로가 기존과 유사하나 여전히 차단이 안 되고 있음을 반증하므로 이번 기회에 근본적인 문제 해결이 필요함.

- 동시다발사례: 7일간 전국에서 발생(KAHIS, 2021. 1. 18)

발생농장 위치	가금종류	발생일(진단일)
경상북도 상주시 공성면 무곡리	닭-산란계	2020-12-01 (2020-12-02)
전라남도 영암군 시종면 신학리	오리-육용오리	2020-12-04 (2020-12-05)
경기도 여주시 가남읍 은봉리	닭-산란계	2020-12-06 (2020-12-07)
충청북도 음성군 금왕읍 신평리	메추리	2020-12-07 (2020-12-08)

- 2020년 10월 25일 충청남도 천안시 봉강천 주변 야생조류 분변에서 H5N8 HPAI 바이러스가 보고되었고, 10월 현재 575,000마리(176종)의 겨울 철새가 도래하여 철새 간 전염 증가로 호흡기 분비물과 분변을 통한 HPAI 바이러스의 환경오염도 증가가 예상되었음.
- 11월 19일 전국적인 집중 강우로 환경 오염된 HPAI 바이러스가 지표수 및 지하수로 혼입될 수 있는 계기가 마련되어 음용수 취수과정에서 농장으로 유입될 수 있는 위험요인이 발생하였으나 이에 대한 위험경보 발령이나 고위험 농장에 대한 선제적인 모니터링과 예방 조치가 이루어지지 않았음. 최근 전남, 전북, 충남지역 대설로 인해 눈이 녹는 경우 산발적인 추가 발생 예상됨.



- 2021년 1월 18일 현재 66개 가금농장 발생(KAHIS) 하였으며 지역별 발생빈도는 경기도 22.7%, 전라북도 22.7%, 전라남도 19.7% 순으로 빈도가 높았음.

	경기도	전북	전남	충남	경북	충북	경남	세종시	전체
농장수	15	15	13	8	6	4	4	1	66
빈도(%)	22.7	22.7	19.7	12.1	9.1	6.1	6.1	1.5	100.0

- 예년처럼 음용수 다소비 가금품종(오리 및 산란계)에서 빈발하였음. 오리는 육계대비 음용수 월 등히 많이 소비하고, 산란계의 경우 다수밀집 사육하므로 음용수 다소비 농장에 해당하며 주변 지표/지하수 유인 월점으로 작용할 수 있음. 그러나 주변에 지하수 다소비 비가금 시설(공장, 대규모 축산농장, 시설농업단지 등)이 있는 경우도 고려해야함.

	닭			오리		기타		전체
	산란계	종계	육계	삼계	육용오리	종오리	메추리 거위	
농장수	22	3	1	1	26	9	2 1	66
빈도(%)	33.3	4.5	1.5	1.5	39.4	13.6	4.5 1.5	100.0



## 2. 개선사항/핵심전략/실천과제

- 전국 가금농장 음용수 관리실태 조사
  - 관정 깊이, 물탱크 유무, 용량(만수위 급수일수), 소독방법 조사
  - 현장 확인 필요하며 참여 여부에 따라 HPAI 발생 시 보상율과 연계하여 정확한 조사 필수
- 전국 가금농장 음용수 관리 실태에 따른 고위험 농장 분류
  - 고위험 가금농장: 충분한 용량의 물탱크가 없는 가금농장(직수사용 농장)
  - 초고위험 가금농장: 고위험 가금농장 중 주변에 지하수 다소비 시설(예: 대형 양돈/축우농장, 저심도 관정 사용 시설농업단지/공장 등)이 있는 가금농장(주변 지하수가 해당지역으로 흘러들어 HPAI 바이러스 유입 위험성 증대)
- 가금 음용수 관리 선진화 사업
  - 물탱크 지원사업: 충분한 소독효과를 낼 수 있는 최소 용량의 물탱크를 확보할 수 있도록 지원
  - 고심도 관정 개발 지원: 대규모 농장의 경우 개발 비용이 높지만 비교적 안전한 고심도 관정(예: 100m 이상, 지질에 따라 다름)으로 대체 지원
  - 음용수 소독 교육/지도
  - 지하수 관련 전문가 자문
- 선제적인 고위험 가금농장 관리 및 정교한 위험경보 방안
  - 철새 바이러스 오염도와 지역 별 강수/강설량에 따라 상기에서 분류한 고위험/초고위험 가금농장에 대해 선제적인 모니터링 실시

## 협동연구기관(강원대학교: HPAI 발생능가의 질병전파 위험도 평가)

### 1. HPAI 발생능가 질병전파 위험성 평가서 개발

- MaxEnt 모형을 이용한 위험요인 분석
  
- 구제역 혹은 고병원성 조류인플루엔자와 같은 재난형 가축전염병의 발생을 예방하고, 질병 발생으로 인한 사회적/경제적 피해를 최소화하기 위해서는 효율적인 방역정책 수립이 필수이다. 효율적인 방역정책 수립을 위해서는 가장 먼저 방역정책의 근거가 되는 각종 데이터(가축사육동향, 축산시설, 차량이동 등)가 정확한 형태로 보관 및 수집되어야 한다. 국내에서는 ‘가축질병 발생의 사전 예방 및 발생시 확산 방지를 위해 최신 정보통신기술(ICT)을 활용하여 동물질병 및 가축방역정보 통합 관리’라는 취지 하에 국가가축방역통합시스템(Korea Animal Health Integrated System, KAHIS)를 2003년부터 운용중에 있다. KAHIS는 축산농장, 축산시설 및 차량이동정보 등과 같은 정보를 수집하고 제공하는 것이 그 목적이므로 이러한 데이터를 바탕으로 효율적인 방역정책 수립에 활용할 수 있는 분석방안이 요구된다.
  
- 데이터 수집에 막대한 비용이 소요되거나 혹은 해당 데이터의 수집이 현실적으로 불가능한 경우 통계 모형(statistical modelling)을 이용할 수 있다. 많은 통계 모형 중 본 연구에서는 종 분포 모형(species distribution model, SDM)을 이용하고자 한다. SDM은 환경생태학 등에서 특정 종의 존재여부를 알고자 할 때 사용하는 것으로, 해당 종이 존재하는 지역의 고도, 기온 등과 같은 요인들을 가지고 그와 유사한 조건인 지역 내 해당 종이 존재할 가능성을 추정한다. 이러한 SDM의 기본 원리를 가축 질병에 활용하는 방안은 기존 질병의 발생 정보를 바탕으로 질병 발생 지역의 예측요인(predictors)을 설정하여 해당 데이터를 수집한 후 모형을 구축하여 이를 질병 비발생 지역에 적용하여 질병 발생 가능성을 추정하는 방식이다.
  
- 가축 질병 예측 모형 관련 기존의 방식은 층화 회귀모형(stratified regression)을 기본으로 하는 로지스틱 회귀모형(logistic regression model) 등이 주류를 이루었다. 그러나 최근에는 빅데이터 분석법의 일환인 기계학습(machine learning)을 이용하여 가축 질병 관련 데이터 분석이 이루어지고 있다. 예로, Gridded Livestock of the World(GLW) 프로젝트의 경우 가축 센서스 데이터를 이용하여 반경 1km<sup>2</sup> 이내 소, 물소, 양, 돼지 혹은 조류의 분포를 랜덤 포레스트(random forests) 기법을 이용하여 추정하기도 하였으며, 이는 구제역이나 고병원성 조류인플루엔자 확산 예측 모형에 활용되기도 하였다.
  
- 가축 질병 예측 모형 관련 기계학습은 예측 요인 간 상호작용(interaction) 효과 정도를 고려할 수 있으며, 데이터가 조금은 부정확한 경우(noisy)에도 활용할 수 있는 장점이 있다. 또한 최근

컴퓨터의 계산 능력이 발달함에 따라 환경 변수와 같은 빅데이터를 예측 요인으로 포함한 가축 질병 예측 모형을 구축할 수도 있다. 앞서 언급한 바와 같이 국내에서는 2003년부터 KAHIS를 이용하여 가축시설은 물론 차량이동정보를 수집해오고 있으며, 이러한 빅데이터를 활용한 가축 질병 발생 관련 위험요인 추정법의 필요성이 대두되고 있다.

- 기계 학습을 이용한 SDM 중 본 연구에서는 MaxEnt모형을 이용하였다. MaxEnt모형은 maximum-entropy의 약자로 entropy가 최대가 되는 분포를 기반으로 우리가 알고자 하는 특정 분포를 추정하는 분석방법을 의미한다. 가축 질병 위험요인 추정과 관련하여 MaxEnt모형은 질병 발생 지역 내 예측 요인에 관한 정보를 표본으로 한 뒤 전 지역을 대상으로 질병 발생 가능성 및 예측 요인별 기여정도를 추정한다. 본 연구에서는 2015년 전국 시군별 구제역 발생과 차량이동빈도수 간 관계를 SDM 중 MaxEnt모형을 이용하여 추정하였다.

## 1. 분석에 사용한 데이터

- 2014년 고병원성 조류인플루엔자 발생자료를 KAHIS 및 농림축산검역본부의 자료협조를 통해 수집하여, 각 시군별 구제역 발생농가수와 발생유무를 분석에 사용하였다. '16/'17년 고병원성 조류인플루엔자 역학조사보고서에 기록된 2014년 고병원성 조류인플루엔자 발생상황을 살펴보면, 1차 발생기간은 2014. 1. 16. ~ 2014. 7. 29. 총 194일간 발생한 것으로 조사되었으며, 2차 발생은 2014. 9. 24. ~ 2015. 6. 10. 총 261일 것으로 나타났다. 1차 발생건수는 212건으로 닭 44건, 오리 158건 및 기타 9건으로 나타났으며 2차 발생건수는 162건으로 닭 40건, 오리 115건 및 기타 7건으로 나타났다. 발생시군을 살펴보면 13개 시/도의 59개 시군에서 발생이 보고되었다. 본 연구에서는 2014년도에 발생한 고병원성 조류인플루엔자 발생시군을 발생을 대상으로 분석을 실시하였다.
- 2014년 전국 시군별 차량이동정보를 KAHIS로부터 수집하여 분석에 사용하였다. 각 시군별 차량이동정보는 출하, 사료 및 분뇨처리 등 축산과 가금 관련 모든 차량의 이동으로 선정하였다. KAHIS에 수집되는 차량이동정보는 해당 차량의 출발지와 도착지를 통해 수집되므로, 차량 이동형태를 세 가지로 분류하였다. 첫째, 해당 시군 내에서의 이동형태로 이는 축산차량 출발지와 도착지가 모두 해당 시군내에서만 이루어진 경우이다(변수명: Within). 둘째, 특정 시군에서 타 시군으로 이동이 이루어진 형태이다(변수명: Outbound). 이는 특정 시군에서 출발이 이루어진 모든 형태의 이동을 의미한다. 마지막으로 타 시군에서 특정 시군으로 이동이 이루어진 형태이다(변수명: Inbound). 이는 타 시군에서 출발이 이루어져 특정 시군으로 도착이 이루어진 형태의 이동을 의미한다.

## 2. 분석방법

- 2014년 전국 시군별 고병원성 조류인플루엔자 발생상황과 차량이동 형태에 따른 빈도수 간 관계 파악을 위한 MaxEnt모형은 통계소프트웨어 R(R Development Core Team 2006, version 3.5.0)과 SDM 패키지인 'SDMPlay'를 비롯하여, 공간분석을 실시할 수 있는 'raster' 및 'SDMPlay'를 위한 'rJava'를 사용하였다.
- 차량이동 형태에 따른 빈도수는 로그변환(log transformation)하여 분석에 활용하였으며, 전국 시군의 위도 및 경도를 바탕으로 해당 정보를 래스터(raster)화 하여 분석에 사용하였다.
- 2014년 고병원성 조류인플루엔자 발생상황과 차량이동 형태에 따른 빈도수 간 관계 분석을 위한 MaxEnt 모형에서 종속변수는 전국 시군별 구제역 발생건수로 설정하였고 독립변수는 시군 내 차량이동 빈도수(Within), 시군에서 타 시군으로 차량이동 빈도수(Outbound), 타 시군에서 해당 시군으로 차량이동 빈도수(Inbound) 및 시군 내 가금농가수(nfarmTot)로 설정하였다. 시군 내 가금사육수수는 가금농가수 변수와의 중복성을 피하기 위해 모형에 사용하지 않았다.

```
## Using a HPAI example
hpa_i_2014 <- read.table("HPAI_train_2014.csv", head=TRUE, sep=",")

hpa_i_2014$within <- log(hpa_i_2014$within)
hpa_i_2014$within[is.infinite(hpa_i_2014$within)] <- 0

hpa_i_2014$outbound <- log(hpa_i_2014$outbound)
hpa_i_2014$outbound[is.infinite(hpa_i_2014$outbound)] <- 0

hpa_i_2014$inbound <- log(hpa_i_2014$inbound)
hpa_i_2014$inbound[is.infinite(hpa_i_2014$inbound)] <- 0

head(hpa_i_2014)

x <- raster(xmn=124, xmx=131, ymn=33, ymx=39, res=0.1, crs="+proj=longlat +datum=WGS84")

hpa_i_predictors <- rasterize(hpa_i_2014[, c('lon', 'lat')], x, hpa_i_2014[, c(7, 10:12)], fun=mean)
hpa_i_predictors <- stack(hpa_i_predictors)

plot(hpa_i_predictors)
names(hpa_i_predictors)

hpa_i_2014_presence <- read.table("HPAI_presence_2014.csv", head=TRUE, sep=",")
hpa_i_2014_presence <- hpa_i_2014_presence[, 2:3]

hpa_i_2014_table <- SDMPlay::SDMtab(xydata=hpa_i_2014_presence, predictors=hpa_i_predictors, unique)

hpa_i_maxent <- SDMPlay::compute_maxent(x=hpa_i_2014_table, proj_predictors=hpa_i_predictors)
```

그림 2-2-3-1. 2014년 고병원성 조류인플루엔자 발생상황과 차량이동 형태에 따른 빈도수 간 관계 분석을 위한 MaxEnt모형 코드

## 3. 분석 결과

- 2014년 고병원성 조류인플루엔자 발생상황과 차량이동 형태에 따른 빈도수 간 관계 분석을 위한 MaxEnt 모형의 receiver operating characteristic(ROC) 커브의 AUC는 0.639인 것으로 나타났다. 각 변수별 기여도를 살펴보면 시군 내 가금농가수가 43.1%로 가장 높았으며, 로그변환

한 시군에서 타 시군으로 차량이동 빈도수 29.3%, 로그변환한 타 시군에서 해당 시군으로 차량이동 빈도수 16.6% 그리고 로그변환한 시군 내 차량이동 빈도수 11.0%인 것으로 나타났다.

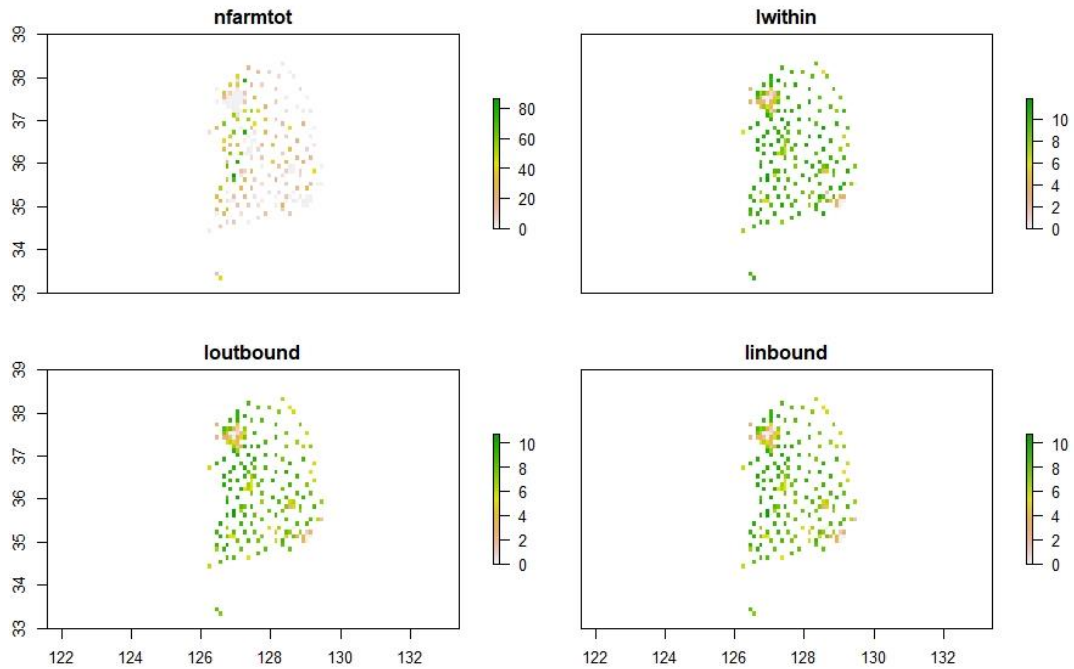


그림 2-2-3-2. 2014년 고병원성 조류인플루엔자 발생상황과 차량이동 형태에 따른 빈도수 간 관계 분석을 위한 MaxEnt 모형 내 변수 분포(nfarmtot: 시군별 가금농가수, lwithin: 로그변환한 시군 내 차량이동 빈도수, loutbound: 로그변환한 시군에서 타 시군으로 차량이동 빈도수, linbound: 로그변환한 타 시군에서 해당 시군으로 차량이동 빈도수)

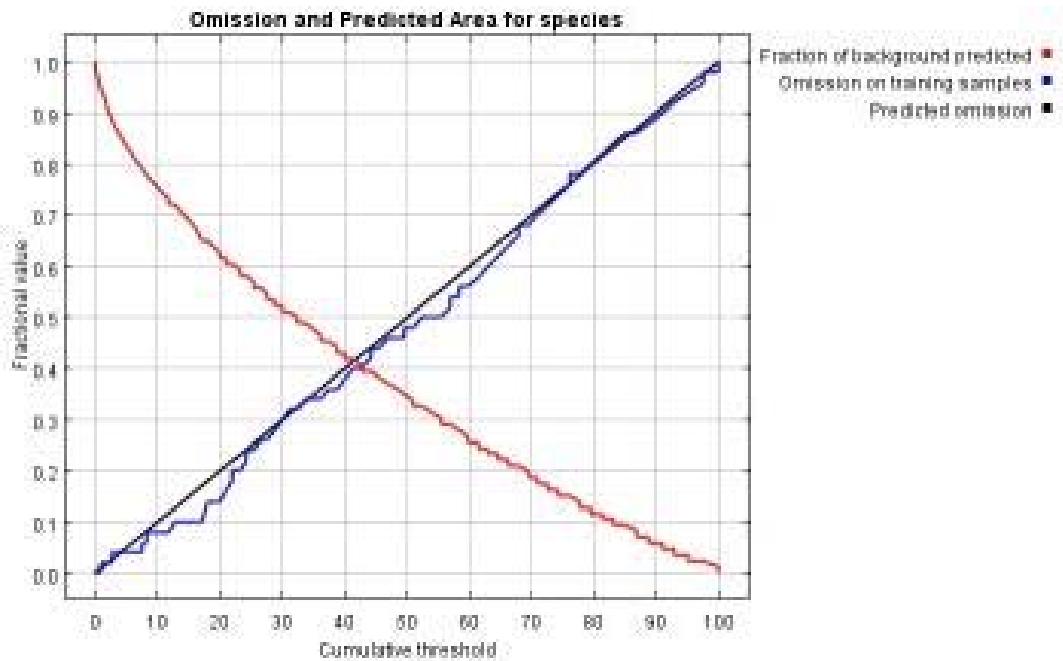


그림 2-2-3-3. 2014년 고병원성 조류인플루엔자 발생상황과 차량이동 형태에 따른 빈도수 간 관계 분석을 위한 MaxEnt 모형의 누적 역치(cumulative threshold)

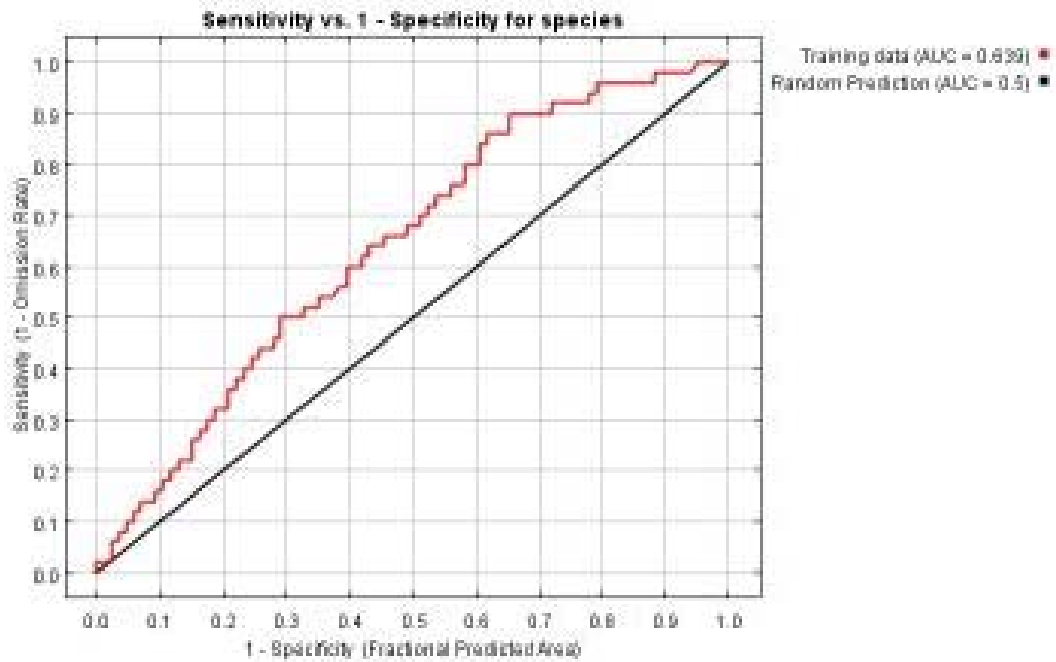


그림 2-2-3-4. 2014년 고병원성 조류인플루엔자 발생상황과 차량이동 형태에 따른 빈도수 간 관계 분석을 위한 MaxEnt 모형의 receiver operating characteristic(ROC) 커브

표 2-2-3-1. 2014년 고병원성 조류인플루엔자 발생상황과 차량이동 형태에 따른 빈도수 간 관계 분석을 위한 MaxEnt 모형의 percent contribution 및 permutation importance

Variable	Percent contribution	Permutation importance
<b>nfarmtot</b>	<b>43.1</b>	<b>0</b>
<b>loutbound</b>	<b>29.3</b>	<b>0</b>
<b>linbound</b>	<b>16.6</b>	<b>100</b>
<b>lwithin</b>	<b>11.0</b>	<b>0</b>

#: nfarmtot: 시군별 가금농가수, lwithin: 로그변환한 시군 내 차량이동 빈도수, loutbound: 로그변환한 시군에서 타 시군으로 차량이동 빈도수, linbound: 로그변환한 타 시군에서 해당 시군으로 차량이동 빈도수



그림 2-2-3-5. 2014년 고병원성 조류인플루엔자 발생상황과 차량이동 형태에 따른 빈도수 간 관계 분석을 위한 MaxEnt 모형의 Jackknife 테스트 결과(nfarmtot: 시군별 가금농가수, lwithin: 로그변환한 시군 내 차량이동 빈도수, loutbound: 로그변환한 시군에서 타 시군으로 차량이동 빈도수, linbound: 로그변환한 타 시군에서 해당 시군으로 차량이동 빈도수)

## 2. 사례-대조군 연구를 통한 발생/전파 위험 추정 및 차량이동정보 시각화

### 1. 사례-대조군 연구 데이터

○ 본 사례-대조군 연구를 통한 확산위험 요인분석은 2016/17 국내 가금농가 고병원성 조류인플루엔자 발생자료를 기반으로 수행하였다. H5N6형의 경우 2016년 11월 16일 전남 해남 산란계 농장에서 첫 신고 후 2017년 3월 3일 경기 고양 토종닭 농장까지 107일 동안 총 343건이 발생하였다. H5N8형의 경우 2017년 2월 6일 전북 김제 산란계 농장에서 첫 신고 후 2017년 4월 4일 충남 논산 기러기 농장까지 57일 동안 총 40건이 발생하였으며, 2017년 6월 2일 제주 토종닭 농장에서 첫 신고 후 2017년 6월 19일 대구 토종닭 농장까지 17일 동안 총 36건이 발생하였다.

표 2-2-3-2. 2016/17 국내 고병원성 조류인플루엔자 발생 현황

구분	닭				오리			기타				계
	산란계	토종닭	총계	육계	육용 오리	종오리	산란 오리	메추리	혼합 사육	기러기	관상 조류	
신고	53	14	9	2	38	20	1	1	2	-	1	141
예방 살처분	95	10	8	6	66	11	0	6	-	-	-	202
계	148	24	17	8	104	31	1	7	2	-	1	343

출처: '16/17년 고병원성 조류인플루엔자 역학조사 분석보고서, 농림축산검역본부

○ 본 사례-대조군 연구를 통한 확산위험 요인분석에서 종속변수는 고병원성 조류인플루엔자 발생/비발생 농가이며, 독립변수는 해당 농가의 차단방역조치 여부이다. 각 농가의 차단방역조치 여부는 2016/17년 가축위생방역지원본부에서 실시한 가금농가 차단방역조치 실태조사 결과자료를 바



탕으로 발생 150 농가 및 비발생 150농가에 대한 정보를 수집하였다. 차단방역조치는 차단막 설치 여부, 출입통제시설 설치여부, 출입통제안내판 설치여부, 발판소독조 개수, 전실 개수, 농장 입구 U자형 스프레이 설치여부, 농장 입부 터널형 스프레이 설치여부, 농장 입구 고압분무기 설치여부, 농장 입구 출입자소독기 설치여부, 농장 내부 고압분무기 설치여부, 농장 내부 일반분무기 설치여부 등 총 11가지 항목을 대상으로 분석을 실시하였다.

## 2. 사례-대조군 연구 방법

○ 본 사례-대조군 연구를 통한 위험요인 분석은 로지스틱 회귀모형을 이용하여 수행하였으며 해당 모형을 다음과 같다.

$$P(Y=1|X) = \frac{1}{1 + e^{-(\beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots + \beta_n X_n)}}$$

○ 본 모형에서  $\beta_0$ 와  $\beta_n$ 은 모형의 회귀계수이고  $X$ 는 독립변수이며 종속변수는 고병원성 조류인플루엔자 발생유무이다. 분석의 첫 단계에서는 관찰 자료에 대한 누락값과 변동성이 적은 변수를 확인하여 추가 분석에서 제외할 변수를 확인하고자 모든 종속변수에 대해 독립변수와의 2 x 2 표를 작성하였다. 연속형 변수의 선형성(linearity)은 일반화가법모형(generalized additive model)을 통해 특정 구간에서 관측치의 변동이 나타날 경우 해당 구간을 기준으로 하여 종속변수를 범주형으로 구분한 후 변수로 모형에 투입하였다. 이러한 검증과정을 거친 후 로지스틱 회귀분석을 이용한 단변량 분석(univariate analysis)에서 유의수준(P-value)이 0.25 보다 작은 변수를 선정하여 최종 다변량 분석(multivariate analysis)에 투입하였다. 최종모형은 먼저 단계적투입법(stepwise)을 이용하였으며 유의성은 AIC(Akaike information criterion)의 변화를 가지고 판정하였다. 모든 자료는 통계소프트웨어 R(R Core Team, 2020)과 분석패키지 gam을 사용하여 분석하였다.

## 3. 사례-대조군 연구 결과

○ 본 사례-대조군 연구에 사용한 로지스틱 회귀모형은 2016/17 고병원성 조류인플루엔자 발생 150 농가 그리고 비발생 150 농가를 바탕으로 구축되었다. 각 농가에 대한 차단방역조치 현황 중 이산형 변수인 발판소독조 개수와 전실 개수에 대한 일반화가법모형 결과 특정 구간에서의 변동이 나타나지 않아(그림 2-2-3-6) 중앙값을 기준으로 이분형 변수로 변환하였다. 2016/17 고병원성

조류인플루엔자 발생유무와 차단방역조치 현황은 표 2-2-3-3 ~ 표 2-2-3-13과 같다.

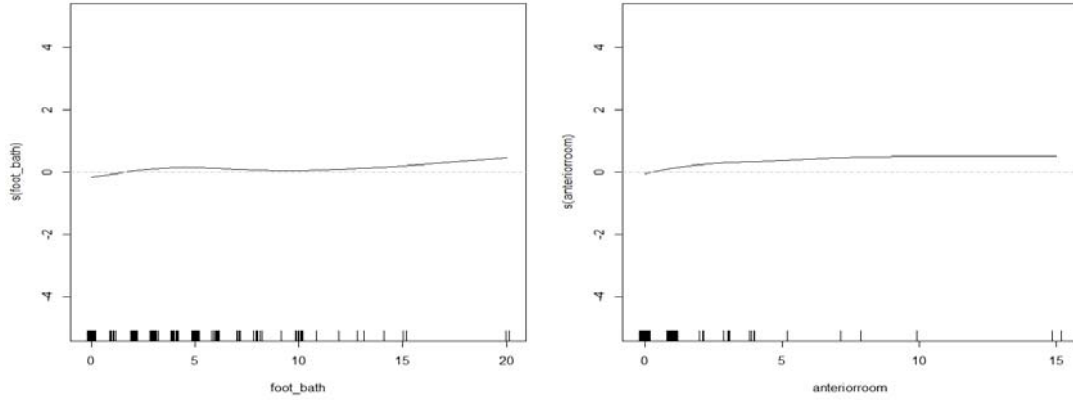


그림 2-2-3-6. 2016/17 고병원성 조류인플루엔자 발생유무와 농장 내 발판소독조 개수(좌) 및 전실 개수(우) 간 일반화가법모형 분석 결과 시각화

표 2-2-3-3. 2016/17 고병원성 조류인플루엔자 발생유무별 차단막 설치여부 빈도수

단위: 농가수(%)

	설치	미설치	무응답	계
비발생	129(43.0)	21(7.0)	0(0.0)	150(50.0)
발생	59(19.7)	52(17.3)	39(13.0)	150(50.0)
계	188(62.7)	73(24.3)	39(13.0)	300(100.0)

표 2-2-3-4. 2016/17 고병원성 조류인플루엔자 발생유무별 출입통제시설 설치여부 빈도수

단위: 농가수(%)

	설치	미설치	무응답	계
비발생	135(45.0)	15(5.0)	0(0.0)	150(50.0)
발생	52(17.3)	59(19.7)	39(13.0)	150(50.0)
계	187(62.3)	74(24.7)	39(13.0)	300(100.0)

표 2-2-3-5. 2016/17 고병원성 조류인플루엔자 발생유무별 출입통제안내판 설치여부 빈도수

단위: 농가수(%)

	설치	미설치	무응답	계
비발생	150(50.0)	0(0.0)	0(0.0)	150(50.0)
발생	42(14.0)	69(23.0)	39(13.0)	150(50.0)
계	192(64.0)	69(23.0)	39(13.0)	300(100.0)

표 2-2-3-6. 2016/17 고병원성 조류인플루엔자 발생유무별 발판소독조 개수 빈도수

단위: 농가수(%)

	3개 이상	3개 미만	무응답	계
비발생	94(31.3)	56(18.7)	0(0.0)	150(50.0)
발생	54(18.0)	96(32.0)	0(0.0)	150(50.0)
계	148(49.3)	152(50.7)	0(0.0)	300(100.0)

표 2-2-3-7. 2016/17 고병원성 조류인플루엔자 발생유무별 전실 개수 빈도수

단위: 농가수(%)

	1개 이상	1개 미만	무응답	계
비발생	137(45.7)	13(4.3)	0(0.0)	150(50.0)
발생	114(38.0)	36(12.0)	0(0.0)	150(50.0)
계	251(83.7)	49(16.3)	0(0.0)	300(100.0)

표 2-2-3-8. 2016/17 고병원성 조류인플루엔자 발생유무별 농장입구 U자형 스프레이 설치여부 빈도수

단위: 농가수(%)

	설치	미설치	무응답	계
비발생	68(22.7)	82(27.3)	0(0.0)	150(50.0)
발생	53(17.7)	97(32.3)	0(0.0)	150(50.0)
계	121(40.3)	179(59.7)	0(0.0)	300(100.0)

표 2-2-3-9. 2016/17 고병원성 조류인플루엔자 발생유무별 농장입구 터널형 스프레이 설치여부 빈도수

단위: 농가수(%)

	설치	미설치	무응답	계
비발생	145(48.3)	5(1.7)	0(0.0)	150(50.0)
발생	122(40.7)	28(9.3)	0(0.0)	150(50.0)
계	267(89.0)	33(11.0)	0(0.0)	300(100.0)

표 2-2-3-10. 2016/17 고병원성 조류인플루엔자 발생유무별 농장입구 고압분무기 설치여부 빈도수

단위: 농가수(%)

	설치	미설치	무응답	계
비발생	107(35.7)	43(14.3)	0(0.0)	150(50.0)
발생	91(30.3)	59(19.7)	0(0.0)	150(50.0)
계	198(66.0)	102(34.0)	0(0.0)	300(100.0)

표 2-2-3-11. 2016/17 고병원성 조류인플루엔자 발생유무별 농장입구 출입자 소독기 설치여부 빈도수

단위: 농가수(%)

	설치	미설치	무응답	계
비발생	122(40.7)	28(9.3)	0(0.0)	150(50.0)
발생	90(30.0)	60(20.0)	0(0.0)	150(50.0)
계	212(70.7)	88(29.3)	0(0.0)	300(100.0)

표 2-2-3-12. 2016/17 고병원성 조류인플루엔자 발생유무별 농장내부 고압분무기 설치여부 빈도수

단위: 농가수(%)

	설치	미설치	무응답	계
비발생	59(19.7)	91(30.3)	0(0.0)	150(50.0)
발생	33(11.0)	117(39.0)	0(0.0)	150(50.0)
계	92(30.7)	208(69.3)	0(0.0)	300(100.0)

표 2-2-3-13. 2016/17 고병원성 조류인플루엔자 발생유무별 농장내부 일반분무기 설치여부 빈도수

단위: 농가수(%)

	설치	미설치	무응답	계
비발생	121(40.3)	29(9.7)	0(0.0)	150(50.0)
발생	104(34.7)	46(15.3)	0(0.0)	150(50.0)
계	225(75.0)	75(25.0)	0(0.0)	300(100.0)

○ 2016/17 고병원성 조류인플루엔자 발생유무별 각 차단방역조치 여부에 대한 단변량분석 결과 모든 차단방역조치(차단막 설치여부, 출입통제시설 설치여부, 출입통제안내판 설치여부, 발판소독조 개수, 전실 개수, 농장 입구 U자형 스프레이 설치여부, 농장 입부 터널형 스프레이 설치여부, 농장 입구 고압분무기 설치여부, 농장 입구 출입자소독기 설치여부, 농장 내부 고압분무기 설치여부, 농장 내부 일반분무기 설치여부)가 통계적으로 유의한 것으로 나타나 모두 다변량 모형에 투입하였다.

표 2-2-3-14. 2016/17 고병원성 조류인플루엔자 발생유무와 차단막 설치여부 간 단변량 분석 결과

	계수추정치	표준오차	t-value	p-value	AIC
절편	0.313	0.033	9.300	<0.001	342.35
차단막	0.398	0.063	6.246	<0.001	

표 2-2-3-15. 2016/17 고병원성 조류인플루엔자 발생유무와 출입통제시설 설치여부 간 단변량 분석 결과

	계수추정치	표준오차	t-value	p-value	AIC
절편	0.278	0.031	8.698	<0.001	312.76
출입통제시설	0.519	0.060	8.648	<0.001	

표 2-2-3-16. 2016/17 고병원성 조류인플루엔자 발생유무와 출입통제안내판 설치여부 간 단변량 분석 결과

	계수추정치	표준오차	t-value	p-value	AIC
절편	0.218	0.025	8.516	<0.001	205.45
출입통제 안내판	0.781	0.049	15.638	<0.001	

표 2-2-3-17. 2016/17 고병원성 조류인플루엔자 발생유무와 발판소독조 개수 간 단변량 분석 결과

	계수추정치	표준오차	t-value	p-value	AIC
절편	0.364	0.039	9.180	<0.001	419.34
발판소독조	0.266	0.055	4.777	<0.001	

표 2-2-3-18. 2016/17 고병원성 조류인플루엔자 발생유무와 전실 개수 간 단변량 분석 결과

	계수추정치	표준오차	t-value	p-value	AIC
절편	0.454	0.030	14.660	<0.001	428.29
전실	0.280	0.076	3.660	<0.001	

표 2-2-3-19. 2016/17 고병원성 조류인플루엔자 발생유무와 농장입구 U자형 스프레이 설치여부 간 단변량 분석 결과

	계수추정치	표준오차	t-value	p-value	AIC
절편	0.438	0.045	9.654	<0.001	438.34
U자형 스프레이	0.103	0.058	1.769	0.078	

표 2-2-3-20. 2016/17 고병원성 조류인플루엔자 발생유무와 농장입구 터널형 스프레이 설치여부 간 단변량 분석 결과

	계수추정치	표준오차	t-value	p-value	AIC
절편	0.456	0.029	15.351	<0.001	422.90
터널형 스프레이	0.391	0.089	4.363	<0.001	

표 2-2-3-21. 2016/17 고병원성 조류인플루엔자 발생유무와 농장입구 고압분무기 설치여부 간 단변량 분석 결과

	계수추정치	표준오차	t-value	p-value	AIC
절편	0.459	0.035	12.973	<0.001	437.65
농장입구 고압분무기	0.118	0.060	1.956	0.051	

표 2-2-3-22. 2016/17 고병원성 조류인플루엔자 발생유무와 농장입구 출입자소독기 설치여부 간 단변량 분석 결과

	계수추정치	표준오차	t-value	p-value	AIC
절편	0.424	0.033	12.670	<0.001	424.54
농장입구 출입자소독기	0.257	0.061	4.160	<0.001	

표 2-2-3-23. 2016/17 고병원성 조류인플루엔자 발생유무와 농장내부 고압분무기 설치여부 간 단변량 분석 결과

	계수추정치	표준오차	t-value	p-value	AIC
절편	0.358	0.051	6.982	<0.001	430.69
농장내부 고압분무기	0.203	0.061	3.303	<0.001	

표 2-2-3-24. 2016/17 고병원성 조류인플루엔자 발생유무와 농장내부 일반분무기 설치여부 간 단변량 분석 결과

	계수추정치	표준오차	t-value	p-value	AIC
절편	0.462	0.033	13.940	<0.001	436.29
농장내부 일반분무기	0.151	0.066	2.279	0.023	

○ 2016/17 고병원성 조류인플루엔자 발생유무별 각 차단방역조치 여부에 대한 다변량분석 결과 출입통제안내판, 발판소독조 및 농장입구 출입자소독기 등이 통계적으로 유의한 차단방역조치 변수인 것으로 나타났다. 해당 변수에 대한 교차비(odds ratio)를 산출한 결과 통계적으로 유의한 차단방역조치별 교차비는 출입통제안내판 0.43, 발판소독조 0.89, 그리고 농장입구 출입자소독기 0.88인 것으로 조사되었다(표 2-2-3-25).

○ 2016/17 고병원성 조류인플루엔자 발생유무별 각 차단방역조치 여부에 대한 다변량모형의 AIC는 200.8로 각 단변량 모형의 값보다 상대적으로 작으므로 본 모형은 적합한 것으로 나타났다.

표 2-2-3-25. 2016/17 고병원성 조류인플루엔자 발생유무와 차단방역조치 간 다변량 분석 결과

	계수추정치	표준오차	t-value	p-value	교차비	AIC
절편	0.123	0.047	2.573	0.010	1.13	200.8
차단막	-0.061	0.060	-1.025	0.306	0.93	
출입통제시설	-0.059	0.070	-0.844	0.399	0.94	
출입통제안내판	-0.837	0.076	10.973	<0.001*	0.43	
발판소독조	-0.115	0.049	2.315	0.021*	0.89	
전실	-0.039	0.070	-0.560	0.576	0.96	
농장입구	0.026	0.051	0.523	0.601	1.02	
U자형 스프레이 농장입구	-0.066	0.092	-0.719	0.472	0.93	
터널형 스프레이 농장입구	0.049	0.047	1.037	0.300	1.05	
고압분무기 농장입구	-0.123	0.055	2.246	0.025*	0.88	
출입자소독기 농장내부	-0.020	0.051	-0.400	0.689	0.97	
고압분무기 농장내부	0.070	0.051	1.371	0.171	1.07	
일반분무기						

### 3. 위험성 평가서 개발

#### 1. 차단방역조치별 가중치 추정

○ 위험성 평가서 개발을 위해 차단방역조치별 가중치를 추정하였다. 차단방역조치별 가중치는 Boosted regression tress(BRT) 기법을 이용해 각 조치별 상대적 위험도를 계산하여 이를 해당 조치의 가중치로 추정하였다. BRT 기법은 기존의 회귀모형(regression model)이 단 하나의 가장 적합한 모형을 찾는 것에 중점을 두는 데 비해 비교적 단순한 형태의 결정트리(decision tree)를 다수 반복함으로써 예측능력(predictive performance)을 향상시키는 것을 목표로 한다. BRT는 regression tress(decision trees)을 boosting하여 분석을 실시한다. 우선, regression tree에 대해 간략히 살펴보면 다음과 같다. Regression tree 혹은 decision tree는 유사한 결과를 나타내는 예측요인을 찾기 위한 모형을 말한다. 예로, 그림 3-1에서 예측요인  $X_1$ ,  $X_2$ 는 기온 혹은 강수량이라고 하고 결과인  $Y$ 는 특정 종(species)의 평균 체중이라 하자. 이 때  $Y_1$ ,  $Y_2$  등은 terminal nodes 혹은 leaves가 되며  $t_1$ ,  $t_2$  등은 split point가 된다. 예측요인과 split points는 예측오차(predictor errors)를 최소화하는 방향으로 선택하며, tree가 증가한다는 것은 이분형(binary) split이 많아짐을 의미한다. Decision tree에서 예측요인은 numeric, binary, categorical 등 어느 형태의 데이터도 사용이 가능하다는 장점이 있으며, 모형의 결과는 예측요인 간 단위가 다른 경우에도 영향을 받지 않는다. 또한 데이터



의 이상치(outlier) 등에 의한 영향도 적게 받으며, 데이터 내 결측치(missing value)가 있는 경우에도 tree 간 surrogate 기법을 통해 보완이 가능하다.

○ 다음으로, boosting에 대해 간략하게 살펴보면 다음과 같다. Boosting은 모형의 정확도(accuracy)를 높이기 위한 방법으로 단 하나의 예측규칙(prediction rule)을 이용하는 것보다 개별 정확도는 떨어지더라도 다수의 규칙을 이용한 평균치를 이용하는 것을 말한다. Boosting은 training 데이터에 반복적으로 모형을 적용함으로써 적합도를 증가시킨다. 이 boosting 기법을 regression에 적용할 때 'functional gradient descent' 형태를 취한다. Training 데이터에 반복적으로 모형을 적용하게 하면 예측능력이 감소될 수 있는데 boosting 기법에서는 각 적용 시에 새로운 tree를 추가함으로써 function의 손실을 최소화한다. BRT에서 첫 regression tree는 tree 크기와 function 손실을 고려하여 설정한다. Boosting 과정에서 두 번째 단계는 첫 regression tree의 잔차(residuals)를 가지고 tree를 구성하게 되며 따라서 첫 regression tree와는 사뭇 다른 변수와 split point를 가진다. 위 두 단계를 거치며 모형은 두 개의 tree와 이 tree들의 잔차를 가지게 된다. 이러한 과정을 stagewise라고 하며 이는 이전 단계에서 행해진 변화는 그대로 둔 채 다음 단계에서 새로운 tree 등을 추가함으로써 모형의 크기를 증가시키는 것을 의미한다. 이 stagewise 과정을 반복하여 최종 BRT 모형은 다수(보통 수백에서 수천 개)의 tree가 선형으로 조합된 형태(linear combination)를 띄게 된다.

○ BRT 모형의 몇 가지 특징을 살펴보면 다음과 같다. 첫째, BRT 모형은 확률론적(stochastic) 과정이므로 boosting 과정에서 새로운 tree를 추가할 때 데이터 내 무작위 subset을 이용하게 되는데 이는 최종모형의 분산을 감소시켜 예측능력을 증가시킬 수 있다. 둘째, BRT 모형은 일련의 모형 적용과정(sequential model-fitting)을 거치기 때문에 예측을 위한 주요 관측치에 중점을 둘 수 있다. 셋째, BRT 모형은 learning rate(lr)와 tree complexity(tc) 두 가지 주요 모수를 제공한다. BRT 모형에서 lr은 각 tree가 최종모형 구축에 기여하는 정도를 나타내는 것이며 tc는 tree 간 교란작용(interaction)이 최종모형에 미치는 영향을 조절하는 요인이다. 이 두 요인(lr, tc)에 의해 예측을 위해 필요한 tree의 수(number of trees, nt)가 결정된다. BRT 모형에서는 이 세 요인(lr, tc, nt)을 조정하여 모형의 과적합(overfitting)을 예방한다. 마지막으로 BRT 모형의 분석방법이나 결과는 직관적이다. 이러한 BRT 모형의 특성을 고려한 결과 질병발생과 관련이 있는 요인을 추정하는 데 적절할 것으로 사료된다. 따라서 본 연구에서는 BRT 모형을 활용하여 2016/17년 조류인플루엔자 발생/비발생 농가 대상 차단방역조치별 상대적 기여도를 추정하여 이를 해당 조치에 대한 가중치로 추정하였다.

## 2. 연구 데이터

○ 본 위험성 평가서 개발을 위한 차단방역조치별 가중치 추정은 앞서 살펴본 ‘사레-대조군 연구를 통한 확산요인 위험분석’과 동일한 데이터인 2016/17년 고병원성 조류인플루엔자 발생/비발생 농가의 차단방역수준 자료를 활용하였다.

표 2-2-3-26. 2016/17년 고병원성 조류인플루엔자 발생/비발생 농가별 차단방역조치 현황 예시

ID	foot occur	foot - bath	anterior_ room	gate_U_ shape_spray	gate_ternal_ shape_spray	gate_high_ pressure_ washer	gate_ washstation	inside_high_ pressure_ washer	inside_ backpack_ sprayer	bird_ proof	access_ control	signage
1	1	0	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0
2	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1
3	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1
4	1	0	0	1	0	0	0	1	0	n.a.	n.a.	n.a.
5	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1
8	1	0	0	1	0	0	0	0	0	n.a.	n.a.	n.a.
9	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	1
10	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
11	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1
12	1	0	1	0	1	0	0	1	0	n.a.	n.a.	n.a.
13	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	1
14	1	0	0	0	1	0	0	1	0	n.a.	n.a.	n.a.
15	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1
16	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1
17	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1
18	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
19	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1
20	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
21	1	0	0	1	0	0	0	1	1	n.a.	n.a.	n.a.

22	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1
23	1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	1
24	1	0	0	0	0	0	0	0	0	n.a.	n.a.	n.a.
25	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1
							...					
292	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
293	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0
294	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
295	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
296	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
297	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
298	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
299	0	3	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0
300	0	3	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0

\* 설치 혹은 발생: 1. 미설치 혹은 비발생: 0

+ n.a.: 무응답

# occur: 질병발생 여부, signage: 출입통제안내판 설치여부, foot\_bath: 발판소독조 개수, gate\_washstation: 농장 입구 출입자소독기 설치여부, gate\_high\_pressure\_washer: 농장 입구 고압분무기 설치여부, gate\_U\_shape\_spray: 농장 입구 U자형 스프레이 설치여부, inside\_backpack\_sprayer: 농장 내부 일반분무기 설치여부, inside\_high\_pressure\_washer: 농장 내부 고압분무기 설치여부, bird\_proof: 차단막 설치여부, anterriorroom: 전실 개수, access\_control: 출입통제시설 설치여부, gate\_ternal\_shape\_spray: 농장 입부 터널형 스프레이 설치여부

### 3. 분석 방법

○ 2016년 고병원성 조류인플루엔자 발생/비발생 농가 차단방역조치 실시여부에 대한 BRT 모형을 구축하였다. 각 농가별 response는 HPAI 발생유무(0: 미발생, 1:발생)로 설정하였으며, 예측요인은 transformation 없이 사용하였다. 따라서 분석모형은 일종의 로지스틱 회귀모형(logistic regression model)을 띄게 되며,  $\text{logit } P(y = 1|X) = f(X)$ 과 같이 나타낼 수 있다.

○ Elith 등(2008)이 제시한 BRT 분석기법에 의거하여 본 연구에서 lr은 0.001, tc는 3, bf는 0.5로 설정한 후 분석을 진행하였다. 본 연구에 사용한 BRT 모형은 통계소프트웨어인 R(R development Core Team 2006, version 3.5.3)과 BRT 모형 구축 패키지인 'gbm'를 이용하여 분석을 실시하였다.

### 4. 분석 결과

○ 2016/17년 고병원성 조류인플루엔자 발생/비발생 농가 차단방역조치 실시여부에 대한 BRT 모형을 구축한 결과 모형의 평균 총 편차(mean total deviance)는 1.38이었으며, 평균 잔차 편차(mean residual deviance)는 0.54였다. 데이터의 receiver operating characteristic 점수는 0.95인 것으로 나타났다.

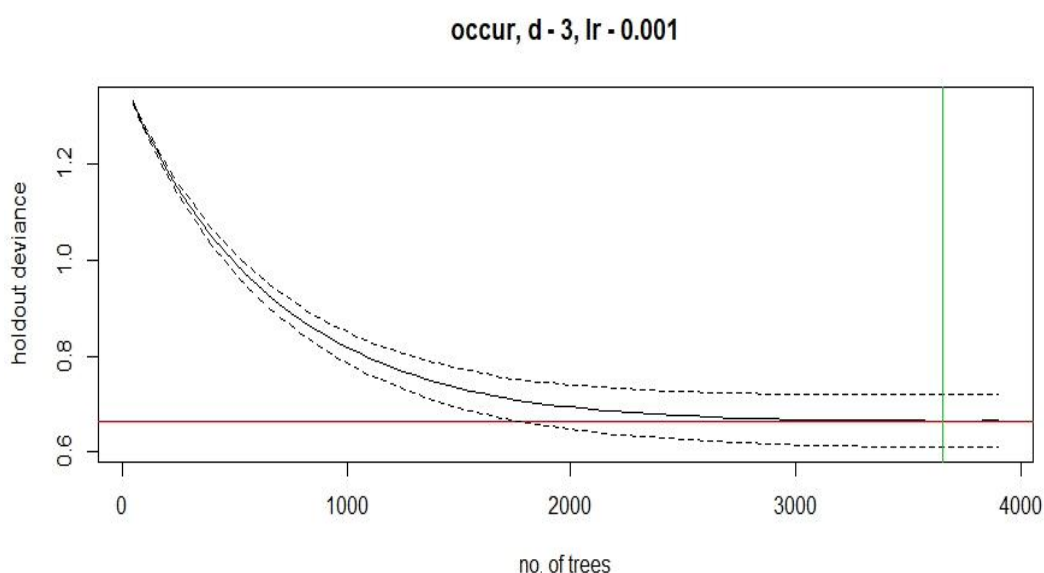


그림 2-2-3-7. 2016/17년 고병원성 조류인플루엔자 발생/비발생 농가 차단방역조치 실시여부에 대한 Boosted Regression Trees 모형 내 tree 개수에 따른 편차

○ 2016/17년 고병원성 조류인플루엔자 발생/비발생 농가 차단방역조치 실시여부에 대한 BRT 모형 내

종속변수인 고병원성 조류인플루엔자 발생여부와 각 차단방역조치 실시여부에 따른 관계 분포를 살펴보면 다음과 같다.

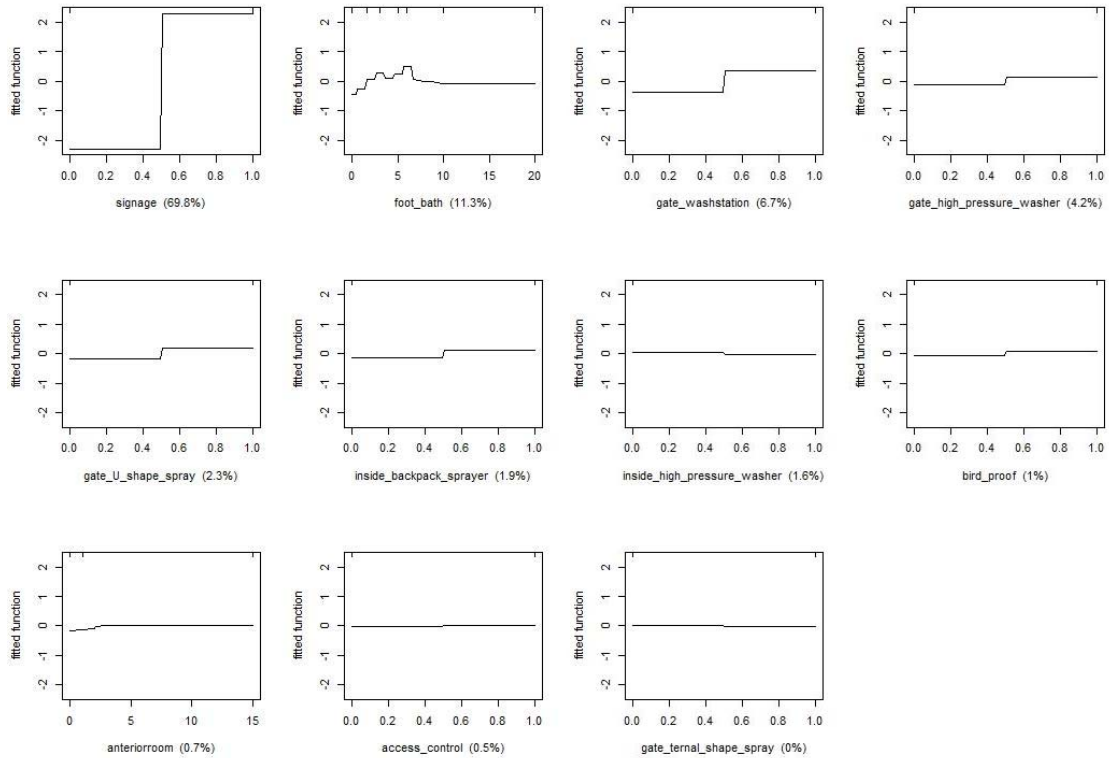


그림 2-2-3-8. 2016/17년 고병원성 조류인플루엔자 발생/비발생 농가 차단방역조치 실시여부에 대한 Boosted Regression Trees 모형 독립변수와 종속변수 간 함수(signage: 출입통제안내판 설치여부, foot\_bath: 발판소독조 개수, gate\_washstation: 농장 입구 출입자소독기 설치여부, gate\_high\_pressure\_washer: 농장 입구 고압분무기 설치여부, gate\_U\_shape\_spray: 농장 입구 U자형 스프레이 설치여부, inside\_backpack\_sprayer: 농장 내부 일반분무기 설치여부, inside\_high\_pressure\_washer: 농장 내부 고압분무기 설치여부, bird\_proof: 차단막 설치여부, anteriorroom: 전실 개수, access\_control: 출입통제시설 설치여부, gate\_ternal\_shape\_spray: 농장 입부 터널형 스프레이 설치여부)

○ BRT 모형 변수별 상대적 기여도를 살펴보면 출입통제안내판 설치여부(68.0%)와 발판소독조 개수(14.3%)가 상대적으로 높은 기여도를 나타내었으며, 농장입구 터널형 스프레이 설치여부의 경우 상대적 기여도가 나타나지 않았다.

표 2-2-3-27. 2016/17년 고병원성 조류인플루엔자 발생/비발생 농가 차단방역조치 실시여부에 대한 Boosted Regression Trees 모형 내 차단방역조치별 상대적 기여도

	최소	1분위수	평균	중앙	3분위수	최대
출입통제판	64.0	66.0	69.0	68.0	68.5	78.6
발판소독조	9.6	12.3	13.3	14.3	15.1	15.4
농장입구 출입자소독기	2.8	5.0	5.4	5.7	6.6	7.1
농장입구 고압분무기	2.9	3.3	3.7	3.9	4.1	4.3
농장입구 U형 스프레이	1.1	1.1	1.5	1.4	1.8	2.0
농장내부 일반분무기	0.9	2.9	3.1	3.6	3.8	4.5
농장내부 고압분무기	1.6	1.7	1.8	1.7	1.9	2.1
차단막	0.3	0.5	0.9	0.6	1.3	1.7
전실	0.1	0.3	0.4	0.5	0.5	0.7
출입통제시설	0.6	0.7	0.8	0.7	0.8	1.0
농장입구 터널 스프레이	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

○ 2016/17년 고병원성 조류인플루엔자 발생/비발생 농가 차단방역조치 실시여부에 대한 BRT 모형 상대적 기여도 중앙값 기준 차단방역조치별 가중치를 부여한 차단방역조치 평가수식은 다음과 같으며, 이를 통해 농가별 차단방역수준 비교분석이 가능할 것으로 사료된다.

$$\begin{aligned}
 biosecurity = & 1.68x_{signage} + 1.143x_{footbath} + 1.057x_{gatewash} + 1.039x_{gatehighpressure} + \\
 & 1.014x_{gateU} + 1.036x_{back} + 1.017x_{high} + 1.006x_{birdproof} + \\
 & 1.005x_{anterior} + 1.007x_{accesscontrol}
 \end{aligned}$$

(signage: 출입통제안내판 설치여부, foot\_bath: 발판소독조 개수, gatewash: 농장 입구 출입자소독기 설치여부, gatehighpressure: 농장 입구 고압분무기 설치여부, gateU: 농장 입구 U자형 스프레이 설치여부, back: 농장 내부 일반분무기 설치여부, high: 농장 내부 고압분무기 설치여부, birdproof: 차단막 설치여부, anterior: 전실 개수, accesscontrol: 출입통제시설 설치여부)

#### 4. 차량이동정보 시각화 및 도계장 중심의 차량 이동지도 작성

##### 1. 차량이동정보 시각화

○ 국내 가금농가 관련 차량이동정보 시각화는 2018년 3월 4일 기준 국가가축방역통합시스템(KAHIS) 내 등록 차량을 기준으로 하였다. 2017/2018 고병원성조류인플루엔자 발생 가금농가 주변 철새도래지 네 곳(청미천, 곡교천, 풍세천, 순천만) 반경 500m 이내 가금농가 관련 KAHIS 등록 차량 통과여부를 확인하고 해당 차량의 이동정보를 시각화하였다. 해당 일자 기준 각 철새도래지별 차량이동현황을 요약하면 다음과 같다.



표 2-2-3-28. 2018년 3월 4일 청미천 반경 500m 내 가금농가 관련 차량 이동정보

방문시간	방문유형	방문농가 축종	방문농가 위도	방문농가 경도
2018-03-04 8:50	원유운반	닭-토종닭, 소-육우, 소-젖소	37.08900452	127.5749435
2018-03-04 10:22	원유운반	닭-토종닭, 사슴-꽃사슴, 사슴-엘크, 소-육우, 소-젖소	37.35780716	127.5337982
2018-03-04 8:27	원유운반	닭-토종닭, 소-육우, 소-젖소	37.15639877	127.5009308
2018-03-04 12:59	원유운반	닭-토종닭, 소-육우, 소-젖소	37.17161179	127.5399323
2018-03-04 8:49	원유운반	닭-토종닭, 소-육우, 소-젖소, 소-한우		
2018-03-04 11:42	사료운반	닭-토종닭, 소-육우, 소-젖소	37.03577805	127.3395767
2018-03-04 6:43	사료운반	닭-토종닭, 소-육우, 소-젖소	37.08900452	127.5749435
2018-03-04 7:34	사료운반	닭-토종닭, 소-육우, 소-젖소	37.19407272	127.600174
2018-03-04 8:23	사료운반	닭-토종닭, 소-육우, 소-젖소	37.15639877	127.5009308
2018-03-04 8:31	사료운반	닭-산란계, 닭-토종닭, 소-육우, 소-젖소	37.15542603	127.5018845
2018-03-04 9:57	진료.예방 접종	닭-토종닭	37.00130844	127.6567764
2018-03-04 15:14	진료.예방 접종	닭-토종닭	37.00130844	127.6567764
2018-03-04 8:09	퇴비운반	닭-산란계	37.10000229	127.4887695
2018-03-04 8:47	퇴비운반	닭-산란계	37.10000229	127.4887695
2018-03-04 9:23	퇴비운반	닭-산란계	37.10000229	127.4887695
2018-03-04 7:09	컨설팅	닭-토종닭, 소-육우, 소-젖소	37.07322311	127.661705
2018-03-04 17:18	컨설팅	닭-토종닭, 소-육우, 소-젖소	37.07322311	127.661705
2018-03-04 13:03	퇴비운반	닭-산란계	37.05482483	127.5194931
2018-03-04 6:22	원유운반	닭-산란계, 닭-육계, 소-육우, 소-젖소	37.02544785	127.2845383
2018-03-04 8:13	원유운반	닭-토종닭, 소-육우, 소-젖소, 소-한우	37.03533173	127.3694153
2018-03-04 13:35	원유운반	닭-토종닭	36.73884201	127.1024475
2018-03-04 11:44	원유운반	닭-토종닭, 소-육우, 소-젖소	36.78058243	127.3399734
2018-03-04 15:14	컨설팅	닭-토종닭, 소-한우	37.09614944	127.6534653

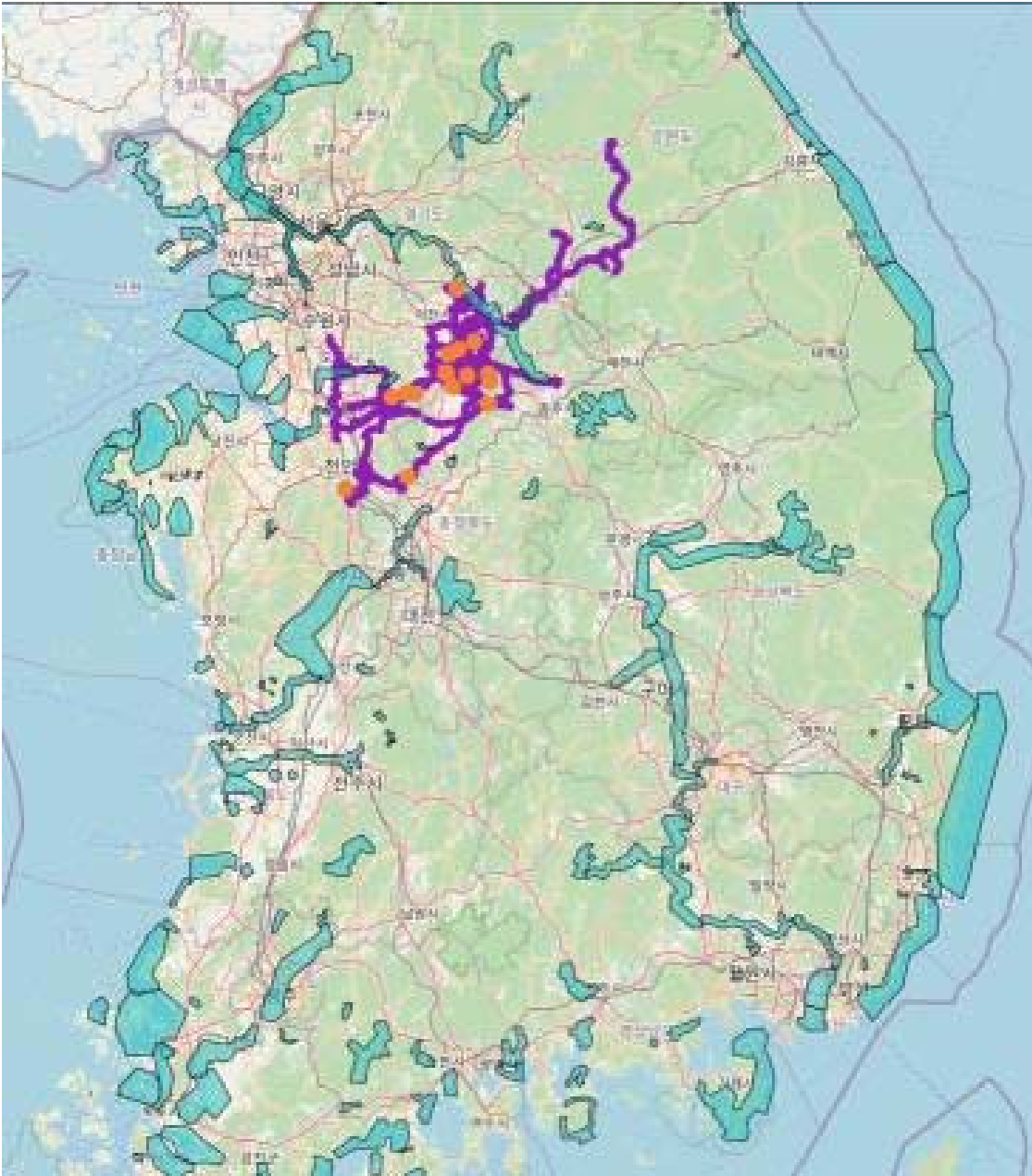


그림 2-2-3-9. 2018년 3월 4일 청미천 반경 500m 내 가금농가 관련 차량 이동정보 시각화  
(보라색: 차량이동경로, 주황색: 방문가금농가)

표 2-2-3-29. 2018년 3월 4일 곡교천 반경 500m 내 가금농가 관련 차량 이동정보

방문시간	방문유형	방문농가 축종	방문농가 위도	방문농가 경도
2018-03-04 9:09	사료운반	닭-육계	35.54475784	126.6613083
2018-03-04 13:38	사료운반	닭-육계	36.79375076	126.9639435
2018-03-04 18:35	가축운반	닭-토종닭	35.6025238	126.9412003
2018-03-04 19:36	진료.예방 접종	닭-육계	36.90692902	126.9793243
2018-03-04 15:12	진료.예방 접종	닭-토종닭, 소-한우	36.80093765	126.9376984

2018-03-04 18:49	진료.예방 접종	닭-토종닭, 소-한우		
2018-03-04 8:02	가축운반	닭-토종닭, 염소	36.77569962	127.1008759
2018-03-04 14:04	가축운반	닭-토종닭, 염소	36.77569962	127.1008759
2018-03-04 15:57	가축운반	닭-토종닭, 염소	36.77569962	127.1008759
2018-03-04 9:02	알운반	닭-산란계	36.85700226	126.9973297
2018-03-04 6:06	사료운반	닭-토종닭, 소-육우, 소-젖소, 소-한우, 염소	36.58143997	126.8721848
2018-03-04 6:41	가축운반	닭-종계		
2018-03-04 9:01	가축운반	닭-종계		
2018-03-04 10:56	가축운반	닭-종계	36.52303314	126.5051422
2018-03-04 11:44	가축운반	닭-종계	36.52303314	126.5051422

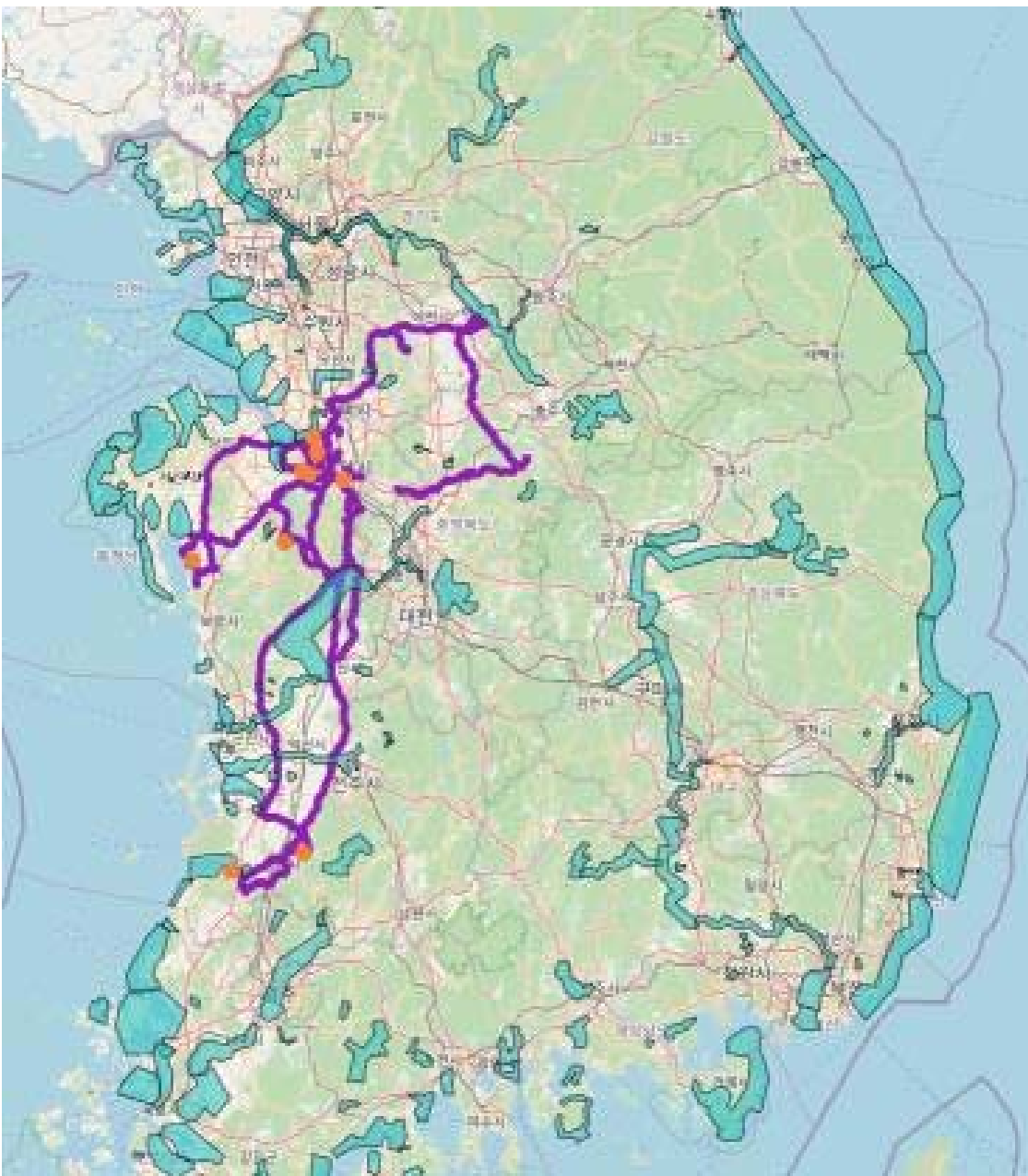


그림 2-2-3-10. 2018년 3월 4일 곡교천 반경 500m 내 가금농가 관련 차량 이동정보 시각화  
(보라색: 차량이동경로, 주황색: 방문가금농가)

표 2-2-3-30. 2018년 3월 4일 풍서천 반경 500m 내 가금농가 관련 차량 이동정보

방문시간	방문유형	방문농가 축종	방문농가 위도	방문농가 경도
2018-03-04 7:19	사료운반	닭-산란계	36.72498	127.1709
2018-03-04 10:13	사료운반	닭-산란계	36.72766	127.1486
2018-03-04 10:13	사료운반	닭-산란계		
2018-03-04 10:14	사료운반	닭-산란계	36.72754	127.1485
2018-03-04 7:04	사료운반	닭-육계	36.60908	127.0975
2018-03-04 11:46	사료운반	닭-육계, 오리-육용오리	36.97617	127.5554
2018-03-04 7:42	왕겨.쌀겨. 툽밥.깎짚 운반	닭-산란계	36.9132	127.0669
2018-03-04 6:55	사료운반	닭-산란계		
2018-03-04 11:18	사료운반	닭-산란계	37.06384	127.4823
2018-03-04 7:04	사료운반	닭-산란계	36.8069	127.3242
2018-03-04 8:15	사료운반	닭-산란계	36.72555	127.1102
2018-03-04 8:50	사료운반	닭-산란계	36.72555	127.1102
2018-03-04 5:41	사료운반	닭-육계	36.56521	127.6575
2018-03-04 6:55	사료운반	닭-육계, 소-한우	36.39954	127.7515
2018-03-04 12:18	사료운반	닭-육계	37.10526	127.0111
2018-03-04 5:09	사료운반	닭-육계	36.56373	127.7432
2018-03-04 9:58	사료운반	닭-육계	36.73368	126.2559
2018-03-04 10:44	사료운반	닭-육계	36.73368	126.2559
2018-03-04 19:49	가축운반	닭-육계, 닭-토종닭	36.62109	127.089
2018-03-04 22:04	가축운반	닭-육계, 닭-토종닭	36.62109	127.089
2018-03-04 7:58	사료운반	닭-산란계, 닭-육계, 소-한우	36.59605	127.3272
2018-03-04 8:20	사료운반	관상조류, 닭-토종닭, 소-한우	36.59241	127.3254
2018-03-04 9:09	사료운반	닭-육계	35.54476	126.6613
2018-03-04 13:38	사료운반	닭-육계	36.79375	126.9639
2018-03-04 7:24	가축운반	닭-종계	36.09912	126.9817
2018-03-04 9:12	가축운반	닭-종계	36.09912	126.9817
2018-03-04 9:59	가축운반	닭-종계	36.11812	126.9445
2018-03-04 10:40	가축운반	닭-종계	36.11812	126.9445
2018-03-04 18:49	가축운반	닭-육계	36.26289	126.7507
2018-03-04 6:55	가축운반	닭-토종닭, 소-한우	36.62693	127.2392
2018-03-04 7:29	가축운반	닭-토종닭, 소-한우	36.62693	127.2392
2018-03-04 10:28	사료운반	닭-토종닭, 소-한우	36.65993	127.2818
2018-03-04 7:24	원유운반	닭-토종닭, 소-육우, 소-젖소	37.11776	126.8349

2018-03-04 13:08	원유운반	닭-토종닭, 벌-개랑중, 소-육우, 소-젖소	36.85039	127.3855
2018-03-04 13:35	원유운반	닭-토종닭	36.73884	127.1024
2018-03-04 7:23	원유운반	닭-토종닭, 소-육우, 소-젖소	37.07131	126.9561
2018-03-04 8:30	원유운반	닭-토종닭, 소-육우, 소-젖소, 소-한우	37.06102	127.0233
2018-03-04 7:45	원유운반	닭-토종닭, 소-육우, 소-젖소, 소-한우	36.67221	126.7043
2018-03-04 10:49	원유운반	닭-토종닭, 소-육우, 소-젖소	36.80702	126.7196
2018-03-04 11:44	원유운반	닭-토종닭, 소-젖소	36.57964	127.2336
2018-03-04 18:35	가축운반	닭-토종닭	35.60252	126.9412
2018-03-04 17:17	가축운반	닭-육계, 닭-토종닭	34.90958	127.4875
2018-03-04 8:06	사료운반	닭-토종닭	36.73301	127.1268
2018-03-04 11:00	가축운반	닭-토종닭, 소-한우	36.30023	127.1713
2018-03-04 11:37	가축운반	닭-토종닭, 소-한우	36.28611	127.1483
2018-03-04 16:47	가축운반	닭-토종닭	35.60252	126.9412
2018-03-04 12:57	가축운반	닭-육계	35.58677	128.4355
2018-03-04 16:45	가축운반	닭-육계	36.26289	126.7507
2018-03-04 19:06	가축운반	닭-육계	36.26289	126.7507
2018-03-04 21:31	가축운반	닭-육계	36.26289	126.7507
2018-03-04 16:28	가축운반	닭-육계	36.26289	126.7507
2018-03-04 18:52	가축운반	닭-육계, 닭-토종닭	36.91941	127.0822
2018-03-04 20:32	가축운반	닭-육계, 닭-토종닭		
2018-03-04 21:17	가축운반	닭-육계, 닭-토종닭		
2018-03-04 22:10	가축운반	닭-육계, 닭-토종닭		
2018-03-04 22:30	컨설팅	닭-육계	36.88507	127.0729
2018-03-04 11:57	가축운반	닭-육계	35.58677	128.4355
2018-03-04 12:55	가축운반	닭-육계	35.58677	128.4355
2018-03-04 19:00	가축운반	닭-육계	35.58677	128.4355
2018-03-04 10:59	알운반	닭-산란계		
2018-03-04 6:06	사료운반	닭-토종닭, 소-육우, 소-젖소, 소-한우, 염소	36.58144	126.8722
2018-03-04 6:49	가축운반	닭-토종닭, 소-한우	36.72954	127.1318
2018-03-04 7:20	사료운반	닭-산란계, 닭-육계	36.93559	127.2101
2018-03-04 11:03	사료운반	닭-산란계	36.73176	127.1094
2018-03-04 15:49	사료운반	닭-산란계, 닭-육계	36.93559	127.2101
2018-03-04 17:55	가축운반	닭-산란계, 오리-육용오리		
2018-03-04 6:22	사료운반	닭-토종닭, 소-한우, 염소	36.70752	127.1144
2018-03-04 9:51	사료운반	닭-토종닭, 소-한우, 염소	36.70752	127.1144
2018-03-04 10:23	사료운반	닭-토종닭, 소-한우, 염소	36.70752	127.1144
2018-03-04 16:04	사료운반	닭-산란계	36.05008	128.1018
2018-03-04 16:51	사료운반	닭-산란계	36.05008	128.1018
2018-03-04 9:20	인공수정	닭-토종닭, 소-한우	36.73352	127.1146
2018-03-04 17:43	인공수정	닭-토종닭, 소-한우, 오리-육용오리		
2018-03-04 19:12	알운반	닭-산란계		

2018-03-04 10:16	가축운반	오리-육용오리, 오리-종오리	36.69918	127.1028
2018-03-04 10:08	사료운반	닭-산란계, 닭-육계	36.96511	127.1064
2018-03-04 12:23	가축운반	닭-산란계, 닭-육계	37.37319	127.407
2018-03-04 23:49	가축운반	닭-산란계, 닭-육계	37.37319	127.407
2018-03-04 6:36	사료운반	닭-산란계	36.72569	127.1473
2018-03-04 6:36	사료운반	닭-산란계	36.72542	127.1478
2018-03-04 7:16	사료운반	닭-산란계	36.73671	127.1282
2018-03-04 15:24	진료.예방 접종	닭-토종닭, 소-한우	36.74245	127.3526
2018-03-04 17:11	진료.예방 접종	닭-토종닭, 소-한우	36.78743	127.5599
2018-03-04 18:56	진료.예방 접종	닭-토종닭, 말, 소-한우	36.72243	127.4762
2018-03-04 22:03	진료.예방 접종	닭-토종닭, 소-육우, 소-젖소, 소-한우, 염소	36.9347	127.2034
2018-03-04 8:03	알운반	닭-육계	36.74537	127.1654
2018-03-04 8:25	알운반	닭-산란계	36.75126	127.1154
2018-03-04 8:25	알운반	닭-산란계, 닭-토종닭	36.75147	127.1142
2018-03-04 10:33	알운반	닭-백세미, 닭-산란계, 닭-토종닭	37.18552	127.3233
2018-03-04 16:53	알운반	닭-백세미, 닭-산란계, 닭-토종닭	37.18552	127.3233

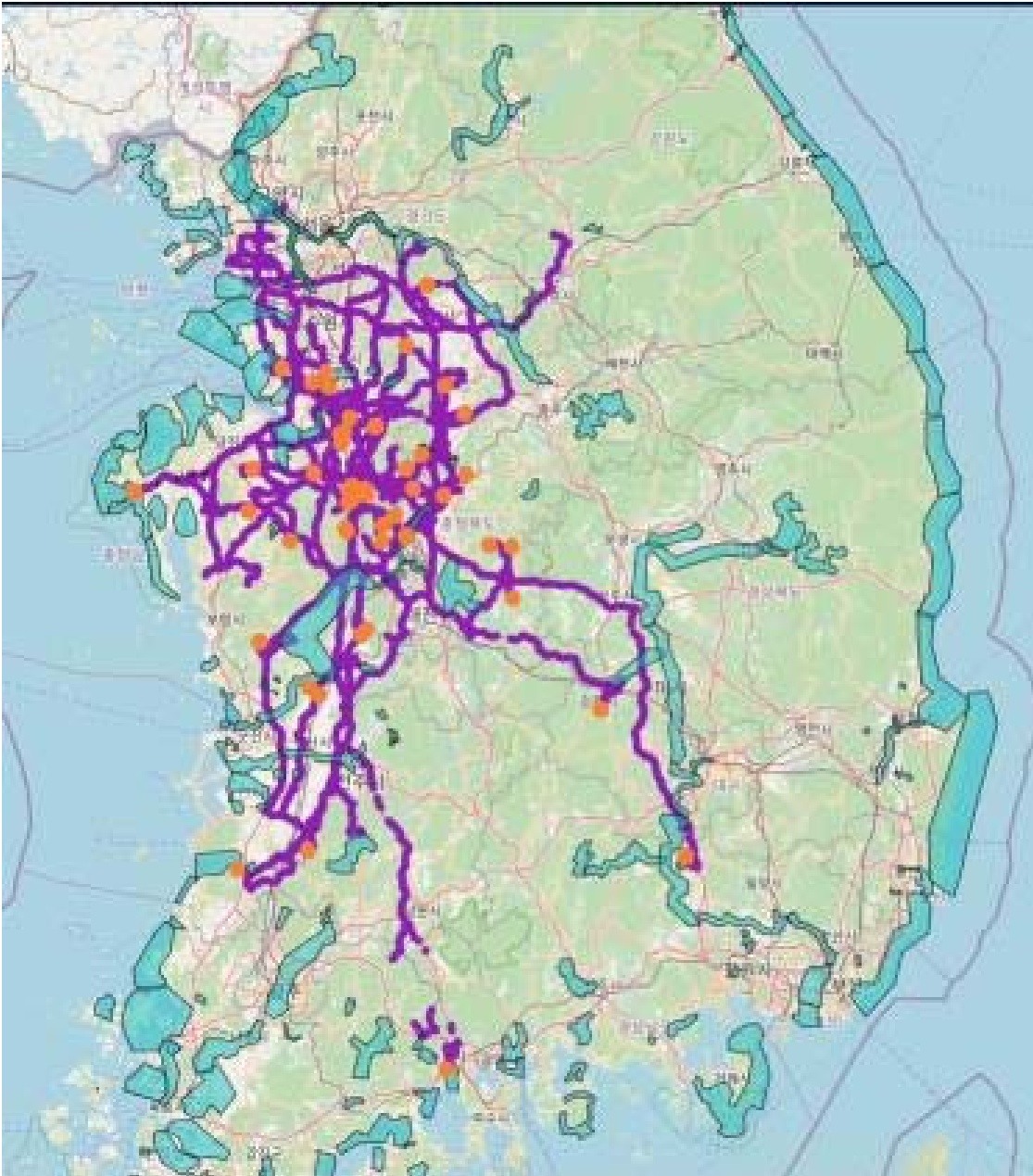


그림 2-2-3-11. 2018년 3월 4일 풍서천 반경 500m 내 가금농가 관련 차량 이동정보 시각화  
(보라색: 차량이동경로, 주황색: 방문가금농가)

표 2-2-3-31. 2018년 3월 4일 순천만 반경 500m 내 가금농가 관련 차량 이동정보

방문시간	방문유형	방문농가 축종	방문농가 위도	방문농가 경도
2018-03-04 7:18	원유운반	닭-토종닭, 사슴-꽃사슴, 소-육우, 소-젖소, 소-한우	34.90419388	127.4810104
2018-03-04 8:40	원유운반	닭-토종닭, 소-젖소, 소-한우	35.02409363	127.4556122
2018-03-04 17:11	가축운반	닭-토종닭, 소-한우		
2018-03-04 10:43	가축운반	닭-토종닭, 소-한우	34.64233017	127.4363022
2018-03-04 14:05	가축운반	닭-토종닭, 소-한우	34.66793823	127.4219284



2018-03-04 7:27	원유운반	닭-토종닭, 소-젓소	34.74301529	127.1278839
2018-03-04 12:21	원유운반	닭-토종닭, 소-젓소, 소-한우	34.88147354	127.4670181
2018-03-04 11:26	원유운반	꿩, 닭-토종닭, 소-젓소	35.10506821	127.4010925
2018-03-04 11:36	원유운반	닭-토종닭, 소-젓소, 염소	35.10177612	127.4033661
2018-03-04 6:56	원유운반	닭-토종닭, 소-젓소, 소-한우, 염소	35.17631912	127.3567429
2018-03-04 10:40	원유운반	닭-토종닭, 사슴-꽃사슴, 소-육우, 소-젓소, 소-한우	34.90419388	127.4810104
2018-03-04 7:08	원유운반	닭-토종닭, 소-육우, 소-젓소	35.13671112	127.2456818
2018-03-04 7:08	원유운반	닭-토종닭, 소-한우	35.1364975	127.2455978
2018-03-04 7:32	원유운반	닭-토종닭, 소-육우, 소-젓소	35.13535309	127.2460251
2018-03-04 10:27	원유운반	닭-토종닭, 소-젓소	34.6928978	127.329567
2018-03-04 11:46	원유운반	닭-토종닭, 소-한우	34.61698914	127.3757706
2018-03-04 9:40	가축운반	닭-토종닭, 소-한우	34.78135681	127.1850281
2018-03-04 12:41	가축운반	닭-토종닭, 소-한우	34.83758545	127.3201828
2018-03-04 19:41	가축운반	닭-토종닭, 소-한우	34.83758545	127.3201828
2018-03-04 4:45	가축운반	거위, 닭-토종닭, 사슴-꽃사슴, 사슴-레드디어, 사슴-엘크, 염소, 오리-육용오리	35.26371765	127.0741043
2018-03-04 11:29	가축운반	닭-토종닭, 소-한우	34.92769623	127.3974915
2018-03-04 13:41	가축운반	닭-토종닭, 소-한우	34.92769623	127.3974915
2018-03-04 10:29	가축운반	닭-토종닭, 돼지-일반	34.90711594	127.4990845
2018-03-04 16:33	가축운반	닭-토종닭, 소-한우	34.91120529	127.4920883
2018-03-04 18:02	가축운반	닭-토종닭, 소-한우	34.91120529	127.4920883
2018-03-04 16:01	인공수정	닭-토종닭, 소-한우	34.93696594	127.4176331
2018-03-04 16:59	인공수정	닭-토종닭, 소-한우, 염소	34.85113144	127.4270782
2018-03-04 16:59	인공수정	닭-토종닭, 소-한우	34.85076523	127.4274673
2018-03-04 7:09	원유운반	거위, 닭-토종닭, 소-젓소	34.91901779	127.3948746
2018-03-04 7:20	원유운반	닭-토종닭, 소-젓소	34.91699219	127.3913803
2018-03-04 3:25	가축운반	닭-육계, 닭-토종닭	34.90957642	127.4875336
2018-03-04 14:37	가축운반	닭-육계, 닭-토종닭	34.90957642	127.4875336
2018-03-04 12:53	가축운반	닭-육계, 닭-토종닭	34.84300995	127.4283447
2018-03-04 12:53	가축운반	닭-육계	34.84298706	127.428299
2018-03-04 17:13	가축운반	닭-육계	34.84298706	127.428299
2018-03-04 17:13	가축운반	닭-육계, 닭-토종닭	34.84300995	127.4283447
2018-03-04 11:13	가축운반	닭-토종닭, 소-한우	34.88459778	127.324791
2018-03-04 14:52	가축운반	닭-토종닭, 소-한우	34.88459778	127.324791
2018-03-04 17:26	가축운반	닭-토종닭, 소-한우	34.88459778	127.324791
2018-03-04 20:08	가축운반	개, 닭-토종닭, 돼지-일반, 염소	34.90924454	127.4904633
2018-03-04 6:31	가축운반	닭-토종닭, 소-한우, 염소	35.04626083	127.3405228
2018-03-04 8:18	가축운반	닭-토종닭, 소-한우	34.86181259	127.5254822
2018-03-04 13:00	가축운반	닭-토종닭, 소-한우, 염소	35.04626083	127.3405228
2018-03-04 16:11	가축운반	닭-토종닭, 소-한우, 염소	35.04626083	127.3405228

2018-03-04 17:34	가축운반	닭-토종닭, 소-한우, 염소	35.04626083	127.3405228
2018-03-04 18:48	가축운반	닭-토종닭, 소-한우	35.01377869	127.388443
2018-03-04 17:37	가축운반	닭-토종닭, 소-한우, 염소	34.91705322	127.297142
2018-03-04 18:08	가축운반	닭-토종닭, 소-한우	34.90754318	127.4871216
2018-03-04 8:01	가축운반	개, 관상조류, 닭-토종닭, 돼지-일반, 소-한우, 염소	34.91043854	127.5720367
2018-03-04 1:08	사료운반	닭-산란계, 닭-토종닭, 소-한우	34.90943909	127.5049057
2018-03-04 2:02	사료운반	닭-산란계, 닭-토종닭, 소-한우	34.90943909	127.5049057
2018-03-04 6:10	사료운반	닭-산란계, 닭-토종닭, 소-한우	34.90943909	127.5049057
2018-03-04 7:59	사료운반	닭-산란계, 닭-토종닭, 소-한우	34.90943909	127.5049057
2018-03-04 8:50	사료운반	닭-산란계, 닭-토종닭, 소-한우	34.90943909	127.5049057
2018-03-04 11:57	사료운반	닭-산란계, 닭-토종닭, 소-한우	34.90943909	127.5049057
2018-03-04 12:59	사료운반	닭-산란계, 닭-토종닭, 소-한우	34.90943909	127.5049057
2018-03-04 14:45	사료운반	닭-산란계, 닭-토종닭, 소-한우	34.90943909	127.5049057
2018-03-04 16:49	사료운반	닭-산란계, 닭-토종닭, 소-한우	34.90943909	127.5049057
2018-03-04 17:22	사료운반	닭-산란계, 닭-토종닭, 소-한우	34.90943909	127.5049057
2018-03-04 21:53	사료운반	닭-산란계, 닭-토종닭, 소-한우	34.90943909	127.5049057
2018-03-04 23:45	사료운반	닭-산란계, 닭-토종닭, 소-한우	34.90943909	127.5049057
2018-03-04 7:40	가축운반	닭-토종닭, 소-한우	35.43956757	127.2643814
2018-03-04 19:01	가축운반	닭-토종닭, 소-한우	35.07703018	127.384285
2018-03-04 17:17	가축운반	닭-육계, 닭-토종닭	34.90957642	127.4875336
2018-03-04 16:08	사료운반	닭-토종닭, 소-한우, 염소	34.83642197	127.5437088
2018-03-04 7:59	인공수정	닭-토종닭, 소-한우, 염소	34.91501617	127.3294144
2018-03-04 7:59	인공수정	닭-토종닭	34.91478348	127.3297119
2018-03-04 17:20	가축운반	닭-토종닭, 소-한우	34.86181259	127.5254822
2018-03-04 18:04	가축운반	닭-토종닭, 소-한우	34.86181259	127.5254822
2018-03-04 9:33	컨설팅	닭-토종닭, 소-육우, 소-한우	34.96084213	127.2809753
2018-03-04 14:27	알운반	닭-토종닭, 메추리	34.90042114	127.5108871
2018-03-04 8:07	사료운반	닭-토종닭, 소-한우, 염소	34.92044449	127.4660263
2018-03-04 8:44	사료운반	닭-토종닭, 소-한우	34.90777969	127.4537888
2018-03-04 11:28	사료운반	닭-토종닭, 소-한우, 칠면조, 토끼	34.91668701	127.461792
2018-03-04 6:28	가축운반	닭-육계, 닭-토종닭	34.90957642	127.4875336
2018-03-04 18:16	가축운반	닭-육계, 닭-토종닭	34.90957642	127.4875336
2018-03-04 14:58	사료운반	닭-토종닭, 소-한우	34.86281586	127.5688858
2018-03-04 21:35	가축운반	닭-토종닭, 오리-육용오리, 칠면조	35.39423752	127.3486786
2018-03-04 9:00	가축운반	닭-토종닭, 소-한우	34.64137268	127.2721558

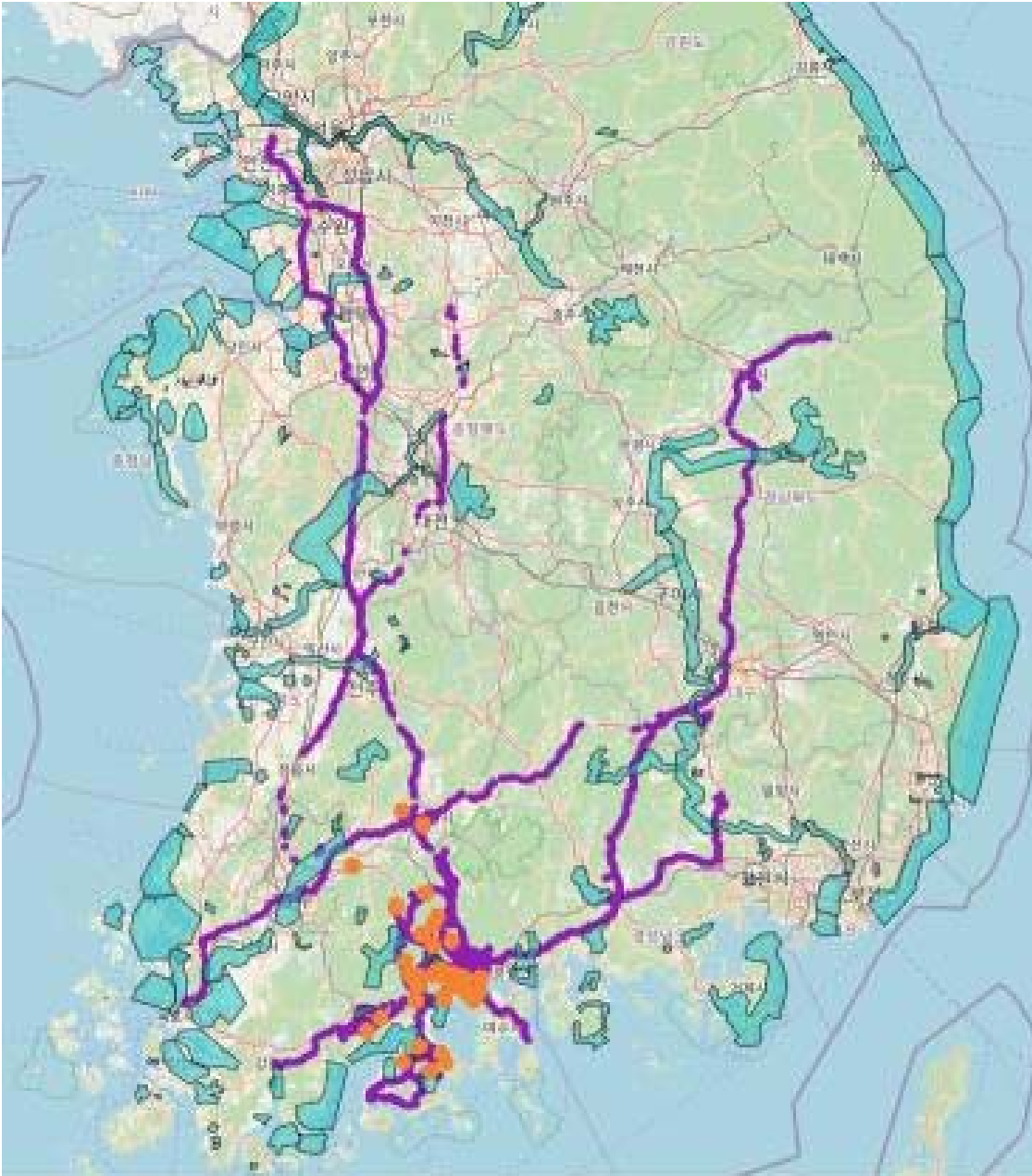


그림 2-2-3-12. 2018년 3월 4일 순천만 반경 500m 내 가금농가 관련 차량 이동정보 시각화  
(보라색: 차량이동경로, 주황색: 방문가금농가)

## 2. 도계장 중심의 차량 이동지도 작성

- 앞서 살펴본 2017/2018 고병원성조류인플루엔자 발생 가금농가 주변 철새도래지 네 곳(청미천, 곡교천, 풍세천, 순천만) 반경 500m 이내 가금농가 관련 KAHIS 등록 차량 통과여부 및 이동정보를 도계장을 중심으로 이동지도를 작성하면 다음과 같다.

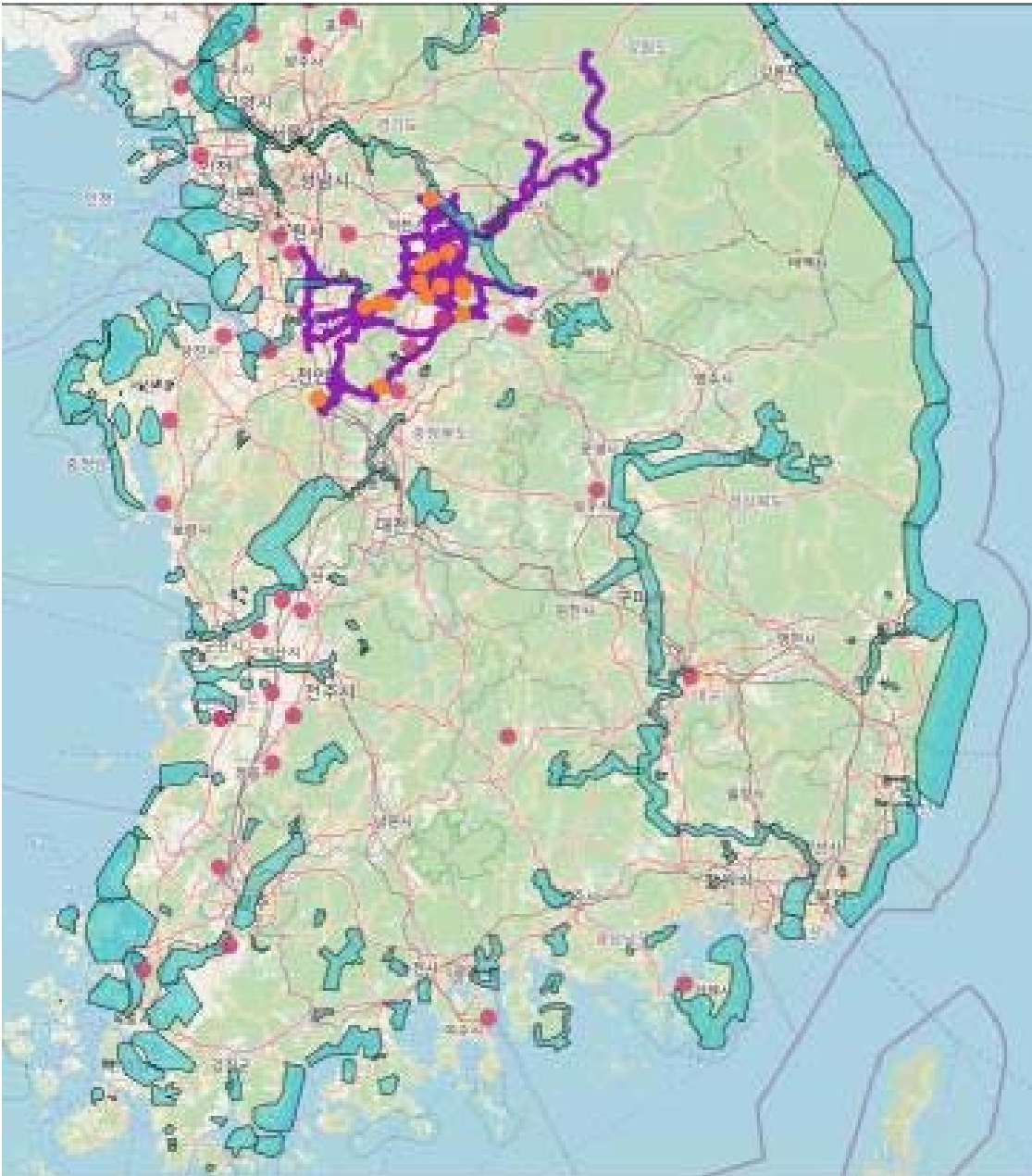


그림 2-2-3-13. 2018년 3월 4일 청미천 반경 500m 내 가금농가 관련 차량 이동정보 시각화  
(보라색: 차량이동경로, 주황색: 방문가금농가, 자주색: 도계장)

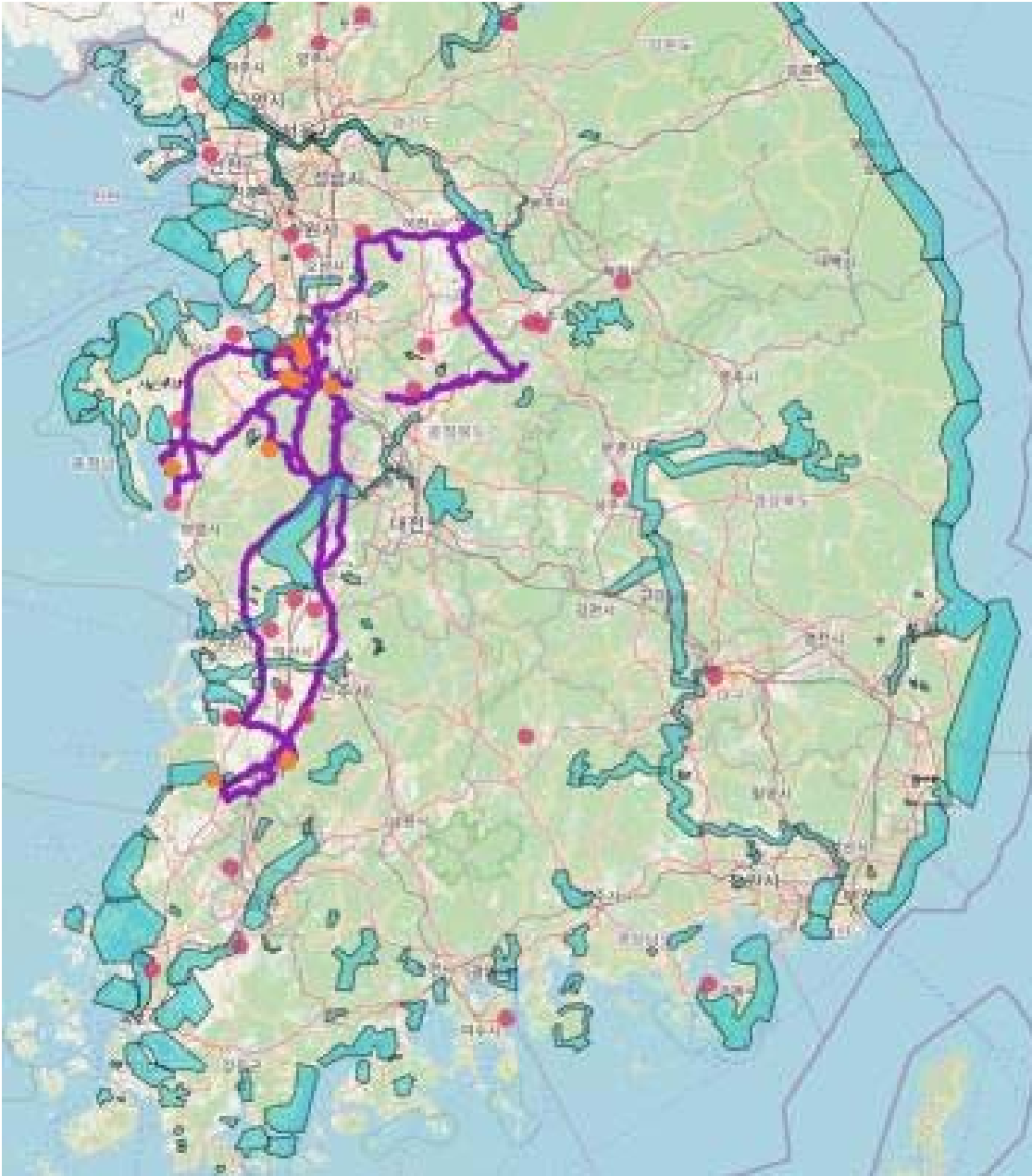


그림 2-2-3-14. 2018년 3월 4일 곡교천 반경 500m 내 가금농가 관련 차량 이동정보 시각화  
 (보라색: 차량이동경로, 주황색: 방문가금농가, 자주색: 도계장)

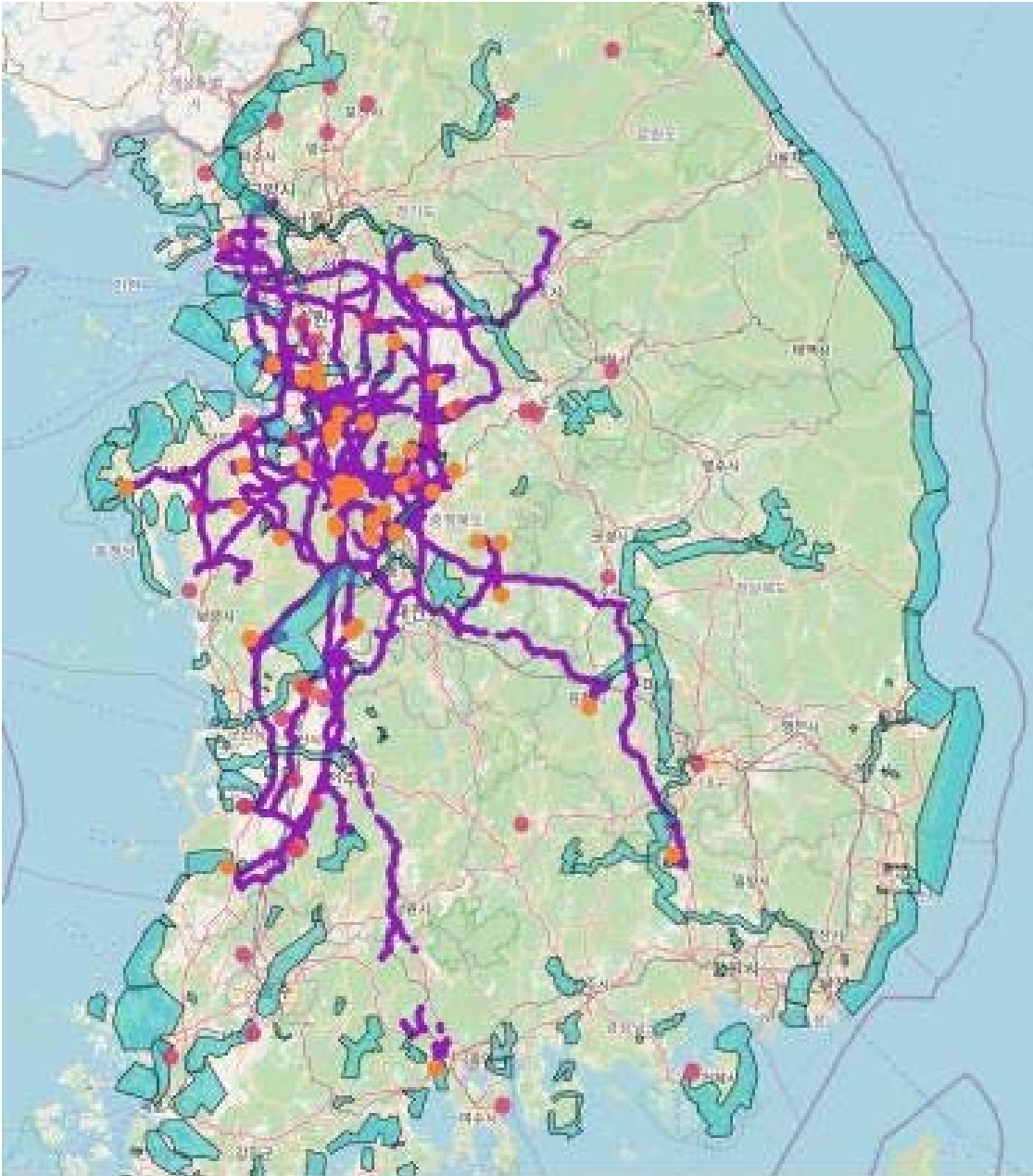


그림 2-2-3-15. 2018년 3월 4일 풍서천 반경 500m 내 가금농가 관련 차량 이동정보 시각화  
 (보라색: 차량이동경로, 주황색: 방문가금농가, 자주색: 도계장)



그림 2-2-3-16. 2018년 3월 4일 순천만 반경 500m 내 가금농가 관련 차량 이동정보 시각화  
(보라색: 차량이동경로, 주황색: 방문가금농가, 자주색: 도계장)

### 3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

#### 3-1. 목표

- HPAI 발병시 해당농가의 축종, 입지조건, 질병유입경로 등을 종합적으로 검토하여 AI가 다른 농가로 전파될 위험성에 따라 방역대를 설치할 수 있는 평가기준 마련



### 3-2. 목표 달성여부

○ SCI급 논문 4건 발표(평균 IF 3.34), 학술발표 4건, 인력양성 1건, 정책활용 2건 특허  
균주기탁 1건 및 특허 출원 2건.

○ 과거 발생 사례 수집을 통한 위험 요인을 확인하였는가?(1차년도)

- 원발 농가와 후발 농가의 사례 수집(100%)
- 분리된 바이러스의 계통 전장 염기서열 확인 및 유전적 정보와 병원성 관련성 분석(100%)
- 사례 농장 별 지하수 이용실태와 HPAI 발생 관련성 분석(100%)
- HPAI 발생 전, 후의 기상상황 데이터 분석(100%)
- 깔짚 유통과정과 관리 실태 및 사료 원료 수입과 관리 실태 조사(100%)

오리 종 특이적 항바이러스 인자 연구(초과달성)

○ HPAI 발생 농가의 질병 전파 위험도 평가 모델을 설계하였는가?(1차년도)

- 과거 역학 조사 내용을 바탕으로 변수 선별 및 설문지 작성(100%)
- HPAI 연관 데이터 수집 (과거 발생 사례, 지하수 및 깔짚 유통과 이용 정보, 강수량 등 기후 정보)(100%)

○ GIS 기반 질병전파 위험성 평가모델 개발을 위한 데이터베이스 구축하였는가?(1차년도)

- 고병원성인플루엔자 발생과 관련된 연관 데이터 정제;철새 이동, 차량 이동 등 (100%)
- 국외 조류인플루엔자 역학조사서 분석: 미국, 일본의 사례(100%)

○ 원발 농가와 후발 농가의 질병 전파 위험 요인 특정 및 위험성을 확인하였는가? (2차년도)

- 인플루엔자 바이러스 가금 계대에 의한 돌연변이 빈도 분석을 통한 전파 위험 요인분석 (100%)
- 인플루엔자 바이러스 subtype별 환경 저항성 평가 :분변상태, 온도, pH, 수질 등 (100%)
- 지하수 내 유전물질 농축기술 개발을 통한 바이러스 검출법 확립 (초과달성)
- 바이러스 수평전파 관련 위험요인 평가 (100%)

가금류 종별(토종닭, 오리 종별) 선천성 조류인플루엔자 저항성 관련 요인 평가(100%)

○ 질병 전파 위험도 평가를 위한 질병 확산 네트워크를 구축하였는가? (2차년도)

- HPAI 발생농가의 질병 확산 네트워크 분석을 위한 데이터 정제 (100%)
- HPAI 발생지역 공간분석을 통한 위험지역 추정(100%)

○ 발병 농가의 질병전파 위험성 평가지표를 작성하였는가? (3차년도)

- 사료 원료, 지하수 등 질병 전파 매개별 전파 위험도 평가(100%)
- 바이러스 특성별 전파 위험도 평가(100%)
- 농장 내 질병(살모넬라, 감보로 등)에 의한 면역부전과 관련된 전파 위험도 평가(100%)
- 전파위험도 평가에 따른 기존 방역매뉴얼 개선(100%)

○ HPAI 발생 농가의 전파 위험성 평가서를 개발하였는가? (3차년도)

- HPAI 발생농가 전파 위험성 평가서 개발(100%)
- 사례-대조군 연구를 통한 발생/전파 위험 추정 및 차량이동정보 시각화(100%)

#### 4. 연구결과의 활용 계획 등

- 가축질병 발생 시 효과적인 차단방역을 위한 방역지역 설정의 과학적이고 합리적인 기준과 방역지역 설정을 통해 초기 방역 조치의 효과를 극대화함으로써 조기에 가축질병 근절 가능
- 본 연구개발로 구축한 방역지역 설정 GIS를 현재 운용되고 있는 KAHIS 정보를 비롯한 다양한 국가 보유 DB와 연계하여 운영함으로써 질병 발생 시 신속한 차단방역 지대 설정에 활용하며, 장기적으로 국가 방역정책 수립에 기초자료로 사용 가능함
- 가축 질병의 확산 방지를 위한 축산업 수급 안정
- GIS와 IT 관련 기술의 연구 저변확대 및 기술 이전을 통한 가치 창출
- 신속하고 효율적인 초기 차단방역으로 축산농가의 경제적 손실 예방
- 과제수행중 전국 각지 농업관련 시설에서 사용하는 관정의 깊이에 대한 조사자료를 확보하였고, 아프리카돼지열병 발생 지역 인근 시설의 관정이 예상 밖으로 깊지 않아 지표수가 지하수에 즉각 영향을 줄 수 있음을 확인하였음. HPAI 다발 지역별 관정 깊이 조사
- 따라서 관정 깊이, 강우량/강설량(+강설후 기온), 농장 음수사용량, 지하수 유동방향, 철새 분변 오염도를 종합적으로 고려한 HPAI 발생농가의 전파위험성 평가의 필요성 확인

#### 붙임. 참고문헌

- Chrzastek, K., et al. (2018). "Characterization of H9N2 avian influenza viruses from the Middle East demonstrates heterogeneity at amino acid position 226 in the hemagglutinin and potential for transmission to mammals." **518**: 195-201.
- de Vries, R. P., et al. (2014). "Hemagglutinin receptor specificity and structural analyses of respiratory droplet-transmissible H5N1 viruses." Journalofvirology**88**(1): 768-773.
- Du, W., et al. (2019). "The 2nd sialic acid-binding site of influenza A virus neuraminidase is an important determinant of the hemagglutinin-neuraminidase-receptor balance." PLoSPathog**15**(6): e1007860.
- DuBois, R. M., et al. (2011). "Acid stability of the hemagglutinin protein regulates H5N1 influenza virus pathogenicity." PLoSPathog**7**(12): e1002398.
- Herfst, S., et al. (2012). "Airborne transmission of influenza A/H5N1 virus between ferrets." Science**336**(6088): 1534-1541.
- Imai, M., et al. (2012). "Experimental adaptation of an influenza H5 HA confers respiratory droplet transmission to a reassortant H5 HA/H1N1 virus in ferrets." Nature**486**(7403): 420-428.
- Lazniewski, M., et al. (2018). "The structural variability of the influenza A hemagglutinin receptor-binding site." **17**(6): 415-427.
- Peacock, T. H. P., et al. (2019). "A Global Perspective on H9N2 Avian Influenza Virus." Viruses**11**(7).
- Song, W. and K. Qin (2020). "Human-infecting influenza A (H9N2) virus: A forgotten potential pandemic strain?" ZoonosesPublicHealth**67**(3): 203-212.

## <별첨작성 양식>

[별첨 1]

### 연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) HPAI 발생농가의 전파 위험성 평가 기술 개발						
	(영문) New tools for transmission risk assessment of HPAI-occurring farms						
주 관 연구 기 관	서울대학교 산학협력단		주 관 연 구 자 책 임 자	(소속) 서울대학교 수의과대학			
참 여 기 업				(성명) 권혁준			
총 연구개발비 (500,000천원)	계	500,000천원	총 연 구 기 간	2018.07.01.~2020.12.31( 2년 6월)			
	정부출연 연구개발비	500,000천원		총 인 원	14		
	기업부담금			총 참 연 구 원 수	내부인원	12	
	연구기관부담금				외부인원	2	
<p>○ 연구개발 목표 및 성과</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>HPAI 발생농가의 질병전파 위험요인 도출 및 실증 : 기존 HPAI 발생농가의 질병전파 사례 분석을 통해 위험요인 도출 및 검증</li> <li>HPAI 발생농가의 질병전파 위험도 평가 : HPAI 발생농가의 질병전파 위험도 평가 모델 개발</li> </ol> <p>○ 연구내용 및 결과</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>HPAI 발생농가의 질병전파 위험성 분석 <ul style="list-style-type: none"> <li>기존 HPAI 발생농가의 질병전파 사례 분석을 통해 위험요인 및 위험도 도출</li> <li>사례조사를 통해 발생농가의 질병 유입 요인별로 질병전파 위험성 분석</li> <li>발생농가의 축종(오리, 육계, 산란계, 기타 축종 등)별로 질병 전파 위험성 분석</li> <li>바이러스 특성별 전파 위험성 분석</li> <li>농장 내 질병에 의한 면역부전에 따른 전파 위험성 분석</li> <li>질병 전파 위험도 분석을 통한 방역 문제점 파악 및 매뉴얼 개선</li> </ul> </li> <li>발생농가의 질병 전파 위험도 분석을 위한 평가기준 마련 <ul style="list-style-type: none"> <li>HPAI의 유입경로, 전파 가능성 등 위험도 평가 지표, 가중치, 평가표 등 개발</li> <li>평가 결과에 따른 방역 매뉴얼 개발(방역대 설정, 살처분 범위 설정 등)</li> <li>HPAI 발생농가 질병 확산 네트워크 구축</li> <li>HPAI 발생농가와 비발생농가 비교연구</li> <li>가금농가 차량이동정보 및 도계장 시각화</li> </ul> </li> </ol> <p>○ 연구성과 활용실적 및 계획</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>SCI급 논문 4건 발표(평균 IF 3.34), 학술발표 4건, 인력양성 1건, 정책활용 2건 특허균주기탁 1건 및 특허 출원 1건.</li> </ol>							

2. 가축질병 발생에 따른 긴급방역조치 사항에 활용 및 정책건의 :2 건의 정책제안서 제출

- 가축질병 발생 시 효과적인 차단방역을 위한 방역지역 설정의 과학적이고 합리적인 기준과 방역지역 설정을 통해 초기 방역 조치의 효과를 극대화함으로써 조기에 가축질병 근절 가능
- 현장에서 방역지역 설정의 과학적이고 객관적인 기준을 제공함으로써 혼란을 사전에 방지하여 방역의 효율성 제고
- 사전적으로 방역지역 설정 시스템을 구축하여 가축질병의 사전예방 효과 극대화에 기여
- 본 연구개발로 구축한 방역지역 설정 GIS를 현재 운용되고 있는 KAHIS 정보를 비롯한 다양한 국가 보유 DB와 연계하여 운영함으로써 질병 발생 시 신속한 차단방역 지대 설정에 활용하며, 장기적으로 국가 방역정책 수립에 기초자료로 사용 가능함
- 선진국에서 활용하고 있는 ICT 관련 기술을 방역지역 설정 과정에 접목할 수 있는 대안을 제시함으로써 효과적인 차단방역 기법 개발과 가축질병 관리 정책 수립에 활용할 수 있을 것으로 기대함
- 정책건의: 방역지역(관리지역, 보호지역, 예찰지역)의 설정의 타당성 평가 결과를 이용하여 긴급방역조치 수정 보완

3. 기술지도 및 교육

- 현장의 방역 담당관(검역본부장, 시·도지사) 및 방역인력이 방역지역을 신속하게 설정하고 필요한 방역조치를 취할 수 있도록 본 과제에서 도출되는 GIS 시스템의 운용 방법에 대한 기술지도
- 방역지역 설정 방법에 대한 방역담당자 교육

4. 경제·산업적 측면

- 가축 질병의 확산 방지를 위한 축산업 수급 안정
- GIS와 IT 관련 기술의 연구 저변확대 및 기술 이전을 통한 가치 창출
- 신속하고 효율적인 초기 차단방역으로 축산농가의 경제적 손실 예방

[별첨 2]

## 자체평가의견서

### 1. 과제현황

		과제번호	318068-03		
사업구분	농식품기술개발사업				
연구분야				과제구분	단위
사업명	가축질병대응기술개발사업				주관
총괄과제	기재하지 않음			총괄책임자	기재하지 않음
과제명	HPAI 발생농가의 전파 위험성 평가 기술 개발			과제유형	기초
연구기관	서울대학교			연구책임자	권혁준
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차연도	100,000	100,000		
	2차연도	200,000	200,000		
	3차연도	200,000	200,000		
	4차연도				
	5차연도				
	계	500,000	500,000		
참여기업					
상대국		상대국연구기관			

※ 총 연구기간이 5차연도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2021.01.25

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
서울대학교	부교수	권혁준

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확약	
----	---

## I. 연구개발실적

※ 다음 각 평가항목에 따라 자체평가한 등급 및 실적을 간략하게 기술(200자 이내)

### 1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (우수)

질병전파 원인별로 위험성을 파악하여 방역매뉴얼 개선점을 찾았으며, 평가 모델 설계 및 전파 위험성 평가서를 개발하였음.

### 2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (우수)

HPAI 발생농가의 전파 위험 요인을 파악하고 위험성 분석 및 평가 모델 설계를 통한 허브 농가 도출을 통해 기존의 방역 시스템에서의 개선점을 발견하였음.

### 3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (우수)

본 연구결과를 활용해 기존의 방역 시스템을 개선하고, 질병 전파를 초기에 막을 수 있는 방안을 제안할 수 있었음.

### 4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (아주우수)

연구계획서에 계획했던 바를 착실히 이행하였고, 그 성과로 HPAI 전파 위험 요인 선정 및 분석을 통한 위험도 평가 및 평가모델설계와 평가서 개발을 완수하였음.

### 5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (아주우수)

SCI급 논문 4건 발표(평균 IF 3.34), 학술발표 4건, 인력양성 1건, 정책활용 2건 특허균주기탁 1건 및 특허 출원 1건.

## II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
HPAI발생농가의 질병전파 위험요인 도출 및 실증	15	100	평가기준에 따라 평가한 결과 모두 달성함
HPAI 발생농가의 질병 유입 요인별로 질병전파 위험성	20	100	상동

실험실 평가			
발병 농가의 질병 전파 위험도 분석을 위한 평가기준 마련 및 방역매뉴얼 개선	15	100	상동
HPAI 발생농가의 질병전파 위험도 평가 모델 설계	15	100	상동
HPAI 발생농가의 질병 확산 네트워크 구축을 통한 허브 농가 도출	15	100	상동
HPAI 발생농가 전파 위험성 평가서 개발	10	100	상동
사례-대조군 연구를 통한 발생/전파 위험 추정 및 차량 이동정보 시각화	19	100	상동
합계	<b>100점</b>	<b>100</b>	상동

### III. 종합의견

#### 1. 연구개발결과에 대한 종합의견

- 연구계획서 상에 계획하였던 내용을 성실히 이행하였고, 그에 관련된 정량, 정성적 성과를 모두 달성하였음.

#### 2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

- 해당사항 없음

#### 3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

- 가축질병 발생 시 효과적인 차단방역을 위한 방역지역 설정의 과학적이고 합리적인 기준과 방역 지역 설정을 통해 초기 방역 조치의 효과를 극대화함으로써 조기에 가축질병 근절 가능
- 본 연구개발로 구축한 방역지역 설정 GIS를 현재 운용되고 있는 KAHIS 정보를 비롯한 다양한 국가 보유 DB와 연계하여 운영함으로써 질병 발생 시 신속한 차단방역 지대 설정에 활용하며, 장기적으로 국가 방역정책 수립에 기초자료로 사용 가능함
- 가축 질병의 확산 방지를 위한 축산업 수급 안정
- GIS와 IT 관련 기술의 연구 저변확대 및 기술 이전을 통한 가치 창출
- 신속하고 효율적인 초기 차단방역으로 축산농가의 경제적 손실 예방

### IV. 보안성 검토

○ 특히 출원을 완료하는 시점까지 한시적으로 보안성이 필요함

※ 보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

1. 연구책임자의 의견

- 특히 출원을 완료하는 시점까지 한시적으로 보안성이 필요함

2. 연구기관 자체의 검토결과

- 특히 출원을 완료하는 시점까지 한시적으로 보안성이 필요함



[별첨 3]

## 연구성과 활용계획서

### 1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input checked="" type="checkbox"/> 자유응모과제 <input type="checkbox"/> 지정공모과제	분 야	농식품기술개발사업	
연구과제명	HPAI 발생농가의 전파 위험성 평가 기술 개발			
주관연구기관	서울대학교 산학협력단	주관연구책임자	권 혁 준	
연구개발비	정부출연 연구개발비	기업부담금	연구기관부담금	총연구개발비
	500,000,000			500,000,000
연구개발기간	2018.07.01. ~ 2020.12.31			
주요활용유형	<input type="checkbox"/> 산업체이전 <input type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input checked="" type="checkbox"/> 정책자료 <input checked="" type="checkbox"/> 기타(논문발표, 학술발표) <input type="checkbox"/> 미활용(사유: )			

### 2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
HPAI발생농가의 질병전파 위험요인 도출 및 실증	-기존 HPAI 발생 농가의 질병 전파 사례 분석을 통해 위험 요인 검증 및 도출 -사례 수집 및 분류 -사례 별 위험요인 도출 및 현장 조사
HPAI 발생농가의 질병 유입 요인별로 질병 전파 위험성 실험실 평가	-고병원성 조류인플루엔자 바이러스 가금 계대에 의한 돌연변이 빈도 및 환경 저항성 조사 -고위험 농장 계절별 지하수 수질 검사, 바이러스 생존성 평가 및 소독법 평가 -가금 간 수평전파 관련 위험요인 평가 -사료 관련 위험요인 평가
발병 농가의 질병 전파 위험도 분석을 위한 평가기준 마련 및 방역매뉴얼 개선	-바이러스 유입 경로별 전파 위험성 평가 -바이러스 특성별 전파 위험성 평가 -농장 내 질병(살모넬라, 감보로 등)에 의한 면역부전 관련 전파 위험성 평가 -방역매뉴얼 개선 (정책 제안서)
HPAI 발생농가의 질병전파 위험도 평가 모델 개발	-HPAI 발생농가의 질병전파 위험도 평가 모델 설계
HPAI 발생농가의 질병전파 위험도 평가	-HPAI 발생농가의 질병 확산 네트워크 구축을 통한 허브 농가 도출
HPAI 발생농가 질병전파 위험성 평가서 개발 및 사례-대조군 연구를 통한 발생/전파 위험 추정 및 차량이동정보 시각화	-HPAI 발생농가 전파 위험성 평가서 개발 -사례-대조군 연구를 통한 발생/전파 위험 추정 및 차량이동정보 시각화

### 3. 연구목표 대비 성과

성과 목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과				교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특허 출원	특허 등록	품종 등록	권수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용 창출	투자유치		논문		학술 발표	정책 활용			홍보 전시		
												SCI	비SCI						논문 평균 IF	
단위	건	건	건	건	백만원	백만원	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명	건	건			
가중치													0.4	0.2		0.1	0.3			
최종목표											2	1	1	5	1	2				
연구기간내 달성실적											4		3.34	4	1	2				
달성율(%)											100	0	100	80	100	100				

### 4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	고생산성/포유류 무병원성/고보존성/교차방어능 향상 H5Nx 조류인플루엔자 백신주 제작기술
②	Salmonella biovar Gallinarum 방어 항원 및 peptide-ELISA 기술
③	SG9R 백신주의 생균/사균 혼합 백신 기술
④	SG9R 백신주의 병원성 회복 위험성 제거 개선 백신주(Safe-9R)
⑤	G9R 백신주의 병원성 회복 위험성 제거 개선 및 내독소 독성 제거 백신주(Dtx-9RL)
⑥	G9R 백신주의 병원성 회복 위험성 제거 개선 및 내독소 독성 제거 백신주(Dtx-9RM)
⑦	HPAI 발생농가의 질병전파 위험도평가 기술
⑧	가금농가 관련 차량이동정보 시각화 기술

### 5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복제	외국기술 소화흡수	외국기술 개선개량	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장에로 해결	정책 자료	기타
①의 기술	v	v				v	v			
②의 기술	v	v				v	v	v		
③의 기술	v	v				v	v	v		
④의 기술	v	v				v	v	v		
⑤의 기술	v	v				v	v	v		
⑥의 기술	v	v				v	v	v		
⑦의 기술									v	







주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 가축질병대응기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 가축질병대응기술 개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안됩니다.